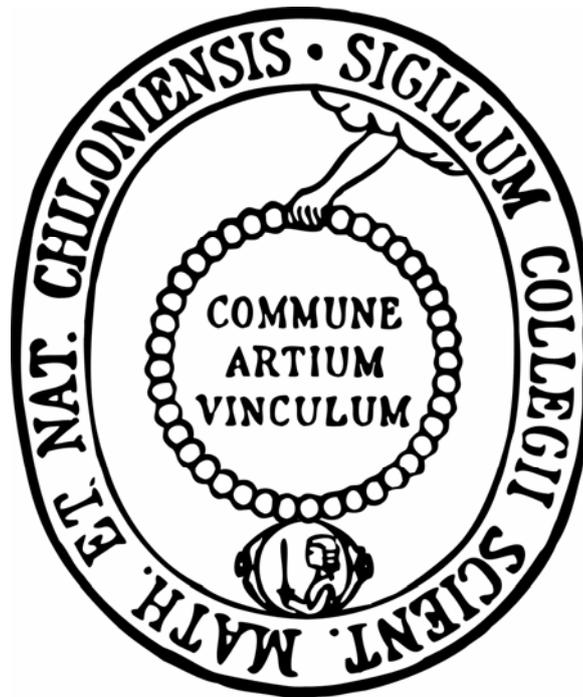


**Synthese von Glykoclustern und Glykopeptiden
zur Untersuchung von multivalenten
Wechselwirkungen in Wasser**



Dissertation

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

vorgelegt von

Alexander Schierholt

aus Wildeshausen

Kiel 2009

**Synthese von Glykoclustern und Glykopeptiden
zur Untersuchung von multivalenten
Wechselwirkungen in Wasser**



Dissertation

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

vorgelegt von

Alexander Schierholt

aus Wildeshausen

Kiel 2009

1. Gutachter: Prof. Dr. Th. K. Lindhorst

2. Gutachter: Prof. Dr. U. Lüning

Tag der Disputation: 08.07.2009

Zum Druck genehmigt: Kiel, den 08.07.2009

Der Dekan

Erklärung:

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmitteln verwendet habe. Die Arbeit wurde von mir nicht an anderer Stelle eingereicht. Dies ist mein erster Promotionsversuch.

Alexander Schierholt

Diese Arbeit wurde von August 2005 bis Mai 2009 am Institut für Organische Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel in der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst angefertigt.

Teile dieser Arbeit wurden publiziert.

A. Schierholt, Th. K. Lindhorst, *J. Carbohydr. Chem.* **2009**, *28*, 191-197, "Reductive amination of the lysine N^ε-amino group leads to a bivalent glyco-amino acid building block suited for SPPS".

A. Schierholt, H. Shaikh, J. Schmidt-Lassen, Th. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, "Utilizing Staudinger ligation for the synthesis of glyco-amino acid building blocks and other glycomimetics", im Druck.

*„We shall not cease from exploration
and the end of all our exploring will be to arrive where we started
and know the place for the first time.“*

T. S. Elliot (1942)

Carina und meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1 Präludium	1
1.1 Abstract	2
1.2 Kurzfassung.....	3
1.3 Danksagungen	4
1.4 Allgemeine Abkürzungen	6
1.5 Etymologie	9
2 Einleitung	10
2.1 Glykokonjugate als Bestandteile eukaryontischer und prokaryontischer Glykokalices: Aufbau und Funktionen	12
2.2 Kohlenhydrat – Protein – Wechselwirkungen	16
2.2.1 Bindungsmechanismen und Multivalenzeffekte	19
2.2.2 Glykomimetika	22
3 Zielsetzung	25
4 Mannosidische Glykoaminosäuren	26
4.1 Einleitung	26
4.2 Synthesekonzept für die Glykoaminosäuren	30
4.2.1 Wahl der Schutzgruppenstrategie	30
4.2.2 Die Auswahl der Aminosäuren.....	31
4.2.3 Spacer für die Glykoaminosäuren	32
4.3 Durchgeführte Synthesen	33
4.3.1 Glykoaminosäuren mit L-Serin	34
4.3.2 Glykoaminosäuren mit L-Threonin.....	44
4.3.3 Glykoaminosäuren mit L-Tyrosin.....	45
4.3.4 Synthesen mit L-Cystein	47
4.3.5 Synthesen mit L-Lysin	53
4.3.6 Synthesen mit L-Asparaginsäure	57
4.3.7 Synthesen mit L-Glutaminsäure.....	63
4.3.8 Zusammenfassung: Mannosidische Glykoaminosäuren	64
5 Mannose-Derivate für Verknüpfungen mit Peptiden	66
5.1 Synthesekonzept für die Mannosebausteine der Methode 2	66
5.2 Unterkapitel: Mannose-Bausteine für die SPOT-Peptid-Synthese	69
6 Aminosäure-basierte Glykocluster	71
6.1 Durchgeführte Synthesen	72
6.1.1 Cystein-basierte Glykocluster.....	72
6.1.2 Asparagin-basierte Glykocluster	78
6.1.3 Trimesinsäure-basierte Glykocluster	82
6.1.4 Zusammenfassung der Glykoclustersynthesen	83
6.2 Biologische Tests der Glykocluster.....	84
6.2.1 Hintergrund und Durchführung	84
6.2.2 Ergebnisse.....	85
6.3 Fazit und Ausblick	89

7 Mannosidische Glykopeptide	91
7.1 Einleitung	91
7.1.1 Trägermaterialien und Linker für die SPPS	91
7.1.2 Kupplungsreagenzien für die SPPS	92
7.1.3 Allgemeines Protokoll für die Peptid-Festphasen-Synthesen	95
7.2 Durchgeführte Synthesen	96
7.2.1 Synthese der Peptide und Glykopeptide für Methode 2	96
7.2.2 Synthese der Glykopeptide nach Methode 1	102
7.2.3 Zusammenfassung: Synthese der Glykopeptide nach Methode 1 und Methode 2	107
7.3 Biologische Tests der Glykopeptide	109
7.4 Fazit und Ausblick	111
8 Moleküldynamik-Simulationen	112
8.1 Einleitung	112
8.2 Zielsetzung	113
8.3 Durchgeführte Moleküldynamik-Simulationen	114
8.3.1 Analyse der Simulationen	116
8.3.2 Betrachtung der Glykopeptid-Wasser-Struktur	119
8.3.3 Zusammenfassung und Ausblick	131
9 Experimenteller Teil	133
9.1 Allgemeine Angaben	133
9.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften	136
9.3 Einzelvorschriften	138
9.3.1 Vorschriften für die Synthese der Glykoaminosäuren	138
9.3.2 Vorschriften für die Synthese der Glykocluster	163
9.3.3 Vorschriften für die Synthese der Glykopeptide	182
9.3.3.1 Allgemeines Protokoll der Festphasenpeptidsynthese (SPPS)	182
9.3.3.2 Einzelvorschriften für die Synthese der Peptide und Glykopeptide	183
9.4 Protokoll der Adhäsionstests	197
9.4.1 Kultivierung der Bakterien	198
9.4.2 Präparation des Adhäsionstests	198
9.5 Computermethoden	198
10 Literaturverzeichnis	201
11 Abbildungsverzeichnis	210
12 Tabellenverzeichnis	214

1 Präludium

Schlagworte

Glykoaminosäuren – Glykopeptide – Glykocluster – SPPS –Inhibition bakterieller

Adhäsion – Moleküldynamik - Simulationen

Keywords

Glycoamino acids – glycopeptides – glyocluster – SPPS –inhibition of bacterial adhesion

– molecular dynamic simulations

1.1 Abstract

Transfer and storage of information are fundamental processes of life. Glycoconjugates like glycopeptides and glycolipids, as part of the glycocalyx, play a crucial role in such biochemistry such as information transfer. The glycocalyx, a complex layer surrounding every eukaryotic cell, predominantly consists of carbohydrates. A growing interest in their biological functions led to the development of a new field of research, called glycobiology. This thesis deals with the synthesis of glycopeptides and glycoclusters in the form of glycomimetics for the investigation of multivalent interactions occurring during recognition of carbohydrates. The first part of this thesis describes the assembly of a glycoamino-acid library, where mannosyl moieties have been differently ligated to a series of amino acids. This glycoamino-acid library was used in the second part of the thesis for the synthesis of several glycopeptides by SPPS. Glycopeptides were also prepared in solution. Target molecules were tested afterwards as inhibitors of bacterial adhesion.

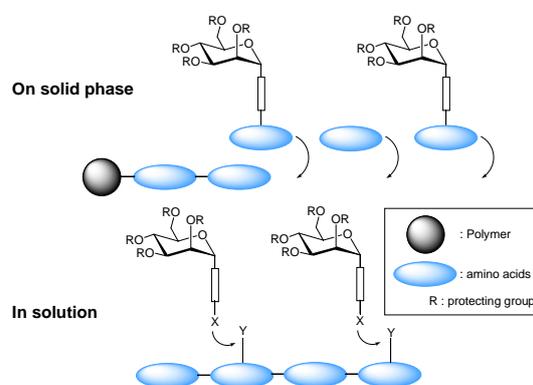
In the third part of this work molecular dynamic simulations were used to study the interactions of glycopeptides, such as the ones synthesized, in water, as water is always the principle solute in all biological testing systems.

The targeted glycoamino-acid library was based on six different amino acids and comprised, after all, eleven diversly constructed mannosyl amino-acids (**19**, **33**, **39**, **42**, **56**, **64**, **65**, **66**, **75**, **77** and **85**). During the synthesis a lot of different reaction types were used and variable protecting group strategies were elaborated. The production of several glycoamino-acids was accomplished even without a protecting group of the carboxylic acid function (**19**, **33**, **39**, **56**, **64**, **65** and **66**). By combining a selection of the prepared building-blocks a number of di-, tri- and tetravalent glycoclusters (**114**, **115**, **130**, **135**, **136** and **137**) were synthesized and also tested as inhibitors of bacterial adhesion.

In the second part of this thesis seven glycopeptides (**158-164**) were synthesized by SPPS for the peptides in the first step and subsequent functionalisation in solution utilizing peptide coupling with carboxylic acid functionalized mannosides **92-94**. These synthetic peptides were also examined in adhesions tests. The results obtained with the glycopeptides and glycoclusters approved previous studies, showing only a moderate enhancement of the inhibitory potency for multivalent interactions in our testing system with typ-1-fimbriated *E. coli*. Glycoconjugates with an aromatic aglycon showed in all tests especially good results, presumably due to favourable interactions with the tyrosine gate at the entrance of the FimH CRD.

Finally three glycopeptides (**177-179**) were synthesized on solid phase using the synthetic glycoamino-acid building blocks prepared in the first part. All synthesized glycopeptides vary in number of their conjugated carbohydrate moieties and in their distance and conformational flexibility owing to the different spacers, which have been employed.

In the third part of the thesis two glycopeptides **185** and **186**, which differ only in the glycosidic atom (O and S), were analysed in molecular dynamic simulations with regard to their water-solvat-interactions using different programs. The results show a definite structuring of the water around the glycopeptides, with some dependency on the nature of the glycosidic atom.



1.2 Kurzfassung

Die Weitergabe und Speicherung von Informationen stellt einen notwendigen Prozess des zellulären Lebens dar. Hierbei nehmen Glykokonjugate, wie sie als Bestandteile der Glykokalyx u. a. in Form von Glykoproteinen und Glykolipiden vorkommen eine entscheidende Rolle ein. Die Glykokalyx ist eine überwiegend aus Kohlenhydraten bestehende Schicht, von der jede eukaryontische Zelle umgeben ist. Wegen ihrer strukturellen Mannigfaltigkeit und dem stetig wachsenden Interesse an ihrer Bedeutung im biochemischen Geschehen, rücken Glykonjugate immer stärker in den Fokus aktueller Forschung und bilden mittlerweile ein eigenes Forschungsfeld, die Glykobiologie.

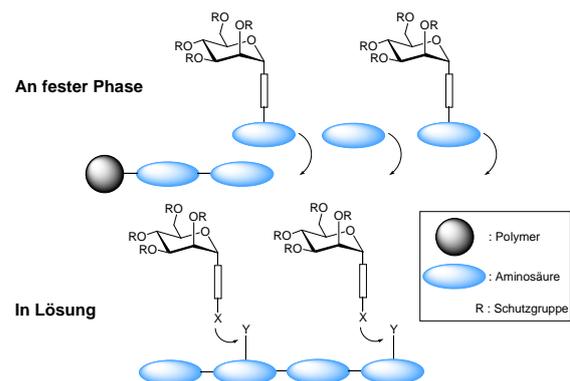
Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Synthese von Glykoproteinen und Glykoclustern als Glykomimetika, die der Untersuchung von multivalenten Wechselwirkungen bei der molekularen Erkennung von Zuckern dienen sollen. Im ersten Teil der Arbeit wird der Aufbau einer Glykoaminosäure-Bibliothek beschrieben, in der Mannoside über unterschiedliche Ligationen mit einer Auswahl verschiedener Aminosäuren verknüpft sind. Diese Zucker-Bibliothek konnte dann im zweiten Teil der Arbeit für die Synthese einer Reihe von Glykopeptiden per SPPS genutzt werden. Die Herstellung der Glykopeptide erfolgte sowohl an fester Phase, als auch in Lösung. Die wichtigsten Syntheseprodukte wurden als Inhibitoren bakterieller Adhäsion getestet. Im dritten Teil wurden Moleküldynamik-Simulationen genutzt, um die Wechselwirkungen von Glykopeptiden, wie sie hier synthetisch zugänglich gemacht wurden, in und mit Wasser abschätzen zu lernen.

Die Glykoaminosäure-Bibliothek wurde auf der Basis von sechs verschiedenen Aminosäuren erstellt und umfasste schließlich insgesamt elf verschiedenen Mannoaminosäure-Derivate (**19**, **33**, **39**, **42**, **56**, **64**, **65**, **66**, **75**, **77** und **85**). Für die einzelnen Synthesen wurde auf eine Vielzahl von Reaktionstypen und auf sorgfältig geplante Schutzgruppenstrategien zurückgegriffen, wobei die Darstellung einiger Glykoaminosäuren (**19**, **33**, **39**, **56**, **64**, **65** und **66**) auch ohne Schutzgruppe der Aminosäure-Carboxylgruppe gelang. Mit Hilfe des so erhaltenen Bausteinarsenals konnten interessante Glykocluster hergestellt werden, wobei sowohl di-, als auch tri- und tetravalente Cluster **114**, **115**, **130**, **135**, **136** und **137**) erhalten und in Affinitätstests bezüglich ihrer inhibitorischen Potenz untersucht wurden.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden sieben Glykopeptide (**158-164**) durch die nachträgliche Zucker-Funktionalisierung von synthetischen Peptiden mit den Carboxyl-funktionalisierten Mannosiden **92-94** hergestellt und ebenfalls in Affinitätstest untersucht. Die mit den Glykopeptiden und Glykoclustern erzielten Ergebnisse bestätigen die bisherigen Beobachtungen, dass durch multivalente Inhibitoren in unserem Testsystem nur eine moderate Erhöhung der inhibitorischen Potenz erreicht werden kann. Als besonders effektiv erwiesen sich Glykokonjugate mit aromatischem Aglykon, wobei es mit den beiden aromatischen Tyrosineinheiten am Eingang der CRD des untersuchten Lektins zu einer günstigen Interaktion kommt und so die Wechselwirkungen zwischen Ligand und Rezeptor verstärkt wird.

Schließlich konnten drei Glykopeptide (**177-179**) an fester Phase durch Verwendung der hergestellten Mannosylaminosäure-Derivate synthetisiert werden. In allen synthetisierten Glykopeptiden sind die Anzahl der konjugierten Zucker, deren Abstand und die konformationelle Flexibilität ihrer Präsentation über verschiedene Spacer variiert.

Zwei Glykopeptide, **185** und **186**, die sich lediglich in der Art des glykosidischen Atoms (O bzw. S) unterscheiden, wurden im dritten Teil der Arbeit in Moleküldynamik-Simulationen auf Wasser-Solvat-Interaktionen mit Hilfe mehrerer Analyseprogramme untersucht. Hierbei konnte die deutliche Strukturierung der Wassermoleküle um die Glykopeptide herausgearbeitet werden.



1.3 Danksagungen

Frau Prof. Dr. THISBE K. LINDHORST danke ich für die interessante Themenstellung, die stete Diskussionsbereitschaft, die Gewährung des kreativen Freiraums, die großzügige Förderung und die freundliche Unterstützung während der letzten Jahre.

Herrn Prof. ULRICH LÜNING danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der NMR-Abteilung Prof. Dr. FRANK SÖNNICHSEN, GITTA KOHLMAYER-YILMAZ, MARION HÖFTMANN und HOLGER FRANZEN danke ich für die Aufnahme vieler, vieler NMR-Spektren und die Bemühungen meine „Wasser-NMRs“ gut aussehen zu lassen.

DIRK MEYER danke ich für die vielen guten ESI-Spektren.

ULRIKE DRIELING und ROLF SCHMIDT danke ich für das „Pflegen und Hegen“ des MALDIs.

Für die gute Zusammenarbeit und die Unterstützung in allen organisatorischen Belangen danke ich CHRISTINE HAUG und REGINA MEINLSCHMIDT.

Den anderen Mitarbeitern des Hauses: ANDREAS WILMS, MONIKA BÄNSCH, RÜDIGER KARGOLL danke ich für ihre Unterstützung.

Mein großer Dank gilt ELWIRA KLIMA-BARTCZAK zum einem für das Vermessen unzähliger Proben und für viele gute Synthesen, aber besonders für deine gute Laune, deine herzliche Art, dein Interesse an allem und für die besten Dienstagsfrühstücke der Welt. Besonders Deine Hilfe in der Endphase dieser Arbeit hat vieles erleichtert!

Mein herzlicher Dank gilt meinen ehemaligen und aktuellen Kollegen im Arbeitskreis LINDHORST für das freundliche Arbeitsklima, ihre Hilfsbereitschaft und die stets möglichen Diskussionen chemischer und nichtchemischer Natur. Besonders gilt dies natürlich denjenigen, die mir auch außerhalb der Uni das Leben in Kiel bereichert haben:

- My dear lab-colleague HARUN SHAIKH for three years being the “men-lab”, listening to my music, all kinds of discussions and a lot fun.

- KATHARINA ELSNER für viele frühmorgendliche Tee-trifft-Kaffee-Runden, für dein ansteckendes Lachen, abgefahrene Kinofilme und ein immer offenes Ohr.
- KIRSTEN SCHWEKENDIEK für viele unbeantwortbare Fragen, nette Tatort- und lustige Spieleabende, deinen Aktionismus und das super Korrekturlesen!
- MIRJA HARTMANN für deine offene Art, geteilten Arbeitsfrust und viel Spaß im Labor. Natürlich auch für die biologischen Tests und das Korrekturlesen!
- LENA DAUMLECHNER für lustige Spieleabende, das Teilen der Sofaecke bei der Kaffeerrunde, deine Ermunterungen und das Korrekturlesen!

Des Weiteren danke ich:

- ANDREAS FUCHS für die Anleitung bei den ersten wackeligen Simulationsschritten und der Weitergabe von viel Wissen.
- MATS ERIKSSON für die tolle Unterstützung bei Fragen und Problemen mit AMBER und Co.
- JÖRN SCHMIDT-LASSEN für das gute Nebeneinander im Fux-Bau bzw. im ersten Stock.
- JENS KAPPEI für das Korrekturlesen trotz erheblichen Zeitmangels.

Meiner Familie ANETTE, ENGELBERT und MARTIN SCHIERHOLT möchte ich für die immer vorhandene Hilfsbereitschaft, eurem Interesse und für die finanzielle Unterstützung danken, ohne die mein Studium und diese Arbeit sicher nicht möglich gewesen wären.

Meinen Großeltern ELISABETH und HEINRICH SCHLÖMER danke ich für die großzügige und überraschende Übernahme der Druckkosten, besonders aber für das Interesse an dieser Arbeit und den Versuchen, zu begreifen, was ich eigentlich mache.

Ein unermesslich großes Dankeschön gilt meiner Freundin CARINA AHLERS, die gerade in den letzten sechs Monaten eine große Stütze darstellte, meine Launen aushielt und stets für mich da war.

1.4 Allgemeine Abkürzungen

Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
AIBN	2,2'-Azobisisobuttersäurenitril
Äq.	Äquivalente
Ar	Aryl
atm.	Atmosphären
ber.	Berechnet
BF ₃ *Et ₂ O	Bortrifluorid-Etherat
BOC	<i>tert</i> -Butoxycarbonyl
br (IR)	breites Signal
bs (NMR)	breites Signal
Bz	Benzoyl
CCA	α -Cyano-4-hydroxymzimtsäure
COSY	Correlated Spectroscopy
CRD	Carbohydrate Recognition Domain
d	Tag
d (NMR)	duplett
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatogramm
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	<i>N</i> -Ethyl- <i>N</i> -diisopropylamin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMTST	Dimethylmethylthiosulfonium-Triflat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Dpr	Diaminopropionsäure
ELISA	Enzym Linked Immunosorbent Essay
ESI	Electron Spray Ionisation

Et ₃ N	Triethylamin
Et ₂ O	Diethylether
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
GPC	Gel Permeations Chromatographie
GPI	Glykosylphosphatidylinositol
GFP	Green fluorescent protein
h	Stunde/n
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
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HOAt	1-Hydroxy-7-Azabenzotriazol
HOBt	1-Hydroxy-benzotriazol
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRESI	High Resolution Electron Spray Ionisation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IDCP	Iodonium Collidin Perchlorat
IR	Infrarot
IUPAC	International Union for Pure and Applied Chemistry
Kap.	Kapitel
m (NMR)	Multiplett
m _c (NMR)	zentriertes Multiplett
M	Molmasse
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
Man	Mannose
MBP	Mannose Binding Protein
MD	Moleküldynamik
MeOH	Methanol
min	Minuten
MPLC	Medium Pressure Liquid Chromatography
MS	Massenspektrometrie
<i>n</i> -Bu	<i>n</i> -Butyl
NIS	<i>N</i> -Iodsuccinimid

NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PBS	Phosphat Buffered Saline
PBST	Phosphat Buffered Saline Tween
Ph	Phenyl
PPh ₃	Triphenylphosphin
q (NMR)	Quartett
quant.	quantitativ
R	Rest
RT	Raumtemperatur
RP	Reverse Phase
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -Butyl
RDF	Radial-pair-distribution-function
Rf	Retentionsfaktor
RMSD	Root Mean Square Deviation
RPD	Radial-pair-distribution
s (NMR)	Singulett
SPPS	Solid Phase Peptide Synthesis
t (NMR)	Triplett
T _{AV}	Durchschnittliche Verweildauer
T _{Max}	Maximale Verweildauer
TBABr	Tetrabutylammoniumbromid
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-tetrafluoroborat
TES	Triethylsilan
TFA	Trifluoressigsäure
TfOH	Trifluormethansäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
TMSOTf	Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat
ToF	Time of Flight
<i>t</i> _R	Retention time
Trt	Trityl
UV	Ultraviolett

1.5 Etymologie

In der Literatur finden sich zwei Schreibweisen für den Begriff Glykokalyx. Innerhalb dieser Arbeit wurde sich für die Schreibweise Glykokalyx entschieden, die sich vom griechischen glyko „γλυκύς“ (gr. = süß) und vom griechischen kalyx „καλύξ“ (gr. = Mantel, Hülle) und nicht vom lateinischen calix (lateinisch = Kelch) ableitet.

Analog wurde bei allen anderen Begriffen stets der griechische Wortursprung glyko verwendet und auf das im angelsächsischen Sprachgebrauch übliche *glyco* verzichtet.

2 Einleitung

Jedes bisher bekannte Lebewesen¹ besteht aus mehr oder weniger ähnlich aufgebauten Zellen.^[1] Zusammengeschlossen können diese Zellen komplexe Systeme, wie etwa höhere Organismen bilden. Eine der erstaunlichsten Eigenschaften ist dabei die Fähigkeit der Zellen, innerhalb eines Gesamtsystems unterschiedliche Funktionen wahrzunehmen. So gibt es im menschlichen Organismus z. B. Nervenzellen, Organzellen und Muskelzellen, die im Wesentlichen immer die gleichen Bestandteile aufweisen. Was ist das Geheimnis hinter der Differenzierungsfähigkeit der Zellen im Verlauf ihrer zellulären Entwicklung? In diesem Zusammenhang machte A. MOSCONA im Jahr 1952 eine interessante Entdeckung: Nachdem er die Zellen eines Hühnerembryos durch Behandlung mit einer Enzymlyösung und vorsichtiges Schütteln getrennt hatte, lagerten sich die Zellen nach kurzer Zeit wieder zu einem Aggregat zusammen. In einem weiteren Versuch durchmischte er Leber- und Netzhautzellen. Bei der darauf folgenden Aggregatbildung wanderten die Netzhautzellen stets nach innen.^[2] Diese Versuche machen deutlich, dass Zellen die Fähigkeit besitzen zwischen „eigenem“ und „fremdem“ Zellmaterial zu unterscheiden. Gleichartige Zellen erkennen sich also und schließen sich zu Verbänden zusammen.^[3] Es findet offensichtlich ein Transfer von Informationen statt, der diesen Vorgang vermitteln kann.

Die intra- und interzelluläre Weitergabe von Informationen und deren Erhaltung über mehrere Zellgenerationen ist ein zentraler und notwendiger Aspekt des zellulären Lebens.^[4] Für diese Aufgabe sind vor allem die drei großen Biopolymerklassen verantwortlich: die Nukleinsäuren, die Proteine und die Glykokonjugate. Besonders die Bedeutung der Glykokonjugate wurde bis vor wenigen Jahrzehnten noch stark unterschätzt.^[5] Heutzutage ist jedoch bekannt, dass sie u. a. in Form von Glykolipiden und Glykopeptiden Schlüsselemente in einer Reihe zellulärer Prozesse sind. Hierfür sind die Zell-Zell-Erkennung, die körpereigene Immunantwort und die Fertilisation exemplarisch. Interessant ist dabei auch die Beobachtung, dass Tumorzellen ein verändertes extrazelluläres Kohlenhydratmuster aufweisen und sich so von normalen, gesunden Zellen unterscheiden. Von viralen und bakteriellen Pathogenen können Wirtszell-Glykokonjugate als Bindungsstelle genutzt werden, um an die Zelle zu adhäsieren und in der Folge möglicherweise in sie einzudringen und sie zu infizieren. Glykokonjugate sind damit sowohl nützliche als auch anfällige Bestandteile einer Zelle.^[6]

¹ Auf die Differenzierung von Synzytien wird hier verzichtet, da sie in diesem Zusammenhang nicht von Bedeutung sind.

Dass Nukleinsäuren Informationen molekular speichern können, gilt als etabliertes Wissen. Dass auch Zucker Informationen molekular verschlüsseln, ist noch nicht allgemein bekannt. Dabei sind Glykokonjugate gut als Informationsträger geeignet, was an ihrem speziellen Aufbau liegt.

Sie weisen in der Klasse der Naturstoffe die meisten Stereozentren auf engstem Raum auf. Neben linearen Strukturen können sie auch stark verzweigte Oligomere aufbauen, was sie von den linear gestalteten Proteinen und Nukleinsäuren unterscheidet. Ein quantitativer Vergleich zeigt: Die vier Bausteine der DNA erlauben „nur“ 4096 verschiedene hexamere Strukturen, die möglichen Informationseinheiten entsprechen. Zwanzig verschiedene Aminosäure-Monomere, ebenfalls als Hexamer, ergeben bereits $6,4 \cdot 10^7$ Informationseinheiten, während ein Kohlenhydrathexamer eine biologische Sprache mit umfangreichen $1,05 \cdot 10^{12}$ Informationseinheiten ergibt. Addiert man zu dieser Vielfalt noch die Möglichkeit von anomeren Stereoisomeren, verschiedenen Ringgrößen und Substitution der Hydroxylgruppen durch z. B. Sulfat-, Phosphat-, Acetyl- oder Methylgruppen, so entsteht ein extrem leistungsstarker Informationsspeicher – der als GLYKOCODE bezeichnet werden könnte.^[7-9]

Die molekularen Details der biologischen Prozesse und die Verknüpfung von Kohlenhydratstruktur und Informationskodierung bzw. –dekodierung sind jedoch in vielen Fällen noch unbekannt.^[10] Dies liegt vor allem in der strukturellen Vielfalt und Komplexität der Kohlenhydratwelt begründet, weshalb beispielsweise die Aufklärung der genauen Konformation von Glykokonjugaten und deren Zusammenspiel im molekularen Geschehen nicht unproblematisch ist. So kann zwar die Zuckerfolge eines Oligo- oder Polysaccharids in Sequenzierungsexperimenten mittels massenspektrometrischer Untersuchungen geklärt werden, doch eine Schlussfolgerung auf die dreidimensionale Erkennungseinheit für ein bestimmtes Rezeptor-Protein ist nicht möglich, da *O*- und auch *N*-Glykosylierungen zu viele räumliche Anordnungsmöglichkeiten implizieren. Zudem ist es schwierig, die für strukturelle und biologische Untersuchungen nötigen Substanzmengen zu beschaffen, da ihre Synthese sehr anspruchsvoll ist und die Natur kein einheitliches, sondern mikroheterogenes Material liefert.^[11]

Gerade wegen ihrer Mannigfaltigkeit und der stetig wachsenden Erkenntnisse über ihre Relevanz in biochemischen Prozessen, rücken die Glykonjugate immer stärker in den Fokus der biologischen, medizinischen und chemischen Forschung und bilden mittlerweile ein eigenes Forschungsfeld, die Glykobiologie.^[12,13] Innerhalb dieses Bereichs ist

besonders die Erforschung der komplizierten Zuckermoleküle auf Zellmembranen von Interesse.

2.1 Glykokonjugate als Bestandteile eukaryontischer und prokaryontischer Glykokalices: Aufbau und Funktionen

Jede eukaryontische Zelle ist auf der extrazellulären Seite ihrer Plasmamembran mit einer dichten Hülle komplexer Oligosaccharide bedeckt, der Glykokalyx. Diese bis zu mehr als 100 nm dicke Schicht ist in Form von Glykolipiden, Glykopeptiden und GPI-Ankern in der Zellmembran verankert.^[14] Auch prokaryontische Zellen besitzen eine Glykokalyx. Diese wird meist als „Kapsel“ bezeichnet, da sie das Bakterium mit einer voluminösen Hülle umschließt, die den Bakteriendurchmesser deutlich übertreffen kann. Darüber hinaus werden auch einige nicht kovalent gebundene Exopolysaccharide mit unter diese Bezeichnung gefasst.^[15] Die Funktionen der prokaryontischen Glykokalyx bestehen vor allem darin, Schutz vor Phagozytose und Austrocknung zu geben. Sie ist Nährstoffreserve und dient zur Adhäsion an Oberflächen. Bevor die Funktionen der eukaryontischen Glykokalyx diskutiert werden, soll zunächst eine genauere Beschreibung ihres molekularen Aufbaus folgen.

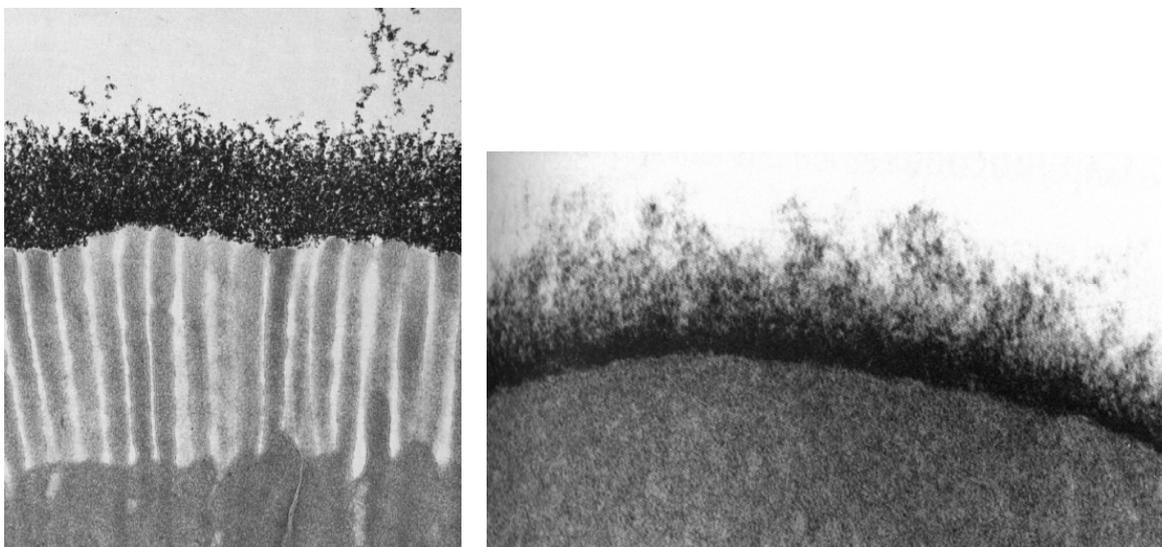


Abbildung 1: Elektronenmikroskop-Aufnahmen der Glykokalyx einer Katzen Darmzelle (links)^[16] und einer Erythrozytenzelle (rechts).^[17]

Die Zusammensetzung der Glykokalyx ist jeweils charakteristisch für einen Zelltyp. Sie variiert aber im Verlauf der Zellentwicklung und stellt einen Indikator für ihren physiologischen bzw. pathologischen Zustand dar.^[18-20] Die Kohlenhydratketten eukaryontischer Zelloberflächen sind hauptsächlich aus zwanzig verschiedenen

Monosacchariden aufgebaut, vor allem aus den monomeren Bausteinen L-Fucose, D-Galaktose, D-Mannose, D-N-Acetylneuraminsäure, D-N-Acetylgalaktosamin und D-N-Acetylglucosamin.^[21]

Unter der Bezeichnung Glykokonjugate werden die makromolekularen Verbindungen von Kohlenhydraten mit anderen Molekültypen, vor allem mit Proteinen (Glykoproteine) bzw. Lipiden (Glykolipide) zusammengefasst.^[9] Diese werden intrazellulär im rauen endoplasmatischen Retikulum und dem Golgi-Apparat der Zelle synthetisiert und anschließend mit Hilfe von Vesikeln zur Zelloberfläche transportiert.^[22,23] Der lipophile Teil eines Glykokonjugates wird dort in der Lipiddoppelschicht verankert, sodass die Saccharidstrukturen in den extrazellulären Raum ragen, wie in Abbildung 2 dargestellt. Bei den Glykoproteinen ist der Kohlenhydratteil mit dem Protein über *N*-glykosidische, *O*-glykosidische Bindungen oder im Fall von GPI-Anker (Glykosylphosphatidylinositolen-Anker) über einen Ethanolaminphosphat-Linker verknüpft.^[24] Die zum Sauerstoff analogen *S*-Glykopeptide kommen dagegen sehr selten vor. Die einzigen bisher bekannten Vertreter wurden auf der Membran von Erythrozyten und in Glukosinolaten gefunden.^[25,26] Bei den *N*-Glykanen sind die Kohlenhydratketten immer über das reduzierende Ende einer *N*-Acetylglucosamin-Einheit mit der Seitenkette von Asparagin verknüpft. Bei den *O*-Glykanen erfolgt die Bindung über die Hydroxylfunktionen von Serin und Threonin; der proteingebundene Saccharidteil ist hierbei variabler als im Fall der *N*-Glykane. Andere *O*-glykosidische Bindungen an Proteinseitenketten z. B. Verknüpfungen mit Tyrosin, Hydroxylysin und Hydroxyprolin sind eher selten.

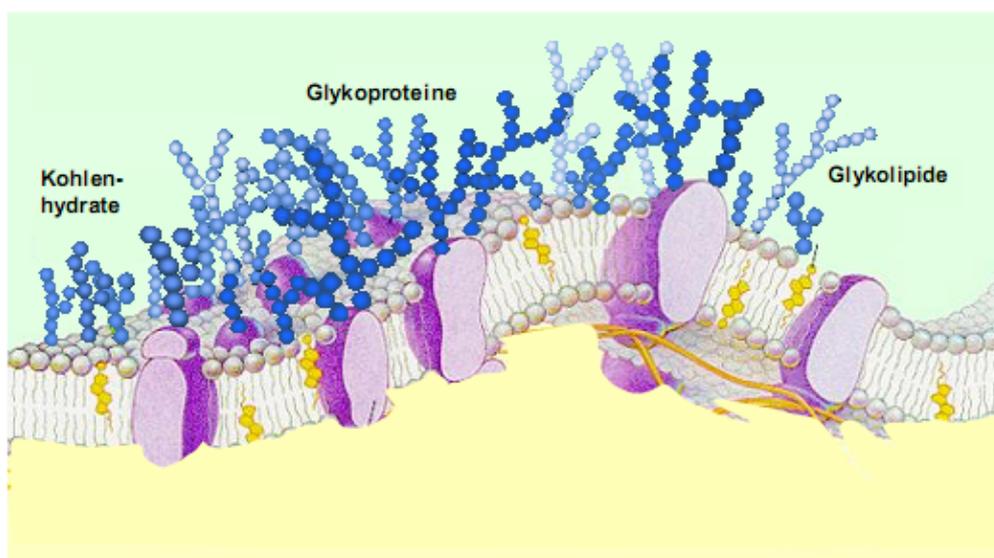


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Zellmembran.^[27]

Sowohl die *N*-Glykoproteine als auch die GPI-Anker besitzen biosynthetisch festgelegte Grundstrukturen. Allen *N*-Glykanen ist eine innere Pentasaccharid-Core-Struktur

gemeinsam, die aus zwei *N*-Acetylglukosamin- und drei Mannose-Einheiten besteht (**Abb. 3**).^[28] Ausgehend von dieser Kernstruktur bilden die *N*-Glykane weitere Verzweigungen aus. Je nach deren Natur werden sie in *high mannose*-, *complex*- oder *hybrid-type* Glykoproteine gegliedert.^[29] Bei den GPI-Ankern besteht die Kernstruktur aus vier Monosacchariden und einem Inositolmolekül, die auf der einen Seite über einen Phosphatidylethanolamin-Linker mit einem Protein verbunden sind und auf der anderen Seite über die Inositoleinheit mit dem in der Membran verankerten Lipidteil verknüpft sind (**Abb. 3**).^[30]

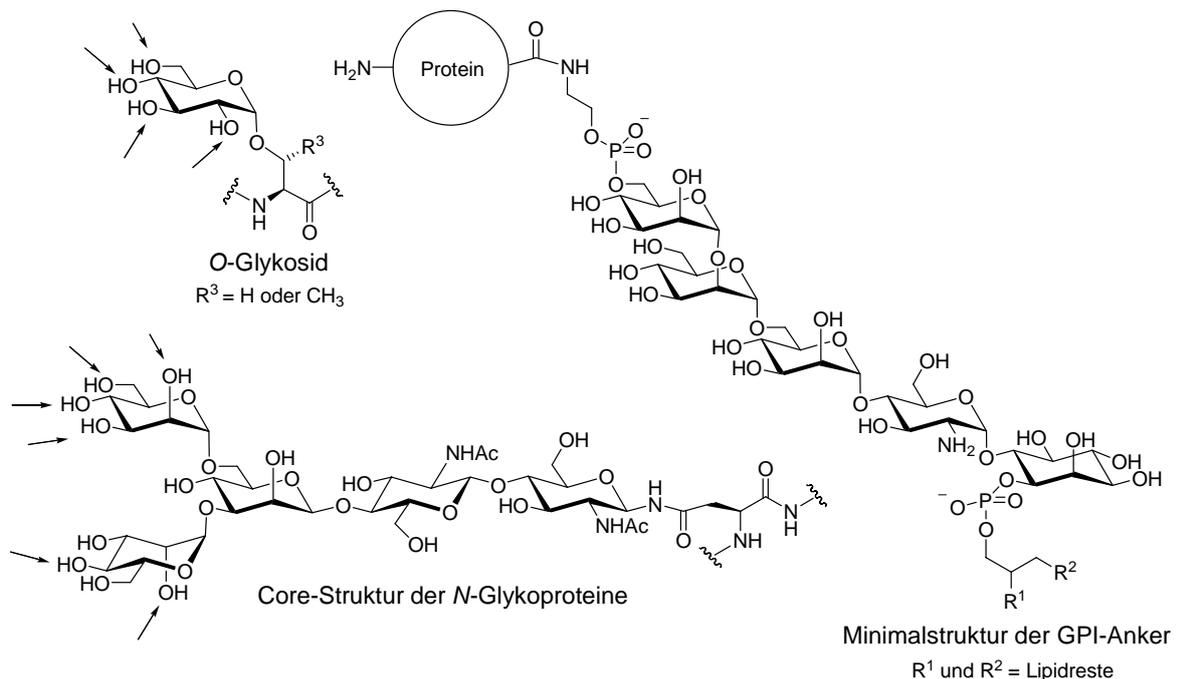
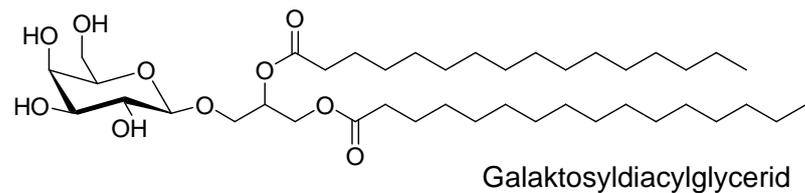


Abbildung 3: Minimalstrukturen der *N*-Glykoproteine und der GPI-Anker, sowie ein Beispiel für *O*-Glykan. Die Pfeile deuten mögliche Anknüpfungspunkte für weitere Kohlenhydratketten an.

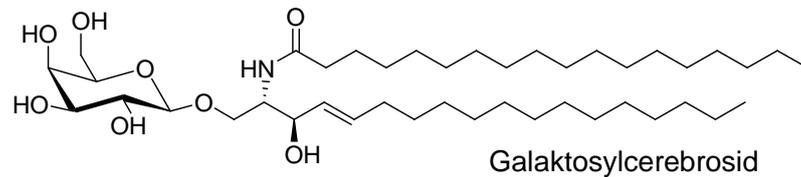
Glykolipide sind amphiphile, phosphorfremie Membranlipide, deren unpolare Lipidteil glykosidisch mit einem Mono- oder Oligosaccharidrest verbunden ist. Bekannte Vertreter der Glykolipide sind die Glykoglycerolipide und die Glykosphingolipide (**Abb. 4**).^[31] Die eher pflanzlichen Glykoglycerolipide bestehen aus einem 1,2-Diacylglycerinrest, dessen 3-Sauerstoffatom glykosidisch mit dem Kohlenhydratteil verbunden ist. Bei den in tierischen Zellen vorkommenden Glykosphingolipiden wird der unpolare Teil durch ein *N*-Acylsphinganinderivat gebildet, das sogenannte Ceramid.^[32,33]

Die einfachsten Vertreter der Glykosphingolipide sind die Cerebroside, die nur einen Glukose- oder Galaktoserest besitzen. Ganglioside dagegen weisen verzweigte Oligosaccharidstrukturen mit unterschiedlichen Zuckermonomeren auf, die sowohl im Kohlenhydratteil als auch im Ceramidabschnitt variieren können.^[34-36]

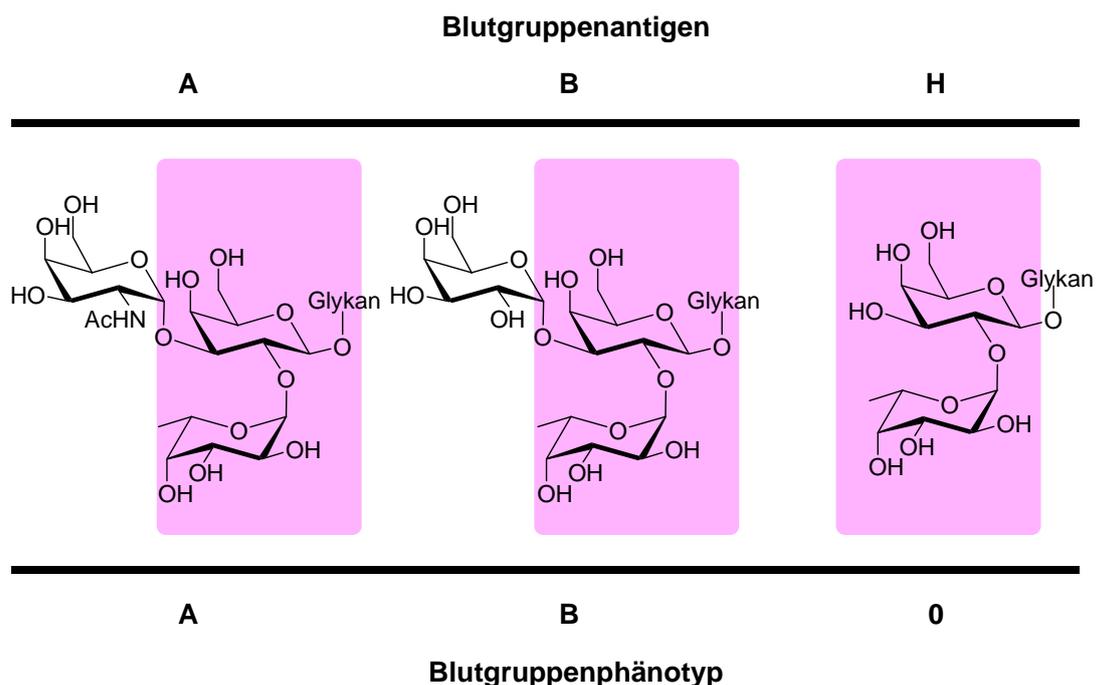
a) Glykoglycerolipid



b) Glykosphingolipid

**Abbildung 4:** Glykolipide der Zellmembran.

Der eukaryontischen Glykokalyx kommt große Bedeutung in der Zell-Zell-Kommunikation, bei der Signaltransduktion und der Zell-Zell-Erkennung zu (vide supra). Ein sehr anschauliches Beispiel für die Spezifizierung von Zelltypen durch Zucker ist die Unterscheidung zwischen den verschiedenen Blutgruppen. Schon minimale Änderungen in der zellspezifischen Glykosylierung der Erythrozyten bewirken die Differenzierung der entsprechenden Blutgruppenantigene (**Abb. 5**).^[37] So unterscheidet sich Blutgruppe A nur durch die *N*-Acetyl-Funktion an der 2-Position der α -D-Galaktose bestimmter Erythrozyten-Glykane von der Blutgruppe B, die hier eine Hydroxylfunktion trägt. Bereits dieser minimale Unterschied führt bei Transfusion der falschen Blutgruppe zur Antikörperbildung und tödlicher Hämagglutination.

**Abbildung 5:** Das A,B,0-Blutgruppensystem mit dazugehörigen Kohlenhydratepitopen auf den Erythrozyten.

Auch über das Blutgruppensystem hinaus verleiht die Glykokalyx einer Zelle Antigeneigenschaften. So kann gegen eindringende Fremdorganismen durch Ausbildung von Antikörpern gegen dessen Kohlenhydratstruktur vorgegangen werden. Auch die Adhäsion von Toxinen, Viren und Bakterien an die Glykokalyx einer Zelle kann zu Schädigungen und sogar zu Erkrankungen führen.^[38]

Viele der hier mit der Glykokalyx in Zusammenhang stehenden biochemischen Vorgänge basieren auf dem Wechselspiel von Zuckereinheiten und Proteinen. Um die Funktionsweise der Glykokalyx begreifen zu können, ist das Verständnis der dabei ablaufenden molekularen Mechanismen essentiell. Im Folgenden wird der aktuelle Stand des Wissens detaillierter beschrieben.

2.2 Kohlenhydrat – Protein – Wechselwirkungen

In der Natur existiert eine Vielzahl an Proteinen, die mittels nichtkovalenter Wechselwirkungen mit Kohlenhydraten interagieren können. Zu diesen gehören die kohlenhydratspezifischen katalytisch aktiven Enzyme, kohlenhydratspezifische Immunglobuline sowie die Lektine und Selektine.

Lektine (von lat. *legere*: aufsammeln) stehen momentan im Fokus vieler wissenschaftlicher Untersuchungen, da sie auf Grund ihrer vielfältigen Eigenschaften zur Untersuchung und Aufklärung von Funktionen und Strukturen komplexer Saccharide, besonders von Glykoproteinen sehr geeignet sind. So sind sie speziell beim Erkennen von Veränderungen des Kohlenhydratmusters auf Zelloberflächen, die während physiologischer oder pathologischer Prozesse auftreten, äußerst nützlich. Lektine erkennen und binden spezifisch Monosaccharid-, Oligosaccharid- oder Polysaccharid-Partialstrukturen durch schwache, reversible Kohlenhydrat-Rezeptor-Interaktionen. Sie besitzen aber keine katalytische Aktivität und sind im Gegensatz zu Antikörpern kein Teil der Immunantwort. Häufig handelt es sich um Membranproteine, deren kohlenhydraterkennende Domänen (CRD, engl.: *carbohydrate recognition domain*), in den extrazellulären oder luminalen Raum ragen. Lektine kommen aber auch gelöst vor, zum Beispiel im Serum und im Interzellularraum. Die ersten pflanzlichen Lektine wurden bereits 1888 von P. H. STILLMARK beschrieben, gefolgt von der Entdeckung tierischer (1902, S. FLEXNER, H. NOGUCHI), bakterieller (1902 R. KRAUS) und viraler (1941, G. K. HIRST) Vertreter,^[39] so dass sie heutzutage als ubiquitär gelten. Die Funktion der pflanzlichen Lektine ist noch weitgehend unklar. Die wichtigsten Funktionen tierischer Lektine scheinen, nach heutiger

Erkenntnis, der Zell-Zell-Kontakt und die Zell-Differenzierung zu sein. Mikroorganismen nutzen eigene Lektine oft zur Adhäsion an Oberflächen. Die einzelnen Lektine unterscheiden sich stark in ihrer Größe, Struktur, im molekularen Aufbau und besonders in der Natur ihrer CRD.

Viele Lektine besitzen mehr als eine Bindungsdomäne und können dadurch Querverbindungen zwischen Zellen aufbauen. Das im Serum höherer Säugetiere vorkommende *Mannose Binding Proteine-A* (MBP-A) (**Abb. 6**) besitzt beispielsweise drei Bindungsstellen für Kohlenhydrate.^[40] Hierbei ist die Interaktion einer der drei Bindungsstellen des MBP-A mit einer einzelnen Mannose-Einheit vergleichsweise schwach. Eine starke Bindung entsteht nur, wenn alle drei Bindungsdomänen eines MBP-



Abbildung 6: Das trimere MBP-A-Lektin mit drei gebundenen Kohlenhydrat-Liganden.^[40]

A-Moleküls mit Liganden gleichzeitig wechsel-wirken können, wie z. B. in Interaktionen mit einer mannosereichen Region. Der Abstand der Bindungseinheiten lässt eine solche Trimer-Bildung mit Säugetieroligosacchariden nicht zu. Eine starke Trimer-Bindung ist nur mit den mannosereichen Kohlenhydratstrukturen von Pilzen und Bakterien möglich, die in den Organismus eingedrungen sind. Das MBP-A-Lektin erkennt so die Pathogene im tierischen Organismus als feindlich, agglutiniert diese und leitet damit die Neutralisation der Fremdorganismen ein.^[41] Diese Eigenschaft des „Ausflockens“ (Agglutination) wird oft auch zur Detektion und Charakterisierung von Lektinen in biologischen Testsystemen ausgenutzt. Besonders bekannt ist die Hämagglutination, die beim Vermischen von Erythrozyten nichtkompatibler Blutgruppen auftritt. Ein anderes bekanntes Agglutinationsbeispiel ist das Entfernen gealterter Erythrozyten aus dem Blutkreislauf. Alte Erythrozyten besitzen wesentlich weniger Sialinsäuremoleküle auf ihrer Oberfläche und diese Veränderungen führen dazu, dass die Asialoglykoproteinrezeptoren der Leber die gealterten Erythrozyten binden und aus dem Blutkreislauf entfernen können.^[42]

Ursprünglich wurden Lektine anhand ihrer höchsten Zuckerspezifität in fünf Gruppen unterteilt: 1) D-Man-spezifisch, 2) D-Gal- und D-GalNAc-spezifisch, 3) D-GlcNAc-spezifisch, 4) L-Fuc-spezifisch und 5) D-N-Acetylneuraminsäure-spezifisch. Da diese

Unterteilung nur einzelne Kohlenhydrate berücksichtigte, viele Lektine aber spezifisch nur mit Di-, Tri- oder Oligosacchariden interagieren, wurde diese Klassifizierung später erweitert. Heutzutage unterteilt man nach Aminosäuresequenz und 3D-Struktur, wobei Lektine vom C-, P-, I- und S-Typ die häufigsten Vertreter darstellen (**Tab. 1**).

Tabelle 1: Die wichtigsten Vertreter der Lektine nach A. Varki. ^[43]

Typ	Typische Liganden	Eigenschaften	Funktion
I-Typ	sialylierte Liganden	--	Beteiligung bei Blutbildung, u. a. biologischen Prozessen
P-Typ	Mannose-6-Phosphat	Ca ²⁺ -abhängig	Glykoproteintransport und -abbau
S-Typ	Galaktoside	Thiol-abhängig	Zelladhäsion
C-Typ	Variabel	Ca ²⁺ -abhängig	Zelladhäsion, angeborene Immunität

Die C-Typ-Lektine bilden die größte Gruppe der tierischen Lektine. Viele Vertreter der C-Typ-Lektine erkennen vor allem terminale Saccharidstrukturen. Dabei komplexieren die in diäquatorialer Konfiguration stehenden Sauerstoffatome an Position 3 und 4 des Zuckerringes immer über ein Ca²⁺-Ion mit dem Protein. Es entsteht ein trimerer Komplex aus Calcium-Ion, Protein und dem Zuckerliganden (s. **Abb. 7**).

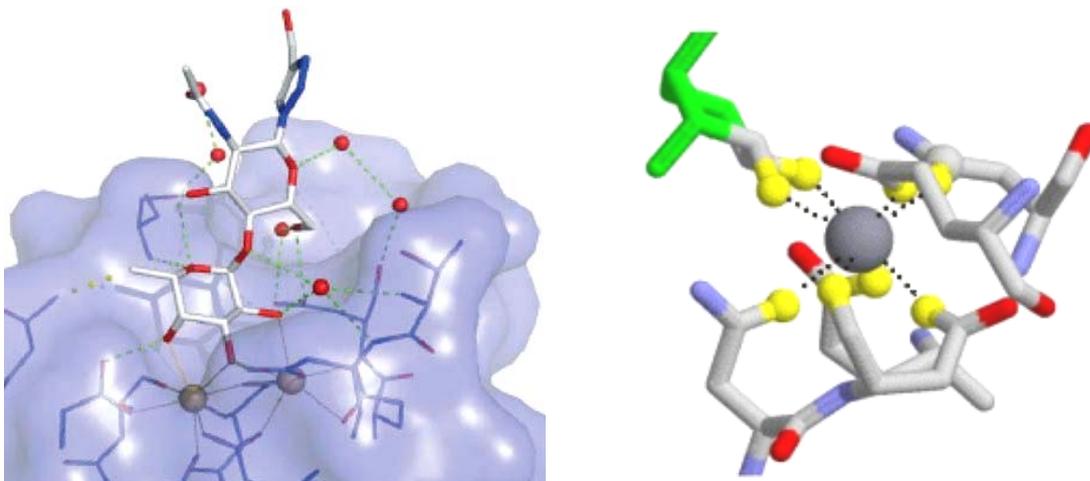


Abbildung 7: Links: Calcium-Ionen abhängige Bindung von Mannose an eine CRD. Rechts: CRD mit den 3,4-Hydroxylgruppen eines Kohlenhydrats und dem beteiligtem Ca-Ion. ^[44]

Die Klasse der C-Typ-Lektine wird nochmals in a) endozytotische Lektine, b) Kollektine und c) Selektine unterteilt. Endozytotische Lektine sind membrangebundene Rezeptoren

mit einer breiten Kohlenhydratspezifität. Wichtige Vertreter sind die mannosebindenden Proteine der Makrophagen oder der schon diskutierte Asialoglykoproteinrezeptor. Im Gegensatz zu den endozytotischen Lektinen sind Kollektine lösliche Proteine des Serums. Von den sechs bekannten Vertretern dieser Gruppe sind die Mannose-bindenden-Lektine (MBPs) (vgl. **Abb. 6**) am besten untersucht. Selektine sind Lektine, die so genannt wurden, weil sie selektive Kontakte zwischen Zellen bewirken können. Sie werden in drei Untergruppen geteilt, in E-, P-, L-Selektine und spielen eine wichtige Rolle im Frühstadium von Entzündungsantworten. Sie interagieren mit Sialyl-Lewis^x-Einheiten der Leukozytenoberfläche. Dies führt zur Abbremsung der Leukozyten im Blutstrom, so dass diese zielgenau am Ort der Entzündung rekrutiert werden können.

Trotz des großen Detailwissens, das über Lektine vorhanden ist, ist ihre Interaktion mit Kohlenhydratliganden bisher nur ansatzweise verstanden. Ein wichtiger Aspekt, der dem Verständnis der Kohlenhydrat-Protein-Interaktionen dienen kann, ist das Konzept der Multivalenz.

2.2.1 Bindungsmechanismen und Multivalenzeffekte

Alle Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen basieren auf verschiedenen nichtkovalenten oder sekundären Wechselwirkungen, wie beispielsweise Wasserstoffbrückenbindungen, Ion-Dipol-Wechselwirkungen, π - π - oder CH- π -Wechselwirkungen. Häufig kann dabei eine über Wassermoleküle vermittelte Wechselwirkung beobachtet werden. Dabei ist eine einzelne Zuckerligand-Protein-Wechselwirkung relativ schwach. Sie besitzt Dissoziationskonstanten im millimolaren oder hohen mikromolaren Bereich. In der Natur werden häufig multiple Interaktionen zwischen Zucker- und Rezeptoreinheiten ausgebildet. So gelingt es, die Stärke (Avidität) und die Spezifität der Rezeptor-Ligand-Wechselwirkung zu erhöhen.^[45] Die Vorteile der Multivalenz für biochemische Systeme sind zahlreich, da Multivalenzeffekte zwischen den verschiedenen biologischen Einheiten auftreten können. Multivalenz molekularer Interaktionen ermöglicht beispielsweise den konformellen Kontakt zwischen biologischen Oberflächen, verhindert das Auftreten von Scherkräften bei Zelladhäsionsprozessen und übernimmt die Feinsteuerung biochemischer Aktionen und Signale.^[46] Führt hierbei eine lineare Erhöhung der Zahl an Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen zu einer exponentiellen Erhöhung der Avidität, so spricht man vom *Glykocluster-Effekt*, der zuerst 1978 von Y. C. LEE, anhand der Untersuchung einfacher Glykocluster mit Leberlektinen, beschrieben wurde.^[47]

Um eine quantitative Beschreibung von Multivalenzeffekten zu ermöglichen, führte G. M. WHITESIDES die Parameter α als Maß der Kooperativität und β als Maß des Verstärkungsfaktors ein. So beschreibt die Kooperativität, wie das Binden eines ersten Liganden die Affinität des Rezeptors zur Bindung eines weiteren Liganden beeinflusst.^[48,49] In der biochemischen Nomenklatur werden die polyvalenten Wechselwirkungen als positiv kooperativ (synergistisch, $\alpha > 1$), nicht kooperativ (additiv, $\alpha = 1$) oder negativ kooperativ (interferierend, $\alpha < 1$) beschrieben. Der Parameter α ist hierbei definiert als:

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

Die durchschnittliche Gibbs-Wechselwirkungsenergie zwischen einem Liganden und einem Rezeptor in einer polyvalenten Wechselwirkung (ΔG^{poly}) kann größer, kleiner oder gleich der monovalenten Wechselwirkung (ΔG^{mono}) sein. Hierbei gilt nun:

$$\Delta G^{poly} = \alpha \Delta G^{mono},$$

wobei ΔG^{poly} die durchschnittliche freie Bindungsenthalpie jeder teilnehmenden Bindung der multivalenten Bindung und ΔG^{mono} die Bindungsenthalpie mit nur einem Liganden ist. Da aber die Bindungskonstante (K^{poly}) multivalenter Systeme (die Avidität) oft deutlich von der monovalenten Bindungskonstante (K^{mono}) abweicht und die Anzahl der einzelnen Bindungen (N) in der Regel nicht bekannt ist, reicht α zur Beschreibung multivalenter Wechselwirkungen nicht aus. Deshalb wurde ein weiterer empirischer Faktor eingeführt, der die Bindungsverstärkung von multivalenten Systemen beschreibt, der Verstärkungsfaktor β :

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

Der Verstärkungsfaktor β kann nun auch bei unbekanntem N und $\alpha \leq 1$ Multivalenzeffekte quantifizieren, da er den Quotienten der gemessenen multivalenten und monovalenten Bindungskonstante bildet.

Auf molekularer Ebene gibt es verschiedene Möglichkeiten, wie die Bindung multivalenter Liganden an Rezeptoren stattfindet und zu Bindungsverstärkung führt (**Abb. 8**).^[50]

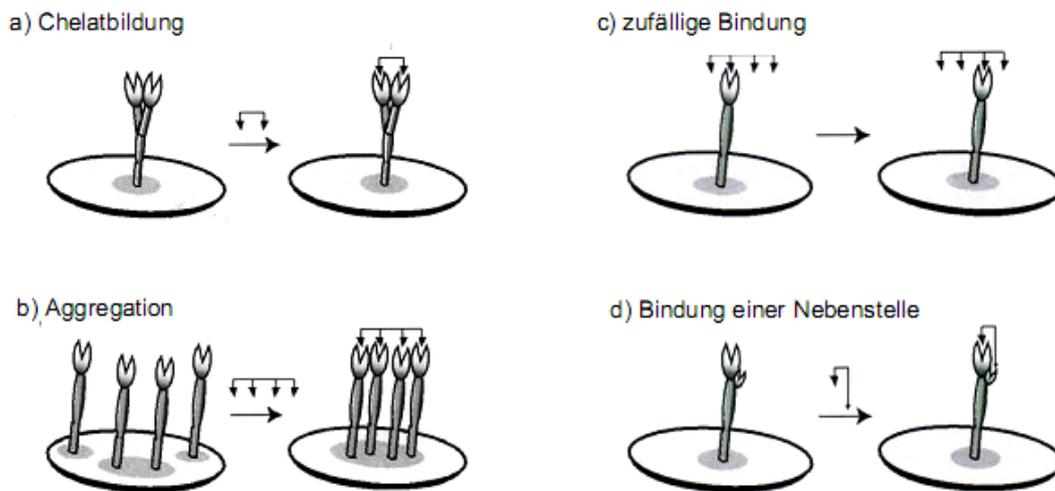


Abbildung 8: Beispiele für Wechselwirkungen zwischen multivalenten Liganden und verschiedenen Rezeptoren^[50]

Bei der Chelatbildung (**Abb. 8a**) besetzt ein Ligand mit mehreren Bindungseinheiten gleichzeitig mehrere Bindungsstellen eines oligomeren Rezeptors. Hierbei wird die notwendige Translationsentropie während des ersten Kontaktes zwischen Rezeptor und Ligand aufgebraucht, weitere Bindungen können dann ohne zusätzlichen Entropieaufwand gebildet werden.^[51] Dies gilt auch für Nebenbindungsstellen, die bei einigen Rezeptoren existieren (**Abb. 8d**). Bei der Aggregation (**Abb. 8b**) kann ein oligomerer Ligand bewirken, dass sich mehrere Rezeptoren zu einem Rezeptorkomplex zusammenschließen, was beispielsweise Signalkaskaden auslösen kann. Im Fall der zufälligen Bindung (**Abb. 8c**) ist nach der Auflösung einer Bindung die Wahrscheinlichkeit, dass gleich der nächste Ligand an den Rezeptor gebunden wird, auf Grund der großen Anzahl an unmittelbar benachbarten Liganden groß.^[50] In der Praxis ist es jedoch sehr kompliziert, zwischen den einzelnen Mechanismen, die zu einem Multivalenzeffekt führen können, zu unterscheiden, da darüber hinaus auch noch Variationen des klassischen Chelat-Effekts auftreten können, wie z. B. der *cross-linking* Cluster-Effekt (**Abb. 9**).^[52] Mit diesem Begriff wird der Mechanismus bezeichnet, nach dem ein oligomerer Ligand nicht nur an einem oligomeren Rezeptor bindet, sondern bei hoher Rezeptorkonzentration noch weitere Quervernetzungen ausbildet und es zur Netzbildung kommt.^[53] Die Komplexität dieser Vorgänge wird durch die Ergebnisse der Arbeitsgruppe LINDHORST unterstrichen, die bei der Untersuchung von Glykoclustern als Liganden für das bakterielle FimH keinen reinen Multivalenz-Effekt beobachten konnten und so einen makromolekularen Effekt als alternativen Mechanismus vorschlugen.^[54]

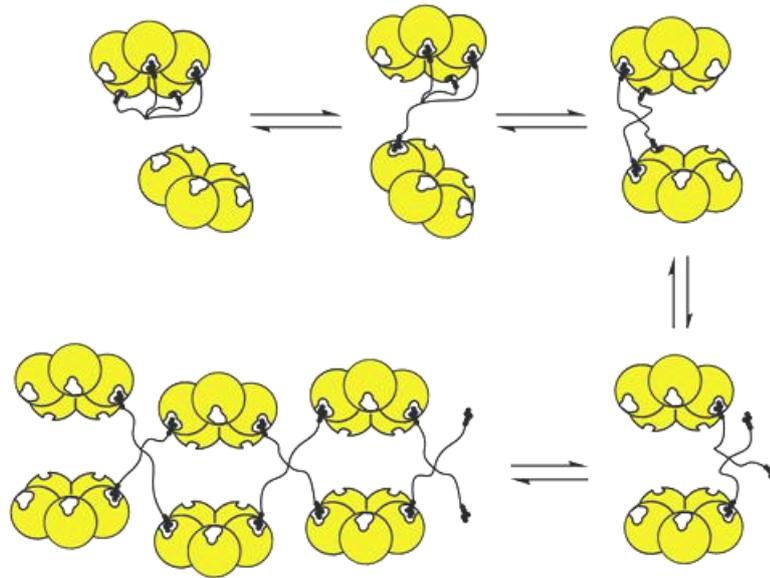


Abbildung 9: Schematische Darstellung des *cross-linking* Cluster-Effekts.^[53]

Trotz unzähliger Erklärungsansätze ist das Multivalenz-Prinzip in der Glykowissenschaft bis heute noch nicht vollständig verstanden. Die Versuche, dieses Phänomen sowohl theoretisch als auch experimentell aufzuklären und zu beherrschen, werden durch die Komplexität der beteiligten molekularen Systeme erschwert.^[55] In diesem Forschungsfeld können z. B. Glykomimetika wichtige Werkzeuge für systematische Untersuchungen sein.

2.2.2 Glykomimetika

Für die Struktur-Eigenschaftsuntersuchungen von Kohlenhydraten und Proteinen werden genau definierte Kohlenhydratstrukturen in ausreichender Menge und hoher Reinheit benötigt. Das gelingt allerdings nicht für alle Substanzarten problemlos. So lässt sich die Festphasensynthese von Oligosacchariden keineswegs so leicht automatisieren wie die Synthese von Proteinen und Nucleinsäuren.^[4] Dies liegt zum größten Teil daran, dass eine selektive Synthese unter Berücksichtigung der Stereochemie nur mit Hilfe von verschiedenen Aktivierungsmethoden und durch Nutzung eines komplexen Schutzgruppenarsenals möglich ist. Daher werden zur Aufklärung von biologischen Bindungsprozessen immer häufiger Molekülstrukturen verwendet, die natürliche Kohlenhydratstrukturen imitieren, aber einfacher zu synthetisieren sind. Diese synthetischen, artifiziellen Systeme werden Glykomimetika genannt.^[56] Neben der eher unkomplizierten Synthese können die Glykomimetika je nach Einsatzart noch weiteren Ansprüchen genügen. Sie können bezüglich ihrer Affinität zum Rezeptor optimiert werden und weisen dann z. B. verbesserte biologische Aktivität auf oder zeigen verbesserte *in*

in vivo-Stabilität gegenüber enzymatischem Abbau sowie verbesserte pharmakologische Eigenschaften im Vergleich mit den natürlichen Vorbildern.

Biologische Untersuchungen mit Glykomimetika haben ergeben, dass nicht unbedingt eine strukturelle Ähnlichkeit, sondern eine große Funktionsverwandtschaft zwischen den natürlichen Vorbildern und ihren Mimetika vorhanden sein muss, damit mindestens die gleiche biologische Wirkung erzielt werden kann. Ein Beispiel für diesen Ansatz stellt das Mimetikum für Lewis a von R. Roy et al. (**Abb. 10**) dar, das in Titrationskalorimetrieuntersuchungen mit den Lektinen des Bakteriums *Pseudomonas* ebenso effektiv wie das natürliche Vorbild wirkte. ^[44]

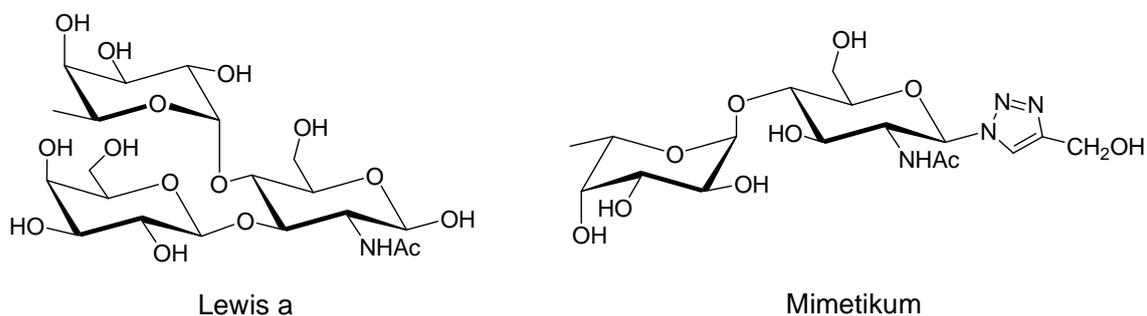


Abbildung 10: Beispiel für ein Glykomimetikum mit gleichen Ligand-Eigenschaften wie das natürliche Vorbild Lewis a. ^[44]

Somit können die natürlichen Verknüpfungen, wie sie in Oligosacchariden und Glykokonjugaten vorkommen durch unnatürliche und der nichtbindungsrelevante Teil des Moleküls durch einfachere Strukturen ersetzt werden. Dies eröffnet zahlreiche Möglichkeiten in der Glykowissenschaft. Glykomimetika können in mehrere Klassen unterteilt werden (s. **Abb. 11**).

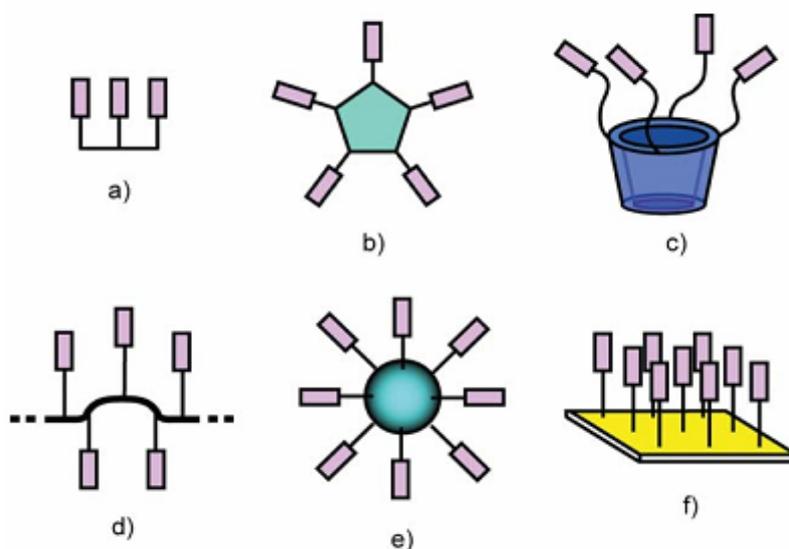


Abbildung 11: Glykomimetika-Typen a) Glykocluster b) cyclische Glykocluster c) modifizierte Cyclodextrine/Calixarene d) Polymere/Peptide e) Nanopartikel/Dendrimere f) Selbstorganisierende Monoschichten (SAMS). ^[45]

Unter der Überschrift *Glykocluster* werden alle Glykomimetika mit einem geringen Molekulargewicht, definierter Struktur und wenigen Bindungsstellen sowie geringer Symmetrie zusammengefasst (**Abb. 11a** und **b**).^[7] Ebenfalls eine definierte Struktur, aber eine höhere Anzahl an Bindungsstellen und eine höhere Symmetrie besitzen die *Glykodendrimere* (**Abb. 11e**). Eine dritte und vierte Gruppe von Mimetika bilden abgewandelte *Glykopeptide* und die *Glykopolymere* (**Abb. 11d**). Die an einem Polymerrückgrat gebundenen Kohlenhydrateinheiten der *Glykopolymere* sind polydispers und können hohe Molekulargewichte besitzen. Des Weiteren sind Glykomimetika basierend auf dreidimensionalen supramolekularen Grundkörpern (**Abb. 11c**) und auch selbstorganisierende Monoschichten (**Abb. 11f**) bekannt. Allgemein werden synthetische Kohlenhydratmimetika, besonders artifizielle Glykoproteine, auch oft als Neoglykokonjugate bezeichnet.^[57]

Die aufgezählten architektonischen Möglichkeiten und die Vorteile von Glykomimetika zeigen, wie nützlich und wichtig die Entwicklung neuer Mimetika auf der Basis von Kohlenhydraten ist. Da multivalente Kohlenhydratstrukturen auch im Zusammenhang der Entstehung von Erkrankungen eine Rolle spielen, können die gleichen oder ähnliche Strukturen darüber hinaus neue Wege in der Therapie und Diagnostik weisen.

3 Zielsetzung

Glykomimetika können dazu beitragen die Funktion und die Wirkungsweise der Glykokalyx besser zu verstehen und diese Erkenntnisse womöglich auch therapeutisch zu nutzen. Mittels einer möglichst vereinfachten Strukturkonzeption und einer praktischen Syntheseplanung können solche Glykomimetika in ausreichender Menge und in interessanter Strukturvielfalt hergestellt werden und stehen dann für unterschiedliche biologische Untersuchungen bereit.

Das Ziel der vorliegenden Dissertation besteht in diesem Zusammenhang darin, multivalente Glykomimetika zu synthetisieren, die in verschiedenen biologischen Systemen evaluiert werden können und zur Aufklärung der Funktion der Glykokalyx beitragen sollen.

Das Projekt wurde in drei Teilbereiche gegliedert: Im ersten Teil sollte eine Bibliothek von mannosidischen Glykoaminosäuren aufgebaut werden, die im zweiten Teil zur Synthese von unterschiedlichen mannosidischen Glykopeptiden an fester Phase genutzt werden sollte. Im dritten Teil sollten Moleküldynamik-Simulationen genutzt werden, um die Wechselwirkungen der synthetischen Glykopeptide in und mit Wasser abschätzen zu lernen.

Die Projektdetails werden den folgenden Ergebniskapiteln jeweils einleitend vorangestellt.

4 Mannosidische Glykoaminosäuren

4.1 Einleitung

Glykopeptide existieren in allen lebenden Organismen. Ihr Kohlenhydratanteil variiert von weniger als 1% in einigen Kollagenen bis zu mehr als 99% in Glykogen.^[24] Die Kohlenhydratstrukturen der Glykoproteine sind wichtige Liganden und Rezeptoren für eine Vielzahl biologischer Prozesse. Des Weiteren schützt Glykosylierung ein Protein vor Proteolyse, stabilisiert die Konformation eines Peptids, beeinflusst die Proteinfaltung und verändert seine physikochemischen Eigenschaften.^[58]

Während der zelluläre Syntheseapparat die Synthese verschiedener Glykoproteine perfekt beherrscht, ist die *in vitro*-Synthese von Glykopeptiden auf Grund der Polyfunktionalität der Edukte und der Zielmoleküle sowie des parallelen Auftretens funktioneller Gruppen gleicher Reaktivität äußerst anspruchsvoll.^[59] Besonders die Synthese größerer, genau definierter Glykopeptidstrukturen ist auf nasschemischem Weg wegen der häufigen Aufreinigungsschritte sehr umständlich. Im Jahr 1963 reformierte R. B. MERRIFIELD dieses Verfahren durch die Entwicklung der polymergebundenen Peptidsynthese.^[60,61] Trotz zahlreicher Weiterentwicklungen, besonders im Bereich der Kupplungsreagenzien und der Festphasen-Materialien, entspricht das grundsätzliche Synthese-Schema für die Peptid-Festphasensynthese immer noch dem damals vorgeschlagenen Verfahren (**Abb. 12**).

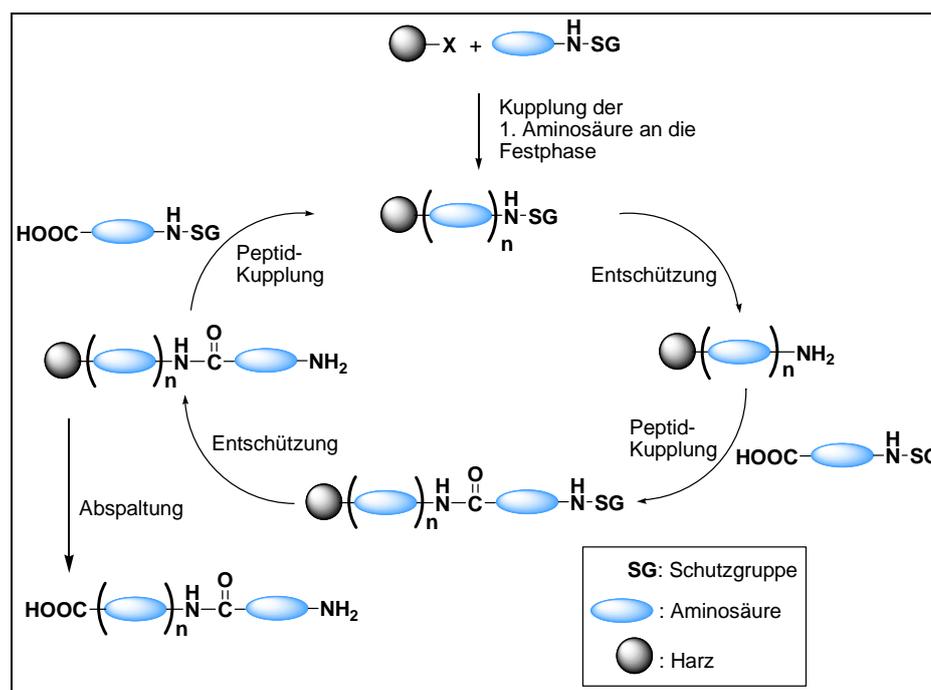


Abbildung 12: Syntheschema für eine Peptid-Festphasensynthese.

Der Synthese-Zyklus einer Peptid-Festphasensynthese beginnt mit der Verknüpfung einer ersten Aminosäure mit der polymeren Trägersubstanz über die α -Carboxylgruppe der Aminosäure. Alle weiteren funktionellen Gruppen sind dabei orthogonal geschützt. Die Verknüpfung erfolgt jedoch nicht direkt mit dem Polymer, sondern über einen Linker, der später die Abspaltung des fertigen Peptids unter definierten Bedingungen ermöglicht. Anschließend wird die α -NH₂-Schutzgruppe der festphasengebundenen Aminosäure entfernt, die danach mit der nächsten Aminosäure umgesetzt werden kann. Dieser Prozess wird entsprechend der zu synthetisierenden Sequenz wiederholt und mit der Abspaltung des Peptids vom Harz abgeschlossen. Die beschriebene Festphasenpeptidsynthese (SPPS) besitzt viele Vorteile:

- Überschüsse und Verunreinigungen können gewaschen werden;
- Kontrolle auf vollständigen Umsatz ist möglich;
- Hohe Ausbeuten können durch die Wiederholung eines Kupplungsschritts bei unvollständigen Umsatz gewährleistet werden;
- Löslichkeits- und Aufreinigungsprobleme sind minimiert;
- Durch die Nutzung von Syntheserobotern ist der Prozess automatisierbar.

Auf die breite Palette der einsetzbaren Polymere und Kupplungsreagenzien wird weiter unten eingegangen.

Glykopeptide sind für den Aufbau multivalenter Glykomimetika besonders gut geeignet. Die Vorteile gegenüber anderen Architekturen sind vielfältig:

- Die Einstellung des Abstandes zwischen den Kohlenhydrateinheiten ist auf Grund ihrer sequenziellen Synthese leicht möglich. Hierdurch können beispielsweise Bindungseffekte wie die Aggregatbildung, der Chelateffekt oder die Bindung an Rezeptor-Nebenstellen nachgewiesen werden;
- Der Einsatz unterschiedlicher Linker zwischen dem Peptidgrundgerüst und dem Kohlenhydrateil bietet Variationsmöglichkeiten bezüglich konformationeller Flexibilität, bezüglich des Abstands zwischen Peptid- und Kohlenhydrateil und erlaubt Variationen der chemischen Eigenschaften. So können Vororientierungen des Kohlenhydrats oder Wechselwirkungen des Aglykons mit der Bindungsdomäne erzielt werden;
- Komplexe Oligosaccharidsynthesen über die Knüpfung glykosidischer Bindungen entfallen. Die nötigen Glykosylierungsreaktionen sind auf die Synthese einfacher Bausteine beschränkt;

- Eine große Variationsbreite der Syntheseprodukte ist auf Grund der vielen unterschiedlichen einsetzbaren Glykoaminosäure-Bausteine gegeben;
- Eine Verstärkung der Bindung zu einem Rezeptor ist auf Grund von Wechselwirkungen zwischen dem Peptidrückgrat und der umgebenden Oberfläche der Bindungsdomäne möglich.

Ein entscheidender Schritt bei der chemischen Synthese von Glykopeptiden ist die Zucker-Dekorierung der Peptidstruktur. Hierfür sind zwei Synthesewege möglich. Zum einen ist die Synthese des Zielmoleküls an fester Phase durch den Einsatz von Glykoaminosäure-Bausteinen möglich, zum anderen kann die nachträgliche Glykosylierung eines fertigen Peptids in Lösung oder an der festen Phase erfolgen. Durch maßgeschneiderte Glykopeptide können natürliche komplexe Oligosaccharidstrukturen einfach mimikriert werden (**Abb. 13**). Hierfür werden, z. B. für die Komplexierung mit Mannose-spezifischen Lektinen lediglich die für die Erkennung wichtigen terminalen Mannoseeinheiten bei der Synthese des Mimetikums berücksichtigt.

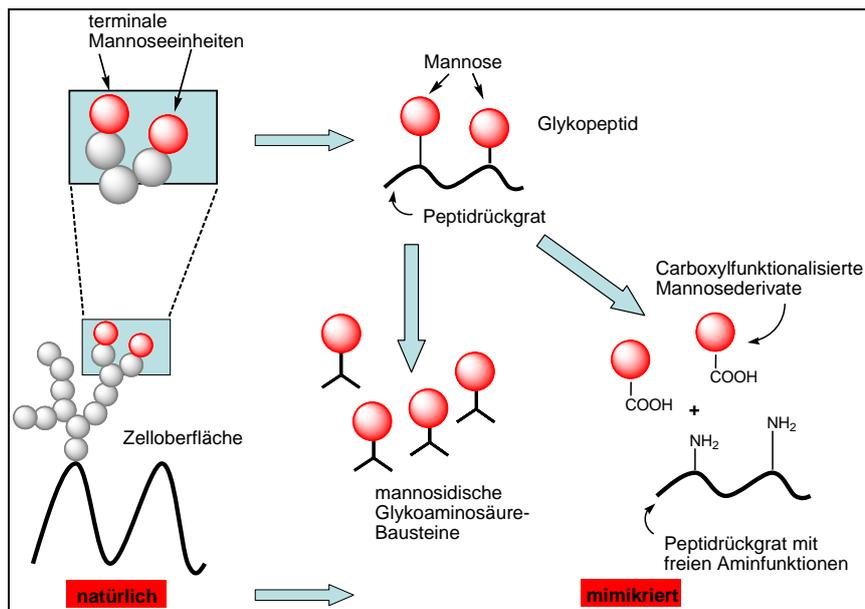


Abbildung 13: Schema der Mimikrierung von Oligosaccharidstrukturen mit Glykopeptiden.

Mannosylierte Glykopeptide sind wie weiter oben beschrieben auf zwei Wegen darstellbar. Nachträgliches Glykosylieren eines fertigen Peptids ist für den Aufbau größerer Glykopeptide nicht geeignet, für die Darstellung von kleineren Glykopeptiden mit einfachen Saccharidresten ist es jedoch praktikabel. Als problematisch erweist sich vor allem die schlechte Löslichkeit peptidischer Strukturen in vielen organischen Lösungsmitteln. Damit verbunden sind unvollständige Glykosylierung, Aufreinigungsprobleme und schlechte Ausbeuten.

Heutzutage wird daher meist der schrittweise Aufbau von Glykopeptiden an fester Phase unter Einsatz von Glykoaminosäure-Bausteinen als die Methode der Wahl favorisiert. Hierbei stellt die Bereitstellung der Glykoaminosäure-Bausteine in ausreichender Menge und Reinheit eher eine größere Schwierigkeit dar als die eigentliche SPPS. Im Rahmen dieser Arbeit wurden beide Synthesewege zur Darstellung von Glykopeptiden probiert und verglichen. Der schrittweise Aufbau an fester Phase wird im Folgenden als „Methode 1“ und die Methode der nachträglichen Glykosylierung als „Methode 2“ (**Abb. 14**) bezeichnet. Im Zentrum der Synthesen stand Mannose, da Mannose in natürlichen Glykopeptiden des hochmannosidischen Typs sehr häufig vertreten ist und für Mannose-spezifische Erkennung Testsysteme in unserer Arbeitsgruppe etabliert und von Interesse sind. So wurden die synthetisierten Glykopeptide später als multivalente Liganden für Mannose-spezifische Lektine untersucht.

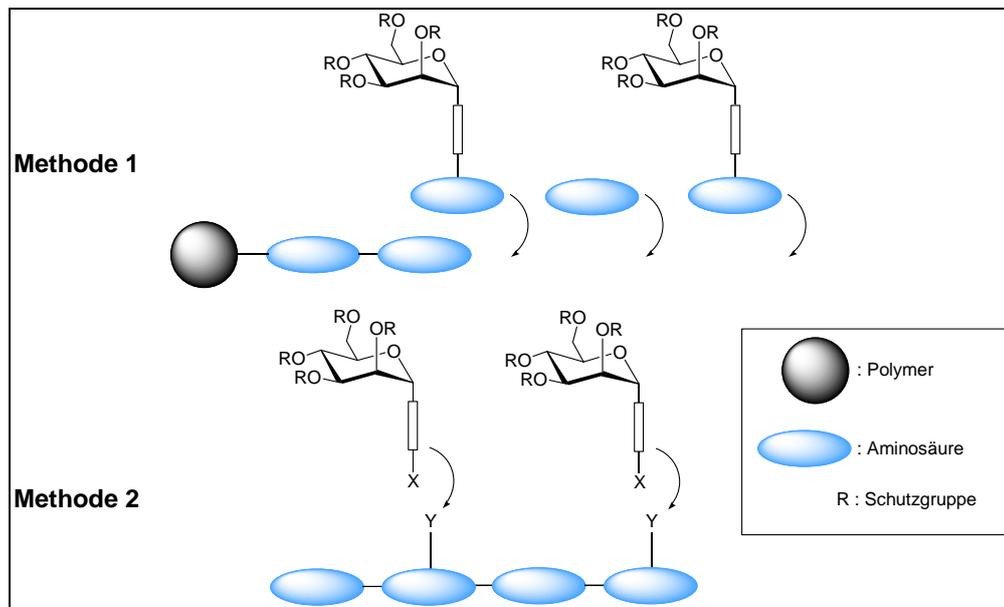


Abbildung 14: Die beiden unterschiedlichen Synthesewege zur Darstellung von Glykopeptiden.

Im Folgenden wird näher auf den Aufbau einer Glykoaminosäurebibliothek für die Glykopeptidsynthese nach Methode 1 eingegangen. Dabei werden auch die Schutzgruppenstrategie, die Vor- und Nachteile verschiedener Spacersysteme und die verwendeten Aminosäuren diskutiert und erläutert.

4.2 Synthesekonzept für die Glykoaminosäuren

4.2.1 Wahl der Schutzgruppenstrategie

Viele Methoden und Reaktionsbedingungen, die in SPPS normalerweise eingesetzt werden, sind für die Synthese von Glykopeptiden nicht anwendbar. Dies liegt hauptsächlich an der Labilität der *O*-glykosidischen Bindung. Sie ist zum einen säurelabil,^[58] zum anderen können starke Basen mit *O*-verknüpften Glykopeptiden β -Eliminierungen bewirken. Die richtige Auswahl der Schutzgruppen ist daher für den Erfolg der Synthese entscheidend. Für die Herstellung von Glykopeptiden hat sich eine Kombination von dem konventionellen Fmoc-Protokoll (**Abb. 15**) und Acetylschutzgruppen für die Hydroxylfunktionen der Kohlenhydrat-Bausteine als am besten geeignet erwiesen.^[62] In allen Reaktionen ist hierbei die α -Aminfunktion mit einer Fmoc-Gruppe geschützt. Die Wahl der Schutzgruppe für die α -Carboxylfunktion muss auf den jeweilig verwendeten Reaktionstyp abgestimmt werden. Die iterative Entfernung der N^{α} -Fmoc-Schutzgruppe während der SPPS kann durch milde Basen wie Piperidin und Morpholin erreicht werden, ohne dass es zu einer Beeinflussung der *O*-Acetylschutzgruppen des Saccharids bzw. zu β -Eliminierungen kommt. Des Weiteren stabilisieren die Esterschutzgruppen durch ihre elektronenziehenden Eigenschaften die glykosidische Bindung während der Abspaltung vom Polymer mittels TFA. Die Abspaltung der *O*-Acetylschutzgruppen kann abschließend in Lösung mittels katalytischer Mengen von Natriummethanolat, Hydrazin oder einer gesättigten Ammoniaklösung in Methanol erfolgen. Diese Bedingungen beeinflussen bei ständiger Umsatzkontrolle die Struktur des Glykopeptids nicht. Andererseits ist der Einsatz von *O*-Acetylschutzgruppen auch nicht völlig unproblematisch. So kann die abschließende De-*O*-Acetylierung die Seitenketten von Cystein, Asparagin- und Glutaminsäure beeinflussen. Cysteinhaltige Peptide können durch oxidative Dimerisierung weiterreagieren und so zu einer Vielzahl von Nebenprodukten führen. Die freie Säurefunktion der Asparaginsäure- und Glutaminsäure-Seitenketten kann bei der Verwendung von Ammoniak für die De-*O*-Acetylierung reagieren, was die Bildung von Asparagin und Glutamin zur Folge hat.^[63,64] Des Weiteren kann bei der Peptidkupplung mit acetylgeschützten Glykoaminobausteinen eine Acetylgruppenwanderung zur terminalen Aminofunktion des Peptids auftreten, falls die Kupplungsreaktion besonders langsam abläuft. Dieses so genannte *capping* würde ein weiteres Wachsen der Peptidkette verhindern.

Dennoch überwiegen die Vorteile der Verwendung *O*-acetylierter Zuckerbausteine im Fmoc-Protokoll so deutlich, dass für die Synthese der Glykoaminosäuren und Glykopeptide per SPPS diese Methoden-Kombination gewählt wurde.

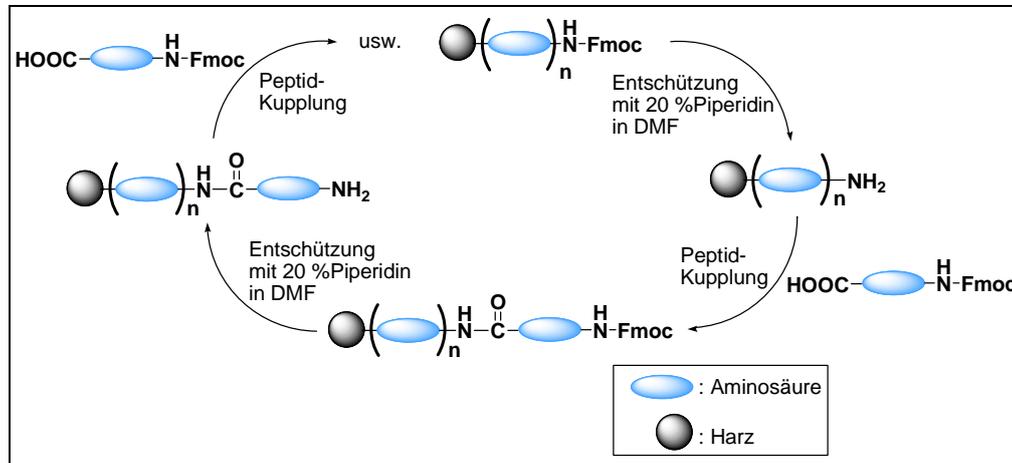


Abbildung 15: Darstellung des Fmoc-Protokolls. Nach der selektiven Entschützung der terminalen Aminofunktion erfolgt im nächsten Schritt die Peptidkuppelung mit der nächsten Aminosäure. Anschließend erfolgt die erneute Abspaltung der terminalen Fmoc-Gruppe, so dass eine erneute Peptidkuppelung folgen kann.

4.2.2 Die Auswahl der Aminosäuren

Da der Aufbau der Peptidsequenz durch SPPS über die α -Aminofunktion und die α -Carboxylgruppe einer Aminosäure stattfindet, muss die Zuckerfunktionalität über die funktionellen Gruppen an Seitenketten der Aminosäure gebunden werden. Weil für den Aufbau einer Glykoaminosäurebibliothek proteinogene Aminosäuren verwendet werden sollten, stehen damit sieben Aminosäuren für die Funktionalisierung der Seitenkette mit Mannose zur Verfügung (**Abb. 16**).

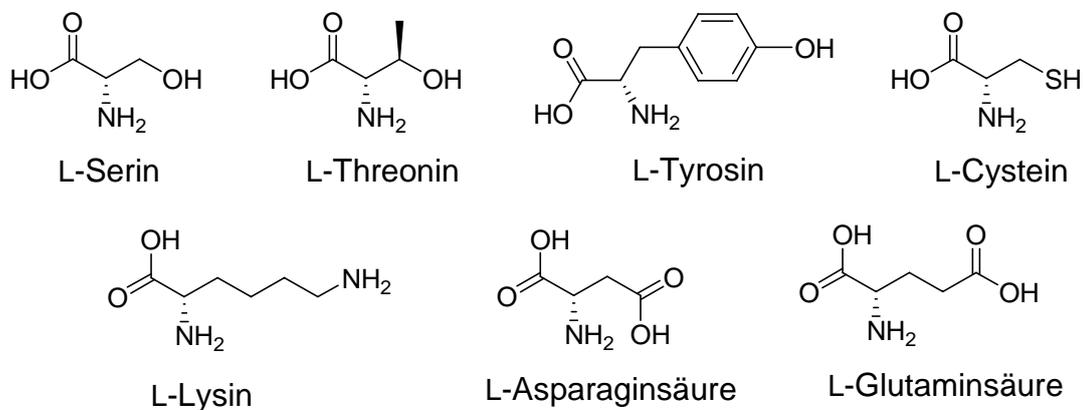


Abbildung 16: Übersicht über die verwendeten Aminosäuren für eine Mannose-Funktionalisierung an der Seitenkette.

Entsprechend der verschiedenen Aminosäureseitenketten können unterschiedliche Verknüpfungsarten für die Zuckerfunktionalisierung gewählt werden. Offensichtlich ist die *O*-Glykosylierung der Hydroxylfunktionen in der Seitenkette von Serin, Threonin oder Tyrosin möglich. Des Weiteren bietet sich eine *S*-Glykosylierung der Thiolgruppe in der Seitenkette von Cystein an. Ebenso ist der Einsatz der stark nukleophilen Thiofunktion in Substitutionsreaktionen mit Halogenalkanen möglich. Hierbei kann die Halogenabgangsgruppe über unterschiedliche Linker an ein Mannosederivat gebunden sein. Außerdem sind radikalische Reaktionen, z. B. Addition der Cysteinseitenkette an Allylgruppen eine Option. Interessant und vielseitig anwendbar ist die Funktionalisierung der Seitenketten von Lysin, Asparaginsäure und Glutaminsäure über Amidbindungen. Für eine entsprechende Reaktion mit Lysin muss dazu eine Säurefunktion und bei der Verwendung von Asparaginsäure und Glutaminsäure ein Amin eingesetzt werden. Schließlich bietet Lysin auch die Möglichkeit der reduktiven Aminierung mit einem Aldehyd-funktionalisierten Zuckerderivat, um ungewöhnliche mannosidische Aminosäure-Bausteine zu erhalten.

Der Gebrauch von Esterfunktionen zur Verbindung des Aminosäureteils mit einem Mannose-Derivat ist auf Grund der gewählten Schutzgruppenstrategie nicht möglich. Eine Esterbindung würde bei der basischen *De-O*-Acetylierung ebenfalls gespalten.

4.2.3 Spacer für die Glykoaminosäuren

Die Glykoaminosäure-Zielmoleküle lassen sich retrosynthetisch in einen Zuckerteil, einen Aminosäureteil und einen Spacerteil zerlegen (**Abb. 17**).

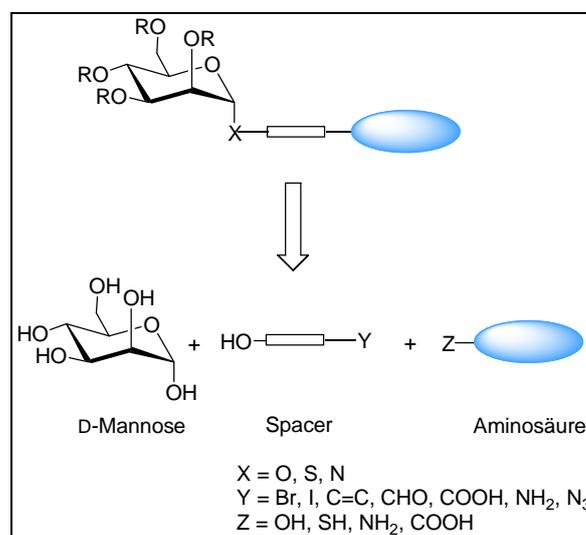


Abbildung 17: Retrosynthetische Aufspaltung der Glykoaminosäure-Bausteine.

Der Auswahl der eingesetzten Spacer zwischen der Mannose-Einheit und der Aminosäure kommt bei der Synthese von entsprechenden Glykomimetika eine besondere Bedeutung zu, da die Spacereigenschaften später nachweislich Einfluss auf die Affinität zwischen einer Glykoaminosäure und einem Rezeptor haben.^[65,66] Dabei kommt auch der Flexibilität des Spacers Bedeutung zu. Gerade bei multivalenten Rezeptoren muss ein Kompromiss zwischen der Flexibilität der an einem Peptidrückgrat gebundenen Zuckerliganden und der genauen Festlegung ihres Abstandes gefunden werden. Bei zu hoher Flexibilität geht eine multivalente Rezeptor-Ligand-Wechselwirkung mit einem zu großen Entropieverlust einher, was schlechte Bindungskonstanten bewirkt. Doch auch sehr rigide Systeme ergeben keine guten Bindungskonstanten, da hier eine optimale Ausrichtung der Kohlenhydratliganden zum Rezeptor nicht zu gewährleisten ist.^[67] Die gleiche Problematik betrifft die Wahl der Abstände zwischen Kohlenhydratteil und Peptidrückgrat. Zu kurze Abstände können bewirken, dass die räumliche Abschirmung durch das Peptid die Bindung zu einem Rezeptor negativ beeinträchtigt. Zu groß gewählte Abstände können zu einer Interaktion des Zuckers mit dem Peptidrückgrat führen, so dass die Zuckerliganden für eine Komplexierung mit einem Rezeptor ebenfalls nicht optimal zur Verfügung stehen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Spacer jeweils als eine Kombination aus den Seitenketten der Aminosäuren und der funktionalisierten Kohlenhydratbausteine gewählt (**Abb. 18**). Aus den resultierenden Systemen kann dann ein optimales Spacersystem für die Wechselwirkung eines Glykopeptidmimetikums mit einem bestimmten Lektin erstellt werden.

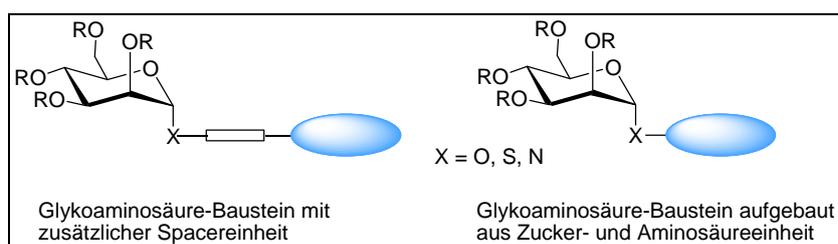


Abbildung 18: Schematische Darstellung der Spacer-Kombinationen.

4.3 Durchgeführte Synthesen

Die Synthesen der unterschiedlichen Glykoaminosäure-Bausteine sind so gegliedert, dass jeweils alle Synthesen, die mit einer bestimmten Aminosäure durchgeführt wurden, in einem Abschnitt zusammengefasst sind. Die Aufteilung nach verwendeten Aminosäuren wurde der besseren Übersicht halber gewählt, auch wenn damit verschiedene

Reaktionstypen und Verfahren in einem Kapitel vorkommen. Auf wiederkehrende Besonderheiten und Details im Zusammenhang mit den einzelnen Reaktionen wird jeweils eingegangen, wenn der Reaktionstyp das erste Mal erwähnt wird. Bei den verwendeten Aminosäuren handelt es sich immer um L-Aminosäuren, daher wird die Stereochemie der Aminosäuren im weiteren Text nicht explizit angegeben. Die Bezeichnung der Aminosäuren und ihrer Schutzgruppen erfolgt in der gebräuchlichen Kurzform. Beispielsweise wird durch die Kurzform Fmoc-Ser(O^tBu)-OBn, von links nach rechts gelesen, zuerst die Schutzgruppe der α -Aminofunktion, dann die Aminosäure genannt. Es folgen weitere funktionelle Gruppen und deren Schutzgruppen in Klammern. Fehlt die Klammer, so liegen die weiteren Funktionalitäten frei vor. Schließlich folgt die α -Säurefunktion der Aminosäure mit einer eventuellen Schutzgruppe.

4.3.1 Glykoaminosäuren mit L-Serin

In der Natur kommen α -D-mannosidische Verknüpfungen der Hydroxylfunktion von Serin unter anderem in vielen Hefen häufig vor.^[68] Die synthetische Darstellung solcher Serin-Mannoside im Multigrammmaßstab kann über Glykosylierungsreaktionen unter Verwendung verschiedener Glykosyldonoren, Promotoren und den Einsatz unterschiedlich geschützter Serinderivate erfolgen (**Abb. 19**).

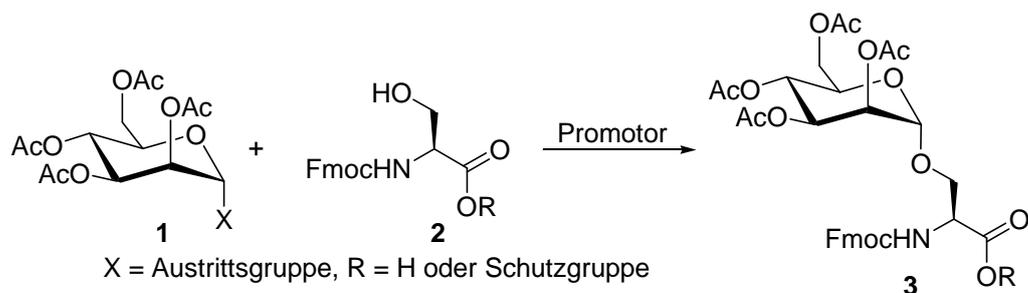


Abbildung 19: Allgemeiner Zugang zu mannosylierten Serin-Derivaten durch Glykosylierung der Seitenketten-OH-Funktion.

Die Glykosyldonoren unterscheiden sich in ihrer Stabilität, Reaktivität und dem Synthesaufwand für ihre Darstellung. Häufig verwendete Glykosyldonoren und Promotoren sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Tabelle 2: Gängige Glykosyldonoren und Promotoren für die Glykosylierung.

Austrittsgruppe X am Glykosyldonor	Promotoren	Vor- und Nachteile
OAc	BF ₃ -Etherat, SnCl ₄ , TMSOTf	leicht herstellbar, moderate Ausbeuten, lagerbare Glykosyldonoren
Br	AgCO ₃ , AgOTf, Hg(CN) ₂	oft instabil, hohe Ausbeuten
Cl	AgCO ₃ , AgOTf, Hg(CN) ₂	meist stabiler als Glykosylbromide
OC(NH)CCl ₃	BF ₃ -Etherat, TMSOTf	milde Reaktionsbedingungen, hohe Ausbeuten, lagerbar
SR (R = Alkyl, Aryl)	TfOH-NIS, DMTST, IDCP	vielseitig verwendbar, auch als Akzeptor

Nach Aktivierung des Glykosyldonors **4** mit Hilfe eines Promotors und Abspaltung der Abgangsgruppe, kommt es zur Bildung eines mesomeriestabilisierten Oxocarbeniumions **5** und **6**. Bei der Verwendung von Esterschutzgruppen entsteht ein Gleichgewicht zwischen dem Oxocarbeniumion und einem mesomeriestabilisierten Acyloxonium-Ion **7** und **8**, das im Folgenden mit der freien Hydroxylfunktion des Glykosylakzeptors zum Glykosid **9** oder zum Orthoester **10** reagiert, der anschließend zum erwünschten Produkt **9** isomerisieren kann (**Abb. 20**).

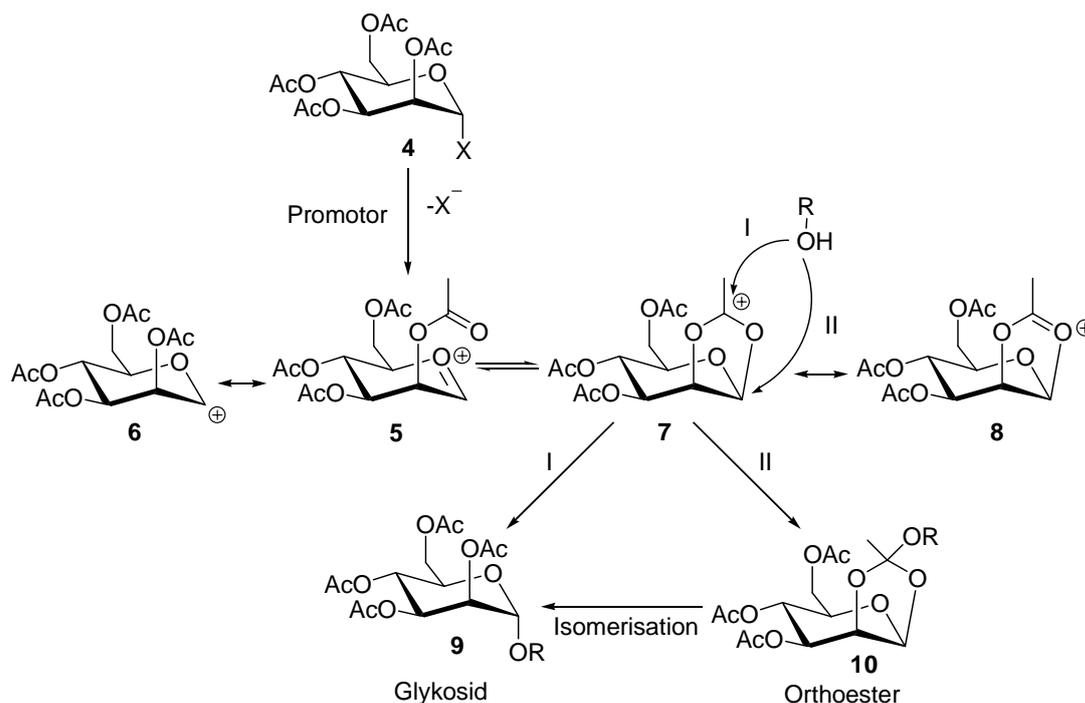


Abbildung 20: Mechanismus der Glykosidierung am Beispiel von Mannose. X = Austrittsgruppe (vgl. Tabelle 2).

Als Startmaterialien für die SPPS sollten die benötigten Glykoaminosäure-Derivate auf möglichst einfachem Weg erhalten werden. Getestet wurden zum einen die Koenigs-Knorr-,^[69] zum anderen die Trichloracetimidat-Methode^[70] und auch Mannosepentaacetat wurde mit verschiedenen Promotoren als Glykosyldonor validiert. Die Aminosäure wurde in diesen Reaktionen komplett geschützt eingesetzt, da so die säulenchromatographische Aufreinigung des Produktes leichter ist und außerdem höhere Ausbeuten erwartet werden können als im ungeschützten Fall. Kommerziell verfügbares Fmoc-Ser-OH (**11**) wurde daher zuerst zum Benzylester (Fmoc-Ser-OBn) (**12**) funktionalisiert (**Abb. 21**).^[71]

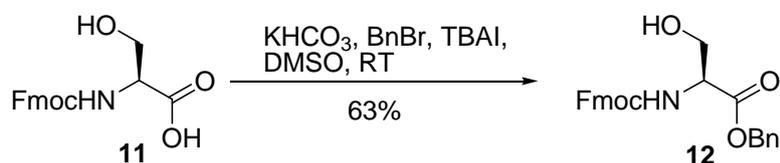


Abbildung 21: Benzylschätzung des Fmoc-Serins.

Der Ester (**12**) wurde dann mit Acetobrommannose (**13**), welches wiederum selbst leicht in zwei Stufen aus D-Mannose (**14**) herstellbar ist,^[72] in einer Koenigs-Knorr-Reaktion unter Zusatz von Silbertriflat zur Glykoaminosäure (**15**) in guter Ausbeute umgesetzt (**Abb. 22**). Obwohl die Zielverbindung **15** auf diesem Weg gut erhalten wurde, ist dieser Zugang mit

Nachteilen verbunden. Dies liegt sowohl an der hohen Instabilität und Lichtempfindlichkeit von **13** als auch der schwierigen Handhabung von Silbertriflat ohne Glovebox. Deshalb wurden auch alternative Ansätze für die Synthese von **15** ausprobiert, zum einen die Trichloracetimidatmethode, zum anderen die Verwendung von Mannosepentaacetat (**16**) als Glykosyldonor. Das Trichloracetimidat **17** wurde nach literaturbekannten Methoden in zwei Schritten ausgehend vom Pentaacetat **16** mit 76% Ausbeute erhalten (**Abb. 23**).

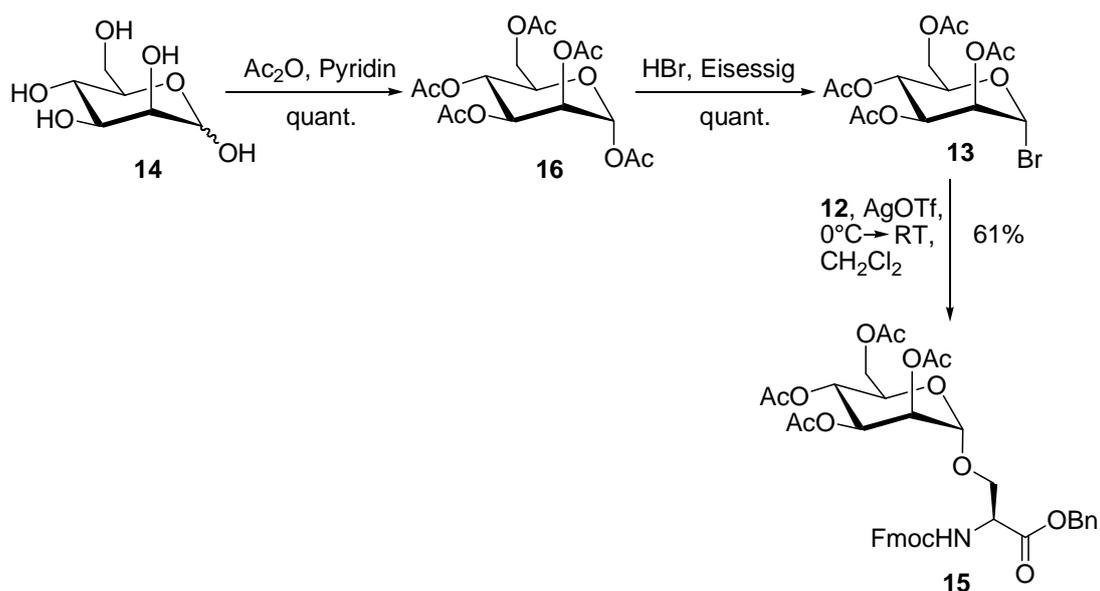


Abbildung 22: Darstellung des vollgeschützten Mannosylserins (**15**) nach der Koenigs-Knorr-Methode.

Die Umsetzung des Mannosyltrichloracetimidat **17** mit dem Serinderivat (**12**) lieferte die erwartete hohe Ausbeute an **15**, aber auch bei der Verwendung des weniger reaktiven und leichter zugänglichen Glykosyldonors **16** war die Synthese mit 66% Ausbeute erfolgreich (**Abb. 23**).

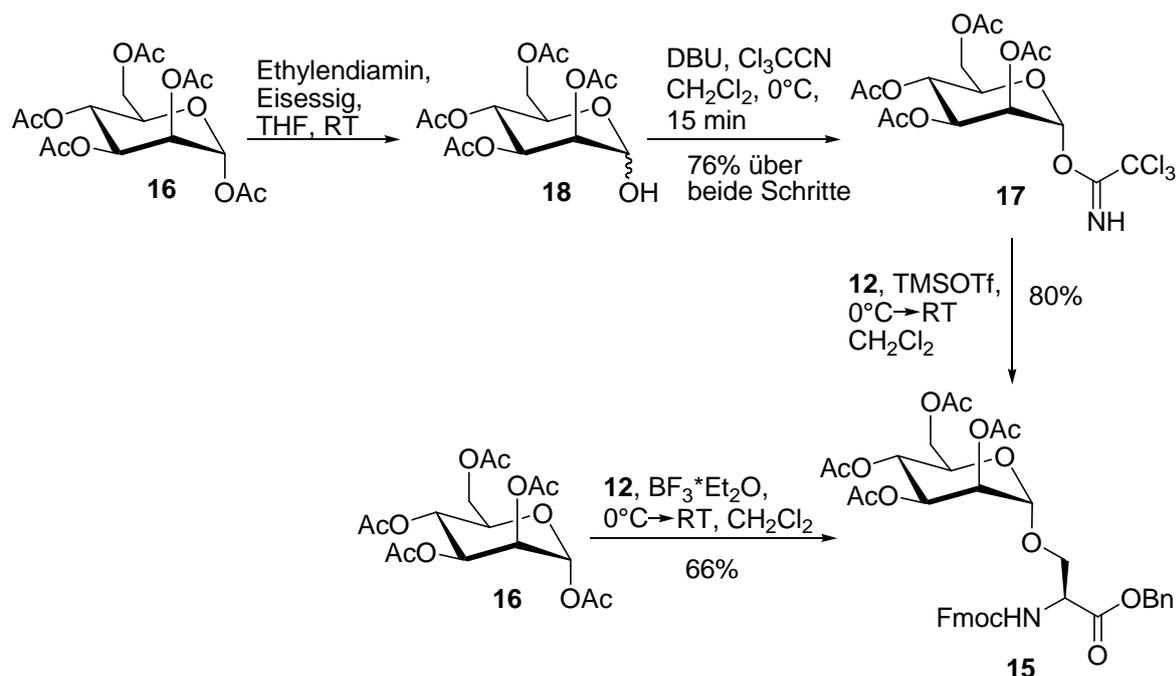


Abbildung 23: Synthese des Trichloracetimidat (**17**) in zwei Schritten ausgehend vom Pentaacetat **16**. und die Darstellung von **15** aus dem Trichloracetimidat **17** und dem Pentaacetat **16**.

Die Bildung von Glykosylorthoestern im Verlauf der Glykosylierungsreaktionen konnte durch die langen Reaktionszeiten verhindert werden. Um den Glykoaminosäure-Baustein **15** in der SPPS verwenden zu können, musste in einem weiteren Schritt die selektive Entschützung der Benzylgruppe erfolgen. Allerdings erwies sich die hydrogenolytische Esterspaltung, die in vielen Literaturbeispielen erfolgreich zur Entschützung verwendet wurde,^[73-76] als problematisch. Bei einer Testreaktion im 100 mg-Maßstab konnte eine vollständige Entschützung von **15** innerhalb von zwei Stunden erzielt werden, im Grammmaßstab konnte jedoch kaum noch ausreichend Produkt isoliert werden, die Ausbeute lag stets unter 30%. Dieses Problem konnte durch eine Verlängerung der Reaktionszeit nicht behoben werden, da spätestens nach vier Stunden eine Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe zu beobachten war (**Abb. 24**). Auch eine Zugabe von Essigsäure führte zu keiner Verbesserung. Die Labilität der Fmoc-Gruppe unter den gewählten Bedingungen ist literaturbekannt,^[77] doch stellte die hydrogenolytische Esterspaltung in den oben zitierten Arbeiten kein Problem dar und ermöglichte dort Ausbeuten zwischen 70% und 98% im Grammmaßstab. Die Probleme, die hier bei der Umsetzung von **15** auftraten, wurden allerdings von BRIMBLE et al. geteilt, die bei der Synthese von Glukoaminosäure-Bausteinen mit den gleichen Aminosäureschutzgruppen ebenfalls zu keinem positiven Ergebnis gelangten.^[78]

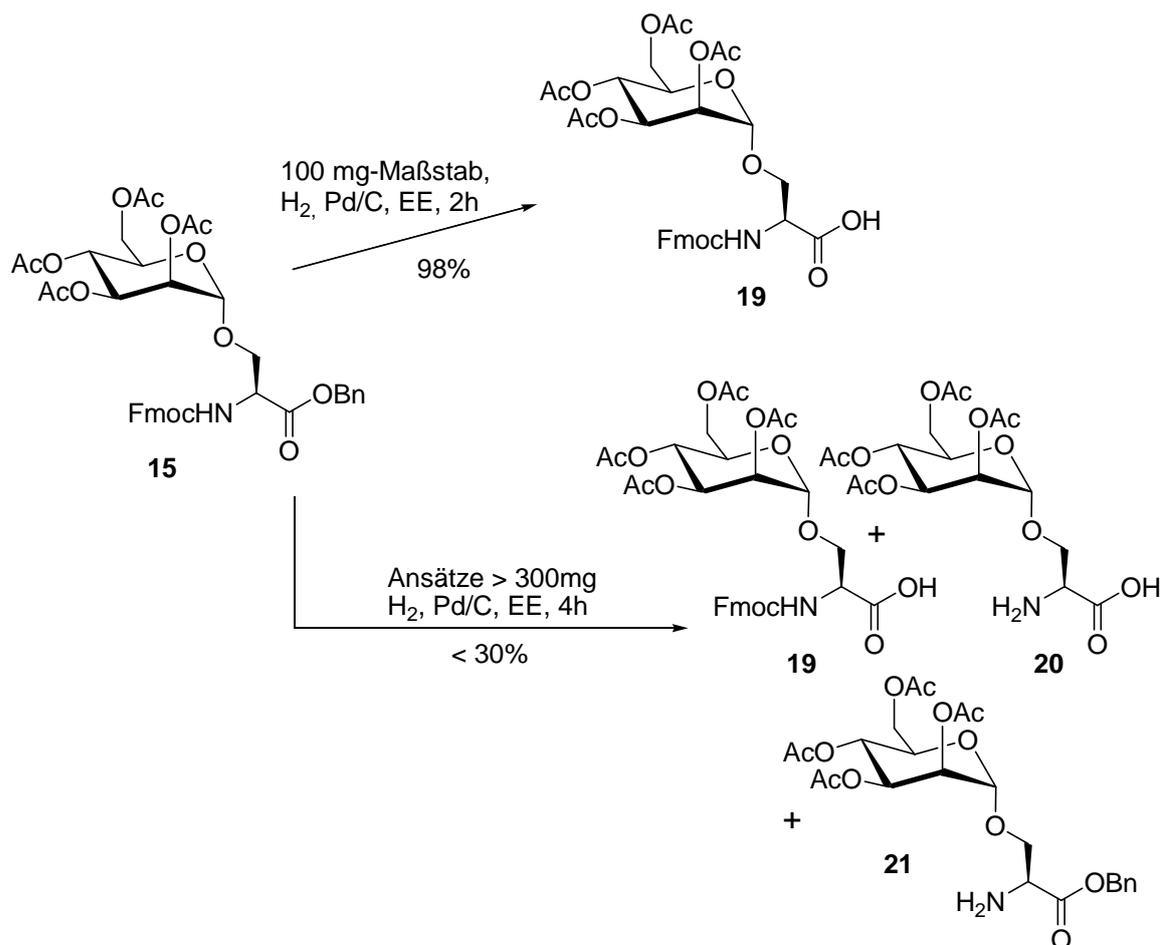


Abbildung 24: Versuche zur hydrogenolytische Entschützung des Benzoyl-geschützten Mannose-Derivats **15** zum Glykoaminosäure-Baustein **19**.

Für die erfolgreiche Synthese auch größerer Mengen des Glykoaminosäure-Bausteins **19** wurde auf Literaturbeispiele zurückgegriffen, in denen der Einsatz von Säuren mit ungeschützter Carboxylfunktion in Glykosylierungsreaktionen erfolgreich getestet wurde.^[79,80] Dabei wurden die zunächst gebildeten anomeren Ester (wie **19**, **Abb. 25**) stets zum gewünschten Produkt **18** umgelagert.

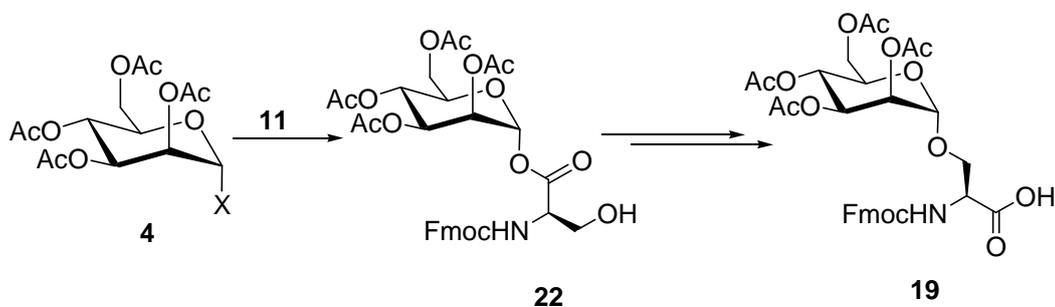


Abbildung 25: Bildung und anschließende Umlagerung zum gewünschten Produkt **19** der möglichen Ester **22** am Beispiel von Fmoc-Serin. X = Austrittsgruppe (vgl. Tabelle 2).

Diese Synthese war durch längere Reaktionszeiten, die Verwendung von BF_3 -Etherat im deutlichen Überschuss und durch den Verzicht auf den Zusatz von Molekularsieb, der die Umlagerung in allen Fällen verhinderte, erfolgreich. Allerdings wurden die Reaktionen bislang nur im Milligramm-Maßstab mit anschließender HPLC-Reinigung durchgeführt. Für ein Upscaling wurden für diesen Syntheseweg geringere Ausbeuten und vor allem Probleme bei der Aufreinigung erwartet, da sich eine HPLC-Aufreinigung mit großen Ansätzen nicht anbietet. Im Rahmen dieser Arbeit wurden für die Synthese von **18** daher unterschiedliche Glykosyldonoren, Katalysatoren und Lösungsmittel für die Optimierung der Synthesen getestet. Im Gegensatz zu den Beobachtungen von J. KIHLEBERG^[80] konnten durch die Verwendung von Acetonitril statt Dichlormethan in der Reaktion **16** und **17** zu **19** keine besseren Ausbeuten erzielt werden. Auch die in der Literatur beschriebenen Löslichkeitsprobleme mit Fmoc-geschützten Aminosäuren in Dichlormethan konnten hier nicht beobachtet werden, spätestens nach der Zugabe des Promotors wurde in allen Reaktionen aus Abbildung 26 eine klare Lösung erhalten. Allerdings konnte bei der Umsetzung von **16** mit Fmoc-Serin, genau wie in der Literatur beschrieben, lediglich ein geringer Ausbeutenunterschied festgestellt werden (Abb. 26), je nachdem ob $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ oder SnCl_4 für die Aktivierung des Pentaacetats **16** verwendet wurde. Die Umsetzung von **17** mit **11** zu **19** mit TMSOTf als Promotor verlief unproblematisch und lieferte das gewünschte Produkt in moderaten Ausbeuten (Abb. 26).

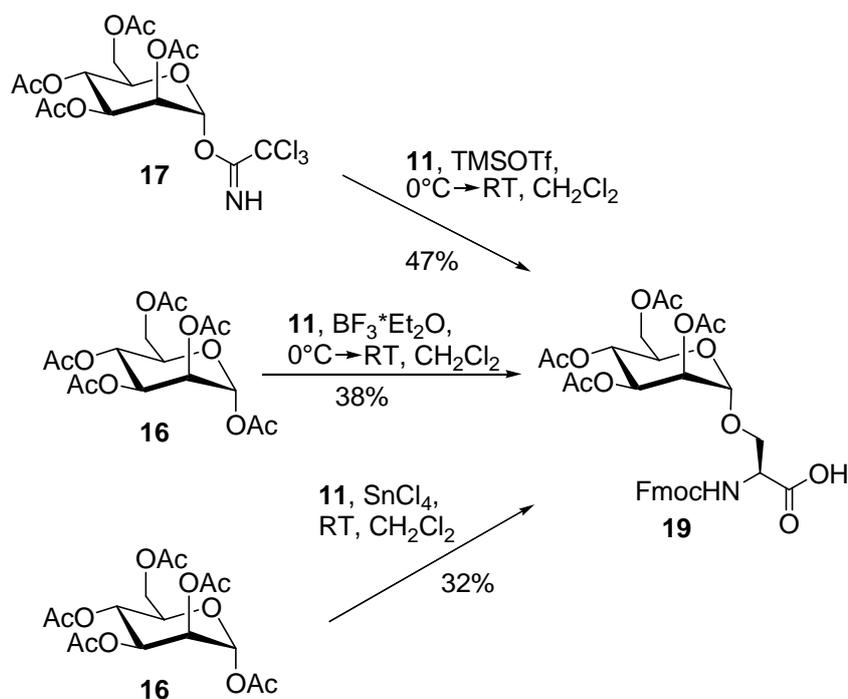


Abbildung 26: Glykosylierungsreaktionen zu **19** mit unterschiedlichen Systemen.

Die säulenchromatographische Aufreinigung des Produktes **19** an Kieselgel konnte durch den Einsatz von saurem und gröberem (0.063-0.2 mm) Kieselgel anstelle des sonst für Glykosylierungsprodukte üblichen neutralen Kieselgels gelöst werden. Die Verwendung von Methanol als Laufmittel ist dabei nicht möglich, da dann ein Großteil des Produktes auf der Säule zum Methyl ester weiterreagiert. Dagegen wurde mit Ethanol als Eluent keine Veresterung beobachtet. Unter Berücksichtigung dieser Aspekte war die Aufreinigung aller Glykoaminosäure-Bausteine mit freien Carboxylfunktionen an Kieselgel möglich.

Der Vergleich aller durchgeführten Versuche im Hinblick auf Gesamtausbeute und Darstellungszeit zeigt, dass beim Umsatz von **16** mit **11** mit der BF_3 -Etherat katalysierten Variante die besten Ergebnisse bei der Synthese von **19** erzielt werden konnten (**Tab. 3**). Nach diesen Optimierungsarbeiten stand der erste Glykoaminosäure-Baustein für die SPPS nach zweistufiger Synthese im Grammmaßstab zur Verfügung.

Tabelle 3: Vergleich der Ausbeuten und der Darstellungszeit bei der Reaktion von **19**.

Methode	Ausbeute	Ausbeute ausgehend von D-Mannose	Darstellungszeit
17 , TMSOTf	47%	36%	ca. 6 Tage
16 , $\text{BF}_3 \cdot \text{EtO}_2$	38%	38%	3-4 Tage
16 , SnCl_4	32%	32%	3-4 Tage

4.3.1.1 Beobachtete Nebenprodukte bei der Glykosylierung von Fmoc Aminosäuren

Bei allen Glykosylierungsreaktionen mit Fmoc-Aminosäuren konnten stets dieselben Nebenprodukte isoliert bzw. detektiert werden. Für die Aminosäure-Benzylester wird dies hier am Beispiel von Fmoc-Serin-OBn erläutert (**Abb. 27**).

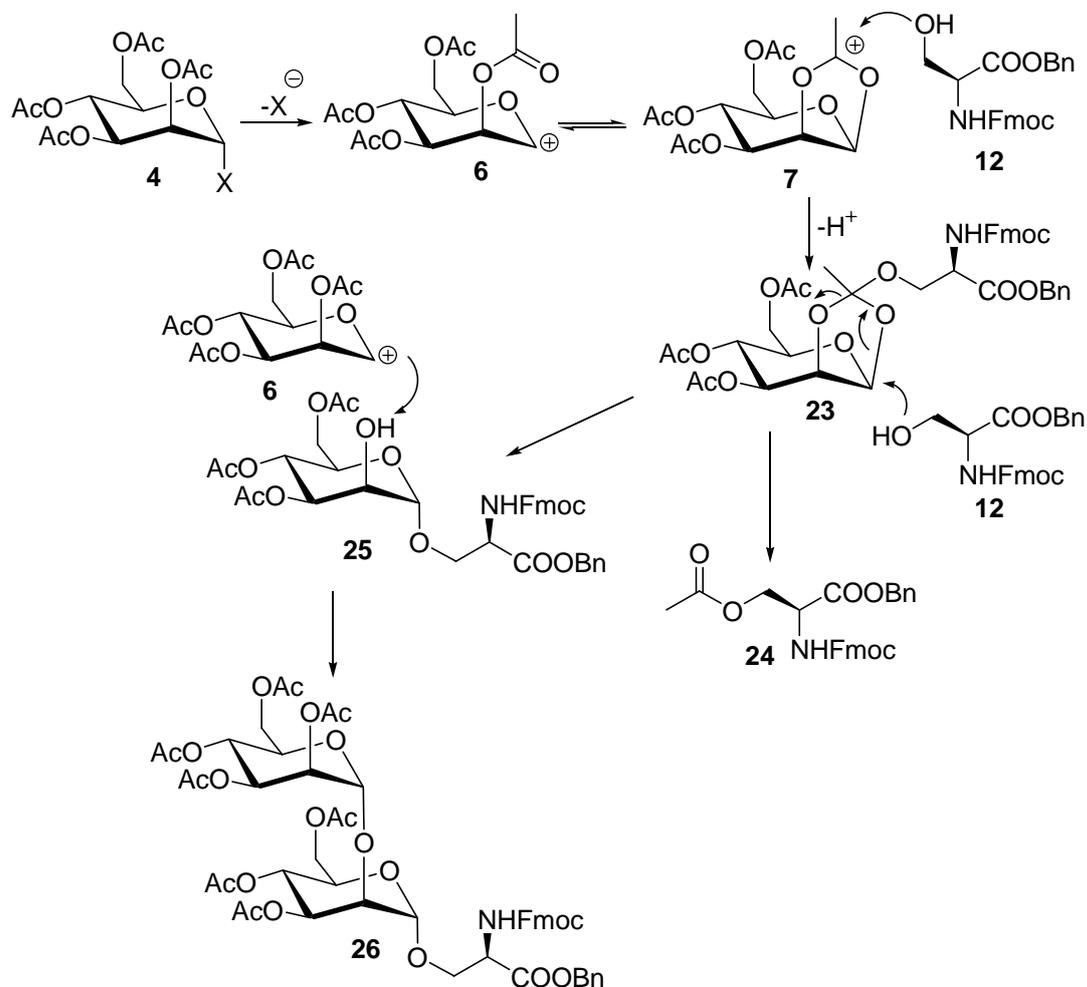


Abbildung 27: Postulierter Mechanismus für die Nebenproduktbildung bei der Umsetzung von Glykosyldonor **4** mit **12** nach VEGAD et al.^[76]

Das im Verlauf einer Glykosylierungsreaktion entstandene intermediäre Acyloxonium-Ion **7** kann mit dem Alkohol **12** zur Bildung des Orthoester **23** führen, der mit einem weiteren Aminosäuremolekül zu Fmoc-Ser(OAc)-OBn (**24**) als einem ersten Nebenprodukt führt. In diesem Schritt entsteht auch das Glykosid **25**, das eine ungeschützte Hydroxylfunktion an 2-Position trägt. Diese kann im Folgenden mit dem Glykosyldonor **4** zu einem Disaccharid (**26**) reagieren.^[81] Beide Nebenprodukte, **24** und **26**, wurden massenspektrometrisch nachgewiesen. Die Menge von **24** wurde nicht bestimmt, im Fall des Disaccharids **26** lag die Ausbeute stets unter 1%, und damit deutlich unter den in der Literatur angegebenen

Mengen (z. B. 17%).^[76] Bei der Verwendung anderer Aminosäuren mit ungeschützter Säurefunktion wurden die analogen Nebenprodukte detektiert.

Bei der Glykosylierung der Aminosäure-Bausteine Fmoc-Ser-OH, Fmoc-Thr-OH und Fmoc-Cys-OH wies die MALDI-ToF-MS-Analyse der Produktgemische jeweils auf die Bildung eines unbekanntes Nebenproduktes hin. Ein Vergleich der zugehörigen Massenpeaks (**Abb. 28**) zeigte, dass die Massendifferenzen in allen drei Fällen auf die Natur der verwendeten Aminosäure zurückzuführen waren, was darauf hinwies, dass es sich jeweils um analoge Nebenprodukte handelte. Zudem wurden entsprechende MS-Peaks nicht gefunden, wenn carboxylgeschützte Aminosäuren eingesetzt wurden. Zu diesen Befunden passt die Bildung der Glykosylaminosäureester **27-29** (**Abb. 29**), die sich nach Glykosylierung der Aminosäureseitenkette durch Veresterung der Aminosäure-Carboxylfunktion mit dem 1-OH-freien Zuckerderivat bilden können. Dabei entsteht der reduzierende Zucker womöglich intermediär durch Hydrolyse des eingesetzten Glykosyldonors.

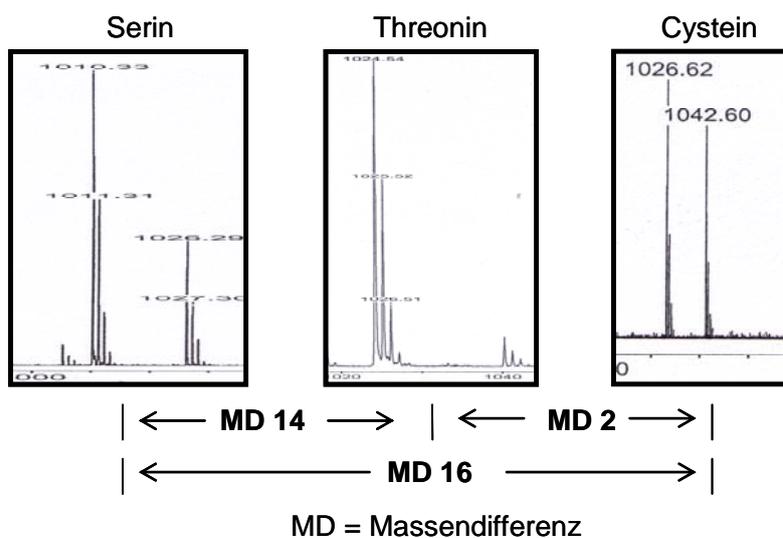


Abbildung 28: MALDI-TOF-MS-Spektren der Umsetzung der entsprechenden Fmoc-Aminosäuren mit **15** und **17**, deren Analyse zu den Strukturen der Nebenprodukte führte.

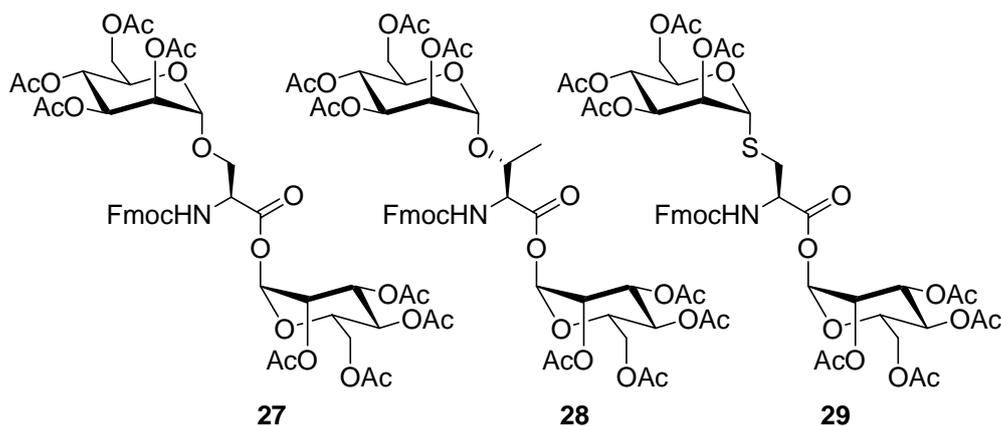


Abbildung 29: Strukturvorschläge für die drei gefundenen Nebenprodukte 27-29.

Eine Verifizierung dieses Vorschlags per NMR-Analyse war allerdings nicht möglich, da die Ausbeute stets unter 1% lag, wodurch keine genaue Ausbeutenbestimmung möglich war.

4.3.2 Glykoaminosäuren mit L-Threonin

Die *O*-Mannosylierung von Threonin ist genau wie die des Serins eine typische Proteinmodifikation in Hefen.^[82] Sie konnte aber auch in Pilzen,^[83] in Rattenhirnen und in geringer Anzahl auch in Glykopeptiden des Gehirns, der Nerven und der Muskulatur von Säugern nachgewiesen werden.^[84,85]

Die Synthesen mit Fmoc-Threonin (**30**) wurden analog zu den Synthesen von Fmoc-Serin durchgeführt. Trotz der negativen Erfahrung mit der hydrogenolytischen Entschützung von **15** wurden das geschützte und das ungeschützte Threonin-Derivat umgesetzt, um einen Ausbeutenvergleich zu erhalten. Daher wurde zunächst der Benzylesters **31** des Threonins hergestellt (**Abb. 30**).

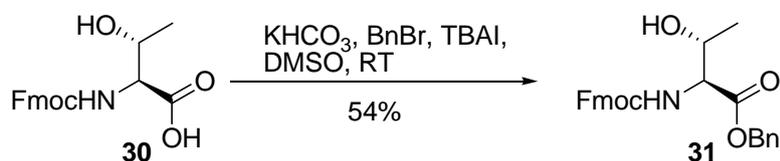


Abbildung 30: Darstellung des Fmoc-Thr-OBn **31**.

Auf Grund der positiven Ergebnisse von Mannosepentaacetat als Glykosyldonor und BF_3 -Etherat als Promotor für die Synthese der Serin-Derivate wurde in den Reaktionen mit Fmoc-Thr-OBn auf diese Methode zurückgegriffen, die freie Säure wurde dagegen nach der Trichloracetimidatmethode umgesetzt.

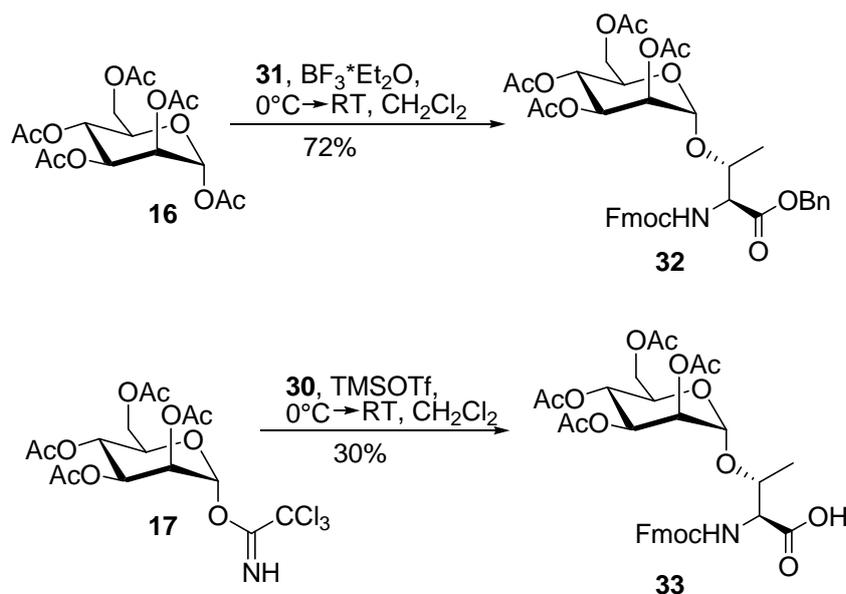


Abbildung 31: Darstellung der Glykoaminosäurebausteine mit Threonin.

Die Synthese des benzylgeschützten Produkts (**32**) ausgehend von **31** verlief in guten Ausbeuten, die mit den Ergebnissen der Synthese von **15** vergleichbar sind. Die hydrogenolytische Entschützung brachte auch hier nicht den gewünschten Erfolg. Die Umsetzung mit der freien Säure **30** verlief allerdings problemlos und ergab das gewünschte Produkt **33** in moderater Ausbeute und damit den zweiten Baustein der projektierten Glykoaminosäure-Bibliothek.

4.3.3 Glykoaminosäuren mit L-Tyrosin

Die *O*-glykosidische Modifikation an Tyrosin ist in der Natur eher selten, konnte aber in Form von Tyr(β -D-Glc) als Tyrosinspeicher^[86,87] in verschiedenen Insektenarten nachgewiesen werden. Auch die Antibiotika Vancomycin und Teicoplanin enthalten β -Glukoside und β -Mannoside, die *O*-glykosidisch an Tyrosin gebunden sind.^[88]

Auf Grund ihrer Fähigkeit π - π -Wechselwirkungen mit anderen aromatischen Systemen und π -H-Interaktionen ausbilden zu können, stellen glykosylierte Tyrosinderivate interessante Bausteine dar. Im Arbeitskreis LINDHORST konnte an mehreren Beispielen gezeigt werden, dass bei der Verwendung eines aromatischen Aglykons die inhibitorische Potenz der synthetisierten Glykokonjugate in ELISA mit dem bakteriellen Lektin FimH um zwei Zehnerpotenzen gegenüber den aliphatischen Derivaten ansteigt.^[89] Dieser Effekt beruht auf der Interaktion von zwei aromatischen Tyrosineinheiten am Eingangsbereich der CRD des Lektins mit dem Aglykon des Glykosids. Aus der Kristallstruktur des FimH

ist bekannt, dass diese Tyrosin-Seitenketten eine torähnliche Anordnung am Eingang der Bindungstasche ausbilden und mit geeigneten Liganden durch diese zusätzlichen π - π -Interaktionen die Wechselwirkung verstärken.^[90,91]

Da die Synthesen mit Tyrosin zeitgleich zu den Synthesen mit Serin durchgeführt wurden, erfolgte zuerst eine Benzylschützung der Säurefunktion. Dabei wurde als Edukt kommerziell erhältliches Fmoc-Tyr(O^tBu)-OH (**34**) verwendet, da dieses viel preiswerter als Fmoc-Tyr-OH (**35**) ist. Der Ester **36** wurde dann ausgehend von **34** in zwei Reaktionsschritten erfolgreich hergestellt (**Abb. 32**).

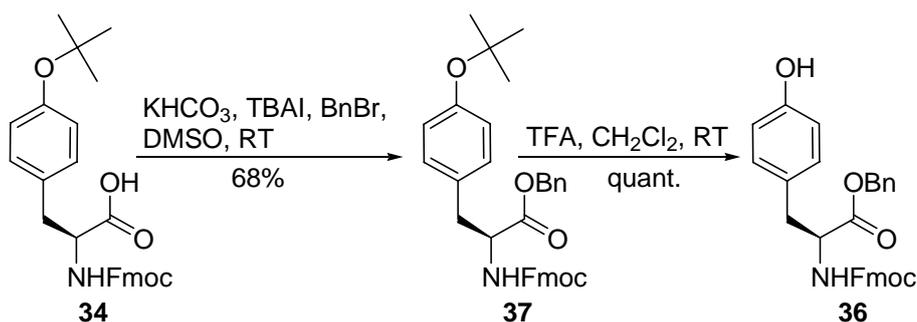


Abbildung 32: Darstellung von Fmoc-Tyr-OBn (**36**) in zwei Schritten.

Anschließend konnte der Ester **36** in einer Glykosylierungsreaktion mit **16** umgesetzt werden. Der erste Versuch erzielte jedoch nicht das gewünschte Resultat, es konnten lediglich 36% des Mannosyltyrosins **38** erhalten werden. Durch den Einsatz des reaktiveren Trichloracetimidats **17** konnte die Ausbeute erheblich gesteigert und **38** in guten 74% isoliert werden (**Abb. 33**).

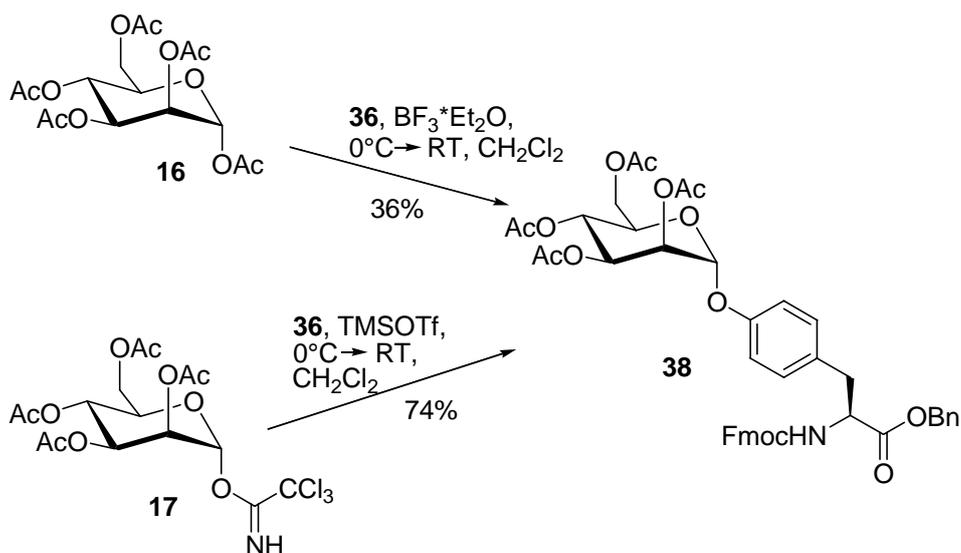


Abbildung 33: Glykosylierungsreaktionen zur Darstellung von **38**.

Erstaunlicherweise gelang mit dem Tyrosin-Derivat **38** die hydrogenolytische Entschützung der Esterfunktion zumindest teilweise. Nach vierstündigem Rühren unter Wasserstoffatmosphäre konnten 50% der freien Säure **39** isoliert werden, die andere Hälfte des Ansatzes wurde als Edukt (**38**) zurückgewonnen. Eine Abspaltung der Fmoc-Gruppe wurde dabei nicht festgestellt. Allerdings wurde auf Grund der Erfahrungen in der Serin- und Threonin-Reihe (vide supra) auch mit Tyrosin eine Umsetzung mit der ungeschützten Säurefunktion angestrebt. Der erste Glykosylierungsversuch von **35** mit dem Mannosyldonor **16** und BF_3 -Etherat-Katalyse erzielte jedoch nur unbefriedigende 20% Ausbeute. Die Verwendung von SnCl_4 als Promotor dagegen lieferte das Mannosid **39** in einer Ausbeute von 62% (Abb. 34).

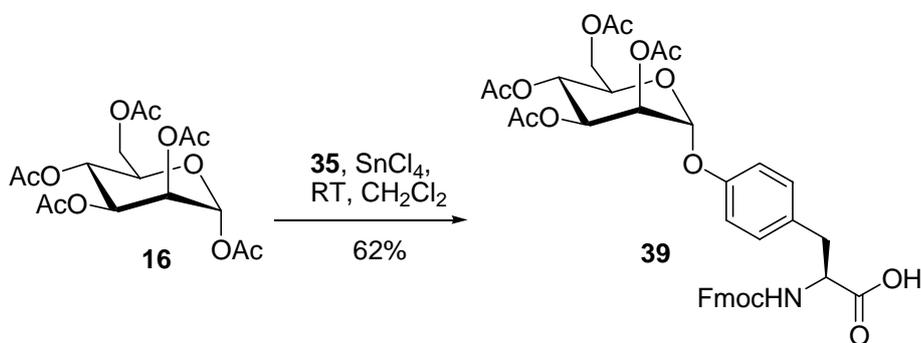


Abbildung 34: Darstellung des Mannosids **39** mit Fmoc-Tyr-OH (**35**) und SnCl_4 .

Im Vergleich zu den Ergebnissen bei der Glykosylierung der aliphatischen Hydroxylfunktionen von Serin und Threonin sind die erzielten Ausbeuten mit Tyrosin erstaunlich hoch. Die geringere Nukleophilie der phenolischen OH-Gruppe hätte eine geringere Ausbeute erwarten lassen. Eine Erklärung für die unerwartet hohen Ausbeuten könnte in der einfacheren säulenchromatographischen Aufreinigung der Tyrosinderivate im Vergleich zu den Serin- und Threonin-Derivaten liegen. Mit der Herstellung von **36** konnte ein weiterer interessanter Glykoaminosäure-Baustein in guten Ausbeuten erfolgreich dargestellt werden.

4.3.4 Synthesen mit L-Cystein

S-Glykoside sind in der Natur äußerst selten. Durch den Ersatz des anomeren Sauerstoffatoms durch ein Schwefelatom können Glykokonjugate erhalten werden, die von den meisten biologischen Systemen toleriert werden, aber gegen enzymatischen Abbau beständig sind und eine höhere Stabilität gegenüber Säuren und Basen aufweisen als O-Glykoside.^[92,93] Die Thioderivate unterscheiden sich in ihrem konformellen Verhalten

kaum von ihren natürlichen Vorbildern. In vergleichenden Studien konnte gezeigt werden, dass *S*-Glykoside sogar etwas flexibler als ihre *O*-Analoge sind und daher für Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen sogar die günstigeren Derivate sein können.^[94-96]

Auf Grund dieser Eigenschaften nehmen Thioglykoside eine bedeutende Rolle im Bereich der Glykomimetika und der artifiziellen Vakzine ein.^[97-99] Auch für die SPPS von Thioglykopeptiden sind es interessante Glykoamino-Bausteine.

Nach den guten Erfahrungen mit der Glykosylierung von Aminosäuren mit freier Carboxylfunktion sollte diese Variante auch für die Funktionalisierung von Cystein angewandt werden. Gerade durch die stärkere Nukleophilie des Schwefelatoms im Vergleich zum Sauerstoffatom wurden gute Ausbeuten erwartet. Ausgehend von kommerziell erhältlichem Fmoc-Cys(Trt)-OH (**40**) wurde zunächst die Thiolfunktion der Aminosäure mit Hilfe von TFA freigesetzt. Das erhaltene Produkt Fmoc-Cys-OH (**41**) wurde dann in mehreren Glykosylierungsreaktionen mit den Glykosyldonoren **16** und **17** umgesetzt (**Abb. 35**).

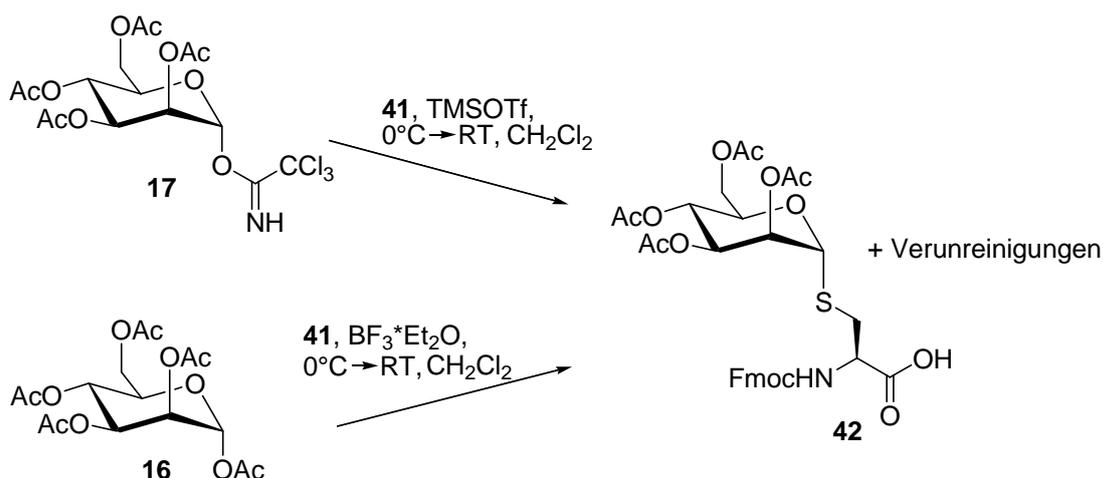


Abbildung 35: Glykosylierungsreaktionen mit dem Cystein-Derivat **41** und den Glykosyldonoren **16** und **17**

Allerdings konnte das gewünschte Produkt in keinem Fall sauber isoliert und nur per MALDI-TOF-MS-Analyse detektiert werden. Auch nach mehrfacher säulenchromatographischer Aufreinigung wurden stets noch Verunreinigungen per DC und in NMR-Spektren ausgemacht.

Daher wurde im Folgenden ein Cystein-Derivat mit geschützter Carboxylgruppe für die Glykosylierungen verwendet. Im Fall des Fmoc-Cys(Trt)-OH (**40**) konnten weder basen- noch säurelabile Esterschutzgruppen auf Grund der vorhandenen Fmoc- und Tritylschutzgruppen eingesetzt werden, die dann nicht mehr orthogonal abspaltbar wären. Bedingt durch die schlechten Erfahrungen mit Benzylestern wurde nun auf eine

Allylschutzgruppe für die Carboxylgruppe zurückgegriffen. Die schon seit den 1950er Jahren bekannte Allylschutzgruppe^[100] ist in der Organischen Chemie erst durch die Entwicklung einer milden Übergangsmetall-katalysierten Abspaltungsmethode gut etabliert.^[101] Hierbei bildet das Olefin mit einem Pd(0)-Katalysator ein η^3 - π -Allylintermediat **43**, das die Allylgruppe auf einen nukleophilen Fänger (Morpholin, *p*-Toluolsulfinsäure-Natrium-Salz) überträgt (**Abb. 36**).

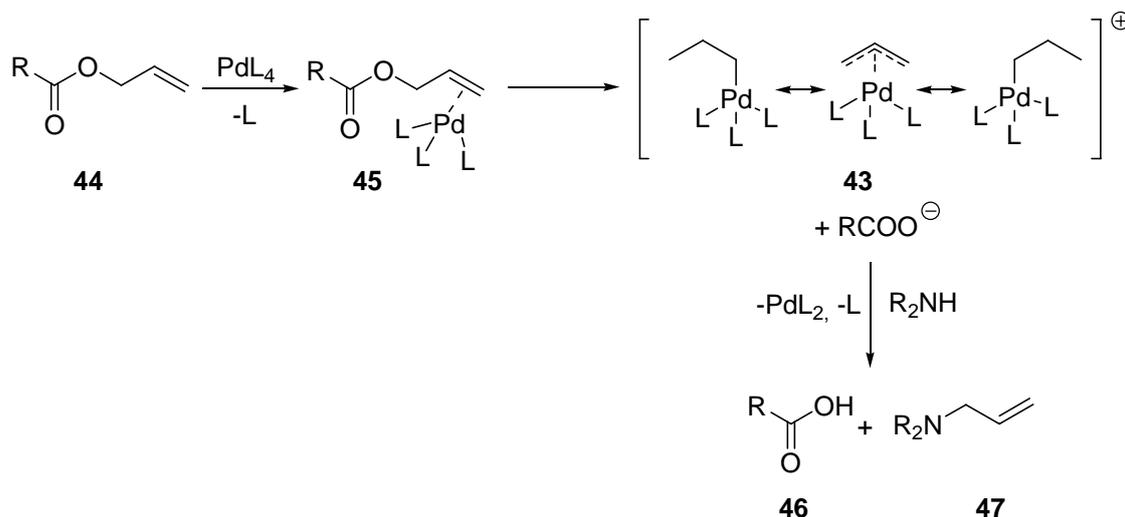


Abbildung 36: Mechanismus der Allylentschützung mit Pd(0).

Der allylgeschützte Glykosylakzeptor **48** wurde gemäß einer Vorschrift von H. M. BRANDERHORST et al. in zwei Schritten ausgehend vom Cysteinderivat **40** erhalten.^[102]

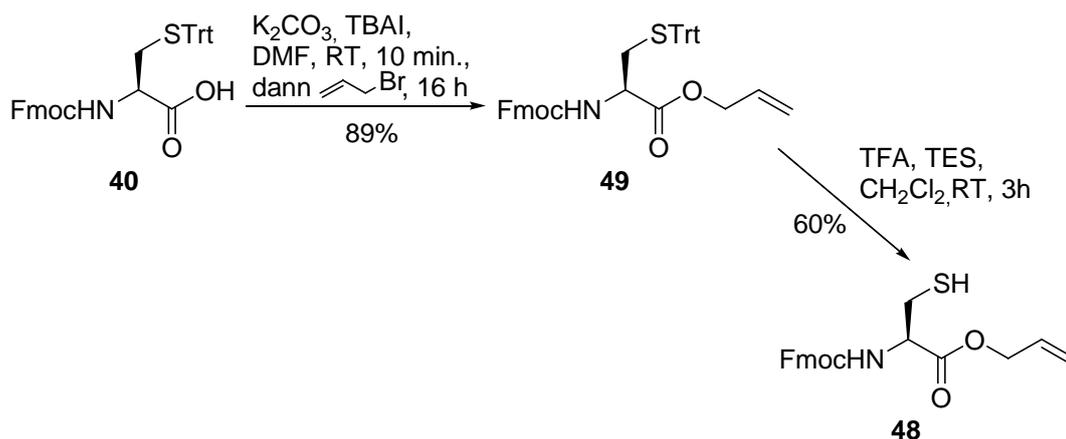


Abbildung 37: Darstellung des allylgeschützten Fmoc-Cys-OAllyl (**48**) in zwei Schritten.

Das freie Thiol **48** wurde im nächsten Schritt mit den Glykosyldonoren **16** und **17** unter Verwendung verschiedener Lewis-Säuren zum Mannosid umgesetzt.

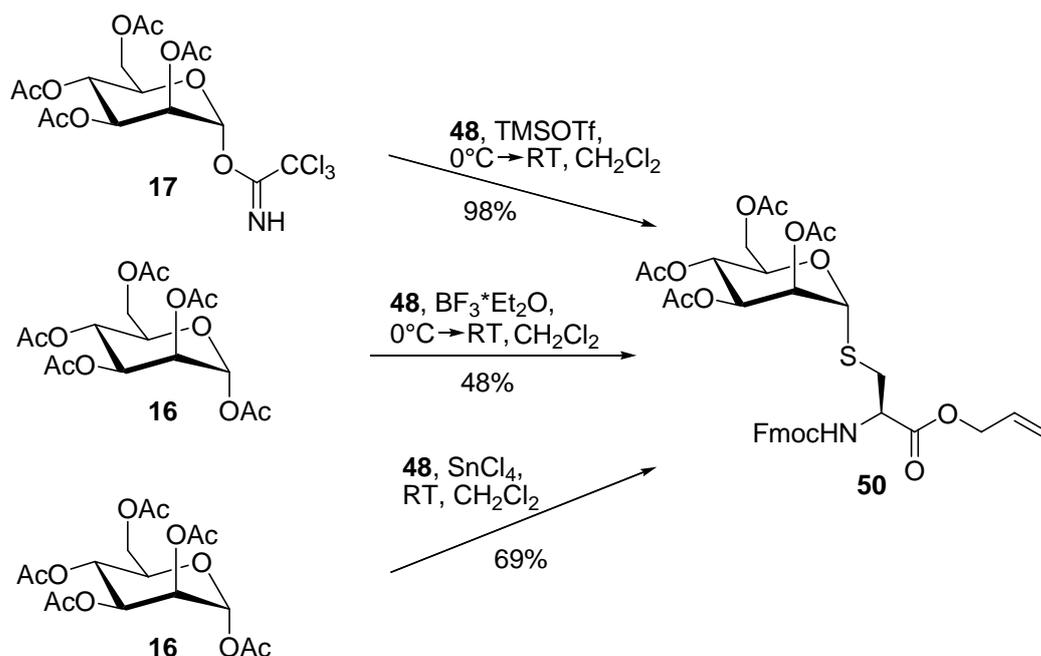


Abbildung 38: Darstellung des Glykoaminosäure-Bausteins **50** ausgehend von **16** und **17**.

Die exzellente Ausbeute von 98% in der Umsetzung von **48** mit dem Trichloracetimidat **17** stellt ein hervorragendes Resultat dar. Die Umsetzungen von **48** mit dem Pentaacetat **16** verliefen ebenfalls in befriedigenden Ausbeuten und bestätigten die Ergebnisse von J. P. KAMERLING^[103] und J. KIHLEBERG^[80], die bei der Verwendung von SnCl_4 stets signifikant bessere Ausbeuten erzielten als mit BF_3 -Etherat. Ein Vergleich der erzielten Gesamtausbeuten zeigt erneut, dass, trotz der hervorragenden Ausbeuten in der Trichloracetimidatmethode, die Glykosylierung von Cystein-Derivaten mit dem Pentaacetat und SnCl_4 als Promotor auf Grund des geringen Zeitaufwandes und des deutlich unempfindlicheren Eduktes die bequemere Methode für die Synthese von Glykoaminosäuren darstellt (**Tab. 4**).

Tabelle 4: Vergleich der Ausbeuten und der Darstellungszeit bei der Synthese von **50**.

Reagenzien	Ausbeute an 50	Gesamtausbeute ausgehend von D-Mannose	Darstellungszeit
17 , TMSOTf	98%	74%	ca. 6 Tage
16 , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	48%	48%	3-4 Tage
16 , SnCl_4	69%	69%	3-4 Tage

Abschließend erfolgte die Entschützung des Allylesters nach einer adaptierten Vorschrift von I. NAGAKURA mit $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ und *p*-Toluolsulfinsäure-Natrium-Salz zum Glykoaminosäure-Baustein (**42**) (Abb. 39).^[104] Damit wurde der Thioglykoaminosäure-Baustein **42** in guter Ausbeute synthetisiert und in ausreichender Menge für die SPPS bereitgestellt.



Abbildung 39: Pd-katalysierte Entschützung des Allylesters (**50**).

Die Thiolfunktion in Cystein erlaubt noch andere interessante Umsetzungen. In Frage kommen die radikalische Addition von freien Thiolen an Doppelbindungen und eine Williamson-analoge Substitutionsreaktionen. In der Kohlenhydratchemie werden Radikalreaktionen wegen ihrer milden Bedingungen und ihrer hohen Toleranz gegenüber vielen funktionellen Gruppen und Schutzgruppen häufig verwendet. M. DUBBER^[105] und C. D. HEIDECKE^[106] erzielten in radikalischen Additionsreaktion mit Cysteamin-Hydrochlorid/UV-Licht und Mercaptoethanol/AIBN an allylische Glykoside sehr gute Ergebnisse. Daher wurde im Folgenden die Umsetzung des Cystein-Derivats **41** mit dem literaturbekannten Allylmannosid^[107] **51** versucht (Abb. 40).

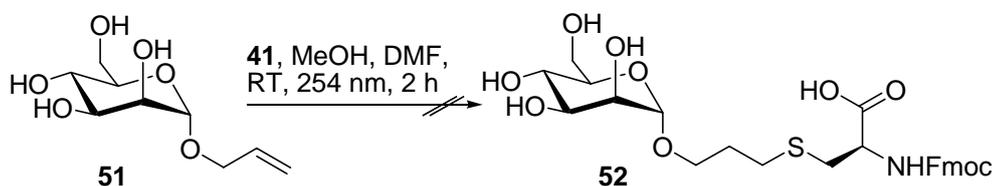


Abbildung 40: Versuch zur Darstellung von **52** mittels radikalischer Addition an **51**.

In einer ersten Umsetzung von **51** mit **41** in einer Quarzglasküvette in Methanol und mit UV-Licht als Radikalstarter konnte kein Produkt nachgewiesen werden, da sich die Aminosäure in der geringen Methanolmenge kaum löste. Nach Zugabe einiger Tropfen DMF und erneuter Belichtung konnte das gewünschte Produkt zwar massenspektrometrisch nachgewiesen werden, doch auch nach mehrfacher Aufreinigung

an Kieselgel und Sephadex LH-20 konnte **52** nicht in reiner Form isoliert werden. Außerdem konnten nur moderate Ausbeuten erzielt werden, da selbst das unsaubere Produkt in maximal 47%iger Ausbeute vorlag. Weitere Versuche mit *O*-acetylgeschütztem Allylmannosid zeigten gar keinen Umsatz, der Einsatz von AIBN als Radikalstarter produzierte nur minimale Umsätze. In der Literatur beschriebene erfolgreiche Versuche zur radikalischen Addition von Thiolen verwendeten immer große Überschüsse des Thiols.^[105,106] Der Einsatz des Fmoc-Cys-OH im Überschuss war aus ökonomischen Gründen und auf Grund der geringen Löslichkeit nicht sinnvoll. Daher erfolgte keine weitere Optimierung dieser Umsetzung.

Die Verwendung von Thiolen in Williamson-analogen Thioethersynthesen ist bedingt durch die hohe Nucleophilie des Schwefels eine gängige Methode.^[92,108] Auf Grund der basischen Reaktionsbedingungen ist *O*-Deacetylierung eine mögliche Nebenreaktion, sodass zunächst mehrere Testreaktionen durchgeführt wurden, um das optimale Verhältnis von Thiol zu Base zu ermitteln. Für Testansätze dienten das aus dem Pentaacetat **16** hergestellte literaturbekannte Bromethylmannosid^[109,110] **53** und Benzylmercaptan (**54**). Die Ergebnisse der Tests sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

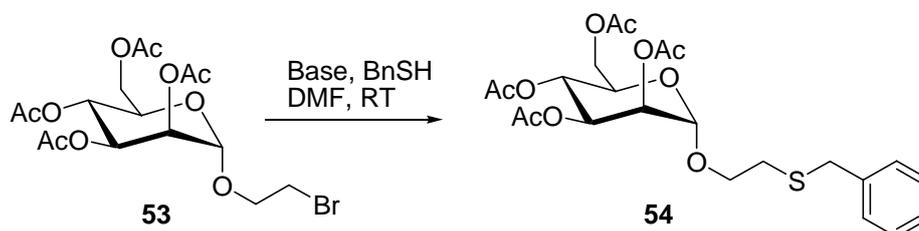


Abbildung 41: Testreaktion zur Darstellung von Thioethern.

Tabelle 5: Vergleich der Basen und Äquivalenten in der S_N-Reaktion.

	DBU	DBU	DBU	DIPEA	DIPEA	NaH	TEA
Äq.	2	1	0.5	2	1	1	1
Ausbeute 54	0 %	<10%	<10%	66%	50%	84%	50%
Entschützung	komplett	komplett	teilweise	nein	nein	Nein	Nein

Die Testreaktionen zeigten, dass eine Verwendung von DBU nicht möglich war, aber die Umsetzung mit allen anderen Basen erfolgreich gelang. Ermutigt durch die Ergebnisse wurde im Folgenden Fmoc-Cys-OH (**41**) mit dem Iodethylmannosid **55** umgesetzt. Das Iodid **55** wurde vorher quantitativ mittels einer Finkelsteinreaktion aus dem Bromid **53** gewonnen.^[111] Nach abschließender Reinigung an Sephadex-LH20 konnte **56** in guter Ausbeute erhalten werden (**Abb. 42**).

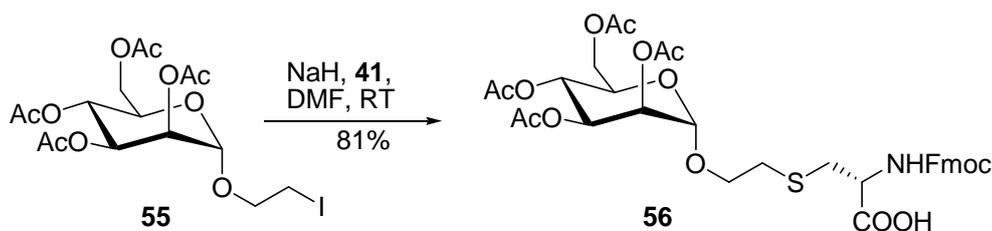


Abbildung 42: Darstellung des Thioesters **56** mittels NaH.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Darstellung von zwei unterschiedlichen Glykoaminosäure-Bausteinen, **42** und **56**, mit Fmoc-Cystein möglich war. Die Umsetzung mittels einer radikalischen Additionsreaktion der Cysteinthiolgruppe an Alkenen war dagegen nicht realisierbar.

4.3.5 Synthesen mit L-Lysin

Lysin-Derivate sind auf Grund ihrer ϵ -Aminogruppen und ihrer flexiblen Seitenkette interessante Bausteine für den Aufbau von dendritischen Strukturen und synthetischen Glykopeptiden. So gelang beispielsweise J. C. ROBBINS et al. 1981 die Darstellung eines vierfach mannosylierten Glykopeptidbausteins über die ϵ -Aminogruppen von Lysin.^[112] Bei der Darstellung eines Hexaglykopeptids erreichten E. A. L. BIESSEN et al. eine deutliche Erhöhung der Affinität gegenüber α -D-Mannose mit jedem weiteren in das Glykomimetikum eingebauten Zuckerbaustein und schließlich eine Bindungskonstante im nanomolaren Bereich (**Abb. 43**).^[113]

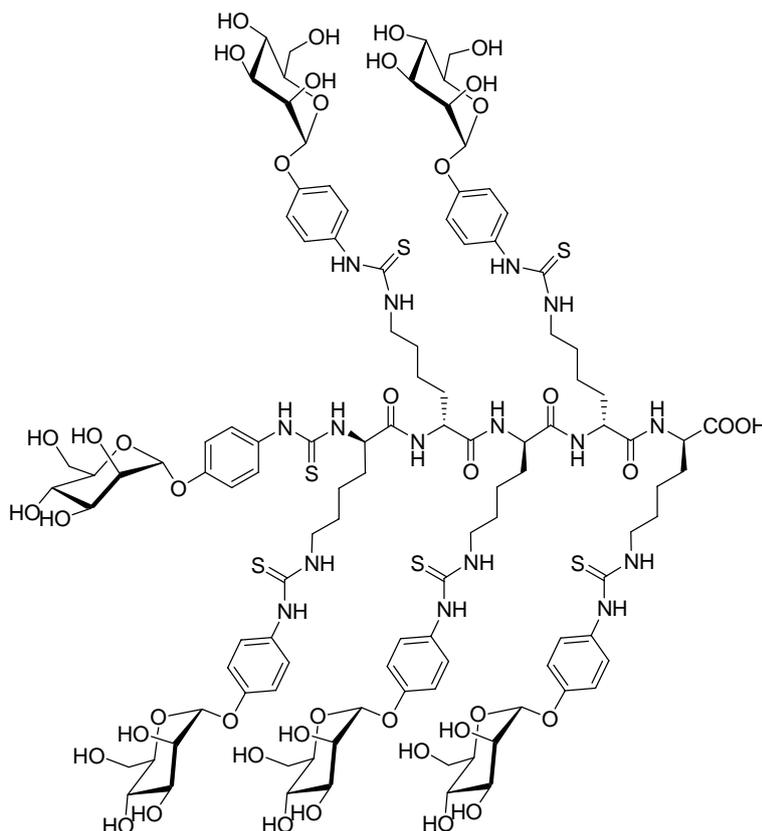


Abbildung 43: Struktur des Hexaglykopeptids von Biessen et al. ^[113]

Hierbei erfolgte die Anbindung der Kohlenhydrateinheiten wiederum über die ϵ -Aminogruppen von Lysin. Die Darstellung eines glykopeptidischen Lysin-Dendrimers konnte von C. GRANDJEAN et al. erreicht werden.^[114] Zur Darstellung von Glykoaminosäure-Bausteinen kann die ϵ -Aminogruppen des Lysins auf mehreren Wegen funktionalisiert werden. Hierbei bieten sich besonders eine Peptidkupplung und die reduktive Aminierung an. Beide Synthesewege wurden im Weiteren verfolgt.

Die Amino-funktionalisierte Seitenkette von Lysin ist relativ lang und flexibel. Um diese Flexibilität nicht noch weiter zu erhöhen, sollte die Carboxylfunktion für eine Peptidkupplung mit Lysin möglichst direkt am Zucker platziert werden. Daher wurde für die Reaktion mit Fmoc-Lys-OH (**57**) das Carboxymethylmannosid **58** (Abb. 44) vorgesehen. Die Darstellung von **58** erfolgte in drei Schritten ausgehend vom Allylmannosid **51**. Nach Acetylschützung zu **59** und anschließender Ozonolyse zum Aldehyd **60** sollte in einer abschließenden Oxidation die freie Säure **58** erhalten werden. Zur Darstellung des Aldehyds wurde eine Vorschrift von M. DUBBER verwendet, mit der **60** in guten Ausbeuten dargestellt werden konnte.^[115] Für den abschließenden Reaktionsschritt wurde eine Vorschrift von R. W. ARMSTRONG adaptiert, in der die

Oxidation mit Hilfe von Natriumdihydrogenphosphat, 2-Methyl-2-buten und Natriumchlorit durchgeführt wird.^[116]

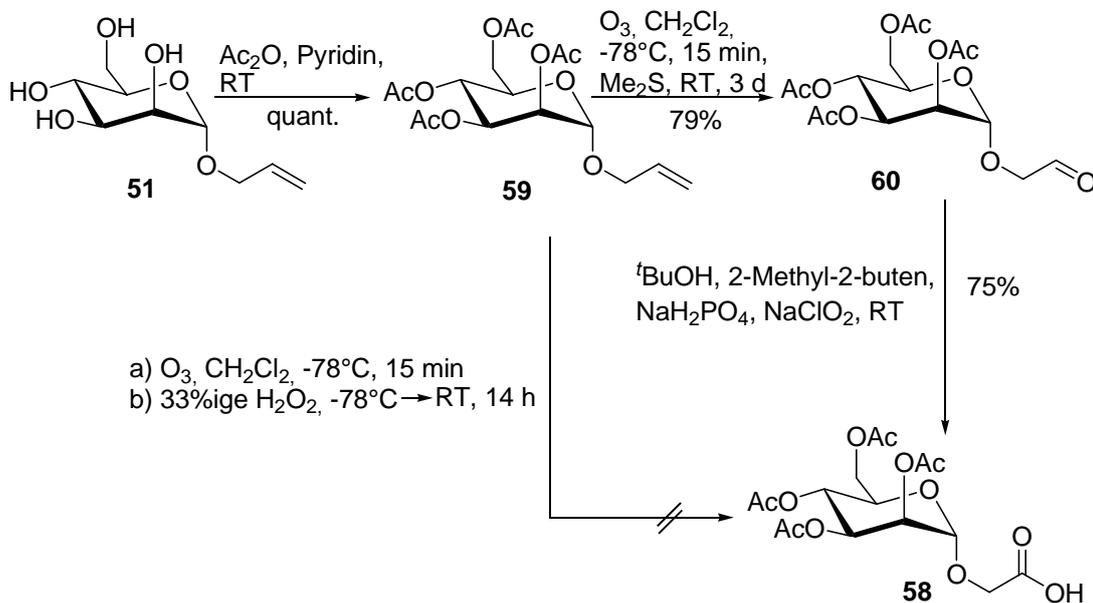


Abbildung 44: Darstellung des Carboxymethylmannosids (**58**) in drei Stufen ausgehen von Allylmannosid **51** und die versuchte Darstellungsmethode über den Ozonolyseweg.

Die Synthese von **58** über **59** und **60** konnte zwar mit 75% in guten Ausbeuten vollzogen werden, doch bereitete die Aufreinigung der freien Säure einige Probleme. Trotz mehrfacher Reinigung an Kieselgel waren immer noch deutliche Verunreinigungen laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektren vorhanden. Diese konnten erst durch eine abschließende GPC-Säulen-Reinigung entfernt werden. Der Versuch, **58** unkomplizierter, direkt aus **59** durch Ozonolyse mit anschließender oxidativer Aufarbeitung zu erhalten, war dagegen nicht erfolgreich. Es konnte nach der Aufarbeitung weder Produkt noch Edukt detektiert werden. Um die Bereitstellung dieses Bausteins zu vereinfachen, wurde daher ein anderer Syntheseweg eingeschlagen. Nach den positiven Erfahrungen bei der Verwendungen der Allylschutzgruppe wurde die Glycolsäure **61** in einem ersten Schritt selektiv mit Allylalkohol verestert^[117] (**Abb. 45**) und dann in einer Glykosylierungsreaktion mit Mannosepentaacetat (**16**) weiter umgesetzt. Nach abschließender Allylabsplaltung konnte die Säure **58** in guten Ausbeuten und ohne Aufreinigungsprobleme während der gesamten Synthesesequenz erhalten werden.

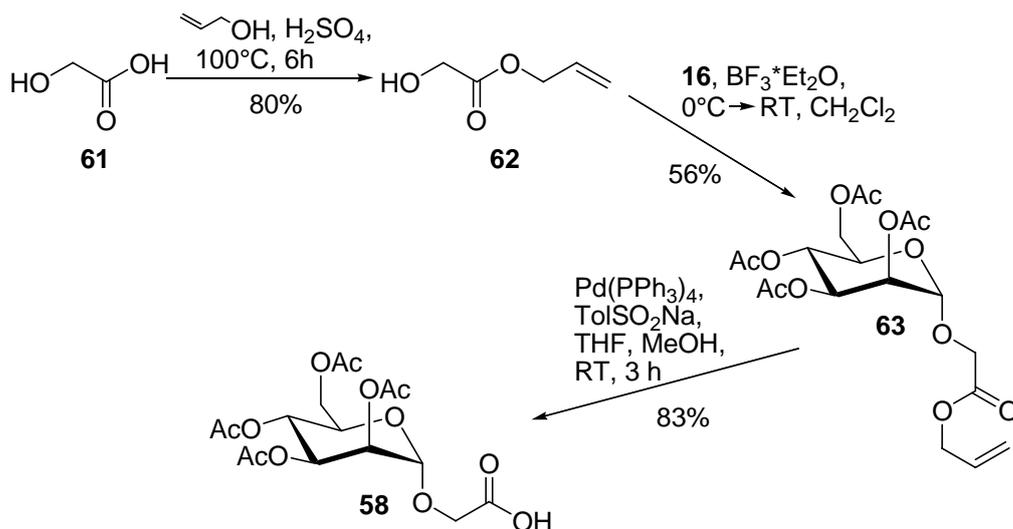


Abbildung 45: Darstellung der freien Säure **58** über den mannosidischen Allylester **63**.

Die Säure **58** konnte anschließend in moderaten Ausbeuten mit dem Fmoc-Lys-OH **57** gekuppelt werden und ergab so den zur Glykopeptidsynthese geeigneten Baustein **64**.

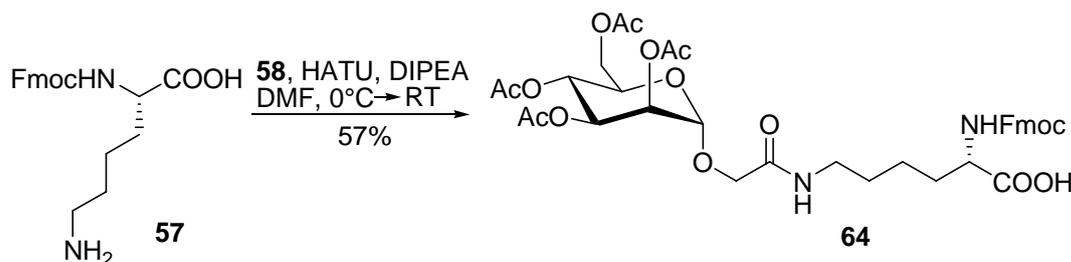


Abbildung 46: Peptidkupplung mit dem Mannosebaustein **58** und Fmoc-Lys-OH (**57**).

Eine weitere vielversprechende Reaktionsmöglichkeit mit Fmoc-Lys-OH ist die reduktive Aminierung. So erzielten W. B. TURNBULL et al. mit dieser Methode bei der Synthese von komplexen Glykokonjugaten sehr gute Ergebnisse und auch im Arbeitskreis LINDHORST konnten hiermit mehrere Kohlenhydratcluster erfolgreich aufgebaut werden. ^[115,118] Ausgehend vom Aldehyd **60** wurde mit **57** eine erste Reaktion in Dichlormethan und Natriumtriacetoxyborhydrid^[119] durchgeführt. Dabei konnte das erwartete Produkt **65** nur in geringen Mengen isoliert werden, die Ausbeute ließ sich jedoch durch die Verwendung von Acetonitril^[120] deutlich auf 76% Ausbeute steigern. Besonderes Interesse weckte bei dieser Reaktion eines der zwei isolierten Nebenprodukte, das sich als das tertiäre Amin **66** mit zwei Kohlenhydrateinheiten (Abb. 47) an der N^ϵ -Position identifizieren ließ. Erwartungsgemäß wurde das zweite Nebenprodukt als das geschützte 2-Hydroxyethylmannosid identifiziert, derjenige Alkohol, der unter den reduktiven Bedingungen aus **60** entsteht.

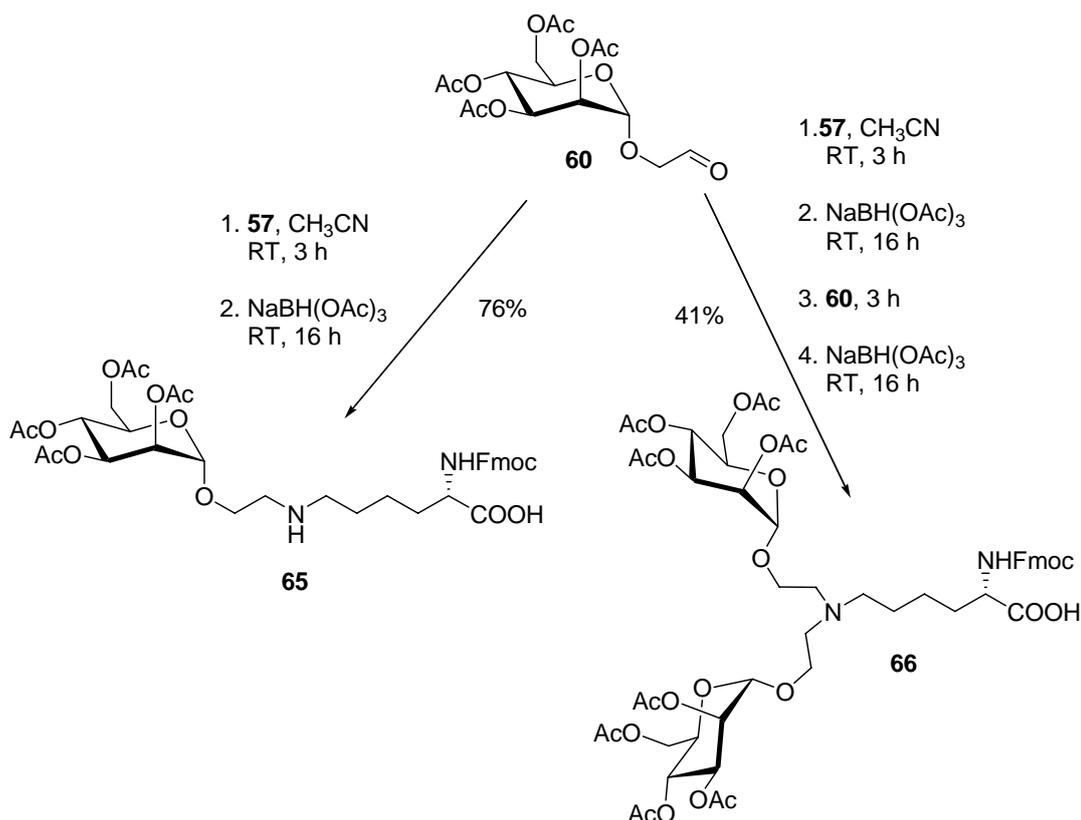


Abbildung 47: Reduktive Aminierung von **60** mit Fmoc-Lys-OH (**57**).

Angespornt durch diese Entdeckung wurde die Synthese des Glykoaminosäure-Bausteins **66** optimiert. Dies konnte mittels iterativer Zugabe von **60** und anschließender Zugabe von Natriumtriacetoxyborhydrid erreicht werden, wodurch das verzweigte Glykoaminosäure-Derivat **66** als Hauptprodukt isoliert werden konnte.

Durch die Synthesen mit Fmoc-Lysin (**57**) wurde die Palette der Glykoaminosäure-Bausteine um drei Grundbausteine erweitert. Besonders **66** ist auf Grund seiner Verzweigung und den zwei Kohlenhydrateinheiten ein interessanter Baustein für die SPPS.^[121]

4.3.6 Synthesen mit L-Asparaginsäure

Eine der häufigsten natürlichen Verknüpfungen von Kohlenhydraten an Aminosäuren ist die *N*-glykosidische Bindung an die Seitenkette von Asparagin, die auch durch die Umsetzung von Asparaginsäure erhalten werden kann (vgl. Kapitel 2). Für den Aufbau von natürlichen und auch artifiziellen Kohlenhydrat-Asparaginderivaten gibt es in der Literatur viele Beispiele.^[122-124] So stellten unter anderem L. L. KIESSLING und Mitarbeiter durch Verknüpfung der Saccharidstrukturen mit Asparaginsäure Glykopeptide mit mehreren

Kohlenhydrateinheiten dar.^[125] Ebenso ist der Aufbau von natürlichen Core-Pentasaccharidstrukturen durchführbar.^[126] Aber auch künstliche Glykolipidstrukturen konnten auf diesem Wege erstellt werden, wie Beispiele der Arbeitsgruppe um I. HAMACHI verdeutlichen.^[127] Zum Aufbau von Zucker-Asparaginsäure-Konjugaten sollten Varianten der natürlichen Verknüpfungsarten benutzt werden. Als Zuckerbausteine dienten hierbei das geschützte 2-Aminoethylmannosid **67** und das *O*-acetylgeschützte Mannosylamin **68**. Bei der Verwendung von aminofunktionalisierten Kohlenhydraten mit *O*-Acetylschutzgruppen besteht oft die Problematik der (*O*→*N*)-Acetylgruppenwanderungen. Um diese Problematik möglichst gering zu halten und eine stabile Lagerung der Edukte zu gewährleisten, wurde zunächst das Boc-geschützte Amin **69** in einer fünfstufigen Synthese ausgehend von **53** hergestellt (Abb. 48).

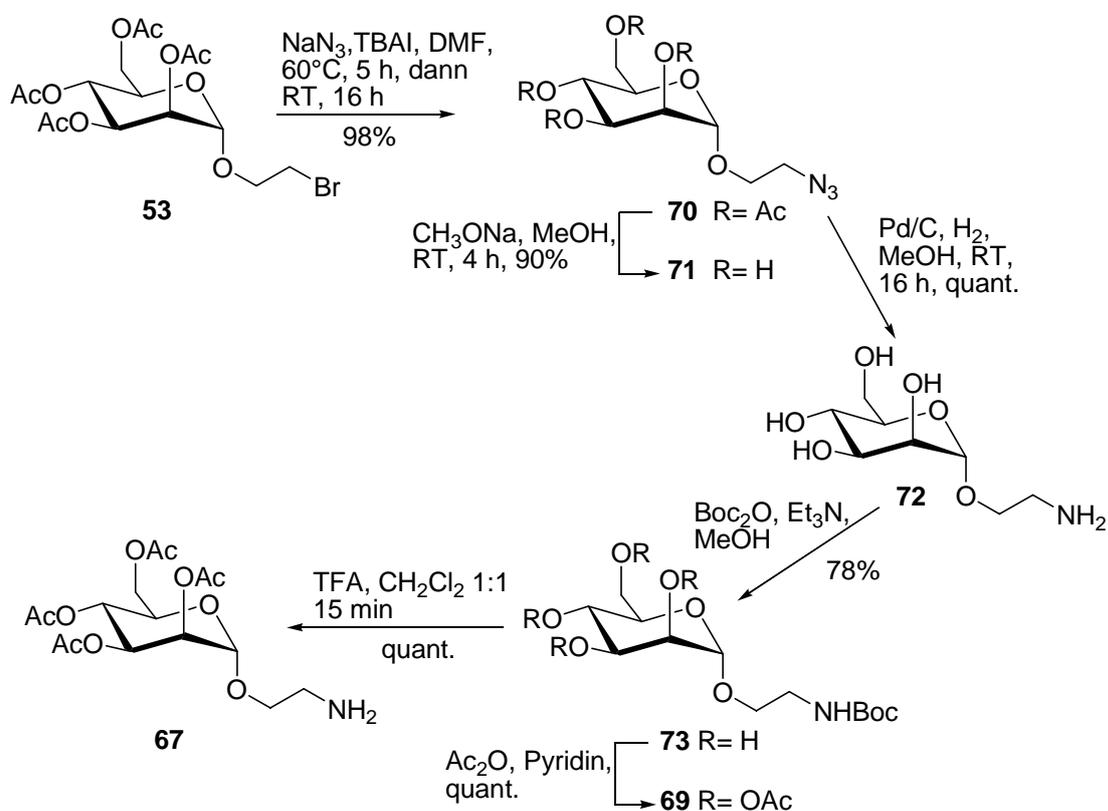


Abbildung 48: Darstellung des Boc-geschützten Amins **69** und die Entschützung zum freien Amin **67**.

Ausgehend vom Bromethylmannosid **53** wurde das ungeschützte Amin **72** in drei Schritten dargestellt. Nach Substitution zum Azid **70** erfolgte die Deacetylierung unter Standardbedingungen, um anschließend **72** durch Reduktion des Azids **71** zu erhalten. Nach Boc-Schutzung wurde das Mannosid **73** erhalten, welches aus Essigester umkristallisiert werden konnte. Die abschließende Acetylschutzung ergab das lagerbare Boc-geschützte Amin **69**, das unter Standardbedingungen zu **67** entschützt werden konnte.

Anschließend wurde das freie Amin **67** zügig mit dem kommerziell erworbenen Fmoc-Asp(OH)-O^tBu **74** zum Konjugat **75** gekuppelt, wobei eher moderate Ausbeuten von 45% erzielt wurden (**Abb. 49**).

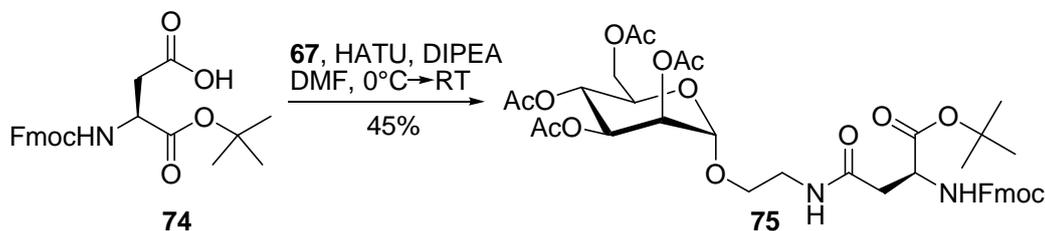


Abbildung 49: Kupplung des Aminbausteins **67** mit **74** zum Glykoaminosäure-Baustein **75**.

Auch der Baustein **68** konnte ausgehend von Mannosepentacetat **16** in drei Schritten synthetisiert werden. Durch Umsetzen mit Trimethylsilylazid wurde zunächst das anomerenreine α -Azid **76** nach einer adaptierten Vorschrift von J. P. MALKINSON in quantitativer Ausbeute dargestellt^[128] und im nächsten Schritt zum Amin **68** reduziert. Dieses Produkt wurde nach der Aufarbeitung sofort in einer Peptidkupplung mit der Aminosäure **74** umgesetzt, um einer (*O*→*N*)-Acetylgruppenmigration vorzubeugen. Doch konnte der Baustein **77** auch nach mehrmaliger säulenchromatographischer Aufreinigung an Kieselgel und nach einer GPC-Säule nie sauber isoliert werden und nur im MALDI-ToF-MS-Spektrum nachgewiesen werden (**Abb. 50**).

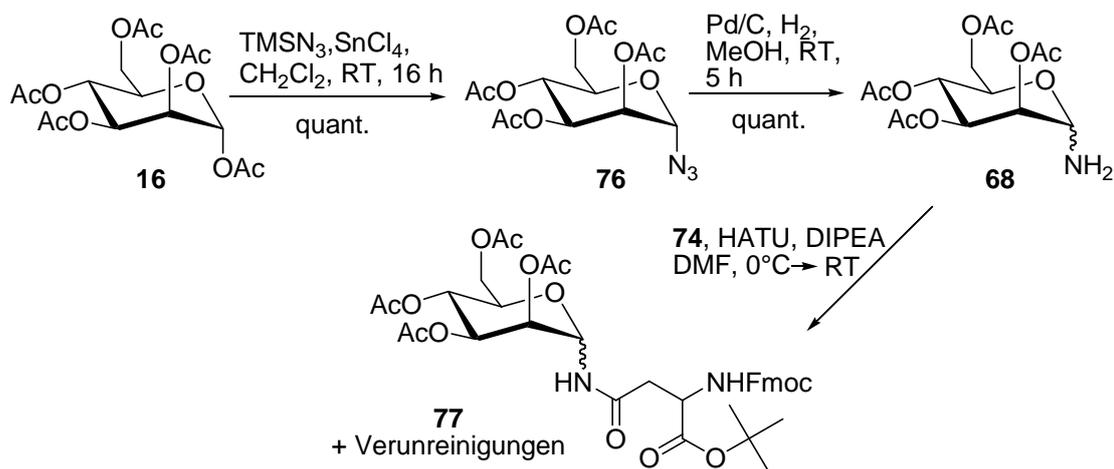


Abbildung 50: Darstellung des Mannosylamins **68** und anschließender Peptidkupplung mit **74** zum Mannosederivat **77**.

Zusammenfassend betrachtet ist die Synthese des 2-Aminoethylmannosid **67** umständlich und die Darstellung des Mannosylamins **68** von Anomerisierungen begleitet. Die Peptidkupplung von **67** mit dem Asparaginsäurederivat **74** lieferte schlechte Ausbeuten

und eine saubere Darstellung von **77** gelang gar nicht. Hinzu kam das allgegenwärtige Problem der (*O*→*N*)-Acetylgruppenwanderung so dass an dieser Stelle ein Strategiewechsel vorgenommen wurde. Hierfür erwies sich eine modifizierte Variante der Staudinger-Reaktion,^[129] die so genannte Staudinger-Ligation als geeignet. J. GARCIA et al. zeigten 1984 erstmals, dass die Umsetzung einer Carbonsäure mit einem Azid zum Amid unter den von H. STAUDINGER beschriebenen Bedingungen möglich ist.^[130] Auf Grund der milden Reaktionsbedingungen und der Möglichkeit sowohl geschützte als auch ungeschützte Kohlenhydrate zu verwenden, ist die Staudinger-Ligation eine leistungsstarke Methode in der Naturstoffchemie und hierbei besonders in der Glykopeptidchemie.^[131-133] Der Mechanismus der Reaktion ist bisher nur teilweise geklärt, nachgewiesen werden konnte das Aza-Ylid **78**, das im Weiteren vermutlich mit dem Carboxylkohlenstoffatom der Säure reagiert und nach abschließender Hydrolyse das gewünschte Amid **79** bildet.

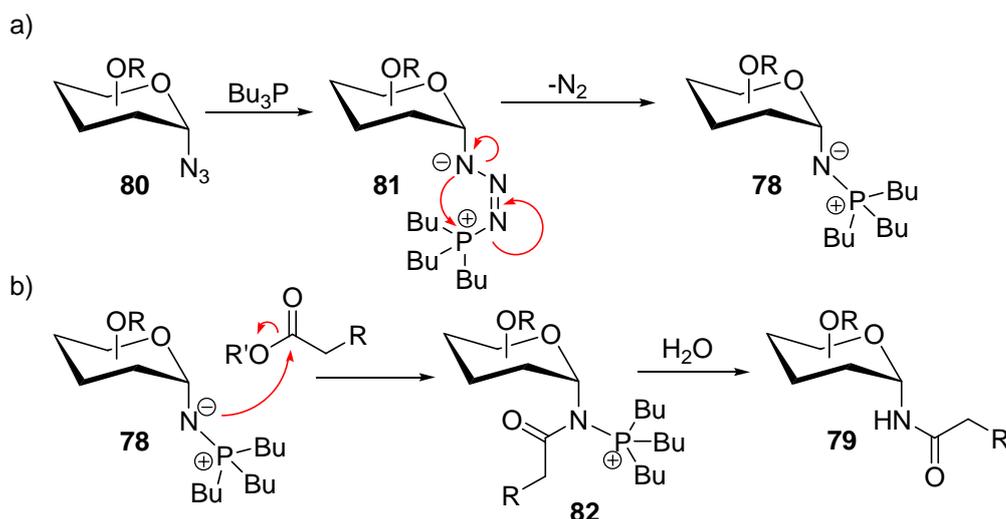


Abbildung 51: a) Durch Nachweis der Intermediate untermauerter Mechanismus der Staudinger-Ligation, b) vermuteter weiterer mechanistischer Verlauf zum Amid.^[133]

N. RÖCKENDORF konnte im Arbeitskreis LINDHORST durch die Verwendung von Trimethylphosphin schon mehrere Staudinger-Ligationen erfolgreich durchführen.^[134] Allerdings besteht bei der Verwendung von Trimethylphosphin eine erhöhte Gefahr ausschließlich das Nebenprodukt Trimethyliminophosphazene zu erhalten, welches sich in Literaturbeispielen nicht zum Produkt umlagerte (vgl. **Abb. 53**).^[131] Daher erschien die Adaption einer Vorschrift von J. P. MALKINSON, bei der Tri-*n*-butylphosphin verwendet wird, als geeigneter, da die entstehenden Iminophosphazene stets mit dem aktivierten Aminosäuren zum Amid weiterreagierten.^[128]

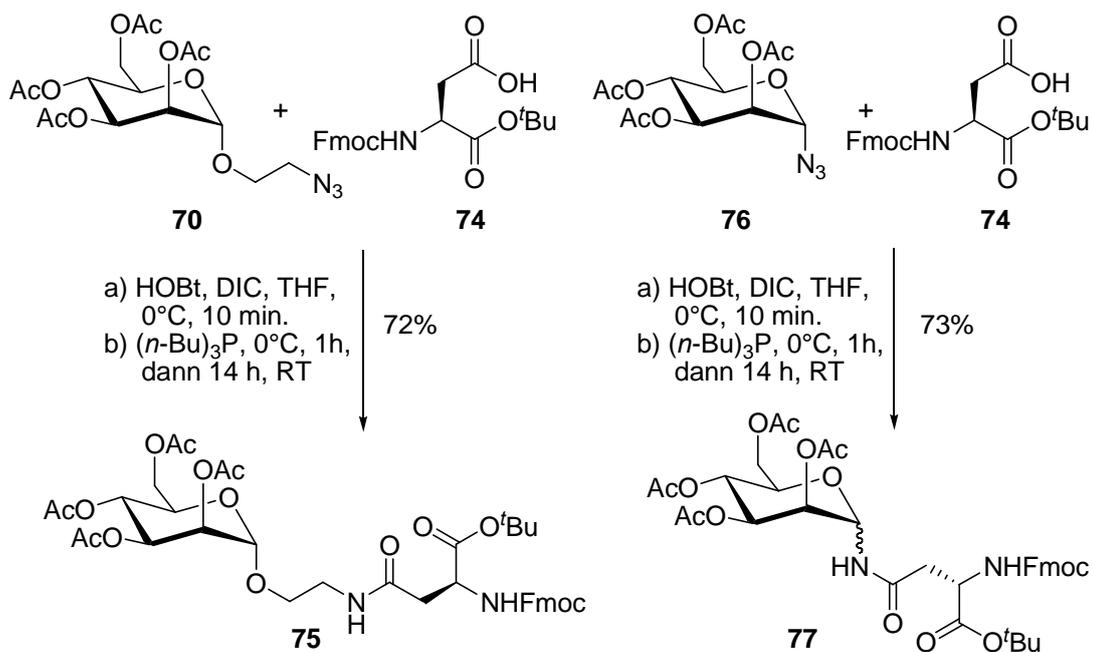


Abbildung 52: Darstellung der Asparaginsäurederivate **75** und **77** unter Staudinger-Ligations-Bedingungen.

Die Darstellungen des Glykoaminosäure-Bausteins **75** direkt aus dem Azid mittels Staudinger-Ligation verliefen dann tatsächlich ohne Probleme und in guter Ausbeute. Auch die Darstellung des Bausteins **77** gelang in guter Ausbeute und ohne Schwierigkeiten, jedoch wurde durch $^1\text{H-NMR}$ -Spektren ein α,β -Anomerenverhältnis von 1:1 festgestellt. Das Auftreten von Anomeregemischen bei der Verwendung des Mannopyranosylazids **76** ist bekannt. Es wird angenommen, dass das aus dem Aza-Ylid **78** gebildete Mannosylphosphazenen-Derivat **83** über die offenkettige Form **84** zum β -konfigurierten Isomer **85** isomerisiert, das dann mit der Säure zum β -konfigurierten Amid **86** abreagiert (**Abb. 53**).^[135]

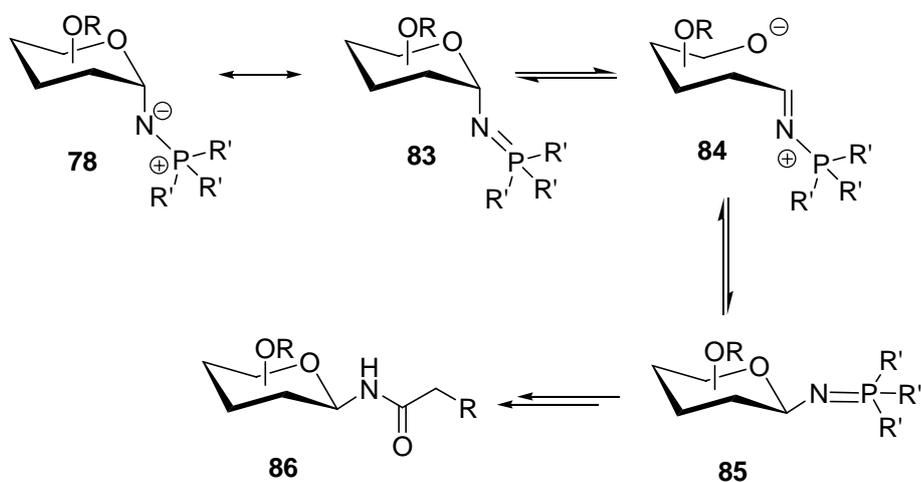


Abbildung 53: Mechanismus der Anomerisierung während der Staudinger-Ligation.

Trotz des Anomerisierungsproblems bei der Darstellung von **77** konnte mittels der Staudinger-Ligation insgesamt der umständliche Syntheseweg zu den Glykoaminosäure-Derivaten **75** und **77** über die Amine **67** und **68** deutlich verkürzt und die Gesamtausbeuten optimiert werden. Die Ausbeute in der Synthese des Bausteins **75** konnte dabei verdoppelt und die Syntheseroute um fünf Stufen verringert werden. Bei der Darstellung der Glykoaminosäure **77** konnte eine Stufe eingespart und das gewünschte Produkt sauber isoliert werden. In Tabelle 6 werden die Strategien zur Darstellung der Glykoaminosäure-Derivate **75** und **77** verglichen.

Tabelle 6: Gesamtausbeutenvergleich und Stufenanzahlen für die Synthese von **75** und **77**.

	Gesamtausbeute		Gesamtstufenanzahl ausgehend von 16 zur Darstellung von 75 bzw. 77	
	Peptid- Kupplung	Staudinger- Ligation	Peptid- Kupplung	Staudinger-Ligation
75	19%	42%	8	3
77	?	73%	3	2

H. SHAIKH aus dem Arbeitskreis LINDHORST konnte in seiner Doktorarbeit benzoylgeschützte 1-Azidomannoside erfolgreich in Staudinger-Ligationen zum reinen α -Anomer umsetzen.^[136] Hierfür verwendete er neben den Benzoylschutzgruppen deutlich tiefere Temperaturen (-70 °C) und das sterisch anspruchslosere Trimethylphosphin. In zwei Testansätzen sollte daher der Einfluss der Schutzgruppen in der Staudinger-Ligation getestet werden, wodurch die Synthese des reinen α -Anomers erhofft wurde. Neben dem Schutzgruppenwechsel wurden alle weiteren Bedingungen von den vorherigen Reaktionen beibehalten. In der ersten Reaktion wurde das Azid (**87**) mit Fmoc-Asp(OH)-O^tBu (**74**), in der zweiten mit Fmoc-Cys(Trt)-OH (**40**) umgesetzt (**Abb. 54**).

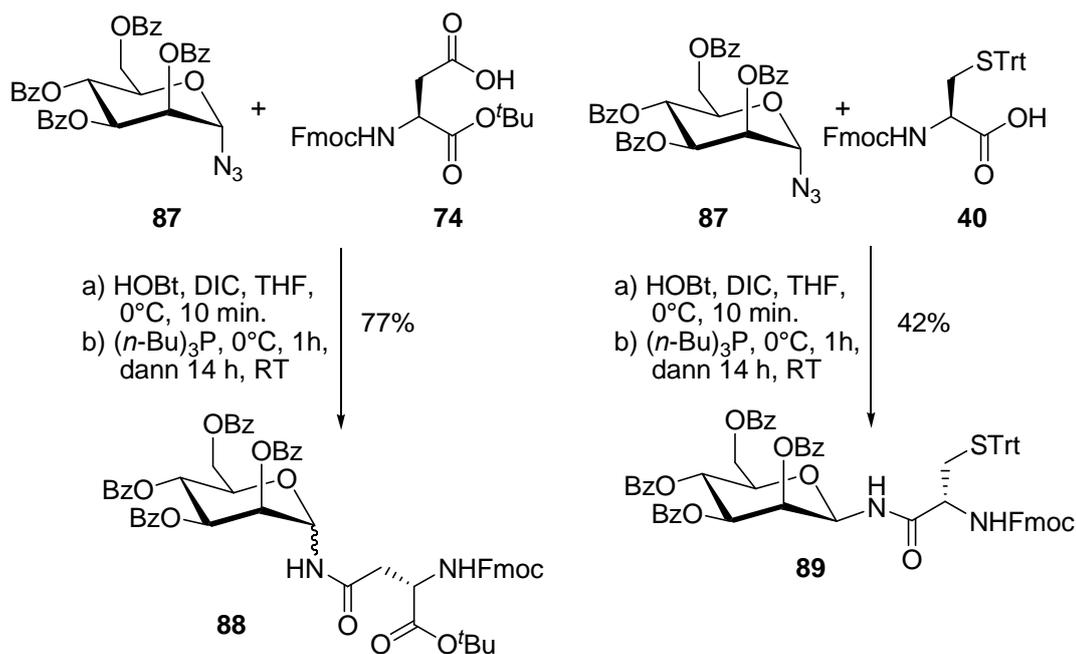


Abbildung 54: Testansätze zur Darstellung von reinen Anomeren bei der Staudinger-Ligation von 1-Azidomannosiden.

Die Versuche führten aber nicht zu den erhofften reinen Anomeren. Bei der Umsetzung mit **74** konnte ein α,β -Anomerenverhältnis von 1:7 festgestellt werden. Der Unterschied zu den Acetylschutzgruppen bestand darin, dass bei der Verwendung der Benzoylschutzgruppen eine Isolierung der Anomeren an Kieselgel möglich war. Bei der Umsetzung mit **40** konnte zwar nur das β -Anomer **89** isoliert werden, doch deutet die moderate Ausbeute von 42% auf die Bildung eines α -Anomers hin, da alle durchgeführten Staudinger-Ligationen eine Ausbeute um die 70% erzielten.

Somit war eine Darstellung von reinen Anomeren durch einen einfachen Schutzgruppenwechsel nicht möglich. In weiteren Testreaktionen müsste im Folgenden nun der Einfluss der Temperatur und des verwendeten Phosphins untersucht werden, doch wurden diese Untersuchungen nicht mehr im Rahmen dieser Arbeit vollzogen.

4.3.7 Synthesen mit L-Glutaminsäure

Die Saccharidketten in natürlichen *N*-Glykoproteinen sind immer mit der Seitenkette von Asparagin verknüpft. Dagegen wurden bis zum heutigen Zeitpunkt in der Natur keine glykosylierten Glutaminsäuren gefunden.^[137] Glutaminsäure kann jedoch herangezogen werden, um die synthetische Glykoaminosäure-Bibliothek um einen weiteren Baustein zu ergänzen. Das Derivat Fmoc-Glu(OH)-O'Bu (**90**) wurde in Analogie zum Asparaginsäure-Derivat **74** in einer Staudinger-Ligation mit dem Azid **70** zum Glykoaminosäure-Baustein

91 umgesetzt (**Abb. 55**). Die einzige Modifikation bestand in der Verwendung von Triphenylphosphin statt Tri-*n*-butylphosphin, dessen grundsätzliche Eignung für diese Reaktion getestet wurde, da bei der Verwendung von Triphenylphosphin für die Staudinger-Ligation von Glykosylaziden in der Literatur kein Umsatz beschrieben wurde.^[128,131]

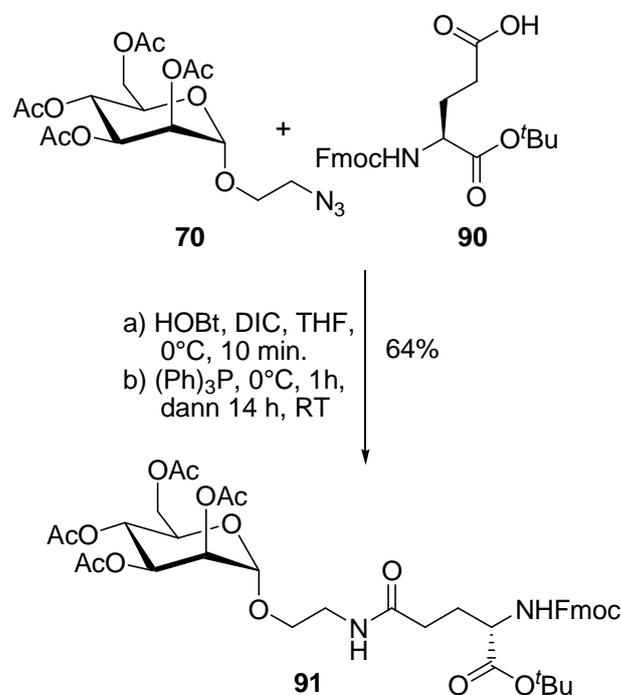


Abbildung 55: Darstellung des unnatürlichen Glutaminsäure-Bausteins (**91**).

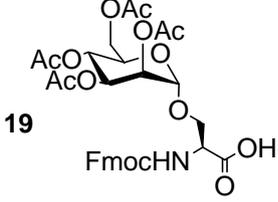
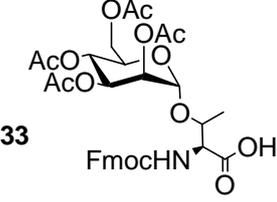
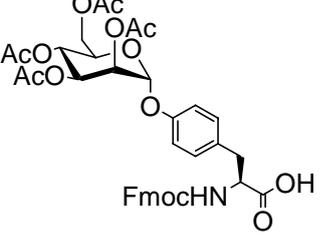
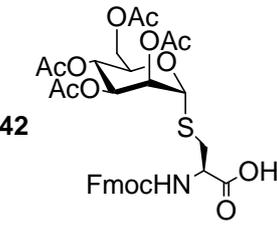
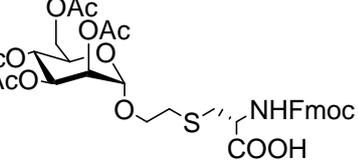
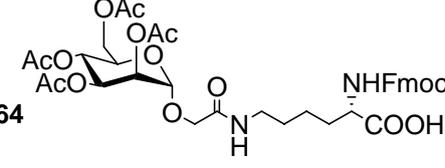
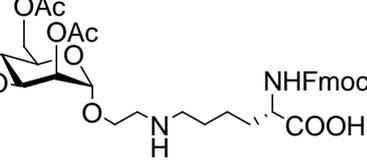
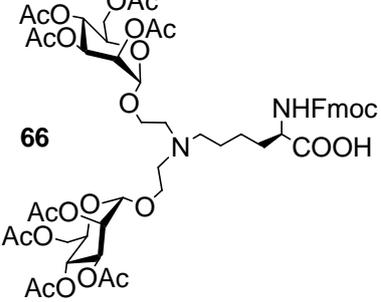
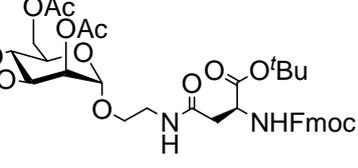
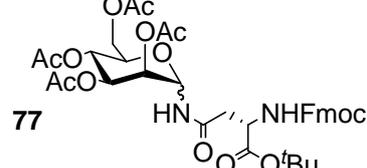
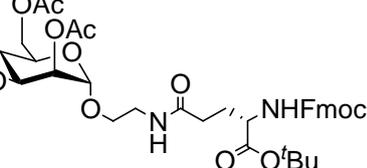
Der Einsatz von Triphenylphosphin anstelle von Tri-*n*-butylphosphin bewirkte bei der Darstellung von **91** einen minimalen Ausbeuteverlust im Vergleich zur Synthese von **75**, war aber mit dem Azidoethylmannosid **70**, im Gegensatz zu Literaturbeispielen, in denen anomere Azide eingesetzt wurden, möglich.^[128,131] Der erfolgreiche Einsatz von Triphenylphosphin kann durch die geringere sterische Abschirmung bei der Verwendung von Azidoethylglykosiden gegenüber einer Ligation mit einem Glykosylazid erklärt werden. Also erlaubte diese Vorschrift damit die Herstellung des Glutaminsäure-Bausteins **91** mit 64% Ausbeute.

4.3.8 Zusammenfassung: Mannosidische Glykoaminosäuren

Ziel des ersten Teils dieser Arbeit war der Aufbau einer Glykoaminosäure-Bibliothek aus Mannose und natürlichen Aminosäuren unter Variation der Spacer und Verknüpfungsschemie. Dieses Ziel konnte durch die Synthese von insgesamt elf verschiedenen Glykoaminosäure-Bausteinen (**Tab. 7**) erfolgreich abgeschlossen werden.

Hierbei wurden neben einer Vielzahl an Reaktionstypen und Schutzgruppenstrategien auch die Darstellung der Glykoaminosäuren **19**, **33**, **36**, **56**, **61**, **62** und **63** ohne Säureschutzgruppe durchgeführt.

Tabelle 7: Zusammenfassung aller synthetisierten Glykoaminosäurebausteine.

 <p>19</p>	 <p>33</p>
 <p>39</p>	 <p>42</p>
 <p>56</p>	 <p>64</p>
 <p>65</p>	 <p>66</p>
 <p>75</p>	 <p>77</p>
 <p>91</p>	

5 Mannose-Derivate für Verknüpfungen mit Peptiden

Die Synthese der Glykopeptide sollte wie einleitend beschrieben sowohl an fester Phase mit den Glykoaminosäure-Bausteinen als auch auf nasschemischem Wege durch die Methode der nachträglichen Glykosylierung von fertigen Peptiden erzielt werden. Während im letzten Kapitel die Darstellung von Glykoaminosäure behandelt wurde, die direkt in der Festphasensynthese von Glykopeptiden eingesetzt werden können („Methode1“ für die Herstellung von Glykopeptiden), folgt nun die Beschreibung der Herstellung von Mannose-Derivaten, die sich für die nachträgliche Funktionalisierung von Peptiden eignen („Methode2“).

5.1 Synthesekonzept für die Mannosebausteine der Methode 2

Zum Aufbau von Glykopeptidstrukturen durch nachträgliche Glykosylierung müssen neben den peptidischen Strukturen auch geeignete Glykosyl- bzw. Glykosiddonoren synthetisiert werden.

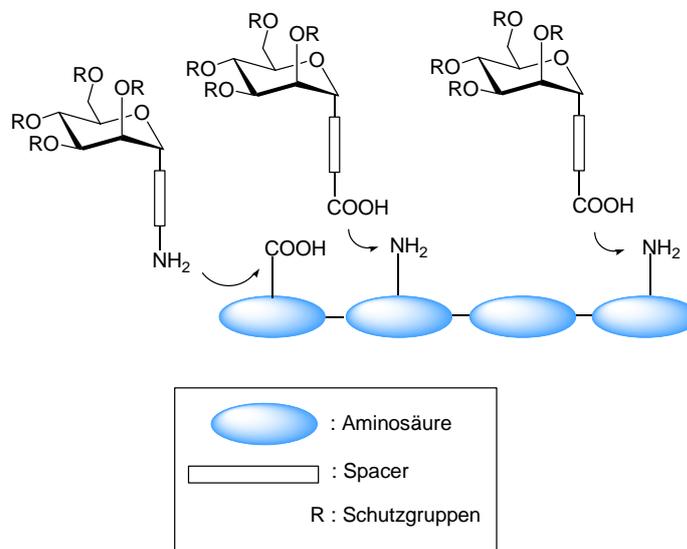


Abbildung 56: Schematische Darstellung der nachträglichen Funktionalisierung der fertigen Peptide mit Glykosyl- bzw. Glykosiddonoren nach der Methode 2.

Die Verknüpfung der Kohlenhydrate mit dem Peptidrückgrat kann auf unterschiedliche Weise geschehen. Neben der klassischen Glykosylierung der Hydroxylfunktion von Serin-, Threonin- oder Tyrosin-Seitenketten können auch Peptidkupplungen mit den Seitenketten von Asparaginsäure, Glutaminsäure oder Lysin mit entsprechend funktionalisierten Zuckern verwendet werden. Auch die Synthese über Thioharnstoffe oder sekundäre bzw. tertiäre Amine durch reduktive Aminierung ist denkbar. Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte

die Verknüpfung der Mannosebausteine mit der Peptidkette über Amidbindungen. Diese Methode wurde gewählt, weil eine mehrfache Glykosylierung in hohen Ausbeuten schwierig zu realisieren ist und bei der Peptidkupplung bessere Ergebnisse erwartet werden konnten. Außerdem können von zusätzlichen Gruppen weitere Wechselwirkungen mit der Umgebung eines Rezeptors erhofft werden. Als Zielmoleküle sollten daher folgende drei Mannoside, die alle Carboxy-funktionalisiert sind, sich jedoch in der Art des Spacers unterscheiden, dargestellt werden (**Abb. 57**).

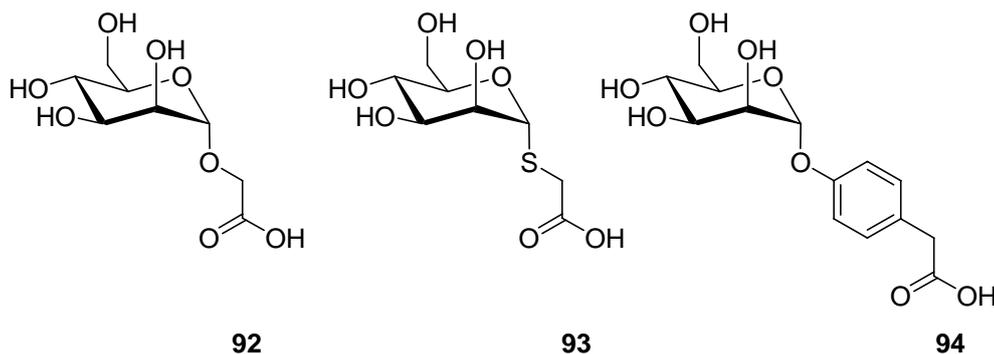


Abbildung 57: Carboxy-funktionalisierte Mannoside für die nachträgliche Funktionalisierung der Peptide.

Neben dem aliphatischen *O*-Glykosid **92** sollte ein aromatisches Spacersystem **94** sowie ein *S*-Glykosid **93** verwendet werden. Der Einsatz eines aromatischen Aglykons und einer Thioverbindung wurde auf Grund der in Kapitel 4.3.3 und Kapitel 4.3.4 diskutierten Eigenschaften dieser Verbindungen gewählt. Alle drei Verbindungen sind literaturbekannt und wurden dort auf unterschiedlichsten Wegen synthetisiert.^[138-140] Die Darstellung der drei Bausteine erfolgte hier ausgehend vom Mannosepentaacetat **16** über eine Glykosylierungsreaktion mit dem entsprechenden Methylestern **95**, **96** und **97**. Die dabei als Zwischenprodukte erhaltenen Mannoside **98**, **99** und **100** wurden anschließend unter Standardbedingungen zu den freien Säuren **92**, **93** und **94** entschützt. Während die Glykosylierung problemfrei verlief, konnten nach der abschließenden Entschützung der Mannoside mit wässrigem Lithiumhydroxid die entstehenden Acetatsalze nicht von den Produkten abgetrennt werden. Auch nach mehrfachem Aufreinigen über GPC und MPLC waren diese noch deutlich im ¹H-NMR-Spektrum sichtbar. Um eine Acetylierung von Aminogruppen in der nachfolgenden Peptidkupplung zu vermeiden, wurde die Synthese daher um einen Schritt erweitert. Nach der Glykosylierung wurden nur die Acetylschutzgruppen unter Zemplén-Bedingungen entfernt und die Methylester **101**, **102** und **103** säulenchromatographisch an Kieselgel aufgereinigt. Erst danach erfolgte ohne

weitere Reinigungsschwierigkeiten die Verseifung der Ester zu den freien Säuren **92**, **93** und **94** in befriedigenden Gesamtausbeuten (**Abb. 58**).

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Herstellung der drei Säure-funktionalisierten Mannoside **92-94** für die nachträgliche Zucker-Funktionalisierung von Peptiden in drei separaten Reaktionsschritten unproblematisch war.

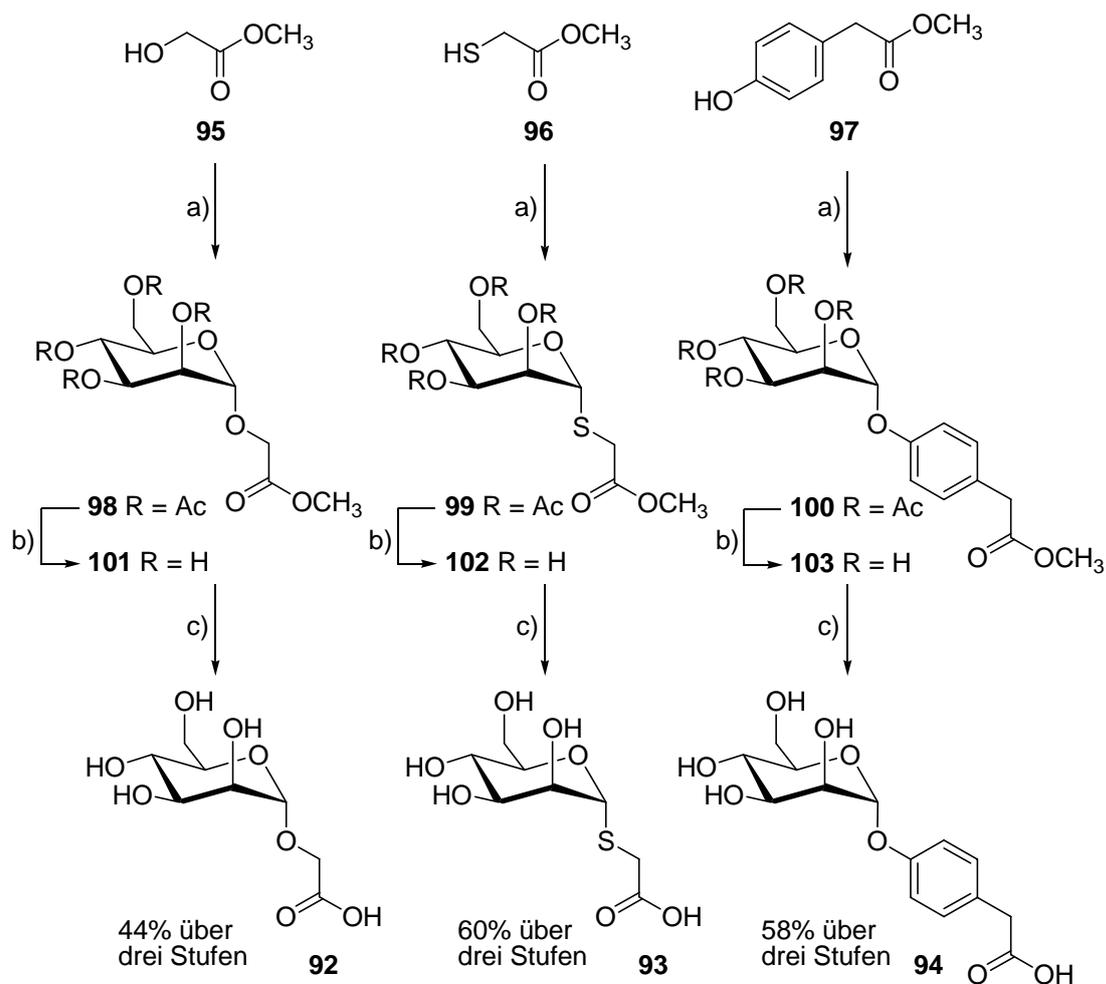


Abbildung 58: a) **16**, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 16 h;
b) NaOMe, MeOH, RT, 4 h; c) LiOH, THF/H₂O (1:1).

5.2 Unterkapitel: Mannose-Bausteine für die SPOT-Peptid-Synthese

Für eine Kooperation mit N. RÖCKENDORF aus der Arbeitsgruppe von A. FREY vom Forschungszentrum Borstel sollten neben den schon synthetisierten Mannosebausteinen mit freier Säurefunktion noch weitere Bausteine dargestellt werden. Diese sollten ein aromatisches Aglykon bzw. einen aromatischen Baustein im kurzen Abstand zur Mannose aufweisen, da dadurch eine Erhöhung der Bindungsstärke zwischen dem Zielprotein und dem synthetisierten Liganden erhofft wurde. Die synthetisierten Mannosebausteine sollten an das *N*-terminale Ende eines Peptidstranges gebunden werden, um dann in biologischen Tests als „Affinitätsanker“ den Bindungsort an der Proteinoberfläche festzulegen. Die eingesetzten Peptidstränge durchliefen vorher einen computergesteuerten Evolutionsprozess, der zu optimalen Bindungsaffinitäten des Glykopeptidliganden zu einem Rezeptor führen sollte. Um einen Mannosebaustein mit aromatischem Aglykon zu erhalten, wurde auf die Aminosäure Tyrosin zurückgegriffen. Neben der schon bewährten Glykosylierungsreaktion wurde eine Substitutionsreaktion mit Bromethylmannosid **53** durchgeführt. In beiden Produkten, wie auch in den Zielglykopeptiden, sollte die Aminogruppe der Aminosäure stets blockiert vorliegen. Daher wurde für die Glykosylierungsreaktion das Ac-Tyr-OEt-Derivat **104** ausgewählt und für die Substitutionsreaktion auf Boc-Tyr-OH (**105**) zurückgegriffen. Als Glykosyldonor wurde Pentabenzoylmannosid **106** eingesetzt, da nach der Entschützung die entstandenen Benzoate leichter abtrennbar sind als Acetatsalze.

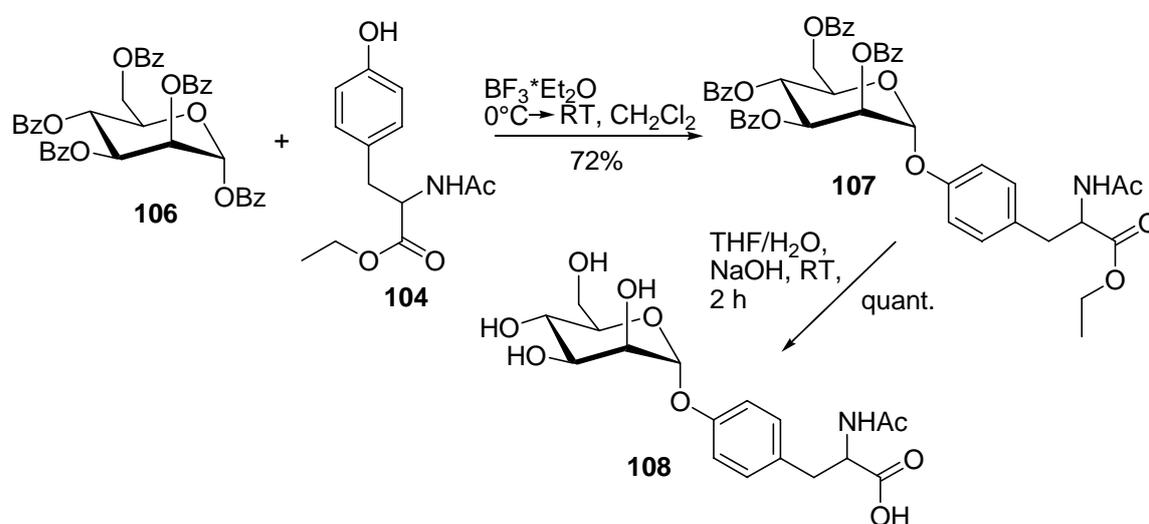


Abbildung 59: Darstellung des Bausteins **108** in zwei Schritten ausgehend vom Pentabenzooat **106**.

Das Glykosylierungsprodukt **107** wurde in guten 72% Ausbeute erhalten und konnte quantitativ in den entschützten Glykoaminosäure-Baustein **108** überführt werden. Dabei wurden die *O*-Benzoylschutzgruppen gemeinsam mit dem Ethylester gespalten (**Abb. 59**). Auch die Synthese des zweiten avisierten Bausteins gelang ohne Probleme und ergab das Substitutionsprodukt **109** mit 71% ebenfalls in guter Ausbeute (**Abb. 60**). Auf eine Entschützung wurde hier verzichtet. Diese sollte erst nach der Kupplung an das Peptid erfolgen. Somit konnte die Palette Carboxy-funktionalisierter Mannoside um zwei Moleküle auf fünf erweitert werden und diese konnten nun in den SPOT-Peptid-Synthesen eingesetzt und getestet werden. Abschließende Ergebnisse stehen in dieser umfangreichen Kooperation noch aus.

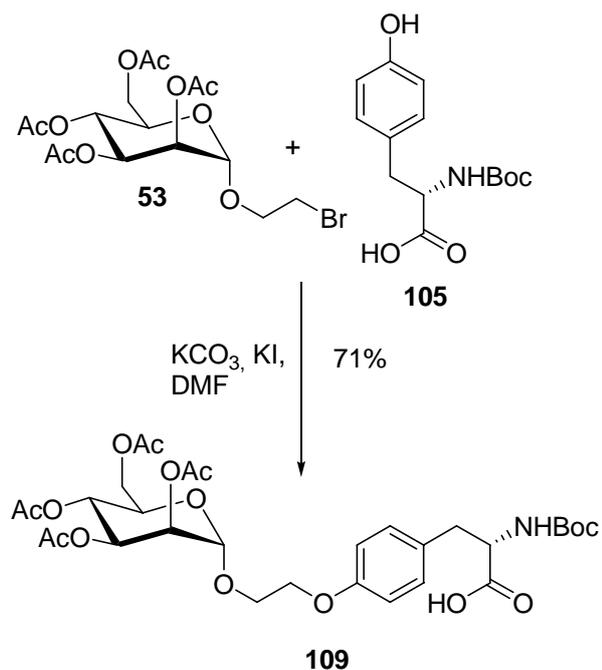


Abbildung 60: Darstellung des Boc-geschützten Mannose-Derivats **109** aus **53** und **105**.

6 Aminosäure-basierte Glykocluster

Bei der Erforschung von Kohlenhydrat-Wechselwirkungen und des Glykoclustereffektes stellen synthetische, multivalente Glykocluster als Mimetika der natürlichen, stark verzweigten Kohlenhydratliganden ein wichtiges Hilfsmittel dar. Sie ermöglichen biologische Tests, die Kartierung von Lektinoberflächen, können Besonderheiten zum Design neuer Liganden herausstellen und herrschende Theorien wie die des Glykoclustereffektes und des Multivalenzprinzips validieren. Ihre besondere Nützlichkeit wird durch eine Vielzahl an synthetisierten Clustern in der Literatur unterstrichen.^[141-145]

Auf Grund dessen wurde angestrebt, mit Hilfe des erworbenen Methoden- und Bausteinarsenals geeigneter Glykoaminosäure-Derivate mehrere tri- bzw. tetravalente Glykocluster darzustellen und anschließend ihre inhibitorische Potenz in Affinitätstests zu untersuchen. Als Grundkörper wurden hierfür L-Asparaginsäure, L-Cystein und Trimesinsäure gewählt. Sie bieten die Möglichkeit Mannose-Derivate oder andere Verbindungen an drei, teilweise orthogonalen Positionen anzuknüpfen (**Abb. 61**).

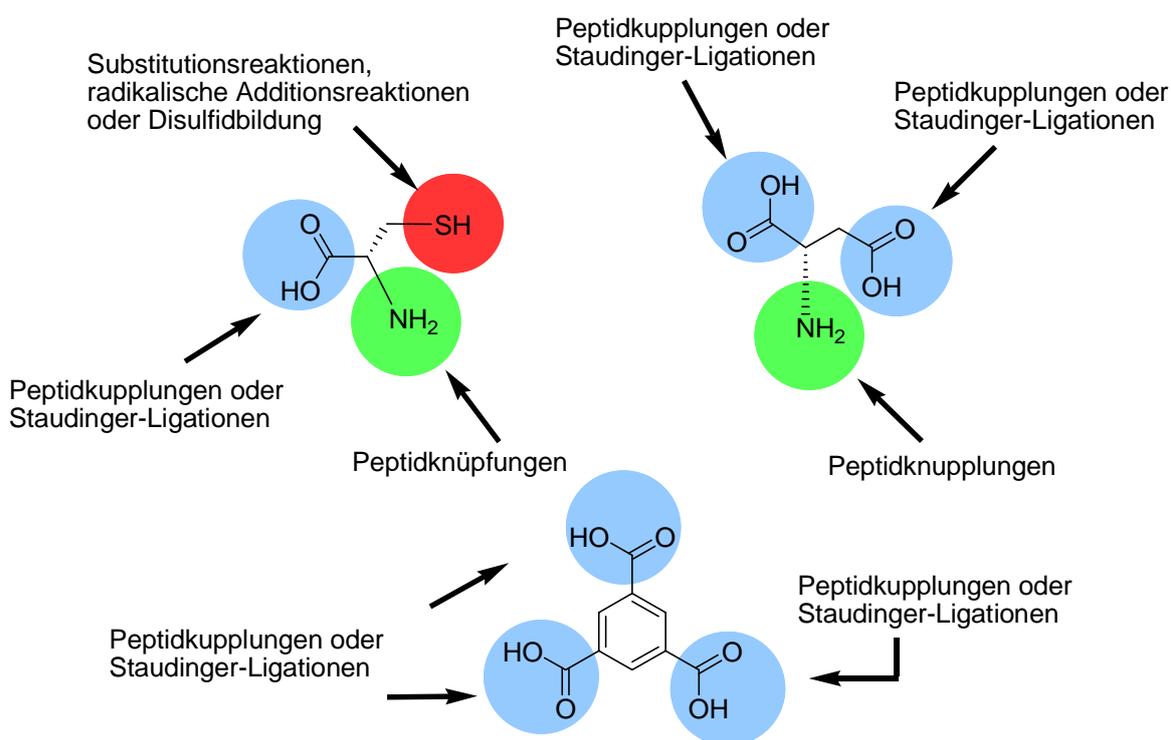


Abbildung 61: Mögliche Anknüpfungspunkte zur Synthese von trivalenten oder tetravalenten Glykoclustern.

Im Fall des Cysteins können die Carboxylfunktion (in **Abb. 61** blau unterlegt) und die Aminofunktion (grün unterlegt) durch Peptidkupplungen und Staudinger-Ligationen mit unterschiedlichen Mannoseeinheiten derivatisiert werden. Die Thiofunktion (rot unterlegt) bietet eine große Anzahl an Funktionalisierungsmöglichkeiten. Besonderes Interesse gilt

hierbei der oxidativen Dimerisierung zu Disulfiden, die einen Zugang zu tetravalenten Clustern ermöglichen, Substitutionsreaktionen und radikalischen Additionsreaktionen, die zu trivalenten Systemen führen können.

Die beiden Säurefunktionen der Asparaginsäure können in einem Schritt durch Peptidknüpfungen oder Staudinger-Ligationen funktionalisiert werden. Anschließend ist dann der Aufbau eines trivalenten Clusters durch die Funktionalisierung der Aminofunktion möglich. Im Fall der Trimesinsäure ist keine Unterscheidung zwischen den funktionellen Gruppen möglich. Der Aufbau eines trivalenten Clusters ist hier durch die gleichzeitige Funktionalisierung der drei Säuregruppen der aromatischen Kernstruktur möglich.

6.1 Durchgeführte Synthesen

6.1.1 Cystein-basierte Glykocluster

Um einen divergenten Aufbau von Glykoclustern mit verschiedenen Mannose-Bausteinen zu ermöglichen, wurde auf das orthogonal geschützte Cystein-Derivat Fmoc-Cys(Trt)-OH **37** zurückgegriffen. Hier kann zuerst eine Funktionalisierung der freien Säuregruppe erfolgen, im nächsten Schritt kann dann die Aminofunktion entschützt und in einer Peptidkupplung weiter umgesetzt werden. Abschließend können weitere Synthesen mit der Thiolfunktion erfolgen. Tatsächlich lieferte die Umsetzung des ungeschützten 2-Aminoethylmannosids **72** mit der Aminosäure Fmoc-Cys(Trt)-OH **40** in einer Peptidkupplung das Konjugat **110** in hervorragender Ausbeute (**Abb. 62**).

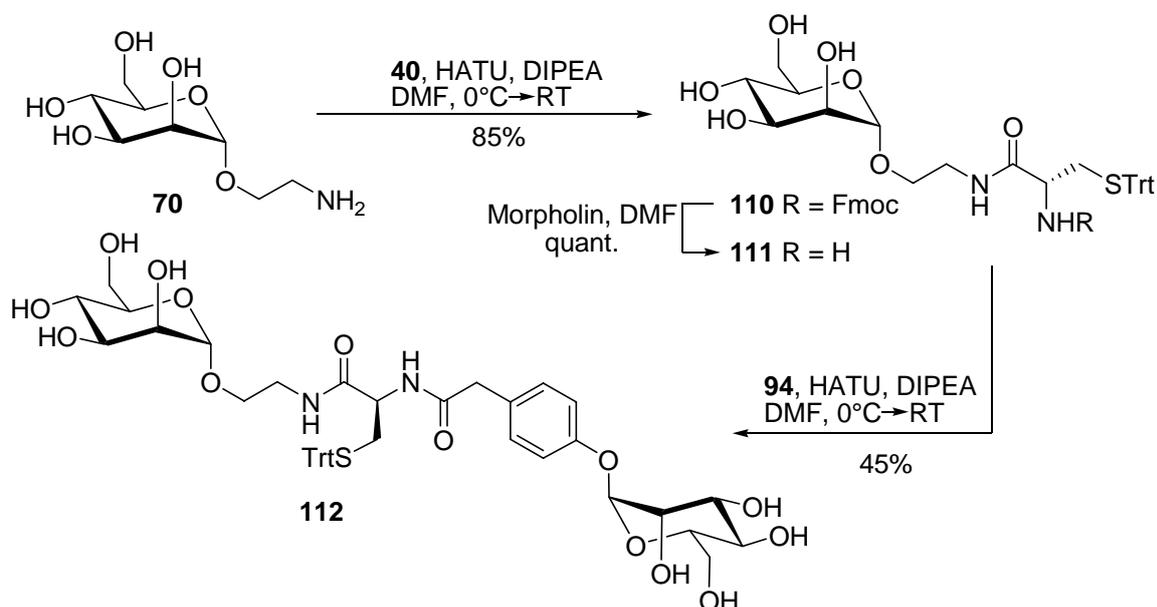


Abbildung 62: Darstellung der bivalenten Clustervorstufe (**112**) in drei Schritten.

Nach anschließender Fmoc-Entschützung wurde das Amin **111** mit dem funktionalisierten Phenylmannosid **94** in einer weiteren Peptidkupplung umgesetzt. Hierbei konnte das bivalente Konjugat **112** lediglich in einer Ausbeute von 45% erhalten werden. Um die Bedingungen der folgenden Syntheseschritte zu optimieren, wurde **111** als Testsystem verwendet und an der Aminofunktion zu **113** acetyliert. Alle folgenden Reaktionen wurden zunächst mit **113** probiert, bevor die analoge Synthese unter Verwendung von **112** als Reaktant erfolgte, um die gewünschten Zielmoleküle zu erhalten. Die Testverbindung **113** konnte nach einer adaptierten Vorschrift von B. KAMBER ohne vorherige Demaskierung der Thiolfunktion mit Iod direkt zum Disulfidderivat **114** umgesetzt werden (Abb. 63).^[146]

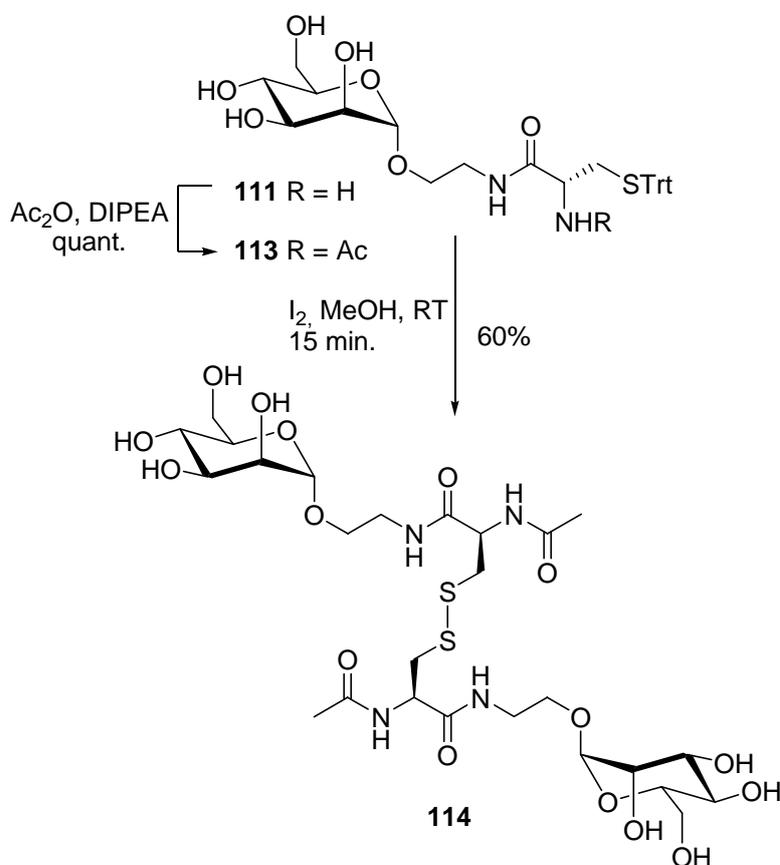


Abbildung 63: Synthese des Cystinderivats **114** aus dem geschützten Thiol **113** mit Iod.

Ermutigt durch die hohe Ausbeute bei der Synthese von **114** und die schnelle und unproblematische Aufreinigung des Produktes, wurde nun auch die bivalente Clustervorstufe **112** in dieser Reaktion umgesetzt (Abb. 64). Jedoch war die Aufreinigung des Disulfids **115** aufwendiger als die von **114**. Die Abtrennung des überschüssigen Iods erfolgte in einem ersten Schritt per MPLC, doch machten weitere Verunreinigungen eine zweite Aufreinigung via GPC nötig. Der tetravalente Cluster **115** konnte schließlich in befriedigenden 39% Ausbeute erhalten werden.

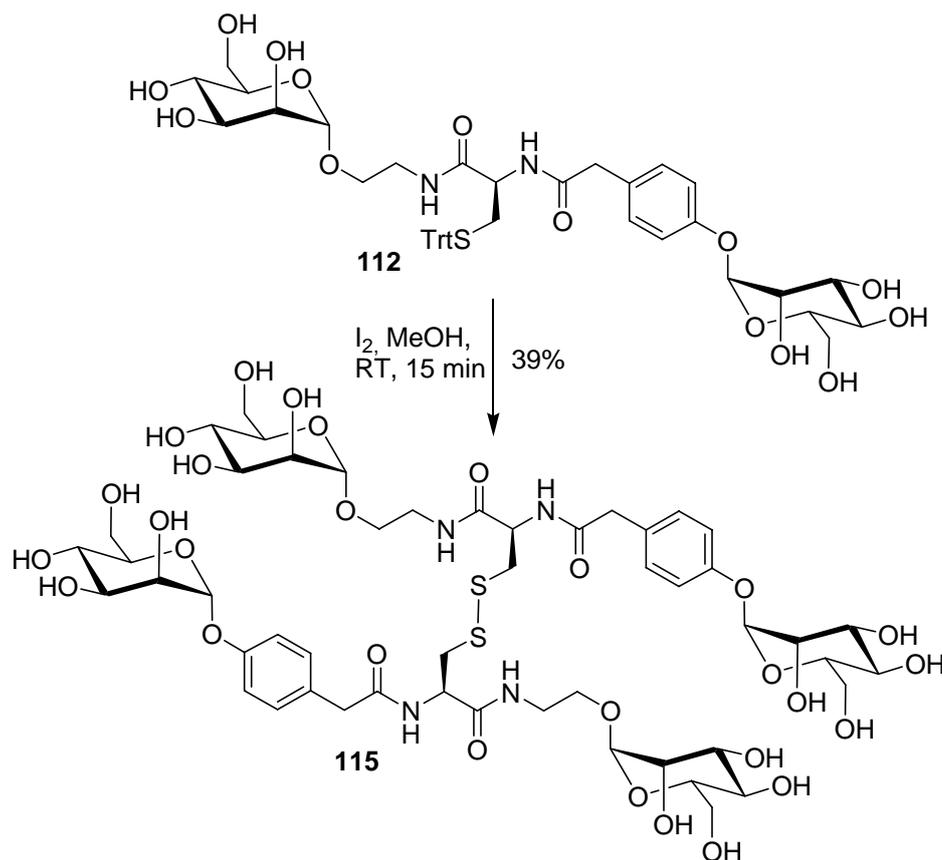


Abbildung 64: Synthese des tetra-valenten Glykocluster **112** aus der Glykoclustervorstufe **115** mit Iod.

Nachdem die Umsetzung der geschützten Thiolfunktion zu Disulfid-Clustern erfolgreich war, wurden im Folgenden trivalente Mannose-Cluster durch Reaktionen am freien Thiol synthetisiert. Wie bei der Darstellung der Glykoaminosäure-Bausteine sollte hierbei eine Substitutionsreaktion oder radikalische Addition verwendet werden. Zunächst wurde die tritylgeschützte Komponente **113** nach der schon bewährten Vorschrift von H. M. BRANDERHORST mit Trifluoressigsäure entschützt.^[53] Bei der Adaption dieser Vorschrift stellte sich jedoch heraus, dass eine Abspaltung der Tritylschutzgruppe in Dichlormethan nicht durchführbar ist. Doch konnte das gewünschte Produkt **116** durch die Verwendung von Acetonitril als Lösungsmittel und der Zugabe weiterer Äquivalente von Trifluoressigsäure quantitativ erhalten werden. Das freie Thiol **116** wurde im Folgenden analog zu den in Kapitel 4.3.4 durchgeführten Synthesen mit dem 2-Bromethylmannosid **53** einerseits und Allylmannosid **51** andererseits umgesetzt (**Abb. 65**). Dabei konnte das bivalente Produkt **117** nach abschließender GPC-Reinigung zwar erfolgreich isoliert werden, doch war die Ausbeute mit 18% enttäuschend. Bei der Umsetzung des Thiols **116** mit **51** konnte das Produkt **118** zwar mittels MALDI-ToF-MS-Analyse nachgewiesen werden, doch wurde dabei die Entstehung eines komplexen Substanzgemisches deutlich. Bedingt durch die geringen Mengen an Produkt war eine Isolierung nicht möglich. Daher

wurden diese Reaktionswege zur Darstellung von ungeschützten Glykoclustern nicht weiter verfolgt. Beide Methoden wurden wegen der geringen Ausbeute und der problematischen Synthese nicht auf das dimannosidische Derivat **112** übertragen, stattdessen wurde ein anderer Syntheseweg eingeschlagen.

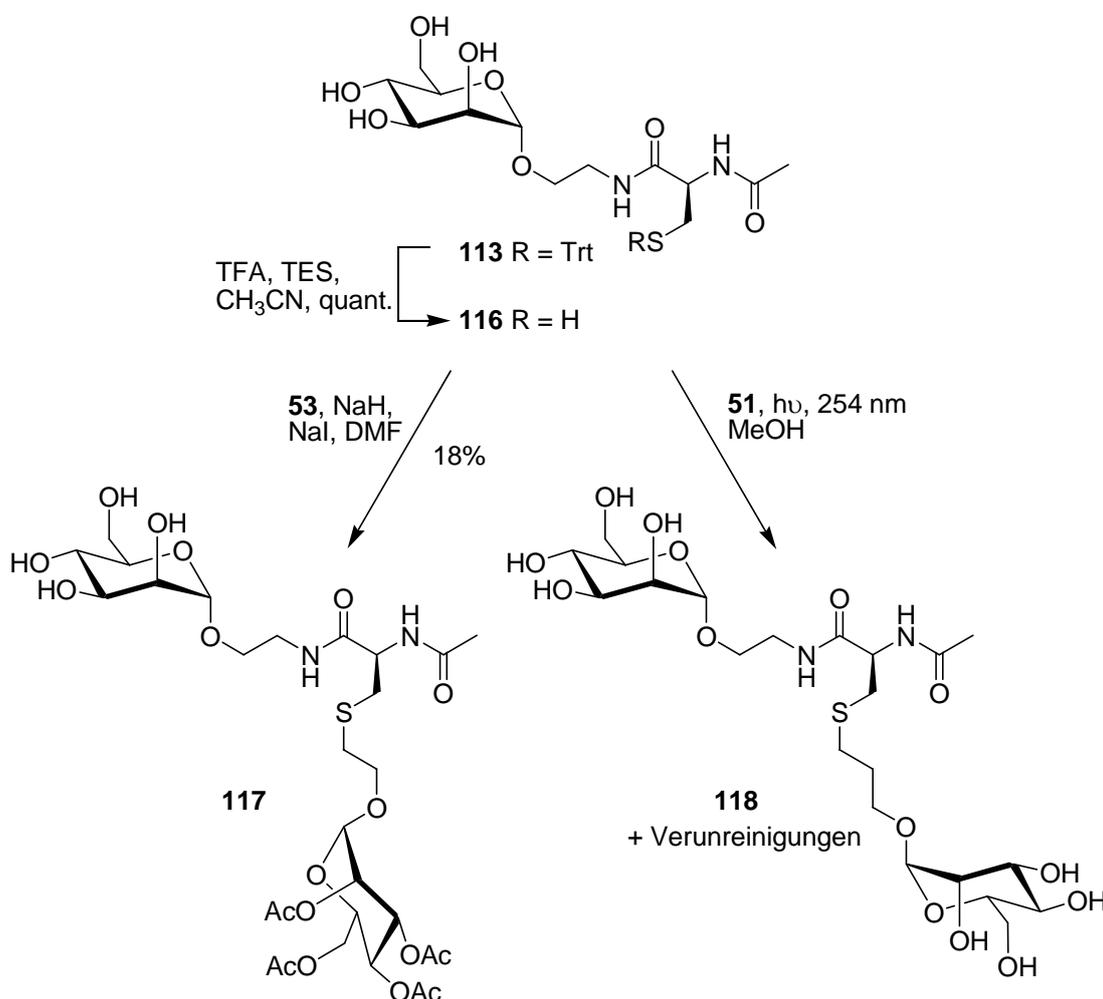


Abbildung 65: Weitere Reaktionen mit dem Thiolderivate (**113**) zu den Cystein-Derivaten **117** und **118**.

Da sich die Aufreinigung der ungeschützten Mannosecluster bzw. ihrer Vorstufen stets als problematisch erwiesen hatte und Chromatographie an Kieselgel nur bedingt erfolgreich war, wurde die Schutzgruppenstrategie geändert. Der bivalente Cluster **112** wurde nochmals unter Verwendung von *O*-Acetylschutzgruppen synthetisiert. Hierfür wurde in einer ersten Synthesesequenz ein acetylgeschütztes Phenylmannosid **119** dargestellt. Die Synthese startete mit der Veresterung des Phenylelessigsäurederivats **120** zum Allylester **121**, gefolgt von einer Glykosylierungsreaktion mit dem Mannosepentaacetat **16**. Die abschließende Spaltung der Allylgruppe ergab den acetylgeschützten Säure-Baustein **119**.

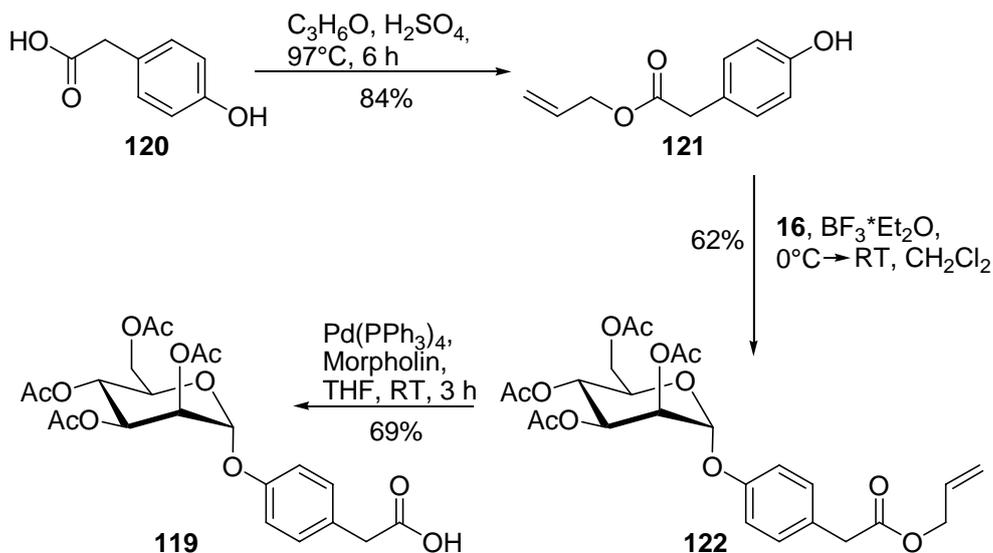


Abbildung 66: Darstellung des geschützten Phenylderivats (**119**).

Der Aufbau des geschützten bivalenten Mannoseclusters **123** begann mit der Umsetzung von **70** mit Fmoc-Cys(Trt)-OH (**40**) nach Staudinger. Dabei konnte das gewünschte Amid **124** in guten 78% isoliert werden. Fmoc-Abspaltung unter Standardbedingungen lieferte das freie Amin **125**, das mit der Säure **119** zum bivalenten Cluster **123** in befriedigender Ausbeute gekuppelt werden konnte (Abb. 67).

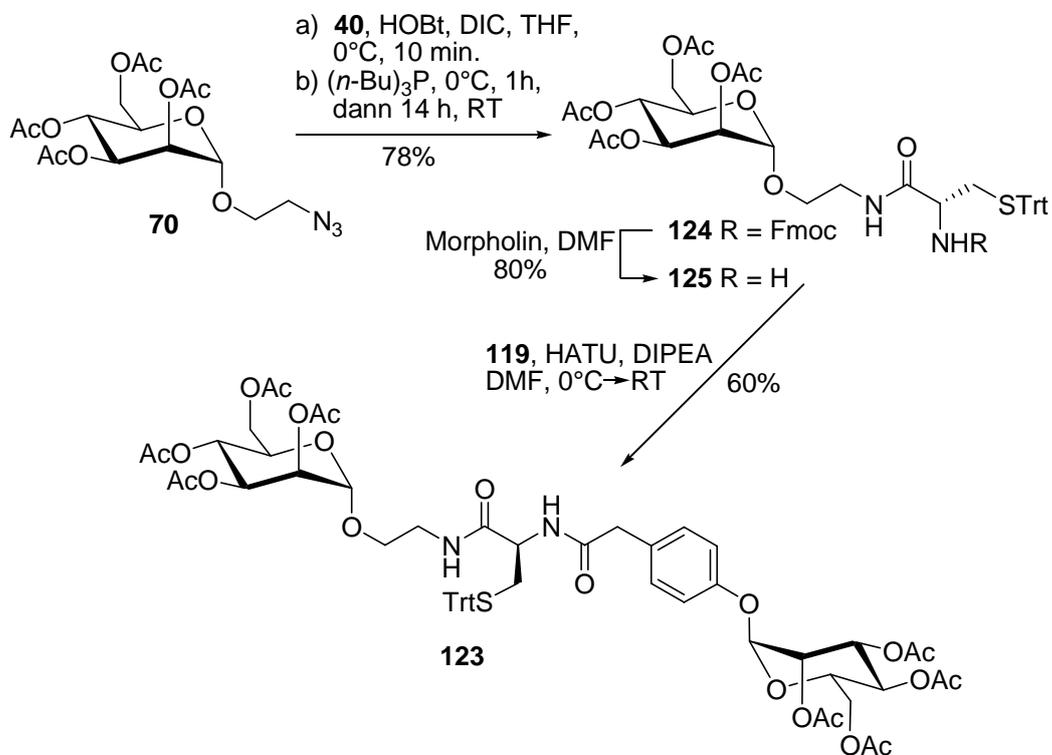


Abbildung 67: Synthese des bivalenten geschützten Clusters **119**.

Die Verbindung **123** bietet die Möglichkeit auch trivalente Cluster zu erhalten. Dazu wurde **123** in zwei Williamson-analogen Thioethersynthesen umgesetzt. Es wurde erneut

auf das Brommethylmannosid **53** und auf ein analoges Mannosid mit Brombenzylglykon (**126**) zurückgegriffen.^[147] In beiden Fällen wurde das Thiol **127** mit Natriumhydrid versetzt, die Halogenide **53** und **126** später dazugegeben und der Ansatz bei Raumtemperatur gerührt. Zwar konnten die gewünschten Produkte **128** und **129** massenspektrometrisch nachgewiesen werden, doch zeigte die Dünnschichtchromatographie nur minimale Produktbildung an (**Abb. 68**).

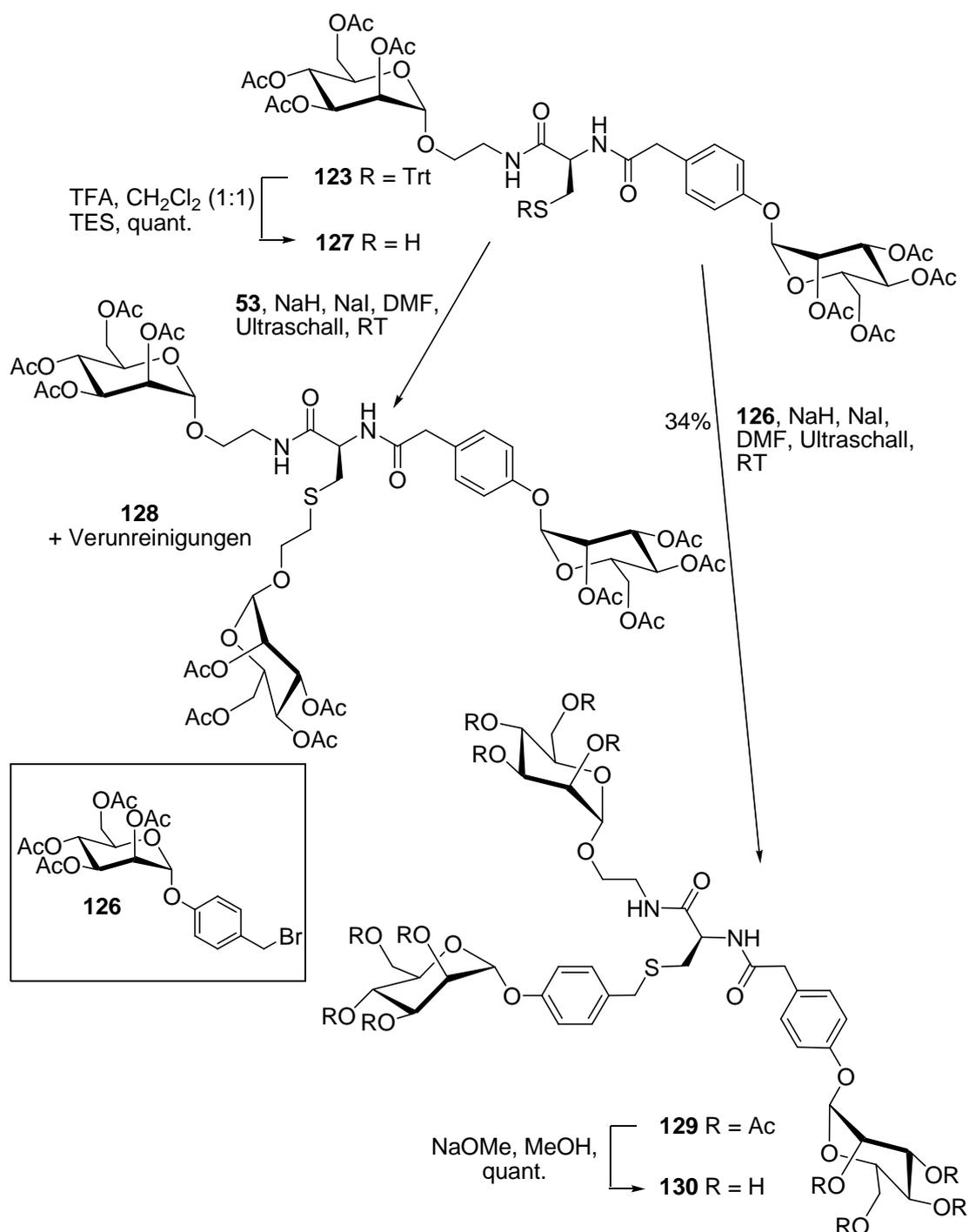


Abbildung 68: Versuche zur Darstellung der trivalenten Cluster **128** und **129**.

Beide Reaktionen wurden unter veränderten Bedingungen wiederholt, wobei diesmal sämtliche Schritte im Ultraschallbad durchgeführt wurden. Leider konnte auch im Ultraschallbad die Synthese des Clusters **128** nicht erfolgreich abgeschlossen werden; das gebildete Produkt konnte trotz mehrfacher Aufreinigung nicht in sauberer Form isoliert werden. Anders verhielt es sich mit dem benzyllischen Mannosid **126**, das mit **127** den Cluster **129** lieferte, wobei auf eine Reinigung an Kieselgel verzichtet werden konnte und nur eine GPC-Aufreinigung notwendig war, um das Produkt in 34% Ausbeute zu erhalten. Das acetylgeschützte Produkt **129** wurde im Weiteren entschützt und nach Reinigung an HPLC der trivalente Cluster **130** erhalten.

Insgesamt konnten somit ein tetravalenter (**115**), ein trivalenter (**130**) und ein divalenter (**114**) Cluster auf der Basis von Cystein aufgebaut werden, die nun für biologische Tests zur Verfügung standen.

6.1.2 Asparagin-basierte Glykocluster

Die Funktionalisierungsmöglichkeiten der Asparaginsäure unterscheiden sich auf Grund der unterschiedlichen Seitenkette von denen des Cysteins. So können zwar alle drei funktionellen Gruppen mit Hilfe einer geeigneten orthogonalen Schutzgruppenstrategie gezielt und nacheinander angesprochen werden, doch ist die Bandbreite der verwendbaren Reaktionen gegenüber Cystein eingeschränkt. Asparaginsäure stellt lediglich zwei unterschiedliche funktionelle Gruppen für die Derivatisierung zur Verfügung, was allerdings den schnellen Zugang zu einer divalenten Clustervorstufe durch eine parallel ausgeführte Funktionalisierung beider Säuregruppen erlaubt, wobei dann noch interessante Möglichkeiten für die Darstellung trivalenter Glykocluster offen sind.

Entsprechend sollte der Aufbau von Glykoclustern auf der Basis von Asparaginsäure mit einer doppelten Staudinger-Ligation von Azidoethylmannosid (**70**) beginnen (vgl. **Abb. 69**).

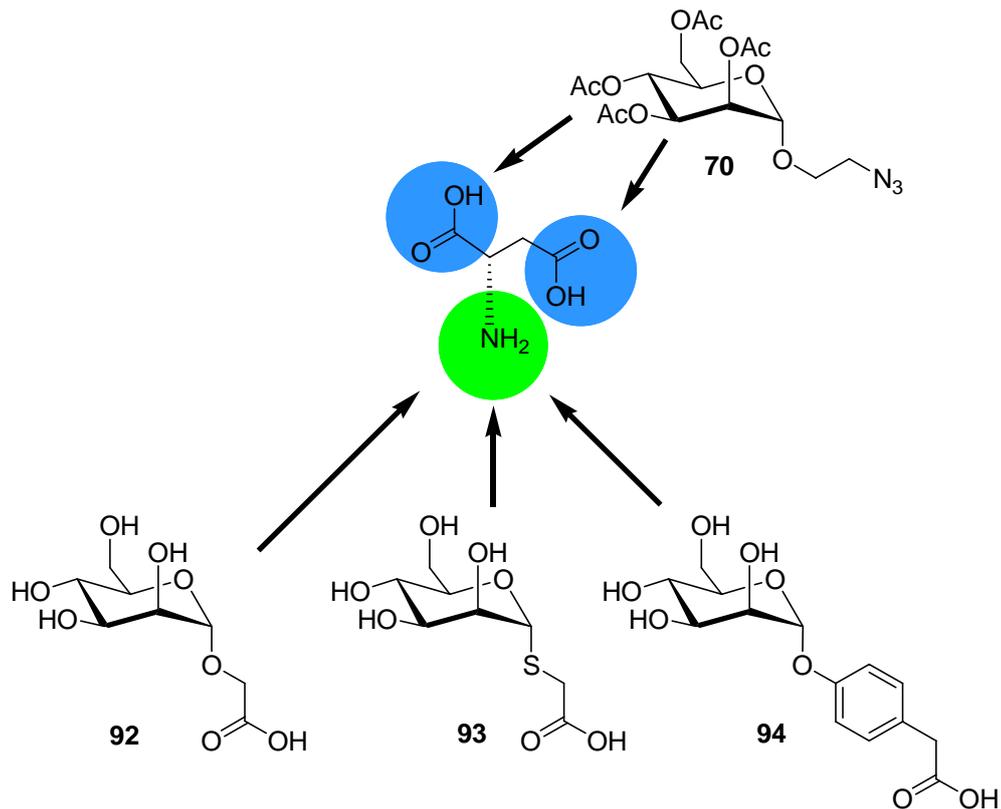


Abbildung 69: Schematische Darstellung der Anknüpfungspunkte an die Asparaginsäure.

Anschließend waren die drei Säurederivate **92**, **93** und **94** für die weitere Funktionalisierung der α -Aminogruppe vorgesehen. Als Edukt für diese Synthesen wurde das kommerziell erhältliche Fmoc-Asp-OH (**131**) gewählt, da hier die Säurefunktionen für die erste Kupplung frei vorliegen, während die Aminogruppe, wie gefordert, geschützt ist. Die doppelte Staudinger-Ligation von **70** mit Fmoc-Asp-OH **131** war erfolgreich und führte mit 32% Ausbeute zum Konjugat **132**, wobei als Nebenprodukt der einfach umgesetzte Glykoaminosäure-Baustein **133** in 28% Ausbeute erhalten wurde (**Abb. 70**).

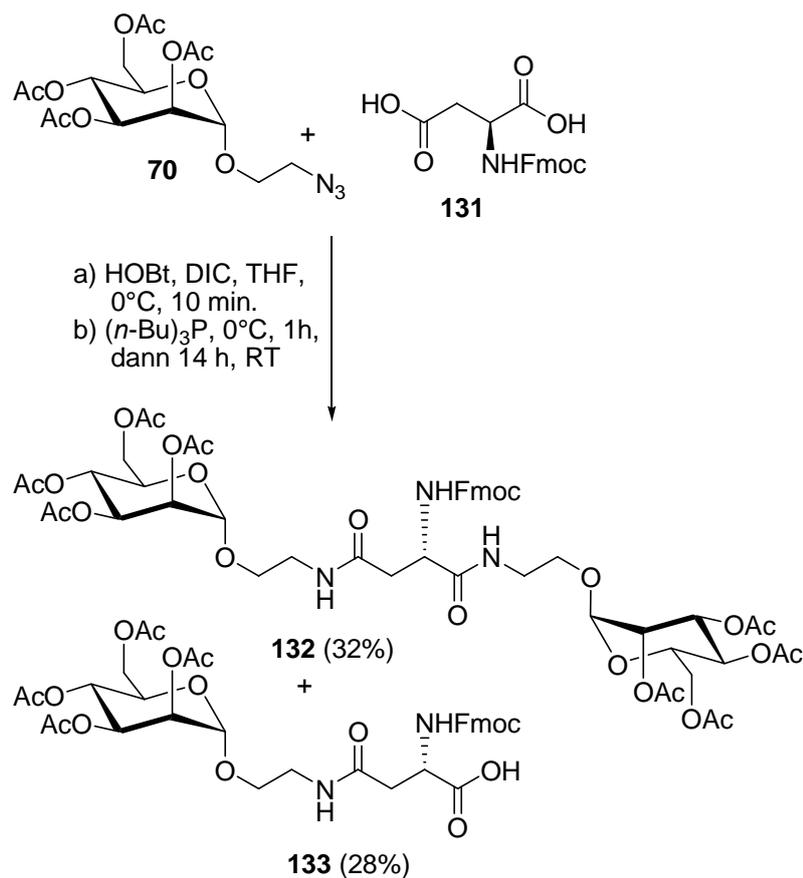


Abbildung 70: Umsetzung von Fmoc-Asp-OH (**131**) in einer doppelten Staudinger-Ligation mit dem Mannosid **70**.

Dann folgte im zweiten Schritt, nach Freisetzung der Fmoc-Schutzgruppe, die Peptidkupplungsreaktion mit je einem der Carboxyl-funktionalisierten Mannoside **92-94**. Weil die Abspaltung der Fmoc-Gruppe auch zu partieller De-*O*-Acetylierung führte, wurde die bivalente Verbindung **132** zunächst komplett entschützt und das Produkt **134** ungeschützt in der abschließenden Peptidkupplung mit HATU und DIPEA eingesetzt (**Abb. 71**). Es bildeten sich die erwarteten Produkte **135**, **136** und **137**, deren Aufreinigung sich durch die hohe Polarität und dem Überschuss an eingesetzter Säure als kompliziert erwies. Die Reinigung der trivalenten Cluster gelang dann aber durch eine Kombination aus MPLC an RP-18, einer GPC-Säule und abschließender HPLC, ebenfalls an RP-18.

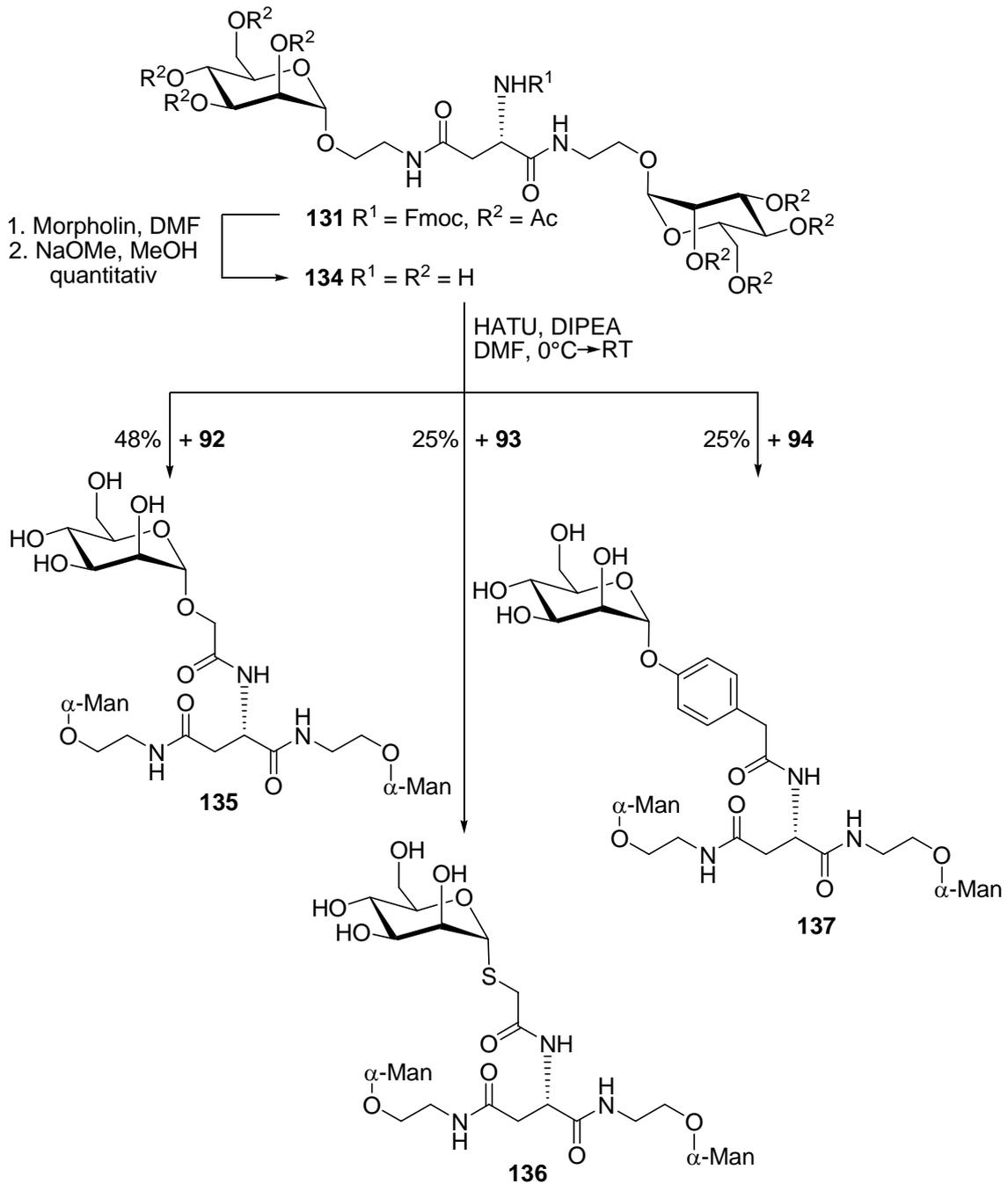


Abbildung 71: Kupplung der Säurederivate mit dem bivalenten Asparaginderivate **134**.

Damit konnten die drei mannosidischen Asparagin-Cluster **135**, **136** und **137** in einer relativ kurzen Synthesesequenz ausgehend von Fmoc-Asp-OH **131** dargestellt werden und stehen nun, wie auch die drei Cystein-Cluster für biologische Tests bereit.

6.1.3 Trimesinsäure-basierte Glykocluster

Durch die erfolgreiche Verwendung der doppelten Staudinger-Ligation beim Aufbau der Asparagin-Cluster ermutigt (vide supra), wurde im Weiteren die Synthese eines Clusters auf der Basis von Trimesinsäure (**138**) angegangen. Geplant war ein einziger Reaktionsschritt, der mit Hilfe einer dreifachen Staudinger-Ligation mit dem Azidoethylmannosid **70** das Zielmolekül **139** liefern sollte (**Abb. 72**).

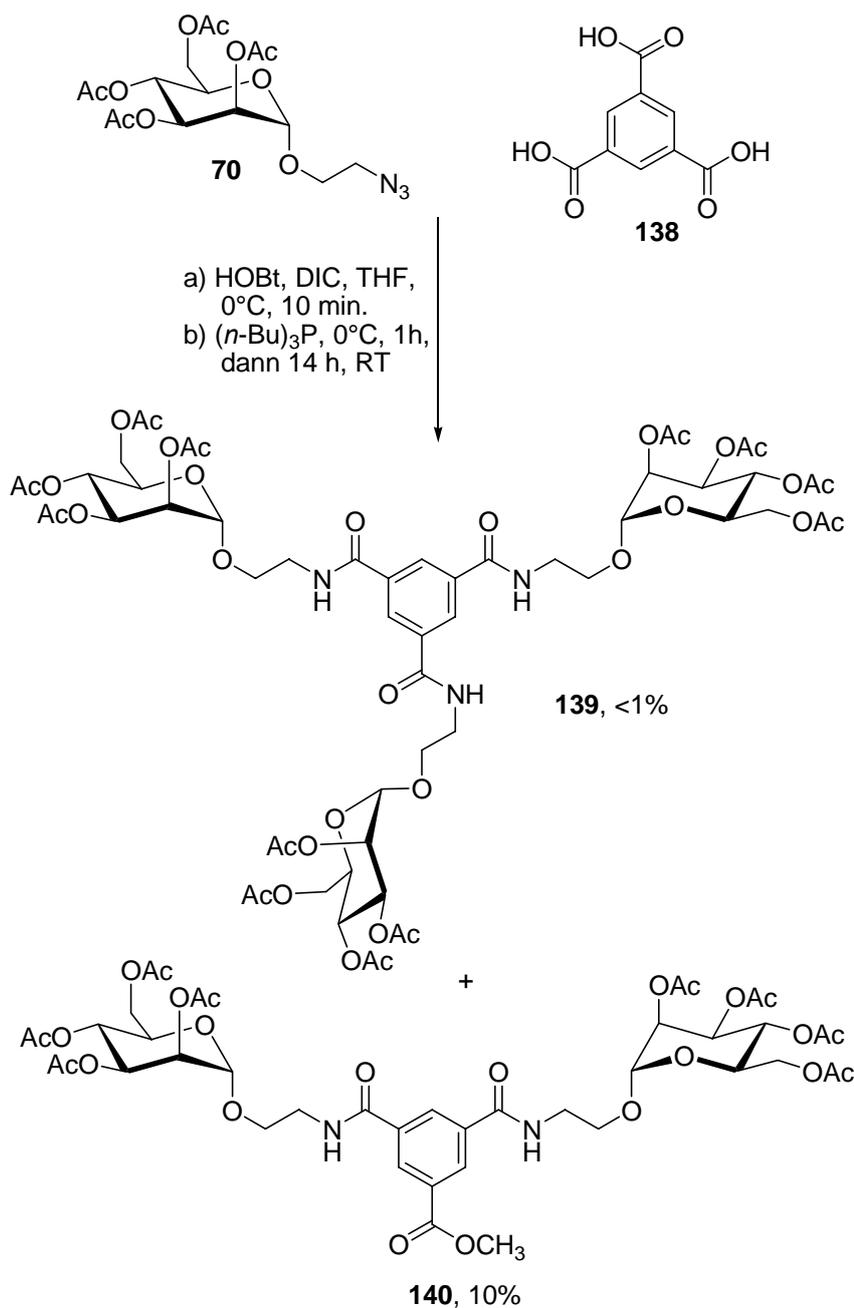


Abbildung 72: Versuche zur Darstellung eines Trimesin-Cluster **139**.

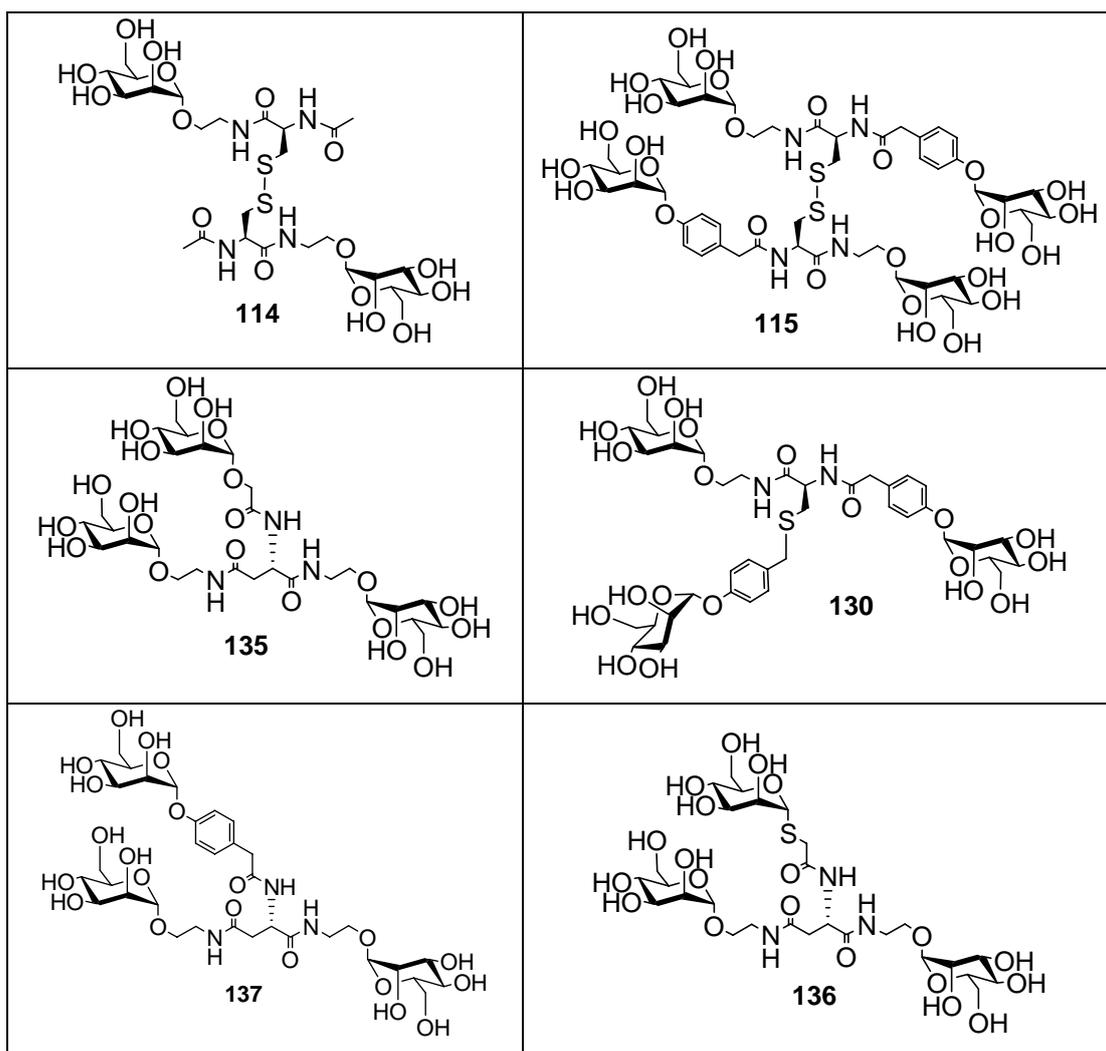
Bei einer MALDI-ToF-MS-Analyse der Rohmischung wurde sowohl das trimere Produkt **139** als auch das zweifach legierte Produkt detektiert, eine nur einfach gekuppelte Spezies

konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Während der Aufreinigung des Gemisches an Kieselgel mit Methanol im Laufmittelgemisch kam es zur Bildung des Methylesters **140**, der in 10% Ausbeute isoliert werden konnte. Auf eine abschließende Entschützung der Produkte **139** und **140** wurde im Rahmen dieser Arbeit aus Mangel an verfügbarer Substanzmenge verzichtet. Auch eine Optimierung der Synthese wurde nicht unternommen, da die biologische Relevanz des Clusters **139** als eher gering einzuschätzen ist.

6.1.4 Zusammenfassung der Glykoclustersynthesen

Insgesamt konnten sechs unterschiedliche Aminosäure-basierte Glykocluster (**Tab. 8**) über kurze Syntheserouten dargestellt werden. Diese sollten nun im biologischen Test auf ihre Potenz als Inhibitoren bakterieller Adhäsion untersucht werden.

Tabelle 8: Übersicht über die dargestellten Aminosäure-basierten Glykocluster.



6.2 Biologische Tests der Glykocluster

6.2.1 Hintergrund und Durchführung

Die synthetisierten Glykocluster wurden auf ihre Wirkung als Inhibitoren bakterieller Adhäsion in einem von M. HARTMANN modifizierten Biotest untersucht.^[148] Das neue Testverfahren besitzt gegenüber dem sonst häufig eingesetzten ELISA^[110] einige Vorteile. Zum einen benötigt die modifizierte Version halb so viele Einzelschritte (Zugabe- und Waschschrte) wie der ELISA, zum anderen kann die unmittelbare photometrische Auslesung gebundener bzw. adhäsierter Bakterien erfolgen. Dies wird durch die Verwendung von Typ-1-Fimbrien exprimierenden *E. coli*-Bakterien möglich, die zusätzlich das Gen für GFP (engl. *green fluorescent protein*) tragen.^[149] Beim ELISA dagegen wäre die Detektion der Bakterienmenge erst durch die Zugabe eines Antikörpers und eines Antikörper-Enzym-Komplexes, der eine Farbreaktion auslöst, möglich.

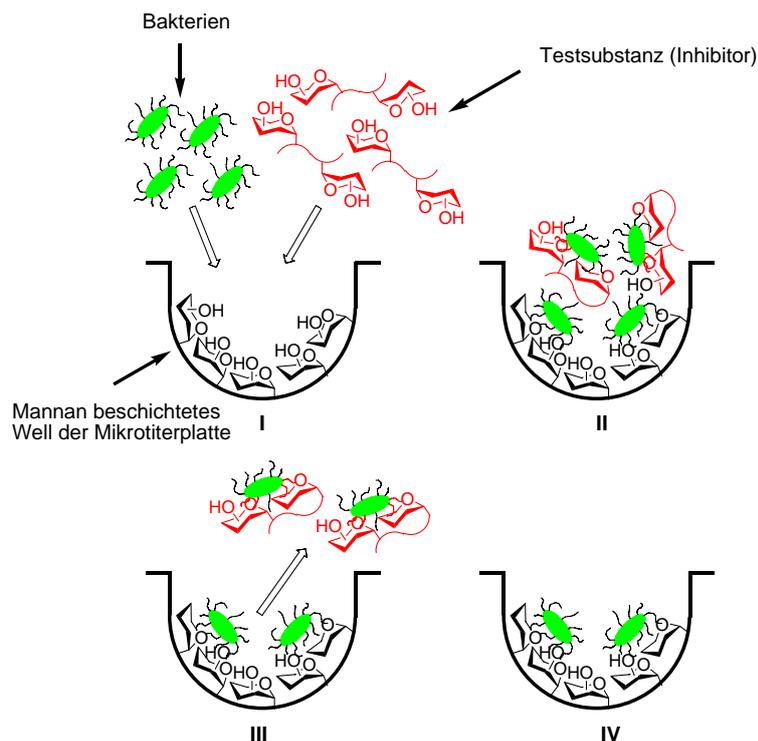


Abbildung 73: Schematische Darstellung der vier Teilschritte des Adhäsionstests.

Der verwendete Test besteht aus vier Teilschritten. Im ersten Schritt (**Abb. 73, I**) wurden die Wells der Mikrotiterplatten mit Mannan beschichtet. Freie Flächen wurden durch die Zugabe von BSA blockiert. Danach erfolgte die Zugabe des Inhibitors (Testschubstanz) und dann die der gentechnisch veränderten Bakterien. Während die Inhibitorkonzentration durch eine serielle Verdünnungsreihe über einen breiten Konzentrationsbereich variierte,

wurde stets die gleiche Menge Bakterienmenge eingesetzt. Im zweiten Schritt (**Abb. 73, II**) wurde für 45 Minuten bei 37°C inkubiert. In dieser Zeit konkurrierte der Inhibitor mit dem Mannan um die Bindung mit den Bakterien. Je höher die inhibitorische Potenz der Testsubstanz, desto weniger Bakterien binden an das Mannan. Im dritten Schritt (**Abb. 73, III**) wurden alle nicht an die Mannan-funktionalisierte-Platte gebundenen Inhalte durch mehrfaches Auswaschen entfernt. Dadurch blieben nur die ans Mannan gebundenen Bakterien zurück, deren Menge nun im vierten Schritt über eine Fluoreszenzmessung bestimmt werden konnte. Die prozentuale inhibitorische Potenz (I) der Testsubstanz konnte nun mit Hilfe einer Blindprobe (BP) ohne Inhibitor mit der Formel 1 berechnet werden.

$$I = \frac{\text{BP-Messwert des Inhibitors}}{\text{BP}} \times 100$$

Formel 1: Berechnung der prozentualen inhibitorischen Potenz eines Inhibitors.

Anschließend wurde der IC₅₀-Wert mit Hilfe einer sigmoiden Ausgleichskurve ermittelt. Hierfür wurde die prozentuale inhibitorischen Potenz (I) gegenüber der Konzentration logarithmisch aufgetragen. Der IC₅₀-Wert bezeichnet dabei die Konzentration, bei der eine 50%ige Inhibition bakterieller Adhäsion stattfindet. Je niedriger der IC₅₀-Wert, desto besser ist der Inhibitor. Da auf Grund äußerer Einflüsse auf die Testreihen die erhaltenen Absolutwerte in diesem Verfahren nicht untereinander vergleichbar sind, werden die IC₅₀-Werte auf die Referenzsubstanz Methylmannosid (**141**) bezogen.

6.2.2 Ergebnisse

Die synthetisierten Glykocluster **114**, **115**, **130**, **135**, **136** und **137** wurden im Folgenden auf ihre inhibitorische Potenz als Inhibitor Typ-1-Fimbrien vermittelter bakterieller Adhäsion getestet. Des Weiteren sollten auch die drei Säuren **92**, **93** und **94** und ihre Methylesterderivate **101**, **102** und **103** untersucht werden, da frühere Untersuchungen einen erstaunlich hohen Inhibitor-Wert für das monovalente aromatische Derivat **94** berichtet hatten. Durch den direkten Vergleich der Methylester mit den dazugehörigen freien Säuren sollte ein „Säureeffekt“ ausgeschlossen werden, d. h., es sollte geprüft werden, ob die hohen Werte durch die Geometrie des Liganden, durch chemische Reaktionen oder Wechselwirkungen mit freien Carboxylfunktionen der getesteten Glykoconjugate bedingt waren.

Mit jeder Testsubstanz wurden bedingt durch die geringen Substanzmengen eine Messung durchgeführt und die IC_{50} -Werte bestimmt. Aus den erhaltenen IC_{50} -Werten wurden zudem die relativen IC_{50} -Werte (RIC_{50}) in Bezug auf die Referenzsubstanz **141** ermittelt. Schließlich wurde auch der valenzbereinigte $RIC_{50(vb)}$ bestimmt. Die Valenz bestimmt sich aus der Anzahl der Mannosyl-Einheiten in der Testsubstanz.

$$RIC_{50} = \frac{IC_{50}(\text{Referenzsubstanz})}{IC_{50}(\text{Testsubstanz})}$$

$$RIC_{50(vb)} = \frac{RIC_{50}}{\text{Valenz}}$$

Formel 2 und 3: Formeln zur Berechnung des RIC_{50} und $RIC_{50(vb)}$.

Die graphische Darstellung einer solchen Messung ist in Abbildung 74 zu sehen. Tabelle 9 zeigt die ermittelten IC_{50} -Werte, die relativen IC_{50} -Werte, die sich auf Methylmannosid **141** beziehen, und die valenzbereinigten Werte der relativen inhibitorischen Potenz ($RIC_{50(vb)}$). Für einen besseren Vergleich wurden die $RIC_{50(vb)}$ -Werte in Abbildung 75 als Säulendiagramme nebeneinander dargestellt.

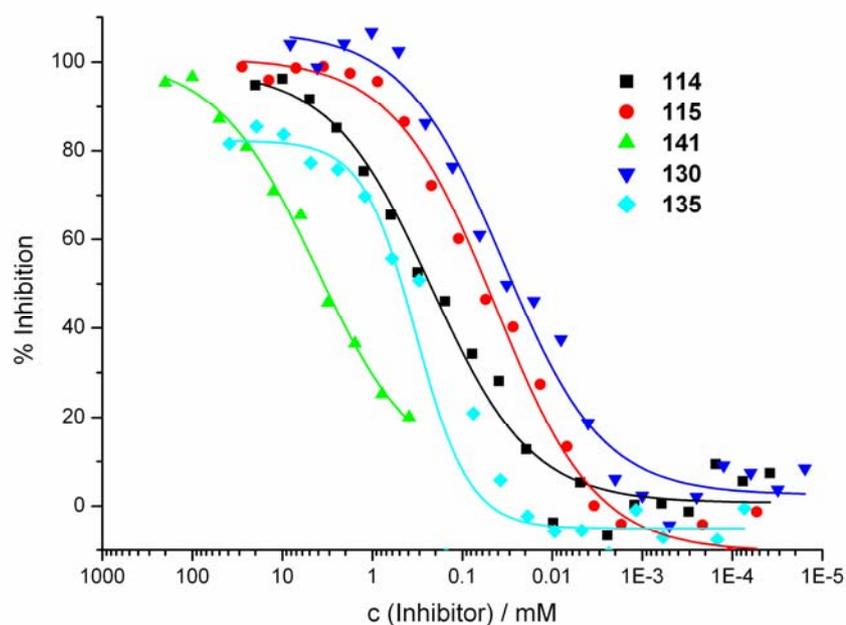
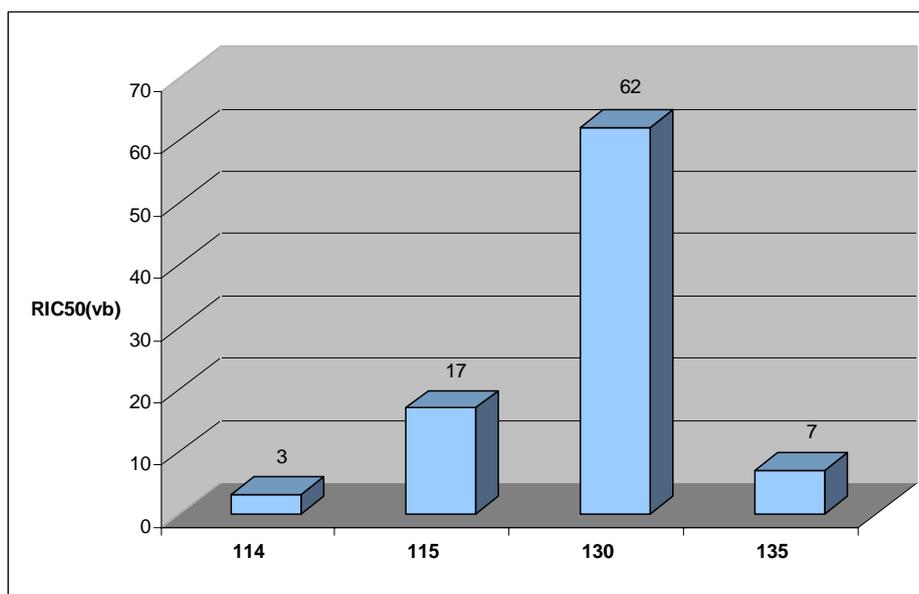


Abbildung 74: Inhibitionskurven des Adhäsionstests mit den synthetisierten Glykoclustern **114**, **115**, **130** und **135**. In grün die Kurve der Vergleichssubstanz **141**.

Tabelle 9: IC₅₀-Werte der Glykocluster und die daraus resultierenden RIC₅₀- und RIC_{50(vb)}-Werte.

Verbindung	IC ₅₀ [mM]	RIC ₅₀	RIC _{50(vb)}
MeMan (141)	1.39	1	1
114	0.23	6	3
MeMan (141)	3.50	1	1
115	0.053	66	17
MeMan (141)	5.0	1	1
130	0.027	185	62
MeMan (141)	7.33	1	1
135	0.34	22	7
136	-	-	-
137	-	-	-

**Abbildung 75:** RIC_{50(vb)}-Werte der getesteten Glykocluster.

Die RIC_{50(vb)}-Ergebnisse aller getesteten Glykocluster zeigen, dass alle Cluster bessere Inhibitoren als Methylmannosid **141** sind (Tab 9). Der divalente Cluster **114** und der trivalente Cluster **135** inhibieren nur geringfügig besser als die Vergleichssubstanz **141**. Deutlich bessere Ergebnisse erzielten der tetravalente Cluster **115**, der die bakterielle Adhäsion von *E. coli* 17 mal besser inhibierte als **141**, und der trivalente Cluster **130**, der 62 mal besser inhibierte als **141** und somit die beste inhibitorische Potenz beim Vergleich aller synthetisierten Cluster aufwies. Diese beiden Cluster (**115** und **130**) besitzen

mindestens ein aromatisches Aglykon und bestätigen damit erneut, dass Testsubstanzen mit aromatischen Spacern auf Grund der Wechselwirkungen mit dem Tyrosinrest des Adhäsins FimH eine erhöhte inhibitorische Potenz aufweisen. Die deutlich besseren inhibitorischen Werte des trivalenten Clusters **130** gegenüber dem tetravalenten Cluster **115** können möglicherweise über die Zucker-Valenzen erklärt werden. Zwar besitzt jeder Cluster zwei aromatische Aglykone, doch besitzt jede Mannoseeinheit von **130** im Durchschnitt $\frac{2}{3}$ Phenyleinheiten, **115** jedoch nur $\frac{1}{2}$ Phenyleinheit. Hierdurch erzielt der niedriger valente Cluster **130** ein deutlich besseres Ergebnis als der höher valente Cluster **115**. Für die beiden Clustern **136** und **137** konnte kein IC_{50} -Wert ermittelt werden, da für eine messbare Inhibition keine ausreichend hohe Konzentration in den Verdünnungsreihen erreicht wurde. Die ermittelten Werte der Carboxyl-funktionalisierten Mannose-Derivate **92-94** und ihrer Methylester **101-103** sind in Tabelle 10 und als Balkendiagramme in Abbildung 76 dargestellt. Erneut weisen die beiden Substanzen mit aromatischen Aglykon (**94** und **103**) die besten Werte auf. Deutlich zu erkennen ist, dass alle freien Säure-Derivate stets bessere Inhibitoren als ihre Methylester sind. Es kann also von einem „Säureeffekt“ gesprochen werden. Wie genau die Verstärkung der Inhibition durch die freie Carboxylfunktion erfolgt, müsste durch weitere Tests oder durch computerbetriebene Dockingexperimente geklärt werden.

Tabelle 10: IC_{50} -Werte der Mannosylsäuren und ihrer Methylester und die daraus resultierenden RIC_{50} - und $RIC_{50(vb)}$ -Werte.

Verbindung	IC_{50} [mM]	RIC_{50}	$RIC_{50(vb)}$
MeMan (141)	8.12	1	1
92	14.6	0.55	0.55
MeMan (141)	4.45	1	1
101	1.36	3.27	3.27
MeMan (141)	6.94	1	1
93	4.72	1.47	1.47
MeMan (141)	6.23	1	1
102	1.00	6.23	6.23
MeMan (141)	6.43	1	1
94	0.17	38	38
MeMan (141)	6.43	1	1
103	0.12	54	54

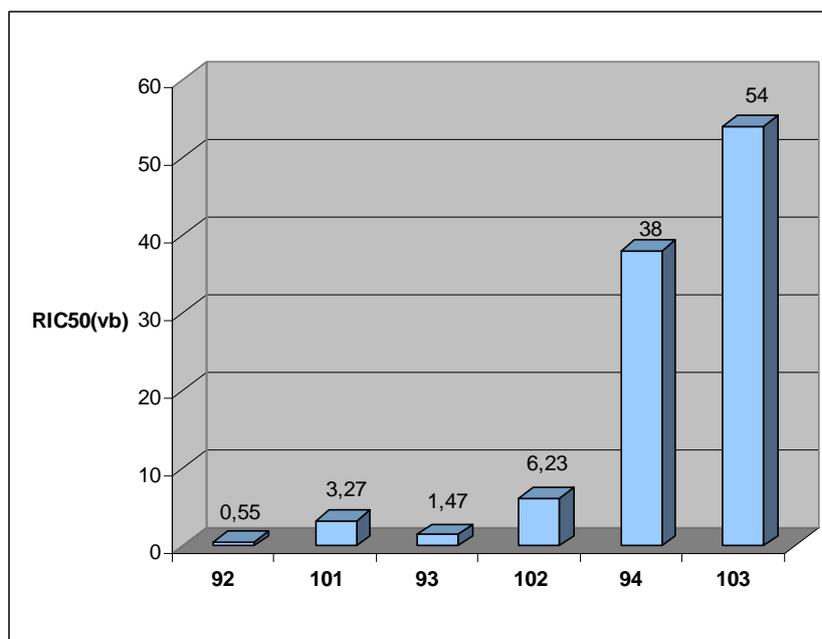


Abbildung 76: Balkendiagramm der RIC_{50(vb)}-Werte der getesteten Mannose-Derivate 92-94 und 101-103.

6.3 Fazit und Ausblick

Die erzielten Ergebnisse bei der Testung der antiadhäsiven Eigenschaften der synthetisierten der Glykocluster bestätigen die bisherigen Beobachtungen, die besagen, dass durch multivalente Inhibitoren eine moderate Erhöhung der Inhibition bakterieller Adhäsion erreicht werden kann. Ein Cluster-Effekt, bei dem ein linearer Anstieg der Zucker-Valenz von einem exponentiellen Anstieg der Inhibition begleitet wird, konnte nicht nachgewiesen werden. Sehr wahrscheinlich spielen neben der Valenz noch weitere Faktoren eine entscheidende Rolle. Auffällig ist hierbei, dass die Wahl des Aglykons einen größeren Einfluss auf die inhibitorische Potenz besitzt als geringe Valenzunterschiede. Für folgende Untersuchungen wäre daher der Aufbau einer Clusterreihe mit verschiedenen Valenzen interessant, in denen nur phenylische Spacereinheiten verwendet werden. Vielleicht könnten bei diesen, sehr wahrscheinlich gut inhibierenden Substanzen eine Art Cluster-Effekt beobachtet werden, oder andere interessante Rückschlüsse über Struktur-Aktivitäts-Beziehungen gezogen werden.

Auch die Verwendung von Carboxylfunktionen scheint ein viel versprechender Ansatz für das Design von Glykomimetika zu sein, da die freien Säure-Derivate immer bessere Ergebnisse bewirkten als bei der blockierten Variante beobachtet werden konnte. Daher könnte man in folgenden Testreihen Carboxylfunktionen mit einem aromatischen Aglykon

kombinieren, um so möglicherweise beide Verstärkungseffekte in der Inhibition bakterieller Adhäsion nutzen zu können.

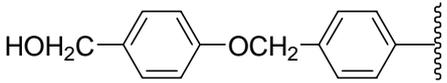
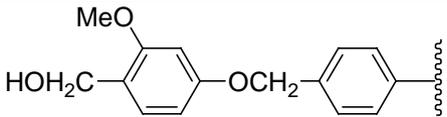
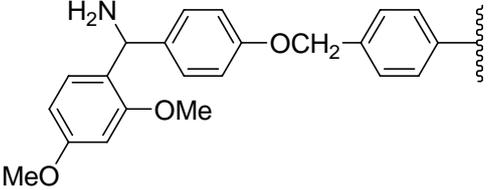
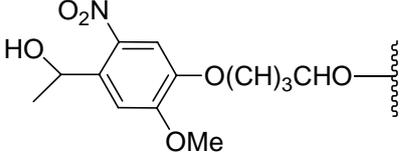
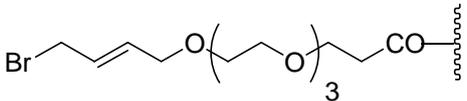
7 Mannosidische Glykopeptide

7.1 Einleitung

7.1.1 Trägermaterialien und Linker für die SPPS

Die richtige Auswahl des Harzes und des Linkersystems in Kombination mit der ausgewählten Schutzgruppenstrategie ist entscheidend für eine erfolgreiche SPPS (*Solid phase peptide synthesis*). Seit der ersten SPPS von R. B. MERRIFIELD et al.^[60,61] hat es eine Vielzahl an Entwicklungen im Bereich des festen Trägermaterials gegeben. Heutzutage ist eine breite Palette an verschiedenen Polymeren und Linkern kommerziell erhältlich. Häufig verwendete Polymertypen sind hierbei Polystyrol-, Polyamid- oder Polyethylenglykol-Harze, die sich hauptsächlich hinsichtlich ihres Quellverhaltens in den einzelnen Lösungsmitteln und in der Einsatzbreite unterscheiden.^[150] Die unterschiedlichen Linker-Typen können an Hand ihres Abspaltungsprotokolls unterteilt werden. Exemplarisch sind einige Linker-Systeme und ihre Abspaltungsbedingungen in Tabelle 11 aufgelistet.

Tabelle 11: Verschiedene Linker-Systeme für die SPPS

Struktur	Name	Abspaltung
	Wang	95% TFA
	SASRIN	1% TFA
	Rink	95% TFA
	„Affymax-Linker“	hν
	HYCRON	Pd(PPh ₃) ₄ , Nukleophil

Häufig verwendete säurelabile Linker für Glykopeptidsynthesen sind Wang-^[151] oder Rink-Linker^[152], von denen die Abspaltung des Peptids mit Hilfe von TFA gelingt. Deutlich mildere Abspaltungsbedingungen können bei der Verwendung des SASRIN-Linkers^[153,154] eingesetzt werden, wodurch die Gefahr einer *O*-glykosidischen Bindungsspaltung bei der Abspaltung vom Harz deutlich sinkt. Der Gebrauch von UV-lablen Linkern ermöglicht die Abspaltung von vollständig geschützten Glykopeptiden. Allerdings waren in den ersten Generationen dieser Klasse die Ausbeuten bei der Abspaltung noch sehr gering bzw. diese erwiesen sich als basenlabil und waren damit für den Einsatz im Fmoc-Protokoll ungeeignet.^[155] Erst durch die Entwicklung des Affymax-Linkers konnten diese Probleme behoben werden.^[156] Linker mit Allylfunktionen,^[157] wie der HYCRON-Linker^[158] sind unter nahezu neutralen Bedingungen abspaltbar und tolerieren so die meisten gängigen Schutzgruppen.

In dieser Arbeit wurde für die Synthese der Peptide und Glykopeptide als polymere Trägersubstanz immer ein Wang-Harz (Wang-Linker mit Polystyrol-Harz) benutzt, da dieses in der Arbeitsgruppe LINDHORST schon mehrfach erfolgreich eingesetzt worden war.^[141] Um einen Kapazitätsverlust des Harzes zu vermeiden, wurde auf kommerziell erwerbliches bereits beladenes Wang-Harz zurückgegriffen, da die Veresterung der ersten Aminosäure mit dem Harz oft nur in geringen Ausbeuten erfolgt und so eine Minimierung der Gesamtausbeute eintreten würde. Dabei fiel die Wahl aus ökonomischen Gründen auf ein Fmoc-L-Alanin-Wang-Harz und ein Fmoc-Glycin-Wang-Harz (**Abb. 77**).

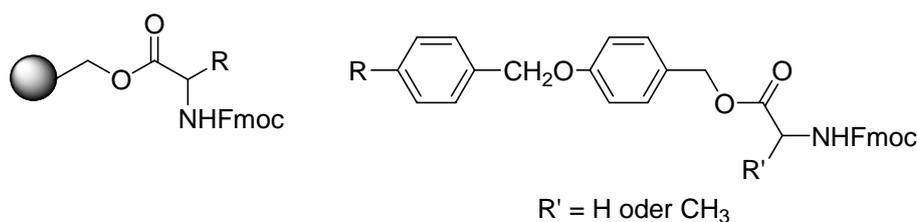


Abbildung 77: Schematische und Detailansicht des Fmoc-Ala-Wang-Harzes und des Fmoc-Gly-Wang-Harzes.

7.1.2 Kupplungsreagenzien für die SPPS

In der Literatur ist eine Vielzahl von Aktivierungsreagenzien für Aminosäuren beschrieben. Hierbei wird zwischen Aktivester-, Säurehalogenid-, Carbodiimid-, Uronium- bzw. Guanidiniumsalz- und anderen Aktivierungen unterschieden. In der Peptidsynthese haben sich, auf Grund ihrer hohen Ausbeuten vor allem Reagenzien mit *in situ*-

Aktivierung bewährt. Diese werden vor der Reaktion mit der Aminosäure zusammengegeben wobei erst danach die eigentliche reaktive Spezies entsteht.

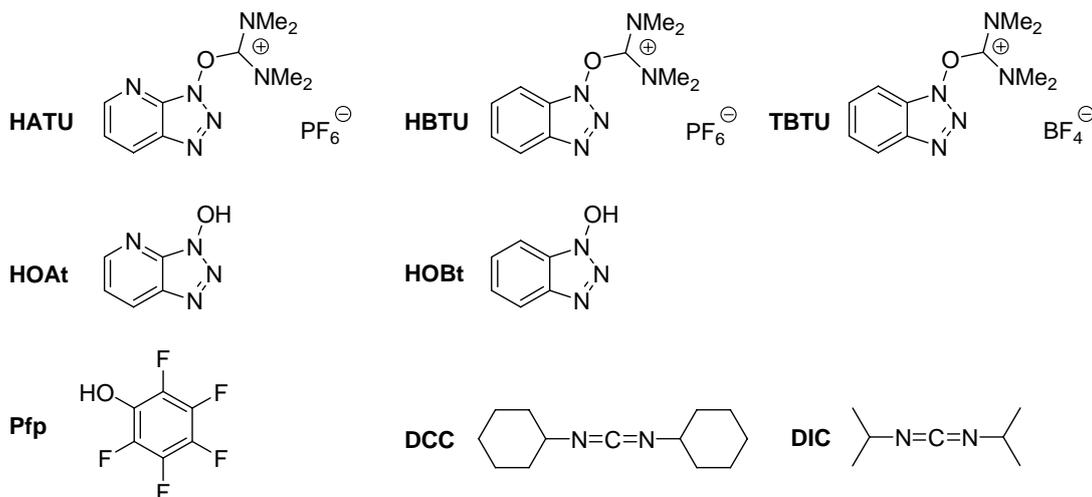


Abbildung 78: Aktivierungsreagenzien und Aktivestervorstufen für die Peptidsynthese.

Bei der Carbodiimidmethode^[159] werden zur Aktivierung der Carboxylfunktion der Aminosäure DIC oder DCC eingesetzt. Hierbei bildet sich ein aktivierter *O*-Acylisoharnstoff, der dann mit der freien Aminogruppe der Peptidkette weiterreagiert. DCC kann im Gegensatz zu DIC in der SPPS nicht eingesetzt werden, da der in der Reaktion entstehende Dicyclohexylharnstoff unlöslich ist und somit abfiltriert werden müsste. Insgesamt sind die Ausbeuten und die Reaktionsdauer bei der Verwendung der Carbodiimidmethode nicht optimal. Heutzutage werden daher meist die modernen Kupplungsreagenzien vom Uroniumtyp wie HBTU^[160] oder TBTU^[161] in einer möglichen Kombination mit HOBt^[162] oder HOAt^[163] verwendet. Diese erzeugen den Aktivester direkt, der dann mit einem freien Amin zum Amid weiterreagiert. Bei sterisch anspruchsvollen Kupplungen oder teuren und schwer zugänglichen Bausteinen wird häufig das Kupplungsreagenz HATU^[163] benutzt. Dieses zeichnet sich durch schnelle Umsätze und hohe Ausbeuten aus und konnte auch bereits erfolgreich für die Kupplung ungeschützter Glykocluster mit Carbonsäuren verwendet werden.^[164,165] In der Literatur werden die Kupplungsreagenzien (HATU, HBTU und TBTU) als Reagenzien vom Uroniumtyp bezeichnet. Sie besitzen jedoch alle in kristalliner Form eine Guanidinium-Struktur (**Abb. 79**), wie erst später durch Röntgenstrukturanalysen bewiesen werden konnte.^[166]

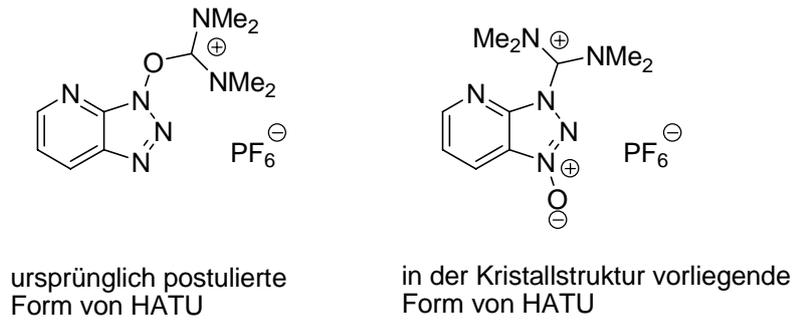


Abbildung 79: Ursprüngliche und nachgewiesene Form von HATU.^[166]

In Lösung befindet sich die Guanidinium-Form allerdings in Gleichgewicht mit der Uronium-Spezies,^[167] so dass die ursprünglich eingeführten Namen beibehalten wurden und auch die Strukturformeln meist als Uronium-Struktur formuliert werden.

Um der Gefahr von Racemisierung entgegenzuwirken, werden in der Peptidsynthese im Allgemeinen die Additive HOBt oder HOAt verwendet. Diese verhindern durch das Abfangen des Acyluronium-Zwischenprodukts (**142**) zum Aktivester **143** die Bildung des leicht racemisierenden Oxazolons (**144**) und führen so zur gewünschten Peptidkupplung (**Abb. 80**).

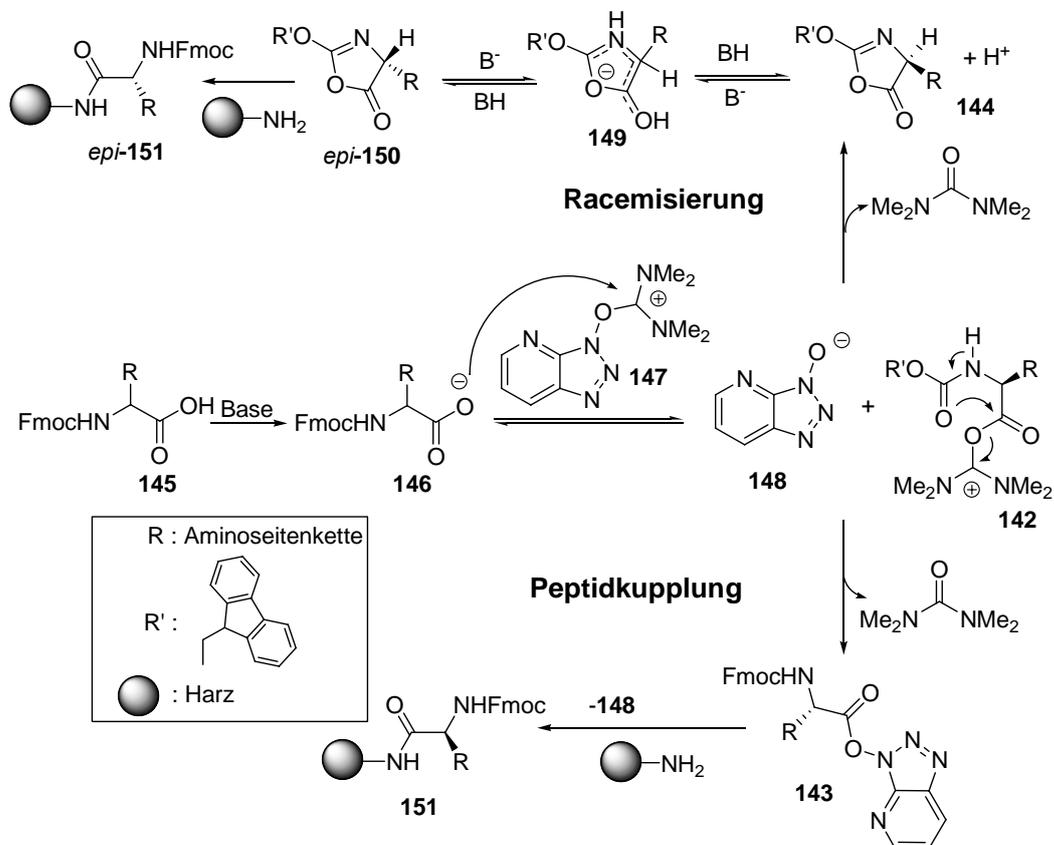


Abbildung 80: Mechanismus der Peptidkupplung mit einem Uroniumsalz und HOBt, um die Problematik der Racemisierung zu vermeiden.

7.1.3 Allgemeines Protokoll für die Peptid-Festphasen-Synthesen

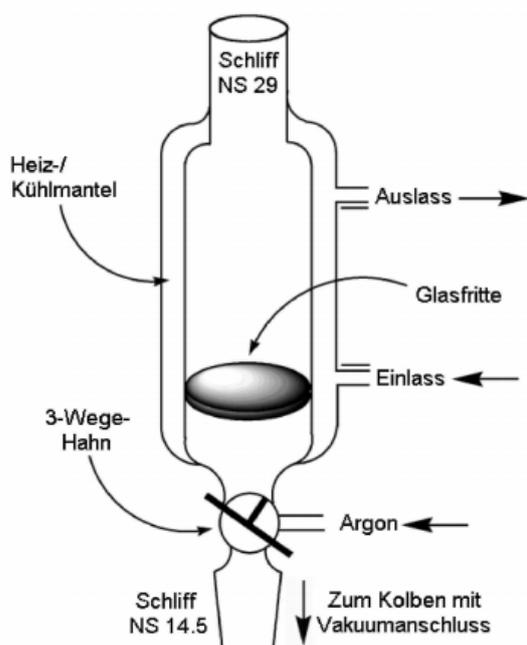


Abbildung 81: Glasreaktor für Peptidsynthesen an fester Phase.^[168]

Sowohl die Synthese der Peptide als auch die der Glykopeptide erfolgten manuell nach der Fmoc-Strategie in einem Glasreaktor (Abb. 81).^[168] Für den Seitenkettenschutz der unglykosylierten Aminosäuren wurden orthogonal stabile Schutzgruppen genutzt. Dies waren bei der Verwendung von Serin und Tyrosin *tert*-Butylether und bei der Verwendung von Lysin Boc-Schutzgruppen. Diese Schutzgruppen wurden gewählt, um Nebenreaktionen der Seitenketten in der SPPS zu verhindern und wurden parallel mit der Abspaltung des Peptids vom Harz entfernt. Zu Beginn jeder Synthese wurde

das Harz mindestens zwei Stunden in DMF gequollen. Vor der Kupplung einer Aminosäure wurde die *N*-terminale Fmoc-Schutzgruppe durch zweimalige Behandlung mit einer 20%igen Piperidin-Lösung entfernt. Die Kupplungen der unglykosylierten Aminosäuren wurden mit HBTU/HOBt und DIPEA bei einer Reaktionszeit von vier Stunden durchgeführt. Die Kupplung der glykosylierten Aminosäuren und der nichtproteinogenen Aminosäure Diaminopropionsäure (Dpr) erfolgte mit dem gegenüber HBTU reaktiveren HATU und DIPEA bei Reaktionszeiten über Nacht.

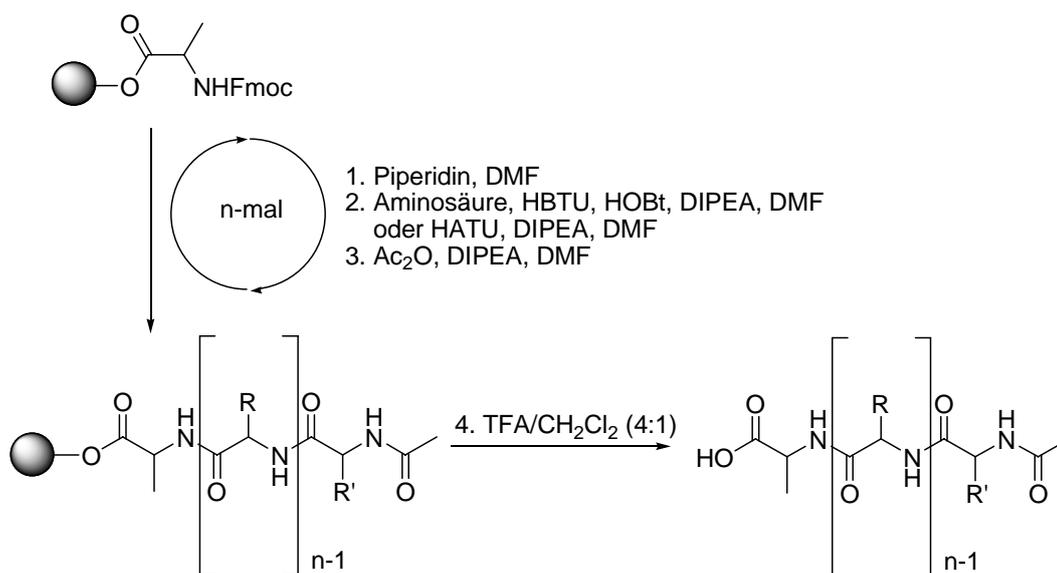


Abbildung 82: Schematische Darstellung des allgemeinen Festphasenprotokolls.

Nach jedem Kupplungsschritt wurden nicht umgesetzte Aminofunktionen durch Zugabe von Ac₂O und DIPEA acetyliert. Dieser Blockierungsschritt (*capping*) verhinderte das Auftreten von Fehlsequenzen, die sich um eine oder mehr Aminosäuren von dem gewünschten Produkt unterscheiden und die Aufreinigung des Produktes stark beeinträchtigen würden.^[169] Die Abspaltung der unglykosylierten Peptide erfolgte mittels TFA und CH₂Cl₂ (4:1); Glykopeptide wurden mit TFA und CH₂Cl₂ (1:1) vom Harz gespalten (**Abb. 82**).

7.2 Durchgeführte Synthesen

7.2.1 Synthese der Peptide und Glykopeptide für Methode 2

Um die mannosidischen Säuren **92**, **93** und **94** (vgl. Kapitel 5.1) mit peptidischen Strukturen zu konjugieren, müssen diese Peptide freie Aminofunktionen an ihren Seitenketten tragen. Durch die Verwendung unterschiedlich langer Seitenketten sollte der Einfluss der Flexibilität der gekuppelten α -Mannoside auf die inhibitorische Potenz der Glykokonjugate festgestellt und bewertet werden. Daher wurde neben der natürlichen Aminosäure L-Lysin auch die nichtproteinogene Aminosäure L-Diaminopropionsäure für die Peptidsynthese verwendet (**Abb. 83**).

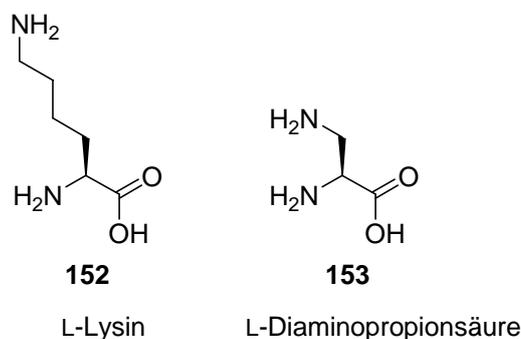


Abbildung 83: L-Lysin (**152**) und L-Diaminopropionsäure (**153**) als Anknüpfungspunkte für die Darstellung von Glykopeptiden nach Methode 2.

Neben der Flexibilität sollte die Auswirkung des Kohlenhydratabstandes und der Kohlenhydratdichte auf die biologischen Eigenschaften der jeweiligen Glykokonjugate untersucht werden. Ein möglicher Ansatz, dies zu testen, ist die Synthese von unterschiedlichen Peptiden, bei denen Anzahl und Abstände der Anknüpfungspunkte für die Kohlenhydratkonjugation variiert werden. Es wurden die in Abbildung 84 aufgeführten Zielpolypeptide **154-157** ausgewählt und nach dem allgemeinen Festphasenprotokoll in guten

bis sehr guten Ausbeuten synthetisiert. Alle Peptide konnten ohne weitere Aufreinigung direkt in den folgenden Synthesen eingesetzt werden.

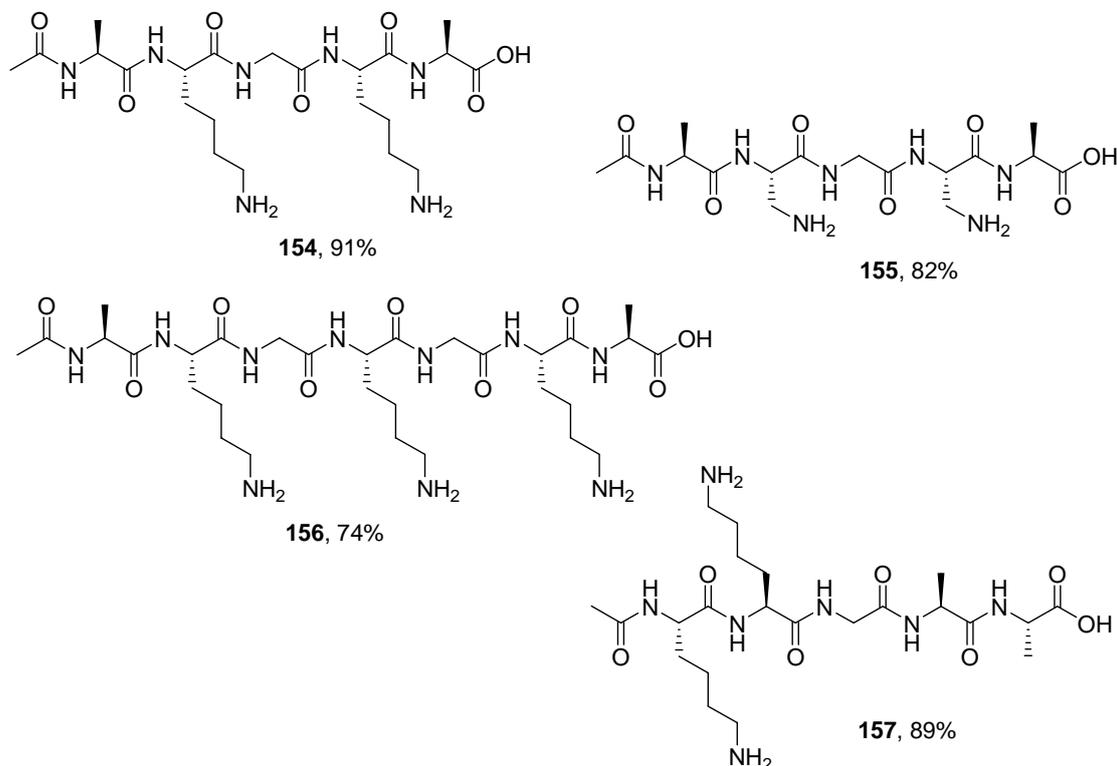


Abbildung 84: Synthetisierte Peptide **154-157** für die nachträgliche Zuckerkonjugation. Die ermittelten Ausbeuten beziehen sich auf die angegebene Vorladung des Harzes.

Im nächsten Schritt wurde das Peptid **154** in drei Ansätzen mit je einer der drei mannosidischen Säuren, **92**, **93** oder **94**, in Lösung umgesetzt (**Abb. 85**). Bei allen folgenden Kupplungen wurde immer ein doppelter Überschuss der mannosidischen Säure pro peptidischer Aminogruppe eingesetzt. In keiner der Zuckerkonjugationen konnte nach einer Reaktionszeit über Nacht noch peptidisches Edukt per MALDI-ToF-MS-Analyse detektiert werden. Neben den disubstituierten Produkten waren jedoch in allen Ansätzen auch monosubstituierte Verbindungen nachweisbar. Die Aufreinigung dieser Glykopeptide-Produktgemische erwies sich, bedingt durch den hohen Überschuss der eingesetzten Säurederivate, als kompliziert. Doch konnte die Problematik durch die Kombination von MPLC, anschließender GPC und abschließender HPLC in jedem Fall gelöst werden. Allerdings sind die erzielten Ausbeuten im Fall der Glykopeptide **158** und **159** mit 15% bzw. 16% unbefriedigend. In beiden Fällen fiel vor allem das monosubstituierte Derivat mit circa 35% an. Die Peptidkupplung mit dem *S*-glykosidischen Derivat **93** zum Glykopeptid **160** verlief mit 25% dagegen in besseren Ausbeuten, was schwer erklärbar ist. Die NMR-Spektren der synthetisierten Glykopeptide wurden in einem Gemisch aus H₂O/D₂O (10:1) mit einem pH-Wert von 4.5 aufgenommen.

Durch diese Lösungsmittelkombination verlangsamte sich der ansonsten schnelle Austausch der Amidprotonen stark, so dass diese in allen Protonenspektren sichtbar blieben. Das erwartete starke Wassersignal konnte mit Hilfe der Wasserunterdrückung durch selektive Sättigung gering gehalten werden. Die ebenfalls unterdrückten Protonensignale der Zielmoleküle in diesem Bereich konnten nur noch über 2D-Spektren detektiert werden. Die Bestimmung ihrer Kopplungskonstanten ist somit nicht möglich.

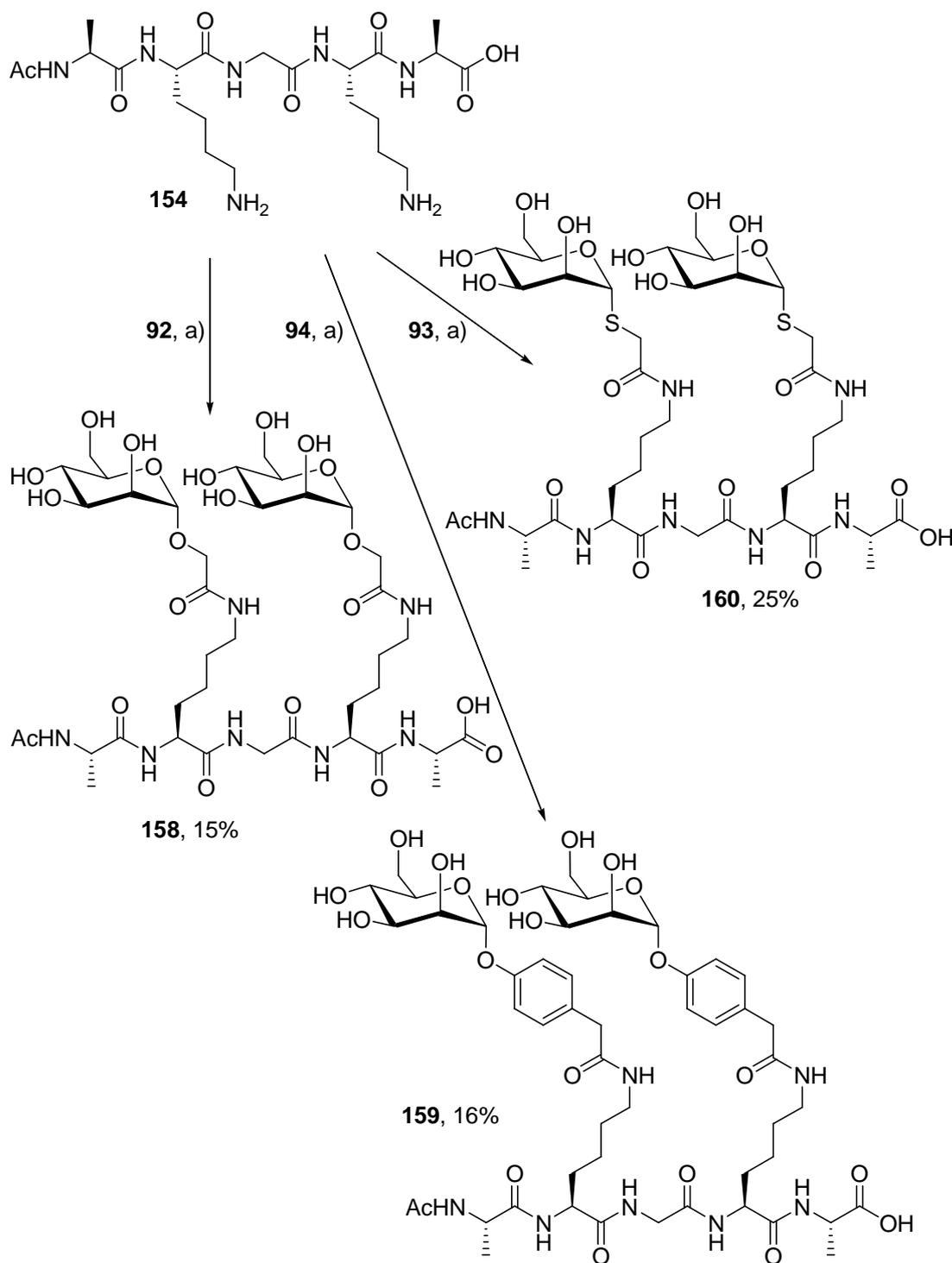


Abbildung 85: Synthese der Glykopeptide **158-160** mit Peptid **154** und den mannosidischen Säurederivaten **92-94**. a) HATU, DIPEA, DMF, 0°→Raumtemp.

Um die Auswirkung der Spacerlänge auf die biologischen Eigenschaften synthetischer Glykopeptide ermitteln zu können, wurden die zu **158** und **159** (Abb. 85) analogen Verbindungen **161** und **162** ausgehend von dem Peptid **155** synthetisiert (Abb. 86), da dieses Aminogruppen für die Konjugation per Peptidkupplung an kürzeren Spacern als das Lysin-Peptid **154** trägt.

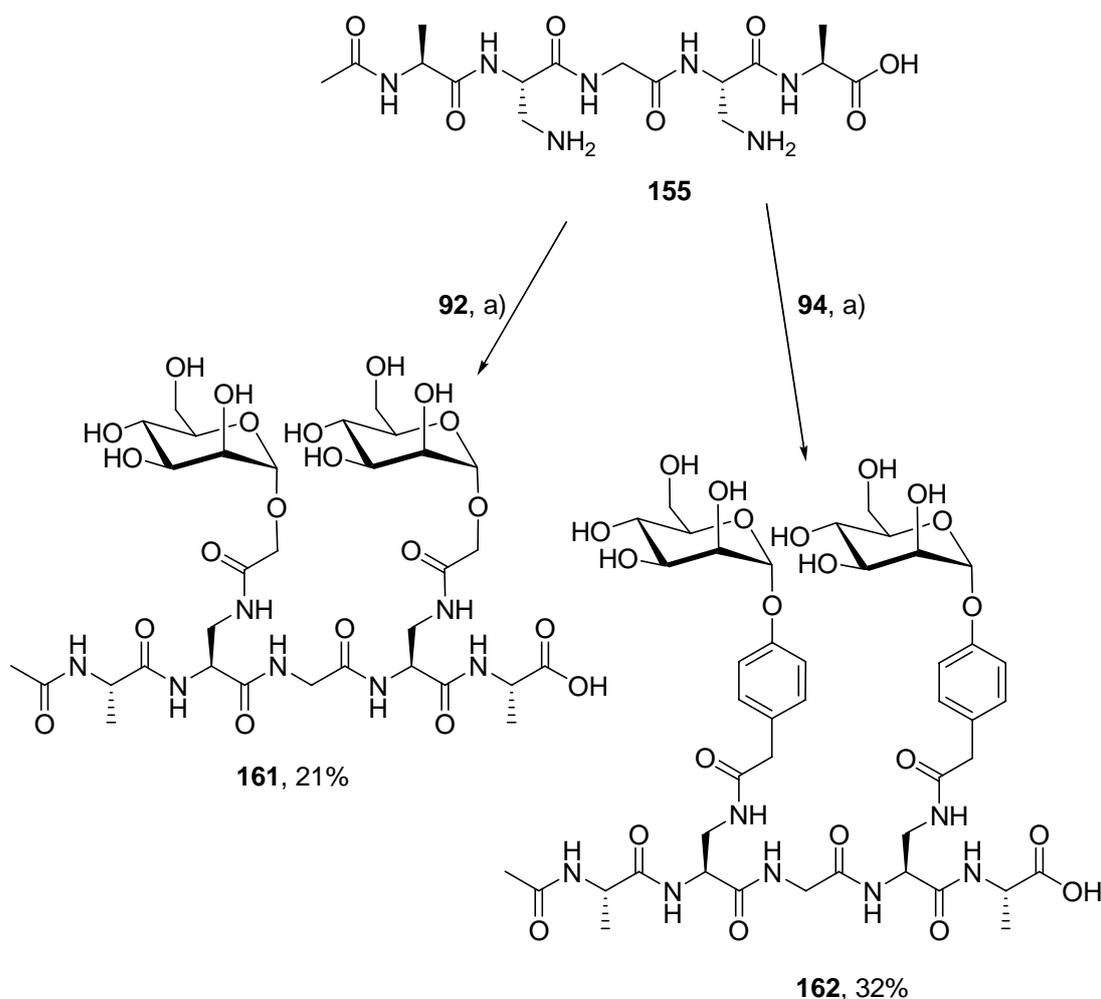


Abbildung 86: Funktionalisierung des Peptids **155** mit den mannosidischen Säuren **92** und **94**.
a) HATU, DIPEA, DMF, 0°→Raumtemp.

Beide Ziel-Glykopeptide, **161** und **162**, konnten analog zur Herstellung der Glykopeptide **158-160** synthetisiert und in ähnlichen Ausbeuten isoliert werden.

Ein weiterer Eigenschaftsparameter der avisierten Glykopeptide ist ihre Kohlenhydratdichte und die räumliche Anordnung der Zucker-Dekoration. Um diesbezüglich einen Vergleich zu ermöglichen, wurden das Peptid **156** mit drei Aminogruppen sowie das Peptid **157** mit zwei Aminogruppen in großer räumlicher Nähe mit Zuckern funktionalisiert. Die Umsetzung mit dem aromatischen Säuremannosid **94**

lieferte die Glykopeptide **163** und **164** ohne weitere Komplikationen (**Abb. 87**). Auf eine Synthese mit den aliphatischen Bausteinen **92** und **93** wurde hier verzichtet, da das Glykokonjugat mit dem aromatischen Aglykon auf Grund bekannter Testergebnisse anderer Mimetika^[89] den größten Erfolg versprach. Entsprechend konnte gehofft werden einen Unterschied zwischen den biologischen Eigenschaften der einzelnen Glykopeptide detektieren zu können.

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass damit vier Peptide durch SPPS und sieben Glykopeptide nach der Methode der nachträglichen Zucker-Funktionalisierung eines Peptids („Methode 2“) erfolgreich synthetisiert werden konnten. Die Ausbeuten variierten dabei von besseren 32% bis zu moderaten 15%. Als problematisch erwies sich die Aufreinigung der Glykopeptide, die aber durch Kombination mehrerer chromatographischer Techniken beherrscht werden konnte.

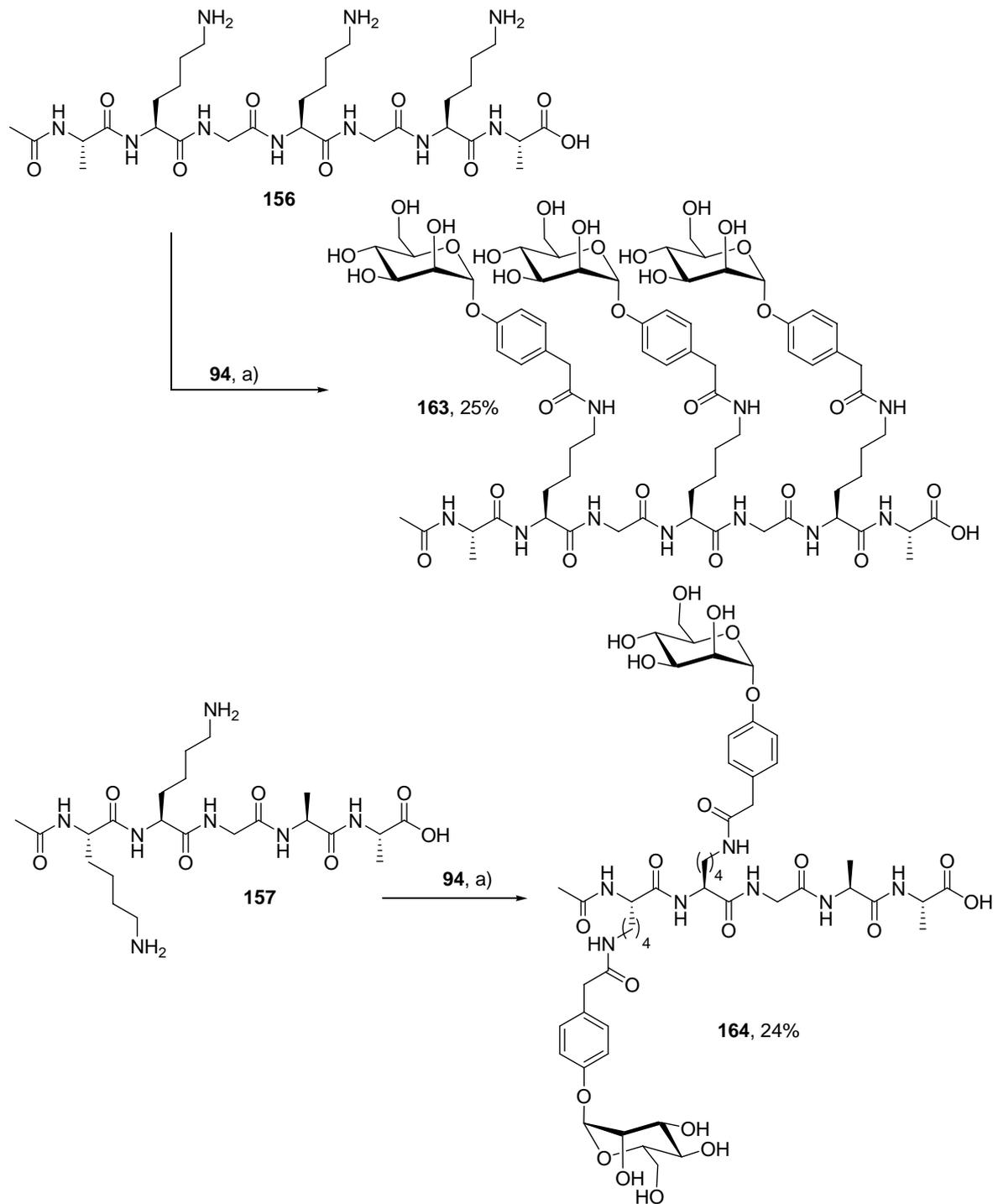


Abbildung 87: Synthese der Glykopeptide **163** und **164** nach der Methode der nachträglichen Zuckerfunktionalisierung. a) HATU, DIPEA, DMF, 0°→Raumtemp.

7.2.2 Synthese der Glykopeptide nach Methode 1

Nach der Synthese der Glykopeptide **158-164** durch nachträgliche Zucker-Funktionalisierung von Peptiden wurde im Weiteren der Aufbau von Glykopeptidstrukturen durch Peptidkupplung von Glykoaminosäure-Bausteinen verfolgt. Um die Verwendbarkeit dieser Bausteine in der SPPS zu testen und Erfahrungen mit der Methode zu sammeln, sollten die Glykoaminosäure-Derivate **19**, **42** und **66** zunächst in der Synthese von drei Glykopeptid-Trimeren eingesetzt werden (**Abb. 88**).

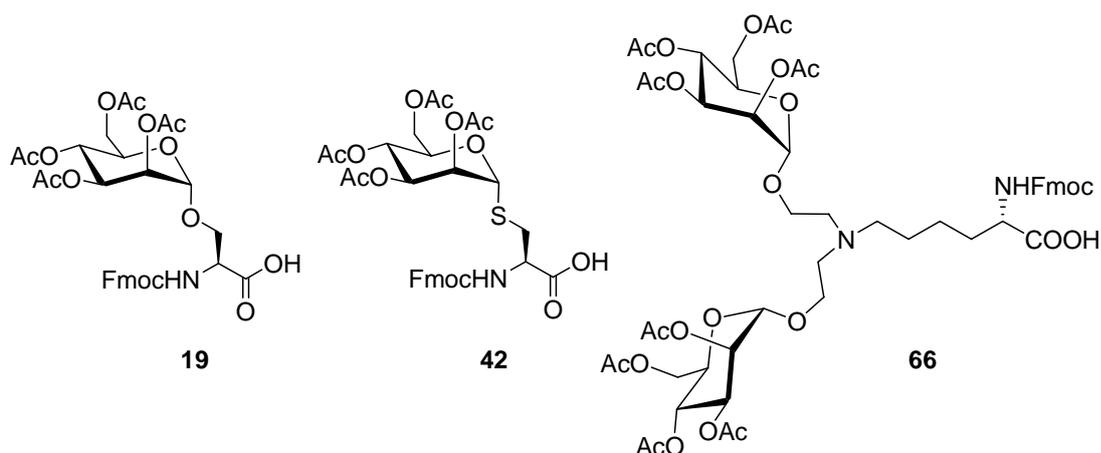


Abbildung 88: Die Glykoaminosäure-Bausteine **19**, **42** und **66** für die SPPS.

Hierbei wurde stets die gleiche Aminosäuresequenz gewählt. Beginnend mit Alanin folgte nach dem allgemeinen Festphasenprotokoll die Kupplung des Glykoaminosäure-Bausteins und abschließend die Umsetzung mit Glycin (**Abb. 89**). Nach Abspaltung vom Harz erfolgte die abschließende Acetylschutzung. Die Auswahl der Glykoaminosäure-Bausteine **19** und **42** geschah auf Grund ihrer guten Verfügbarkeit, der Glykoaminosäure **66** galt wegen der zwei Mannoseeinheiten besonderes Interesse.

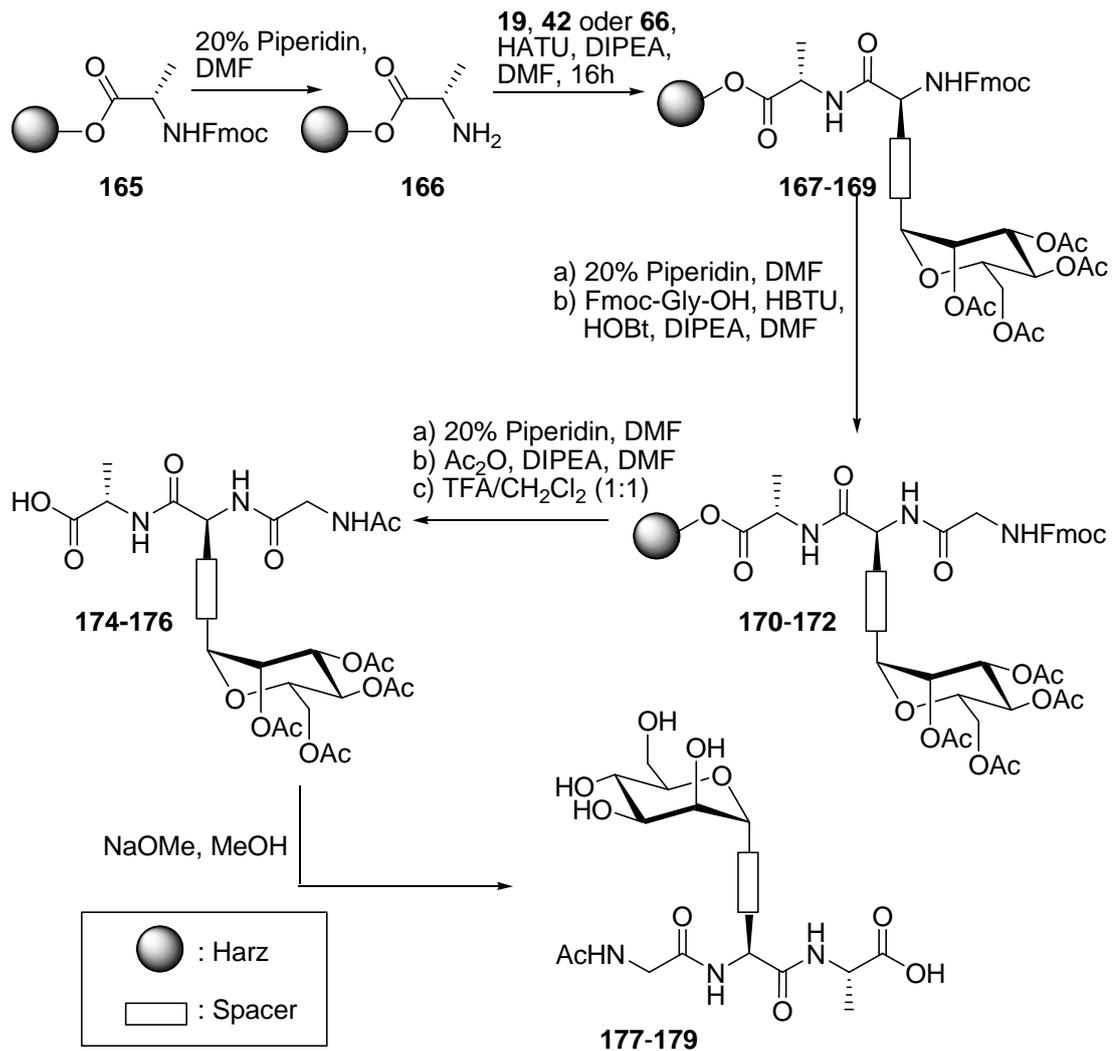


Abbildung 89: Allgemeiner Syntheseweg für die Synthese trimerer Glykopeptide.

Um einer Spaltung der glykosidischen Bindung vorzubeugen, wurde die Abspaltung vom Harz mit einer Mischung aus TFA und CH₂Cl₂ (1:1) durchgeführt. So konnten die Glykopeptide **177-179** erfolgreich synthetisiert werden (**Abb. 90**).

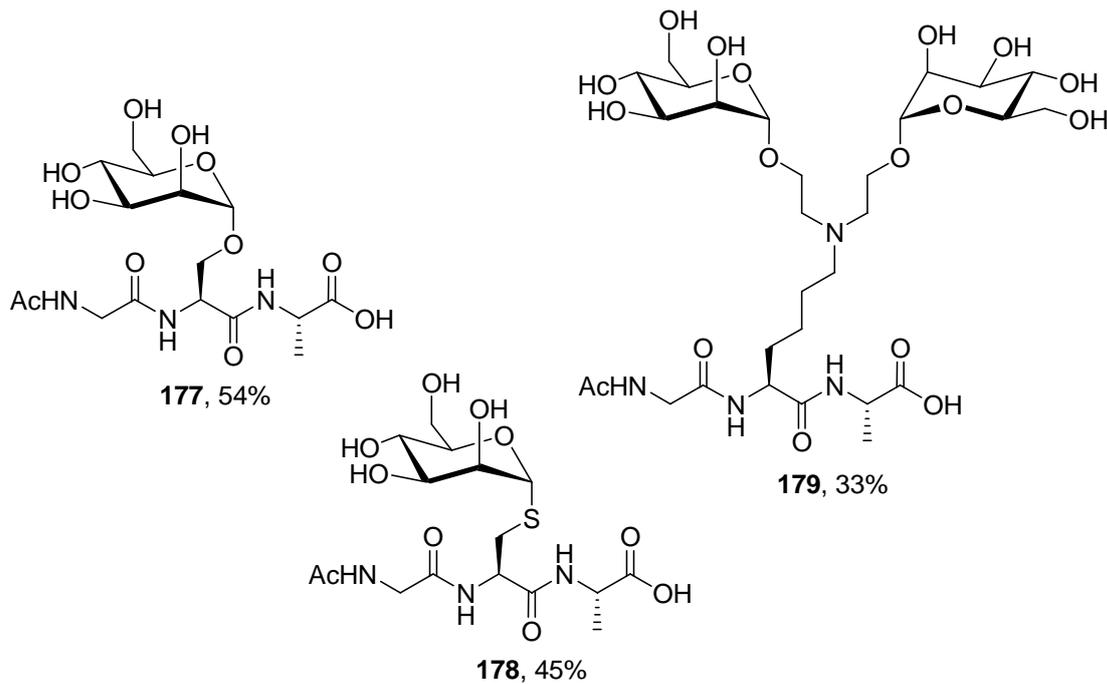


Abbildung 90: Die synthetisierten trimeren Glykopeptide 177-179.

Im Anschluss an die Entschützung der *O*-Acetylgruppen erfolgte bei allen Zielmolekülen eine abschließende Aufreinigung mittels HPLC, wodurch die Glykopeptide in moderaten Ausbeuten bezogen auf die angegebene Beladung des Harzes isoliert werden konnten.

Nach der erfolgreichen Darstellung der trimeren Glykopeptide sollten im Anschluss zwei heptamere Glykopeptide synthetisiert werden (Abb. 91). Ausgehend von Fmoc-Gly-Wang-Harz wurde zunächst die gemeinsame Aminosäuresequenz Gly-Gly-Ser-Ser(OMan)-Fmoc (**180**) angestrebt. Nach Kupplung des Glykoaminosäure-Derivats **19** sollte das Harz getrocknet und geteilt werden. Danach sollte die Synthese des Glykopeptids **181** erfolgen und anschließend die des Glykopeptids **182**, das sich nur in der fünften Aminosäure vom Glykopeptid **181** unterscheidet. Im Fall von **181** sollte terminal L-Serin, bei **182** L-Tyrosin verwendet werden. Die ersten drei Kupplungen verliefen ohne Probleme und die gemeinsame Kernstruktur **180** konnte nach Testabspaltung einiger Harz-Kugeln erfolgreich im MALDI-ToF-MS-Spektrum nachgewiesen werden. Das Harz wurde geteilt, die restlichen Schritte vollzogen und das Glykopeptid **181** vom Harz abgetrennt. Das acetylgeschützte Glykopeptid **181** wurde massenspektrometrisch nachgewiesen und anschließend unter Standardbedingungen entschützt. Allerdings konnte das ungeschützte Produkt **183** auch nach mehrmaliger Aufreinigung per HPLC und GPC nur stark verunreinigt und in minimaler Ausbeute isoliert werden. Daher wurde auf die Darstellung von **182** zunächst verzichtet.

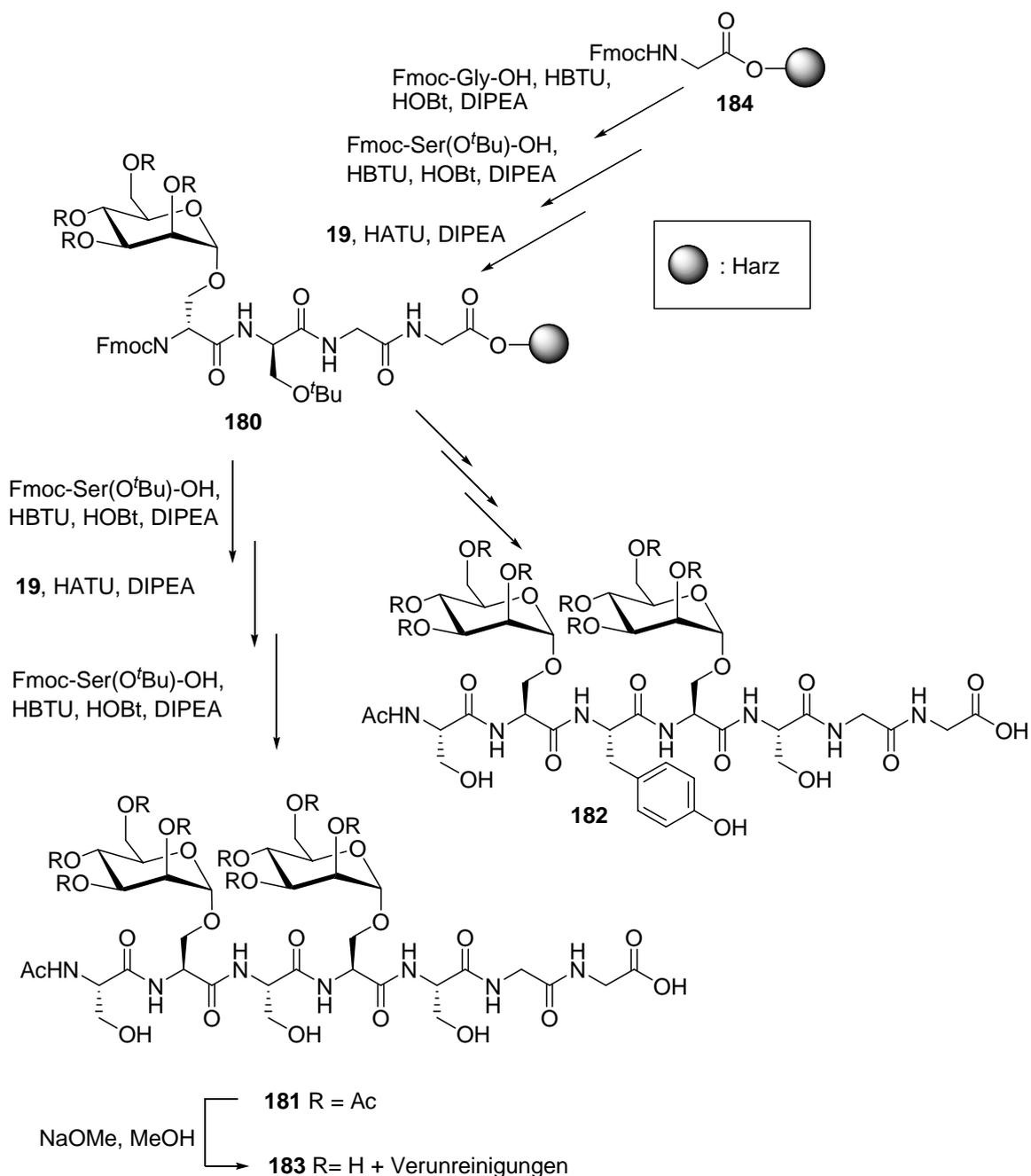


Abbildung 91: Syntheseplan zur Darstellung der heptameren Glykopeptide **182** und **183**.

Die schlechte Ausbeute und die aufgetretenen Verunreinigungen bei der Synthese von Glykopeptid **183** könnten verschiedene Gründe haben. Eine mögliche Erklärung könnte die Entstehung von Fehlsequenzen sein. Besonders in den Kupplungsschritten mit den Glykoamino-säure-Bausteinen ist eine unvollständige Umsetzung zu vermuten, da hier nur mit doppeltem anstelle des üblichen vierfachen Überschusses gearbeitet wurde. Eine andere Erklärung könnte in der nicht vollständig erfolgten Abspaltung liegen, da nur mit

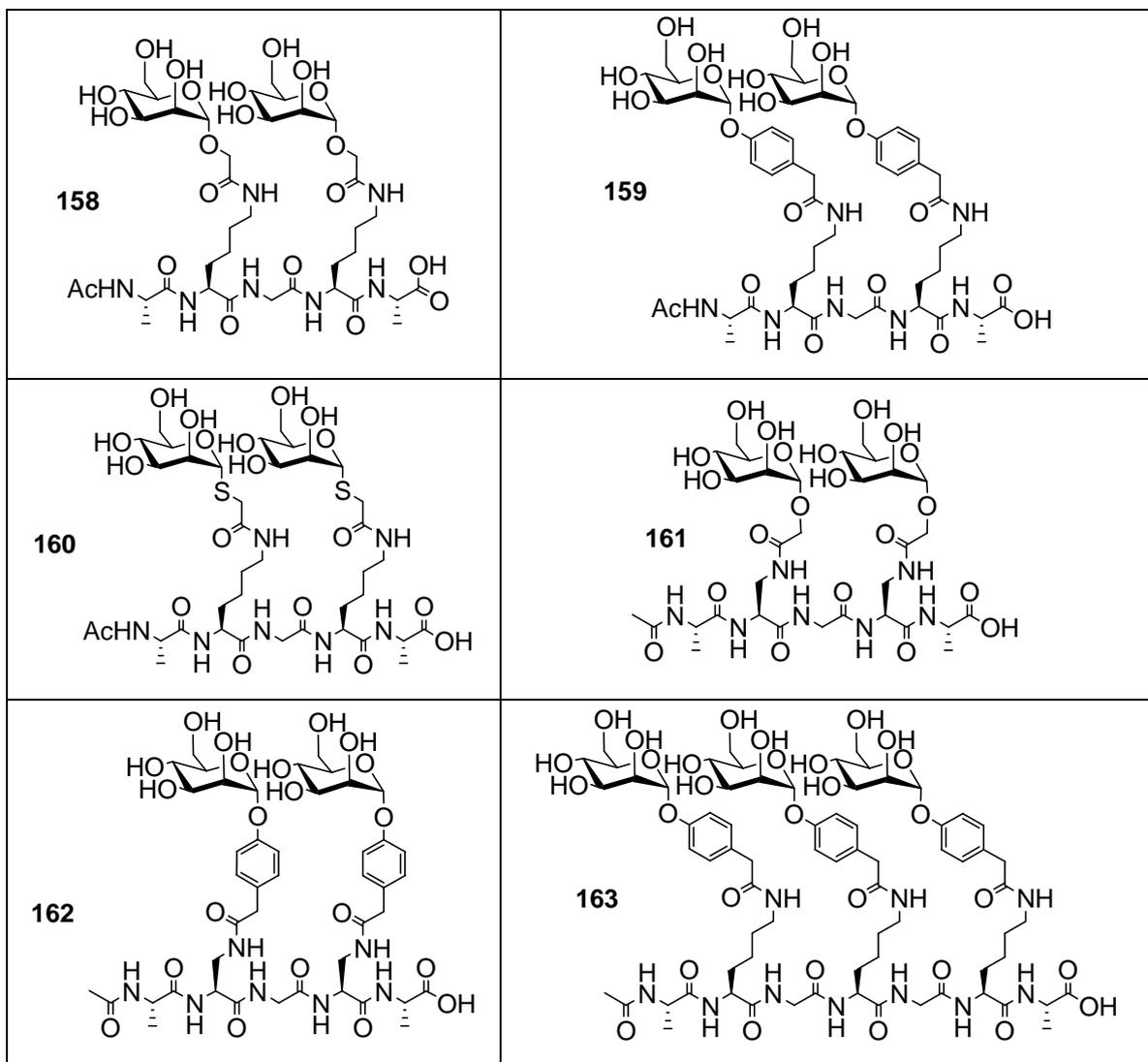
50% TFA-Lösung gearbeitet wurde, um die *O*-glykosidischen Bindungen nicht zu beeinträchtigen.

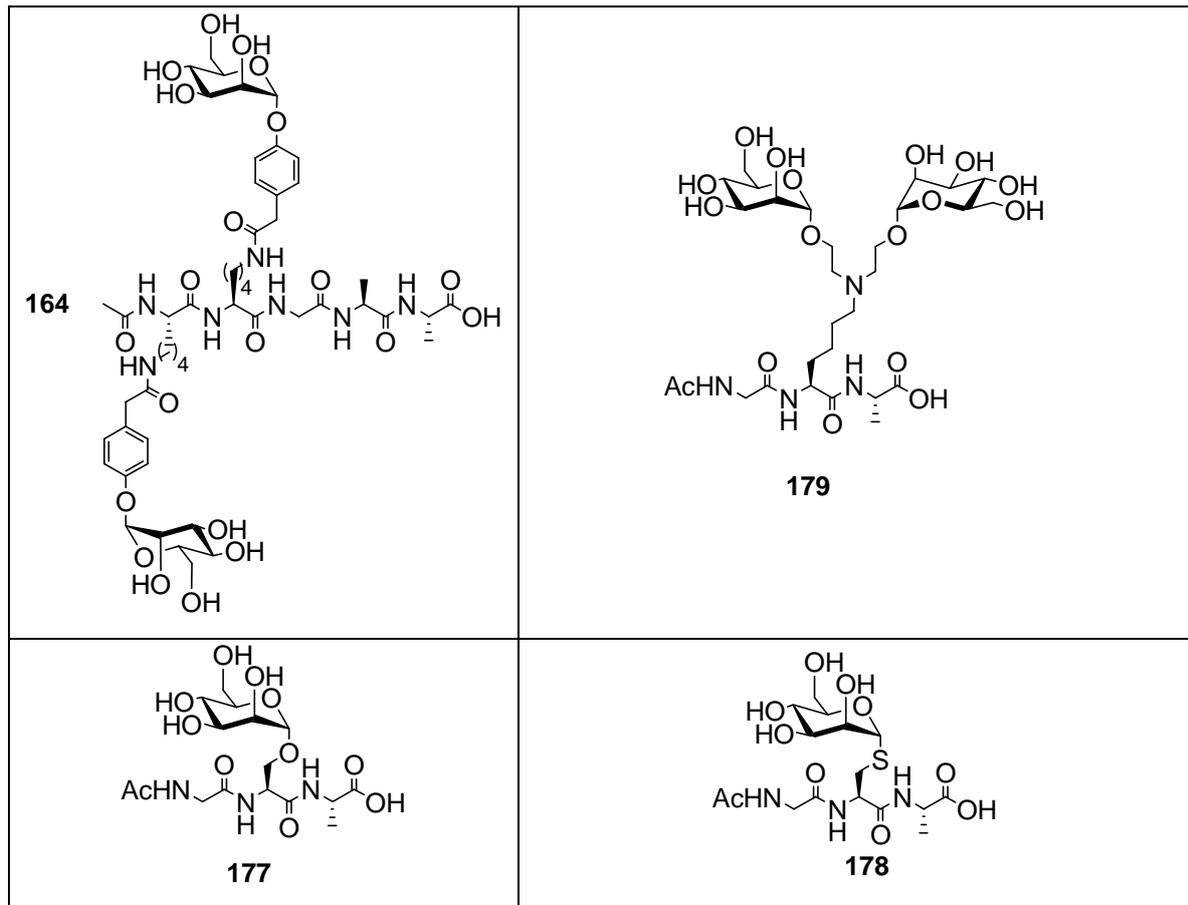
Somit war die Synthese eines größeren Glykopeptids mit diesem Standardverfahren im vorliegenden Fall nicht möglich und wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter verfolgt. Zuerst sollten die Ergebnisse der Glykopeptide **158-164** in biologischen Tests ausgewertet werden, um dann Rückschlüsse auf weitere geeignete Zielstrukturen aus der Glykopeptidreihe ziehen zu können. Der Aufbau dieser Strukturen könnte wieder mit Hilfe der schon erarbeiteten Glykoaminosäure-Bibliothek erfolgen, da diese eine Vielzahl an Variationen und Möglichkeiten erlaubt und die SPPS mit solchen Derivaten in der Literatur vielfach beschrieben ist. Die Methodik konnte von uns im kleinen Maßstab nachvollzogen werden. Um die SPPS zu verbessern, sollten wichtige Änderungen vorgenommen werden. Zum einen sollte anstelle des Wang-Harzes der SASRIN-Linker zum Einsatz kommen, da dieser eine Abspaltung der peptidischen Strukturen mit 1% TFA statt mit 95% erlaubt. Zum anderen würde der Einsatz eines automatisierten oder semiautomatischen Synthesizers die Methode verbessern. Dieser würde neben einer besseren Handhabung sowie schnelleren und intensiveren Spülvorgängen auch die Möglichkeit bieten, den Umsatz der Kupplungen mittels Kontrollmessungen zu verfolgen, wodurch deutliche Ausbeutensteigerungen und höhere Reinheiten zu erwarten wären. Des Weiteren sollte die Verwendung von höheren Überschüssen, besonders bei der Umsetzung der synthetischen Bausteine angestrebt werden.

7.2.3 Zusammenfassung: Synthese der Glykopeptide nach Methode 1 und Methode 2

Zusammengefasst bleibt festzuhalten, dass zehn unterschiedliche Glykopeptide synthetisiert werden konnten. Sowohl die Methode der nachträglichen Zucker-Funktionalisierung von Peptiden als auch die Verwendung der synthetischen Glykoaminosäure-Bausteine in der SPPS führten hierbei zum Erfolg. Diese synthetisierten Glykopeptide **158-164** standen nun für die Testung als Inhibitoren Typ-1-Fimbrien vermittelter bakterieller Adhäsion in biologischen Tests bereit.

Tabelle 12: Überblick über die synthetisierten Glykopeptide nach „Methode 1“ und „Methode 2“.





7.3 Biologische Tests der Glykopeptide

Die synthetisierten Glykopeptide **158-164** wurden, wie weiter oben beschriebenen, auf ihre Potenz als Inhibitoren von Typ-1-Fimbrien vermittelter bakterieller Adhäsion getestet. Die aus den erhaltenen Kurven ermittelten IC_{50} -Werte, die relativen IC_{50} -Werte, die sich auf Methylmannosid **141** beziehen, und die valenzbereinigten Werte der relativen inhibitorischen Potenz ($RIC_{50(vb)}$) sind in Tabelle 13 zusammengefasst. Für einen besseren Vergleich wurden die $RIC_{50(vb)}$ -Werte in Abbildung 92 als Säulendiagramme nebeneinander dargestellt.

Tabelle 13: IC_{50} -Werte der Glykopeptide **158-164** und die daraus resultierenden RIC_{50} - und $RIC_{50(vb)}$ -Werte.

Verbindung	IC_{50} [mM]	RIC_{50}	$RIC_{50(vb)}$
MeMan (141)	8.3	1	1
159	0.49	17	9
161	1.77	5	3
162	0.19	44	22
163	0.81	10	3
164	0.076	110	55
MeMan (141)	18.3	1	1
158	8.04	2	1
160	7.62	2	1

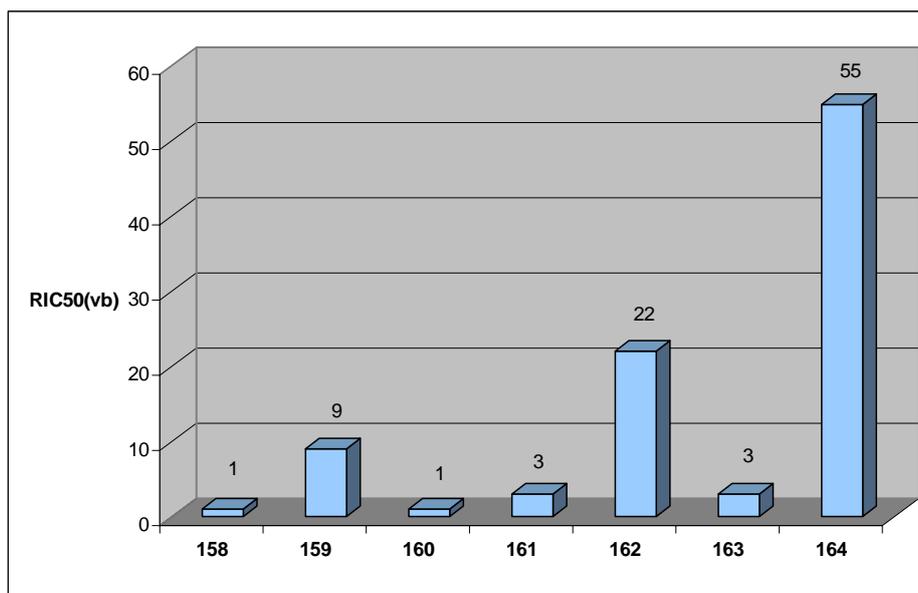


Abbildung 92: $RIC_{50(vb)}$ -Werte der Glykopeptide **158-164**.

Der Vergleich der Ergebnisse zeigt, dass alle Glykopeptide bessere Inhibitoren als Methylmannosid **141** sind (**Tab. 13**). Die valenzbereinigten Werte der Glykopeptide **158** und **160** sind dagegen nicht höher als der monovalente Standard und auch die Glykopeptide **161** und **163** zeigen nur minimal bessere Werte. Dagegen sind die Ergebnisse von **159**, **162** und besonders beim Glykopeptid **163** deutlich besser als die von **141**. Diese drei Glykopeptide besitzen ein aromatisches Aglykon und bestätigen die schon mit den Glykoclustern erhaltenen Ergebnisse, bei denen die inhibitorische Potenz ebenfalls durch die Verwendung von aromatischen Spacern deutlich anstieg. Auffällig ist das Verhalten des Glykopeptids **163**, das eine geringe inhibitorische Potenz zeigt, obwohl es einen aromatischen Spacer besitzt. Durch den Einbau einer dritten Mannoseeinheit wurden im Vergleich zu den Untersuchungen mit dem divalenten Glykopeptiden bessere Ergebnisse erwartet, doch konnte dies nicht bestätigt werden. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte in der engen räumlichen Anordnung der drei Mannoseeinheiten und ihrer hohen Flexibilität, die durch die lange Seitenkette des Lysins bedingt ist, liegen. Um der gedrängten Anordnung auszuweichen, könnte eine Verdrillung der Mannosereste erfolgt sein, so dass das Glykopeptid nicht mehr als trivalente Testsubstanz im Test agiert hätte, sondern sich beinahe wie ein monovalentes Mannosid verhalten hätte.

Die mit den Glykopeptiden erzielten Ergebnisse bestätigen die bisherigen Beobachtungen, dass durch multivalente Inhibitoren eine moderate Erhöhung der Inhibition in dem von uns untersuchten Testsystem erreicht werden kann. Günstig wirkt sich weiterhin die Einführung eines aromatischen Aglykons aus, wobei aber auch der räumliche Aufbau des Moleküls eine Rolle spielt, was durch einen Vergleich der Substanzen **159**, **163** und **164** aufgezeigt werden konnte.

7.4 Fazit und Ausblick

Die Synthese von Glykopeptiden aus carboxylierten Mannosiden und geeigneten Peptiden führte zu den Zielsubstanzen **158-164**. Bei der Peptidkupplung konnten Ausbeuten zwischen 15% und 32% erzielt werden. Biologischen Tests mit diesen Glykopeptiden (**158-164**) zeigten, ebenso wie im Fall der Glykocluster (Kapitel 6.2), valenzkorrigiert eine leicht erhöhte inhibitorische Potenz gegenüber Methylmannosid in der Inhibition der bakteriellen Adhäsion von *E. coli* und ließen somit Schlüsse über die Struktur-Wirkungsbeziehung zu.

Die Synthese von Glykopeptiden an SPPS mit den synthetisierten Glykoaminosäure-Derivaten konnte am Beispiel der Glykopeptide **177-179** erfolgreich durchgeführt werden. Die Synthese eines größeren Glykopeptids nach dieser Synthesemethode gelang jedoch nicht. Spätere Arbeiten sollten dem Aufbau von größeren multivalenten Glykopeptiden aus Glykoaminosäure-Derivaten per SPPS gewidmet sein. Dies sollte aufbauend auf den Erfahrungen der hier dokumentierten Arbeiten, Diskussionen und Optimierungsvorschlägen, sowie mittels des erarbeiteten Zugangs zu den Glykoaminosäure-Derivaten gut möglich sein.

8 Moleküldynamik-Simulationen

8.1 Einleitung

Wasser ist ein wichtiges Element in biochemischen Vorgängen. Sowohl als Lösungsmittel, als auch als Reaktionsmedium ist es an beinahe allen Reaktionen, an den verschiedenen Informationsflüssen und den zentralen Transportprozessen des Lebens beteiligt. Die Strukturen und Funktionen von Kohlenhydraten, Proteinen und Glykoproteinen sind durch die Notwendigkeit zur Interaktion mit Wasser daher besonders geprägt. So spielt die Bindung von Wassermolekülen unter anderem eine entscheidende Rolle bei der Spezifität und Funktion von Proteinen als Katalysatoren.^[170] Aus den Kristallstrukturen von Antigen-Antikörper- und Protein-DNA-Komplexen sind obendrein über Wasser vermittelte Wasserstoffbrückenbindungen zwischen polaren Atomen bekannt.^[171-173] Als primäres biologisches Lösungsmittel nimmt Wasser zudem eine entscheidende Rolle in Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen, bei der Kohlenhydrat-Erkennung und bei Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Interaktionen ein. Auch in den Kristallstrukturen des bakteriellen Lektins FimH im Komplex mit Mannose-Derivaten wurde stets ein Wassermolekül in der CRD nachgewiesen, das je nach Mannosederivat eine indirekte Bindung zwischen einem Sauerstoffatom der Mannose und dem Protein ermöglicht.^[174,175] A. FUCHS konnte in Moleküldynamik-Simulationen zeigen, dass die leere Bindungstasche sieben Wassermoleküle komplexiert (**Abb. 93**).

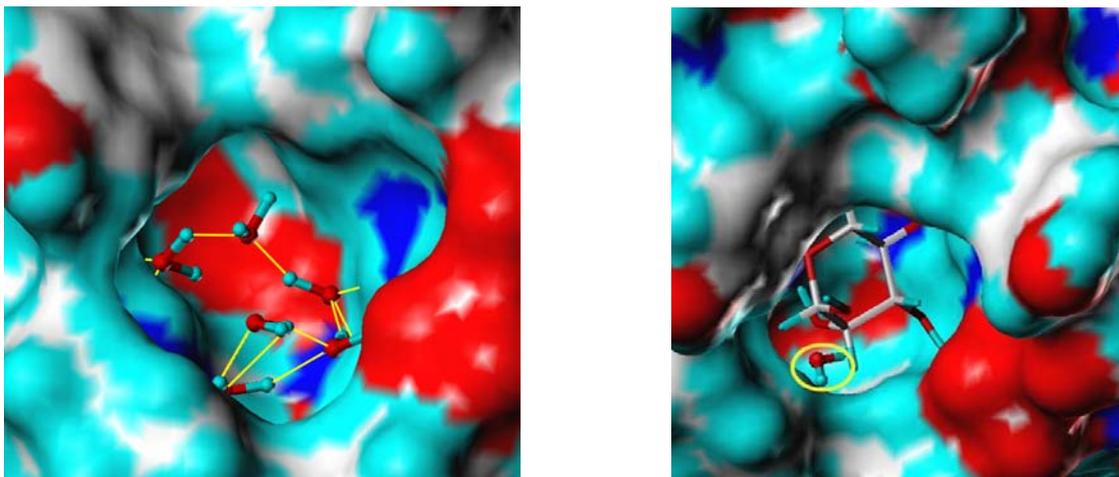


Abbildung 93: Computersimulationen der CRD des bakteriellen FimH. Links: Wassermoleküle in der Bindungstasche von FimH. In gelb sind die Wasserstoffbrückenbindungen dargestellt.
Rechts: Mannose und ein Wassermolekül in der CRD von FimH.

R. U. LEMIEUX bezeichnete Wassermoleküle als „Chaperone“-Moleküle, da sie sowohl Proteinen, als auch Kohlenhydraten erst zu ihrer aktiven Konformation verhelfen.^[176] Aber

auch die makroskopischen Eigenschaften der Kohlenhydrate werden durch Wassermoleküle verändert. Exemplarisch ist hier die Veränderung der Gefriertemperatur bei Amylose und Amylopektin zu nennen.^[177]

Trotz der immensen Bedeutung des Wassers in allen wichtigen Prozessen des Lebens ist dessen Rolle auf molekularer Ebene im Detail noch wenig erforscht. Die Untersuchung eines Wassersystems, das ein komplexes Molekül umgibt ist problematisch. Die große Anzahl an Wassermolekülen, die Komplexität des gelösten Stoffes und die hohe Mobilität in solchen Systemen erschweren dieses Vorhaben enorm. Moleküldynamik-Simulationen sind eine Möglichkeit, das Verhalten komplexer biologischer Moleküle in wässrigem Medium theoretisch zu untersuchen. Pionierarbeiten auf diesem Gebiet wurden 1979 von B. P. VAN EIJK und J. KROON mit der Simulation von Ribose und Desoxyribose und von P. J. ROSSKY und M. KARPLUS mit Simulation des ersten Dipeptids in Wasser geleistet.^[178,179] Es folgten 1988 und 1989 die Simulationen von Mannitol und Sorbitol, α -Cyclodextrin und Glukose in Wasser.^[180-182] Weitere Untersuchungen an Disacchariden, Glykoaminosäuren und Glykopeptiden konnten den Einfluss des Wassers auf die Struktur und die Funktion dieser Moleküle weiter untermauern.^[183-185]

8.2 Zielsetzung

Die aufgezählten Beispiele zeigen, dass Moleküldynamik-Simulationen (MD-Simulationen) zur Betrachtung und Analyse von solvatisierten Systemen genutzt werden können. Mit ihrer Hilfe können ungeklärte Aspekte, wie beispielsweise die Rolle der Strukturierung des Wassers in biologischen Prozessen auf molekularer Ebene untersucht werden.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte der Einfluss des Wassers auf zwei Glykopeptide untersucht werden, um erste Erfahrungen in der Durchführung und Analyse solcher Simulationen zu erhalten.

8.3 Durchgeführte Moleküldynamik-Simulationen

Alle Moleküldynamik-Simulationen wurden in fünf Teilschritten durchgeführt (Abb. 94). Zuerst erfolgte das Aufsetzen des Systems, wobei die Moleküle mittels des Xleap-Moduls erzeugt und solvatisiert wurden. Anschließend wurde eine Energieminimierung des gesamten Systems durchgeführt, das danach in den Äquilibrationen auf die gewünschte Simulationstemperatur aufgeheizt wurde. Im letzten Schritt der Simulation erfolgte dann der eigentliche Produktionslauf, dessen Daten anschließend analysiert wurden. Im Produktionslauf wird über einen bestimmten

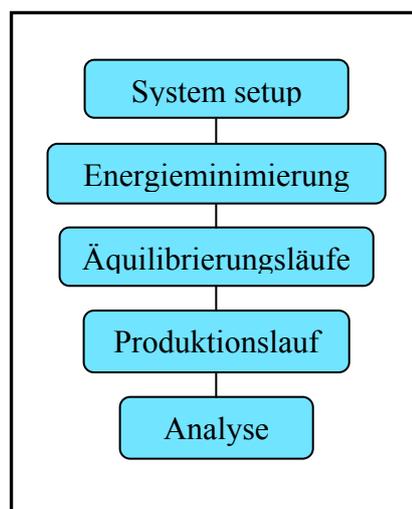


Abbildung 94: Die fünf Teilschritte der MD-Simulationen.

Zeitraum bei konstanter Temperatur und Druck die Bewegung der in der Simulation vorhandenen Moleküle im Raum aufgezeichnet. Für die MD-Simulation wurde auf zwei modifizierte Varianten der Glykopeptide **177** und **178** (vgl. Kapitel 7.2.2) zurückgegriffen. Hierbei wurde lediglich das C-terminale Ende des Peptidstrangs mit einer NHMe-Gruppe modifiziert, da eine freie Säurefunktion nicht im Softwarepaket enthalten war und die Implementierung einen unverhältnismäßigen Aufwand bedeutet hätte. Besonderes Interesse galt dabei den beiden glykosidischen Bindungsatomen, Sauerstoff und Schwefel. Untersuchungen von F. WENNMOHS et al. zeigten, dass Schwefel ein beinahe ebenso guter Wasserstoffbrückenakzeptor wie Sauerstoff ist.^[186]

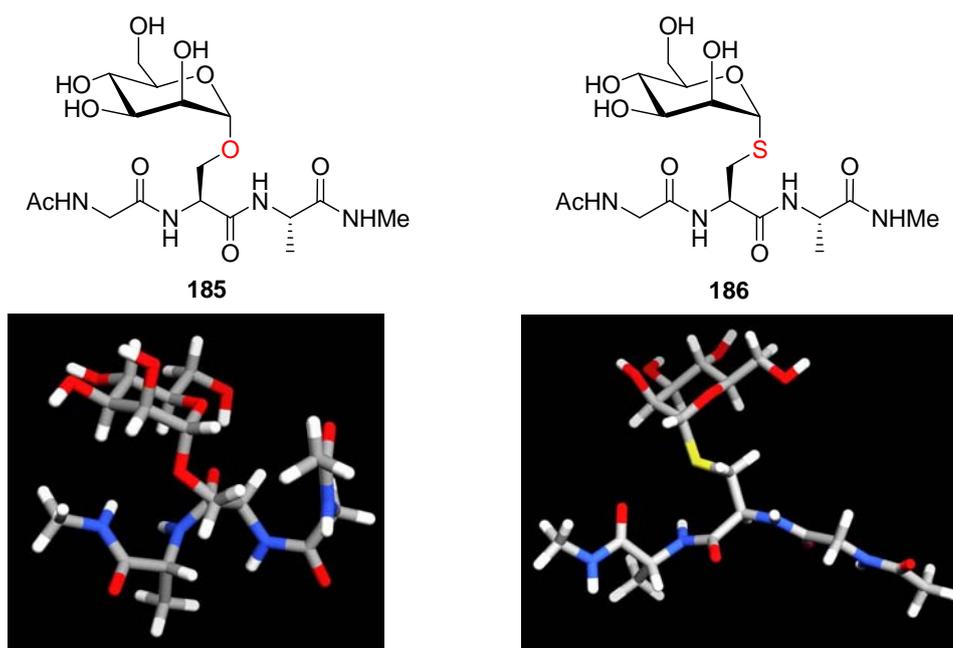


Abbildung 95: Darstellung der in den MD-Simulationen verwendeten Moleküle als Strukturzeichnung und in der Stick-Darstellung, **185** (links) und **186** (rechts).

Alle MD-Simulationen wurden mit der *AMBER*-Version 8.0 durchgeführt,^[187,188] welche speziell für Kohlenhydrate und kleine Glykopeptide entwickelt wurde. Innerhalb des *AMBER*-Paketes wurde eine Kombination aus den GLYCAM04-Kraftfeldparametern, dem Standard-Wassermodell TIP3P und dem *gaff*-Kraftfeld (general *AMBER* force field) verwendet.^[189,190]

Die Erzeugung des Serin-Derivats **185** konnte ohne weitere Probleme mit dem Xleap-Modul in *AMBER* erfolgen. Der Aufbau des Cystein-Derivats **186** war dagegen mit Hilfe von Xleap nicht zu bewerkstelligen. Daher wurde das Molekül mit Hilfe der *Sketch-Molecule*-Funktion und *Join-Molecule*-Funktion aus dem Softwarepaket Sybyl^[191] von Tripos Inc. in der Version 6.9 als mol2-Dateiformat erzeugt und anschließend mit Hilfe des *Antechamber*-Moduls in das passende pdb-Dateiformat für *AMBER* umgewandelt. Beide Strukturen wurden energieminiert und anschließend solvatisiert. Im Fall des Serin-Derivats **185** erfolgte dies mit 1153 TIP3P Wassermolekülen und das Cystein-Derivat **186** wurde mit 1092 Wassermolekülen umgeben. Im Folgenden wurden in beiden Systemen zunächst nur die Wassermoleküle minimiert, wobei die Glykopeptide fixiert wurden, danach erfolgte eine Minimierung des kompletten Systems.

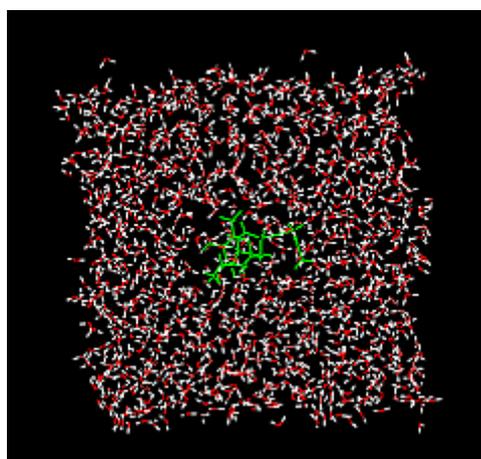


Abbildung 96: Molekül **185** (grün) in der Wasserbox aus 1153 Wassermolekülen mit einer Seitenlänge von 37.3 Å.

In den anschließenden sieben kurzen MD-Simulationen (10 ps, alle 1000 fs ein Snapshot) wurde das System schrittweise auf eine Temperatur von 340 K erwärmt. Die Simulationen fanden bei erhöhter Temperatur statt, um die im Verlauf der Simulationszeit auftretenden energetisch höheren konformativen Barrieren überwinden zu können. Um eine Äquilibration des Systems zu gewährleisten, erfolgte nun ein 5ns-Simulationslauf, der abschließend in einen 12 ns langen Produktlauf überging, in dem alle 1000 fs ein Snapshot gespeichert wurde.

8.3.1 Analyse der Simulationen

Vor der speziellen Analyse der Wasserumgebung, wie sie um die Glykopeptide herum existiert, wurden die Eigenschaften des Gesamtsystems untersucht. Hierbei wurden für die beiden Simulationsläufe die potentielle, die kinetische und die totale Energie, die Temperatur, der Druck, die Dichte und das Volumen des 5ns-Äquilibrationslaufs und des 12ns-Produktlauf analysiert. Diese Analyse gelang mit Hilfe des in Amber implementierten perl-Skripts und der, während der Simulationen entstandenen Output-files.

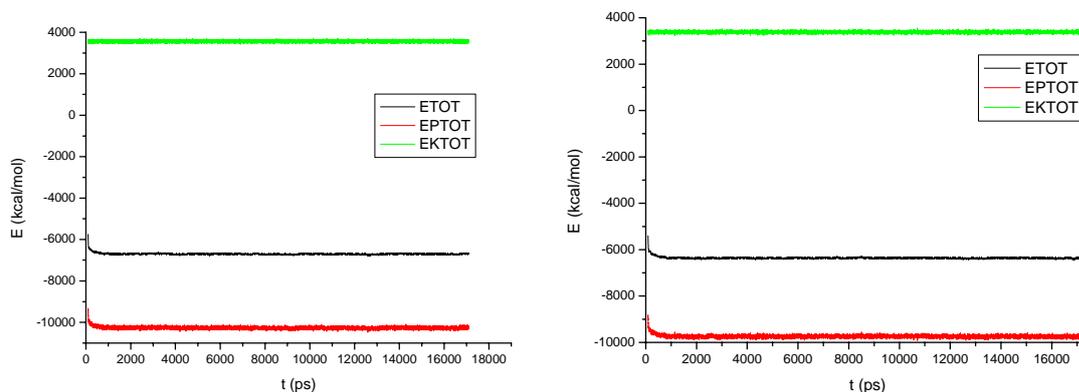


Abbildung 97: Links: Energie-Daten von **185**; Rechts: Energie-Daten von **186**. ETOT steht für die totale Energie, EPTOT für die potentielle Energie und EKTOT für die kinetische Energie des Systems.

Alle sechs Energiekurven erreichten innerhalb der ersten 1000 Pikosekunden einen nahezu konstanten Wert, der über die gesamte Simulation gehalten wurde. Hierbei zeigt der Verlauf des grünen Graphen der kinetischen Energie in Abbildung 97, dass das Temperaturthermostat für die Simulation korrekt funktionierte, da dieses mit der kinetischen Energie gekoppelt war. Der weitgehend konstante Graph der potentiellen Energie (rot) (**Abb. 97**) indiziert, dass die vorher durchgeführten Energieminimierungen des Systems erfolgreich waren und dass ein Gleichgewicht erreicht wurde. Die totale Energie (schwarz) (**Abb. 97**) ergibt sich aus der Addition der Energiewerte.

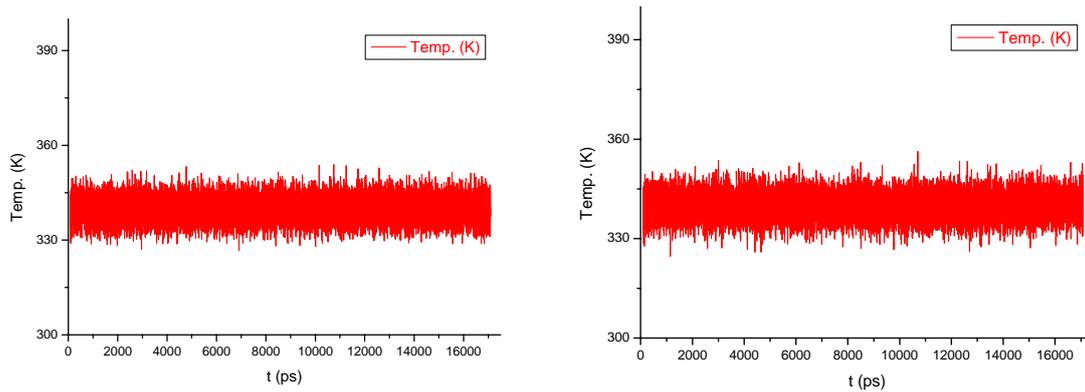


Abbildung 98: Temperaturverlauf der Simulationen von **185** (links) und **186** (rechts).

Der Temperaturverlauf beider Simulationen (**Abb. 98**) war von kleinen Schwankungen abgesehen konstant. Also konnte die angestrebte Temperatur von 340 K über den gesamten Simulations-Zeitraum weitgehend gehalten werden. Eine Veränderung der Temperatur während der Simulation würde eine Veränderung der Energie des Systems aufzeigen und damit einen Fehler im Simulationsverlauf bedeuten.

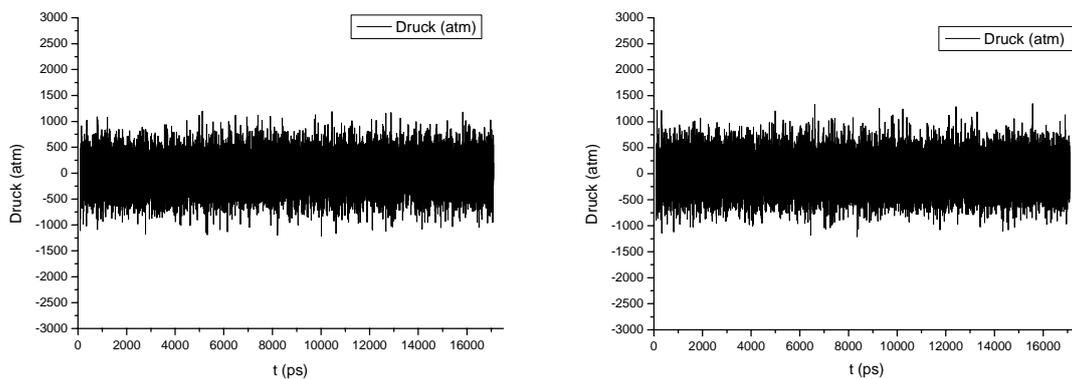


Abbildung 99: Druckverlauf beider Simulationen (links: **185**, rechts: **186**).

Der Druckverlauf beider Simulationen (**Abb. 99**) schwankte zwar deutlich innerhalb eines Druckbereichs zwischen -500 und 500 atm., kann aber dennoch als nahezu konstant bewertet werden. Die negativen Drücke korrespondieren dabei mit Kräften, die versuchen das Volumen der Box zu verkleinern, währenddessen die positiven Drücke zu Kräften gehören, die das Volumen der Box zu vergrößern versuchen. Wichtig ist hierbei, dass der Druck um 0 atm. pendelt, so dass in diesem Fall davon ausgegangen werden kann, dass während der Simulation ein Gleichgewicht des Druckes erreicht wurde.

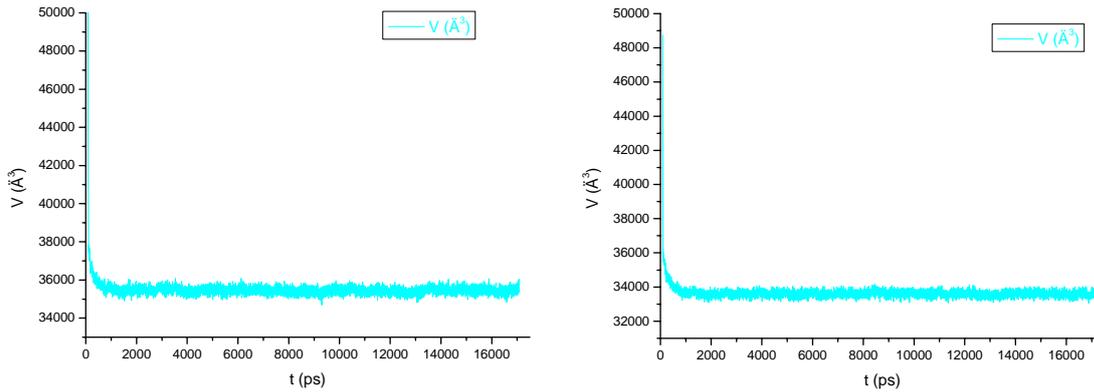


Abbildung 100: Volumenverlauf für die durchgeführten Simulationen (links:185, rechts: 186).

Das Volumen des Systems (**Abb. 100**) erreichte innerhalb der ersten Pikosekunden einen annähernd konstanten Wert, wodurch abermals auf ein erreichtes Gleichgewicht geschlossen werden kann. Abschließend erfolgte die Analyse der Dichte des Systems während der Simulationszeit von 17 ns.

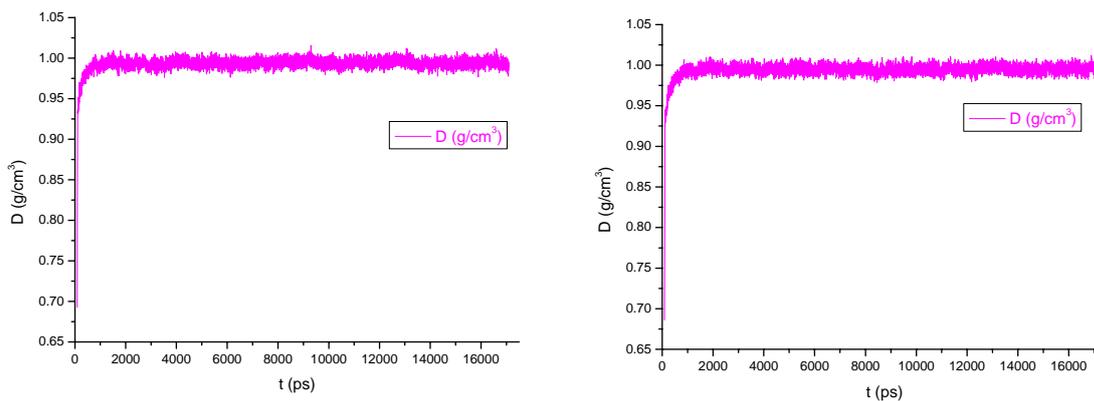


Abbildung 101: Dichteverlauf der durchgeführten Simulationen (links:185, rechts: 186)

Der Verlauf zeigt, es konnte für beide Simulationen ein nahezu konstanter Wert um eine Dichte von 1.0 g/cm^3 gehalten werden (**Abb. 101**), was dem realen Wert von reinem Wasser (ca. 1.0 g/cm^3) bei 300 K entspricht. Die Dichte steht im Einklang mit dem vorher analysierten Volumen. Würde sich das Volumen des System nicht relaxieren und einen konstanten Wert einnehmen, sondern im Verlauf der Simulation ständig anwachsen, käme es zum Abbruch der Simulation und die Wasserbox würde explodieren. Dadurch würde sich weiterhin die Dichte des Systems verringern. Die konstanten Werte von Dichte und Volumen deuten also auf einen ordnungsgemäßen Verlauf der Simulationen hin.

Nach der Analyse der wichtigsten Systemeigenschaften kann davon ausgegangen werden, dass beide Systeme während der Simulationszeit ein Gleichgewicht erreicht haben. Im Weiteren wurde das Verhalten der Glykopeptidstrukturen während der 17ns-Simulationszeit betrachtet. Dies kann durch Auftragung der Standardabweichung (*root mean square deviation*, RMSD) von der Startstruktur gegen die Zeit erfolgen. Die RMSD ist ein Maß für die Abstände zwischen analogen Atomen in zwei Molekülen im Raum. Wird in der Simulation jedoch nur ein Molekül betrachtet, bezeichnet die RMSD den Abstand der Koordinaten der Atome, wenn die Strukturen zum Zeitpunkt t_1 und t_2 übereinander gelegt werden. Ausgeführt wurde dieser Schritt mit Hilfe des *ptraj*-Programms in *AMBER*.

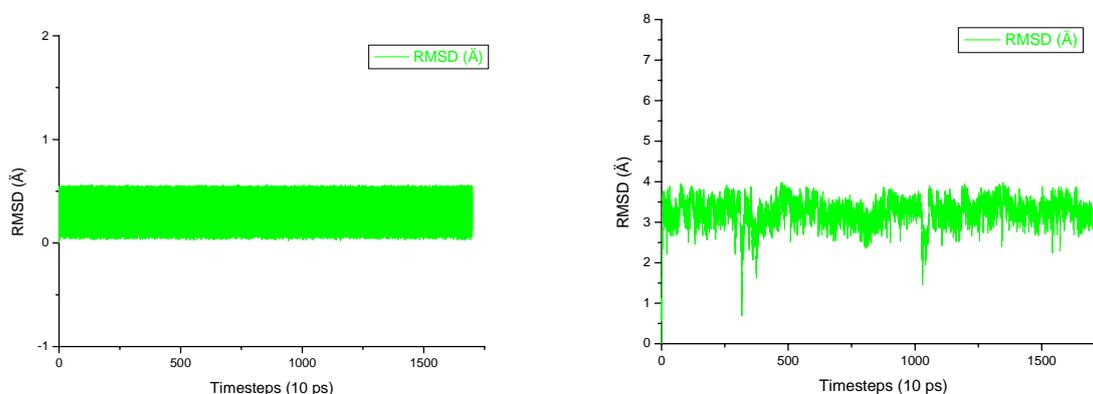


Abbildung 102: RMSD-Berechnungen der beiden Glykopeptidstrukturen (links: **185**, rechts: **186**).

Im Gegensatz zum Cystein-Derivat **186** besitzt das Serin-Derivat **185** eine vollkommen gleichmäßige RMSD ohne wesentliche Schwankungen (**Abb. 102**). Im Fall des Cystein-Glykopeptids **186** sind zwar deutliche Schwankungen zu erkennen, doch sind diese Schwankungen noch im Toleranzbereich.

8.3.2 Betrachtung der Glykopeptid-Wasser-Struktur

Nachdem die Überprüfung der Systemeigenschaften der beiden Simulationen von **185** und **186** keine Abnormalitäten ergab, wurde im Folgenden die Glykopeptid-Wasser-Struktur genauer analysiert. Da eine visuelle Betrachtung und Analyse eines Systems von mehr als 1100 Molekülen und die Beurteilung von 12000 Snapshots nicht möglich ist, wurde auf literaturbekannte Verfahren zur Analyse von Wasser-Wasser- und Wasser-Substrat-Interaktionen zurückgegriffen. Hierfür wurden mit Hilfe mehrere Fortran-Programme von S. B. ENGELSEN^[192] die 1D und 2D *Radial-pair-distributions* (RPD; engl. radiale-Paar-

Verteilungen) und die *Residence-time* (engl. Verweildauer) der Heteroatome der beiden Glykopeptide berechnet.

8.3.2.1 Eindimensionale *Radial pair distributions*

Um eine Vorstellung von Art und Struktur der Solvens-Umgebung um die Glykopeptide zu erhalten, wurden *Radial-pair-distribution-functions* (RDF, $g(r)$) zwischen den Heteroatomen der Glykopeptide und den Wassermolekülen berechnet. Hierbei beschreibt $g(r)$ die Wahrscheinlichkeit des Auffindens von zwei Atomen im Abstand r im Verhältnis zu einer zufälligen Normalverteilung.

RDF wurden ursprünglich für Modellierungen in der Gasphase benutzt und beschreiben dort die Anordnung der Gasteilchen um ein Molekül im Vergleich zur idealen Gasverteilung. Übertragen auf Molekülsimulationen in H_2O beschreibt die RDF die Verteilung der Wassermoleküle um ein Molekül oder Heteroatom im Vergleich zum unbeeinflussten Wasser, dem sogenannten „*bulk-Wasser*“. Ein RPD-Wert von < 1 bei einem Abstand r bedeutet also, dass die Wahrscheinlichkeit, ein Wassermolekül im Abstand r zum betrachteten Heteroatom zu finden, kleiner ist als im „*bulk-Wasser*“. In anderen Worten ist bei $RPD < 1$ die Wasserdichte im Abstand r um das betrachtete Heteroatom herum kleiner als bei einer Normalverteilung des Wassers.

Erwartet wurde also eine konstante Dichte im Bereich des „*bulk-Wassers*“, die sich der Normalverteilung im großen Abstand von den Glykopeptiden annähert und bedingt durch die Glykopeptid-Wasser-Interaktionen variierende Dichten in der Nähe der Glykopeptide aufweist. Hydrophobe Regionen in den Glykopeptiden bewirken dabei eine Reduktion der relativen Dichte des Solvens-Wassers und hydrophile Regionen eine Erhöhung der Wasserdichte um die untersuchten Zuckermoleküle.

RPD basieren auf einem experimentellen Hintergrund. In reinen Wassersystemen kann die radiale Sauerstoff-Sauerstoff-Verteilungsfunktion durch Röntgenstreuungsexperimente gemessen werden.^[193] RDF wurden bereits in Literaturbeispielen verwendet, um die Unterschiede zwischen der ersten und zweiten Hydratschicht um unterschiedliche Atomen deutlich zu machen und zu analysieren.^[182,194]

In unserem Fall wurden die RDF für beide Glykopeptidstrukturen (**185** und **186**) berechnet und graphisch visualisiert. Der Übersichtlichkeit halber wurden hierbei die Peptidatome des jeweiligen Glykopeptids in einem Graphen (**Abb. 104**) und die Kohlenhydratatom in einer zweiten Graphik (**Abb. 105**) zusammengefasst dargestellt. Zur verständlicheren

Gestaltung der Auswertung wurden die untersuchten Atome der Glykopeptide wie folgt durchnummeriert (**Abb. 103**):

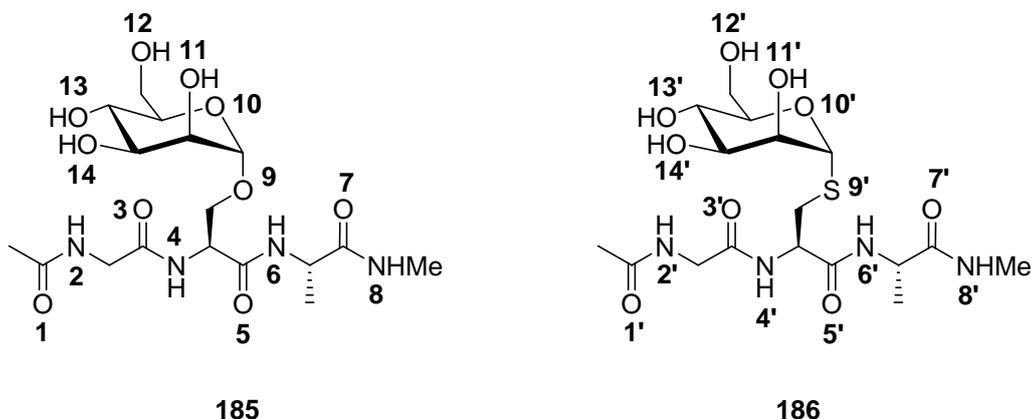


Abbildung 103: Nummerierung der untersuchten Atome in den Glykopeptiden **185** und **186**.

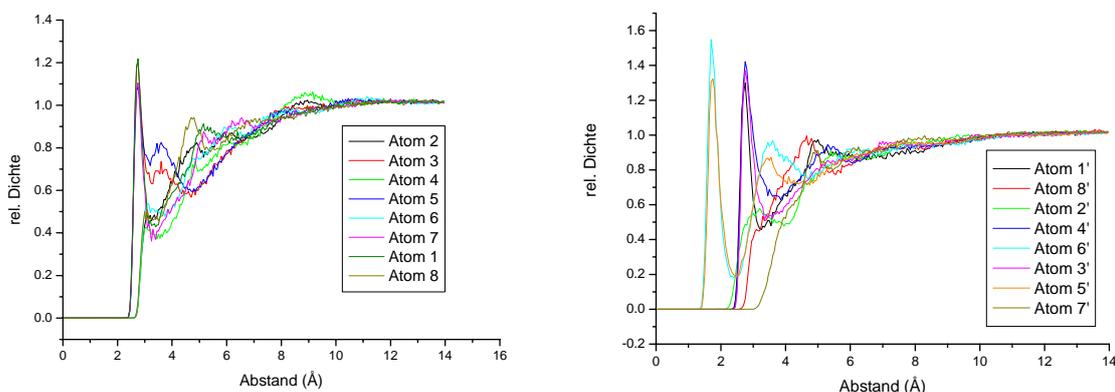


Abbildung 104: RDF der Peptidatome **1-8** und **1'-8'**, links: **185** und rechts: **186**

Abbildung 104 zeigt die berechneten RDF der untersuchten Heteroatome. Die relative Dichte um jedes Heteroatom wird hierbei gegen den jeweils untersuchten Abstand aufgetragen. Die relative Dichte schwankt im Bereich kleinerer Abstände, nähert sich mit zunehmendem Abstand der Normdichteverteilung des „bulk-Wassers“ von 1.0 an.

Auffällig ist, dass alle Amidatome (**2, 4, 6** und **8**) (**Abb. 104**, links) nur eine schwach ausgebildete erste Hydratschicht, aber eine teilweise deutlich ausgeprägte zweite Schicht besitzen. Anders verhält es sich mit den Sauerstoffatomen der Carbonylfunktionen (**1, 3, 5** und **7**) (**Abb. 104**, links), hier kann eine deutliche erste und auch eine zweite Hydratschicht identifiziert werden. So wird die erste Hydratschicht durch ein scharfes Signal bei 2.8 Å deutlich und indiziert eine starke Lokalisierung von Wassermolekülen, die durch Wasserstoffbrückenbindungen fixiert werden. Das Maximum der ersten Hydratschicht besitzt eine relative Dichte von 1.1-1.2 im Verhältnis zur Normdichteverteilung von 1.0.

Das erste Minimum bei 3.0-3.7 Å mit einer relativen Dichte von 0.4-0.5 weist auf die äußere Grenze der ersten Hydratschicht hin. Dies deutet auf eine starke Wasserstrukturierung um die Carbonylsauerstoffe und auf einen stark ausgeprägten Abschirmungseffekt zwischen der ersten Hydrathülle und dem umgebenden Raumwasser hin.

Ein völlig anderes und unerwartetes Ergebnis ergeben die RDF des Glykopeptids **186** (Abb. 104, rechts). Hier ist kein allgemeiner Trend zwischen Amidstickstoffatomen und Carbonylsauerstoffatomen zu erkennen. Erstaunlicherweise bilden die Atome **5'** und **6'** eine erste Hydratschicht bei ca. 1.8 Å und eine zweite bei ca. 3.5 Å aus. Die Ausbildung der ersten Hydrathülle bei einem Abstand von 1.8 Å kann nur durch einen Fehler in der Simulation oder der Analyse erklärt werden, da dieser Abstand deutlich zu gering ist. Zwar kann der Abstand von Donorsauerstoffatom und Akzeptorsauerstoffatom mit ca. 2.6 Å – 3.2 Å kleiner als die Summe der van der Waals-Radien der beiden Atome sein, doch ist eine Annäherung bis auf 1.8 Å keinesfalls möglich.

Das deutliche Signal bei 2.8 Å entspricht den Ergebnissen des Serin-Derivats **185**, jedoch wird die maximale relative Dichte um das Amidatom **4'** gemessen. Das Amidatom **4** des Serin-Derivats **185** besitzt dagegen nur eine schwach ausgebildete erste Hydratschicht. Außerdem besitzt das Sauerstoffatom **7'** von **186** nur eine angedeutete Solvenschicht bei 5.2 Å. Beim Serin-Derivat **185** zeigten alle Carbonylsauerstoffatome deutliche erste und zweite Hydratschichten. Insgesamt müssen diese ermittelten Ergebnisse für **186** und auch die Aussagekraft der Simulation von **186** in Frage gestellt werden. Um ein abschließendes Urteil fällen zu können, sollten weitere Untersuchungen abgewartet werden.

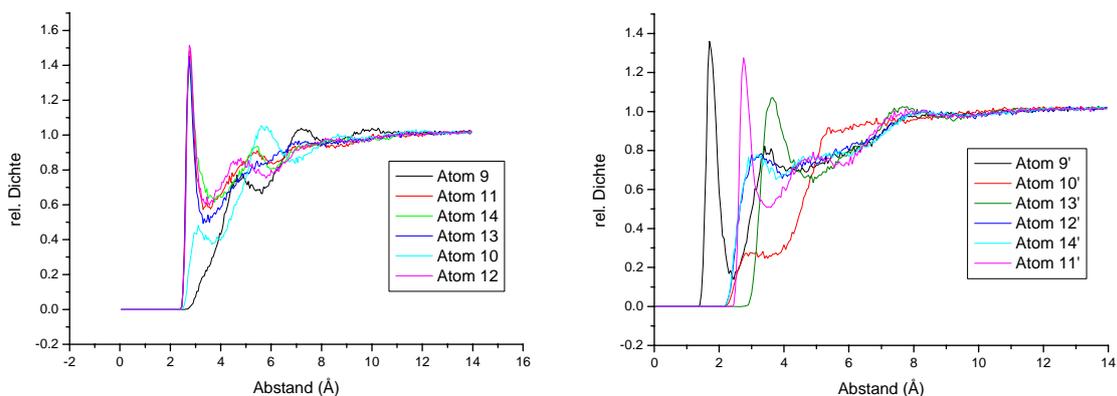


Abbildung 105: RDF der Kohlenhydratatom 9-14 und 9'-14', links: **185** und rechts: **186**.

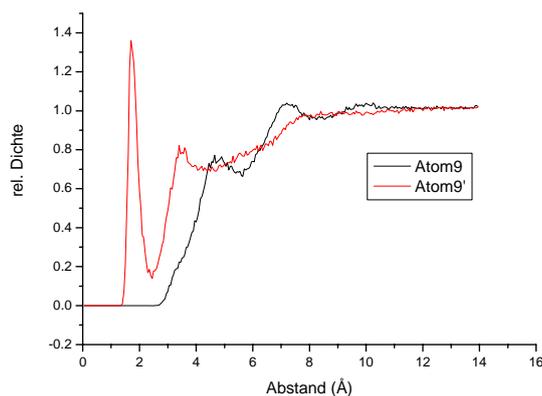


Abbildung 106: Vergleich der RDF der anomeren Zentren **9** und **9'**.

Die RDF der Hydroxylsauerstoffatome **11**, **12**, **13** und **14** (**Abb. 105**, links) zeigen ein typisches hydrophiles Wasserstoffbrückenbindungsverhalten.^[182,195] Das erste Hydrathüllen-Maximum um diese Atome liegt bei ca. 2.9 Å und besitzt eine relative Dichte von 1.4-1.5. Die äußere Grenze dieser ersten Hydratschicht wird durch ein Minimum bei ca. 3.5 Å gebildet. Alle Hydroxylsauerstoffatome besitzen eine zweite Wasserschicht zwischen 4-6 Å, wie durch den Verlauf der Graphen deutlich wird (**Abb. 105**, links). Die gefundenen Daten deuten wie im Fall der Carbonylatomen von **185** auf eine starke Wasserstrukturierung und einen gut ausgeprägten Abschirmungseffekt hin. Die RDF des Ringsauerstoffatoms **10** und des anomeren Zentrums **9** zeigen allerdings ein völlig anderes Verhalten als die Atome **11-14** (**Abb. 105**, links). Beim Atom **10** ist die erste Hydratschicht zwar erkennbar, weicht jedoch mit einer relativen Dichte von 0.4 deutlich von der Normalverteilung ab. Ein gut erkennbares Maximum mit einer relativen Dichte von ca. 1.1 wird allerdings in einer Entfernung von ca. 6 Å erreicht. Der Unterschied lässt sich durch die weniger exponierte Lage des Ringsauerstoffatoms im Vergleich zu den Hydroxylsauerstoffatomen und durch die benachbarten Gruppen erklären. Das glykosidische Sauerstoffatom **9** besitzt eine erste schwache Hydratschicht im Bereich von 4.8 Å. Das Fehlen einer ersten Hülle im Bereich von ca. 3 Å erfolgt auf Grund der starken Abschirmung durch die benachbarten Atomgruppen um die glykosidische Bindung; der Zugang für Wassermoleküle ist hier stark behindert.

Die Situation beim Cystein-Derivat **186** gestaltet sich im Vergleich zum Serin-Derivats **185** erneut völlig anders (**Abb. 105**, rechts). Die Hydroxylsauerstoffatome zeigen kein einheitliches Verhalten, nur Atom **11'** weist ähnliche Werte wie Atom **11** auf. Alle anderen Hydroxylsauerstoffatome besitzen im Vergleich zum Serin-Derivat **185** entweder Hydrathüllen mit deutlich geringeren relativen Dichten (ca. 0.7) oder das Maximum ist weiter entfernt (Atom **13'**). Die Ausbildung einer zweiten Hydratschicht konnte in keinem

Fall beobachtet werden. Ebenso ist das Schwefelatom **9'** nicht mit seinem Sauerstoffanalogon **9** zu vergleichen (**Abb. 106**). Hier tritt eine deutlich ausgeprägte erste Hülle bei 1.8 Å und eine zweite bei 3.5 Å auf, was wiederum auf Fehler in der Simulation oder der Analyse hindeutet. Dies würde bedeuten, dass im Fall des Schwefelatoms keine sterische Abschirmung vorhanden wäre und es damit für die Wassermoleküle frei zugänglich wäre. Das einzige Atom, das in der Analyse dieses Moleküls ähnliche Werte wie das Serin-Analogon aufweist, ist das Ringsauerstoffatom (**10'**). Wie schon bei der Diskussion über den Peptidteil von **186** vermutet, entsprechen auch die Ergebnisse für den Kohlenhydratteil von **186** nicht den Erwartungen und müssen genau wie die Simulation von **186** hinterfragt werden.

8.3.2.2 Zweidimensionale *Radial-pair-distributions*

Eindimensionale RPD stellen zwar die Hydratschichten der solvatisierten Moleküle dar, doch sind weitere Informationen aus diesen Berechnungen nur schwer zu erhalten. Ideal wäre daher eine Berechnung und Darstellung in mehreren Dimensionen. Eine dreidimensionale Darstellung der relativen Dichte ist sehr schwer zu visualisieren, dagegen ist eine Illustration von zweidimensionalen RPD gut möglich. Die Berechnungen der 2D-RDF erfolgten analog zu den 1D-Berechnungen, abgesehen davon, dass die erhaltenen Histogramme nun zweidimensional abgebildet werden, da zwei Atome analysiert wurden. Die 2D-RDF beschreibt dabei die Wahrscheinlichkeit, ein Wassermolekül im Abstand r_1 und r_2 zu zwei Bezugsatomen zu finden. Hierdurch kann die etwaige Verbrückung zweier Atome durch ein Wassermolekül identifiziert werden. Die graphische Darstellung erfolgt in Form von Reliefkarten, in denen die relative Dichte der RDF das Höhenprofil bildet. Die erhaltenen Ergebnisse bei dem jeweiligen untersuchten Abstand r_1 und r_2 um das jeweilig analysierte Atompaar wurden für das erste Atom entlang der x-, für das zweite Atom entlang der y-Achse aufgetragen. Kann nun ein Wassermolekül an beiden Atomen detektiert werden, so wird dies durch einen hohen relativen Dichtewert im Vergleich zur Normalverteilung der Dichte (1.0) angezeigt. Dies wird laut der Stufenskala im Höhenrelief der Karten durch eine dunklere Färbung verdeutlicht. Dabei kann der jeweilige Abstand des Wassers zu den untersuchten Atomen am Graphen abgelesen werden. Zur Analyse der beiden Simulationen wurden nun alle vorstellbaren Heteroatompaare der Glykopeptide in 2D-RDF berechnet. Die erhaltenen Daten wurden anschließend in Höhenprofile umgewandelt und in den Konturabstufungen angepasst. Für das Serin-

Derivat **185** sind in den Karten **A**, **B** und **C** drei analysierte Atompaare exemplarisch dargestellt (**Abb. 107**).

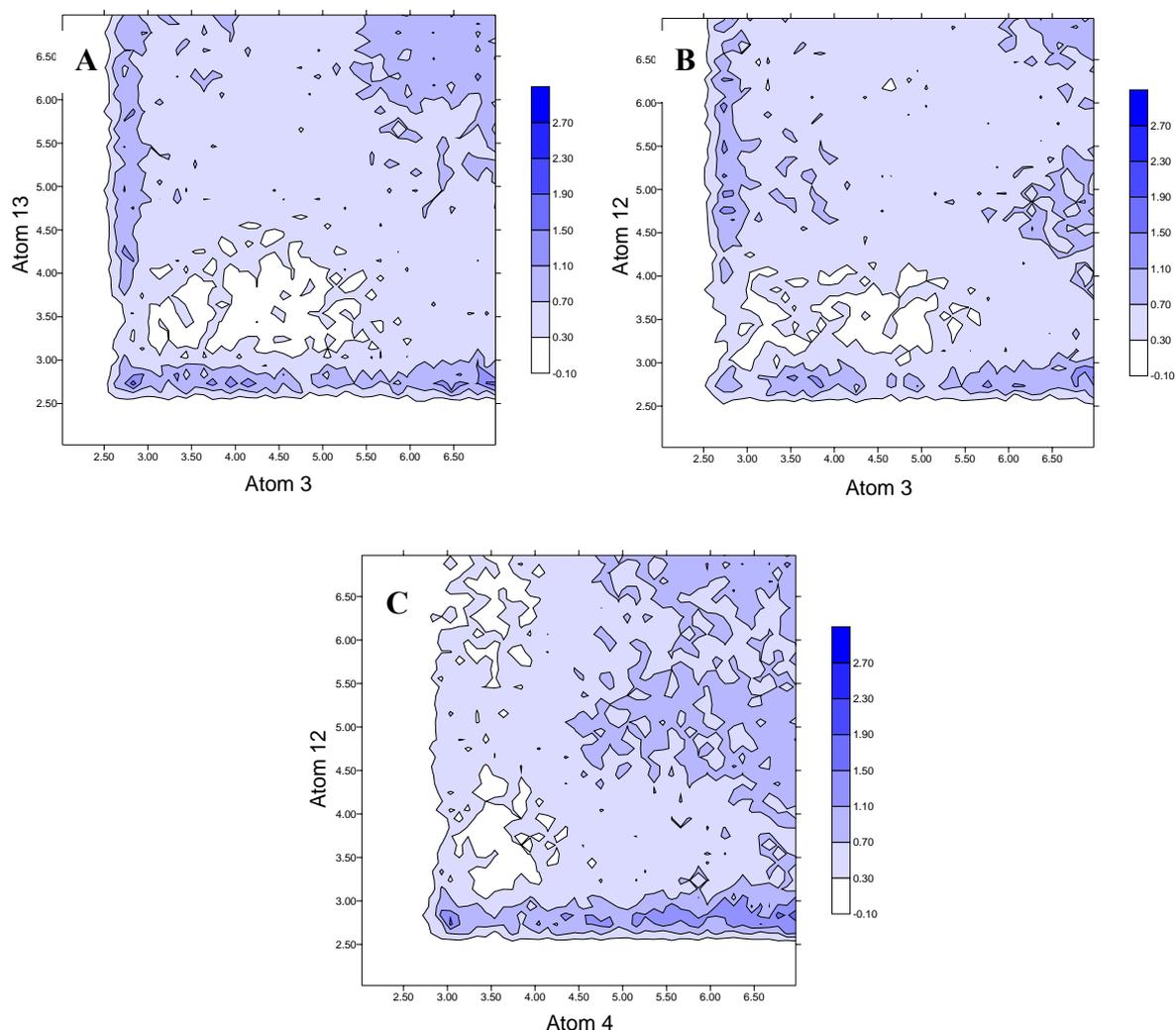


Abbildung 107: 2D-RDF-Werte bezogen auf die untersuchten Heteroatome von **185** in Reliefkartenform. Jeweils rechts ist die Stufenskala der relativen Dichte abgebildet.

In Karte **A** findet sich eine Darstellung der RDF des Wassers im Bezug auf die Atome **3** und **13**. Die maximale relative Dichte von 1.5-1.9 im Verhältnis zur Normalverteilung (1.0) lässt sich zwischen den beiden Atomen in der unteren linken Ecke (2.8 Å, 2.8 Å) detektieren. Diese geringe Erhöhung bedeutet allerdings wahrscheinlich keine Verbrückung zwischen den beiden Atomen (dafür müsste die Intensität deutlicher ansteigen), sondern weist auf einen Übergang des Wassermoleküls von einem Heteroatom zum nächsten hin ($O1...O_{H_2O} \rightarrow O1...O_{H_2O}...O2 \rightarrow O1...O_{H_2O}...O2 \rightarrow O_{H_2O}...O2$). Dasselbe Phänomen zeigt sich in Karte **B**. Hier ist der Unterschied zur Normalverteilung noch geringer. Genau wie in den vorangegangenen Karten findet sich auch in Karte **C** in der unteren linken Ecke (3.0 Å, 2.8 Å) ein Maximum. Die relative Dichte liegt hierbei

zwischen 1.9-2.3 und ist damit ein wenig höher als bei den ersten beiden Karten; ob eine Verbrückung durch ein Wassermolekül vorliegt, ist dennoch fraglich. Insgesamt konnten keine eindeutigen Verbrückungen zwischen den untersuchten Atomen gefunden werden. Dagegen konnte sichtbar gemacht werden, wo Übergänge von Wassermolekülen zwischen zwei Atomen zu vermuten sind.

Im Weiteren sind die vier Karten **A**, **B**, **C** und **D** für Atompaare des Cystein-Derivats **186** exemplarisch abgebildet (**Abb. 108**). In Karte **A** findet sich ein Maximum in der unteren linken Ecke (2.8 Å, 2.8 Å) mit einem Wert von 2.6-3.0. Die Höhe des Werts deutet auf eine Verbrückung hin, die erstaunlicherweise zwischen zwei Atomen des Peptidrückgrats stattfindet und nicht wie zu vermuten wäre, zwischen dem Rückgrat und dem darüber platzierten Kohlenhydrat. Deutlich erkennbar sind auch die ersten Hydrathüllen beider Atome, die durch die dunkel gefärbten Regionen jeweils im Abstand von 2.8 Å zu erkennen sind.

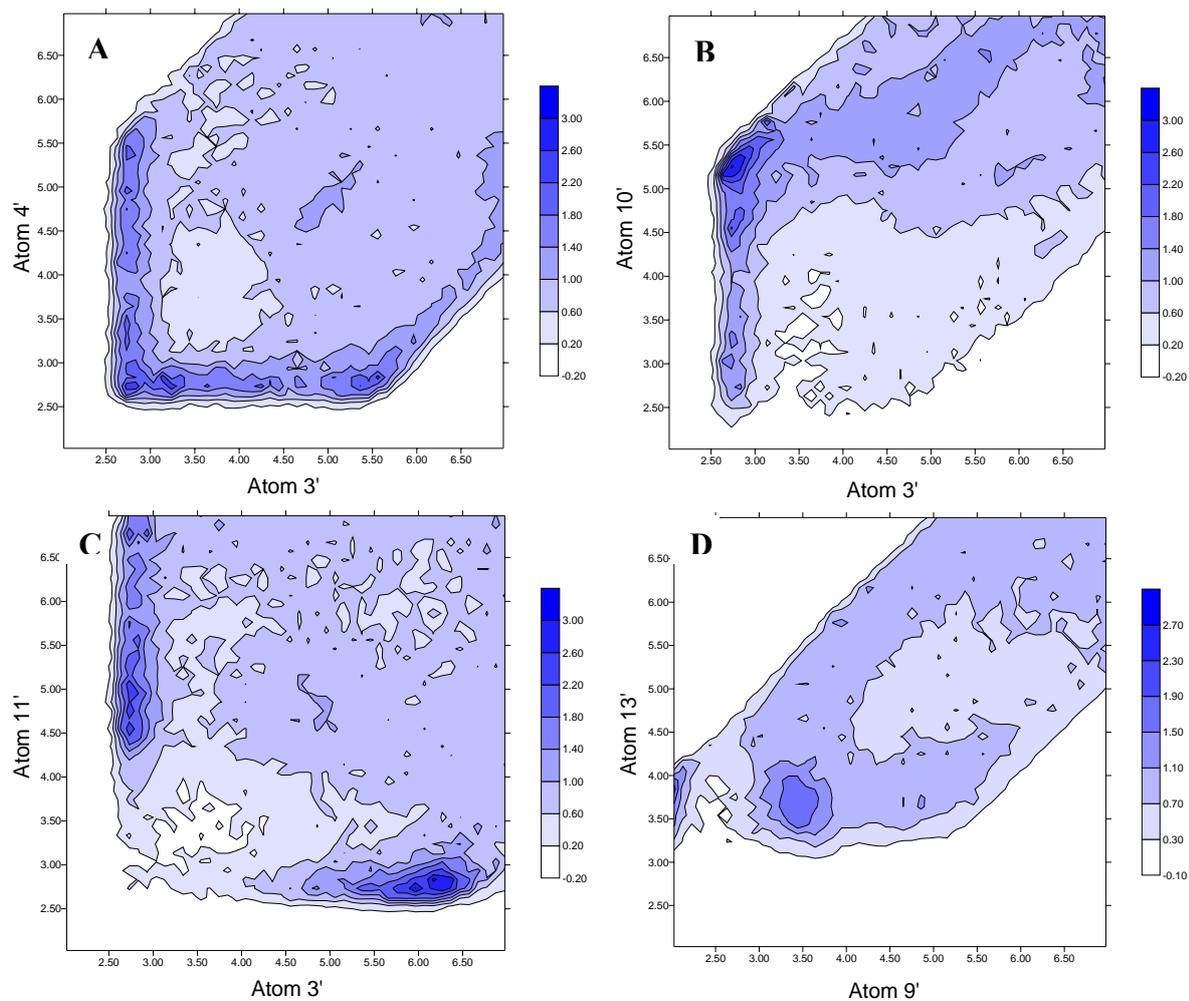


Abbildung 108: 2D-RDF-Werte bezogen auf die untersuchten Heteroatome von **186** in Reliefkartenform. Jeweils rechts ist die Stufenskala der relativen Dichte abgebildet.

In Karte **B** befindet sich das relative Maximum in der oberen linken Ecke (2.5 Å, 5.25 Å) mit einer Intensität von 3.0. Das Auffinden des Maximums von Atom **10'** bei einem Abstand von 5.25 Å entspricht der Beobachtung der 1D-RDF, bei der Atom **10'** nur eine schwache erste Hydrathülle besaß und erst im Bereich der zweiten Hydrathülle ein deutlicher Anstieg der RDF sichtbar war. Zwar kann, mit Blick auf die Abstände, nicht mehr von einer Verbrückung ausgegangen werden, ein gewisser Einfluss der Atome aufeinander ist aber kaum abzustreiten. Karte **C** ist ein gutes Beispiel für eine RDF in der keine Interaktion zwischen den Atomen im Bereich bis 4-5 Å vorhanden ist. Vom jeweiligen Atom gesehen, entstehen im Bereich der ersten Hydrathülle erst im weiten Abstand (4-6 Å) starke Intensitätszunahmen im Vergleich zur Normalverteilung. In der Karte **D** ist das Maximum bei beiden Atomen im Bereich von 3.5 Å mit einer Intensität von 1.9-2.3 erkennbar. Auch dieses Ergebnis lässt sich durch die 1D-RDF-Werte bestätigen, in denen im Fall von **13'** eine erste Hydrathülle in diesem Bereich detektiert werden konnte und für Atom **9'** dort ein zweites Maximum nachgewiesen werden konnte. Zwar ist die Intensität nicht besonders ausgeprägt, doch lässt die geringe Diffusität um das Maximum vermuten, dass es sich um ein recht starres Strukturmotiv handelt. Bei der Analyse von **186** wurden keine eindeutigen Verbrückungen gefunden, dafür konnten die Ergebnisse der 1D-RDF bestätigt werden.

8.3.2.3 Verweildauer um die Heteroatome

Die Verweildauer eines Wassermoleküls innerhalb der ersten Hydratschicht um ein Heteroatom steht in einem Zusammenhang zur sterischen Hinderung und der Polarität der Moleküloberfläche. Es wird angenommen, dass die Verweildauer umso länger ist, je stärker die Solvat-Molekül-Interaktion ist. Um diesen statischen Aspekt der Hydrathülle zu untersuchen, wurden die maximale und die durchschnittliche Verweildauer der Wassermoleküle an jedem Heteroatom berechnet. In der Berechnung wurden nur Wassermoleküle bis zu einem Abstand von 3.5 Å zum Heteroatom berücksichtigt. Des Weiteren wurde die Berechnung für jedes Heteroatom zweimal ausgeführt. Die erste Berechnung erfolgte ohne ein Winkelkriterium, während in der zweiten Berechnung ein Winkelkriterium von $\cos \theta < -0.8$ für den Winkel zwischen dem Donorzentrum (rot) und dem Akzeptorzentrum (blau) gewählt wurde (**Abb. 109**).

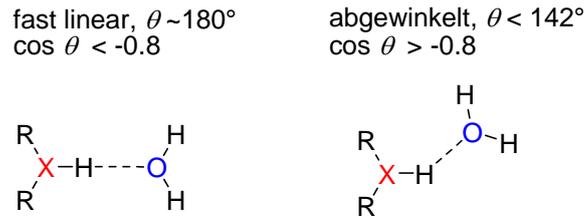


Abbildung 109: Darstellung des Winkelkriteriums für die Berechnung der Verweildauer.

Eine perfekte Wasserstoffbrückenbindung sollte einen Bindungswinkel von $\theta = 180^\circ$ besitzen. Untersuchungen an Kristallstrukturen ergaben typische Winkel von $\theta = 167^\circ \pm 20^\circ$ für O-H \cdots O- und $\theta = 161^\circ \pm 20^\circ$ für O-H \cdots N-Wasserstoffbrücken. Durch das Winkelkriterium sollten also zufällig vorhandene Wassermoleküle im Bereich bis 3.5 Å um das Heteroatom von tatsächlich interagierenden Wassermolekülen unterscheidbar sein. Die Ergebnisse der Analyse sind in den Tabellen 14 und 15 für das Serin-Derivat und in Tabelle 16 und 17 für das Cystein-Derivat zusammengefasst. Die angegebene Signifikanz gibt die Wahrscheinlichkeit wieder, dass mindestens ein Wassermolekül im Umkreis von 3.5 Å und bei eingeschaltetem Winkelkriterium im Bereich von $\cos \theta < -0.8$ zu finden ist. Die mit „+“ betitelten Tabellenspalten geben die Ergebnisse der Analyse mit eingeschaltetem Winkelkriterium wieder, die mit „-“ gekennzeichneten Tabellenspalten die Ergebnisse ohne Winkelkriterium.

Tabelle 14: Verweildauerzeiten für die Heteroatome 1-8 des Peptidrückgrats von **185**.

Atom	T_{Max} [ps]		T_{Av} [ps]		Signifikanz [%]	
	-	+	-	+	-	+
1	3.5	2.4	0.33	0.25	97	91
2	1.5	0.5	0.17	0.10	83	3
3	4.4	2.1	0.35	0.25	99	94
4	2.2	0.5	0.20	0.10	79	3
5	2.2	1.8	0.32	0.23	99	93
6	1.7	0.3	0.19	0.10	89	2
7	3.2	3.2	0.38	0.29	99	95
8	1.3	0.3	0.20	0.10	87	3

Tabelle 15: Verweildauerzeiten für die Heteroatome **9-14** des Kohlenhydrateils von **185**.

Atom	T _{Max} [ps]		T _{Av} [ps]		Signifikanz [%]	
	-	+	-	+	-	+
9	0.8	0.3	0.13	0.10	34	2
10	1.8	1.0	0.22	0.14	86	34
11	3.1	1.8	0.38	0.23	99	87
12	3.4	1.8	0.32	0.23	99	92
13	5.3	2.0	0.39	0.26	99	85
14	2.2	1.8	0.33	0.21	99	83

In allen Analysen ergeben die Kalkulationen mit Winkelkriterium für die durchschnittliche und maximale Verweildauer und für die gemessene Signifikanz erwartungsgemäß immer kleinere Werte, als bei den Berechnungen ohne diese Einschränkung. Eine Ausnahme bildet dabei Atom **7**, das in beiden Berechnungen dieselbe maximale Verweildauer für ein Wassermolekül aufweist. Deutlich erkennbar ist, dass Atom **3** und Atom **13** die längste maximale H₂O-Verweildauer besitzen. Dies kann durch eine Verbrückung bzw. einen Übergangszustand, wie in den 2D-RDF beobachtet, erklärt werden (s. **Abb. 107**), denn je mehr Interaktionen ein Lösungsmittelmolekül gleichzeitig mit mehreren Heteroatomen erfährt, desto länger kann seine maximale Verweildauer angenommen werden. Sehr offensichtlich sind auch die starken Veränderungen in der Signifikanz bei allen Amidatomen (**2**, **4**, **6** und **8**) durch das Winkelkriterium. Die sehr geringen T_{Max}- und T_{Av}-Zeiten und Signifikanzen des anomeren Sauerstoffatoms **9** stehen im Einklang mit den berechneten 1D-RDF, bei denen keine erste Hydrathülle festgestellt werden konnte. Alle Hydroxylsauerstoffatome des Kohlenhydrateils von **185** besitzen mit 99% bzw. 83-92% den höchsten Hydratisierungsgrad. Der Ringsauerstoff **10** weist im Vergleich zu diesen Atomen in allen Messungen geringere Werte auf.

Tabelle 16: Verweildauerzeiten für die Heteroatome 1'-8' des Peptidrückgrats von **186**.

Atom	T _{Max} [ps]		T _{Av} [ps]		Signifikanz [%]	
	-	+	-	+	-	+
1'	2.6	2.1	0.35	0.27	99	95
2'	2.2	0.40	0.22	0.10	93	16
3'	3.1	1.8	0.35	0.22	99	83
4'	3.7	1.1	0.37	0.18	99	77
5'	3.4	0.80	0.40	0.14	99	62
6'	3.5	0.8	0.45	0.12	99	57
7'	0.70	0.20	0.11	0.10	16	2
8'	2.2	0.40	0.18	0.11	78	7

Tabelle 17: Verweildauerzeiten für die Heteroatome 9'-14' des Kohlenhydratteils von **186**.

Atom	T _{Max} [ps]		T _{Av} [ps]		Signifikanz [%]	
	-	+	-	+	-	+
9'	7.1	0.90	0.43	0.13	99	52
10'	2.1	0.40	0.21	0.11	63	6
11'	4.8	2.2	0.38	0.21	99	68
12'	1.8	0.3	0.19	0.11	96	20
13'	1.5	0.50	0.13	0.11	78	20
14'	2.0	0.40	0.21	0.11	97	20

Wie beim Serin-Derivat **185** ergeben auch beim Cystein-Derivat **186** alle Analysen mit Winkelkriterium deutlich geringere Werte für die durchschnittliche und maximale Verweildauer und für die gemessene Signifikanz, im Vergleich zu den uneingeschränkten Berechnungen. Des Weiteren zeigen auch hier die Atome, bei denen Verbrückungen bzw. starke Interaktionen über ein Solvensmolekül vermutet werden können, längere T_{Max}-Zeiten. Die deutlichen Abnahmen in der Signifikanz im Fall der Amidatome (**2'**, **4'**, **6'** und **8'**) zeigen sich hier jedoch nicht. Erstaunlicherweise besitzen dagegen die Hydroxylsauerstoffatome des Kohlenhydratsteils sehr niedrige Signifikanzen. Das Schwefelatom **9'** besitzt die mit Abstand längste maximale Verweildauer dieser Analyse und einen deutlich höheren Hydratisierungsgrad als sein Sauerstoffanalogon **9**. Dies kann

zum einen durch die stark ausgeprägte erste Solvenshülle, zum anderen durch mögliche Verbrückungen über Wassermoleküle verursacht worden sein.

Abgesehen von den Atomen **9 (185)** und **9' (186)** konnten im Vergleich beider Moleküle keine starken Unterschiede ermittelt werden. Dafür konnten die Beobachtungen aus den RPD-Berechnungen in den Verweildauer-Untersuchungen zumindest teilweise bestätigt werden. Die T_{Max} - und T_{Av} -Werte aller Atome sind im Vergleich zu ähnlichen Berechnungen insgesamt relativ klein, was in geringen Interaktionen mit der Wasserumgebung und nicht vorhandenen Verbrückungen durch Wassermoleküle begründet sein könnte. Allerdings liegen die berechneten Signifikanzen im Bereich der in der Literatur ermittelten Werte.^[192]

8.3.3 Zusammenfassung und Ausblick

Ziel dieses Teils der Arbeit war die Durchführung und Analyse von zwei MD-Simulationen der Glykopeptide **185** und **186**. Im Mittelpunkt stand dabei die Fragestellung, welche Rolle die Strukturierung des Wassers in biologischen Prozessen einnimmt. Daher wurden die erhaltenen Trajektorien nach den erfolgreich durchgeführten MD-Simulationen mit mehreren Analyseprogrammen auf Wasser-Solvat-Interaktionen untersucht. Die Analyse des Serin-Derivats **185** konnte problemlos durchgeführt werden und bestätigte die Erwartungen. So sind die erhaltenen Werte mit denen von ähnlichen Untersuchungen vergleichbar. Erstaunlicherweise konnte jedoch keine H₂O-Verbrückung zwischen dem Kohlenhydrateil und dem Peptidrückgrat gefunden werden. Dennoch zeigte sich bei RPD-Untersuchungen und Verweildauer-Berechnungen die deutliche Strukturierung der Wassermoleküle um das Glykopeptid.

Dagegen sind die Ergebnisse, die für das Cystein-Derivat **186** erhalten wurden, so außergewöhnlich, dass die Messergebnisse der MD-Simulation als fehlerhaft bewertet und ihre Aussagekraft angezweifelt werden muss. Mögliche Fehlerquellen könnten in der Erstellung des Moleküls liegen, beispielsweise könnte das Schwefelatom mit unerwünschten Ladungen versehen worden sein. Eine weitere Fehlerquelle könnten fehlende Parameter für ein Schwefelatom in der glykosidischen Bindung sein. Daher sollten bei einer erneuten Simulation von **186** experimentelle Daten, wie Torsionswinkel und Atomabstände berücksichtigt werden und verschiedene Kraftfelder eingesetzt werden. Eine abschließende Bewertung der Ergebnisse, die für das Cystein-Derivat erhalten wurden ist somit nicht möglich.

Insgesamt konnte jedoch gezeigt werden, dass MD-Simulationen zur Untersuchung solcher dynamischen Systeme und speziell von Wasser-Solvat-Interaktionen gut einsetzbar sind und weitere Untersuchungen auf diesem Gebiet sehr sinnvoll wären.

9 Experimenteller Teil

9.1 Allgemeine Angaben

Alle Reaktionen wurden, soweit nicht anders angegeben, unter normalen atmosphärischen Bedingungen durchgeführt. Für Reaktionen unter Schlenktechnik wurden ausgeheizte Apparaturen mit Stickstoff als Inertgas verwendet. Zur Durchführung und Auswertung der Versuche sowie Isolierung und Charakterisierung der Produkte wurden die folgenden Geräte und Materialien verwendet:

Arbeitsweise:

Die verwendeten trockenen Lösungsmittel wurden entweder getrocknet vom Hersteller bezogen oder durch mehrstündiges Erhitzen unter Rückfluss und anschließender Destillation über einem geeigneten Trockenmittel erhalten.^[196,197]

Dichlormethan	über Calciumhydrid
Methanol	über Magnesiumspäne
DMF	getrocknet vom Hersteller
Diethylether	über Kalium-Natrium-Legierung
THF	über Kalium-Natrium-Legierung
Pyridin	über Kaliumhydroxid

Benennung:

Die systematische Benennung der chemischen Verbindungen erfolgte nach dem Nomenklaturprinzip der IUPAC-Kommission bzw. es wurde auf einschlägige Benennungen aus der Literatur zurückgegriffen.

Analytische Dünnschichtchromatographie:

Dünnschichtchromatogramme wurden auf Kieselgelplatten (Kieselgel 60 F₂₅₄), RP-Dünnschichtchromatogramme auf DC-Folien (RP-18 F_{254s}) der Firma Merck angefertigt. Alle Lösungsmittelverhältnisse sind in v/v angegeben. Die Detektion UV-aktiver Substanzen erfolgte mit Hilfe einer UV-Lampe der Firma CAMAG ($\lambda = 254$ nm, $\lambda = 366$ nm). Die Chromatogramme wurden des Weiteren durch das Eintauchen in Entwicklungslösung und anschließender Wärmebehandlung entwickelt. Je nach Substanzklasse wurden folgende Entwickler verwendet:

Kohlenhydrate:	Ethanol / Schwefelsäure (konz.) 10:1
Amine:	1.5 g Ninhydrin in 500 mL Ethanol und 15 mL Eisessig
Sonstige:	1.5 g Molybdatphosphorsäure-Lösung (aq.) oder 5 g Cer(IV)-sulfat und 12.5 g Molybdatphosphorsäure in 40 mL Schwefelsäure (konz.) und 500 mL Wasser.

Präparative Säulenchromatographie:

Die chromatographische Trennung erfolgte mit destillierten Lösungsmitteln unter leichten Überdruck an Kieselgel 60 (0.04-0.2 mm, 230-400 mesh) der Firmen Merck und Macherey Nagel.

Die GPC wurde an Sephadex LH-20 der Firma Pharmacia-Biotech unter Verwendung einer peristaltischen Pumpe durchgeführt.

HPLC und MPLC:

Präparative HPLC wurde auf einer Anlage der Firma Shimadzu durchgeführt, bestehend aus dem SCL-10A System Controller, Degasser DGU-14A, zwei LC-8A Pumpen, RID-10A Detektor und SPD-M10A Dioden-Array-Detektor. Es wurde eine Hibar RT 250-25 mm Säule, gepackt mit LiChrosorb RP-8 (7µm) Kieselgel, der Firma Merck benutzt.

MPLC wurde auf einer Anlage der Firma Büchi durchgeführt, bestehend aus Fraktion Collector B-684, Gradient Former B-687 und Chromatographie Pumpe B-688. Es wurde eine Lobar Größe B (310-25) Säule, gepackt mit LiChroprep RP-18 (40–60 µm) verwendet.

NMR-Spektren:

Die NMR-spektroskopischen Messungen wurden an den Geräten DRX-500 (500.13 MHz für ^1H , 125.47 MHz für ^{13}C) und AV-600 (600.13 MHz für ^1H , 150.91 MHz für ^{13}C) der Firma Bruker aufgenommen. Die Zuordnung der Signale wurde durch weitere ein- und zweidimensionale Methoden (DEPT, ^1H - ^1H -COSY, HSQC und HMBC) vorgenommen. 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	30.830 ppm (sept)
D ₂ O	¹ H	4.650 ppm (s)

Bei Molekülen mit mehreren Mannosen, die im NMR unterscheidbar sind, ist die zweite Mannose in den NMR-Daten mit X' und eine dritte Mannose mit X'' gekennzeichnet. Welche Mannose gemeint ist, lässt sich an den einzelnen Molekülstrukturabbildungen immer am anomeren Zentrum ablesen.

Massenspektrometrie:

MALDI-ToF-Massenspektren wurden an einem Biflex III-Gerät der Firma Bruker-Daltonics aufgenommen. Als Matrix diente CCA in Aceton/Wasser 1:1. Die Ionisierung erfolgte durch einen Stickstofflaser bei 337 nm.

ESI-Massenspektren wurden mit einem Mariner ESI-ToF 5280 der Firma Applied Biosystems aufgenommen.

Drehwerte:

Drehwerte wurden mit dem Perkin-Elmer-Polarimeter 341 (Natrium-D-Linie: 589 nm, Küvettenlänge 1 dm) in den jeweils angegebenen Lösungsmitteln vermessen.

IR-Spektroskopie:

IR-Spektren wurden mit einem FT-IR-Spektrometer Paragon 1000 der Firma Perkin-Elmer aufgenommen. Zur Probenvorbereitung wurde eine Golden Gate-Diamant-ATR-Einheit mit Saphirstempel verwendet. Die Bandenlagen sind in Wellenzahlen (cm⁻¹) angegeben.

Bestrahlungsexperimente:

Bestrahlungsexperimente wurden mit Hilfe einer Mitteldruck-Quecksilberdampfampe mit einer Leistung von 150 Watt durchgeführt.

Biologische Tests:

Zur Auswertung der biologischen Tests wurde der Infinite F200-Reader der Firma Tecan mit der Magelan-Steuerungssoftware verwendet.

9.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften**AAV 1: Glykosylierung nach der Imidat-Methode**

Der Akzeptor wird mit 0.8-1 Äq. Imidat (**17**) mindestens eine Stunde *in vacuo* getrocknet, dann unter Schutzgasatmosphäre in trockenem Dichlormethan gelöst (ca. 1 mL CH₂Cl₂ / g Imidat) und auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von 2-3 Tropfen TMSOTf rührt der Ansatz über Nacht bei Raumtemp. Im Weiteren wird mit Dichlormethan verdünnt, festes Natriumhydrogencarbonat (ca. 1g / mL CH₂Cl₂) zugegeben, filtriert und alle flüchtigen Bestandteile *in vacuo* entfernt. Abschließende Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel.

AAV 2: Glykosylierung ausgehend von Mannosepentaacetat (16)

a) mit BF₃-Etherat: Der Akzeptor wird mit 0.8-1.5 Äq. **16** mindestens eine Stunde *in vacuo* getrocknet, dann unter Schutzgasatmosphäre in trockenem Dichlormethan gelöst (ca. 3 mL CH₂Cl₂ / g **16**) und unter Eiskühlung werden 1.5-5 Äq. BF₃-Etherat innerhalb von 30 min zugetropft. Nach beendeter Zugabe folgen weitere 30 min im Eisbad und anschließend über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Danach wird der Reaktionsansatz auf 100 mL Eiswasser gegeben und nach Phasentrennung die wässrige Phase dreimal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser, NaHCO₃-Lsg. und nochmals mit Wasser gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Filtration wird das Lösungsmittel entfernt. Abschließende Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel.

b) mit SnCl₄: Der Akzeptor wird mit 1.5-2 Äq. **16** mindestens eine Stunde *in vacuo* getrocknet, dann unter Schutzgasatmosphäre in trockenem Dichlormethan gelöst (ca. 3 mL CH₂Cl₂ / g **16**) und bei Raumtemp. gerührt. Im Weiteren werden 1.5 Äq. SnCl₄ dazugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht gerührt. Die Mischung wird mit CH₂Cl₂ verdünnt, mit 1 M HCl gewaschen, die Phasen getrennt, die Organische über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Danach wird das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

AAV 3: Deacetylierung unter Zemplén-Bedingungen

Die Substanz wird unter Schutzgasatmosphäre in 5 mL trockenem Methanol gelöst und mit 200 μ L einer frisch hergestellten Natriummethanolatlösung versetzt. Die Reaktion wird über Nacht bei Raumtemp. gerührt, anschließend mit Amberlite IR 120 neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Die ggf. nötige Reinigung erfolgt durch Chromatographie an Kieselgel oder Sephadex LH-20.

AAV 4: Standardmethode für die Staudinger-Ligation

Das Azid wird mit 1.8 Äq. Säure und 1.8 Äq. HOBt mehrere Stunden *in vacuo* getrocknet, dann unter Schutzgasatmosphäre in trockenem THF gelöst und bei 0 °C mit 1.8 Äq. DIC 10 Minuten gerührt. Es werden 1-1.8 Äq. Tri-*n*-butylphosphin zugegeben, 1 Stunde bei 0 °C und anschließend über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Im Weiteren werden 50 mL Wasser zugegeben, die Lösung dreimal mit 50 mL Essigester extrahiert und die vereinigten org. Phasen mit 50 mL gesättigter Natriumchloridlg. gewaschen. Die org. Phase wird über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

AAV 5: Amidverknüpfungen mit HATU

1-10 Äq. der Säure werden mit 1.1-9 Äq. HATU unter Schutzgasatmosphäre in trockenem DMF gelöst und unter Eiskühlung mit 1.1-10 Äq. DIPEA versetzt. Nach 1-3 min wird 1-2 Äq. des Amids gelöst in trockenem DMF zugetropft. Nach 4 Stunden wird die Kühlung entfernt und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Anschließend werden die flüchtigen Bestandteile *in vacuo* entfernt und das Produkt chromatographisch gereinigt.

AAV 6: Allylesterentschützung

Der Ester wird mit 0.01 Äq. (PPh₃)₄Pd in 5 mL trockenem THF suspendiert und im Weiteren mit 1.5 Äq. *p*-Toluolsulfinsäure-Natrium-Salz, das in 5 mL trockenem Methanol gelöst wurde, versetzt. Die Reaktion wird für 3 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Nach anschließender Filtration wird das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

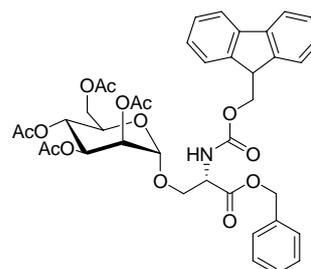
9.3 Einzelvorschriften

9.3.1 Vorschriften für die Synthese der Glykoaminosäuren

N^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-*L*-serin-*O*-benzylester (15)

1.

316 mg Bromid **13** (0.771 mmol, 1.2 Äq.), 1 g gepulvertes, getrocknetes Molekularsieb 4 Å und 266 mg **12** (0.637 mmol, 1 Äq.) wurden in 10 ml trockenem Dichlormethan gelöst und 10 min bei 0°C gerührt. Im Weiteren wurden 198 mg Silbertriflat (0.771 mmol, 1.2 Äq.) gelöst in 5 mL trockenem Toluol über einen Zeitraum von 20 min zu der Lösung getropft.



Anschließend wurde für zwei Stunden bei Raumtemp. gerührt, die Lösung mit festem NaHCO₃ neutralisiert und die Lösungsmittel entfernt. Alle Schritte erfolgten unter Lichtausschluss. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen, mit Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und anschließend eingengt. Die abschließende Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Toluol, 5:1). Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 293 mg, 0.392 mmol (61%);

R_F-Wert: 0.2 (Essigester / Toluol, 5:1);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -0.6$ (c = 0.8, CH₂Cl₂);

IR: 1724, 1450, 1221, 1047, 708 cm⁻¹;

¹H-NMR (600 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 7.76$ (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.62 (d, 2H, ³J = 7.2 Hz, Ar-H), 7.39 (t, 2H, ³J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.37 – 7.32 (m, 5H, Ar), 7.31 (t, 2H, ³J = 7.3 Hz, Ar-H), 5.93 (d, 1H, ³J_{NH,H- α} = 8.0 Hz, NH), 5.32 – 5.16 (m, 5H, H-2, H-3, H-4, OCH₂C-Ar), 4.74 (bs, 1H, H-1), 4.62 (m_c, 1H, H- α), 4.40 (d, 2H, ³J_{CH₂-Fmoc,CH-Fmoc} = 7.2 Hz, CH₂-Fmoc), 4.23 (t, 1H, ³J_{CH₂Fmoc,CH-Fmoc} = 7.3 Hz, CH-Fmoc), 4.21 (dd, 1H, ³J_{5,6a} = 5.7 Hz, ²J_{6a,6b} = 12.2 Hz, H-6a), 4.14 – 4.09 (m, 1H, H- β a), 4.06 (dd, 1H, ³J_{5,6b} = 2.9 Hz, ²J_{6,6b} = 11.3 Hz, H-6b), 3.98 (dd, 1H, ³J_{H- α ,H- β b} = 2.6 Hz, ²J_{H- β a,H- β b} = 10.9 Hz, H- β b), 3.94 (m_c, 1H, H-5), 2.15, 2.05, 2.02, 2.00 (s, je 3H, OAc) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 170.6$ (C=OCH₂), 169.9, 169.7, 169.7, 169.4 (C=OCH₃), 156.2 (C=O-Fmoc), 143.7 (C-Ar), 141.2 (C-Ar), 128.7 (C-Ar), 128.6 (C-Ar),

128.6 (C-Ar), 128.4 (C-Ar), 127.7 (C-Ar), 127.1 (C-Ar), 125.1 (C-Ar), 120.0 (C-Ar), 98.6 (C-1), 69.6 ($\underline{\text{C}}\text{-}\beta$), 69.3 (C-3), 69.3 (C-5), 69.1 (C-2) 68.8 ($\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C-Ar}$), 67.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Fmoc}$), 65.9 (C-4), 62.3 (C-6), 56.1 ($\underline{\text{C}}\text{-}\alpha$), 47.1 ($\underline{\text{C}}\text{H-Fmoc}$), 20.8, 20.8, 20.6, 20.6 ($\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 770.2405$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 770.2425$) für Summenformel $\text{C}_{39}\text{H}_{41}\text{NO}_{14}$ ($M = 747.2527$).

2.

Nach **AAV 1** wurden 1.52 g **12** (3.64 mmol, 1.3 Äq.) und 1.36 g **17** (2.76 mmol, 1 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Toluol, 5:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 1.65 mg, 2.21 mmol (80%);

Die analytischen Daten stimmten mit denen von 1. überein.

3.

Nach **AAV 2 a)** wurden 600 mg **12** (1.43 mmol, 1.3 Äq.), 540 mg **16** (1.38 mmol, 1 Äq.) und 677 μl BF_3 -Etherat (5.5 mmol, 5 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Toluol, 5:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.

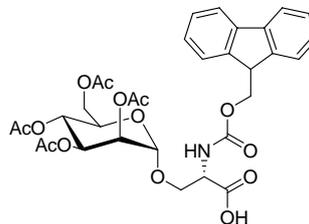
Ausbeute: 549 mg, 0.734 mmol (66%);

Die analytischen Daten stimmten mit denen von 1. überein.

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-L-serin (19)**

1.

Nach **AAV 1** wurden 850 mg Fmoc-Serin-OH (**11**) (2.59 mmol, 1 Äq.) und 2.0 g **17** (4.1 mmol, 1.5 Äq.) umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan / Ethanol, 6:1) und einem zweiten Reinigungsschritt an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Essigsäure, 100:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.



Ausbeute: 805 mg, 1.22 mmol (47%);

R_f-Wert: 0.49 (Dichlormethan / Ethanol, 6:1);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +38.4$ (c = 1.1, MeOH);

IR: 2955 (br), 1722, 1526, 1447, 1367, 1214, 1135, 1034, 739 cm⁻¹;

¹H-NMR (600 MHz, MeOH-d₄): δ = 7.78 (d, 2H, ³J = 7.4 Hz, Ar-H), 7.68 (t, 2H, ³J = 6.6 Hz, Ar-H), 7.37 (t, 2H, ³J = 7.3 Hz, Ar-H), 7.30 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, Ar-H), 5.30 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.1 Hz, ³J_{3,4} = 10.3 Hz, H-3), 5.25 – 5.17 (m, 2H, H-2, H-4), 4.85 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.4 Hz, H-1), 4.51 – 4.44 (m, 1H, CHH-Fmoc), 4.29 – 4.26 (m, 1H, H- α), 4.25 (bs, 1H, CH-Fmoc), 4.24 – 4.22 (m, 1H, CHH-Fmoc), 4.18 (dd, 1H, ³J_{5,6a} = 5.2 Hz, ²J_{6a,6b} = 12.6 Hz, H-6a), 4.12 – 4.04 (m, 3H, H-6b, H- β), 3.93 – 3.88 (m, 1H, H-5), 2.10, 2.01, 1.93, 1.90 (s, je 3H, OAc) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, MeOH-d₄): δ = 174.7 (C=OOH), 172.4, 171.5, 171.4, 171.4 (C=OCH₃), 158.1 (C=OO-Fmoc), 145.5 (C-Ar), 142.6 (C-Ar), 128.7 (C-Ar), 128.2 (C-Ar), 126.1 (C-Ar), 120.9 (C-Ar), 99.4 (C-1), 70.7 (C-2), 70.7 (C-3), 70.0 (C-5), 68.1 (CH₂-Fmoc), 67.3 (C-4), 63.5 (C-6), 61.5 (C- β), 57.3 (C- α), 48.4 (CH-Fmoc), 20.8, 20.6, 20.5, 20.5 (COCH₃) ppm;

MALDI-ToF-MS: m/z = 680.20 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 680.19) und m/z = 696.19 [M+K]⁺-Ion (ber.: m/z = 696.16) für Summenformel C₃₂H₃₅NO₁₄ (M = 657.20);

HRESI-MS: m/z = 680.1946 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 680.1955) für Summenformel C₃₂H₃₅NO₁₄ (M = 657.2058).

2.

Nach **AAV 2 a)** wurden 128 mg Fmoc-Serin-OH (**11**) (0.391 mmol, 1 Äq.), 200 mg **16** (0.512 mmol, 1.3 Äq.) und 240 μ l BF₃-Etherat (1.95 mmol, 5 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan / Ethanol, 6:1) und einem zweiten Reinigungsschritt an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Essigsäure, 100:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 99 mg, 0.15 mmol (38%);

Die analytischen Daten stimmen mit denen von 1. überein.

3.

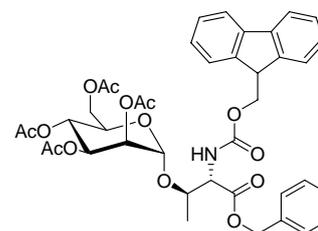
Nach **AAV 2 b)** wurden 1 g **16** (2.6 mmol, 1.5 Äq.) mit 560 mg Fmoc-Serin-OH (**11**) (1.71 mmol, 1 Äq.) und 300 μ L SnCl₄ (2.56 mmol, 1.5 Äq.) umgesetzt. Nach erster Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan / Ethanol, 6:1) und einem weiteren Reinigungsschritt an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Essigsäure, 100:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 359 mg, 0.546 mmol (32%);

Die analytischen Daten stimmen mit denen von 1. überein.

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-L-threonin-*O*-benzylester (**32**)**

Nach **AAV 2 a)** wurden 100 mg **31** (0.231 mmol, 1.3 Äq.), 69 mg **16** (0.18 mmol, 1 Äq.) und 67 μ l BF₃-Etherat (0.54 mmol, 3 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Toluol, 1:6) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.



Ausbeute: 101 mg, 0.132 mmol (72%);

R_F-Wert: 0.2 (Essigester / Toluol, 1:6);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +21.9$ (c = 0.9, CH₂Cl₂) ;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.74 (d, 2H, ³J = 7.1 Hz, Ar-H), 7.60 (d, 2H, ³J = 7.3 Hz, Ar-H), 7.38 (t, 2H, ³J = 7.3 Hz, Ar-H), 7.35 – 7.30 (m, 5H, Ar), 7.28 (t, 2H, ³J_{A,B} = 7.3

Hz, Ar-H), 5.93 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H-}\alpha}$ = 9.3 Hz, NH), 5.30 (dd, 1H, $^3J_{2,3}$ = 3.3 Hz, $^3J_{3,4}$ = 9.9 Hz, H-3), 5.27 – 5.14 (m, 4H, H-2, H-4, OCH₂C-Ar), 4.84 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.4 Hz, H-1), 4.44 – 4.34 (m, 3H, CH₂-Fmoc, H- α), 4.27 – 4.19 (m, 3H, H- β , CH-Fmoc, H-6), 4.11 (dd, 1H, $^3J_{5,6a}$ = 2.6 Hz, $^2J_{6a,6b}$ = 12.3 Hz, H-6b), 4.05 (m_c, 1H, H-5), 2.14, 2.07, 2.05, 2.01 (s, je 3H, OAc), 1.32 (d, 3H, $^3J_{\text{CH}_3, \text{H-}\beta}$ = 6.3 Hz, CH₃) ppm;

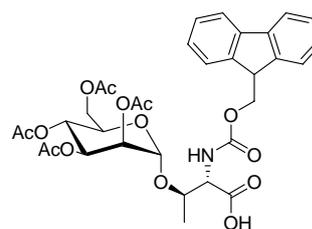
¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃): δ = 171.0 (COOCH₂), 170.5, 169.9, 169.8, 169.7 (COCH₃), 156.7 (COO-Fmoc), 143.7 (C-Ar), 141.2 (C-Ar), 128.6 (C-Ar), 128.5 (C-Ar), 128.5 (C-Ar), 128.4 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 127.1 (C-Ar), 125.1 (C-Ar), 119.9 (C-Ar), 98.7 (C-1), 69.7 (C- β), 69.6 (C-3), 69.6 (C-5), 69.1 (C-2), 69.0 (OCH₂C-Ar), 67.5 (CH₂-Fmoc), 66.2 (C-4), 62.4 (C-6), 58.7 (C- α), 47.1 (CH-Fmoc), 20.7, 20.6, 20.6, 20.6 (COCH₃), 17.9 (CH₃) ppm;

MALDI-ToF-MS: m/z = 784.34 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 784.25) und m/z = 800.29 [M+K]⁺-Ion (ber.: m/z = 800.23) für Summenformel C₄₀H₄₃NO₁₄ (M = 761.26);

HRESI-MS: m/z = 784.2635 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 784.2581) für Summenformel C₄₀H₄₃NO₁₄ (M = 761.2684).

N ^{α} -(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-L-threonin (33)

Nach **AAV 1** wurden 79 mg Fmoc-Threonin-OH (**30**) (0.23 mmol, 1 Äq.) und 171 mg **17** (0.348 mmol, 1.5 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan / Ethanol, 1:1) und einem zweiten Reinigungsschritt an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Essigsäure, 100:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.



Ausbeute: 47 mg, 0.07 mmol (30%);

R_f-Wert: 0.31 (Essigester / Essigsäure, 100:1);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20}$ = + 21.4 (c = 0.3, CH₂Cl₂);

IR: 2976, 1731, 1523, 1449, 1369, 1222, 1133, 1045, 760, 737, 639 cm⁻¹;

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, MeOH- d_4): δ = 7.85 (d, 2H, 3J = 7.4 Hz, Ar-H), 7.78 – 7.74 (m, 2H, Ar-H), 7.43 (t, 2H, 3J = 7.3 Hz, Ar-H), 7.38 – 7.34 (m, 2H, Ar), 5.34 (dd, 1H, $^3J_{2,3}$ = 3.4 Hz, $^3J_{3,4}$ = 10.0 Hz, H-3), 5.24 (dd ~ t, 1H, 3J = 9.9 Hz, H-4), 5.23 (dd, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.8 Hz, $^3J_{2,3}$ = 3.9 Hz, H-2), 5.00 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.8 Hz, H-1), 4.47 (dd, 1H, $^3J_{\text{CHH-Fmoc,CH-Fmoc}}$ = 7.1 Hz, $^2J_{\text{CHH-Fmoc,CHH-Fmoc}}$ = 10.6 Hz, CHH-Fmoc), 4.44 – 4.41 (m, 1H, H- β), 4.39 (dd, 1H, $^3J_{\text{CHH-Fmoc,CH-Fmoc}}$ = 7.0 Hz, $^2J_{\text{CHH-Fmoc,CHH-Fmoc}}$ = 10.6 Hz, CHH-Fmoc), 4.37 – 4.33 (m, 1H, H- α), 4.30 (dd ~ t, 1H, 3J = 7.1 Hz, CH-Fmoc), 4.28 – 4.24 (m, 1H, H-6a), 4.18 (m_c, 1H, H-5), 4.17 - 4.13 (m, 1H, H-6b), 2.15, 2.09, 2.09, 2.00 (s, je 3H, OAc), 1.34 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\beta,\text{CH}_3}$ = 6.4 Hz, CH_3) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, MeOH- d_4): δ = 177.3 (COOH), 172.3, 171.7, 171.5, 171.4 (COCH_3), 159.1 (COO-Fmoc), 145.2 (C-Ar), 142.6 (C-Ar), 128.7 (C-Ar), 126.4 (C-Ar), 126.3 (C-Ar), 120.9 (C-Ar), 100.4 (C-1), 78.4 (C- β), 70.7 (C-2), 70.7 (C-3), 70.2 (C-5), 68.2 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 67.4 (C-4), 63.7 (C-6), 60.2 (C- α), 48.4 (CH-Fmoc), 20.6 (4 COCH_3), 18.8 (CH_3) ppm;

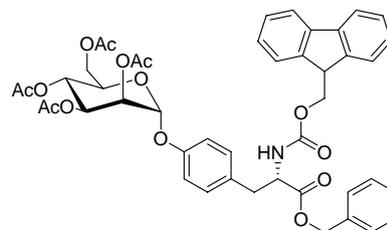
MALDI-ToF-MS: m/z = 694.73 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ -Ion (ber.: m/z = 694.21) für Summenformel $\text{C}_{33}\text{H}_{37}\text{NO}_{14}$ (M = 671.22).

HRESI-MS: m/z = 694.2197 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ -Ion (ber.: m/z = 694.2112) für Summenformel $\text{C}_{33}\text{H}_{37}\text{NO}_{14}$ (M = 671.2241).

N^α -(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-L-tyrosin-*O*-benzylester (38)

1.

Nach AAV 1 wurden 395 mg **36** (0.801 mmol, 1.3 Äq.) und 300 mg **17** (0.611 mmol, 1 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Toluol, 1:2) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.



Ausbeute: 379 mg, 0.460 mmol (74%);

R_f -Wert: 0.2 (Essigester / Toluol, 1:2);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20}$ = + 18.9 (c = 1.1, CH_2Cl_2);

IR: 3363, 3235, 2357, 1686, 1610, 1379, 1221, 1106, 928, 823, 747, 648 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ = 7.76 (d, 2H, $^3J = 7.7$ Hz, Ar-H), 7.60 (t, 2H, $^3J = 7.7$ Hz, Ar-H), 7.40 (t, 2H, $^3J = 7.2$ Hz, Ar-H), 7.38 – 7.33 (m, 3H, Ar-H), 7.33 – 7.28 (m, 4H, Ar-H), 6.94 – 6.87 (m, 4H, Ar-H), 5.54 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.44 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, H-1), 5.42 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-2), 5.36 (dd~t, 1H, $^3J = 10.1$ Hz, H-4), 5.25 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}-\alpha} = 8.0$ Hz, NH), 5.18 (d, 1H, $^2J_{\text{OCHHC-Ar},\text{OCHHC-Ar}} = 12.2$ Hz, OCHHC-Ar), 5.11 (d, 1H, $^2J_{\text{OCHHC-Ar},\text{OCHHC-Ar}} = 12.2$ Hz, H-OCHHC-Ar), 4.67 (m_c, 1H, H- α), 4.44 (dd, 1H, $^3J_{\text{CHH-Fmoc},\text{CH-Fmoc}} = 7.0$ Hz, $^2J_{\text{CHH-Fmoc},\text{CHH-Fmoc}} = 10.6$ Hz, CHH-Fmoc), 4.36 (dd, 1H, $^3J_{\text{CHH-Fmoc},\text{CH-Fmoc}} = 6.8$ Hz, $^2J_{\text{CHH-Fmoc},\text{CHH-Fmoc}} = 10.6$ Hz, CHH-Fmoc), 4.27 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, H-6a), 4.19 (dd ~ t, 1H, $^3J = 6.4$ Hz, CH-Fmoc), 4.08 – 4.00 (m, 2H, H-5, H-6b), 3.05 (dd~t, 2H, $^3J = 5.7$ Hz, H- β), 2.20, 2.05, 2.04, 2.01 (s, je 3H, OAc) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): δ = 171.2 (COOCH_2), 170.5, 169.9, 169.9, 169.7 (COCH_3), 155.5 (COO-Fmoc), 154.8 (C-Ar), 143.8 (C-Ar), 143.6 (C-Ar), 141.3 (C-Ar), 134.9 (C-Ar), 130.5 (C-Ar), 130.1 (C-Ar), 128.6 (C-Ar), 127.7 (C-Ar), 127.0 (C-Ar), 125.0 (C-Ar), 125.0 (C-Ar), 120.0 (C-Ar), 116.5 (C-Ar), 95.9 (C-1), 69.4 (C-2), 69.1 (C-3), 68.9 (C-5), 67.3 ($\text{OCH}_2\text{C-Ar}$), 66.9 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 65.9 (C-4), 62.0 (C-6), 54.8 (C- α), 47.1 (CH-Fmoc), 37.3 (C- β), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 (COCH_3) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 846.35$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺-Ion (ber.: $m/z = 846.27$) für Summenformel $\text{C}_{45}\text{H}_{45}\text{NO}_{14}$ ($M = 823.28$);

HRESI-MS: $m/z = 846.2774$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺-Ion (ber.: $m/z = 846.2738$) für Summenformel $\text{C}_{45}\text{H}_{45}\text{NO}_{14}$ ($M = 823.2840$).

2.

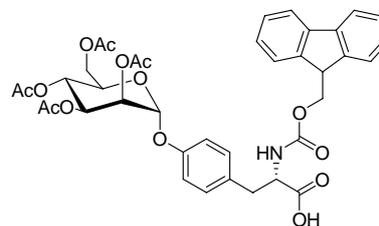
Nach **AAV 2 a**) wurden 390 mg **36** (0.790 mmol, 1.3 Äq.), 237 mg **36** (0.610 mmol, 1 Äq.) und 225 μl BF_3 -Etherat (1.83 mmol, 3 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Toluol, 1:2) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 185 mg, 0.224 mmol (36%);

Die analytischen Daten stimmten mit denen von 1. überein.

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-L-tyrosin (39)**

Nach **AAV 2 b**) wurden 500 mg **16** (1.28 mmol, 1.5 Äq.) mit 344 mg Fmoc-Tyrosin-OH (**35**) (0.853 mmol, 1 Äq.) und 150 μ L SnCl₄ (1.28 mmol, 1.5 Äq.) umgesetzt. Nach Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Toluol, 4:1 \rightarrow 1:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.



Ausbeute: 390 mg, 0.531 mmol (62%);

R_F-Wert: 0.3 (Essigester / Toluol, 1:1);

Smp.: 86°C;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = 44.8$ (c = 1.0, CH₂Cl₂);

IR: 1738, 1508, 1365, 1211, 1034, 742 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.77 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.55 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.40 (t, 2H, ³J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.31 (t, 2H, ³J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.11 (d, 2H, ³J = 8.6 Hz, Ar-H), 7.05 (d, 2H, ³J = 8.6 Hz, Ar-H), 5.53 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.5 Hz, ³J_{3,4} = 10.0 Hz, H-3), 5.50 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.7 Hz, H-1), 5.45 (dd, 1H, ³J_{1,2} = 1.7 Hz, ³J_{2,3} = 3.5 Hz, H-2), 5.36 (dd~t, 1H, ³J = 9.8 Hz, H-4), 4.65 (m_c, 1H, H- α), 4.45 (dd, 1H, ³J_{CHH-Fmoc, CH-Fmoc} = 6.8 Hz, ²J_{CHH-Fmoc, CHH-Fmoc} = 10.5 Hz, CHH-Fmoc), 4.36 (dd, 1H, ³J_{CHH-Fmoc, CH-Fmoc} = 6.8 Hz, ²J_{CHH-Fmoc, CHH-Fmoc} = 10.5 Hz, CHH-Fmoc), 4.30 – 4.25 (m, 1H, H-6a), 4.19 (dd ~ t, 1H, ³J = 7.0 Hz, CH-Fmoc), 4.08 – 3.99 (m, 2H, H-5, H-6b), 3.05 (m_c, 2H, H- β), 2.19, 2.05, 2.04, 2.00 (s, je 3H, OAc) ppm;

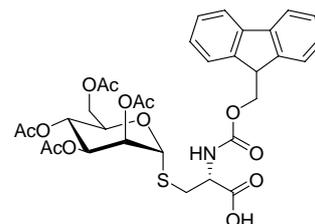
¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃): δ = 171.1 (C=O), 170.5, 169.9, 169.8, 169.7 (C=O), 155.5 (C=O-Fmoc), 143.6 (C-Ar), 143.5 (C-Ar), 141.2 (C-Ar), 130.3 (C-Ar), 127.7 (C-Ar), 127.0 (C-Ar), 125.0 (C-Ar), 124.9 (C-Ar), 120.0 (C-Ar), 116.8 (C-Ar), 95.9 (C-1), 69.2 (C-2), 68.9 (C-3), 68.7 (C-5), 67.1 (CH₂-Fmoc), 65.4 (C-4), 62.0 (C-6), 54.9 (C- α), 47.0 (CH-Fmoc), 37.3 (C- β), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (COCH₃) ppm;

MALDI-ToF-MS: *m/z* = 756.96 [M+Na]⁺-Ion (ber.: *m/z* = 756.22) und *m/z* = 772.91 [M+K]⁺-Ion (ber.: *m/z* = 772.20) für Summenformel C₃₈H₃₉NO₁₄ (M = 733.23);

HRESI-MS: $m/z = 756.2201$ $[M+Na]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 756.2268$) und $m/z = 772.1980$ $[M+K]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 772.2008$) für Summenformel $C_{38}H_{39}NO_{14}$ ($M = 733.2371$).

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-L-cystein (42)**

Nach **AAV 6** wurden 600 mg **50** (0.841 mmol, 1 Äq.), 10 mg $(PPh_3)_4Pd$ (8.6 μ mol, 0.01 Äq.) und 225 mg *p*-Toluolsulfinsäure-Natrium-Salz (1.26 mmol, 1.5 Äq.) umgesetzt. Nach Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester, 1:1 \rightarrow Essigester / Methanol, 3:1) wurde das Produkt als schwach gelber Schaum erhalten.



Ausbeute: 494 mg, 0.733 mmol (87%);

R_f-Wert: 0.43 (Essigester / Methanol, 3:1);

Smp.: 123°C;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +27.6$ ($c = 0.9$, CH_2Cl_2);

IR: 2986, 1739, 1596, 1367, 1214, 1042, 759, 740 cm^{-1} ;

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 7.89$ (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.71 (t, 2H, $^3J = 7.2$ Hz, Ar-H), 7.41 (t, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, Ar-H), 7.33 (t, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, Ar-H), 5.45 (bs, 1H, H-1), 5.21 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.1$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-2), 5.14 (dd~t, 1H, $^3J = 10.0$ Hz, H-4), 5.03 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.3$ Hz, H-3), 4.34 (dd, 1H, $^3J_{CHH-Fmoc, CH-Fmoc} = 6.6$ Hz, $^2J_{CHH-Fmoc, CHH-Fmoc} = 9.5$ Hz, CHH-Fmoc), 4.32 – 4.28 (m, 1H, H-5), 4.23 (dd ~ t, 1H, $^3J = 6.9$ Hz, CH-Fmoc), 4.19 (dd, 1H, $^3J_{CHH-Fmoc, CH-Fmoc} = 7.0$ Hz, $^2J_{CHH-Fmoc, CHH-Fmoc} = 9.6$ Hz, CHH-Fmoc), 4.13 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 4.9$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.1$ Hz, H-6a), 4.05 (dd, 1H, $^3J_{5,6b} = 2.4$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6b), 4.01 – 3.91 (m, 1H, H- α), 3.13 (dd, 1H, $^3J_{H-\alpha, H-\beta a} = 3.6$ Hz, $^2J_{H-\beta a, H-\beta b} = 13.1$ Hz, H- β), 3.01 (dd, 1H, $^3J_{H-\alpha, H-\beta b} = 7.9$ Hz, $^2J_{H-\beta a, H-\beta b} = 13.1$ Hz, H- βb), 2.08, 1.99, 1.97, 1.93 (s, je 3H, OAc) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 170.1$ (COOH), 170.1, 169.7, 169.6, 169.4 (COCH₃), 155.6 (COO-Fmoc), 143.9 (C-Ar), 140.7 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 127.1 (C-Ar), 125.3 (C-Ar), 120.1 (C-Ar), 82.6 (C-1), 70.6 (C-2), 69.1 (C-3), 68.4 (C-5), 65.4 (CH₂-Fmoc), 65.4 (C-4), 61.7 (C-6), 55.4 (C- α), 46.7 (CH-Fmoc), 34.5 (C- β), 20.8, 20.6, 20.4, 20.3 (COCH₃) ppm;

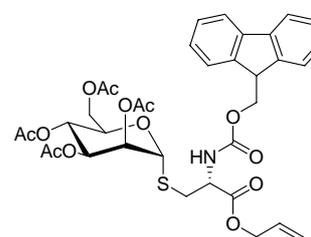
MALDI-ToF-MS: $m/z = 696.18$ $[M+Na]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 696.17$) und $m/z = 712.16$ $[M+K]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 712.14$) für Summenformel $C_{35}H_{39}NO_{13}S$ ($M = 673.18$);

HRESI-MS: $m/z = 696.1729$ $[M+Na]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 696.1727$) für Summenformel $C_{32}H_{35}NO_{13}S$ ($M = 673.1829$).

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-*L*-cystein-*O*-allylester (50)**

1.

Nach **AAV 1** wurden 500 mg **17** (1.02 mmol, 1.3 Äq.) und 300 mg **48** (0.783 mmol, 1 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester, 1:1) wurde das Produkt als gelblicher Schaum erhalten.



Ausbeute: 545 mg, 0.764 mmol (98%);

R_f-Wert: 0.57 (Cyclohexan / Essigester, 1:1);

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.68$ (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.54 (d, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, $^3J = 11.4$ Hz Ar-H), 7.32 (t, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.23 (t, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, Ar-H), 6.09 (d, 1H, $^3J_{NH,H-\alpha} = 8.6$ Hz, NH), 5.83 (m_c, 1H, CH₂CHCH₂), 5.30 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.4$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.1$ Hz, H-2), 5.32 – 5.27 (m, 1H, CH₂CHCHH), 5.22 – 5.20 (m, 1H, H-4), 5.20 – 5.18 (m, 1H, CH₂CHCHH), 5.15 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.4$ Hz, H-1), 5.10 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.1$ Hz, $^3J_{3,4} = 9.9$ Hz, H-3), 4.74 – 4.68 (m, 1H, H- α), 4.55-4.62 (m, 2H, CH₂CHCH₂), 4.34 (dd, 1H, $^3J_{CHH-Fmoc,CH-Fmoc} = 7.7$ Hz, $^2J_{CHH-Fmoc,CH-Fmoc} = 10.4$ Hz, CHH-Fmoc), 4.28 (dd, 1H, $^3J_{CHH-Fmoc,CH-Fmoc} = 6.9$ Hz, $^2J_{CHH-Fmoc,CHH-Fmoc} = 10.4$ Hz, CHH-Fmoc), 4.27 – 4.23 (m, 1H, H-5), 4.18 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 2.3$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6a), 4.16 – 4.10 (m, 2 H, H-6b, CH-Fmoc), 3.23 (dd, 1H, $^3J_{H-\alpha,H-\beta a} = 5.1$ Hz, $^2J_{H-\beta a,H-\beta b} = 14.5$ Hz, H- β a), 3.04 (dd, 1H, $^3J_{H-\alpha,H-\beta b} = 3.5$ Hz, $^2J_{H-\beta,H-\beta b} = 14.3$ Hz, H- β b), 2.07, 1.97, 1.97, 1.92 (s, je 3H, OAc) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃): $\delta = 170.5$ (COOAllyl), 169.8, 169.7, 169.6, 169.6 (COCH₃), 155.6 (COO-Fmoc), 143.7 (C-Ar), 141.2 (C-Ar), 131.2 (CH₂CHCH₂), 127.6 (C-Ar), 127.0 (C-Ar), 125.0 (C-Ar), 119.9 (C-Ar), 119.4 (CH₂CHCH₂), 84.3 (C-1), 71.2 (C-

2), 69.7 (C-5), 69.0 (C-3), 67.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Fmoc}$), 66.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CHCH}_2$), 66.0 (C-4), 62.4 (C-6), 54.1 ($\underline{\text{C}}\text{-}\alpha$), 47.0 ($\underline{\text{C}}\text{H-Fmoc}$), 36.1 ($\underline{\text{C}}\text{-}\beta$), 20.8, 20.6, 20.5, 20.5 ($\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 737.23$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 736.20$) und $m/z = 753.19$ $[\text{M}+\text{K}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 752.17$) für Summenformel $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{NO}_{13}\text{S}$ ($M = 713.21$).

2.

Nach **AAV 2 a**) wurden 330 mg **48** (0.861 mmol, 1 Äq.), 503 mg **16** (1.29 mmol, 1.5 Äq.) und 159 μl $\text{BF}_3\text{-Etherat}$ (1.29 mmol, 1.5 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester, 1:1) wurde das Produkt als gelblicher Schaum erhalten.

Ausbeute: 302 mg, 0.423 mmol (48%);

Die analytischen Daten stimmen mit denen von 1. überein.

3.

Nach **AAV 2 b**) wurden 1130 mg **16** (2.896 mmol, 2.2 Äq.), 500 mg **48** (1.30 mmol, 1 Äq.) und 230 μL SnCl_4 (1.95 mmol, 1.5 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester, 1:1) wurde das Produkt als gelblicher Schaum erhalten.

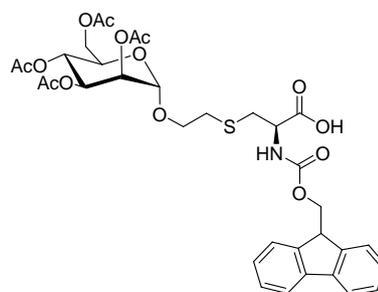
Ausbeute: 643 mg, 0.901 mmol (69%);

Die analytischen Daten stimmen mit denen von 1. überein.

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*S*-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-cystein (56)**

200 mg Fmoc-Cystein-OH (**41**) (0.582 mmol, 1 Äq.) wurden in 5 mL trockenem DMF unter Schutzgasatmosphäre gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. 14 mg NaH (0.58 mmol, 1 Äq.) wurden im Weiteren zu der Reaktionslösung zugegeben und diese nach 15 min mit 292 mg **55** (0.581 mmol, 1 Äq.) versetzt.

Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei 40 °C gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel entfernt, das Rohprodukt in Dichlormethan aufgenommen, mit Wasser,



gesättigter NaCl-Lsg. und gesättigter NaHCO₃-Lsg. gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und filtriert. Die säulenchromatographische Reinigung des Produkts erfolgte zunächst an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester, 1:1 → Cyclohexan / Essigester / Methanol, 4.5:4.5:1) und anschließend an Sephadex LH-20 mit Methanol. Das Produkt wurde als gelblicher Schaum erhalten.

Ausbeute: 336 mg, 0.468 mmol (81%);

R_f-Wert: 0.6 (Cyclohexan / Essigester / Methanol, 4.5:4.5:1);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +19.0$ (c = 1.1, CH₂Cl₂);

IR: 3335, 1742, 1537, 1366, 1219, 1154, 1046, 742 cm⁻¹;

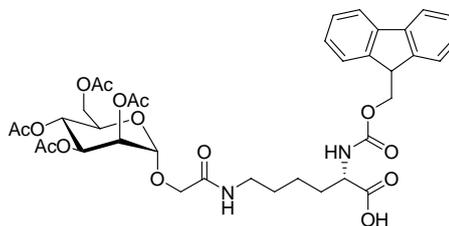
¹H-NMR (500 MHz, MeOH-d₄): δ = 7.83 (d, 2H, ³J = 7.4 Hz, Ar-H), 7.72 (t, 2H, ³J = 6.7 Hz, Ar-H), 7.43 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, Ar-H), 7.35 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, Ar-H), 5.32 – 5.22 (m, 3 H, H-2, H-3, H-4), 4.94 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.3 Hz, H-1), 4.48 (dd, 1H, ³J_{CHH-Fmoc, CH-Fmoc} = 4.9 Hz, ²J_{CHH-Fmoc, CHH-Fmoc} = 7.0 Hz, CHH-Fmoc), 4.46 – 4.40 (m, 3H, H-α, OCHHCH₂, CHH-Fmoc), 4.39 – 4.36 (m, 1H, OCHHCH₂), 4.30 – 4.24 (m, 2H, H-6', CH-Fmoc), 4.16 – 4.09 (m, 2H, H-5, H-6a), 4.01 – 3.94 (m, 1H, H-OCH₂CHH), 3.84 – 3.78 (m, 1H, OCH₂CHH), 2.99 (dd, 1H, ³J_{H-α, H-βa} = 4.8 Hz, ²J_{H-βa, H-βb} = 13.9 Hz, H-βa), 2.92 (dd, 1H, ³J_{H-α, H-βb} = 7.2 Hz, ²J_{H-βa, H-βb} = 13.8 Hz, H-βb), 2.16, 2.08, 2.05, 1.98 (s, je 3H, OAc) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, MeOH-d₄): δ = 172.3 (COOH), 171.8, 171.5, 171.4, 171.4 (COCH₃), 158.2 (COO-Fmoc), 145.2 (C-Ar), 142.5 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 128.6 (C-Ar), 126.1 (C-Ar), 120.8 (C-Ar), 98.6 (C-1), 70.5 (C-2), 70.4 (C-3), 69.8 (C-5), 67.9 (CH₂-Fmoc), 67.1 (C-4), 66.6 (OCH₂CH₂), 65.2 (OCH₂CH₂), 63.5 (C-6), 57.8 (C-α), 48.2 (CH-Fmoc), 26.7 (C-β), 20.5, 20.5, 20.5, 20.4 (COCH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z = 740.1916 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 740.1989) für Summenformel C₃₄H₃₉NO₁₄S (M = 717.2091).

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*N*^ε-[(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-acetamido]-L-lysin (64)**

Nach **AAV 5** wurden 100 mg **58** (0.246 mmol, 1.6 Äq.), 57 mg Fmoc-Lysin-OH (**57**) (0.154 mmol, 1 Äq), 95 mg HATU (0.249 mmol, 1.6 Äq) und 43 μ L DIPEA (0.249 mmol, 1.6 Äq) umgesetzt.



Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan / Methanol, 19:1 + 1% Essigsäure) wurde das Produkt als leicht gelblicher Schaum erhalten.

Ausbeute: 70 mg, 86 μ mol (57%);

R_f-Wert: 0.18 (Dichlormethan / Methanol, 19:1 + 1% Essigsäure);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +17.2$ (c = 0.7, CH₂Cl₂);

IR: 2922, 1743, 1449, 1367, 1214, 1079, 762 cm⁻¹;

¹H-NMR (600 MHz, MeOH-d₄): δ = 7.83 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.61 (m_c, 2H, Ar-H), 7.43 (t, 2H, ³J = 7.3 Hz, Ar-H), 7.35 (t, 2H, ³J = 7.5 Hz, Ar-H), 5.45 (dd, 1H, ³J_{1,2} = 1.6 Hz, ³J_{2,3} = 3.4 Hz, H-2), 5.40 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.6 Hz, ³J_{3,4} = 10.1 Hz, H-3), 5.28 (dd~t, 1H, ³J = 10.1 Hz, H-4), 4.92 (bs, 1H, H-1), 4.37 (m_c, 2H, CH₂-Fmoc), 4.30 – 4.24 (m, 2H, H-6a, CH-Fmoc), 4.21 – 4.16 (m, 2H, H- α , OCHHCO), 4.14 – 4.05 (m, 3H, H-5, H-6b, OCHHCO), 3.33 – 3.27 (m, 2H, H- ϵ), 2.16, 2.07, 2.06, 2.00 (s, je 3H, OAc), 1.79 – 1.72 (m, 2H, H- β), 1.67 – 1.58 (m, 2H, H- δ), 1.53 – 1.44 (m, 2H, H- γ) ppm;

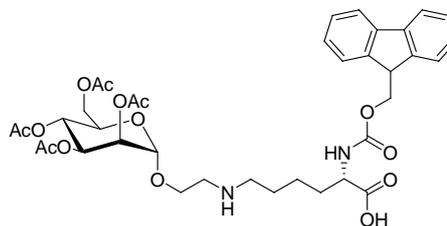
¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃): δ = 175.1 (C=OOH), 172.3 (NHCO- ϵ), 171.6, 171.4, 171.4, 171.3 (COCH₃), 158.6 (COO-Fmoc), 145.3 (C-Ar), 142.5 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 128.1 (C-Ar), 126.3 (C-Ar), 120.9 (C-Ar), 99.1 (C-1), 70.6 (C-3), 70.3 (C-5), 70.2 (C-2), 67.9 (CH₂-Fmoc), 67.4 (OCH₂CO), 67.0 (C-4), 63.3 (C-6), 54.8 (C- α), 48.3 (CH-Fmoc), 39.8 (C- ϵ), 32.5 (C- β), 29.5 (C- δ), 24.3 (C- γ), 20.8, 20.6, 20.6, 20.4 (COCH₃) ppm;

MALDI-ToF-MS: m/z = 779.08 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 779.26) und m/z = 795.07 [M+K]⁺-Ion (ber.: m/z = 795.23) für Summenformel C₃₇H₄₄N₂O₁₅ (M = 756.27);

HRESI-MS: m/z = 779.2777 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 779.2639) für Summenformel C₃₇H₄₄N₂O₁₅ (M = 756.2742).

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*N*^ε-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-lysin (65)**

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 260 mg **60** (0.666 mmol, 1 Äq.) und 243 mg Fmoc-Lysin-OH (**57**) (0.666 mmol, 1 Äq.) in 7 mL trockenem Acetonitril gelöst und drei Stunden bei Raumtemp. gerührt. Im Weiteren wurden 140 mg NaBH(OAc)₃



(0.666 mmol, 1 Äq.) zugegeben und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen, über MgSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Abschließende Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Methanol, 1:1) wobei **65** als farbloser Schaum mit einem Nebenprodukt erhalten wurde.

Ausbeute: 376 mg, 0.506 mmol (77%);

R_f-Wert: 0.25 (Essigester / Methanol, 1:1);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +28.6$ (c = 0.7, CH₂Cl₂);

IR: 3345 (br), 1740, 1568, 1407, 1223, 1135, 1024, 821, 730, 647 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ = 7.74 (d, 2H, ³J = 7.4 Hz, Ar-H), 7.62 – 7.57(m, 2H, Ar-H), 7.37 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, Ar-H), 7.28 (t, 2H, ³J = 7.7 Hz, Ar-H), 5.32 – 5.21 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 4.84 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.4 Hz, H-1), 4.34 (dd ~ t, 1H, ³J = 9.1 Hz, CHH-Fmoc), 4.27 (dd, 1H, ³J_{5,6a} = 4.9 Hz, ²J_{6a,6b} = 12.2 Hz, H-6a), 4.25 – 4.20 (m, 1H, H- α), 4.18 (dd ~ t, 1H, ³J = 9.1 Hz, CHH-Fmoc), 4.12 – 4.08 (m, 1H, CH-Fmoc), 4.07 (dd, 1H, ³J_{5,6b} = 2.6 Hz, ²J_{6a,6b} = 12.4 Hz, H-6b), 3.99 (m_c, 1H, H-5), 3.97 – 3.92 (m, 1H, OCHHCH₂), 3.77 – 3.71 (m, 1H, OCHHCH₂), 3.21 – 3.10 (m, 2H, OCH₂CH₂), 3.01 – 2.92 (m, 2H, H- ϵ) 2.12, 2.08, 2.02, 1.96 (s, je 3H, OAc), 1.82 (bs, 2H, H- β), 1.72 (bs, 2H, H- δ), 1.49 (bs, 2H, H- γ) ppm;

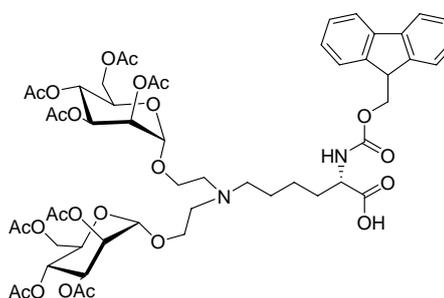
¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆): δ = 173.5 (COOH), 169.9, 169.4, 169.4, 169.3 (COCH₃), 158.7 (COO-Fmoc), 145.1 (C-Ar), 142.5 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 128.5 (C-Ar), 127.1 (C-Ar), 121.2 (C-Ar), 96.7 (C-1), 68.7 (C-2), 68.6 (C-3), 67.8 (C-5), 66.3 (CH₂-Fmoc), 65.7 (C-4), 65.5 (OCH₂CH₂), 61.9 (C-6), 56.7 (C- α), 55.2 (C- ϵ), 53.9 (OCH₂CH₂), 47.5 (CH-Fmoc), 32.3 (C- β), 28.2 (C- δ), 24.4 (C- γ), 20.4, 20.3, 20.2, 20.2 (COCH₃) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 743.47$ $[M+H]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 743.30$) und $m/z = 765.46$ $[M+Na]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 765.28$) für Summenformel $C_{37}H_{46}N_2O_{14}$ ($M = 742.29$);

HRESI-MS: $m/z = 743.3018$ $[M+H]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 743.3027$) und $m/z = 765.2857$ $[M+Na]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 765.2847$) für Summenformel $C_{37}H_{46}N_2O_{14}$ ($M = 742.2949$).

N^{α} -(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)- N^{ϵ} , N^{ϵ} -di-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-lysin (66)

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 200 mg **60** (0.512 mmol, 1 Äq.), 190 mg Fmoc-Lysin-OH (**57**) (0.516 mmol, 1 Äq.) in 10 mL trockenem Acetonitril gelöst und drei Stunde bei Raumtemp. gerührt. Im Weiteren wurden 109 mg $NaBH(OAc)_3$ (0.514 mmol, 1 Äq.) zugegeben und anschließend



über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Danach wurden weitere 200 mg **60** (0.512 mmol, 1 Äq.) zugegeben und wiederum drei Stunden bei Raumtemp. gerührt, die Reaktionsmischung mit weiteren 118 mg $NaBH(OAc)_3$ (0.556 mmol, 1.1 Äq.) versetzt und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Abschließende Reinigung erfolgte an Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Methanol, 4:1). Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 238 mg, 0.213 mmol (41%);

R_f -Wert: 0.7 (Essigester / Methanol, 1:1);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +23.6$ ($c = 1.4$, CH_2Cl_2);

IR: 3348 (br), 1738, 1560, 1366, 1216, 1040, 740 cm^{-1} ;

1H -NMR (600 MHz, $MeOH-d_4$): $\delta = 7.82$ (d, 2H, $^3J = 7.6$ Hz, Ar-H), 7.69 (t, 2H, $^3J = 8.3$ Hz, Ar-H), 7.41 (t, 2H, $^3J = 7.2$ Hz, Ar-H), 7.34 (t, 2H, $^3J = 6.8$ Hz, Ar-H), 5.33 – 5.26 (m, 6H, H-2, H-3, H-4), 4.94 (bs, 2H, H-1), 4.37 (bs, 2H, CH_2 -Fmoc), 4.29 (dd, 2H, $^3J_{5,6a} = 4.7$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.1$ Hz, H-6a), 4.24 (dd ~ t, 1H, $^3J_{CHH-Fmoc, CH-Fmoc} = 6.5$ Hz, CH -Fmoc), 4.12 (dd, 2H, $^3J_{5,6b} = 1.8$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6b), 4.12 – 4.09 (m, 3H, H-5, H- α), 3.98 – 3.88 (m, 2H, $OCHHCH_2$), 3.79 – 3.70 (m, 2H, $OCHHCH_2$), 3.18 – 3.08 (bs, 4H, OCH_2CH_2),

2.88 – 2.80 (bs, 2H, H-ε), 2.15, 2.08, 2.05, 1.98 (s, je 6H, OAc), 1.76 (bs, 2H, H-β), 1.66 (bs, 2H, H-δ), 1.49 (bs, 2H, H-γ) ppm;

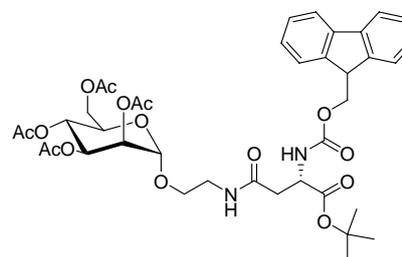
¹³C-NMR (150 MHz, MeOH-d₄): δ = 172.3 (C=O), 171.6, 171.5, 171.5, 171.4 (C=O), 157.1 (C=O-Fmoc), 145.4 (C-Ar), 142.5 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 128.1 (C-Ar), 126.2 (C-Ar), 120.9 (C-Ar), 98.9 (C-1), 70.7 (C-2), 70.3 (C-3), 70.0 (C-5), 67.7 (CH₂-Fmoc), 67.2 (C-4), 66.1 (OCH₂CH₂), 63.6 (C-6), 56.7 (C-α), 56.4 (C-ε), 54.4 (OCH₂CH₂), 48.5 (CH-Fmoc), 33.2 (C-β), 26.6 (C-δ), 24.4 (C-γ), 20.7, 20.6, 20.6, 20.6 (COCH₃) ppm;

HRESI-MS: *m/z* = 1117.4307 [M+H]⁺-Ion (ber.: *m/z* = 1117.4240) und *m/z* = 1139.4093 [M+Na]⁺-Ion (ber.: *m/z* = 1139.4060) für Summenformel C₅₃H₆₈N₂O₂₄ (M = 1116.4162).

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*N*^γ-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-*α*-D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-asparagin-*O*-*tert*-butylester (75)**

1.

Nach AAV 5 wurden 617 mg Fmoc-Asp(OH)-*O*^tBu (74) (1.50 mmol, 1.5 Äq.), 390 mg 67 (0.997 mmol, 1 Äq.), 570 mg HATU (1.49 mmol, 1.5 Äq.) und 261 μL DIPEA (1.49 mmol, 1.5 Äq) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel:



Essigester / Toluol, 2:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 353 mg, 0.450 mmol (45%);

R_F-Wert: 0.4 (Essigester /Toluol, 2:1);

Smp.: 81°C;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +28.6$ (c = 1.4, CH₂Cl₂);

IR: 1738, 1521, 1366, 1216, 1151, 1042, 740 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.76 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, Ar-H), 7.60 (d, 2H, ³J = 7.2 Hz, Ar-H), 7.39 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, Ar-H), 7.30 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, Ar-H), 6.18 (bs, 1H, CH₂NHCO), 6.05 (d, 1H, ³J_{NH,H-α} = 8.2 Hz, NH-Fmoc), 5.33 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.2 Hz, ³J_{3,4} = 9.9 Hz, H-3), 5.29 – 5.24 (m, 2H, H-2, H-4), 4.82 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.6 Hz, H-1), 4.51 (bs, 1H, H-α), 4.41 (dd ~ t, 1H, J = 7.9 Hz, CHH-Fmoc), 4.31 (dd ~ t, 1H, J = 7.6 Hz, CHH-Fmoc),

4.27 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 5.5$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a), 4.23 (m, 1H, CH-Fmoc), 4.12 (dd, 1H, $^3J_{5,6b} = 2.5$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6b), 3.98 (ddd, 1H, $^3J_{5,4} = 9.9$ Hz, $^3J_{5,6a} = 5.5$ Hz, $^3J_{5,6b} = 2.5$ Hz, H-5), 3.78 – 3.72 (m, 1H, OCH₂CH₂), 3.60 – 3.51 (m, 2H, OCH₂CH₂, OCH₂CH₂), 3.46 – 3.37 (m, 1H, OCH₂CH₂), 2.91 (dd, 1H, $^3J_{H-\alpha, H-\beta a} = 5.6$ Hz, $^2J_{H-\beta a, H-\beta b} = 15.1$ Hz, H-βa), 2.90 (dd, 1H, $^3J_{H-\alpha, H-\beta b} = 5.9$ Hz, $^2J_{H-\beta a, H-\beta b} = 15.1$ Hz, H-βb), 2.14, 2.09, 2.04, 1.98 (s, je 3H, OAc), 1.47 (s, 9H, CCH₃) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃): δ = 170.6 (NHCO-β), 170.1 (COO-^tBu), 170.0, 169.9, 169.9, 169.6 (COCH₃), 156.2 (COO-Fmoc), 143.9 (C-Ar), 141.2 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 127.0 (C-Ar), 125.2 (C-Ar), 119.9 (C-Ar), 97.7 (C-1), 82.3 (CCH₃), 69.3 (C-2), 68.9 (C-3), 68.7 (C-5), 67.4 (OCH₂CH₂), 67.1 (CH₂-Fmoc), 66.2 (C-4), 62.5 (C-6), 51.4 (C-α), 47.1 (CH-Fmoc), 39.1 (OCH₂CH₂), 38.1 (C-β), 27.9 (C(CH₃)₃), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 (COCH₃) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 807.74$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 807.29$) und $m/z = 826.68$ [M+K]⁺-Ion (ber.: $m/z = 823.26$) für Summenformel C₃₉H₄₈N₂O₁₅ (M = 784.30);

HRESI-MS: $m/z = 807.2964$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 807.2952$) für Summenformel C₃₉H₄₈N₂O₁₅ (M = 784.3055).

2.

Nach AAV 4 wurden 150 mg **70** (0.359 mmol, 1 Äq.), 324 mg Fmoc-Asp(OH)-O^tBu (**74**) (0.788 mmol, 1.8 Äq.), 105 mg HOBt (0.777 mmol, 1.8 Äq.), 121 µL DIC (0.781 mmol, 1.8 Äq.) und 100 µL Tri-*n*-butylphosphin (0.400 mmol, 1.1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester, 1:1) und in einem zweiten Reinigungsschritt ebenfalls an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester / Methanol, 5:4:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

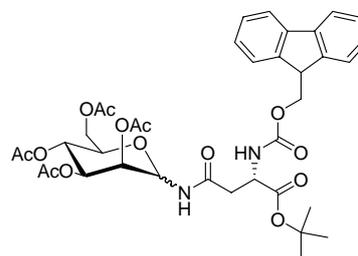
Ausbeute: 207 mg, 0.263 mmol (72%);

R_f-Wert: 0.52 (Cyclohexan / Essigester / Methanol, 5:4:1);

Die analytischen Daten stimmten mit denen von 1. überein.

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*N*^β-(1-aza-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α,β -D-mannopyranosyl)-L-asparagin-*O*-*tert*-butylester (77)**

Nach **AAV 4** wurden 150 mg **76** (0.359 mmol, 1 Äq.), 324 mg Fmoc-Asp(OH)-*O*^tBu (**74**) (0.788 mmol, 1.8 Äq.), 105 mg HOBt (0.777 mmol, 1.8 Äq.), 121 μ L DIC (0.781 mmol, 1.8 Äq.) und 100 μ L Tri-*n*-butylphosphin (0.400 mmol, 1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde



säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel:

Cyclohexan / Essigester, 1:2) und in einem zweiten Reinigungsschritt an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester / Methanol, 5:4:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 221 mg, 0.298 mmol (73%), Anomerenverhältnis: 1:1;

R_f-Wert: 0.45 (Cyclohexan / Essigester, 1:2);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +20.3$ (c = 1.2, CH₂Cl₂);

IR: 2976, 1725, 1520, 1448, 1366, 1214, 1044, 844, 740 cm⁻¹;

Alpha-Anomer:

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ = 9.16 (d, 1H, ³J_{1,NH} = 9.3 Hz, C-1-NHCO), 7.87 (d, 2H, ³J = 7.4 Hz, H-Ar), 7.69 (d, 2H, ³J = 7.2 Hz, H-Ar), 7.56 (d, 1H, ³J_{NH,H- α} = 8.5 Hz, NHFmoc), 7.41 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, H-Ar), 7.32 (t, 2H, ³J = 7.3 Hz, H-Ar), 5.55 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.4 Hz, ³J_{3,4} = 9.8 Hz, H-3), 5.48 (dd, 1H, ³J_{1,2} = 1.9 Hz, ³J_{1,NH} = 9.3 Hz, H-1), 5.10 (dd ~ t, 1H, J = 9.9 Hz, H-4), 5.06 (dd, 1H, ³J_{1,2} = 1.8 Hz, ³J_{2,3} = 3.5 Hz, H-2), 4.34 – 4.27 (m, 3H, H- α , CH₂-Fmoc), 4.22 (m_c, 1H, CHFmoc), 4.13 (dd, 1H, ³J_{5,6a} = 4.6 Hz, ²J_{6a,6b} = 12.5 Hz, H-6a), 4.00 – 3.93 (m, 2H, H-5, H-6b), 2.73 (dd, 1H, ³J_{H- α ,H- β a} = 6.3 Hz, ²J_{H- β a,H- β b} = 15.5 Hz, H- β a), 2.67 (dd, 1H, ³J_{H- α ,H- β b} = 5.7 Hz, ²J_{H- β a,H- β b} = 15.6 Hz, H- β b), 2.11, 2.01, 1.98, 1.95 (s, je 3H, OAc), 1.36 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆): δ = 170.5, 170.3, 170.2, 169.8, 169.7, 169.6 (NHCO- β , COO-^tBu, COCH₃), 155.9 (COO-Fmoc), 143.8 (C-Ar), 140.8 (C-Ar), 127.7 (C-Ar), 127.1 (C-Ar), 125.3 (C-Ar), 120.2 (C-Ar), 80.9 (CCH₃), 75.3 (C-1), 72.6 (C-5), 69.4 (C-2), 68.4 (C-3), 66.1 (C-4), 65.5 (CH₂-Fmoc), 62.2 (C-6), 51.0 (C- α), 46.7 (CH-Fmoc), 36.8 (C- β), 27.6 (C(CH₃)₃), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (COCH₃) ppm;

Beta-Anomer:

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ = 8.58 (d, 1H, $^3J_{1,\text{NH}}$ = 8.9 Hz, C-1-NHCO), 7.87 (d, 2H, 3J = 7.4 Hz, H-Ar), 7.69 (d, 2H, 3J = 7.2 Hz, H-Ar), 7.56 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\alpha}$ = 8.5 Hz, NHFmoc), 7.41 (t, 2H, 3J = 7.4 Hz, H-Ar), 7.32 (t, 2H, 3J = 7.3 Hz, H-Ar), 5.66 (d, 1H, $^3J_{1,\text{NH}}$ = 9.0 Hz, H-1), 5.32 (dd, 1H, $^3J_{2,3}$ = 3.3 Hz, $^3J_{3,4}$ = 10.1 Hz, H-3), 5.20 – 5.17 (m, 1H, H-2), 5.03 (dd ~ t, 1H, J = 10.0 Hz, H-4), 4.34 – 4.27 (m, 3H, H- α , CH₂-Fmoc), 4.22 (m_c, 1H, CHFmoc), 4.13 (dd, 1H, $^3J_{5,6a}$ = 4.6 Hz, $^2J_{6a,6b}$ = 12.5 Hz, H-6a), 4.00 – 3.93 (m, 2H, H-5, H-6b), 2.73 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta a}$ = 6.3 Hz, $^2J_{\text{H-}\beta a,\text{H-}\beta b}$ = 15.5 Hz, H- βa), 2.67 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta b}$ = 5.7 Hz, $^2J_{\text{H-}\beta a,\text{H-}\beta b}$ = 15.6 Hz, H- βb), 2.11, 2.01, 1.98, 1.95 (s, je 3H, OAc), 1.36 (s, 9H, C(CH₃)₃) ppm;

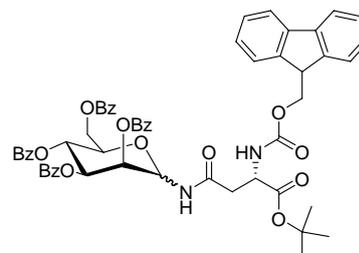
¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆): δ = 170.5, 170.3, 170.2, 169.8, 169.7, 169.6 (NHCO- β , COO-*t*Bu, COCH₃), 155.9 (COO-Fmoc), 143.8 (C-Ar), 140.8 (C-Ar), 127.7 (C-Ar), 127.1 (C-Ar), 125.3 (C-Ar), 120.2 (C-Ar), 80.9 (CCH₃), 76.4 (C-1), 71.0 (C-3), 69.4 (C-2), 68.7 (C-5), 65.5 (CH₂-Fmoc), 65.4 (C-4), 62.2 (C-6), 51.0 (C- α), 46.7 (CH-Fmoc), 36.8 (C- β), 27.6 (C(CH₃)₃), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (COCH₃) ppm;

MALDI-ToF-MS: m/z = 763.42 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 763.26) und m/z = 779.39 [M+K]⁺-Ion (ber.: m/z = 779.24) für Summenformel C₃₇H₄₄N₂O₁₄ (M = 740.27);

HRESI-MS: m/z = 763.2631 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 763.2690) für Summenformel C₃₇H₄₄N₂O₁₄ (M = 740.2793).

***N* ^{α} -(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*N* ^{β} -(1-aza-2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- α,β -D-mannopyranosyl)-L-asparagin-*O*-*tert*-butylester (88)**

Nach AAV 4 wurden 124 mg **87** (0.199 mmol, 1 Äq.), 142 mg Fmoc-Asp(OH)-*O*^{*t*}Bu (**74**) (0.345 mmol, 1.8 Äq.), 45 mg HOBT (0.78 mmol, 1.8 Äq.), 53 μ L DIC (0.34 mmol, 1.8 Äq.) und 48 μ L Tri-*n*-butylphosphin (0.19 mmol, 1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde



säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester, 4:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: Alpha: 20 mg, 0.02 mmol (10%);

Beta: 133 mg, 0.134 mmol (67%);

R_f-Wert: Alpha: 0.2 (Cyclohexan / Essigester, 4:1);

Beta: 0.1 (Cyclohexan / Essigester, 4:1);

Alpha-Anomer:

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 8.10 (d, 2H, ³J = 7.2 Hz, H-Ar), 8.07 (d, 2H, ³J = 7.2 Hz, H-Ar), 7.95 (d, 2H, ³J = 7.4 Hz, H-Ar), 7.83 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H-Ar), 7.74 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H-Ar), 7.60 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H-Ar), 7.44 – 7.26 (m, 16H, H-Ar), 6.30 (dd ~ t, 1H, J = 9.6 Hz, H-4), 5.91 (d, 1H, ³J_{NH,α} = 8.0 Hz, NHFmoc), 5.87 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.1 Hz, ³J_{3,4} = 10.1 Hz, H-3), 5.77 (m_c, 1H, H-2), 5.42 (bs, 1H, H-1), 4.79 – 4.71 (m, 2H, H-5, H-6a), 4.68 (m_c, 1H, H-α), 4.50 (dd, 1H, ³J_{5,6b} = 4.0 Hz, ²J_{6a,6b} = 12.6 Hz, H-6b), 4.41 (dd, 1H, ³J_{H-α,CHHFmoc} = 7.4 Hz, ²J_{CHHFmoc,CHHFmoc} = 11.1 Hz, CHHFmoc), 4.41 (dd, 1H, ³J_{H-α,CHHFmoc} = 7.2 Hz, ²J_{CHHFmoc,CHHFmoc} = 11.2 Hz, CHHFmoc), 4.22 (dd ~ t, 1H, J = 7.2 Hz, CH-Fmoc), 3.52 (dd ~ d, 1H, J = 16.1 Hz, H-βa), 3.37 (dd ~ d, 1H, J = 16.0 Hz, H-βb), 1.50 (s, 9H, CCH₃) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃): δ = 172.2, 169.5 (NHCO-β, COO-^tBu), 166.1, 165.6, 165.3, 165.2 (CO-Ar), 156.1 (COO-Fmoc), 143.9 (C-Ar), 141.3 (C-Ar), 133.7 (C-Ar), 129.8 (C-Ar), 129.5 (C-Ar), 128.7 (C-Ar), 128.4 (C-Ar), 127.0 (C-Ar), 125.2 (C-Ar), 119.9 (C-Ar), 93.0 (J_{C-1,H-1} = 168 Hz, C-1), 82.8 (CCH₃), 71.8 (C-5), 70.6 (C-2), 69.9 (C-3), 67.4 (CH₂-Fmoc), 67.2 (C-4), 62.7 (C-6), 50.4 (C-α), 47.1 (CH-Fmoc), 36.5 (C-β), 27.9 (C(CH₃)₃) ppm;

Beta-Anomer:

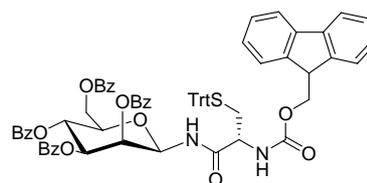
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 8.07 (d, 2H, ³J = 7.1 Hz, H-Ar), 8.02 (d, 2H, ³J = 7.3 Hz, H-Ar), 7.90 (d, 2H, ³J = 7.2 Hz, H-Ar), 7.86 (d, 2H, ³J = 7.6 Hz, H-Ar), 7.77 (d, 2H, ³J = 7.7 Hz, H-Ar), 7.73 (d, 2H, ³J = 7.7 Hz, H-Ar), 7.59 – 7.21 (m, 16H, H-Ar), 6.78 (d, 1H, ³J_{1,NH} = 8.5 Hz, C-1-NHCO), 6.08 (dd ~ t, 1H, J = 10.1 Hz, H-4), 6.00 (d, 1H, ³J_{NH,H-α} = 7.6 Hz, NHFmoc), 5.95 – 5.89 (m, 1H, H-2), 5.88 – 5.84 (m, 1H, H-1), 5.67 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.1 Hz, ³J_{3,4} = 10.2 Hz, H-3), 4.70 – 4.65 (m, 1H, H-6a), 4.47 (dd, 1H, ³J_{5,6a} = 4.0 Hz, ²J_{6a,6b} = 12.1 Hz, H-6b), 4.45 – 4.37 (m, 2H, H-α, CHHFmoc), 4.27 – 4.20 (m, 2H, CHHFmoc, H-5), 4.15 (m_c, 1H, CHFmoc), 2.88 (dd ~ d, 1H, J = 15.5 Hz, H-βa), 2.76 (dd ~ d, 1H, J = 15.6 Hz, H-βb), 1.46 (s, 9H, CCH₃) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.2, 169.7$ ($\text{NHCOC-}\beta$, $\text{COO-}^t\text{Bu}$), 166.1, 165.7, 165.4, 165.1 (CO-Ar), 156.2 (COO-Fmoc), 143.8 (C-Ar), 141.2 (C-Ar), 133.5 (C-Ar), 129.8 (C-Ar), 129.7 (C-Ar), 129.0 (C-Ar), 128.4 (C-Ar), 127.1 (C-Ar), 125.2 (C-Ar), 119.9 (C-Ar), 83.1 (C-1), 82.8 (CCH_3), 74.2 (C-5), 72.5 (C-3), 70.9 (C-2), 70.5 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 66.4 (C-4), 62.6 (C-6), 51.0 ($\text{C-}\alpha$), 47.0 (CH-Fmoc), 38.5 ($\text{C-}\beta$), 27.9 ($\text{C(CH}_3)_3$) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 1011.3250$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 1011.3316$) für Summenformel $\text{C}_{57}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_{14}$ ($\text{M} = 988.3419$).

N^{α} -(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)- N -(1-aza-2,3,4,6-tetra- O -benzoyl- β -D-mannopyranosyl)- S -(triphenylmethyl)- L -cysteinamid (89)

Nach **AAV 4** wurden 117 mg **87** (0.188 mmol, 1 Äq.), 133 mg Fmoc-Cys(Trt)-OH (**40**) (0.323 mmol, 1.8 Äq.), 43 mg HOBt (0.78 mmol, 1.8 Äq.), 50 μL DIC (0.32 mmol, 1.8 Äq.) und 45 μL Tri-*n*-butylphosphin (0.19 mmol, 1 Äq.)



umgesetzt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester, 4:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 90 mg, 0.07 mmol (42%);

R_f-Wert: 0.14 (Cyclohexan / Essigester, 4:1);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.11$ (d, 2H, $^3J = 7.1$ Hz, H-Ar), 8.05 (d, 2H, $^3J = 7.2$ Hz, H-Ar), 7.91 (d, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, H-Ar), 7.88 (d, 2H, $^3J = 7.7$ Hz, H-Ar), 7.75 (d, 2H, $^3J = 7.7$ Hz, H-Ar), 7.70 (d, 2H, $^3J = 7.7$ Hz, H-Ar), 7.45 – 7.17 (m, 31H, H-Ar), 6.93 (d, 1H, $^3J_{1,\text{NH}} = 7.8$ Hz, CHNHCO), 6.01 (dd ~ t, 1H, $J = 10.1$ Hz, H-4), 5.78 (bs, 1H, NHFmoc), 5.75 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.0$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-2), 5.70 (d, 1H, $^3J_{1,\text{NH}} = 8.1$ Hz, H-1), 5.65 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.1$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.2$ Hz, H-3), 4.64 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 2.5$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a), 4.43 (dd, 1H, $^3J_{5,6b} = 4.4$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.3$ Hz, H-6b), 4.24 – 4.13 (m, 2H, H-5, CHHFmoc), 4.09 – 3.94 (m, 2H, CHHFmoc , CHFmoc), 3.73 – 3.60 (m, 1H, C- α), 2.72 – 2.65 (m, 1H, H- β a), 2.64 – 2.56 (m, 1H, H- β b) ppm;

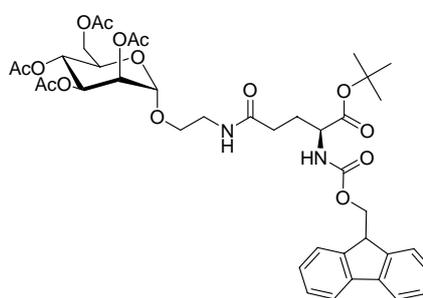
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): $\delta = 172.1$ ($\text{NHCOC-}\beta$), 166.0, 165.4, 165.3, 165.2 (CO-Ar), 156.5 (COO-Fmoc), 143.6 – 119.9 (14 C-Ar), 76.8 ($J_{\text{C-1,H-1}} = 158$ Hz, C-1), 74.2 (C-

5), 72.3 (C-3), 70.6 (C-2), 67.4 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Fmoc}$), 67.1 (C-4), 62.7 (C-6), 55.2 ($\underline{\text{C}}\text{-}\alpha$), 46.9 ($\underline{\text{C}}\text{H-Fmoc}$), 33.9 ($\underline{\text{C}}\text{-}\beta$) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 1185.4185$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 1185.3608$) und $m/z = 1201.3852$ $[\text{M}+\text{K}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 1201.3348$) für Summenformel $\text{C}_{71}\text{H}_{58}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{S}$ ($\text{M} = 1162.3710$).

N^α -(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)- N^δ -[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-glutamin-*O*-*tert*-butylester (91)

Nach einer veränderten Version von **AAV 4** wurden 150 mg **70** (0.359 mmol, 1 Äq.), 274 mg Fmoc-Glu(OH)-*O*^tBu (**90**) (0.646 mmol, 1.8 Äq.), 105 mg HOBt (0.777 mmol, 1.8 Äq.), 121 μL DIC (0.781 mmol, 1.8 Äq.) und 170 mg Triphenylphosphin (0.648 mmol, 1.8 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand



wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan \rightarrow Cyclohexan / Essigester, 1:1 \rightarrow Essigester) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 186 mg, 0.232 mmol (64%);

R_f -Wert: 0.33 (Cyclohexan / Essigester, 1:1);

Smp.: 81°C;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = 28.6$ ($c = 1.0$, CH_2Cl_2);

IR: 3327, 2975, 1737, 1527, 1449, 1366, 1217, 1138, 1043, 977, 909, 844, 726 cm^{-1} ;

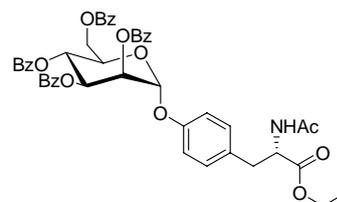
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.75$ (d, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, Ar-H), 7.61 (d, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, Ar-H), 7.38 (m_c , 2H, Ar-H), 7.30 (m_c , 2H, Ar-H), 6.47 (bs, 1H, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{NHCO}$), 5.67 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H-}\alpha} = 7.9$ Hz, $\underline{\text{N}}\underline{\text{H}}$ -Fmoc), 5.35 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.5$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.27 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, H-2), 5.26 – 5.24 (m, 1H, H-4), 4.82 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-1), 4.42 – 4.37 (m, 2H, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\text{-Fmoc}$), 4.25 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 5.5$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a), 4.25 – 4.19 (m, 2H, $\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}$ -Fmoc, H- α), 4.05 – 4.01 (m, 1H, H-6b), 3.99 (m_c , 1H, H-5), 3.80 – 3.75 (m, 1H, $\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\underline{\text{H}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$), 3.58 – 3.50 (m, 2H, $\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\underline{\text{H}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2$, $\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\underline{\text{H}}$), 3.45 – 3.41 (m, 1H, $\underline{\text{O}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}\underline{\text{H}}$), 3.16 – 3.03 (m, 1H, H- γ a), 2.98 – 2.78 (m, 1H, H- γ b), 2.31 – 2.25 (m, 2H, H- β), 2.12, 2.11, 2.07, 1.96 (s, je 3H, OAc), 1.47 (s, 9H, $\underline{\text{C}}\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$) ppm;

^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.1$ ($\text{NHCOOC-}\gamma$), 170.6 ($\text{COO-}^t\text{Bu}$), 169.9, 169.9, 169.6, 169.5 (COCH_3), 157.1 (COO-Fmoc), 143.9 (C-Ar), 141.3 (C-Ar), 127.7 (C-Ar), 127.0 (C-Ar), 125.2 (C-Ar), 119.9 (C-Ar), 97.8 (C-1), 82.4 (CCH_3), 69.3 (C-2), 69.0 (C-3), 68.9 (C-5), 67.3 (OCH_2CH_2), 67.0 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 66.1 (C-4), 62.4 (C-6), 53.8 ($\text{C-}\alpha$), 49.0 (CH-Fmoc), 39.0 (OCH_2CH_2), 32.4 ($\text{C-}\gamma$), 29.1 ($\text{C-}\beta$), 27.9 ($\text{C(CH}_3)_3$), 20.8, 20.6, 20.6, 20.5 (COCH_3) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 821.3118$ [M+Na] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 821.3109$) für Summenformel $\text{C}_{40}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_{15}$ ($\text{M} = 798.3211$).

N^{α} -Acetyl-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranosyl)-L-tyrosin-*O*-ethylester (107)

Nach einer abgeänderten **AAV 2 a**) wurden 147 mg **104** (0.586 mmol, 1.2 Äq.), 341 mg **106** (0.488 mmol, 1 Äq.) und 301 μl BF_3 -Etherat (2.44 mmol, 5 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Toluol, 1:2) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.



Ausbeute: 349 mg, 0.421 mmol (72%);

R_f-Wert: 0.2 (Essigester / Toluol, 1:2);

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.08$ (d, 2H, $^3J = 7.0$ Hz, H-Ar), 8.05 (d, 2H, $^3J = 7.0$ Hz, H-Ar), 7.96 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, H-Ar), 7.87 (d, 2H, $^3J = 7.0$ Hz, H-Ar), 7.60 – 7.21 (m, 12H, H-Ar), 7.14 (d, 2H, $^3J = 8.6$ Hz, H-Ar), 7.05 (d, 2H, $^3J = 8.6$ Hz, H-Ar), 6.18 (dd~t, 1H, $^3J = 9.9$ Hz, H-4), 6.12 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, H-3), 5.9 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H-}\alpha} = 7.9$ Hz, NH), 5.87 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.9$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-2), 5.76 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.9$ Hz, H-1), 4.83 (m_c, 1H, H- α), 4.65 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 2.4$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a), 4.55 (ddd, 1H, $^3J_{5,4} = 9.9$ Hz, $^3J_{5,6a} = 4.5$ Hz, $^3J_{5,6b} = 2.4$ Hz, H-5), 4.47 (dd, 1H, $^3J_{5,6b} = 4.5$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6b), 4.17 (m_c, 2H, CH_2CH_3), 3.10 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta a} = 5.9$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta a,\text{H-}\beta b} = 14.0$ Hz, H- βa), 3.06 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta b} = 5.3$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta a,\text{H-}\beta b} = 14.0$ Hz, H- βb), 1.99 (s, 3H, NHAc), 1.25 (t, 3H, $^3J_{\text{CH}_2\text{CH}_3,\text{CH}_2\text{CH}_3} = 7.1$ Hz, CH_2CH_3) ppm;

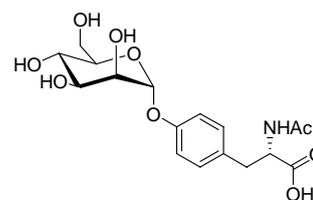
$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.5$ (COOEt), 169.5 (COCH_3) 166.0, 165.5, 165.4, 165.4 (CO-Ar), 155.4 (C-Ar), 133.6 – 128.3 (C-Ar), 116.7 (C-Ar), 96.1 (C-1), 70.3 (C-2), 69.9 (C-3), 69.5 (C-5), 66.8 (C-4), 62.7 (C-6), 61.5 (CH_2CH_3), 53.2 ($\text{C-}\alpha$), 37.1 (C- β), 23.2 (COCH_3), 14.1 (CH_2CH_3) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 851.53$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 852.26$) für Summenformel $\text{C}_{47}\text{H}_{43}\text{NO}_{13}$ ($M = 829.27$);

HRESI-MS: $m/z = 852.2608$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 852.2632$) für Summenformel $\text{C}_{47}\text{H}_{43}\text{NO}_{13}$ ($M = 829.2734$).

N^a -Acetyl- O - α -D-mannopyranosyl-L-tyrosin (108)

200 mg **107** (0.241 mmol, 1 Äq.) wurden in 5 mL THF/Wasser gelöst und mit 20 mg Natriumhydroxid (0.50 mmol, 2.1 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle). Die



Reaktionsmischung wurde mit Amberlite 120 neutralisiert, filtriert und die flüchtigen Bestandteile im Vakuum entfernt. Abschließende Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an RP-Kieselgel ((MPLC) Laufmittel: Acetonitril / Wasser, 1:1), wodurch das Produkt als farbloser Schaum erhalten werden konnte.

Ausbeute: 92 mg, 0.24 mmol (quantitativ);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +5.3$ ($c = 0.6$, MeOH);

IR: 3303, 1689, 1542, 1448, 1369, 1219, 1045, 828, 734, 694, 619 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.22$ (d, 2H, $^3J = 8.3$ Hz, H-Ar), 7.09 (d, 2H, $^3J = 8.3$ Hz, H-Ar), 5.57 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, H-1), 4.58 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}} = 5.4$ Hz, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}} = 8.7$ Hz, H- α), 4.14 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-2), 4.02 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4} = 8.9$ Hz, H-3), 3.80 – 3.68 (m, 4H, H-4, H-5, H-6a, H-6b), 3.16 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}} = 5.4$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}} = 14.0$ Hz, H- βa), 2.95 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}} = 8.7$ Hz, $^3J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}} = 14.0$ Hz, H- βb), 1.92 (s, 3H, NHAc) ppm;

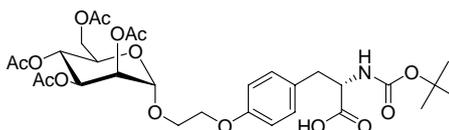
^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 177.0$ (COOH), 175.5 (COCH_3), 156.1 (C-Ar), 132.9 (C-Ar), 130.4 (C-Ar), 118.9 (C-Ar), 100.0 (C-1), 75.1 (C-5), 72.1 (C-3), 71.6 (C-2), 68.3 (C-4), 62.4 (C-6), 56.1 ($\text{C-}\alpha$), 37.6 ($\text{C-}\beta$), 23.2 (COCH_3) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 408.42$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 408.12$) für Summenformel $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_9$ ($M = 385.13$);

HRESI-MS: $m/z = 408.1283$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 408.1271$) für Summenformel $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_9$ ($M = 385.1373$).

N^t -(tert-Butyloxycarbonyl)-O-[2-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-tyrosin (109)

300 mg **53** (0.661 mmol, 1 Äq.) und 372 mg Boc-Tyrosin-OH **105** (1.32 mmol, 2 Äq.) wurden in



5 mL trockenem DMF unter Schutzgasatmosphäre gelöst und mit 138 mg Kaliumcarbonat (1.00 mmol, 1.5 Äq.) und einer Spatelspitze KI versetzt. Der Ansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, das DMF durch Ausschütteln zwischen Ether und gesättigter NaCl-Lösung entfernt, die org. Phasen über MgSO_4 getrocknet, filtriert und die Lösungsmittel entfernt. Abschließende Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester, 1:1). Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 307 mg, 0.468 mmol (71%);

R_f-Wert: 0.2 (Cyclohexan / Essigester, 1:1);

Smp.: 57-58°C;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = 39.8$ ($c = 1.0$, CH_2Cl_2);

IR: 1739, 1513, 1364, 1214, 1043 cm^{-1} ;

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.00$ (d, 2H, $^3J = 8.4$ Hz, H-Ar), 6.79 (d, 2H, $^3J = 8.3$ Hz, H-Ar), 5.31 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.2$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.27 (dd~t, 1H, $^3J = 9.9$ Hz, H-4), 5.21 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-2), 5.06 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H-}\alpha} = 7.7$ Hz, NH_{Boc}), 4.80 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-1), 4.52 (m_c , 1H, H- α), 4.27 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 5.4$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a), 4.23 (m_c , 1H, OCH_2CHH), $4.15 - 4.10$ (m, 2H, H-6b,

OCH₂CHH), 4.01 – 3.96 (m, 1H, H-5), 3.80 (ddd, 1H, ³J_{OCH₂CHHCH₂,OCH₂CHH} = 3.3 Hz, ³J_{OCH₂CHHCH₂,OCH₂CHH} = 5.7 Hz, ²J_{OCH₂CHHCH₂,OCH₂CHHCH₂} = 11.5 Hz, OCH₂CHHCH₂), 3.60 (ddd, 1H, ³J_{OCH₂CHHCH₂,OCH₂CHH} = 3.3 Hz, ³J_{OCH₂CHHCH₂,OCH₂CHH} = 5.8 Hz, ²J_{OCH₂CHHCH₂,OCH₂CHHCH₂} = 11.6 Hz, OCH₂CHHCH₂), 3.08 – 3.02 (m, 1H, H-βa), 3.01 – 2.98 (m, 1H, H-βb), 2.16, 2.10, 2.02, 2.01 (s, je 3H, OAc), 1.42 (s, 9H, CH₃) ppm;

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 172.2 (COOH), 170.7, 170.2, 170.2, 169.7 (COCH₃), 155.4 (COO-Boc), 155.1 (C-Ar), 130.3 (C-Ar), 115.6 (C-Ar), 97.4 (C-1), 79.9 (CCH₃) 69.4 (C-2), 69.0 (C-3), 68.6 (C-5), 66.1 (C-4), 65.7 (OCH₂CH₂), 63.5 (OCH₂CH₂), 62.4 (C-6), 54.8 (C-α), 37.7 (C-β), 28.27 (CH₃) 20.8, 20.7, 20.7, 20.6 (COCH₃) ppm;

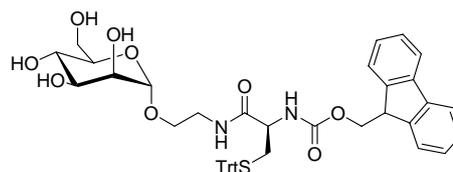
MALDI-ToF-MS: *m/z* = 677.96 [M+Na]⁺-Ion (ber.: *m/z* = 678.23) und *m/z* = 693.91 [M+K]⁺-Ion (ber.: *m/z* = 694.21) für Summenformel C₃₀H₄₁NO₁₅ (M = 655.24);

HRESI-MS: *m/z* = 678.2418 [M+Na]⁺-Ion (ber.: *m/z* = 678.2374) für Summenformel C₃₀H₄₁NO₁₅ (M = 655.2476).

9.3.2 Vorschriften für die Synthese der Glykocluster

N^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*N*-[2-(α-D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-*S*-(triphenylmethyl)-L-cysteinamid (110)

Nach AAV 5 wurden 1.28 g Fmoc-Cystein(Trt)-OH (40) (2.18 mmol, 1 Äq.), 970 mg 70 (4.34 mmol, 2 Äq.), 913 mg HATU (2.40 mmol, 1.1 Äq.) und 418 μL DIPEA (2.40 mmol, 1.1 Äq.) umgesetzt.



Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester / Methanol, 4:7:1) wurde das Produkt als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 1.47 g, 1.86 mmol (85%);

R_f-Wert: 0.25 (Cyclohexan / Essigester /Methanol, 4:7:1);

IR: 3456, 2356, 2246, 2127, 1666, 1023, 1004, 821, 758, 622, 532, 494 cm⁻¹;

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-d₄): δ = 7.84 – 7.79 (m, 2H, Ar-H), 7.70 (t, 2H, ³J = 6.5 Hz, Ar-H), 7.44 – 7.41 (m, 8H, Ar-H), 7.33 – 7.23 (m, 11H, Ar-H), 4.77 (d, 1H, ³J_{1,2} = 1.6 Hz,

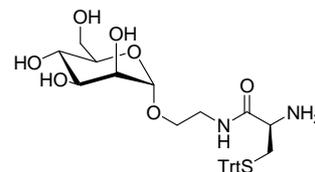
H-1), 4.48 (dd, 1H, $^3J_{\text{CHH-Fmoc,CH-Fmoc}} = 7.2$ Hz, $^2J_{\text{CHH-Fmoc,CHH-Fmoc}} = 10.1$ Hz, $\underline{\text{CHH-Fmoc}}$), 4.33 (dd, 1H, $^3J_{\text{CHH-Fmoc,CH-Fmoc}} = 7.0$ Hz, $^2J_{\text{CHH-Fmoc,CHH-Fmoc}} = 10.1$ Hz, CHH-Fmoc), 4.27 (dd, 1H, $^3J_{\text{CHH-Fmoc,CH-Fmoc}} = 7.1$ Hz, $^3J_{\text{CHH-Fmoc,CH-Fmoc}} = 6.7$ Hz, $\underline{\text{CH-Fmoc}}$), 3.96 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}} = 5.7$ Hz, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}} = 8.4$ Hz, H- α), 3.86 – 3.81 (m, 2H, H-6a, H-2), 3.76 – 3.69 (m, 3H, $\underline{\text{OCHHCH}_2}$, H-3, H-6b), 3.63 (dd ~ t, 1H, $^3J = 9.6$ Hz H-4), 3.55 – 3.48 (m, 2H, H-5, OCHHCH_2), 3.44 - 3.36 (m, 2H, $\text{OCH}_2\underline{\text{CH}_2}$), 2.63 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}} = 5.2$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}} = 12.5$ Hz, H- βa), 2.52 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}} = 8.6$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}} = 12.5$ Hz, H- βb) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, MeOH- d_4): $\delta = 172.8$ ($\underline{\text{COC-}\alpha}$), 158.1 ($\underline{\text{COO-Fmoc}}$), 145.9, 145.1, 142.6, 130.7, 128.9, 128.7, 128.2, 127.9, 126.2, 120.9 (C-Ar), 101.6 (C-1), 74.7 (C-5), 72.6 (C-3), 72.0 (C-2), 68.7 (C-4), 68.1 ($\underline{\text{CH}_2\text{-Fmoc}}$), 67.0 ($\underline{\text{OCH}_2\text{CH}_2}$), 62.9 (C-6), 55.6 (C- α), 48.4 ($\underline{\text{CH-Fmoc}}$), 40.3 ($\text{OCH}_2\underline{\text{CH}_2}$), 35.1 (C- β) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 813.2382$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 813.2822$) für Summenformel $\text{C}_{45}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_9\text{S}$ (M = 790.2924).

N-[2-(α -D-Mannopyranosyloxy)-ethyl]-*S*-(triphenylmethyl)-L-cysteinamid (111)

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 1.77 g **110** (2.24 mmol, 1 Äq.) und 1.17 mL Morpholin (13.4 mmol, 6 Äq.) in 10 mL trockenem DMF für vier Stunden bei Raumtemp. gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und der



Rückstand in Methanol aufgenommen. Der hierbei ausfallende weiße Feststoff wurde abfiltriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 1.27 g, 2.24 mmol (quantitativ);

IR: 3316, 2366, 2168, 2028, 1653, 1439, 1029, 840, 733, 699, 591 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH- d_4): $\delta = 7.45$ (d, 6H, $^3J = 8.0$ Hz, Ar-H), 7.34 (dd, 6H, $^3J = 7.6$ Hz, $^3J = 7.6$ Hz, Ar-H), 7.26 (t, 3H, $^3J = 7.3$ Hz, Ar-H), 4.79 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1), 3.87 – 3.82 (m, 2H, H-6a, H-2), 3.79 (ddd, 1H, $^3J_{\text{OCHHCHH}} = 4.5$ Hz, $^3J_{\text{OCHHCHH}} = 6.4$ Hz, $^2J_{\text{OCHHCH}_2,\text{OCHHCH}_2} = 10.1$ Hz, OCHHCH_2), 3.74 – 3.68 (m, 2H, H-3,

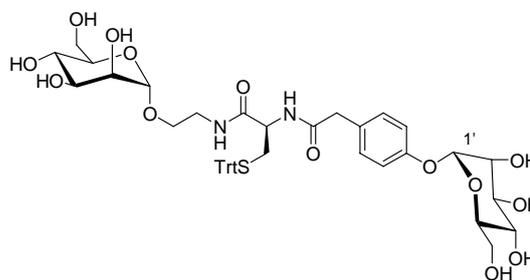
H-6b), 3.63 (dd ~ t, 1H, $^3J = 9.6$ Hz, H-4), 3.59 – 3.43 (m, 2H, OCH₂CH₂, H-5), 3.46 - 3.39 (m, 2H, OCH₂CH₂), 3.17 (dd ~ t, 1H, $^3J = 6.5$ Hz, H- α), 2.59 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}} = 6.0$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}} = 12.1$ Hz, H- βa), 2.44 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}} = 7.0$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}} = 12.1$ Hz, H- βb) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, MeOH- d_4): $\delta = 164.8$ (COC- α), 146.1 (C-Ar), 130.7 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 127.8 (C-Ar), 101.6 (C-1), 74.8 (C-5), 72.6 (C-3), 72.0 (C-2), 68.7 (C-4), 67.1 (OCH₂CH₂), 62.9 (C-6), 55.3 (C- α), 40.2 (OCH₂CH₂), 38.2 (C- β) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 569.2402$ [M+H]⁺-Ion (ber.: $m/z = 569.2321$) für Summenformel C₃₀H₃₆N₂O₇S (M = 568.2243).

***N* ^{α} -{[4-(α -D-Mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-*N*-[2-(α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-*S*-(triphenylmethyl)-L-cysteinamid (112)**

Nach AAV 5 wurden 1.27 g **111** (2.24 mmol, 1.4 Äq.), 503 mg **94** (1.60 mmol, 1 Äq.), 669 mg HATU (1.76 mmol, 1.1 Äq.) und 306 μL DIPEA (1.76 mmol, 1.1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel



(Laufmittel: Cyclohexan / Essigester / Methanol, 1:4:1 \rightarrow Cyclohexan / Essigester / Methanol, 1:4:2) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 632 mg, 0.731 mmol (46%);

R_f-Wert: 0.22 (Cyclohexan / Essigester / Methanol, 1:4:2);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = 51.4$ (c = 1.0, MeOH);

IR: 3292, 2224, 2000, 1647, 1508, 1229, 1014, 698, 613, 459 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH- d_4): $\delta = 7.39$ (d, 6H, $^3J = 8.5$ Hz, Ar-H), 7.31 (dd, 6H, $^3J = 7.5$ Hz, $^3J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.28 – 7.23 (m, 5H, Ar-H), 7.07 (d, 2H, $^3J = 8.7$ Hz, Ar-H), 5.48 (d, 1H, $^3J_{1',2'} = 1.9$ Hz, H-1'), 4.77 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-1), 4.20 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}}$

$\alpha, H-\beta a = 6.1$ Hz, ${}^3J_{H-\alpha, H-\beta b} = 8.1$ Hz, H- α), 4.03 (dd, 1H, ${}^3J_{1', 2'} = 1.9$ Hz, ${}^3J_{2', 3'} = 3.4$ Hz, H-2'), 3.94 (dd, 1H, ${}^3J_{2', 3'} = 3.4$ Hz, ${}^3J_{3', 4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.85 – 3.82 (m, 2H, H-2, H-6a), 3.79 (dd-t, 1H, ${}^3J = 9.7$ Hz, H-4'), 3.75 – 3.70 (m, 5H, H-6a', H-6b', H-6b, H-3, OCH \underline{H} CH $\underline{2}$), 3.63 (dd ~ t, 1H, ${}^3J = 9.5$ Hz, H-4), 3.63 (m $_c$, 1H, H-5'), 3.56 – 3.51 (m, 4H, H-5, COCH $\underline{2}$ C \underline{Ar} , OCH \underline{H} CH $\underline{2}$), 3.38 - 3.37 (m, 2H, OCH $\underline{2}$ CH $\underline{2}$), 2.60 (dd, 1H, ${}^3J_{H-\alpha, H-\beta a} = 6.0$ Hz, ${}^2J_{H-\beta a, H-\beta b} = 12.4$ Hz, H- βa), 2.50 (dd, 1H, ${}^3J_{H-\alpha, H-\beta b} = 8.1$ Hz, ${}^2J_{H-\beta a, H-\beta b} = 12.4$ Hz, H- βb) ppm;

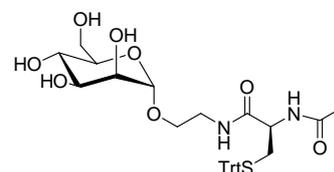
${}^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, MeOH- d_4): $\delta = 174.0$ (NHCOCH $\underline{2}$), 172.4 (COC- α), 157.0 (C-Ar), 145.9 (C-Ar), 131.3 (C-Ar) 130.4 (C-Ar), 130.6, 129.1, 127.9 (C-Ar), 117.8 (C-Ar), 101.6 (C-1), 100.2 (C-1'), 75.2 (C-5'), 74.6 (C-5), 72.5 (C-3), 72.4 (C-3'), 72.0 (C-2), 72.0 (C-2'), 68.7 (C-4), 68.2 (C-4'), 67.9 (CPh $_3$), 66.8 (OCH $\underline{2}$ CH $\underline{2}$), 62.9 (C-6), 62.5 (C-6'), 53.9 (C- α), 42.7 (COCH $\underline{2}$ C-Ar), 40.3 (OCH $\underline{2}$ CH $\underline{2}$), 34.8 (C- β) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 888.26$ [M+Na] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 887.30$) und $m/z = 904.20$ [M+K] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 903.27$) für Summenformel C $_{44}$ H $_{52}$ N $_2$ O $_{14}$ S (M = 864.31);

HRESI-MS: $m/z = 887.3081$ [M+Na] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 887.3037$) für Summenformel C $_{44}$ H $_{52}$ N $_2$ O $_{14}$ S (M = 864.3139).

N $^{\alpha}$ -Acetyl-*N*-[2-(α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-*S*-(triphenylmethyl)-*L*-cysteinamid (113)

420 mg **111** (0.739 mmol, 1 Äq.) wurden in 5 mL trockenem DMF gelöst, mit 532 μ L DIPEA (2.96 mmol, 4 Äq.) und 280 μ L Essigsäureanhydrid (2.96 mmol, 4 Äq.) versetzt und vier Stunden bei Raumtemp. gerührt. Die flüchtigen Bestandteile



wurden *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester / Methanol, 1:4:2) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 452 mg, 0.740 mmol (quantitativ);

R $_f$ -Wert: 0.34 (Cyclohexan / Essigester / Methanol, 1:4:2);

IR: 3267, 2252, 1650, 1535, 1487, 1441, 1371, 1132, 1022, 743, 698, 616 cm $^{-1}$;

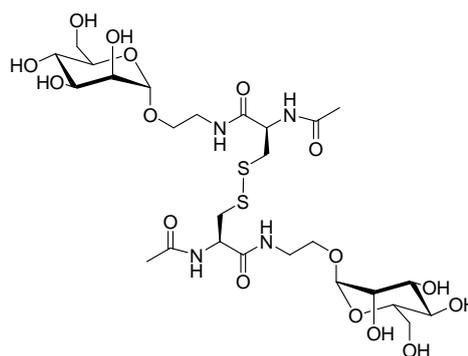
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ = 8.09 (d, 1H, 3J = 8.4 Hz, NHAc), 7.92 (t, 1H, 3J = 5.6 Hz, CH₂NHCO), 7.36 - 7.23 (m, 15H, H-Ar), 4.59 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.5 Hz, H-1), 4.31 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}}$ = 6.2 Hz, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}}$ = 8.0 Hz, H- α), 3.66 - 3.59 (m, 2H, H-6a, H-2), 3.54 (dd, 1H, $^3J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2,\text{OCH}_2\text{CH}_2}$ = 5.9 Hz, $^2J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2,\text{OCH}_2\text{CH}_2}$ = 10.1 Hz, H-OCH₂CH₂), 3.48 - 3.33 (m, 5H, H-3, H-4, H-6b, H-OCH₂CH₂, H-5), 3.22 (dd, 1H, $^3J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2,\text{OCH}_2\text{CH}_2}$ = 6.9 Hz, $^2J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2,\text{OCH}_2\text{CH}_2}$ = 12.6 Hz, OCH₂CH₂), 3.18 (dd, 1H, $^3J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2,\text{OCH}_2\text{CH}_2}$ = 7.0 Hz, $^2J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2,\text{OCH}_2\text{CH}_2}$ = 13.2 Hz, OCH₂CH₂) 2.35 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}}$ = 6.1 Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}}$ = 11.7 Hz, H- βa), 2.29 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}}$ = 7.9 Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}}$ = 11.7 Hz, H- βb), 1.83 (s, 3H, NHAc) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO- d_6): δ = 169.7 (C=OCH₃), 169.1 (C=O- α), 144.2, 129.0, 127.9, 126.6 (C-Ar), 99.9 (C-1), 73.8 (C-5), 70.8 (C-3), 70.1 (C-2), 66.9 (C-4), 65.8 (CPh₃), 65.0 (OCH₂CH₂), 61.1 (C-6), 51.5 (C- α), 38.4 (OCH₂CH₂), 33.8 (C- β), 22.3 (COCH₃) ppm;

HRESI-MS: m/z = 633.2257 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 633.2247) für Summenformel C₃₂H₃₈N₂O₈S (M = 610.2349).

$N^\alpha, N^{\alpha'}$ -Di-acetyl- N, N' -di-[2-(α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-cystindiamid (114)

100 mg **113** (164 μmol , 1 Äq.) wurden in 2 mL trockenem Methanol gelöst und mit 63 mg Iod (0.25 mmol, 1.5 Äq.), welches in 3 mL trockenem Methanol gelöst wurde, versetzt und 15 min bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 3 mL 0.01 N Natriumthiosulfat in Methanol gequencht, die flüchtigen Bestandteile *in*



vacuo entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Methanol, 3:1 → Essigester / Methanol, 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 36 mg, 48 μmol (60%);

R_F-Wert: 0.48 (Essigester / Methanol, 1:1);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -10.5$ (c = 1.1, MeOH);

IR: 3368, 1652, 1436, 1315, 1016, 951, 632, 529, 494 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, MeOH- d_4): $\delta = 4.81$ (d, 2H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, H-1), 4.78 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha, \text{H-}\beta\text{a}} = 5.9$ Hz, $^3J_{\text{H-}\alpha, \text{H-}\beta\text{b}} = 8.3$ Hz, H- α), 4.73 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha', \text{H-}\beta'\text{a}} = 5.6$ Hz, $^3J_{\text{H-}\alpha', \text{H-}\beta'\text{b}} = 8.7$ Hz, H- α'), 3.88 (dd, 2H, $^3J_{5,6\text{a}} = 2.4$ Hz, $^2J_{6\text{a},6\text{b}} = 11.9$ Hz H-6a), 3.86 (dd, 2H, $^3J_{1,2} = 1.7$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-2), 3.82 (ddd, 2H, $^3J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2, \text{OCH}_2\text{CH}_2} = 4.4$ Hz, $^3J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2, \text{OCH}_2\text{CH}_2} = 6.7$ Hz, $^2J_{\text{OCH}_2\text{CH}_2, \text{OCH}_2\text{CH}_2} = 10.9$ Hz, OCH $_2$ CH $_2$), 3.78 – 3.72 (m, 4H, H-3, H-6b), 3.64 (dd ~ t, 2H, $^3J = 9.4$ Hz, H-4), 3.60 – 3.55 (m, 4H, OCH $_2$ CH $_2$ '), H-5), 3.53 – 3.47 (m, 2H, OCH $_2$ CH $_2$), 3.46 – 3.41 (m, 2H, OCH $_2$ CH $_2$), 3.40 – 3.36 (m, 1H, H- βa), 3.23 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha', \text{H-}\beta'\text{a}} = 5.6$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta'\text{a}, \text{H-}\beta'\text{b}} = 13.8$ Hz, H- β' a), 3.19 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha, \text{H-}\beta\text{b}} = 5.6$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a}, \text{H-}\beta\text{b}} = 13.8$ Hz, H- βb), 2.98 (dd, 2H, $^3J_{\text{H-}\alpha', \text{H-}\beta'\text{b}} = 8.7$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta'\text{a}, \text{H-}\beta'\text{b}} = 13.8$ Hz, H- β' b), 2.06 (s, 6H, NHAc) ppm;

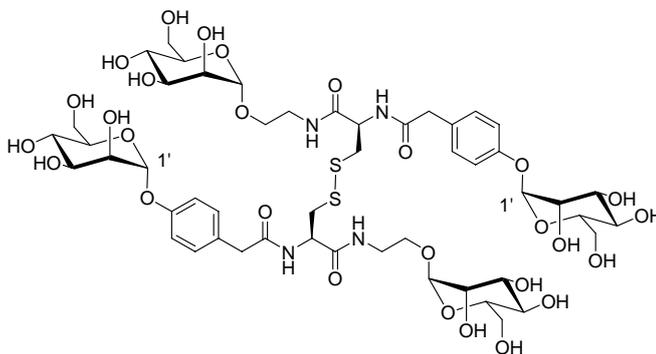
$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, MeOH- d_4): $\delta = 173.5$, 173.4 (C=OCH $_3$), 172.6, 172.3 (C=O α), 101.6 (C-1), 74.7 (C-5), 72.5 (C-3), 72.0 (C-2), 68.8 (C-4), 66.9 (OCH $_2$ CH $_2$), 63.0 C-6), 54.1, 54.0 (C- α), 41.4, 41.0 (C- β), 40.5 (OCH $_2$ CH $_2$), 22.6 (COCH $_3$) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 757.2207$ [M+Na] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 757.2248$) für Summenformel C $_{26}$ H $_{46}$ N $_4$ O $_{16}$ S $_2$ (M = 734.2350).

$N^{\alpha}, N^{\alpha'}$ -Di-[[4-(α -D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido]- N, N' -di-[(α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-cystindiamid (115)

112 mg **112** (129 μmol , 1 Äq.)

wurden in 2 mL trockenem Methanol gelöst und mit 49 mg Iod (0.19 mmol, 1.5 Äq.), welches in 3 mL trockenem Methanol gelöst wurde, versetzt und 15 min bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktion



wurde durch Zugabe von 3 mL 0.01 N Natriumthiosulfat in Methanol gequencht, die flüchtigen Bestandteile *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt per RP-MPLC (Acetonitril / Wasser, 1:1) vorgereinigt. Abschließende Reinigung erfolgte mit Hilfe einer Sephadex LH-20 Säule (Eluent: Methanol). Es wurde ein farbloses Lyophilisat erhalten.

Ausbeute: 31 mg, 25 μmol (39%);

R_f-Wert: 0.91 (Acetonitril / Wasser, 1:1);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +36.1$ (c = 0.6, MeOH);

IR: 3275, 2919, 2359, 1637, 1507, 1223, 1016, 971, 809, 642, 598, 515, 457 cm^{-1} ;

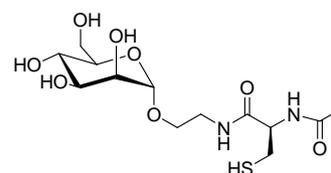
¹H-NMR (600 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 7.28$ (d, 4H, $^3J = 8.8$ Hz, H-Ar), 7.10 (d, 4H, $^3J = 8.7$ Hz, H-Ar), 5.50 (d, 2H, $^3J_{1,2'} = 1.8$ Hz, H-1'), 4.80 (d, 2H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, H-1), 4.76 (dd, 2H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}} = 5.2$ Hz, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}} = 9.1$ Hz, H- α), 4.04 (dd, 2H, $^3J_{1,2'} = 1.8$ Hz, $^3J_{2,3'} = 3.4$ Hz, H-2'), 3.94 (dd, 2H, $^3J_{2,3'} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.90 – 3.74 (m, 8H, H-2, H-4', H-6a, H-6'a), 3.66 – 3.62 (m, 12H, H-3, H-4, H-5', H-6b, H-6'b, OCHHCH₂), 3.58 – 3.51 (m, 8H, H-5, OCH₂C-Ar, OCHHCH₂), 3.45 – 3.40 (m, 4H, OCH₂CH₂), 3.14 (dd, 2H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}} = 5.3$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}} = 13.9$ Hz, H- βa), 2.96 (dd, 2H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}} = 9.1$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}} = 13.9$ Hz, H- βb) ppm;

¹³C-NMR (151 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 174.4$ (NHCOCH₂), 172.4 (NHCO α), 156.9, 131.4, 130.4, 118.0 (CAr), 101.6 (C-1), 100.3 (C-1'), 75.2 (C-5'), 74.7 (C-5), 72.5 (C-3), 72.4 (C-3'), 72.0 (C-2), 71.9 (C-2'), 68.8 (C-4), 68.4 (C-4'), 66.9 (OCH₂CH₂), 62.9 (C-6), 62.6 (C-6'), 54.2 (C- α), 42.7 (COCH₂C-Ar), 41.7 (C- β), 40.4 (OCH₂CH₂) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 1265.3768$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 1265.3829$) und $m/z = 1281.3164$ [M+K]⁺-Ion (ber.: $m/z = 1281.3568$) für Summenformel C₅₀H₇₄N₄O₂₈S₂ (M = 1242.3931).

N^α-Acetyl-*N*-[2-(α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-cysteinamid (116)

200 mg (327 μmol , 1 Äq.) **113** wurden in 15 mL Acetonitril unter Schutzgasatmosphäre gelöst und 500 μL (3.28 mmol, 10 Äq.) TES zugegeben. Hierzu wurden 410 μL (55.2 mmol, 168 Äq.) Trifluoressigsäure zugetropft und 16 h bei



Raumtemp. gerührt und der Reaktionsfortschritt per RP-DC überprüft. Danach wurden die flüchtigen Bestandteile *in vacuo* entfernt und der Rückstand viermal mit Toluol und je einmal mit Ethanol und Dichlormethan kodestilliert. Das Rohprodukt wurde per RP-MPLC (Acetonitril/ Wasser, 5:1) gereinigt. Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 120 mg, 327 μmol (quantitativ);

R_f-Wert: 0.87 (Acetonitril / Wasser, 5:1);

IR: 3260, 2358, 1645, 669, 584, 522, 451 cm^{-1} ;

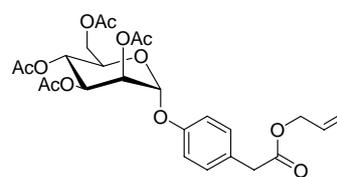
¹H-NMR (500 MHz, MeOH-d₄): δ = 4.81 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.7 Hz, H-1), 4.48 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}}$ = 5.7 Hz, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}}$ = 7.1 Hz, H- α), 3.88 (dd, 1H, $^3J_{5,6\text{a}}$ = 2.2 Hz, $^2J_{6,6\text{b}}$ = 11.7 Hz, H-6a), 3.85 (dd, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.7 Hz, $^3J_{2,3}$ = 3.4 Hz, H-2), 3.83 - 3.78 (m, 1H, OCH₂CH₂), 3.76 - 3.71 (m, 2H, H-3, H-6b), 3.64 - 3.55 (m, 3H, H-4, OCH₂CH₂, H-5), 3.53 - 3.47 (m, 1H, OCH₂CH₂), 3.46 - 3.41 (m, 1H, OCH₂CH₂), 2.91 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{a}}$ = 5.8 Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}}$ = 13.8 Hz, H- βa), 2.28 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta\text{b}}$ = 7.2 Hz, $^2J_{\text{H-}\beta\text{a},\text{H-}\beta\text{b}}$ = 13.8 Hz, H- βb), 2.07 (s, 3H, NHAc) ppm;

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-d₄): δ = 173.5 (C=O), 172.5 (NHCO), 101.6 (C-1), 74.7 (C-5), 72.5 (C-3), 72.0 (C-2), 68.7 (C-4), 67.0 (OCH₂CH₂), 62.9 (C-6), 57.3 (C- α), 40.3 (OCH₂CH₂), 26.7 (C- β), 22.5 (COCH₃) ppm;

MALDI-ToF-MS: m/z = 391.91 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 391.11) für Summenformel C₁₃H₂₄N₂O₈S (M = 368.12).

[4-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-essigsäureallylester (122)

Nach AAV 2 a) wurden 4.06 g **121** (21.1 mmol, 2 Äq.), 4.13 g **16** (10.8 mmol, 1 Äq.) und 159 μl BF₃-Etherat (23.5 mmol, 2.2 Äq.) umgesetzt. Nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Laufmittel:



Cyclohexan / Essigester, 3:2) wurde das Produkt als farbloser Sirup erhalten.

Ausbeute: 3.50 g, 6.70 mmol (62%);

R_f-Wert: 0.5 (Cyclohexan / Essigester, 3:2);

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.22 (d, 2H, 3J = 6.6 Hz, H-Ar), 7.05 (d, 2H, 3J = 6.6 Hz, H-Ar), 5.90 (dddd~ddt, 1H, 3J = 5.7 Hz, 3J = 10.4 Hz, 3J = 17.2 Hz, CH₂CH₂), 5.56 (dd, 1H, $^3J_{2,3}$ = 3.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 10.0 Hz, H-3), 5.50 (d, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.9 Hz, H-1), 5.44 (dd, 1H, $^3J_{1,2}$ = 1.9 Hz, $^3J_{2,3}$ = 3.5 Hz, H-2), 5.35 (dd~t, 1H, 3J = 10.0 Hz, H-4), 5.28 (dddd~dq,

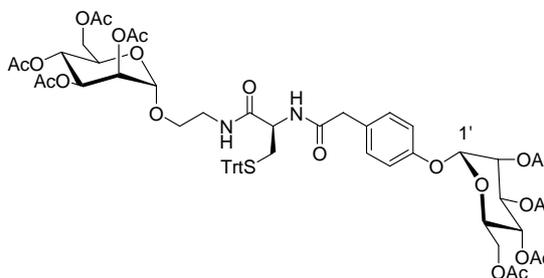
^1H , $^4J = 1.4$ Hz, $^3J = 10.4$ Hz, $^3J = 17.2$ Hz, CH_2CHCHH), 5.22 (dddd~dq, 1H, $^4J = 1.4$ Hz, $^3J = 10.4$ Hz, CH_2CHCHH), 4.65 -4.53 (m, 2H, CH_2CHCH_2), 4.28 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 5.2$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$, H-6a), 4.15 - 4.10 (m, 1H, H-5), 4.07 (dd, 1H, $^3J_{5,6b} = 2.4$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6b), 3.60 (s, 2H, $\text{OCH}_2\text{C-Ar}$), 2.05, 2.04, 2.03, 2.03 (s, 3H, OAc) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.1, 170.5, 169.9, 169.9, 169.7$ (4 COCH_3 , COOAllyl), 154.8 (C-Ar), 132.0 (CH_2CHCH_2), 130.5, 128.6 (C-Ar), 118.3 (CH_2CHCH_2), 116.6 (C-Ar), 95.9 (C-1), 69.4 (C-2), 69.2 (C-5), 68.9 (C-3), 66.0 (C-4), 65.4 (CH_2CHCH_2), 62.1 (C-6), 40.4 (CH_2COO), 21.0, 20.8, 20.6, 20.6 (4 COCH_3) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 545.1629$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 545.1635$) für Summenformel $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$ ($\text{M} = 522.1737$).

N^a -{[4-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-*N*-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-*S*-(triphenylmethyl)-L-cysteinamid (123)

Nach AAV 5 wurden 865 mg **125** (1.17 mmol, 1 Äq.), 680 mg **119** (1.41 mmol, 1.2 Äq.), 535 mg HATU (1.40 mmol, 1.2 Äq.) und 244 μL DIPEA (1.40 mmol, 1.2 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch



an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan / Essigester, 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 857 mg, 0.713 mmol (60%);

R_f -Wert: 0.2 (Dichlormethan / Essigester, 1:1);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +44.2$ ($c = 1.1$, MeOH);

IR: 3335, 2207, 1735, 1653, 1508, 1367, 1216, 1131, 1033, 662, 602, 463 cm^{-1} ;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH-d_4): $\delta = 7.38 - 7.35$ (m, 6H, H-Ar), 7.34 - 7.28 (m, 9H, H-Ar), 7.26 (d, 2H, $^3J = 7.3$ Hz, H-Ar), 7.08 (d, 2H, $^3J = 8.5$ Hz H-Ar), 5.57 (d, 1H, $^3J_{1',2'} = 1.8$ Hz H-1'), 5.50 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.4$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.47 (dd, 1H, $^3J_{1',2'} = 1.8$

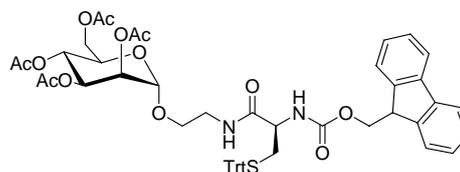
Hz, $^3J_{2',3'} = 3.4$ Hz, H-2'), 5.35 (dd~t, 1H, $^3J = 10.3$ Hz, H-4'), 5.33 (dd, 1H, $^3J_{2',3'} = 3.4$ Hz, $^3J_{3',4'} = 10.3$ Hz, H-3'), 5.29 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-2), 5.25 (dd~t, 1H, $^3J = 10.0$ Hz, H-4), 4.86 (bs, 1H, H-1), 4.26 – 4.22 (m, 2H, H-6a, H- α), 4.18 (dd, 1H, $^3J_{5,6'a} = 4.2$ Hz, $^2J_{6'a,6'a} = 12.3$ Hz, H-6'a), 4.09 – 4.02 (m, 3H, H-6b, H-5, H-5'), 3.97 (dd, 1H, $^3J_{5,6'b} = 2.5$ Hz, $^2J_{6'a,6'b} = 12.3$ Hz, H-6'b), 3.78 – 3.73 (m, 2H, OCH₂CH₂) 3.56 – 3.51 (m, 2H, CH₂C-Ar), 3.42 – 3.30 (m, 2H, OCH₂CH₂), 2.59 (dd, 1H, $^3J_{H-\alpha, H-\beta a} = 6.0$ Hz, $^2J_{H-\beta a, H-\beta b} = 12.5$ Hz, H- β a), 2.52 – 2.46 (m, 1H, H- β b), 2.13, 2.12, 2.05, 2.04, 1.99, 1.97 (s, 3H, 8 OAc) ppm;

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 173.6$ (CH₂C=O), 173.0 (C $_{\alpha}$ -C=O), 172.2, 171.6, 171.5, 171.0 (8 COCH₃), 156.0 (C-Ar), 145.9 (C-Ar), 131.5 (C-Ar), 131.4 (C-Ar), 130.7 (C-Ar), 129.1 (C-Ar), 127.9 (C-Ar), 117.9 (C-Ar), 99.0 (C-1), 97.1 (C-1'), 70.8 (C-2), 70.6 (C-2'), 70.6 (C-5'), 70.5 (C-3), 70.5 (C-5), 70.4 (C-3'), 69.9 (C-4'), 69.8 (C-4), 67.9 (CPh₃), 67.7 (OCH₂CH₂), 63.5 (C-6'), 63.2 (C-6), 53.8 (C- α), 42.8 (CH₂CH₂N), 40.3 (CH₂C-Ar), 35.2 (C- β), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (8 COCH₃) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 1223.3877$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 1223.3882$) für Summen-formel C₃₈H₄₄N₂O₁₁S (M = 1200.3984).

***N* ^{α} -(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*N*-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-*S*-(triphenylmethyl)-L-cysteinamid (124)**

Nach AAV 4 wurden 2.20 g **70** (5.27 mmol, 1 Äq.), 5.67 g Fmoc-Cys(Trt)-OH (**40**) (9.68 mmol, 1.8 Äq.), 1.31 g HOBt (9.69 mmol, 1.8 Äq.), 1.49 mL DIC (9.62 mmol, 1.8 Äq.) und 1.44 mL



Tri-*n*-butylphosphin (5.76 mmol, 1.1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde säulen-chromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Toluol, 1:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.

Ausbeute: 3.93 g, 4.10 mmol (78%);

R_F-Wert: 0.3 (Essigester / Toluol, 1:1);

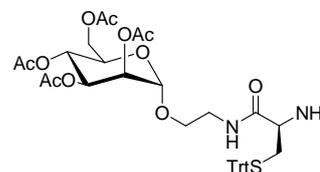
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.76 - 7.70$ (m, 2H, H-Ar), $7.60 - 7.55$ (m, 2H, H-Ar), $7.43 - 7.34$ (m, 8H, H-Ar), $7.29 - 7.13$ (m, 11H, H-Ar), 5.33 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.6$ Hz, $^3J_{3,4} = 10.1$ Hz, H-3), 5.26 (dd-t, 1H, $^3J = 10.1$ Hz, H-4), 5.25 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.8$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.6$ Hz, H-2), 4.76 (bs, 1H, H-1), $4.45 - 4.33$ (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 4.23 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 5.6$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6a), 4.19 (t, 1H, $^3J_{\text{CH-Fmoc,CH}_2\text{-Fmoc}} = 6.5$ Hz, CH-Fmoc), 4.07 (dd, 1H, $^3J_{5,6b} = 2.4$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.2$ Hz, H-6b), $3.97 - 3.92$ (m, 1H, H-5), 3.75 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta a} = 7.7$ Hz, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta b} = 13.2$, H- α), $3.72 - 3.68$ (m, 1H, OCHHCH_2), $3.54 - 3.47$ (m, 1H, OCHHCH_2), $3.45 - 3.29$ (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.74 (dd, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta a} = 7.7$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta a,\text{H-}\beta b} = 12.9$ Hz, 1H, H- βa), 2.74 (dd, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta b} = 7.6$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta a,\text{H-}\beta b} = 12.9$ Hz, 1H, H- βb), 2.12 , 2.04 , 1.99 , 1.97 (s, 3H, 4 OAc) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 170.5$ (CO-C- α), 169.9 , 169.8 , 169.7 , 169.6 (4 COCH_3), 155.9 (COO-Fmoc), 144.4 , 143.8 , 143.7 , 129.6 , 129.5 , 129.0 , 128.2 , 128.0 , 127.7 , 120.0 (C-Ar), 97.7 (C-1), 69.4 (C-3), 69.0 (C-2), 68.7 (C-5), 67.0 (OCH_2CH_2), 66.2 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 66.1 (C-4), 62.5 (C-6), 53.9 (C- α), 47.1 (CH-Fmoc), 39.1 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 33.1 (C- β), 20.8 , 20.7 , 20.7 , 20.6 (4 COCH_3) ppm;

HRESI-MS: $m/z = 981.3239$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 981.3244$) für Summen-formel $\text{C}_{53}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_{13}\text{S}$ ($M = 958.3347$).

N-[2-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-*S*-(triphenylmethyl)-L-cysteinamid (125)

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 3.93 g **124** (4.10 mmol, 1 Äq.) in 10 mL trockenem DMF gelöst, mit 2.63 mL Morpholin (30.1 mmol, 7 Äq.) versetzt und eine Stunde bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wurden alle flüchtigen



Bestandteile *in vacuo* entfernt und der Rückstand in Methanol aufgenommen. Der hierbei ausfallende farblose Feststoff wurde abfiltriert und das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt. Abschließende Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Toluol, 1:1). Das Produkt wurde als honigfarbender Sirup erhalten.

Ausbeute: 2.40 g, 3.26 mmol (83%);

R_f -Wert: 0.1 (Essigester / Toluol, 1:1);

***N*^α-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*N*-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-*N*'-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-asparaginsäureamid (132)**

Nach einer abgeänderten Version der AAV

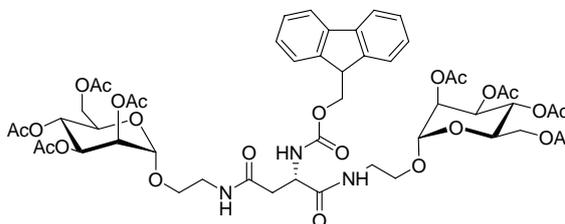
4 wurden 1.9 g **70** (4.5 mmol, 2.3 Äq.),

674 mg Fmoc-Asparaginsäure(OH)-OH

(131) (1.89 mmol, 1.0 Äq.), 662 mg HOBt

(4.89 mmol, 2.6 Äq.), 758 μ L DIC

(4.89 mmol, 2.6 Äq.) und 1.2 mL Tri-*n*-butylphosphin (4.9 mmol, 2.6 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Essigester / Methanol, 9:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Schaum erhalten.



Ausbeute: 669 mg, 0.607 mmol (32%) für **132**;

393 mg, 0.539 mmol (28%) für **133**;

R_f-Wert: 0.6 (Essigester / Methanol, 9:1) für das **132**;

0.4 (Essigester / Methanol, 9:1) für das **133**;

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +30.4$ (c = 1.3, MeOH);

IR: 2965, 1740, 1365, 1215, 1133, 1034, 741 cm^{-1} ;

¹H-NMR (600 MHz, MeOH-*d*₄): $\delta = 7.83$ (d, 2H, ³*J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.69 (d, 2H, ³*J* = 7.3 Hz, Ar-H), 7.43 (t, 2H, ³*J* = 7.7 Hz, Ar-H), 7.35 (t, 2H, ³*J* = 7.4 Hz, Ar-H), 5.33 (dd, 2H, ³*J*_{2,3} = 3.4 Hz, ³*J*_{3,4} = 10.0 Hz, 2 H-3), 5.31 (dd, 2H, ³*J*_{1,2} = 1.7 Hz, ³*J*_{2,3} = 3.4 Hz, 2 H-2), 5.33 (dd ~ t, 2H, ³*J* = 9.9 Hz, 2 H-4), 4.89 (d, 2H, ³*J*_{1,2} = 1.7 Hz, 2 H-1), 4.54 (m_c, 1H, H- α), 4.44 (dd, 1H, ³*J*_{CHH-Fmoc, CH-Fmoc} = 7.2 Hz, ²*J*_{CHH-Fmoc, CHH-Fmoc} = 10.6 Hz CHH-Fmoc), 4.40 – 4.34 (m, 1H, CHH-Fmoc), 4.26 (dd, 2H, ³*J*_{5,6a} = 5.2 Hz, ²*J*_{6a,6b} = 12.2 Hz, 2 H-6a), 4.30 – 4.24 (m, 1H, CH-Fmoc), 4.14 (dd, 2H, ³*J*_{5,6b} = 7.1 Hz, ²*J*_{6a,6b} = 12.2 Hz, 2 H-6b), 4.10 – 4.04 (m, 2H, H-5), 3.85 – 3.77 (m, 2H, 2 OCHHCH₂), 3.64 – 3.67 (m, 2H, 2 OCHHCH₂), 3.51 – 3.46 (m, 2H, 2 OCH₂CHH), 3.44 – 3.38 (m, 2H, 2 OCH₂CHH), 2.76 (dd, 1H, ³*J*_{H- α , H- β a} = 5.7 Hz, ²*J*_{H- β a, H- β b} = 14.4 Hz, H- β a), 2.68 (dd, 1H, ³*J*_{H- α , H- β b} = 7.7 Hz, ²*J*_{H- β a, H- β b} = 14.4 Hz, H- β b), 2.16, 2.07, 2.05, 1.98 (s, je 6H, OAc) ppm;

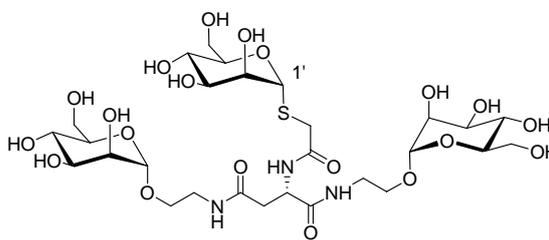
¹³C-NMR (150 MHz, MeOH-*d*₄): $\delta = 173.7$ (NH-CO-CH₂), 172.9, 172.4, 171.6, 171.5 (COCH₃), 158.0 (COO-Fmoc), 145.2 (C-Ar), 142.6 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 128.2 (C-Ar), 126.2 (C-Ar), 120.9 (C-Ar), 98.9 (C-1), 70.8 (C-2), 70.7 (C-3), 70.7 (C-5), 68.1 (CH₂-

68.5, 68.3 (2 C-4, C-4'), 67.7 (2 OCH₂CH₂), 66.1 (OCH₂CO), 62.6 (2 C-6, C-6'), 56.1 (C-α), 46.6 (2 CH₂CH₂NH), 37.7 (C-β) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 787.74$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 786.27$) und $m/z = 803.64$ [M+K]⁺-Ion (ber.: $m/z = 802.24$) für Summenformel C₂₈H₄₉N₃O₂₁ (M = 763.28).

***N*^α-{(α-D-Mannopyranosylthio)-acetamido}-*N*-[2-(α-D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-*N*'-[2-(α-D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-asparaginsäureamid (136)**

Nach **AAV 5** wurden 46 mg **93** (0.18 mmol, 2 Äq.), 50 mg **134** (0.09 mmol, 1 Äq.), 65 mg HATU (0.17 mmol, 1.8 Äq.) und 30 μL DIPEA (0.17 mmol, 1.8 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde zunächst



mittels MPLC (Wasser / Acetonitril, 1:1), im Weiteren dann per Sephadex LH-20 (Eluent: Methanol) und abschließend mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.

HPLC: $t_R = 14.6$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B → 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 18 mg, 23 μmol (25%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +108.9$ (c = 0.5, MeOH);

IR: 3283, 2928, 1636, 1539, 1259, 1050, 750 cm⁻¹;

¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ = 5.36 (bs, 1H, H-1'), 4.91 (d, 2H, ³J_{1,2} = 1.6 Hz, H-1), 4.14 – 4.11 (m, 2H, 2 H-2), 4.01 – 3.96 (m, 4H, H-2', H-5', 2 H-6a), 3.95 – 3.90 (m, 7H, 2 H-3, 2 H-6b, 2 OCH₂CH₂), 3.89 – 3.87 (m, 1H, H-α), 3.85 – 3.78 (m, 4 H, H-3', H-4', H-6a', H-6b'), 3.70 – 3.64 (m, 8 H, 2 H-4, 2 H-5, 2 OCH₂CH₂, SCH₂), 3.56 – 3.50 (m, 2H, 2 OCH₂CH₂), 3.49 – 3.42 (m, 2H, 2 OCH₂CH₂), 2.88 – 2.82 (m, 1H, H-βa), 2.78 – 2.69 (m, 1H, H-βb) ppm;

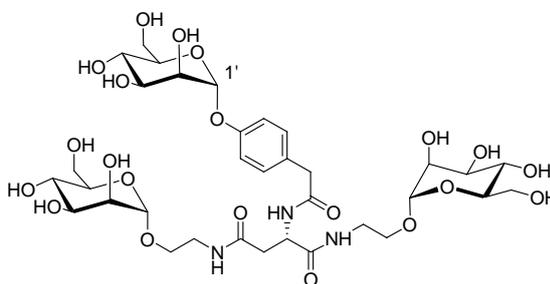
¹³C-NMR (150 MHz, D₂O): δ = 173.2 (2 CH₂-NH-CO), 172.3 (C_α-NH-CO) 99.7 (2 C-1), 84.6 (C-1'), 73.8, 72.9 (2 C-5, C-5'), 71.7 (C-2), 71.4, 71.2 (2 C-3, C-3'), 71.0 (C-2'),

67.0, 66.9 (2 C-4, C-4'), 66.1 (2 OCH₂CH₂), 61.1, 60.8 (2 C-6, C-6'), 53.2 (C-α), 43.8 (2 CH₂CH₂NH), 37.9 (C-β), 32.2 (SCH₂) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 802.96$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 802.25$) und $m/z = 818.92$ [M+K]⁺-Ion (ber.: $m/z = 818.22$) für Summenformel C₂₈H₄₉N₃O₂₀S (M = 779.26).

***N*^α-{[4-(α-D-Mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-*N*'-[2-(α-D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-*N*'-[2-(α-D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-asparaginsäureamid (137)**

Nach **AAV 5** wurden 57 mg **94** (0.18 mmol, 2 Äq.), 50 mg **134** (0.09 mmol, 1 Äq), 65 mg HATU (0.17 mmol, 1.8 Äq.) und 30 µL DIPEA (0.17 mmol, 1.8 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde zunächst mittels MPLC (Wasser / Acetonitril, 1:1), im



Weiteren dann per Sephadex LH-20 (Eluent: Methanol) und abschließend mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.

HPLC: $t_R = 11.8$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B → 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 19 mg, 22 µmol (25%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +66.1$ (c = 0.6, MeOH);

¹H-NMR (600 MHz, H₂O/D₂O): δ = 7.13 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz, Ar-H), 7.05 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz, Ar-H), 5.51 (d, 1H, ³J_{1',2'} = 1.6 Hz, H-1'), 4.81 (d, 2H, ³J_{1,2} = 1.6 Hz, H-1), 4.07 (dd, 1H, ³J_{1',2'} = 1.6 Hz, ³J_{2',3'} = 3.3 Hz, H-2'), 3.95 (dd, 1H, ³J_{2',3'} = 3.3 Hz, ³J_{3',4'} = 8.8 Hz, H-3'), 3.88 (dd, 2H, ³J_{1,2} = 1.6 Hz, ³J_{2,3} = 3.3 Hz, H-2), 3.83 – 3.79 (3H, H-4', 2 H-6a), 3.74 (dd, 1H, ³J_{2,3} = 3.3 Hz, ³J_{3,4} = 9.0 Hz, H-3), 3.70 (s, 2H, CH₂-C_{Ar}), 3.69 – 3.67 (m, 1H, H-6'a), 3.67 – 3.64 (m, 3H, H-6'b, 2 H-6b), 3.63 – 3.58 (m, 7H, 2 OCHHCH₂, H-5', 2 H-5, 2 H-4), 3.59 – 3.56 (m, 2H, 2 OCHHCH₂), 3.56 (bs, 1H, H-α), 3.52 – 3.44 (m, 6H, OCH₂CH₂N, H-β) ppm;

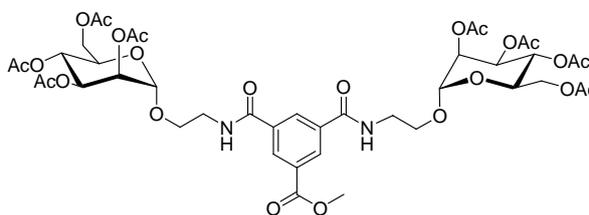
¹³C-NMR (150 MHz, H₂O/D₂O): δ = 174.2 (2 CH₂-NH-CO), 172.5 (NH-CO-CH₂), 156.8 (C-Ar), 130.8 (C-Ar), 125.9 (C-Ar), 117.3 (C-Ar), 99.8 (C-1'), 98.1 (2 C-1), 73.3, 72.8 (2

C-5, C-5'), 70.5, 70.3 (2 C-3, C-3'), 69.9, 69.7 (2 C-2, C-2'), 66.7, 66.6 (2 C-4, C-4'), 66.2 (2 OCH₂CH₂), 60.9, 60.7 (2 C-6, C-6'), 54.3 (C-α), 46.5 (2 CH₂CH₂NH), 41.9 (C-β), 38.9 (CH₂-C_{Ar}) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 862.78$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 862.30$) für Summenformel C₃₄H₅₃N₃O₂₁ (M = 839.31).

1,3-*N,N*-Di-[2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-trimesinsäuridamid-5-methylester (140)

Nach einer abgeänderten Version der AAV 4 wurden 650 mg **70** (1.56 mmol, 3.3 Äq.), 100 mg Trimesinsäure (**138**) (0.476 mmol, 1.0 Äq.), 211 mg HOBT (1.56 mmol, 3.3 Äq.), 241 μ L DIC



(1.56 mmol, 3.3 Äq.) und 389 μ L Tri-*n*-butylphosphin (1.56 mmol, 3.3 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan / Essigester, 1:1 \rightarrow Methanol) und in einem zweiten Reinigungsschritt an Kieselgel (Laufmittel: Essigester, Methanol, 5:1) gereinigt. Das Produkt wurde als farbloser Lack erhalten.

Ausbeute: 44 mg, 45 μ mol (10%);

R_f-Wert: 0.1(Cyclohexan / Essigester, 1:1);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +33.2$ (c = 1.3, CH₂Cl₂);

IR: 2949, 1724, 1657, 1534, 1435, 1367, 1216, 1133, 1038, 742, 599 cm⁻¹;

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): $\delta = 8.54$ (d, 2H, ⁴J = 1.7 Hz, H-Ar), 8.35 (d, 1H, ⁴J = 1.7 Hz, H-Ar), 5.25 (dd, 2H, ³J_{2,3} = 3.4 Hz, ³J_{3,4} = 10.1 Hz, H-3), 5.18 – 5.17 (m, 4H, H-2, H-4), 4.81 (d, 2H, ³J_{1,2} = 1.7 Hz, H-1), 4.15 (dd, 2H, ³J_{5,6a} = 5.8 Hz, ³J_{6a,6b} = 12.2 Hz, H-6a), 4.05 (dd, 2H, ³J_{5,6b} = 2.5 Hz, ³J_{6a,6b} = 12.2 Hz, H-6b), 3.93 (dt, 2H, ³J_{4,5} = 2.4 Hz, ³J_{5,6} = 5.8 Hz, H-5), 3.88 (s, 3H, COOCH₃), 3.86 – 3.81 (m, 2H, OCH₂H), 3.69 – 3.61 (m, 6H, OCH₂H, CH₂N); 2.06, 1.99, 1.93, 1.92 (s, je 6H, OAc) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃): $\delta = 170.6, 170.1, 170.1, 169.6$ (COCH₃), 166.3 (COOCH₃), 166.0 (CO-NH), 135.1, 131.2, 131.1, 129.4 (C-Ar), 97.5 (C-1), 69.4 (C-2), 69.1 (C-5), 68.8

(C-3), 66.9 (O-CH₂), 66.1 (C-4), 62.5 (C-6), 52.5 (COOCH₃), 39.9 (CH₂-NH), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (COCH₃) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 993.52$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 993.29$) und $m/z = 1009.50$ [M+K]⁺-Ion (ber.: $m/z = 1009.27$) für Summenformel C₄₂H₅₄N₂O₂₄ (M = 970.30).

9.3.3 Vorschriften für die Synthese der Glykopeptide

9.3.3.1 Allgemeines Protokoll der Festphasenpeptidsynthese (SPPS)

Die SPPS wurde manuell in einem Glasreaktor bei Raumtemp. durchgeführt. Die Durchmischung der Reaktionslösung wurde durch einen leichten Stickstoffstrom gewährleistet. Zuerst wurde das mit der Startaminosäure Fmoc-Alanin vorbeladene Wang-Harz in den Reaktor vorgelegt und mind. 2 h in aminfreiem DMF quellen gelassen. Im Weiteren wurden dann folgende Schritte vollzogen:

Entschützen: Das Harz wurde zweimal 20 min mit 3 mL Entschützungslösung (20% Piperidin in DMF) behandelt.

Waschen: Der Waschvorgang wurde nach jedem Entschützungs-, Kupplungs- oder Acetyllierungsschritt durchgeführt. Das Harz wurde je 1 min mit 5 mL DMF gewaschen.

Kupplung von Aminosäuren: Es wurden 4 Äq. der Fmoc-geschützten Aminosäure, 3.6 Äq. HBTU und 4 Äq. HOBt in 3 mL aminfreiem DMF gelöst und für 5 min geschüttelt. Dann wurden zu dieser Mischung 4 Äq. DIPEA zugeben, für weitere 2 min geschüttelt und die Reaktionslösung zum Harz gegeben. Nach 4 h bzw. nach Reaktion über Nacht wurde abgesaugt.

Kupplung von Glykoaminosäuren und Diaminopropionsäure (Dpr): Es wurden 2 Äq. der Fmoc-geschützten Glykoaminosäure bzw. der Dpr und 2 Äq. HATU in 3 mL aminfreiem DMF gelöst und für 5 min geschüttelt. Dann wurden zu dieser Mischung 2 Äq. DIPEA zugeben, für weitere 2 min geschüttelt und die Reaktionslösung zum Harz gegeben. Nach Reaktion über Nacht wurde abgesaugt.

Acetyllierung: Nach jedem Kupplungsschritt wurden die nicht umgesetzten Aminogruppen mittels einer Lösung aus 280 μL (1.60 mmol, 9-18 Äq.) DIPEA, 160 μL (1.60 mmol, 9-18 Äq.) Ac_2O in 3 mL DMF für 60 min und ein zweites mal für 30 min acetyliert.

Nach der Kupplung der *N*-terminalen Aminosäure wurde zunächst Fmoc-Entschützt und dann acetyliert.

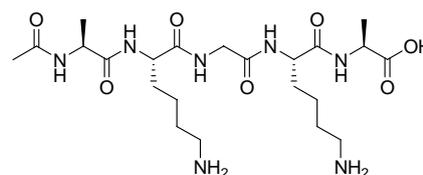
Abspaltung vom Harz: Das Harz wurde zweimal für jeweils 8 min mit 4 mL Abspatlösung (TFA / Dichlormethan, 1:1) versetzt. Das Harz wurde danach noch mehrmals mit Dichlormethan und Ethnaol gewaschen, die Phasen vereinigt und die flüchtigen Bestandteile *in vacuo* entfernt. Die Peptide wurden in Wasser suspendiert und lyophilisiert. Zur Entfernung von TFA wurde der Rückstand in ca. 5 mL 0.1 M Salzsäure aufgenommen und erneut lyophilisiert. Anschließend wurde das Peptid weiter umgesetzt bzw. das Glykopeptid per HPLC aufgereinigt.

9.3.3.2 Einzelvorschriften für die Synthese der Peptide und Glykopeptide

N-Acetyl-L-alanyl-L-lysyl-glycyl-L-lysyl-L-alanin (154)

(Ac-Ala-Lys-Gly-Lys-Ala-OH)

In den Festphasenreaktor wurden 220 mg (176 μmol , 1 Äq.) Fmoc-Ala-Wang-Harz eingewogen. Nach dem allgemeinen Protokoll für die SPPS wurden nacheinander 330 mg (0.704 mmol, 4 Äq.) Fmoc-



Lysin(Boc)-OH, 210 mg (0.706 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Glycin-OH, 330 mg (0.704 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Lysin(Boc)-OH und 220 mg (0.707 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Alanin-OH umgesetzt und abgespalten.

Ausbeute: 83 mg, 0.16 mmol (91%);

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6): δ = 8.30 – 8.26 (m, 1H, NH), 8.15 – 8.09 (m, 1H, NH), 8.06 – 8.02 (m, 1H, NH), 7.96 – 7.92 (m, 1H, NH), 4.31 -4.14 (m, 4H, $\text{H-}\alpha_{(\text{Lys}, \text{Ala})}$), 3.72 (m_c , 2H, $\text{H-}\alpha_{(\text{Gly})}$), 2.78 – 2.70 (m, 4H, H- ϵ), 1.84 (s, 3H, NHAc), 1.72 – 1.61 (m, 2H, H-

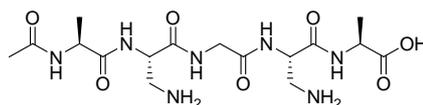
$\beta_{\text{Ala}})$, 1.58 – 1.47 (m, 6H, H- β_{Lys} , H- δ), 1.36 – 1.29 (m, 4H, H- γ), 1.27 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.4$ Hz, H- $\beta(\text{Ala})$), 1.18 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.4$ Hz, H- $\beta(\text{Ala})$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 174.0 - 168.5$ ($\underline{\text{COOH}}$, 4 $\underline{\text{CONH}}$, $\underline{\text{COCH}_3}$), 52.4 – 47.5 (4 C- $\alpha_{\text{Lys, Ala}}$), 42.0 (C- α_{Gly}), 38.6 (2 C- ϵ), 30.8 (2 C- β_{Lys}), 26.5 (2 C- δ), 22.5 ($\underline{\text{COCH}_3}$), 22.0 (2 C- γ), 17.9, 17.0 (C- β_{Ala}) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 516.96$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 516.31$) und $m/z = 538.92$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 538.29$) für Summenformel $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{N}_7\text{O}_7$ ($M = 515.30$).

***N*-Acetyl-L-alanyl-L-diaminopropionyl-glycyl-L-diaminopropionyl-L-alanin (155)**
(Ac-Ala-Dpr-Gly-Dpr-Ala-OH)

In den Festphasenreaktor wurden 220 mg (176 μmol , 1 Äq.) Fmoc-Ala-Wang-Harz eingewogen. Nach dem allgemeinen Protokoll für die SPPS wurden



nacheinander 150 mg (0.351 mmol, 2 Äq.) Fmoc-DAP(Boc)-OH, 210 mg (0.706 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Gly-OH, 150 mg (0.351 mmol, 2 Äq.) Fmoc-DAP(Boc)-OH und 220 mg (0.707 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Alanin-OH umgesetzt und abgespalten.

Ausbeute: 62 mg, 0.143 mmol (82%);

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O): $\delta = 4.80$ (m, 2H, $\underline{\text{CHCH}_2}$ unter Wasserpeak), 4.40 (q, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta} = 7.2$ Hz, H- $\alpha(\text{Ala})$), 4.26 (q, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-}\beta} = 7.2$ Hz, H- $\alpha(\text{Ala})$), 4.02 (s, 2H, H- $\alpha(\text{Gly})$), 3.51 (m_c , 2H, $\underline{\text{CHCHH}}$), 3.34 – 3.26 (m, 2H, $\underline{\text{CHCHH}}$), 2.02 (s, 3H, NHAc), 1.42 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.3$ Hz, H- $\beta(\text{Ala})$), 1.39 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.3$ Hz, H- $\beta(\text{Ala})$) ppm;

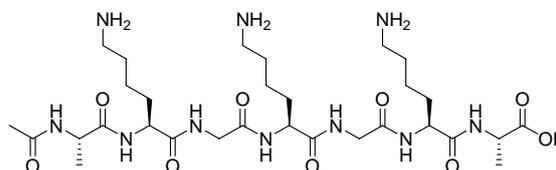
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, D_2O): $\delta = 178.1 - 166.8$ ($\underline{\text{COOH}}$, 4 $\underline{\text{CONH}}$, $\underline{\text{COCH}_3}$), 52.4 (2 C- $\underline{\text{CHCH}_2}$) 52.0, 50.4 (2 C- $\alpha(\text{Ala})$), 44.1 (C- $\alpha(\text{Gly})$), 41.8 (2 C- $\underline{\text{CH}_2}$), 23.4 ($\underline{\text{COCH}_3}$), 18.0 (C- $\beta(\text{Ala})$) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 432.22$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 432.22$) und $m/z = 454.21$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 454.20$) für Summenformel $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{N}_7\text{O}_7$ ($M = 431.21$).

N-Acetyl-L-alanyl-L-lysyl-glycyl-L-lysyl-glycyl-L-lysyl-L-alanin (156)

(Ac-Ala-Lys-Gly-Lys-Gly-Lys-Ala-OH)

In den Festphasenreaktor wurden 220 mg (176 μmol , 1 Äq.) Fmoc-Ala-Wang-Harz eingewogen. Nach dem allgemeinen Protokoll für die SPPS wurden nacheinander



330 mg (0.704 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Lysin(Boc)-OH, 210 mg (0.706 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Glycin-OH, 330 mg (0.704 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Lysin(Boc)-OH, 210 mg (0.706 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Glycin-OH, 330 mg (0.704 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Lysin(Boc)-OH und 220 mg (0.707 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Alanin-OH umgesetzt und abgespalten.

Ausbeute: 92 mg, 0.131 mmol (74%);

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O): δ = 4.34 -4.23 (m, 3H, H- $\alpha_{(\text{Lys}, \text{Ala})}$), 4.23 -4.11 (m, 2H, H- $\alpha_{(\text{Lys}, \text{Ala})}$), 4.00 - 3.86 (m_c, 4H, H- $\alpha_{(\text{Gly})}$), 2.97 - 2.90 (m, 6H, H- ϵ), 1.97 (s, 3H, NHAc), 1.81 - 1.68 (m, 4H, H- $\beta_{(\text{Lys})}$), 1.68 - 1.59 (m, 8H, H- $\beta_{(\text{Lys})}$, H- δ), 1.46 - 1.39 (m, 6H, H- γ), 1.38 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.3$ Hz, H- $\beta_{(\text{Ala})}$), 1.34 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.2$ Hz, H- $\beta_{(\text{Ala})}$) ppm;

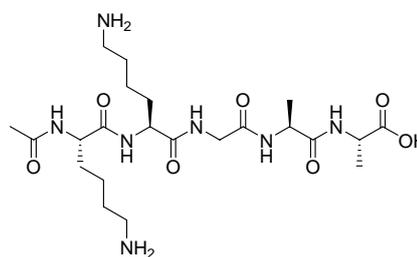
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, D_2O): δ = 178.2 - 172.8 ($\underline{\text{COOH}}$, 4 $\underline{\text{CONH}}$, $\underline{\text{COCH}_3}$), 55.6, 55.2, 51.3, 50.5 (5 C- $\alpha_{(\text{Lys}, \text{Ala})}$), 43.0 (C- $\alpha_{(\text{Gly})}$), 41.2 (3 C- ϵ), 32.3 (2 C- $\beta_{(\text{Lys})}$), 28.2 (2 C- δ), 24.0 ($\underline{\text{COCH}_3}$), 23.6 (2 C- γ), 18.0, 17.8 (C- $\beta_{(\text{Ala})}$) ppm;

MALDI-ToF-MS: m/z = 702.08 $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Ion (ber.: m/z = 701.43) und m/z = 724.05 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.: m/z = 723.41) für Summenformel $\text{C}_{30}\text{H}_{56}\text{N}_{10}\text{O}_9$ (M = 700.42).

N-Acetyl-L-lysyl-L-lysyl-glycyl-L-alanyl-L-alanin (157)

(Ac-Lys-Lys-Gly-Ala-Ala-OH)

In den Festphasenreaktor wurden 220 mg (176 μmol , 1 Äq.) Fmoc-Ala-Wang-Harz eingewogen. Nach dem allgemeinen Protokoll für die SPPS wurden nacheinander 220 mg (0.707 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Alanin-OH, 220 mg (0.707 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Alanin-OH, 210 mg (0.706 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Gly-OH, 330 mg (0.704 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Lysin(Boc)-OH und 330 mg (0.704 mmol, 4 Äq.) Fmoc-Lysin(Boc)-OH umgesetzt und abgespalten.



Ausbeute: 81 mg, 0.157 mmol (89%);

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6): δ = 8.31 – 8.26 (m, 1H, NH), 8.17 – 8.10 (m, 1H, NH), 8.07 – 8.02 (m, 1H, NH), 7.95 – 7.90 (m, 1H, NH), 4.29 -4.15 (m, 4H, H- $\alpha_{(\text{Lys, Ala})}$), 3.72 (m_c, 2H, H- $\alpha_{(\text{Gly})}$), 2.77 – 2.69 (m, 4H, H- ϵ), 1.84 (s, 3H, NHAc), 1.72 – 1.61 (m, 2H, H- $\beta_{(\text{Lys})}$), 1.57 – 1.48 (m, 6H, H- $\beta_{(\text{Lys})}$, H- δ), 1.38 – 1.29 (m, 4H, H- γ), 1.27 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.2$ Hz, H- $\beta_{(\text{Ala})}$), 1.19 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.0$ Hz, H- $\beta_{(\text{Ala})}$) ppm;

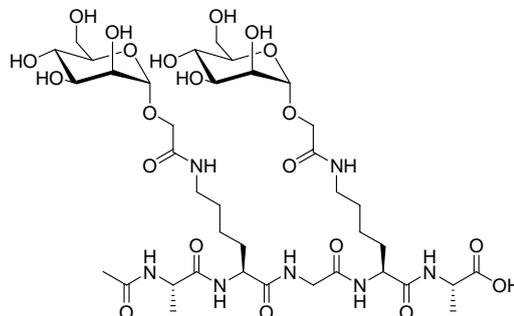
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6): δ = 174.0 - 168.5 (COOH, 4 CONH, COCH₃), 52.5, 52.4, 47.7, 47.5 (4 C- $\alpha_{(\text{Lys, Ala})}$), 42.1 (C- $\alpha_{(\text{Gly})}$), 38.6 (2 C- ϵ), 31.0 (2 C- $\beta_{(\text{Lys})}$), 26.5 (2 C- δ), 22.5 (COCH₃), 22.1 (2 C- γ), 17.9, 17.0 (C- $\beta_{(\text{Ala})}$) ppm;

MALDI-ToF-MS: m/z = 517.07 [M+H]⁺-Ion (ber.: m/z = 516.31) und m/z = 539.05 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 538.29) für Summenformel C₂₂H₄₁N₇O₇ (M = 515.30).

***N*-Acetyl-L-alanyl-*N*^ε-{(α-D-mannopyranosyloxy)-acetamido}-L-lysyl-glycyl-*N*^ε-{(α-D-mannopyranosyloxy)-acetamido}-L-lysyl-L-alanin (158)**

(Ac-Ala-Lys(Me-α-Man)-Gly-Lys(Me-α-Man)-Ala-OH)

Nach **AAV 5** wurden 125 mg **92** (0.525 mmol, 6 Äq.), 179 mg HATU (0.470 mmol, 5.4 Äq.), 89 µL DIPEA (0.510 mmol, 6 Äq.) und 45 mg **154** (87 µmol, 1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde zunächst mittels MPLC (Wasser / Acetonitril, 1:1), im Weiteren dann per Sephadex LH-20 (Eluent: Methanol) und abschließend mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.



HPLC: $t_R = 10.6$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B → 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 13 mg, 13 µmol (15%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +6.3$ (c = 0.4, MeOH);

¹H-NMR (600 MHz, D₂O/H₂O): δ = 4.94 (d, 2H, ³J_{1,2} = 1.7 Hz, H-1), 4.43 -4.31 (m, 4H, H-α_(Lys, Ala)), 4.26 (d, 2H, ²J_{OCHH, OCHH} = 15.1 Hz, OCHH), 4.15 (d, 2H, ²J_{OCHH, OCHH} = 15.1 Hz, OCHH), 4.10 (dd, 2H, ³J_{1,2} = 1.7 Hz, ³J_{2,3} = 3.4 Hz, H-2), 3.99 (bs, 2H, H-α_(Gly)), 3.94 – 3.90 (m, 4H, H-3, H-6a), 3.81 (dd, 2H, ³J_{5,6b} = 5.9 Hz, ²J_{6a,6b} = 12.2 Hz, H-6b), 3.72 (dd~t, 2H, ³J = 9.8 Hz, H-4), 3.68 – 3.64 (m, 2H, H-5), 3.30 (dd~t, 4H, ³J = 6.7 Hz, H-ε), 2.07 (s, 3H, NHAc), 1.93 – 1.85 (m, 2H, H-β_{a(Lys)}), 1.84 – 1.75 (m, 2H, H-β_{b(Lys)}), 1.64 – 1.57 (m, 4H, H-δ), 1.49 – 1.43 (m, 7H, H-γ, H-β_(Ala)), 1.42 (d, 3H, ³J_{H-α(Ala), H-β(Ala)}} = 7.2 Hz, H-β_(Ala)) ppm;

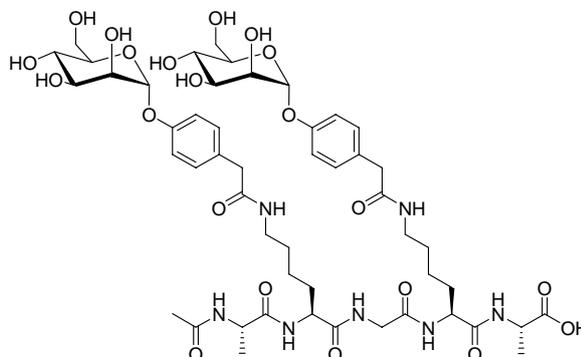
¹³C-NMR (150 MHz, D₂O/H₂O): δ = 174.9, 174.1, 173.6, 173.0, 170.9, 170.5 (5 C=O), 99.5 (2 C-1), 72.7 (2 C-5), 69.9 (2 C-3), 69.2 (2 C-2), 66.1 (2 C-4), 65.4 (OCH₂), 60.3 (2 C-6), 53.9, 53.3, 53.1, 52.9 (4 C-α_(Lys, Ala)), 41.9 (C-α_(Gly)), 38.2 (2 C-ε), 30.2 (2 C-β_(Lys)), 29.8 (2 C-δ), 21.8 (2 C-γ), 21.7 (COCH₃), 16.0 (C-β_(Ala)) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 978.95$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 978.41$) und $m/z = 994.97$ [M+K]⁺-Ion (ber.: $m/z = 994.38$) für Summenformel C₃₈H₆₅N₇O₂₁ (M = 955.42).

***N*-Acetyl-L-alanyl-*N*^ε-{[4-(*α*-D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-L-lysyl-glycyl-*N*^ε-{[4-(*α*-D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-L-lysyl-L-alanin (159)**

(Ac-Ala-Lys(Ph-*α*-Man)-Gly-Lys(Ph-*α*-Man)-Ala-OH)

Nach **AAV 5** wurden 164 mg **94** (0.522 mmol, 6 Äq.), 179 mg HATU (0.470 mmol, 5.4 Äq.), 89 μ L DIPEA (0.510 mmol, 6 Äq.) und 45 mg **154** (87 μ mol, 1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde zunächst mittels MPLC (Wasser / Acetonitril, 1:1), im Weiteren



dann per Sephadex LH-20 (Eluent: Methanol) und abschließend mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.

HPLC: $t_R = 11.3$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B \rightarrow 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 16 mg, 14 μ mol (16%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +14.0$ ($c = 0.5$, MeOH);

¹H-NMR (600 MHz, D₂O/H₂O): $\delta = 8.40 - 8.36$ (m, 1H, NH), 8.35 - 8.28 (m, 2H, NH), 8.26 - 8.22 (m, 2H, NH), 8.02 - 7.93 (m, 2H, NH), 7.32 - 7.24 (m, 4H, H-Ar), 7.18 - 7.11 (m, 4H, H-Ar), 5.60 (bs, 2H, H-1), 4.34 - 4.24 (m, 4H, H- $\alpha_{(Lys, Ala)}$), 4.20 - 4.16 (m, 2H, H-2), 4.07 - 4.04 (m, 2H, H-3), 3.93 (m_c, 2H, H- $\alpha_{(Gly)}$), 3.81 - 3.70 (m, 8H, H-4, H-5, H-6), 3.52 (s, 4H, $\underline{CH_2}C_{Ar}$), 3.17 (m_c, 4H, H- ϵ), 2.01 (s, 3H, NHAc), 1.84 - 1.76 (m, 2H, H- $\beta_{(Lys)}$), 1.75 - 1.66 (m, 2H, H- $\beta_{(Lys)}$), 1.54 - 1.46 (m, 4H, H- δ), 1.41 - 1.37 (m, 4H, H- γ), 1.35 (d, 6H, $^3J_{H-\alpha(Ala), H-\beta(Ala)} = 7.2$ Hz, H- $\beta_{(Ala)}$) ppm;

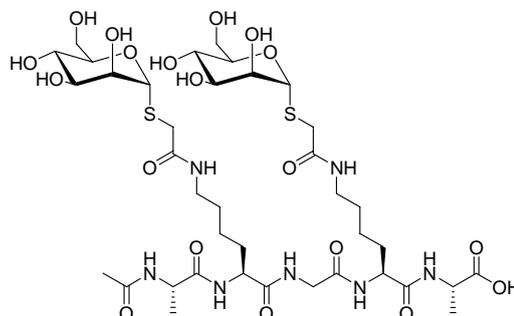
¹³C-NMR (150 MHz, D₂O/H₂O): $\delta = 178.9$ (\underline{COOH}), 177.1, 176.3, 175.8 (5 \underline{CONH} , $\underline{COCH_3}$) 156.2, 132.0, 130.5, 119.0 (12 C-Ar), 99.9 (2 C-1), 75.1 (2 C-5), 72.2 (2 C-3), 71.7 (2 C-2), 68.4 (2 C-4), 62.5 (2 C-6), 55.7, 51.5 (4 C- $\alpha_{(Lys, Ala)}$), 44.3 (C- $\alpha_{(Gly)}$), 43.4 (2 $\underline{CH_2-C-Ar}$), 40.9 (2 C- ϵ), 32.0 (2 C- $\beta_{(Lys)}$), 29.5 (2 C- δ), 23.9 (2 C- γ), 23.4 ($\underline{COCH_3}$), 18.3, 18.0 (C- $\beta_{(Ala)}$) ppm;

MALDI-ToF-MS: 1130.70 [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 1130.47$) für Summenformel C₅₀H₇₃N₇O₂₁ (M = 1107.48).

***N*-Acetyl-L-alanyl-*N*^ε-{(α-D-mannopyranosylthio)-acetamido}-L-lysyl-glycyl-*N*^ε-{(α-D-mannopyranosylthio)-acetamido}-L-lysyl-L-alanin (160)**

(Ac-Ala-Lys(*S*-Me-α-Man)-Gly-Lys(*S*-Me-α-Man)-Ala-OH)

Nach **AAV 5** wurden 104 mg **93** (0.409 mmol, 6 Äq.), 139 mg HATU (0.365 mmol, 5.4 Äq.), 70 µL DIPEA (0.400 mmol, 6 Äq.) und 35 mg **154** (67 µmol, 1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde zunächst mittels MPLC (Wasser / Acetonitril, 1:1), im Weiteren dann per Sephadex LH-20 (Eluent: Methanol) und abschließend mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.



HPLC: $t_R = 10.1$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B → 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 17 mg, 17 µmol (25%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +99.5$ (c = 0.6, MeOH);

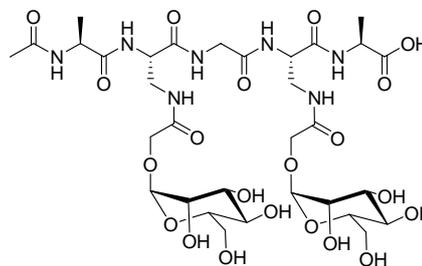
¹H-NMR (600 MHz, D₂O/H₂O): δ = 8.41 – 8.32 (m, 2H, NH), 8.31 – 8.20 (m, 3H, NH), 8.09 – 8.04 (m, 1H, NH), 5.30 (bs, 2H, H-1), 4.38 -4.27 (m, 4H, H-α_(Lys, Ala)), 4.08 (m_c, 2H, H-2), 3.98 – 3.92 (m, 4H, H-5, H-α_(Gly)), 3.87 – 3.83 (m, 2H, H-6a), 3.83 – 3.78 (m, 4H, H-3, H-6b), 3.75 – 3.71 (m, 2H, H-4), 3.42 (d, 2H, ²J_{SCHH, SCHH} = 14.9 Hz, SCHH), 3.33 (d, 2H, ²J_{SCHH, SCHH} = 14.9 Hz, SCHH), 3.26 – 3.20 (m, 4H, H-ε), 2.04 (s, 3H, NHAc), 1.89 – 1.81 (m, 2H, H-β_(Lys)), 1.80 – 1.71 (m, 2H, H-β_(Lys)), 1.60 – 1.53 (m, 4H, H-δ), 1.45 – 1.40 (m, 7H, H-γ, H-β_(Ala)), 1.38 (d, 3H, ³J_{H-α(Ala), H-β(Ala)} = 7.0 Hz, H-β_(Ala)) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, D₂O/H₂O): δ = 176.8 - 173.0 (7 CONH, COCH₃), 86.7 (2 C-1), 75.1 (2 C-5), 73.1, 72.9 (2 C-2, 2 C-3), 68.7 (2 C-4), 62.5 (2 C-6), 55.6, 51.6 (4 C-α_(Lys, Ala)), 44.2 (C-α_(Gly)), 41.3 (2 C-ε), 35.6 (SCH₂), 32.0 (2 C-β_(Lys)), 29.4 (2 C-δ), 23.8 (2 C-γ), 23.4 (COCH₃), 18.3 (C-β_(Ala)) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 1010.96$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 1010.36$) und $m/z = 1026.92$ [M+K]⁺-Ion (ber.: $m/z = 1026.34$) für Summenformel C₃₈H₆₅N₇O₁₉S₂ (M = 987.37).

***N*-Acetyl-L-alanyl-*N*^β-{(α-D-mannopyranosyloxy)-acetamido}-L-diaminopropionyl-glycyl-*N*^β-{(α-D-mannopyranosyloxy)-acetamido}-L-diaminopropionyl-L-alanin (161)**
(Ac-Ala-Dpr(α-Man)-Gly-Dpr(α-Man)-Ala-OH)

Nach **AAV 5** wurden 98 mg **92** (0.41 mmol, 6 Äq.), 141 mg HATU (0.370 mmol, 5.4 Äq.), 70 μL DIPEA (0.41 mmol, 6 Äq.) und 30 mg **155** (69 μmol, 1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde zunächst mittels MPLC (Wasser / Acetonitril, 1:1), im Weiteren dann per Sephadex LH-20 (Eluent: Methanol) und abschließend mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.



HPLC: $t_R = 9.3$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B → 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 13 mg, 14 μmol (21%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +24.5$ (c = 0.6, MeOH);

¹H-NMR (600 MHz, D₂O/H₂O): δ = 8.44 – 8.32 (m, 3H, NH), 8.28 – 8.26 (m, 1H, NH), 8.17 – 8.12 (m, 1H, NH), 8.05 – 7.96 (m, 2H, NH), 4.80 (d, 2H, ³J_{1,2} = 1.5 Hz, H-1), 4.46 – 4.40 (m, 2H, CHCH₂), 4.27 – 4.25 (m, 2H, H-α_(Ala)), 4.13 – 4.11 (m, 2H, OCHH), 3.98 – 3.96 (m, 2H, OCHH), 3.80 (dd, 2H, ³J_{5,6a} = 2.2 Hz, ²J_{6a,6b} = 12.3 Hz, H-6a), 3.66 – 3.62 (m, 2H, H-6b), 3.62 – 3.52 (m, 8H, H-2, H-4, H-5, H-α_(Gly)), 3.45 (dd, 2H, ³J_{2,3} = 3.9 Hz, ³J_{3,4} = 9.7 Hz, H-3), 3.07 (m_c, 4H, CHCH₂), 1.92 (s, 3H, NHAc), 1.30 (t, 3H, ³J = 7.2 Hz, H-β_(Ala)), 1.22 (d, 3H, ³J_{H-α,H-β} = 7.2 Hz, H-β_(Ala)) ppm;

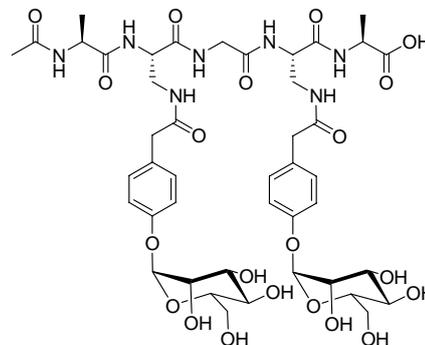
¹³C-NMR (150 MHz, D₂O/H₂O): δ = 174.4, 174.2, 172.5, 172.3, 171.9, 171.2 (6 CONH, COCH₃) 101.1 (2 C-1), 73.2 (2 C-5), 72.5 (2 C-2), 71.3 (2 C-3), 68.3 (OCH₂) 66.6 (2 C-4), 60.9 (2 C-6), 52.5 (CHCH₂) 50.0, 49.0 (2 C-α_(Ala)), 46.6 (CHCH₂) 39.9 (C-α_(Gly)), 21.8 (COCH₃), 16.5, 16.3 (C-β_(Ala)) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 894.91$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 894.31$) und $m/z = 910.90$ [M+K]⁺-Ion (ber.: $m/z = 910.29$) für Summenformel C₃₂H₅₃N₇O₂₁ (M = 871.32).

***N*-Acetyl-L-alanyl-*N*^β-{4-(*α*-D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-L-diaminopropionyl-glycyl-*N*^β-{4-(*α*-D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-L-diaminopropionyl-L-alanin (162)**

(Ac-Ala-Dpr(Ph-*α*-Man)-Gly-Dpr(Ph-*α*-Man)-Ala-OH)

Nach **AAV 5** wurden 130 mg **94** (0.413 mmol, 6 Äq.), 141 mg HATU (0.370 mmol, 5.4 Äq.), 70 μ L DIPEA (0.41 mmol, 6 Äq.) und 30 mg **155** (69 μ mol, 1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde zunächst mittels MPLC (Wasser / Acetonitril, 1:1), im Weiteren dann per Sephadex LH-20 (Eluent: Methanol) und abschließend mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.



HPLC: $t_R = 12.1$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B \rightarrow 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 23 mg, 22 μ mol (32%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +11.8$ (c = 0.5, MeOH);

¹H-NMR (600 MHz, D₂O/H₂O): $\delta = 8.36 - 8.12$ (m, 3H, NH), 8.06 – 7.98 (m, 1H, NH), 7.92 – 7.79 (m, 3H, NH), 7.14 (d, 4H, ³J = 8.7 Hz, H-Ar), 7.00 (d, 4H, ³J = 8.7 Hz, H-Ar), 5.48 (bs, 2H, H-1), 4.40 – 4.31 (m, 2H, H- $\alpha_{(Ala)}$), 4.16 – 3.88 (m, 6H, CHCH₂, H-2, H-3), 3.74 – 3.69 (m, 4H, CH₂-Ar), 3.67 – 3.57 (m, 8H, H-4, H-5, H-6a, H-6b), 3.55 (bs, 2H, H- $\alpha_{(Gly)}$), 3.43 – 3.31 (m, 4H, CHCH₂), 1.83 (s, 3H, NHAc), 1.24 – 1.13 (m, 6H, H- $\beta_{(Ala)}$) ppm;

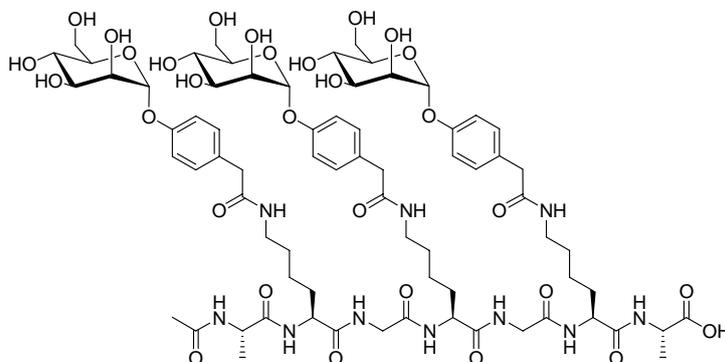
¹³C-NMR (150 MHz, D₂O/H₂O): $\delta = 173.5, 173.3, 171.8, 171.5, 171.0, 170.9$ (6 CONH, COCH₃) 154.4, 130.7, 130.5, 117.3 (12 C-Ar), 98.2 (2 C-1), 73.3 (2 C-5), 70.5 (2 C-2), 70.0 (2 C-3), 66.7 (2 C-4), 60.7 (2 C-6), 54.4 (2 C- $\alpha_{(Ala)}$), 50.1 (2 CHCH₂), 42.6 (2 CHCH₂), 40.1 (2 CH₂-Ar), 39.9 (C- $\alpha_{(Gly)}$), 21.7 (COCH₃), 16.3, 16.2 (C- $\beta_{(Ala)}$) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 1046.22$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 1046.38$) und $m/z = 1062.20$ [M+K]⁺-Ion (ber.: $m/z = 1062.35$) für Summenformel C₄₄H₆₁N₇O₂₁ (M = 1023.39).

***N*-Acetyl-L-alanyl-*N*^ε-{[4-(*α*-D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-L-lysyl-glycyl-*N*^ε-{[4-(*α*-D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-L-lysyl-glycyl-*N*^ε-{[4-(*α*-D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-L-lysyl-L-alanin (163)**

(Ac-Ala-Lys(Ph-*α*-Man)-Gly-Lys(Ph-*α*-Man)-Gly-Lys(Ph-*α*-Man)-Ala-OH)

Nach **AAV 5** wurden 134 mg **94** (0.426 mmol, 10 Äq.), 148 mg HATU (0.389 mmol, 9 Äq.), 73 μ L DIPEA (0.42 mmol, 10 Äq.) und 30 mg **156** (42 μ mol, 1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand



wurde zunächst mittels MPLC (Wasser / Acetonitril, 1:1), im Weiteren dann per Sephadex LH-20 (Eluent: Methanol) und abschließend mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.

HPLC: $t_R = 11.6$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B \rightarrow 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 17 mg, 10 μ mol (25%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +5.5$ ($c = 0.4$, MeOH);

¹H-NMR (600 MHz, D₂O/H₂O): $\delta = 8.47 - 8.42$ (m, 1H, NH), 8.36 - 8.26 (m, 2H, NH), 8.25 - 8.20 (m, 1H, NH), 8.12 - 8.02 (m, 1H, NH), 7.99 - 7.89 (m, 3H, NH), 7.24 (d, 6H, ³*J* = 8.4 Hz, H-Ar), 7.11 (d, 6H, ³*J* = 8.4 Hz, H-Ar), 5.58 (bs, 3H, H-1), 4.32 - 4.20 (m, 5H, H- α (Lys, Ala)), 4.16 (dd, 3H, ³*J*_{1,2} = 1.7 Hz, ³*J*_{2,3} = 3.3 Hz, H-2), 4.04 (dd, 3H, ³*J*_{2,3} = 3.4 Hz, ³*J*_{3,4} = 9.3 Hz, H-3), 3.91 (m_c, 4H, H- α (Gly)), 3.77 (dd~t, 3H, ³*J* = 9.4 Hz, H-4), 3.76 - 3.67 (m, 9H, H-5, H-6a, H-6b), 3.51 (s, 6H, CH₂C_{Ar}), 3.19 - 3.12 (m, 6H, H- ϵ), 2.00 (s, 3H, NHAc), 1.84 - 1.75 (m, 3H, H- β _a(Lys)), 1.74 - 1.64 (m, 3H, H- β _b(Lys)), 1.47 (m_c, 6H, H- δ), 1.41 - 1.36 (m, 6H, H- γ), 1.34 (d, 6H, ³*J*_{H- α (Ala),H- β (Ala)}} = 7.1 Hz, H- β (Ala)) ppm;

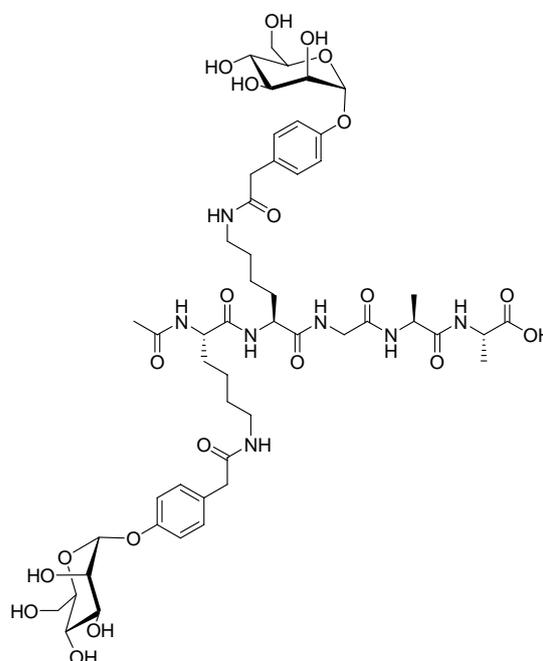
¹³C-NMR (150 MHz, D₂O/H₂O): $\delta = 177.1, 176.3, 175.8, 175.1, 173.1$ (9 CONH, COCH₃) 156.2, 132.3, 131.3, 119.0 (18 C-Ar), 99.9 (3 C-1), 75.1 (3 C-5), 72.3 (3 C-3), 71.7 (3 C-2), 68.4 (3 C-4), 62.5 (3 C-6), 55.7, 51.5 (5 C- α (Lys, Ala)), 44.3 (2 C- α (Gly)), 43.4 (3

$\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-C-Ar}$), 40.9 (3 C- ϵ), 32.1 (3 C- $\beta_{(\text{Lys})}$), 29.5 (3 C- δ), 23.9 (3 C- γ), 23.4 (COCH_3), 18.3, 18.1 (C- $\beta_{(\text{Ala})}$) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 1611.91$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 1611.68$) und $m/z = 1627.87$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Ion (ber.: $m/z = 1627.65$) für Summenformel $\text{C}_{72}\text{H}_{104}\text{N}_{10}\text{O}_{30}$ ($\text{M} = 1588.69$).

***N*-Acetyl- *N*^ε-{[4-(α -D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-L-lysyl-*N*^ε-{[4-(α -D-mannopyranosyloxy)-phenyl]-acetamido}-L-lysyl-glycyl-L-alanyl-L-alanin (164)**
(Ac-Lys(Ph- α -Man)-Lys(Ph- α -Man)-Gly-Ala-Ala-OH)

Nach **AAV 5** wurden 164 mg **94** (0.522 mmol, 6 Äq.), 179 mg HATU (0.470 mmol, 5.4 Äq.), 89 μL DIPEA (0.510 mmol, 6 Äq.) und 45 mg **157** (87 μmol , 1 Äq.) umgesetzt. Der Rückstand wurde zunächst mittels MPLC (Wasser / Acetonitril, 1:1), im Weiteren dann per Sephadex LH-20 (Eluent: Methanol) und abschließend mit Hilfe der präparativen HPLC gereinigt. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.



HPLC: $t_R = 12.6$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B \rightarrow 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 23 mg, 20 μmol (24%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +16.5$ ($c = 0.5$, MeOH);

¹H-NMR (600 MHz, D₂O): $\delta = 8.57 - 8.54$ (m, 2H, NH), 8.41 - 8.37 (m, 1H, NH), 8.28 - 8.24 (m, 2H, NH), 8.02 - 7.94 (m, 1H, NH), 7.25 (d, 4H, ³J = 8.5 Hz, H-Ar), 7.11 (d, 4H, ³J = 8.5 Hz, H-Ar), 5.59 (bs, 2H, H-1), 4.39 - 4.25 (m, 4H, H- $\alpha_{(\text{Lys, Ala})}$), 4.19 - 4.16 (m, 2H, H-2), 4.06 (dd, 2H, ³J_{2,3} = 3.1 Hz, ³J_{3,4} = 8.9 Hz, H-3), 3.82 - 3.71 (m, 8H, H-4, H-5, H-6), 3.70 - 3.65 (m, 2H, H- $\alpha_{(\text{Gly})}$), 3.54 (s, 4H, CH₂-C-Ar), 3.16, 3.00 (bs, 4H, H- ϵ), 2.02 (s, 3H,

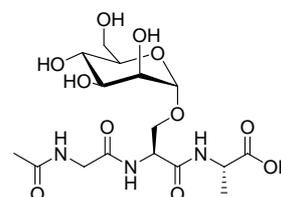
NHAc), 1.92 – 1.85 (m, 2H, H- $\beta_{\text{a(Lys)}}$), 1.78 – 1.72 (m, 2H, H- $\beta_{\text{b(Lys)}}$), 1.70 – 1.62 (m, 4H, H- δ), 1.49 – 1.43 (m, 7H, H- γ , H- $\beta_{\text{(Ala)}}$), 1.42 (m_c, 3H, H- $\beta_{\text{(Ala)}}$) ppm;

¹³C-NMR (150 MHz, D₂O/H₂O): δ = 179.9 (COOH), 176.0, 175.8, 175.5, 174.2, 173.4 (5 CONH, COCH₃) 154.4, 130.4, 128.1, 117.2 (12 C-Ar), 99.3 (2 C-1), 73.3 (2 C-5), 70.5 (2 C-3), 70.0 (2 C-2), 66.7 (2 C-4), 60.7 (2 C-6), 54.3, 50.7 (4 C- $\alpha_{\text{(Lys, Ala)}}$), 43.2 (C- $\alpha_{\text{(Gly)}}$), 42.5 (2 CH₂-C-Ar), 39.4 (2 C- ϵ), 30.4 (2 C- $\beta_{\text{(Lys)}}$), 26.2 (2 C- δ), 21.9 (2 C- γ), 21.6 (COCH₃), 16.5, 16.2 (C- $\beta_{\text{(Ala)}}$) ppm;

MALDI-ToF-MS: m/z = 1130.82 [M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 1130.47) und m/z = 1146.78 [M+K]⁺-Ion (ber.: m/z = 1146.44) für Summenformel C₅₀H₇₃N₇O₂₁ (M = 1107.48).

N-Acetyl-glycyl-*O*-(α -D-mannopyranosyl)-L-seryl-L-alanin (177) (Ac-Gly-Ser(α -Man)-Ala-OH)

In den Festphasenreaktor wurden 110 mg (88.0 μ mol) Fmoc-Ala-Wang-Harz eingewogen. Nach dem allgemeinen Protokoll für die SPPS wurden nacheinander 116 mg (17.5 μ mol, 2 Äq.) **19** und 105 mg (35.3 μ mol, 4 Äq.) Fmoc-Glycin-OH umgesetzt und abgespalten. Es wurde ein farbloser, amorpher Feststoff erhalten.



MALDI-ToF-MS: m/z = 628.08[M+Na]⁺-Ion (ber.: m/z = 628.19) und m/z = 644.06 [M+K]⁺-Ion (ber.: m/z = 644.17) für Summenformel C₂₄H₃₅N₃O₁₅ (M = 605.20).

Nach der massenspektrometrischen Vermessung des Rohproduktes wurde Glykopeptid **174** nach **AAV 3** weiter umgesetzt. Abschließende Reinigung erfolgte mit Hilfe der präparativen HPLC. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.

HPLC: t_{R} = 10.5 min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B → 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 21 mg, 48 μ mol (54%);

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = + 36.2 (c = 0.6);

¹H-NMR (600 MHz, D₂O/H₂O): δ = 8.44 – 8.41 (m, 1H, NH), 8.28 – 8.22 (m, 2H, NH), ~ 4.80 (1H, H-1 unter H₂O), 4.56 – 4.54 (m, 1H, H- $\alpha_{\text{(Ser)}}$), 4.28 (q, 1H, ³J_{H- α ,H- β = 7.1 Hz, H-}

$\alpha_{(\text{Ala})}$, 3.89 – 3.85 (m, 1H, H-4), 3.82 (dd, 1H, $^3J_{1,2} = 1.6$ Hz, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, H-2), 3.77 (dd, 1H, $^3J_{5,6a} = 2.0$ Hz, $^2J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a), 3.72 (dd~t, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ser}),\text{H-}\beta(\text{Ser})} = 5.1$ Hz, H- $\beta_{(\text{Ser})}$), 3.69 (dd, 1H, $^3J_{2,3} = 3.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 8.9$ Hz, H-3), 3.66 – 3.63 (m, 1H, H-6b), 3.63 – 3.59 (m, 1H, H-5), 3.54 – 3.52 (m, 1H, H- $\beta_{(\text{Ser})}$), 3.10 (m_c, 2H, H- $\alpha_{(\text{Gly})}$), 1.96 (s, 3H, NHAc), 1.32 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.1$ Hz, H- $\beta_{(\text{Ala})}$) ppm;

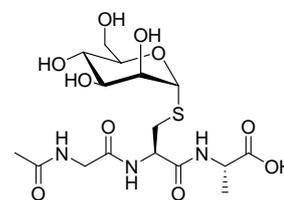
$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, D₂O/H₂O): $\delta = 176.4, 174.9, 171.6, 170.8$ (COOH, 2 CONH, COCH₃), 100.4 (C-1), 73.0 (C-5), 70.7 (C-3), 69.9 (C-2), 66.9 (C-4), 66.7 (C- $\beta_{(\text{Ser})}$), 60.9 (C-6), 53.4 (C- $\alpha_{(\text{Ser})}$), 49.1 (C- $\alpha_{(\text{Ala})}$), 46.6 (C- $\alpha_{(\text{Gly})}$), 21.7 (COCH₃), 16.2 ((C- $\beta_{(\text{Ala})}$) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 460.72$ [M+Na]⁺-Ion (ber.: $m/z = 460.15$) für Summenformel C₁₆H₂₇N₃O₁₁ (M = 437.16).

***N*-Acetyl-glycyl-*S*-(α -D-mannopyranosyl)-L-cysteyl-L-alanin (178)**

(Ac-Gly-Cys(α -Man)-Ala-OH)

In den Festphasenreaktor wurden 110 mg (88.0 μmol) Fmoc-Ala-Wang-Harz eingewogen. Nach dem allgemeinen Protokoll für die SPPS wurden nacheinander 118 mg (17.5 μmol , 2 Äq.) **42** und 105 mg (35.3 μmol , 4 Äq.) Fmoc-Glycin-OH umgesetzt und abgespalten. Es wurde ein farbloser, amorpher Feststoff erhalten.



MALDI-ToF-MS: $m/z = 644.76$ [M+H]⁺-Ion (ber.: $m/z = 644.17$) und $m/z = 660.71$ [M+K]⁺-Ion (ber.: $m/z = 660.14$) für Summenformel C₂₄H₃₅N₃O₁₄S (M = 621.18).

Nach der massenspektrometrischen Vermessung des Rohproduktes wurde Glykopeptid **175** nach **AAV 3** weiter umgesetzt. Abschließende Reinigung erfolgte mit Hilfe der präparativen HPLC. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.

HPLC: $t_R = 11.3$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B \rightarrow 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 18 mg, 39 μmol (45%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +56$ (c = 0.7, MeOH);

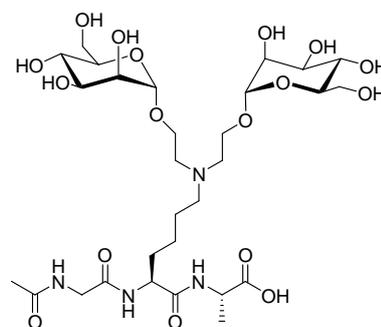
$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$): $\delta = 8.36\text{--}8.33$ (m, 1H, NH), 8.24 – 8.21 (m, 1H, NH), 8.11 – 8.08 (m, 1H, NH), 5.26 (bs, 1H, H-1), ~ 4.80 (1H, $\text{H-}\alpha_{(\text{Cys})}$ unter H_2O) 4.11 – 4.07 (m, 1H, $\text{H-}\alpha_{(\text{Ala})}$), 3.98 (bs, 1H, H-2), 3.90 – 3.87 (m, 1H, H-3), 3.86 – 3.82 (m, 1H, H-4), 3.79 – 3.76 (m, 1H, H-6), 3.62 – 3.58 (m, 2H, H-5, H-6'), 3.06 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Cys}),\text{H-}\beta(\text{Cys})} = 4.3$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta(\text{Cys}),\text{H-}\beta(\text{Cys})} = 14.5$ Hz, H- $\beta_{(\text{Cys})}$), 2.98 (dd, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Cys}),\text{H-}\beta(\text{Cys})} = 8.4$ Hz, $^2J_{\text{H-}\beta(\text{Cys}),\text{H-}\beta(\text{Cys})} = 14.5$ Hz, H- $\beta_{(\text{Cys})}$), 3.10 (m_c, 2H, H- $\alpha_{(\text{Gly})}$), 1.96 (s, 3H, NHAc), 1.36 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.1$ Hz, H- $\beta_{(\text{Ala})}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$): $\delta = 178.5, 174.9, 171.9, 170.8$ ($\underline{\text{COOH}}$, 2 $\underline{\text{CONH}}$, $\underline{\text{COCH}_3}$), 86.1 (C-1), 71.7, 69.3, 67.2, 65.1 (C-2, C-3, C-4, C-5), 60.7 (C-6), 52.1 (C- $\alpha_{(\text{Cys})}$), 51.1 (C- $\alpha_{(\text{Ala})}$), 42.6 (C- $\alpha_{(\text{Gly})}$), 29.0 (C- $\beta_{(\text{Cys})}$), 21.8 ($\underline{\text{COCH}_3}$), 16.2 ((C- $\beta_{(\text{Ala})}$) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 475.61$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 476.13$) für Summenformel $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$ ($\text{M} = 453.14$).

***N*-Acetyl-glycyl-*N*^ε,*N*^ε-di-[2-(α -D-mannopyranosyloxy)-ethyl]-L-lysyl-L-alanin (179)**
(Ac-Gly-Lys(α -Man)₂-Ala-OH)

In den Festphasenreaktor wurden 110 mg (88.0 μmol) Fmoc-Ala-Wang-Harz eingewogen. Nach dem allgemeinen Protokoll für die SPPS wurden nacheinander 196 mg (17.5 μmol , 2 Äq.) **66** und 105 mg (35.3 μmol , 4 Äq.) Fmoc-Glycin-OH umgesetzt und abgespalten. Es wurde ein farbloser, amorpher Feststoff erhalten.



MALDI-ToF-MS: $m/z = 1065.65$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 1065.42$), $m/z = 1087.61$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 1087.40$) und $m/z = 1103.59$ [$\text{M}+\text{K}$] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 1103.38$) für Summenformel $\text{C}_{45}\text{H}_{68}\text{N}_4\text{O}_{25}$ ($\text{M} = 605.20$).

Nach der massenspektrometrischen Vermessung des Rohproduktes wurde Glykopeptid **176** nach **AAV 3** weiter umgesetzt. Abschließende Reinigung erfolgte mit Hilfe der präparativen HPLC. Das Produkt wurde als farbloses Lyophilisat erhalten.

HPLC: $t_R = 9.3$ min [A = Wasser, B = Acetonitril + 1% TFA, 20% B \rightarrow 80% B, 100 min, 10 ml/min];

Ausbeute: 21 mg, 28 μ mol (33%);

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +21.6$ (c = 0.9, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$): $\delta = 8.44$ (d, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-NH}} = 6.4$ Hz, H-NH_(Ala)), 8.21 (d, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-NH}} = 6.1$ Hz, H-NH_(Gly)), 8.18 (d, 1H, $^3J_{\text{H-}\alpha,\text{H-NH}} = 7.2$ Hz, H-NH_(Lys)), ~ 4.80 (2H, H-1 unter H_2O), 4.29 (m, 2H, H- $\alpha_{\text{(Ala)}}$, H- $\alpha_{\text{(Lys)}}$), 4.01 – 3.95 (m, 2H, OCH $\underline{\text{H}}$ CH $\underline{\text{H}}$ CH $\underline{\text{H}}$ CH $\underline{\text{H}}$), 3.87 (bs, 2H, H-2), 3.82 – 3.79 (m, 2H, OCH $\underline{\text{H}}$ CH $\underline{\text{H}}$ CH $\underline{\text{H}}$), 3.81 – 3.78 (m, 2H, H- $\alpha_{\text{(Gly)}}$), 3.78 – 3.73 (m, 2 H, H-6a), 3.70 – 3.62 (m, 4H, H-3, H-6b), 3.55 (dd~t, 2H, $^3J = 9.9$ Hz, H-4), 3.51 – 3.48 (m, 2H, H-5), 3.48 – 3.41 (m, 4H, CH $\underline{\text{H}}$ CH $\underline{\text{H}}$ N), 3.22 – 3.16 (m, 2H, H- ϵ), 1.95 (s, 3H, NHAc), 1.80 – 1.72 (m, 1H, H- $\beta_{\text{(Lys)}}$), 1.72 – 1.62 (m, 3 H, H- $\beta_{\text{(Lys)}}$, H- δ), 1.38 – 1.34 (m, 2H, H- γ), 1.32 (d, 3H, $^3J_{\text{H-}\alpha(\text{Ala}),\text{H-}\beta(\text{Ala})} = 7.2$ Hz, H- $\beta_{\text{(Ala)}}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$): $\delta = 178.1 - 166.8$ (COOH, 2 CONH, COCH $\underline{\text{H}}$), 99.9 (C-1), 73.2 (C-5), 70.5 (C-3), 69.8 (C-2), 66.6 (C-4), 61.1, 60.9 (C-6. OCH $\underline{\text{H}}$ CH $\underline{\text{H}}$ CH $\underline{\text{H}}$), 53.9 (C- ϵ), 53.1 (C- α), 52.3 (CH $\underline{\text{H}}$ CH $\underline{\text{H}}$ N), 48.8 (C- α), 42.6 (C- $\alpha_{\text{(Gly)}}$), 30.6 (C- $\beta_{\text{(Lys)}}$), 22.4 (C- δ), 22.0 (C- γ), 21.7 (COCH $\underline{\text{H}}$), 16.1 (C- $\beta_{\text{(Ala)}}$) ppm;

MALDI-ToF-MS: $m/z = 729.73$ [M+H] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 729.34$), $m/z = 751.74$ [M+Na] $^+$ -Ion (ber.: $m/z = 751.32$) für Summenformel C $_{29}$ H $_{52}$ N $_4$ O $_{17}$ (M = 728.33).

9.4 Protokoll der Adhäsionstests

Bei der Durchführung der Adhäsionstests wurden folgende Lösungen verwendet:

Carbonatpuffer: 1.59 g Natriumcarbonat und 2.52 g Natriumhydrogencarbonat wurden in 1 L destilliertem, deionisiertem Wasser gelöst. Der pH-Wert wurde auf 9.5 eingestellt.

LB-Medium: 10.0 g Trypton, 10.0 g Natriumchlorid und 5.0 g Hefeextrakt wurden in 1 L destilliertem, deionisiertem Wasser gelöst und der pH-Wert auf 7.0 eingestellt. Das Medium wurde autoklaviert und nach Abkühlen mit 100 mg Ampicillin sowie 50 mg Chloramphenicol versetzt.

PBS Puffer: 8 g Natriumchlorid, 0.2 g Kaliumchlorid, 1.44 g Natriumhydrogen-phosphat-Dihydrat und 0.2 g Kaliumdihydrogenphosphat wurden in 1 L destilliertem,

deionisiertem Wasser gelöst und der pH Wert auf 7.2 eingestellt. Es wurde die doppelte Menge angesetzt, die Hälfte autoklaviert und die andere Hälfte für die Probenvorlage und den Ansatz von PBST verwendet.

PBST Puffer: PBS Puffer mit 0.05% Tween 20.

Mannan-Lösung: 1.5 mg Mannan pro mL Carbonatpuffer pH 9.5.

9.4.1 Kultivierung der Bakterien

200 μL einer homogenen Bakteriensuspension des Stammes *E. coli* (PKL1162) in PBS wurden mit LB-Medium versetzt und im Corningröhrchen bei 37 °C über Nacht im Inkubator bei 80 UpM inkubiert. Die gewachsenen Bakterien wurden am nächsten Tag geerntet. Dazu wurde die Bakteriensuspension 15 min bei 4000 UpM zentrifugiert, der Überstand abdekantiert und der Rückstand dreimal mit PBS-Puffer gewaschen. Das trockene Pellet wurde schließlich im Carbonatpuffer mit einer Konzentration von 10 mg/mL resuspendiert.

9.4.2 Präparation des Adhäsionstests

Die 96 Wells der Mikrotiterplatten wurden mit Mannan beschichtet, indem sie über Nacht offen mit 100 μL /Well einer Mannanlösung inkubiert (37 °C) wurden. Nach jeder Inkubation wurde dreimal mit 150 μL /Well PBST und vor jeder Messung noch dreimal mit 150 μL /well PBS gewaschen. Lücken in der Beschichtung der Wells wurden durch Inkubation mit 150 μL /Well 5% (v/g) BSA-Lösung (Rinderserumalbumin) in PBS 2 h blockiert. Anschließend wurden 50 μL PBS vorgelegt und ins Startwell 50 μL Inhibitorstammlösung in einer seriellen Verdünnung von 1:2 zusammen mit 50 μL Bakteriensuspension gegeben. Nach 45 min Inkubationszeit bei 37 °C wurde dreimal mit 200 μL PBS gewaschen. Die Fluoreszenz wurde anschließend bei 485 nm angeregt und bei einer Wellenlänge von 535 nm bestimmt.

9.5 Computermethoden

Alle MD-Simulationen wurden mit der *AMBER* Version 8.0 (mit MPT-Runtools für paralleles Rechnen) durchgeführt. Innerhalb des *AMBER*-Paketes wurde eine Kombination aus den GLYCAM04 Kraftfeldparametern, dem Standard-Wassermodell TIP3P und dem *gaff*-Kraftfeld (general *AMBER* force field) verwendet. Für die Visualisierung der MD-Simulationen wurde das Freeware-Programm UCSF Chimera Version 1.3^[198] verwendet.

Die Auswertung der Fortran-Programme erfolgte mit Origin 6.1, die Darstellung der Reliefkarten mit einer frei erhältlichen Version des Programms Surfer 6.04 von der Firma Golden Software.

Die MD-Simulationen, die Fortran-Programme und Visualisierung der Ergebnisse wurden auf den unten aufgeführten Systemen durchgeführt.

Amber 8, Fortran-Programme:

SGI Origin300 Server mit 4 R14000 (2.4) Prozessoren und 2 GB Hauptspeicher, Betriebssystem IRIX 6.5.24m.

UCSF Chimera 1.3, Origin 6.1, Surfer 6.04:

Intel Pentium IV mit einem 3.0 GHz Prozessor, Betriebssystem Windows XP.

Beispiel eines Inputfiles für die Aufwärmphase:

```
aufwaermphase md nvt eq with 50K
```

```
&cntrl
```

```
timlim=999999, imin=0,
```

```
ntx=1, irect=0,
```

```
ntpr=500, ntwr= 100, ntwx=500, ntwe = 500, ntave =500,
```

```
ntf=1, ntb=1, diele=1.0, cut=9.0, scnb = 2.0, scee = 1.2, nsnb=25,
```

```
igb = 0,
```

```
ntr=0, ibelly = 0,
```

```
nstlim = 10000, dt = .001,
```

```
ntt = 1, temp0 = 50,
```

```
ntc=1
```

```
/
```

```
END
```

Beispiel eines Inputfiles für die Produktphase:

```
2ns 2.1 Phase md ntp eq with 340K
```

```
&cntrl
```

```
timlim=999999, imin=0,
```

```
ntx=5, irect=1,
```

```
ntpr=1000, ntwr= 1000, ntwx=1000, ntwe = 1000, ntave =1000,  
ntf=1, ntb=2, dielc =1.0, cut=9.0, scnb = 2.0, scee = 1.2, nsnb=25,  
igb = 0,  
ntr=0, ibelly = 0,  
nstlim = 2000000, dt = .001,  
ntt = 1, temp0 = 340,  
ntp = 1, pres0 = 1,  
ntc=1
```

```
/
```

```
END
```

10 Literaturverzeichnis

- [1] M. T. Madigan, J. M. Martinko, J. Parker, *Brock Mikrobiologie*, 9. Aufl., Spektrum Akademiker Verlag, Heidelberg, Berlin, **2003**, 4-9.
- [2] H. Lis, N. Sharon, *Spektrum der Wissenschaft* **1993**, 3, 66-75.
- [3] L. C. Junqueira, J. Carneiro, *Histologie*, 3. Aufl., Springer, Berlin, **1991**, 51-52.
- [4] P. H. Seeberger, W.-C. Haase, *Chem. Rev.* **2000**, 100, 4349-4393.
- [5] H.-J. Gabius, H.-C. Siebert, S. André, J. Jiménez-Barbero, H. Rüdiger, *ChemBioChem* **2004**, 5, 740-764.
- [6] a) A. Varki, *Glycobiology* **1993**, 3, 97-130. b) P. Sears, C.-H. Wong, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 2446-2471; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 2300-2324. c) M. L. Phillips, E. Nudelman, F. C. A. Gaeta, M. Perez, A. K. Singhal, S. Hakomori, J. C. Paulson, *Science* **1990**, 250, 1130-1132. d) A. L. Lasky, *Science* **1992**, 258, 964-969. e) J. S. Danishefsky, J. R. Allen, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 882-911; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 836-863. f) C. R. Bertozzi, *PNAS* **2001**, 98, 12870-12871.
- [7] B. G. Davis, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 3215-3237.
- [8] R. A. Laine, *Glycobiology* **1994**, 4, 759-767.
- [9] T. K. Lindhorst, *Chemie in Unserer Zeit* **2000**, 34, 38-52.
- [10] M. Dubber, O. Sperling, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, 4, 3901-3912.
- [11] T. W. Rademacher, R. B. Parekh, R. A. Dwek, *Ann. Rev. Biochem.* **1988**, 57, 785-838.
- [12] R. A. Dwek, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 683-720.
- [13] T. K. Lindhorst, *Antitumor and Antimicrobial Glycoconjugates*, in: *Glycoscience, Chemistry and Chemical Biology* B. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem, (eds.) Springer, Berlin u. a. **2001**, III, 2393-2440.
- [14] T. K. Lindhorst, *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 3. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2007**, 215 ff..
- [15] S. L. Erlandsen, C. J. Kristich, G. M. Dunny, C. L. Wells, *J. Histochem. Cytochem.* **2004**, 52, 1427-1435.
- [16] S. Ito, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **1974**, 268, 55-66.
- [17] D. Voet, J. Voet, *Biochemistry*, Wiley-VCH, New York, **1990**, 295.
- [18] P. M. Rudd, T. Elliott, P. Creswell, I. A. Wilson, R. A. Dwek, *Science* **2001**, 291, 2370-2376.
- [19] N. Sharon, H. Lis, *Science* **1989**, 246, 227-234.

- [20] U. Diederichsen, T. K. Lindhorst, B. Westermann, L. A. Wessjohann, *Bioorganicchemistry* **1999**, Wiley-VCH, Weinheim.
- [21] H. J. Gabius, *Electron. J. Pathol. Histol.* **2001**, 7 (1), 5.
- [22] A.-J. Petrescu, M. R. Wormland, R. A. Dwek, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2006**, 16, 600-607.
- [23] L. Ellgaard, A. Helenius, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2003**, 4, 181-191.
- [24] V. Wittmann, in: *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology*, B. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem, (eds.) Springer, Berlin u. a. **2001**, III, 2253-2287.
- [25] C. J. Lote, J. B. Weiss, *Biochem. J.* **1971**, 123, 25p.
- [26] G. R. Fenwick, R. K. Heaney, W. J. Mullin, *CRC Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* **1983**, 18, 123-201.
- [27] Ursprünglich: <http://www.plaquex.ch/Deutsch/HSI-D.htm> (Stand 02.04.2009)
- [28] R. Kornfeld, S. Kornfeld, *Annu. Rev. Biochem.* **1985**, 54, 631-664.
- [29] E. G. Berger, E. Buddecke, J. P. Kamerling, A. Kobata, J. C. Paulson, J. F. G. Vliegthart, *Experientia* **1982**, 38, 1129-1162.
- [30] C. F. W. Becker, X. Liu, D. Olschewski, R. Castelli, R. Seidel, P. H. Seeberger, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 8338-8343; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 8215-8219.
- [31] T. D. Butters, R. A. Dwek, F. M. Platt, *Chem. Rev.* **2000**, 100, 4683-4696.
- [32] Y. D. Vankar, R. R. Schmidt, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, 29, 201-216.
- [33] S. Degroote, J. Wolthoorn, G. V. Meer, *Semin. Cell. Dev. Biol.* **2004**, 15, 375-387.
- [34] L. Stryer, *Biochemie*, 5. Aufl., Heidelberg, **2003**, S. 350-355.
- [35] T. Kolter, K. Sandhoff, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 1632-1670; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1532-1568.
- [36] A. Huwiler, T. Kolter, J. Pfeilschifter, K. Sandhoff, *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, 1485, 63-99.
- [37] R. U. Lemieux, *Human Blood Groups and Carbohydrate Chemistry*, Elsevier, Amsterdam, **1978**.
- [38] C. R. Bertozzi, L. L. Kiessling, *Science* **2001**, 291, 2357-2364.
- [39] H.-J. Gabius, *Eukaryotic Glycosylation and Lectins: Hardware of the sugar code (Glycocode) in Biological Information Transfer*, Eureka, **2001**, <http://www.lectins.de> (Stand 06.04.2009).
- [40] W. I. Weis, K. Drickamer, *Structure* **1994**, 2, 1227-1240.
- [41] K.-S. Kenneth Ng, K. Drickamer, W. I. Weis, *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 663-674.
- [42] M. Ambrosi, N. R. Cameron, B. G. Davis, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 1593-1608.

- [43] A. Varki, R. Cummings, J. Esko, H. Freeze, G. Hart, J. Marth (eds.) *Essentials of Glycobiology*, Cold Spring Harbour Press, New York, **1999**.
- [44] A. Imberty, Y. M. Chabre, R. Roy, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 7490-7499.
- [45] L. Baldini, A. Casnati, F. Sansone, R. Ungaro, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 254-266.
- [46] M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908-2953; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754-2794.
- [47] Y. C. Lee, *Carbohydr. Res.* **1978**, *67*, 509-514.
- [48] J. D. Badjic, A. Nelson, S. J. Cantrill, W. B. Turnbull, J. Fraser Stoddart, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 723-732.
- [49] A. Mulder, J. Huskens, D. N. Reinhoudt, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3409-3424.
- [50] L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2408-2429; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2348-2368..
- [51] W. P. Jencks, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1981**, *78*, 4046-4050.
- [52] R. Roy, *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **2003**, *15*, 291-310.
- [53] C. Sisu, A. J. Baron, H. M. Branderhorst, S. D. Connell, C. A. G. M. Weijers, R. de Vries, E. D. Hayes, A. V. Pukin, M. Gilbert, R. J. Pieters, H. Zuilhof, G. M. Visser, W. B. Turnbull, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 329-337.
- [54] M. Dubber, O. Sperling, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3913-3922.
- [55] J. D. Badjic, A. Nelson, S. J. Cantrill, W. B. Turnbull, J. F. Stoddart, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 723-732.
- [56] P. Bach, M. Bols, A. Damsgård, S. U. Hansen, A. Lohse in *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology*, B. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem, (eds.) Springer, Berlin u. a. **2001**, *III*, 2533-2540.
- [57] R. Roy, in: *Carbohydrate Chemistry*; G.-J. Boons (ed.), Blackie Academic & Professional/ Chapman&Hall, London, **1998**, 243-321.
- [58] T. Buskas, S. Ingale, G.-J. Boons, *Glycobiology* **2006**, *16*, 113R-136R.
- [59] C. Brocke, H. Kunz, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3085-3112.
- [60] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2149-2154.
- [61] R. B. Merrifield, J. M. Stewart, *Nature* **1965**, *207*, 522-523.
- [62] O. Seitz, *ChemBioChem* **2000**, *1*, 214-246.
- [63] T. Vuljanic, K.-E. Bergquist, H. Clausen, S. Roy, J. Kihlberg, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7983-8000.
- [64] S. Peters, T. L. Lowary, O. Hindsgaul, M. Meldal, K. Bock, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1995**, 3017-3022.

- [65] G. Kretzschmar, U. Sprengard, H. Kunz, E. Bartnik, W. Schmitt, A. Toepfer, B. Hörsch, M. Krause, D. Seiffge, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 13015-13030.
- [66] A. Kichler, F. Schuber, *Glycoconjugate J.* **1995**, *12*, 275-281.
- [67] T. K. Lindhorst, *Top. Curr. Chem.* **2002**, *218*, 201-235.
- [68] A. Gunnarson, B. Svensson, B. Nilsson, S. Svensson, *Eur. J. Biochem.* **1984**, *145*, 463-467.
- [69] W. Koenigs, E. Knorr, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, *34*, 957-981.
- [70] R. R. Schmidt, J. Michel, M. Roos, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1343-1357.
- [71] Y. Huang, S. Dey, X. Zhang, F. Sönnichsen, P. Garner, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4626-4640.
- [72] J. Beignet, J. Tiernan, C. H. Woo, B. M. Kariuki, L. R. Cox, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6341-6356.
- [73] N. Laurent, D. Lafont, P. Boullanger, *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 823-835.
- [74] J. B. Schwarz, S. D. Kuduk, X.-T. Chen, D. Sames, P. W. Glunz, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2662-2673.
- [75] O. Seitz, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8766-8776.
- [76] H. Vegad, C. J. Gray, P. J. Somers, A. S. Dutta, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1997**, 1429-1441.
- [77] M. Bodanszky, S. S. Deshmane, J. Martinez, *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1622-1625.
- [78] M. A. Brimble, R. Kowalczyk, P. W. R. Harris, P. R. Dunbar, V. J. Muir, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 112-121.
- [79] M. Elofsson, B. Walse, J. Kihlberg, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *51*, 7613-7616.
- [80] L. A. Salvador, M. Elofsson, J. Kihlberg, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 5643-5656.
- [81] T. K. Lindhorst, *J. Carbohydrate Chem.* **1997**, *16*, 237-243.
- [82] P. Gellerforst, K. Axelsson, A. Helander, S. Johansson, L. Kenne, S. Lindqvist, B. Pavlu, A. Skottner, L. Fryklund, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 11444-11449.
- [83] E. A. Leitao, V. C. B. Bittencourt, R. M. T. Haido, A. P. Valente, J. Peter-Katalinic, M. Letzel, L. M. de Souza, E. Barreto-Bergter, *Glycobiology* **2003**, *13*, 681-692.
- [84] W. Chai, C.-T. Yuen, H. Kogleberg, R. A. Carruthers, R. U. Margolis, T. Feizi, A. M. Lawson, *Eur. J. Biochem.* **1999**, *263*, 879-888.
- [85] T. Endo, *Glycoconj. J.* **2004**, *21*, 3-7.
- [86] P. S. Chen, H. K. Mitchell, M. Neuweg, *Insect. Biochem.* **1978**, *8*, 279-286.

- [87] K. J. Kramer, T. L. Hopkins, R. F. Ahmed, D. Müller, G. Lookhart, *Arch. Biochem. Biophys.* **1980**, *205*, 146-155.
- [88] B. K. Hubbard, C. T. Walsh, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 752-789; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *42*, 730-765.
- [89] O. Sperling, A. Fuchs, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3913-3922.
- [90] D. Choudhury, A. Thompson, V. Stojanoff, S. Langermann, J. Pinkner, S. J. Hultgren, S. D. Knight, *Science* **1999**, *285*, 1061-1066.
- [91] C. S. Hung, J. Bouckaert, D. Hung, J. Pinkner, C. Widberg, A. Defusco, C. G. Auguste, R. Strouse, S. Langermann, G. Waksman, S. J. Hultgren, *Mol. Microbiol.* **2002**, *44*, 903-918.
- [92] K. Pachamuthu, R. R. Schmidt, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 160-187.
- [93] S. C. Cohen, R. L. Halcomb, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6145-6152.
- [94] K. Mazeau, I. Tvaroska, *Carbohydr. Res.*, **1992**, *225*, 27-41.
- [95] U. Nilsson, R. Johansson, G. Magnusson, *Chem. Eur. J.*, **1996**, *2*, 295-302.
- [96] A. Geyer, G. Hummel, T. Eisele, S. Reinhard, R. R. Schmidt, *Chem. Eur. J.*, **1996**, *2*, 981-988.
- [97] H. Driguez, *ChemBioChem*, **2001**, *2*, 311-318.
- [98] J. K. Fairweather, H. Driguez in *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Vol. I, B. Ernst, G. W. Hart, P. Sinay (eds.), Wiley-VCH, Weinheim, **2000**, 531-564.
- [99] M. L. Sinnott, *Chem. Rev.*, **1990**, *90*, 1171-1202.
- [100] C. M. Stevens, R. Watanabe, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 725-727.
- [101] H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 426-427; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1984**, *23*, 436-437.
- [102] H. M. Branderhorst, R. M. J. Liskamp, R. J. Pieters, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 4290-4296.
- [103] C. E. P. Maljaars, K. M. Halkes, W. L. de Oude, S. v. d. Poel, N. J. M. Pijnenburg, J. P. Kamerling, *J. Carbohydrate Chemistry* **2005**, *24*, 353-367.
- [104] M. Honda, H. Morita, I. Nagakura, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8932-8936.
- [105] C. Kieburg, M. Dubber, T. K. Lindhorst, *Synlett* **1997**, 1447-1449.
- [106] C. D. Heidecke, T. K. Lindhorst, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 9056-9067.
- [107] F. M. Winnik, J. P. Carver, J. J. Krepinsky, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2701-2707.
- [108] M. K. Schwarz, D. Tumelty, M. A. Gallop, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2219-2231.
- [109] J. Dahmen, T. Frejd, G. Gronberg, T. Lave, G. Magnusson, G. Noori, *Carbohydr. Res.* **1983**, *116*, 303-307.

- [110] T. K. Lindhorst, S. Kötter, U. Krallmann-Wenzel, S. Ehlers, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **2001**, 823-831.
- [111] D. L. Cheney, L. A. Paquette, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3334-3347.
- [112] J. C. Robbins, M. H. Lam, C. S. Tripp, R. L. Bugianesi, M. M. Ponpipom, T. Y. Shen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1981**, *78*, 7294-7298.
- [113] E. A. L. Biessen, F. Noorman, M. E. v. Teijlingen, J. Kuipert, M. Barrett-Bergshoeff, M. K. Bijsterbosch, D. C. Rijken, T. J. C. van Berkel, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 28024-28030.
- [114] C. Grandjean, C. Rommens, H. Gras-Masse, O. Melnyk, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1110-1114; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1068-1072.
- [115] M. Dubber, T. K. Lindhorst, *Synthesis* **2001**, *2*, 327-330.
- [116] D. P. Sutherlin, T. M. Stark, R. Hughes, R. W. Armstrong, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8350-8354.
- [117] E. M. Filachione, M. L. Fein, J. H. Lengel, C. H. Fisher, *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 526-529.
- [118] W. B. Turnbull, A. R. Pease, J. F. Stoddart, *ChemBioChem* **2000**, *1*, 70-74.
- [119] A. F. Abdel-Magid, K. G. Carson, B. D. Harris, C. A. Maryanoff, R. D. Shah, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3849-3862.
- [120] D. C. Beshore, C. J. Dinsmore, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1201-1204.
- [121] A. Schierholt, T. K. Lindhorst, *J. Carbohydr. Chem.* **2009**, *28*, 191-197.
- [122] H. C. Hang, C. R. Bertozzi, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 727-736.
- [123] D. Specker, V. Wittmann, *Topp. Curr. Chem.* **2007**, *267*, 65-107.
- [124] C. Haase, O. Seitz, *Topp. Curr. Chem.* **2007**, *267*, 1-36.
- [125] J. Brüning, L. L. Kiessling, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2907-2910.
- [126] Z.-W. Guo, Y. Nakahara, Y. Nakahara, T. Ogawa, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 1917-1924.
- [127] I. Hamachi, S. Kiyonaka, S. Shinkai, *Chem. Commun.* **2000**, 1281-1282.
- [128] J. P. Malkinson, R. A. Falconer, I. Toth, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5249-5252.
- [129] H. Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635-646.
- [130] J. Garcia, F. Urpi, J. Vilarasa, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4841-4844.
- [131] T. Inazu, K. Kobayashi, *Synlett* **1993**, 869-870.
- [132] V. Maunier, P. Boullanger, D. Lafons, *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, *16*, 231-235.
- [133] K. J. Dores, Y. Mimura, R. A. Dwek, P. M. Rudd, T. Elliott, B. G. Davis, *Chem. Commun.* **2006**, 1401-1403.

- [134] N. Röckendorf, T. K. Lindhorst, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 4441-4445.
- [135] P. Boullanger, V. Maunier, D. Lafont, *Carbohydr. Res.* **2000**, *324*, 97-106.
- [136] H. Shaikh, *Dissertation*, Universität Kiel, **2008**.
- [137] H. Herzner, T. Reipen, M. Schultz, H. Kuntz, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4495-4537.
- [138] D. Derrien, P. Midoux, C. Petit, E. Negre, R. Mayer, M. Monsigny, A.-C. Roche, *Glycoconjugate J.* **1989**, *6*, 241-255.
- [139] S. K. Maity, S. K. Dutta, A. K. Banerjee, B. Achari, M. Singh, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 6965-6974.
- [140] R. Cheaib, A. Listkowski, S. Chambert, A. Doutheau, Y. Queneau, *Tetrahedron Asym.* **2008**, *19*, 1919-1933.
- [141] H. Shaikh, F. D. Sönnichsen, T. K. Lindhorst, *Carb. Res.* **2008**, *343*, 1665-1674.
- [142] N. Hada, K. Sato, Y. Hin, T. Takeda, *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 1131-1135.
- [143] M. Köhn, J. M. Benito, C. O. Mellet, T. K. Lindhorst, J. M. G. Fernández, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 771-777.
- [144] Y. Gao, A. Eguchi, K. Kakehi, Y. C. Lee, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6151-6157.
- [145] J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555-578.
- [146] B. Kamber, A. Hartmann, D. Eisler, B. Riniker, H. Rink, P. Sieber, W. Rittel, *Helv. Chim. Acta* **1980**, *63*, 899-915.
- [147] Von K. Schwekendiek freundlicherweise zur Verfügung gestellt, K. Schwekendiek, *aktuelle Arbeiten*, CAU Kiel, **2008**.
- [148] M. Hartmann, *aktuelle Arbeiten*, CAU Kiel, **2009**.
- [149] R. Y. Tsien, *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, *67*, 509-544.
- [150] T.-K. Lee, S.-M. Lee, S.-J. Ryoo, J.-W. Byun, Y.-S. Lee, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7135-7138.
- [151] S. S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1328-1333.
- [152] H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3787-3790.
- [153] M. Mergler, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4005-4010.
- [154] R. C. Sheppard, B. J. Williams, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, 587-589.
- [155] F. S. Tjoeng, J. P. Tam, R. B. Merrifield, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1979**, 262-274.
- [156] C. P. Holmes, D. G. Jones, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2318-2319.
- [157] H. Kunz, B. Dombo, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 732-734; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 711-713.

- [158] O. Seitz, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 901-904; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 803-805.
- [159] J. Izdebski, D. Kunce, *J. Peptide Sci.* **1997**, *3*, 141-144.
- [160] V. Dourtoglou, J.-C. Ziegler, B. Gross, *Tetrahedron Lett.* **1978**, *15*, 1269-1272.
- [161] R. Knorr, A. Trzeciak, W. Bannwarth, D. Gillessen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1927-1930.
- [162] W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 788-798.
- [163] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.
- [164] L. A. Carpino, H. Imazumi, B. M. Foxman, M. J. Vela, P. Henklein, A. El-Faham, J. Klose, M. Bienert, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2253-2256.
- [165] A. Patel, T. K. Lindhorst, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2674-2680.
- [166] I. Abdelmoty, F. Albericio, L. A. Carpino, B. M. Foxman, S. A. Kates, *Lett. in Pept. Sci.* **1994**, *1*, 57-67.
- [167] C. A. G. N. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827-10852.
- [168] S. A. Mitchell, M. R. Pratt, V. J. Hruby, R. Polt, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2327-2342.
- [169] C. Brocke, H. Kunz, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3085-3112.
- [170] P. T. Singer, A. Smalas, R. P. Cartly, W. F. Mangel, R. M. Sweet, *Science* **1993**, *259*, 669-673.
- [171] T. N. Bhat, G. Bentley, G. Boulot, M. I. Greene, D. Tello, W. Dall'Acqua, H. Souchin, F. Schwartz, R. Mariuzza, R. Pouljak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 1089-1093.
- [172] Z. Otwinowski, R. W. Schevitz, R. G. Zhang, C. L. Lawson, A. Joachimiak, R. Q. Marmorstein, B. F. Luisi, P. B. Sigler, *Nature* **1988**, *335*, 321-329.
- [173] A. M. Buckle, P. Cramer, A. R. Fersht, *Biochemistry* **1996**, *35*, 4298-4305.
- [174] J. Bouckaert, J. Berglund, M. Schembri, E. De Genst, L. Cools, M. Wuhrer, C.-S. Hung, J. Pinkner, R. Slättegård, A. Zavialov, D. Choudhury, S. Langermann, S. J. Hultgren, L. Wyns, P. Klemm, S. Oscarson, S. D. Knight, H. De Greve, *Mol. Microbiol.* **2005**, *55*, 441-455.
- [175] C.-S. Hung, J. Bouckaert, D. Hung, J. Pinkner, C. Widberg, A. DeFusco, C. G. Auguste, R. Strouse, S. Langermann, G. Waksman, S. J. Hultgren, *Mol. Microbiol.* **2002**, *44*, 903-915.
- [176] R. U. Lemieux, *Acc. Chem. Rev.* **1996**, *29*, 373-380.
- [177] M. Di Bari, F. Cavatorta, A. Deriu, G. Albanese, *Biophys. J.* **2001**, *81*, 1190-1194.

- [178] B. P. van Eijck, J. Kroon, *J. Mol. Struct.* **1979**, *195*, 133-146.
- [179] P. J. Rossky, M. Karplus, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 1913-1937.
- [180] J. R. Grigera, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1988**, *84*, 2603-2608.
- [181] J. H. E. Koehler, W. Saenger, W. F. van Gunsteren, *J. Mol. Biol.* **1988**, *203*, 241-250.
- [182] J. W. Brady, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5155-5165.
- [183] L. M. J. Kroon-Batenburg, J. Kroon, B. R. Leeﬂang, J. F. G. Vliegthart, *Carbohydr. Res.* **1993**, *245*, 21-42.
- [184] F. Corzana, J. H. Busto, G. Jimnez-Oss, J. L. Asensio, J. Jimnez-Barbero, J. M. Peregrina, A. Avenoz, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14640-14648.
- [185] D. M. Coltart, A. K. Royyuru, L. J. Williams, P. W. Glunz, D. Sames, S. D. Kuduk, J. B. Schwarz, X.-T. Chen, S. J. Danishefsky, D. H. Live, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9833-9844.
- [186] F. Wennmohs, V. Staemmler, M. Schindler, *J. Chem. Phys.* **2003**, *119*, 3208-3218.
- [187] D. A. Pearlman, D. A. Case, J. W. Caldwell, W. S. Ross, T. E. Cheatham III, S. DeBolt, D. Ferguson, G. Seibel, P. Kollman, *Comp. Phys. Commun.* **1995**, *91*, 1-41.
- [188] M. Basma, S. Sundara, D. Calgan, T. Vernali, R. J. Woods, *J. Comput. Chem.* **2001**, *22*, 1125-1137.
- [189] J. Wang, R. Wolf, J. Caldwell, P. Kollman, D. Case, *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1157-1174.
- [190] W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. Madura, M. L. Klein, *J. Chem. Phys.* **1983**, *79*, 926-935.
- [191] Tripos Inc. *SYBYL, Version 6.8*, Tripos Inc., St. Louis, **2001**.
- [192] S. B. Engelsen, S. Perez, *Carbohydr. Res.* **1996**, *292*, 21-38.
- [193] F. H. Stilinger, A. Rahman, *J. Chem. Phys.* **1974**, *60*, 1545-1557.
- [194] B. P. van Eijck, J. Kroon, *J. Mol. Struct.* **1989**, *195*, 133-146.
- [195] S. B. Engelsen, J. W. Brady, J. W. Sherbon, *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 2099-2107.
- [196] Autorenkollektiv Organikum, „*Organikum*“ 21. Auflage, Wiley – VCH, Weinheim **2001**.
- [197] D. D. Perrin, W. L. Armarego, D. R. Perrin „*Purification of laboratory Chemicals*“, 2nd Ed., Pergamon Press, Oxford **1980**.
- [198] E. F. Pettersen, T. D. Goddard, C. C. Huang, G. S. Couch, D. M. Greenblatt, E. C. Meng, T. E. Ferrin, *J. Comput. Chem.* **2004**, *25*, 1605-1612.

11 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: ELEKTRONENMIKROSKOP-AUFNAHMEN DER GLYKOKALYX EINER KATZEN DARMZELLE (LINKS) ^[16]	12
ABBILDUNG 2: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER ZELLMEMBRAN. ^[27]	13
ABBILDUNG 3: MINIMALSTRUKTUREN DER N-GLYKOPROTEINE UND DER GPI-ANKER, SOWIE EIN BEISPIEL FÜR O-GLYKAN. DIE PFEILE DEUTEN MÖGLICHE ANKNÜPFUNKTE FÜR WEITERE KOHLENHYDRATKETTEN AN.	14
ABBILDUNG 4: GLYKOLIPIDE DER ZELLMEMBRAN.	15
ABBILDUNG 5: DAS A,B,0-BLUTGRUPPENSYSTEM MIT DAZUGEHÖRIGEN KOHLENHYDRATEPITOPEN	15
ABBILDUNG 6: DAS TRIMERE MBP-A-LEKTIN MIT DREI GEBUNDENEN KOHLENHYDRAT-LIGANDEN. ^[40]	17
ABBILDUNG 7: LINKS: CALCIUM-IONEN ABHÄNGIGE BINDUNG VON MANNOSE AN EINE CRD.	18
ABBILDUNG 8: BEISPIELE FÜR WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN MULTIVALENTEN LIGANDEN	21
ABBILDUNG 9: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES <i>CROSS-LINKING</i> CLUSTER-EFFEKTS. ^[53]	22
ABBILDUNG 10: BEISPIEL FÜR EIN GLYKOMIMETIKUM MIT GLEICHEN LIGANDEIGENSCHAFTEN	23
ABBILDUNG 11: GLYKOMIMETIKA-TYPEN A) GLYKOCLUSTER B) CYCLISCHE GLYKOCLUSTER	23
ABBILDUNG 12: SYNTHESHEMA FÜR EINE PEPTID-FESTPHASENSYNTHESE	26
ABBILDUNG 13: SCHEMA DER MIMIKRIERUNG VON OLIGOSACCHARIDSTRUKTUREN MIT GLYKOPEPTIDEN.	28
ABBILDUNG 14: DIE BEIDEN UNTERSCHIEDLICHEN SYNTHESWEGE ZUR DARSTELLUNG VON GLYKOPEPTIDEN	29
ABBILDUNG 15: DARSTELLUNG DES FMOC-PROTOKOLLS. NACH DER SELEKTIVEN ENTSCHÜTZUNG DER TERMINALEN AMINOFUNKTION ERFOLGT IM NÄCHSTEN SCHRITT DIE PEPTIDKUPPLUNG MIT DER NÄCHSTEN AMINOSÄURE.	31
ABBILDUNG 16: ÜBERSICHT ÜBER DIE VERWENDETEN AMINOSÄUREN FÜR EINE MANNOSE-FUNKTIONALISIERUNG	31
ABBILDUNG 17: RETROSYNTHETISCHE AUFSPALTUNG DER GLYKOAMINOSÄUREBAUSTEINE.	32
ABBILDUNG 18: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER SPACER-KOMBINATIONEN	33
ABBILDUNG 19: ALLGEMEINER ZUGANG ZU MANNOSYLIERTEN SERIN-DERIVATEN DURCH	34
ABBILDUNG 20: MECHANISMUS DER GLYKOSIDIERUNG AM BEISPIEL VON MANNOSE	36
ABBILDUNG 21: BENZYLSCHÜTZUNG DES FMOC-SERINS	36
ABBILDUNG 22: DARSTELLUNG DES VOLLGESCHÜTZTEN MANNOSYLSERINS (15) NACH DER KOENIGS-KNORR-METHODE.	37
ABBILDUNG 23: SYNTHESE DES TRICHLORACETIMIDAT (17) IN ZWEI SCHRITTEN AUSGEHEND VOM PENTAACETAT 16	38
ABBILDUNG 24: VERSUCHE ZUR HYDROGENOLYTISCHE ENTSCHÜTZUNG DES BENZOYL-GESCHÜTZTEN	39
ABBILDUNG 25: BILDUNG UND ANSCHLIEßENDE UMLAGERUNG ZUM GEWÜNSCHTEN PRODUKT 19	39
ABBILDUNG 26: GLYKOSYLIERUNGSREAKTIONEN ZU 19 MIT UNTERSCHIEDLICHEN SYSTEMEN	40
ABBILDUNG 27: POSTULIERTER MECHANISMUS FÜR DIE NEBENPRODUKTBIEDUNG BEI DER UMSETZUNG VON GLYKOSYLDONOR 4 MIT 12 NACH VEGAD ET AL. ^[76]	42
ABBILDUNG 28: MALDI-TOF-MS-SPEKTREN DER UMSETZUNG DER ENTSPRECHENDEN FMOC-AMINOSÄUREN	43
ABBILDUNG 29: STRUKTURVORSCHLÄGE FÜR DIE DREI GEFUNDENEN NEBENPRODUKTE 27-29	44
ABBILDUNG 30: DARSTELLUNG DES FMOC-THR-OBN 31	44
ABBILDUNG 31: DARSTELLUNG DER GLYKOAMINOSÄUREBAUSTEINE MIT THREONIN.	45
ABBILDUNG 32: DARSTELLUNG VON FMOC-TYR-OBN (36) IN ZWEI SCHRITTEN	46
ABBILDUNG 33: GLYKOSYLIERUNGSREAKTIONEN ZUR DARSTELLUNG VON 38.	46
ABBILDUNG 34: DARSTELLUNG DES MANNOSIDS 39 MIT FMOC-TYR-OH (35) UND SNCL ₄	47

ABBILDUNG 35: GLYKOSYLIERUNGSREAKTIONEN MIT DEM CYSTEIN-DERIVAT 41 UND DEN GLYKOSYLDONOREN 16 UND 17	48
ABBILDUNG 36: MECHANISMUS DER ALLYLENTSCHÜTZUNG MIT PD(0).	49
ABBILDUNG 37: DARSTELLUNG DES ALLYLGESCHÜTZTEN FMOC-CYS-OALLYL (48) IN ZWEI SCHRITTEN.	49
ABBILDUNG 38: DARSTELLUNG DES GLYKOAMINOSÄURE-BAUSTEINS 50 AUSGEHEND VON 16 UND 17	50
ABBILDUNG 39: PD-KATALYSIERTE ENTSCHÜTZUNG DES ALLYLESTERS (50).	51
ABBILDUNG 40: VERSUCH ZUR DARSTELLUNG VON 52 MITTELS RADIKALISCHER ADDITION AN 51	51
ABBILDUNG 41: TESTREAKTION ZUR DARSTELLUNG VON THIOETHERN.	52
ABBILDUNG 42: DARSTELLUNG DES THIOESTERS 56 MITTELS NAH.	53
ABBILDUNG 43: STRUKTUR DES HEXAGLYKOPEPTIDS VON BIESSEN ET AL. ^[113]	54
ABBILDUNG 44: DARSTELLUNG DES CARBOXYMETHYLMANNOSIDS (58) IN DREI STUFEN AUSGEHEN VON	55
ABBILDUNG 45: DARSTELLUNG DER FREIEN SÄURE 58 ÜBER DEN MANNOSIDISCHEN ALLYLESTER 63	56
ABBILDUNG 46: PEPTIDKUPPLUNG MIT DEM MANNOSEBAUSTEIN 58 UND FMOC-LYS-OH (57).	56
ABBILDUNG 47: REDUKTIVE AMINIERUNG VON 60 MIT FMOC-LYS-OH (57).	57
ABBILDUNG 48: DARSTELLUNG DES BOC-GESCHÜTZTEN AMINS 69 UND DIE ENTSCHÜTZUNG ZUM FREIEN AMIN 67	58
ABBILDUNG 49: KUPPLUNG DES AMINBAUSTEINS 67 MIT 74 ZUM GLYKOAMINOSÄURE- BAUSTEIN 75	59
ABBILDUNG 50: DARSTELLUNG DES MANNOSYLAMINS 68 UND ANSCHLIEßENDER PEPTIDKUPPLUNG.	59
ABBILDUNG 51: A) DURCH NACHWEIS DER INTERMEDIATE UNTERMAUERTER MECHANISMUS DER STAUDINGER-LIGATION,	60
ABBILDUNG 52: DARSTELLUNG DER ASPARAGINSÄUREDERIVATE 75 UND 77 UNTER STAUDINGER-LIGATIONS-BEDINGUNGEN.	61
ABBILDUNG 53: MECHANISMUS DER ANOMERISIERUNG WÄHREND DER STAUDINGER- LIGATION.	61
ABBILDUNG 54: TESTANSÄTZE ZUR DARSTELLUNG VON REINEN ANOMEREN	63
ABBILDUNG 55: DARSTELLUNG DES UNNATÜRLICHEN GLUTAMINSÄURE-BAUSTEINS (91).	64
ABBILDUNG 56: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER NACHTRÄGLICHEN FUNKTIONALISIERUNG DER FERTIGEN PEPTIDE	66
ABBILDUNG 57: CARBOXY-FUNKTIONALISIERTE MANNOSIDE FÜR DIE NACHTRÄGLICHE FUNKTIONALISIERUNG DER PEPTIDE.	67
ABBILDUNG 58: A) 16 , BF ₃ *OET ₂ , CH ₂ CL ₂ , 0°C→RT, 16 H; B) NAOME, MEOH, RT, 4 H; C) LIOH, THF/H ₂ O (1:1).	68
ABBILDUNG 59: DARSTELLUNG DES BAUSTEINS 108 IN ZWEI SCHRITTEN AUSGEHEND VOM PENTABENZOAT 106	69
ABBILDUNG 60: DARSTELLUNG DES BOC-GESCHÜTZTEN MANNOSE-DERIVATS 109 AUS 53 UND 105	70
ABBILDUNG 61: MÖGLICHE ANKNÜPFUNGSPUNKTE ZUR SYNTHES VON TRIVALENTEN ODER TETRAVALENTEN GLYKOCLUSTERN.	71
ABBILDUNG 62: DARSTELLUNG DER BIVALENTEN CLUSTERVORSTUFE (112) IN DREI SCHRITTEN.	72
ABBILDUNG 63: SYNTHES DES CYSTINDERIVATS 114 AUS DEM GESCHÜTZTEN THIOL 113 MIT IOD.	73
ABBILDUNG 64: SYNTHES DES TRETRAVALENTEN GLYKOCLUSTER 112 AUS DER GLYKOCLUSTERVORSTUFE 115 MIT IOD.	74
ABBILDUNG 65: WEITERE REAKTIONEN MIT DEM THIOLEDERIVATE (113) ZU DEN CYSTEIN- DERIVATEN 117 UND 118	75
ABBILDUNG 66: DARSTELLUNG DES GESCHÜTZTEN PHENYLDERIVATS (119).	76
ABBILDUNG 67: SYNTHES DES BIVALENTEN GESCHÜTZTEN CLUSTERS 119	76
ABBILDUNG 68: VERSUCHE ZUR DARSTELLUNG DER TRIVALENTEN CLUSTER 128 UND 129	77
ABBILDUNG 69: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER ANKNÜPFUNKTE AN DIE ASPARAGINSÄURE.	79
ABBILDUNG 70: UMSETZUNG VON FMOC-ASP-OH (131) IN EINER DOPPELTEN STAUDINGER- LIGATION MIT DEM MANNOSID 70	80

ABBILDUNG 71: KUPPLUNG DER SÄUREDERIVATE MIT DEM BIVALENTEN ASPARAGINDERIVATE 134	81
ABBILDUNG 72: VERSUCHE ZUR DARSTELLUNG EINES TRIMESIN-CLUSTER 139	82
ABBILDUNG 73: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER VIER TEILSCHRITTE DES ADHÄSIONSTESTS.	84
ABBILDUNG 74: INHIBITIONSKURVEN DES ADHÄSIONSTESTS MIT DEN SYNTHETISIERTEN GLYKOCLUSTERN 114, 115, 130 UND 135 . IN GRÜN DIE KURVE DER VERGLEICHSSUBSTANZ 141	86
ABBILDUNG 75: RIC _{50(VB)} -WERTE DER GETESTETEN GLYKOCLUSTER.....	87
ABBILDUNG 76: BALKENDIAGRAMM DER RIC _{50(VB)} -WERTE DER GETESTETEN MANNOSE-DERIVATE 92-94 UND 101-103	89
ABBILDUNG 77: SCHEMATISCHE UND DETAILANSICHT DES FMOC-ALA-WANG-HARZES.....	92
ABBILDUNG 78: AKTIVIERUNGSREAGENZEN UND AKTIVESTERVORSTUFEN FÜR DIE PEPTIDSYNTHESE.	93
ABBILDUNG 79: URSPRÜNGLICHE UND NACHGEWIESENE FORM VON HATU. ^[166]	94
ABBILDUNG 80: MECHANISMUS DER PEPTIDKUPPLUNG MIT EINEM URONIUMSALZ UND HOBT, UM DIE PROBLEMATIK DER RACEMISIERUNG ZU VERMEIDEN.....	94
ABBILDUNG 81: GLASREAKTOR FÜR PEPTIDSYNTHESEN.....	95
ABBILDUNG 82: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES ALLGEMEINEN FESTPHASENPROTOKOLLS.	95
ABBILDUNG 83: L-LYSIN (152) UND L-DIAMINOPROPIONSÄURE (153) ALS ANKNÜPFUNGSPUNKTE.....	96
ABBILDUNG 84: SYNTHETISIERTE PEPTIDE 154-157 FÜR DIE NACHTRÄGLICHE ZUCKERKONJUGATION. DIE ERMITTELTEN AUSBEUTEN BEZIEHEN SICH AUF DIE ANGEGEBENE VORBELADUNG DES HARZES.....	97
ABBILDUNG 85: SYNTHESE DER GLYKOPEPTIDE 158-160 MIT PEPTID 154 UND DEN MANNOSIDISCHEN SÄUREDERIVATEN 92-94 . A) HATU, DIPEA, DMF, 0°→RAUMTEMP.	98
ABBILDUNG 86: FUNKTIONALISIERUNG DES PEPTIDS 155 MIT DEN MANNOSIDISCHEN SÄUREN 92 UND 94	99
ABBILDUNG 87: SYNTHESE DER GLYKOPEPTIDE 163 UND 164 NACH DER METHODE DER NACHTRÄGLICHEN ZUCKERFUNKTIONALISIERUNG. A) HATU, DIPEA, DMF, 0°→RAUMTEMP.	101
ABBILDUNG 88: DIE GLYKOAMINOSÄURE-BAUSTEINE 19, 42 UND 66 FÜR DIE SPSS.	102
ABBILDUNG 89: ALLGEMEINER SYNTHESWEG FÜR DIE SYNTHESE TRIMERER GLYKOPEPTIDE.	103
ABBILDUNG 90: DIE SYNTHETISIERTEN TRIMEREN GLYKOPEPTIDE 177-179	104
ABBILDUNG 91: SYNTHESEPLAN ZUR DARSTELLUNG DER HEPTAMEREN GLYKOPEPTIDE 182 UND 183	105
ABBILDUNG 92: RIC _{50(VB)} -WERTE DER GLYKOPEPTIDE 158-164	109
ABBILDUNG 93: COMPUTERSIMULATIONEN DER CRD DES BAKTERIELLEN FIMH. LINKS: WASSERMOLEKÜLE IN DER BINDUNGSTASCHE VON FIMH. IN GELB SIND DIE WASSERSTOFFBRÜCKENBINDUNGEN DARGESTELLT. RECHTS: MANNOSE UND EIN WASSERMOLEKÜL IN DER CRD VON FIMH.	112
ABBILDUNG 94: DIE FÜNF TEILSCHRITTE DER MD-SIMULATIONEN.	114
ABBILDUNG 95: DARSTELLUNG DER IN DEN MD-SIMULATIONEN VERWENDETEN MOLEKÜLE ALS STRUKTURZEICHNUNG UND IN DER STICK-DARSTELLUNG, 185 (LINKS) UND 186 (RECHTS).	114
ABBILDUNG 96: MOLEKÜL 185 (GRÜN) IN DER WASSERBOX AUS 1153 WASSERMOLEKÜLEN MIT EINER SEITENLÄNGE VON 37.3 Å.	115
ABBILDUNG 97: LINKS: ENERGIE-DATEN VON 185 ; RECHTS: ENERGIE-DATEN VON 186 . ETOT STEHT FÜR DIE TOTALE ENERGIE, EPTOT FÜR DIE POTENTIELLE ENERGIE UND EKTOT FÜR DIE KINETISCHE ENERGIE DES SYSTEMS.	116
ABBILDUNG 98: TEMPERATURVERLAUF DER SIMULATIONEN VON 185 (LINKS) UND 186 (RECHTS).	117
ABBILDUNG 99: DRUCKVERLAUF BEIDER SIMULATIONEN (LINKS: 185 , RECHTS: 186).	117
ABBILDUNG 100: VOLUMENVERLAUF FÜR DIE DURCHGEFÜHRTEN SIMULATIONEN (LINKS: 185 , RECHTS: 186).	118
ABBILDUNG 101: DICHTEVERLAUF DER DURCHGEFÜHRTEN SIMULATIONEN (LINKS: 185 , RECHTS: 186).	118
ABBILDUNG 102: RMSD-BERECHNUNGEN DER BEIDEN GLYKOPEPTIDSTRUKTUREN (LINKS: 185 , RECHTS: 186).	119

ABBILDUNG 103: NUMMERIERUNG DER UNTERSUCHTEN ATOME IN DEN GLYKOPeptIDEN 185 UND 186.	121
ABBILDUNG 104: RDF DER PEPTIDATOME 1-8 UND 1'-8' , LINKS: 185 UND RECHTS: 186	121
ABBILDUNG 105: RDF DER KOHLENHYDRATATOME 9-14 UND 9'-14' , LINKS: 185 UND RECHTS: 186	122
ABBILDUNG 106: VERGLEICH DER RDF DER ANOMEREN ZENTREN 9 UND 9'	123
ABBILDUNG 107: 2D-RDF-WERTE BEZOGEN AUF DIE UNTERSUCHTEN HETEROATOME VON 185 IN RELIEFKARTENFORM. JEWEILS RECHTS IST DIE STUFENSKALA DER RELATIVEN DICHTEN ABGEBILDET.....	125
ABBILDUNG 108: 2D-RDF-WERTE BEZOGEN AUF DIE UNTERSUCHTEN HETEROATOME VON 186 IN RELIEFKARTENFORM. JEWEILS RECHTS IST DIE STUFENSKALA DER RELATIVEN DICHTEN ABGEBILDET.....	126
ABBILDUNG 109: DARSTELLUNG DES WINKELKRITERIUMS FÜR DIE BERECHNUNG DER VERWEILDAUER.	128

12 Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: DIE WICHTIGSTEN VERTRETER DER LEKTINE.NACH A. VARKI. ^[43]	18
TABELLE 2: GÄNGIGE GLYKOSYLDONOREN UND PROMOTOREN FÜR DIE GLYKOSYLIERUNG.....	35
TABELLE 3: VERGLEICH DER AUSBEUTEN UND DER DARSTELLUNGSZEIT BEI DER REAKTION VON 19	41
TABELLE 4: VERGLEICH DER AUSBEUTEN UND DER DARSTELLUNGSZEIT BEI DER SYNTHESE VON 50	50
TABELLE 5: VERGLEICH DER BASEN UND ÄQUIVALENTEN IN DER S _N -REAKTION.....	52
TABELLE 6: GESAMTAUSBEUTENVERGLEICH UND STUFENANZAHLEN FÜR DIE SYNTHESE VON 75 UND 77	62
TABELLE 7: ZUSAMMENFASSUNG ALLER SYNTHETISIERTEN GLYKOAMINOSÄUREBAUSTEINE.....	65
TABELLE 8: ÜBERSICHT ÜBER DIE DARGESTELLTEN AMINOSÄURE-BASIERTEN GLYKOCLUSTER.	83
TABELLE 9: IC ₅₀ -WERTE DER GLYKOCLUSTER UND DIE DARAUS RESULTIERENDEN RIC ₅₀ - UND RIC _{50(VB)} -WERTE.	87
TABELLE 10: IC ₅₀ -WERTE DER MANNOSYLSÄUREN UND IHRER METHYLESTER UND	88
TABELLE 11: VERSCHIEDENE LINKER-SYSTEME FÜR DIE SPSS.....	91
TABELLE 12: ÜBERBLICK ÜBER DIE SYNTHETISIERTEN GLYKOPEPTIDE NACH „METHODE 1“ UND „METHODE 2“	107
TABELLE 13: IC ₅₀ -WERTE DER GLYKOPEPTIDE 158-164 UND DIE DARAUS RESULTIERENDEN RIC ₅₀ - UND RIC _{50(VB)} -WERTE.....	109
TABELLE 14: VERWEILDAUERZEITEN FÜR DIE HETEROATOME 1-8 DES PEPTIDRÜCKGRATS VON 185	128
TABELLE 15: VERWEILDAUERZEITEN FÜR DIE HETEROATOME 9-14 DES KOHLENHYDRATTEILS VON 185	129
TABELLE 16: VERWEILDAUERZEITEN FÜR DIE HETEROATOME 1'-8' DES PEPTIDRÜCKGRATS VON 186	130
TABELLE 17: VERWEILDAUERZEITEN FÜR DIE HETEROATOME 9'-14' DES KOHLENHYDRATTEILS VON 186	130

Lebenslauf

Diplom Chemiker Alexander Schierholt

24.06.1979

Geboren in Wildeshausen.

Staatsangehörigkeit

Deutsch

Schulbildung

1986-1999

Grundschule, Orientierungsstufe und Gymnasium in Wildeshausen.
Abschluss mit Abitur.

Hochschulbildung

WS 99/00

Aufnahme des Studiums der Geowissenschaften an der Georg -
August Universität Göttingen, Abbruch nach einem Semester.

SS 00-SS 04

Studium der Chemie an der Carl von Ossietzky Universität in
Oldenburg.

WS 04/05

Verfassen der Diplomarbeit im Arbeitskreis von Professor Dr. Arne
Lützen mit dem Titel: „*Synthese von funktionalisierten
Resorcin[4]arenen*“.

01.08.2005

Aufnahme der Dissertation im Arbeitskreis von Professorin Dr.
Thisbe K. Lindhorst an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
zum Thema „*Synthese von Glykoclustern und Glykopeptiden zur
Untersuchung von multivalenten Wechselwirkungen in Wasser*“.

Tätigkeiten

08/2005-07/2009

Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Organische
Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Veröffentlichungen und Posterbeiträge

- O. Haß, A. Schierholt, M. Jordan, A. Lützen, *Synthesis* **2006**, 519-127, “*Improved synthesis of monohalogenated cavitands and their use in the synthesis of further functionalized cavitands*“.
- A. Schierholt, T. K. Lindhorst, *Journal of Carbohydrate Chemistry* **2009**, 28, 191-197, “*Reductive amination of the lysine N ϵ -amino group leads to a bivalent glycol-amino acid building block suited for SPPS*“.
- A. Schierholt, H. Shaikh, J. Schmidt-Lassen, T. K. Lindhorst *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, “*Utilizing Staudinger ligation for the synthesis of glyco-amino acid building blocks and other glycomimetics*”, im Druck.

Kiel, den 08.07.2009



Alexander Schierholt