

Funktionelle Modelle zur Untersuchung von Kohlenhydrat-Protein- Wechselwirkungen: Synthese und Testung von Glykokonjugat-Mimetika



Dissertation

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

vorgelegt von

Christoph Dirk Heidecke
aus Marburg a. d. Lahn

Kiel 2005

Referentin: Prof. Dr. Th. K. Lindhorst
Korreferent: Prof. Dr. U. Lüning
Tag der Disputation: 01.11.2005
Zum Druck genehmigt: Kiel, den

Der Dekan

Diese Arbeit wurde von Oktober 2001 bis September 2005 am Institut für Organische Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel in der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst angefertigt.

Frau Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst danke ich für die interessante Themenstellung, die Offenheit für eigene Vorschläge und Ideen, die großzügige Förderung und die freundliche Unterstützung in den letzten Jahren.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	1
1 Einleitung	3
1.1 Die Glykokalyx	3
1.1.1 Eukaryontische und prokaryontische Glykokalices	3
1.1.2 Glykokonjugate	4
1.1.3 Funktion der Glykokalyx	7
1.2 Modellmoleküle	8
1.3 Multivalenz in Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen	10
1.4 Zielsetzung	12
2 Mannosidische N-Glykan- und Glykolipidmimetika	15
2.1 Dendrimere aus Kohlenhydratbausteinen durch Glykosylierung	15
2.1.1 Einleitung	15
2.1.2 Durchgeführte Synthesen	19
2.1.3 Weitere Funktionalisierungsmöglichkeiten	26
2.1.4 Biologische Tests	32
2.1.5 Fazit und Ausblick	36
2.2 Mannose-basierte Glykolipidmimetika	36
2.2.1 Einleitung	36
2.2.2 Durchgeführte Synthesen	37
2.2.3 Fazit und Ausblick	45
3 Glykopeptide als bivalente Liganden für das <i>Maclura pomifera</i> Agglutinin	47
3.1 Einleitung	47
3.1.1 Multivalenz in biologischen Erkennungsprozessen	47
3.1.2 Aufgabenstellung	48
3.1.3 Das Lectin <i>Maclura pomifera</i> Agglutinin (MPA)	49

3.2	Konzept	50
3.3	Zielmoleküle	51
3.4	Synthese	54
3.5	Quartäre Zucker-Aminosäure-Konjugate durch Peptidkupplung	57
3.5.1	Synthese des Galaktosids 81	57
3.5.2	Synthese des Konjugates	61
3.6	Synthese anderer Zucker-Bausteine für die Glykopeptidsynthese	66
3.6.1	Betrachtung der Kristallstruktur des MPA	68
3.7	Glykopeptidsynthese	73
3.7.1	Syntheseplanung	73
3.7.2	Festphasensynthese von Peptiden und Glykopeptiden	73
3.7.3	Durchgeführte Synthesen	76
3.8	Fazit und Ausblick	81
4	Zusammenfassung – Summary	83
4.1	Zusammenfassung	83
4.2	Summary	85
5	Experimenteller Teil	89
5.1	Allgemeine Methoden	89
5.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften	91
5.3	Einzelvorschriften	93
5.3.1	Vorschriften aus Kapitel 2	93
5.3.2	Vorschriften aus Kapitel 3	124
5.4	Peptidsynthesen	153
5.4.1	Allgemeine Arbeitsvorschriften	153
5.4.2	Analytische Daten	156
5.5	ELISA	161
5.5.1	Verwendete Materialien	161
5.5.2	Durchgeführte Arbeitsschritte	162
	Literaturverzeichnis	165
	Lebenslauf	177
	Danksagung	179

Abkürzungsverzeichnis

9-BBN	9-Borabicyclo[3.3.1]nonan
AIBN	2,2'-Azobisisobutyronitril
aq.	wässrig
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
BOP	(Benzotriazol-1-yloxy)-tris-(dimethylamino)-phosphonium-hexafluorophosphat
br	breites Signal (NMR, IR)
Bz	Benzoyl
CAN	Ammoniumcer(IV)-nitrat
CCA	α -Cyano-4-hydroxycinnosäure
COSY	Correlated Spectroscopy
CRD	Carbohydrate Recognition Domain
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCM	Dichlormethan
DEAD	Azodicarbonsäure-diethylester
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -diisopropylamin
DMAP	4-Dimethylamino-pyridin
DMTST	Dimethyl-(methylthio)-sulfoniumtriflat
DSS	4,4-Dimethyl-4-silapentan-5-sulfonsäure Natriumsalz
EDT	1,2-Ethandithiol
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Essay
eq.	Äquivalent(e)
FG	Fluchtgruppe
FluH	Fluorenyl (NMR)
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl

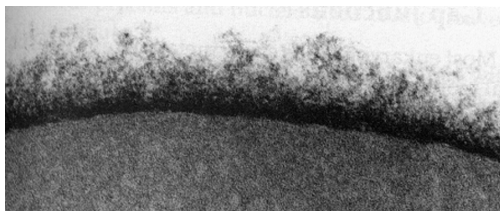
Gal	Galaktosyl (NMR)
GPC	Gelpermeationschromatographie
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HOBT	1-Hydroxy-benzotriazol
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Man	Mannosyl (NMR)
MMPP	Magnesiummonoperoxophthalat-Hexahydrat
MPA	<i>Maclura pomifera</i> Agglutinin
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NIS	<i>N</i> -Iodsuccinimid
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
PAMAM	Polyamidoamin
PG	Schutzgruppe
Phth	Phthaloyl
SEM	Scanning Electron Microscopy
SPPS	Solid Phase Peptide Synthesis
SPR	Surface Plasmon Resonance
TBABr	Tetrabutylammoniumbromid
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBME	<i>tert</i> -Butyl-methylether
TBPA	Tris-(4-bromphenyl)-ammoniumyl-hexachloroantimonat
TBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-tetrafluoroborat
TFA	Trifluoressigsäure
TIS	Triisopropylsilan
TMSOTf	Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat
Tos	Tosyl
Tr	Trityl

1 Einleitung

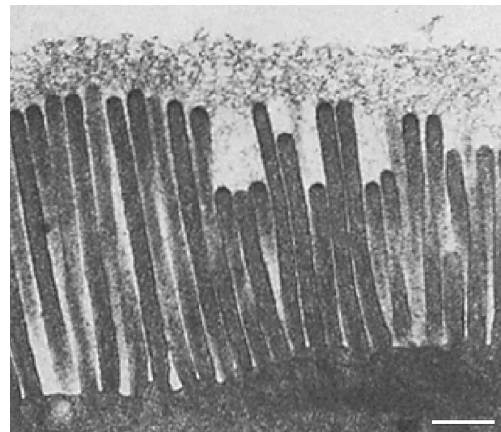
1.1 Die Glykokalyx

1.1.1 Eukaryontische und prokaryontische Glykokalices

Jede eukaryontische Zelle ist auf der extrazellulären Seite der Plasmamembran von einer Schicht komplexer Oligosaccharide umgeben, der sogenannten Glykokalyx.¹ Sie wird im Wesentlichen aus den Oligosaccharidseitenketten der Glykolipide und Glykoproteine der Zellmembran gebildet und kann, je nach Zelltyp, eine Dicke von etwa 100 nm bis 1 µm erreichen (Abb. 1.1). Der Kohlenhydratanteil der Zellmembran liegt bei etwa 2–10 %. Auch



(a) Elektronenmikroskopische Aufnahme einer Erythrozytenzelle. Die Glykokalyx hat eine Dicke von etwa 140 nm.^[1]



(b) Elektronenmikroskopische Aufnahme der Glykokalyx auf den Mikrovilli von Enterozyten. Die Glykokalyx ist hier deutlich dicker (der weiße Balken entspricht 500 nm).^[2]

Abb. 1.1. Glykokalices zweier verschiedener Zelltypen.

die Kapseln, von denen manche Bakterien (z. B. *Klebsiella pneumoniae* oder *Enterococcus faecalis*) auf der Außenseite ihrer Zellwände umgeben sind, werden als Glykokalices bezeichnet, teilweise auch die nicht kovalent an sie gebundenen sog. Exopolysaccharide.^[3]

¹Der Begriff leitet sich vom griechischen κάλυξ (Hülse, Kapsel) ab, nicht vom lateinischen calix (Kelch).

Diese gelatinösen Polymere können je nach Bakterienart verschiedene Zusammensetzung haben (z. B. *N*-Acetylneuraminsäure- oder Hyaluronsäure-Polymere) und der Kapseldurchmesser kann ein Vielfaches des Bakteriendurchmessers erreichen. Ihre Funktionen sind u. a. Schutz vor Phagozytose und Austrocknung, Nährstoffreserve und Adhärenz an verschiedene Oberflächen, wie z. B. die des Zahnschmelzes oder von künstlichen Implantaten oder Kathetern, durch Bildung eines Biofilms (Abb. 1.2).^[4-6]

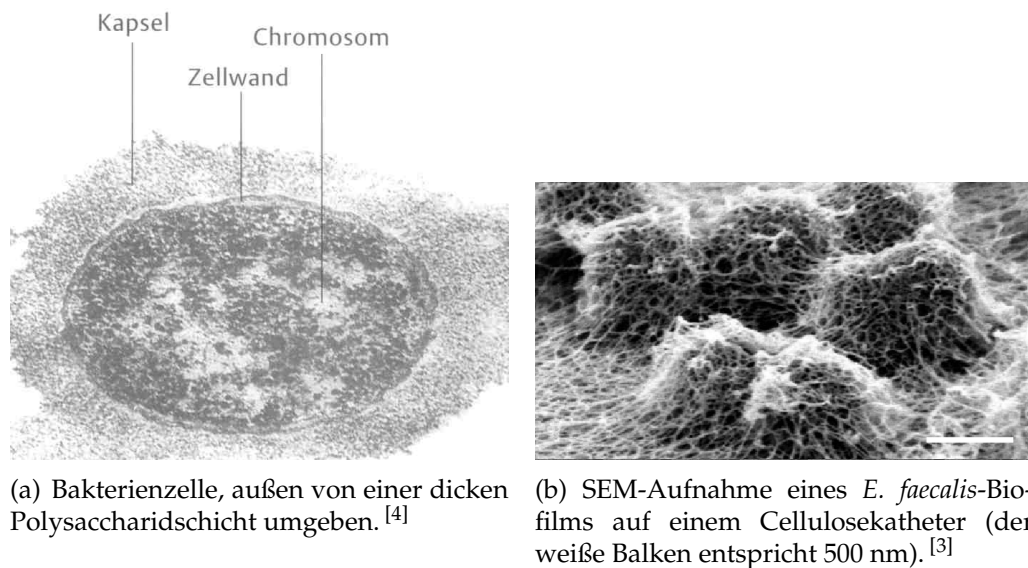


Abb. 1.2. Bakterielle Glykokalyx und Biofilm.

1.1.2 Glykokonjugate

Die Oligosaccharide, die die eukaryontische Glykokalyx bilden, sind in Form von Glykoproteinen und Glykolipiden in der Zellmembran verankert. Diese kohlenhydrathaltigen Strukturen fasst man unter dem Begriff „Glykokonjugate“ zusammen.^[7]

In Glykokonjugaten häufig auftretende Monosaccharideinheiten sind L-Fucose, D-Galaktose, D-*N*-Acetylgalaktosamin (GalNAc), D-*N*-Acetylglukosamin (GlcNAc), D-Mannose und *N*-Acetylneuraminsäure (NeuAc);^[8] neben diesen findet man aber noch diverse andere. Zieht man zusätzlich die vielen Verknüpfungsmöglichkeiten in Betracht, die sich aus der Multifunktionalität der Kohlenhydrate und der Möglichkeit der α - und β -glykosidischen Bindung ergeben, so wird die unglaubliche strukturelle Vielfalt der Glykokonjugate deutlich.

Trotz dieser Vielfalt findet man einige wichtige, immer wiederkehrende Strukturen. So sind die Kohlenhydratreste von Glykoproteinen hauptsächlich auf drei verschiedene Arten mit dem Protein verbunden: *N*-glykosidisch, *O*-glykosidisch oder über Ethanolaminphosphat (Abb. 1.3).^[9] In den *N*-Glykanen liegt eine *N*-glykosidische Bindung

des sich am reduzierenden Ende des Oligosaccharids befindlichen *N*-Acetylglukosamins, welches alle *N*-Glykane gemeinsam haben, an eine Asparaginseitenkette des Proteins vor. In den *O*-Glykanen findet die Verknüpfung über eine *O*-glykosidische Bindung, meist zu den Hydroxygruppen von Serin, Threonin oder Hydroxyprolin, statt. Die Art des an das Protein gebundenen Zuckers ist hierbei nicht festgelegt. Die Verknüpfung über Ethanolamin findet man in den sog. „GPI-Ankern“ (Glykosylphosphatidylinositolen). Die Grundstruktur kann durch Bindung einer Reihe von anderen Resten (Lipiden, Oligosacchariden, Phosphaten etc.) modifiziert sein. Der Protein- und Oligosaccharidrest ist durch die Einlagerung des sich am Inositolrest befindlichen Lipids in der Zellmembran verankert und ragt in den extrazellulären Raum.

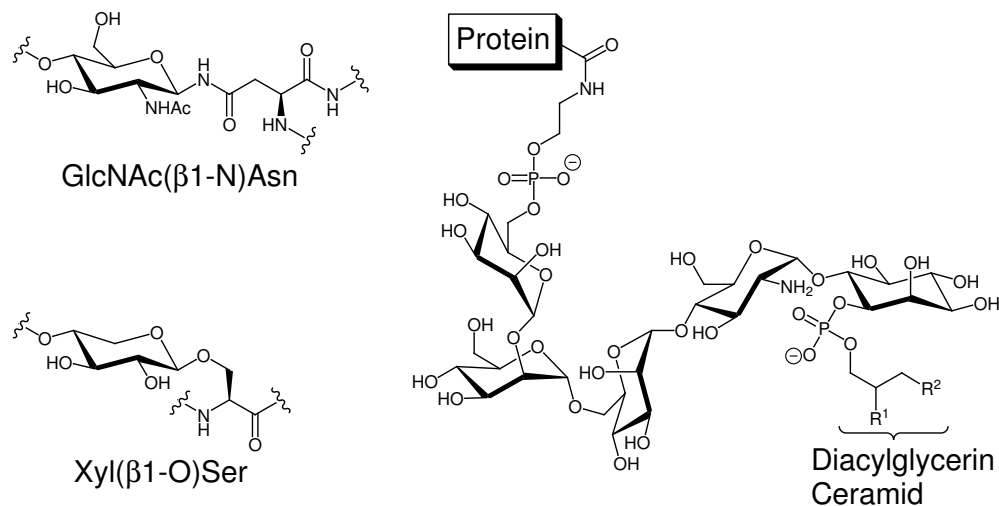


Abb. 1.3. Kohlenhydrat-Protein-Verknüpfungen in den *N*- und *O*-Glykoproteinen und Minimalstruktur der Glykosylphosphatidylinositole (GPI-Anker) (nach Lit. [9]).

Eine besondere Klasse von Glykoproteinen sind die Proteoglykane^[10,11], die nur einen Proteinanteil von etwa 5 % haben und zu 95 % aus Polysacchariden mit einer Masse von bis zu 10⁶ Da bestehen. Diese sog. Glykosaminoglykane sind aus sich wiederholenden Disaccharideinheiten aufgebaut, in denen jeweils ein Zucker ein Aminozucker ist und mindestens einer eine unter physiologischen Bedingungen negativ geladene Carboxyl- oder Sulfatgruppe enthält (Abb. 1.4). Die Proteoglykane bilden die extrazelluläre Matrix des Bindegewebes; zu den Glykosaminoglykanen zählt ferner das zur Hemmung der Blutgerinnung wichtige Heparin.

Glykolipide sind amphiphile Moleküle, die aus einem Lipid- und einem Saccharidteil bestehen.^[7,12,13] In Pflanzen bilden hauptsächlich Diacylglycerine die Lipidkomponente, in tierischen Zellen findet man als Lipidkomponente vor allem mit einer Fettsäure *N*-acyliertes Sphingosin, das Ceramid (Abb. 1.5). In normalen Lipiden ist das Ceramid mit

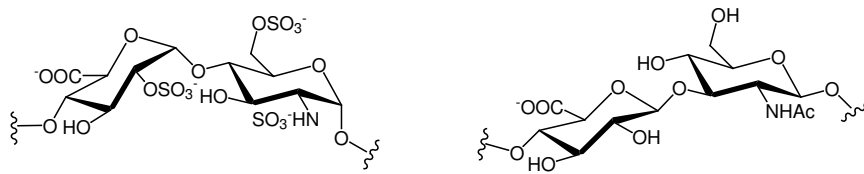


Abb. 1.4. Strukturformeln der Disaccharideinheiten von Heparin und Hyaluronsäure.

Phosphorylcholin verknüpft und bildet das sog. Sphingomyelin. In den Glykosphingolipiden^[14] nehmen die Kohlenhydrate den Platz des Phosphorylcholins als polare Komponente ein. Besteht der Kohlenhydratteil aus einem Monosaccharid (Galaktose oder Glukose), so spricht man von Cerebrosiden, während in den Gangliosiden Oligosaccharide, die negativ geladene Zucker wie Neuraminsäuren enthalten, zu finden sind. Wie bei den Transmembranglykoproteinen, so sind auch hier die Kohlenhydratreste durch die lipophilen Molekülteile in der Zellmembran verankert und ragen in den extrazellulären Raum.

Unter den bakteriellen Glykolipiden sind besonders die Lipopolysaccharide erwähnenswert, da sie eine einzigartige Struktur aufweisen.^[13,15] Sehr komplexe Heteropolysaccharide sind kovalent mit dem sog. Lipid A verbunden und mit dessen Hilfe in der äußeren bakteriellen Membran verankert. Die ungewöhnliche Struktur des Lipid A ist in Abb. 1.6a gezeigt.

Eine spezielle Art von Glykolipiden sind die Sterylglykoside und die Saponine (Abb. 1.6b). Als solche bezeichnet man Glykoside der Steroide und Triterpene, die in Pflanzen vorkommen.^[16,17] Sterylglykoside besitzen bis zu fünf linear verbundene Zuckereinheiten, während in den Saponinen auch verzweigte Saccharidstrukturen auftreten. Da man Saponine häufig in traditionellen Heilpflanzen findet, erhofft man sich von

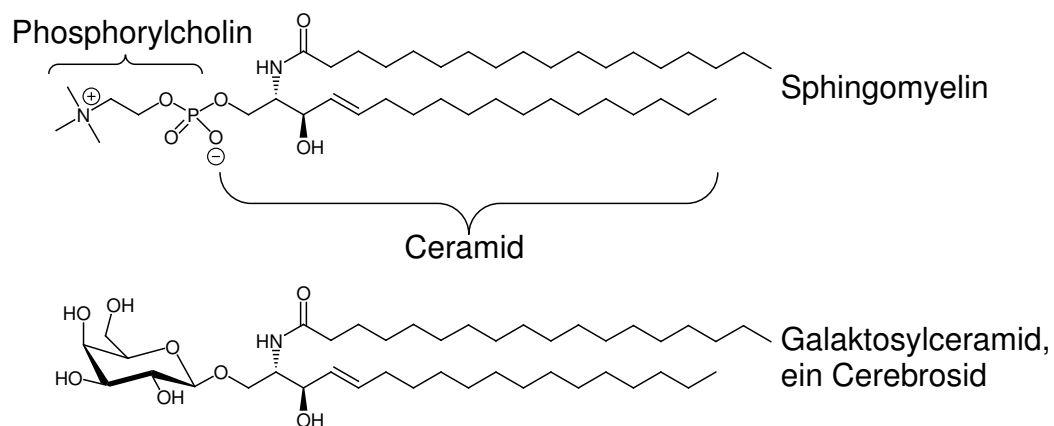


Abb. 1.5. Vergleich der Strukturen von Sphingomyelin und einem Glykosphingolipid.

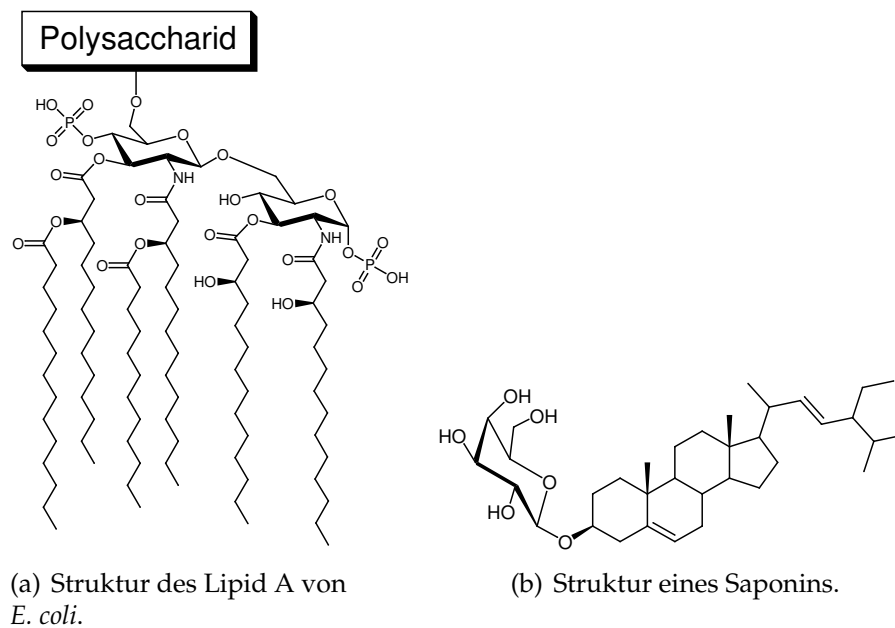


Abb. 1.6. Spezielle Glykolipide. ^[13]

ihnen neue Impulse für die Wirkstoffentwicklung und beginnt verstärkt mit ihrer chemischen Synthese. ^[18]

1.1.3 Funktion der Glykokalyx

Neben den oben bereits erwähnten, eher mechanischen Funktionen der prokaryontischen Glykokalyx, hat sie noch eine Reihe weiterer wichtiger Aufgaben. Die Glykokonjugate haben Auswirkungen auf die Membraneigenschaften einer Zelle. So existiert die Hypothese, dass es zur Ausbildung von Glykosphingolipid-reichen Domänen (sog. „lipid rafts“) u. a. durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Glykosylresten der Glykosphingolipide kommt. Diese Domänen könnten Auswirkungen auf Vorgänge wie Signaltransduktion und Membrantransport haben. ^[19] Die Glykokalyx ist ferner spezifisch für einen bestimmten Zelltyp und spielt damit in der Zell-Zell-Erkennung eine große Rolle. Gleichartige Zellen können sich an ihren Glykokalices erkennen und zu Verbänden zusammenschließen, was besonders in der Entwicklungsphase eines Organismus eine große Rolle spielt. ^[20] Die Glykokalyx hat Antigen-Eigenschaften, d. h. beim Eindringen eines Fremdorganismus kommt es zur Ausbildung von Antikörpern gegen dessen Kohlenhydrat-Strukturen. ^[20] Die Kohlenhydrat-Epitope ermöglichen die Wechselwirkung der Zelle mit Toxinen, Viren und Bakterien an der Zelloberfläche. ^[21,22] In der Glykokalyx werden auch so wichtige Strukturen wie die Blutgruppenantigene präsentiert. Darüber hinaus ist der Zustand der Glykokalyx nicht statisch: Er spiegelt den Zu-

stand der Zelle wider. So kann beispielsweise die Leber gealterte Erythrozyten von neuen unterscheiden und sie aus dem Blutkreislauf entfernen, weil die Erythrozyten im Laufe der Zeit desialyliert werden, und die Leber diese Erythrozyten dann mit Hilfe des Asialoglykoproteinrezeptors binden kann. Auch die Glykokalices von Tumorzellen unterscheiden sich deutlich von normalen Zellen: Viele zeigen deutlich dünnere Glykokalices. Ferner tritt bei einigen Tumorarten eine Runterregulierung von Glykosyltransferasen auf, was zu unvollständiger Glykansynthese führt.^[23,24] Man findet daher auf solchen Zellen kürzere Saccharidstrukturen wie das T_N-, Sialyl-T_N- oder das T-Antigen, die auch als Tumor-assoziierte Antigene bezeichnet werden.

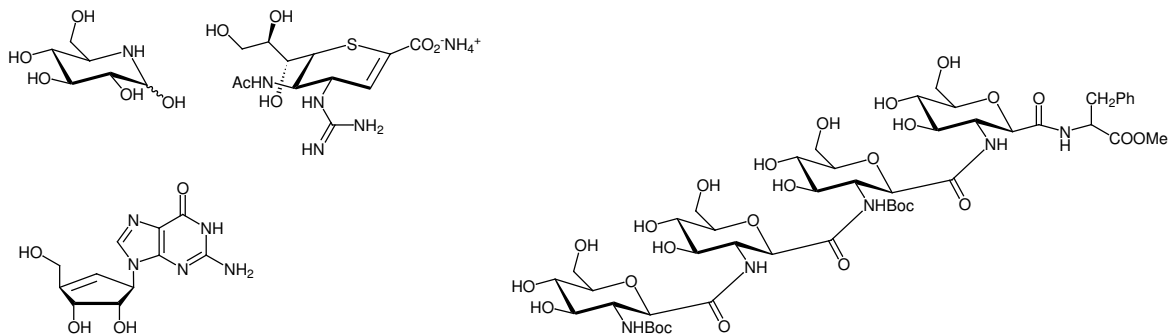
1.2 Modellmoleküle

Zur Aufklärung der biologischen Funktion der Glykokalyx ist es von großer Bedeutung, Oligosaccharide und Glykokonjugate in reiner Form und in ausreichender Menge zur Verfügung zu haben, um damit Tests durchführen zu können. Dies ist jedoch nicht für alle Arten von Substanzen gleich einfach zu erreichen. Glykanstrukturen sind häufig nicht einheitlich – einerseits variieren sie in der Zusammensetzung ihrer Monosaccharide, andererseits sind sie häufig auf verschiedene Arten und Weisen substituiert, z. B. acetyliert, sulfatiert oder phosphoryliert. Diese als „Mikroheterogenität“ bezeichnete Eigenschaft^[22,25–27] der Glykane ist neben der Schwierigkeit, sie in größeren Mengen aus natürlichen Quellen zu isolieren, ein wichtiger Grund, aus dem der chemischen und enzymatischen Synthese von Oligosacchariden und Glykokonjugaten^[28] entscheidende Bedeutung zukommt.

Doch nicht nur die Synthese natürlich vorkommender Substanzen ist interessant und wichtig, sondern auch die Darstellung künstlicher, abgewandelter Glykostrukturen. Solche synthetischen Produkte, die in Polarität und Form Zucker imitieren, bezeichnet man auch als „Glykomimetika“.^[29] Sie lassen sich unterteilen in Mono- und Oligosaccharidmimetika. Monosaccharidmimetika sind Monosaccharide, in denen strukturelle Veränderungen verschiedener Art vorgenommen wurden. Zu ihnen zählen beispielsweise der Ersatz des Ringsauerstoffatoms durch Stickstoff (Azazucker), Kohlenstoff (Carbazucker) oder Schwefel (Thiozucker) (Abb. 1.7a).^[30] Solche Glykomimetika sind oft wirkungsvolle Glykosyltransferase- und Glykosidaseinhibitoren und zeigen u. a. antivirale Wirkung.

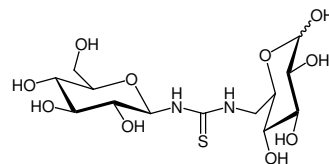
Bei den Di- und Oligosaccharidmimetika gibt es die Möglichkeit, die Art der Verknüpfung der Monosaccharideinheiten zu verändern. Dies geschieht häufig über Ersatz der O-glykosidischen durch C- oder S-glykosidische Bindungen, aber auch durch Peptidkupplung, Spacer- oder (Thio)-Harnstoffverbrückung. Ersatz der glykosidischen Bindungen durch Peptidbindungen führt zu Zucker-Peptid-Hybriden, die aus medizinischer

Sicht interessant sind – so zeigt das Mimetikum eines (1→2)-verbrückten Tetrasaccharids in Abb. 1.7b starke Wirkung auf CD4-Zellen bei HIV-Infektion^[31]. Darüber hinaus weisen sie durch die Besonderheiten der peptidischen Bindung interessante konformationelle Eigenschaften und die Tendenz zur Ausbildung bevorzugter Konformationen auf (sog. „Foldamere“)^[32]. In dem Disaccharidmimetikum in Abb. 1.7c dient die Thioharnstoffverbrückung als Ersatz für die Bindung über ein Phosphat; solche Moleküle können für Konformationsstudien dienen.^[33]



(a) Beispiele für Aza- (Nojirimycin, Antibiotikum)^[34], Carba- (Carbovir, Antitumor- und Anti-HIV-Wirkstoff) und Thiozucker (gegen Influenza wirksames Neuraminsäuremimetikum)^[35].

(b) Zucker-Peptid-Hybrid auf Glukosaminbasis.^[31]



(c) Thioharnstoffverbrückung zweier Glukoseeinheiten.^[33]

Abb. 1.7. Verschiedene Typen von Glykomimetika.

Mimetika der Glykokonjugate bezeichnet man auch als Neoglykokonjugate.^[25] Mittlerweile sind solche „Neo-Formen“ von praktisch allen bekannten Glykokonjugat-Typen dargestellt worden. In Neoglykokonjugaten können die natürlichen Verknüpfungen der Kohlenhydrateile zum Rest der Moleküle durch unnatürliche ersetzt sein. So kann eine große Zahl an Reaktionen für die Bindung von synthetischen oder natürlichen Sacchariden an Proteine oder Peptide genutzt werden, z. B. reduktive Aminierung, (Thio)Harnstoffbildung, Amidate oder Thioether.^[36] Auf diese Weise können durch Konjugation immunogener Kohlenhydratstrukturen an geeignete Proteine Vaccine gewonnen werden.^[37,38] Des Weiteren kann der Nicht-Kohlenhydrat-Anteil der Glykokonjugate durch einfachere Strukturen ersetzt sein. Hierbei handelt es sich vor allem um den Ersatz

der Peptidteile durch Polymere, da diese relativ einfach, günstig und mit verschiedenen Molekulargewichten darstellbar sind. Ferner kann eine Vielzahl verschiedener Monomere und Polymerisationsverfahren genutzt werden, was die strukturelle Vielfalt sehr groß macht.

Neben den Vorteilen, die die Darstellung solcher Mimetika in Bezug auf Reinheit und Mengenverfügbarkeit hat, gibt es noch eine Reihe anderer Gründe, sich mit ihnen zu befassen. So können Kohlenhydrate kaum als Wirkstoffe dienen, da sie sehr schlechte pharmakologische Eigenschaften haben und *in vivo* schnell enzymatisch abgebaut werden. Im Wirkstoffdesign ist es daher zwingend erforderlich, diese Nachteile durch Abwandlung der natürlichen Strukturen zu beseitigen (z. B. durch Erhöhung der Lipophilie). Ihre Bindung an Proteinrezeptoren ist außerdem häufig nur sehr schwach, was man durch verschiedene Ansätze zu verbessern sucht. Ein wichtiger Aspekt der Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkung ist dabei die Multivalenz.

1.3 Multivalenz in Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen

Die Wechselwirkungen monovalenter Kohlenhydratliganden mit einzelnen Bindungsstellen auf Proteinen ist relativ schwach. Man findet hierfür Dissoziationskonstanten im millimolaren Bereich.^[39] Durch das Phänomen der Multivalenz, d. h. der Wechselwirkung mehrerer Kohlenhydratepitope mit mehreren Rezeptoren, werden diese Wechselwirkungen erheblich in ihrer Stärke und Selektivität beeinflusst.^[40] So kann Multivalenz zu einer überproportionalen Erhöhung der Bindungskonstante führen, eine Beobachtung, die zuerst von LEE et al. mit einfachen Glykoclustern gemacht wurde^[41] und die die Bezeichnung „Cluster-Effekt“ erhielt.^[42] Andere Studien konnten durch SPR-Messungen zeigen, dass trotz teilweise nur geringer Erhöhung der Bindungskonstanten die Kinetik der Dissoziation durch multivalente Wechselwirkungen deutlich verlangsamt wird, was nicht zuvorderst eine starke, sondern eine langlebige Wechselwirkung zur Folge hat^[43]; durch Multivalenz können also verschiedene biologische Wirkungen erzielt werden.

Eine einfache quantitative Beschreibung des Multivalenzeffektes kann mit Hilfe der Parameter α und β erfolgen.^[44] Für multivalente Bindungsereignisse gilt

$$\Delta G_{avg}^{poly} = \alpha \Delta G^{mono}$$

wobei ΔG_{avg}^{poly} die durchschnittliche freie Bindungsenthalpie jeder einzelnen die multivalente Bindung erzeugenden Bindungen ist und ΔG^{mono} die freie Bindungsenthalpie der

Bindung mit einem monovalenten Liganden. α , die Kooperativität, ist definiert als

$$\alpha = \frac{\lg K_N^{poly}}{(\lg K^{mono})^N}$$

Der Wert von α zeigt also an, ob die einzelnen Bindungsvorgänge synergetisch ($\alpha > 1$), additiv ($\alpha = 1$) oder negativ kooperativ ($\alpha < 1$) sind.

Die Größe α ist jedoch für die Beschreibung polyvalenter Bindungsvorgänge aus zwei Gründen nicht gut geeignet. Erstens ist die Zahl N der an einem multivalenten Bindungsvorgang beteiligten Bindungen meist nicht bekannt. Ferner kann die Bindungskonstante eines multivalenten Liganden deutlich größer sein als die des monovalenten, obwohl die einzelnen Bindungsvorgänge additiv oder gar negativ kooperativ sind. Daher wird der empirische Parameter β eingeführt, der definiert ist als

$$\beta = \frac{K_N^{poly}}{K^{mono}}$$

K_N^{poly} ist dabei die gemessene Bindungskonstante der multivalenten Bindung, für die auch der Begriff „Avidität“ gebräuchlich ist, während K^{mono} die Bindungskonstante des monovalenten Liganden ist. Der Quotient β – auch Verstärkungsfaktor genannt – ist auch dann eine sinnvolle Größe, wenn N nicht bekannt und $\alpha \leq 1$ ist und ist zur Quantifizierung von Multivalenzeffekten geeignet.

Eine Reihe von Möglichkeiten ist denkbar, wie multivalente Wechselwirkungen auf molekularer Ebene aussehen können. Sie sind in Abb. 1.8 dargestellt und erläutert.^[45] Intramolekulare Bindungen („Chelat-Effekt“) und Cross-linking unter Ausbildung von Aggregaten^[46,47] scheinen dabei besonders wichtige Motive zu sein, so dass man heute in der Literatur bereits zwischen dem „klassischen“ Cluster-Effekt, der hauptsächlich auf dem Chelat-Effekt beruht, und einem „Cross-linking Cluster-Effekt“ unterscheidet^[48]. Häufig ist es jedoch schwierig, zwischen den einzelnen Effekten zu differenzieren. Der als „STARFISH“² bezeichnete Glykocluster von BUNDLE et al., der eine um den Faktor 10^6 erhöhte inhibitorische Potenz im Vergleich zu dem monovalenten Liganden gegenüber dem pentameren Shiga-like toxin (SLT) besitzt, wurde maßgeschneidert im Hinblick auf eine Chelat-Bindung zu den fünf Untereinheiten des SLT.^[49] Röntgenographische Untersuchungen des Toxin-Ligand-Komplexes zeigen jedoch eine Kombination aus Überbrückung mehrerer Untereinheiten des Toxins und Aggregation zweier Proteine. Die Struktur solcher Protein-Ligand-Komplexe in Lösung bleibt darüber hinaus weiter unklar.

²engl. für Seestern, aufgrund der Form des Moleküls

1.4 Zielsetzung

Um neue Erkenntnisse über das Wesen der Multivalenz zu gewinnen, wurden und werden eine Vielzahl von multivalenten Glykomimetika synthetisiert.^[42,50] Sie lassen sich nach ihrer Architektur in verschiedene Klassen einteilen (u. a. Glykocluster, Glykodendri-mere und Glykopolymere, Abb. 1.9), die sich in Struktur, Präsentation der Zuckerepitope und Valenz deutlich unterscheiden.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten in diesem Zusammenhang zwei Themengebiete be-arbeitet werden. Einerseits sollte ein synthetisches Konzept zur Synthese eines dendri-tischen Oligosaccharidmimetikums, welches bereits in der Diplomarbeit^[51] begonnen worden war, weiterverfolgt und auf die Synthese von Glykolipidmimetika ausgedehnt werden. Dies wird in Kapitel 2 beschrieben. In einem weiteren Projekt sollten rigide, oberflächenfixierbare Liganden für ein tetrameres Lectin entwickelt werden, um SPR-Messungen mit ihnen durchführen zu können. Hierauf wird in Kapitel 3 näher eingegan-gen.

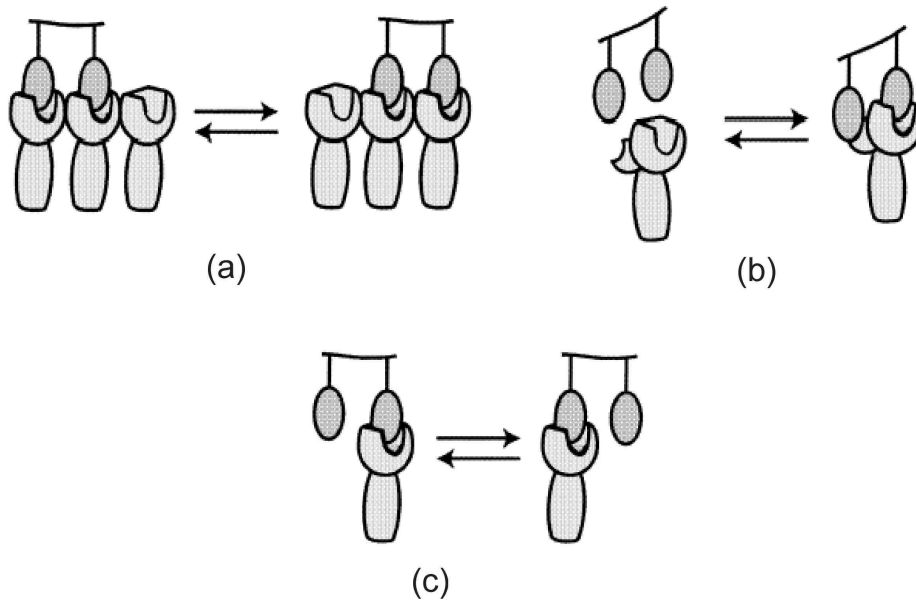


Abb. 1.8. Mechanismen multivalenter Rezeptor-Ligand-Bindung, die zu erhöhter Bindungsaffinität führen können. (a) Chelat-Effekt. Die multivalente Bindung zwischen Ligand und Rezeptor verringert die Off-rate und erhöht die insgesamt Bindungsaffinität; (b) ähnlich wie der Chelat-Effekt, aber mit Bindung des Liganden zu anderen Bindungstaschen als der primären; (c) statistische Effekte. Die hohe lokale Konzentration des multivalenten Liganden erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass er erneut gebunden wird. Nach Lit. [45].

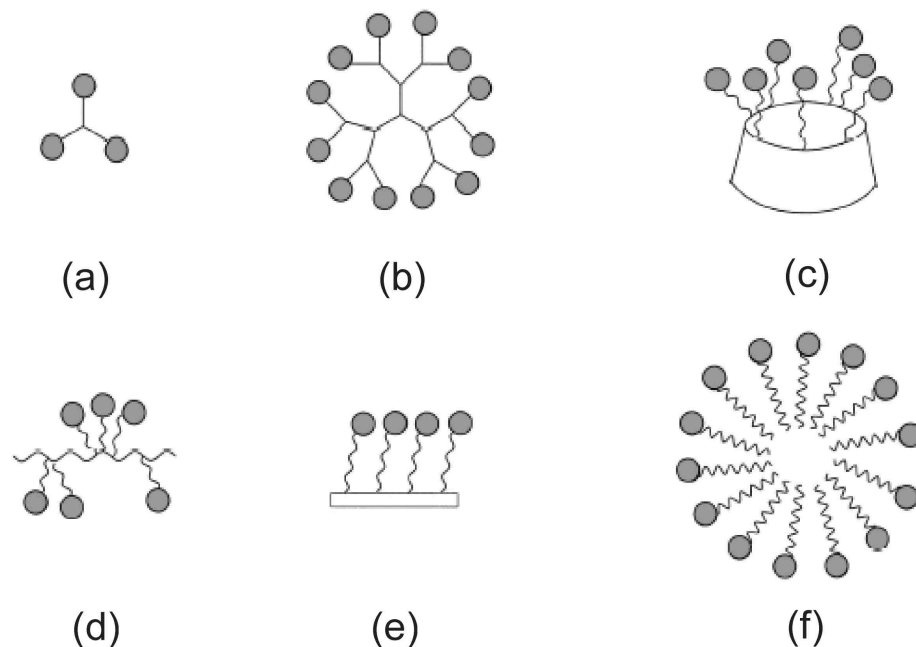


Abb. 1.9. Verschiedene Architekturen multivalenter Glykomimetika. (a) Glykocluster; (b) Glykodendrimere; (c) Glyko-Cyclodextrine oder Calixarene; (d) Neoglykopolymere; (e) Selbstorganisierende Monoschichten; (f) Glyko-Liposomen oder -Micellen. Nach Lit. [50].

2 Mannosidische *N*-Glykan- und Glykolipidmimetika

2.1 Dendrimere aus Kohlenhydratbausteinen durch Glykosylierung

2.1.1 Einleitung

Für den Aufbau multivalenter Glykomimetika sind prinzipiell verschiedene Architekturen denkbar (s. Kapitel 1). Dendrimere^[52] scheinen dafür besonders gut geeignet zu sein, da sie durch ihre generationsweise Synthese monodispers und in definierter Größe aufgebaut werden können. Sie nehmen in Bezug auf Größe und Valenz eine Zwischenstellung zwischen den Glykoclustern und den Glykopolymeren ein.

Seit der Synthese des ersten Polylysin-Glykodendrimers durch ROY et al.^[53] wurden Glykodendrimere mit Hilfe verschiedenster Methoden aufgebaut.^[48] Eine sinnvolle Einteilung der verschiedenen Arten von Glykodendrimern^[54] unterscheidet zwischen Kohlenhydrat-ummantelten Dendrimern mit einem Kern, der nicht aus Kohlenhydraten besteht, der konvergenten Clusterung dendritischer Äste an verschiedenen Core-Molekülen, Kohlenhydrat-zentrierten Dendrimern und Dendrimern, die aus Kohlenhydratbausteinen aufgebaut sind.

Die Synthese Kohlenhydrat-zentrierter Dendrimere auf Carbosilan-Basis wurde von BOYSEN et al.^[55] durchgeführt. DUBBER et al. bauten PAMAM-Dendrimere um mono- und disaccharidische Cores auf,^[56] da solche Strukturen als Transfektionsreagenzien Anwendung finden könnten^[57].

Durch Clusterung dendritischer Äste konnte von STODDART et al. ein 36 Mannosylreste präsentierendes Dendrimer als Inhibitor für das Lectin Concanavalin A aufgebaut werden.^[58] Solche Dendrons können auch an funktionale Core-Moleküle gebunden werden, so z. B. an Drug-Carrier-Moleküle wie Cyclodextrine^[59] und Calixarene^[60]. Jüngst wurden Kohlenhydrat-Dendron-modifizierte Lanthanoid-Komplexe als spezifische Substrate für bildgebende Verfahren in der Medizin dargestellt.^[61]

Die Kohlenhydrat-ummantelten Dendrimere stellen sicher die größte Gruppe, da sie synthetisch am einfachsten zugänglich sind. PAMAM-Dendrimere wurden von LINDHORST et al. durch Thioharnstoffbildung mit GlcNAc-Resten terminiert und auf ihre Inhibitoreigenschaften gegenüber Lectinen getestet.^[47,62] Auch eine Vielzahl anderer Kupplungsmethoden wurde für die Synthese solcher Dendrimere genutzt.^[54] Peptidkupplung führte bei der Ummantelung eines Polypropylen-Imin-Dendrimers mit 64 Aminogruppen zur Kupplung von durchschnittlich etwa 45 Zuckerresten.^[63] Durch Thioether-Ligation konnte die 8-fache Mannosylierung eines Oligopeptid-gebundenen Oligo-Lysin-Dendrimers erreicht werden.^[64] Aromatische Dendrimere mit bis zu 64 Endgruppen konnten durch diese Strategie praktisch ohne Defektstrukturen dargestellt werden;^[65] diese Dendrimere aggregieren ab einer bestimmten Generation in Wasser und zeigen nur dann eine Inhibitorwirkung durch Ausbildung polyvalenter Nanopartikel.

Für die Gruppe von Dendrimeren, die Kohlenhydrate als Bausteine enthalten, gibt es weniger Beispiele. LINDHORST et al. bauten Glykopeptid-Dendrimere aus AB₂-Bausteinen auf Kohlenhydratbasis auf.^[66] STODDART et al. synthetisierten ein verzweigtes glukosidisches Heptasaccharid und clusterten dieses durch Peptidkupplung an einem trivalenten Kern.^[67] Ebenso von STODDART stammt das Konzept der Glykodendrimersynthese durch reduktive Aminierung als Wachstumsschritt. Dabei wurde das reduzierende Ende eines Trisaccharids zur Kupplung verwendet und auf diese Weise ein Dendri-mer der 1.5-ten Generation erhalten.^[68] Die Ausbeute im Kupplungsschritt ist bereits bei der zweifachen reduktiven Aminierung mit 25 % recht niedrig, Vorteil der Methode ist jedoch die Verwendung nur weniger Schutzgruppen. Einen Ansatz zur Darstellung *nur* aus Kohlenhydraten bestehender Dendrimere zeigten STODDART et al. durch Synthese dendritischer, 3,6-verzweigter Oligomannoside mit bis zu neun Mannoseeinheiten.^[69] Hierbei wurde eine konvergente Blockstrategie angewandt, bei der ein verzweigter Cyanoethyliden-Donor zur direkten, Tritylperchlorat-vermittelten Glykosylierung Trityl-geschützter Akzeptoren eingesetzt wurde.

In der Diplomarbeit^[51], auf der das vorliegende Kapitel aufbaut, war ein neuer Ansatz dargelegt worden: eine divergente Dendrimersynthese, bei der als Verzweigungseinheit Glykosyldonoren Verwendung finden sollten, d. h. der Wachstumsschritt eine Glykosylierung ist, und ein Teil der Zuckerreste zur Vereinfachung der Struktur durch Alkylreste ersetzt sein sollte. Ziel dieses Syntheseansatzes war es, ein nur aus Kohlenhydrateinheiten und Alkylspacern bestehendes, dendritisches Oligosaccharidmimetikum herzustellen, welches trotzdem der Struktur der natürlichen N-Glykane (s. o.) sehr nahe käme. Unter diesen finden sich vier grundsätzliche Strukturen: der komplexe Typ, der Hybridtyp, der Xylose-enthaltende Typ und der hochmannosidische Typ (Abb. 2.1).^[9] Allen ge-

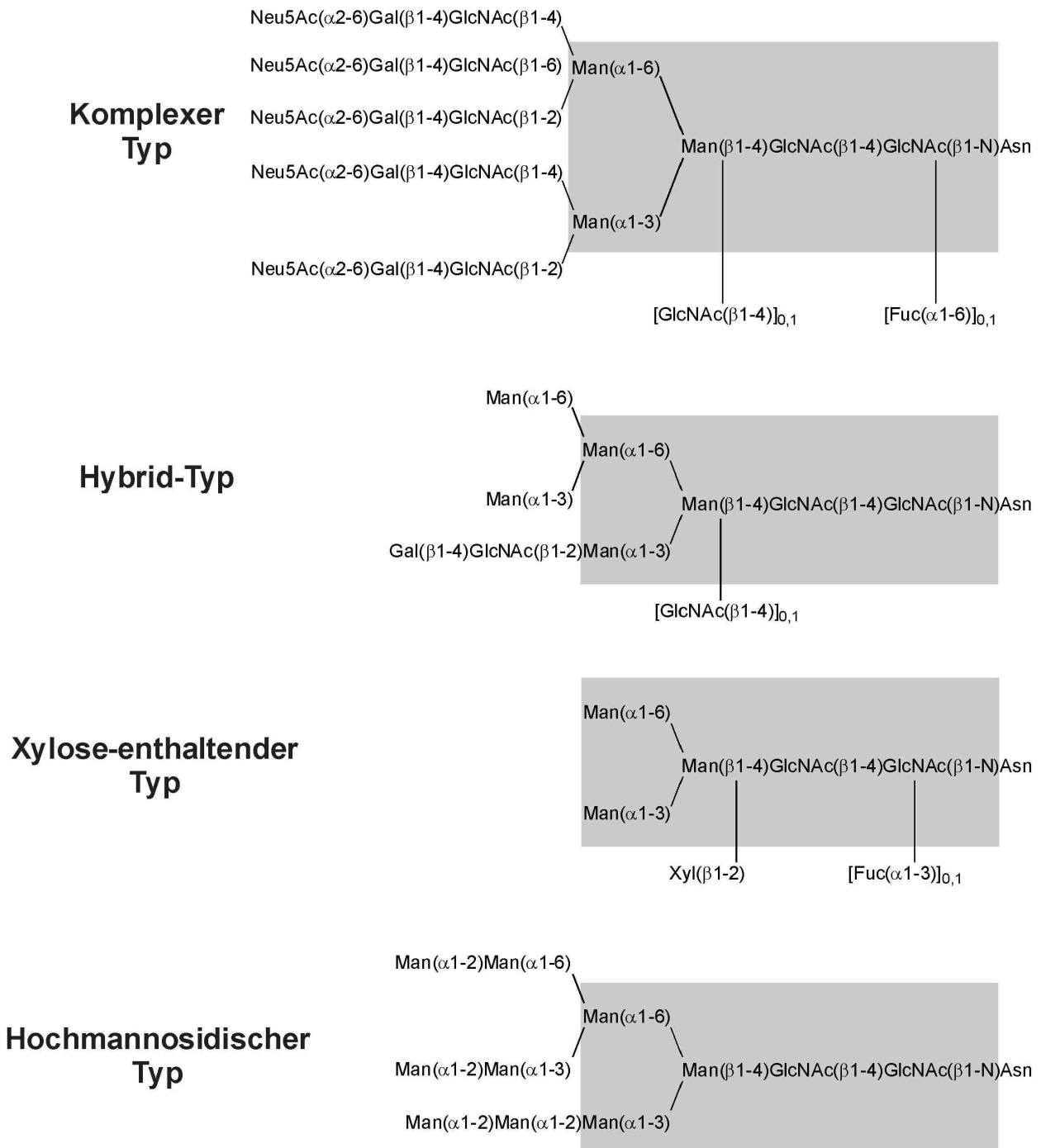


Abb. 2.1. Strukturen der verschiedenen Typen von *N*-Glykanen. Die gemeinsame Core-Region ist grau unterlegt. Nach Lit. [9].

meinsam ist die pentasaccharidische Core-Region. Dies lässt sich aus der Biosynthese der *N*-Glykane verstehen: Das Enzym Oligosaccharyltransferase überträgt das Tetradecasaccharid Glc₃Man₉GlcNAc₂ von Dolicholpyrophosphat (Abb. 2.2) auf den Stickstoff einer Asparaginseitenkette des Proteins, wenn in diesem die minimale Sequenz Asn-Xaa-Ser

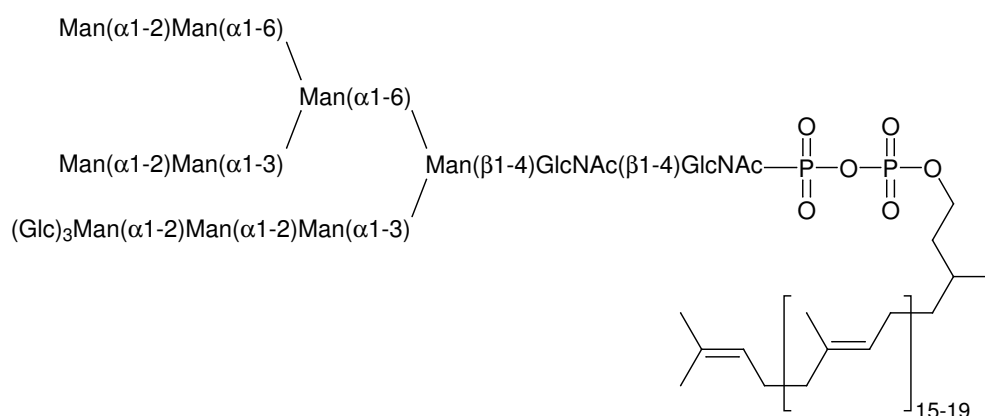


Abb. 2.2. Das Oligosaccharid, welches als Ausgangsmolekül für die Core-Region der N-Glykane dient, gebunden an das Carrier-Lipid Dolicholphosphat.

(oder Thr) vorliegt.^[70] Xaa kann jede natürliche Aminosäure außer Prolin sein. Diverse weitere enzymatische Manipulationen führen dann zur gewünschten Glykanstruktur, wobei die Core-Region erhalten bleibt. Von dieser ausgehend verzweigen sich die Strukturen dann; der strukturellen Vielfalt scheinen dabei kaum Grenzen gesetzt.

Ziel der in der Diplomarbeit begonnenen Synthese war die Darstellung eines Dendrimer-Analogons zu den N-Glykanen des hochmannosidischen Typs. Allein in dieser Klasse der N-Glykane ist die Anzahl existierender Strukturen bemerkenswert hoch. Eine Datenbankrecherche in der KEGG Glycan Ligand Database^[71] ergibt für eine Suche nach nicht-polymeren Strukturen, die neben dem Core-Pentasaccharid ausschließlich Mannoseeinheiten tragen und nicht weiter modifiziert sind (durch z. B. Phosphorylierung, Methylierung etc.), 23 Treffer.

Für den Aufbau des synthetischen Dendrimers wurden diese Strukturen als Vorbilder genommen und vereinfacht: Die Verzweigungen sollten durch an 3- und 6-Position mit Allylresten substituierte Mannosylreste erfolgen. Die Allylgruppen können im Aktivierungsschritt durch Hydroborierung/Oxidation mit 9-BBN in Hydroxypropylreste überführt werden. Diese sind dabei als Platzhalter für Monosaccharideinheiten gedacht, ein Konzept, das zuerst von LEHMANN^[72] eingeführt wurde (Abb. 2.3). Die Hydroxygruppen können dann wieder glykosyliert werden, was zum Wachstum des Dendrimers führt. Ferner sollte das Dendrimer auch mit nicht weiter substituierten Mannoseresten glykosyliert werden, um bioaktive Moleküle zu erhalten. Sie sollten dann als multivalente Liganden für Mannose-spezifische Lectine wie das FimH^[73] dienen und ihre inhibitorische Potenz in einem ELISA ermittelt werden.

In der Diplomarbeit^[51] konnten zwei unterschiedlich geschützte Initiatorkerne **3** und **4** und zwei Verzweigungseinheiten in Form von Mannosyldonoren dargestellt werden, das Thiomannosid **5** und das anomere Sulfoxid **6** (Abb. 2.4). Ihre Verknüpfung zur ersten

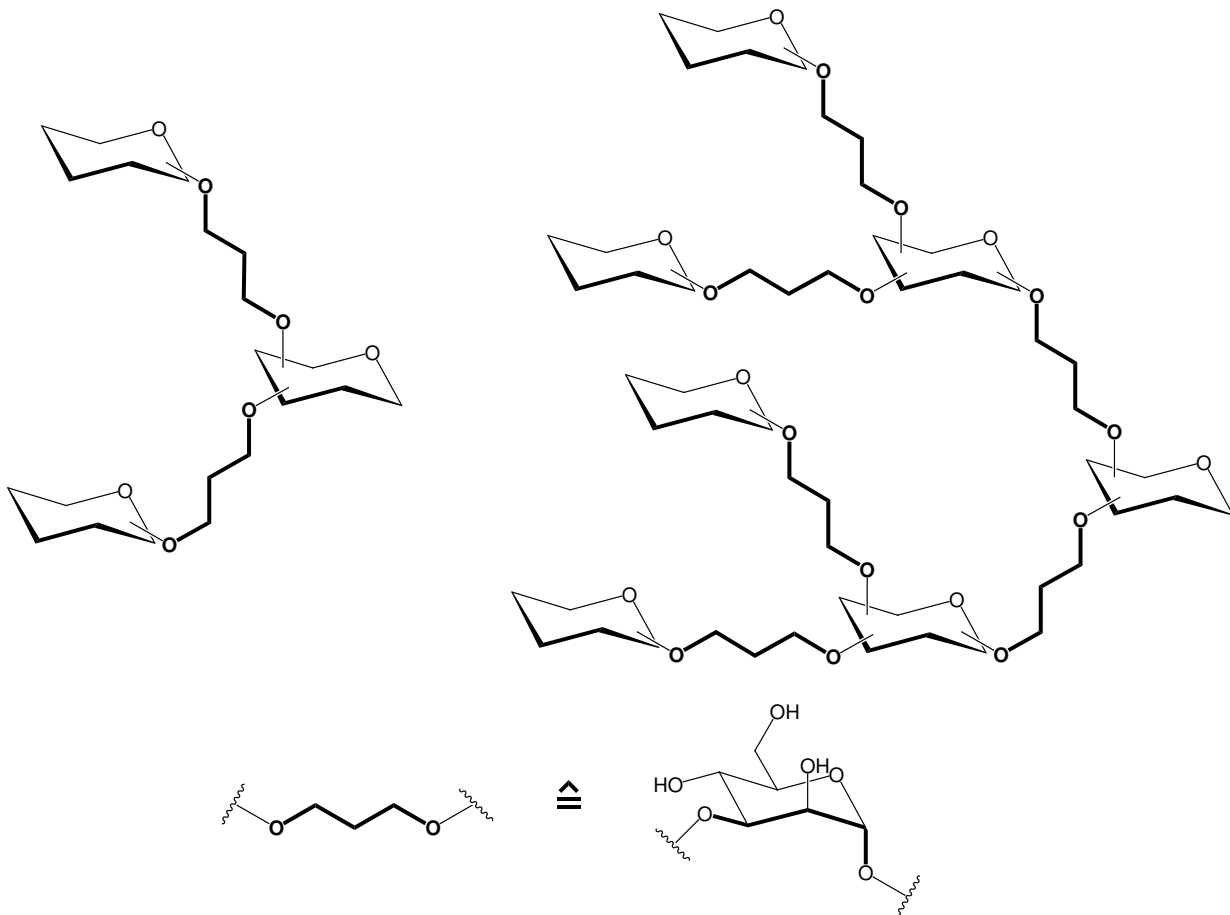


Abb. 2.3. Schematische Darstellung des Aufbaus des angestrebten Glykodendrimers mit den Propylspacern als Platzhalter und die strukturelle Parallele zu natürlichen Strukturen.

Halbgeneration war jedoch noch nicht erfolgreich durchgeführt worden.

2.1.2 Durchgeführte Synthesen

An dieser Stelle wurde mit weiteren Arbeiten begonnen. Zunächst wurde der Initiator-kern **4** mit perbenzoyliertem Trichloracetimidat **7** glykosyliert (Abb. 2.5), um auf diese Weise den divalenten Liganden **8** für Bindungsstudien mit dem Lectin FimH zu erhalten.

Früheren Untersuchungen folgend^[74] wurde bei allen multiplen Glykosylierungen ein relativ großer Überschuss (5 eq.) und eine hohe Konzentration (etwa 1 g/ml) an Glykosyldonor verwendet. Glykosylierungen wurden immer bei Raumtemperatur in Dichlormethan durchgeführt und als Katalysator TMSOTf verwendet, wobei kein Unterschied beobachtet wurde, ob dieser pur (2–3 Tropfen) oder als 5%ige Lösung in Dichlormethan zugegeben wurde. Die Glykosylierung verlief in exzellenter Ausbeute. Die Reinigung des Produkts erfolgte zunächst an Kieselgel, wobei bei allen derartigen Verbindungen Lauf-

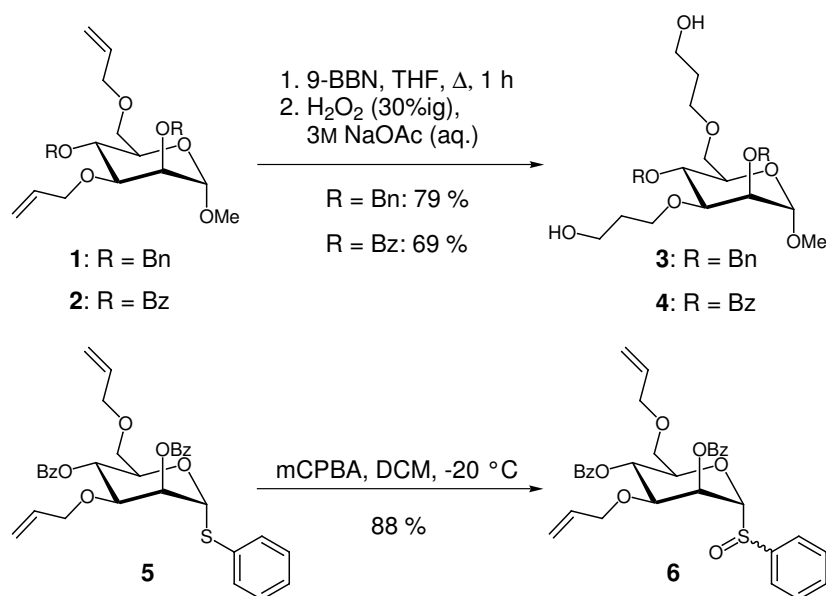


Abb. 2.4. In der Diplomarbeit dargestellte Initiatorkerne **3** und **4** und Verzweigungseinheiten **5** und **6**.

mittelgemischen aus Toluol und Essigester der Vorzug vor solchen aus Cyclohexan und Essigester gegeben wurde, die wesentlich schlechtere Trennungen ergaben. Anschließend wurden alle Pseudo-Oligosaccharide nochmals durch Gelpermeationschromatographie an Sephadex LH-20 in einem Gemisch von Dichlormethan und Methanol (1 : 1) gereinigt. Dieses Reinigungsverfahren bietet sich aufgrund der bereits beträchtlichen Molekülmassen der geschützten Pseudo-Trisaccharide von fast 1700 Da an.

Die Entschützung von **8** erfolgte durch Zemplén-Reaktion^[75] (Abb. 2.5). Anschließend Entfernung des Nebenprodukts Benzoesäure-methylester konnte durch erneute Gelpermeationschromatographie erreicht werden. In allen Fällen wurde bei den entschützten Substanzen als Laufmittel Methanol verwendet. Die entschützten Pseudo-Trisaccharide befinden sich dabei zwar mit einer Masse von etwa 700 Da am unteren Limit des trennbaren Bereiches, aufgrund der sehr kleinen Masse des Benzoesäure-methylesters ist die Trennung per GPC aber trotzdem problemlos möglich. Das entschützte Spacer-verbrückte Trisaccharid **9** konnte in 86 % Ausbeute rein erhalten werden und stand für biologische Tests zur Verfügung.

Um die erste Halbgeneration **10** des Dendrimers zu synthetisieren, musste der Initiator kern mit einer Verzweigungseinheit glykosyliert werden. In der Diplomarbeit waren bereits einige Vorversuche dazu gemacht worden, u. a. die Glykosylierung mit dem anomerem Sulfoxid **6**, die aber nicht erfolgreich gewesen war. Auch erneute Versuche mit dieser Methode^[76] brachten nicht das gewünschte Ergebnis. Der Donor zersetzte sich zwar während der Reaktion, es entstand aber nicht das angestrebte Produkt.

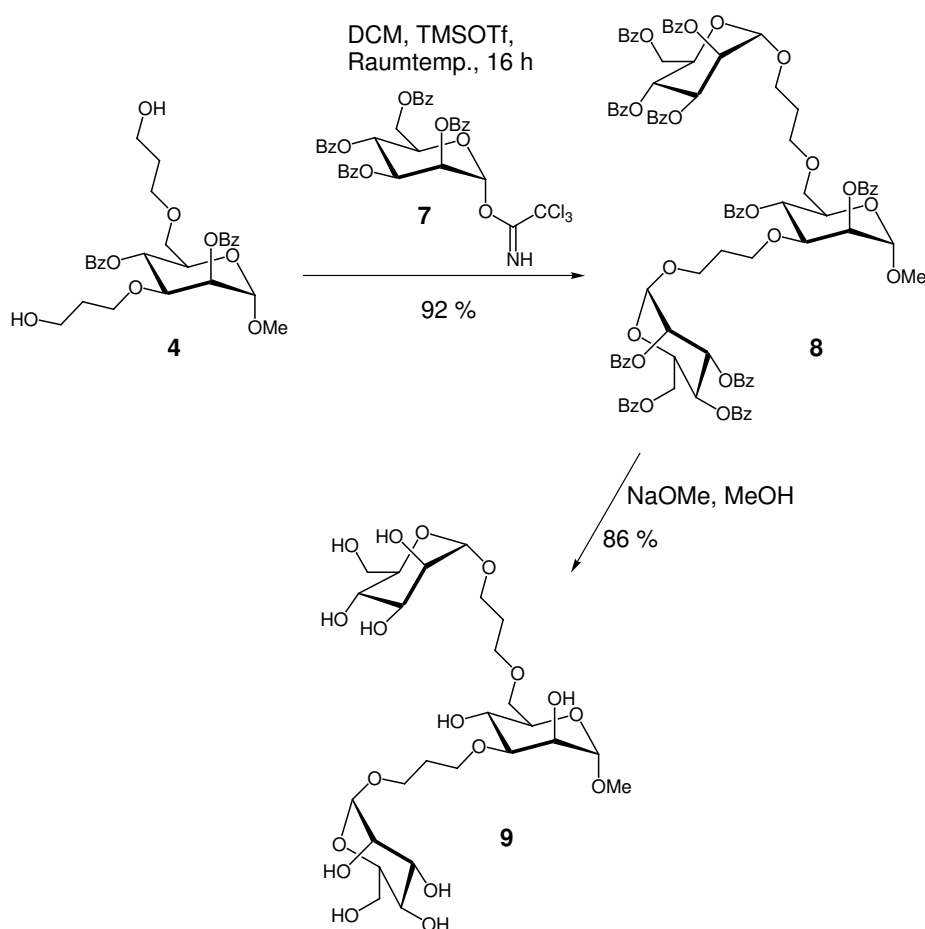


Abb. 2.5. Glykosylierung des Initiator-kerns **4** mit dem Trichloroacetimidat **7** und anschließende Entschützung zu **9**.

Da mit der Vorstufe des Sulfoxids, dem Thioglykosid **5**, schon ein weit verbreiteter Glykosyldonor synthetisiert worden war, wurden mit diesem weitere Glykosylierungsversuche unternommen. Für die Aktivierung dieser Donoren steht eine große Auswahl an Reagenzien zur Verfügung.^[77] Man ist also in der Lage, beim Versagen eines Promotors auf andere zurückzugreifen. Nachdem die Reaktion mit DMTST bereits in der Diplomarbeit nicht erfolgreich gewesen war, wurden noch einige andere der meistbenutzten Promotoren ausprobiert. In Tabelle 2.1 sind die Ergebnisse der Glykosylierungsversuche mit dem Donor **5** aufgeführt. Leider führte keiner der Promotoren zum gewünschten Produkt.

Die Interpretation dieser Ergebnisse ist schwierig. Der Akzeptor sollte aufgrund des großen Abstandes der primären Hydroxygruppen zum Zuckerring sehr reaktiv sein (was ein Ausgangspunkt des Designs der Zielstruktur war). Sulfoxide sind häufig benutzte Donoren, denen sogar das Potential für eine „Verallgemeinerung der Glykosylierungsbedingungen“^[76], gerade im Hinblick auf die Festphasenoligosaccha-

Promotor	Lösungsmittel	Ergebnis
MeSBr/AgOTf	CH ₂ Cl ₂	Zersetzung des Donors
NBS [78]	CH ₂ Cl ₂	keine Reaktion
TBPA [79,80]	H ₃ CCN	keine Reaktion
NIS/TfOH	CH ₂ Cl ₂	Zersetzung des Donors
MeOTf	CH ₂ Cl ₂	keine Reaktion
DMTST [81]	CH ₂ Cl ₂	Zersetzung des Donors

Tab. 2.1. Getestete Promotoren und Ergebnisse der Glykosylierungsversuche von **4** mit dem Glykosyldonor **5**.

ridsynthese, zugesprochen wurde. Auch mit Thioglykosiden wurden und werden weiterhin gute Erfahrungen gemacht. Eine Möglichkeit wäre, dass sich die Kombination aus dem vorliegenden Schutzgruppenmuster und der Verwendung der Thiophenylgruppe als negativ erweist. Wieder einmal zeigt sich jedoch, dass sich Glykosidsynthese in jedem Einzelfall als problematisch herausstellen kann.

Aufgrund der guten Erfahrungen mit Trichloracetimidaten^[82] in der Glykoclustersynthese^[83] wurde nun versucht, das vorliegende Syntheseproblem durch Verwendung eines solchen zu lösen. Der Nachteil an Trichloracetimidaten ist, dass die Abgangsgruppe, anders als im Falle der Thioglykoside, nicht gleich zu Beginn der Synthese eingeführt werden kann, da sie die Reaktionsbedingungen der nachfolgenden Schritte nicht übersteht. Daraus folgt, dass das anomere Zentrum zunächst temporär geschützt werden muss. Nach Abspaltung der Schutzgruppe kann dann im letzten Syntheseschritt das Trichloracetimidat dargestellt werden. Hier wurde eine *p*-Methoxyphenylschutzgruppe gewählt, die oxidativ gespalten werden kann und damit orthogonal zu Benzoyl- und Allylgruppen ist.

Die Synthese des verzweigenden Trichloracetimidates **11** wurde analog zu der Synthese von 3,6-*O*-Benzyl-2,4-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranosyltrichloracetimidat nach OGAWA et al.^[84] durchgeführt (Abb. 2.6). *p*-Methoxyphenyl- α -D-mannopyranosid **15**, welches in drei Stufen aus Mannose **12** herstellbar ist, wurde selektiv an den Positionen 3 und 6 mit Bis-(tributylzinn)-oxid allyliert, und man erhielt Verbindung **16** in 51 % Ausbeute. Die Reinigung des Produktes wird etwas erleichtert durch Fällung der Nebenprodukte, die aus dem Bis-(tributylzinn)-oxid entstehen, mithilfe von Kaliumfluorid. Man erhält dabei unlösliche, polymere Organozinnfluoride, die abfiltriert werden können. Trotzdem erweist sich die Reinigung der Produkte solcher Zinn-vermittelter Reaktionen gerade beim Upscaling als aufwändig und schwierig. Nach der Benzoylierung der verbleibenden Hydroxygruppen unter Standardbedingungen zu **17** wurde das anomere Zentrum durch oxidative Abspaltung der *p*-Methoxyphenylgruppe freigesetzt. Eine Reindarstellung des Produktes **18** war in diesem Fall leider nicht möglich, da die Verbindung mit einer großen

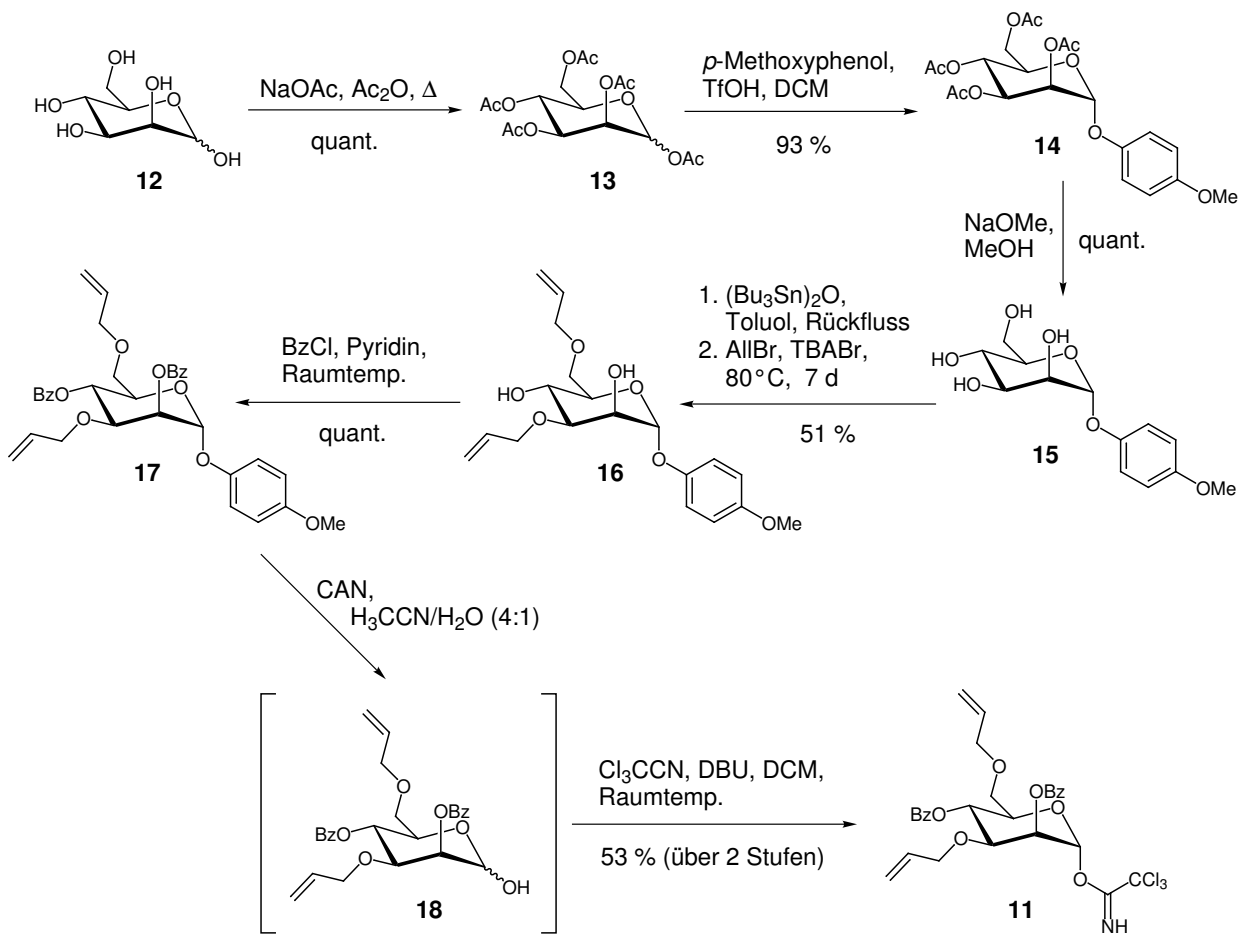


Abb. 2.6. Darstellung des diallylierten Trichloracetimidats **11** durch regioselektive Allylierung unter Benutzung der p -Methoxyphenylschutzgruppe für das anomere Zentrum.

Menge stark gefärbter Nebenprodukte der Entschützungsreaktion von der Säule eluiert wurde. Andere Zuckerspezies konnten jedoch abgetrennt werden und die Identität des Produktes wurde durch Massenspektrometrie belegt. Synthetisch ist dies jedoch nicht von Nachteil, da das erhaltene Produkt direkt mit DBU und Trichloracetnitril in das entsprechende Trichloracetimidat umgewandelt werden konnte, welches leicht säulenchromatographisch zu reinigen war. Über zwei Stufen wurde dabei eine Ausbeute von 53% erreicht. Auf diese Weise wurden Multigrammmengen des verzweigenden Donors **11** zugänglich gemacht.

Mit diesem Donor konnte die Glykosylierung des Initiator-kerns **4** erfolgreich und in sehr guter Ausbeute unter den oben beschriebenen Bedingungen durchgeführt und die erste Halbgeneration des Dendrimers (Verbindung **10**) erhalten werden (Abb. 2.7).

Die Hydroborierung der Doppelbindungen, die in vielen Fällen erfolgreich für die Glykoclustersynthese eingesetzt wurde, erwies sich als problematisch. Ein Hauptproblem ist die Verfolgung des Reaktionsfortschrittes bei der Hydroborierung, die nur

schlecht dünn-schichtchromatographisch oder massenspektrometrisch gelingt. Folglich war es schwierig zu erkennen, ob bei einer multifunktionellen Verbindung alle reaktiven Stellen zur Reaktion gebracht wurden. So ergaben die ersten Versuche trotz Einhalten von absoluten Bedingungen keine befriedigenden Ergebnisse. Schließlich wurde das Tetraol **19** aber unter Verwendung von 2 eq. 9-BBN pro Allylgruppe nach Reinigung an Kieselgel und Sephadex LH-20 in einer allerdings mäßigen Ausbeute von 40 % erhalten (Abb. 2.8).

Mit dieser Verbindung lag die erste Generation des Dendrimers vor. Diese wurde nun mit **7** glykosyliert, wobei die Frage war, mit welcher Ausbeute die Vierfachglykosylierung durchzuführen sein würde (Abb. 2.8). Wiederum wurde unter Standardbedingungen glykosyliert und das spacerverbrückte Heptasaccharid **20** in einer Ausbeute von 54 % erhalten. Entschützung unter Zemplén-Bedingungen ergab die ungeschützte Verbindung **21** in 88 % Ausbeute, die nun für die biologische Testung zur Verfügung stand.

Schaut man sich die Ausbeuten der beiden Reaktionsschritte der Dendrimersynthese an, so muss man erkennen, dass diese Reaktionssequenz zur Darstellung höherer Generationen eines solchen Dendrimers kaum sinnvoll ist. Die Ausbeuten dürften bei höheren Generationen nochmals kleiner werden, während sich zusätzlich das Problem der Abtrennung von strukturdefekten Verbindungen, welches hier noch keine Rolle spielte, stellen könnte. Deshalb wurde auf eine weitere Vergrößerung der Struktur an dieser Stelle verzichtet. Die prinzipielle Möglichkeit des repetitiven Aufbaus der Zielstrukturen konnte allerdings gezeigt werden.

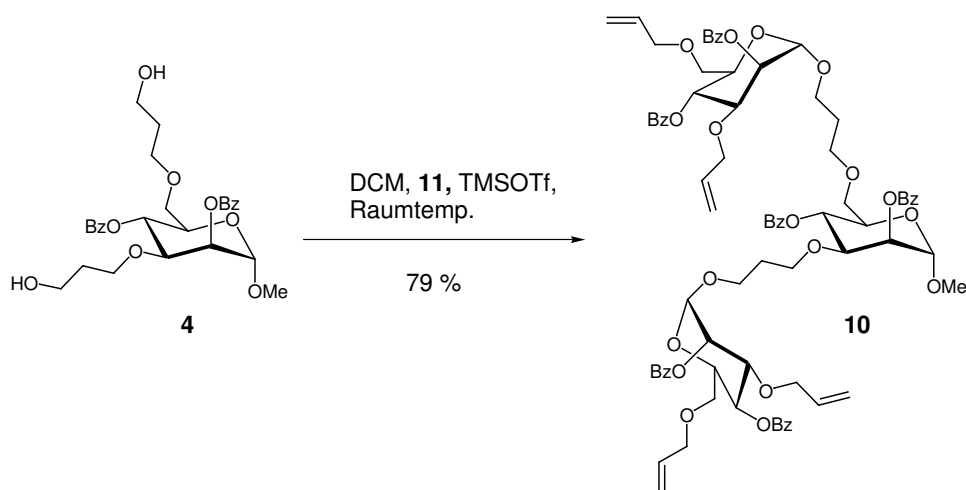


Abb. 2.7. Darstellung der ersten Halbgeneration **10** eines glykosidisch verknüpften Glykodendrimers.

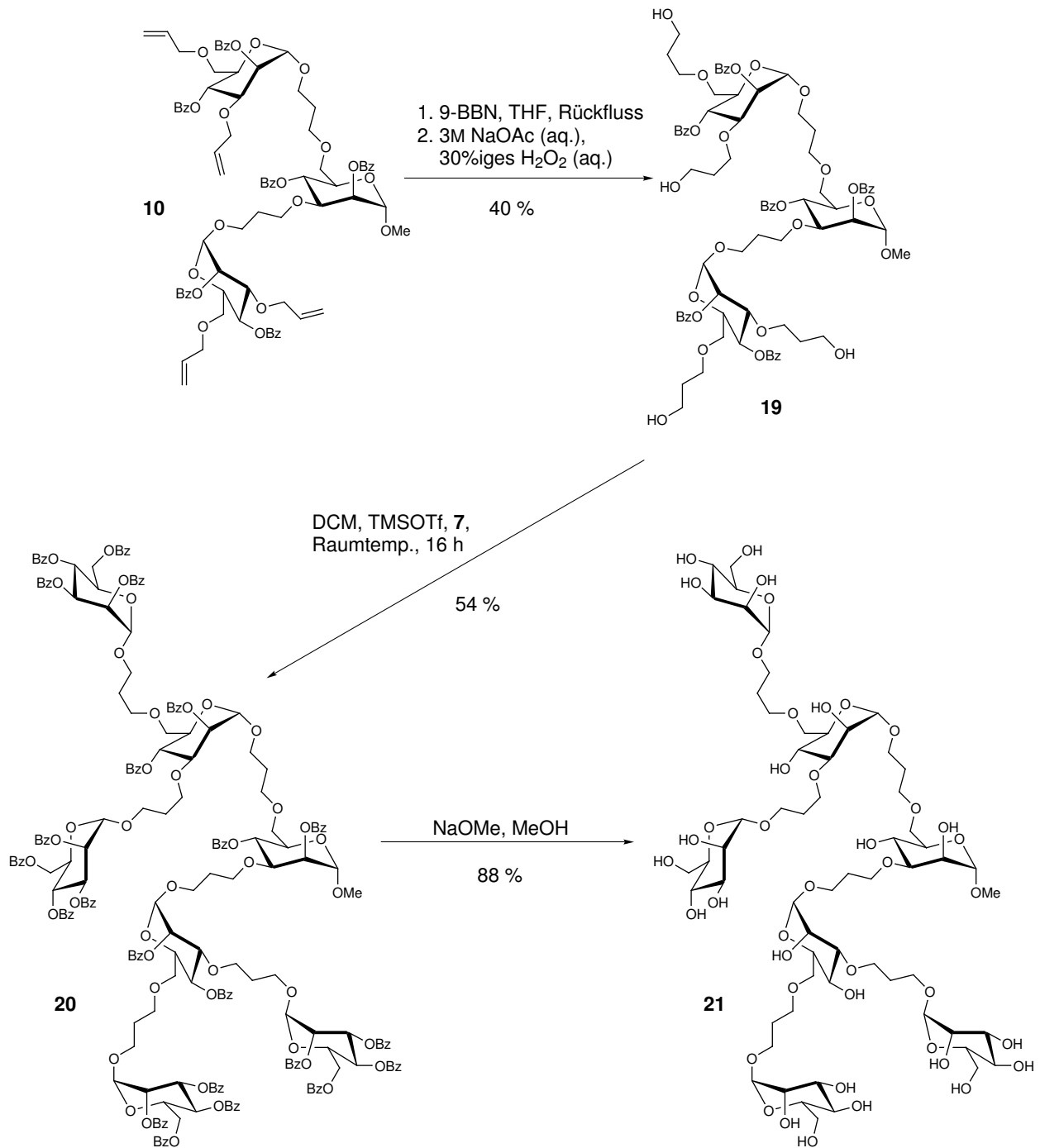


Abb. 2.8. Darstellung des entschützten Pseudo-Heptasaccharids **21**.

2.1.3 Weitere Funktionalisierungsmöglichkeiten mit verzweigenden Mannosid-Dienen

Die hier verwendete Hydroborierung/Oxidations-Sequenz, die als Aktivierungsschritt für den dendritischen Aufbau von **21** erfolgreich verwendet wurde, birgt auch einige Nachteile: Wie oben beschrieben, ist es schlecht möglich, den Reaktionsverlauf zu kontrollieren, und dabei entstehen größere Mengen des Nebenproduktes 1,5-Cyclohexandiol, die abgetrennt werden müssen. Außerdem verläuft die Reaktion teilweise im wässrigen basischen Milieu, was zur Abspaltung der Esterschutzgruppen führen könnte und eine vollständige Extraktion der schon recht polaren Substanzen aus der wässrigen Phase notwendig macht; darüber hinaus konnte die erzielte Ausbeute nicht befriedigen. Die literaturbekannt guten Erfahrungen mit der Ozonolyse in der Glykodendrimersynthese^[85] gaben Anlass, diese Reaktion auf das vorliegende System anzuwenden (Abb. 2.9).

Ozonolyse

Zur Ozonolyse wurde die ungesättigte Verbindung **10** in einer 1 : 1-Mischung aus Methanol und Dichlormethan ozonisiert und anschließend mit Natriumborhydrid reduziert. Eine Untersuchung der Reaktionsmischung mittels MALDI-TOF-MS zeigte jedoch neben der Masse der Zielverbindung **22** die Entstehung eines komplexen Substanzgemischs. Dies rührte vor allem daher, dass offensichtlich eine Teilentschützung des Produktes durch die basischen Bedingungen des Reduktionsschrittes stattgefunden haben musste. Obwohl die Ozonolyse mit anschließender Reduktion für ester- und allylgeschützte Zucker in der Literatur beschrieben worden ist,^[86] konnte hier kein zufrieden stellendes Ergebnis erzielt werden. Um das Problem zu umgehen, wurde versucht, die Ozonolyse ohne Zusatz von Methanol durchzuführen, da entstehendes Methanolat hier wohl für die teilweise Entschützung verantwortlich war (Abb. 2.9). Die Ozonisierung ist auch in reinem Dichlormethan durchführbar; dann kann jedoch kein Natriumborhydrid zur Reduktion verwendet werden, denn dieses ist nicht in unpolaren Lösungsmitteln löslich. Zur Reduktion in solchen Medien geeignet ist der Borwasserstoff-Dimethylsulfid-Komplex.^[87,88] Nach erneuter Ozonisierung von Verbindung **10** wurde der Ansatz mit einer 2M Lösung dieses Komplexes in THF versetzt. Trotz Verwendung eines Überschusses des Reduktionsmittels konnte kein einheitliches Produkt erhalten werden. Genauere Schlüsse über das Reaktionsergebnis lassen sich aus dem MALDI-TOF-MS-Spektrum nicht ziehen, da die einzelnen Spezies sehr ähnliche Massen haben, die Verbindung an vier Stellen reagieren kann und jede Spezies je ein Signal mit einem Natrium- und einem Kaliumion liefert; die Spektren sind daher nicht auswertbar. Die Ozonolyse scheint nach

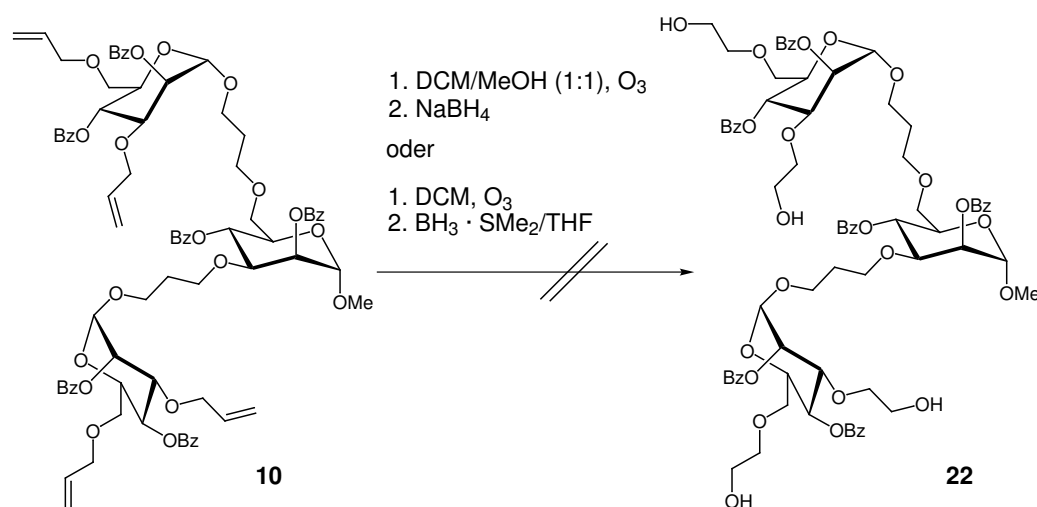


Abb. 2.9. Versuchte Ozonolyse von **10**.

diesen Ergebnissen also nicht geeignet zur Weiterfunktionalisierung der hier beschriebenen Strukturen.

Addition von Mercaptoethanol

Eine andere in Frage kommende Reaktion, mit der man im ursprünglichen Sinne der Syntheseplanung aus den Doppelbindungen in **10** glykosylierbare Hydroxygruppen erzeugen könnte, ist die radikalische Addition von Mercaptoethanol. Radikalreaktionen finden gerade in der Kohlenhydratchemie häufig Anwendung, da sie unter sehr milden Bedingungen und im neutralen pH-Bereich verlaufen und eine hohe Kompatibilität zu vielen funktionellen Gruppen besitzen.^[89] Erfolgreiche Anwendung findet die Addition von Cysteamin-Hydrochlorid mittels UV-Licht, die mit ungeschützten Zuckern in wässrigem Medium durchgeführt werden kann. Die Addition verschiedener Thiole an Allylreste geschützter Zucker in organischen Medien wurde von VLIEGENTHART et al.^[90] untersucht und später von FRASER-REID et al.^[87] wieder aufgegriffen. Optimale Bedingungen für die Reaktion scheinen Dioxan als Lösungsmittel, 75 °C und AIBN als Radikalstarter zu sein. Diese Reaktion böte sich für eine Dendrimersynthese aus mehreren Gründen an: Mercaptoethanol kann in großem Überschuss eingesetzt und anschließend wieder entfernt werden, da es flüchtig ist; die Reaktion sollte in hohen Ausbeuten verlaufen; es ist keine Aufarbeitung nötig. Daher wurde sie für die Dendrimersynthese evaluiert.

Dazu wurde das in der Diplomarbeit hergestellte diallylische Mannosid **2** unter den oben beschriebenen Bedingungen mit Mercaptoethanol umgesetzt (Abb. 2.10). Nach zwei Stunden konnte die Reaktion abgebrochen und das Produkt **23** in 90%iger Ausbeute isoliert werden. Nach diesem ermutigenden Ergebnis wurde dieselbe Reaktion auch mit

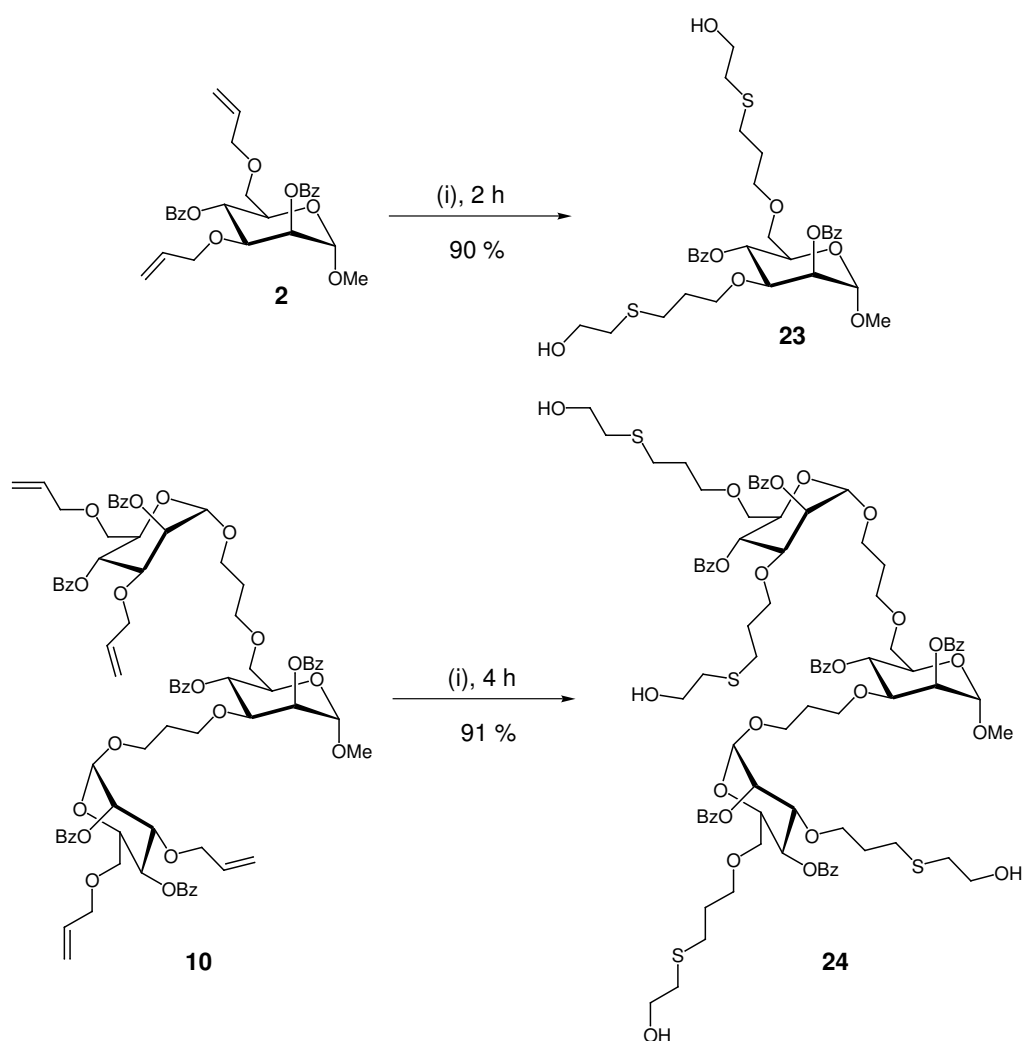


Abb. 2.10. Umsetzung der ungesättigten Verbindungen **2** und **10** mit Mercaptoethanol. (i) HSCH₂CH₂OH, AIBN, Dioxan, 75 °C.

dem vierfach ungesättigten Molekül **10** durchgeführt. Auch hier wurde eine ausgezeichnete Ausbeute erzielt, wobei auf die Reinigung an Kieselgel verzichtet werden konnte und nur eine GPC-Säule notwendig wurde. Die Reaktion liefert also auch hier sehr gute Ausbeuten bei einfacher Reaktionsführung und scheint daher sehr gut für den Aufbau eines Zucker-Dendrimers geeignet.

Offensichtlich entfernt man sich durch die Verwendung dieses Aktivierungsverfahrens allerdings weiter von den natürlichen Oligosaccharidstrukturen. Während die Propylspacer noch als Platzhalter für Monosaccharideinheiten angesehen werden können, kann dies von den hier vorliegenden 4-Thiahexylspacern nicht mehr erwartet werden, da sie erstens länger sind und zweitens dem Gesamtmolekül deutlich lipophilere Eigenschaften verleihen. Hingegen muss beides nicht unerwünscht sein – abhängig von der

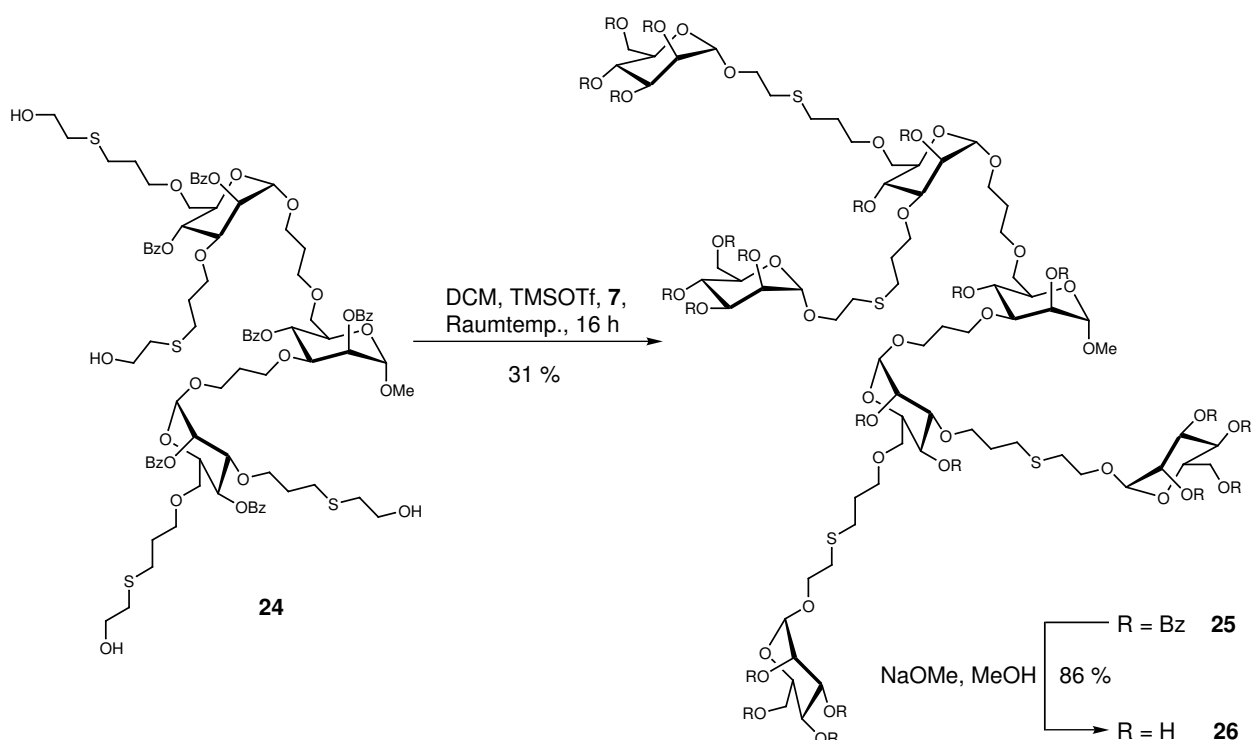


Abb. 2.11. Glykosylierung des Akzeptors **24** mit **7** und anschließende Entschützung zu **26**.

angestrebten Funktion des Dendrimers könnten diese Veränderungen auch Vorteile mit sich bringen. Im vorliegenden Fall sollten die Dendrimere u. a. auf ihr Potential als mögliche Inhibitoren des bakteriellen Lectins FimH^[73] getestet werden. Bei solchen Bindungsprozessen spielen auch noch andere Faktoren als nur die Bindung des Kohlenhydrates in der Bindungstasche oder die Valenz des Inhibitors eine Rolle. So sind lipophile Wechselwirkungen außerhalb der Bindungstasche ebenso an der Bindung beteiligt. Es wäre also durchaus interessant, die hier untersuchten Substanzen neben ihrer Valenz auch bezüglich ihrer Lipophilie zu verändern. Dementsprechend wurde das Tetraol **24** unter den üblichen Bedingungen mit **7** glykosyliert (Abb. 2.11). Das Pseudo-Heptasaccharid **25** konnte in 31%iger Ausbeute erhalten werden, was ein schlechteres Ergebnis als bei der Glykosylierung von **19** darstellt. Dies deutet darauf hin, dass nicht sterische Hinderung für die mäßigen Ausbeuten verantwortlich ist, da dies durch die deutlich längeren Thiohexylspacer hier ausgeschlossen sein dürfte. Das vollentschützte Dendrimer **26** konnte dann nach Zemplén-Reaktion in 86 % Ausbeute erhalten werden (Abb. 2.11). Hierbei war der Zusatz von etwas TBME als Lösungsvermittler notwendig, da sich die Substanz in Methanol nicht gut genug löst.

Um das dendritische Bauprinzip mittels der radikalischen Addition von Mercaptoethanol nochmals von Beginn an zu demonstrieren, wurde die Dendrimersynthese

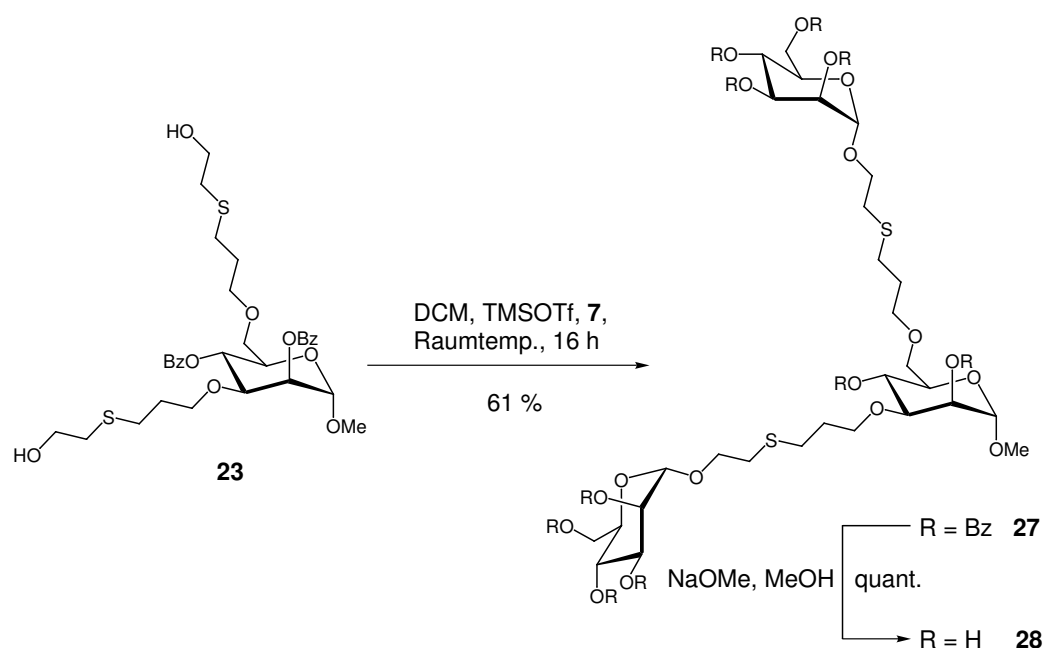


Abb. 2.12. Glykosylierung des Akzeptors **23** mit **7** und anschließende Entschützung zu **28**.

auch ausgehend von Initiator-kern **23** durchgeführt. Glykosylierung dieses Diols mit **7** ergab zunächst die pseudo-trisaccharidische Verbindung **27** in einer etwas schlechteren Ausbeute von 61 %, die quantitativ in das entschützte Trisaccharid **28** überführt werden konnte (Abb. 2.12). Anschließend Glykosylierung von **23** mit der Verzweigungseinheit **11** ergab die erste Halbgeneration dieses Dendrimers **29** in 65 % Ausbeute. Die folgende Reaktion mit Mercaptoethanol führte in exzellenten 94 % Ausbeute zum Tetraol **30** (Abb. 2.13). An dieser Stelle war neben der Filtration über Kieselgel noch eine GPC-Säule zur Abtrennung des im NMR-Spektrum erkenntlichen und nichtflüchtigen 1,6-(3,4-Dithia)-hexandiols, welches durch Disulfidbildung aus Mercaptoethanol entsteht, vonnöten. Glykosylierung dieses tetravalenten Akzeptors mit **7** erbrachte das vollständig Thiahexylspacer-verbrückte Heptasaccharid **31** in vergleichbarer, mäßiger Ausbeute, welches durch Zemplén-Entschützung in die vollständig entschützte Verbindung **32** umgewandelt werden konnte (Abb. 2.14).

Eine interessante Funktionalisierungsmöglichkeit des Dendrimers **32** ist die Oxidation der Sulfidgruppen. Diese lassen sich selektiv entweder zu Sulfoxiden oder zu Sulfonen umwandeln. Man kann erwarten, dass eine solche Oxidation deutliche Auswirkungen einerseits auf die dreidimensionale Struktur und andererseits auf die Lipophilie eines solchen Dendrimers haben sollte. Um dies auszuprobieren, wurde **32** mit einem Überschuss an MMPP zum Sulfon oxidiert, was in guter Ausbeute gelang (Abb. 2.15). Die vollständige Oxidation machte sich im NMR-Spektrum durch einen deutlichen Tieffeldshift

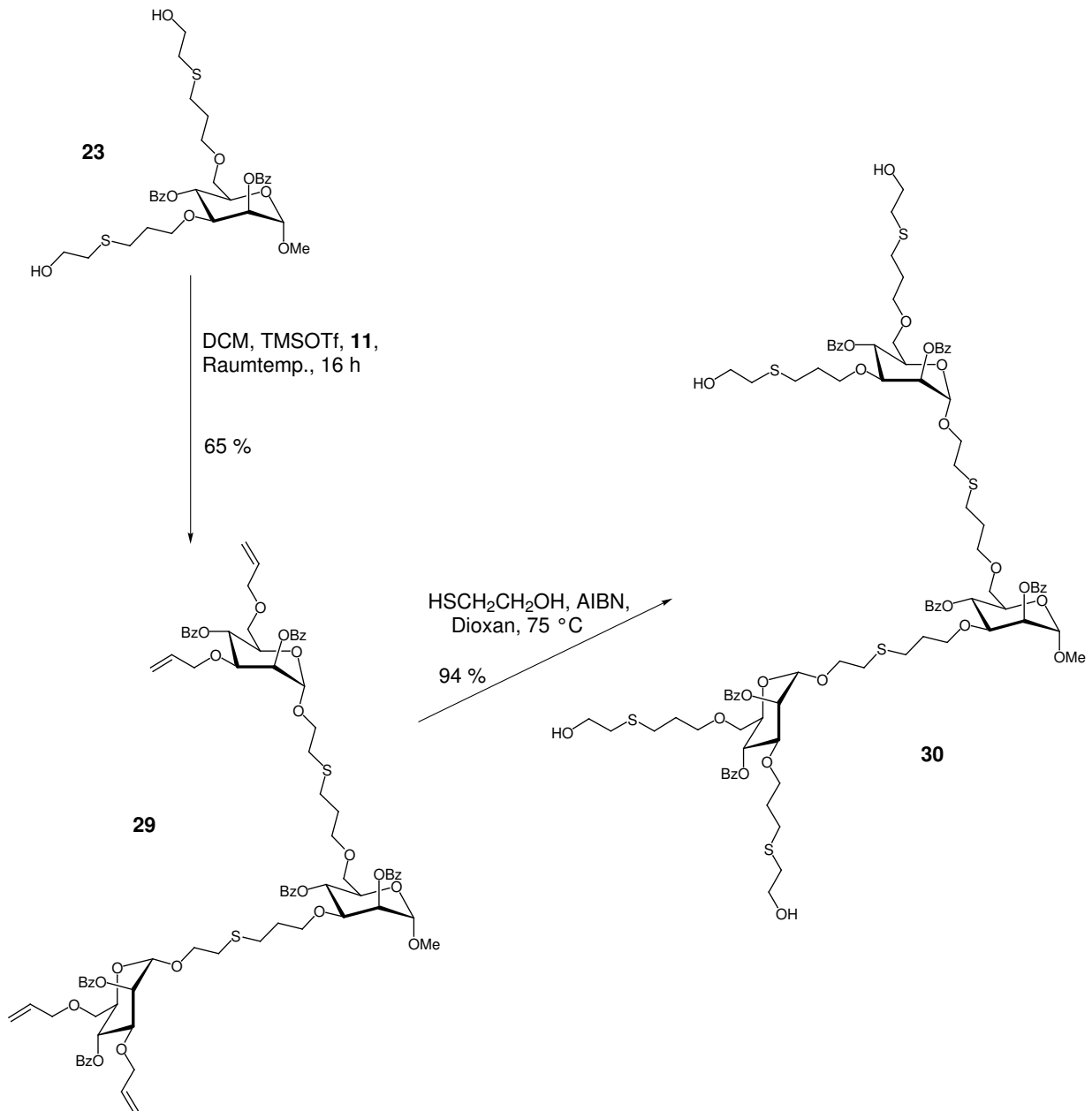


Abb. 2.13. Glykosylierung des Akzeptors **23** mit der Verzweigungseinheit **11** und anschließende Addition von Mercaptoethanol zu **30**.

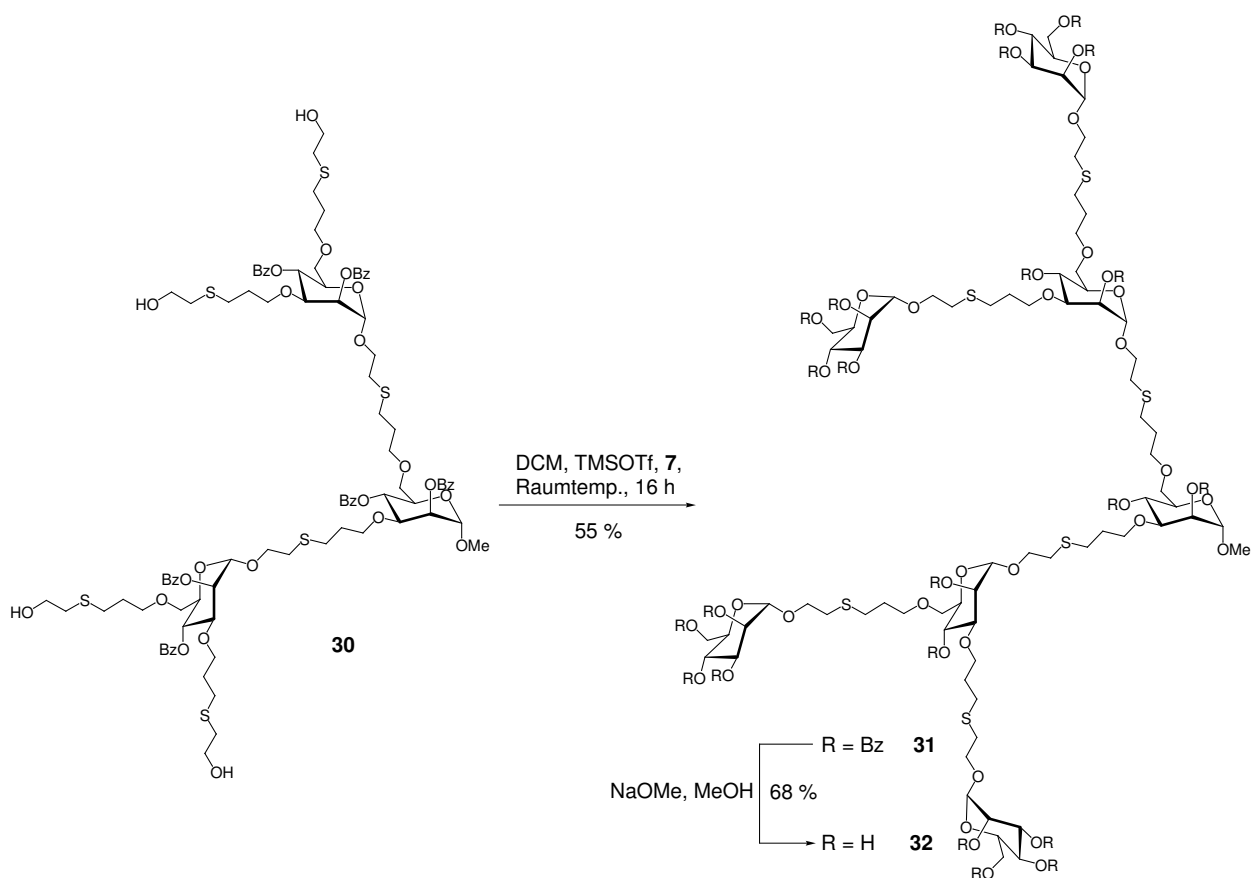


Abb. 2.14. Glykosylierung des Tetraols **30** mit **7** zum Pseudo-Heptasaccharid **31**. Anschließende Entschützung führte zu **32**.

der zum Schwefel benachbarten Protonen bemerkbar. Das entstandene Dendrimere **33** zeigte erwartungsgemäß eine deutlich bessere Wasserlöslichkeit als **32**. Aufgrund seiner schlechten Löslichkeit in Methanol musste Wasser als Laufmittel bei der säulenchromatographischen Reinigung dienen. Durch die Oxidation können also die Eigenschaften eines solchen Dendrimers auf einfache Weise sehr stark verändert werden.

2.1.4 Biologische Tests

Viele Bakterien tragen auf der Zelloberfläche lange Proteinanhängsel, die als „Fimbrien“ oder „Pili“ bezeichnet werden.^[91] Mit diesen sind sie in der Lage, spezifisch an bestimmte Gewebsoberflächen zu adhären. Sie lassen sich nach ihrer Kohlenhydratspezifität in verschiedene Gruppen einteilen.^[92] Typ-1-Fimbrien werden von *E. coli* sowie den meisten Enterobakterien exprimiert. Die Typ-1-Fimbrien-vermittelte Adhäsion an das Blasenepithel spielt eine entscheidende Rolle bei der Infektion mit uropathogenen *E. coli*-Stämmen, denn erst nach Anlagerung der Bakterien sind die bakteriellen To-

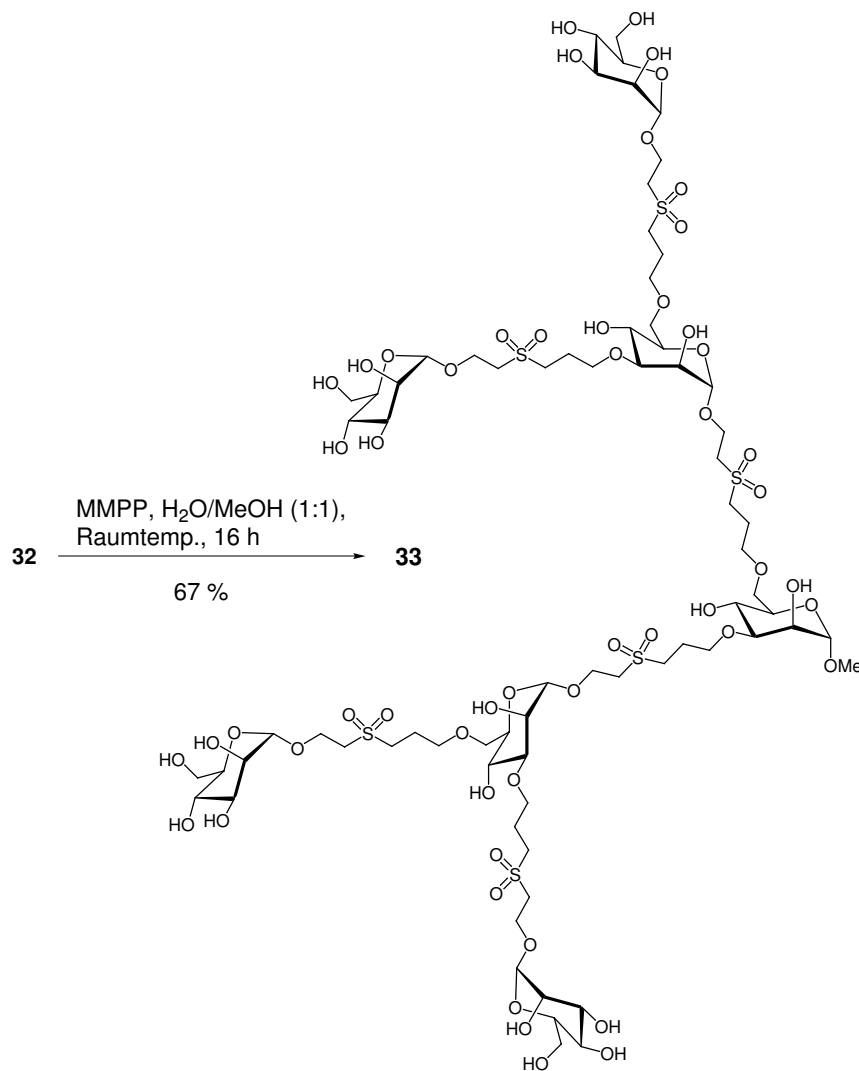


Abb. 2.15. Sechsfache Sulfid-Sulfon-Oxidation im Dendrimer **32**.

xine in der Lage, das Epithel zu zerstören und eine Entzündung hervorzurufen.^[93] Die Typ-1-Fimbrien bestehen zu 98 % aus sich wiederholenden Untereinheiten des sog. FimA-Proteins und können eine Länge von ca. 1 μm erreichen.^[73] Das eigentliche Adhäsion ist das Mannose-spezifische Lectin FimH, welches an den Enden und am Schaft der Fimbrien lokalisiert ist.

Verschiedene Studien konnten zeigen, dass die Inhibitorwirkung oligovalenter Mannosederivate gegenüber der FimH-vermittelten Adhäsion von *E. coli*-Bakterien an Mannan (einem aus Mannoseeinheiten aufgebauten Polysaccharid) deutlich höher ist als von der Vergleichssubstanz Methylmannosid.^[94–96] Diese Beobachtungen sind insofern von Interesse, da sie die Möglichkeit aufzeigen, solche Derivate im Falle einer Infektion in einer anti-adhäsiven Therapie einzusetzen. Dadurch könnte auf Antibiotikatherapien ver-

zichtet werden, was besonders im Hinblick auf mögliche Resistenzen eine wichtige Alternative wäre.^[97]

Die hier synthetisierten Glykomimetika **9**, **21**, **26**, **28**, **32** und **33** wurden auf ihre inhibitorische Potenz mittels eines ELISA getestet.¹ Bei diesem Test werden Bakterien eines gentechnisch veränderten *E. coli*-Stammes auf einer mit Mannan beschichteten Mikrotiterplatte unter Zugabe des Inhibitors inkubiert. Da dieser mit dem Mannan um die Bindung zu dem bakteriellen Lectin konkurriert, binden nach einer Waschsequenz umso weniger Bakterien an die Oberfläche, je besser der Inhibitor ist. Die Menge der gebundenen Bakterien wird durch eine Enzym-katalysierte Farbreaktion und anschließendes photometrisches Auslesen in einem ELISA-Reader bestimmt. Hierbei wird die prozentuale Inhibition mit Inhibitor bezogen auf einen Blindwert (BW) berechnet. Dieser ergibt sich als Mittelwert aus den Messwerten der ersten Reihe der Mikrotiterplatte, die ohne Inhibitor bleibt. Die prozentuale Inhibition ermittelt man dann nach der Formel

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{BW} - \text{Messwert mit Inhibitor}}{\text{BW}} \times 100$$

Anschließend werden durch graphische Auftragung der prozentualen Inhibition über der Konzentration des Inhibitors mittels einer Ausgleichskurve sog. IC₅₀-Werte bestimmt, welche die Konzentrationen der Inhibitoren angeben, die eine 50%ige Inhibition der Adhäsion der Bakterien an die mit Mannan beschichtete Oberfläche der ELISA-Platte bewirken. Je niedriger der IC₅₀-Wert ist, desto besser ist also der Inhibitor. Da mit Hilfe derartiger Tests auf Grund der vielfältigen Einflüsse auf das Testsystem keine vergleichbaren Absolutwerte gewonnen werden können, werden die Werte auf die Inhibition der Standardsubstanz Methylmannosid **34** bezogen.

Mit jedem Inhibitor wurden drei Messungen durchgeführt. Die graphische Darstellung einer solchen Messung ist in Abb. 2.16 zu sehen. Tabelle 2.2 zeigt die ermittelten IC₅₀-Werte, die relativen IC₅₀-Werte (RIC₅₀), die sich auf Methylmannosid beziehen, und die valenzbereinigten Werte der relativen inhibitorischen Potenz.

Die Ergebnisse zeigen, dass die hier getesteten Substanzen allesamt bessere Inhibitoren als Methylmannosid sind (Spalte 3 in Tab. 2.2). Auch die valenzbereinigten Werte sind höher als die des monovalenten Standards. Die divalente Substanz **9** inhibiert dabei nur geringfügig besser. Im Vergleich dazu ist die Inhibition des divalenten **28**, bei dem die Mannosylreste an Thiahexylspacer gebunden sind, noch einmal um den Faktor 6 erhöht. Diese Tendenz zeigt sich auch bei den tetravalenten Inhibitoren. Beim Übergang von **9** zum strukturell verwandten **21** erhöht sich die Inhibition nur geringfügig, während die Substanzen **32** und der beste der hier getesteten Inhibitoren **26** jeweils Thiahexylspacer

¹Ich danke Dr. O. Sperling für die Hilfe bei der Durchführung und Auswertung der Tests.

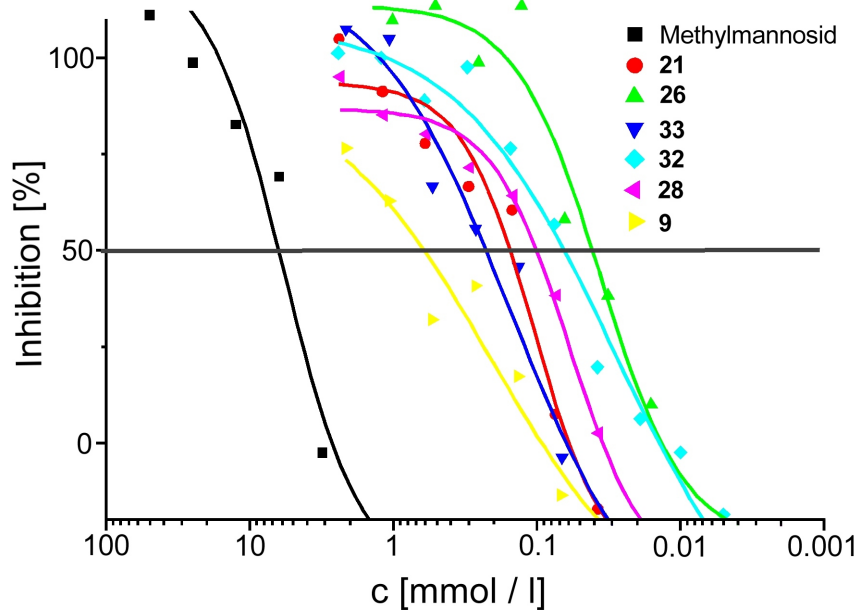


Abb. 2.16. Inhibitionskurven eines ELISA mit den synthetisierten Oligosaccharidmimetika **9**, **21**, **28**, **26**, **32** und **33**. Die schwarze Kurve zeigt die Inhibition der Vergleichssubstanz Methylmannosid.

tragen. Oxidation der Sulfidgruppen in **33** senkt die Inhibition wiederum um den Faktor 5.

Diese Beobachtungen bestätigen die bisher erzielten Ergebnisse^[98], die besagen, dass mit oligovalenten Inhibitoren eine moderate Erhöhung der Inhibition erreicht werden kann. Günstig wirkt sich ferner die Einführung von Spacern aus, wobei eher ihre Lipophilie als ihre Länge eine Rolle spielt, was durch Vergleich der Verbindungen **26** und **33** gezeigt werden konnte.

Substanz	IC ₅₀ [mmol]	RIC ₅₀	Inhibitorische Potenz (valenzbereinigt)
MeMan	5.9	1	1
9	0.58	0.10	5
28	0.089	0.015	33
21	0.14	0.024	11
26	0.031	0.0049	51
32	0.055	0.0090	28
33	0.23	0.040	6

Tab. 2.2. Ergebnisse des ELISA.

2.1.5 Fazit und Ausblick

Die Synthese von Glykodendrimeren aus Kohlenhydratbausteinen durch Glykosylierung führte zu den Pseudo-Trisacchariden **9** und **28** und weiter zu den vier dendritischen spacerverknüpften Oligosaccharidmimetika **21**, **26**, **32** und **33** der „pseudo-1.5ten“ Generation, die jeweils sieben Mannoseeinheiten enthalten. Dabei konnten bei den Vierfachglykosylierungen, die zu **25** und **31** führten, Ausbeuten von ca. 55 % erreicht werden. Als geeignete Verzweigungseinheit erwies sich das Trichloracetimidat **11**, mit dem in guten Ausbeuten glykosyliert werden konnte. Von den zwei evaluierten Aktivierungsschritten Hydroborierung/Oxidation und Mercaptoethanol-Addition erwies sich letzterer als sehr praktikabel, da er unter milden Bedingungen und in exzellenter Ausbeute verlief. Als interessante Modifizierungsmöglichkeit für solche schwefelhaltigen Dendrimere wurde ihre Oxidation zu den Sulfonen aufgezeigt, mit der die Eigenschaften der Verbindungen auf einfache Weise deutlich verändert werden können. Die biologischen Tests der Glykomimetika zeigten im Einklang zu vorherigen Ergebnissen valenzkorrigiert eine leicht erhöhte inhibitorische Potenz gegenüber Methylmannosid in der Inhibition der bakteriellen Adhäsion von *E. coli* und ließen Schlüsse über Struktur-Wirkungsbeziehungen in dem untersuchten System zu.

2.2 Mannose-basierte Glykolipidmimetika

2.2.1 Einleitung

Wie bei anderen Glykokonjugaten findet man auch bei den Glykolipiden eine große strukturelle Diversität. Obwohl sie weniger große Strukturen als die Glykoproteine darstellen und daher leichter totalsynthetisiert werden können^[99], stellt ihre Komplexität eine Motivation für die Mimetikasyntese dar. Dabei ist eine wichtige Vorgehensweise – ähnlich wie bei der Neoglykoprotein-Synthese – die Kupplung eines natürlichen oder synthetischen Saccharidteils an einen Lipidteil, wobei auch dieser natürlich oder synthetisch sein kann. Während sich die Totalsynthese dieser Strukturen typischerweise auf verschiedene Methoden der Glykosylierung von Ceramid oder Vorläufern wie Azidosphingosin konzentriert,^[100] bedient sich die Mimetikasyntese, ähnlich wie bei den Glykoproteinen, einer Reihe verschiedener Reaktionen und den Ersatz des Ceramidrestes durch vereinfachte Strukturen.^[99] Beispielsweise konnte Phosphatidylethanolamin durch reduktive Aminierung mit aus natürlichen Quellen gewonnenen Oligosacchariden verknüpft werden.^[101] Peptidkupplung wurde zur Synthese einer Glykolipidbibliothek an fester Phase verwendet,^[102] und mit der Quadratsäure-Kupplungsstrategie wurden

Oligomannoside mit Cholesterol-Derivaten verknüpft, um Neoglykolipide für Anwendungen in der Gentherapie zu entwickeln. [103]

Neben biologischen Fragestellungen sind Glykolipide auch für andere Untersuchungen interessant, so z. B. für die Erzeugung inverser Micellen oder Vesikel als Membranmodelle, mit denen man in aktuellen Arbeiten den Einfluss von Glykolipiden auf die katalytische Aktivität bei chemischen Reaktionen an biologischen Membranen erforscht. [104]

Da die Allylgruppen in den in dieser Arbeit dargestellten Verbindungen gute Funktionalisierungsmöglichkeiten bieten, sollte versucht werden, sie zur Synthese von Glykolipidmimetika zu nutzen.

2.2.2 Durchgeführte Synthesen

Glykolipidmimetika durch Peptidkupplung

Zunächst wurden Versuche unternommen, an den Spacern der terminalen Mannoseeinheiten des Trisaccharids **10** Aminogruppen einzuführen, in der Vorstellung, an diesen Peptidkupplungen mit langkettigen Fettsäuren durchführen zu können. Eine Möglichkeit dazu ist die oben bereits erwähnte radikalische Addition von Cysteamin-Hydrochlorid. Problematisch hierbei ist jedoch die unterschiedliche Polarität des Cysteamin-Salzes und der Verbindung **10**. Cysteamin-Hydrochlorid ist gut löslich in Wasser und löst sich gerade gut genug in Methanol, um die Reaktion in diesem Lösungsmittel durchführen zu können, während **10** in Methanol praktisch unlöslich ist. So ist die Gefahr einer Teilentschützung bei längerer Verweildauer in Methanol gegeben und die aromatischen Benzoylschutzgruppen könnten zu Problemen bei der nur photochemisch durchführbaren Reaktion führen. Deshalb wurde versucht, die Reaktion mit dem *N*-Boc-geschützten Derivat des Cysteamins, welches in organischen Solventien löslich ist, durchzuführen. Diese Reaktion ist bereits in der Literatur beschrieben. [105] Hierzu wurde kommerziell erhältliches *N*-Boc-Cysteamin mit **10** unter den auch für Mercaptoethanol benutzten Bedingungen umgesetzt (Abb. 2.17). Es zeigte sich jedoch, dass trotz eines Überschusses des Reagenzes und einer Reaktionszeit von über zehn Stunden kein einheitliches Produkt erhalten werden konnte und schließlich verstärkt Zersetzung eintrat. Grund für diese anscheinend deutlich verminderte Reaktivität des Thiols könnte sterische Hinderung durch die sperrige Boc-Gruppe sein.

Statt der direkten Einführung der (geschützten) Aminogruppen wurde nun versucht, dasselbe in zwei Schritten zu erreichen. Hierzu kann die Substitution der zunächst durch die Mercaptoethanol-Addition eingeführten Hydroxygruppen durch Phthalimid mittels einer Mitsunobu-Reaktion dienen. Zunächst wurde dies an Verbindung **23** getestet.

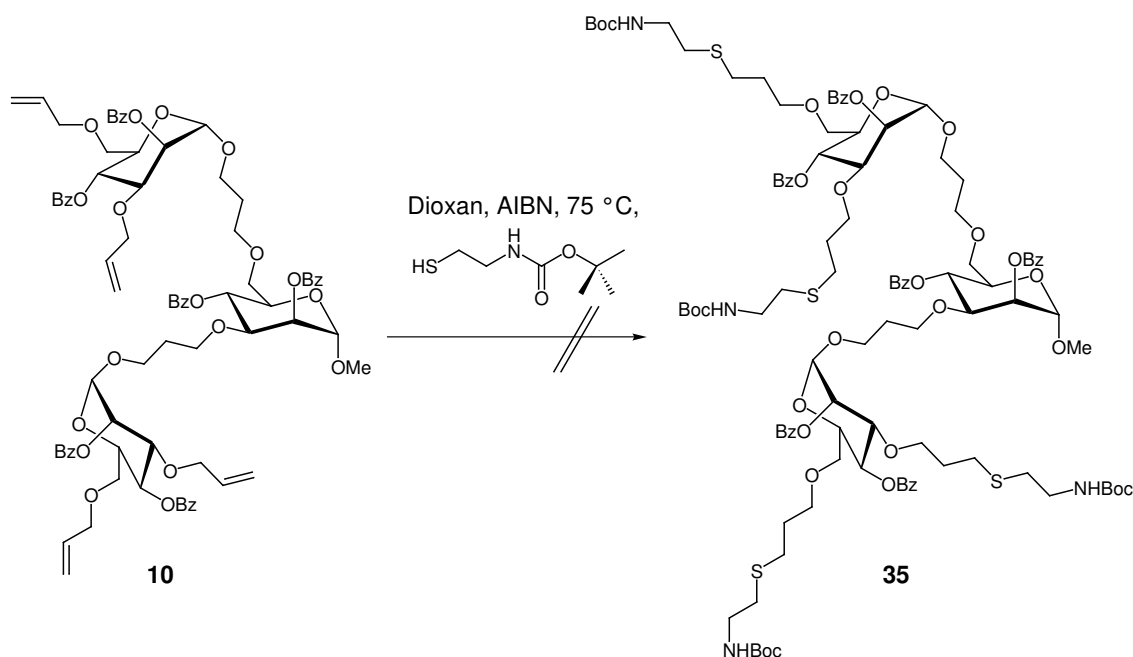


Abb. 2.17. Versuch der Addition von 2-Mercaptoethyl-carbaminsäure-*tert*-butylester an 10.

Die Mitsunobu-Reaktion unter Standardbedingungen ergab das zweifach Phthalimido-substituierte Mannosederivat **36** in 60 % Ausbeute. Daraufhin wurde auch **24** unter denselben Bedingungen mit Phthalimid umgesetzt und Verbindung **37** in guten 74 % Ausbeute erhalten (Abb. 2.18).

Auch die anschließende Freisetzung der Amine wurde zunächst an dem besser verfügbaren Monosaccharid getestet. Die Umsetzung von Verbindung **36** mit Hydrazin in Methanol verlief jedoch mit enttäuschendem Resultat: Neben dem gewünschten Diamin **38** enthielt die Reaktionsmischung laut MALDI-TOF-MS-Untersuchung hauptsächlich eine Substanz, die um die Masse einer Benzoylgruppe schwerer war. Daraufhin wurde die Lösung mit Natriummethanolat versetzt, um die Entschützung zu vervollständigen, was jedoch auch nach einer Reaktionszeit von ca. zwei Wochen keinen Effekt hatte. Dies lässt sich wahrscheinlich darauf zurückführen, dass eine der Aminogruppen zum Benzoylamid reagiert hatte, welches nicht mehr gespalten werden konnte (Substanzen **39** und **40** in Abb. 2.19). Dies war unter den basischen Bedingungen mit einem großen Überschuss an Hydrazin nicht unbedingt zu erwarten gewesen, die stark nukleophilen primären Aminogruppen reagierten aber wahrscheinlich mit dem während der Reaktion auch entstehenden Benzoesäure-methylester. Somit erwies sich auch diese Syntheseroute als nicht praktikabel.

Als weiterer Syntheseweg wäre schließlich die Entschützung von Verbindung **10** gefolgt von der Addition von Cysteamin-Hydrochlorid zu erwähnen, auf die im Rahmen

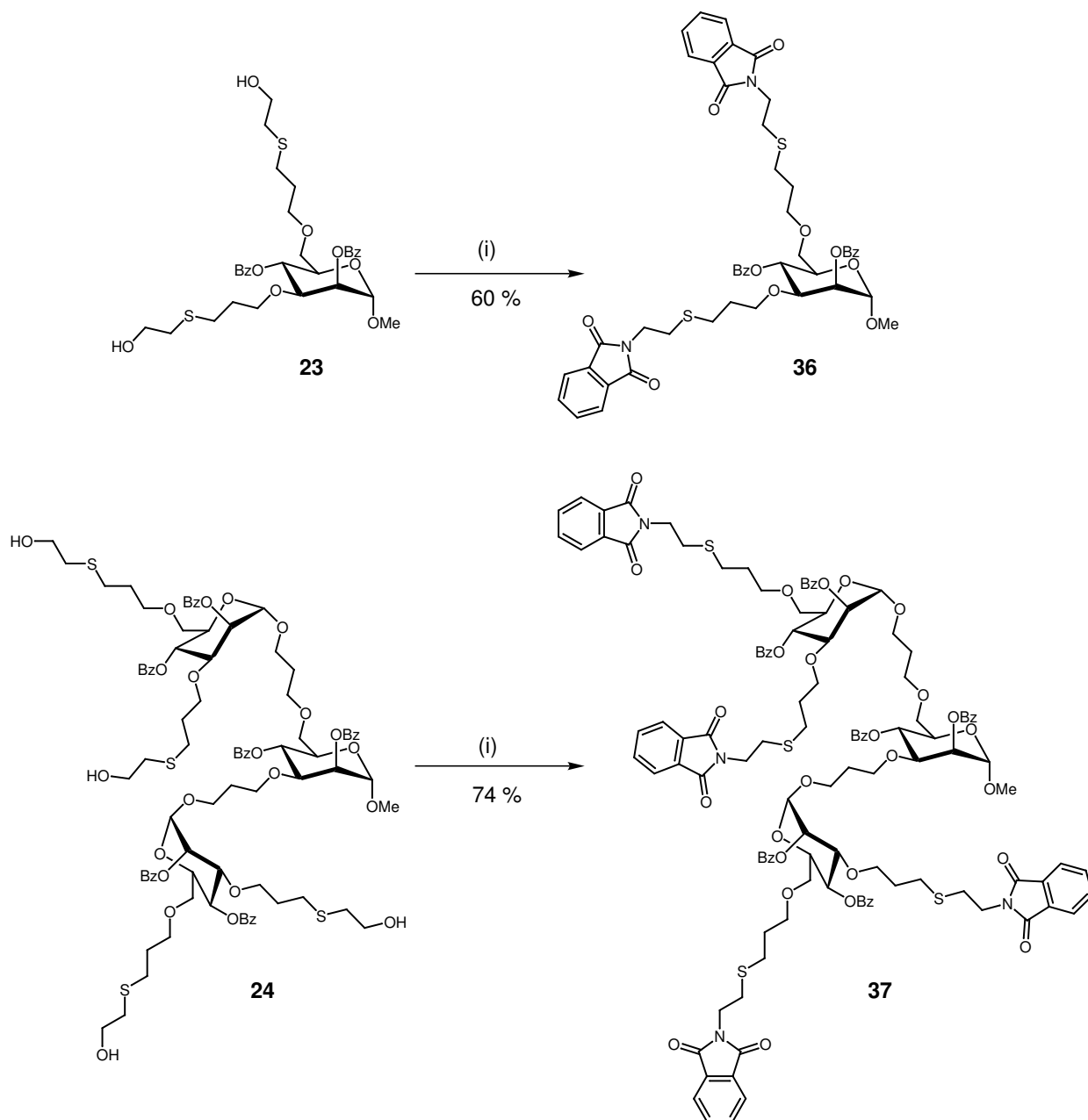


Abb. 2.18. Substitution der Hydroxygruppen in **23** und **24** durch Phthalimid mittels Mitsunobu-Reaktion.
(i) PPh_3 , DEAD, Phthalimid, THF, Raumtemp., 16 h.

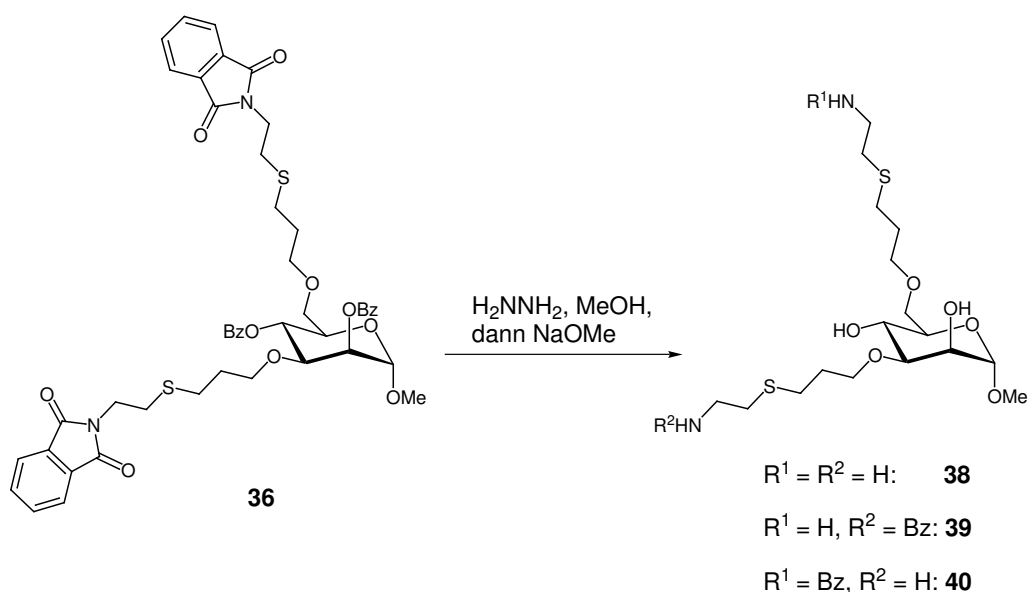


Abb. 2.19. Bei der Entschützung von **36** trat einfache N-Benzoylierung als unerwünschte Folgereaktion auf.

dieser Arbeit aber aus Mangel an verfügbarer Substanzmenge und der mäßigen Ausbeute von 76 % in einem Entschützungsversuch von **10** verzichtet wurde.

Glykolipidmimetika durch Addition langkettiger Alkylthiole

Einen direkteren Zugang zur Synthese von Glykolipidmimetika aus den hier beschriebenen Substanzen böte die radikalische Addition langkettiger Thiole an die Allylgruppen von z. B. **10** oder anderen allylierten Zuckerderivaten.^[87]

Zuerst wurde die Reaktion mit dem geschützten diallylsubstituierten Monosaccharid **2** ausprobiert (Abb. 2.20). Als Thiol wurde das kommerziell erhältliche Hexadecanthiol gewählt. Unter den üblichen Reaktionsbedingungen konnte das Additionsprodukt **41** in 84 % Ausbeute erhalten werden. Die Reaktion wurde dabei mit Zusatz von nur sehr wenig Dioxan durchgeführt, da das Hexadecanthiol gleichzeitig als Lösungsmittel funktionierte. Zur Reinigung wurde der komplette Reaktionsansatz auf eine Kieselgelsäule gegeben, das unpolare Hexadecanthiol zunächst mit reinem Cyclohexan entfernt und anschließend das Produkt durch Zusatz von Essigester eluiert. Dieses Verfahren erwies sich auch in allen weiteren durchgeführten Synthesen als sehr praktikabel.

Die Entschützung von **41** zu **42** wurde unter Zemplén-Bedingungen in Methanol/THF (2:1) durchgeführt, da **41** in reinem Methanol unlöslich ist. Die Reaktion verlief relativ langsam, nach einer Woche konnte aber das Produkt **42** in 66 % Ausbeute isoliert werden (Abb. 2.20). Dieselbe Reaktionssequenz wurde nun mit dem Trisaccharid **10** durchgeführt. Vierfache Addition von Hexadecanthiol ergab **43** in hervorragender Ausbeute von

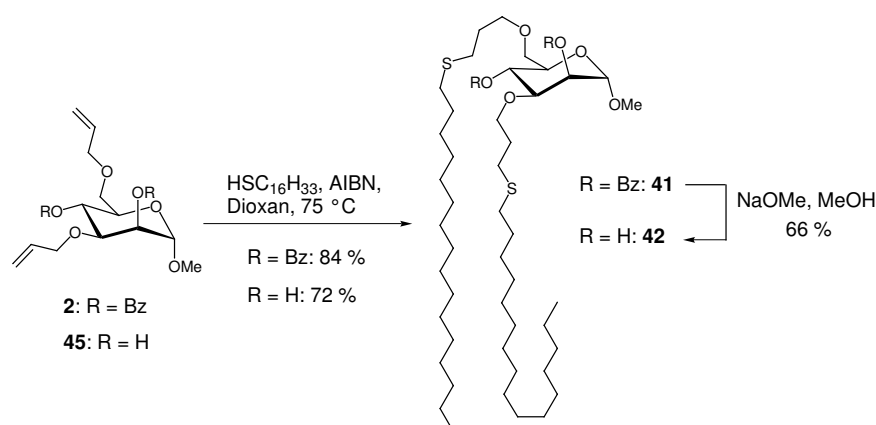


Abb. 2.20. Synthese des Glykolipidmimetikums **42** auf zwei Wegen.

92 % als farbloses Öl (Abb. 2.21). Die Entschützung zu dem Neoglykolipid **44** erwies sich jedoch als äußerst problematisch. War dies bei Substanz **41** mit zwei Lipidketten noch möglich gewesen, so war die Reaktion in diesem Fall selbst nach drei Wochen Reaktionszeit weder beendet, noch zeigte sich weiterer Reaktionsfortschritt. Auch mehrtägiges Behandeln mit Ultraschall bei 45 °C ergab kein einheitliches Produkt, während vermehrt Zersetzung auftrat. Welche Effekte genau für dieses Verhalten verantwortlich sind, ist nicht näher bekannt, die Moleküle scheinen jedoch, bedingt durch die Anwesenheit der langen Alkylketten, in dem polaren Lösungsmittel eine Konformation einzunehmen, die die Reaktionszentren weitestgehend abschirmt.

Da der Syntheseweg zu **44** über **43** nicht erfolgreich war, wurde ausprobiert, wie gut die Addition der Thiole an die Allylgruppen der ungeschützten Mannoside verläuft. Dazu wurde das ungeschützte diallylsubstituierte Mannosid **45** unter denselben Reaktionsbedingungen wie für **2** beschrieben umgesetzt (Abb. 2.20) und lieferte **42** in einer zu der Reaktion mit **2** vergleichbaren Ausbeute von 72 %. Nun wurde an das entschützte Tetraen **46** Hexadecanthiol addiert und man erhielt schließlich das angestrebte Neoglykolipid **44** in 55 % Ausbeute als weißen Feststoff (Abb. 2.21).

Die Methode der Funktionalisierung allylsubstituierter Kohlenhydrate mittels langkettiger Alkylthiole erwies sich also als äußerst praktikabel, da sie einfach durchzuführen ist und hohe Ausbeuten liefert. Um das Verfahren weiter zu evaluieren, wurde versucht, eine Serie von Mannosiden zu synthetisieren, die sich in der Zahl der Mannoseeinheiten und der Alkylketten unterschieden. Aus Methylmannosid **34** ist neben dem zweifach in Position 3 und 6 allylsubstituierten Derivat **45** auch die nur an Position 3 substituierte Substanz **47** leicht mittels regioselektiver Allylierung mit Dibutylzinnoxid zugänglich. An diese wurde unter Standardbedingungen Hexadecanthiol addiert (Abb. 2.22). Hierbei war eine deutlich erhöhte Reaktionsdauer vonnöten (insgesamt 18 Stunden mit häufiger

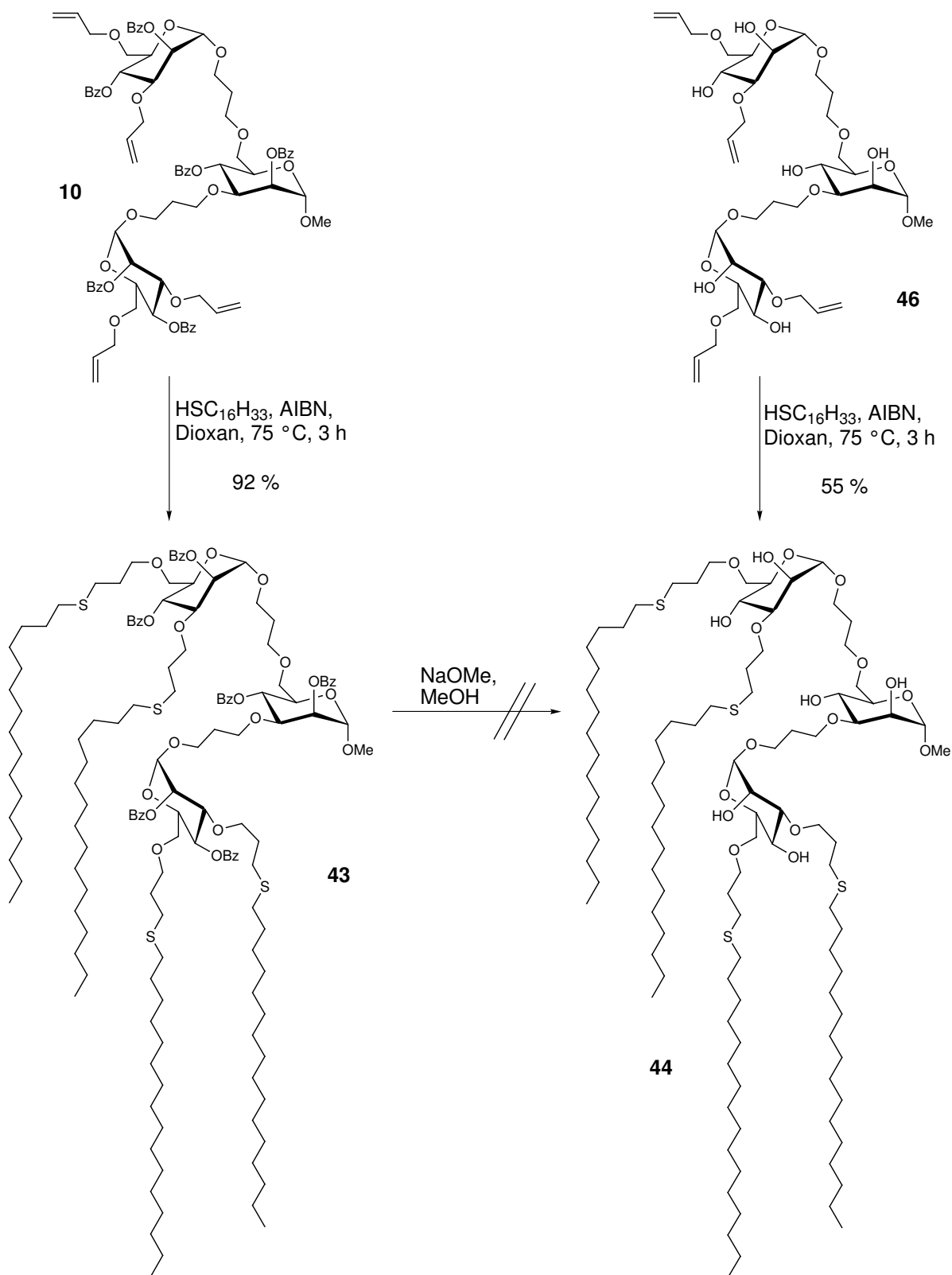


Abb. 2.21. Zwei Synthesewege zum Neoglykolipid **44**.

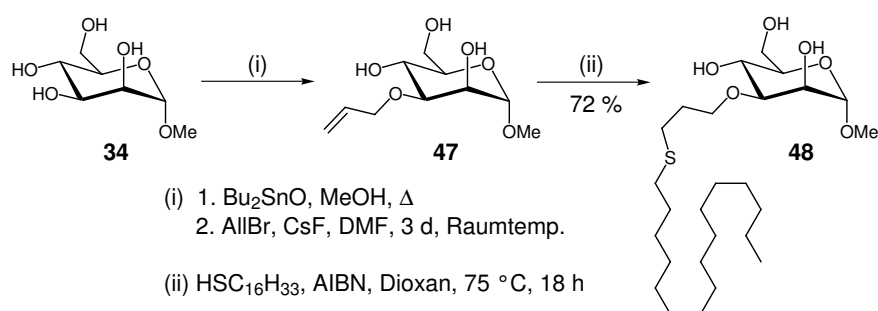


Abb. 2.22. Regioselektive Allylierung von Methylmannosid mit Dibutylzinnoxid und anschließende Addition von Hexadecanethiol zu **48**.

Nachdosierung von AIBN). Da sich die elektronischen Verhältnisse der Allylgruppen in **45** und **47** kaum unterscheiden dürften, könnte dies mit der Polarität der Substanzen zusammenhängen: Substanzen mit mehreren freien OH-Gruppen könnten in dem sehr unpolaren Hexadecanethiol Aggregate bilden, die ihre Reaktivität herabsetzen.

Um zu einem pseudo-trisaccharidischen Glykolipidmimetikum zu gelangen, wurde wiederum die Idee des Ersatzes eines Zuckers durch einen Spacer aufgegriffen und eine ähnliche Vorgehensweise wie in den obigen Dendrimersynthesen angewendet. Dazu wurde **47** zunächst perbenzoylet und die Allylgruppe der erhaltenen literaturbekannten Substanz **49** hydroboriert, um den Akzeptor **50** zu erhalten. Dieser konnte in sehr guter Ausbeute mit dem diallylsubstituierten Donor **11** zum Spacer-verbrückten Disaccharid **51** glykosyliert werden, welches anschließend unter Zemplén-Bedingungen zu **52** entschützt wurde. An **52** konnte nun Tetradecanethiol addiert und das Glykolipidmimetikum **53** in guter Ausbeute erhalten werden (Abb. 2.23).

An dieser Stelle sollte nun versucht werden, Verbindung **52** selektiv mit dem Donor **7** zu glykosylieren, da man auf diese Weise einfach zu einem pseudo-tetrasaccharidischen Glykolipidmimetikum gelangen würde. Das Disaccharid-Mimetikum **52** besitzt fünf freie Hydroxygruppen, von denen die an Position 6 des Methylmannosids die einzig primäre und damit reaktivste ist. In der Literatur^[106] findet man die regioselektive Mannosylierung ungeschützter Mannosylreste an Position 6 mit peracetyliertem Trichloracetimidat. Die Selektivität wird durch äquimolaren Einsatz von Donor und Akzeptor und Absenken der Reaktionstemperatur auf $< -40\text{ }^\circ\text{C}$ erreicht. Dabei wurde DMF als Lösungsmittel verwendet, weil sich der verwendete Akzeptor nicht in Dichlormethan löste.

Bei der Mannosylierung des Akzeptors **52** (Abb. 2.24) in DMF unter den in der Literatur beschriebenen Bedingungen konnte jedoch keine Produktbildung festgestellt werden. Der Versuch, **52** in Dichlormethan zu glykosylieren, scheiterte an seiner schlechten Löslichkeit. Auch das Lipid **53** löste sich nur bis zu einer Temperatur von $0\text{ }^\circ\text{C}$ in Dichlormethan. Eine bei dieser Temperatur durchgeführte Glykosylierung mit **7** ergab allerdings

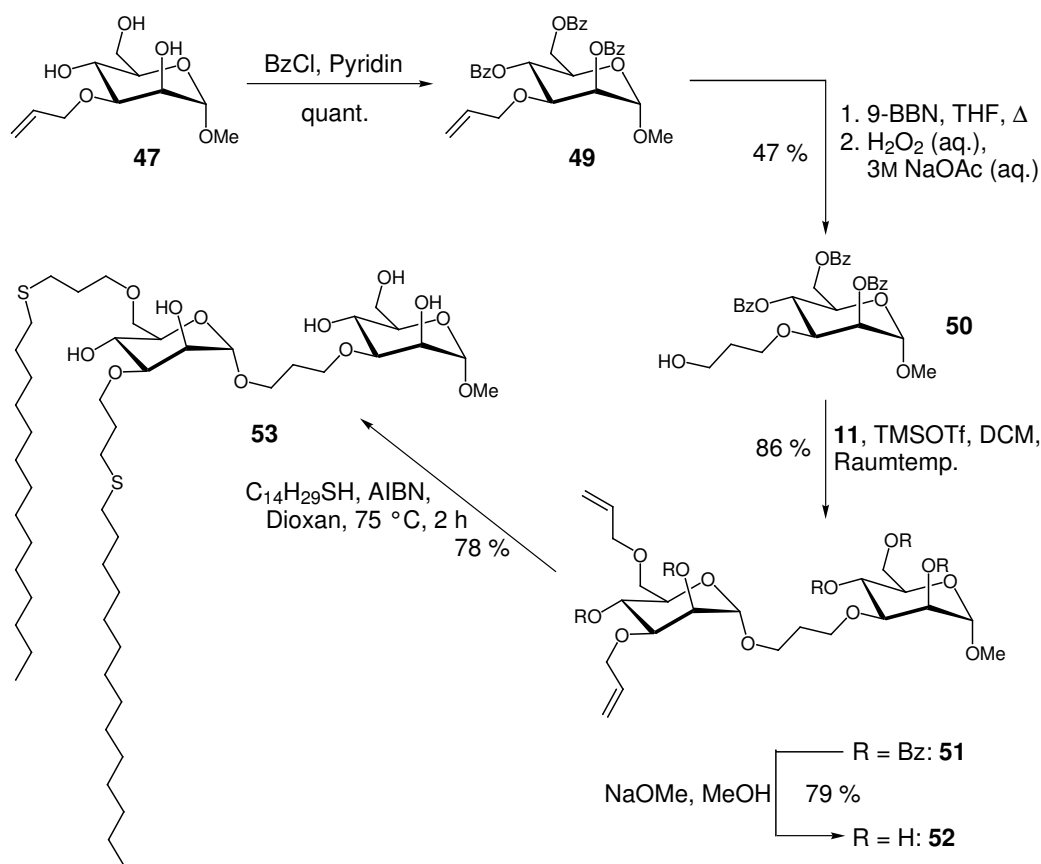


Abb. 2.23. Synthese des Glykolipidmimetikums 53.

kein Gemisch regioisomerer Produkte, sondern es konnten nur Spuren von Produkten mit der gesuchten Masse im MALDI-TOF-MS nachgewiesen werden. Vielleicht senken auch hier die langen Alkylketten die Reaktivität des Eduktes soweit ab, dass es nicht mehr ausreichend schnell reagieren kann. Abschließend kann man sagen, dass die Synthese der angestrebten trisaccharidischen Verbindungen **54** und **55** besser durch selektive Freilegung der 6-Hydroxygruppe vor der Glykosylierung durch weitere Schutzgruppenoperationen erfolgen sollte.

Abb. 2.25 zeigt die strukturelle Verwandtschaft der hier synthetisierten Ceramid-Mimetika^[107] mit Ceramid selbst, was durch Vergleich des 3,6-Di-O-(4-thiahexyl)-mannopyranosylrestes **56** mit Ceramid und den der Literatur entnommenen Ceramid-Analoga **57–59** deutlich wird. Substanz **57** trägt einen Photoaffinitätslabel zur Identifikation Ceramid-bindender Proteine.^[108] Die beiden anderen stellen konformationell eingeschränkte Ceramid-Mimetika dar, die Aktivität als Glykosyltransferase-Inhibitoren zeigen. Das Kohlenhydrat-Derivat **58** wurde im Zuge einer Studie über Analoga des N-Butyl-1-desoxy-nojirimycins (s. Kap. 1) synthetisiert, eines oral verfügbaren GlcCer-

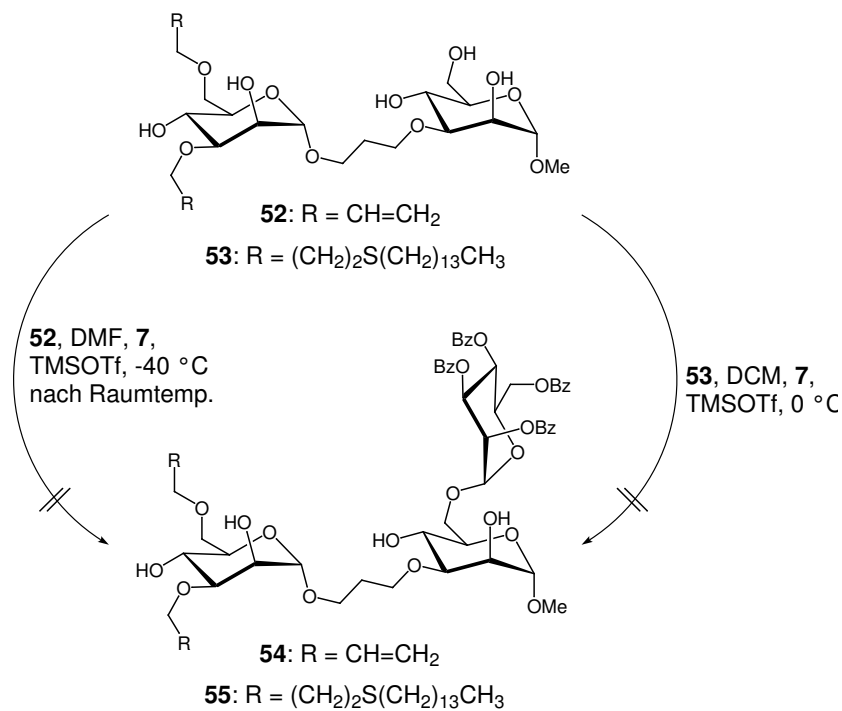


Abb. 2.24. Versuche zur regioselektiven Glykosylierung von **52** und **53**.

Synthese-Inhibitors, der sich in fortgeschrittenen klinischen Studien befindet. ^[109] Dieser Vergleich zeigt, dass **56** ein neuartiges, leicht zugängliches Ceramid-Mimetikum darstellt, welches sich als wertvoller Baustein für die Neoglykolipidsynthese erweisen könnte.

2.2.3 Fazit und Ausblick

Durch Anwendung der radikalischen Addition langkettiger Mercaptane an allylsubstituierte Glykoside konnten die Mannose-basierten Neoglykolipide **42**, **44**, **48** und **53** zuverlässig und in guten Ausbeuten dargestellt werden. Dabei wurde die Anzahl der Mannoseeinheiten und Lipidketten variiert. Sie sollen in weiteren Untersuchungen auf ihr Verhalten beim Einbau in Membranen getestet werden. Der Glykosyldonor **11** kann durch Entschützung und Mercaptan-Addition in ein neuartiges Ceramidmimetikum verwandelt werden, was in zukünftig durchzuführenden Glykolipidmimetika-Synthesen evaluiert werden sollte.

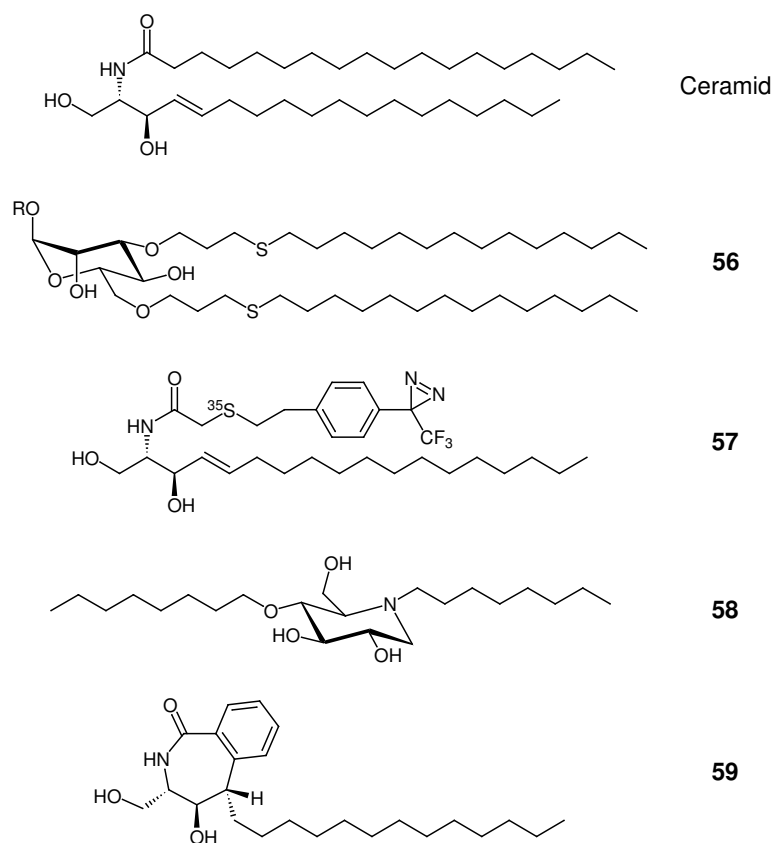


Abb. 2.25. Vergleich des natürlichen Ceramids mit der Mannose-basierten Teilstruktur **56**, die den Ceramid-Rest mimikrieren soll (R = Mono- oder Oligosaccharid) und anderen Ceramid-Mimetika aus der Literatur [107–109].

3 Glykopeptide als bivalente Liganden für das *Maclura pomifera* Agglutinin

3.1 Einleitung

3.1.1 Multivalenz in biologischen Erkennungsprozessen

Wie bereits ausgeführt, spielt Multivalenz in biologischen Erkennungsprozessen eine funktionelle Rolle. Eine große Zahl multivalenter Kohlenhydratstrukturen sind synthetisiert worden, einerseits um grundlegende Prinzipien der Wechselwirkungen zu verstehen, andererseits für konkrete therapeutische Anwendungen^[49]. Umfangreiche Studien geben Einblick in die Bindungseigenschaften verschiedener Substanzklassen^[45], und Strukturoptimierungen auf rationaler Basis wurden teilweise erfolgreich angewandt^[110]. Wenig ist jedoch über die physikochemischen Grundlagen der Multivalenz bekannt.

Ein Grund dafür ist, dass an Messungen der Multivalenz grundsätzlich molekulare Ensembles beteiligt sind, d. h. dass die molekularen Details der Wechselwirkungen immer gemittelt werden und daher die einzelnen Schritte der Bindung nicht unabhängig voneinander betrachtet werden können. Hierzu wurde jüngst eine sehr elegante Studie^[111] durchgeführt, in der ein mit einem Spacer versehener Kohlenhydratligand an den Cysteinrest eines modifizierten bakteriellen Polypeptid-Toxins, des α -Hämolytins, gebunden wurde. Dieses Toxin bildet heptamere Poren in Membranen; somit konnten ein-, zwei- und siebenfach Zucker-modifizierte Poren erzeugt werden. Mit Hilfe von Messungen des Stroms zwischen Lectin-enthaltenden Lösungen auf beiden Seiten der Membran bei konstanter Spannung konnten einzelne Bindungsereignisse unterschiedlicher Dauer durch Abfall des Stroms, verursacht durch unterschiedlich lange Verweildauer des Lectins in der Membranpore, gemessen und den mono- und bivalenten Bindungsereignissen zugeordnet werden.

Ein weiterer Grund für die Schwierigkeiten bei der Untersuchung multivalenter Wechselwirkungen ist darin zu sehen, dass man bei der Messung der multivalenten Bindung wenig über die dreidimensionalen Strukturen der beteiligten Lectine sowie der multivalenten Liganden und deren Dynamik aussagen kann, ebensowenig über die genaue Art der Bindung, d. h. darüber, wieviele Zuckerepitope an der Bindung beteiligt

sind und ob der multivalente Ligand nur mit einem Lectinmolekül wechselwirkt oder z. B. mehrere Lectine vernetzt. Eine wichtige Methode für die Messung von Multivalenz ist die Mikrokalorimetrie, mit der umfangreiche Untersuchungen bezüglich der Thermodynamik z. B. mit dem Mannose-spezifischen Concanavalin A durchgeführt wurden. [112] Bedeutend in diesem Zusammenhang ist auch die Oberflächenplasmonenresonanz (Surface Plasmon Resonance), eine optische Methode, die die Messung von Bindungskonstanten und Kinetiken von immobilisierten Liganden und in Lösung befindlichen Rezeptoren (und umgekehrt) erlaubt.

3.1.2 Aufgabenstellung

Ziel dieses Teils der Arbeit sollte es sein, einen rigiden, leicht immobilisierbaren Liganden für ein gut aufgeklärtes Lectin zu entwickeln, um damit Bindungsstudien über multivalente Wechselwirkungen in einem bekannten System mittels SPR durchführen zu können. Der Ligand sollte eine möglichst definierte und definierbare Struktur aufweisen, um die Zuckerepitope so in einem bestimmten Abstand präsentieren zu können.

Literaturbekannt ist die Konstruktion eines solchen Liganden für Bindungsstudien in Lösung durch Selbstorganisation von Galaktose-konjugierten Oligo-DNA-Strängen mit sog. „half-sliding complementary DNA“ (Abb. 3.1). Dabei sind die Hälften der nicht-Galaktose-konjugierten Stränge jeweils komplementär zu den Hälften der konjugierten und Mischungen von beiden fügen sich daher zu einem makromolekularen Gebilde, welches die Galaktoseeinheiten in definierten Abständen (hier ca. 34 oder 68 Å) zu einer Seite des Stranges präsentieren sollte. Bindungsstudien mit einem Galaktose-spezifischen Lectin ergaben eine hohe Bindungskonstante und zeigten Kooperativität bei der Bindung. [113]

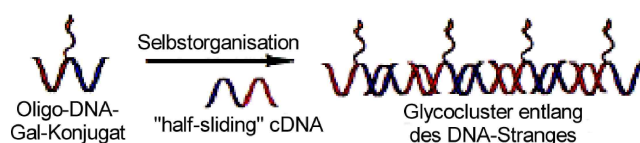


Abb. 3.1. Prinzip eines DNA-Doppelstrang-basierten Glykoclusters durch Selbstorganisation (nach Lit. [113]).

Hier sollte ein Ansatz verfolgt werden, bei dem Lectinliganden mit der Möglichkeit zur Immobilisierung auf Oberflächen auf einem Scaffold in definiertem Abstand angeordnet werden. Die Immobilisierung sollte gleichzeitig die Möglichkeit zur Erzeugung einer Art Glykokalyx-Mimetikum auf einem SPR-Sensorchip zur Untersuchung der Bindungseigenschaften mit SPR bieten und für eine Stabilisierung der dreidimensionalen

Struktur bzw. des Epitopabstandes sorgen. Mit einem so konstruierten System sollte sich der Einfluss des Abstandes zweier Kohlenhydratliganden voneinander auf die Bindungskonstante und die Bindungskinetik in der Wechselwirkung mit einem multi-CRD-Lectin untersuchen lassen.

3.1.3 Das Lectin *Maclura pomifera* Agglutinin (MPA)

Als Lectin wurde das MPA ausgewählt, da es ein relativ gut verfügbares Lectin ist, dessen Bindungsspezifität gut untersucht^[114] und dessen Röntgenstruktur^[115] bekannt ist. MPA ist ein homotetrameres Lectin aus den Samen des Osagedorns, welches aus zwei Ketten mit 133 bzw. 20–21 Aminosäuren besteht (Abb. 3.2). Es ist zu 85 % homolog zu Jacalin, einem Vertreter derselben Lectinfamilie aus Moraceae (Maulbeergewächsen) mit ähnlicher Ligandspezifität. Beide Lectine binden Kohlenhydratliganden in einer Weise, in der das reduzierende Ende eine große Rolle spielt.^[116] Im Unterschied dazu erkennen die meisten anderen Lectine, die hauptsächlich aus Leguminosen (Hülsenfrüchtlern) stammen, terminale Zuckereinheiten, also Zucker am nicht-reduzierenden Ende eines Oligosaccharids.

Das MPA weist eine hohe Spezifität zu dem Disaccharid Gal(β 1-3)GalNAc α auf. Dieses ist auch als Thomson-Friedenreich- oder T-Antigen bekannt. Da es in großen Mengen auf einigen Tumorzellarten vorkommt (s. Kap. 1), stellt es einen der am besten bekannten Tumormarker dar. Daher besitzen auch die T-Antigen-erkennenden Lectine das Potential, in der Tumordiagnostik Verwendung zu finden.

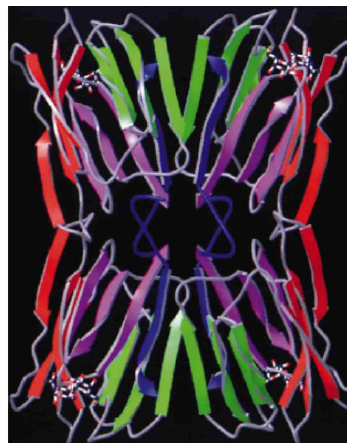


Abb. 3.2. Röntgenstruktur von MPA in der „Ribbon“-Darstellung mit den Kohlenhydratliganden in den vier Ecken.^[115] Deutlich werden die zwei adressierbaren Abstände zwischen jeweils zwei der Bindungstaschen.

Auf jeder der vier monomeren Einheiten des MPA sitzt eine Bindungstasche für Kohlenhydrate, eine CRD, sodass das Lectin sich prinzipiell für die Untersuchung von Multivalenz eignet. Jeweils zwei Bindungstaschen haben denselben Abstand voneinander, daher könnten mit einem bivalenten Liganden mit definiertem Ligandabstand zwei der MPA-CRDs adressiert werden.

3.2 Konzept

Die Idee zur Synthese eines rigiden, oberflächenfixierbaren bivalenten Liganden beruht auf der Konstruktion eines Oligocystein-Stranges, da Cystein die für die Immobilisierung auf Goldoberflächen nötige Thiolgruppe in der Seitenkette trägt. Um die Zuckerepitope an dieser Kette zu verankern und die Einstellbarkeit der Epitopabstände des Systems zu gewährleisten, sollte ein quartäres Cysteinderivat synthetisiert werden, welches an C^α einen Spacer tragen und über diesen mit dem biologisch relevanten Zuckerepitop verbunden sein sollte. Die Ausrichtung der Kohlenhydrateinheiten ließe sich durch alternierende Konfigurationen im Peptidstrang erreichen. Diese molekulare Architektur ist angelehnt an die Darstellung linearer Alanyl-Peptidnucleinsäure-(PNA)-Stränge^[117], bei der die Verwendung eines alternierend chiralen Peptidstranges zu einer Orientierung der Nucleobasen auf eine Seite des Oligomers und damit zur Ausbildung linearer Doppelstränge führt (Abb. 3.3).

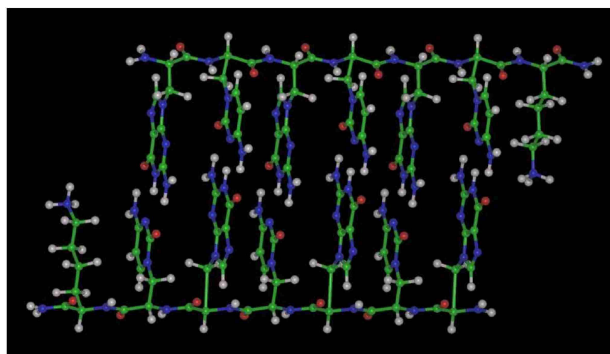


Abb. 3.3. Modell eines linearen Alanyl-PNA-Doppelstranges. Die alternierend chiralen Aminosäuren des Peptidrückgrates lassen sich die Nucleobasen alle in eine Richtung orientieren.^[118]

Die Exposition aller Thiolgruppen eines Oligocysteins in eine Richtung und ihre Fixierung auf einer Oberfläche hätte dann zur Folge, dass der Nicht-Stickstoffsubstituent am C^α der Aminosäuren immer von dieser Oberfläche weg zeigen würde. Ersetzt man nun in zwei Cysteinbausteinen das H^α durch einen Kohlenhydrat-tragenden Spacer, so sollte dieser von der Oberfläche weg ausgerichtet sein, wobei der Abstand der Kohlenhydratepitope voneinander durch die Zahl der zwischen ihnen in den Strang eingebauten Aminosäuren variiert werden kann (Abb. 3.4a). Aus der Röntgenstruktur des MPA-Tetramers (Abb. 3.2) konnte der Abstand zwischen den beiden näher aneinander liegenden Bindungstaschen auf ca. 50 Å geschätzt werden, was der Länge eines gestreckt vorliegenden Peptidstranges von etwa 14 Aminosäuren entspricht (Abb. 3.4b). Somit müssten also zwischen zwei Zucker-konjugierten Aminosäuren 14 Aminosäuren liegen, damit die exponierten Zuckerepitope zwei MPA-CRDs überbrücken können. Angestrebt wurde, diese Zahl der Aminosäurebausteine zwischen zwei Zuckerepitopen zu variieren und eine Messreihe mit mehreren Strängen unterschiedlicher Länge durchzuführen, um die Ab-

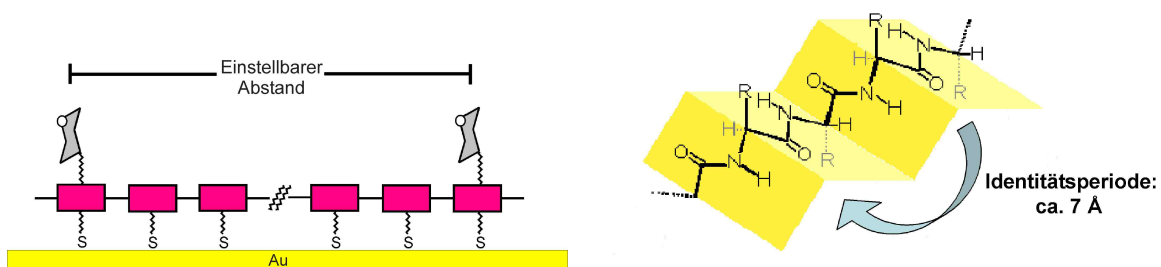
hängigkeit der Bindungseigenschaften dieser Konjugate in der Wechselwirkung mit MPA vom Abstand der Zuckerliganden zu untersuchen.

3.3 Zielmoleküle

Zunächst stellte sich die Frage nach der Natur des zu synthetisierenden Kohlenhydratliganden. Wie oben beschrieben bindet MPA selektiv das T-Antigen. Eine Möglichkeit wäre also, ein zur Verknüpfung mit der zu synthetisierenden quartären Aminosäure geeignetes Derivat des T-Antigens darzustellen. Die Synthese von Derivaten des T-Antigens ist jedoch relativ aufwändig. Ein Vorläufer, das Methyl-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-4,6-di-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galaktopyranosid, kann in 12 Stufen ausgehend von Galaktose dargestellt werden^[119], muss dann noch am anomeren Zentrum entschützt und in einen Glykosyldonor verwandelt werden^[120]. Nach der Glykosylierung wird dann das Azid reduziert und acetyliert (Abb. 3.5). Geeignete Aglycone für den Einbau in eine Peptidkette können beispielsweise Serin, Threonin, aber auch Hydroxyessigsäure sein.^[120,121] Die Länge einer solchen Synthese beliefe sich also auf ca. 15 Stufen mit Ausbeuten von teilweise um 50–60 % pro Stufe.

Daher wurde der Versuch unternommen, das T-Antigen zu mimikrieren. MPA bindet neben dem T-Antigen auch andere Zuckerderivate mit verschieden hoher Affinität. Tab. 3.1 zeigt eine Übersicht über einige Inhibitoren der T-Antigen–MPA-Wechselwirkung.^[114]

Ein Ligand, der sich als Ausgangsmaterial für die Synthese eines potenten T-Antigen-Mimetikums eignen würde, ist Methyl- α -D-galaktopyranosid **60** (Eintrag 4 in Tab. 3.1). Er bindet an MPA mit einer um den Faktor 5 kleineren Affinität als das entsprechende GalNAc-Derivat (Eintrag 2) und das T-Antigen (Eintrag 3), ist aber immer immer noch



(a) Schematische Darstellung des auf einer Goldoberfläche immobilisierten Peptidstranges mit einstellbarem Abstand zwischen zwei Zuckerepitopen.

(b) Darstellung eines Peptidstranges in gestreckter Form mit Wiederholungseinheit.

Abb. 3.4. Zur Konzeption des Oligocysteinyliganden.

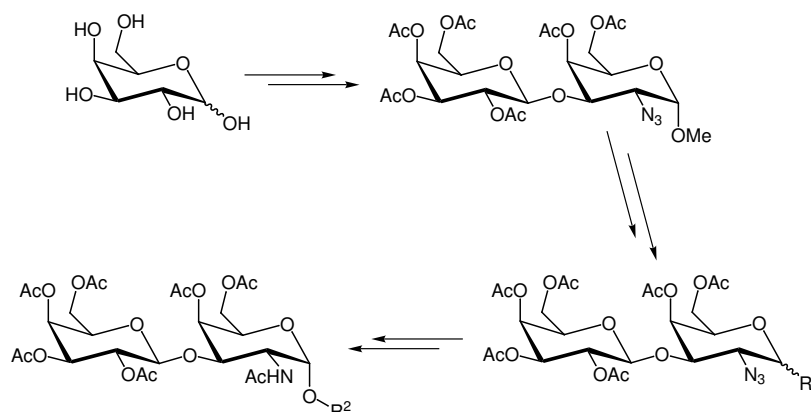


Abb. 3.5. Vereinfachtes Syntheschema für die Darstellung eines T-Antigen-Donors und seiner Glykosidierung (R^1 : Br, Cl, $OC(=NH)CCl_3$; R^2 : Fmoc-Thr-OBn, CH_2COOH etc.).

ein guter Ligand für MPA. Warum dies so ist, wird aus Abb. 3.6 deutlich. Sie zeigt einen Ausschnitt aus der Röntgenstruktur des MPA, kristallisiert mit dem T-Antigen.^[122] Man erkennt deutlich, dass

- die nicht-reduzierende Galaktoseeinheit praktisch völlig aus der Bindungstasche herausragt,
- die *N*-Acetylgruppe des reduzierenden Zuckers aus der Bindungstasche ragt und praktisch nicht an der Bindung beteiligt ist.

Somit sind diese Teile der T-Antigen-Struktur nicht essentiell für eine hochaffine Bindung. In der Röntgenstruktur des MPA mit dem T-Antigen-Disaccharid wurden zwar keine direkten, aber Wasser-vermittelte Wasserstoffbrückenbindungen zu der terminalen Galaktose gefunden; diese scheinen jedoch nach NMR-Untersuchungen von WEIMAR et al. nur im Kristall vorzuliegen und bei der Bindung des Liganden an MPA in Lösung keine Rolle zu spielen.^[123] Es erscheint daher sinnvoll, das T-Antigen durch einen Methyl- α -D-galaktopyranosylrest zu mimikrieren, der über den Sauerstoff an Position 3 mit einem

Eintrag	Inhibitor	Relative Inhibition
1	<i>p</i> -Nitrophenyl- α -D-GalNAc	136
2	Methyl- α -D-GalNAc	24
3	Gal(β 1-3)GalNAc	24
4	Methyl- α -D-Gal	4.8
5	D-GalNAc	1
6	Methyl- β -D-Gal	<0.2

Tab. 3.1. Relative inhibitorische Potenz verschiedener Zucker gegenüber der Wechselwirkung von MPA mit Blutgruppensubstanzen.^[114] Die Werte beziehen sich auf die benötigte Substanzmenge, die für eine 50%ige Inhibition der Wechselwirkung durch GalNAc (rel. $IC_{50} = 1$) nötig ist.

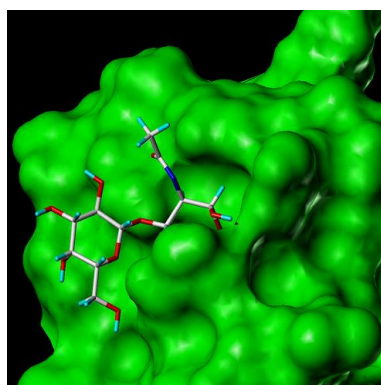


Abb. 3.6. Ausschnitt aus einer Röntgenstruktur des MPA. ^[122] Gezeigt ist eine Bindungstasche mit dem gebundenen Liganden, dem Thomson-Friedenreich-Antigen.

Spacer verbunden ist. Da die regioselektive Substitution von Galaktosiden in Position 3 durch Öffnung eines intermediären Stannylidenacetals mit einem Elektrophil, z. B. Allylbromid, in einer Eintopf-Reaktion möglich ist ^[124], böte sich diese synthetische Route zu einem T-Antigen-Mimetikum **61** an (Abb. 3.7).

Die weiteren retrosynthetischen Überlegungen zu der Zucker- und der Aminosäurekomponente (**62** und **63**) sind in Abb. 3.8 gezeigt. Um den MPA-Liganden an eine Aminosäure zu knüpfen und diese Glyko-Aminosäure danach in einen Oligopeptidstrang einbauen zu können, wurde die Synthese eines quartären Aminosäurederivates nötig, das am C^α eine Verknüpfungsmöglichkeit zum Galaktosederivat tragen sollte. Für die Synthese quartärer Aminosäuren sind eine Reihe von synthetischen Verfahren genutzt worden, darunter die Schöllkopf-Bislactimethersynthese ^[125] und die diastereoselektive Alkylierung von Oxazolidinonen ^[126], die asymmetrische Mannich-Reaktion ^[127] und die Alkylierung von β -Ketoestern mit einem chiralen Auxiliar ^[128].

Hier wurde der Ansatz über eine selektive Mono-Verseifung alkylierter Aminomalonestere gewählt. Diese Syntheseroute ist relativ einfach und kann zunächst zu Testzwecken racemisch und später enantiodivergent ^[129] durchgeführt werden. Das heißt, man erhält in einer enantioselektiven Reaktion Zugang zu beiden enantiomeren Produkten, da die beiden unterscheidbaren Carboxylgruppen des Malonsäure-monoesters (Ester und Säure) selektiv umgesetzt werden können. Enantioselektivität wird durch enzymatische Verseifung des Malonesters mit Schweineleberesterase erreicht. ^[130]

Als Spacer für die Verknüpfung mit dem Zucker wurde eine Allylgruppe ge-

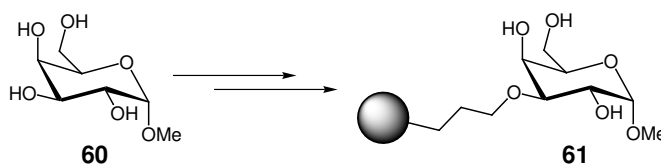


Abb. 3.7. Schematische Darstellung eines T-Antigen-Mimetikums **61** mit einem Spacer an Position 3, der die Möglichkeit zur weiteren Funktionalisierung besitzt.

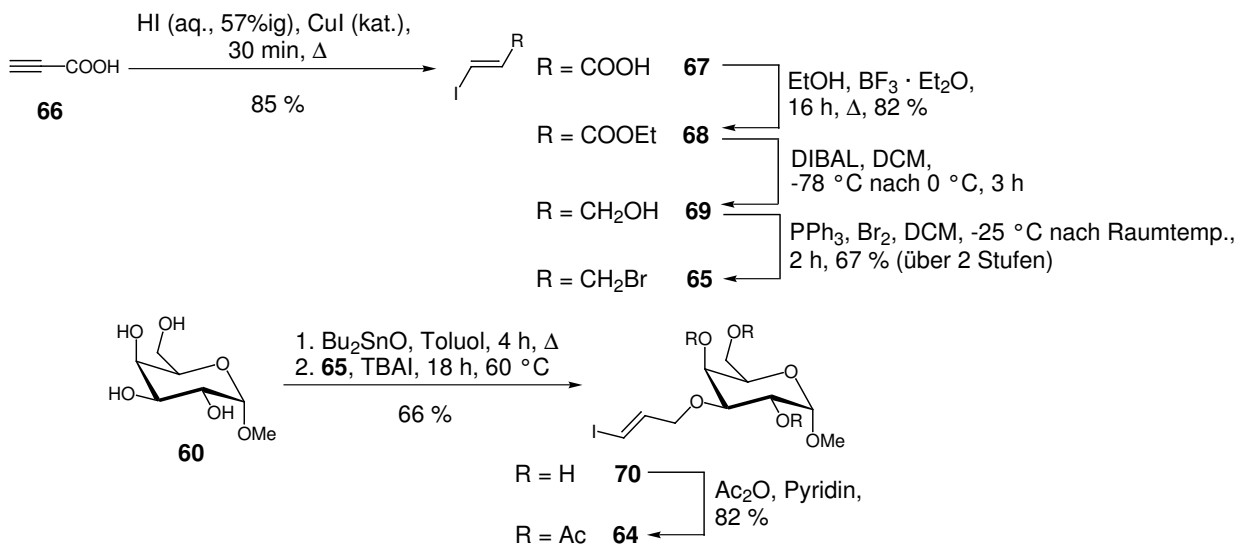


Abb. 3.9. Synthese des 3-Brom-1-iod-prop-1-ens **65** durch Addition von Iodwasserstoffsäure an Propiolsäure **66** unter Cu(I)-Katalyse^[134], Veresterung^[135], Reduktion^[136] und Appel-Reaktion^[137] und anschließende regioselektive Alkylierung von Methyl- α -D-galaktopyranosid **60** zu **64**.

Für die Synthese des quartären Cysteinderivats wurde von kommerziell erhältlichem Aminomalonsäure-diethylester **71** ausgegangen. Dieser wurde zunächst *N*-Boc-geschützt, anschließend zum Dimethylester umgeestert^[138] und mit Allylbromid zu **73** allyliert (Abb. 3.10). Für den racemischen Reaktionsweg wurde eine Estergruppe der prochiralen Verbindung **73** nun mit verdünnter Natronlauge verseift, was in sehr guten Ausbeuten möglich ist.^[139] Eine Verwendung von 1M Natronlauge wie in der Literatur brachte keinen Erfolg, da die Verbindung **73** zu lipophil, im benutzten System Dioxan/Wasser zu wenig löslich ist und darin nicht reagiert. Durch Verwendung konzentrierterer Lauge kann der Wasseranteil niedriger gehalten und der Ester zur Reaktion gebracht werden.

Der erhaltene Monoester *rac*-**74** könnte – wenn er enantiomerenrein dargestellt worden wäre – nun enantiodivergent weiterverarbeitet werden.^[140] Die Estergruppe besitzt eine größere Carbonylaktivität als die Säuregruppe und kann daher mit dem selektiven Reduktionsmittel Lithiumborhydrid zum Alkohol reduziert werden, ohne dass der Ester tangiert wird. Um das andere Enantiomer zu erhalten, kann die Säuregruppe als gemischtes Anhydrid oder Aktivester aktiviert und anschließend mit Natriumborhydrid, dessen Reaktivität nicht ausreicht, um den Methylester zu reduzieren, umgesetzt werden. Zunächst wurde die Reduktion der Säure getestet, da sie einfacher durchführbar ist. Vorteilhaft ist hier die Aktivierung mit BOP^[141], die als Eintopfreaktion erfolgen kann und der hier der Vorzug vor der Verwendung gemischter Anhydride gegeben wurde. Sie ergab das racemische α -Allylserin *rac*-**75** in guter Ausbeute.

Die Hydroxygruppe der Verbindung *rac*-**75** wurde nun tosyliert. Die Tosylierung un-

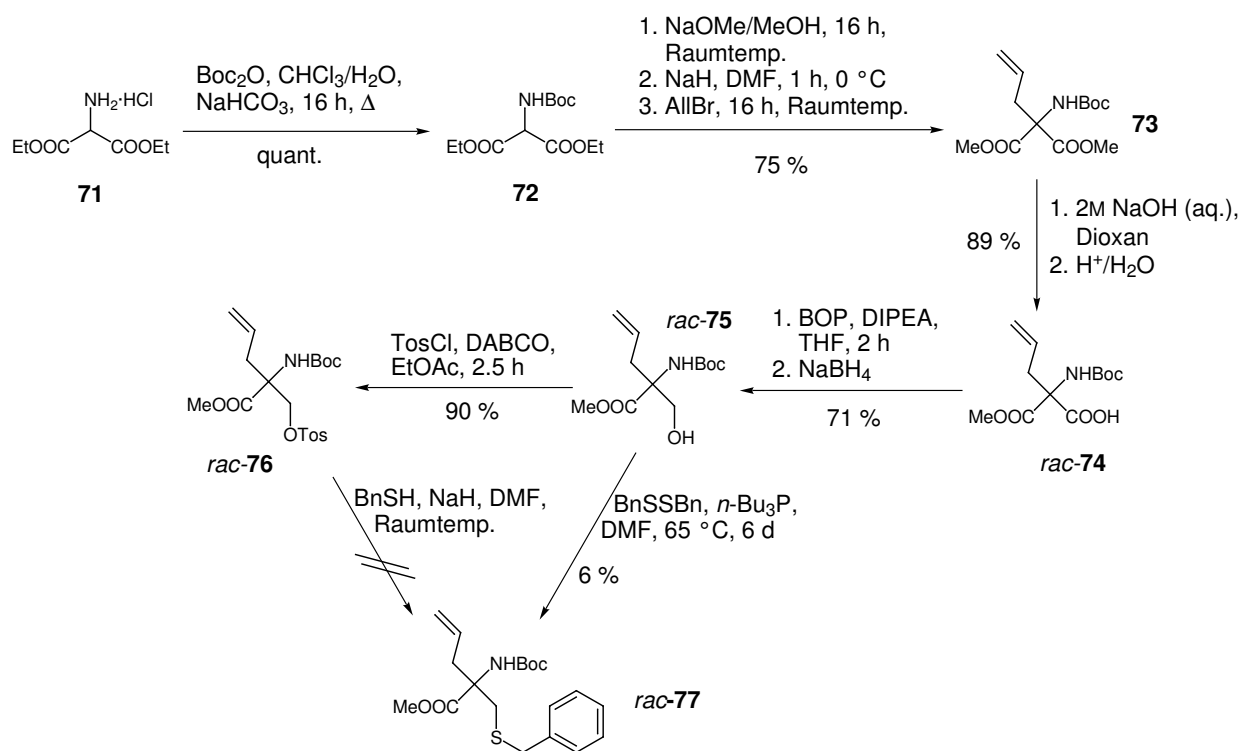


Abb. 3.10. Darstellung des α -Allyl-cysteinderivates *rac*-77 aus Aminomalonsäure-diethylester 71.

ter Standardbedingungen in Pyridin gelang nicht und führte zur Zersetzung des Edukts. Erst die Anwendung des Protokolls von HÜNIG et al. [142] unter Verwendung von DABCO als Base lieferte das Tosylat *rac*-76 in guter Ausbeute.

Versuche, das Tosylat *rac*-76 mit einem Schwefelnucleophil zu substituieren, schlugen jedoch fehl. Der Grund dafür ist sicherlich in der Neopentylstellung des Tosylrestes zu sehen, der eine Substitution selbst mit so guten Nucleophilen wie Thiolaten in diesem Fall unmöglich macht. Da nach der Reaktion trotz Arbeiten unter Schutzgas das eingesetzte Thiol häufig als Disulfid vorlag, wurde vermutet, dass die Thiolate bereits relativ schnell zu Disulfiden abreagieren und deshalb durch eine Verlängerung der Reaktionszeit keine Verbesserung erzielt werden kann. Als Alternative wurde daher noch eine Substitution nach HATA et al. [143] ausprobiert. Hier geht man von der Hydroxyverbindung aus und setzt statt der Thiolate die Disulfide in Kombination mit Tributylphosphin als Aktivierungsreagenz ein, so dass die Disulfidbildung keine unerwünschte Nebenreaktion bei langsamen Substitutionen darstellt. Mit dieser Reaktion konnte das gewünschte Cysteinderivat *rac*-77 in einer Ausbeute von 6 % isoliert werden.

Die aus synthetischer Sicht inakzeptable Ausbeute der Substitution ließ diesen Weg zur Synthese des erwünschten Cysteinderivates nicht sinnvoll erscheinen. Trotzdem wurde die Kupplung des Alkenyliodids 64 an *rac*-75 getestet, was zu einem quartären

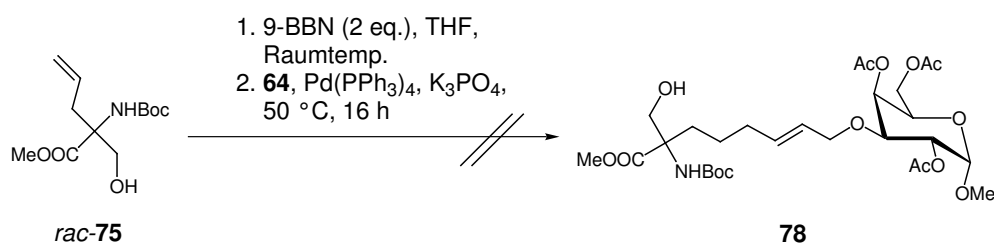


Abb. 3.11. Versuch der Suzuki-Kupplung zwischen der Aminosäure *rac*-**75** und dem Kohlenhydrat **64**.

Glykosyl-Serin **78** führen würde (Abb. 3.11). Versuche, mit der Suzuki-Reaktion^[133] die Kupplung zwischen **64** und dem 9-BBN-Addukt von *rac*-**75** zu erreichen, scheiterten jedoch; es konnte kein Produkt detektiert werden. Als weitere Möglichkeit stünde noch die Cross-Metathese von **75** mit dem leicht zugänglichen Methyl-2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-allyl- α -D-galaktopyranosid aus, welche aber im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr durchgeführt wurde.

3.5 Quartäre Zucker-Aminosäure-Konjugate durch Peptidkupplung

Da sich die Synthese α,α -disubstituierter Cysteinderivate auf diesem Wege als problematisch erwiesen hatte, wurde ein anderer Weg gewählt, mit dem zumindest Homocysteinderivate zugänglich wären. Es sollte möglich sein, einen alkylierten Aminomalonsäuremonomethylester durch Peptidkupplung mit einem Aminopropyl-substituierten Kohlenhydrat zu konjugieren (Abb. 3.12). An dem Alkylsubstituenten des Malonesters könnte dann ein geeignetes Thiol eingeführt werden, um ein vollständig geschütztes Konjugat der quartären Aminosäure und des Kohlenhydrates zu erhalten. Die Länge der Thiol-tragenden Seitenkette kann durch Wahl des eingesetzten Dibromids flexibel gewählt werden. Als Schutzgruppen für den Zucker wurden Benzylether vorgesehen, da diese unter einer Reihe von Reaktionsbedingungen stabil sind, gleichzeitig aber – wählt man als Schutzgruppe für das Thiol auch Benzyl – zusammen mit dieser unter Bedingungen der Birch-Reduktion entfernt werden können. Es stellte sich also zunächst die Aufgabe, ein 3-Aminopropyl-substituiertes Methylgalaktosid zu synthetisieren.

3.5.1 Synthese des Methyl-3-*O*-(3-aminopropyl)-2,4,6-tri-*O*-benzyl- α -D-galaktopyranosids

Für die Einführung der 3-Aminopropylgruppe in Methylgalaktosid **60** sind verschiedene Wege denkbar. Eine Möglichkeit wäre die von LINDHORST et al.^[56] zur Synthese von

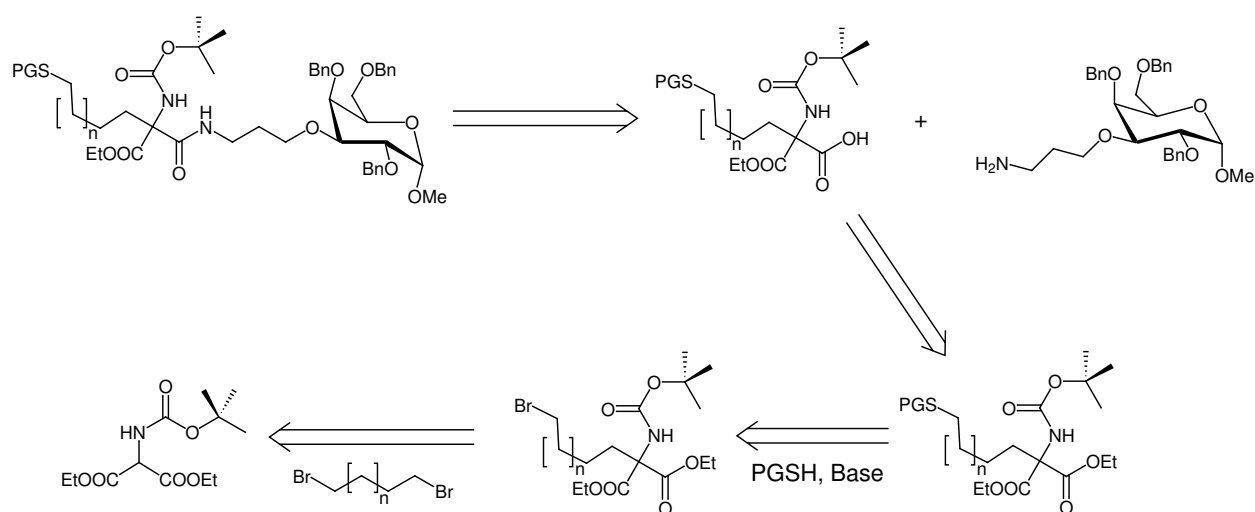


Abb. 3.12. Retrosynthese eines Zucker-konjugierten, quartären, homologen Cystein-Bausteins.

Kohlenhydrat-zentrierten Glykoclustern genutzte Route, Allylgruppen zunächst durch Hydroborierung/Oxidation in 3-Hydroxypropylgruppen zu verwandeln, die Hydroxygruppe in einer Appel-Reaktion durch Bromid zu ersetzen und anschließend eine Substitution mit Natriumazid oder Phthalimidkalium durchzuführen. Reduktion bzw. Hydrazinolyse führen dann zum gewünschten Produkt. Im vorliegenden Fall wäre damit eine sechsstufige Synthese notwendig. Um dies zu vereinfachen, wurde versucht, den ungeschützten Zucker direkt regioselektiv mit kommerziell erhältlichem 3-Brompropylphthalimid zu substituieren (Abb. 3.13), was auch in einer sehr guten Ausbeute von 77 % gelang. Es konnten Bedingungen gefunden werden, unter denen das Produkt **79** ohne Säulenchromatographie isoliert werden kann. Dies ist äußerst vorteilhaft, da die Dibutylzinnoxid-vermittelte regioselektive Alkylierung gerade beim Upscaling und der Aufreinigung der Produkte sehr aufwändig und schwierig ist. Mit diesem Verfahren konnten von dem Schlüsselbaustein **79** in einem Ansatz ca. 10 g hergestellt werden.

Die anschließende Benzylierung der Hydroxygruppen in **79** mit Benzylbromid erwies sich als äußerst schwierig. Bei Benzylierung in THF mit Natriumhydrid unter Rückfluss trat vollständige Zersetzung ein, ebenso unter milderer Bedingungen (NaH, DMF,

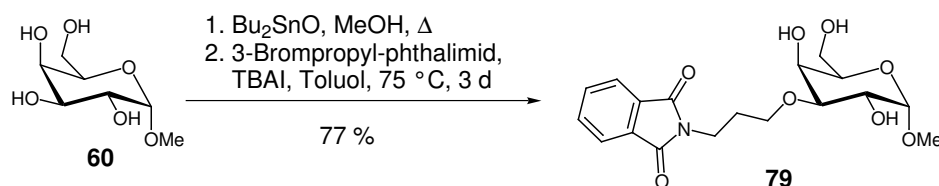


Abb. 3.13. Regioselektive Phthalimidopropyl-Substitution an Methylgalaktosid **60**.

0 °C → Raumtemp.). Dies verwundert besonders, weil die Phthalimidoschutzgruppe in der einschlägigen Literatur^[144] als unter diesen Bedingungen stabil beschrieben wird und in der Kohlenhydratchemie Benzylschützungen an 2-Phthalimido-2-desoxyzuckern bekannt sind^[145]. Die Reaktivität des hier vorliegenden Phthalimid-Derivats scheint aber weitaus höher zu sein als beispielsweise in den 2-Phthalimido-2-desoxyzuckern, da der Stickstoff dort an ein sekundäres Kohlenstoffatom gebunden ist. Dies ist wohl auch der Grund, warum die Entschützung der Phthalimidogruppe hier – im Gegensatz zu den Aminozuckern^[146] – nie Probleme bereitete (s. u.).

Daher wurden einige weitere Möglichkeiten der Benzylschützung ausprobiert. Während sich bei Verwendung anderer starker Basen (Kaliumhydroxid^[147], Kalium-*tert*-butylat) ebenso Zersetzung zeigte, führte die Verwendung von Silberoxid^[147] zu keiner Reaktion.

Veretherungen lassen sich nicht nur unter basischen, sondern auch unter sauren Bedingungen durchführen, wenn man als Abgangsgruppe Trichloracetimide verwendet.^[148] Dies stellt eine präparativ wertvolle Alternative bei basenlabilen Substraten dar. Auf diese Weise konnte z. B. eine Reihe von Methyl-6-desoxy-6-iod-glykosiden perbenzyliert werden, was mit Natriumhydrid/Benzylbromid nicht möglich ist.^[149] Die Reaktion mit Benzyl-trichloracetimidat unter Aktivierung mit Trifluormethansulfonsäure führte jedoch ebenso zu Zersetzung des Edukts.

Schließlich wurde das gewünschte Produkt **80** doch noch durch Veretherung unter Standardbedingungen in sehr guter Ausbeute erhalten (Abb. 3.14), wobei jedoch sehr genau auf die zugegebenen Mengen an Natriumhydrid geachtet und der Reaktionsverlauf genau überwacht werden muss. Trotzdem ist die Ausbeute nur bedingt reproduzierbar.

Die Freisetzung des Amins durch Hydrazinolyse hingegen verlief praktisch quantitativ, und das Produkt **81** kann anschließend ohne weitere Reinigung umgesetzt werden.

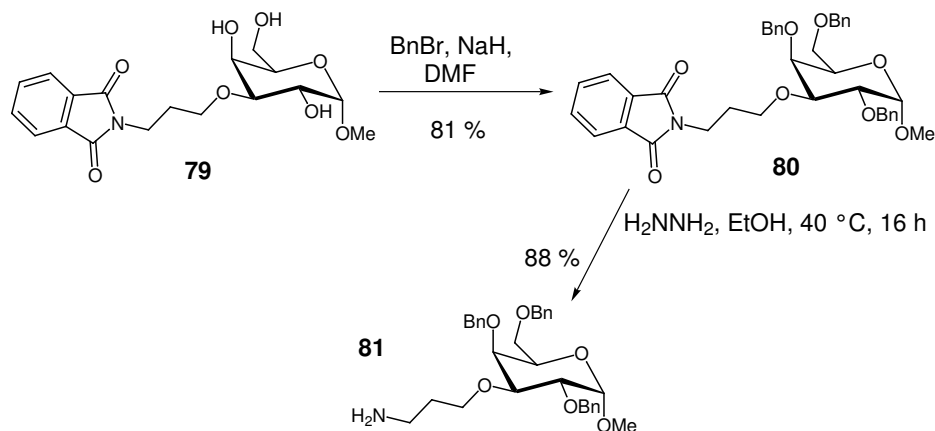


Abb. 3.14. Benzylierung von **79** und anschließende Hydrazinolyse.

Exkurs: Darstellung anderer 3-Phthalimidopropyl-substituierter Zucker ^[150]

Der große Nutzen des beschriebenen Verfahrens zur Phthalimidopropylierung von Methylgalaktosid gab Anlass, es auch auf andere Kohlenhydrate anzuwenden. Prinzipiell lassen sich galakto- und manno-konfigurierte Saccharide auf diese Weise substituieren. Daher wurde die Reaktion mit Methyl- β -L-arabinopyranosid **82**, Methyl-2-acetylamino-2-desoxy- α -D-galaktopyranosid **83**, Methyl- α -L-fucopyranosid **84**, D-Galaktal **85**, Methyl- α -L-rhamnopyranosid **86** und Methyl- α -D-mannopyranosid **34** durchgeführt (Tab. 3.2).

Startmaterial	Produkt	Ausbeute (%)
82	87	31
83	88	50
84	89	36
85	90	83
86	91	34
34	92	39

Tab. 3.2. Ausgangsmaterialien, Produkte und Ausbeuten der regioselektiven Phthalimidopropylierung. ^[150]

In allen Fällen konnten die Produkte in guten Ausbeuten erhalten und viele durch Kristallisation gereinigt werden. Die Reaktion mit Methylmannosid **34** brachte zunächst kein zufrieden stellendes Ergebnis, da die Ausbeute sehr niedrig war und das Produkt nicht in reiner Form erhalten werden konnte. Das nach Säulenchromatographie stark verunreinigte Produkt wurde daher direkt einer Hydrazinolyse unterzogen, anschließend das resultierende Amin Boc-geschützt (s. u.) und die Hydroxygruppen benzyliert. Nun konnte das komplett orthogonal geschützte Derivat **93** säulenchromatographisch gereinigt und in immerhin 12 % Ausbeute isoliert werden.

Ein besseres Ergebnis wurde durch Abwandlung der Reaktionsbedingungen erreicht. Die Reaktion wurde statt in Toluol in DMF durchgeführt und statt dem in Toluol essentiellen TBAI wurde Cäsiumfluorid als Hilfsreagenz eingesetzt. Auf diese Weise konnte das gewünschte Mannosid **92** in 39%iger Ausbeute synthetisiert werden.

Die erhaltenen Substanzen stellen wertvolle Ausgangsmaterialien für die Synthese von Glykomimetika dar, da sie sowohl an den Hydroxygruppen und an dem Amino-terminierten Spacer weiter modifiziert, als auch durch Aktivierung des anomeren Zentrums in interessante Glykosyldonoren verwandelt werden können.

3.5.2 Synthese des Konjugates

Nachdem das gewünschte Galaktosederivat **81** zur Verfügung stand, wurde mit der Synthese des Aminosäureteils fortgefahren. Eine zusätzliche Schwierigkeit bei dieser Synthese besteht natürlich darin, dass die quartäre Aminosäure ein Chiralitätszentrum besitzt und somit enantiomerenrein dargestellt werden muss. Da die Trennung von Enantiomeren häufig nach Überführung in Diastereomere durch Reaktion mit einem enantiomerenreinen Hilfsreagenz erfolgen kann, wurde hier zunächst versucht, ob dies mit dem racemischen Aminomalonsäurederivat **94** nach Einführung des Zuckerrests gelänge, der dann gleichzeitig als enantiomerenreines Hilfsreagenz dienen würde. Dann könnte man auf die enantioselektive Synthese verzichten und im Laufe des Syntheseweges einfach beide Diastereomere erhalten. Dies wäre im vorliegenden Fall auch mit dem Vorteil verbunden, beide stereoisomeren Bausteine für die Synthese eines Peptidstranges aus Aminosäuren alternierender Konfiguration zur Verfügung zu haben.

Die Alkylierung des Boc-geschützten Aminomalonsäureesters **72** zur ebenfalls literaturbekannten Verbindung **95** gelang unter Verwendung eines doppelten Überschusses an Dibromid – hier wurde 1,4-Dibrombutan gewählt – leicht in akzeptabler Ausbeute (Abb. 3.15). Das Bromid **95** kann dann durch Substitution mit Benzylmercaptan in das geschützte Thiol **96** in sehr guter Ausbeute überführt werden. Entschützung des prochiralen Diesters **96** zum racemischen Monoester *rac*-**94** und anschließende Peptidkupplung mit **81** führte in 63 % Ausbeute (über 2 Stufen) zu **97** (Abb. 3.15).

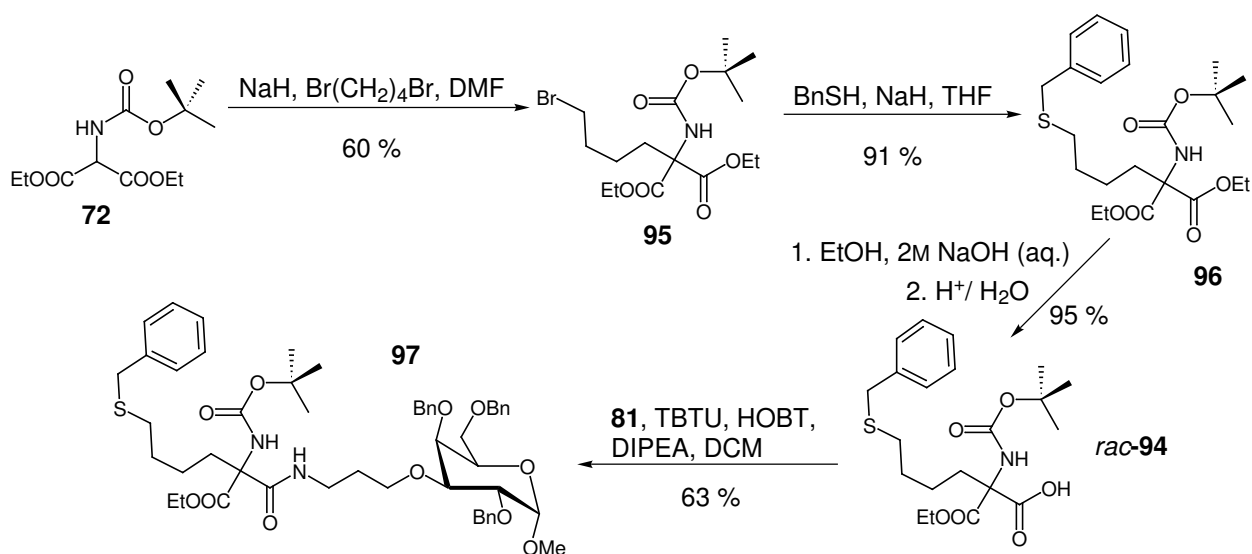


Abb. 3.15. Darstellung des Aminosäurebausteins **97** als Diastereomerengemisch.

Leider zeigte sich bei dem Diastereomerengemisch **97** kein nutzbarer Unterschied in den R_f -Werten der beiden Diastereomeren, sodass keine Trennung – zumindest durch normale Säulenchromatographie – möglich war. In Abb. 3.16 sind zwei Ausschnitte aus dem NMR-Spektrum von **97** dargestellt. Abb. 3.16a zeigt die Signale der Benzylschutzgruppen des Zuckers. Hier ist deutlich zu sehen, dass man für zwei der Protonen jeweils zwei Dubletts statt einem für den Fall einer diastereomerenreinen Verbindung erhält. Auch für die anomere Methylgruppe des Zuckers sind eindeutig zwei Signale zu erkennen (Abb. 3.16b), was ebenfalls das Diastereomerenverhältnis belegt.

Somit muss für die geplante Synthese bereits der Aminomalonsäure-monoester enantiomerenrein vorliegen. Dies kann durch enzymatische Verseifung der prochiralen Malonsäurediester mit dem Enzym Schweineleberesterase erreicht werden.^[130] Leider ist dies im Falle der alkylierten Aminomalonsäureester besonders problematisch. Es leuchtet unmittelbar ein, dass der ee-Wert der Verseifung dann besonders hoch sein wird, wenn die Reste R^1 und R^2 stark unterschiedlich sind. Somit sollte der Alkylsubstituent im Falle der Aminomalonester klein sein, da die Aminoschutzgruppe zwangsläufig eine gewisse Größe besitzt; ungeschützte Aminogruppen ergeben nur kleine ee-Werte. In der Tat bewährt sich die Reaktion besonders bei der Darstellung α -Methyl-substituierter quartärer Aminosäuren, wo sie breite Anwendung findet.^[151] Bei größeren Resten wie z. B. Allyl nimmt der ee-Wert bereits ab, während er bei noch größeren Substituenten präparativ nicht mehr brauchbar ist oder die Reaktion sogar zum Erliegen kommt. Ein Brom- oder gar Alkylthiosubstituent wie in **95** oder **96** kommt für eine solche Reaktion also nicht in Frage.

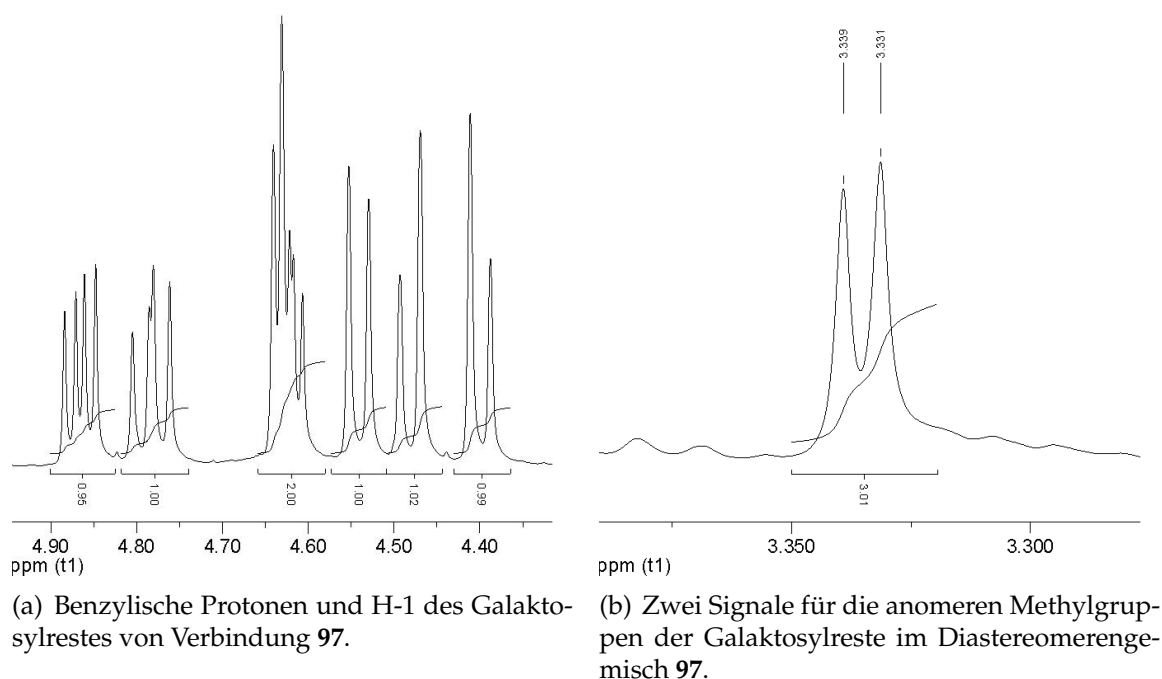


Abb. 3.16. Ausschnitte aus dem NMR-Spektrum von **97**.

Beschrieben ist die Reaktion jedoch für *Z*-geschützten 2-Allyl-aminomalonsäure-diethylester. ^[129] An die Allylgruppe könnte später durch radikalische Addition eines Thiols der Schwefelrest eingeführt werden. Für den Substituenten Allyl wird allerdings mit Schweineleberesterase nur von einem ee-Wert von 60% berichtet. ^[129] Durch Verwendung von Kaninchenleberesterase kann dieser jedoch auf 90% bei einer Reaktionszeit von zehn Tagen erhöht werden.

Da die reduktiven Bedingungen für die Abspaltung einer *Z*-Schutzgruppe sich schlecht mit Schwefel im Molekül vertragen, wurde die Reaktion hier mit dem Boc-geschützten Derivat **73** ausprobiert. Statt des Diethylesters wurde der Dimethylester verwendet, da mit Dimethylestern deutlich bessere ee-Werte erzielt werden ^[130]. Die Reaktion wird in einem Phosphatpuffer durchgeführt, wobei noch ein organisches Kosolvens zugegeben werden muss, da die Ausgangsmaterialien sonst unlöslich wären. Hier wurde dafür Aceton verwendet. Da bei der Reaktion OH⁻-Ionen verbraucht werden, wird der pH-Wert durch Titration von Natronlauge in einem Bereich um 7.5 konstant gehalten. Das Ende der Reaktion ist erreicht, wenn sich der pH-Wert nicht mehr ändert, was hier nach fünf Tagen der Fall war. Die Verseifung verlief quantitativ, wobei das Endprodukt einen spezifischen Drehwert $[\alpha]_D$ von +16.7 aufwies. Nach zweimaliger Kristallisation aus Ethylacetat/Pentan wurde ein Produkt mit einem Drehwert von +25.4 in 20%iger Ausbeute erhalten (Abb. 3.17). Die absolute Konfiguration von **74** kann als *R* angenommen werden. Dafür spricht die Selektivität des Enzyms bei ähnlichen Substraten ^[129] und

der Drehwert^[151] des Produkts. Hier sind jedoch noch weitere Untersuchungen nötig, um die Konfiguration sicher zu bestimmen.

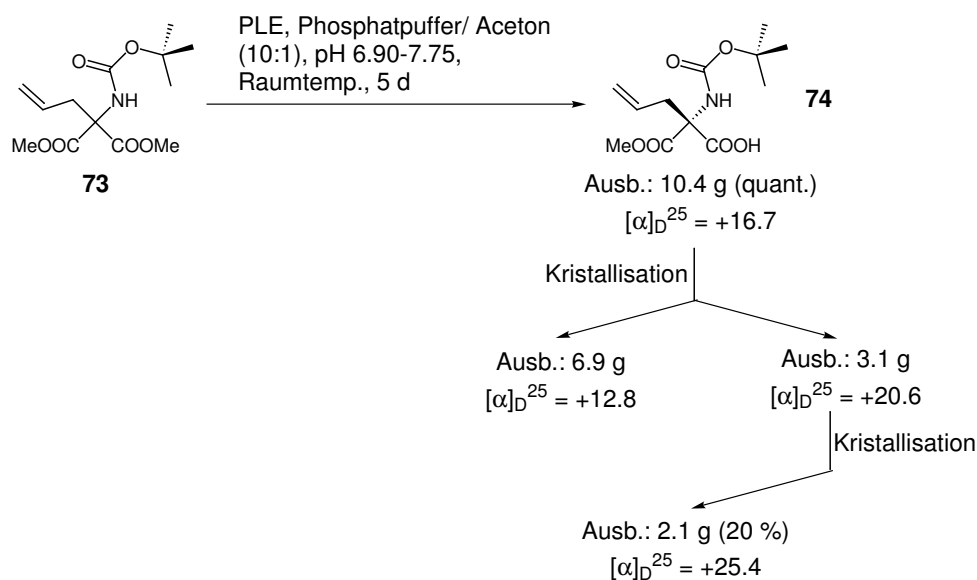


Abb. 3.17. Darstellung des chiralen Aminomalonsäureesters **74** durch enzymatische Verseifung und Kristallisation.

Peptidkupplung von Substanz **74** mit **81** ergab das Konjugat **98** in guter Ausbeute (Abb. 3.18). Abb. 3.19 zeigt anhand zweier Ausschnitte aus dem NMR-Spektrum von **98**, dass offensichtlich nur ein Diastereomer vorliegt, denn im Vergleich zum Spektrum von **97** sieht man nur einen Signalsatz, deutlich erkennbar an den Signalen für die benzyllischen Protonen (Abb. 3.19a), den Methylester und die anomere Methylgruppe (Abb. 3.19b).

Durch anschließende radikalische Addition von Benzylmercaptan konnte die Synthese der vollständig geschützten quartären Aminosäure **99** abgeschlossen werden, die nach basischer Entschützung der Carboxylgruppe für die Peptidsynthese einsetzbar ist (Abb. 3.18).

Das Zucker-Aminosäure-Konjugat **99** stellt einen wertvollen Synthesebaustein für die Glykomimetikasyntese dar, mit dem Einfluss auf die räumliche Struktur peptidischer Liganden genommen werden kann. SEEBACH et al. bauten Aminomalonesterderivate in Peptide ein und konnten diese anschließend mit hoher Diastereoselektivität alkylieren. Die resultierenden Peptide zeigen trotz geringer Kettenlänge definierte Sekundärstrukturen in Lösung, da quartäre Aminosäuren Helix-induzierend sind.^[152] Der Einbau quartärer Aminosäuren in Peptide führt außerdem zu einer konformativen Stabilisierung der Kette, was ihre Bioaktivität beeinflussen kann.^[153] Die Präsentation der Zuckerepitope auf der Peptidkette müsste ferner deutlich anders sein, wenn sie an eine quartäre Aminosäure gebunden sind, was sich auf die Zucker-Ligand-Bindung auswirken könnte. Die

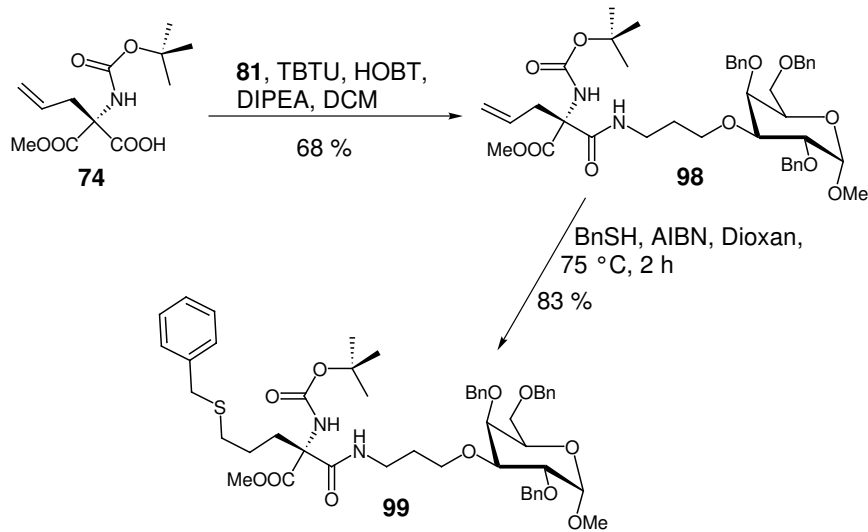


Abb. 3.18. Peptidkupplung und anschließende Addition von Benzylmercaptan an **98** zu **99**.

Mercaptopropyl-Seitenkette bietet weiterhin die Möglichkeit, relativ einfach Funktionalisierungen vorzunehmen, z. B. mit Markermolekülen wie Fluoreszenzlabeln o. ä.

In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch aus zwei Gründen von einer weiteren Verwendung dieses Bausteins abgesehen. Zum einen liegen in dieser Verbindung drei Koh-

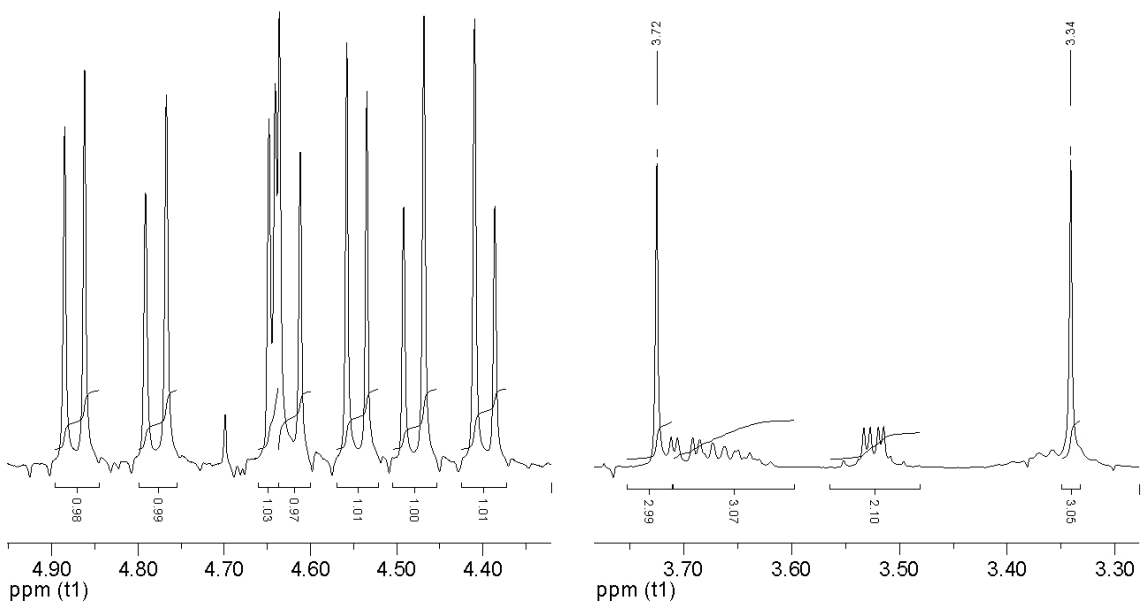


Abb. 3.19. Ausschnitte aus dem NMR-Spektrum von **98**.

lenstoffatome zwischen C^α und der Schwefelfunktion. Um hier einen einheitlichen Abstand in allen Bausteinen des Peptidstranges zu erreichen, könnte man für die Synthese des Peptides nicht auf natürliche und kommerziell erhältliche Aminosäurebausteine zurückgreifen, was einen extremen synthetischen Mehraufwand bedeuten würde. Zum anderen stellt die Peptidkupplung solcher α,α -disubstituierter Aminosäuren an fester Phase trotz Weiterentwicklung der Kupplungstechniken eine Herausforderung dar, welche den Aufwand in weitere Höhen treiben würde. [154]

Daher wurde zunächst die Entwicklung eines Konjugates eines T-Antigen-Mimetikums und einer proteinogenen Aminosäure (hier: Asparaginsäure) angestrebt. Dieses Konjugat könnte dann genauso in einen Oligocystein-Strang alternierender Stereochemie eingebaut werden, indem es den Platz eines L-Cysteins einnimmt.

3.6 Synthese anderer Zucker-Bausteine für die Glykopeptidsynthese

Eine der natürlichen Verknüpfungen von Zuckerstrukturen mit Proteinen ist die *N*-glykosidische Bindung an Asparaginsäure in den *N*-Glykanen (s. Kap. 1). Zur Synthese von *N*-Glykopeptiden gibt es prinzipiell zwei Möglichkeiten: Entweder, man baut ein Kohlenhydrat-tragendes Asparaginderivat in den Peptidstrang ein, oder man führt den Saccharidteil erst nach der Peptidsynthese durch Kupplung in die Seitenkette eines Asparaginsäure-Bausteins ein. Für den ersteren Fall benötigt man geeignete Zucker-modifizierte Aminosäurebausteine, von denen eine Vielzahl synthetisiert wurde. Hier wurde versucht, eine Abwandlung dieser natürlichen Art der Konjugation durch Verknüpfung eines geeigneten Asparaginsäurederivates mit dem T-Antigen-Mimetikum **81** zu benutzen, was zu einem Spacer-verbundenen Zucker-Asparagin-Konjugat führen würde.

Für die Nutzung der natürlichen Zucker-Asparagin-Verknüpfung als Vorbild für die Glykopeptidmimetikasyntese gibt es einige Beispiele in der Literatur. PAULSEN, THIEM et al. entwickelten ein Glukoasparagin-Analogon, in dem das Glukosamin zum cyclischen Ether reduziert ist und die Bindung zum Asparagin über die 2-Aminofunktion erfolgt, um die Stabilität der labilen *N*-glykosidischen Bindung gegenüber Enzymen zu erhöhen. [155] KIESSLING et al. nutzten die Verknüpfung zu Asparaginsäure über einen amino-terminierten Spacer, um ein sulfatiertes Disaccharid als L-Selectin-Ligand in kurze Peptidstränge einzuführen [156]; eine ähnliche Vorgehensweise wurde für die Festphasensynthese einer Neoglykolipid-Bibliothek genutzt [102].

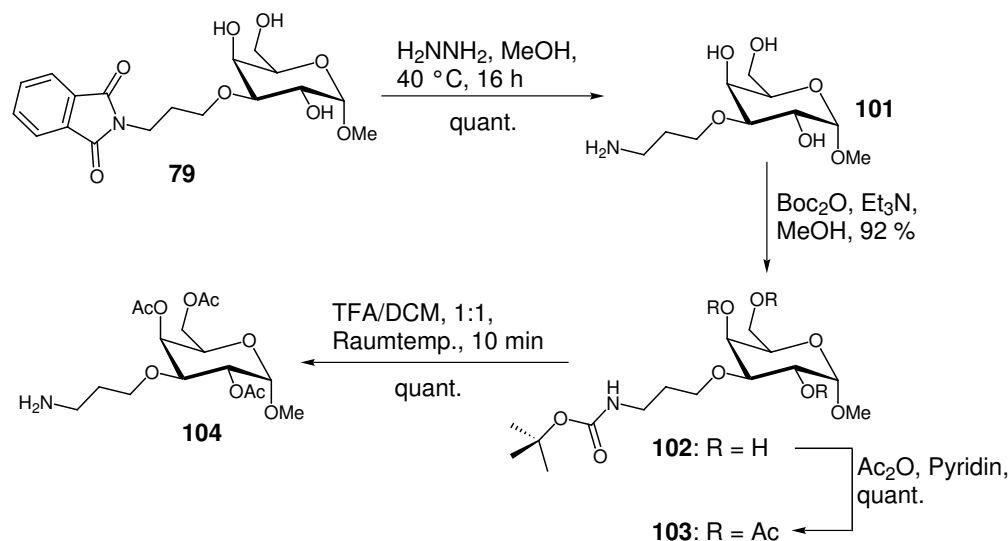


Abb. 3.20. Darstellung des acetylgeschützten Galaktosebausteins **104**.

Als geeignetes Asparaginsäure-Derivat wurde hier auf kommerziell erhältlichem Fmoc-Asp(OH)-O^tBu **100** zurückgegriffen. An die freie Carboxylgruppe der Seitenkette kann der Zucker durch Peptidbindung angeknüpft werden, anschließend wird der *tert*-Butylester sauer gespalten und das erhaltene Produkt steht für eine Peptidsynthese nach der Fmoc-Strategie zur Verfügung. Im Hinblick auf die weitere Verwendung eines solchen Derivates stellte sich jedoch die Frage nach der Wahl der Zucker-Schutzgruppen neu. Für diese Syntheseroute sind nämlich die Benzylschutzgruppen am Zucker nicht notwendig. Da sich Acetylgruppen in der Festphasenglykopeptidsynthese bewährt haben und leicht am Harz abgespalten werden können, wurde versucht, den Zuckerbaustein mit Acetylschutzgruppen zu synthetisieren (Abb. 3.20).

Hierzu musste, da die schöne Synthese von **79** weiterhin benutzt werden sollte, ein Schutzgruppenwechsel vollzogen werden, da Phthalimid- und Acetylschutzgruppen offensichtlich nicht orthogonal sind. Das Amin **101** wurde durch Entschützung der Phthalimidogruppe mittels Hydrazinolyse erhalten. Es kann durch Essigester-Extraktion seiner mit Eisessig angesäuerten wässrigen Lösung gereinigt werden, wodurch das Nebenprodukt Phthalhydrazid vollständig entfernt wird, aber auch als Rohprodukt eingesetzt werden.

Es wurde Boc-geschützt und man erhielt **102**, welches aus Essigester hervorragend kristallisiert und so rein gewonnen werden konnte. Anschließende Acetylierung führte in quantitativer Ausbeute zum vollständig geschützten Derivat **103**, welches unter Standardbedingungen zu **104** entschützt werden konnte.

Man sieht, dass die Synthesesequenz unter Verwendung der ausgearbeiteten Methode zur regioselektiven Einführung der Phthalimidogruppe trotz des notwendigen Schutz-

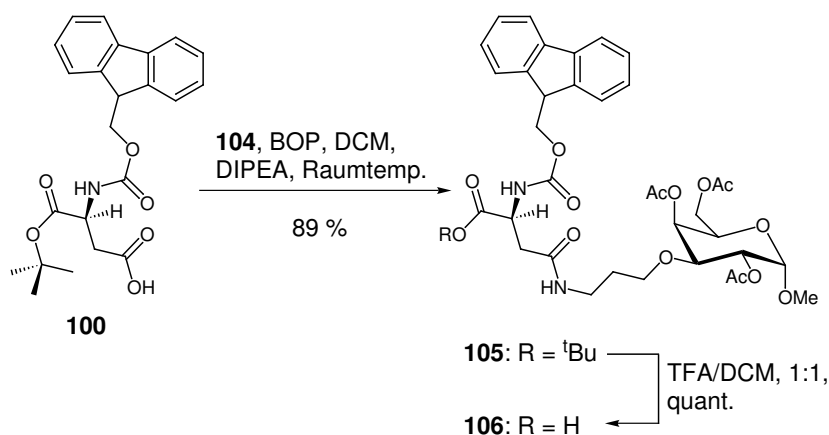


Abb. 3.21. Kupplung des Galaktosebausteins **104** mit dem Asparaginsäurederivat **100** und anschließende Entschützung zu **106**.

gruppenwechsels noch effizient ist: **104** ist mit nur einer Säulenchromatographie im Multigrammaßstab darstellbar, und alle Reaktionen verlaufen praktisch quantitativ.

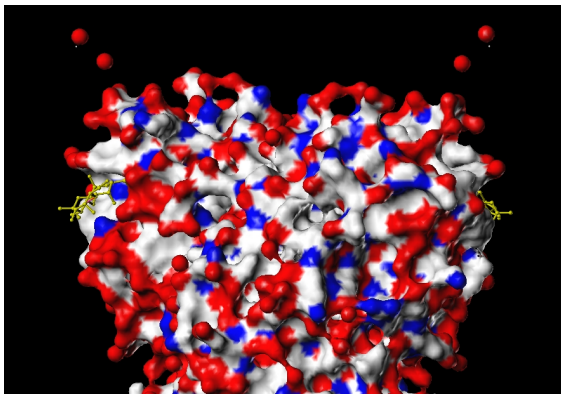
Das Amin **104** konnte nun wiederum in sehr guter Ausbeute mit dem käuflichen Asparaginsäurederivat **100** gekuppelt werden. Anschließende Freisetzung der Carboxylgruppe ergab den zur Glykopeptidsynthese geeigneten Baustein **106** (Abb. 3.21).

3.6.1 Betrachtungen zur Kristallstruktur des tetrameren MPA

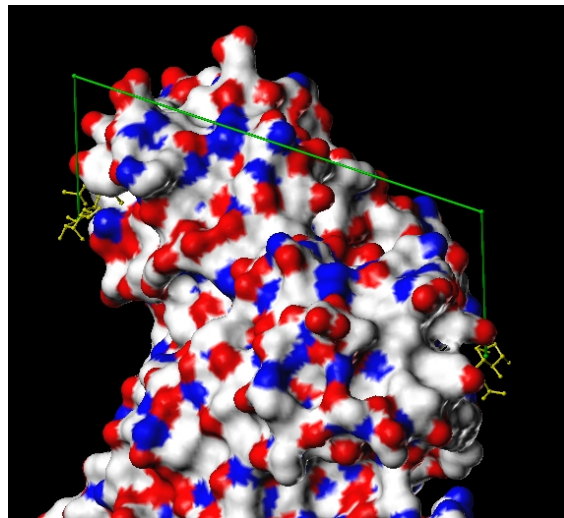
Als an diesem Punkt die Möglichkeit bestand, aus der Brookhaven Peptide Database auch die Struktur des Tetramers herunterzuladen^[157] und sich genauer anzuschauen, wurde klar, dass es nach der Konzeption des Projektes nötig war, einen gewissen Abstand zwischen Peptidrückgrat und Kohlenhydratepitopen zu erzeugen. Wie man in Abb. 3.22a sieht¹, liegen die Bindungstaschen des Proteins jeweils nicht direkt auf der Oberfläche einer Seite, sondern seitlich. Daher erreicht man sie wahrscheinlich nicht beide gleichzeitig von einem starren, linearen Gerüst aus, wenn man nicht längere Spacer einbaut. Abb. 3.22b zeigt schematisch, wie ein solcher Ligand beide Bindungstaschen erreichen würde. In Abb. 3.22c erkennt man die gemessenen Längen, die natürlich nur als Anhaltspunkt für die Planung der Spacer dienen können. Als Abstand der Bindungstaschen b voneinander ergibt sich ein Wert von ca. 47 Å, was sehr gut zu der vorher gemachten Abschätzung passt. Als notwendigem Abstand a zwischen Peptidrückgrat und Zuckerepitop erhält man einen Wert von ca. 18 Å. Dieser Erkenntnis sollte durch Einführung eines Spacers Rechnung getragen werden, welcher nach folgenden Gesichtspunkten maßgeschneidert wurde.

¹Ich danke Dr. A. Fuchs für die Hilfe beim Erstellen und Interpretieren der Bilder.

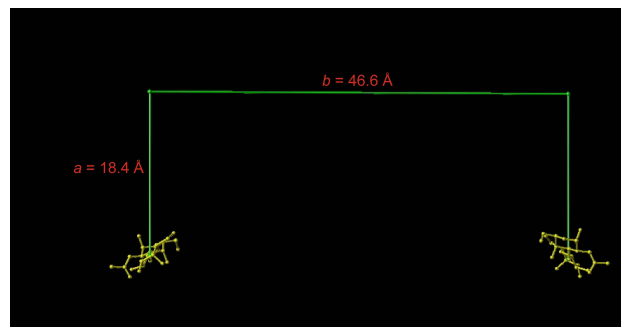
- Der optimale Spacer sollte in gestrecktem Zustand etwa die oben bestimmte Distanz überspannen können, aber nicht zu lang sein, da sonst das Konzept des definierten Abstandes der Zuckerepitope nicht mehr greifen könnte.
- Der Spacer sollte hydrophil sein, damit er in Wasser eine möglichst gestreckte Konformation einnimmt.



(a) Darstellung der schmalen Seite des Proteins mit beiden Bindungstaschen und den Kohlenhydratliganden.



(b) Prinzip der Bestimmung des notwendigen Abstandes der beiden Zuckerliganden im synthetischen Liganden. Über die Proteinoberfläche wurde eine gerade Linie mit einem gewissen Abstand zum Protein gelegt und von den Enden jeweils das Lot bis in den aus der Bindungstasche ragenden Zuckerring des T-Antigens gefällt.



(c) Die Abstände wurden ausgemessen. a ist der notwendige Abstand des Peptidrückgrates vom Zucker-epitop, b der Abstand zwischen den beiden Zucker-epitopen.

Abb. 3.22. Bestimmung der notwendigen Geometrien im Proteinliganden. ^[158]

- Die Termini des Spacers sollten eine Amino- bzw. eine Carboxylgruppe tragen, damit das Molekül funktional zu den bereits vorhandenen Spacern passt und dort als Verlängerung eingebaut werden kann.
- Relativ leichte Zugänglichkeit und Variierbarkeit sollte gewährleistet sein.

Diese Kriterien erfüllt Verbindung **107** (Abb. 3.23). Eine Schwierigkeit bei der Synthese derartiger Verbindungen besteht in der Desymmetrisierung der Kette. Dazu wurde die literaturbekannte einfache Boc-Schützung des kommerziell erhältlichen Diamins **108** genutzt, die das unsymmetrische Amin **109** in praktisch quantitativer Ausbeute ohne Reinigung liefert.^[159] Anschließende Kettenverlängerung mit Bernsteinsäureanhydrid ergab die Säure **107** wiederum in sehr guter Ausbeute und ohne weitere Reinigung.

Diese wurde jetzt in einer Peptidkupplung unter Standardbedingungen mit dem Galaktosid **104** umgesetzt und das Galaktosederivat **110** mit dem verlängerten Spacer in hervorragender Ausbeute erhalten (Abb. 3.23).

Exkurs: Darstellung eines Spacer-verbundenen Zucker-Aminosäurekonjugates aus Tyrosin durch Sonogashira-Kupplung

Neben der Suzuki-Kupplung käme als Methode zur Verknüpfung des Galaktosederivates **64** mit einem Aminosäurederivat auch die Sonogashira-Kupplung in Frage. Sie wurde z. B. in Verbindung mit der Einführung eines Ethylenglykol-Spacers zur Anknüpfung eines Biotin-Labels an den komplexen Naturstoff Phorboxazol A benutzt (Abb. 3.24).^[160]

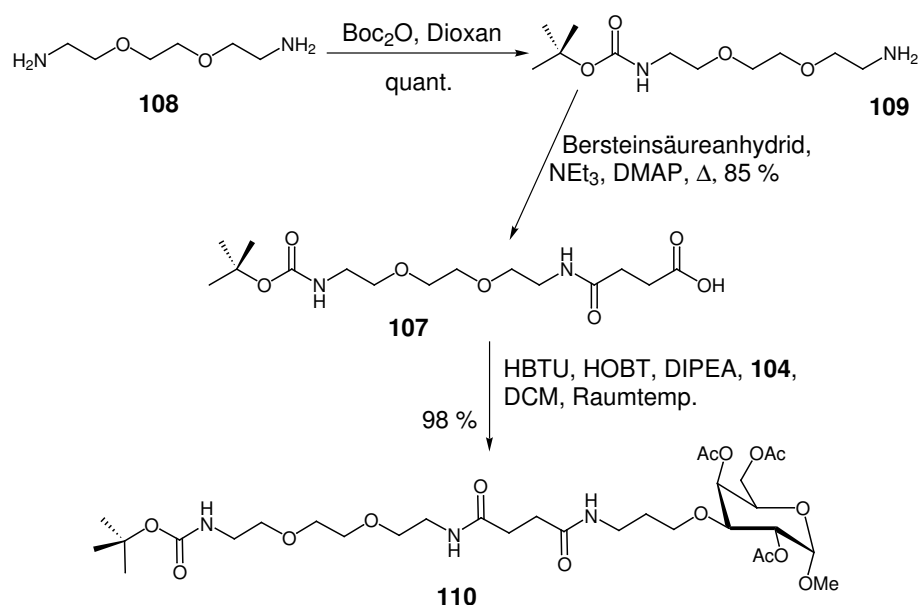


Abb. 3.23. Synthese des Galaktosederivates **110** mit verlängertem Spacer.

Dies zeigt, dass sie sich hervorragend für derartige Konjugationen multifunktionaler Moleküle eignet. Daher sollte sie an dieser Stelle auch für die Verknüpfung von **64** mit einer Aminosäure über einen Spacer evaluiert werden.

Die Synthese des Spacers **111** wurde in der Literatur durch Monosilylierung von Triethylenglykol mit anschließender Propinylierung und Desilylierung durchgeführt. Hier wurde ein anderer Weg gewählt: Triethylenglykol **112** lässt sich praktisch quantitativ und ohne Reinigung tritylieren^[161] (im Gegensatz zu der Silylierung, für die man eine Literaturlausbeute von 50 % findet^[160]). Auch die anschließende Propinylierung unter Standardbedingungen verlief praktisch quantitativ, was wiederum eine Reinigung des Produkts überflüssig machte. Die Entfernung des Tritylrestes konnte schließlich mit hervorragender Ausbeute von 93 % durchgeführt werden. Damit ist der Alkohol **111** in einer Gesamtausbeute von 89 % gegenüber 28 % Literaturlausbeute^[160] zugänglich (Abb. 3.25).

Eine Aminosäure, die sich zur Anknüpfung eines solchen Spacers eignet, ist das Tyrosin, da es eine phenolische Hydroxygruppe besitzt, die leicht durch Mitsunobu-Reaktion mit einem Alkohol gekuppelt werden kann, wofür es auch Beispiele in der Literatur gibt^[162]. Die Hydroxygruppe des Tyrosins ist darüber hinaus auch in natürlichen O-Glykoproteinen eine Anknüpfungsstelle für Oligosaccharide. So findet man die Struktur Glc(α 1-O)Tyr im an der Glykogensynthese beteiligten Enzym Glycogenin^[163], und Gal(β 1-O)Tyr kommt in bakteriellen Glykoproteinen vor^[164,165].

Das literaturbekannte Boc-Tyr-OBn **115**, welches in zwei Stufen aus Tyrosin zugänglich ist^[166], wurde mit Alkohol **111** umgesetzt, um das Spacer-modifizierte Tyrosinderivat **116** zu erhalten (Abb. 3.26). Die folgende Sonogashira-Kupplung mit dem Alkenyliodid **64** ergab nach Säulenchromatographie Verbindung **117** jedoch nicht in reiner Form;

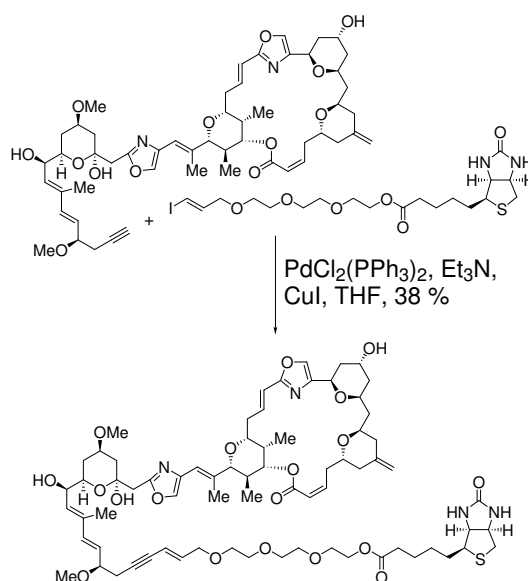


Abb. 3.24. Darstellung eines Biotin-gelabelten Derivates des marinen Naturstoffes Phorboxazol A durch Sonogashira-Kupplung (nach Lit.^[160]).

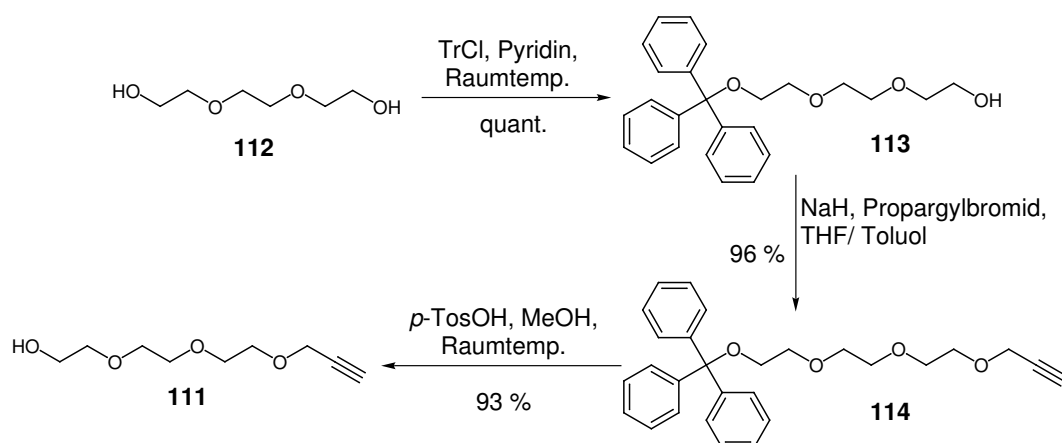


Abb. 3.25. Synthese des mono-propargylierten Triethylglykols **111**.

ferner trat sehr schnell Zersetzung ein, was auf das konjugierte π -System zurückzuführen sein dürfte. Daher wurde **117** direkt hydriert, was gleichzeitig zu einer Sättigung der Doppel- und Dreifachbindung und zur Entschützung des Benzylethers führte. Die Säure **118** wurde in einer moderaten Gesamtausbeute von 26 % über zwei Stufen erhalten. Hier ist noch Optimierung bei der Sonogashira-Kupplung nötig, um die Ausbeute zu verbessern. Die Verwendung von Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) oder von Bis-(triphenylphosphin)-palladium(II)-dichlorid zeigte keinen Ausbeuteunterschied.

Zusammenfassend kann man sagen, dass durch diese Synthesesequenz eine neue, interessante Möglichkeit aufgezeigt wurde, Spacer-verknüpfte Zucker-Aminosäure-Konjugate wie **118** für die Synthese artifizierlicher Glykopeptide darzustellen. Die Synthese eines

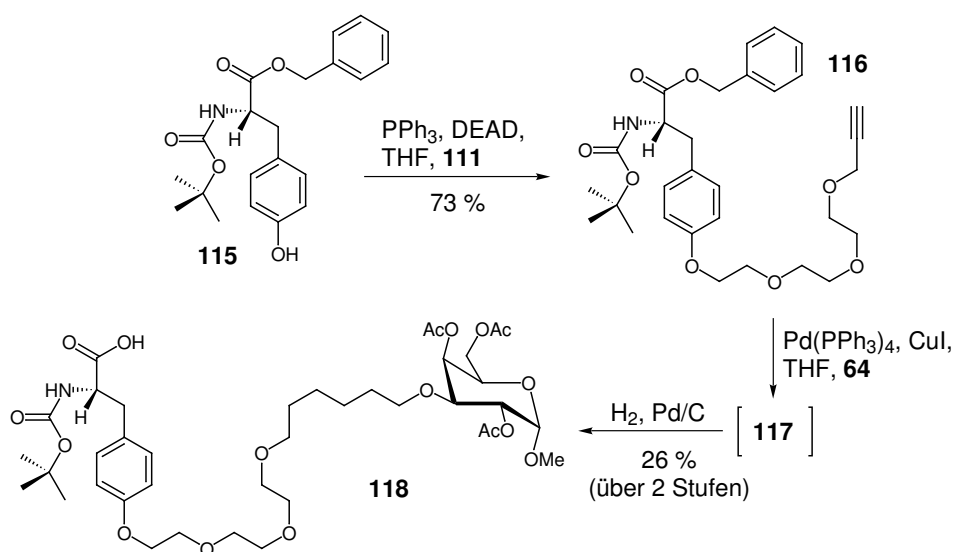


Abb. 3.26. Darstellung des Zucker-Aminosäure-Konjugates **118** durch Sonogashira-Kupplung.

solchen Konjugates, welches durch seine ungewöhnliche Verknüpfung des Zuckerteils auffällt (über Position 3, nicht über das anomere Zentrum), konnte in akzeptabler Ausbeute erreicht werden.

3.7 Glykopeptidsynthese

3.7.1 Syntheseplanung

Da nun der Spacer-gebundene Galaktosebaustein **110** zur Verfügung stand, konnte mit der Synthese der Neoglykopeptide begonnen werden. Der Baustein wurde nicht vor der Peptidsynthese an Asparagin gekuppelt – bei einem so großen und relativ komplexen Kohlenhydratbaustein bietet es sich eher an, ihn nachträglich an eine Seitenkette des harzgebundenen Peptids zu kuppeln.

Weil ein solch großes Cystein-Oligomer evtl. schwierig zu handhaben ist, und seine Eigenschaften kaum vorhersehbar sind, wurde zunächst die Synthese anderer Zielpeptide in Angriff genommen. Begonnen wurde mit der Synthese eines Stranges, der abwechselnd L-Lysin und L-Alanin enthält. Die Aminofunktionalität in der Seitenkette des Lysins bietet die Möglichkeit, dort nachträglich noch Thiolgruppen in geschützter Form durch Reaktion mit geeigneten Reagenzien in das Peptid einzubringen, was synthetisch erheblich aussichtsreicher erscheint als die Darstellung des Oligocysteinstranges. Ferner könnte ein derartiger Strang über Amidbildung auf einer aktivierten, Carboxylgruppen-tragenden Chip-Oberfläche gebunden werden, was weitere Möglichkeiten der Immobilisierung eröffnet. Diese beiden Optionen sind in Abb. 3.27 dargestellt. Der abwechselnde Einbau der Lysinbausteine bietet außerdem die Möglichkeit, einen gestreckten Strang bei Orientierung aller Lysin-Seitenketten zu einer Seite zu realisieren. Alanin wurde als einfacher Kobaustein gewählt. Da die angestrebten Strukturen mit 14–22 Aminosäuren bereits recht große Peptide darstellen, kommt eine Synthese in flüssiger Phase nicht mehr in Frage, die Zielpeptide müssen an fester Phase synthetisiert werden.

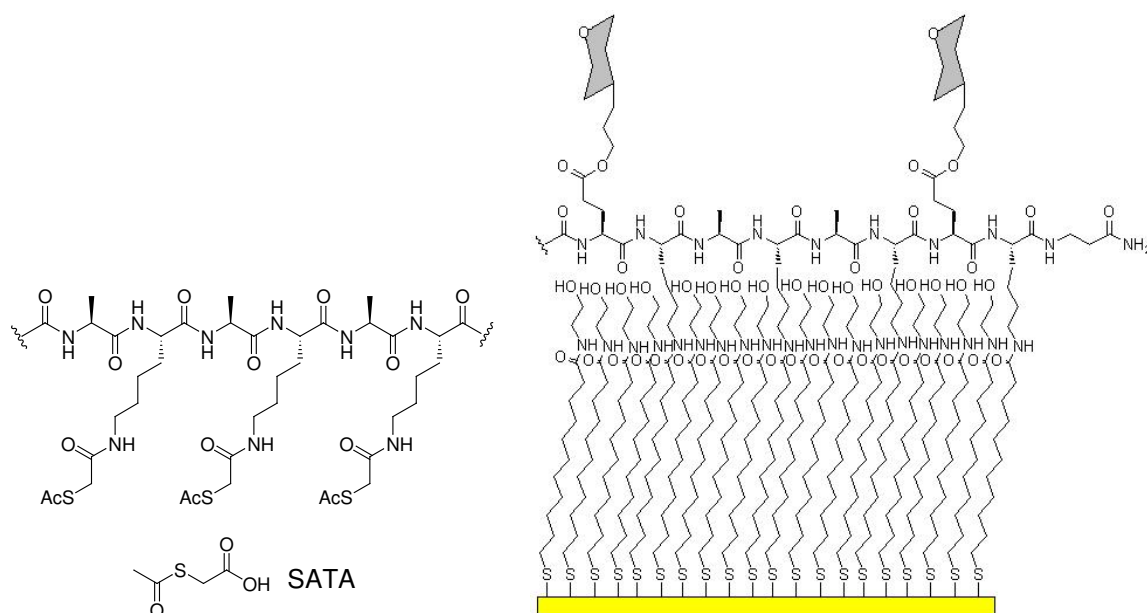
3.7.2 Festphasensynthese von Peptiden und Glykopeptiden

Mit Hilfe der von MERRIFIELD erstmals beschriebenen Festphasenpeptidsynthese^[167] ist es möglich, Peptide und Glykopeptide an der festen Phase schrittweise aufzubauen. Durch die Verankerung des Peptidstranges an einer festen Phase entfallen zeitaufwändige Reinigungsschritte. Eingesetzte Überschüsse der Reagenzien können durch einfaches Waschen entfernt werden. Dadurch besteht die Möglichkeit, die einzelnen Schritte durch Verwendung eines Syntheseroboters zu automatisieren.

Als feste Phase dienen Polymerkügelchen, die meist aus mit Divinylbenzol vernetztem Polystyrol bestehen. Dieses Material quillt in bestimmten Lösungsmitteln (z. B. DMF, Chloroform) stark auf, wodurch die Reaktanden auch ins Innere des Harzes gelangen können. Die wachsende Peptidkette ist über einen Linker mit der Festphase verbunden. Dieser dient einerseits als Abstandshalter, andererseits als chemoselektiv spaltbare Sollbruchstelle zur Freisetzung des fertigen Produkts. Für die Auswahl des Linkers ist nicht nur die gewählte Synthesestrategie ausschlaggebend, sondern auch das gewünschte Produkt. So können die Peptide als freie Säuren, aber auch als Amide oder Hydrazide gewonnen werden. Außerdem gibt es Linker, die orthogonal zu den Peptidschutzgruppen gespalten werden können, wodurch vollgeschützte Peptidfragmente zugänglich werden.

Der Aufbau der Peptidkette erfolgt durch die wiederholte Durchführung der Peptidkupplung und der Entschützung der Aminoschutzgruppen an N^α . Beide Reaktionen müssen in sehr hohen Ausbeuten verlaufen, um eine gute Gesamtausbeute und möglichst große Homogenität des Produktes zu gewährleisten.

Als Schutzgruppen für die Aminofunktion wird entweder die Boc- oder die Fmoc-Schutzgruppe gewählt, die sich beide praktisch quantitativ spalten lassen. Da die Boc-Schutzgruppe säurelabil ist, muss bei einer Peptidsynthese nach der Boc-Strategie der



(a) Modifikation der Lysin-Seitenketten durch Amidbildung mit dem Pentafluorphenylester von SATA (S-Acetylthioessigsäure).

(b) Schematische Darstellung eines der angestrebten Neoglykopeptide, auf einer Monoschicht immobilisiert durch Peptidkupplung.

Abb. 3.27. Möglichkeiten der Modifikation und Immobilisation der Neoglykopeptide auf Lysin-Alanin-Basis.

Linker säurestabil sein. Bei der Fmoc-Strategie sind die Verhältnisse umgekehrt: Die Schutzgruppe ist basenlabil, und das fertige Produkt wird unter sauren Bedingungen vom Harz gespalten. Die Seitenketten der Aminosäuren werden dabei vorteilhafterweise auch durch säurelabile Gruppen geschützt, so dass die Abspaltung vom Harz und die Seitenkettenentschützung gleichzeitig erfolgt. Häufige Verwendung finden folglich z. B. *tert*-Butyl- oder Tritylether für die Hydroxygruppe von Serin oder die Boc-Schutzgruppe für die Aminogruppe von Lysin.

Problematischer ist das Knüpfen der Peptidbindung. Hierzu können direkt die Aktivester der Aminosäuren eingesetzt werden. Die Aktivierung der Carbonsäurefunktion kann auch durch Bildung gemischter Anhydride mittels Chlorameisensäureestern oder von *O*-Acylisoharnstoffen durch Verwendung von Carbodiimidreagenzien wie DIC erfolgen, was den Einsatz der freien Säuren erlaubt. Meist werden heute moderne Kupplungsreagenzien vom Phosphonium- (BOP) ^[168] oder Uronium-Typ² (HBTU, TBTU) ^[170] benutzt. Diese erzeugen direkt den Aktivester, der dann mit der Aminokomponente zum Amid reagiert. Für schwierigere Kupplungen, z. B. von Peptidfragmenten, α,α -disubstituierten Aminosäuren oder Aminosäuren mit sekundärer Aminogruppe, stehen spezielle Kupplungsreagenzien wie HATU ^[171] oder PyBroP ^[154] zur Verfügung.

Ein besonderes Problem bei der Peptidkupplung stellt die Gefahr der Epimerisierung der Aminosäuren im Kupplungsschritt dar, deren Mechanismus in Abb. 3.28 dargestellt ist. Sie wird durch Zusatz von HOBT, welches das Acyluronium-Zwischenprodukt **122** zum Aktivester **123** abfängt, bevor dieses zum leicht racemisierenden Oxazolone **124** abreagieren kann, unterdrückt. Die Neigung zur Racemisierung ist bei den einzelnen Aminosäuren unterschiedlich und kann auch durch die Seitenkettenschutzgruppe beeinflusst sein. Das ursprünglich hier als Aminosäurebaustein in Betracht gezogene Cystein beispielsweise ist besonders anfällig für die Racemisierung, so dass bei seiner Verwendung besonders auf die Kupplungsbedingungen geachtet werden muss. ^[172]

Um eine möglichst vollständige Umsetzung im Kupplungsschritt zu erreichen, arbeitet man normalerweise mit großen Überschüssen an Aminosäure (ca. vierfach) und führt häufig Doppelkupplungen durch. Dies ist besonders bei Verwendung wertvoller Bausteine wie glykosylierten Aminosäuren problematisch, weshalb diese Kupplungen auch bei automatisierten Synthesen oft manuell durchgeführt werden. Trotz dieser Maßnahmen sind gerade bei größeren Peptiden Deletionssequenzen nicht zu vermeiden, und die Methode bleibt auf ca. 50 Aminosäuren limitiert.

²Diese Reagenzien besitzen, wie erst nach ihrer Einführung erkannt wurde ^[169], eigentlich keine Uronium-, sondern eine Guanidinium-Struktur, die Namen wurden jedoch beibehalten.

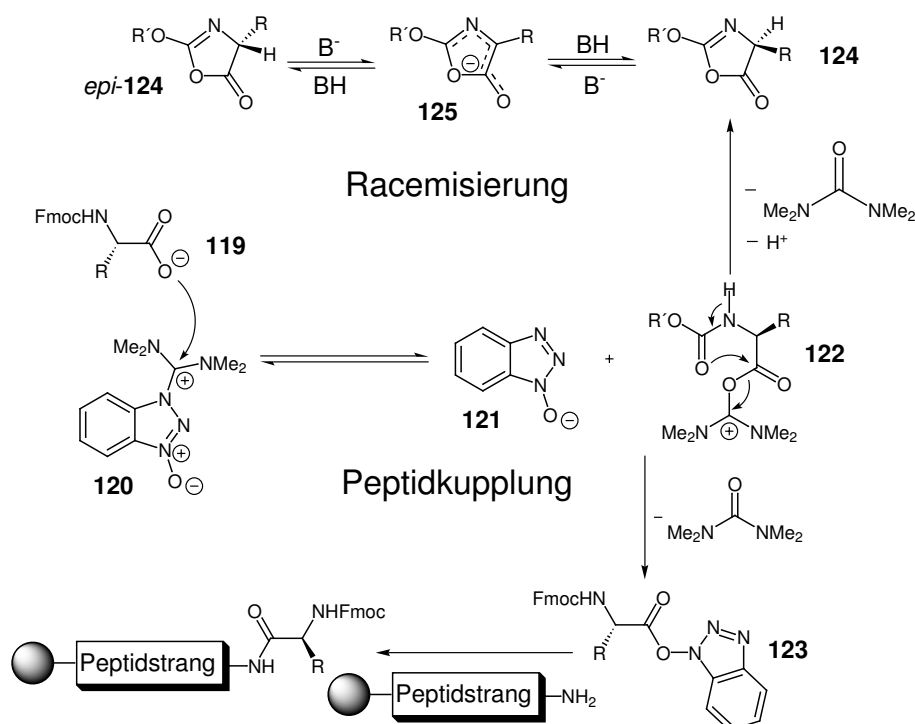


Abb. 3.28. Mechanismus der Aminosäureaktivierung durch ein Uronium-Aktivierungsreagenz **120** wie HBTU. Die unerwünschte Oxazolombildung, die zur Epimerisierung führen kann, wird durch einen Angriff des Carbonylsauerstoffs der Urethanschutzgruppe im aktivierten Säurederivat **122** eingeleitet.

3.7.3 Durchgeführte Synthesen

Die Synthese der Neoglykopeptide (Abb. 3.29) erfolgte mittels Festphasensynthese nach der Fmoc-Strategie, d. h. es wurde ein Harz mit einem säurelabilen Linker gewählt (Rink Amid MBHA-Harz^[173], s. Abb. 3.29) welches gleichzeitig – zur permanenten Blockierung – das C-terminale Amid lieferte. Als erste Aminosäure wurde β -Alanin ans Harz gekuppelt, da dieser Kupplungsschritt relativ schwierig und racemisierungsgefährdet ist. β -Alanin ist nicht chiral, sterisch kaum gehindert und sollte als zusätzlicher Abstandhalter zum Harz die Kupplung der nächsten Aminosäuren erleichtern.

Nun folgte der Aufbau der Peptidkette mit alternierender Abfolge von L-Lysin und L-Alanin. Als Lysinderivat wurde Fmoc-Lys(Boc)-OH eingesetzt, da damit die Seitenkette bei der Abspaltung simultan entschützt wird. An zwei Stellen wurde – in verschiedenen Abständen – statt Alanin eine an der Seitenkette Allylester-geschützte Glutaminsäure zum Anknüpfen der Kohlenhydratbausteine eingebaut. Glutaminsäure wurde statt Asparaginsäure verwendet, da bei Seitenkettenaktivierung letzterer als unerwünschte Nebenreaktion die Bildung eines Succinimids eintreten kann (Abb. 3.30), welches nicht kupplungsaktiv ist; dies sollte daher von vornherein vermieden werden. Die Synthese wurde mit einer permanenten Blockierung des N-Terminus durch Acetylierung abge-

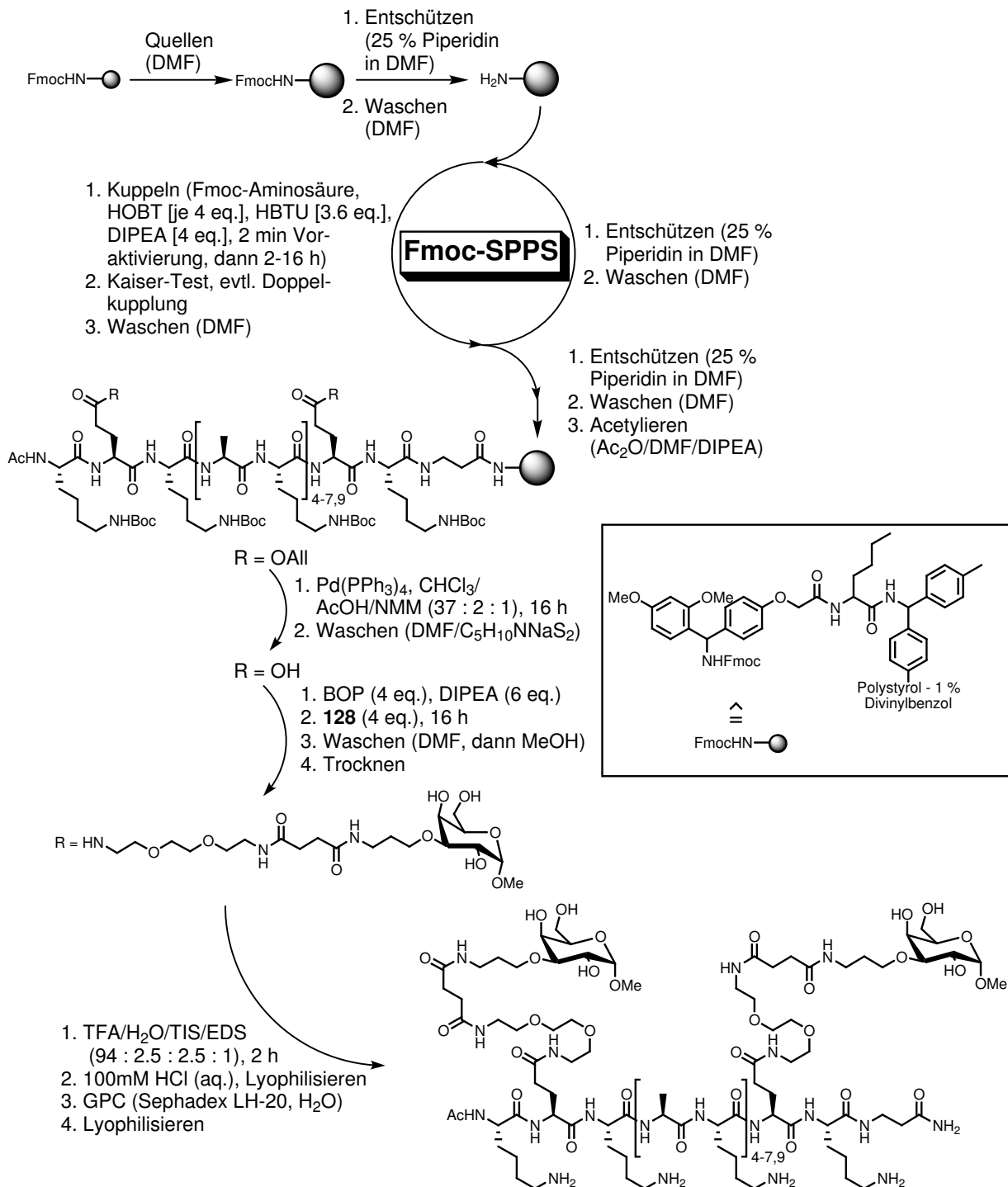


Abb. 3.29. Schematische Darstellung der durchgeführten Festphasen-Peptidsynthese mit anschließender Seitenkettenentschützung der Glutaminsäuren, Kupplung des Galaktosederivats **128** und Abspaltung vom Harz.

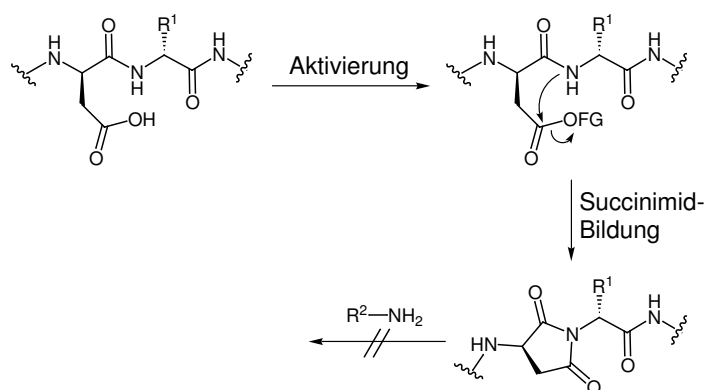


Abb. 3.30. Succinimidbildung als unerwünschte Nebenreaktion bei der Seitenkettenaktivierung einer Asparaginsäure in einem harzgebundenen Peptid.

schlossen.

Die Allylester der beiden Glutaminsäuren können anschließend orthogonal zur Boc-Schutzgruppe und zum Rink-Linker nach einem sehr schonenden Protokoll abgespalten werden.^[174,175] Hierzu wird ein Pd(0)-Katalysator eingesetzt, der mit dem Allylrest einen π -Komplex bildet und auf diese Weise die Säure freisetzt. Gearbeitet wird dabei unter neutralen Bedingungen, was die Methode besonders für die Synthese labiler Verbindungen wertvoll macht.^[176] Nach einer Reaktionszeit von ca. 16 h konnte bei allen Synthesen ein vollständiges Verschwinden des Eduktes festgestellt werden; auch einfach entschütztes Peptid wurde nicht detektiert. Die Reaktionskontrolle wurde bei diesem und dem folgenden Schritt mittels einer Probeabspaltung vom Harz und anschließender MALDI-TOF-MS-Spektrometrie durchgeführt. Dabei zeigten sich teilweise deutliche Peaks, die 96 Da bzw. Vielfache davon höher lagen, als die erwartete Produktmasse. Vermutlich entstehen sie durch Trifluoracetylierung der Lysin-Aminogruppen. Nach der Probeabspaltung wurde nämlich der Rückstand in einer Mischung aus Dichlormethan und Ethanol aufgenommen und anschließend auf die MALDI-Platte aufgebracht. Dabei könnte verbliebene TFA aus der Abspaltung unter den stark sauren Bedingungen mit Ethanol verestern, und dieser Ester scheint reaktiv genug zu sein, um die Aminogruppen der Lysinbausteine zu acylieren. Dies ist insofern plausibel, da derartige Peaks in den Spektren der Endprodukte nicht mehr auftraten.

Für die Kupplung der Kohlenhydratbausteine muss zunächst eine Aktivierung der harzgebundenen Glutaminsäurereste des Peptids erfolgen. Hierzu wurde BOP eingesetzt, da bei diesem Kupplungsreagenz auf Phosphonium-Basis nicht die Gefahr der Guanidin-Bildung mit dem freien Amin des Zuckerbausteins besteht. Diese Nebenreaktion erfolgt durch einen nukleophilen Angriff des Amins auf den positivierten Kohlenstoff des Uronium-Reagenzes und kann eintreten, wenn die Carbonsäure-Aktivierung lang-

sam erfolgt, beispielsweise bei sterisch gehinderten Aminosäuren, Segmentkupplungen oder Peptid-Cyclisierungen. Sie tritt bei dem besonders reaktiven HATU am schnellsten auf, während Phosphonium-basierte Reagenzien diese Reaktion nicht eingehen und somit auch im Überschuss eingesetzt werden können. [177]

Zunächst musste die Boc-Gruppe des Zuckerbausteins **110** entfernt werden (Abb. 3.31). Dies gelang unter Standardbedingungen zwar problemlos, das erhaltene, ölige Produkt konnte jedoch auch durch mehrfaches Kodestillieren mit Toluol und ausgiebiges Trocknen im Vakuum nicht von größeren Mengen TFA befreit werden. Lyophilisation aus verdünnter wässriger Salzsäure zur Entfernung von TFA führte schließlich zu einer teilweisen Abspaltung der Acetylgruppen. Daher wurde beschlossen, die Acetylgruppen bereits vor der Entfernung der Boc-Gruppe abzuspalten. Dies sollte bei der späteren Anknüpfung an das Peptid keine Probleme bereiten. [178] Die Entschützung von **110** unter Zemplén-Bedingungen ergab **127**. Um an dieser Stelle auf die Verwendung der TFA verzichten zu können, wurde eine andere interessante Boc-Entschützungsmethode ausprobiert. In der Literatur ist die Entschützung mit stark saurem Ionenaustauscher beschrieben. [179] Nach der Entschützung haftet das entstandene Amin durch ionische Wechselwirkungen an diesem Harz, welches daher durch Waschen von Nebenprodukten befreit werden kann. Das Produkt wird dann mit Ammoniak in Methanol freigesetzt. Leider konnte mit **127** keine Reaktion mit dem Ionenaustauscher Amberlyst 15 festgestellt werden, weswegen wiederum auf TFA zurückgegriffen wurde. Man erhielt bei der Entschützung wieder ein stark TFA-haltiges Öl, welches aber nun – ohne eine Acetylierung desamins befürchten zu müssen – mit basischem Ionenaustauscher von TFA befreit wer-

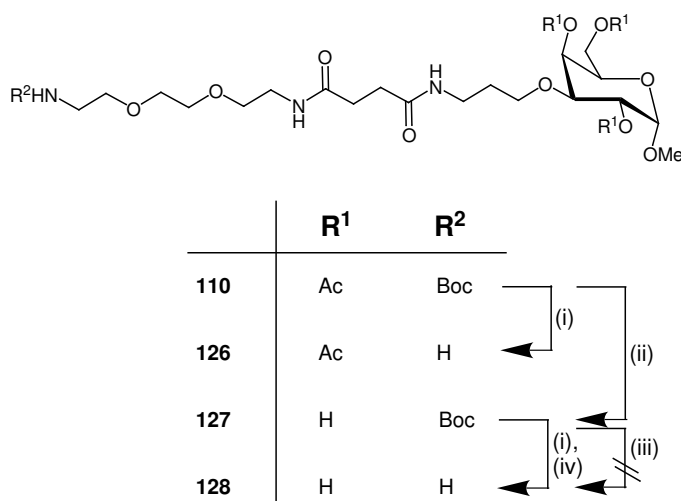


Abb. 3.31. Entschützung des Galaktosebausteins **110**. (i) TFA/CH₂Cl₂, 1 : 1, 20 min, Raumtemp.; (ii) NaOMe/MeOH, Raumtemp., quant.; (iii) Amberlyst 15, CH₂Cl₂; (iv) basischer Ionenaustauscher (OH⁻-Form), quant.

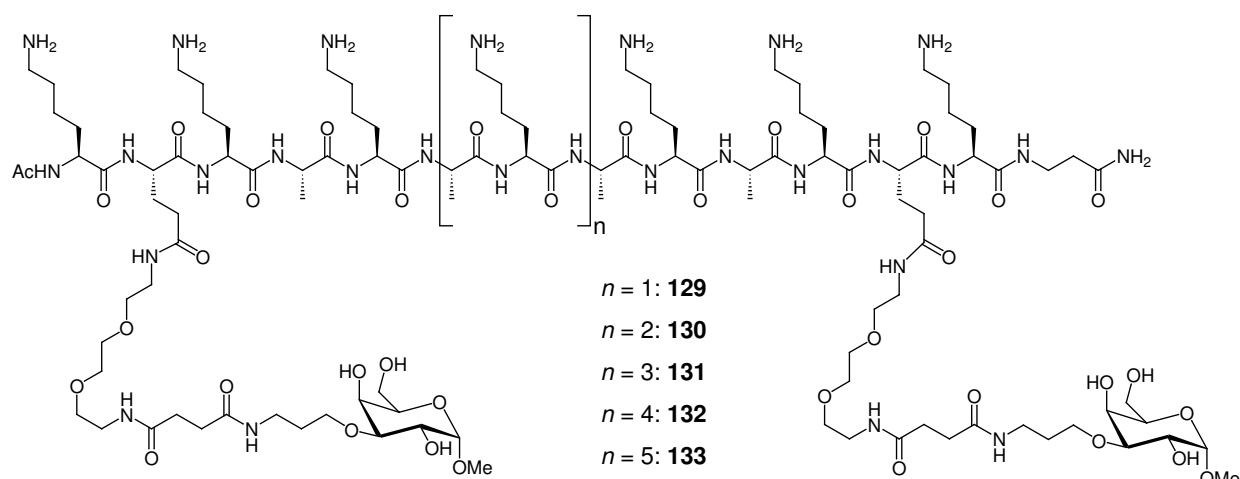


Abb. 3.32. Die synthetisierten Neoglykopeptide **129–133**.

den konnte und **128** in Form des freien Amins als farblosen Feststoff lieferte.

Voraktivierung der Glutaminsäure-Seitenketten des Peptids und anschließende Zugabe von **128** ergab die fertigen, harzgebundenen Glykopeptide. Diese konnten dann nach vollständigem Waschen, Schrumpfen (in Methanol) und Trocknen des Harzes mit Abspaltung vom Harz gespalten werden. Nach Entfernen von TFA durch Lyophilisation aus verd. Salzsäure wurden sie mit einer Sephadex LH-20-Säule mit Wasser als Laufmittel gereinigt, wobei die Produktfraktionen massenspektrometrisch detektiert wurden. Die Peptide **129–133** konnten ausgezeichnet durch MALDI-TOF-MS mit CCA als Matrix nachgewiesen und charakterisiert werden (Abb. 3.32).

NMR-spektroskopisch ließen sich die Glykopeptide ebenfalls sehr gut charakterisieren. Alle NMR-Signale konnten zugeordnet werden. Sowohl die ^1H - als auch die ^{13}C -Spektren der einzelnen Verbindungen weisen praktisch identische chemische Verschiebungen auf, so dass die Unterscheidung zwischen den einzelnen Verbindungen nur durch die Integration erfolgen kann. Die Signale der zwei Galaktoseeinheiten sind vollständig gleich: Es lässt sich nur ein Signalsatz für beide Zucker erkennen. Dies verwundert nicht, da sie sich durch die langen Spacer weit entfernt vom Peptidrückgrat befinden.

Leider war das NMR-Spektrum des Peptids **131** mit 18 Aminosäuren unklar, obwohl die berechnete Masse der einzige erkennbare Peak im Massenspektrum war. Große Teile des NMR-Spektrums sind auch praktisch identisch zu denen der anderen Glykopeptide. Auffällig war jedoch die spezifische Drehung von Peptid **131**. Die anderen Peptide **129**, **130**, **132** und **133** zeigen einen praktisch idealen linearen Verlauf der spezifischen Drehung, wenn man sie über der Kettenlänge aufträgt (Abb. 3.33). Wie man erkennt, weicht der Wert für das Peptid **131** jedoch deutlich von dieser Geraden ab. Da die Masse korrekt ist, kann die Verbindung noch verunreinigt sein oder ein Fehler in der Abfolge der

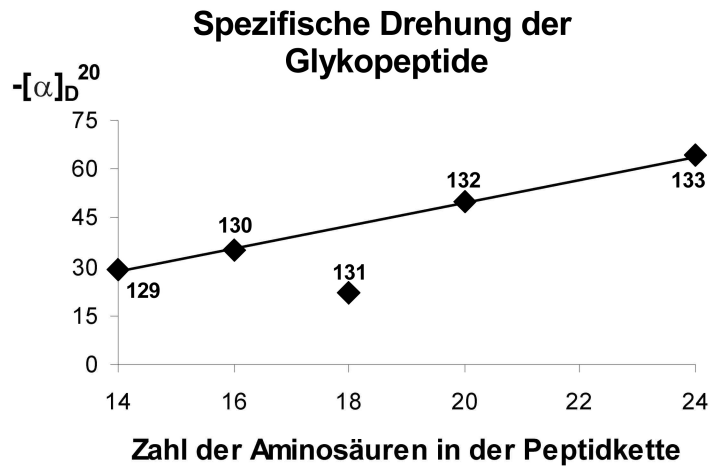


Abb. 3.33. Die Werte der spezifischen Drehung der Glykopeptide, aufgetragen über ihrer Kettenlänge. Man erkennt den nahezu ideal linearen Verlauf und die Abweichung bei Substanz 131.

Aminosäurebausteine vorliegen, was noch durch HPLC-Untersuchungen oder Sequenzanalyse des Peptids zu klären sein wird, im Rahmen dieser Arbeit aber nicht mehr durchgeführt wurde.

Die Reinigung der Glykopeptide an Sephadex LH-20 erwies sich also als äußerst leistungsfähig, und somit konnten die Verbindungen 129, 130, 132 und 133 in hoher Reinheit und in hervorragenden Ausbeuten von 18-22 % im 100 mg-Maßstab isoliert werden.

3.8 Fazit und Ausblick

Das in diesem Teil der Arbeit dargestellte Vorhaben, oberflächenfixierbare, rigide Liganden für das MPA darzustellen, konnte zu einem erheblichen Teil verwirklicht werden. Überlegungen zu der Kristallstruktur des tetrameren Lectins führten zu einer Bestimmung der geeigneten Ligandgeometrie. Daraufhin wurde das T-Antigen-Mimetikum 128 mit einem Spacer für die Kupplung an Peptide synthetisiert. Mit Hilfe der Festphasenpeptidsynthese konnten mehrere Peptide der Kettenlängen 14, 16, 20 und 24 dargestellt und anschließend durch Kupplung mit 128 in die Neoglykopeptide 129, 130, 132 und 133 verwandelt werden. Die Charakterisierung von 131 gelang noch nicht, die Synthese sollte aber mit den nun etablierten Protokollen möglich sein. Mit diesen Substanzen müssen nun geeignete Bedingungen für die Oberflächenfixierung und SPR-Messungen mit MPA gefunden werden.

Die Überlegungen, die auf dem Weg zu diesen Produkten gemacht wurden, führten darüber hinaus zu einer Reihe weiterer interessanter Verbindungen. So konnte die regioselektive Phthalimidopropyl-Substitution mit einer Reihe von biologisch relevanten

Kohlenhydraten durchgeführt werden, die wertvolle Ausgangsmaterialien für die Mimetikasynthese darstellen. Mit den Kohlenhydrat-Aminosäure-Konjugaten **106** und **118** und dem Konjugat **99** eines Kohlenhydrates mit einer quartären Aminosäure liegen Verbindungen mit sehr ungewöhnlichen Verknüpfungsmustern vor, deren Auswirkungen auf Struktur von Neoglykopeptiden und deren Bindungseigenschaften zukünftig evaluiert werden sollten.

4 Zusammenfassung – Summary

4.1 Zusammenfassung

Die Glykokalyx, eine hauptsächlich aus Kohlenhydraten bestehende Schicht, von der jede eukaryontische Zelle umgeben ist, ist an vielen wichtigen biologischen Prozessen beteiligt. Sie enthält eine Vielzahl komplexer Kohlenhydratstrukturen, die hauptsächlich in Form von – zusammenfassend als Glykokonjugate bezeichneten – Glykopeptiden und Glykolipiden mit der Zellmembran verbunden bzw. auf ihr assoziiert sind. Die Untersuchung der biologischen Funktion dieser Glykokonjugate hat zur Entwicklung eines eigenen Forschungszweiges, der Glykobiologie, geführt.

Die organische Synthesechemie kann als wichtiges Hilfsmittel wesentlich zur Beantwortung glykobiologischer Fragestellungen durch die Bereitstellung sog. Glykomimetika beitragen. Dies sind synthetische Substanzen, die die natürlich vorkommenden Strukturen imitieren. Ihre Untersuchung in geeigneten Testsystemen dient einerseits der Aufklärung von Mechanismen biologischer Prozesse, andererseits können sie zur Manipulation natürlicher Abläufe, z. B. als Enzyminhibitoren, für eine medikamentöse Therapie verwendet werden.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Synthese von Glykomimetika, die der Untersuchung und Manipulation multivalenter Wechselwirkungen dienen sollen. Multivalenz spielt eine große Rolle in der Glykobiologie, da sie u. a. für eine Verstärkung der ansonsten schwachen Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen sorgt. Die Prinzipien der Multivalenz sowie ihre weiteren biologischen Funktionen sind jedoch noch nicht abschließend verstanden.

Glykodendrimere können als multivalente Glykomimetika dienen. Verschiedene Synthesewege zu Glykodendrimeren sind bekannt. Im ersten Teil der Arbeit wurde ein neuartiges Konzept zur Synthese solcher Glykodendrimere beschrieben, bei dem diallylsubstituierte Kohlenhydratbausteine als Verzweigungseinheiten verwendet werden und Glykosylierung als Wachstumsschritt dient. Der Initiator Kern **8** war bereits in der Diplomarbeit durch Verwendung der Bis-(tributylzinn)-oxid-Methode dargestellt worden. Als effektives Donormolekül für solche Synthesen konnte nun unter Verwendung derselben Methode das Trichloracetimidat **11** synthetisiert werden. Zur Aktivierung der Allyl-

gruppen wurden die Hydroborierungs/Oxidationssequenz und die radikalische Addition von Mercaptoethanol getestet. Dies führte nach erfolgreicher Entschützung zunächst zu den Spacer-verbrückten Trisacchariden **9** und **28**. In einer repetitiven Reaktionssequenz konnten anschließend die drei Pseudo-Heptasaccharide **21**, **26** und **32** mit verschiedenen Spacern synthetisiert und entschützt werden. Die Oxidation der Sulfidgruppen in **32** zu Sulfonen führte zu **33** und zeigte eine interessante Möglichkeit auf, Dendrimere nachträglich chemisch zu modifizieren, um ihnen andere Eigenschaften zu geben. Die Mercaptoethanol-Addition stellte sich aufgrund exzellenter Ausbeuten als attraktive Reaktion für Glykodendrimersynthesen heraus.

Die dendritischen Glykomimetika **9**, **28**, **21**, **26**, **32** und **33** wurden auf ihre Inhibitoreigenschaften bezüglich der Mannose-vermittelten bakteriellen Adhäsion von *E. coli* in einem ELISA getestet und zeigten eine moderate valenzkorrigierte Erhöhung der Inhibition um den Faktor 5–50 im Vergleich zu Methylmannosid. Hierbei konnte eine positive Tendenz bei den Verbindungen mit den längeren, lipophileren 4-Thiahexylspacern festgestellt werden. Die Oxidation zu **33** senkte die Inhibition hingegen wieder ab, was die Wichtigkeit auch lipophiler Wechselwirkungen bei der Bindung der Kohlenhydrate an das beteiligte Lectin FimH nahelegt.

Des Weiteren wurden durch radikalische Addition langkettiger Thiole Mannose-basierte Glykolipidmimetika dargestellt, die sich in der Zahl ihrer Kohlenhydrateinheiten und Lipidketten unterscheiden. Diese Synthesestrategie zeichnete sich durch ihre Einfachheit und durch gute Ausbeuten aus. Die erhaltenen Substanzen **44**, **48**, **42** und **53** sollen noch auf ihre Eigenschaften beim Einbau in Membranen bzw. als Ceramidmimetika getestet werden.

Ziel des zweiten Teils der Arbeit war die Entwicklung eines rigiden, oberflächenfixierbaren, bivalenten Lectinliganden, um damit mittels SPR-Messungen Untersuchungen zur Multivalenz von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen durchführen zu können. Der Ligand wurde unter Einbeziehung der Röntgenstruktur des Lectins MPA entworfen und soll dazu dienen, den Einfluss der Ligandgeometrie auf multivalente Bindungsereignisse besser zu verstehen. Es konnte eine Serie von Peptiden aus 14–24 Aminosäuren an der Festphase synthetisiert werden. Als Kohlenhydratligand wurde das Spacer-gebundene T-Antigen-Mimetikum **128** synthetisiert. Die Struktur von **128** basiert auf Überlegungen zur Ligandspezifität von MPA und der Betrachtung der Röntgenstruktur des MPA im Komplex mit dem T-Antigen. Schlüsselschritt der Synthese war die regioselektive Phthalimidopropyl-Substitution von Methylgalaktosid mittels Dibutylzinnoxid, die anschließend auch erfolgreich auf andere galakto- und manno-konfigurierte Saccharide angewandt wurde. Das T-Antigen-Mimetikum **128** wurde an der Festphase an die Seitenketten von Glutaminsäure gekuppelt. So konnten die vier Neoglykopeptide **129**, **130**, **132**

und **133** dargestellt und charakterisiert werden. Sie tragen freie Aminogruppen, die zur Oberflächenfixierung dienen können. Nun müssen Möglichkeiten für eine solche Fixierung auf einem SPR-Sensorchip gefunden werden, um Bindungsstudien mit dem Lectin MPA durchführen zu können.

Im Zuge dieser Arbeiten konnten darüber hinaus eine Reihe interessanter Kohlenhydrat-Aminosäure-Konjugate mit ungewöhnlichen Verknüpfungsmustern für die Glykopeptidsynthese generiert werden: So wurde mit **116** ein Tyrosinderivat mit einem Oligoethylenglykospacer dargestellt, welches mittels Sonogashira-Kupplung mit dem neuartigen Kohlenhydrat-Propenylidid **64** verbunden werden konnte. Mit **106** liegt ein Propylspacer-verknüpftes Asparagin-Konjugat des T-Antigen-Mimetikums vor, und mit Verbindung **99** konnte das Kohlenhydrat-Konjugat eines quartären, homologisierten Cysteins synthetisiert werden. Diese Verbindungen sind interessante Bausteine für die Peptidsynthese, mit denen z. B. Untersuchungen über ihre Einflüsse auf die Peptidstruktur und auf die Bindungseigenschaften solcher Neoglykopeptide durchgeführt werden können.

4.2 Summary

The glycocalyx, the layer surrounding every eukaryotic cell, consisting predominantly of carbohydrates, is involved in many important biological events. It contains a multitude of complex carbohydrate structures, which are anchored to the cell membrane mainly in form of glycopeptides and glycolipids, which are subsumed under the term glycoconjugates. The investigation of the biological function of these glycoconjugates led to the development of a new branch of research called glycobiology.

Synthetic organic chemistry can offer valuable tools to assist in the research concerning glycobiological questions by providing the so-called glycomimetics. These are synthetic substances imitating natural occurring structures. On the one hand, evaluated in suitable biological tests, they can help to resolve the molecular mechanisms of the biological systems under investigation, on the other hand they can be used for the manipulation of natural processes, e. g. as enzyme inhibitors for medicinal treatment.

This thesis deals with the synthesis of glycomimetics for the investigation and manipulation of multivalent interactions. Multivalency is an important principle in glycobiology, leading, amongst other things, to an enhancement of the otherwise weak carbohydrate-protein interactions. The underlying principles of multivalency and its further biological functions are, however, far from being understood.

Glycodendrimers can serve as multivalent glycomimetics. Different synthetic pathways leading to glycodendrimers are described. In the first part of the thesis, a new con-

cept for the synthesis of glycodendrimers is described, using di-allyl-substituted carbohydrate building blocks as branching units and glycosylation as the ligation step. The initiator core **8** had already been synthesised earlier on, making use of the regioselective allylation with bis(tributyltin)oxide. As an effective donor molecule for such syntheses, the trichloroacetimidate **11** could be synthesised applying the same method. For the activation of the allyl groups, two methods were tested: the hydroboration/oxidation sequence and radical addition of mercaptoethanol. This led, after successful deprotection, to the spacer-linked trisaccharides **9** and **28**. Afterwards, the three pseudo-heptasaccharides **21**, **26** and **32** bearing different spacers could be synthesised in a repetitive reaction sequence and deprotected. Oxidation of the sulfides in **32** to the sulfones yielded **33** and showed the interesting possibility for the later chemical modification of dendrimers to change their properties. Because of the excellent yields achieved, the addition of mercaptoethanol turned out to be a highly attractive method for the construction of glycodendrimers.

The dendritic glycomimetics **9**, **28**, **21**, **26**, **32** and **33** were tested for their properties as inhibitors for the mannose-specific bacterial adhesion of *E. coli* in an ELISA and showed moderate valence-corrected enhancement in the inhibition (factor 5–50) compared to methyl mannoside. A positive tendency was observed examining the substances with the longer 4-thiahexyl spacers. However, oxidation to **33** lowered inhibition, suggesting the significance of lipophilic interactions during binding of carbohydrates to the involved lectin FimH.

Furthermore, again applying the radical thiol addition procedure with long-chain mercaptanes, mannose-based glycolipidomimetics varying in the number of carbohydrate units and lipid chains could be synthesised. This synthetic strategy is appealing because of its simplicity and high yields. The obtained substances **44**, **48**, **42** and **53** shall be tested for their properties in lipid membranes and as ceramide mimics, respectively.

The aim of the second part of the thesis was the development of a lectin ligand of defined rigidity to allow the investigation of carbohydrate-protein interactions after immobilisation of this ligand and SPR measurements. The ligand was designed taking into account the X-ray structure of the well-known lectin MPA and should serve as a tool for the investigation of ligand geometry on multivalent binding events. A series of peptides consisting of 14–24 amino acids could be synthesised on solid support. As carbohydrate ligand, the spacer-modified T-antigen mimetic **128** was synthesised. Knowledge of the ligand specificity of MPA based on the analysis of the X-ray structure of MPA complexed with the T-antigen was taken into account for its design. Key step of its synthesis was the regioselective phthalimidopropyl substitution of methyl galactoside using dibutyltin oxide, a process which was eventually applied to other carbohydrates of galacto and

manno configuration. The spaced T-antigen mimic **128** was coupled to the side chains of glutamic acid on the solid phase. Thus, the neoglycopeptides **129**, **130**, **132** and **133** were made available and characterised. They carry free amino groups, which can be used for immobilisation to allow attachment on a sensorchip for SPR measurements which will have to be carried out to study binding of the prepared neoglycopeptides to the lectin MPA.

During this work, further interesting carbohydrate-amino acid conjugates with unusual linking patterns could be generated for peptide synthesis. With compound **116**, a tyrosine derivative bearing an oligoethylene glycol spacer could be synthesised and linked *via* Sonogashira coupling to the new carbohydrate-propenyl iodide **64**. The carbohydrate-amino acid conjugate **106** was synthesised as a propyl spacer-linked asparagine conjugate of the T-antigen mimic, and with compound **99**, a carbohydrate conjugate of a quaternary homologised cysteine could be generated. These compounds are interesting building blocks for peptide synthesis, which can be useful for investigating the influence of structure on lectin binding properties of such neoglycopeptides.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeine Methoden

Alle Reaktionen wurden, soweit nicht anders angegeben, unter normaler Laboratmosphäre durchgeführt. Für die Säulenchromatographie verwendete Lösungsmittel wurden vor der Benutzung destilliert. Die bei der Durchführung von Reaktionen eingesetzten trockenen Lösungsmittel wurden entweder getrocknet vom Hersteller bezogen oder durch mehrstündiges Erhitzen unter Rückfluss und anschließende Destillation über einem geeigneten Trockenmittel erhalten:

Dichlormethan	über Calciumhydrid
Methanol	über Magnesiumspänen
Essigsäure-ethylester	über Kaliumcarbonat
Toluol	über Natrium/Benzophenon
DMF	getrocknet vom Hersteller (Fluka)
Pyridin	getrocknet vom Hersteller (Riedel-de Haën)
Dioxan	filtriert über basisches Aluminiumoxid

Die für Glykosylierungen und Hydroborierungen verwendeten, absoluten Lösungsmittel wurden durch Erhitzen über Natrium-Kalium-Legierung (THF) oder Phosphorpentoxid (DCM) und anschließende Destillation unter Argonatmosphäre getrocknet. Triethylamin wurde unter Argonatmosphäre von Calciumhydrid destilliert und über Kaliumhydroxid aufbewahrt.

Alle Lösungsmittelverhältnisse sind in v/v angeben. Stofftrennungen wurden mittels Flashchromatographie durchgeführt, wobei leichter Überdruck (0.3–0.5 bar) auf die Säulen gegeben wurde. Als Säulenmaterial diente Kieselgel der Firma Merck (Silica gel 60, 0.040–0.063 mm). Die GPC wurde mit Sephadex LH-20 der Firma Pharmacia-Biotech als Säulenmaterial unter Verwendung einer peristaltischen Pumpe durchgeführt. Eluiert wurde mit einer Fließgeschwindigkeit von etwa 12 ml/h bei einer Fraktionsgröße von ca. 3 ml.

Dünnschichtchromatogramme wurden auf Kieselgelplatten der Firma Merck (Kieselgel 60 F₂₅₄ auf Aluminiumfolie) angefertigt. Für die Säulenchromatographie wurde ein R_f-Wert von ca. 0.3 eingestellt. Die Detektion erfolgte ggf. durch UV-Licht. Die Chromatogramme wurden durch Eintauchen in Entwicklungslösung und anschließende Wärmebehandlung entwickelt. Je nach Substanzklasse wurden folgende Entwickler verwendet:

Kohlenhydrate	Ethanol/Wasser/Schwefelsäure (konz.) (14 : 10 : 1) oder 10 g α -Naphthol in 100 ml 10%iger Schwefelsäure (aq.) und 500 ml Ethanol
Amine	1.5 g Ninhydrin in 500 ml Ethanol und 15 ml Eisessig
Sonstige	10%ige Molybdato-phosphorsäure-Lösung (aq.) oder 5 g Cer(IV)-sulfat und 12.5 g Molybdato-phosphorsäure in 40 ml Schwefelsäure (konz.) und 500 ml Wasser

NMR-Spektren wurden an den Bruker-Geräten ARX 300, DRX 500 und 600 aufgenommen. Die Zuordnung der Signale wurde durch zweidimensionale Methoden (¹H-¹H-COSY, HMQC/HSQC und HMBC) vorgenommen. Signale, die vertauscht sein können, sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet. Bei den dendritischen Oligosacchariden wurden, wenn die Zuordnung möglich war, die Protonen und Kohlenstoffatome des Core-Moleküls mit einem c, die der äußeren Kohlenhydrateinheiten mit einem s indiziert (z. B. H-1c, H-4s). Bei den Disacchariden wurden die Protonen und Kohlenstoffatome des Methylmannosid-Teils mit a, die des anderen Zuckers mit b gekennzeichnet. Die Spektren wurden mit Hilfe folgender Signale kalibriert:

CDCl ₃	¹ H	0.000 ppm (s) (internes TMS)
	¹³ C	77.000 ppm (t)
MeOH-D ₄	¹ H	3.310 ppm (quint)
	¹³ C	49.050 ppm (sept)
DMSO-D ₆	¹ H	2.500 ppm (quint)
	¹³ C	39.430 ppm (sept)
Aceton-D ₆	¹ H	2.050 ppm (quint)
	¹³ C	30.830 ppm (sept)
D ₂ O	¹ H	4.650 ppm (s)
	¹³ C	externes DSS

MALDI-TOF-Massenspektren wurden an einem Biflex III-Gerät der Firma Bruker mit 19 kV Beschleunigungsspannung aufgenommen. Als Matrix wurde CCA verwendet.

Ionisierung erfolgte mit einem Stickstofflaser bei 337 nm. EI/CI-Massenspektren wurden mit dem Gerät MAT 8230 der Firma Finnegan aufgenommen. Als Lösungsmittel diente Dichlormethan, als Reaktandgas bei der CI wurde Isobutan verwendet. ESI-MS-Massenspektren wurden mit einem Mariner (Part-No. V800600)-Gerät gemessen. Die Messung der IR-Spektren erfolgte mit einem Perkin Elmer Paragon 1000 FT-IR-Spektrometer. Drehwerte wurden mit einem Perkin-Elmer Polarimeter Modell 341 bestimmt. Schmelzpunkte wurden mit einem Schmelzpunktmessgerät 510 der Firma Büchi gemessen und sind unkorrigiert. Elementaranalysen wurden im Institut für Anorganische Chemie der Universität Kiel und im Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg gemessen.

5.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV 1: Glykosylierung nach der Imidat-Methode

Der Akzeptor wird mit 3.7–5 eq. Imidat unter Argonatmosphäre in wenig trockenem Dichlormethan gelöst (ca. 1 ml CH_2Cl_2 /g Imidat). Nach Zugabe von 0.2 ml TMSOTf (5%ige Lösung in Dichlormethan) oder 2–3 Tropfen TMSOTf rührt der Ansatz über Nacht bei Raumtemp. Zur Aufarbeitung wird mit Dichlormethan verdünnt, festes Natriumhydrogencarbonat zugegeben (ca. 1 g/ml Dichlormethan), filtriert und das Lösungsmittel anschließend *in vacuo* entfernt. Reinigung erfolgt durch Chromatographie an Kieselgel bzw. Sephadex LH-20.

AAV 2: Deacetylierung und Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen

Die Substanz wird in trockenem Methanol gelöst bzw. suspendiert, mit festem Natriummethanolat versetzt bis ein pH-Wert von ungefähr 10 erreicht ist und rührt anschließend 1 bis 24 d bei Raumtemp. Bei den dendritischen Heptasacchariden wird wenig TBME zugeben, um Löslichkeit der Verbindungen zu erreichen. Dieser wird nach einigen Tagen ohne Erwärmen *in vacuo* entfernt. Zur Aufarbeitung wird mit saurem Ionentauscher (Amberlite IR-120, H^+ -Form) neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Reinigung erfolgt ggf. durch Chromatographie an Sephadex LH-20.

AAV 3: Radikalische Addition von Thiolen an Doppelbindungen

Die ungesättigte Verbindung wird unter Argonatmosphäre in trockenem Dioxan gelöst (1 ml/ml Thiol), das Thiol (15 eq./Doppelbindung) und AIBN (20 mg) werden zugegeben und der Reaktionsansatz im auf 75 °C vorgeheizten Ölbad für 2 h erhitzt. Nach erneuter Zugabe von 20 mg AIBN wird weitere 2 h erhitzt, Lösungsmittel und ggf. Thiol *in vacuo* entfernt und anschließend säulenchromatographisch gereinigt.

AAV 4: O-Acetylierung und O-Benzoylierung von Kohlenhydraten

Zu einer Lösung der Substanz in trockenem Pyridin (ca. 10 ml Pyridin/g Substanz) wird tropfenweise unter Eiskühlung Acetanhydrid bzw. Benzoylchlorid (2 eq. pro zu acylierender OH-Gruppe) gegeben. Anschließend lässt man auf Raumtemp. erwärmen und rührt über Nacht. Der Ansatz wird auf dasselbe Volumen Wasser gegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird noch dreimal mit Dichlormethan bzw. Essigester extrahiert, die vereinigten org. Phasen werden nacheinander mit ges. Natriumhydrogencarbonatlsg., 1M Salzsäure und ges. Natriumchloridlsg. gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel.

AAV 5: Synthese 3-O-(3-Phthalimidopropyl)-modifizierter Zucker

Der OH-freie Zucker wird in trockenem Methanol suspendiert (40 ml/g), 1.05 eq. Dibutylzinnoxid werden zugegeben und die Mischung wird 2 h unter Rückfluss erhitzt, wobei eine klare Lösung entsteht. Anschließend wird das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und der feste Rückstand mehrere Stunden im Hochvakuum getrocknet. Nach Zugabe von trockenem Toluol (40 ml/g), TBAI (1 eq.) und 3-Brompropyl-phthalimid (3.7 eq.) wird die Mischung 3 d bei 85 °C gerührt. Im Falle von Methylmannosid wird DMF statt Toluol als Lösungsmittel verwendet, TBAI durch Cäsiumfluorid ersetzt und die Reaktion bei Raumtemp. durchgeführt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Produkt durch Chromatographie und/oder Kristallisation gereinigt.

AAV 6: Entschützung von *tert*-Butoxycarbonylamino- und *tert*-Butylester-Gruppen

Die geschützte Verbindung wird in Dichlormethan gelöst (ca. 5 ml CH₂Cl₂/g Substanz) und bei Raumtemp. unter Rühren mit derselben Menge TFA versetzt. Nach 10 min werden die flüchtigen Bestandteile ohne Erwärmen *in vacuo* entfernt, der Rückstand noch dreimal mit etwas Toluol koevaporiert und anschließend wie in den Einzelvorschriften beschrieben weiterbehandelt.

5.3 Einzelvorschriften

5.3.1 Vorschriften aus Kapitel 2

Methyl-2,4-di-*O*-benzoyl-3,6-di-*O*-(3-{2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy})-propyl)- α -D-mannopyranosid (8)

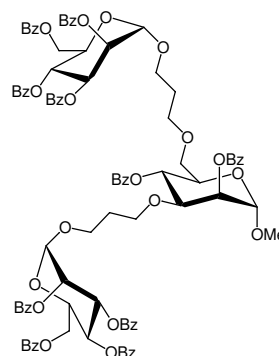
Nach AAV 1 wurden 316 mg (0.609 mmol) 4 mit 4.51 g (6.09 mmol) 7 umgesetzt. Zur Reinigung wurde zuerst an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester, 9 : 1) und anschließend an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Aceton) chromatographiert. Man erhielt einen weißen Schaum.

Ausbeute: 940 mg (92 %);

$[\alpha]_D^{25} -54.1$ (c 1.04, CH₂Cl₂);

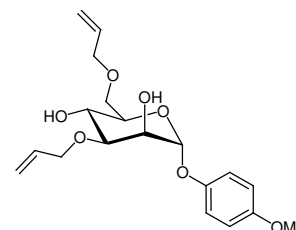
IR (KBr): 3063, 2924, 1728, 1602, 1584, 1492, 1451, 1315, 1266, 1177, 1110, 1069, 1027, 974, 709 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.11-8.02 (m, 12H, 12 *o*-Aryl-H), 7.95-7.91, 7.83-7.80 (je m, je 4H, 8 *o*-Aryl-H), 7.61-7.45 (m, 7H, 7 *p*-Aryl-H), 7.45-7.30 (m, 19H, 3 *p*-Aryl-H, 16 *m*-Aryl-H), 7.25 (m_c, 4H, 4 *m*-Aryl-H), 6.10, 6.02 (je dd \approx t, je 1H, ³J = 10.1 Hz, 2 H-4), 5.89, 5.79 (je dd, je 1H, ³J = 10.1 Hz, ³J = 3.3 Hz, 2 H-3), 5.69 (dd, 1H, ³J = 3.3 Hz, ³J = 1.8 Hz, H-2), 5.65 (dd \approx t, 1H, ³J = 9.9 Hz, H-4c), 5.62 (dd, 1H, ³J = 3.2 Hz, ³J = 2.0 Hz, H-2c), 5.61 (dd, 1H, ³J = 3.3 Hz, ³J = 1.8 Hz, H-2), 5.08 (d, 1H, ³J = 1.7 Hz, H-1), 4.92 (d, 1H, ³J = 1.7 Hz, H-1c), 4.74 (d, 1H, ³J = 1.7 Hz, H-1), 4.67 (dd, 1H, ²J = 12.1 Hz, ³J = 2.5 Hz, H-6'), 4.50 (dd, 1H, ²J = 12.2 Hz, ³J = 2.6 Hz, H-6'), 4.46 (dd, 1H, ²J = 12.2 Hz, ³J = 4.2 Hz, H-6), 4.41-4.35



***p*-Methoxyphenyl-3,6-di-*O*-allyl- α -D-mannopyranosid (16)**

Eine Suspension von 9.50 g (33.2 mmol) *p*-Methoxyphenyl- α -D-mannopyranosid **15** in 300 ml trockenem Toluol wurde mit 25.4 ml (49.8 mmol) Bis-(tributylzinn)-oxid versetzt und 4 h unter Rückfluss am Wasserabscheider erhitzt. Nach Abkühlung wurden zu der entstandenen klaren Lösung 28.1 ml (332 mmol) Allylbromid und 3.21 g (9.96 mmol) TBABr gegeben und der Ansatz rührte 7 d bei 80 °C unter Argonatmosphäre. Entfernen des Lösungsmittels *in vacuo* ergab einen öligen Rückstand. Dieser wurde in 300 ml Essigester aufgenommen, mit 30 ml ges. Kaliumfluoridlg. versetzt und die erhaltene Mischung 2 h kräftig gerührt. Der ausgefallene weiße Niederschlag wurde abfiltriert und mit Essigester gewaschen. Nach Phasentrennung wurde die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert, das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Toluol/Essigester, 1 : 1). Man erhielt ein farbloses Öl.



Ausbeute: 6.15 g (51 %);

$[\alpha]_D^{25} +87.0$ (*c* 1.99, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3432 (br), 2928, 1508, 1218, 1105, 1036, 928, 829, 751 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 7.01, 6.82 (je d, je 2H, ³J = 9.1 Hz, 4 Aryl-H), 6.00 (dddd, 1H, ³J = 17.0 Hz, ³J = 10.4 Hz, ³J = 5.8 Hz, ³J = 5.8 Hz, CH=CH₂), 5.87 (dddd, 1H, ³J = 17.2 Hz, ³J = 10.4 Hz, ³J = 5.6 Hz, ³J = 5.6 Hz, CH=CH₂), 5.49 (d, 1H, ³J = 1.7 Hz, H-1), 5.37 (dddd, 1H, ³J = 17.2 Hz, ²J = 1.5 Hz, ⁴J = 1.5 Hz, ⁴J = 1.5 Hz, CH=CH_{trans}H), 5.27-5.24 (m, 1H, CH=CH_{cis}H), 5.24 (dddd, 1H, ³J = 17.2 Hz, ²J = 1.6 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, CH=CH_{trans}H), 5.16 (dddd, 1H, ³J = 10.4 Hz, ²J = 1.5 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, CH=CH_{cis}H), 4.28 (dddd, 1H, ²J = 12.6 Hz, ³J = 5.7 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, CHHCH=CH₂), 4.22 (dddd, 1H, ²J = 12.6 Hz, ³J = 5.8 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, CHHCH=CH₂), 4.19 (dd, 1H, ³J = 3.3 Hz, ³J = 1.8 Hz, H-2), 4.03 (dddd, 1H, ²J = 12.8 Hz, ³J = 5.6 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, CHHCH=CH₂), 4.01-3.98 (m, 1H, CHHCH=CH₂), 3.99 (dd \approx t, 1H, ³J = 9.5 Hz, H-4), 3.88 (ddd, 1H, ³J = 9.4 Hz, ³J = 4.5 Hz, ³J = 4.5 Hz, H-5), 3.81 (dd, 1H, ³J = 9.2 Hz, ³J = 3.4 Hz, H-3), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (dd, 1H, ²J = 10.4 Hz, ³J = 4.6 Hz, H-6), 3.67 (dd, 1H, ²J = 10.4 Hz, ³J = 4.4 Hz, H-6'), 2.84, 2.61 (je br s, je 1H, 2 OH) ppm;

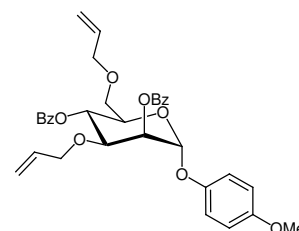
¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 155.00, 150.13 (2 Aryl-C_q), 134.37, 134.30 (2 CH=CH₂), 117.81 (CH=CH₂), 117.80 (2 Aryl-C), 117.16 (CH=CH₂), 114.58 (2 Aryl-C), 98.43

(C-1), 78.78 (C-3), 72.46, 70.93 (2 CH₂CH=CH₂), 70.65 (C-5), 70.20 (C-6), 67.98, 67.83 (C-2, C-4), 55.61 (OCH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₁₉H₂₆NaO₇: 389.1571; gef.: 389.1575.

***p*-Methoxyphenyl-3,6-di-*O*-allyl-2,4-di-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranosid (17)**

Nach AAV 4 wurden 6.15 g (16.8 mmol) des Mannosids **16** benzyliert (Extraktion mit Dichlormethan). Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 3:1) wurde das Produkt als farbloses Öl erhalten.



Ausbeute: 9.64 g (quant.);

$[\alpha]_D^{25} +7.9$ (*c* 1.55, CHCl₃);

IR (KBr): 2910, 1727, 1602, 1507, 1452, 1360, 1265, 1215, 1108, 1027, 927, 827, 711 cm⁻¹;

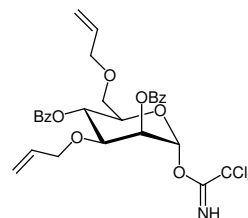
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.13, 8.08 (je m_c, je 2H, 4 *o*-Aryl-H), 7.59 (m_c, 2H, 2 *p*-Aryl-H), 7.51-7.42 (m, 4H, 4 *m*-Aryl-H), 7.11, 6.84 (je m_c, je 2H, 4 Aryl-H), 5.89-5.66 (m, 4H, H-2, H-4, 2 CH=CH₂), 5.59 (d, 1H, ³J = 1.9 Hz, H-1), 5.20 (dddd, 2H, ³J = 17.3 Hz, ²J = 1.6 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 2 CH=CH_{trans}H), 5.07 (m_c, 2H, 2 CH=CH_{cis}H), 4.30 (dd, 1H, ³J = 9.6 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 4.27 (m_c, 1H, H-5), 4.17 (dddd≈ddt, 1H, ²J = 13.1 Hz, ³J = 5.2 Hz, ⁴J = 1.5 Hz, ⁴J = 1.5 Hz, CHHCH=CH₂), 4.04 (dddd≈ddt, 1H, ²J = 13.1 Hz, ³J = 5.9 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, CHHCH=CH₂), 3.97 (m_c, 2H, CH₂CH=CH₂), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.69-3.60 (m, 2H, H-6, H-6')

¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): δ = 165.79, 165.45 (2 C=O), 155.34, 150.18 (2 Aryl-C_q), 134.39, 134.23 (2 CH=CH₂), 133.33, 133.18 (2 *p*-Bz-C), 130.02, 129.74 (4 *o*-Bz-C), 129.48 (2 Bz-C_q), 128.45, 128.40 (4 *m*-Bz-C), 118.25 (2 Aryl-C), 117.45, 116.79 (2 CH=CH₂), 114.59 (2 Aryl-C), 97.31 (C-1), 74.38 (C-3), 72.38, 70.79 (2 CH₂CH=CH₂), 70.73 (C-5), 69.20 (C-2, C-6), 68.75 (C-4), 55.61 (OCH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₃₃H₃₄NaO₉: 597.2095; gef.: 597.2064.

O-(3,6-Di-O-allyl-2,4-di-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyl)-trichloracetimidat (11)

16.5 g (28.7 mmol) des Mannosids **17** wurden in 190 ml Acetonitril/Wasser (4:1) bei 0 °C gelöst und 47.2 g (86.1 mmol, 3 eq.) CAN wurden zugegeben. Nach 3 h Rühren bei Raumtemp. wurde mit 400 ml Essigester versetzt, nacheinander mit je 100 ml Wasser, ges. Natriumhydrogencarbonatlsg. und nochmal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 3:1), wobei man 9.14 g eines tiefroten Feststoffes erhielt. Dieser wurde zusammen mit 19.6 ml (195 mmol) Trichloracetonitril unter Argonatmosphäre in 90 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Nach Zugabe von 0.2 ml DBU bei 0 °C ließ man 1 h bei Raumtemp. rühren. Flüchtige Substanzen wurden *in vacuo* bei Raumtemp. entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 4:1). Die Substanz wurde als farbloser Sirup erhalten.



Ausbeute: 9.27 g (53 %, über 2 Stufen);

$[\alpha]_D^{25} -26.4$ (*c* 0.520, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3447, 2921, 1729, 1676, 1452, 1320, 1264, 1107, 1069, 1028, 975, 934, 840, 796, 710, 644 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.79 (s, 1H, NH), 8.13, 8.07 (je m_c, je 2H, 4 *o*-Aryl-H), 7.62-7.58 (m, 2H, 2 *p*-Aryl-H), 7.50-7.45 (m, 4H, 4 *m*-Aryl-H), 6.48 (d, 1H, ³J = 2.1 Hz, H-1), 5.82 (dddd, 1H, ³J = 17.2 Hz, ³J = 10.4 Hz, ³J = 5.6 Hz, ³J = 5.6 Hz, CH=CH₂), 5.75 (dd \approx t, 1H, ³J = 10.0 Hz, H-4), 5.74 (dd, 1H, ³J = 3.3 Hz, ³J = 2.2 Hz, H-2), 5.70 (dddd, 1H, ³J = 17.2 Hz, ³J = 10.3 Hz, ³J = 6.3 Hz, ³J = 5.4 Hz, CH=CH₂), 5.21 (dddd, 1H, ³J = 17.3 Hz, ²J = 1.7 Hz, ⁴J = 1.7 Hz, ⁴J = 1.7 Hz, CH=CH_{trans}H), 5.16 (dddd, 1H, ³J = 17.2 Hz, ²J = 1.6 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, CH=CH_{trans}H), 5.10-5.05 (m, 2H, 2 CH=CH_{cis}H), 4.29 (ddd, 1H, ³J = 10.1 Hz, ³J = 4.0 Hz, ³J = 4.0 Hz, H-5), 4.20 (dd, 1H, ³J = 9.8 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 4.14-4.09 (m, 1H, CHHCH=CH₂), 4.03-3.98 (m, 3H, 3 CHHCH=CH₂), 3.67 (m_c, 2H, H-6, H-6') ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 165.52, 165.39 (2 C=O), 159.79 (C=NH), 134.39, 134.00 (2 CH=CH₂), 133.46, 133.25 (2 *p*-Aryl-C), 130.10, 129.77 (4 *o*-Aryl-C), 129.66, 129.27 (2 Aryl-C_q), 128.50, 128.43 (4 *m*-Aryl-C), 118.05, 117.00 (2 CH=CH₂), 95.18 (C-1), 90.83 (CCl₃), 73.99 (C-3), 73.16 (C-5), 72.50, 70.95 (2 CH₂CH=CH₂), 69.14 (C-6), 68.22, 67.67 (C-2, C-4) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₂₈H₂₈Cl₃NNaO₈: 634.0773; gef.: 634.0757.

Methyl-3,6-di-O-(3-{3,6-di-O-allyl-2,4-di-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy}-propyl)-2,4-di-O-benzoyl- α -D-mannopyranosid (10)

Nach AAV 1 wurden 478 mg (0.921 mmol) **4** mit 3.75 g (6.12 mmol) Imidat **11** umgesetzt. Reinigung erfolgte durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester, 8:1). Man erhielt einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 1.03 g (79 %);

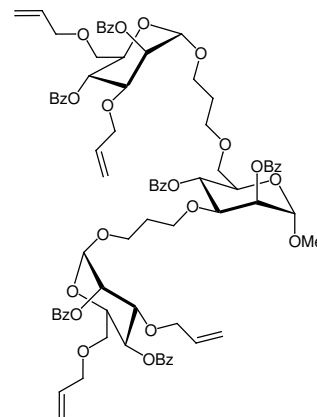
$[\alpha]_D^{25}$ -67.6 (c 0.510, CH_2Cl_2);

IR (KBr): 2918, 1725, 1451, 1265, 1110, 1069, 1027, 711 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 8.12-8.04 (m, 12H, 12 *o*-Aryl-H), 7.59-7.47 (m, 6H, 6 *p*-Aryl-H), 7.47-7.39 (m, 12H, 12 *m*-Aryl-H), 5.81, 5.66 (je m_c , je 2H, 4 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.61 (dd \approx t, 1H, 3J = 9.9 Hz, H-4), 5.61 (m_c , 1H, H-2), 5.58 (dd \approx t, 1H, 3J = 10.1 Hz, H-4), 5.53 (dd \approx t, 1H, 3J = 9.9 Hz, H-4), 5.51 (m_c , 1H, H-2), 5.44 (dd, 1H, 3J = 3.3 Hz, 3J = 1.9 Hz, H-2), 5.20 (dddd, 1H, 3J = 17.3 Hz, 2J = 1.7 Hz, 4J = 1.7 Hz, 4J = 1.7 Hz, $\text{CH}=\text{CH}_{\text{trans}}\text{H}$), 5.19 (dddd, 1H, 3J = 17.3 Hz, 2J = 1.7 Hz, 4J = 1.7 Hz, 4J = 1.7 Hz, $\text{CH}=\text{CH}_{\text{trans}}\text{H}$), 5.11 (m_c , 2H, 2 $\text{CH}=\text{CH}_{\text{trans}}\text{H}$), 5.07, 4.98 (je m_c , je 2H, 4 $\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}$), 4.97 (d, 1H, 3J = 2.0 Hz, H-1), 4.92, 4.67 (je d, je 1H, 3J = 1.9 Hz, 2 H-1), 4.10-3.88 (m, 14H, 3 H-3, 3 H-5, 8 $\text{OCHHCH}=\text{CH}_2$), 3.80 (m_c , 2H, 2 OCHHCH_2), 3.69 (dd, 1H, 2J = 10.7 Hz, 3J = 3.0 Hz, H-6'), 3.65 (dd, 1H, 2J = 10.7 Hz, 3J = 5.5 Hz, H-6), 3.63-3.51 (m, 8H, 4 H-6, 4 OCHHCH_2), 3.50-3.43 (m, 1H, OCHHCH_2), 3.47 (s, 3H, OCH_3), 3.36 (m_c , 1H, OCHHCH_2), 1.90, 1.72 (je m_c , je 2H, 2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm;

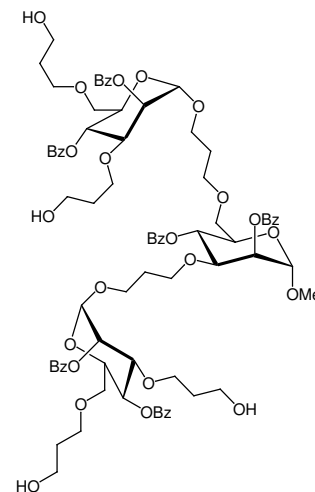
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ = 165.82, 165.73, 165.63, 165.57, 165.55 (6 C=O), 134.56, 134.54, 134.39, 134.36 (4 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 133.33, 133.26, 133.24, 133.17, 133.16, 133.11 (6 *p*-Aryl-C), 130.03, 130.01 (*o*-Aryl-C), 129.93, 129.85 (Aryl-C_q), 129.78 (*o*-Aryl-C), 129.75 (Aryl-C_q), 129.73 (*o*-Aryl-C), 129.67 (Aryl-C_q), 128.54, 128.51, 128.44, 128.43, 128.40 (12 *m*-Aryl-C), 117.23, 117.18, 116.89, 116.85 (4 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 98.88, 97.72, 97.70 (3 C-1), 75.88, 74.69, 74.65 (3 C-3), 72.54, 72.50, 70.67, 70.60 (4 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 70.38 (C-6), 70.27, 70.17, 70.09 (3 C-5), 69.58, 69.48 (2 C-6), 69.36, 69.22 (2 C-2), 69.11, 69.07, 68.91 (C-2, 3 C-4), 68.54, 66.76, 65.06, 64.96 (4 OCH_2CH_2), 55.35 (OCH_3), 29.80, 29.75 (2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{79}\text{H}_{86}\text{NaO}_{24}$: 1441.5401; gef.: 1441.5416.



Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(3-{2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-[3-hydroxypropyl]}- α -D-mannopyranosyloxy)-propyl)- α -D-mannopyranosid (19)

Das Tetraen **10** (216 mg, 0.152 mmol) wurde in 20 ml trockenem THF unter Argonatmosphäre mit 2.4 ml (1.2 mmol) 9-BBN (0.5M in THF) versetzt und 1 h unter Rückfluss erhitzt. Unter Eiskühlung wurden nun 0.1 ml Wasser und anschließend je 1.3 ml einer 3M Natriumacetatlsg. (aq.) und Perhydrol (30%ig) tropfenweise zugegeben. Der Ansatz rührte über Nacht, dann wurde die wässrige Phase durch Zugabe von festem Kaliumcarbonat gesättigt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase noch dreimal mit je 20 ml TBME extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch zunächst an Kieselgel (Laufmittel: Essigester), dann an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 1 : 1) gereinigt. Das Produkt wurde als klebriger Schaum erhalten.



Ausbeute: 91 mg (40 %);

$[\alpha]_D^{25} -74.4$ (c 4.22, CHCl_3);

IR (KBr): 3434, 2926, 2881, 1724, 1601, 1451, 1358, 1322, 1267, 1113, 1070, 1027, 712 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 8.14-8.00 (m, 12H, 12 *o*-Aryl-H), 7.64-7.50 (m, 6H, 6 *p*-Aryl-H), 7.50-7.37 (m, 12H, 12 *m*-Aryl-H), 5.68-5.53 (m, 5H, 2 H-2, 3 H-4), 5.51 (dd, 1H, 3J = 3.1 Hz, 3J = 1.9 Hz, H-2), 5.00, 4.91, 4.69 (je d, je 1H, 3J = 1.7 Hz, 3 H-1), 4.10-4.02 (m, 1H, H-5), 4.05 (dd, 1H, 3J = 9.7 Hz, 3J = 3.3 Hz, H-3), 4.02-3.94 (m, 1H, H-5), 3.99 (dd, 1H, 3J = 9.7 Hz, 3J = 3.3 Hz, H-3), 3.94-3.30 (m, 32H, H-3, H-5, 3 H-6, 3 H-6', 2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.47 (s, 3H, OCH_3), 2.85, 2.10 (je br, je 2H, 4 OH), 1.91 (m_c , 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.85-1.70 (m, 6H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 1.61-1.50 (m, 4H, 2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (76.47 MHz, CDCl_3): δ = 166.15, 166.02, 165.83, 165.69, 165.49 (6 C=O), 133.50, 133.44, 133.41, 133.33, 133.27 (6 *p*-Aryl-C), 129.94, 129.92, 129.72, 129.71 (10 *o*-Aryl-C), 129.70 (Aryl- C_q), 129.66 (2 *o*-Aryl-C), 129.52, 129.46, 129.42, 129.40, 129.32 (5 Aryl- C_q), 128.56-128.43 (12 *m*-Aryl-C), 98.82, 97.77, 97.73 (3 C-1), 76.21, 76.13, 75.80 (3 C-3), 70.20 (OCH_2), 69.98, 69.96, 69.84 (3 C-5), 69.46, 69.31 (je 2 OCH_2), 68.97, 68.85, 68.80, 68.77, 68.62, 68.56 (3 C-2, 3 C-4), 68.36, 67.46, 67.36, 66.57, 65.08, 64.95 (6 OCH_2), 60.35,

60.26, 59.70, 59.66 (4 OCH₂CH₂CH₂OH), 55.32 (OCH₃), 32.27, 32.25, 32.10, 32.09 (4 OCH₂CH₂CH₂OH), 29.72, 29.66 (2 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₇₉H₉₄NaO₂₈: 1513.5824; gef.: 1513.5883.

Methyl-2,4-di-*O*-benzoyl-3,6-di-*O*-(3-{2,4-di-*O*-benzoyl-3,6-di-*O*-[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-propyl]- α -D-mannopyranosyloxy]-propyl)- α -D-mannopyranosid (20)

Nach AAV 1 wurden 76 mg (51 μ mol) des Tetraols **19** mit 758 mg (1.02 mmol) des Imidats **7** umgesetzt. Reinigung erfolgte durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester, 8 : 1) und Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 1 : 1). Man erhielt einen weißen Schaum.

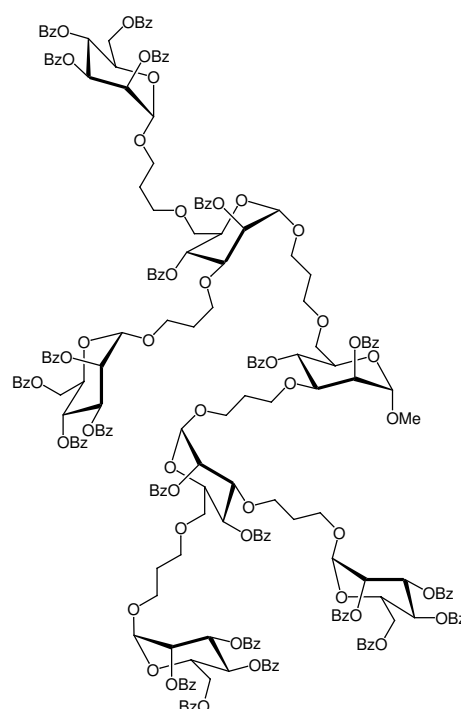
Ausbeute: 105 mg (54 %);

$[\alpha]_D^{25}$ -69.7 (c 1.60, CHCl₃);

IR (KBr): 2958, 1727, 1602, 1584, 1451, 1316, 1266, 1177, 1109, 1068, 1026, 709 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.10-8.01 (m, 28H, 28 *o*-Aryl-H), 7.94-7.90, 7.83-7.78 (je m, je 8H, 16 *o*-Aryl-H), 7.61-7.22 (m, 66H, 66 Aryl-H), 6.09 (dd \approx t, 2H, ³J = 10.1 Hz, 2 H-4), 6.01, 6.00 (je dd \approx t, je 1H, ³J = 10.1 Hz, 2 H-4), 5.87 (dd, 2H, ³J = 10.1 Hz, ³J = 3.3 Hz, 2 H-3), 5.76 (2 dd \approx m_c, 2H, 2 H-3), 5.68 (dd, 2H, ³J = 3.3 Hz, ³J = 1.8 Hz, 2 H-2), 5.67 (dd \approx t, 1H, ³J = 9.9 Hz, H-4), 5.63-5.56 (m, 6H, 4 H-2, 2 H-4), 5.50 (dd, 1H, ³J = 3.1 Hz, ³J = 1.9 Hz, H-2), 5.06 (d, 2H, ³J = 1.6 Hz, 2 H-1), 4.99, 4.89, 4.71 (je d, je 1H, ³J = 1.7 Hz, 3 H-1), 4.70 (d, 2H, ³J = 1.7 Hz, 2 H-1), 4.65 (m_c, 2H, 2 H-6), 4.49-4.42 (m, 4H, 4 H-6), 4.40-4.31 (m, 4H, 2 H-5, 2 H-6), 4.15 (m_c, 2H, 2 H-5), 4.08-3.98, 3.92-3.85 (je m, je 4H, 3 H-3, 3 H-5, 2 OCHHCH₂CH₂O), 3.84-3.76 (m, 4H, 4 OCHHCH₂CH₂O), 3.71-3.33 (m, 24H, 6 H-6, 18 OCHHCH₂CH₂O), 3.44 (s, 3H, OCH₃), 1.97-1.87, 1.80-1.66 (je m, je 6H, 6 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

¹³C-NMR (125.47 MHz, CDCl₃): δ = 166.09, 166.04, 165.65, 165.58, 165.51, 165.42, 165.39, 165.36, 165.26, 165.13 (22 C=O), 133.33, 133.30, 133.23, 133.12, 133.06, 133.03, 133.02, 132.95 (22 *p*-Aryl-C), 129.91, 129.81, 129.75, 129.69, 129.66 (44 *o*-Aryl-C), 129.49, 129.40, 129.18,



129.15, 129.05, 129.00 (22 Aryl-C_q), 128.60-128.30, 128.23, 128.21 (44 *m*-Aryl-C), 98.80, 97.82, 97.80 (3 C-1), 97.58, 97.44 (je 2 C-1), 76.21, 76.13, 75.83 (3 C-3), 70.44, 70.38, 70.25, 70.11, 70.04, 69.99, 69.85, 69.11, 68.88, 68.83, 68.78, 68.70, 68.49 (7 C-2, 4 C-3, 3 C-4, 7 C-5), 70.02, 69.91 (3 C-6), 68.47, 68.15, 68.11 (3 CH₂), 66.90 (4 C-4), 66.72, 66.56, 66.53, 65.48, 65.34, 65.13, 65.00 (9 CH₂), 62.85, 62.71 (je 2 C-6), 55.24 (OCH₃), 29.77, 29.71, 29.61 (6 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

MALDI-TOF-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₂₁₅H₁₉₈NaO₆₄: 3826.21; gef.: 3826.41;
 m/z [M + K]⁺ ber. für C₂₁₅H₁₉₈KO₆₄: 3842.18; gef.: 3842.38.

Methyl-3,6-di-O-(3-{3,6-di-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy)-propyl]- α -D-mannopyranosyloxy}-propyl)- α -D-mannopyranosid (21)

Nach AAV 2 wurden 89 mg (23 μ mol) **20** in 24 d entschützt, anschließend chromatographisch an Sephadex LH-20 gereinigt (Laufmittel: Methanol) und lyophilisiert. Man erhielt einen farblosen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 31 mg (88 %);

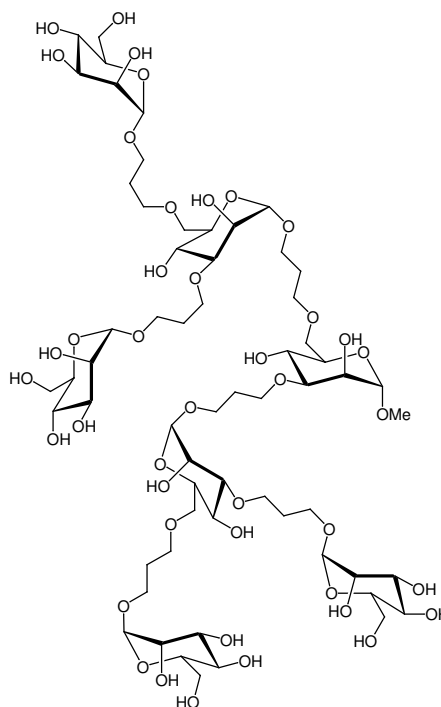
$[\alpha]_D^{25} +69.5$ (c 0.975, MeOH);

IR (KBr): 3435, 2925, 1637, 1136, 1105, 1054, 974, 810 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₆): δ = 4.78-4.75 (m, 6H, 6 H-1), 4.66 (d, 1H, ³J = 1.6 Hz, H-1), 3.98-3.94 (m, 3H, 3 H-2), 3.91-3.49 (m, 60H, 4 H-2, 4 H-3, 7 H-4, 7 H-5, 14 H-6, 24 OCHH), 3.47-3.41 (m, 3H, 3 H-3), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 1.96-1.83 (m, 12H, 6 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, MeOH-D₆): δ = 102.70, 101.66 (2 C-1), 101.62 (2 C-1), 101.54 (3 C-1), 81.10, 81.09, 81.02 (3 C-3), 74.58, 74.51 (je 2 C-5), 73.62, 73.55, 73.52 (3 C-5), 72.71 (4 C-3), 72.25 (4 C-2), 71.72, 71.64, 71.57, 69.56, 69.49 (CH₂), 69.10, 68.92 (CH), 68.80, 68.71 (je 2 C-4), 67.90, 67.80 (CH₂), 67.76, 67.71 (CH), 65.77, 65.72, 65.42 (CH₂), 63.06, 63.00 (je 2 C-6), 55.43 (OCH₃), 31.15 (2 OCH₂CH₂CH₂O), 31.08 (OCH₂CH₂CH₂O), 30.88 (2 OCH₂CH₂CH₂O), 30.84 (OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₆₁H₁₁₀NaO₄₂: 1537.6364; gef.: 1537.6402;
 m/z [M + Na]²⁺ ber. für C₆₁H₁₁₀Na₂O₄₂: 780.3134; gef.: 780.3149.



Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(6-hydroxy-4-thiahexyl)- α -D-mannopyranosid (23)

Nach AAV 3 wurden 1.50 g (3.11 mmol) des Mannosids **2** mit 6.5 ml (93 mmol) Mercaptoethanol umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Cyclohexan, 4 : 1) lieferte ein farbloses Öl.

Ausbeute: 1.79 g (90 %);

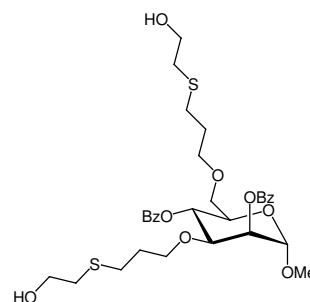
$[\alpha]_D^{25} -53.5$ (*c* 0.805, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3432, 2919, 1724, 1601, 1451, 1323, 1267, 1113, 1069, 1027, 713 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.11, 8.06 (je m_c, je 2H, 4 *o*-Aryl-H), 7.60 (m_c, 2H, 2 *p*-Aryl-H), 7.48 (m_c, 4H, 4 *m*-Aryl-H), 5.64 (dd \approx t, 1H, ³J = 9.9 Hz, H-4), 5.57 (dd, 1H, ³J = 3.3 Hz, ³J = 1.9 Hz, H-2), 4.91 (d, 1H, ³J = 1.8 Hz, H-1), 4.03 (ddd, 1H, ³J = 10.1 Hz, ³J = 4.9 Hz, ³J = 2.7 Hz, H-5), 4.00 (dd, 1H, ³J = 9.7 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 3.74-3.57 (m, 6H, H-6, H-6', 2 OCHHCH₂CH₂S, 2 HOCHHCH₂S), 3.51-3.45 (m, 1H, OCHHCH₂CH₂S), 3.48 (s, 3H, OCH₃), 3.45-3.38 (m, 3H, OCHHCH₂CH₂S, 2 HOCHHCH₂S), 2.68 (t, 1H, ³J = 6.0 Hz, SCHHCH₂OH), 2.68 (t, 1H, ³J = 6.1 Hz, SCHHCH₂OH), 2.62 (t, 2H, ³J = 7.3 Hz, SCH₂CH₂CH₂O), 2.41-2.33 (m, 2H, SCH₂CH₂OH), 2.32-2.20 (m, 4H, SCH₂CH₂CH₂O, 2 OH), 1.84, 1.61 (je m_c, je 2H, 2 OCH₂CH₂CH₂S) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 165.74, 165.51 (2 C=O), 133.36, 133.33 (2 *p*-Aryl-C), 129.90, 129.67 (4 *o*-Aryl-C), 129.56 (Aryl-C_q), 128.53, 128.50 (4 *m*-Aryl-C), 98.86 (C-1), 75.99 (C-3), 69.98, 69.88 (OCH₂CH₂CH₂S, C-5, C-6), 68.87, 68.76 (C-2, C-4), 68.13 (OCH₂CH₂CH₂S), 60.36, 60.00 (2 HOCH₂CH₂S), 55.30 (OCH₃), 35.21, 34.90 (2 SCH₂CH₂-OH), 29.92, 29.80 (2 SCH₂CH₂CH₂O), 28.24, 27.77 (2 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₃₁H₄₂NaO₁₀S₂: 661.2112; gef.: 661.2141.



Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(3-{2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-[6-hydroxy-4-thiahexyl]- α -D-mannopyranosyloxy}-propyl)- α -D-mannopyranosid (24)

Nach AAV 3 wurden 238 mg (0.168 mmol) der ungesättigten Verbindung **10** mit 0.70 ml (10 mmol) Mercaptoethanol umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Methanol) lieferte einen farblosen, glasartigen Feststoff.

Ausbeute: 265 mg (91 %);

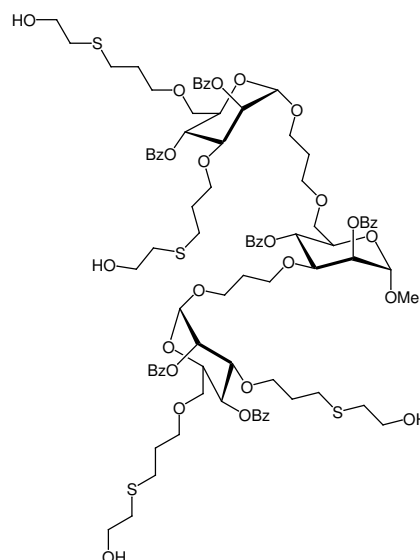
$[\alpha]_D^{25} -61.2$ (c 1.82, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3447 (br), 2920, 1724, 1601, 1451, 1323, 1266, 1112, 1069, 1026, 802, 712 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.12-8.03 (m, 12H, 12 *o*-Aryl-H), 7.61-7.40 (m, 18H, 18 Aryl-H), 5.65-5.55 (m, 4H, H-2c, 3 H-4), 5.54, 5.46 (je dd, je 1H, ³J = 3.1 Hz, ³J = 1.9 Hz, 2 H-2), 4.97 (d, 1H, ³J = 1.6 Hz, H-1), 4.92 (d, 1H, ³J = 1.5 Hz, H-1c), 4.68 (d, 1H, ³J = 1.6 Hz, H-1), 4.09-4.04 (m, 1H, H-5), 4.06 (dd, 1H, ³J = 9.7 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 4.01-3.97 (m, 1H, H-5), 3.96 (dd, 1H, ³J = 9.7 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 3.88-3.83 (m, 1H, H-5), 3.86 (dd, 1H, ³J = 9.7 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 3.82-3.34 (m, 30H, 3 H-6, 3 H-6', 8 OCHHCH₂CH₂O, 8 OCHHCH₂CH₂S, 8 SCH₂CHHOH), 3.48 (s, 3H, OCH₃), 2.65 (m_c, 4H, 4 SCHHCH₂OH), 2.59 (m_c, 4H, 4 SCHHCH₂CH₂O), 2.40-2.33 (m, 4H, 4 SCHHCH₂OH), 2.33-2.19 (m, 4H, 4 SCHHCH₂CH₂O), 1.91 (m_c, 2H, 2 OCH₂CHHCH₂O), 1.87-1.68 (m, 6H, 4 SCH₂CHHCH₂O, 2 OCH₂CHHCH₂O), 1.66-1.52 (m, 4H, 4 SCH₂CHHCH₂O) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 165.67, 165.50 (6 C=O), 133.33, 133.30, 133.27 (6 *p*-Aryl-C), 129.91, 129.88, 129.65 (12 *o*-Aryl-C), 129.59, 129.54 (6 Aryl-C_q), 128.49, 128.47 (12 *m*-Aryl-C), 98.81 (C-1c), 97.74, 97.70 (2 C-1), 76.09, 76.03, 75.81 (3 C-3), 70.24 (OCH₂), 69.99 (3 C-5), 69.96, 69.93, 69.91, 69.80, 69.69 (OCH₂), 69.01, 68.96, 68.86, 68.84, 68.77, 68.72 (3 C-2, 3 C-4), 68.42, 68.10, 68.07 (2 C-6, OCH₂), 66.63 (C-6), 65.05, 64.89, 60.42, 60.00 (OCH₂), 55.31 (OCH₃), 35.13, 34.84, 34.83 (4 SCH₂CH₂OH), 29.91, 29.84, 29.81, 29.72, 29.67 (2 OCH₂CH₂CH₂O, 4 SCH₂CH₂CH₂O), 28.25, 27.75 (2 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₈₇H₁₁₀NaO₂₈S₄: 1753.5959; gef.: 1753.5939.



Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(3-{2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-[6-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-4-thiahexyl]- α -D-mannopyranosyloxy]-propyl)- α -D-mannopyranosid (25)

Nach AAV 1 wurden 202 mg (0.116 mmol) des Tetraols **24** mit 1.72 g (2.32 mmol) des Imidats **7** umgesetzt. Reinigung erfolgte durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester, 8:1). Man erhielt einen gelblichen Feststoff.

Ausbeute: 146 mg (31 %);

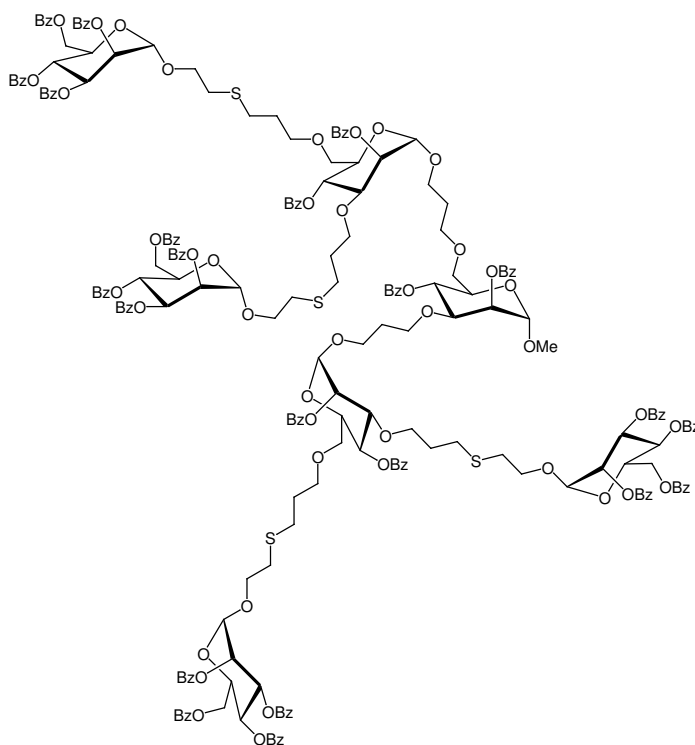
$[\alpha]_D^{25} -54.1$ (c 1.05, CH_2Cl_2);

IR (KBr): 3063, 2923, 1727, 1602, 1451, 1316, 1266, 1177, 1109, 1069, 1026, 709 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3/TMS):

δ = 8.14-7.99 (m, 28H, 28 *o*-Aryl-H), 7.98-7.90, 7.86-7.79 (je m, je 8H, 16 *o*-Aryl-H), 7.62-7.14 (m, 66H, 66 Aryl-H), 6.17-6.04 (m, 4H, 4 H-4), 5.93-5.83 (m, 4H, 4 H-3), 5.69 (m_c , 2H, 2 H-2), 5.66 (dd, 2H, $^3J = 3.3$ Hz, $^3J = 1.8$ Hz, 2 H-2), 5.64-5.50 (m, 5H, 2 H-2, 3 H-4), 5.49 (dd, 1H, $^3J = 3.0$ Hz, $^3J = 1.9$ Hz, H-2), 5.10 (br, 2H, 2 H-1), 5.00 (d, 2H, $^3J = 1.6$ Hz, 2 H-1), 4.99 (d, 1H, $^3J = 1.4$ Hz, H-1), 4.91 (d, 1H, $^3J = 1.5$ Hz, H-1), 4.73-4.60 (m, 5H, H-1, 4 H-6), 4.55-4.38 (m, 8H, 4 H-5, 4 H-6), 4.11-3.31 (m, 36H, 3 H-3, 3 H-5, 3 H-6, 3 H-6', 12 OCH_2), 3.46 (s, 3H, OCH_3), 2.77 (2 ddd \approx t, 4H, $^3J = 6.8$ Hz, 2 $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.63 (m_c , 4H, 2 $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.44 (m_c , 4H, 2 $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.31 (m_c , 4H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.99-1.50 (m, 12H, 2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 4 $\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): δ = 166.06, 165.64, 165.62, 165.46, 165.42, 165.36, 165.31 (22 C=O), 133.42, 133.38, 133.28, 133.26, 133.10, 133.02, 133.00 (22 *p*-Aryl-C), 129.90, 129.79, 129.76, 129.68 (44 *o*-Aryl-C), 129.56, 129.27, 129.25, 129.04, 129.03, 128.91 (22 Aryl-C_q), 128.62-128.31, 128.24 (44 *m*-Aryl-C), 98.79, 97.74, 97.71 (3 C-1), 97.64, 97.52 (je 2 C-1), 76.02, 75.97, 75.81 (3 C-3), 70.39 (4 C-2), 70.32, 70.10, 70.06 (3 C-6), 69.99, 69.81 (4 C-3, 3 C-4, 3 C-5), 69.02, 68.93, 68.87-68.72 (3 C-2, 4 C-5), 68.45, 68.17, 68.06, 68.03, 67.81 (OCH_2), 66.84-66.70 (4 C-4), 66.64, 65.06, 64.87 (OCH_2), 62.76 (4 C-6), 55.27 (OCH_3), 31.21, 30.98



(je 2 SCH₂CH₂O), 29.84, 29.74, 29.67, 29.57, 29.56 (2 OCH₂CH₂CH₂O, 4 OCH₂CH₂CH₂S), 29.24, 28.97 (je 2 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

MALDI-TOF: $\overline{m/z}$ [M + Na]⁺ ber. für C₂₂₃H₂₁₄NaO₆₄S₄: 4069.36; gef.: 4068.89;

$\overline{m/z}$ [M + K]⁺ ber. für C₂₂₃H₂₁₄KO₆₄S₄: 4085.47; gef.: 4085.17.

Methyl-3,6-di-O-(3-{3,6-di-O-[6-(α -D-mannopyranosyloxy)-4-thiahexyl]- α -D-mannopyranosyloxy]-propyl)- α -D-mannopyranosid (26)

Nach AAV 2 wurden 126 mg (0.116 mmol) **25** in 21 d entschützt. Reinigung erfolgte durch Chromatographie an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Methanol). Anschließend Gefriertrocknung aus Wasser mit wenig Acetonitril ergab ein weißes Lyophilisat.

Ausbeute: 47 mg (86 %);

$[\alpha]_D^{25} +64.6$ (c 1.36, MeOH);

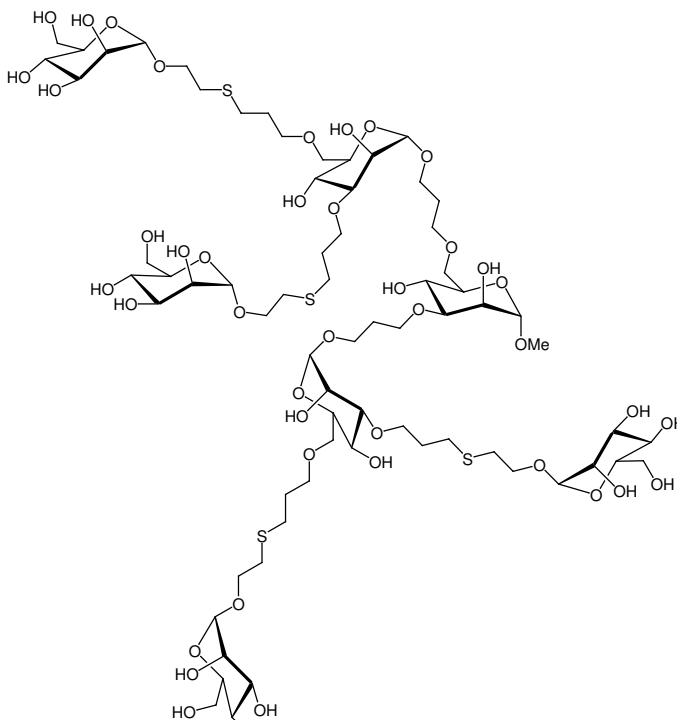
IR (KBr): 3423, 2923, 1637, 1132, 1103, 1085, 1055, 976, 807 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄): δ = 4.81-4.79 (m, 4H, 4 H-1), 4.78, 4.77 (je d, je 1H, ³J = 1.7 Hz, 2 H-1), 4.67 (d, 1H, ³J = 1.5 Hz, H-1), 4.00-3.94 (m, 3H, 3 H-2), 3.92-3.52 (m, 60H, 4 H-2, 4 H-3, 7 H-4, 7 H-5, 14 H-6, 24 OCHH), 3.47-3.41 (m, 3H, 3 H-3), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 2.77-2.70 (m, 12H, 4 SCH₂CH₂O, 4 SCHHCH₂CH₂O), 2.68 (m_c, 4H, 4 SCHHCH₂CH₂O), 1.96-1.82 (m, 12H, 2 OCH₂CH₂CH₂O, 4 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, MeOH-D₄): δ = 102.68 (C-1), 101.69 (4 C-1), 101.64, 101.53 (2 C-1), 81.13, 81.09, 81.03 (3 C-3), 74.83, 74.80, 73.56, 73.51, 73.49, 72.63, 72.17 (CH), 71.76, 71.67, 71.60, 71.09, 71.07, 69.56, 69.38 (CH₂), 68.93, 68.91, 68.67, 68.65 (CH), 68.58, 68.56, 67.89 (CH₂), 67.72, 67.70, 67.65 (CH), 65.72, 65.71, 63.00, 62.97 (CH₂), 55.46 (OCH₃), 32.51, 32.45 (je 2 SCH₂CH₂O), 31.21, 31.10, 31.07, 30.91 (2 OCH₂CH₂CH₂O, 4 OCH₂CH₂CH₂S), 30.18, 30.07, 30.06 (4 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₆₉H₁₂₆NaO₄₂S₄: 1777.6499; gef.: 1777.6474;

m/z [M + Na]²⁺ ber. für C₆₉H₁₂₆Na₂O₄₂S₄: 900.3196; gef.: 900.3226.



Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(6-{2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy}-4-thiahexyl)- α -D-mannopyranosid (27)

Nach AAV 1 wurden 115 mg (0.180 mmol) **23** mit 977 mg (1.32 mmol) **7** umgesetzt. Zur Reinigung wurde zuerst an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 4:3) und anschließend an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 1:1) chromatographiert. Man erhielt einen weißen Schaum.

Ausbeute: 197 mg (61 %);

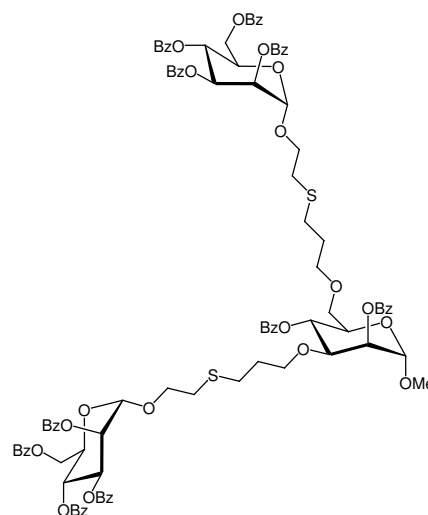
$[\alpha]_D^{25}$ -53.7 (c 0.580, CH_2Cl_2);

IR (KBr): 3064, 2925, 1727, 1602, 1451, 1315, 1266, 1109, 1069, 1026, 709 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 8.13-8.02 (m, 12H, 12 *o*-Aryl-H), 7.96-7.92, 7.85-7.81 (je m, je 4H, 8 *o*-Aryl-H), 7.60-7.22 (m, 30H, 20 *m*-Aryl-H, 10 *p*-Aryl-H), 6.10 (m_c , 2H, 2 H-4), 5.89, 5.87 (je dd, je 1H, 3J = 10.1 Hz, 3J = 3.3 Hz, 2 H-3), 5.69, 5.67 (je dd, je 1H, 3J = 3.3 Hz, 3J = 1.8 Hz, 2 H-2), 5.61-5.56 (m, 2H, H-2c, H-4c), 5.10, 5.02 (je d, je 1H, 3J = 1.7 Hz, 2 H-1), 4.90 (d, 1H, 3J = 1.7 Hz, H-1c), 4.71-4.61 (m, 2H, 2 H-6), 4.53-4.41 (m, 4H, 2 H-5, 2 H-6), 4.07 (m_c , 1H, H-5c), 4.03 (dd, 1H, 3J = 9.8 Hz, 3J = 3.4 Hz, H-3c), 3.93 (ddd, 1H, 3J = 10.1 Hz, 3J = 7.1 Hz, 3J = 7.1 Hz, OCHHCH₂S), 3.80-3.67 (m, 3H, OCHHCH₂CH₂S, 2 OCHHCH₂S), 3.66-3.62 (m, 2H, H-6c, H-6c'), 3.61-3.51 (m, 3H, 2 OCHHCH₂CH₂S, OCHHCH₂S), 3.50-3.49 (m, 1H, OCHHCH₂S), 3.46 (s, 3H, OCH₃), 2.79 (m_c , 2H, SCH₂CH₂O), 2.65 (m_c , 2H, SCH₂CH₂CH₂O), 2.47 (m_c , 2H, SCH₂CH₂O), 2.35 (m_c , 2H, SCH₂CH₂CH₂O), 1.84, 1.64 (je m_c , je 2H, 2 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ = 166.12, 166.11, 166.10, 165.74, 165.46, 165.41, 165.36 (10 C=O), 133.46, 133.44, 133.40, 133.36, 133.14, 133.12, 133.05, 133.03 (10 *p*-Aryl-C), 129.95, 129.84, 129.80, 129.73 (20 *o*-Aryl-C), 129.33, 129.29, 129.11, 129.07, 128.99, 128.96 (10 Aryl-C_q), 128.58, 128.52, 128.44, 128.43, 128.28 (20 *m*-Aryl-C), 98.82 (C-1c), 97.69, 97.58 (2 C-1), 75.93 (C-3c), 70.45 (2 C-2), 70.32 (C-6c), 70.09 (OCH₂), 70.02 (2 C-3), 69.98 (C-5c), 69.08, 68.99, 68.96, 68.93 (C-2c, C-4c, 2 C-5), 68.22, 68.16, 67.93 (3 OCH₂), 66.86, 66.83 (2 C-4), 62.83 (2 C-6), 55.28 (OCH₃), 31.29, 31.08 (2 SCH₂CH₂O), 29.94, 29.58 (2 OCH₂CH₂CH₂S), 29.31, 29.04 (2 SCH₂CH₂H₂O) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{99}\text{H}_{94}\text{NaO}_{28}\text{S}_2$: 1817.5265; gef.: 1817.5260.



Methyl-3,6-di-O-(6-{ α -D-mannopyranosyloxy}-4-thiahexyl)- α -D-mannopyranosid (28)

Nach AAV 2 wurden 128 mg (71.3 μ mol) **27** entschützt (Reaktionszeit: 21 d). Zur Reinigung wurde an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Methanol) chromatographiert. Nach Lyophilisation wurde ein gelblicher Feststoff erhalten.

Ausbeute: 53 mg (quant.);

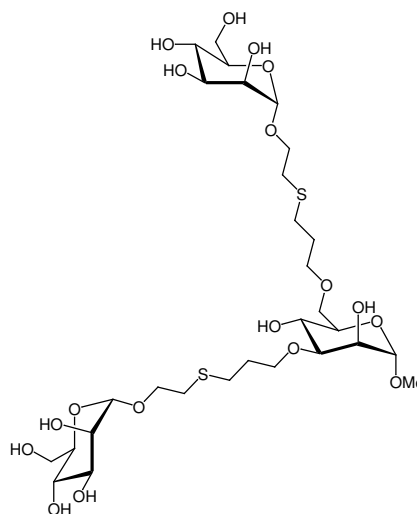
$[\alpha]_D^{25} +66.2$ (c 1.05, MeOH);

IR (KBr): 3438 (br), 2924, 1637, 1203, 1134, 1055, 973, 807 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOH- D_4): $\delta = 4.79$ (d, 2H, $^3J = 1.7\text{ Hz}$, 2 H-1), 4.65 (d, 1H, $^3J = 1.8\text{ Hz}$, H-1c), 3.96 (dd, 1H, $^3J = 3.2\text{ Hz}$, $^3J = 1.8\text{ Hz}$, H-2c), 3.93-3.55 (m, 24H, 2 H-2, 2 H-3, 3 H-4, 3 H-5, 3 H-6, 3 H-6', 8 OCHH), 3.41 (dd, 1H, $^3J = 9.0\text{ Hz}$, $^3J = 3.3\text{ Hz}$, H-3c), 3.38 (s, 3H, OCH₃), 2.77-2.63 (m, 8H, 2 CH₂SCH₂), 1.87 (m_c, 4H, 2 OCH₂CH₂CH₂S) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl₃): $\delta = 102.70$ (C-1c), 101.69, 101.68 (2 C-1), 81.03 (C-3c), 74.84, 74.82, 73.46 (3 CH), 72.60, 72.17 (je 2 CH), 71.60, 71.02, 69.33 (3 CH₂), 68.75, 68.65, 68.63 (C-2c, 2 CH), 68.57, 68.54 (2 CH₂), 67.57 (CH), 63.00, 62.96 (2 CH₂), 55.38 (OCH₃), 32.45, 32.40 (2 SCH₂CH₂O), 31.18, 31.08 (2 OCH₂CH₂CH₂S), 30.13, 30.01 (2 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₂₉H₅₄NaO₁₈S₂: 777.2644; gef.: 777.2657.



Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(6-{3,6-di-O-allyl-2,4-di-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy}-4-thiahexyl)- α -D-mannopyranosid (29)

Nach AAV 1 wurden 200 mg (0.313 mmol) **23** mit 1.46 g (2.38 mmol) des Imidats **11** umgesetzt. Zur Reinigung wurde zuerst an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester, 8:1) und anschließend an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 1:1) chromatographiert. Man erhielt einen weißen Schaum.

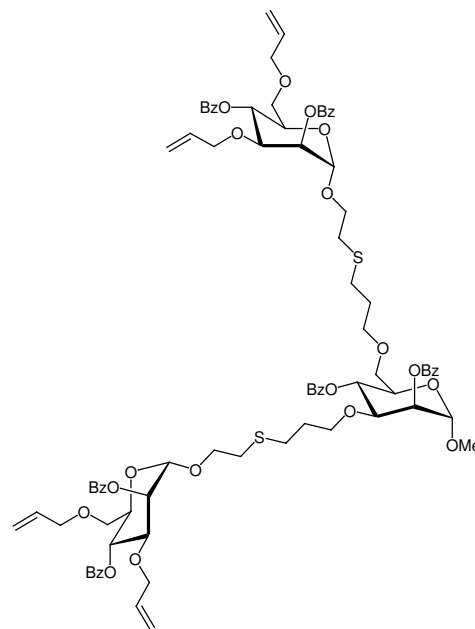
Ausbeute: 309 mg (65 %);

$[\alpha]_D^{25}$ -51.6 (c 1.85, CHCl_3);

IR (KBr): 2918, 2866, 1724, 1451, 1265, 1110, 1070, 1026, 711 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 8.12-8.02 (m, 12H, 12 *o*-Aryl-H), 7.57 (m_c , 6H, 6 *p*-Aryl-H), 7.46 (m_c , 12H, 12 *m*-Aryl-H), 5.82 (m_c , 2H, 2 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.70-5.55 (m, 6H, 2 $\text{CH}=\text{CH}_2$, H-2, 3 H-4), 5.53, 5.50 (je dd, je 1H, 3J = 3.2 Hz, 3J = 1.9 Hz, 2 H-2), 5.21 (dddd, 1H, 3J = 17.3 Hz, 2J = 1.7 Hz, 4J = 1.7 Hz, 4J = 1.7 Hz, $\text{CH}=\text{CH}_{\text{trans}}$ H), 5.20 (dddd, 1H, 3J = 17.3 Hz, 2J = 1.6 Hz, 4J = 1.6 Hz, 4J = 1.6 Hz, $\text{CH}=\text{CH}_{\text{trans}}$ H), 5.15-5.04 (m, 4H, 2 $\text{CH}=\text{CH}_{\text{trans}}$ H, 2 $\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}$ H), 5.02 (d, 1H, 3J = 1.7 Hz, H-1), 4.99 (m_c , 2H, 2 $\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}$ H), 4.93 (d, 1H, 3J = 1.7 Hz, H-1), 4.91 (d, 1H, 3J = 1.6 Hz, H-1), 4.13 (m_c , 1H, H-5), 4.11-3.91 (m, 13H, 3 H-3, 2 H-5, 8 $\text{OCHHCH}=\text{CH}_2$), 3.88 (ddd, 1H, 3J = 10.3 Hz, 3J = 7.0 Hz, 3J = 7.0 Hz, OCHHCH_2S), 3.74 (ddd, 1H, 3J = 9.3 Hz, 3J = 5.7 Hz, 3J = 5.7 Hz, $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 3.71-3.51 (m, 10H, 6 H-6, 2 OCHHCH_2S , 2 $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 3.50-3.43 (m, 2H, OCHHCH_2S , $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 3.47 (s, 3H, OCH_3), 2.74 (m_c , 2H, 2 CHHCH_2O), 2.64 (m_c , 2H, 2 $\text{SCHHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.44 (m_c , 2H, 2 CHHCH_2O), 2.35 (m_c , 2H, 2 $\text{SCHHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.86, 1.65 (je m_c , je 2H, 2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ = 165.78, 165.75, 165.68, 165.49, 165.40 (6 C=O), 134.42, 134.40, 134.23 (4 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 133.30, 133.26, 133.22, 133.20, 133.12, 133.11 (6 *p*-Aryl-C), 129.96, 129.91 (*o*-Aryl-C), 129.81, 129.79, 129.74 (Aryl- C_q), 129.71 (*o*-Aryl-C), 129.63, 129.60 (Aryl- C_q), 128.50, 128.46, 128.39, 128.37 (12 *m*-Aryl-C), 117.22, 116.93, 116.89 (4 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 98.79, 97.79, 97.67 (3 C-1), 75.89, 74.53, 74.48 (3 C-3), 72.47, 72.44, 70.65, 70.62 (4 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 70.40, 70.30 (2 C-5), 70.27, 70.12 (2 OCH_2), 69.96 (C-5), 69.43, 69.39 (2 OCH_2), 69.26, 69.23 (2 C-2), 68.92, 68.87 (C-2, 3 C-4), 68.14 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$), 67.65, 67.44 (2 OCH_2),



55.25 (OCH₃), 31.26, 31.15 (2 SCH₂CH₂O), 29.85, 29.52 (2 OCH₂CH₂CH₂S), 29.15, 28.95 (2 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₈₃H₉₄NaO₂₄S₂: 1561.5469; gef.: 1561.5418.

Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(6-{2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-[6-hydroxy-4-thiahexyl]- α -D-mannopyranosyloxy}-4-thiahexyl)- α -D-mannopyranosid (30)

Nach AAV 3 wurden 211 mg (0.137 mmol) der ungesättigten Verbindung **29** mit 576 μ l (8.22 mmol) Mercaptoethanol umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Cyclohexan, 5:1) und anschließend an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 1:1) lieferte einen farblosen Schaum.

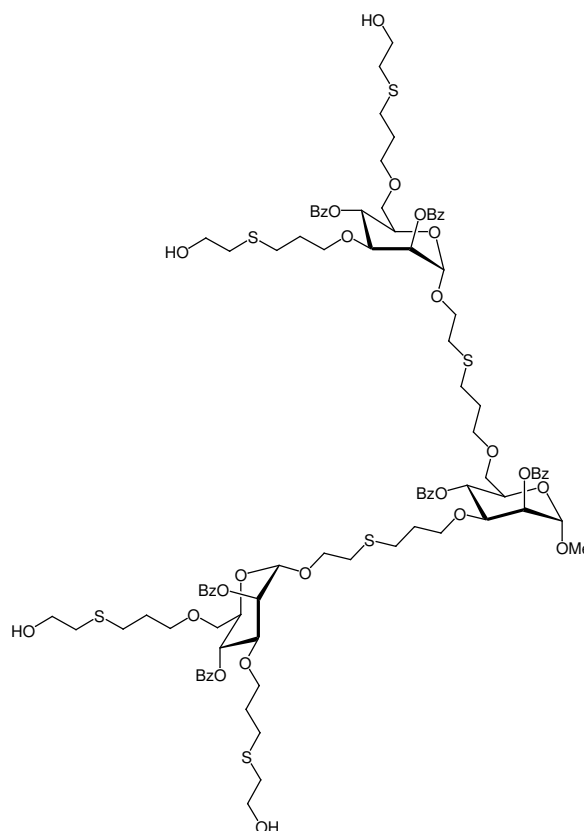
Ausbeute: 239 mg (94%);

$[\alpha]_D^{25}$ -43.9 (*c* 1.80, CHCl₃);

IR (KBr): 3435, 2920, 2870, 1724, 1322, 1266, 1112, 1070, 1027, 713 cm⁻¹;

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.14-8.02 (m, 12H, 12 *o*-Aryl-H), 7.64-7.55 (m, 6H, 6 *p*-Aryl-H), 7.53-7.42 (m, 12H, 12 *m*-Aryl-H), 5.65, 5.63 (je dd \approx t, je 1H, ³J = 10.0 Hz, 2 H-4), 5.60-5.54 (m, 3H, 2 H-2, H-4), 5.53 (dd, 1H, ³J = 3.2 Hz, ³J = 1.9 Hz, H-2), 5.02 (d, 1H, ³J = 1.8 Hz, H-1), 4.93 (d, 1H, ³J = 1.7 Hz, H-1), 4.91 (d, 1H, ³J = 1.6 Hz, H-1), 4.14-3.92 (m, 6H, 3 H-3, 3 H-5), 3.87 (ddd, 1H, ²J = 10.5 Hz, ³J = 7.0 Hz, ³J = 7.0 Hz, OCHHCH₂S), 3.79-3.36 (m, 29H, 3 H-6, 3 H-6', 4 CH₂OH, 15 OCHH), 3.48 (s, 3H, OCH₃), 2.75 (t, 2H, ³J = 6.8 Hz, SCH₂CH₂O), 2.69-2.55 (m, 12H, 10 SCHH, 2 OH), 2.46 (t, 2H, ³J = 6.7 Hz, SCH₂CH₂O), 2.42-2.16 (m, 12H, 10 SCHH, 2 OH), 1.91-1.51 (m, 12H, 6 OCH₂CH₂CH₂S) ppm;

¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): δ = 165.72, 165.70, 165.53, 165.45 (6 C=O), 133.44-133.26 (6 *p*-Aryl-C), 129.91, 129.89, 129.73-129.64 (12 *o*-Aryl-C, Aryl-C_q), 129.63, 129.61, 129.56, 129.53, 129.50 (5 Aryl-C_q), 128.59-128.45 (12 *m*-Aryl-C), 98.78, 97.88, 97.77 (3 C-1), 75.96, 75.93, 75.88 (3 C-3), 70.18 (OCH₂), 70.15 (C-5), 70.13 (OCH₂), 70.05 (C-5), 69.98, 69.95



(2 OCH₂), 69.93 (C-5), 69.77, 69.73 (2 OCH₂), 68.90, 69.88, 68.86, 68.64 (3 C-2, 3 C-4), 68.19, 68.12, 67.62, 67.43 (5 OCH₂), 60.42, 60.00 (je 2 CH₂OH), 55.29 (OCH₃), 35.16, 35.15, 34.84, 34.83 (4 SCH₂CH₂OH), 31.31, 31.17 (2 SCH₂CH₂O), 29.90, 29.87, 29.78, 29.53 (6 OCH₂CH₂CH₂S), 29.16, 28.95 (2 SCH₂CH₂CH₂O), 28.26, 27.73 (je 2 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₉₁H₁₁₈NaO₂₈S₆: 1873.6026; gef.: 1873.6035.

Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(6-{2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-[6-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-4-thiahexyl]- α -D-mannopyranosyloxy]-4-thiahexyl)- α -D-mannopyranosid (31)

Nach AAV 1 wurden 220 mg (0.119 mmol) des Tetraols **30** mit 1.76 g (2.38 mmol) des Imidats **7** umgesetzt. Reinigung erfolgte durch Chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester, 8:1) und Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 1:1). Man erhielt einen weißen Schaum.

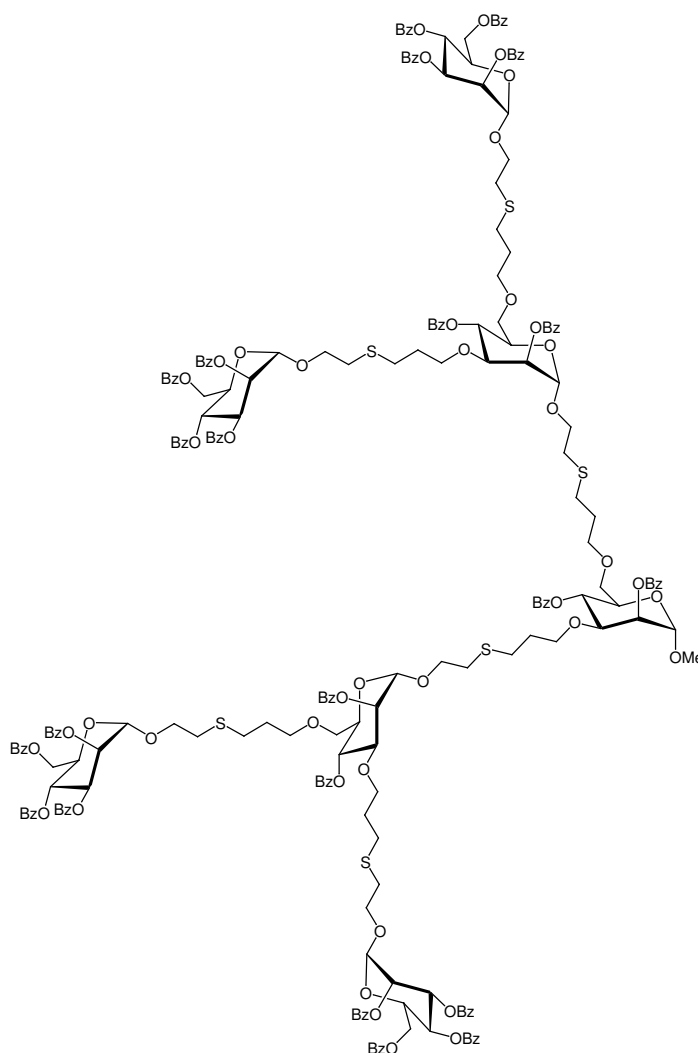
Ausbeute: 274 mg (55 %);

$[\alpha]_D^{25}$ -47.2 (*c* 1.14, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 2922, 1727, 1602, 1451, 1316, 1266, 1109, 1069, 1026, 709 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.12-8.03 (m, 28H, 28 *o*-Aryl-H), 7.96-7.92, 7.84-7.80 (je m, je 8H, 16 *o*-Aryl-H), 7.61-7.22 (m, 66H, 66 Aryl-H), 6.13-6.06 (m, 4H, 4 H-4), 5.89, 5.86 (je dd, je 2H, ³*J* = 10.1 Hz, ³*J* = 3.3 Hz, 4 H-3), 5.68 (m_c, 2H, 2 H-2), 5.66 (dd, 2H, ³*J* = 1.8 Hz, ³*J* = 3.3 Hz, 2 H-2),

5.63, 5.62 (je dd \approx t, je 1H, ³*J* = 9.9 Hz, 2 H-4), 5.58-5.52 (m, 4H, 3 H-2, H-4), 5.09 (br, 2H, 2 H-1), 5.02 (d, 1H, ³*J* = 1.7 Hz, H-1), 5.00 (d, 2H, ³*J* = 1.5 Hz, 2 H-1), 4.94, 4.90 (je d, je 1H, ³*J*



= 1.7 Hz, 2 H-1), 4.70-4.62 (m, 4H, 4 H-6), 4.53-4.41 (m, 8H, 4 H-5, 4 H-6), 4.11 (m_c, 1H, H-5), 4.08-3.99 (m, 4H, 2 H-3, 2 H-5), 3.97 (dd, 1H, ³J = 9.8 Hz, ³J = 3.2 Hz, H-3), 3.94-3.84 (m, 3H, 3 OCHHCH₂S), 3.78-3.41 (m, 27H, 6 H-6, 9 OCHHCH₂S, 12 OCHHCH₂CH₂S), 3.46 (s, 3H, OCH₃), 2.81-2.71 (m, 6H, 6 SCHHCH₂O), 2.68-2.59 (m, 6H, 6 SCHHCH₂CH₂O), 2.50-2.40 (m, 6H, 6 SCHHCH₂O), 2.40-2.25 (m, 6H, SCHHCH₂CH₂O), 1.85 (m_c, 6H, 6 OCH₂CHHCH₂S), 1.67-1.56 (m, 6H, 6 OCH₂CHHCH₂S) ppm;

¹³C-NMR (150.90 MHz, CDCl₃): δ = 166.06, 165.66, 165.42, 165.37, 165.31 (22 C=O), 133.40, 133.36, 133.30, 133.09, 132.99 (22 *p*-Aryl-C), 129.89, 129.78, 129.74, 129.67 (44 *o*-Aryl-C), 129.60, 129.57, 129.28, 129.26, 129.06, 129.03, 128.93, 128.92 (22 Aryl-C_q), 128.60-128.44, 128.40, 128.38, 128.23 (44 *m*-Aryl-C), 98.76, 97.87, 97.77 (3 C-1), 97.64, 97.53 (je 2 C-1), 75.88 (3 C-3), 70.39 (4 C-2), 70.28 (C-6), 70.22, 70.16-69.90, 69.02, 68.94, 68.89, 68.75 (3 C-2, 4 C-3, 3 C-4, 7 C-5, 2 C-6), 68.17, 68.10, 67.83, 67.59, 67.40 (12 OCH₂), 66.80, 66.78 (je 2 C-4), 62.77 (4 C-6), 55.23 (OCH₃), 31.28 (SCH₂CH₂O), 31.23 (2 SCH₂CH₂O), 31.14 (SCH₂CH₂O), 31.00 (2 SCH₂CH₂O), 29.85, 29.55, 29.24, 29.12, 28.95, 28.91 (6 OCH₂CH₂CH₂S) ppm;

MALDI-TOF-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₂₂₇H₂₂₂NaO₆₄S₆: 4186.23; gef.: 4186.44;

m/z [M + K]⁺ ber. für C₂₂₇H₂₂₂KO₆₄S₆: 4202.21; gef.: 4202.34.

Methyl-3,6-di-O-(6-{3,6-di-O-[6-(α -D-mannopyranosyloxy)-4-thiahexyl]- α -D-mannopyranosyloxy]-4-thiahexyl)- α -D-mannopyranosid (32)

Nach AAV 2 wurden 251 mg (60 μ mol) **31** in 24 d entschützt, anschließend chromatographisch an Sephadex LH-20 gereinigt (Laufmittel: Methanol) und aus Wasser mit wenig Acetonitril lyophilisiert. Man erhielt einen farblosen, voluminösen Feststoff.

Ausbeute: 78 mg (68 %);

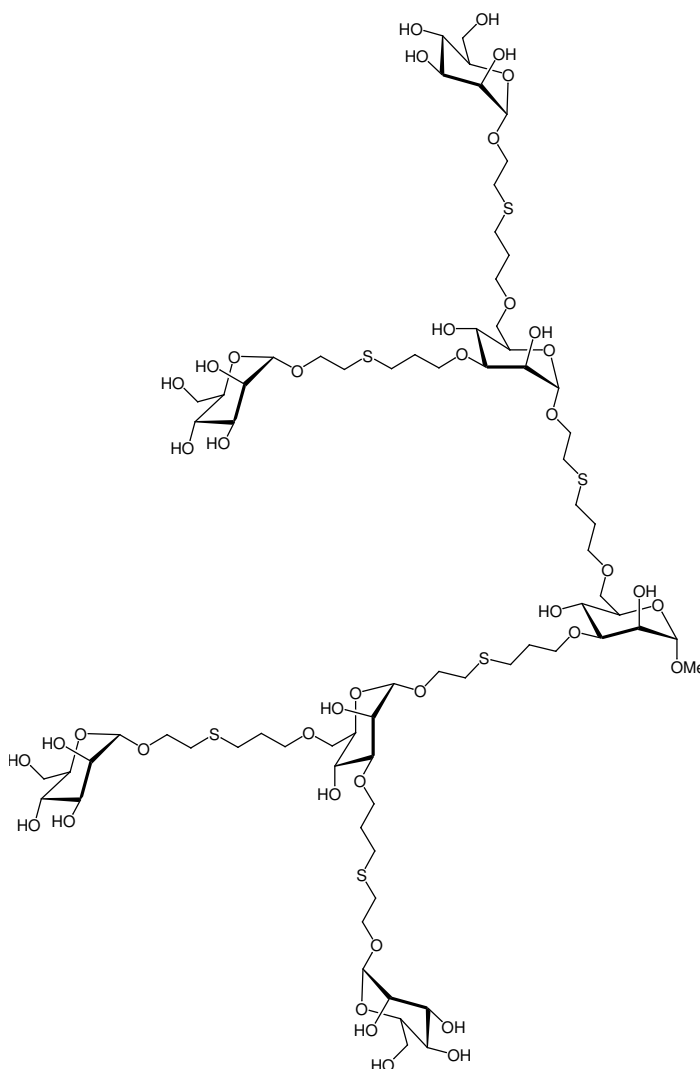
$[\alpha]_D^{25} +67.4$ (c 1.03, MeOH);

IR (KBr): 3424, 2923, 1636, 1132, 1105, 1086, 1056, 976 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH- D_6): δ = 4.81-4.79 (m, 6H, 6 H-1), 4.66 (d, 1H, $^3J = 1.7$ Hz, H-1), 3.98 (dd, 2H, $^3J = 3.1$ Hz, $^3J = 1.8$ Hz, 2 H-2), 3.97 (dd, 1H, $^3J = 3.2$ Hz, $^3J = 1.8$ Hz, H-2), 3.92-3.56 (m, 60H, 4 H-2, 4 H-3, 7 H-4, 7 H-5, 14 H-6, 24 OCHH), 3.47-3.41 (m, 3H, 3 H-3), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 2.80-2.70 (m, 18H, 6 SCH₂CH₂O, 6 SCHHCH₂CH₂O), 2.68 (m_c, 6H, 6 SCHHCH₂CH₂O), 1.95-1.82 (m, 12H, 6 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, MeOH- D_6): δ = 102.68 (C-1), 101.75-101.65 (6 C-1), 81.09 (C-3), 81.04 (2 C-3), 74.83, 74.80 (je 2 C-5s), 73.74 (2 C-5), 73.48 (C-5), 72.63, 72.62 (4 C-3s), 72.17 (4 C-2s), 71.72, 71.03, 69.40, 69.34 (CH₂), 68.84, 68.80, 68.67, 68.64 (CH), 68.58, 68.56 (CH₂), 67.66 (CH), 63.01, 62.98 (je 2 C-6), 55.46 (OCH₃), 32.52 (2 SCH₂CH₂O), 32.50, 32.46 (2 SCH₂CH₂O), 32.44 (2 SCH₂CH₂O), 31.20, 31.14, 31.10 (6 OCH₂CH₂CH₂S), 30.17, 30.12, 30.10, 30.02 (6 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₇₃H₁₃₄NaO₄₂S₆: 1897.66; gef.: 1897.04.



Methyl-3,6-di-O-(6-{3,6-di-O-[6-(α -D-mannopyranosyloxy)-4,4-dioxo-4-thiahexyl]- α -D-mannopyranosyloxy}-4,4-dioxo-4-thiahexyl)- α -D-mannopyranosid (33)

Eine Lösung von 26.5 mg (14.1 μ mol) 32 in 2 ml Wasser/Methanol (1:1) wurde mit 49 mg (85 μ mol) MMPP (85%ig) versetzt und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurden nochmals 13 mg (21 μ mol) MMPP zugeben, die Lösung mit 10 ml Wasser verdünnt, eingefroren und lyophilisiert. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Sephadex LH-20 gereinigt (Laufmittel: Wasser) und das Produkt als weißer, voluminöser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 19.7 mg (67%);

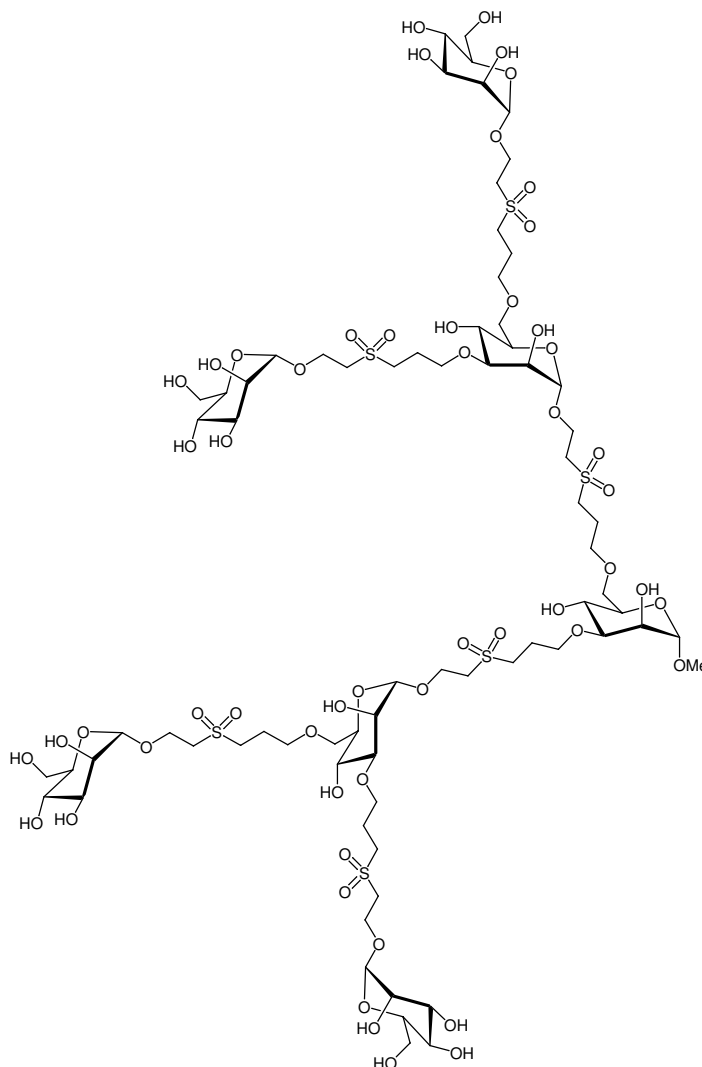
$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +39.3$ (c 0.530, H₂O);

IR (KBr): 3425, 2925, 1637, 1313, 1276, 1128, 1086, 1056, 978 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ = 4.80 (d, 2H, ³J = 1.6 Hz, 2 H-1), 4.79 (d, 4H, ³J = 1.6 Hz, 4 H-1), 4.65 (H-1c, im H₂O-Peak), 4.07 (m_c, 6H, 6 OCHHCH₂SO₂), 4.03 (dd, 2H, ³J = 3.2 Hz, ³J = 1.9 Hz, 2 H-2), 4.00 (dd, 1H, ³J = 3.2 Hz, ³J = 1.8 Hz, H-2c), 3.85 (dd, 4H, ³J = 3.4 Hz, ³J = 1.7 Hz, 4 H-2s), 3.83 (m_c, 6H, 6 OCHHCH₂SO₂), 3.80-3.50 (m, 44H, 4 H-3, 7 H-4, 7 H-5, 14 H-6, 12 OCHHCH₂CH₂SO₂), 3.50-3.41 (m, 15H, 3 H-3, 12 OCH₂CHHSO₂), 3.30 (s, 3H, OCH₃), 3.27 (m_c, 12H, 12 OCH₂CH₂CHHSO₂), 2.08-1.97 (m, 12H, 6 OCH₂CH₂CH₂SO₂) ppm;

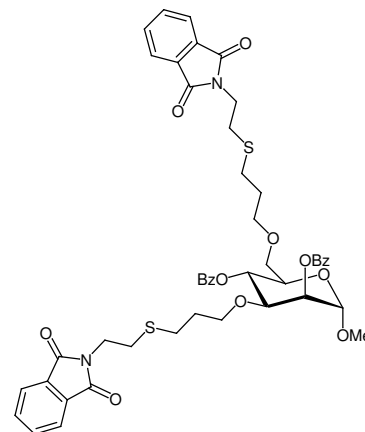
¹³C-NMR (125.76 MHz, D₂O): δ = 102.88 (C-1c), 101.94 (6 C-1), 80.92 (C-3), 80.82 (2 C-3), 75.07, 73.74, 73.25, 72.58, 71.88 (CH), 71.57, 70.89, 70.83, 69.23, 69.16 (CH₂), 68.64, 67.78, 67.75 (CH), 62.91, 62.57, 62.53 (CH₂), 56.93 (OCH₃), 54.21, 54.10, 53.25, 53.22, 53.15, 53.12 (6 CH₂SO₂CH₂), 23.81, 23.48 (6 OCH₂CH₂CH₂SO₂) ppm;

MALDI-TOF-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₇₃H₁₃₄NaO₅₄S₆: 2089.60; gef.: 2089.34.



Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(6-phthalimido-4-thiahexyl)- α -D-mannopyranosid (36)

Das Diol **23** (100 mg, 0.157 mmol) wurde zusammen mit 190 mg (0.723 mmol) Triphenylphosphin und 100 mg (0.680 mmol) Phthalimid in 2.5 ml trockenem THF gelöst. Nach tropfenweiser Zugabe von 110 μ l (0.73 mmol) DEAD rührte der Ansatz über Nacht. Entfernen des Lösungsmittels und Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Cyclohexan, 4:3) und Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 1:1) ergab das Produkt als farblosen, glasartigen Feststoff.



Ausbeute: 84 mg (60 %);

$[\alpha]_D^{25}$ -39.6 (c 0.530, CH_2Cl_2);

IR (KBr): 2925, 1772, 1716, 1396, 1266, 1112, 1070, 714 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 8.11-8.04 (m, 4H, 4 *o*-Bz-H), 7.84-7.81 (m, 4H, 4 *o*-Phth-H), 7.73-7.69 (m, 4H, 4 *m*-Phth-H), 7.59-7.50 (m, 2H, 2 *p*-Bz-H), 7.49-7.40 (m, 4H, 4 *m*-Bz-H), 5.57 (dd \approx t, 1H, 3J = 9.9 Hz, H-4), 5.57-5.56 (m, 1H, H-2), 4.92 (d, 1H, 3J = 1.7 Hz, H-1), 4.06 (ddd, 1H, 3J = 10.2 Hz, 3J = 4.4 Hz, 3J = 4.4 Hz, H-5), 4.02 (dd, 1H, 3J = 9.7 Hz, 3J = 3.3 Hz, H-3), 3.84 (ddd \approx t, 2H, 3J = 7.1 Hz, PhthNCH₂), 3.73 (m_c, 1H, OCHHCH₂CH₂S), 3.65-3.62 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.62-3.58 (m, 2H, PhthNCH₂), 3.57-3.51 (m, 2H, 2 OCHHCH₂CH₂S), 3.50-3.44 (m, 1H, OCHHCH₂CH₂S), 3.48 (s, 3H, OCH₃), 2.76 (m_c, 2H, SCH₂CH₂NPhth), 2.66 (ddd \approx t, 2H, 3J = 7.3 Hz, SCH₂CH₂CH₂O), 2.46 (ddd \approx t, 2H, SCH₂CH₂NPhth), 2.37 (m_c, 2H, SCH₂CH₂CH₂O), 1.83, 1.63 (je m_c, je 2H, 2 OCH₂CH₂CH₂S) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ = 168.05, 167.92 (je 2 Phth-C=O), 165.68, 165.38 (2 Bz-C=O), 133.95, 133.90 (je 2 *m*-Phth-C), 133.26, 133.15 (2 *p*-Bz-C), 131.90 (4 Phth-C_q), 129.90, 129.70 (4 *o*-Bz-C), 129.62, 129.50 (2 Bz-C_q), 128.43 (4 *m*-Bz-C), 123.25, 123.21 (je 2 *o*-Phth-C), 98.68 (C-1), 75.75 (C-3), 70.15, 69.95 (C-6, OCH₂CH₂CH₂S), 69.84 (C-5), 68.78 (C-2, C-4), 68.00 (OCH₂CH₂CH₂S), 55.25 (OCH₃), 36.89, 36.67 (2 PhthNCH₂), 29.78, 29.65 (2 SCH₂CH₂NPhth) 29.39, 29.30 (2 SCH₂CH₂CH₂O), 28.09, 27.90 (2 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{47}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{NaO}_{12}\text{S}_2$: 919.2541; gef.: 919.2555.

Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(3-{2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-[6-phthalimido-4-thiahexyl]- α -D-mannopyranosyloxy}-propyl)- α -D-mannopyranosid (37)

Das Tetraol **24** (73 mg, 42 μ mol) wurde zusammen mit 103 mg (0.393 mmol) Triphenylphosphin und 52 mg (0.35 mmol) Phthalimid in 5 ml trockenem THF gelöst. Nach tropfenweiser Zugabe von 62 μ l (0.39 mmol) DEAD rührte der Ansatz über Nacht. Entfernen des Lösungsmittels und Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Cyclohexan, 4:3) und Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 1:1) ergab das Produkt als gelblichen, wachsartigen Feststoff.

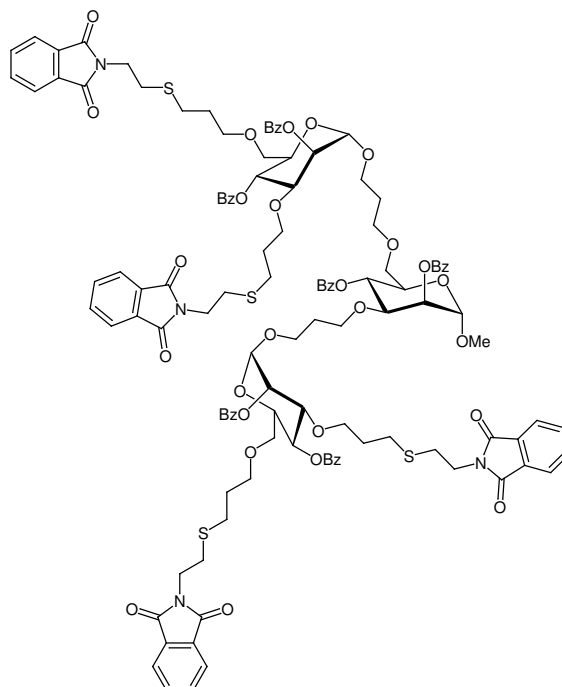
Ausbeute: 71 mg (74 %);

$[\alpha]_D^{25}$ -53.0 (c 2.15, CHCl_3);

IR (KBr): 3466, 2952, 1771, 1714, 1395, 1358, 1323, 1266, 1112, 1070, 736, 713 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 8.03-7.94 (m, 12H, 12 *o*-Bz-H), 7.75-7.70 (m, 8H, 8 *o*-Phth-H), 7.64-7.58 (m, 8H, 8 *m*-Phth-H), 7.50-7.28 (m, 18H, 18 Aryl-H), 5.53 (dd, 1H, 3J = 3.3 Hz, 3J = 2.0 Hz, H-2), 5.53, 5.50 (je dd \approx t, je 1H, 3J = 9.9 Hz, 2 H-4), 5.45 (dd, 1H, 3J = 3.2 Hz, 3J = 1.8 Hz, H-2), 5.44 (dd \approx t, 1H, 3J = 9.9 Hz, H-4), 5.37 (dd, 1H, 3J = 3.2 Hz, 3J = 1.9 Hz, H-2), 4.89, 4.83 (je d, je 1H, 3J = 1.6 Hz, 2 H-1), 4.60 (d, 1H, 3J = 1.7 Hz, H-1), 4.02-3.95 (m, 1H, H-5), 3.98 (dd, 1H, 3J = 9.7 Hz, 3J = 3.3 Hz, H-3), 3.95-3.91 (m, 1H, H-5), 3.90 (dd, 1H, 3J = 9.6 Hz, 3J = 3.3 Hz, H-3), 3.80 (dd, 1H, 3J = 9.8 Hz, 3J = 3.2 Hz, H-3), 3.81-3.77 (m, 1H, H-5), 3.77-3.22 (m, 30H, 3 H-6, 3 H-6', 8 $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 8 $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{S}$, 8 $\text{SCH}_2\text{CHHNPhth}$), 3.39 (s, 3H, OCH_3), 2.66 (m_c , 4H, 4 $\text{SCHHCH}_2\text{NPhth}$), 2.54 (m_c , 4H, 4 $\text{SCHHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.37 (m_c , 4H, 4 $\text{SCHHCH}_2\text{NPhth}$), 2.35-2.20 (m, 4H, 4 $\text{SCHHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.84 (m_c , 2H, 2 $\text{OCH}_2\text{CHHCH}_2\text{O}$), 1.79-1.58 (m, 6H, 4 $\text{SCH}_2\text{CHHCH}_2\text{O}$, 2 $\text{OCH}_2\text{CHHCH}_2\text{O}$), 1.58-1.47 (m, 4H, 4 $\text{SCH}_2\text{CHHCH}_2\text{O}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ = 167.97, 167.85 (8 Phth-C=O), 165.61, 165.59, 165.44, 165.33, 165.30 (6 Bz-C=O), 133.89, 133.86, 133.85 (8 *m*-Phth-C), 133.23, 133.19, 133.18, 133.10, 133.05, 133.01 (6 *p*-Bz-C), 131.96 (8 Phth-C_q), 129.88 (*o*-Bz-C), 129.83, 129.77, 129.74,



129.72 (Bz-C_q), 129.68, 129.63 (*o*-Bz-C), 129.56 (Bz-C_q), 128.46, 128.39 (*m*-Bz-C), 123.21, 123.17 (*o*-Phth-C), 98.78, 97.66, 97.61 (3 C-1), 75.92, 75.85, 75.79 (3 C-3), 70.34, 70.30, 70.13, 70.03, 70.00, 69.96, 69.82 (3 C-5, OCH₂), 69.02, 68.97, 68.90, 68.85, 68.82 (3 C-2, 3 C-4), 68.43, 68.16, 68.09, 68.05, 68.00, 66.66, 65.02, 64.85 (3 C-6, OCH₂), 55.25 (OCH₃), 36.97, 36.76 (4 NCH₂), 29.82, 29.68, 29.43, 29.15, 29.13 (4 SCH₂CH₂NPhth, 2 OCH₂CH₂CH₂O, 4 SCH₂CH₂CH₂O) ppm;

MALDI-TOF-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₁₁₉H₁₂₂N₄NaO₃₂S₄: 2269.68; gef.: 2269.61;
 m/z [M + K]⁺ ber. für C₁₁₉H₁₂₂KN₄O₃₂S₄: 2285.66; gef.: 2285.59.

Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(4-thiaicosyl)- α -D-mannopyranosid (41)

Nach AAV 3 wurden 253 mg (0.524 mmol) **2** mit 4.06 g (15.7 mmol) Hexadecanthiol umgesetzt. Zur Reinigung wurde an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Cyclohexan \rightarrow Cyclohexan/Essigester, 6 : 1). Man erhielt ein farbloses Öl.

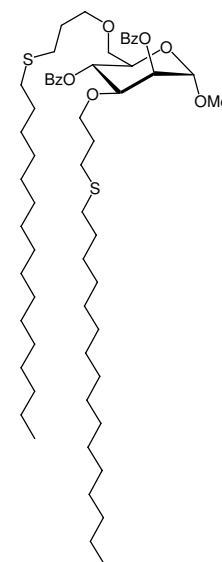
Ausbeute: 439 mg (84 %);

$[\alpha]_D^{25}$ -32.7 (c 1.03, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 2923, 2853, 1729, 1452, 1265, 1177, 1111, 1069, 1027, 710 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.10, 8.06 (je m_c, je 2H, 4 *o*-Aryl-H), 7.58 (m_c, 2H, 2 *p*-Aryl-H), 7.46 (m_c, 4H, 4 *m*-Aryl-H), 5.56 (dd, 1H, ³J = 3.3 Hz, ³J = 1.9 Hz, H-2), 5.56 (dd \approx t, 1H, ³J = 9.9 Hz, H-4), 4.91 (d, 1H, ³J = 1.7 Hz, H-1), 4.06-4.03 (m, 1H, H-5), 4.01 (dd, 1H, ³J = 9.7 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 3.71 (m_c, 1H, OCHHCH₂CH₂S), 3.65-3.60 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.57-3.48 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂S), 3.47 (s, 3H, OCH₃), 3.47-3.42 (m, 1H, OCHHCH₂CH₂S), 2.55 (m_c, 2H, SCH₂CH₂CH₂O), 2.44 (ddd \approx t, 2H, ³J = 7.4 Hz, SCH₂C₁₅H₃₁), 2.27 (m_c, 2H, SCH₂CH₂CH₂O), 2.18 (m_c, 2H, SCH₂C₁₅H₃₁), 1.81 (m_c, 2H, SCH₂CH₂CH₂O), 1.65-1.58 (m, 2H, SCH₂CH₂CH₂O), 1.53 (m_c, 2H, SCH₂CH₂C₁₄H₂₉), 1.36-1.15 (m, 54H, 27 CH₂), 0.88 (t, 6H, ³J = 7.0 Hz, 2 CH₃) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 165.72, 165.41 (2 C=O), 133.22, 133.14 (2 *p*-Aryl-C), 129.93 (*o*-Aryl-C), 129.79 (Aryl-C_q), 129.69 (*o*-Aryl-C), 129.64 (Aryl-C_q), 128.43 (2 *m*-Aryl-C), 98.78 (C-1), 75.79 (C-3), 70.35, 70.27 (C-6, OCH₂CH₂CH₂S), 69.99 (C-5), 68.95, 68.90 (C-2, C-4), 68.42 (OCH₂CH₂CH₂S), 55.22 (OCH₃), 32.08, 31.90, 29.84, 29.67, 29.63, 29.59, 29.56, 29.53, 29.43, 29.33, 29.25, 29.19, 28.93, 28.84, 28.70, 28.50, 22.66 (CH₂), 14.09 (2 CH₃) ppm;



HRESI-MS: m/z $[M + Na]^+$ ber. für $C_{59}H_{98}NaO_8S_2$: 1021.6595; gef.: 1021.6572.

Methyl-3,6-di-O-(4-thiaicosyl)- α -D-mannopyranosid (42)

Aus dem geschützten Mannosid 41: Nach AAV 2 wurden 163 mg (0.163 mmol) des Mannosids **41** umgesetzt. Dem Methanol wurde hierbei soviel THF zugesetzt, dass sich eine klare Lösung bildete. Die Reaktionszeit betrug 14 d, Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 2 : 1). Man erhielt einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 86 mg (66 %).

Aus Methyl-3,6-di-O-allyl- α -D-mannopyranosid: Nach AAV 3 wurden 793 mg (2.89 mmol) Methyl-3,6-di-O-allyl- α -D-mannopyranosid mit 22.4 g (86.7 mmol) Hexadecanthiol umgesetzt. Zur Reinigung wurde an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Cyclohexan \rightarrow Cyclohexan/Essigester, 2 : 1). Man erhielt einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.53 g (72 %);

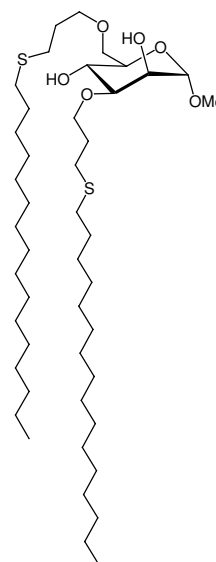
Schmp.: 44–45 °C; $[\alpha]_D^{25} +13.2$ (c 0.900, $CHCl_3$);

IR (KBr): 3441, 2917, 2849, 1465, 1111, 1056, 973, 758 cm^{-1} ;

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$ /TMS): δ = 4.78 (d, 1H, 3J = 1.6 Hz, H-1), 4.02 (dd, 1H, 3J = 3.3 Hz, 3J = 1.7 Hz, H-2), 3.84-3.76 (m, 2H, H-4, $OCHHCH_2CH_2S$), 3.75-3.67 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.65-3.55 (m, 3H, 3 $OCHHCH_2CH_2S$), 3.51 (dd, 1H, 3J = 9.1 Hz, 3J = 3.3 Hz, H-3), 3.38 (s, 3H, OCH_3), 2.66 (br, 2H, $SCH_2CH_2CH_2O$), 2.59, 2.49 (je ddd \approx t, je 2H, 3J = 7.1 Hz, 2 $SCH_2C_{15}H_{31}$), 1.99-1.83 (m, 4H, 2 $SCH_2CH_2CH_2O$), 1.57 (m_c , 4H, 2 $SCH_2CH_2C_{14}H_{29}$), 1.36 (m_c , 4H, 2 $SCH_2CH_2CH_2C_{13}H_{27}$), 1.32-1.15 (m, 48H, 24 CH_2), 0.88 (t, 6H, 3J = 7.0 Hz, 2 CH_3) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, $CDCl_3$): δ = 100.53 (C-1), 79.74 (C-3), 71.14 (C-6), 70.36 ($OCH_2CH_2CH_2S$), 70.24 (C-5), 67.83 ($OCH_2CH_2CH_2S$), 67.77 (C-4), 67.33 (C-2), 54.94 (OCH_3), 32.24, 32.18 (2 $SCH_2C_{15}H_{31}$), 31.91, 29.68, 29.65, 29.61, 29.58, 29.55, 29.54, 29.35, 29.27, 29.24, 29.12, 28.99, 28.96, 28.95, 28.76, 22.68 (CH_2), 14.10 (2 CH_3) ppm;

HRESI-MS: m/z $[M + Na]^+$ ber. für $C_{45}H_{90}NaO_6S_2$: 813.6071; gef.: 813.6079.



Methyl-2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-(3-{2,4-di-O-benzoyl-3,6-di-O-[4-thiaicosyl]- α -D-mannopyranosyloxy}-propyl)- α -D-mannopyranosid (43)

Nach AAV 3 wurden 214 mg (0.151 mmol) **10** mit 2.34 g (9.06 mmol) Hexadecanthiol umgesetzt. Zur Reinigung wurde an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Cyclohexan \rightarrow Cyclohexan/Essigester, 6 : 1). Man erhielt ein farbloses Öl.

Ausbeute: 353 mg (92 %);

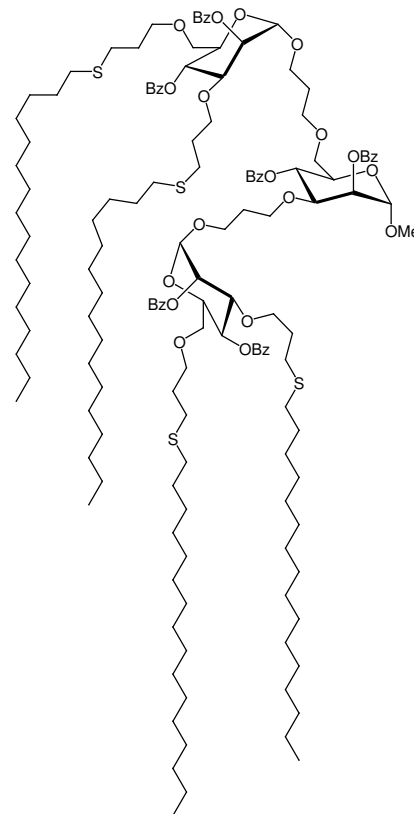
$[\alpha]_D^{25}$ -44.9 (c 1.85, CHCl_3);

IR (KBr): 2923, 2853, 1728, 1602, 1452, 1265, 1112, 1069, 1027, 710 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 8.12-8.01 (m, 12H, 12 *o*-Aryl-H), 7.62-7.39 (m, 18H, 12 *m*-Aryl-H, 6 *p*-Aryl-H), 5.65-5.51 (m_c , 4H, 2 H-2, 2 H-4), 5.51 (dd \approx t, 1H, 3J = 9.9 Hz, H-4), 5.46 (dd, 1H, 3J = 3.2 Hz, 3J = 1.7 Hz, H-2), 4.97 (d, 1H, 3J = 1.7 Hz, H-1), 4.92, 4.67 (je d, je 1H, 3J = 1.6 Hz, 2 H-1), 4.06 (m_c , 1H, H-5), 4.05 (dd, 1H, 3J = 9.7 Hz, 3J = 3.2 Hz, H-3), 3.98 (m_c , 1H, H-5), 3.97 (dd, 1H, 3J = 9.6 Hz, 3J = 3.4 Hz, H-3), 3.90-3.75 (m, 3H, H-5, 2 OCHH), 3.86 (dd, 1H, 3J = 9.7 Hz, 3J = 3.2 Hz, H-3), 3.75-3.30 (m, 20H, 3 H-6, 3 H-6', 14 OCHH), 3.48 (s, 3H, OCH₃), 2.52 (m_c , 4H, 4 SCHHCH₂CH₂O), 2.43 (m_c , 4H, 4 SCHHC₁₅H₃₁), 2.35-2.17 (m, 4H, 4 SCHHCH₂CH₂O), 2.14 (m_c , 4H, 4 SCHHC₁₅H₃₁), 1.91 (m_c , 2H, OCH₂CH₂CH₂O), 1.84-1.66 (m, 6H, 2 SCH₂CH₂CH₂O, OCH₂CH₂CH₂O), 1.65-1.45 (m, 8H, 2 SCH₂CH₂CH₂O, 4 SCH₂CHHC₁₄H₂₉), 1.39-1.10 (m, 108H, 54 CH₂), 0.88 (m_c , 12H, 4 CH₃) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): δ = 165.65, 165.62, 165.46, 165.36, 165.33 (6 C=O), 133.27, 133.21, 133.13, 133.11, 133.06 (6 *p*-Aryl-C), 129.98-129.89 (*o*-Aryl-C), 129.87, 129.82, 129.77, 129.74 (Aryl-C_q), 129.72-129.62 (*o*-Aryl-C), 129.57 (Aryl-C_q), 128.49, 128.44, 128.44-128.33 (12 *m*-Aryl-C), 98.81, 97.70, 97.67 (3 C-1), 75.89, 75.83, 75.81 (3 C-3), 70.37, 70.34, 70.31, 70.15, 70.04 (5 CH₂), 70.00, 69.84 (3 C-5), 69.01, 68.93, 68.90, 68.84, 68.80 (3 C-2, 3 C-4), 68.45, 68.39, 68.36, 66.63, 65.00, 64.83 (6 CH₂), 55.28 (OCH₃), 32.04, 31.90, 31.87 (4 SCH₂C₁₅H₃₁), 29.81-29.50, 29.42, 29.34, 29.27, 29.20, 28.95, 28.86, 28.68, 28.53, 28.50 (2 OCH₂CH₂CH₂O, 4 OCH₂CH₂CH₂S, 4 SCH₂C₁₃H₂₆CH₂CH₃), 22.67 (4 SC₁₄H₂₈CH₂CH₃), 14.11 (4 CH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für C₁₄₃H₂₂₂NaO₂₄S₄: 2474.4929; gef.: 2474.4827.



Methyl-3,6-di-O-(3-{3,6-di-O-[4-thiaicosyl]- α -D-mannopyranosyloxy}-propyl)- α -D-mannopyranosid (44)

Nach AAV 3 wurden 46 mg (58 μ mol) **46** mit 905 mg (3.50 mmol) Hexadecanthiol umgesetzt. Zur Reinigung wurde zunächst an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan \rightarrow Essigester/Cyclohexan, 2:1) und anschließend an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 1:1) chromatographiert. Man erhielt einen weißen Ferststoff.

Ausbeute: 59 mg (55 %);

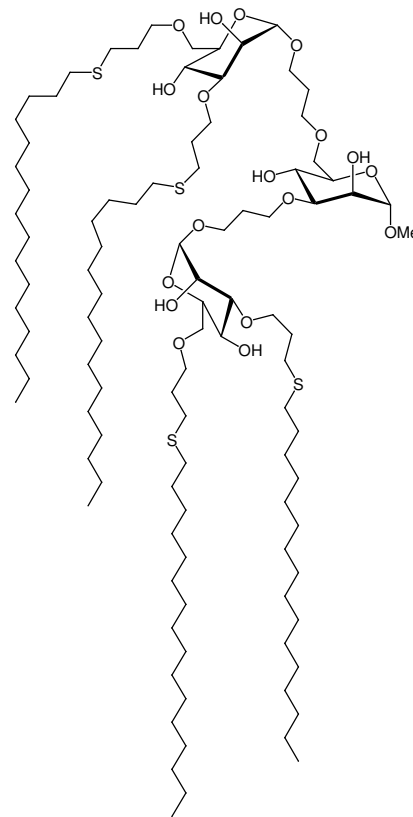
Schmp.: 42–43 °C; $[\alpha]_D^{25} +21.9$ (*c* 1.17, CHCl₃);

IR (KBr): 3442, 2918, 2849, 1467, 1114, 1056, 977, 721 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 4.89, 4.87 (je d, je 1H, ³J = 1.6 Hz, 2 H-1), 4.76 (d, 1H, ³J = 1.5 Hz, H-1), 4.02 (br, 2H, 2 H-2), 3.98 (dd, 1H, ³J = 3.0 Hz, ³J = 1.5 Hz, H-2), 3.91-3.46 (m, 31H, 3 H-3, 3 H-4, 3 H-5, 3 H-6, 3 H-6', 16 OCHH), 3.38 (s, 3H, OCH₃), 3.19-3.05, 2.86-2.69 (je m, je 2H, 4 OH), 2.66, 2.58 (je m_c, je 4H, 4 SCH₂CH₂CH₂O), 2.50 (m_c, 8H, 4 SCH₂C₁₅H₃₁), 2.00-1.80 (m, 14H, 2 OH, 2 OCH₂CH₂CH₂O, 4 SCH₂CH₂CH₂O), 1.57 (m_c, 8H, 4 SCH₂CH₂C₁₄H₂₉), 1.45-1.06 (m, 104H, 4 S(CH₂)₂C₁₃H₂₆CH₃), 0.88 (4 dd \approx t, 12H, ³J = 7.0 Hz, 4 CH₃) ppm;

¹³C-NMR (75.47 MHz, CDCl₃): δ = 100.60, 99.45, 99.14 (3 C-1), 79.72 (2 C-3), 79.68 (C-3), 71.01 (CH₂), 70.88 (CH), 70.64 (CH₂), 70.57 (CH), 70.48, 70.45, 68.60 (CH₂), 67.97 (CH), 67.84 (CH₂), 67.68, 67.56, 67.44, 67.33, 67.02 (CH), 66.72, 64.45, 63.93 (CH₂), 54.90 (OCH₃), 32.24, 32.21, 32.17 (4 SCH₂C₁₅H₃₁), 31.90, 29.80-29.50, 29.34, 29.29, 29.26, 29.14, 29.08, 29.03, 28.98, 28.73, 28.71 (CH₂), 22.67 (4 S(CH₂)₁₄CH₂CH₃), 14.09 (4 CH₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₁₀₁H₁₉₈NaO₁₈S₄: 1850.3353; gef.: 1850.3316.



Methyl-3-O-(4-thiaicosyl)- α -D-mannopyranosid (48)

Nach AAV 3 wurden 851 mg (3.63 mmol) **47** mit 14.1 g (54.5 mmol) Hexadecanthiol umgesetzt. Zur Reinigung wurde an Kieselgel chromatografiert (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 5:1 \rightarrow Essigester/Aceton, 5:1). Man erhielt einen farblosen Feststoff.

Ausbeute: 1.53 g (72 %);

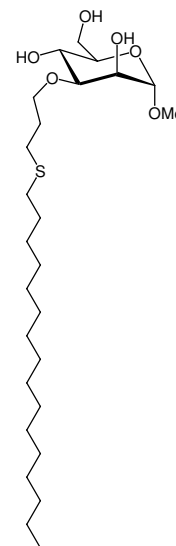
Schmp.: 43 °C; $[\alpha]_D^{25} +24.6$ (*c* 1.20, MeOH);

IR (KBr): 3424, 2917, 2849, 1637, 1467, 1114, 1060, 975, 721 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOH- D_4): δ = 4.70 (d, 1H, 3J = 1.8 Hz, H-1), 3.99 (dd, 1H, 3J = 3.3 Hz, 3J = 1.8 Hz, H-2), 3.87 (dd, 1H, 2J = 11.8 Hz, 3J = 2.4 Hz, H-6'), 3.82-3.78 (m, 1H, OCHHCH₂CH₂S), 3.74 (dd, 1H, 2J = 11.7 Hz, 3J = 5.8 Hz, H-6), 3.71 (dd \approx t, 1H, 3J = 9.6 Hz, H-4), 3.68-3.60 (m, 1H, OCHHCH₂CH₂S), 3.57-3.52 (m, 1H, H-5), 3.46 (dd, 1H, 3J = 9.4 Hz, 3J = 3.3 Hz, H-3), 3.42 (s, 3H, OCH₃), 2.68 (m_c, 2H, SCH₂CH₂CH₂O), 2.56 (m_c, 2H, SCH₂C₁₅H₃₁), 1.91 (m_c, 2H, OCH₂CH₂CH₂S), 1.62 (m_c, 2H, SCH₂CH₂C₁₄H₂₉), 1.50-1.22 (m, 26H, S(CH₂)₂C₁₃H₂₆CH₃), 0.94 (dd \approx t, 3H, 3J = 6.8 Hz, CH₃) ppm;

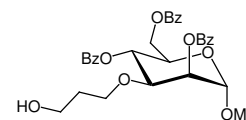
$^{13}\text{C-NMR}$ (76.47 MHz, MeOH- D_4): δ = 102.64 (C-1), 81.04 (C-3), 74.57 (C-5), 69.44 (OCH₂CH₂CH₂S), 68.89 (C-2), 67.49 (C-4), 69.96 (C-6), 55.28 (OCH₃), 33.14, 32.91, 31.05, 30.84, 30.55, 30.44, 30.01, 29.64 (CH₂), 23.80 (SC₁₄H₂₈CH₂CH₃), 14.53 (CH₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₂₆H₅₂NaO₆S: 515.3377; gef.: 515.3304.



Methyl-2,4,6-tri-O-benzoyl-3-O-(3-hydroxypropyl)- α -D-mannopyranosid (50)

Die ungesättigte Verbindung **49** (3.00 g, 5.49 mmol) wurde unter Argonatmosphäre in 40 ml trockenem THF gelöst. Nach Zugabe von 14.3 ml 9-BBN (7.15 mmol, 0.5M in THF) wurde 1 h unter Rückfluss erhitzt, erneut 14.3 ml 9-BBN-Lsg. zugegeben und noch 1 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurden unter Eiskühlung je 15 ml 3M Natriumacetatlg. und Wasserstoffperoxidlg. (30%ig) tropfenweise zugegeben und der Ansatz rührte über Nacht. Nach Sättigung der wässrigen Phase mit Kaliumcarbonat wurden die Phasen getrennt, die wässrige Phase noch dreimal mit je 30 ml THF extrahiert, die vereinigten org. Phasen über



Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 3 : 1). Man erhielt das Produkt als weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.47 g (47 %);

Schmp.: 75 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -18.2$ (c 0.844, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3434, 2931, 1724, 1602, 1451, 1266, 1112, 1069, 710 cm⁻¹;

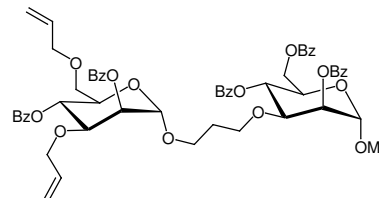
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.12-8.01 (m, 6H, 6 *o*-Aryl-H), 7.61-7.53 (m, 3H, 3 *p*-Aryl-H), 7.47-7.35 (m, 6H, 6 *m*-Aryl-H), 5.77 (dd \approx t, 1H, ³J = 10.0 Hz, H-4), 5.65 (dd, 1H, ³J = 3.2 Hz, ³J = 1.9 Hz, H-2), 5.93 (d, 1H, ³J = 1.7 Hz, H-1), 4.93 (dd, 1H, ²J = 12.1 Hz, ³J = 2.6 Hz, H-6'), 4.43 (dd, 1H, ²J = 12.1 Hz, ³J = 4.8 Hz, H-6), 4.26 (ddd, 1H, ³J = 10.1 Hz, ³J = 4.7 Hz, ³J = 2.6 Hz, H-5), 4.07 (dd, 1H, ³J = 9.8 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 3.88 (ddd, 1H, ²J = 8.8 Hz, ³J = 7.8 Hz, ³J = 4.3 Hz, OCHHCH₂CH₂OH), 3.52-3.47 (m, 1H, OCHHCH₂CH₂OH), 3.49 (s, 3H, OCH₃), 3.44-3.40 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂OH), 1.60 (m_c, 2H, OCH₂CH₂CH₂OH) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 166.20, 166.09, 165.47 (3 C=O), 133.45, 133.34, 132.99 (3 *p*-Aryl-C), 129.89 (Aryl-C_q), 129.85, 129.70 (6 *o*-Aryl-C), 129.46, 129.28 (2 Aryl-C_q), 128.54, 128.48, 128.39 (6 *m*-Aryl-C), 98.97 (C-1), 76.24 (C-3), 68.77 (C-2), 68.72 (C-5), 68.36 (C-4), 67.70 (OCH₂CH₂CH₂OH), 63.10 (C-6), 59.83 (OCH₂CH₂CH₂OH), 55.40 (OCH₃), 32.25 (OCH₂CH₂CH₂OH) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₃₁H₃₂NaO₁₀: 587.1888; gef.: 587.1838.

Methyl-2,4,6-tri-*O*-benzoyl-3-*O*-(3-{3,6-di-*O*-allyl-2,4-di-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy}-propyl)- α -D-mannopyranosid (51)

Nach AAV 1 wurden 586 mg (1.04 mmol) **50** mit 1.27 g (2.08 mmol) des Trichloracetimidates **11** in 5 ml Dichlormethan glykosyliert. Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester, 15 : 1). Man erhielt einen farblosen Feststoff.



Ausbeute: 770 mg (86 %);

Schmp.: 139 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -52.2$ (c 0.844, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 2912, 1721, 1602, 1452, 1316, 1264, 1178, 1109, 1069, 1027, 708 cm⁻¹;

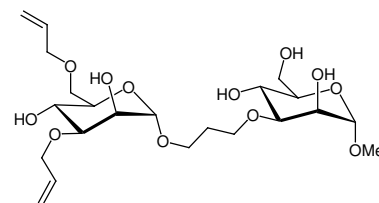
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 8.12-8.02 (m, 10H, 10 *o*-Aryl-H), 7.60-7.49 (m, 5H, 5 *p*-Aryl-H), 7.48-7.31 (m, 10H, 10 *m*-Aryl-H), 5.85-5.77 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.81 (dd \approx t, 1H, 3J = 9.9 Hz, H-4a), 5.69-5.62 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.64 (dd, 1H, 3J = 3.2 Hz, 3J = 1.9 Hz, H-2a), 5.54 (dd \approx t, 1H, 3J = 9.9 Hz, H-4b), 5.44 (dd, 1H, 3J = 3.2 Hz, 3J = 1.9 Hz, H-2b), 5.19, 5.11 (je dddd \approx dq, je 1H, 3J = 17.2 Hz, 2J = 1.6 Hz, 4J = 1.6 Hz, 4J = 1.6 Hz, 2 $\text{CH}=\text{CH}_{\text{trans}}$ H), 5.07, 4.98 (je dddd \approx dq, je 1H, 3J = 10.4 Hz, 2J = 1.3 Hz, 4J = 1.3 Hz, 4J = 1.3 Hz, 2 $\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}$ H), 4.92 (d, 1H, 3J = 1.7 Hz, H-1a), 4.71-4.66 (m, 2H, H-1b, H-6a'), 4.43 (dd, 1H, 2J = 12.1 Hz, 3J = 4.9 Hz, H-6a), 4.26 (ddd, 1H, 3J = 10.2 Hz, 3J = 4.8 Hz, 3J = 2.7 Hz Hz, H-5a), 4.09 (dd, 1H, 3J = 9.8 Hz, 3J = 3.3 Hz, H-3a), 4.10-4.05 (m, 1H, $\text{CHHCH}=\text{CH}_2$), 3.99-3.88 (m, 5H, H-3b, H-5b, 3 $\text{CHHCH}=\text{CH}_2$), 3.82 (ddd \approx dt, 1H, 2J = 9.4 Hz, 3J = 6.3 Hz, 3J = 6.3 Hz, $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.58-3.46 (m, 4H, H-6b, H-6b', $\text{OCHHCH}_2\text{CHHO}$), 3.48 (s, 3H, OCH_3), 3.37 (ddd \approx dt, 1H, 2J = 10.0 Hz, 3J = 6.6 Hz, 3J = 6.6 Hz, $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.73 (m_c , 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ = 166.20, 165.59, 165.58, 165.49, 165.36 (5 C=O), 134.50, 134.33 (2 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 133.28, 133.26, 133.13, 133.06, 132.96 (5 *p*-Aryl-C), 129.97 (2 *o*-Aryl-C), 129.93, 129.91 (2 Aryl-C_q), 129.88 (2 *o*-Aryl-C), 129.78 (Aryl-C_q), 129.72, 129.70 (6 *o*-Aryl-C), 129.54, 129.50 (2 Aryl-C_q), 129.48, 128.46, 128.37, 128.34 (10 *m*-Aryl-C), 117.12, 116.79 (2 $\text{CH}=\text{CH}_2$), 98.99 (C-1a), 97.63 (C-1b), 75.88 (C-3a), 74.58 (C-3b), 72.43, 70.53 (2 $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 70.12 (C-5b), 69.42 (C-6b), 69.15 (C-2b), 69.00 (C-4b), 68.79, 68.77 (C-2a, C-5a), 68.47 (C-4a), 66.78, 64.85 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 63.18 (C-6a), 55.39 (OCH_3), 29.69 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{57}\text{H}_{58}\text{NaO}_{17}$: 1037.3566; gef.: 1037.3531.

Methyl-3-O-(3-{3,6-di-O-allyl- α -D-mannopyranosyloxy}-propyl)- α -D-mannopyranosid (52)

Nach AAV 2 wurden 600 mg (1.21 mmol) **51** entschützt. Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Aceton/Essigester, 1 : 1). Man erhielt einen farblosen Feststoff.



Ausbeute: 232 mg (79 %);

Schmp.: 94.5 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +60.2$ (c 1.87, MeOH);

IR (KBr): 3474, 3397, 2925, 2880, 1421, 1347, 1323, 1138, 1115, 1098, 1082, 1066, 1048, 982, 826 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH- D_4): δ = 5.99 (dddd \approx ddt, 1H, 3J = 17.3 Hz, 3J = 10.4 Hz, 3J = 5.7 Hz, 3J = 5.7 Hz, CH=CH $_2$), 5.93 (dddd \approx ddt, 1H, 3J = 17.2 Hz, 3J = 10.5 Hz, 3J = 5.6 Hz, 3J = 5.6 Hz, CH=CH $_2$), 5.33, 5.30 (je dddd \approx dq, je 1H, 3J = 17.3 Hz, 2J = 1.7 Hz, 4J = 1.7 Hz, 4J = 1.7 Hz, 2 CH=CH $_{\text{trans}}$ H), 5.16 (m $_c$, 2H, 2 CH=CH $_{\text{cis}}$ H), 4.77 (d, 1H, 3J = 1.8 Hz, H-1), 4.66 (d, 1H, 3J = 1.7 Hz, H-1), 4.19, 4.12 (2 dddd \approx ddt, je 1H, 2J = 12.8 Hz, 3J = 5.7 Hz, 4J = 1.4 Hz, 4J = 1.4 Hz, CH $_2$ CH=CH $_2$), 4.06 (2 dddd \approx dt, 2H, 3J = 5.6 Hz, 4J = 1.4 Hz, 4J = 1.4 Hz, CH $_2$ CH=CH $_2$), 3.95 (m $_c$, 2H, 2 H-2), 3.88-3.82 (m, 1H, OCHHCH $_2$ CH $_2$ O), 3.83 (dd, 1H, 2J = 9.4 Hz, 3J = 3.3 Hz, H-6a), 3.78-3.61 (m, 8H, 2 H-4, H-5b, H-6a, 2 H-6b, OCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ O), 3.57 (ddd \approx dt, 1H, 2J = 9.8 Hz, 3J = 6.1 Hz, 3J = 6.1 Hz, OCHHCH $_2$ CH $_2$ O), 3.54-3.48 (m, 2H, H-3, H-5a), 3.43 (dd, 1H, 3J = 9.4 Hz, 3J = 3.3 Hz, H-3), 3.38 (s, 3H, OCH $_3$), 1.90 (m $_c$, 2H, OCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ O) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, MeOH- D_4): δ = 136.66, 136.12 (2 CH=CH $_2$), 117.36, 117.29 (2 CH=CH $_2$), 102.62, 101.54 (2 C-1), 81.02, 80.27 (2 C-3), 74.60 (C-5a), 73.49 (C-5b), 73.43, 71.85 (2 CH $_2$ CH=CH $_2$), 71.07 (C-6b), 69.06, 69.02 (2 C-2), 67.84 (OCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ O), 67.75, 67.57 (2 C-4), 65.62 (OCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ O), 62.97 (C-6a), 55.26 (OCH $_3$), 31.06 (OCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ O) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na] $^+$ ber. für C $_{22}$ H $_{38}$ NaO $_{12}$: 517.2255; gef.: 517.2250.

Methyl-3-O-(3-{3,6-di-O-[4-thiaheptadecyl]- α -D-mannopyranosyloxy}-propyl)- α -D-mannopyranosid (53)

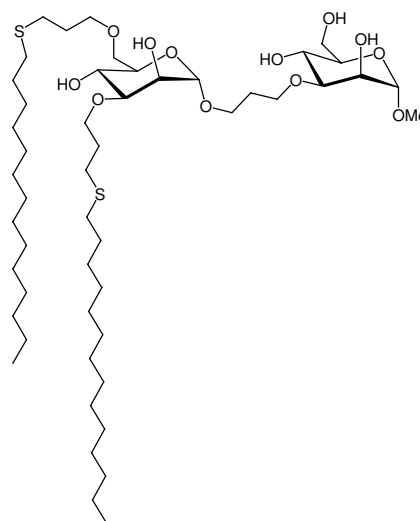
Nach AAV 3 wurden 204 mg (0.412 mmol) **52** mit 3.4 ml (12 mmol) Tetradecanthiol umgesetzt. Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 1:1 \rightarrow Essigester/Aceton, 5:1). Das Produkt wurde in Form eines weißen Feststoffes erhalten.

Ausbeute: 307 mg (78%);

Schmp.: 68 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +31.4 (c 1.00, CH $_2$ Cl $_2$);

IR (KBr): 3475, 3422, 3365, 2920, 2850, 1466, 1136, 1115, 1102, 1086, 1066, 1045, 980 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH- D_4): δ = 4.77 (d, 1H, 3J = 1.8 Hz, H-1), 4.67 (d, 1H, 3J = 1.7 Hz, H-1), 3.96 (m $_c$, 2H, 2 H-2), 3.88-3.82 (m, 1H, OCHHCH $_2$ CH $_2$ O), 3.84 (dd, 1H, 2J = 11.8 Hz, 3J = 2.3 Hz, H-6a), 3.79-3.55 (m, 13H, 2 H-4, H-5b, H-6a, 2 H-6b, 3 OCHHCH $_2$ CH $_2$ O, 2



OCH₂CH₂CH₂S), 3.51 (ddd, 1H, ³J = 9.8 Hz, ³J = 5.9 Hz, ³J = 2.3 Hz, H-5a), 3.47-3.41 (m, 2H, 2 H-3), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 2.65 (2 ddd≈t, 2H, ³J = 7.2 Hz, SCH₂CH₂CH₂O), 2.59 (2 ddd≈t, 2H, ³J = 7.3 Hz, SCH₂CH₂CH₂O), 2.52 (m_c, 4H, 2 SCH₂C₁₃H₂₇), 1.97-1.80 (m, 6H, OCH₂CH₂CH₂O, 2 OCH₂CH₂CH₂S), 1.58 (m_c, 4H, 2 SCH₂CH₂C₁₂H₂₅), 1.40 (m_c, 4H, 2 S(CH₂)₂CH₂C₁₁H₂₃), 1.36-1.22 (m, 40H, 2 S(CH₂)₃C₁₀H₂₀CH₃), 0.90 (2 dd≈t, 6H, ³J = 7.0 Hz, 2 CH₃) ppm;

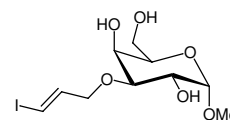
¹³C-NMR (125.76 MHz, MeOH-D₄): δ = 102.67, 101.58 (2 C-1), 81.13, 80.05 (2 C-3), 74.62 (C-5a), 73.50 (C-5b), 71.70, 71.21, 69.45 (CH₂), 69.05, 68.96 (2 C-2), 67.90 (CH₂), 67.74, 67.60 (2 C-4), 65.73 (CH₂), 63.01 (C-6a), 55.30 (OCH₃), 33.13 (CH₂), 32.98, 32.94 (2 SCH₂C₁₃H₂₇), 31.12, 31.09, 30.98, 30.85, 30.83, 30.79, 30.76, 30.53, 30.44 (CH₂), 30.02, 30.00 (2 SCH₂CH₂C₁₂H₂₅), 29.70, 29.58 (2 SCH₂CH₂CH₂O), 23.80 (2 S(CH₂)₁₂CH₂CH₃), 14.51 (2 CH₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₅₀H₉₈NaO₁₂S₂: 977.6392; gef.: 977.6363.

5.3.2 Vorschriften aus Kapitel 3

Methyl-3-O-(*trans*-3-iod-prop-2-enyl)-α-D-galaktopyranosid (70)

Methyl-α-D-galaktopyranosid Monohydrat (7.74 g, 36.5 mmol) und Dibutylzinnoxid (9.99 g, 40.2 mmol) wurden in 350 ml trockenem Toluol suspendiert und der Ansatz 4 h am Wasserabscheider unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlung auf Raumtemp. wurden zu der entstandenen klaren Lösung 11.8 g (36.6 mmol) TBAI und 9.00 g (35.5 mmol) *trans*-3-Brom-1-iod-prop-1-en zugegeben und sie wurde für 18 h bei 60 °C unter Argonatmosphäre gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (600 g, Laufmittel: Essigester). Man erhielt einen roten, klebrigen Schaum, der nicht weiter aufgereinigt wurde.



Ausbeute: 7.84 g (60 %);

[α]_D²⁵ +124 (c 0.935, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3422 (br), 2925, 1618, 1351, 1191, 1143, 1120, 1085, 1049 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-D₄): δ = 6.70 (ddd≈dt, 1H, ³J = 14.5 Hz, ³J = 5.6 Hz, CHCHI), 6.58 (ddd≈dt, 1H, ³J = 14.5 Hz, ⁴J = 1.5 Hz, CHCHI), 4.70 (d, 1H, ³J = 3.9 Hz, H-1), 4.14 (ddd, 1H, ²J = 13.4 Hz, ³J = 5.6 Hz, ⁴J = 1.5 Hz, OCHHCHCHI), 4.07 (ddd, 1H, ²J = 13.4 Hz,

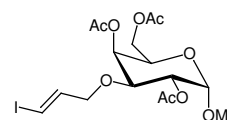
$^3J = 5.6$ Hz, $^4J = 1.5$ Hz, OCHHCHCHI), 4.04 (d, 1H, $^3J = 3.1$ Hz, H-4), 3.88 (dd, 1H, $^3J = 10.0$ Hz, $^3J = 3.9$ Hz, H-2), 3.77-3.69 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.52 (dd, 1H, $^3J = 10.0$ Hz, $^3J = 3.2$ Hz, H-3), 3.41 (s, 3H, OCH₃) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, MeOH-D₄): $\delta = 144.30$ (CHCHI), 101.49 (C-1), 79.35 (C-3), 79.11 (CHCHI), 72.25 (CH₂CHCHI), 72.16 (C-5), 69.35 (C-2), 67.97 (C-4), 62.77 (C-6), 55.64 (OCH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₁₀H₁₇INaO₆: 382.9962; gef.: 382.9949.

Methyl-2,4,6-tri-O-acetyl-3-O-(*trans*-3-iod-prop-2-enyl)- α -D-galaktopyranosid (64)

Nach AAV 4 wurden 218 mg (0.605 mmol) des Iodids **70** umgesetzt. Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 3 : 2). Man erhielt die Substanz als gelbliches Öl.



Ausbeute: 242 mg (82 %);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +119$ (c 0.815, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3448 (br), 2935, 1746, 1372, 1231, 1135, 1053, 938 cm⁻¹;

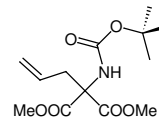
^1H -NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): $\delta = 6.53$ (ddd \approx dt, 1H, $^3J = 14.5$ Hz, $^3J = 5.5$ Hz, CHCHI), 6.37 (ddd \approx dt, 1H, $^3J = 14.5$ Hz, $^4J = 1.5$ Hz, CHCHI), 5.44 (d, 1H, $^3J = 3.5$ Hz, H-4), 5.03 (dd, 1H, $^3J = 10.4$ Hz, $^3J = 3.7$ Hz, H-2), 4.96 (d, 1H, $^3J = 3.7$ Hz, H-1), 4.17-4.08 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 4.05 (ddd, 1H, $^2J = 13.4$ Hz, $^3J = 5.5$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, OCHHCHCHI), 3.88 (ddd, 1H, $^2J = 13.4$ Hz, $^3J = 5.5$ Hz, $^4J = 1.5$ Hz, OCHHCHCHI), 3.81 (dd, 1H, $^3J = 10.4$ Hz, $^3J = 3.5$ Hz, H-3), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 2.13, 2.12, 2.06 (je s, je 3H, 3 C(=O)CH₃) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, CDCl₃): $\delta = 170.44$, 170.31, 170.27 (3 C=O), 141.72 (CHCHI), 97.25 (C-1), 78.83 (CHCHI), 73.30 (C-3), 71.53 (CH₂CHCHI), 69.78 (C-2), 67.18 (C-4), 66.35 (C-5), 62.23 (C-6), 55.39 (OCH₃), 20.94 (C(=O)CH₃), 20.70 (2 C(=O)CH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₁₆H₂₃INaO₉: 509.0279; gef.: 509.0250.

2-Allyl-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-malonsäure-dimethylester (73)

28.6 g (104 mmol) *tert*-Butoxycarbonylamino-malonsäure-dimethylester **72** wurden in 400 ml trockenem Methanol gelöst, mit 645 mg (11.9 mmol) Natriummethanolat versetzt und der Ansatz rührte über Nacht bei Raumtemp. Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen des Rückstandes *in vacuo* ergab einen weißen Rückstand, der in 150 ml DMF aufgenommen wurde. Diese Suspension wurde unter Eiskühlung mit 4.16 g (104 mmol) Natriumhydrid (60%ig in Paraffin) versetzt und 2 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde Allylbromid (9.90 ml, 114 mmol) über 20 min zugeben und der Ansatz über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von 100 ml Wasser und 450 ml ges. Natriumchloridlg. und Phasentrennung wurde die wässrige Phase noch siebenmal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert, die vereinigten org. Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographische Reinigung des Rückstandes an Kieselgel (Laufmittel: Pentan/Essigester, 6 : 1) ergab ein farbloses Öl.



Ausbeute: 22.4 g (75 %);

IR (KBr): 3434, 2980, 1747, 1718, 1488, 1368, 1306, 1231, 1166, 1059, 1020 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 5.89 (br s, 1H, NH), 5.70-5.56 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.16-5.14, 5.11-5.09 (je m, je 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.78 (s, 6H, 2 OCH_3), 3.05 (br d, 2H, $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$), 1.43 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm;

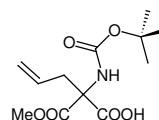
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): δ = 168.08 (2 $\text{C}(\text{=O})\text{O}$), 153.70 ($\text{C}(\text{=O})\text{N}$), 131.13 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 119.63 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 80.13 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 66.07 (C), 55.13 (2 OCH_3), 37.42 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 27.94 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm;

MS (CI, 70 kV): m/z (%) = 288.2 (26) $[\text{M} + \text{H}]^+$, 246.2 (4) $[\text{M} - \text{All}]^+$, 232.1 (100) $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8 + \text{H}]^+$, 188.1 (53) $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{CO}_2 + \text{H}]^+$;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NNaO}_6$: 310.1261; gef.: 310.1210.

rac-2-Allyl-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-malonsäure-monomethylester (*rac*-74)

Zu einer Lösung von Malonester **73** (5.00 g, 17.4 mmol) in 20 ml Dioxan wurde 2N Natronlauge (8.70 ml, 17.4 mmol) über mehrere Stunden zuge tropft. Der Ansatz rührte anschließend über Nacht, wurde dann mit 9 ml Wasser verdünnt und das Dioxan weitgehend *in vacuo* entfernt. Die zurückbleibende



wässrige Lösung wurde mit 10 ml Dichlormethan extrahiert, anschließend mit 5N Schwefelsäure angesäuert (pH 2) und zwanzigmal mit je 25 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Man erhielt das Produkt als weißen Feststoff.

Ausbeute: 4.21 g (89 %);

Schmp.: 89 °C;

IR (KBr): 3293, 2980, 2561, 1735, 1662, 1478, 1431, 1396, 1370, 1295, 1225, 1164, 1074, 928 cm⁻¹;

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-D₆): δ = 6.38, 6.09 (je br s, je 1H, OH, NH), 5.67-5.51 (m, 1H, CH=CH₂), 5.12-5.00 (m, 2H, CH=CH₂), 3.65 (s, 3H, OCH₃), 2.92-2.75 (m, 2H, CH₂-CH=CH₂), 1.36 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm;

¹³C-NMR (75.47 MHz, DMSO-D₆): δ = 168.53 (2 C(=O)O), 153.66 (C(=O)N), 132.03 (CH=CH₂), 119.38 (CH=CH₂), 79.19 (C(CH₃)₃), 65.66 (C), 52.78 (OCH₃), 37.24 (CH₂CH=CH₂), 27.97 (C(CH₃)₃) ppm;

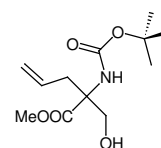
MS (CI, 70 kV): *m/z* (%) = 274.2 (<1) [M + H]⁺, 218.1 (15) [M - C₄H₈ + H]⁺, 174.2 (100) [M - C₄H₈ - CO₂ + H]⁺, 130.1 (50) [M - C₄H₈ - CO₂ - COOH + 2H]⁺;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₁₂H₁₉NNaO₆: 296.1105; gef.: 296.1188.

***rac*-2-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-2-hydroxymethyl-pent-4-ensäure-methylester (*rac*-75)**

Zu einer Suspension von 680 mg (2.49 mmol) *rac*-74 und 1.21 g (2.74 mmol) BOP in 13 ml THF wurden 0.52 ml (3.0 mmol) DIPEA gegeben. Der Ansatz rührte anschließend 2.5 h bei Raumtemp., wobei sich eine klare Lösung bildete. Dazu wurden portionsweise 94 mg (2.5 mmol) Natriumborhydrid gegeben (Gasentwicklung!) und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Der nach Entfernen des Lösungsmittels *in vacuo* verbleibende Rückstand wurde in 90 ml TBME aufgenommen, die org. Phase dreimal mit je 10 ml 5%iger Salzsäure, dreimal mit je 10 ml ges. Natriumhydrogencarbonatlg. und einmal mit 10 ml ges. Natriumchloridlg. gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Reinigung des Rückstandes durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Pentan/Essigester, 2 : 1) ergab ein farbloses Öl.

Ausbeute: 457 mg (71 %);



IR (KBr): 3427, 2979, 1740, 1717, 1641, 1499, 1439, 1393, 1368, 1332, 1237, 1169, 1055, 922 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 5.72-5.55 (m_c , 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.40 (br s, 1H, NH), 5.20-5.11 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.09 (br d, 1H, 2J = 11.0 Hz, CHHOH), 3.83 (br, 1H, CHHOH), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 3.52 (br s, 1H, OH), 2.76 (dddd \approx dd, 1H, 2J = 13.9 Hz, 3J = 8.0 Hz, $\text{CHHCH}=\text{CH}_2$), 2.53 (dddd, 1H, 2J = 13.9 Hz, 3J = 6.8 Hz, 4J = 1.2 Hz, 4J = 1.2 Hz, $\text{CHHCH}=\text{CH}_2$), 1.45 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm;

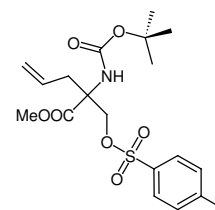
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): δ = 172.67 ($\text{C}(\text{=O})\text{O}$), 155.32 ($\text{C}(\text{=O})\text{N}$), 131.30 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 120.16 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 80.32 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 66.01 (CH_2OH), 64.64 (C), 52.75 (OCH_3), 37.29 ($\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$), 28.21 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm;

MS (CI, 70 kV): m/z (%) = 260.2 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$, 204.1 (90) $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8 + \text{H}]^+$, 160.1 (90) $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{CO}_2 + \text{H}]^+$;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NNaO}_5$: 282.1312; gef.: 282.1392.

***rac*-2-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-2-tosylmethyl-pent-4-ensäure-methylester (*rac*-76)**

Zu einer Lösung von 273 mg (1.06 mmol) *rac*-75 und 237 mg (2.11 mmol) DABCO in 1 ml Ethylacetat wurden unter Eiskühlung 303 mg (1.59 mmol) Tosylchlorid gegeben. Nach 3 h Rühren bei Raumtemp. wurde mit 5 ml TBME verdünnt, die Suspension filtriert und fünfmal mit je 2 ml TBME nachgewaschen. Das Filtrat wurde nacheinander mit je 2 ml 2N Salzsäure, 5%iger Natriumhydrogencarbonatlsg. und ges. Natriumchloridlsg. gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Pentan/Essigester, 4 : 1). Man erhielt ein farbloses Öl.



Ausbeute: 403 mg (92 %);

IR (KBr): 3431, 2979, 1745, 1715, 1496, 1367, 1247, 1178, 934, 844, 817, 644, 555 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 7.69 (d, 2H, 3J = 8.3 Hz, 2 *o*-Aryl-H), 7.26 (d, 2H, 3J = 8.1 Hz, 2 *m*-Aryl-H), 5.48 (dddd, 1H, 3J = 17.6 Hz, 3J = 10.2 Hz, 3J = 7.4 Hz, 3J = 7.4 Hz, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.25 (br s, 1H, NH), 5.08-5.00 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.48 (d, 1H, 2J = 9.6 Hz, CHHOTos), 4.27 (d, 1H, 2J = 9.7 Hz, CHHOTos), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 2.76 (dddd \approx dd, 1H, 2J = 13.4 Hz, 3J = 7.5 Hz, $\text{CHHCH}=\text{CH}_2$), 2.37 (s, 3H, PhCH_3), 2.33 (dddd \approx dd, 1H, 2J = 13.7 Hz, 3J = 7.4 Hz, $\text{CHHCH}=\text{CH}_2$), 1.30 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm;

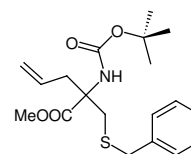
^{13}C -NMR (125.76 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.54$ (C(=O)O), 153.81 (C(=O)N), 144.89 (Aryl- C_q - SO_3), 132.45 (Aryl- C_q -Me), 130.10 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 129.85 (2 *m*-Aryl-C), 127.93 (2 *o*-Aryl-C), 120.46 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 80.02 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 69.06 (CH_2OTos), 62.17 (C), 52.92 (OCH_3), 36.59 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 28.14 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 21.61 (PhCH_3) ppm;

MS (CI, 70 kV): m/z (%) = 358.2 (13) $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8 + \text{H}]^+$, 314.1 (30) $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{CO}_2 + \text{H}]^+$, 186.1 (100) $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{OTos} + \text{H}]^+$;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NNaO}_7\text{S}$: 436.1400; gef.: 436.1480.

***rac*-2-Benzylsulfanylmethyl-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-pent-4-ensäuremethylester (*rac*-77)**

Zu einer Lösung von 349 mg (1.35 mmol) *rac*-75 und 665 mg (2.70 mmol) Dibenzyldisulfid in 2 ml DMF wurden unter Eiskühlung 674 μl (2.70 mmol) Tri-*n*-butylphosphin gegeben. Die Lösung wurde für 6 d unter Argonatmosphäre auf 65 °C erhitzt, anschließend das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Petrolether/Essigester, 1 : 1). Man erhielt die Substanz als gelbliches Öl.



Ausbeute: 28 mg (6 %);

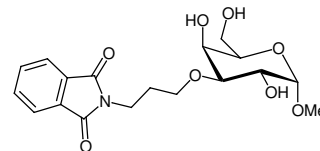
^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3/TMS): $\delta = 7.25$ -7.14 (m, 5H, 5 Aryl-H), 5.60 (br s, 1H, NH), 5.49 (dddd \approx ddt, 1H, $^3J = 17.8$ Hz, $^3J = 10.5$ Hz, $^3J = 7.4$ Hz, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.04-4.97 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.65 (s, 3H, OCH_3), 3.65 (d, 1H, $^2J = 13.1$ Hz, PhCHH), 3.61 (d, 1H, $^2J = 13.2$ Hz, PhCHH), 3.41 (d, 1H, $^2J = 13.7$ Hz, CCHHS), 2.97 (dddd \approx dd, 1H, $^2J = 13.1$ Hz, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{CHHCH}=\text{CH}_2$), 2.87 (d, 1H, $^2J = 13.7$ Hz, CCHHS), 2.38 (dddd \approx dd, $^2J = 13.5$ Hz, $^3J = 7.2$ Hz, $\text{CHHCH}=\text{CH}_2$), 1.38 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, CDCl_3): $\delta = 172.46$ (C(=O)O), 153.97 (C(=O)N), 138.36 (Aryl- C_q), 131.67 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 128.82, 128.45 (2 *o*-Aryl-C, 2 *m*-Aryl-C), 127.00 (*p*-Aryl-C), 119.33 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 79.60 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 64.62 (C), 52.76 (OCH_3), 39.62 (CCH_2S), 37.20 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 36.37 (PhCH_2), 28.33 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm;

MS (CI, 70 kV): m/z (%) = 366.3 (2) $[\text{M} + \text{H}]^+$, 310.2 (8) $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8 + \text{H}]^+$, 292.2 (32) $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_9\text{O}]^+$, 266.2 (100) $[\text{M} - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{CO}_2 + \text{H}]^+$, 91.1 (22) $[\text{C}_7\text{H}_7]^+$.

Methyl-3-O-3-(phthalimidopropyl)- α -D-galaktopyranosid (79)

Nach AAV 5 wurden 7.24 g (34.1 mmol) Methyl- α -D-galaktopyranosid Monohydrat **60** umgesetzt. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und der feste Rückstand mit Essigester gewaschen. Umkristallisation aus Isopropanol ergab das Produkt in Form farbloser Nadeln.



Ausbeute: 10.0 g (77 %);

Schmp.: 151–152 °C; $[\alpha]_D^{25} +117$ (*c* 0.975, DMSO);

IR (KBr): 3578, 3433 (br), 2949, 1771, 1715, 1390, 722 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-D_6): δ = 7.89–7.81 (m, 4H, 4 Aryl-H), 4.60 (m, 1H, OH), 4.54 (d, 1H, 3J = 7.0 Hz, OH), 4.52 (d, 1H, 3J = 3.3 Hz, H-1), 4.34 (d, 1H, 3J = 4.7 Hz, OH), 3.93–3.90 (m, 1H, H-4), 3.75–3.39 (m, 8H, H-2, H-5, H-6, H-6', $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NPhth}$), 3.28 (dd, 1H, 3J = 10.1 Hz, 3J = 3.1 Hz, H-3), 3.25 (s, 3H, OCH_3), 1.83 (m_c , 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NPhth}$) ppm;

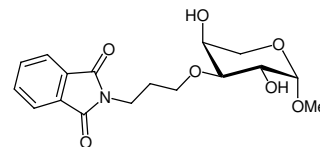
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, DMSO-D_6): δ = 167.86 (2 C=O), 134.16 (2 *m*-Aryl-C), 131.47 (2 Aryl-C_q), 122.80 (2 *o*-Aryl-C), 99.76 (C-1), 78.16 (C-3), 70.81 (C-5), 67.14 (C-2), 66.06 (OCH_2), 65.13 (C-4), 60.39 (C-6), 54.17 (OCH_3), 34.87 (PhthNCH₂), 28.45 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-NPhth}$) ppm;

HRESI-MS: *m/z* $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NNaO}_8$: 404.1321; gef.: 404.1352;

Anal. ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{NO}_8$: C, 56.69; H, 6.08; N, 3.67. Gef.: C, 56.64; H, 6.20; N, 3.58.

Methyl-3-O-3-(phthalimidopropyl)- β -L-arabinopyranosid Monohydrat (87)

Nach AAV 5 wurden 2.00 g (12.2 mmol) Methyl- β -L-arabinopyranosid **82** umgesetzt. Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester). Nach Umkristallisation aus Essigester wurde das Produkt in Form farbloser Nadeln erhalten.



Ausbeute: 1.39 g (31 %);

Schmp.: 116–118 °C; $[\alpha]_D^{25} +121$ (*c* 0.820, CHCl_3);

IR (KBr): 3554, 3302 (br), 2939, 1765, 1708, 725 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 7.85 (dd, 2H, 3J = 5.5 Hz, 4J = 3.1 Hz, 2 *o*-Aryl-H), 7.72 (dd, 2H, 3J = 5.4 Hz, 4J = 3.1 Hz, 2 *m*-Aryl-H), 4.81 (d, 1H, 3J = 3.7 Hz, H-1), 4.04-4.03 (m, 1H, H-4), 3.93 (dd, 1H, 3J = 9.5 Hz, 3J = 3.7 Hz, H-2), 3.91-3.88 (m, 2H, NCH_2), 3.77 (dd, 1H, 2J = 12.5 Hz, 3J = 2.1 Hz, H-5), 3.74 (dd, 1H, 2J = 12.6 Hz, 3J = 1.7 Hz, H-5'), 3.71-3.67, 3.56-3.51 (je m, je 1H, 2 OCHH), 3.52 (dd, 1H, 3J = 9.5 Hz, 3J = 3.2 Hz, H-3), 3.43 (s, 3H, OCH_3), 2.34 (bs, 4H, 2 OH, H_2O), 2.10-1.94 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NPhth}$) ppm;

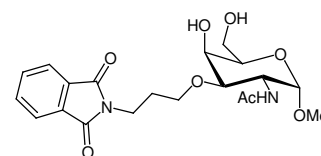
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ = 168.85 (2 C=O), 134.10 (2 *m*-Aryl-C), 131.93 (2 Aryl- C_q), 123.37 (2 *o*-Aryl-C), 99.85 (C-1), 78.55 (C-3), 68.09 (C-2), 66.31 (OCH_2), 66.13 (C-4), 61.91 (C-5), 55.47 (OCH_3), 34.80 (PhthNCH_2), 28.99 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NPhth}$) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NNaO}_7$: 374.1216; gef.: 374.1259;

Anal. ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 55.28; H, 6.28; N, 3.79. Gef.: C, 55.15; H, 6.16; N, 3.83.

Methyl-2-*N*-acetylamino-2-desoxy-3-*O*-(3-phthalimidopropyl)- α -D-galaktopyranosid (88)

Nach AAV 5 wurden 480 mg (2.04 mmol) Methyl-2-*N*-acetylamino-2-desoxy- α -D-galaktopyranosid **83** umgesetzt. Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Methanol, 8 : 1). Nach Umkristallisation aus TBME wurde das Produkt als cremefarbener Feststoff erhalten.



Ausbeute: 434 mg (50 %);

Schmp.: 208–210 °C (Zers.); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +74.6 (c 0.650, DMSO);

IR (KBr): 3584, 3281, 2922, 1768, 1715, 1635, 1566, 1394, 722 cm^{-1} ;

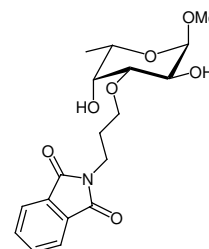
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-D_6): δ = 7.89-7.81 (m, 4H, 4 Aryl-H), 7.63 (d, 1H, 3J = 8.5 Hz, NH), 4.63-4.58 (m, 1H, 6-OH), 4.54 (d, 1H, 3J = 3.6 Hz, H-1), 4.50 (d, 1H, 3J = 4.4 Hz, 4-OH), 4.15 (ddd, 1H, 3J = 11.7 Hz, 3J = 8.5 Hz, 3J = 3.6 Hz, H-2), 3.97-3.94 (m, 1H, H-4), 3.69-3.59 (m, 3H, $\text{PhthNCH}_2\text{CH}_2\text{CHHO}$), 3.56-3.46 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.37 (dd, 1H, 3J = 11.2 Hz, 3J = 2.9 Hz, H-3), 3.32-3.27 (m, 1H, OCHH), 3.24 (s, 3H, OCH_3), 1.84-1.76 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NPhth}$), 1.82 (s, 3H, $\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, DMSO-D_6): δ = 169.22 ($\text{NHC}=\text{O}$), 168.00 (2 C=O), 134.27 (2 *m*-Aryl-C), 131.58 (2 Aryl- C_q), 122.92 (2 *o*-Aryl-C), 98.13 (C-1), 75.84 (C-3), 70.97 (C-5), 65.55 (OCH_2), 64.06 (C-4), 60.58 (C-6), 54.27 (OCH_3), 48.24 (C-2), 34.81 (PhthNCH_2), 28.44 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NPhth}$) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{NaO}_8$: 445.1587; gef.: 445.1581.

Methyl-3-O-3-(phthalimidopropyl)- α -L-fucopyranosid Hemihydrat (89)

Nach AAV 5 wurden 1.50 g (8.42 mmol) Methyl- α -L-fucopyranosid **84** umgesetzt. Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 1 : 1 \rightarrow Essigester). Nach Umkristallisation aus TBME wurde ein farbloser, kristalliner Feststoff erhalten.



Ausbeute: 1.15 g (36 %);

Schmp.: 140–142 °C; $[\alpha]_D^{25} -109$ (*c* 0.825, CHCl₃);

IR (KBr): 3539, 3444 (br), 2934, 1768, 1700, 1399, 1090, 721 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 7.85 (dd, 2H, ³J = 5.5 Hz, ⁴J = 3.0 Hz, 2 *o*-Aryl-H), 7.72 (dd, 2H, ³J = 5.5 Hz, ⁴J = 3.0 Hz, 2 *m*-Aryl-H), 4.79 (d, 1H, ³J = 3.9 Hz, H-1), 3.94–3.87 (m, 3H, H-5, PhthNCH₂), 3.91 (dd, 1H, ³J = 9.8 Hz, ³J = 3.9 Hz, H-2), 3.86 (dd, 1H, ³J = 3.1 Hz, ³J = 1.4 Hz, H-4), 3.72–3.68, 3.55–3.51 (je m, je 1H, 2 OCHH), 3.49 (dd, 1H, ³J = 9.8 Hz, ³J = 3.2 Hz, H-3), 3.42 (s, 3H, OCH₃), 2.54 (bs, 3H, 2 OH, HOH), 2.10–1.93 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂NPhth), 1.33 (d, 3H, ³J = 6.6 Hz, 6-CH₃) ppm;

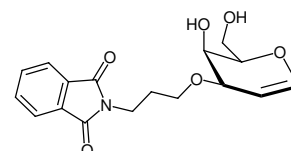
¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 168.81 (2 C=O), 134.07 (2 *m*-Aryl-C), 131.96 (2 Aryl-C_q), 123.36 (2 *o*-Aryl-C), 99.51 (C-1), 79.45 (C-3), 68.72 (C-4), 67.80 (C-2*), 66.28 (OCH₂), 65.50 (C-5*), 55.31 (OCH₃), 34.86 (PhthNCH₂), 28.98 (OCH₂CH₂CH₂NPhth), 16.30 (6-CH₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₁₈H₂₃NNaO₇: 388.1372; gef.: 388.1432;

Anal. ber. für C₁₈H₂₃NO₇ · 0.5 H₂O: C, 57.75; H, 6.46; N, 3.74. Gef.: C, 57.91; H, 6.37; N, 3.71.

3-(Phthalimidopropyl)-D-galaktal (90)

Nach AAV 5 wurden 1.12 g (7.66 mmol) D-Galaktal **85** umgesetzt. Reinigung durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 1 : 1 \rightarrow 1 : 20) und anschließende Umkristallisation aus Essigester ergab das Produkt in Form farbloser Nadeln.



Ausbeute: 2.11 g (83 %);

Schmp.: 116 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -19.9$ (c 0.815, Aceton);

IR (KBr): 3381 (br), 2932, 1770, 1711, 1651, 1393, 722 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Aceton- D_6): $\delta = 7.86\text{-}7.82$ (m, 4H, 4 Aryl-H), 6.26 (dd, 1H, $^3J = 6.3$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, H-1), 4.48 (ddd \approx dt, 1H, $^3J = 6.3$ Hz, $^3J = 1.9$ Hz, $^5J = 1.9$ Hz, H-2), 4.12-4.08 (m, 2H, H-3, H-4), 3.85-3.73 (m, 6H, H-5, H-6, H-6', 6-OH, PhthNCH₂), 3.73-3.69, 3.55-3.51 (je m, je 1H, 2 OCHH), 3.27 (dd, 1H, $^3J = 3.4$ Hz, $^4J = 1.0$ Hz, 4-OH), 1.98-1.93 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂NPhth) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, Aceton- D_6): $\delta = 169.99$ (2 C=O), 145.98 (C-1), 135.92 (2 *m*-Aryl-C), 134.19 (2 Aryl-C_q), 124.68 (2 *o*-Aryl-C), 101.89 (C-2), 79.06 (C-5), 74.12 (C-4), 67.55 (OCH₂), 64.02 (C-3), 63.02 (C-6), 37.04 (PhthNCH₂), 30.60 (OCH₂CH₂CH₂NPhth) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₁₇H₁₉NNaO₆: 356.1110; gef.: 356.1146;

Anal. ber. für C₁₇H₁₉NO₆: C, 61.25; H, 5.75; N, 4.20. Gef.: C, 60.87; H, 5.73; N, 4.16.

Methyl-3-O-3-(phthalimidopropyl)- α -L-rhamnopyranosid (91)

Nach AAV 5 wurden 1.44 g (8.75 mmol) Methyl- α -L-rhamnopyranosid **86** umgesetzt. Reinigung durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 1 : 1 \rightarrow 2 : 5) ergab einen gelblichen, amorphen Feststoff.

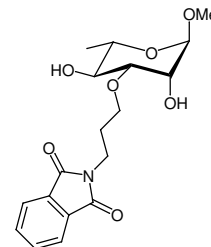
Ausbeute: 1.06 g (34 %);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -44.3$ (c 0.580, CHCl₃);

IR (KBr): 3468 (br), 2932, 1771, 1708, 1399, 1054, 722 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl₃/TMS): $\delta = 7.86$ (dd, 2H, $^3J = 5.4$ Hz, $^4J = 3.0$ Hz, 2 *o*-Aryl-H), 7.74 (dd, 2H, $^3J = 5.4$ Hz, $^4J = 3.0$ Hz, 2 *m*-Aryl-H), 4.74 (d, 1H, $^3J = 1.4$ Hz, H-1), 4.02-3.99 (m, 1H, H-2), 3.99-3.94, 3.88-3.83 (je m, je 1H, PhthNCH₂), 3.71-3.64 (m, 2H, H-5, OCHH), 3.53 (ddd, 1H, $^3J = 9.3$ Hz, $^3J = 9.3$ Hz, $^3J = 1.7$ Hz, H-4), 3.43 (dd, 1H, $^3J = 9.2$ Hz, $^3J = 3.2$ Hz, H-3), 3.41-3.37 (m, 1H, OCHH), 3.36 (s, 3H, OCH₃), 3.24 (d, 1H, $^3J = 2.0$ Hz, 4-OH), 2.80 (d, 1H, $^3J = 2.5$ Hz, 2-OH), 2.07-1.94 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂NPhth), 1.36 (d, 3H, $^3J = 6.2$ Hz, 6-CH₃) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl₃): $\delta = 168.92$ (2 C=O), 134.15 (2 *m*-Aryl-C), 131.91 (2 Aryl-C_q), 123.42 (2 *o*-Aryl-C), 100.48 (C-1), 80.35 (C-3), 71.26 (C-4), 67.67 (C-5), 67.10 (C-2), 65.43



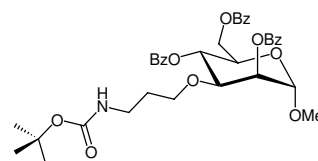
(OCH₂), 54.77 (OCH₃), 34.61 (PhthNCH₂), 28.93 (OCH₂CH₂CH₂NPhth), 17.68 (6-CH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für C₁₈H₂₃NNaO₇: 388.1372; gef.: 388.1358;

Anal. ber. für C₁₈H₂₃NO₇: C, 59.17; H, 6.34; N, 3.83. Gef.: C, 58.82; H, 6.44; N, 3.76.

Methyl-2,4,6-tri-*O*-benzoyl-3-*O*-(3-*tert*-butoxycarbonylamino)propyl)- α -D-mannopyranosid (93)

Nach AAV 5 wurden 4.00 g (20.6 mmol) Methyl- α -D-mannopyranosid **34** umgesetzt. Reinigung durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester \rightarrow Essigester/Ethanol, 8 : 1) ergab 1.81 g eines roten Schaumes. Dieser wurde in 20 ml Methanol gelöst. Nach Zugabe von 1.0 ml (20 mmol) Hydrazinhydrat wurde die Lösung über Nacht bei 40 °C gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat *in vacuo* eingengt. Der Rückstand wurde erneut in Methanol aufgenommen (10 ml) und nach Zugabe von 0.7 ml (5 mmol) Triethylamin und 3.6 g (17 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat 2 h bei Raumtemp. gerührt. Entfernen der flüchtigen Komponenten *in vacuo* ergab 3.77 g eines festen Rückstandes. Hiervon wurden 1.26 g in 5 ml Pyridin mit 1.1 ml (9.5 mmol) Benzoylchlorid nach AAV 4 benzyliert. Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester, 5 : 1) ergab das Produkt als weißen Schaum.



Ausbeute: 493 mg (12 %);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -34.9 (c 0.995, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3424, 2975, 1724, 1602, 1508, 1452, 1366, 1316, 1266, 1176, 1112, 1069, 1027, 711 cm⁻¹;

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 8.12-8.03 (m, 6H, 6 *o*-Aryl-H), 7.61-7.55 (m, 3H, 3 *p*-Aryl-H), 7.47-7.36 (m, 6H, 6 *m*-Aryl-H), 5.76 (dd \approx t, 1H, ³ J = 9.9 Hz, H-4), 5.64 (dd, 1H, ³ J = 3.2 Hz, ³ J = 1.9 Hz, H-2), 4.92 (d, 1H, ³ J = 1.7 Hz, H-1), 4.69 (dd, 1H, ² J = 12.1 Hz, ³ J = 2.6 Hz, H-6'), 4.42 (dd, 1H, ² J = 12.1 Hz, ³ J = 4.8 Hz, H-6), 4.28-4.22 (m, 1H, H-5), 4.04 (dd, 1H, ³ J = 9.7 Hz, ³ J = 3.3 Hz, H-3), 3.79-3.72 (m, 1H, OCHH), 3.49 (s, 3H, OCH₃), 3.44-3.37 (m, 1H, OCHH), 2.99-2.78 (m, 2H, BocNHCH₂), 1.59-1.49 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂NHBoc), 1.37 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm;

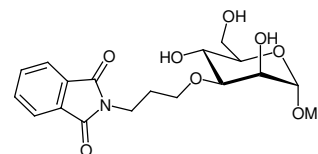
¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 166.16, 165.77, 165.32 (3 C=O), 155.88 (NH(C=O)), 133.33, 132.94 (3 *p*-Aryl-C), 129.90 (Aryl-C_q), 129.84, 129.67, 129.64 (6 *o*-Aryl-C), 129.42,

129.37 (2 Aryl-C_q), 128.49, 128.47, 128.35 (6 *m*-Aryl-C), 98.98 (C-1), 78.64 (C(CH₃)₃), 76.08 (C-3), 68.80 (C-2), 68.73 (C-5), 68.38 (C-4), 67.69 (OCH₂), 63.11 (C-6), 55.35 (OCH₃), 37.17 (BocHNCH₂), 29.73 (OCH₂CH₂CH₂NHBoc), 28.32 (C(CH₃)₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₃₆H₄₁NNaO₁₁: 686.2572; gef.: 686.2553.

Methyl-3-O-3-(phthalimidopropyl)- α -D-mannopyranosid (92)

Nach AAV 5 wurden 3.12 g (16.1 mmol) Methyl- α -D-mannopyranosid **34** umgesetzt. Reinigung durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Ethanol, 8:1) ergab einen weißen Schaum.



Ausbeute: 2.40 g (39 %);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +42.7$ (c 0.820, Aceton);

IR (KBr): 3448 (br), 2929, 1770, 1709, 1399, 1058, 722 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 7.87-7.82 (m, 4H, 4 Aryl-H), 4.65 (d, 1H, ³J = 1.6 Hz, H-1), 4.04 (d, 1H, ³J = 3.7 Hz, OH), 3.97-3.93 (m, 1H, H-2), 3.83-3.77 (m, 3H, PhthNCH₂, H-6), 3.76-3.70 (m, 3H, H-4, 2 OH), 3.68-3.62 (m, 1H, H-6), 3.52-3.46 (m, 2H, OCH₂), 3.42 (m_c, 1H, H-5), 3.38 (dd, 1H, ³J = 9.3 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 3.32 (s, 3H, OCH₃), 1.98-1.90 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂NPhth) ppm;

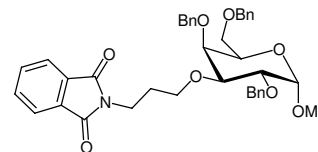
¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 170.25 (2 C=O), 136.00 (2 *m*-Aryl-C), 134.16 (2 Aryl-C_q), 124.75 (2 *o*-Aryl-C), 103.10 (C-1), 82.45 (C-3), 75.02 (C-5), 68.97 (C-2), 68.43 (C-4), 67.90 (OCH₂), 64.15 (C-6), 55.70 (OCH₃), 36.69 (PhthNCH₂), 28.45 (OCH₂CH₂CH₂NPhth) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₁₈H₂₃NNaO₈: 404.1321; gef.: 404.1376;

Anal. ber. für C₁₈H₂₃NO₈: C, 56.69; H, 6.08; N, 3.67. Gef.: C, 56.41; H, 6.25; N, 3.67.

Methyl-2,4,6-tri-O-benzyl-3-O-(3-phthalimidopropyl)- α -D-galaktopyranosid (80)

Eine Lösung von 456 mg (1.19 mmol) des Galaktosids **79** und 1.3 ml (11 mmol) Benzylbromid in 5 ml trockenem DMF wurde bei 0 °C mit 143 mg (3.57 mmol) Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffin) versetzt und rührte anschließend 3 h, wobei sie sich auf Raumtemp. erwärmte. Daraufhin wurde noch dreimal im Abstand von



je 90 min unter Eiskühlung Natriumhydrid nachgegeben (einmal 24 mg (0.60 mmol) und zweimal je 12 mg (0.30 mmol)). Die Reaktion wurde durch Zugabe von 10 ml Wasser beendet, die Phasen getrennt und die wässrige Phase noch dreimal mit je 5 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden mit je 5 ml 5%iger Salzsäure, Wasser und ges. Natriumchloridlsg. gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Toluol/Essigester, 4:1) und das Produkt als farbloser Sirup erhalten.

Ausbeute: 631 mg (81 %);

$[\alpha]_D^{25} +43.4$ (*c* 0.955, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3463, 3029, 2925, 1771, 1712, 1453, 1396, 1371, 1101, 1050, 739, 722, 698 cm⁻¹;

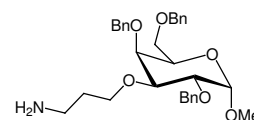
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 7.82 (dd, 2H, ³J = 5.4 Hz, ⁴J = 3.1 Hz, 2 *o*-Phth-H), 7.69 (dd, 1H, ³J = 5.5 Hz, ⁴J = 3.0 Hz, 2 *m*-Phth-H), 7.38-7.23 (m, 15H, 15 Bn-Aryl-H), 4.95 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, PhCHH), 4.81, 4.66 (je d, je 1H, ²J = 12.2 Hz, PhCH₂), 4.63 (d, 1H, ³J = 3.7 Hz, H-1), 4.58 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, PhCHH), 4.50, 4.41 (je d, je 1H, ²J = 11.8 Hz, PhCH₂), 3.99 (dd, 1H, ³J = 3.0 Hz, ³J = 1.3 Hz, H-4), 3.95 (dd, 1H, ³J = 10.1 Hz, ³J = 3.7 Hz, H-2), 3.92-3.76 (m, 4H, H-5, OCHHCH₂CH₂NPhth), 3.74 (dd, 1H, ³J = 10.1 Hz, ³J = 2.9 Hz, H-3), 3.70-3.66 (m, 1H, OCHHCH₂CH₂NPhth), 3.57-3.51 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.35 (s, 3H, OCH₃), 2.01-1.96 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂NPhth) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 168.25 (2 C=O), 138.77, 138.55, 138.01 (3 Bn-Aryl-C_q), 133.83 (2 *o*-Phth-C), 132.12 (2 Phth-C_q), 128.51, 128.34, 128.30, 128.17, 128.02, 127.73, 127.62, 127.46, 126.92 (Aryl-C), 123.15 (2 *m*-Phth-C), 98.72 (C-1), 79.50 (C-3), 76.46 (C-2), 75.43 (C-4), 74.82 (PhCH₂), 73.45 (2 PhCH₂), 69.27 (C-5), 69.14 (C-6), 68.90 (OCH₂CH₂-CH₂NPhth), 55.29 (OCH₃), 35.39 (PhthNCH₂), 29.53 (OCH₂CH₂CH₂NPhth) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₃₉H₄₁NNaO₈: 674.2724; gef.: 674.2709.

Methyl-3-O-(3-aminopropyl)-2,4,6-tri-O-benzyl- α -D-galaktopyranosid (81)

Das Galaktosid **80** (504 mg, 0.773 mmol) wurde in 15 ml Ethanol gelöst, mit 0.20 ml (0.41 mmol) Hydrazinhydrat versetzt und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und über Celite filtriert (insges. 100 ml Dichlormethan). Das nach Entfernen des Lösungsmittels *in*



vacuo erhaltene Produkt war für weitere Umsetzungen rein genug, kann aber durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 30:1, mit 2% Triethylamin) gereinigt werden. Man erhielt ein gelbliches Öl.

Ausbeute: 356 mg (88%);

$[\alpha]_D^{25} +40.3$ (*c* 1.42, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3422, 2918, 1496, 1453, 1350, 1195, 1099, 1051, 738, 698 cm⁻¹;

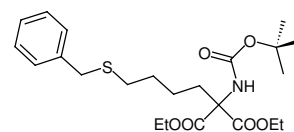
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 7.38-7.24 (m, 15H, 15 Aryl-H), 4.89 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, PhCHH), 4.81 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, PhCHH), 4.66-4.62 (m, 2H, H-1, PhCHH), 4.55 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, PhCHH), 4.49, 4.41 (je d, je 1H, ²J = 11.8 Hz, PhCH₂), 3.94 (d, 1H, ³J = 3.5 Hz, H-4), 3.93 (dd, 1H, ³J = 10.1 Hz, ³J = 3.7 Hz, H-2), 3.89 (m_c, 1H, H-5), 3.78-3.69 (m, 3H, H-3, OCH₂CH₂CH₂NH₂), 3.58-3.49 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.35 (s, 3H, OCH₃), 2.89-2.80 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂NH₂), 1.81-1.71 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂NH₂) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 138.68, 138.52, 137.94 (3 Aryl-C_q), 128.38, 128.34, 128.20, 128.15, 128.05, 127.79, 127.71, 127.56 (Aryl-C), 98.72 (C-1), 79.23 (C-3), 76.15 (C-2), 74.72 (C-4, PhCH₂), 73.51, 73.44 (2 PhCH₂), 69.12 (C-5), 69.02, 68.99 (C-6, OCH₂CH₂CH₂-NH₂), 55.32 (OCH₃), 39.62 (CH₂NH₂), 33.69 (OCH₂CH₂CH₂NH₂) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + H]⁺ ber. für C₃₁H₄₀NO₆: 522.2850; gef.: 522.2837; *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₃₁H₃₉NNaO₆: 544.2670; gef.: 544.2673.

2-(4-Benzylsulfanylbutyl)-2-*tert*-butoxycarbonylamino)-malonsäure-diethylester (96)

Benzylmercaptan (1.5 ml, 13 mmol) wurde tropfenweise zu einer eisgekühlten Suspension von 512 mg (12.8 mmol) Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffin) gegeben. Nach 15 min Rühren bei



Raumtemp. tropfte man hierzu eine Lösung von 5.00 g (12.2 mmol) des Malonesterderivats **95** und rührte den Ansatz weitere 16 h. Das Lösungsmittel wurde *in vacuo* entfernt, der Rückstand in 50 ml Essigester aufgenommen, mit je 15 ml 5%iger Salzsäure, ges. Natriumhydrogencarbonatlg. und ges. Natriumchloridlg. gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 6:1) ergab ein klares, farbloses Öl.

Ausbeute: 5.04 g (91%);

IR (KBr): 3432, 2979, 2934, 1739, 1719, 1486, 1368, 1280, 1250, 1204, 1165, 1056, 1027, 860, 702 cm⁻¹;

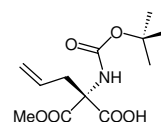
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3/TMS): $\delta = 7.33\text{-}7.27$ (m, 4H, 2 *o*-Aryl-H, 2 *m*-Aryl-H), 7.25-7.21 (m, 1H, *p*-Aryl-H), 5.92 (bs, 1H, NH), 4.28-4.17 (m, 4H, 2 OCH_2), 3.67 (s, 2H, PhCH_2), 2.39 (t, 2H, $^3J = 7.3$ Hz, SCH_2CH_2), 2.26 (br, 2H, CCH_2), 1.57 (m_c , 2H, SCH_2CH_2), 1.43 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.30-1.19 (m, 2H, CCH_2CH_2), 1.24 (dd \approx t, 6H, $^3J = 7.1$ Hz, 2 CH_3) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.75 MHz, CDCl_3): $\delta = 168.18$ ($\text{C}(\text{=O})\text{O}$), 153.78 ($\text{C}(\text{=O})\text{N}$), 138.44 (Aryl- C_q), 128.73, 128.39 (2 *o*-Aryl-C, 2 *m*-Aryl-C), 126.83 (*p*-Aryl-C), 80.06 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 66.34 (C), 62.30 (2 OCH_2), 36.19 (PhCH_2), 32.07 (CCH_2), 30.96 (SCH_2), 28.73 (SCH_2CH_2), 28.18 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 22.59 (CCH_2CH_2), 13.96 (2 OCH_2CH_3) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{NNaO}_6\text{S}$: 476.2077; gef.: 476.2060.

(*R*)-2-Allyl-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-malonsäure-monomethylester (74)

Der Malonester **73** (10.9 g, 37.9 mmol) wurde in einer Lösung von 350 ml Phosphatpuffer und 35 ml Aceton suspendiert. Nach Zugabe von 30 mg (4260 U) Schweineleberesterase rührte der Ansatz bei Raumtemp., wobei der pH-Wert durch Zugabe von 2M Natronlauge zwischen 7.75 und 6.90 gehalten wurde. Nach 5 d war 1 eq. Natronlauge verbraucht. Die Lösung wurde mit 5N Salzsäure auf pH 2 gebracht, vollständig mit Essigester extrahiert, die vereinigten org. Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Man erhielt 10.4 g eines farblosen Feststoffes, der eine spezifische Drehung von 16.7 (c 1.08, CH_2Cl_2) zeigte und noch zweimal aus Essigester/Pentan umkristallisiert wurde.



Ausbeute: 2.09 g (20 %);

Schmp.: 89°C ; $[\alpha]_D^{25} +25.4$ (c 1.05, CH_2Cl_2);

IR (KBr): 3294, 2978, 2555, 1739, 1657, 1397, 1371, 1290, 1241, 1217, 1175, 1070, 926, 640 cm^{-1} ;

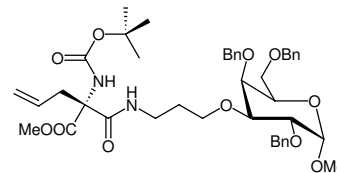
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 6.40$, 6.09 (je br s, je 1H, OH, NH), 5.67-5.53 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.10-5.05 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.66 (s, 3H, OCH_3), 2.91-2.76 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 1.36 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 168.51$, 168.32 (2 $\text{C}(\text{=O})\text{O}$), 153.60 ($\text{C}(\text{=O})\text{N}$), 131.84 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 119.39 ($\text{CH}=\text{CH}_2$), 79.14 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 65.56 (C), 52.76 (OCH_3), 37.16 ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 27.89 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NNaO}_6$: 296.1105; gef.: 296.1159.

Methyl-2,4,6-tri-*O*-benzyl-3-(3-[(*R*)-2-*tert*-butoxycarbonylamino-2-methoxycarbonyl-pent-4-enoylamino]-propyl)- α -D-galaktopyranosid (98)

Der Monoester **74** (203 mg, 0.743 mmol), TBTU (239 mg, 0.743 mmol) und HOBT (100 mg, 0.743 mmol) wurden unter Argonatmosphäre in 5 ml trockenem Dichlormethan suspendiert. Nach Zugabe von 0.38 ml (2.2 mmol) DIPEA rührte der



Zu dieser wurde tropfenweise eine Lösung von **81** (479 mg, 0.892 mmol) in 5 ml trockenem Dichlormethan gegeben und anschließend über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Dann wurde mit 30 ml Dichlormethan verdünnt, nacheinander mit je 15 ml 5%iger Salzsäure, ges. Natriumhydrogencarbonatlg. und ges. Natriumchloridlg. gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 3:2) und das Produkt als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 395 mg (68%);

$[\alpha]_D^{25} +39.9$ (*c* 0.875, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3407 (br), 2927, 1718, 1686, 1482, 1367, 1228, 1163, 1137, 1099, 1052, 738, 698 cm⁻¹;

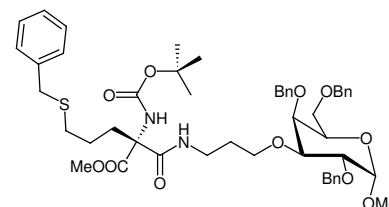
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 7.38-7.25 (m, 15H, 15 Aryl-H), 6.57 (br s, 1H, C(=O)NH), 5.93 (br s, 1H, OC(=O)NH), 5.57 (dddd, 1H, ³J = 17.8 Hz, ³J = 10.5 Hz, ³J = 7.3 Hz, ³J = 7.3 Hz, CH=CH₂), 5.12-5.06 (m, 2H, CH=CH₂), 4.87 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, PhCHH), 4.78 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, PhCHH), 4.64 (d, 1H, ³J = 3.7 Hz, H-1), 4.62 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, PhCHH), 4.55 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, PhCHH), 4.48, 4.40 (je d, je 1H, ²J = 11.8 Hz, PhCH₂), 3.95 (dd, 1H, ³J = 10.1 Hz, ³J = 3.6 Hz, H-2), 3.93 (m, 1H, H-4), 3.88 (m_c, 1H, H-5), 3.73 (s, 3H, C(=O)OCH₃), 3.70 (dd, 1H, ³J = 10.2 Hz, ³J = 3.1 Hz, H-3), 3.68-3.61 (m, 2H, GalOCH₂), 3.55-3.50 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.41-3.30 (m, 2H, C(=O)NHCH₂), 3.34 (s, 3H, GalOCH₃), 3.10-3.01, 2.93-2.85 (je m, je 1H, CH₂CH=CH₂), 1.76 (m_c, 2H, OCH₂-CH₂CH₂N), 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm;

¹³C-NMR (125.75 MHz, CDCl₃): δ = 170.98, 166.53 (C(=O)O, C(=O)N), 154.06 (OC(=O)N), 138.65, 138.54, 137.94 (3 Aryl-C_q), 131.20 (CH=CH₂), 128.37, 128.34, 128.20, 128.06, 127.96, 127.76, 127.71, 127.69, 127.53 (15 Aryl-C), 119.95 (CH=CH₂), 98.61 (C-1), 80.21 (C(CH₃)₃), 79.23 (C-3), 76.32 (C-2), 74.96 (C-4), 74.81, 73.49, 73.27 (3 PhCH₂), 69.13 (C-5), 69.00 (C-6), 68.39 (GalOCH₂), 66.02 (C), 55.29 (GalOCH₃), 53.22 (C(=O)OCH₃), 38.41 (CH₂CH=CH₂), 37.47 (NHCH₂), 29.91 (OCH₂CH₂CH₂N), 28.21 (C(CH₃)₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₄₃H₅₆N₂NaO₁₁: 799.3776; gef.: 799.3757.

Methyl-2,4,6-tri-*O*-benzyl-3-(3-[(*R*)-5-benzylsulfanyl-2-*tert*-butoxycarbonylamino-2-methoxycarbonyl-pentanoylamino]-propyl)- α -D-galaktopyranosid (99)

Nach AAV 3 wurden 163 mg (0.209 mmol) **98** und 0.37 ml (3.2 mmol) Benzylmercaptan in 2 ml Dioxan umgesetzt. Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 3 : 2) ergab ein farbloses Öl.



Ausbeute: 157 mg (83 %);

$[\alpha]_D^{25} +35.0$ (*c* 0.550, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3405 (br), 2925, 1735, 1718, 1685, 1454, 1366, 1255, 1159, 1099, 1052, 739, 699 cm⁻¹;

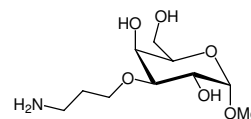
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 7.37-7.19 (m, 20H, 20 Aryl-H), 6.43 (br s, 1H, C(=O)NH), 6.05 (br s, 1H, OC(=O)NH), 4.87 (d, 1H, ²*J* = 11.6 Hz, PhCHH), 4.77 (d, 1H, ²*J* = 12.1 Hz, PhCHH), 4.64 (d, 1H, ³*J* = 3.6 Hz, H-1), 4.62 (d, 1H, ²*J* = 12.1 Hz, PhCHH), 4.54 (d, 1H, ²*J* = 11.6 Hz, PhCHH), 4.48, 4.40 (je d, je 1H, ²*J* = 11.8 Hz, PhCH₂), 3.94 (dd, 1H, ³*J* = 10.1 Hz, ³*J* = 3.6 Hz, H-2), 3.92 (m_c, 1H, H-4), 3.88 (m_c, 1H, H-5), 3.71 (s, 3H, C(=O)OCH₃), 3.69-3.60 (m, 3H, H-3, GalOCH₂), 3.62 (s, 2H, PhCH₂S), 3.55-3.50 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.44-3.26 (m, 2H, C(=O)NHCH₂), 3.34 (s, 3H, GalOCH₃), 2.42 (m_c, 1H, CCHH), 2.33 (m_c, 2H, SCH₂CH₂), 2.18 (m_c, 1H, CCHH), 1.82-1.64 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂N), 1.53-1.44 (m, 1H, CCH₂CHH), 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.38-1.30 (m, 1H, CCH₂CHH) ppm;

¹³C-NMR (125.75 MHz, CDCl₃): δ = 171.32, 166.72 (C(=O)O, C(=O)N), 154.16 (OC(=O)N), 138.63, 138.50, 138.21, 137.93 (4 Aryl-C_q), 128.76, 128.44, 128.36, 128.35, 128.20, 128.06, 127.95, 127.76, 127.72, 127.69, 127.54, 126.91 (20 Aryl-C), 98.59 (C-1), 80.17 (C(CH₃)₃), 79.21 (C-3), 76.34 (C-2), 75.00 (C-4), 74.82, 73.48, 73.29 (3 PhCH₂), 69.12 (C-5), 68.97 (C-6), 68.26 (GalOCH₂), 66.22 (C), 55.29 (GalOCH₃), 53.18 (C(=O)OCH₃), 37.50 (NHCH₂), 35.95 (PhCH₂S), 33.08 (CCH₂), 30.60 (SCH₂CH₂), 29.88 (OCH₂CH₂CH₂N), 28.23 (C(CH₃)₃), 23.18 (CCH₂CH₂) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + H]⁺ ber. für C₅₀H₆₅N₂O₁₁S: 901.4309; gef.: 901.4365; *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₅₀H₆₄N₂NaO₁₁S: 923.4129; gef.: 923.4140.

Methyl-3-O-(3-aminopropyl)- α -D-galaktopyranosid (101)

Das Galaktosid **79** (4.67 g, 12.2 mmol) wurde in 100 ml Methanol gelöst, Hydrazinhydrat (3.0 ml, 62 mmol) zugegeben und die Lösung bei 40 °C über Nacht gerührt, wobei ein farbloser Niederschlag ausfiel. Nach Filtration über Celite wurden flüchtige Bestandteile *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde in 100 ml Wasser aufgenommen und die Lösung mit Eisessig auf pH 4 gebracht. Anschließend wurde so oft mit je 30 ml Essigester extrahiert, bis die organische Phase keine UV-Aktivität mehr zeigte. Reste von Ethylacetat in der wässrigen Phase wurden *in vacuo* entfernt und das Produkt nach Lyophilisation als Acetat in Form eines farblosen Schaums erhalten.



Ausbeute: 3.81 g (quant.);

$[\alpha]_D^{25} +147$ (c 0.835, H₂O);

IR (KBr): 3354, 3009, 1569, 1408, 1353, 1144, 1087, 1044, 1021, 756, 702, 655 cm⁻¹;

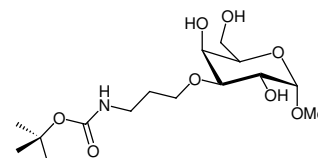
¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ = 4.83 (d, 1H, ³J = 3.9 Hz, H-1), 4.20 (d, 1H, ³J = 3.2 Hz, H-4), 3.89-3.83 (m, 2H, H-5, OCHH), 3.85 (dd, 1H, ³J = 10.4 Hz, ³J = 3.9 Hz, H-2), 3.77-3.70 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.65-3.59 (m, 1H, OCHH), 3.61 (dd, 1H, ³J = 10.2 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 3.40 (s, 3H, OCH₃), 3.15 (ddd \approx t, 2H, ³J = 6.7 Hz, H₂NCH₂), 2.02-1.91 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂NH₂), 1.89 (s, 3H, C(=O)CH₃) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, D₂O): δ = 183.84 (C=O), 101.67 (C-1), 80.05 (C-3), 72.97 (C-2*), 69.57 (C-5*), 69.47 (OCH₂), 68.00 (C-4), 63.63 (C-6), 57.45 (OCH₃), 40.68 (H₂NCH₂), 28.93 (OCH₂CH₂CH₂NH₂), 25.70 (C(=O)CH₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + H]⁺ ber. für C₁₀H₂₂NO₆: 252.1442; gef.: 252.1495.

Methyl-3-O-(3-*tert*-butoxycarbonylamino)propyl)- α -D-galaktopyranosid (102)

Das Amin **101** (6.49 g, 20.8 mmol) wurde in 70 ml Methanol gelöst, mit 6.12 g (28.1 mmol) Di-*tert*-butyl-dicarbonat und 3.9 ml (28 mmol) Triethylamin versetzt und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Flüchtige Bestandteile wurden *in vacuo* entfernt und der Rückstand über Kieselgel filtriert (Laufmittel: Essigester/Methanol, 9:1). Anschließende Umkristallisation aus Ethylacetat ergab das Produkt in Form farbloser Kristalle.



Ausbeute: 6.72 g (92 %);

Schmp.: 108–110 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +124$ (*c* 1.05, MeOH);

IR (KBr): 3471, 3350, 2952, 2917, 1687, 1535, 1366, 1277, 1226, 1160, 1142, 1058, 1019, 928, 770, 588 cm^{-1} ;

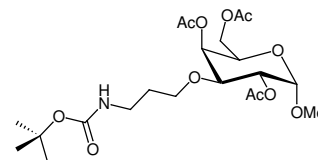
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- D_6): δ = 6.77 (t, 1H, 3J = 5.6 Hz, NH), 4.56 (m_c, 1H, 6-OH), 4.52 (d, 1H, 3J = 3.8 Hz, H-1), 4.50 (d, 1H, 3J = 7.3 Hz, 2-OH), 4.31 (d, 1H, 3J = 4.7 Hz, 4-OH), 3.90 (ddd≈t, 1H, 3J = 3.8 Hz, H-4), 3.66 (ddd, 1H, 3J = 10.3 Hz, 3J = 7.3 Hz, 3J = 3.8 Hz, H-2), 3.57 (ddd, 1H, 2J = 9.4 Hz, 3J = 6.2 Hz, 3J = 6.2 Hz, OCHH), 3.54–3.43 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.38–3.30 (m, 1H, OCHH), 3.28–3.26 (m, 1H, H-3), 3.26 (s, 3H, OCH₃), 3.02 (m_c, 2H, BocHNCH₂), 1.59 (m_c, 2H, OCH₂CH₂CH₂NHBoc), 1.37 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, DMSO- D_6): δ = 155.63 (C=O), 99.92 (C-1), 78.26 (C-3), 77.38 (C(CH₃)₃), 70.96 (C-5), 67.16 (C-2), 65.68 (OCH₂), 65.03 (C-4), 60.55 (C-6), 54.28 (OCH₃), 36.83 (BocHNCH₂), 29.82 (OCH₂CH₂CH₂NHBoc), 28.19 (C(CH₃)₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₁₅H₂₉NNaO₈: 374.1785; gef.: 374.1736.

Methyl-2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-(3-*tert*-butoxycarbonylamino)propyl)- α -D-galaktopyranosid (103)

Nach AAV 4 wurden 4.65 g (13.2 mmol) des Galaktosids **102** mit 7.50 ml (79.4 mmol) Acetanhydrid in 50 ml trockenem Pyridin unter Zugabe einer kat. Menge DMAP umgesetzt. Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester, 2 : 1). Man erhielt einen gelblichen Sirup.



Ausbeute: 6.29 g (quant.);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +112$ (*c* 0.540, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3422, 2975, 2934, 1747, 1712, 1512, 1370, 1234, 1171, 1138, 1054 cm^{-1} ;

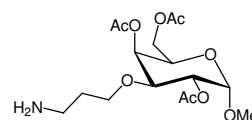
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 5.49 (d, 1H, 3J = 3.3 Hz, H-4), 5.02 (dd, 1H, 3J = 10.4 Hz, 3J = 3.7 Hz, H-2), 4.97 (d, 1H, 3J = 3.7 Hz, H-1), 4.85 (br s, 1H, NH), 4.14 (dd, 1H, 2J = 12.9 Hz, 3J = 8.6 Hz, H-6), 4.12–4.08 (m, 1H, H-5), 4.10 (dd, 1H, 2J = 12.8 Hz, 3J = 6.1 Hz, H-6'), 3.77–3.72 (m, 1H, OCHH), 3.75 (dd, 1H, 3J = 10.4 Hz, 3J = 3.4 Hz, H-3), 3.44–3.39 (m, 1H, OCHH), 3.40 (s, 3H, OCH₃), 3.23–3.14, 3.09–3.01 (je m_c, je 1H, BocHNCH₂), 2.15, 2.12, 2.07 (je s, je 3H, 3 C(=O)CH₃), 1.67 (m_c, 2H, OCH₂CH₂CH₂NHBoc), 1.44 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.49, 170.39$ (3 C=O), 155.93 (NHC=O), 97.29 (C-1), 79.02 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 74.04 (C-3), 69.87 (C-2), 68.21 (OCH_2), 67.27 (C-4), 66.43 (C-5), 62.31 (C-6), 55.42 (OCH_3), 37.97 (BocHNCH_2), 29.69 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHBoc}$), 28.42 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 20.93, 20.77, 20.72 (3 C(=O)CH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + Na]⁺ ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{NNaO}_{11}$: 500.2102; gef.: 500.2195.

Methyl-2,4,6-tri-O-acetyl-3-O-(3-aminopropyl)- α -D-galaktopyranosid (104)

Nach AAV 6 wurden 200 mg (0.419 mmol) des Galaktosids **103** umgesetzt. Man erhielt das Produkt als Trifluoracetat in Form eines farblosen Sirups, welcher nicht weiter aufgereinigt werden musste.



Ausbeute: 206 mg (quant.);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +105$ (c 1.48, CH_2Cl_2);

IR (KBr): 3448 (br), 2939, 1744, 1681, 1374, 1236, 1203, 1136, 1056, 836, 800, 722 cm^{-1} ;

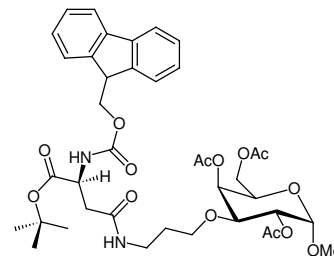
^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3/TMS): $\delta = 7.84$ (br s, 3H, NH_3), 5.48 (d, 1H, $^3J = 3.1$ Hz, H-4), 5.05 (dd, 1H, $^3J = 10.4$ Hz, $^3J = 3.6$ Hz, H-2), 4.93 (d, 1H, $^3J = 3.6$ Hz, H-1), 4.18-4.07 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.90 (m_c, 1H, OCHH), 3.84 (dd, 1H, $^3J = 10.4$ Hz, $^3J = 3.2$ Hz, H-3), 3.53 (m_c, 1H, OCHH), 3.41 (s, 3H, OCH_3), 3.03 (br s, 2H, NCH_2), 2.16, 2.12, 2.07 (je s, je 3H, 3 C(=O)CH₃), 1.89 (br m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$) ppm;

^{13}C -NMR (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.21, 171.19, 170.53$ (3 C=O), 161.66 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 35.5$ Hz, $\text{F}_3\text{CC}(=\text{O})\text{OH}$), 116.15 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288$ Hz, CF_3), 97.32 (C-1), 74.80 (C-3), 69.49 (C-2), 68.37 (OCH_2), 67.22 (C-4), 66.35 (C-5), 62.05 (C-6), 55.45 (OCH_3), 38.44 (NCH_2), 26.65 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 20.77, 20.65, 20.48 (3 C(=O)CH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z [M + H]⁺ ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{NO}_9$: 378.1759; gef.: 378.1783.

***N*^α-9*H*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N*^γ-[3-(methyl-2,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-galaktopyranosid-3-yl)-propyl]-L-asparagin-*tert*-butylester (105)**

Zu einer Suspension von 266 mg (0.647 mmol) Fmoc-Asp(OH)-*O*^tBu und 286 mg (0.647 mmol) BOP in 2 ml trockenem Dichlormethan wurden unter Argonatmosphäre 0.30 ml (1.7 mmol) DIPEA gegeben und 1 h bei Raumtemp. gerührt, wobei sich eine klare Lösung bildete. Anschließend wurden 206 mg (0.431 mmol) des Amins **104**, gelöst in 5 ml trockenem Dichlormethan, langsam zugegeben und der Ansatz rührte über Nacht. Nach Verdünnen mit 30 ml Dichlormethan wurde die Lösung nacheinander mit je 10 ml 5%iger Salzsäure, ges. Natriumhydrogencarbonatlsg. und ges. Natriumchloridlsg. gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Toluol/Essigester, 1:2) und das Produkt als weißer, voluminöser Schaum erhalten.



Ausbeute: 297 mg (89 %);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +91.8$ (*c* 0.560, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3422 (br), 2934, 1742, 1654, 1450, 1370, 1233, 1155, 1054, 761, 742 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 7.76 (d, 2H, ³*J* = 7.5 Hz, 2 Aryl-H), 7.62 (m_c, 2H, 2 Aryl-H), 7.40 (dd \approx t, 2H, ³*J* = 7.5 Hz, 2 Aryl-H), 7.31 (dd \approx t, 2H, ³*J* = 7.4 Hz, 2 Aryl-H), 6.25 (br, 1H, C(=O)NH), 6.14 (d, 1H, ³*J* = 8.6 Hz, OC(=O)NH), 5.48 (d, 1H, ³*J* = 2.8 Hz, H-4), 5.09 (dd, 1H, ³*J* = 10.5 Hz, ³*J* = 3.7 Hz, H-2), 4.91 (d, 1H, ³*J* = 3.6 Hz, H-1), 4.49 (ddd, 1H, ³*J* = 8.5 Hz, ³*J* = 4.3 Hz, ³*J* = 4.3 Hz, H- α), 4.42 (dd, 1H, ³*J* = 10.1 Hz, ³*J* = 6.8 Hz, FluHCHH), 4.29-4.22 (m, 2H, FluHCHH), 4.15-4.07 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.79-3.71 (m, 2H, H-3, GalOCHH), 3.43-3.32 (m, 2H, C(=O)NHCHH, GalOCHH), 3.39 (s, 3H, GalOCH₃), 3.11 (m_c, 1H, C(=O)NHCHH), 2.90 (dd, 1H, ²*J* = 15.8 Hz, ³*J* = 4.6 Hz, H- β), 2.73 (dd, 1H, ²*J* = 15.8 Hz, ³*J* = 4.2 Hz, H- β'), 2.13, 2.10, 2.07 (je s, je 3H, 3 C(=O)CH₃), 1.67 (m_c, 2H, OCH₂CH₂CH₂N), 1.47 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm;

¹³C-NMR (125.75 MHz, CDCl₃): δ = 170.98, 170.50, 170.46, 170.25, 170.01 (4 C(=O)O, C(=O)N), 156.23 (OC(=O)N), 144.01, 143.82 (2 Aryl-C_q), 141.24 (2 Aryl-C_q), 127.67 (2 Aryl-C), 127.07, 127.04, 125.28, 125.19 (4 Aryl-C), 119.93 (2 Aryl-C), 97.45 (C-1), 82.04 (C(CH₃)₃), 74.38 (C-3), 69.51 (C-2), 68.18 (GalOCH₂), 67.43 (C-4), 67.12 (FluHCH₂), 66.42 (C-5), 62.20 (C-6), 55.43 (GalOCH₃), 51.48 (C- α), 47.14 (HNC(=O)OCH₂CH), 37.71 (C- β), 36.78 (C(=O)NHCH₂), 29.15 (OCH₂CH₂CH₂N), 27.92 (C(CH₃)₃), 20.95, 20.80, 20.71 (3 C(=O)CH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z $[M + Na]^+$ ber. für $C_{39}H_{50}N_2NaO_{14}$: 793.3154; gef.: 793.3175.

N^α -9H-Fluorenylmethoxycarbonyl- N^γ -[3-(methyl-2,4,6-tri-O-acetyl- α -D-galaktopyranosid-3-yl)-propyl]-L-asparagin (106)

Nach AAV 6 wurden 1.01 g (1.31 mmol) des *tert*-Butylesters **105** entschützt. Der Rückstand wurde in Acetonitril/Wasser (1 : 1) aufgenommen und lyophilisiert, um das Produkt als weißen Schaum zu erhalten.

Ausbeute: 936 mg (quant.);

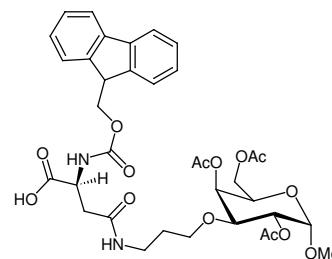
$[\alpha]_D^{25} +125$ (c 0.275, CH_2Cl_2);

IR (KBr): 3407 (br), 2939, 1743, 1654, 1534, 1450, 1372, 1233, 1138, 1053, 762, 742 cm^{-1} ;

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3/TMS$): δ = 7.76 (d, 2H, 3J = 7.5 Hz, 2 Aryl-H), 7.60 (m_c, 2H, 2 Aryl-H), 7.40 (dd \approx t, 2H, 3J = 7.4 Hz, 2 Aryl-H), 7.31 (dd \approx t, 2H, 3J = 7.2 Hz, 2 Aryl-H), 6.94 (br, 1H, C(=O)NH), 6.17 (d, 1H, 3J = 5.6 Hz, OC(=O)NH), 5.50 (d, 1H, 3J = 2.4 Hz, H-4), 5.11 (dd, 1H, 3J = 10.4 Hz, 3J = 3.4 Hz, H-2), 4.88 (d, 1H, 3J = 3.5 Hz, H-1), 4.48 (br, 1H, H- α), 4.40 (dd, 1H, 2J = 10.2 Hz, 3J = 7.3 Hz, FluHCHH), 4.30 (dd, 1H, 2J = 10.4 Hz, 3J = 7.5 Hz, FluHCHH), 4.22 (dd \approx t, 1H, 3J = 7.1 Hz, FluH), 4.13-4.06 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.83-3.74 (m, 2H, H-3, GalOCHH), 3.50-3.43 (m, 1H, C(=O)NHCHH), 3.43-3.36 (m, 1H, GalOCHH), 3.39 (s, 3H, OCH₃), 3.18 (m_c, 1H, C(=O)NHCHH), 2.99 (dd, 1H, 2J = 15.7 Hz, 3J = 1.3 Hz, H- β'), 2.73 (dd, 1H, 2J = 16.1 Hz, 3J = 9.2 Hz, H- β), 2.15, 2.10, 2.01 (je s, je 3H, 3 C(=O)CH₃), 1.83-1.62 (m, 2H, OCH₂CH₂CH₂N) ppm;

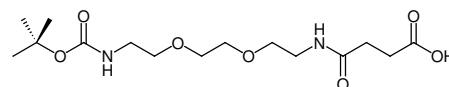
^{13}C -NMR (125.75 MHz, $CDCl_3$): δ = 172.35, 171.85, 171.40, 170.62, 170.49 (4 C(=O)O, C(=O)N), 155.80 (OC(=O)N), 143.81, 143.59, 141.27, 141.24 (4 Aryl-C_q), 127.77, 127.09 (je 2 Aryl-C), 125.16, 125.06 (2 Aryl-C), 120.01 (2 Aryl-C), 97.49 (C-1), 74.63 (C-3), 69.43 (C-2), 68.39 (GalOCH₂), 67.66 (C-4), 67.32 (FluHCH₂), 66.45 (C-5), 62.12 (C-6), 55.44 (GalOCH₃), 50.36 (C- α), 47.02 (HNC(=O)OCH₂CH), 37.72 (C- β , C(=O)NHCH₂), 28.43 (OCH₂CH₂CH₂N), 20.99, 20.84, 20.64 (3 C(=O)CH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z $[M + Na]^+$ ber. für $C_{35}H_{42}N_2NaO_{14}$: 737.2528; gef.: 737.2567.



Bernsteinsäuremono-*N*-(8-*tert*-butoxycarbonylamino-3,6-di-oxa)-octylamid (107)

Eine Lösung von 15.3 g (61.6 mmol) 8-*tert*-Butoxycarbonylamino-3,6-di-oxa-octylamin **109** in 150 ml trockenem Dichlormethan wurde mit 18.5 g (185 mmol) Bernsteinsäureanhydrid, 9.4 ml (68 mmol) Triethylamin und einer kat. Menge DMAP versetzt und über Nacht unter Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde anschließend in 200 ml ges. Natriumhydrogencarbonatlg. gegeben, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit 50 ml Dichlormethan extrahiert. Die wässrige Phase wurde anschließend mit 2M Schwefelsäure angesäuert (pH 2) und zehnmal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten org. Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Man erhielt ein gelbliches Öl, welches nicht weiter aufgereinigt werden musste.



Ausbeute: 18.3 g (85 %);

IR (KBr): 3352 (br), 3085, 2977, 2933, 2876, 1709, 1696, 1655, 1541, 1367, 1279, 1252, 1171, 1135, 1100 cm^{-1} ;

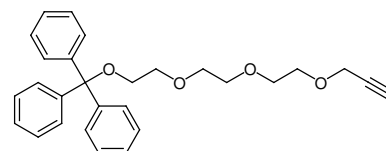
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-D_6): δ = 12.07 (br s, 1H, COOH), 7.92 (t, 1H, 3J = 5.4 Hz, CONH), 6.79 (t, 1H, 3J = 5.5 Hz, BocNH), 3.49 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.42-3.29 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$), 3.18, 3.06 (je m_c , je 2H, 2 NCH_2), 2.40, 2.31 (je m_c , je 2H, 2 C(=O)CH_2), 1.37 (s, 9H, $\text{C(CH}_3)_3$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (76.47 MHz, DMSO-D_6): δ = 173.78, 170.95 (COOH, CONH), 155.51 (OC(=O)NH), 77.53 ($\text{C(CH}_3)_3$), 69.47, 69.38, 69.09, 69.05 ($\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$), 39.60, 38.50 (2 NCH_2), 29.82, 29.03 ($\text{N(O=)CCH}_2\text{CH}_2\text{C(=O)N}$), 28.17 ($\text{C(CH}_3)_3$) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{NaO}_7$: 371.1794; gef.: 371.1795.

3-{2-[2-(2-Trityloxy-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-propin (114)

Der Monoalkohol **113** (2.19 g, 4.58 mmol) wurde in 20 ml trockenem THF gelöst und bei 0 °C mit 335 mg (8.37 mmol) Natriumhydrid (60%ige Suspension in Paraffin) versetzt.



Nach 1 h bei 0 °C gab man tropfenweise Propargylbromid zu (1.21 ml, 11.2 mmol, 80%ige Lösung in Toluol) und der Ansatz rührte über Nacht, wobei er sich auf Raumtemp. erwärmte. Nach Entfernen der flüchtigen Bestandteile *in vacuo* wurde der Rückstand in 60 ml Essigester aufgenommen, nacheinander mit je 20 ml 5%iger Salzsäure, ges. Natriumhydrogencarbonatlg. und ges. Natriumchloridlg.

gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das erhaltene farblose Öl ist für weitere Umsetzungen rein genug, kann aber bei Bedarf säulenchromatographisch gereinigt werden (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 16:5).

Ausbeute: 2.30 g (96 %);

IR (KBr): 3286, 3057, 2870, 1490, 1448, 1350, 1220, 1099, 1033, 1010, 916, 763, 748, 707, 650, 633 cm^{-1} ;

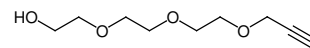
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 7.48-7.40 (m, 6H, 6 Aryl-H), 7.30-7.21 (m, 9H, 9 Aryl-H), 4.19 (d, 2H, 4J = 2.4 Hz, $\text{OCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 3.76-3.61 (m, 10H, $\text{TrOCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.24 (t, 2H, 3J = 5.2 Hz, TrOCH_2), 2.40 (t, 1H, 4J = 2.4 Hz, $\text{OCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): δ = 144.11 (3 Aryl- C_q), 128.70, 127.73, 126.89 (6 *o*-Aryl-C, 6 *m*-Aryl-C, 3 *p*-Aryl-C), 86.52 (CPh_3), 79.66 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 74.46 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 70.78, 70.74, 70.68, 70.48, 69.15, 63.32 (6 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 58.39 ($\text{OCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{NaO}_4$: 453.2036; gef.: 453.2096.

2-[2-(2-Propinyloxy-ethoxy)-ethoxy]-ethanol (111)

Eine Lösung von 570 mg (1.32 mmol) **114** in 4 ml Chloroform/Methanol (1:1) wurde mit 10 mg *p*-Toluolsulfonsäure versetzt und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 2 ml Triethylamin abgebrochen, die flüchtigen Bestandteile *in vacuo* entfernt und der Rückstand an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Essigester/Aceton, 5:1). Man erhielt eine farblose Flüssigkeit.



Ausbeute: 232 mg (93 %);

n_D^{20} 1.4600;

IR (Film): 3380, 3251, 2871, 2112, 1460, 1350, 1291, 1248, 1095, 1033, 934, 887, 840, 675 cm^{-1} ;

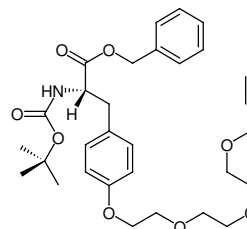
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3/TMS): δ = 4.21 (d, 2H, 4J = 2.4 Hz, $\text{OCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 3.77-3.64 (m, 10H, $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.63-3.59 (m, 2H, HOCH_2), 2.74 (br s, 1H, OH), 2.46 (t, 1H, 4J = 2.4 Hz, $\text{OCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): δ = 79.46 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 74.55 ($\text{C}\equiv\text{CH}$), 72.40, 70.51, 70.25, 70.21, 68.95 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 61.59 (HOCH_2), 58.29 ($\text{OCH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{NaO}_4$: 211.0941; gef.: 211.0979.

(S)-2-(9H-Fluorenylmethoxycarbonylamino)-3-(4-{2-[2-(2-prop-2-inyloxy-ethoxy)-ethoxy]-ethoxy}-phenyl)-propionsäure-benzylester (116)

Zu einer Lösung von Boc-Tyr-OBn **134** (1.32 g, 3.56 mmol), dem Alkohol **111** (670 mg, 3.56 mmol) und Triphenylphosphin (1.17 g, 4.45 mmol) in 30 ml trockenem THF wurden tropfenweise 0.56 ml (3.6 mmol) DEAD zugegeben und der Ansatz über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Anschließendes Entfernen des Lösungsmittels *in vacuo* und säulenchromatographische Reinigung des Rückstandes an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester, 3 : 2) ergab ein gelbes Öl.



Ausbeute: 1.41 g (73 %);

$[\alpha]_D^{25} +1.2$ (*c* 1.02, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3432, 3290, 2974, 2929, 2871, 1742, 1713, 1612, 1415, 1456, 1366, 1249, 1166, 1109, 1060, 699 cm⁻¹;

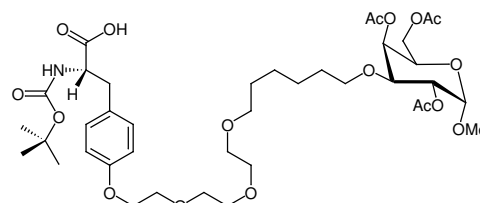
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 7.38-7.26 (m, 5H, 5 Bn-Aryl-H), 6.92 (d, 2H, ³J = 8.3 Hz, 2 Aryl-H), 6.77 (d, 2H, ³J = 8.5 Hz, 2 Aryl-H), 5.17, 5.09 (je d, je 1H, ²J = 12.2 Hz, PhCH₂), 4.96 (d, 1H, ³J = 8.0 Hz, NH), 4.57 (m_c, 1H, H- α), 4.20 (d, 2H, ⁴J = 2.4 Hz, OCH₂C \equiv CH), 4.08 (m_c, 2H, ArOCH₂CH₂O), 3.84 (m_c, 2H, ArOCH₂CH₂O), 3.75-3.68 (m, 8H, OCH₂CH₂OCH₂CH₂O), 3.02 (br, 2H, 2 H- β), 2.42 (t, 1H, ⁴J = 2.4 Hz, C \equiv CH), 1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 171.72 (C(=O)O), 157.79 (Tyr-Aryl-C_q-O), 155.03 (C(=O)N), 135.19 (Bn-Aryl-C_q), 130.26 (2 Tyr-*m*-Aryl-C), 128.52, 128.40 (5 Bn-Aryl-C), 127.93 (Tyr-Aryl-C_q), 114.60 (2 Tyr-*o*-Aryl-C), 79.82 (C(CH₃)₃), 79.63 (C \equiv CH), 74.48 (C \equiv CH), 70.78, 70.64, 70.43 (3 OCH₂CH₂O), 69.71 (ArOCH₂CH₂), 69.08 (OCH₂CH₂O), 67.33 (ArOCH₂CH₂), 66.99 (PhCH₂O), 58.36 (OCH₂C \equiv CH), 54.51 (C- α), 37.32 (C- β), 28.27 (C(CH₃)₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₃₀H₃₉NNaO₈: 564.2568; gef.: 564.2576.

Methyl-2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-(6-{2-[2-(2-{4-[2-carboxy-2-(9*H*-fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-ethyl]-phenoxy)-ethoxy]-ethoxy]-ethoxy}-hexyl)- α -D-galaktopyranosid (118)

Das Galaktosid **64** (170 mg, 0.349 mmol), 150 μ l (1.1 mmol) Triethylamin und 32.0 mg (27.7 μ mol) Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium wurden unter Argonatmosphäre in 7 ml trockenem THF gelöst.



Nach Zugabe von 21.2 mg (111 μ mol) Kupfer(I)-iodid und 300 mg des Alkins **116** rührte der Ansatz 24 h bei Raumtemp. Nach Entfernen des Lösungsmittels *in vacuo* wurde der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Essigester/Cyclohexan, 4:3). Das erhaltene rötliche Öl (124 mg) wurde in 5 ml THF aufgenommen, mit Pd/C-Katalysator versetzt und über Nacht unter Wasserstoffatmosphäre heftig gerührt. Filtration über Celite (THF) ergab einen Rückstand, der säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt wurde (Laufmittel: Aceton/Essigester, 4:3). Man erhielt ein farbloses Öl.

Ausbeute: 82 mg (26 %, über 2 Stufen);

$[\alpha]_D^{25} +59.1$ (*c* 1.12, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3432, 2934, 2866, 1746, 1718, 1612, 1513, 1370, 1233, 1168, 1136, 1116, 1055 cm⁻¹;

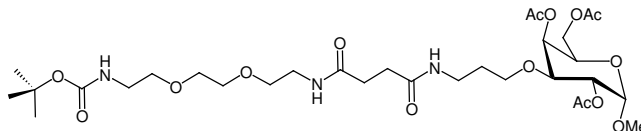
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 7.05 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, 2 Aryl-H), 6.78 (d, 2H, ³*J* = 7.2 Hz, 2 Aryl-H), 5.46 (d, 1H, ³*J* = 3.3 Hz, H-4), 5.13 (bs, 1H, NH), 5.01 (dd, 1H, ³*J* = 10.4 Hz, ³*J* = 3.7 Hz, H-2), 4.93 (d, 1H, ³*J* = 3.7 Hz, H-1), 4.44 (bs, 1H, H- α), 4.14-4.00 (m, 5H, H-5, H-6, H-6', ArOCH₂CH₂O), 3.81-3.77 (m, 2H, ArOCH₂CH₂O), 3.72 (dd, 1H, ³*J* = 10.4 Hz, ³*J* = 3.4 Hz, H-3), 3.70-3.52 (m, 9H, OCH₂CH₂OCH₂CH₂O, GalOCHHCH₂), 3.41 (t, 2H, ³*J* = 6.8 Hz, GalOC₅H₁₀CH₂O), 3.37 (s, 3H, OCH₃), 3.31 (ddd \approx dt, 1H, ²*J* = 9.0 Hz, ³*J* = 6.6 Hz, GalOCHHCH₂), 3.07, 2.94 (je bs, je 1H, 2 H- β), 2.10 (s, 3H, 4-C(=O)CH₃), 2.08 (s, 3H, 2-C(=O)CH₃), 2.05 (s, 3H, 6-C(=O)CH₃), 1.56-1.51 (m, 2H, GalOC₄H₈CH₂), 1.47-1.42 (m, 2H, GalOCH₂CH₂), 1.36 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.31-1.21 (m, 4H, 2 CH₂) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 175.88 (COOH), 170.53, 170.41, 170.25 (3 C(=O)CH₃), 157.61 (Aryl-C_q-O), 155.52 (C(=O)N), 130.32 (2 *m*-Aryl-C), 128.62 (Aryl-C_q), 114.52 (2 *o*-Aryl-C), 97.29 (C-1), 79.87 (C(CH₃)₃), 73.56 (C-3), 71.33, 70.68, 70.51, 70.09, 69.95, 69.85 (7 CH₂), 69.68 (C-2), 67.31 (C-4), 67.25 (ArOCH₂CH₂O), 66.47 (C-5), 62.40 (C-6), 55.31 (OCH₃), 54.90 (C- α), 36.95 (C- β), 29.51 (GalOCH₂CH₂C₂H₄CH₂CH₂O), 28.26 (C(CH₃)₃), 25.77, 25.73 (2 CH₂), 20.88, 20.70, 20.68 (3 C(=O)CH₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₃₉H₆₁NNaO₁₇: 838.3832; gef.: 838.3911; *m/z* [M - H + 2Na]⁺ ber. für C₃₉H₆₀NNa₂O₁₇: 860.3651; gef.: 860.3737.

Methyl-2,4,6-tri-O-acetyl-3-O-[3-(3-{2-[2-(2-tert-butoxycarbonylamino-ethoxy)-ethoxy]-ethylcarbamoyl}-propionylamino)-propyl]- α -D-galaktopyranosid (110)

Die Säure **107** (2.77 g, 7.94 mmol) und HBTU (3.01 g, 7.94 mmol) wurden unter Argonatmosphäre in 20 ml trockenem



Dichlormethan suspendiert. Nach Zugabe von 5.5 ml (32 mmol) DIPEA rührte der Ansatz 1 h bei Raumtemp., wobei eine klare Lösung entstand. Zu dieser wurde tropfenweise eine Lösung von **104** (3.12 g, 6.35 mmol) in 30 ml trockenem Dichlormethan gegeben und anschließend über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Dann wurde mit 100 ml Dichlormethan verdünnt, nacheinander mit je 30 ml 5%iger Salzsäure, ges. Natriumhydrogencarbonatlg. und ges. Natriumchloridlg. gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Aceton/Cyclohexan, 5 : 1) und das Produkt als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 4.42 g (98 %);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +83.8$ (*c* 1.06, CH₂Cl₂);

IR (KBr): 3425 (br), 2936, 1746, 1654, 1542, 1458, 1371, 1236, 1170, 1138, 1053, 848, 770, 558 cm⁻¹;

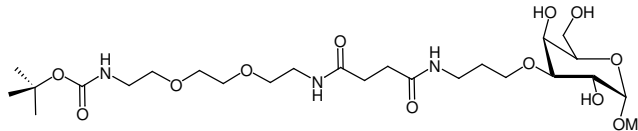
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃/TMS): δ = 6.62 (br s, 1H, NHCH₂CH₂O), 6.46 (br s, 1H, NHCH₂CH₂CH₂O), 5.51 (d, 1H, ³J = 3.3 Hz, H-4), 5.13 (br s, 1H, BocNH), 5.07 (dd, 1H, ³J = 10.5 Hz, ³J = 3.7 Hz, H-2), 4.92 (d, 1H, ³J = 3.7 Hz, H-1), 4.17-4.08 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 3.79 (dd, 1H, ³J = 10.5 Hz, ³J = 3.3 Hz, H-3), 3.72 (m_c, 1H, GalOCHH), 3.64-3.59 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 3.56 (m_c, 4H, CH₂OCH₂CH₂OCH₂), 3.46-3.41 (m, 3H, GalOCHH, NHCH₂CH₂O), 3.41 (s, 3H, OCH₃), 3.35-3.25 (m, 3H, BocNHCH₂, NHCHHCH₂CH₂O), 3.11 (m_c, 1H, NHCHHCH₂CH₂O), 2.52 (m_c, 4H, N(O)=CCH₂CH₂C(=O)N), 2.15, 2.12, 2.08 (je s, je 3H, 3 C(=O)CH₃), 1.72-1.60 (m, 2H, NHCH₂CH₂CH₂O), 1.44 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ = 173.09, 172.50 (2 CONH), 170.86, 170.56, 170.50 (3 C(=O)CH₃), 156.61 (OC(=O)NH), 97.39 (C-1), 79.55 (C(CH₃)₃), 74.22 (C-3), 70.93, 70.17 (CH₂OCH₂CH₂OCH₂), 70.02, 69.90 (OCH₂CH₂O), 69.58 (C-2), 68.12 (GalOCH₂), 67.53 (C-4), 66.42 (C-5), 62.24 (C-6), 55.38 (OCH₃), 40.29 (BocNHCH₂), 39.13 (C(=O)NHCH₂CH₂O), 36.71 (C(=O)NHCH₂CH₂CH₂O), 31.55, 31.37 (N(O)=CCH₂CH₂C(=O)N), 29.07 (NHCH₂CH₂CH₂O), 28.32 (C(CH₃)₃), 20.92, 20.77, 20.69 (3 C(=O)CH₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₃₁H₅₃N₃NaO₁₅: 730.3374; gef.: 730.3365.

Methyl-3-O-[3-(3-{2-[2-(2-*tert*-butoxycarbonylamino-ethoxy)-ethoxy]-ethylcarbamoyl]-propionylamino)-propyl]- α -D-galaktopyranosid (127)

Nach AAV 2 wurden 531 mg (0.750 mmol) **110** entschützt. Nach Entfernen der flüchtigen Bestandteile



erhielt man einen farblosen, klebrigen Schaum. Die Verbindung konnte ohne Reinigung weiter umgesetzt werden.

Ausbeute: 436 mg (quant.);

$[\alpha]_D^{25} +77.1$ (c 0.950, Aceton);

IR (KBr): 3333, 2931, 1691, 1654, 1543, 1451, 1366, 1252, 1170, 1143, 1127, 1088, 1053 cm^{-1} ;

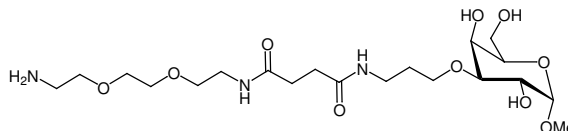
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Aceton- D_6): δ = 7.39 (br s, 1H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 7.30 (br s, 1H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 5.99 (br s, 1H, BocNH), 4.66 (d, 1H, $^3J = 3.7\text{ Hz}$, H-1), 4.13 (d, 1H, $^3J = 2.8\text{ Hz}$, H-4), 3.87 (dd, 1H, $^3J = 10.0\text{ Hz}$, $^3J = 3.8\text{ Hz}$, H-2), 3.78-3.72 (m, 2H, $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, H-6), 3.72-3.65 (m, 2H, H-5, H-6), 3.58 (s, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.54-3.49 (m, 5H, $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$, $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.49-3.38 (m, 1H, $\text{NCHHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.45 (dd, 1H, $^3J = 10.0\text{ Hz}$, $^3J = 3.1\text{ Hz}$, H-3), 3.38-3.31 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.35 (s, 3H, OCH_3), 3.31-3.25 (m, 1H, $\text{NCHHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.25-3.18 (m, 2H, BocNHCH_2), 2.51-2.35 (m, 4H, $\text{N(O=)CCH}_2\text{CH}_2\text{C(=O)N}$), 1.71 (m_c , 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.40 (s, 9H, $\text{C(CH}_3)_3$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, Aceton- D_6): δ = 173.99, 173.89 (2 CONH), 157.69 (OC(=O)NH), 102.21 (C-1), 80.94 (C-3), 79.64 ($\text{C(CH}_3)_3$), 72.76 (C-5), 71.92, 71.87 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 71.67, 71.42 ($\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$), 69.92 (C-2), 68.37 (GalOCH_2), 67.76 (C-4), 63.45 (C-6), 56.21 (OCH_3), 42.05 (BocNHCH_2), 40.95 ($\text{C(=O)NHCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 38.23 ($\text{C(=O)NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 33.20, 33.14 ($\text{N(O=)CCH}_2\text{CH}_2\text{C(=O)N}$), 31.47 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 29.65 ($\text{C(CH}_3)_3$) ppm;

HRESI-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{25}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{NaO}_{12}$: 604.3052; gef.: 604.3071.

Methyl-3-O-[3-(3-{2-[2-(2-amino-ethoxy)-ethoxy]-ethylcarbamoyl}-propionylamino)-propyl]- α -D-galaktopyranosid (128)

Nach AAV 6 wurden 2.03 g (3.49 mmol) **127** entschützt. Anschließend wurde der Rückstand in 20 ml Methanol aufgenommen und



mit Ionenaustauscher III (Merck, OH-Form) neutralisiert. Nach Filtration über eine Glasfritte und Entfernen des Lösungsmittels *in vacuo* erhielt man einen weißen Schaum, der nicht weiter aufgereinigt werden musste.

Ausbeute: 1.61 g (96 %);

$[\alpha]_D^{25} +75.6$ (*c* 1.10, MeOH);

IR (KBr): 3418, 3090, 2925, 1650, 1556, 1446, 1353, 1202, 1132, 1185, 1048 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, MeOH- D_4): δ = 4.75 (d, 1H, 3J = 3.9 Hz, H-1), 4.13 (d, 1H, 3J = 3.1 Hz, H-4), 3.90 (dd, 1H, 3J = 10.1 Hz, 3J = 3.9 Hz, H-2), 3.84-3.73 (m, 4H, H-5, H-6, H-6', OCHHCH₂CH₂N), 3.72-3.63 (m, 6H, OCH₂CH₂O, OCH₂CH₂NH₂), 3.61-3.51 (m, 3H, OCH₂CH₂NHC(=O), OCHHCH₂CH₂N), 3.51 (dd, 1H, 3J = 10.1 Hz, 3J = 3.1 Hz, H-3), 3.45 (s, 3H, OCH₃), 3.44-3.27 (m, 4H, OCH₂CH₂CH₂N, OCH₂CH₂NHC(=O)), 3.00 (m_c, 2H, OCH₂CH₂NH₂), 2.52 (m_c, 4H, N(O=)CCH₂CH₂C(=O)N), 1.81 (m_c, 2H, OCH₂CH₂CH₂N) ppm;

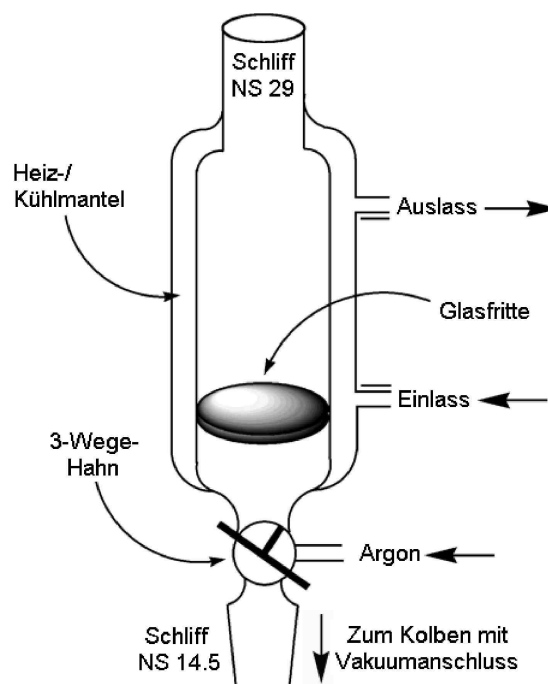
$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, MeOH- D_4): δ = 174.83, 174.69 (2 CONH), 101.45 (C-1), 79.93 (C-3), 72.20 (C-5), 71.37, 71.35 (OCH₂CH₂O), 70.80, 70.63 (CH₂OCH₂CH₂OCH₂), 69.29 (C-2), 68.13 (GalOCH₂), 67.51 (C-4), 62.80 (C-6), 55.64 (OCH₃), 41.45 (H₂NCH₂), 40.37 (C(=O)NHCH₂CH₂O), 37.95 (C(=O)NHCH₂CH₂CH₂O), 32.32, 32.24 (N(O=)CCH₂CH₂-C(=O)N), 30.54 (NCH₂CH₂CH₂O) ppm;

HRESI-MS: *m/z* [M + H]⁺ ber. für C₂₀H₄₀N₃O₁₀: 482.2708; gef.: 482.2744.

5.4 Peptidsynthesen

5.4.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften

Peptidsynthesen wurden manuell in einem Glasreaktor (s. nebenstehende Abb., nach Lit. ^[180]) bei Raumtemp. durchgeführt. Während der gesamten Synthese sorgte ein leichter Argon- bzw. Stickstoffstrom für die Durchmischung. Als feste Phase wurde Rink Amid MBHA Harz (Novabiochem) mit einer Beladung von 0.64 mmol/g eingesetzt. Es wurde DMF (Peptide grade) von Fluka und DIPEA (Biotech Quality) von Aldrich verwendet, Rink Amide MBHA resin, Fmoc- β -Ala-OH, Fmoc-Ala-OH und Fmoc-Lys(Boc)-OH wurde von Novabiochem, Fmoc-Glu(OAll)-OH von Bachem bezogen.



Zunächst wurde das Harz (0.50 g, 0.32 mmol) in den Reaktor eingebracht. Anschließend wurden folgende Arbeitsschritte ausgeführt:

Quellen Das Harz wurde 1 h in 5 ml DMF gequollen. Anschließend wurde abgesaugt.

Entschützen Das Harz wurde zunächst 5 min, dann 20 min mit je 5 ml Entschützungs-lösung (25 % Piperidin in DMF) behandelt.

Waschen Dieser Schritt wurde nach jedem Kupplungs- und Entschützungs-schritt durchgeführt. Das Harz wurde fünfmal je 1 min mit je 5 ml DMF gewaschen. Sollte die Synthese über Nacht unterbrochen werden, so wurde noch dreimal je 3 min mit je 5 ml DCM gewaschen, abgesaugt und das Harz unter Argon stehen gelassen.

Kupplung der ersten Aminosäure 498 mg (1.60 mmol, 5 eq. [bezogen auf die Beladung des Harzes]) ^[181] Fmoc- β -Ala-OH, 607 mg (1.60 mmol) HBTU und 245 mg (1.60 mmol) HOBT wurden in 5 ml DMF gelöst, mit 0.56 ml (3.2 mmol, 10 eq.) DIPEA versetzt, 2 min geschüttelt und die Lösung zum Harz gegeben. Nach 16 h wurde ein Kaiser-Test durchgeführt (s. u.) und abgesaugt.

Kuppeln Eine Lösung der Aminosäure (Fmoc-Lys(Boc)-OH: 600 mg, Fmoc-Glu(OAll)-OH: 524 mg, Fmoc-Ala-OH: 398 mg, jeweils 1.28 mmol, 4 eq.), HBTU (437 mg, 1.15 mmol, 3.6 eq.) und HOBT (196 mg, 1.28 mmol, 4 eq.) in 5 ml DMF wurde mit 0.22 ml (1.3 mmol, 4 eq.) DIPEA versetzt, 2 min geschüttelt und anschließend zum Harz gegeben. Nach 1.5–4 h wurde ein Kaiser-Test (s. u.) durchgeführt, abgesaugt und ggf. erneut gekuppelt.

Kaiser-Test zur Kupplungsüberprüfung Nach jeder Kupplung wurde ein Kaiser-Test^[182] zur Überprüfung der Vollständigkeit der Kupplung durchgeführt. Dazu werden einige Harzkügelchen in ein Reagenzglas überführt und mehrfach mit Ethanol gewaschen. Anschließend wurden je 2 Tropfen der Lösungen I–III zugegeben und langsam bis zum Sieden erhitzt. Blieben die Kugeln farblos, war die Kupplung vollständig, war eine Blaufärbung zu erkennen, so wurde die Kupplungszeit verlängert bzw. nach erneutem pos. Test eine Zweitkupplung angeschlossen.

Lösung I: 1.0 g Ninhydrin in 20 ml Ethanol

Lösung II: 80 g Phenol in 20 ml Ethanol

Lösung III: 0.4 ml 0.001M KCN-Lösung (aq.) in 20 ml Pyridin

Acetylierung Nach Fmoc-Entschützung der N-terminalen Aminosäure (s. o.) und Waschen des Harzes wurde das Harz zweimal jeweils für 10 min mit einer Lösung von 0.15 ml (1.6 mmol, 5 eq.) Essigsäureanhydrid und 0.28 ml (1.6 mmol, 5 eq.) DIPEA in 4.6 ml DMF behandelt. Nach dem Waschen mit DMF wurde noch fünfmal mit je 5 ml DCM gewaschen und das Harz anschließend im Reaktor über Nacht *in vacuo* getrocknet.

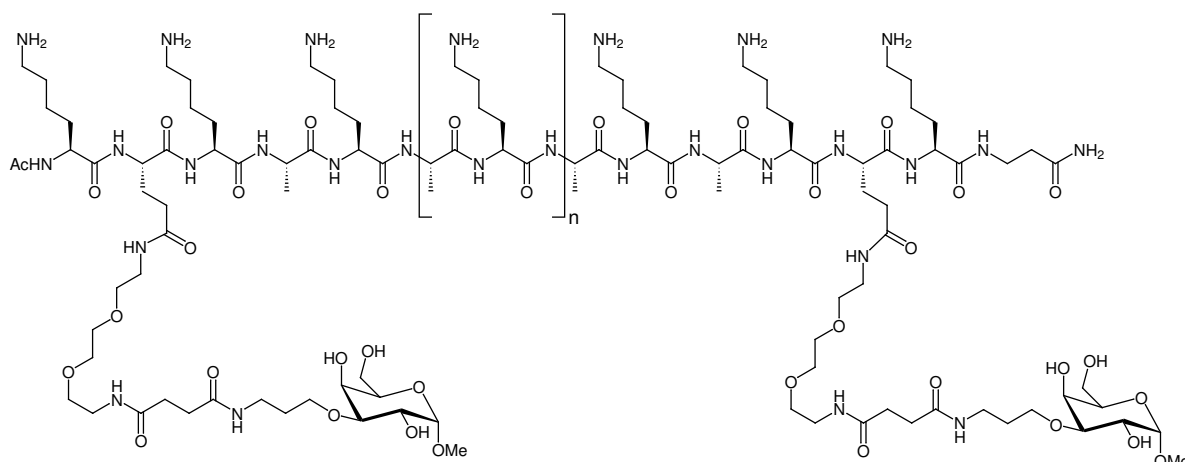
Entschützung der Allylester Eine Lösung von 1.11 g Pd(PPh₃)₄ (961 mmol, 1.5 eq. pro Allylgruppe) in 7.5 ml CHCl₃/AcOH/NMM (37:2:1) wurde zum Harz gegeben und reagierte über Nacht. Anschließend wurde das Harz zuerst mit 5 ml einer 0.5%igen Lösung von DIPEA in DMF, dann mit einer Natrium-diethyl-dithiocarbamat-Lsg. (5 ml, 0.5%ig in DMF) und noch dreimal mit je 5 ml DMF gewaschen.^[175]

Kuppeln der Galaktosebausteine Eine Lösung von 566 mg BOP (1.28 mmol, 2 eq. pro Glutaminsäure) und 0.33 ml DIPEA (1.9 mmol, 3 eq. pro Glutaminsäure) wurde zum Harz gegeben. Nach 5 min Voraktivierung wurde eine Lösung von 616 mg **128** (1.28 mmol, 2 eq. pro Glutaminsäure) in 3 ml DMF zugegeben und reagierte über Nacht. Anschließend wurde gewaschen.

Abspalten der Peptide Das Harz wurde zur vollständigen Entfernung von DMF zunächst dreimal mit Methanol, einmal mit Methanol/DCM (1 : 1) und noch dreimal mit DCM gewaschen (jeweils 5 ml), auf eine Glasfritte überführt und dort noch fünfmal mit Methanol gewaschen, bis es vollständig geschrumpft war. Dann wurde es im Exsiccator *in vacuo* über Kaliumhydroxid 16 h getrocknet. Von der Hälfte des Harzes wurde nun das Peptid abgespalten. Dazu wurde es auf der Glasfritte für 3 h mit 8 ml Abspalllösung behandelt (94 %TFA, 2.5 % Wasser, 2.5 % EDT, 1 % TIS). Das Harz wurde dann noch zweimal gewaschen (je 8 ml TFA mit 5 % Wasser), die Phasen vereinigt und *in vacuo* ohne Erwärmen eingengt. Die Peptide wurden durch Zugabe von 20 ml TBME ausgefällt (2 h bei 0 °C), dekantiert, noch zweimal mit TBME gewaschen, in Wasser suspendiert und lyophilisiert. ^[183] Zur Entfernung von TFA wurde der Rückstand in ca. 10 ml 0.1M Salzsäure aufgenommen und erneut lyophilisiert.

Anschließend wurden die Peptide durch GPC an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Wasser) gereinigt und lyophilisiert.

5.4.2 Analytische Daten



***N*^α-Acetyl-L-lysyl-*N*^δ-{2-[2-(2-{3-[3-(methyl-α-D-galaktopyranosid-3-yl)-propylcarbamoyl]-propionylamino}-ethoxy)-ethoxy]-ethyl}-L-glutaminyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-*N*^δ-{2-[2-(2-{3-[3-(methyl-α-D-galaktopyranosid-3-yl)-propylcarbamoyl]-propionylamino}-ethoxy)-ethoxy]-ethyl}-L-glutaminyl-L-lysyl-β-alanyl-amid (129)**

AcHN^α-L-Lys-L-Gln(GalOMe)-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Gln(GalOMe)-L-Lys-β-Ala-NH₂, *n* = 1

Weißer, amorpher Feststoff;

Ausbeute: 95.4 mg (22 %);

[α]_D²⁵ −29 (*c* 0.975, H₂O);

¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ = 4.73 (d, 2H, ³*J* = 4.0 Hz, 2 H-1), 4.22-4.08 (m, 13H, 4 Ala-α-H, 2 Gln-α-H, 7 Lys-α-H), 4.07 (d, 2H, ³*J* = 3.1 Hz, 2 H-4), 3.79-3.74 (m, 2H, 2 H-5), 3.76 (dd, 2H, ³*J* = 10.1 Hz, ³*J* = 4.0 Hz, 2 H-2), 3.68-3.61 (m, 6H, 4 H-6, 2 OCHHCH₂CH₂N), 3.59-3.55 (m, 8H, 2 OCH₂CH₂O), 3.54-3.49 (m, 8H, 2 CH₂OCH₂CH₂OCH₂), 3.47 (dd, 2H, ³*J* = 10.3 Hz, ³*J* = 3.2 Hz, 2 H-3), 3.44 (m_c, 3H, β-Ala-β-H, 2 OCHHCH₂CH₂N), 3.34-3.26 (m, 9H, β-Ala-β'-H, 2 NCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂N), 3.31 (s, 6H, 2 OCH₃), 3.18 (m_c, 4H, 2 OCH₂CH₂CH₂N), 2.91 (m_c, 14H, 7 Lys-ε-CH₂), 2.46-2.35 (m, 10H, 2 β-Ala-α-H, 2 N(O=)CCH₂CH₂C(=O)N), 2.31-2.21 (m, 4H, 2 Gln-γ-CH₂), 2.05-1.92 (m, 2H, 2 Gln-β-H), 1.94 (s, 3H, N(O=)CCH₃), 1.92-1.82 (m, 2H, 2 Gln-β'-H), 1.77-1.54 (m, 18H, 7 Lys-β-CH₂, 2 OCH₂CH₂CH₂N), 1.59 (m_c, 14H, 7 Lys-δ-CH₂), 1.36 (m_c, 14H, 7 Lys-γ-CH₂), 1.28 (d, 12H, ³*J* = 7.1 Hz, 4 Ala-CH₃) ppm;

^{13}C -NMR (150.90 MHz, D_2O): $\delta = 178.32, 176.65, 176.60, 176.52, 176.33, 176.21, 176.17, 175.44, 175.33, 175.30, 175.26, 175.17, 175.03, 174.65$ (21 C=O), 102.02 (2 C-1), 79.27 (2 C-3), 72.36 (2 C-5), 71.13 (2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 70.53, 70.48 (2 $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$), 68.98 (2 C-2), 68.37 (2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 67.47 (2 C-4), 62.99 (2 C-6), 56.72 (2 OCH_3), 55.64, 55.26, 55.16, 55.13, 55.09, 54.79, 54.72, 51.35, 51.28, 51.24 (4 Ala- α -C, 2 Gln- α -C, 7 Lys- α -C), 40.89 (7 Lys- ϵ -C), 40.67, 40.61 (2 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 38.21 (2 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 37.42 (β -Ala- β -C), 36.12 (β -Ala- α -C), 33.43, 33.41 (2 Gln- γ -C), 32.90, 32.84 (2 $\text{N}(\text{O}=\text{C})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O}=\text{N})$), 32.18, 32.09, 32.04 (7 Lys- β -C), 30.21 (2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 28.86, 28.49 (2 Gln- β -C), 27.97 (7 Lys- δ -C), 23.87, 23.80 (7 Lys- γ -C), 23.44 ($\text{N}(\text{O}=\text{C})\text{CH}_3$), 18.30, 18.24 (4 Ala- CH_3) ppm;

MALDI-TOF-MS: m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ber. für $\text{C}_{109}\text{H}_{202}\text{N}_{28}\text{NaO}_{37}$: 2518.47; gef.: 2518.35;
 m/z $[\text{M} + \text{K}]^+$ ber. für $\text{C}_{109}\text{H}_{202}\text{N}_{28}\text{KO}_{37}$: 2534.44; gef.: 2534.31.

N^α -Acetyl-L-lysyl- N^δ -{2-[2-(2-{3-[3-(methyl- α -D-galaktopyranosid-3-yl)-propylcarbamoyl]-propionylamino}-ethoxy)-ethoxy]-ethyl}-L-glutaminyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl- N^δ -{2-[2-(2-{3-[3-(methyl- α -D-galaktopyranosid-3-yl)-propylcarbamoyl]-propionylamino}-ethoxy)-ethoxy]-ethyl}-L-glutaminyl-L-lysyl- β -alanyl-amid (130)

AcHN^α -L-Lys-L-Gln(GalOMe)-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Gln(GalOMe)-L-Lys- β -Ala- NH_2 , $n = 2$

Weißer, amorpher Feststoff;

Ausbeute: 90.8 mg (19 %);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -35$ (c 1.10, H_2O);

^1H -NMR (600 MHz, D_2O): $\delta = 4.73$ (d, 2H, $^3J = 4.0$ Hz, 2 H-1), 4.21-4.07 (m, 15H, 5 Ala- α -H, 2 Gln- α -H, 8 Lys- α -H), 4.07 (d, 2H, $^3J = 3.1$ Hz, 2 H-4), 3.78-3.74 (m, 4H, 2 H-2, 2 H-5), 3.67-3.60 (m, 6H, 4 H-6, 2 $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.57 (s, 8H, 2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.53-3.48 (m, 8H, 2 $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$), 3.47 (dd, 2H, $^3J = 10.3$ Hz, $^3J = 3.2$ Hz, 2 H-3), 3.43 (m_c , 3H, β -Ala- β -H, 2 $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.34-3.25 (m, 9H, β -Ala- β' -H, 2 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.30 (s, 6H, 2 OCH_3), 3.17 (m_c , 4H, 2 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.93-2.86 (m, 16H, 8 Lys- ϵ - CH_2), 2.45-2.34 (m, 10H, 2 β -Ala- α -H, 2 $\text{N}(\text{O}=\text{C})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O}=\text{N})$), 2.31-2.21 (m, 4H, 2 Gln- γ - CH_2), 2.03-1.92 (m, 2H, 2 Gln- β -H), 1.94 (s, 3H, $\text{N}(\text{O}=\text{C})\text{CH}_3$), 1.91-1.82 (m, 2H, 2 Gln- β' -H), 1.76-1.61 (m, 20H, 8 Lys- β - CH_2 , 2

OCH₂CH₂CH₂N), 1.59 (m_c, 16H, 8 Lys-δ-CH₂), 1.36 (m_c, 16H, 8 Lys-γ-CH₂), 1.27 (d, 15H, ³J = 7.2 Hz, 5 Ala-CH₃) ppm;

¹³C-NMR (150.90 MHz, D₂O): δ = 178.32, 176.65, 176.60, 176.51, 176.33, 176.21, 176.18, 175.44, 175.35, 175.32, 175.30, 175.26, 175.17, 175.04, 174.65 (23 C=O), 101.01 (2 C-1), 79.26 (2 C-3), 72.36 (2 C-5), 71.13 (2 OCH₂CH₂O), 70.53, 70.48 (2 CH₂OCH₂CH₂OCH₂), 68.98 (2 C-2), 68.36 (2 OCH₂CH₂CH₂N), 67.47 (2 C-4), 62.99 (2 C-6), 56.72 (2 OCH₃), 55.65, 55.27, 55.12-55.02, 54.80, 55.09, 54.71, 51.36, 51.35-51.18 (5 Ala-α-C, 2 Gln-α-C, 8 Lys-α-C), 40.89 (8 Lys-ε-C), 40.66, 40.61 (2 NCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂N), 38.21 (2 NCH₂CH₂CH₂O), 37.42 (β-Ala-β-C), 36.11 (β-Ala-α-C), 33.43, 33.41 (2 Gln-γ-C), 32.89, 32.84 (2 N(O=)CCH₂CH₂C(=O)N), 32.18, 32.09, 32.04 (8 Lys-β-C), 30.21 (2 OCH₂CH₂CH₂N), 28.86, 28.48 (2 Gln-β-C), 27.97 (8 Lys-δ-C), 23.87, 23.79 (8 Lys-γ-C), 23.43 (N(O=)CCH₃), 18.39-18.17 (5 Ala-CH₃) ppm;

MALDI-TOF-MS: *m/z* [M + H]⁺ ber. für C₁₁₈H₂₂₀N₃₁O₃₉: 2695.62; gef.: 2695.35;

m/z [M + Na]⁺ ber. für C₁₁₈H₂₁₉N₃₁NaO₃₉: 2717.60; gef.: 2717.32;

m/z [M + K]⁺ ber. für C₁₁₈H₂₁₉KN₃₁O₃₉: 2733.57; gef.: 2733.32.

N^α-Acetyl-L-lysyl-N^δ-{2-[2-(2-{3-[3-(methyl-α-D-galaktopyranosid-3-yl)-propylcarbamoyl]-propionylamino}-ethoxy)-ethoxy]-ethyl}-L-glutaminyll-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-lysyl-L-lysyl-L-lysyl-N^δ-{2-[2-(2-{3-[3-(methyl-α-D-galaktopyranosid-3-yl)-propylcarbamoyl]-propionylamino}-ethoxy)-ethoxy]-ethyl}-L-glutaminyll-L-lysyl-β-alanyl-amid (132)

AcHN^α-L-Lys-L-Gln(GalOMe)-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Gln(GalOMe)-L-Lys-β-Ala-NH₂, *n* = 4

Weißer, amorpher Feststoff;

Ausbeute: 102 mg (18 %);

[α]_D²⁵ −50 (c 1.10, H₂O);

¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ = 4.73 (d, 2H, ³J = 4.0 Hz, 2 H-1), 4.21-4.07 (m, 19H, 7 Ala-α-H, 2 Gln-α-H, 10 Lys-α-H), 4.07 (d, 2H, ³J = 2.7 Hz, 2 H-4), 3.77-3.74 (m, 4H, 2 H-2, 2 H-5), 3.67-3.60 (m, 6H, 4 H-6, 2 OCHHCH₂CH₂N), 3.56 (s, 8H, 2 OCH₂CH₂O), 3.53-3.48 (m, 8H, 2 CH₂OCH₂CH₂OCH₂), 3.47 (dd, 2H, ³J = 10.3 Hz, ³J = 3.2 Hz, 2 H-3), 3.43 (m_c, 3H, β-Ala-β-H, 2 OCHHCH₂CH₂N), 3.34-3.25 (m, 9H, β-Ala-β'-H, 2 NCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂N), 3.30 (s, 6H, 2 OCH₃), 3.17 (m_c, 4H,

2 OCH₂CH₂CH₂N), 2.90 (m_c, 20H, 10 Lys-ε-CH₂), 2.44-2.34 (m, 10H, 2 β-Ala-α-H, 2 N(O=)CCH₂CH₂C(=O)N), 2.31-2.21 (m, 4H, 2 Gln-γ-CH₂), 2.03-1.92 (m, 2H, 2 Gln-β-H), 1.94 (s, 3H, N(O=)CCH₃), 1.91-1.82 (m, 2H, 2 Gln-β'-H), 1.76-1.61 (m, 24H, 10 Lys-β-CH₂, 2 OCH₂CH₂CH₂N), 1.59 (m_c, 20H, 10 Lys-δ-CH₂), 1.35 (m_c, 20H, 10 Lys-γ-CH₂), 1.27 (d, 21H, ³J = 7.2 Hz, 7 Ala-CH₃) ppm;

¹³C-NMR (150.90 MHz, D₂O): δ = 178.33, 176.71, 176.69, 176.67, 176.65, 176.61, 176.52, 176.34, 176.22, 176.19, 175.44, 175.40, 175.37, 175.35, 175.34, 175.32, 175.29, 175.26, 175.17, 175.06, 174.65 (27 C=O), 101.02 (2 C-1), 79.27 (2 C-3), 72.36 (2 C-5), 71.13 (2 OCH₂CH₂O), 70.53, 70.48 (2 CH₂OCH₂CH₂OCH₂), 68.98 (2 C-2), 68.36 (2 OCH₂CH₂CH₂N), 67.47 (2 C-4), 62.99 (2 C-6), 56.72 (2 OCH₃), 55.65, 55.29, 55.21-55.05, 54.82, 54.81, 54.71, 51.39, 51.36, 51.32, 51.30, 51.26, 51.24 (7 Ala-α-C, 2 Gln-α-C, 10 Lys-α-C), 40.89 (10 Lys-ε-C), 40.67, 40.61 (2 NCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂N), 38.21 (2 NCH₂CH₂CH₂O), 37.42 (β-Ala-β-C), 36.12 (β-Ala-α-C), 33.44, 33.41 (2 Gln-γ-C), 32.90, 32.85 (2 N(O=)CCH₂CH₂C(=O)N), 32.24-31.90 (10 Lys-β-C), 30.21 (2 OCH₂CH₂CH₂N), 28.86, 28.47 (2 Gln-β-C), 27.98 (10 Lys-δ-C), 23.87, 23.79 (10 Lys-γ-C), 23.44 (N(O=)CCH₃), 18.37-18.18 (7 Ala-CH₃) ppm;

MALDI-TOF-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₁₃₆H₂₅₃N₃₇NaO₄₃: 3115.86; gef.: 3115.30;

m/z [M + K]⁺ ber. für C₁₃₆H₂₅₃KN₃₇O₄₃: 3131.84; gef.: 3131.27.

N^α-Acetyl-L-lysyl-N^δ-{2-[2-(2-{3-[3-(methyl-α-D-galaktopyranosid-3-yl)-propylcarbamoyl]-propionylamino}-ethoxy)-ethoxy]-ethyl}-L-glutaminyll-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-L-alanyl-L-lysyl-N^δ-{2-[2-(2-{3-[3-(methyl-α-D-galaktopyranosid-3-yl)-propylcarbamoyl]-propionylamino}-ethoxy)-ethoxy]-ethyl}-L-glutaminyll-L-lysyl-β-alanyl-amid (133)

AcHN^α-L-Lys-L-Gln(GalOMe)-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Ala-L-Lys-L-Gln(GalOMe)-L-Lys-β-Ala-NH₂, *n* = 6

Weißer, amorpher Feststoff;

Ausbeute: 138 mg (22 %);

[α]_D²⁵ -64 (*c* 1.12, H₂O);

¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ = 4.73 (d, 2H, ³J = 3.9 Hz, 2 H-1), 4.21-4.08 (m, 23H, 9 Ala-α-H, 2 Gln-α-H, 12 Lys-α-H), 4.07 (d, 2H, ³J = 2.9 Hz, 2 H-4), 3.77-3.74 (m, 4H, 2 H-2, 2 H-5), 3.67-3.60 (m, 6H, 4 H-6, 2 OCHHCH₂CH₂N), 3.56 (s, 8H, 2

OCH₂CH₂O), 3.53-3.48 (m, 8H, 2 CH₂OCH₂CH₂OCH₂), 3.47 (dd, 2H, ³J = 10.3 Hz, ³J = 3.1 Hz, 2 H-3), 3.43 (m_c, 3H, β-Ala-β-H, 2 OCHHCH₂CH₂N), 3.34-3.24 (m, 9H, β-Ala-β'-H, 2 NCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂N), 3.30 (s, 6H, 2 OCH₃), 3.17 (m_c, 4H, 2 OCH₂CH₂CH₂N), 2.90 (m_c, 24H, 12 Lys-ε-CH₂), 2.45-2.36 (m, 10H, 2 β-Ala-α-H, 2 N(O=)CCH₂CH₂C(=O)N), 2.31-2.21 (m, 4H, 2 Gln-γ-CH₂), 2.03-1.92 (m, 2H, 2 Gln-β-H), 1.94 (s, 3H, N(O=)CCH₃), 1.91-1.82 (m, 2H, 2 Gln-β'-H), 1.77-1.61 (m, 28H, 12 Lys-β-CH₂, 2 OCH₂CH₂CH₂N), 1.59 (m_c, 24H, 12 Lys-δ-CH₂), 1.36 (m_c, 24H, 12 Lys-γ-CH₂), 1.28 (d, 27H, ³J = 7.1 Hz, 9 Ala-CH₃) ppm;

¹³C-NMR (150.90 MHz, D₂O): δ = 178.33, 176.76-176.56, 176.52, 176.34, 176.23, 176.20, 175.44, 175.42-175.27, 175.26, 175.17, 175.08, 174.65 (31 C=O), 101.02 (2 C-1), 79.27 (2 C-3), 72.37 (2 C-5), 71.13 (2 OCH₂CH₂O), 70.53, 70.48 (2 CH₂OCH₂CH₂OCH₂), 68.98 (2 C-2), 68.37 (2 OCH₂CH₂CH₂N), 67.47 (2 C-4), 62.99 (2 C-6), 56.73 (2 OCH₃), 55.67, 55.65, 55.31, 55.28-55.00, 54.84, 54.72, 51.48-51.20 (9 Ala-α-C, 2 Gln-α-C, 12 Lys-α-C), 40.90 (12 Lys-ε-C), 40.67, 40.61 (2 NCH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂N), 38.21 (2 NCH₂CH₂CH₂O), 37.42 (β-Ala-β-C), 36.12 (β-Ala-α-C), 33.44, 33.41 (2 Gln-γ-C), 32.90, 32.85 (2 N(O=)CCH₂CH₂C(=O)N), 32.27-31.94 (12 Lys-β-C), 30.21 (2 OCH₂CH₂CH₂N), 28.86, 28.46 (2 Gln-β-C), 27.98 (12 Lys-δ-C), 23.87, 23.80 (12 Lys-γ-C), 23.44 (N(O=)CCH₃), 18.40-18.16 (9 Ala-CH₃) ppm;

MALDI-TOF-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₁₅₄H₂₈₇N₄₃NaO₄₇: 3514.13; gef.: 3513.25;

MALDI-TOF-MS: *m/z* [M + Na]⁺ ber. für C₁₅₄H₂₈₇N₄₃NaO₄₇: 3530.10; gef.: 3529.17.

5.5 ELISA

5.5.1 Verwendete Materialien

Puffer

Puffer	Bestandteile [l ⁻¹]
PBS-Puffer	8.00 g Natriumchlorid 0.20 g Kaliumchlorid 0.20 g Kalium-dihydrogenphosphat 1.44 g Dinatriumhydrogenphosphat Dihydrat mit Kalium-dihydrogenphosphat 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	29.4 g Trinatriumcitrat Dihydrat mit 2.5M Citronensäure auf pH 4.5 eingestellt

Weitere Materialien

Inhibitorlösungen Von jedem Inhibitor wurden ca. 2 µmol eingewogen und in 250 µl bidest. Wasser gelöst.

Bakterien Bakterien des Stammes *E. coli* (HB101, pPKI4) wurden auf mit Ampicilin versetzten Agarplatten über Nacht vermehrt. Am nächsten Tag wurden ca. 50 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 1 : 20 mit PBS-Puffer verdünnt.

Antikörper Für den Test wurden zwei Antikörper 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 mit PBSE-Puffer, versetzt mit 2 % Magermilchpulver (w/v), verdünnt. Der zweite für den Test benötigte Antikörper kann den ersten Antikörper binden und ist Peroxidase-konjugiert. Dieser Antikörper ist ebenfalls polyklonal und wird aus Ziegen gewonnen. Im Test wurde dieser Antikörper in einer Verdünnung von 1 : 4000 ebenfalls in mit 2 % Magermilchpulver (w/v) versetztem PBSE-Puffer eingesetzt.

5.5.2 Durchgeführte Arbeitsschritte

1. Coaten der Mikrotiterplatten mit Hefemannan durch Befüllen der Wells mit je 100 μ l Mannanlösung (1 mg/ml in Carbonatpuffer) und Trocknen über Nacht bei 37 °C.
2. Waschen (einmal mit 150 μ l PBSE-Puffer).
3. Blocken (30 min) mit 5 % Magermilchpulver (w/v) in PBSE-Puffer (150 μ l).
4. Waschen (einmal mit 150 μ l PBSE-Puffer).
5. Je 50 μ l PBSE-Puffer in die Wells pipettieren.
6. In eine Reihe jeweils 50 μ l Inhibitorlösung zupipettieren, serienweise 1 : 2 verdünnen.
7. 50 μ l Bakterienlösung in die Wells zupipettieren.
8. Inkubieren (1 h, 37 °C).
9. Waschen (viermal mit je 150 μ l PBSE-Puffer).
10. 50 μ l der Lösung des 1. Antikörpers zupipettieren.
11. Inkubieren (30 min, 37 °C).
12. Waschen (zweimal mit je 150 μ l PBSE-Puffer).
13. 50 μ l der Lösung des 2. Antikörpers zupipettieren.

14. Inkubieren (30 min, 37 °C).
15. Waschen (dreimal mit je 150 µl PBSET-Puffer).
16. Waschen (einmal mit 150 µl PBSE-Puffer).
17. Waschen (einmal mit 150 µl Citrat-Puffer).
18. 50 µl einer frisch angesetzten Lösung aus ABTS (1 mg/ml) und H₂O₂ (25 µl/ml, 0.01%ig in Citratpuffer) zupipettieren.
19. Inkubieren (30 min, 37 °C).
20. Auslesen im ELISA-Reader bei 405 nm (Referenzfilter 490 nm).

Literaturverzeichnis

- [1] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemistry*, Wiley, New York, **1990**, p. 295.
- [2] A. Frey, K. T. Giannasca, R. Weltzin, P. J. Giannasca, H. Reggio, W. I. Lencer, M. R. Neutra, *J. Exp. Med.* **1996**, *184*, 1045–1059.
- [3] S. L. Erlandsen, C. J. Kristich, G. M. Dunny, C. L. Wells, *J. Histochem. Cytochem.* **2004**, *52*, 1427–1435.
- [4] H. Hof, R. L. Müller, R. Dörries, *Mikrobiologie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2000**, S. 249–250.
- [5] D. Mack, K. Bartscht, S. Dobinsky, M. A. Horstkotte, K. Kiel, J. K. M. Knobloch, P. Schäfer in: *Handbook for studying bacterial adhesion: Principles, methods, and applications*; Y. H. An, R. J. Friedman (eds.), Humana Press, Totowa, **2000**, pp. 307–330.
- [6] F. Götz, G. Peters in: *Infections Associated with Indwelling Medical Devices*; F. A. Waldvogel, A. L. Bisno (eds.), American Society for Microbiology, Washington D. C., **2000**, pp. 55–88.
- [7] Th. K. Lindhorst, *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**, pp. 151–173.
- [8] L. Stryer, *Biochemie*, 5. Aufl., Spektrum, Heidelberg, **1994**, S. 345–363.
- [9] V. Wittmann in: *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology*, Vol. III; B. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem (eds.), Springer, Heidelberg, **2001**, pp. 2253–2287.
- [10] L. Stryer, *Biochemie*, 5. Aufl., Spektrum, Heidelberg, **1994**, S. 273–294.
- [11] (a) M. Yanagishita in: *Proteoglycans*; P. Jollès (ed.), Birkhäuser Verlag, Basel, **1994**, pp. 3–7; (b) R. K. Margolis, R. U. Margolis, *ibid.*, pp. 145–177; H. Greiling, *ibid.*, pp. 101–121.

- [12] L. Stryer, *Biochemie*, 5. Aufl., Spektrum, Heidelberg, **1994**, S. 295–325.
- [13] O. Holst in: *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology*, Vol. III; B. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem (eds.), Springer, Heidelberg, **2001**, pp. 2083–2106.
- [14] T. Kolter, K. Sandhoff, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1632–1670; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1532–1568.
- [15] G. Lochnit, R. Geyer, E. Heinz, E. T. Rietschel, U. Zähringer, J. Müthing in: *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology*, Vol. III; B. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem (eds.), Springer, Heidelberg, **2001**, pp. 2185–2196.
- [16] P. Sperling, E. Heinz, *Biochim. Biophys. Acta* **2003**, *1632*, 1–15.
- [17] B. Yu, Y. Hui in: *Glycochemistry*; P. G. Wang, C. R. Bertozzi (eds.), Marcel Dekker, New York, **2001**, pp. 163–176.
- [18] (a) J. T. Randolph, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5693–5700; (b) H. Yamada, M. Nishizawa, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 386–397.
- [19] C. Dietrich, L. A. Bagatolli, Z. N. Volovyk, N. L. Thompson, M. Levi, K. Jacobson, E. Gratton, *Biophys. J.* **2001**, *80*, 1417–1428, und dort zitierte Literatur.
- [20] L. C. Junqueira, J. Carneiro, *Histologie*, 3. Aufl., Springer, Berlin, **1991**, S. 51–52.
- [21] A. Varki, *Glycobiology* **1993**, *3*, 97–130.
- [22] C. R. Bertozzi, L. L. Kiessling, *Science* **2001**, *291*, 2357–2364.
- [23] S.-I. Hakomori in: *Glycoproteins and Disease*; J. Montreuil, J. F. G. Vliegenthart, H. Schachter (eds.), Elsevier, Amsterdam, **1996**, pp. 243–276.
- [24] G. F. Springer, *Science* **1984**, *224*, 1198–1206.
- [25] R. Roy in: *Carbohydrate Chemistry*; G.-J. Boons (ed.), Blackie Academic & Professional/Chapman & Hall, London, **1998**, pp. 243–321.
- [26] N. Jenkins, R. B. Parekh, D. C. James, *Nature Biotechnol.* **1996**, *14*, 975–981.
- [27] R. Schauer, H. Schmid, J. Pommerencke, M. Iwersen, G. Kohla in: *The Molecular Immunology of Complex Carbohydrates 2, Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol. 491; A. M. Wu (ed.), Kluwer Academics/Plenum Publishers, New York, **2001**, pp. 325–342.

- [28] B. G. Davis, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 2137–2160.
- [29] P. Bach, M. Bols, A. Damsgård, S. U. Hansen, A. Lohse in: *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology*, Vol. III; B. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem (eds.), Springer, Heidelberg, **2001**, pp. 2533–2540.
- [30] F. Nicotra in: *Carbohydrate Chemistry*; G.-J. Boons (ed.), Blackie Academic & Professional/Chapman & Hall, London, **1998**, pp. 384–429.
- [31] Y. Suhara, J. E. K. Hildreth, Y. Ichikawa, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1575–1578.
- [32] S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173–180.
- [33] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, V. M. Díaz Pérez, J. L. Jiménez Blanco, J. Fuentes, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 12947–12970.
- [34] S. Inoue, T. Tsuruoka, T. Niida, *J. Antibiot.* **1966**, *19*, 288–292.
- [35] G. B. Kok, M. Campbell, B. Mackey, M. von Itzstein, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1996**, 2811–2815.
- [36] B. G. Davis, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 579–601.
- [37] D. Sames, X.-T. Chen, S. J. Danishefsky, *Nature* **1997**, *389*, 587–591.
- [38] S. D. Kuduk, J. B. Schwarz, X.-T. Chen, P. W. Glunz, D. Sames, G. Ragupathi, P. O. Livingston, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12474–12485.
- [39] Y. C. Lee, R. T. Lee, *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321–327.
- [40] (a) L. L. Kiessling, N. L. Pohl, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 71–76; (b) R. Roy, *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **1996**, *8*, 79–99.
- [41] T. Connolly, R. R. Townsend, K. Kawaguchi, W. R. Bell, Y. C. Lee, *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 939–945.
- [42] J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555–578.
- [43] E. Arranz-Plaza, A. S. Tracy, A. Siriwardena, J. M. Pierce, G.-J. Boons, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13035–13046.
- [44] M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908–2953; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754–2794.

- [45] J. E. Gestwicki, C. W. Cairo, L. E. Strong, K. A. Oetjen, L. L. Kiessling, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14922–14933.
- [46] L. R. Olsen, A. Dessen, D. Gupta, S. Sabesan, J. C. Sacchettini, C. F. Brewer, *Biochemistry* **1997**, *36*, 15073–15080.
- [47] K. Bezouška, V. Křen, C. Kieburg, Th. K. Lindhorst, *FEBS Letters* **1998**, *426*, 243–247.
- [48] R. Roy, *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **2003**, *15*, 291–310.
- [49] P. I. Kitov, J. M. Sadowska, G. Mulvey, G. D. Armstrong, H. Ling, N. S. Pannu, R. J. Read, D. R. Bundle, *Nature* **2000**, *403*, 669–672.
- [50] Th. K. Lindhorst, *Top. Curr. Chem.* **2002**, *218*, 201–235.
- [51] C. D. Heidecke, *Diplomarbeit*, Universität Kiel, **2001**.
- [52] G. R. Newkome, Z. Q. Yao, G. R. Baker, V. K. Gupta, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2003–2004.
- [53] R. Roy, D. Zanini, S. J. Meunier, A. Romanowska, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1869–1872.
- [54] N. Röckendorf, Th. K. Lindhorst, *Top. Curr. Chem.* **2001**, *217*, 201–238.
- [55] M. M. K. Boysen, Th. K. Lindhorst, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1925–1927.
- [56] M. Dubber, Th. K. Lindhorst, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4019–4021.
- [57] M. X. Tang, C. T. Redemann, F. C. Szoka, *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 703–714.
- [58] P. R. Ashton, E. F. Hounsell, N. Jayaraman, T. M. Nilsen, N. Spencer, J. F. Stoddart, M. Young, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3429–3437.
- [59] I. Baussanne, J. M. Benito, C. O. Mellet, J. M. García Fernández, H. Law, J. Defaye, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **2000**, 1489–1490.
- [60] R. Roy, J. M. Kim, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 380–384; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 369–372.
- [61] J. P. André, C. F. G. C. Galdes, J. A. Martins, A. E. Merbach, M. I. M. Prata, A. C. Santos, J. J. P. de Lima, É. Tóth, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5804–5816.
- [62] Th. K. Lindhorst, C. Kieburg, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2083–2086; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1953–1956.

- [63] R. D. Kensinger, B. C. Yowler, A. J. Benesi, C.-L. Schengrund, *Bioconjugate Chem.* **2004**, *15*, 349–358.
- [64] C. Grandjean, C. Rommens, H. Gras-Masse, O. Melnyk, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1110–1114; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1068–1072.
- [65] G. Thoma, A. G. Katopodis, N. Voelcker, R. O. Duthaler, M. B. Streiff, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 3327–3330; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3195–3198.
- [66] K. Sadalapure, Th. K. Lindhorst, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2066–2069; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2010–2013.
- [67] B. Colonna, V. D. Harding, S. A. Nepogodiev, F. M. Raymo, N. Spencer, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1244–1254.
- [68] (a) W. B. Turnbull, A. R. Pease, J. F. Stoddart, *ChemBioChem* **2000**, *1*, 70–74; (b) W. B. Turnbull, S. A. Kalovidouris, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 2988–3000.
- [69] L. Backinowsky, P. I. Abronina, A. S. Shashkov, A. A. Grachev, N. K. Kochetkov, S. A. Nepogodiev, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4412–4423.
- [70] L. Stryer, *Biochemie*, 5. Aufl., Spektrum, Heidelberg, **1994**, S. 801–831.
- [71] <http://www.genome.jp/ligand>
- [72] S. Jegge, J. Lehmann, *Carbohydr. Res.* **1984**, *133*, 247–254.
- [73] D. Choudhury, A. Thompson, V. Stojanoff, S. Langermann, J. Pinkner, S. J. Hultgren, S. D. Knight, *Science* **1999**, *285*, 1061–1066.
- [74] M. Dubber, *Dissertation*, Universität Hamburg, **2001**.
- [75] G. Zemplén, E. Pacsu, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, *62*, 1613–1614.
- [76] L. Yan, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9239–9248.
- [77] (a) P. J. Garegg, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1997**, *52*, 179–205; (b) *ibid.* **2004**, *59*, 69–134.
- [78] K. C. Nicolaou, S. P. Seitz, D. P. Papahatjis, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2430–2434.
- [79] A. Marra, J.-M. Mallet, C. Amatore, P. Sinaÿ, *Synlett* **1990**, 572–574.
- [80] Y.-M. Zhang, J.-M. Mallet, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1992**, *236*, 73–88.

- [81] P. Fügedi, P. J. Garegg, *Carbohydr. Res.* **1986**, *149*, C9–C12.
- [82] R. R. Schmidt, W. Kinzy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21–123.
- [83] M. Dubber, Th. K. Lindhorst, *Carbohydr. Res.* **1998**, *210*, 35–41.
- [84] M. Mori, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1989**, *192*, 131–146.
- [85] M. M. K. Boysen, K. Elsner, O. Sperling, Th. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4376–4386.
- [86] S.-C. Áts, J. Lehmann, S. Petry, *Carbohydr. Res.* **1992**, *233*, 141–150.
- [87] T. Buskas, E. Söderberg, P. Konradsson, B. Fraser-Reid, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 958–963.
- [88] L. A. Flippin, D. W. Gallagher, K. Jalali-Araghi, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1430–1432.
- [89] T. Linker, M. Schmittel, *Radikale und Radikationen in der Organischen Synthese*, Wiley-VCH, Weinheim, **1998**.
- [90] P. B. van Seeventer, J. A. L. M. van Dorst, J. F. Siemerink, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegthart, *Carbohydr. Res.* **1997**, *300*, 369–373.
- [91] N. Sharon, H. Lis, *Sci. Am.* **1993**, 82–89.
- [92] K. Drickhamer, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1995**, *5*, 612–616.
- [93] 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.
- [94] Th. K. Lindhorst, C. Kieburg, U. Krallmann-Wenzel, *Glycoconjugate J.* **1998**, *15*, 605–613.
- [95] Th. K. Lindhorst, M. Dubber, U. Krallmann-Wenzel, S. Ehlers, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2027–2034.
- [96] N. Röckendorf, O. Sperling, Th. K. Lindhorst, *Aust. J. Chem.* **2002**, *55*, 87–93.
- [97] Th. K. Lindhorst, *Chem. unserer Zeit* **2000**, *34*, 38–52.
- [98] O. Sperling, *Dissertation*, Universität Kiel, **2004**.
- [99] B. G. Davis, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 3215–3237.

- [100] Y. D. Vankar, R. R. Schmidt, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, 29, 201–216.
- [101] M. S. Stoll, T. Mizuochi, R. A. Childs, T. Feizi, *Biochem. J.* **1988**, 256, 661–664.
- [102] H. Hamachi, S. Kiyonaka, S. Shinkai, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **2000**, 1281–1282.
- [103] A. Düffels, L. G. Green, S. V. Ley, A. D. Miller, *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 1416–1430.
- [104] J. E. Klijn, J. B. F. N. Engberts, *Langmuir* **2005**, <http://dx.doi.org/10.1021/la0504715>.
- [105] A. Siriwardena, M. R. Jørgensen, M. A. Wolfert, M. L. Vandenplas, J. N. Moore, G.-J. Boons, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 8145–8146.
- [106] (a) Y. Zhu, F. Kong, *Synlett* **2000**, 663–667; (b) Y. Zhu, F. Kong, *Carbohydr. Res.* **2001**, 332, 1–22.
- [107] S. Brodesser, P. Sawatzki, T. Kolter, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2021–2034.
- [108] L. Elsen, R. Betz, G. Schwarzmann, K. Sandhoff, G. van Echten-Deckert, *Neurochem. Res.* **2002**, 27, 717–727.
- [109] C. Boucheron, V. Desvergnès, P. Compain, O. R. Martin, A. Lavi, M. Mackeen, M. Wormald, R. Dwek, T. D. Butters, *Tetrahedron Asymmetry* **2005**, 16, 1747–1756.
- [110] P. I. Kitov, H. Shimizu, S. W. Homans, D. R. Bundle, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 3284–3294.
- [111] S. Howorka, J. Nam, H. Bayley, D. Kahne, *Angew. Chem.* **2004**, 116, 860–864; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 842–846.
- [112] (a) T. K. Dam, R. Roy, S. K. Das, S. Oscarson, C. F. Brewer, *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 14223–14230; (b) T. K. Dam, R. Roy, D. Pagé, C. F. Brewer, *Biochemistry* **2002**, 41, 1351–1358; (c) *ibid.*, 1359–1363.
- [113] K. Matsuura, M. Hibino, Y. Yamada, K. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 357–358.
- [114] (a) M. Sarkar, M. A. Wu, E. A. Kabat, *Arch. Biochem. Biophys.* **1981**, 209, 204–218; (b) N. M. Young, R. A. Z. Johnston, A. G. Szabo, D. C. Watson, *Arch. Biochem. Biophys.* **1989**, 270, 596–603.
- [115] X. Lee, A. Thompson, Z. Zhang, H. Ton-that, J. Biesterfeldt, C. Ogatai, L. Xu, R. A. Z. Johnston, N. M. Young, *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 6312–6318.

- [116] R. Sankaranarayanan, K. Sekar, R. Banerjee, V. Sharma, A. Surolia, M. Vijayan, *Nat. Struct. Biol.* **1996**, *3*, 596–603.
- [117] U. Diederichsen, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 458–461; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 445–448.
- [118] U. Diederichsen, Homepage, www.diederichsen.chemie.uni-goettingen.de/Arbeitsgebiete/Homepage%20Died%20Arbeitsgebiete.htm
- [119] R. Bukowski, L. M. Morris, R. J. Woods, T. Weimar, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2697–2705.
- [120] G. Arsequell, G. Valencia, *Tetrahedron Asymmetry* **1997**, *8*, 2839–2876.
- [121] Ph. M. St. Hilaire, L. Cipolla, A. Franco, U. Tedebark, D. A. Tilly, M. Meldal, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 3559–3564.
- [122] T. Weimar, *persönliche Mitteilung*, **2002**.
- [123] T. Weimar, R. Bukowski, N. M. Young, *J. Biol. Chem.* **2002**, *275*, 37006–37010.
- [124] (a) S. David, A. Thieffry, A. Veyrières, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1981**, 1796–1801; (b) S. David, S. Hanessian, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 643–663.
- [125] (a) U. Schöllkopf, *Top. Curr. Chem.* **1983**, *109*, 65–84; (b) K. Undheim, J. Efskind, G. B. Hoven, *Pure Appl. Chem.* **2003**, *75*, 279–292; (c) S. Sano, M. Takebayashi, T. Miwa, T. Ishii, Y. Nagao, *Tetrahedron Asymmetry* **1998**, *9*, 3611–3614.
- [126] D. Seebach, A. Fadel, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 1243–1250.
- [127] N. S. Chowdari, J. T. Suri, C. F. Barbas III, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2507–2510.
- [128] M. Moreno-Mañas, E. Trepát, R. M. Sebastián, A. Vallribera, *Tetrahedron Asymmetry* **1999**, *10*, 4211–4224.
- [129] S. Sano, K. Hayashi, T. Miwa, T. Ishii, M. Fujii, H. Mima, Y. Nagao, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5571–5574.
- [130] M. Ohno, M. Otsuka, *Org. React.* **1989**, *37*, 1–55.
- [131] K. Biswas, D. M. Coltart, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6107–6110.
- [132] E. G. Nolen, A. J. Kurish, K. A. Wong, M. D. Orlando, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2449–2453.

- [133] N. Miyaoura, T. Ishiyama, H. Sasaki, M. Ishikawa, M. Satoh, A. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 314–321.
- [134] D. J. Dixon, S. V. Ley, D. A. Longbottom, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 2231–2232.
- [135] P. K. Kadaba, *Synthesis* **1971**, 316–317.
- [136] D. Beruben, I. Marek, J.-F. Normant, N. Platzert, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2488–2501.
- [137] D. Brasseur, I. Marek, J.-F. Normant, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7235–7250.
- [138] R. Shapiro, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5759–5764.
- [139] U. Schmidt, V. Leitenberger, H. Griesser, J. Schmidt, R. Meyer, *Synthesis* **1992**, 1248–1254.
- [140] T. Honda, T. Ogino, *Tetrahedron Asymmetry* **1998**, *9*, 2663–2669.
- [141] R. P. McGeary, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3319–3322.
- [142] J. Hartung, S. Hünig, R. Kneuer, M. Schwarz, H. Wenner, *Synthesis* **1997**, 1433–1438.
- [143] I. Nakagawa, K. Aki, T. Hata, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1983**, 1315–1318.
- [144] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective groups in organic synthesis*, 3rd ed., Wiley, New York, **1999**, pp. 740–743.
- [145] (a) H. Paulsen, M. Heume, H. Nürnberger, *Carbohydr. Res.* **1990**, *200*, 127–166; (b) R. Madsen, U. E. Udodong, C. Roberts, D. R. Mootoo, P. Konradsson, B. Fraser-Reid, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1554–1565.
- [146] Th. K. Lindhorst, *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**, p. 73.
- [147] J. Thiem, M. Wiesner, *Synthesis* **1988**, 124–127.
- [148] (a) T. Iversen, D. R. Bundle, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1981**, 1240–1241; (b) H.-P. Wessel, T. Iversen, D. R. Bundle, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1985**, 2247–2250.
- [149] P. R. Skaanderup, C. Storm Poulsen, L. Hyldtoft, M. R. Jørgensen, R. Madsen, *Synthesis* **2002**, 1721–1727.
- [150] C. D. Heidecke, Th. K. Lindhorst, *Synthesis*, zur Veröffentlichung angenommen.

- [151] (a) G. Haberhauer, L. Somogyi, J. Rebek Jr., *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5013–5016; (b) T. Fukuyama, L. Xu, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8449–8450; (c) K. Yamada, T. Kurokawa, H. Tokuyama, T. Fukuyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6630–6631.
- [152] T. Matt, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 1845–1895.
- [153] B. Westermann, N. Diedrichs, I. Gedraht, A. Walter in: *Bioorganic Chemistry*; U. Die-drichsen, Th. K. Lindhorst, B. Westermann, L. A. Wessjohann (eds.), Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, pp. 185–192.
- [154] (a) J. Coste, M.-N. Dufour, A. Pantaloni, B. Castro, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 669–672; (b) J. Coste, E. Frérot, P. Jovin, B. Castro, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 1967–1970.
- [155] A. Schäfer, G. Klich, M. Schreiber, H. Paulsen, J. Thiem, *Carbohydr. Res.* **1998**, *313*, 107–116.
- [156] J. Brüning, L. L. Kiessling, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2907–2910.
- [157] <http://www.rcsb.org/pdb/cgi/explore.cgi?pid=225851127308560&page=0&pdbld=1JOT>
- [158] Die Bilder wurden erstellt mit dem Programm SYBYL der Firma Tripos, Version 6.8.
- [159] R. N. Zuckermann, E. J. Martin, D. C. Spellmeyer, G. B. Stauber, K. R. Shoemaker, J. M. Kerr, G. M. Figliozzi, D. A. Goff, M. A. Siani, R. J. Simon, S. C. Banville, E. G. Brown, L. Wang, L. S. Richter, W. H. Moos, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2678–2685.
- [160] T. M. Hansen, M. M. Engler, C. J. Forsyth, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2127–2130.
- [161] Y. Chen, G. L. Baker, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6870–6873.
- [162] H. Wennemers, M. Conza, M. Nold, P. Krattinger, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 3342–3347.
- [163] M. D. Alonso, J. Lomako, W. M. Lomako, W. J. Whelan, *FASEB J.* **1995**, *9*, 1126–1137.
- [164] K. Bock, J. Schuster-Kolbe, E. Altman, G. Allmaier, B. Stahl, R. Christian, U. B. Sleytr, P. Messner, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 7137–7144.
- [165] P. Messner, R. Christian, C. Neuninger, G. Schulz, *J. Bacteriol.* **1995**, *177*, 2188–2193.
- [166] I. Arai, I. Muramatsu, *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 121–123.

- [167] (a) R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149–2154; (b) R. B. Merrifield, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 801–812; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, *24*, 799–810.
- [168] B. Castro, J. R. Dormoy, G. Erin, C. Selve, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 1219–1222.
- [169] I. Abdelmoty, F. Albericio, L. A. Carpino, B. M. Foxman, S. A. Kates, *Lett. in Peptide Science* **1994**, *1*, 57–67.
- [170] R. Knorr, A. Trzeciak, W. Bannwarth, D. Gillessen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1927–1930.
- [171] L. A. Carpino, A. El-Faham, C. A. Minor, F. Albericio, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1994**, 201–203.
- [172] Y. Han, F. Albericio, G. Barany, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4307–4312.
- [173] (a) H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3787–3790; (b) M. S. Bertanowicz, S. B. Daniels, H. Köster, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 4645–4648.
- [174] H. Kunz, H. Waldmann, C. Unverzagt, *Int. J. Pept. Prot. Res.* **1985**, *26*, 493–497.
- [175] Calbiochem-Novabiochem AG, *Guide to the selection of building blocks for peptide synthesis*, http://www.merckbiosciences.co.uk/SharedImages/novabiochem/building_block2005M.pdf, **2005**, und dort zitierte Literatur.
- [176] (a) H. Kunz, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 297–311; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 294–308; (b) Y. Hayakawa, S. Wakabayashi, H. Kato, R. Noyori, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 1691–1696; (c) S. Blechert, A. Kleine-Klausung, *Angew. Chem.* **1991**, *103*, 428–429; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 412–414.
- [177] F. Albericio, J. M. Bofill, A. El-Faham, S. A. Kates, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9678–9683.
- [178] D. Vetter, D. Tumelty, S. K. Singh, M. A. Gallop, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 94–97; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 60–63.
- [179] Y.-S. Liu, C. Zhao, D. E. Bergbreiter, D. Romo, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3471–3473.
- [180] S. A. Mitchell, M. R. Pratt, V. J. Hruby, R. Polt, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2327–2342.
- [181] Calbiochem-Novabiochem AG, *Peptide resin loading protocols*, http://www.merckbiosciences.co.uk/SharedImages/TechnicalLiterature/6_Fmocloading.pdf, **2001**.
- [182] E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook, *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595–598.

- [183] Calbiochem-Novabiochem AG, *Fmoc resin peptide cleavage and deprotection*, http://www.merckbiosciences.co.uk/SharedImages/TechnicalLiterature/6_Fmoccleavage.pdf, 2001.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Christoph Dirk Heidecke * 11.02.1975 in Marburg a. d. Lahn
Dipl.-Chem. ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Hochschulbildung

seit 10/2001	Promotion im Arbeitskreis von Frau Prof. Dr. Th. K. Lindhorst am Institut für Organische Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
11/2000 – 7/2001	Diplomarbeit im Arbeitskreis von Frau Prof. Dr. Th. K. Lindhorst, Titel: „Kohlenhydratbausteine zur Synthese von Kohlenhydratdendrimeren“ Abschluss: Dipl.-Chem.
10/2000	Diplomchemiker-Hauptprüfung
11/1998	Diplomchemiker-Vorprüfung
4/1996	Aufnahme des Studiums der Chemie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Tätigkeiten

11/2000 – 7/2001	Studentische Hilfskraft am Institut für Organische Chemie
------------------	---

10/2001 – 4/2005 der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Wissenschaftlicher Angestellter am Institut für Organische
Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
seit 4/2005 Wissenschaftlicher Angestellter im Rahmen des Sonder-
forschungsbereichs 470 „Glycostructures in Biological
Systems – Synthesis and Function“ der DFG

Zivildienst

10/1994 – 12/1995 Tätigkeit am Klinikum der Philipps-Universität Marburg

Schulbildung

1981 – 1984 Mittelpunktschule Cappel
1984 – 1994 Gymnasium Martin-Luther-Schule in Marburg

Präsentationen und Veröffentlichungen

7/2004 XXII. International Carbohydrate Symposium, Glasgow,
Schottland, 2004, Poster
3/2002 CUKRBLIK, *Current Glycobiology, Chemistry and Bio-
chemistry of Saccharides in Czechia*, Prag,
Tschechien, 2002, Vortrag

Regioselective Phthalimidopropyl-Modification of Carbohydrates in One Step
C. D. Heidecke, Th. K. Lindhorst, *Synthesis*, accepted.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Elwira Klima-Bartczak für die Hilfe bei der Synthese der Peptide und sonstiger synthetischer und analytischer Unterstützung.

Des Weiteren danke ich

- den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der NMR-Abteilung Dr. Christian Wolff, Gitta Kohlmeyer-Yilmaz, Marion Höftmann und Holger Franzen für die Aufnahme vieler, vieler NMR-Spektren, und die Kooperation in den letzten Monaten während des Umbaus
- Elmar Schneider, Ulrike Drieling und Rolf Schmied für die Aufnahme der Massenspektren
- Dirk Meyer für die vielen guten ESI-Spektren
- den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen am Institut für Anorganische Chemie der Universität Kiel und der Organischen Chemie der Universität Hamburg, die die Elementaranalysen gemessen haben
- Christine Haug und Regina Meinlschmidt für die Erledigung aller wichtigen organisatorischen Dinge
- den anderen Mitarbeitern des Hauses, Andreas Wilms (Chemikalienausgabe), Manuela Krannich (Bibliothek), Monika Bänsch (Reinigung) und Rüdiger Kargoll (Werkstatt)
- meinen (ehemaligen) Laborkollegen Dr. Markus Deichmann und Dietmund Peters für angenehme Jahre im Zweierlabor und die gute Kooperation im OCF-Praktikum

- meinen anderen Kollegen im OCF-Praktikum Dr. Serge Konrad, Dr. Mike M. K. Boysen und Michaela Wiegand
- den (ehemaligen) Arbeitskreiskollegen Dr. Mike M. K. Boysen, Katharina Elsner, Dr. Andreas Fuchs (besonders für die Computerbetreuung), Dr. Mike Kleinert, Dr. Marco Kühne, Dr. Nils Röckendorf, Alexander Schierholt, Harun Shaikh, Dr. Oliver Sperling, Dr. Florian Thieme, Dr. Mark Walter und Michaela Wiegand für die gute Zusammenarbeit.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Arbeit – abgesehen von der Beratung durch meine Betreuerin, Frau Prof. Dr. Th. K. Lindhorst – nach Inhalt und Form meine eigene Arbeit ist. Sie hat noch keiner anderen Stelle im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vorgelegen und ist nicht veröffentlicht worden.

Christoph Heidecke