

**Die Synthese eines Sialyl-Lewis^x-Mimetikums als
Baustein zur Herstellung von Glycopeptid-
Zelladhäsionsinhibitoren für Selektine**

Dissertation zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Björn Brunnhöfer
geboren in Frankfurt a. M.

Mainz, Februar 2007

Tag der mündlichen Prüfung: 05.03.2007

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit
von August 2003 bis Dezember 2006
am Institut für Organische Chemie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
sowie am Biomedical Research Centre der
University of British Columbia, Vancouver, Kanada, angefertigt.

“Wege entstehen dadurch, dass man sie geht.“

Franz Kafka

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Der Mechanismus der Zelladhäsion.....	1
1.2	Die Struktur und die Liganden der Selektine.....	3
1.2.1	<i>Die Liganden der Selektine</i>	4
1.2.2	<i>Das L-Selektin und seine Liganden</i>	5
1.2.3	<i>Das P-Selektin und seine Liganden</i>	6
1.2.4	<i>Das E-Selektin und seine Liganden</i>	7
1.3	Die pharmakologische Bedeutung der Zelladhäsion.....	8
1.3.1	<i>Die pharmakophoren Gruppen von Sialyl-Lewis^x</i>	8
1.3.2	<i>Bekannte Sialyl-Lewis^x-Mimetika</i>	10
1.4	Literaturbekannte Synthesen von Sialyl-Lewis ^x	13
1.4.1	<i>Die konvergente Synthesestrategie</i>	14
1.4.2	<i>Die lineare Synthesestrategie</i>	15
1.5	Piperidin-Azazucker.....	18
1.5.1	<i>Azazucker als therapeutische Wirkstoffe</i>	20
1.5.2	<i>Der Mechanismus der Glycosidasen und der Inhibition durch Piperidin-Analoga</i>	22
1.5.3	<i>Die Synthese von Azazuckern</i>	25
2	Zielsetzung	27
3	Allgemeiner Teil	29
3.1	Die Herstellung der Sialyl-Lewis ^x -Mimetika.....	29
3.2	Die Synthese der Monosaccharid-Bausteine.....	30
3.2.1	<i>Der Galactose-Baustein</i>	30
3.2.2	<i>Der Glucosamin-Baustein</i>	32
3.2.3	<i>Der Cyclohexylmilchsäure-Baustein</i>	38
3.2.4	<i>Der Arabinose-Baustein</i>	40
3.2.5	<i>Der Glycosylaminosäure-Baustein</i>	43
3.2.6	<i>Der Aza-Fucose-Baustein</i>	47
3.3	Die Synthese des Sialyl-Lewis ^x -Mimetikums.....	57
3.3.1	<i>Die Disaccharide</i>	57
3.3.2	<i>Die Pseudo-Trisaccharide</i>	58

3.3.3	<i>Die Pseudo-Tetrasaccharide</i>	60
3.3.4	<i>Die Pseudo-Pentasaccharide</i>	64
4	Zusammenfassung	68
5	Experimenteller Teil	75
5.1	Allgemeines und Messgeräte.....	75
5.2	Die Synthese der Monosaccharid-Bausteine.....	81
5.2.1	<i>Die Synthese des Galactose-Bausteins</i>	81
5.2.2	<i>Die Synthese des Glucosamin-Bausteins</i>	86
5.2.3	<i>Die Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins</i>	97
5.2.4	<i>Die Synthese des Arabinose-Bausteins</i>	100
5.2.5	<i>Die Synthese des Glycosylaminosäure-Bausteins</i>	105
5.2.6	<i>Die Synthese des Aza-Fucose-Bausteins</i>	118
5.3	Die Synthese des Sialyl-Lewis ^x -Mimetikums.....	134
5.3.1	<i>Die Synthese der Disaccharide</i>	134
5.3.2	<i>Die Synthese der Pseudo-Trisaccharide</i>	136
5.3.3	<i>Die Synthese der Pseudo-Tetrasaccharide</i>	141
5.3.4	<i>Die Synthese der Pseudo-Pentasaccharide</i>	145
6	Literaturverzeichnis	151
7	Spektrenanhang	157
7.1	Übersicht des Spektrenanhangs.....	157
7.1.1	<i>Spektren des Galactose-Bausteins</i>	158
7.1.2	<i>Spektren des Glucosamin-Bausteins</i>	160
7.1.3	<i>Spektren des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins</i>	162
7.1.4	<i>Spektren des Arabinose-Bausteins (Furanose-Form)</i>	164
7.1.5	<i>Spektren des Glycosylaminosäure-Bausteins</i>	166
7.1.6	<i>Spektren des Aza-Fucose-Bausteins</i>	168
7.1.7	<i>Spektren des Disaccharids</i>	170
7.1.8	<i>Spektren des Pseudo-Trisaccharids</i>	172
7.1.9	<i>Spektren des Pseudo-Tetrasaccharids</i>	174
7.1.10	<i>Spektren des Pseudo-Pentasaccharids</i>	176
7.1.11	<i>Spektren des Arabinose-Bausteins (Pyranose-Form)</i>	178

Abkürzungsverzeichnis

[α]	Spezifischer Drehwert
Ac	Acetyl
Afc	Aza-L-Fucose
All	Allyl
Aloc	Allyloxycarbonyl
Ara	D-Arabinose
aromat.	aromatisch
ber.	berechnet
Ber.	Berechnete Werte
bez.	bezogen
Bn	Benzyl
BOC	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Bu	Butyl
Bzn	Benzylden
c	Konzentration
C_{ar}	aromatischer Kohlenstoff
CFR	Cysteine rich FGF Receptor
COD	Cyclooctadien
COSY	Correlation Spectroscopy
CRD	Carbohydrate Recognition Domain
Cyc	Cyclohexanring
d	Dublett
d_b	breites Dublett
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschicht-Chromatographie
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett vom Dublett
ddd	Dublett vom Dublett vom Dublett
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
dest.	destilliert
DIPEA	<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
dq	Dublett vom Quartett
dt	Dublett vom Triplett
DTBP	2,6-Di- <i>tert</i> -butylpyridin
EE	Essigsäureethylester
EGF	Epidermal Growth Factor
ELAM-1	Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule-1
ESI	Electrospray Ionisation
ESL-1	E-Selektin-Ligand-1
Et	Ethyl
et al.	et alii
FD	Field Desorption
Fmoc	Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl
FmocOSu	<i>N</i> -(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid

Fur	Furanose
Gal	D-Galactose
Gef.	Gefundene Werte
ges.	gesättigt
GL3	Globotriaosylceramid
Gla	Glycosylaminosäure
Glc	D-Glucose bzw. <i>N</i> -Acetyl-D-glucosamin (in NMR-Daten)
GMP-140	Granule Membrane Protein 140
h	Stunde(n)
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HR-ESI	High Resolution Electrospray Ionisation
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
i. Hochvak.	im Hochvakuum
i. Vak.	im Vakuum
IC₅₀	Inhibition Concentration (50 %)
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1
IgG	Immunglobulin G
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
J	Kopplungskonstante
kat.	katalytisch
konz.	konzentriert
LAD-II	Leukozyten-Adhäsions-Defizienz-II
LECAM-1	Lectin Adhesion Molecule-1
Lit.	Literaturwert
m	Multipllett
<i>m</i>	meta
m_c	zentriertes Multipllett
M	Molar
MadCAM-1	Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation
Me	Methyl
MS	Massenspektrometrie
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
<i>o</i>	ortho
OAc	Acetat
OTf	Trifluormethansulfonat, Triflat
<i>p</i>	para
p.a.	Pro analysi
PADGEM	Platelet Activation-dependent Granule External Membrane
PCC	Pyridiniumchlorchromat
<i>p</i>MBzn	para-Methoxybenzylidenyl
Py	Pyran
q	Quartett
q_p	Pseudo-Quartett
quant.	quantitativ
quart	quarternär

R	Rest
R_f	Retentionsfaktor
δ	Chemische Verschiebung
s	Singulett
s_b	breites Singulett
SCR	Short Consensus Repeat
Ser	L-Serin
SG	Schutzgruppe
sgp200	Sulphated glycoprotein 200
sLe^a	Sialyl-Lewis ^a
sLe^x	Sialyl-Lewis ^x
Smp	Schmelzpunkt
Su	Succinimid
t	Triplett
t_p	Pseudo-Triplett
^tBu	<i>tert</i> -Butyl
TBDPSCI	<i>tert</i> -Butyl-diphenylsilylchlorid
tdd	Triplett vom Dublett vom Dublett
tert	tertiär
TES	Triethylsilyl
Tf	Trifluormethansulfonyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
Thr	L-Threonin
TMSOTf	Trimethylsilyltrifluormethansulfonat
TOF	Time of Flight
Troc	2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl
Ts	Toluolsulfonyl
TsOH	Toluolsulfonsäure
UV	Ultraviolett

1 Einleitung

1.1 Der Mechanismus der Zelladhäsion

Die Entwicklung komplexer vielzelliger Organismen aus einer Keimzelle erfordert das Zusammenspiel zahlreicher biologischer Mechanismen, die die Differenzierung der Zellen während der Ontogenese/Embryogenese bewirken. Neben der zeitlich gesteuerten Expression entsprechender Gene spielen Zelladhäsionsphänomene zwischen den Zellen eine herausragende Rolle. Zelladhäsionsprozesse sind zudem für andere biologische Prozesse, wie z. B. die Wundheilung, Entzündungsprozesse und die Immunantwort, essentiell.^[1]

Die interzelluläre Kommunikation findet hierbei zu einem großen Teil zwischen membranständigen Adhäsionsmolekülen und ihren auf der Oberfläche der Nachbarzellen ebenfalls membranständig präsentierten Liganden statt. Beispiele für solche Adhäsionsmoleküle stellen die Cadherine,^[2] die Integrine,^[3] die Mitglieder der Immunglobulin-Superfamilie^[4] und die Selektine^[5-7] dar.

Der Mechanismus der rezeptorvermittelten Wechselwirkung zwischen Leukozyten und Endothelzellen bei Entzündungsprozessen ist in Abb. 1.1 dargestellt.^[8]

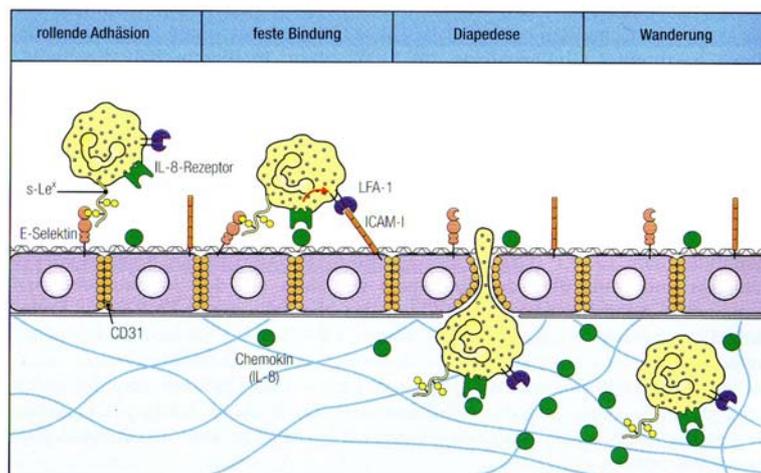


Abb. 1.1: Der Mechanismus der inflammatorischen Kaskade.^{[8]a}

Die vom Entzündungsherd ausgeschütteten Signalmoleküle, wie z. B. TNF- α (Tumornekrosefaktor- α), Interleukin-1, bakterielle Lipopolysaccharide oder Histamin,

^a C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *Immunologie*, 5. Aufl. ed., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, 2002.

stimulieren die Endothelzellen in einem benachbarten Blutgefäß, Selektine (E- und P-Selektin) auf ihrer Oberfläche zu präsentieren.^[9] P-Selektin steht in intrazellulären Speichern der Endothelzellen zur Verfügung und kann innerhalb weniger Minuten zur Zelloberfläche transportiert werden. E-Selektin hingegen wird erst verzögert exprimiert und nach einigen Stunden auf den Endothelzellen präsentiert.^[10] Diese Selektine treten daraufhin in Wechselwirkung mit den im Blutstrom zirkulierenden Leukozyten, die auf ihrer Oberfläche kohlenhydrathaltige Selektinliganden, wie z. B. PSGL-1 (P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1) oder ESL-1 (E-Selektin-Ligand-1), tragen. Durch diesen Kontakt werden die Leukozyten gegenüber dem Blutstrom abgebremst und beginnen entlang des vaskulären Endothels zu „rollen“.^[8] Die Wechselwirkung weiterer Adhäsionsmoleküle der Integrin-Familie, z. B. LFA-1 (Leukozytenfunktionsantigen-1), mit ihren ebenfalls auf der Leukozytenoberfläche lokalisierten Liganden, wie z. B. ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1), führt dann zur Diapedese. Die Leukozyten werden hierbei abgeflacht und dringen so durch das Endothel in das umliegende Gewebe ein. Dort wandern sie entlang eines Chemokin-Gradienten (z. B. Interleukin-8) schließlich zum Entzündungsherd, wo sie die Entzündungsursache bekämpfen.

Durch die zunächst schwachen Adhäsions-Wechselwirkungen und der daraus resultierenden „rollenden Adhäsion“ wird es den Leukozyten ermöglicht, die Wände der Blutgefäße nach weiteren Signalen abzusuchen, ohne den Blutstrom selbst zu stören, wie es bei starken Adhäsions-Wechselwirkungen der Fall wäre. Erst nach dem Auffinden solcher Signale werden die starken Adhäsionsmoleküle in der Blutzelle aktiviert, die schließlich die Diapedese bewirken.^[11]

Mit Hilfe von Flusskammer-Experimenten und Computersimulationen konnten *Dwir* und *Schwarz* beschreiben, wie die rollende Adhäsion eingeleitet wird.^[12] Bei niedrigen Durchflussraten werden nur kurzlebige Einzelbindungen zwischen L-Selektin und seinen Liganden auf der Leukozytenoberfläche gefunden, die aber innerhalb weniger Millisekunden wieder zerfallen. Erst oberhalb einer kritischen Durchflussrate lässt sich *in vitro* die Bildung von Mehrfachbindungen beobachten, die zu einem sprunghaften Anstieg der Zelladhäsion um den Faktor 14 führt. Die Lebensdauer der von L-Selektin vermittelten Bindungen erhöht sich hierbei durch eine schnelle Rückbindungsrate in den Sekundenbereich. Dieser Mechanismus führt dazu, dass die Leukozytenadhäsion nur in den Blutgefäßen stattfindet aber außerhalb des Blutstroms wirkungsvoll unterdrückt wird.

Für ein effizientes „Recruiting“ der Leukozyten ist das Zusammenspiel der verschiedenen Zelladhäsionsrezeptoren mit ihren sowohl überlappenden als auch

speziellen Funktionen nötig. Dies konnten u. a. *Forlow* und *Ley* durch Experimente mit Knockout-Mäusen zeigen, denen einzelne oder Kombinationen der Zelladhäsionsrezeptoren E-, P- und L-Selektin sowie ICAM-1 fehlten.^[13] Dieses Zusammenspiel ist äußerst komplex und bisher nicht im Detail geklärt. Die Zelladhäsionsmoleküle werden jedoch auch von metastasierenden Krebszellen genutzt, um sich über die Blutbahn im ganzen Körper zu verbreiten.^[14] Durch Adhäsion an die Endothelzellen können die Karzinomzellen in das umgebende Gewebe auswandern und dort Sekundärtumoren bilden.^[15]

1.2 Die Struktur und die Liganden der Selektine

Im Gegensatz zu den Cadherinen, Integrinen und den Mitgliedern der Immunglobulin-Superfamilie, die an zahlreichen unterschiedlichen Zell-Zell-Wechselwirkungen im Organismus beteiligt sind, ist die Selektin-vermittelte Zelladhäsion auf die Wechselwirkung zwischen Leukozyten und Endothelzellen sowie Blutplättchen (Thrombozyten) beschränkt. Der heute gebräuchliche Name Selektine (früher LECAM; Lectin Adhesion Molecule) lässt sich auf diese selektive Wechselwirkung und ihre strukturelle Ähnlichkeit zur Klasse der Lektine zurückführen.^[16]

Man kennt drei Arten von Selektinen, die jeweils nach dem Zelltyp ihrer ersten Entdeckung benannt sind, das L-, P- und E-Selektin (Abb. 1.2):

- **L-Selektin** (CD62L, LECAM-1) wurde mit Hilfe des Antikörpers MEL-14 erstmals auf Lymphozyten nachgewiesen.^[17]
- **P-Selektin** (CD62P, LECAM-3, PADGEM, GMP-140) konnte erstmals in den Granula humaner Blutplättchen (engl.: platelets) identifiziert werden.^[18]
- **E-Selektin** (CD62E, LECAM-2, ELAM-1) wurde durch monoklonale Antikörper erstmals auf Endothelzellen lokalisiert.^[19]

Alle drei Selektine zeigen einen strukturell ähnlichen Aufbau. An ihrem Aminoterminus besitzen sie die gleiche, den calciumabhängigen Lektinen homologe CR(D)-Domäne (Carbohydrate Recognition Domain), die eine Länge von 120 Aminosäuren aufweist und in Wechselwirkung mit den saccharidischen Selektinliganden tritt.^[20] Der CRD folgt eine dem EGF (Epidermal Growth Factor) verwandte Domäne, an die sich eine je nach Selektintyp unterschiedliche Anzahl von kurzen Wiederholungseinheiten, den SCR (Short Consensus Repeats), anschließt. Diese weisen

Sequenzhomologien zu Proteinen mit Complement bindenden Eigenschaften auf und dienen vermutlich als Abstandshalter zur Zellmembran, um den Zugang der Kohlenhydratliganden zu erleichtern.^[21]

Die Verankerung der Selektine in der Zellmembran wird durch eine einzige Transmembran-Peptidkette erreicht, an der am Carboxyterminus ein 17 (L-Selektin) bis 35 Aminosäuren (P-Selektin) langer cytoplasmatischer Teil anknüpft.^[5]

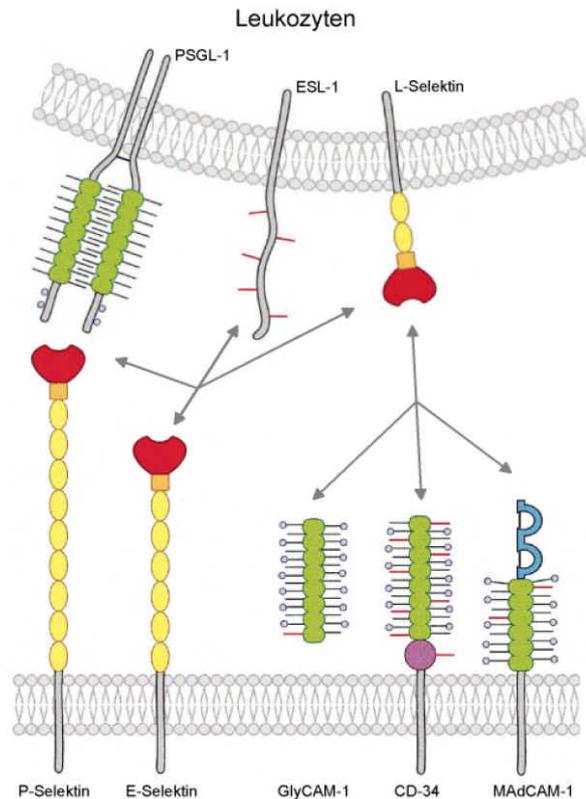


Abb. 1.2: Die Struktur der Selektine und ihrer Liganden.^b

1.2.1 Die Liganden der Selektine

Die CR(D)-Domänen der drei Selektintypen weisen eine große Homologie auf. Daher erkennen und binden sie alle das charakteristische Kohlenhydrat-Epitop Sialyl-Lewis^x (sLe^x), das regioisomere Sialyl-Lewis^a (sLe^a) und ähnliche Strukturen (Abb. 1.3).^[5]

Untersuchungen an Patienten mit der Erbkrankheit LAD-II (Leukozyten-Adhäsions-Deffizienz-II) zeigen deutlich die Bedeutung des Sialyl-Lewis^x-Epitops für die Immunantwort.^[22, 23] Aufgrund einer Störung des Fucose-Stoffwechsels können diese Patienten das sLe^x-Epitop nicht aufbauen.^[24] Dadurch wird die Leukozyten-Adhäsion an

^b C. Filser, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2005.

Endothelzellen und damit die Immunantwort stark gestört, wodurch diese Patienten unter häufig wiederkehrenden, schweren Infektionen leiden. Bei täglicher Zufuhr von Fucose können die LAD-II-Patienten die benötigten Selektinliganden jedoch wieder produzieren und dadurch einen normalen Leukozyten-Spiegel im Blut erreichen.^[25]

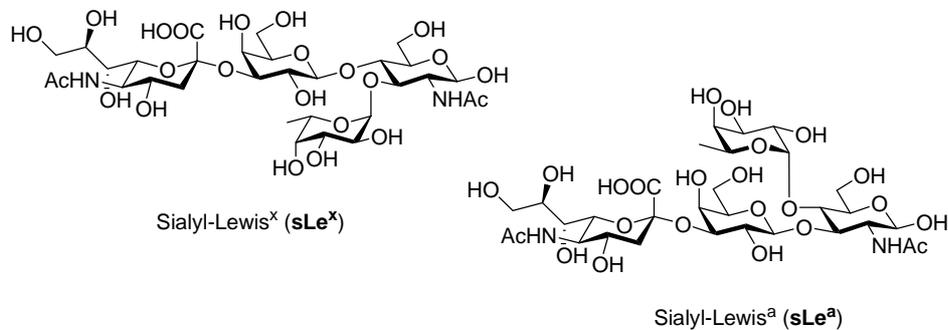


Abb. 1.3: Die Strukturen von Sialyl-Lewis^x (sLe^x) und Sialyl-Lewis^a (sLe^a).

Die oben gezeigten Saccharide stellen zwar einen charakteristischen und essentiellen Teil der Ligandenstrukturen dar, für eine spezifische und effektive Rezeptorbindung sind jedoch zusätzliche Partialstrukturen erforderlich. So wird unter anderem eine Wechselwirkung der Selektinliganden mit der EGF-Domäne diskutiert. Interessanterweise zeigen chimäre Selektine mit der CR(D)-Domäne von L-Selektin und der EGF-Domäne des P-Selektins duale Ligandenbindungsspezifitäten.^[26]

1.2.2 Das L-Selektin und seine Liganden

Im Gegensatz zu E- und P-Selektin wird L-Selektin nicht auf Endothelzellen, sondern auf myeloiden Zellen, wie z.B. Leukozyten, und auf Lymphozyten konstitutiv exprimiert. L-Selektin ist wie die anderen Selektine an Entzündungsprozessen beteiligt und trägt in der Anfangsphase der inflammatorischen Kaskade kooperativ mit P-Selektin zur Rekrutierung von Leukozyten an das Endothel bei.^[27] Diese durch L-Selektin vermittelte Zelladhäsion wird durch eine gesteigerte Expression von L-Selektinliganden auf den Endothelzellen reguliert.

Außerdem ist L-Selektin als sogenannter „Homing Rezeptor“ an der Diapedese von Lymphozyten in die peripheren Lymphknoten bzw. in die *Peyer's Patches* beteiligt. Bisher wurden fünf Glycoproteine als natürliche Liganden für L-Selektin identifiziert: GlyCAM-1 (Glycosylation-dependent Cell Adhesion Molecule-1), CD34, MadCAM-1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1), sgp200 (sulphated glycoprotein 200) und PSGL-1. Bei GlyCAM-1^[28], CD34^[29] und sgp200^[30] handelt es sich um mucinartige Glycoproteine

mit *O*-glycosidisch verknüpften Kohlenhydraten. Ansonsten ist über diese Liganden bisher wenig bekannt.

Für das Sialomucin GlyCAM-1 konnte hingegen gezeigt werden, dass eine Glycosylierung mit in 6-Position der Glucosamin- oder Galactosekomponente sulfatiertem Sialyl-Lewis^x für die Bindung an L-Selektin erforderlich ist.^[31] Der L-Selektinligand MadCAM-1 weist sowohl immunoglobulin- als auch mucinartige Domänen auf und ist ebenfalls zur Bindung an den Integrinrezeptor $\alpha_4\beta_7$ befähigt.^[32] Dadurch ist er in der Lage, Lymphozyten sowohl das Selektin vermittelte „Rollen“ als auch die durch Integrine vermittelte Adhäsion zu ermöglichen.^[33]

Die Bindungsakzeptanz zu PSGL-1, dem natürlichen Liganden von P-Selektin, ist von besonderer Bedeutung. So ist es Leukozyten möglich, durch Bindung ihres L-Selektinrezeptors an PSGL-1, das auf der Oberfläche bereits adhärierter Zellen oder Blutplättchen präsentiert wird, auch auf diesen bereits am Endothel gebundenen Zellen zu „Rollen“. Dieser „secondary tethering“ genannte Prozess führt zu einer Verstärkung der Leukozyten-Rekrutierung zu einem Entzündungsherd. Weitere bekannte Liganden des L-Selektins sind Sulfatide, Heparinsulfat und Fucoidin.

1.2.3 Das P-Selektin und seine Liganden

Speicherort des P-Selektins sind die *Weibel-Palade*-Vesikel nicht-aktivierter endothelialer Zellen und die α -Granula der Blutplättchen.^[34] Charakteristisch für P-Selektin gegenüber L- und E-Selektin ist dessen schnelle Expressionskinetik. Nach Stimulierung durch Histamin, Thrombin, Peroxidradikale, Proteinfragmente des Komplement-Systems u. a. wird P-Selektin innerhalb weniger Minuten mobilisiert und auf der Zelloberfläche präsentiert.^[35] In Knockout-Mäusen, die kein P-Selektin ausbilden, verzögert sich die Leukozyten-Rekrutierung um zwei bis vier Stunden, bis dieser Mangel durch erhöhte L- und E-Selektin-Expression ausgeglichen wird. Exocytotisch freigesetzt wird P-Selektin schon nach fünf bis zehn Minuten auf der Zelloberfläche präsentiert. Nach weiteren 30 bis 60 Minuten wird das P-Selektin durch Endozytose wieder aufgenommen und entweder proteolytisch abgebaut oder aufgrund spezifischer Erkennungssequenzen in der Transmembran-Domäne zurück in die *Weibel-Palade*-Vesikel transportiert.^[36]

Durch Affinitätschromatographie konnte das Glycoprotein PSGL-1 (P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1) als natürlicher Ligand für P-Selektin identifiziert werden. PSGL-1 ist ein disulfidverbrücktes Homodimer, das aus zwei 120 kDa großen Untereinheiten

aufgebaut ist und bis zu drei *N*-glycosidisch und zahlreiche *O*-glycosidisch verknüpfte Kohlenhydrate aufweist, wodurch das Glycopeptid eine steife, gestreckte Konformation einnimmt.^[37, 38]

Wie von *Sako et al.*^[39] und *Pouyani und Seed*^[40] gezeigt werden konnte, sind die 19 Aminosäuren am Aminoterminus für die Bindung an P-Selektin essentiell.^[41, 42] Von besonderer Bedeutung ist hierbei Thr⁵⁷, das *O*-glycosidisch mit einem Sialyl-Lewis^x tragenden Glycan verknüpft ist.^[43] In diesem Bereich finden sich zudem drei Tyrosinreste (Tyr⁴⁶, Tyr⁴⁸, Tyr⁵¹), von denen mindestens einer sulfatiert vorliegen muss, um eine effektive Bindung zu P-Selektin zu ermöglichen.^[44, 45] *Camphausen et al.* gelang, die Röntgenkristallstruktur eines an PSGL-1 gebundenen gentechnisch modifizierten P-Selektinfragments (bestehend nur aus der CR(D)- und der EGF-Domäne)^[46] zu erhalten.^[47] Es wurde zudem gezeigt, dass Sulfatide, Heparin, Fucoidin und Dextransulfate ebenfalls an P-Selektin binden können.^[5]

1.2.4 Das E-Selektin und seine Liganden

Die Expression von E-Selektin ist im Gegensatz zu P-Selektin auf endotheliale Zellen beschränkt. E-Selektin wird zudem nicht in den Endothelzellen gespeichert, sondern erst nach Aktivierung der Zellen durch Chemokine, wie z. B. TNF- α und Interleukin-1, auf transkriptioneller Ebene exprimiert.^[6] Aus diesem Grund weist E-Selektin im Vergleich zu P-Selektin eine verzögerte Expressionskinetik auf und erreicht erst drei bis vier Stunden nach der Stimulierung seine maximale Konzentration.^[10] Durch endocytotische Internalisierung und Abbau des E-Selektins in Lysosomen wird nach zehn bis zwölf Stunden wieder der Ausgangszustand erreicht.^[48]

Als spezifischer Ligand des E-Selektins konnte ESL-1 (E-Selektin-Ligand-1) von *Vestweber et al.* durch Affinitäts-Chromatographie isoliert werden.^[49] Dieses mucinartige Protein von 1148 Aminosäuren Länge weist fünf potentielle *N*-Glycosylierungsstellen und 16 cysteinreiche Wiederholungseinheiten auf.^[50] Massenspektrometrische Untersuchungen hingegen geben Anlass zu der Vermutung, dass keine *O*-Glycosylierungen vorliegen.^[51] E-Selektin ist auch in der Lage, den natürlichen Liganden der P-Selektine, das PSGL-1, zu binden, jedoch mit einer 50fach schwächeren Affinität. Im Zusammenhang mit der verzögerten Expressionskinetik vermutet man daher, dass E-Selektin nach Wiederaufnahme des P-Selektins in die *Weibel-Palade*-Vesikel im späteren Verlauf der inflammatorischen Reaktion dessen Aufgaben teilweise übernimmt.

1.3 Die pharmakologische Bedeutung der Zelladhäsion

Die Leukozyten-Adhäsion an das vaskuläre Endothel stellt einen wichtigen Mechanismus des Körpers dar, eingedrungene Bakterien und Fremdkörper im Rahmen der Immunantwort abzuwehren (vgl. Kapitel 1.1). Eine übermäßige Selektin-vermittelte Zelladhäsion hingegen kann die Ursache verschiedener Krankheiten sein. Beispiele für eine solche Beteiligung der Selektine sind Erkrankungen der Herzkranzgefäße,^[52] chronisch entzündliche Erkrankungen wie Psoriasis und rheumatoide Arthritis^[53], die Metastasierung von Krebstumoren (vgl. Kapitel 1.1)^[14, 15] und das Reperfusionssyndrom.^[54] Letzteres kann auftreten, wenn aufgrund einer schweren Verletzung, bei komplizierten Operationen oder nach einem Myokardinfarkt Blutgefäße längere Zeit nicht durchblutet werden. Hierdurch werden die endothelialen Selektine aktiviert, und es folgt eine massive Ausschleusung von Leukozyten in das umgebende Gewebe, wenn der Blutfluss wieder einsetzt, wodurch das Gewebe schwer geschädigt werden kann.

Einen Ansatz für die Therapie dieser Erkrankungen stellt die Verabreichung löslicher Selektinliganden dar, die kompetitiv an die Selektine binden und dadurch die übermäßige Leukozyten-Adhäsion reduzieren. Die wichtigste Leitstruktur ist hierbei das Tetrasaccharid-Epitop Sialyl-Lewis^x (Abb. 1.3), das als der essentielle Bestandteil der natürlichen Selektinliganden angesehen wird. Zudem konnte gezeigt werden, dass Antikörper gegen diese Struktur die Selektin-vermittelte Zelladhäsion vollständig unterdrücken.^[55]

Im Tierversuch konnte Sialyl-Lewis^x bereits erfolgreich bei den von P-Selektin abhängigen myokardialen Reperfusionsverletzungen^[54] und durch Cobra-Venom induzierten Lungenerkrankungen^[56] eingesetzt werden. Die Affinität von sLe^x liegt jedoch nur im millimolaren Bereich. Zudem wird dieses Kohlenhydrat im Körper rasch desaktiviert. Von besonderem Interesse ist daher die Synthese hochaffiner sLe^x-Derivate und Mimetika mit gesteigerter metabolischer Stabilität. Hierfür ist eine genaue Kenntnis der pharmakophoren Gruppen von Sialyl-Lewis^x nötig.

1.3.1 Die pharmakophoren Gruppen von Sialyl-Lewis^x

Durch Röntgenkristallstruktur-Analysen und systematische Variation der funktionellen Gruppen in Sialyl-Lewis^x hat man heute eine sehr genaue Vorstellung über die calciumabhängige Bindung von sLe^x an die Selektine (Abb. 1.4). Es konnte gezeigt

werden, dass die Hydroxylgruppen der Fucose,^[57, 58] die 4- und 6-Hydroxylgruppe der Galactose^[59, 60] sowie die Carboxylgruppe der Neuraminsäure für eine effektive Bindung an die Selektine essentiell sind.^[61] Bei P-Selektin ist von den drei Hydroxylgruppen der Fucose-Untereinheit nur diejenige in 3-Position für eine Bindung unerlässlich, während ein Entfernen der 2- und 4-Hydroxylgruppe nur zu einer verringerten Affinität führt.^[58] Überraschend ist, dass von der komplexen Neuraminsäure lediglich die Carboxylgruppe an der Selektinbindung beteiligt ist, während die Glycerin-Seitenkette und ihre Acetamidogruppe fast keinen Einfluss auf die Bindungsqualität haben.^[58, 61] Das Glucosamin scheint ebenfalls nicht direkt zu binden, dient lediglich als Abstandshalter und sorgt für die optimale räumliche Orientierung von Fucose und Galactose.^[62] Durch molekularbiologische Punktmutations-Experimente, in denen einzelne Aminosäuren gezielt ausgetauscht wurden, konnten zudem die entscheidenden Wechselwirkungen von Sialyl-Lewis^x mit den Aminosäuren der CR(D)-Domäne der Selektine identifiziert werden (Abb. 1.4).^[63]

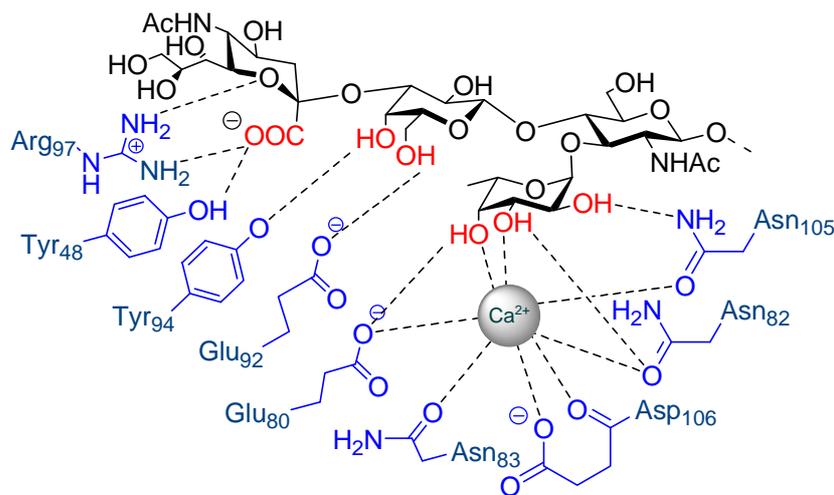


Abb. 1.4: Die Wechselwirkungen von Sialyl-Lewis^x mit E-Selektin.

Ein genauer Einblick in die Bindungsgeometrie konnte durch die von *Camphausen* et al. veröffentlichten Röntgenkristallstruktur-Analysen des Komplexes aus sLe^x mit der CR(D)- und EGF-Domäne von P- und E-Selektin gewonnen werden (Abb. 1.5).^[47] Es zeigte sich, dass die Bindungsstelle für sLe^x in beiden Selektinen hochkonserviert vorliegt und die Bindung durch Koordination von Ca²⁺ an die Seitenketten von Glu⁸⁰, Asn⁸², Asn⁸³, Asn¹⁰⁵, Asp¹⁰⁶, an die α -Carbonylgruppe von Asp¹⁰⁶ sowie an die 3- und 4-Hydroxylgruppe der Fucose bewirkt. Diese Bindung wird zusätzlich durch Wasserstoffbrücken der 3-Hydroxylgruppe der Fucose mit Asn¹⁰⁵ sowie der 4-Hydroxylgruppe mit Glu⁸⁰ und Asn⁸²

verstärkt. Die Galactose hingegen bildet Wasserstoffbrücken zwischen ihrer 6-Hydroxylgruppe und Glu⁹² sowie zwischen ihrer 4-Hydroxylgruppe und Tyr⁹⁴ aus. Unterschiede zwischen E- und P-Selektin findet man bei der Carboxygruppe der Neuraminsäure. Im E-Selektin tritt diese Gruppe über Wasserstoffbrücken zu Tyr⁴⁸ und Arg⁹⁷, das gleichzeitig das glycosidische Sauerstoffatom der Neuraminsäure komplexiert, in Wechselwirkung. In P-Selektin hingegen ist Arg⁹⁷ gegen Serin substituiert, wodurch diese Wechselwirkung verloren geht. Auf diesen Unterschied lässt sich vermutlich die gegenüber P-Selektin deutlich höhere Affinität des E-Selektins zu sLe^x zurückführen. In P-Selektin findet man hingegen neben der Wechselwirkung der Carboxylgruppe mit Tyr⁴⁸ eine Wasserstoffbrücke zwischen der 4-Hydroxylgruppe der Neuraminsäure und Ser⁹⁹.

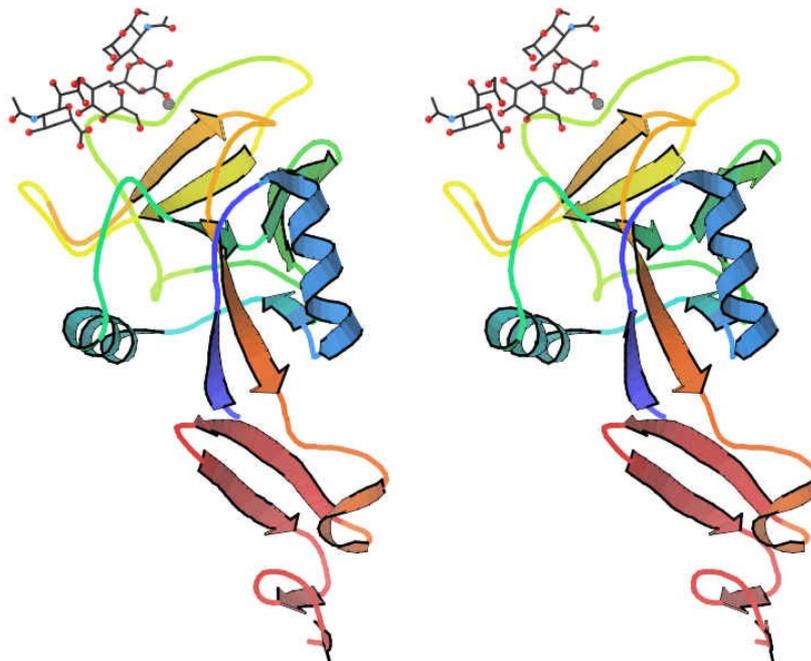


Abb. 1.5: Die Kristallstruktur des Komplexes aus E-Selektin und Sialyl-Lewis^x als Stereobild.^c

1.3.2 Bekannte Sialyl-Lewis^x-Mimetika

Aufgrund der im Vergleich zu den endogenen Selektinliganden unbefriedigenden Affinität von sLe^x, die nur im millimolaren Bereich liegt, und dem hohen Aufwand für dessen chemische oder enzymatische Synthese gibt es viele Bestrebungen, bessere sLe^x-Mimetika zu finden. Ein häufiges Ziel der Substitution ist die Neuraminsäure, da die Sialylierungsreaktionen nur in mäßigen Ausbeuten verlaufen und ihre einfachen

^c W. S. Somers, R. T. Camphausen, RCSB Protein Data Bank, 2001.

pharmakophoren Eigenschaften leicht durch andere anionische Substituenten ersetzt werden können, ohne die Affinität zu den Selektinen zu reduzieren. Der hohe Preis der *N*-Acetylneuraminsäure (Acros Katalog 2006/2007; 100 mg, 105.90 €) schafft zudem zusätzlich einen ökonomischen Anreiz, diesen Baustein zu ersetzen. Es gibt einige Beispiele, in denen die Neuraminsäure durch Sulfat- und Phosphatreste sowie Glycolsäure nachgeahmt wurde.^[64] Besonders geeignet scheint hierbei der von *Kolb* und *Ernst* beschriebene Einsatz von (*S*)-Cyclohexylmilchsäure als Substitut.^[65] *Thoma* et al. von der Firma Novartis nutzten diesen Baustein zur Synthese zahlreicher sLe^x-Mimetika und konnten zeigen, dass Verbindung **E1** in einem zellfreien Bindungs-Assay eine gegenüber sLe^x ca. 30fach höhere Affinität zu E-Selektin aufweist (Abb. 1.6).^[66]

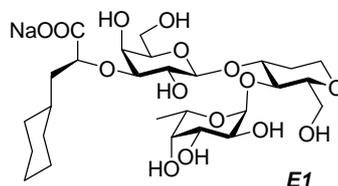


Abb. 1.6: Das sLe^x-Mimetikum **E1** von Novartis.

Das Glucosamin wirkt in sLe^x nur als Gerüstsubstanz und lässt sich daher leicht durch vicinale Diole verschiedenen Typs ersetzen (Abb. 1.7).^[62, 66] Die Stärke der Bindung wird durch die Ähnlichkeit der durch den Diol-Linker präorganisierten räumlichen Ausrichtung zu der Konformation des an das Selektin gebundenen Mimetikums bestimmt. Verbindung **E2**, in der sowohl Neuraminsäure durch (*S*)-Cyclohexylmilchsäure als auch das Glucosamin durch einen *trans*-Cylcohexandiolring ersetzt sind, bindet achtfach stärker als Sialyl-Lewis^x.^[67]

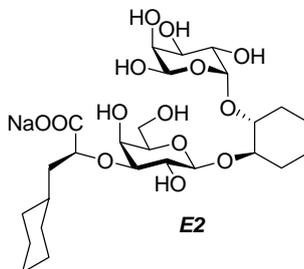


Abb. 1.7: Das sowohl Neuraminsäure- als auch Glucosamin-substituierte sLe^x-Mimetikum **E2**.

Der Ersatz der Galactose hingegen ist schwieriger, weil bei dieser die 4- und 6-Hydroxylgruppe an der Bindung zu den Selektinen beteiligt sind.^[66] Mögliche Mimetika für Galactose sind z. B. α,β -Dihydroxyprolin, α -Methylolserin oder 2-Amino-3,4-

dihydroxybuttersäure. Das größte Problem bereitet jedoch der Austausch der Fucose, die essentiell für eine effektive Bindung ist. Nur in wenigen Fällen gelang es, die Fucose durch nicht-saccharidische Strukturen zu ersetzen.^[68] Die Kohlenhydrate D-Mannose,^[69, 70] D-Arabinose^[57, 71] und L-Galactose^[72, 73] präsentieren die essentiellen Hydroxylgruppen in ähnlicher räumlicher Ausrichtung wie die L-Fucose und können daher als Substitute eingesetzt werden. Außer durch die Substitution der einzelnen Monosaccharide kann die Affinität zu den Selektinen zudem durch Einführung geeigneter Substituenten in das tetrasaccharidische Grundgerüst^[74, 75] und durch multivalentes Präsentieren von sLe^x und sLe^x-Mimetika gesteigert werden.^[76, 77]

Neben dem Kohlenhydrat-Epitop sLe^x sind auch weitere Teile des natürlichen Liganden ESL-1 an der wirksamen E-Selektin-Bindung beteiligt (vgl. Kapitel 1.2.3). Eine große Rolle spielt hierbei offenbar die peptidische Umgebung des sLe^x-Epitops.^[71, 78, 79] So gelang *C. Filser* die Synthese mehrerer am Fucose-Baustein modifizierter sLe^x-Glycopeptide, die die in verschiedenen Spezies hoch konservierte Aminosäuresequenz 672-681 des ESL-1 trugen (Abb. 1.8).^[80]

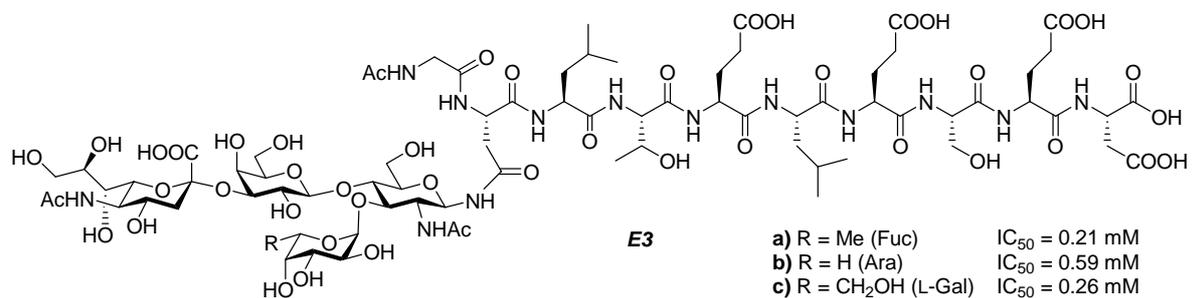


Abb. 1.8: Die Sialyl-Lewis^x-Glycopeptid-Mimetika **E3a-c** von *C. Filser*.

In Durchflusszytometrie-Experimenten wurden die IC₅₀-Werte der Bindungsinhibierung eines E-Selektin-IgG-Konstrukts^[81] an die neutrophile Maus-Zell-Linie 32Dcl3 bestimmt. Hierbei konnte gezeigt werden, dass das direkte sLe^x-Analogon **E3a** mit einem IC₅₀-Wert von 0.21 mM 13fach stärker wirkt als der Standard sLe^x.

Einen ausführlichen Überblick über die Möglichkeiten der sLe^x-Mimetika-Synthese geben die Review-Artikel von *Kaila und Thomas*,^[82] *Unger*^[6] und *Wong et al.*^[5]

1.4 Literaturbekannte Synthesen von Sialyl-Lewis^x

Das große Interesse, das Sialyl-Lewis^x wegen seiner biologischen Bedeutung und dem hohen therapeutischen Potential seiner Derivate zuteil wird, spiegelt sich in den zahlreichen veröffentlichten Synthesen wider. Der Aufbau von sLe^x-Strukturen stellt dabei präparativ eine vergleichsweise große Herausforderung dar. Zum einen muss, wie allgemein bei Kohlenhydrat-Synthesen erforderlich, der Aufbau der Strukturen streng regio- und stereoselektiv erfolgen, zum anderen weist die sLe^x-Struktur einige Besonderheiten auf, die ihre Synthese verkomplizieren. So ist die α -fucosidische Bindung sehr säurelabil, was entsprechend bei den Schutzgruppenmanipulationen und Glycosylierungsreaktionen beachtet werden muss. Der Galactose-Baustein muss zudem in die relativ unreaktive 4-Position der Glucosamineinheit eingeführt werden, was durch die sterischen Wechselwirkungen mit der Fucose in der direkt benachbarten 3-Position zusätzlich behindert wird. Die größten Probleme hingegen bereitet die stereoselektive Sialylierung, bedingt durch die strukturelle Eigenart des Neuraminsäure-Bausteins (**E4**, Abb. 1.9).

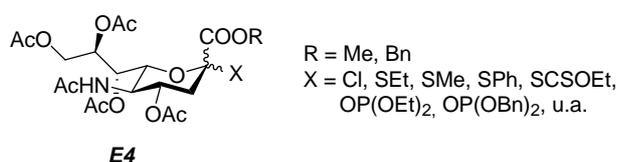


Abb. 1.9: Der vollständig geschützte Neuraminsäure-Baustein **E4**.

Der Neuraminsäure-Baustein weist in 3-Position keine Funktionalisierung auf, so dass bei der Glycosylierungsreaktion keine Stereodifferenzierung über einen Nachbargruppeneffekt möglich ist. Die Aktivierung des Neuraminsäure-Donors führt unter Abspaltung eines Protons leicht zum Eliminierungsprodukt, wodurch ein deutlicher Überschuss des Donors notwendig ist. Elektronische und sterische Effekte, die durch die Carboxygruppe am anomeren Zentrum hervorgerufen werden, erschweren die Sialylierungsreaktionen zusätzlich. Viele dieser Probleme können durch einen enzymatischen Ansatz umgangen werden, der daher in der Synthese sialylierter Oligosaccharide häufig Verwendung findet.^[83-85]

Generell kann die chemische sLe^x-Synthese nach zwei unterschiedlichen Strategien erfolgen, der konvergenten und der linearen Synthesestrategie. Nach der konvergenten Strategie werden zwei Disaccharide nach dem [2+2]-Konzept miteinander verknüpft,

während nach der linearen Strategie das Tetrasaccharid durch sukzessive Verknüpfung von Monosaccharid-Bausteinen aufgebaut wird. Beide Konzepte sollen im Folgenden anhand ausgewählter Beispiele erläutert werden.

1.4.1 Die konvergente Synthesestrategie

Im Jahr 1991 wurde von *Hasegawa et al.* die erste Totalsynthese eines sLe^x -Derivates unter Einsatz einer konvergenten Synthesestrategie beschrieben (Abb. 1.10).^[86] Dieses Konzept bietet gegenüber der linearen Strategie den Vorteil, dass die Disaccharide zwar einzeln hergestellt und ihre Syntheseschritte jeweils leichter optimiert werden können, aber die Sialylierung an Monosacchariden wie **E6** führt nicht zu wesentlich höheren Ausbeuten im Vergleich zu Sialylierungen an Oligosacchariden.^[87] Außerdem muss hierbei das Neuraminsäure-Derivat als teuerster Baustein bereits früh in der Synthese eingesetzt werden. Deshalb hat die konvergente Strategie zum Aufbau von sLe^x -Derivaten heute kaum noch Bedeutung.

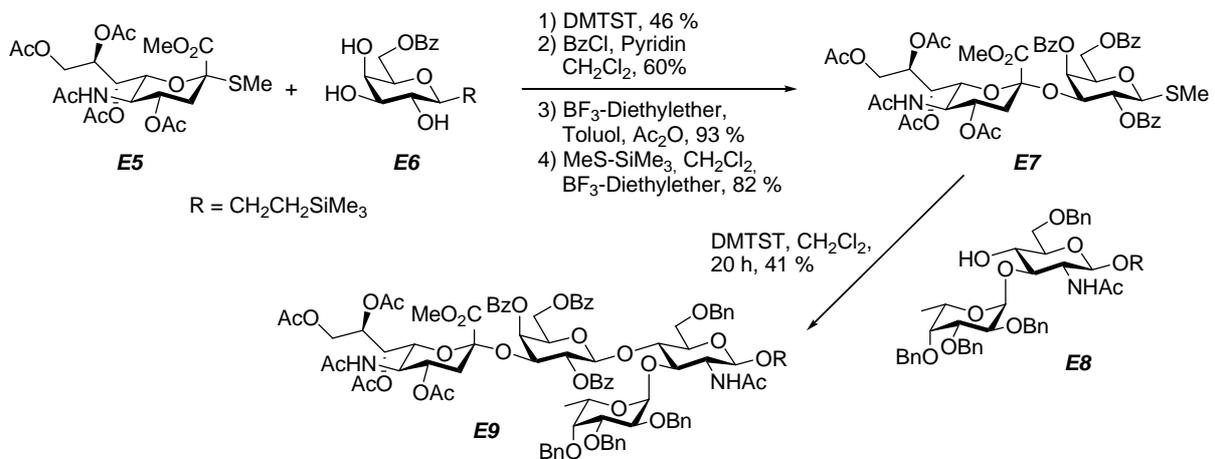


Abb. 1.10: Die erste Totalsynthese eines sLe^x -Derivates nach *Hasegawa et al.*

1.4.2 Die lineare Synthesestrategie

In den linearen Synthesestrategien erfolgt die Einführung des Neuraminsäure-Bausteins häufig zuletzt, weil dieser in den meisten Fällen den teuersten Baustein darstellt. So auch in der nachstehenden Synthese eines sLe^x-Derivats durch Nicolaou et al. (Abb. 1.11).^[88] Zunächst wird das Lactosamin-Derivat **E12** nach der *Mukaiyama*-Methode^[89] aus dem Galactosylfluorid **E10** und dem Akzeptor **E11** dargestellt. Nach Abspaltung der Allylether-Schutzgruppe erfolgt die Knüpfung der α -fucosidischen Bindung zu Trisaccharid **E14**, und abschließend erhält man das sLe^x-Derivat **E16** durch Sialylierung unter *Helferich*-Bedingungen. Der von Nicolaou et al. eingesetzte Neuraminsäure-Donor **E15** trägt dabei in 3-Position die Thiophenylgruppe, die nach *Ogawa*^[90] als dirigierender Substituent wirkt und zur Bildung des α -Anomers führt.

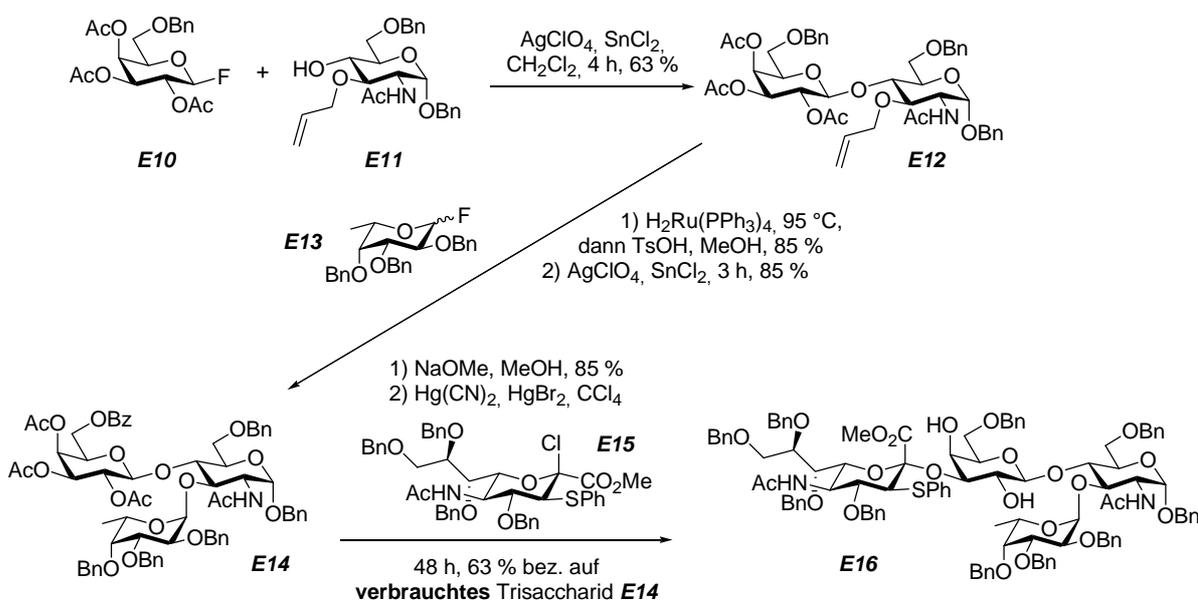


Abb. 1.11: Die lineare Synthese eines sLe^x-Derivats nach Nicolaou et al.

Diese Methode wird jedoch aufgrund ihrer gravierenden Nachteile nur selten benutzt. So erfordert die Synthese des modifizierten Neuraminsäure-Donors und die Abspaltung der dirigierenden Gruppe nach erfolgter Sialylierung einen erheblichen präparativen Mehraufwand, obwohl die selektive Ausbildung der α -glycosidischen Bindung auch durch sorgfältige Auswahl des Lösungsmittels und der Reaktionstemperatur erzielt werden könnte. Zusätzlich erfordern alle drei Glycosylierungsschritte den Einsatz von Schwermetall-Reagenzien.

Die geringe Reaktivität der 4-Position des Glucosamin-Bausteins muss aber nicht nur ein Nachteil sein. *Danishefsky et al.* nutzten die unterschiedliche Reaktivität in der 3- und 4-Position aus, um das nur an der primären Hydroxylgruppe geschützte Glucal **E18** sequentiell regioselektiv mit dem Fucose- und dem Galactosebaustein zu verknüpfen (Abb. 1.12).^[91] Aufgrund der geringen Reaktivität in 4-Position erfolgt die Glycosylierung des Glucals **E18** mit dem Fucose-Donor **E17** ausschließlich in 3-Position. Anschließend wird der als Trichloracetimidat aktivierte Galactose-Baustein **E20** in das erhaltene Disaccharid **E19** eingeführt. Schließlich liefert die Sialylierung mit Neuraminsäure **E22** das sLe^x-Derivat **E23**. Aufgrund der verbliebenen Glucal-Struktur lässt sich dieses an der Doppelbindung nach Bedarf weiter funktionalisieren.

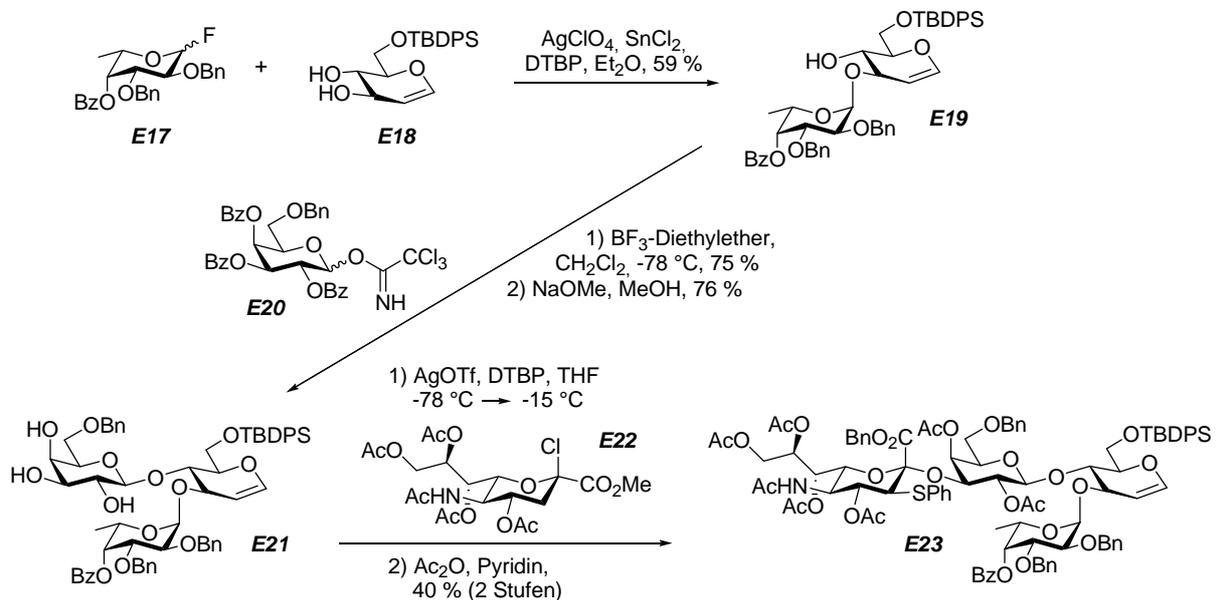


Abb. 1.12: Die lineare Synthese eines sLe^x-Derivats nach *Danishefsky et al.*

Die lineare Synthesestrategie wurde ebenfalls von *Kunz et al.* zum Aufbau eines sLe^x-Derivates genutzt (Abb. 1.13).^[78] Der temporäre Schutz der anomeren Position des Glucosamins erfolgt hierbei durch eine Azidogruppe. Das Azid wird durch den exo-anomeren Effekt, einer Überlappung des π -Orbitals der N-N-Doppelbindung der Azidogruppe mit dem energetisch niedrig liegenden σ^* -Orbital der C-O-Bindung des Kohlenhydrates, stabilisiert. Glycosylazide sind daher im Gegensatz zu Alkylaziden stabile Verbindungen und können problemlos in der Synthese eingesetzt werden. β -Glycosylazide lassen sich zudem später leicht durch neutral gewaschenes *Raney*-Nickel zu den β -Glycosylaminen reduzieren, die große Bedeutung für die Synthese von Glycopeptiden haben. Benzylether-Schutzgruppen bleiben hingegen unter diesen Bedingungen erhalten.

Die α -fucosidische Bindung wird in diesem Fall in einer Variante von *Ogawa*^[92] nach dem *in situ*-Anomerisierungsverfahren von *Lemieux*^[93] stereoselektiv geknüpft. Nach regioselektiver Öffnung des Benzylidenacetals^[94] wird die als Trichloracetimidat aktivierte Galactose **E27** in die nun freie 4-Position eingeführt und so das Trisaccharid **E28** erhalten. Anschließend erfolgt die Sialylierung mit dem Neuraminsäurethioglycosid **E29**. Dieses bietet gegenüber dem von *Danishefsky* verwendeten Neuraminsäurechlorid **E22** die Vorteile, dass es stabil und unzersetzt lagerfähig ist und im Allgemeinen zu höheren Ausbeuten führt. Abschließend erfolgt die Maskierung der Säurefunktion für die nachfolgende Glycopeptidsynthese durch Umesterung zu Lacton **E30**, das unter milden Bedingungen hydrolysiert werden kann.

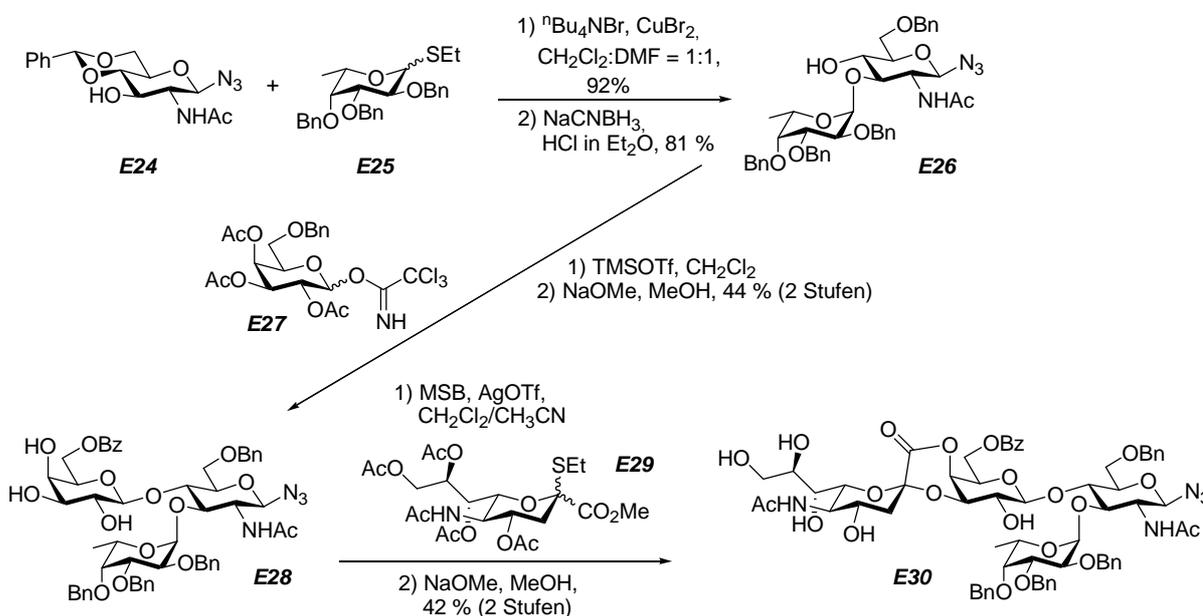


Abb. 1.13: Die lineare Synthese eines $s\text{Le}^x$ -Derivats nach *Kunz et al.*

Die bisher diskutierten Methoden spiegeln nur einen kleinen Teil der in der Literatur beschriebenen Synthesen von $s\text{Le}^x$ -Derivaten wider und eignen sich nicht für die pharmazeutische Herstellung im größeren Maßstab, weil sie abhängig von Schwermetall-Reagenzien sind. Eine Alternative hierzu ist unter anderem das chemoenzymatische Verfahren von *Wong et al.*, das ohne aufwendige Schutzgruppenmanipulationen den regio- und stereoselektiven Aufbau von Oligosacchariden ermöglicht.^[95,96] Die benötigten Glycosyldonoren und spezifischen Glycosyltransferasen sind jedoch verhältnismäßig teuer und der Einsatz dieser Methode für die Synthese von $s\text{Le}^x$ -Mimetika ist nur eingeschränkt möglich. Eine weitere Möglichkeit wird von *Dekany et al.* beschrieben, die zur Synthese von $s\text{Le}^x$ -Derivaten ausschließlich Thioglycoside nutzen, die sich ohne Verwendung von

Schwermetall-Reagenzien aktivieren lassen.^[97] Zudem veröffentlichten *Kretzschmar* und *Stahl* eine vergleichende Studie zur Synthese von sLe^x im Labormaßstab und im Multigramm-Maßstab.^[98] Weiterhin stellen sLe^x -Derivate ein aktives und interessantes Forschungsfeld dar, und die große biologische Bedeutung dieser Strukturen treibt das Streben nach effizienten und kostengünstigen Syntheseansätzen weiter voran.

1.5 Piperidin-Azazucker

Im Jahr 1966 gelang *Inouye* et al. die Isolierung von Nojirimycin (**E31**), dem ersten Alkaloid, das einen Zucker nachahmt.^[99, 100] In den letzten 40 Jahren seit dieser Entdeckung wurden aus Pflanzen und Mikroorganismen über 100 weitere polyhydroxylierte Alkaloide isoliert, die durch ihre strukturelle Ähnlichkeit zu den Substraten der Glycosidasen ein großes Interesse als potentielle Inhibitoren dieser wichtigen Enzymklasse erweckten. Mögliche Anwendung finden diese Zuckermimetika z. B. als antivirale und antiinfektiöse Agenzien oder als neue Wirkstoffe in der Antidiabetes-Therapie und der Behandlung lysosomaler Speicherkrankheiten. Darüber hinaus haben sie sich als Werkzeug zur Untersuchung zellulärer Mechanismen bewährt.

Vorkommen

Die in der Natur vorkommenden Stickstoff-tragenden Zuckermimetika lassen sich in fünf strukturelle Klassen einteilen, deren jeweils wichtigster Vertreter und dessen Quelle nachfolgend aufgeführt sind (Abb. 1.14):

1) Polyhydroxylierte Piperidine	Nojirimycin (E31)	<i>Streptomyces</i>
2) Pyrrolidine	CYB 3 (E32)	<i>Castanospermum australe</i>
3) Indolizidine	Swainsonin (E33)	<i>Swainsona canescens</i>
4) Pyrrolizidine	Alexin (E34)	<i>Alexa leiopetala</i>
5) Nortropane	Calystegin A ₃ (E35)	<i>Lycium chinense</i>

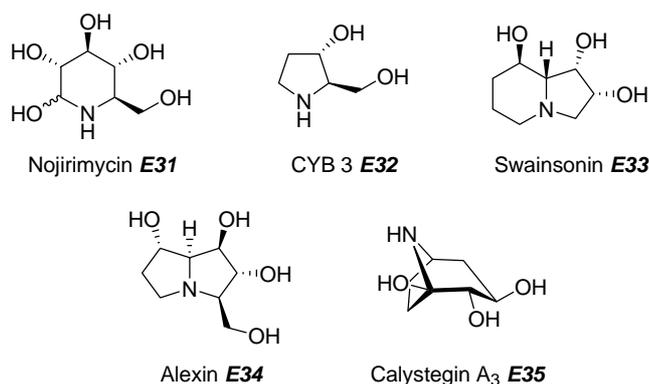


Abb. 1.14: Die bedeutendsten Vertreter der fünf Strukturklassen der natürlichen Zuckermimetika.

Die wichtigste dieser Substanzklassen bilden die polyhydroxylierten Piperidine, die auch in dieser Arbeit eingesetzt wurden. Ende der 1960er Jahre konnte Nojirimycin aus den Bakterienkulturen von *Streptomyces roseochromogenes* R-468 und *Streptomyces nojiriensis* SF-426 gewonnen werden.^[101] Erst 20 Jahre später gelang die Isolierung seiner Isomere Mannojimycin^[102] (**E37**; „Nojirimycin B“) und Galactonojimycin^[103] (**E38**; „Galactostatin“) ebenfalls aus einer *Streptomyces*-Spezies.

Nojirimycin stellt mit einem Stickstoff-Atom im Ring zwar das direkte Aza-Analogon zur D-Glucose dar, im Gegensatz zu den Oxa-Zuckern sind Nojirimycin und seine Isomere jedoch aufgrund ihrer Halbaminale-Struktur chemisch sehr instabil. Aus diesem Grund stellten *Paulsen* et al. das stabile 1-Desoxy-Analogon 1-Desoxynoimycin (**E39**) durch Reduktion mit Natriumborhydrid oder ausgehend von L-Sorbofuranose her.^[104, 105] Dieser 1-Desoxyzucker konnte später auch aus den Wurzeln der Maulbeergewächse (*Moraceae*) gewonnen werden und trägt daher den Trivialnamen Moranolin.^[106] Auch das Isomer 1-Desoxymannoimycin (**E40**) konnte aus den natürlichen Quellen *Streptomyces lavandulae* SF-425 und *Adenophora triphylla* isoliert werden,^[106] während 1-Desoxygalactonoimycin (**E41**) bisher nicht in der Natur nachgewiesen werden konnte (Abb. 1.15).

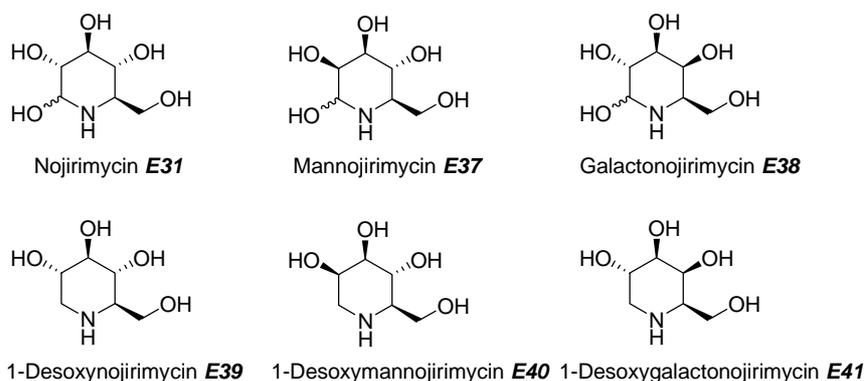


Abb. 1.15: Verschiedene Azazucker des Piperidin-Typs.

Unter den zahlreichen bisher isolierten Derivaten und Isomeren von Nojirimycin finden sich auch Alkaloide, die eine lange Seitenkette tragen, wie z. B. β -1-C-Butyl-1-desoxygalactonojirimycin (**E42**) aus *Adenophorae radix*^[107] und Didesoxyderivate wie z. B. Fagomin (**E43**) aus *Fagopyrum esculentum* (Abb. 1.16).^[108]



Abb. 1.16: Beispiele natürlich vorkommender Nojirimycin-Derivate.

1.5.1 Azazucker als therapeutische Wirkstoffe

Antidiabetika

Die strukturelle Ähnlichkeit der Azazucker vom Piperidin-Typ und speziell der Nojirimycin-Derivate zur Glucose machen sie zu wirkungsvollen Inhibitoren der Glucosidasen. Die α -Glucosidasen im Bürstensaum des menschlichen Dünndarms haben die Aufgabe, Kohlenhydrate aus der Nahrung in Monosaccharide zu zersetzen, die dann über die Darmwand aufgenommen werden. Die Regulation der Kohlenhydrat-Aufnahme bei Patienten mit Insulin-unabhängiger Diabetes (Typ-II-Diabetes), die eine gesteigerte hepatische Glucose-Produktion und einen erhöhten Glucosespiegel im Blut aufweisen, kann daher über die Beeinflussung dieses Enzyms bewirkt werden. 1-Desoxynoijirimycin (**E39**) zeigte bei *in vitro*-Untersuchungen zwar einen inhibitorischen Effekt auf α -Glucosidasen aus Säugetieren, die *in vivo*-Effektivität enttäuschte jedoch. Ausgehend von dieser natürlichen Leitstruktur wurden daraufhin *N*-alkylierte Derivate entwickelt, die sich in Studien mit Hepatocyten als potente Inhibitoren der Glucagon-induzierten Glycogenolyse erwiesen.^[109] Das *N*-2-Hydroxyethyl-modifizierte Miglitol (**E44**; „BAY m1099“, Abb. 1.17) ist inzwischen unter dem Namen Diastabol[®] (bzw. GLYSET[™] in den USA) als orales Antidiabetikum zur Behandlung von Typ II-Diabetes zugelassen.

Neben der Inhibierung der α -Glucosidasen kann der Glucosespiegel im Blut von Typ II-Diabetes-Patienten auch durch die Regulierung der hepatischen Glycogenphosphorylase reduziert werden, wodurch der Glycogenabbau in der Leber vermindert wird. Als wirksamer Inhibitor für dieses Enzym erwies sich der Didesoxy-Azazucker Isofagomin (**E45**). Während auch *N*-alkylierte Analoga des Isofagomins noch eine

Aktivität im mikromolaren Bereich aufwiesen, zeigten Experimente mit Fagomin (**E43**) und 1-Desoxynojirimycin (**E39**) einen dramatischen Abfall der Aktivität.^[110]

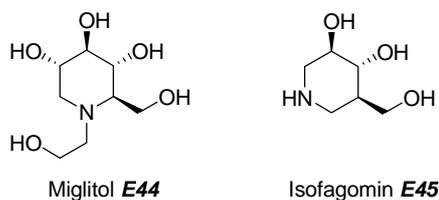


Abb. 1.17: Als Antidiabetika wirksame Nojirimycin-Derivate.

Lysosomale Speicherkrankheiten

In gesunden Zellen besteht ein homöostatisches Gleichgewicht zwischen dem Abbau von Glycosphingolipiden und ihrer Biosynthese im Endoplasmatischen Retikulum und im *Golgi*-Apparat. Eine Fehlfunktion im Abbau dieser Metaboliten bedingt ihre Anreicherung im Gewebe. Das führt zu den so genannten Speicherkrankheiten. Bekannte lysosomale Speicherkrankheiten sind unter anderem die Erbkrankheiten Morbus *Fabry* und das *Gaucher*-Syndrom.^[111] Die Unterfunktion des lysosomalen Enzyms Glukocerebrosidase führt bei Morbus *Fabry* zur Anreicherung von Glukocerebrosiden, während beim *Gaucher*-Syndrom (Typ 1) der Abbau von Lipiden durch die α -Galaktosidase gehemmt ist und es daher zur Ansammlung von Globotriaosylceramid (GL3) kommt. In beiden Fällen ist die Aktivität der Enzyme zwar vermindert, eine Basisaktivität jedoch noch vorhanden. Zur Therapie könnten daher Wirkstoffe eingesetzt werden, die die Biosynthese der Glycosphingolipide regulieren und die Zelle zurück zur Homöostase führen.

Neben einer Enzymersatztherapie ist in Europa der Wirkstoff Miglustat (**E46**; *N*-Butyl-1-desoxy-nojirimycin) unter dem Handelsnamen Zavesca[®] für die Therapie des *Gaucher*-Symptoms zugelassen. Bei der Behandlung können jedoch sehr häufig Nebenwirkungen wie Gewichtsverlust, Sehstörungen und Tremor auftreten. Im Maus-Tierversuch zeigte sich zudem, dass die Gabe von Miglustat zur Missbildung von Spermien führte und die behandelten Mäuse kaum bewegliche Spermien aufwiesen, jedoch ohne dass der Testosteron-Spiegel negativ beeinflusst wurde. Nach Absetzen des Wirkstoffs entwickelten die Mäuse wieder funktionsfähige Spermien. Diese Eigenschaft lässt Miglustat als geeignete Leitstruktur zur Entwicklung oraler Kontrazeptiva für den Mann erscheinen, zumal die benötigte Dosis für diesen Zweck deutlich geringer ist als bei der Behandlung des *Gaucher*-Syndroms.

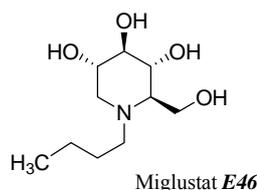


Abb.1.18: Der gegen das Gaucher-Syndrom eingesetzte Wirkstoff Miglustat.

1.5.2 Der Mechanismus der Glycosidasen und der Inhibition durch Piperidin-Analoga

Die große Enzymklasse der Glycosidasen katalysiert die Hydrolyse glycosidischer Bindungen. Es wurden bisher über 2000 Glycosidhydrolasen entdeckt, die sich in 97 Familien untergliedern lassen.^[112] Hierbei gibt es zwei Möglichkeiten der Stereokontrolle der enzymatischen Hydrolyse, die Inversion und die Retention der Konfiguration, deren Mechanismen im Folgenden kurz erläutert werden (Abb. 1.19 und Abb. 1.20).^[113] Entscheidend für die Hydrolyse ist das Vorhandensein von zwei Carbonsäureresten und einem Molekül Wasser im katalytischen Zentrum der Enzyme. Im Falle der invertierenden Glycosidasen fungieren die beiden Carbonsäurereste als saurer und basischer Katalysator und weisen einen durchschnittlichen Abstand von 1.05 nm auf, was die gleichzeitige Koordination des Substrates und eines Moleküls Wasser ermöglicht (Abb. 1.19).^[114] Der Übergangszustand ist durch das Oxocarbeniumion des Substrates gekennzeichnet, aus dem durch Abspaltung des Zuckerrestes bzw. Aglycons der reduzierende Zucker freigesetzt wird. Die Stereo-Konfiguration in 1-Position unterliegt hierbei einer Inversion.

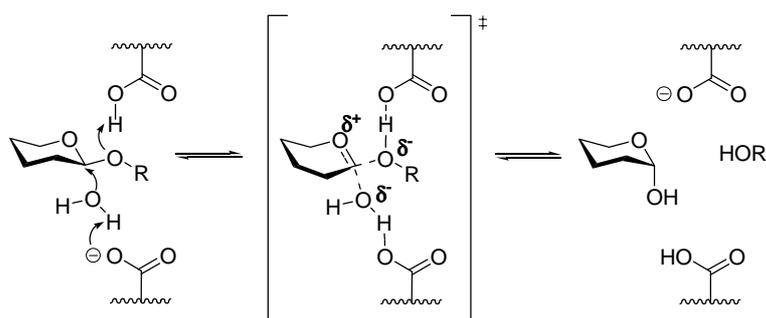


Abb. 1.19: Der Mechanismus invertierender Glycosidasen.

Im Fall der retendierenden Glycosidasen (Abb. 1.20) sind die beiden Carbonsäurereste sehr viel näher positioniert, im Durchschnitt 0.55 nm entfernt. Im ersten Schritt erfolgt die kovalente Bindung des Zuckers an das Enzym unter Abspaltung des Aglycons, wobei ebenfalls ein Oxocarbenium-Übergangszustand am anomeren Zentrum durchlaufen

wird. Anschließend erfolgt der Angriff des Wassers in Form eines Hydroxylions unter Katalyse des Carboxylats, wodurch der Zucker in seiner ursprünglichen Stereo- konfiguration freigesetzt wird.

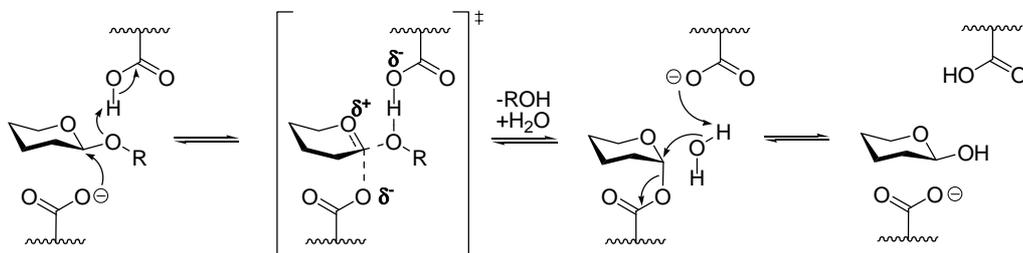


Abb. 1.20: Der Mechanismus retendierender Glycosidasen.

Obwohl dieser Mechanismus durch röntgenkristallographische Untersuchungen gestützt wird, bleiben noch einige Fragen bei der Untersuchung von Glycosidase-Inhibitoren offen. So ist unklar, warum neutrale Glyconolactone wie **E47** und 1-Desoxynojirimycin **E39** gleich wirksame Inhibitoren der β -Glycosidasen darstellen. Ausführliche Informationen zu den Übergangszustand-analogen Glycosidase-Inhibitoren lassen sich in einem Review-Artikel von *Bols et al.* finden.^[115] Hierin werden unterschiedliche Typen von Glycosidase-Inhibitoren beschrieben (Abb. 1.21), u. a. solche, die die Protonierung eines exocyclischen Sauerstoffs imitieren (der [4.1]-Bicyclus **E48**), einen Oxocarbenium-Übergangszustand nachahmen (1-Desoxynojirimycin **E39**), eine Ladung in der anomeren Position (Isodesoxynojirimycin **E49**) oder in mehreren Positionen emulieren (Tetrahydro-imidazopyridin **E50**) und neutrale Inhibitoren wie das binäre **E51**. Den Autoren zufolge scheinen hierbei Azazucker mit einem Stickstoff anstelle des exo- oder endocyclischen Sauerstoffs oder des anomeren Kohlenstoffatoms am besten geeignet zu sein.

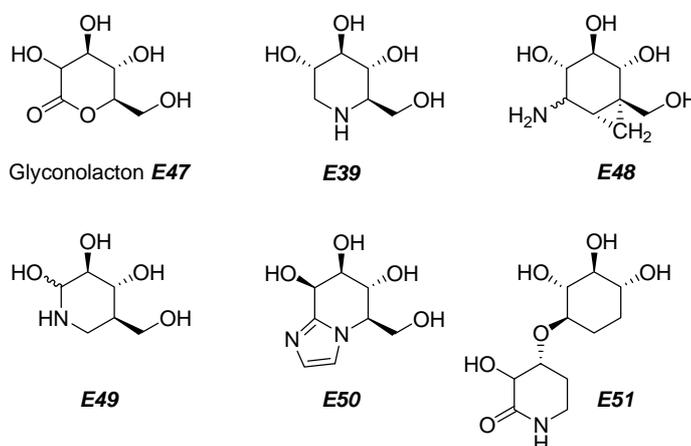


Abb. 1.21: Verschiedene Glycosidase-Inhibitoren mit unterschiedlichen Strukturen.

Die Glycosidase-Inhibitoren vom Typ der polyhydroxylierten Piperidine ahmen einen positiv geladenen endocyclischen Sauerstoff nach. In ihrer protonierten Form (**E52**) liegt das anomere Zentrum jedoch weiterhin sp^3 -hybridisiert vor, und sie nehmen daher nicht die Halbsessel-Konformation ein, die man von Analoga des Oxocarbeniumion-Übergangszustands (**E53**) erwarten würde (Abb. 1.22).

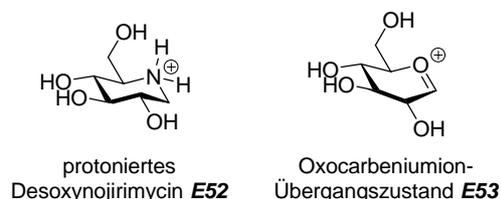


Abb. 1.22: Das protonierte Desoxynojirimycin und der Oxocarbenium-Übergangszustand.

Die beobachtete Aktivität lässt sich auch mit der möglichen Interaktion von (Desoxy-)Nojirimycin mit den Carbonsäure- bzw. Carboxylat-Resten im enzymatischen Zentrum erklären. Diskutiert wird hierbei jedoch, ob das basische Piperidin die katalytische Carboxylgruppe deprotoniert oder in protonierter Form mit dem katalytischen Nucleophil reagiert.

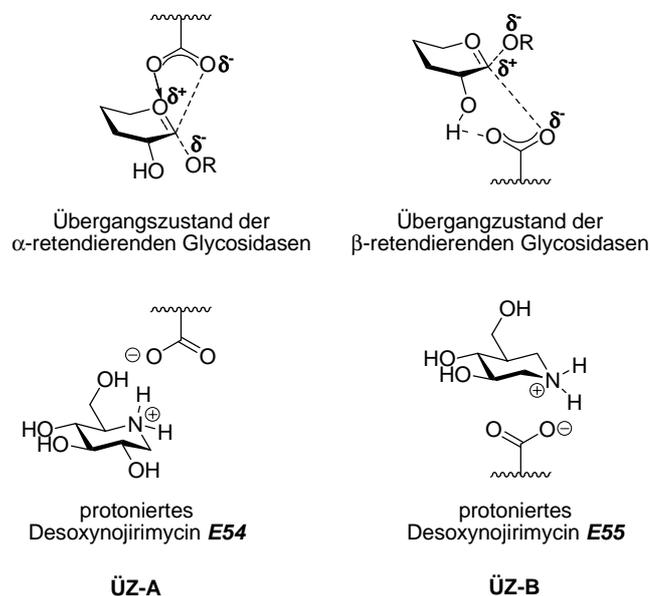


Abb. 1.23: Der Unterschied in der Ladungsverteilung zwischen α - und β -retendierenden Glycosidasen.

Der Hauptunterschied zwischen den α - und β -retendierenden Glycosidasen besteht in der relativen Lage der katalytischen basischen und sauren Carboxylgruppen. Entscheidend für die α -/ β -Selektivität ist die bevorzugte Position der Ladung des

Übergangszustandes am anomeren Kohlenstoffatom oder am Ringsauerstoff. Dies konnte durch Substrat-Analoga, die ein Stickstoffatom entweder in der anomeren Position oder anstelle des Ringsauerstoffes tragen, gezeigt werden. Ein Beispiel für den ersten Fall ist 1-Desoxyojirimycin (**E54**), das bevorzugt α -Glycosidasen inhibiert (Abb. 1.23, ÜZ-A).^[116] Das bereits beschriebene Isofagomin (**E55**) hingegen, das das Stickstoffatom in der anomeren Position trägt, inhibiert bevorzugt β -Glycosidasen (Abb. 1.23, ÜZ-B).^[117]

1.5.3 Die Synthese von Azazuckern

Aufgrund des großen Potentials als Therapeutika erweckten die Azazucker in den letzten Jahren großes Interesse, und es wurden viele Synthesen in der Literatur beschrieben. Der Großteil der Synthesen macht sich günstige „*ex-chiral-pool*“ Ausgangsstoffe zunutze und startet ausgehend von Kohlenhydraten, Aminosäuren und Weinsäuren. Zusätzlich lassen sich Azazucker erfolgreich durch asymmetrische Sharpless-Epoxidierung und Dihydroxylierungsreaktionen sowie in chemoenzymatischen Synthesen darstellen.

Durch die große strukturelle Ähnlichkeit stellen Kohlenhydrate exzellente Ausgangsmaterialien dar und stehen in großer Anzahl als Chirone für die Synthese der Azazucker zur Verfügung.^[118] Das Hauptproblem in diesen Synthesen ist der selektive Ersatz einer Hydroxylgruppe durch eine Aminogruppe oder durch einen entsprechenden Precursor, wie das Azid. Die anschließende intramolekulare Cyclisierung des nucleophilenamins bzw. der Ringschluss durch intramolekulare reduktive Aminierung stellen häufig den Schlüsselschritt in diesen Synthesen dar. So gelang *Chittenden et al.* die Darstellung von 1-Desoxy-L-gulonojirimycin-hydrochlorid (**E59**) ausgehend von D-Mannose (**E56**) in acht Stufen und einer Gesamtausbeute von 30 % (Abb. 1.24).^[119] Nach Umwandlung der Mannose in das Lacton **E57** unter Einsatz der *Swern*-Oxidation konnte das Nitril **E58** durch Reaktion mit Ammoniak und Schützen der freien Hydroxylgruppe als Tosylester erhalten werden. Die Reduktion der Nitrilfunktion mit Lithiumaluminiumhydrid führte zur spontanen Cyclisierung unter Inversion der Stereokonfiguration an C5 und lieferte den gewünschten Azazucker **E59**.

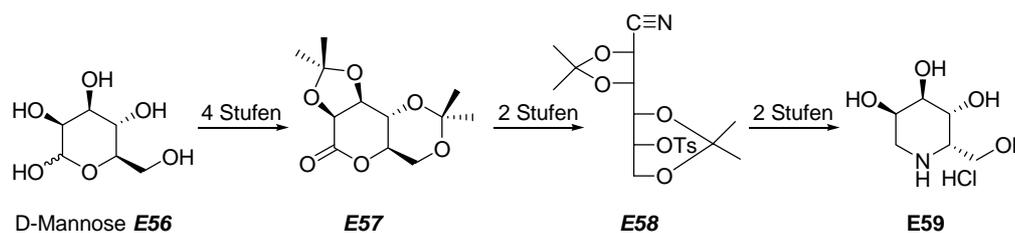


Abb. 1.24: Die Synthese des 1-Desoxy-L-gulonojirimycin-hydrochlorid nach *Chittenden et al.*

Die erste Synthese des in der Natur nicht vorkommenden Enantiomers (-)-Adenophorin (**E64**) gelang *Davies et al.* mit einer intramolekularen *Staudinger/Aza-Wittig*-Reaktion als Schlüsselschritt (Abb. 1.25).^[120] Durch Reduktion des Halbaminals 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-D-glucose (**E60**) mit Natriumborhydrid, anschließender Silylierung des primären Alkohols mit TBDPSCl und Einführung der Azid-Gruppe konnte das Azid **E61** dargestellt werden. Nach Abspaltung der Silylschutzgruppe, Oxidation der freigesetzten Hydroxylgruppe mit PCC und Einführung des Ethylrestes durch *Grignard*-Addition entstand der Precursor für die Cyclisierung (**E62**). Die Zugabe von Triphenylphosphin zu einer etherischen Lösung dieses Precursors führte zur Iminzwischenstufe **E63**, die sogleich durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid stereoselektiv hydriert wurde, um das neue Stereozentrum an C1 aufzubauen. Abschließende Debenzylierung lieferte (-)-Adenophorin (**E64**) in einer Gesamtausbeute von 26 %.

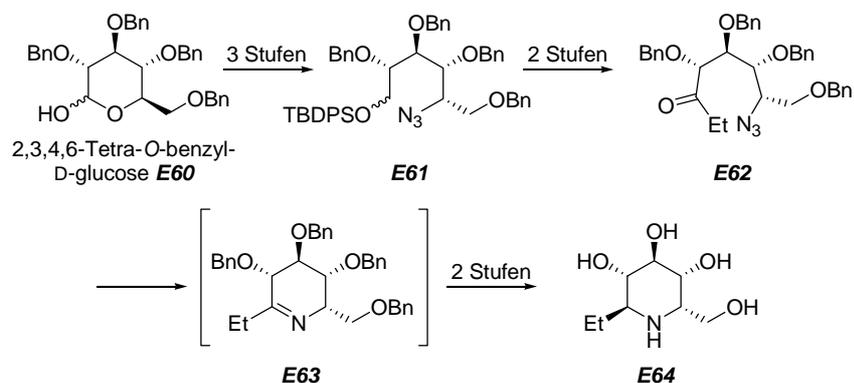


Abb. 1.25: Die Synthese von (-)-Adenophorin nach *Davies et al.*

2 Zielsetzung

Zelladhäsionsphänomene spielen eine wichtige Rolle in vielen biologischen Prozessen wie z. B. der Embryogenese, der Wundheilung, der Immunantwort und Entzündungsprozessen.^[1] So wird die inflammatorische Kaskade durch E-Selektin vermittelte Adhäsion der im Blutstrom zirkulierenden Leukozyten an Endothelzellen eingeleitet.^[8] Übermäßige Zelladhäsion kann hingegen eine Vielzahl von Krankheiten bewirken. Nachgewiesen ist eine solche Beteiligung der Selektine u.a. bei rheumatoider Arthritis,^[53] Erkrankungen der Herzkranzgefäße^[52] und dem Reperfusionssyndrom.^[54] Ein möglicher Therapieansatz ist die Verabreichung löslicher Selektinliganden, die kompetitiv an die Selektine binden und deren Aktivität dadurch mindern. Die wichtigste Leitstruktur für pharmakologisch aktive Selektinliganden stellt hierbei das Tetrasaccharid-Epitop Sialyl-Lewis^x (sLe^x) dar (Abb. 2.1).

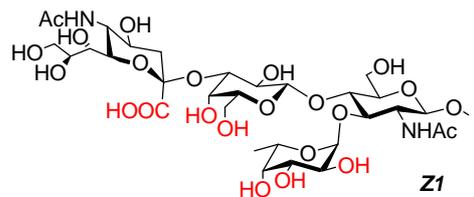


Abb. 2.1: Das Tetrasaccharid-Epitop Sialyl-Lewis^x und seine pharmakophoren Hydroxylgruppen.

Im Rahmen dieses Projektes sollen nach einer nicht-enzymatischen Strategie zwei auf der sLe^x-Struktur basierende Bausteine für die Festphasen-Peptidsynthese hergestellt werden (Abb. 2.2). Diese sollen es dann durch ihren Einsatz in automatisierten Festphasen-Peptidsynthesen zukünftig ermöglichen, verschiedene Glycopeptide als Mimetika des endogenen E-Selektin-Liganden ESL-1 zu synthetisieren.

Der rasche Abbau der sLe^x-Struktur im Organismus schränkt jedoch die pharmakologische Nutzung von sLe^x-Derivaten stark ein. Die hier zu synthetisierenden Kohlenhydrat-Epitope **Z2** und **Z3** weisen daher gegenüber der natürlichen sLe^x-Struktur mehrere Modifikationen auf, die zu einer erhöhten metabolischen Stabilität führen sollen, ohne die für eine effektive Bindung zum Rezeptor nötigen Wechselwirkungen zu beeinträchtigen. So soll der teure und synthetisch anspruchsvolle Sialinsäure-Baustein durch die von *Bünteli* und *Ernst* eingeführte L-Cyclohexylmilchsäure substituiert werden.^[67] Die Anbindung des Kohlenhydrat-Epitops an das Peptid, bzw. hier zunächst an die Aminosäure L-Threonin, soll im Gegensatz zur natürlichen N-glycosidischen Verknüpfung über eine zusätzliche Glucosamin-Einheit O-glycosidisch bewirkt werden.

Außerdem soll der labile Fucose-Rest sowohl durch die D-Arabinose (in **Z2**) als auch durch den Azazucker Desoxyfuconojirimycin (in **Z3**) ersetzt werden, die beide nicht im menschlichen Organismus vorkommen, die drei essentiellen pharmakophoren Hydroxyfunktionen jedoch in der gleichen dreidimensionalen Orientierung präsentieren wie die L-Fucose. Die schnelle Abspaltung der L-Fucose durch Fucosidasen führt zur Desaktivierung des sLe^x-Epitops. Das dem menschlichen Organismus unbekannte Desoxyfuconojirimycin hingegen wird vermutlich enzymatisch schwerer abgespalten und wirkt zudem als Glycosidase-Inhibitor (Vgl. Kapitel 1.5.2). Dadurch könnten aus Baustein **Z3** synthetisierte Glycopeptide das Potential haben, zunächst die Fucosidasen zu hemmen, so dass eine nachfolgende Gabe anderer, auf einfacherem Weg synthetisierter, sLe^x-Derivate eine größere Wirkung entfalten kann.

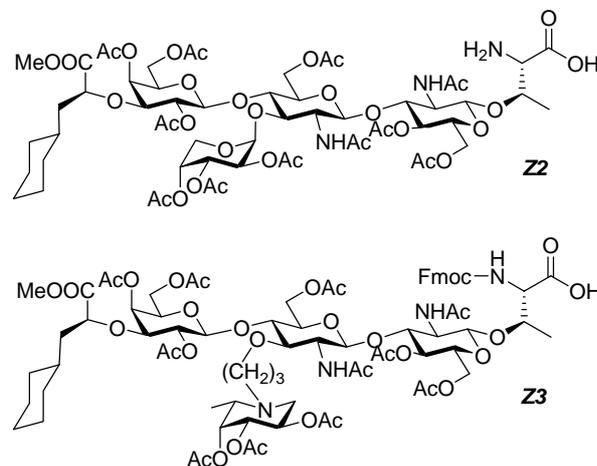


Abb. 2.2: Die Bausteine für die Festphasen-Peptidsynthese **Z2** und **Z3**.

3 Allgemeiner Teil

3.1 Die Herstellung der Sialyl-Lewis^x-Mimetika

Die Herstellung der Sialyl-Lewis^x-Mimetika erfolgt nach einer linearen Synthesestrategie (Abb. 3.1). Zunächst werden der Galactose- und der Glucosamin-Baustein zum Disaccharid **X1** verknüpft. Nach Umsatz mit dem Cyclohexylmilchsäure-Baustein zum Pseudo-Trisaccharid **X2** soll die Synthese parallel fortgeführt werden. Dazu erfolgt die Glycosylierung in 3-Position des Glucosamin-Bausteins des Pseudo-Trisaccharids **X2** entweder mit dem Aza-Fucose-Baustein (**A**) oder dem Arabinose-Baustein (**B**) zu den Pseudo-Tetrasacchariden **X3A** und **X3B**. Abschließend wird der Glycosylaminosäure-Baustein eingeführt, um die Bausteine für die Festphasenpeptidsynthese **X4A** und **X4B** zu erhalten. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind notwendige Schutzgruppenmanipulationen und Aktivierungsreaktionen in Abbildung 3.1 nicht dargestellt.

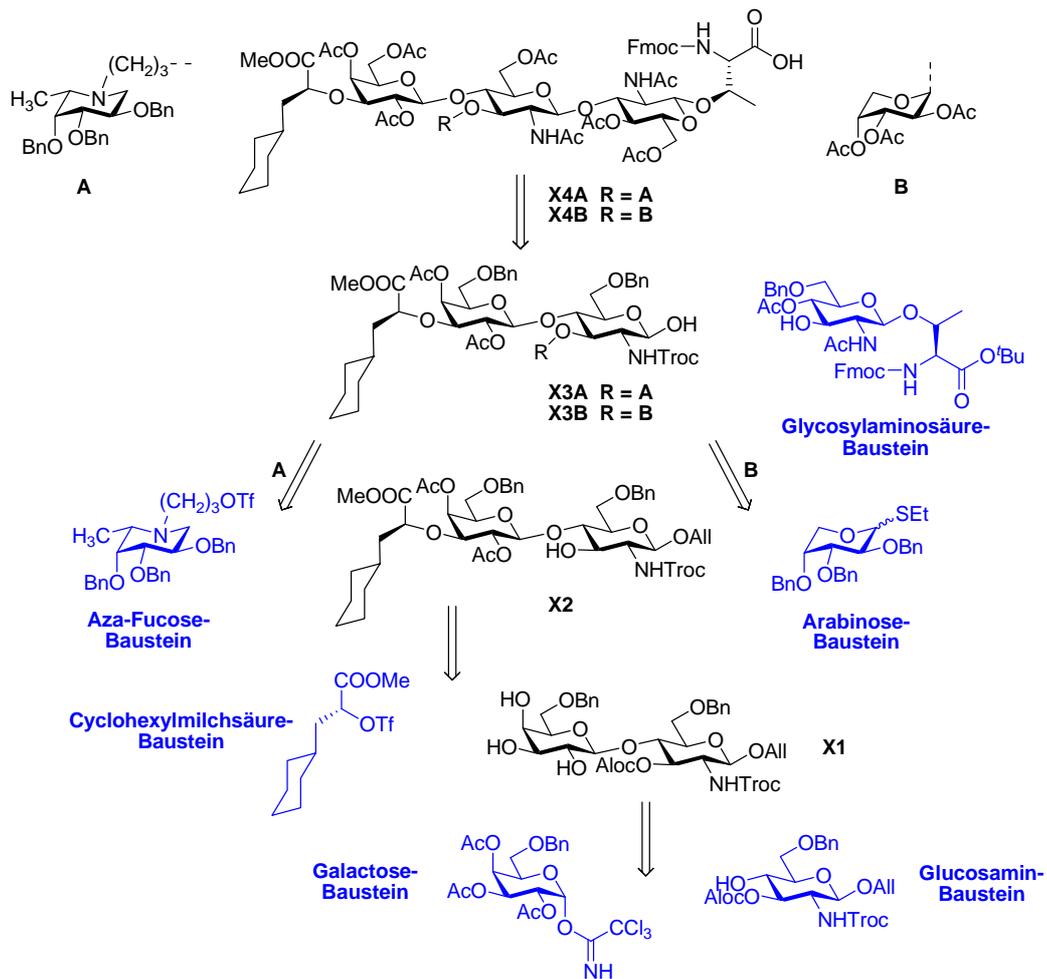


Abb. 3.1: Das Retrosynthese-Schema der Bausteine für die Festphasenpeptidsynthese.

3.2 Die Synthese der Monosaccharid-Bausteine

3.2.1 Der Galactose-Baustein

Der als Trichloracetimidat aktivierte Galactose-Baustein **7** ist über eine bewährte, in Abb. 3.2 dargestellte Strategie in sechs Stufen leicht zugänglich.^[121-124]

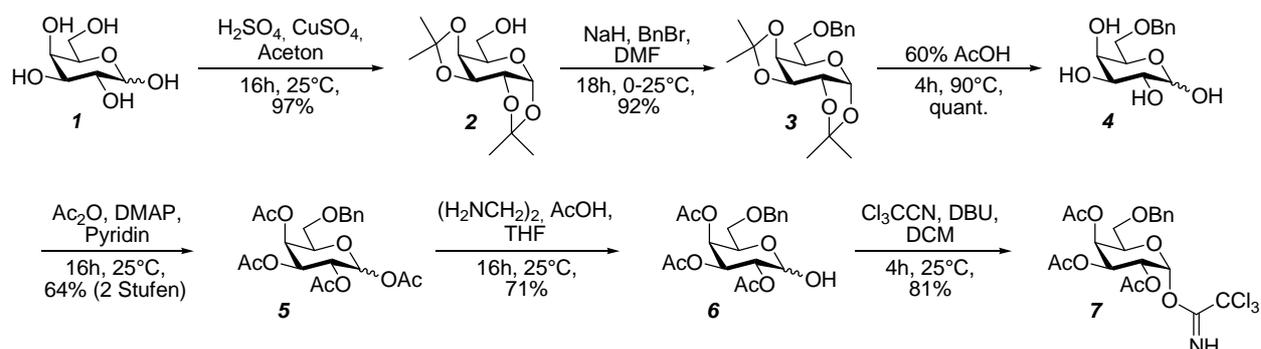


Abb. 3.2: Die Synthese des Galactose-Bausteins **7**.

Ausgehend von D-Galactose (**1**) wird mit Aceton in einer säurekatalysierten Reaktion 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galactopyranose (**2**) in nahezu quantitativer Ausbeute als Rohprodukt erhalten.^[121] Das bei der Acetylierung entstehende Reaktionswasser wird hierbei durch wasserfreies Kupfer(II)-sulfat abgefangen. Zunächst wird mit Natriumhydrid die nicht durch Isopropyliden-Gruppen geschützte primäre Hydroxylgruppe deprotoniert und anschließend mit Benzylbromid in sehr hoher Ausbeute (92 %) zum vollständig geschützten Galactose-Derivat **3** verethert.^[122]

Die quantitative Abspaltung der Isopropyliden-Schutzgruppen erfolgt durch heiße, wässrige Essigsäure. Ohne weitere Reinigung wird das erhaltene Rohprodukt **4** mit Essigsäureanhydrid, Pyridin und katalytischen Mengen 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin zur 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranose (**5**) acetyliert (Ausbeute: 64 %).^[122] Die in der Literatur beschriebene Hydrazinolyse der anomeren Acetylgruppe ließ sich nur in unbefriedigender Ausbeute reproduzieren.^[123] Hingegen gelingt die selektive Freisetzung der 1-Position zur 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranose (**6**) mit Ethylendiamin und Essigsäure in Tetrahydrofuran in 71%iger Ausbeute. Aufgrund möglicher Nebenreaktionen wie der Abspaltung und Wanderung weiterer Acetylgruppen muss der Reaktionsverlauf dünnschichtchromatographisch verfolgt werden. Das Trichloracetimidat (**7**) lässt sich schließlich aus dem in der anomeren Position ungeschützten Galactose-Derivat **6** in einer basenkatalysierten Reaktion mit Trichlor-

acetonitril darstellen (81 %). Reproduzierbar entstand hierbei unter Verwendung von frischem 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als Base nahezu reines α -Anomer, das sich durch Kristallisation aus Ethylacetat leicht reinigen ließ. Es wurde aber beobachtet, dass der Einsatz gealterter Base in dieser Reaktion zu einem α,β -Gemisch (ca. 3:1, $^1\text{H-NMR}$) führt. Dieses lässt sich nur teilweise durch Kristallisation auftrennen und reinigen. In diesen Fällen muss auf die flashchromatographische Reinigung zurückgegriffen werden. Der Zusatz von 2 % Triethylamin zum Laufmittel und die Wahl eines hohen R_f -Wertes verhindern die teilweise Hydrolyse des instabileren β -Anomers. Auf eine Trennung der Anomere kann jedoch verzichtet werden, da man aufgrund des Nachbargruppeneffekts der Acetylgruppe in 2-Position bei der nachfolgenden Galactosylierung selektiv das β -verknüpfte Disaccharid **78** erhält.

3.2.2 Der Glucosamin-Baustein

Im späteren Kohlenhydrat-Epitop nimmt der Glucosamin-Baustein die zentrale Position ein und verknüpft die Galactose-, Arabinose- (bzw. Aza-Fucose) und Glucosylaminosäure-Bausteine (Abb. 3.3). Aus diesem Grund muss in ihm ein komplexes orthogonales Schutzgruppenmuster installiert werden, das die selektive sequentielle Verknüpfung der Bausteine ermöglicht.

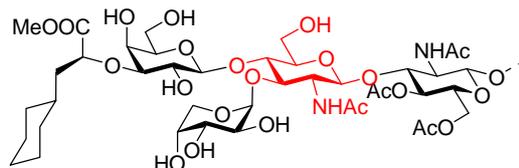


Abb. 3.3: Der Glucosamin-Baustein im Kohlenhydrat-Epitop.

Das Kernstück des Schutzgruppenmusters stellt die Kombination der Allyl-Schutzgruppe in der anomeren Position mit der oxycarbonyl-homologen Allyloxycarbonyl-Gruppe (Aloc) zum Schutz der 3-Position dar. Diese Schutzgruppen ermöglichen verschiedene Manipulationen sowohl im sauren als auch im basischen Bereich und lassen sich unter milden Bedingungen selektiv abspalten. Die Einführung der Allyl-Schutzgruppe in der anomeren Position gelingt jedoch nur ausgehend vom β -Anomer der Verbindung **8**, denn das α -Anomer **8 α** reagiert unter diesen Bedingungen nicht (Abb. 3.4).

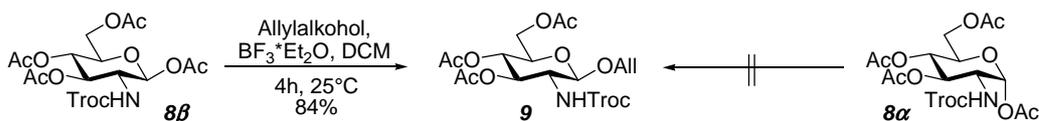


Abb. 3.4: Einführung der Allyl-Schutzgruppe in der anomeren Position.

Auf dem direkten Weg (Abb. 3.5a), der in Kapitel 3.2.5 für den Glycosylaminosäure-Baustein näher beschrieben wird, erhält man Verbindung **8** jedoch als Anomerengemisch mit einem deutlichen Überschuss des ungewünschten α -Anomers ($\alpha:\beta \approx 7:1$; 1H -NMR). Aus diesem Grund muss in der Synthese des Glucosamin-Bausteins ein Umweg beschritten werden (Abb. 3.5b).

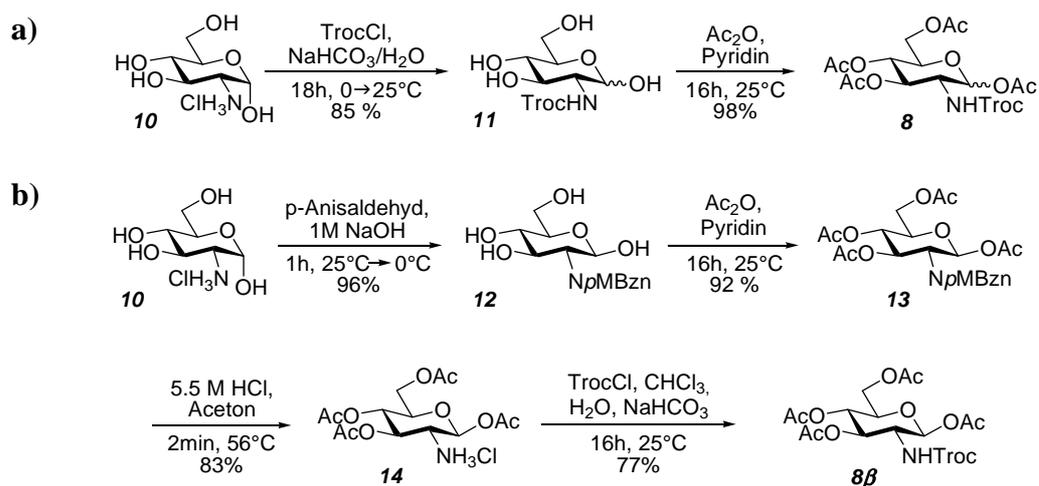


Abb. 3.5: Die Synthese von Ac_4 -GlcNTroc **8** a) auf direktem Weg als Anomerengemisch und b) über einen Umweg als reines β -Anomer.

Das Glucosamin-Hydrochlorid wird hierzu zunächst basenkatalysiert mit *p*-Anisaldehyd zum Anisalglucosamin **12** umgesetzt, was in einer Ausbeute von 96 % gelingt.^[125, 126] Aufgrund der sterischen Abschirmung durch die voluminöse Schutzgruppe in 2-Position erfolgt die anschließende Acetylierung mittels Essigsäureanhydrid in Pyridin stereoselektiv. Das Ausfällen des Produktes in Eiswasser liefert das β -Anomer **13** in 92%iger Ausbeute. Anschließend lässt sich die *p*-Methoxy-benzyliden-Schutzgruppe durch Behandlung mit 5.5 M Salzsäure wieder abspalten, wodurch das rohe peracetylierte β -Glucosaminhydrochlorid **14** entsteht (Ausbeute: 83 %).^[125, 126] Die Reaktion des Hydrochlorids **14** mit 2,2,2-Trichlorethoxy-carbonylchlorid (TrocCl) in wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung liefert dann das gewünschte β -Anomer der Trocgeschützten Verbindung **8 β** in einer Ausbeute von 77 %.^[127, 128] Die bereits in Abb. 3.4 beschriebene Allylierung des β -Anomers **8 β** mit Allylalkohol unter Lewissäure-Katalyse durch den Bortrifluorid-Diethylether-Komplex führt zu Verbindung **9** in 84%iger Ausbeute.

Zur regioselektiven Einführung des Galactose-Bausteins im ersten Verknüpfungsschritt der späteren Oligosaccharidsynthese ist es erforderlich, die 3-Position gegenüber den Positionen 4 und 6 zu differenzieren, was über das Benzylidenacetal leicht gelingt (Abb. 3.6). Nach Abspaltung der *O*-Acetylgruppen unter *Zemplén*-Bedingungen^[129, 130] zum Allyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**15**) erfolgt die säurekatalysierte Umacetalisierung mit Benzaldehyd-dimethylacetal bei einem pH-Wert von ca. 3.5 zur 4,6-*O*-benzylidengeschützten Verbindung **16** (Ausbeute über zwei Stufen: 69 %). Zur Abspaltung der Acetyl-Schutzgruppen ist das strikte Einhalten von pH = 8.5 erforderlich. Bei niedrigerem pH-Wert erfolgt die Abspaltung zu langsam oder gar nicht,

bei zu hohem pH-Wert hingegen wird die Troc-Schutzgruppe teilweise abgespalten. Aufgrund der größeren Stabilität des sechsgliedrigen Acetals **16** wird die Bildung des isomeren fünfgliedrigen 3,4-Acetals vollständig unterdrückt.

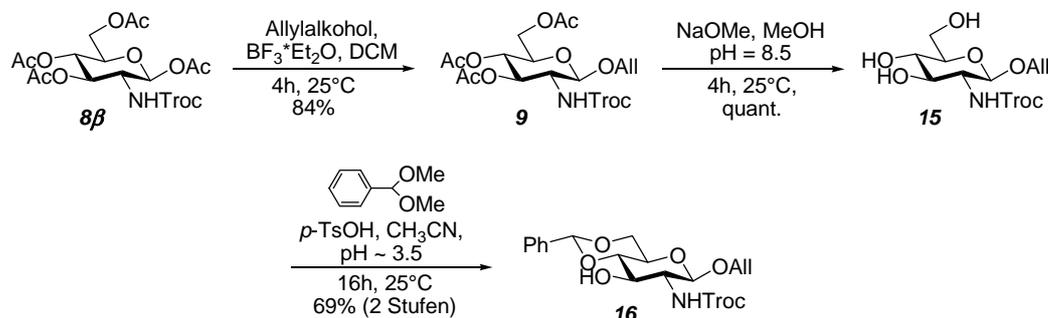


Abb. 3.6: Die Synthese der 4,6-Benzylidenacetal-geschützten Verbindung **16**.

Eine wichtige Voraussetzung für die in dieser Arbeit verfolgte Synthesestrategie ist die reversible Blockierung der 3-Position durch die Aloc-Schutzgruppe in Gegenwart des anomeren Allylethers. Dies sollte zu einem möglichst frühen Zeitpunkt bereits am Monosaccharid getestet werden (Abb. 3.7).

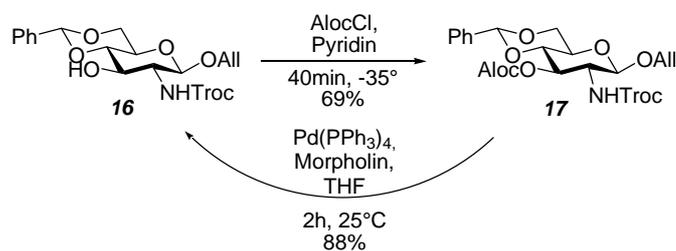


Abb. 3.7: Das reversible Schützen der 3-Position durch die Aloc-Schutzgruppe.

Die Einführung der Aloc-Schutzgruppe in die freie 3-Position des Benzylidenacetal-geschützten Bausteins **16** gelingt durch Reaktion mit Chlorameisensäureallylester (AlocCl) in Gegenwart von Pyridin in 69%iger Ausbeute. Außerdem konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe des Katalysators Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) und Morpholin in Tetrahydrofuran die Aloc-Schutzgruppe leicht wieder entfernt werden kann, ohne den anomeren Allylether zu gefährden (Ausbeute: 88 %).

Der allgemeine Mechanismus der Aloc-Spaltung durch einen Palladium-Katalysator ist in Abb. 3.8 beschrieben. Den Anfang im Katalysezyklus zur Spaltung der Aloc-Schutzgruppe bildet die σ -Hinbindung des besetzten allylischen π -Orbitals in ein unbesetztes p-Orbital des Palladiums und die resultierende Bildung eines π -Komplexes. Gleichzeitig wird die Elektronendichte durch eine π -Rückbindung von einem besetzten

d-Orbital des Palladiums in das allylische π^* -Orbital verschoben und durch Delokalisierung in das benachbarte σ^* -Orbital die C-O-Bindung geschwächt. Schließlich bricht die C-O-Bindung unter Austritt des Carboxylat-Anions, und der Katalysator wird durch Übertragung des Allylkations vom Allyl-Palladiumkomplex auf ein Abfangnucleophil wieder regeneriert.

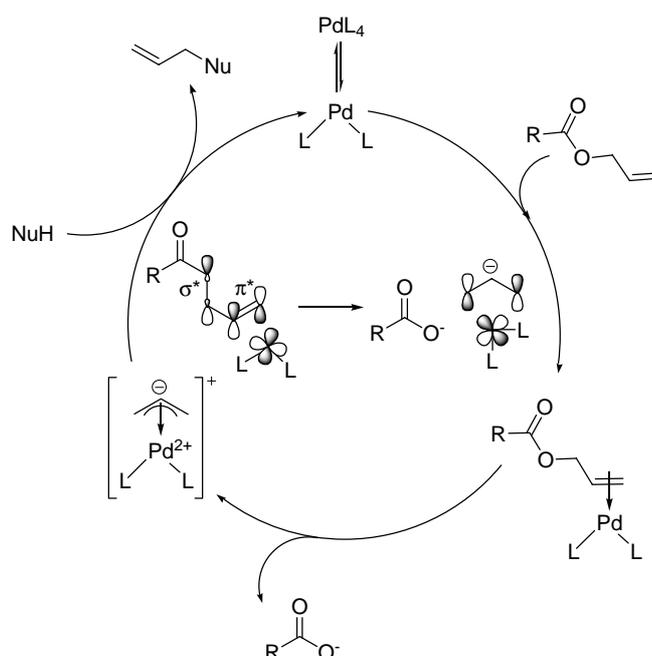
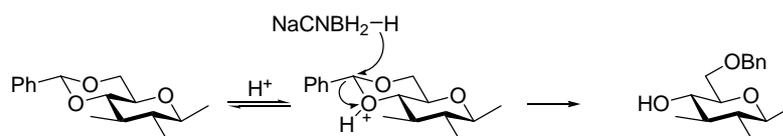


Abb. 3.8: Der Mechanismus der Übergangsmetallkomplex-katalysierten Spaltung der Aloc-Schutzgruppe.

Das 4,6-*O*-Benzylidenacetal in Verbindung **17** muss für die nachfolgende Galactosylierung selektiv zum 6-*O*-Benzylether **18** geöffnet werden, der eine freie Hydroxylgruppe in der 4-Position trägt. Dies ist z. B. unter reduktiven Bedingungen durch den Einsatz von Natriumcyanoborhydrid in Tetrahydrofuran und einer gesättigten Lösung Chlorwasserstoff in Diethylether möglich (Abb. 3.9a). Hierbei wird das basischere Sauerstoffatom in der 4-Position selektiv protoniert, obwohl es stärker abgeschirmt ist. Anschließend führt der Angriff des Natriumcyanoborhydrids unter Hydridübertragung zur Öffnung des Acetalrings unter Ausbildung des 6-*O*-Benzylethers. Unter diesen Bedingungen wird die Bildung des 4-*O*-Benzylethers nicht beobachtet.^[131]

a) Regioselektive Öffnung zum 6-*O*-Benzylether:



b) Regioselektive Öffnung zum 4-*O*-Benzylether:

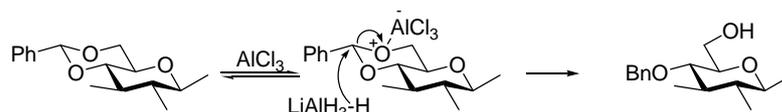


Abb.3.9: Der Mechanismus der regioselektiven Öffnung des Benzylidenacetals.

Durch Einsatz voluminöser *Lewis*-Säuren wie z.B. Aluminiumtrichlorid an Stelle des Chlorwasserstoffs tritt die Abschirmung des Sauerstoffatoms in 4-Position in den Vordergrund, und es wird elektrophil selektiv das leichter zugängliche Sauerstoffatom in 6-Position angegriffen. Unter diesen Bedingungen führt die Hydridübertragung durch Lithiumaluminium-hydrid ausschließlich zum 4-*O*-Benzylether (Abb. 3.9b).

Über die oben beschriebene Methode gelingt die selektive Benzylidenacetalöffnung zum 6-*O*-Benzylether zwar leicht, jedoch wurde bereits von *C. Filser* beschrieben, dass die Reinigung des mit Borverbindungen verunreinigten Produkts große Schwierigkeiten bereitet.^[131]

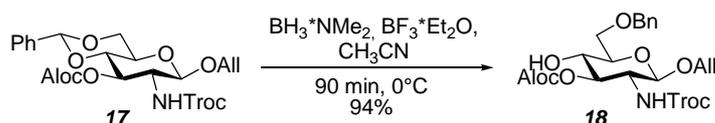


Abb 3.10: Die regioselektive Öffnung des Benzylidenacetals durch den Dimethylamin-Boran-Komplex.

Die Benzylidenacetalöffnung durch den Dimethylamin-Boran-Komplex und Bortrifluorid liefert den gewünschten 6-*O*-Benzylether **18** in 94%iger Ausbeute (Abb. 3.10),^[132] allerdings ist auch hier die Verunreinigung durch Borverbindungen zu beobachten. Selbst nach mehreren Waschschrinen ist die Abtrennung der Borverunreinigungen noch nicht komplett. Eine vollständige Abtrennung dieser Verunreinigungen ist jedoch notwendig, weil diese sonst freie Hydroxylgruppen komplexieren können und dadurch die folgende Galactosylierung behindern.^[133] Aus diesem Grund wurde auf eine alternative Methode zur selektiven Acetalöffnung zurückgegriffen. Unter den von *Sakagami* beschriebenen Bedingungen kann der

Glucosamin-Baustein **18** mit Triethylsilan und Trifluormethan-sulfonsäure in 86%iger Ausbeute ohne störende Verunreinigungen erhalten werden (Abb. 3.11).^[134]

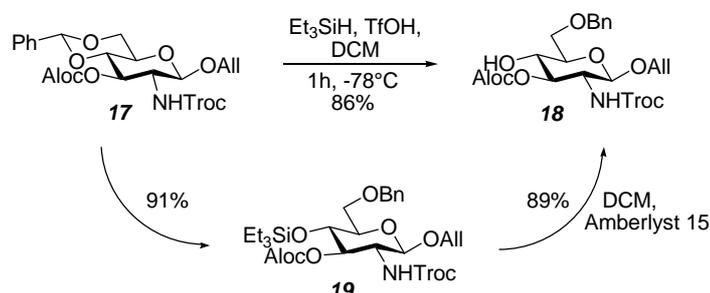


Abb. 3.11: Die regioselektive Öffnung des Benzylidenacetals **17** zum Glucosamin-Baustein **18**.

Wurde die Reaktionsmischung bereits vor dem Abbrechen der Reaktion mit Methanol durch Zugabe von Triethylamin neutralisiert, konnte der Silylether **19** in 91%iger Ausbeute isoliert werden. Durch Rühren mit dem sauren Ionentauscher Amberlyst[®] 15 kann dieser gespalten werden, so dass der Glucosamin-Baustein **18** mit ungeschützter 4-Position entsteht.

3.2.3 Der Cyclohexylmilchsäure-Baustein

In dieser Arbeit soll die natürlich vorkommende Neuraminsäurekomponente der Sialyl-Lewis^x-Struktur mit der von *Bünteli* und *Ernst* beschriebenen (*S*)-Cyclohexylmilchsäure substituiert werden.^[67] Basierend auf den Ergebnissen von Molecular-Modeling-Studien synthetisierten *Kolb* und *Ernst* erste sLe^x-Derivate mit diesem Substitut.^[65] Diese Arbeit fortführend stellten *Ernst* et al. und *Thoma* et al. (*Novartis*) zahlreiche weitere Mimetika dieses Typs her.^[66] In biologischen Tests erwiesen sich diese als potente E-Selektin-Antagonisten und zeichneten sich durch ihre Stabilität gegenüber Sialyltransferasen aus. Die erste Synthese eines sLex-Glycopeptid-Mimetikums mit Cyclohexylmilchsäure-Baustein gelang schließlich *Filser* im Jahr 2005.^[131]

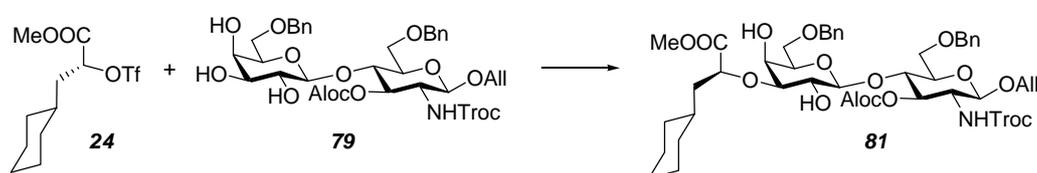


Abb. 3.12: Konfigurations-Inversion bei der Kupplung des Triflats **24** an das Disaccharid **79**.

Die spätere Kupplung des Triflats **24** an das Disaccharid **79** erfolgt in einer S_N2-Reaktion unter Inversion des Stereozentrums (Abb. 3.12). Aus diesem Grund muss das (*R*)-Enantiomer der Cyclohexylmilchsäure synthetisiert und eingesetzt werden, um die gewünschte (*S*)-Konfiguration des Pseudo-Trisaccharids zu erzielen.

Der Cyclohexylmilchsäure-Baustein **24** lässt sich ausgehend von D-Phenylalanin (**20**) in vier Stufen darstellen. Zunächst wird die Aminosäure (**20**) mit Natriumnitrit diazotiert und anschließend unter Retention der Konfiguration zur α -Hydroxycarbonsäure **21** hydrolysiert (Abb. 3.13; Ausbeute: 65 %).^[135]

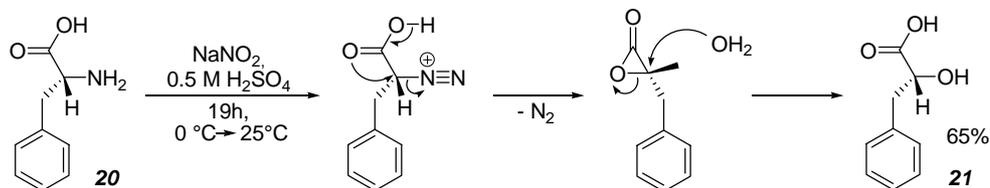


Abb. 3.13: Der Mechanismus der Bildung von (*R*)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure (**21**).

In neueren Untersuchungen konnte von *Storz* und *Dittmar* durch analytische HPLC an einer chiralen Säure gezeigt werden, dass sich in einem geringen Anteil (2-5 %) ebenfalls das (*S*)-Enantiomer bilden kann.^[136] Auf chirale HPLC-Analytik wurde im

Rahmen dieser Arbeit jedoch verzichtet und die optische Reinheit über den Drehwert der α -Hydroxy-carbonsäure **21** bestimmt. Das Entstehen beider Enantiomere hätte jedoch nach der späteren Kupplung zum Trisaccharid **81** (Abb. 3.12) zu einem Diastereomeregemisch geführt. Dass ein solches in dieser Arbeit gebildet wurde, konnte jedoch weder durch konventionelle RP-HPLC noch durch NMR-Spektroskopie beobachtet werden.

Die durch den sauren Ionentauscher *Dowex*[®] 50WX8-200 in Methanol katalysierte Veresterung der α -Hydroxycarbonsäure **21** gelingt in quantitativer Ausbeute. Anschließend wird der Phenylring des Methylsters **22** durch Rhodium auf aktiviertem Aluminiumoxid mit Wasserstoff zum Cyclohexylmilchsäureester **23** hydriert (Ausbeute: 88 %). Es zeigte sich, dass Ausbeute und Reaktionsgeschwindigkeit der Hydrierung sehr stark von der verwendeten Charge des Rhodium-Katalysators abhängen. Teilweise konnte der Umsatz auch nach 5-wöchigem Rühren und mehrfacher Katalysatorzugabe nicht über 50 % gesteigert werden. Die Zugabe weiteren Katalysators einer anderen Charge führte dann in 48 Stunden zur Vervollständigung der Reaktion. Die abschließende Umsetzung des Cyclohexylmilchsäureesters **23** mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid und 2,6-Lutidin (2,6-Dimethylpyridin) zum Cyclohexylmilchsäure-Baustein **24** gelingt in 89%iger Ausbeute (Abb. 3.14).^[137] Der Einsatz der sterisch abgerüsteten Base Pyridin hingegen führt zum α,β -ungesättigten Eliminierungsprodukt. Das sekundäre Triflat **24** lässt sich nach säulenchromatographischer Reinigung bei -30 °C monatelang zersetzungsfrei lagern.

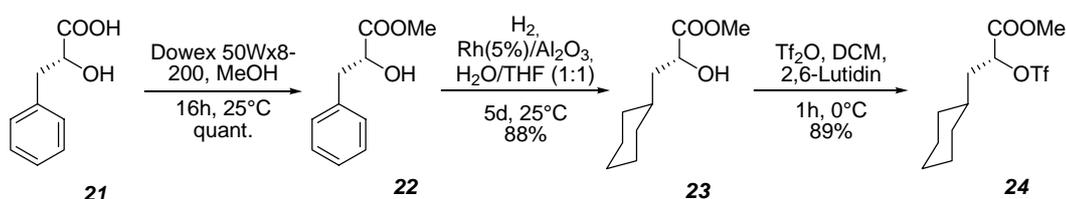


Abb. 3.14: Die Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **24**.

3.2.4 Der Arabinose-Baustein

Die Synthese des Arabinose-Bausteins erfolgte nach einer bewährten Syntheseroute.^[71, 131, 138] Es wurde hier jedoch eine Komplikation beobachtet, die für diese Synthesefolge bisher nicht beschrieben wurde. Bei der Acetylierung der D-Arabinose **25** durch Acetanhydrid in Pyridin entstehen in der ersten Stufe neben dem Anomerengemisch der Arabinopyranosen **26** auch die Furanose-Formen **27** (Abb. 3.15). Dieses Problem wurde erst in der letzten Stufe augenscheinlich und konnte anhand des dann vorliegenden Datenmaterials nur unvollständig zurückverfolgt werden. Genauer untersucht wurde dieses Phänomen jedoch von *K. Baumann*, die zur gleichen Zeit auf dieses Problem stieß und NMR-spektrometrisch alle vier Isomere **26** und **27** als Produkte der Acetylierung nachweisen konnte.^[139] In der Literatur lässt sich sonst kein Hinweis darauf finden. Von *C. Filser* konnte das Entstehen der Arabinofuranosen hingegen nur beobachtet werden, wenn zur Steigerung des Anteils des α -Anomers **26 α** auf die Acetylierungs-Methode durch Natriumacetat in siedender Essigsäure zurückgegriffen wurde.^[131] Eine Erhöhung der Reaktionstemperatur bei der Acetylierung begünstigt bekannterweise die Entstehung des α -Anomers gegenüber der des β -Anomers, führt aber in diesem Fall offensichtlich auch zum Auftreten der Furanose-Formen.

Neben den Furanosen **27** stellt auch die peracetylierte β -Arabinopyranose **26 β** ein unerwünschtes Produkt dar. Wie *C. Filser* zeigen konnte, lässt sich dieses Anomer aufgrund der durch den anomeren Effekt hervorgerufenen Stabilität selbst mit Lewis-Säuren wie Bortrifluorid-Diethylether nicht in das Thioglycosid **28** überführen.

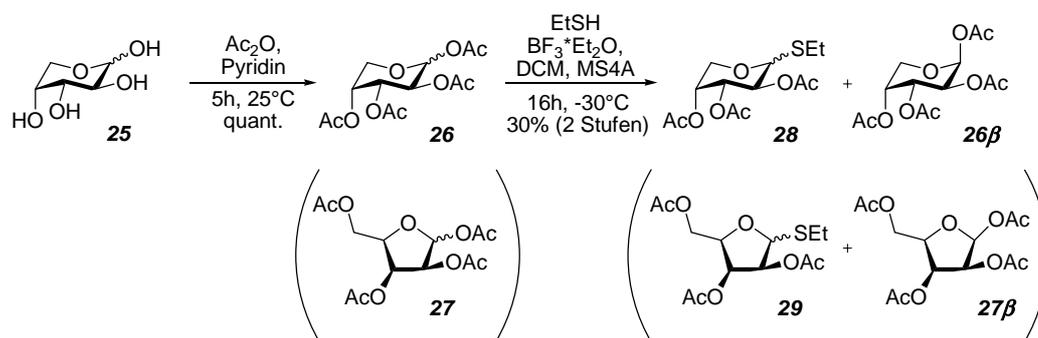


Abb. 3.15: Die Darstellung des Thioglycosids als Anomerengemische.

Dünnschichtchromatographisch lassen sich die vier Isomere **26/27** bei verschiedenen Laufmittelgemischen nur als ein diskreter Spot nachweisen. Eine säulenchromatographische Trennung der Komponenten ist auf dieser Stufe daher

ausgeschlossen. Durch $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie des Rohprodukts kann über die Integration der H-1-Protonen das ungefähre Isomerenverhältnis wie folgt bestimmt werden:

$$(\alpha)\text{-Pyranose}:(\beta)\text{-Pyranose}:(\alpha)\text{-Furanose}:(\beta)\text{-Furanose} = 1.00:1.39:0.61:0.41$$

Bei der nachfolgenden Reaktion des Isomerengemisches **26/27** mit Ethanthiol und Bortrifluorid-Diethylether bleiben die stabilisierten β -anomeren Verbindungen **26 β** und **27 β** unverändert (Abb. 3.15) und können nun durch Säulenchromatographie abgetrennt werden. Aus den α -anomeren Verbindungen **26 α** und **27 α** entstehen hingegen die Anomerengemische des Thioglycosids in Pyranose- (**28**) und Furanose-Form (**29**) in einer kombinierten Ausbeute von 30 %, bezogen auf die eingangs eingesetzte D-Arabinose (**25**). Dünnschichtchromatographisch erscheinen diese Isomere erneut gemeinsam als ein Punkt, was die chromatographische Trennung unmöglich macht.

Nach quantitativer Desacetylierung der isomeren Thioarabinside **28/29** mit Natriummethanolat in Methanol werden die freien Hydroxylgruppen der Verbindungen **30/31** zunächst mit Natriumhydrid deprotoniert und dann mit Benzylbromid zu der Zielverbindung **32** und zu den unerwünschten furanosidoiden Nebenprodukten **33** verethert (Abb. 3.16).

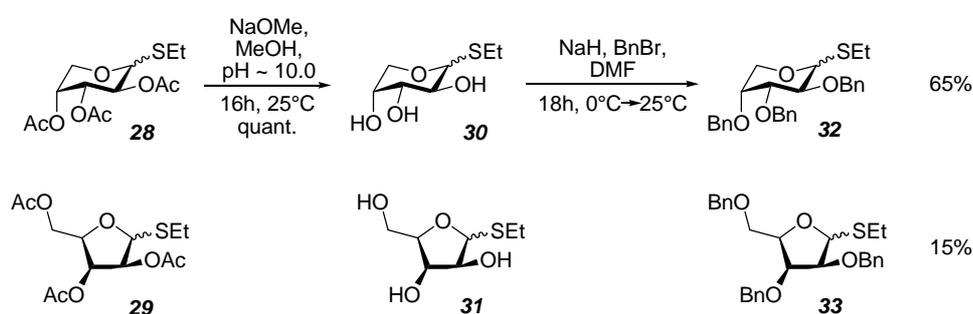


Abb. 3.16: Der Schutzgruppenaustausch zur Synthese des Arabinose-Bausteins **32**.

Erst an dieser Stelle gelingt die flashchromatographische Trennung und liefert den gewünschten Arabinose-Baustein in einer Ausbeute von 65 % ausschließlich als α -Anomer (**32 α**), während die ebenfalls für die weitere Synthese einsetzbare β -Arabinopyranose **32 β** nur in geringen Mengen dünnschichtchromatographisch nachgewiesen, aber nicht isoliert wurde. Die Furanose-Formen **33** können in 15%iger Ausbeute isoliert werden.

Die erhaltene Substanzmenge des Arabinose-Bausteins **32** war für den Einsatz in der folgenden Synthese ausreichend. Auf eine Optimierung der Acetylierungsbedingungen wurde daher im Rahmen dieser Arbeit verzichtet. Optimierungsversuche werden in der

Dissertation von *K. Baumann* beschrieben. Das Entstehen der Furanose-Formen lässt sich unter der Voraussetzung, das α/β -Verhältnis zu Gunsten des benötigten α -Anomers zu verschieben, nicht vollständig unterdrücken.^[139]

3.2.5 Der Glycosylaminosäure-Baustein

Die Anbindung des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums soll in dieser Arbeit über eine zusätzliche Glucosamin-Einheit *O*-glycosidisch an das Peptid erfolgen. Als Aminosäure soll hierbei Threonin verwendet werden, an dessen Seitenkette das Kohlenhydrat-Epitop gebunden wird. Im Rahmen des Synthesepans sollte daher der Glycosylaminosäurebaustein **53** synthetisiert werden.

Zur Anbindung des Zuckers an die Seitenkette des Threonins müssen zunächst die Säure- und Aminofunktionalität unter Standardbedingungen geschützt werden. Für die automatisierte Festphasensynthese ist die Anwendung der Fmoc-Strategie geplant. Deshalb wird die freie Aminofunktion durch Reaktion mit *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid (FmocOSu) in Dichlormethan bei einem pH-Wert von 9.0-9.5 geschützt, was in quantitativer Ausbeute erreicht werden kann (Abb. 3.17). Der α -Carboxyterminus wird zudem durch die *tert*-Butylesterschutzgruppe blockiert, die sauer abspaltbar ist und einen orthogonalen Schutz zur Fmoc- sowie zu den Acetyl- und Benzylschutzgruppen bietet. Unter den von *Braum*^[140] und *Schultz*^[141] beschriebenen Bedingungen gelingt die Darstellung der orthogonal geschützten Aminosäure Threonin **36** mit *tert*-Butanol und Kupfer(I)chlorid in Gegenwart von *N,N*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) in 65%iger Ausbeute.

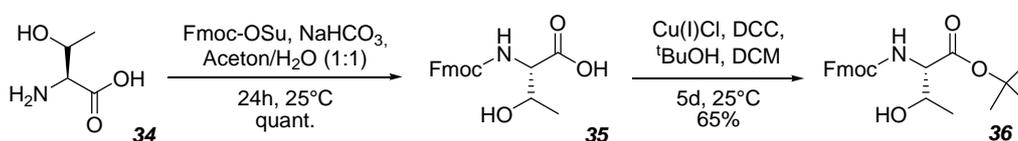


Abb. 3.17: Die Synthese des Fmoc- und *t*Butyl-geschützten Threonin-Bausteins **36**.

Die Reaktion mit Fmoc-geschütztem Serin **37** führt unter den gleichen Bedingungen zu einer Mischung aus dem gewünschten Produkt **39**, der auch in der Seitenkette geschützten Verbindung **38** und der Ausgangsverbindung **37** (Abb. 3.18).

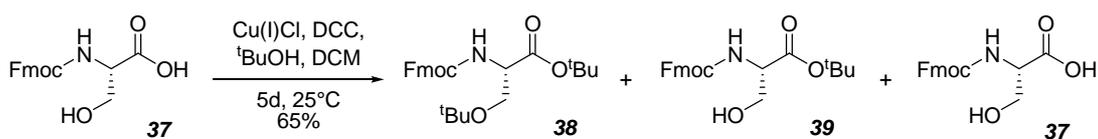


Abb. 3.18: Die unterschiedlich geschützten Serin-Derivate.

Wie bereits in Kapitel 3.2.2 beschrieben, erhält man ausgehend von Glucosamin-Hydrochlorid (**10**) den Troc- und Acetyl-geschützten Baustein **9** als Anomerengemisch ($\alpha:\beta \approx 7:1$; 1H -NMR). Im ersten Schritt liefert die Reaktion mit 2,2,2-Trichlorethoxy-carbonylaminochlorid (TrocCl) in Natriumhydrogencarbonat-Lösung das Produkt **11** (85 %), das durch Acetanhydrid in Pyridin in nahezu quantitativer Ausbeute zur voll geschützten Verbindung **8** umgesetzt wird (Abb. 3.19).

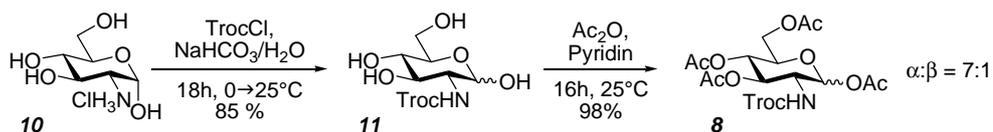


Abb. 3.19: Die Synthese von Ac_4 -GlcNTroc **8** als Anomerengemisch.

Die Glycosylierung des geschützten Glucosamins **8** mit der geschützten Aminosäure **36** kann unter *Koenigs-Knorr*-Bedingungen erreicht werden (Abb. 3.20).^[142] Zunächst wird das Glucosamin **8** durch Bromwasserstoff in Essigsäure in das Glucopyranosylbromid **43** überführt (quantitativ), das nach Entfernung der überschüssigen Reagenzien sofort in die nachfolgende Glycosylierung eingesetzt wird. Mit Silbercarbonat und getrocknetem Silberperchlorat gelingt die Glycosylierung in einer Ausbeute von 72 % und liefert ausschließlich das β -Anomer **44**.

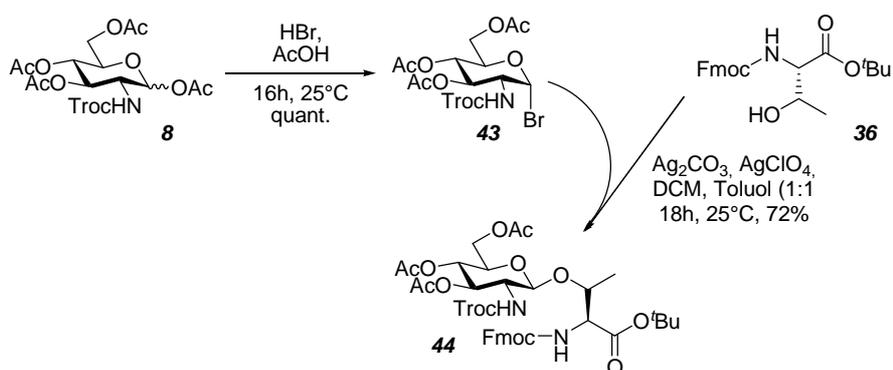


Abb.3.20: Die Glycosylierung nach *Koenigs-Knorr* zur Glycosylaminosäure **44**.

Im Gegensatz zum Glucosamin-Baustein wird die dirigierende Wirkung der Troc-Schutzgruppe bei diesem Baustein im weiteren Reaktionsverlauf nicht mehr benötigt. Da bei verschiedenen Bedingungen eine Abspaltung der Troc-Schutzgruppe in geringem Maß beobachtet wird, soll das Amin bereits an dieser Stelle in das stabile Acetamid überführt

werden. Die Reaktion mit Zink in einer Mischung aus Tetrahydrofuran, Essigsäure und Essigsäureanhydrid liefert das Acetamid **45** in einer Ausbeute von 86 % (Abb. 3.21).

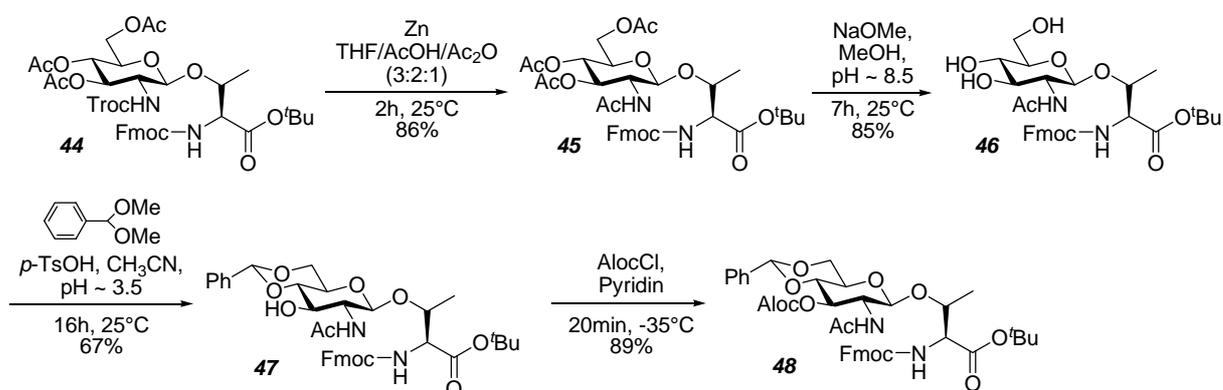


Abb. 3.21: Die Synthese der vollständig geschützten Glycosylaminosäure **48**.

Für die geplante Glycosylierung zum Pseudo-Pentasaccharid muss die 3-Position der Glycosylaminosäure ungeschützt vorliegen und zu diesem Zweck zunächst gegenüber den anderen Zuckerkomponenten differenziert werden. Hierzu soll die in der Synthese des Glucosamin-Bausteins (vgl. Kapitel 3.2.2) bewährte Reaktionsfolge (Abb. 3.21) genutzt werden. Nach Abspaltung der Acetal-Schutzgruppen unter *Zemplén*-Bedingungen^[129, 130] bei pH = 8.5 zu Verbindung **46** (85 %) erfolgt die säurekatalysierte Umacetalisierung mit Benzaldehyd-dimethylacetal bei einem pH-Wert von ca. 3.5 zur 4,6-*O*-benzyliden-geschützten Verbindung **47** (67 %). In dieser Verbindung liegt die 3-Position ungeschützt vor, während die restlichen Funktionen geschützt sind. Das säurelabile Benzylidenacetal ist aber als Schutzgruppe für die spätere Festphasensynthese ungeeignet und ein Schutzgruppenaustausch daher unerlässlich. Die 3-Position wird deshalb vorübergehend durch die Einführung der Aloc-Schutzgruppe blockiert, was durch Reaktion mit AlocCl in Pyridin leicht gelingt und die geschützte Verbindung **48** liefert (Ausbeute: 89 %).

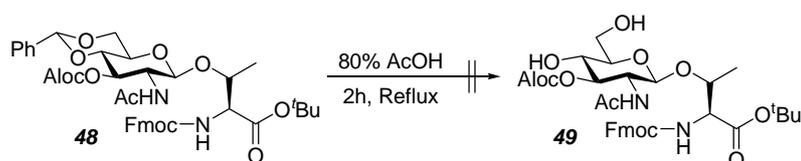


Abb. 3.22: Versuchte Abspaltung des Benzylidenacetals.

Die Abspaltung des Benzylidenacetals in siedender 80%iger Essigsäure verläuft langsam und führt hauptsächlich zur Zersetzung (Abb. 3.22). Aus diesem Grund wird auf

das Verfahren zur regioselektiven Acetalöffnung zurückgegriffen, das sich in der Synthese des Glucosamin-Bausteins bewährt hat. Durch Reaktion mit Triethylsilan und Trifluormethansulfonsäure in Dichlormethan wird selektiv der 6-O-Benzylether **50** erhalten (Abb. 3.23), der roh der Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin unterworfen wird und Verbindung **51** liefert (49 % über 2 Stufen).

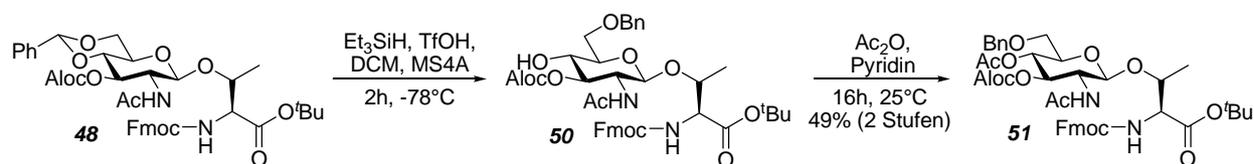


Abb. 3.23: Die Reaktionsfolge des Schutzgruppenaustausches.

Die abschließende Freisetzung der Hydroxylfunktionalität in 3-Position zu dem Glycosylaminosäure-Baustein **53** gelingt mit Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) als Katalysator und *N*-Methylmorpholin (NMM) als Base in einer Ausbeute von 71 % (Abb. 3.24). *N*-Methylmorpholin wurde eingesetzt, nachdem sich Morpholin als zu basisch erwiesen hatte und dadurch bei dieser Reaktion zusätzlich die Fmoc-Schutzgruppe abgespalten wurde.

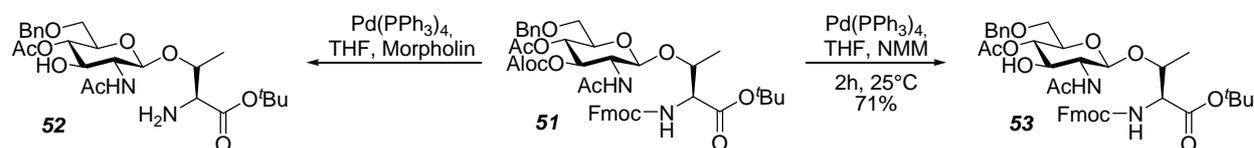


Abb. 3.24: Die katalytische Aloc-Spaltung zu Glycosylaminosäure-Baustein **53**.

3.2.6 Der Aza-Fucose-Baustein

Der Azazucker Desoxyfuconojirimycin (**65**) stellt als Zuckermimetikum einen bedeutenden Enzym-Inhibitor für die Klasse der Glycosidasen dar und wird zur Untersuchung der mechanistischen Zusammenhänge im Labor verwendet. In der Literatur lassen sich einige Syntheserouten finden, die jedoch häufig komplex und meist nur für die für diese Zwecke benötigten geringen Mengen anwendbar sind.^[143-147] Am geeignetsten für die Synthese größerer Mengen im Rahmen dieser Arbeit erschien daher die von *Fleet* entwickelte Syntheseroute.^[148]

In dieser Synthesestrategie dient das D-Lyxono-1,4-lacton (**55**) als chirales Grundgerüst, aus dem der Piperidinring aufgebaut wird. Die Darstellung von D-Lyxonolacton ist nach *Han et al.* oxidativ durch Brom aus D-Lyxose (**54**) möglich (Abb. 3.25).^[149]

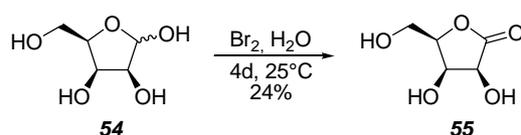


Abb. 3.25: Oxidation zum D-Lyxono-1,4-lacton mittels Brom.

Aufgrund des relativ hohen Preises für D-Lyxose und der unbefriedigenden Ausbeute (24 %) wurde das D-Lyxonolacton (**55**) jedoch auf einem anderem Weg hergestellt. So lässt sich dieses mittels der *Humphlett*-Prozedur oxidativ aus dem billigen Grundstoff D-Galactose (**1**) über die Zwischenstufe des Kalium-Lyxonats (**56**) darstellen (Abb. 3.26).^[150] *Humphlett* beschrieb 1967 die oxidative Spaltung von D-Glucose zu dem um eine CH₂OH-Einheit verkürzten Kalium-Arabinonat. Hierzu wird eine Lösung von D-Glucose unter kräftiger Durchströmung mit Sauerstoff zu einer Lösung von Kaliumhydroxid in Wasser/Methanol getropft. Nach kurzer Zeit beginnt das Kalium-Arabinonat kristallin auszufallen und wird dadurch vor weiterer Oxidation geschützt. In der damaligen Veröffentlichung wurde zudem beschrieben, dass dieses Verfahren prinzipiell auch auf andere Hexosen anwendbar sei.

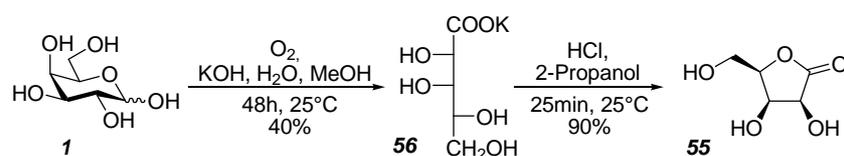


Abb. 3.26: *Humphlett*-Prozedur zur Darstellung von D-Lyxono-1,4-lacton (**55**) aus D-Galactose (**1**).

Es zeigte sich jedoch, dass die Reaktion im Falle der D-Galactose (**1**) schwieriger durchzuführen ist. Entscheidend für eine erfolgreiche Reaktion ist eine stark reduzierte Zugabegeschwindigkeit der D-Galactose. Bei zu schneller Zugabe beobachtet man zwar ebenfalls nach kurzer Zeit das Ausfallen eines farblosen Produktes. Dabei handelt es sich jedoch um ein nicht näher identifiziertes oligomeres Nebenprodukt, das sich bald unter Gelbfärbung wieder löst. Eine weitere Reaktion zum gewünschten Produkt kann in diesem Fall nicht mehr erreicht werden, und der Ansatz ist zu verwerfen. Zur Kristallisation des Kalium-Lyxonats ist es vielmehr notwendig, den Ansatz nach vollendeter Zugabe der D-Galactose mit mindestens dem doppelten Volumen an Methanol zu versetzen und über Nacht weiter mit Druckluft zu durchfluten. Ohne die anhaltende Luftdurchleitung wird das Lyxonat mit dem bereits oben beschriebenen Nebenprodukt verunreinigt erhalten.

Offensichtlich ist die Reaktionsgeschwindigkeit bei der D-Galactose gegenüber der D-Glucose erheblich geringer, wodurch Nebenreaktionen sowie die weitere Oxidation des Produkts stärker in den Vordergrund treten. Die erzielten Ausbeuten von 40 % liegen deutlich unter der von *Humplett* für D-Glucose beschriebenen Ausbeute von 76 %. Mögliche Ursachen hierfür sind der unvollständige Umsatz der D-Galactose, die unvollständige Kristallisation und das Entstehen von Nebenprodukten.

Das erhaltene Kalium-Lyxonat (**56**) lässt sich in das D-Lyxonolacton (**55**) überführen. Hierzu wird das Kaliumsalz **56** in 2-Propanol suspendiert und unter Kühlung im Eisbad bis zum vollständigen Umsatz Chlorwasserstoff durchgeleitet. Das Ende der Reaktion lässt sich nur schwer feststellen. Zwar geht das Produkt in Lösung, aber das gleichzeitig entstehende Kaliumchlorid ist in 2-Propanol unlöslich und lässt sich optisch nur schwer von der Suspension der Ausgangsverbindung unterscheiden. Auch eine dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle ist nicht praktikabel, weil die Reaktionslösung lediglich das Produkt enthält, unabhängig vom Fortschritt der Reaktion, während das Edukt ungelöst bleibt. Eine übermäßige Zufuhr an Chlorwasserstoff führt jedoch zur Zersetzung des Produktes, erkennbar an der Violettfärbung der Lösung beim Einengen. Dadurch wird die Ausbeute vermindert und die Kristallisation des Produktes erschwert bzw. verhindert. Sicherer ist es daher, das Kalium-Lyxonat (**56**) erst zum bereits mit Chlorwasserstoff gesättigten 2-Propanol zu geben, wodurch das kristalline Produkt in einer Ausbeute von 90 % entsteht.

In der von *Fleet et al.* beschriebenen Synthesestrategie wird der spätere Ringstickstoff des Aza-Fucose-Derivats über die Amino- bzw. Azid-Substitution des primären Alkohols in das Lyxolacton (**55**) eingeführt. Voraussetzung hierfür ist die selektive,

reversible Blockierung der sekundären Alkoholfunktionen im Lacton. Aufgrund der 1,2-*cis*-Orientierung dieser beiden Hydroxylgruppen eignet sich das Isopropyliden-acetal als Schutzgruppe.

In der von *Kold et al.* beschriebenen Reaktion führt die durch Schwefelsäure katalysierte Acetalbildung des Lyxolactons in siedendem Aceton bei Abfangen des Reaktionswassers mittels Kupfersulfat zu einer Mischung der beiden möglichen Regioisomere, dem 2,3-*O*-Isopropylidenacetal **57** und dem 3,5-verknüpften Acetal **58** (Abb. 3.27).^[151] Wie für 1,2-*cis*-Diole erwartet, wird bevorzugt das thermodynamisch stabilere, fünfgliedrige 1,3-Dioxolan **57** gebildet.

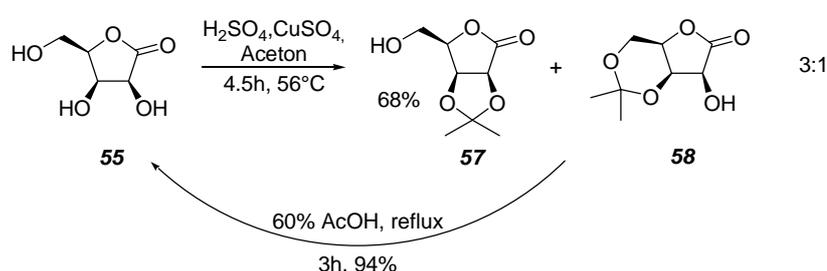


Abb. 3.27: Bildung der regioisomeren Isopropylidenacetale **57** und **58**.

Durch ¹H-NMR-Spektroskopie wurde das Verhältnis zwischen 1,3-Dioxolan **57** und 1,3-Dioxan **58** zu 3:1 bestimmt. Die Isomere lassen sich durch Flash-Chromatographie und anschließende Kristallisation trennen, wodurch das gewünschte 2,3-*O*-Isopropylidenacetal **57** in einer Ausbeute von 68 % erhalten wird. Das Nebenisomer **58** und eventuelle Mischfraktionen mit mehr als 25 % Nebenisomer **58** (nur dann ist die Neueinstellung des Isomerengleichgewichts sinnvoll) können in siedender 60%iger Essigsäure wieder in das ungeschützte Lacton **55** überführt und erneut der Acetalbildung unterworfen werden. Auf diesem Weg lässt sich die Gesamtausbeute auf ca. 90 % steigern.

Nach Einführung der Schutzgruppe kann das Acetonid **57** nun in das entsprechende 5-Azidolacton **59** überführt werden. Zunächst wird dazu die primäre Hydroxylfunktion durch Einführung der Triflatgruppe aktiviert. Durch Umsetzung mit Natriumazid erhält man das 5-Azidolyxonolacton **59** in 73%iger Ausbeute (Abb. 3.28).

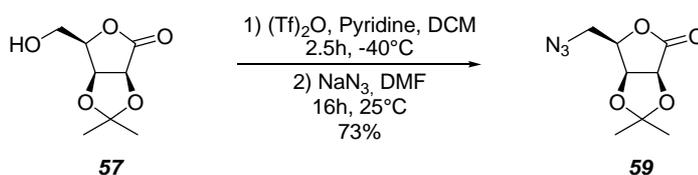


Abb. 3.28: Einführung der Azidfunktion in das Lyxolacton **57**.

Alle drei Stereozentren des geschützten Azidolixonolactons **59** entstammen der konservierten Stereokonfiguration der „*ex-chiral-pool*“-Ausgangsverbindung D-Galactose (**1**). Aufgrund stereoinduktiver Effekte ist es nun möglich, am Carbonyl-Kohlenstoff des Lactons stereospezifisch ein neues Stereozentrum aufzubauen. Umsetzung mit Methyllithium liefert das (*R*)-konfigurierte Lyxofuranose-Derivat **60** (Abb. 3.29) als einziges Produkt (DV gemäß HPLC des Rohproduktes >20:1). Analytische HPLC und Dünnschichtchromatographie zeigen vollständigen Umsatz und nur ein einziges Produkt. Die Ausbeute konnte jedoch trotzdem nicht über 66 % gesteigert werden. *Fleet et al.* beschrieben bereits die Stereospezifität dieser Reaktion. Die absolute Konfiguration wurde von ihnen jedoch nicht bestimmt. Im Azidolixonolacton **59** sind die Substituenten an allen drei Stereozentren auf die *Si*-Seite des Ringes ausgerichtet, wodurch diese effektiv abgeschirmt wird (Abb. 3.30). Der Angriff des Methyllithiums auf den Carbonyl-Kohlenstoff erfolgt daher ausschließlich von der *Re*-Seite, wodurch das (*R*)-konfigurierte Produkt **60** entsteht.

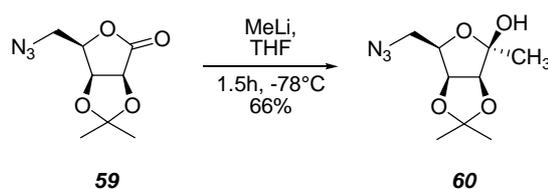


Abb. 3.29: Methylierung des Azidolixonolactons **59** durch Methyllithium.

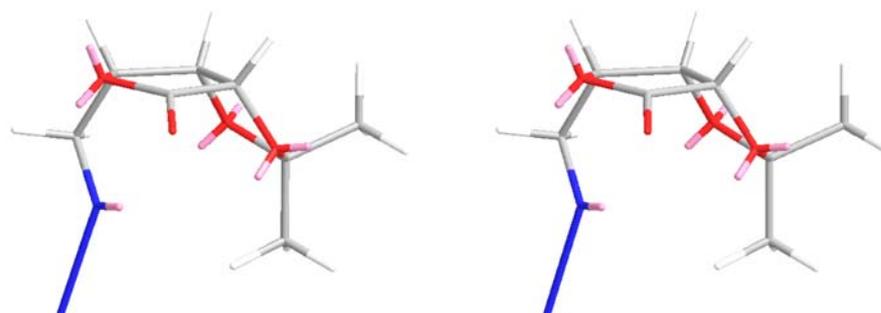


Abb. 3.30: 3D-Modell des Azidolixonolactons **59** als Stereobild.^d

Die vermutete *R*-Konfiguration lässt sich durch den Nachweis des NOE-Kontakts zwischen H-2 ($\delta = 4.44$ ppm) und der auf der gleichen Ringsseite stehenden CH₃-Gruppe ($\delta = 1.30$ ppm) des Stereozentrums bestätigen.

^d Cambridge Software Chem 3D Ultra 7.0

Die Kenntnis der absoluten Konfiguration des neu aufgebauten Stereozentrums ist für den weiteren Verlauf der Synthese jedoch nicht relevant, denn bereits in der nächsten Stufe wird dieses Stereozentrum wieder zerstört. Durch Hydrierung mit Wasserstoff an 10%igem Palladium-Katalysator auf Kohle wird das Azid in Lyxofuranose **60** zum entsprechenden Amin **61a** reduziert (Abb. 3.31). Dieses greift vermutlich daraufhin intramolekular am im Gleichgewicht aus dem Halbacetal **61a** gebildeten Keton **61b** an. Die anschließende Abspaltung von Wasser führt unter Verlust der in der letzten Stufe neu eingebrachten Stereoinformation zu Imin **63**. Diese Zwischenstufe wird am Palladium-Katalysator schließlich stereoselektiv zum geschützten Desoxyfuconojirimycin-Derivat **64** hydriert, das in nahezu quantitativer Ausbeute (97 %) erhalten werden kann. Aufgrund der sterischen Abschirmung durch das Isopropyliden-Acetal erfolgt die *cis*-selektive Hydrierung nur von der dem Acetal abgewandten Ringseite. Dadurch entsteht ausschließlich das (*R*)-konfigurierte Methyl-substituierte neue Stereozentrum. NMR-Untersuchungen und analytische HPLC des Rohprodukts zeigen ein Diastereomerenverhältnis >20:1, das (*S*)-konfigurierte Produkt ist nicht nachweisbar.

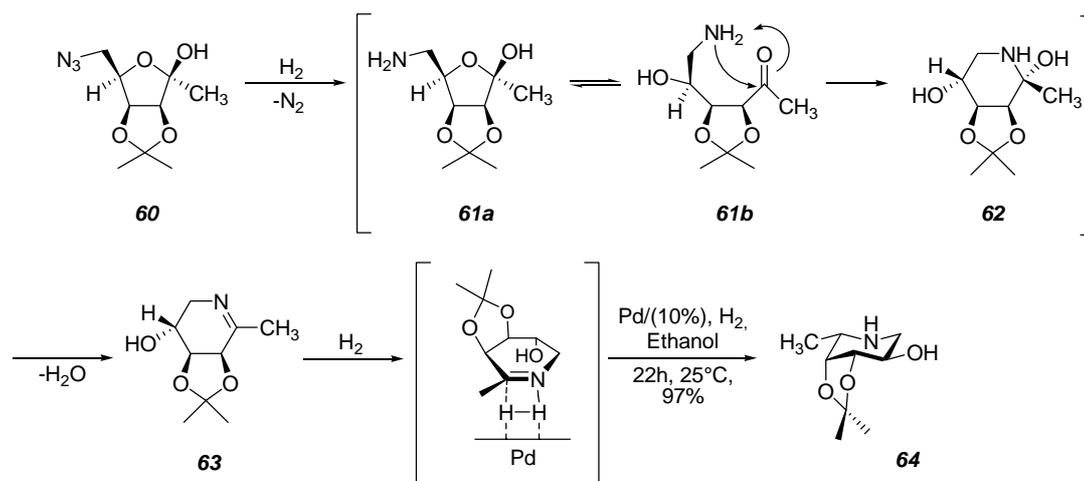


Abb. 3.31: Vermuteter Mechanismus der Hydrierung von Lyxonolacton **60**.

Die vermutete Konfiguration konnte zunächst durch die NOESY-Kontakte der Protonen H-4 und H-5 bestätigt werden (Abb. 3.32), die von ähnlicher Intensität sind wie die Kontakte zwischen H-3 und H-4 der bekannten Konfiguration. Später wurde zudem die (*R*)-Konfiguration durch Aufklärung der Röntgen-Kristallstruktur zweifelsfrei nachgewiesen (Abb. 3.33).

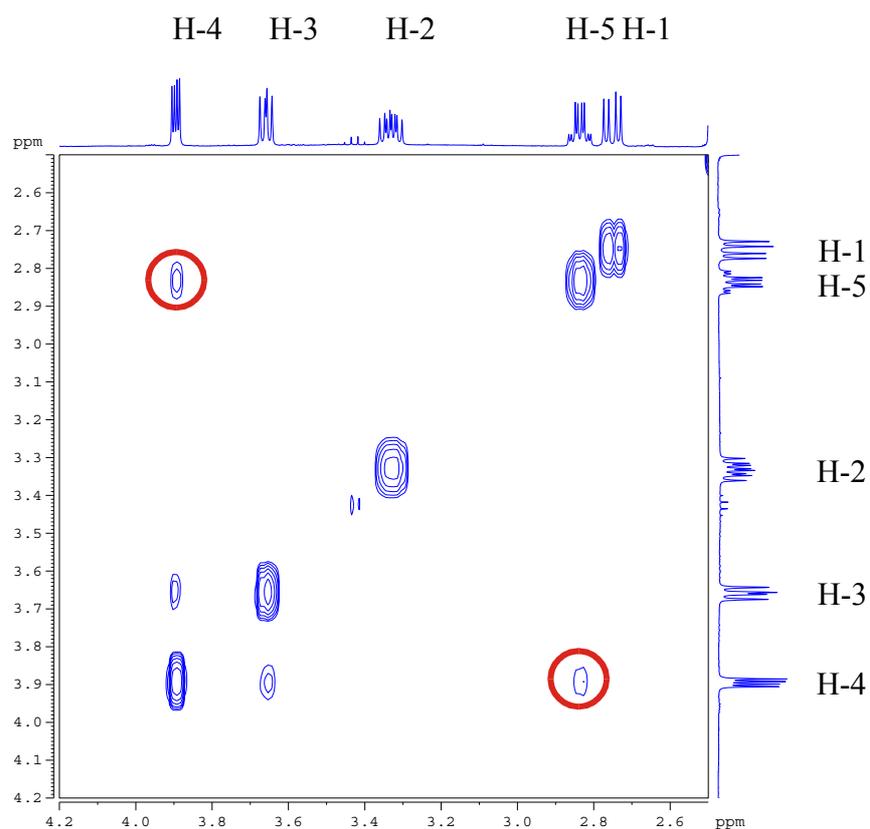


Abb. 3.32: NOESY-Spektrum (Ausschnitt) des geschützten Desoxyfuconojirimycins **64**.

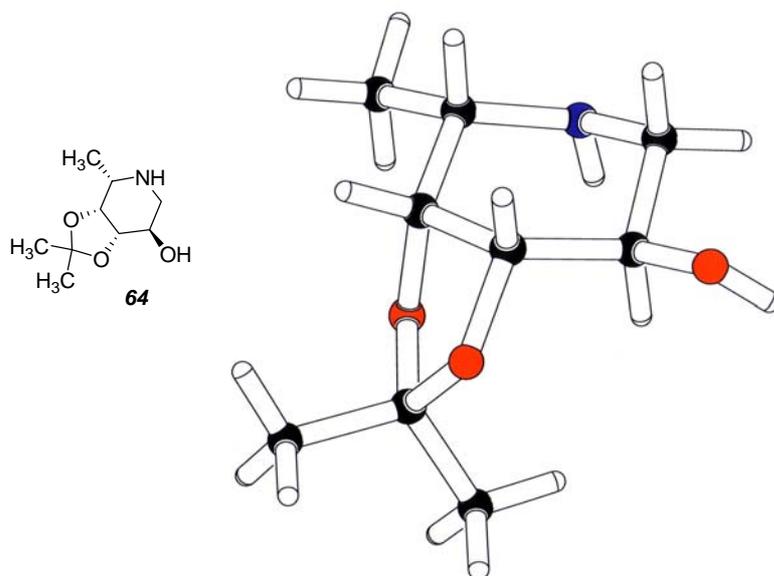


Abb. 3.33: Die Röntgen-Kristallstruktur des geschützten Desoxyfuconojirimycins **64**.

Für eine erfolgreiche Hydrierung zum Desoxyfuconojirimycin-Derivat **64** erwies es sich als zwingend notwendig, den Palladium-Katalysator in ausreichender Menge

(ca. 20 Gew.-%) vorzulegen und durch mehrfaches Entgasen und Fluten mit Wasserstoff vor Zugabe des Substrates zu aktivieren. Anschließend wird die Lösung des Lyxofuranoseazids **60** sehr langsam zugetropft. Bei zu schneller Reaktionsführung lässt sich die Imin-Zwischenstufe **63** massenspektrometrisch nachweisen und wird bei zu niedriger Katalysatorkonzentration (ca. 5-10 Gew.-%) sogar zum Hauptprodukt. Offenbar ist die Reaktionsgeschwindigkeit des zweiten Hydrierungsschritts deutlich niedriger als die des ersten. Zudem kann das Imin-Intermediat vermutlich den Palladium-Katalysator vergiften. Aufgrund zu niedriger Katalysatormenge entstandenes Imin ließ sich auch durch fortgesetzte Hydrierung nicht mehr zum gewünschten Produkt umsetzen. Erst der Einsatz von zusätzlichem aktivierten Katalysator führt zur weiteren Umsetzung. Allerdings ist die Imin-Zwischenstufe instabil und zersetzt sich an der Luft schnell unter Braunfärbung. Eine verlässliche Reaktionskontrolle ist dünnschichtchromatographisch nicht möglich, und es lässt sich dadurch nur der schnelle Verbrauch des Lyxofuranoseazids **60** verfolgen. Sowohl die Imin-Zwischenstufe **62** als auch das Desoxyfuconojirimycin-Produkt **64** lassen sich mit den gängigen Anfärbereagenzien kaum detektieren. Möglich ist jedoch die Reaktionskontrolle mittels NMR-Spektroskopie und analytischer HPLC.

Um die Stabilität des Aza-Fucose-Bausteins im weiteren Verlauf der Synthese zu gewährleisten, sollen die Hydroxylfunktionen durch Benzylether geschützt werden. Hierzu wird zunächst die Isopropylidenacetal-Schutzgruppe in 60%iger Essigsäure durch Erhitzen unter Rückfluss abgespalten (Abb. 3.34). Das rohe ungeschützte Desoxyfuconojirimycin **65** wird dann unmittelbar mit Di-*tert*-butyldicarbonat und Triethylamin in Methanol zum BOC-geschützten Amin **66** umgesetzt (74 % Ausbeute über 2 Stufen). Benzylierung mittels Benzylbromid in *N,N*-Dimethylformamid liefert anschließend das vollständig geschützte Aza-Fucose-Derivat **67**. Durch Behandlung mit TFA lässt sich danach in quantitativer Ausbeute die BOC-Schutzgruppe wieder entfernen, und man gewinnt das benzylierte Desoxyfuconojirimycin **68**.

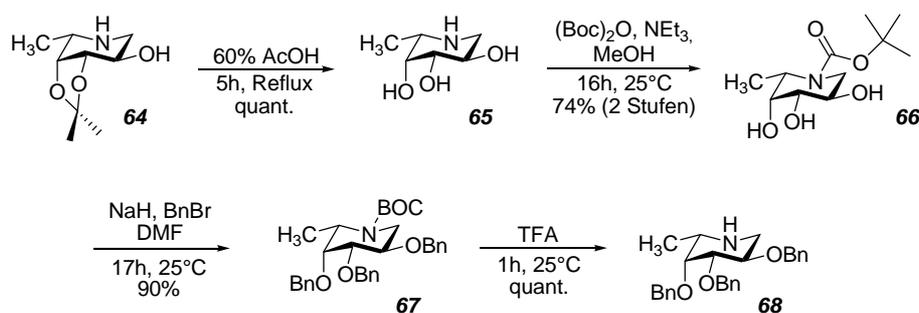


Abb. 3.34: Die Benzylierung des Aza-Fucose-Bausteins über intermediären Schutz durch BOC.

Der Aza-Fucose-Baustein soll später über eine Propyl-Einheit als Linker in 3-Position des Glucosamin-Bausteins eingeführt werden, weil die direkte Fucose-analoge Anbindung zu einem instabilen Halbaminal führen würde. Als Linker wird hierzu Brompropanol an den Ringstickstoff des benzylierten Desoxyfuconojirimycins **68** geknüpft. Zunächst muss jedoch die Hydroxylgruppe des Brompropanols (**69**) mit der Tetrahydropyran-Schutzgruppe (THP) temporär geschützt werden. Alkohole lassen sich durch die sauer katalysierte Reaktion mit 3,4-Dihydro-2H-pyran (**70**) leicht in den entsprechenden THP-Ether überführen. So gelingt die Darstellung des racemischen 2-(3-Brompropoxy)-tetrahydropyrans (**71**) aus 3-Brompropanol (**69**) in Gegenwart katalytischer Mengen Phosphoroxychlorid in nahezu quantitativer Ausbeute (Abb. 3.35).

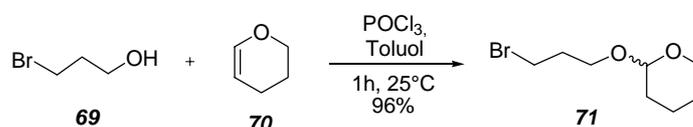


Abb. 3.35: Die Einführung der Tetrahydropyran-Schutzgruppe.

Unter sauren Bedingungen lässt sich die Schutzgruppe später leicht wieder abspalten. Die Anwendung der THP-Schutzgruppe wird jedoch dadurch eingeschränkt, dass die geschützten Verbindungen als Racemate vorliegen. Bei komplexen Verbindungen, die zusätzliche Stereozentren aufweisen, entstehen Diastereomergemische, die sich schlecht charakterisieren lassen. In diesem Fall stellt dies jedoch kein Hindernis dar, weil die Schutzgruppe bereits in der nächsten Stufe wieder abgespalten wird.

Nach Deprotonierung des Amins **68** durch Natriumhydrid erfolgt die *N*-Alkylierung durch Zutropfen des geschützten Linkers 2-(3-Brompropoxy)-tetrahydropyran (**71**). Die Tetrahydropyran-Schutzgruppe lässt sich anschließend durch *p*-Toluolsulfonsäure in Ethanol quantitativ abspalten (Abb. 3.36). Über drei Stufen, ausgehend von dem BOC-geschützten Desoxyfuconojirimycin-Derivat **67**, beträgt die Gesamtausbeute 88 %.

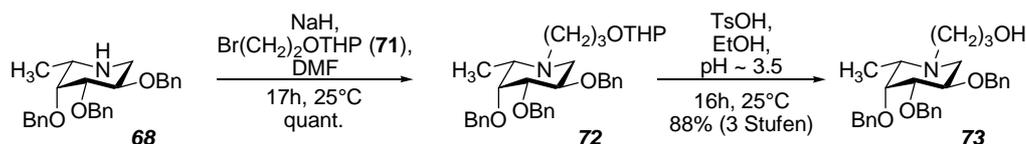


Abb. 3.36: Die Anknüpfung des Linkers an das Desoxyfuconojirimycin-Derivat **68**.

Für die Anknüpfung an die 3-Position des Glucosamin-Bausteins sollte der Aza-Fucose-Baustein **73** über die Substitution der Hydroxylgruppe durch bessere

Abgangsgruppen aktiviert werden. Die Darstellung des Chlorids und Iodids gelang jedoch nicht (Abb. 3.37).

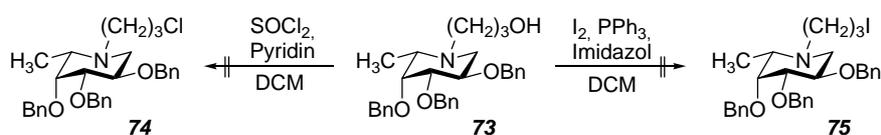


Abb. 3.37: Versuchte Darstellung des Chlorids **74** und Iodids **75**.

Der Versuch, die Triflatgruppe durch den Einsatz von Trifluormethansulfonsäureanhydrid in Dichlormethan und in Gegenwart von 2,6-Lutidin einzuführen, scheiterte ebenfalls (Abb. 3.38).

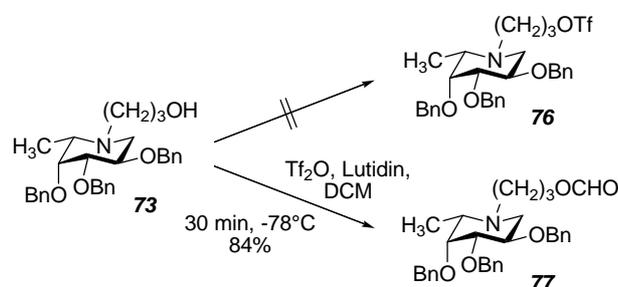


Abb. 3.38: Die versuchte Einführung der Triflatgruppe und die Bildung des Ameisensäureesters.

Anstelle der gewünschten Verbindung **76** wurde jedoch bei vollständigem Umsatz der Ausgangsverbindung als einziges Produkt eine völlig unerwartete Verbindung erhalten (Ausbeute: 84 %). Durch NMR-Analytik, hochaufgelöste Massenspektrometrie und Elementaranalyse konnte gezeigt werden, dass es sich hierbei um den Ameisensäureester **77** handelt. Dieses Produkt ließ sich mehrfach reproduzierbar darstellen. Bei einem Austausch des Dichlormethans gegen Tetrahydrofuran oder Ersatz des 2,6-Lutidins gegen Pyridin konnte diese Reaktion hingegen unter gleichen Bedingungen nicht beobachtet werden. Der Mechanismus der Reaktion bleibt weiterhin unklar. Ein Experiment mit Dichlormethan-d₂ als Lösungsmittel, das einige Monate später durchgeführt wurde, um die Herkunft des Ameisensäureesters zu klären, gelang nicht. Auch in wiederholten Versuchen nach der ursprünglichen Vorschrift konnte diese Reaktion dann nicht mehr beobachtet werden. Die mögliche Ursache hierfür ist unbekannt.

Schwierigkeiten bei der NMR-Interpretation der Aza-Zucker

Im Vergleich zu den Zuckern weisen die Aza-Zucker strukturelle Eigenschaften auf, die eine NMR-Interpretation erschweren. Von Desoxyfuconojirimycin-Derivaten, in denen der Piperidin-Ring durch das Isopropyliden-Acetal stabilisiert ist, lassen sich gut aufgelöste NMR-Spektren erhalten. Durch das Entfernen des verbrückenden Acetals wird jedoch die relativ starre Konformation des Piperidin-Rings aufgehoben und dieser dadurch im Rahmen der ^{13}C -NMR-Zeitskala sehr flexibel. Die ^{13}C -NMR-Spektren weisen dadurch eine starke Verbreiterung einzelner Signale auf, die teilweise sogar überhaupt nicht mehr erkennbar sind. Die Abbildungen 3.39 und 3.40 zeigen den Vergleich zwischen dem gut aufgelösten Signal des H1a-Protons ($\delta = 3.09$ ppm) des Ameisensäureesters **77** im ^1H -NMR-Spektrum und dem dazugehörigen stark verbreiterten ^{13}C -Signal ($\delta = 53.8$ ppm) der gleichen Probe. Die Zuweisung erfolgte hierbei durch HMQC-Spektroskopie. In der Abbildung 3.40 ist zudem die Variabilität in Peakhöhe und -breite der Signale $\text{CH}_2\text{-}\gamma$ ($\delta = 62.6$ ppm), C5 ($\delta = 57.1$ ppm), C1 ($\delta = 53.8$ ppm) und $\text{CH}_2\text{-}\alpha$ ($\delta = 49.4$ ppm) erkennbar.

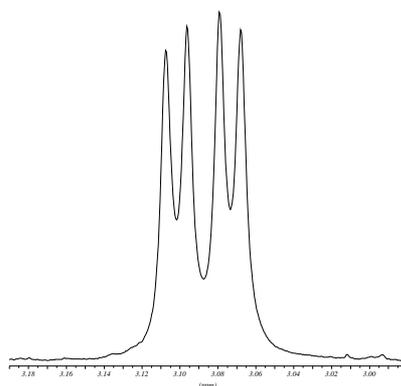


Abb. 3.39: Ausschnitt aus dem ^1H -Spektrum [400 MHz] des Ameisensäureesters **77**.

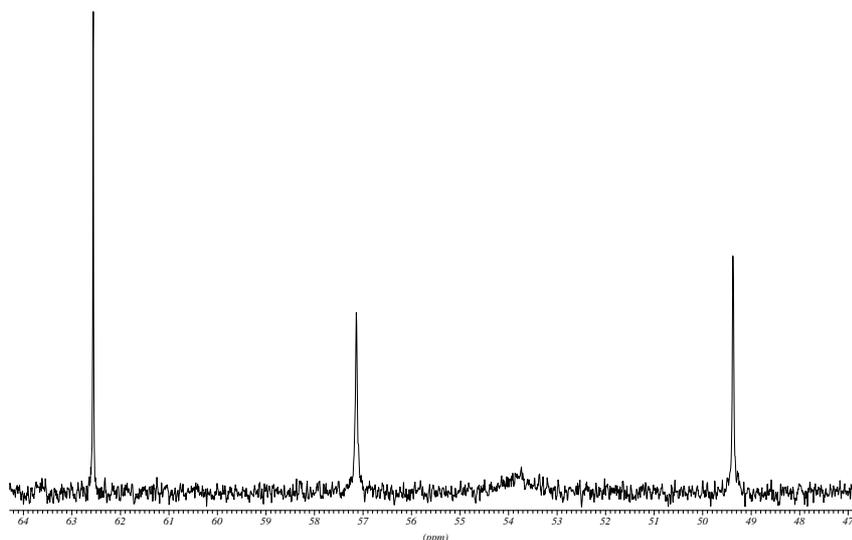


Abb. 3.40: Ausschnitt aus dem ^{13}C -Spektrum [100.6 MHz] des Ameisensäureesters **77**.

3.3 Die Synthese des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums

3.3.1 Die Disaccharide

Der Aufbau des sLe^x-Mimetikums beginnt ausgehend vom Zentrum der Struktur, dem Glucosamin-Baustein **18**, der mit dem als reaktives Trichloracetimidat vorliegenden Galactose-Baustein **7** verknüpft wird. Die Glycosylierung erfolgt nach dem Trichloracetimidat-Verfahren von *R. R. Schmidt* unter Aktivierung durch die Lewis-Säure Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) bei -35 bis -20 °C (Abb. 3.41).^[152, 153] Die Allyletherschutzgruppe wird unter diesen Bedingungen nicht angegriffen.

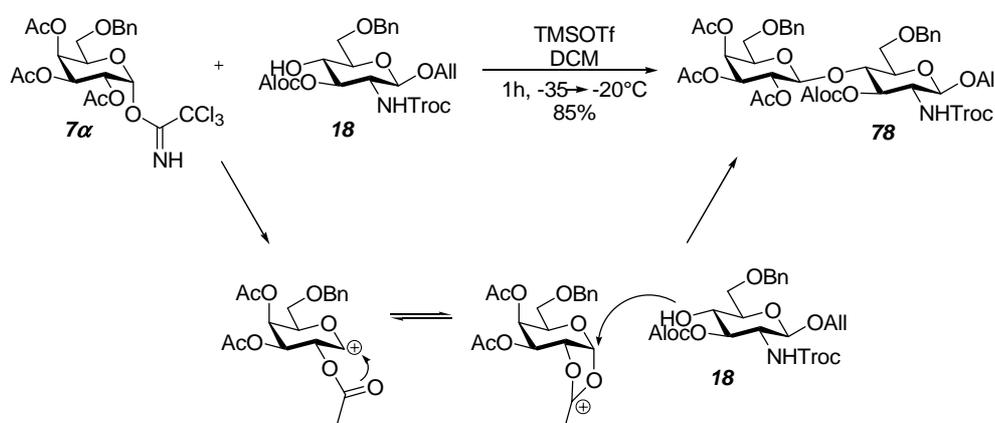


Abb. 3.41: Die Glycosylierung nach dem Trichloracetimidat-Verfahren zum Disaccharid **78**.

Das gewünschte β -1,4-verknüpfte Disaccharid erhält man in 85%iger Ausbeute. Da die Galactose in der 2-Position die nachbargruppenaktive Acetylschutzgruppe trägt, könnten sowohl das α - und das β -Anomer des Trichloracetimidats **7** genutzt werden. In dieser Synthese wurde jedoch ausschließlich das α -Anomer (**7 α**) eingesetzt. Die β -glycosidische Verknüpfung im Produkt **78** lässt sich durch die Kopplungskonstante des Dubletts von H-1 der Galactose ($^3J_{1,2} = 7.8$ Hz) eindeutig belegen.

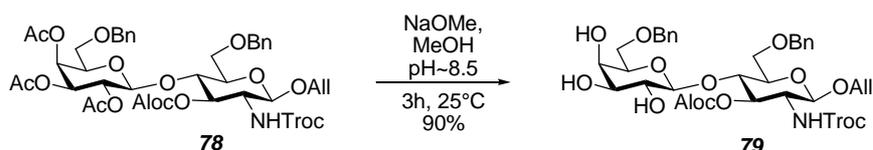


Abb. 3.42: Die Darstellung des Disaccharids **79**.

Zur Vorbereitung auf die Umsetzung mit dem Cyclohexylmilchsäure-Baustein **24** werden mit Hilfe von Natriummethanolat in Methanol die Acetyl-Schutzgruppen entfernt (Abb. 3.42). Wie schon in der Synthese des Glucosamin-Bausteins (Kapitel 3.2.2) muss

hierbei auf strikte Einhaltung des pH-Werts von 8.5 geachtet werden, weil sonst die Troc-Schutzgruppe abgespalten werden kann. Doch auch bei diesem pH-Wert wird schon eine geringe Abspaltung der Troc-Gruppe beobachtet, während die Desacetylierung nur langsam verläuft. Um das entstandene Produkt **79** vor der Zersetzung zu schützen, gleichzeitig aber den Reaktionsumsatz zu maximieren, wird die Reaktion nach drei Stunden abgebrochen und das Produkt (Ausbeute: 72 %) säulenchromatographisch von den verschiedenen Acetylierungsstufen getrennt. Diese werden sodann erneut der Desacetylierung unterworfen, wodurch die Gesamtausbeute auf 90 % gesteigert werden kann.

3.3.2 Die Pseudo-Trisaccharide

Die gezielte Einführung des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **24** in die 3-Position des Disaccharids **79** in Gegenwart der ebenfalls ungeschützten 2- und 4-Position gelingt mittels der Stannylen-Methode.^[154] Das Trisaccharid **79** wird mit 1.5 Äquivalenten Dibutylzinnoxid in refluxierendem Methanol zum Stannylen **80** umgesetzt (Abb. 3.43).

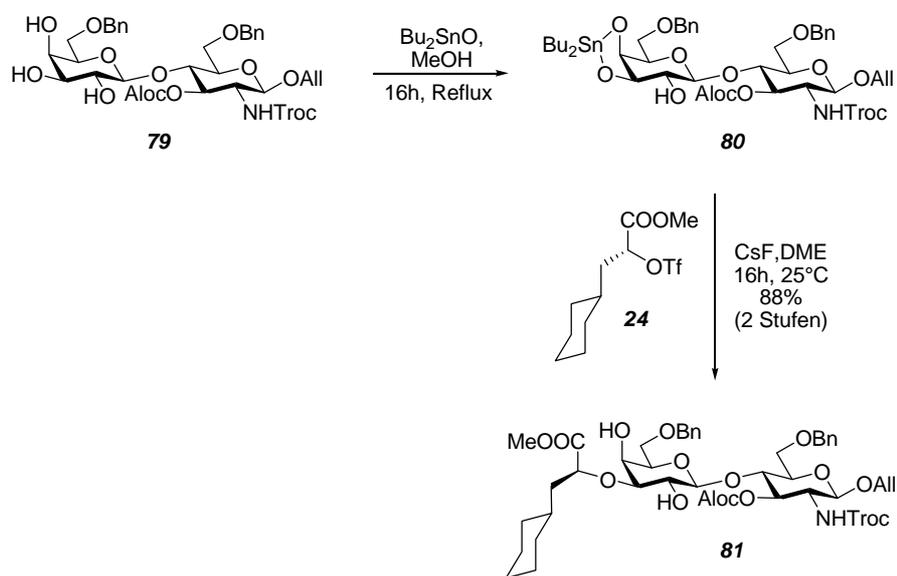


Abb. 3.43: Die Einführung der Cyclohexylmilchsäure unter Verwendung der Stannylen-Methode.

In der Literatur wird diskutiert, dass diese Stannylene nicht als Monomere, sondern vielmehr als Dimere oder Oligomere vorliegen. Der Reaktionsmechanismus der Folgereaktion ist ebenfalls nicht vollständig aufgeklärt und wird kontrovers diskutiert. Aus diesem Grund wird an dieser Stelle auf die Diskussion des Mechanismus verzichtet.

Interessant ist in diesem Zusammenhang der Übersichtsartikel von *David* und *Hanessian*.^[154]

Die Aktivierung des Stannylens **80** erfolgt wie in den Arbeiten von *Thoma* et al. durch das Elektrophil Cäsiumfluorid in 1,2-Dimethoxyethan (Abb. 3.43).^[66] Nach Zugabe des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **24** erhält man das Pseudo-Trisaccharid **81** in 88%iger Ausbeute (bezogen auf das Disaccharid **79**). Der Angriff auf das Triflat **24** im Sinne einer S_N2-Reaktion führt zur Konfigurationsumkehr an C-2 des Cyclohexylmilchsäure-Restes, und es wird das (*S*)-konfigurierte Produkt **81** erhalten. Der Konfigurationsnachweis kann jedoch nicht direkt erbracht werden, weil sich die Konfiguration an C-2 nicht durch NMR-Spektroskopie bestimmen lässt und die Kristallisation dieser Verbindung nicht gelingt. Sollte die Reaktion jedoch nach einem S_N1-Mechanismus verlaufen, müssten Diastereomere des Pseudo-Trisaccharids **81** entstehen, was durch NMR-Spektroskopie und RP-HPLC ausgeschlossen werden kann. Diese Ergebnisse stehen zudem in Einklang mit den in der Literatur beschriebenen Reaktionen.^[65, 66, 131]

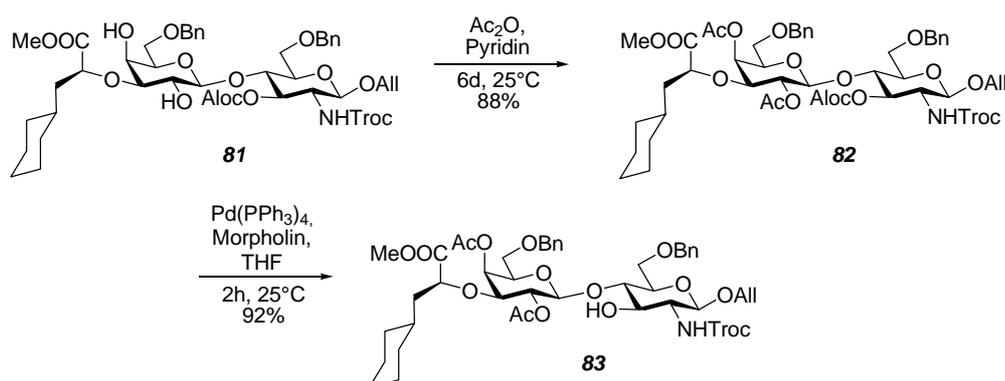


Abb. 3.44: Schutzgruppenmanipulation zur Herstellung des Pseudo-Trisaccharids als Glycosyl-Akzeptor **83**.

Zur Vorbereitung auf die Glycosylierung zum Pseudo-Tetrasaccharid **85** müssen die freien Hydroxylgruppen in 2- und 4-Position des Galactose-Bausteins geschützt und die 3-Position des Glucosamin-Bausteins deblockiert werden (Abb. 3.44). Die Acetylierung in 4-Position gestaltet sich jedoch schwierig, weil diese Position wahrscheinlich durch die benachbarten Gruppen stark abgeschirmt wird. Nach Acetylierung unter den Standardbedingungen mit Essigsäureanhydrid und Pyridin über Nacht zeigt das Dünnschichtchromatogramm zwar vollständigen Umsatz, die Massenspektrometrie offenbart jedoch einen großen Anteil des nur monoacetylierten Produkts. Dünnschichtchromatographisch sind das monoacetylierte und das diacetylierte Produkt ununterscheidbar, was einen weiteren Hinweis auf die Abschirmung der

Hydroxylgruppe in 4-Position liefert. Lediglich durch RP-HPLC ist eine Reaktionskontrolle möglich. Der Einsatz katalytischer Mengen 4-Dimethylaminopyridin zur Erhöhung der Reaktivität führt nicht zum erwünschten Ergebnis. In diesem Fall lässt sich sogar die Acetylierung des Stickstoffs im Glucosamin-Baustein beobachten. Die Acetylierung zum diacetylierten Produkt **82** gelingt schließlich unter Einsatz von Essigsäureanhydrid und Pyridin bei einer verlängerten Reaktionszeit von sechs Tagen in einer Ausbeute von 88 %.

Die Aloc-Schutzgruppe kann, wie bereits am Monosaccharid-Baustein geprüft (vgl. Kapitel 3.2.2), durch Einsatz des Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0)-Katalysators und Morpholin in Tetrahydrofuran gespalten werden. Die Verbindung **83** erhält man so in 92%iger Ausbeute (Abb. 3.44).

3.3.3 Die Pseudo-Tetrasaccharide

Zur Einführung des Arabinose-Bausteins in Sialyl-Lewis^x-Mimetika hat sich das *in situ*-Anomerisierungsverfahren von Lemieux et al.^[93, 155] als Methode der Wahl herausgestellt.^[131, 139] Hierbei wird durch Zugabe eines quartären Ammoniumhalogenids die dynamische Einstellung eines Gleichgewichts zwischen α - und β -Halogenose ermöglicht. Die äquatoriale α -Halogenose **84 α** ist wesentlich reaktiver als die axiale β -Halogenose **84 β** , weil sie nicht wie letztere durch den anomeren Effekt stabilisiert wird. Der Angriff des Pseudo-Trisaccharids **83** auf die α -Halogenose erfolgt in einer S_N2-Reaktion unter Ausbildung der β -glycosidischen Bindung in Pseudo-Tetrasaccharid **85** (Abb. 3.45). Das Vorliegen dieser axialen glycosidischen Bindung kann durch die Kopplungskonstanten des Dubletts von H-1 der D-Arabinose ($^3J_{1,2} = 3.5$ Hz) eindeutig belegt werden. Die Ausbeute der Glycosylierung konnte jedoch nicht über 44 % gesteigert werden. Eine Ursache ist vermutlich die geringe Aktivität der 3-Hydroxylgruppe des Glucosamin-Restes. Problematisch können hierbei jedoch auch die instabilen Halogenosen **84** sein, die in einem vorgelagerten Syntheseschritt durch Reaktion des Thioglycosids **32** mit elementarem Brom dargestellt werden und die nach Entfernen des überschüssigen Broms ohne weitere Reinigung in die Glycosylierung eingesetzt werden.

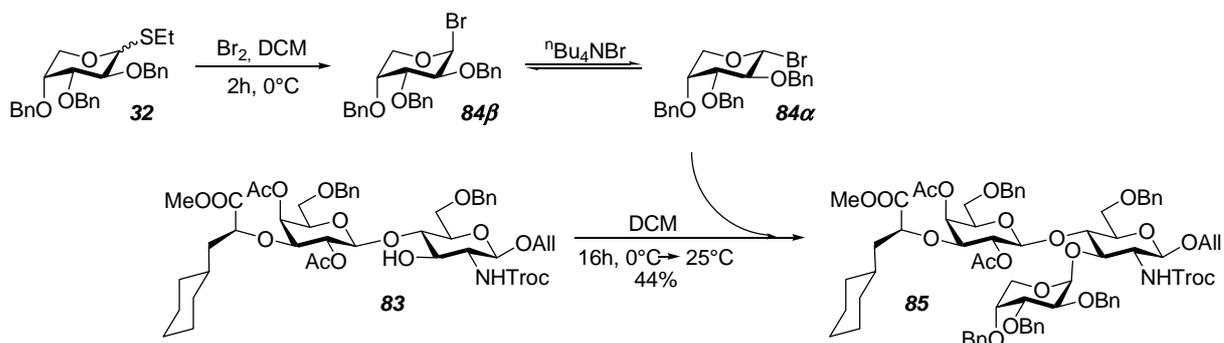


Abb. 3.45: Die Glycosylierung des Pseudo-Trisaccharids nach Lemieux.

In ähnlichen Synthesen hat sich die *Ogawa*-Variante^[156] des *in situ*-Anomerisierungsverfahrens nach *Lemieux* bewährt.^[131, 157] Diese Variante bietet den Vorteil, dass die im Gegensatz zu den instabilen Halogenosen **84** gut lagerfähigen Thioglycoside **32** direkt in einer Eintopf-Reaktion eingesetzt werden können. Durch Kupfer(II)-bromid wird ein intermediäres Glycosylikation erzeugt, das mit einem Bromidion zum Arabinosylbromid **84** reagiert. In dieser Arbeit führte die *Ogawa*-Variante jedoch nicht zum Ziel, und das Glycosylierungsprodukt **85** konnte nicht erhalten werden. Massenspektrometrische Untersuchungen geben einen Hinweis darauf, dass vermutlich HBr an die allylische Doppelbindung addiert wird und der Einsatz von Kupfer(II)-bromid in Anwesenheit von Allylether-Schutzgruppen nicht möglich ist.

Nach erfolgter Darstellung des Pseudo-Tetrasaccharids **85** muss in Vorbereitung auf die nächste Glycosylierung die Allylether-Schutzgruppe abgespalten und die anomere Position aktiviert werden. In der Literatur werden zahlreiche Methoden zur Abspaltung der Allylether-Schutzgruppe beschrieben.^[158] In den meisten Fällen werden die Allylether Übergangsmetall-katalysiert zu den Prop-1-enylethern isomerisiert, die dann unter leicht sauren Bedingungen gespalten werden können (Abb. 3.46).



Abb. 3.46: Die Isomerisierung von Allylethern zu Prop-1-enylethern und deren anschließende Solvolyse.

Für die Isomerisierung des Allylethers zum Prop-1-enylether werden zwei Mechanismen diskutiert, der Additions-Eliminierungs- und der π -Allyl-Hydrid-Mechanismus, die in Abbildung 3.47 schematisch dargestellt sind.^[158] Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Liganden am Metall M nicht eingezeichnet. Dem Additions-Eliminierungs-Mechanismus zufolge koordiniert ein Metallhydrid an die allylische

Doppelbindung und überträgt das Hydrid auf den Allylether. Die anschließende β -Eliminierung führt dann entweder zum gewünschten Prop-1-enylether oder es wird die Ausgangsverbindung zurück erhalten. Dem π -Allyl-Hydrid-Mechanismus nach koordiniert hingegen das Metall, nicht das Metallhydrid, an die Doppelbindung. Der Prop-1-enylether wird hier nach einer 1,3-Wasserstoff-Verschiebung erhalten.

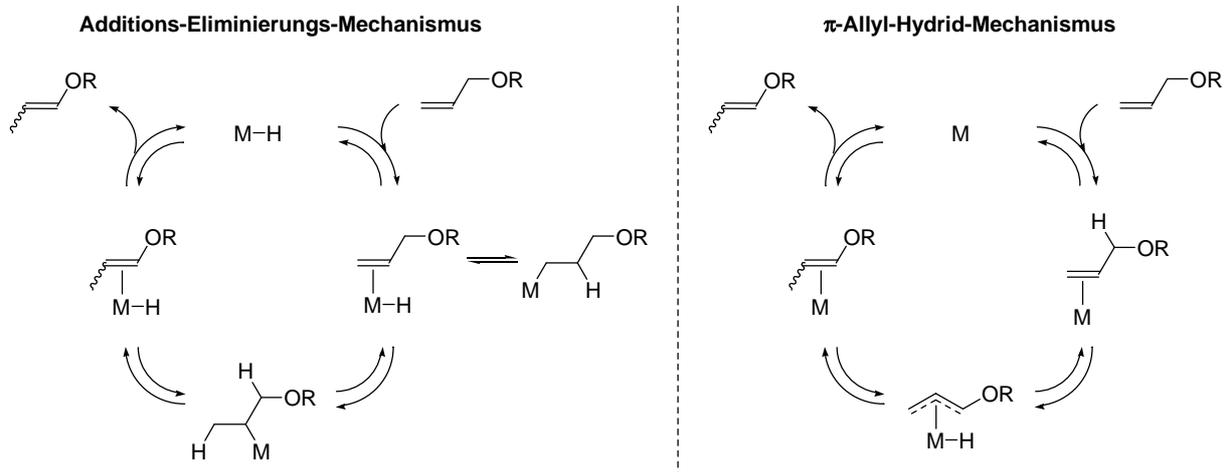


Abb. 3.47: Zwei mögliche Mechanismen zur Isomerisierung von Allylethern zu Prop-1-enylethern.

Für die Isomerisierung des Allylethers in der Synthese von Sialyl-Lewis^x-Mimetika hat sich die Verwendung des *Baudry*-Katalysators (1,4-Cyclooctadien-bis(methyldiphenylphosphin)-iridium(I)-hexafluorophosphat, $[\text{Ir}^{\text{I}}(\text{COD})(\text{PMePh}_2)_2]\text{PF}_6$)^[159, 160] bewährt.^[139, 157] Vor Einsatz in der Synthese wird der Iridium(I)-Katalysator unter einer Wasserstoff-Atmosphäre in absolutem und entgastem Tetrahydrofuran zur eigentlichen Katalysator-Spezies aktiviert, was an der Farbänderung von orangerot nach gelb deutlich erkennbar ist. Hierbei wird vermutlich die Doppelbindung des Cyclooctadienrings hydriert, was auf eine Isomerisierung des Allylethers nach dem π -Allyl-Hydrid-Mechanismus schließen lässt, wie schon *C. Filser* vermutete.^[131] Nach der Aktivierung des *Baudry*-Katalysators wird die Wasserstoff-Atmosphäre durch eine Argon-Atmosphäre ersetzt und der Allylether **85** hinzugegeben. Mittels Dünnschicht-Chromatographie lässt sich das Fortschreiten der Isomerisierung leicht verfolgen, und nach deren Vervollständigung wird der Prop-1-enylether (**86**) durch Iod in Tetrahydrofuran und wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung in 80%iger Gesamtausbeute (bzgl. Verbindung **85**) gespalten (Abb. 3.48).

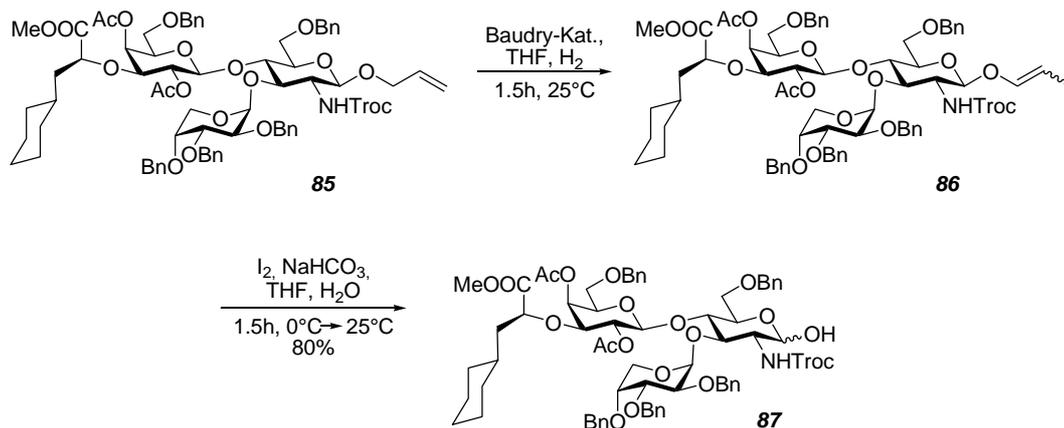


Abb. 3.48: Die Abspaltung des Allylethers zur Verbindung **87**.

Für die abschließende Glycosylierung zum Pseudo-Pentasaccharid **89** wird das Pseudo-Tetrasaccharid **87** durch Einführung der Trichloracetimidatfunktion in den Glycosyldonor **88** umgewandelt (Abb. 3.49). Unter den bereits in der Synthese des Galactose-Bausteins (**7**) beschriebenen Bedingungen wird das Trichloracetimidat **88** durch Reaktion des Pseudo-Tetrasaccharids **87** mit Trichloracetonitril und 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) in hoher Ausbeute (91 %) als α/β -Anomerengemisch erhalten. Bei der säulenchromatographischen Reinigung ist die Zugabe von 2 % Triethylamin zum Laufmittel erforderlich, um die sauren Zentren des Kieselgels zu neutralisieren. Ansonsten wird beobachtet, dass sich ein großer Teil des Trichloracetimidats **88** bereits auf der Säule zersetzt.

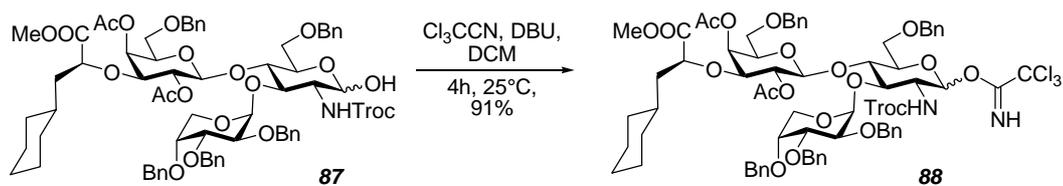


Abb. 3.49: Die Synthese des Glycosyldonors **88** durch Einführung der Trichloracetimidatfunktion.

3.3.4 Die Pseudo-Pentasaccharide

Für die Glycosylierung des Pseudo-Tetrasaccharids **88** zum Pseudo-Pentasaccharid **89** wird, wie zuvor in der Synthese des Disaccharids **78**, erneut das Trichloracetimidat-Verfahren nach *R. R. Schmidt* eingesetzt.^[152, 153] Die Verknüpfung des Trichloracetimidats **88** und des Glysoylaminosäure-Bausteins **53** gelingt unter Aktivierung durch die Lewis-Säure Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) bei -35 bis -20 °C (Abb. 3.50). Die Ausbeute an Pseudo-Pentasaccharid **89** lässt sich jedoch nicht über 49 % steigern. Dies ist vermutlich auf die bereits genannte geringe Reaktivität der Hydroxylgruppe in 3-Position zurückzuführen. Es können aber 47 % des eingesetzten Trichloracetimidats **88** als hydrolysiertes Donor **87** zurückgewonnen und erneut in das Trichloracetimidat **88** umgewandelt werden.

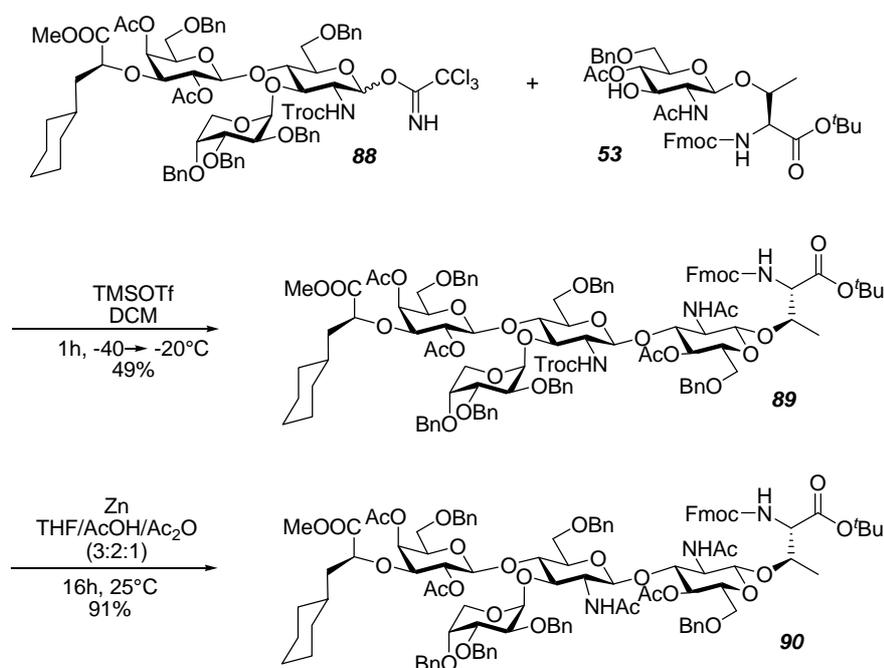


Abb. 3.50: Die Glycosylierung zum Pseudo-Pentasaccharid **89** und die Abspaltung der Troc-Schutzgruppe.

Nach erfolgter Glycosylierung wird die Troc-Schutzgruppe unter den bekannten Bedingungen durch die Reaktion mit Zink in einer Mischung aus Tetrahydrofuran, Essigsäure und Essigsäureanhydrid abgespalten und das Acetamid **90** in einer Ausbeute von 91 % erhalten (Abb. 3.50).

Zur Umwandlung des Pseudo-Pentasaccharids **90** in einen Baustein für die Festphasensynthese muss die Carboxyfunktion der Aminosäure deblockiert werden. Die Abspaltung des *tert*-Butylesters wird gewöhnlich durch 50-95%ige Trifluoressigsäure in

Anwesenheit eines Kationenfängers wie Triisopropylsilan erreicht. Die Abspaltung der *tert*-Butyl-Schutzgruppen der Säure und Hydroxylfunktionen des zu synthetisierenden Glycopeptids und die Abspaltung vom *Wang*-Harz^[161] müssen ebenfalls unter diesen Reaktionsbedingungen durchgeführt werden. In mehreren Arbeiten wurde jedoch festgestellt, dass die säurelabile α -fucosidische und damit die analoge α -arabinosidische Bindung in ähnlichen Oligosacchariden unter diesen Bedingungen ebenfalls gespalten werden.^[138, 157, 162, 163] *Kunz* und *Unverzagt* beschrieben, dass der Austausch der Benzylether-Schutzgruppen der Fucose durch Acetyl-Schutzgruppen die Säurestabilität der α -fucosidischen Bindung so weit erhöht, dass *tert*-Butylester ohne Spaltung der Fucosid-Bindung entfernt werden können.^[162, 163] In dieser Arbeit soll daher ebenfalls der Schutzgruppenaustausch durchgeführt und der Arabinose-Rest nach katalytischer Debenzylierung acetyliert werden. Üblicherweise erfolgt die Debenzylierung hydrogenolytisch mit Palladium auf Aktivkohle (10 %) unter Wasserstoffatmosphäre. Eine Komplikation bereitet jedoch die relative hydrogenolytische Labilität der Fmoc-Schutzgruppe. Während *Carpino* und *Han* den Erhalt der Fmoc-Gruppe unter diesen Bedingungen beschrieben,^[164] konnten *Atherton* et al. zeigen, dass die Fmoc-Gruppe innerhalb weniger Stunden unter Ausbildung des mesomeriestabilisierten Dibenzofulvens **91** abgespalten wird (Abb. 3.51).^[165]

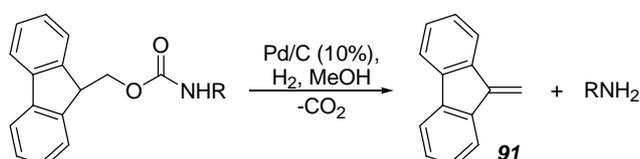


Abb. 3.51: Die Abspaltung der Fmoc-Gruppe unter Ausbildung des Dibenzofulvens **91**.

C. Filser untersuchte die Debenzylierung eines den Tribenzylfucosyl-Rest und Fmoc-Asparaginsäure tragenden Sialyl-Lewis^x-Mimetikums systematisch unter verschiedenen Bedingungen.^[131] In allen Fällen, in denen unter Wasserstoff-Atmosphäre gearbeitet wurde, ging die Debenzylierung mit der Fmoc-Abspaltung einher. Nach einer Vorschrift von *Fraser-Reid* et al.^[166] mit wasserfreiem Eisen(III)-chlorid in Dichlormethan konnte zwar die Fmoc-Schutzgruppe erhalten werden, aber die sauren Reaktionsbedingungen führten zum Bruch der α -fucosidischen Bindung.

Der Verlust der Fmoc-Gruppe stellt jedoch kein grundsätzliches Problem dar. Nach erfolgter Debenzylierung lässt sich die freie Amino-Funktion durch Umsatz mit *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid (FmocOSu) wieder durch Fmoc schützen

bevor acetyliert wird. Im Rahmen dieser Arbeit traten jedoch schwerwiegende Probleme bei der Debenzylierung auf, die den Schutzgruppenaustausch unmöglich machten.

Die Debenzylierung mit Palladium auf Kohle (5 %) in Methanol führte auch nach sieben Tagen nicht zur vollständig debenzylierten Verbindung **92** (Abb. 3.52). Massenspektrometrisch lassen sich eine Mischung aus ein-, zwei- und dreifach debenzyliertem Pseudo-Pentasaccharid und eine vollständige Eliminierung der Fmoc-Schutzgruppe nachweisen. Das Massenspektrum weist zudem zu jedem der Signale der verschiedenen Debenzylierungsstufen ein jeweils um 14.0 Einheiten (m/z) höheres Signal auf, das als Methylierungsprodukt der nun freien Aminogruppe der Aminosäure interpretiert wird. Diese Beobachtung steht im Einklang mit den Ergebnissen von *K. Baumann*, die bei der Debenzylierung eines ähnlichen Oligosaccharids das *N*-methylierte Produkt isolieren konnte.^[139] Um die Fähigkeit des Katalysators, einen Methyl-Rest zu übertragen, zurückzudrängen, wurde versucht, den Katalysator zunächst mit Wasserstoff zu beladen, bevor das Substrat **90** hinzugegeben wurde. Das Entstehen der methylierten Produkte konnte hierdurch jedoch nicht verhindert werden. Durch Wechsel des Lösungsmittels zu 1,4-Dioxan kann diese Nebenreaktion zwar ausgeschaltet werden, aber auch in diesem Lösungsmittel wird nur eine Mischung unterschiedlicher Debenzylierungsstufen erhalten.

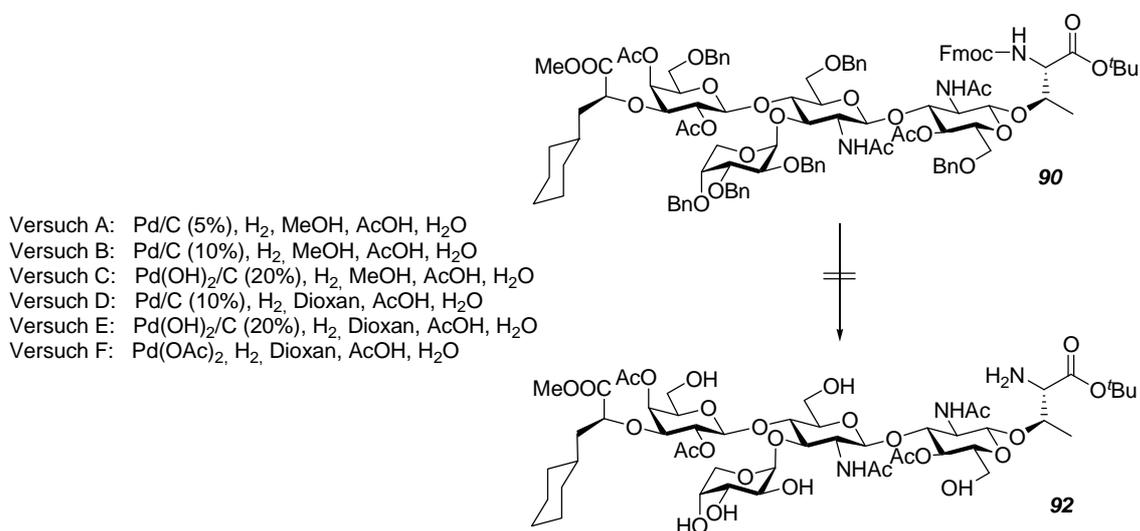


Abb. 3.52: Die Versuche zur Benzyletherspaltung von Verbindung **90**.

Die Versuche A-F (Abb. 3.52) wurden jeweils unter Zugabe von Essigsäure durchgeführt. Außerdem erfolgte die sukzessive Zugabe von Wasser als Lösungsvermittler, weil die sinkende Löslichkeit der Intermediate infolge der Benzylether-Spaltung sonst zum Abscheiden der Verbindungen führen kann, wodurch die weitere Debenzylierung

verhindert wird. Experimente mit verschiedenen Palladium-Katalysatoren (Pd/C(5 %), Pd/C(10 %), Pd(OH)₂/C(20 %) und Pd(OAc)₂) führten jedoch ebenfalls nicht zum Erfolg. In allen Fällen entstand ein Produktgemisch, die debenzylierte Verbindung **92** konnte jedoch nicht detektiert werden.

Da die Entfernung der Benzylether-Schutzgruppen zur Darstellung der Verbindung **92** nicht gelang, musste die Synthese auf dieser Stufe leider abgebrochen werden. Im Anschluss an diese Arbeit soll jedoch in Kooperation mit *Prof. Dr. H. Löwe* am Institut für Organische Chemie der Universität Mainz untersucht werden, ob die Debenzylierung der Verbindung **90** durch den Einsatz der Mikro-Reaktor-Technik in einer Durchflusszelle ermöglicht werden kann. Dieses viel versprechende Verfahren bietet u. a. die Vorteile, dass sich die teilweise debenzylierten Zwischenprodukte nicht auf dem Katalysator niederschlagen und ein sehr viel höherer effektiver Wasserstoff-Partialdruck als bei einer konventionellen Hydrierung erzielt werden kann. Das Gerät wird jedoch erst nach Abschluss dieser Arbeit betriebsbereit sein.

4 Zusammenfassung

Die durch die Selektine, eine Klasse von calciumabhängigen Lektinen, vermittelte Adhäsion von Leukozyten an das Endothel ist für den Ablauf zahlreicher biologischer Prozesse essentiell. So wird beispielsweise die inflammatorische Kaskade bei Entzündungsprozessen durch eine von P- und E-Selektin vermittelte Adhäsion der im Blutstrom zirkulierenden Leukozyten an die Endothelzellen eingeleitet.^[8] Eine große Anzahl von Krankheiten wird jedoch auch durch eine übermäßige, durch Selektine vermittelte Zelladhäsion ausgelöst. Bekannt ist eine solche Beteiligung der Selektine u. a. bei rheumatoider Arthritis,^[53] Erkrankungen der Herzkranzgefäße^[52] und dem Reperfusionssyndrom.^[54] Die Verabreichung löslicher Selektinliganden als Zelladhäsionsinhibitoren stellt daher einen therapeutischen Ansatz zur Behandlung dieser Krankheiten dar. Als die wichtigste Leitstruktur für pharmakologisch aktive Selektinliganden gilt hierbei das Tetrasaccharid-Epitop Sialyl-Lewis^x (Abb. 4.1).

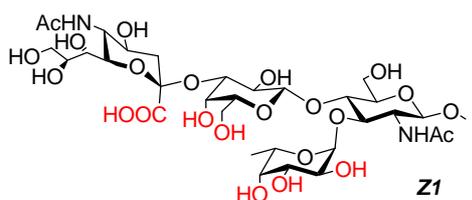


Abb. 4.1: Das Tetrasaccharid-Epitop Sialyl-Lewis^x und seine pharmakophoren Hydroxylgruppen.

Ziel dieser Arbeit war der Aufbau von Bausteinen für die Festphasen-Peptidsynthese, mit denen zukünftig in automatisierten Festphasen-Peptidsynthesen verschiedene Glycopeptide als Mimetika des endogenen E-Selektin-Liganden ESL-1 hergestellt werden können. Diese Verbindungen könnten dann als Zelladhäsionsinhibitoren gegen die oben genannten Krankheiten eingesetzt werden.

Das sLe^x-Epitop **Z1** wird im Körper jedoch durch enzymatische Abspaltung der Fucose- und Sialinsäure-Reste rasch deaktiviert, was die pharmakologische Nutzung von sLe^x-Derivaten stark einschränkt. Daher sollen die in dieser Arbeit zu entwickelnden Kohlenhydrat-Epitope **Z2** und **Z3** (Abb. 4.2) gegenüber der natürlichen sLe^x-Struktur mehrere Modifikationen aufweisen, die zu einer erhöhten metabolischen Stabilität führen sollen, ohne dabei die für eine effektive Bindung zum Rezeptor nötigen Wechselwirkungen zu beeinträchtigen. Der labile Fucose-Rest sollte sowohl durch die D-Arabinose (in **Z2**) als auch durch den Azazucker Desoxyfuconojirimycin (in **Z3**) ersetzt werden, die beide nicht im menschlichen Organismus vorkommen, jedoch die drei essentiellen pharmakophoren

Hydroxylfunktionen in der gleichen dreidimensionalen Orientierung präsentieren wie die L-Fucose. Außerdem sollte der teure und synthetisch anspruchsvolle Sialinsäure-Baustein durch die L-Cyclohexylmilchsäure substituiert werden und die Anbindung des Kohlenhydrat-Epitops an das Peptid, bzw. hier zunächst an die Aminosäure L-Threonin im Gegensatz zur natürlichen *N*-glycosidischen Verknüpfung über eine zusätzliche Glucosamin-Einheit *O*-glycosidisch erfolgen.

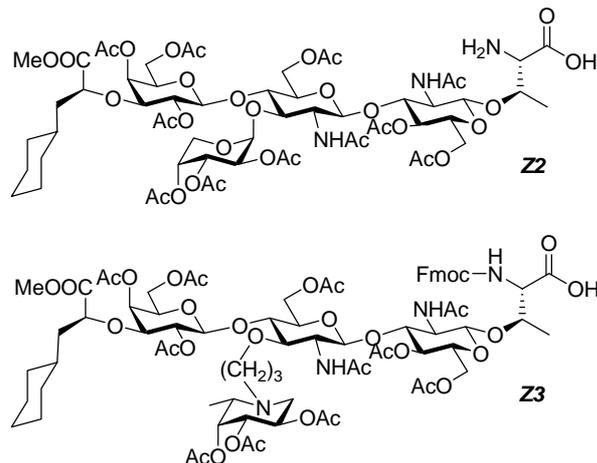


Abb. 4.2: Die Bausteine für die Festphasen-Peptidsynthese **Z2** und **Z3**.

Die Synthese der Bausteine **Z2** und **Z3** sollte nach einer linearen Synthesestrategie erfolgen, in der die jeweils fünf Bausteine sequentiell miteinander verknüpft werden. Zunächst wurden hierfür die Monosaccharid-Bausteine synthetisiert. Der Galactose-Baustein **7** kann in einer literaturbekannten Synthese über sechs Stufen hergestellt werden (Abb. 4.3). Den Glucosamin-Baustein **18** erhält man ausgehend von Glucosamin-Hydrochlorid (**10**) in einer neunstufigen Synthese (Abb. 4.4). Wichtig in dieser Synthese ist der Umweg über die temporäre Einführung der *p*-Methoxybenzyliden-Schutzgruppe, damit die anschließende Acetylierung das β -Anomer **13** liefert und dadurch die spätere Einführung des Allylethers ermöglicht wird, der aus dem durch den anomeren Effekt stabilisierten α -Anomer nicht erhalten werden kann. Dieses entsteht bei der direkten Acetylierung jedoch als Hauptprodukt. Die Aminosäure L-Phenylalanin (**20**) stellt das Ausgangsmaterial für die Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **24** nach *Bünteli* und *Ernst* dar (Abb. 4.5).^[67] Diesen erhält man nach Diazotierung der Aminosäure **20** und anschließender Hydrolyse zu Verbindung **21**, saurer Veresterung der Carboxy-Funktion, Hydrierung des aromatischen Phenyl-Restes zum Cyclohexan-Ring in Verbindung **23** und abschließender Einführung der Triflat-Funktion stereoselektiv als (*R*)-Enantiomer **24**. Der

Arabinose-Baustein **32** wird in einer literaturbekannten vierstufigen Synthese ausgehend von der D-Arabinose **25** hergestellt (Abb. 4.6).^[71, 131, 138] Hier entstand das Thioglycosid jedoch neben der gewünschten Pyranose-Form **32** auch in der unerwünschten Furanose-Form **33**, was in der Literatur bisher nicht beschrieben wurde. Der Aza-Fucose-Baustein **77** wird ausgehend von einer von *Fleet* et al. beschriebenen Synthesestrategie aufgebaut (Abb. 4.7).^[148] D-Galactose (**1**) wird nach der von *Humphlett* beschriebenen Prozedur^[150] zunächst oxidativ in das Kalium-Lyxonat **56** überführt (40 %), das durch HCl-Einleitung in 90%iger Ausbeute zum D-Lyxonolacton (**55**) cyclisiert wird. Die Einführung der Isopropyliden-Schutzgruppe liefert dann das Acetonid **57** in 68%iger Ausbeute, das sogleich über die Zwischenstufe des Triflats in das Azid **59** überführt wird (73 %). Durch Reaktion mit Methyllithium entsteht hieraus absolut stereoselektiv das (*R*)-konfigurierte Produkt **60**. Hydrierung der Verbindung **60** an Palladium auf Kohle liefert dann unter Ringöffnung und erneuter Cyclisierung ebenfalls absolut stereoselektiv das geschützte Desoxyfuconojirimycin **64** in einer Ausbeute von 97 %. Nach Abspaltung der Isopropyliden-Schutzgruppe zum Desoxyfuconojirimycin **65** wird die Aminofunktion temporär BOC-geschützt und die in 74%iger Ausbeute (über zwei Stufen) erhaltene Verbindung **66** zum vollständig geschützten Desoxyfuconojirimycin-Derivat **67** benzyliert (90 %). Nachdem die BOC-Schutzgruppe durch Rühren in TFA wieder entfernt wurde, wird der THP-geschützte Propyl-Linker **71** an das nun freie sekundäre Amin in Verbindung **68** geknüpft und die THP-Schutzgruppe anschließend sauer gespalten. Aus den letzten drei Stufen geht die *N*-alkylierte Verbindung **73** in einer Gesamtausbeute von 88 % hervor. Die abschließende Einführung der Triflatgruppe gelang jedoch nicht. Stattdessen liefert die Reaktion mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid und Lutidin in Dichlormethan den vollkommen unerwarteten Ameisensäureester **77** in 84%iger Ausbeute. Da die Reaktion zum Iodid und Chlorid ebenfalls nicht erfolgreich durchgeführt werden konnte, wurde der Aza-Fucose-Baustein in der weiteren Synthese nicht eingesetzt. In der Synthese des Glycosylaminosäure-Bausteins **53** wird die Aminosäure L-Threonin **34** durch Fmoc und den *tert*-Butylester geschützt und in einer Glycosylierung unter *Koenigs-Knorr*-Bedingungen in 72%iger Ausbeute mit dem in drei Stufen aus Glucosamin-Hydrochlorid (**10**) hergestellten Bromid **43** zur Glycosylaminosäure **44** verknüpft (Abb. 4.8). Der Glycosylaminosäure-Baustein **53** wird hieraus dann durch Standard-Schutzgruppen-Manipulationen über weitere sieben Stufen synthetisiert.

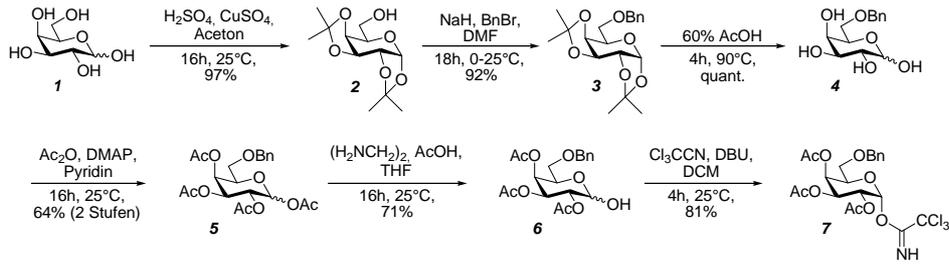


Abb. 4.3 Die Synthese des Galactose-Bausteins.

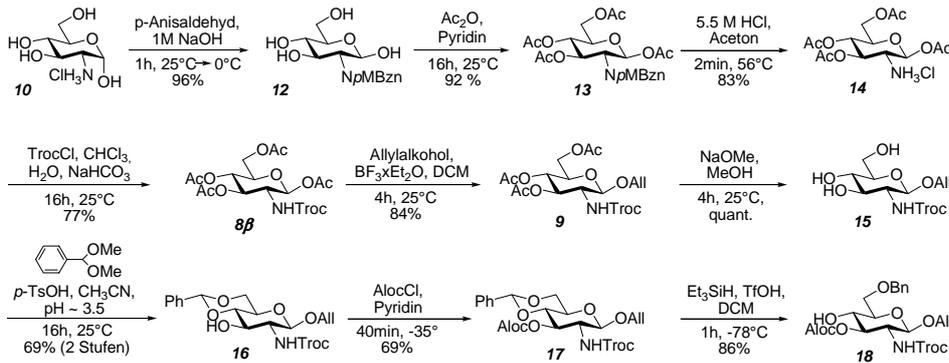


Abb. 4.4 Die Synthese des Glucosamin-Bausteins.

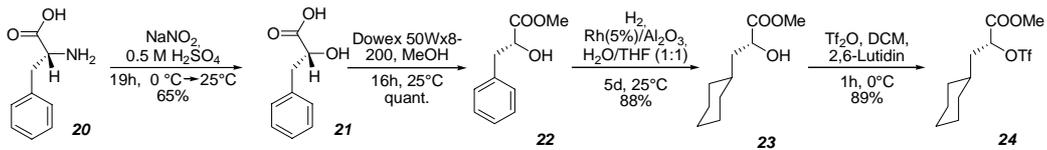


Abb. 4.5 Die Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins.

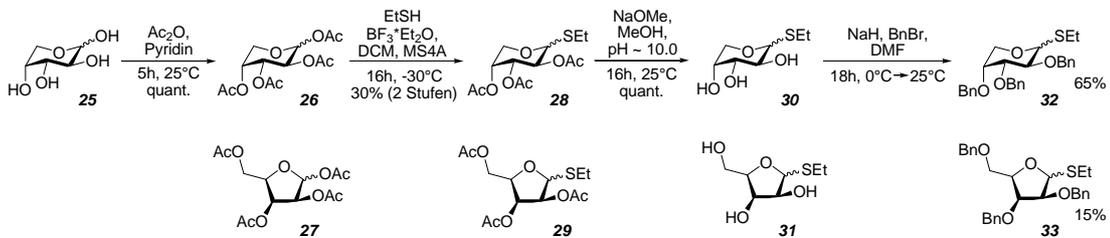


Abb. 4.6 Die Synthese des Arabinose-Bausteins.

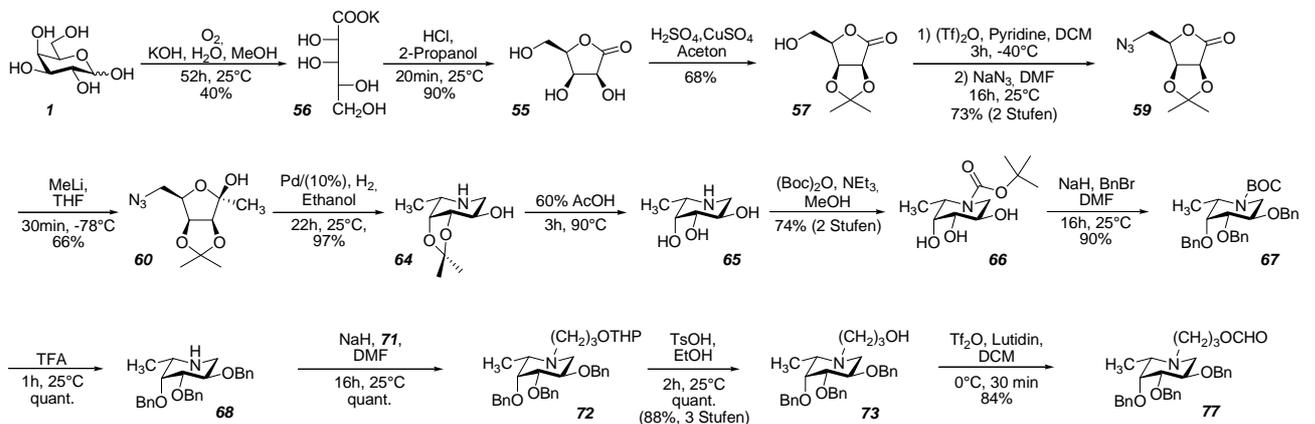


Abb. 4.7 Die Synthese des Aza-Fucose-Bausteins.

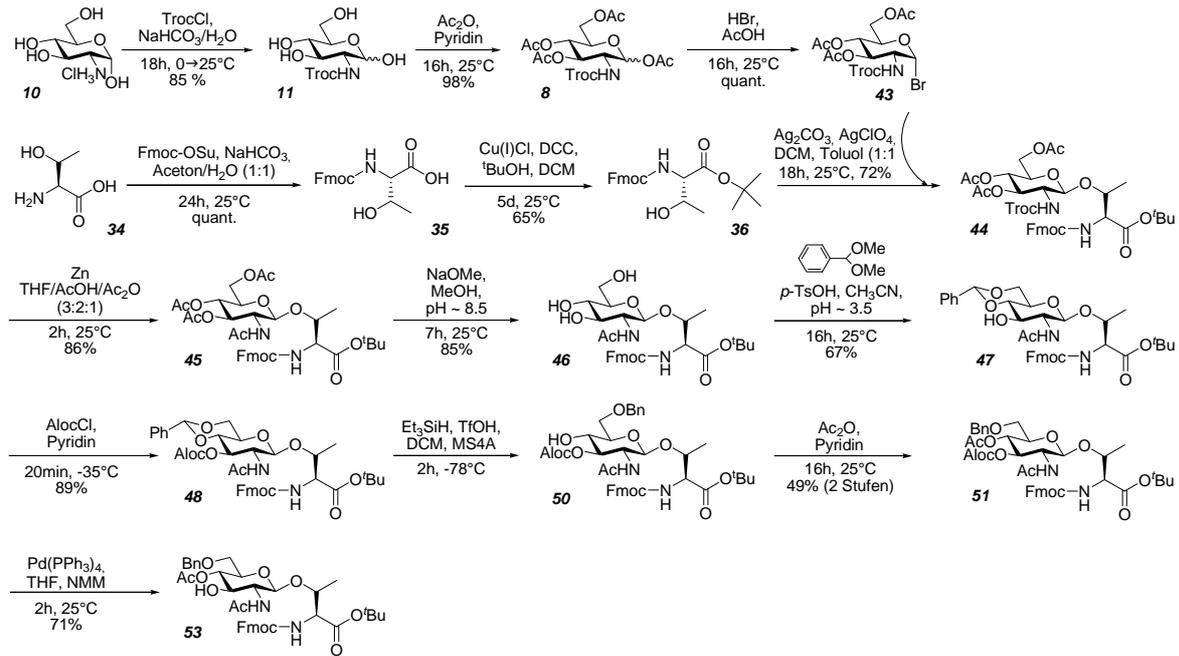
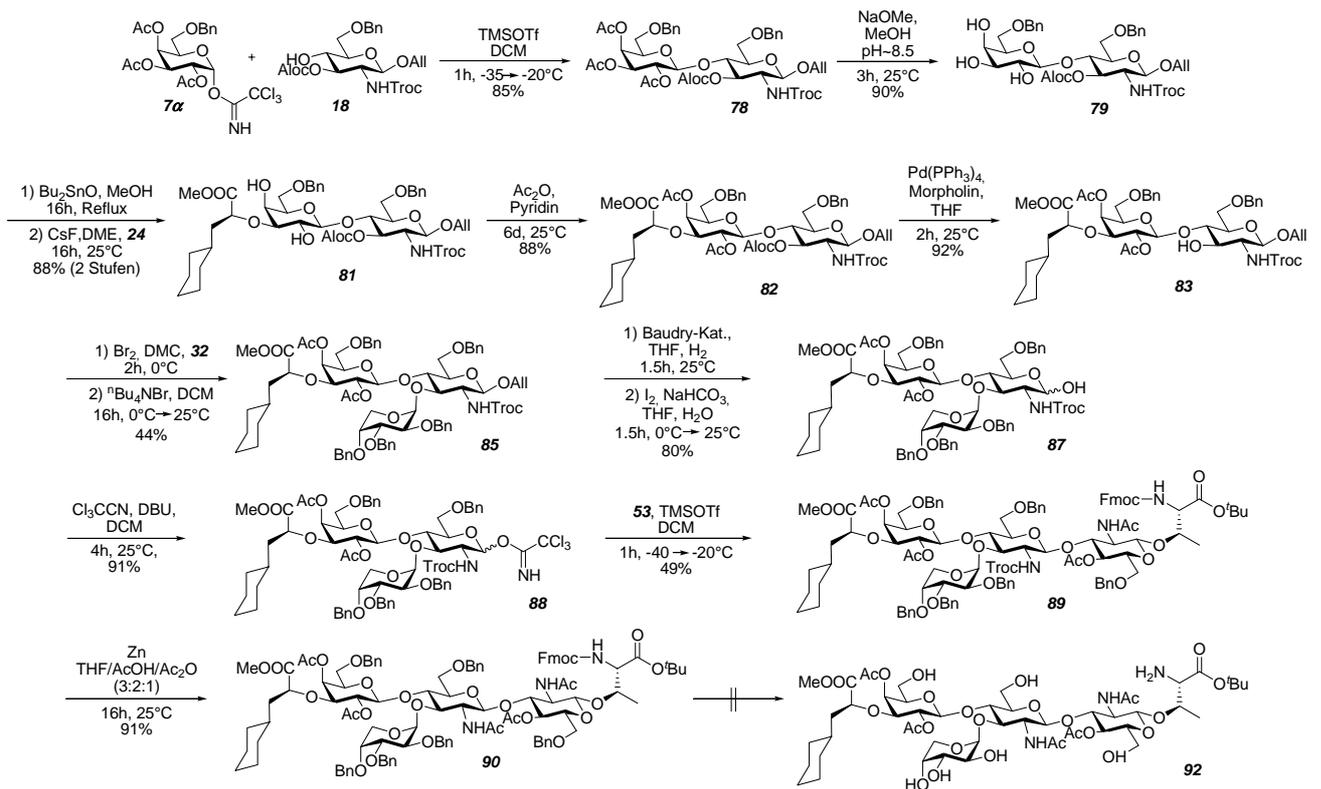


Abb. 4.8 Die Synthese des Glycosylaminosäure-Bausteins.

Abb. 4.9 Die Synthese des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums.

Nach der Synthese der monosaccharidischen Bausteine werden diese in einer linearen Synthesestrategie sequentiell zum Pseudo-Pentasaccharid **90** verknüpft. Nach dem Trichloracetimidat-Verfahren von *R. R. Schmidt*^[152, 153] wird das Disaccharid **78** aus dem Trichloracetimidat **7 α** und dem Glucosamin-Baustein **18** in 85%iger Ausbeute erhalten. Die Abspaltung der Acetyl-Schutzgruppen unter *Zemplén*-Bedingungen zu Verbindung **79** gelingt in einer Ausbeute von 90 % (Abb. 4.9). Im nächsten Schritt wird mittels der Stannylene-Methode der Cyclohexylmilchsäure-Baustein **24** in das Disaccharid **79** eingeführt und dadurch das Pseudo-Trisaccharid **81** in 88%iger Ausbeute gewonnen. Acetylierung des Pseudo-Trisaccharids **81** zur Verbindung **82** (88 %) und anschließende Abspaltung der Aloc-Schutzgruppe mittels Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) liefert das in 3-Position ungeschützte Pseudo-Trisaccharid **83** in einer Ausbeute von 92 %. Die Einführung des Arabinose-Bausteins **32** in Verbindung **83** nach dem *in situ*-Anomerisierungsverfahren von *Lemieux et al.*^[93, 155] liefert dann das Pseudo-Tetrasaccharid **85** (44 %). Mit Hilfe des *Baudry*-Katalysators ($[\text{Ir}^{\text{I}}(\text{COD})(\text{PMePh}_2)_2]\text{PF}_6$) kann die Allylether-Schutzgruppe in Verbindung **85** zum Prop-1-enylether isomerisiert und im Anschluß daran durch Iod gespalten werden. Das in der anomeren Position ungeschützte Pseudo-Tetrasaccharid **87** wird hierdurch in 80%iger Ausbeute erhalten und sogleich durch Einführen der Trichloracetimidatfunktion in die anomere Position zu dem Glycosyldonor **88** umgesetzt (91 %). Mittels des Trichloracetimidat-Verfahrens gelingt danach die Verknüpfung des Pseudo-Tetrasaccharids **88** mit dem Glycosylaminosäure-Baustein **53**, wodurch das Pseudo-Pentasaccharid **89** in einer Ausbeute von 49 % entsteht. Ein Anteil von 47 % des eingesetzten Trichloracetimidats **88** kann zudem als zersetzter, hydrolysiertes Donor **87** zurückgewonnen und erneut in das Trichloracetimidat **88** umgewandelt werden. Abschließend wird die Troc-Schutzgruppe durch die Reaktion mit Zink in einer Mischung aus Tetrahydrofuran, Essigsäure und Essigsäureanhydrid abgespalten, und das Acetamid **90** entsteht in einer Ausbeute von 91 %.

Um die Stabilität der α -arabinosidischen Bindung unter den für die Abspaltung der *tert*-Butyl-Schutzgruppe und im Verlauf einer späteren Festphasen-Peptidsynthese notwendigen stark sauren Bedingungen zu gewährleisten, ist ein Austausch der Benzylether- gegen die Acetyl-Schutzgruppen erforderlich. Der erste Schritt des Schutzgruppenaustausches, die Spaltung der Benzylether-Schutzgruppen in Pseudo-Pentasaccharid **90** durch Hydrierung am Palladium-Katalysator, konnte jedoch nicht erfolgreich durchgeführt werden. Das debenzylierte Produkt **92** entstand nicht. Daher musste die Synthese auf dieser Stufe abgebrochen werden. Im Anschluss an diese Arbeit

soll jedoch in Kooperation mit *Prof. Dr. H. Löwe* am Institut für Organische Chemie der Universität Mainz die Debenzylierung der Endverbindung **90** durch den Einsatz der Mikro-Reaktor-Technik in einer Durchflusszelle untersucht werden. Dieses Gerät wird jedoch erst nach Abschluss dieser Arbeit betriebsbereit sein. Diese viel versprechende Technik bietet u. a. die Vorteile, dass sich die teilweise debenziierten Zwischenstufen durch den stetigen Fluss nicht auf dem Katalysator abscheiden und hierbei ein sehr viel höherer effektiver Wasserstoff-Partialdruck als bei einer konventionellen Hydrierung erzielt werden kann.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeines und Messgeräte

Alle Reaktionen wurden, soweit nicht anders beschrieben, bei Raumtemperatur und unter Rühren durchgeführt. Alle mit „i. Vak.“ oder „i. Hochvak.“ bezeichneten Destillationen wurden bei einer Wasserbadtemperatur von 40 °C durchgeführt.

Die bei den Summenformeln angegebenen Molmassen beziehen sich auf die gemittelte natürliche Isotopenverteilung, die exakte Masse bei den Massenspektren hingegen auf die Massen der reinen Isotope ^1H , ^{12}C , ^{14}N , ^{16}O , ^{19}F , ^{23}Na , ^{32}S , ^{35}Cl und ^{39}K .

Dünnschicht-Chromatographie:

Für die dünnschichtchromatographischen Reaktionskontrollen wurden mit fluoreszenzmarkiertem Kieselgel 60 F₂₅₄ beschichtete Aluminiumfertigplatten der Firma *Merck*, Darmstadt (Deutschland), verwendet. Die Detektion erfolgte durch UV-Licht bei einer Wellenlänge von 254 nm und mittels folgender Anfärbereagenzien:

- *Zucker-Reagenz*
1:1 (v/v) Mischung aus 1 M ethanolischer Schwefelsäure und 0.2%iger ethanolischer 3-Methoxyphenol-Lösung;
- *Seebach-Reagenz*
Lösung aus 1.0 g Cer(IV)-sulfat-Tetrahydrat und 2.5 g Molybdätophosphorsäure in 94 ml Wasser und 6 ml konz. Schwefelsäure;
- *Ninhydrin-Reagenz*
Lösung von 1.5 g Ninhydrin in einer Mischung aus 15 ml Essigsäure und 15 ml Methanol;
- *Kaliumpermanganat-Reagenz*
Lösung von 1.0 g Kaliumpermanganat und 5.0 g Natriumcarbonat in 250 ml Wasser;
- *Anisaldehyd-Reagenz*
Lösung von 6.0 g *p*-Anisaldehyd und 2.5 ml konz. Schwefelsäure in 250 ml Ethanol.

Die Chromatogramme wurden zunächst unter der UV-Lampe auf Fluoreszenzauslöschung untersucht, dann in die jeweiligen Lösungen eingetaucht und durch Erhitzen mit einem Heissluftgebläse entwickelt.

Flash-Chromatographie:

Säulenchromatographische Trennungen wurden nach dem Verfahren der Flash-Chromatographie durchgeführt.^[167] Als Säulenmaterial wurde Kieselgel mit einer Korngröße von 32-63 µm der Firma *MP Biomedicals*, Irvine (USA; in Deutschland: Eschwege), verwendet. Die Säulengröße (Höhe x Durchmesser), die Menge an Kieselgel sowie die Lösungsmittelgemische sind bei den einzelnen Verbindungen angegeben. Die Zusammensetzungen der Laufmittelgemische werden stets in Volumenverhältnissen (v/v) notiert.

Lösungsmittel:

Sofern nicht anders beschrieben, wurden Lösungsmittel der Qualitätsstufe p.a., *pro analysi*, verwendet. Die Lösungsmittel wurden nach üblichen Verfahren getrocknet und frisch destilliert eingesetzt.^[168] Absolutes Acetonitril, 1,2-Dimethoxyethan, Dichlorethan und Dichlormethan wurden durch Destillation über Calciumhydrid, absolutes Tetrahydrofuran und absoluter Diethylether durch Destillation über Natrium/Benzophenon und absolutes Ethanol durch Destillation über Natrium/Phthalsäurediethylester erhalten.

NMR-Spektroskopie:

Die NMR-Spektren wurden an folgenden Geräten der Firma *Bruker*, Billerica (USA; in Deutschland: Ettlingen), aufgenommen:

- Bruker AC-300: 300 MHz-¹H-NMR und 75.5 MHz-¹³C-NMR
- Bruker AM-400: 400 MHz-¹H-NMR und 100.6 MHz-¹³C-NMR
- Bruker AC-400: 400 MHz-¹H-NMR und 100.6 MHz-¹³C-NMR

Die durchgeführten NMR-Experimente sowie die verwendeten Lösungsmittel sind jeweils bei den einzelnen Verbindungen angegeben. Zur Kennzeichnung der Multiplizität wurden folgende Abkürzungen genutzt:

s	Singulett	t	Triplett
s _b	breites Singulett	t _p	Pseudo-Triplett
d	Dublett	tdd	Triplett vom Dublett vom Dublett
d _b	breites Dublett	q	Quartett
dd	Dublett vom Dublett	q _p	Pseudo-Quartett
dt	Dublett vom Triplett	m	Multiplett
dq	Dublett vom Quartett	m _c	zentriertes Multiplett
ddd	Dublett vom Dublett vom Dublett		

Die angegebenen chemischen Verschiebungen beziehen sich auf das Signal des deuterierten Lösungsmittels bei relativer Kalibrierung zu Tetramethylsilan als Standard ($\delta = 0$ ppm). Zur Angabe der Interpretation der ^1H - und ^{13}C -Signale wurden die Cyclohexanring-Atome des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins sowie die Atome der Saccharid-Bausteine in den Kupplungsprodukten mit folgenden Abkürzungen bezeichnet:

Afc:	Aza-L-Fucose
Ara:	D-Arabinose
Cyc:	Cyclohexylmilchsäure
Gal:	D-Galactose
Glc:	D-Glucosamin
Gla:	Glycosylaminosäure

Massenspektrometrie:

- FD-Massenspektren wurden mit einem *Finnigan*-MAT-95-Spektrometer der Firma *ThermoElectron*, Boston (USA), aufgenommen.
- ESI-Massenspektren wurden auf folgenden Geräten aufgenommen:
 - Gerät 1: Navigator-Instrument der Firma *ThermoElectron*, Boston (USA), bei Verwendung von Acetonitril als Lösungsmittel, einer Probenkonzentration von 0.1 mg/ml, einer Flussrate von 0.75 ml/min, einer Cone Voltage von 70 V (oder 40 V) und einem N_2 -Strom von 300 L/h.
 - Gerät 2: Micromass-Q-TOF-Ultima-3-Spektrometer der Firma *Waters*, Milford (USA), bei Verwendung von Acetonitril-Wasser-Gemischen als Lösungsmittel, einer Probenkonzentration von 0.1 mg/ml, einer Flussrate von 5 $\mu\text{l}/\text{min}$ und einer Cone Voltage von 70-80 V.

- Hochauflösende ESI-Massenspektren (HR-ESI) wurden mit Gerät 2 aufgenommen. Zur Kalibrierung diente eine Lösung von 400 mg Natriumiodid und 10 mg Cäsiumiodid in 400 ml eines Wasser-Isopropanol-Gemisches 1:1 (v/v). Eine Genauigkeit von mindestens 5 ppm, bezogen auf die Differenz von gemessener zur berechneten Masse, geteilt durch die berechnete Masse, wird vom Gerätehersteller garantiert. Die bei den Spektren angegebenen Werte der gemessenen und berechneten Molekülmassen beziehen sich auf die Neutalmoleküle, obwohl die Molekülkationen angegeben sind. Die Masse des Elektrons von 0.000549 u wird durch die Kalibration des Gerätes berücksichtigt.

Analytische und präparative RP-HPLC:

Die analytische RP-HPLC wurde an einem System, bestehend aus einer MaxiStar-K1000-Gradientenpumpe, einem Vierkanal-Entgaser, einer analytischen Mischkammer sowie einem Diodenarraydetektor DAD2062 der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland), durchgeführt.

Für die präparative RP-HPLC wurden zwei MiniStar-K500-Gradientenpumpen in Verbindung mit einer präparativen Mischkammer und einem variablen Wellendetektor der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland), eingesetzt.

Die Flussraten für die analytische RP-HPLC betragen 1 ml/min und für die präparative RP-HPLC 20 ml/min. Als Eluenten dienten Wasser-Acetonitril-Gemische, denen, falls angegeben, 0.1 % Trifluoressigsäure zugesetzt wurde. Vor Gebrauch wurden die eingesetzten Lösungsmittel ca. 30 min im Ultraschallbad entgast. Das Acetonitril in HPLC-Qualität wurde von der Firma *Fisher Scientific*, Hampton (USA; in Deutschland: Schwerte), bezogen und das Wasser durch ein Simplicity-185-Wasseraufbereitungssystem der Firma *Millipore*, Billerica (USA), aufbereitet. Die Detektion erfolgte durch UV/VIS-Absorption über einen Wellenlängenbereich von 200 nm bis 500 nm (analytische RP-HPLC) bzw. bei einer Wellenlänge von 200 bis 240 nm (präparative RP-HPLC).

Folgende Säulen und Gradienten kamen zum Einsatz:

Analytische RP-HPLC-Säule:

- Säule A: Luna C₁₈(2) (5 µm, 250 x 4.60 mm), Firma: *Phenomenex*, Torrance (USA; in Deutschland: Aschaffenburg)

Präparative RP-HPLC-Säule:

- Säule B: Luna C₁₈(2) (10 µm, 250 x 50.00 mm), Firma: *Phenomenex*

	Gradient A:			Gradient B:			Gradient C:			
<i>t</i> [min]	0	30	60	0	30	60	0	30	40	70
H ₂ O [%]	30	0	0	20	0	0	50	30	0	0
CH ₃ CN [%]	70	100	100	80	100	100	50	70	100	100

	Gradient D:			Gradient E:		
<i>t</i> [min]	0	30	60	0	30	60
H ₂ O [%]	50	0	0	10	0	0
CH ₃ CN [%]	50	100	100	90	100	100

Tab. 1: Für die RP-HPLC genutzte Eluenten-Gradienten.

Drehwerte:

Die spezifischen Drehwerte wurden mit einem Polarimeter 241 der Firma *Perkin-Elmer*, Wellesley (USA), bei den Wellenlängen 546 nm und 578 nm (Quecksilberdampfampe) mit einer 1 dm langen Polarimeterzelle bestimmt und die gemessenen Drehwerte auf die Natrium-D-Linie ($\lambda = 589$ nm) extrapoliert. Die verwendeten Lösungsmittel und Konzentrationen (g/100 ml Lösungsmittel) sind bei den einzelnen Verbindungen vermerkt. Auf die Angabe der Einheit des spezifischen Drehwertes (deg x ml/g x dm) wird im Folgenden verzichtet.

Elementaranalysen:

Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Labor des Institutes für Organische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz durchgeführt.

Schmelzpunkte:

Schmelzpunkte wurden mit einer Schmelzpunktbestimmungsapparatur nach *Dr. Tottoli* der Firma *Büchi*, Flawil (Schweiz), gemessen und sind nicht korrigiert.

pH-Werte:

Zur pH-Kontrolle wurden die nicht blutenden Indikatorstäbchen *Acilit*[®] (pH 0-6.0), *Neutralit*[®] (pH 5.0-10.0) und *Alkalit*[®] (pH 7.5-14) der Firma *Merck*, Darmstadt (Deutschland), verwendet. In organischen Lösungsmitteln wurden die Indikatorstäbchen für mehrere Sekunden eingetaucht und anschließend mit Wasser befeuchtet, bevor der Wert abgelesen wurde. Die bei den Reaktionsbedingungen angegebenen pH-Werte sind

nur für wässrige Lösungssysteme genau. Für organische Lösungsmittel dienen sie nur der Reproduzierbarkeit der Reaktion, und es wurde keine Kalibration durchgeführt.

Aza-Fucose-Nomenklatur:

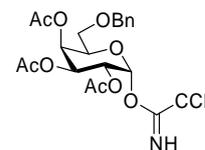
Zur Verdeutlichung der Strukturbeziehung zwischen dem Aza-Fucose-Baustein und L-Fucose beziehen sich die Positionsangaben in den NMR-Interpretationen und Verbindungsbezeichnungen auf die Kohlenhydrat-analoge Zählweise. Sie weichen daher von der ansonsten vorzuziehenden IUPAC-Nomenklatur substituierter Piperidine ab. In einigen Fällen wird jedoch zusätzlich der IUPAC-ähnliche Name angegeben.

5.2 Die Synthese der Monosaccharid-Bausteine

5.2.1 Die Synthese des Galactose-Bausteins

2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α -D-galactopyranosyl-trichloracetimidat

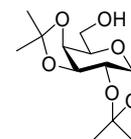
(7 α)



1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galactopyranose (2)^[121]

Zu einer Suspension von 75.0 g (0.416 mol) D-Galactose (**1**) und 169.0 g (1.059 mol) wasserfreiem Kupfer(II)-sulfat in 1250 ml Aceton gibt man 10 ml konz. Schwefelsäure und rührt 16 h bei Raumtemperatur. Das Kupfer(II)-sulfat wird abfiltriert und die klare, braune Lösung durch 1.5 h Rühren über Calciumhydroxid neutralisiert. Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. liefert das Rohprodukt als braunes Öl, das ohne weitere Reinigung umgesetzt wird.

Ausbeute: 104.6 g (97 %); C₁₂H₂₀O₆ (260.28); braunes Öl; *R_f* = 0.39 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1).



FD-MS (positiv) *m/z* : 260.6 ([M]⁺; ber. 260.1); 522.0 ([2M+H]⁺; ber. 521.2).

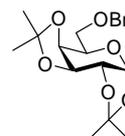
300 MHz-¹H-NMR (Aceton-*d*₆): δ [ppm] = 5.45 (d, 1H, *J* = 4.8 Hz, H1-Gal); 4.59 (dd, 1H, *J* = 8.1 Hz, *J* = 2.2 Hz, H3-Gal); 4.31 (dd, 1H, *J* = 4.9 Hz, *J* = 2.6 Hz, H2-Gal); 4.28 (m, 1H, H4-Gal); 3.82 (dt, 1H, *J* = 5.1 Hz, *J* = 1.7 Hz, H5-Gal); 3.64-3.55 (m, 2H, H6-Gal); 1.45, 1.35, 1.30 und 1.29 (4s, 12H, CH₃).

75.5 MHz-¹³C-NMR (Aceton-*d*₆): δ [ppm] = 109.3, 108.7 (C_{quart}-Acetal); 97.1 (C1-Gal); 71.7, 71.5, 71.4, 69.3 (C2/C3/C4/C5-Gal); 61.7 (C6-Gal); 26.3, 26.2, 25.0, 24.4 (CH₃-Acetal).

6-*O*-Benzyl-1,2:3,4-di-*O*-isopropyliden- α -D-galactopyranose (3)^[122]

Eine Lösung von 104.6 g (402 mmol) 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galactopyranose (**2**) in 750 ml *N,N*-Dimethylformamid wird auf 0 °C abgekühlt und portionsweise mit 32.2 g (804 mmol) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl versetzt. Anschließend wird 2 h bei Raumtemperatur gerührt und nach erneutem Abkühlen auf 0 °C eine Lösung von 137.5 g (804 mmol) Benzylbromid in 100 ml *N,N*-Dimethylformamid hinzugegeben. Nach Rühren bei Raumtemperatur für 16 h wird die Reaktion durch Zugabe von 20 ml Methanol gestoppt, das Lösungsmittel i. Vak. durch Kodestillation mit Toluol (3 x 100 ml) entfernt und der Rückstand in 700 ml Dichlormethan aufgenommen. Waschen mit Wasser (3 x 200 ml), Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. liefern das Rohprodukt als braunes Öl, das durch Destillation i. Vak. (170 °C, 0.06 mbar) gereinigt wird.

Ausbeute: 129.3 g (92 %); C₁₉H₂₆O₆ (350.41); braunes Öl; $R_f = 0.52$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 5:1); Sdp_{0.06} = 170 °C; $[\alpha]_D^{22} = -62.3$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z : 373.5 ([M+Na]⁺; ber. 373.2); 414.5 ([M+CH₃CN+K]⁺; ber. 414.2).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.33-7.28 (m, 5H, H_{aromat-Bn}); 5.53 (d, 1H, $J = 5.2$ Hz, H1-Gal); 4.65-4.48 (m, 3H, CH₂-Bn/H3-Gal); 4.29 (dd, 1H, $J = 5.1$ Hz, $J = 2.2$ Hz, H2-Gal); 4.26 (dd, 1H, $J = 8.1$ Hz, $J = 1.8$ Hz, H4-Gal); 3.99 (dt, 1H, $J = 6.2$ Hz, $J = 1.7$ Hz, H5-Gal); 3.68 (dd, 1H, $J = 10.3$ Hz, $J = 5.9$ Hz, H6_a-Gal); 3.61 (dd, 1H, $J = 10.1$ Hz, $J = 6.8$ Hz, H6_b-Gal); 1.52, 1.44, 1.32, 1.31 (4s, 12H, CH₃-Acetal).

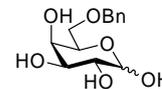
75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 138.3 (C_{ipso-Bn}); 128.0, 127.7, 127.5 (C_{tert-Bn}); 109.2, 108.5 (C_{quart-Acetal}); 96.4 (C1-Gal); 73.3 (CH₂-Bn); 71.2, 70.7, 70.6, 66.9 (C2/C3/C4/C5-Gal); 68.9 (C6-Gal); 26.1, 26.0, 24.9, 24.4 (CH₃-Acetal).

6-*O*-Benzyl- α,β -D-galactopyranose (4)^[122]

Eine Lösung von 64.0 g (183 mmol) 6-*O*-Benzyl-1,2:3,4-di-*O*-isopropyliden- α -D-galactopyranose (**3**) in 1.5 L 60%iger Essigsäure wird 4 h bei 90 °C gerührt. Entfernen

des Essigsäure-Wasser-Gemisches i. Vak. und Kodestillation mit Toluol (3 x 100 ml) liefern das Rohprodukt als braunes Öl, das ohne Reinigung zu Verbindung **5** umgesetzt wird.

Ausbeute: 49.5 g (quant.); C₁₃H₁₈O₆ (270.28); braunes Öl; $R_f = 0.32$
(Methanol/Ethylacetat, 1:10).

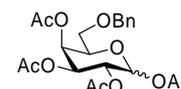


FD-MS (positiv) m/z : 270.2 ($[M]^+$; ber. 270.1).

1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranose (**5**)^[122]

Eine Lösung von 48.0 g (177.6 mmol) roher 6-*O*-Benzyl- α,β -D-galactopyranose (**4**) in 300 ml Pyridin wird auf 0 °C abgekühlt. Nach Hinzufügen einer Spatelspitze 4-Dimethylaminopyridin werden 600 ml Acetanhydrid hinzugegeben. Man entfernt die Kühlung und rührt 16 h bei Raumtemperatur. Die Reaktionsmischung wird i. Vak. und durch Kodestillation mit Toluol (5 x 50 ml) von Pyridin und überschüssigem Acetanhydrid befreit und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1100 g, 32 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1) gereinigt.

Ausbeute: 51.3 g (64 % bez. auf **3**); C₂₁H₂₆O₁₀ (438.43); gelbes Öl; $R_f = 0.28$
(Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1).



FD-MS (positiv) m/z : 437.6 ($[M]^+$; ber. 438.2).

α-Anomer:

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.31-7.23 (m, 5H, H_{aromat}-Bn); 6.34 (d, 1H, $J = 2.6$ Hz, H1-Gal); 5.54 (s_b, 1H, H3-Gal); 5.30-5.29 (m, 2H, H2-/H4-Gal); 4.52 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn); 4.38 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn); 4.27 (t, 1H, $J = 6.6$ Hz, H5-Gal); 3.48-3.40 (m, 2H, H6-Gal); 2.12-1.96 (m, 12H, CH₃-Ac).

β-Anomer:

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.31-7.23 (m, 5H, C_{aromat}-Bn); 5.67 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, H1-Gal); 5.49 (d, 1H, $J = 2.6$ Hz, H3-Gal); 5.31-5.25 (m, 1H, H4-Gal); 5.05

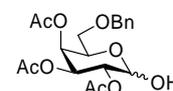
(dd, 1H, $J = 10.7$ Hz, $J = 3.3$ Hz, H2-Gal); 4.52 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn); 4.36 (d, 1H, $J = 11.8$ Hz, CH₂-Bn); 3.96 (t, 1H, $J = 6.1$ Hz, H5-Gal); 3.64-3.51 (m, 2H, H6-Gal); 2.12-1.96 (m, 12H, CH₃-Ac).

2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranose (6)

Methode A.^[123, 169]

Zu einer Lösung von 51.25 g (116.9 mmol) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranose (5) in 500 ml *N,N*-Dimethylformamid werden unter Argon-Atmosphäre 16.12 g (175.0 mmol) Hydrazinacetat gegeben, und nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel durch Kodestillation mit Toluol (3 x 100 ml) i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in 750 ml Ethylacetat aufgenommen und die organische Phase mit Wasser (100 ml), ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 150 ml) und erneut mit Wasser (100 ml) gewaschen, anschließend über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1100 g, 32 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1).

Ausbeute: 13.9 g (30 %).



Methode B:

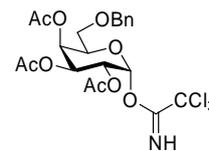
Eine Lösung von 37.0 ml (547.9 mmol) Ethylendiamin in 500 ml Tetrahydrofuran wird langsam mit 36.6 ml (639.2 mmol) Essigsäure versetzt, wobei sich ein farbloser Niederschlag abscheidet. Zu dieser Reaktionsmischung werden 128.5 g (293.1 mmol) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranose (5) in 300 ml Tetrahydrofuran getropft und die Reaktionsmischung 16 h gerührt. Man filtriert und verdünnt mit 400 ml Wasser und 800 ml Dichlormethan. Die organische Phase wird mit 2 M Salzsäure (700 ml), ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (700 ml) und Wasser (400 ml) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt aufgeteilt in zwei Hälften jeweils durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1000 g, 30 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1). Das erhaltene Produkt wird ohne weitere Charakterisierung zum Trichloracetimidat 7 umgesetzt.

Ausbeute: 81.9 g (71 %); C₁₉H₂₄O₉ (396.39); gelbes Öl; $R_f = 0.45$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1).

2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α -D-galactopyranosyl-trichloracetimidat (7 α)^[124, 153]

Man löst 15.0 g (37.8 mmol) 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranose (**6**) in 100 ml absol. Dichlormethan und gibt unter Argon-Atmosphäre 19.0 ml (189.2 mmol) Trichloracetonitril und 0.2 ml (1.3 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en zu. Die Reaktionsmischung wird 4 h bei Raumtemperatur gerührt, und anschließend werden das Lösungsmittel und das überschüssige Trichloracetonitril i. Vak. entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (750 g, 23 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 5:1) oder Kristallisation aus Ethylacetat gereinigt.

Ausbeute: 16.5 g (81 %); C₂₁H₂₄Cl₃NO₉ (540.78); farblose Kristalle; $R_f = 0.29$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1); Smp: 131 °C; $[\alpha]_D^{22} = +75.5$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z : 603.4 ([M+CH₃CN+Na]⁺; ber. 603.1); 562.4 ([M+Na]⁺; ber. 562.1); 401.5 ([M-CCl₃CNHO]⁺; ber. 401.1).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 562.0414 ([M+Na]⁺; ber. 562.0414).

α -Anomer:

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 8.61 (s, 1H, NH); 7.32-7.22 (m, 5H, H_{aromat-Bn}); 6.56 (d, 1H, $J = 3.5$ Hz, H1-Gal); 5.62 (dd, 1H, $J = 2.5$ Hz, $J = 1.2$ Hz, H4-Gal); 5.41 (dd, 1H, $J = 10.7$ Hz, $J = 3.3$ Hz, H2-Gal); 5.32 (dd, 1H, $J = 10.8$ Hz, $J = 3.7$ Hz, H3-Gal); 4.51 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn); 4.40-4.36 (m, 2H, H5-Gal/CH₂-Bn); 3.52 (dd, 1H, $J = 9.8$ Hz, $J = 5.9$ Hz, H6_a-Gal); 3.44 (dd, 1H, $J = 9.6$ Hz, $J = 7.2$ Hz, H6_b-Gal); 2.03, 2.00, 1.99 (3s, 9H, CH₃-Ac).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 170.1, 170.0, 169.9 (C=O-Ac); 161.0 (C=O-Imin); 137.4 (C_{ipso}-Bn); 128.4, 127.9, 127.8 (C_{tert}-Bn); 93.7 (C1-Gal); 90.7 (CCl₃); 73.4 (CH₂-Bn); 70.1 (C5-Gal); 67.8 (C4-Gal); 67.7 (C3-Gal); 67.1 (C2-Gal); 67.1 (C6-Gal); 20.7, 20.6 (CH₃-Ac).

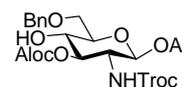
β-Anomer:

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 8.68 (s, 1H, NH); 7.31-7.25 (m, 5H, H_{aromat}-Bn); 5.81 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz, H1-Gal); 5.52 (dd, 1H, *J* = 3.3 Hz, H4-Gal); 5.44 (dd, 1H, *J* = 10.5 Hz, *J* = 8.3 Hz, H2-Gal); 5.10 (dd, 1H, *J* = 10.5 Hz, *J* = 3.5 Hz, H3-Gal); 4.54 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz, CH₂-Bn); 4.39 (d, 1H, *J* = 11.8 Hz, CH₂-Bn); 4.13-4.00 (m, 1H, H5-Gal); 3.60-3.41 (m, 2H, H6-Gal); 2.05, 2.02, 1.98 (3s, 9H, CH₃-Ac).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 170.1, 170.0, 169.9 (C=O-Ac); 161.1 (C=O-Imin); 137.4 (C_{ipso}-Bn); 128.4, 128.0, 127.9 (C_{tert}-Bn); 96.2 (C1-Gal); 90.7 (CCl₃); 73.5 (CH₂-Bn); 71.0 (C5-Gal); 68.0 (C4-Gal); 67.7 (C3-Gal); 67.2 (C2-Gal); 66.8 (C6-Gal); 20.7, 20.6 (CH₃-Ac).

5.2.2 Die Synthese des Glucosamin-Bausteins

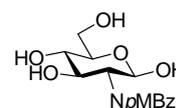
Allyl-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (18)



2-Desoxy-2-(4-methoxybenzyliden)amino-β-D-glucopyranose (12)^[125, 126]

In 470 ml 1 M NaOH werden 100.0 g (464 mmol) Glucosaminhydrochlorid (**10**) gelöst und die Lösung unter kräftigem Rühren mit 64.0 g (470 mmol) *p*-Anisaldehyd versetzt. Die sich sofort trübende Reaktionsmischung wird 30 min bei Raumtemperatur und weitere 30 min im Eisbad gerührt und erstarrt dabei zu einem farblosen Gel. Nach Filtration und Waschen mit Wasser, Ethanol und Diethylether wird das Rohprodukt i. Vak. vom Lösungsmittel befreit, im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet und ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Ausbeute: 132.4 g (96 %); C₁₄H₁₉NO₆ (297.30); blassgelber, amorpher Feststoff; Smp: 163 °C.



FD-MS (positiv) *m/z* : 297.5 ([M]⁺; ber. 297.1); 177.4 ([M-CH(C₆H₄)OMe]⁺; ber. 177.0).

300 MHz-¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8.11 (s, 1H, CH-*Imin*); 7.67 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, H_{ortho-*pMBzn*}); 6.97 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H_{meta-*pMBzn*}); 6.51 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz, H1-*Glc*); 4.94 (d, 1H, $J = 5.1$ Hz, H6_a-*Glc*); 4.81 (d, 1H, $J = 5.5$ Hz, H6_b-*Glc*); 4.68 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz, H3-*Glc*); 4.55 (t, 1H, $J = 5.9$ Hz, H4-*Glc*); 3.78 (s, 3H, OCH₃); 3.76-3.67 (m, 1H, H5-*Glc*); 3.48-3.37, 3.27-3.09 (m, 4H, OH-*Glc*); 2.78 (t, 1H, $J = 8.4$ Hz, H2-*Glc*).

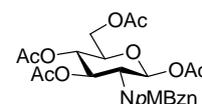
75.5 MHz-¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 161.3 (CH-*Imin*); 161.2 (C_{para-*pMBzn*}); 129.7 (C_{ortho-*pMBzn*}); 129.2 (C_{ipso-*pMBzn*}); 114.0 (C_{meta-*pMBzn*}); 95.8 (C1-*Glc*); 78.3 (C2-*Glc*); 77.0, 74.7, 70.5 (C3-/C4-/C5-*Glc*); 61.4 (C6-*Glc*); 55.4 (OCH₃).

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(4-methoxybenzyliden)amino- β -D-glucopyranose

(13) ^[125, 126]

60.1 g (202 mmol) 2-Desoxy-2-(4-methoxybenzyliden)amino- β -D-glucopyranose (12) werden in 250 ml Pyridin suspendiert, und unter Kühlung im Eisbad werden langsam über 30 min 350 ml Essigsäureanhydrid hinzugetropft. Es wird 16 h bei Raumtemperatur gerührt, die Reaktionsmischung i. Vak. auf ca. 250 ml eingengt und anschließend langsam in 2 L Eiswasser gegossen. Nach einiger Zeit fällt das Produkt aus. Filtration und Entfernen der Lösungsmittelreste i. Vak. liefern das Rohprodukt, das bereits ausreichend sauber ist und nicht weiter gereinigt werden muss.

Ausbeute: 86.6 g (92 %); C₂₂H₂₇NO₁₀ (465.45); blassgelber, amorpher Feststoff; $R_f = 0.15$ (Cyclohexan/Methanol, 1:3).



FD-MS (positiv) m/z : 465.8 ($[M]^+$; ber. 465.1).

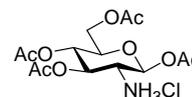
300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 8.13 (s, 1H, CH-*Imin*); 7.63 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, Ar_{ortho-*pMBzn*}); 6.89 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, Ar_{meta-*pMBzn*}); 5.92 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, H1-*Glc*); 5.40 (t, 1H, $J = 9.8$ Hz, H3-*Glc*); 5.12 (t, 1H, $J = 9.7$ Hz, H4-*Glc*); 4.36 (dd, 1H, $J = 12.3$ Hz, $J = 4.6$ Hz, H6_a-*Glc*); 4.10 (dd, 1H, $J = 12.5$ Hz, $J = 1.8$ Hz, H6_b-*Glc*); 3.95 (ddd, 1H, $J = 10.1$ Hz, $J = 4.4$ Hz, $J = 2.1$ Hz, H5-*Glc*); 3.82 (s, 3H, OCH₃); 3.42 (t, 1H, $J = 9.0$ Hz, H2-*Glc*); 2.08, 2.01, 2.00, 1.86 (4s, 12H, CH₃-Ac).

75.5 MHz-¹³C-NMR (*CDCl*₃): δ [ppm] = 170.6, 169.9, 169.5, 168.7 (C=O-Ac); 164.2 (CH-Imin); 162.3 (C_{para}-*pMBzn*); 130.2 (C_{ortho}-*pMBzn*); 128.3 (C_{ipso}-*pMBzn*); 114.0 (C_{meta}-*pMBzn*); 93.2 (C1-*Glc*); 73.3, 72.9, 72.8, 68.1 (C2-/C3-/C4-/C5-*Glc*); 61.8 (C6-*Glc*); 55.4 (OCH₃); 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (CH₃-Ac).

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-β-D-glucosamin-hydrochlorid (**14**)^[125, 126]

In der Siedehitze werden 27.1 g (58.2 mmol) 1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(4-methoxybenzyliden)amino-β-D-glucopyranose (**13**) in 150 ml Aceton gelöst und mit 12 ml 5.5 M Salzsäure versetzt, wodurch die Reaktionsmischung sofort erstarrt. Nach Abkühlen im Eisbad wird filtriert, der Filterkuchen mit Diethylether gewaschen und die Lösungsmittelreste i. Vak. entfernt. Eine weitere Reinigung des Rohproduktes ist nicht notwendig.

Ausbeute: 18.5 g (83 %); C₁₄H₂₂ClNO₉ (383.78); blassgelber, amorpher Feststoff.



FD-MS (positiv) *m/z* : 348.7 ([M-Cl]⁺; ber. 348.1).

300 MHz-¹H-NMR (*DMSO-d*₆): δ [ppm] = 8.88 (s, 3H, NH₃Cl); 5.91 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz, H1-*Glc*); 5.35 (t, 1H, *J* = 9.8 Hz, H3-*Glc*); 4.91 (t, 1H, *J* = 9.6 Hz, H4-*Glc*); 4.17 (dd, 1H, *J* = 12.9 Hz, *J* = 4.4 Hz, H6_a-*Glc*); 4.04-3.96 (m, 2H, H5-/H6_b-*Glc*); 3.54 (t, 1H, *J* = 9.6 Hz, H2-*Glc*); 2.16, 2.01, 1.98, 1.96 (4s, 12H, CH₃-Ac).

75.5 MHz-¹³C-NMR (*DMSO-d*₆): δ [ppm] = 170.0, 169.9, 169.4, 168.7 (C=O-Ac); 90.2 (C1-*Glc*); 71.7, 70.4, 67.9 (C3-/C4-/C5-*Glc*); 61.4 (C6-*Glc*); 52.2 (C2-*Glc*).

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranose (**8β**)^[127, 128]

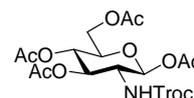
Zu einer Lösung von 18.50 g (48.2 mmol) 1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-β-D-glucosamin-hydrochlorid (**14**) in 500 ml dest. Wasser werden portionsweise 9.35 g (111.0 mmol) festes

Natriumhydrogencarbonat gegeben. Nach 30 min werden 12.96 g (61.2 mmol) 2,2,2-Trichlorethoxycarbonylchlorid in 300 ml Chloroform zugetropft und die Reaktionsmischung für 16 h kräftig gerührt. Anschließend werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Chloroform (2 x 125 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Kristallisation aus Cyclohexan/Ethylacetat (2:1) liefert das Produkt als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 19.5 g (77 %); C₁₇H₂₂Cl₃NO₁₁ (522.72); farbloser, kristalliner

Feststoff; $R_f = 0.38$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 3:2); Smp: 155 °C;

$[\alpha]_D^{22} = +14.7$ (c = 1.0, CHCl₃).



FD-MS (positiv) m/z : 461.6 ([M-AcOH]⁺; ber. 461.0); 520.8 ([M]⁺; ber. 521.0).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 5.71 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, H1-Glc); 5.35 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz, NH); 5.23 (t, 1H, $J = 10.7$ Hz, H3-Glc); 5.08 (t, 1H, $J = 9.6$ Hz, H4-Glc); 4.70 (s, 1H, CH₂-Troc); 4.27 (dd, 1H, $J = 12.5$ Hz, $J = 4.4$ Hz, H6_a-Glc); 4.14-4.05 (m, 1H, H6_b-Glc); 3.94 (q_p, 1H, $J = 9.6$ Hz, H2-Glc); 3.87-3.78 (m, 1H, H5-Glc); 2.08, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, CH₃-Ac).

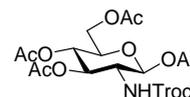
75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 170.8, 170.6, 169.4, 169.2 (C=O-Ac); 154.1 (C=O-Troc); 95.4 (CCl₃-Troc); 92.3 (C1-Glc); 74.5 (CH₂-Troc); 72.7, 72.1 (C3-/C5-Glc); 68.0 (C4-Glc); 61.6 (C6-Glc); 55.0 (C2-Glc); 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (CH₃-Ac).

Allyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (9)

19.48 g (37.3 mmol) 1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranose (**8 β**) werden in 400 ml Dichlormethan gelöst, mit 12.7 ml (186.3 mmol) Allylalkohol versetzt und unter Argon-Atmosphäre 1 h über 26 g gekörntem Molekularsieb (4Å) gerührt. Unter Kühlung im Eisbad werden langsam 23.4 ml (186.3 mmol) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex hinzugegeben und die rotbraune Lösung 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend entfernt man das Molekularsieb durch Filtration und gießt die Reaktionslösung auf 250 ml eiskalte ges. Natriumhydrogen-

carbonat-Lösung. Die organische Phase wird abgetrennt, mit weiterer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (100 ml) und ges. Natriumchlorid-Lösung (150 ml) gewaschen und die wässrigen Phasen mit Dichlormethan (2 x 100 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (500 g, 15 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 16.4 g (84 %); C₁₈H₂₄Cl₃NO₁₀ (520.74); blassgelber, amorpher Feststoff; $R_f = 0.59$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1); $[\alpha]_D^{22} = +4.4$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z: 542.4 ([M+Na]⁺; ber. 542.1); 458.6 ([M-AcOH]⁺; ber. 459.0).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 5.90-5.76 (m, 1H, CH-All); 5.31-5.21 (m, 2H, H3-Glc/=CH₂-All_{trans}); 5.17 (dd, 1H, $J = 10.5$ Hz, $J = 1.3$ Hz, =CH₂-All_{cis}); 5.13 (sb, 1H, NH); 5.04 (t, 1H, $J = 9.7$ Hz, H4-Glc); 4.74 (d, 1H, $J = 11.8$ Hz, CH₂-Troc); 4.67-4.63 (m, 2H, H1-Glc/CH₂-Troc); 4.33 (dd, 1H, $J = 13.1$ Hz, $J = 4.8$ Hz, CH₂-All_a); 4.25 (dd, 1H, $J = 12.5$ Hz, $J = 4.8$ Hz, H6_a-Glc); 4.11 (dd, 1H, $J = 12.1$ Hz, $J = 2.2$ Hz, H6_b-Glc); 4.06 (dd, 1H, $J = 12.9$ Hz, $J = 6.3$ Hz, CH₂-All_b); 3.69-3.59 (m, 2H, H2-Glc/H5-Glc); 2.06, 2.00, 1.99 (3s, 9H, CH₃-Ac).

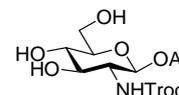
75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 170.7, 170.6, 169.4 (C=O-Ac); 154.0 (C=O-Troc); 133.3 (CH-All); 118.0 (=CH₂-All); 99.7 (C1-Glc); 95.4 (CCl₃-Troc); 74.4 (CH₂-Troc); 71.8, 71.7 (C3-/C5-Glc); 68.7 (C4-Glc); 62.1 (C6-Glc); 56.3 (C2-Glc); 20.7, 20.6, 20.5 (CH₃-Ac).

Allyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (15)

Eine Lösung von 16.4 g (31.5 mmol) Allyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**9**) in 350 ml Methanol wird durch Zutropfen von frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung auf pH \approx 8.5 eingestellt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4 h ist die Reaktion vollständig (DC-Kontrolle), und es wird durch Rühren mit dem sauren Ionentauscher *Amberlyst*[®] 15 neutralisiert. Die Reaktionsmischung wird anschließend filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. (unter pH-

Kontrolle) entfernt. Das erhaltene blassgelbe, amorphe Rohprodukt ist für die folgende Reaktion ausreichend sauber und wird ohne weitere Reinigung eingesetzt.

Ausbeute: 12.5 g (quant.); C₁₂H₁₈Cl₃NO₇ (394.63); blassgelber, amorpher Feststoff; R_f = 0.35 (Toluol/Ethanol, 4:1).



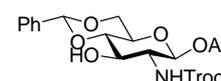
FD-MS (positiv) m/z : 394.7 ([M+H]⁺; ber. 394.0).

Allyl-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (16)

Methode A (Synthese-Serie):

Zu einer Lösung von 43.39 g (110.4 mmol) Allyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (**15**) in 1000 ml Acetonitril werden 33.3 ml (220.8 mmol) Benzaldehyd-dimethylacetal gegeben und die Reaktionsmischung mit *p*-Toluolsulfonsäure auf pH ≈ 3.5 eingestellt. Nach 16 h wird der Ansatz mit Hünigs-Base neutralisiert, das Lösungsmittel unter pH-Kontrolle i. Vak. entfernt und das erhaltene braune Öl durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1000 g, 30 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1) gereinigt.

Ausbeute: 36.8 g (69 %); C₁₉H₂₂Cl₃NO₇ (482.74); blassgelber, amorpher Feststoff; R_f = 0.36 (Cyclohexan/Ethylacetat, 3:2); [α]_D²² = -23.0 (c = 1.0, CHCl₃).



Methode B (Stabilitätstest) durch Aloc-Spaltung von 17:

Die Lösung von 595 mg (1.05 mmol) Allyl-3-*O*-allyloxycarbonyl-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (**17**) in 15 ml absol. Tetrahydrofuran wird mehrfach unter stark reduziertem Druck entgast und mit Argon geflutet. Anschließend werden 100 mg (0.09 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0)-Katalysator und 0.55 ml (6.30 mmol) Morpholin zugegeben. Die Reaktionsmischung wird erneut entgast, mit Argon geflutet und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 50 ml Dichlormethan verdünnt und die organische Phase mit dest. Wasser (15 ml) gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Die Reinigung des

Rohprodukts erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (50 g, 3.5 x 8 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1).

Ausbeute: 444 mg (88 %).

ESI-MS (positiv) m/z : 545.4 ($[M+CH_3CN+Na]^+$; ber. 545.1); 504.4 ($[M+Na]^+$; ber. 504.1).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 504.0377 ($[M+Na]$; ber. 504.0360).

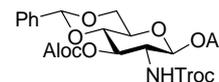
300 MHz- 1H -NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 7.49-7.45 (m, 2H, Ph_{meta} -Bzn); 7.37-7.34 (m, 3H, $Ph_{ortho/para}$ -Bzn); 5.92-5.78 (m, 1H, CH-All); 5.52 (s, 1H, CH-Bzn); 5.31-5.17 (m, 3H, =CH₂-All/NH); 4.76-4.69 (m, 2H, CH₂-Troc); 4.68 (d_b, 1H, $J = 8.1$ Hz, H1-Glc); 4.36-4.30 (m, 2H, CH₂-All/H6_a-Glc); 4.09-4.03 (m, 2H, CH₂-All/H4-Glc); 3.77 (t, 1H, $J = 10.3$ Hz, H6_b-Glc); 3.54 (t, 1H, $J = 9.2$ Hz, H3-Glc); 3.48-3.36 (m, 2H, H2-/H5-Glc); 2.99 (sb, 1H, 3-OH).

75.5 MHz- ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 154.5 (C=O-Troc); 136.9 (C_{ipso} -Bzn); 133.4 (CH-All); 129.3 (Ph_{para} -Bzn); 128.4 (Ph_{ortho} -Bzn); 126.3 (Ph_{meta} -Bzn); 118.1 (=CH₂-All); 101.9 (CH-Bzn); 100.0 (C1-Glc); 95.4 (CCl_3 -Troc); 81.4 (C3-Glc); 74.6 (CH₂-Troc); 70.6 (C4-Glc); 70.4 (CH₂-All); 68.6 (C6-Glc); 66.1 (C5-Glc); 58.8 (C2-Glc).

Allyl-3-O-allyloxycarbonyl-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- β -D-glucopyranosid (17)

Unter Kühlung auf -35 °C werden zu einer Lösung von 5.42 g (11.23 mmol) Allyl-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**16**) in 50 ml Dichlormethan und 75 ml Pyridin langsam über einen Zeitraum von 20 min 4.17 ml (39.33 mmol) Chlorameisensäureallylester hinzugegossen. Die Reaktionsmischung wird weitere 20 min bei dieser Temperatur gerührt und dann auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Waschen mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (50 ml) und Wasser (50 ml) wird die Lösung über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. und durch Kodestillation mit Toluol entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (125 g, 17 x 4 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 10:1).

Ausbeute: 4.40 g (69 %); C₂₃H₂₆Cl₃NO₉ (566.81); farbloser, amorpher Feststoff; $R_f = 0.29$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 5:1); $[\alpha]_D^{22} = -38.5$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z : 629.5 ([M+CH₃CN+Na]⁺; ber. 629.1); 588.4 ([M+Na]⁺; ber. 588.1).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 588.0557 ([M+Na]; ber. 588.0571).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.44-7.41 (m, 2H, Ph_{meta}-Bzn); 7.35-7.32 (m, 3H, Ph_{ortho/para}-Bzn); 5.96-5.73 (m, 2H, CH-All, CH-Aloc); 5.65 (d, 1H, NH); 5.49 (s, 1H, CH-Bzn); 5.31 (dd, 1H, =CH₂-Aloc); 5.27-5.18 (m, 3H, =CH₂-Aloc, =CH₂-All, H4-Glc); 5.13 (d, 1H, $J = 10.6$ Hz, =CH₂-All); 4.77-4.68 (m, 2H, CH₂-Troc); 4.67-4.55 (m, 2H, CH₂-Aloc); 4.49 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H1-Glc); 4.30 (dd, 1H, $J = 10.4$ Hz, $J = 4.9$ Hz, H6_a-Glc); 4.17 (ddt, 1H, $J = 13.1$, $J = 4.9$ Hz, $J = 1.5$ Hz, CH₂-All); 3.84 (dd, 1H, $J = 13.1$ Hz, $J = 5.7$ Hz, CH₂-All); 3.80-3.68 (m, 3H, H2-/H3-/H6_b-Glc); 3.57-3.50 (m, 1H, H5-Glc).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 155.0 (C=O-Aloc); 154.2 (C=O-Troc); 136.9 (C_{ipso}-Bzn); 133.3 (CH-All); 131.0 (CH-Aloc); 129.0 (Ph_{para}-Bzn); 128.2 (Ph_{ortho}-Bzn); 126.0 (Ph_{meta}-Bzn); 119.2 (=CH₂-Aloc); 117.6 (=CH₂-All); 101.3 (CH-Bzn); 100.8 (C1-Glc); 95.5 (CCl₃-Troc); 78.9 (C3-Glc); 75.1 (C4-Glc); 74.5 (CH₂-Troc); 70.5 (CH₂-All); 69.0 (CH₂-Aloc); 68.4 (C6-Glc); 65.9 (C5-Glc); 56.6 (C2-Glc).

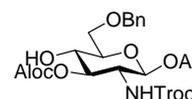
Allyl-3-allyloxycarbonyl-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (18)

Methode A:^[134]

Eine Lösung von 14.52 g (25.6 mmol) Allyl-3-O-allyloxycarbonyl-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**17**) wird in 200 ml absol. Dichlormethan gelöst, 10 g gepulvertes Molekularsieb (4Å) zugegeben und 1 h gerührt. Anschließend wird auf -78 °C abgekühlt und die Lösung mit 13.65 ml (84.5 mmol) Triethylsilan und 7.60 ml (87.1 mmol) Trifluormethansulfonsäure versetzt. Nach einstündigem Rühren bei dieser Temperatur wird die Reaktion durch Zugabe von 10 ml Methanol gestoppt, anschließend mit 10 ml Triethylamin neutralisiert und auf

Raumtemperatur erwärmt. Es wird mit 300 ml Dichlormethan verdünnt, die Reaktionsmischung filtriert, mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 100 ml) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Durch anschließende Flash-Chromatographie an Kieselgel (1000 g, 30 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1) wird das Rohprodukt gereinigt.

Ausbeute: 12.52 g (86 %); C₂₃H₂₈Cl₃NO₉ (568.83); blassgelbes Öl; $R_f = 0.36$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1); $[\alpha]_D^{22} = -19.0$ (c = 1.0, CHCl₃).



Methode B.^[132]

Unter Kühlung auf 0 °C wird eine Lösung von 1.12 g (2.0 mmol) Allyl-3-*O*-allyloxycarbonyl-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (**17**) und 0.62 g (10.5 mmol) Dimethylamin-Boran-Komplex in 25 ml Acetonitril mit 1.3 ml (10.5 mmol) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex versetzt und 90 min bei dieser Temperatur gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 20 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gestoppt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit Ethylacetat (3 x 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (50 g, 3.5 x 8 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1).

Ausbeute: 1.06 g (94 %).

Methode C:

Die Lösung von 12.0 g (17.6 mmol) des Silylethers Allyl-3-allyloxycarbonyl-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-4-triethylsilyl-β-D-glucopyranosid (**19**) in 250 ml Dichlormethan wird 3 h mit 5.0 g des sauren Ionenauschers *Amberlyst*[®] 15 bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird filtriert, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1200 g, 37 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 7:2) gereinigt.

Ausbeute: 8.91 g (89 %).

ESI-MS (*positiv*) *m/z*: 1157.2 ([2M+Na]⁺; ber. 1157.2); 590.1 ([M+Na]⁺; ber. 590.1).

ESI-HRMS (positiv) m/z: 590.0706 ([M+Na]; ber. 590.0727).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.35-7.27 (m, 5H, Ph-Bn); 5.93-5.78 (m, 2H, CH-Aloc, CH-All); 5.32 (dd, 2H, $J = 17.2$ Hz, $J = 1.2$ Hz, =CH₂-Aloc); 5.26-5.21 (m, 2H, =CH₂-All, NH); 5.15 (dd, 1H, $J = 10.6$ Hz, $J = 1.2$ Hz, =CH₂-All); 4.97 (t, 1H, $J = 9.8$ Hz, H3-Glc); 4.76-4.67 (m, 2H, CH₂-Troc); 4.61-4.52 (m, 5H, H1-Glc, CH₂-Aloc, CH₂-Bn); 4.31 (ddt, 1H, $J = 13.1$ Hz, $J = 5.1$ Hz, $J = 1.6$ Hz, CH₂-All); 4.04 (ddt, 1H, $J = 12.3$ Hz, $J = 6.3$ Hz, $J = 1.2$ Hz, CH₂-All); 3.79-3.74 (m, 3H, H4-/H6-Glc); 3.60 (dd, 1H, $J = 19.0$ Hz, $J = 8.8$ Hz, H2-Glc); 3.55-3.50 (m, 1H, H5-Glc); 2.59 (s_b, 1H, 4-OH-Glc).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 155.5 (C=O-Aloc); 154.1 (C=O-Troc); 137.5 (C_{ipso}-Bn); 133.5 (CH-All); 131.1 (CH-Aloc); 128.5 (Ph_{para}-Bn); 127.9 (Ph_{ortho}-Bn); 127.7 (Ph_{meta}-Bn); 119.3 (=CH₂-Aloc); 117.7 (=CH₂-All); 99.7 (C1-Glc); 95.5 (CCl₃-Troc); 78.5 (C3-Glc); 74.4 (CH₂-Troc); 73.7 (C5-Glc, CH₂-Bn); 70.8 (C4-Glc); 70.5 (C6-Glc, CH₂-All); 69.1 (CH₂-Aloc); 56.1 (C2-Glc).

Allyl-3-allyloxycarbonyl-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-4-triethylsilyl- β -D-glucopyranosid (19)

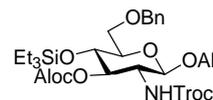
Reaktionsführung ähnlich der Herstellung von 18 Methode A:

Eine Lösung von 11.3 g (20.0 mmol) Allyl-3-O-allyloxycarbonyl-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**17**) in 200 ml absol. Dichlormethan wird 1 h über 10.0 g gepulvertem Molekularsieb (4Å) gerührt. Anschließend wird auf -78 °C abgekühlt und die Lösung mit 10.65 ml (66.0 mmol) Triethylsilan und 5.93 ml (68.0 mmol) Trifluormethansulfonsäure versetzt, wodurch eine kräftige Rotfärbung eintritt. Nach 1 h Rühren bei dieser Temperatur wird die Reaktion durch Zugabe von 9 ml Triethylamin neutralisiert bis zum Farbumschlag von rot zu gelb und danach mit 9 ml Methanol versetzt. Die Reaktionsmischung wird auf Raumtemperatur erwärmt und nach Verdünnen mit 300 ml Dichlormethan filtriert, mit ges. Natriumhydrogensulfat-Lösung (2 x 100 ml) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Durch anschließende Flash-Chromatographie an Kieselgel (800 g, 25 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1) wird das Rohprodukt gereinigt.

Ausbeute: 12.4 g (91 %); C₂₉H₄₂Cl₃NO₉Si (683.09); amorpher Feststoff;

$R_f = 0.44$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 4:1); $R_t = 30.9$ min (Säule A; Gradient A;

204 nm); $[\alpha]_D^{22} = -9.6$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z : 706.2 ([M+Na]⁺; ber. 706.2); 1389.4 ([M+Na]⁺; ber. 1389.3).

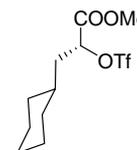
ESI-HRMS (positiv) m/z : 704.1614 ([M+Na]; ber. 704.1592).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.32-7.24 (m, 5H, Ph-Bn); 5.93-5.79 (m, 2H, CH-Aloc, CH-All); 5.33 (ddd, 2H, $J = 17.2$ Hz, $J = 2.8$ Hz, $J = 1.6$ Hz, =CH₂-Aloc); 5.27-5.26 (m, 2H, =CH₂-Aloc, =CH₂-All); 5.20 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz, NH-Glc); 5.14 (dd, 1H, $J = 10.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, =CH₂-All); 4.82-4.76 (m, 2H, H₃-Glc/CH₂-Troc_a); 4.63-4.53 (m, 5H, CH₂-Troc_b, CH₂-Aloc, CH₂-Bn); 4.52 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H₁-Glc); 4.33 (ddt, 1H, $J = 12.9$ Hz, $J = 4.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, CH₂-All); 4.06 (ddt, 1H, $J = 13.3$ Hz, $J = 6.3$ Hz, $J = 1.4$ Hz, CH₂-All); 3.79 (t, 1H, $J = 9.0$ Hz, H₄-Glc); 3.71 (dd, 1H, $J = 10.8$ Hz, $J = 2.2$ Hz, H_{6a}-Glc); 3.68-3.62 (m, 2H, H_{6b}-/H₂-Glc); 3.44 (ddd, 1H, $J = 9.0$ Hz, $J = 5.2$ Hz, $J = 1.8$ Hz, H₅-Glc); 0.86 (9H, t, $J = 8.0$ Hz, CH₃-OSiEt₃); 0.55-0.48 (m, 6H, CH₂-OSiEt₃).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 155.3 (C=O-Aloc); 154.1 (C=O-Troc); 138.0 (C_{ipso}-Bn); 133.6 (CH-All); 131.1 (CH-Aloc); 128.3 (Ph_{para}-Bn); 127.6 (Ph_{ortho}-Bn); 127.5 (Ph_{meta}-Bn); 119.2 (=CH₂-Aloc); 117.4 (=CH₂-All); 99.9 (C₁-Glc); 95.5 (CCl₃-Troc); 79.0 (C₃-Glc); 76.2 (C₅-Glc); 74.4 (CH₂-Troc); 73.5 (CH₂-Bn); 69.8 (CH₂-All); 69.4 (C₄-Glc); 68.9 (CH₂-Aloc); 68.7 (C₆-Glc); 56.4 (C₂-Glc); 6.7 (CH₃-OSiEt₃); 4.8 (CH₂-OSiEt₃).

5.2.3 Die Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins

(R)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäure-methylester (24)



(R)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure (21)^[131, 135, 170]

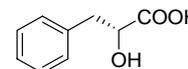
Zu einer Lösung von 4.8 g (29.1 mmol) D-Phenylalanin (**20**) in 50 ml 0.5 M wässriger Schwefelsäure wird bei 0 °C langsam eine Lösung von 3.0 g (44.6 mmol) Natriumnitrit in 15 ml Wasser getropft. Die Reaktionsmischung wird 3 h bei 0 °C und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit Diethylether extrahiert (3 x 20 ml), die vereinigten organischen Phasen mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen (2 x 15 ml), über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Kristallisation aus Ethylacetat liefert das Produkt in farblosen, nadelförmigen Kristallen.

Ausbeute: 3.10 g (65 %), Lit.:^[131] 65 %, Lit.:^[170] 75 %; C₉H₁₀O₃ (166.07);

farblose, nadelförmige Kristalle; *R_f* = 0.50 (Ethylacetat/Essigsäure, 20:1);

Smp: 121-122 °C, Lit.:^[135] 123-124 °C, Lit.:^[170] 126-126.5 °C; $[\alpha]_D^{22} = +25.8$

(c = 1.0, CHCl₃), Lit.:^[131] $[\alpha]_D^{23} = +21$ (c = 1.0, H₂O).



FD-MS (positiv) m/z : 166.3 ([M]⁺; ber. 166.1); 83.1 ([M]²⁺; ber. 83.0).

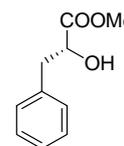
300 MHz-¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 12.45 (s, 1H, COOH); 7.35-7.15 (m, 5H, Ph); 5.27 (s, 1H, OH); 4.13 (dd, 1H, *J*_{CH,CH_{2b}} = 8.1 Hz, *J*_{CH,CH_{2a}} = 4.4 Hz, CH); 2.98 (dd, 1H, *J*_{CH_{2a},CH_{2b}} = 13.6 Hz, *J*_{CH_{2a},CH} = 4.4 Hz, CH_{2a}); 2.77 (dd, 1H, *J*_{CH_{2b},CH_{2a}} = 13.8 Hz, *J*_{CH_{2b},CH} = 8.3 Hz, CH_{2b}).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 175.2 (COOH); 138.2 (C_{quart-Ph}); 129.5 (C_{meta-Ph}); 128.1 (C_{ortho-Ph}); 126.2 (C_{para-Ph}); 71.2 (CHOH); 40.1 (CH₂).

(R)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure-methylester (22)^[131]

Eine Lösung von 40.11 g (241.4 ml) (R)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure (**21**) in 1000 ml absol. Methanol wird 16 h über 20.0 g saurem Ionentauscher *Dowex*[®] 50WX8-200 gerührt. Anschließend wird filtriert, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das erhaltene Rohprodukt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (650 g, 19 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 43.4 g (quant.); C₁₀H₁₂O₃ (180.20); blassgelbes Öl; $R_f = 0.28$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1); $[\alpha]_D^{22} = +7.4$. (c = 1.0, CHCl₃), Lit.:^[131] $[\alpha]_D^{23} = +7$ (c = 1.0, CHCl₃).



FD-MS (positiv) m/z : 180.4 ($[M]^+$; ber. 180.1).

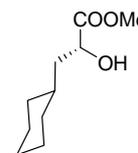
300 MHz-¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 7.27-7.18 (m, 5H, Ph); 5.56 (s, 1H, OH); 4.23 (ddd, 1H, $J_{CH,CH_2b} = 8.1$ Hz, $J_{CH,OH} = 6.2$ Hz, $J_{CH,CH_2a} = 5.1$ Hz, CH); 3.59 (s, 3H, COOMe); 2.94 (dd, 1H, $J_{CH_2a,CH_2b} = 13.6$ Hz, $J_{CH_2a,CH} = 4.4$ Hz, CH_{2a}); 2.80 (dd, 1H, $J_{CH_2b,CH_2a} = 13.6$ Hz, $J_{CH_2b,CH} = 8.3$ Hz, CH_{2b}).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 174.0 (COOMe); 137.8 (C_{quart-Ph}); 129.5 (C_{meta-Ph}); 128.1 (C_{ortho-Ph}); 126.4 (C_{para-Ph}); 71.4 (CHOH); 51.5 (CH₃); 40.2 (CH₂).

(R)-2-Hydroxy-3-cyclohexylpropansäure-methylester (23)^[131, 137]

20.0 g (111 mmol) (R)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure-methylester (**22**) werden in 500 ml dest. Wasser/Tetrahydrofuran 1:1 (v/v) gelöst und mehrfach entgast und mit Argon geflutet. 1.0 g des Rhodium-Katalysators (5 % auf aktiviertem Aluminiumoxid) werden zugegeben und die Reaktionsmischung anschließend erneut mehrfach entgast und mit Wasserstoff geflutet. Man rührt 5 d unter Lichtausschluss und Wasserstoffatmosphäre bis die Reaktion vollständig ist (DC-Kontrolle). Die Reaktionsmischung wird über *Hyflo*[®] filtriert und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (150 g, 15 x 5.5 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 5:1).

Ausbeute: 18.2 g (88 %), Lit.:^[131] 89 %; C₁₀H₁₈O₃ (186.25); farbloses Öl; $R_f = 0.42$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1); $[\alpha]_D^{22} = -3.2$ (c = 1.0, CHCl₃), Lit.:^[131] $[\alpha]_D^{23} = -2$ (c = 1.0, CHCl₃).



FD-MS (positiv) m/z : 186.3 ($[M]^+$; ber. 186.3).

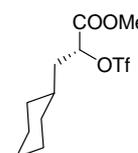
300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 4.21 (m_c, 1H, CHCOOMe); 3.74 (s, 3H, COOCH₃); 2.68 (s_b, 1H, OH); 1.80 (d, 1H, $J = 12.7$ Hz, CH_{2a}CHCOOMe); 1.65-1.48 (m, 7H, CH_{2a}CHCOOMe, CH₂-*cHex*, CH-*cHex*); 1.31-1.10 (m, 3H, CH₂-*cHex*); 0.98-0.80 (m, 2H, CH₂-*cHex*).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 176.5 (C=O); 68.6 (CHCOOMe); 52.5 (COOCH₃); 42.2 (CH₂CHCOOMe); 33.9 (CH₂-*cHex*); 33.6 (CH-*cHex*); 32.3, 26.5, 26.2, 26.0 (CH₂-*cHex*).

(R)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäure-methylester (24)^[131, 137]

Zur Lösung von 33.0 g (177.2 mmol) (R)-2-Hydroxy-3-cyclohexylpropansäure-methylester (**23**) in 800 ml absol. Dichlormethan werden unter Argonatmosphäre bei 0 °C 38.2 ml (65.0 g, 230.3 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid zugegeben. Anschließend tropft man innerhalb von 30 min 23.7 ml (21.8 g, 203.8 mmol) 2,6-Dimethylpyridin zur Reaktionsmischung und rührt weitere 30 min bei 0 °C. Danach wird die Reaktionslösung mit 300 ml 1 M Dikaliumhydrogenphosphat-Lösung versetzt, die Phasen getrennt und die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. wird das erhaltene Rohprodukt flash-chromatographisch (750 g, 23 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 5:1) gereinigt und das Produkt bei -30 °C gelagert.

Ausbeute: 49.7 g (89 %); Lit.:^[137] 86 %, Lit.:^[131] 91 %; C₁₁H₁₇F₃O₅S (318.31); farbloses Öl; $R_f = 0.47$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1); $[\alpha]_D^{22} = +41.9$ (c = 1.0, CHCl₃), Lit.:^[131] $[\alpha]_D^{23} = +41$ (c = 1.0, CHCl₃).



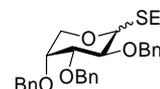
FD-MS (positiv) m/z : 319.6 ($[M+H]^+$; ber. 319.3).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 5.17 (dd, 1H, *J* = 9.4 Hz, *J* = 3.9 Hz, CH); 3.82 (s, 3H, OCH₃); 1.91 (ddd, 1H, *J* = 14.5 Hz, *J* = 9.6 Hz, *J* = 4.9 Hz, C₆H₁₁-CH₂); 1.82-1.74 (m, 2H, CH₂-Kette, CH₂-*cHex*_{ortho}); 1.73-1.63 (m, 4H, CH₂-*cHex*_{meta/para}, CH₂-*cHex*_{ortho}); 1.49-1.38 (m, 1H, CH-*cHex*_{ipso}); 1.30-1.10 (m, 3H, CH₂-*cHex*_{meta/para}); 1.01-0.86 (m, 2H, CH₂-*cHex*_{ortho}).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 168.1 (C=O); 118.4 (q, *J* = 320.0 Hz, CF₃); 81.7 (C_{tert}); 53.2 (OCH₃); 39.3 (C₆H₁₁-CH₂); 33.4, 31.9 (CH₂-*cHex*_{ortho}); 33.2 (CH-*cHex*_{ipso}); 26.1, 25.9, 25.7 (CH₂-*cHex*_{meta/para}).

5.2.4 Die Synthese des Arabinose-Bausteins

Ethyl-2,3-4-tri-*O*-benzyl-1-thio- α,β -D-arabinopyranosid (32)



1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- α,β -D-arabinopyranose (26)

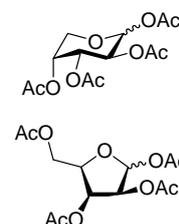
(α,β -Ac₄-Ara)

Zur Suspension von 58.2 g (388 mmol) D-Arabinose in 1000 ml Pyridin werden innerhalb von 30 min 500 ml Essigsäureanhydrid getropft und die sich rasch aufklarende gelbe Lösung 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Hochvak. entfernt und der ölige Rückstand mit Toluol kodestilliert (3 x 75 ml). Das Rohprodukt wird in 500 ml Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser gewaschen (2 x 100 ml). Danach wird die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird über eine 5 cm dicke Kieselgelschicht (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2) filtriert und das Produkt ohne weitere Reinigung direkt zum Thioarabinopyranosid **28** umgesetzt. Neben der Pyranose-Form entstehen auch die anomeren Furanose-Formen **27**, die sich jedoch dünnschichtchromatographisch nicht unterscheiden lassen.

Ausbeute: 123.5 g (quant. bez. auf alle vier Isomere); gelbes Öl;

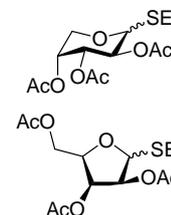
R_f = 0.46 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1),

(α)-Pyranose:(β)-Pyranose:(α)-Furanose:(β)-Furanose = 1.00:1.39:0.61:0.41



Ethylacetat, 5:1) gereinigt. Dabei werden geringe Mengen der reinen α -Pyranose, der Großteil des Produktes jedoch als α,β -Gemisch der Pyranose- und Furanose-Form erhalten. Außerdem können die nicht umgesetzte 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- β -D-arabino-pyranose (**26 β**) und -furanose (**27 β**) zurückgewonnen werden.

Ausbeute: 37.8 g (30 % bez. auf D-Arabinose); farbloses Öl; $R_f = 0.67$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1).



$C_{13}H_{20}O_7S$ (320.36) Ber.: C: 48.74 H: 6.29 S: 10.01
 Gef.: C: 49.15 H: 6.37 S: 10.27

α -Anomer (**28a**):

300 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 5.26 (m_c, 1H, H4-Ara); 5.19 (t, 1H, $J = 8.9$ Hz, H2-Ara); 5.03 (dd, 1H, $J = 8.9$ Hz, $J = 3.3$ Hz, H3-Ara); 4.48 (d, 1H, $J = 8.7$ Hz, H1-Ara); 4.05 (dd, 1H, $J = 12.9$ Hz, $J = 3.3$ Hz, H5_a-Ara); 3.63 (dd, 1H, $J = 12.9$ Hz, $J = 1.8$ Hz, H5_b-Ara); 2.77-2.58 (m, 2H, CH_2CH_3); 2.11, 2.05, 2.00 (3s, 9H, CH_3-Ac); 1.23 (t, 3H, $J = 7.7$ Hz, CH_2CH_3).

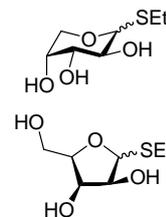
75.5 MHz-¹³C-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 170.0, 169.7, 169.5 (C=O-Ac); 83.9 (C1-Ara); 70.8, 68.1, 67.9 (C2-/C3-/C4-Ara); 66.1 (C5-Ara); 24.5 (CH_2-SEt); 20.9, 20.8, 20.7 (CH_3-Ac); 14.8 (CH_3-SEt).

Ethyl-1-thio- α,β -D-arabinopyranosid (**30**)

(α,β -Ara-SEt)

Eine Lösung von 33.5 g (105 mmol) der Isomerenmischung Ethyl-2,3-4-tri-*O*-acetyl-1-thio- α,β -D-arabinopyranosid (**28**) und -furanosid (**29**) in 500 ml Methanol wird durch Zutropfen von frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung auf $pH \approx 10$ eingestellt und anschließend 16 h gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung durch Rühren über dem sauren Ionenaustauscherharz *Amberlyst*[®] 15 neutralisiert, das Harz abfiltriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung und Charakterisierung direkt zum benzylierten Thioarabinopyranosid **32** umgesetzt.

Ausbeute: 20.3 g (quant.); C₇H₁₄O₄S (194.25); gelbes Öl; $R_f = 0.34$ und 0.48 (Toluol/Ethanol, 3:1).

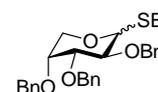


Ethyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1-thio- α,β -D-arabinopyranosid (**32**)

(α,β -Bn₃-Ara-SEt)

Zu einer Lösung von 20.3 g (104.6 mmol) Ethyl-1-thio- α,β -D-arabinopyranosid (**30**) in 500 ml *N,N*-Dimethylformamid werden bei 0 °C 16.72 g (418.4 mmol) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl portionsweise zugegeben. Nach vollendeter Zugabe wird die Eiskühlung entfernt, die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur erwärmt und eine Stunde gerührt. Es werden 50.0 ml (71.56 g; 418.4 mmol) Benzylbromid zugespritzt und der Ansatz 16 h gerührt. Die Reaktion wird dann durch Zugabe von 70 ml Methanol gestoppt und das Lösungsmittel durch Kodestillation mit Toluol unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wird der Rückstand in 400 ml Dichlormethan aufgenommen, mit dest. Wasser (3 x 150 ml) gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wird auf Kieselgel aufgezogen und durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1000 g, 30 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 20:1) gereinigt. Neben 31.5 g (65 %) des gewünschten Produkts als α -Anomer (**32 α**) werden 7.2 g (15 %) einer Mischfraktion des β -Anomers (**32 β**) und der Furanose-Formen (**33**) erhalten ($R_f = 0.44$; Cyclohexan/Ethylacetat, 10:1).

Ausbeute: 31.5 g (65 %); schwach gelbes Öl; $R_f = 0.21$, (Cyclohexan/Ethylacetat, 10:1); $[\alpha]_D^{22}(\alpha) = +16.2$ ($c = 1.0$, CHCl₃).



C₂₈H₃₂O₄S (464.62) Ber.: C: 72.38 H: 6.94 S: 6.90

Gef.: C: 72.41 H: 6.99 S: 7.10

ESI-MS (positiv) m/z : 487.1 ([M+Na]⁺; ber. 487.2); 503.0 ([M+K]⁺; ber. 503.2).

α-Pyranose:

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.31-7.27 (m, 15H, Ph-Bn); 4.77 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz, CH₂-Bn); 4.73 (d, 1H, $J = 11.4$ Hz, CH₂-Bn); 4.70 (d, 1H, $J = 11.3$ Hz, CH₂-Bn); 4.67-4.56 (m, 3H, CH₂-Bn); 4.57 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz, H1-Ara); 4.17 (dd, 1H,

$J = 12.1$ Hz, $J = 4.8$ Hz, H5_a-Ara); 3.81 (t, 1H, $J = 7.4$ Hz, H2-Ara); 3.76 (m_c, 1H, H4-Ara); 3.60 (dd, 1H, $J = 7.5$ Hz, $J = 3.1$ Hz, H3-Ara); 3.35 (dd, 1H, $J = 12.1$ Hz, $J = 2.2$ Hz, H5_b-Ara); 2.70 (m_c, 2H, CH₂-SEt); 1.29 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz, CH₃-SEt).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 138.3, 138.23, 138.17 (C_{ipso}-Bn); 128.4, 128.1, 127.8, 127.7, 127.64, 127.59 (Ph-Bn); 84.6 (C1-Ara); 79.2 (C3-Ara); 77.9 (C2-Ara); 74.6 (CH₂-Bn); 72.3 (C4-Ara); 72.2, 71.0 (CH₂-Bn); 63.9 (C5-Ara); 25.3 (CH₂-SEt); 15.0 (CH₃-SEt).

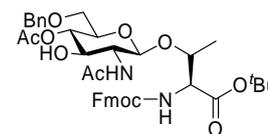
β -Furanose-Form:

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.28-7.26 (m, 15H, Ph-Bn); 5.41 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H1-Fur); 4.64 (d, 1H, $J = 11.7$ Hz, CH₂-Bn); 4.62 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn); 4.57 (d, 1H, $J = 11.9$ Hz, CH₂-Bn); 4.55 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn); 4.50 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, CH₂-Bn); 4.34-4.32 (m, 1H, H4-Fur); 4.02-4.00 (m, 2H, H2-/H3-Fur); 3.70 (dd, 1H, $J = 10.9$ Hz, $J = 3.7$ Hz, H5_a-Fur); 3.65 (dd, 1H, $J = 10.8$ Hz, $J = 5.0$ Hz, H5_b-Fur); 2.77 (dq, 1H, $J = 12.9$ Hz, $J = 7.4$ Hz, CH_{2a}-SEt); 2.67 (dq, 1H, $J = 12.9$ Hz, $J = 7.4$ Hz, CH_{2b}-SEt); 1.33 (t, 1H, $J = 7.4$ Hz, CH₃-SEt).

100.6 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 138.1, 137.8, 137.5 (C_{ipso}-Bn); 128.4, 128.0, 128.0, 127.92, 127.89, 127.86, 127.8, 127.6 (Ph-Bn); 88.8 (C1-Fur); 87.2 (C2-Fur); 83.6 (C3-Fur); 80.0 (C4-Fur); 73.4, 72.3, 72.0 (CH₂-Bn); 69.1 (C5-Fur); 25.3 (CH₂-SEt); 14.9 (CH₃-SEt).

5.2.5 Die Synthese des Glycosylaminosäure-Bausteins

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-4-*O*-acetyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (53)**

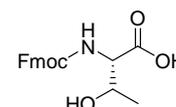


***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-threonin (35)**^[171, 172]

[Fmoc-Thr-OH]

78.4 g (232.3 mmol) *N*-(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy)succinimid werden unter Rühren portionsweise zu einer Suspension von 27.9 g (234.2 mmol) L-Threonin (**34**) und 19.5 g (232.2 mmol) Natriumhydrogencarbonat in 1200 ml Aceton/Wasser (1:1) gegeben. Nach 24 h Rühren bei Raumtemperatur ist die Reaktion vollständig (DC-Kontrolle), und die klare Reaktionsmischung wird mit konz. Salzsäure auf pH \approx 2 angesäuert. Das Aceton wird i. Vak. entfernt und die verbliebene wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert (1 x 800 ml + 2 x 200 ml). Anschließend werden die vereinigten organischen Phasen mit 1 M Salzsäure (2 x 300 ml) und dest. Wasser (2 x 150 ml) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt (starkes Schäumen!). Das Rohprodukt ist für die folgende Reaktion ausreichend rein und wird daher ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: quant.; C₁₉H₁₉NO₅ (341.36); blassgelber, amorpher Feststoff;
R_f = 0.67 (Ethylacetat/Essigsäure, 10:1).



ESI-MS (negativ) *m/z*: 1060.4 [3M-2H+K]⁻; ber. 1060.4); 1044.6 ([3M-2H+Na]⁻; ber. 1044.4); 703.4 ([2M-2H+Na]⁻; ber. 703.3); 681.4 ([2M-H]⁻; ber. 681.3); 340.2 ([M-H]⁻; ber. 340.1).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-threonin-*tert*-butylester (36)**^[140, 141]

[Fmoc-Thr-O^tBu]

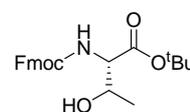
Unter Lichtausschluss und Argon-Atmosphäre wird eine Mischung von 50.5 g (244.8 mmol) *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid, 25.1 g (338.6 mmol) *tert*-Butanol und 0.6 g

(6.1 mmol) wasserfreiem Kupfer(I)-chlorid für 5 d bei Raumtemperatur gerührt. Die dunkelgrüne Reaktionsmischung wird mit 100 ml absol. Dichlormethan verdünnt und innerhalb von 45 min unter Kühlung im Wasserbad eine Lösung von 28.0 g (max. 82.0 mmol) rohem *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-threonin (**35**) in 100 ml absol. Dichlormethan hinzu kanüliert. Nach Rühren für 3 h bei Raumtemperatur wird die inzwischen sehr trübe Reaktionsmischung durch Filtration vom ausgefallenen Dicyclohexylharnstoff befreit und dieser mehrfach mit eiskaltem Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wird i. Vak. auf ca. 75 ml eingeengt und weiterer Dicyclohexylharnstoff abfiltriert. Anschließend wird das Filtrat mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen (2 x 100 ml + 2 x 50 ml), über Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird in wenig Ethylacetat aufgenommen und für mehrere Stunden bei -20 °C aufbewahrt, wodurch weiterer Dicyclohexylharnstoff ausfällt und durch Filtration abgetrennt werden kann. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das erhaltene gelbe, ölige Rohprodukt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1000 g, 30 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1) und anschließender Umkristallisation aus Diethylether/Petrolether gereinigt.

Ausbeute: 21.2 g (65 %); C₂₃H₂₇NO₅ (397.46); farbloser, kristalliner Feststoff;

$R_f = 0.44$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1); $[\alpha]_D^{22} = -10.8$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:^[173]

$[\alpha]_D^{22} = -11.4$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:^[140] $[\alpha]_D^{22} = -9.5$ (c = 1.05, CHCl₃).



FD-MS (positiv) m/z : 398.0 ($[M]^+$; ber. 397.2).

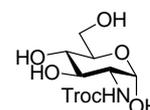
300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.74 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H4-/H5-*Fmoc*); 7.60 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H1-/H8-*Fmoc*); 7.38 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, H3-/H6-*Fmoc*); 7.29 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, H2-/H7-*Fmoc*); 5.62 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, NH-*Urethan*); 4.39 (d, 2H, $J = 7.0$ Hz, CH₂-*Fmoc*); 4.29-4.19 (m, 3H, H9-*Fmoc*, Thr ^{α} , Thr ^{β}); 2.18 (d, 1H, $J = 5.5$ Hz, OH); 1.47 (3s, 9H, CH₃-*tBu*); 1.23 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Thr ^{γ}).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 170.2 (C=O-*Thr*); 156.7 (C=O-*Fmoc*); 143.8 (C8a-/C9a-*Fmoc*); 141.3 (C4a-/C4b-*Fmoc*); 127.7 (C3-/C6-*Fmoc*); 127.1 (C2-/C7-*Fmoc*); 125.1 (C1-/C8-*Fmoc*); 120.0 (C4-/C5-*Fmoc*); 82.6 (C_{quart}-*tBu*); 68.3 (Thr ^{β}); 67.2 (CH₂-*Fmoc*); 59.6 (Thr ^{α}); 47.2 (C9-*Fmoc*); 28.0 (CH₃-*tBu*); 19.9 (Thr ^{γ}).

2-Desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- α -D-glucofuranose (11)^[174][α -GlcNTroc]

5.0 g (23.2 mmol) Glucosamin-Hydrochlorid (**10**) und 5.0 g (59.5 mmol) Natriumhydrogencarbonat werden in 75 ml dest. Wasser gelöst und unter Kühlung im Eisbad und starkem Rühren langsam 4.8 ml (35.6 mmol) 2,2,2-Trichlorethoxy-carbonylaminochlorid hinzugesetzt. Nach zweistündigem Rühren im Eisbad wird weitere 16 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend die zähe Reaktionsmischung filtriert, der Filterkuchen mit dest. Wasser und Diethylether gewaschen und i. Vak. vom restlichen Lösungsmittel befreit. Das erhaltene Rohprodukt ist bereits ausreichend sauber und wird ohne weitere Reinigung zur acetylierten Verbindung **8** umgesetzt.

Ausbeute: 7.01 g (85 %); C₉H₁₄Cl₃NO₇ (354.57); farblos, amorpher Feststoff; $R_f = 0.51$ (Ethylacetat/Methanol, 8:1).



ESI-MS (positiv) m/z : 375.9 ([M+Na]⁺; ber. 376.0); 336.0 ([M-H₂O+H]⁺; ber. 336.0); 299.9 ([M-3H₂O+H]⁺; ber. 300.0).

300 MHz-¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 7.42 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, NH); 6.45 (d, 1H, $J = 4.8$ Hz, H1-Glc); 4.99-4.89 (m, 2H, H3-/H4-Glc); 4.79 (d, 1H, $J = 12.4$ Hz, CH₂-Troc); 4.73 (d, 1H, $J = 12.4$ Hz, CH₂-Troc); 4.74-4.67 (m, 1H, H5-Glc); 4.43 (t, 1H, $J = 5.7$ Hz, H2-Glc); 3.70-3.50 (m, 2H, H6-Glc); 3.49-3.00 (m, 4H, OH).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 154.6 (C=O-Troc); 96.31 (CCl₃-Troc); 90.6 (C1-Glc); 73.6 (CH₂-Troc); 72.1, 71.1, 70.1 (C3-/C4-/C5-Glc); 61.2 (C6-Glc); 56.8 (C2-Glc).

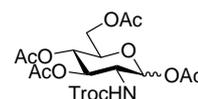
1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- α/β -D-glucofuranose (8)^[127, 128][Ac₄-GlcNTroc]

Unter Kühlung im Wasserbad werden bei Raumtemperatur 30 ml (319.0 mmol) Essigsäureanhydrid zu einer Lösung von 10.0 g (28.2 mmol) 2-Desoxy-2-(2,2,2-trichlor-

ethoxycarbonylamino)- α -D-glucopyranose (**11**) in 50 ml Pyridin getropft. Die Reaktionsmischung wird 16 h bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel i. Vak. durch mehrfache Kodestillation mit Toluol entfernt und anschließend das braune Rohprodukt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (150 g, 20 x 4 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:2) gereinigt.

Ausbeute: 14.5 g (98 %); C₁₇H₂₂Cl₃NO₁₁ (522.72); farbloser, amorpher

Feststoff; $R_f = 0.45$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 3:2); $[\alpha]_D^{22} = +65.3$ (c = 1.0,



CHCl₃); $\alpha:\beta \approx 7:1$ (¹H-NMR).

ESI-MS (positiv) m/z : 585.3 ([M+MeCN+Na]⁺; ber. 585.1); 544.4 ([M+Na]⁺; ber. 544.0); 484.3 ([M-AcOH+Na]⁺; ber. 484.0); 424.2 ([M-2AcOH+Na]⁺; ber. 424.0); 364.2 ([M-3AcOH +Na]⁺; ber. 364.0).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 6.20 (d, 1H, $J = 3.7$ Hz, H1-Glc); 5.28 (d, 1H, $J = 5.1$ Hz, NH); 5.24 (d, 1H, $J = 10.3$ Hz, H3-Glc); 5.17 (t, 1H, $J = 9.7$ Hz, H4-Glc); 4.79 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Troc); 4.59 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Troc); 4.25 (dd, 1H, $J = 13.1$ Hz, $J = 4.6$ Hz, H6_a-Glc); 4.18 (dd, 1H, $J = 9.9$ Hz, $J = 6.6$ Hz, H6_b-Glc); 4.12-4.04 (m, 1H, H2-Glc); 4.03-3.95 (m, 1H, H5-Glc); 2.17, 2.06, 2.01, 2.00 (4s, 12H, CH₃-Ac).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 171.2, 170.6, 169.1, 168.6 (C=O-Ac); 154.0 (C=O-Troc); 95.2 (CCl₃-Troc); 90.4 (C1-Glc); 74.6 (CH₂-Troc); 70.4, 69.7, 67.5 (C3-/C4-/C5-Glc); 61.5 (C6-Glc); 53.2 (C2-Glc); 20.6 (CH₃-Ac).

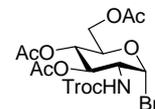
3,4,6-Tri-O-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- α -D-glucopyranosylbromid (43**)^[127]**

[α -Ac₃-GlcNTroc-Br]

Das Anomerengemisch von Ac₄-GlcNTroc (**8**) (14.51 g, 27.8 mmol) wird in 80 ml Eisessig gelöst, mit 80 ml (463.0 mmol) einer 33%igen Lösung von Bromwasserstoff in Essigsäure versetzt und die resultierende gelbe Lösung 16 h gerührt. Anschließend wird die dann rotbraune Lösung mit 150 ml Dichlormethan verdünnt und auf Eis gegossen. Der Ansatz wird mit festem Natriumhydrogencarbonat weitgehend neutralisiert, die organische Phase

abgetrennt und mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x 50 ml) und dest. Wasser (50 ml) gewaschen. Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. liefert das braune Rohprodukt, das ohne weitere Reinigung umgehend zur Glycosylaminosäure **44** umgesetzt wird.

Ausbeute: quant.; C₁₅H₁₉BrCl₃NO₉ (543.58); braunes Öl.

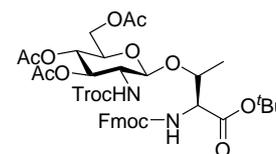


ESI-MS (positiv) m/z : 543.4 ([M+H]⁺; ber. 543.9).

N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosyl)-L-threonin-tert-butylester (44**)**^[171]
[Fmoc-Thr(β-Ac₃-GlcNTroc)-O^tBu]

5.6 g (14.0 mmol) Fmoc-Thr-O^tBu (**36**) werden in 200 ml absol. Dichlormethan/absol. Toluol (1:1) gelöst und 30 min über 20 g gepulvertem Molekularsieb (4Å) gerührt. Anschließend werden 7.7 g (27.8 mmol) Silbercarbonat und 1.1 g (5.5 mmol) Silberperchlorat (zuvor durch dreimalige Kodestillation mit Toluol getrocknet) hinzu gegeben und die Reaktionsmischung unter Lichtausschluss gerührt. Nach weiteren 30 min wird eine Lösung von 15.1 g (max 27.8 mmol) des rohen α-Ac₃-GlcNTroc-Br **43** in 400 ml absol. Dichlormethan/absol. Toluol (1:1) hinzu kanüliert (über 1 h) und die Mischung für 16 h gerührt. Anschließend wird mit 250 ml Dichlormethan verdünnt, über Hyflo[®] filtriert und die klare, braune Lösung mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 200 ml) und ges. Natriumchlorid-Lösung (2 x 150 ml) gewaschen. Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. liefert das braune Rohprodukt, das durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (750 g, 23 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1) gereinigt wird.

Ausbeute: 8.66 g (72 % bezogen auf Fmoc-Thr-O^tBu **36**);
C₃₈H₄₅Cl₃N₂O₁₄ (860.13); farbloser, amorpher Feststoff; *R*_f = 0.24
(Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1); [α]_D²² = -9.7 (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z : 881.5 ([M+Na]⁺; ber. 881.2).

400 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 7.83 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz; H4-/H5-*Fmoc*); 7.64 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, H1-/H8-*Fmoc*); 7.37 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, H3-/H6-*Fmoc*); 7.30 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz, H2-/H7-*Fmoc*); 5.32-5.24 (m, 2H, H3-*Gla*/NH); 5.03 (t, 1H, $J = 9.8$ Hz, H4-*Gla*); 4.77-4.66 (m, 2H, CH_2 -*Troc*); 4.64 (d, 1H, $J = 4.7$ Hz, H1-*Gla*); 4.49-4.43 (m, 1H, Thr ^{β}); 4.42-4.36 (m, 1H, CH_2 -*Fmoc*); 4.30-4.17 (m, 4H, CH_2 -*Fmoc*/Thr ^{α} /H9-*Fmoc*/ H6_a-*Gla*); 4.09 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, H6_b-*Gla*); 3.67 (d, $J = 7.8$ Hz, H5-*Gla*); 3.53 (dd, 1H, $J = 14.4$ Hz, $J = 6.5$ Hz, H2-*Gla*); 2.08-2.00 (m, 9H, CH_3 -*Ac*); 1.45 (s, 9H, CH_3 -*t*Bu); 1.19 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, Thr ^{γ}).

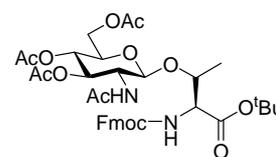
75.5 MHz-¹³C-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 170.8, 170.6, 170.5 (C=O-*Thr*, C=O-*Ac*); 169.4, 168.9 (C=O-*Ac*); 156.8 (C=O-*Fmoc*); 154.1 (C=O-*Troc*); 143.9, 143.8 (C8a-/C9a-*Fmoc*); 141.3, 141.2 (C4a-/C4b-*Fmoc*); 127.7 (C3-/C6-*Fmoc*); 127.1, 127.0 (C2-/C7-*Fmoc*); 125.3 (C1-/C8-*Fmoc*); 119.9 (C4-/C5-*Fmoc*); 97.3 (C1-*Gla*); 95.3 (CCl_3 -*Troc*); 82.6 (C_{quart}-*t*Bu); 74.5 (CH_2 -*Troc*); 73.1 (Thr ^{β}); 71.7, 71.5 (C3-/C5-*Gla*); 68.5 (C4-*Gla*); 67.3 (CH_2 -*Fmoc*); 61.9 (C6-*Gla*); 58.8 (Thr ^{α}); 56.4 (C2-*Gla*); 47.2 (C9-*Fmoc*); 27.9 (CH_3 -*t*Bu); 20.6, 20.5 (CH_3 -*Ac*); 15.9 (Thr ^{γ}).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (45)^[175]**

[Fmoc-Thr(β -Ac₃-GlcNAc)-O^{*t*}Bu]

Zu einer Lösung von 20.56 g (23.90 mmol) Fmoc-Thr(β -Ac₃GlcNTroc)-O^{*t*}Bu (**44**) in 720 ml Tetrahydrofuran/Essigsäure/Acetanhydrid (3:2:1, v/v/v) werden unter kräftigem Rühren 30 g Zinkpulver gegeben. Nach 2 h Rühren wird über *Hyflo*[®] filtriert, mehrfach mit Tetrahydrofuran gewaschen und das Filtrat i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt über Flash-Chromatographie an Kieselgel (800 g, 25 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2).

Ausbeute: 14.9 g (86 %); C₃₇H₄₆N₂O₁₃ (726.77); farbloser, amorpher Feststoff; $R_f = 0.21$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2); $R_t = 28.3$ min (Säule A; Gradient C); $[\alpha]_D^{22} = -17.6$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$).



ESI-MS (positiv) m/z : 1491.5 ($[2M+K]^+$; ber. 1491.6); 1475.6 ($[2M+Na]^+$; ber. 1475.6); 765.3 ($[M+K]^+$; ber. 765.3); 749.3 ($[M+Na]^+$; ber. 749.3).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 749.2889 ($[M+Na]$; ber. 749.2898).

400 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 7.73 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, H4-/H5-*Fmoc*); 7.62 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, H1-/H8-*Fmoc*); 7.36 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, H3-/H6-*Fmoc*); 7.28 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, H2-/H7-*Fmoc*); 5.74 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz, NH); 5.69 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz, NH); 5.35 (t, 1H, $J = 9.9$ Hz, H3-*Gla*); 5.01 (t, 1H, $J = 9.8$ Hz, H4-*Gla*); 4.75 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H1-*Gla*); 4.47-4.28 (m, 3H, Thr ^{β} /CH₂-*Fmoc*); 4.27-4.15 (m, 3H, Thr ^{α} /H9-*Fmoc*/H6_a-*Gla*); 4.13-4.04 (m, 1H, H6_b-*Gla*); 3.72-3.66 (m, 1H, H5-*Gla*); 3.65-3.58 (m, 1H, H2-*Gla*); 2.08-1.95 (m, 9H, CH₃-*Ac*); 1.91 (s, 3H, CH₃-*NHAc*); 1.45 (s, 9H, CH₃-^{*t*}*Bu*); 1.15 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, Thr ^{γ}).

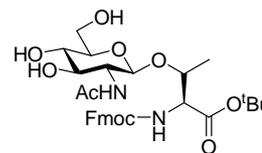
75.5 MHz-¹³C-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 170.8, 170.6, 170.3 (C=O-*Thr*/C=O-*Ac*); 169.4, 168.9 (C=O-*Ac*); 166.4 (C=O-*Amid*); 156.8 (C=O-*Fmoc*); 144.0, 143.8 (C8_a/C9_a-*Fmoc*); 141.3 (C4_a/C4_b-*Fmoc*); 127.7 (C3-/C6-*Fmoc*); 127.1, 127.0 (C2-/C7-*Fmoc*); 125.2 (C1-/C8-*Fmoc*); 119.9 (C4-/C5-*Fmoc*); 97.2 (C1-*Gla*); 82.2 (C_{quart}-^{*t*}*Bu*); 73.4 (Thr ^{β}), 71.8, 71.6 (C3-/C5-*Gla*); 68.5 (C4-*Gla*); 67.0 (CH₂-*Fmoc*); 62.0 (C6-*Gla*); 58.9 (Thr ^{α}); 55.4 (C2-*Gla*); 47.2 (C9-*Fmoc*); 27.9 (CH₃-^{*t*}*Bu*); 23.3 (CH₃-*NHAc*); 20.7, 20.6 (CH₃-*Ac*); 16.0 (Thr ^{γ}).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (46)**

[Fmoc-Thr(β -GlcNAc)-O^{*t*}Bu]

Mit frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung wird die Lösung von 10.4 g (14.3 mmol) Fmoc-Thr(β -Ac₃-GlcNAc)-O^{*t*}Bu (**45**) in 150 ml absol. Methanol auf pH \approx 8.5 eingestellt und 7 h lang gerührt. Die Reaktionslösung wird durch 30 min Rühren über dem sauren Ionentauscher *Amberlyst*[®] 15 neutralisiert. Filtration und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. liefert das Rohprodukt, das durch Filtration über 5 cm Kieselgel (Dichlormethan/Methanol, 10:1) grob gereinigt wird.

Ausbeute: 7.29 g (85 %); C₃₁H₄₀N₂O₁₀ (600.27); blassbrauner amorpher Feststoff; $R_f = 0.22$ (Toluol/Ethanol, 4:1); $R_t = 9.8$ min (Säule A; Gradient C).



ESI-MS (positiv) m/z : 623.3 ([M+Na]⁺; ber. 623.3).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 623.2602 ([M+Na]; ber. 623.2581).

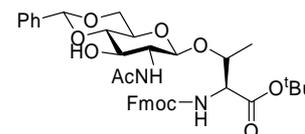
75.5 MHz-¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 169.7, 169.2 (C=O-*Thr*, C=O-*NHAc*); 156.3 (C=O-*Fmoc*); 143.9, 143.8 (C8a-/C9a-*Fmoc*); 140.8 (C4a-/C4b-*Fmoc*); 127.8 (C3-/C6-*Fmoc*); 127.2 (C2-/C7-*Fmoc*); 125.6, 125.5 (C1-/C8-*Fmoc*); 120.2 (C4-/C5-*Fmoc*); 98.3 (C1-*Gla*); 81.2 (C_{quart}-^tBu); 77.0, 72.4, 71.0 (C3-/C4-/C5-*Gla*); 73.8 (Thr ^{β}); 66.2 (CH₂-*Fmoc*); 61.6 (C6-*Gla*); 59.3 (Thr ^{α}); 56.0 (C2-*Gla*); 46.7 (C9-*Fmoc*); 27.7 (CH₃-^tBu); 23.2 (CH₃-*NHAc*); 16.2 (Thr ^{γ}).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy-4,6-*O*-benzyliden- β -D-glucopyranosyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (47)**

[Fmoc-Thr(β -4,6-Bzn-GlcNAc)-O^tBu]

Die Lösung von 20.39 g (33.9 mmol) Fmoc-Thr(β -GlcNAc)-O^tBu (**46**) in 500 ml Acetonitril wird mit 10.20 ml (10.30 g; 67.7 mmol) Benzaldehyd-dimethylacetal versetzt und durch Zugabe von *p*-Toluolsulfonsäure (Monohydrat) auf pH \approx 3 eingestellt. Nach 16 h wird die Reaktionsmischung mit Hünigs-Base neutralisiert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Reinigung des erhaltenen Rohprodukts erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1000 g, 30 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 1:4).

Ausbeute: 15.61 g (67 %); C₃₈H₄₄N₂O₁₀ (688.30); farbloser, kristalliner Feststoff; $R_f = 0.68$ (Toluol/Ethanol, 3:1), $R_f = 0.08$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:4); $R_t = 10.5$ min (Säule A; Gradient A); Smp: 192 °C; $[\alpha]_D^{22} = -32.7$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z : 711.3 ([M+Na]⁺; ber. 711.3); 1399.7 ([2M+Na]⁺; ber. 1399.6).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 711.2897 ([M+Na]⁺; ber. 711.2894).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.73 (d, 2H, *J* = 7.4 Hz, H₄-/H₅-Fmoc); 7.63 (t, 2H, *J* = 8.8 Hz, H₁-/H₈-Fmoc); 7.46-7.40 (m, 2H, Ph_{meta}-Bzn); 7.37 (t, 2H, *J* = 7.4 Hz, H₃-/H₆-Fmoc); 7.32-7.25 (m, 5H, Ph_{ortho/para}-Bzn, H₂-/H₇-Fmoc); 6.25 (d, 1H, *J* = 4.7 Hz, NHAc); 5.78 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz, NHFmoc); 5.39 (s, 1H, CH-Bzn); 4.73 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz, H₁-Glc); 4.39-4.36 (m, 2H, CH₂-Fmoc); 4.36-4.32 (m, 1H, Thr^β); 4.25-4.13 (m, 4H, H₄/H_{6a}-Glc, H₉-Fmoc, Thr^α); 3.61-3.56 (m, 1H, H_{6b}-Glc); 3.44-3.38 (m, 2H, H₃/H₅-Glc); 3.38-3.31 (m, 1H, H₂-Glc); 1.97 (s, 3H, CH₃-NHAc); 1.44 (3s, 9H, CH₃-^tBu); 1.16 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz, Thr^γ).

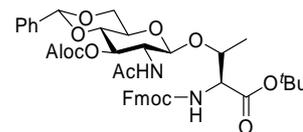
75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 171.6, 169.2 (C=O-Thr/C=O-NHAc); 156.8 (C=O-Fmoc); 144.0, 143.8 (C_{8a}-/C_{9a}-Fmoc); 141.3 (C_{4a}-/C_{4b}-Fmoc); 137.1 (C_{ipso}-Bzn); 129.2 (Ph_{para}-Bzn); 128.3 (Ph_{ortho}-Bzn); 127.7 (C₃-/C₆-Fmoc); 127.1 (C₂-/C₇-Fmoc); 126.3 (Ph_{meta}-Bzn); 125.2 (C₁-/C₈-Fmoc); 119.9 (C₄-/C₅-Fmoc); 101.7 (CH-Bzn); 97.7 (C₁-Glc); 82.2 (C_{quart}-^tBu); 81.5 (C₃-Glc); 73.7 (Thr^β); 70.3 (C₄-Glc); 68.5 (C₆-Glc); 67.0 (CH₂-Fmoc); 66.1 (C₅-Glc); 59.0 (Thr^α); 58.5 (C₂-Glc); 47.2 (C₉-Fmoc); 28.0 (CH₃-^tBu); 23.6 (CH₃-NHAc); 16.4 (Thr^γ).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-4,6-*O*-benzyliden-β-D-glucopyranosyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (48)**

[Fmoc-Thr(β-3-Aloc-4,6-Bzn-GlcNAc)-O^tBu]

Bei -35 °C wird die Lösung von 8.24 g (12.0 mmol) Fmoc-Thr(β-4,6-Bzn-GlcNAc)-O^tBu (47) in 80 ml absol. Dichlormethan und 115 ml Pyridin langsam mit 3.5 ml (3.96 g, 32.8 mmol) Allyloxycarbonylchlorid versetzt. Nach 20 min bei dieser Temperatur wird der Ansatz auf Raumtemperatur erwärmt. Anschließend wird mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 20 ml) und dest. Wasser (20 ml) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel durch Kodestillation mit Toluol entfernt. Flash-Chromatographie an Kieselgel (350 g, 30 x 5.5 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:2) liefert das Produkt als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 8.23 g (89 %); C₄₂H₄₈N₂O₁₂ (772.84); farbloser, amorpher Feststoff; $R_f = 0.40$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2); $R_t = 12.7$ min (Säule A; Gradient B; 264 nm); $[\alpha]_D^{22} = -45.2$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z : 795.3 ([M+Na]⁺; ber. 795.3); 1567.6 ([2M+Na]⁺; ber. 1567.6).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 795.3109 ([M+Na]⁺; ber. 711.2894).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.77 (d, 2H, $J = 7.6$ Hz, H₄-/H₅-Fmoc); 7.69 (t, 2H, $J = 8.4$ Hz, H₁-/H₈-Fmoc); 7.46-7.44 (m, 2H, Ph_{meta}-Bzn); 7.41 (t, 2H, $J = 7.6$ Hz, H₃-/H₆-Fmoc); 7.39-7.37 (m, 3H, Ph_{ortho/para}-Bzn); 7.33 (tt, 2H, $J = 7.5$ Hz, $J = 1.5$ Hz, H₂-/H₇-Fmoc); 6.09 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, NHAc-Gla); 5.93-5.96 (m, 1H, CH-Aloc); 5.73 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz, NHFmoc); 5.52 (s, 1H, CH-Bzn); 5.33 (dd, 1H, $J = 17.2$ Hz, $J = 1.4$ Hz, =CH₂-Aloc_a); 5.28-5.25 (m, 1H, H₃-Gla); 5.25 (dd, 1H, $J = 10.5$ Hz, $J = 1.3$ Hz, =CH₂-Aloc_b); 4.64-4.62 (m, 3H, H₁-Glc/CH₂-Aloc); 4.44 (dd, 2H, $J = 10.4$ Hz, $J = 7.2$ Hz, CH₂-Fmoc); 4.37-4.30 (m, 2H, CH₂-Fmoc_a/H_{6a}-Gla); 4.28-4.24 (m, 2H, H₉-Fmoc/Thr^β); 4.21 (dd, 1H, $J = 9.1$ Hz, $J = 2.6$ Hz, Thr^α); 3.84 (dd, 1H, $J = 9.3$ Hz, $J = 1.8$ Hz, H₂-Gla); 3.73-3.66 (m, 2H, H₄-/H_{6b}-Gla); 3.61-3.57 (m, 1H, H₅-Gla); 1.97 (s, 3H, CH₃-NHAc); 1.48 (3s, 9H, CH₃-^tBu); 1.11 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Thr^γ).

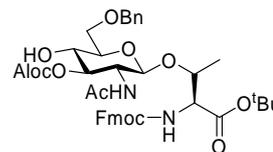
100.6 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 170.4 (C=O-Thr); 169.0 (C=O-NHAc); 156.9 (C=O-Fmoc); 155.2 (C=O-Aloc); 144.1, 143.8 (C_{8a}-/C_{9a}-Fmoc); 141.3 (C_{4a}-/C_{4b}-Fmoc); 137.1 (C_{ipso}-Bzn); 131.1 (CH-Aloc); 129.2 (Ph_{para}-Bzn); 128.3 (Ph_{ortho}-Bzn); 127.7 (C₃-/C₆-Fmoc); 127.14, 127.07 (C₂-/C₇-Fmoc); 126.0 (Ph_{meta}-Bzn); 125.4, 125.3 (C₁-/C₈-Fmoc); 119.9 (C₄-/C₅-Fmoc); 119.0 (=CH₂-Aloc); 101.4 (CH-Bzn); 98.5 (C₁-Gla); 82.1 (C_{quart}-^tBu); 78.9 (C₄-Gla); 75.2 (C₃-Gla); 73.7 (Thr^β); 68.8 (CH₂-Aloc); 68.5 (C₆-Gla); 67.1 (CH₂-Fmoc); 65.8 (C₅-Gla); 58.9 (Thr^α); 55.3 (C₂-Gla); 47.2 (C₉-Fmoc); 28.0 (CH₃-^tBu); 23.4 (CH₃-NHAc); 16.3 (Thr^γ).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (50)**

[Fmoc-Thr(β -3-Aloc-6-Bn-GlcNAc)-O^tBu]

Eine Lösung von 7.89 g (10.2 mmol) Fmoc-Thr(β -3-Aloc-4,6-Bzn-GlcNAc)-O^tBu (**48**) wird in 400 ml abs. Dichlormethan gelöst und 1 h lang bei Raumtemperatur mit 5.0 g gepulvertem Molekularsieb (4Å) gerührt. Anschließend wird auf -78 °C abgekühlt und die Lösung mit 3.30 ml (2.38 g; 20.4 mmol) Triethylsilan und 1.78 ml (3.06 g; 20.4 mmol) Trifluormethansulfonsäure versetzt. Nach 1 h Rühren bei dieser Temperatur wird die Reaktion durch Zugabe von 10 ml Methanol und 10 ml Triethylamin gestoppt und auf Raumtemperatur erwärmt. Der Ansatz wird mit 400 ml Dichlormethan verdünnt und filtriert, dann mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (3 x 100 ml) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und schließlich das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung direkt in die nachfolgende Acetylierung eingesetzt.

Ausbeute: 8.0 g (roh); C₄₂H₅₀N₂O₁₂ (774.85); blassgelbes Öl; *R_f* = 0.27 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2).



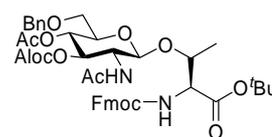
ESI-MS (positiv) *m/z* : 813.2 ([M+K]⁺; ber. 813.3); 797.2 ([M+Na]⁺; ber. 797.3).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-4-*O*-acetyl-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (51)**

[Fmoc-Thr(β -3-Aloc-4-Ac-6-Bn-GlcNAc)-O^tBu]

In 50 ml Pyridin werden 8.0 g (max. 10.2 mmol) rohes Fmoc-Thr(β -3-Aloc-6-Bn-GlcNAc)-O^tBu (**50**) gelöst und langsam 25 ml Essigsäureanhydrid zugegeben. Nach 16 h Rühren wird das Lösungsmittel durch Kodestillation mit Toluol i. Vak. entfernt und das erhaltene Rohprodukt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (350 g, 30 x 5.5 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 4:1) gereinigt.

Ausbeute: 4.09 g (49 % über 2 Stufen); blassgelber, amorpher Feststoff;
 $R_f = 0.43$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2); $R_t = 11.1$ min (Säule A;
 Gradient B; 260 nm); $[\alpha]_D^{22} = -0.8$ (c = 1.0, CHCl₃).



C₄₄H₅₂N₂O₁₃ (816.89) Ber.: C: 64.69 H: 6.42 N: 3.43
 Gef.: C: 64.71 H: 6.43 N: 3.47

ESI-MS (positiv) m/z: 855.5 ([M+K]⁺; ber. 855.4); 839.5 ([M+Na]⁺; ber. 839.4).

ESI-HRMS (positiv) m/z: 829.3389 ([M+Na]⁺; ber. 839.3367).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.77 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H4-/H5-*Fmoc*); 7.65 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz, H1-/H8-*Fmoc*); 7.40 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, H3-/H6-*Fmoc*); 7.34-7.27 (m, 7H, Ph-*Bn*, H2-/H7-*Fmoc*); 5.95-5.85 (m, 1H, CH-*Aloc*); 5.71 (m, 2H, NH-*Fmoc*, NHAc-*Gla*); 5.37-5.32 (m, 2H, =CH₂-*Aloc*_a, H3-*Gla*); 5.27 (dd, 1H, $J = 10.5$ Hz, $J = 1.1$ Hz, =CH₂-*Aloc*_b); 5.06 (t, 1H, $J = 9.6$ Hz, H4-*Gla*); 4.95 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H1-*Gla*); 4.61 (d, 2H, $J = 5.7$ Hz, CH₂-*Aloc*); 4.50-4.45 (m, 2H, CH₂-*Bn*); 4.45-4.34 (m, 3H, Thr ^{β} , CH₂-*Fmoc*); 4.26-4.22 (m, 2H, H9-*Fmoc*, Thr ^{α}); 3.72-3.67 (m, 1H, H5-*Gla*); 3.56-3.53 (m, 2H, H6-*Gla*); 3.46 (m_c, 1H, H2-*Gla*); 1.94 (s, 3H, CH₃-*NHAc*); 1.91 (s, 3H, CH₃-*Ac*); 1.46 (3s, 9H, CH₃-*tBu*); 1.18 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, Thr ^{γ}).

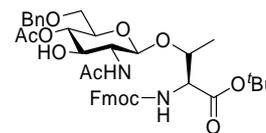
100.6 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 170.4 (C=O-*Thr*); 169.6 (C=O-*Ac*); 169.0 (C=O-*NHAc*); 156.8 (C=O-*Fmoc*); 154.8 (C=O-*Aloc*); 144.0, 143.8 (C8a-/C9a-*Fmoc*); 141.3 (C4a-/C4b-*Fmoc*); 137.7 (C_{ipso}-*Bn*); 131.3 (CH-*Aloc*); 128.4, 127.8 (Ph-*Bn*); 127.72, 127.68 (C3-/C6-*Fmoc*); 127.10, 127.06 (C2-/C7-*Fmoc*); 125.3, 125.2 (C1-/C8-*Fmoc*); 119.95, 119.92 (C4-/C5-*Fmoc*); 119.0 (=CH₂-*Aloc*); 96.5 (C1-*Gla*); 82.2 (C_{quart}-*tBu*); 75.6 (C3-*Gla*); 73.5 (CH₂-*Bn*); 73.3 (Thr ^{β}); 72.8 (C5-*Gla*); 69.8 (C4-*Gla*); 69.2 (C6-*Gla*); 68.8 (CH₂-*Aloc*); 67.0 (CH₂-*Fmoc*); 59.1 (Thr ^{α}); 56.2 (C2-*Gla*); 47.2 (C9-*Fmoc*); 27.9 (CH₃-*tBu*); 23.4 (CH₃-*NHAc*); 20.7 (CH₃-*Ac*); 16.1 (Thr ^{γ}).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-4-*O*-acetyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl)- β -*D*-glucopyranosyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (53)**

[Fmoc-Thr(β -4-Ac-6-Bn-GlcNAc)-O^tBu]

Eine Lösung von 3.30 g (4.0 mmol) Fmoc-Thr(β -3-Aloc-4-Ac-6-Bn-GlcNAc)-O^tBu (**51**) in 300 ml abs. Tetrahydrofuran und 2.63 ml (2.43 g; 24.0 mmol) *N*-Methylmorpholin wird mehrfach entgast und mit Argon geflutet. Nach Zugabe von 100 mg Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0)-Katalysator wird die Mischung erneut mehrfach entgast und mit Argon geflutet. Nach 2 h Rühren wird der Ansatz mit 300 ml Dichlormethan verdünnt und mit dest. Wasser (2 x 50 ml) gewaschen. Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat und Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. liefert das Rohprodukt, das durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (350 g, 30 x 5.5 cm, Dichlormethan/Methanol, 30:1) gereinigt wird.

Ausbeute: 2.10 g (71 %); blassgelber, amorpher Feststoff; $R_f = 0.22$ (Ethylacetat); $R_t = 9.6$ min (Säule A; Gradient D); $[\alpha]_D^{22} = -7.3$ (c = 1.0, CHCl₃).



C₄₀H₄₈N₂O₁₁ (732.82) Ber.: C: 65.56 H: 6.60 N: 3.82
 Gef.: C: 65.13 H: 6.72 N: 3.61

ESI-MS (positiv) m/z : 755.5 ([M+Na]⁺; ber. 755.3).

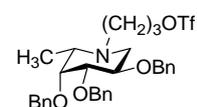
ESI-HRMS (positiv) m/z : 755.3160 ([M+Na]⁺; ber. 755.3156).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.76 (d, 2H, $J = 7.6$ Hz, H4-/H5-*Fmoc*); 7.64 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz, H1-/H8-*Fmoc*); 7.39 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz, H3-/H6-*Fmoc*); 7.34-7.25 (m, 7H, Ph-*Bn*, H2-/H7-*Fmoc*); 6.10 (d, 1H, $J = 6.0$ Hz, NHAc-*Gla*); 5.78 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, NH-*Fmoc*); 4.88 (t, 1H, $J = 9.4$ Hz, H4-*Gla*); 4.72 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H1-*Gla*); 4.50-4.44 (m, 2H, CH₂-*Bn*); 4.44-4.39 (m, 3H, Thr ^{β} , CH₂-*Fmoc*); 4.26-4.21 (m, 2H, H9-*Fmoc*, Thr ^{α}); 4.04 (t, 1H, $J = 9.7$ Hz, H3-*Gla*); 3.61 (m_c, 1H, H5-*Gla*); 3.58-3.51 (m, 2H, H6-*Gla*); 3.31 (m_c, 1H, H2-*Gla*); 2.01 (s, 3H, CH₃-*NHAc*); 1.99 (s, 3H, CH₃-*Ac*); 1.45 (3s, 9H, CH₃-^tBu); 1.19 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, Thr ^{γ}).

$100.6 \text{ MHz-}^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 171.9 (C=O-*Thr*); 170.8 (C=O-*Ac*); 169.3 (C=O-*NHAc*); 156.8 (C=O-*Fmoc*); 144.0, 143.8 (C8a-/C9a-*Fmoc*); 141.3 (C4a-/C4b-*Fmoc*); 137.7 ($\text{C}_{\text{ipso-Bn}}$); 128.4, 127.8 (Ph-*Bn*); 127.7 (C3-/C6-*Fmoc*); 127.1 (C2-/C7-*Fmoc*); 125.21, 125.18 (C1-/C8-*Fmoc*); 119.99, 119.96 (C4-/C5-*Fmoc*); 96.6 (C1-*Gla*); 82.4 ($\text{C}_{\text{quart-}^t\text{Bu}}$); 73.5 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$); 73.2 (C5-*Gla*); 73.0 (Thr^β); 72.4 (C4-*Gla*); 72.0 (C6-*Gla*); 67.0 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$); 59.1 (Thr^α); 58.7 (C2-*Gla*); 47.2 (C9-*Fmoc*); 27.9 ($\text{CH}_3\text{-}^t\text{Bu}$); 23.6 ($\text{CH}_3\text{-NHAc}$); 20.9 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$); 16.0 (Thr^γ).

5.2.6 Die Synthese des Aza-Fucose-Bausteins

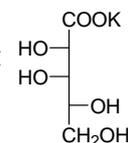
N-(3-Trifluormethansulfonyloxypropyl)-3,4,5-tri-*O*-benzyl-desoxyfuconojirimycin (76)



Kalium-Lyxonat (56)^[150]

Eine Lösung von 94.0 g (1.68 mol) Kaliumhydroxid in 240 ml dest. Wasser und 840 ml techn. Methanol wird unter kräftigem mechanischem Rühren über zwei Dispersionsröhrchen mit Sauerstoff durchflutet. Zu dieser Mischung wird die erste Hälfte einer Lösung von 100.0 g (0.56 mmol) D-Galactose (**1**) in 450 ml dest. Wasser über einen Zeitraum von 10 h sehr langsam hinzugetropft. Über Nacht wird 14 h lang Luft durchgeleitet und danach die zweite Hälfte der Galactose-Lösung über 10 h und Sauerstoffdurchflutung zugetropft. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit 3000 ml techn. Methanol versetzt und unter Luftdurchleitung 14 h lang gerührt, wobei das Produkt in farblosen Kristallen ausfällt. Filtration, Waschen mit Methanol und Entfernen der Lösungsmittelreste i. Vak. liefert das Produkt, das nicht weiter gereinigt werden muss.

Ausbeute: 45.5 g (40 %); $\text{C}_5\text{H}_9\text{KO}_6$ (204.22); farbloser, kristalliner Feststoff; Smp: 181 °C.



ESI-MS (positiv) m/z : 242.9 ($[\text{M}+\text{K}]^+$; ber. 243.0); 446.9 ($[\text{2M}+\text{K}]^+$; ber. 447.0); 650.9 ($[\text{3M}+\text{K}]^+$; ber. 651.0).

$300 \text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$ (D_2O): δ [ppm] = 4.95-4.65 (m, 4H, OH); 4.11 (d, 1H, $J = 5.1 \text{ Hz}$, H2); 3.88 (m, 1H, H4); 3.79 (dd, 1H, $J = 5.1 \text{ Hz}$, $J = 3.0 \text{ Hz}$, H3); 3.64 (m, 2H, CH_2OH).

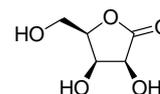
75.5 MHz-¹³C-NMR (*D*₂O): δ [ppm] = 178.6 (C=O); 73.6, 71.6, 71.0 (CHOH); 62.7 (CH₂OH).

(2*S*,3*R*,4*R*)-D-Lyxono-1,4-lacton (55)^[148, 176]

Methode A:^[150]

126.5 g (619.4 mmol) Kalium-Lyxonat (**56**) werden in 2 L 2-Propanol suspendiert und unter kräftigem mechanischem Rühren und Kühlung im Eisbad wird 5 min lang Chlorwasserstoff durch diese Suspension geleitet. Man lässt abkühlen und rührt weitere 20 min. Die trübe Reaktionsmischung wird durch Filtration vom ausgefallenen Kaliumchlorid befreit und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Umkristallisation aus 2-Propanol liefert das Produkt in feinen, nadelförmigen Kristallen.

Ausbeute: 82.7 g (90 %); farbloser, kristalliner Feststoff; R_f = 0.19 (Toluol/Ethanol, 3:1); Smp: 105 °C; $[\alpha]_D^{22} = +76.1$ (c = 1.0, H₂O); Lit.:^[148] $[\alpha]_D^{22} = +72.9$ (c = 4.0, H₂O); Lit.:^[176] $[\alpha]_D^{22} = +82.5$ (c = 4.0, H₂O).



Methode B:^[149]

In 125 ml dest. Wasser werden 5.4 g (36.0 mmol) D-Lyxose (**54**) gelöst, mit 14.3 g (89.5 mmol) Brom versetzt und unter Argon-Atmosphäre und Lichtausschluss 4 d gerührt. Überschüssiges Brom wird destillativ entfernt und der Rückstand vorsichtig mit festem Silbercarbonat neutralisiert. Filtration, Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. und Gefrier-trocknung liefert das Rohprodukt. Dieses wird in Methanol suspendiert, über Hyflo[®] filtriert und durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (200 g, 17 x 5.5 cm, Methanol/Ethylacetat, 1:9) gereinigt.

Ausbeute: 1.28 g (24 %).

Methode C:

Das Nebenisomer 3,5-*O*-Isopropyliden-D-lyxono-1,4-lacton (**58**) (22.0 g, 116.9 mmol) wird in 500 ml 60%iger Essigsäure gelöst und unter Rückfluss 3 h gerührt. Nach Entfernen

der Essigsäure durch Kodestillation mit Toluol wird das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (500 g, 15 x 9 cm, Methanol/Ethylacetat, 1:9) gereinigt.

Ausbeute: 16.2 g (94 %).

C₅H₈O₅ (148.11) Ber.: C: 40.55 H: 5.44
 Gef.: C: 40.54 H: 5.52

FD-MS (positiv) *m/z* : 148.3 ([M]⁺; ber. 148.0); 149.4 ([M+H]⁺; ber. 149.0); 297.5 ([2M+H]⁺; ber. 297.1).

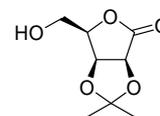
400 MHz-¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 5.77 (d, 1H, *J* = 7.4 Hz, 2-OH); 5.28 (d, 1H, *J* = 3.9 Hz, 3-OH); 4.87 (t, 1H, *J* = 5.7 Hz, 5-OH); 4.42 (dd, 1H, *J* = 4.5 Hz, *J* = 7.6 Hz, H2); 4.30 (m, 1H, H4); 4.17 (dd, 1H, *J* = 4.3 Hz, *J* = 7.0 Hz, H3); 3.61 (m, 2H, H5).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 176.3 (C=O); 80.7 (CH-CH₂-OH); 70.6 (CH(OH)C=O); 69.2 (CH-OH); 59.6 (CH₂-OH).

(2*S*,3*R*,4*R*)-2,3-*O*-Isopropyliden-D-lyxono-1,4-lacton (57)^[151, 177]

In 250 ml siedendem Aceton werden 14.55 g (98.2 mmol) (2*S*,3*R*,4*R*)-D-Lyxono-1,4-lacton **55** gelöst, mit 0.1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und 4.5 h unter Rückfluss über 38.5 g wasserfreiem Kupfersulfat gerührt. Die Reaktionsmischung wird anschließend filtriert und das Filtrat durch 30 min Rühren über festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. liefert das Produkt im Verhältnis 3:1 (¹H-NMR) zusammen mit seinem Regioisomer **58**. Reinigung und Trennung der Isomeren erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (750 g, 23 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1) und anschließender Kristallisation aus Cyclohexan/Ethylacetat.

Ausbeute: 12.7 g (68 % Hauptisomer **57**); farbloser, kristalliner Feststoff; *R_f* = 0.49 (Toluol/Ethanol, 3:1); [α]_D²² = +86.3 (c = 1.0, CHCl₃); Regioisomer (**58**): *R_f* = 0.35 (Toluol/Ethanol, 3:1); [α]_D²² = +38.2 (c = 1.0, CHCl₃).



$C_8H_{12}O_5$ (188.18) Ber.: C: 51.06 H: 6.43
 Gef.: C: 50.99 H: 6.30

FD-MS (positiv) m/z : 189.3 ($[M+H]^+$; ber. 189.1).

300 MHz- 1H -NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 4.88-4.83 (m, 2H, H2/H3); 4.58 (ddd, 1H, $J = 6.4$ Hz, $J = 5.2$ Hz, $J = 3.4$ Hz, H4); 4.01 (dd, 1H, $J = 12.3$ Hz, $J = 6.4$, H5_a); 3.93 (dd, 1H, $J = 12.3$ Hz, $J = 5.3$, H5_b); 2.21 (s_b, 1H, OH); 1.45, 1.37 (2s, 6H, CH₃-Acetal).

75.5 MHz- ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 173.4 (C=O); 114.5 (C_{quart}-Acetal); 79.0, 76.2, 76.1 (C2/C3/C4); 60.9 (C5); 26.6, 25.7 (CH₃).

Regioisomer 58:

300 MHz- 1H -NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 4.59 (dd, 1H, $J = 4.4$ Hz, $J = 2.6$ Hz, H3); 4.48 (d_b, 1H, $J = 2.9$ Hz, H2); 4.20 (dd, 1H, $J = 4.4$ Hz, $J = 2.2$ Hz, H4); 4.15 (dd, 1H, $J = 14.0$ Hz, $J = 2.6$ Hz, H5_a); 4.07 (dd, 1H, $J = 13.8$ Hz, $J = 1.7$ Hz, H5_b); 2.91 (s_b, 1H, OH); 1.48, 1.40 (2s, 6H, CH₃-Acetal).

75.5 MHz- ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 174.9 (C=O); 98.3 (C_{quart}-Acetal); 71.6, 69.6, 67.1 (C2/C3/C4); 59.7 (C5); 28.3, 19.2 (CH₃).

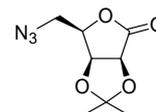
(2*S*,3*R*,4*R*)-5-Azido-5-desoxy-2,3-*O*-isopropyliden-D-lyxono-1,4-lacton (59)^[148]

Eine Lösung von 10.06 g (53.5 mmol) des (2*S*,3*R*,4*R*)-2,3-*O*-Isopropyliden-D-lyxono-1,4-lactons **57** in 300 ml absol. Dichlormethan und 10 ml Pyridin wird auf -40 °C abgekühlt und langsam 13.3 ml (80.1 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid hinzugegeben. Nach 2.5 h Rühren wird die Reaktionsmischung mit 500 ml Dichlormethan verdünnt und auf Raumtemperatur erwärmt. Man wäscht mit 1 M Salzsäure (200 ml + 100 ml), ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (150 ml + 50 ml) und ges. Natriumchlorid-Lösung (100 ml), trocknet über Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel i. Vak.

Das so erhaltene Triflat-Zwischenprodukt ($R_f = 0.56$; Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1) wird in 250 ml *N,N*-Dimethylformamid gelöst und unter Kühlung im Wasserbad mit 10.43 g (160.4 mmol) Natriumazid versetzt. Der Ansatz wird 16 h gerührt und anschließend das

Lösungsmittel i. Vak. durch Kodestillation mit Toluol (3 x 100 ml) entfernt. Der Rückstand wird in 700 ml Ethylacetat aufgenommen und die erhaltene Lösung mit ges. Natriumchlorid-Lösung (3 x 100 ml) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Reinigung des Rohproduktes erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (500 g, 15 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1).

Ausbeute: 8.3 g (73 %); C₈H₁₁N₃O₄ (213.19); farbloser, amorpher Feststoff; $R_f = 0.54$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1); $[\alpha]_D^{22} = +63.7$ (c = 1.0, CHCl₃).



FD-MS (positiv) m/z : 214.3 ($[M+H]^+$; ber. 214.1).

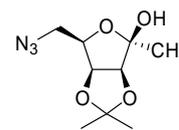
300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 4.85-4.79 (m, 2H, H₂/H₃); 4.53 (ddd, 1H, $J_{H4,H5a} = 6.8$ Hz, $J_{H4,H5b} = 6.7$ Hz, $J_{H4,H3} = 3.3$ Hz, H₄); 3.69 (dd, 1H, $J_{H5a,H5b} = 13.4$ Hz, $J_{H5a,H4} = 7.5$, H_{5a}); 3.63 (dd, 1H, $J_{H5b,H5a} = 13.1$ Hz, $J_{H5b,H4} = 6.5$, H_{5b}); 1.47, 1.39 (2s, 6H, CH₃-Acetal).

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 172.8 (C=O); 114.7 (C_{quart}-Acetal); 77.1, 76.0, 75.6 (C₂/C₃/C₄); 49.6 (C₅); 26.7, 25.8 (CH₃).

(1R,2S,3S,4R)-5-Azido-5-desoxy-2,3-O-isopropyliden-1-methyl- β -D-lyxofuranose
(60)^[148]

Eine Lösung von 15.0 g (70.4 mmol) (2S,3R,4R)-5-Azido-5-desoxy-2,3-O-isopropyliden-D-lyxono-1,4-lacton **59** in 400 ml absol. Tetrahydrofuran wird auf -78 °C abgekühlt und bei dieser Temperatur langsam über 1 h 79.5 ml (127.2 mmol) einer 1.6 M etherischen Methyllithium-Lösung unter Argon-Atmosphäre zugespritzt. Nach vollendeter Zugabe wird noch weitere 30 min gerührt, die Reaktion durch Zugabe von 100 ml ges. Ammoniumchlorid-Lösung gestoppt und die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur erwärmt. Die Phasen werden getrennt und die organische Phase mit ges. Natriumchlorid-Lösung (3 x 50 ml) gewaschen. Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernung des Lösungsmittels liefert das Rohprodukt, das durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (300 g, 26 x 5.5 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1) gereinigt wird.

Ausbeute: 10.6 g (66 %); C₉H₁₅N₃O₄ (229.23); farbloser, kristalliner Feststoff; $R_f = 0.40$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1); $R_t = 5.8$ min (Säule A; Gradient C); Smp: 82 °C; $[\alpha]_D^{22} = +14.2$ (c = 1.0, CHCl₃); DV (HPLC) >20:1.



FD-MS (positiv) m/z : 230.2 ([M+H]⁺; ber. 230.1); 214.1 ([M-CH₃]⁺; ber. 214.0).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 4.75 (dd, 1H, $J = 5.9$ Hz, $J = 4.1$ Hz, H3); 4.44 (d, 1H, $J = 5.9$ Hz, H2); 4.19 (dt, 1H, $J = 4.0$ Hz, $J = 6.3$ Hz, H4); 3.51 (d, 2H, $J = 6.6$ Hz, H5); 2.24 (s, 1H, OH); 1.51, 1.45 (2s, 6H, CH₃-Acetal); 1.30 (s, 3H, CH₃).

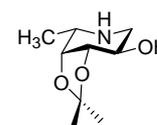
75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 112.9 (C_{quart}-Acetal); 105.4 (C1); 85.3, 80.5, 77.4 (C2/C3/C4); 49.9 (C5); 26.0, 24.7 (CH₃-Acetal); 22.4 (CH₃).

3,4-O-Isopropyliden-desoxyfuconojirimycin (64)^[148]

[(2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-*O*-Isopropyliden-2-methylpiperidin-5-ol]

In einem 1L-Schlenkkolben werden 500 ml Ethanol mehrfach unter stark vermindertem Druck entgast und anschließend mit Argon geflutet. Es werden 2.0 g Palladium-Katalysator (10 % auf Aktivkohle) zugegeben, die Mischung erneut mehrfach unter stark vermindertem Druck entgast und anschließend mit Wasserstoff geflutet. Danach werden 10.0 g (43.6 mmol) der (1*R*,2*S*,3*S*,4*R*)-5-Azido-5-deoxy-2,3-*O*-isopropyliden-1-methyl- β -D-lyxofuranose **60** in 90 ml Ethanol langsam über einen Zeitraum von 6 h unter Wasserstoff-Atmosphäre zugetropft. Nach 16 h Rühren ist die Reaktion vollständig und die Reaktionsmischung wird durch Filtration über Hyflo[®] vom Katalysator befreit. Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. liefert das amorphe Rohprodukt, das ohne Reinigung in die nächste Reaktion eingesetzt oder aus Chloroform kristallisiert werden kann.

Ausbeute: 7.95 g (97 %); farbloser, kristalliner Feststoff; $R_f = 0.18$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1); $R_t = 9.8$ min (Säule A; Gradient D); $[\alpha]_D^{22} = -88.3$ (c = 1.0, CHCl₃), DV (HPLC) >20:1.



C₉H₁₇NO₃ (187.24) Ber.: C: 57.73 H: 9.15 N: 7.48
 Gef.: C: 57.83 H: 9.15 N: 7.55

ESI-MS (positiv) m/z : 207.0 ([M+½Ca]⁺; ber. 207.1).

400 MHz-¹H-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 3.90 (dd, 1H, *J* = 5.4 Hz, *J* = 2.6 Hz, H4-Afc); 3.66 (dd, 1H, *J* = 7.2 Hz, *J* = 5.3 Hz, H3-Afc); 3.33 (ddd, 1H, *J* = 10.7 Hz, *J* = 7.4 Hz, *J* = 5.3 Hz, H2-Afc); 2.84 (dq, 1H, *J* = 6.8 Hz, *J* = 2.7 Hz, H5-Afc); 2.75 (dd, 1H, *J* = 12.6 Hz, *J* = 5.2 Hz, H1_a-Afc); 2.10 (dd, 1H, *J* = 12.7 Hz, *J* = 10.8 Hz, H1_b-Afc); 1.38 (s, 3H, CH₃-Acetal); 1.24 (s, 3H, CH₃-Acetal); 1.05 (d, 3H, *J* = 6.8 Hz, CH₃-Afc).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 107.6 (C_{quart}-Acetal); 80.4 (C4-Afc); 76.7 (C4-Afc); 70.0 (C2-Afc); 51.3 (C5-Afc); 49.9 (C1-Afc); 28.5, 26.7 (CH₃-Acetal); 17.8 (CH₃-Afc).

**Daten der Röntgen-Kristallstruktur-Untersuchung von
3,4-*O*-Isopropyliden-desoxyfuconojirimycin (64)**

Summenformel	$C_9H_{17}N_1O_3$		
Molgewicht	187.2 gmol ⁻¹		
Absorption	$\mu = 0.77 \text{ mm}^{-1}$		
Kristallgröße	0.05 x 0.5 x 0.7 mm ³ farblose Platte		
Raumgruppe	P 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ (orthorhombisch)		
Gitterkonstanten	a = 20.268(3)Å		
(berechnet aus	b = 8.2803(8)Å		
25 Reflexen mit	c = 5.9087(5)Å		
33° < θ < 51°)	V = 991.6(2)Å ³	z = 4	F(000) = 408
Temperatur	-80°C		
Dichte	$d_{\text{rön}} = 1.254 \text{ gcm}^{-3}$		

Datensammlung

Diffraktometer	Turbo CAD4
Strahlung	Cu-K α Graphitmonochromator
Scan – Typ	$\omega/2\theta$ Scans
Scan – Breite	1.1°+0.14*tan(θ)
Meßbereich	2° ≤ θ ≤ 70° 0 ≤ h ≤ 24 0 ≤ k ≤ 10 0 ≤ l ≤ 7
Reflexzahl: gemessen unabhängige beobachtete	2230 mit Friedel Paaren 1830 (R _{int} = 0.08) 1686 (F /σ (F) > 4.0)

Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

Korrekturen	Lorentz- und Polarisationskorrektur.
Lösung	Programm: SIR-92(Direkte Methoden)
Verfeinerung	Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren). 133 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung: $w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.1353*P)^2 + 0.17*P]$ wobei $P = (\text{Max}(F_o^2, 0) + 2*F_o^2)/3$. Wasserstoffatome geometrisch eingefügt und reitend verfeinert, NH's und OH's lokalisiert. Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert.
Diskrepanzfaktor	wR2 = 0.1823 (R1=0.0687 für beobachtete Reflexe, 0.0728 für alle Reflexe)
Fitgüte	S = 1.070
Flack Parameter	x = -0.2(4)
maximale Änderung der Parameter	0.001 * e.s.d
maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese	0.40, -0.42 eÅ ⁻³

Tab. 2: Daten der Röntgen-Kristallstruktur von 3,4-*O*-Isopropyliden-desoxyfuconojirimycin (64).

Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter (\AA^2)

$$U_{\text{äq}} = (1/3) * \sum_{ij} a_i^* a_j^* a_i a_j$$

Atom	X	Y	Z	$U_{\text{äq}}$
N1	0.3206(1)	0.4480(3)	0.0022(4)	0.0272(6)
C2	0.3591(1)	0.3826(4)	0.1920(5)	0.0283(7)
C3	0.3659(1)	0.4996(4)	0.3889(5)	0.0268(7)
O4	0.4093(1)	0.6311(3)	0.3349(3)	0.0302(6)
C5	0.3959(2)	0.7545(4)	0.4953(5)	0.0339(9)
O6	0.3302(1)	0.7234(3)	0.5807(3)	0.0331(6)
C7	0.3037(1)	0.5912(4)	0.4539(4)	0.0265(7)
C8	0.2645(1)	0.6468(3)	0.2494(5)	0.0254(7)
C9	0.2566(1)	0.5095(4)	0.0812(5)	0.0296(8)
C10	0.4257(2)	0.3218(4)	0.1072(6)	0.0385(10)
C11	0.4438(2)	0.7451(6)	0.6933(5)	0.048(1)
C12	0.3984(2)	0.9168(4)	0.3770(6)	0.042(1)
O13	0.2025(1)	0.7062(3)	0.3229(4)	0.0315(6)

anisotrope Auslenkungsparameter

Atom	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{12}	U_{13}	U_{23}
N1	0.035(1)	0.028(1)	0.0195(10)	0.000(1)	0.0037(10)	-0.001(1)
C2	0.036(1)	0.024(1)	0.024(1)	0.001(1)	0.003(1)	0.005(1)
C3	0.031(1)	0.028(1)	0.022(1)	-0.001(1)	0.0023(10)	0.007(1)
O4	0.0332(10)	0.030(1)	0.0277(10)	-0.0033(8)	0.0036(8)	0.0016(9)
C5	0.037(2)	0.039(2)	0.025(1)	-0.002(1)	-0.002(1)	-0.001(1)
O6	0.038(1)	0.037(1)	0.0237(9)	-0.0048(9)	0.0019(8)	-0.0092(9)
C7	0.036(1)	0.024(1)	0.020(1)	0.000(1)	0.001(1)	-0.001(1)
C8	0.031(1)	0.024(1)	0.021(1)	0.000(1)	0.004(1)	0.004(1)
C9	0.032(1)	0.035(2)	0.022(1)	-0.003(1)	-0.001(1)	0.000(1)
C10	0.041(2)	0.037(2)	0.037(2)	0.008(1)	0.004(1)	-0.007(1)
C11	0.046(2)	0.067(2)	0.031(2)	-0.007(2)	-0.008(1)	-0.006(2)
C12	0.045(2)	0.034(2)	0.047(2)	-0.006(1)	0.003(2)	-0.005(2)
O13	0.035(1)	0.033(1)	0.0262(10)	0.0071(8)	0.0052(8)	0.0064(10)

Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome (\AA^2)

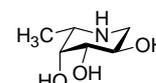
Atom	X	Y	Z	U_{iso}
H1A	0.3398(8)	0.527(3)	-0.073(3)	0.025(8)
H2	0.33449	0.28644	0.25005	0.028(8)
H3	0.38328	0.44066	0.52418	0.022(8)
H7	0.27532	0.52262	0.55359	0.017(7)
H8	0.28910	0.73680	0.17426	0.029(8)
H9A	0.23171	0.42053	0.15334	0.033(6)
H9B	0.23081	0.54795	-0.05042	0.033(6)
H10A	0.41873	0.23646	-0.00521	0.042(6)
H10B	0.45110	0.27857	0.23468	0.042(6)
H10C	0.45002	0.41124	0.03777	0.042(6)
H11A	0.43002	0.82109	0.81141	0.044(6)
H11B	0.48825	0.77290	0.64139	0.044(6)
H11C	0.44381	0.63514	0.75476	0.044(6)
H12A	0.38795	1.00252	0.48557	0.056(7)
H12B	0.36620	0.91839	0.25342	0.056(7)
H12C	0.44277	0.93437	0.31565	0.056(7)
H13	0.1898(6)	0.778(4)	0.233(4)	0.027(8)

Tab. 3: Daten der Röntgen-Kristallstruktur von 3,4-*O*-Isopropyliden-desoxyfuconojirimycin (**64**).

Desoxyfuconojirimycin (65)^[148][(2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-2-Methylpiperidin-3,4,5-triol]

21.57 g (115.2 mmol) 3,4-*O*-Isopropyliden-desoxyfuconojirimycin (**64**) werden in 800 ml 60%iger Essigsäure gelöst und 5 h unter Rückfluss gerührt. Anschließend wird die Essigsäure i. Vak. durch Kodestillation mit Toluol entfernt und das erhaltene braune Öl ohne weitere Aufreinigung und Charakterisierung in der nächsten Stufe zur BOC-geschützten Verbindung **66** umgesetzt.

Ausbeute: quant.; C₆H₁₃NO₃ (147.17); *R_f* = 0.28 (Toluol/Ethanol, 3:1).

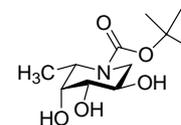


FD-MS (positiv) *m/z*: 147.2 ([M]⁺; ber. 147.1).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-desoxyfuconojirimycin (66)**[(2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-*N*-tert-Butyloxycarbonyl-2-methylpiperidin-3,4,5-triol]

Das rohe Desoxyfuconojirimycin (**65**) (ca. 17 g; max. 115.2 mmol) wird in 500 ml Methanol gelöst und Reste der Essigsäure durch tropfenweise Zugabe von Triethylamin neutralisiert. Anschließend werden unter Kühlung im Wasserbad 50.3 g (230.4 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat und 32.0 ml (23.3 g; 230.4 mmol) Triethylamin zur Lösung gegeben und die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das braune ölige Rohprodukt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (800 g, 25 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2) gereinigt.

Ausbeute: 21.0 g (74 % bez. auf **64** über 2 Stufen); blassgelber amorpher Feststoff; *R_f* = 0.45 (Toluol/Ethanol, 3:1); $[\alpha]_D^{22} = +21.7$ (c = 1.0, CHCl₃).

C₁₁H₂₁NO₅ (247.29)

Ber.: C: 53.43 H: 8.56 N: 5.66

Gef.: C: 53.24 H: 8.54 N: 5.87

FD-MS (positiv) *m/z*: 247.5 ([M]⁺; ber. 247.1).

400 MHz-¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 4.78 (d, 1H, *J* = 3.2 Hz, OH-*Afc*); 4.70 (d, 1H, *J* = 2.7 Hz, OH-*Afc*); 4.67 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz, 4-OH-*Afc*); 4.07 (m_c, 1H, H5-*Afc*); 3.66-3.64 (m, 1H, H4-*Afc*); 3.64-3.56 (m, 3H, H1_a-/H2-/H3-*Afc*); 3.05 (d, 1H, *J* = 13.7 Hz, H1_b-*Afc*); 1.37 (3s, 9H, CH₃-BOC); 1.09 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz, CH₃-*Afc*).

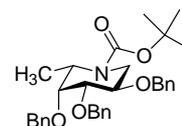
75.5 MHz-¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 154.8 (C=O-BOC); 78.2 (C_{quart}-BOC); 71.7 (C3-*Afc*); 68.9 (C2-*Afc*); 65.5 (C4-*Afc*); 50.4 (C5-*Afc*); 39.6 (C1-*Afc*); 28.2 (CH₃-BOC); 12.3 (CH₃-*Afc*).

N-*tert*-Butyloxycarbonyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-desoxyfuconojirimycin (67)

[(2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4,5-Tris-benzyloxy-2-methylpiperidin-1-carbonsäure-*tert*-butylester]

Zu einer Lösung von 21.3 g (86.1 mmol) des rohen *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-desoxyfuconojirimycin (**66**) in 500 ml *N,N*-Dimethylformamid werden bei 0 °C 17.2 g (430 mmol) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl gegeben. Nach einstündigem Rühren werden 51.4 ml (73.5 g; 430 mmol) Benzylbromid zugespritzt und die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemperatur weiter gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit 30 ml Methanol gequentscht und das Lösungsmittel durch Kodestillation mit Toluol i. Vak. entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird auf Kieselgel aufgezogen und durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1000 g, 30 x 9.5 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 9:1) gereinigt.

Ausbeute: 40.1 g (90 %); C₃₂H₃₉NO₅ (517.66); farbloses Öl; *R*_f = 0.30 (Cyclohexan/Ethylacetat, 10:1); *R*_t = 21.0 min (Säule A; Gradient B); [α]_D²² = -31.3 (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) *m/z* : 540.1 ([M+Na]⁺; ber. 540.3).

ESI-HRMS (positiv) *m/z* : 540.2719 ([M+Na]; ber. 540.2726).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.38-7.27 (m, 15H, H_{aromat}-*Bn*); 4.81 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz, CH₂-*Bn*); 4.71-4.65 (m, 3H, CH₂-*Bn*, H5-*Afc*); 4.60 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz, CH₂-*Bn*); 4.58 (d, 1H, *J* = 11.7 Hz, CH₂-*Bn*); 4.41 (d, 1H, *J* = 11.8 Hz, CH₂-*Bn*); 4.17 (s_b, 1H, H1_a-*Afc*); 3.88 (t_p, 1H, *J* = 3.2 Hz, H3-*Afc*); 3.85 (dd, 1H, *J* = 5.9 Hz, *J* = 3.0 Hz, H4-

Afc); 3.64 (s_b, 1H, H₂-*Afc*); 3.25 (d, 1H, *J* = 14.3 Hz, H_{1b}-*Afc*); 1.46 (3s, 9H, CH₃-*BOC*); 1.37 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz, CH₃-*Afc*).

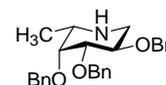
75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 155.4 (C=O-*Boc*); 138.8, 138.6, 138.1 (C_{ipso}-*Bn*); 128.33, 128.30, 128.25, 127.6, 127.5, 127.4, 127.3 (C_{aromat}-*Bn*); 79.9 (C_{quart}-*BOC*); 76.6 (C₃-*Afc*); 75.1 (C₄-*Afc*); 74.9 (C₂-*Afc*); 73.3 (CH₂-*Bn*); 71.3 (CH₂-*Bn*, C₅-*Afc*); 70.4 (CH₂-*Bn*); 36.6 (C₁-*Afc*); 28.4 (CH₃-*BOC*); 12.4 (CH₃-*Afc*).

2,3,4-Tri-*O*-benzyl-desoxyfuconojirimycin (68)

[(2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4,5-Tribenzyloxy-2-methylpiperidin]

Eine Mischung von 23.57 g (45.5 mmol) *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-desoxyfuconojirimycin (**67**) und 7.46 ml (7.39 g; 68.3 mmol) Anisol wird in 100 ml Trifluoressigsäure gelöst. Nach 1 h Rühren wird die Trifluoressigsäure durch Kodestillation mit Toluol i. Vak. entfernt und das Rohprodukt als braunes Öl erhalten. Reinigung durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (600 g, 19 x 9 cm, Dichlormethan/Methanol, 20:1) liefert das Produkt als blassbraunes Öl.

Ausbeute: quant.; C₂₇H₃₁NO₃ (417.54); blassbraunes Öl; *R*_f = 0.29 (Toluol/Ethanol, 6:1); [α]_D²² = -38.2 (c = 1.0, CHCl₃).



FD-MS (positiv) *m/z*: 417.9 ([M]⁺; ber. 417.2); 418.9 ([M+H]⁺; ber. 418.2); 836.9 ([2M+2H]⁺; ber. 836.5).

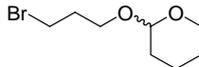
ESI-HRMS (positiv) *m/z*: 418.2383 ([M+H]; ber. 418.2382).

300 MHz-¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 7.40-7.24 (m, 15H, Ph-*Bn*); 4.86 (d, 1H, *J* = 11.8 Hz; CH₂-*Bn*_a); 4.77 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz, CH₂-*Bn*_c); 4.69 (d, 1H, *J* = 12.2 Hz, CH₂-*Bn*_c); 4.65 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz, CH₂-*Bn*_b); 4.61 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz, CH₂-*Bn*_b); 4.57 (d, 1H, *J* = 11.3 Hz, CH₂-*Bn*_a); 4.05 (s_b, 1H, NH-*Afc*); 3.81 (s, 1H, H₄-*Afc*); 3.67 (dt, 1H, *J* = 5.2 Hz, *J* = 9.9 Hz, H₂-*Afc*); 3.48 (dd, 1H, *J* = 9.4 Hz, *J* = 2.3, H₃-*Afc*); 3.13 (dd, 1H, *J* = 12.9 Hz, *J* = 5.1, H_{1a}-*Afc*); 2.68 (q, 1H, *J* = 6.7 Hz, H₅-*Afc*); 2.30 (dd, 1H, *J* = 12.7 Hz, *J* = 10.4, H_{1b}-*Afc*); 1.00 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz, 10.4, CH₃-*Afc*).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DMSO-d₆): δ [ppm] = 139.2, 139.2 (C_{isps}-Bn); 128.3, 128.2, 127.7, 127.4, 127.4, 127.3 (Ph-Bn); 84.2 (C3-Afc); 78.2 (C4-Afc); 76.0 (C2-Afc); 74.2 (CH₂-Bn_a); 71.7 (CH₂-Bn_b); 71.3 (CH₂-Bn_c); 53.5 (C5-Afc); 48.1 (C1-Afc); 17.5 (CH₃-Afc).

2-(3-Brompropoxy)-tetrahydropyran (71)^[178]

Zur Lösung von 25.0 g (180 mmol) 3-Brom-propanol in 500 ml Toluol werden unter Kühlung im Wasserbad 32.9 ml (30.3 g; 360 mmol) 3,4-Dihydro-2H-pyran zugetropft und die Reaktionsmischung mit 3 Tropfen Phosphoroxychlorid versetzt. Nach 1 h Rühren wird die Lösung durch tropfenweise Zugabe von Triethylamin neutralisiert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Flash-Chromatographie an Kieselgel (600 g, 19 x 9 cm, Dichlormethan/Methanol, 20:1) liefert das Produkt als farblose Flüssigkeit.

Ausbeute: 38.7 g (96 %); C₈H₁₅BrO₂ (223.11); farblose Flüssigkeit; 
R_f = 0.40 (Cyclohexan/Ethylacetat, 10:1).

C ₂₇ H ₃₁ NO ₃ (417.54)	Ber.:	C: 43.07	H: 6.78
	Gef.:	C: 43.08	H: 6.79

FD-MS (positiv) m/z : 222.1 ([M]⁺; ber. 222.0).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 4.57 (t, 1H, J = 2.9 Hz, CH-THP); 3.88-3.80 (m, 2H, OCH₂-THP); 3.53-3.45 (m, 4H, BrCH₂-Propyl, OCH₂-Propyl); 2.10 (tt, 2H, J = 6.2 Hz, CH₂CH₂CH₂-Propyl); 1.80-1.47 (m, 6H, CH₂-THP).

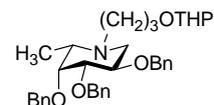
75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 98.9 (CH-THP); 64.9 (OCH₂-THP); 62.2 (OCH₂-Propyl); 32.9, 30.7, 30.6 (BrCH₂-Propyl, CH₂CH₂CH₂-Propyl, CHCH₂THP); 25.4 (OCH₂CH₂-THP); 19.5 (CH₂CH₂CH₂-THP).

***N*-(3-(Tetrahydropyran-2-yloxy)-propyl)-2,3,4-tri-*O*-benzyl-desoxyfuconojirimycin (72)**

[(2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-*N*-(3-(Tetrahydropyran-2-yloxy)-propyl)-3,4,5-tris-benzyloxy-2-methyl-piperidin]

Eine Lösung von 18.9 g (45.5 mmol) 2,3,4-Tri-*O*-benzyl-desoxyfuconojirimycin (**68**) in 400 ml *N,N*-Dimethylformamid wird mit 5.43 g (135.8 mmol) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl versetzt. Nach 1 h werden 20.2 g (90.5 mmol) 2-(3-Brompropoxy)-tetrahydropyran (**71**) zur trüben, gelben Reaktionsmischung getropft und diese 16 h gerührt. Anschließend wird der Ansatz durch Zugabe von 30 ml Methanol gestoppt und das Lösungsmittel durch Kodestillation mit Toluol entfernt. Das Rohprodukt wird auf Kieselgel aufgezogen und durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1200 g, 37 x 9 cm, Dichlormethan/Methanol, 20:1) gereinigt. Auf eine Interpretation der NMR-Spektren wird aufgrund der THP-bedingten Diastereomerenmischung des Produkts verzichtet.

Ausbeute: 25.5 g (quant.); C₃₅H₄₅NO₅ (559.74); farbloses Öl; $R_f = 0.57$ (Toluol/Ethanol, 6:1).



ESI-MS (*positiv*) m/z : 582.3 ([M+Na]⁺; ber. 582.4); 560.3 ([M+H]⁺; ber. 560.3); 476.3 ([M-THP+H]⁺; ber. 476.2).

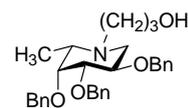
ESI-HRMS (*positiv*) m/z : 560.3393 ([M+H]; ber. 560.3376).

***N*-(3-Hydroxypropyl)-2,3,4-tri-*O*-benzyl-desoxyfuconojirimycin (73)**

[(2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-*N*-(3-Hydroxypropyl)-3,4,5-tris-benzyloxy-2-methyl-piperidin]

Eine Lösung von 25.3 g (45.5 mmol) *N*-(3-(Tetrahydropyran-2-yloxy)-propyl)-2,3,4-tri-*O*-benzyl-desoxyfuconojirimycin (**72**) wird in 300 ml Ethanol gelöst und durch Zugabe von *p*-Toluolsulfonsäure (Monohydrat) auf pH ≈ 3.5 eingestellt. Nach 16 h Rühren wird der Ansatz durch Zugabe von Hünigs-Base neutralisiert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (1000 g, 9 x 32 cm, Dichlormethan/Methanol, 20:1).

Ausbeute: 18.95 g (88 % bez. auf **67** über 3 Stufen); C₃₀H₃₇NO₄ (475.62); farbloses Öl; $R_f = 0.33$ (Toluol/Ethanol, 6:1); $R_t = 24.7$ min (Säule A; Gradient D); $[\alpha]_D^{22} = -11.7$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z : 498.1 ([M+Na]⁺; ber. 498.3); 476.3 ([M+H]⁺; ber. 476.3).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 476.2822 ([M+H]⁺; ber. 476.2801).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.32-7.27 (m, 15H, Ph-Bn); 4.88-4.65 (m, 6H, CH₂-Bn); 3.91 (s_b, 1H, H4-Afc); 3.79 (t_p, 2H, $J = 9.9$ Hz, CH₂- γ -Afc); 3.75 (s_b, 1H, H2-Afc); 3.56 (s_b, 1H, H3-Afc); 3.17 (s_b, 1H, H1_a-Afc); 2.89 (ddd, 1H, $J = 12.6$ Hz, $J = 7.6$ Hz, $J = 5.0$ Hz, CH₂- α -Afc); 2.70 (s_b, 1H, H5-Afc); 2.56 (m_c, 1H, CH₂- α -Afc); 2.28 (s_b, 1H, H1_b-Afc); 1.76 (m_c, 1H, CH₂- β -Afc); 1.65 (m_c, 1H, CH₂- β -Afc); 1.17 (d, 3H, $J = 12.6$ Hz, CH₃-Afc).

Das Spektrum zeigt gehäuft stark verbreiterte Peaks.

75.5 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 138.9, 138.7 (C_{isps}-Bn); 128.4, 128.3, 128.2, 127.73, 127.67, 127.5, 127.4, 127.3 (Ph-Bn); 78.3 (C2-Afc); 75.6 (C3-/C4-Afc); 73.5, 73.0, 72.6 (CH₂-Bn); 64.2 (CH₂- γ -Afc); 58.1 (C5-Afc); 53.2 (CH₂- α -Afc); 27.7 (CH₂- β -Afc); 21.2 (CH₃-Afc).

C1-Afc ist aufgrund von Peakverbreiterung nicht detektierbar.

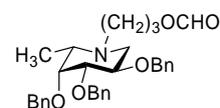
N-(Propylformat-3-yl)-2,3,4-tri-O-benzyl-desoxyfuconojirimycin (77)

[(2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-N-(Propylformat-3-yl)-3,4,5-tris-benzyloxy-2-methyl-piperidin]

Bei -78 °C wird die Lösung von 1.00 g (2.1 mmol) N-(3-Hydroxypropyl)-2,3,4-tri-O-benzyl-desoxyfuconojirimycin (**73**) in 50 ml absol. Dichlormethan mit 0.46 ml (0.78 g, 2.77 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid versetzt. Zu dieser Mischung werden langsam 0.31 ml (0.29 g, 2.66 mmol) 2,6-Lutidin zugetropft, wodurch sich die Lösung kräftig orange verfärbt. Nach 30 min Rühren bei -78 °C wird die Reaktion durch Zugabe von 30 ml ges. Dikaliumhydrogenphosphat-Lösung gestoppt und die Lösung auf Raumtemperatur erwärmt. Die Phasen werden getrennt, die wässrige Phase mit Dichlormethan (2 x 10 ml) extrahiert und dann die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. wird das

erhaltene braune Öl durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (75 g, 3.5 x 12 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1) gereinigt.

Ausbeute: 0.89 g (84 %); blassgelbes Öl; $R_f = 0.22$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1); $R_t = 19.9$ min (Säule A; Gradient A; 200 nm); $[\alpha]_D^{22} = +11.5$ ($c = 1.0$, CHCl_3).



$\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{NO}_5$ (503.63)	Ber.:	C: 73.93	H: 7.41	N: 2.78
	Gef.:	C: 73.13	H: 7.34	N: 2.86

ESI-MS (positiv) m/z : 526.0 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$; ber. 526.3); 504.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. 504.3).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 504.2756 ($[\text{M}+\text{H}]^+$; ber. 504.2750).

400 MHz- $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 8.04 (s, 1H, CHO); 7.24-7.26 (m, 15H, Ph-Bn); 4.94 (d, 1H, $J = 11.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$); 4.82 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$); 4.79 (d, 1H, $J = 12.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$); 4.77 (d, 1H, $J = 11.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$); 4.73 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$); 4.67 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$); 4.16 (dt, 2H, $J = 6.2$ Hz, $J = 3.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-}\gamma\text{-Afc}$); 4.00 (dt, 1H, $J = 8.7$ Hz, $J = 4.5$ Hz, $\text{H}_2\text{-Afc}$); 3.68 (t, 1H, $J = 2.4$ Hz, $\text{H}_4\text{-Afc}$); 3.45 (dd, 1H, $J = 8.6$ Hz, $J = 2.7$ Hz, $\text{H}_3\text{-Afc}$); 3.09 (dd, 1H, $J = 11.3$ Hz, $J = 4.5$ Hz, $\text{H}_{1a}\text{-Afc}$); 2.71 (ddd, 1H, $J = 13.6$ Hz, $J = 10.2$ Hz, $J = 5.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-}\alpha_a\text{-Afc}$); 2.61 (ddd, 1H, $J = 13.6$ Hz, $J = 10.0$ Hz, $J = 5.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-}\alpha_b\text{-Afc}$); 2.46 (sb, 1H, $\text{H}_5\text{-Afc}$); 2.24 (dd, 1H, $J = 11.1$ Hz, $J = 9.4$ Hz, $\text{H}_{1b}\text{-Afc}$); 1.81-1.71 (mc, 2H, $\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-Afc}$); 1.03 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Afc}$).

Das Spektrum zeigt gehäuft stark verbreiterte Peaks.

100.6 MHz- $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 161.1 (CHO); 139.0, 138.79, 138.76 ($\text{C}_{\text{ispsso}}\text{-Bn}$); 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.1, 128.0, 127.8, 127.7, 127.60, 127.56, 127.5 (Ph-Bn); 83.8 ($\text{C}_3\text{-Afc}$; sehr breit); 78.3 ($\text{C}_4\text{-Afc}$); 76.0 ($\text{C}_2\text{-Afc}$); 74.4, 73.1, 72.8 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$); 62.6 ($\text{CH}_2\text{-}\gamma\text{-Afc}$); 57.1 ($\text{C}_5\text{-Afc}$); 53.8 ($\text{C}_1\text{-Afc}$; sehr breit); 49.4 ($\text{CH}_2\text{-}\alpha\text{-Afc}$); 23.2 ($\text{CH}_2\text{-}\beta\text{-Afc}$); 15.3 ($\text{CH}_3\text{-Afc}$; sehr breit).

Das Spektrum zeigt gehäuft stark verbreiterte Peaks.

5.3 Die Synthese des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums

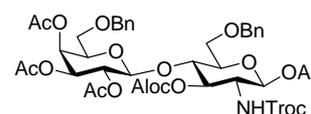
5.3.1 Die Synthese der Disaccharide

Allyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)-β-D-glucopyranosid (**78**)^[152, 153]

[β-4-(β-Ac₃-6-Bn-Gal)-3-Aloc-6-Bn-GlcNTroc-All]

Bei -35 °C wird die Lösung von 6.81 g (12.6 mmol) 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-α-D-galactopyranosyl-trichloracetimidat (**7α**) und 4.78 g (8.4 mmol) des Akzeptors Allyl-3-allyloxycarbonyl-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (**18**) in 250 ml absol. Dichlormethan langsam mit 0.24 ml (1.3 mmol) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat versetzt. Nach kurzer Zeit trübt sich die Lösung und verfärbt sich gelb. Über 1 h lässt man die Reaktionsmischung auf -20 °C erwärmen, neutralisiert mit Hünigs-Base und lässt die Mischung sich anschließend auf Raumtemperatur erwärmen. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. wird das erhaltene Rohprodukt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (300 g, 26 x 5.5 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 1:4) gereinigt.

Ausbeute: 6.77 g (85 %); farbloses Öl; $R_f = 0.46$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 3:2); $R_t = 16.7$ min (Säule A; Gradient A; 203 nm); $[\alpha]_D^{22} = -18.2$ ($c = 1.0$, CHCl₃);



C₄₂H₅₀Cl₃NO₁₇ (947.20) Ber.: C: 53.26 H: 5.32 N: 1.48
 Gef.: C: 52.87 H: 5.23 N: 1.45

ESI-MS (positiv) m/z : 968.2 ([M+Na]⁺; ber. 968.2); 1913.5 ([2M+Na]⁺; ber. 1913.4).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 968.2037 ([M+Na]; ber. 968.2042).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.35-7.22 (m, 10H, Ph-Bn); 5.87-5.74 (m, 2H, CH-Aloc, CH-All); 5.40 (d, 1J, $J = 3.1$ Hz, H4-Gal); 5.27 (dd, 1H, $J = 11.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, =CH₂-Aloc); 5.22 (dd, 1H, $J = 11.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, =CH₂-All); 5.17 (dd, 1H, $J = 10.2$ Hz, $J = 0.8$ Hz, =CH₂-Aloc); 5.14 (dd, 1H, $J = 10.0$ Hz, $J = 1.2$ Hz, =CH₂-All); 5.01-4.96 (m,

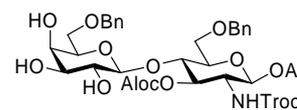
2H, H2-Gal, H3-Glc); 4.84 (dd, 1H, $J = 10.6$ Hz, $J = 3.5$ Hz, H3-Gal); 4.70 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn-Glc); 4.55 (m, 1H, CH₂-Aloc); 4.53 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H1-Glc); 4.52 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn-Gal); 4.46 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn-Glc); 4.43 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, H1-Gal); 4.40 (dd(t), 1H, $J = 13.1$ Hz, $J = 5.7$ Hz, CH₂-Aloc); 4.33 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn-Gal); 4.34-4.27 (m, 1H, CH₂-All); 4.03 (dd(t), 1H, $J = 13.0$ Hz, $J = 6.2$ Hz, CH₂-All); 3.89 (t_p, 1H, $J = 9.2$ Hz, H4-Glc); 3.69-3.66 (m, 2H, H6-Glc); 3.66-3.59 (m, 2H, H5-Gal, H2-Glc); 3.48-3.42 (m, 4H, H5-Glc, H6_a-Gal, CH₂-Troc); 3.34 (t_p, 1H, $J = 8.8$ Hz, H6_b-Gal).

100.6 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 170.0, 169.9, 169.1 (C=O-Ac); 154.6 (C=O-Aloc); 154.0 (C=O-Troc); 137.7, 137.5 (C_{ipso}-Bn); 133.5 (CH-All); 131.2 (CH-Aloc); 128.5, 128.4, 128.0, 127.9 (Ph-Bn); 118.8 (=CH₂-Aloc); 117.6 (=CH₂-All); 100.6 (C1-Gal); 99.6 (C1-Glc); 95.5 (CCl₃-Troc); 76.5 (C3-Glc); 75.5 (C4-Glc), 74.4 (C5-Glc); 73.7 (CH₂-Bn-Glc); 73.4 (CH₂-Bn-Gal); 71.7 (C5-Gal); 71.1 (CH₂-Troc); 71.0 (C3-Gal); 69.9 (CH₂-All); 69.3 (C2-Gal); 68.6 (CH₂-Aloc); 67.3 (C6-Glc); 67.1 (C4-Gal); 66.5 (C6-Gal); 56.2 (C2-Glc); 20.7, 20.6, 20.5 (CH₃-Ac).

Allyl-4-O-(6-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-6-O-benzyl-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- β -D-glucopyranosid (79)
 [β -4-(β -6-Bn-Gal)-3-Aloc-6-Bn-GlcNTroc-All]

Eine Lösung von 36.97 g (39.11 mmol) β -4-(β -Ac₃-6-Bn-Gal)-3-Aloc-6-Bn-GlcNTroc-All (**78**) in 1.5 L Methanol p.a. wird durch Zugabe von frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung auf pH \approx 8.5 eingestellt. Nach 3 h ist die Abspaltung der Troc-Schutzgruppe als Nebenreaktion dünnschichtchromatographisch deutlich zu erkennen, das Edukt jedoch nur zu ca. 80 % umgesetzt. Die Reaktionsmischung wird durch Rühren über saurem Ionenaustauscher *Amberlyst*[®] 15 neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Flash-Chromatographie an Kieselgel (1000 g, 30 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 1:3) liefert das Produkt (ca. 23 g) sowie eine Mischung unterschiedlicher Acetylierungsstufen, die einer erneuten Reaktion und Aufreinigung unterworfen wird.

Ausbeute: 28.8 g (90 %); C₃₆H₄₄Cl₃NO₁₄ (821.09); farbloses Öl;
R_f = 0.54 (Toluol/Ethanol, 3:1); *R_t* = 22.3 min (Säule A; Gradient C;
 202 nm); $[\alpha]_D^{22} = -0.4$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) *m/z* : 842.2 ([M+Na]⁺; ber. 842.2); 1661.5 ([2M+Na]⁺; ber. 1661.4).

ESI-HRMS (positiv) *m/z* : 842.1706 ([M+Na]; ber. 842.1725).

400 MHz-¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 7.92 (d, 1H, *J* = 9.4 Hz, NH); 7.33-7.26 (m, 10H, Ph-*Bn*); 5.87-5.78 (m, 2H, CH-*Aloc*, CH-*All*); 5.25 (dd, 1H, *J* = 12.3 Hz, *J* = 1.6 Hz, =CH₂-*Aloc*); 5.21 (dd, 1H, *J* = 12.5 Hz, *J* = 1.6 Hz, =CH₂-*All*); 5.16 (d, 1H, *J* = 10.6 Hz, =CH₂-*Aloc*); 5.09 (dd, 1H, *J* = 10.4 Hz, *J* = 1.4 Hz, =CH₂-*All*); 4.84 (d, 1H, *J* = 12.5 Hz, CH₂-*Bn*); 4.81 (t, 1H, *J* = 9.8 Hz, H₃-*Glc*); 4.73 (d, 1H, *J* = 12.5 Hz, CH₂-*Bn*); 4.54-4.46 (m, 6H, H₁-*Glc*, CH₂-*Aloc*[1H], CH₂-*Troc*, CH₂-*Bn*); 4.41 (dd, 1H, *J* = 13.7 Hz, *J* = 5.1 Hz, CH₂-*Aloc*); 4.21 (dd, 1H, *J* = 13.5 Hz, *J* = 4.9 Hz, CH₂-*All*); 4.10 (d, 1H, *J* = 7.0 Hz, H₁-*Gal*); 4.00 (dd, 1H, *J* = 13.7 Hz, *J* = 5.5 Hz, CH₂-*All*); 3.87 (dd, 1H, *J* = 10.9 Hz, *J* = 3.9 Hz, H_{6_a}-*Glc*); 3.82 (d, 1H, *J* = 9.8 Hz, H_{6_b}-*Glc*); 3.69 (t, 1H, *J* = 9.6 Hz, H₄-*Glc*); 3.61-3.57 (m, 2H, H_{6_a}-*Gal*, H₄-*Gal*); 3.48-3.36 (m, 4H, H₅-*Gal*, H₂-*Glc*, H_{6_b}-*Gal*, H₅-*Glc*); 3.20 (sb, 2H, H₂-*Gal*, H₃-*Gal*).

100.6 MHz-¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 159.5 (C=O-*Aloc*); 159.0 (C=O-*Troc*); 143.9, 143.7 (C_{ipso}-*Bn*); 139.5 (CH-*All*); 137.3 (CH-*Aloc*); 133.4, 133.3, 132.5, 132.4 (Ph-*Bn*); 123.0 (=CH₂-*Aloc*); 121.6 (=CH₂-*All*); 108.9 (C₁-*Gal*); 104.9 (C₁-*Glc*); 101.4 (CCl₃-*Troc*); 82.3 (C₃-*Glc*); 80.8 (H₄-*Glc*); 79.2 (H₅-*Glc*); 78.4 (CH₂-*Bn*, C₃-*Gal*, C₅-*Gal*); 77.5 (CH₂-*Troc*); 77.3 (CH₂-*Bn*); 75.7 (C₂-*Gal*); 74.3 (CH₂-*All*); 73.8 (C₆-*Gal*); 73.1 (C₄-*Gal*); 73.0 (C₆-*Glc*); 72.8 (CH₂-*Aloc*); 60.6 (C₂-*Glc*).

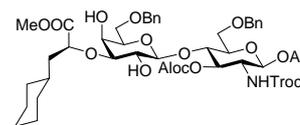
5.3.2 Die Synthese der Pseudo-Trisaccharide

Allyl-4-*O*-(6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]-β-*D*-galactopyranosyl)-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl-2-(2,2,2-trichloroethoxy-carbonylamino)-β-*D*-glucopyranosid (81)

[β-4-(β-[3-*c*Hex-COOMe]-6-*Bn*-*Gal*)-3-*Aloc*-6-*Bn*-*Glc*N*Troc*-*OAll*]

Zur Lösung von 5.02 g (6.1 mmol) des Disaccharids β -4-(β -6-Bn-Gal)-3-Aloc-6-Bn-GlcNTroc-All (**79**) in 130 ml absol. Methanol werden 2.61 g (9.2 mmol) Dibutylzinnoxid gegeben, und die Reaktionsmischung wird unter Argon-Atmosphäre 16 h unter Rückfluss gerührt. Danach wird das Lösungsmittel i. Hochvak. gründlich entfernt und das erhaltene Zwischenprodukt in 160 ml 1,2-Dimethoxyethan gelöst. Nach Zugabe von 2.79 g (18.3 mmol) Cäsiumfluorid und 5.83 g (18.3 mmol) des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins (**24**) wird erneut 16 h gerührt und anschließend die Reaktionsmischung mit 250 ml Dichlormethan und 200 ml dest. Wasser verdünnt. Die organische Phase wird mit 200 ml dest. Wasser gewaschen und die vereinigten wässrigen Phasen mit Dichlormethan gegengeschüttelt (100 ml + 2 x 50 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (800 g, 26 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1) gereinigt.

Ausbeute: 5.30 g (88 %); C₄₆H₆₀Cl₃NO₁₆ (989.32); farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.29$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 3:2); $R_t = 23.0$ min (Säule A; Gradient A; 211 nm); $[\alpha]_D^{22} = -6.6$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z : 1010.4 ([M+Na]⁺; ber. 1010.3); 1026.3 ([M+K]⁺; ber. 1026.3); 1997.8 ([2M+Na]⁺; ber. 1997.6).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 1010.2871 ([M+Na]; ber. 1010.2875).

400 MHz-¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 7.93 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz, NH_{Troc}); 7.36-7.24 (m, 10H, Ph-Bn); 5.87-5.77 (m, 2H, CH-Aloc, CH-All); 5.30 (d, 1H, $J = 5.5$ Hz, 2-OH-Gal); 5.24 (dd, 1H, $J = 17.2$ Hz, $J = 1.2$ Hz, =CH₂-Aloc); 5.22 (dd, 1H, $J = 17.4$ Hz, $J = 1.4$ Hz, =CH₂-All); 5.16 (dd, 1H, $J = 10.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, =CH₂-Aloc); 5.10 (dd, 1H, $J = 10.6$ Hz, $J = 1.2$ Hz, =CH₂-All); 4.84 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn); 4.81 (t, 1H, $J = 9.8$ Hz, H₃-Glc); 4.73 (d, 1H, $J = 12.5$ Hz, CH₂-Bn); 4.54-4.38 (m, 9H, H₁-Glc, C_{tert}, CH₂-Aloc, CH₂-Troc, CH₂-Bn, 4-OH-Gal); 4.22 (dd, 1H, $J = 13.5$ Hz, $J = 4.9$ Hz, CH₂-All_a); 4.04 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, H₁-Gal); 4.00 (dd, 1H, $J = 13.7$ Hz, $J = 5.5$ Hz, CH₂-All_b); 3.85-3.78 (m, 3H, H₄-Gal, H₆-Glc); 3.68 (t, 1H, $J = 9.4$ Hz, H₄-Glc); 3.64 (s, 3H, COCH₃); 3.57 (dd, 1H, $J = 9.8$ Hz, $J = 7.0$ Hz, H_{6a}-Gal); 3.50-3.43 (m, 2H, H₂-/H₅-Glc); 3.43-3.40 (m, 1H, H_{6b}-Gal); 3.40-3.34 (m, 1H, H₂-Gal); 3.34-3.29 (m, 1H, H₅-Gal); 3.04 (dd, 1H, $J = 9.6$ Hz,

$J = 2.9$ Hz, H3-Gal); 1.86 (d, 1H, $J = 12.2$ Hz, CH₂-cHex_{ortho}); 1.61-1.52 (m, 5H, CH₂-cHex_{ortho}/CH₂-cHex_{meta/para}/CH-cHex_{ipso}); 1.52-1.38 (m, 2H, C₆H₁₁-CH₂-Cyc); 1.27-1.08 (m, 3H, cHex_{meta/para}); 0.93-0.84 (m, 1H, CH₂-cHex_{ortho}); 0.84-0.77 (m, 1H, CH₂-cHex_{ortho}).

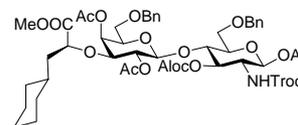
75.5 MHz-¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 174.7 (COOMe); 154.4 (C=O-Aloc); 153.9 (C=O-Troc); 138.8, 138.6 (C_{ipso}-Bn); 134.4 (CH-All); 132.3 (CH-Aloc); 128.3, 127.6, 127.5 (Ph-Bn); 117.9 (=CH₂-Aloc); 116.6 (=CH₂-All); 103.4 (C1-Gal); 99.9 (C1-Glc); 96.4 (CCl₃-Troc); 81.2 (C3-Gal); 77.2 (C3-Glc); 76.6 (C_{tert}-Cyc); 75.5 (C4-Glc); 74.2 (C5-Glc); 73.4 (CH₂-Bn); 73.2 (C5-Gal); 72.5 (CH₂-Bn); 72.4 (CH₂-Troc); 70.7 (C2-Gal); 69.3 (CH₂-All); 68.5 (C6-Gal); 68.0 (C6-Glc); 67.8 (CH₂-Aloc); 66.6 (C4-Gal); 55.5 (C2-Glc); 51.8 (COCH₃); 40.7 (C₆H₁₁-CH₂-Cyc); 33.5, 31.9 (CH₂-cHex_{ortho}); 32.9 (CH-cHex_{ipso}); 26.2, 25.9, 25.7 (CH₂-cHex_{meta/para}).

Allyl-4-O-(2,4-O-diacetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl)-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-6-O-benzyl-2-(2,2,2-trichloroethoxy-carbonylamino)- β -D-glucopyranosid (82)

[β -4-(β -Ac₂-[3-cHex-COOMe]-6-Bn-Gal)-3-Aloc-6-Bn-GlcNTroc-OAll]

In 500 ml Pyridin werden 11.59 g (11.7 mmol) β -4-(β -[3-cHex-COOMe]-6-Bn-Gal)-3-Aloc-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**81**) gelöst und langsam mit 300 ml Acetanhydrid versetzt. Nach 6 d Rühren wird das Lösungsmittel i. Vak. durch Kodestillation mit Toluol entfernt und das erhaltene Rohprodukt wird durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (500 g, 15 x 9 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 4:1) gereinigt.

Ausbeute: 11.07 g (88 %); farbloses Öl; $R_f = 0.30$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1); $R_t = 19.5$ min (Säule A; Gradient B); $[\alpha]_D^{22} = -11.2$ ($c = 1.0$, CHCl₃).



C₅₀H₆₄Cl₃NO₁₈ (1073.40) Ber.: C: 55.95 H: 6.01 N: 1.30
Gef.: C: 56.39 H: 6.03 N: 1.33

ESI-MS (positiv) m/z : 1094.2 ([M+Na]⁺; ber. 1094.3).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 1094.3070 ([M+Na]; ber. 1094.3087).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.32-7.25 (m, 10H, Ph-Bn); 5.84-5.76 (m, 2H, CH-Aloc, CH-All); 5.52 (d, 1H, *J* = 3.1 Hz, H4-Gal); 5.25 (dd, 1H, *J* = 17.2 Hz, *J* = 1.6 Hz, =CH₂-Aloc); 5.23 (dd, 1H, *J* = 17.2 Hz, *J* = 1.6 Hz, =CH₂-All); 5.17 (dd, 1H, *J* = 10.6 Hz, *J* = 0.8 Hz, =CH₂-Aloc); 5.14 (dd, 1H, *J* = 10.6 Hz, *J* = 1.0 Hz, =CH₂-All); 5.01-4.94 (m, 2H, H2-Gal, H3-Glc); 4.75-4.64 (m, 4H, CH₂-Bn, CH₂-Troc); 4.58-4.52 (m, 1H, CH₂-Aloc); 4.52-4.38 (m, 4H, H1-Glc, CH₂-Aloc, CH₂-Bn); 4.34-4.30 (m, 2H, H1-Gal, CH₂-All); 4.03 (dd(t), 1H, *J* = 13.3 Hz, *J* = 6.2 Hz, CH₂-All); 3.88 (tp, 1H, *J* = 9.0 Hz, H4-Glc); 3.71 (s, 3H, COOCH₃); 3.69-3.61 (m, 3H, H2-Glc, H6-Glc); 3.55-3.50 (m, 1H, H5-Gal); 3.48-3.43 (m, 2H, H5-Glc, H6_a-Gal); 3.39-3.34 (m, 2H, H3-Gal, H6_b-Gal); 2.03, 1.93 (2s, 6H, CH₃-Ac); 1.65-1.57 (m, 5H, CH₂-cHex_{ortho}, CH₂-cHex_{meta/para}); 1.48 (dd, 2H, *J* = 12.9 Hz, *J* = 6.9 Hz, cHex-CH₂); 1.31-1.22 (m, 1H, CH-cHex_{ipso}); 1.22-1.10 (m, 3H, CH₂-cHex_{meta/para}); 0.92-0.81 (m, 2H, CH₂-cHex_{ortho}).

100.6 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 172.7 (COOMe); 169.8, 168.8 (C=O-Ac); 154.6 (C=O-Aloc); 154.1 (C=O-Troc); 138.0, 137.8 (C_{ipso}-Bn); 133.6 (CH-All); 131.2 (CH-Aloc); 128.4, 128.3, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7 (Ph-Bn); 118.8 (=CH₂-Aloc); 117.5 (=CH₂-All); 100.6 (C1-Gal); 99.8 (C1-Glc); 95.5 (CCl₃); 77.7 (C3-Gal); 76.5 (C3-Glc); 75.2 (C4-Glc), 74.6 (C5-Glc); 74.6 (CH₂-Bn), 73.7 (CH₂-Bn, CH₂-Troc); 72.7 (C5-Gal); 69.9 (CH₂-All); 71.8 (C2-Gal); 68.6 (CH₂-Aloc); 67.7 (C6-Gal); 67.5 (C6-Glc); 68.2 (C4-Gal); 56.1 (C2-Glc); 51.9 (OCH₃); 40.5 (C₆H₁₁-CH₂); 33.5, 33.1 (CH₂-cHex_{ortho}); 33.4 (CH-cHex_{ipso}); 26.3, 26.0, 25.9 (CH₂-cHex_{meta/para}); 21.0, 20.7 (CH₃-Ac).

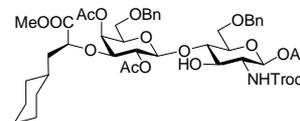
Allyl-4-O-(2,4-O-diacetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl)-2-desoxy-6-O-benzyl-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)-β-D-glucopyranosid (83)

[β-4-(β-Ac₂-[3-cHex-COOMe]-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OAll]

Die Lösung von 6.54 g (6.1 mmol) des acetylierten Trisaccharids β-4-(β-Ac₂-[3-cHex-COOMe]-6-Bn-Gal)-3-Aloc-6-Bn-GlcNTroc-OAll **82** in 300 ml absol. Tetrahydrofuran wird mehrfach unter stark vermindertem Druck entgast und mit Argon geflutet. Es werden ca. 100 mg des Katalysators Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) zugegeben, erneut entgast und mit Argon geflutet und 3.1 ml (35.2 mmol) Morpholin zugegeben. Nach 2 h Rühren wird die Reaktionsmischung mit 300 ml Dichlormethan verdünnt und mit Wasser

gewaschen (2 x 50 ml). Trocknen mit Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels liefert das Rohprodukt, das durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (300 g, 26 x 5.5 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1) gereinigt wird.

Ausbeute: 5.57 g (92 %); farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.47$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1); $R_t = 16.5$ min (Säule A; Gradient B); $[\alpha]_D^{22} = +2.7$ (c = 1.0, CHCl_3).



$\text{C}_{46}\text{H}_{60}\text{Cl}_3\text{NO}_{16}$ (989.32) Ber.: C: 55.85 H: 6.11 N: 1.42
Gef.: C: 55.96 H: 6.20 N: 1.44

ESI-MS (positiv) m/z : 1010.3 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$; ber. 1010.3); 1997.6 ($[2\text{M}+\text{Na}]^+$; ber. 1997.6).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 1010.2894 ($[\text{M}+\text{Na}]$; ber. 1010.2875).

400 MHz- $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 7.44-7.33 (m, 10H, Ph-Bn); 5.98-5.91 (m, 1H, CH-All); 5.53 (d, 1H, $J = 3.5$ Hz, H4-Gal); 5.34 (dd, 1H, $J = 17.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, =CH₂-All); 5.25-5.20 (m, 2H, H2-Gal, =CH₂-All); 4.80-4.75 (m, 3H, CH₂-Bn, CH₂-Troc); 4.71 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H1-Glc); 4.67 (d, 1H, $J = 11.7$ Hz, CH₂-Bn); 4.58 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn); 4.44 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H1-Gal); 4.42 (dd(t), 1H, $J = 13.3$ Hz, $J = 5.1$ Hz, CH₂-All); 4.14 (dd(t), 1H, $J = 12.5$ Hz, $J = 5.9$ Hz, CH₂-All); 4.10 (dd, $J = 7.4$ Hz, $J = 5.1$ Hz, CHCOOMe); 3.97 (t_p, 1H, $J = 9.2$ Hz, H3-Glc); 3.86-3.83 (m, 1H, H3-Gal); 3.79 (s, 3H, OCH₃); 3.73 (d, 2H, $J = 2.0$ Hz, H6-Glc); 3.69 (t_p, 1H, $J = 9.0$ Hz, H4-Glc); 3.60-3.51 (m, 4H, H5-/H6-Gal, H5-Glc); 3.44 (dd, 1H, $J = 18.8$ Hz, $J = 8.6$ Hz, H2-Glc); 2.15, 2.08 (2s, 6H, CH₃-Ac); 1.77-1.63 (m, 5H, CH₂-cHex_{ortho}, CH₂-cHex_{meta/para}); 1.62-1.56 (m, 2H, cHex-CH₂); 1.43-1.34 (m, 1H, CH-cHex_{ipso}); 1.33-1.22 (m, 3H, CH₂-cHex_{meta/para}); 0.99-0.87 (m, 2H, CH₂-cHex_{ortho}).

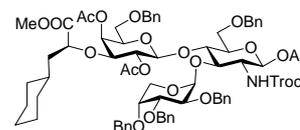
100.6 MHz- $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 172.8 (COOMe); 170.1, 169.0 (C=O-Ac); 154.0 (C=O-Troc); 138.3, 137.2 (C_{ipso}-Bn); 133.8 (CH-All); 128.5, 128.4, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7 (Ph-Bn); 117.5 (=CH₂-All); 101.4 (C1-Gal); 99.6 (C1-Glc); 95.6 (CCl₃); 81.3 (C4-Glc); 77.6 (C5-Glc); 74.1 (C5-Gal); 73.2 (C3-Gal); 72.0 (C3-Glc), 71.5 (C2-Gal); 70.0 (CH₂-All); 68.4 (C6-Gal); 68.2 (C4-Gal); 68.1 (C6-Glc); 57.8 (C2-Glc); 52.0 (OCH₃); 40.5 (C₆H₁₁-CH₂); 33.6 (CH₂-cHex_{ortho}, CH-cHex_{ipso}); 33.0 (CH₂-cHex_{ortho}); 26.9, 26.3, 26.0 (CH₂-cHex_{meta/para}); 21.0, 20.7 (CH₃-Ac).

5.3.3 Die Synthese der Pseudo-Tetrasaccharide

Allyl-4-O-(2,4-O-diacetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-β-D-arabinopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)-β-D-glucopyranosid (85)
 [β-Ac₂-Bn₅-(Ara)-cycloLe^x(Troc)COOMe-OAll]

Eine Lösung von 10.87 g (23.4 mmol) Ethyl-2,3,4-tri-O-benzyl-1-thio-α,β-D-arabino-pyranosid (**32**) in 100 ml absol. Dichlormethan wird bei 0 °C mit 1.44 ml (4.47 g; 28.0 mmol) Brom versetzt und zwei Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend werden das Lösungsmittel und überschüssiges Brom durch Kodestillation mit Toluol unter vermindertem Druck entfernt. Der braune Rückstand wird in 20 ml absol. Dichlormethan aufgenommen und bei 0 °C zu einer Lösung von 10.97 g (11.1 mmol) des Trisaccharids β-4-(β-Ac₂-[3-cHex-COOMe]-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**83**) in 100 ml absol. Dichlormethan und 15.00 g gepulvertem Molekularsieb (4Å) getropft. Der Ansatz wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und 16 h bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wird mit 200 ml Dichlormethan verdünnt, das Molekularsieb durch Filtration entfernt und die Reaktionslösung mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (2 x 100 ml) gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (700 g, 34 x 7.5 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1) gereinigt.

Ausbeute: 6.82 g (44 %); farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.61$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1); $R_t = 32.0$ min (Säule A; Gradient B); $[\alpha]_D^{22} = -48.3$ (c = 1.0, CHCl₃).



C₇₂H₈₆Cl₃NO₂₀ (1391.81) Ber.: C: 62.13 H: 6.23 N: 1.01
 Gef.: C: 62.17 H: 6.28 N: 1.01

ESI-MS (positiv) m/z : 1428.6 ([M+K]⁺; ber. 1428.5); 1412.6 ([M+Na]⁺; ber. 1412.5).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 1412.4739 ([M+Na]⁺; ber. 1412.4706).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.41-7.19 (m, 25H, Ph-Bn); 5.88-5.79 (m, 1H, CH-All); 5.68 (db, $J = 6.2$ Hz, NH-Troc); 5.51 (d, 1H, $J = 3.4$ Hz, H4-Gal); 5.25 (dd, 1H,

$J = 18.9$ Hz, $J = 1.8$ Hz, =CH₂-All_a); 5.24 (d, 1H, $J = 3.5$ Hz, H1-Ara); 5.14 (dd, 1H, $J = 10.4$ Hz, $J = 1.6$ Hz, =CH₂-All_b); 5.06 (dd, 1H, $J = 9.7$ Hz, $J = 8.2$ Hz, H2-Gal); 4.82-4.59 (m, 9H, CH₂-Bn, CH₂-Troc, H1-Glc {4.74}); 4.54 (d, 1H, $J = 11.7$ Hz; CH₂-Bn); 4.46-4.36 (m, 4H, H1-Gal, CH₂-Bn); 4.26 (ddt, 1H, $J = 13.0$ Hz, $J = 5.2$ Hz, $J = 1.5$ Hz, CH₂-All_a); 4.11 (t, 1H, $J = 7.1$ Hz, H3-Glc); 4.07-3.96 (m, 5H, CH₂-All_b, CHCOOMe, H2-/H5_a-Ara, H4-Glc); 3.85 (dd, 1H, $J = 8.5$ Hz, $J = 2.2$ Hz, H4-Ara); 3.76 (d, 2H, $J = 4.3$ Hz, H6-Glc); 3.74 (s, 3H, COOCH₃); 3.67-3.64 (m, 2H, H3-/H5_b-Ara); 3.53-3.41 (m, 5H, H5-Glc {3.52}; H5-Gal {3.50}, H6-Gal {3.47, 3.41}, H2-Glc {3.45}); 3.38 (dd, 1H, $J = 9.9$ Hz, $J = 3.4$ Hz, H3-Gal); 2.03, 1.87 (2s, 6H, CH₃-Ac); 1.70-1.63 (m, 5H, CH₂-cHex_{ortho}, CH₂-cHex_{meta/para}); 1.59-1.46 (m, 2H, cHex-CH₂); 1.39-1.29 (m, 1H, CH-cHex_{ipso}); 1.26-1.10 (m, 3H, CH₂-cHex_{meta/para}); 0.91-0.83 (m, 2H, CH₂-cHex_{ortho}).

100.6 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 172.8 (COOMe); 169.8, 169.1 (C=O-Ac); 153.9 (C=O-Troc); 138.7, 138.6, 138.5, 138.2, 138.1, 138.0, 137.9, 137.8, 137.7 (C_{ipso}-Bn); 133.9 (CH-All); 128.8, 128.6, 128.54, 128.50, 128.46, 128.43, 128.41, 128.35, 128.34, 128.27, 128.24, 128.2, 128.20, 128.16, 128.1, 128.03, 128.00, 127.93, 127.85, 127.7, 127.6, 127.54, 127.49, 127.34 (Ph-Bn); 117.3 (=CH₂-All); 99.6 (C1-Gal); 99.1 (C1-Glc); 97.7 (C1-Ara); 95.6 (CCl₃-Troc); 77.8 (CHCOOMe); 77.2 (C3-Gal, C4-Ara); 76.7 (C2-Ara); 74.9 (C5-Glc); 74.5 (CH₂-Bn); 74.4 (C3-Glc); 74.0 (C3-Ara); 73.8 (C4-Glc); 73.6, 73.53, 73.49 (CH₂-Bn, CH₂-Troc); 73.0 (C5-Gal); 72.4 (CH₂-Bn); 71.9 (C2-Gal); 69.8 (CH₂-All); 68.6 (C6-Glc); 68.5 (C4-Gal); 68.1 (C6-Gal); 60.5 (C5-Ara); 56.3 (C2-Glc); 52.0 (COOCH₃); 40.5 (cHex-CH₂); 33.6, 33.5 (CH₂-cHex_{ortho}, CH-cHex_{ipso}); 33.0 (CH₂-cHex_{ortho}); 26.9, 26.3, 26.1, 26.0 (CH₂-cHex_{meta/para}); 21.1, 20.6 (CH₃-Ac).

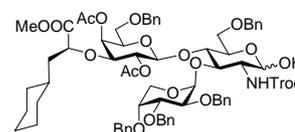
4-O-(2,4-O-Diacetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- α,β -D-glucopyranose (87)

[α,β -Ac₂-Bn₅-(Ara)-cycloLe^x(Troc)COOMe-OH]

Zur Voraktivierung des Baudry-Katalysators^[159, 160] werden 270 mg (0.32 mmol) 1,5-Cyclooctadien-bis(methyldiphenylphosphin)iridium(I)-hexafluorophosphat in 15 ml absol. Tetrahydrofuran suspendiert, die Suspension mehrfach unter vermindertem Druck entgast und mit Wasserstoff geflutet. Nach etwa 10 min Rühren unter Wasserstoffatmosphäre ist

die vollständige Aktivierung des Katalysators durch den Farbumschlag von orangerot zu gelb erkennbar. Die Suspension wird anschließend zu einer Lösung von 6.82 g (4.90 mmol) des Allylethers β -Ac₂-Bn₅-(Ara)-cycloLe^x(Troc)COOMe-OAll **85** in 85 ml absol. Tetrahydrofuran über eine Kanüle zugespritzt und die Mischung 1.5 h unter Argon-Atmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Isomerisierung zur Verbindung **86** (DC-Kontrolle; $R_f(\text{Allyl}) = 0.65$ (Cyclohexan/Ethylacetat; 1:1); $R_f(\text{Propenyl}) = 0.69$ (Cyclohexan/Ethylacetat; 1:1)) wird das Tetrahydrofuran i. Vak. entfernt und der Rückstand in 250 ml Dichlormethan aufgenommen. Man wäscht die Lösung mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (50 ml) sowie ges. Natriumchlorid-Lösung (50 ml). Die wässrige Phase wird anschließend mit Dichlormethan extrahiert (3 x 50 ml), und die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. wird der Rückstand in 60 ml Tetrahydrofuran aufgenommen, die Lösung auf 0 °C abgekühlt und mit 1.56 g (18.62 mmol) Natriumhydrogencarbonat in 40 ml Wasser sowie 3.11 g (12.25 mmol) Iod versetzt. Nach Entfernen der Kühlung wird die zweiphasige Mischung 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend durch Zugabe von 60 ml Wasser und 270 ml Ethylacetat verdünnt. Der Ansatz wird erneut auf 0 °C gekühlt und so lange mit festem Natriumhydrogensulfit versetzt, bis die Iodfärbung verschwunden ist. Die organische Phase wird abgetrennt und mit 1 M Natriumhydrogensulfit-Lösung (60 ml) und ges. Natriumhydrogensulfat-Lösung (60 ml) gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden mit Ethylacetat extrahiert (3 x 60 ml) und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Flash-Chromatographie an Kieselgel (300 g, 26 x 5.5 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:1) liefert das Produkt als Anomerengemisch, das nicht aufgetrennt werden muss.

Ausbeute: 5.30 g (80 %); C₆₉H₈₂Cl₃NO₂₀ (1351.74); blassgelber, amorpher Feststoff; $R_f = 0.31, 0.39$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1); $R_t = 18.2$ min, 19.3 min (Säule A; Gradient E); $\alpha:\beta \approx 6:1$ (HPLC).



ESI-MS (positiv) m/z : 1372.6 ([M+Na]⁺; ber. 1372.4); 1388.6 ([M+K]⁺; ber. 1388.4).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 1372.4429 ([M+Na]⁺; ber. 1372.4393).

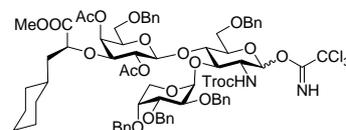
Auf die NMR-Analyse wird aufgrund des Vorliegens eines Anomerengemisches verzichtet.

4-O-(2,4-O-Diacetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-β-D-arabinopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxy-carbonylamino)-α,β-D-glucopyranosyl-trichloracetimidat (88)

[α,β-Ac₂-Bn₅-(Ara)-cycloLe^x(Troc)COOMe-OCNHCCl₃]

Man löst 3.25 g (2.40 mmol) α,β-Ac₂-Bn₅-(Ara)-cycloLe^x(Troc)COOMe-OH (**87**) in 150 ml absol. Dichlormethan und gibt unter Argon-Atmosphäre 1.2 ml (1.73 g, 12.02 mmol) Trichloracetonitril und 70 μl (0.47 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en zu. Die Reaktionsmischung wird 4 h bei Raumtemperatur gerührt, und anschließend werden das Lösungsmittel und das überschüssige Trichloracetonitril i. Vak. entfernt. Die Reinigung des erhaltenen Rohproduktes erfolgt durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (150 g, 15 x 5.5 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 5:1). Dem Laufmittel muss mindestens 2 % Triethylamin zugemischt werden, um das Produkt vor Zersetzung an den sauren Zentren des Kieselgels zu schützen.

Ausbeute: 3.28 g (91 %); C₇₁H₈₂Cl₆N₂O₂₀ (1496.13); farblos, amorpher Feststoff; *R_f* = 0.40 (Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1); *R_f* = 0.73 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1).



β-Anomer:

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 8.64 (s, 1H, =NH); 7.39-7.20 (m, 25H, Ph-Bn); 6.74 (s, 1H, H1-Ara); 5.47 (d, 1H, *J* = 3.5 Hz, H4-Gal); 5.07 (d, 1H, *J* = 3.3 Hz, H1-Gal); 5.01 (dd, 1H, *J* = 9.8 Hz, *J* = 8.2 Hz, H2-Gal); 4.94 (d, 1H, *J* = 12.3 Hz; CH₂-Bn); 4.81 (d, 1H, *J* = 12.3 Hz; CH₂-Bn); 4.79 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz; CH₂-Bn); 4.75 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz; CH₂-Bn); 4.74 (d, 1H, *J* = 11.5 Hz; CH₂-Bn); 4.67-4.63 (m, 2H, CH₂-Bn, CH₂-Troc); 4.59 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz; CH₂-Bn o. CH₂-Troc); 4.54 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz; CH₂-Bn o. CH₂-Troc); 4.44-4.41 (m, 2H, CH₂-Bn, CH₂-Troc); 4.38 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz; H1-Glc); 4.12-4.05 (m, 2H, H3-Glc, CHCOOMe); 3.99-3.96 (m, 2H, H2-Glc, H2-Ara); 3.94-3.91 (m, 1H, H5-Glc, H4-Ara); 3.82 (d, 1H, *J* = 12.7 Hz, H5_a-Ara); 3.79-3.73 (m, 6H, COOCH₃, H6_a-Glc, H4-Glc); 3.71-3.64 (m, 3H, H6_b-Glc, H3-Ara); 3.56 (d, 1H, *J* = 11.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, H5_b-Ara); 3.48-3.45 (m, 1H, H5-Gal); 3.44-3.39 (m, 2H, H6-Gal); 3.27 (dd, 1H, *J* = 10.0 Hz, *J* = 3.5 Hz, H3-Gal); 1.96, 1.93 (2s, 6H, CH₃-Ac); 1.77-1.60 (m, 5H, CH₂-cHex_{ortho}, CH₂-cHex_{meta/para});

1.56-1.45 (m, 2H, *cHex-CH₂*); 1.35-1.25 (m, 1H, *CH-cHex_{ipso}*); 1.25-1.10 (m, 3H, *CH₂-cHex_{meta/para}*); 0.90-0.82 (m, 2H, *CH₂-cHex_{ortho}*).

100.6 MHz-¹³C-NMR (*CDCl₃*): δ [ppm] = 172.9 (*COOMe*); 170.0, 168.8 (*C=O-Ac*); 154.7 (*C=O-Troc*); 138.6, 138.4, 137.91, 137.87, 137.6 (*C_{ipso}-Bn*); 128.7, 128.6, 128.5, 128.40, 128.47, 128.3, 128.2, 128.0, 127.9, 127.74, 127.65, 127.6, 127.5, 127.3 (*Ph-Bn*); 101.0 (*C1-Gal*); 99.3 (*C1-Glc*); 95.6 (*CCl₃-Troc*); 94.2 (*C1-Ara*); 78.2 (*C5-Glc*); 77.8 (*C2-Ara*); 77.5 (*C3-Gal*); 77.2 (*C4-Ara*); 77.1 (*CHCOOMe*); 72.9 (*C3-Glc*); 74.2 (*C3-Ara*); 73.8 (*C4-Glc*); 74.5, 73.76, 73.71, 73.3, 72.6 (*CH₂-Bn*, *CH₂-Troc*); 72.7 (*C5-Gal*); 72.2 (*C2-Gal*); 71.6 (*CH₂-Bn*); 68.6 (*C4-Gal*); 68.1 (*C6-Gal*); 67.3 (*C6-Glc*); 61.6 (*C5-Ara*); 55.4 (*C2-Glc*); 52.0 (*COOCH₃*); 40.6 (*cHex-CH₂*); 33.6, 33.4 (*CH₂-cHex_{ortho}*, *CH-cHex_{ipso}*); 33.1 (*CH₂-cHex_{ortho}*); 26.9, 26.3, 26.1, 26.0 (*CH₂-cHex_{meta/para}*); 21.0, 20.8 (*CH₃-Ac*).

5.3.4 Die Synthese der Pseudo-Pentasaccharide

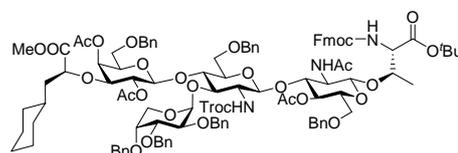
***O*³-(3-*O*-[4-*O*-(2,4-*O*-Diacetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]-β-*D*-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl-β-*D*-arabinopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)-β-*D*-glucopyranosyl}-2-acetamido-4-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-2-desoxy-β-*D*-glucopyranosyl)-*N*²-(fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (89)**

[Fmoc-Thr(β-Ac₂-Bn₅-(Ara)-cycloLe^x(Troc)COOMe-β-Ac-Bn-GlcNAc)-O^tBu]

Die Lösung von 1.42 g (0.95 mmol) des Tetrasaccharid-Donors α,β-Ac₂-Bn₅-(Ara)-cycloLe^x(Troc)COOMe-OCNHCCl₃ (**88**) und 0.89 g (1.21 mmol) des Glycosylamino-säure-Bausteins Fmoc-Thr(β-4-Ac-6-Bn-GlcNAc)-O^tBu (**53**) in 100 ml absol. Dichlormethan wird 1 h bei Raumtemperatur mit 8.2 g gepulvertem Molekularsieb (4Å) gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung auf -40 °C abgekühlt und mit einer Lösung von 25 µl (30.6 mg, 0.14 mmol) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat in 1 ml absol. Dichlormethan versetzt. Die Reaktionsmischung wird binnen 1 h auf -20 °C erwärmt, dann durch tropfenweise Zugabe von Hünigs-Base neutralisiert, mit 200 ml Dichlormethan verdünnt und auf Raumtemperatur erwärmt. Das Molekularsieb wird durch Filtration entfernt und das Filtrat mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung (50 ml) und ges. Natriumchlorid-Lösung (50 ml) gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das

Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes durch Flash-Chromatographie an Kieselgel (75 g, 3.5 x 12 cm, Cyclohexan/Ethylacetat, 3:2) liefert das Produkt als farblosen, amorphen Feststoff. Außerdem konnten 600 mg (47 %) des zersetzten Donors **87** zurückgewonnen werden.

Ausbeute: 959 mg (49 %); farbloser, amorpher Feststoff;
 $R_f = 0.22$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1); $[\alpha]_D^{22} = -23.3$
(c = 1.0, CHCl₃).



C₁₀₉H₁₂₈Cl₃N₃O₃₀ (2066.54) Ber.: C: 63.35 H: 6.24 N: 2.03

Gef.: C: 63.14 H: 6.13 N: 2.11

ESI-MS (positiv) m/z : 2089.8 ([M+Na]⁺; ber. 2089.8); 2162.8 ([M+K]⁺; ber. 2162.8).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 2088.7554 ([M+Na]⁺; ber. 2086.7546).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.77 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H4-/H5-*Fmoc*); 7.63 (dd, 2H, $J = 7.4$ Hz, $J = 1.0$ Hz, H1-/H8-*Fmoc*); 7.38 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, H3-/H6-*Fmoc*); 7.36-7.20 (m, 32H, Ph-*Bn*, H2-/H7-*Fmoc*); 6.12 (d, 1H, $J = 6.4$ Hz, NHAc-*Gla*); 5.71-5.63 (m, 2H, NH-*Troc*, NH-*Fmoc* {5.70, d, 1H, $J = 8.6$ Hz}); 5.44 (d, 1H, $J = 3.3$ Hz, H4-*Gal*); 5.27 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H1-*Gla*); 5.14 (d, 1H, $J = 2.4$ Hz, H1-*Ara*); 4.98-4.90 (m, 2H, H1-*Glc*, H2-*Gal* {4.95, dd, 1H, $J = 9.8$ Hz, $J = 8.4$ Hz}); 4.89-4.60 (m, 8H, CH₂-*Bn*, CH₂-*Troc*, H4-*Gla* {4.83}); 4.60-4.45 (m, 5H, CH₂-*Bn*, CH₂-*Troc*, H3-*Gla* {4.52}); 4.44-4.31 (m, 7H, CH₂-*Bn*, CH₂-*Fmoc* {4.38}, Thr^β {4.37}, H1-*Gal* {4.35}); 4.29-4.19 (m, 3H, H5_a-*Ara* {4.25}, H9-*Fmoc* {4.23}, Thr^α {4.21}); 4.10 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz, H5_b-*Ara*); 4.08 (dd, 1H, $J = 9.8$ Hz; $J = 3.5$ Hz; H2-*Ara*); 4.04-3.93 (m, 4H, H3-*Glc* {4.01}, CHCOOMe {3.97}, H4-*Glc* {3.94}); 3.90 (dd, 1H, $J = 9.8$ Hz; $J = 2.7$ Hz; H3-*Ara*); 3.76-3.64 (m, 8H, COOCH₃ {3.74}, H4-*Ara*, H6-*Glc*, H5-*Gla*); 3.37-3.27 (m, 3H, H5-*Glc*; H5-*Gal*, H6-*Gal*); 3.57-3.48 (m, 2H, H6-*Gla*); 3.23 (dd, 1H, $J = 9.9$ Hz, $J = 3.4$ Hz, H3-*Gal*); 3.10 (sb, 1H, H2-*Glc*); 2.85 (m_c, 1H, H2-*Gla*); 2.02, 1.88, 1.76 (3s, 9H, CH₃-Ac); 1.98 (s, 3H, CH₃-NHAc); 1.73-1.62 (m, 5H, CH₂-*cHex*_{ortho}, CH₂-*cHex*_{meta/para}); 1.56-1.41 (m, 10H, *cHex*-CH₂, CH₃-*tBu* {1.45, 3s, 9H}); 1.34-1.08 (m, 7H, CH-*cHex*_{ipso} {1.27, t, 1H, $J = 7.1$ Hz}, CH₂-*cHex*_{meta/para}, Thr^γ {1.18, d, 3H, $J = 6.3$ Hz}); 0.91-0.83 (m, 2H, CH₂-*cHex*_{ortho}).

100.6 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 172.7 (COOMe); 171.5 (C=O-Thr); 170.0 (C=O-Ac-Gla); 169.6 (C=O-NHAc-Gla); 169.2, 168.9 (C=O-Ac-Gal); 156.7 (C=O-Fmoc); 153.9 (C=O-Troc); 144.0, 143.8 (C8a-/C9a-Fmoc); 141.29, 141.28 (C4a-/C4b-Fmoc); 138.5, 138.4, 138.3, 137.8, 137.7, 137.5 (C_{ipso}-Bn); 128.57, 128.56, 128.44, 128.40, 128.38, 128.3, 128.0 (Ph-Bn); 127.82, 127.78, 127.6, 127.53, 127.47, 127.4, 127.1, 127.0 (Ph-Bn, C2-/C7-Fmoc); 127.7 (C3-/C6-Fmoc); 125.2 (C1-/C8-Fmoc); 119.98, 119.95 (C4-/C5-Fmoc); 99.5 (C1-Gal); 99.1 (C1-Glc); 98.5 (C1-Ara); 95.4 (C1-Gla); 82.2 (C_{quart}-^tBu); 78.1 (C3-Ara); 77.8 (CHCOOMe); 77.6 (C3-Gal); 76.5 (C2-Ara); 75.6 (C3-Gla) 75.0 (C3-Glc); 74.7 (C5-Glc); 74.5, 74.2 (CH₂-Bn); 74.1 (C4-Ara); 73.5 (C5-Gal); 73.3 (C4-Glc); 73.4 (Thr^β); 72.9 (C5-Gla); 72.4, 72.3, 71.0 (CH₂-Bn, CH₂-Troc); 71.7 (C2-Gal); 70.2 (C4-Gla); 69.6 (C6-Gla); 68.3 (C4-Gal, C6-Glc); 67.8 (C6-Gal); 67.0 (CH₂-Fmoc); 60.4 (C5-Ara); 59.2 (Thr^α); 59.1 (C2-Gla); 58.8 (C2-Glc); 52.0 (COOCH₃); 47.2 (C9-Fmoc); 40.5 (cHex-CH₂); 33.5, 33.4 (CH₂-cHex_{ortho}, CH-cHex_{ipso}); 33.1 (CH₂-cHex_{ortho}); 27.9 (CH₃-^tBu); 26.9, 26.3, 26.1, 26.0 (CH₂-cHex_{meta/para}); 23.7 (CH₃-NHAc); 21.1, 20.7, 20.5 (CH₃-Ac); 16.3 (Thr^γ).

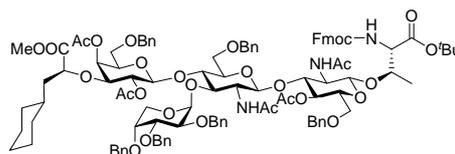
CCl₃-Troc konnte nicht identifiziert werden.

***O*³-(3-*O*-{4-*O*-(2,4-*O*-Diacetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl-β-D-arabinopyranosyl)-2-acetamido-6-*O*-benzyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl}-2-acetamido-4-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-*N*²-(fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (90)**

[Fmoc-Thr(β-Ac₂-Bn₅-(Ara)-cycloLe^xCOOMe-β-Ac-Bn-GlcNAc)-O^tBu]

Das Pseudo-Pentassacharid Fmoc-Thr(β-Ac₂-Bn₅-(Ara)-cycloLe^x(Troc)COOMe-β-Ac-Bn-GlcNAc)-O^tBu (**89**) (0.96 g; 0.46 mmol) wird in 120 ml eines Gemisches aus Tetrahydrofuran, Essigsäure und Acetanhydrid (3:2:1) gelöst und mit 1.5 g (22.9 mmol) Zinkstaub versetzt. Nach 16 h Rühren wird das Zink durch Filtration über Hyflo[®] entfernt, mehrfach mit Tetrahydrofuran nachgewaschen und anschließend die Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

Ausbeute: 813 mg (91 %); C₁₀₈H₁₂₉N₃O₂₉ (1933.18); farblos, amorpher Feststoff; $R_f = 0.35$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:3), $R_f = 0.70$ (Toluol/Ethanol, 3:1); $R_t = 36.9$ min (Säule A; Gradient A); $[\alpha]_D^{22} = -36.8$ (c = 1.0, CHCl₃).



ESI-MS (positiv) m/z : 1954.8 ([M+Na]⁺; ber. 1954.8); 989.4 ([M+2Na]²⁺; ber. 989.6).

ESI-HRMS (positiv) m/z : 1954.8586 ([M+Na]⁺; ber. 1954.8609).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.76 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H4-/H5-*Fmoc*); 7.63 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, H1-/H8-*Fmoc*); 7.38 (t, 2H, $J = 7.6$ Hz, H3-/H6-*Fmoc*); 7.34-7.21 (m, 32H, Ph-*Bn*, H2-/H7-*Fmoc*); 6.81 (d, 1H, $J = 5.8$ Hz, NHAc-*Gla*); 6.37 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, NHAc-*Glc*); 5.88 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, NH-*Fmoc*); 5.50 (d, 1H, $J = 3.3$ Hz, H4-*Gal*); 5.13 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, H1-*Gla*); 5.03-4.98 (m, 2H, H1-*Ara*, H2-*Gal*); 4.89-4.70 (m, 4H, CH₂-*Bn* {4.87, d, 1H, $J = 12.0$ Hz; 4.78, d, 1H, $J = 12.1$ Hz}, H4-*Gla* {4.81}, H1-*Glc* {4.74}); 4.64-4.50 (m, 6H, CH₂-*Bn* {4.63, d, $J = 11.7$ Hz; 4.61, d, $J = 12.5$ Hz; 4.58, d, $J = 12.5$ Hz; 4.54, d, $J = 12.5$ Hz; 4.53, d, $J = 11.9$ Hz; 4.52, d, $J = 11.4$ Hz}); 4.48-4.42 (m, 3H, CH₂-*Bn*); 4.41-4.27 (m, 7H, CH₂-*Bn*, Thr ^{β} {4.38}, CH₂-*Fmoc* {4.33}, H1-*Gal* {4.32}, H3-*Ara* {4.30}); 4.22-4.17 (H9-*Fmoc*, Thr ^{α}); 4.05-3.98 (m, 4H, CHCOOMe, H2-*Ara*, H3-/H4-*Glc*); 3.88-3.77 (m, 3H, H3-*Gla*, H5_a-*Ara*, H6_a-*Glc*); 3.73 (s, 3H, COOCH₃); 3.68 (m, 1H, H2-*Glc*); 3.65-3.60 (H4-*Ara*, H5-*Gla*, H6_b-*Glc*); 3.59-3.42 (m, 7H, H5_b-*Ara*, H6-*Gla*, H5-/H6-*Gal*, H5-*Glc*); 3.39 (dd, 1H, $J = 10.2$ Hz, $J = 3.2$ Hz, H3-*Gal*); 3.12-3.02 (m, 1H, H2-*Gla*); 2.06, 2.05, 1.95 (3s, 9H, CH₃-*Ac*); 1.98 (s, 3H, CH₃-NHAc-*Gla*); 1.90 (s, 6H, CH₃-NHAc-*Glc*, CH₃-*Ac*); 1.77-1.60 (m, 5H, CH₂-*cHex*_{ortho}, CH₂-*cHex*_{meta/para}); 1.56-1.40 (m, 10H, *cHex*-CH₂, CH₃-^{*t*}Bu {1.43, 3s, 9H}); 1.36-1.08 (m, 7H, CH-*cHex*_{ipso}, CH₂-*cHex*_{meta/para}, Thr ^{γ} {1,18, d, 3H, $J = 6.0$ Hz}); 0.93-0.823 (m, 2H, CH₂-*cHex*_{ortho}).

100.6 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 172.8 (COOMe); 171.7 (C=O-*Thr*); 170.9, 170.0, 169.84, 169.8, 169.2 (C=O-*Ac*, C=O-*NHAc*); 156.8 (C=O-*Fmoc*); 144.1, 143.9 (C8_a-/C9_a-*Fmoc*); 141.2 (C4_a-/C4_b-*Fmoc*); 138.6, 138.4, 138.3, 138.0, 137.8, 137.7 (C_{ipso}-*Bn*); 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.34, 128.32 (Ph-*Bn*); 128.0, 127.9, 127.82, 127.77, 127.7, 127.6, 127.1 (Ph-*Bn*, C2-/C7-*Fmoc*); 127.6 (C3-/C6-*Fmoc*); 125.32, 125.26 (C1-/C8-*Fmoc*); 119.9 (C4-/C5-*Fmoc*); 101.6 (C1-*Glc*); 99.5 (C1-*Gal*); 98.5 (C1-*Ara*); 96.3 (C1-*Gla*); 82.0 (C_{quart}-^{*t*}Bu); 78.8 (C3-*Ara*); 77.8 (CHCOOMe); 77.3 (C3-*Gal*); 77.1 (C3-*Gla*); 76.0 (C2-

Ara); 74.0 (*C3-Glc*); 74.3 (*C5-Glc*); 73.98, 72.2, 71.3 (*CH₂-Bn*); 73.54, 73.1 (*CH₂-Bn*); 73.7 (*C4-Ara*); 73.4 (*Thr^β*); 72.9 (*C5-Gal*); 72.8 (*C4-Glc*, *C5-Gla*); 71.7 (*C2-Gal*); 71.1 (*C4-Gla*); 69.9 (*C6-Gla*); 68.4 (*C4-Gal*); 69.5 (*C6-Glc*); 68.1 (*C6-Gal*); 67.0 (*CH₂-Fmoc*); 60.8 (*C5-Ara*); 59.2 (*Thr^α*); 58.4 (*C2-Gla*); 52.8 (*C2-Glc*); 52.0 (*COOCH₃*); 47.2 (*C9-Fmoc*); 40.4 (*cHex-CH₂*); 33.6, 33.5, 33.0 (*CH₂-cHex_{ortho}*, *CH-cHex_{ipso}*); 27.9 (*CH₃-^tBu*); 26.3, 26.1, 26.0 (*CH₂-cHex_{meta/para}*); 23.7 (*CH₃-NHAc-Gla*); 23.1 (*CH₃-NHAc-Glc*); 21.4, 21.1, 20.9, 20.7 (*CH₃-Ac*); 16.4 (*Thr^γ*).

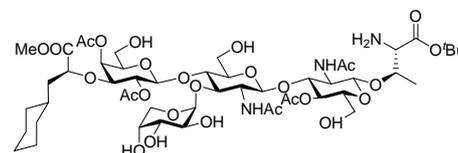
Experimente zur Abspaltung der Benzyletherschutzgruppen

Versuchte Darstellung von:

***O*³-{3-*O*-{4-*O*-(2,4-*O*-Diacetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]-β-*D*-galactopyranosyl)-3-*O*-β-*D*-arabinopyranosyl)-2-acetamido-2-desoxy-β-*D*-glucopyranosyl}-2-acetamido-4-*O*-acetyl-2-desoxy-β-*D*-glucopyranosyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (**92**)**

[Fmoc-Thr(β-Ac₂-(Ara)-cycloLe^xCOOMe-β-4-Ac-GlcNAc)-O^tBu]

Zur Abspaltung der Benzylether-Schutzgruppen wurden die in Tabelle 4 notierten Katalysatoren und Lösungsmittel getestet.



Allgemeine Arbeitsvorschrift:

In einem Schlenkkolben werden 5.0 ml des Lösungsmittels mehrfach unter vermindertem Druck entgast und mit Argon geflutet. Dann werden 1-2 Spatelspitzen des Katalysators im Argon-Gegenstrom hinzugegeben und die Mischung erneut mehrfach entgast und nun mit Wasserstoff geflutet. Nach 30 min Rühren unter Wasserstoff-Atmosphäre wird eine Lösung von 20-50 mg des Substrats Fmoc-Thr(β-Ac₂-Bn₅-(Ara)-cycloLe^xCOOMe-β-Ac-Bn-GlcNAc)-O^tBu (**90**) in 5.0 ml des Lösungsmittels sowie 0.5 ml Essigsäure hinzugegeben. Anschließend wird die Reaktionsmischung 7-10 d unter Wasserstoff-Atmosphäre, bei gelegentlicher Wasserstoff-Durchleitung, gerührt und nach 2 d, 4 d und 6 d jeweils 0.5 ml H₂O eingespritzt. Zur Reaktionskontrolle wird eine kleine Probe der Lösung entnommen und nach Entfernung des Lösungsmittels durch ESI-Massenspektrometrie untersucht.

In allen Versuchen wurde eine Mischung verschiedener Debenzylierungsstufen bei vollständiger Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe massenspektrometrisch detektiert. In den Versuchen A-C mit Methanol als Lösungsmittel wurde zudem die teilweise Methylierung der dann freien Amino-Funktion der Aminosäure beobachtet. Das Entstehen des erwünschten vollständig debenzilylierten Produkts **92** hingegen konnte in keinem Fall nachgewiesen werden.

	Katalysator	Lösungsmittel
<i>Versuch A</i>	Pd/C (5 %)	MeOH
<i>Versuch B</i>	Pd/C (10 %)	MeOH
<i>Versuch C</i>	Pd(OH) ₂ /C (20 %)	MeOH
<i>Versuch D</i>	Pd/C (10 %)	1,4-Dioxan
<i>Versuch E</i>	Pd(OH) ₂ /C (20 %)	1,4-Dioxan
<i>Versuch F</i>	Pd(OAc) ₂	1,4-Dioxan

Tab. 4: Zur Abspaltung der Benzylether-Schutzgruppen getestete Katalysatoren und Lösungsmittel.

6 Literaturverzeichnis

- [1] R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1440.
- [2] K. Vleminckx, R. Kemler, *BioEssays* **1999**, *21*, 211.
- [3] S. J. Shattil, M. H. Ginsber, *J. Clin. Invest.* **1997**, *100*, 1.
- [4] G. M. Edelman, K. L. Crossin, *Annu. Rev. Biochem.* **1991**, *60*, 155.
- [5] E. E. Simanek, G. J. McGarvey, J. A. Jablonowski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833.
- [6] F. M. Unger, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2001**, *57*, 207.
- [7] C. Ehrhardt, C. Kneuer, U. Bakowsky, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, *56*, 527.
- [8] C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *Immunologie*, 5. Aufl. ed., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, **2002**.
- [9] M. L. Phillips, E. Nudelman, F. C. A. Gaeta, M. Perez, A. K. Singhal, S.-I. Hakomori, J. C. Paulson, *Science* **1990**, *250*, 1130.
- [10] M. P. Bevilacqua, S. Stengelin, M. A. G. Jr., B. Seed, *Science* **1989**, *243*, 1160.
- [11] U. S. Schwarz, R. Alon, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 6940.
- [12] O. Dwir, A. Solomon, S. Mangan, G. S. Kansas, U. S. Schwarz, R. Alon, *J. Cell Biol.* **2003**, *163*, 649.
- [13] S. B. Forlow, K. Ley, *Am. J. Heart Circ. Physiol.* **2001**, *280*, 634.
- [14] B. Wittig, R. Thees, K. H. M. z. Büschenfelde, W. Dippold, *Control Mechanisms of Carcinogenesis*, Druckerei Thieme, **1996**.
- [15] T. Krause, G. A. Turner, *Clin. & Exp. Metastasis* **1999**, *17*, 183.
- [16] N. Sharon, H. Lis, *Spektrum der Wissenschaft* **1993**, 66.
- [17] W. M. Gallatin, I. L. Weissman, E. C. Butcher, *Nature* **1983**, *304*, 30.
- [18] S.-C. Hsu-Lin, C. L. Berman, B. C. Furie, D. August, B. Furie, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 9121.
- [19] M. P. Bevilacqua, J. S. Pober, D. L. Mendrick, R. S. Cotran, M. A. G. Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1987**, *84*, 9238.
- [20] H. Lis, N. Sharon, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637.
- [21] K.-S. Huang, B. J. Graces, B. A. Wolitzky, in *Functional Analysis of Selectin Structure, Vol. Band 3* (Ed.: D. Vestweber), Harwood, Amsterdam, **1997**, pp. 1.
- [22] A. Etzioni, M. Frydman, S. Pollack, I. Avidor, M. L. Phillips, J. C. Paulson, R. Gershoni-Baruch, *J. Med.* **1992**, *327*, 1789.
- [23] M. L. Phillips, B. R. Schwartz, A. Etzoni, R. Bayer, H. D. Ochs, J. C. Paulson, J. M. Harlan, *J. Clin. Invest.* **1995**, *96*, 2898.
- [24] A. Karsan, C. J. Cornejo, R. K. Winn, B. R. Schwartz, W. Way, N. Lannir, R. Gershoni-Baruch, A. Etzoni, H. D. Ochs, J. M. Harlan, *J. Clin. Invest.* **1998**, *101*, 2438.
- [25] K. Lühn, T. Marquardt, E. Harms, D. Vestweber, *Blood* **2001**, *97*, 330.
- [26] G. S. Kansas, K. B. Saunders, K. Ley, A. Zakrzewics, R. M. Gibson, B. C. Furie, B. Furie, T. F. Tedder, *J. Cell Biol.* **1994**, *124*, 609.
- [27] A. Giannis, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 188.
- [28] D. Crommie, S. D. Rosen, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 22614.
- [29] S. Baumhueter, M. S. Singer, W. Henzel, S. Hemmerich, M. Renz, S. D. Rosen, L. A. Lasky, *Science* **1993**, *262*, 436.
- [30] S. Hemmerich, E. C. Butcher, S. D. Rosen, *J. Exp. Med.* **1994**, *180*, 2219.
- [31] S. Hemmerich, H. Leffler, S. D. Rosen, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 12035.
- [32] E. L. Berg, L. M. McEvoy, C. Berlin, R. F. Bargatze, E. C. Butcher, *Nature* **1993**, *366*, 695.

- [33] C. Berlin, E. L. Berg, M. J. Briskin, D. P. Andrew, P. J. Kilshaw, B. Holzmann, I. L. Weissman, A. Hamann, E. C. Butcher, *Cell* **1993**, *74*, 185.
- [34] R. P. McEver, J. H. Beckstead, K. L. Moore, L. Marshal-Carlson, D. F. Bainton, *J. Clin. Invest.* **1989**, *84*, 92.
- [35] T. F. Tedder, D. A. Steeber, A. Chen, P. Engel, *FASEB J.* **1995**, *9*, 866.
- [36] C. J. Fleming, G. Berger, J. Guichard, E. M. Cramer, D. D. Wagner, *Eur. J. Cell Biol.* **1998**, *75*, 331.
- [37] K. L. Moore, N. L. Stults, S. Diaz, D. F. Smith, R. D. Cummings, A. Varki, R. P. McEver, *J. Cell Biol.* **1992**, *118*, 445.
- [38] F. Li, H. P. Erickson, J. A. James, K. L. Moore, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 7839.
- [39] D. Sako, K. M. Comess, K. M. Barone, R. T. Camphausen, D. A. Cumming, G. D. Shaw, *Cell* **1995**, *83*, 323.
- [40] T. Pouyani, B. Seed, *Cell* **1995**, *83*, 333.
- [41] K. R. Snapp, H. Ding, K. Atkins, R. Warnke, F. W. Lusinkas, G. S. Kansas, *Blood* **1998**, *91*, 154.
- [42] R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Clin. Invest.* **1997**, *100*, 485.
- [43] R. Kumar, R. T. Camphausen, F. X. Sullivan, D. A. Cumming, *Blood* **1996**, *88*, 3872.
- [44] V. Ramachandran, M. U. Nollert, H. Qiu, W.-J. Liu, R. D. Cummings, C. Zhu, R. P. McEver, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1999**, *96*, 13771.
- [45] A. Leppänen, P. Mehta, Y.-B. Ouyang, T. Ju, J. Helin, K. L. Moore, I. v. Die, W. M. Canfield, R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 24838.
- [46] P. Mehta, K. D. Patel, T. M. Laue, H. P. Erickson, R. P. McEver, *Blood* **1997**, *90*, 2381.
- [47] W. S. Somers, J. Tang, G. D. Shaw, R. T. Camphausen, *Cell* **2000**, *103*, 467.
- [48] G. S. Kansas, *Blood* **1996**, *88*, 3259.
- [49] A. Levinovitz, J. Mühlhoff, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1993**, *121*, 449.
- [50] M. Steegmaier, A. Levinovitz, S. Isenmann, E. Borges, M. Lenter, H. P. Kocher, B. Kleuser, D. Vestweber, *Nature* **1995**, *373*, 615.
- [51] M. Lenter, A. Levinovitz, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1994**, *125*, 471.
- [52] W. Sluiter, A. Pietersma, J. M. J. Lamers, J. F. Koster, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1993**, *22*, S37.
- [53] T. Ochi, S. Hakomori, M. Fujimoto, M. Okamura, H. Owaki, S. Wakitani, Y. Shimaoka, K. Hayashida, T. Tomita, S. Kawamura, K. Ono, *J. Rheumatol.* **1993**, 2038.
- [54] M. Buerke, A. S. Weyrich, Z. Zheng, F. C. A. Gaeta, M. J. Forrest, A. M. Lefer, *J. Clin. Invest.* **1994**, *93*, 1140.
- [55] G. Walz, A. Aruffo, W. Kolanus, M. P. Bevilacqua, B. Seed, *Science* **1990**, *250*, 1132.
- [56] M. S. Mulligan, J. C. Paulson, S. DeFrees, Z.-L. Zheng, J. B. Lowe, P. A. Ward, *Nature* **1993**, *364*, 149.
- [57] J. Y. Ramphal, Z.-L. Zheng, C. Perez, L. E. Walker, S. A. DeFrees, F. C. A. Gaeta, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3459.
- [58] B. K. Bradley, M. Kiso, S. Abbas, P. Nikrad, O. Srivasatava, C. Foxall, Y. Oda, A. Hasegawa, *Glycobiology* **1993**, *3*, 633.
- [59] W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2186.
- [60] R. Banteli, B. Ernst, *Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 459.

- [61] D. Tyrell, P. James, N. Rao, C. Foxall, S. Abbas, F. Dasgupta, M. Nashed, A. Hasegawa, M. Kiso, D. Asa, J. Kidd, B. K. Bradley, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1991**, 88, 10372.
- [62] M. J. Bamford, M. Bird, P. M. Gore, D. S. Holmes, R. Priest, J. C. Prodger, V. Saez, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 239.
- [63] T. B. Kogan, B. M. Revelle, S. Tapp, D. Scott, P. J. Beck, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 14047.
- [64] H. Ohmoto, K. Nakamura, T. Inoue, N. Kondo, Y. Inoue, K. Yoshino, H. Kondo, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1339.
- [65] H. C. Kolb, B. Ernst, *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 1571.
- [66] G. Thoma, W. Kinzy, C. Bruns, J. T. Patton, J. L. Magnani, R. Banteli, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 4909.
- [67] R. Banteli, B. Ernst, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 4059.
- [68] C. L. Martens, S. E. Cwirla, R. Y.-W. Lee, E. Whitehorn, E. Y.-F. Chen, A. Bakker, E. L. Martin, C. Wagstrom, P. Gopalan, C. W. Smith, E. Tate, K. J. Koller, P. J. Schatz, W. J. Dower, R. W. Barrett, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 21129.
- [69] T. P. Kogan, B. Dupré, K. M. Keller, I. L. Scott, H. Bui, R. V. Market, P. J. Beck, J. A. Voytus, B. M. Revelle, D. Scott, *J. Med. Chem.* **1995**, 38.
- [70] N. Kaila, L. Chen, B. E. T. IV, D. Tsao, S. Tam, P. W. Bedard, R. T. Camphausen, J. C. Alvarez, G. Ullas, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 1563.
- [71] M. Rösch, H. Herzner, W. Dippold, M. Wild, D. Vestweber, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 3954.
- [72] M. W. Cappi, W. J. Moree, L. Qiao, T. G. Marron, G. Weitz-Schmidt, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5, 283.
- [73] G. Baisch, R. Öhrlein, A. Katopodis, M. Streiff, F. Kolbinger, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 2447.
- [74] C.-H. Wong, F. Moris-Varas, S.-C. Hung, T. G. Marron, C.-C. Lin, K. W. Gong, G. Weitz-Schmidt, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 8152.
- [75] M. Hayashi, M. Tanaka, M. Itoh, H. Miyauchi, *J. Org. Chem.* **1996**, 2938.
- [76] J. P. Turunen, M.-L. Majuri, A. Seppo, S. Tiisala, T. Paavonen, M. Miyasaka, K. Lemström, L. Pentillä, O. Renkonen, R. Renkonen, *J. Exp. Med.* **1995**, 182, 1133.
- [77] V. H. Thomas, Y. Yang, K. G. Rice, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 19035.
- [78] U. Sprengard, G. Kretzschmar, E. Bartnik, C. Hüls, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1104.
- [79] U. Sprengard, M. Schudok, W. Schmidt, G. Kretzschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 359.
- [80] C. Filser, D. Kowalczyk, C. Jones, M. Wild, U. Ipe, D. Vestweber, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2007**, in press.
- [81] M. Hahne, U. Jäger, S. Isenmann, R. Hallmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1993**, 121, 655.
- [82] N. Kaila, B. E. T. IV, *Med. Res. Rev.* **2002**, 6, 566.
- [83] B. Neubacher, D. Schmidt, P. Ziegelmüller, J. Thiem, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 1551.
- [84] O. Blixt, J. C. Paulson, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 687.
- [85] C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2507.
- [86] A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1991**, 209, c1.
- [87] A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1990**, 200, 269.
- [88] K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, N. J. Bokovich, C.-H. Wong, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 870.
- [89] T. Mukaiyama, Y. Murai, S. Shoda, *Chem. Lett.* **1981**, 431.
- [90] Y. Ito, T. Ogawa, *Tetrahedron* **1990**, 46, 89.

- [91] S. J. Danishefsky, J. Gervay, J. M. Peterson, F. E. McDonald, K. Koseki, D. A. Griffith, T. Oriyama, S. P. Marsden, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1940.
- [92] S. Sato, M. Mori, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1992**, *155*, c6.
- [93] R. U. Lemieux, K. B. Hendricks, R. V. Stick, K. James, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4056.
- [94] P. J. Garegg, H. Hultberg, S. Wallin, *Carbohydr. Res.* **1982**, *108*, 97.
- [95] H. Kondo, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8748.
- [96] G. J. McGarvey, C.-H. Wong, *Liebigs Ann. Chem.* **1997**, 1059.
- [97] G. Dekany, K. Wright, I. Toth, *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, *16*, 983.
- [98] G. Kretzschmar, W. Stahl, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6341.
- [99] S. Inouye, T. Tsuruoka, T. Niida, *J. Antibiot.* **1966**, *19*, 288.
- [100] M. S. M. Pearson, M. Mathé-Allainmat, V. Fargeas, J. Lebreton, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 2159.
- [101] S. Inouye, T. Tsuruoka, T. Ito, T. Niida, *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2125.
- [102] T. Niwa, T. Tsuruoka, H. Goi, Y. Kodama, J. Itoh, S. Inoue, Y. Yamada, T. Niida, M. Nobe, Y. Ogawa, *J. Antibiot.* **1984**, *37*, 1579.
- [103] Y. Miyake, M. Ebata, *Agric. Biol. Chem.* **1988**, *52*, 661.
- [104] H. Paulsen, I. Sangster, K. Heyns, *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 802.
- [105] H. Paulsen, K. Todt, *Adv. Carbohydr. Chem.* **1968**, *23*, 115.
- [106] A. A. Watson, G. W. J. Fleet, N. Asano, R. J. Molyneux, R. J. Nash, *Phytochemistry* **2001**, *56*, 265.
- [107] Y. Tanaka, Y. Nakahara, H. Hojo, Y. Nakahara, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 4059.
- [108] A. Kato, N. Asano, H. Kizu, K. Matsui, A. A. Watson, R. J. Nash, *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 312.
- [109] M. Bollen, W. Stalmans, *Eur. J. Biochem.* **1989**, *181*, 775.
- [110] P. Jacobsen, J. M. Lundbeck, M. Kristiansen, J. Breinholt, H. Demuth, J. Pawlas, M. P. T. Candela, B. Andersen, N. Westergaard, K. Lundgren, N. Asano, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 733.
- [111] T. D. Butters, R. A. Dwek, F. M. Platt, *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 561.
- [112] <http://afmb.cnrs-mrs.fr/CAZy>.
- [113] B. Henrissat, G. Davies, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1997**, *7*, 637.
- [114] D. L. Zechel, S. G. Withers, *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33.
- [115] V. H. Lillelund, H. H. Jensen, X. Liang, M. Bols, *Chem. Rev.* **2002**, 102.
- [116] T. D. Heightman, A. T. Vasella, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 750.
- [117] D. L. Zechel, A. B. Boraston, T. Gloster, C. M. Boraston, J. M. McDonald, D. M. G. Tilbrook, R. V. Stick, G. J. Davies, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14313.
- [118] R. I. Hollingsworth, G. Wang, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4267.
- [119] P. J. Dransfield, P. M. Gore, M. Shipman, A. M. Z. Slawin, *Chem. Commun.* **2002**.
- [120] K. Ikeda, M. Takahashi, M. Nishida, M. Miyauchi, H. Kizu, Y. Kameda, M. Arisawa, A. A. Watson, R. J. Nash, G. W. J. Fleet, N. Asano, *Carbohydr. Res.* **2000**, *323*, 73.
- [121] O. T. Schmidt, *Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol II*, Academic Press Inc., New York, London, **1963**.
- [122] X. Pannecoucke, G. Schmitt, B. Luu, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 6569.
- [123] H. Herzner, J. Eberling, M. Schultz, J. Zimmer, H. Kunz, *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, *17*, 759.
- [124] E. Eichler, H. J. Jennings, M. Gilbert, D. M. Whitfield, *Carbohydr. Res.* **1999**, *319*, 1.
- [125] M. Bergmann, L. Zervas, *Chem. Ber.* **1931**, 975.
- [126] A. Medgyes, E. Farkas, A. Lipták, V. Pozsgay, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 4159.
- [127] H. Paulsen, C. Krogmann, *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 1203.

- [128] W. Dullenkopf, J. C. Castro-Palomino, L. Manzoni, R. R. Schmidt, *Carbohydr. Res.* **1996**, 296, 135.
- [129] G. Zemplén, A. Kunz, *Chem. Ber.* **1923**, 56, 1705.
- [130] G. Zemplén, *Chem. Ber.* **1926**, 59, 1254.
- [131] C. Filser, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2005**.
- [132] K. Fukase, Y. Fukase, M. Oikawa, W.-C. Liu, Y. Suda, S. Kusumoto, *Tetrahedron* **1998**, 54, 4033.
- [133] U. Sprengard, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1993**.
- [134] M. Sakagami, H. Hamana, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 5547.
- [135] F. Degerbeck, B. Fransson, L. Grehn, U. Ragnarsson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1993**, 11.
- [136] T. Storz, P. Dittmar, *Process Res. Dev.* **2003**, 7, 559.
- [137] R. V. Hoffman, J. Tao, *Tetrahedron* **1997**, 53, 7119.
- [138] M. Rösch, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1999**.
- [139] K. Baumann, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2007**.
- [140] G. Braum, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1991**.
- [141] M. Schultz, H. Kunz, *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, 4, 1205.
- [142] W. Koenigs, E. Knorr, *Chem. Ber.* **1901**, 34, 957.
- [143] R. Polt, D. Sames, J. Chruma, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 6147.
- [144] S. Takahashi, H. Kuzuhara, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 607.
- [145] H. Paulsen, M. Matzke, *Liebigs Ann. Chem.* **1988**, 1121.
- [146] T. Kajimoto, K. K.-C. Liu, R. L. Pederson, Z. Zhong, Y. Ichikawa, J. A. Porco, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 6187.
- [147] G. W. J. Fleet, A. N. Shaw, S. V. Evans, L. E. Fellows, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 841.
- [148] G. W. J. Fleet, S. Petursson, A. L. Campbell, R. A. Mueller, J. R. Behling, K. A. Babiak, J. S. Ng, M. G. Scaros, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1989**, 665.
- [149] S.-Y. Han, M. M. Joullié, V. V. Fokin, N. A. Petasis, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, 5, 2535.
- [150] W. J. Humphlett, *Carbohydr. Res.* **1967**, 4, 157.
- [151] H. Kold, I. Lundt, C. Pedersen, *Acta Chem. Scand.* **1994**, 48, 675.
- [152] R. R. Schmidt, J. Michel, *Angew. Chem.* **1980**, 92, 763.
- [153] R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 213.
- [154] S. David, S. Hanessian, *Tetrahedron* **1985**, 41, 643.
- [155] R. U. Lemieux, J. I. Hayami, *Can. J. Chem.* **1965**, 43, 2162.
- [156] S. Sato, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1986**, 155, C6.
- [157] O. Knöll, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2004**.
- [158] F. Guibé, *Tetrahedron* **1997**, 53, 13509.
- [159] D. Baudry, M. Ephritikhine, H. Felkin, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 694.
- [160] J. J. Oltvoort, C. A. A. v. Boeckel, J. H. d. Koning, J. H. v. Boom, *Synthesis* **1981**, 305.
- [161] S.-S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 1328.
- [162] C. Unverzagt, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1988**.
- [163] H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 1763.
- [164] L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 5748.
- [165] E. Atherton, C. Bury, R. C. Sheppard, B. J. Williams, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20, 3041.
- [166] R. Rodebaugh, J. S. Debenham, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 3041.
- [167] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 2923.
- [168] D. D. Perrin, E. L. F. Armarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, Vol. 3rd ed., Pergamon Press, Oxford, **1988**.

- [169] J. Seifert, T. Ogawa, Y. Ito, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6803.
- [170] G. Bitan, C. Gilon, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 10513.
- [171] K. Baumann, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2002**.
- [172] A. Paquet, *Can. J. Chem.* **1982**, 976.
- [173] S. Dziadek, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2004**.
- [174] M. Imoto, H. Yoshimura, N. Sakaguchi, S. Kusumoto, T. Shiba, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *60*, 2205.
- [175] E. Meinjohanns, M. Meldal, K. Bock, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 9205.
- [176] A. Thompson, M. L. Wolfrom, *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 1509.
- [177] S. Morgenlie, *Acta Chem. Scand. B* **1975**, *29*, 367.
- [178] S. D. Feyter, M. M. S. Abdel-Mottaleb, N. Schuurmans, B. J. V. Verkuil, J. H. v. Esch, B. L. Feringa, F. C. D. Schryver, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1124.

7 Spektrenanhang

7.1 Übersicht des Spektrenanhangs

7.1.1 Spektren des Galactose-Bausteins

2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α -D-galactopyranosyl-trichloracetimidat (**7 α**)

7.1.2 Spektren des Glucosamin-Bausteins

Allyl-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**18**)

7.1.3 Spektren des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins

(*R*)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäure-methylester (**24**)

7.1.4 Spektren des Arabinose-Bausteins (*Furanose-Form*)

Ethyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1-thio- β -D-arabinofuranosid (**33 β**)

7.1.5 Spektren des Glycosylaminosäure-Bausteins

N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-4-*O*-acetyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (**53**)

7.1.6 Spektren des Aza-Fucose-Bausteins

N-(Propylformat-3-yl)-2,3,4-tri-*O*-benzyl-desoxyfuconojirimycin (**77**)

7.1.7 Spektren des Disaccharids

Allyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**78**)

7.1.8 Spektren des Pseudo-Trisaccharids

Allyl-4-*O*-(2,4-*O*-Diacetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl)-3-allyloxycarbonyl-2-desoxy-6-*O*-benzyl-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**82**)

7.1.9 Spektren des Pseudo-Tetrasaccharids

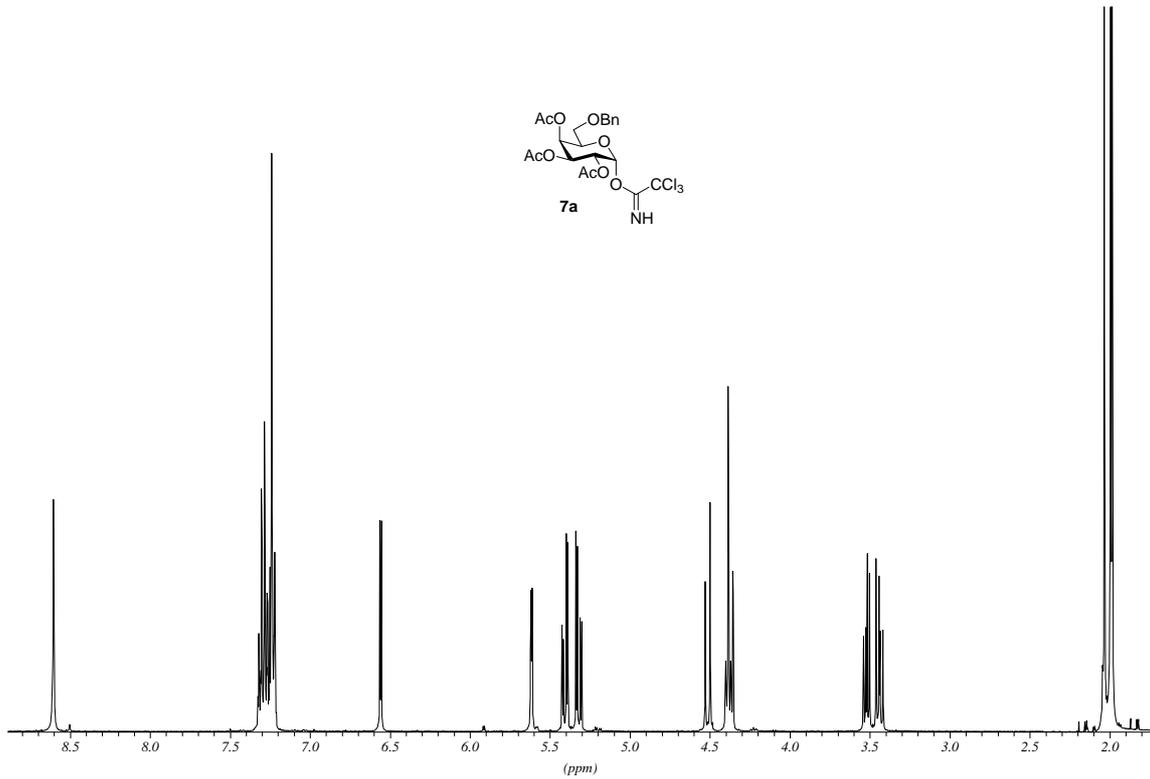
Allyl-4-*O*-(2,4-*O*-Diacetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**85**)

7.1.10 Spektren des Pseudo-Pentasaccharids

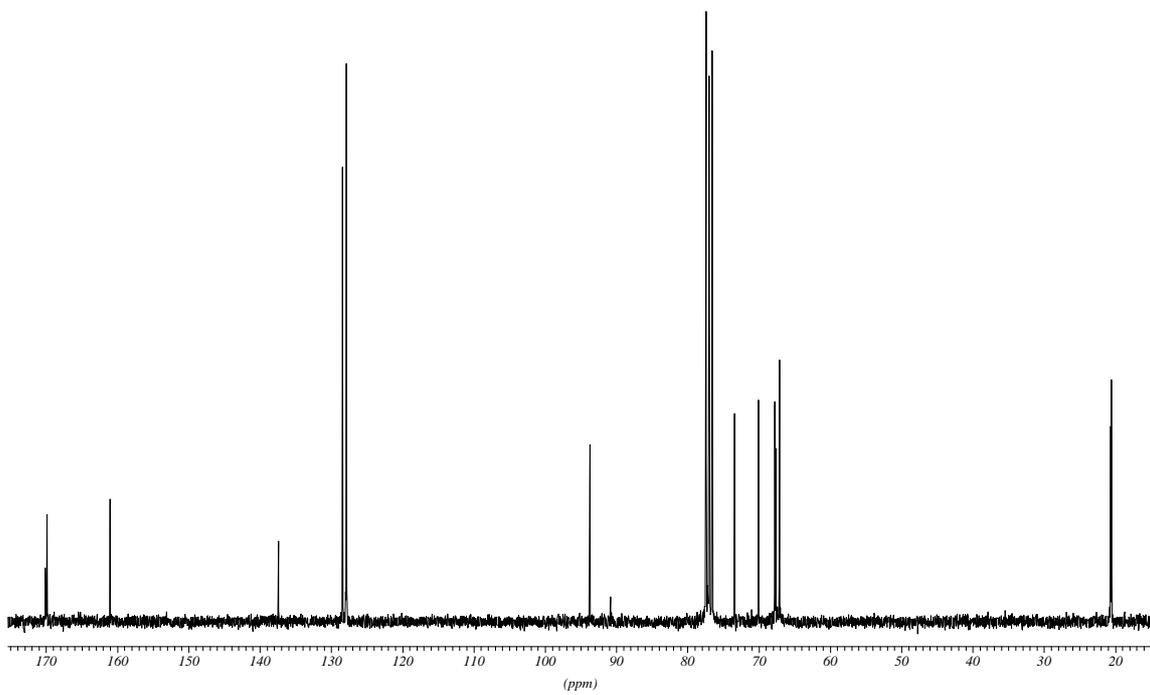
*O*³-(3-*O*-{4-*O*-(2,4-*O*-Diacetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- β -D-glucopyranosyl}-2-acetamido-4-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-*N*²-(fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*L*-threonin-*tert*-butylester (**89**)

7.1.11 Spektren des Arabinose-Bausteins (*Pyranose-Form*)

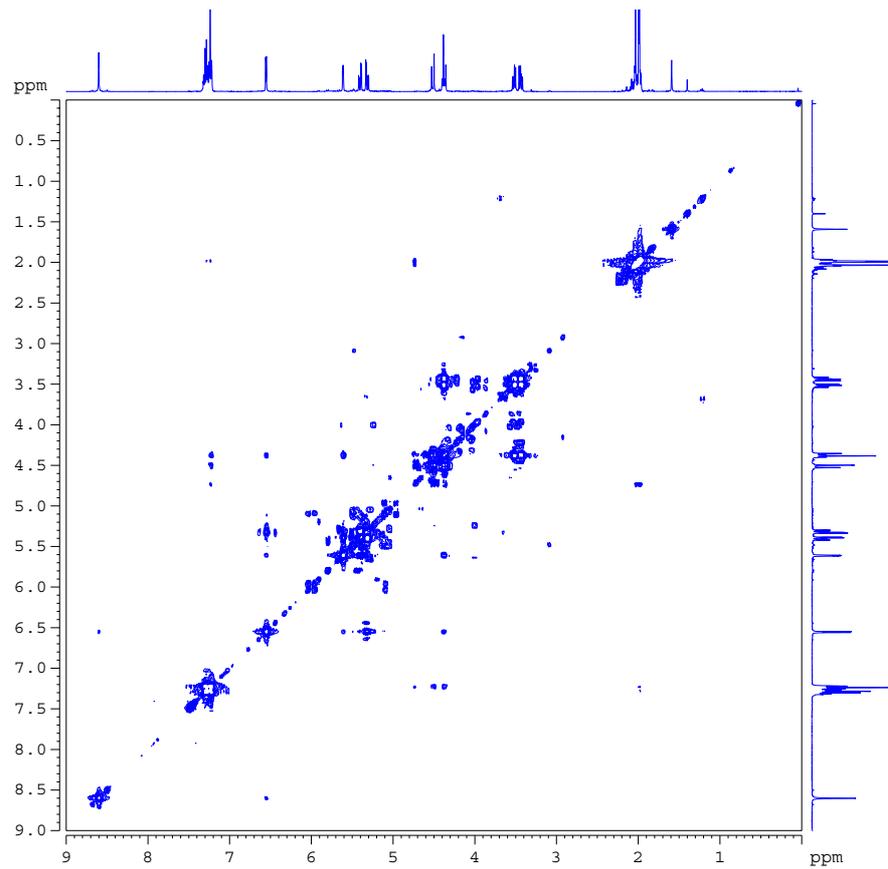
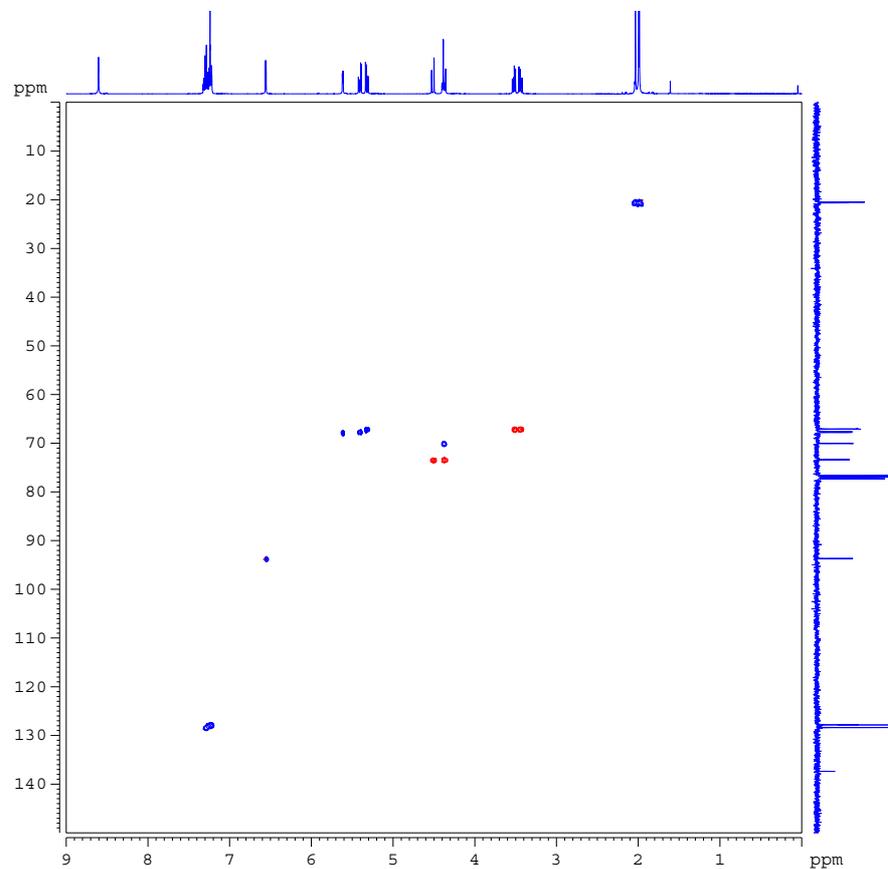
Ethyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1-thio- α -D-arabinopyranosid (**32 α**)

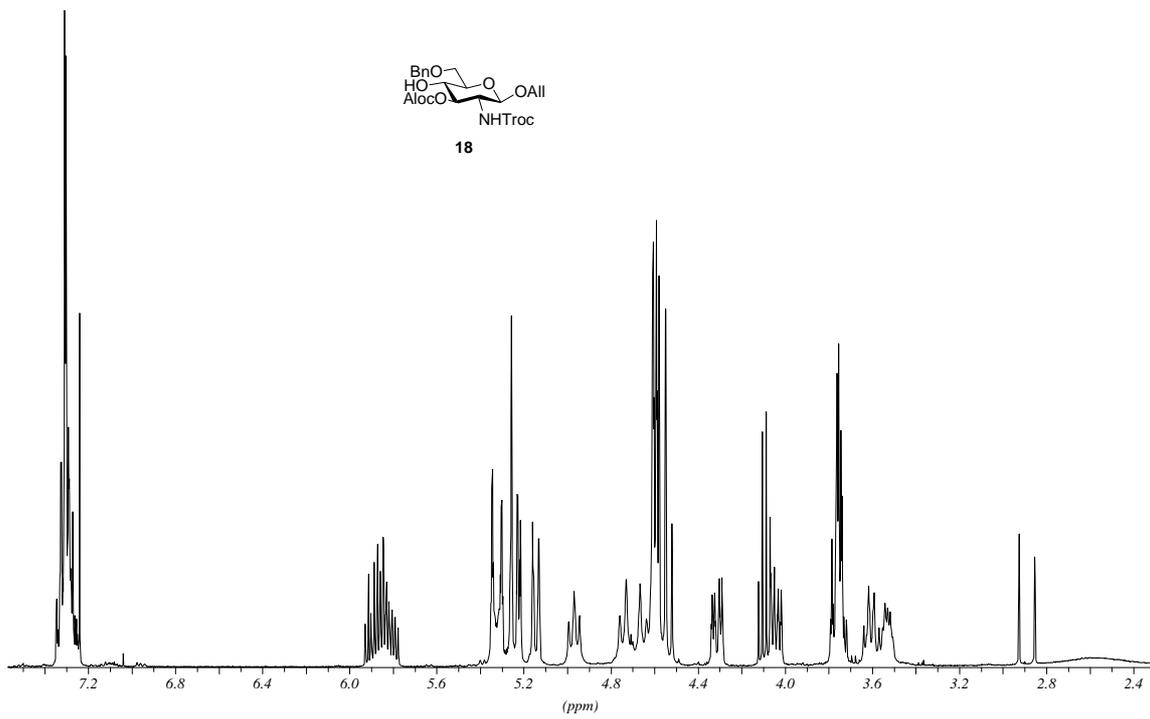


^1H -Spektrum (400 MHz) des Galactose-Bausteins **7a**

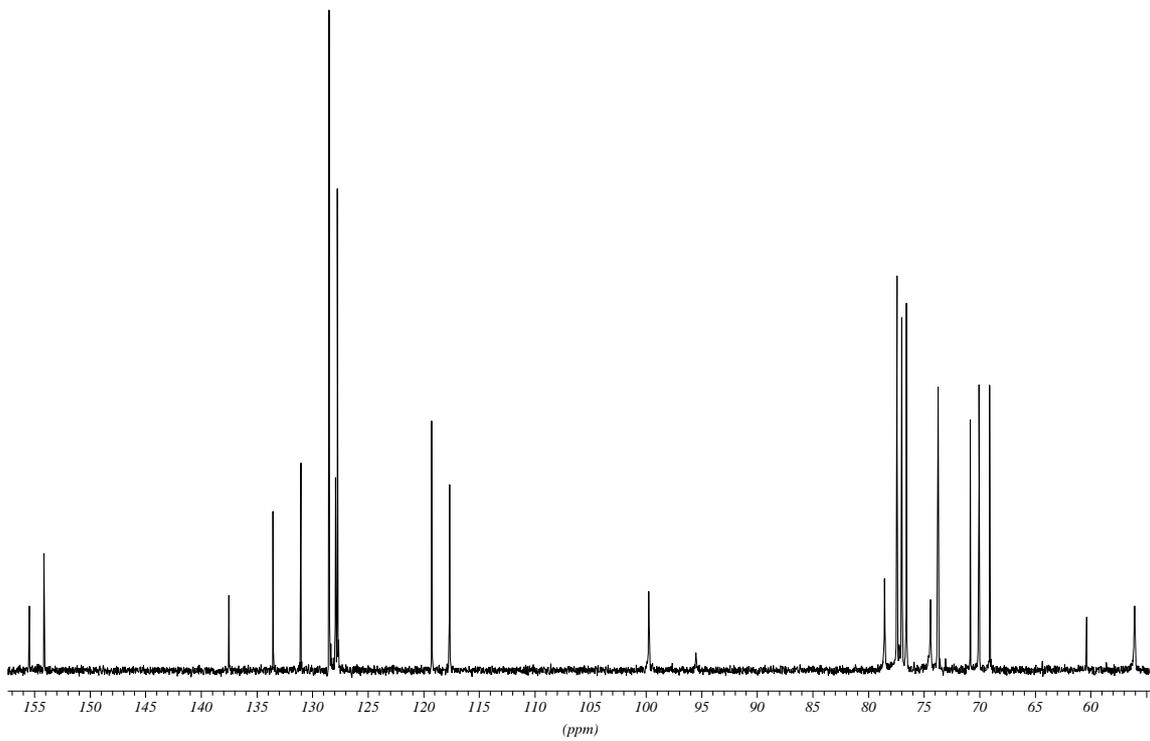


^{13}C -Spektrum (75.5 MHz) des Galactose-Bausteins **7a**

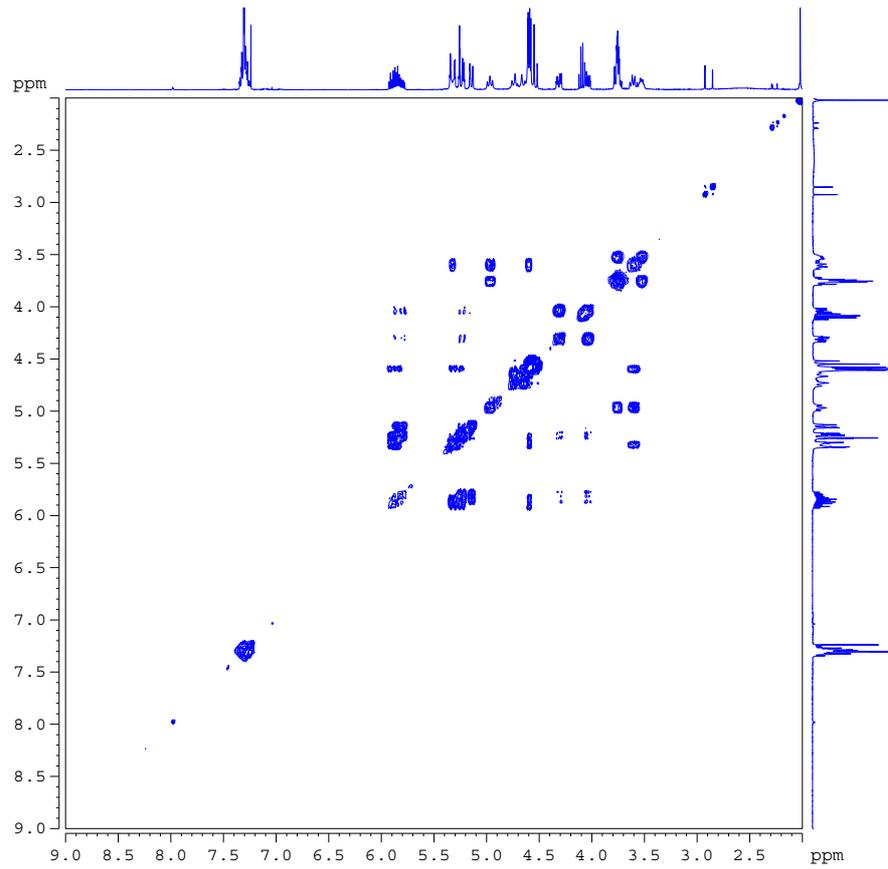
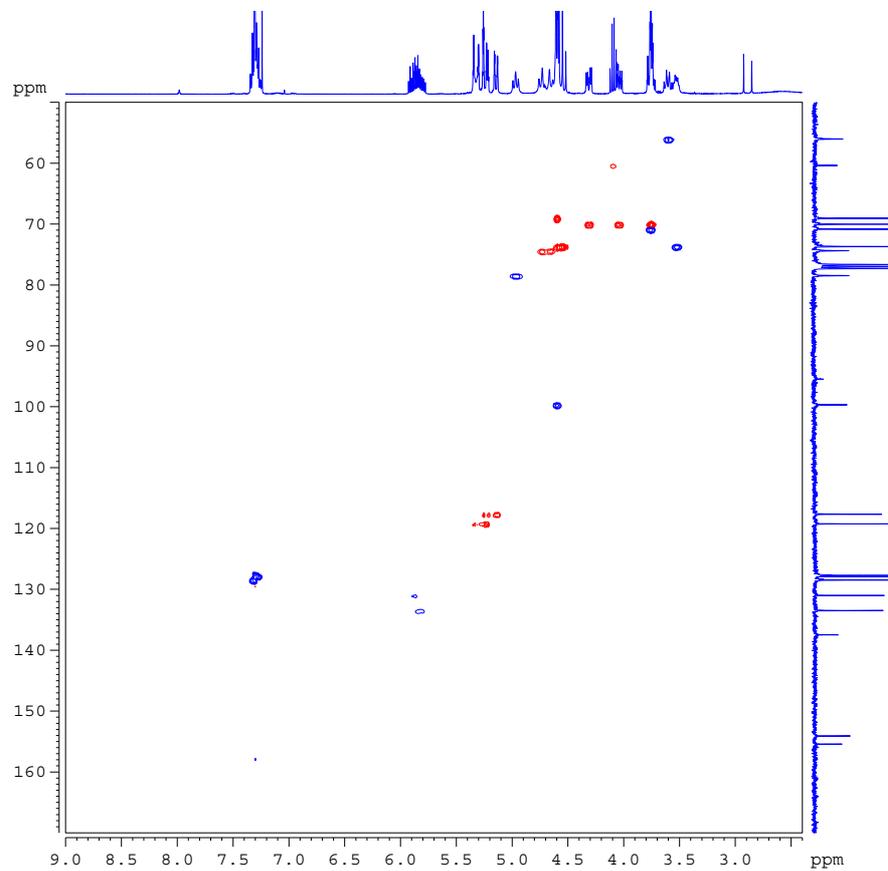
COSY-Spektrum des Galactose-Bausteins **7a**HMQC-Spektrum des Galactose-Bausteins **7a**

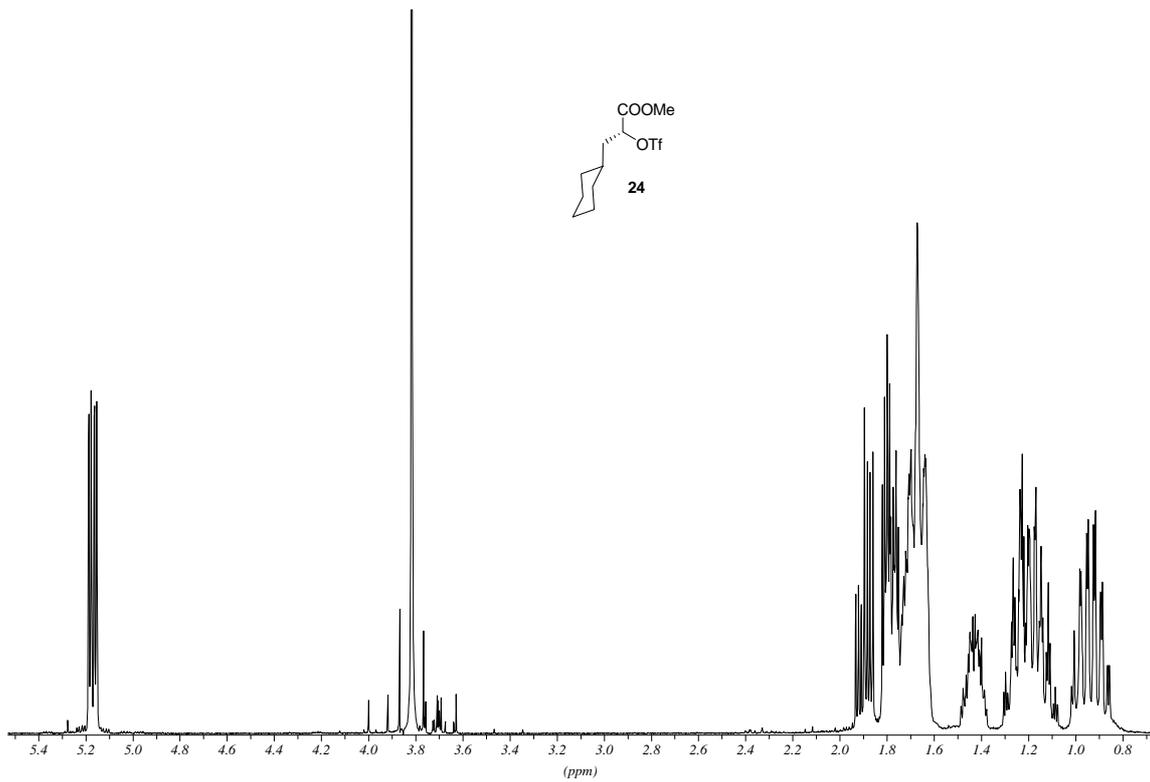


^1H -Spektrum (400 MHz) des Glucosamin-Bausteins **18**

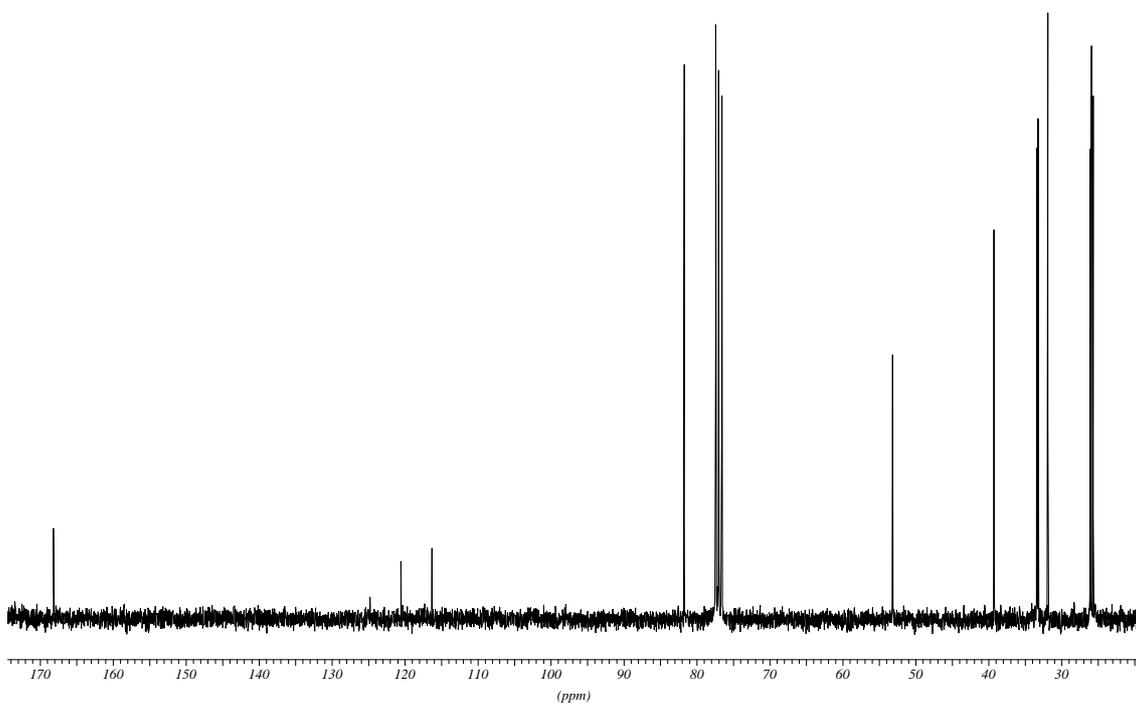


^{13}C -Spektrum (75.5 MHz) des Glucosamin-Bausteins **18**

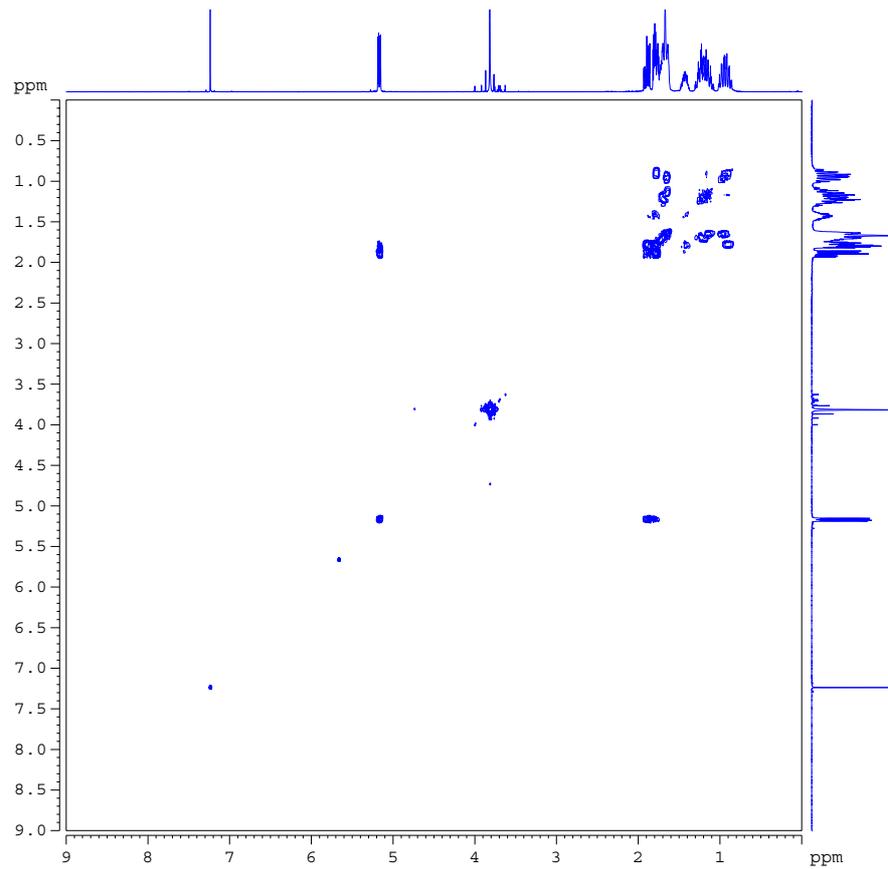
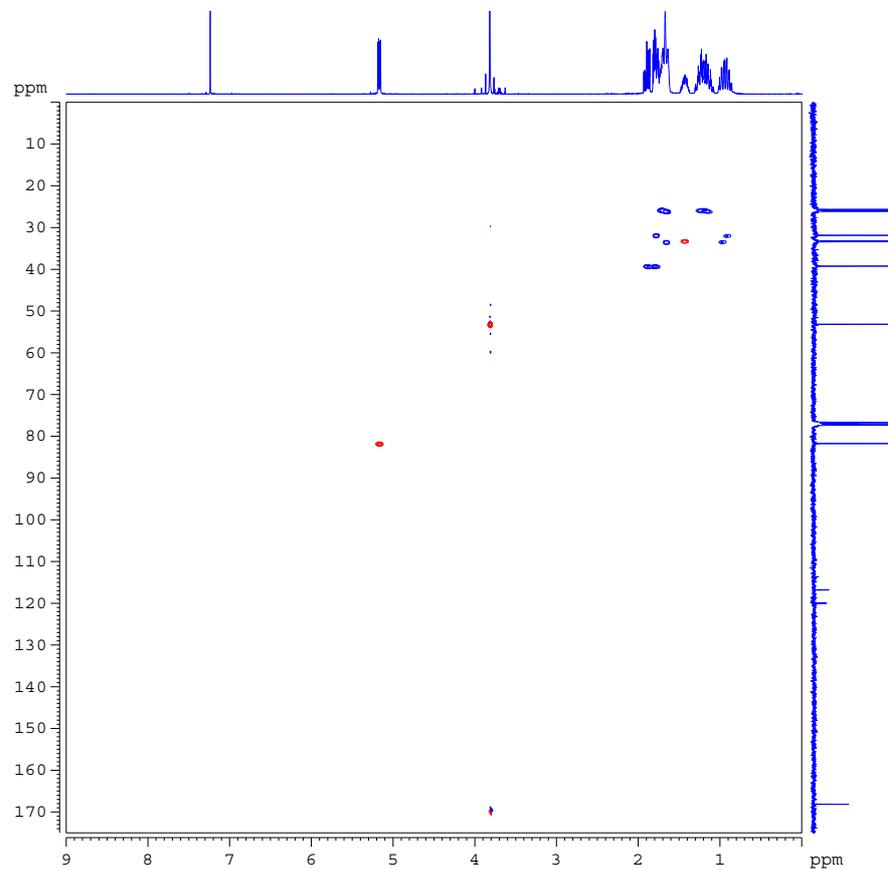
COSY-Spektrum des Glucosamin-Bausteins **18**HMQC-Spektrum des Glucosamin-Bausteins **18**

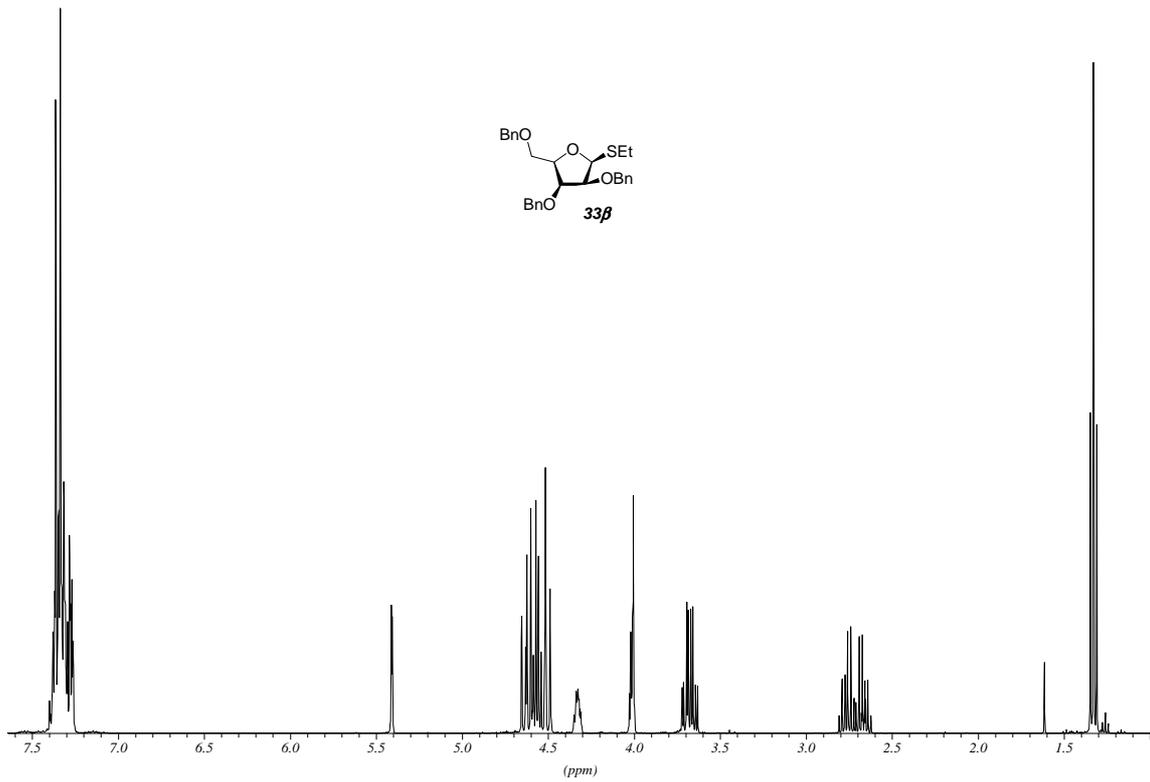


^1H -Spektrum (400 MHz) des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **24**

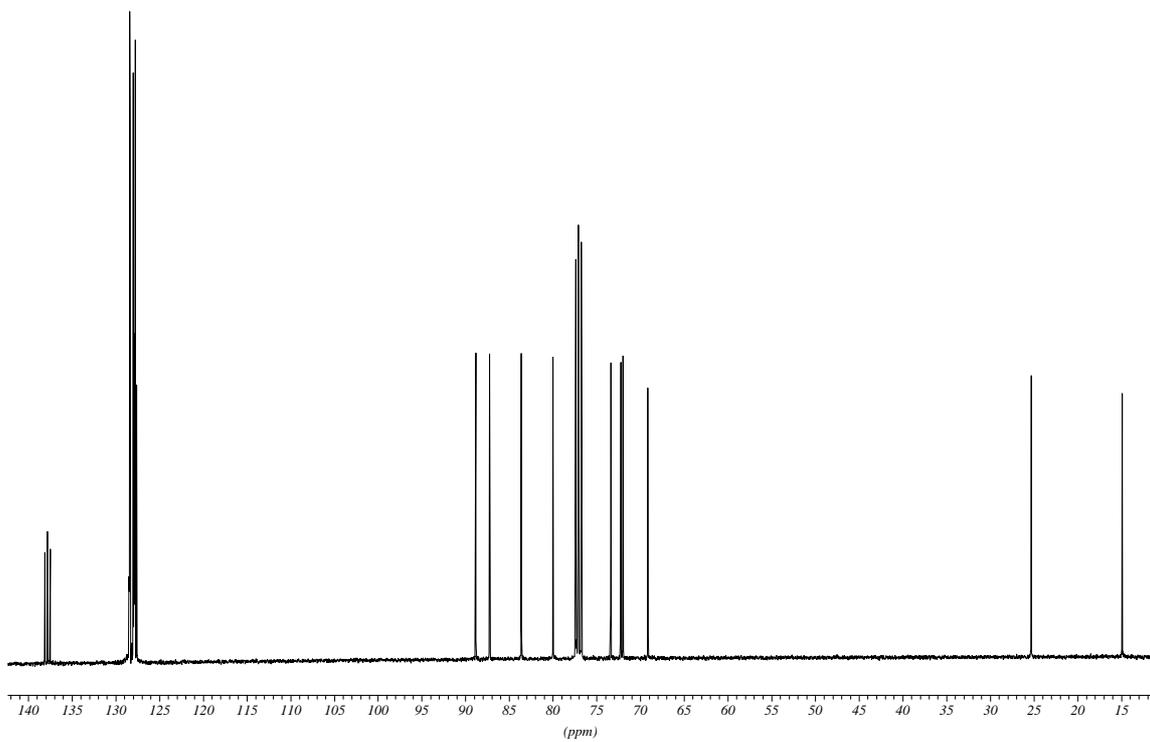


^{13}C -Spektrum (75.5 MHz) des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **24**

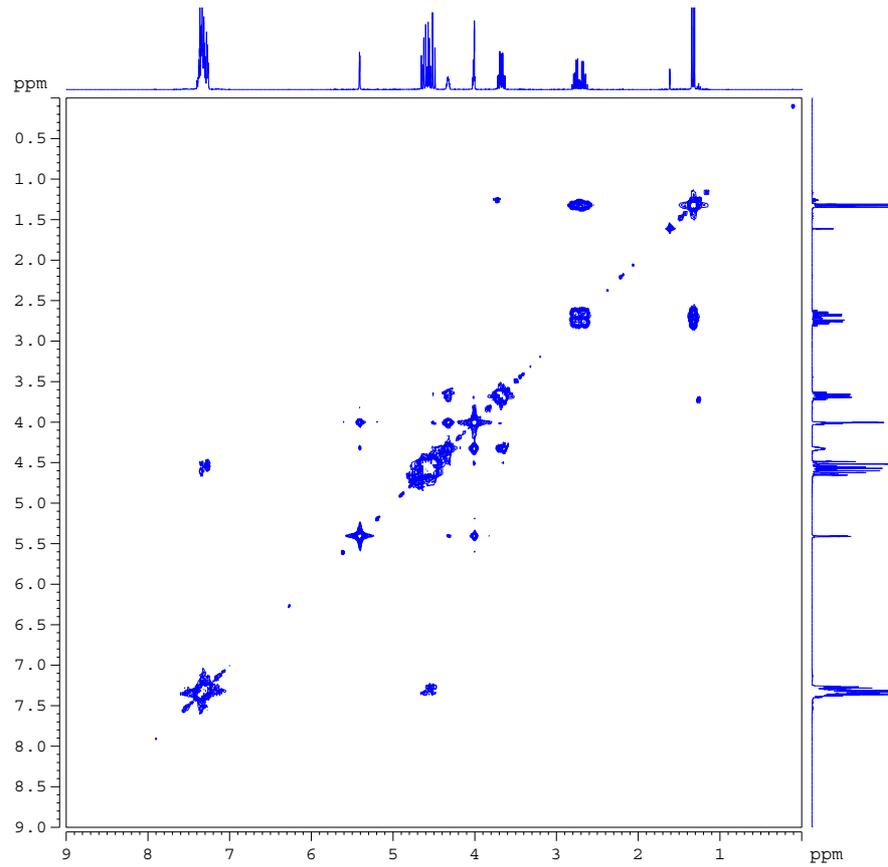
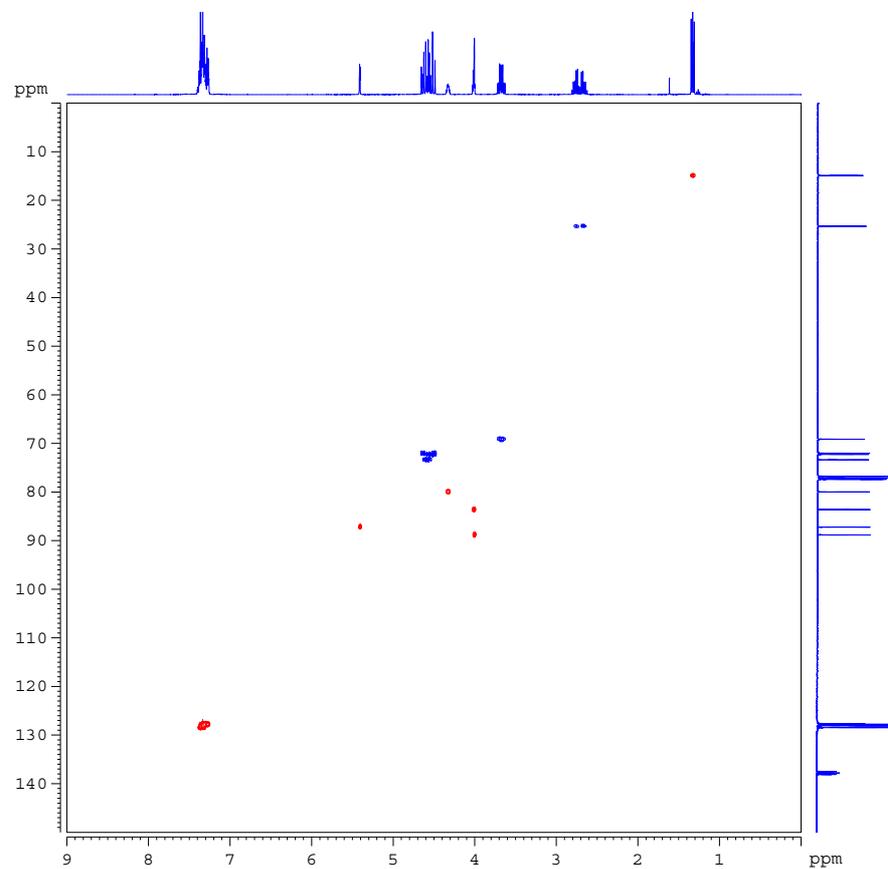
COSY-Spektrum des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **24**HMQC-Spektrum des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **24**

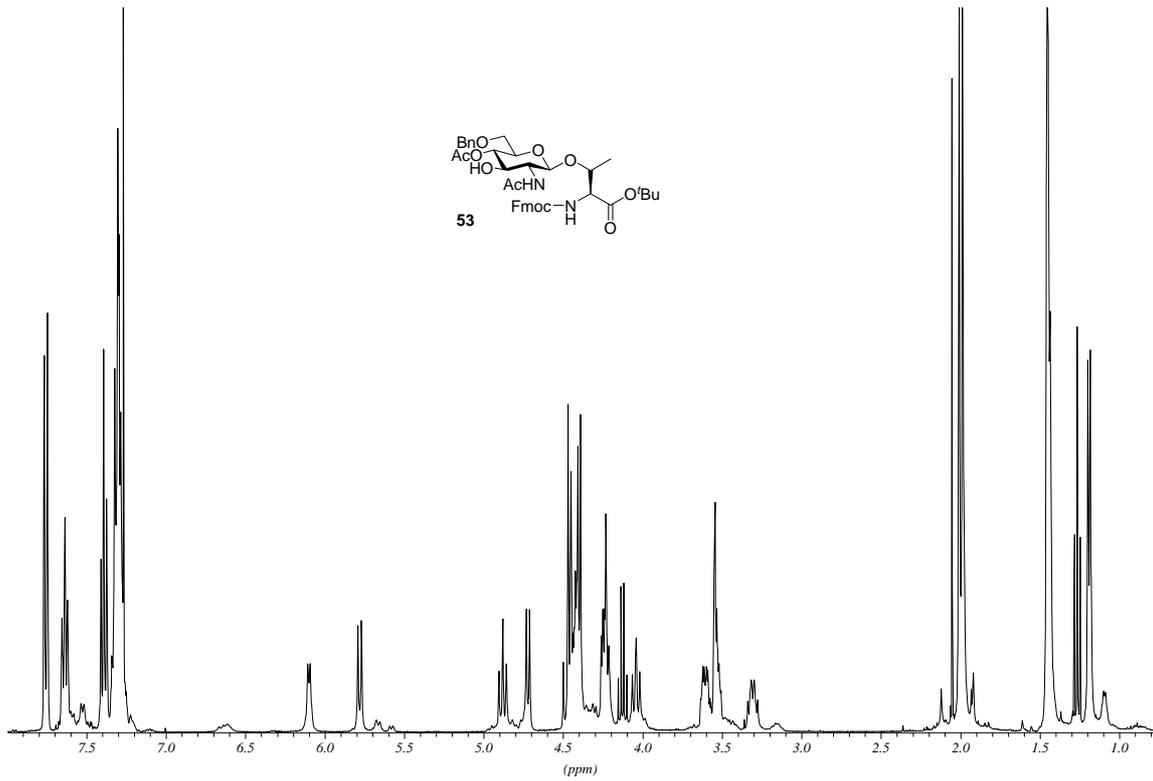


^1H -Spektrum (400 MHz) des Arabinose-Bausteins **33 β** in β -Furanose-Form

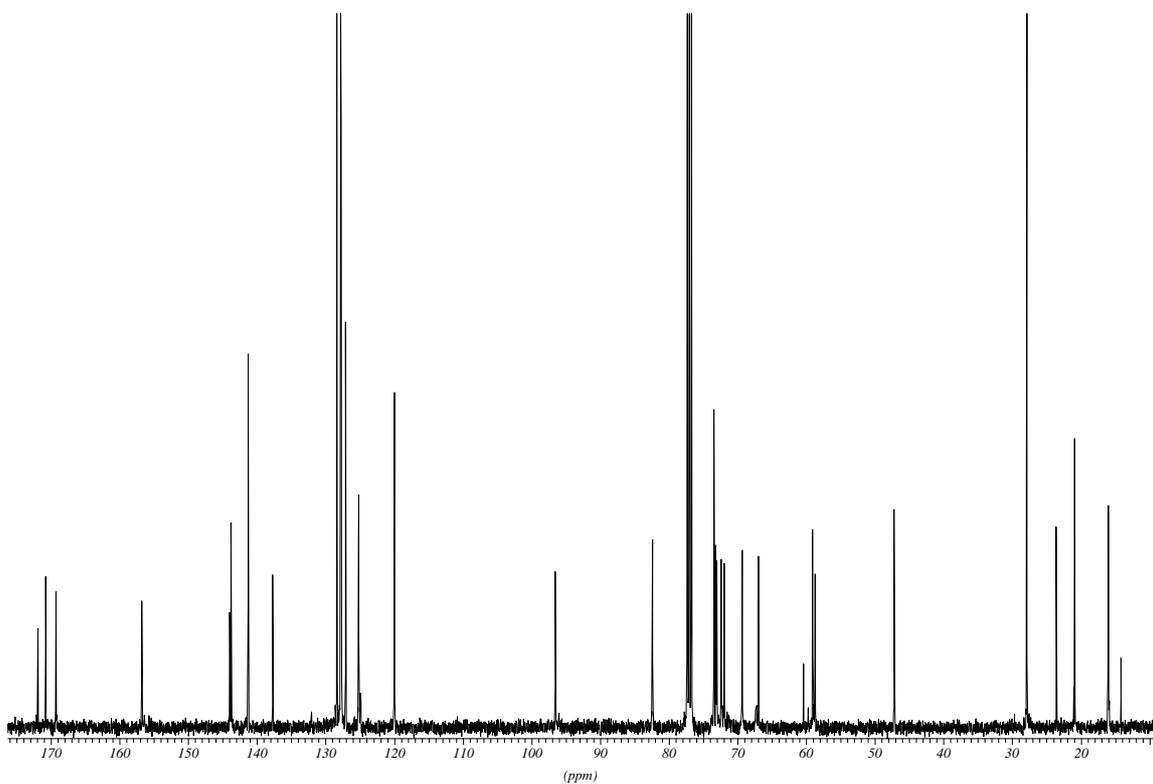


^{13}C -Spektrum (100.6 MHz) des Arabinose-Bausteins **33 β** in β -Furanose-Form

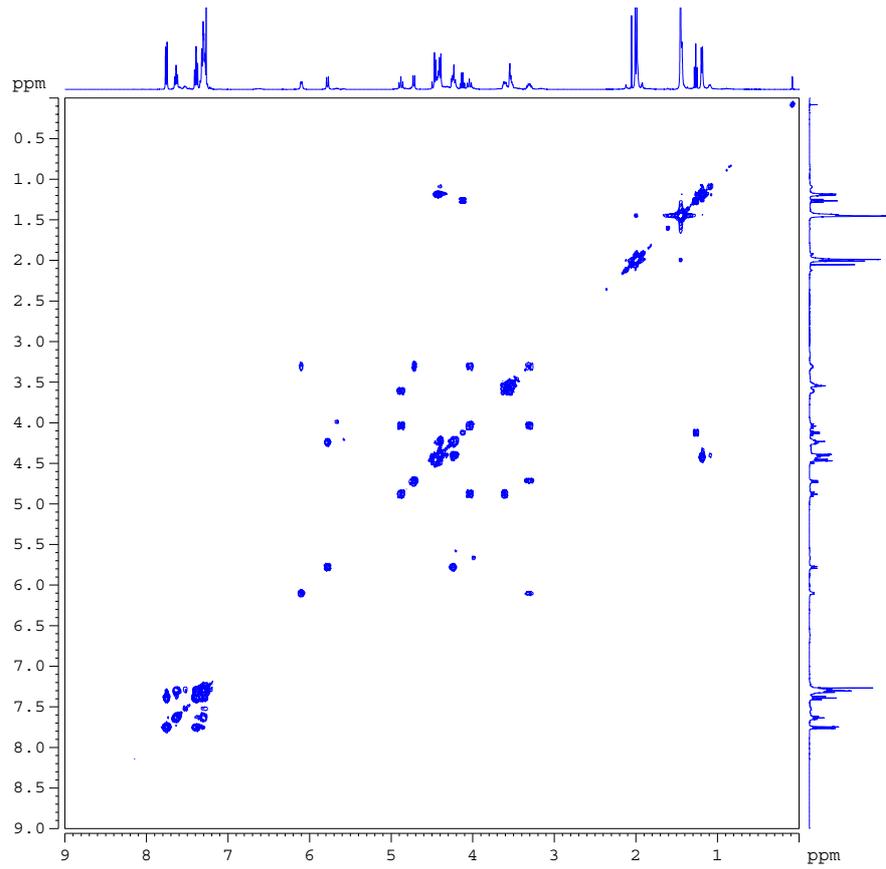
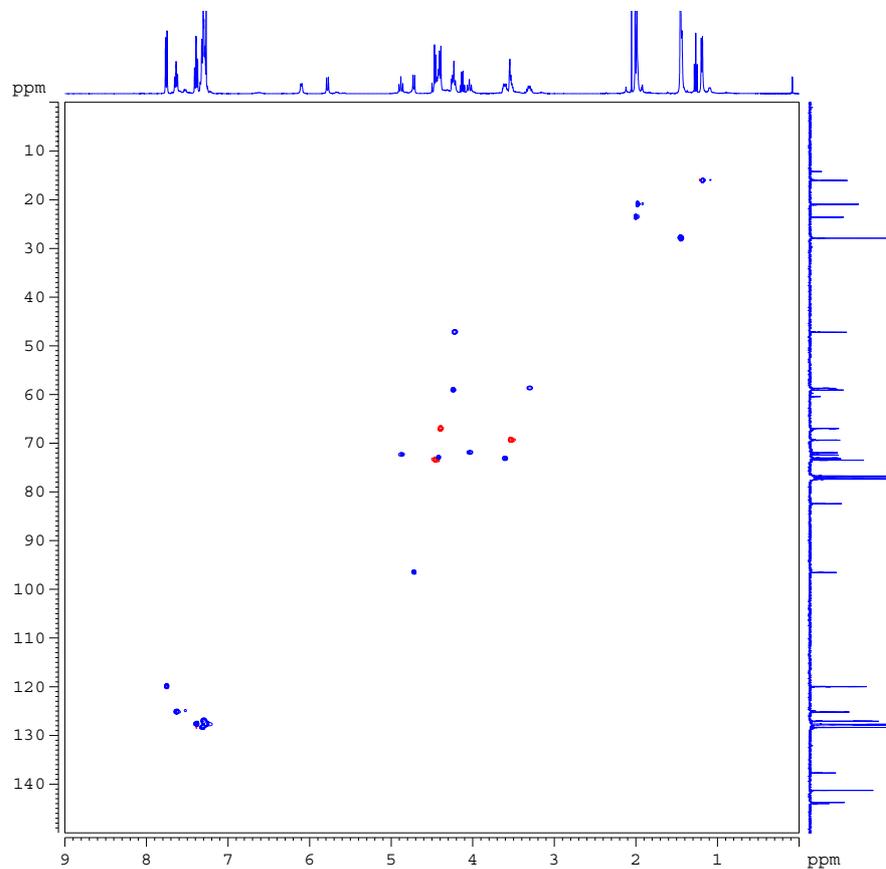
COSY-Spektrum des Arabinose-Bausteins 33β in β -Furanose-FormHMQC-Spektrum des Arabinose-Bausteins 33β in β -Furanose-Form

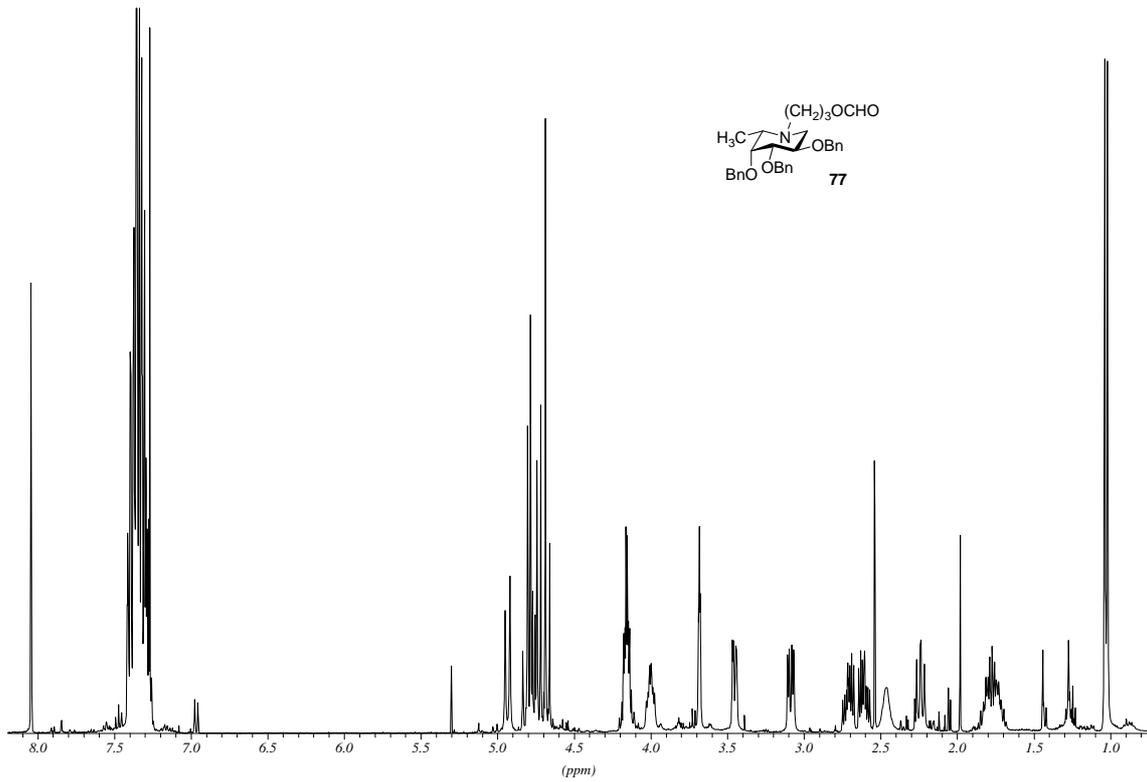


^1H -Spektrum (400 MHz) des Glycosylaminosäure-Bausteins **53**

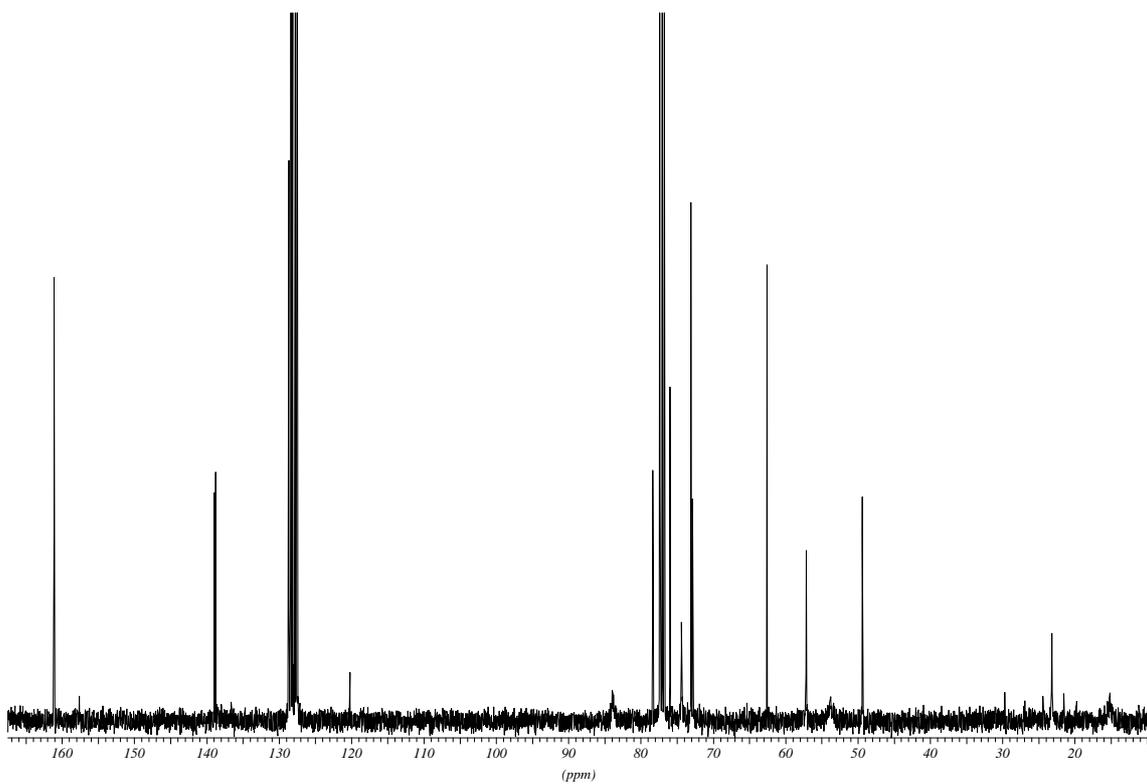


^{13}C -Spektrum (100.6 MHz) des Glycosylaminosäure-Bausteins **53**

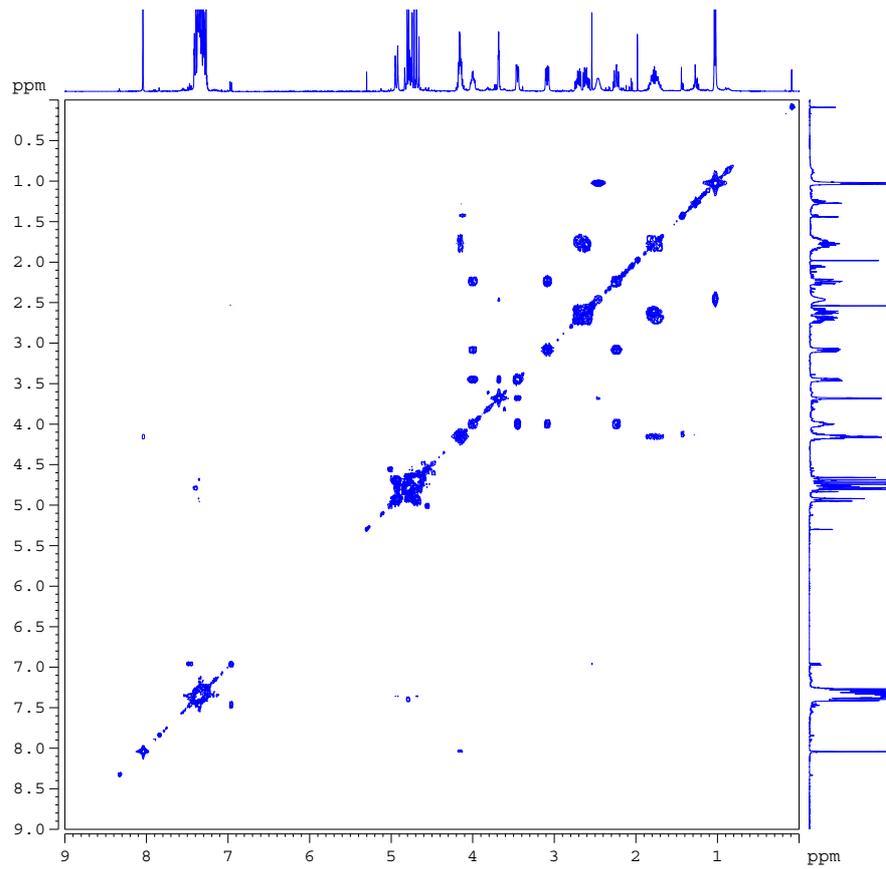
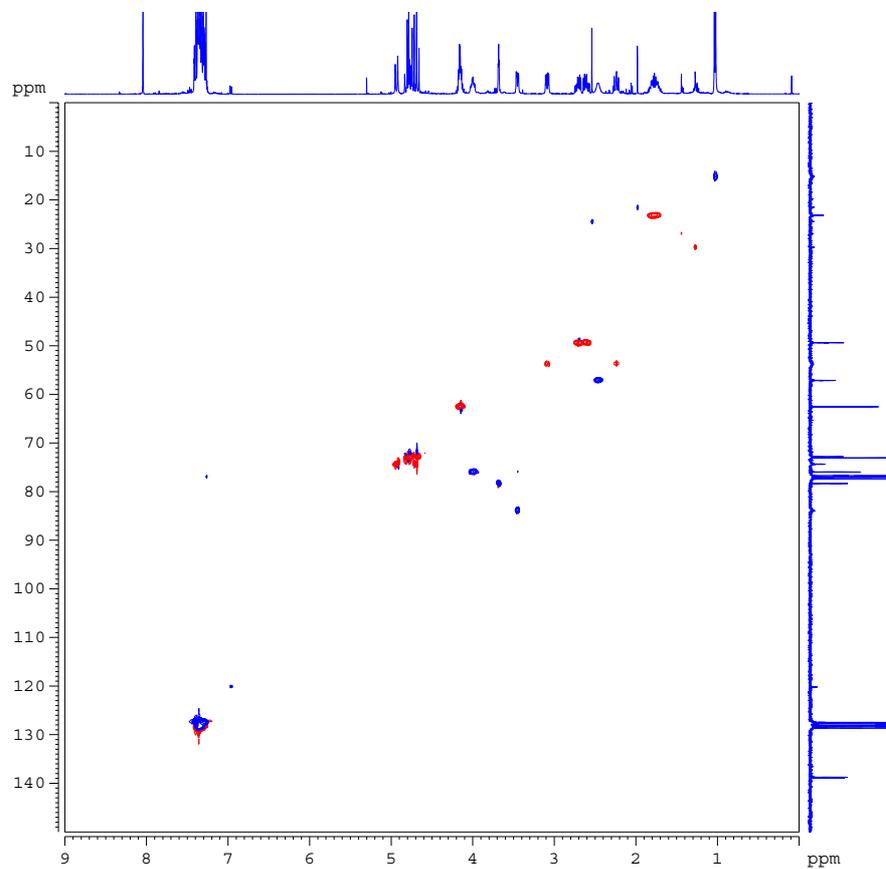
COSY-Spektrum des Glycosylaminosäure-Bausteins **53**HMBC-Spektrum des Glycosylaminosäure-Bausteins **53**

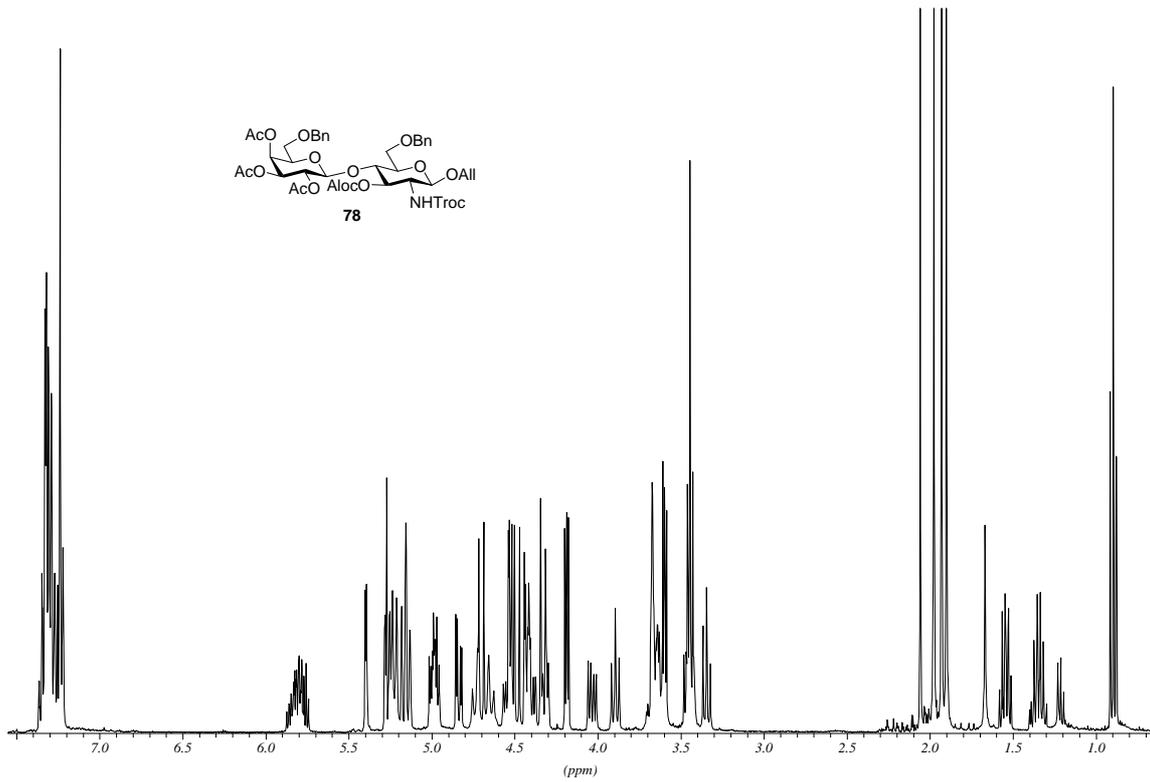


^1H -Spektrum (400 MHz) des Aza-Fucose-Bausteins **77**

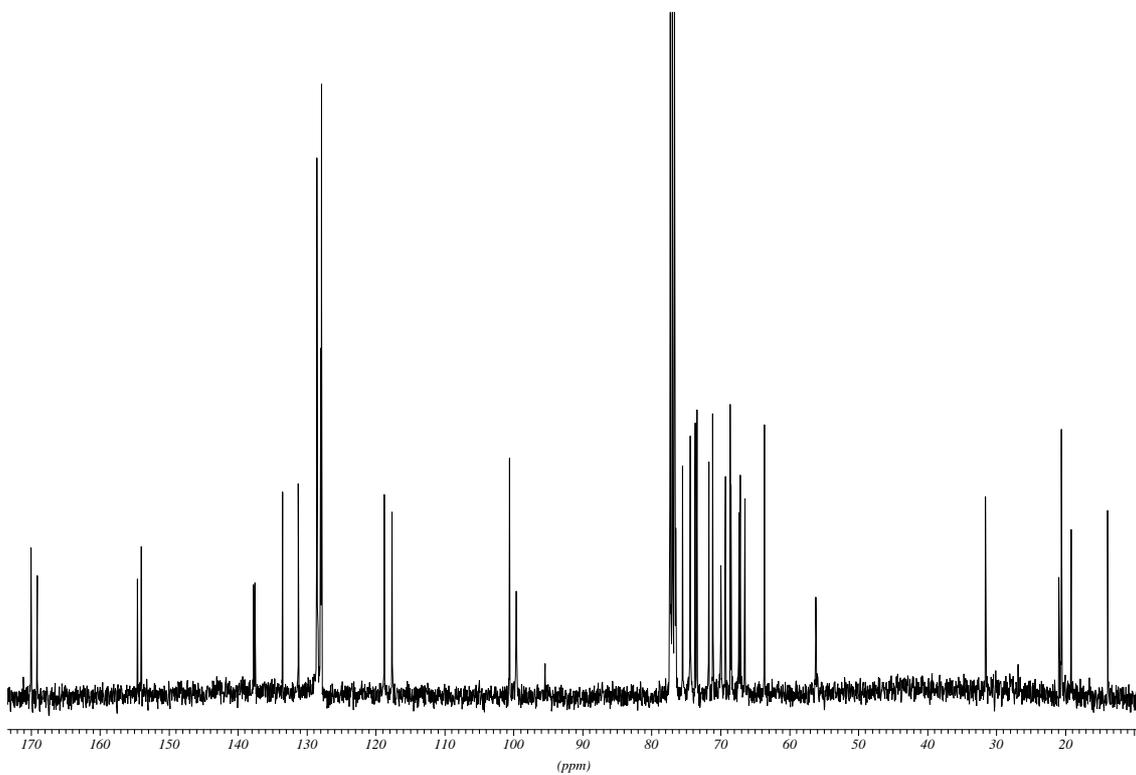


^{13}C -Spektrum (100.6 MHz) des Aza-Fucose-Bausteins **77**

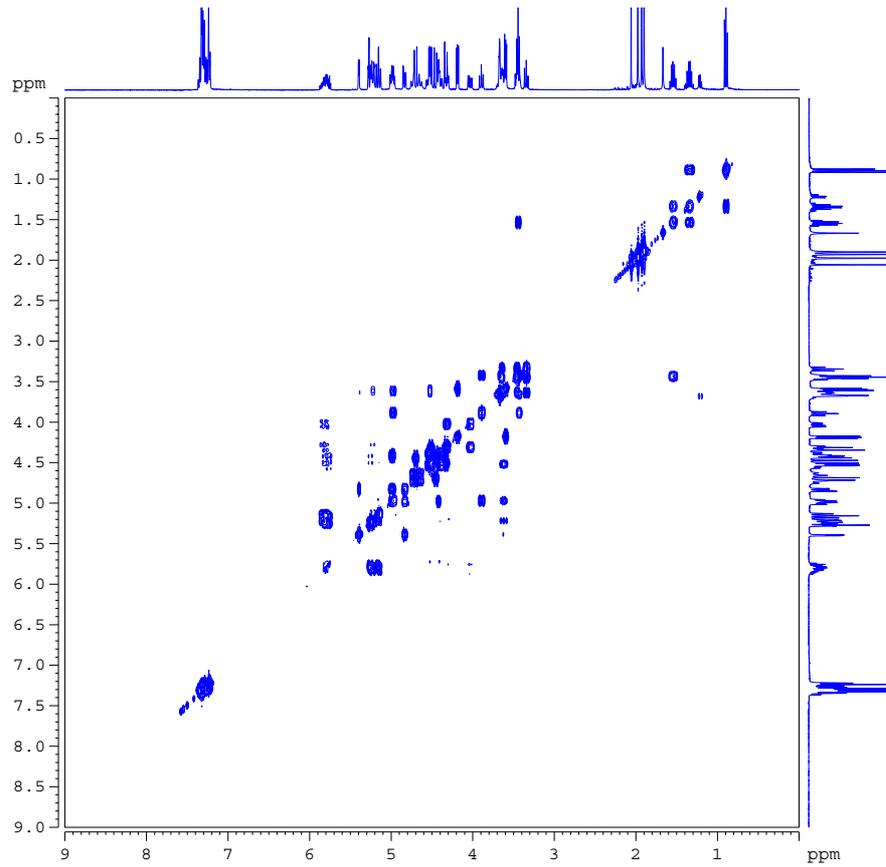
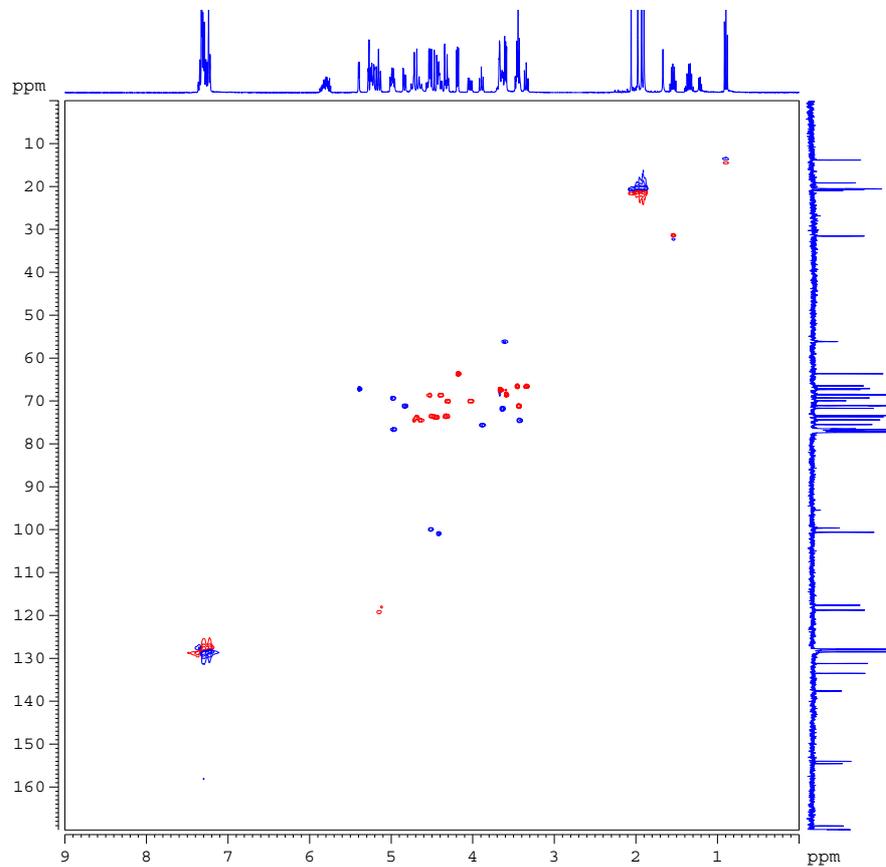
 ^1H -Spektrum (400 MHz) des Aza-Fucose-Bausteins **77** ^{13}C -Spektrum (75.5 MHz) des Aza-Fucose-Bausteins **77**

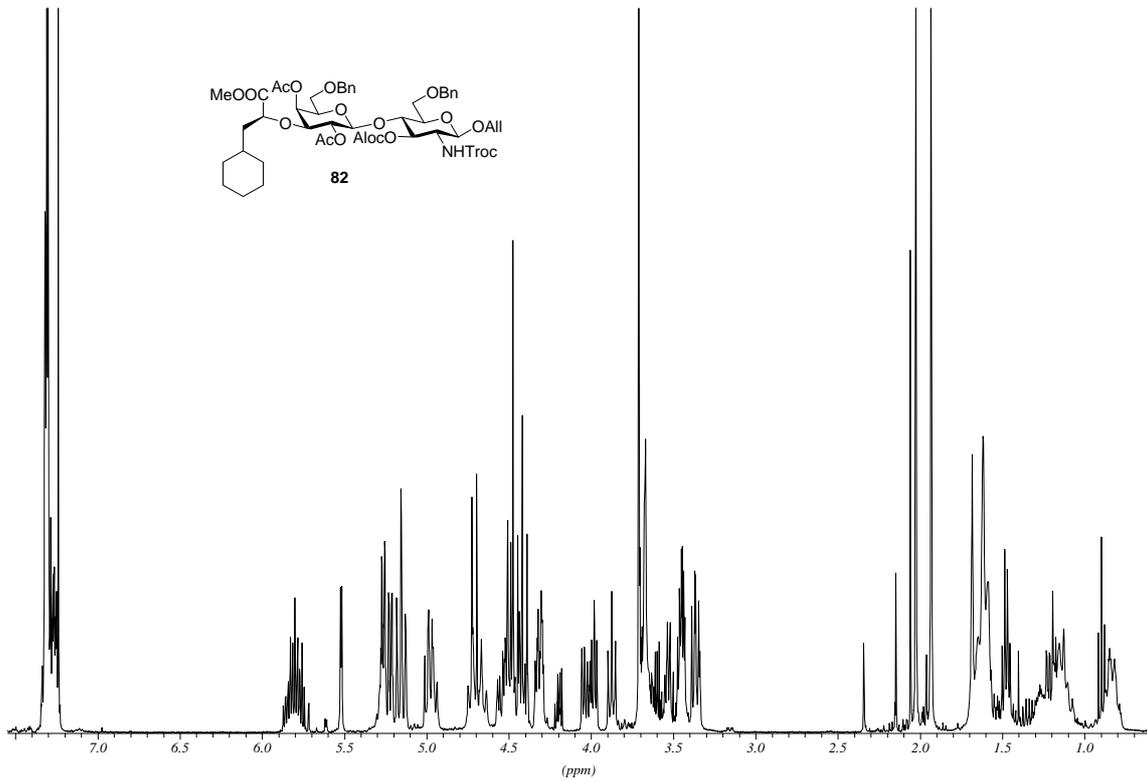


^1H -Spektrum (400 MHz) des Disaccharids **78**

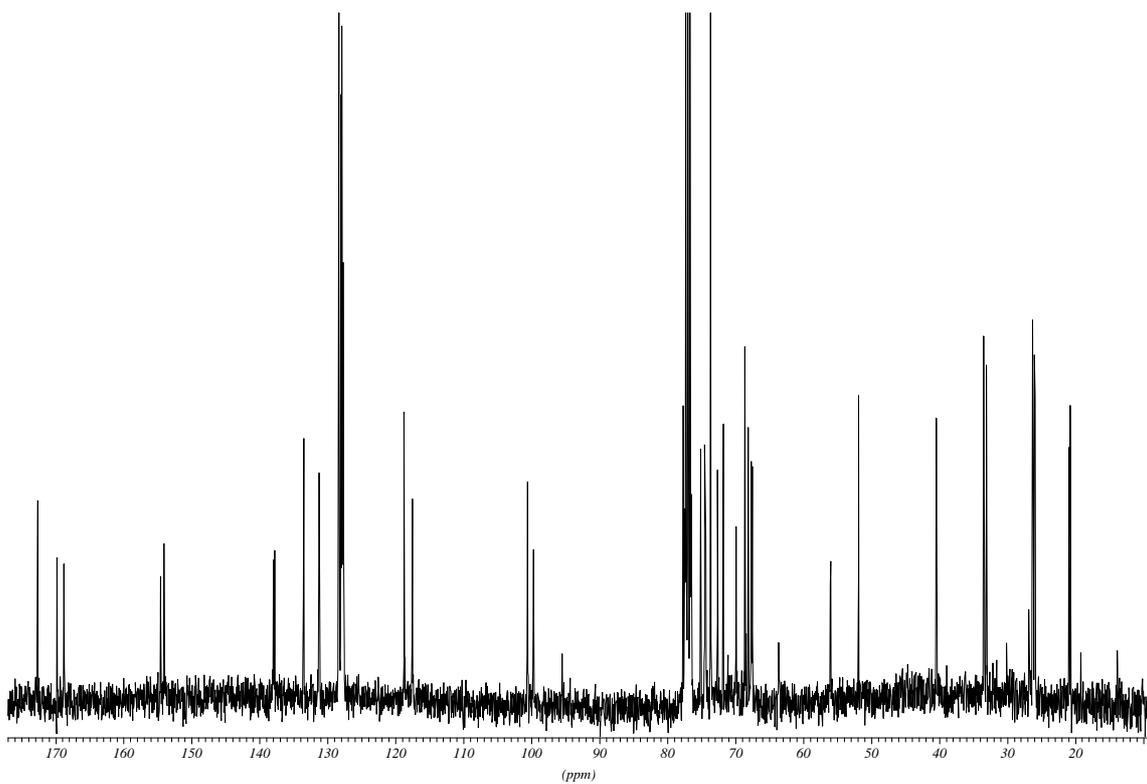


^{13}C -Spektrum (100.6 MHz) des Disaccharids **78**

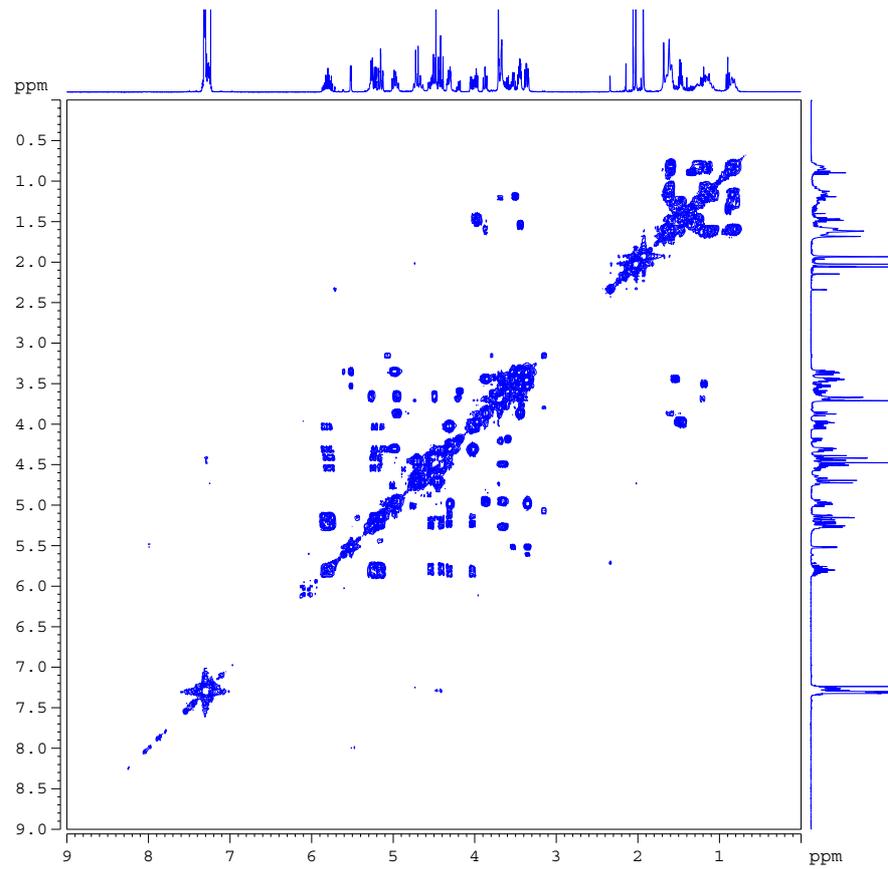
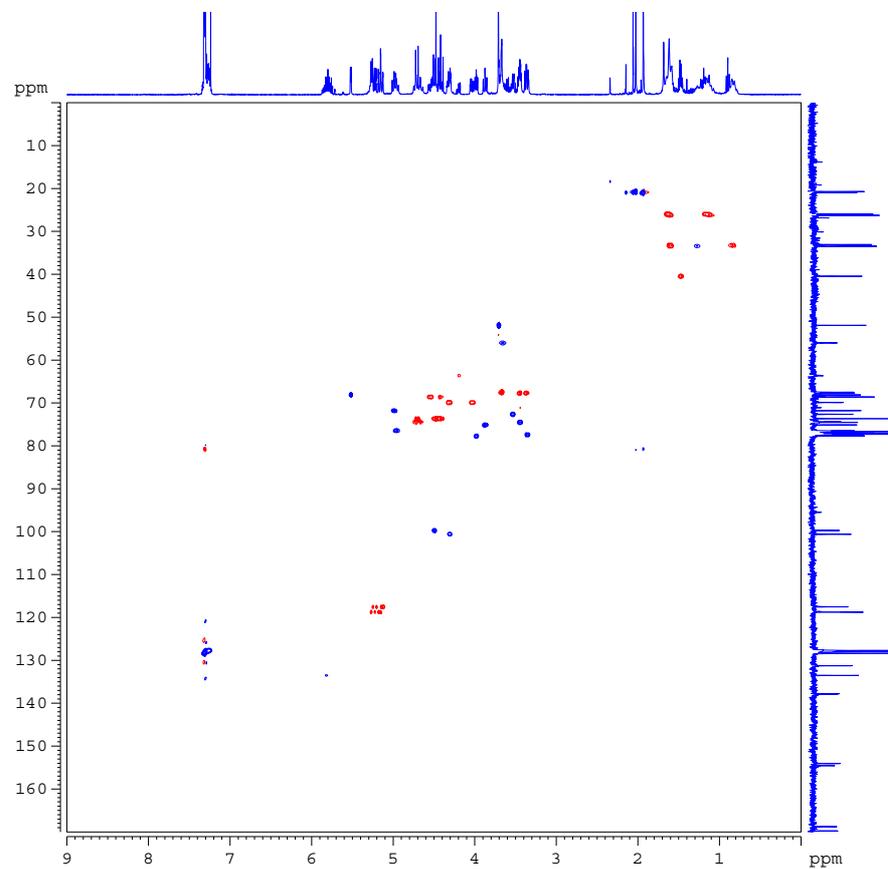
COSY-Spektrum des Disaccharids **78**HMQC-Spektrum des Disaccharids **78**

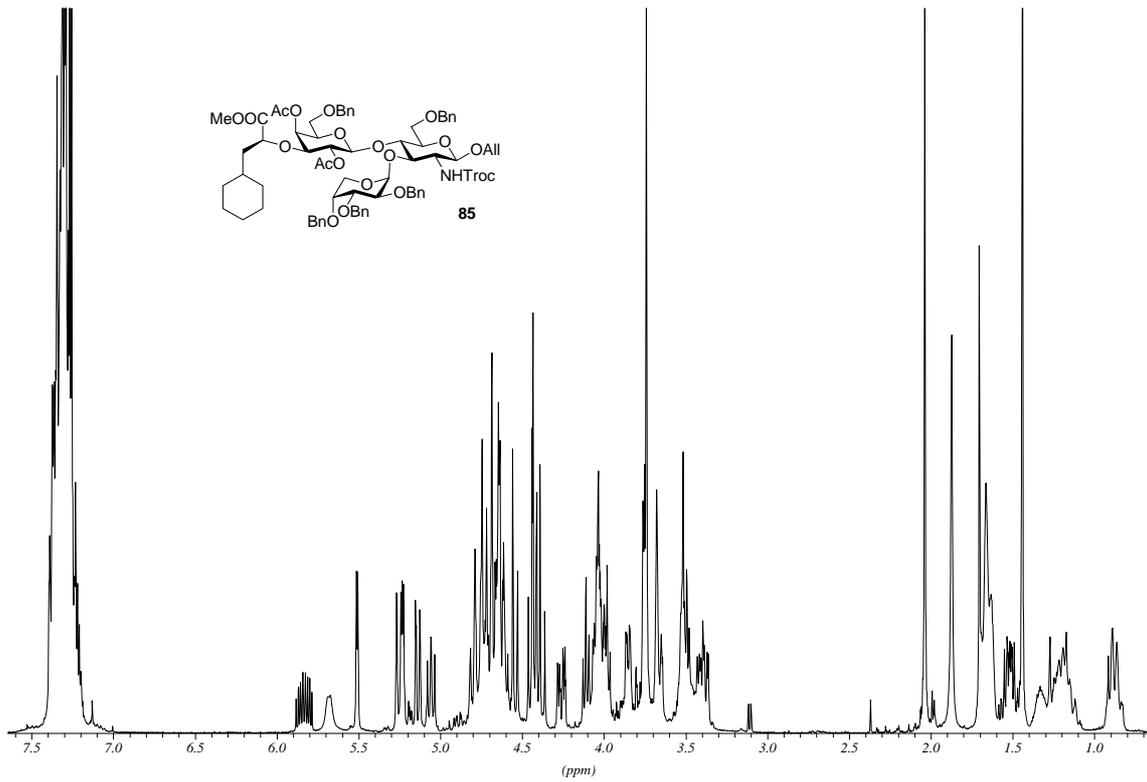


^1H -Spektrum (400 MHz) des Pseudo-Trisaccharids **82**

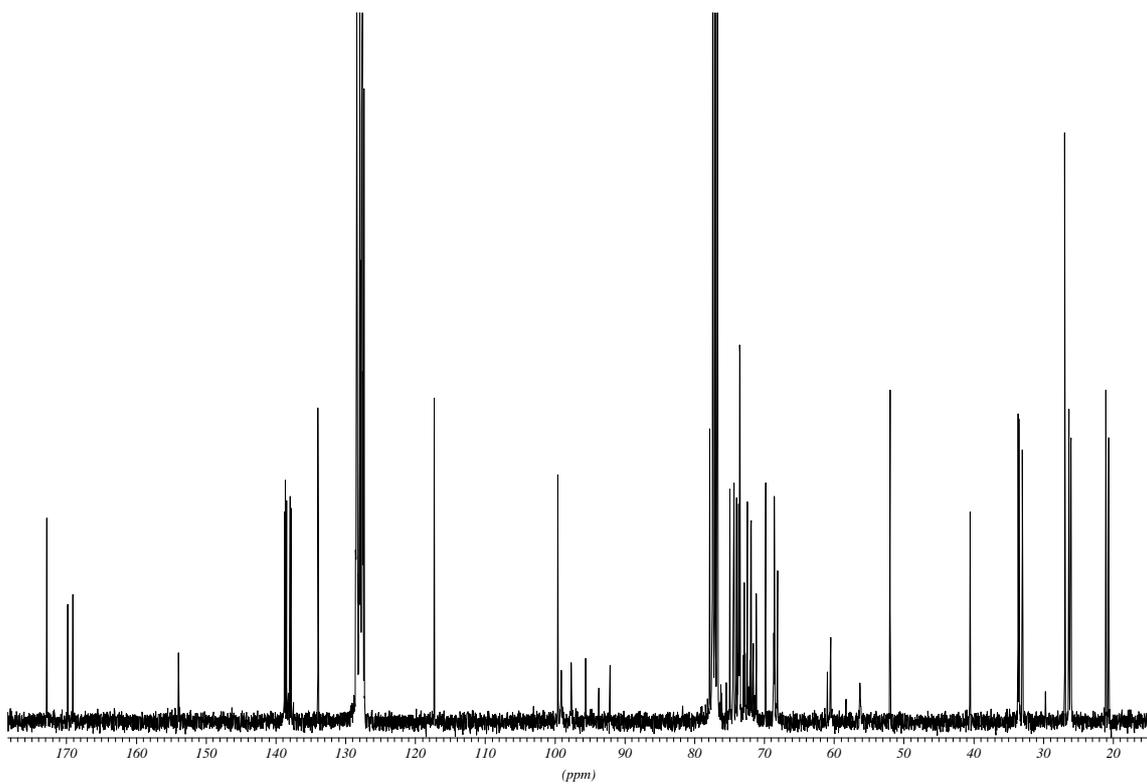


^{13}C -Spektrum (100.6 MHz) des Pseudo-Trisaccharids **82**

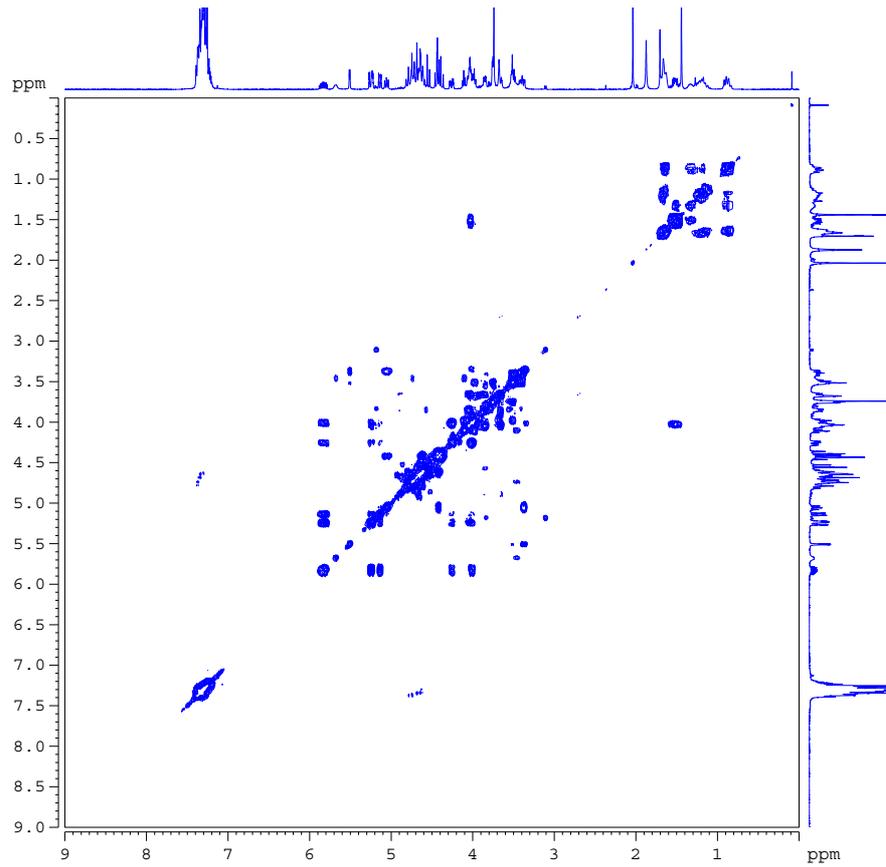
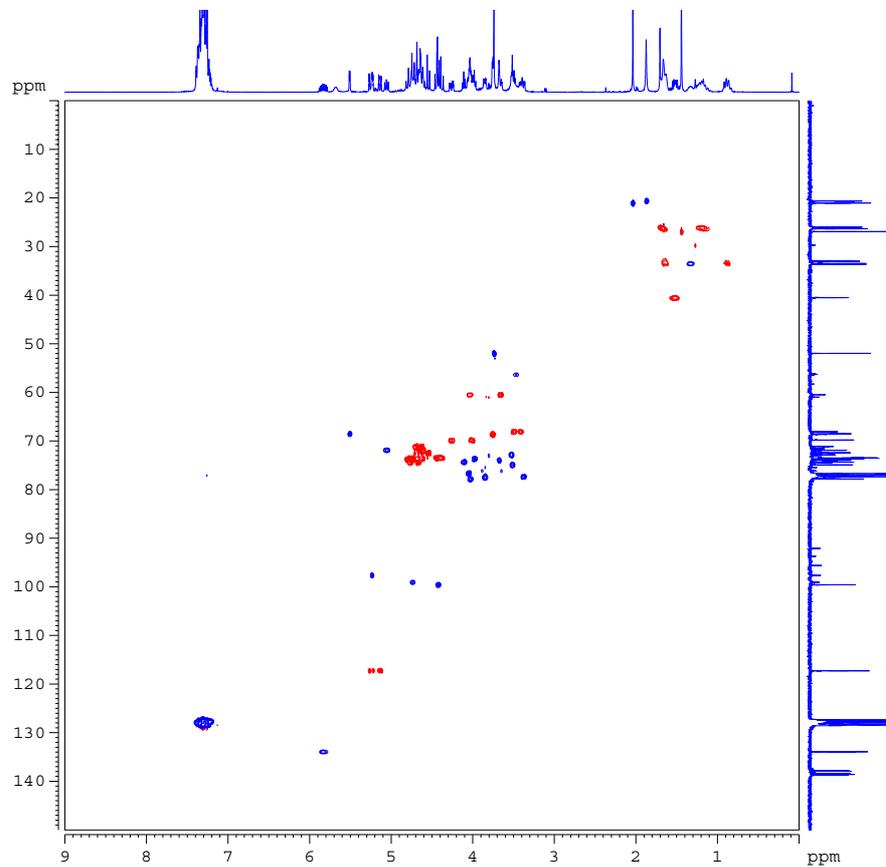
COSY-Spektrum des Pseudo-Trisaccharids **82**HMOC-Spektrum des Pseudo-Trisaccharids **82**

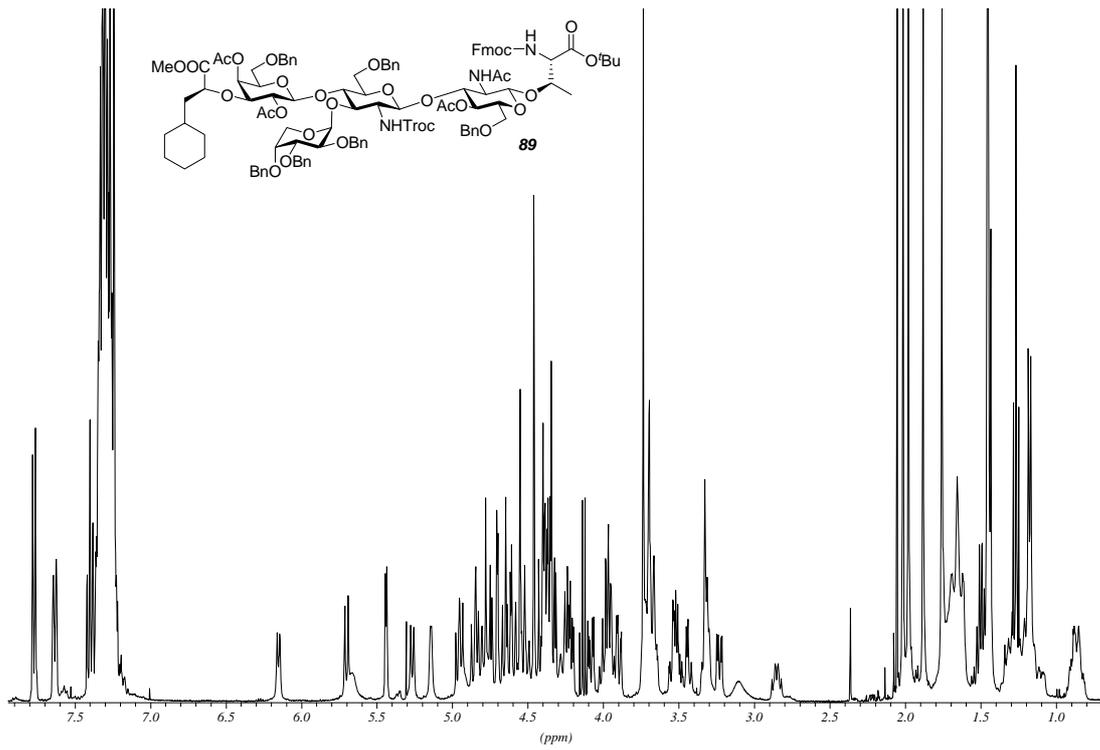


^1H -Spektrum (400 MHz) des Pseudo-Tetrasaccharids **85**

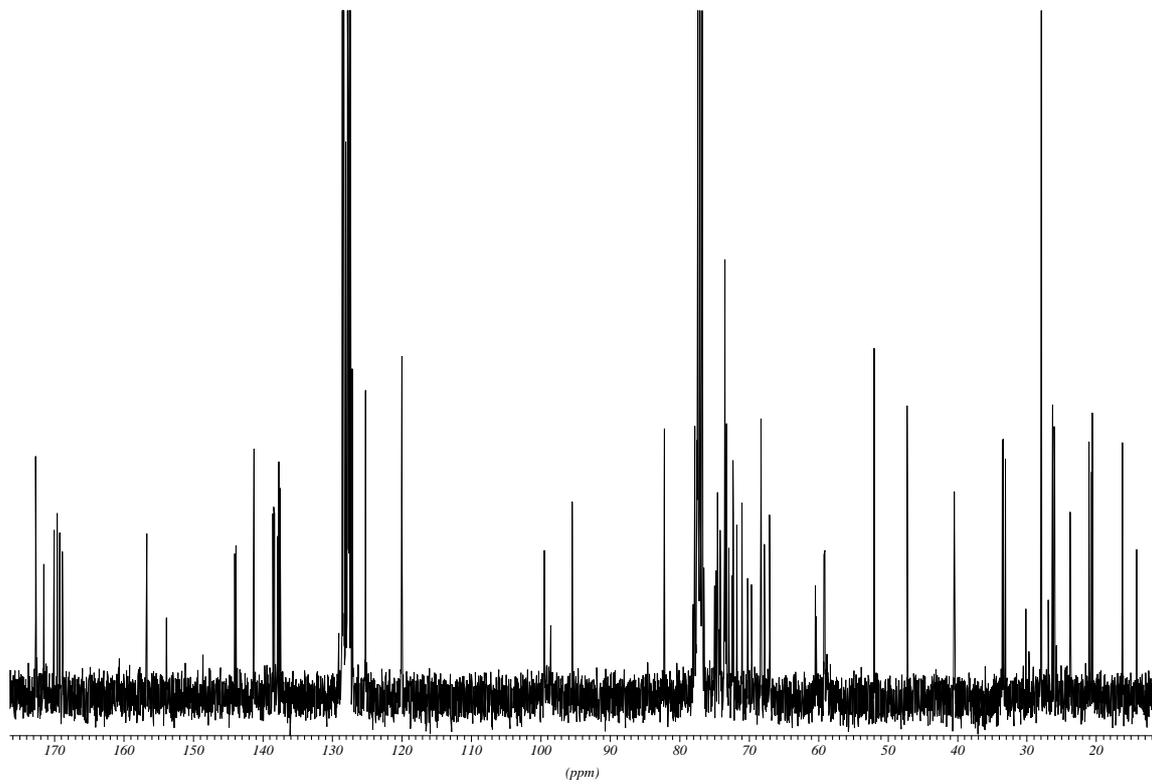


^{13}C -Spektrum (75.5 MHz) des Pseudo-Tetrasaccharids **85**

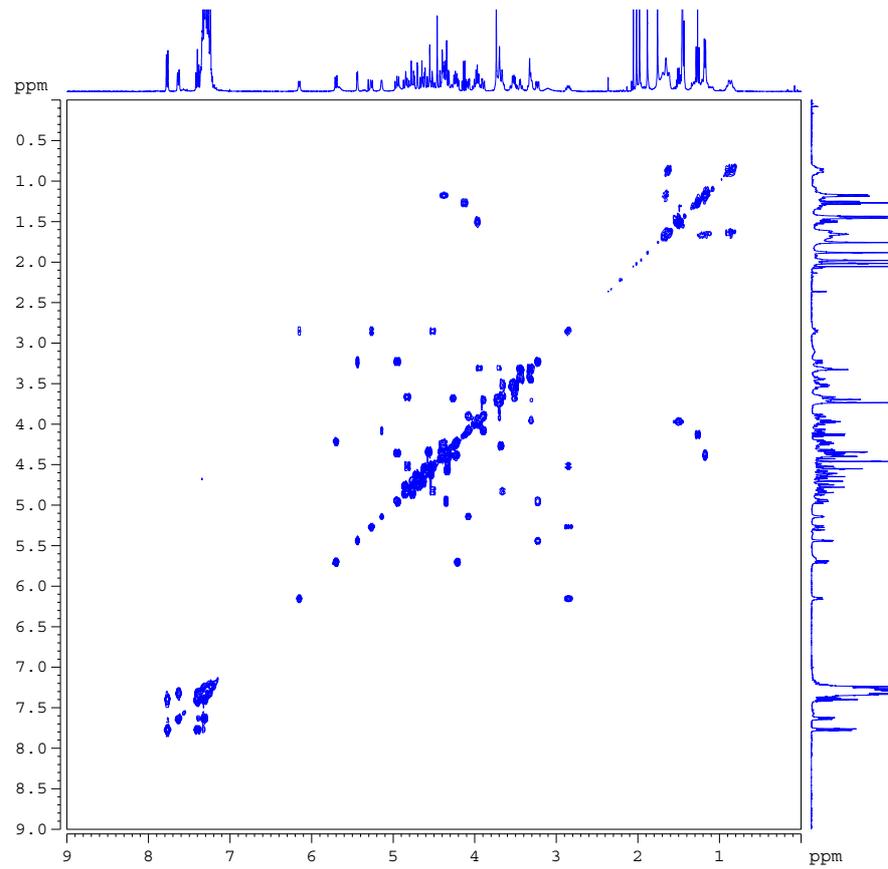
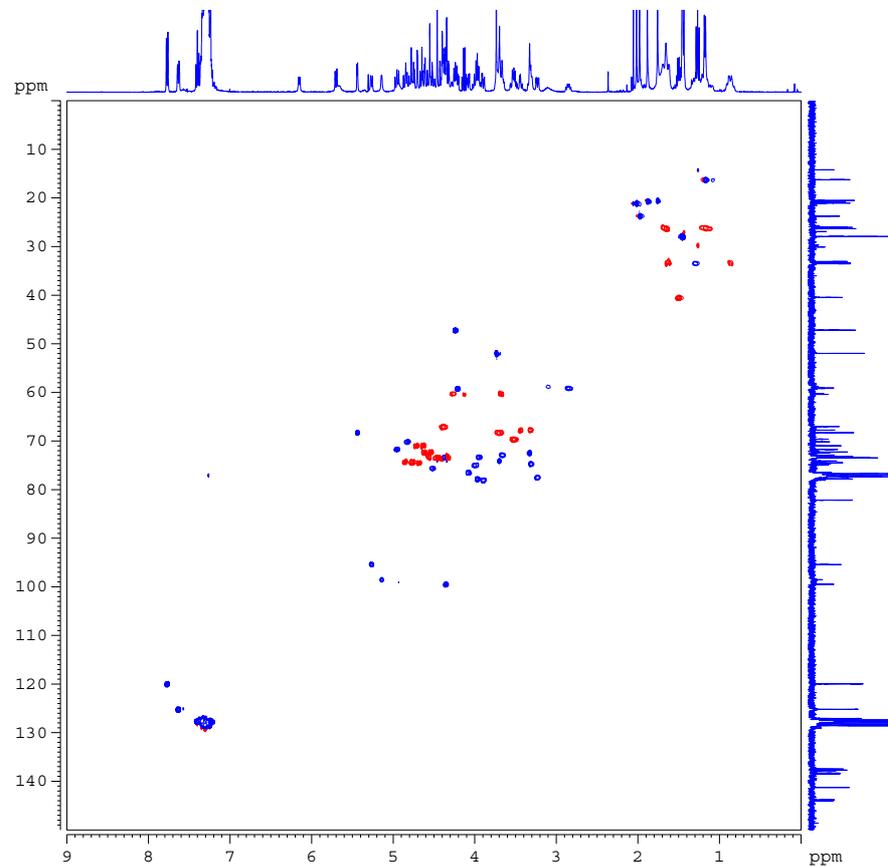
COSY-Spektrum des Pseudo-Tetrasaccharids **85**HMBC-Spektrum des Pseudo-Tetrasaccharids **85**

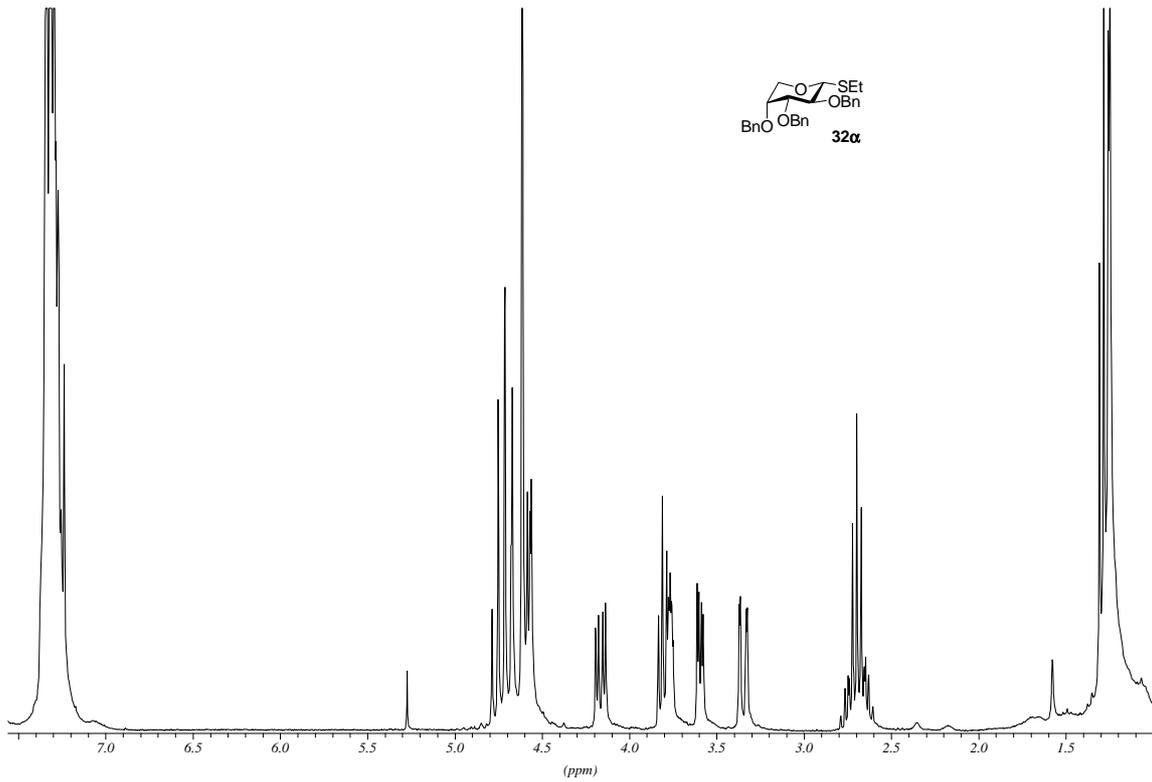


^1H -Spektrum (400 MHz) des Pseudo-Pentasaccharids **89**

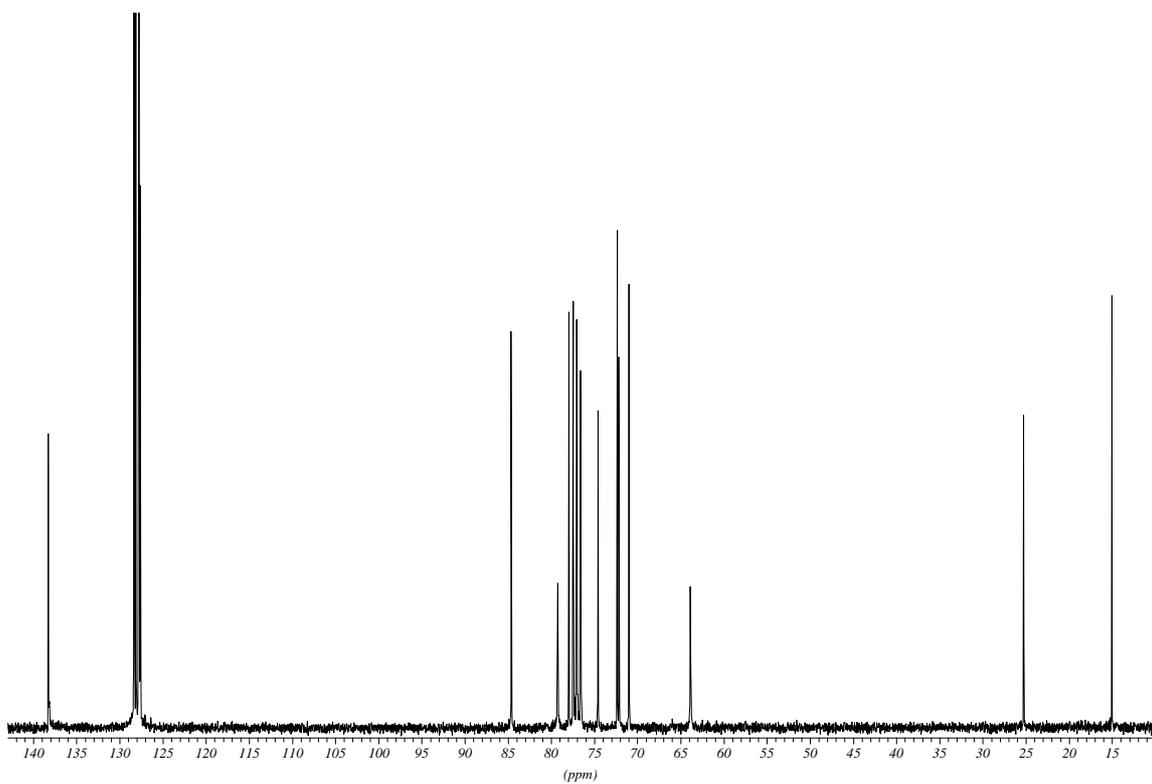


^{13}C -Spektrum (100.6 MHz) des Pseudo-Pentasaccharids **89**

COSY-Spektrum des Pseudo-Pentasaccharids **89**HMQC-Spektrum des Pseudo-Pentasaccharids **89**



^1H -Spektrum (300 MHz) des Arabinose-Bausteins **32 α** in Pyranose-Form



^{13}C -Spektrum (75.5 MHz) des Arabinose-Bausteins **32 α** in Pyranose-Form