

Selektiv deblockierbare 2,6-Diamino-
2,6-dideoxy-D-glucose-Scaffolds für die
kombinatorische Synthese potentieller
RNA-Liganden

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

Janina Ohnsmann
geboren in Mannheim

Mainz, Juli 2006

Dekan:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung: 07.09.2006

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit
von Oktober 2002 bis Juni 2006
am Institut für Organische Chemie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
angefertigt.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

α	Spezifischer Drehwert
Abb.	Abbildung
Ac	Acetyl
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
Ala	L-Alanin
Aloc	Allyloxycarbonyl
AMPS	Aminomethylpolystyrol
Asn	L-Asparagin
Asp	L-Asparaginsäure
Arg	L-Arginin
Äquiv.	Äquivalente
ber.	berechnet
Bu	Butyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
<i>c</i>	Konzentration
CDCl ₃	Chloroform-D ₁
CH	Cyclohexan
COSY	Correlation Spectroscopy
Cys	L-Cystein
δ	chemische Verschiebung
d	Dublett
D	Deuterium
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-1-en
DC	Dünnschichtchromatogramm
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett vom Dublett
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon
DEAD	Diethylazodicarboxylat
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DIC	<i>N,N'</i> -Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin
DMAP	4-Dimethylaminiopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DPPA	Diphenylphosphorylazid
DTBP	2,6-Di- <i>tert</i> -butylpyridin
dt	Dublett vom Triplett
EE	Ethylacetat
ESI	Electrospray Ionisation
Et	Ethyl
et al.	et alii
Et ₂ O	Diethylether

FD	Field Desorption
FG	Fluchtgruppe
Fmoc	Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl
FT	Fourier-Transform
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
Gln	L-Glutamin
Glu	L-Glutaminsäure
Gly	L-Glycin
h	Stunde(n)
HBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumhexafluorophosphat
His	L-Histidin
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRMAS	High Resolution Magic Angle Spinning
<i>i</i>	iso
Ig	Immunglobulin
i. Hochvak.	im Hochvakuum
i. Vak.	im Vakuum
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
<i>J</i>	Kopplungskonstante
kat.	katalytisch
konz.	konzentriert
Leu	L-Leucin
Lit.	Literatur(wert)
Lys	L-Lysin
m	Multipllett
M	molar
m _c	zentriertes Multipllett
Me	Methyl
MeOD	Methanol-D ₄
Met	L-Methionin
min	Minute(n)
Mpm	para-Methoxyphenylmethyl
Ms	Methansulfonyl
MS	Massenspektrometrie
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NCA	Nicotinoylazid
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
OAc	Acetat
OMs	Methansulfonat, Mesyl
OTf	Trifluormethansulfonat, Triflat
<i>p</i>	para
Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl
Ph	Phenyl
Phe	L-Phenylalanin

Pmc	2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl
ppm	parts per million
präp.	präparativ
Pro	L-Prolin
PS	Polystyrol
q	Quartett
quant.	quantitativ
R	Rest
Raumtemp.	Raumtemperatur
R _f	Retentionsfaktor
RP-HPLC	Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography
R _t	Retentionszeit
s	Singulett
Schmp.	Schmelzpunkt
t	Triplett
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBAHDF	Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumtetrafluoroborat
<i>tert</i>	tertiär
TMS	Trimethylsilyl
THF	Tetrahydrofuran
Thr	L-Threonin
Trp	L-Tryptophan
<i>p</i> -TsOH	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
TPP	Triphenylphosphin
Tyr	L-Tyrosin
UV	ultaviolett
wässr.	wässrig

1	EINLEITUNG	1
1.1	WIRKSTOFFSUCHE IN DER PHARMAZEUTISCHEN INDUSTRIE	1
1.2	KOMBINATORISCHE CHEMIE	2
1.2.1	<i>Entwicklung in der kombinatorischen Chemie</i>	4
1.2.2	<i>Identifizierung aktiver Strukturen</i>	6
1.2.3	<i>Organische Chemie an der festen Phase</i>	8
1.2.4	<i>Kombinatorische Methoden in den Biowissenschaften</i>	9
1.2.5	<i>Kohlenhydrate als Scaffolds in der Kombinatorischen Chemie</i>	10
1.3	HIV	14
1.3.1	<i>HIV und AIDS</i>	14
1.3.2	<i>Lebenszyklus</i>	17
1.3.3	<i>Die regulatorischen Proteine</i>	19
1.3.4	<i>Behandlungsstrategien bei HIV-Erkrankungen</i>	25
1.4	RNA-LIGANDEN-INTERAKTIONEN	27
1.4.1	<i>Strukturmerkmale von RNA</i>	27
1.4.2	<i>Wechselwirkung von RNA mit Liganden</i>	29
2	HINTERGRUND UND ZIELSETZUNG	37
2.1	BIOLOGISCHER HINTERGRUND	37
2.2	ZIELSETZUNG	38
3	ALLGEMEINER TEIL	39
3.1	GRUNDLAGEN DER GEPLANTEN SYNTHESE	39
3.1.1	<i>Konzept der festphasengestützten Parallelsynthese von Monosaccharidderivaten</i>	39
3.1.2	<i>Schutzgruppenkonzept und Verankerungsstrategie</i>	39
3.1.3	<i>Die Wahl der Funktionalisierungsreaktionen</i>	40
3.2	SYNTHESE DES SCAFFOLDS ZUR KOMBINATORISCHEN FESTPHASENSYNTHESE	41
3.3	ANBINDUNG AN DEN POLYMEREN TRÄGER	54
3.4	ÜBERPRÜFUNG DES SCHUTZGRUPPENKONZEPTS	58
3.5	AUFBAU EINER BIBLIOTHEK DURCH MODIFIZIERUNGEN DES SCAFFOLDS AN DER FESTEN PHASE	61
3.5.1	<i>Amidbildung in der 2-Position</i>	61
3.5.2	<i>Derivatisierung der 3-Position</i>	65
3.5.3	<i>Derivatisierung der 4-Position</i>	70
3.5.4	<i>Versuche zur Etherbildung</i>	73
3.5.5	<i>Amidbildung in der 6-Position</i>	74
3.5.6	<i>Synthese von Kohlenhydrat-Peptid-Konjugaten</i>	77
3.5.7	<i>Versuche zur Glycosylierung</i>	78

3.5.8	<i>Kombinatorische Variation verschiedener Positionen</i>	81
3.6	SYNTHESE EINES SCAFFOLDS FÜR DIE KOMBINATORISCHE SYNTHESE IN LÖSUNG	81
3.7	AUFBAU EINER KLEINEN BIBLIOTHEK DURCH MODIFIZIERUNG DES SCAFFOLDS IN LÖSUNG	85
3.7.1	<i>Überprüfung des Schutzgruppenkonzeptes</i>	85
3.7.2	<i>Derivatisierung der verschiedenen Positionen</i>	87
3.8	BIOLOGISCHE EVALUIERUNG	90
3.8.1	<i>Das Testsystem</i>	90
3.8.2	<i>Ergebnisse</i>	94
4	ZUSAMMENFASSUNG	107
5	EXPERIMENTELLER TEIL	114
5.1	ALLGEMEINES UND MESSGERÄTE	114
5.2	HILFSREAGENZIEEN	120
5.3	VERSUCHE ZU KAPITEL 3.2	123
5.4	VERSUCHE ZU KAPITEL 3.3 BIS 3.5	130
5.4.1	<i>Allgemeine Vorschriften</i>	130
5.4.2	<i>Versuche zu Kapitel 3.5.1</i>	135
5.4.3	<i>Versuche zu Kapitel 3.5.2</i>	149
5.4.4	<i>Versuche zu Kapitel 3.5.3</i>	161
5.4.5	<i>Versuche zu Kapitel 3.5.5</i>	172
5.4.6	<i>Versuche zu Kapitel 3.5.6</i>	189
5.4.7	<i>Versuche zu Kapitel 3.5.7</i>	193
5.5	VERSUCHE ZU KAPITEL 3.6	196
5.6	VERSUCHE ZU KAPITEL 3.7	202
5.6.1	<i>Versuche zu Kapitel 3.7.1</i>	202
5.6.2	<i>Versuche zu Kapitel 3.7.2</i>	205
6	LITERATUR	214
7	SPEKTRENANHANG	222

1 EINLEITUNG

1.1 WIRKSTOFFSUCHE IN DER PHARMAZEUTISCHEN INDUSTRIE

Die Suche nach neuen Therapeutika ist die wichtigste Aufgabe der forschenden Pharmaunternehmen. Die Ansprüche an moderne Wirkstoffe sind sehr hoch. Neben einer hohen Aktivität müssen weitere Eigenschaften wie geringe Toxizität, hohe Bioverfügbarkeit sowie keine Mutagenität gegeben sein. Auch die Patentierbarkeit spielt hier eine wesentliche Rolle.

Schon seit weit mehr als 100 Jahren beschäftigen sich Naturwissenschaftler damit, Substanzen zu erzeugen oder aus der Natur zu isolieren und ihre Wirksamkeit zur Bekämpfung von Krankheiten zu untersuchen. Früher fand diese Prüfung noch fast ausschließlich in langwierigen Zellkultur- und Tierversuchen statt. Inzwischen hat die interdisziplinäre Zusammenarbeit von Chemie, Biologie und Medizin zu einem besseren Verständnis für pathogene Vorgänge in Mensch, Tier und Zelle auf molekularer Ebene geführt. Mit diesen neuen Erkenntnissen ist es zum einen möglich, verstärkt zielgerichtete Synthesen durchzuführen, die auf Strukturvorschlägen der sogenannten „*In-Silico*-Chemie“ basieren, zum anderen ist es möglich, z.B. aus geeigneten, zum Teil gentechnisch hergestellten Proteinen Testsysteme für potentielle Wirkstoffe aufzubauen, mit denen Kleinstmengen einer Vielzahl dieser Stoffe sehr effizient untersucht werden können. Mit Hilfe dieses sogenannten *high throughput screenings* (HTS) können pro Tag Tausende von Substanzen auf ihre Wirksamkeit geprüft werden. Durch den späteren Übergang zum *ultra high throughput screening* (UHTS) wurde die Möglichkeit geschaffen, bis zu 100.000 Verbindungen an einem Tag auf ihre biologische Wirksamkeit zu prüfen. Somit ist nicht mehr die Prüfung, sondern die organische Synthese der limitierende Faktor bei der Wirkstoffsuche. Eine Methode, die es ermöglicht, eine große Anzahl von Verbindungen in einer kurzen Zeit bereitzustellen, die kombinatorische Chemie.¹

¹ Übersichtsarbeiten: a) M. A. Gallop, R. W. Barrett, W. J. Dower, S. P. A. Fodor, E. M. Gordon, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1233; b) E. M. Gordon, R. W. Barrett, W. J. Dower, S. P. A. Fodor, M. A. Gallop, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1385; c) N.K. Terrett, M. Gardner, D. W. Gordon, R. W. Kobylecki, J. Steele, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 8135; d) J. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 19; e) L. A. Thompson, J. A. Ellman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 555; f) P. H. H. Hermkes, H. C. J. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 4527; g) F. Balkenhohl, C. von dem Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 3001; h) K. Frobel, T. Krämer, *Chemie in unserer Zeit* **1996**, *6*, 270.

1.2 KOMBINATORISCHE CHEMIE

Das Ziel der kombinatorischen Chemie ist es, Scharen oder sogenannte Bibliotheken von Produkten mit möglichst großer Diversität durch Umsetzung an mehreren funktionellen Gruppen von Edukten darzustellen.

Der Grundgedanke der kombinatorischen Chemie ist der Evolution nachempfunden. In der Natur wird aus einer beschränkten Anzahl von Bausteinen, wie z. B. Nucleotiden oder Aminosäuren, eine fast unbeschränkte Anzahl von Produkten gebildet. Aus Nucleotiden entstehen so Ribonucleinsäuren und Desoxyribonucleinsäuren, aus Aminosäuren werden Proteine mit verschiedensten Funktionen aufgebaut.

Ein weiteres Beispiel ist in der Herausbildung der Antikörpervielfalt durch die Umordnung ganzer Genabschnitte gegeben.^{2,3} Das dreimensionale Gerüst eines Antikörpers ist aus zwei schweren (H-Ketten) und zwei leichten (L-Ketten) Polypeptidketten aufgebaut, die sechs Schleifen auf einem achtsträngigen β -Faltblatt als Strukturelemente enthalten.

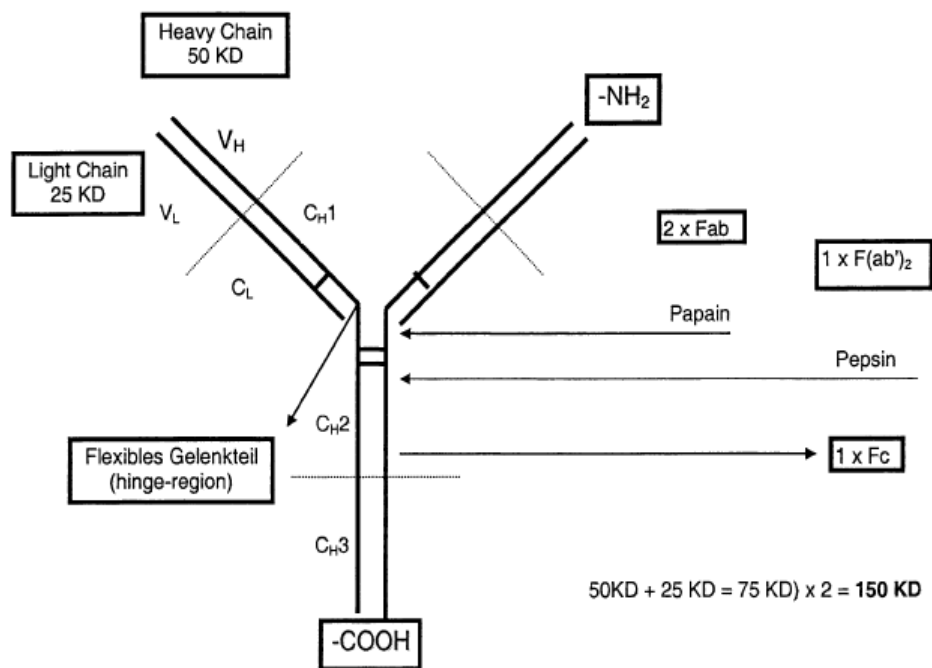
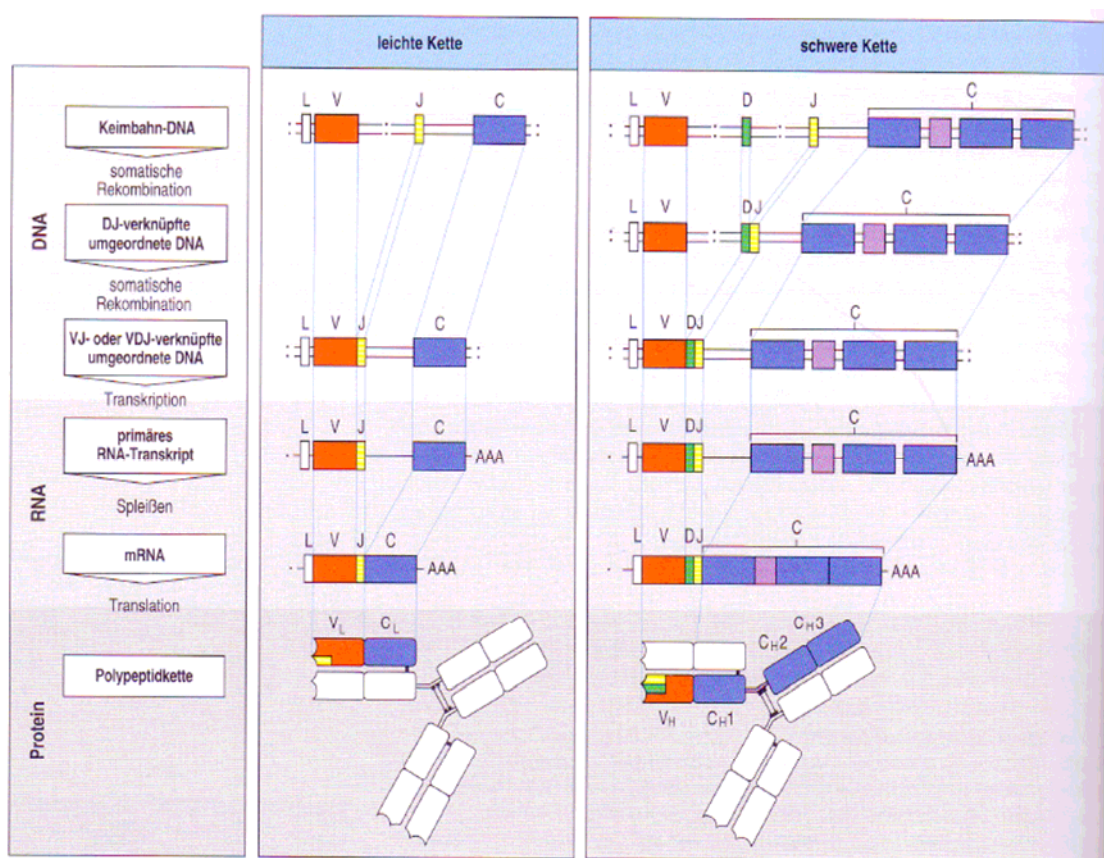


Abb. 1-1: Prinzipieller Aufbau eines Antikörpers.

² C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *Immunologie*, 5. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2002, Kap. 4.

³ a) A. G. Beck-Sickinger, P. Weber, *Kombinatorische Methoden in Chemie und Biologie*, Spektrum, Akademischer Verlag 1999, Kap. 1; b) D. R. Liu, P. G. Schultz, *Angew. Chem.* 1999, 111, 36.

Diese Struktur wird durch vier unterschiedliche Gensegmente codiert: V (*variable*), D (*diversity*), C (*constant*) und J (*joining*). Jedes dieser Segmente wird wiederum durch die zufällige Reorganisation von bestimmten Genabschnitten verschlüsselt. So entsteht eine Bibliothek Keimbahn-Antikörper von hoher Diversität. Aus diesen Antikörpern muss dann die Struktur ausgewählt werden, die am besten an die körperfremde Substanz bindet. Die Affinität des entsprechenden Antikörpers wird im Laufe der Immunantwort zusätzlich durch somatische Mutationen sehr stark erhöht. Bei diesem Prozess werden die Basen der DNA-Sequenz für die variable Region des Antikörpers sukzessive ausgetauscht.²



Segment	Leichte Ketten : κ	Leichte Ketten : λ	Schwere Kette: H
V-Segmente	40	30	65
D-Segmente	0	0	27
J-Segmente	5	4	6

Abb. 1-2: Somatische Rekombination: a) Aufbau der Gene der variablen Region aus Gensegmenten; b) Anzahl funktioneller Gensegmente für die variablen Regionen der schweren und leichten Kette in menschlicher DNA.²

1.2.1 ENTWICKLUNG IN DER KOMBINATORISCHEN CHEMIE

Bei der kombinatorischen Synthese orientiert man sich prinzipiell am gleichen Schema wie die Natur: man geht von einem begrenzten Pool chemischer Bausteine aus und erzeugt daraus schrittweise neue Moleküle. Bei der kombinatorischen Synthese in Lösung gibt es allerdings Probleme praktischer Natur: die Bausteine haben meist nicht die gleiche Reaktivität, so dass bei Konkurrenzsituationen keine Gleichverteilung der Produkte zu erwarten ist. Durch die Wiederholung dieser Prozedur im Zuge einer mehrstufigen Synthese würden sich die Mengenverhältnisse in der Produktbibliothek daher stark verzerren. Führt man eine Synthese in mehreren Reaktionsschritten durch, so müssen die Reinigungsvorgänge, die zwischen den einzelnen Kondensationen durchgeführt werden, alle gewünschten Produkte erfassen.

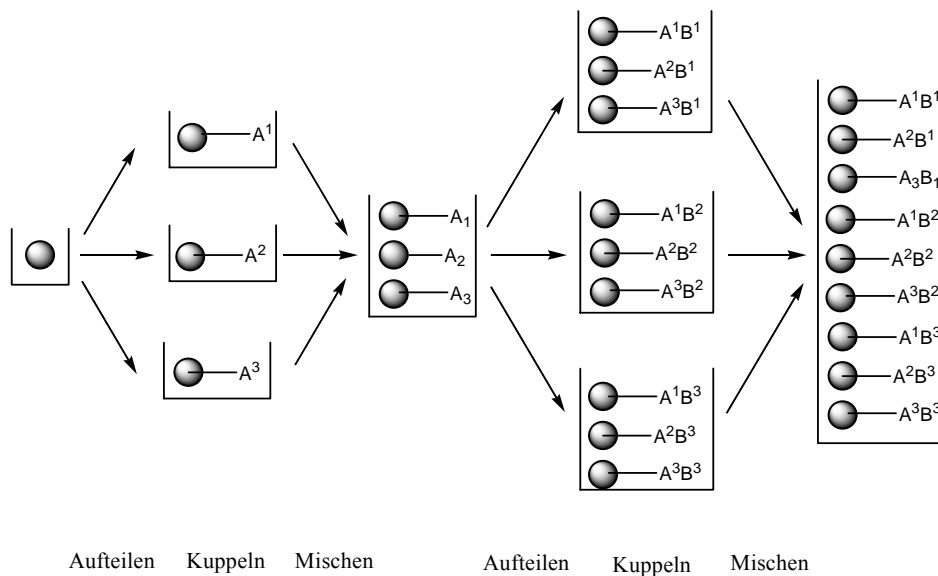
Dieses Problem lässt sich durch die von *Merrifield* eingeführte Festphasensynthese von Peptiden umgehen.⁴ Bei diesem Verfahren wird durch das Einwirken großer Überschüsse gelöster Reagenzien auf das polymergebundene Substrat das Zielmolekül aufgebaut. Außerdem können nach dieser Methode der Überschuss an Reaktanden und die anfallenden Nebenprodukte, die nicht kovalent an den polymeren Träger gebunden sind, nach der Reaktion durch Waschen entfernt werden. Dabei treten keine Reinigungsverluste auf. Bei diesem Verfahren sowie bei der später von *Geysen* entwickelten *Multipin*-Synthese⁵ und der von *Houghten* veröffentlichten *teabag*-Methode⁶ handelt es sich um Parallelsynthesen. Hier werden für alle Substanzen die Reaktionsschritte gleichzeitig durchgeführt. In jedem der Reaktionsgefäße wird aber jeweils nur eine definierte Komponente aufgebaut. Ein neuer Ansatz, die *split-couple-recombine*-Methode (kurz: *split-mix*-Methode), wurde von *Furka* eingeführt.⁷ dabei wird der polymere Träger in kleine Portionen aufgeteilt und in verschiedene Reaktionsgefäße verteilt (*split*), wobei die Anzahl der Gefäße der Anzahl der eingesetzten Reagenzien entspricht. Die folgende Reaktion kann mit einem großen Überschuss des Reagenz durchgeführt werden. Erst nach dem Waschvorgang werden die Polymerportionen wieder vereinigt (*recombine* bzw. *mix*) und gründlich gemischt. Anschließend wird das Trägermaterial erneut verteilt, und es kann eine zweite Reaktion nach dem gleichen Prinzip durchgeführt werden. Durch ständiges Wiederholen dieser Zyklen lassen sich so alle gewünschten Kombinationen aufbauen.

⁴ R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *90*, 10922.

⁵ a) H. M. Geysen, R. H. Meloen, S. J. Barteling, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, *81*, 3998; b) H. M. Geysen, S. J. Barteling, R. H. Meloen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 178.

⁶ R. A. Houghten, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 5131.

⁷ À. Furka, F. Sebetyén, M. Asgedom, G. Dibò, *Int. J. Protein Res.* **1991**, *37*, 487.

Abb. 1-3: Die *split-mix*-Synthese nach *Furka*.

So enthält jedes der Polymerkügelchen am Ende der Reaktionsfolge nur eine Verbindung (*one bead, one compound*). Falls die Aufteilung immer gleichmäßig ist und die Kupplungen aller Peptide mit vollständigem Umsatz ablaufen, sind alle Peptide in der Produktbibliothek gleich verteilt, was einen Vorteil gegenüber der Synthese von Mischungen in Lösung darstellt.

Tabelle 1-1: Vor- und Nachteile der Fest- und Flüssigphasensynthese.

	Festphasensynthese	Flüssigphasensynthese
Entwicklungsaufwand	hoch	niedrig
Einschränkung der Reaktionsbedingungen	ja	nein
Analytische Überwachung	schwierig	einfach
Probleme beim Einsatz hoher Reagenzienüberschüsse	nein	ja
Automatisierung von Aufarbeitung und Reinigung	einfach	schwierig
Erreichbare Anzahl der Reaktionsschritte	hoch	niedrig
Darstellung großer Produktmengen	schwierig	einfach

Im Allgemeinen spielt es keine Rolle, ob eine Substanzbibliothek in Lösung oder an der festen Phase hergestellt wurde. Beide Strategien weisen sowohl Vor- als auch Nachteile auf, wie in Tabelle 1-1 zu sehen ist. Es muss deshalb von Fall zu Fall entschieden werden, welche Strategie für die geplante Synthese die günstigere ist. Die kürzere Entwicklungszeiten machen die automatisierte Synthese in Lösung für die Darstellung kleinerer Bibliotheken attraktiv, während komplexere Substrate und große Bibliotheken bevorzugt an fester Phase synthetisiert werden.

1.2.2 IDENTIFIZIERUNG AKTIVER STRUKTUREN

Nach der erfolgreichen kombinatorischen Synthese einer Substanzbibliothek ist der nächste Schritt die Untersuchung auf biologische Aktivität und eine anschließende Strukturaufklärung der aktiven Substanzen. Dies stellt bei Bibliotheken, die mit Hilfe von Parallelsynthesen hergestellt wurden, kein Problem dar. Wurde dagegen eine Mischungssynthese angewandt, ist die Aufgabe schwieriger. Durch Überlagerung von verschiedenen Effekten kann es manchmal zu falsch negativen und häufiger zu falsch positiven Resultaten kommen. Dieses Problem der Untersuchung von Mischungen kann bei der *split-mix*-Synthese, bei der vor dem abschließenden Abspaltungsschritt jedes *bead* (Polymerkügelchen) nur mit einer Substanz beladen ist, umgangen werden, indem Testsysteme entwickelt werden, die auch für gebundene Substanzen funktionieren. Eine alternative Technik hierzu beruht auf der Inkubation der *beads* mit einem fluoreszenzmarkierten löslichen Rezeptorprotein, das sich an die Polymerkügelchen mit einer aktiven Substanz bindet.⁸ Hierbei muss allerdings durch weitere Untersuchungen in Lösung überprüft werden, ob auch das ungebundene Molekül den gewünschten Effekt zeigt.

Die Strukturaufklärung einer aktiven Komponente ist der nächste Schritt, der bei der Verwendung von Bibliotheken, welche mit dem *split-mix*-Verfahren synthetisiert wurden, problematisch sein kann. Während man bei Bibliotheken, die durch Parallelsynthese hergestellt wurden, die Komponenten leicht anhand ihrer räumlichen Position oder ihrer Markierung identifizieren kann, müssen zur Unterscheidung einzelner Polymerkügelchen spezielle analytische Techniken genutzt werden. Eine elegante aber synthetisch aufwendige Methode ist die Codierung der Substanzbibliothek mit Hilfe von *tags* (Moleküle, die zur Identifizierung dienen und leicht zu analysieren sind). Diese werden nach einem Kupplungsschritt während einer *split-mix*-Synthese vor dem Mischen der Polymerkügelchen mit auf den Träger gekuppelt. Dabei muss allerdings sicher gestellt sein, dass es zu keiner wechselseitigen Beeinflussung der

⁸ D. Tiebes in *Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analysis, Screening* (Hrsg.: G. Jung), Wiley-VCH, Weinheim 1999, Kap. 1.

Ligand- und der *tag*-Synthese kommt. Außerdem muss eine Verfälschung der darauf folgenden Tests auf biologische Aktivität ausgeschlossen sein. Als *tags* werden hauptsächlich Nucleotide⁹ und Aminosäuren¹⁰ (sowohl natürliche als auch nicht natürliche) verwendet. Wird eine biologische Aktivität festgestellt, kann durch *PCR* (Polymerase-Kettenreaktion) und einer anschließenden Sequenzierung des Oligonucleotids oder entsprechend durch einen *Edmann*-Abbau des Peptids die Ligandsequenz decodiert werden.

Eine weitere Möglichkeit bietet die binäre Kennzeichnung (d. h. durch An- oder Abwesenheit der *tags*) der Liganden. Bei dieser Methode ist es vor allem bei größeren Bibliotheken von Vorteil, dass hier durch wesentlich weniger *tags* verschlüsselt werden kann. Diese Methode wurde erstmals von *Still et. al.*¹¹ vorgestellt, der chemisch relativ inerte Haloarylether¹² einsetzte, die durch Rhodium-katalysierter Carbeninsertion an die Polymerkügelchen gebunden werden. Diese können nach der Spaltung eines oxidationslabilen Linkers, der den Haloarylether mit dem Rückgrat des Polymers verbindet, freigesetzt werden und anschließend selbst im subpicomolaren Bereich gaschromatographisch nachgewiesen werden.

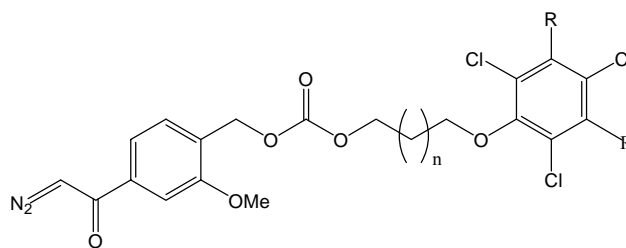


Abb. 1-4: Haloarylether zur chemischen Codierung von Substanzbibliotheken nach Still.

Eine weitere Methode für das Auffinden aktiver Strukturen, die sowohl für Mischungen als auch für Bibliotheken aus einer *split-mix*-Synthese angewendet werden kann, ist die Dekonvolution. Dieses Verfahren beruht auf dem Vergleich der Aktivität von gesondert hergestellten Sub-Bibliotheken, deren Mitglieder jeweils in einer Position den gleichen Substituenten haben.¹³ Die Struktur der aktivsten Verbindung lässt sich dann aus dem

⁹ S. Brenner, R. A. Lerner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 5381.

¹⁰ J. M. Kerr, S. C. Banville, R. N. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2529.

¹¹ a) M. H. Ohlmeyer, R. N. Swanson, L. W. Dillard, J. C. Reader, G. Asouline, R. Kobayashi, M. Wigler, W. C. Still, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 10922; b) A. Borchardt, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 7467.

¹² H. P. Nestler, H. Wennemers, R. Sherlock, D.Y. Dong, *Bioorg. Chem. Lett.* **1996**, 6, 1327.

¹³ a) H. M. Geysen, S. J. Rodda, T. J. Mason, *Mol. Immunol.* **1986**, 23, 709; b) R. A. Houghton, C. Pinilla, S. E. Blondelle, J. R. Appel, C. T. Dooley, J. H. Cuervo, *Nature* **1991**, 354, 84; c) E. Erb, K. D. Janda,

Vergleich der jeweils aktivsten Sub-Bibliothek ableiten. Dieses Verfahren ist gegenüber der ursprünglichen *split-mix*-Synthese allerdings mit einem deutlich höheren Aufwand verbunden.

Außer diesen indirekten Arten zur Strukturanalyse der Verbindungen auf den *beads* existieren auch direkte Methoden. Häufig werden massenspektrometrische Verfahren verwendet. NMR-spektroskopische Analysetechniken sind dagegen meist nicht empfindlich genug. Chemische und biochemische Vorgehensweisen wie *PCR* oder *Edmann*-Abbau sind auf die Analyse von Oligonucleotiden bzw. von linearen Oligopeptiden beschränkt.

1.2.3 ORGANISCHE CHEMIE AN DER FESTEN PHASE

Wie oben schon beschrieben, wurden die ersten Reaktionen an der festen Phase als Peptidsynthesen durchgeführt.^{1(e), (g), 4} Auch heute ist die Peptidsynthese oder zumindest die Knüpfung von Amidbindungen immer noch das bedeutendste Anwendungsgebiet der kombinatorischen Chemie an fester Phase. Dies ist aufgrund der hohen Verfügbarkeit strukturell verschiedener Bausteine und den optimierten Verfahren zur Knüpfung peptidischer Bindungen leicht verständlich. Allerdings sind Peptide vom pharmakologischen Standpunkt gesehen, problematische Substanzen, da sie nicht nur im Verdauungstrakt, sondern auch im Blut einem Abbau durch proteolytische Enzyme unterliegen. Außerdem haben Peptide oft nur eine geringe Fähigkeit, Membranen zu durchqueren, was sie als potentielle Wirkstoffe ungeeignet macht. Somit war es nötig, zur Suche von Wirkstoffen die organische Synthese an fester Phase zu erweitern. Es entwickelte sich die sogenannte *solid phase organic chemistry* (SPOC).¹⁴ Dieses Gebiet beschäftigt sich mit dem Aufbau komplexer Moleküle an polymeren Trägern mit Hilfe von Reaktionen, die an die besonderen Erfordernisse des Arbeitens an fester Phase angepasst sind. Dabei ist zu beachten, dass die Anbindung der Bausteine an den Träger während der Synthese stabil sein sollte, jedoch nach der Reaktion ohne Zerstörung des Produkts lösbar sein muss. Desweiteren muss die Solvenskompatibilität der Trägermaterialien beachtet werden. Die meisten Trägermaterialien haben nicht nur eine begrenzte chemische Stabilität, sondern schränken aufgrund ihrer Quell-Eigenschaften die Möglichkeiten bei der Lösungsmittelwahl ein. Das sehr häufig verwendete

S. Brenner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 11422; d) L. Wilson-Lingardo, P. W. Davis, D. J. Ecker, H. Herbert, O. Acevedo, K. Sprankle, T. Brennan, L. Schwarcz, S. M. Freier, J.R. Wyatt, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2720.

¹⁴ a) B. A. Bunin, *The Combinatorial Index*, Academic Press, San Diego **1998**; b) S. E. Booth, C. M. Dreef-Tromp, P. H. H. Hermkens, J. A. P. A. de Man, H. C. J. Ottheijm in *Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analyses, Screenings* (Hrsg.: G. Jung, Wiley-VCH, Weinheim **1999**, Kap. 2

Polystyrol lässt sich beispielsweise nicht in Wasser oder Methanol zu einem Gel quellen.¹⁵ Eine solche Quellung ist aber für eine Umsetzung an den auch im Inneren der Polymerkügelchen befindlichen Funktionalitäten erforderlich. Außerdem muss die deutliche Verlangsamung der Reaktionen zum Beispiel durch hohe Reagenzienüberschüsse ausgeglichen werden. Zu den zahlreichen, bereits erfolgreich an fester Phase durchgeführten Reaktionen gehören neben der Amidbindung auch aromatische Substitutionen, verschiedene Arten der Kondensation (Aldol-, Claisen-, Knoevenagel-Kondensation, Pictet-Spengler-Reaktion), Cycloadditionen, Glycosylierungen, metallorganische Reaktionen, nucleophile Substitutionen, Olefinierungen, Oxidationen, sowie viele Heterocyclen-Synthesen.¹⁶

Es ist möglich, die Synthesen an fester Phase in drei Gruppen einzuteilen: die Darstellung linearer Oligomere, die Synthesen an präformierten Gerüsten (Scaffolds) und die Aufbausynthesen. Bei der kombinatorischen Synthese an einem Scaffold werden schrittweise strukturell unterschiedliche Substituenten in bestimmte Positionen eingeführt, während bei der Aufbausynthese eine Reaktion an einer Funktionalität durchgeführt wird, die in einem vorhergehenden Schritt neu erzeugt wurde. Häufig bedient man sich aber während einer Synthese mehrerer Strategien, da die Grenzen meist fließend sind.

1.2.4 KOMBINATORISCHE METHODEN IN DEN BIOWISSENSCHAFTEN

Seit einiger Zeit finden kombinatorische Strategien auch in der Molekularbiologie eine breite Anwendung. Ein Beispiel hierfür ist die *in vitro*-Evolution von Aptameren.¹⁷ Dabei wird eine häufig auf chemischem Weg synthetisierte Bibliothek aus Oligonucleotiden mit zufälligen Basensequenzen einem Selektionsschritt unterzogen, in dem das Auswahlkriterium z. B. eine möglichst gute Bindung der RNA oder DNA an ein anderes Molekül ist. Die Oligonucleotide mit dem höchsten Bindungsvermögen werden dann durch *PCR* (Polymerase-Kettenreaktion) oder *error-prone PCR* (*PCR*-Variante, bei der durch die Anwesenheit von Mangan-Ionen beabsichtigt mutierte Sequenzen generiert werden) vervielfältigt und dann wieder dem Zyklus aus Selektion,

¹⁵ R. Santini, M. I. Griffith, M. Qi, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 8951

¹⁶ a) P. H. H. Hermkens, H. J. C. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron* **1996**, 52, 4527; b) A. Nefzi, J. M. Ostresh, R. A. Houghten, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 449.

¹⁷ a) A. D. Ellington, J. W. Szostak, *Nature* **1990**, 346, 818; b) A. D. Ellington, S. E. Osborne, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 349; c) M. Famulok, A. Jenne, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, 2, 230; d) M. Famulok in *Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analysis, Screening* (Hrsg.: G. Jung), Wiley-VCH, Weinheim **1999**, Kap. 9.

Amplifikation und eventuell Mutation zugeführt. So werden nach mehreren Zyklen Aptamere mit einer deutlich höheren Bindungsaffinität erhalten.

Die Display-Techniken nutzen eine Verknüpfung zwischen dem Phänotyp (Proteinstruktur) und dem Genotyp (Basensequenz). Beim *Phage-Display* werden DNA-Sequenzen in Phagenvektoren kloniert. Dies führt dann zu einer Expression der durch die DNA codierten Proteine auf der Oberfläche der Phagen.¹⁸ Diese Phagenbibliothek kann dann einer Selektion nach den Bindungseigenschaften der exprimierten Proteine unterzogen werden, wobei nur die Phagen vermehrt werden, die ein Protein mit der gewünschten Bindungsaffinität tragen. Wie schon bei der *in vitro*-Evaluation von Aptameren führen Mutationen beim Wiederholen des Verfahrens über mehrere Generationen zu einer deutlichen Steigerung der Bindungsaffinität. Im Anschluss kann die Peptidsequenz des optimierten Proteins durch Sequenzierung der DNA des entsprechenden Phagen erhalten werden. Das *Ribosomen-Display* beruht auf einer entsprechenden Technik.¹⁹

1.2.5 KOHLENHYDRATE ALS SCAFFOLDS IN DER KOMBINATORISCHEN CHEMIE

Kohlenhydrate haben eine hohe Dichte an funktionellen Gruppen, die mit einer großen konformativer Stabilität präsentiert werden. Zusätzlich besitzen sie eine große Anzahl Stereozentren und sind somit Verbindungen mit einer hohen chiralen Information. Aufgrund dieser strukturellen Eigenschaften stellen Saccharide interessante Scaffolds für die kombinatorische Synthese von Peptidomimetika und anderen bioaktiven Verbindungen dar.²⁰ Konzepte und synthetische Strategien für die Darstellung von Peptidomimetika auf der Basis von Kohlenhydrat-Gerüsten wurden seit 1980 sowohl in Form von Reaktionen in Lösung als auch in Form von Festphasensynthesen verfolgt.

¹⁸ a) W. E. Cwirla, E. A. Peters, R.W. Barrett, W. J. Dower, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 6378; b) J. K. Scott, G. P. Smith, *Science* **1990**, *249*, 386; c) G. P. Smith, V. A. Petrenko, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 391.

¹⁹ J. Hanes, A. Plückthun, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 4937.

²⁰ a) M. J. Sofia, D. J. Silva, *Curr. Opin. Drug Disc. Dev.* **1999**, *2*, 365; b) S. A. W. Gruner, E. Locardi, E. Lohof, H. Kessler, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 491; c) F. Peri, L. Cipolla, E. Forni, F. Nicotra, *Monats. Chem.* **2002**, *133*, 369; d) G. T. Le, G. Abbenante, B. Becker, M. Grathwohl, J. Halliday, G. Tometzki, J. Zuegg, W. Meuterms, *DDT* **2003**, *15*, 701; e) J. Ohnsmann, M. Madalinski, H. Kunz, *Chimica Oggi* **2005**, *23*, 16.

Einer der ersten Ansätze zur Synthese von Peptidomimetika in Lösung wurde 1993 von *Hirschmann, Nicolaou, Smith et. al.* vorgestellt.²¹ Sie nutzen ein Monosaccharid-Templat mit funktionalisierten Seitenketten. Sie konnten auf diese Weise einen Somatostatin Antagonisten synthetisieren, dessen Struktur mit Hilfe eines Glucose-Moleküls die Turn-Region des Hormons imitiert. *Papageorgiou et al.* synthetisierten kurze Zeit später ebenfalls ein nichtpeptidisches Mimetikum von Somatostatin, das auf einer tetrasubstituierten Xylofuranose aufbaut.²²

Ein weiteres Beispiel für den Einsatz von Kohlenhydraten als Scaffolds in der kombinatorischen Synthese ist die Synthese verschiedener RGD-Mimetika (RGD: Arginin-Glycin-Asparaginsäure) durch *Nicolaou*²³ und *Moitessier*²⁴ (Abb. 1-5). Sie nutzten dabei die zuvor von *Keßler*²⁵ angestellten Studien zur Untersuchung eines bioaktiven Cyclopeptids (cRGDFV). Es konnte gezeigt werden, dass Peptide, welche die RGD-Sequenz beinhalten, vielversprechende Substanzen für die Therapie von Tumoren sind. Diese Peptide sind in der Lage den Zell-Adhäsions-Prozess zu steuern. Sie binden mit unterschiedlicher Affinität an die individuellen Integrin-Rezeptoren.

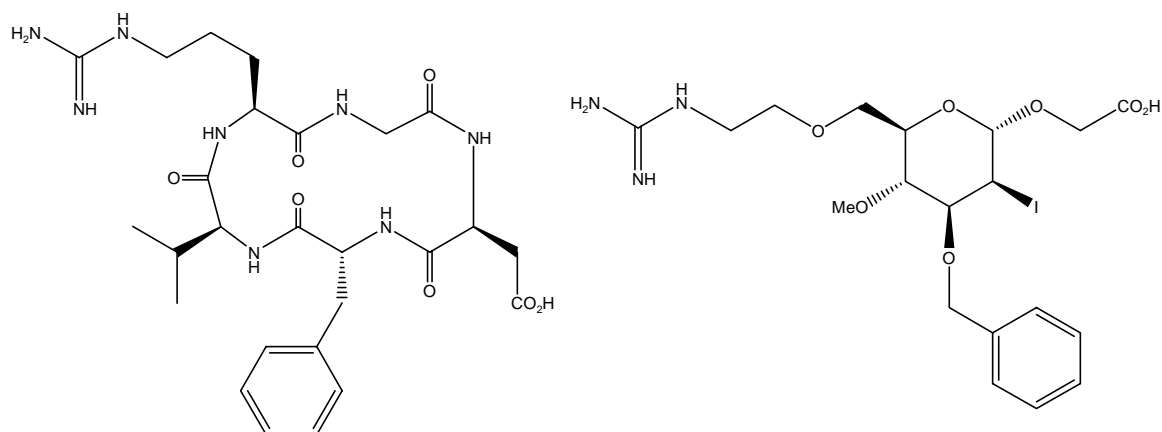
²¹ a) R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, J. Salvino, E. M. Leahy, P. A. Sprengeler, G. Furst, A. B. Smith III, C. D. Strader, M. A. Cascieri, M. R. Candelore, C. Donaldson, W. Vale, L. Maechler, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *114*, 9217; b) R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoons, W. C. Shakespear, P. A. Sprengeler, O. Harnley, A. B. Smith III, T. Reisine, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *118*, 12550; c) R. Hirschmann, W. Yao, M. A. Cascieri, C. D. Strader, L. Maechler, M. A. Cichy-Knight, J. Jr. Hynes, R. D. van Rijn, P. A. Sprengeler, A. B. Smith III, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2441.

²² C. Papageorgiou, R. Haltiner, C. Bruns, T. J. Petcher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 135.

²³ K. C. Nicolaou, J. I. Trujillo, K. Chibale, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 8751.

²⁴ a) N. Moitessier, H. Minoux, B. Maignet, F. Chretien, Y. Chapleur, *Lett. Pept. Sci.* **1998**, *5*, 75; b) N. Moitessier, S. Dufour, F. Chretien, J. P. Thiery, B. Maignet, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1983.

²⁵ a) M. Gurrath, G. Müller, H. Kessler, M. Aumailley, R. Timple, *Eur. J. Biochem.* **1992**, *210*, 911; b) R. Haubner, R. Gratias, B. Diefenbach, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7461; c) R. Haubner, W. Schmitt, G. Holzemann, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7881; d) Wermuth, J. S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1328; e) R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem, Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1375.

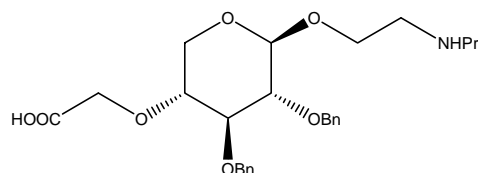


2

cRGDFV: Peptid-Mimetikum von *Keßler et al.*

3

RGD-Mimetikum *Nicolaou et al.*



4

Aktivstes RGD Mimetikum (von 126) synthetisiert von *Montessier*

Abb. 1-5: cRGDFV und RGD-Mimetika.

Im Gegensatz zu diesen Synthesen einzelner Verbindungen in Lösung wurden in unserer Arbeitsgruppe zwei orthogonal geschützte Kohlenhydrate hergestellt, die als rigide, pentavalente Gerüste für die kombinatorische Festphasensynthese genutzt wurden.²⁶ Zur Anbindung an das Trägerharz wurden sowohl die anomere Position als auch die 3-Position des Saccharids genutzt.

²⁶ a) T. Wunberg, C. Kallus, T. Opatz, S. Henke, W. Schmidt, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2620; b) C. Kallus, T. Opatz, T. Wunberg, W. Schmidt, S. Henke, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7783; c) T. Wunberg, *Dissertation* **1997**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz; d) C. Kallus, *Dissertation* **1998**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz; e) T. Opatz, *Dissertation* **2000**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz; f) T. Maidhof, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz. g) T. Opatz, C. Kallus, T. Wunberg, W. Schmidt, S. Henke, H. Kunz, *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 2089.

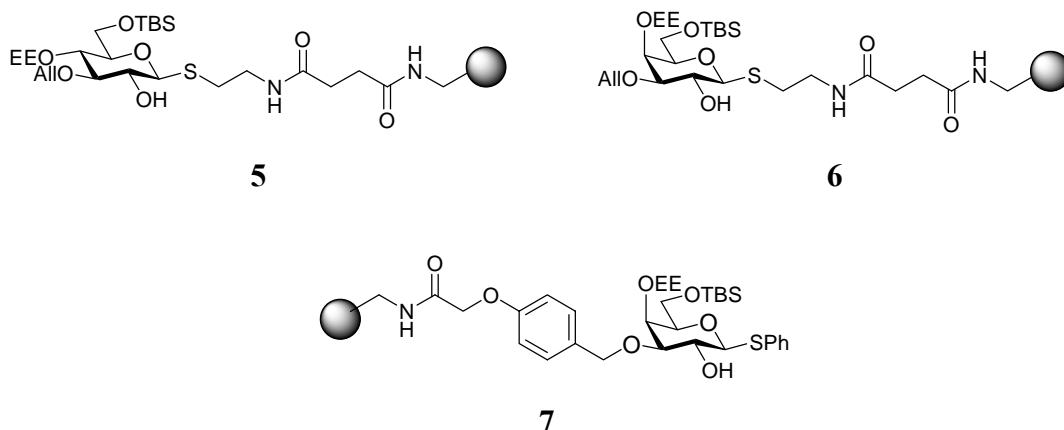


Abb. 1-6: Orthogonal stabil geschützte Monosaccharid-Templates für die kombinatorische Festphasensynthese.

Außerdem wurden mehrere 2,6-Diaminoglucose-Scaffolds dargestellt,²⁷ wobei eines davon als Grundlage für die Arbeiten im Rahmen dieser Dissertation dient.

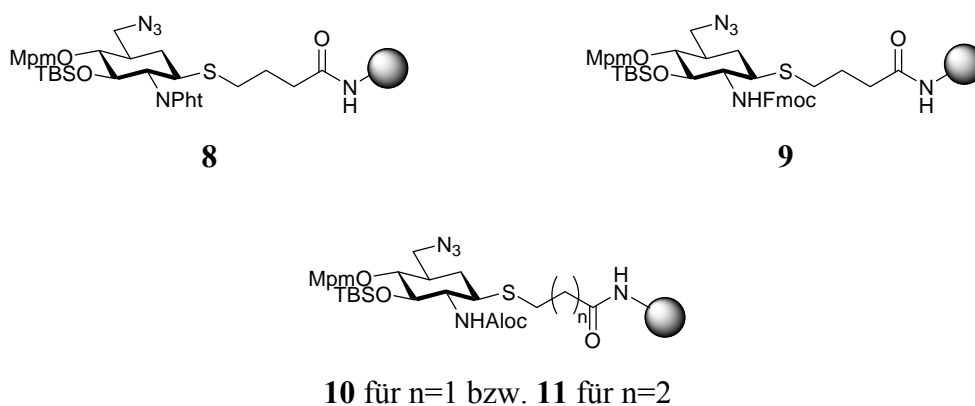


Abb. 1-7: Orthogonal stabil geschützte 2,6-Diaminoglucose-Scaffolds.

²⁷ a) J. Ohnsmann, *Diplomarbeit* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz; b) U. Hüniger, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz; c) U. Hüniger, J. Ohnsmann, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1104.

1.3 HIV

1.3.1 HIV UND AIDS

Das menschliche Immunschwächevirus (*human immunodeficiency virus*, HIV) verursacht das seit dem Jahr 1981 bekannte erworbene Immunschwächesyndrom (*acquired immune deficiency syndrome*, AIDS). Es wurde 1983 fast zeitgleich durch Montagnier²⁸ und Gallo²⁹ entdeckt. Es gehört, wie auch das *bovine leukaemia virus* (BLV) und das *human T-cell lymphotropic virus* (HTLV) zu der Gruppe der Retroviren.

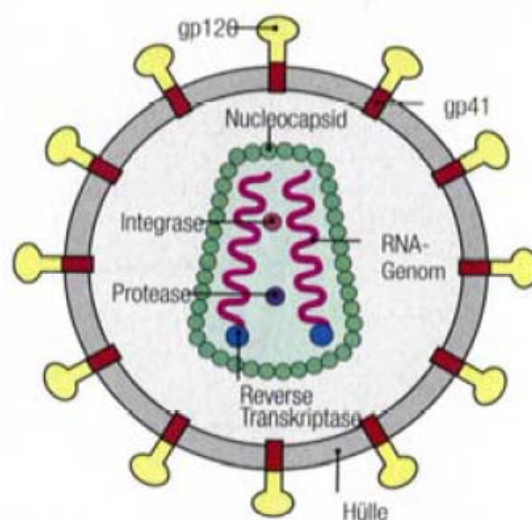


Abb. 1-8: Struktur des HI-Virus.³⁰

Heute sind mindestens zwei Typen von HIV bekannt, die eng miteinander verwandt sind: HIV-1 und HIV-2. Weltweit werden die meisten Fälle von AIDS von dem virulenten HIV-1 verursacht. Es konnte nachgewiesen werden, dass HIV-1 vom Schimpansen *pan troglodytes* auf den Menschen übergegangen ist. Es hat seinen Ursprung in einem Stamm des *simian immunodeficiency virus* SIVcpz, von dem normalerweise nur Schimpansen infiziert werden.³¹ HIV-2 stammt dagegen von der

²⁸ F. Barresinoussi, J. C. Chermann, F. Rey, M.T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Daguët, C. Axlerblin, F. Vezinetbrun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, L. Montagnier, *Science* **1983**, 220, 868.

²⁹ H. J. Alter, J. W. Eichberg, H. Masur, W. C. Saxinger, R. Gallo, A. M. Macher, H.C. Lane, A. S. Fauci, *Science* **1984**, 226, 549.

³⁰ C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *Immunologie*, 5. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2002**, Kap. 11.

³¹ F. Gao, E. Bailes, D. L. Robertson, Y. Chen, C. M. Rodenburg, S. F. Michael, L. B. Cummins, L. O. Arthur, M. Peeters, G. M. Sharp, B. H. Hahn, *Nature* **1999**, 397, 436.

Mangabenart *cercocebus atys*, bei welcher der SIVsm-Stamm der Auslöser der Immunschwäche ist.³² Dieser Virustyp ist in Westafrika endemisch und breitet sich inzwischen auch in Indien aus.

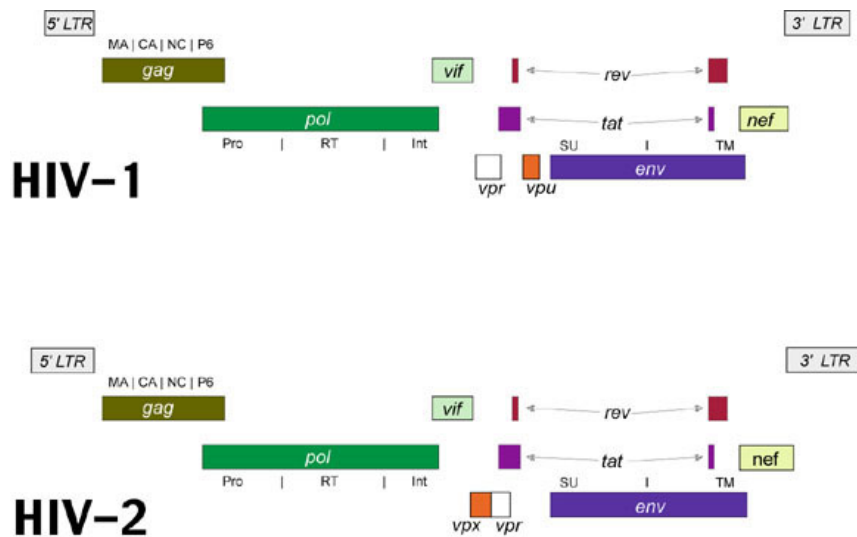


Abb. 1-9: Genome von HIV-1 und HIV-2.,³³

³² V. M. Hirsch, R. A. Olmsted, M. Murphey-Corb, R. H. Purcell, P. R. Johnson, *Nature* **1989**, 339, 389.

³³ R. K. Strair, J. W. Mellors, *AIDS Updates* **1994**, 6, 1.

Tabelle 1-2: HIV-1 und HIV-2: Genome, Genprodukte und deren Funktionen

Gen		Genprodukt/Funktion
gag	Gruppenspezifisches Antigen	Proteine für Viruskern und Matrix: p24 (major capsid protein); p17 (Matrix Protein); p9 (bindet an virale RNA); p7 (bindet an virale RNA)
pol	Polymerase	Reverse Transkriptase, Protease und Integrase
env	Virushülle	Transmembranglykoproteine: gp120 bindet CD4 und CCR5; gp41 ist erforderlich für Fusion und Einschleusen des Virus.
tat	Transaktivator	Transkriptionsverstärker
rev	Regulator der viralen Expression	Ermöglicht den Export ungespleißter und teilgespleißter Transkripte aus den Zellen.
vif	Infektiosität des Virus	Beeinflusst die Infektiosität der Viruspartikel.
vpr	virales R-Protein	DNA-Transport in den Zellkern; erhöht Virionenproduktion; hält Zellzyklus an.
vpu	virales U-Protein	Stimuliert den intrazellulären Abbau von CD4 und verstärkt Virusfreisetzung durch die Membran.
nef	negativer Kontrollfaktor	Verstärkt Replikation des Virus in vivo und in vitro; Abwärtsregulation von CD4 und MHC-Klasse-II.

Im Jahr 2005 lebten laut dem „*AIDS epidemic update*“,³⁴ der jährlich von UNAIDS (AIDS-Bekämpfungsprogramm der Vereinten Nationen) und WHO (*world health organisation*) veröffentlicht wird, weltweit etwa 40 Millionen Menschen mit dem HI-Virus, mehr als 90 % davon in Entwicklungsländern südlich der Sahara und in Indien. 4.2 Millionen Menschen wurden neu infiziert und ca. 3 Millionen Menschen starben an AIDS. Die WHO geht davon aus, dass seit Beginn der Epidemie schon deutlich mehr als 60 Millionen Menschen mit HIV infiziert wurden und bereits 25 Millionen Menschen an AIDS gestorben sind.

Charakteristisch für die durch HIV ausgelöste AIDS-Erkrankung ist eine starke Abnahme der CD4-T-Zellen,³⁵ eine Anfälligkeit für Infektionen mit opportunistischen

³⁴ UNAIDS/WHO, *AIDS epidemic update*, December 2005.

³⁵ D. C. Douek, J. M. Brenchley, M. R. Betts, D. R. Ambrozak, B. J. Hell, Y. Okamoto, J. P. Cazazza, J. Kuruppu, K. Kunstman, S. Wolinsky, Z. Grossman, M. Dybul, A. Oxenius, D. A. Price, M. Connors, R. A. Koup, *Nature* 2002, 417, 95.

Pathogenen sowie das Auftreten einer aggressiven Form des Kaposi-Syndroms³⁶ oder von B-Zell-Lymphomen.³⁷

1.3.2 LEBENSZYKLUS

HIV gehört unter den Retroviren zu der Gruppe der *Lentiviren*. Diese Bezeichnung leitet sich vom Lateinischen *lentus* (langsam) ab und bezieht sich auf das allmähliche Fortschreiten der Krankheiten, welche diese Viren verursachen. Die Viren persistieren und vermehren sich jahrelang kontinuierlich, bis sich die Anzeichen der Krankheit offen zeigen. Dabei nimmt die Anzahl der CD4-T-Zellen stetig ab.

Eine HIV-Infektion ruft im Normalfall keine Immunantwort hervor, die verhindern kann, dass sich das Virus weiter vermehrt. Obwohl das Immunsystem scheinbar die anfängliche akute Infektion unter Kontrolle bringt, vermehrt sich HIV kontinuierlich und infiziert ständig neue Zellen, genauer CD4-T-Zellen, dendritische Zellen und Makrophagen.

Die Fähigkeit von HIV, in diese Zelltypen einzudringen, beruht auf deren Expression spezifischer Rezeptoren für den Virus, die sich an der Oberfläche der Zellen befinden. Zunächst dringt der Viruspartikel mit Hilfe eines Komplexes aus zwei nichtkovalent verbundenen Glycoproteinen in der Virushülle (gp120 und gp41) in die CD4-T-Zelle ein. Das Glycoprotein gp120 bindet dabei hochaffin an das Zelloberflächenmolekül CD4, welches in geringen Maße auch von dendritischen Zellen und Makrophagen exprimiert wird. Durch dieses Molekül ist das Virus in der Lage, diese Zellen anzusteuern. Im Anschluss daran bindet gp120 zusätzlich an den Corezeptor in der Membran der Wirtszelle, meist einem Chemokinrezeptor mit sieben membran-durchspannenden Domänen, der an ein G-Protein gekoppelt ist. Anschließend initiiert das Glycoprotein gp41 die Fusion der Virushülle mit der Plasmamembran der Zelle, so dass das virale Genom und die assoziierten Virusproteine in das Cytoplasma gelangen.³⁸ Dort wird das virale RNA-Genom freigesetzt, das durch die reverse Transkriptase in eine doppelsträngige komplementäre DNA (cDNA) transkribiert wird. Die cDNA assoziiert danach mit der viralen Integrase und dem Vpr-Protein und wandert in den Zellkern. Dort wird die cDNA in das Zellgenom eingebaut. Die integrierte cDNA bezeichnet man als Provirus. Ein zellulärer Transkriptionsfaktor, der in allen aktivierten T-Zellen vorhanden ist, stimuliert die Bildung infektiöser Viruspartikel aus dem

³⁶ D. Aboulafia, *Oncology* **1998**, *12*, 1068.

³⁷ a) O. Martinez-Maza, E. C. Breen, *Curr. Opin. Oncol.* **2002**, *14*, 528; b) J. Hamilton, M. McBride, P. Kettle, *Ulster Med. J.* **2002**, *71*, 72.

³⁸ D. C. Chan, P. S. Kim, *Cell* **1998**, *93*, 681.

integrierten HIV-Provirus. Dadurch wird die Transkription viraler RNA durch die zelluläre RNA-Polymerase ausgelöst. Das Transkript wird auf verschiedene Weise in *messenger* RNAs (mRNAs) für virale Proteine gespleißt. Diese gespleißten RNA-Transkripte ermöglichen dann die Translation der frühen Gene *tat* und *rev*. Diese codieren die Proteine Tat und Rev, die in aktivierten T-Zellen die virale Replikation fördern. Dabei amplifiziert Tat die Transkription der viralen RNA und Rev erhöht den Transport von einfach gespleißter oder ungespleißter viraler RNA ins Cytoplasma. Diese ungespleißten oder einfach gespleißten Transkripte werden in Proteine translatiert. Dabei entstehen die Strukturkomponenten von Viruskern und -hülle und außerdem die reverse Transkriptase, die Integrase und die Virusprotease, welche alle für die Erzeugung neuer Viruspartikel erforderlich sind. Die vollständigen, ungespleißten Transkripte, die in einer späten Phase aus dem Zellkern transportiert werden, sind für die Translation von *gag* und *pol* notwendig und werden auch als RNA-Genom mit den Proteinen zu neuen Viruspartikeln zusammengebaut, die aus der Zelle geschleust werden.

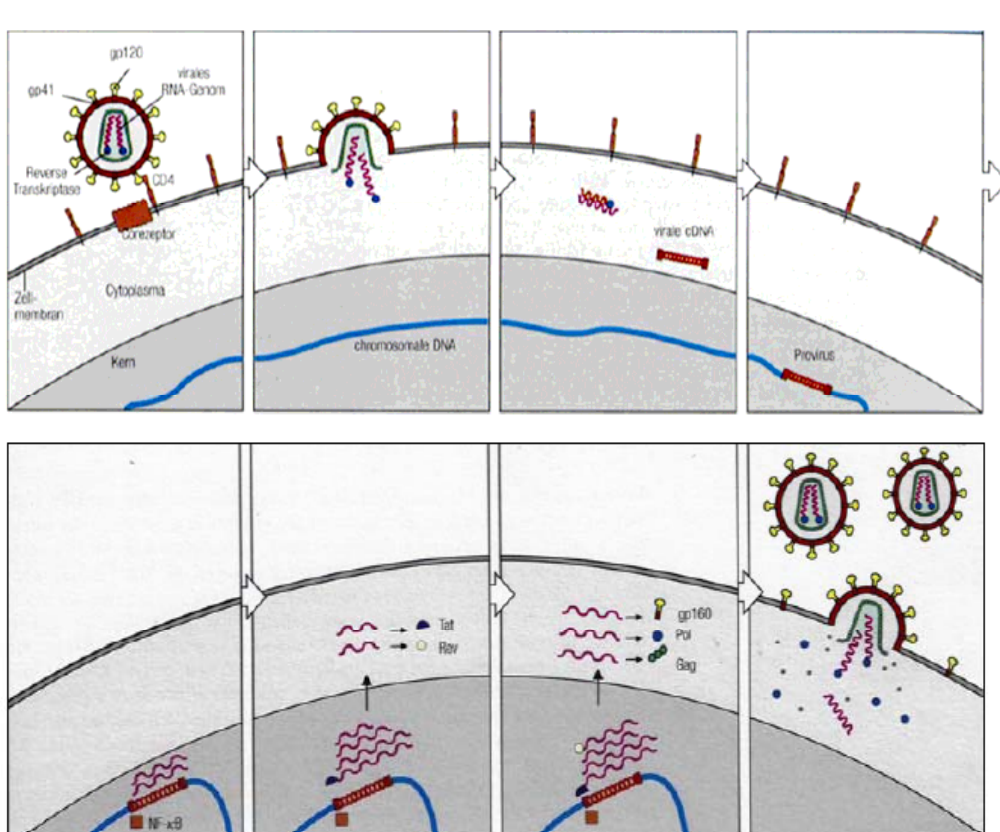


Abb. 1-10: Infektion von CD4-T-Zellen mit HIV.

1.3.3 DIE REGULATORISCHEN PROTEINE

Mindestens zwei virale Gene, *tat* und *rev*, codieren Proteine (Tat und Rev), die Einfluss auf die virale Genexpression nehmen. Tat ist dabei ein genereller Transkriptionsaktivator, während Rev posttranskriptionell die Synthese der viralen Strukturproteine stimuliert.

1.3.3.1 TAT (TRANSACTIVATOR OF TRANSCRIPTION)

Das Tat-Protein ist ein starker Transkriptionsregulator, der als Elongationsfaktor wirkt und die Transkription der viralen RNA durch den RNA-Polymerase II-Komplex ermöglicht. Es bindet dabei im Gegensatz zu den meisten anderen bekannten Transkriptions-Aktivatoren nicht an eine DNA-, sondern an eine RNA-Struktur, die sogenannte TAR-Sequenz (Trans-activating response element). Diese 60 Nucleotide lange *stem-loop*-Struktur in der R-Region der LTR (*long terminal repeat*, lange terminale Wiederholungen, durch die die HIV-Gene eingerahmt werden) befindet sich am 5'-Ende eines jeden wachsenden HIV-Transkripts.

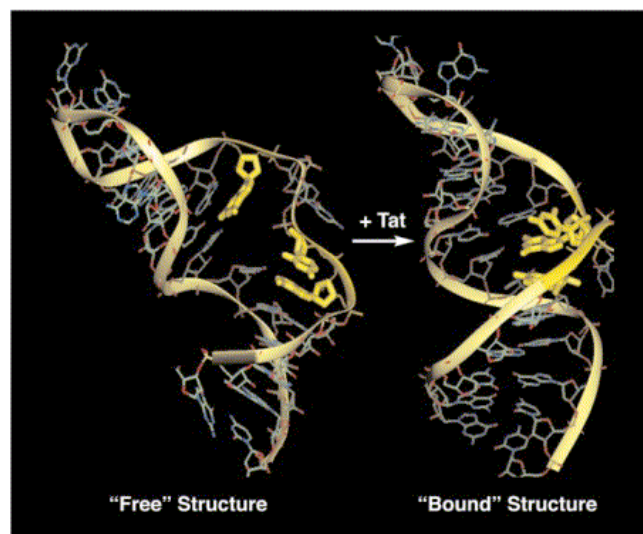


Abb. 1-11: *Stem loop*-Struktur der TAR-RNA ohne Tat-Protein (links) und Komplex aus TAR-RNA und Tat-Protein mit der veränderten Struktur.

Das Tat-Protein enthält zwei funktionelle Domänen. Die N-terminalen Aminosäuren bis einschließlich 47 werden als Aktivierungsdomäne bezeichnet.³⁹ Die Aminosäuren 48

³⁹ M. J. Selby, B. M. Peterlin, *Cell* **1990**, 62, 769.

bis 57 bilden eine basische Region, welche die Bindung an die RNA vermittelt und das nucleäre/nucleoläre Lokalisationssignal enthält.^{40,41}

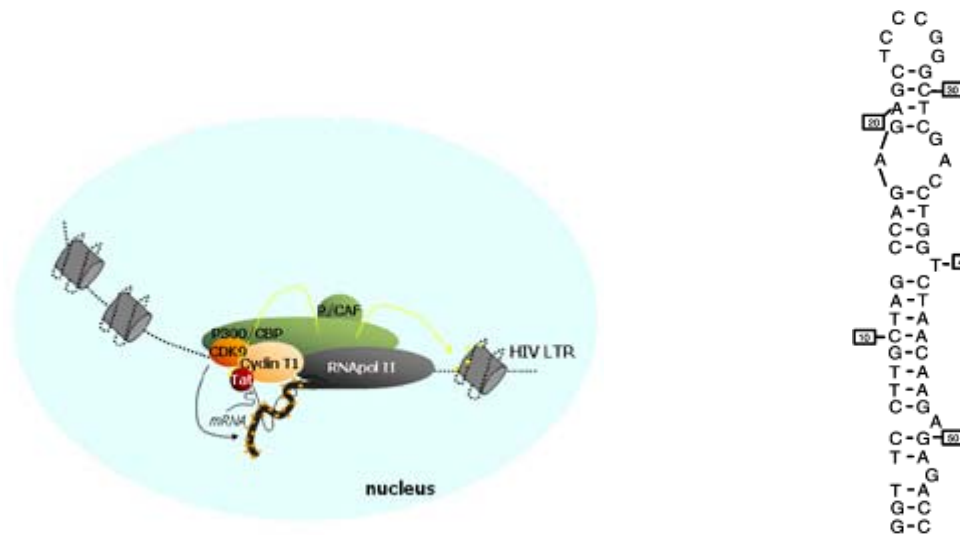


Abb. 1-12: a) Molekularer Mechanismus der HIV-1-Tat-Transaktivierung: Wechselwirkungen zwischen den bestimmenden Faktoren; b) Sequenz des *transactivating response element* (TAR).

Die hauptsächliche Aufgabe von Tat besteht darin, die Prozessivität der RNA-Polymerase II (RNAP II) zu steigern. Dazu rekrutiert es eine Reihe von zellulären Faktoren an den LTR-Promotor und beeinflusst hauptsächlich die Elongation der Transkription. Man geht dabei von folgendem Modell aus:^{42,43} Tat bindet an eine einzelsträngige Ausbuchtung innerhalb der TAR-RNA. Die Bindung von zellulärem Cyclin T an die Tat-Aktivierungsdomäne stabilisiert die Tat/TAR-Bindung.⁴⁴ Cyclin T bindet zusätzlich die Kinase Cdk9, welche die C-terminale Domäne (CTD) der RNAP-II phosphoryliert und die Polymerase in die II0-Isoform überführt. Diese Form vermittelt eine produktive Elongation im Gegensatz zu einer abortiven Elongation durch die hypophosphorylierte Form IIA. Dieser Komplex aus CyclinT und Cdk9 wird auch als p-TEFb bezeichnet.⁴⁵

⁴⁰ T. M. Rana, K. T. Jeang, *Arc. Biochem. Biophys.* **1999**, 365, 175.

⁴¹ S. M. Kingsman, A. J. Kingsman, *Eur. J. Biochem.* **1996**, 240, 491.

⁴² J. K. Jones, *Genes dev.* **1997**, 11, 2593.

⁴³ K. Yankulov, D. Bentley, *Curr. Biol.* **1998**, 8, 447.

⁴⁴ P. Wei, M. E. Garber, S. M. Fang, W. H. Fischer, K. A. Jones, *Cell* **1998**, 92, 451.

⁴⁵ Y. Zhu, T. Pe'ery, J. Peng, Y. Ramanathan, N. Marshall, T. Marshall, B. Ahmendt, M. B. Mathews, D. H. Price, *Genes Dev.* **1997**, 11, 2622.

Ein weiterer Kinase-Komplex, für den eine Interaktion mit Tat beschrieben wurde, ist TF IIIH.⁴⁶ Die Aktivierung der RNAP II durch Phosphorylierung des CTD-Schwanzes erfolgt nach dem schon oben für p-TEFb beschriebenen Prinzip, allerdings findet man hier TF IIIH im Gegensatz zu p-TEFb bereits im Prä-Initiations-Komplex am Promotor. Die beiden Komplexe sind also zu unterschiedlichen Zeiten aktiv.

Für stimulierte T-Lymphozyten und insbesondere für Gliazellen wurde eine von TAR unabhängige Transaktivierung des LTR-Promotors durch Tat beschrieben.^{47, 48, 49} Sie ist vermutlich auf eine Aktivierung der Transkriptions-Initiation zurückzuführen und wird mit dem Transkriptionsfaktor NF- κ B in Verbindung gebracht.⁵⁰

1.3.3.2 REV (REGULATOR OF EXPRESSION OF VIRION PROTEINS)

Wie viele andere Viren auch, müssen Retroviren aus einer einzelnen Transkriptionseinheit mit nur einem Promotor (dem LTR) viele Genprodukte entstehen lassen. Ein möglicher Regulationsmechanismus hierfür ist alternatives Spleißen. Daraus folgt dann die nächste Herausforderung auch intronhaltige RNA ins Zytoplasma der Wirtszelle transportieren zu müssen. Dieser Vorgang ist in eukaryotischen Zellen nicht vorgesehen. Daher benötigen diese Viren einen Regulationsmechanismus, der die zytoplasmatische Expression auch ungespleißter oder partiell gespleißter RNA gewährleistet. Im Fall von HIV ist dieser Regulator das Rev-Protein.

HIV-1-Rev ist ein Phosphoprotein, bestehend aus 116 Aminosäuren, das von zwei Exons codiert und als frühes virales Protein exprimiert wird. Die Funktion der Phosphorylierung ist noch nicht geklärt. Es wurde aber vermutet, dass die phosphorylierte Form eine stärkere RNA-Bindung vermittelt.⁵¹

⁴⁶ T. P. Cujec, H. Okamoto, K. Fujinaga, J. Meyer, H. Chamberlin, D. O. Morgan, B. M. Peterlin, *Genes Dev.* **1997**, *11*, 2645.

⁴⁷ J. P. Taylor, K. Khalili, *Adv. Neuroimmunol.* **1994**, *4*, 291.

⁴⁸ M. Niikura, G. Dornaldura, H. Zhang, M. Mukhtar, D. Lingxuan, K. Khalili, O. Bagasra, R. J. Pomerantz, *Oncogen* **1996**, *13*, 313.

⁴⁹ L. Yang, G. F. Morris, J. M. Lockyer, M. Lu, Z. Wang, C. B. Morris, *Virology* **1997**, *235*, 48.

⁵⁰ J. P. Taylor, R. J. Pomerantz, J. W. Oakes, K. Khalili, S. Amini, *Oncogene* **1995**, *10*, 395.

⁵¹ J. Kjemis, P. Askjaer, *Adv. Pharmacology* **2000**, *48*, 251.

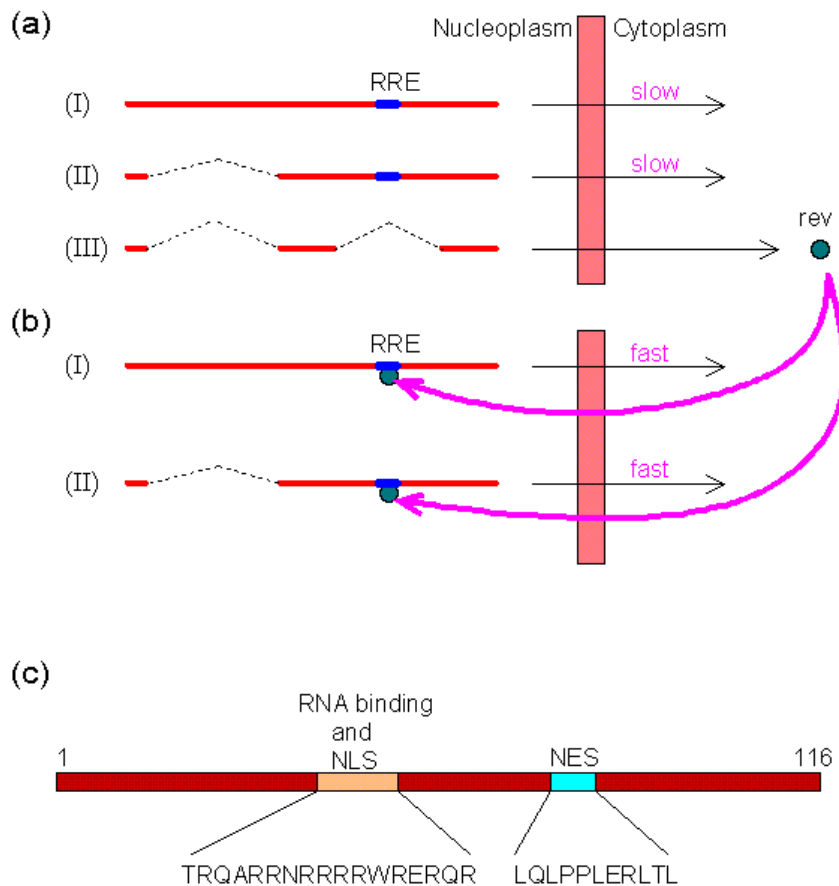


Abb. 1-13: Die Rolle des HIV-1-Rev-Proteins: (a): Das Rev-Protein ist ein Produkt der doppelt gespleißten mRNA. In Abwesenheit von Rev ist der Transport von ungespleißter und einfach gespleißter mRNA (I und II) aus der Zelle sehr langsam. (b) Das Rev-Protein ist in der Lage an das *rev responsive element* (RRE) von RNA I und II zu binden und damit ihren Transport aus der Zelle zu beschleunigen. (c) Sequenz von NLS und NES des Rev-Proteins.

Das Rev-Protein kann im wesentlichen in zwei funktionelle Domänen unterteilt werden. Die N-terminale Domäne reicht von der Aminosäure 12 bis 60 und beinhaltet mit den Aminosäuren 35 bis 50 die RNA-Bindungsdomäne und das nucleäre/nucleoläre Lokalisationssignal (NLS/NOS). Auf beiden Seiten des NLS liegt die zweigeteilte Oligomerisierungsdomäne. Die C-terminale Leucin-reiche Aktivierungsdomäne umfasst die Aminosäuren 75 bis 83 und enthält das nucleäre Exportsignal (NES).^{51, 52}

Der Regulationszyklus von Rev ist in Abb. 1-13 dargestellt. In der infizierten Zelle wird in der frühen Phase der HIV-mRNA-Expression durch die Tat-Transaktivierung und vollständiges Spleißen der entsprechenden Transkripte zur 2kb-Transkriptklasse auch die Synthese von Rev vorangetrieben (Abb. 1-13 (a)). Ist eine bestimmte Menge an Rev in der Zelle vorhanden, wird die spätere Phase der HIV-mRNA-Expression eingeleitet.

⁵² A. M. Szilvay, K. A. Brokstad, R. Kopperud, G. Haukenes, K. H. Kalland, *J. Virology* **1995**, *69*, 3315.

Rev bindet im Zellkern an ungespleißte und einfach gespleißte RNA, welche die entsprechende Zielsequenz, das *Rev responsive element* (RRE) enthält (Abb. 1-13(b)). Dadurch wird die RNA stabilisiert und die Halbwertszeit bis zu ihrem Abbau wird deutlich verlängert.⁵³ Das Rev-Protein oligomerisiert an der RNA und der Rev-RRE-Komplex wird ins Zytoplasma transportiert.

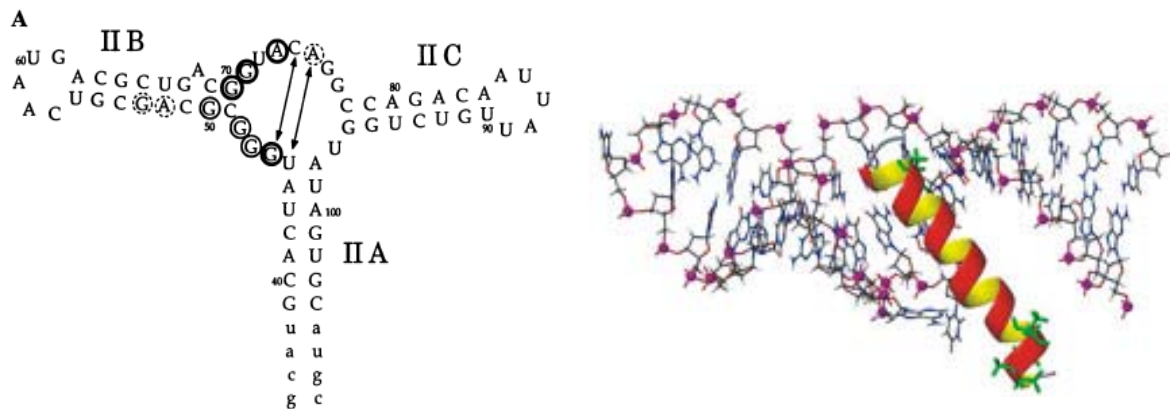


Abb. 1-14: RRE SL II Domäne (links) und Rev-RRE-Komplex (rechts: RRE in blau/violett, Rev-Protein in rot/gelb).

Die primäre Bindungsstelle für Rev innerhalb des RRE ist der Bereich des *stem loop* IIB (SL IIB), der in Abb. 1-14 dargestellt ist.⁵⁴ SL IIB kann von einem Rev-Monomer effizient gebunden werden. Das in der Literatur am häufigsten diskutierte Modell zur Bindung und Oligomerisierung von Rev ist das „Modell der kooperativen Rev-Bindung“. Die Bindung des ersten Rev-Moleküls destabilisiert demnach durch eine Konformationsänderung die Struktur des RRE.⁵⁵ Dadurch wird es weiteren Rev-Molekülen ermöglicht, unter Einbeziehung von Protein-Protein-Wechselwirkungen ebenfalls an RRE zu binden.⁵⁶ Die Oligomerisierung ist essentiell für die Transaktivierung.⁵⁷ Es konnte nachgewiesen werden, dass eine Bindung allein für den Export der RNA aus dem Kern nicht ausreicht.⁵⁸

⁵³ B. K. Felber, M. Hadzopoulou-Cladaras, T. Copeland, G. N. Pavlakis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, 86, 1495.

⁵⁴ L. S. Tiley, M. H. Malim, K. H. Tewary, P. G. Stockley, B. R. Cullen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1992**, 89, 758.

⁵⁵ R. Tan, A. D. Frankel, *Biochemistry* **1994**, 33, 14570.

⁵⁶ T. J. Daly, R. C. Doten, P. Rennert, M. Auer, H. Jaksche, A. Donner, G. Fisk, J. R. Rusche, *Biochemistry* **1993**, 32, 10497.

⁵⁷ J. L. Cole, J. D. Gehman, J. A. Shafer, L. C. Kuo, *Biochemistry* **1993**, 32, 11769.

⁵⁸ M. H. Malim, B. R. Cullen, *Cell* **1991**, 65, 241.

Im Zytoplasma nimmt Rev Einfluss auf die Translation der RNA. Es wurde beschrieben, dass die Assoziation der RNA mit den Polysomen durch Rev erleichtert wird.⁵⁹ Die RNA wird zuletzt vom Protein freigesetzt und gelangt wieder in den Kern. Rev ist ein „shuttle-Protein“, das ständig zwischen Zellkern und Zytoplasma hin- und hertransportiert wird.⁶⁰ Der aktive Transport von Rev über die Kernmembran ist von einer Reihe zellulärer Faktoren abhängig: im Zellkern befindet sich der Rev-RNA-Komplex. Die Leucin-reiche Exportdomäne von Rev wird von dem Exportfaktor CRM1 (auch als Exportin 1 bekannt) gebunden.⁶¹ CRM1 interagiert zusätzlich mit Komponenten der Kernporen (NCPs), die den Transport vermitteln, sowie der GTPase Ran. Ran hat mindestens zwei Aufgaben: zum einen stellt sie durch die Hydrolyse von GTP zu GDP die Energie für den aktiven Transport zur Verfügung und zum anderen dient sie zur Regulierung des Transports.⁶² Im Zytoplasma dissoziiert der Rev-CRM1-Komplex unter Hydrolyse von GTP zu GDP durch Ran.⁶³ CRM1 gelangt anschließend wieder zurück in den Kern und das Importsignal von Rev wird durch die Freisetzung der RNA wieder frei zugänglich.

Die Gesamtheit dieser Funktionen und die dadurch erreichte Stimulation der Genexpression der viralen Strukturproteine wird als Transaktivierung durch Rev bezeichnet.

Der CRM1-abhängige Exportweg kann spezifisch durch Leptomycin B (**12**), einem Streptomyces-Metaboliten, inhibiert werden.⁶⁴ In Zellen, die mit Leptomycin behandelt wurden verbleibt Rev im Zellkern und auch der Transport RRE-haltiger RNA wird inhibiert. Somit konnte die HIV-Replikation in primären humanen Monozyten erfolgreich unterdrückt werden. Aufgrund seiner Toxizität kann Leptomycin B allerdings nicht in der Therapie verwendet werden, sondern wird nur für die Untersuchung von Transportvorgängen in der Zelle genutzt.

⁵⁹ S. J. Arrigo, I. S. Chen, *Genes Dev.* **1991**, *5*, 808.

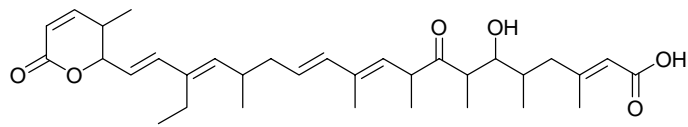
⁶⁰ N. Richard, S. Sacampo, A. Cochrane, *Virology* **1994**, *204*, 123.

⁶¹ M. Fornerod, M. Ohno, M. Yoshida, I. W. Mattaj, *Cell* **1997**, *90*, 4128.

⁶² E. Izauralde, U. Kutay, C. von Kobbe, I. W. Mattaj, D. Gorlich, *Embo J.* **1997**, *16*, 6535.

⁶³ V. W. Pollard, M. H. Malim, *Annu. Rev. Microbiol.* **1998**, *52*, 491.

⁶⁴ M. Fukuda, S. Asano, T. Nakamura, M. Adachi, M. Yoshida, M. Yanagida, E. Nishida, *Nature* **1997**, *390*, 308.



Leptomycin B

12

Abb. 1-15: Struktur von Leptomycin B.

1.3.4 BEHANDLUNGSSTRATEGIEN BEI HIV-ERKRANKUNGEN

Durch die wirksame Kombination von antiretroviralen Therapien (ART) aus drei oder mehr antiretroviralen Medikamenten, auch *highly active antiretroviral therapy* (HAART) genannt, haben sich die Gesundheit sowie die Überlebensraten von HIV-infizierten Patienten zumindest in den Teilen der Welt, die Zugang zu diesen Medikamenten haben, signifikant verbessert.

Tabelle 1-3: Wirkstoffe für die antiretrovirale HIV-Therapie.⁶⁵

ARV-Klasse	Antiretroviraler Wirkstoff
NRTI	Abacavir, Zidovudine, Lamivudine, Stavudine, Tenofovir, Didanosine
NNRTI	Efavirenz, Nevirapine
PI	Lopinavir, Ritonavir, Atazanavir, Fosamprenavir, Indinavir, Nelfinavir, Saquinavir

Außer einigen fest dosierten Kombinationspräparaten gibt es mehr als zwanzig antiretrovirale Medikamente, die zu einer großen Anzahl von effektiven Therapien kombiniert werden können. Die antiretroviralen Wirkstoffe (*antiretroviral drugs*, ARVs) werden in drei Gruppen unterteilt: die *nucleoside reverse transcriptase inhibitors* (NRTIs), die das Rückgrat der kombinierten antiretroviralen Therapie bilden, sowie die *nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors* (NNRTIs) und die *protease inhibitors* (PIs), von denen man zunächst nur eine der beiden Klassen verabreicht, um beim Auftreten einer Resistenz auf den anderen Typ zurückgreifen zu können.

HAART ist zwar zur Zeit in den Industrieländern die Standard-Therapie für HIV-infizierte Patienten, aber es gibt auch einige Nachteile:

- Die Therapie führt nicht zu einer Eliminierung des Virus;

⁶⁵ P. Piliero, *AIDS Read.* **2004**, *14*, 655.

- die Mehrfachmedikation muss sehr lange eingenommen werden, daher sind die Kosten sehr hoch;
- es gibt eine Vielzahl von Nebenwirkungen, wovon einige die Lebensqualität stark beeinträchtigen;
- die Einnahme der Medikamente muss diszipliniert erfolgen um die Wirksamkeit zu garantieren und um die Ausbildung von Resistenzen zu vermeiden;
- Ausbildung von resistenten Virenstämmen;
- nach einigen Jahren sind die Möglichkeiten der Therapie ausgeschöpft, es treten Resistenzen und Unverträglichkeiten auf und die Viruslast der Patienten steigt bis zum Auftreten von AIDS.

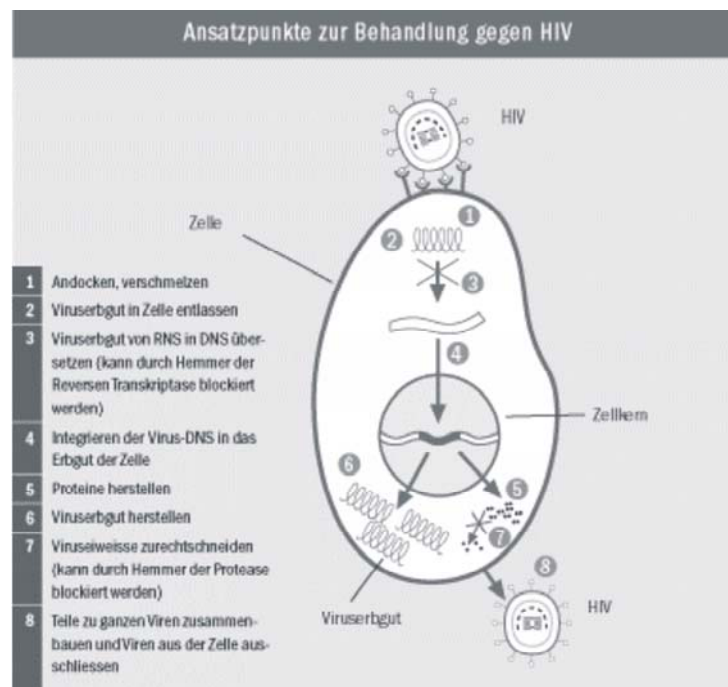


Abb. 1-16: Ansatzpunkte zur Behandlung von HIV.

Da die Zahl der HIV-Infizierten weiterhin stark ansteigt und die zur Zeit beste Therapie HIV nicht heilen kann, sondern einen Ausbruch von AIDS nur verzögern kann, wird auf dem Gebiet der HIV-Therapie viel geforscht. Außer den bisher etablierten Medikamenten ist eine wachsende Zahl von Substanzen in der Entwicklung, welche die HIV-Therapie verbessern sollen. Hierfür gibt es eine große Anzahl an Ansatzpunkten, wie Abb. 1-16 zeigt.

Die Mehrzahl der Substanzen, die zur Therapie zugelassen sind, gehören, wie oben schon erwähnt, zu den Inhibitoren der reversen Transkriptasen und der Proteasen. Eine Alternative ist zum Beispiel die Hemmung des Andockens und des Verschmelzens des

Virus mit der Zelle durch sogenannte *Entry*-Inhibitoren. Eine weitere Möglichkeit stellt die Hemmung des „*Uncoatings*“ dar, wodurch verhindert werden könnte, dass die genetische Information des Virus in die Zelle entlassen wird.

Zusätzlich wird auch auf dem Gebiet der Vakzine gegen HIV geforscht. Allerdings gibt es noch keinen geeigneten Impfstoff, da es hier zahlreiche Schwierigkeiten gibt, mit denen man bei der Entwicklung von Impfstoffen gegen andere Krankheiten nicht konfrontiert wird. Ein Problem ist die Art der Infektion, die von einem Virus ausgelöst wird, der sehr schnell proliferiert und selbst in Anwesenheit von cytotoxischen T-Zellen und Antikörpern eine dauerhafte Infektion verursacht. Außerdem kann sich HIV bei den einzelnen Patienten weiterentwickeln, weil die mutierten Virionen veränderte Peptidsequenzen codieren, die eine Erkennung durch Antikörper und cytotoxische T-Zellen verhindern.

1.4 RNA-LIGANDEN-INTERAKTIONEN

Obwohl die RNA eine Schlüsselrolle in vielen biochemischen Prozessen einnimmt, wird sie erst seit kurzem als Ziel für pharmakologische Wirkstoffe erwogen. Außer ihrer funktionellen Bedeutung gibt es weitere Faktoren, welche die RNA zu einem attraktiven Ziel für Wirkstoffe machen. So gibt es zum Beispiel in Zellen keinen Reparatur-Mechanismus für RNA, wie er für DNA existiert. Desweiteren sind auch die Diversität der dreidimensionalen Strukturen und deren Zugänglichkeit in Ribonucleoprotein-Komplexen interessante Aspekte für RNA-bezogene Wirkstoffe. Besonders die technischen Fortschritte der letzten Jahre, sowohl in der Synthese als auch in der dreidimensionalen Strukturaufklärung von RNA ermöglichen nun die Erforschung von Struktur-Funktions-Beziehungen und schaffen somit die Grundlage für die rationale Entwicklung von spezifisch gegen RNA gerichteten Wirkstoffen.

1.4.1 STRUKTURMERKMALE VON RNA

Trotz der chemischen Verwandtschaft von RNA und DNA kann man bei RNA eine deutlich größere Strukturvarianz beobachten. Während DNA im Allgemeinen nur in Form einer Doppelhelix vorliegt, ist die strukturelle Vielfalt von RNA eher mit der von Proteinen und deren Tertiärstrukturen zu vergleichen. Dies ist von großer Bedeutung für die biologische Funktion von RNA, da es einen großen Einfluss auf RNA-Liganden-Wechselwirkungen hat.⁶⁶

⁶⁶ C. S. Chow, F. M. Bogdan, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1489.

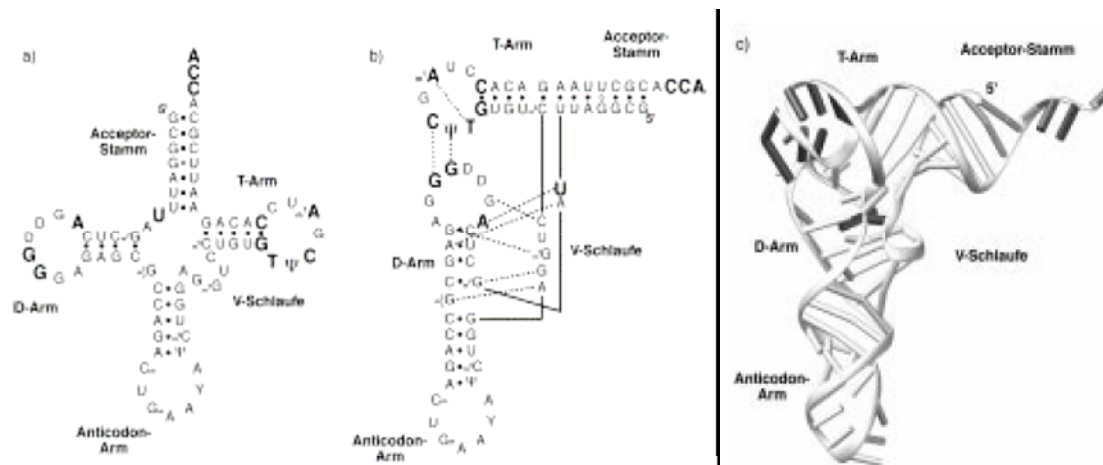


Abb. 1-17: Die RNA-Strukturebenen am Beispiel der tRNA^{Phe} aus Hefe: a) Nucleotidsequenz, Modifikation und Sekundärstruktur der tRNA^{Phe} in der klassischen Kleeblattstrukturdarstellung; b) die tertiären Wechselwirkungen der tRNA^{Phe} in einer modifizierten Darstellung der Sekundärstruktur, welche die dreidimensionale Struktur widerspiegelt; c) Darstellung der Kristallstruktur von tRNA^{Phe}.⁶⁷

In der Natur liegt RNA entweder als Doppelhelix mit α -Struktur oder globulär in kurzen doppelhelicalen Domänen vor, die über kurze Einzelstränge verbunden sind. Diese Strukturmerkmale bezeichnet man als Sekundärstruktur. Die Doppelhelix wird wie auch bei der DNA-Struktur durch *Watson-Crick*-Basenpaare fixiert. In den helicalen Bereichen findet man zudem weite und flache kleine Furchen, die für Liganden gut zugänglich sind, sowie enge und tiefe große Furchen, die für die meisten Liganden nur sehr schwer zugänglich sind.⁶⁸ Die Einzelstränge, durch welche die helicalen Bereiche verbunden sind, haben im Allgemeinen stabile, definierte Strukturen wie Schleifen (*loops*), Haarnadel-Schleifen (*hairpin-loops*), verschiedenen Ausbuchtungen (*stems*), Pseudoknoten (*pseudoknots*), Verzweigungen und Dreifachstränge.

⁶⁷ R. T. Batey, R. P. Rambo, J. A. Doudna, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2472.

⁶⁸ a) W. Saenger in *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer-Verlag, New York, **1984**; b) C. J. Alden, S. H. Kim, *J. Mol. Biol.* **1979**, *132*, 411; c) K. M. Weeks, D. M. Crothers, *Science* **1993**, *261*, 1574.

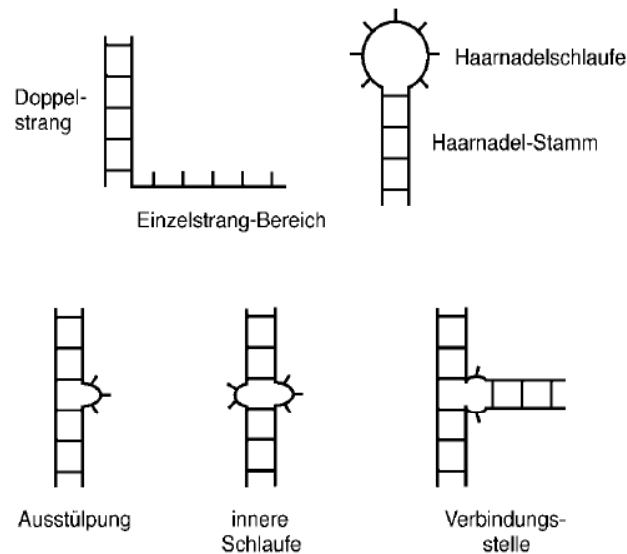


Abb. 1-18: Häufig auftretende RNA-Sekundärstrukturelemente.

Die Tertiärstruktur wird durch tertiäre Wechselwirkungen wie H-Brücken zwischen den verschiedenen Basen (außer *Watson-Crick*-Basenpaaren) oder zwischen Basen und dem Zucker-Phosphat-Rückgrat, sowie Interkalation oder Interaktionen zwischen den unterschiedlichen Resten des Phosphat-Rückgrats bestimmt.⁶⁹ Sie wurde erst mit Hilfe von Kristallstrukturen und NMR-Untersuchungen feststellbar.^{69, 70}

1.4.2 WECHSELWIRKUNG VON RNA MIT LIGANDEN

1.4.2.1 NICHTKOVALENTE INTERAKTION MIT RNA

Bei der Bindung von Proteinen oder niedermolekularen Verbindungen an RNA-Moleküle sind mehrere Arten von nichtkovalenten Wechselwirkungen beteiligt, die allerdings nicht immer scharf voneinander abzugrenzen sind. Eine große Rolle bei den Interaktionen spielen dabei elektrostatische Wechselwirkungen, da es sich bei RNA-Molekülen aufgrund des negativ geladenen Phosphat-Rückgrats um Polyanionen handelt. So binden bevorzugt Moleküle mit mehreren positiv geladenen Gruppen an RNA. Außerdem sind auch die Bindung in den Furchen über die Bildung von H-Brücken und *van-der-Waals*-Wechselwirkungen wichtig für die Bindung von

⁶⁹ S. H. Kim, J. L. Sussman, F. L. Suddath, G. J. Quigley, A. McPherson, A. H. J. Wang, N. C. Seeman, A. Rich, *Proc. Natl. Sci. USA*. **1974**, *71*, 4970.

⁷⁰ a) G. J. Quigley, A. Rich, *Science* **1976**, *19*, 796; b) E. Westhof, P. Dumas, D. Moras, *J. Mol. Biol.* **1985**, *184*, 119; D. J. Patel, L. Shapiro, D. Hare, *Q. Rev. Biophys.* **1987**, *20*, 78.

Liganden an RNA. Des Weiteren gibt es die Möglichkeit von Interkalation bzw. Stapelung von planaren, hydrophoben Molekülteilen wie Aromaten oder π -Kationen-Wechselwirkungen.⁷¹

1.4.2.2 PROTEIN-RNA-WECHSELWIRKUNGEN

Die Voraussetzung für die meisten Funktionen von RNA ist die Bildung von Protein-RNA-Komplexen. Dabei hat die dreidimensionale Struktur der RNA-Moleküle, ähnlich wie bei den Proteinen, eine große Bedeutung. Nur dadurch kann RNA als funktioneller Partner an zellulären Vorgängen beteiligt sein.

Betrachtet man die molekularen Details, so wird deutlich, dass an den intermolekularen Wechselwirkungen in den Protein-RNA-Komplexen vor allem die Proteinseitenketten beteiligt sind, die dabei meist als H-Brücken-Donatoren wirken. Die negativ geladenen Phosphat-Gruppen des Zucker-Phosphat-Rückgrats sind im Gegenzug dazu die wichtigsten H-Brücken-Akzeptoren. An den Moleküloberflächen von RNA-bindenden Proteinen und Peptiden findet man häufig basische Aminosäuren, wie etwa Arginin und Lysin, die an mehr als der Hälfte der intermolekularen H-Brücken in den Protein-RNA-Komplexen beteiligt sind.⁷² Die wichtige Rolle von Arginin bei der Protein-RNA-Wechselwirkung beruht aber nicht nur auf dem vielseitigen H-Brücken-Bindungspotential, sondern auch auf der planaren Guanidinium-Seitenkette, die zusätzliche Stapelwechselwirkungen mit Basen eingehen kann. Außer den H-Brücken-Bindungen können auch die intermolekularen Stapelwechselwirkungen in Protein-RNA-Komplexen stark ausgeprägt sein. Als Oberfläche für die Bindung unpolarer Seitenketten stehen dabei die hydrophoben Teile der RNA-Basen zur Verfügung, die in Tripeln, Plattformen und nichtkanonischen Basenpaaren zugänglich sind. So gehen einzelne Basen mit aromatischen Seitenketten von Aminosäuren Stapelwechselwirkungen ein (Abb. 1-19, B).⁷³ Im Gegensatz dazu treten flexible Proteine meist in Wechselwirkung mit dem Rückgrat von RNA-Molekülen, wodurch sich ihre Mobilität verringert (Abb. 1-19, C).

Aber es sind auch große Teile der RNA-Strukturen in doppelsträngigen Regionen angeordnet, die Paarungen zwischen den Basen enthalten. Liegen sie in Form einer regulären α -Helix vor, sind sie nur wenig für spezifische, intermolekulare Wechselwirkungen geeignet, aber dennoch wichtig für die Strukturbildung. Die diskriminatorischen Seiten der Basen befinden sich in einer engen, tiefen Furche (*major groove*), die schlecht zugänglich ist. Liegen allerdings nichtkanonische Basenpaare vor,

⁷¹ V. Luzzati, F. Masson, L. S. Lerman, *J. Mol. Biol.* **1961**, 3, 634.

⁷² K. Nadassy, S. J. Wodak, J. Janin, *Biochemistry* **1999**, 38, 1999.

⁷³ a) K. Nagai, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, 6, 53; b) S. Cusack, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, 9, 66.

gibt es Veränderungen an der regulären A-Konformation, wodurch die tiefen Furchen so stark aufgeweitet werden können, dass sie für Basen zugänglich sind. Diese Strukturveränderungen können von Proteinen erkannt und verstärkt werden. Ein häufiges Wechselwirkungsmotiv ist die Insertion einer α -Helix oder einer flexiblen Schlaufenstruktur des Proteins in die aufgeweitete tiefe Furche der RNA (Abb. 1-19, A).⁷⁴

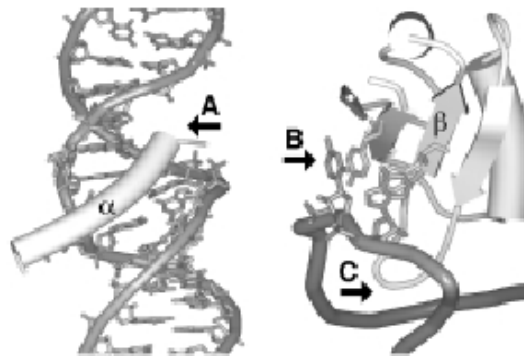


Abb. 1-19: Strategien der molekularen Erkennung von RNA-Molekülen durch Proteine (links: Komplex aus einem Rev-Peptid und RRE-RNA; rechts: U1A-Protein-RNA-Komplex).⁷⁵

Auch Ionen und Wasser spielen eine wichtige Rolle bei der Protein-RNA-Wechselwirkungen, da sie ein fester Bestandteil der dreidimensionalen Struktur von RNA-Molekülen sind.⁷⁶ So finden sich orientierte Wassermoleküle an den Kontaktflächen von Protein-Nucleinsäure-Komplexen, wo sie Hohlräume auffüllen und somit zu einem verbesserten Oberflächenkontakt beitragen. Da es sich bei RNA-Molekülen um Polyanionen handelt, sind sie von einer großen Anzahl positiv geladener Gegenionen umgeben, die mit Proteinen um die Bindungsstellen konkurrieren.⁷⁷ Dabei binden Proteine unter den Bedingungen der niedrigen Ionenstärke von RNA durch die entropisch vorteilhafte Verdrängung von Kationen aus den negativ geladenen Taschen der Nucleinsäure. Allerdings kehrt sich dieser Prozess bei hohen Salzkonzentrationen um.

⁷⁴ a) D. J. Patel, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, 9, 74; b) D. E. Draper, L. P. Reynldo, *Nucleic Acid Res.* **1999**, 27, 381.

⁷⁵ T. Hermann, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 1962.

⁷⁶ a) D. E. Draper, V. K. Misra, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, 5, 927; b) A. L. Feig, O. C. Uhlenbeck in *The RNA World*, 2. Aufl. (Hrsg.: R. F. Gesteland, T. R. Cech, J. F. Atkins), Cold Spring, Harbour Laboratory Press, New York, **1999**, S. 296-298.

⁷⁷ C. F. Anderson, M. T. Record, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1995**, 46, 657.

1.4.2.3 NIEDERMOLEKULARE RNA-LIGANDEN

Außer Proteinen sind heute einige Liganden für natürliche RNA bekannt, die dazu in der Lage sind, selektiv Komplexe mit RNA zu bilden. Auch hier ist die strukturelle Vielfalt der RNA-Moleküle bei der Sekundär- und Tertiär-Struktur von Bedeutung.^{75, 78}

1.4.2.3.1 Aminoglycosid-Antibiotika

Eine wichtige Gruppe dieser RNA-Liganden bilden die Aminoglycosid-Antibiotika. Es handelt sich hierbei um eine Klasse von meist natürlich vorkommenden Verbindungen, die aus *Actinomyceten* des Typs *Streptomyces* (enden auf „-mycin“) und des Typs *Micromonospora* (enden auf „-micin“) isoliert werden können.⁷⁹ Zu dieser Verbindungsklasse zählen unter anderem Streptomycin (**14**), Gentamycin (**15**), Neomycin B (**16**), Paramomycin (**17**), Tobramycin (**18**) und Kanamycin A (**19**). Ihr zentrales Strukturelement ist die 2-Desoxystreptamin-Einheit (**13**) (Abb. 1-20).⁸⁰

Sie werden seit den 40er Jahren in der medizinischen Therapie von Infektionen genutzt, die durch Gram-negative Bakterien verursacht wurden. Die wichtigsten Vertreter dieser Klasse von Therapeutika sind Streptomycin (**14**), Gentamycin (**15**) und Tobramycin (**18**). Allerdings sind sie aufgrund ihrer Nephrotoxizität, Ototoxizität, der schlechten Absorption bei oraler Gabe und Nebenwirkungen wie der Verursachung von neuromuskulären Blockaden nur noch von geringem therapeutischen Interesse. Sie werden hauptsächlich zur Behandlung von resistenten Bakterienstämmen eingesetzt.

Die Fähigkeit von Aminoglycosid-Antibiotika an RNA zu binden, erhöht seit einigen Jahren das wissenschaftliche Interesse für diese Substanzklasse, da „RNA als *drug target*“ immer genauer untersucht wird. Aufgrund ihrer schon oben beschriebenen Nachteile werden sie zwar nicht für die Therapie von viralen Erkrankungen wie z. B. HIV oder Hepatitis C eingesetzt, sind aber von großer Bedeutung für die Forschung, da sie einen guten Einblick in die Bindung von niedermolekularen Molekülen an RNA geben.

⁷⁸ T. Hermann, *Biopolymers* **2003**, *70*, 4.

⁷⁹ T. R. Zembower, G. A. Noskin, M. J. Postelnick, C. Nguyen, L. R. Peterson, *Int. J. Antimicrob. Agents* **1998**, *10*, 95.

⁸⁰ G. F. Busscher, F. P. J. T., Rutjes, F. L. van Delft, *Chem. Rev.* **2004**, *105*, 775.

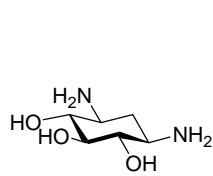
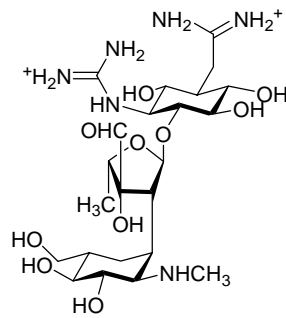
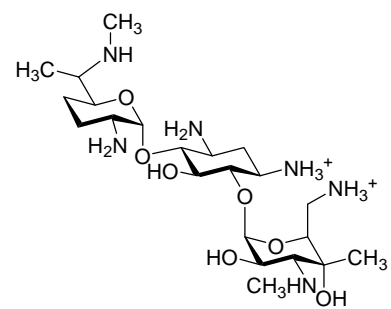
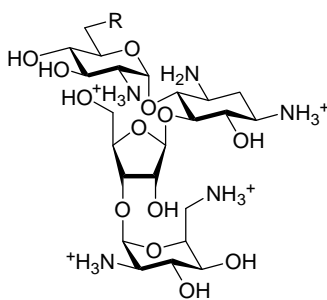
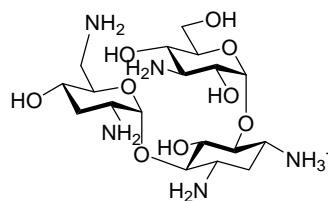
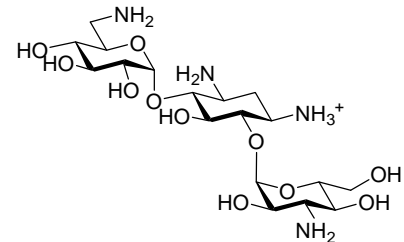
2-Desoxystreptamin **13**Streptomycin **14**Gentamycin **15**R=NH₂: Neomycin B **16**R=OH: Paramomycin **17**Tobramycin **18**Kanamycin A **19**

Abb. 1-20: Strukturen einiger Aminoglycoside.

1.4.2.3.2 Weitere RNA-Liganden

Neben den Aminoglycosiden sind noch weitere RNA-bindende Moleküle bekannt, von denen die meisten bei physiologischem pH-Wert positiv geladen sind und somit eine Bindung an das negativ geladene Phosphat-Rückgrat der RNA-Struktur ermöglichen. Einige dieser Verbindungen wie substituierte Diphenylfurane **20**,⁸¹ 2,4-Diaminochinazoline **21**,⁸² Flavinderivate **22**,⁸³ natürliche Tuberactinomycin-Antibiotika **23**,⁸⁴

⁸¹ L. Ratmeyer, M. L. Zapp, M. R. Green, R. Vinayak, A. Kumar, D. W. Boykin, W. D. Wilson, *Biochemistry* **1996**, 35, 13689.

⁸² H.-Y. Mei, D. P. Mack, A. A. Galan, N. S. Halim, A. Heldsinger, J. A. Loo, K. A. Sannes-Lowery, L. Sharmeen, A. W. Czarnik, *Biochemistry* **1998**, 37, 14204.

⁸³ P. Burgstaller, M. Famulok, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1137.

⁸⁴ H. Wank, J. Rogers, J. Davies, R. Schroeder, *J. Mol. Biol.* **1994**, 236, 1001.

Piperazinyl-Polyazacyclophane **24**⁸⁵ und InPRiNts (*inhibitor of protein-ribonucleotide-sequences*) **25**⁸⁶ sind in Abb. 1-21 zu wiedergegeben.

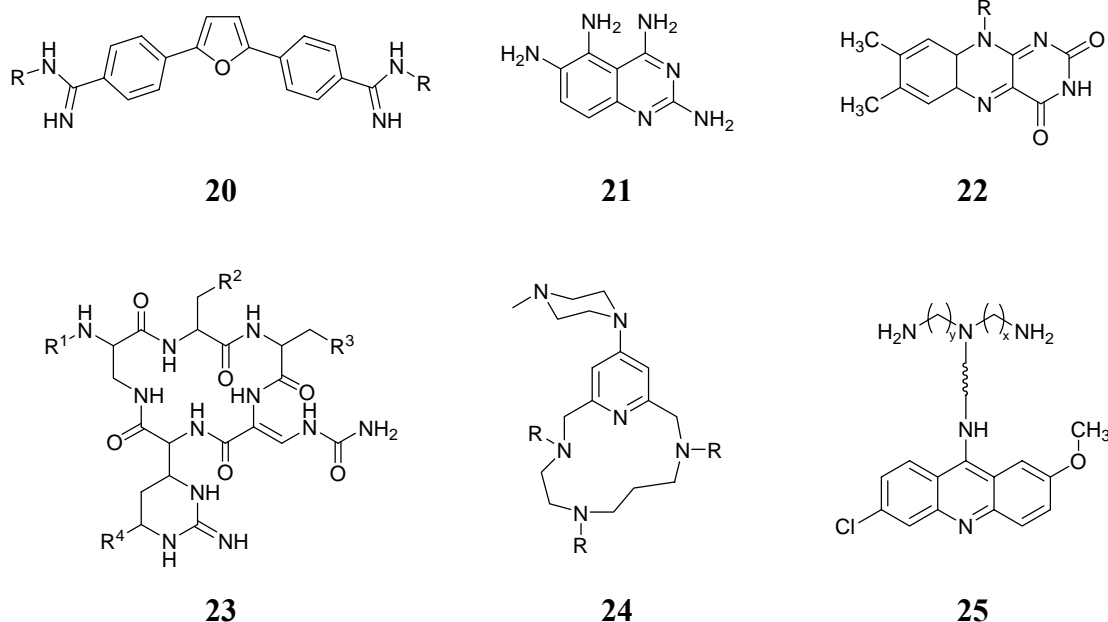


Abb. 1-21: Auswahl einiger niedermolekularer, RNA-bindender Moleküle.

1.4.2.4 AMINOGLYCOSIDE ALS VORBILD FÜR KOMBINATORISCHE BIBLIOTHEKEN VON POTENTIELLEN RNA-LIGANDEN

Die ersten Ansätze zur kombinatorischen Synthese von RNA-Liganden basieren auf der Struktur von Neomycin B (**16**), das häufig als Modell für die RNA-Ligand-Interaktion dient. So beschrieben *Wong et al.* 1996 als erste die kombinatorische Parallelsynthese von zwei konjugierte Monosaccharideinheiten enthaltende Verbindungen in Lösung. Diese basierten auf einem Aldehyd, der aus einer Teilstruktur des Neomycin B, des Neamins, abgeleitet wurde.⁸⁷ Die synthetisierten Verbindungen wurden ohne vorherige Reinigung in einem standardisierten „*filterbinding assay*“ auf ihre Fähigkeit getestet, die Wechselwirkung von RRE mit Rev zu blockieren. Dabei wurden vier Substanzen gefunden, die bei 200 μ M die Interaktion fast vollständig verhindern.

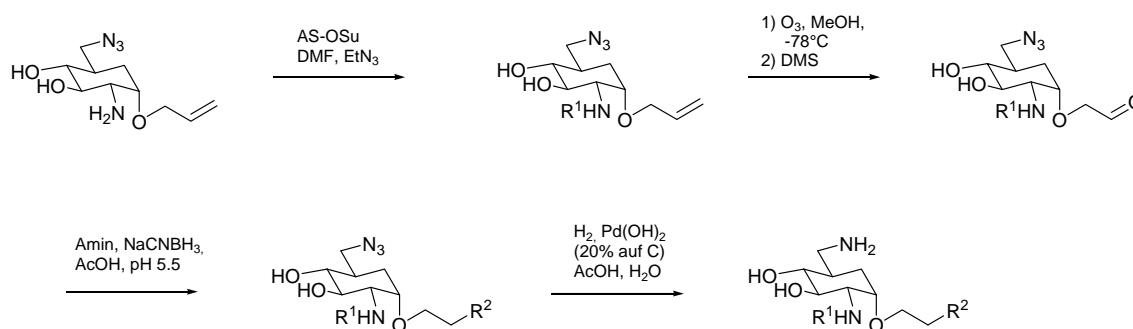
Zwei Jahre später wurde auch die kombinatorische Synthese einer Monosaccharid-Bibliothek veröffentlicht, die ebenfalls auf einem Strukturelement eines Amino-

⁸⁵ H. An, B. D. Haly, P. D. Cook, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 2345.

⁸⁶ F. Hamy, V. Brondani, A. Florsheimer, W. Stark, M. J. Blommers, T. Klimkait, *Biochemistry* **1998**, 37, 5086.

⁸⁷ W. C. Park, M. Auer, H. Jaschke, C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 10150.

glycosids basiert.⁸⁸ Dabei wurde das Pyranosid-Grundgerüst, das ein Hydroxylamin-Motiv enthält, an zwei Stellen durch kombinatorischer Ansätze variiert (Schema 1-1). Die Mitglieder der synthetisierten Bibliothek wurden anschließend in einem automatisierten Assay auf Wechselwirkungen mit verschiedenen 16s rRNA von *E. Coli* (Wild-Typ und drei Mutanten) getestet. So konnte gezeigt werden, dass das 1,3-Hydroxylamin-Element für die Bindung an RNA-Moleküle von großer Bedeutung ist.



Schema 1-1: Variation des Pyranosid-Grundgerüsts zur Synthese einer Bibliothek von 1,3-Hydroxylaminen.

Die Festphasen-Synthese einer Benzimidazol-Bibliothek potentieller RNA-Liganden mit unterschiedlichen Grundstrukturen (Abb. 1-22: **26**, **27**, **28**) wurde 2003 beschrieben.⁸⁹ Das Wissen über bereits bekannte Liganden^{75, 78} wurde als Grundlage für das Design des Benzimidazol-Scaffolds genutzt, wobei verschieden Methoden des *molecular modelings* angewendet wurden. Die Mitglieder der Bibliothek werden aktuell in einem biologischen Screening gegen verschiedene bakterielle und virale RNA-Targets getestet.

⁸⁸ C. H. Wong, M. Hendrix, D. D. Manning, C. Rosenbohm, W. A. Greenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8319.

⁸⁹ D. Vourloumis, M. Takahashi, K. B. Simonsen, B. K. Ayida, S. Barluenga, G. C. Winters, T. Hermann, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2807.

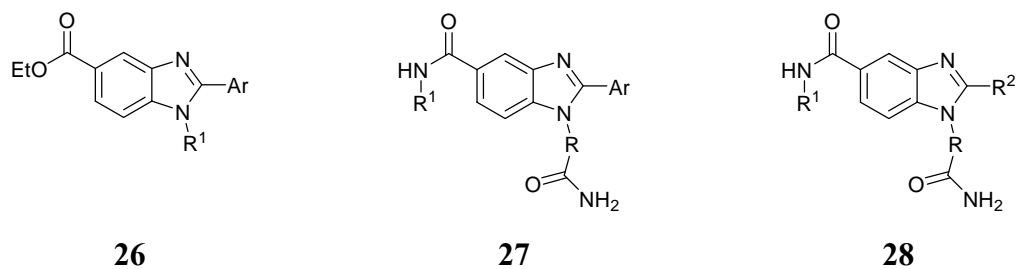


Abb. 1-22: Grundstrukturen der Benzimidazol-Bibliothek.

Im letzten Jahr wurde ein weiterer Ansatz beschrieben, bei dem Heterokonjugate aus Neomycin B und Dipeptiden synthetisiert wurden. *Ahn* und *Yu* erstellten eine Bibliothek mit mehr als 300 Komponenten durch die kombinatorische Umsetzung von 16 verschiedenen Aminosäuren mit acetyliertem Neomycin B, die anschließend auf ihre Affinität zu RRE getestet wurden.⁹⁰ Dabei wurden Heterokonjugate gefunden, deren IC₅₀-Werte zwar wie beim Neomycin B im sub-micromolaren liegen, deren Spezifität aber höher als die des Neomycin B ist.

⁹⁰ D.-R. Ahn, J. Yu, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1177.

2 HINTERGRUND UND ZIELSETZUNG

2.1 BIOLOGISCHER HINTERGRUND

Die Bindung des tat-Proteins an die TAR-RNA ist ein Schlüsselschritt in der Replikation von HIV-1 (siehe Kapitel 1.3.3.1). Eine selektive Blockierung dieser mRNA ist demnach von großem therapeutischen Interesse, da hiermit die Vermehrung des Virus stark eingeschränkt werden kann.

Das Aminoglycosid Neomycin B ist außer dem natürlichen Liganden, dem Tat-Protein, der am besten untersuchte Ligand für die TAR-Region.⁹¹ Genauere Untersuchungen der Wechselwirkung durch *mobility shift gel assays*, *circular dichroism*-Spektroskopie und *Rnase T1* und *V1 footprinting*, wie auch durch Berechnung des elektrostatischen Feldes und der *Brownschen* Molekularbewegung⁹² führten zu detailliertem Wissen über die Bindung von Neomycin B an die TAR-Region.

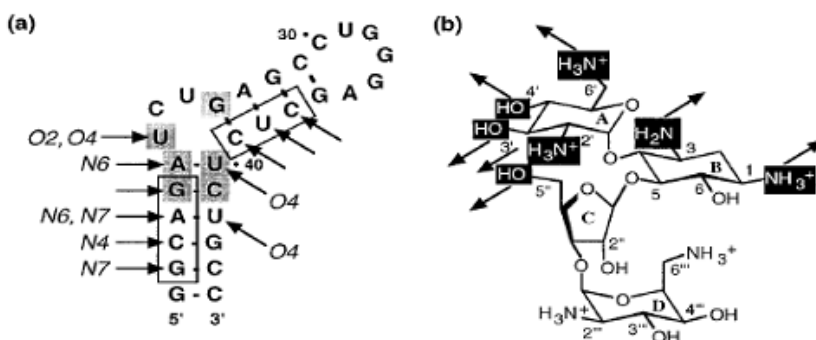


Abb. 2-1: Wechselwirkung zwischen der TAR-Region (a) und Neomycin B (b).⁹³

Unter physiologischen Bedingungen ist das Aminoglycosid mehrfach positiv geladen und ist dazu in der Lage, an einem negativ geladenen Teil der RNA-Tasche zu binden.

⁹¹ a) F. Abdoul-ela, J. Karn, G. Varani, *Nucleic Acid Res.* **1996**, *24*, 3974; b) H. Y. Mei, A. A. Galan, N. S. Halim, D. P. Mack, D. W. Moreland, W. David, K. B. Sanders, H. N. Truong, A. W. Czarnik, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2755.

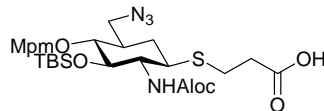
⁹² T. Hermann, E. Westhof, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1250.

⁹³ A. Farese-Di Giorgio, S. Pairot, N. Patino, R. Condom, C. Di Gorgio, A. Aumelas, A. M. Aubertin, R. Guedj, *Nucleosides Nucleotides* **1999**, *18*, 263.

Dieser wird durch den helical-doppelsträngigen Bereich bestehend aus den Nucleobasen G₁₈-A₂₂ und U₄₀-C₄₅ und dem Phosphat-Rückgrat gebildet.

2.2 ZIELSETZUNG

Aufbauend auf früheren Ergebnissen soll zunächst die Synthese des vollständig orthogonal geschützten Diaminoglucose-Bausteins **29** durchgeführt werden.



29

Abb. 2-2: Vollständig orthogonal stabil geschütztes Diaminoglucose-Scaffold.

Nach der Anbindung des Kohlenhydratbausteins an die feste Phase soll sodann das Schutzgruppenkonzept überprüft werden.

Durch kombinatorische Festphasensynthese soll im Rahmen dieser Arbeit eine Substanzbibliothek erzeugt werden, die im Rahmen des Sonderforschungsbereichs 579 (RNA-Liganden-Wechselwirkungen) auf ihre biologische Wirksamkeit in Bezug auf die Inhibierung der Tat/TAR-Wechselwirkung getestet werden.

Die Schwerpunkte bei der kombinatorischen Synthese liegen zum einen auf der Entwicklung von Methoden zur Spaltung der verschiedenen Schutzgruppen am Harz. Zum anderen soll eine Erweiterung des Methodenrepertoires für die Derivatisierung der drei Hydroxyl- und der zwei Aminofunktionen untersucht werden.

Ein weiteres Augenmerk liegt neben der Ausbeute der Reaktionen auf der Reinheit der Substanzen. Für die geplanten Zellassays ist eine hohe Reinheit der synthetisierten Produkte notwendig. Dies soll durch die Entwicklung von optimalen Bedingungen für die Reinigung durch HPLC gewährleistet werden.

3 ALLGEMEINER TEIL

3.1 GRUNDLAGEN DER GEPLANTEN SYNTHESE

3.1.1 KONZEPT DER FESTPHASENGESTÜTZTEN PARALLELSYNTHESE VON MONOSACCHARIDDERIVATEN

Zur selektiven Funktionalisierung aller fünf Positionen des Kohlenhydrat-Scaffolds an der festen Phase wird ein Satz orthogonal stabiler Schutzgruppen und ein geeigneter Linker benötigt. Durch eine Deblockierung unter geeigneten Bedingungen und die anschließende Funktionalisierung jeder einzelnen Position kann die gewünschte Diversifizierung erfolgen. Ist der gewünschte Funktionalisierungsgrad erreicht, wird das Molekül vom polymeren Träger abgespalten.

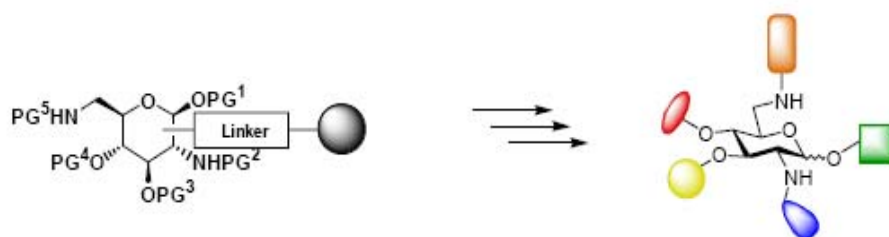


Abb. 3-1: Schematische Darstellung eines selektiv deblockierbaren Diaminoglucose-Scaffolds.

3.1.2 SCHUTZGRUPPENKONZEPT UND VERANKERUNGSSTRATEGIE

Für die Realisierung des geplanten Konzepts ist der orthogonal stabile Schutz von drei Hydroxyl- und zwei Aminofunktionen nötig. An die Schutzgruppen werden dabei besondere Anforderungen gestellt. So muss bei der Arbeit an der festen Phase beachtet werden, dass Schutzgruppen, die heterogene Abspaltungsbedingungen erfordern, ungeeignet sind, wodurch zum Beispiel der in der Kohlenhydratchemie häufig genutzte Benzylether als Schutzgruppe nicht verwendet werden kann.

Unter Nutzung der Ergebnisse der eigenen Diplomarbeit^{27(a)} und der Dissertation von *U. Hüniger*^{27(b)} soll das Schutzgruppenmuster des vollständig orthogonal stabil geschützten Diaminoglucose-Scaffolds **29** übernommen werden.

Die Verankerung soll über ein Thioglycosid, welches eine Säuregruppe trägt, in der anomeren Position erfolgen. Während der Synthese des Bausteins ist die Säurefunktion

durch einen Methylester geschützt. Die Anbindung des Diaminoglucose-Templats an das Polymer erfolgt nach der Verseifung dieses Methylesters über eine Amidbindung. Diese Bindung ist unter den Bedingungen für die Deblockierung und Funktionalisierung der übrigen Positionen stabil. Das genutzte Harz muss dafür mit Aminogruppen funktionalisiert sein, wobei ein Harz mit einem säurelabilen Linker wie dem *Rink*-Linker bevorzugt wird, da unter sauren Bedingungen die für die Spaltung vom Polymer nötig sind, die Seitenketten-Schutzgruppen von Aminosäuren ebenfalls abgespalten werden.

Die restlichen zwei Hydroxyl- und zwei Amino-Funktionen werden folgendermaßen blockiert:

- Die NH₂-Gruppe an C-2 als Allyloxycarbonyl-Derivat (durch katalytische Umsetzung mit Pd(0) und einem Abfangnucleophil spaltbar),⁹⁴
- die OH-Gruppe an C-3 als *tert*-Butyldimethylsilylether (mit Fluorid-Ionen spaltbar),⁹⁵
- die OH-Gruppe an C-4 als *p*-Methoxybenzylether (oxidativ spaltbar),⁹⁶
- die NH₂-Gruppe an C-6 als Azid (eine maskierte Aminofunktion, die z.B. unter *Staudinger*-Bedingungen reaktiv freigesetzt werden kann).⁹⁷

3.1.3 DIE WAHL DER FUNKTIONALISIERUNGSREAKTIONEN

Zur Anknüpfung von pharmakophoren Seitenketten an die Hydroxylfunktionen sind unter anderem Synthesen von Ethern, Estern und Carbamaten denkbar, wie schon in der Arbeiten von C. Kallus,^{26(d)} T. Opatz^{26(e)} und T. Maidhof^{27(c)} beschrieben wurde. Für die Etherbildung steht eine große Auswahl an Benzylbromiden und Alkyljodiden zur Verfügung, allerdings können die zum Deprotonierungsschritt benötigten stark basischen Bedingungen zu Problemen führen.

⁹⁴ a) H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 436; b) J. Minami, Y. Shashi, I. Shimizu, J. Tsuji, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 2449; c) Boulanger, G. Descotes, *Tetrahedron Lett* **1986**, *27*, 4259; d) O. Danlges, F. Guibé, G. Balavoine, S. Lavielle, A. Marquet, *J. Org. Chem* **1987**, *52*, 4984; e) C. Unverzagt, H. Kunz, *Bioorg. Med. Chem* **1994**, *2*, 1189; f) E. C. Roos, P. Bernabe, H. Hiemstra, W. N. Speckamp, B. Kaptein, W. H. J. Boesten, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1733; g) A. Merzouk, F. Guibe, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *28*, 173; h) J. Le, J. H. Griffin, T. I. Nicas, *J. Org. Chem* **1996**, *61*, 3983.

⁹⁵ T. D. Nelson, R. D. Crouch, *Synthesis* **1996**, 1031.

⁹⁶ Y. Oikawa, T. Yoshioka, O. Yonemitsu, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 885.

⁹⁷ a) J. M. G. Fernandez, C. O. Mellet, J. L. J. Blanco, J. F. Mota, A. Gadelle, *Carbohydr. Res.* **1995**, *268*, 57; b) J. Budka, M. Tkadlecova, P. Lhotak, I. Stibor, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 1883; c) H. Parrot-Lopez, H. Galons, A. W. Coleman, F. Djedaini, N. Keller, B. Perly, *Tetrahedron: Assymetry* **1990**, *1*, 367; d) K. Hamasaki, H. Ikeda, A. Nakamura, A. Ueno, F. Toda, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5035.

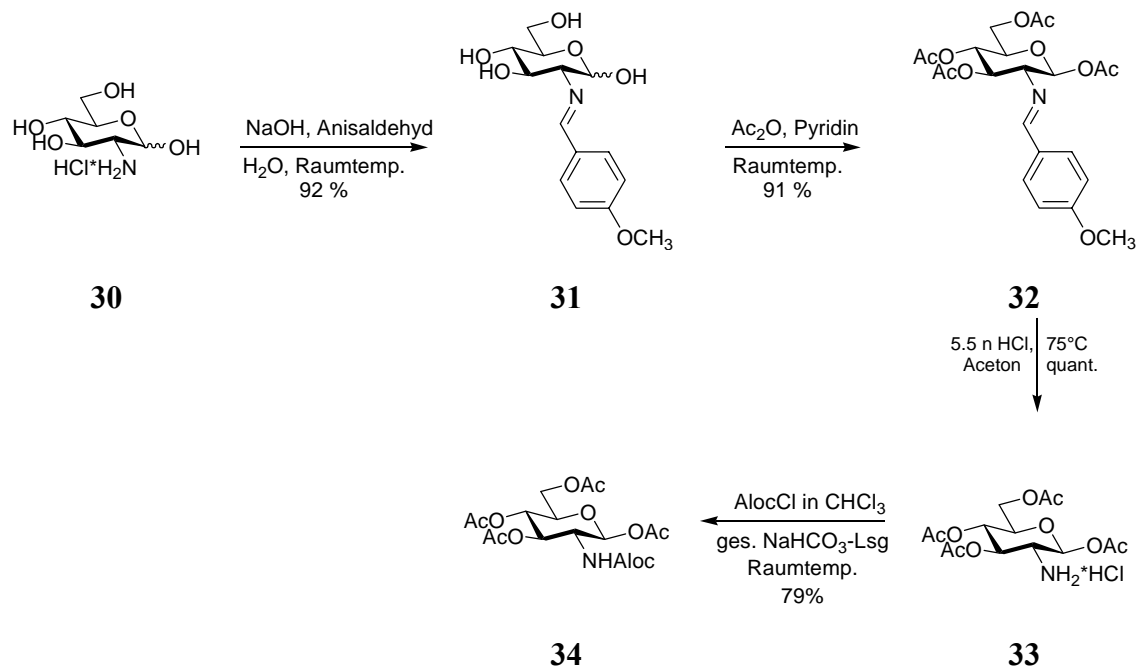
Für die Veresterung gibt es ebenfalls eine große Auswahl von Carbonsäuren, speziell auch von α -Aminosäuren. Ester sind jedoch unter *in vivo*-Testbedingungen häufig nur beschränkt einsetzbar, da sie zum Teil leicht von Esterasen gespalten werden.

Carbamate sind dagegen unter physiologischen Bedingungen stabiler. Jedoch ist bei den zur Carbamatbildung benötigten Isocyanaten die Auswahl an kommerziell erhältlichen Derivaten im Gegensatz zu den Carbonsäuren oder den organischen Halogeniden deutlich geringer.

Für die Anbindung pharmakophorer Seitenketten an die Aminofunktionen in der 2- und 6-Position soll hier die Verknüpfung von verschiedenen Carbonsäuren, vorzugsweise α -Aminosäuren, mit der jeweiligen freien Aminofunktion im Vordergrund stehen.

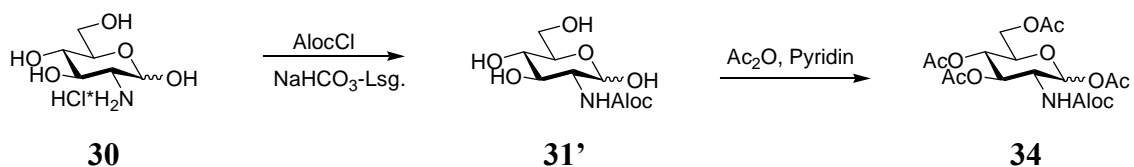
3.2 SYNTHESE DES SCAFFOLDS ZUR KOMBINATORISCHEN FESTPHASENSYNTHESE

Zur Synthese des 2,6-Diaminoglucosetemplates **29** geht man vom kommerziell erhältlichen D-Glucosaminhydrochlorid aus. Es wird zunächst selektiv das in 2-Position Aloc-geschützte β -Tetra-*O*-acetylglucosamin **34** über vier Stufen dargestellt. Hierzu wird zuerst die Aminofunktion mit Anisaldehyd in das Imin **31** überführt. Im Anschluss daran acetyliert man mit Acetanhydrid in Pyridin. Das *O*-acetylierte Glucosamin-Hydrochlorid **33** kann dann unter sauren Bedingungen in einer Ausbeute von 84 % über drei Stufen erhalten werden. Im nächsten Schritt wird dieses Zwischenprodukt mit Chlorameisensäureallylester in 79%-iger Ausbeute zum Aloc-geschützten Glucosebaustein **34** umgesetzt (Schema 3-1).



Schema 3-1: Synthese des peracetylierten Glucosaminderivats **34**.

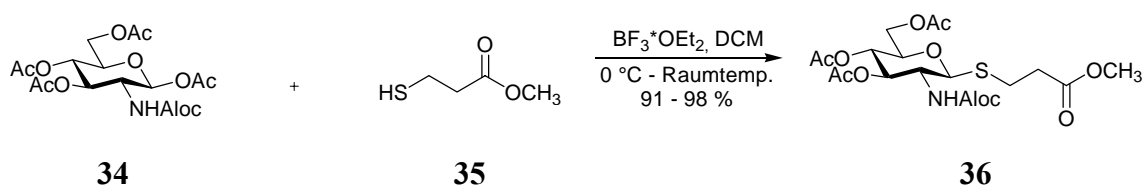
Dieser Syntheseweg, der den Umweg über ein Imin einschließt, ist gegenüber der in der Diplomarbeit verwendeten 2-stufigen Route vorzuziehen (Schema 3-2), da hierbei das reine β -Anomer in einer Ausbeute von insgesamt 66 % erhalten wird, während man bei der kürzeren Synthese ein Anomerengemisch in einer etwas höheren Ausbeute erhält. Dieses Phänomen beruht auf dem Nachbargruppeneffekt, der durch das *p*-Methoxybenzylimin **31** in der 2-Position des Glucosegerüsts ausgeübt wird. Dieser Effekt dirigiert stärker zur β -Verknüpfung, als der des Carbamats **31'**, das in der zweistufigen Synthese als Zwischenprodukt erhalten wird.



Schema 3-2: Alternativer Syntheseweg zum peracetylierten Glucosaminderivat **34**.²⁷

Die β -Selektivität ist für die im nächsten Schritt folgende Glycosylierung von großer Bedeutung, da aufgrund der höheren Reaktivität des β -Anomers die Ausbeute gegenüber der Reaktion mit dem Anomerengemisch deutlich gesteigert werden kann.⁹⁸

Die darauf folgende Glycosylierung der 3-Mercaptopropionsäure (**35**) erfolgt nach einer in unserer Arbeitsgruppe häufig angewendeten Methode⁹⁹ unter Katalyse mit Bortrifluorid-Diethylether-Komplex in absolutem Dichlormethan. Das Thioglycosid **36** kann beim Einsatz des reinen β -Anomers und bei sorgfältiger Arbeitsweise in Ausbeuten von bis zu 98 % erhalten werden. Dies stellt eine deutliche Verbesserung gegenüber den Ergebnissen aus vorangehenden Arbeiten dar, bei denen Ausbeuten von 37–49 % für dieses Molekül erzielt wurden. Außerdem kann die Reaktionszeit von bis zu 48 Stunden auf 4 Stunden reduziert werden.



Schema 3-3: Darstellung des Thioglycosids **36**.

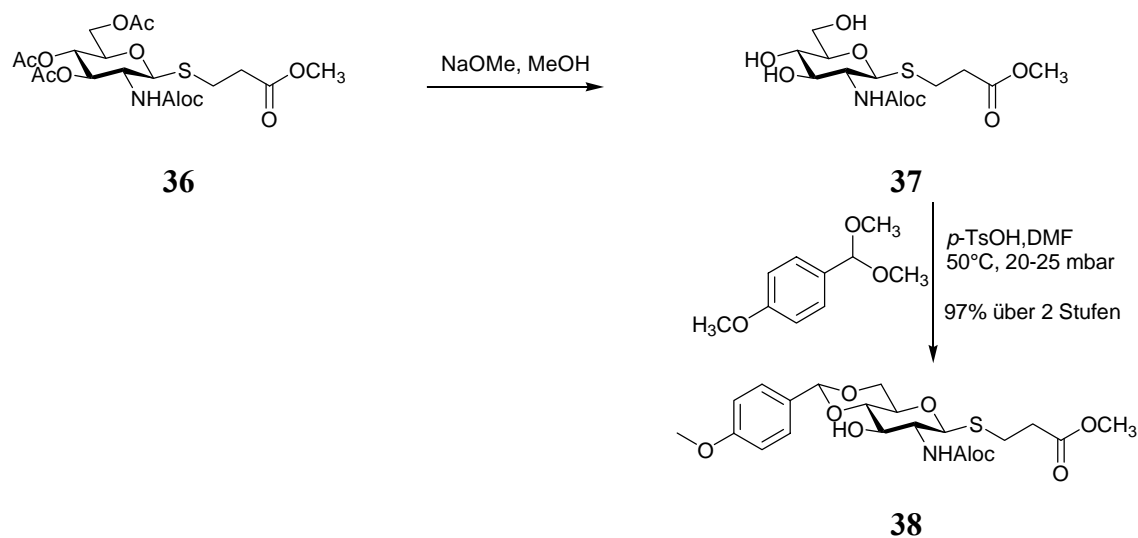
Im nächsten Schritt wird das Thioglycosid **36** nach *Zemplén*¹⁰⁰ zur Verbindung **37** umgeestert, welche dann mit Anisaldehyddimethylacetal unter Katalyse mit *p*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat zum 4,6-*p*-Methoxybenzylidenacetal **38** umgesetzt wird.¹⁰¹ Die Einführung des Acetals ermöglicht eine spätere Differenzierung der 4- und 6-Position durch eine regiolektive Öffnung. Der dabei entstehende *p*-Methoxybenzylether ist unter oxidativen Bedingungen leichter zu spalten als der ebenfalls für die Differenzierung nutzbare unsubstituierte Benzylether, welcher im Allgemeinen durch katalytische Hydrierung an Palladium auf Kohle gespalten wird. Diese heterogenen Bedingungen sind jedoch für die Reaktionsführung an der festen Phasen nicht geeignet.

⁹⁸ M. Schultz, *Dissertation*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1994**.

⁹⁹ u.a.: T. Wunberg, *Dissertation*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1997**.

¹⁰⁰ a) G. Zemplén, A. Kunz, *Chem. Ber.* **1923**, *56*, 1705; B. Reinhard, H. Faillard, *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 193.

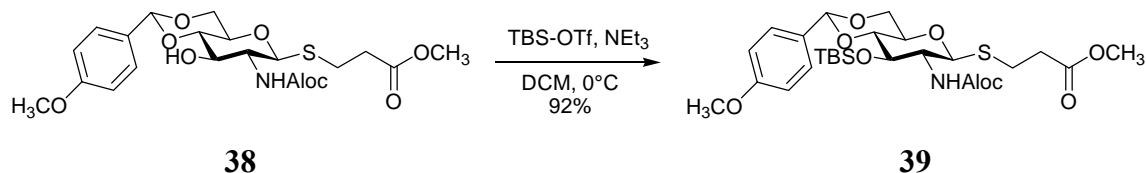
¹⁰¹ H. G. Fletscher, *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, *2*, 307.



Schema 3-4: Einführung des *p*-Methoxybenzylidenacetals.

Die Acetaleinführung verläuft mit einer ausgezeichneten Ausbeute von 97 % über zwei Stufen (Schema 3-4). Das Produkt ist allerdings schwer löslich und zudem säureempfindlich, wodurch die säulenchromatographische Reinigung erschwert wird.

Die Einführung des *tert*-Butyldimethylsilylethers in die noch freie Hydroxylgruppe in der 3-Position des Kohlenhydrates gelingt mit Trifluormethansulfonsäure-*tert*-butyldimethylsilylester in Dichlormethan und Triethylamin als Base in wenigen Minuten mit einer Ausbeute von 92 %.¹⁰² Das Edukt **38** löst sich zunächst nur teilweise in Dichlormethan. Das Gemisch klärt sich aber im Laufe der Reaktion schnell auf. Als alternatives Lösungsmittel wird auch *N,N*-Dimethylformamid verwendet. Das Edukt ist darin zwar vollständig löslich, die Ausbeute ist aber etwas geringer, was eventuell auf Verluste bei der wässrigen Aufarbeitung des Reaktionsgemisches durch Reste von *N,N*-Dimethylformamid zurückzuführen ist.

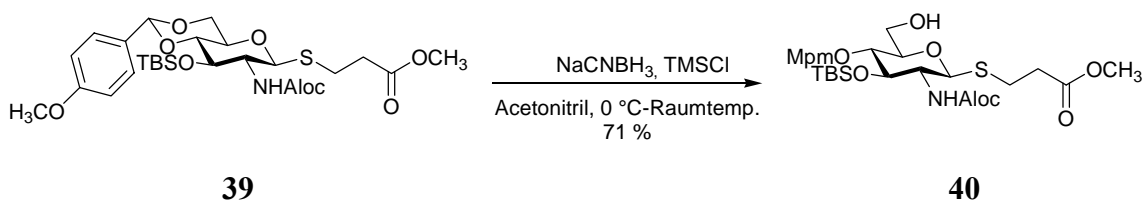


Schema 3-5: Einführung des *tert*-Butyldimethylsilylethers.

¹⁰² P. G. Gassman, L. M. Haberman, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5010.

Für die regioselektive Öffnung von Benzylidenacetalen werden in der Kohlenhydratchemie normalerweise komplexe Hydride in Kombination mit Säuren eingesetzt. Dabei bestimmt die Wahl der Säure die Richtung der Öffnung: Brønsted-Säuren liefern den niedriger substituierten, sterisch anspruchsvolle Lewis-Säuren dagegen den höher substituierten Benzylether.

In diesem Fall wird für die meisten Acetalöffnungen eine Kombination von Natriumcyanoborhydrid und Chlortrimethylsilan in Acetonitril eingesetzt.¹⁰³ So kann der *p*-Methoxybenzylether **40** in einer Ausbeute von 71 % erhalten werden.



Schema 3-6: Regioselektive Acetalöffnung.

Zur Verbesserung der Ausbeute wird eine alternative Reaktionsführung mit Dichlorphenylboran und Triethylsilan in Dichlormethan bei -78 °C getestet.¹⁰⁴ Diese Methode liefert zwar das gewünschte Produkt in einer deutlich kürzeren Reaktionszeit und führt in kleineren Test-Ansätzen zu vergleichbaren Ausbeuten von bis zu 75 %, ist aber nur schwer auf größere Ansätze übertragbar. Ein Grund dafür könnte die Menge des eingesetzten Molekularsiebs oder die schwankende Qualität des stark hydrolyseempfindlichen Dichlorphenylborans sein. Die Optimierung der Bedingungen für Ansätze im Gramm-Maßstab wird zur Zeit von *M. Madaliński* durchgeführt.¹⁰⁵

Der Ersatz der 6-Hydroxylgruppe durch eine Azidfunktion, die als vorletzter Schritt der Synthese erfolgen soll, stellt die problematischste Reaktion der Synthese dar, was schon in der Diplomarbeit deutlich wurde. Das gewünschte 6-Azidoderivat des Kohlenhydrats konnte dort nur mit einer Ausbeute von 20 % erhalten werden. Um die Ausbeute zu verbessern, werden sowohl eine Reihe von Versuchen zu Substitutionsreaktionen als auch einige Reaktionen unter *Mitsunobu*-Bedingungen durchgeführt. Des weiteren werden Versuche unternommen, die freie Hydroxylgruppe in andere funktionelle

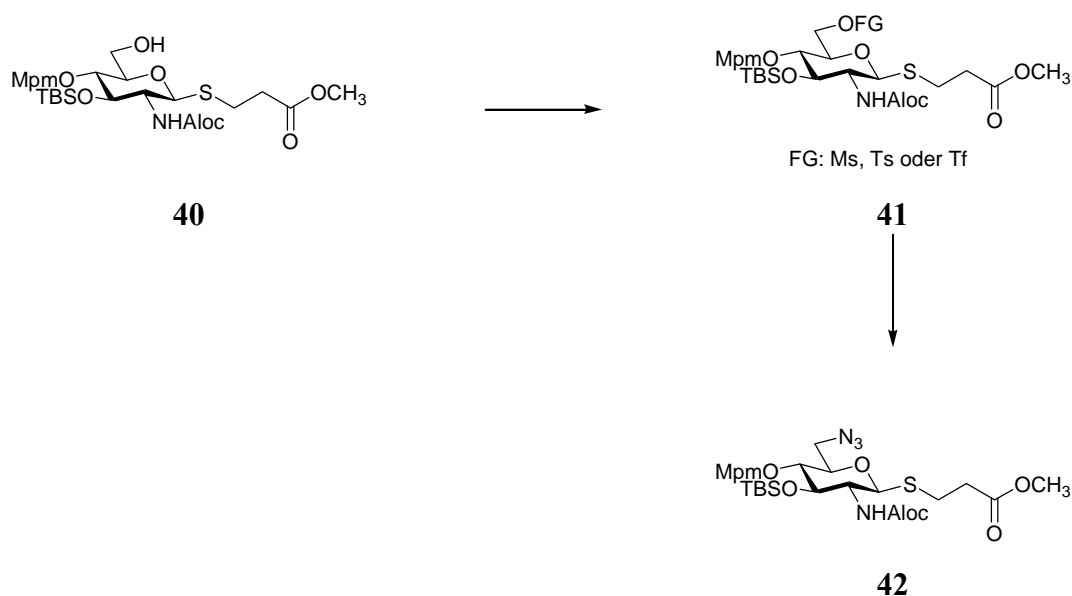
¹⁰³ a) R. Johansson, B. Samuelsson, *J. Am. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 201; b) B. Becker, J. Thiem, *Tetrahedron Asymmetry* **1994**, 5, 2339, c) T. Gustafsson, M. Schou, F. Almquist, J. Kihlberg, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 8694.

¹⁰⁴ H. Sakagami, H. Hamana, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 5547.

¹⁰⁵ M. Madaliński, laufende Arbeiten zur Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

Gruppen zu überführen, die dann entweder zu einer Amino- oder Azidogruppe umgesetzt werden können. Sowohl der Versuch zur Substitution der Hydroxylgruppe unter *Appel*-Bedingungen zum Bromid,¹⁰⁶ als auch der Versuch einer Substitution mit Phthalimid unter *Mitsunobu*-Bedingungen¹⁰⁷ führen nicht zum gewünschten Produkt.

Bei den Versuchen, die Azidfunktion über eine S_N2 -Reaktion einzuführen, wird zum einen die Hydroxylfunktion in unterschiedliche Abgangsgruppen überführt und zum anderen werden verschiedene Azidquellen eingesetzt. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist in Tabelle 3-1 gezeigt.



Schema 3-7: Versuche zur Azideinführung über eine S_N2 -Reaktion.

Um die Hydroxylgruppe in eine gute Abgangsgruppe zu überführen, eignen sich unter anderem verschiedene Sulfonsäureester. Neben dem am häufigsten verwendeten Methansulfonsäureester, der mit Hilfe von Methansulfonsäurechlorid (MsCl) in Gegenwart einer Base in *N,N*-Dimethylformamid unter Standardbedingungen eingeführt werden kann,¹⁰⁸ wird auch die Einführung des *p*-Toluolsulfonsäureesters und des Trifluormethansulfonsäureesters als Abgangsgruppen untersucht.¹⁰⁹

¹⁰⁶ C.-H. Lin, T. Sugai, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10138.

¹⁰⁷ Mitsunobu, *Synthesis*, **1981**, 1.

¹⁰⁸ J.-M. Kim, Y. Bi, S. Paikoff, P. G. Schultz, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5305.

¹⁰⁹ a) W. Meyer zu Reckendorf, N. Wassaliadou-Micheli, *Chem. Ber.* **1974**, *107*, 1188; b) O. Kanie, S. C. Crawley, M. M. Palcic, O. Hindsgaul, *Carbohydr. Res.* **1993**, *243*, 139.

Tabelle 3-1: Versuche zur Azideinführung über eine Substitution.

	Reagenzien	Lösungsmittel	Bedingungen		Beobachtungen
1	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0 °C	2h	vollständiger Umsatz
	2. NaN ₃	DMF	RT	12h	Zersetzung!!
2	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0 °C	3h	vollständiger Umsatz
	2. NaN ₃	DMF	50 °C	12h	15% Ausbeute
3	1. MsCl, Pyr	DCM	0 °C	2h	vollständiger Umsatz
	2. NaN ₃	DMF	75 °C	3h	24% Ausbeute
4	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0 °C	4h	vollständiger Umsatz
	2. NaN ₃ , H ₂ O	THF, H ₂ O	RT	2d	Produkt kann nicht gereinigt werden
5	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0 °C	4h	vollständiger Umsatz
	2. NaN ₃ , ges. NH ₄ Cl-Lsg.	THF	RT/90 °C	>48h	keine Reaktion
6	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0 °C	4h	vollständiger Umsatz
	2. QN ₃	Chloroform	RT	>5d	keine Reaktion
7	1. MsCl, Pyr	DCM	0 °C	3h	vollständiger Umsatz
	2. QN ₃	Chloroform	RT	16h	28% Ausbeute
8	1. TfO ₂ , Pyr	DCM	-20 °C	18h	vollständige Reaktion
	2. QN ₃	Chloroform	RT	12h	Alkohol reisoliert
9	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0 °C	2h	vollständiger Umsatz
	2. Trisyl-N ₃	THF	RT	12h	wenig Umsatz
10	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0 °C	2h	vollständiger Umsatz
	2. TMS-N ₃	THF	RT	48h	wenig Umsatz

Die Bildung des Methansulfonsäureesters (Mesylat) gelingt meist quantitativ, unabhängig davon, ob Pyridin oder Triethylamin als Base zugesetzt werden. Die Reaktion läuft bei 0 °C in absolutem Dichlormethan vollständig in ein bis drei Stunden ab. Das so erhaltene Mesylat **41** wird zügig wässrig aufgearbeitet und ohne weitere Reinigung für die nächste Stufe eingesetzt. Die Reaktion ist allerdings stark von der Qualität des eingesetzten Methansulfonsäurechlorids abhängig. Ist dieses nicht wasserfrei gelagert, kommt es zur Hydrolyse des Säurechlorids, wodurch die Reaktivität vermindert und eine längere Reaktionszeit benötigt wird. Unter den angewandten Reaktionsbedingungen erfolgt dann die Zersetzung des Edukts schneller als die gewünschte Reaktion. Die Einführung des *p*-Toluolsulfonsäureesters (Tosyl) mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (TsCl) gelingt nicht, unabhängig von der Wahl der Base.¹¹⁰ Dies ist vermutlich auf den hohen sterischen Anspruch und die geringere Reaktivität dieses Säurechlorids zurückzuführen. Die Einführung eines Trifluormethansulfonsäure-

¹¹⁰ W. H. Pearson, R. Walavalkar, J. M. Schkeryantz, W.-K. Fang, J. D. Blickensdorf, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10183.

esters (Triflat) als Fluchtgruppe mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid (Triflat-anhydrid) und Triethylamin gelingt nur in einem Fall.¹¹¹ Wie auch beim mesylierten Derivat wird das erhaltene Triflat vor dem Einsetzen in die nächste Stufe nur zügig wässrig aufgearbeitet. In weiteren Versuchen zur Einführung von Triflat als Abgangsgruppe kann nur die vollständige Zersetzung des Edukts beobachtet werden.

Als erste Azidquelle wird, wie es für diese S_N2-Reaktion üblich ist, Natriumazid eingesetzt. Selbst durch Variation der Temperatur und des Lösungsmittel liegt die maximal erreichte Ausbeute für das Azid **42** bei 24 %, nach einer Umsetzung des Mesylderivates bei 75 °C mit 4 Äquivalenten Natriumazid in *N,N*-Dimethylformamid. Eine leichte Verbesserung der Ausbeute auf 28 % kann durch den Einsatz von Tributylhexadecylphosphoniumazid (QN₃, **43**) als Azidquelle, die zugleich als Phasentransferkatalysator wirkt, erreicht werden.¹¹² Hierbei können etwas mildere Bedingungen genutzt werden: die Reaktion läuft schon bei Raumtemperatur ab. Da durch die phasentransferkatalytische Wirkung auf ein so stark polares Lösungsmittel wie *N,N*-Dimethylformamid verzichtet werden kann, wird hier Chloroform als Lösungsmittel eingesetzt.

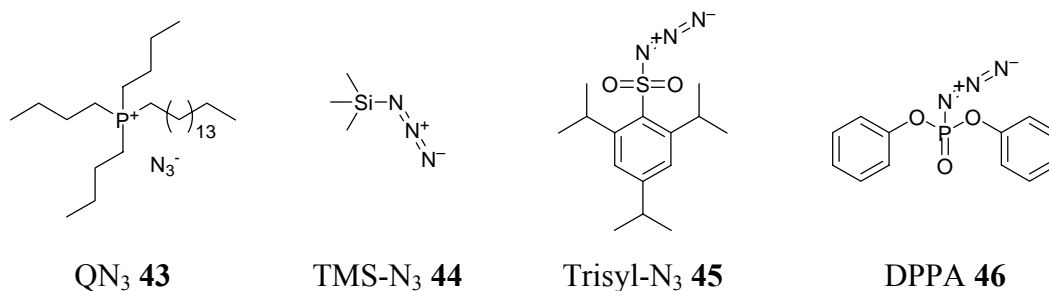


Abb. 3-2: Strukturen einiger Azidquellen.

Neben diesen beiden Aziden werden noch zwei weitere Azide verwendet. Allerdings kann auch beim Einsatz des Trimethylsilylazids (TMS-Azid, **44**) und des 2,4,6-Triisopropylbenzylsulfonsäureazids (Trisylazid, **45**) nur ein sehr geringer Umsatz beobachtet werden.

Außer diesen klassischen zweistufigen Reaktionen werden auch zwei Eintopfreaktionen für die Substitution durchgeführt, die allerdings, wie in Tabelle 3-2 gezeigt ist, auch nicht zum gewünschten Produkt führen.

¹¹¹ B. Liessem, A. Giannis, K. Sandhoff, M. Nieger, *Carbohydrat Res.* **1993**, 250, 19.

¹¹² a) K. Banert, W. Kirmse, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 3766; b) K. Banert, F. Köller, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 176.

Tabelle 3-2: Versuche zur Substitution in einer Eintopfreaktion.

Reagenzien	Lösungsmittel	Bedingungen		Beobachtungen
DPPA, DBU	DMF	RT/75°C	> 5d	keine Reaktion
NaN ₃ , DMAP, (Cl ₂ Ph) ₂ POCl	DMF	RT	> 48h	keine Reaktion

Auch bei diesen beiden Reaktionen handelt es sich um S_N2-Reaktionen, bei denen die Hydroxylgruppe zunächst in Phosphorsäureester überführt, die - wie auch die Sulfonsäureester - gute Abgangsgruppen darstellen. Die Substitution erfolgt dann entweder mit dem Azidgegenion aus dem Diphenylphosphorylazid (DPPA, **46**) oder Natriumazid als Azidquelle. Bei der Nutzung von DPPA für die Einführung des Phosphorsäureesters ist 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als Base geeignet.¹¹³ Beim Einsatz des 2,4-(Dichlorphenyl)phosphoniumchlorids nutzt man dagegen 4-Dimethylaminopyridin als Base.¹¹⁴

Nach der Anschaffung einer Mikrowellen-Apparatur, wird auch eine Führung der Substitutionsreaktion unter Mikrowellen-Bestrahlung getestet. Dazu wird der Alkohol wie schon zuvor zuerst in den Methansulfonsäureester überführt, der dann unter Mikrowellen-Bestrahlung mit Natriumazid und Tetra-*n*-butylammoniumsulfat als Phasentransferkatalysator in *N,N*-Dimethylformamid zur Reaktion gebracht wird. Nach einigen Experimenten, bei denen die Reaktionsparameter wie Temperatur, Leistung und Zeit schrittweise erhöht werden, gelingt der erste Versuch im kleinen Testmaßstab von etwa 200 µmol in 5 ml Lösungsmittel mit einer verhältnismässig hohen Ausbeute von 68 %. Dabei wird das Protokoll A (8 ml-Reaktionsgefäß, 5 ml Lösungsmittel, T_{max} = 100 °C, P_{max} = 100 W, p_{max} = 2.0 bar, t = 30 min, Power_{max}-Einstellung, Rühren) für die Reaktion in der Mikrowelle verwendet. Dieses Ergebnis ist leider nicht auf eine Reaktion im größeren Maßstab von etwa 1 mmol unter Nutzung des Protokolls B (30 ml-Reaktionsgefäß, 20 ml Lösungsmittel, T_{max} = 100 °C, P_{max} = 100 W, p_{max} = 2.0 bar, t = 30 min, Power_{max}-Einstellung, Rühren) übertragbar. Statt des gewünschten Produkts **42** erhält man als Hauptfraktion ein Eliminierungsprodukt.

¹¹³ A. S. Thompson, G. R. Humphrey, A. M. De Marco, D. J. Mathre, E. J. J. Grabowski, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5886.

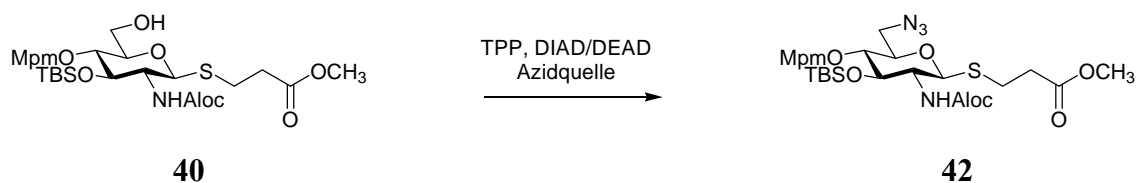
¹¹⁴ C. Yu, B. Lin, L. Hu, *Org. Lett.* **2000**, *13*, 1959.

Tabelle 3-3: Versuche zur Azideinführung durch Substitution unter Nutzung einer Mikrowelle.

	Reagenzien	Lösungsmittel	Bedingungen		Beobachtungen
1	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0°C	4h	vollständiger Umsatz
	2. NaN ₃ , (n-Bu) ₄ NHSO ₄	DMF	MW	A	Ausbeute: 68 %
2	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0°C	2h	vollständiger Umsatz
	2. NaN ₃ , (n-Bu) ₄ NHSO ₄	DMF	MW	B	Ausbeute: 29 %
2	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0°C	2h	vollständiger Umsatz
	2. NaN ₃ , (n-Bu) ₄ NHSO ₄	DMF	MW	B	vollständige Zersetzung
4	1. MsCl, NEt ₃	DCM	0°C	2h	vollständiger Umsatz
	2. NaN ₃ , (n-Bu) ₄ NHSO ₄	DMF	MW	A	Zersetzung schneller als Reaktion

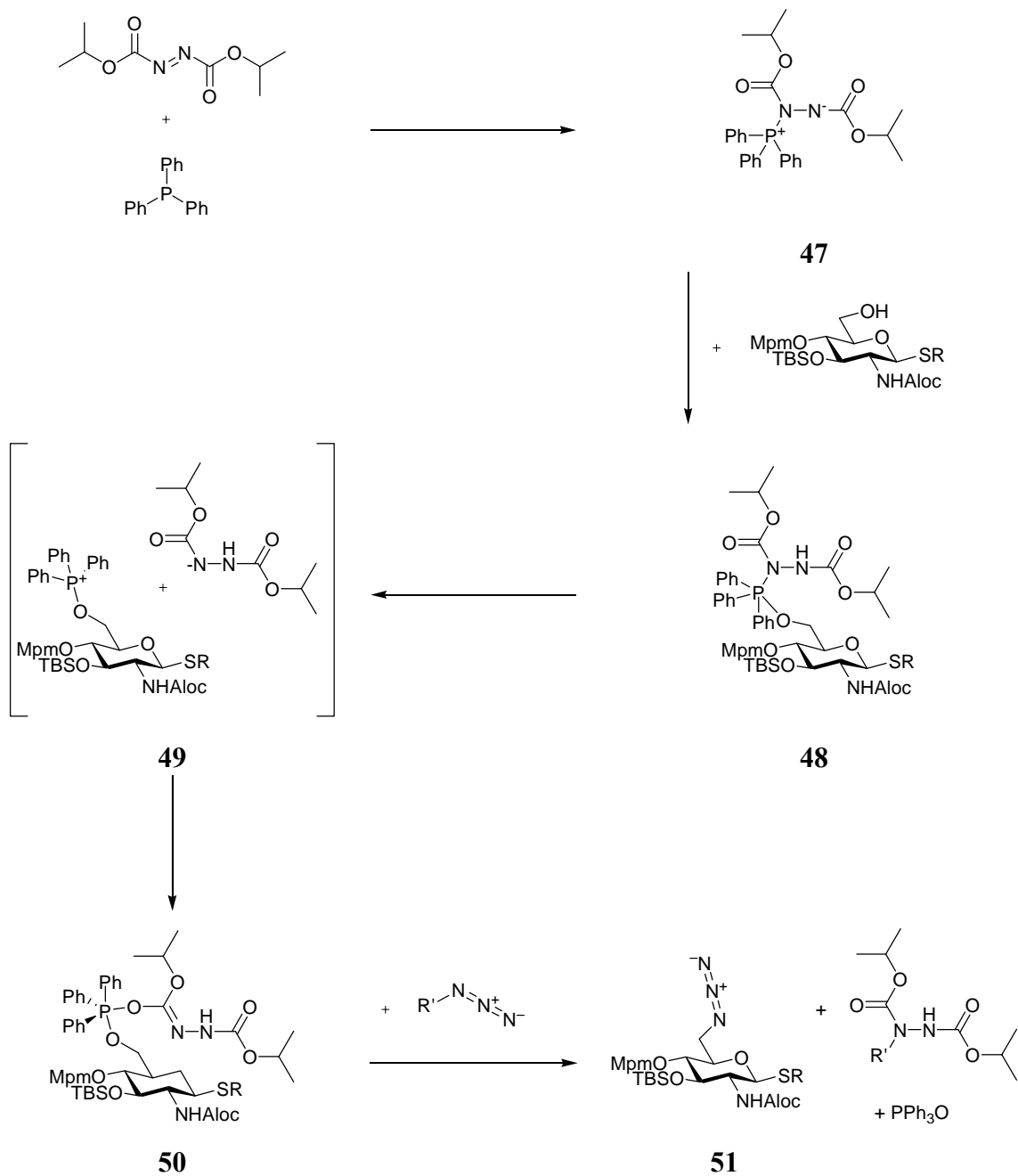
Beim Versuch, die ursprüngliche Reaktion nochmals durchzuführen, zeigt sich, dass das Ergebnis nicht reproduzierbar ist. Bei weiteren Versuchen kommt es immer zur vollständigen Zersetzung des Edukts.

Eine Alternative zur Azideinführung über eine zweistufige Substitutionsreaktion stellt die *Mitsunobu*-Reaktion dar:¹¹⁵

Schema 3-8: Azideinführung unter *Mitsunobu*-Bedingungen.

Bei der *Mitsunobu*-Reaktion wird ein Alkohol durch die Umsetzung mit Triphenylphosphin und einem Azodicarboxylat (Diethylazodicarboxylat, DEAD) unter sehr milden Bedingungen in eine gute Abgangsgruppe überführt, die dann durch eine Vielzahl von Nucleophilen substituiert werden kann.

¹¹⁵ M. Wada, O. Mitsunobu, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 12790.



Schema 3-9: Mechanismus der *Mitsunobu*-Reaktion am Kohlenhydrat-Templat mit einem Azid als Nucleophil.

Für den Mechanismus der *Mitsunobu*-Reaktion, der in Schema 3-9 gezeigt ist, geht man davon aus, dass hier zunächst das Triphenylphosphin und das Azodicarboxylat (hier Diisopropylazodicarboxylat, DIAD) zu einem Betain-Intermediat **47** reagieren. Bei Zugabe des Alkohols erfolgt zum einen eine Deprotonierung des Alkohols durch das

Betain und zum anderen ein Angriff des Alkoholats an das stark oxophile Phosphoratom unter Bildung eines Phosphorans **48**. Über ein Oxyphosphonium-Ion **49** erfolgt dann aufgrund der großen Oxophilie des Phosphors eine Umlagerung zu einem Dialkylphosphoran **50**, aus dem durch einen elektrophilen Angriff am Imin-Stickstoff eine sehr gute Abgangsgruppe gebildet wird. Im letzten Schritt erfolgt am nun freien Oxophosphonium-Kation eine S_N2-Reaktion mit dem Nucleophil am C-6-Atom des Kohlenhydrats. Das Nucleophil wird hier in Form des Azid-Anions geliefert. Als treibende Kraft wirkt bei dieser Reaktion unter anderem die Bildung des ausgesprochen stabilen Triphenylphosphinoxids. Das eingesetzte Azodicarboxylat wird während der Reaktion zu einem Hydrazinderivat reduziert.

Für die Versuche zur Azideinführung unter *Mitsunobu*-Bedingungen, die in Tabelle 3-4 zusammengefasst sind, wird zunächst eine Variante der *Mitsunobu*-Reaktion verwendet, die speziell für die Darstellung von Azidozuckern entwickelt wurde.¹¹⁶ Hierzu setzt man das Kohlenhydrat mit Triphenylphosphin (TPP), Diisopropylazodicarboxylat (DIAD) und Zinkazid-Bis-Pyridin-Komplex (**52**) bei Raumtemperatur in Toluol um. Der Zink-Komplex wirkt dabei als Lewis-Säure. Da unter diesen Standard-Bedingungen fast keine Reaktion stattfindet, wird zunächst untersucht, welche Auswirkung der Einsatz unterschiedliche Azodicarboxylate auf die Reaktion hat. Dazu werden Diethylazodicarboxylat (DEAD) und Diisopropylazodicarboxylat verwendet. Allerdings erkennt man keinen signifikanten Unterschied. In den weiteren Versuchen wird daher immer das kostengünstigere DIAD verwendet. Nachdem auch die Reaktion unter Zusatz von Imidazol¹¹⁷ nicht abläuft, wird anschließend nach einer besser geeigneten Azidquelle gesucht.

Beim Einsatz der einfachsten Azidquelle, der Stickstoffwasserstoffsäure¹¹⁸ entsteht quantitativ ein unerwünschtes Produkt, in dem die 6-Hydroxylfunktion nicht durch das Azid substituiert, sondern intramolekular angegriffen wurde. Beim Einsatz von Diphenylphosphorylazid (**46**)¹¹⁹ kann zunächst keine Reaktion beobachtet werden, später tritt eine Zersetzung des Eduktes ein. Auch mit Trimethylsilylazid (TMS-N₃, **44**) kann keine Reaktion beobachtet werden. Der Einsatz von Säureaziden liefert dagegen

¹¹⁶ M. C. Vaud, P. Rollin, *Synthesis* **1990**, 2, 130.

¹¹⁷ T. F. Walsch, R. B. Toupence, F. Ujjainwalla, J. R. Young, M. T. Goulet, *Tetrahedron* **2001**, 57, 5233.

¹¹⁸ a) H. H. Brandstetter, E. Zbiral *Helv. Chim. Acta* **1980**, 63, 327; b) M. Bessodes, M.-J. Egron, J. Filippi, K. Antonakis, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1990**, 3035; c) O. Plettenburg, V. Bodmer-Narkevitch, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 4559.

¹¹⁹ a) B. Lal, B. N. Pramanik, M. S. Manhas, A. K. Bose, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 23, 1977; b) W. H. Pearson, S. C. Bermeier, J. P. Williams, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3977.

das gewünschte Produkt in ausreichender Ausbeute. Dabei werden sowohl das Benzazid (**53**)¹²⁰ als auch das Nicotinoylazid (**54**)¹²¹ verwendet.

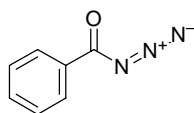
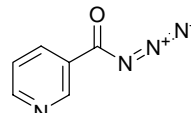
Benzazid **53**Nicotinoylazid **54**

Abb. 3-3: Aromatische Säureazide als Azidquellen für die Mitsunobu-Reaktion.

Die Reaktion verläuft laut Dünnschichtchromatographie in beiden Fällen quantitativ. Die Reinigung des Produktes ist allerdings recht schwierig, da das aus dem Azodicarboxylat entstehende Hydrazinderivat säulenchromatographisch nur schwer abzutrennen ist. Dies führt zu Verlusten bei der Reinigung. Die Synthese des gewünschten Azidozuckers wird in größeren Ansätzen mit Nicotinoylazid durchgeführt, da dieses zum einen in besseren Ausbeuten dargestellt werden kann und lagerstabiler ist und zum anderen etwas höhere Ausbeuten als das Benzazid liefert.

Tabelle 3-4: Versuche zur Azideinführung unter *Mitsunobu*-Bedingungen.

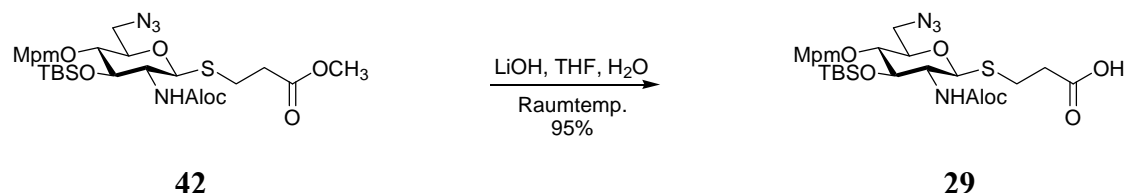
Reagenzien	Lösungsmittel	Bedingungen	Beobachtungen
TPP, DIAD, Zn(N ₃) ₂ *2Pyr (je 2 eq.)	Toluol	RT > 48 h	keine Reaktion
TPP, DIAD, Zn(N ₃) ₂ *2Pyr (je 4 eq.)	Toluol	RT > 48 h	Ausbeute <10%
TPP, DEAD, Zn(N ₃) ₂ *2Pyr (je 2 eq.)	Toluol	RT > 48 h	Ausbeute <10%
TPP, DEAD, Zn(N ₃) ₂ *2Pyr (je 4 eq.)	Toluol	RT > 48 h	Ausbeute <10%
TPP, DIAD, Zn(N ₃) ₂ *2Pyr, Imidazol	DCM	RT > 48 h	wenig Umsatz
TPP, DIAD, HN ₃	THF/Toluol	RT 2 h	nur Nebenprodukt
TPP, DIAD, DPPA	THF	RT > 5 d	Zersetzung
TPP, DIAD, TMS-N ₃	THF	RT 48 h	keine Reaktion
TPP, DIAD, Benzoylazid	Toluol	RT 2 - 12 h	30 - 58 %
TPP, DIAD, Nicotinylazid	Toluol	RT 2 - 6 h	37 - 72 %

Der letzte Schritt für die Synthese des Scaffolds besteht in der Spaltung des Methylesters. Dies ermöglicht eine Anbindung des Moleküls an die feste Phase durch eine Umsetzung der freien Säure mit den Aminogruppen des polymeren Trägers über

¹²⁰ a) H. Kunz, P. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 23, 2123; b) H. Kunz, P. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 7, 1245; c) P. Schmidt, *Dissertation* **1981**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

¹²¹ G. Papeo, H. Posteri, P. Vianello, M. Varasi, *Synthesis* **2004**, 17, 2886.

eine Amidbindung. Nach der Verseifung des Esters **42** mit Lithiumhydroxid in Tetrahydrofuran mit 20 % Wasser bei Raumtemperatur und anschließender säulenchromatographischer Reinigung erhält man die freie Säure **29** in einer Ausbeute von 95 %.



Schema 3-10: Esterverseifung mit Lithiumhydroxid.

Über diesen Syntheseweg kann das 2,6-Diaminoglucose-Scaffold **29** in einer Ausbeute von 28 % über 11 Stufen erhalten werden.

3.3 ANBINDUNG AN DEN POLYMEREN TRÄGER

Zunächst muss für eine Festphasensynthese ein geeigneter polymerer Träger gewählt werden. Für die Anbindung des Kohlenhydratbausteins über die Säurefunktion wird aus Stabilitätsgründen eine Amidgruppe gewählt. Des weiteren soll eine saure Abspaltung vom Harz möglich sein. Das bedeutet, dass das Polymer mit einem säurelabilen Linker, vorzugsweise dem *Rink*-Säureamid-Anker, funktionalisiert sein sollte. Die auf diese Weise bei der Abspaltung erhaltenen Säureamide stehen in Übereinstimmung mit dem geplanten Funktionalisierungsmuster für potentielle RNA-Liganden.¹²²

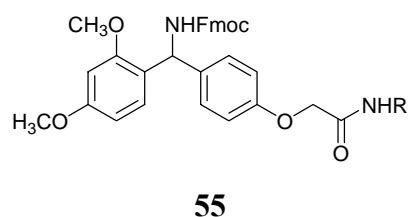


Abb. 3-4: *Rink*-Säureamid-Linker **55**.

¹²² H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *42*, 3787.

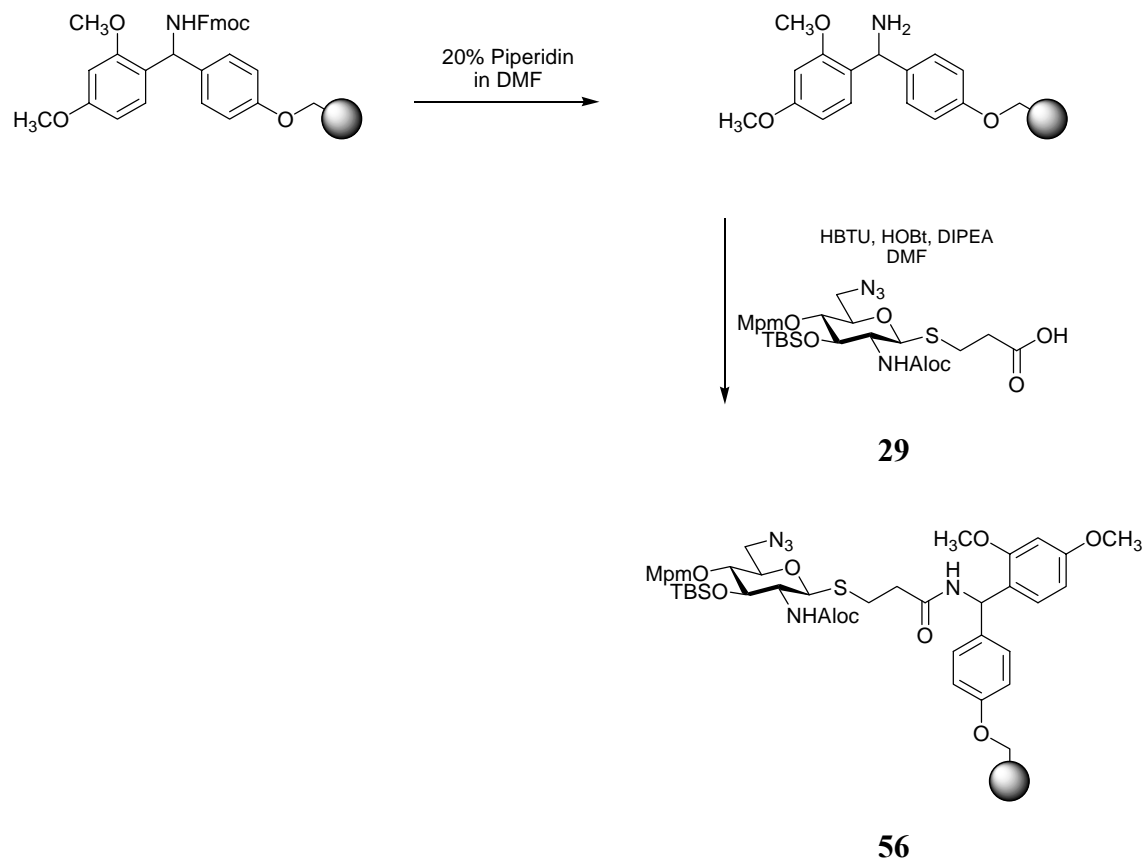
Damit kommen als Träger ein mit dem *Rink*-Amid-Linker funktionalisiertes Tentagel[®] (sogenanntes *Rink*-Tentagel[®]-SNH₂) und aminofunktionalisiertes *Rink*-Amid-Polystyrol (*Rink*-Aminomethylpolystyrol, *Rink*-AMPS) in Frage. Beim Tentagel[®] handelt es sich um ein Polymer auf Basis eines Polystyrol-Rückgrats, auf das Polyethylenglycol-Ketten aufgepfropft sind.¹²³ Die Aminofunktionalisierung, an die der Linker angebunden wird, ist jeweils am Ende dieser Ketten angebracht. Hierdurch wird eine gute Zugänglichkeit der angebotenen Moleküle für Reagenzien gewährleistet. Zudem gibt es ein breites Spektrum verwendbarer Lösungsmittel. Während Polystyrol nur mit aprotischen Lösungsmittel wie zum Beispiel Toluol, Dichlormethen, Dioxan, Tetrahydrofuran oder *N,N*-Dimethylformamid ausreichend gequollen werden kann, können an Tentagel[®] Reaktionen auch in Methanol oder sogar Wasser durchgeführt werden. Allerdings hat Tentagel[®] den Nachteil einer deutlich niedrigeren Beladungsdichte (0.2 - 0.5 mmol/g) im Vergleich mit der des AMPS (bis zu 1.6 mmol/g). Desweiteren ist das mit Substanz beladene Tentagel[®] manchmal klebrig, so dass das Arbeiten mit kleinen Mengen des Harzes erschwert wird. Ein weiterer Nachteil des Tentagels[®] ist die Tatsache, dass es hygroskopisch ist und mit physikalischen Methoden nur sehr schwer von anhaftendem Wasser befreit werden kann. Das anhaftende Wasser kann sich bei einigen der geplanten Reaktionen, wie zum Beispiel der palladiumkatalysierten Abspaltung der Allyloxycarbonylgruppe, negativ auswirken. Aus diesen Gründen wird hier zunächst dem *Rink*-AMPS-Harz als polymerem Träger der Vorzug gegeben.

Für die Anbindung des Kohlenhydrat-Scaffolds an den Träger muss zunächst die Fmoc-Schutzgruppe des *Rink*-Amid-Linkers mit Piperidin in *N,N*-Dimethylformamid abgespalten werden.¹²⁴ Die eigentliche Kupplung der freien Carbonsäure an das *Rink*-AMPS-Harz erfolgt dann mit HBTU, HOBt und Hünigs Base in absolutem *N,N*-Dimethylformamid.¹²⁵

¹²³ E. Bayer, W. Rapp in *Chemistry of Peptides and Proteins* (Hrsg.: W. Voelter, E. Bayer, Y.A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov), Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York, **1986**, 3. Auflage.

¹²⁴ a) L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 5784; b) L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3404.

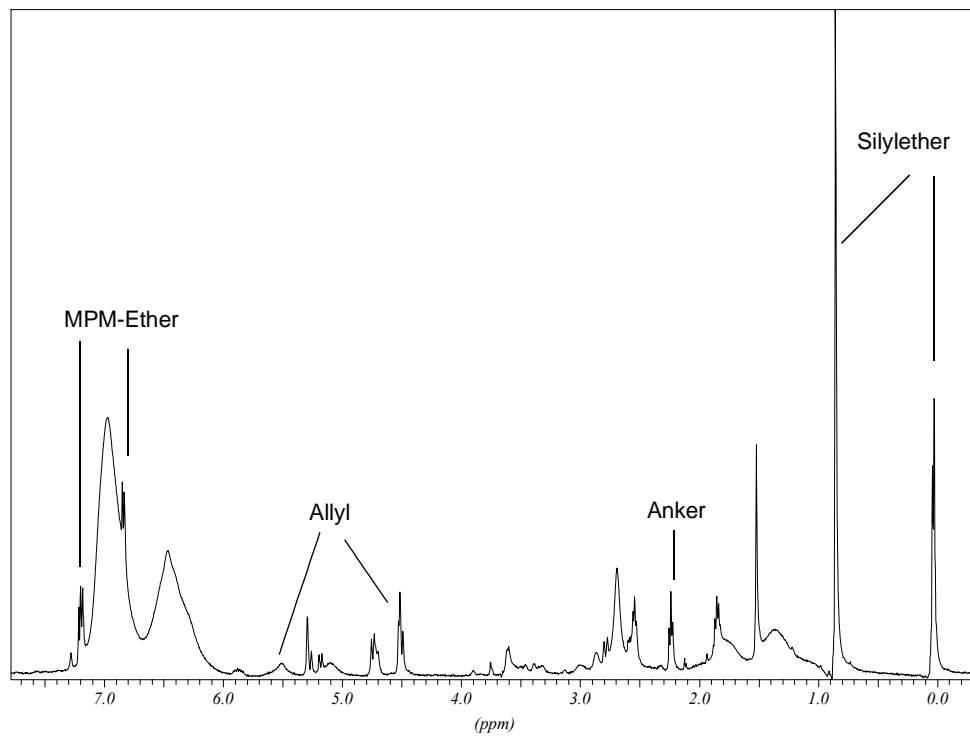
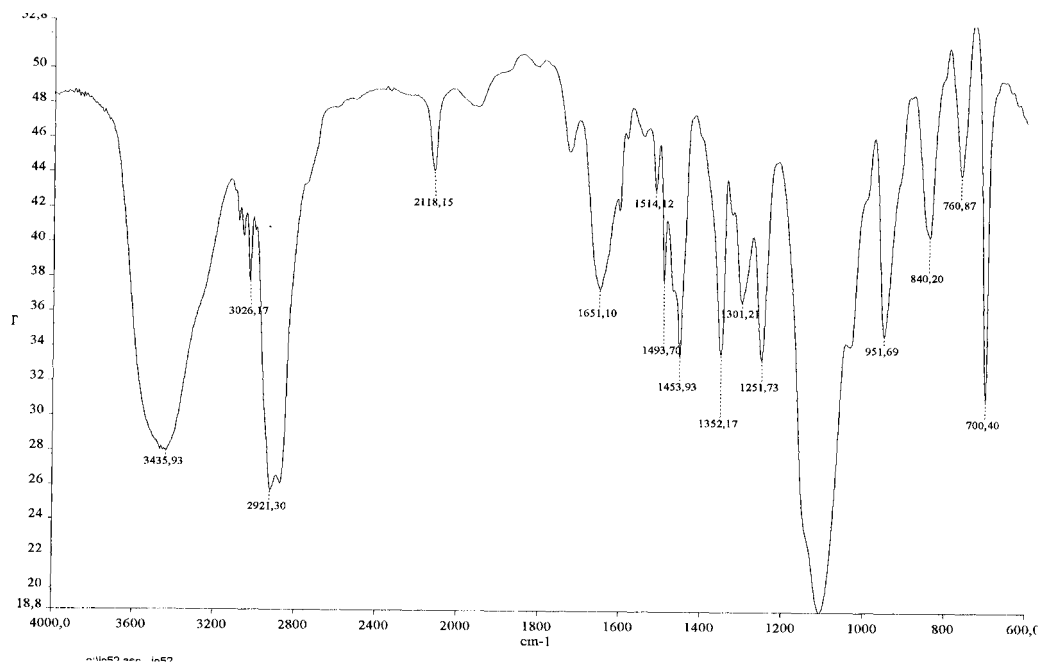
¹²⁵ Novabiochem, *Synthesis Notes*, **2005**.



Schema 3-11: Kupplung des 2,6-Diaminoglucose-Scaffolds **29** an den polymeren Träger.

Durch HRMAS-NMR-Spektroskopie (Abb. 3-5) und FT-IR-Spektroskopie (Abb. 3-6) kann gezeigt werden, dass die Anbindung an die feste Phase erfolgreich verlaufen ist.

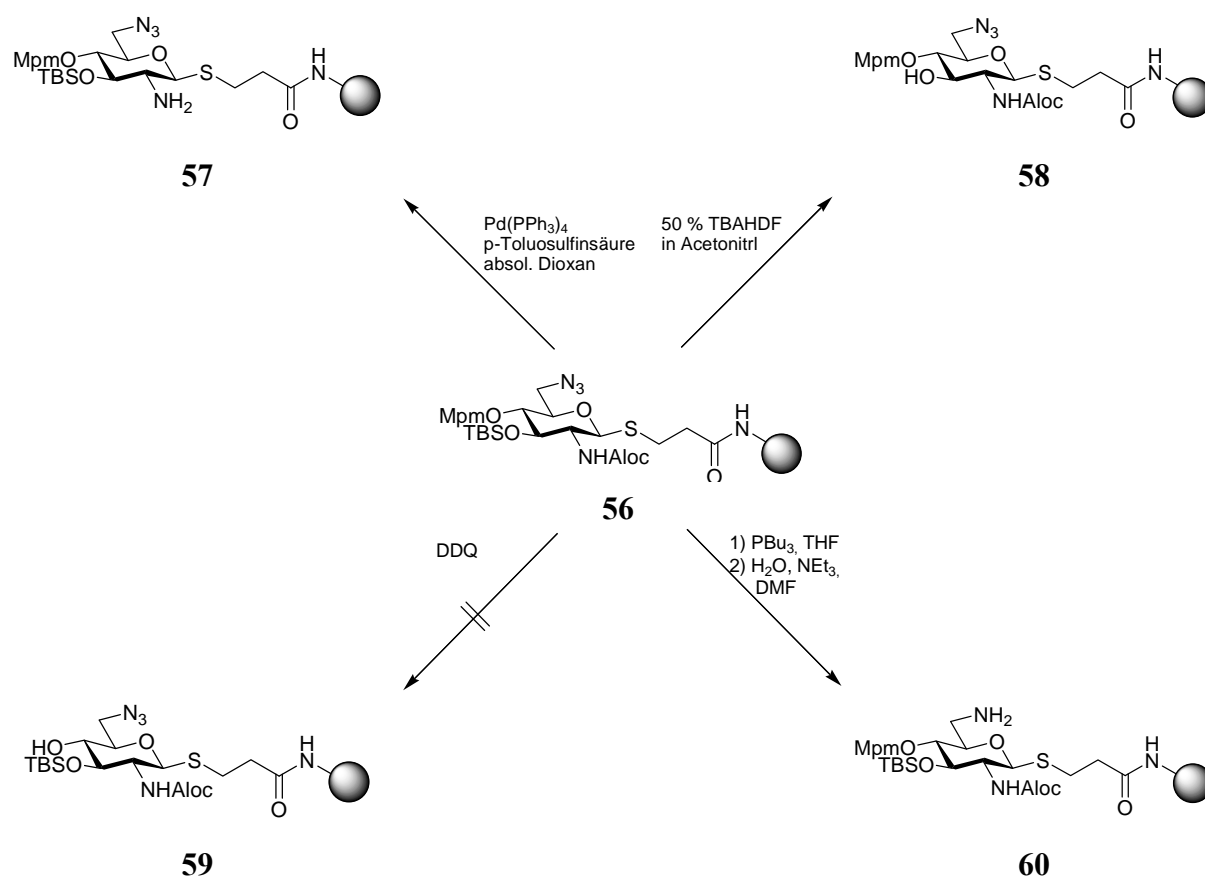
Im NMR-Spektrum sind deutlich alle Schutzgruppen bis auf die Azid-Funktion zu erkennen. Diese ist aber im FT-IR-Spektrum als Bande bei einer Wellenzahl von 2118 cm^{-1} sichtbar. Somit ist eine Überprüfung der Schutzgruppenmanipulationen am Harz über HRMAS-NMR-Spektroskopie und IR-Spektroskopie möglich.

Abb. 3-5: HRMAS-NMR-Spektrum des festphasengebunden Bausteins **56**.Abb. 3-6: FT-IR Spektrum des festphasengebunden Kohlenhydrat-Bausteins **56** (Pressling mit Kaliumbromid).

Zur Blockierung der nicht umgesetzten Aminogruppen des Polymers wird das Harz mit einem Gemisch aus Pyridin und Acetanhydrid umgesetzt (*Capping*). Hierdurch ist im Anschluss auch eine Bestimmung der Kupplungsausbeute und der Beladungsdichte aus dem HRMAS-NMR-Spektrum möglich. Dazu integriert man die Methylgruppe des Acetylamids gegen die des *tert*-Butyldimethylsilyl ethers. Die Kupplungsausbeute beträgt in diesem Fall 90 %. Daraus kann eine Beladungsdichte des Trägers mit dem Scaffold von 0.42 mmol/g ermittelt werden.

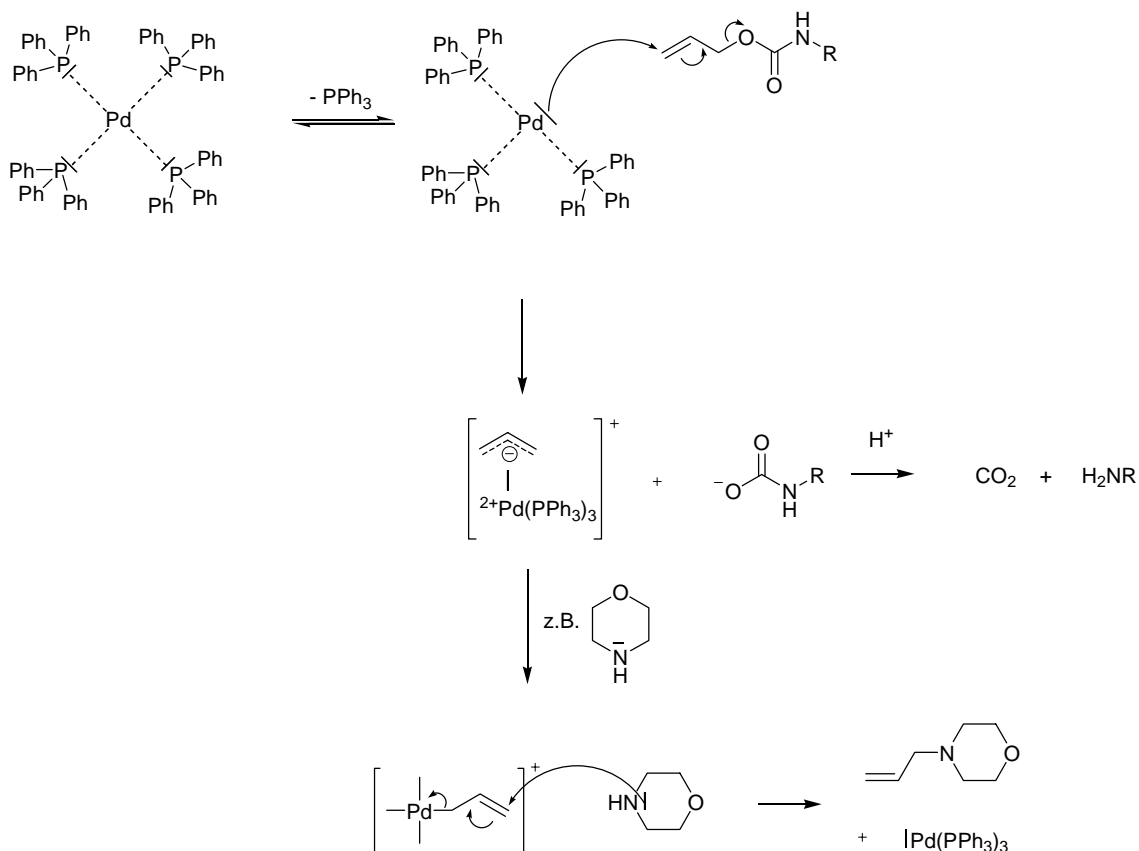
3.4 ÜBERPRÜFUNG DES SCHUTZGRUPPENKONZEPTS

Vor dem Aufbau einer Bibliothek durch Modifizierung des Scaffolds **56**, muss nun zunächst das Schutzgruppenkonzept überprüft werden. Für die Schutzgruppen in den Positionen 3, 4 und 6 sollte eine direkte Übertragungen der Bedingungen, die bereits in unserer Arbeitsgruppe entwickelt wurden, möglich sein.^{27(b)} Für die Allyloxycarbonyl-schutzgruppe an der 2-Aminofunktion muss dagegen erst eine geeignete Methode entwickelt werden.



Schema 3-12: Überprüfung des Schutzgruppenkonzepts.

Die Abspaltung der Aloc-Gruppe soll zunächst palladiumkatalysiert durchgeführt werden. Dabei muss beachtet werden, dass man eine Reaktion unter homogener Katalyse wählt, da für Festphasenreaktionen kein heterogener Katalysator verwendet werden kann.



Schema 3-13: Mechanismus der Aloc-Spaltung mit Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) und einem Abfang-Nucleophil (hier: Morpholin).

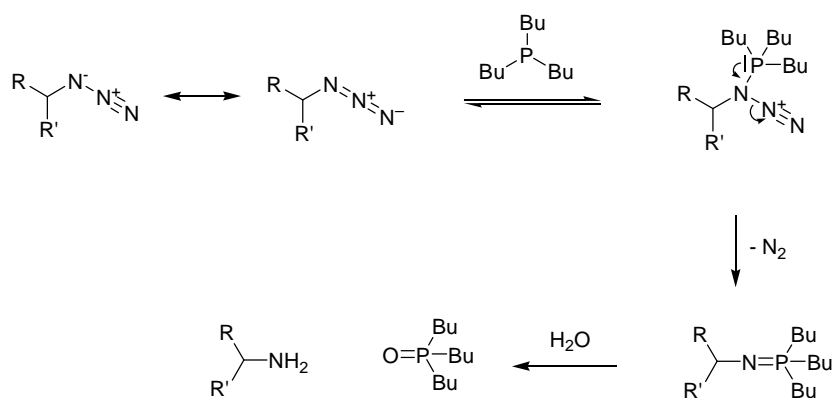
Zunächst werden in einem parallelen Ansatz zwei verschiedene Katalysatoren verwendet. Zum einen das Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) und zum anderen das etwas teurere Tris-(dibenzylidenaceton)-dipalladium(0). Bei diesem Katalysator wird im Gegensatz zum Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium im Laufe der Reaktion kein Triphenylphosphin freigesetzt, welches eventuell die Azidfunktion in der 6-Position angreifen könnte. Als Nucleophile werden für beide Katalysatoren jeweils sowohl Morpholin als auch *p*-Toluolsulfinsäure (**61**)^{26(e), 126} verwendet. Als Lösungsmittel dient in allen Fällen absolutes, entgastes Dioxan. Die Reaktionen werden

¹²⁶ M. Honda, H. Morita, I. Nagakura, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8932.

alle unter Schutzgas und Lichtausschluss durchgeführt. Anschließend werden die vier Proben ohne weitere Umsetzung zur Abspaltung des Produktes mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan in Anwesenheit von Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger behandelt. Eine Analyse durch HPLC-MS (ELS-Detektor) zeigt, dass die höchste Reinheit des Produktes mit dem Katalysatorsystem Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) mit *p*-Toluolsulfinsäure erreicht werden kann.

Die Abspaltung des TBS-Ethers in 3-Position gelingt quantitativ mit einer 50%-igen Lösung von Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid in Acetonitril, was leicht im HRMAS-Spektrum zu erkennen ist.

Die Reduktion der Azidfunktion in der 6-Position gelingt leicht unter *Staudinger*-Bedingungen in einer zweistufigen Umsetzung.¹²⁷ Zunächst wird das Azid mit Tri-*n*-butylphosphin in ein Phosphinimin überführt, welches im Anschluss mit einem Gemisch aus Triethylamin, Wasser und *N,N*-Dimethylformamid zum freien Amin hydrolysiert wird (Schema 3-14). Im FT-IR-Spektrum kann gezeigt werden, dass die Reaktion quantitativ verläuft.



Schema 3-14: Mechanismus der *Staudinger*-Reduktion.

Die oxidative Spaltung des *p*-Methoxybenzylethers in der 4-Position wird zunächst, wie schon in einer anderen Arbeit^{27(b)} für einen ähnlichen an *Rink*-Säureamid-Tentagel[®] gebundenen Kohlenhydratbaustein beschrieben, mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ) in Dichlormethan mit 10 Vol-% Wasser durchgeführt. Während der Reaktion färbt sich das Harz allerdings dunkelrot und eine NMR-spektroskopische Kontrolle zeigt, dass anscheinend kein Kohlenhydrat mehr an das Harz gebunden ist.

¹²⁷ a) H. Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635; b) E. J. Corey, B. Samuelsson, F. A. Luzzio, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 3682.

Als alternatives Lösungsmittel wird Dioxan eingesetzt. Auch hier kann das gewünschte Produkt nicht nachgewiesen werden.

Für weitere Versuche zur Modifikation der Hydroxylgruppe in der 4-Position wird erneut das 2,6-Diaminoglucose-Scaffold **29** synthetisiert. Statt an *Rink*-AMPS-Harz wird das Templat diesmal an *Rink*-Tentagel[®]-SNH₂ gebunden. Auch hier muss zunächst die Aminofunktion des *Rink*-Säureamid-Linkers mit Piperidin in *N,N*-Dimethylformamid freigesetzt werden. Die anschließende Kupplung des Kohlenhydrats mit TBTU, HOBt und Hünigs Base in *N,N*-Dimethylformamid gelingt in einer Kupplungsausbeute von 90 % (berechnet durch Integration des NMR-Spektrums nach Cappen mit Acetanhydrid). Somit wird eine Beladungsdichte des Harzes mit dem Scaffold von 0.23 mmol/g erhalten.

Erneute Versuche zur oxidativen Spaltung des *p*-Methoxybenzyl-Ethers mit DDQ zeigen, dass bei der Nutzung von Tentagel[®] als polymerem Träger quantitativ das gewünschte Produkt erhalten werden kann. Als Lösungsmittel kann sowohl Dichlormethan mit 10 Vol-% Wasser als auch Dioxan verwendet werden. Für die Synthese wird aufgrund der leichteren Handhabbarkeit Dioxan als Lösungsmittel bevorzugt.

3.5 AUFBAU EINER BIBLIOTHEK DURCH MODIFIZIERUNGEN DES SCAFFOLDS AN DER FESTEN PHASE

Nachdem gezeigt werden konnte, dass das entwickelte Schutzgruppenkonzept eine selektive Deblockierung jeder einzelnen Position erlaubt, besteht der nächste Schritt im Aufbau kleinerer Bibliotheken, in denen zunächst nur jeweils eine Position selektiv deblockiert und anschließend funktionalisiert wird.

3.5.1 AMIDBILDUNG IN DER 2-POSITION

Zuerst werden Versuche zur Derivatisierung der 2-Aminofunktion durchgeführt. Dazu wird zunächst an einer Probe von 2.40 g des beladenen *Rink*-AMPS-Harz **56** die Allyloxycarbonylgruppe katalytisch mit Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) und *p*-Toluolsulfinsäure als Abfangnucleophil in absolutem, entgastem Dioxan durchgeführt. Im Anschluss wird das beladene Harz in 16 mit Polyethylenfritten verschlossenen Spritzen in Portionen von jeweils 120 mg aufgeteilt. Die freie Aminogruppe wird danach unter Aktivierung durch TBTU, HOBt und Hünigs Base mit 16 verschiedenen α -Aminosäuren umgesetzt.

TBTU kann entweder als Guanidiniumsalz oder als Uroniumsalz vorliegen,¹²⁸ wobei das Uroniumsalz das effektivere Kupplungsreagenz darstellt. Um eine Racemisierung der zu kuppelnden α -Aminosäuren zu verhindern wird zusätzlich HOBt als Additiv zugegesetzt.

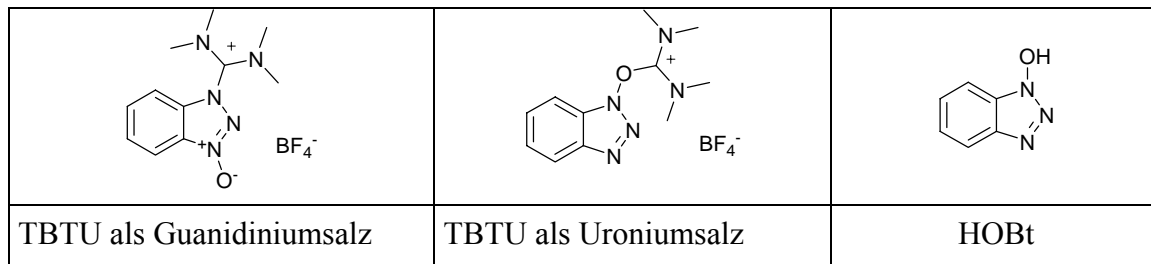
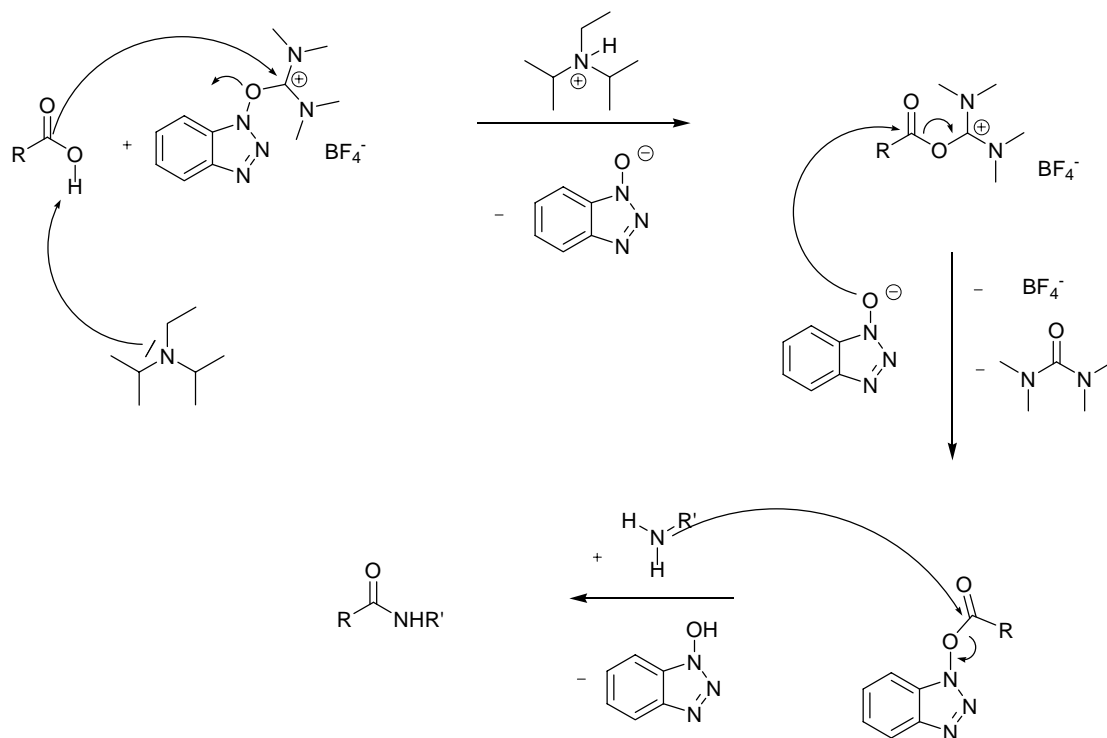


Abb. 3-7: TBTU in Form des Guanidinium- und des Uroniumsalzes

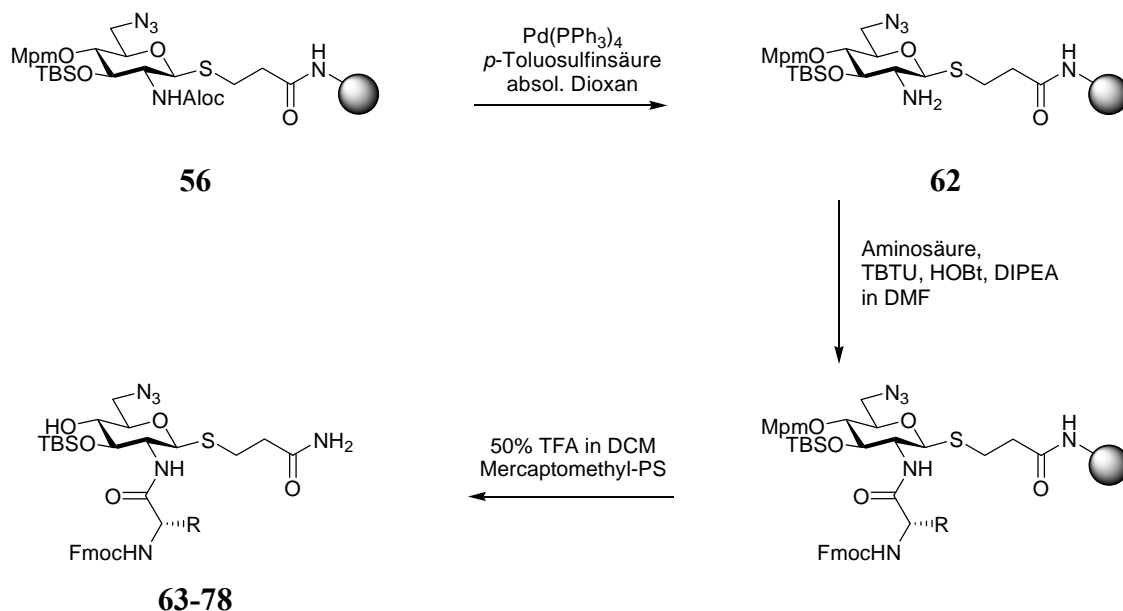


Schema 3-15: Mechanismus der Kupplung von Aminosäuren unter Verwendung von TBTU und HOBt.

¹²⁸ I. Abdelmoty, F. Albericio, L. A. Carpino, B. M. Foxman, S. A. Kates, *Lett. Pept. Sci.*, **1994**, 57.

Beim Mechanismus geht man davon aus, dass sich zunächst unter Aktivierung mit Hünigs Base ein *O*-Acylharnstoff bildet, der durch die Abspaltung von *N,N,N',N'*-Tetramethylharnstoff und eine erneute Umsetzung mit einem HOBt-Anion in den eigentlichen Aktivester übergeht.

Damit auch ein orthogonaler Schutz der neu eingeführten Gruppe gewährleistet ist, werden Fmoc-geschützte α -Aminosäuren eingesetzt, deren Seitenketten mit säurelabilen Schutzgruppen, wie der *tert*-Butyloxycarbonyl-(Boc-)Gruppe, dem *tert*-Butylester, dem Triphenylmethylester oder dem Pentamethylchromansulfonsäureester blockiert sind. Diese werden während der Abspaltung der derivatisierten Kohlenhydrate vom Harz ebenfalls gespalten, so dass man als Produkte Aminozucker erhält, deren Seitenketten nicht blockiert sind, die aber am N-Terminus noch mit Fmoc geschützt sind. Als α -Aminosäuren dienen dabei Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Thr(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Asp(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Tyr(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-His(Trt)-OH und Fmoc-Trp(Trt)-OH. Es werden hier ausschließlich α -Aminosäuren verwendet, da diese durch ihre α -Aminofunktion und - bei geeigneter Wahl der Aminosäure - auch durch die Seitenkette interessante Strukturmerkmale für die RNA-Bindung bieten.



Schema 3-16: Kupplung der α -Aminosäuren an die 2-Aminofunktion.

Die Ergebnisse dieses Parallelexperiments sind in Tabelle 3-5 dargestellt. Die Abspaltung der funktionalisierten Kohlenhydrate mit 50%-iger Trifluoressigsäure in

Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger liefert die Säureamide **63** bis **78** in den angegebenen Ausbeuten und Reinheiten.

Tabelle 3-5: In 2-Position mit α -Aminosäuren derivatisierte Kohlenhydratderivate (*: UV-Detektion bei 254 nm (ELS-Detektion)).

	R	R'	Rohausbeute	HPLC-Reinheit*	Ausbeute nach HPLC
63	Fmoc-Ala	TBS	75 %	49 % (20 %)	2.4 mg (7 %)
64	Fmoc-Val	TBS	74 %	26 % (30 %)	2.0 mg (6 %)
64'		H		39 % (48 %)	2.0 mg (7 %)
65	Fmoc-Leu	TBS	128 %	42 % (41 %)	3.6 mg (10 %)
65'		H		40 % (37 %)	1.1 mg (4 %)
66	Fmoc-Thr	TBS	96 %	69 % (68 %)	4.2 mg (12 %)
67	Fmoc-Cys	TBS	121 %	17 % (79 %)	8.9 mg (25 %)
68	Fmoc-Met	TBS	100 %	-	-
68'		H		-	-
69	Fmoc-Arg	TBS	75 %	-	-
70	Fmoc-Lys	TBS	87 %	58 % (41 %)	-
71	Fmoc-Asp	TBS	86 %	61 % (77 %)	-
72	Fmoc-Asn	TBS	85 %	60 % (53 %)	1.7 mg (4 %)
72'		H		14 % (21 %)	-
73	Fmoc-Gln	TBS	105 %	78 % (12 %)	2.0 mg (5 %)
73'		H		5 % (3 %)	-
74	Fmoc-Phe	TBS	61 %	32 % (19 %)	1.8 mg (5 %)
74'		H		43 % (48 %)	2.1 mg (6 %)
75	Fmoc-Tyr	TBS	86 %	48 % (85 %)	2.4 mg (5 %)
75'		H		43 % (3 %)	-
76	Fmoc-Pro	TBS	74 %	20 % (47 %)	-
76'		H		49 % (24 %)	-
77	Fmoc-His	TBS	78 %	12 % (36 %)	1.6 mg (4 %)
78	Fmoc-Trp	TBS	98 %	32 % (6 %)	2.5 mg (6 %)
78'		H		19 % (10 %)	-

Das Rohprodukt kann in den meisten Fällen in hohen bis sehr hohen Ausbeuten isoliert werden. Neben dem erwarteten Produkt kann bei einigen Reaktionen als Nebenprodukt ebenfalls das in 3-Position desilylierte Derivat nachgewiesen, zum Teil sogar isoliert werden. Man kann davon ausgehen, dass die Kupplung der Aminosäure an die freie Aminofunktion in allen Fällen funktioniert. Die Spaltung des Silylethers erfolgt vermutlich erst bei der Abspaltung der Substanzen vom polymeren Träger. Es kann allerdings kein Zusammenhang zwischen der Größe oder den elektronischen

Eigenschaften der eingeführten Aminosäure und der Tendenz zur Silylether-Spaltung erkannt werden.

Bei der Reinigung der Rohprodukte mittels semi-präparativer HPLC kann in keinem Fall die aufgrund der Substanzmenge an Rohprodukt und dessen Reinheit zu erwartende Menge des Produktes isoliert werden. Die Reinigung der Produkte ist jedoch für die geplanten Zellassays zur Überprüfung der biologischen Aktivität von großer Bedeutung und wird daher bei allen Produkten durchgeführt, sofern das gewünschte Produkt in einer HPLC-Reinheit von mehr als 10 % im Rohprodukt nachgewiesen werden kann.

Beim Einsatz von Fmoc-Met-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH und Fmoc-Pro-OH als α -Aminosäure kann das Produkt zwar massenspektrometrisch nachgewiesen werden, die Reinigung der Substanzen durch semi-präparativer HPLC gelingt allerdings nicht.

3.5.2 DERIVATISIERUNG DER 3-POSITION

Für die Synthese von Substanzen, die an der 3-Hydroxylfunktion modifiziert werden, sollen hier zwei Funktionalisierungsmethoden überprüft werden. Zum einen wird eine Serie von 11 Carbamaten durch die Reaktion der Hydroxylgruppe mit verschiedenen Isocyanaten hergestellt und zum anderen werden unter den von *Steglich*¹²⁹ entwickelten Methoden 7 verschiedene Carbonsäuren zur Darstellung von Estern eingesetzt.

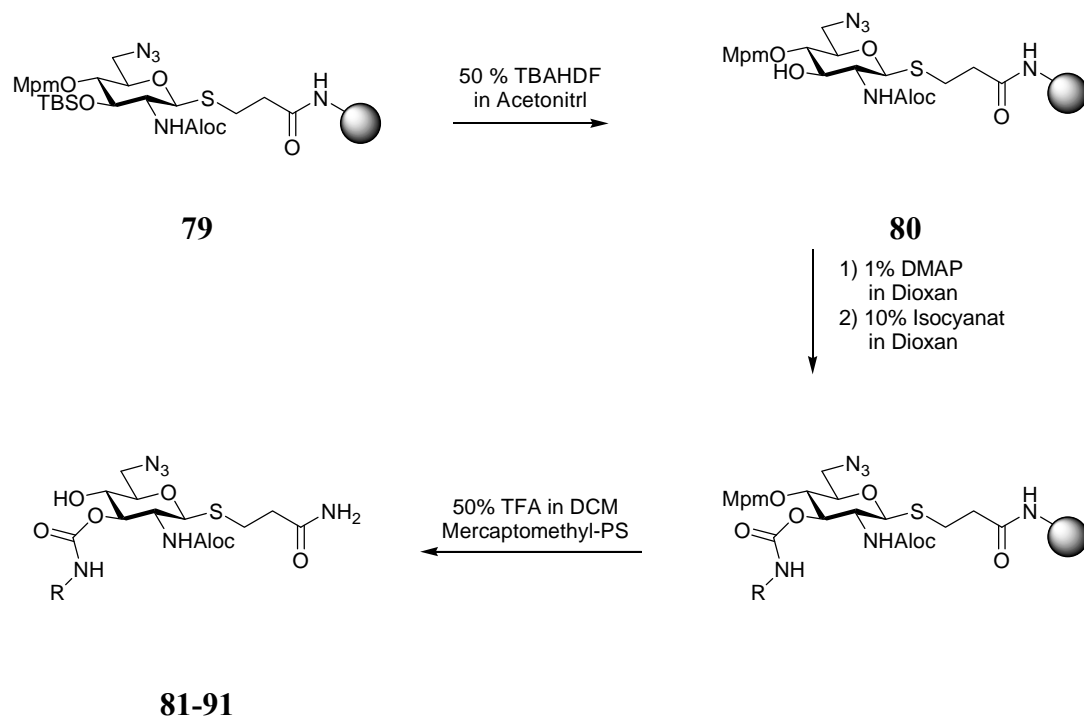
3.5.2.1 CARBAMOYLIERUNG DER 3-POSITION

Zur Carbamat-Bildung in der 3-Position des Scaffolds wird zunächst ein Parallelexperiment mit 6 verschiedenen Isocyanaten durchgeführt.

Hierfür werden 6 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 ml-Spritzen mit jeweils 200 mg des mit Kohlenhydrat beladenen *Rink*-Tentagel-S-NH₂[®] **79** befüllt. Bei allen Proben wird nun zunächst die 3-Hydroxylfunktion durch Spaltung des Silylethers mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid-Lösung freigesetzt. Im Anschluss erfolgt eine Carbamoylierung mit verschiedenen Isocyanaten unter Katalyse durch 4-Dimethylaminopyridin in Dioxan.¹³⁰ Als Isocyanate werden 4-Cyanophenylisocyanat, Benzylisocyanat, 4-Chlorphenylisocyanat, 3,4-Dichlorphenylisocyanat, 3-Fluorphenylisocyanat und 4-Fluorphenylisocyanat eingesetzt. Wie schon zuvor erfolgt die Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger unter stark sauren Bedingungen mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan.

¹²⁹ B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 556.

¹³⁰ W. Steglich, G. Höfle, *Angew. Chem.* **1969**, *81*, 1001.



Schema 3-17: Carbamylierung der Hydroxylfunktion in der 3-Position.

Die Ergebnisse der Parallelexperimente werden in Tabelle 3-6 dargestellt. Die Rohausbeuten sind im Vergleich zur vorherigen Bibliothek etwas geringer und auch die Reinheiten laut HPLC sind deutlich geringer. Dies ist allerdings mit der Tatsache zu begründen, dass die synthetisierten Derivate mit den Mitteln der UV-Detektion nur schwer nachzuweisen sind. Die Möglichkeit der ELS-Detektion steht zu diesem Zeitpunkt leider nicht zur Verfügung. Die Ausbeuten an reinem Produkt sind in etwa mit den zuvor bei der Amidbildung erreichten Ausbeuten zu vergleichen.

Tabelle 3-6: In 3-Position eingeführte Carbamate unter Nutzung von Tentage1[®] als polymerem Träger (*: UV-Detektion bei 214 nm; **: doppelt carbamoyliertes Produkt).

	R	Rohausbeute	HPLC-Reinheit*	Ausbeute nach HPLC
81	4-Cyanophenyl	52 %	16 %**	0.7 mg (3 %) **
82	Benzyl	64 %	18 %**	-
83	4-Chlorphenyl	74 %	7 %	2.5 mg (12 %)
84	3,4-Dichlorphenyl	65 %	29 %	1.6 mg (7 %)
85	3-Fluorphenyl	72 %	12 %	1.4 mg (7 %)
86	4-Fluorphenyl	91 %	8 %	3.1 mg (15 %)

Nutzt man 4-Cyanphenylisocyanat oder Benzylisocyanat, können statt der gewünschten Carbamate nur die Derivate **81'** und **82'** nachgewiesen werden, bei denen vermutlich eine Allophanat-Bildung stattgefunden hat.¹³¹ Im ersten Fall kann die Substanz auch isoliert werden. Diese Weiterreaktion war auch schon in einer früheren Arbeit^{26(e)} beobachtet worden.

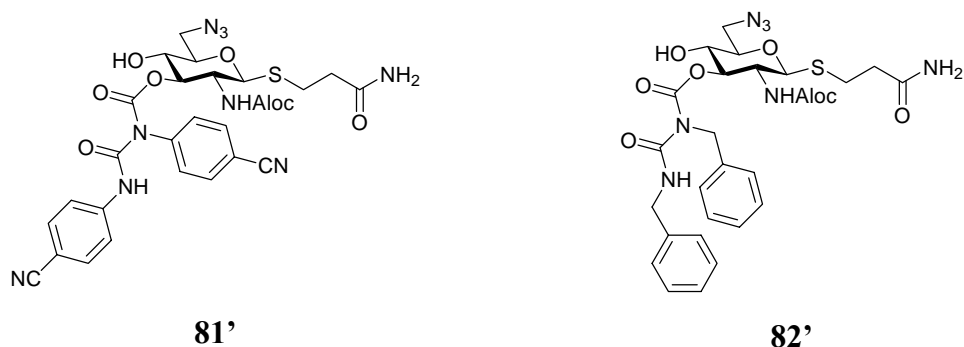


Abb. 3-8: Bei der Reaktion mit 4-Cyanophenylisocyanat bzw. Benzylisocyanat gebildete Allophanate.

In einer zweiten Versuchsreihe werden fünf weitere Isocyanate für die Carbamatbildung eingesetzt: 4-Methylmercaptophenylisocyanat, Ethyl-4-isocyanatobenzoat, 4-Ethoxyphenylisocyanat, 3-Acetylphenylisocyanat und 4-Isopropylphenylisocyanat. Anstelle des Tentagels[®] wird nun das *Rink*-AMPS-Harz als Trägermaterial verwendet. Dazu werden in 5 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 ml-Spritzen jeweils 120 mg des beladenen AMPS-Harzes **56** eingewogen. Die Deblockierung, Carbamoylierung und Abspaltung werden wie in der vorhergehenden Versuchsreihe mit den an Tentagel[®] gebundenen Proben durchgeführt.

¹³¹ a) M. R. Salmon, G. Powell, *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 3507; b) A. J. Bloodworth, A. G. Davies, *J. Chem. Soc.* **1965**, 6858; c) J. C. Stowell, *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 3056.

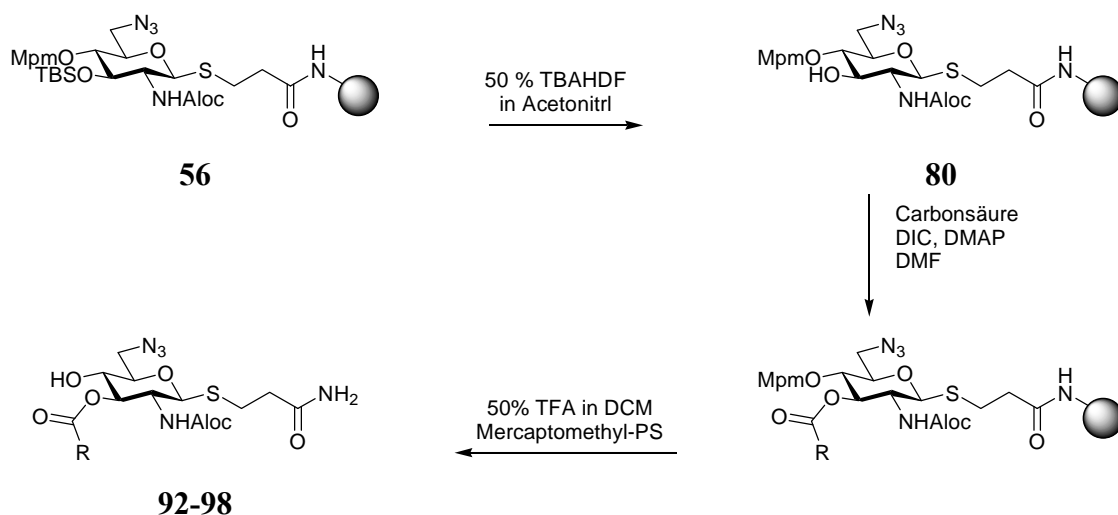
Tabelle 3-7: In 3-Position eingeführte Carbamate unter Nutzung von AMPS als polymerem Träger (*: UV-Detektion bei 254 nm).

	R	Rohausbeute	HPLC-Reinheit*	Ausbeute nach HPLC
87	4-Methyl- mercaptophenyl	84 %	59 %	0.8 mg (3 %)
88	4-Ethoxy- carbonylphenyl	84 %	62 %	2.0 mg (7 %)
89	4-Ethoxyphenyl	78 %	61 %	2.4 mg (9 %)
90	3-Acetylphenyl	40 %	< 5 %	-
91	4-Isopropylphenyl	>100 %	42 %	2.3 mg (9 %)

Wie in Tabelle 3-7 zu sehen ist, sind sowohl die Ausbeuten als auch die Reinheiten mit denen vergleichbar, die mit Tentagel[®] als polymerem Träger erreicht werden konnten. Eine Ausnahme stellt hierbei allerdings das Produkt **90** dar, das zwar durch ESI-Massenspektrometrie nachgewiesen werden kann, das aber keinem Peak im analytischen HPLC-Chromatogramm zuzuordnen ist.

3.5.2.2 ACYLIERUNG DER 3-POSTION

Neben einer Carbamatbildung ist auch eine Veresterung der Hydroxylgruppe in der 3-Position von Interesse. Dazu werden erneut in 8 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 ml-Spritzen jeweils 120 mg des mit Kohlenhydrat beladenen *Rink*-Amid-Harz **56** eingewogen. Diese Proben werden dann in einer Parallelsynthese zunächst zur Spaltung des Silylethers mit einer 50%-igen Lösung von Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid in Acetonitril behandelt und anschließend unter den Bedingungen einer *Steglich*-Acylierung unter Aktivierung mit *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid und 4-Dimethylaminopyridin mit 8 Carbonsäuren umgesetzt. Als Carbonsäuren werden hierfür Phenylelessigsäure, 4-Nitrophenylssigsäure, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Thr(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH und Fmoc-His(Trt)-OH verwendet. Die Abspaltung der Produkte vom Polymer erfolgt erneut mit Trifluoressigsäure mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.



Schema 3-18: *Steglich*-Acylierung in der 3-Position.

Wie in Tabelle 3-8 zu erkennen ist, erhält man bei dieser Parallelsynthese eine Reihe von Produkten in sehr uneinheitlichen Ausbeuten und Reinheiten. Im Allgemeinen verläuft die Acylierung anscheinend nicht so problemlos wie die Einführung von Carbamaten bzw. die Kupplung von Aminosäuren an eine freie Aminofunktion. In den meisten Fällen kann das gewünschte Produkt nur nachgewiesen, nicht aber isoliert werden. Ausnahmen stellen die Produkte aus der Veresterung mit Phenyllessigsäure, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH und Fmoc-Met-OH dar. Diese können in hohen Ausbeute und mit guten Reinheiten erhalten werden.

Tabelle 3-8: Produkte der *Steglich*-Acylierung in der 3-Position (*: UV-Detektion bei 254 nm (ELS-Detektion)).

	R	Rohausbeute	HPLC-Reinheit*	Ausbeute nach
92	Phenylacetyl	68 %	59 %	1.2 mg (5 %)
93	4-Nitrophenylacetyl	54 %	< 5 %	-
94	Fmoc-Gly	81 %	79 % (85 %)	1.7 mg (5 %)
95	Fmoc-Ala	58 %	78 %	1.5 mg (6 %)
96	Fmoc-Met	88 %	65 % (92 %)	3.0 mg (8 %)
97	Fmoc-Thr	85 %	< 5 %	-
98	Fmoc-Gln	89 %	22 %	-

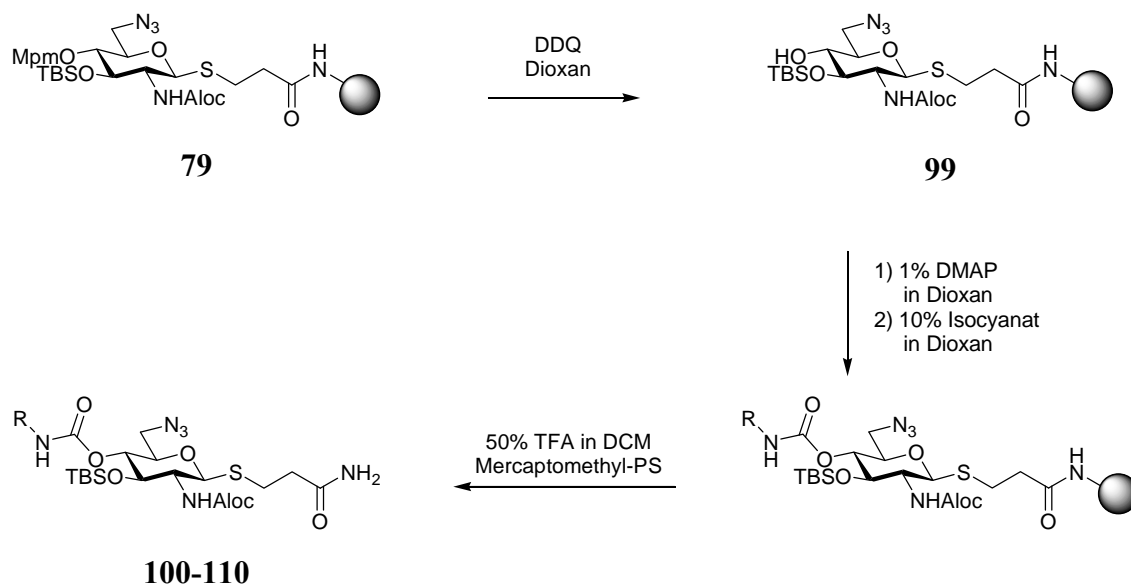
Auch durch Veränderung der Reaktionsbedingungen für die restlichen Reaktionen, wie einer Erhöhung der Reaktionsdauer oder dem Einsatz von größeren Überschüssen an Reagenzien können die Ergebnisse nicht verbessert werden.

3.5.3 DERIVATISIERUNG DER 4-POSITION

Wie schon zuvor die Hydroxylfunktion in der 3-Stellung soll nun auch die Hydroxylgruppe in der 4-Position zunächst deblockiert und anschließend sowohl mit Isocyanaten als auch mit Carbonsäuren zur Reaktion gebracht werden.

3.5.3.1 CARBAMOYLIERUNG DER 4-POSITION

Für eine Parallelsynthese von 11 Carbamaten werden zunächst jeweils 200 mg des mit Kohlenhydrat beladenen Tentagels[®] **79** in 11 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 ml-Spritzen eingewogen. Zur Deblockierung der 4-Hydroxylfunktion wird das Polymer dreimal eine Stunde mit einer Lösung von 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ) in Dioxan behandelt. Nach dem Waschen der Proben und Quellen des Harzes in einer 1%-igen Lösung von 4-Dimethylaminopyridin in Dioxan, erfolgt die Umsetzung der freien OH-Funktion mit jeweils einer 10%-igen Lösung eines der 11 Isocyanate (4-Cyanophenylisocyanat, 4-Chlorphenylisocyanat, 3,4-Dichlorphenylisocyanat, 3-Fluorphenylisocyanat, 4-Fluorphenylisocyanat, 4-Nitrophenylisocyanat, 4-Methylmercaptophenylisocyanat, Ethyl-4-isocyanatobenzoat, 4-Ethoxyphenylisocyanat, 3-Acetylphenylisocyanat und 4-Isopropylphenylisocyanat) in Dioxan. Die so erhaltenen Carbamate werden in gewohnter Weise mit Trifluoressigsäure vom polymeren Träger abgespalten.



Schema 3-19: Deblockierung und Carbamoylierung der 4-OH-Funktion.

Tabelle 3-9: Produkte der Carbamoylierung der 4-Hydroxyfunktion (*: UV-Detektion bei 214 nm für **100** bis **105** bzw. bei 254 nm für **106** bis **110** (ELS-Detektion)).

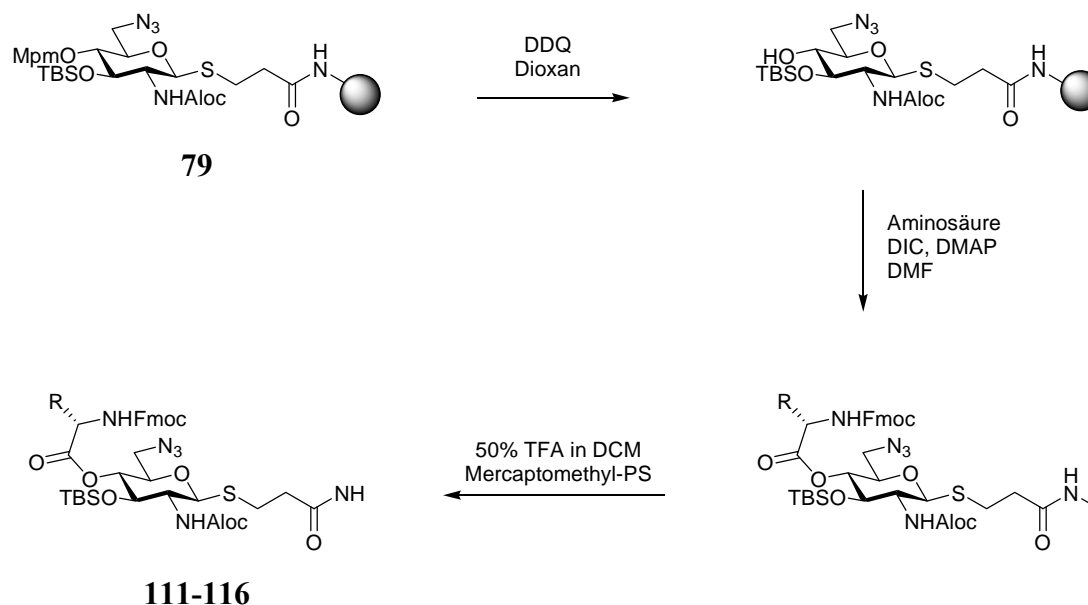
	R	Rohausbeute	HPLC-	Ausbeute nach HPLC
100	4-Cyanophenyl	63 %	92 %	13.0 mg (45 %)
101	4-Chlorphenyl	68 %	63 %	10.4 mg (35 %)
102	3,4-Dichlorphenyl	77 %	90 %	12.6 mg (40 %)
103	3-Fluorphenyl	63 %	63 %	6.6 mg (23 %)
104	4-Fluorphenyl	50 %	80 %	6.5 mg (23 %)
105	4-Nitrophenyl	64 %	< 5 %	-
106	4-Methyl- mercaptophenyl	> 100 %	68 % (65 %)	1.4 mg (5 %)
106'			32 % (34 %)	2.1 mg (9 %)
107	4-Ethoxy- carbonylphenyl	90 %	81 % (82 %)	11.6 mg (42 %)
107'			12 % (11 %)	0.4 mg (2 %)
108	4-Ethoxyphenyl	> 100 %	87 % (62 %)	5.3 mg (20 %)
108'			6 % (5 %)	-
109	3-Acetylphenyl	60 %	95 % (98 %)	9.8 mg (38 %)
110	4-Isopropylphenyl	48 %	95 % (95 %)	5.7 mg (22 %)

Die Ergebnisse dieser Parallelsynthese sind in Tabelle 3-9 zusammengefasst. Es ist leicht zu erkennen, dass die Ausbeuten an reinem Produkt deutlich besser als bei den vorangegangenen Versuchen sind. Dies ist nur schwer zu erklären, da die Rohausbeuten im gleichen Bereich liegen und auch die bestimmten HPLC-Reinheiten nur etwas höher sind. Eine Ausnahme stellt die Reaktion mit 4-Nitrophenylisocyanat dar. Im Rohprodukt kann zwar die Masse des gewünschten Produktes nachgewiesen werden, allerdings kann diese Masse im HPLC-Chromatogramm keinem Peak zugeordnet werden. Vermutlich war das durch die Nitrogruppe aktivierte Isocyanat durch eine zu lange Lagerung zum Teil hydrolysiert.

3.5.3.2 ACYLIERUNG DER 4-POSITION

Neben der Einführung von Carbamaten in der 4-Stellung wird in einem weiteren Parallelexperiment die Acylierung unter *Steglich*-Bedingungen untersucht. Hierfür bereitet man wie auch schon für die vorhergehende Versuchsreihe zunächst 6 mit Polyethylenfritten verschlossene und mit jeweils 120 mg mit Kohlenhydrat beladenem *Rink*-Tentagel-S-NH₂[®] Harz **79** befüllte 5 ml-Spritzen vor. Im ersten Schritt wird der *p*-Methoxybenzylether unter oxidativen Bedingungen mit DDQ in Dioxan gespalten. Im zweiten Schritt folgt die Umsetzung nach *Steglich* mit 6 verschiedenen Aminosäuren (Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Thr(*t*-Bu)-OH und Fmoc-Gln(Trt)-OH) unter Aktivierung durch *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid und

4-Dimethylaminopyridin, woraufhin die Derivate mit Trifluoressigsäure vom Polymer abgespalten werden.



Schema 3-20: Deblockierung und *Steglich*-Acylierung der 4-Hydroxylfunktion.

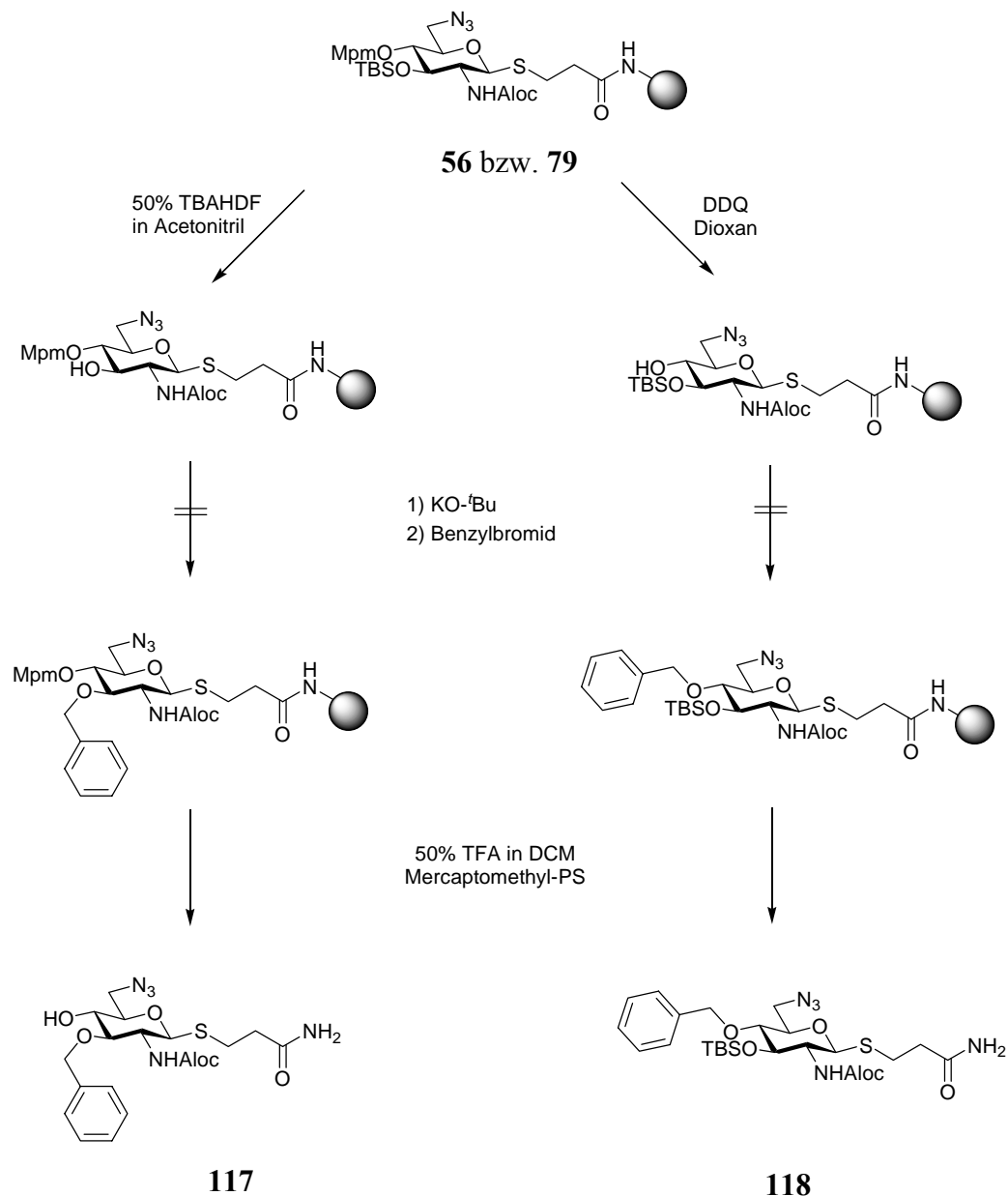
Die Ergebnisse der Versuchsreihe sind in Tabelle 3-10 zusammengefasst. Es fällt auf, dass bei diesen Experimenten die Rohausbeuten niedrig sind. Auch die Reinheit der Produkte entspricht nicht den Erfahrungen aus den vorhergehenden Versuchen. Zum Teil kann selbst das Produkt nicht nachgewiesen werden. Vermutlich ist das Trägerharz entweder bei der oxidativen Spaltung des *p*-Methoxybenzylethers oder durch falsche Lagerung so stark geschädigt worden, dass das Harz kollabiert ist oder der *Rink*-Anker gespalten wurde.

Tabelle 3-10: Produkte der *Steglich*-Acylierung der 4-Hydroxylgruppe (*: UV-Detektion bei 254 nm (ELS-Detektion)).

	R	Rohausbeute	HPLC-Reinheit*	Ausbeute nach HPLC
111	Fmoc-Gly	29 %	46 % (39 %)	1.7 mg (4 %)
112	Fmoc-Ala	17 %	6 %	-
113	Fmoc-Leu	33 %	-	-
114	Fmoc-Met	39 %	< 5 %	-
115	Fmoc-Thr	37 %	-	-
116	Fmoc-Gln	39 %	-	-

3.5.4 VERSUCHE ZUR ETHERBILDUNG

Da Ether unter physiologischen Bedingungen im Allgemeinen stabiler als Ester sind werden auch Versuche zur *Williamson*-Veretherung der Hydroxylgruppen in der 3- und 4-Stellung unternommen. Für eine erste Untersuchung soll zunächst nach Spaltung der Schutzgruppe eine Veretherung mit Benzylbromid durchgeführt werden (Schema 3-21). Dazu müssen zuerst die jeweiligen Schutzgruppen in der 3- oder 4-Position entfernt werden. Danach wird mit Kalium-*tert*-butylat in *N,N*-Dimethylformamid deprotoniert, wobei eine Schwarzfärbung des Polymers beobachtet wird. Diese verschwindet bei der darauf folgenden Behandlung mit Benzylbromid. Wie in den vorhergehenden Versuchen werden die derivatisierten Kohlenhydrate mit Trifluoressigsäure vom Polymer abgespalten. Wider Erwarten kann in beiden Fällen bei der anschließenden HPLC-MS-Chromatographie kein Produkt nachgewiesen werden. Statt dessen sind nur die Massen von kleineren Fragmenten zu erkennen, die nicht zuzuordnen sind.



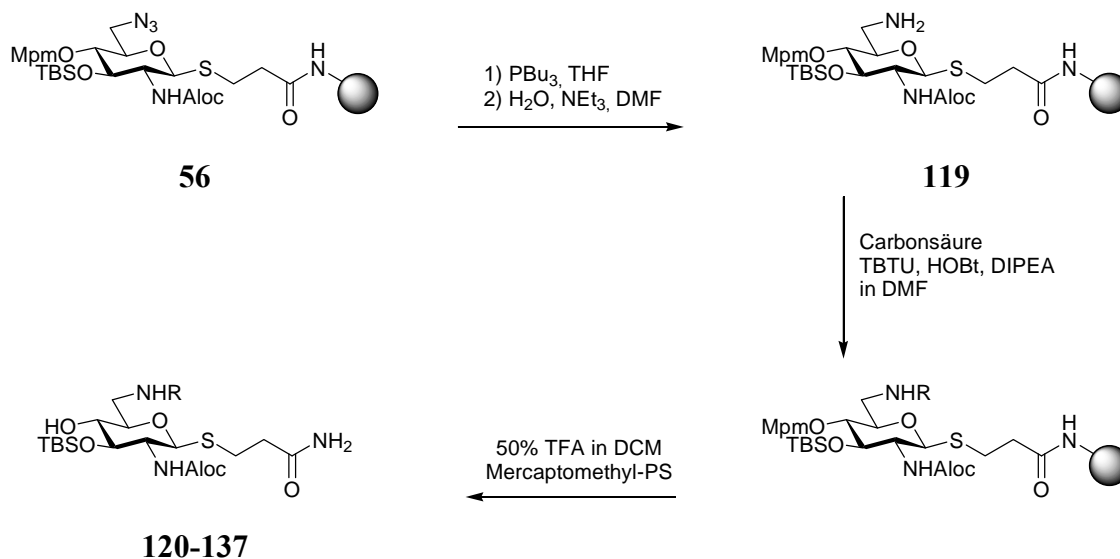
Schema 3-21: Versuch zur Veretherung der 3- und 4-Hydroxylgruppe.

3.5.5 AMIDBILDUNG IN DER 6-POSITION

Zum Schluss wird die Anbindung von Aminosäuren über die Aminofunktion in der 6-Position untersucht, die in Form eines Azids maskiert vorliegt. Dafür stehen zwei Möglichkeiten zur Verfügung. Zum einen gibt es die Möglichkeit, in einer klassischen zweistufigen Synthese zunächst das Azid in einer *Staudinger*-Reaktion zum Amin zu reduzieren und dieses anschließend mit einer Carbonsäure umzusetzen. Alternativ kann

auch eine einstufige Synthese unter modifizierten *Staudinger*-Bedingungen durchgeführt werden, bei der auf einen strengen Ausschluss von Wasser zu achten ist.¹³² Diese einstufige Synthese erspart zwar Zeit und Arbeit, es sind allerdings deutlich größere Überschüsse an Tributylphosphin nötig, da ein vollständiger Ausschluss von Wasser zum einen durch die Festphasen-Synthese erschwert wird und zum anderen die Kupplungsreagenzien nicht wasserfrei sind. So wird im Allgemeinen HOBt-Monohydrat für die Aktivesterbildung eingesetzt.

Für die folgende Parallelsynthese wird daher die zweistufige Variante bevorzugt. Dafür werden zunächst 18 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 ml-Spritzen mit 120 mg des mit Kohlenhydrat beladenen *Rink*-AMPS-Polymers **56** befüllt. Die Reduktion der Azidfunktion zum Amin erfolgt nach *Staudinger* durch Umsetzung mit Tri-*n*-butylphosphin und anschließende Hydrolyse des entstandenen Phospinimins. Für die Amidbildung werden erneut TBTU, HOBt und Hünigs Base als Kupplungsreagenzien gewählt. Als Carbonsäuren werden Phenylelessigsäure, *N*-(Boc)-Anthransäure, *N*-(Boc)-4-Aminobenzoessäure, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Thr(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Asp(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Tyr(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Trp(Trt)-OH und Fmoc-His(Trt)-OH eingesetzt.



Schema 3-22: *Staudinger*-Reduktion und Amidbildung in der 6-Position.

¹³² J. P. Malkinson, R. A. Falconer, I. Toth, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5249.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3-11 zusammengefasst. Bis auf zwei Ausnahmen (R = Fmoc-Lys **130** und R = Fmoc-Pro **135**) werden sehr gute Rohausbeute erhalten, zum Teil auch über 100 %. Dies ist damit zu begründen, dass das Produkt nach der Abspaltung meist noch verunreinigt ist. Die HPLC-Reinheiten bewegen sich meist zwischen 40 % und 80 %.

Tabelle 3-11: In 6-Position modifizierte Saccharide (*: UV-Detektion bei 254 nm (ELS-Detektion)).

	R	3-Position	Rohausbeute	HPLC-Reinheit	Ausbeute nach HPLC
120	Phenylacetyl	O-TBS	> 100 %	41 % (96 %)	11.2 mg (38 %)
121	2-Aminobenzoyl	O-TBS	92 %	74 % (70 %)	2.0 mg (7 %)
122	4-Aminobenzoyl	O-TBS	82 %	51 % (ca. 50 %)	3.0 mg (10 %)
123	Fmoc-Gly	O-TBS	76 %	82 % (82 %)	5.8 mg (16 %)
124	Fmoc-Ala	O-TBS	81 %	74 % (47 %)	4.4 mg (12 %)
125	Fmoc-Leu	O-TBS	99 %	76 % (78 %)	9.3 mg (23 %)
		OH		8 % (7 %)	-
126	Fmoc-Thr	O-TBS	> 100 %	85 % (79 %)	12.7 mg (32 %)
127	Fmoc-Cys	O-TBS	> 100 %	-	-
128	Fmoc-Met	O-TBS	>100 %	85 % (82 %)	12.0 mg (29 %)
129	Fmoc-Arg	O-TBS	82 %	57 % (20 %)	-
130	Fmoc-Lys	O-TBS	30 %	69 %	-
131	Fmoc-Asp	O-TBS	88 %	88 % (90 %)	13.2 mg (33 %)
132	Fmoc-Asn	O-TBS	> 100 %	80 %	5.3 mg (13 %)
133	Fmoc-Gln	O-TBS	> 100 %	88 %	6.1 mg (15 %)
134	Fmoc-Tyr	O-TBS	98 %	84 % (98 %)	14.1 mg (33 %)
135	Fmoc-Pro	O-TBS	50 %	51 %	3.8 mg (10 %)
		OH		34 %	2.1 mg (6 %)
136	Fmoc-Trp	O-TBS	76 %	23 %	2.3 mg (5 %)
137	Fmoc-His	O-TBS	86 %	53 %	4.5 mg (11 %)

Auffallend sind die guten Ergebnisse für die Kupplung mit den geschützten Aminosäuren Leucin, Threonin, Methionin, Asparaginsäure und Tyrosin, bei denen das Produkt nach der Reinigung durch semipräparative HPLC in einer Ausbeute von mehr als 20 %, im Fall von Asparagin und Tyrosin sogar von mehr als 30 % isoliert werden kann.

Wie schon zuvor in Kapitel 3.5.1 zu sehen war, bereiten die mit basischen Aminosäuren wie Arginin und Lysin funktionalisierten Kohlenhydrate Probleme und können nicht

isoliert werden, obwohl sie laut analytischer HPLC bzw. HPLC-MS im Produktgemisch nachgewiesen werden können.

3.5.6 SYNTHESE VON KOHLENHYDRAT-PEPTID-KONJUGATEN

Nachdem die Kupplung von α -Aminosäuren an die Aminofunktionen des Saccharid-Templats gute Ergebnisse liefert, sollte auch die Synthese von Konjugaten aus dem Kohlenhydrat und einem Di- oder Tripeptid möglich sein. Dies wird beispielhaft durch die Darstellung jeweils eines Derivates mit einem Dipeptid-Rest (Fmoc-Ala-Ala) in entweder der 2- (**138**) oder 6-Position (**140**) und eines Derivates mit einem Tripeptid-Rest (Fmoc-Ala-Ala-Ala) in je einer der beiden Stellungen (**139** und **141**) gezeigt.

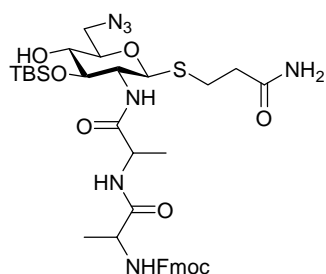
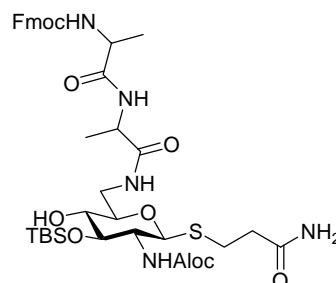
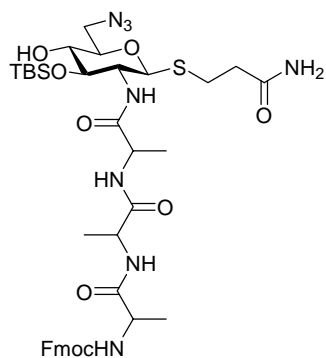
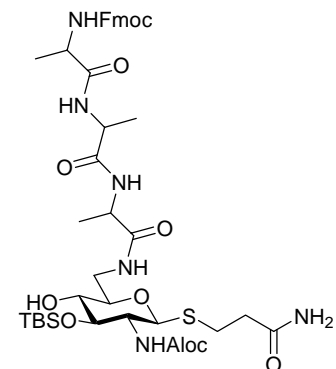
**138****140****139****141**

Abb. 3-9: Synthetisierte Di- und Tripeptide.

Die Vorgehensweise ist dabei genau wie bei der Darstellung der einfachen Aminozucker. Nach dem Abspalten der jeweiligen Schutzgruppen erfolgt die Kupplung der ersten Aminosäure. Um eine weitere Aminosäure an die α -Aminofunktion kuppeln zu können, muss diese zunächst mit Piperidin deblockiert werden. Dann folgt der

nächste Kupplungsschritt des Aminozuckers mit einem weiteren Molekül Fmoc-Ala-OH unter Zusatz von TBTU, HOBt und Hünigs Base. Um das Dipeptid zu erhalten, kann nun mit Trifluoressigsäure vom Polymer abgespalten werden. Das Tripeptid erhält man durch nochmaliges Durchführen des Zyklus aus Deblockieren und Kuppeln und anschließendem Abspalten vom Trägermaterial.

Wie in Tabelle 3-12 zu erkennen ist, gelingt die Synthese der vier Kohlenhydrat-Peptid-Konjugate. Die Ausbeuten und Reinheiten der Produkte sind allerdings nur mäßig. Speziell bei den Peptiden **138** und **139** bildet das gewünschte Produkt nur einen kleinen Teil des Rohproduktes. Neben dem nicht umgesetzten Kohlenhydrat kann bei **138** auch das Mono-Alanyl-Derivat sowie bei **139** das Di-Alanyl-Derivat als Nebenprodukte nachgewiesen werden. Beim 6-Tri-Alanyl-Derivat **141** kann dagegen eine sehr gute Reinheit erreicht werden, wenn auch die Rohausbeute eher gering ausfällt.

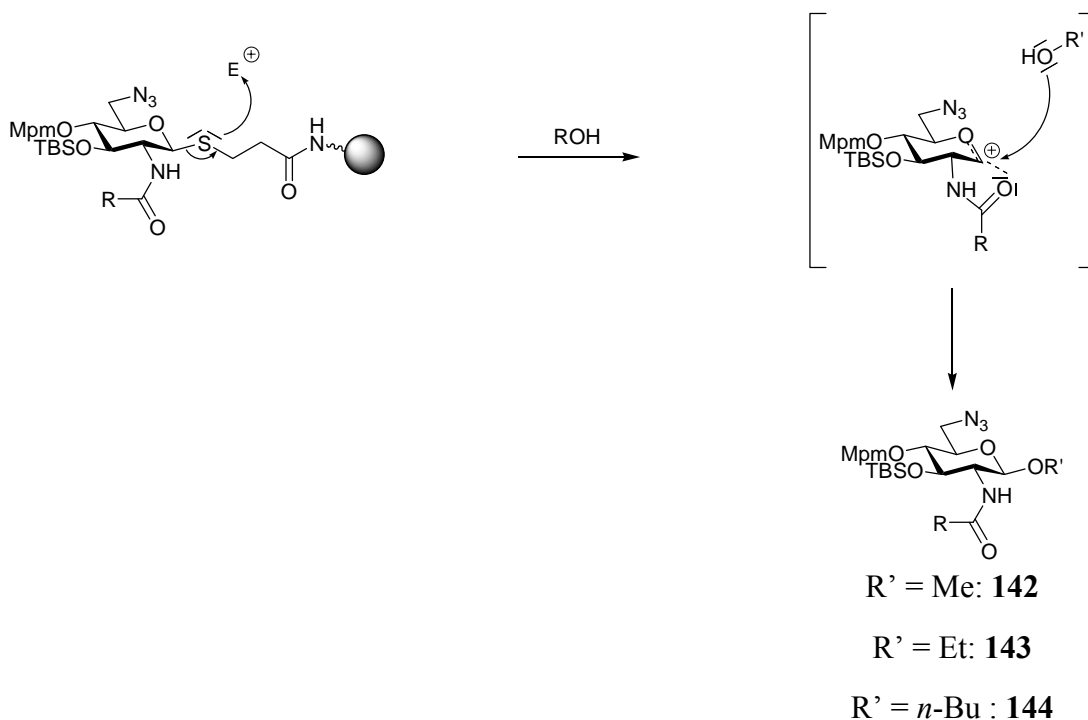
Tabelle 3-12: Zusammenfassung der Ergebnisse der Synthese von Di- und Tripeptiden (*: UV-Detektion bei 254 nm (ELS-Detektion)).

	Rohausbeute	HPLC-Reinheit*	Ausbeute nach HPLC
138	85 %	16 %	0.5 mg (1 %)
139	76 %	24 %	1.4 mg (3 %)
140	50 %	38 %	2.2 mg (5 %)
141	56 %	89 %	3.0 mg (7 %)

3.5.7 VERSUCHE ZUR GLYCOSYLIERUNG

Eine Alternative zur Abspaltung der derivatisierten Bausteine mit Trifluoressigsäure unter stark sauren Bedingungen ist eine Aktivierung des Thioglycosids und eine anschließende Glycosylierung.¹³³ Der Thioglycosid-Anker muss dafür durch ein Elektrophil aktiviert werden, welches eine kovalente Bindung zum Schwefel ausbildet. Dies führt zu einem Elektronenmangel am C-1, der durch eine Delokalisierung des einsamen Elektronenpaares am O-5 ausgeglichen wird. Die Substitution des Schwefels durch einen nucleophilen Angriff auf das anomere Zentrum kann entweder nach der Dissoziation der C-1-S-Bindung (S_N1-Mechanismus) oder gleichzeitig mit der Dissoziation (S_N2-Mechanismus) stattfinden, wobei die zweistufige Variante wahrscheinlicher ist. Das eintretende Nucleophil kann entweder das Gegenion des Elektrophils oder ein zugesetzter Glycosylakzeptor wie zum Beispiel ein Alkohol, eine Carbonsäure oder ein N-Nucleophil sein.

¹³³ a) K. Toshima, K. Tatsuta, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 1503; b) P. J. Garegg, *Adv. Carbohydrate Chem. Biochem.* 52, 179; c) Z. Zhang, I. R. Ollmann, X.-S. Ye, R. Wischnat, T. Baasov, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 734.



Schema 3-23: Aktivierung von Thioglycosiden durch Elektrophile.

Diese Methode zur Abspaltung des Produktes vom polymeren Träger kann allerdings nur mit einer kleinen Einschränkung verwendet werden. Die Allyloxycarbonylschutzgruppe in der 2-Position kann ebenfalls leicht von weichen Elektrophilen angegriffen werden. Daher ist es wichtig, dass sie vor der Aktivierung durch Brom,¹³⁴ *N*-Bromsuccinimid¹³⁵ oder *N*-Iodsuccinimid¹³⁶ abgespalten wird. Desweiteren ist auf einen vollständigen Ausschluss von Wasser während der Aktivierung und während des Quenchens der Lösung zu achten, da sonst der sogenannte „Hydrolysezucker“ durch einen Angriff von Wasser an das anomere Zentrum entsteht.

Um diese Bedingung zu erfüllen, wird zunächst in Parallelreaktionen in 3 mit Polyethylenfritten verschlossenen 5 ml-Spritzen nach den bekannten Vorschriften zunächst die Aloc-Gruppe abgespalten und Fmoc-Leu-OH an die 2-Aminofunktion gekuppelt. Die anschließende Aktivierung des Thioglycosid-Ankers erfolgt mit einer

¹³⁴ S. Koto, T. Uchida, S. Zen, *Chem. Lett.* **1972**, 1049.

¹³⁵ a) K. C. Nicolaou, S. P. Seitz, D. P. Papahatjis, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2430; b) P. Konradson, U. E. Udodong, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 275; c) G. H. Veeneman, S. H. van Leeuwen, J. H. van Boom, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1331.

¹³⁶ a) S. C. Ennis, A. J. Fairbanks, R. J. Tennant-Eyles, H. S. Yeates, *Synlett*, **1999**, 1387; b) K. Egusa, K. Fukase, Y. Nakai, S. Kusumoto, *Synlett*, **2000**, 27.

7.5%-igen Lösung des Akzeptoralkohols in Dichlormethan mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) als Aktivator und 2,6-Di-*tert*-butylpyridin. Als Akzeptoralkohol wird Methanol, Ethanol oder 1-Butanol verwendet. Nach 20 Minuten wird die Reaktionslösung mit einer Lösung bestehend aus einer 7.5%-igen Lösung des Rezeptoralkohols in Dichlormethan mit Tetraethylammoniumbromid und Cyclohexen gemischt. Nach 3-stündiger Reaktion in einem geschlossenen Gefäß wird das Lösungsmittel entfernt, und es folgt eine schnelle Reinigung über eine mit Kieselgel gefüllte Spritze. Durch semi-präparative HPLC werden die gewünschten Produkte **142**, **143** und **144** erhalten.

Tabelle 3-13: Ergebnisse der Untersuchungen zur glycosylierenden Abspaltung vom polymeren Träger.

Produkt	Akzeptoralkohol	Rohausbeute	Reinheit	Ausbeute nach HPLC
142	Methanol	51 %	79 %	5.9 mg (15 %)
143	Ethanol	75 %	91 %	5.5 mg (14 %)
144	1-Butanol	63 %	91 %	5.8 mg (14 %)

Wie man in Tabelle 3-13 sehen kann, erhält man durch die glycosylierende Abspaltung der Kohlenhydrat-Derivate vom Trägerharz im Vergleich zur sauren Spaltung mit Trifluoressigsäure zwar eine etwas niedrigere Ausbeute an Rohprodukt, aber die HPLC-Reinheit und die Ausbeute nach der semipräparativen HPLC, die nach dieser Methode erreicht werden, sind höher. Die niedrigere Rohausbeute kann vermutlich damit begründet werden, dass bei der zuvor durchgeführten schnellen Reinigung über Kieselgel schon viele Verunreinigungen entfernt wurden, die bei der Filtration über festes Natriumhydrogencarbonat, welche bei der sauren Spaltung durchgeführt wird, nicht abgetrennt werden.

Neben der Tatsache, dass diese Abspaltung der Substanz vom Harz nicht mit der Anwesenheit von Aloc kombinierbar ist, besteht ein weiterer Nachteil in der begrenzten Anzahl leichtflüchtiger Alkohole, die als Akzeptoren verwendet werden können. Werden schwerflüchtige, oder sogar feste Akzeptoralkohole eingesetzt, wird die Abtrennung dieser Alkohole, die im großen Überschuss eingesetzt werden müssen, sehr schwierig.

Eine weitere Untersuchung dieser glycosylierenden Abspaltung wäre insbesondere bei der Benutzung von Aminoalkoholen interessant, da die Aminofunktion vermutlich die Bindung des Kohlenhydrat-Derivats an RNA-Strukturen unterstützen würde.

3.5.8 KOMBINATORISCHE VARIATION VERSCHIEDENER POSITIONEN

Nachdem gezeigt werden konnte, dass jede der fünf funktionellen Gruppen im entwickelten, festphasengebundenen 2,6-Diaminoglucose-Scaffold **56** selektiv deblockiert bzw. aktiviert und funktionalisiert werden kann, stellt sich nun die Frage, ob eine kombinatorische Variation verschiedener Positionen möglich ist.

Zunächst wird untersucht, ob nach der Funktionalisierung der 2-Aminogruppe mit einer Aminosäure eine Spaltung der übrigen Schutzgruppen gelingt. Dies gelingt wider Erwarten für keine der drei übrigen Positionen. Beim Versuch zur Spaltung des Silylethers mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid wird aufgrund der basischen Bedingungen eine Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe der Aminosäure beobachtet werden.

Danach werden Versuche durchgeführt, bei denen zunächst die 3-Position carbamoyliert wird und anschließend die Schutzgruppen in den restlichen Positionen entfernt werden sollen. Dies ist nur bei der Reduktion des Azids zum Amin in der 6-Position möglich. Allerdings kann in weiteren Versuchen keine Aminosäure an dieses freie Amin gekuppelt werden.

Auch Versuche, zuerst die 4-Hydroxylgruppe zu carbamoylieren und anschließend eine weitere funktionelle Gruppe zu deblockieren, scheitern.

Diese Ergebnisse sind nur schwer nachzuvollziehen, da an anderen Kohlenhydrat-Scaffolds schon erfolgreich Mehrfachfunktionalisierungen an der festen Phase durchgeführt wurden.

3.6 SYNTHESE EINES SCAFFOLDS FÜR DIE KOMBINATORISCHE SYNTHESE IN LÖSUNG

Aufgrund der Probleme bei der kombinatorischen Variation verschiedener Positionen an der festen Phase wird neben dem bereits synthetisierten Scaffold **29** ein weiteres orthogonal stabil geschütztes 2,6-Diaminoglucosetemplat **145** (Abb. 3-10) dargestellt, welches für Modifizierungen in Lösung geeignet ist. Das schon etablierte Schutzgruppenmuster kann dafür übernommen werden. Die einzige Veränderung wird in der anomeren Position vorgenommen: statt des Mercaptopropionsäurederivats wird nun ein Thiophenolrest über eine Thioglycosylierung eingeführt. Hierdurch sollte die anomere Position gut für eine Derivatisierung durch Glycosylierungsreaktionen zugänglich sein.^{26b,f}

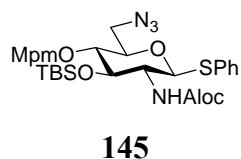
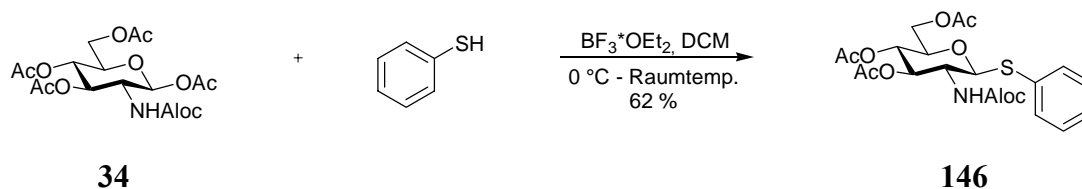


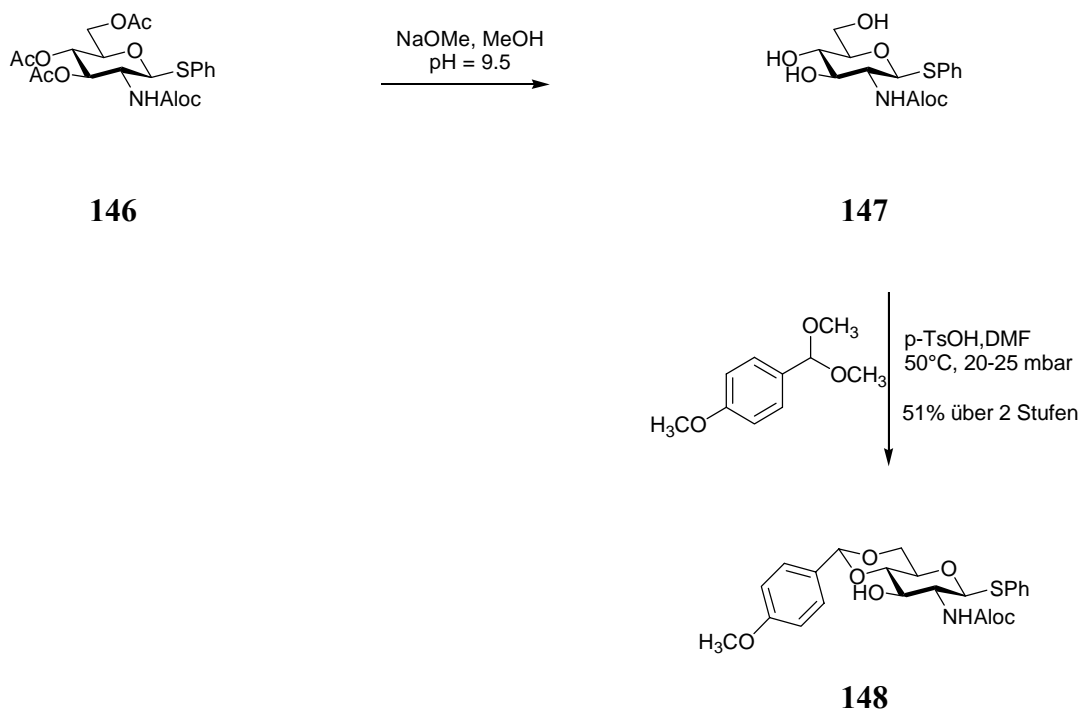
Abb. 3-10: 2,6-Diaminoglucosetemplat für die kombinatorische Synthese in Lösung.

Die für das Scaffold **29** entwickelte Synthese kann ebenfalls direkt übertragen werden. Ausgehend vom N-Aloc-geschützten, peracetylierten Kohlenhydrat **34** wird zunächst eine Glycosylierung mit Thiophenol in Dichlormethan mit Bortrifluorid-Diethylether-Komplex als Lewis-Säure durchgeführt. Nach säulenchromatographischer Reinigung wird das Glucosederivat **56** in einer Ausbeute von 62 % erhalten (Schema 3-24).



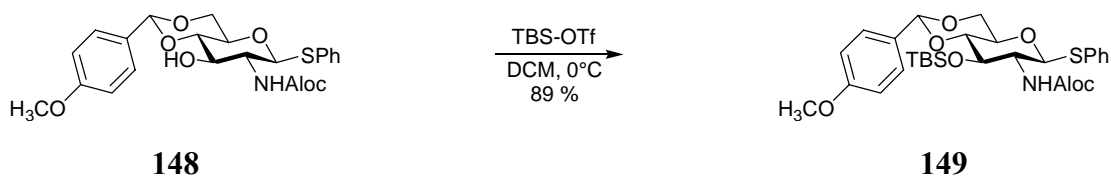
Schema 3-24: Thioglycosylierung des N-Aloc-geschützten peracetylierten Glucosederivates **34** mit Thiophenol.

Im Anschluss daran erfolgt zunächst eine Abspaltung der Acetylschutzgruppen unter *Zemplén*-Bedingungen mit Natriummethanolat in absolutem Methanol bei Raumtemperatur. Das dabei quantitativ entstehende Glucosederivat **147** wird ohne weitere Reinigung mit Anisaldehyddimethylacetal in *N,N*-Dimethylformamid mit *p*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat als Katalysator bei 50 °C und 20 bis 25 mbar zum 4,6-*p*-Methoxybenzylidenacetal **148** umgesetzt, das nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 51 % über zwei Stufen erhalten wird.



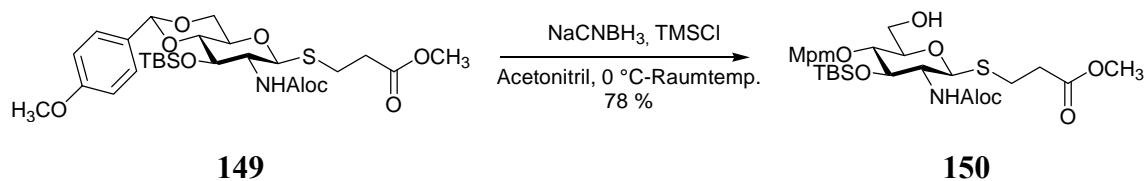
Schema 3-25: Synthese des *p*-Methoxybenzylidenacetals **148**.

Wie auch bei der Synthese des ersten Scaffolds folgt die Blockierung der letzten freien Hydroxylfunktion in der 3-Position durch die Einführung eines Silylethers. Die Umsetzung des Bausteins **148** mit Trifluormethansulfonsäure-*tert*-butyldimethylsilylester mit Pyridin als Base zum Silylether **149** gelingt in hoher Ausbeute von 89 % (Schema 3-26).

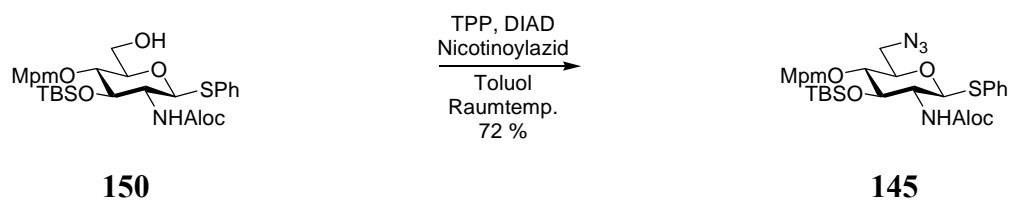


Schema 3-26: Einführung des *tert*-Butyldimethylsilylethers.

Im Gegensatz zu den vorhergehenden Reaktionen verläuft die regioselektive Acetalöffnung mit Natriumcyanoborhydrid und Trimethylsilylchlorid als Lewis-Säure in Acetonitril in einer höheren Ausbeute (87 %) als bei der Acetalöffnung im Rahmen der Synthese des Scaffolds **29**. Dies ist vermutlich auf die bessere Löslichkeit und somit leichtere säulenchromatographische Reinigung des erhaltenen Bausteins **149** zurückzuführen.

Schema 3-27: Stereoselektive Acetalöffnung zum Kohlenhydratbaustein **150**.

Als letzter Schritt der Synthese folgt die Azideinführung in der 6-Position. Unter den in Kapitel 3.2 optimierten Bedingungen zur *Mitsunobu*-Reaktion mit Triphenylphosphin, Diisopropylazodicarboxylat und Nicotinoylazid wird das gewünschte Azid **145** in einer Ausbeute von 72 % erhalten.

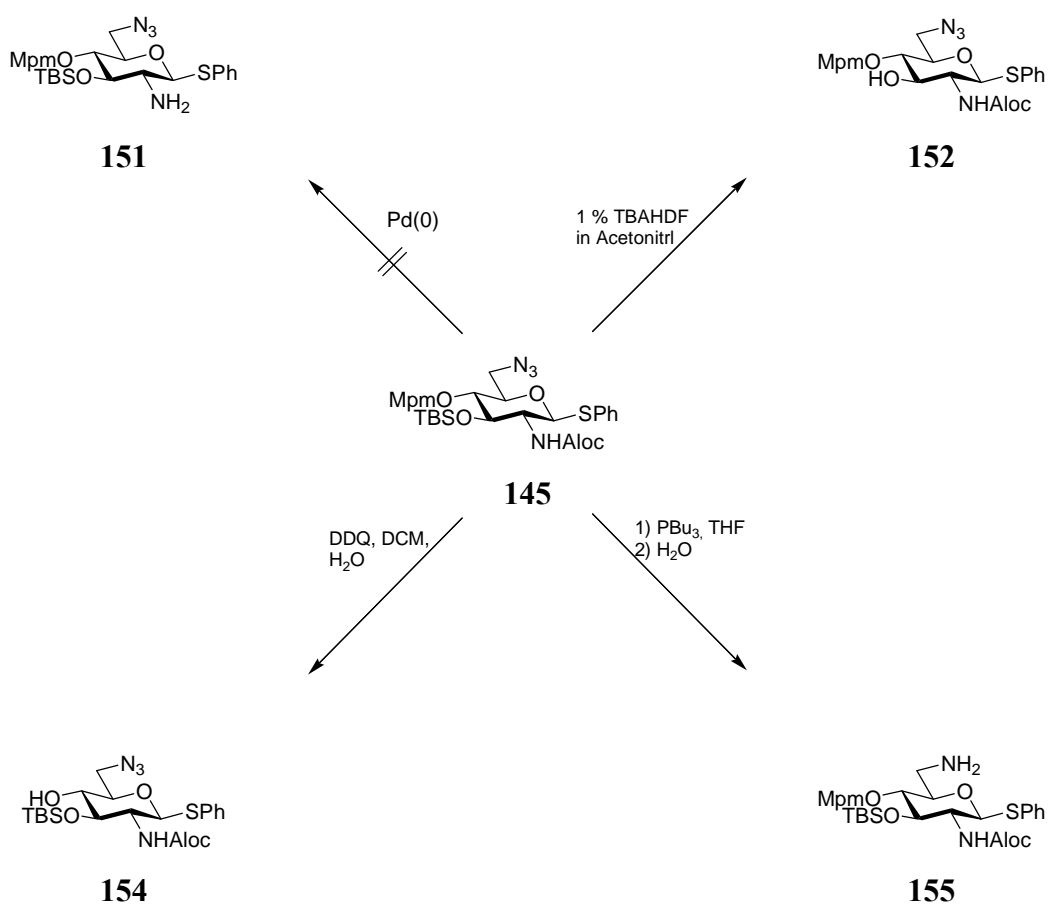
Schema 3-28: Azideinführung unter modifizierten *Mitsunobu*-Bedingungen.

Das Scaffold **145** für die kombinatorische Synthese in Lösung kann durch diese Synthese in einer Gesamtausbeute von 12 % über 10 Stufen dargestellt werden.

3.7 AUFBAU EINER KLEINEN BIBLIOTHEK DURCH MODIFIZIERUNG DES SCAFFOLDS IN LÖSUNG

3.7.1 ÜBERPRÜFUNG DES SCHUTZGRUPPENKONZEPTES

Wie schon beim festphasengebundenen Kohlenhydrat-Templat wird auch bei diesem Scaffold zunächst das Schutzgruppenkonzept überprüft.



Schema 3-29: Überprüfung des Schutzgruppenkonzepts für das Scaffold **145**.

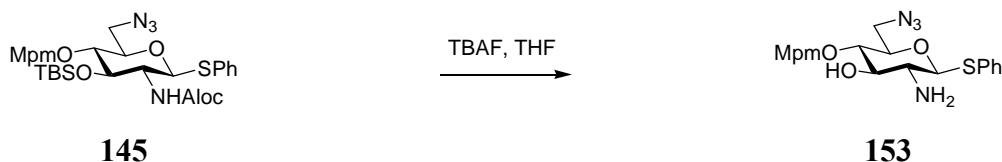
Die Übertragung der Bedingungen für die Spaltung der verschiedenen Schutzgruppen verläuft allerdings nicht wie erwartet. Die ersten Probleme treten beim Versuch der katalytischen Spaltung der Aloc-Schutzgruppe der 2-Aminofunktion auf. Das bereits bei den Festphasenreaktion genutzte Katalysator/Nucleophil-System bestehend aus Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) und *p*-Toluolsulfinsäure in absolutem, entgastem Dioxan führt nicht zum gewünschten Produkt. Zuerst tritt laut DC-Kontrolle anscheinend keine Reaktion ein und nach wenigen Stunden kann nur noch eine

Zersetzung beobachtet werden. Auch bei einer säulenchromatographischen Trennung der einzelnen Produkte konnte keine Fraktion mit der richtigen Masse isoliert werden.

Auch die Verwendung des Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) mit Malonsäuredimethylester als Nucleophil führt nicht zum gewünschten Produkt.¹³⁷ Nachdem keine Reaktion beobachtet werden kann, wird das Edukt zurückisoliert. Bei der Verwendung von Dimedon als Nucleophil kann nach einigen Stunden nur eine Zersetzung des Edukts beobachtet werden.¹³⁸ Auch Reaktionen mit Trimethylsilyldimethylamin (mit oder ohne Zusatz von Zugabe von Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester (TMS-triflat)) oder *N*-Trimethylsilylmorpholin in Gegenwart von TMS-triflat als Nucleophile führen nicht zum gewünschten Produkt.¹³⁹

Als Katalysator wird außerdem Tris-(dibenzylidenaceton)-dipalladium(0) in Gegenwart von Triphenylphosphin und Ameisensäure in absolutem, entgastem Tetrahydrofuran verwendet.¹⁴⁰ Auch dieses Katalysatorsystem führt nicht zur Bildung des gewünschten Produkts.

Zur Spaltung des Silylethers in der 3-Position wird zunächst das im Vergleich zum Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid kostengünstigere Tetrabutylammoniumfluorid als Fluorid-Quelle genutzt. Statt des Kohlenhydrats mit einer freien Hydroxylgruppe in der 3-Position entsteht hier als Hauptprodukt das 2,6-Diaminoglucose-Derivat **153**, bei dem sowohl die 3-Hydroxyl- als auch die 2-Aminofunktion deblockiert sind. Dies ist vermutlich auf die starke Basizität des Reagenz zurückzuführen.



Schema 3-30: Versuch zur Spaltung des Silylethers mit Tetrabutylammoniumfluorid.

Daher wird in einem weiteren Versuch, wie auch schon bei den Festphasensynthesen eine Lösung von Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid in Acetonitril eingesetzt. Dabei stellt sich heraus, dass auch hier bei einer zu hohen Konzentration des Reagenz oder bei einer zu langen Reaktionszeit das in 2- und 3-Position deblockierte Derivat als Nebenprodukt entsteht. Bei einer Umsetzung des vollständig blockierten Saccharids **145**

¹³⁷ P. Boullanger, G. Decotes, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 2599.

¹³⁸ H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1984**, 96, 426.

¹³⁹ A. Merzouk, F. Guibé, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 477.

¹⁴⁰ I. Minami, Y. Okashi, I. Shimizu, J. Tsuji, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 2449.

mit einer etwa 1%-igen Lösung von Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid in Acetonitril bei einer Reaktionszeit von 4 Stunden entsteht das gewünschte Derivat **152**, das nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 64 % erhalten wird.

Die oxidative Spaltung des *p*-Methoxybenzylethers mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyanbenzochinolin in Dichlormethan mit 5 Vol-% Wasser liefert das Glucosederivat **154** in einer Ausbeute von 69 %.¹⁴¹

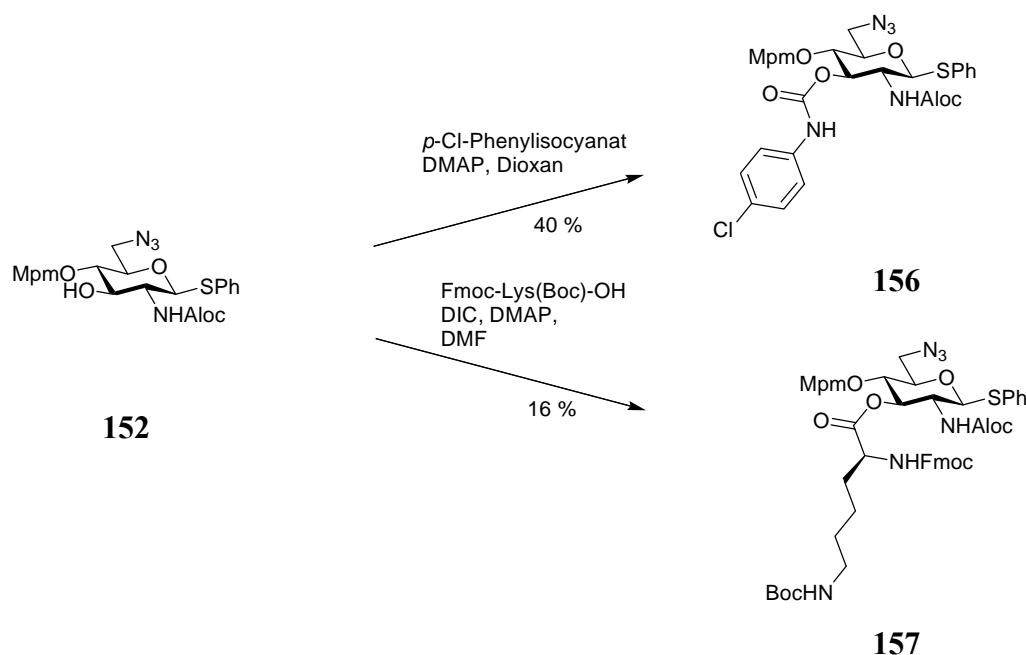
Auch die Reduktion der Azido-Funktion unter *Staudinger*-Bedingungen mit Tri-*n*-butylphosphin in Tetrahydrofuran führt nach wässriger Aufarbeitung und anschließender säulenchromatographischen Reinigung in einer Ausbeute von 58 % zum 6-Amino-Derivat **155**.

3.7.2 DERIVATISIERUNG DER VERSCHIEDENEN POSITIONEN

Wie schon zuvor bei der Derivatisierung des Kohlenhydratbausteins an der festen Phase sollen auch hier die freien Hydroxylgruppen wieder durch Reaktion mit Isocyanaten zu Carbamaten und mit Carbonsäuren zu Estern umgesetzt werden. Die freien Aminogruppen werden mit Carbonsäuren in Säureamide überführt.

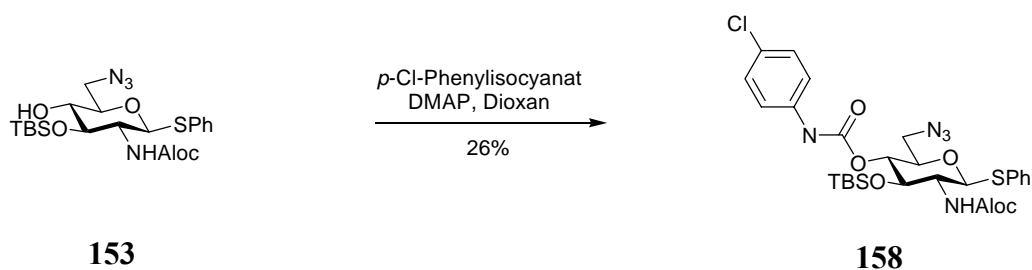
Die 3-Hydroxyl-Gruppe kann mit *p*-Chlorphenylisocyanat in Dioxan in Gegenwart von 4-Dimethylaminopyridin als Katalysator in einer Ausbeute von 40 % in das entsprechende Carbamat **156** überführt werden. Im Gegensatz zur Reaktion an der festen Phase gelingt die Acylierung nach *Steglich* mit Fmoc-Lys(Boc)-OH als Säure unter Aktivierung durch *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid und 4-Dimethylaminopyridin laut DC-Kontrolle sehr gut. Hier stellt allerdings die Reinigung des Produktes ein großes Problem dar. Aufgrund der geringen Löslichkeit in den gängigen Laufmitteln kristallisiert das Produkt während der Säulenchromatographie aus. Nach dem Extrahieren mit Methanol wird zur Reinigung eine präparative HPLC durchgeführt, die das reine Produkt **157** in einer Ausbeute von 16 % liefert.

¹⁴¹ K. Horita, T. Yoshioka, T. Tanaka, Y. Oikawa, O. Yohemitsu, *Tetrahedron* **1986**, 42, 3021.



Schema 3-31: Derivatisierung der 3-Hydroxylfunktion.

Das Derivat **153** mit der freien Hydroxylgruppe in der 4-Position kann in einer mäßigen Ausbeute mit *p*-Chlorphenylisocyanat in Gegenwart von 4-Dimethylaminopyridin in das Carbamat **158** überführt werden.

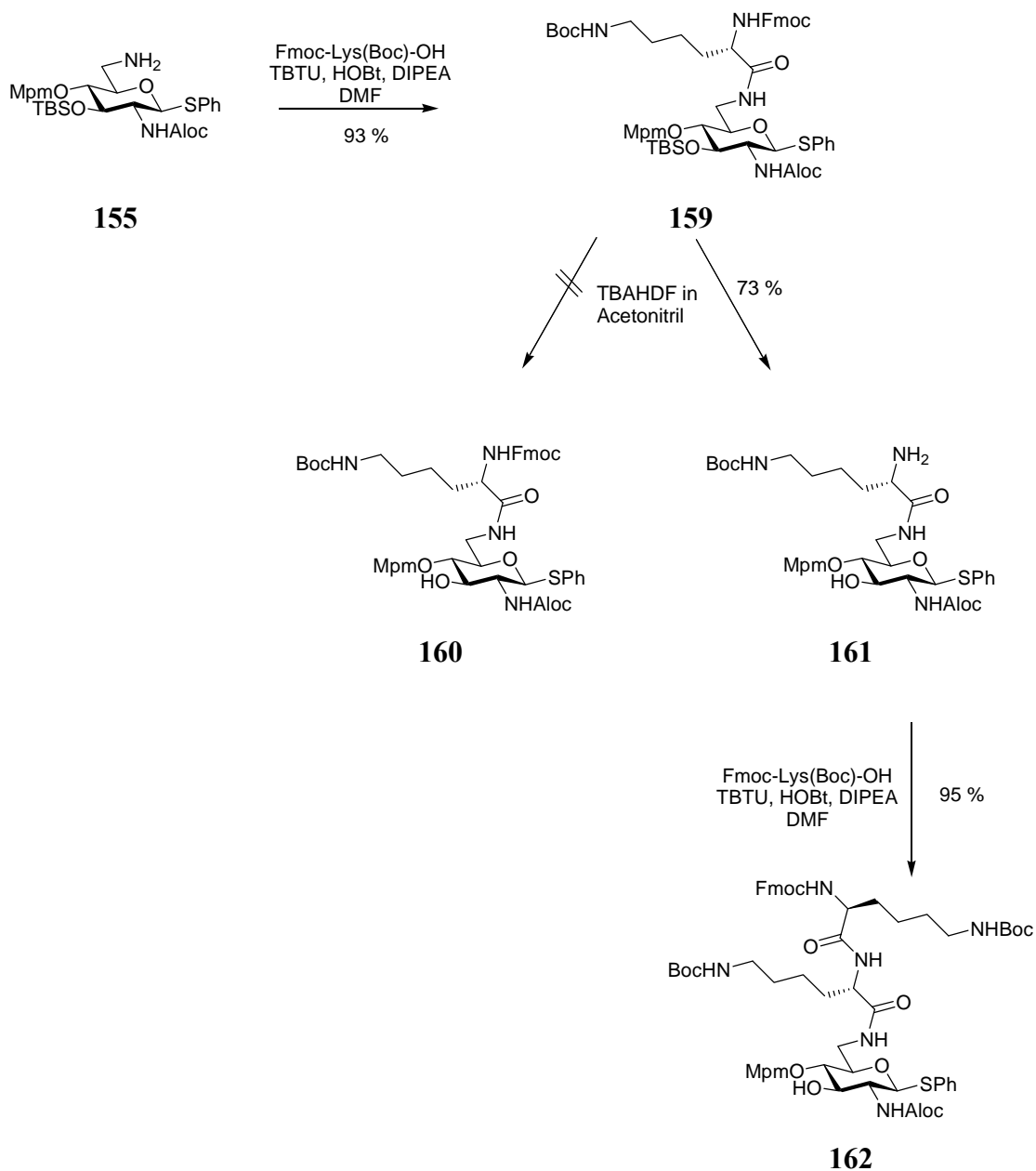


Schema 3-32: Derivatisierung der 4-Hydroxylfunktion.

Der Kohlenhydratbaustein **155** mit der freien Aminofunktion in der 6-Stellung wird nach Standardbedingungen mit Fmoc-Lys(Boc)-OH in Gegenwart von TBTU, HOBT und Hünigs Base in das entsprechende Amid **159** überführt.¹⁴² Im Gegensatz zu den

¹⁴² R. F. Paulain, A. L. Tartar, B. P. Déprez, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1495.

vorher durchgeführten Derivatisierungen der Hydroxyl-Funktionen an der festen Phase kann hier das Produkt in einer hohen Ausbeute von 93 % isoliert werden.

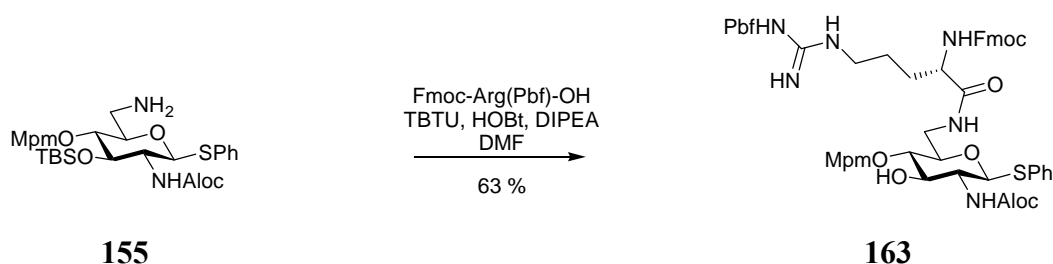


Schema 3-33: Funktionalisierung der 6-Aminofunktion mit Lysin und Folgereaktionen.

Da von dieser Verbindung über 80 mg dargestellt wurden, soll der Silylether **159** im nächsten Schritt mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid in Acetonitril gespalten werden. Allerdings findet während der Reaktion nicht nur die Spaltung des Silylethers,

sondern auch eine Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe am Lysin statt, so dass das freie Amin **161** in einer Ausbeute von 73 % erhalten werden kann. Dieses wird im Anschluss mit einem weiteren Molekül Fmoc-Lys(Boc)-OH in 95%-iger Ausbeute zum Dipeptid **162** umgesetzt.

Neben Fmoc-Lys(Boc)-OH wird auch Fmoc-Arg(Pbf)-OH als Säure eingesetzt. Die Reaktion unter Standardbedingungen liefert das Amid **163** in einer Ausbeute von 63 %. Wie auch schon bei der Festphasensynthese zu beobachten war, gelingt auch hier die Einführung der stark basischen Aminosäure Arginin nur schwer.



Schema 3-34 Amidbildung mit Fmoc-Arg(Pbf)-OH in der 6-Position.

3.8 BIOLOGISCHE EVALUIERUNG

Alle Zellassays werden im Rahmen des Sonderforschungsbereichs 579 für RNA-Liganden-Wechselwirkung von einer Technischen Assistentin im Georg Speyer-Haus (Frankfurt) durchgeführt.

Bevor die Substanzen auf ihre biologische Wirkung untersucht werden können, muss zunächst ein Cytotoxizitäts-Test durchgeführt werden. Dabei kann überprüft werden, ob die zugegebenen Substanzen für die Zellen toxisch sind, oder ob sie keinen oder nur einen geringen Effekt auf die Vitalität der Zellen haben. Im Anschluss daran kann in einem Hemmversuch die antivirale Aktivität der Substanz gegen HIV-1 getestet werden.

3.8.1 DAS TESTSYSTEM

3.8.1.1 DER CYTOTOXIZITÄTSTEST

Hier wird ein Test-Kit der Firma *Cambrex*, East Rutherford (USA) verwendet, bei dem man sich die Anwesenheit des Adenosintriphosphats (ATP) in vitalen Zellen zunutze macht. Jede Beeinflussung oder Zerstörung der Zelle hat eine Abnahme des ATP-Gehalts zur Folge.

Diese ATP-Mengen werden mit Hilfe einer Biolumineszenz-Messung bestimmt. Dabei bewirkt das Enzym Luciferase die ATP-abhängige Decarboxylierung von Luciferin zu Oxyluciferin unter gleichzeitiger Lichtemission bei einer Wellenlänge von 565 nm. Die für eine katalytische Reaktion der Luciferase benötigte Substanz, das Luciferin, ist im AMR-Plus-Reagenz des Test-Kits enthalten

Das ATP wird durch eine Zell-Lyse mit dem Lysis-Reagenz des Test-Kits gewonnen. Die Lichtemission kann nun mit Hilfe eines Luminometers gemessen werden. Je höher die Werte der Luciferase-Aktivität liegen, das heisst, je stärker die Lichtemission ist, um so mehr ATP liegt vor. Ist der Wert dagegen niedriger, wurden die Zellen durch die zugegebenen Substanzen geschädigt.

Für den Test werden HeLa P4-Zellen verwendet, da diese auch später für den Hemmversuch benutzt werden. Die Zellen werden zunächst mit einer Dichte von 1.5×10^4 Zellen pro *Well* in einer 96-*Well*-Platte verteilt und über Nacht im Brutschrank bei 37 °C inkubiert. Am folgenden Tag wird das Medium von den Zellen abgezogen und die Substanzen in unterschiedlichen Konzentrationen (Substanz und Medium) auf die Zelle gegeben. Es werden meist 7 verschiedene Konzentrationen eingestellt: 0 µM, 10 µM, 50 µM, 100 µM, 200 µM, 500 µM und 1 mM. Die Zellen werden anschließend ein bis zwei Tage im Brutschrank bei 37 °C inkubiert.

Danach wird das Medium (z.T. mit Substanz) abgezogen, und die Zellen werden dreimal vorsichtig mit Medium gewaschen. Für die Lyse der Zellen werden 50 µl Zell-Lyse-Reagenz pro *Well* auf die Zellen gegeben und es wird 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

Zur abschließenden enzymatischen Reaktion werden 100 µl AMR-Plus-Reagenz pro *Well* hinzugegeben und zwei Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Im Anschluss daran erfolgt die Messung der Luciferase-Aktivität am Luminometer.

Bei der Auswertung gilt eine Substanz, bei der die Luciferase-Aktivität unter 65 % sinkt, als leicht toxisch. Sinkt die Aktivität unter 50 %, gilt die Substanz als toxisch.

3.8.1.2 DER HEMMVERSUCH

Um die antivirale Aktivität der Substanzen gegen HIV-1 zu bestimmen, werden Zellen mit HIV-1 infiziert und mit Lösungen verschiedener Konzentrationen der Substanz versetzt. Der Umfang der Virus-Produktion kann dann durch den Vergleich mit der Kontrolle erhalten werden, bei der keine potentiell hemmende Substanz zugegeben wurde. Wieder wird die humane Zell-Linie HeLa P4 verwendet. Dabei handelt es sich um HeLa-Zellen, die mit den HIV-1-Rezeptoren CD4 und CCR5 transfiziert sind und ein β -Galactosidase-Gen enthalten, welches durch einen HIV-1-LTR Promotor

kontrolliert wird. Sie exprimieren die relevanten HIV-1-Rezeptoren CD4, CCR5 und CXCR4. Für die Infektion wird der Virenstamm HIV-1_{Lai} verwendet.

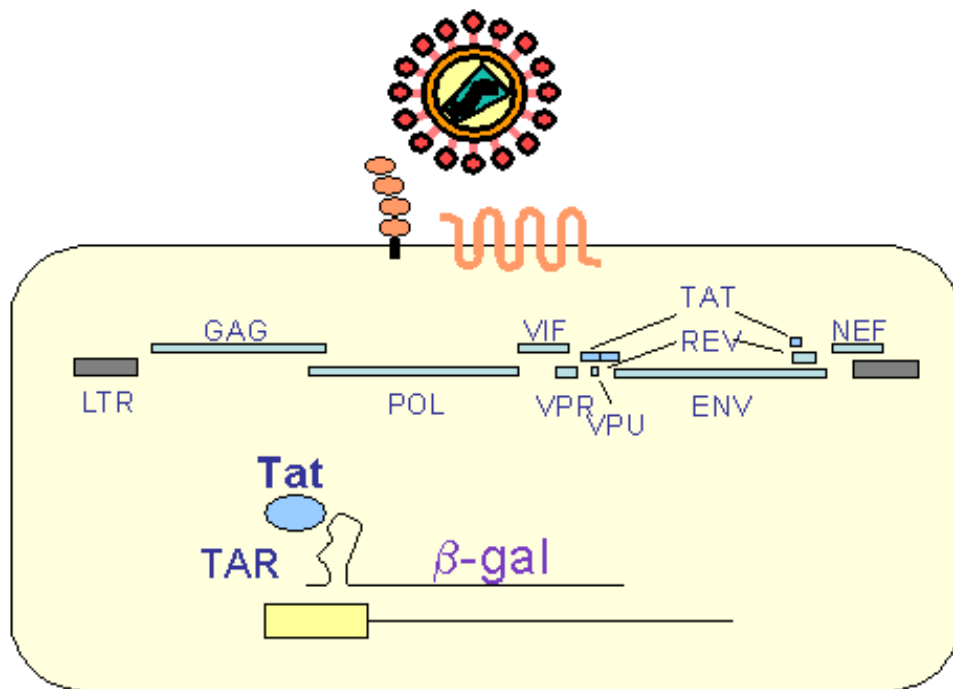


Abb. 3-11: Wirkungsweise des funktionellen *in vivo* Tests für Tat/TAR-Inhibitoren (auf Basis von HeLa P4 /CD4/CCR5/CXCR4 Zellen).

Wie auch für den Zelltoxizitäts-Test werden zunächst die Zellen mit einer Dichte von 1.5×10^4 Zellen pro *Well* in einer 96-*Well*-Platte ausplattiert und über Nacht im Brutschrank bei 37°C inkubiert. Am nächsten Tag werden die Zellen mit insgesamt $100\ \mu\text{l}$ einer Lösung des HIV-1_{Lai}-Virenstamms und der Testsubstanz versetzt und zwei Tage bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Dabei wird immer die gleiche Konzentration des Virenstamms aber unterschiedliche Konzentrationen der Substanz ($50\ \mu\text{M}$, $100\ \mu\text{M}$, $200\ \mu\text{M}$, $500\ \mu\text{M}$ und $1\ \text{mM}$) verwendet. Nach zwei Tagen wird die Lösung entfernt, und die Zellen werden vorsichtig mit PBS (Phosphatpuffer-Lösung) gewaschen und anschließend lysiert. Dann wird eine Reaktionspuffer-Lösung zugegeben und eine Stunde inkubiert. Diese Lösung enthält Galacton[®], ein Chemilumineszenz-Substrat-Konzentrat der Firma *Applied Biosystems*, Foster City (USA), für *E. coli* β -Galactosidase-Tests, das für die Detektion von Femtogramm- bis Nanogramm-Mengen des β -Galactosidase-Reporter-Enzyms genutzt werden kann. Nach der Inkubation wird eine *Amplifier*-Lösung zugegeben, um ein Lumineszenz-Signal zu generieren, das nach zwei Minuten mit einem Luminometer quantifiziert werden kann. Die *Amplifier*-Lösung enthält Emerald[®], einen Lumineszenz-Verstärker der Firma

Applied Biosystems, Foster City (USA), der für Chemilumineszenz-Substrate wie zum Beispiel Galacton[®] verwendet werden kann.

Die Versuche werden jeweils dreimal durchgeführt. Zur Berechnung der Ergebnisse werden die Mittelwerte verwendet.

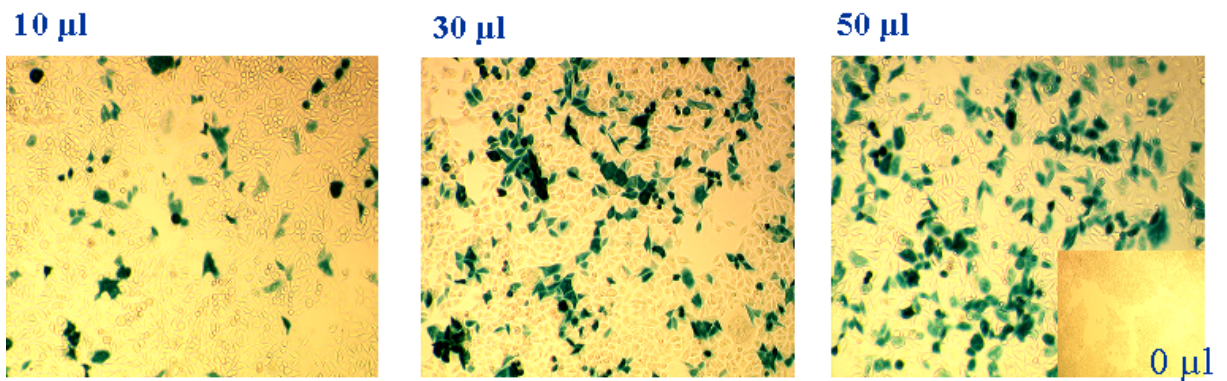


Abb. 3-12: Infektion von HeLa P4/CD4/CCR5/CXCR4 Zellen mit HIV-1_{Lai}.

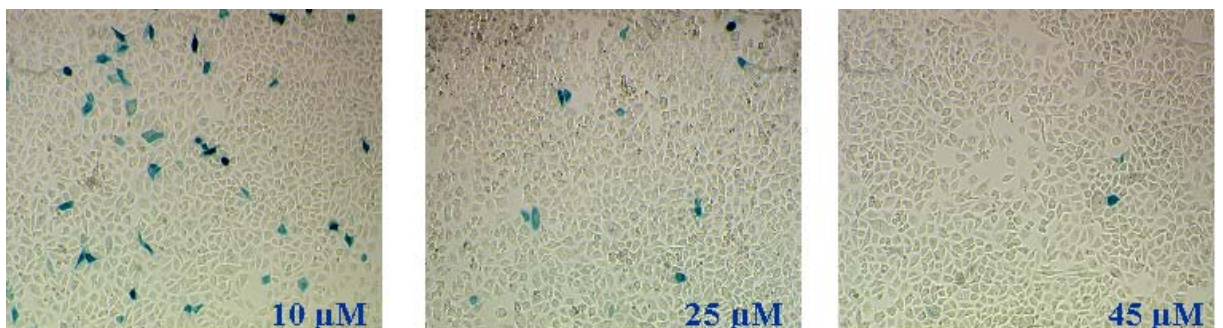


Abb. 3-13: Inhibierung der Infektion von HeLa P4/CD4/CCR5/CXCR4 Zellen durch HIV-1_{Lai} mit Tat-10 (Sequenz aus dem Tat-Protein).

Wie in den Abb. 3-12 und Abb. 3-13 zu sehen ist, sind die infizierten Zellen blau gefärbt.

3.8.2 ERGEBNISSE

Bis jetzt konnte nur ein Teil der insgesamt über hundert Substanzen getestet werden. Von jeder Substanzgruppe wurden aber einige Verbindungen getestet.

3.8.2.1 DERIVATE MIT α -AMINOSÄUREAMIDEN IN DER 2-POSITION

Zunächst wird ein Teil der Substanzen mit α -Aminosäureamiden in der 2-Position untersucht, deren Darstellung in Kapitel 3.5.1 beschrieben wurde.

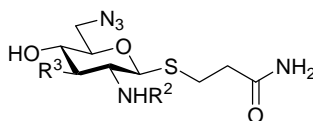


Tabelle 3-14: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests und der Hemmversuche für die Verbindungen **64**, **64'**, **65**, **65'**, **66**, **66'**, **72**, **73**, **74**, **74'**, **77**, **78** und **78'** (Derivate mit Amid in der 2-Position). Toxizität und Hemmung: -: keine Wirkung; (+): schwache Wirkung; +: starke Wirkung.

	R ²	R ³	Toxizität	Hemmung
64	Fmoc-Val	O-TBS	+	+
64'	Fmoc-Val	OH	-	-
65	Fmoc-Leu	O-TBS	+	-
65'	Fmoc-Leu	OH	(+)	-
66	Fmoc-Thr	O-TBS	+	-
66'	Fmoc-Thr	OH	-	-
72	Fmoc-Asn	O-TBS	+	-
73	Fmoc-Gln	O-TBS	+	-
74	Fmoc-Phe	O-TBS	+	+
74'	Fmoc-Phe	OH	-	-
77	Fmoc-His	O-TBS	+	-
78	Fmoc-Trp	O-TBS	+	+
78'	Fmoc-Trp	OH	-	-

In dem zuerst durchgeführten Toxizitätstest zeigt sich, dass ein Teil der Substanzen toxisch ist. Wie in Tabelle 3-14 und Abb. 3-14 sehen ist, sind die Substanzen **64'**, **66'**, **74'** und **78'** nicht toxisch. Das Derivat **65** zeigt nur bei einer Konzentration der Substanzlösung von 1mM eine leichte Toxizität. Die Substrate **72**, **74**, **77** und **78** zeigen schon bei der Zugabe einer 500 μ molarer Lösung Toxizität. Die Verbindung **73**, die in der 2-Position mit Fmoc-Gln derivatisiert ist, hat die größte Zelltoxizität dieser Subbibliothek. Schon bei einer Konzentration von 100 μ M fällt die Lumineszenz unter 50 %.

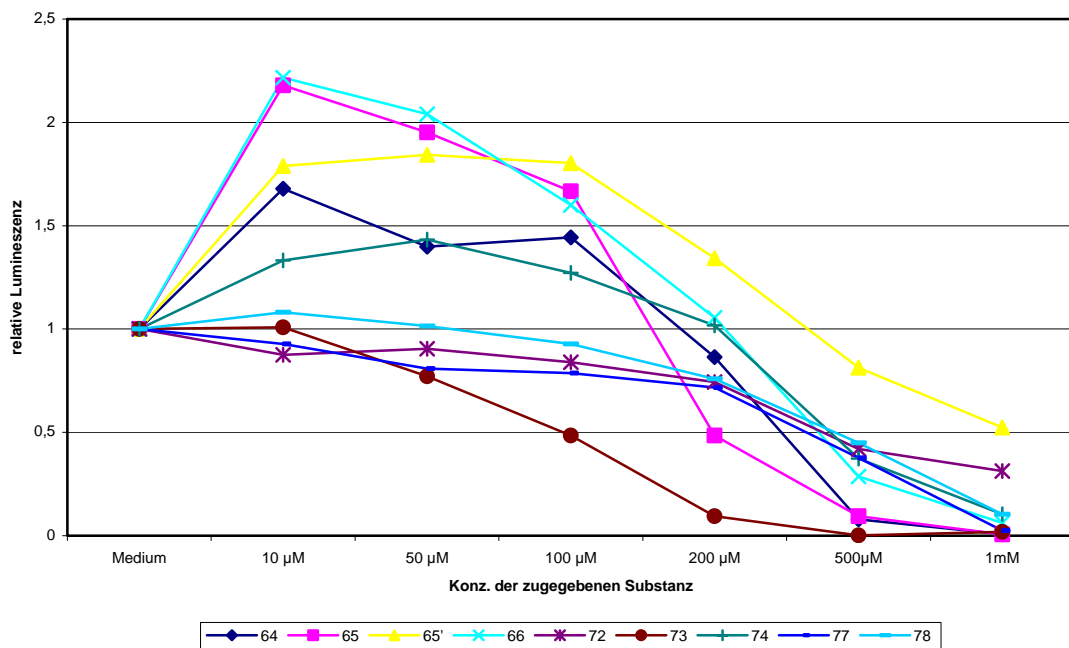


Abb. 3-14: Zelltoxizitäts-Test für die Derivate **64**, **65**, **65'**, **66**, **72**, **73**, **74**, **77** und **78** (Derivate mit Amiden in der 2-Position, die eine Toxizität zeigen).

Bei den darauf folgenden Hemmversuchen können bei drei Substanzen hemmende Eigenschaften nachgewiesen werden. Für diese Verbindungen (**64**, **74**, **78**) sind die Ergebnisse des Hemm-Assays in Abb. 3-15 gezeigt. Das Derivat **64**, das in der 2-Position mit Fmoc-Valin funktionalisiert wurde, hemmt schwach ab einer Konzentration von 200 µM, die Derivate **74** (Fmoc-Phenylalanin in 2) und **78** (Fmoc-Tryptophan in 2) zeigen bei dieser Konzentration schon eine deutlich stärkere Hemmung.

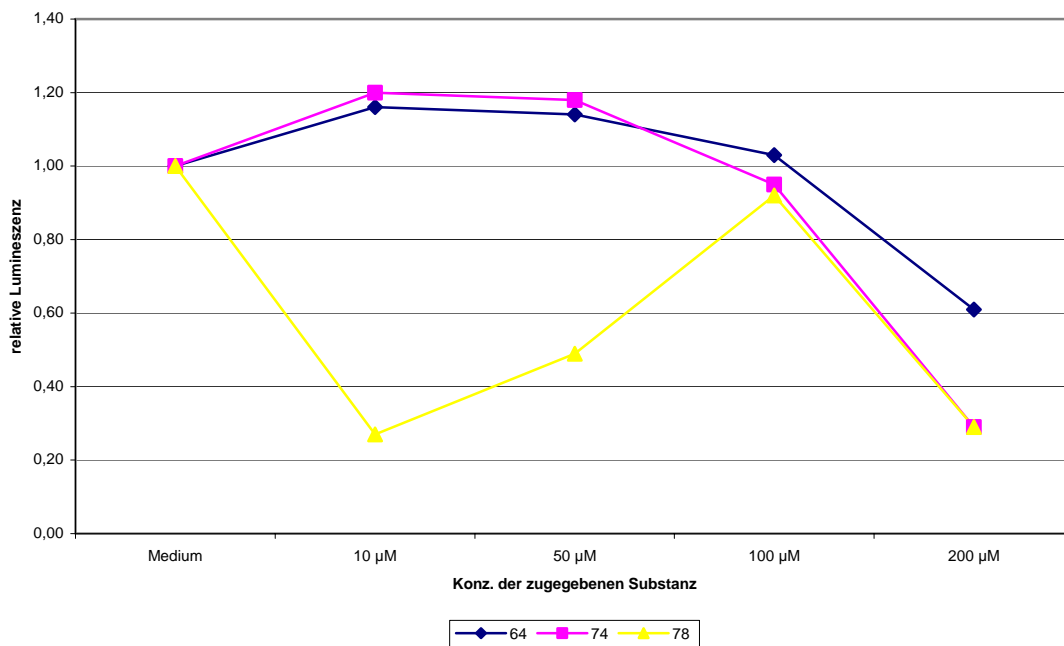


Abb. 3-15: Ergebnisse für die Hemmversuche von den Substanzen **64**, **74** und **78**.

Ein Problem stellt allerdings die Toxizität dieser Verbindungen dar. Um zu überprüfen, ob es einen Konzentrationsbereich gibt, in dem die Substanz noch nicht toxisch ist, aber schon die Tat/TAR-Wechselwirkung hemmt, werden zusätzliche Zelltoxizitäts-Testreihen mit einer weiteren Konzentration der Substratlösung von 150 µM (für **74**) bzw. 300 µM (für **64** und **78**) durchgeführt. Außerdem wird für die Verbindungen **64** und **78** auch der Hemmversuch wiederholt, wobei auch hier die Konzentrationsreihe durch eine Probe mit 300 µM ergänzt wird.

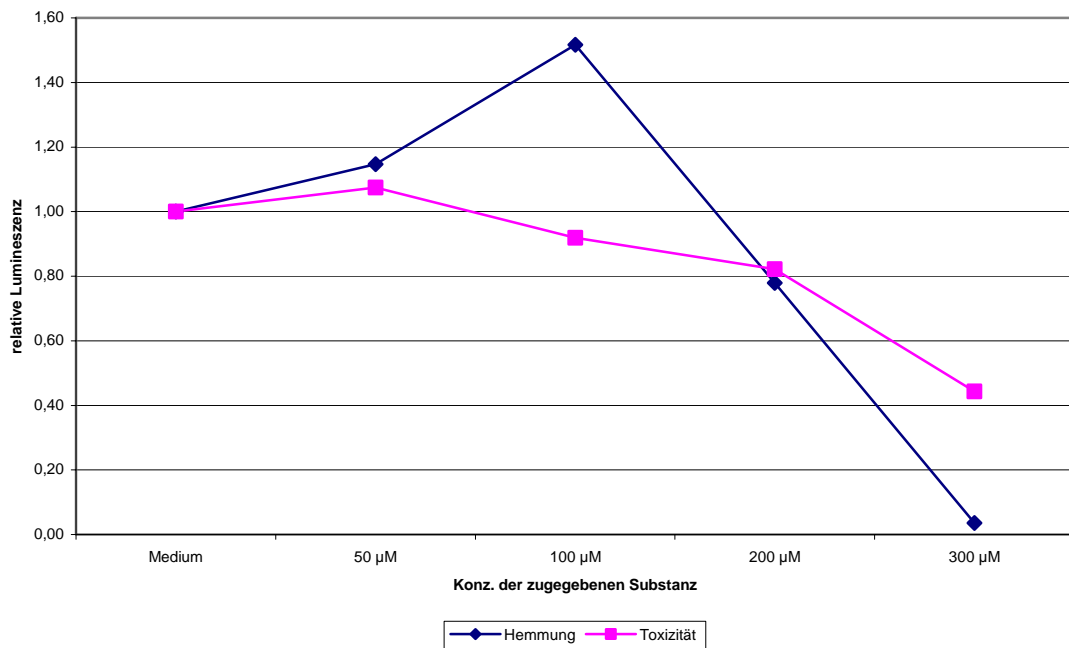


Abb. 3-16: Vergleich der Toxizität und Aktivität der Verbindung **64** (Derivat mit Fmoc-Valin in der 2-Position).

Wie in Abb. 3-16 zu sehen ist, gibt es für das mit Fmoc-Valin in der 2-Position funktionslierte Derivat **64** praktisch keinem Bereich, in dem schon eine deutliche Hemmung aber noch keine Toxizität zu beobachten ist.

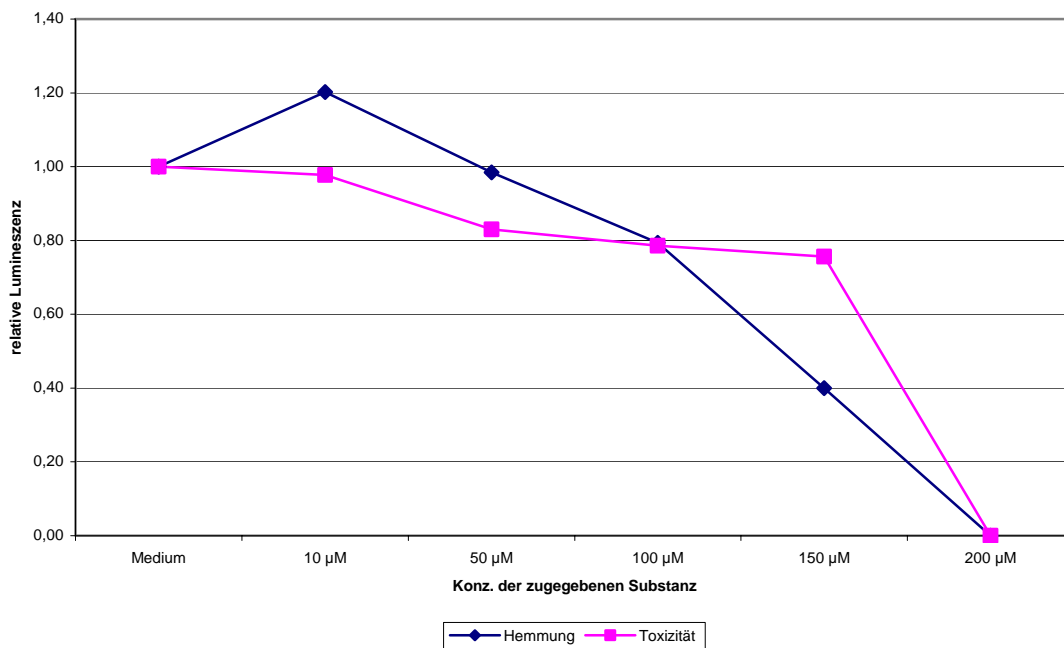


Abb. 3-17: Vergleich der Toxizität und Aktivität der Verbindung **74** (Derivat mit Fmoc-Phenylalanin).

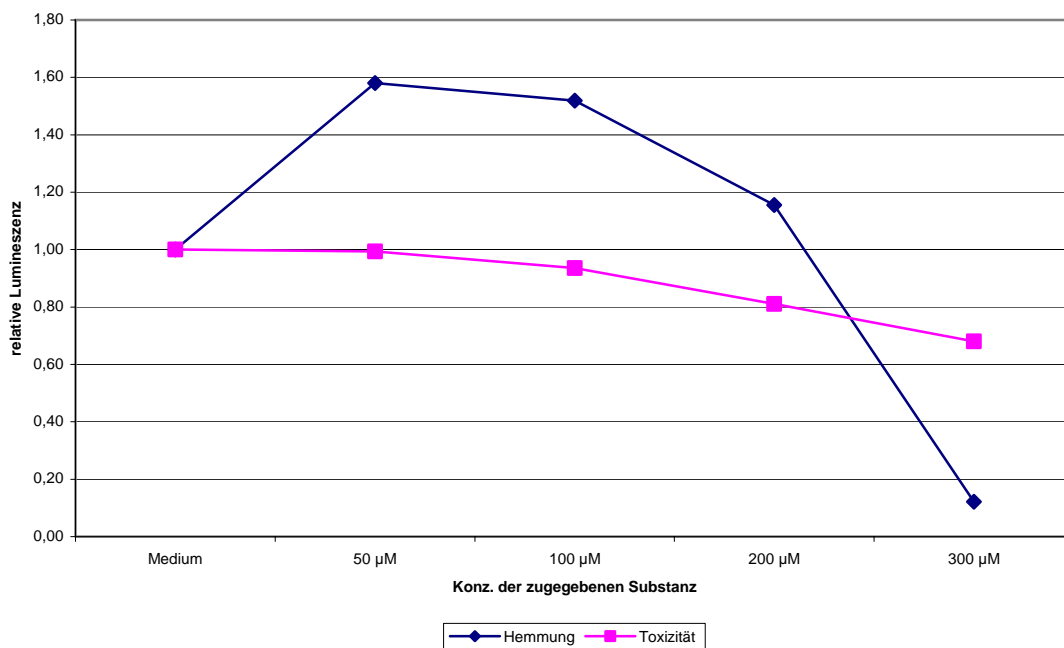


Abb. 3-18: Vergleich der Toxizität und Aktivität der Verbindung **78** (Derivat mit Fmoc-Tryptophan).

Bei den zusätzlichen Assays für die Verbindung **74**, die in der 2-Position mit Fmoc-Phenylalanin substituiert ist, kann dagegen gezeigt werden, dass bei einer Konzentration

von 150 μM der Substanz eine Hemmung erreicht werden kann, ohne dass dabei eine Zelltoxizität zu beobachten ist (Abb. 3-17).

Wie auch schon zuvor beim Derivat **64** zeigen die weiteren Untersuchungen der Verbindung **78**, die mit Fmoc-Tryptophan derivatisiert wurde, dass nur ein kleiner Konzentrationsbereich existiert, in dem die Substanz eine hemmende aber keine toxische Wirkung zeigt. Bei einer Konzentration von 300 μM hat die Substanz eine stark hemmende aber einer nur schwach toxische Wirkung.

3.8.2.2 DERIVATE MIT AROMATISCHEN CARBAMATEN ODER CARBONSÄUREESTERN IN DER 3-POSITION

Acht der in Kapitel 3.5.2.1 beschriebenen aromatischen Carbamate und zwei der in Kapitel 3.5.2.2 beschriebenen Carbonsäureester werden ebenfalls auf ihre Toxizität und hemmende Wirkung untersucht.

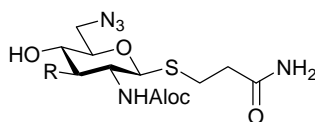


Tabelle 3-15: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests und der Hemmversuche für die Verbindungen **83**, **84**, **85**, **86**, **87**, **88**, **89**, **91**, **92** und **94** (Derivate mit Carbamaten (**83-91**) bzw. Estern (**92**, **94**) in der 3-Position). Toxizität und Hemmung: -: keine Wirkung; (+): schwache Wirkung; +: starke Wirkung.

	R	Toxizität	Hemmung
83	4-Chlorphenylcarbamoyl	-	-
84	3,4-Dichlorphenylcarbamoyl	-	+
85	3-Fluorphenylcarbamoyl	-	-
86	4-Fluorphenylcarbamoyl	-	-
87	4-Methylmercaptocarbamyol	-	-
88	4-Ethoxycarbonylcarbamoyl	-	-
89	4-Ethoxycarbamoyl	-	+
91	4- <i>iso</i> -Propylphenylcarbamoyl	-	-
92	Phenylacetyl	-	-
94	Fmoc-Gly	-	+

Wie in Tabelle 3-15 zu sehen ist, zeigt keine der 10 Substanzen eine Zelltoxizität. Allerdings ist auch der hemmende Effekt auf die Tat/TAR-Wechselwirkung nur sehr gering. Nur bei den Verbindungen **84**, **89** und **94** kann eine leichte Hemmung ab einer Substrat-Konzentration von 500 μM beobachtet werden, wobei nur beim Derivat **94**,

einem Fmoc-Glycylester bei der Zugabe einer 1 mM Substratlösung eine fast vollständige Hemmung eintritt (Abb. 3-19).

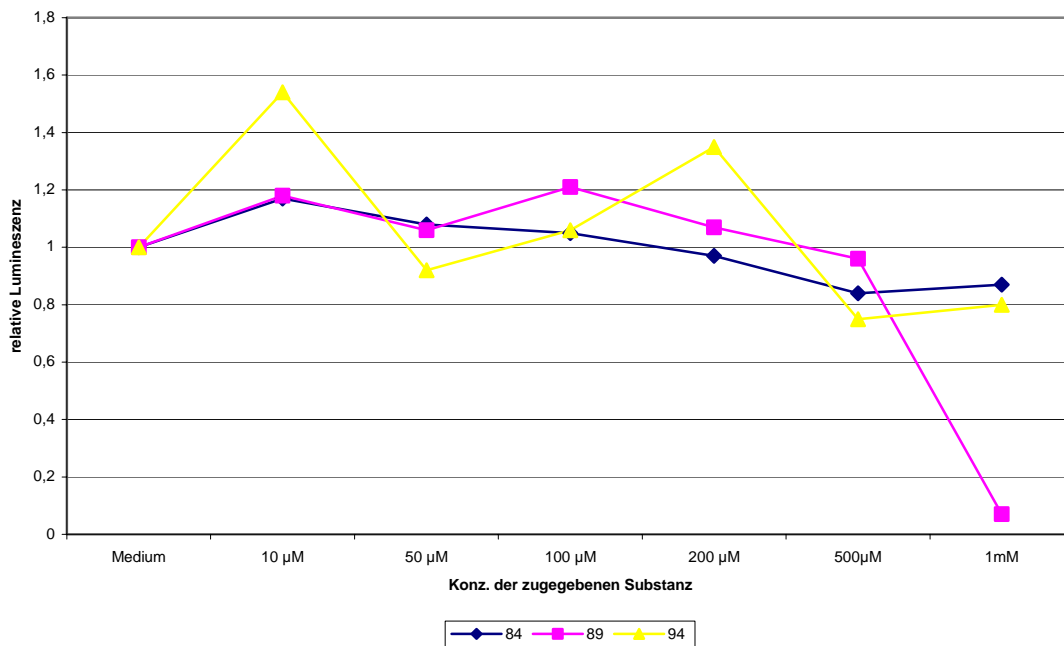


Abb. 3-19: Ergebnisse des Hemmversuchs für die Derivate **84**, **89** und **94** (Derivate mit Carbamaten (**84**, **89**) bzw. einem Ester (**94**) in der 3-Position).

3.8.2.3 DERIVATE MIT AROMATISCHEN CARBAMATEN ODER α -AMINOSÄUREESTERN IN DER 4-POSITION

Bei den Zellassays für 12 der in Kapitel 3.5.3 beschriebenen Carbamate und einem Carbonsäureester kann bei einem Teil der Substanzen eine Zelltoxizität festgestellt werden, wie in Tabelle 3-16 und Abb. 3-20 gezeigt ist.

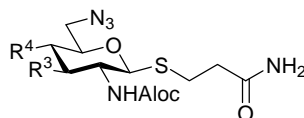


Tabelle 3-16: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests und der Hemmversuche für die Verbindungen **100**, **101**, **102**, **103**, **104**, **106**, **106'**, **107**, **107'**, **108**, **109**, **110** und **111** (Derivate mit Carbamaten (**100-110**) bzw. einem Ester (**111**) in der 4-Position). Toxizität und Hemmung: -: keine Wirkung; (+): schwache Wirkung; ++: starke Wirkung.

	R ³	R ⁴	Toxizität	Hemmung
100	O-TBS	4-Cyanophenylcarbamoyl	-	-
101	O-TBS	4-Chlorphenylcarbamoyl	-	-
102	O-TBS	3,4-Dichlorphenylcarbamoyl	-	+
103	O-TBS	3-Fluorphenylcarbamoyl	-	+
104	O-TBS	4-Fluorphenylcarbamoyl	-	-
106	O-TBS	4-Methylmercaptocarbamyol	+	-
106'	OH	4-Methylmercaptocarbamyol	+	-
107	O-TBS	4-Ethoxycarbonylcarbamoyl	+	-
107'	OH	4-Ethoxycarbonylcarbamoyl	+	-
108	O-TBS	4-Ethoxycarbamoyl	+	-
109	O-TBS	3-Acetylphenylcarbamoyl	+	-
110	O-TBS	4- <i>iso</i> -Propylphenylcarbamoyl	+	-
111	O-TBS	Fmoc-Gly	+	+

Die Derivate **100**, **101**, **102**, **103** und **104** zeigen keine Toxizität. Bei den Substanzen **106**, **108** und **110** ist schon bei einer Substratkonzentration von 200 μM eine starke Toxizität zu beobachten, während bei den Derivaten **109** und **111** erst bei 500 μM und bei dem Carbamat **106'** erst bei 1 mM eine deutliche Toxizität zu sehen ist.

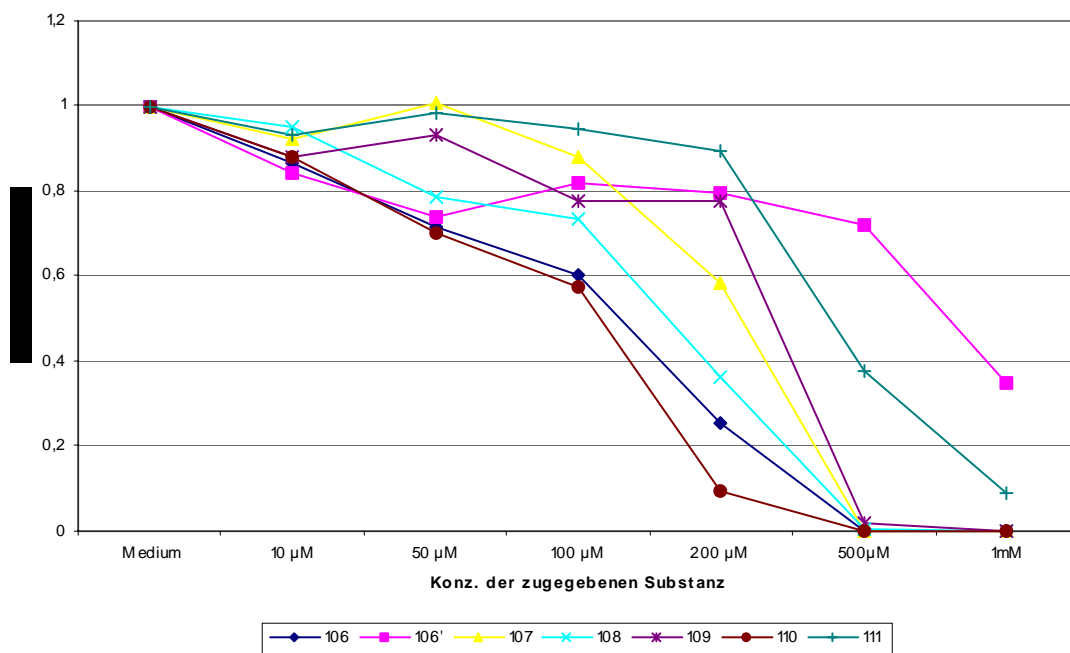


Abb. 3-20: Ergebnisse der Zelltoxizitäts-Tests für die Substanzen **106**, **106'**, **107**, **108**, **109**, **110** und **111** (Derivate mit Carbamaten (**106-110**) bzw. mit einem Ester (**111**) in der 4-Position, die eine Toxizität aufweisen).

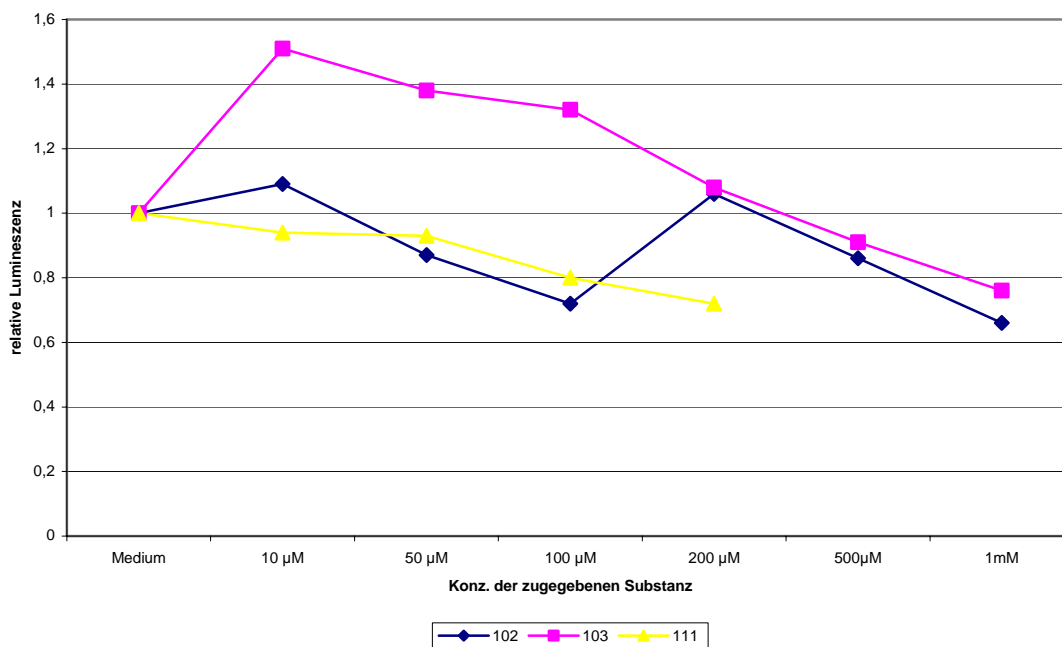


Abb. 3-21: Ergebnisse der Hemmversuche für die Substanzen **102**, **103** und **111**.

Wie auch schon zuvor bei den Derivaten mit Carbamaten und Estern in der 3-Position zeigen auch hier nur wenige Verbindungen eine Hemmung der Tat/TAR-Wechselwirkung, die zudem noch sehr schwach ist. Beim Fmoc-Glycyl-Ester **111** kann bei einer Konzentration von 200 μM eine leichte Hemmung beobachtet werden, während bei den beiden aromatischen Carbamaten **102** (3,4-Dichlorphenylcarbamate) und **103** (3-Fluorphenylcarbamate) eine leichte Hemmung erst bei der Zugabe einer 1 mM Lösung beobachtet werden kann.

3.8.2.4 DERIVATE MIT CARBONSÄUREAMIDEN IN DER 6-POSITION

Auch von den in Kapitel 3.5.5 beschriebenen Carbonsäureamiden wurden 8 Derivate auf ihre biologische Aktivität getestet (Tabelle 3-17).

Dabei zeigt sich, dass alle untersuchten α -Aminosäurederivate zelltoxisch sind, wie in Abb. 3-22 zu sehen ist. Bei der einzigen nicht toxischen Substanz dieser Gruppe handelt es sich um das Phenylacetylderivat.

Bei keiner der hier untersuchten Substanzen kann eine hemmende Wirkung auf das Testsystem beobachtet werden.

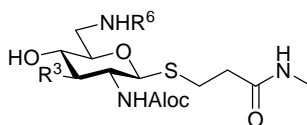


Tabelle 3-17: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests und der Hemmversuche für die Verbindungen **120**, **125**, **129**, **132**, **135**, **135'**, **136** und **137** (Derivate mit Amidin in der 6-Position). Toxizität und Hemmung: -: keine Wirkung; (+): schwache Wirkung; +: starke Wirkung.

	R3	R6	Toxizität	Hemmung
120	O-TBS	Phenylacetyl	-	-
125	O-TBS	Fmoc-Leucyl	+	-
129	O-TBS	Fmoc-Arg	+	-
132	O-TBS	Fmoc-Asn	+	-
135	O-TBS	Fmoc-Pro	+	-
135'	OH	Fmoc-Pro	+	-
136	O-TBS	Fmoc-Trp	+	-
137	O-TBS	Fmoc-His	+	-

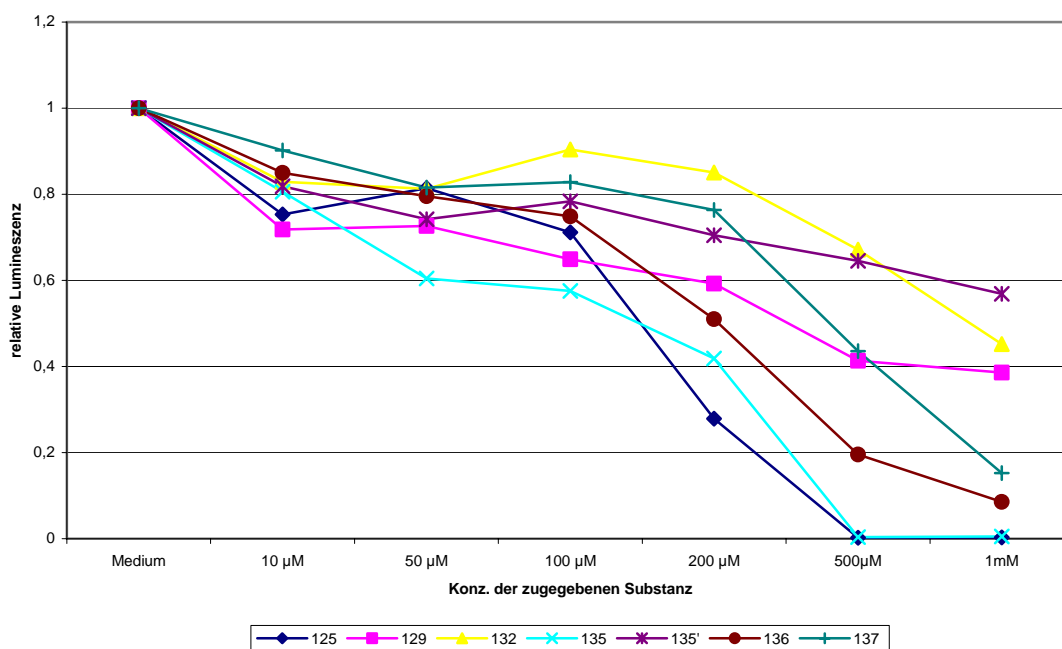
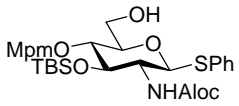
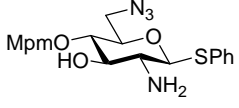
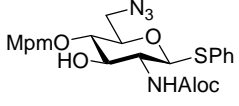
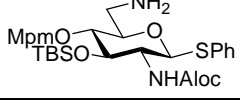


Abb. 3-22: Ergebnisse der Zelltoxizitäts-Tests für die Substanzen **125**, **129**, **132**, **135**, **135'**, **136** und **137** (Derivate mit Amiden in der 6-Position, die eine Toxizität aufweisen).

3.8.2.5 DERIVATE MIT THIOPHENOL IN DER ANOMEREN POSITION

Bei den Zelltoxizitäts-Tests und den Hemmversuchen zu den Substanzen **144**, **152**, **153** und **155**, die in Lösung synthetisiert wurden (Kapitel 3.7.1), kann leider nur eine Zelltoxizität für alle vier getesteten Verbindungen festgestellt werden, aber es wird keine Hemmung beobachtet, wie in Tabelle 3-18 und Abb. 3-23 zu sehen ist.

Tabelle 3-18: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests und der Hemmversuche für die Verbindungen **144**, **152** und **155**. Toxizität und Hemmung: -: keine Wirkung; (+): schwache Wirkung; +: starke Wirkung.

		Toxizität	Hemmung
144		+	-
152		+	-
153		+	-
155		+	-

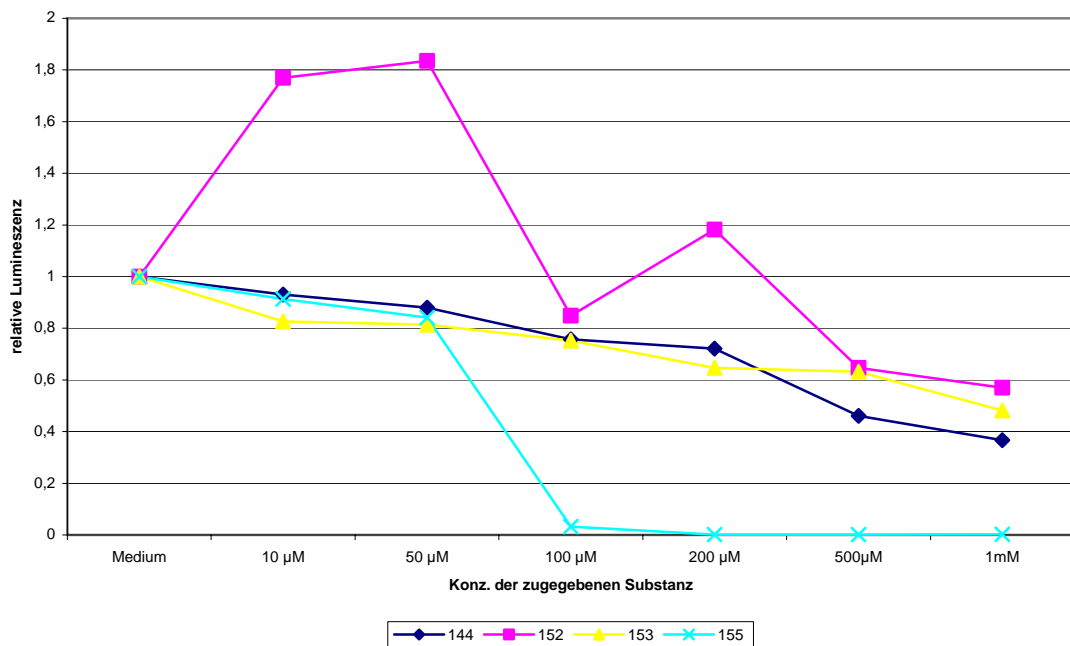


Abb. 3-23: Ergebnisse der Zelltoxizitäts-Tests für die Substanzen **144**, **152**, **153** und **155** (in Lösung synthetisierte Derivate).

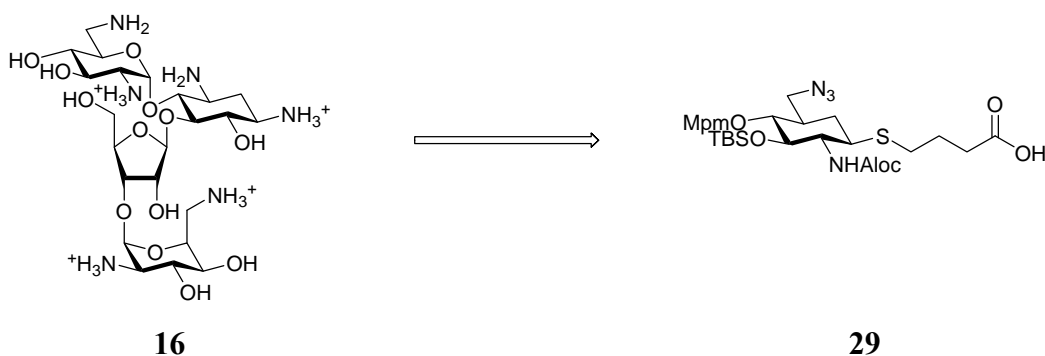
Die Derivate **154**, **156**, **157**, **158**, **159**, **161**, **162** und **163**, welche in den unterschiedlichen Positionen funktionalisiert wurden, konnten bisher noch nicht biologisch geprüft werden.

Vergleicht man die Ergebnisse, kommt man zu dem Schluss, dass die Derivate **74** und **78** mit einer hemmenden Wirkung im Bereich von 150µM bzw. 300 µM die erfolgsversprechensten Kandidaten für eine Weiterentwicklung eines Hemmstoffs für die Tat/TAR-Wechselwirkung sind, auch wenn das Fenster, in dem noch keine Toxizität zu beobachten ist, recht klein ist. Im Vergleich mit Neomycin B, dessen IC₅₀ schon bei 0.92 µM liegt, ist jedoch ist auch diese Konzentration noch deutlich höher.

4 ZUSAMMENFASSUNG

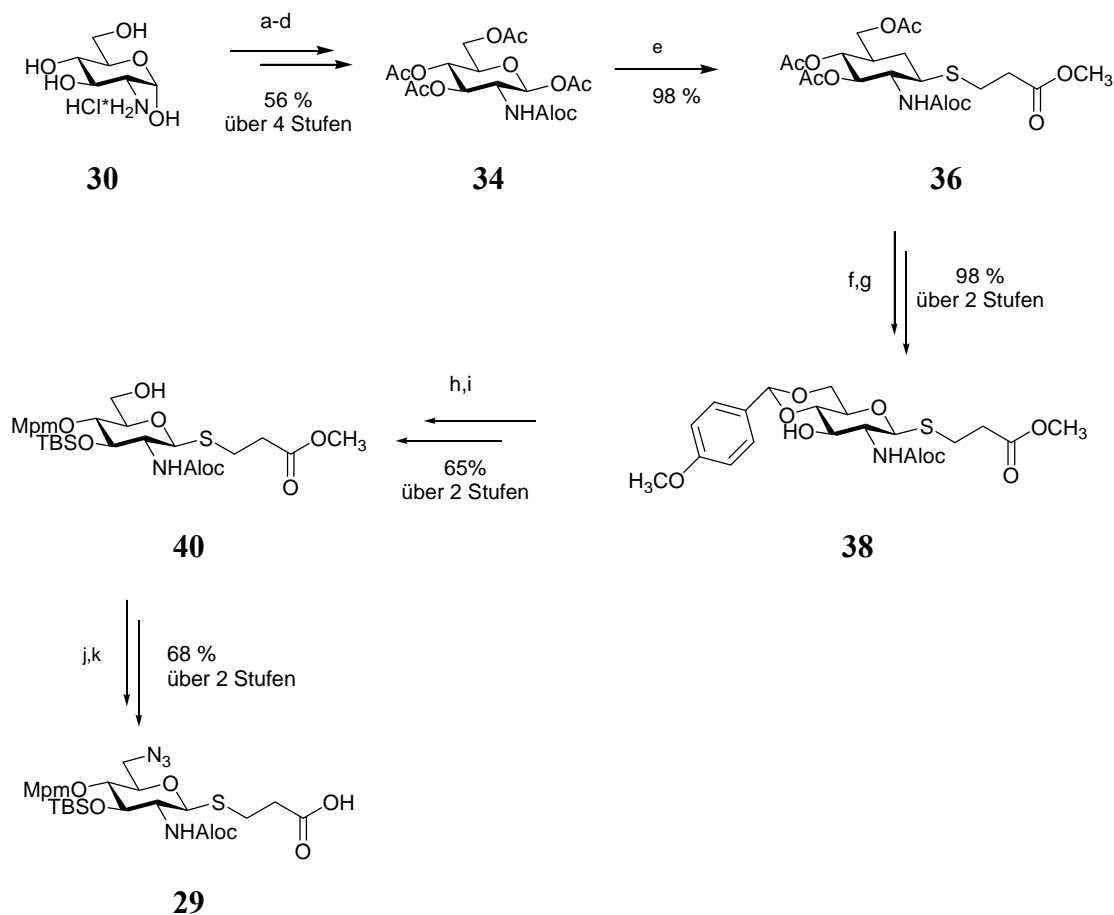
RNA-Strukturen sind mittlerweile wichtige *Targets* für den gezielten Eingriff in pathogene Vorgänge. Daher wächst seit einigen Jahren das Interesse an RNA-Liganden für die Wirkstoffentwicklung. Um einen tieferen Einblick in die Interaktionen zwischen natürlichen oder synthetischen Liganden und der RNA-Struktur zu erhalten, werden unterschiedliche Ansätze verfolgt. Eine mögliche Vorgehensweise ist die kombinatorische Synthese von potentiellen Liganden und eine darauf folgende Evaluierung hinsichtlich ihrer Bindungseigenschaften.

Die vorliegende Arbeit hatte die Anwendung des auf Neomycin B (**16**) basierenden Diaminoglucose-Scaffolds **29** zur kombinatorischen Festphasensynthese von potentiellen HIV-1-TAR-RNA-Liganden zum Ziel.



Schema 4-1: Neomycin B (**16**) als Basis eines Diaminoglucose-Scaffolds **29** für die kombinatorische Festphasensynthese.

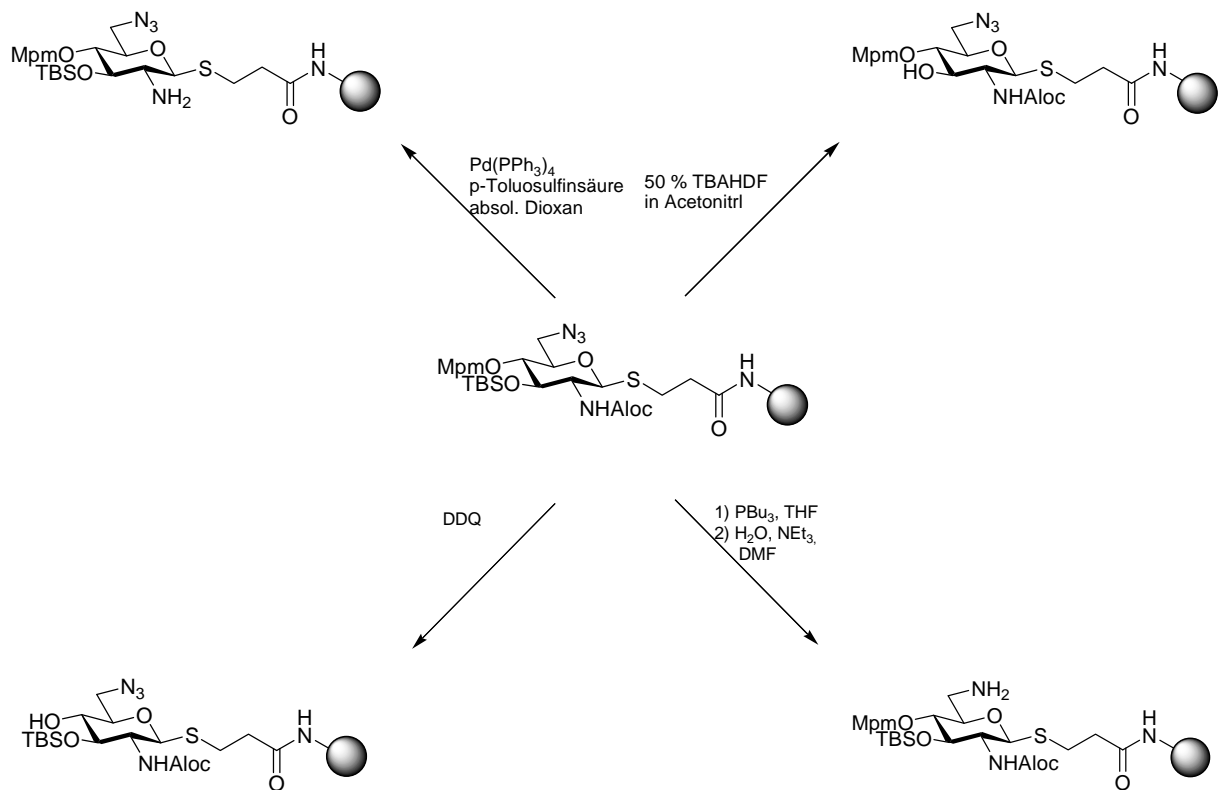
Das Augenmerk lag dabei auf der Entwicklung sowie der Optimierung der Synthese des Bausteins **29**. Der hohe Anspruch dieser Synthese liegt in der kombinierten Einführung sowohl von Aminofunktionalitäten als auch von fünf unterschiedlich labilen Schutzgruppen. Die differenziert geschützte Zielstruktur kann in 11 Stufen in einer Gesamtausbeute von 28 % dargestellt werden.



Schema 4-2: Synthese des 2,6-Diaminoglucose-Scaffolds **29**: (a): Anisaldehyd, NaOH; (b): Ac₂O, Pyridin; (c): 5.5 N HCl in Aceton; (d): AlocCl, NaHCO₃; (e): 3-Mercaptopropionsäuremethyl ester, BF₃·OEt₂; (f): NaOMe in MeOH; (g): Anisaldehyddimethylacetal, p-TsOH; (h): TBS-OTf, NEt₃; (i): NaCNBH₃, TMSCl; (j): NCA, TPP, DIAD; (k): LiOH.

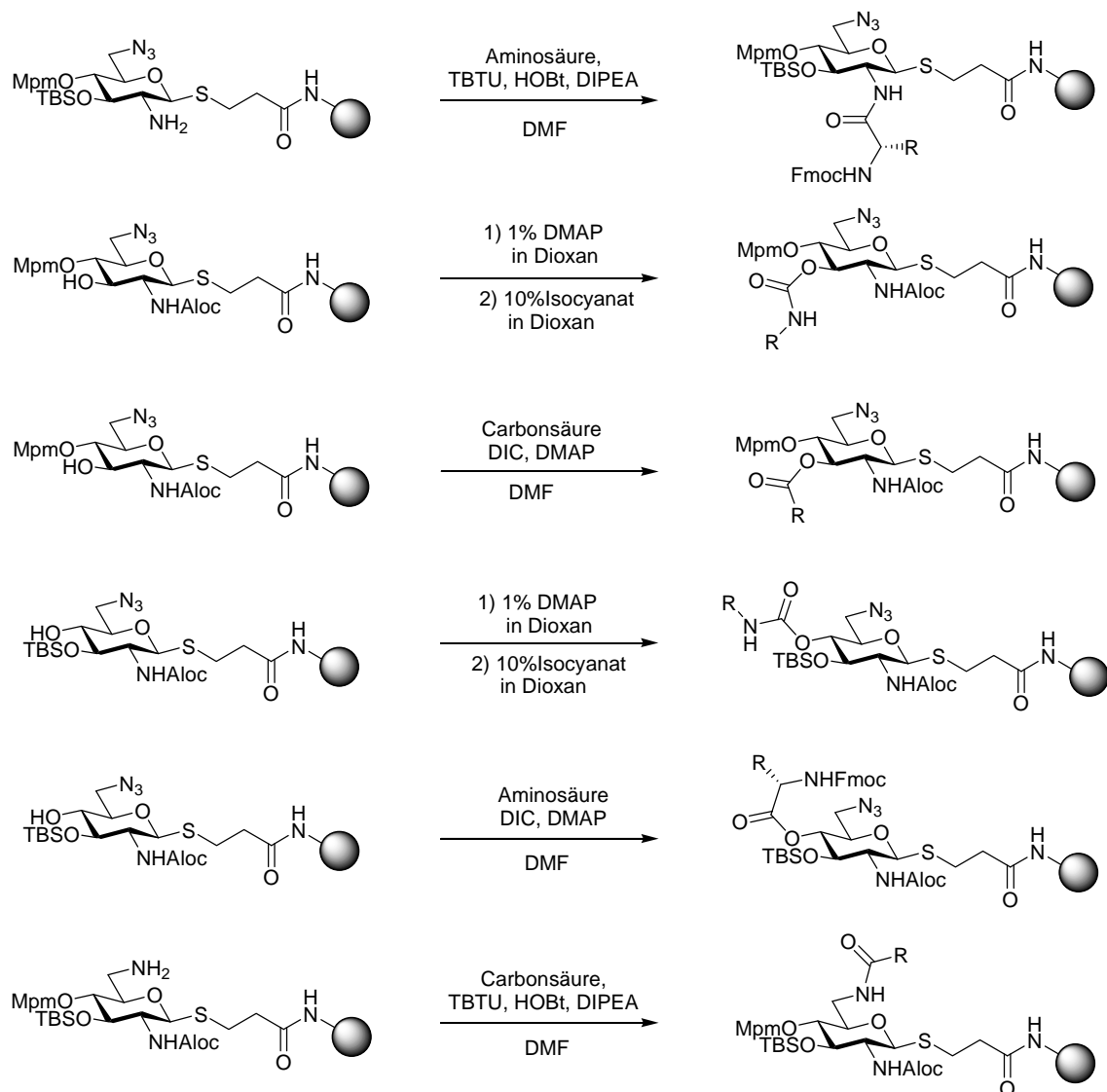
Die nach der Anbindung an den polymeren Träger durchgeführte Untersuchung der Schutzgruppen auf orthogonale Stabilität und selektive Abspaltbarkeit zeigt, dass sich alle Schutzgruppen selektiv aus dem Kohlenhydrat abspalten lassen, wobei zum Teil auch eine Modifikation des Trägerharzes nötig war.

Die Spaltung der Allyloxycarbonylschutzgruppe erfolgte katalytisch mit Palladium(0). Der *tert*-Butyldimethylsilylether in der 2-Position kann durch Zusatz von Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid als Fluoridquelle selektiv gespalten werden. Der *p*-Methoxybenzylether ist oxidativ mit DDQ spaltbar, während das Azid in der 6-Position durch eine *Staudinger*-Reduktion in die für die weiteren Funktionalisierungen benötigte Aminogruppe überführt werden kann.



Schema 4-3: Überprüfung des Schutzgruppenkonzepts.

Nachdem die Orthogonalität der Schutzgruppen nachgewiesen wurde, konnte ein weiterer Schwerpunkt der Arbeit, die kombinatorische Festphasensynthese von potentiellen RNA-Liganden, in Angriff genommen werden. Dazu wurde jeweils zuerst die zu funktionalisierende Position deblockiert und anschließend eine Seitenkette an dieser Position eingeführt. An der 2- und der 6-Position wurden jeweils nach der selektiven Spaltung der Schutzgruppe Amide über die Kupplung von verschiedenen Carbonsäuren eingeführt. An 3- und 4-Position wurden nach der selektiven Freisetzung der Hydroxylfunktionen entweder durch eine Reaktion mit Isocyanaten Carbamate bzw. durch eine Kupplungsreaktion nach *Steglich* Carbonsäureester gebildet.



Schema 4-4: Synthesen am polymeren Träger.

Neben der Synthese von Aminosukzern mit nur einer α -Aminosäure als Seitenkette wurden durch Kupplung weiterer Aminosäuren analog auch Di- und Tripeptide am Kohlenhydrat-Scaffold erzeugt.

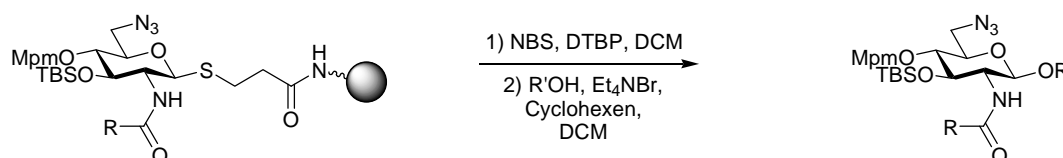
Eine Mehrfachfunktionalisierung in verschiedenen Positionen gelang leider nicht.

Nach der Derivatisierung der Kohlenhydrate erfolgte die Abspaltung der Substanzen von der festen Phase mit einer 50%-igen Lösung von Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger-Harz. Dabei werden neben dem säurelabilen *Rink*-Anker auch der *p*-Methoxybenzylether und die Seitenketten-schutzgruppen der Aminosäuren gespalten.



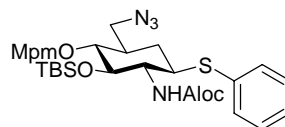
Schema 4-5: Abspaltung der Substanzen vom Trägerharz.

Alternativ konnte auch eine glycosylierende Abspaltung des Saccharids vom polymeren Träger durchgeführt werden. Dabei ist allerdings zu beachten, dass die Allyloxycarbonylschutzgruppe vorher entfernt werden muss, weil die Aktivierung des Thioglycosids mit weichen Elektrophilen erfolgt, welche auch die Allylgruppe angreifen können



Schema 4-6: Glycosylierende Abspaltung der Kohlenhydratderivate vom Polymer.

Neben der Festphasensynthese wurden Derivatisierungen an dem für die kombinatorische Synthese in Lösung entwickelten Diaminoglucose Scaffold **145** durchgeführt. Die Synthese dieses Templats erfolgt nach dem gleichen Prinzip wie die des Scaffolds **29** für die Festphasensynthese. Das Kohlenhydrat **145** kann in 10 Stufen in einer Gesamtausbeute von 12 % gewonnen werden.



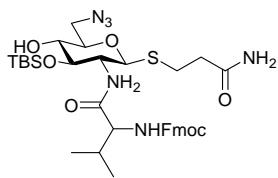
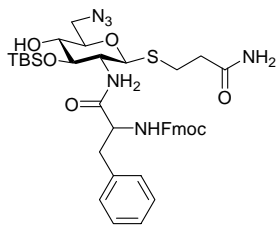
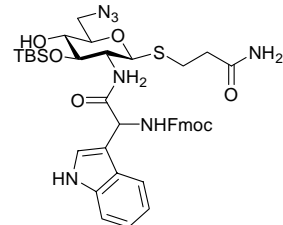
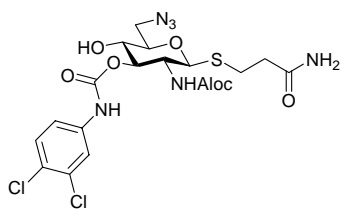
145

Abb. 4-2: 2,6-Diaminoglucose-Scaffold für die kombinatorische Synthese in Lösung

Leider stellt sich heraus, dass das für die Festphasensynthese erprobte Schutzgruppenmuster nicht direkt auf die Synthese in Lösung übertragen werden kann. So war die Abspaltung der Allyloxycarbonylgruppe in Lösung nicht möglich. Die Derivatisierung der restlichen Funktionalitäten gelang dagegen in hohen Ausbeuten, wobei die Produkte mit hohen Reinheiten erhalten wurden.

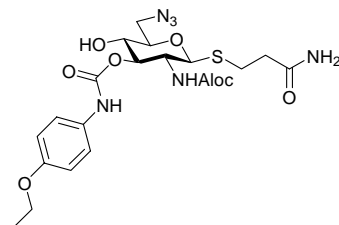
Mit Hilfe der beschriebenen Methoden wurde eine Bibliothek von mehr als 100 potentiellen RNA-Liganden synthetisiert. Ein Teil dieser Substanzen wurde

anschließend in Zelltests auf ihre Zelltoxizität und auf ihre Fähigkeit, die Tat/TAR-Wechselwirkung zu inhibieren geprüft. Hierbei zeigte sich, dass neun Verbindungen in der Lage sind, diese Wechselwirkung zu hemmen.

**64**Hemmung ab 300 μ MToxizität ab 300 μ M**74**Hemmung ab 150 μ MToxizität ab 200 μ M**78**Hemmung ab 300 μ MToxizität ab 500 μ M**84**

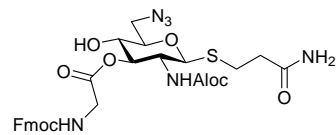
leichte Hemmung ab 1 mM

keine Toxizität

**89**leichte Hemmung ab 500 μ M

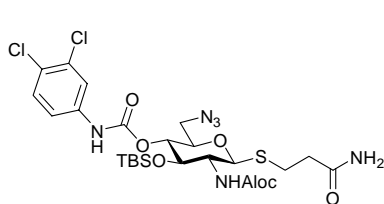
Hemmung ab 1 mM

keine Toxizität

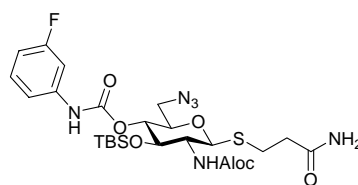
**94**

leichte Hemmung ab 1 mM

keine Toxizität

**102**leichte Hemmung ab 500 μ M

keine Toxizität

**103**leichte Hemmung ab 500 μ M

keine Toxizität

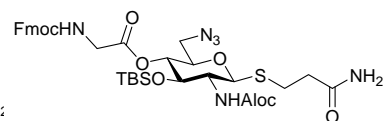
**111**leichte Hemmung ab 200 μ MToxizität ab 500 μ M

Abb. 4-3: Bioaktive Verbindungen.

Die Verbindungen **74** ist das interessanteste Derivat, da sie schon bei einer verhältnismäßig niedrigen Konzentration die Tat/TAR-Wechselwirkung hemmen kann. Allerdings ist der Konzentrations-Bereich, in dem die Substanz hemmend aber noch nicht toxisch wirkt, recht eng.

5 EXPERIMENTELLER TEIL

5.1 ALLGEMEINES UND MESSGERÄTE

Soweit nicht anders verzeichnet, werden alle Reaktionen bei Raumtemperatur und unter Rühren durchgeführt. Alle mit „i. Vak.“ oder „i. Hochvak.“ bezeichneten Destillationen werden – sofern nicht anders vermerkt - bei 40 °C bewerkstelligt.

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

Dünnschichtchromatographie:

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

Methoxyphenol-Reagenz (Mischung aus 1 M Schwefelsäure in Ethanol und 0.2%-iger ethanolischer 3-Methoxyphenol-Lösung im Volumenverhältnis 1:1);

Seebach-Reagenz (Lösung aus 1.0 g Cer(IV)-sulfat-Tetrahydrat und 2.5 g Molybdätophosphorsäure in 94 ml Wasser und 6 ml Schwefelsäure);

Ninhydrin-Reagenz (1.5 g Ninhydrin in einer Mischung aus 15 ml Essigsäure und 15 ml Methanol).

Flashchromatographie:

Als Säulenmaterial für die Flashchromatographie wird Kieselgel mit einer Korngröße von 0.032-1.063 mm der Firma *MP Biomedicals*, Irvine (USA; in Deutschland: Eschwege) verwendet. Die Menge an Kieselgel sowie die verwendeten Lösungsmittelgemische sind bei den einzelnen Verbindungen angegeben. Die Zusammensetzung der Lösungsmittelgemische sind stets in Volumenverhältnissen angegeben.

Schmelzpunkte:

Schmelzpunkte werden mit einer Schmelzpunktapparatur nach Dr. Tottoli der Firma Büchi, Flawil (Schweiz) bestimmt und sind nicht korrigiert.

Lösungsmittel:

Soweit nicht gesondert vermerkt, werden Lösungsmittel der Qualität *pro analysi* verwendet. Absolutes *N,N*-Dimethylformamid wird in Septenflaschen über Molekularsieb von der Firma *Fluka*, Buchs (Schweiz) bezogen. Absolutes Acetonitril und Dichlormethan werden durch Destillation über Calciumhydrid, absolutes Tetrahydrofuran und absoluter Diethylether durch Destillation über Natrium/Benzophenon und absolutes Methanol durch Destillation über Magnesium erhalten.¹⁴³

Drehwerte:

Spezifische Drehwerte werden mit einem Polarimeter 241 der Firma *PerkinElmer*, Wellesley (SA) bei den Wellenlängen 578 nm und 546 nm (Quecksilberdampfampe) mit einer 1 dm langen Polarimeterzelle gemessen und auf die Natrium-D-Linie ($\lambda = 589$ nm) umgerechnet. Das verwendete Lösungsmittel, die Konzentration (g / 100 ml) und die Messtemperatur sind bei den jeweiligen Drehwerten angegeben, die Einheit des spezifischen Drehwertes (deg · ml / g · dm) dagegen nicht.

Elementaranalysen:

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

NMR-Spektroskopie:

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

Bruker AC-200: 200 MHz-¹H-NMR und 30.3 MHz-¹³C-NMR

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

¹⁴³ D. D. Perrin, W. L. F. Amarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd ed., Pergamon Press, Oxford, 1988.

Bruker AVX-400: 400 MHz-¹H-NMR und 100.6 MHz-¹³C-NMR

Bruker DRX-400: 400 MHz-¹H-NMR (HRMAS)

Bruker DRX-700: 700 MHz-¹H-NMR (HRMAS)

Die durchgeführten NMR-Experimente sowie die verwendeten Lösungsmittel sind bei den einzelnen Verbindungen verzeichnet. Zur Kennzeichnung der Multiplizität werden folgende Abkürzungen genutzt: s, Singulett; d, Dublett; dd, Dublett vom Dublett; t, Triplett; q, Quartett; m, Multiplett; m_c, zentriertes Multiplett. Die angegebenen Werte für die chemische Verschiebung beziehen sich auf das Signal des deuterierten Lösungsmittels bei relativer Kalibrierung zu Tetramethylsilan als Standard ($\delta = 0$ ppm).

Die Benennung der Aminosäure-Bausteine sowie die Nummerierung der ¹H- und ¹³C-Signale folgen der IUPAC-Empfehlung von 1983.¹⁴⁴

Massenspektrometrie:

FD-Massenspektren werden mit einem *Finnigan*-MAT-95-Spektrometer der Firma *ThermoElectron*, Boston (USA) gemessen.

ESI-Massenspektren werden auf folgenden Geräten aufgenommen:

- Navigator Instrument der Firma *ThermoQuest*, Boston (USA) bei Verwendung von Acetonitril oder Acetonitril-Wasser-Gemischen 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 N₂-Strom von 300 l/h.
- Micromass-Q-TOF-Ultima-3-Spektrometer der Firma *Waters*, Milford (USA) bei Verwendung von Acetonitril oder Acetonitril-Wasser-Gemischen als Lösungsmittel, einer Probenkonzentration von 0.1 mg/ml, einer Flussrate von 5 µl/min und einer Cone Voltage von 30-80 V.

Analytische und präparative RP-HPLC:

Für die analytische RP-HPLC kommt eine MaxiStar-K1000-Gradientenpumpe, ein Vierkanal-Entgaser, eine analytische Mischkammer, sowie ein Diodenarraydetektor DAD2062 der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland) zum Einsatz.

Semi-präparative RP-HPLC-Trennungen werden unter Verwendung zweier MiniStar-K500-Gradientenpumpen in Verbindung mit einer präparativen Mischkammer sowie

¹⁴⁴ International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry, *Pure Appl. Chem.* **1994**, 56, 595-624.

einem variablen Wellenlängendetektor der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland) durchgeführt.

Die Flussraten für analytische RP-HPLC-Trennungen betragen 1 ml/min, für die semi-präparative RP-HPLC-Trennung 10 ml/min und für die präparative RP-HPLC-Trennung 20 ml/min. Als Eluenten werden Wasser-Acetonitril-Gemische verwendet. Im Fall von freien Carbonsäuren werden 0.1 % Trifluoressigsäure zugesetzt. Die Lösungsmittel werden vor Gebrauch ca. eine halbe Stunde im Ultraschallbad entgast. Das Wasser wurde einem Simplicity-185-Wasseraufbereitungssystem der Firma *Millipore*, Billerica (USA) entnommen und das Acetonitril in HPLC-Qualität wird bei der Firma *Fisher Scientific*, Hampton (USA; in Deutschland: Schwerte) erworben. Die Detektion erfolgt durch UV/VIS-Absorption über einen Wellenlängenbereich von 200 nm bis 500 nm (analytische RP-HPLC) bzw. bei einer Wellenlänge von 214 nm bzw. 254 nm (präparative RP-HPLC).

Es werden folgende Säulen und Gradienten verwendet:

Analytische RP-HPLC:

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

Gradient I:

Zeit [min]	0	30	45
H ₂ O [%]	20	0	0
CH ₃ CN [%]	80	100	100

Gradient II:

Zeit [min]	0	30	45
H ₂ O [%]	70	0	0
CH ₃ CN [%]	30	100	100

Gradient III:

Zeit [min]	0	30	45
H ₂ O [%]	90	0	0
CH ₃ CN [%]	10	100	100

Semi-präparative RP-HPLC-Säule:

Säule B: Luna C18(2) (10 μm , 250 x 21.2 mm), Firma: *Phenomenex*, Torrence (USA; in Deutschland: Aschaffenburg)

Gradient IV:

Zeit [min]	0	60
H ₂ O [%]	20	0
CH ₃ CN [%]	80	100

Gradient V:

Zeit [min]	0	45
H ₂ O [%]	60	0
CH ₃ CN [%]	40	100

Gradient VI:

Zeit [min]	0	60
H ₂ O [%]	70	0
CH ₃ CN [%]	30	100

Gradient VII:

Zeit [min]	0	60
H ₂ O [%]	90	0
CH ₃ CN [%]	10	100

Präparative RP-HPLC-Säulen:

Säule C: Luna C18(2) (10 µm, 250 x 50.00 mm), Firma: *Phenomenex*, Torrence (USA; in Deutschland: Aschaffenburg)

Gradient VIII:

Zeit [min]	0	90
H ₂ O [%]	20	0
CH ₃ CN [%]	80	100

HPLC-MS-Analysen:

Bei den HPLC-MS-Analysen wird an einem System bestehend aus einem Basic Marathon Auotsampler der Firma *Spark*, Emmen (Niederlande), einem 4-Kanal Online-Entgaser der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland), einer MaxiStar K-1001 Niederdruckgradientenpumpe der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland), einem Säulenthmostaten der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland) einem LKB-2140 Diodenarray-UV-Detektor der Firma *LKB-Produkte*, Bromma (Schweden) und einem Verdampfungs-Lichtstreu-(ELS)-Detektor vom Typ PL-ELS 1000 der Firma *Polymer*

Laboratories, Amherst (USA; in Deutschland: Darmstadt) benutzt. Es wird ein variabler Flussteiler (Splitverhältnis ca. 10:1) zwischen die Säule und den UV-Detektor geschaltet. Die Zeitverschiebung durch die unterschiedlichen Anordnungen von Detektoren und Zuleitungen beträgt in jedem Fall unter 5 Sekunden und wurde bei der Angabe der Retentionszeiten nicht berücksichtigt.

Wenn nicht ausdrücklich anders angegeben, ist die Angabe der HPLC-MS-Reinheiten auf die ELS-Daten bezogen.

Die Detektion der Massen erfolgt mit einem Micromass-Q-TOF-Ultima-3-Spektrometer der Firma *ThermoQuest*, Boston (USA).

Es werden folgende Säulen und Gradienten verwendet:

Säule D: Luna C18(2) (3 µm, 75 x 4.60 mm), Firma: *Phenomenex*, Torrence (USA; in Deutschland: Aschaffenburg)

Gradient IX:

Zeit [min]	0	10	12
H ₂ O [%]	70	0	0
CH ₃ CN [%]	30	100	100

Gradient X:

Zeit [min]	0	10	12
H ₂ O [%]	20	0	0
CH ₃ CN [%]	80	100	100

Festphasensynthese:

Für die ausschließlich manuell durchgeführte Festphasensynthese wird bei Ansätzen in einem Maßstab von mehr als 500 mg Harz wird ein spezieller Reaktor nach Merrifield verwendet. Ansätze in einem Maßstab mit bis zu 200 mg Harz werden in 5 ml-Einwegspritzen, die mit einer Polyethylenglykol-Fritte (20 µm) der Firma *IST (Isolute SPE Columns)* bestückt werden, durchgeführt. Die polymeren Träger für die Festphasensynthese werden von der Firma *Calbiochem-Novabiochem AG*, Läuflingen (Schweiz) und der Firma *Rapp Polymere GmbH*, Tübingen erworben. Die verwendeten Aminosäurebausteine werden von den Firmen *Orpegen Pharma*, Heidelberg, bzw. *Calbiochem-Novabiochem AG*, Läuflingen (Schweiz) bezogen.

Beladungsbestimmung:

Die Bestimmung der Kupplungsausbeute und der Beladung erfolgt über HRMAS-NMR-Spektroskopie durch Integration der Methylgruppe der Acetylgruppe, die zum Cappen der nicht umgesetzten Aminogruppen des Polymers eingeführt wird, gegen die Methylgruppen des *tert*-Butyldimethylsilylethers.

Analytik der Produkte aus der Festphasensynthese

Alle Derivate, die aus der Festphasensynthese erhalten werden, werden zunächst mittels analytischer HPLC und ESI-Massenspektrometrie der so getrennten Substanzen oder HPLC-MS untersucht. Eine Reinigung der Substanzen durch semi-präparative HPLC wird nur durchgeführt, wenn die zuvor bestimmte HPLC-Reinheit mehr als 10 % beträgt und mehr als 12 mg des Rohprodukts erhalten wurden.

Können mehr als 3 mg des reinen Produkts isoliert werden, werden auch NMR-Esperimente für die Analytik der Produkte angewendet. Bei geringen Substanzmengen wird nur 300 MHz-¹H-NMR-Spektren aufgenommen, bei mehr als 6 mg werden zusätzlich in einigen Fällen 1H-1H-COSY-Spektren, ¹³C-Spektren und HMQC-Spektren aufgenommen. Bei der Auswertung wird allerdings wegen der zum Teil schlechten Auflösung der ¹H-NMR-Spektren bei einigen Peaks zwar die Multiplizität, nicht aber die Kopplungskonstante angegeben.

Können mehr als 10 mg der Reinsubstanz erhalten werden, wird zusätzlich noch der spezifische Drehwert ermittelt.

5.2 HILFSREAGENZIEN

Tributylhexadecylphosphoniumazid (43)

Eine Lösung von 4.06 g (8.0 mmol) Tributylhexadecylphosphoniumbromid in 20 ml Diethylether wird viermal mit jeweils 15 ml einer 4 molaren wässrigen Natriumazid-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird vollständig i. Vak. entfernt.

Ausbeute: 3.60 g (7.66 mmol, 96 %); leicht brauner, amorpher Feststoff.

FT-IR (KBr) $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2143 [s, ν (N₃)].

C₂₈H₅₉N₃P (469.77)

Zinkazid-bis-Pyridin-Komplex (52)¹⁴⁵

Zu einer 2 M wässrigen Lösung von Zinknitrat (40 mmol) wird langsam eine 2 M wässrige Lösung von Natriumazid (80 mmol) zugetropft. Die entstehende weiße Suspension wird auf etwa 50 °C erhitzt und langsam mit 7 ml Pyridin (86 mmol) versetzt, wobei sehr schnell ein farbloser Feststoff abgeschieden wird. Die Suspension wird unter Rühren langsam auf 0 °C abgekühlt. Das gewünschte Produkt wird dann durch Filtration und anschließendes Waschen mit Eiswasser gewonnen und im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 10.7 g (34.9 mmol, 86 %); farbloser, amorpher Feststoff.

FT-IR (KBr) $\tilde{\nu} [cm^{-1}] = 2958 [s, \nu(CH_3)]; 2920 [s, \nu(CH, \text{ ges. Kohlenwasserstoffe}]); 2852 [s, \nu(CH_3)]; 2039 [s, \nu(N_3)].$

$C_{10}H_{10}N_8Zn$ (307.63)

Benzazid (53)^{120, 146}

Eine Mischung aus 10.8 g (72 mmol) Benzoesäureethylester und 4.0 g (80 mmol) Hydrazinydrat (85%-ig) werden 5 h bei 90 °C gerührt und dann zur Vervollständigung der Kristallisation 12 h bei Raumtemp. stengelassen. Der entstandene Feststoff wird abgesaugt und mit etwas eiskaltem Methanol nachgewaschen (Rohausbeute: 7.0 g, 72 %).

Das rohe, getrocknete Benzhydrazid wird in 100 ml 1 M Salzsäure gelöst. Die Lösung wird bei 0 °C unter Rühren langsam mit einer Lösung von 4.0 g (58 mmol) Natriumnitrit in 25 ml Wasser versetzt. Nachdem man sich vergewissert hat, dass nach der Zugabe kein überschüssiges Benzhydrazid mehr vorliegt (Prüfung mit Natriumnitrit-Lösung), wird der Niederschlag abgesaugt und im Vakuum über Kaliumhydroxid getrocknet (Ausbeute: 5.5 g, 73 %).

Ausbeute: 5.5 g (37.4 mmol, 52 % über 2 Stufen); leicht brauner, kristalliner Feststoff; Schmp.: 30 °C; Lit.: ~30 °C.

FT-IR (KBr) $\tilde{\nu} [cm^{-1}] = 2140 [s, \nu(N_3)]; 1695 [s, \nu(C=O)]; 1593 [m, \nu(C=C, \text{ Aromat})].$

$C_7H_4N_3O$ (147.13)

¹⁴⁵ M. C. Viaud, P. Rollin, *Synthesis* **1989**, 130.

¹⁴⁶ L. Gattermann, H. Wieland in *Die Praxis der org. Chemikers*, Walter de Gruyter GmbH & Co., Berlin, New York, **1961**, 40. Auflage., S. 138.

Nicotinoylazid (54)¹⁴⁷

Zu 8.50 ml (100 mmol) konzentrierter Salzsäure werden unter Eiskühlung langsam 6.85 g (50.0 mmol) Nicotinoylhydrazid zugegeben, so dass die Temperatur unter 10 °C bleibt. Anschließend wird langsam eine Lösung von 6.90 g (100 mmol) Natriumnitrit in 15 ml Wasser zugetropft und weitere 15 Minuten bei 0 °C gerührt. Dann wird die wässrige Phase dreimal mit jeweils 15 ml Diethylether gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden so lange mit ges. Natriumbicarbonat-Lösung gewaschen, bis diese neutral reagiert. Danach wird die etherische Phase 30 Minuten mit Magnesiumsulfat getrocknet und vollständig i. Vak. vom Lösungsmittel befreit.

Ausbeute: 6.20 g (41.9 mmol, 84 %); leicht brauner, kristalliner Feststoff; Schmp.: 47 °C; Lit.: 46-48 °C.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 9.19 (d, 1H, ⁴J = 1.8 Hz, H-2); 8.81 (dd, 1H, ³J₅₋₆ = 4.8 Hz, H-6); 8.26 (dt, 1H, ³J₄₋₅ = 8.1 Hz, H-4); 7.40 (dd, 1H, ³J₄₋₅ = 7.8 Hz, ³J₅₋₆ = 4.8 Hz, H-5).

FT-IR (KBr) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2137 [s, ν (N₃)]; 1692 [s, ν (C=O)]; 1591 [m, ν (C=C, Aromat)].

C₆H₄N₄O (148.12)

***p*-Toluolsulfinsäure (61)**^{26(e), 126}

10.0 g (51.0 mmol) des Natriumsalzes der *p*-Toluolsulfinsäure werden in ca. 100 ml destilliertem Wasser in der Siedehitze gelöst und vorsichtig mit 4.25 ml (51.0 mmol) konz. Salzsäure versetzt. Die Kristallisation der *p*-Toluolsulfinsäure wird durch langsames Abkühlen vervollständigt. Nach 30 Minuten filtriert man die blättchenförmigen Kristalle ab und filtriert aus 100 ml destilliertem Wasser um. Nach 16 h bei 4 °C filtriert man erneut ab, wäscht mit wenig eiskaltem Wasser nach, presst die Kristalle ab und trocknet im Hochvakuum.

Ausbeute: 6.70 g (42.9 mmol, 84 %); farblose, blättchenförmige Kristalle; Schmp.: 82 °C, Lit.:¹⁴⁸ 80-83 °C.

¹⁴⁷ O. S. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, 72, 4244-4246.

¹⁴⁸ P. Carloni, E. Damiani, M. Iacussi, L. Greci, P. Stipa, *Tetrahedron*, **1995**, 45, 12445.

2-*tert*-Butyloxycarbonylaminobenzoessäure¹⁴⁹

500 mg (3.65 mmol) Anthranilsäure werden in 5.5 ml einer 10%-igen Lösung von Triethylamin in Methanol gelöst. Unter starkem Rühren werden 803 mg (7.30 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat zugegeben. Anschließend wird das Reaktionsgemisch zwei Stunden auf 40-50 °C erhitzt. Nachdem das Lösungsmittel vollständig entfernt wurde, rührt man den Rückstand mit ca. 5 ml eisgekühlter 1 M Salzsäure und extrahiert dann sofort viermal mit je 10 ml Ethylacetat. Die vereinigten organischen Phase werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vollständig vom Lösungsmittel befreit.

Das so erhaltene Öl wird aus Ether/Cyclohexan auskristallisiert.

Ausbeute: 684 mg (2.88 mmol, 79 %); farbloser, kristalliner Feststoff; Schmp.: 152 °C; Lit.:¹⁵⁰ 155.5-157 °C.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 11.33 (s_b, 1H, COOH); 9.99 (s, 1H, NH); 8.46 (d, 1H, ³J₅₋₆ = 8.8 Hz, H-6); 8.09 (d, 1H, ³J₂₋₃ = ³J₃₋₄ = 7.7 Hz, H-3); 7.56 (m, 1H, H-4); 7.02 (m, 1H, H-5); 1.53 (s, 9H, CH₃, *tert*-Butyl).

5.3 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.2

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucosamin-Hydrochlorid (33)

50.0 g (233 mmol) D-Glucosamin-Hydrochlorid werden in 235 ml 1 M wässr. Natriumhydroxid-Lösung gelöst und mit 28.3 ml (31.7 g, 233 mmol) *p*-Anisaldehyd versetzt. Die Emulsion wird fünf Minuten kräftig gerührt und anschließend zur Vervollständigung der Fällung zwei Stunden auf 4 °C gekühlt. Das ausgefallene Anisalglucosamin¹⁵¹ wird abfiltriert, mit reichlich Ether/Ethanol (1/1) gewaschen und getrocknet (Ausbeute 63.7 g, 92 %).

63.7 g (214 mmol) Anisalglucosamin werden in 400 ml Pyridin suspendiert und langsam unter Eiskühlung mit 200 ml Acetanhydrid versetzt. Die Lösung wird 14 Stunden bei Raumtemp. gerührt und anschließend unter Rühren langsam in 800 ml Eiswasser gegossen, woraufhin 1,3,4,5-Tetra-*O*-acetyl- β -D-anisalglucosamin in farblosen Flocken ausfällt. Der Feststoff wird abfiltriert, mit etwas Eiswasser gewaschen und getrocknet (Ausbeute 90.6 g, 91 %).

¹⁴⁹ H. Zhao, T. Burke, R. Terrence, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 4219.

¹⁵⁰ D. A. Heyman, *J. Heterocycl. Chem.* **1978**, *15*, 1311.

¹⁵¹ P. Boullanger, *Carbohydr. Res.* **1990**, *151*, 202.

90.6 g (195 mmol) 1,3,4,5-Tetra-*O*-acetyl- β -D-anisalglucosamin werden in 270 ml Aceton gelöst und in der Siedehitze mit 48 ml 5,5 N Salzsäure versetzt. Man lässt die Suspension abkühlen. Dann wird der farblose Feststoff abfiltriert, mit viel Ether gewaschen und getrocknet (Ausbeute 75.0 g, quant.).

Ausbeute über drei Stufen: 75.0 g (195 mmol, 84 %); farbloser, kristalliner Feststoff; Schmp.: 219 °C (Zersetzung bei 225 °C), Lit.:¹⁵² 220 °C (Zersetzung bei 230 °C).

C₁₄H₂₂ClNO₉ (383.78)

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy- β -D-glucopyranose (34)

10.0 g (26.0 mmol) des peracetylierten Glucosaminhydrochlorids **33** werden in einer Lösung von 8.40 g (100 mmol) Natriumhydrogencarbonat in 100 ml Wasser suspendiert. Zu dieser Suspension wird langsam eine Lösung von 4.15 ml (39.0 mmol) Chlorameisensäureallylester in 100 ml Chloroform zugetropft. Nach beendeter Zugabe lässt man weitere 4 Stunden kräftig rühren und trennt anschließend die Phasen. Die wässrige Phase wird dann zweimal mit je 30 ml Chloroform gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden mit je 60 ml Wasser und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem vollständigen Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird das Rohprodukt aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 8.80 g (20.4 mmol, 79 %); farbloser, kristalliner Feststoff; Schmp.: 131 °C; $[\alpha]_D^{20} = 16.1$ (c = 1.0, Chloroform) R_f = 0.39 (DCM/EE = 7/1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 5.85 (m, 1H, CH, Allyl); 5.66 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 8.5 Hz, H-1); 5.27-5.02 (m, 5H, =CH₂, Allyl, H-3, H-4, NH); 4.53 (d, 2H, ³J_{CH₂-CH₂} = 3.6 Hz, O-CH₂, Allyl); 4.25 (dd, 1H, ³J₅₋₆ = 4.8 Hz, ²J = 12,5 Hz, H-6); 4.08 (dd, 1H, ³J_{5-6'} = 1.8 Hz, ²J = 12,5 Hz, H-6'); 3.92 (t, 1H, ³J₁₋₂ = 8.5 Hz, H-2); 3.79 (m, 1H, H-5); 2.09, 2.06, 2.02, 2.01 (4s, 12H, CH₃, OAc).

C₁₈H₂₅NO₁₁ (431.39)

3-[3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäuremethylester (36)

Unter Argon werden 25.8 g (59.8 mmol) des Glucosederivats **34** und 9.35 ml (83.7 mmol) Mercaptopropionsäuremethylester **35** in einem zuvor ausgeheizten 500 ml Schlenkkolben mit ca. 2 g Molsieb 3 Å in 300 ml absol. Dichlormethan gelöst und auf

¹⁵² H. Roesper, K. Heyns, S. Roesper, B. Meyer, *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 780-793.

0 °C gekühlt. Dann werden langsam 38.0 ml (299 mmol) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex zugetropft und anschließend lässt man die Reaktionslösung auf Raumtemp. erwärmen und 15 Stunden rühren. Danach wird die Lösung zum Aufarbeiten unter starkem Rühren auf 500 ml einer eisgekühlten, ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gegossen. Man gibt so lange festes Natriumhydrogencarbonat zu, bis der pH-Wert der Lösung leicht basisch bleibt. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird dreimal mit je 50 ml Dichlormethan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden dann noch zweimal mit je 200 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und je einmal mit 200 ml 1 M Salzsäure und mit 250 ml ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Dann trocknet man die organische Phase mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel vollständig im Vakuum. Die Reinigung erfolgt durch Flash-Säulenchromatographie an ca. 600 g Kieselgel mit Dichlormethan/Ethylacetat (7/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 29.2 g (98 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -14.2$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.30$ (DCM/EE = 7/1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 5.85 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.28-5.16 (m, 3H, H-4, =CH₂, Allyl); 5.02 (t, 1H, ³J_{2,3} = 9.9 Hz, ³J_{3,4} = 9.9 Hz, H-3); 4.86 (d, 1H, ³J_{NH-2} = 8.8 Hz, NH); 4.66 (d, 1H, ³J_{1,2} = 10.3 Hz, H-1); 4.54 (d, 2H, ³J_{CH₂-CH₂} = 5.6 Hz, O-CH₂, Allyl), 4.20 (dd, 1H, ³J_{5,6} = 5.2 Hz, ²J = 12,5 Hz, H-6); 4.10 (dd, 1H, ³J_{5,6'} = 2.2 Hz, ²J = 12,5 Hz, H-6'); 3.71-3.61 (m, 2H, H-2, H-5); 3.66 (s, 3H, CH₃, Methylester); 2.91 (m_c, 2H, S-CH₂); 2.69 (t, 2H, CH₂-COOMe); 2.06, 2.01, 2.00 (3s, 9H, CH₃, OAc).

C₂₀H₂₉NO₁₁S (491.51)

3-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-4,6-O-p-methoxybenzyliden-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäuremethylester (38)

Eine Lösung von 22.0 g (45.0 mmol) des Tetraacetats **36** in 300 ml absol. Methanol wird unter Argon tropfenweise mit einer 1 M Natriummethylat-Lösung in Methanol versetzt, bis ein pH-Wert von 9.0 erreicht ist. Man rührt 30 Minuten und hält dabei den pH-Wert durch Zutropfen von weiterer Natriummethanolat-Lösung bei 9.0. Anschließend wie die Lösung mit dem Ionenaustauscherharz Amberlite[®] IR120 (H-Form) neutralisiert, worauf das Harz abfiltriert wird und das Filtrat i. Vak. vollständig vom Lösungsmittel befreit wird.

Der Rückstand wird in 300 ml absol. N,N-Dimethylformamid gelöst. Man versetzt die Lösung mit ca. 300 mg p-Toluolsulfonsäure-Monohydrat und 10.6 ml (11.3 g, 63.0 mmol) p-Anisaldehyddimethylacetal. Die Lösung wird bei 50 °C und 22-28 mbar

zwei Stunden gerührt. Man neutralisiert mit Triethylamin und entfernt das Lösungsmittel destillativ im Hochvakuum.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Säulenchromatographie an ca. 500 g Kieselgel mit Dichlormethan/Ethylacetat (7/1) als Laufmittelgemisch. Dazu wird das Rohprodukt auf 60 g Kieselgel aufgezogen.

Ausbeute: 21.0 g (97 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -49.1$ ($c = 1.0$, Chloroform); $R_f = 0.41$ (DCM/EE = 7/1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.39 (d, 2H, $^3J_{2-3} = ^3J_{5-6} = 8.8$ Hz, H3-, H5-Mpm); 6.87 (d, 2H, $^3J_{2-3} = ^3J_{5-6} = 8.8$ Hz, H2-, H6-Mpm); 5.91 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.48 (s, 1H, CH, Acetal); 5.30 (d, 1H, $^3J_{\text{trans}} = 17.3$ Hz, $^2J = 1.1$ Hz, =CH₂, Allyl); 5.20 (d, 1H, $^3J_{\text{cis}} = 10.3$ Hz, $^2J = 1.1$ Hz, =CH₂, Allyl); 5.00 (d, 1H, NH, $J_{\text{NH-2}} = 9.7$ Hz); 4.71 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 8.1$ Hz, H-1); 4.57 (d, 2H, $^3J_{\text{CH}_2\text{-CH}_2} = 5.5$ Hz, O-CH₂, Allyl); 4.39 (dd, 1H, $^3J_{5-6} = 4.8$ Hz, $^2J = 10.3$ Hz, H-6); 3.93 (m, 1H, H-3); 3.78 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.74 (m, 1H, H-6'); 3.61 (s, 3H, O-CH₃, Methylester); 3.55-3.45 (m, 3H, H-2, H-4, H-5); 2.92 (m_c, 2H, S-CH₂); 2.64 (t, 2H, CH₂-COOMe).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DEPT, CDCl₃): δ [ppm] = 173.7 (C=O, Methylester); 160.3 (Mpm-4); 156.2 (C=O, Carbat); 132.4 (CH, Allyl); 129.4 (Mpm-1); 127.6 (Mpm-2, -6); 117.9 (=CH₂, Allyl), 113.7 (Mpm-3, -5); 101.8 (CH, Acetal); 85.2 (C-1); 81.2 (C-4); 72.7 (C-5); 70.3 (C-2); 68.5 (C-6); 66.1 (O-CH₂, Allyl); 57.4 (O-CH₃, Mpm); 55.3 (C-3); 51.9 (O-CH₃, Methylester); 35.1 (CH₂-COOMe); 25.5 (S-CH₂).

C₂₂H₂₉NO₉S (483.53)

3-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-4,6-O-p-methoxybenzyliden- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäuremethylester (39)

Eine Lösung von 9.96 g (20.6 mmol) des Acetals **38** in 300 ml absol. Dichlormethan wird zunächst mit 16.7 ml (16.2 g, 206 mmol) Pyridin versetzt und auf 0 °C gekühlt. Es entsteht eine Suspension, die sich beim langsamen Zutropfen von 6.63 ml (5.76 g, 28.8 mmol) Trifluormethansulfonsäure-tert-butylidimethylsilylester langsam klärt. Man lässt 15 Minuten bei 0 °C rühren und bricht dann die Reaktion ab, indem man die Reaktionslösung langsam in 200 ml einer stark gerührten, eisgekühlten ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung giesst. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird zweimal mit je 100 ml Dichlormethan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden jeweils einmal mit je 200 ml 1 M Salzsäure, ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zuletzt mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und vollständig i. Vak. vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Säulenchromatographie an ca. 300 g Kieselgel mit Dichlormethan/Ethylacetat (15/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 11.3 g (92 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -34.0$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.42$ (DCM/EE = 15/1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.36 (d, 2H, $^3J_{2-3} = ^3J_{5-6} = 8.8$ Hz, H3-, H5-Mpm); 6.85 (d, 2H, $^3J_{2-3} = ^3J_{5-6} = 8.8$ Hz, H2-, H6-Mpm); 5.88 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.43 (s, 1H, CH, Acetal); 5.28 (d, 1H, $^3J_{\text{trans}} = 17.3$ Hz, =CH₂, Allyl); 5.18 (d, 1H, $^3J_{\text{cis}} = 10.3$ Hz, =CH₂, Allyl); 4.85 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 8.8$ Hz, H-1); 4.80 (d, 1H, $J_{\text{NH-2}} = 10.7$ Hz, NH); 4.53 (d, 2H, O-CH₂, Allyl, $^3J = 5.5$ Hz); 4.27 (dd, 1H, H-6, $^3J_{5-6} = 4.4$ Hz, $^2J = 10.3$ Hz); 3.93 (m, 1H, H-3); 3.78 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.74 (m, 1H, H-6'); 3.67 (s, 3H, O-CH₃, Methylester); 3.44 (m, 3H, H-2, H-4, H-5); 2.94 (m, 2H, S-CH₂); 2.64 (t, 2H, CH₂-COOMe); 0.79 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); -0.01, -0.07 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DEPT, CDCl₃): δ [ppm] = 173.6 (C=O, Methylester); 160.3 (Mpm-4); 156.2 (C=O, Carbamat); 132.4 (CH, Allyl); 129.4 (Mpm-1); 127.6 (Mpm-2, -6); 117.8 (=CH₂, Allyl), 113.7 (Mpm-3, -5); 101.6 (CH, Acetal); 85.2 (C-1); 81.2 (C-4); 72.7 (C-5); 70.3 (C-2); 68.5 (C-6); 66.1 (O-CH₂, Allyl); 57.4 (O-CH₃, Mpm); 55.8 (C-3); 51.9 (O-CH₃, Methylester); 35.1 (CH₂-COOMe); 26.1 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 25.5 (S-CH₂); 18.6 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -4.1, -5.1 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

C₂₈H₄₃NO₉SSi (597.79)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäuremethylester (40)

6.21 g (10.4 mmol) des Acetals **39** werden in ca. 200 ml absol. Acetonitril gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dann werden nacheinander 13.1 g (207 mmol) Natriumcyanoborhydrid und 2.41 ml (2.06 g, 26.0 mmol) Chlortrimethylsilan zugegeben. Nach zwei Stunden Reaktionszeit bei 0 °C wird das Eisbad entfernt und weitere zwei Stunden bei Raumtemp. gerührt. Da nach dieser Zeit der Umsatz laut DC-Kontrolle noch nicht vollständig ist, werden weitere 1.20 ml (1.03 g, 13.0 mmol) Chlortrimethylsilan zugegeben. Nach insgesamt 12 Stunden wird die Reaktion durch Eintragen der Reaktionslösung in 400 ml einer stark gerührten, eisgekühlten Mischung aus gleichen Teilen ges. wässriger Kaliumbicarbonat-Löung und ges. wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung abgebrochen. Es werden 250 ml Dichlormethan zugegeben und die Phasen werden getrennt. Die wässrige Phase wird zweimal mit je 100 ml Dichlormethan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden jeweils einmal mit 150 ml ges. wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung, 1 M wässriger

Zitronensäure-Lösung und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesium-sulfat getrocknet und i. Vak. vollständig vom Lösungsmittel befreit.

Das Produkt wird durch Flash-Säulenchromatographie an ca. 300 g Kieselgel mit Dichlormethan/Ethylacetat (7/1) als Laufmittelgemisch von Verunreinigungen befreit.

Ausbeute: 4.45 g (71 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -14.7$ ($c = 1.0$, Chloroform); $R_f = 0.30$ (DCM/EE = 7/1).

$300\text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 7.19 (d, 2H, $^3J_{2-3} = ^3J_{5-6} = 8.4$ Hz, H3-, H5-Mpm); 6.79 (d, 2H, $^3J_{2-3} = ^3J_{5-6} = 8.4$ Hz, H2-, H6-Mpm); 5.88 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.20 (d, 1H, $^3J_{\text{trans}} = 16.3$ Hz, =CH₂, Allyl); 5.12 (d, 1H, $^3J_{\text{cis}} = 10.6$ Hz, =CH₂, Allyl); 4.68 (d, 1H, H-1, $^3J_{1-2} = 11.0$ Hz); 4.55 (m, 2H, $J_{\text{NH-2}} = 10.3$ Hz, NH, H^a, CH₂ Mpm); 4.50 (m, 3H, O-CH₂, Allyl, H^b, CH₂, Mpm); 3.78 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.77 (m, 1H, H-3); 3.63 (s, 3H, O-CH₃, Methylester); 3.45 (m, 5H, H-2, H-4, H-5, H-6, H-6'); 2.91 (m, 2H, S-CH₂); 2.62 (t, 2H, CH₂-COOMe); 0.86 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.03, 0.02 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

$75.5\text{ MHz-}^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 174.1 (C=O, Methylester); 159.4 (Mpm-4); 156.4 (C=O, Carbamat); 132.2 (CH, Allyl); 129.7 (Mpm-1); 129.6 (Mpm-2, -6); 118.2 (=CH₂, Allyl), 113.9 (Mpm-3, -5); 85.2 (C-1); 79.1 (C-4); 77.3 (C-5); 76.1 (C-3); 74.7 (CH₂, Mpm); 66.2 (O-CH₂, Allyl); 61.0 (C-6); 56.9 (O-CH₃, Mpm); 55.3 (C-2); 52.59 (O-CH₃, Methylester); 33.7 (CH₂-COOMe); 25.7 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 25.3 (S-CH₂); 17.8 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -3.9, -4.3 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

$\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{NO}_9\text{SSi}$ (599.81)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäuremethylester (42)

3.02 g (5.04 mmol) des Monosaccharids **40** werden in ca. 100 ml absol. Toluol gelöst, mit 5.30 g (10.1 mmol) Triphenylphosphin versetzt und auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur werden langsam 3.89 ml (3.81 g, 10.1 mmol) Diisopropylazodicarboxylat zugegeben. Nach 15 Minuten werden 1.49 g (10.1 mmol) Nicotinylazid **54** zugegeben und die Lösung wird bei Raumtemperatur drei Stunden gerührt. Bei vollständigem Umsatz werden 10 ml Methanol zugegeben um überschüssiges Diisopropylazodicarboxylat zu vernichten. Die Reaktionslösung wird i. Vak. vollständig vom Lösungsmittel befreit. Anschließend wird der Rückstand in ca. 20 ml Diethylether aufgenommen und 15 Minuten gerührt. Dann wird das ausgefällte Triphenylphosphinoxid abfiltriert und die Lösung i. Vak. bis zur Trockene eingengt.

Die Reinigung erfolgt durch zweimaliger Flash-Chromatographie an jeweils ca. 250 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (4/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 2.57 g (72 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = 134.7$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.25$ (CH/EE = 4/1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.19 (d, 2H, ³J₂₋₃ = ³J₅₋₆ = 8.5 Hz, H3-, H5-Mpm); 6.84 (d, 2H, ³J₂₋₃ = ³J₅₋₆ = 8.5 Hz, H2-, H6-Mpm); 5.88 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.27 (d, 1H, ³J_{trans} = 17.3 Hz, =CH₂, Allyl); 5.19 (d, 1H, ³J_{cis} = 11.0 Hz, =CH₂, Allyl); 4.75 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 11.4 Hz, H-1); 4.69 (m, 2H, J_{NH-2} = 8.5 Hz, NH, H^a, CH₂ Mpm); 4.50 (m, 3H, O-CH₂, Allyl, H^b, CH₂, Mpm); 3.77 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.76 (m, 1H, H-3); 3.64 (s, 3H, O-CH₃, Methylester); 3.45 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6); 3.15 (dd, 1H, ³J₅₋₆ = 5.8 Hz, ²J = 13.3 Hz, H-6'); 3.01-2.82 (m, 2H, S-CH₂); 2.63 (t, 2H, CH₂-COOMe); 0.87 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.04 (s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DEPT, CDCl₃): δ [ppm] = 173.6 (C=O, Methylester); 159.3 (Mpm-4); 155.4 (C=O, Carbat); 132.8 (CH, Allyl); 129.8 (Mpm-1); 129.4 (Mpm-2, -6); 117.8 (=CH₂, Allyl), 113.8 (Mpm-3, -5); 88.3 (C-1); 79.5 (C-4); 76.1 (C-3); 74.8 (CH₂, Mpm); 70.1 (C-5); 66.2 (O-CH₂, Allyl); 58.3 (C-2); 56.9 (O-CH₃, Mpm); 51.6 (O-CH₃, Methylester); 51.5 (C-6); 32.8 (CH₂-COOMe); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 24.6 (S-CH₂); 17.9 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -3.8, -4.3 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

FT-IR (KBr) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3429, 3054, 2986, 2930, 2855 [s, ν (C-H)]; 2103 [s, ν (N₃)]; 1730 [s, ν (C=O)]; 1514 [m, ν (C=C, Aromat)].

C₂₈H₄₄N₄O₈SSi (624.82)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-glucoopyranosylmercapto]-propionsäure (29)

1.85 g (2.96 mmol) des Methylesters **42** werden in 50 ml Tetrahydrofuran und 10 ml Wasser gelöst. Anschließend werden 134 mg (5.82 mmol) Lithiumhydroxid-Monohydrat hinzugegeben. Man lässt 2 Stunden bei Raumtemperatur rühren und neutralisiert dann mit stark sauren Ionenaustauscher-Harz Amberlyst[®] 15. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und die Lösung wird vollständig i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Das restliche Wasser wird über Nacht durch Lyophilisation entfernt.

Eine Reinigung ist nicht nötig. Das Rohprodukt wird nach Charakterisierung durch NMR-Spektroskopie zur Festphasensynthese eingesetzt.

Ausbeute: 1.72 g (95 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = 18.3$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.14$ (CH/EE = 2/1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 10.32 (s, 1H, COOH), 7.18 (d, 2H, ³J_{2,3} = ³J_{5,6} = 9.8 Hz, H3-, H5-Mpm); 6.84 (d, 2H, ³J_{2,3} = ³J_{5,6} = 9.8 Hz, H2-, H6-Mpm); 5.88 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.24 (m, 2H, =CH₂ Allyl); 4.95 (d, 1H, J_{NH-2} = 9.2 Hz, NH); 4.74 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, H^a, CH₂, Mpm); 4.65 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 9.9 Hz, H-1); 4.53 (m, 2H, O-CH₂, Allyl); 4.42 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, H^b, CH₂, Mpm); 3.77 (m, 1H, H-3); 3.76 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.57-3.29 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6); 3.15 (dd, 1H, ³J_{5,6} = 5.5 Hz, ²J = 13.3 Hz, H-6'); 2.98-2.81 (m, 2H, S-CH₂); 2.67 (t, 2H, CH₂-COOH); 0.88 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.05, 0.04 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS) .

75.5 MHz-¹³C-NMR (DEPT, CDCl₃): δ [ppm] = 159.3 (Mpm-4); 157.7 (C=O, Säure); 155.6 (C=O, Carbamat); 132.6 (CH, Allyl); 129.8 (Mpm-1); 129.3 (Mpm-2, -6); 117.9 (=CH₂, Allyl), 113.9 (Mpm-3, -5); 84.0 (C-1); 79.3 (C-4); 78.5 (C-5); 75.9 (C-3); 74.8 (CH₂, Mpm); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 57.5 (C-2); 55.3 (O-CH₃, Mpm); 51.3 (C-6); 32.8 (CH₂-COOH); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 24.6 (S-CH₂); 17.9 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -3.9, -4.4 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

C ₂₇ H ₄₂ N ₄ O ₈ SSi (624.82)	ber.:	C: 53.09	H: 6.93	N: 9.17	S: 4.60
	gef.:	C: 52.96	H: 6.77	N: 9.22	S: 4.84

5.4 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.3 BIS 3.5

5.4.1 ALLGEMEINE VORSCHRIFTEN

Kupplung des Glucose-Scaffolds **29** auf Fmoc-geschütztes TentaGel® S-RAM Harz

In einem Festphasenreaktor werden 4.61 g (1.06 mmol) Fmoc-geschütztes TentaGel® S-RAM (Beladungsdichte: 0.23 mmol/g) in 30 ml *N,N*-Dimethylformamid suspendiert, eine Stunde geschüttelt und anschließend abfiltriert. Das gequollene Harz wird noch zweimal mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid gewaschen und danach mit 30 ml einer 20%-igen Lösung von Piperidin in *N,N*-Dimethylformamid versetzt und 20 Minuten geschüttelt. Danach wird abfiltriert. Man wäscht das Harz gründlich mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und Diethylether.

In einem Kolben werden 650 mg (1.06 mmol) des Glucose-Scaffolds **29** in 30 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Die Lösung wird dann mit 403 mg (1.06 mmol) HBTU, 163 mg (1.06 mmol) HOBt-Monohydrat und 2.54 ml (1.96 g, 10.6 mmol) Hünigs Base versetzt.

Unter Argonatmosphäre wird das Harz anschließend mit der Aktivester-Lösung vereinigt und 12 Stunden geschüttelt. Danach wird das Harz abfiltriert, und es wird dreimal mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 10 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Cappen des Harzes mit Acetanhydrid

2.81 g des mit Kohlenhydrat beladene Harzes werden zunächst eine Stunde in 15 ml *N,N*-Dimethylformamid gequollen und anschließend zweimal mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid gewaschen. Danach wird das Harz mit 15 ml einer Mischung aus zwei Teilen Pyridin und einem Teil Acetanhydrid überschichtet und 15 Minuten geschüttelt. Sodann wird das Harz abfiltriert und sorgfältig dreimal mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid und danach mit jeweils 10 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Katalytische Abspaltung der Allyloxycarbonyl (Aloc)-Schutzgruppe

In einer mit einer Polyethylenfritte verschlossenen 5 ml-Spritze werden 120 mg des an Aminomethylpolystyrol gebundenen (Beladung 0.42 mmol/g) bzw. 200 mg des an Tentagel[®] gebundenen (Beladung 0.20 mmol/g) Kohlenhydratbausteins mit 2.0 ml entgastem, absol. Dioxan 20 Minuten bei Raumtemp. geschüttelt. Man filtriert ab und versetzt mit einer Lösung aus 25 mol% Tetrakis(triphenylphosphin)palladium und 5 Äquiv. *p*-Toluolsulfinsäure in 2.0 ml entgastem, absol. Dioxan versetzt und 12 Stunden unter Schutzgas, sowie unter Lichtausschluss bei Raumtemp. geschüttelt. Nach dem Entfernen der Reaktionslösung wäscht man zunächst dreimal mit je ca. 3 ml Dioxan. Anschließend wäscht man mit jeweils ca. 3 ml *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und zuletzt Diethylether und trocknet das Harz im Hochvakuum.

Abspaltung der *tert*-Butyldimethylsilyl (TBS)-Gruppe

In einer mit einer Polyethylenfritte verschlossenen 5 ml-Spritze werden 120 mg des an Aminomethylpolystyrol gebundenen (Beladung 0.42 mmol/g) bzw. 200 mg des an Tentagel[®] gebundenen (Beladung 0.20 mmol/g) Kohlenhydratbausteins mit 2.0 ml Acetonitril versetzt und 30 Minuten bei Raumtemp. geschüttelt. Man filtriert ab und versetzt mit 2.0 ml einer 50%-igen Lösung von Tetrabutylammoniumhydrogen difluorid in Acetonitril. Man lässt 2 Stunden bei Raumtemp. schütteln, filtriert ab, versetzt nochmals mit 2.0 ml einer 50%-igen Lösung von Tetrabutylammoniumhydrogen difluorid in Acetonitril und lässt erneut 2 Stunden bei Raumtemp. schütteln.

Anschließend entfernt man die Reaktionslösung, wäscht zunächst dreimal mit je ca. 3 ml Acetonitril und danach mit jeweils ca. 3 ml *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und Diethylether. Das Harz wird i. Hochvak. getrocknet.

Abspaltung der *p*-Methoxybenzyl (Mpm)-Gruppe

In einer mit einer Polyethylenfritte verschlossenen 5 ml-Spritze werden 120 mg des an Aminomethylpolystyrol gebundenen (Beladung 0.42 mmol/g) bzw. 200 mg des an Tentagel[®] gebundenen (Beladung 0.20 mmol/g) Kohlenhydratbausteins mit 2.0 ml Dichlormethan versetzt und 30 Minuten bei Raumtemp. geschüttelt. Man filtriert ab und versetzt mit 2.5 ml einer Lösung von 10 Äquiv. 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon in 2.0 ml Dichlormethan und 0.1 ml Wasser. Nach einstündigem Schütteln bei Raumtemp. filtriert man ab und wiederholt die Behandlung mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon noch zweimal. Danach wird die Reaktionslösung entfernt und das Polymer wird zunächst zweimal mit je ca. 3 ml Dichlormethan, danach dreimal im Wechsel mit jeweils ca. 3 ml *N,N*-Dimethylformamid und Methanol, dann mit Dichlormethan und zuletzt mit Diethylether gewaschen. Das Harz wird i. Hochvak. getrocknet.

***Staudinger*-Reduktion der Azidfunktion zur Aminonfunktion**

In einer mit einer Polyethylenfritte verschlossenen 5 ml-Spritze werden 120 mg des an Aminomethylpolystyrol gebundenen (Beladung 0.42 mmol/g) bzw. 200 mg des an Tentagel[®] gebundenen (Beladung 0.20 mmol/g) Kohlenhydratbausteins mit 2.0 ml absol. Tetrahydrofuran versetzt und 30 Minuten bei Raumtemp. geschüttelt. Man filtriert ab und versetzt mit einer Lösung von 10 Äquiv. Tri-*n*-butylphosphin in 2.0 ml absol. Tetrahydrofuran. Nach vierstündigem Schütteln bei Raumtemp. filtriert man ab, wäscht zweimal mit je 3 ml Tetrahydrofuran und versetzt das Polymer zur Hydrolyse mit einer Lösung aus 2.0 ml *N,N*-Dimethylformamid, 1.0 ml Triethylamin und 1.0 ml Wasser. Nachdem erneut vier Stunden bei Raumtemp. geschüttelt wurde, entfernt man die Reaktionslösung und wäscht das Harz zunächst dreimal mit jeweils ca. 3 ml *N,N*-Dimethylformamid und anschließend mit je ca. 3 ml Methanol, *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und Diethylether. Das Harz wird i. Hochvak. getrocknet.

Carbamoylierung der freien OH-Gruppen in 3- bzw. 4-Position mit Isocyanaten

In einer mit einer Polyethylenfritte verschlossenen 5 ml-Spritze lässt man 120 mg des an Aminomethylpolystyrol gebundenen (Beladung 0.42 mmol/g) bzw. 200 mg des an Tentagel[®] gebundenen (Beladung 0.20 mmol/g) Kohlenhydratbausteins in 1.0 ml einer

1%-igen 4-Dimethylaminopyridin-Lösung in Dioxan vorquellen und entfernt anschließend überschüssiges Dioxan. In einem Kolben stellt man eine 10%-ige Lösung des entsprechenden Isocyanats in 3 ml Dioxan her. Man vereinigt die Lösung mit dem Harz durch Aufziehen in die Spritze und lässt die Mischung 12 Stunden bei Raumtemp. schütteln. Anschließend filtriert man das Harz ab und wäscht zunächst sorgfältig dreimal mit je etwa 3 ml Dioxan und dann mit jeweils 3 ml *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und Diethylether. Das Harz wird i. Hochvak. getrocknet.

Acylierung nach Steglich

In einer mit einer Polyethylenfritte verschlossenen 5 ml-Spritze werden 120 mg des an Aminomethylpolystyrol gebundenen (Beladung 0.42 mmol/g) bzw. 200 mg des an Tentagel[®] gebundenen (Beladung 0.20 mmol/g) Kohlenhydratbausteins eingewogen.

In einem Kolben wird eine Lösung von 0.50 mmol (ca. 10 Äquiv.) der zu veresternden Carbonsäure in 2 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid hergestellt und nacheinander mit 100 µl (0.60 mmol, ca. 12 Äquiv.) *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid und 4 mg (35 µmol, ca. 70 mol-%) 4-Dimethylaminopyridin. Man vereinigt die vorbereitete Lösung durch Aufziehen in die Spritze mit dem polymergebundenen Kohlenhydratbaustein und lässt 16 Stunden bei Raumtemp. schütteln. Nach Entfernen der Reaktionslösung wäscht man dreimal mit je 3 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 3 ml Methanol, *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und Diethylether. Das Harz wird i. Hochvak. getrocknet.

Alkylierung der freien Hydroxylgruppen in 3- bzw. 4-Position

In einer mit einer Polyethylenfritte verschlossenen 5 ml-Spritze werden 120 mg des an Aminomethylpolystyrol gebundenen (Beladung 0.42 mmol/g) bzw. 200 mg des an Tentagel[®] gebundenen (Beladung 0.20 mmol/g) Kohlenhydratbausteins eingewogen und mit einer Lösung von 10 Äquiv. Kalium-*tert*-butylat in 2 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid 15 Minuten bei Raumtemp. geschüttelt. Man filtriert das Harz ab und versetzt es mit einer Lösung von 30 Äquiv. des entsprechenden Alkylierungsmittel in 2 ml *N,N*-Dimethylformamid und lässt eine Stunde bei Raumtemp. schütteln. Man filtriert ab und wäscht zunächst dreimal mit jeweils 3 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann nacheinander mit je 3 ml Methanol, *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und Diethylether. Das Harz wird i. Hochvak. getrocknet.

Amidbildung an den freien Aminofunktionen in 2- bzw. 6-Positon

In einer mit einer Polyethylenfritte verschlossenen 5 ml-Spritze werden 120 mg des an Aminomethylpolystyrol gebundenen (Beladung 0.42 mmol/g) bzw. 200 mg des an Tentagel[®] gebundenen (Beladung 0.20 mmol/g) Kohlenhydratbausteins eine Stunde in ca. 2 ml *N,N*-Dimethylformamid vorgequollen. In einem Kolben wird eine Lösung aus 5.0 Äquiv. der entsprechenden Carbonsäure, 5.0 Äquiv. HBTU, 5.0 Äquiv. HOBt und 10.0 Äquiv. Hünigs Base in 2.0 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid vorbereitet. Man vereinigt die Lösung mit dem vorgequollenen Harz und lässt die Mischung 12 Stunden bei Raumtemp. schütteln. Anschließend filtriert man das polymergebundene Kohlenhydrat ab und wäscht sorgfältig dreimal mit jeweils 3 ml *N,N*-Dimethylformamid, sowie mit jeweils 3 ml Methanol, *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und Diethylether. Das Harz wird i. Hochvak. getrocknet.

Abspaltung der festphasengebundenen 2,6-Diaminoglucose-Derivate

In einer mit einer Polyethylenfritte verschlossenen 5 ml-Spritze werden 120 mg des an Aminomethylpolystyrol gebundenen (Beladung 0.42 mmol/g) bzw. 200 mg des an Tentagel[®] gebundenen (Beladung 0.20 mmol/g) Kohlenhydratbausteins mit 40 mg Mercaptomethylpolystyrol (Beladung 4.00 mmol/g) versetzt und kurz in ca. 2 ml Dichlormethan vorgequollen. Man entfernt das überschüssige Dichlormethan, zieht 3.0 ml einer 50%-igen Lösung von Trifluoressigsäure in Dichlormethan in die Spritze auf und lässt die Mischung 30 Minuten bei Raumtemp. schütteln. Man filtriert das Harz ab und versetzt ein zweites Mal mit 3.0 ml 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan und lässt erneut 30 Minuten bei Raumtemp. schütteln. Man filtriert das Harz ab und wäscht noch zweimal mit jeweils 1.0 ml 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan nach. Man vereinigt die Filtrate und die Waschlösung und engt die Lösung vollständig i. Vak. ein. Zum Entfernen der restlichen Trifluoressigsäure wird der Rückstand in 1.0 ml Chloroform aufgenommen und über festes Natriumhydrogencarbonat filtriert. Dafür wird eine mit einer Polyethylenfritte verschlossene 5 ml-Spritze mit 2 ml festem Natriumhydrogencarbonat befüllt und anschließend mit einer weiteren Fritte verschlossen. Man wäscht noch dreimal mit jeweils etwa 1 ml Chloroform nach. Danach wird das Lösungsmittel vollständig i. Vak. entfernt.

Abspaltung der festphasengebundenen 2,6-Diaminoglucose-Derivate unter Glycosylierung

In einer mit einer Polyethylenfritte verschlossenen 5 ml-Spritze werden 120 mg des an Aminomethylpolystyrol gebundenen (Beladung 0.42 mmol/g) bzw. 200 mg des an Tentagel[®] gebundenen (Beladung 0.20 mmol/g) Kohlenhydratbausteins mit 3 ml einer

7.5%-igen Lösung des Akzeptoralkohols in absol. Dichlormethan gewaschen und nach Zugabe einer Lösung von 2.5 Äquiv. *N*-Bromsuccinimid und 3 Äquiv. 2,6-Di-*tert*-butylpyridin in 2 ml einer 7.5%-igen Lösung des Akzeptoralkohols in absol. Dichlormethan 20 Minuten bei Raumtemp. geschüttelt. Anschließend wird die Lösung durch die Fritte zu einer Lösung von 3 Äquiv. Tetraethylammoniumbromid und 5 Äquiv. Cyclohexan in 2 ml absol. Dichlormethan filtriert, das Harz mit dem entstehenden Gemisch nachgewaschen und die vereinigten Lösungen 3 Stunden in einem geschlossenen Gefäß bei Raumtemp. belassen. Nach dieser Zeit öffnet man das Gefäß und lässt die flüchtigen Komponenten der Reaktionsmischung verdunsten. Im Fall weniger flüchtiger Akzeptoralkohole kann auch Vakuum angelegt werden.

Zur Reinigung des abgespaltenen Produktes wird eine 5 ml-Spritze mit einer Polyethylenfritte verschlossen, mit 2 ml Kieselgel gefüllt und mit 2-3 ml Cyclohexan konditioniert. Das Substanzgemisch wird in einer möglichst geringen Menge Dichlormethan gelöst und auf die Kieselgelschicht aufgebracht. Man wäscht mit 10 ml Cyclohexan und eluiert das gewünschte Produkt mit einer Mischung von Cyclohexan und Ethylacetat (Zusammensetzung je nach Polarität der zu eluierenden Substanz). Anschließend wird das Solvens i. Vak. entfernt.

5.4.2 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.5.1

Beladung des *Rink*-Amid-Polymers (Polymer 56)

In einem Festphasenreaktor werden 2.81 g (1.96 mmol) Fmoc-geschütztes *Rink*-Amid-Harz (1 % Divinylbenzol, Partikelgröße: 100-200 mesh; Beladung: 0.70 mmol/g) in 15 ml *N,N*-Dimethylformamid suspendiert, eine Stunde geschüttelt und anschließend abfiltriert. Das gequollene Harz wird noch zweimal mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid gewaschen und anschließend mit 20 ml einer 20%-igen Lösung von Piperidin in Dimethylformamid versetzt und 20 Minuten geschüttelt. Danach wird abfiltriert und man wäscht das Harz gründlich mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und Diethylether.

In einem Kolben werden 1.00 g (1.64 mmol) des Glucose-Scaffolds **29** in 15 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Die Lösung wird dann mit 620 mg (1.64 mmol) HBTU, 250 mg (1.64 mmol) HOBt-Monohydrat und 3.89 ml (3.04 g, 16.4 mmol) Hünigs Base versetzt.

Unter Argonatmosphäre wird das Harz anschließend mit dieser Lösung vereinigt und 12 Stunden geschüttelt. Danach wird der polymere Träger abfiltriert, und es wird dreimal mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 10 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Zum Cappen der nicht umgesetzten Aminofunktion des mit Kohlenhydrat beladenen Harzes wird dieses zunächst eine Stunde in 15 ml *N,N*-Dimethylformamid gequollen und anschließend zweimal mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid gewaschen. Danach wird das Harz mit 15 ml einer Mischung aus zwei Teilen Pyridin und einem Teil Acetanhydrid überschichtet und 15 Minuten geschüttelt. Dann wird das Harz abfiltriert und sorgfältig dreimal mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid und danach mit jeweils 10 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet.

Durch HRMAS-1H-NMR-Spektroskopie kann eine Beladung des so dargestellten festphasengebundenen Kohlenhydratscaffolds **56** von 0.42 mmol/g bestimmt werden, was einer Kupplungsausbeute von 60 %, bezogen auf die Anfangsbeladung des Polymers, entspricht.

Spaltung der Allyloxycarbonyl-Schutzgruppe

In einem Glasreaktor werden 2.4 g (1.0 mmol) des Polymers **56** (*Rink*-Amid-Harz, Beladung 0.42 mmol/g) mit 30 ml entgastem, absol. Dioxan 20 Minuten bei Raumtemp. geschüttelt. Man filtriert ab und versetzt mit einer Lösung aus 116 mg (100 μ mol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium und 780 mg (5 mmol) *p*-Toluolsulfinsäure in 20 ml entgastem, absol. Dioxan versetzt und 12 Stunden unter Lichtausschluss bei Raumtemp. geschüttelt. Nach dem Entfernen der Reaktionslösung wäscht man zunächst dreimal mit je ca. 15 ml Dioxan. Anschließend wäscht man mit jeweils ca. 15 ml *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und zuletzt Diethylether und trocknet das Harz im Hochvakuum.

Parallelsynthese

In 16 mit Polyethylenfritten verschlossenen 5 ml-Spritzen werden je 120 mg des Polymers **62** (*Rink*-Amid-Harz, 2-NH₂, Beladung 0.42 mmol/g) eingewogen. Nach dem Quellen der Proben in absol. *N,N*-Dimethylformamid setzt man die Proben entsprechend der allgemeinen Vorschrift für die Amidbildung in der 2-Position durch 12-stündiges Schütteln mit einer Lösung von je 0.25 mmol Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Thr(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Asp(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Tyr(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Trp(Trt)-OH und Fmoc-His(Trt)-OH in je 2.5 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid unter Zusatz von jeweils 0.25 mmol HBTU, 0.25 mmol HOBt und 0.50 mmol Hünigs Base um. Das Polymer wird danach abfiltriert und es wird dreimal mit jeweils 2 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 2 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i.

Hochvak. getrocknet. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (63)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.1 mg (75 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 512.1 (100 %, 2-NHAlloc, $[M + Na]^+$), 607.3 (17 %, **63**, $[M - TBS + Na]^+$, ber. 607.3); 721.2 (30 %, **63**, $[M + Na]^+$, ber. 721.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 2.4 (41 %) 6.4 min (22 %, Fmoc-Ala-OH); 6.4 8.8 min (20 %, **63**).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.4 mg (7 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 24.1 min (49 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 38 min.

300 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 7.74 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.57 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.40 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.30 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.45 (d, 1H, α NH, Ala); 5.43 (d, $^3J_{NH-H2} = 7.9$ Hz, 1H, 2-NH); 5.16 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 10.6$ Hz, H-1); 4.55 (m, 1H, α CH, Ala); 4.39 (d, 2H, CH_2 , Fmoc); 4.18 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.78-3.39 (m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6'); 2.90 (m, 2H, S- CH_2); 2.44 (t, 2H, CH_2 -CONH₂); 1.38 (m, 3H, β CH₃, Ala); 0.85 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.08, 0.03 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 718.0 (25 %, $[M + Ca]^{2+}$, ber. 718.2); 721.2 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 721.3); 737.1 (31 %, $[M + K]^+$, ber. 737.4); 779.2 (61 %); 795.3 (26 %).

C₃₃H₄₆N₆O₇SSi (698.90)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-valyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (64)

Neben dem gewünschten Produkt **64** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-valyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **64'** isoliert werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.9 mg (74 %).

*ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 363.2 (28 %, [M + 2H]²⁺, ber. 364.5); 613.1 (20 %, **64'**, [M + H]⁺, ber. 613.2); 635.1 (20 %, **64'**, [M + Na]⁺, ber. 635.2); 749.2 (64 %, **64**, [M + Na]⁺, ber. 749.9).*

*HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX, ELS): 5.2 min (48 %, **64'**); 6.2 min (22 %); 8.8 min (30 %, **64**).*

Gewünschtes Produkt (64): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.0 mg (5.5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 26.0 min (26 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 38 min.

*300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.75 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.59 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.38 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.31 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.16 (d, 1H, ³J_{NH-Hα} = 8.1 Hz, αNH, Val); 5.36 (d, 1H, ³J_{NH-H2} = 8.8 Hz, 2-NH); 4.76 (d, 1H, ³J_{1,2} = 9.6 Hz, H-1); 4.40 (m, 2H, CH₂, Fmoc); 4.19 (t, 1H, CH, Fmoc); 4.00 (m, 1H, αCH, Val); 3.84 (m, 1H, H-3); 3.44 (m, 5H, H-2, H-4, H-5, H-6, H-6'); 2.88 (m, 2H, S-CH₂); 2.50 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 2.12 (d, 1H, ³J_{Hα-Hβ} = 3.7 Hz, βCH₂, Val); 0.91, 0.90 (2s, 6H, γCH₃, Val); 0.84 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.06, 0.00 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).*

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 746.1 (62 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 746.3); 749.2 (64 %, [M + Na]⁺, ber. 749.3).

C₃₅H₅₀N₆O₇SSi (726.96)

Desilyliertes Produkt (64'): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.0 mg (6.5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; R_t = 14.1 min (39 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Säule B, Gradient VI; R_t = 17 min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 326.3 (80 %, [M + Ca]²⁺, ber. 326.4); 632.3 (54 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 632.7).

C₂₉H₃₆N₆O₇S (612.70)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (65)

Neben dem gewünschten Produkt **65** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **65'** isoliert werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 47.6 mg (128 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 512.1 (90 %, 2-NHAlOc, [M + Na]⁺); 649.2 (87 %, **65'**, [M + Na]⁺, ber. 649.3); 763.1 (100 %, **65**, [M + Na]⁺, ber. 764.0).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 5.7 min (37 %, **65'**); 6.8 min (19 %); 9.3 min (41 %, **65**).

Gewünschtes Produkt (65): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 3.6 mg (10 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 27.8 min (42 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 42 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.74 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.56 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.37 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.30 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.43 (d, 1H, ³J_{NH-H α} = 9.8 Hz, α NH, Leu); 5.31 (d, 1H, ³J_{NH-H2} = 9.2 Hz, 2-NH); 4.52 (d, 1H, H-1); 4.43 (d, 2H, CH₂, Fmoc); 4.33 (t, 1H, α CH, Leu); 4.19 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.76 (m, 1H, H-3); 3.44 (m, 5H, H-2, H-4, H-5, H-6, H-6'); 2.81 (m, 2H, S-CH₂); 2.44 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 1.60 (m, 3H, β CH₂, γ CH, Leu); 0.91, 0.90 (2s, 6H, δ CH₃, Leu); 0.84 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.07, 0.03 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 760.7 (21 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 761.0); 763.1 (42 %, [M + Na]⁺, ber. 764.0).

C₃₆H₅₂N₆O₇SSi (740.98)

Desilyliertes Produkt (65'): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 4.8 mg (15 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; R_t = 15.7 min (40 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Säule C, Gradient VI; R_t = 18 min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 646.5 (32 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 646.2); 648.9 (30 %, [M + Na]⁺, ber. 649.3).

C₃₀H₃₈N₆O₇S (626.72)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-threonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **66**

Neben dem gewünschten Produkt **66** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-threonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **66'** isoliert werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 34.8 mg (96 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv [m/z] = 512.1 (83 %, 2-NHAlac, [M + Na]⁺); 637.2 (14 %, **66'**, [M + Na]⁺, ber. 637.2); 751.2 (100 %, **66**, [M + Na]⁺, ber. 751.3).

HPLC-MS (*ThermoQuest*, Säule D, Gradient IX): 4.7 min (26 %, **66'**); 7.8 min (68 %, **66**).

Gewünschtes Produkt (66): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 4.2 mg (11.5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 22.8 min (69 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 30 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.74 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.59 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.40 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.31 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.68 (d, 1H, ³J_{NH-H α} = 9.6 Hz, NH, Thr); 5.95 (d, 1H, ³J_{NH-H2} = 8.8 Hz, 2-NH); 4.57 (d, 1H, ³J_{1,2} = 11.3 Hz, H-1); 4.50 (m, 3H, β CH, Thr); 4.41 (d, 2H, CH₂, Fmoc); 4.06 (d, 1H, α CH, Thr); 4.20 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.76 (m, 1H, H-3); 3.43 (m, 5H, H-2, H-4, H-5, H-6, H-6'); 2.93-2.84 (m, 2H, S-CH₂); 2.48 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 1.11 (d, 3H, γ CH₃, Thr); 0.84 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.06, 0.01 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, *ThermoQuest*), positiv [m/z] = 748.6 (100 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 748.9); 751.2 (98 %, [M + Na]⁺, ber. 751.9).

C₃₄H₄₈N₆O₈SSi (728.93)

Desilyliertes Produkt (66'): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.1 mg (4 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: Analytische HPLC: Säule A, Gradient II; R_t = 12.5 min (27 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Säule C, Gradient VI; R_t = 15 min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, *ThermoQuest*), positiv [m/z] = 637.2 (14 %, **66'**, [M + Na]⁺, ber. 637.2). C₂₈H₃₄N₆O₈S (614.67)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-cystyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (67)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.7 mg (74 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv [m/z] = 512.2 (95 %, 2-NHAlOc, [M + Na]⁺); 753.6 (5 %, [M + Na]⁺, ber. 753.3).

HPLC-MS (*ThermoQuest*, Säule D, Gradient IX, *ELS-Detektion*): 8.0 min (79 %, **67**); 9.2 min (16 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 8.9 mg (25 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 17.9 min (17 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Säule C, Gradient IV; R_t = 28 min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, *ThermoQuest*), positiv [m/z] = 754.5 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 753.3).

C₃₃H₄₆N₆O₇S₂Si (730.97)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-methionyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (68)

Neben dem gewünschten Produkt **68** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-methionyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **68'** nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 37.8 mg (100 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv [m/z] = 512.0 (100 %, 2-NHAlOc, [M + Na]⁺); 644.4 (8 %, **68'**, [M + H]⁺, ber. 645.2); 677.1 (12 %, **68'**, [M + Na]⁺, ber. 677.2); 781.0 (18 %, **68**, [M + Na]⁺, ber. 781.3).

HPLC-MS (*ThermoQuest*, Säule D, Gradient IX): Die Massen, die im *ESI-MS*-Spektrum des Rohprodukts auftreten sind, können im *HPLC-MS*-Spektrum nicht gefunden werden.

Da somit keine Zuordnung der einzelnen Peaks möglich ist, wird weder das gewünschte Produkt **68** noch das desilylierte Produkt **68'** isoliert.

C₃₅H₅₀N₆O₇S₂Si (759.02)

3-(2-(N-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butyltrimethylsilyl-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (69)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 29.4 mg (75 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 512.1 (21 %, 2-NHAlac, [M + Na]⁺); 784.2 (100 %, [M + H]⁺, ber. 784.4); 806.2 (5 %, [M + Na]⁺, ber. 806.4).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): Die Massen, die im ESI-MS-Spektrum des Rohprodukts auftreten, können im HPLC-MS-Spektrum nicht gefunden werden.

Da somit keine Zuordnung der einzelnen Peaks möglich ist, kann das gewünschte Produkt **69** nicht isoliert werden.

C₃₆H₅₃N₆O₇SSi (784.01)

3-(2-(N-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butyltrimethylsilyl-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (70)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 19.9 mg (45 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 512.1 (32 %, 2-NHAlac, [M + Na]⁺); 756.3 (10%, [M + H]⁺, ber. 756.3); 778.3 (100%, [M + Na]⁺, ber. 778.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient X, λ = 210-220 nm): 8.5 min (47 %); 10.1 min (41 %, **70**).

Das Produkt kann nach der semi-präparativen HPLC nicht isoliert werden.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 30.1 min (58 % bei λ = 254 nm).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 756.3 (100 %, [M + H]⁺, ber. 756.4); 778.2 (26 %, [M + Na]⁺, ber. 778.3).

C₃₆H₅₃N₇O₇SSi (756.00)

3-(2-(N-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-aspartyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butyltrimethylsilyl-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (71)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 32.1 mg (86 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 393.3 (100 %, [M + H + Na]²⁺, ber. 395.1); 585.1 (72 %); 765.3 (65 %, [M + Na]⁺, ber. 765.3); 781.4 (30 %, [M + K]⁺, ber. 781.4).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX, ELS): 1.39 min (77 %, **71**); 8.1 min (22 %).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 6.0$ min (61 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 15$ min.

Das gewünschte Produkt kann nach der präparativen HPLC nicht isoliert werden. Es werden 1.1 mg eines Substanzgemischs isoliert.

ESI-MS (des Substanzgemischs nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv $[m/z] = 406.2$ (23 %, $[M - \text{Asp}(\text{Fmoc}) + \text{H}]^+$, ber. 406.2); 428.2 (100 %, $[M - \text{Asp}(\text{Fmoc}) + \text{Na}]^+$, ber. 428.2); 464.3 (47 %, 6-NH₂, 2-NH-Aloc, $[M + \text{H}]^+$, ber. 464.2); 486.2 (71 %, 6-NH₂, 2-NH-Aloc, $[M + \text{Na}]^+$, ber. 486.2).

$\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_9\text{SSi}$ (742.91)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-asparaginyll)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (72**)**

Neben dem gewünschten Produkt **72** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-asparaginyll)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **72'** nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 36.6 mg (85 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 377.1$ (100 %); 512.1 (57 %, 2-NH-Aloc, $[M + \text{Na}]^+$); 650.1 (7 %, **72'**, $[M + \text{Na}]^+$, ber. 650.2); 764.2 (54 %, **72**, $[M + \text{Na}]^+$, ber. 764.2); 780.1 (12 %, **72**, $[M + \text{K}]^+$, ber. 780.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX, $\lambda = 250$ -256 nm): 4.1 min (21 %, **72'**); 6.9 min (53 %, **72**); 10.2 min (25 %).

Gewünschtes Produkt (72): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.7 mg (4 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 19.2$ min (60 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 31$ min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃ mit MeOD): δ [ppm] = 7.57 (d, 2H, $^3J_{\text{H3-H4}} = ^3J_{\text{H5-H6}} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.43 (d, 2H, $^3J_{\text{H1-H2}} = ^3J_{\text{H7-H8}} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.22 (m, 2H, H2-, H7-Fmoc); 7.30 (t, 2H, $^3J_{\text{H3-H4}} = ^3J_{\text{H5-H6}} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 5.13 (d, 1H, 2-NH); 4.43 (m, 5H, H-1, α CH, Asn, CH, CH₂, Fmoc); 3.78-3.39 (m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6'); 2.68 (m, 2H, S-CH₂); 2.45 (m, 2H, β CH₂, Asn); 2.29 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 0.65 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); -0.11, -0.17 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 761.3 (32%, [2M + Ca]²⁺, ber. 761.3).

C₃₄H₄₇N₇O₈SSi (741.93)

Desilyliertes Produkt (72'): wird nicht isoliert.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; R_t = 10.1 min (14 % bei λ = 254 nm);
Semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 15 min.

C₂₈H₃₃N₇O₈S (627.67)

3-(2-(N-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminy)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (73)

Neben dem gewünschten Produkt **73** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-(N-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminy)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **73'** nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 46.2 mg (105 %).

*ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 377.1 (100 %); 512.1 (59 %, 2-NHAlac, [M + Na]⁺); 644.1 (6 %, **73'**, [M + Na]⁺, ber. 644.2); 778.2 (60 %, **73**, [M + Na]⁺, ber. 778.3); 794.1 (12 %, **73**, [M + K]⁺, ber. 794.3).*

*HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX, ELS): 4.0 min (3 %, **73'**); 6.9 min (12 %, **73**); 8.4 (18 %); 10.3 min (67 %).*

Gewünschtes Produkt (73): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.0 mg (5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 19.4 min (78 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 31 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃ mit MeOD): δ [ppm] = 7.66 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.52 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.30 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.19 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.51 (m, 1H, αNH, Gln); 5.21 (s, 1H, 2-NH); 4.52 (m, 1H, H-1); 4.43 (m, 2H, CH₂, Fmoc); 4.11 (m, 2H, CH, Fmoc, αCH, Gln); 3.78-3.39 (m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6'); 2.85 (m, 2H, S-CH₂); 2.38 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 2.15 (m, 2H, γCH₂, Gln); 1.98 (m, 1H, βCH, Gln); 1.79 (m, 1H, βCH', Gln); 0.73 (s, 9H, tert-Butyl, TBS); -0.04, -0.12 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

*ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 776.1 (100 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 795.1); 778.2 (42 %, **73**, [M + Na]⁺, ber. 778.3).*

$C_{35}H_{49}N_7O_8SSi$ (755.96)

Desilyliertes Produkt (73'): wird nicht isoliert.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; $R_t = 10.3$ min (5 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 15$ min.

$C_{29}H_{35}N_7O_7S$ (641.70)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-phenylalanyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (74)

Neben dem gewünschten Produkt **74** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-phenylalanyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **74'** isoliert werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 23.8 mg (61 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 512.1 (100 %, 2-NH₂Alloc, [M + Na]⁺); 683.1 (98 %, **74'** [M + Na]⁺, ber. 683.3); 797.1 (61 %, **74**, [M + Na]⁺, ber. 797.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 5.9 min (48 %, **74'**); 6.4 min (11 %); 6.9 min (27 %); 9.2 min (32 %, **74**).

Gewünschtes Produkt (74): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.8 mg (4.6 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 27.3$ min (19 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 43$ min.

300 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 7.75 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.49 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.37 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.30 (m, 3H, ϵ CH, Phe, H3-, H6-Fmoc); 7.27 (m, 5H, 2 δ CH, ϵ CH', ζ CH, Phe); 6.32 (d, 1H, $^3J_{NH-H\alpha} = 9.8$ Hz, α NH, Phe); 5.26 (d, 1H, 2-NH); 4.57 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 10.3$ Hz, H-1); 4.43 (m, 3H, CH₂, Fmoc, α CH, Phe); 4.15 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.78-3.39 (m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6'); 3.07 (m, 2H, β CH₂, Phe); 2.85 (m, 2H, S-CH₂); 2.38 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 0.83 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.05, -0.04 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 407.4 (10 %, [M + Ca]²⁺, ber. 407.5); 795.5 (32%, [2M + Ca]²⁺, ber. 795.1); 797.3 (44%, [M + Na]⁺, ber. 797.3).

$C_{39}H_{50}N_6O_7SSi$ (775.00)

Desilyliertes Produkt: (74') Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.1 mg (6.4 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; $R_t = 16.3$ min (43 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Säule B, Gradient VI; $R_t = 23$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 350.3$ (31 %, $[M + Ca]^{2+}$, ber. 350.4); 680.3 (25 %, $[2M + Ca]^{2+}$, ber. 680.8); 683.1 (20 %, $[M + Na]^+$, ber. 683.7).

$C_{33}H_{36}N_6O_7S$ (660.74)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-tyrosyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (75)

Neben dem gewünschten Produkt **75** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-phenylalanyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **75'** nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 34.1 mg (74 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 512.0$ (100 %, 2-NHAlac, $[M + Na]^+$); 699.0 (5 %, **75'**, $[M + Na]^+$, ber. 699.2); 813.0 (12 %, **75**, $[M + Na]^+$, ber. 813.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 7.1 min (3 %, **75'**); 8.9 min (85 %); 9.2 min (5 %).

Gewünschtes Produkt (75): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.4 mg (5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 22.4$ min (48 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 32$ min.

300 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 7.75 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.4$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.51 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.3$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.39 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.28 (d, 2H, γ 1CH, γ 2CH, Tyr); 7.17 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.71 (d, 2H, ϵ 1CH, ϵ 2CH, Tyr); 6.32 (d, 1H, $^3J_{NH-H\alpha} = 9.8$ Hz, α NH, Tyr); 5.69 (m, 1H, 2-NH); 5.26 (d, 1H, H-1); 4.54 (m, 1H, α CH, Tyr); 4.36 (m, 2H, CH₂, Fmoc); 4.14 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.78-3.39 (m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6'); 3.02 (m, 1H, β CH, Tyr); 2.83 (m, 3H, S-CH₂, β CH', Tyr); 2.41 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 0.82 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.04, -0.04 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv $[m/z] = 415.2$ (8 %, $[M + Ca]^{2+}$, ber. 415.6); 810.2 (71 %, $[2M + Ca]^{2+}$, ber. 810.3); 813.3 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 813.3).

$C_{39}H_{50}N_6O_8SSi$ (791.00)

Desilyliertes Produkt (75'): wird nicht isoliert.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; $R_t = 14.9$ min (43 % bei $\lambda = 254$ nm);
semi-präparative HPLC: Säule B, Gradient VI; $R_t = 23$ min.

ESI-MS (aus HPLC-MS, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 699.2.1$ (20 %, $[M + Na]^+$, ber. 699.2).

$C_{33}H_{36}N_6O_8S$ (676.74)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-prolyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (76)

Neben dem gewünschten Produkt **76** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-phenylalanyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **76'** nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.7 mg (73 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 512.0$ (100 %, 2-NHAlac, $[M + Na]^+$); 633.1 (22 %, **76'**, $[M + Na]^+$, ber. 633.2); 724.1 (5 %, $[M + H]^+$, ber. 724.2); 747.1 (19 %, **76**, $[M + Na]^+$, ber. 747.3); 763.1 (4 %, **76**, $[M + K]^+$, ber. 763.2).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 6.93 min (24 %, **76'**); 7.37 min (28 %); 8.15 min (47 %, **76**).

Das Produkt kann nach der semi-präparativen HPLC nicht isoliert werden.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 25.4$ min (20 % bei $\lambda = 254$ nm).

ESI-MS (aus analytischer HPLC, Waters), positiv $[m/z] = 743.3$ (32 %, $[2M + Ca]^{2+}$, ber. 743.3); 779.3 (100 %).

$C_{35}H_{48}N_6O_7SSi$ (724.94)

Desilyliertes Produkt (76') wird nicht isoliert.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; $R_t = 14.9$ min (49 % bei $\lambda = 254$ nm).

$C_{29}H_{34}N_6O_7S$ (610.68)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (77)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 34.5 mg (78 %).

ESI-MS (Rohprodukt, Thermoquest), positiv [m/z] = 406.1 (10 %, [M + Ca]²⁺, ber. 407.5); 512.1 (23 %, 2-NHAlOc, [M + Na]⁺); 765.2 (100 %, [M + H]⁺, ber. 798.3); 787.2 (7 %, [M + Na]⁺, ber. 787.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 5.1 min (14 %); 6.1 min (26 %); 6.5 min (21 %); 9.2 min (36 %, 77).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.6 mg (4 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 21.6 min (12 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 34 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃ mit MeOD): δ [ppm] = 7.61 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.42 (d, 2H, H1-, H8-Fmoc); 7.33 (s, 1H, δ 1CH, His); 7.27 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.7 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.18 (m, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 7.13 (s, 1H, δ 2CH, His); 6.64 (d, 1H, α NH, His); 5.20 (m, 1H, 2-NH); 4.40 (d, 1H, H-1); 4.30 (m, 3H, CH₂, Fmoc, α CH, His); 4.14 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.93 (m, 1H, H-3); 3.70-3.28 (m, 7H, H-2, H-4, H-5, H-6, H-6', β CH₂, His); 2.73 (m, 2H, S-CH₂); 2.32 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 0.70 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); -0.07, -0.14 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 765.2 (100 %, [M + H]⁺, ber. 765.3).

C₃₆H₄₈N₈O₇SSi (764.97)

3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-tryptophyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (78)

Neben dem gewünschten Produkt 78 kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-tryptophyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid 78' isoliert werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 40.0 mg (98 %).

ESI-MS (Rohprodukt, Thermoquest), positiv [m/z] = 428.1 (77 %, [M + Ca]²⁺, ber. 426.6); 512.1 (100 %, 2-NHAlOc, [M + Na]⁺); 724.1 (30 %, 78', [M + Na]⁺, ber. 723.3). 836.1 (15 %, 78, [M + Na]⁺, ber. 836.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 3.1 min (83 %); 4.5 min (10 %, **78'**); 8.9 min (6 %, **78**).

Gewünschtes Produkt (78): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.5 mg (6 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 25.8$ min (32 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 37$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 426.6$ (30 %, $[M + Ca]^{2+}$, ber. 427.0); 795.5 (80 %, $[2M + Ca]^{2+}$, ber. 795.1); 836.3 (81 %, $[M + Na]^+$, ber. 836.3).

$C_{41}H_{51}N_7O_7SSi$ (814.04)

Desilyliertes Produkt (78'): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.8 mg (5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; $R_t = 16.0$ min (19 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Säule B, Gradient VI; $R_t = 24$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 369.5$ (100 %, $[M + Ca]^{2+}$, ber. 369.6); 719.6 (22 %, $[2M + Ca]^{2+}$, ber. 719.2); 723.8 (20 %, $[M + Na]^+$, ber. 723.3).

$C_{35}H_{37}N_7O_7S$ (699.78)

5.4.3 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.5.2

Beladung des *Rink-Tentagel-S-NH₂*[®] Harzes (Polymer 79)

In einem Festphasenreaktor werden 4.61 g (1.06 mmol) Fmoc-geschütztes *Rink-Tentagel-S-NH₂*[®] Harz (1 % Divinylbenzol, Partikelgröße: 100-200 mesh; Beladung: 0.23 mmol/g) in 30 ml *N,N*-Dimethylformamid suspendiert, eine Stunde geschüttelt und anschließend abfiltriert. Das gequollene Harz wird noch zweimal mit jeweils 30 ml *N,N*-Dimethylformamid gewaschen und anschließend mit 40 ml einer 20%-igen Lösung von Piperidin in *N,N*-Dimethylformamid versetzt und 20 Minuten geschüttelt. Danach wird abfiltriert und das Harz gründlich mit jeweils 20 ml *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen.

In einem Kolben werden 650 mg (1.06 mmol) des Glucose-Scaffolds **29** in 15 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Die Lösung wird dann mit 403 mg (1.06 mmol) HBTU, 163 mg (1.06 mmol) HOBt und 2.54 ml (1.98 g, 10.6 mmol) Hünigs Base versetzt.

Unter Argonatmosphäre wird das Harz anschließend mit dieser Lösung vereinigt und 12 Stunden geschüttelt. Danach wird das Harz abfiltriert und es wird dreimal mit jeweils 20 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 20 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet.

Zum Cappen der nicht umgesetzten Aminofunktion des mit Kohlenhydrat beladenen Harzes wird dieses zunächst eine Stunde in 30 ml *N,N*-Dimethylformamid gequollen und anschließend zweimal mit jeweils 20 ml *N,N*-Dimethylformamid gewaschen. Danach wird das Harz mit 30 ml einer Mischung aus zwei Teilen Pyridin und einem Teil Acetanhydrid überschichtet und 15 Minuten geschüttelt. Dann wird das Harz abfiltriert und sorgfältig dreimal mit jeweils 20 ml *N,N*-Dimethylformamid und danach mit jeweils 20 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet.

Durch HRMAS-1H-NMR-Spektroskopie kann eine Beladung des so dargestellten festphasengebundenen Kohlenhydratscaffolds **79** von 0.20 mmol/g bestimmt werden, was einer Kupplungsausbeute von 87 %, bezogen auf die Anfangsbeladung des Polymers, entspricht.

5.4.3.1 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.5.2.1

Parallelsynthese A

In 6 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 ml-Spritzen werden jeweils 200 mg des Polymers **79** (*Rink*-Tentagel-S-NH₂[®] Harz, Beladung 0.20 mmol/g) eingewogen. Zuerst wird der Silylether nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Spaltung des *tert*-Butyldimethylsilylethers mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid-Lösung in Acetonitril gespalten. Im nächsten Schritt setzt man die Proben nach dem Quellen in einer 1%-igen Lösung von 4-Dimethylaminopyridin in Dioxan nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Carbamatbildung in der 3- und 4-Position durch 12-stündiges Schütteln mit jeweils einer 10%-igen Lösung von 4-Cyanophenylisocyanat, Benzylisocyanat, 4-Chlorphenylisocyanat, 3,4-Dichlorphenylisocyanat, 3-Fluorphenylisocyanat und 4-Fluorphenylisocyanat in je 2.0 ml Dioxan zu den jeweiligen Carbamaten um. Das Polymer wird anschließend abfiltriert, zweimal mit jeweils 2 ml Dioxan, danach zweimal mit jeweils 2 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 2 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-cyanophenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (81)

Das gewünschte Produkt kann nicht nachgewiesen werden. Statt dessen wird das doppelt carbamoylierte Produkt 3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(di-(4-cyanophenyl)-allophanat)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (**81'**) nachgewiesen und isoliert.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 14.0 mg (67 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 0.7 mg (3.4 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 24.2$ min (17 % bei $\lambda = 214$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient V; $R_t = 22$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv $[m/z] = 663.5$ (100 %, $[M + H]^+$, ber. 664.2); 685.5 (46 %, $[M + Na]^+$, ber. 686.2); 701.5 (29 %, $[M + K]^+$, ber. 702.7).

$C_{29}H_{29}N_9O_8S$ (663.66)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(benzylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (82)

Das gewünschte Produkt kann nicht nachgewiesen werden. Statt dessen kann das doppelt carbamoylierte Produkt 3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(dibenzylallophanat)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (**82'**) nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 14.9 mg (73 %).

Das Produkt wird nicht isoliert.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 18.1$ min (7 % bei $\lambda = 214$ nm).

ESI-MS (Rohprodukt, Waters), positiv $[m/z] = 642.3$ (7 %, $[M + H]^+$, ber. 642.7); 664.3 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 664.7); 680.2 (29 %, $[M + K]^+$, ber. 680.8).

$C_{29}H_{35}N_7O_8S$ (641.70)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-chlorophenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (83)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 18.0 mg (85 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.5 mg (12 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 14.0$ min (7 % bei $\lambda = 214$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient V; $R_t = 22$ min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.09 (d, 2H, $^3J_{H_2-H_3} = ^3J_{H_5-H_6} = 8.1$ Hz, H₂-, H₆-, *p*-Cl-Ph); 6.77 (d, 2H, $^3J_{H_2-H_3} = ^3J_{H_5-H_6} = 8.1$ Hz, H₃-, H₄-, *p*-Cl-Ph); 6.53 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 5.75 (d, 1H, NH, Carbamat, Aloc); 5.36 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.06 (d, 1H, H-1); 4.74 (d, 1H, $^3J_{trans} = 16.6$ Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 4.52 (m, 2H, O-CH₂, Allyl); 4.28 (d, 1H, $^3J_{cis} = 9.6$ Hz, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.03 (m, 2H, H-6, H-6'); 3.29-3.01 (m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5, S-CH₂); 2.71 (m, 2H, CH₂-CONH₂).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 529.2 (37 %, [M + H]⁺, ber. 529.1); 551.2 (46 %, [M + Na]⁺, ber. 551.1); 567.15 (31 %, [M + K]⁺, ber. 702.7); 1057.3 (100 %, [2M + H]⁺, ber. 1057.2); 1079.3 (39 %, [2M + Na]⁺, ber. 1079.2); 1097.3 (14 %, [2M + K]⁺, ber. 1097.3).

C₂₀H₂₅ClN₆O₇S (528.97)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(3,4-dichlorophenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (84)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 16.8 mg (75 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.6 mg (7 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 15.8$ min (29 % bei $\lambda = 214$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 25$ min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 8.96 (s, 2H, NH₂, Amid); 7.66 (s, 1H, H₂-, 3,4-Cl₂-Ph); 7.17 (m, 2H, H₅-, H₆-, 3,4-Cl₂-Ph); 6.36 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 6.26 (d, 1H, NH, Carbamat, Aloc); 5.68 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.07 (d, 1H, $^3J_{trans} = 16.6$ Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 4.80 (d, 1H, H-1); 4.56 (d, 1H, $^3J_{cis} = 9.6$ Hz, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.39 (m, 2H, O-CH₂, Allyl); 3.65-3.36 (m, 8H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6', S-CH₂); 2.85 (m, 2H, CH₂-CONH₂).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 563.1 (41 %, [M + H]⁺, ber. 563.1); 585.1 (49 %, [M + Na]⁺, ber. 585.1); 601.1 (25 %, [M + K]⁺, ber. 601.2); 1125.3 (59 %, [2M + H]⁺, ber. 1025.2); 1127.3 (100 %, [2M + H+2]⁺, ber. 1127.2); 1147.3 (41 %, [2M + Na]⁺, ber. 1147.2); 1149.3 (60 %, [2M + Na+2]⁺, ber. 1149.2); 1163.2 (9 %, [2M + K]⁺, ber. 1163.3); 1165.2 (17 %, [2M + K+2]⁺, ber. 1165.3).

C₂₀H₂₄Cl₂N₆O₇S (563.41)

3-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(3-fluorophenyl-carbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (85)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 16.9 mg (83 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.4 mg (7 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 12.5$ min (12 % bei $\lambda = 214$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 19$ min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 9.05 (s, 2H, CONH₂, Anker); 7.15 (m, 2H, H4-, H6-, 3-F-Ph); 6.88 (t, 1H, H5-, 3-F-Ph); 6.52 (s, 1H, H2-, 3-F-Ph); 5.66 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 5.48 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.07 (d, 1H, 2-NH); 4.86 (d, 1H, ³J_{trans} = 16.6 Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 4.76 (d, 1H, H-1); 4.38 (d, 1H, ³J_{cis} = 9.6 Hz, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.21 (m, 2H, O-CH₂, Allyl); 3.44-3.17 (m, 8H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6', S-CH₂); 2.95 (m, 2H, CH₂-CONH₂).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 513.2 (19 %, [M + H]⁺, ber. 513.2); 535.2 (45 %, [M + Na]⁺, ber. 535.2); 551.2 (25 %, [M + K]⁺, ber. 551.3); 1025.4 (100 %, [2M + H]⁺, ber. 1025.3); 1047.4 (78 %, [2M + Na]⁺, ber. 1047.3); 1063.4 (19 %, [2M + K]⁺, ber. 1063.3).

C₂₀H₂₅FN₆O₇S (512.51)

3-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(4-fluorophenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (86)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 21.4 mg (104 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 3.1 mg (15 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 12.4$ min (8 % bei $\lambda = 214$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 19$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 513.2 (19 %, [M + H]⁺, ber. 513.2); 535.2 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 535.2); 551.1 (26 %, [M + K]⁺, ber. 551.3); 1025.4 (52 %, [2M + H]⁺, ber. 1025.3); 1047.4 (91 %, [2M + Na]⁺, ber. 1047.3); 1063.3 (11 %, [2M + K]⁺, ber. 1063.3).

C₂₀H₂₅FN₆O₇S (512.51)

Parallelsynthese B

In 5 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 ml-Spritzen werden jeweils 120 mg des Polymers **62** (*Rink*-Amid-Harz, Beladung 0.42 mmol/g) eingewogen. Zuerst wird der *p*-Methoxybenzylether nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Spaltung des *tert*-Butyldimethylsilylethers mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid-Lösung in Acetonitril gespalten. Im nächsten Schritt setzt man die Proben nach dem Quellen in einer 1%-igen Lösung von DMAP in Dioxan nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Carbamatbildung in der 3- und 4-Position durch 12-stündiges Schütteln mit jeweils einer 10%-igen Lösung des entsprechenden Isocyanats (4-Methylmercaptophenylisocyanat, Ethyl-4-isocyanatobenzoat, 4-Ethoxyphenylisocyanat, 3-Acetylphenylisocyanat und 4-Isopropylphenylisocyanat) in je 2.0 ml Dioxan zu den jeweiligen Carbamaten um. Das Polymer wird anschließend abfiltriert und zunächst zweimal mit jeweils 2 ml Dioxan, danach zweimal mit jeweils 2 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 2 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-methylmercaptocarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (87)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 22.6 mg (84 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 0.8 mg (3 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 13.8$ min (59 % bei $\lambda = 254$ nm), semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 20$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 541.3$ (5 %, $[M + H]^+$, ber. 541.2); 563.3 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 563.2).

$C_{21}H_{28}N_6O_7S_2$ (540.61)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-ethoxycarbonylphenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (88)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 23.8 mg (84 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.0 mg (7 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 13.5$ min (62 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 19$ min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 9.10 (s, 2H, CONH₂, Anker); 7.76 (d, 2H, H₃-, H₅-, 4-COOEt-Ph); 7.41 (d, 2H, H₂-, H₆-, 4-COOEt-Ph); 6.45 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 5.55 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.07 (d, 1H, 2-NH); 4.96 (d, 1H, Allyl, $^3J_{\text{trans}} = 16.6$ Hz, =CH₂, H^{trans}); 4.78 (d, 1H, H-1); 4.48 (d, 1H, =CH₂, H^{cis}, Allyl, $^3J = 9.6$ Hz); 4.28 (q, 2H, CH₂, COOEt); 4.15 (m, 2H, O-CH₂, Allyl); 3.60-3.29 (m, 8H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6', S-CH₂); 2.78 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 1.19 (t, 3H, CH₃, COOEt).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 589.34 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 589.2).

C₂₃H₃₀N₆O₉S (566.58)

3-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(4-ethoxyphenyl-carbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (89)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 20.9 mg (78 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.4 mg (9 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 12.9$ min (61 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 14$ min (Probleme mit dem Pumpensystem, das Laufmittel ist vermutlich deutlich unpolarer als eingestellt).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 8.40 (s, 2H, CONH₂, Anker); 7.11 (d, 2H, H₂-, H₆-, 4-EtO-Ph); 6.53 (d, 2H, H₃-, H₅-, 4-EtO-Ph); 5.65 (d, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 5.54 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.01 (d, 1H, 2-NH); 4.93 (d, 1H, $^3J_{\text{trans}} = 16.6$ Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 4.78 (d, 1H, H-1); 4.64 (dd, 1H, =CH₂, H^a, Allyl); 4.39 (d, 1H, H^{cis}, Allyl, $^3J = 9.6$ Hz, =CH₂); 4.21 (m, 2H, O-CH₂, Allyl); 3.72 (q, 2H, OCH₂, Ph-OEt); 3.60-3.29 (m, 8H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6', S-CH₂); 2.72 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 1.12 (t, 3H, CH₃, Ph-OEt).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 539.3 (100 %, [M + H]⁺, ber. 539.2); 561.3 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 561.2).

C₂₂H₃₀N₆O₈S (538.57)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(3-acetylphenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (90)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 20.9 mg (78 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 559.3 (45 %, $[M + Na]^+$, ber. 559.2).

Das Rohprodukt wird nicht gereinigt.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II: Dem Produkt kann kein Peak zugeordnet werden.

$C_{22}H_{30}N_6O_8S$ (538.57)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-*iso*-propylphenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (91)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 35.9 mg (134 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.3 mg (9 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 16.1 min (42 % bei λ = 240 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 25 min.

300 MHz-¹H-NMR (*MeOD*): δ [ppm] = 7.14 (d, 2H, H2-, H6-, 4-*iPr*-Ph); 7.00 (d, 2H, H3-, H5-, 4-*iPr*-Ph); 5.61 (m_c, 1H, CH, Allyl); 5.03 (d, 1H, $^3J_{\text{trans}} = 16.6$ Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 4.88 (d, 1H, H-1); 4.47 (d, 1H, $^3J_{\text{cis}} = 9.6$ Hz, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.36 (m, 2H, O-CH₂, Allyl); 3.58-3.29 (m, 8H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6', S-CH₂); 2.72 (m, 3H, CH₂-CONH₂, CH, *iPr*); 1.12 (d, 6H, CH₃, *iPr*).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 556.2 (100 %, $[2M + Ca]^{2+}$, ber. 556.2).

$C_{23}H_{32}N_6O_7S$ (536.60)

5.4.3.2 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.5.2.2**Parallelsynthese**

In 7 mit Polyethylenfritten verschlossenen 5 ml-Spritzen werden jeweils 120 mg des Polymers **56** (*Rink*-Amid-Harz, Beladung 0.42 mmol/g) eingewogen. Zuerst wird der *p*-Methoxybenzylether nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur oxidativen des Mpm-Ethers mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon in Dioxan gespalten. Im zweiten

Schritt setzt man die Proben nach dem Quellen in *N,N*-Dimethylformamid nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Acetylierung nach *Stiglich* durch 18-stündiges Schütteln mit einer Lösung von jeweils 0.20 mmol Phenyllessigsäure, 4-Nitrophenyllessigsäure, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Thr(*t*-Bu)-OH und Fmoc-Gln(Trt)-OH in je 2.0 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid unter Zusatz von jeweils 4.0 mg 4-Dimethylaminopyridin und 96 μ l *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid um. Das Polymer wird anschließend abfiltriert und zunächst dreimal mit jeweils 2 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 2 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-phenylacetyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (92)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 16.7 mg (68 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.2 mg (5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 13.2$ min (59 % bei $\lambda = 214$ nm), semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 15.9$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv $[m/z] = 516.2$ (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 516.2); 1009.4 (49 %, $[M + Na]^+$, ber. 1009.3).

$C_{21}H_{27}N_5O_7S_2$ (493.53)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-nitrophenylacetyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (93)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 15.1 mg (54 %).

ESI-MS (Rohprodukt, Waters), positiv $[m/z] = 508.3$ (90 %); 524.3 (100 %); 561.2 (15 %, **93**, $[M + Na]^+$, ber. 561.2).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II: Dem Produkt kann kein Peak zugeordnet werden.

Das Rohprodukt wird nicht gereinigt

$C_{21}H_{26}N_6O_9S_2$ (538.53)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-glycyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (94)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.6 mg (81 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 512.1 (100 %, 4-OH, 3-OTBS, [M + Na]⁺); 677.1 (18 %, [M + Na]⁺, ber. 677.2).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 6.49 min (85 %, **94**); 10.12 min (12 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.7 mg (5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 17.3 min (79 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 26 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.69 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.53 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.33 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.26 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 5.85 (d, 1H, 2-NH); 5.76 (m_C, 1H, =CH, Allyl); 5.23 (d, 1H, ³J_{trans} = 17.3 Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 5.11 (d, 1H, ³J_{cis} = 11.0 Hz, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.55 (m, 2H, O-CH₂, Allyl); 4.44 (d, 2H, CH₂, Fmoc); 4.32 (d, 1H, H-1); 4.15 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.85 (m, 1H, H-3); 3.55-3.22 (m, 7H, H-2, H-4, H-5, H-6, H-6', α CH₂, Gly); 2.85 (m, 2H, S-CH₂); 2.47 (t, 2H, CH₂-CONH₂).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 674.7 (100 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 674.2); 677.1 (91 %, [M + Na]⁺, ber. 677.2).

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (95)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 19.3 mg (58 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 512.1 (100 %, 4-OH, 3-OTBS, [M + Na]⁺); 691.1 (8 %, [M + Na]⁺, ber. 691.2).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 6.43 min (54 %, **95**); 10.12 min (44 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.5 mg (6 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 19.0$ min (79 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 29$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 688.7$ (80 %, $[2M + Ca]^{2+}$, ber. 688.2); 691.1 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 691.2).

$C_{31}H_{36}N_6O_9S$ (668.72)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-methionyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (96)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 32.0 mg (88 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 512.1$ (100 %, 4-OH, 3-OTBS, $[M + Na]^+$); 751.1 (13 %, $[M + Na]^+$, ber. 751.2); 767.1 (3 %, $[M + K]^+$, ber. 767.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 8.00 min (92 %, 96); 11.23 min (5 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 3.0 mg (8 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 21.3$ min (65 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 34$ min.

300 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 7.74 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.56 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.36 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.30 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 5.80 (m, 2H, 2-NH, =CH, Allyl); 5.28-5.08 (m, 2H, H-1, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 4.55 (m, 3H, O-CH₂, Allyl, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.52 (d, 2H, CH₂, Fmoc); 4.37 (d, 1H, α CH, Met); 4.17 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.78-3.41 (m, 6H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6'); 2.89 (m, 2H, S-CH₂); 2.47 (m, 4H, CH₂-CONH₂, γ CH₂, Met); 2.50 (m, 2H, β CH₂, Met.); 2.13 (s, 3H, ϵ CH₃, Met).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 751.1$ (91 %, $[M + Na]^+$, ber. 751.2); 767.1 (28 %, $[M + K]^+$, ber. 767.3).

$C_{33}H_{40}N_6O_9S_2$ (728.84)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-threonyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (97)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 29.8 mg (85 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv $[m/z] = 512.1$ (100 %, 4-OH, 3-OTBS, $[M + Na]^+$); 721.1 (3 %, $[M + Na]^+$, ber. 721.2).

HPLC-MS (*ThermoQuest*, Säule *D*, Gradient *IX*): Die Massen, die im *ESI-MS*-Spektrum des Rohprodukts auftreten, können im *HPLC-MS*-Spektrum nicht gefunden werden.

Da somit keine Zuordnung der einzelnen Peaks möglich ist, kann das gewünschte Produkt **97** nicht isoliert werden.

$C_{32}H_{38}N_6O_{10}S$ (698.74)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (98)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 32.2 mg (89 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv $[m/z] = 512.0$ (100 %, 4-OH, 3-OTBS, $[M + Na]^+$); 748.1 (5 %, $[M + Na]^+$, ber. 748.2); 774.1 (2 %, $[M + K]^+$, ber. 774.2).

HPLC-MS (*ThermoQuest*, Säule *D*, Gradient *IX*): 6.50 min (40 %, **98**); 8.31 min (25 %); 11.05 min (30 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 3.0 mg (8 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische *HPLC*: Gradient *II*, $R_t = 15.1$ min (22 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative *HPLC*: Gradient *VI*: $R_t = 23$ min.

ESI-MS (aus *HPLC-MS*, *ThermoQuest*), positiv $[m/z] = 748.2$ (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 748.2).

$C_{33}H_{39}N_7O_{10}S$ (725.77)

5.4.4 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.5.3

5.4.4.1 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.5.3.1

Parallelsynthese

In 11 mit Polyethylenfritten verschlossenen 5 ml-Spritzen werden jeweils 200 mg des Polymers **79** (*Rink*-Tentagel-S-NH₂[®] Harz, Beladung 0.20 mmol/g) eingewogen. Zuerst wird der *p*-Methoxybenzylether nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur oxidativen Spaltung mit DDQ in nassem Dichlormethan gespalten. Im nächsten Schritt setzt man die Proben nach dem Quellen in einer 1%-igen Lösung von DMAP in Dioxan nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Carbamatbildung in der 3- und 4-Position durch 12-stündiges Schütteln mit jeweils einer 10%-igen Lösung von 4-Cyanophenylisocyanat, 4-Chlorphenylisocyanat, 3,4-Dichlorphenylisocyanat, 3-Fluorphenylisocyanat, 4-Fluorphenylisocyanat, 4-Nitrophenylisocyanat, 4-Methylmercaptophenylisocyanat, Ethyl-4-isocyanatobenzoat, 4-Ethoxyphenylisocyanat, 3-Acetylphenylisocyanat und 4-Isopropylphenylisocyanat in je 2.0 ml Dioxan zu den jeweiligen Carbamaten um. Das Polymer wird anschließend abfiltriert und zunächst zweimal mit jeweils 2 ml Dioxan, danach zweimal mit jeweils 2 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 2 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(4-cyanophenylcarbamoil)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (100)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 18.2 mg (63 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 13.0 mg (45 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 22.1$ min (92 % bei $\lambda = 214$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 37$ min.

300 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$ mit d_6 -DMSO): δ [ppm] = 9.21 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 7.43 (d, 2H, H2-, H6-, *p*-CN-Ph, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.4$ Hz); 7.37 (d, 2H, H3-, H4-, *p*-CN-Ph, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.4$ Hz); 6.40 (d, 2H, CONH₂, Anker); 5.72 (m, 2H, =CH, Allyl, 2-NH); 5.13 (d, 1H, $^3J_{trans} = 16.6$ Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 5.01 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 10.7$ Hz, H-1); 4.62 (m, 2H, H-6, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.36 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 3.82 (t, 1H, H-3); 3.45 (dd, 1H, H-6'); 3.26 (m, 4H, H-2, H-4, H-5); 2.83 (m, 2H, CH₂-

CONH₂); 2.40 (t, 2H, S-CH₂); 0.60 (s, 9H, CH₃, *tert*-Butyl, TBS); -0.13, -0.17 (2s, 6H, 2 x CH₃, Me, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [*m/z*] = 634.4 (35 %, [M + H]⁺, ber. 634.3); 656.4 (97 %, [M + Na]⁺, ber. 656.2); 672.3 (25 %, [M + K]⁺, ber. 672.3); 1267.7 (100 %, [2M + H]⁺, ber. 1267.5); 1289.7 (60 %, [2M + Na]⁺, ber. 1289.5); 1305.7 (12 %, [2M + K]⁺, ber. 1305.6).

C₂₇H₃₉N₇O₇SSi (633.79)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(4-chlorophenylcarbonyl)-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (101)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 20.5 mg (68 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 10.4 mg (35 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 26.7 min (62 % bei λ = 214 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 44 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃ mit DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8.43 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 7.23 (d, 2H, H₂-, H₆-, *p*-Cl-Ph); 7.05 (d, 2H, ³J_{H₂-H₃ = ³J_{H₅-H₆ = 8.8 Hz, H₃-, H₅-, *p*-Cl-Ph); 6.36 (d, 2H, CONH₂, Anker); 5.72 (m, 2H, =CH, Allyl, 2-NH); 5.15 (d, 1H, ³J_{trans} = 16.9 Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 5.01 (d, 1H, ³J_{1,2} = 10.3 Hz, H-1); 4.59 (m, 2H, H-6, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.38 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 3.80 (t, 1H, H-3); 3.50 (dd, 1H, H-6'); 3.28-3.14 (m, 3H, H-2, H-4, H-5); 2.79 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 2.50 (t, 2H, S-CH₂); 0.63 (s, 9H, CH₃, *tert*-Butyl, TBS); -0.11, -0.14 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).}}

ESI-MS (nach semi-präp HPLC, Waters), positiv [*m/z*] = 643.3 (8 %, [M + H]⁺, ber. 643.2); 665.3 (66 %, [M + Na]⁺, ber. 665.2); 681.2 (30 %, [M + K]⁺, ber. 681.3); 1285.5 (28 %, [2M + H]⁺, ber. 1285.4); 1287.5 (32 %, [2M + H + 2]⁺, ber. 1287.4); 1307.5 (100 %, [2M + Na]⁺, ber. 1307.4); 1309.5 (98 %, [2M + Na + 2]⁺, ber. 1307.4); 1323.5 (22 %, [2M + K]⁺, ber. 1323.5).

C₂₆H₃₉ClN₆O₇SSi (643.23)

3-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-4-O-(3,4-dichlorophenylcarbamoyle)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (102)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 24.0 mg (77 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 12.6 mg (40 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 29.0$ min (90 % bei $\lambda = 214$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 49$ min.

300 MHz- 1 H-NMR ($CDCl_3$ mit $DMSO-d_6$): δ [ppm] = 8.97 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 7.41 (s, 1H, H2-, 3,4-Cl₂-Ph); 7.01 (m, 2H, H5-, H6-, 3,4-Cl₂-Ph); 6.48 (m, 2H, CONH₂, Anker); 5.64 (m, 2H, =CH, Allyl, 2-NH); 5.03 (d, 1H, $^3J_{trans} = 17.2$ Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 4.92 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 10.3$ Hz, H-1); 4.49 (m, H-6, 2H, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.27 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 3.68 (t, 1H, H-3); 3.34-3.02 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6'); 2.71 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 2.30 (t, 2H, S-CH₂); 0.51 (s, 9H, CH₃, tert-Butyl, TBS); -0.22, -0.25 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp HPLC, Waters), positiv [m/z] = 699.2 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 699.2); 701.2 (71 %, $[M + Na + 2]^+$, ber. 699.2); 715.2 (58 %, $[M + K]^+$, ber. 715.3); 717.2 (49 %, $[M + K + 2]^+$, ber. 717.5.3); 1355.5 (6 %, $[2M + H + 2]^+$, ber. 1355.3); 1375.5 (33 %, $[2M + Na]^+$, ber. 1375.3); 1377.4 (54 %, $[2M + Na + 2]^+$, ber. 1377.3); 1379.4 (39 %, $[2M + Na + 4]^+$, ber. 1379.3); 1391.4 (10 %, $[2M + K]^+$, ber. 1391.4); 1393.4 (22 %, $[2M + K + 2]^+$, ber. 1393.4); 1395.4 (14 %, $[2M + K + 4]^+$, ber. 1395.4).

$C_{26}H_{38}Cl_2N_6O_7SSi$ (677.67)

3-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-4-O-(3-fluorophenylcarbamoyle)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (103)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 18.2 mg (63 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 6.6 mg (23 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 24.5$ min (63 % bei $\lambda = 214$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 40$ min.

300 MHz- 1 H-NMR ($CDCl_3$ mit $DMSO-d_6$): δ [ppm] = 8.59 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 7.01 (m, 3H, H4-, H5-, H6-, 3-F-Ph); 6.50 (t, 1H, H2-, 3-F-Ph); 6.40 (m, 2H, CONH₂, Anker); 5.72 (m, 2H, =CH, Allyl, 2-NH); 5.10 (d, 1H, $^3J_{trans} = 17.3$ Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 5.01 (d, 1H, $^3J_{1,2} = 11.4$ Hz, H-1); 4.58 (m, 2H, H-6, =CH₂, H^{cis},

Allyl); 4.36 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 3.77 (t, 1H, H-3); 3.42-3.12 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6'); 2.80 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 2.39 (t, 2H, S-CH₂); 0.61 (s, 9H, CH₃, *tert*-Butyl, TBS); -0.13, -0.15 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp HPLC, Waters), positiv [*m/z*] = 649.3 (33 %, [M + Na]⁺, ber. 649.2); 665.3 (28 %, [M + K]⁺, ber. 665.3); 1253.6 (26 %, [2M + H]⁺, ber. 1253.5); 1275.6 (100 %, [2M + Na]⁺, ber. 1275.5); 1276.6 (61 %, [2M + Na + 1]⁺, ber. 1276.5); 1291.6 (33 %, [2M + K]⁺, ber. 1291.6); 1292.6 (22 %, [2M + K + 1]⁺, ber. 1292.6).

C₂₆H₃₉FN₆O₇SSi (626.77)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(4-fluorophenylcarbamoyl)β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (104)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 14.3 mg (50 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 6.5 mg (23 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 23.9 min (80 % bei λ = 214 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 40 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃ mit DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8.45 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 7.16 (m, 2H, H₂-, H₆-, 4-F-Ph); 6.72 (m, 2H, H₃-, H₅-, 4-F-Ph); 6.44 (m, 2H, CONH₂, Anker); 5.67 (m, 2H, =CH, Allyl, 2-NH); 5.06 (d, 1H, ³J_{trans} = 16.9 Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 4.96 (d, 1H, ³J_{1,2} = 10.3 Hz, H-1); 4.51 (m, 2H, H-6, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.30 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 3.69 (t, 1H, H-3); 3.38-3.10 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6'); 2.71 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 2.33 (t, 2H, S-CH₂); 0.56 (s, 9H, CH₃, *tert*-Butyl, TBS); -0.18, -0.19 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp HPLC, Waters), positiv [*m/z*] = 649.3 (56 %, [M + Na]⁺, ber. 649.2); 665.3 (11 %, [M + K]⁺, ber. 665.3); 1275.6 (100 %, [2M + Na]⁺, ber. 1275.5); 1276.6 (55 %, [2M + Na + 1]⁺, ber. 1276.5); 1291.6 (10 %, [2M + K]⁺, ber. 1291.6); 1292.6 (7 %, [2M + K + 1]⁺, ber. 1292.6).

C₂₆H₃₉FN₆O₇SSi (626.77)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(4-nitrophenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (105)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 17.6 mg (64 %).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 5.0 min (38 %); 7.3 min (55 %).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II: Dem Produkt kann kein Peak zugeordnet werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Waters), positiv $[m/z] = 512.2$ (87 %, 4-OH, $[M + Na]^+$); 621.3 (100%); 685.5 (29%, $[M + Na]^+$, ber. 686.2).

Das Rohprodukt wird nicht gereinigt.

$C_{26}H_{39}N_7O_9SSi$ (653.78)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(4-methylmercaptocarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (106)

Neben dem gewünschten Produkt **106** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(4-methylmercaptophenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **106'** isoliert werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 52.0 mg (199 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 563.1$ (53 %, **106'**, $[M + Na]^+$, ber. 563.1); 677.1 (100 %, **106**, $[M + Na]^+$, ber. 677.2) .

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 5.1 min (34 %, **106'**); 8.7 min (65 %, **106**).

Gewünschtes Produkt (106): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.4 mg (5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 25.3$ min (68 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 39$ min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃ mit MeOD): δ [ppm] = 7.29 (d, 2H, H2-, H6-, 4-SMe-Ph); 7.19 (d, 2H, H3-, H5-, 4-SMe-Ph); 5.88 (m, 2H, =CH, Allyl, 2-NH); 5.28 (d, 1H, ³J_{trans} = 17.6 Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 5.20 (d, ³J₁₋₂ = 10.6 Hz, 1H, H-1); 4.98 (d, 1H, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.76 (m, 1H, H-6); 4.54 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 4.04 (t, 1H, H-3); 3.62 (m, 1H, H-4); 3.47-3.36 (m, 2H, H-2, H-5); 3.28 (dd, 1H, H-6'); 2.98 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 2.58 (t, 2H, S-CH₂); 2.44 (s, 3H, CH₃, S-Me); 0.79 (s, 9H, CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 0.01 (s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 675.2$ (100 %, $[2M + Ca]^+$, ber. 674.2).

$C_{27}H_{42}N_6O_7S_2Si$ (654.87)

Desilyliertes Produkt (106'): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.1 mg (9 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; $R_t = 13.6$ min (32 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Säule B, Gradient VI; $R_t = 18$ min.

300 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$ mit MeOD): δ [ppm] = 7.13 (d, 2H, H3-, H5-, 4-SMe-Ph); 6.99 (d, 2H, H2-, H6-, 4-SMe-Ph); 5.68 (mc, 1H, =CH, Allyl); 5.08 (d, 1H, $^3J_{trans} = 17.6$ Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 4.97 (d, 1H, H-1, $^3J = 10.6$ Hz); 4.47 (m, 2H, H-6, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.31 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 3.47-3.20 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5); 3.12 (dd, 1H, H-6'); 2.75 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 2.34 (t, 2H, S-CH₂); 2.22 (s, 3H, CH₃, S-Me).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 560.6$ (100 %, $[2M + Ca]^{2+}$, ber. 560.1).

$C_{21}H_{28}N_6O_7S_2$ (540.61)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(4-ethoxycarbonylphenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (107)

Neben dem gewünschten Produkt **107** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(4-ethoxycarbonylphenylcarbamoyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **107'** isoliert werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 24.6 mg (90 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 589.4$ (18 %, **107'**, $[M + Na]^+$, ber. 589.2); 703.1 (100 %, **107**, $[M + Na]^+$, ber. 703.3) .

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 5.0 min (11 %, **107'**); 6.6 (6 %); 8.6 min (82 %, **107**).

Gewünschtes Produkt (107): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 11.6 mg (42 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 25.1$ min (81 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 41$ min.

300 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 7.97 (d, 2H, H3-, H5-, 4-COOEt-Ph); 7.69 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNCO); 7.45 (d, 2H, H2-, H6-, 4-COOEt-Ph); 6.16 (s, 1H, 2-NH);

5.86 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.24 (d, 1H, ³J_{trans} = 16.9 Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 4.83 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 9.6 Hz, H-1); 4.88 (dd, 1H, H-6); 4.83 (d, 1H, =CH₂, H^{cis}); 4.54 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 4.32 (q, 2H, CH₂, COOEt); 4.01 (t, 1H, H-3); 3.62 (m, H-4); 3.41 (m, 2H, H-2, H-5); 3.28 (dd, 1H, H-6'); 2.98 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 2.59 (t, 2H, S-CH₂); 1.35 (t, 3H, CH₃, COOEt); 0.76 (s, 9H, CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 0.02, 0.01 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 700.5 (100 %, [2M + Ca]⁺, ber. 700.2).

C₂₉H₄₄N₆O₉SSi (680.84)

Desilyliertes Produkt (107'): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 0.4 mg (2 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; R_t = 13.4 min (43 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Säule B, Gradient VI; R_t = 17 min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 586.5 (100 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 586.2).

C₂₃H₃₀N₆O₉S (566.58)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(4-ethoxyphenylphenylcarbamoil)-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (108)

Neben dem gewünschten Produkt **108** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(4-ethoxyphenylphenylcarbamoil)-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **108'** nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 34.1 mg (130 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 561.1 (18 %, **108'**, [M + Na]⁺, ber. 561.2); 675.2 (100 %, **108**, [M + Na]⁺, ber. 675.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 4.8 min (5 %, **108'**); 6.6 (10 %); 8.5 min (62 %, **108**) 10.0 (23 %).

Gewünschtes Produkt (108): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 5.3 mg (20 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 24.7 min (87 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 41 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃ mit MeOD): δ [ppm] = 7.14 (d, 2H, H2-, H6-, 4-EtO-Ph); 6.72 (d, 2H, H3-, H5-, 4-EtO-Ph); 6.18 (d, 1H, 2-NH); 5.78 (m, 1H, =CH, Allyl); 5.20 (d, 1H, ³J_{trans} = 17.3 Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 5.10 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 10.3 Hz, H-1); 4.65 (m, 1H, =CH₂, H^{cis}, H-6); 4.42 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 3.90 (q, 2H, CH₂, Ph-OEt); 3.53 (t, 1H, H-3); 3.28 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6'); 2.85 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 2.45 (t, 2H, S-CH₂); 1.28 (t, 3H, CH₃, Ph-OEt); 0.71 (s, 9H, CH₃, *tert*-Butyl, TBS); -0.06 (s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 672.3 (100 %, [2M + Ca]⁺, ber. 672.3).

C₂₈H₄₄N₆O₈SSi (652.83)

Desilyliertes Produkt (108'): wird nicht isoliert.

HPLC: analytische HPLC: Säule A, Gradient II; R_t = 13.0 min (6 % bei λ = 254 nm).

ESI-MS (aus HPLC-MS, ThermoQuest), positiv [m/z] = 558.3 (100 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 558.2).

C₂₂H₃₀N₆O₈S (538.57)

3-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-O-(3-acetylphenyl-carbamoyl)-3-O-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (109)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 15.6 mg (60 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 673.2 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 673.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 7.6 min (98 %, **109**).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 9.8 mg (38 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 22.0 min (95 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 37 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃ mit MeOD): δ [ppm] = 7.76 (s, 1H, H2-, 3-Ac-Ph); 7.65 (d, 1H, H6-, 3-Ac-Ph); 7.14 (d, 1H, H4-, 3-Ac-Ph); 7.28 (t, 1H, H5-, 3-Ac-Ph); 6.32 (d, 1H, 2-NH); 5.75 (m, 1H, =CH, Allyl); 5.18 (d, 1H, ³J_{trans} = 17.3 Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 5.07 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 10.3 Hz, H-1); 4.65 (m, 2H, H-6, =CH₂, H^{cis}, Alloc); 4.40 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 3.55 (t, 1H, H-3); 3.26 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6'); 2.83 (m, 2H, CH₂-CONH₂); 2.47 (s, 3H, CH₃, Acetyl); 2.43 (t, 2H, S-CH₂); 0.67 (s, 9H, CH₃, *tert*-Butyl, TBS); -0.08, -0.09 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 670.6 (100 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 670.3).

C₂₈H₄₂N₆O₈SSi (650.82)

3-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butyltrimethylsilyl-4-O-(4-iso-propylphenylcarbamoyl)-β-D-glucofuranosylmercapto]-propionsäureamid (110)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 12.5 mg (48 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 297.1 (91 %); 512.1 (82 %, 4-OH, [M + Na]⁺); 673.2 (100 %, 110, [M + Na]⁺, ber. 673.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 9.7 min (95 %, 110).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 5.7 mg (22 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 28.6 min (95 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 50 min.

*300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃ mit MeOD): δ [ppm] = 7.20 (d, 2H, H2-, H6-, 4-*i*-Pr-Ph); 7.14 (d, 2H, H3-, H4-, 4-*i*-Pr-Ph); 6.79 (d, 2H, CONH₂, Anker); 5.75 (m, 2H, =CH, Allyl, 2-NH); 5.30 (d, 1H, ³J_{trans} = 17.3 Hz =CH₂, H^{trans}, Allyl); 5.20 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 10.3 Hz, H-1); 4.95 (d, 1H, =CH₂, H^{cis}); 4.75 (m, 1H, H-6); 4.54 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 4.05 (t, 1H, H-3); 3.64 (t, 1H, H-4); 3.33-3.18 (m, 4H, H-2, H-5, H-6'); 2.83 (m, 3H, CH₂-CONH₂, CH, *i*-Pr); 2.58 (t, 2H, S-CH₂); 1.20 (d, 6H, CH₃, *i*-Pr); 0.79 (s, 9H, CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 0.02 (s, 6H, 2 x CH₃, TBS).*

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 671.1 (100 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 670.3).

C₂₉H₄₆N₆O₇SSi (650.86)

5.4.4.2 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.5.3.2

Parallelsynthese

In 6 mit Polyethylenfritten verschlossenen 5 ml-Spritzen werden jeweils 200 mg des Polymers **79** (*Rink*-Tentagel-S-NH₂[®] Harz, Beladung 0.20 mmol/g) eingewogen. Zuerst wird der *p*-Methoxybenzylether nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur oxidativen Spaltung mit DDQ in nassem Dichlormethan gespalten. Im zweiten Schritt setzt man die Proben nach dem Quellen in *N,N*-Dimethylformamid nach der allgemeinen

Arbeitsvorschrift zur Acetylierung nach *Steglich* durch 18-stündiges Schütteln mit einer Lösung von jeweils 0.20 mmol Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Thr(*t*-Bu)-OH und Fmoc-Gln(Trt)-OH in je 2.0 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid unter Zusatz von jeweils 4.0 mg 4-Dimethylaminopyridin und 96 µl *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid um. Das Polymer wird anschließend abfiltriert und zunächst dreimal mit jeweils 2 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 2 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-glycyl)-β-*D*-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (111)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 8.9 mg (29 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv [*m/z*] = 512.1 (100 %, 4-OH, [M + Na]⁺); 791.1 (40 %, **111**, [M + Na]⁺, ber. 791.2).

HPLC-MS (*ThermoQuest*, Säule *D*, Gradient *IX*): 6.43 min (55 %, 4-OH); 9.31 min (39 %, **111**).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.7 mg (4 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient *II*, R_t = 27.5 min (69 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient *VI*; R_t = 47 min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, *ThermoQuest*), positiv [*m/z*] = 788.4 (31 %, [2M + Ca]²⁺, ber. 788.3); 791.1 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 791.2).

C₃₆H₄₈N₆O₉SSi (768.95)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanyl)-β-*D*-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (112)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 5.2 mg (17 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv [*m/z*] = 406.1 (18 %); 512.1 (100 %, 4-OH, [M + Na]⁺).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 6.41 min (97 %, 4-OH); 9.51 min (3 %, **112**).

Das Rohprodukt wird nicht gereinigt.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 28.9$ min (6 % bei $\lambda = 254$ nm).

ESI-MS (aus HPLC-MS, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 805.2$ (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 805.3).

$C_{37}H_{50}N_6O_9SSi$ (782.98)

3-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-4-O-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (113)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 16.0 mg (39 %).

Das gewünschte Produkt kann nicht nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Waters), positiv $[m/z] = 253.0$ (88 %); 512.1 (100 %, 4-OH, $[M + Na]^+$); 753.9 (4 %).

$C_{40}H_{56}N_6O_9SSi$ (825.06)

3-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-4-O-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-methionyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (114)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 14.0 mg (33 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 253.0$ (70 %); 512.1 (100 %, 4-OH, $[M + Na]^+$); 855.1 (3 %, $[M + Na]^+$, ber. 865.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): Die Massen, die im ESI-MS-Spektrum des Rohprodukts auftreten, können im HPLC-MS-Spektrum nicht gefunden werden.

Da somit keine Zuordnung der einzelnen Peaks möglich ist, kann das gewünschte Produkt **114** nicht isoliert werden.

Das Rohprodukt wird nicht gereinigt.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, Dem Produkt kann kein Peak zugeordnet werden.

$C_{39}H_{54}N_6O_9S_2Si$ (843.1)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-threonyl)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (115)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 15.7 mg (39 %).

Das gewünschte Produkt kann nicht nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Waters), positiv [m/z] = 253.0 (72 %); 512.1 (100 %, 4-OH, [M + Na]⁺); 753.8 (5 %).

C₃₈H₅₂N₆O₁₀SSi (813.00)

3-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminy)- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (116)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 15.6 mg (37 %).

Das gewünschte Produkt kann nicht nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Waters), positiv [m/z] = 512.1 (100 %, 4-OH, [M + Na]⁺); 754.8 (6 %); 1001.2 (13 %).

C₃₉H₅₃N₇O₁₀SSi (840.03)

5.4.5 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.5.5

Beladung des *Rink*-Amid-Polymers (Polymer 56')

In einem Festphasenreaktor werden 11.07 g (8.17 mmol) Fmoc-geschütztes *Rink*-Amid-Harz (1 % Divinylbenzol, Partikelgrösse: 100-200 mesh; Beladung: 0.70 mmol/g) in 30 ml *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 1 Stunde geschüttelt und anschließend abfiltriert. Das gequollene Harz wird noch zweimal mit jeweils 20 ml *N,N*-Dimethylformamid gewaschen und anschließend mit 40 ml einer 20%-igen Lösung von Piperidin in *N,N*-Dimethylformamid versetzt und 20 Minuten geschüttelt. Danach wird abfiltriert und man wäscht das Harz gründlich mit jeweils 10 ml *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, *N,N*-Dimethylformamid, Methanol, Dichlormethan und Diethylether.

In einem Kolben werden 4.16 g (6.81 mmol) des Glucose-Scaffolds **29** in 30 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Die Lösung wird dann mit 2.58 g (6.81 mmol) HBTU, 1.04 g (6.81 mmol) HOBt und 16.17 ml (12.2 g, 68.1 mmol) Hünigs Base versetzt.

Unter Argonatmosphäre wird das Harz mit dieser Lösung vereinigt und 12 Stunden geschüttelt. Danach wird das Harz abfiltriert und es wird dreimal mit jeweils 20 ml *N,N*-Dimethylformamid und dann mit jeweils 20 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet.

Zum Cappen der nicht umgesetzten Aminofunktion des mit Kohlenhydrat beladenen Harzes wird dieses zunächst eine Stunde in 30 ml *N,N*-Dimethylformamid gequollen und anschließend zweimal mit jeweils 20 ml *N,N*-Dimethylformamid gewaschen. Danach wird das Harz mit 45 ml einer Mischung aus zwei Teilen Pyridin und einem Teil Acetanhydrid überschichtet und 15 Minuten geschüttelt. Dann wird das Harz abfiltriert, sorgfältig dreimal mit jeweils 20 ml *N,N*-Dimethylformamid, danach mit jeweils 20 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet.

Durch HRMAS-1H-NMR-Spektroskopie kann eine Beladung des so dargestellten festphasengebundenen Kohlenhydratscaffolds **56'** von 0.42 mmol/g bestimmt werden, was einer Kupplungsausbeute von 60 % bezogen auf die Anfangsbeladung des Polymers entspricht.

Parallelsynthese

In 18 mit Polyethylenfritten verschlossenen 5 ml-Spritzen werden je 120 mg des Polymers **56'** (*Rink*-Amid-Harz, Beladung 0.42 mmol/g) eingewogen. Zuerst wird die Azidofunktion nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur *Staudinger*-Reduktion mit Tri-*n*-butylphosphin in absol. Tetrahydrofuran und anschließender Hydrolyse mit Wasser und Triethylamin in *N,N*-Dimethylformamid in eine Aminofunktion überführt. Im zweiten Schritt setzt man die Proben nach dem Quellen der Proben in absol. *N,N*-Dimethylformamid entsprechend der allgemeinen Vorschrift für die Amidbildung in der 6-Position durch 12-stündiges Schütteln mit einer Lösung von je 0.25 mmol Phenylessigsäure, *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)anthranilsäure, *N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-4-aminobenzoesäure, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Thr(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Asp(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Tyr(*t*-Bu)-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Trp(Trt)-OH und Fmoc-His(Trt)-OH in je 2.5 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid unter Zusatz von jeweils 0.25 mmol HBTU, 0.25 mmol HOBt und 0.50 mmol Hünigs Base um. Das Polymer wird abfiltriert, dreimal mit jeweils 2 ml *N,N*-Dimethylformamid, dann mit jeweils 2 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-*N*-(*N*-phenylacetyl)-amino-6-desoxy- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (120)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 32.8 mg (113 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 604.1 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 604.3); 664.4 (32 %).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 8.03 min (96 %, 120).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 11.2 mg (38 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat; $[\alpha]_D^{20} = -66.2$ ($c = 1.0$, Chloroform).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 18.8$ min (41 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 27$ min.

400 MHz-¹H-NMR (*¹H-¹H-COSY*, $CDCl_3$): δ [ppm] = 7.29 (m, 5H, Phenyl); 5.95 (s, 2H, $CONH_2$, Anker); 5.89 (m_c , 1H, =CH, Allyl); 5.57 (s, 1H, 6-NH, Amid); 5.30 (d, 1H, $^3J_{trans} = 17.4$ Hz, H^{trans} , =CH₂, Allyl); 5.21 (d, 1H, $^3J_{cis} = 10.3$ Hz, H^{cis} , =CH₂, Allyl); 4.91 (d, 1H, $^3J_{NH-H2} = 9.4$ Hz, 2-NH); 4.53 (d, 2H, OCH_2 , Allyl); 4.48 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 10.2$ Hz, H-1); 3.89 (dd, 1H, H-6); 3.62 (s, 2H, CH_2 , Phenylacetyl); 3.57 (t, 1H, $^3J_{3-4} = 9.0$ Hz, H-3); 3.22 (m, 1H, H-6'); 3.20 (m, 1H, H-5); 3.05 (t, 1H, $^3J_{3-4} = 9.0$ Hz, H-4); 2.89 (m, 2H, S-CH₂); 2.50 (t, 2H, \underline{CH}_2 -CONH₂); 0.86 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.10, 0.06 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 173.9 (C=O, $CONH_2$, Anker); 171.4 (C=O, Amid, an C-6); 155.9 (C=O, Carbamat, Aloc); 134.8 (C1, Phenyl); 132.6 (CH, Allyl); 129.4 (C2, C6, Phenyl); 129.0 (C3, C5, Phenyl); 127.4 (C4, Phenyl); 118.0 (=CH₂, Allyl); 84.2 (C-1); 79.1 (C-4); 77.2 (C-5); 75.8 (C-3); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 57.2 (C-2); 43.4 (CH₂, Phenylacetyl); 40.2 (C-6); 36.5 (\underline{CH}_2 -CONH₂); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 25.0 (S-CH₂); 18.2 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -3.9, -5.1 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 582.3 (14 %, $[M + H]^+$, ber. 582.3); 604.1 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 604.3).

$C_{27}H_{43}N_3O_7SSi$ (581.80)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(2-aminobenzoyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (121)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.8 mg (92 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 605.2 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 605.3); 664.4 (70 %).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 8.25 min (70 %, 121).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.0 mg (7 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 18.0$ min (74 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 26$ min.

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 7.70 (d, 1H, H6-Aminobenzoyl); 7.26 (m, 1H, H4-Aminobenzoyl); 6.70 (m, 2H, H3-, H5-Aminobenzoyl); 5.89 (m, 2H, =CH, Allyl, CONH₂, Anker); 5.41 (s, 1H, 6-NH, Amid); 5.30 (d, 1H, ³J_{trans} = 17.4 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.21 (d, 1H, ³J_{cis} = 10.3 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.74 (d, 1H, ³J_{NH-H2} = 9.4 Hz, 2-NH, Carbamat); 4.64 (m, 3H, H-1, OCH₂, Allyl); 4.22 (m, 1H, H-6); 3.64 (t, 1H, ³J₃₋₄ = 9.0 Hz, H-3); 3.40 (m, 3H, H-2, H-5, H-6'); 3.20 (t, 1H, H-4); 3.12 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.88 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.55 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 0.85 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.13, 0.08 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 583.4 (100 %, [M + H]⁺, ber. 583.3); 605.2 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 605.3).

C₂₆H₄₂N₄O₇SSi (582.78)

3-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-N-(4-aminobenzoyl)-amino-6-desoxy-3-O-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (122)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 23.8 mg (82 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 605.2 (59 %, [M + Na]⁺, ber. 605.3); 664.4 (100 %).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 7.80 min (ca. 50 %, 122, Probleme mit ELS-Detektor: starkes Untergrundrauschen).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 3.0 mg (10 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 15.8$ min (51 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 21$ min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.68 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H2-, H6-Aminobenzoyl); 6.66 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H3-, H5-Aminobenzoyl); 5.89 (m, 3H, =CH, Allyl, CONH₂, Anker); 5.37 (s, 1H, 6-NH, Amid); 5.27 (d, 1H, ³J_{trans} = 17.3 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.18 (d, 1H, ³J_{cis} = 10.3 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.72 (d, 1H, 2-NH, Carbamat); 4.52 (m, 3H, H-1, OCH₂, Allyl); 4.19 (m, 1H, H-6); 3.61 (t, 1H, H-3); 3.40 (m, 3H, H-2, H-5, H-6'); 3.05 (t, 1H, H-4); 3.12 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.86 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.52 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 0.82 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.10, 0.05 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 583.5$ (43 %, $[M + H]^+$, ber. 583.3); 602.2 (49 %, $[M + Ca]^{2+}$, ber. 602.2); 605.1 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 605.3).
 $C_{26}H_{42}N_4O_7SSi$ (582.78)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (123)

Neben dem gewünschten Produkt **123** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-amino-6-desoxy- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **123'** nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 28.3 mg (76 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 664.4$ (100 %); 765.2 (83 %, $[M + Na]^+$, ber. 765.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 6.36 min (4 %, Fmoc-Gly-OH); 6.70 min (5 %, **123'**); 8.67 min (82 %, **123**).

Gewünschtes Produkt (123): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 5.8 mg (16 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 23.0$ min (82 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 42$ min.

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, $CDCl_3$): δ [ppm] = 7.76 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.60 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.45 (m, 1H, α NH, Gly); 7.40 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.31 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.07, 6.01 (2s, 2H, CONH₂, Anker); 5.89 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.30 (d, 1H, $^3J_{trans} = 17.4$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.20 (d, 1H, $^3J_{cis} = 10.3$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.98 (d, 1H, $^3J_{NH-H2} = 9.0$ Hz, 2-NH, Carbamat); 4.53 (m, 3H, H-1, OCH₂, Allyl); 4.41 (d, 2H, CH₂, Fmoc); 4.21 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.99 (d, 1H, α 1CH₂, Gly); 3.90 (d, 1H, α 2CH₂, Gly); 3.72 (m, 1H, H-6); 3.59 (t, 1H, H-3); 3.48 (m, 3H, H-2.H-5); 3.28 (m, 1H, H-6'); 3.17 (t, 1H, H-4); 3.03 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.83 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.51 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 0.84 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.09, 0.06 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 174.2 (C=O, CONH₂, Anker); 171.3 (C=O, Amid, Gly); 156.0 (2 x C=O, Carbamat, Fmoc, Alloc); 143.7 (Fmoc-8a, -9a); 141.3 (Fmoc-4a, -4b); 132.6 (CH, Allyl); 127.8 (Fmoc-2, -7); 127.1 (Fmoc-3, -6); 125.1 (Fmoc-1, -8); 120.0 (Fmoc-4, -5); 117.9 (=CH₂, Allyl); 84.1 (C-1); 78.9 (C-4); 77.3 (C-5); 71.4 (C-3); 67.1 (CH₂, Fmoc); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 57.3 (C-2); 47.1 (CH, Fmoc);

44.3 (Gly- α); 40.2 (C-6); 37.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CONH}_2$); 25.8 (CH_3 , *tert*-Butyl, TBS); 25.6 (S- CH_2); 18.2 (C_q , *tert*-Butyl, TBS); -4.0, -5.0 (2 x CH_3 , TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 743.2 (41 %, $[\text{M} + \text{H}]^+$, ber. 743.3); 754.2 (33 %, $[\text{M} + \text{Ca}]^{2+}$, ber. 754.3); 765.3 (100 %, $[\text{M} + \text{Na}]^+$, ber. 765.3).

$\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_9\text{SSi}$ (742.95)

Desilyliertes Produkt (123'): wird nicht isoliert.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 12.5$ min (12 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 19$ min.

ESI-MS (aus HPLC-MS, ThermoQuest), positiv [m/z] = 629.1 (17 %, $[\text{M} + \text{H}]^+$, ber. 629.2); 648.3 (31 %, $[\text{M} + \text{Ca}]^{2+}$, ber. 648.2); 651.2 (100 %, $[\text{M} + \text{Na}]^+$, ber. 651.2).

$\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ (628.69)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (124)

Neben dem gewünschten Produkt **124** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanyl)-amino-6-desoxy- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **124'** nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 30.6 mg (81 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 664.4 (100 %); 665.2 (23 %, **124'**, $[\text{M} + \text{Na}]^+$, ber. 665.3); 779.1 (47 %, **124**, $[\text{M} + \text{Na}]^+$, ber. 779.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX, ELS-Detektor defekt, UV-Detektion bei 254 nm): 6.15 min (21 %, **124'**); 6.36 min (10 %, Fmoc-Ala-OH); 8.85 min (47 %, **124**).

Gewünschtes Produkt (124): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 4.4 mg (12 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 24.1$ min (74 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 38$ min.

400 MHz- $^1\text{H-NMR}$ ($^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$, CDCl_3): δ [ppm] = 7.76 (d, 2H, $^3\text{J}_{\text{H}_3\text{-H}_4} = ^3\text{J}_{\text{H}_5\text{-H}_6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.60 (d, 2H, $^3\text{J}_{\text{H}_1\text{-H}_2} = ^3\text{J}_{\text{H}_7\text{-H}_8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.39 (t, 2H, $^3\text{J}_{\text{H}_2\text{-H}_3} = ^3\text{J}_{\text{H}_6\text{-H}_7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.32 (t, 2H, $^3\text{J}_{\text{H}_3\text{-H}_4} = ^3\text{J}_{\text{H}_5\text{-H}_6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.01 (s, 1H, H^a , CONH_2 , Anker); 5.89 (mc, 1H, =CH, Allyl); 5.79 (d, 1H, 6-NH, Amid); 5.70 (s, 1H, H^b , CONH_2 , Anker); 5.30 (d, 1H, $^3\text{J}_{\text{trans}} = 17.4$ Hz, H^{trans} , =CH₂, Allyl); 5.20 (d, 1H, $^3\text{J}_{\text{cis}} = 10.3$ Hz, H^{cis} , =CH₂, Allyl);

5.11 (d, 1H, $^3J_{\text{NH-H2}} = 7.6$ Hz, 2-NH, Carbamat); 4.53 (d, 2H, H-1, OCH₂, Allyl); 4.46 (m, 1H, H^a, CH₂, Fmoc); 4.39 (m, 2H, α CH, Ala, H^b, CH₂, Fmoc); 4.21 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.61 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'); 3.40 (m, 1H, H-2); 3.26 (m, 1H, H-4); 3.16 (t, 1H, H-3); 3.06 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.75 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.48 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 1.41 (d, 3H, β CH₃, Ala); 0.86 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.12, 0.07 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 174.2 (2 x C=O, Amid, Ala, Anker); 156.0, 155.8 (2 x C=O, Carbamat, Fmoc, Aloc); 143.7 (Fmoc-8a, -9a); 141.3 (Fmoc-4a, -4b); 132.7 (CH, Allyl); 127.8 (Fmoc-2, -7); 127.1 (Fmoc-3, -6); 125.1 (Fmoc-1, -8); 120.0 (Fmoc-4, -5); 117.9 (=CH₂, Allyl); 83.6 (C-1); 78.8 (C-4); 76.1 (C-5); 72.1 (C-3); 66.9 (CH₂, Fmoc); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 57.3 (C-2); 50.5 (Ala- α); 47.1 (CH, Fmoc); 40.4 (C-6); 37.1 (CH₂-CONH₂); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 24.9 (S-CH₂); 18.8 (Ala- β); 18.2 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -4.1, -4.9 (2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 776.2 (16 %, [M + Ca]²⁺, ber. 776.3); 779.2 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 779.3); 795.2 (16 %, [M + K]⁺, ber. 795.3).

C₃₇H₅₂N₄O₉SSi (756.98)

Desilyliertes Produkt (124'): wird nicht isoliert.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 12.3 min (10 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 17 min.

C₃₁H₃₈N₄O₉S (642.72)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (125)

Neben dem gewünschten Produkt **125** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-6-desoxy- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **125'** nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 39.5 mg (99 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 664.4 (72 %); 707.1 (83 %, **125'**, [M + Na]⁺, ber. 707.3). 821.2 (83 %, **125**, [M + Na]⁺, ber. 821.4).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 7.38 min (10 %, Fmoc-Leu-OH); 8.17 min (7 %, **125'**); 8.67 min (78 %, **125**).

Gewünschtes Produkt (125): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 9.3 mg (23 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat; $[\alpha]_D^{20} = -41.9$ (c = 1.0, Chloroform).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 27.6$ min (76 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 45$ min.

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 7.75 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.60 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.45 (m, 1H, α NH, Leu); 7.40 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.33 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.09 (s, H, H^a, CONH₂, Anker); 5.89 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.77 (m, 2H, 6-NH, Amid, H^b, CONH₂, Anker); 5.30 (m, 2H, $^3J_{trans} = 17.4$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl, 2-NH, Carbamat); 5.20 (d, 1H, $^3J_{cis} = 10.3$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.51 (m, 3H, H-1, OCH₂, Allyl); 4.34 (m, 3H, α CH, Leu, CH₂, Fmoc); 4.20 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.59 (m, 2H, H-5, H-6); 3.43 (m, 4H, H-2, H-4, H-6'); 3.17 (t, 1H, H-3); 3.06 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.70 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.45 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 1.67 (m, 2H, γ CH, β 1CH, Leu) 1.52 (m, 1H, β 2CH, Leu); 0.94 (t, 6H, 2 x δ CH₃, Leu); 0.86 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.11, 0.07 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMOC, CDCl₃): δ [ppm] = 174.3 (C=O, CONH₂, Anker); 174.1 (C=O, Amid, Leu); 156.5, 155.5 (2 x C=O, Carbamat, Fmoc, Alloc); 143.8, 143.7 (Fmoc-8a, -9a); 141.3 (Fmoc-4a, -4b); 132.7 (CH, Allyl); 127.8, 127.7 (Fmoc-2, -7); 127.1 (Fmoc-3, -6); 125.1 (Fmoc-1, -8); 120.0 (Fmoc-4, -5); 117.9 (=CH₂, Allyl); 83.6 (C-1); 78.7 (C-4); 77.1 (C-5); 72.3 (C-3); 66.8 (CH₂, Fmoc); 65.7 (O-CH₂, Allyl); 57.3 (C-2); 53.4 (Leu- α); 47.2 (CH, Fmoc); 41.6 (Leu- β); 40.6 (C-6); 37.1 (CH₂-CONH₂); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 25.7 (S-CH₂); 24.8 (Leu- γ); 23.0 (Leu- δ 1); 21.9 (Leu- δ 2); 18.2 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -4.1, -4.9 (2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 799.3 (17 %, [M + H]⁺, ber. 799.4); 818.4 (14 %, [M + Ca]²⁺, ber. 818.4); 821.4 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 821.4).

C₄₀H₅₈N₄O₉SSi (799.06)

Desilyliertes Produkt (125'): wird nicht isoliert.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 19.2$ min (8 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 29$ min.

ESI-MS (aus HPLC-MS, ThermoQuest), positiv [m/z] = 685.5 (17 %, [M + H]⁺, ber. 585.3); 707.4 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 707.4).

C₃₄H₄₄N₄O₉S (684.80)

3-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-threonyl)-amino-6-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl-mercapto]-propionsäureamid (126)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 44.5 mg (114 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 664.4 (47 %); 787.1 (8 %, [M + H]⁺, ber. 787.3); 809.1 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 809.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 4.7 min (9 %, Fmoc-Thr-OH); 8.7 min (79 %, 126).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 12.7 mg (32 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat; $[\alpha]_D^{20} = -28.5$ (c = 1.0, Chloroform).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 23.0 min (85 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 36 min.

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 7.69 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.56 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.33 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.33 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.70 (s, 1H, H^a, CONH₂, Anker); 6.28 (d, 1H, 6-NH, Amid); 5.78 (m, 2H, =CH, Allyl, H^b, CONH₂, Anker); 5.22 (dd, 1H, ³J_{trans} = 17.4 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl, 2-NH, Carbamat); 5.11 (d, 1H, ³J_{cis} = 10.3 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.51 (m, 3H, H-1, OCH₂, Allyl); 4.40 (m, 1H, αCH, Thr); 4.30 (m, 1H, H^a, CH₂, Fmoc); 4.18 (m, 3H, βCH, Thr, CH, Fmoc, H^b, CH₂, Fmoc); 3.59 (m, 2H, H-5, H-6); 3.64 (dd, 1H, H-6); 3.54 (t, 1H, C-5), 3.43 (m, 2H, H-2, H-6'); 3.17 (m, 2H, H-3, H-4); 3.00 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.75 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.46 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 1.11 (d, 3H, γCH₃, Leu); 0.78 (s, 9H, tert-Butyl, TBS); 0.04, -0.01 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMOC, CDCl₃): δ [ppm] = 174.6 (C=O, CONH₂, Anker); 171.4 (C=O, Amid, Lys); 159.3 (Mpm-4); 156.6 (C=O, Carbamat, Fmoc); 155.9 (C=O, Carbamat, Alloc); 143.8, 143.7 (Fmoc-8a, -9a); 141.2 (Fmoc-4a, -4b); 132.9 (CH, Allyl); 127.7 (Fmoc-2, -7); 127.1 (Fmoc-3, -6); 125.2, 125.1 (Fmoc-1, -8); 119.9 (Fmoc-4, -5); 117.9 (=CH₂, Allyl); 84.1 (C-1); 78.8 (C-4); 76.4 (C-5); 71.8 (C-3); 67.1 (Thr-β); 66.8 (CH₂, Fmoc); 65.5 (O-CH₂, Allyl); 59.4 (Thr-α); 57.0 (C-2); 47.1 (CH, Fmoc); 40.4 (C-6); 36.9 (CH₂-CONH₂); 25.8 (CH₃, tert-Butyl, TBS); 25.2 (S-CH₂); 18.8 (Thr-γ); 18.2 (C_q, tert-Butyl, TBS); -3.9, -4.9 (2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 787.4 (12 %, [M + H]⁺, ber. 787.3); 809.3 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 809.3).

C₃₈H₅₄N₄O₁₀SSi (787.01)

3-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-cystyl)-amino-6-desoxy-3-O-tert-butyltrimethylsilyl-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (127)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 56.9 mg (144 %).

Das gewünschte Produkt kann nicht nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Waters), positiv [m/z] = 664.4 (100 %); 817.0 (10 %); 837.1 (8 %).

$C_{37}H_{52}N_4O_9S_2Si$ (789.05)

3-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-methionyl)-amino-6-desoxy-3-O-tert-butyltrimethylsilyl-β-D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (128)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 44.0 mg (108 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 664.4 (100 %); 787.1 (8 %, [M + H]⁺, ber. 787.3); 839.1 (88 %, [M + Na]⁺, ber. 839.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 6.5 min (8 %); 7.4 min (12 %, Fmoc-Met-OH); 9.7 min (82 %, 128).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 12.0 mg (29 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat; $[\alpha]_D^{20} = -27.9$ (c = 1.0, Chloroform).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 30.8 min (85 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Pumpe defekt, daher kein Gradient sondern reines Acetonitril; R_t = 20 min.

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 7.61 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.50 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.45 (m, 1H, αNH, Leu); 7.23 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.16 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.93 (d, 1H, H^a, CONH₂, Anker); 6.62 (d, 1H, H^b, CONH₂, Anker); 6.53 (d, 1H, 6-NH, Amid); 5.75 (m, 2H, =CH, Allyl, 2-NH, Carbamat); 5.14 (dd, 1H, ³J_{trans} = 17.4 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.03 (d, 1H, ³J_{cis} = 10.3 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.34 (m, 3H, H-1, OCH₂, Allyl); 4.19 (m, 3H, αCH, Met, CH₂, Fmoc); 4.07 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.50 (m, 1H, H-6); 3.44 (m, 1H, H-5); 3.41 (m, 2H, H-2, H-6'); 3.10 (m, 1H, H-4); 3.03 (m, 1H, H-3); 2.91 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.64 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.43 (m, 1H, γ1CH, Met); 2.39 (m, 3H, CH₂-CONH₂, γ2CH, Met); 2.00 (m, 1H, β1CH, Met); 1.95 (s, 3H, εCH₃, Met); 1.77 (m, 1H, β2CH, Met); 0.71 (s, 9H, tert-Butyl, TBS); -0.03, -0.08 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMOC, CDCl₃): δ [ppm] = 174.2 (C=O, CONH₂, Anker); 172.9 (C=O, Amid, Met); 157.4, 156.4 (2 x C=O, Carbamat, Fmoc, Alloc); 143.8, 143.7 (Fmoc-8a, -9a); 141.1 (Fmoc-4a, -4b); 131.6 (CH, Allyl); 127.6 (Fmoc-2, -7); 127.1 (Fmoc-3, -6); 125.1 (Fmoc-1, -8); 119.8 (Fmoc-4, -5); 117.5 (=CH₂, Allyl); 84.3 (C-1); 78.9 (C-4); 76.2 (C-5); 71.6 (C-3); 66.5 (CH₂, Fmoc); 65.3 (O-CH₂, Allyl); 57.3 (C-2); 55.1 (Met- α); 47.1 (CH, Fmoc); 40.6 (C-6); 36.8 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CONH}_2$); 32.1 (Met- β); 30.1 (Met- γ); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 25.5 (S-CH₂); 18.1 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); 15.3 (Met- ϵ); -4.0, -5.0 (2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 817.3 (8 %, [M + H]⁺, ber. 818.1); 839.2 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 840.1); 856.1 (17 %, [M + K]⁺, ber. 857.0).

C₃₉H₅₆N₄O₁₀S₂Si (817.10)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosyl-mercapto]-propionsäureamid (129)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 34.6 mg (82 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 664.4 (17 %); 755.5 (22 %); 842.4 (100 %, [M + H]⁺, ber. 842.4); 864.4 (5 %, [M + Na]⁺, ber. 864.4).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX): 8.80 min (15 %); 10.30 min (10 %); 11.33 min (20 %, **129**).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 32.9 min (57 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 58 min.

Das Produkt kann nicht durch HPLC gereinigt werden. Nach der semi-präparativen HPLC können lediglich 0.9 mg eines Substanzgemischs isoliert werden.

ESI-MS (aus HPLC-MS, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 842.5 (100 %, [M + H]⁺, ber. 842.4).

C₄₀H₅₉N₇O₉SSi (842.09)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (130)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 13.5 mg (30 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 700.20 (30 %); 727.35 (26 %); 814.4 (100 %, [M + H]⁺, ber. 814.4); 840.3 (12 %, [M + Na]⁺, ber. 840.4).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 9.6$ min (69 % bei $\lambda = 254$ nm).

Aufgrund der geringen Substanzmenge wird keine Reinigung durch semi-präparativer HPLC durchgeführt.

ESI-MS (aus HPLC-MS, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 814.4$ (100 %, $[M + H]^+$, ber. 814.4); 840.3 (22 %, $[M + Na]^+$, ber. 840.4).

$C_{40}H_{59}N_5O_9SSi$ (814.08)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-aspartyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosyl-mercapto]-propionsäureamid (131)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 35.1 mg (88 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 664.4$ (100 %); 823.1 (5 %, $[M + Na]^+$, ber. 823.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule C, Gradient IX): 5.88 min (90 %, **131**).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 13.2 mg (33 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat; $[\alpha]_D^{20} = 3.9$ ($c = 1.0$, Chloroform).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 13.5$ min (88 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 18-22$ min.

400 MHz- 1H -NMR (1H - 1H -COSY, MeOD): δ [ppm] = 7.79 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.67 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.39 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.31 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 5.92 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.32 (dd, 1H, $^3J_{trans} = 17.4$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.17 (d, 1H, $^3J_{cis} = 10.3$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.48 (m, 4H, H-1, α CH, Asp, OCH₂, Allyl); 4.38 (m, 2H, CH₂, Fmoc); 4.23 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.77 (m, 1H, H-6); 3.48 (m, 1H, H-5); 3.42 (m, 2H, H-2); 3.31 (m, 2H, H-4, H-6^o); 3.23 (m, 1H, H-3); 3.17 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.80 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.67 (m, 1H, β CH₂, Met); 2.54 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 0.87 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.11, 0.08 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR (HMQC, MeOD): δ [ppm] = 175.7 (C=O, Säure, Asp); 174.3 (C=O, CONH₂, Anker); 173.3 (C=O, Amid, Met); 157.9 (2 x C=O, Carbamat, Fmoc, Aloc); 143.9, 143.8 (Fmoc-8a, -9a); 141.2 (Fmoc-4a, -4b); 133.0 (CH, Allyl); 127.4 (Fmoc-2, -7); 126.8 (Fmoc-3, -6); 124.9 (Fmoc-1, -8); 119.5 (Fmoc-4, -5); 116.1 (=CH₂, Allyl); 84.7 (C-1); 78.7 (C-4); 76.8 (C-5); 72.3 (C-3); 66.8 (CH₂, Fmoc); 65.0 (O-CH₂, Allyl); 57.1 (C-2); 52.5 (Asp- α); 46.8 (CH, Fmoc); 40.5 (C-6); 38.1 (Asp- β); 36.3

($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CONH}_2$); 25.5 (CH_3 , *tert*-Butyl, TBS); 25.1 (S-CH_2); 17.7 (C_q , *tert*-Butyl, TBS); -5.1, -6.1 (2 x CH_3 , TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 801.3$ (8 %, $[\text{M} + \text{H}]^+$, ber. 801.3); 823.2 (100 %, $[\text{M} + \text{Na}]^+$, ber. 823.3); 840.2 (17 %, $[\text{M} + \text{K}]^+$, ber. 840.2).

$\text{C}_{38}\text{H}_{52}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{SSi}$ (800.99)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-asparaginyloxy)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosyl-mercaptopropionsäureamid (132)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 46.2 mg (115 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 708.3$ (15 %); 822.4 (100 %, $[\text{M} + \text{Na}]^+$, ber. 822.3).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 5.4 mg (13 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 20.7$ min (80 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 32$ min.

$400\text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 7.77 (d, 2H, $^3J_{\text{H}3\text{-H}4} = ^3J_{\text{H}5\text{-H}6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.67 (d, 2H, $^3J_{\text{H}1\text{-H}2} = ^3J_{\text{H}7\text{-H}8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.41 (t, 2H, $^3J_{\text{H}2\text{-H}3} = ^3J_{\text{H}6\text{-H}7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.34 (m, 3H, $^3J_{\text{H}3\text{-H}4} = ^3J_{\text{H}5\text{-H}6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc, H^a , γCONH_2 , Asn); 6.91 (d, 1H, H^b , γCONH_2 , Asn); 6.55 (d, 2H, CONH_2 , Anker); 5.92 (m_c , 1H, =CH, Allyl); 5.29 (dd, 1H, $^3J_{\text{trans}} = 17.4$ Hz, H^{trans} , =CH₂, Allyl); 5.17 (d, 1H, $^3J_{\text{cis}} = 10.3$ Hz, H^{cis} , =CH₂, Allyl); 4.90 (d, 1H, 2-NH, Carbamat); 4.47 (m, 4H, H-1, αCH , Asn, OCH_2 , Allyl); 4.33 (m, 2H, CH_2 , Fmoc); 4.21 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.74 (m, 2H, H-2, H-5); 3.50 (m, 3H, H-4, H-6, H-6'); 3.25 (m, 1H, H-3); 3.00 (m, 1H, H^a , S-CH₂); 2.76 (m, 1H, H^b , S-CH₂); 2.60 (d, 2H, βCH_2 , Asn); 2.51 (t, 2H, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CONH}_2$); 0.84 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.09, 0.05 (2s, 6H, 2 x CH_3 , TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 822.4$ (100 %, $[\text{M} + \text{Na}]^+$, ber. 822.3).

$\text{C}_{38}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{SSi}$ (800.01)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminyl)-amino-6-desoxy- β -D-glucopyranosyl-mercapto]-propionsäureamid (133)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 44.0 mg (108 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv [*m/z*] = 528.3 (23 %); 814.5 (14 %, [M + H]⁺, ber. 814.3); 836.4 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 836.3).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 6.1 mg (15 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 20.2 min (88 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 33 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.91 (s, 1H, H^a, δ CONH₂, Gln); 7.71 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.54 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.41 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.26 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.47 (d, 1H, H^b, δ CONH₂, Gln); 6.30 (s, 1H, H^a, CONH₂, Anker); 6.12 (s, 1H, H^b, CONH₂, Anker); 5.82 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.26 (m, H^{trans}, =CH₂, Allyl, 2H, 2-NH, Carbamat); 5.14 (d, 1H, H^b; =CH₂, Allyl, ³J = 10.3 Hz); 4.47 (m, 3H, H-1, OCH₂, Allyl); 4.35 (m, 3H, α CH, Gln, CH₂, Fmoc); 4.15 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.93 (m, 1H, H-6); 3.58 (m, 2H, H-2, H-5); 3.39 (m, 1H, H-6'); 3.25 (m, 1H, H-4); 3.14 (m, 1H, H-3); 2.97 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.74 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.49 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 2.29 (m, 2H, γ CH₂, Gln); 2.08 (m, 1H, β 1CH, Gln); 1.93 (m, 1H, β 2CH, Gln); 0.82 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.07, 0.02 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, *ThermoQuest*), positiv [*m/z*] = 814.5 (3 %, [M + H]⁺, ber. 814.3); 836.4 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 836.3).

C₃₉H₅₅N₅O₁₀SSi (814.03)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-tyrosyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (134)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 41.4 mg (98 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv [*m/z*] = 664.4 (100 %); 871.1 (32 %, [M + Na]⁺, ber. 871.4).

HPLC-MS (*ThermoQuest*, Säule D, Gradient IX): 9.4 min (98 %, **134**).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 14.1 mg (33 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat; $[\alpha]_D^{20}$ = -72.2 (c = 1.0, Chloroform).

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 31.5$ min (84 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 41$ min.

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, MeOD): δ [ppm] = 7.83 (s, 1H, α NH, Tyr); 7.77 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.58 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.41 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.31 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 7.10 (m, 2H, δ 1CH, δ 2CH, Tyr); 6.94 (d, 2H, ϵ 1CH, ϵ 1CH, Tyr); 6.18 (m, 2H, CONH₂, Anker); 5.90 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.31 (dd, 1H, ³J_{trans} = 17.4 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.22 (d, 1H, ³J_{cis} = 10.3 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.58 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 4.38 (m, 3H, α CH, Asp, CH₂, Fmoc); 4.22 (t, 1H, CH, Fmoc); 4.15 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 9.4 Hz, H-1); 3.83 (m, 1H, H-6); 3.37 (m, 2H, H-2, H-5); 3.05 (m, 2H, H-4, β 1CH, Tyr); 2.94 (m, 3H, H-3, H-6', β 2CH, Tyr); 2.73 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.60 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.34 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 0.94 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.21, 0.10 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMOC, MeOD): δ [ppm] = 174.4 (C=O, CONH₂, Anker); 173.6 (C=O, Amid, Tyr); 157.9 (2 x C=O, Carbamat, Fmoc, Aloc); 153.7 (Arom. C4, Tyr); 143.7 (Fmoc-8a, -9a); 141.2 (Fmoc-4a, -4b); 133.7 (CH, Allyl); 132.3 (Arom. C2, C6, Tyr); 129.7 127.4 (Fmoc-2, -7); 127.8 (Arom. C1, Tyr); 127.1 (Fmoc-3, -6); 124.9 (Fmoc-1, -8); 120.0 (Fmoc-4, -5); 118.4 (=CH₂, Allyl); 117.2 (Arom. C3, C5, Tyr); 83.2 (C-1); 78.6 (C-4); 76.1 (C-5); 69.4 (C-3); 67.2 (CH₂, Fmoc); 66.4 (O-CH₂, Allyl); 57.6 (Tyr- α); 56.3 (C-2); 47.1 (CH, Fmoc); 40.5 (C-6); 38.9 (Tyr- β); 37.2 (CH₂-CONH₂); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 24.0 (S-CH₂); 18.3 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -5.1, -6.0 (2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 849.2 (13 %, [M + H]⁺, ber. 849.4); 871.2 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 871.4); 888.1 (17 %, [M + K]⁺, ber. 888.3).

C₄₃H₅₆N₄O₁₀SSi (849.08)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-prolyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid (135)

Neben dem gewünschten Produkt **135** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-prolyl)-amino-6-desoxy- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **135'** isoliert werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 19.5 mg (50 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 691.2 (78 %, **135'**, [M + Na]⁺, ber. 691.3); 783.4 (37 %, **135**, [M + H]⁺, ber. 783.3); 805.3 (100 %, **135**, [M + Na]⁺, ber. 805.3).

Gewünschtes Produkt (135): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 3.8 mg (10 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 25.0$ min (51 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 42$ min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.61 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.44 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.27 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.16 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.20 (s, 2H, CONH₂, Anker); 5.68 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.15 (d, 1H, $^3J_{trans} = 17.4$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.03 (d, 1H, H^b, =CH₂, Allyl, $^3J = 10.3$ Hz); 4.40 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 4.36 (d, 1H, 2-NH, Carbamat); 4.23 (m, 4H, H-1, α CH, Pro, CH₂, Fmoc); 4.10 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.41 (m, 7H, H-2, H-4, H-5, H-6, H-6', δ CH₂, Pro); 3.17 (t, 1H, H-3); 2.83 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.68 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.36 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 1.96 (m, 4H, β CH₂, γ CH₂, Pro); 0.69 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); -0.05, -0.10 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 805.3 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 805.3).

C₃₉H₅₄N₄O₉SSi (783.02)

Desilyliertes Produkt (135'): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.1 mg (6 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 12.3$ min (34 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 17$ min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.63 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.46 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.27 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.17 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.20 (s, 2H, CONH₂, Anker); 5.68 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.15 (d, 1H, $^3J_{trans} = 17.4$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.04 (d, 1H, $^3J_{cis} = 10.3$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.40 (d, 2H, OCH₂, Allyl); 4.36 (d, 1H, 2-NH, Carbamat); 4.23 (m, 2H, α CH, Pro CH₂, Fmoc); 4.19 (d, 1H, H-1); 4.12 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.39-3.04 (m, 8H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6', δ CH₂, Pro); 2.84 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.66 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.37 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 1.96 (m, 4H, β CH₂, γ CH₂, Pro).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 691.2 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 691.3).

C₃₃H₄₀N₄O₉S (668.76)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-tryptophyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosyl-mercapto]-propionsäureamid (136)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 33.0 mg (76 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv [*m/z*] = 872.4 (21 %, [*M* + *H*]⁺, ber. 872.4); 894.5 (90 %, [*M* + *Na*]⁺, ber. 894.5); 900.5 (100 %).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.3 mg (5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, *R*_t = 27.8 min (23 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; *R*_t = 46 min.

300 MHz-¹H-NMR (*CDCl*₃): δ [ppm] = 9.27 (s, 1H, ϵ 1NH, Trp); 7.25 (m, 3H, ³*J*_{H3-H4} = ³*J*_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc, ϵ 3CH); 7.59 (d, 2H, ³*J*_{H1-H2} = ³*J*_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.51 (d, 1H, ζ 2CH); 7.39 (t, 2H, ³*J*_{H2-H3} = ³*J*_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.30 (t, 2H, ³*J*_{H3-H4} = ³*J*_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 7.14 (m, 3H, δ 1CH, ζ 3CH, η 2CH);

6.52 (d, 1H, α NH, Trp); 5.95 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.34 (d, 1H, ³*J*_{trans} = 17.4 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.23 (d, 1H, ³*J*_{cis} = 10.3 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 5.18 (d, 1H, 2-NH, Carbamat); 4.67 (m, 3H, OCH₂, Allyl, α CH, Trp); 4.42 (m, 3H, H-1, CH₂, Fmoc); 4.13 (t, 1H, CH, Fmoc); 3.85 (m, 1H, H-6); 3.72 (m, 2H, H-2, H-5); 3.41-2.95 (m, 7H, H-3, H-4, H-6', S-CH₂, β CH₂, Trp); 2.32 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 0.93 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.20, 0.10 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, *ThermoQuest*), positiv [*m/z*] = 894.5 (100 %, [*M* + *Na*]⁺, ber. 894.4).

C₄₅H₅₇N₅O₉SSi (872.11)

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosyl-mercapto]-propionsäureamid (137)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.8 mg (86 %).

ESI-MS (Rohprodukt, *ThermoQuest*), positiv [*m/z*] = 718.5 (69 %); 823.6 (100 %, [*M* + *H*]⁺, ber. 823.3); 845.5 (31 %, [*M* + *Na*]⁺, ber. 845.3).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 4.5 mg (11 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 19.6$ min (53 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 38-42$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 823.6$ (89 %, $[M + H]^+$, ber. 823.3); 845.5 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 845.3).

$C_{40}H_{54}N_6O_9SSi$ (823.04)

5.4.6 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.5.6

Parallelsynthese A

In 2 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 ml-Spritzen werden je 120 mg des Polymers **56'** (*Rink*-Amid-Harz, Beladung 0.42 mmol/g) eingewogen. Zuerst wird die Aloc-Schutzgruppe der 2-Aminofunktion nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Spaltung der Allyloxycarbonyl-Gruppe durch 12-stündiges Schütteln mit einer Lösung von 10 mol% Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium und 0.25 mmol *p*-Toluolsulfonsäure in absol., entgastem Dioxan entfernt. Im zweiten Schritt setzt man die Proben nach dem Quellen der Proben in absol. *N,N*-Dimethylformamid entsprechend der allgemeinen Vorschrift für die Amidbildung in der 6-Position durch 12-stündiges Schütteln mit einer Lösung von 0.25 mmol Fmoc-Ala-OH in 2.5 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid unter Zusatz von 0.25 mmol HBTU, 0.25 mmol HOBt und 0.50 mmol Hünigs Base um. Das Polymer wird anschließend abfiltriert, dreimal mit jeweils 2 ml *N,N*-Dimethylformamid, dann mit jeweils 2 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet. Für eine Probe wird dieser Vorgang zweimal durchgeführt, für die zweite Probe wiederholt man ihn insgesamt dreimal. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

3-(6-Azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanyl-L-alanyl)-2-amino-2-desoxy- β -D-glucopyranosylmercapto)-propionsäureamid (138)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 32.7 mg (85 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 512.1$ (100 %, 2-NH-Aloc, $[M + Na]^+$); 678.1 (12 %, $[M - TBS + Na]^+$, ber. 678.2); 792.1 (13 %, $[M + Na]^+$, ber. 792.3).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 0.5 mg (1 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 22.6$ min (16 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 35$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv $[m/z] = 792.4$ (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 792.3); 1561.8 (2 %, $[2M + Na]^+$, ber. 1561.7).

$C_{36}H_{51}N_7O_8SSi$ (769.98)

3-(6-Azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanyl-L-alanyl-L-alanyl)-2-amino-2-desoxy- β -D-glucopyranosylmercapto)-propionsäureamid (139)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 28.0 mg (67 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 512.1$ (100 %, 2-NH-Aloc, $[M + Na]^+$); 749.2 (12 %, $[M - TBS + Na]^+$, ber. 749.3); 863.2 (13 %, $[M + Na]^+$, ber. 863.4).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.4 mg (3 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 20.9$ min (24 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 32$ min.

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv $[m/z] = 863.4$ (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 863.4); 1704.9 (2 %, $[2M + Na]^+$, ber. 1704.7).

$C_{39}H_{56}N_8O_9SSi$ (841.06)

Parallelsynthese B

In 2 mit Polyethylenfritten verschlossenen 5 ml-Spritzen werden je 120 mg des Polymers **56'** (*Rink*-Amid-Harz, Beladung 0.42 mmol/g) eingewogen. Zuerst wird die Azidofunktion nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur *Staudinger*-Reduktion mit Tri-*n*-butylphosphin in absol. Tetrahydrofuran und anschließender Hydrolyse mit Wasser und Triethylamin in *N,N*-Dimethylformamid in eine Aminofunktion überführt. Im zweiten Schritt setzt man die Proben nach dem Quellen der Proben in absol. *N,N*-Dimethylformamid entsprechend der allgemeinen Vorschrift für die Amidbildung in der 6-Position durch 12-stündiges Schütteln mit einer Lösung von 0.25 mmol Fmoc-Ala-OH in 2.5 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid unter Zusatz von 0.25 mmol HBTU, 0.25 mmol HOBt und 0.50 mmol Hünigs Base um. Das Polymer wird anschließend abfiltriert, dreimal mit jeweils 2 ml *N,N*-Dimethylformamid, dann mit jeweils 2 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet. Für eine Probe wird dieser Vorgang zweimal durchgeführt, für die zweite Probe wiederholt

man ihn insgesamt dreimal. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift mit 50%-iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

3-(2-(*N*-Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanyl-L-alanyl)-6-amino-6-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-glucopyranosylmercapto)-propionsäureamid (140)

Neben dem gewünschten Produkt **140** kann zusätzlich das desilylierte Derivat 3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanyl)-amino-6-desoxy- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäureamid **140'** nachgewiesen werden.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 20.5 mg (50 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 527.1 (100 %, 6-N₃, [M + Na]⁺); 736.1 (61 %, **140'**, [M + Na]⁺, ber. 736.3); 850.2 (89 %, **140**, [M + Na]⁺, ber. 850.3).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX, ELS-Detektor defekt, UV-Detektion bei 254 nm): 6.15 min (15 %, Fmoc-Ala-OH); 6.43 min (11 %, **140'**); 8.51 min (41 %, **140**).

Gewünschtes Produkt (140): Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.2 mg (5 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, R_t = 22.9 min (38 % bei λ = 254 nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; R_t = 35 min.

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.74 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.56 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.37 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.29 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 6.83 (d, 2H, 6-NH, Amid, α NH, Ala); 6.15 (s, 1H, H^a, CONH₂, Anker); 5.85 (d, 1H, H^b, CONH₂, Anker); 5.83 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.74 (d, 1H, α NH, Amid, Ala'); 5.38 (d, 1H, ³J_{NH-H2} = 7.6 Hz, 2-NH, Carbamat); 5.27 (d, 1H, ³J_{trans} = 17.4 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.18 (d, 1H, ³J_{cis} = 10.3 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.78 (d, 1H, H-1); 4.50 (m, 3H, OCH₂, Allyl, H^a, CH₂, Fmoc); 4.39 (m, 2H, α CH, Ala, H^b, CH₂, Fmoc); 4.18 (m, 2H, α CH, Ala', CH, Fmoc); 3.61 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'); 3.41 (m, 1H, H-2); 3.23 (m, 1H, H-4); 3.13 (t, 1H, H-3); 3.03 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.85 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.52 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 1.37 (m, 6H, 2 x β CH₃, Ala); 0.83 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.08, 0.03 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [m/z] = 847.2 (18 %, [M + Ca]²⁺, ber. 847.3); 850.2 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 850.3).

C₄₀H₅₇N₅O₁₀SSi (828.06)

Desilyliertes Produkt (140'): wird nicht isoliert.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 13.1$ min (26 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 17$ min.

ESI-MS (aus HPLC-MS, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 736.2$ (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 736.3).

$C_{34}H_{43}N_5O_{10}S$ (713.80)

3-(2-(*N*-Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-alanyl-L-alanyl-L-alanyl)-6-amino-6-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-glucopyranosylmercapto)-propionsäureamid (141)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 25.1 mg (56 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv $[m/z] = 569.2$ (36 %); 921.2 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 921.4).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient IX, ELS-Detektor defekt, UV-Detektion bei 254 nm): 3.03 min (37 %); 8.22 min (53 %, **141**).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 3.0 mg (7 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient II, $R_t = 21.8$ min (89 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient VI; $R_t = 35$ min.

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, MeOD): δ [ppm] = 7.80 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.69 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.39 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.31 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 5.90 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.31 (d, 1H, $^3J_{trans} = 17.4$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.16 (d, 1H, $^3J_{cis} = 10.3$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.50 (m, 4H, H-1, OCH₂, Allyl, H^a, CH₂, Fmoc); 4.39 (m, 4H, 2 x α CH, Ala, H^b, CH₂, Fmoc); 4.24 (t, 1H, CH, Fmoc); 4.12 (m, 1H, α CH, Ala); 3.69 (dd, 1H, H-6); 3.40 (m, 1H, H-2, H-5); 3.36 (m, 1H, H-4); 3.21 (t, 1H, H-3); 3.28 (dd, 1H, H-6'); 3.00 (m, 1H, H^a, S-CH₂); 2.82 (m, 1H, H^b, S-CH₂); 2.54 (t, 2H, CH₂-CONH₂); 1.36 (m, 9H, 3 x β CH₃, Ala); 0.86 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.11, 0.08 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (MeOD): δ [ppm] = 176.1, 175.1, 174.1, 173.32 (4 x C=O, Amid, 3 x Ala, Anker); 157.4, 155.8 (2 x C=O, Carbamat, Fmoc, Alloc); 143.9, 143.8 (Fmoc-8a, -9a); 141.2 (Fmoc-4a, -4b); 132.6 (CH, Allyl); 127.4 (Fmoc-2, -7); 126.8 (Fmoc-3, -6); 124.8 (Fmoc-1, -8); 119.5 (Fmoc-4, -5); 116.1 (=CH₂, Allyl); 82.9 (C-1); 78.6 (C-4); 76.8 (C-5); 71.7 (C-3); 66.7 (CH₂, Fmoc); 65.0 (O-CH₂, Allyl); 57.0 (C-2); 51.3, 49.5, 49.2 (3 x Ala- α); 47.1 (CH, Fmoc); 40.1 (C-6); 36.2 (CH₂-CONH₂); 25.6 (CH₃,

tert-Butyl, TBS); 25.1 (S-CH₂); 17.3 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); 16.6, 16.5, 16.3 (3 x Ala-β); -5.1, -6.1 (2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 899.1 (10 %, [M + H]⁺, ber. 899.4); 914.2 (41 %, [M + Ca]²⁺, ber. 918.3); 921.2 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 921.4); 937.2 (28 %, [M + K]⁺, ber. 937.3).

C₄₃H₆₂N₆O₁₁SSi (899.14)

5.4.7 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.5.7

Parallelsynthese

In 3 mit Polyethylenfritten verschlossenen 5 ml-Spritzen werden je 120 mg des Polymers **56'** (*Rink*-Amid-Harz, Beladung 0.42 mmol/g) eingewogen. Zuerst wird die Aloc-Schutzgruppe der 2-Aminofunktion nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Spaltung der Allyloxycarbonyl-Gruppe durch 12-stündiges Schütteln mit einer Lösung von 10 mol% Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium und 0.25 mmol *p*-Toluolsulfinsäure in absol., entgastem Dioxan entfernt. Im zweiten Schritt setzt man die Proben nach dem Quellen der Proben in absol. *N,N*-Dimethylformamid entsprechend der allgemeinen Vorschrift für die Amidbildung in der 6-Position durch 12-stündiges Schütteln mit einer Lösung von 0.25 mmol Fmoc-Leu-OH in 2.5 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid unter Zusatz von 0.25 mmol HBTU, 0.25 mmol HOBt und 0.50 mmol Hünigs Base um. Das Polymer wird anschließend abfiltriert, dreimal mit jeweils 2 ml *N,N*-Dimethylformamid, dann mit jeweils 2 ml Methanol, Dichlormethan und Diethylether gewaschen und i. Hochvak. getrocknet. Die Abspaltung vom Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur glycosylierenden Abspaltung vom Harz mit einer jeweils 7.5%-igen Lösungen von Methanol, Ethanol oder 1-Butanol als Akzeptoralkohol in absol. Dichlormethan.

Methyl-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-2-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- α / β -D-glucopyranosid (142)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 19.8 mg (51 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [*m/z*] = 559.2 (100 %, 2-NHAloc, [M + Na]⁺); 810.2 (45 %, **142**, [M + Na]⁺, ber. 810.4).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 5.9 mg (15 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient I, $R_t = 23.2$ min (79 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient IV; $R_t = 41$ min.

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 7.77 (d, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz), H4-, H5-Fmoc; 7.57 (d, 2H, ³J_{H1-H2} = ³J_{H7-H8} = 7.7 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.41 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.32 (t, 2H, ³J_{H3-H4} = ³J_{H5-H6} = 7.7 Hz, H3-, H6-Fmoc); 7.21 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz, H3-, H5-Mpm); 6.88 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz, H2-, H6-Mpm); 6.30 (d, 1H, ³J_{NH-H2} = 8.8 Hz, 2-NH); 5.15 (s, 1H, α NH, Leu); 4.69 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, H^a, CH₂, Mpm); 4.47 (m, 3H, H-1, H^b CH₂, Mpm, H^a, CH₂, Fmoc); 4.38 (m, 1H, H^b, CH₂, Fmoc); 4.19 (t, 1H, CH, Fmoc); 4.13 (dt, 1H, α CH, Leu); 3.89 (t, 1H, H-3), 3.81 (s, 3H, OCH₃, Mpm); 3.64 (m, 1H, H-5); 3.56 (dt, 1H, H-2); 3.40 (dd, 1H, H-6); 3.35 (s, 3H, OCH₃, glycosidisch); 3.30 (m, 2H, H-4, H-6'); 1.59 (m, 3H, β CH₂, γ CH, Leu); 0.94 (t, 6H, 2 x δ CH₃, Leu); 0.88 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.05, 0.04 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMOC, CDCl₃): δ [ppm] = 172.1 (C=O, Amid, Leu); 159.4 (C=O, Carbamat, Fmoc); 143.7 (Fmoc-8a, -9a); 141.3 (Fmoc-4a, -4b); 129.6 (Mpm-1); 129.3 (Mpm-3, -5); 127.8 (Fmoc-2, -7); 127.1 (Fmoc-3, -6); 125.0, 124.9 (Fmoc-1, -8); 120.0 (Fmoc-4, -5); 113.9 (Mpm-2, -6); 101.2 (C-1); 78.7 (C-4); 74.4 (C-5); 74.0 (CH₂, Mpm); 73.1 (C-3); 67.1 (CH₂, Fmoc); 56.6 (O-CH₃, glycosidisch); 56.2 (C-2); 55.3 (O-CH₃, Mpm); 53.4 (Leu- α); 51.8 (C-6); 47.1 (CH, Fmoc); 40.9 (Leu- β); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 24.5 (Leu- γ); 23.1 (Leu- δ); 21.9 (Leu- δ'); 17.9 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -4.1, -4.2 (2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 788.5 (16 %, [M + H]⁺, ber. 788.4); 810.4 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 810.4); 826.4 (13 %, [M + K]⁺, ber. 826.4); 1598.9 (50 %, [2M + Na + 2]⁺, ber. 1598.9).

C₄₁H₅₃N₅O₈Si (788.02)

Ethyl-6-azido-6-desoxy-3-O-*tert*-butyldimethylsilyl-2-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-2-desoxy-4-O-*p*-methoxybenzyl- α/β -D-glucopyranosid (143)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 25.2 mg (75 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 573.2 (100 %); 824.2 (5 %, [M + Na]⁺, ber. 824.4).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient X): 5.28 min (11 %); 9.50 min (81 %, 143).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 5.5 mg (14 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient I, $R_t = 24.6$ min (91 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient IV; $R_t = 38$ min.

300 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 7.74 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.55 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.38 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.31 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H3-, H6-Fmoc); 7.18 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.6$ Hz, H3-, H5-Mpm); 6.85 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.6$ Hz, H2-, H6-Mpm); 6.24 (d, 1H, $^3J_{NH-H2} = 8.8$ Hz, 2-NH); 5.10 (s, 1H, α NH, Leu); 4.65 (d, 1H, H^a, CH₂, Mpm); 4.45 (m, 3H, H-1, H^b CH₂, Mpm, H^a, CH₂, Fmoc); 4.30 (m, 1H, H^b, CH₂, Fmoc); 4.15 (m, 2H, α CH, Leu, CH, Fmoc); 3.93 (t, 1H, H-3); 3.77 (s, 3H, OCH₃, Mpm); 3.59 (m, 2H, H-2, H-5); 3.40 (m, 3H, H-6, OCH₂, OEt); 3.28 (m, 2H, H-4, H-6'); 1.59 (m, 3H, β CH₂, γ CH, Leu); 1.09 (t, 3H, CH₃, OEt); 0.91 (t, 6H, 2 x δ CH₃, Leu); 0.85 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.00, -0.01 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [m/z] = 824.4 (100 %, $[M + Na]^+$, ber. 824.4); 826.4 (13 %, $[M + K]^+$, ber. 826.4); 1626.8 (5 %, $[2M + Na + 1]^+$, ber. 1626.8).

$C_{42}H_{55}N_5O_8Si$ (802.4)

Butyl-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-2-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- α/β -D-glucopyranosid (144)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.3 mg (63 %).

ESI-MS (Rohprodukt, ThermoQuest), positiv [m/z] = 573.2 (28 %); 601.2 (100 %); 852.3 (6 %, $[M + Na]^+$, ber. 852.4).

HPLC-MS (ThermoQuest, Säule D, Gradient X): 5.28 min (13 %); 10.88 min (82 %, **144**).

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 5.8 mg (14 %, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz), farbloses Lyophilisat.

HPLC: analytische HPLC: Gradient I, $R_t = 28.8$ min (91 % bei $\lambda = 254$ nm); semi-präparative HPLC: Gradient IV; $R_t = 47$ min.

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, $CDCl_3$): δ [ppm] = 7.77 (d, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.57 (d, 2H, $^3J_{H1-H2} = ^3J_{H7-H8} = 7.7$ Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.41 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.29 (t, 2H, $^3J_{H3-H4} = ^3J_{H5-H6} = 7.7$ Hz), H3, H6-Fmoc; 7.21 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.6$ Hz, H3-,

H5-Mpm); 6.88 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.6$ Hz, H2-, H6-Mpm); 6.27 (d, 1H, $^3J_{NH-H2} = 8.8$ Hz, 2-NH); 5.11 (s, 1H, α NH, Leu); 4.71 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 10.2$ Hz, H-1); 4.69 (d, 1H, $^2J = 11.3$ Hz, H^a, CH₂, Mpm); 4.48 (m, 2H, H^b CH₂, Mpm, H^a, CH₂, Fmoc); 4.34 (m, 1H, H^b, CH₂, Fmoc); 4.17 (m, 2H, CH, Fmoc, α CH, Leu); 3.99 (t, 1H, H-3), 3.80 (s, 3H, OCH₃, Mpm); 3.78 (m, 1H, H^a, O-CH₂, O-*n*Bu); 3.62 (m, 1H, H-5); 3.54 (m, 1H, H-2); 3.44 (dd, 1H, H-6); 3.33 (m, 3H, H-4, H-6', H^b, O-CH₂, O-*n*Bu); 1.62 (m, 2H, O-CH₂-CH₂, O-*n*Bu); 1.59 (m, 3H, β CH₂, γ CH, Leu); 1.29 (m, 2H, CH₂-CH₃, O-*n*Bu); 0.94 (t, 6H, 2 x δ CH₃, Leu); 0.87 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.86 (t, CH₃, O-*n*Bu); 0.03, 0.01 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMOC, CDCl₃): δ [ppm] = 172.0 (C=O, Amid, Leu); 159.4 (C=O, Caramat, Fmoc); 143.8, 143.7 (Fmoc-8a, -9a); 141.3 (Fmoc-4a, -4b); 129.6 (Mpm-1); 129.3 (Mpm-3, -5); 127.8 (Fmoc-2, -7); 127.1 (Fmoc-3, -6); 125.0 (Fmoc-1, -8); 120.0 (Fmoc-4, -5); 113.9 (Mpm-2, -6); 99.6 (C-1); 78.5 (C-4); 74.1 (C-5); 74.0 (CH₂, Mpm); 72.4 (C-3); 69.2 (O-CH₂, O-*n*Bu); 67.0 (CH₂, Fmoc); 56.7 (C-2); 55.3 (O-CH₃, Mpm); 53.4 (Leu- α); 51.8 (C-6); 47.2 (CH, Fmoc); 41.8 (Leu- β); 31.7 (O-CH₂-CH₂, O-*n*Bu); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 24.5 (Leu- γ); 23.2 (Leu- δ); 21.8 (Leu- δ'); 19.2 (CH₂-CH₃, O-*n*Bu); 17.9 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); 13.9 (CH₃, O-*n*Bu); -4.3, -4.4 (2 x CH₃, TBS).

ESI-MS (nach semi-präp. HPLC, Waters), positiv [*m/z*] = 852.4 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 852.4); 1682.9 (16 %, [2M + Na + 1]⁺, ber. 1682.9).

C₄₅H₆₃N₅O₈Si (830.10)

5.5 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.6

Phenyl-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy- β -D-1-thioglucopyranosid (146)

In einem Schlenkkolben wird unter Argonatmosphäre eine Lösung von 50.0 g (104 mmol) des peracetylierten Zuckerbausteins **34** und 17.0 ml (18.3 g, 166 mmol) Thiophenol in 200 ml absol. Dichlormethan gelöst und mit ca. 10 g ausgeheiztem, pulverförmigem Molekularsieb 4Å 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Lösung auf 0 °C gekühlt und langsam mit 65 ml (0.52 mmol) einer 48%-igen Lösung des Bortrifluorid-Diethylether-Komplexes in Diethylether versetzt, wobei sich die Lösung langsam rot färbt. Nach vollständiger Zugabe der Lösung wird das Eisbad entfernt und die Lösung 15 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch durch Filtration über Celite[®] vom

Molekularsieb getrennt. Die filtrierte Lösung wird dann unter starkem Rühren portionsweise in 250 ml einer eisgekühlten, ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung eingetragen. Nach vollständiger Zugabe der Reaktionlösung wird noch so lange festes Natriumhydrogencarbonat zugegeben, bis keine Kohlenstoffdioxid-Entwicklung mehr zu beobachten ist. Im Anschluss daran werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase wird zweimal mit je 75 ml Dichlormethan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden mit je 150 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vollständig vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Säulenchromatographie an ca. 900 g Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch aus Dichlormethan und Ethylacetat (7/1).

Ausbeute: 31.3 g (62 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -1.6$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.46$ (DCM/EE = 7/1).

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 7.49 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz, H2-, H6-SPh); 7.28 (m, H3-, H4, H5-SPh); 5.88 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.30-5.18 (m, 3H, H-4, =CH₂, Allyl); 5.00 (t, 1H, ³J₂₋₃ = ³J₃₋₄ = 9.7 Hz, H-3); 4.92 (d, 1H, ³J_{NH-H2} = 7.8 Hz, 2-NH); 4.85 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 9.8 Hz, H-1); 4.56 (d, 2H, ³J_{CH₂-CH₂} = 4.3 Hz, OCH₂, Allyl), 4.20 (d, 1H, ³J₅₋₆ = 5.4 Hz, ²J = 12,2 Hz, H-6); 4.13 (dd, 1H, ³J_{5-6'} = 2.4 Hz, ²J = 12,2 Hz, H-6'); 3.71-3.61 (m, 2H, H-2, H-5); 2.05, 1.99, 1.98 (3s, 9H, 3 x CH₃, OAc).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DEPT, CDCl₃): δ [ppm] = 170.6, 169.4 (C=O, OAc); 155.3 (C=O, Carbamat); 132.8 (SPh-2, -6); 132.5 (CH, Allyl); 132.2 (SPh-4); 128,9 128.2 (SPh-3, -5); 117.7 (=CH₂, Allyl); 86.7 (C-1); 75.7 (C-2); 73.4 (C-4); 68.5 (C-3); 65.9 (O-CH₂, Allyl); 62.4 (C-6); 55.0 (C-5); 20.7, 20.6, 20.6 (3 x CH₃, OAc).

FD-MS, positiv [m/z] = 481.9 (48 %, [M + H]⁺, ber. 482.5); 483.0 (9 %, [M + H]⁺, ber. 482.5); 964.0 (21 %, [2M + H]⁺, ber. 964.0).

C ₂₂ H ₂₇ NO ₉ S (481.52)	ber.:	C: 53.88	H: 5.65	N: 2.91	S: 6.66
	gef.:	C: 53.54	H: 5.55	N: 2.86	S: 6.56

Phenyl-(2-N-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-4,6-O-p-methoxybenzyliden- β -D-1-thioglucopyranosid (148)

Eine Lösung von 31.3 g (64.9 mmol) des Thioglycosids **146** in ca. 300 ml absol. Methanol werden mit einer 1 M Natriummethanolat-Lösung in Methanol auf einen pH-Wert von 9.0 eingestellt. Nach 30 Minuten wird mit dem Ionenaustauscher-Harz Amberlite[®] IR-120 (H-Form) neutralisiert. Nach dem Abfiltrieren des Ionenaustauschers wird das Lösungsmittel vollständig i. Vak. entfernt.

Der Rückstand wird in ca. 250 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid aufgenommen, mit 15.3 ml (16.6 g, 90.9 mmol) Anisaldehyddimethylacetal und einer katalytischen Menge *p*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat versetzt. Die Lösung wird dann bei 50 °C und 20 – 25 mbar zur Reaktion gebracht. Nach einer Stunde ist der Umsatz vollständig und die Lösung wird mit Triethylamin neutralisiert. Das Lösungsmittel wird zunächst i. Hochvak. entfernt. Letzte Spuren von *N,N*-Dimethylformamid werden danach durch dreimalige Kodestillation mit jeweils 50 ml Toluol entfernt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Säulenchromatographie an ca. 750 g Kieselgel mit Dichlormethan / Ethylacetat (7/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 15.7 g (51 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -21.4$ ($c = 1.0$, Chloroform); $R_f = 0.31$ (DCM/EE = 7/1).

400 MHz-¹H-NMR (*¹H-¹H-COSY*, $CDCl_3$): δ [ppm] = 7.19 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.7$ Hz, H2-, H6-SPh); 7.12 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.6$ Hz, H3-, H5-Mpm); 7.05–6.99 (m, 3H, H3-, H4-, H5-SPh); 6.58 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.6$ Hz, H2-, H6-Mpm); 5.67 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.21 (s, 1H, CH, Acetal); 5.07 (d, 1H, $^3J_{trans} = 16.4$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 4.93 (d, 1H, $^3J_{cis} = 10.2$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.79 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 10.6$ Hz, H-1); 4.54 (d, 1H, $^3J_{NH-H2} = 4.3$ Hz, 2-NH); 4.33 (dt, 2H, OCH₂, Allyl); 4.00 (dd, 1H, $^3J_{5-6} = 4.7$ Hz, $^2J = 10.2$ Hz, H-6); 3.60 (m, 1H, H-3); 3.52 (s, 3H, OCH₃, Mpm); 3.47 (dd, H-6'); 3.22 (m, 3H, H-2, H-3, H-5).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMQC, $CDCl_3$): δ [ppm] = 159.9 (Mpm-4); 156.2 (C=O, Carbamat); 133.4 (SPh-1); 132.9 (CH, Allyl); 131.2 (SPh-2, -6); 129.7 (Mpm-1); 128.7 (SPh-3, -5); 127.6 (Mpm-3, -5); 127.2 (SPh-4); 117.1 (=CH₂, Allyl); 113.2 (Mpm-2, -6); 101.4 (CH, Acetal); 87.2 (C-1); 81.1 (C-4); 72.0 (C-5); 70.1 (C-2); 68.3 (C-6); 65.2 (O-CH₂, Allyl); 57.0 (C-3); 55.1 (OCH₃, Mpm).

C ₂₄ H ₂₇ NO ₇ S (473.54)	ber.:	C: 60.87	H: 5.75	N: 2.96	S: 6.77
	gef.:	C: 60.77	H: 5.91	N: 3.04	S: 6.77

Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4,6-*O*-*p*-methoxybenzyliden- β -D-1-thioglucopyranosid (149)

Eine Lösung von 9.20 g (19.4 mmol) des Acetals **148** in ca. 150 ml *N,N*-Dimethylformamid wird mit 15.7 ml (15.3 g, 194 mmol) Pyridin versetzt und auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur werden langsam 6.25 ml (7.19 g, 27.2 mmol) Trifluormethansulfonsäure-*tert*-butyldimethylsilylester zugetropft. Dann wird das Eisbad entfernt und das Reaktionsgemisch wird 40 Minuten bei Raumtemp. gerührt. Zum Aufarbeiten wird die Reaktionslösung auf ca. 300 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gegossen. Nach der Zugabe von 300 ml

Dichlormethan werden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird zweimal mit je 100 ml Dichlormethan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden mit je 250 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, 1 M Salzsäure, ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Das restliche *N,N*-Dimethylformamid wird durch dreimaliges Codestillieren mit jeweils 50 ml Toluol entfernt.

Die Reinigung erfolgt durch Flash-Säulenchromatographie an 300 g Kieselgel mit Dichlormethan/Ethylacetat (12/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 10.2 g (89 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -163.7$ ($c = 1.0$, Chloroform); $R_f = 0.55$ (DCM/EE = 20/1).

400 MHz-¹H-NMR (*¹H-¹H-COSY*, *CDCl₃*): δ [ppm] = 7.46 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.7$ Hz, H2-, H6-SPh); 7.36 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.8$ Hz, H3-, H5-Mpm); 7.28-7.23 (m, 3H, H3-, H4-, H5-SPh); 6.85 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.8$ Hz, H2-, H6-Mpm); 5.89 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.42 (s, 1H, CH, Acetal); 5.30 (d, 1H, $^3J_{trans} = 17.3$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.20 (d, 1H, $^3J_{cis} = 10.3$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 5.07 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 10.3$ Hz, H-1); 4.94 (d, 1H, $^3J_{NH-H2} = 7.7$ Hz, 2-NH); 4.55 (dt, 2H, OCH₂, Allyl); 4.29 (dd, 1H, $^3J_{5-6} = 4.3$ Hz, $^2J = 10.3$ Hz, H-6); 4.07 (m, 1H, H-3); 3.77 (s, 3H, OCH₃, Mpm); 3.72 (dd, H-6'); 3.47-3.31 (m, 3H, H-2, H-4, H-5); 0.91 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.08, 0.07 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (*HMOC*, *CDCl₃*): δ [ppm] = 160.0 (Mpm-4); 155.5 (C=O, Carbat); 133.1 (CH, Allyl); 132.3 (SPh-2, -6); 129.7 (Mpm-1); 128.9 (SPh-3, -5); 127.9 (Mpm-3, -5); 127.6 (SPh-4); 118.0 (=CH₂, Allyl); 113.5 (Mpm-2, -6); 101.7 (CH, Acetal); 86.9 (C-1); 81.9 (C-4); 23.1 (C-3); 70.3 (C-5); 68.6 (C-6); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 58.2 (C-2); 55.2 (OCH₃, Mpm); 25.9 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 18.2 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -4.0, -5.0 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

FT-IR (KBr) $\tilde{\nu}$ [*cm⁻¹*] = 3346, 3018, 2955, 2931, 2857 [s, ν (C-H)]; 1714 [s, ν (C=O)]; 1615, 1514 [m, ν (C=C, Aromat)]; 1383 [m, ν (O-C-O, Acetal)].

C ₃₀ H ₄₁ NO ₇ SSi (587.80)	ber.:	C: 61.09	H: 7.35	N: 2.37	S: 5.44
	gef.:	C: 61.14	H: 7.44	N: 2.38	S: 5.45

Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-1-thioglucopyranosid (150)

6.67 g (11.2 mmol) des vollständig blockierten Glucosebausteins **149** werden in ca. 250 ml absol. Acetonitril gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit 25.8 g (279 mmol) Natriumcyanoborhydrid versetzt. Man lässt 30 Minuten bei 0 °C rühren, versetzt dann tropfenweise mit 12.9 ml (11.0 g, 27.9 mmol) Chlortrimethylsilan und lässt

anschließend auf Raumtemp. auftauen. Nach 17-stündigem Rühren werden erneut 12.9 ml (11.0 g, 27.9 mmol) Chlortrimethylsilan zugetropft und es wird weitere drei Stunden gerührt. Dann wird die Reaktionslösung in 400 ml eine eisgekühlten, stark gerührten Lösung aus gleichen Teilen ges. Kaliumcarbonat- und ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung eingetragen. Man gibt 200 ml Dichlormethan zu und trennt die Phasen. Die wässrige Phase wird noch dreimal mit jeweils 50 ml Dichlormethan gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden zunächst eine Stunde mit 250 ml einer 1 M wässrigen Zitronensäure-Lösung gerührt. Nachdem die Phasen getrennt wurden, wäscht man die organische Phase mit je 150 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und ges. Natriumchlorid-Lösung, trocknet mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel vollständig im Vakuum.

Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an ca. 400 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (2/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 5.69 g (87 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = 5.6$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.10$ (CH/EE = 3/1).

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 7.46 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz, H2-, H6-SPh); 7.27 (m, 3H, H3-, H4-, H5-SPh); 7.22 (d, 2H, H3-, H5-Mpm, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz); 6.86 (d, 2H, H2-, H6-Mpm, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz); 5.83 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.34 (d, 1H, ³J_{trans} = 17.2 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.22 (d, 1H, ³J_{cis} = 10.6 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.95 (m, 2H, H-1, 2-NH); 4.72 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂, H^a, Mpm); 4.59 (dt, 2H, OCH₂, Allyl); 4.53 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂, H^b, Mpm); 3.82 (m, 1H, H-3); 3.80 (s, 3H, OCH₃, Mpm); 3.78 (dd, 1H, H-6); 3.62 (dd, H-6'); 3.50 (m, 1H, H-2); 3.40 (m, 2H, H-4, H-5); 0.91 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.08, 0.07 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMOC, CDCl₃): δ [ppm] = 159.2 (Mpm-4); 155.5 (C=O, Carbamat); 133.6 (CH, Allyl); 131.6 (SPh-2, -6); 130.0 (Mpm-1); 129.2 (Mpm-3, -5); 129.0 (SPh-3, -5); 127.6 (SPh-4); 117.9 (=CH₂, Allyl); 113.8 (Mpm-2, -6); 86.4 (C-1); 79.4 (C-4); 78.6 (C-5); 75.8 (C-3); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 62.2 (C-6); 57.7 (C-2); 55.3 (OCH₃, Mpm); 25.9 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 18.0 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -3.9, -4.4 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

C ₃₀ H ₄₃ NO ₇ SSi (589.82)	ber.:	C: 61.09	H: 7.35	N: 2.37	S: 5.44
	gef.:	C: 61.12	H: 7.44	N: 2.48	S: 5.28

Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-1-thioglucopyranosid (145)

Eine Lösung von 2.64 g (4.48 mmol) des Glucose-Bausteins **150** in ca. 150 ml absol. Toluol werden mit 4.70 g (8.95 mmol) Triphenylphosphin versetzt und auf 0 °C gekühlt. Dann werden langsam 3.52 ml (8.95 mmol) Diisopropylazodicarboxylat zugetropft und man lässt 15 Minuten bei 0 °C rühren. Anschließend werden 1.32 g (8.95 mmol) Nicotinoylazid **54** zugegeben. Das Eisbad wird nach 10 Minuten entfernt. Nach 2-stündigem Rühren bei Raumtemp. werden 10 ml Methanol zur Vernichtung des überschüssigen Diisopropylazodicarboxylat zugegeben und weitere 10 Minuten gerührt. Danach wird das Lösungsmittel vollständig i. Vak. entfernt. Im Anschluss wird der Rückstand in ca. 20 ml Diethylether aufgenommen und 15 Minuten gerührt. Dann wird das ausgefällte Triphenylphosphinoxid abfiltriert und die Lösung i. Vak. bis zur Trockene eingengt.

Die Reinigung erfolgt durch zweimalige Flash-Säulenchromatographie an ca. 250 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (4/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 1.97 g (72 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -15.4$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.15$ (CH/EE = 2/1).

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 7.53 (m, 2H, H2-, H6-SPh); 7.29-7.20 (m, 3H, H3-, H4-, H5-SPh); 7.21 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz, H3-, H5-Mpm); 6.87 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz, H2-, H6-Mpm); 5.92 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.34 (dt, 1H, ³J_{trans} = 17.3 Hz, ²J = 1.4 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.22 d(d, 1H, ³J_{cis} = 10.3 Hz, ²J = 1.4 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 5.06 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 11.1 Hz, H-1); 4.94 (d, 1H, ³J_{NH-H2} = 9.8 Hz, 2-NH); 4.76 (d, 1 H, ²J = 11.2 Hz, CH₂, H^a, Mpm); 4.59 (d, 2H, ³J_{CH2-CH2} = 6.7 Hz, O-CH₂, Allyl); 4.46 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂, H^b, Mpm); 3.88 (t, 1H, H-3); 3.80 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.45 (m, 3H, H-2, H-4, H-6); 3.35 (t, 1H, H-5); 3.20 (dd, 1H, ³J_{5-6'} = 4.7 Hz, ²J = 10.2 Hz, H-6'); 0.92 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.08 (s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMQC, CDCl₃): δ [ppm] = 159.3 (Mpm-4); 155.4 (C=O, Carbamat); 132.8 (CH, Allyl); 132.4 (SPh-2, -6); 129.4 (Mpm-1); 129.2 (SPh-1); 128.9 (SPh-3, -5); 128.8 (Mpm-3, -5); 127.9 (SPh-4); 117.9 (=CH₂, Allyl); 113.9 (Mpm-2, -6); 86.3 (C-1); 79.2 (C-4); 78.1 (C-5); 75.7 (C-3); 74.6 (CH₂, Mpm); 65.7 (O-CH₂, Allyl); 57.6 (C-2); 55.3 (OCH₃, Mpm); 51.5 (C-6); 25.9 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 18.0 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -4.0, -4.4 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

C ₃₀ H ₄₃ NO ₇ SSi (589.82)	ber.:	C: 58.61	H: 6.89	N: 9.11	S: 5.22
	gef.:	C: 58.60	H: 7.02	N: 8.92	S: 5.13

5.6 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.7

5.6.1 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.7.1

Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-1-thioglucopyranosid (152)

Eine Lösung von 412 mg (670 μ mol) des Silylethers **145** in ca. 25 ml absol. Acetonitril wird unter Rühren mit 0.52 ml (804 μ mol) einer 50%-igen Lösung von Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid in Acetonitril versetzt und vier Stunden bei Raumtemp. gerührt. Dann werden nochmals 0.52 ml (804 μ mol) der 50%-igen Lösung von Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid in Acetonitril zugegeben und weitere zwei Stunden bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel vollständig i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in ca. 30 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 15 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an ca. 80 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (2/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 215 mg (64 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -4.8$ ($c = 1.0$, Chloroform); $R_f = 0.10$ (CH/EE = 2/1).

300 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): δ [ppm] = 7.49 (m, 2H, H2-, H6-SPh); 7.28 (m, 3H, H3-, H4-, H5-SPh); 7.21 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.5$ Hz, H3-, H5-Mpm); 6.84 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.5$ Hz, H2-, H6-Mpm); 5.92 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.32 (dd, 1H, $^3J_{trans} = 17.3$ Hz, $^2J = 1.4$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.22 (d, 1H, $^3J_{cis} = 10.3$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 5.14 (s, 1H, 2-NH); 4.78 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH₂, H^a, Mpm); 4.68 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 8.8$ Hz, H-1); 4.57 (m, 3H, OCH₂, Allyl, CH₂, H^b, Mpm); 3.79 (m, 1H, H-3); 3.77 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.49 (dd, 1H, $^3J_{5-6} = 4.7$ Hz, $^2J = 10.2$ Hz, H-6); 3.44-3.25 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6').

75.5 MHz-¹³C-NMR (DEPT, $CDCl_3$): δ [ppm] = 159.5 (Mpm-4); 156.7 (C=O, Carbamat); 133.3 (CH, Allyl); 133.2 (SPh-1); 132.3 (SPh-2, -6); 130.0 (Mpm-1); 129.9 (SPh-3, -5); 129.0 (Mpm-3, -5); 128.4 (SPh-4); 118.2 (=CH₂, Allyl); 113.9 (Mpm-2, -6); 85.8 (C-1); 78.1 (C-4); 78.0 (C-3); 77.1 (C-5); 74.5 (CH₂, Mpm); 66.3 (O-CH₂, Allyl); 56.9 (C-2); 55.3 (OCH₃, Mpm); 51.5 (C-6).

ESI-MS (Waters), positiv [m/z] = 271.0 (60 %, $[M + Ca]^{2+}$, ber. 270.5); 501.0 (7 %, $[M + H]^+$, ber. 501.6); 523.1 (47 %, $[M + Na]^+$, ber. 523.6); 539.1 (13 %, $[M + K]^+$, ber. 539.4).

C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₆ S (500.57)	ber.:	C: 57.59	H: 5.64	N: 11.19	S: 6.41
	gef.:	C: 57.65	H: 5.58	N: 11.30	S: 6.35

Phenyl-(2-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-O-p-methoxybenzyl-β-D-1-thioglucopyranosid (153)

Eine Lösung von 50 mg (81.3 μmol) des Kohlenhydrats **145** in 10 ml dest. Tetrahydrofuran wird mit 89.5 μl (89.5 μmol) einer 1-molaren Lösung von Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran (mit 5 % Wasser) versetzt und 30 Minuten bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

Die Reinigung erfolgt mit Hilfe einer Säulenchromatographie an ca. 15 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (1/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 19.6 mg (58 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -6.3$ (c = 1.0, Chloroform); R_f = 0.22 (EE).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.53 (m, 2H, H2-, H6-SPh); 7.29 (m, 3H, H3-, H4-, H5-SPh); 7.22 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H3-, H5-Mpm); 6.86 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.5 Hz, H2-, H6-Mpm); 4.72 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂, H^a, Mpm); 4.57 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂, H^b, Mpm); 3.79 (m, 1H, H-3); 3.77 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.20 (dd 1H, ³J₅₋₆ = 1.6 Hz, ²J = 12.7 Hz, H-6); 3.45-3.28 (m, 4H, H-2, H-4, H-5, H-6'); 2.58 (t, 1H, H-3); 2.25 (s, 2H, 2-NH₂).

C₂₀H₂₄N₄O₄S (419.49)

Phenyl-(2-N-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-β-D-1-thioglucopyranosid (154)

Eine Lösung von 300 mg (488 μmol) des Mpm-geschützten Kohlenhydrat-Scaffolds **145** in ca. 20 ml Dichlormethan wird bei 5 °C zunächst mit 5 Vol-% Wasser und anschließend mit 133 mg (586 μmol) 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon versetzt und vier Stunden gerührt, wobei die Kühlung nach zwei Stunden entfernt wird. Dann wird die Lösung mit 20 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Man trennt die Phasen und wäscht die wässrige Phase noch zweimal mit jeweils 10 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden mit jeweils 20 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vollständig vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an ca. 50 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (3/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 167 mg (69 %); leicht gelber, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -14.3$ ($c = 1.0$, Chloroform); $R_f = 0.17$ (CH/EE = 4/1).

$300 \text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 7.50 (m, 2H, H2-, H6-SPh); 7.26 (m, 3H, H3-, H4-, H5-SPh); 5.94 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.31 (d, 1H, $^3J_{\text{trans}} = 17.3$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.22 (d, 1H, $^3J_{\text{cis}} = 10.3$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.98 (d, 1H, H-1, $^3J_{1-2} = 10.3$ Hz); 4.90 (d, 1H, $^3J_{\text{NH-H2}} = 8.4$ Hz, 2-NH); 4.55 (d, 2H, $^3J_{\text{CH2-CH2}} = 5.9$ Hz, O-CH₂, Allyl); 3.80 (t, 1H, H-3); 3.56 (d, 1H, $^2J = 11.7$, H-6); 3.50-3.39 (m, 3H, H-2, H-4, H-6'); 3.35 (m, 1H, H-5); 0.85 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.07, 0.04 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

$75.5 \text{ MHz-}^{13}\text{C-NMR}$ (DEPT, CDCl_3): δ [ppm] = 155.3 (C=O, Carbat); 132.8 (CH, Allyl); 132.6 (SPh-2, -6); 132.5 (SPh-1); 128.9 (SPh-3, -5); 128.0 (SPh-4); 118.0 (=CH₂, Allyl); 86.3 (C-1); 78.1 (C-5); 76.3 (C-3); 72.5 (C-4); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 57.3 (C-2); 51.7 (C-6); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 18.1 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -4.3, -4.7 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

ESI-MS (Waters), positiv $[m/z] = 495.1$ (32 %, $[\text{M} + \text{H}]^+$, ber. 495.7); 517.1 (100 %, $[\text{M} + \text{Na}]^+$, ber. 517.7); 534.1 (13 %, $[\text{M} + \text{K}]^+$, ber. 534.8), 558.2 (81 %, $[\text{M} + \text{Na} + \text{MeCN}]^+$, ber. 575.9).

$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$ (494.68)	ber.:	C: 53.42	H: 6.93	N: 11.33	S: 6.48
	gef.:	C: 54.58	H: 7.16	N: 10.16	S: 6.01

Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-amino-6-desoxy-3-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-1-thioglucopyranosid (155)

Eine Lösung von 300 mg (488 μmol) des Azids **145** in ca. 25 ml absol. Tetrahydrofuran wird bei Raumtemp. mit 135 μl (537 μmol) Tri-*n*-butylphosphin versetzt. Man lässt 12 Stunden rühren und versetzt die Lösung anschließend mit 3.0 ml Wasser. Danach wird das Lösungsmittel vollständig i. Vak. entfernt.

Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an ca. 50 g Kieselgel mit reinem Ethylacetat als Laufmittel.

Ausbeute: 166 mg (58 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = 11.7$ ($c = 1.0$, Chloroform); $R_f = 0.35$ (EE).

$300 \text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 7.42 (m, 2H, H-2, H-6, SPh); 7.24-7.17 (m, 3H, H-3, H-4, H-5, SPh); 7.18 (d, 2H, $^3J_{\text{H2-H3}} = ^3J_{\text{H5-H6}} = 8.6$ Hz, H-3, H-5, Mpm); 6.83 (d, 2H, $^3J_{\text{H2-H3}} = ^3J_{\text{H5-H6}} = 8.6$ Hz, H-2, H-6, Mpm); 5.89 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.29 (dd, 1H, $^3J_{\text{trans}} = 16.9$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.18 (dd, 1H, $^3J_{\text{cis}} = 10.3$ Hz, $^2J = 1.4$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.97 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 10.1$ Hz, H-1); 4.84 (d, 1H, $^3J_{\text{NH-H2}} = 9.9$ Hz, 2-NH); 4.70 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH₂, H^a, Mpm); 4.55 (d, 2H, $^3J_{\text{CH2-CH2}} = 5.7$ Hz, O-CH₂,

Allyl); 4.46 (d, 1 H, $^2J = 11.0$ Hz, CH₂, H^b, Mpm); 3.78 (m, 1H, H-3); 3.75 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.46 (q, 1H, H-2); 3.22 (m, 2H, H-4, H-5); 2.94 (m, 1H, H-6); 2.65 (dd, 1H, $^3J_{5-6} = 4.7$ Hz, $^2J = 10.2$ Hz, H-6'); 0.87 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.04 (s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

75.5 MHz-¹³C-NMR (HMQC, CDCl₃): δ [ppm] = 159.2 (Mpm-4); 155.4 (C=O, Carbamat); 133.6 (CH, Allyl); 132.7 (SPh-1); 131.7 (SPh-2, -6); 130.0 (Mpm-1); 128.9 (SPh-3, -5); 128.8 (Mpm-3, -5); 127.4 (SPh-4); 117.8 (=CH₂, Allyl); 113.8 (Mpm-2, -6); 86.3 (C-1); 80.8 (C-4); 79.7 (C-5); 76.2 (C-3); 74.4 (CH₂, Mpm); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 57.8 (C-2); 55.3 (OCH₃, Mpm); 43.2 (C-6); 25.9 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 18.0 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -4.0, -4.4 (CH₃, Methyl, TBS).

FT-IR (KBr) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3444 [m, ν (NH₂)]; 1724 [s, ν (C=O)]; 1586 [m, ν (C=C, Aromat)]; 1514 [m, ν (C=C, Aromat)]; 1216 [m, ν (C-O-C, Ether)].

ESI-MS (Waters), positiv [*m/z*] = 589.2 (68 %, [M + H]⁺, ber. 589.9).

C ₃₀ H ₄₄ N ₂ O ₆ SSi (588.83)	ber.:	C: 61.19	H: 7.53	N: 4.76	S: 5.45
	gef.:	C: 61.02	H: 7.51	N: 4.17	S: 5.37

5.6.2 VERSUCHE ZU KAPITEL 3.7.2

Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-chlorophenylcarbamoyl)-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-1-thioglucopyranosid (156)

Eine Lösung von 50 mg (99.9 μ mol) des Kohlenhydratbausteins **152** in etwa 10 ml Dioxan werden mit 18.4 mg (120 μ mol) *p*-Chlorphenylisocyanat und einer katalytischen Menge 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Nach 24-stündigem Rühren bei Raumtemp. werden erneut 18.4 mg (120 μ mol) *p*-Chlorphenylisocyanat zugegeben und es wird weitere 18 Stunden gerührt. Der entstandene Feststoff (hydrolysiertes Isocyanat) wird abfiltriert und das Filtrat i. Vak. vollständig vom Lösungsmittel befreit.

Zur Reinigung wird eine Säulenchromatographie an etwa 15 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (2/1) als Laufmittelgemisch durchgeführt.

Ausbeute: 26.0 mg (40 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -6.9$ (c = 1.0, Chloroform); R_f = 0.33 (CH/EE = 2/1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.52 (m, 2H, H-2, H-6, *p*-Cl-Ph); 7.48 (s, 1H, NH, Carbamat, ArNHCO); 7.38 (m, 2H, H-2, H-6, SPh); 7.27 (m, 5H, H-3, H-4, H-5, SPh, H-3, H-4, *p*-Cl-Ph); 7.11 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.4$ Hz, H-3, H-5, Mpm); 6.86 (d, 1H, 2-NH); 6.75 (d, 2H, H-2, H-6, Mpm, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.4$ Hz); 5.78 (m_c, 1H,

=CH, Allyl); 5.18 (d, 1H, $^3J_{\text{trans}} = 17.2$ Hz, =CH₂, H^{trans}, Allyl); 5.22 (m, 2H, $^3J_{\text{cis}} = 9.6$ Hz, H-1, =CH₂, H^{cis}, Allyl); 4.75 (d, 1 H, CH₂, H^a, Mpm, $^2J = 11.0$ Hz); 4.57 (m, 3H, O-CH₂, Allyl, CH₂, H^a, Mpm); 3.75 (m, 1H, H-3); 3.71 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.54-3.32 (m, 5H, H-2, H-4, H-5, H-6, H-6').

75.5 MHz-¹³C-NMR (DEPT, CDCl₃): δ [ppm] = 161.6 (Mpm-4); 158.7 (C=O, Carbamat, ArNHCO); 155.7 (C=O, Carbamat, Aloc); 139.9 (C-4, *p*-Cl-Ph); 135.2 (CH, Allyl); 135.0 (C-1, *p*-Cl-Ph); 134.3 (SPh-2, -6); 131.9 (SPh-1); 132.0 (C-3, C-5, *p*-Cl-Ph); 131.8 (Mpm-1); 130.8 (SPh-3, -5); 130.6 (C-3, C-5, Mpm); 129.7 (SPh-4); 122.3 (C-2, C-6, *p*-Cl-Ph); 118.0 (=CH₂, Allyl); 115.5 (Mpm-2, -6); 88.5 (C-1); 80.0 (C-4); 79.0 (C-3); 78.9 (C-5); 76.3 (CH₂, Mpm); 67.0 (O-CH₂, Allyl); 57.1 (C-2); 56.4 (OCH₃, Mpm); 53.4 (C-6).

ESI-MS (Waters), positiv [*m/z*] = 676.2 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 676.2); 1331.3 (3 %, [2M + Na + 2]⁺, ber. 1329.3); 1984.5 (3 %, [3M + Na + 2]⁺, ber. 1984.5); 2638.7 (3 %, [3M + Na + 3]⁺, ber. 2638.7).

C₃₁H₃₂ClN₅O₇S (648.25)

Phenyl-(2-*N*-(α -Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl- ϵ -*N*-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysyl)-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-glucopyranosyl)-thiophenol (157)

Eine Lösung von 77 mg (154 μ mol) des Kohlenhydratbausteins **152** in etwa 15 ml absol. Dichlormethan wird auf 0 °C gekühlt und mit 79.2 mg (169 μ mol) Fmoc-Lys(Boc)-OH und einer katalytischen Menge 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Dann wird langsam eine Lösung von 48.1 μ l (308 μ mol) Diisopropylcarbodiimid in 5 ml absol. Dichlormethan zugetropft. Nach 30-minütigem Rühren bei 0 °C wird das Eisbad entfernt und 24 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Das Lösungsmittel wird vollständig i.Vak. entfernt.

Die Reinigung durch Säulenchromatographie an etwa 15 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (3/1) als Laufmittelgemisch funktioniert nicht, da das Produkt auf der Säule auskristallisiert und deshalb mit Methanol extrahiert werden muss. Stattdessen wird eine Reinigung durch präparative HPLC-Chromatographie unter Nutzung der Säule C und des Gradienten VIII durchgeführt.

Ausbeute: nach Säulenchromatographie: 98.0 mg (64 %); nach präparativer HPLC: 23.8 mg (16 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -18.0$ (c = 1.0, Tetrahydrofuran); R_f = 0.42 (CH/EE = 3/1).

400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.80 (d, 2H, $^3J_{\text{H4-H3}} = ^3J_{\text{H5-H6}} = 7.4$ Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.71, 7.67 (2d, 2H, $^3J_{\text{H2-H3}} = ^3J_{\text{H4-H5}} = 7.4$ Hz, H3-, H4-SPh); 7.56 (dd, 2H,

H1-, H8-Fmoc); 7.38 (t, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H6-H7} = 7.4$ Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.33 (m, 5H, H3, H6-Fmoc, H3-, H4-, H5-SPh); 7.24 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.6$ Hz, H3-, H5-Mpm); 7.05 (d, 1H, $^3J_{NH-\alpha H} = 8.8$ Hz, α NH, Lys); 6.81 (d, 1H, $^3J_{NH-H2} = 9.8$ Hz, 2-NH); 6.76 (d, 2H, $^3J_{H2-H3} = ^3J_{H5-H6} = 8.6$ Hz, H2-, H6-Mpm); 6.09 (m, 1H, ϵ NH, Carbamat, Lys); 5.97 (mc, 1H, =CH, Allyl); 5.33 (dd, 1H, $^3J_{trans} = 17.2$ Hz, $^2J = 1.4$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.21 (t, 1H, H-3); 5.19 (dd, 1H, $^3J_{cis} = 10.3$ Hz, $^2J = 1.4$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.81 (d, 1H³J_{1,2} = 10.4 Hz, H-1.); 4.74 (d, 1 H, , $^2J = 10.6$ Hz CH₂, H^a, Fmoc); 4.64 (ddt, 1H, O-CH₂, H^a, Allyl); 4.51(ddt, 1H, OCH₂, H^b, Allyl); 4.42 (m, 2H, $^2J = 10.7$ Hz, CH₂, H^a, Mpm, CH₂, H^b, Fmoc); 4.27 (m, 3H, CH, Fmoc, CH₂, H^b, Mpm, α CH, Lys); 3.66 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.77 (m, 1H, H-2); 3.61 (m, 1H, H-4); 3.42 (m, 2H, H-5, H-6); 3.38 (dd, 1H, H-6'); 3.07 (m, 2H, ϵ CH₂, Lys); 1.89 (m, 1H, δ 1CH₂, Lys); 1.50 (m, 4H, β CH₂, δ 2CH₂, γ 1CH₂, Lys); 1.44 (s, 9H, *tert*-Butyl, Boc); 1.31 (m, 1H, γ 2CH₂, Lys).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMQC, CDCl₃): δ [ppm] = 172.5 (C=O, Amid, Lys), 159.4 (Mpm-4); 156.4, 155.7, 155.6 (3 x C=O, Carbamat, Boc, Aloc, Fmoc); 144.5, 144.1 (Fmoc-8a, -9a); 141.3, 141.2 (Fmoc-4a, -4b); 135.6 (SPh-1); 133.8 (Fmoc-1, -8); 132.7 (CH, Allyl); 130.1 (Mpm-1); 128.9 (SPh-2, -6); 129.9 (SPh-4); 127.4, 127.3 (Fmoc-3, -6); 126.8, 126.7 (Fmoc-2, -7); 125.2, (SPh-3, -5); 125.0 (Fmoc-1, -8); 119.6 (Fmoc-4, -5); 115.9 (=CH₂, Allyl); 113.2 (Mpm-2, -C6); 87.0 (C-1); 78.2 (C-5); 77.2 (C-3); 76.0 (C-4); 74.0 (CH₂, Mpm); 66.9 (CH₂, Fmoc); 64.9 (O-CH₂, Allyl); 54.9 (C-2); 54.4 (Lys- α); 54.3 (OCH₃, Mpm); 51.5 (C-6); 47.3 (CH, Fmoc); 39.9 (Lys- ϵ); 31.0 (Lys- δ); 29.7 (Lys- β); 27.8 (CH₃, *tert*-Butyl, Boc); 23.2 (Lys- γ).

ESI-MS (Waters), positiv [m/z] = 973.4 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 973.4); 1924.8 (3 %, [2M + Na]⁺, ber. 1923.8).

C₅₀H₅₈N₆O₁₁S (951.09)

Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy)-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-(4-chlorphenylcarbamoyl)- β -D-1-thioglucopyranosid (158)

Eine Lösung von 35.0 mg (70.7 μ mol) des Kohlenhydrates **154** in etwa 10 ml Dioxan werden mit 13.0 mg (84.9 μ mol) *p*-Chlorphenylisocyanat und einer katalytischen Menge 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Man lässt 24 Stunden bei Raumtemp. rühren, gibt nochmals 13.0 mg (84.9 μ mol) *p*-Chlorphenylisocyanat zugegeben und lässt weitere 18 Stunden rühren. Der entstandene Feststoff wird abfiltriert und das Filtrat i. Vak. vom Lösungsmittel befreit.

Dier Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an etwa 15 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (2/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 12.0 mg (26 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -11.7$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.48$ (CH/EE = 2/1).

$300\text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 7.57 (m, 2H, H-2, H-6, *p*-Cl-Ph); 7.45 (d, 2H, H-2, H-6, SPh); 7.35 (m, 5H, H-3, H-4, H-5, SPh, H-3, H-5, *p*-Cl-Ph); 5.99 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.40 (d, 1H, $^3J_{\text{trans}} = 17.3$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.24 (d, 1H, $^3J_{\text{cis}} = 10.3$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.85 (m, 2H, H-1, 2-NH); 4.58 (m, 2H, OCH₂, Allyl); 3.94 (t, 1H, H-3); 3.60 (m, 2H, H-5, H-6); 3.42 (m, 3H, H-2, H-4, H-6'); 0.85 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.12, 0.10 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

$75.5\text{ MHz-}^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ [ppm] = 158.2 (C=O, Carbat, ArNHCO); 154.4 (C=O, Carbat, Aloc); 138.7 (C-4, *p*-Cl-Ph); 134.7 (CH, Allyl); 134.3 (C-1, *p*-Cl-Ph); 133.5 (SPh-2, -6); 133.3 (C-3, C-5, *p*-Cl-Ph); 129.9 (SPh-1); 129.8 (SPh-3, -5); 128.8 (SPh-4); 121.3 (C-2, C-5, *p*-Cl-Ph); 117.7 (=CH₂, Allyl); 88.5 (C-1); 78.3 (C-5); 75.7 (C-3); 74.4 (C-4); 66.6 (O-CH₂, Allyl); 58.7 (C-2); 52.97 (C-6); 26.3 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 18.8 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -4.2, -4.5 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

ESI-MS (Waters), positiv [m/z] = 670.2 (77 %, [M + Na]⁺, ber. 670.2); 1319.4 (100 %, [2M + Na+2]⁺, ber. 1319.4).

$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{ClN}_5\text{O}_6\text{SSi}$ (648.25)

Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl- ϵ -*N*-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysyl)-amino-6-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-1-thioglucopyranosid (159)

Zu einer Lösung von 55.7 mg (119 μmol) Fmoc-Lys(Boc)-OH in 5 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid werden im Argongegenstrom 38.2 mg (119 μmol) TBTU, 18.2 mg (119 μmol) HOBT und 72.8 μl (426 μmol) Hünigs Base gegeben. Man rührt die Reaktionsmischung 10 Minuten, gibt dann bei 0 °C 50 mg (84.9 μmol) des Kohlenhydratbaussteins **155** in 5 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid zu und rührt eine Stunde unter Argonatmosphäre bei 0 °C. Das Lösungsmittel wird anschließend i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 20 ml Toluol codestilliert. Das so erhaltene Rohprodukt wird in ca. 40 ml Dichlormethan aufgenommen und die organische Phase wird mit 20 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an ca. 15 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (3/2) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 81.9 mg (93 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = 11.4$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.47$ (CH/EE = 1/1).

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 7.76 (d, 2H, ³J_{H4-H3} = ³J_{H5-H6} = 7.4 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.59 (d, 2H, H1-, H8-Fmoc); 7.42 (m, 2H, H2-, H6-SPh); 7.38 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.33 (t, 2H, H3, H6-Fmoc); 7.30 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz, H3-, H5-Mpm); 7.24-7.17 (m, 3H, H3-, H4-, H5-SPh); 6.87 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz, H2-, H6-Mpm); 6.14 (m, 1H, εNH, Lys); 5.92 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.34 (dd, 1H, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ²J = 1.4 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.22 (dd, 1H, Allyl, ³J_{cis} = 10.3 Hz, ²J = 1.4 Hz, H^{cis}, =CH₂); 5.07 (d, 1H, ³J_{NH-H2} = 9.0 Hz, 2-NH); 4.89 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 9.0 Hz, H-1); 4.69 (d, 1 H, ²J = 10.7 Hz, CH₂, H^a, Mpm); 4.59 (d, 2H, ³J_{CH2-CH2} = 5.7 Hz, OCH₂, Allyl); 4.44 (m, 3H, ²J = 10.7 Hz, CH₂, H^b, Mpm, CH₂, Fmoc); 4.21 (t, 1H, CH, Fmoc); 4.00 (m, 1H, αCH, Lys); 3.78 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.71 (m, 1H, H-6); 3.47 (dd, 1H, H-2); 3.42 (m, 1H, H-5); 3.24 (m, H-6'); 3.16 (t, 1H, H-4); 3.07 (m, 2H, εCH₂, Lys); 1.72 (m, 1H, δ1CH₂, Lys); 1.44 (s, 9H, *tert*-Butyl, Boc); 1.44 (m, 3H, βCH₂, δ2CH₂, Lys); 1.25 (m, 2H, γCH₂, Lys); 0.90 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.06 (s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HMOC, CDCl₃): δ [ppm] = 171.4 (C=O, Amid, Lys); 159.3 (Mpm-4); 156.0, 155.7, 155.4 (3 x C=O, Carbat, Boc, Fmoc, Alloc); 143.9, 143.8 (Fmoc-8a, -9a); 141.3 (Fmoc-4a, -4b); 135.6 (SPh-1); 132.7 (CH, Allyl); 131.9 (SPh-2, -6); 129.4 (Mpm-1); 128.9 (SPh-3, -5); 128.8 (Mpm-3, -5); 127.8 (Fmoc-2, -7); 127.7 (SPh-4); 127.1 (Fmoc-3, -6); 125.1 (Fmoc-1, -8); 120.0 (Fmoc-4, -5); 117.9 (=CH₂, Allyl); 113.9 (Mpm-2, -C6); 85.8 (C-1); 79.9 (C-4); 79.1 (C-5); 76.3 (C-3); 74.5 (CH₂, Mpm); 66.9 (CH₂, Fmoc); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 57.5 (C-2); 55.3 (OCH₃, Mpm); 54.9 (Lys-α); 47.2 (CH, Fmoc); 40.4 (C-6); 40.2 (Lys-ε); 32.5 (Lys-δ); 29.7 (Lys-β); 28.5 (CH₃, *tert*-Butyl, Boc); 25.9 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 22.5 (Lys-γ); 18.0 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -3.9, -4.4 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

ESI-MS (Waters), positiv [*m/z*] = 1061.5 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 1061.5); 1077.5 (14%, [M+K]⁺, ber. 1077.5); 2100.1 (36%, [2M+Na]⁺, ber. 2100.0); 2116.1 (3%, [2M+K]⁺, ber. 2116.1).

C₅₆H₇₄N₄O₁₁SSi (1039.36)

Versuch zur Darstellung von Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-ε-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysyl)-amino-6-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl-β-D-glucopyranosyl)-thiophenol (160)

Eine Lösung von 40 mg (85.5 μmol) des Silylethers **159** in etwa 10 ml absol. Acetonitril wird unter Rühren mit 37.7 μl (57.7 μmol) einer 50%-igen Lösung von Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid in Acetonitril versetzt und 3 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel vollständig i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in ca. 10 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 5 ml einer ges.

Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an ca. 15 g Kieselgel mit Ethylacetat als Laufmittel.

Statt des gewünschten Produktes wurde das Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-*N*-(ϵ -*N*-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysyl)-amino-6-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-1-thioglucopyranosid (**161**) erhalten.

Ausbeute: 23.0 mg (73 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = 9.5$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.14$ (EE).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): δ [ppm] = 7.42 (m, 2H, H₂-, H₆-SPh); 7.39 (m, 2H, ϵ NH₂, Lys); 7.28 (d, 2H, $^3J_{H_2-H_3} = ^3J_{H_5-H_6} = 8.6$ Hz, H₃-, H₅-Mpm); 7.24 (m, 3H, H₃-, H₄-, H₅-SPh); 6.83 (d, 2H, $^3J_{H_2-H_3} = ^3J_{H_5-H_6} = 8.6$ Hz, H₂-, H₆-Mpm); 5.90 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.30 (dd, 1H, $^3J_{trans} = 17.2$ Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.19 (dd, 1H, $^3J_{cis} = 10.3$ Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.96 (d, 1H, 2-NH, $^3J_{NH-H_2} = 9.6$ Hz); 4.87 (d, 1H, $^3J_{1-2} = 9.6$ Hz, H-1); 4.66 (d, 1H, $^2J = 10.7$ Hz, CH₂, H^a, Mpm); 4.56 (d, 2H, $^3J_{CH_2-CH_2} = 5.7$ Hz, OCH₂, Allyl); 4.47 (d, 1H, $^2J = 10.7$ Hz, CH₂, H^b, Mpm); 3.90 (m, 1H, α CH, Lys); 3.75 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.71 (m, 1H, H-6); 3.48 (dd, 1H, H-2); 3.40 (m, 1H, H-5); 3.23 (m, H-6'); 3.16 (t, 1H, H-4); 3.05 (m, 2H, ϵ CH₂, Lys); 1.71 (m, 1H, δ 1CH₂, Lys); 1.41 (s, 9H, *tert*-Butyl, Boc); 1.41 (m, 3H, β CH₂, δ 2CH₂, Lys); 1.23 (m, 2H, γ CH₂, Lys); 0.87 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.04 (s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

75.5 MHz-¹³C-NMR (DEPT, CDCl₃): δ [ppm] = 174.7 (C=O, Amid, Lys); 159.3 (Mpm-4); 159.6, 155.4 (2 x C=O, Carbamat, Boc, Alloc); 133.6 (CH, Allyl); 132.7 (SPh-2, -6); 132.0 (Mpm-1); 129.6 (SPh-3, -5); 128.9 (Mpm-3, -5); 127.5 (SPh-4); 117.8 (=CH₂, Allyl); 113.8 (Mpm-2, -C6); 86.4 (C-1); 79.5 (C-4); 79.1 (C-5); 75.6 (C-3); 74.4 (CH₂, Mpm); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 57.4 (C-2); 55.2 (OCH₃, Mpm); 54.9 (Lys- α); 40.3 (C-6); 40.1 (Lys- ϵ); 34.5 (Lys- δ); 29.7 (Lys- β); 28.4 (CH₃, *tert*-Butyl, Boc); 25.8 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 22.9 (Lys- γ); 18.0 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -4.0, -4.4 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

ESI-MS (Waters), positiv [m/z] = 817.5 (7 %, [M + Na]⁺, ber. 817.4); 1633.9 (100%, [2M+H]⁺, ber. 1633.9); 1661.9 (3 %, [2M+Na]⁺, ber. 1661.9).

C₅₆H₇₄N₄O₁₁SSi (817.12)

Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl- ϵ -*N*-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysyl- ϵ -*N*'-*tert*-butyloxycarbonyl-L-lysyl)-amino-6-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-1-thioglucopyranosid (162)

Zu einer Lösung von 16.1 mg (34.3 μ mol) Fmoc-Lys(Boc)-OH in 5 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid werden im Argongegenstrom 11.0 mg (34.3 μ mol) TBTU, 5.3 mg (34.3 μ mol) HOBt und 21.0 μ l (122 μ mol) Hünigs Base gegeben. Man rührt die Reaktionsmischung 10 Minuten, gibt dann bei 0 °C 20 mg (24.5 μ mol) des Kohlenhydrats **161** in 5 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid zu und rührt eine Stunde unter einer Argonatmosphäre bei 0 °C. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 20 ml Toluol kodestilliert. Anschließend nimmt man den Rückstand in ca. 30 ml Dichlormethan auf und wäscht die organische Phase mit 15 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, trocknet sie mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum.

Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an ca. 15 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (1/1) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 23.6 mg (95 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = 1.9$ (c = 1.0, Chloroform); $R_f = 0.27$ (CH/EE = 1/1).

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, CD₃OD): δ [ppm] = 7.83 (d, 2H, ³J_{H4-H3} = ³J_{H5-H6} = 7.4 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.70 (t, 2H, ³J_{H1-H1} = ³J_{H7-H8} = 7.0 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.49 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 7.3 Hz, H2-, H6-SPh); 7.42 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 7.4 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.37-2.27 (m, 7H, H2-, H7-Fmoc, H3-, H5-Mpm, H3-, H4-, H5-SPh); 6.89 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz, H2-, H6-Mpm); 6.00 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.40 (dd, 1H, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ²J = 1.5 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.24 (dd, 1H, ³J_{cis} = 10.3 Hz, ²J = 1.5 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 4.82 (d, 1H, ³J_{NH-H2} = 10.1 Hz, 2-NH); 4.75 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 10.9 Hz, H-1); 4.58 (m, 4H, CH₂, Mpm, OCH₂, Allyl); 4.59 (d, 2H, CH₂, Fmoc, ³J_{CH-CH2} = 6.8 Hz); 4.35 (m, 1H, α CH, Lys); 4.25 (t, 1H, CH, Fmoc, ³J_{CH-CH2} = 6.8 Hz); 4.13 (m, 1H, α CH, Lys'); 3.79 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.71 (m, 1H, H-5); 3.63 (m, 2H, H-2, H-6); 3.49 (m, 1H, H-4); 3.42 (m, H-6'); 3.24 (t, 1H, H-4); 3.06 (m, 4H, ϵ CH₂, Lys); 1.75 (m, 6H, δ CH₂, Lys, β 1CH₂, Lys, Lys'); 1.45, 1.42 (2s, 18H, *tert*-Butyl, Boc); 1.40 (m, 2H, β 2CH₂, Lys, Lys'); 1.15 (m, 4H, γ CH₂, Lys); 0.95 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.12, 0.08 (2s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HSQC, CD₃OD): δ [ppm] = 174.9, 174.1 (2 x C=O, Amid, Lys); 160.7 (Mpm-4); 158.6, 158.5, 158.4, 158.3 (4 x C=O, Carbamat, 2 x Boc, Fmoc, Alloc); 145.4, 145.2 (Fmoc-8a, -9a); 142.6 (Fmoc-4a, -5a); 135.6 (SPh-1); 134.4 (CH, Allyl); 132.1 (SPh-2, -6); 131.5 (Mpm-1); 130.3 (Mpm-3, -5); 130.1 (SPh-3, -5); 128.8 (SPh-4); 128.3 (Fmoc-3, -6); 128.2 (Fmoc-2, -7); 126.3 (Fmoc-1, -8); 120.1 (Fmoc-4, -5); 117.7 (=CH₂, Allyl); 114.6 (Mpm-2, -C6); 88.3 (C-1); 81.4 (C-5); 79.8 (C-4); 78.7

(C-3); 75.6 (CH₂, Mpm); 66.6 (O-CH₂, Allyl); 58.5 (C-2); 56.5 (Lys- α); 55.7 (OCH₃, Mpm); 54.7 (Lys'- α); 48.2 (CH, Fmoc); 41.5 (C-6); 41.2 (2 x Lys- ϵ); 33.0, 32.8 (2 x Lys- δ); 31.3, 30.5 (2 x Lys- β); 28.9, 28.8 (2 x CH₃, *tert*-Butyl, Boc); 26.5 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 24.2, 24.1 (2 x Lys- γ); 18.9 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); -3.5, -3.8 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

ESI-MS (Waters), positiv [*m/z*] = 1289.7 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 1289.6); 2557.5 (11 %, [2M+Na+1]⁺, ber. 2557.3).

C₅₁H₈₁N₅O₁₂SSi (1266.63)

Phenyl-(2-*N*-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-*N*^G-(2,2,4,6,7-pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl)L-arginyl)-amino-6-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-1-thioglucopyranosid (163)

Zu einer Lösung von 154.4 mg (238 μ mol) Fmoc-Arg(Pbf)-OH in 10 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid werden im Argongegenstrom 76.4 mg (238 μ mol) TBTU, 36.4 mg (238 μ mol) HOBt und 146 μ l (850 μ mol) Hüng's Base gegeben. Man rührt die Reaktionsmischung 10 Minuten, gibt dann bei 0 °C 100 mg (170 μ mol) des Kohlenhydrats **155** in 10 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid zu und rührt 45 Minuten bei 0 °C unter einer Argonatmosphäre. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 30 ml Toluol codestilliert. Dann nimmt man den Rückstand in ca. 40 ml Dichlormethan auf und wäscht die organische Phase mit 20 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, trocknet mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum.

Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an ca. 20 g Kieselgel mit Cyclohexan/Ethylacetat (1/2) als Laufmittelgemisch.

Ausbeute: 130 mg (63 %); farbloser, amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -2.0$ (c = 1.0, Chloroform); R_f = 0.36 (CH/EE = 1/2).

400 MHz-¹H-NMR (¹H-¹H-COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 7.76 (d, 2H, ³J_{H4-H3} = ³J_{H5-H6} = 7.4 Hz, H4-, H5-Fmoc); 7.55 (d, 2H, ³J_{H1-H1} = ³J_{H7-H8} = 7.2 Hz, H1-, H8-Fmoc); 7.40 (m, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 7.4 Hz, H2-, H6-SPh); 7.37 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 6.3 Hz, H3-, H6); 7.28 (t, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H6-H7} = 6.3 Hz, H2-, H7-Fmoc); 7.11 (m, 5H, H3-, H4-, H5-SPh, H3-, H5-Mpm); 6.75 (d, 2H, ³J_{H2-H3} = ³J_{H5-H6} = 8.6 Hz, H2-, H6-Mpm); 6.46 (s_w, 1H, α NH, Arg); 6.17 (s_w, 2H, NH, Guanidin); 5.92 (m_c, 1H, =CH, Allyl); 5.32 (dd, 1H, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ²J = 1.6 Hz, H^{trans}, =CH₂, Allyl); 5.18 (dd, 1H, ³J_{cis} = 10.3 Hz, ²J = 1.5 Hz, H^{cis}, =CH₂, Allyl); 5.56 (s_w, 1H, 2-NH); 4.89 (d, 1H, ³J₁₋₂ = 10.2 Hz, H-1); 4.57 (d, 2H, OCH₂, Allyl, ³J_{CH2-CH2} = 5.5 Hz);

4.55 (d, 1 H, CH₂, Mpm, H^a, ²J = 10.7 Hz); 4.51 (d, 2H, CH₂, Fmoc, ³J_{CH-CH₂} = 5.8 Hz); 4.37 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂, H^b, Mpm); 4.16 (t, 1H, CH, Fmoc, ³J_{CH-CH₂} = 5.8 Hz); 3.97 (m, 1H, αCH, Arg); 3.90 (t, 1H, H-3); 3.75 (s, 3H, O-CH₃, Mpm); 3.56 (m, 2H, H-2, δ1CH₂, Arg); 3.22 (m, 1H, H-5); 3.07 (m, 2H, H-3, H-6); 2.87 (m, 4H, H-6', CH₂, Pbf, δ2CH₂, Arg); 2.64 (s, 3H, 6-CH₃, Pbf); 2.55 (4-CH₃, Pbf); 2.07 (s, 3H, 7-CH₃, Pbf); 1.61 (m, 2H, γ1CH₂, Arg); 1.48 (m, 2H, γ2CH₂, Arg); 1.38 (s, 3H, 1-CH₃, Pbf); 1.36 (m, 2H, βCH₂, Arg); 1.34 (s, 3H, 1'-CH₃, Pbf); 0.90 (s, 9H, *tert*-Butyl, TBS); 0.11 (s, 6H, 2 x CH₃, TBS).

100.6 MHz-¹³C-NMR (HSQC, CDCl₃): δ [ppm] = 171.4 (C=O, Amid, Arg); 159.3 (Mpm-4); 158.7 (Arg-ζC) 156.3, 156.2 (2 x C=O, Carbamat, Fmoc, Aloc); 156.1 (Pbf-7a); 143.6, 143.5 (Fmoc-8a, -9a); 141.4 (Fmoc-4a, -5a); 138.3 (Pbf-5); 133.6 (SPh-1); 133.3 (Pbf-4); 133.0 (Pbf-6); 132.9 (SPh-2, -6); 132.3 (CH, Allyl); 129.9 (SPh-3, -5); 129.8 (SPh-4); 127.9 (Fmoc-3, -6); 127.8 (Mpm-3, -5); 127.2 (Fmoc-2, -7); 124.9 (Fmoc-1, -8); 124.5 (Pbf-3a); 117.7 (=CH₂, Allyl); 117.6 (Pbf-7); 113.8 (Mpm-2, -C6); 86.2 (C-1); 80.0 (C-4); 77.0 (C-5); 76.3 (C-3); 74.6 (CH₂, Mpm); 66.6 (Pbf-2); 65.8 (O-CH₂, Allyl); 57.3 (C-2); 55.2 (OCH₃, Mpm); 54.6 (Arg-α); 43.2 (Pbf-3); 40.6 (Arg-δ); 40.1 (C-6); 28.6 (1-CH₃, Pbf); 26.9 (Arg-β); 25.9 (CH₃, *tert*-Butyl, TBS); 24.6 (Arg-γ); 19.5 (4-CH₃, Pbf); 18.2 (C_q, *tert*-Butyl, TBS); 17.9 (6-CH₃, Pbf); 12.5 (7-CH₃, Pbf); -3.9, -4.0 (2 x CH₃, Methyl, TBS).

ESI-MS (Waters), positiv [m/z] = 1219.7 (5 %, [M + H]⁺, ber. 1219.5); 1241.6 (100 %, [M + Na]⁺, ber. 1241.5); 1257.6 (6 %, [M + K]⁺, ber. 1257.6); 2462.3 (9 %, [2M+Na+2]⁺, ber. 2462.0).

C₆₄H₈₂N₆O₅S₂Si (1218.52)

6 LITERATUR

- ¹ Übersichtsarbeiten: a) M. A. Gallop, R. W. Barrett, W. J. Dower, S. P. A Fodor, E. M. Gordon, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1233; b) E. M. Gordon, R. W. Barrett, W. J. Dower, S. P. A. Fodor, M. A. Gallop, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1385; c) N.K. Terrett, M. Gardner, D. W. Gordon, R. W. Kobylecki, J. Steele, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 8135; d) J. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 19; e) L. A. Thompson, J. A. Ellman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 555; f) P. H. H. Hermkes, H. C. J. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 4527; g) F. Balkenhohl, C. von dem Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 3001; h) K. Frobel, T. Krämer, *Chemie in unserer Zeit* **1996**, *6*, 270.
- ² C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *Immunologie*, 5. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2002**, Kap. 4.
- ³ a) A. G. Beck-Sickinger, P. Weber, *Kombinatorische Methoden in Chemie und Biologie*, Spektrum, Akademischer Verlag **1999**, Kap. 1; b) D. R. Liu, P. G. Schultz, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 36.
- ⁴ R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *90*, 10922.
- ⁵ a) H. M. Geysen, R. H. Meloen, S. J. Barteling, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, *81*, 3998; b) H. M. Geysen, S. J. Barteling, R. H. Meloen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 178.
- ⁶ R. A. Houghten, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 5131.
- ⁷ À. Furka, F. Sebetyén, M. Asgedom, G. Dibò, *Int. J. Protein Res.* **1991**, *37*, 487.
- ⁸ D. Tiebes in *Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analysis, Screening* (Hrsg.: G. Jung), Wiley-VCH, Weinheim **1999**, Kap. 1.
- ⁹ S. Brenner, R. A. Lerner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 5381.
- ¹⁰ J. M. Kerr, S. C. Banville, R. N. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2529.
- ¹¹ a) M. H. Ohlmeyer, R. N. Swanson, L. W. Dillard, J. C. Reader, G. Asouline, R. Kobayashi, M. Wigler, W. C. Still, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 10922; b) A. Borchardt, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7467.
- ¹² H. P. Nestler, H. Wennemers, R. Sherlock, D.Y. Dong, *Bioorg. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1327.
- ¹³ a) H. M. Geysen, S. J. Rodda, T. J. Mason, *Mol. Immunol.* **1986**, *23*, 709; b) R. A. Houghton, C. Pinilla, S. E. Blondelle, J. R. Appel, C. T. Dooley, J. H. Cuervo, *Nature* **1991**, *354*, 84; c) E. Erb, K. D. Janda, S. Brenner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 11422; d) L. Wilson-Lingardo, P. W. Davis, D. J. Ecker, H. Herbert, O. Acevedo, K. Sprankle, T. Brennan, L. Schwarcz, S. M. Freier, J.R. Wyatt, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2720.
- ¹⁴ a) B. A. Bunin, *The Combinatorial Index*, Academic Press, San Diego **1998**; b) S. E. Booth, C. M. Dreef-Tromp, P. H. H. Hermkens, J. A. P. A. de Man, H. C. J. Ottheijm

in *Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analyses, Screenings* (Hrsg.: G. Jung, Wiley-VCH, Weinheim **1999**, Kap. 2

- ¹⁵ R. Santini, M. I. Griffith, M. Qi, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8951
- ¹⁶ a) P. H. H. Hermkens, H. J. C. Ottenheijm, D. Rees, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 4527; b) A. Nefzi, J. M. Ostresh, R. A. Houghten, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 449.
- ¹⁷ a) A. D. Ellington, J. W. Szostak, *Nature* **1990**, *346*, 818; b) A. D. Ellington, S. E. Osborne, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 349; c) M. Famulok, A. Jenne, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 230; d) M. Famulok in *Combinatorial Chemistry – Synthesis, Analysis, Screening* (Hrsg.: G. Jung), Wiley-VCH, Weinheim **1999**, Kap. 9.
- ¹⁸ a) W. E. Cwirla, E. A. Peters, R. W. Barrett, W. J. Dower, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 6378; b) J. K. Scott, G. P. Smith, *Science* **1990**, *249*, 386; c) G. P. Smith, V. A. Petrenko, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 391.
- ¹⁹ J. Hanes, A. Plückthun, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 4937.
- ²¹ a) M. J. Sofia, D. J. Silva, *Curr. Opin. Drug Disc. Dev.* **1999**, *2*, 365; b) S. A. W. Gruner, E. Locardi, E. Lohof, H. Kessler, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 491; c) F. Peri, L. Cipolla, E. Forni, F. Nicotra, *Monats. Chem.* **2002**, *133*, 369; d) G. T. Le, G. Abbenante, B. Becker, M. Grathwohl, J. Halliday, G. Tometzki, J. Zuegg, W. Meutermans, *DDT* **2003**, *15*, 701; e) J. Ohnsmann, M. Madalinski, H. Kunz, *Chimica Oggi* **2005**, *23*, 16.
- ²² a) R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, J. Salvino, E. M. Leahy, P. A. Sprengeler, G. Furst, A. B. Smith III, C. D. Strader, M. A. Cascieri, M. R. Candelore, C. Donaldson, W. Vale, L. Maechler, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *114*, 9217; b) R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Petranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoons, W. C. Shakespear, P. A. Sprengeler, O. Harnley, A. B. Smith III, T. Reisine, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *118*, 12550; c) R. Hirschmann, W. Yao, M. A. Cascieri, C. D. Strader, L. Maechler, M. A. Cichy-Knight, J. Jr. Hynes, R. D. van Rijn, P. A. Sprengeler, A. B. Smith III, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2441.
- ²³ C. Papageorgiou, R. Haltiner, C. Bruns, T. J. Petcher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 135.
- ²⁴ K. C. Nicolaou, J. I. Trujillo, K. Chibale, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 8751.
- ²⁵ a) N. Moitessier, H. Minoux, B. Maigret, F. Chretien, Y. Chapleur, *Lett. Pept. Sci.* **1998**, *5*, 75; b) N. Moitessier, S. Dufour, F. Chretien, J. P. Thiery, B. Maigret, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1983.
- ²⁶ a) M. Gurrath, G. Müller, H. Kessler, M. Aumailley, R. Timple, *Eur. J. Biochem.* **1992**, *210*, 911; b) R. Haubner, R. Gratias, B. Diefenbach, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7461; c) R. Haubner, W. Schmitt, G. Holzemann, S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7881; d) Wermuth, J. S. L. Goodman, A. Jonczyk, H. Kessler, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1328; e) R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem, Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1375.

- ²⁷ a) T. Wunberg, C. Kallus, T. Opatz, S. Henke, W. Schmidt, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2620; b) C. Kallus, T. Opatz, T. Wunberg, W. Schmidt, S. Henke, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7783; c) T. Wunberg, *Dissertation 1997*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz; d) C. Kallus, *Dissertation 1998*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz; e) T. Opatz, *Dissertation 2000*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz; f) T. Maidhof, *Dissertation 2002*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz. g) T. Opatz, C. Kallus, T. Wunberg, W. Schmidt, S. Henke, H. Kunz, *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 2089.
- ²⁸ a) J. Ohnsmann, *Diplomarbeit 2002*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz; b) U. Hüniger, *Dissertation 2002*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz; c) U. Hüniger, J. Ohnsmann, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1104.
- ²⁹ F. Barresinoussi, J. C. Chermann, F. Rey, M.T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axlerblin, F. Vezinetbrun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, L. Montagnier, *Science* **1983**, *220*, 868.
- ³⁰ H. J. Alter, J. W. Eichberg, H. Masur, W. C. Saxinger, R. Gallo, A. M. Macher, H.C. Lane, A. S. Fauci, *Science* **1984**, *226*, 549.
- ³¹ C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *Immunologie*, 5. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2002**, Kap. 11.
- ³² F. Gao, E. Bailes, D. L. Robertson, Y. Chen, C. M. Rodenburg, S. F. Michael, L. B. Cummins, L. O. Arthur, M. Peeters, G. M. Sharp, B. H. Hahn, *Nature* **1999**, *397*, 436.
- ³³ V. M. Hirsch, R. A. Olmsted, M. Murphey-Corb, R. H. Purcell, P. R. Johnson, *Nature* **1989**, *339*, 389.
- ³⁴ R. K. Strair, J. W. Mellors, *AIDS Updates* **1994**, *6*, 1.
- ³⁵ UNAIDS/WHO, *AIDS epidemic update*, December **2005**.
- ³⁶ D. C. Douek, J. M. Brenchley, M. R. Betts, D. R. Ambrozak, B. J. Hell, Y. Okamoto, J. P. Cazazza, J. Kuruppu, K. Kunstman, S. Wolinsky, Z. Grossman, M. Dybul, A. Oxenius, D. A. Price, M. Connors, R. A. Koup, *Nature* **2002**, *417*, 95.
- ³⁷ D. Aboulafia, *Oncology* **1998**, *12*, 1068.
- ³⁸ a) O. Martinez-Maza, E. C. Breen, *Curr. Opin. Oncol.* **2002**, *14*, 528; b) J. Hamilton, M. McBride, P. Kettle, *Ulster Med. J.* **2002**, *71*, 72.
- ³⁹ D. C. Chan, P. S. Kim, *Cell* **1998**, *93*, 681.
- ⁴⁰ M. J. Selby, B. M. Peterlin, *Cell* **1990**, *62*, 769.
- ⁴¹ T. M. Rana, K. T. Jeang, *Arc. Biochem. Biophys.* **1999**, *365*, 175.
- ⁴² S. M. Kingsman, A. J. Kingsman, *Eur. J. Biochem.* **1996**, *240*, 491.
- ⁴³ J. K. Jones, *Genes dev.* **1997**, *11*, 2593.
- ⁴⁴ K. Yankulov, D. Bentley, *Curr. Biol.* **1998**, *8*, 447.
- ⁴⁵ P. Wei, M. E. Garber, S. M. Fang, W. H. Fischer, K. A. Jones, *Cell* **1998**, *92*, 451.
- ⁴⁶ Y. Zhu, T. Pe'ery, J. Peng, Y. Ramanathan, N. Marshall, T. Marshall, B. Ahmendt, M. B. Mathews, D. H. Price, *Genes Dev.* **1997**, *11*, 2622.

- ⁴⁷ T. P. Cujec, H. Okamoto, K. Fujinaga, J. Meyer, H. Chamberlin, D. O. Morgan, B. M. Peterlin, *Genes Dev.* **1997**, *11*, 2645.
- ⁴⁸ J. P. Taylor, K. Khalili, *Adv. Neuroimmunol.* **1994**, *4*, 291.
- ⁴⁹ M. Niikura, G. Dornaldura, H. Zhang, M. Mukhtar, D. Lingxuan, K. Khalili, O. Bagasra, R. J. Pomerantz, *Oncogen* **1996**, *13*, 313.
- ⁵⁰ L. Yang, G. F. Morris, J. M. Lockyer, M. Lu, Z. Wang, C. B. Morris, *Virology* **1997**, *235*, 48.
- ⁵¹ J. P. Taylor, R. J. Pomerantz, J. W. Oakes, K. Khalili, S. Amini, *Oncogene* **1995**, *10*, 395.
- ⁵² J. Kjems, P. Askjaer, *Adv. Pharmacology* **2000**, *48*, 251.
- ⁵³ A. M. Szilvay, K. A. Brokstad, R. Kopperud, G. Haukenes, K. H. Kalland, *J. Virology* **1995**, *69*, 3315.
- ⁵⁴ B. K. Felber, M. Hadzopoulou-Cladaras, T. Copeland, G. N. Pavlakis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 1495.
- ⁵⁵ L. S. Tiley, M. H. Malim, K. H. Tewary, P. G. Stockley, B. R. Cullen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1992**, *89*, 758.
- ⁵⁶ R. Tan, A. D. Frankel, *Biochemistry* **1994**, *33*, 14570.
- ⁵⁷ T. J. Daly, R. C. Doten, P. Rennert, M. Auer, H. Jaksche, A. Donner, G. Fisk, J. R. Rusche, *Biochemistry* **1993**, *32*, 10497.
- ⁵⁸ J. L. Cole, J. D. Gehman, J. A. Shafer, L. C. Kuo, *Biochemistry* **1993**, *32*, 11769.
- ⁵⁹ M. H. Malim, B. R. Cullen, *Cell* **1991**, *65*, 241.
- ⁶⁰ S. J. Arrigo, I. S. Chen, *Genes Dev.* **1991**, *5*, 808.
- ⁶¹ N. Richard, S. Sacampo, A. Cochrane, *Virology* **1994**, *204*, 123.
- ⁶² M. Fornerod, M. Ohno, M. Yoshida, I. W. Mattaj, *Cell* **1997**, *90*, 4128.
- ⁶³ E. Izauralde, U. Kutay, C. von Kobbe, I. W. Mattaj, D. Gorlich, *Embo J.* **1997**, *16*, 6535.
- ⁶⁴ V. W. Pollard, M. H. Malim, *Annu. Rev. Microbiol.* **1998**, *52*, 491.
- ⁶⁵ M. Fukuda, S. Asano, T. Nakamura, M. Adachi, M. Yoshida, M. Yanagida, E. Nishida, *Nature* **1997**, *390*, 308.
- ⁶⁶ P. Piliero, *AIDS Read.* **2004**, *14*, 655.
- ⁶⁷ R. T. Batey, R. P. Rambo, J. A. Doudna, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2472.
- ⁶⁸ C. S. Chow, F. M. Bogdan, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1489.
- ⁶⁹ a) W. Saenger in *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer-Verlag, New York, **1984**; b) C. J. Alden, S. H. Kim, *J. Mol. Biol.* **1979**, *132*, 411; c) K. M. Weeks, D. M. Crothers, *Science* **1993**, *261*, 1574.
- ⁷⁰ S. H. Kim, J. L. Sussman, F. L. Suddath, G. J. Quigley, A. McPherson, A. H. J. Wang, N. C. Seeman, A. Rich, *Proc. Natl. Sci. USA.* **1974**, *71*, 4970.

- ⁷¹ a) G. J. Quigley, A. Rich, *Science* **1976**, *19*, 796; b) E. Westhof, P. Dumas, D. Moras, *J. Mol. Biol.* **1985**, *184*, 119; D. J. Patel, L. Shapiro, D. Hare, *Q. Rev. Biophys.* **1987**, *20*, 78.
- ⁷² V. Luzzati, F. Masson, L. S. Lerman, *J. Mol. Biol.* **1961**, *3*, 634.
- ⁷³ K. Nadassy, S. J. Wodak, J. Janin, *Biochemistry* **1999**, *38*, 1999.
- ⁷⁴ a) K. Nagai, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 53; b) S. Cusack, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 66.
- ⁷⁵ a) D. J. Patel, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, *9*, 74; b) D. E. Draper, L. P. Reynldo, *Nucleic Acid Res.* **1999**, *27*, 381.
- ⁷⁶ T. Hermann, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1962.
- ⁷⁷ a) D. E. Draper, V. K. Misra, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, *5*, 927; b) A. L. Feig, O. C. Uhlenbeck in *The RNA World*, 2. Aufl. (Hrsg.: R. F. Gesteland, T. R. Cech, J. F. Atkins), Cold Spring, Harbour Laboratory Press, New York, **1999**, S. 296-298.
- ⁷⁸ C. F. Anderson, M. T. Record, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1995**, *46*, 657.
- ⁷⁹ T. Hermann, *Biopolymers* **2003**, *70*, 4.
- ⁸⁰ T. R. Zembower, G. A. Noskin, M. J. Postelnick, C. Nguyen, L. R. Peterson, *Int. J. Antimicrob. Agents* **1998**, *10*, 95.
- ⁸¹ G. F. Busscher, F. P. J. T., Rutjes, F. L. van Delft, *Chem. Rev.* **2004**, *105*, 775.
- ⁸² L. Ratmeyer, M. L. Zapp, M. R. Green, R. Vinayak, A. Kumar, D. W. Boykin, W. D. Wilson, *Biochemistry* **1996**, *35*, 13689.
- ⁸³ H.-Y. Mei, D. P. Mack, A. A. Galan, N. S. Halim, A. Heldsinger, J. A. Loo, K. A. Sannes-Lowery, L. Sharmeen, A. W. Czarnik, *Biochemistry* **1998**, *37*, 14204.
- ⁸⁴ P. Burgstaller, M. Famulok, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1137.
- ⁸⁵ H. Wank, J. Rogers, J. Davies, R. Schroeder, *J. Mol. Biol.* **1994**, *236*, 1001.
- ⁸⁶ H. An, B. D. Haly, P. D. Cook, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 2345.
- ⁸⁷ F. Hamy, V. Brondani, A. Florsheimer, W. Stark, M. J. Blommers, T. Klimkait, *Biochemistry* **1998**, *37*, 5086.
- ⁸⁸ W. C. Park, M. Auer, H. Jaschke, C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10150.
- ⁸⁹ C. H. Wong, M. Hendrix, D. D. Manning, C. Rosenbohm, W. A. Greenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8319.
- ⁹⁰ D. Vourloumis, M. Takahashi, K. B. Simonsen, B. K. Ayida, S. Barluenga, G. C. Winters, T. Hermann, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2807.
- ⁹¹ D.-R. Ahn, J. Yu, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1177.
- ⁹² a) F. Abdoul-ela, J. Karn, G. Varani, *Nucleic Acid Res.* **1996**, *24*, 3974; b) H. Y. Mei, A. A. Galan, N. S. Halim, D. P. Mack, D. W. Moreland, W. David, K. B. Sanders, H. N. Truong, A. W. Czarnik, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2755.
- ⁹³ T. Hermann, E. Westhof, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1250.

- ⁹⁴ A. Farese-Di Giorgio, S. Pairot, N. Patino, R. Condom, C. Di Gorgio, A. Aumelas, A. M. Aubertin, R. Guedj, *Nucleosides Nucleotides* **1999**, *18*, 263.
- ⁹⁵ a) H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 436; b) J. Minami, Y. Shashi, I. Shimizu, J. Tsuji, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 2449; c) Boulanger, G. Descotes, *Tetrahedron Lett* **1986**, *27*, 4259; d) O. Danlges, F. Guibé, G. Balavoine, S. Lavielle, A. Marquet, *J. Org. Chem* **1987**, *52*, 4984; e) C. Unverzagt, H. Kunz, *Bioorg. Med. Chem* **1994**, *2*, 1189; f) E. C. Roos, P. Bernabe, H. Hiemstra, W. N. Speckamp, B. Kaptein, W. H. J. Boesten, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 1733; g) A. Merzouk, F. Guibe, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *28*, 173; h) J. Le, J. H. Griffin, T. I. Nicas, *J. Org. Chem* **1996**, *61*, 3983.
- ⁹⁶ T. D. Nelson, R. D. Crouch, *Synthesis* **1996**, 1031.
- ⁹⁷ Y. Oikawa, T. Yoshioka, O. Yonemitsu, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 885.
- ⁹⁸ a) J. M. G. Fernandez, C. O. Mellet, J. L. J. Blanco, J. F. Mota, A. Gabelle, *Carbohydr. Res.* **1995**, *268*, 57; b) J. Budka, M. Tkadlecova, P. Lhotak, I. Stibor, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 1883; c) H. Parrot-Lopez, H. Galons, A. W. Coleman, F. Djedaini, N. Keller, B. Perly, *Tetrahedron: Assymetry* **1990**, *1*, 367; d) K. Hamasaki, H. Ikeda, A. Nakamura, A. Ueno, F. Toda, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5035.
- ⁹⁹ M. Schultz, *Dissertation*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1994**.
- ¹⁰⁰ u.a.: T. Wunberg, *Dissertation*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1997**.
- ¹⁰¹ a) G. Zemplén, A. Kunz, *Chem. Ber.* **1923**, *56*, 1705; B. Reinhard, H. Faillard, *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 193.
- ¹⁰² H. G. Fletscher, *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, *2*, 307.
- ¹⁰³ P. G. Gassman, L. M. Haberman, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5010.
- ¹⁰⁴ a) R. Johansson, B. Samuelsson, *J. Am. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 201; b) B. Becker, J. Thiem, *Tetrahedron Asymmetry* **1994**, *5*, 2339, c) T. Gustafsson, M. Schou, F. Almquist, J. Kihlberg, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 8694.
- ¹⁰⁵ H. Sakagami, H. Hamana, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5547.
- ¹⁰⁶ M. Madaliński, laufende Arbeiten zur Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- ¹⁰⁷ C.-H. Lin, T. Sugai, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10138.
- ¹⁰⁸ Mitsunobu, *Synthesis*, **1981**, 1.
- ¹⁰⁹ J.-M. Kim, Y. Bi, S. Paikoff, P. G. Schultz, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5305.
- ¹¹⁰ a) W. Meyer zu Reckendorf, N. Wassaliadou-Micheli, *Chem. Ber.* **1974**, *107*, 1188; b) O. Kanie, S. C. Crawley, M. M. Palcic, O. Hindsgaul, *Carbohydr. Res.* **1993**, *243*, 139.
- ¹¹¹ W. H. Pearson, R. Walavalkar, J. M. Schkeryantz, W.-K. Fang, J. D. Blickensdorf, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10183.
- ¹¹² B. Liessem, A. Giannis, K. Sandhoff, M. Nieger, *Carbohydrat Res.* **1993**, *250*, 19.

- ¹¹³ a) K. Banert, W. Kirmse, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 3766; b) K. Banert, F. Köller, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 176.
- ¹¹⁴ A. S. Thompson, G. R. Humphrey, A. M. De Marco, D. J. Mathre, E. J. J. Grabowski, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5886.
- ¹¹⁵ C. Yu, B. Lin, L. Hu, *Org. Lett.* **2000**, *13*, 1959.
- ¹¹⁶ M. Wada, O. Mitsunobu, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 12790.
- ¹¹⁷ O. Mitsunobu, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 4235.
- ¹¹⁸ M. C. Vaud, P. Rollin, *Synthesis* **1990**, *2*, 130.
- ¹¹⁹ T. F. Walsch, R. B. Toupence, F. Ujjainwalla, J. R. Young, M. T. Goulet, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 5233.
- ¹²⁰ a) H. H. Brandstetter, E. Zbiral *Helv. Chim. Acta* **1980**, *63*, 327; b) M. Bessodes, M.-J. Egron, J. Filippi, K. Antonakis, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1990**, 3035; c) O. Plettenburg, V. Bodmer-Narkevitch, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4559.
- ¹²¹ a) B. Lal, B. N. Pramanik, M. S. Manhas, A. K. Bose, *Tetrahedron Lett.* **1977**, *23*, 1977; b) W. H. Pearson, S. C. Bermeier, J. P. Williams, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 3977.
- ¹²² a) H. Kunz, P. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *23*, 2123; b) H. Kunz, P. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, *7*, 1245; c) P. Schmidt, *Dissertation* **1981**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- ¹²³ G. Papeo, H. Posteri, P. Vianello, M. Varasi, *Synthesis* **2004**, *17*, 2886.
- ¹²⁴ H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *42*, 3787.
- ¹²⁵ E. Bayer, W. Rapp in *Chemistry of Peptides and Proteins* (Hrsg.: W. Voelter, E. Bayer, Y.A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov), Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York, **1986**, 3. Auflage.
- ¹²⁶ a) L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 5784; b) L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3404.
- ¹²⁷ Novabiochem, *Synthesis Notes*, **2005**.
- ¹²⁸ M. Honda, H. Morita, I. Nagakura, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8932.
- ¹²⁹ a) H. Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635; b) E. J. Corey, B. Samuelsson, F. A. Luzzio, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3682.
- ¹³⁰ I. Abdelmoty, F. Albericio, L. A. Carpino, B. M. Foxman, S. A. Kates, *Lett. Pept. Sci.* **1994**, *57*.
- ¹³¹ B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 556.
- ¹³² W. Steglich, G. Höfle, *Angew. Chem.* **1969**, *81*, 1001.
- ¹³³ a) M. R. Salmon, G. Powell, *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 3507; b) A. J. Bloodworth, A. G. Davies, *J. Chem. Soc.* **1965**, 6858; c) J. C. Stowell, *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 3056.
- ¹³⁴ J. P. Malkinson, R. A. Falconer, I. Toth, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 5249.

- ¹³⁵ a) K. Toshima, K. Tatsuta, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1503; b) P. J. Garegg, *Adv. Carbohydrate Chem. Biochem.* **52**, 179; c) Z. Zhang, I. R. Ollmann, X.-S. Ye, R. Wischnat, T. Baasov, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 734.
- ¹³⁶ S. Koto, T. Uchida, S. Zen, *Chem. Lett.* **1972**, 1049.
- ¹³⁷ a) K. C. Nicolaou, S. P. Seitz, D. P. Papahatjis, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2430; b) P. Konradson, U. E. Udodong, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 275; c) G. H. Veeneman, S. H. van Leeuwen, J. H. van Boom, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1331.
- ¹³⁸ a) S. C. Ennis, A. J. Fairbanks, R. J. Tennant-Eyles, H. S. Yeates, *Synlett*, **1999**, 1387; b) K. Egusa, K. Fukase, Y. Nakai, S. Kusumoto, *Synlett*, **2000**, 27.
- ¹³⁹ P. Boullanger, G. Decotes, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 2599.
- ¹⁴⁰ H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 426.
- ¹⁴¹ A. Merzouk, F. Guibé, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 477.
- ¹⁴² I. Minami, Y. Okashi, I. Shimizu, J. Tsuji, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 2449.
- ¹⁴³ K. Horita, T. Yoshioka, T. Tanaka, Y. Oikawa, O. Yohemitsu, *Tetrahedron* **1986**, *42*, 3021.
- ¹⁴⁴ R. F. Paulain, A. L. Tartar, B. P. Déprez, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1495.
- ¹⁴⁵ D. D. Perrin, W. L. F. Amarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd ed., Pergamon Press, Oxford, **1988**.
- ¹⁴⁶ International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry, *Pure Appl. Chem.* **1994**, *56*, 595-624.
- ¹⁴⁷ M. C. Viaud, P. Rollin, *Synthesis* **1989**, 130.
- ¹⁴⁸ L. Gattermann, H. Wieland in *Die Praxis der org. Chemikers*, Walter de Gruyter GmbH & Co., Berlin, New York, **1961**, 40. Auflage., S. 138.
- ¹⁴⁹ O. S. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 4244-4246.
- ¹⁵⁰ P. Carloni, E. Damiani, M. Iacussi, L. Greci, P. Stipa, *Tetrahedron*, **1995**, *45*, 12445.
- ¹⁵¹ H. Zhao, T. Burke, R. Terrence, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 4219.
- ¹⁵² D. A. Heyman, *J. Heterocycl. Chem.* **1978**, *15*, 1311.
- ¹⁵³ P. Boullanger, *Carbohydr. Res.* **1990**, *151*, 202.
- ¹⁵⁴ H. Roeper, K. Heyns, S. Roeper, B. Meyer, *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 780-793.

7 SPEKTRENANHANG

