

**Synthese von polymergebundenen Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-  
Strukturen und deren Mimetika als  
Zelladhäsionsinhibitoren für  
E-, L- und P-Selektin**

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

Kai E. Moog  
geboren in Bad Soden/Ts.

Mainz, im September 2011



Dekan: Prof. Dr. \*\*\*\*\*  
1. Berichterstatter: Prof. Dr. \*\*\*\*\*  
2. Berichterstatter: Prof. Dr. \*\*\*\*\*

Tag der mündlichen Prüfung: 31. Oktober 2011



Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum  
von Dezember 2008 bis August 2011  
am Institut für Organische Chemie der  
Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. \*\*\*\*\*  
und Herrn Prof. Dr. \*\*\*\*\* angefertigt.



„Je tiefer man die Schöpfung erkennt,  
umso größere Wunder entdeckt man in ihr.“

Martin Luther  
(1483-1546)





*Für meine Familie*



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Kohlenhydrate und Krankheitsgeschehen.....	1
1.2	Das Entstehen einer Entzündung .....	3
1.3	Selektine.....	5
1.4	Liganden der Selektine .....	7
1.4.1	Liganden des P-Selektins.....	8
1.4.2	Liganden des L-Selektins .....	10
1.4.3	Liganden des E-Selektins .....	10
1.5	Polymere Therapeutika und das Konzept der Multivalenz.....	11
1.6	Reaktivester-Polymere als Vorstufen der polymeren Therapeutika .....	14
1.7	Multivalenz .....	16
1.8	Cyclodextrine und Wirkstofftransport .....	19
<b>2</b>	<b>Zielsetzung</b> .....	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>Allgemeiner Teil</b> .....	<b>27</b>
3.1	Die Monosaccharide und der Spacer .....	27
3.1.1	Der Glucosamin-Baustein.....	27
3.1.2	Der Fucose-Baustein.....	29
3.1.3	Der Galactose-Baustein .....	30
3.1.4	Der Neuraminsäure-Baustein.....	32
3.1.5	Der Tetraethylenglycol-Spacer .....	33
3.2	Die Oligosaccharide.....	35
3.2.1	Der Disaccharid-Baustein.....	35
3.2.2	Der Lewis <sup>x</sup> -Baustein.....	37
3.2.3	Der Sialyl-Lewis <sup>x</sup> -Baustein .....	42
3.2.4	Die Selektivität von Pentafluorphenylestern .....	53
3.2.5	Die Bedeutung der hydrogenolytischen Abspaltung von Fmoc .....	55
3.3	Der Fluoreszenzfarbstoff.....	57
3.3.1	Die Markierung von Sialyl-Lewis <sup>x</sup> mit Fluoreszenzfarbstoff .....	61
3.4	Die mimetischen Liganden .....	64
3.4.1	Der Fucose-Ligand .....	64
3.4.2	Der Galactose-Ligand.....	66
3.4.3	Der Neuraminsäure-Ligand .....	67
3.4.4	Der (S)-Cyclohexylalanin-Ligand .....	70
3.4.5	Der Tyramin-Ligand.....	73

3.5	Die Polymere .....	76
3.5.1	Die Grundlagen der freien radikalischen Polymerisation.....	76
3.5.2	Die kontrollierte radikalische Polymerisation .....	79
3.5.3	Die RAFT-Polymerisation.....	82
3.5.4	Das RAFT-Kettentransferreagenz .....	84
3.5.5	Das Monomer und die RAFT-Polymerisation.....	85
3.6	Polymeranaloge Umsetzungen.....	88
3.6.1	Das Referenz-Polymer .....	91
3.6.2	Die Sialyl-Lewis <sup>x</sup> -Polymere .....	92
3.6.3	Die polymeren Mimetika.....	98
3.7	Multivalenz und Wirkstofftransport auf Basis von Cyclodextrinen .....	102
3.7.1	Der Cyclodextrin-Reaktivester .....	102
3.7.2	Der Cyclodextrin-Wirkstofftransporter .....	106
3.8	Biologische Evaluierung .....	114
3.8.1	Bekannte multivalente Effekte von Sialyl-Lewis <sup>x</sup> .....	114
3.8.2	Funktionsweise des SPR-Verfahrens.....	116
3.8.3	Probenvorbereitung.....	119
3.8.4	Bestimmung der IC <sub>50</sub> -Werte an E-Selektin .....	121
3.8.5	Bestimmung der IC <sub>50</sub> -Werte an L-Selektin .....	124
3.8.6	Bestimmung der IC <sub>50</sub> -Werte an P-Selektin.....	126
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>129</b>
<b>5</b>	<b>Experimenteller Teil.....</b>	<b>141</b>
5.1	Allgemeines und Messgeräte .....	141
5.2	Die Synthesen der Monosaccharide und des Spacers .....	153
5.2.1	Die Synthese des Glucosamin-Bausteins.....	153
5.2.2	Die Synthese des Fucose-Bausteins.....	157
5.2.3	Die Synthese des Galactose-Bausteins .....	160
5.2.4	Die Synthese des Neuraminsäure-Bausteins .....	165
5.2.5	Die Synthese des Spacers .....	167
5.3	Die Synthesen der Oligosaccharide .....	171
5.3.1	Die Synthese des Disaccharids .....	171
5.3.2	Die Synthese des Lewis <sup>x</sup> -Bausteins.....	174
5.3.3	Die Synthesen der Sialyl-Lewis <sup>x</sup> -Bausteine .....	177
5.4	Prüfung der selektiven Reaktivität von Pentafluorphenylestern.....	190
5.5	Die Synthesen der Fluoreszenzfarbstoffe .....	192
5.5.1	Die Fluoreszenzmarkierung von Sialyl-Lewis <sup>x</sup> .....	199
5.6	Die Synthesen der mimetischen Liganden.....	201
5.6.1	Die Synthese des Fucose-Liganden .....	201
5.6.2	Die Synthese des Galactose-Liganden.....	203

5.6.3	Die Synthese des Neuraminsäure-Liganden .....	207
5.6.4	Die Synthese des (S)-Cyclohexylalanin-Liganden .....	210
5.6.5	Die Synthese des Tyramin-Liganden.....	215
5.7	Die Synthesen der Polymere .....	217
5.7.1	Die Synthese des Kettentransferreagenzes .....	217
5.7.2	Die Synthese des Monomers .....	219
5.7.3	Die Synthese des Polymers.....	220
5.8	Die polymeranalogen Umsetzungen .....	221
5.9	Die Synthesen der Cyclodextrin-Derivate .....	230
5.9.1	Die Synthese und Umsetzung des $\beta$ -Cyclodextrin-Reaktivesters .....	230
5.9.2	Die Synthese des $\beta$ -Cyclodextrin-Wirkstofftransporters.....	235
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>241</b>
<b>7</b>	<b>Spektrenanhang.....</b>	<b>255</b>
7.1	NMR-Spektren .....	255
7.2	ESI-Massenspektren .....	271



# Abkürzungsverzeichnis

$\alpha$	Spezifischer Drehwert	Cyclo	(S)-Cyclohexylalanin-
Å	Ångström		Baustein, Cyclohexylrest
Abb.	Abbildung(en)	$\delta$	Chemische Verschiebung
absol.	absolut	d	Tag(e); Dublett
Ac	Acetyl	DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]- undec-7-en
ACN	Acetonitril		
AIBN	Azo-bis-(isobutyronitril)	DC	Dünnschicht- chromatographie
All	Allyl		
äq	äquatorial	DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexyl- carbodiimid
Äquiv.	Äquivalent(e)		
Ar	Aryl	dd	Dublett vom Dublett
ATRP	Atom Transfer Radical Polymerization	ddd	Dublett vom Dublett vom Dublett
ax	axial	DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
b	breites NMR-Signal		
BB	Breitband		
ber.	berechnet	dest.	destilliert
Bn	Benzyl	dq	Dublett vom Quartett
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl	dt	Dublett vom Triplet
br	breites NMR-Signal	DIPEA	<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin
Bz	Benzoyl	DMAP	4-Dimethylaminopyridin
Bzn	Benzyliden	DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
c	Konzentration	EDC x HCl	<i>N</i> -Ethyl- <i>N'</i> -(3-dimethyl- aminopropyl)- carbodiimid Hydrochlorid
C	Celsius		
CD	Cyclodextrin, Cluster of Differentiation	EDTA	Ethylendiamin- tetraessigsäure
cHex	Cyclohexan		
COSY	Correlated Spectroscopy	EGF	Epidermal Growth Factor
CRD	Carbohydrate Recognition Domain	ELAM-1	Endotheliales Leukozyten-Adhäsions- Molekül-1
CTA	Chain Transfer Agent		

ESI	Electrospray Ionisation	HR	High Resolution
ESL-1	E-Selektin-Ligand-1	HSQC	Heteronuclear Single
Et	Ethyl		Quantum Coherence
FCS	Fluorescence Correlation	Hz	Hertz
	Spectroscopy	ICAM-1	Intercellular Adhesion
FD	Field Desorption		Molecule-1
FFS	Fluoreszenzfarbstoff	IgG	Immunglobulin G
Fmoc	Fluoren-9-yl-	IUPAC	International Union of
	methoxycarbonyl		Pure and Applied
Fuc	L-Fucose		Chemistry
g	Gramm	<i>J</i>	Kopplungskonstante
Gal	D-Galactose	l	Liter
gef.	gefunden	LAM-1	Leukozyten-Adhäsions-
ges.	gesättigt		Molekül-1
GlcN	D-Glucosamin	LECAM	Lectin Adhesion
GlyCAM-1	Glycosylation-dependent		Molecule
	Cell Adhesion Molecule1	Lit.	Literatur
GMP-140	Granule Membrane	LM	Lösemittel
	Protein-140	<i>m</i>	meta
h	Stunde(n), Heptett	m	Meter; Multiplett
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-	M	Molar
	piperazinyl)-ethan-	MadCAM-1	Mucosal Addressin Cell
	sulfonsäure		Adhesion Molecule-1
HMBC	Heteronuclear Multiple	<i>m<sub>c</sub></i>	zentriertes Multiplett
	Bond Correlation	Me	Methyl
HMQC	Heteronuclear Multiple	min	Minute(n)
	Quantum Coherence	mol	Mol
HOSu	N-Hydroxysuccinimid	MS	Molekularsieb;
HPA	2-Hydroxypropylamid-		Massenspektrometrie
	Einheit	MWCO	Molecular Weight Cut
HPLC	High Performance Liquid		Off
	Chromatography	Neu5Ac	<i>N</i> -Acetyl-D-
HPMA	<i>N</i> -(2-Hydroxypropyl)-		neuraminsäure
	methacrylamid		



NMP	Nitroxide Mediated Polymerization	Smp.	Schmelzpunkt
		Spa	Spacer
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	SPR	Surface-Plasmon- Resonance
<i>o</i>	ortho	sTyr	sulfatiertes Tyramin
<i>p</i>	para	t	Triplett
p.a.	pro analysi	T	Temperatur
PDI	Polydispersitätsindex	TBAF	Tetra- <i>n</i> -butyl- ammoniumfluorid
Pfp	Pentafluorphenol		
Ph	Phenyl	TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
Phth	Phthalimid	TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
PMA	Polymethacrylamid	TCA	Trichloracetonitril
ppm	parts per million	TEA	Triethylamin
PSGL-1	P-Selektin-Glycoprotein- Ligand-1	TEMPO	2,2,6,6-Tetramethyl- piperidinyloxyl
PTFE	Polytetrafluorethylen	<i>tert</i>	tertiär
PVDF	Polyvinylidenfluorid	tdd	Triplett vom Dublett vom Dublett
q	Quartett; quartär		
q*	Pseudoquartett	Tf	Triflat
quant.	quantitativ	TFA	Trifluoressigsäure
RAFT	Reversible addition– fragmentation chain transfer	THF	Tetrahydrofuran
		TMA	Trimellitsäureanhydrid
Raumtemp.	Raumtemperatur	TMS	Trimethylsilyl
$R_f$	Retentionsfaktor	TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
RP	Reversed-Phase	TOCSY	Total Correlated Spectroscopy
$R_t$	Retentionszeit	Tol	Toluol
RU	Resonance Unit	Troc	2,2,2-Trichlor- ethoxycarbonyl
s	Singulett		
SCR	Short Consensus Repeats	TsOH	Toluolsulfonsäure
Sia	Sialinsäure / <i>N</i> -Acetyl-D- neuraminsäure	Tyr	Tyramin
		UpM	Umdrehungen pro Minute
SLe <sup>a</sup>	Sialyl-Lewis <sup>a</sup>	UV	Ultraviolett
SLe <sup>x</sup>	Sialyl-Lewis <sup>x</sup>	Xan	Xanthogenat



# 1 Einleitung

## 1.1 Kohlenhydrate und Krankheitsgeschehen

Kohlenhydrate sind nachwachsende Rohstoffe, die ein vielfältiges Aufgabenspektrum im pflanzlichen, tierischen und menschlichen Organismus erfüllen. Sie dienen nicht nur der Energiespeicherung, der Ernährung oder der Stabilisierung von Zellwänden, sondern sie sind auch von größter Wichtigkeit für die Zell-Zell-Wechselwirkungen und für die Unterscheidung zwischen körpereigenen sowie körperfremden Strukturen. Somit spielen sie auch eine große Rolle für die embryonale Entwicklung und die Entstehung von Entzündungen.<sup>[1,2]</sup>

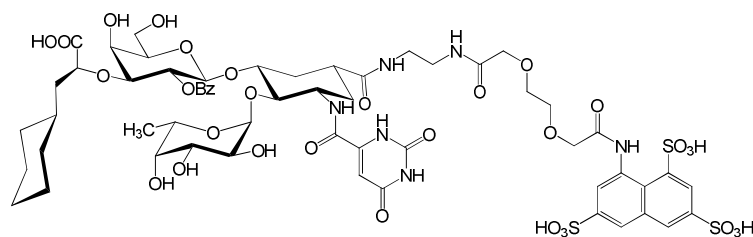
Auch kommt den Kohlenhydraten bei einer Reihe von infektiösen, inflammatorischen und tumorösen Erkrankungen eine besondere Bedeutung zu. Hervorzuheben sind hier die rheumatoide Arthritis<sup>[3]</sup>, die Sichelzellenanämie<sup>[4,5]</sup> sowie Metastasierungsprozesse<sup>[6-9]</sup> bei verschiedenen Tumoren. Ein Zusammenhang wird auch bei den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, wie Morbus Crohn<sup>[10]</sup> und Colitis Ulcerosa<sup>[11]</sup>, vermutet. Diese Erkrankungen sind mit der (Über)-Expression von Selektinen und der Wechselwirkung mit kohlenhydrathaltigen Liganden, die das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup> enthalten, in Verbindung zu bringen.

Die rheumatoide Arthritis (Synonym: chronische Polyarthritits) stellt die häufigste Form der Arthritis dar, die bei einem Anteil von 1 % der Gesamtbevölkerung auftritt.<sup>[12]</sup> Die chronische Entzündung verläuft schubweise und entwickelt sich hauptsächlich in den Synovialmembranen der Gelenke. Betroffen sein können aber auch die Schleimbeutel, Augen und innere Organe. Nach einem Zeitraum von 20 Jahren wird bei durchschnittlich 43 % der Patienten eine maximale Schädigung der Gelenke und betroffenen Areale festgestellt.<sup>[13]</sup> Diese sehr schmerzhaften Schädigungen äußern sich in Gelenkdeformationen, die mit einer vollständigen Versteifung der Gelenke einhergehen können.

Bei der rheumatoiden Arthritis handelt es sich um ein komplexes Krankheitsbild, deren Ursachen nicht genau bekannt sind. Es werden aktuell genetische Dispositionen sowie Störungen des Immunsystems angenommen.<sup>[14]</sup> Die übliche Behandlung dieser Erkrankung erfolgt medikamentös mit nichtsteroidalen (NSAR) sowie steroidalen Antirheumatika. Beide Klassen von antiinflammatorisch wirksamen Substanzen weisen

eine Reihe von nicht unerheblichen Nebenwirkungen auf, insbesondere dann, wenn über einen längeren Zeitraum und mit einer hohen Dosierung eine Behandlung erforderlich wird. Die Nebenwirkungen reichen bei den nichtsteroidalen Antirheumatika von Magengeschwüren bis hin zu schweren Nierenschädigungen; bei den steroidalen Antirheumatika ist ein Knochenverlust (Osteoporose) sowie eine deutliche Gewichtszunahme der Patienten meist unvermeidlich.<sup>[15,16]</sup>

Die als Erbkrankheit bekannte Sichelzellenanämie wird durch den fehlerhaften Einbau der Aminosäure Valin anstelle der Glutaminsäure in einer  $\beta$ -Untereinheit des Hämoglobins verursacht.<sup>[17]</sup> Dies führt bei Sauerstoffmangel zur Bildung abnormer Erythrozyten, die sichelförmig anstatt plättchenförmig geformt sind. Durch diese Formunregelmäßigkeit kommt es zur Koagulation der Blutplättchen, die im Organismus eine arterielle Durchblutungsstörung verursachen können. Dies kann die verschiedensten Organe wie Gehirn, Lunge, Leber, Niere, Augen oder Milz in Mitleidenschaft ziehen.<sup>[18]</sup> Die sichelzellartigen Erythrozyten können aufgrund multivalenter Wechselwirkungen effektiver an P-Selektin binden als ihre gesunden Analoga.<sup>[19]</sup> Um die vermehrte Bindung an P-Selektin zu inhibieren, entwickelte die Arbeitsgruppe Ernst (Schweiz) in Kooperation mit der Firma *Glyco Mimetics* (USA) ein Mimetikum (s. Abb. 1.1) auf Basis von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>, das im Stande ist, die Erkrankung am Fortschreiten zu hindern. Aktuell befindet sich das Mimetikum in Phase-II der klinischen Prüfung. Dieses Beispiel zeigt eindrucksvoll, dass auch die Synthese von komplexen Arzneimitteln durchgeführt wird und praktische Anwendung findet.<sup>[20,21]</sup>



**Abb. 1.1:** Mimetikum (GMI-1070) zur Behandlung der Sichelzellenanämie.<sup>[20]</sup>

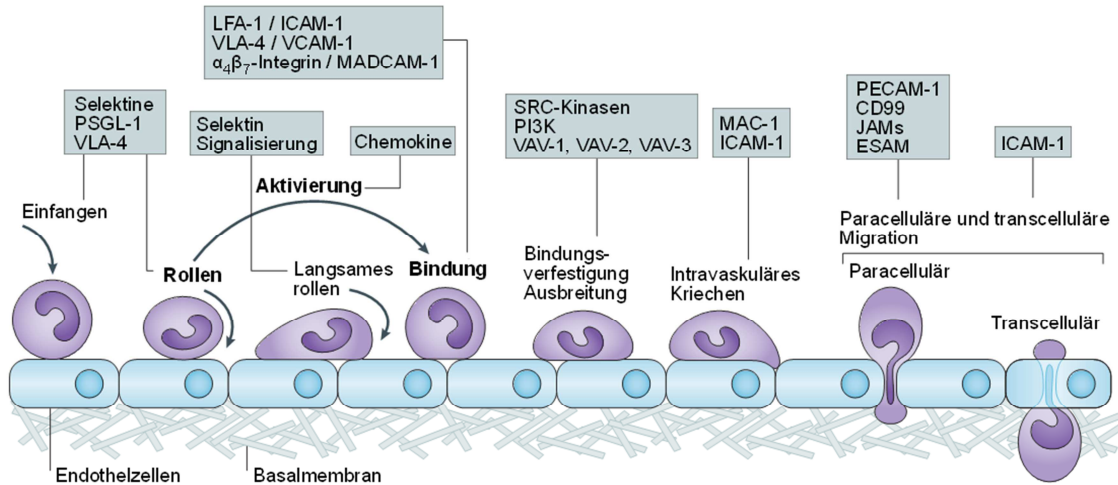
Bei der Metastasierung von Tumorzellen spielen Kohlenhydratwechselwirkungen ebenfalls eine entscheidende Rolle. So konnte nachgewiesen werden, dass bei Brustkrebs<sup>[9,22]</sup>, Lungenkrebs<sup>[23]</sup>, Darmkrebs<sup>[24]</sup> sowie Prostatakrebs<sup>[25]</sup> eine Wechselwirkung von exprimierten Kohlenhydratstrukturen auf den entsprechenden Metastasen mit Selektinen

stattfindet. Ähnlich, wie für die inflammatorische Kaskade (s. Abb. 1.2) beschrieben, können die metastasierenden Zellen an das Gefäßendothel binden, um dort in gesundes Gewebe zu infiltrieren. Dies hat einen Tochtertumor zur Folge, der die Mortalität der Patienten deutlich erhöht. Bei PSGL-1-defizienten Mäusen, denen man humane Darmkrebszellen injiziert hat, konnte im Vergleich zu in PSGL-1 nicht defizienten Mäusen eine deutlich geringere Metastasierung in der Lunge beobachtet werden.<sup>[26]</sup> Auch aus diesem Grund ist die Entwicklung von Zelladhäsionsinhibitoren von großer Bedeutung.

## 1.2 Das Entstehen einer Entzündung

Wird der Ablauf eines inflammatorischen Geschehens betrachtet, so steht im akuten Fall einer Entzündung die Ursache dafür im Vordergrund. So können für eine Entzündung als Noxe mikrobiologische Einflüsse (Bakterien, Pilze, Viren), physikalische (Wärme, Kälte, Reibung, Strahlung) oder aber chemische Einflüsse (Toxine, Medikamente etc.) verantwortlich sein. Hat der Organismus einen schädlichen Einfluss registriert, werden eine Reihe von Signalstoffen, wie beispielsweise Histamin, Thrombin und Peroxidradikale sowie ein Reihe weiterer Botenstoffe vom Typ Interleukin-1, Interferon und Tumornekrosefaktoren (TNF- $\alpha$ ), ausgeschüttet.<sup>[27-29]</sup> Diese Ausschüttung führt zu vielfältigen Effekten im Organismus, die sich in den typischen Symptomen einer Entzündung wie Schmerzen, Schwellung und Rötung des betroffenen Areals widerspiegeln.

Die Signalmoleküle führen allerdings auch dazu, dass die Gefäße im Bereich der Noxe erweitert werden. Dadurch kommt es zu einer Abnahme der Fließgeschwindigkeit des Blutes. Die aufgrund der Botenstoffe exprimierten Zelladhäsionsmoleküle können nun durch die Veränderung dieser Parameter die im Blut patrouillierenden Leukozyten durch Adhäsion abbremsen und zum Rollen am Gefäßendothel bewegen (s. Abb. 1.2).<sup>[30,31]</sup>



**Abb. 1.2:** Inflammatorische Kaskade. Die Selektin-Ligand-Wechselwirkungen finden zu Beginn des inflammatorischen Geschehens statt (nach Ley et al.).<sup>[32]</sup>

Anschließend erfolgt eine feste Bindung zwischen den rollenden Leukozyten und dem Endothel. Hierfür ist eine Reihe von Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen aus der Klasse der Selektine und der Integrine verantwortlich, u.a. ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1)<sup>[29]</sup> mit dem auf Leukozyten lokalisierten Rezeptor LFA-1 (Leukozyten-funktionsantigen-1)<sup>[33]</sup>,  $\alpha_4\beta_7$ -Integrin/MADCAM-1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1)<sup>[34,35]</sup> sowie dem VLA-4 (Very Late Antigen-4) / VCAM (Vascular Cell Adhesion Molecule-1)<sup>[36]</sup>. Der Gesamttablauf der inflammatorischen Kaskade ist nicht vollständig verstanden und weitaus komplexer, als es an dieser Stelle beschrieben werden kann. Auch tragen zur Verfestigung der Bindung SRC-(Akronym aus Sarcoma und Cellular) und PI3K (Phosphoinositid-3)-Kinasen sowie die Gruppe der VAV-Proteine bei.<sup>[37,38]</sup> Auch die Migration der Leukozyten in das entzündete Gewebe ist ein komplexer Vorgang, der ebenfalls auf einer Vielzahl an Rezeptor-Ligand-Wechselwirkungen beruht. An diesem Vorgang ist PECAM-1 (Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule)<sup>[39]</sup>, das Glycoprotein CD99 (Cluster of Differentiation 99)<sup>[40]</sup>, JAMs (Junctional Adhesion Molecules) sowie ESAM (Endothelial Cell-Selective Adhesion Molecule) beteiligt.<sup>[41,42]</sup>

## 1.3 Selektine

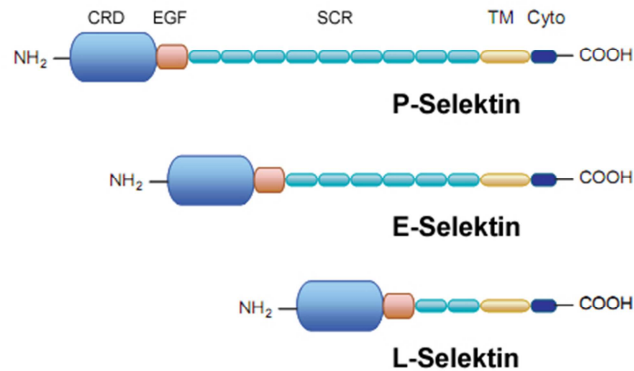
Die Klasse der Selektine besteht aus drei membranständigen Rezeptoren, die selektiv bestimmte kohlenhydrathaltige Liganden zu binden vermögen. Ihr Name setzt sich zum einen aus *Sel* für „selektiv“ und *Lektin*, die Bezeichnung für kohlenhydratbindende Strukturen, zusammen.

Die drei Typen von Rezeptoren, die sich in ihrem Aufbau stark ähneln, werden mit den kennzeichnenden Buchstaben E, L und P versehen, die ihre Lokalisation auf zellulärer Ebene angibt.

- E-Selektin (CD62E, ELAM-1, LECAM-2) wird auf Endothelzellen mit einer Kinetik von mehreren Stunden exprimiert. E-Selektin konnte mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern nachgewiesen werden.<sup>[43,44]</sup>
- L-Selektin (CD62L, LAM-1, LECAM-1) findet sich auf der Oberfläche von Leukozyten und ist dauerhaft präsent. L-Selektin wurde ebenfalls mittels monoklonaler Antikörper identifiziert.<sup>[45,46]</sup>
- P-Selektin (CD62P, GMP-140, LECAM-3) wurde zuerst in den Granula menschlicher Blutplättchen identifiziert. Seine Expressionskinetik liegt im Bereich von Minuten. Die Expression erfolgt durch spezifische Signalstoffe, z.B. Histamin oder Thrombin, wobei der Rezeptor in den sogenannten Weibel-Palade-Körperchen von Endothelzellen sowie in den  $\alpha$ -Granula von Thrombozyten aufbewahrt wird.<sup>[47,48]</sup>

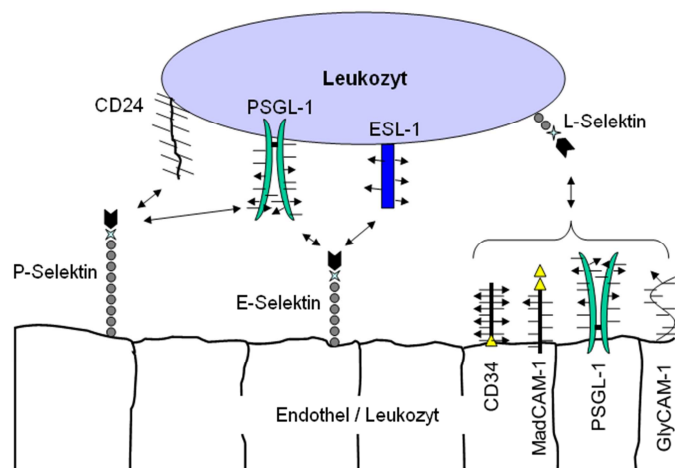
Die aufgeführten Rezeptoren weisen wesentliche gemeinsame Strukturmerkmale auf. Sie bestehen aus einer CRD-Einheit (Carbohydrate Recognition Domain). Diese Domäne ist für die eigentliche Erkennung der Liganden verantwortlich und besteht aus 120 Aminosäuren.<sup>[49]</sup> Der nachfolgende kurze Abschnitt (35-40 Aminosäuren) wird als EGF-Domäne (Epidermal Groth Factor) bezeichnet und ist eng mit dem epidermalen Wachstumsfaktor verwandt. Um die kohlenhydratbindende Domäne räumlich ausreichend von den Zellmembranen zu trennen, existiert eine Aminosäuresequenz (ca. 60 Aminosäuren pro SCR-Einheit), die in Abb. 1.3 mit SCR (Short Consensus Repeats) gekennzeichnet

ist. Der Rezeptor wird in der Membran durch die TM-Domäne (Transmembrandomäne) fixiert, wobei die kurze nachfolgende Domäne am Carboxyl-Terminus (in Abb. 1.3 gekennzeichnet mit „Cyto“) eine wichtige Rolle bei der Signaltransduktion spielt.<sup>[50]</sup>



**Abb. 1.3:** Schematische Darstellung der drei Selektine (nach Hanley).<sup>[51]</sup>

Der auf den ersten Blick größte Unterschied der drei Selektine besteht in der Anzahl ihrer SCR-Einheiten. So besitzt das L-Selektin die kürzeste SCR-Domäne mit nur zwei SCR-Einheiten und damit einen Abstand von 120 Aminosäuren. E-Selektin besitzt sechs SCR-, P-Selektin neun SCR-Einheiten. Die so erzeugten räumlichen Weiten sind für die Bindung der unterschiedlich strukturierten Liganden von Bedeutung (s. Abb. 1.4).<sup>[52]</sup>

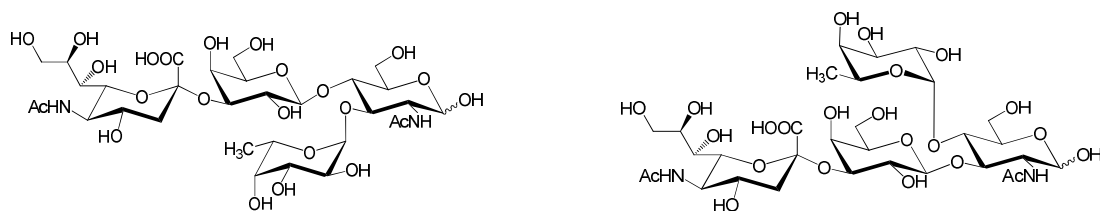


**Abb. 1.4:** Bindungsmöglichkeiten der einzelnen Selektine während ihrer Expressierung auf Endothelzellen und Leukozyten (nach Ehrhardt et al.).<sup>[53]</sup>



## 1.4 Liganden der Selektine

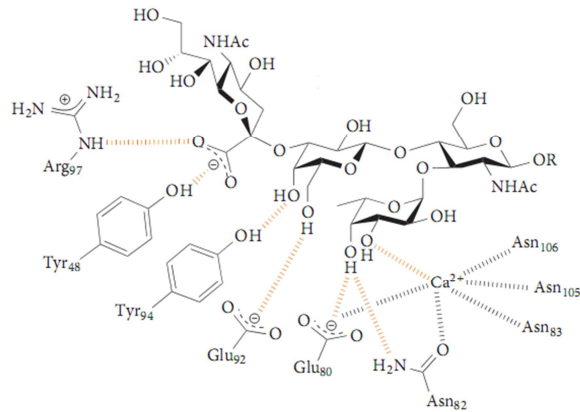
Wie bereits erwähnt, binden die Selektine spezifische Zuckerstrukturen. Als Minimalligand für das E-, L-, P-Selektin, mit einer Bindungsaffinität in der Größenordnung von 1 mM, konnte das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (SLe<sup>x</sup>) und sein Regioisomer das Sialyl-Lewis<sup>a</sup> (SLe<sup>a</sup>) identifiziert werden (s. Abb. 1.5).<sup>[54,55]</sup> Sialyl-Lewis<sup>x</sup> sowie sein Regioisomer Sialyl-Lewis<sup>a</sup> kommen im Organismus nicht als monovalente isolierte Kohlenhydrate vor, sondern sie sind stets an langgestreckte mucinähnliche Proteine geknüpft, die eine Vielzahl an potentiellen Glycosylierungsstellen in den Aminosäuren Serin und Threonin aufweisen.<sup>[56]</sup>



**Abb. 1.5:** Das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (links) und sein Regioisomer Sialyl-Lewis<sup>a</sup> (rechts).

Die große Bedeutung der Kohlenhydratbindungen an Selektine konnte bei Patienten mit der Erbkrankheit Leukozyten-Adhäsions-Deffizienz-II (LAD-II) belegt werden. Bei dieser Störung des Fucose-Stoffwechsels kann Sialyl-Lewis<sup>x</sup> nicht mehr körpereigen synthetisiert werden. Dies hat schwere stets wiederkehrende Infektionen zur Folge. Durch eine tägliche orale Verabreichung von L-Fucose kann diese Stoffwechselstörung aber behandelt werden.<sup>[57,58]</sup>

In einer Reihe von Arbeiten konnten die genauen Bindungsstellen von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> identifiziert werden. So sind die Hydroxylgruppen in 2-, 3- und 4-Position (rezeptor-abhängig) der L-Fucose<sup>[59]</sup>, die Hydroxylgruppen in 4- und 6-Position der Galactose<sup>[60,61]</sup> sowie die Carboxylgruppe der Sialinsäure<sup>[62,63]</sup> für eine Bindung an die Selektine unerlässlich (s. Abb. 1.6). Für eine effektive Bindung sind allerdings nicht die Seitenkette der Sialinsäure sowie das Glucosamin in Sialyl-Lewis<sup>x</sup> verantwortlich. Der Glucosamin-Baustein dient ausschließlich dem Zweck, die bindenden Kohlenhydrate in die korrekte räumliche Anordnung zu bringen.<sup>[64-66]</sup>

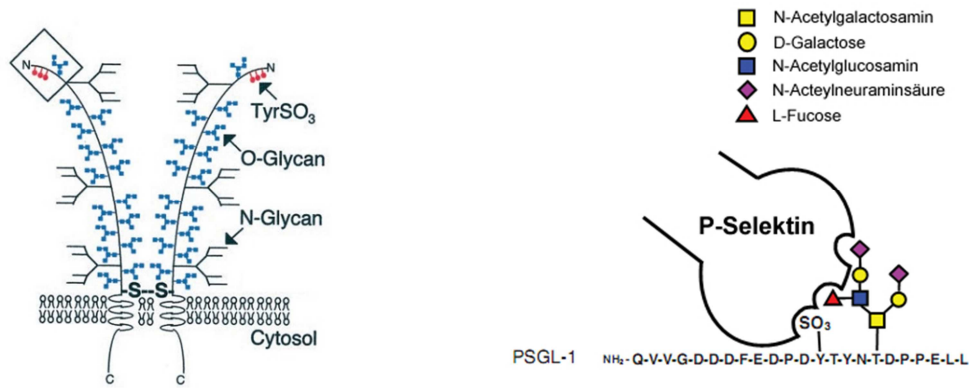


**Abb. 1.6:** Wechselwirkung des Tetrasaccharids Sialyl-Lewis<sup>x</sup> in seiner bioaktiven Konformation mit Selektinen (nach Ernst et al.).<sup>[20]</sup>

### 1.4.1 Liganden des P-Selektins

Wenn davon abgesehen wird, dass sulfatierte Biopolymere wie beispielsweise Heparin<sup>[67]</sup> an P-Selektin binden können, so ist der wohl bedeutendste und bestuntersuchte Ligand für diesen Rezeptor der P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1 (PSGL-1). Er wurde erstmalig von Moore et. al. 1992 beschrieben und besitzt die Fähigkeit, an alle der drei bekannten Selektine zu binden. Aus diesem Grund soll auf diesen Liganden und seine Struktur detaillierter eingegangen werden.<sup>[68,69]</sup>

Der PSGL-1 Ligand besteht aus zwei über Disulfidbrücken verknüpfte dimere Einheiten (s. Abb. 1.7, links) mit einem Gesamtgewicht von 250 kDa und einer Länge von 50 nm. Er wird von verschiedenen Zellen des lymphoiden, myeloiden sowie dendritischen Typs exprimiert. Für die erfolgreiche Bindung des Liganden sind definierte Kohlenhydratstrukturmerkmale auf seiner Oberfläche von großer Bedeutung. Zum einen müssen  $\alpha$ -1,3-fucosylierte und  $\alpha$ -2,3-sialylierte Kohlenhydrate vorhanden sein, zum anderen sind die drei sulfatierten Aminosäuren Tyrosin in der äußeren N-terminalen-Peptidsequenz des PSGL-1 für die Bindung von entscheidender Bedeutung (s. Abb. 1.7, links u. rechts).<sup>[70,71]</sup>



**Abb. 1.7:** P-Selektin-Ligand-1 (PSGL-1) schematischer Aufbau sowie Darstellung seiner Bindung an P-Selektin. Veränderte Abbildung nach Leppänen<sup>[72]</sup> (links) und Carlow<sup>[73]</sup> (rechts).

Die beiden Untereinheiten des Rezeptors besitzen je drei *N*-Glycosylierungsstellen sowie über Serin und Threonin-Reste zahlreiche Lokationen zur Anbindung von *O*-Glycanen. Durch den hohen Anteil an Kohlenhydratketten ist seine räumliche Struktur gestreckt und relativ rigide.<sup>[74]</sup> Durch umfangreiche Studien konnte gezeigt werden, dass für die Bindung des Liganden an Selektine fast ausschließlich die äußeren Regionen des Liganden mit den sulfatierten Tyrosin-Einheiten verantwortlich sind.<sup>[75,76]</sup> Diese Sulfat-Ligand-Wechselwirkungen sind ladungsinduziert. Daher konnte in biologischen Experimenten gezeigt werden, dass bei einer partiellen Desulfatierung des PSGL-1 die Bindungsfähigkeit des Liganden zwar erhalten bleibt, aber erheblich abgeschwächt wird. Bei einer vollständigen Desulfatierung von PSGL-1 findet keine Bindung an P-Selektin mehr statt.<sup>[72,77]</sup> Wie bereits erwähnt, besitzen die drei bekannten Selektine einen hohen Verwandtschaftsgrad untereinander. Dennoch muss festgestellt werden, dass nicht alle im Organismus vorkommenden Selektine eine ähnliche Affinität zu einem Liganden aufweisen müssen. So weist der PSGL-1 zwar für L-Selektin eine ähnliche Bindungsstärke wie für P-Selektin auf; an E-Selektin ist die Bindung allerdings um den Faktor 50 schwächer in Bezug auf P-Selektin.<sup>[78]</sup>

Nicht unerwähnt bleiben soll in Bezug auf pathologische Veränderungen des Körpers der Ligand CD24 (Cluster of Differentiation 24).<sup>[79,80]</sup> Es handelt sich hierbei um einen stark glycosylierten Liganden, der aus nur 27 Aminosäuren besteht und gehäuft auf krankhaft verändertem Gewebe, insbesondere Tumoren, vorkommt. Er spielt eine wichtige Rolle bei Metastasierungsprozessen und besitzt eine Vielzahl *O*-glycosidischer Bindungsstellen aufgrund der hohen Vorkommen der Aminosäuren Serin und Threonin im Peptidgerüst des CD24.<sup>[81–83]</sup>

### 1.4.2 Liganden des L-Selektins

Zu den Liganden des L-Selektins zählen der CD34 (Cluster of Differentiation 34)<sup>[84]</sup>, GlyCAM-1 (Glycosylation-dependent Cell-Adhesion Molecule-1)<sup>[85,86]</sup> sowie MadCAM-1 (Mucosal Adressin-Cell Adhesion Molecule-1)<sup>[35]</sup>. Diese Liganden befinden sich vorwiegend auf den so genannten hochendothelialen Venolen (HEV) und konnten affinitätschromatographisch nachgewiesen werden. Bei den HEV handelt es sich um Zellen, die nicht eben sondern würfelförmig gebaut sind. Sie kommen in sekundären lymphatischen Organen wie Lymphknoten, Blinddarm, Mandeln und im Dünndarm vor.<sup>[87]</sup> Die beiden membranständigen Liganden CD34 und MadCAM-1 dienen der Rezirkulation von Leukozyten in die HEV, wobei MadCAM-1 auch an das Integrin  $\alpha_4\beta_7$  binden kann.<sup>[88]</sup> Daher kommen dem MadCAM-1 zweierlei Funktionen zu: Initiierung des Leukozyten-Rollens sowie das Erzeugen einer festen Bindung an die Klasse der Integrin-Rezeptoren. GlyCAM-1, ein löslicher Ligand, ist der am besten untersuchte Ligand für L-Selektin. Er konnte im Plasma, in Milchdrüsen und in der Milch verschiedener Spezies nachgewiesen werden.<sup>[89]</sup> Seine kohlenhydrattragenden Strukturen sind mit dem Tetrasaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup> verwandt. Es kommen hierbei allerdings sulfatierte Derivate des Sialyl-Lewis<sup>x</sup> vor, wobei eine Sulfatierung in der 6-Position der Galactose oder des Glucosamins vorzufinden ist (6-Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Sulfat). Diese Sulfatierungsmuster lassen darauf schließen, dass im L-Selektin zusätzliche kationische Bindungsstellen vorhanden sind. Seine fehlende Verankerung in den Membranen weist darauf hin, dass er nicht an der Rezirkulation der Leukozyten beteiligt ist. Es wird vermutet, dass GlyCAM-1 auch zur Aktivierung der Integrine dient.<sup>[90-92]</sup>

### 1.4.3 Liganden des E-Selektins

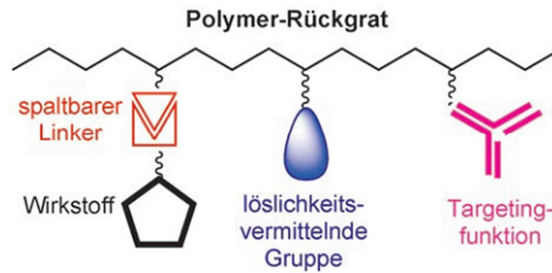
Der wohl bekannteste Ligand für E-Selektin ist der membrangebundene E-Selektin-Ligand-1 (ESL-1). Die Aufklärung seiner Struktur gelang im Jahre 1993 durch die Arbeitsgruppe *Vestveber*. Es wurde dabei festgestellt, dass die bindenden Kohlenhydrat-Einheiten im Gegensatz zu den Liganden des P- und L-Selektins *N*-glycosidisch und nicht *O*-glycosidisch gebunden sind.<sup>[93]</sup> ESL-1 wird am Rand der Mikrovilli exprimiert und weist nur für E-Selektin eine Affinität auf. Es wird angenommen, dass aufgrund seines Expressionsortes ESL-1 für eine Bindungsverfestigung der Leukozyten verantwortlich ist.<sup>[94,95]</sup>

Auch sind Liganden des E-Selektins bei metastasierenden Prozessen beteiligt. So konnte nachgewiesen werden, dass der DR-3 (Death-Receptor-3) bei tumorösen Prozessen exprimiert wird und zu einer Metastasierung bei Kolonkarzinomen wesentlich beiträgt.<sup>[96,97]</sup>

## 1.5 Polymere Therapeutika und das Konzept der Multivalenz

Die Idee, Wirkstoffe zielgerichtet an den Wirkort zu transportieren, ist nicht neu. Über dieses Konzept wurde bereits im 14. Jahrhundert von *Don Juan Manuel* in seinem Werk „El conde de Lucanor“ auf beeindruckende Weise berichtet: „Dies tat ich, dem Beispiele der Ärzte folgend, die, wenn sie eine Medizin zum Nutzen der Leber bereiten wollen, Zucker, Honig oder eine andere süße Sache hinzutun, weil die Leber das Süße liebt. Und wegen der Neigung der Leber zum Süßen zieht sie es an sich und mit ihm die Medizin, die ihr guttut. Das Gleiche macht man mit jedem beliebigen Organ, das einer Medizin bedarf, indem man sie jeweils mit demjenigen mischt, welchem das Organ von Natur aus zuneigt.“<sup>[98,99]</sup>

Auch der deutsche Nobelpreisträger *P. Ehrlich* äußerte sich im 19. Jahrhundert bereits über die Möglichkeiten der Adressierung von Rezeptoren, um Krankheitsgeschehen beeinflussen zu können.<sup>[100]</sup> Die ersten chemischen Konzepte der polymeren Therapeutika gehen auf *H. Ringsdorfs* Arbeiten in den 1970er Jahren zurück.<sup>[101,102]</sup> So beschrieb er das dreiteilige Modell des gerichteten Wirkstofftransportes ausgehend von einem polymeren Rückgrat. Dieses polymere System kann Liganden (z.B. Kohlenhydrate) enthalten, um spezifische Rezeptoren anzusprechen, eine löslichkeitsvermittelnde Gruppe (z.B. Hydroxypropylamid), die das Polymer wasserlöslich und somit applizierbar machen und ein Pharmakon (z.B. ein Antibiotikum, Antiphlogistikum oder Zytostatikum), welches in den betroffenen Arealen idealerweise nach einer definierten Freisetzung seine Wirkung entfaltet (s. Abb. 1.8).<sup>[98,101-104]</sup>



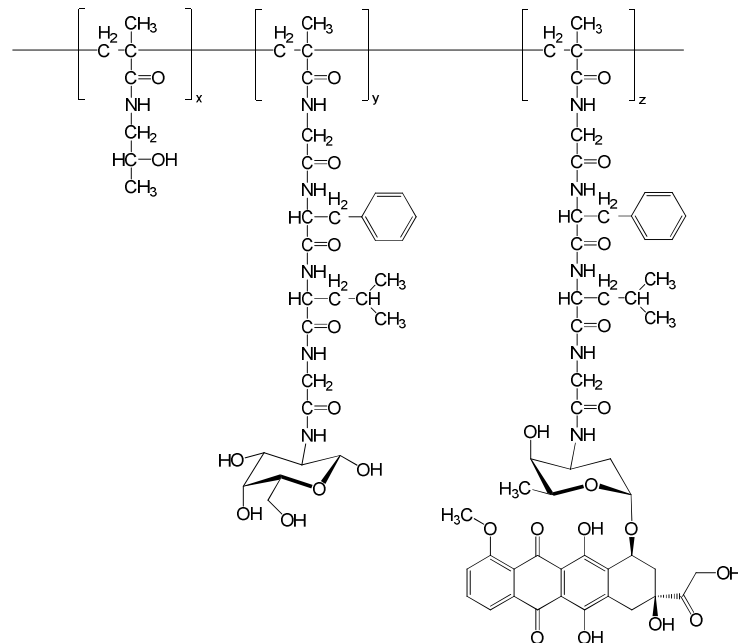
**Abb. 1.8:** Polymere Therapeutika. Modell nach H. Ringsdorf.<sup>[105,106]</sup>

Die in der aktuellen Forschung eingesetzten Polymere basieren auf Ethylenglycol und *N*-(2-Hydroxypropyl)methacrylamid (HPMA).<sup>[107,108]</sup> Beide Klassen von Polymeren wurden bereits am Menschen evaluiert und weisen, soweit das heute beurteilt werden kann, weitgehend ideale Eigenschaften in Bezug auf ihre Toxizität sowie die Möglichkeiten ihrer Funktionalisierung auf.<sup>[109]</sup> Werden die Eigenschaften eines idealen polymeren Trägers betrachtet, so sollten die folgenden Kriterien erfüllt werden:<sup>[110]</sup>

- hohe biologische Verträglichkeit
  - keine akute sowie chronische Toxizität
  - keine allergene oder pyrogene Wirkung
  - definierte und kontrollierbare Ausscheidung
- hohe Wasserlöslichkeit
- einfache und kostengünstige Reinigung
- definierbare einheitliche Größe und Struktur
- einfache und effektive Funktionalisierung
- industrielle Herstellung möglich

Die in dieser Arbeit behandelten *N*-(2-Hydroxypropyl)methacrylamid-Polymere erfüllen diese Kriterien. Sie wurden erstmals 1973 von Kopeček<sup>[111]</sup> synthetisiert und haben sich seit ihrer Veröffentlichung in einem breiten Rahmen als biokompatible Polymere durchgesetzt, wobei ihr Einsatz ursprünglich als Plasmaexpander gedacht war.<sup>[112,113]</sup> Ende der 1980er Jahre wurde von R. Duncan erstmals ein polymeres Therapeutikum mit dem Zytostatikum Doxorubicin, das an einen bioabbaubaren Spacer gebunden war, synthetisiert. Um ein aktives Targeting zu erreichen, wurde das polymere Therapeutikum

zusätzlich mit Galactosamin-Einheiten versehen; damit wurde eine erhöhte Anreicherung des Wirkstoffs in der Leber ermöglicht (s. Abb. 1.9).<sup>[114,115]</sup>



**Abb. 1.9:** Eines der ersten zytostatisch wirksamen HPMA-Polymere (PK2) auf Basis von Doxorubicin und D-Galactosamin.

Der Einsatz von polymeren Therapeutika in der Krebstherapie beruht auf der Tatsache, dass tumoröses Gewebe eine deutlich erleichterte Aufnahme von Makromolekülen gestattet. Dies ist mit der löchrigen Struktur der Blutgefäße im Tumorbereich zu erklären, wobei der Austritt der eindiffundierten Verbindungen durch ein mangelhaft ausgebildetes lymphatisches System deutlich erschwert ist. Dieser Mechanismus wird als Enhanced Permeability and Retention bezeichnet und ermöglicht neue Therapie-konzepte auf Basis von Makromolekülen.<sup>[116,117]</sup>

In der neueren Zeit wurden polymere Therapeutika hauptsächlich zur Behandlung von Krebserkrankungen entwickelt. Diese polymeren Therapeutika basieren oftmals auf Zytostatika der Platinderivate Cisplatin<sup>[118]</sup> und Oxaliplatin<sup>[119]</sup> und befinden sich momentan in den unterschiedlichen Phasen einer klinischen Prüfung.<sup>[120]</sup>

## 1.6 Reaktivester-Polymere als Vorstufen der polymeren Therapeutika

Reaktivester sind in der organischen Chemie schon seit vielen Jahrzehnten bekannt und werden häufig zur Synthese von Peptiden eingesetzt. Einer der ersten, in der Literatur beschriebenen Reaktivester auf Basis von *N*-Hydroxysuccinimid (HOSu), wurde bereits 1895 von *Hantzsch* und *Urbahn*<sup>[121]</sup> synthetisiert, wobei die ersten Esteraminolysen von dem Naturstoffchemiker *E. Fischer* 1905 beschrieben wurden.<sup>[122]</sup> Ihr Einsatz erfolgte verstärkt allerdings erst in den 1960er Jahren im Zuge der Peptidchemie.<sup>[123,124]</sup> Reaktivester auf Basis von Pentafluorphenol wurden 1958 von *Pummer* und *Wall*<sup>[125]</sup> beschrieben und ebenfalls ab Mitte 1960 in großem Maßstab eingesetzt. Die Vorteile der Reaktivester im Vergleich zu den Säurehalogeniden liegen in ihrer hohen Hydrolysestabilität und somit auch großen Lagerstabilität, der meist unproblematischen Reinigung sowie in der hohen Selektivität zu primären Aminen begründet. Weitere potentiell vorhandene funktionelle Gruppen, wie beispielsweise Alkohole, müssen je nach verwendetem Reaktivester nicht mit Schutzgruppen blockiert werden, da ihre nucleophilen Eigenschaften für eine Reaktion mit Reaktivestern in der Regel nicht ausreichend sind.<sup>[124,126]</sup>

Auch die Idee der polymeranalogen Umsetzung ist schon seit vielen Jahrzehnten bekannt. So veröffentlichte die damalige *I.G. Farbenindustrie* bereits in den 1930er Jahren ein Patent, das die Umsetzung von Polyacrylsäurechlorid mit Alkoholen und Aminen beschreibt.<sup>[127]</sup> Die anfängliche Verwendung von hochreaktiven Einheiten auf Basis von polymeren Carbonsäurechloriden führte oft zu unlöslichen Polymeren und zur vermehrten Bildung von Nebenprodukten.<sup>[128]</sup> In den 1970er Jahren konnte *Ringsdorf et al.* zeigen, dass der Einsatz von polymeren Reaktivestern entscheidende Vorteile bei der Umsetzung mit nucleophilen Reagenzien aufweist.<sup>[101,129]</sup> Durch die Entdeckung der Verfahren zur kontrollierten radikalischen Polymerisation konnten auch Reaktivester-Polymere mit definierten Größen und einer hohen Einheitlichkeit synthetisiert werden, die sich für die Umsetzung mit den verschiedensten primären sowie teilweise auch sekundären Aminen gut eignen und die für ein polymeres Therapeutikum geforderten Standards in Bezug auf die Reinheit sowie Polydispersität aufweisen.<sup>[130,131]</sup>



Die Synthese der auf HPMA-basierenden Polymere mit Funktionalisierungen durch beliebige Liganden kann grundsätzlich auf zwei unterschiedliche Arten erfolgen:

- Radikalische Copolymerisation von HPMA-Monomer und einem mit Ligand funktionalisiertem Monomer.
- Synthese eines Reaktivester-Polymers mit der *anschließenden* Umsetzung eines mit Aminogruppen funktionalisierten Liganden sowie der Endfunktionalisierung mit 1-Amino-2-propanol zur Erzeugung der HPMA-Einheiten (s. Abb. 1.10).

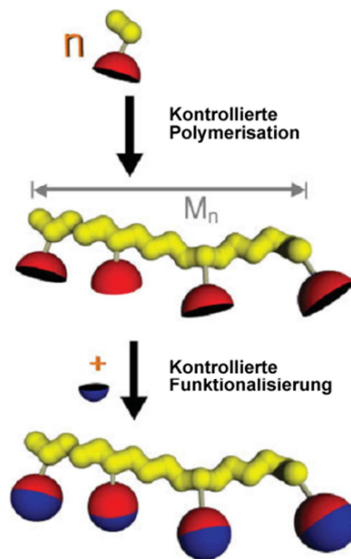
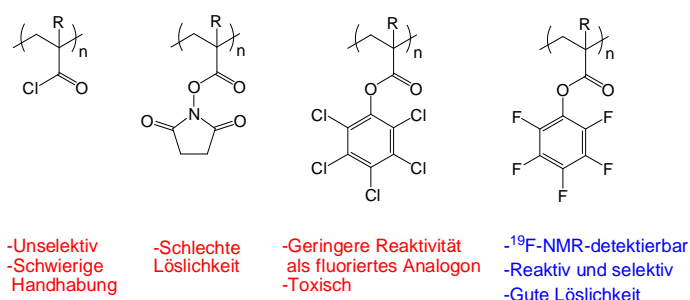


Abb. 1.10: Polymeranaloge Umsetzung. Rot: Reaktivester-Einheit. Blau: Aminkomponente.<sup>[132]</sup>

Der entscheidende Vorteil des polymeren Pentafluorphenylesters gegenüber seinem chlorierten Analogon besteht in der höheren Reaktivität der einzelnen Einheiten aufgrund der geringeren sterischen Hinderung der fluorierten Phenol-Abgangsgruppe sowie einer besseren Löslichkeit.<sup>[133]</sup> Die Synthese eines definierten und für polymeranaloge Umsetzungen hervorragend geeigneten Pentafluorphenyl-Reaktivester-Polymers gelang der Arbeitsgruppe *Théato* im Jahr 2005 (s. Abb. 1.11).<sup>[134,135]</sup>



**Abb. 1.11:** Reaktive Polymere, die sich für polymeranaloge Umsetzungen eignen (v.l.n.r.): Carbonsäurechlorid, *N*-Hydroxysuccinimidester, Pentachlorphenylester, Pentafluorphenylester.

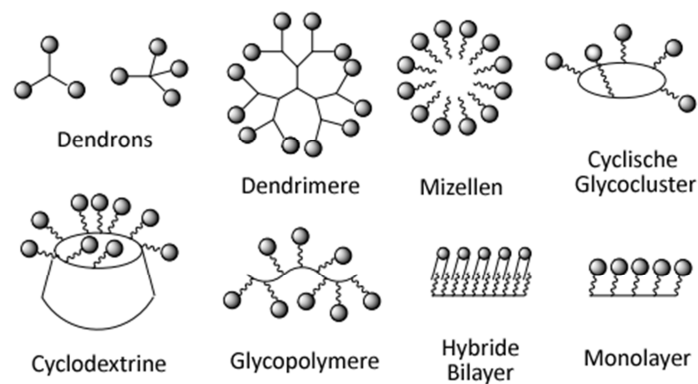
Ein weiterer Vorteil der polymeren Reaktivester liegt in der Möglichkeit, sterisch anspruchsvolle Liganden umzusetzen. Wird versucht, einen voluminösen monomeren Liganden zu polymerisieren, so tritt das Problem eines niedrigen Polymerisationsgrades aufgrund sterischer Einflüsse auf.<sup>[136]</sup> Wird eine Copolymerisation mit mehreren unterschiedlichen Monomeren durchgeführt, so ist eine Abschätzung des Polymerisationsgrades sowie der Polydispersität aufgrund dieses komplexen Systems nahezu aussichtslos. Auch eine kontrollierte radikalische Polymerisation dürfte sich bei einem solch komplexen System als nicht nutzbringend erweisen. Daher stellt die polymeranaloge Umsetzung von Pentafluorphenylestern mit Aminen ein ausgezeichnetes Instrument zur Funktionalisierung von Polymeren dar.<sup>[137,138]</sup>

## 1.7 Multivalenz

Wie bereits in Kapitel 1.4 beschrieben, bestehen die natürlichen Liganden der Selektine nicht aus einem einzelnen Kohlenhydrat, sondern immer aus Kohlenhydratclustern, die an einem peptidischen Rückgrat *N*- oder *O*-glycosidisch gebunden sind. Diese mucinartigen Strukturen werden auch bei der sogenannten Glycocalyx gefunden. Es handelt sich hierbei um eine Schicht an der Außenhülle von Zellmembranen, die ein breitgefächertes Angebot an Kohlenhydraten zur Kommunikation mit anderen Zellen und Prozessen bereitstellt.<sup>[139,140]</sup>

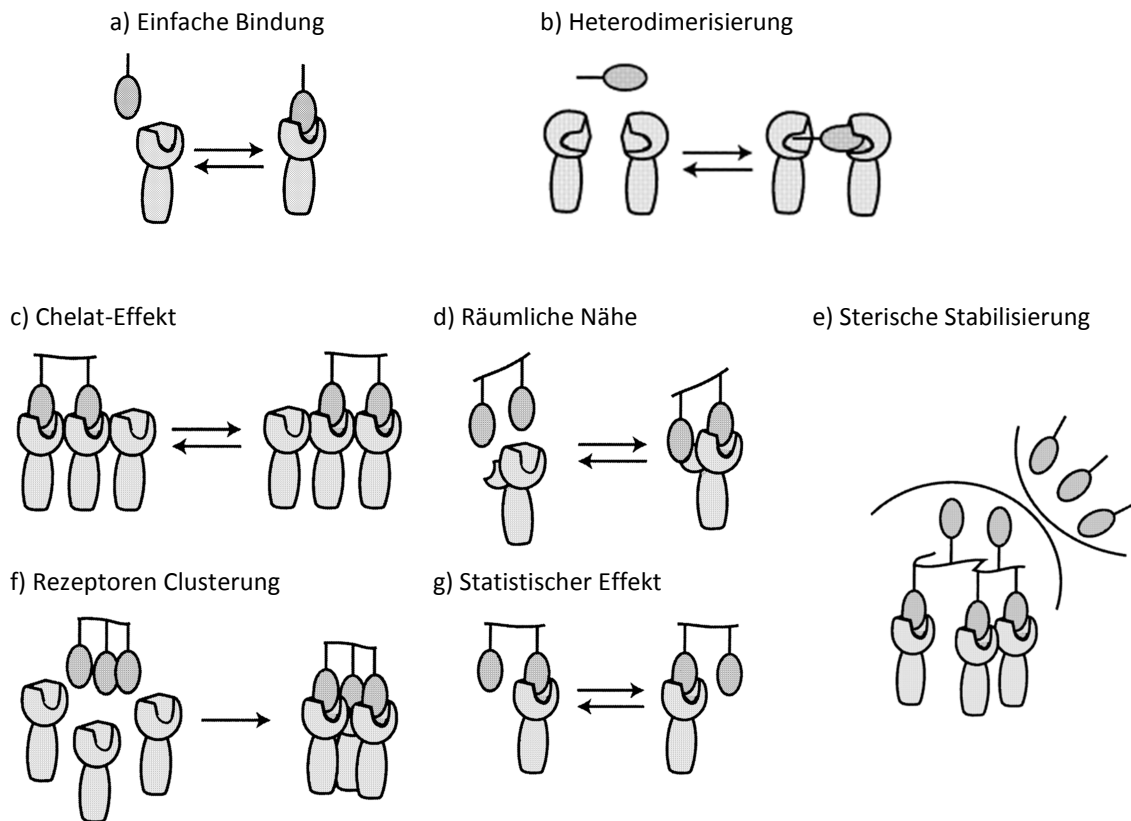
Auch in unserer alltäglichen Welt finden sich multivalente Wechselwirkungen. Man denke beispielsweise an einen Klettverschluss. Dieser erfüllt seine nutzbringende Funktion nur unter der Bedingung, dass eine Vielzahl an Schlaufen und Widerhäkchen vorhanden ist. Ein einzelner Haken mit nur einer Schlaufe wäre für den gedachten Anwendungszweck völlig ungeeignet, da er den auftretenden Kräften nicht gegenhalten

könnte. Auf analoge Weise verhält es sich mit der Anordnung der Kohlenhydratliganden und ihrer Rezeptoren. Diese Effekte werden unter dem Begriff der Multivalenz zusammengefasst. Wird dieser Effekt auf die Bindung von Kohlenhydratclustern an Rezeptoren bezogen, so wird von einem Glycocluster-Effekt gesprochen. Durch das Clustern der Kohlenhydrate kann eine drastische Steigerung der Bindungsstärke erreicht werden. Um sich diesen Effekt zu Nutze zu machen, wurden in der Vergangenheit die verschiedensten oligomeren und polymeren Strukturen synthetisiert.<sup>[141–143]</sup> Abb. 1.12 zeigt die Vielfalt der möglichen Strukturen, wobei für diese Arbeit die Glycopolymere sowie die Cyclodextrine von Bedeutung sind.



**Abb. 1.12:** Oligomere und Polymere zur Erzeugung von Multivalenz (nach Lindhorst).<sup>[144]</sup>

Die Frage, warum es zu den entsprechenden multivalenten Effekten kommt, wurde von *Kiessling* eingehend untersucht.<sup>[145,146]</sup> Dabei wurde festgestellt, dass monovalente Liganden in der Regel nur nach einem vorgegebenen Mechanismus an einen einzelnen Rezeptor binden, der kaum Abweichungen am Bindungsmuster zulässt. In seltenen Fällen ist eine Wechselwirkung zwischen zwei Rezeptor-Einheiten (Heterodimerisierung) möglich (s. Abb. 1.13a,b).



**Abb. 1.13:** Rezeptorbindungsmodell (nach Gestwicki et al.).<sup>[147]</sup>

Werden dem Rezeptor allerdings eine Vielzahl an potentiellen Bindungspartnern angeboten, dann können entsprechend auch weitere Mechanismen auftreten. So kann ein multivalenter Ligand an einen multivalenten Rezeptor binden, wobei ein Chelat-Effekt möglich ist (Abb. 1.13c).<sup>[148]</sup> Auch kann mittels der Multivalenz eine zusätzliche Bindung am Rezeptor aufgrund der räumlichen Nähe eines Liganden effektiver erfolgen (Abb. 1.13d). Kommt es zu einer multivalenten Bindung, so kann es allein durch die räumliche Struktur des multivalenten Liganden zu einer Stabilisierung der Bindung kommen. Ein weiteres Anbinden, von beispielsweise monovalenten Liganden, kann aufgrund der sterischen Hinderung oder der Abstoßung durch ladungsinduzierte Effekte wirksam verhindert werden (Abb. 1.13e). Werden an sich eigenständige Rezeptoren durch einen multivalenten Liganden angesprochen, so kann es zu einer Clusterung der Rezeptoren und zu einem veränderten Signalweg kommen (Abb. 1.13f).<sup>[149]</sup> Dieser Bindungstyp ist bei den Selektinen denkbar, sowie die Möglichkeit des Auftretens eines statistischen Effektes (Abb. 1.13g). Durch die lokal höhere Konzentration an Liganden ist es rein statistisch wahrscheinlicher, dass nach dem Lösen der Bindung wieder eine erneute Bindung erfolgt.<sup>[147,150,151]</sup>

## 1.8 Cyclodextrine und Wirkstofftransport

Cyclodextrine (CD) werden in der Natur durch den enzymatischen Abbau von Stärke synthetisiert, wobei hauptsächlich drei Ringgrößen mit sechs ( $\alpha$ -CD), sieben ( $\beta$ -CD) sowie acht ( $\gamma$ -CD) Einheiten in Form einer  $\alpha$ -1,4-verknüpften D-Glucopyranose vorkommen.<sup>[152]</sup> Die cyclischen Oligosaccharide wurden 1891 von Villiers<sup>[153]</sup> entdeckt und 1903 durch Schardinger<sup>[154]</sup> charakterisiert. Cyclodextrine besitzen die räumliche Form eines offenen Kegelstumpfes sowie zwei unterschiedliche Seiten, die als primäre Seite (s. Abb. 1.14, grauer Pfeil) sowie sekundäre Seite (s. Abb. 1.14, schwarzer Pfeil) gekennzeichnet sind. Dabei befinden sich die primären Hydroxylgruppen in der 6-Position am sich verjüngenden Teil des Torus und die Hydroxylgruppen der 2- sowie 3-Position auf der sekundären Seite. Der hydrophobe Innenraum eines Cyclodextrins resultiert von den Wasserstoffatomen der 3- und 5-Position sowie von dem glycosidischen Sauerstoffatom.<sup>[155]</sup>

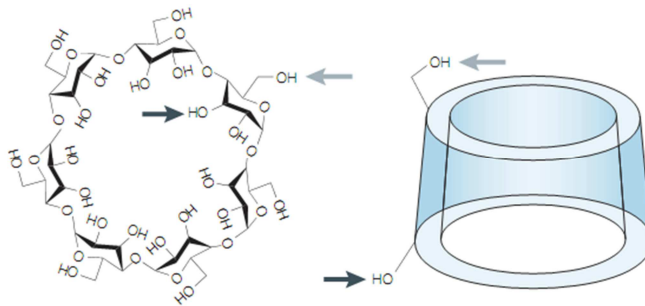


Abb. 1.14: Grafische Darstellung eines  $\beta$ -Cyclodextrins.<sup>[156]</sup>

Durch ihre Hydrophobizität im Inneren sowie ihre löslichkeitsvermittelnde hydrophile Außenhülle eignen sie sich sehr gut für das Komplexieren von Pharmaka.<sup>[157]</sup> Aufgrund dieser Eigenschaft werden Cyclodextrine in Form verschiedenster Derivate seit Jahren erfolgreich als Wirkstoffdepot und Wirkstofftransporter in einer Reihe von Pharmaka, wie beispielsweise dem parenteral applizierbaren Antimykotikum Itraconazol (Handelsname: Sempera<sup>®</sup>) oder das buccal applizierbare Glucocorticoid Hydrocortison (Handelsname: Dexocort<sup>®</sup>), eingesetzt.<sup>[158,159]</sup> Durch die Verwendung von komplexierten Arzneimitteln auf Basis von Cyclodextrinen können eine Vielzahl an Verbesserungen erreicht werden. So ist es möglich, schwerlösliche hydrophobe Arzneimittel in leicht lösliche hydrophile Komplexe umzuwandeln, die ihren Wirkstoff innerhalb einer großen

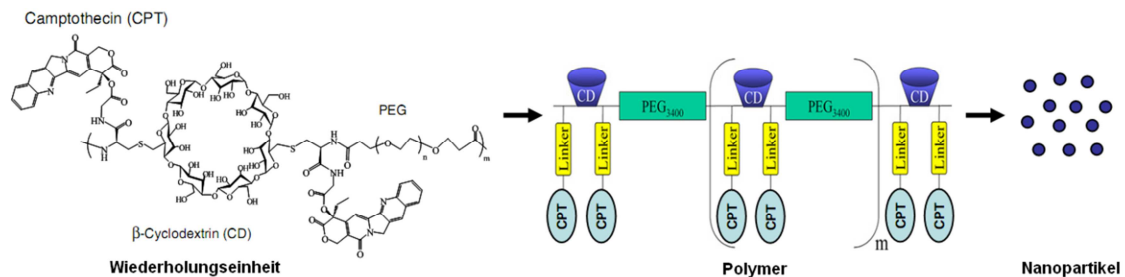
Zeitspanne (Depoteffekt) langsam an den Organismus abgeben. Auch wird die Lagerstabilität bzw. der Schutz vor schädlichen Einflüssen in Form von Licht, Wärme oder Hydrolyse von Arzneimitteln deutlich erhöht und ein möglicher unangenehmer Geschmack eines Wirkstoffes maskiert.<sup>[156,160]</sup>

Um die Vorteile der polymeren Träger mit denen der Cyclodextrine zu vereinen, wurden in der Vergangenheit bereits einige erfolgreiche Versuche ihrer Synthese unternommen. So wurden Polymere synthetisiert, die das Cyclodextrin in ihrem Rückgrat<sup>[161]</sup> enthalten sowie Polymere, die kovalent über einen Spacer an das Polymerrückgrat gebunden sind.<sup>[162]</sup> Beide Formen erlauben es, Wirkstoffe einzulagern und definiert wieder abzugeben, wobei die Struktur des verwendeten Polymers einen entscheidenden Einfluss auf die Freisetzung des Wirkstoffes hat.

Auch können Cyclodextrine durch ihre große Anzahl an funktionalisierbaren Einheiten in Form von Hydroxylgruppen in der 2- und 3- Position sowie 6-Position den Effekt der Multivalenz erzeugen. Diese konnte häufig in Form der Modifikation der 6-Position eines  $\beta$ -Cyclodextrins erreicht werden. So wurde von *Furuike et al.* ein Cyclodextrin synthetisiert, welches Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Einheiten in der 6-Position trägt und in der Lage ist, E-Selektin zu inhibieren.<sup>[163]</sup> Die Synthese eines ebenfalls selektininhibierenden  $\beta$ -Cyclodextrins, das in 6-Position sulfatiert ist, gelang 1996 *Shailubhai et al.*<sup>[164]</sup>

Als letzter Punkt dieser Einleitung soll ein beeindruckendes Beispiel für die Symbiose der Polymerwissenschaften mit Naturstoffverbindungen gezeigt werden. Das in der Natur vorkommende Camptothecin wurde 1966 von *Wall et al.* aus der Rinde von *Camptotheca acuminata* isoliert.<sup>[165]</sup> Der potenzielle Wirkstoff wies zwar interessante zytostatische Eigenschaft auf, wurde aber aufgrund seiner Schwerlöslichkeit, der ungenügenden Stabilität in vivo sowie seiner Toxizität nicht im Organismus eingesetzt. Es konnte durch die Entwicklung eines auf  $\beta$ -Cyclodextrinen basierenden Polymers gezeigt werden, dass die beschriebenen negativen Aspekte in Kombination mit Cyclodextrinen vollständig aufgehoben werden können. Das Therapeutikum besteht aus einem linearen  $\beta$ -Cyclodextrin-Rückgrat mit kovalent über die Aminosäure Glycin angebindenem Camptothecin, wobei die einzelnen Einheiten über Polyethylenglycol miteinander verbunden sind (s. Abb. 1.15). Diese Strukturkombination führt zu Einschlusskomplexen des hydrophoben Camptothecins in die Kavität des  $\beta$ -Cyclodextrins, was die Bildung von Nanopartikeln der Größe von 20-60 nm zur Folge hat. Die so entstandenen Nanopartikel

weisen eine hohe Plasmastabilität, hohe Halbwertszeit sowie eine nicht ausgeprägte systemische Wirkung auf, wobei eine Anreicherung im tumorösen Gewebe erzielt werden kann.<sup>[166]</sup>



**Abb. 1.15:** Polymeres Therapeutikum CRLX101 und sein schematischer Aufbau (nach Svenson et al.).<sup>[167]</sup>

Im Tierversuch erwies sich das polymere Therapeutikum CRLX101, gegenüber den ebenfalls auf Camptothecin basierenden Zytostatika Irinotecan<sup>[168]</sup> und Topotecan<sup>[169]</sup>, als deutlich überlegen. So konnte bei der Anwendung des polymeren Therapeutikums aus Abb. 1.15 unter Verwendung der Tumormodelle H1299 sowie A2780 eine vollständige Regression der Erkrankung im Tierversuch beobachtet werden. Auch der Einsatz in der klinischen Phase-I bei schwer krebserkrankten Patienten, die unter Lungen- oder Bauspeicheldrüsenkrebs litten und bereits Rezitative hatten und bei denen andere Therapien zu einer Verschlimmerung ihres Krankheitszustandes geführt haben, zeigten eine deutliche Verbesserung der Erkrankung in Form eines progressionsfreien Verlaufs von mehr als sechs Monaten.<sup>[167]</sup> Diese und weitere Entwicklungen im Bereich der polymeren Therapeutika geben berechtigte Hoffnung auf neue Behandlungsmöglichkeiten maligner und inflammatorischer Erkrankungen.





## 2 Zielsetzung

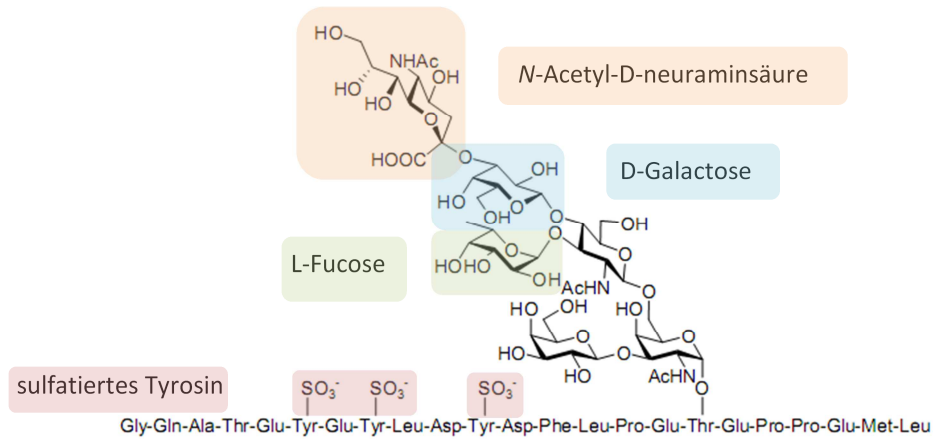
Die Behandlung von chronischen inflammatorischen Vorgängen sowie die Unterbindung von metastasierenden Prozessen im menschlichen Organismus stellt, wie bereits in der Einleitung erörtert, ein außerordentlich erstrebenswertes Ziel dar. Die konventionelle Behandlung von chronischen Entzündungen basiert auf nichtsteroidalen sowie steroidalen Antiphlogistika. Dieses Therapiekonzept ist allerdings mit einer Vielzahl an Nebenwirkungen behaftet; ebenso wie die Behandlung von metastasierenden Erkrankungen durch metallorganische Zytostatika auf der Basis von Platin. Daher sind neuartige Therapiekonzepte, die die Nebenwirkungen umgehen, dringend erforderlich.

Die auf den ersten Blick gegensätzlich erscheinenden Disziplinen der Naturstoffsynthese und der makromolekularen Chemie können, wenn man sie auf geeignete Weise verbindet, einen vielversprechenden Ausgangspunkt für die Behandlung von inflammatorischen und metastasierenden Erkrankungen eröffnen. Die Naturstoffsynthese macht die natürlichen Liganden für die Selektine zugänglich. Durch ihre Anbindung an Polymere lässt sich eine verlängerte Verfügbarkeit im Organismus sowie -eventuell- ein multivalenter Effekt zur Verstärkung der Bindung an Rezeptoren erreichen. Somit können neue polymere Therapeutika zugänglich werden, die eventuell eine effektivere Behandlung dieser Erkrankungen ermöglichen.

Das Ziel dieser Arbeit besteht daher in der Totalsynthese des natürlich vorkommenden Kohlenhydrat-Liganden Sialyl-Lewis<sup>x</sup> sowie in seiner chemischen Modifizierung, um eine Anbindung an polymere Reaktivester vom Pentafluorphenylestertyp zu ermöglichen. Die Wahl des benötigten Spacers, um eine ausreichend flexible und korrekt gerichtete räumliche Orientierung der Kohlenhydratstrukturen zu ermöglichen, wird ebenfalls ein essentieller Faktor für den Erfolg dieser Arbeit darstellen. Obwohl die Anbindungschemie der Reaktivester-Polymere prinzipiell keine Neuheit darstellt, wird die Frage der Reaktionsbedingungen der Anbindung sowie die Frage der Stabilität der empfindlichen Kohlenhydratstrukturen im Rahmen dieser Arbeit zu klären sein. Dabei wird die Strukturaufklärung der polymeren Verbindungen mittels NMR-Spektroskopie ebenfalls von großem Interesse sein.

Eines der entscheidenden Konzepte dieser Arbeit soll die Entwicklung polymerer Mimetika auf Basis von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> sowie dem Glycopeptid-Liganden PSGL-1

darstellen. Hierbei besteht die Idee, nur die Strukturen, die für eine Bindung erforderlich sind, in Form von polymeren Therapeutika auf Basis von etabliertem HPMA-Polymer zugänglich zu machen.



**Abb. 2.1:** Ausschnitt aus der N-terminalen Domäne des PSGL-1. Markiert sind die für die Bindung essentiell wichtigen Strukturen des Liganden, die auch in polymeren Mimetika zur Anwendung kommen sollen.

Darüber hinaus soll die Synthese von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymeren sowie die Synthese von statistischen Gemischen kovalent gebundener *N*-Acetyl-D-neuraminsäure, L-Fucose sowie D-Galactose angestrebt werden. Die in der natürlichen Sequenz des Universal-Liganden PSGL-1 vorkommenden und essentiellen sulfatierten Tyrosin-Einheiten (s. Abb. 2.1) sollen in dieser Arbeit praktischerweise durch sulfatierte Tyramin-Einheiten ersetzt werden. Um die Effektivität der polymeren Mimetika zu erhöhen und die Herstellungskosten zu senken, soll versucht werden, die kostspielige und schwierig zu handhabende *N*-Acetyl-D-neuraminsäure durch die potentiell wirksamere Aminosäure (S)-Cyclohexylalanin in Form eines mimetischen Liganden zu ersetzen. Um abschließend Gewissheit über die inhibitorischen Fähigkeiten der synthetisierten Polymere an die Selektine zu erhalten, sollen biologische Prüfungen mittels der etablierten Oberflächenplasmonenresonanz-Methode (SPR) durchgeführt werden.

Um das Konzept der Multivalenz auch auf oligomerer Ebene zu etablieren, soll versucht werden, einen  $\beta$ -Cyclodextrin-pentafluorphenyl-Reaktivester darzustellen. Dieser sollte idealerweise eine zügige und vollständige Umsetzung mit primären Aminogruppen ermöglichen.

Um die interessanten Möglichkeiten der Cyclodextrine weiter zu untersuchen und um festzustellen, ob sie geeignete Substrate für polymeranaloge Umsetzungen darstellen, soll

---

versucht werden, ein monofunktionelles Cyclodextrin zu synthetisieren, welches in Kombination mit HPMA-Polymer als Depot für potentielle Pharmaka dienen kann. In Kombination mit Kohlenhydrat-Liganden auf Basis von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> eröffnen sich so möglicherweise neuartige Wege zur Synthese multivalenter und multifunktionaler Polymere zur Behandlung von inflammatorischen und metastasierenden Erkrankungen.



## 3 Allgemeiner Teil

### 3.1 Die Monosaccharide und der Spacer

Der Aufbau des Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Grundkörpers soll in einer literaturbekannten linearen Syntheseroute, ausgehend von den Monosaccharid-Bausteinen Glucosamin, L-Fucose, D-Galactose sowie *N*-Acetyl-D-neuraminsäure, vorgenommen werden (s. Abb. 3.1). Um eine Anknüpfung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> an polymere Reaktivester zu ermöglichen, wird in Kapitel 3.1.5 die Synthese eines geeigneten aminofunktionalisierten Spacers beschrieben.

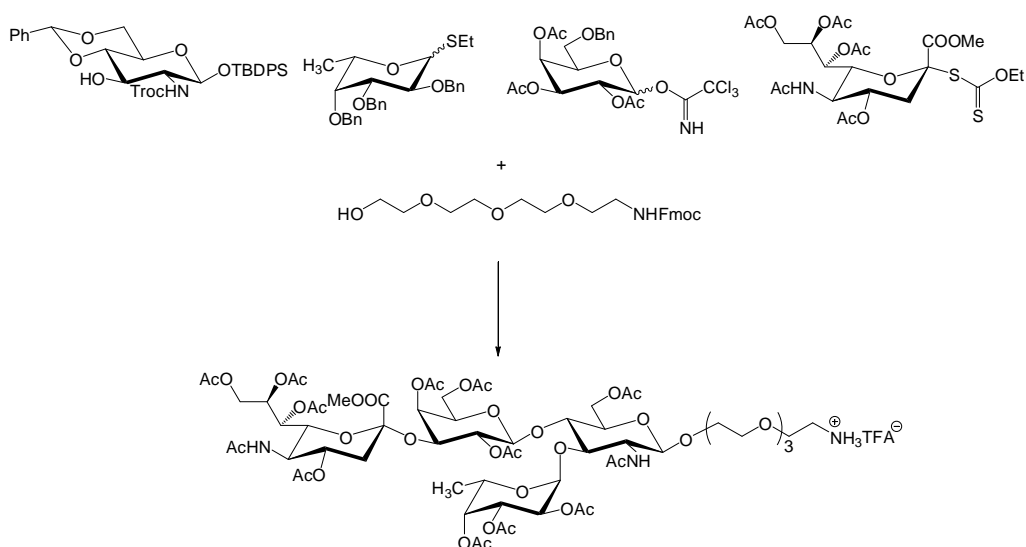


Abb. 3.1: Synthese des Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Liganden.

#### 3.1.1 Der Glucosamin-Baustein

Ausgehend von  $\alpha$ -D-Glucosamin-Hydrochlorid (**1**) wird in einer sechsstufigen Synthese der erste zentrale Baustein für die Synthese des Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Tetrasaccharids vorgestellt. Die ersten drei Stufen der Synthese entstammen den Arbeiten von *H. Kunz*<sup>[170]</sup> und *R. Schmidt*<sup>[171]</sup>, die weiteren Reaktionsschritte wurden im Rahmen der Dissertation von *K. Baumann*<sup>[172]</sup> erarbeitet.

Zur Blockierung der Aminogruppe in 2-Position von Glucosamin **1** wird die auf der Carbamatgruppe basierende Schutzgruppe Troc (2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl) angewandt.<sup>[170]</sup> Die Umsetzung erfolgt in einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung

unter tropfenweiser Zugabe von Chlorameisensäure-2,2,2-trichlorethylester. Hierbei ist eine starke Gas- und Schaumentwicklung zu beobachten, weshalb die Verwendung eines ausreichend großen Reaktionsgefäßes beachtet werden sollte. Das Reaktionsende kündigt sich durch ein Nachlassen der Gasentwicklung an. Das im Hochvakuum gut getrocknete Rohprodukt **2** wird anschließend einer Acetylierung in Pyridin mit Acetanhydrid unterworfen.

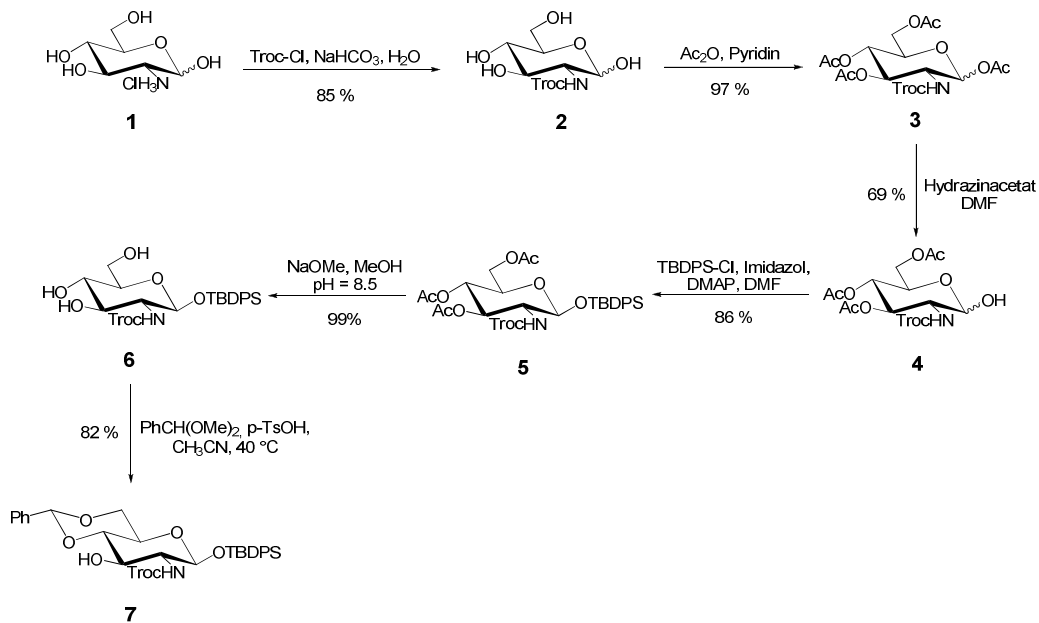


Abb. 3.2: Synthese des TBDPS-blockierten Glucosamin-Bausteins.

Das auf diese Weise erhaltene peracetylierte Troc-Glucosaminderivat **3** wird im Anschluss selektiv an der anomeren Position mittels Hydrazinacetat deblockiert. Hierbei sind die Reaktionsdauer und die Kontrolle der Reaktion mittels einer dünnschichtchromatographischen Analyse von entscheidender Bedeutung. Eine zu lange Reaktionszeit führt zwangsläufig zu einer unerwünschten mehrfachen Deacetylierung. Bei der anschließenden Aufarbeitung des Rohproduktes ist darauf zu achten, dass das Entfernen der Lösemittel zügig bei einer Temperatur unter 40 °C durchgeführt wird, da die Reaktion mit der Zeit sowie der Aufkonzentrierung des Reaktionsansatzes unweigerlich fortschreitet. Das in der anomeren Position deblockierte Monosaccharid **4** wird in einer Ausbeute von 69 % nach einer flashchromatographischen Reinigung erhalten.

Die anschließende Blockierung der anomeren Hydroxylgruppe zu dem Silylglucosid **5** erfolgt mit *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid (TBDPS-Cl). Dieses Reagenz wird vorwiegend zur selektiven Blockierung von primären Hydroxylgruppen angewandt.<sup>[173]</sup> Demnach ist

es nicht sonderlich verwunderlich, dass der Reaktionsverlauf trotz der Zugabe des Acyltransferkatalysators 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP)<sup>[174]</sup> sowie der Base Imidazol nur schleppend verläuft. Dies ist auf die große sterische Hinderung der Schutzgruppe an sich und ihre herabgesetzte Reaktivität durch die enthaltenen Phenylreste zurückzuführen. Auch spielt möglicherweise die sterische Hinderung der durch die Troc-Schutzgruppe blockierten Aminofunktion eine Rolle. Zur vollständigen Umsetzung des Eduktes sind bei Raumtemperatur etwa 5 Tage notwendig. Wird die Reaktion allerdings bei 60 °C durchgeführt, so lässt sich die Reaktionsdauer auf etwa 24 Stunden verkürzen. Aufgrund des Nachbargruppeneffektes der Troc-Schutzgruppe wird ausschließlich die Bildung des  $\beta$ -Anomers beobachtet. Nach einer flashchromatographischen Reinigung erfolgt die Deacetylierung nach *Zemplén*<sup>[175]</sup> bei einem pH-Wert von 8.5, wobei Verbindung **6** in beinahe quantitativer Ausbeute erhalten wird.

Um eine vollständige Blockierung des Bausteins mit Ausnahme der 3-Position zu erreichen, wird eine Acetalbildung durchgeführt, die selektiv die 4-Position sowie 6-Position einschließt. Die Umsetzung erfolgt in Gegenwart katalytischer Mengen an 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat (*p*-TsOH)<sup>[176]</sup> mit einer Ausbeute von 82 %. Bei der Reaktion ist eine höhere Temperatur notwendig, da sich das Glucosaminderivat **6** bei Raumtemperatur nur unzureichend löst. Der blockierte Baustein **7** kann somit in einer Gesamtausbeute von 40 % erhalten werden.

### 3.1.2 Der Fucose-Baustein

Die Synthese des L-Fucose-Bausteins erfolgt in einer vierstufigen literaturbekannten Synthese nach *Lönn*.<sup>[177]</sup> Im ersten Schritt der Synthese wird die vollständig acetylierte L-Fucose (**8**) durch Reaktion mit Acetanhydrid in Pyridin dargestellt. Die Aufarbeitung kann flashchromatographisch oder mittels Waschen der Reaktionslösung mit verdünnter Zitronensäurelösung erfolgen. Es wird ein Anomerenverhältnis der Verbindung **9** von  $\alpha$ - zu  $\beta$ -Anomer von 10:1 NMR-spektroskopisch ermittelt. Dies sollte für die nachfolgende Bildung des Thiofucosids **10** keine Rolle spielen. Zu beachten ist aber, dass es bei großen Ansätzen von mehr als 50 g Substanz sowie bei älteren Gebinden von Bortrifluorid-Diethyletherat zu einer unvollständigen Umsetzung kommen kann. Dieser mangelhaften Umsetzung kann auch nicht durch eine erneute Zugabe der Lewis-Säure begegnet werden.

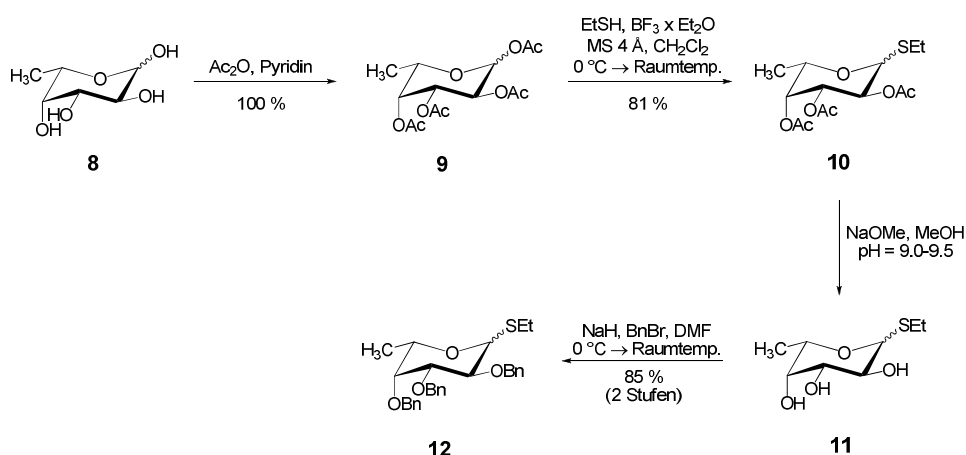


Abb. 3.3: Synthese des Fucose-Bausteins.

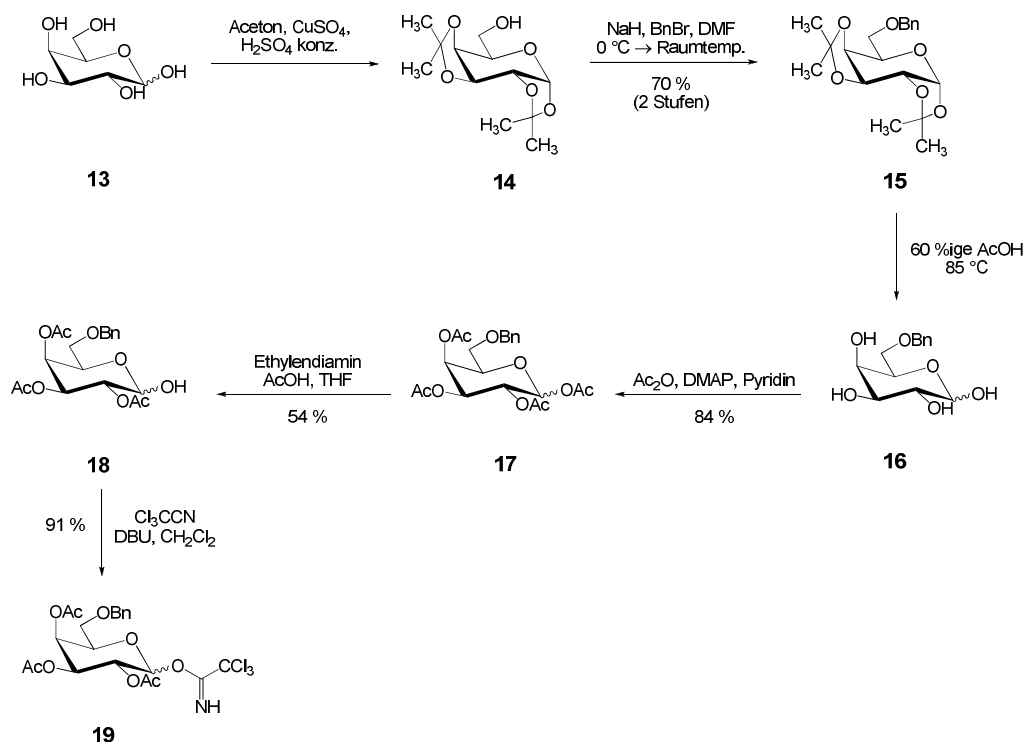
Die sich anschließende Deacetylierung nach *Zemplén*<sup>[175]</sup> zu Verbindung **11** wird bei einem pH-Wert von 9.0 bis 9.5 ausgeführt, wobei keine Reinigung des Rohproduktes erforderlich ist. Die nachfolgende Benzylierung erfolgt unter Einwirkung der Base Natriumhydrid mit anschließender Zugabe von Benzylbromid bei einer Temperatur von 0 °C. Nach flashchromatographischer Reinigung wird ein  $\alpha,\beta$ -Anomerengemisch erhalten, das in dieser Form auch in die Reaktion zur Synthese des Disaccharids und der Mimetika eingesetzt werden kann. Der benzylierte Thiofucosid-Baustein **12** wird in einer Gesamtausbeute von 69 % erhalten.

### 3.1.3 Der Galactose-Baustein

Die Synthese des D-Galactose-Bausteins erfolgt nach einer literaturbekannten Strategie in sechs Stufen.<sup>[178]</sup>

Ausgehend von  $\alpha,\beta$ -D-Galactose (**13**) erfolgt im ersten Syntheseschritt eine zweifache Einführung von Isopropyliden-Schutzgruppen zum 1,2- sowie 3,4-Acetal unter dem Einsatz von Aceton und katalytischen Mengen an konzentrierter Schwefelsäure.<sup>[179]</sup> Zur Entfernung des gebildeten Reaktionswassers wird trockenes Kupfer(II)-sulfat zugesetzt. Das erhaltene Produkt **14** kann ohne weitere Reinigung in die nachfolgende Benzylierung eingesetzt werden. Hierzu wird unter Verwendung von Natriumhydrid die in 6-Position freie Hydroxylgruppe deprotoniert und mit Benzylbromid zum entsprechenden Benzylether **15** umgesetzt.<sup>[180]</sup> Nach flashchromatographischer Reinigung wird das mit Isopropylidenacetal-Schutzgruppen versehene sowie Benzylether blockierte Derivat **15** in einer Ausbeute von 70 % über zwei Stufen erhalten.





**Abb. 3.4:** Synthese des Galactose-Bausteins.

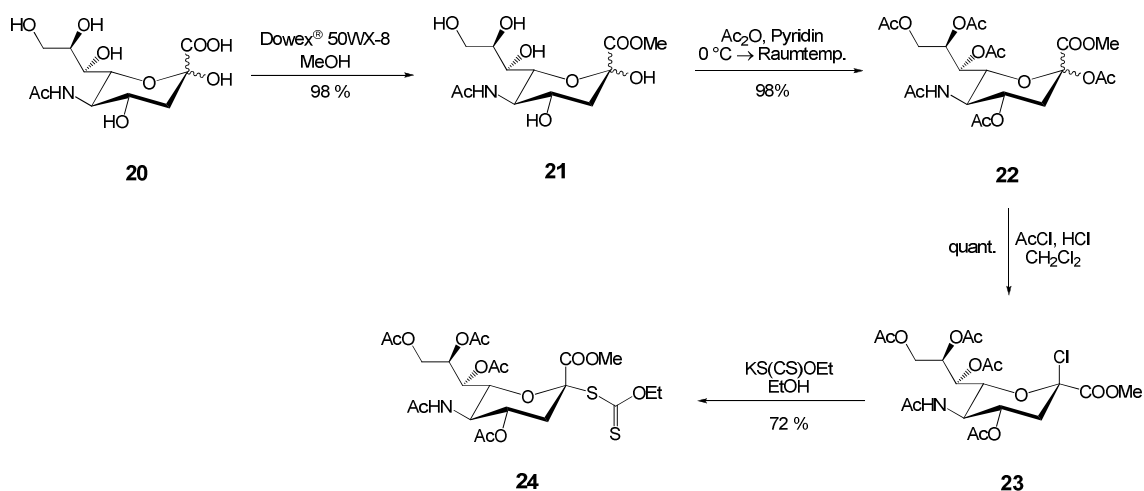
Das Entfernen der Isopropyliden-Schutzgruppen gelingt in 60 %iger Essigsäure bei einer Temperatur von 85 °C über einen Zeitraum von 20 Stunden.<sup>[180]</sup> Das erhaltene Rohprodukt **16** wird nicht gereinigt und direkt in die nachfolgende Acetylierung unter einer 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP)<sup>[174]</sup> Katalyse eingesetzt. Es kann das acetylierte und in 6-Position benzylierte Galactosederivat **17** in einer Ausbeute von 84 % über zwei Stufen erhalten werden. Die Deblockierung der anomeren Hydroxylgruppe zu Verbindung **18** gelingt mit einem Gemisch aus Ethylendiamin und Eisessig in Tetrahydrofuran mit einer Ausbeute von 54 %.<sup>[181]</sup> Alternativ bietet sich bei dieser Reaktion auch die Verwendung von Hydrazinacetat an.<sup>[182]</sup>

Zur Darstellung des für die Glycosylierungsreaktionen benötigten Trichloracetimidats wird der reduzierende Zucker **18** mit einem Überschuss an Trichloracetimidat sowie katalytischen Mengen 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und bei Raumtemperatur zu dem Trichloracetimidat **19** umgesetzt.<sup>[178,183]</sup> Nach einer zügigen flashchromatographischen Reinigung des Rohproduktes wird als Hauptfraktion ein  $\alpha,\beta$ -Anomerengemisch neben einer Fraktion reinem  $\alpha$ -Anomer erhalten. Um weiteres  $\alpha$ -Anomer zu isolieren, wird das Anomerengemisch in wenig Ethylacetat gelöst und mit Cyclohexan ausgefällt. Diese Trennung ist aber aufgrund des Nachbargruppeneffektes

der Acetylgruppe in 2-Position der Galactose prinzipiell nicht notwendig, da durch diese während der Galactosylierung reines  $\beta$ -Anomer entsteht.

### 3.1.4 Der Neuraminsäure-Baustein

Die Darstellung des Neuraminsäurexanthogenats setzt sich aus einer vierstufigen literaturbekannten Synthese zusammen. Im ersten Schritt der Synthese wird die Carboxylfunktion in den Methylester überführt. Hierzu suspendiert man die käuflich zu erwerbende *N*-Acetyl-D-neuraminsäure (**20**) in Methanol und versetzt diese mit dem sauren Ionentauscher Dowex<sup>®</sup> 50WX8.<sup>[184]</sup> Der entsprechende Neuraminsäuremethylester **21** wird in beinahe quantitativer Ausbeute erhalten und wird ohne Reinigung einer Acetylierung in Pyridin mit Acetanhydrid unterworfen und anschließend flashchromatographisch an Kieselgel gereinigt.<sup>[185,186]</sup>



**Abb. 3.5:** Die Synthese des Neuraminsäurexanthogenats.

Die auf diese Weise erhaltene, vollständig acetylierte Verbindung **22** wird in einem Gemisch aus Acetylchlorid und Salzsäure in das  $\beta$ -Sialylchlorid **23** überführt.<sup>[187]</sup> Diese Verbindung sollte ausschließlich bei tiefen Temperaturen und nur kurzzeitig gelagert werden, da sie nur eine begrenzte Stabilität aufweist. Für die nachfolgende Xanthogenatbildung ist es unerlässlich, dass das Sialylchlorid **23** vollständig von Säure befreit eingesetzt wird. Dies kann durch eine sukzessive Kodestillation mit Toluol erreicht werden. Das Xanthogenat **24** wird nach Umsetzung des Sialylchlorids **23** mit Kaliumethylxanthogenat in einer Ausbeute von 72 % nach flashchromatographischer Reinigung erhalten. NMR-spektroskopisch kann die Bildung eines Eliminierungsproduktes nur in

Spuren nachgewiesen werden. Es sei an dieser Stelle angemerkt, dass eine zügige Reinigung an Kieselgel wichtig ist, da das Xanthogenat **24** nur über eine begrenzte Stabilität auf Kieselgel verfügt. Anzumerken ist auch, dass sich die Kontrolle der Reaktion als schwierig erweist, da sich die Retentionsfaktoren von Verbindung **23** und Verbindung **24** nur marginal auf Normal-Phase-Kieselgelplatten unterscheiden. Die Gesamtausbeute der Synthese, ausgehend von *N*-Acetyl-D-neuraminsäure, beträgt 71 %.

### 3.1.5 Der Tetraethylenglycol-Spacer

Um eine Anbindung der geplanten Kohlenhydrate an die Reaktivester-Polymere zu ermöglichen, werden sämtliche Kohlenhydrat-Liganden an einen polaren und flexiblen Spacer gebunden.<sup>[188]</sup> Die Anbindung der Kohlenhydrate an den Spacer kann aufgrund der freien primären Hydroxylgruppe des Spacers mittels der vielfach bewährten Glycosylierungsreaktionen der Kohlenhydratchemie erfolgen.<sup>[189,190]</sup> Um die Anbindung des Spacers an das Reaktivester-Polymer zu ermöglichen, wird allerdings auch eine primäre Aminofunktionalität benötigt. Aus diesem Grund ist es erforderlich, einen Spacer zu synthetisieren, der über zwei unterschiedliche Funktionalitäten verfügt. Es wurde sich dabei für einen Spacer auf Basis von Tetraethylenglycol **25** entschieden, da das Ausgangsmaterial kostengünstig und in hoher Reinheit käuflich zu erwerben ist.

Die Synthese des mit der Fmoc-Schutzgruppe blockierten, bifunktionellen literaturbekannten Spacers erfolgt in einer Synthese nach *Gabriel*<sup>[191]</sup> in 4-Stufen, ausgehend von Tetraethylenglycol **25**.<sup>[192,193]</sup> Die Wahl der Fmoc-Schutzgruppe ist dadurch bedingt, dass ihr Einsatz eine Reihe von Vorteilen im Rahmen der durchgeführten Synthesen aufzeigt. Zum einen ist eine orthogonale Stabilität zu der Troc-Schutzgruppe gewährleistet, andererseits führt die Verwendung dieser Schutzgruppe zu unpolarerer Verbindungen, die sich bei der Reinigung auf Normalphasen-Chromatographiemedien erheblich einfacher handhaben lassen. Auch nicht unerwähnt bleiben darf an dieser Stelle ihre hervorragende Detektierbarkeit bei einer Wellenlänge von 254 nm. Diese Eigenschaft hat sich bei den dünnschichtchromatographischen- und HPLC-Analysen als sehr nützlich erwiesen.

Durch die Reaktion von *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (*p*-TosCl) mit dem im großen Überschuss eingesetzten Tetraethylenglycol (**25**) wird das monotosylierte Tetraethylenglycol **26** erhalten. Getestet wurden bei diesem Schritt zwei verschiedene Reaktionsbedingungen, die beide eine hervorragende Ausbeute in der Größenordnung um 95 % und ein reines Produkt ohne die Notwendigkeit einer weiteren Reinigung

liefern.<sup>[192,194]</sup> Da der präparative Aufwand in einem wässrigen Reaktionsmedium geringer ist, als es bei dem Arbeiten mit absolutierten Lösemitteln der Fall wäre, wird Methode „B“ (s. Abb. 3.6), trotz der geringfügig niedrigeren Ausbeute, der Vorrang gegeben.

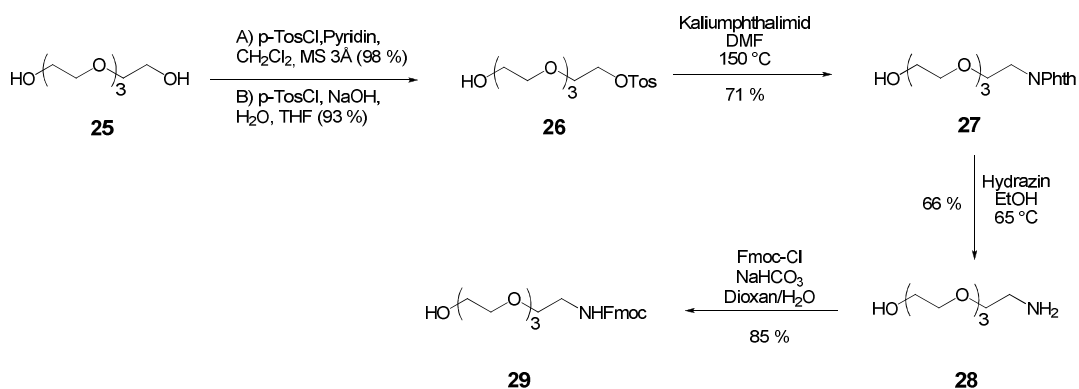


Abb. 3.6: Synthese des Fmoc-blockierten Spacers.

Die sich anschließende S<sub>N</sub>2-Reaktion mit Kaliumphthalimid in absol. *N,N*-Dimethylformamid liefert nach einer Reaktionszeit von 10 Stunden und einer Temperatur von 150 °C das entsprechende Monophthalimid **27** in einer Ausbeute von 71 % nach flashchromatographischer Reinigung an Kieselgel. Um die primäre Aminofunktionalität freizusetzen, wird eine Hydrazinolyse in Methanol mit Hydrazin zu Verbindung **28** durchgeführt.<sup>[192]</sup> Nachteilig bei diesem Verfahren ist die schwierige Abtrennung des äquimolar gebildeten Hydrazids. Es hat sich als besonders vorteilhaft erwiesen, am Ende der Reaktion, die Reaktionsmischung mit verdünnter Salzsäure zu versetzen und dann den gebildeten Feststoff über Hyflo<sup>®</sup> abzufiltrieren. Auf diese Weise kann eine vollständige Abtrennung des Hydrazids erreicht werden.

Das Rohprodukt der Hydrazinolyse wird im Anschluss einer Fmoc-Blockierung mit Fluoren-9-ylmethoxycarbonylchlorid (Fmoc-Cl) in Dioxan und einer 10 %-igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung unterzogen.<sup>[193]</sup> Der mit Fmoc blockierte Spacer **29** wird in einer Gesamtausbeute von 39 % ausgehend von Tetraethylglycol (**25**) erhalten. Es muss an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass es unbedingt erforderlich ist, den mit Fmoc blockierten Spacer bei tiefen Temperaturen zu lagern, da ansonsten allmählich eine Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe eintritt.

## 3.2 Die Oligosaccharide

### 3.2.1 Der Disaccharid-Baustein

Für die Synthese des Disaccharid-Bausteins **31**, ausgehend von dem benzylierten Thiofucosid **12** sowie dem Glycosylakzeptor **7**, hat sich zur stereoselektiven Synthese einer  $\alpha$ -verknüpften L-Fucose das *in situ*-Anomerisierungsverfahren von *Lemieux et al.* vielfach bewährt.<sup>[195]</sup> Es konnte durch *K. Baumann* im Rahmen ihrer Dissertation gezeigt werden, dass dieses Verfahren auch für die Synthese des TBDPS- sowie Troc-blockierten Disaccharid-Bausteins **31** mit guten Ausbeuten anwendbar ist.<sup>[172,196,197]</sup>

Da die Lagerstabilität der Fucosylbromide stark begrenzt ist, wird bei der nachfolgend beschriebenen Synthese die Variante von *Ogawa et al.* zum Tragen kommen.<sup>[198]</sup> Diese geht von den deutlich stabileren Thioglycosiden aus, die erst im Verlauf der Reaktion mit Kupfer(II)-bromid zu dem entsprechenden  $\alpha$ -Fucosylbromid reagieren (s. Abb. 3.7).

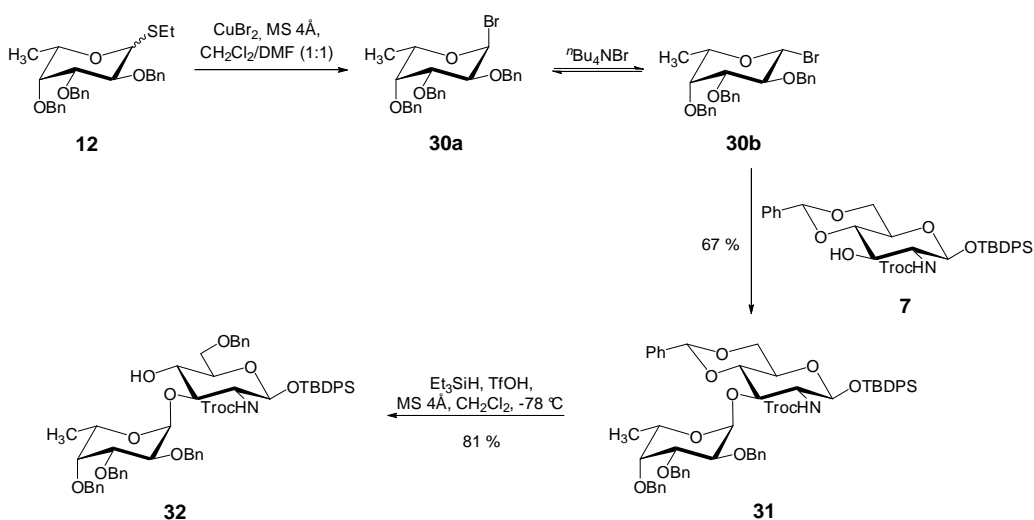
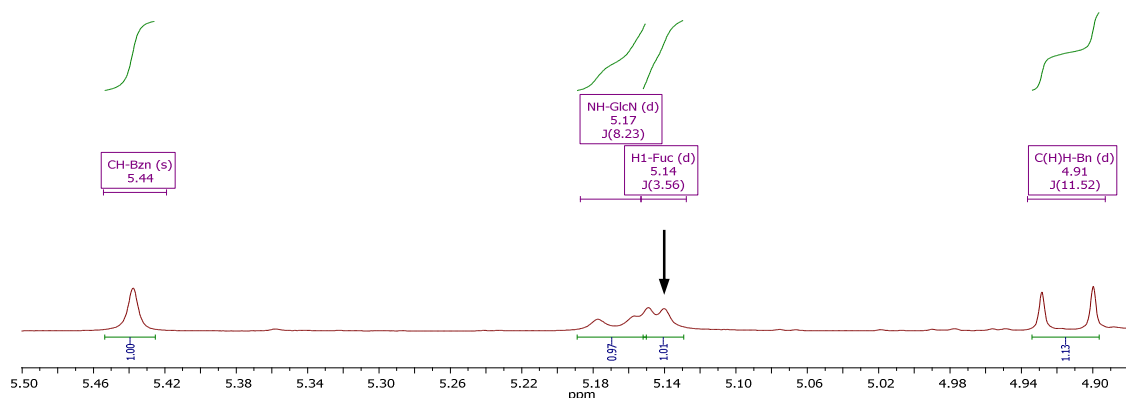


Abb. 3.7: Synthese des Disaccharid-Bausteins.

Um eine selektive  $\alpha$ -anomere Verknüpfung des Fucose-Bausteins **12** mit dem Akzeptor-Baustein **7** zu erzielen, wird der Reaktionsmischung Tetra-*n*-butylammoniumbromid zugefügt. Dieses ist für die *in situ*-Anomerisierung des relativ stabilen  $\alpha$ -Anomers **30a** zum reaktiven  $\beta$ -Anomer **30b** in einem Gleichgewicht verantwortlich. Das  $\beta$ -Anomer **30b** reagiert dann bevorzugt mit dem Glycosylakzeptor **7** und erzeugt auch aufgrund der fehlenden Nachbargruppenaktivität des Benzylrestes in 2-Position des Fucose-Bausteins **12** das thermodynamisch stabilere  $\alpha$ -Anomer.

NMR-spektroskopisch kann anhand der Kopplungskonstanten  $^3J_{H_{11},H_2}$  von H1-Fuc, die 3.56 Hz beträgt, sowie an der Tieffeldverschiebung von 5.14 ppm belegt werden, dass sich auch tatsächlich ausschließlich das gewünschte  $\alpha$ -Anomer gebildet hat. Das Wasserstoffsignal des anomeren Zentrums wird zwar teilweise von dem amidischen Wasserstoff (NH-GlcN) des Glucosamins überlagert; dennoch ist das entscheidende Dublett sicher zu identifizieren und die Kopplungskonstante zu bestimmen (s. Abb. 3.8).



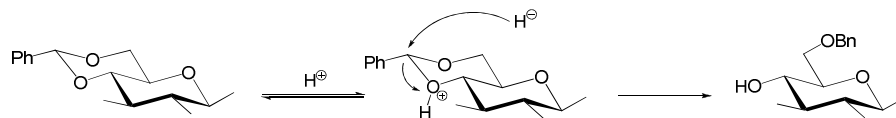
**Abb. 3.8:** Entscheidender Ausschnitt des 400 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums von Verbindung **31** gemessen in  $\text{CDCl}_3$  zur Bestimmung der anomeren Konfiguration der Fucose im Disaccharid.

Um den Baustein **31** in die Synthese eines Trisaccharids einsetzen zu können, muss zuvor eine regioselektive Ringöffnung des Benzylidenacetals durchgeführt werden. Hierbei stehen grundsätzlich mehrere Ansatzmöglichkeiten zu Verfügung. Die häufig eingesetzte Variante unter Verwendung von Natriumcyanoborhydrid und einer gesättigten Lösung von Chlorwasserstoff in Diethylether ist als nicht vorteilhaft anzusehen, da diese Reaktion eine strenge Reaktionskontrolle benötigt.<sup>[199]</sup> Zudem besteht die Gefahr, dass die säurelabile fucosidische Bindung durch den aggressiven Chlorwasserstoff in nicht unerheblichem Maße angegriffen wird. Aus diesen Gründen erschien es *K. Baumann*<sup>[172]</sup> sinnvoll, die regioselektive Ringöffnung anstelle der oben genannten Reagenzien, mit Trifluormethansulfonsäure und als Reduktionsmittel mit Triethylsilan nach der Methode von *DeNinno et al.*<sup>[200]</sup> mit der Abwandlung von *Sakagami et al.*<sup>[201]</sup>, durchzuführen. Unter diesen Bedingungen wird der regioselektiv geöffnete primäre Benzylether **32** in einer Ausbeute von 81 % erhalten.

Zur Erklärung der hohen Regioselektivität der Reaktion kann man die sterische Hinderung und höhere Basizität des Sauerstoffatoms in 4-Position des Kohlenhydrats heranziehen (s. Abb. 3.9). Erfolgt der Einsatz sterisch nicht gehinderter Brønsted-Säuren,

so wird der basische Sauerstoff in der 4-Position protoniert. Der sich anschließende Hydrid-Übertrag führt dann zum entsprechenden primären Benzylether.<sup>[199]</sup>

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



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

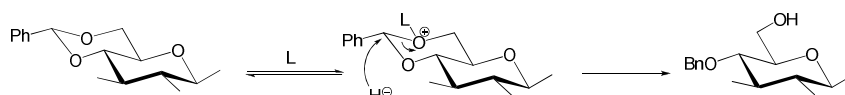


Abb. 3.9: Regioselektive Öffnung der Benzylidenacetale.

Wird hingegen eine sterisch gehinderte Lewis-Säure, wie z.B. Aluminiumtrichlorid, eingesetzt, so ist ein Angriff dieser Säure nur an dem sterisch deutlich weniger gehinderten Sauerstoffatom in 6-Position möglich, wobei sich der sekundäre Benzylether bildet.<sup>[202]</sup>

### 3.2.2 Der Lewis<sup>x</sup>-Baustein

Die Synthese des Trisaccharid-Bausteins erfolgt nach dem Trichloracetimidatverfahren von Schmidt.<sup>[190,203,204]</sup> Diese Synthesetechnik wird häufig bei der Darstellung komplexer Kohlenhydrate angewandt, bei der das Glycosylierungsverfahren nach Koenigs-Knorr<sup>[189]</sup> keine Anwendung finden kann, da die für diese Glycosylierungsreaktionen benötigten Glycosyl-Halogenide zu wenig reaktiv sind.

Für die Synthese des Trisaccharids **33** wird ausgehend von dem Trichloracetimidat **19** und dem Disaccharid **32** eine Glycosylierung bei tiefen Temperaturen vorgenommen. Als Katalysator bzw. Aktivator dient Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf).

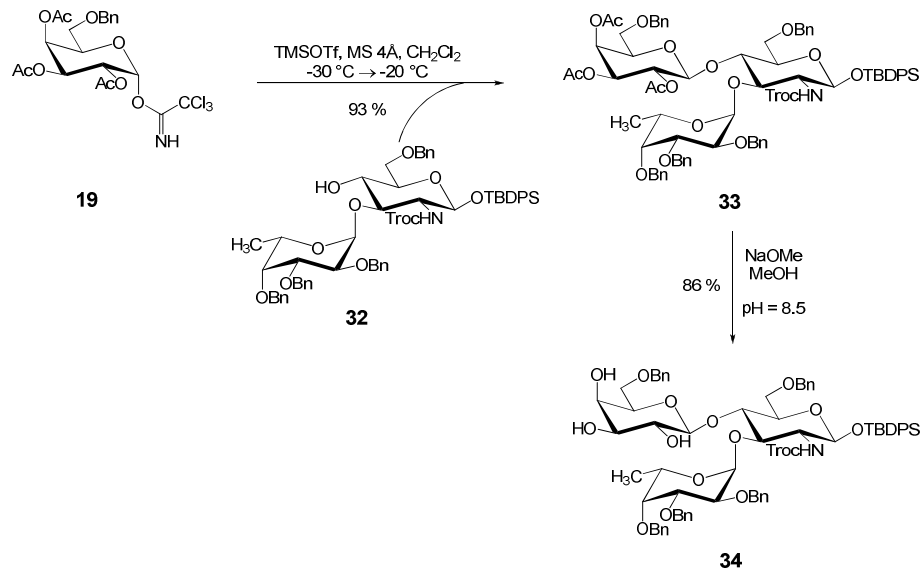
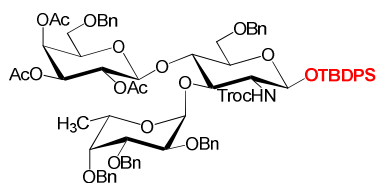


Abb. 3.10: Synthese des Trisaccharids.

*K. Baumann*<sup>[172]</sup> war dagegen die Synthese des Trisaccharids **33** mit einer Ausbeute von 63 % gelungen; die Synthese des entsprechenden in der anomeren Position mit einer Allylschutzgruppe versehenen Kohlenhydrates **33b** gelang ihr mit einer Ausbeute von 93 %. Weitere Experimente im Rahmen ihrer Arbeiten zeigten, dass die Synthese des weniger gehinderten, allerdings ebenfalls mit der TBDPS-Schutzgruppe blockierten sowie arabinosylierten Bausteins **33a**, ebenfalls mit einer Ausbeute von nur 24 % möglich war. Das entsprechende in der anomeren Position allylblockierte und arabinosylierte Derivat **33c** konnte von ihr in einer sehr hohen Ausbeute von 90 % synthetisiert werden (s. Abb. 3.11).

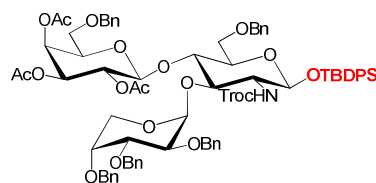


**33**

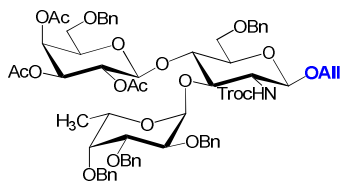
Ausbeute Lit.: 63 %

Ausbeute erhalten: 20-30 %

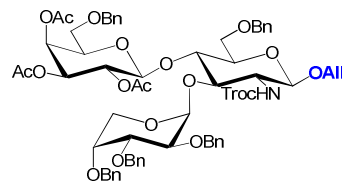
Ausbeute inverse Glycosylierung: 93 %

**33a**

Ausbeute Lit.: 24 %

**33b**

Ausbeute Lit.: 92 %

**33c**

Ausbeute Lit.: 90 %

**Abb. 3.11:** Verschiedene Trisaccharide, die im Rahmen der Dissertation von K. Baumann<sup>[172]</sup> synthetisiert wurden. Auffällig sind die niedrigen Ausbeuten der mit TBDPS-blockierten Strukturen.

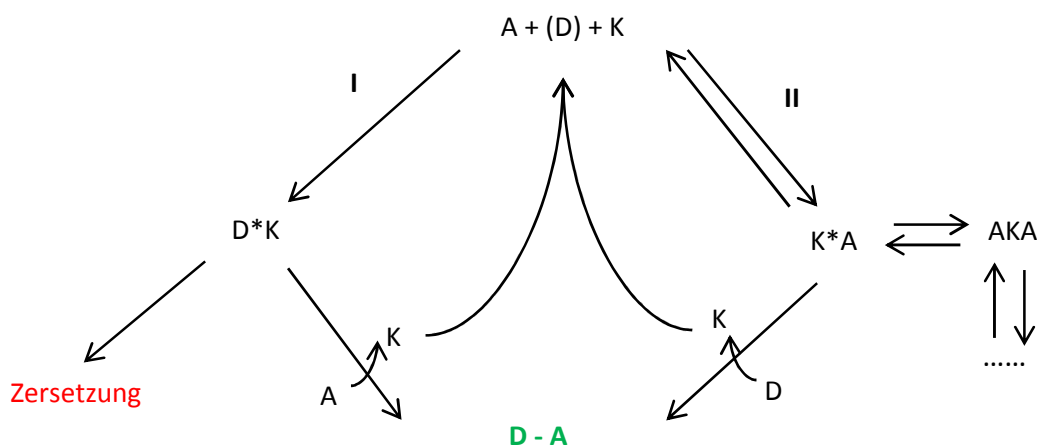
Die bei der Synthese des Trisaccharids **33** zu Anfang verwendete Glycosylierungsmethode stellte trotz der literaturbekannten Vorschriften ein nicht unerhebliches Problem dar. Das Disaccharid **33** konnte bei einer „normalen“ Glycosylierung ausschließlich mit Ausbeuten im Bereich von 20-30 % erhalten werden. Es ist daher als wahrscheinlich anzunehmen, dass die TBDPS-Schutzgruppe einen starken Einfluss auf die räumliche Anordnung der Trisaccharide hat, die den Angriff des Donors **19** deutlich erschwert.

Um die Ausbeuteverluste, die anfänglich bis zu 80 % betragen, zu minimieren, wurde eine Reihe von Optimierungsexperimenten durchgeführt. Trotz einer vielfältigen Variation der Temperatur sowie der Konzentration an Lewis-Säure oder Donor **19** konnte keine Ausbeutesteigerung erreicht werden, ebenso wenig wie durch die Verwendung von Bortrifluorid-Diethyletherat ( $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ ) anstelle von Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf).<sup>[205,206]</sup> Es konnte bei den durchgeführten Experimenten auch die Kontamination mit Wasser oder anderen störenden Verunreinigungen vollständig ausgeschlossen werden. Trotz allem kam es in den Experimenten zu einer deutlichen Zersetzung des Trichloracetimidats **19** sowie zu einer partiellen Zersetzung des Disaccharids **32**, insbesondere bei langen Reaktionszeiten oder bei höheren Konzentrationen an Lewis-Säure. Dennoch war es bei der flashchromatographischen Reinigung

des Trisaccharids **33** meist möglich, ca. 50 % des eingesetzten Disaccharids **32** wiederzugewinnen.

Eine drastische Steigerung der Ausbeute konnte hier allerdings durch den Einsatz eines inversen Glycosylierungsverfahrens erreicht werden. *Schmidt* beschrieb im Jahre 1991 eine Fucosylierung, ausgehend von einem reaktiven Trichloracetimidat, bei der mit einer „normalen“ Glycosylierung mangelhafte Ausbeuten erzielt wurden. Durch den Einsatz einer inversen Glycosylierung konnte eine drastische Steigerung der Ausbeute an gewünschtem difucosyliertem Produkt erreicht werden.<sup>[207]</sup>

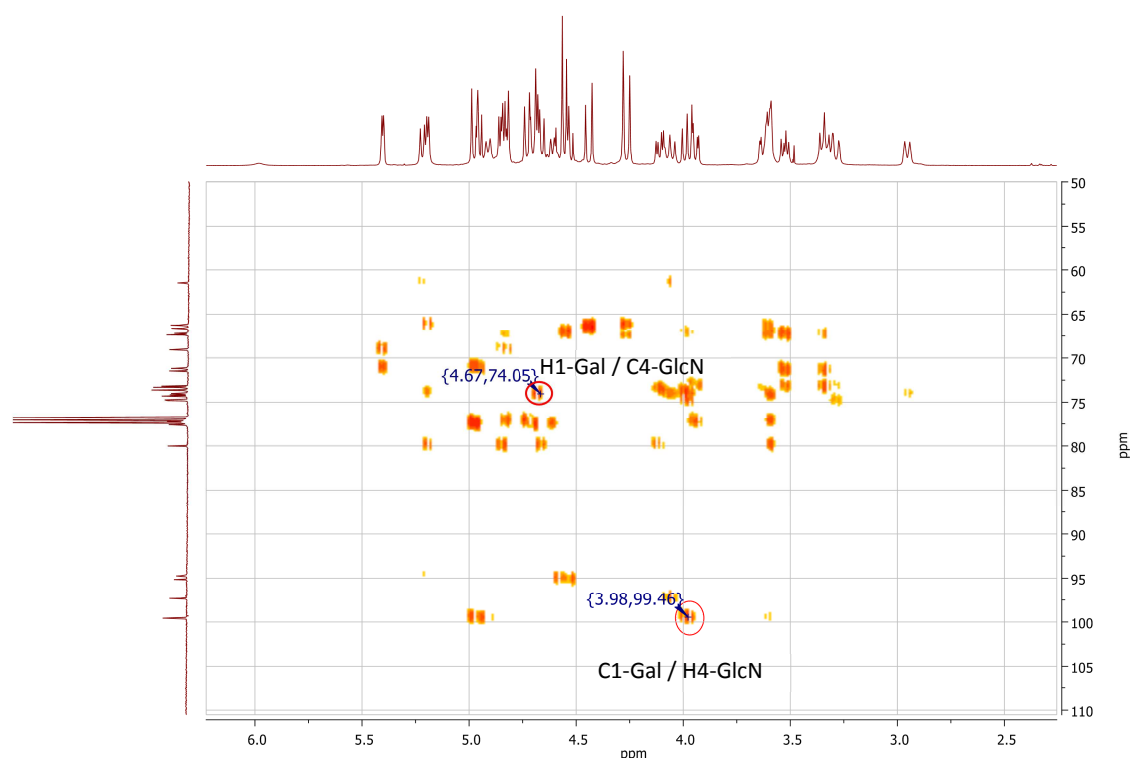
Bei einer „normalen“ Glycosylierung mit Trichloracetimidaten werden Akzeptor (A) und Donor (D) vorgelegt und mit dem verdünnten Katalysator (K) tropfenweise bei tiefen Temperaturen versetzt (Reaktionsweg Nr. I, s. Abb. 3.12). Aufgrund der bevorzugten Reaktion zwischen Katalysator (K) und Donor (D) erfolgt eine rasche Aktivierung des nunmehr instabilen Trichloracetimidats. Handelt es sich bei dem Trichloracetimidat um ein besonders reaktives Derivat, so sollte die Reaktivität bzw. die sterische Zugänglichkeit des Akzeptors in einer ähnlichen Größenordnung liegen. Durch die synthetisch nahezu unbegrenzten Verknüpfungsmöglichkeiten der Kohlenhydrate, sowie die Art und Position der möglichen Schutzgruppen, kann ein vielfältiges Spektrum an Verbindungen erzeugt werden, die allesamt auch über unterschiedlich sterisch abgeschirmte Zentren mit einer unterschiedlichen Reaktivität verfügen. Wird nun beispielsweise ein reaktiver Donor (D) mit einem unreaktiven oder gehinderten Akzeptor (A) umgesetzt, so ist die Wahrscheinlichkeit der Zersetzung oder der Umlagerung des Donors (D) bevorzugt gegenüber der Bildung des entsprechenden Glycosids (D-A).



**Abb. 3.12:** Schema einer „normalen“ Glycosylierung (Reaktionsweg Nr. I) und inversen Glycosylierung (Reaktionsweg Nr. II) nach Schmidt.<sup>[207]</sup>

Bei der inversen Prozedur (Reaktionsweg Nr. II) werden Akzeptor (A) sowie Katalysator (K) bei tiefen Temperaturen vorgelegt. Dabei bildet sich der Komplex (K\*A) aus, der dann anschließend langsam tropfenweise mit dem Donor (D) versetzt wird. So bleibt vor der Zersetzung des Donors (D) ausreichend Zeit, um mit dem Akzeptor (A) zu dem gewünschten Glycosid (D-A) zu reagieren.

Mittels der inversen Glycosylierung konnte die Ausbeute an Trisaccharid **33** reproduzierbar von durchschnittlich 25 % auf 92 % erhöht werden, wobei die analytischen Daten des Trisaccharids **33** mit denen der Referenzverbindung vollständig übereinstimmen. Es ist daher denkbar, dass sich dieses Verfahren auch für den Baustein **33a** erfolgreich anwenden lässt. Die NMR-spektroskopische Analyse des Trisaccharids **33** zeigt bei beiden Methoden der Glycosylierung eine  $\beta$ -verknüpfte Galactose aufgrund der relativen Hochfeldverschiebung des Wasserstoffsignals der anomeren Position. Auch die regioselektive Acetalöffnung zum Disaccharid **32** ist in der Stufe des Trisaccharids nachweisbar. In einem HMBC-Experiment kann die Korrelation zwischen dem Kohlenstoffatom-1 der Galactose (C-1-Gal) und dem Wasserstoffatom in 4-Position des Glucosamin-Bausteins (H4-GlcN) nachgewiesen werden (s. Abb. 3.13).

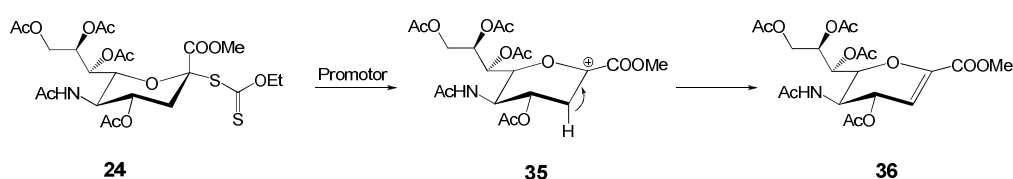


**Abb. 3.13.:** Charakteristischer Ausschnitt des HMBC-Spektrums von Verbindung **33** gemessen in  $\text{CDCl}_3$ . Es zeigt die räumlich sowie stereochemisch korrekte Verknüpfung der Galactose im Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Baustein.

Um das gewonnene Trisaccharid **33** für die nachfolgende Einführung der Sialinsäure zugänglich zu machen, ist eine Abspaltung der Acetylgruppen notwendig. Hierbei kommt die bewährte Umesterung nach *Zemplén*<sup>[175]</sup> bei einem pH-Wert von 8.5 zum Einsatz. Wobei darauf geachtet werden sollte, dass der pH-Wert nicht basischer als 8.5 eingestellt wird. Dies kann zu einem Verlust der Troc-Schutzgruppe führen. Das deblockierte Trisaccharid **34** wird nach einer flashchromatographischen Reinigung in einer Ausbeute von 86 % erhalten.

### 3.2.3 Der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Baustein

Die Synthese des Tetrasaccharids Sialyl-Lewis<sup>x</sup> ist von chemischer und analytischer Seite mit einigen Schwierigkeiten behaftet. Das für die stereoselektive Synthese benötigte Sialinsäurexanthogenat **24** weist Eigenschaften auf, die die Sialylierungsreaktionen negativ beeinflussen. Dies kann auch anhand der durchschnittlichen Ausbeuten festgestellt werden, die grundsätzlich niedriger liegen, als die Ausbeuten, die von anderen Glycosylierungsreaktionen bekannt sind.<sup>[208]</sup> Das hat zum einen mit der elektronenziehenden Wirkung und dem sterischen Anspruch des Methylesters in 1-Position der Sialinsäure zu tun sowie mit der Eigenschaft, nach vorangegangener Aktivierung ein 2,3-Eliminierungsprodukt **36** aufgrund der Wirkung der Carboxylfunktion zu bilden. Diese Effekte bedingen, dass ein großer nicht wiedergewinnbarer Überschuss an wertvollem Sialinsäurexanthogenat **24** in die Sialylierungsreaktionen eingesetzt werden muss.



**Abb. 3.14:** Die Bildung des Sialinsäureglycals.

Aufgrund des Fehlens eines Substituenten in 3-Position der Sialinsäure können auch keinerlei Nachbargruppeneffekte zur stereoselektiven Kontrolle der Reaktion ausgenutzt werden. Daher ist es erforderlich, die Kontrolle der Reaktion auf eine andere Weise, z.B. in Form von dirigierenden Lösemitteln und Temperatureffekten, zu verwirklichen.

Hierbei hat sich das Verfahren von *Marra* und *Sinay* bewährt.<sup>[187,209]</sup> Ausgehend von dem Sialinsäurexanthogenat **24** erfolgt eine Aktivierung dieses Bausteins mit Methylsulfonyltrifluormethansulfonat (MeSOTf), das aus Methylsulfonylbromid (MeSBr) sowie Silbertrifluormethansulfonat (AgOTf) *in situ* hergestellt wird.<sup>[210]</sup>

Der Mechanismus der Reaktion lässt sich so verstehen, dass bei dem Austritt der Xanthogenat-Abgangsgruppe das auch als Lösemittel dienende Acetonitril an das Glycosylkation **35** koordiniert, wobei bei tiefen Temperaturen das kinetisch kontrollierte  $\beta$ -Nitrilium-Konjugat **37**, bei höheren Temperaturen das thermodynamisch stabilere, äquatoriale  $\alpha$ -Nitrilium-Konjugat **38** gebildet wird (s. Abb. 3.15). Greift nun ein Nucleophil an, so entsteht am anomeren Zentrum bei niedrigeren Temperaturen stark bevorzugt oder gar alleinig das favorisierte  $\alpha$ -konfigurierte Glycosid, bei höheren Temperaturen das  $\beta$ -konfigurierte Glycosid.<sup>[211–213]</sup>

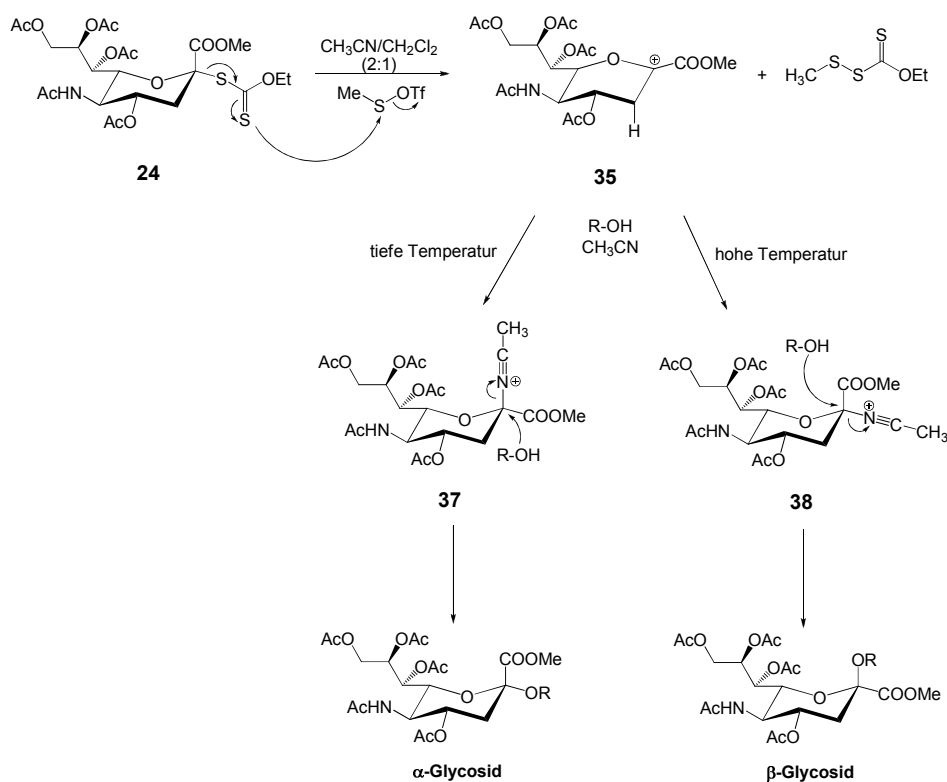


Abb. 3.15: Mechanismus der Sialylierung.

Zur Synthese des Tetrasaccharids **39** wird nun, ausgehend vom Trisaccharid-Baustein **34**, eine Sialylierung mit dem Sialinsäurexanthogenat **24** vorgenommen. Um das gewünschte  $\alpha$ -Sialosid zu erhalten, wird die Reaktion bei einer Temperatur von  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  gestartet. Nach ca. 2 Stunden erwärmt man auf  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  und lässt weitere 22 Stunden bei dieser

Temperatur rühren. Dabei kommt es laut dünnschichtchromatographischer Analyse zu einem vollständigen Umsatz an Trisaccharid **34**. Nach abschließender flashchromatographischer Reinigung wird das Tetrasaccharid **39** in einer für Sialylierungsreaktionen guten und reproduzierbaren Ausbeute von 70 % erhalten.

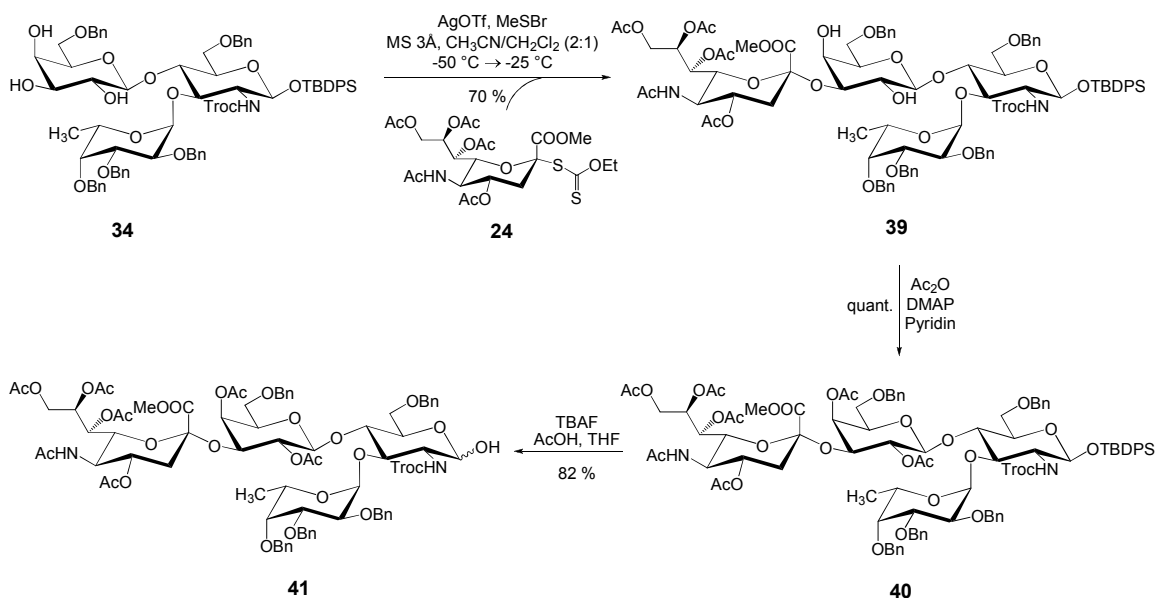
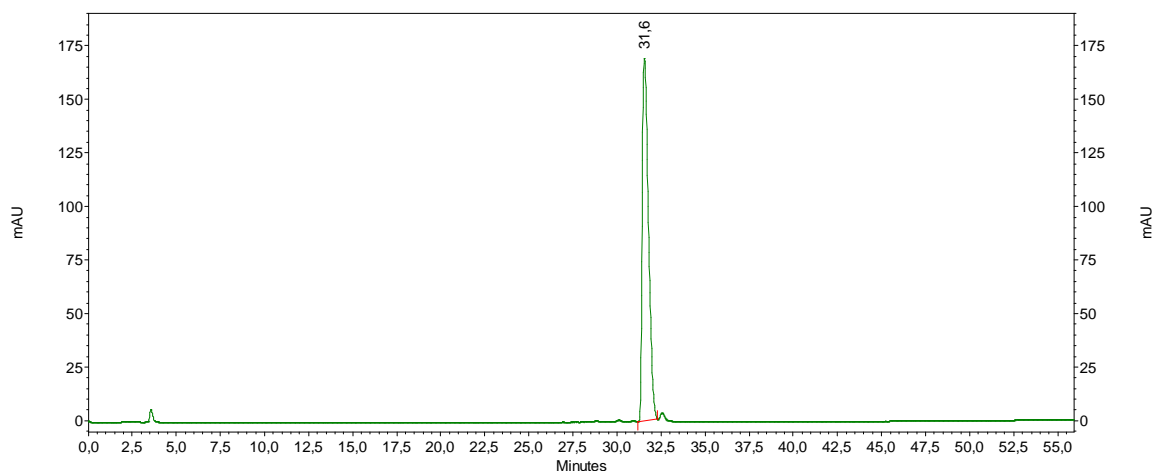


Abb. 3.16: Synthese des Tetrasaccharids Sialyl-Lewis<sup>x</sup>.

Erstaunlich ist die Tatsache, dass trotz drei freier Hydroxylgruppen ausschließlich die 3-Position der Galactose durch das aktivierte Sialinsäurexanthogenat **24** angegriffen wird. Dies ist darauf zurückzuführen, dass diese Hydroxylgruppe eine größere nucleophile sowie eine geringere sterische Hinderung als die beiden benachbarten Hydroxylgruppen in der 2- und 4-Position aufweist.

Die sich anschließende Acetylierung in Gegenwart von 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP)<sup>[174]</sup> führt zu dem vollständig blockierten Tetrasaccharid **40** in quantitativer Ausbeute. Es sollte hierbei allerdings beachtet werden, dass die Unterscheidung zwischen mono- und diacetyliertem Produkt dünnschichtchromatographisch nicht möglich ist. Um den Reaktionsfortschritt dennoch kontrollieren zu können, ist der Einsatz eines analytischen HPLC-Systems notwendig. Das HPLC-Chromatogramm aus Abb. 3.17 zeigt die hohe Reinheit des vollständig blockierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Bausteins **40**.



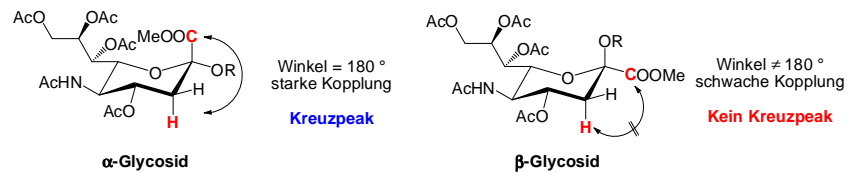
**Abb. 3.17:** Analytisches HPLC-Chromatogramm der gereinigten Verbindung **40** gemessen mit Methode Ana-3 bei 214 nm.

Um die anomere Konfiguration der Sialinsäure im Tetrasaccharid **40** zu bestimmen, bedarf es unkonventioneller Verfahren. Bei einer standardmäßigen Glycosylierung kann die anomere Konfiguration anhand der Kopplungskonstanten zwischen den Protonen der 1-Position sowie 2-Position ermittelt werden. Auch gibt die chemische Verschiebung einen Hinweis auf die anomere Konfiguration. Da die Sialinsäure allerdings ein quartäres anomeres Zentrum besitzt, können diese Verfahren keine Anwendung finden.

In der Literatur haben sich aus diesem Grund einige Anhaltspunkte für die chemischen Verschiebungen der verschiedenen Wasserstoffsignale in den Sialinsäure-Derivaten herausgestellt. Diese stellen Anhaltspunkte für die Bestimmung von  $\alpha,\beta$ -anomeren Sialylglycosiden dar. Sie können allerdings nicht als allgemeingültig betrachtet werden. [214]

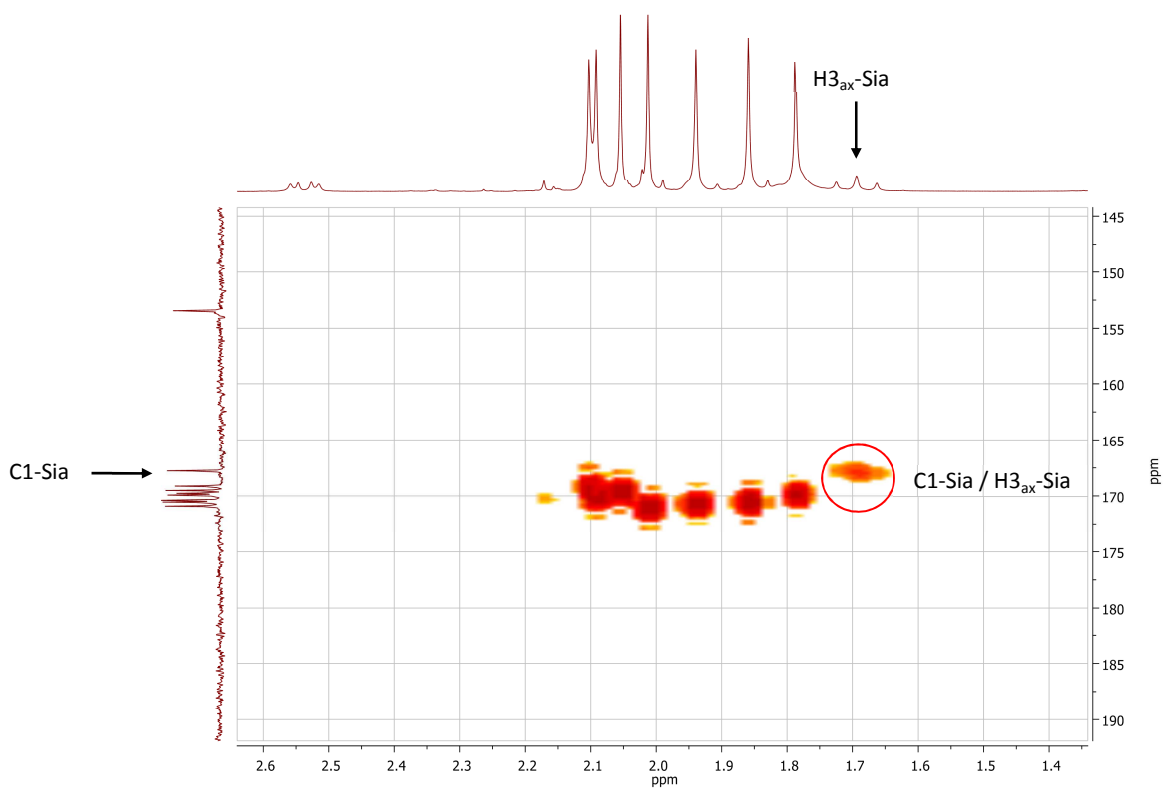
- $\delta_{\text{H-3}\ddot{\text{a}}\text{q}} (\alpha\text{-Anomer}) > \delta_{\text{H-3}\ddot{\text{a}}\text{q}} (\beta\text{-Anomer})$  [215]
- $\delta_{\text{H-4}} (\alpha\text{-Anomer}) < \delta_{\text{H-4}} (\beta\text{-Anomer})$  [216,217]
- $\delta_{\text{H-9a}} - \delta_{\text{H-9b}} (\alpha\text{-Anomer}) < \delta_{\text{H-9a}} - \delta_{\text{H-9b}} (\beta\text{-Anomer})$  [218]
- ${}^3J_{\text{H-7,H-8}} (\alpha\text{-Anomer}) > {}^3J_{\text{H-7,H-8}} (\beta\text{-Anomer})$  [218]

Daher muss zur sicheren Aufklärung der Konfiguration ein HMBC-Experiment durchgeführt werden. Hierbei wird ausgenutzt, dass das  $\alpha$ -Anomer anhand der Karplus-Beziehung eine starke Kopplung zwischen dem Kohlenstoffatom-1 und dem axial orientierten Proton  $\text{H3}_{\text{ax}}$  in der 3-Position der Sialinsäure aufweist.



**Abb. 3.18:** Prinzip der Bestimmung der anomeren Konfiguration eines Sialosids mittels HMBC-NMR.

Tatsächlich kann im HMBC-Spektrum der Verbindung **40** eine Wechselwirkung, wie im vorherigen Absatz beschrieben, nachgewiesen werden. Dies ist ein eindeutiger Beweis, dass eine  $\alpha$ -konfigurierte Sialinsäure vorliegt.



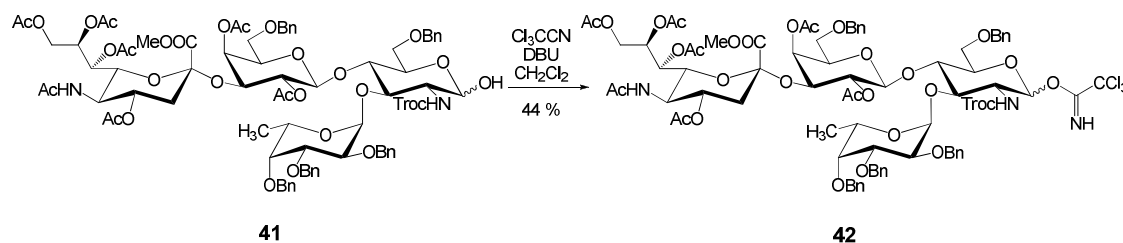
**Abb. 3.19:** Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von Verbindung **40**. Aufgenommen in  $CDCl_3$ .

Um das vollständig blockierte Tetrasaccharid **40** in seiner anomeren Position einer Glycosylierung zugänglich zu machen, ist es notwendig, die TBDPS-Schutzgruppe abzuspalten. Dies gelingt selektiv unter Verwendung von Tetra-*n*-butylammoniumfluorid (TBAF) in Tetrahydrofuran unter dem Zusatz von Essigsäure, die der Basizität des Fluorids entgegenwirkt.<sup>[172]</sup> Es konnte festgestellt werden, dass ein wasserfreies und inertes Arbeiten die Ausbeute deutlich erhöht. So konnte bei Verwendung einer käuflichen TBAF-Lösung in Tetrahydrofuran (Septenflasche; Sigma-Aldrich), anstelle



der drei Kristallwasser enthaltenen kristallinen Verbindung sowie unter Einsatz von frisch destilliertem und absol. Tetrahydrofuran, eine Ausbeuteerhöhung auf 82 % festgestellt werden (Lit.:<sup>[172]</sup> 69 %). Unter den beschriebenen Bedingungen hat sich auch die Anzahl an gebildeten Nebenprodukten reduziert. Zur vollständigen Umsetzung der Verbindung **40** wird nach einer Reaktionszeit von 64 Stunden erneut TBAF sowie Essigsäure zugegeben.

Die Aktivierung des Tetrasaccharids **41** erfolgte, wie *K. Baumann* in ihrer Dissertation bereits ausgeführt hat, als Trichloracetimidat.<sup>[172]</sup> So konnte dieser wertvolle und reaktive Baustein unter der mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) katalysierten Reaktion mit einer Ausbeute von 44 % erhalten werden.

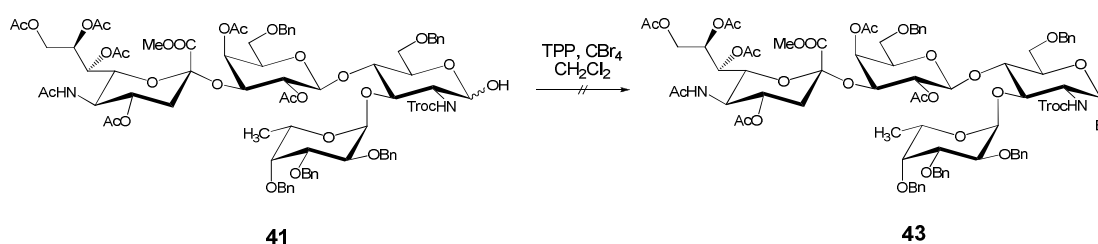


**Abb. 3.20:** Synthese des Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Trichloracetimidats.

Diese mäßige Ausbeute wird auf eine nicht vollständige Umsetzung des Bausteins **41** sowie auf die Tatsache zurückgeführt, dass die notwendige flashchromatographische Reinigung das säurelabile Trichloracetimidat teilweise zersetzt.

In Optimierungsexperimenten wurde versucht, auf die Glycosylierungsmethode nach *Koenigs-Knorr*<sup>[189]</sup> zurückzugreifen. Diese setzt für die Glycosylierung das Vorhandensein eines anomeren Halogenids voraus. Bekannte und bewährte Methoden zur Erzeugung dieser aktiven Glycosyldonoren greifen allerdings auf aggressive und saure Reagenzien, wie z.B. Bromwasserstoff in Eisessig<sup>[219,220]</sup> oder Oxalylbromid<sup>[221]</sup>, zurück. Sie sind daher für die Synthese eines Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Halogenids ungeeignet, da die Freisetzung von Bromwasserstoff die stark säureempfindliche fucosidische Bindung, insbesondere beim Vorhandensein von Benzylether-Schutzgruppen, auch unter dem Zusatz einer Hilfsbase zerstört.<sup>[222]</sup> Daher kam als einzige Methode zur Erzeugung eines Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Halogenids die *Appel-Reaktion*<sup>[223]</sup> in Frage. Diese sehr milde und unter neutralen Bedingungen ablaufende Reaktion setzt als treibende Kraft die Oxophilie des Triphenylphosphins (TPP) ein, um die Bildung eines Halogenids zu ermöglichen. Als Bromlieferant kommt dabei Tetrabromkohlenstoff zum Einsatz. Vorversuche an dem

Acetyl- sowie Troc-blockiertem Monosaccharid-Baustein **4** zur Erzeugung eines Glycosylbromids waren auch unter dem Einsatz von abfiltrierbarem polymeren Triphenylphosphin (TPP) überaus erfolgreich. Der Übertrag dieser optimierten Reaktion auf den Baustein **41** führte allerdings zur Erkenntnis, dass trotz langer Reaktionszeit von mehreren Stunden nicht die Bildung des gewünschten Bromids **43** zu verzeichnen war.



**Abb. 3.21:** Versuch der Synthese eines Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Bromids.

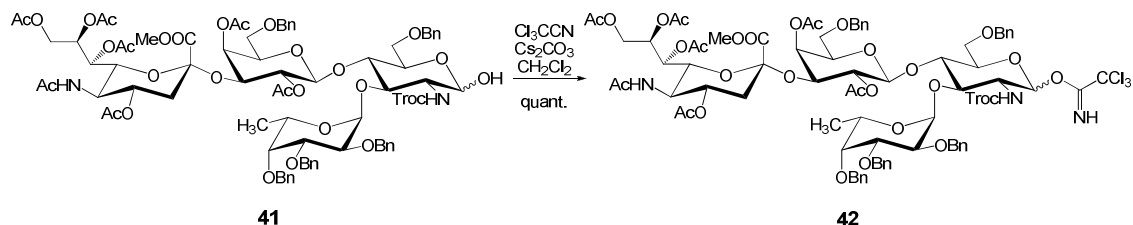
Wahrscheinlich liegen auch in diesem Fall sterische Gründe vor, die den Angriff der voluminösen Triphenylphosphingruppe unterbinden oder deutlich erschweren. Dies macht deutlich, dass die Möglichkeiten der Modifizierung der anomeren Position an komplexen Oligosacchariden in der Wahl der verwendbaren Reagenzien eingeschränkt sind.

Da sich bereits in den Vorversuchen herausgestellt hat, dass das Trichloracetimidat die Verbindung der Wahl darstellt, wurden weitere Experimente zur Synthese von Verbindung **42** unternommen. Die Substitution von DBU mit polymerem DBU ermöglichte zwar das einfache Abfiltrieren des Katalysators; allerdings verblieb auch nach Optimierungsversuchen im Rohprodukt ein nicht unerheblicher Teil eingesetztes Edukt **41** zurück, das eine flashchromatographische Trennung ebenfalls notwendig machte.

Wie *K. Baumann*<sup>[172]</sup> zeigen konnte, ist der Einsatz von Kaliumcarbonat in der Synthese des Trichloracetimidats **42** zwar möglich, allerdings mit unbefriedigenden Ausbeuten in der Größenordnung von 25 % verbunden.

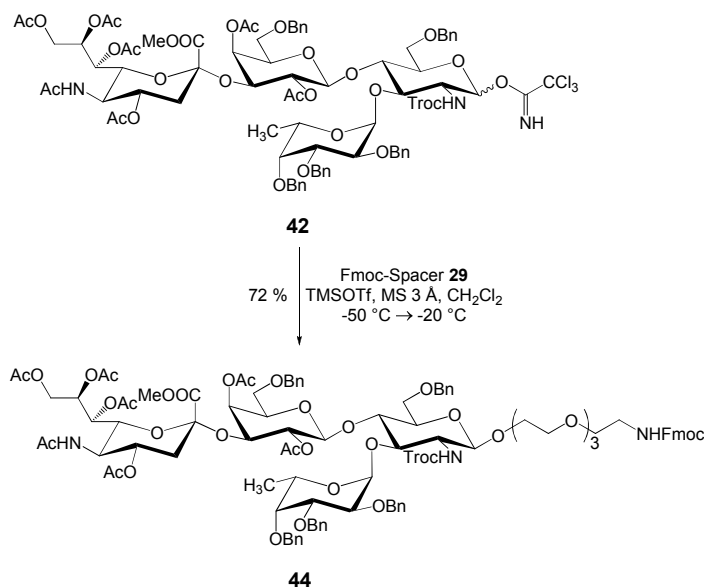
Daher wirkt es umso erstaunlicher, dass die Substitution von Kaliumcarbonat gegen Cäsiumcarbonat<sup>[224,225]</sup> eine quantitative Ausbeute an Trichloracetimidat **42** ermöglicht. Dies ist zum einen auf die bessere Löslichkeit von Cäsiumcarbonat im organischen Lösemittel sowie auf die nicht notwendige flashchromatographische Reinigung zurückzuführen. Der Reaktionsansatz wird zur Entfernung der anorganischen Base mehrfach mit Wasser gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Bei diesem Vorgang konnte

dünnschichtchromatographisch keine Zersetzung des Trichloracetimidats **42** festgestellt werden. Das auf diese Weise gewonnene Produkt kann ohne weitere Reinigung direkt in die sich anschließende Glycosylierung eingesetzt werden.



**Abb. 3.22:** Synthese des Trichloracetimidats mit Cäsiumcarbonat.

Um eine optimale Anbindung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> an die Reaktivester-Polymere zu ermöglichen, ist es unter anderem aus sterischen Gründen sowie aus Gründen der freien Beweglichkeit des Bausteins notwendig, diesen mit einem Abstandhalter („Spacer“) zu versehen.



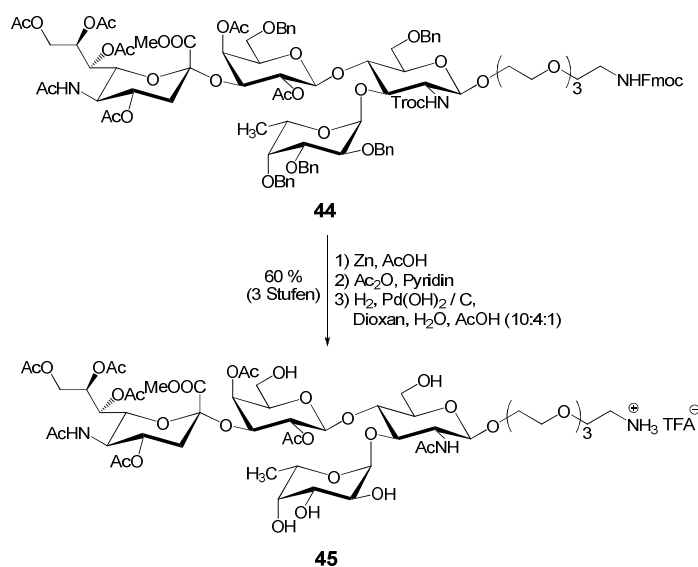
**Abb. 3.23:** Synthese des mit dem Fmoc-blockierten-Spacer versehenen Sialyl-Lewis<sup>x</sup>.

Für die Glycosylierungsreaktion mit dem Fmoc-blockierten-Spacer **29** wird auf das bewährte Verfahren von *Schmidt*<sup>[190,203,204]</sup> sowie auf den Aktivator Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zurückgegriffen, der mit 0.15 Äquiv. bezogen auf Verbindung **41** zum Einsatz kommt. Die Reaktion wird bei einer Temperatur von  $-50\text{ °C}$  gestartet und innerhalb von einer Stunde auf  $-20\text{ °C}$  erwärmt. Nach dem Neutralisieren

des Ansatzes erfolgt eine flashchromatographische Reinigung an Kieselgel. Der mit dem Fmoc-Spacer versehene Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Baustein **44** wird in einer Ausbeute von 72 % erhalten.

Die Troc-Schutzgruppe sowie die Benzylether-Schutzgruppen werden in den nachfolgenden Reaktionsschritten abgespalten. Denkbar wäre allerdings auch eine Abspaltung der Benzylether erst nach Bindung an die Reaktivester-Polymere. Dieser Weg wurde aber nicht als effektiv angesehen, da die zum Einsatz kommenden Reagenzien Zink zur Abspaltung der Troc-Schutzgruppe sowie Palladium zum Spalten der Benzylether die Reinigung des Polymers ungemein erschweren würden. Ein weiterer, wenn nicht sogar der wichtigste Aspekt, ist die schlechte Nachweisbarkeit des synthetischen Erfolges und die kaum mögliche Kontrolle des Umsatzes der Abspaltungen. Es ist daher denkbar, dass ein komplexes, nicht definierbares Substanzgemisch erhalten wird. Daher wird von dieser Vorgehensweise Abstand genommen.

Zur Abspaltung der Troc-Schutzgruppe wird Zink in elementarer Form, suspendiert in Eisessig, eingesetzt.<sup>[170]</sup> Damit eine ausreichend hohe Aktivität des Metalls erreicht wird, ist ein besonderes Augenmerk auf seine Aktivierung zu legen. Es wird nahegelegt, die Aktivierung unter Argon als Schutzgas durchzuführen und darauf zu achten, dass das aktivierte Zink nicht mit Sauerstoff in Berührung kommt.



**Abb. 3.24:** Partielle Deblockierung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>.

Auf diese Weise konnten die höchsten Ausbeuten erzielt werden. Das Rohprodukt dieser Deblockierung wird anschließend einer Acetylierung in Pyridin mit Acetanhydrid unterworfen und anschließend flashchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

Die sich anschließende Abspaltung der Benzylether-Schutzgruppen ist eine problematische Reaktion, insbesondere dann, wenn eine multiple Abspaltung, wie es auch in dieser Synthese der Fall ist, vorgenommen werden muss. Dies zeigte sich auch in den vorhergehenden Arbeiten von *B. Brunnhöfer*<sup>[226]</sup>, der trotz der breiten Variation an Reaktionsbedingungen bei der Deblockierung eines von ihm entwickelten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Mimetikums ausschließlich Substanzgemische erhielt. Auch *K. Baumann*<sup>[172]</sup> hatte im Rahmen ihrer Dissertation Probleme bei Debenzylierungen. Sie konnte in einigen Fällen ein *N*-Methylierungsprodukt isolieren, das vermutlich auf die Verwendung von Methanol als Lösemittel zurückzuführen ist. *C. Filser*<sup>[227]</sup> konnte im Rahmen seiner Dissertation zeigen, dass die Fmoc-Schutzgruppe unter keinen von ihm getesteten Hydrierungsbedingungen stabil ist.

Auch bei der Debenzylierung des Tetrasaccharids wurde das vollständige Abspalten der Fmoc-Schutzgruppe innerhalb einer Reaktionsdauer von drei bis vier Stunden beobachtet. Dies stellt allerdings kein Problem dar, da Verbindung **45** bereits für die polymeranalogen Umsetzungen ohne Einschränkungen verwendet werden kann.

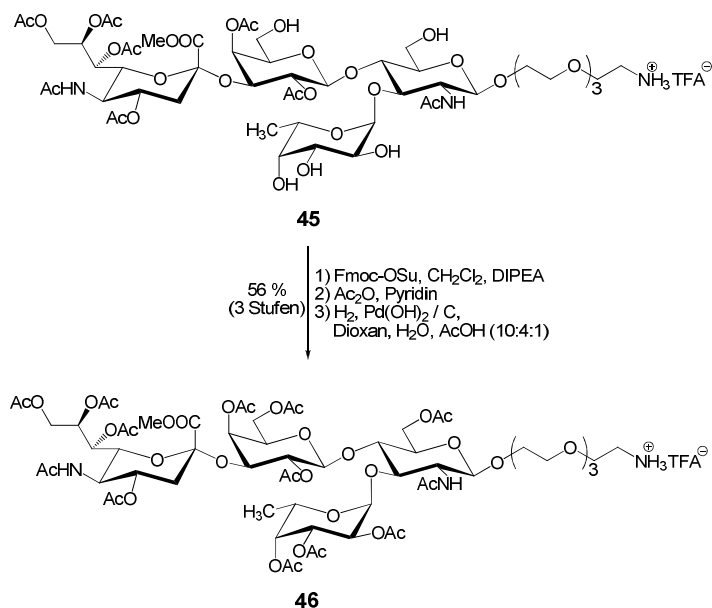
Für Debenzylierungen hat sich der reaktive Katalysator Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (*Pearlman*-Katalysator) mit einer 20 %igen Beladung bewährt.<sup>[228]</sup> Zur Debenzylierung von Verbindung **44** wurde diese in einem entgasten Dreikomponenten-Lösemittelsystem, das aus Dioxan, Wasser und Essigsäure bestand, mit Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) versetzt und anschließend einer Wasserstoffatmosphäre ausgesetzt.<sup>[229]</sup> Durch den Verzicht auf Methanol als Lösemittel konnte eine *N*-Methylierung nicht beobachtet werden. Die vollständige Debenzylierung war je nach Ansatzgröße innerhalb von 24-48 Stunden abgeschlossen. Hierbei gilt zu beachten, dass bei Ansatzgrößen von über 600 mg Sialyl-Lewis<sup>x</sup> unvollständige Debenzylierungen beobachtet wurden. Zudem wurde festgestellt, dass der *Pearlman*-Katalysator mit zunehmender Dauer der Lagerung drastisch an Wirksamkeit verliert, auch dann, wenn er unter Argon gelagert wurde. Daher empfiehlt es sich, für eine erfolgreiche Debenzylierung, insbesondere in fortgeschrittenen Synthesestufen, frischen Katalysator einzusetzen! Die Reinigung des Debenzylierungsprodukts **45** erfolgte aufgrund seiner bereits nicht zu unterschätzenden hohen Polarität mittels einer semipräparativen HPLC-

Anlage an einer C18 Reversed-Phase-Chromatographiesäule unter dem Zusatz von 0.1 % Trifluoressigsäure zum Eluenten.

An dieser Stelle der Synthese ist die Bestimmung der Konfiguration des anomeren Zentrums des Glucosamin-Bausteins von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> möglich, da das erwartete Dublett nicht mehr von CH<sub>2</sub>-Signalen der Benzylether-Schutzgruppen überlagert ist. Somit kann für die Kopplungskonstante <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> ein Wert von 8.1 Hz ermittelt werden. Dies spricht eindeutig für das erwartete β-konfigurierte Anomer, resultierend aus dem Nachbargruppeneffekt der Troc-Schutzgruppe in 2-Position des Glucosamin-Bausteins.

Um an dem Baustein **45** auch Umsetzungen mit nicht aminogruppenselektiven Reagenzien durchführen zu können, bedarf es einer vollständigen Blockierung der Hydroxylgruppen mit Ausnahme der Aminofunktionalität.

Damit die restlichen Hydroxylgruppen mit Acetyl-Schutzgruppen blockiert werden können, muss zunächst die freie Aminogruppe blockiert werden. Hierfür bietet sich die bewährte Fmoc-Schutzgruppe an. Die Blockierung wird mit dem für Aminogruppen selektiven Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (Fmoc-OSu) in Dichlormethan bei einem pH-Wert von 9.5-10 durchgeführt. Im Verlauf dieser Reaktion ist es von Bedeutung, den pH-Wert genau zu kontrollieren und ihn ggf. anzupassen. Bei einem zu sauren pH-Wert läuft die Reaktion nicht oder nur unvollständig ab.

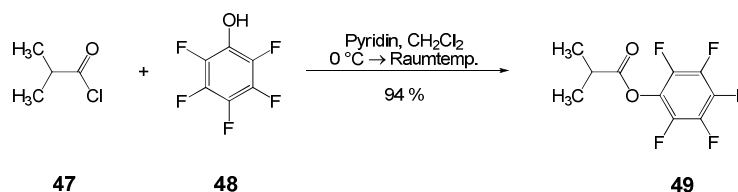


**Abb. 3.25:** Synthese des (fast) vollständig blockierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Bausteins.

Das Rohprodukt der Fmoc-Blockierung wird im Anschluss mit Acetanhydrid in Pyridin acetyliert und dann wiederum einer hydrolytischen Fmoc-Abspaltung unterworfen. Die Synthese des Bausteins **46** gelingt mit einer Ausbeute von 56 % über drei Stufen.

### 3.2.4 Die Selektivität von Pentafluorphenylestern

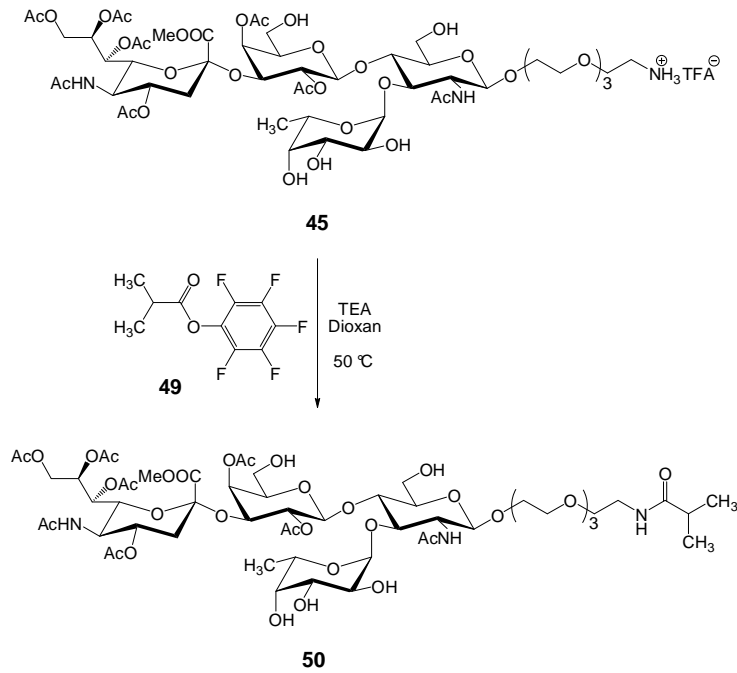
Um zu zeigen, dass bereits Verbindung **45** in der vorliegenden Form in polymeranaloge Reaktionen eingesetzt werden kann, ohne befürchten zu müssen, dass eine Reaktion der freien Hydroxylgruppen von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> mit dem Pentafluorphenylester eintritt, wurde ein Selektivitätstest mit einer der polymeren Reaktivester ähnlichen Verbindung durchgeführt. Reaktivester **49**, der erstaunlicherweise nicht literaturbekannt ist, wurde hierbei aus Isobuttersäurechlorid (**47**) und Pentafluorphenol (**48**) unter Zugabe der Hilfsbase Pyridin mit einer Ausbeute von 94 % dargestellt.



*Abb. 3.26: Synthese von Isobuttersäurepentafluorphenylester.*

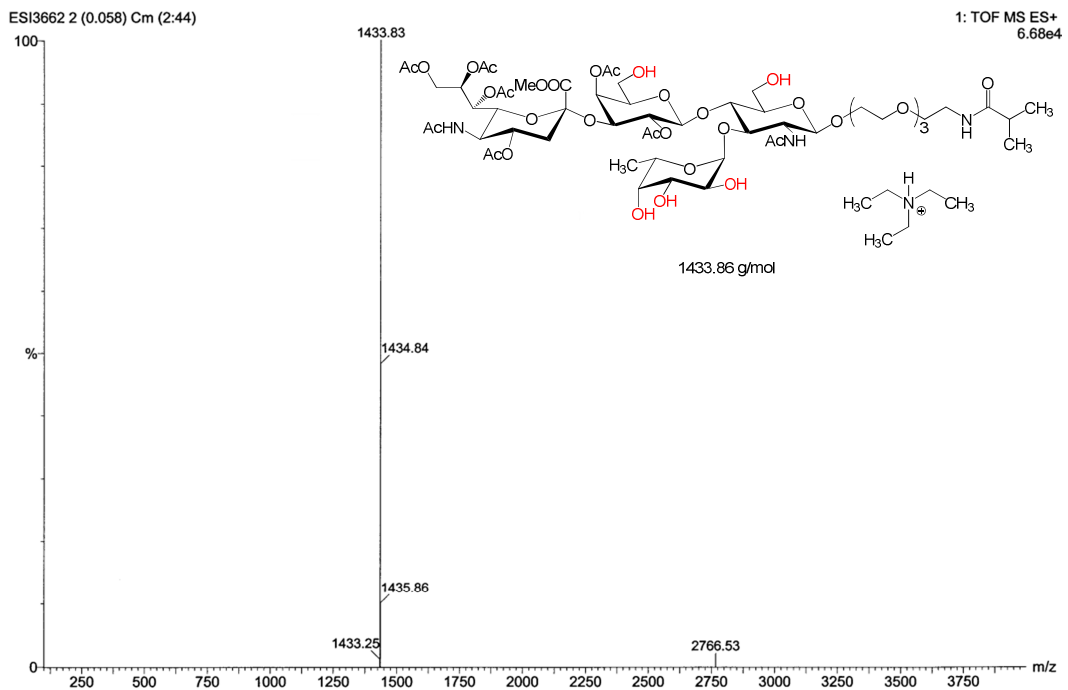
Bei der Umsetzung des Reaktivesters **49** mit dem Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Derivat **45** wurden die gleichen Reaktionsbedingungen gewählt, die auch bei den polymeranalogen Umsetzungen angewandt werden.

Da mittels dieser Reaktion nur die Frage geklärt werden sollte, ob eine Monofunktionalisierung des Bausteins **45** stattfindet, wurde die Ansatzgröße entsprechend klein gewählt. Daher kamen für die Untersuchung des Reaktionsproduktes die ESI-Massenspektroskopie sowie eine dünnschichtchromatographische Analyse zum Einsatz. Trotz der langen Reaktionszeit von sieben Tagen bei einer Temperatur von 50 °C sowie einem Überschuss von 6 Äquiv. Reaktivester **49** pro potentiell reaktionsfähiger funktioneller Gruppe, konnte ausschließlich die Amidbildung massenspektroskopisch nachgewiesen werden.



**Abb. 3.27:** Prüfung der Selektivität eines Pentafluorphenylesters.

Dabei trat in dem Massenspektrum allerdings nicht der üblicherweise zu beobachtende  $[M+Na]^+$  oder  $[M+H]^+$  Massenpeak auf, sondern ein Addukt aus protoniertem Triethylamin und Verbindung **50** (s. Abb. 3.28).



**Abb. 3.28:** Massenspektrum der Umsetzung von Reaktivester **49** mit Tetrasaccharid **45** unter Verwendung der Hilfsbase Triethylamin nach einer Reaktionszeit von sieben Tagen. Es wurde keine Aufarbeitung oder Reinigung des Ansatzes durchgeführt.



Die dünnschichtchromatographische Analyse des Reaktionsgemisches zeigte eine weniger polare Verbindung an, die sich im Gegensatz zu dem eingesetzten primären Amin **45** nur schwach mit Ninhydrin-Reagenz anfärben lässt. Diese Informationen lassen den Schluss zu, dass ausschließlich ein an der freien Aminogruppe monofunktionalisiertes Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Derivat entstanden ist. Auch wenn der eingesetzte Reaktivester **49** nur eine Annäherung an die verwendeten polymeren Reaktivester darstellen kann, so erlaubt er eine gezielte Analyse des entstandenen Reaktionsproduktes. Diese Analyse wäre bei einem polymeren System drastisch schwieriger bzw. unmöglich.

### 3.2.5 Die Bedeutung der hydrogenolytischen Abspaltung von Fmoc

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendete Schutzgruppe Fmoc zeichnet sich durch eine Reihe von in der Synthese nutzbringenden Eigenschaften aus. Durch die variable Methode ihrer Abspaltbarkeit (basisch sowie hydrogenolytisch) bietet diese auch synthetisch eine Reihe von Möglichkeiten in Bezug auf die Kompatibilität mit weiteren Schutzgruppen an.

Im Rahmen dieser Arbeit hat es sich als besonders vorteilhaft erwiesen, eine unkonventionelle Methode zur Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe zu wählen. Die in der Literatur beschriebenen Verfahren verwenden zur Abspaltung von Fmoc hauptsächlich sekundäre Stickstoffbasen, wie beispielsweise Piperidin oder Morpholin. Durch den Einsatz dieser Basen wird die Abstraktion des CH-Aciden in der 9-Position des Fluorenylrestes **51** befindlichen Wasserstoffatoms herbeigeführt. Dies führt zur Eliminierung der Schutzgruppe zu einem quasi aromatischen System, wobei Kohlenstoffdioxid und das Basen-Fulven-Addukt **52** abgespalten werden (s. Abb. 3.29).<sup>[230–232]</sup>

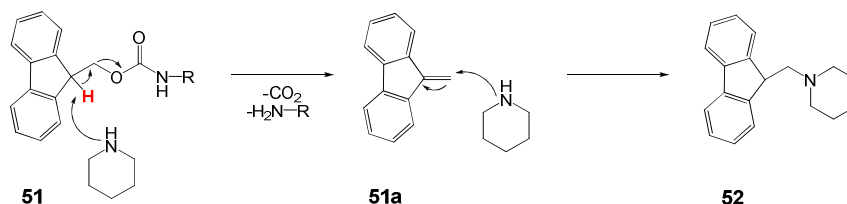


Abb. 3.29: Baseninduzierte Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe

Diese an sich sehr bewährte und auch automatisierbare Reaktion hat allerdings auch nicht unerhebliche Nachteile. Durch den Einsatz einer weiteren Base im Reaktionsansatz ist

eine selektive Reaktionskontrolle mittels Dünnschichtchromatographie und dem Färbereagenz Ninhydrin nicht mehr unproblematisch möglich. Es kommt zu starken Überlagerungseffekten, die sich nur durch ein längeres und zeitaufwendiges Erwärmen der Analysenplatte vor dem eigentlichen Anfärben umgehen lassen. Wesentlich problematischer ist die baseninduzierte Reaktion allerdings, wenn präparative Trennungen an Reversed-Phase Materialien vorgenommen werden müssen. Die Trennung von Aminen erfordert dabei meist den Zusatz von Trifluoressigsäure zum Eluenten. Dies führt zu einer Protonierung des deblockiertenamins sowie einer Protonierung des Basen-Fulven-Addukts **52** am Stickstoffatom und hat dementsprechend zur Folge, dass sich die Retentionszeiten von deblockiertem Amin und dem Basen-Fulven-Addukt aufgrund ihres ähnlichen ionischen Charakters unter Umständen kaum mehr voneinander unterscheiden. Ein weiterer Nachteil der baseninduzierten Abspaltung von Fmoc ist die Nichtanwendbarkeit bei basenlabilen Verbindungen.

Die Vorteile der Hydrierungsreaktion zur Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe (s. Abb. 3.30) bestehen in einer einfachen Abtrennung des Katalysators mittels einer C18-Filterkartusche sowie der sehr guten Verfolgbarkeit der Reaktion mittels einer dünnschichtchromatographischen Analyse unter Verwendung des Anfärbereagenzes Ninhydrin. Die durchschnittlich erreichten Ausbeuten lagen zwischen 70 % und 95 % und entsprechen somit den Ausbeuten, wie sie auch bei den baseninduzierten Abspaltungen von Fmoc erreicht werden.

Die grundsätzliche Vorgehensweise zur hydrogenolytischen Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe war wie folgt: Die von Fmoc zu deblockierende Verbindung **51** wurde in einem Dreikomponenten-Lösemittelgemisch aus Dioxan, Wasser und Essigsäure gelöst und im Membranpumpenvakuum mehrfach unter kräftigem Rühren gegen Argon entgast. Nach erfolgter katalytischer Zugabe von Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) wurde das Reaktionsgemisch abermals mehrfach im Vakuum gegen Argon entgast und anschließend die Argonatmosphäre gegen eine Wasserstoffatmosphäre getauscht.

Bei der Reaktion unter reduzierenden Bedingungen entsteht dann als Nebenprodukt 9-Methyl-fluoren (**53**), welches mittels Reversed-Phase-Chromatographie problemlos abgetrennt werden kann.

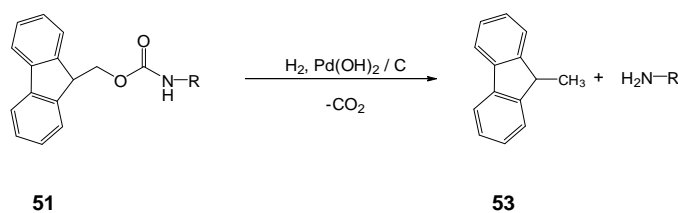


Abb. 3.30: Katalytische Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe.

Als nachteilig bei diesem Verfahren ist anzusehen, dass es nicht in Kombination mit reduktionsempfindlichen funktionellen Gruppen wie beispielsweise der Nitro-, Cyano- oder Azidogruppe angewendet werden kann, es sei denn, dass eine Reduktion dieser Gruppen ebenfalls erwünscht ist. Ein weiterer Nachteil ist die Dauer der Reaktion. Es konnte die Erfahrung gemacht werden, dass die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe in 50 %igem Piperidin recht zügig innerhalb von ca. 30 Minuten ablaufen kann. Die durchschnittlichen Reaktionszeiten, die zur vollständigen Abspaltung von Fmoc unter hydrogenolytischen Bedingungen notwendig waren, lagen bei ca. 5-10 Stunden, wobei die Reaktionszeiten stark mit der eingesetzten Substanzmenge variierten. Durch sorgfältiges Abwägen der jeweiligen Vor- und Nachteile der einzelnen Verfahren konnte geschlossen werden, dass die Vorteile der hydrogenolytischen Abspaltung von Fmoc denen der baseninduzierten, insbesondere in Bezug auf die Reinigung der wertvollen Substanzen, deutlich überlegen sind.

### 3.3 Der Fluoreszenzfarbstoff

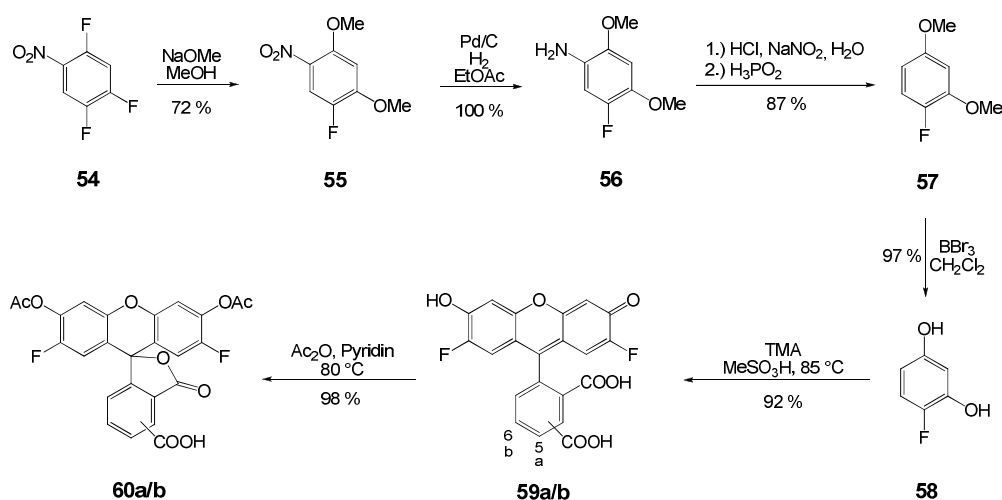
Um eine für die biologischen Experimente sinnvolle Markierung der synthetisierten Substanzen zu ermöglichen, wurde die Synthese eines fluorierten Xanthenfarbstoffs angestrebt. Hierbei war es von Bedeutung, die Markierung von Reaktivester-Polymeren durchzuführen, sowie auch in umgekehrter Weise die Markierung von primären Aminen zu ermöglichen. Die von Sun *et al.*<sup>[233]</sup> beschriebene Synthese des acetylierten Fluoreszenzfarbstoffs wurde durch die Funktionalisierung der Carboxylgruppe in der 5- und 6-Position so erweitert, dass primäre Amine sowie Reaktivester-Polymere markiert werden können.

Die Notwendigkeit der Verwendung eines fluorierten Fluorescein-Derivats ergibt sich aus der deutlich größeren Fluoreszenzstabilität im Vergleich zu den unfluorierten

Derivaten dieser Verbindungen. Dies ermöglicht damit eine deutlich längere Analyse im Rahmen der geplanten biologischen Experimente.<sup>[233]</sup>

Im ersten Schritt der Synthese des Fluoreszenzfarbstoffs wird ausgehend von 1,2,4-Trifluor-5-nitrobenzol (**54**) eine zweifache nucleophile Substitution mit Natrium-methanolat vorgenommen. Die in einer Ausbeute von 72 % erhaltene Dimethoxy-Verbindung **55** wird im Anschluss einer katalytischen, quantitativ verlaufenden Hydrierung in Ethylacetat unter Verwendung einer Hydrierblase unterzogen. Das aromatische Amin **56** weist bei Luft und Lichteinfluss nur eine mäßige Stabilität auf. Daher ist anzuraten, diese Verbindung gekühlt und dunkel zu lagern. Ein zügiger Einsatz in die nachfolgende Diazotierungsreaktion verhindert die Entstehung von Nebenprodukten.

Unter dem Einsatz von Natriumnitrit in salzsäureaurer Lösung erfolgt die Diazotierung von Verbindung **56** bei einer Temperatur von  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Die Zugabe von Phosphinsäure führt dann zur Reduktion des Diazoniumsalzes, wobei der Ansatz langsam auf Raumtemperatur erwärmt wird. Nach der Neutralisation des Ansatzes sowie einer flash-chromatographischen Reinigung wird der Aryl-Ether **57** in einer Ausbeute von 87 % erhalten.



**Abb. 3.31:** Synthese des Fluoreszenzfarbstoffs nach Sun et al.<sup>[233]</sup>

Um die für die nachfolgende Bildung des Xanthen-Grundgerüsts notwendigen freien Hydroxylgruppen zu erhalten, muss der Aryl-Ether **57** einer sauren Spaltung zu dem entsprechenden Resorcin **58** unterzogen werden. Hierbei hat sich die Verwendung von Bortribromid in Dichlormethan bei Raumtemperatur als besonders effektiv erwiesen.

Nach einer abermals flashchromatographischen Reinigung kann das Resorcin **58** in einer Ausbeute von 97 % erhalten werden.

Die sich anschließende Cyclisierung nach *Bayer*<sup>[234]</sup> zu den Fluorescein-Derivaten **59a/b** erfolgt in Methansulfonsäure unter Zugabe von Trimellitsäureanhydrid (TMA) bei einer Temperatur von 85 °C und einer Reaktionsdauer von 24 Stunden. Bei dieser Reaktion lässt es sich nicht vermeiden, dass ein Regioisomerengemisch aus 5- und 6-Dicarboxyfluorescein entsteht. Um eine selektive Reaktion an der Carboxylgruppe der 5- oder 6-Position zu ermöglichen, ist es notwendig, dass die Carboxylgruppe in 3-Position des Fluoresceins in Form eines Lactons blockiert wird. Dies wird parallel mittels der Blockierung der phenolischen Hydroxylgruppen der Regioisomere **59a/b** erreicht, da dadurch das konjugierte System aufgehoben wird und es zur Bildung der Lactone **60a/b** kommt. Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass die Acetylierung ausreichend schnell bei höheren Temperaturen erfolgen sollte, da ansonsten die Bildung von Säureanhydriden an der 5- und 6-Position nicht ausgeschlossen werden kann. Nach erfolgreicher flashchromatographischer Reinigung wird das acetylierte Regioisomerengemisch **60a/b** nunmehr als fast farblose Verbindung in einer Ausbeute von 98 % erhalten.

Um eine Anknüpfung an polymere Reaktivester zu ermöglichen, muss der Fluoreszenzfarbstoff eine primäre Aminogruppe aufweisen. Diese wird mittels *N*-Boc-cadaverin eingeführt.

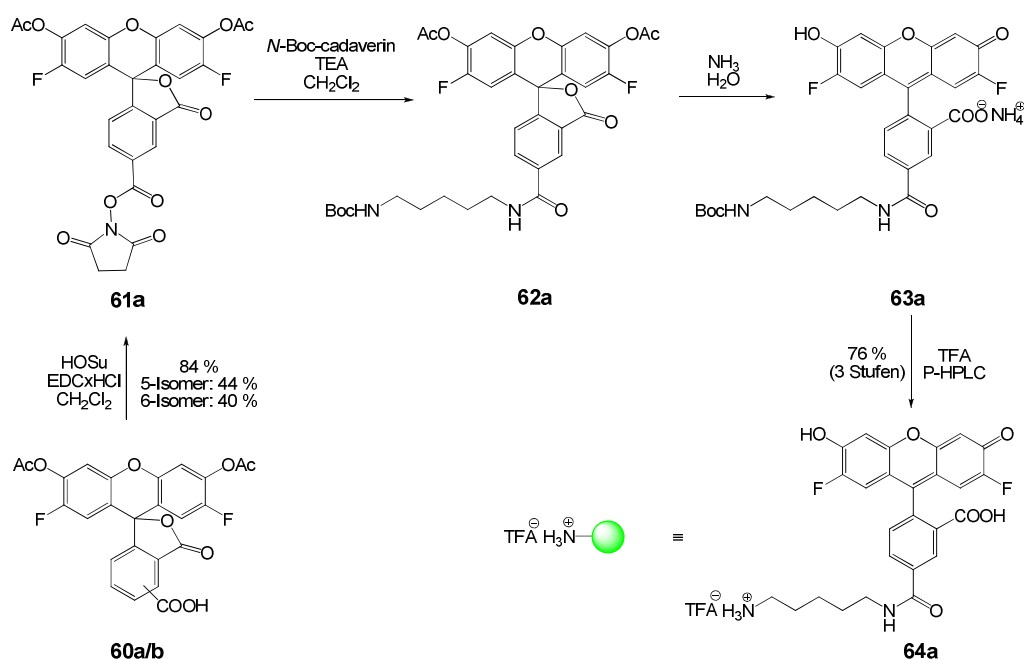
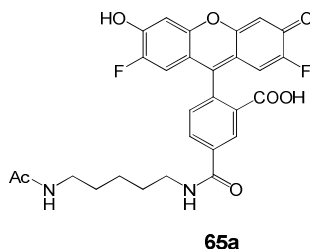


Abb. 3.32: Erweiterung der Synthese des Fluoreszenzfarbstoffs.

Um die Verknüpfung mit der freien Aminogruppe des Cadaverin-Spacers zu ermöglichen, erfolgt zunächst die Synthese des Succinimidyl-Reaktivesters **61a/b** unter Verwendung von 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid (EDC x HCl) und *N*-Hydroxysuccinimid (HOSu). Auf dieser Synthesestufe ist eine flash-chromatographische Trennung der Regioisomere möglich, wobei aufgrund der Instabilität des Reaktivesters auf Kieselgel eine zügige Chromatographie durchgeführt werden muss. Für die sich anschließende Umsetzung des Reaktivesters wird sich für das 5-Regioisomer entschieden. Die Umsetzung erfolgt in Dichlormethan unter Zugabe der Hilfsbase Triethylamin innerhalb von wenigen Minuten. Das auf diese Weise gewonnene, mit *N*-Boc-cadaverin funktionalisierte Fluorescein-Derivat **62a**, wird zur Deblockierung der Hydroxylgruppen mit Ammoniak-Lösung versetzt und zwei bis drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Entfernen des Lösemittels erfolgt die Deblockierung der Aminofunktion unter Verwendung von Trifluoressigsäure. Hierbei hat sich gezeigt, dass die Reihenfolge der Abspaltung der Schutzgruppen für den Erfolg der Synthese von Bedeutung ist. Wird in Gegenwart der deblockierten Aminofunktion eine Deblockierung der phenolischen Hydroxylgruppen vorgenommen, so findet in einem nicht unerheblichen Maß eine *N*-Acetylierung zu Verbindung **65a** statt. Dieses Derivat ist für die geplanten weiteren Umsetzungen unbrauchbar.



**Abb. 3.33:** Nebenprodukt der Deacetylierung.

Nach erfolgter vollständiger Deblockierung zu dem freien primären Amin **64a** wird eine semipräparative Trennung des geringfügig verunreinigten Rohproduktes vorgenommen. Der Fluoreszenzfarbstoff **64a** wird nach einer semipräparativen Reinigung an einer Reversed-Phase-Chromatographiesäule in einer sehr hohen Reinheit erhalten, wie das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum aus Abb. 3.34 beweist.

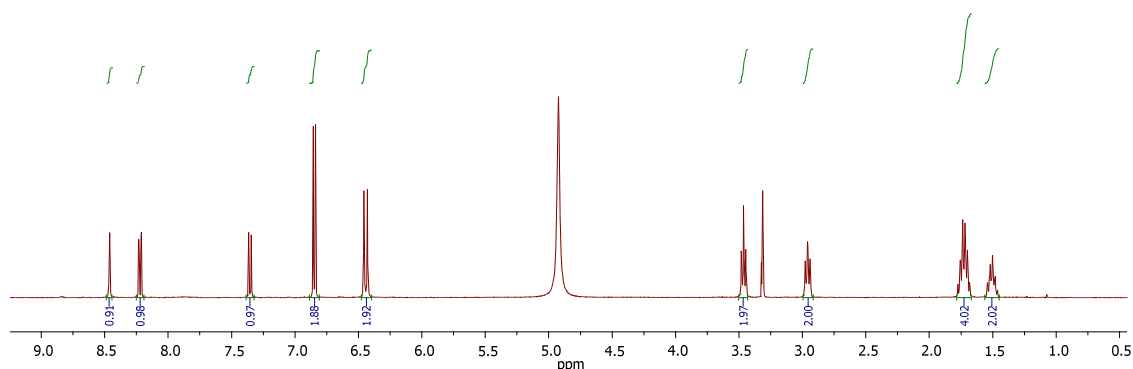


Abb. 3.34: 400 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Verbindung **64a** gemessen in MeOD.

Die Messung eines Absorptionsspektrums mittels UV/Vis-Spektroskopie zeigt die verschiedenen Maxima des Fluoreszenzfarbstoffs **64a** an, wobei die stärkste Absorption bei einer Wellenlänge von 497 nm gemessen werden konnte (s. Abb. 3.35).

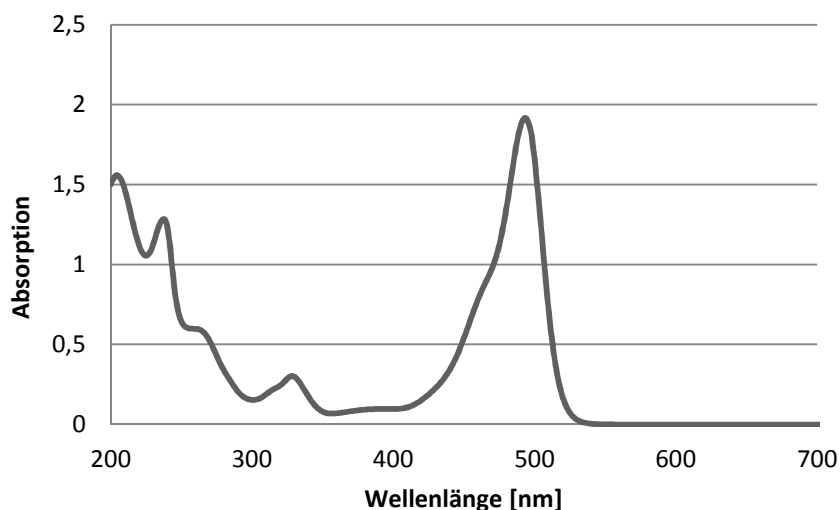
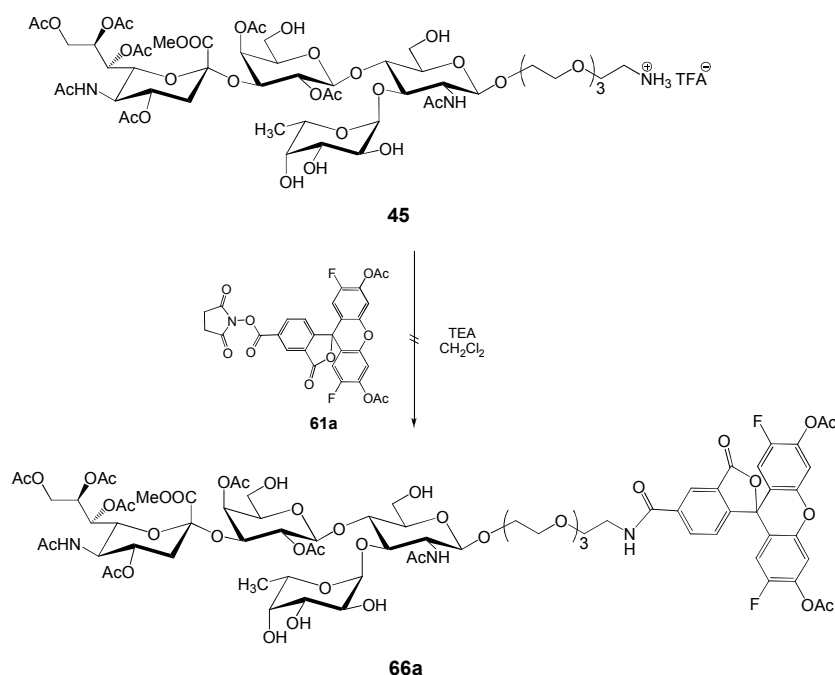


Abb. 3.35: Absorptionsspektrum von Verbindung **64a**. Gemessen in dest. Wasser bei einem pH-Wert von 9.0.

### 3.3.1 Die Markierung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> mit Fluoreszenzfarbstoff

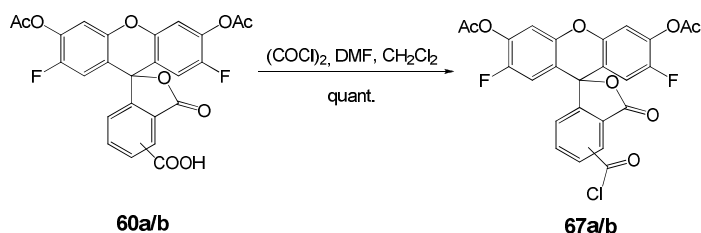
Um für biologische Prüfungen eine markierte Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Struktur zur Verfügung zu haben, wurde versucht, den Reaktivester **61a** mit dem partiell deblockierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Baustein **45** zur Reaktion zu bringen. Erstaunlicherweise bildeten sich hierbei Nebenprodukte. Dies ist vermutlich auf die protonierte Form des Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Bausteins **45** zurückzuführen. Durch das Vorliegen als TFA-Salz erfolgt, trotz der Anwesenheit von

Triethylamin, die Reaktion mit dem Reaktivester **61a** vermutlich nicht ausreichend schnell genug, sodass es unter den basischen Bedingungen bevorzugt zu einem Übertrag der Acetylgruppe von acetyliertem Fluoreszenzfarbstoff **61a** auf die primäre Aminogruppe des Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Spacers kommt. Damit ist eine weitere Reaktion ausgeschlossen (s. Abb. 3.36).



**Abb. 3.36:** Fehlgeschlagene Fluoreszenzmarkierung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>

Aus diesem Grund wurde die Synthese eines weitaus reaktiveren Derivates des Fluoreszenzfarbstoffs in Form seines Säurechlorids **67a/b** angestrebt.

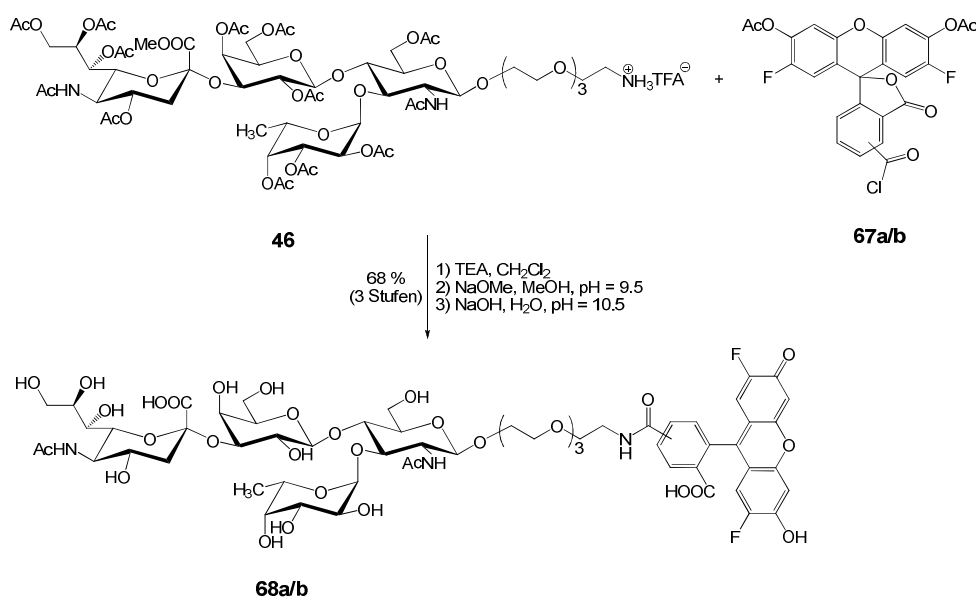


**Abb. 3.37:** Synthese des Fluoreszenzfarbstoff-Säurechlorids

Die Synthese, ausgehend von dem Regioisomerengemisch **60a/b**, erbrachte bei der Umsetzung mit Oxalylchlorid unter Zugabe von katalytischen Mengen an *N,N*-Dimethylformamid das Säurechlorid **67a/b** in quantitativer Ausbeute. Hierbei ist zu beachten, dass die vollständige Entfernung von Oxalylchlorid unbedingte Voraussetzung für die nächste



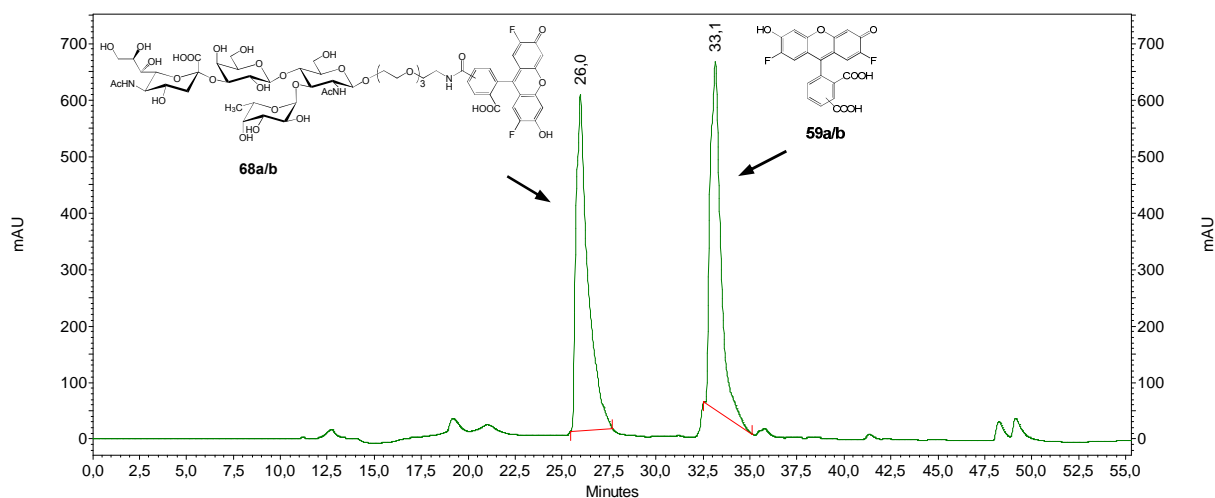
Reaktionsstufe darstellt. Das Regioisomerengemisch **67a/b** kann ansonsten bedenkenlos ohne weitere Reinigung in die nachfolgende Fluoreszenzmarkierung eingesetzt werden. Tatsächlich konnte durch den Einsatz von Säurechlorid **67a/b** ein vollständiger Umsatz des Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Bausteins **46** erzielt werden. Es muss bei der Reaktion allerdings bedacht werden, dass eine Markierung des partiell blockierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Bausteins **45** mittels eines Carbonsäurechlorids nicht ohne weiteres möglich ist, da Säurechloride im Gegensatz zu bestimmten Reaktivestern keine bedeutende Selektivität zu Amino-  
gruppen aufweisen.



**Abb. 3.38:** Synthese von fluoreszenzmarkiertem Sialyl-Lewis<sup>x</sup>.

Da im Rahmen der biologischen Prüfungen Substanzmengen im unteren Milligramm-Bereich benötigt werden, erfolgt die Fluoreszenzmarkierung ebenfalls nur in kleinem Maßstab, um das wertvolle Sialyl-Lewis<sup>x</sup> nicht unnötig aufzubreuchen. Um bei diesen geringen Mengen dennoch eine ausreichende Kontrolle während der Reaktion zu gewährleisten, werden der Reaktionsfortschritt, insbesondere die Deacetylierung sowie die Verseifung des Methylrestes der Sialinsäure mittels einer analytischen HPLC, kontrolliert. Es kann anhand der gewonnenen HPLC-Chromatogramme sowie hochaufgelöster Massenspektren gezeigt werden, dass die gewünschte Verbindung **68a/b** in hoher Reinheit als Regioisomerengemisch synthetisierbar ist. Die semipräparative Trennung des Reaktionsansatzes mittels einer HPLC zeigt bei einer Retentionszeit von 26.0 Minuten das markierte Sialyl-Lewis<sup>x</sup> als Regioisomerengemisch sowie bei einer

Retentionszeit von 33.1 Minuten den Überschuss an eingesetztem Fluoreszenzfarbstoff **59a/b** als Dicarboxylverbindung (s. Abb. 3.39).



**Abb. 3.39:** Semipräparatives HPLC-Chromatogramm (Methode: Präp-1 mit 0.1 % TFA) der Reinigung von Verbindung **68a/b**. Gemessen bei 214 nm.

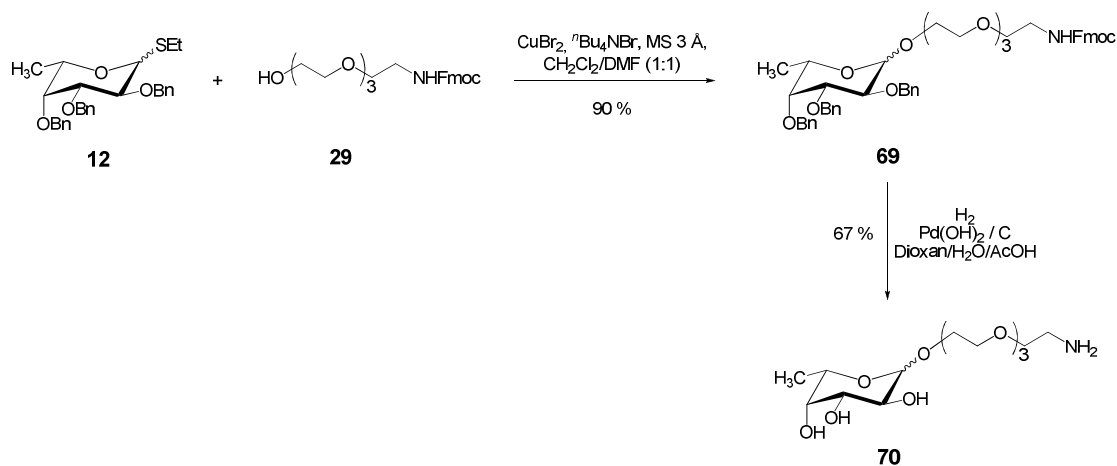
### 3.4 Die mimetischen Liganden

Ziel der Synthese der mimetischen Liganden war es, eine möglichst einfache sowie effiziente Zugänglichkeit zu der Wirkung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> zu erhalten, ohne eine komplexe, zeitaufwendige und kostenintensive Synthese durchführen zu müssen. Daher standen bei den mimetischen Strukturen auch die erreichbare Ausbeute, die Einfachheit der Synthese sowie eine effiziente Reinigung der Liganden im Vordergrund. In den nachfolgenden Kapiteln soll die Herstellung der einzelnen mimetischen Monosaccharid-Bausteine sowie die Herstellung des (S)-Cyclohexylalanin-Bausteins der polymeren Mimetika beschrieben werden.

#### 3.4.1 Der Fucose-Ligand

Die Synthese des L-Fucose-Liganden orientiert sich an der zuvor beschriebenen Synthese des Thiofucosids **12**. Ausgehend von dieser Verbindung wird mittels des *in situ*-Anomerisierungsverfahrens nach Lemieux<sup>[195]</sup> in einer Variante von Ogawa<sup>[198]</sup> die Synthese des Liganden **69** vorgenommen. Obwohl es sich bei diesem Verfahren, wie in der Synthese von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> bereits gezeigt, um ein  $\alpha$ -selektives Verfahren handelt,

konnte die gewünschte Verbindung **69** nicht vollständig anomerenrein synthetisiert werden. Bei der anschließenden Analyse des Reaktionsproduktes war ein  $\alpha/\beta$ -Anomerenverhältnis von 3:1 mittels NMR-Spektroskopie festzustellen. Die Identifizierung der anomeren Konfiguration konnte anhand der Kopplungskonstanten von H1 der Fucose festgestellt werden. Diese lag bei dem gewünschten  $\alpha$ -Anomer bei  $^3J_{H1,H2} = 3.2$  Hz.



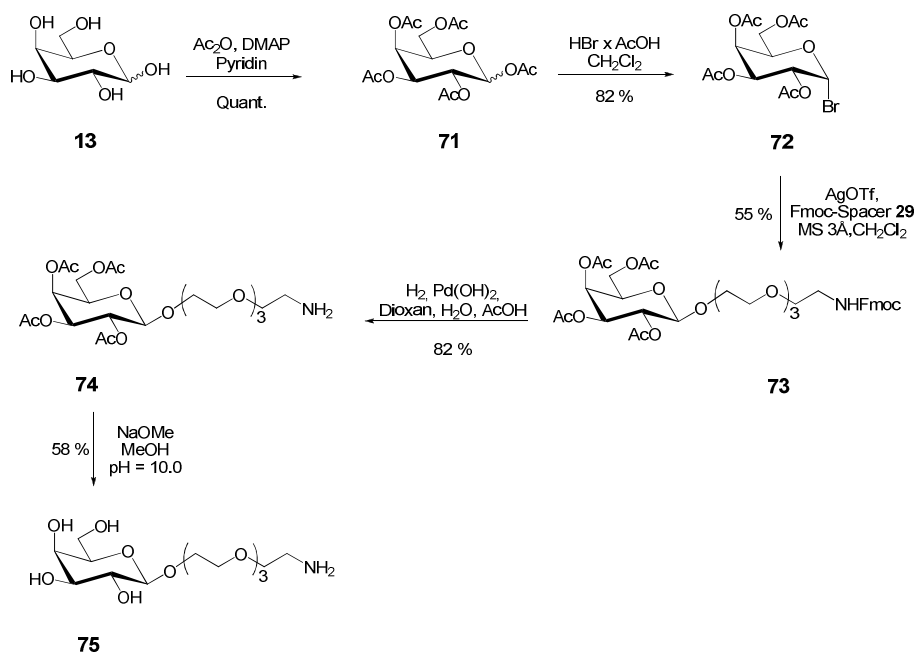
**Abb. 3.40:** Synthese des L-Fucose-Liganden. Es wird ein  $\alpha/\beta$ -Verhältnis von 3:1 erhalten.

Die Bildung von  $\beta$ -Anomer ist darauf zurückzuführen, dass die primäre Hydroxylgruppe des Fmoc-Spacers **29** keinerlei sterische Hinderung und eine hohe Reaktivität aufweist. Die vollständige Deblockierung von Baustein **69** erfolgte in einem Schritt unter Verwendung von Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %). Die Abspaltung der Benzylether-Schutzgruppen erwies sich allerdings erneut als problematisch. Der vollständige Verlust der Fmoc-Schutzgruppe war bereits nach wenigen Stunden dünnschichtchromatographisch detektierbar, wohingegen die vollständige Abspaltung der Benzylether-Schutzgruppen erst nach 36 Stunden erzielt werden konnte. Es sei auch bei dieser Hydrierungsreaktion darauf hingewiesen, dass die Verwendung von älteren Katalysatorchargen eine nur unzureichende Hydrierung mit nicht identifizierbaren Nebenprodukten ergeben hat. Die Reinigung von Verbindung **70** erfolgte flashchromatographisch an Kieselgel unter dem Zusatz von Triethylamin mit einer Ausbeute von 67 %.

### 3.4.2 Der Galactose-Ligand

In dem natürlichen Liganden Sialyl-Lewis<sup>x</sup> liegt die D-Galactose in einer  $\beta$ -konfigurierten Verknüpfung vor. Sie ist ebenfalls essentiell wichtig für die Bindung an die Selektine.<sup>[60,61]</sup>

Ausgehend von D-Galactose (**13**) soll an dieser Stelle die Synthese eines polymeranbindbaren D-Galactose-Liganden in einer 5-stufigen Synthese gezeigt werden, wobei die ersten beiden Verbindungen literaturbekannt sind.<sup>[235,236]</sup> Im ersten Schritt der Synthese erfolgt eine vollständige Acetylierung der D-Galactose (**13**) in Pyridin mit einem Überschuss an Acetanhydrid unter Katalyse von 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP)<sup>[174]</sup>. Zur Reinigung des Rohproduktes wird dieses nach Entfernen des Lösemittels mit Zitronensäure-Lösung gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Erhalten wird in quantitativer Ausbeute eine reine peracetylierte Galactose **71**.



**Abb. 3.41:** Synthese des Galactose-Liganden.

Um die peracetylierte Galactose **71** einer Glycosylierungsreaktion zugänglich zu machen, erfolgt die Darstellung des Bromids **72** mit Bromwasserstoff in Eisessig ( $\text{HBr} \times \text{AcOH}$ ) mit einer Ausbeute von 82 %.<sup>[237]</sup> Die Bildung des  $\alpha$ -Bromids kann NMR-spektroskopisch anhand der Kopplungskonstante von  $^3J_{\text{H1,H2}} = 4.0$  Hz sowie der chemischen Tieffeldverschiebung von H1-Gal mit 6.68 ppm nachgewiesen werden.

Die sich anschließende Glycosylierungsreaktion, zur Synthese von Verbindung **73**, nach *Koenigs-Knorr*<sup>[189]</sup> unter Verwendung von Silbertrifluormethansulfonat (AgOTf) gelingt in einer nur mäßigen Ausbeute von 55 %, wobei ausschließlich das gewünschte  $\beta$ -Anomer entstand. Diese hohe Stereoselektivität lässt sich anhand des Nachbargruppen-effektes der in 2-Position befindlichen Acetyl-Schutzgruppe erklären.

Zur Deblockierung der Aminofunktion wird auf das in dieser Arbeit bewährte Verfahren der Hydrierung mittels Wasserstoff und Palladiumhydroxid auf Aktivkohle zurückgegriffen. Verbindung **74** kann nach einer flashchromatographischen Reinigung mit einer Ausbeute von 82 % erhalten werden. An dieser Stelle sollte erwähnt werden, dass zur flashchromatographischen Reinigung von Verbindung **74** ein Zusatz an Triethylamin zum Laufmittel sinnvoll ist. Allerdings kann auch bei dieser Verbindung eine im Laufe der Zeit eintretende Deacetylierung, bedingt durch das basische Medium, festgestellt werden. Die beginnende Deacetylierung kommt besonders bei dem Entfernen der Lösemittel nach der flashchromatographischen Reinigung zum Tragen, da bei diesem Vorgang eine deutliche Erhöhung der Konzentration an Triethylamin stattfindet. Da sich im nachfolgenden Schritt eine Deacetylierung anschließt, stellt dieser Vorgang allerdings kein Problem dar. Die vollständige Deacetylierung von Verbindung **74** findet in Methanol unter katalytischer Zugabe von verdünnter Natriummethanolat-Lösung bei einem pH-Wert von 10.0 statt und liefert nach flashchromatographischer Reinigung das gewünschte Produkt **75** in einer Ausbeute von 58 %.

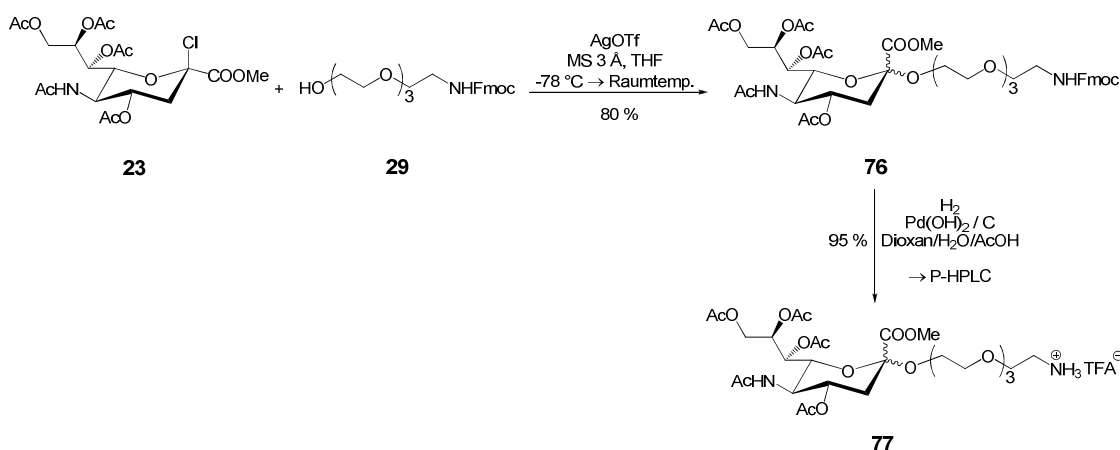
### 3.4.3 Der Neuraminsäure-Ligand

Ausgehend von den bereits beschriebenen Stufen in Kapitel 3.1.4 zur Darstellung des Neuraminsäurexanthogenats **24** soll die Neuraminsäure an den mit Fmoc blockierten Spacer **29** gebunden werden. Die Sialylierungsreaktion stellte sich trotz des sterisch nicht anspruchsvollen Akzeptors erstaunlicherweise als schwierig heraus, da das gewünschte Produkt **76** mit einer maximalen Ausbeute von lediglich 35 % trotz Optimierungsversuchen isoliert werden konnte. Das  $\alpha,\beta$ -Anomerenverhältnis lag dabei bei ca. 2:1 ( $\alpha/\beta$ ).



**Abb. 3.42:** Synthese des Neuraminsäure-Liganden ausgehend vom Neuraminsäurexanthogenat.

Ausgehend von dieser Erkenntnis musste ein anderer Weg der Synthese von Verbindung **76** gefunden werden. Literaturbekannt sind Umsetzungen des Sialylchlorids **23** in Gegenwart von Silbersalzen. Wird dabei bei niedrigen Temperaturen in Tetrahydrofuran gearbeitet, ist die Bildung des  $\alpha$ -Anomers der Sialinsäure begünstigt.<sup>[238]</sup> Diese Erfahrung konnte auch bei der Synthese von Verbindung **76** gemacht werden.



**Abb. 3.43:** Synthese des Neuraminsäure-Liganden ausgehend vom Sialylchlorid.

Bei der Reaktionsdurchführung ist darauf zu achten, dass das Sialylchlorid **23** bei einer Temperatur von ca.  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  zu dem Fmoc-Spacer **29** sowie dem eingesetzten Silbertrifluormethansulfonat langsam zugetropft wird. Bei dieser Reaktion wird das Produkt **76** mit einer Ausbeute von 80 % erhalten, wobei ein Anomerenverhältnis von  $\alpha/\beta$ -Anomer von 4:1 mittels NMR-Spektroskopie sowie analytischer HPLC festgestellt wird. Dieses Anomerenverhältnis steht in Einklang mit der Literatur, in der das beschriebene Verfahren zur Synthese von Oligosacchariden eingesetzt wird.<sup>[238]</sup> Die Anomerentrennung ist schwierig und kann auch nur in geringen Quantitäten mittels einer semipräparativen HPLC-Anlage befriedigend erfolgen. Aus diesen Gründen wird von einer Trennung der  $\alpha,\beta$ -Anomere für die nachfolgenden Umsetzungen abgesehen und die Affinität zu den Selektinen anhand des Anomerengemisches untersucht. Auch ein potentieller Einsatz der mimetischen Liganden in der Anwendung als polymeres Therapeutikum in fort-

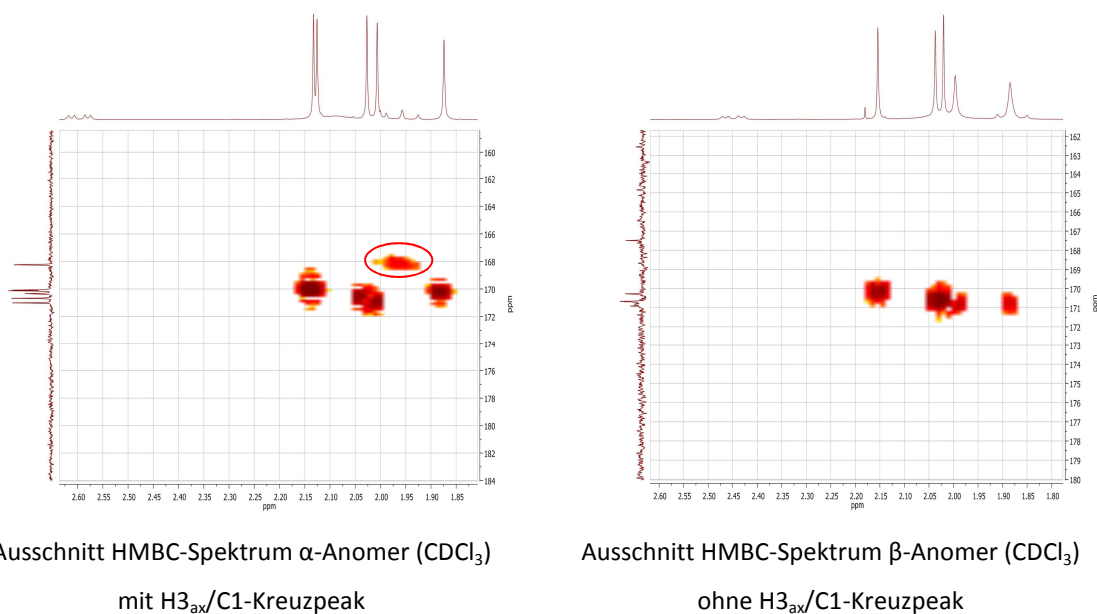
geschrittenen Stadien würde eine sehr aufwendige Trennung der Anomere keinesfalls rechtfertigen können.

Die Identifizierung sowie Charakterisierung der Sialinsäureanomere erfolgt mittels NMR-Spektroskopie. Auch in diesem Falle hilft ein HMBC-Experiment, um die Konfiguration der Anomere sicher zu belegen.

**Tab. 3.1:** Zusammenfassung der chemischen Verschiebungen an H3-Sia von  $\alpha$ -Anomer und  $\beta$ -Anomer der Verbindung **76**.

	$\alpha$ -Anomer [ppm]	$\beta$ -Anomer [ppm]
<b>H3<sub>ax</sub></b>	2.60	2.44
<b>H3<sub>eq</sub></b>	1.96	1.87

Da bei der Synthese von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> ausschließlich das gewünschte  $\alpha$ -Anomer der Sialinsäure gebildet wird, konnte nur das HMBC-Spektrum des  $\alpha$ -Anomers der Sialinsäure von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> charakterisiert werden. Da bei der Synthese des mimetischen Sialinsäure-Liganden  $\alpha,\beta$ -Anomere gebildet werden, kann an dieser Stelle passend gezeigt werden, dass nur dann ein Kreuzpeak zwischen dem Kohlenstoff-1 sowie dem axialen Wasserstoff in 3-Position der Sialinsäure vorliegt, wenn auch tatsächlich ein  $\alpha$ -Anomer vorhanden ist.

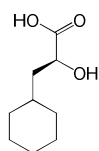


**Abb. 3.44:** Vergleich der HMBC-Spektren von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomer der Verbindung **76**. Gemessen in CDCl<sub>3</sub>.

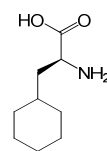
Um für die polymeranalogen Umsetzungen eine freie Aminogruppe zur Verfügung zu haben, wird die Fmoc-Schutzgruppe von Verbindung **76** mit Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) unter reduktiven Bedingungen gespalten. Dabei wird Verbindung **77** nach einer semipräparativen Reinigung an einer Reversed-Phase-Chromatographiesäule in einer Ausbeute von 95 % erhalten. Es gilt zu beachten, dass eine Reinigung von Verbindung **77** auch mit einer Normal-Phase-Chromatographiesäule erfolgen kann. Hierbei ist allerdings der Einsatz einer Base, wie beispielsweise Triethylamin, notwendig. Es musste bei dieser Verfahrensweise allerdings festgestellt werden, dass im Laufe des chromatographischen Prozesses sowie beim Entfernen der Lösemittel eine langsame Deacetylierung von Verbindung **77** eintritt. Daher wird empfohlen, die Reinigung der Substanz auf einer Reversed-Phase-Chromatographiesäule mit einem Acetonitril/Wasser Eluenten unter Zusatz von 0.1 % Trifluoressigsäure durchzuführen.

### 3.4.4 Der (S)-Cyclohexylalanin-Ligand

In den Arbeiten von *Kolb* und *Ernst*<sup>[239]</sup> wird die Verwendung von (S)-Cyclohexylmilchsäure als sehr wirkungsvoller mimetischer Ersatz für die teure und nicht einfach zu handhabende *N*-Acetyl-D-neuraminsäure beschrieben. Ausgehend von dieser Verbindung wurden eine Reihe mimetischer Liganden für die Selektine im Laufe der Jahre publiziert.<sup>[240,241]</sup> Der Einsatz eines Cyclohexylrestes in Kombination mit einer Carboxylfunktion soll auch im Rahmen dieser Arbeit aufgegriffen werden, allerdings wird für die Synthese des entsprechenden Liganden nicht die (S)-Cyclohexylmilchsäure (**78**) sondern zweckmäßigerweise die Aminosäure (S)-Cyclohexylalanin (**79**) zum Einsatz kommen, die in der Literatur im Gegensatz zur (S)-Cyclohexylmilchsäure (**78**) fast ausschließlich bei der Synthese von Peptidaseinhibitoren Einsatz findet.<sup>[242,243]</sup>

**78**

Von *Kolb* und *Ernst* eingesetzte  
(S)-Cyclohexylmilchsäure

**79**

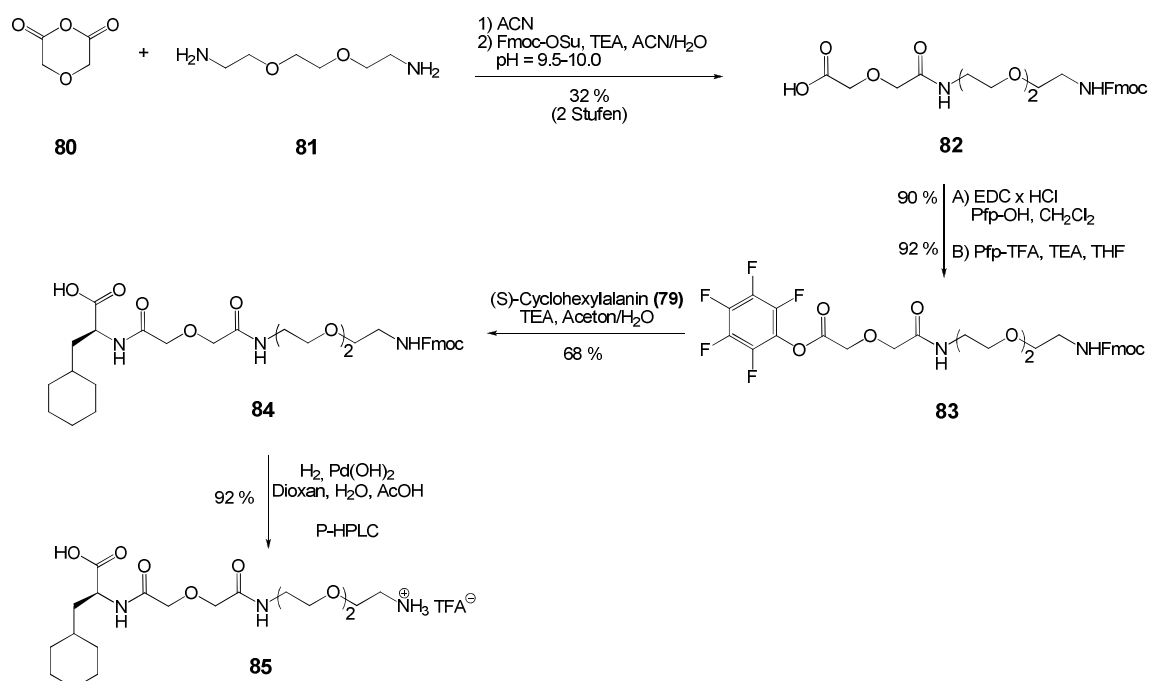
Im Rahmen dieser Arbeit verwendete Aminosäure  
(S)-Cyclohexylalanin

**Abb. 3.45:** Mimetische Strukturen zum Ersatz der *N*-Acetyl-D-neuraminsäure.



Um einen ausreichenden Abstand von dem Polymerrückgrat zu erhalten, wird ein flexibler Spacer zur Anwendung kommen, der sich bereits in der Derivatisierung von Peptiden als erfolgreich erwiesen hat.<sup>[244]</sup>

Die Synthesesequenz des (S)-Cyclohexylalanin-Liganden beginnt mit der Darstellung eines Fmoc-blockierten Carbonsäure-Spacers. Es handelt sich hierbei um eine Eintopfreaktion, bei der zu Beginn der Reaktion das cyclische Anhydrid **80** mit dem Diamin **81** zur Reaktion gebracht wird. Als Lösemittel kommt Acetonitril zum Einsatz, da das gebildete Produkt darin als wachsartiger Feststoff während der Reaktion ausfällt und dieser damit auch entzogen wird. Die Bildung des Feststoffes ist auf das Entstehen eines inneren Salzes zurückzuführen, welches außerdem die zweifache Acylierung von Verbindung **81** verhindert.<sup>[244]</sup> Das überschüssige Lösemittel wird nach beendeter Reaktion abdekantiert und die Blockierung der Aminofunktion im gleichen Reaktionsgefäß ausgeführt.



**Abb. 3.46:** Synthese des (S)-Cyclohexylalanin-Liganden.

Um die Aminogruppe des bifunktionellen Spacers zu blockieren, wird der wachsartige Feststoff in einem Gemisch aus Wasser und Acetonitril (1:1) gelöst, mit Triethylamin auf einen pH-Wert von 9.5-10 eingestellt und anschließend mit Fluoren-9-ylmethylsuccinimidyl-carbonat (Fmoc-OSu) versetzt. Nach der Aufarbeitung und flashchromatographischer Reinigung an Kieselgel wird der mit Fmoc-blockierte Carbonsäure-Spacer

**82** in einer reproduzierbaren Ausbeute von 32 % erhalten (Lit.:<sup>[244]</sup> 76 %). Bei Verbindung **82** handelt es sich um ein hochviskoses Öl, das sich bei Raumtemperatur innerhalb von mehreren Tagen unter Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe zersetzt. Aus diesem Grund ist eine Lagerung unter Argon bei tiefen Temperaturen dringend angeraten!

Die sich anschließende Darstellung des Pentafluorphenylesters **83** erfolgt mittels einer Kupplung von Pentafluorphenol mit 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid (EDC x HCl). Der Vorteil bei Verwendung dieses Kupplungsreagenzes liegt in der einfachen Aufarbeitungsmöglichkeit des Ansatzes begründet, die in Form von Waschen mit Wasser das Kupplungsreagenz sowie sein Harnstoffderivat vollständig zu entfernen vermag. Der Reaktivester **83** wird nach Aufarbeitung mit einer Ausbeute von 90 % in reiner Form erhalten. Alternativ lässt sich der Reaktivester **83** auch durch die Umsetzung der Carbonsäure **82** mit Pentafluorphenyltrifluoracetat<sup>[245]</sup> mit einer Ausbeute von 92 % synthetisieren, wobei sich die Abtrennung des überschüssigen Pentafluorphenyltrifluoracetats durch das mehrfache Ausfällen des Produktes als deutlich zeitaufwendiger herausgestellt hat.

Durch die Verwendung des Reaktivesters **83** kann das (S)-Cyclohexylalanin (**79**) ohne vorherige Blockierung der Carboxylfunktion zum Einsatz kommen. Bei einer direkten Kupplung von Aminosäure **79** mit Carbonsäure **82** mittels eines der bekannten Kupplungsreagenzien wäre es zu zahlreichen Nebenprodukten in Form des aktivierten Derivates von Aminosäure **79** sowie der ebenfalls entstehenden Kupplungsprodukte gekommen.

Die hohe Selektivität von Reaktivester **83** erlaubt es, diesen auch in wässrigen Medien erfolgreich umzusetzen. Bei der Umsetzung von (S)-Cyclohexylalanin (**79**) mit Reaktivester **83** in absolutem *N,N*-Dimethylformamid konnten Ausbeuten von max. 25 % erzielt werden. Die gleiche Umsetzung in einem Wasser/Aceton-Gemisch ergab eine Ausbeute von 68 % für Verbindung **84**.

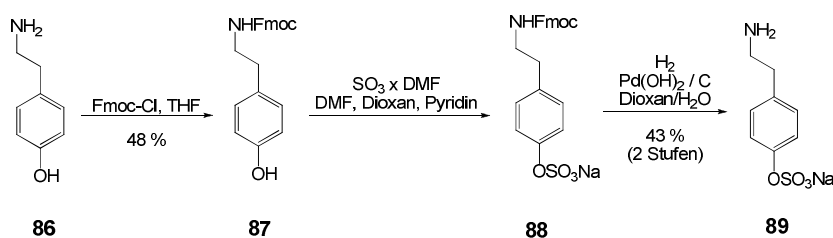
Die Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe von Verbindung **84** erfolgt, wie in dieser Arbeit schon mehrfach erfolgreich angewandt, unter reduktiven Bedingungen mit einer Ausbeute von 92 %. Es wird angeraten, die Reinigung von Ligand **85** auf Reversed-Phase-Materialien durchzuführen, da aufgrund seiner hohen Polarität eine Normal-Phase-Chromatographie nur mangelhaft möglich ist.

### 3.4.5 Der Tyramin-Ligand

Ausgehend von dem biogenen Amin Tyramin (**86**) wurde eine *O*-Sulfatierung durchgeführt. Hierfür war es notwendig, zu Beginn der Synthese die primäre Aminogruppe mit einer geeigneten Schutzgruppe, die sich im Neutralen oder Basischen abspalten lässt, zu blockieren.

Die Wahl der Schutzgruppe fiel daher auf Fmoc, da mit dieser Schutzgruppe bisher die meisten Erfahrungen in Bezug auf ihre Stabilität sowie ihre Abspaltbarkeit unter den verschiedenen Bedingungen gesammelt werden konnten. Wie bereits erwähnt, bietet die Fmoc-Schutzgruppe die Möglichkeit, ihre Abspaltung im Basischen oder im Neutralen unter reduktiven Bedingungen durchzuführen.

Die Blockierung der primären Aminogruppe von Tyramin erfolgt nach einer Vorschrift von *Panigrahi et al.*<sup>[246]</sup>, wobei (9-Fluorenylmethyl)-chloroformiat (Fmoc-Cl) zum Einsatz kommt. Nach dem Ausfällen von Verbindung **87** in Hexan wird diese in einer Ausbeute von 48 % erhalten.

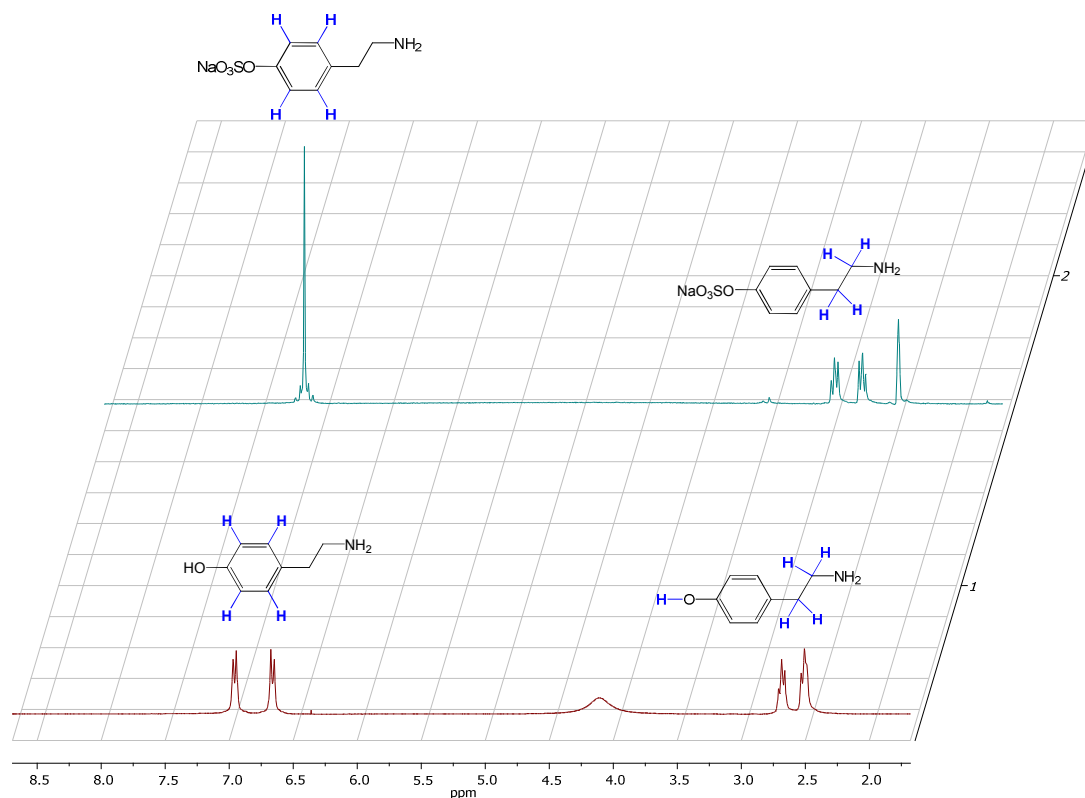


**Abb. 3.47:** Darstellung von sulfatiertem Tyramin.

Die sich anschließende Sulfatierung kann heterogen in Chloroform oder homogen in *N,N*-Dimethylformamid mit einem Pyridin-Schwefeltrioxid-Komplex<sup>[247]</sup> oder einem *N,N*-Dimethylformamid-Schwefeltrioxid-Komplex<sup>[248]</sup> erfolgen. Es muss bei der Aufarbeitung der Reaktion allerdings darauf geachtet werden, dass die Neutralisation in der Kälte erfolgt, damit es nicht zu einer frühzeitigen Abspaltung der basenlabilen Fmoc-Schutzgruppe kommt, wobei angemerkt werden muss, dass die Stabilität der Fmoc-Schutzgruppe bei Verbindung **88** grundsätzlich nicht stark ausgeprägt ist. Eine mögliche Abspaltung ist aber nicht weiter von Belang, da dies das Ziel der nachfolgenden Reaktion darstellt.

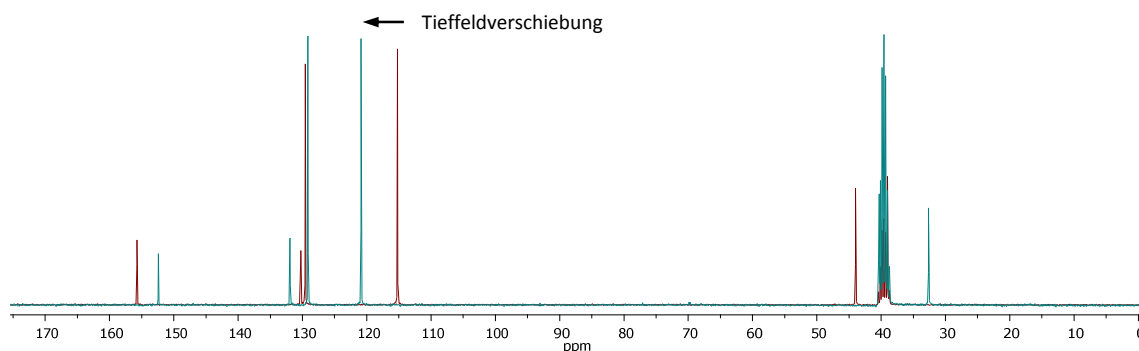
Die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe erfolgt unter reduktiven Bedingungen, wobei auf einen reaktionsbeschleunigenden Zusatz von Essigsäure, aufgrund der potentiellen Säureempfindlichkeit der Sulfatgruppe, sicherheitshalber verzichtet wird.<sup>[249]</sup>

Um zu überprüfen, ob tatsächlich die Einführung einer Sulfatgruppe stattgefunden hat, wurden  $^1\text{H}$ -NMR- sowie  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren von Verbindung **89** gemessen. Es zeigte sich im Vergleich zu dem Tyramin-Spektrum (NMR Nr. 1; Abb. 3.48) ein Zusammenfallen der aromatischen Signale zu einem quasi Singulett (NMR Nr. 2; Abb. 3.48). Auch kann ein Verschwinden des Wasserstoffs der phenolischen Hydroxylgruppe bei 4.25 ppm in NMR Nr.2 nachgewiesen werden.



**Abb. 3.48:** 300 MHz  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum Tyramin (rot, NMR Nr. 1) sowie sulfatiertem Tyramin (grün, NMR Nr. 2) gemessen in  $\text{DMSO-d}_6$ .

Auch im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum konnte eine partielle Verschiebung der Aromatenregion in den Tieffeldbereich in Relation zu dem Kohlenstoffspektrum von unsulfatiertem Tyramin festgestellt werden. Dies deutet darauf hin, dass eine elektronenziehende Gruppierung am phenolischen Sauerstoffatom vorhanden sein muss (s. Abb. 3.49).<sup>[250]</sup>



**Abb. 3.49:** Überlagerte 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR-Spektren von Tyramin (rot) sowie sulfatiertem Tyramin (grün) gemessen in DMSO-d<sub>6</sub>.

Es ist bekannt, dass organische Sulfatgruppen empfindlich auf den Zusatz von Säuren reagieren. Aus diesem Grund wurde die Stabilität der Sulfatgruppe mit Reagenzien getestet, die auch für die weitere Synthese Anwendung finden. Hierzu zählen: Essigsäure, Triethylamin, Natriummethanolat und Natriumhydroxid. Die für die Experimente gewählten pH-Werte entsprachen denen, die auch während der sich anschließenden Reaktionen, z.B. der polymeranalogen Umsetzungen sowie den Deblockierungsreaktionen, Anwendung finden. So findet, z.B. Triethylamin als Hilfsbase bei den polymeranalogen Umsetzungen, Natriumhydroxid bei der alkalischen Methylseife Verseifung der Sialinsäure, Natriummethanolat bei den Deacetylierungen und Essigsäure im Rahmen von Neutralisationen, breite Verwendung.

Sämtliche Experimente auf Stabilität wurden dünnschichtchromatographisch auf Normal-Phasen untersucht. Es konnte dabei festgestellt werden, dass das sulfatierte Tyramin **89** gegenüber einem Essigsäure / Wasser Gemisch (pH = 2) mehrere Tage stabil blieb, ohne dass eine merkliche Zersetzung bzw. Abspaltung der Sulfatgruppe eingetreten wäre. Auch das Entfernen des Lösemittels im Vakuum bei 40 °C führte aufgrund der Aufkonzentrierung der Essigsäure nicht zu einer Desulfatierung.

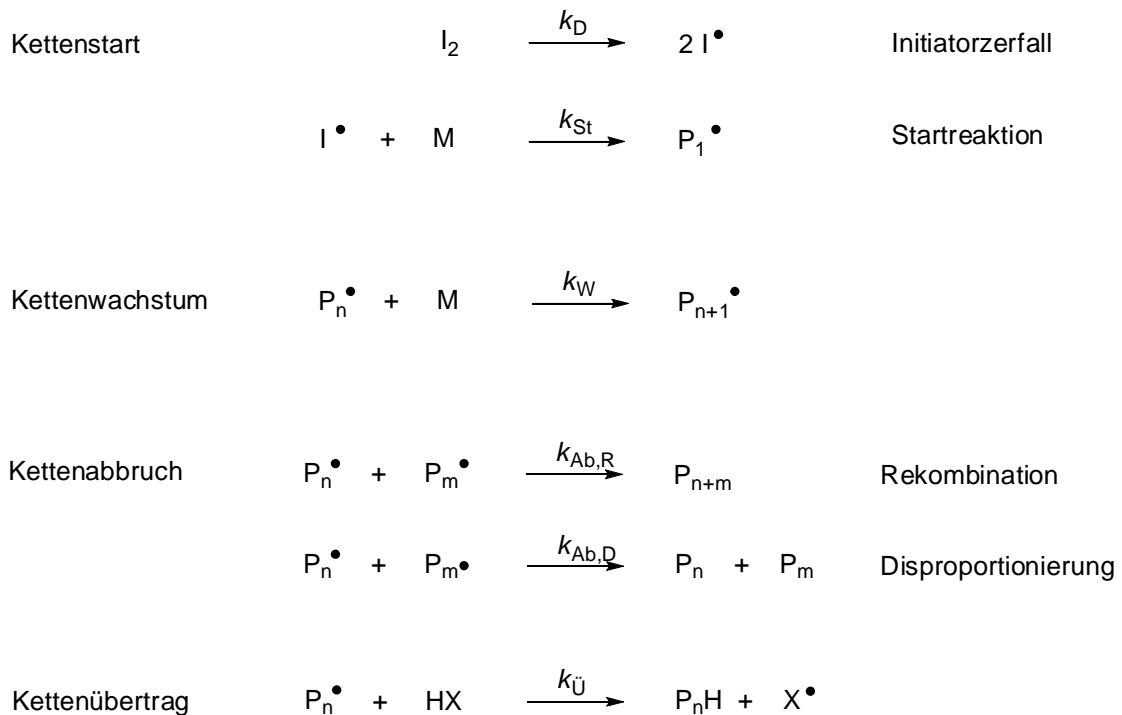
Bei der Anwendung von Natriummethanolat in Methanol bei einem pH-Wert von 10.0 konnte über mehrere Tage hinweg keine Veränderung der sulfatierten Verbindung **89** festgestellt werden. Selbst die Anwendung der anorganischen Base Natriumhydroxid in Wasser bei einem pH-Wert von 10.5-11.0 führte in einem Zeitraum von mehreren Tagen nicht zu einer Desulfatierung. Ebenso wenig konnte dies bei der Verwendung von Triethylamin festgestellt werden. Ausgehend von diesen Erkenntnissen sollten die weiterführenden Reaktionen kein Problem darstellen.

## 3.5 Die Polymere

### 3.5.1 Die Grundlagen der freien radikalischen Polymerisation

An dieser Stelle sollen die Grundlagen der radikalischen Polymerisation aufgezeigt werden, da diese für die folgenden beschriebenen Reaktionen von essentieller Bedeutung sind. Je nach Anwendungsgebiet des Kunststoffes kann die radikalische Polymerisation kontrolliert oder unkontrolliert durchgeführt werden. Ein großes Einsatzgebiet der freien (nicht kontrollierten) radikalischen Polymerisation stellen Kunststoffe dar, die keinen oder wenig Anspruch auf eine hochdefinierte Zusammensetzung haben, wobei sich diese in den alltäglichen Gebrauchsgegenständen wiederfinden.

Im Nachfolgenden soll der Mechanismus der freien radikalischen Polymerisation gezeigt und erörtert werden. Der Mechanismus setzt sich aus drei Grundschrinen zusammen. Diese sind die Initiierung, das Kettenwachstum und der Kettenabbruch, wobei die genannten Schritte bei einer freien radikalischen Polymerisation parallel ablaufen.<sup>[251]</sup>



**Abb. 3.50** Mechanismus der freien radikalischen Polymerisation.

Zu Beginn der Reaktion tritt der Zerfall des eingesetzten Initiators I ein. Dieser Zerfall kann durch Licht, Wärme oder energiereiche Strahlung in Form von radioaktiver

Strahlung oder von Röntgenstrahlung eingeleitet werden. Das gebildete Initiatorradikal reagiert nun mit einem Monomer zu einem Monomerradikal  $P_1^\bullet$ . Dieses Monomerradikal ist theoretisch im Stande, eine große Anzahl an weiteren Monomeren in Form einer Kettenwachstumsreaktion zu addieren.

Die Kettenwachstumsreaktion findet so lange statt, bis einer der zwei möglichen Terminierungsschritte eintritt. Hierbei können zwei Makroradikale  $P_n^\bullet + P_m^\bullet$  aufeinandertreffen und so zu einem Kettenabbruch führen. Wird bei dieser Reaktion ein Wasserstoffatom von dem einen Makroinitiator auf den anderen übertragen, so findet eine Disproportionierung beim Kettenabbruch statt. <sup>[252–254]</sup>

Bei einem Kettenübertrag, z.B. von einem Radikal auf das Lösemittel, das Polymer oder einen Überträger, wird zwar die aktuell wachsende Kette abgebrochen, aber dadurch, dass ein neues Radikal gebildet wird, bleibt die Summe aller Radikale konstant und damit auch die Geschwindigkeit der Reaktion.

Bei der Initiierung der radikalischen Polymerisation liegt der geschwindigkeitsbestimmende Schritt im Zerfall des Initiators  $I$ . Ist dieser erfolgt, so findet die Addition des Radikals  $I^\bullet$  mit hoher Geschwindigkeit an das Monomer  $M$  statt, wobei die Geschwindigkeit der Startreaktion  $v_{st}$  proportional zu der Monomer- und Initiatorkonzentration ist.

$$v_{st} = \frac{d[P_1^\bullet]}{dt} = k_D \cdot f \cdot 2 \cdot [I_2] \quad (1)$$

Da nicht alle gebildeten Radikale der Reaktion unmittelbar zur Verfügung stehen, wurde der Faktor  $f$  eingeführt, der die reale Anzahl an zur Verfügung stehenden Radikalen angibt. Er ist stets kleiner als 1 und berechnet sich aus dem Quotienten der eingebauten Radikale zu den primär erzeugten Radikalen.

Für die Geschwindigkeit der Wachstumsreaktion ist die Konzentration der Makroradikale  $[P^\bullet]$  sowie die Konzentration der noch nicht umgesetzten Monomere  $[M]$  von entscheidender Bedeutung. Die Geschwindigkeitskonstante des Wachstums  $k_W$  ist von der Kettenlänge unabhängig.

$$v_W = k_W [P^\bullet] \cdot [M] \quad (2)$$

Die Abbruchreaktion der Rekombination sowie der Disproportionierung lässt sich durch die folgende Gleichung beschreiben:

$$v_{Ab} = -\frac{d[P^\bullet]}{dt} = 2 \cdot k_{Ab} \cdot [P^\bullet]^2 \quad (3)$$

Anhand der Gleichung (1) und Gleichung (3) wird ersichtlich, dass die Geschwindigkeit der Abbruchreaktion  $v_{Ab}$  zweiter Ordnung und die Geschwindigkeit des Wachstums  $v_{St}$  erster Ordnung abhängig von der Radikalkonzentration sind. Daraus leitet sich ab, dass eine Erhöhung der Radikalkonzentration zu einem drastischen Anstieg der Abbruchreaktionen führt. Dies hat wiederum zur Folge, dass ein kleines Molekulargewicht erhalten wird. Nach dem Bodensteinschen Stationaritätsprinzip soll die Geschwindigkeit der Initiierung gleich der Geschwindigkeit des Abbruchs sein, also:

$$v_{St} = v_{Ab} \quad (4)$$

Wird nun der Ausdruck für die berechnete Radikalkonzentration in das Geschwindigkeitsgesetz der Kettenwachstumsreaktion eingesetzt, so erhält man die Gleichung für die Polymerisationsgeschwindigkeit  $R_p$  (rate of polymerization). Aus dieser Gleichung lässt sich folgern, dass die Bruttoreaktionsgeschwindigkeit einer freien radikalischen Polymerisation von der Wurzel der eingesetzten Initiatorkonzentration  $[I]$  sowie von der Monomerkonzentration  $[M]$  in erster Ordnung abhängt.

$$R_p = -\frac{d[M]}{dt} = k_w \cdot \left( f \cdot \frac{k_D}{k_{Ab}} \right)^{0.5} \cdot [M] \cdot [I]^{0.5} \quad (5)$$

Die Initiierung, das Kettenwachstum sowie die Abbruchreaktionen laufen bei der freien radikalischen Kettenpolymerisation nicht geordnet, sondern innerhalb der Lebenszeit eines Radikals, die ca. 1 Sekunde beträgt, ab. Aus diesem Grund wachsen die Polymerketten nicht gleichzeitig sondern nacheinander. Das hat zur Folge, dass eine breite Molekulargewichtsverteilung auftritt, die eine minimale Polydispersität von 1.5 bei Rekombination und bei Abbruch durch Disproportionierung von 2.0 ermöglicht. Daraus ergeben sich wenig definierte Polymere mit einer breiten Molekulargewichtsverteilung, die in unkritischen Bereichen (z.B. Haushaltsartikeln etc.) ohne Probleme Anwendung finden können.



### 3.5.2 Die kontrollierte radikalische Polymerisation

Werden hochdefinierte Polymere, die auch in ihrer Herstellung eine hohe Reproduzierbarkeit aufweisen müssen, wie es beispielsweise bei pharmakologisch relevanten Produkten gefordert wird, benötigt, so muss auf andere Polymerisationstechniken als die freie radikalische Polymerisation zurückgegriffen werden.<sup>[110]</sup>

Hochdefinierte Polymere mit niedrigen Polydispersitäten wurden anfänglich mit der anionischen sowie teilweise auch mit der kationischen Polymerisation verwirklicht.<sup>[255]</sup>

Die Ursprünge der anionischen Polymerisation reichen weit in die Vergangenheit der Polymerchemie zurück. *Ziegler*<sup>[256]</sup> führte bereits 1936 Experimente zur anionischen Polymerisation aus, wobei im Jahr 1956 der Begriff „lebende Polymerisation“, bzw. „lebende Polymere“, von *Szwarc*<sup>[257]</sup> geprägt und später auch von der IUPAC übernommen wurde. Diese Polymerisationsart ermöglicht es, nach dem vollständigem Umsatz des eingesetzten Monomers, weiteres Monomer des gleichen Typs oder eines kompatiblen weiteren Monomers an das bereits synthetisierte Polymer, z.B. in Form eines Block-Copolymers, anzufügen. Dieser Sachverhalt wird als lebende anionische bzw. kationische Polymerisation bezeichnet, da die wachsenden Kettenenden zunächst eine unbegrenzte Lebensdauer aufweisen. Dies wird möglich, da es bei dem Verfahren der anionischen oder kationischen Polymerisation nicht zu den klassischen Terminierungsreaktionen kommt, da sich die gebildeten Anionen bzw. Kationen, im Gegensatz zu Radikalen, abstoßen. Dies ermöglicht die Synthese von komplizierten polymeren Architekturen.<sup>[258]</sup>

Aus diesem Umstand ergeben sich für die lebenden Polymerisationstechniken die folgenden vereinfachten Kriterien:<sup>[259]</sup>

- Sämtliche Polymerketten werden zur gleichen Zeit und möglichst quantitativ gestartet. Jede Kette hat somit die gleiche Wachstumswahrscheinlichkeit. Daraus ergibt sich, dass die Geschwindigkeitskonstante der Initiierung wesentlich größer sein muss als die Geschwindigkeitskonstante der Polymerisation.
- Es finden keine Kettenabbruch- bzw. Kettenübertragungsreaktionen statt.

- Die Molmassenverteilung ist aufgrund des gleichförmigen Kettenwachstums sehr eng und die Polydispersität liegt nahe dem Wert 1.
- Die Polymerisation kann durch erneute Zugabe von Monomer fortgesetzt werden.
- Das durchschnittliche Molekulargewicht steigt linear mit dem Umsatz an.

Die Vorteile der anionischen Polymerisation sind die engverteilten Molekulargewichte ihrer Produkte und die Möglichkeit, komplexe Polymerarchitekturen zu synthetisieren. Nachteilig ist der hohe präparative Aufwand einer absolut wasser- und sauerstofffreien Reaktionsführung, sowie die Inkompatibilität der Reaktion mit basisch labilen Monomeren. Aus diesem Grund wird im Rahmen dieser Arbeit auf ein kontrolliert radikalische Verfahren zur Synthese hochdefinierter Polymere zurückgegriffen, das unter dem Namen RAFT (Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer) bekannt ist.<sup>[260]</sup>

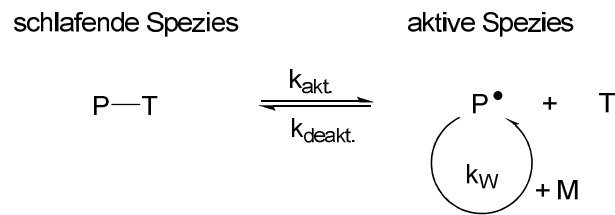
Um die Vorteile der freien radikalischen Polymerisation mit den Vorteilen der anionischen Polymerisationen zu vereinen, war man lange Zeit bestrebt, eine Kontrolle über die freie radikalische Polymerisation zu erlangen. Im Wesentlichen wurden dabei drei Verfahren entwickelt, die sich im Labormaßstab und teilweise auch im industriellen Maßstab durchgesetzt haben:

- Die NMP (Nitroxid Mediated Polymerization) wurde im Jahre 1985 von *Solomon*<sup>[254]</sup> eingeführt. Sie beruht auf der hohen Stabilität des TEMPO-Radikals, aufgrund deren es nicht mit den eingesetzten Monomeren reagiert. Daher wird die Bildung einer „schlafenden“ Spezies initiiert.
- Die Entdeckung der ATRP (Atom Transfer Radical Polymerisation) geschah unabhängig und fast zeitgleich im Jahr 1995 von *Sawamoto*<sup>[261]</sup> und *Matyjaszewski*<sup>[262]</sup>. Bei dieser Polymerisationsmethode setzt man Übergangsmetallkatalysatoren sowie Organohalogenide ein, um die Zahl der freien Radikale stark zurückzudrängen.

- Die jüngste Entwicklung im Rahmen dieser Methoden stellt die RAFT (Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer) Polymerisation dar. Sie wurde im Jahr 1998 von *Rizzardo*<sup>[260]</sup> beschrieben und stellt die Weiterführung der Chemie von *Zard*<sup>[263]</sup> dar. Sie soll im Nachfolgenden genauer beschrieben werden, da sie für die Synthese, der in dieser Arbeit beschriebenen Polymere, angewandt wird.

Alle diese Verfahren beruhen darauf, die Konzentration der freien Radikale gering zu halten. Wie aus Gleichung (1) sowie Gleichung (3) hervorgeht, gehen die Konzentrationen der freien Radikale im Quadrat in die Abbruchgeschwindigkeit, in die Wachstumsgeschwindigkeit allerdings nur linear, ein, d. h. durch eine geringe Konzentration an freien Radikalen wird die Abbruchreaktion, die für die mangelhafte Polydispersität verantwortlich ist, stark zurückgedrängt. Allerdings ist durch diese Verfahren im Vergleich zur anionischen Polymerisation kein vollständiges Zurückdrängen der Abbruchreaktion zu erreichen. Aus diesem Grund wird oftmals nicht von einer lebenden radikalischen Polymerisation sondern nur von einer kontrollierten radikalischen Polymerisation gesprochen.<sup>[264,265]</sup>

Um bei einer radikalischen Polymerisation ein Zurückdrängen der Konzentration an freien Radikalen zu erreichen, müssen Reagenzien dem Polymerisationsansatz zugegeben werden, die mit der radikalischen Spezies in Wechselwirkung treten. Dies verursacht die Bildung von „schlafenden“ oder maskierten Radikalen, die nicht mehr aktiv an dem Geschehen der Polymerisation teilhaben können (s. Abb. 3.51). Zur Fortsetzung der Polymerisation muss eine Dissoziation mittels eines dynamischen Gleichgewichtes der schlafenden Spezies zu einem Radikal hin erfolgen. Erst dann ist die Anlagerung von weiterem Monomer möglich. Durch dieses Gleichgewicht wird die Konzentration an freien Radikalen auf einem konstant niedrigen Stand gehalten. Die Zahl der „toten“ Polymere, aufgrund unkontrollierbarer Abbruchreaktionen, wird dabei verschwindend gering. Ein weiterer positiver Effekt ist die deutlich verlangsamte Wachstumsgeschwindigkeit im Vergleich zur schnellen Initiierung der Reaktion. Die Lebensdauer der aktiven Spezies wird damit, ähnlich wie bei der anionischen Polymerisation, deutlich erhöht, da alle Polymerketten zur gleichen Zeit gestartet werden können.<sup>[266]</sup>



*Abb. 3.51: Allgemeiner Ablauf einer kontrollierten radikalischen Polymerisation.*

Eine kontrollierte radikalische Polymerisation kann zusätzlich zu den Kriterien einer lebenden anionischen Polymerisation durch die folgenden Kriterien charakterisiert werden.<sup>[267]</sup>

- zügige und quantitative Initiierungsreaktion
- der Anteil aktiver Radikale muss gering gehalten werden
- nur ein geringer Anteil der Ketten ist an einem Kettenabbruch beteiligt
- zügiger Austausch zwischen dem wachsenden Radikal und der schlafenden Spezies

### 3.5.3 Die RAFT-Polymerisation

Die RAFT-Polymerisation gehört zu den jüngsten Entwicklungen auf dem Gebiet der kontrolliert radikalischen Polymerisationen. Ihr großer Vorteil gegenüber der NMP-Polymerisation ist ihre höhere Geschwindigkeit sowie die Möglichkeit, bei den meisten Monomeren, darunter auch bei auf Methacrylat basierenden Monomeren, anwendbar zu sein. Wird ein Vergleich der ATRP- und der RAFT-Polymerisation gezogen, so wird bei der ATRP-Polymerisation ein entscheidender Nachteil gefunden: Übergangsmetallorganische Katalysatoren verunreinigen das synthetisierte Polymer mit organischen Kupferverbindungen. Dies stellt bei der Reinigung der Polymere ein nicht unerhebliches Problem dar. Insbesondere dann, wenn die Polymere, die nach dieser Methode synthetisiert wurden, einer späteren biologischen Anwendung zugeführt werden sollen.<sup>[110]</sup>

Werden die Nachteile der RAFT-Polymerisation betrachtet, so muss man feststellen, dass die Farbigkeit der resultierenden Polymere aufgrund der Schwefel-Endgruppe, sowie Geruchs- und mögliche toxische Effekte in biologischen Systemen bei den erhaltenen Polymeren eine Rolle spielen können. Diesen Nachteilen kann allerdings durch das

Entfernen der RAFT-Endgruppe mittels eines Überschusses an AIBN wirkungsvoll begegnet werden.<sup>[268]</sup>

Für die Kontrolle der RAFT-Polymerisation werden als Kettentransferreagenzien Schwefelverbindungen eingesetzt. Es kommen hierbei Dithioester, Dithiocarbonate, Trithiocarbonate sowie *N,N*-Dithiocarbamate zum Einsatz.<sup>[269,270]</sup> Ihre Aufgabe besteht darin, eine temporär inaktive Spezies („schlafende Spezies“) zu erzeugen, die eine Terminierung weitgehend unterdrückt. Durch den effektiven Kettentransfer erhalten alle Ketten die gleiche Wachstumswahrscheinlichkeit, ähnlich der anionischen Polymerisation. Um den Mechanismus der freien radikalischen Polymerisation zu einem RAFT-Mechanismus zu erweitern, bedarf es der Ergänzung, die in Abb. 3.52 wiedergegeben ist.

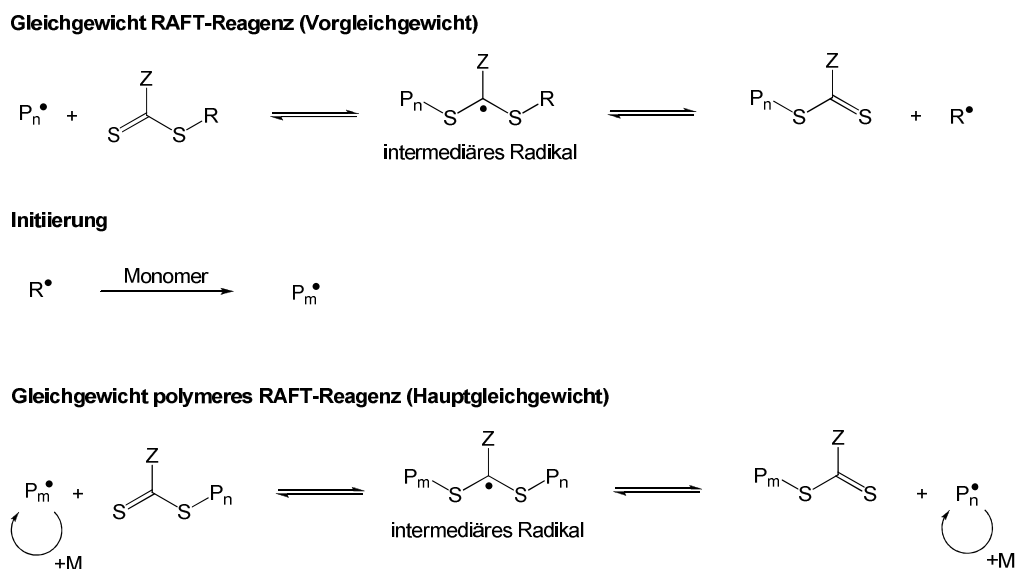


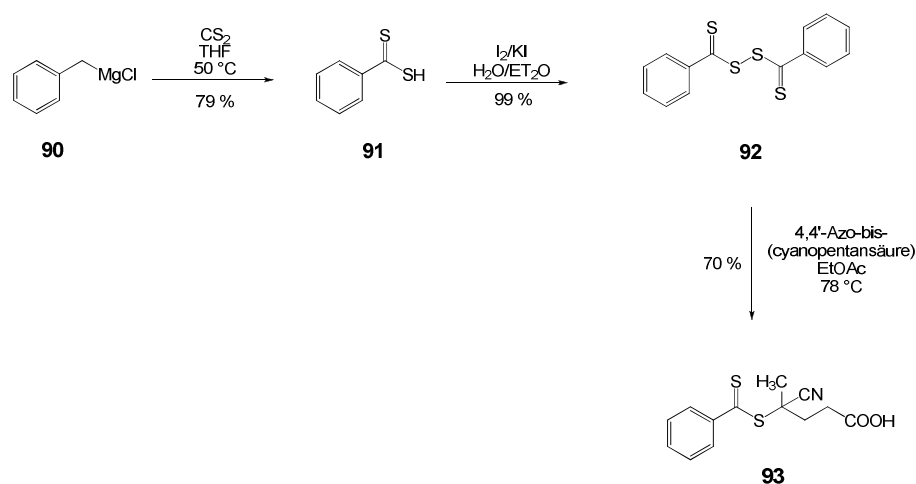
Abb. 3.52: Mechanismus der RAFT-Polymerisation.

Der Reaktionsverlauf ist der freien radikalischen Polymerisation ähnlich. Die Initiierung der Reaktion wird mit einem klassischen Initiator, wie beispielsweise AIBN, bei einer Temperatur von 70 °C durchgeführt, wobei die eingesetzte Menge an Initiator verhältnismäßig gering gewählt wird, um eine freie radikalische Polymerisation so weit wie möglich zurückzudrängen. Es hat sich erfahrungsgemäß bewährt, 1/10 bis 1/8 Mol-äquivalent an Initiator im Verhältnis zu dem eingesetzten Kettentransferreagenz zu verwenden.

Den nächsten Schritt der kontrollierten radikalischen Reaktion bildet, analog zur freien radikalischen Polymerisation, eine Addition des Initiators an ein Monomer oder aber eine Addition an das Kettentransferreagenz. Bei der Addition eines Radikals an das Kettentransferreagenz entsteht ein intermediäres Radikal, welches wieder in die Ausgangsstoffe zerfallen kann oder aber ein reaktives Radikal  $R^{\bullet}$  generiert. Das reaktive Radikal  $R^{\bullet}$  ist in der Lage, weiteres Monomer zu addieren oder mit dem Kettentransferreagenz in Wechselwirkung zu treten. Nach einer Reihe von Additionen, d.h. wenn sich die Austrittsgruppen nicht mehr signifikant unterscheiden, befindet sich das RAFT-System im Gleichgewicht. Durch diesen in der Regel sehr schnell verlaufenden Additions-/Fragmentierungsprozess liegt die Mehrzahl der Ketten nicht als freies Radikal vor, sondern als polymeres Ketten-Transfer-Reagenz. Dies führt zu einem sehr gleichmäßigen Wachstum aller Ketten. Mittels der RAFT-Polymerisation können daher Polymere mit einem Polydispersitätsindex von 1.1 bis 1.2 synthetisiert werden.<sup>[271–274]</sup>

### 3.5.4 Das RAFT-Kettentransferreagenz

Die kontrollierte radikalische Polymerisation bedarf, wie bereits zuvor beschrieben, eines Kettentransferreagenzes (engl.: Chain Transfer Agent, CTA). Für die Polymerisation von Pentafluorphenylmethacrylat hat sich CTA **93** bewährt. Dieser kann in einer dreistufigen literaturbekannten Synthese ausgehend von Phenylmagnesiumchlorid **90** synthetisiert werden.<sup>[275–277]</sup>



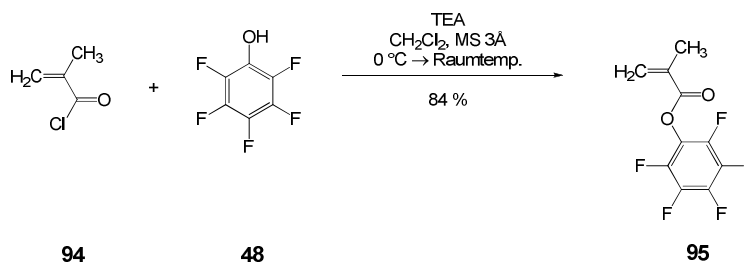
**Abb. 3.53:** Synthese des Kettentransferreagenzes.

In der ersten Stufe der Synthese wird das Phenylmagnesiumchlorid **90** unter inerten Bedingungen bei 40 °C mit Schwefelkohlenstoff langsam versetzt. Dabei geht die zunächst schwarze in eine dunkelrote Lösung über. Diese wird anschließend auf kalte verdünnte Salzsäure gegossen. Es resultiert nach wässriger Aufarbeitung ein hochviskoses, violettes Öl von Dithiobenzoessäure (**91**).

Da es sich bei der Dithiobenzoessäure (**91**) um eine empfindliche Verbindung handelt, die sich unter Licht- und Lufteinfluss zersetzt, wird umgehende Umsetzung zum Dithiobenzoyldisulfit (**92**) empfohlen. Die Umsetzung erfolgt praktischerweise unter Zutropfen der oxidierenden Komponente. Dabei wird Verbindung **92** nach wässriger Aufarbeitung idealerweise als dunkelvioletter Feststoff in beinahe quantitativer Ausbeute erhalten. Die nachfolgende radikalische Umsetzung mit 4,4'-Azo-bis(cyanopentylsäure) bei einer Temperatur von 90 °C führt zu dem gewünschten Kettentransferreagenz in einer Ausbeute von 80 %. Es empfiehlt sich, um ein vollkommen sauberes Produkt zu erhalten, eine mehrfache flashchromatographische Reinigung an Kieselgel vorzunehmen. Ein Indikator für die Reinheit von Kettentransferreagenz **93** ist neben der dünnschichtchromatographischen Analyse die Fähigkeit der Verbindung, einen amorphen Feststoff zu bilden, der bequem gehandhabt werden kann. Es muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass Verbindung **93** gegenüber starken Säuren und insbesondere gegen jegliche Form von basischen Verbindungen organischer sowie anorganischer Natur instabil ist. Aufgrund seiner Empfindlichkeit empfiehlt es sich außerdem, das Kettentransferreagenz unter einer Argonatmosphäre bei tiefen Temperaturen lichtgeschützt zu lagern.

### 3.5.5 Das Monomer und die RAFT-Polymerisation

Zur Darstellung des für die polymeranalogen Umsetzungen benötigten Monomers wird aus Methacrylsäurechlorid (**94**) das Pentafluorphenylmethacrylat (**95**) dargestellt.<sup>[278]</sup> Hierzu wird Pentafluorphenol (**48**) in absolutem Dichlormethan zusammen mit Triethylamin sowie Molekularsieb 3 Å vorgelegt und unter Eiskühlung langsam mit Methacrylsäurechlorid (**94**) versetzt. Nach Filtration über Hyflo<sup>®</sup> und Entfernen der Lösemittel im Vakuum wird das Monomer **95** im Hochvakuum destilliert. Hierbei kann, auch bei Temperaturen von 70 °C, keine Polymerisation oder Zersetzung festgestellt werden.

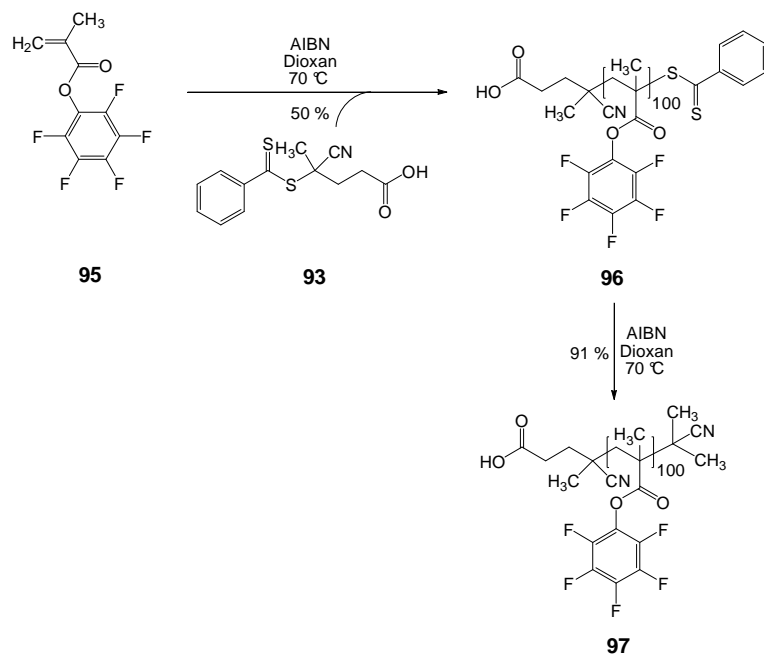


**Abb. 3.54:** Darstellung von Pentafluorphenylmethacrylat.

Auch ist die Lagerung des Monomers bei Temperaturen von unter  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  ohne Zugabe von Stabilisator unproblematisch. Es empfiehlt sich, das Behältnis mit Argon zu spülen, um den Sauerstoffeintrag für die sich anschließenden Polymerisationen so gering als möglich zu halten.

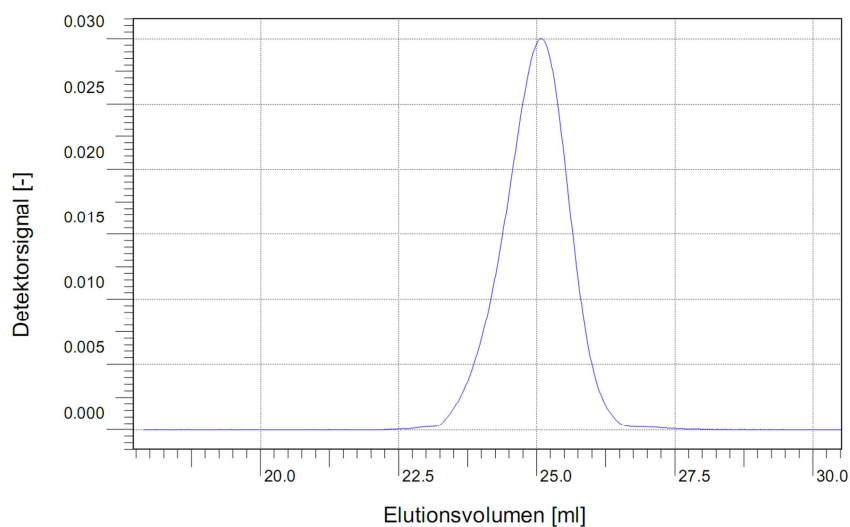
Für die kontrollierte radikalische Polymerisation wird auf das bereits beschriebene RAFT-Verfahren zurückgegriffen. Hierbei wird das Reaktivester-Monomer **94** zusammen mit dem Kettentransferreagenz **93** in Dioxan gelöst und anschließend einem „Freeze-Pump“-Zyklus im Hochvakuum zur Entfernung von gelöstem Sauerstoff unterzogen. Der in einem Schlenkrohr befindliche Polymerisationsansatz wird vor der Zugabe des Initiators mit flüssigem Stickstoff eingefroren, im Hochvakuum bis zu einem Druck von  $1 \times 10^{-3}$  mbar evakuiert und anschließend bei geschlossenem Hahn des Schlenkrohres bis auf Raumtemperatur aufgetaut. Dieser Zyklus wird zweimal wiederholt und anschließend die benötigte Menge Initiator zugefügt. Um sicherzustellen, dass es zu keinem Sauerstoffeintrag gekommen ist, wird nach der Initiatorzugabe nochmals entgast. Der auf diese Weise präparierte Polymerisationsansatz wird in ein  $70\text{ }^\circ\text{C}$  warmes Ölbad getaucht und ca. 14 Stunden der Reaktion unterzogen. Hierbei ist zu beachten, dass ein schnelles Erhitzen sowie kräftiges Rühren des Ansatzes von großer Bedeutung ist, um ein gleichmäßig definiertes Polymer zu erhalten. Zum Beenden der Reaktion wird Luft zugeführt und das Polymer zum Reinigen dreimal in Hexan gefällt und anschließend im Hochvakuum getrocknet. Um die schwefelhaltige Endgruppe zu entfernen, wird das Reaktivester-Polymer **96** anschließend in absolutem Dioxan gelöst und mit ca. 30 Moläquivalenten AIBN, bezogen auf die Dithioester-Endgruppe, versetzt und bis zur vollständigen Entfärbung auf  $70\text{ }^\circ\text{C}$  erhitzt. Zum Entfernen der Schwefelrückstände wird das farblose Reaktivester-Polymer **97** dreimal aus einem Gemisch aus Diethylether/Methanol (1:1) gefällt und im Hochvakuum getrocknet.<sup>[134,138,279]</sup>





**Abb. 3.55:** Synthese des Reaktivester-Polymers ausgehend von Pentafluorphenylmethacrylat.

Die sich anschließende analytische GPC-Messung (s. Abb. 3.56) in Tetrahydrofuran zeigt ein sehr einheitliches Reaktivester-Polymer mit einer Kettenlänge von 100 Einheiten und einen PDI von 1.12 an. Dies weist auf ein sehr gut definiertes Polymer hin, welches ein Molekulargewicht von  $M_n \approx 25200$  g/mol aufweist. Das auf diese Weise synthetisierte Reaktivester-Polymer kann nun mit einer Vielzahl an primären Aminen in Form einer polymeranalogen Umsetzung zur Reaktion gebracht werden.

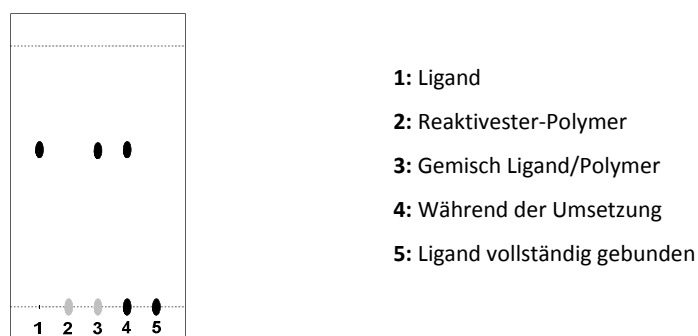


**Abb. 3.56:** GPC-Elugramm von Reaktivester-Polymer 97. Gemessen in Tetrahydrofuran bei einer Wellenlänge von 254 nm.

### 3.6 Polymeranaloge Umsetzungen

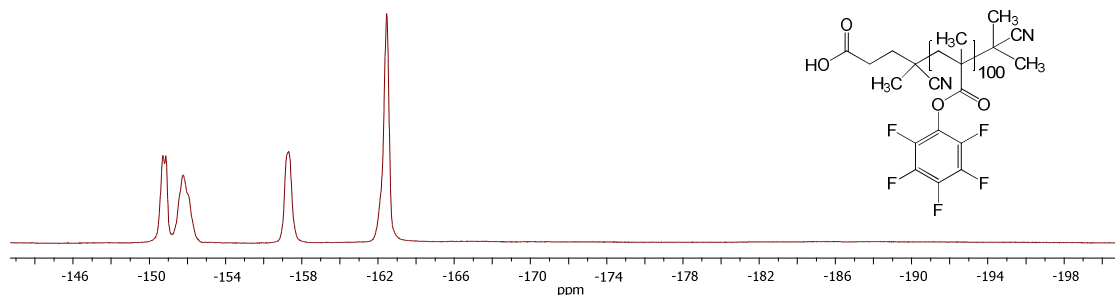
Die in den vorhergehenden Kapiteln beschriebenen Kohlenhydrat-Liganden sowie der Fluoreszenzfarbstoff **64a** werden in polymeranalogen Umsetzungen mit dem Reaktivester-Polymer **97** zur Reaktion gebracht.<sup>[138]</sup> Hierbei hat es sich bewährt, in einem Lösemittelgemisch aus absolutem Dioxan und absolutem Dimethylsulfoxid bei einer Temperatur von 50 °C zu arbeiten. Der Zusatz von Dimethylsulfoxid führt zur besseren Löslichkeit der Liganden sowie des Fluoreszenzfarbstoffs **64a**. Zur Verfolgung der Reaktion kann dünnschichtchromatographisch der approximierter Verbrauch an Ligand bestimmt werden. Diese Analysemethode stellt ein effektives Werkzeug dar, die Bindung des Liganden an das Polymer nachzuweisen. Wird ein Gemisch aus Reaktivester-Polymer **97** und Amin-Ligand ohne Hilfsbase dünnschichtchromatographisch untersucht (s. Abb. 3.57, Position 3), so kann festgestellt werden, dass der Ligand seinen ursprünglichen  $R_f$ -Wert beibehält. Das Reaktivester-Polymer **97** hingegen kann nicht zur Elution gebracht werden und verbleibt an der Startlinie der Dünnschichtchromatographie-Platte.

Werden während einer polymeranalogen Umsetzung dünnschichtchromatographische Analysen durchgeführt, so zeigt sich, dass der Ligand seinen ursprünglichen  $R_f$ -Wert zu dem Wert Null hin verändert (s. Abb. 3.57, Position 4 und 5). Mit den verschiedenen zur Verfügung stehenden Anfärbemethoden kann nach erfolgter polymeranaloger Umsetzung gezeigt werden, dass das mit Kohlenhydrat-Einheiten funktionalisierte Polymer selektiv von „Zucker-Reagenz“ angefärbt wird, wobei nicht funktionalisiertes Polymer auch im Gemisch mit Kohlenhydraten nach erfolgter Elution nicht von „Zucker-Reagenz“ angefärbt werden kann.



**Abb. 3.57:** Beispiel einer dünnschichtchromatographischen Analyse einer polymeranalogen Umsetzung unter Anfärbung mit „Zucker-Reagenz“.

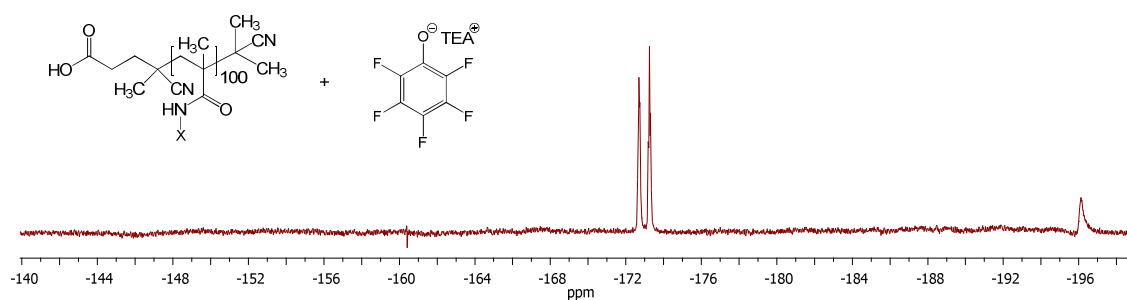
Eine weitere Kontrolle des Reaktionsverlaufes gelingt durch die  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektroskopie, die anzeigt, wie viel gebundenes und freies Pentafluorphenol (**48**) im Reaktionsansatz vorliegt, wobei Abb. 3.58 ein  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum eines nicht umgesetzten Reaktivester-Polymers vom Pentafluorphenyltyp zeigt.



**Abb. 3.58:** 377 MHz- $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum des Reaktivester-Polymers **97**. Gemessen in  $\text{CDCl}_3$ . Es kann kein freies Pentafluorphenol detektiert werden.

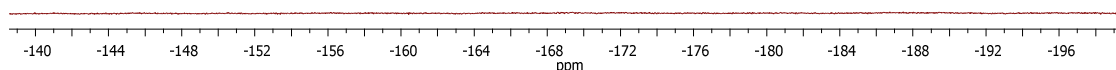
Durch die  $^{19}\text{F}$ -NMR-Technik wird somit der Zeitpunkt der vollständigen Umsetzung der Reaktivester-Einheiten bestimmbar. Nachteilig bei diesem Verfahren ist allerdings der hohe zeitliche Aufwand bei der Umsetzung von unterschiedlichen Liganden in einem Reaktionsansatz. So müsste für jede Zugabe an Ligand nach 1-2 Tagen ein NMR-Spektrum gemessen werden, wobei dem Reaktionsansatz eine gewisse Menge an Probe entnommen wird. Bei wertvollen Substanzen und dementsprechend kleinen Ansätzen führt dieses Vorgehen unweigerlich zu einem Verlust an Ausbeute. Aus diesem Grund wurde dieses Verfahren nur zur Überprüfung des Endpunktes der polymeranalogen Umsetzungen herangezogen. Es sei darauf hingewiesen, dass die Bestimmung der Menge an umgesetztem Reaktivester-Polymer mittels  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektroskopie gewissen Fehlermöglichkeiten unterliegt. So muss davon ausgegangen werden, dass unter dem Zusatz einer organischen Base Nebenreaktionen, beispielsweise in Form einer Esterhydrolyse, ablaufen können, die das Ergebnis der Bestimmung der polymeranalogen Umsetzung mittels  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektroskopie durchaus verfälschen können. Als Beispiel sei das schwierig zu trocknende und trocken zu haltende Lösemittel Dimethylsulfoxid erwähnt, welches eine hohe Affinität zu Wasser aufweist und unter basischen Bedingungen zu einer Hydrolyse der Reaktivester führen kann. Das abgespaltene Pentafluorphenol müsste dann fälschlicherweise als ligandeninduzierter Umsatz interpretiert werden. Konnte dünnschichtchromatographisch im Rahmen der Genauigkeit dieses Verfahrens belegt werden, dass die eingesetzten Liganden vollständig am Polymer gebunden sind, so wurde

zur Vervollständigung der Reaktion 1-Amino-2-propanol im Überschuss zur polymeranalogen Umsetzung zugegeben. Dies hat die vollständige Umsetzung der verbliebenen Pentafluorphenyl-Reaktivester-Einheiten zu HPMA-Einheiten zur Folge (s. Abb. 3.59).



**Abb. 3.59:** 377 MHz- $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum eines vollständig umgesetzten Reaktivester-Polymers. Es kann ausschließlich das freie Pentafluorphenol als Triethylaminsalz detektiert werden.

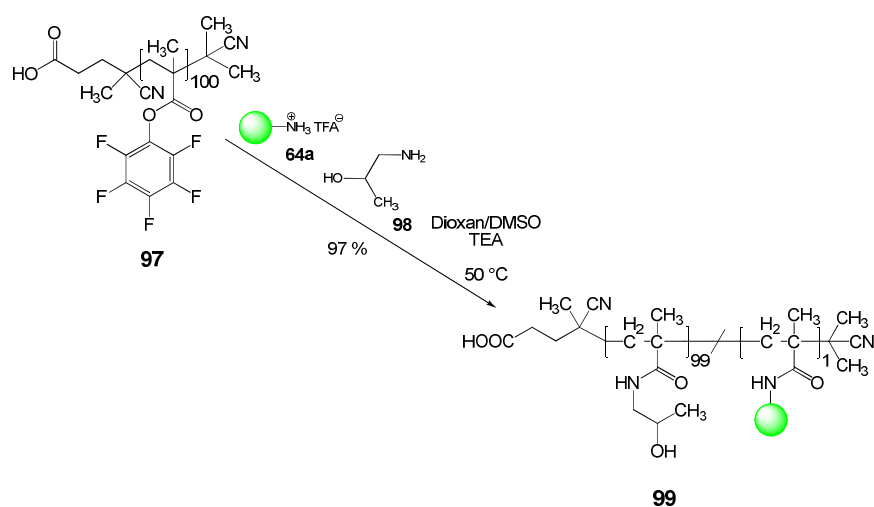
Vergleicht man die Reaktionszeiten von Reaktivester-Polymeren mit nicht polymeren Reaktivestern, so stellt man fest, dass Reaktivester-Polymere eine drastisch längere Reaktionszeit bis zu einem vollständigen Umsatz aufweisen. Um den Vorgang der polymeranalogen Umsetzung zu beschleunigen, wird daher die Reaktion bei 50 °C ausgeführt. Trotz dieses Vorgehens benötigt die vollständige Bindung der Liganden mindestens 15 Stunden und ist in der Regel erst nach 36 Stunden abgeschlossen. Bei einem Vergleich mit nicht polymeren Reaktivestern wurden durchschnittliche Reaktionszeiten von ca. 30 Minuten bis zu einem vollständigen Umsatz an Reaktivester bestimmt. Nach erfolgter Reinigung des Reaktivester-Polymers darf kein freies Pentafluorphenol mehr nachweisbar sein. Das in Abb. 3.60 gezeigte  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektrum gibt die vollständige polymeranalogue Umsetzung nach erfolgter Dialyse in Wasser an. Es kann kein gebundenes oder freies Pentafluorphenol mehr detektiert werden.



**Abb. 3.60:** 377 MHz- $^{19}\text{F}$ -NMR eines gereinigten Polymers.

### 3.6.1 Das Referenz-Polymer

Ausgehend von dem Reaktivester-Polymer **97**, welches ein Molekulargewicht von ca. 25200 g/mol aufweist, werden sämtliche beschriebenen polymeranalogen Umsetzungen ausgeführt. Als Referenzsystem wird ein Polymer ohne Kohlenhydrat-Funktionalisierung synthetisiert, welches nur aus Hydroxypropylmethacrylamid-Einheiten (HPMA-Einheiten) und aus dem Fluoreszenzfarbstoff **64a** besteht. Hierfür wird der Fluoreszenzfarbstoff **64a** (1 Mol-%) unter Zusatz von Triethylamin mit dem Reaktivester-Polymer **97** bei 50 °C zur Reaktion gebracht. Nach einer Reaktionszeit von 24 Stunden werden die restlichen Reaktivester-Einheiten mit 1-Amino-2-propanol (**98**) abgesättigt und der Ansatz mittels semipräparativer Gelpermeationschromatographie (Säule: PL-Aquagel, Eluent: Methanol/Wasser, 1:1) gereinigt. Es wird auf diese Weise ein Polymer erhalten, dass aus einer statistisch verteilten Mischung aus ca. 1 Mol-% Fluoreszenzfarbstoff **64a** sowie ca. 99 Mol-% HPMA-Einheiten besteht. Dieses Referenzpolymer wird bei den biologischen Prüfungen für einen Vergleich mit Liganden funktionalisiertem Polymer dienen.



**Abb. 3.61:** Synthese des Referenzpolymers ohne Kohlenhydratfunktionalisierung markiert mit Fluoreszenzfarbstoff.

Erhalten wird nach dem Entfernen des Lösemittels im Vakuum und anschließender Lyophilisierung ein orangefarbener Feststoff, der eine hervorragende Wasserlöslichkeit aufweist. Die NMR-spektroskopische Analyse zeigt die breiten Polymersignale des Polymethacrylamid-Rückgrates (PMA) sowie die mit 1-Amino-2-propanol (**98**) funktionalisierten Einheiten (HPA) an.

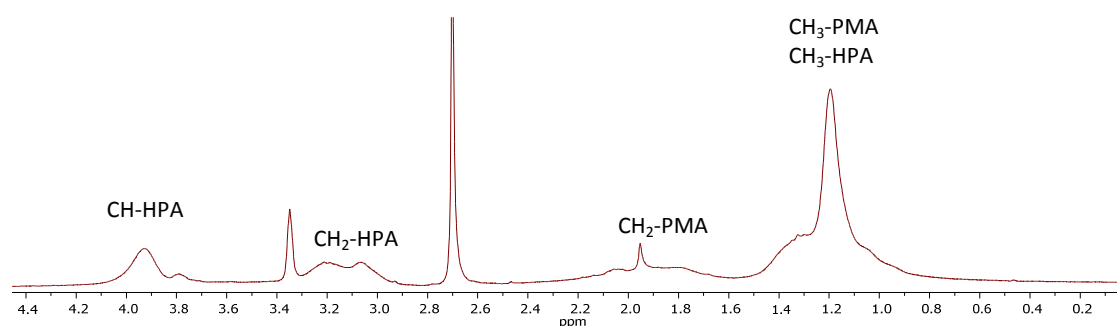
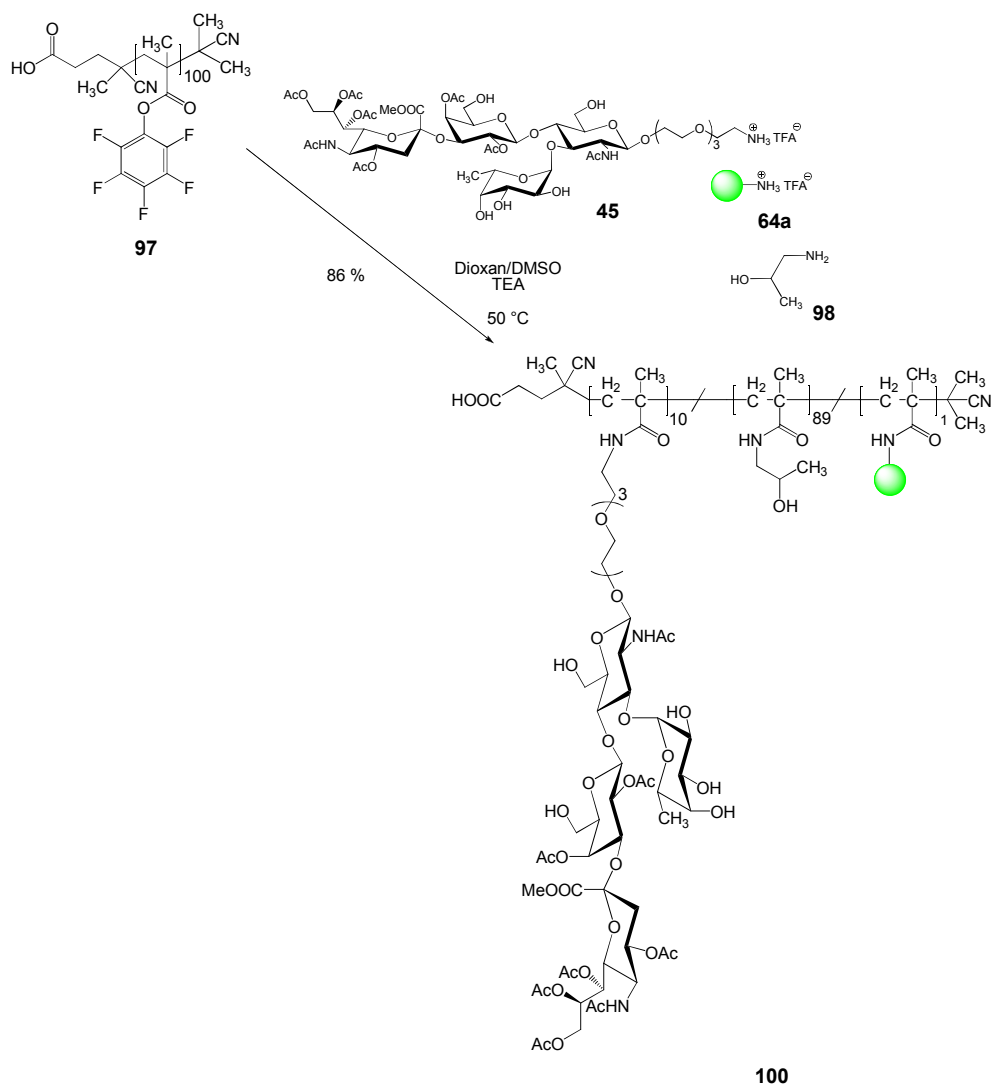


Abb. 3.62 300 MHz- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des HPMA-Polymer **99**. Gemessen in MeOD.

### 3.6.2 Die Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymere

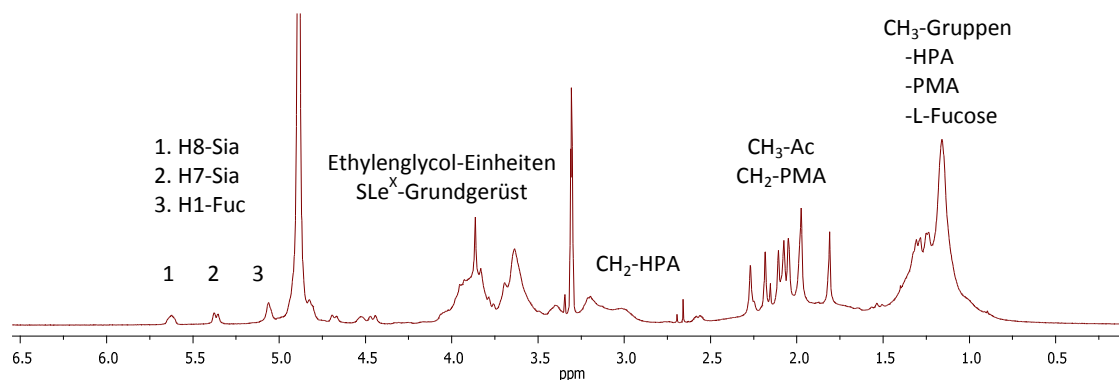
Die Darstellung der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymere erfolgt durch die Umsetzung von Reaktivester-Polymer **97** mit dem Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Liganden **45** sowie Fluoreszenzfarbstoff **64a** in einem Gemisch aus Dioxan sowie Dimethylsulfoxid und der Hilfsbase Triethylamin. Hierbei wird ein statistischer Einbau von 10 Mol-% Sialyl-Lewis<sup>x</sup> und 1 Mol-% Fluoreszenzfarbstoff in das Polymer angestrebt. Wie bereits in Kapitel 3.2.4 gezeigt werden konnte, ist der Einsatz der partiell deblockierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Struktur **45** ohne Weiteres möglich. Es war bei 50 °C keine Zersetzung des eingesetzten empfindlichen Kohlenhydrat-Liganden NMR-spektroskopisch zu beobachten. Auch eine Deacetylierung oder die Bildung eines Neuraminsäureamids konnten aufgrund der Anwesenheit von primären Aminen NMR-spektroskopisch nicht nachgewiesen werden. Nach 36 Stunden Reaktionsdauer wird dünnschichtchromatographisch kein freies Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Derivat **45** mehr nachgewiesen. Anschließend wird zur Umsetzung der verbliebenen Reaktivester-Einheiten 1-Amino-2-propanol (**98**) im Überschuss zugegeben. Die Reinigung des Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymers **100** erfolgt durch semipräparative Gelpermeationschromatographie (Eluent: Methanol/Wasser, 1:1) an einer PL-Aquagel-Chromatographiesäule.

Die NMR-spektroskopische Charakterisierung des Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymers **100** gestaltet sich aufgrund der stark verbreiterten Signale des Polymerrückgrats mittels  $^1\text{H}$ -Spektroskopie als schwierig.



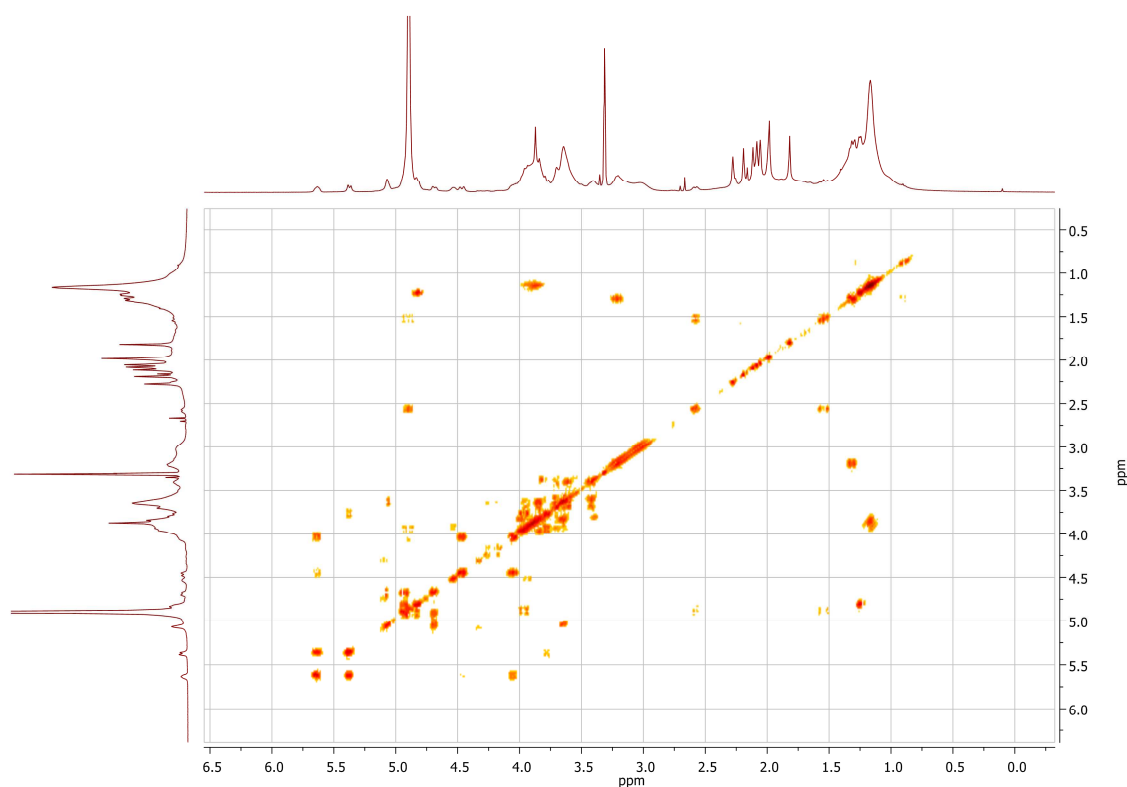
**Abb. 3.63:** Synthese von Sialyl-Lewis<sup>X</sup> funktionalisiertem HPMA-Polymer.

Auch die Integration zur Bestimmung der eingebauten Anzahl an Sialyl-Lewis<sup>X</sup>-Einheiten kann aufgrund der Vielzahl an überlagernden Signalen nur unzureichend Anwendung finden (s. Abb. 3.64).



**Abb. 3.64:** 400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von Polymer **100**. Gemessen in MeOD.

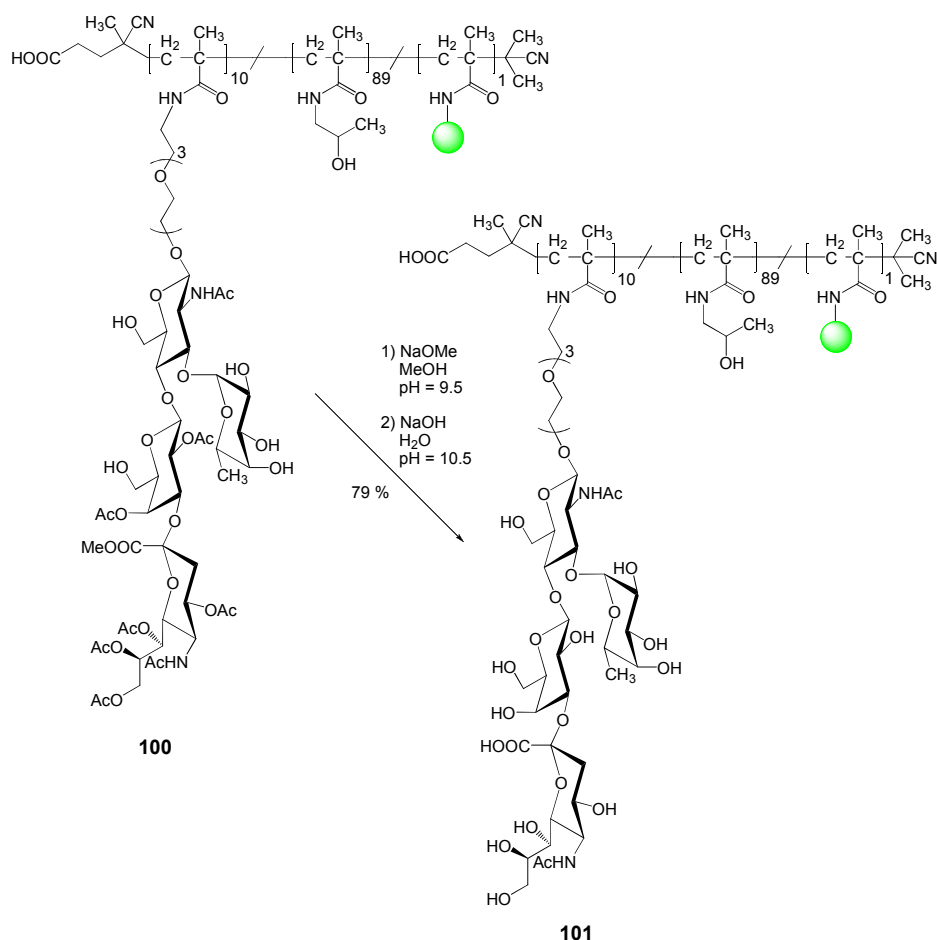
Um eine detailliertere Strukturaufklärung zu erreichen, wurden zweidimensionale NMR-Spektren aufgenommen. Aufgrund der prinzipiell deutlich größeren Empfindlichkeit dieser Messverfahren wurde angenommen, dass die entsprechenden Signale der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Struktur deutlicher und vollständiger zum Vorschein kommen. Tatsächlich konnte mittels der zweidimensionalen NMR-Technik gezeigt werden, dass sämtliche erforderlichen Protonen und Kohlenstoffsignale von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Derivat **45** vorhanden waren und diese auch die erwarteten chemischen Verschiebungen aufwiesen (s. Abb. 3.65). Werden die Kreuzpeaks mit denen des ungebundenen Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Derivates **45** verglichen, so wird festgestellt, dass das Spektrum aus Abb. 3.65 eine nahezu vollständige Übereinstimmung, mit Ausnahme der durch das Polymer sowie der Hydroxypropylamid-Einheiten (HPA) verursachten Signale, aufweist.



**Abb. 3.65:** COSY-Spektrum von Polymer **100**. Gemessen in MeOD.

Um nun einen bioaktiven Liganden zur Verfügung zu haben, ist es notwendig, eine entsprechende Abspaltung der Acetyl-Schutzgruppen sowie des Methylesters der Sialinsäure vorzunehmen. Die bewährte Methode der Umesterung nach Zemplén<sup>[175]</sup> sowie die Verseifung des Methylesters mit Natriumhydroxid-Lösung sollen am Polymer **100** Anwendung finden.





**Abb. 3.66:** Vollständige Deblockierung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> mittels Umesterung und Verseifung.

Zur vollständigen Deblockierung wird das Polymer **100** in Methanol gelöst und nach Zemplén<sup>[175]</sup> solange mit verdünnter Natriummethanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 9.5 erreicht ist. Nach 18 Stunden wird der Ansatz mit Essigsäure neutralisiert und das Rohprodukt der Deacetylierung in Wasser gelöst und mit verdünnter Natronlauge bis pH-Wert 10.5 versetzt. Nach 36 Stunden erfolgt die Reinigung des Polymers über eine Dialysemembran mit einer Ausschlussgrenze (MWCO: Molecular Weight Cut Off) von 3500 g/mol.

Der Erfolg der Deacetylierung sowie die Verseifung des Methylesters lassen sich anhand von NMR-spektroskopischen Aufnahmen nachweisen (s. Abb. 3.67). Wie es bei der deblockierten Form von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> zu erwarten ist, fallen die <sup>1</sup>H- sowie <sup>13</sup>C-Signale des Kohlenhydratgerüsts in einem relativ engen Bereich zusammen. Daher ist auch in diesem Falle die Aufnahme von zweidimensionalen NMR-Spektren unumgänglich. Die Leistungsfähigkeit der zweidimensionalen NMR-Methoden wird insbesondere dann ersichtlich, wenn nur geringe Probenmengen zur Verfügung stehen oder wenn starke

Überlagerungen und Signalverbreiterungen durch zum Beispiel polymere Strukturen vorhanden sind.

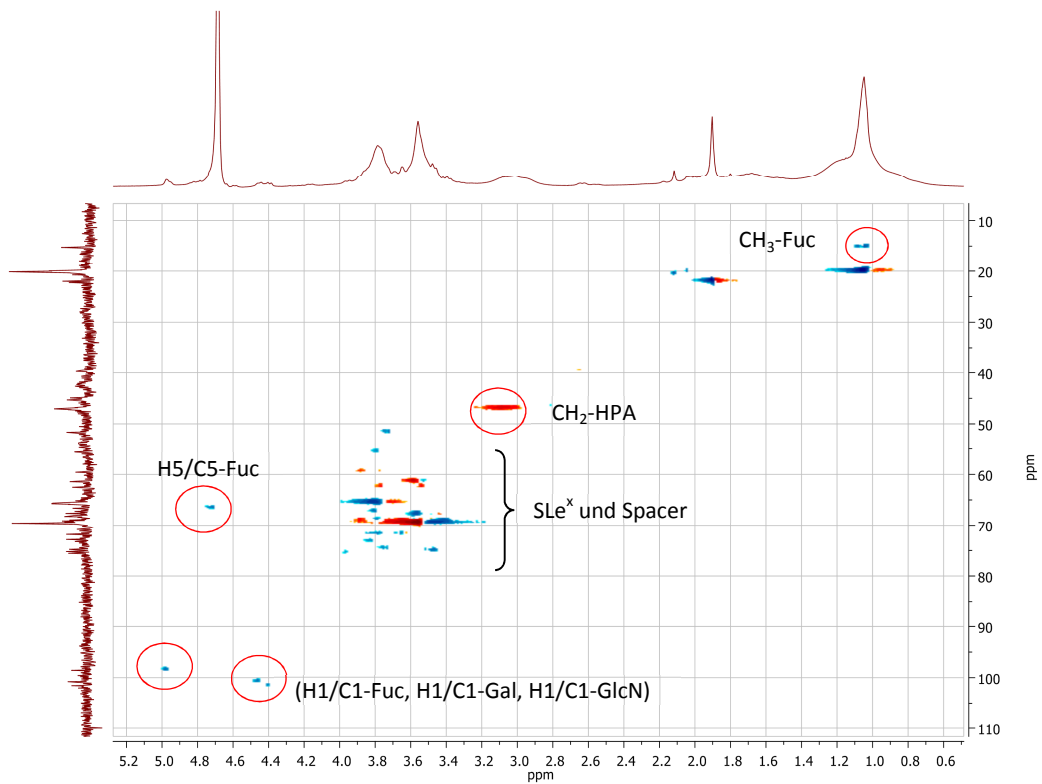
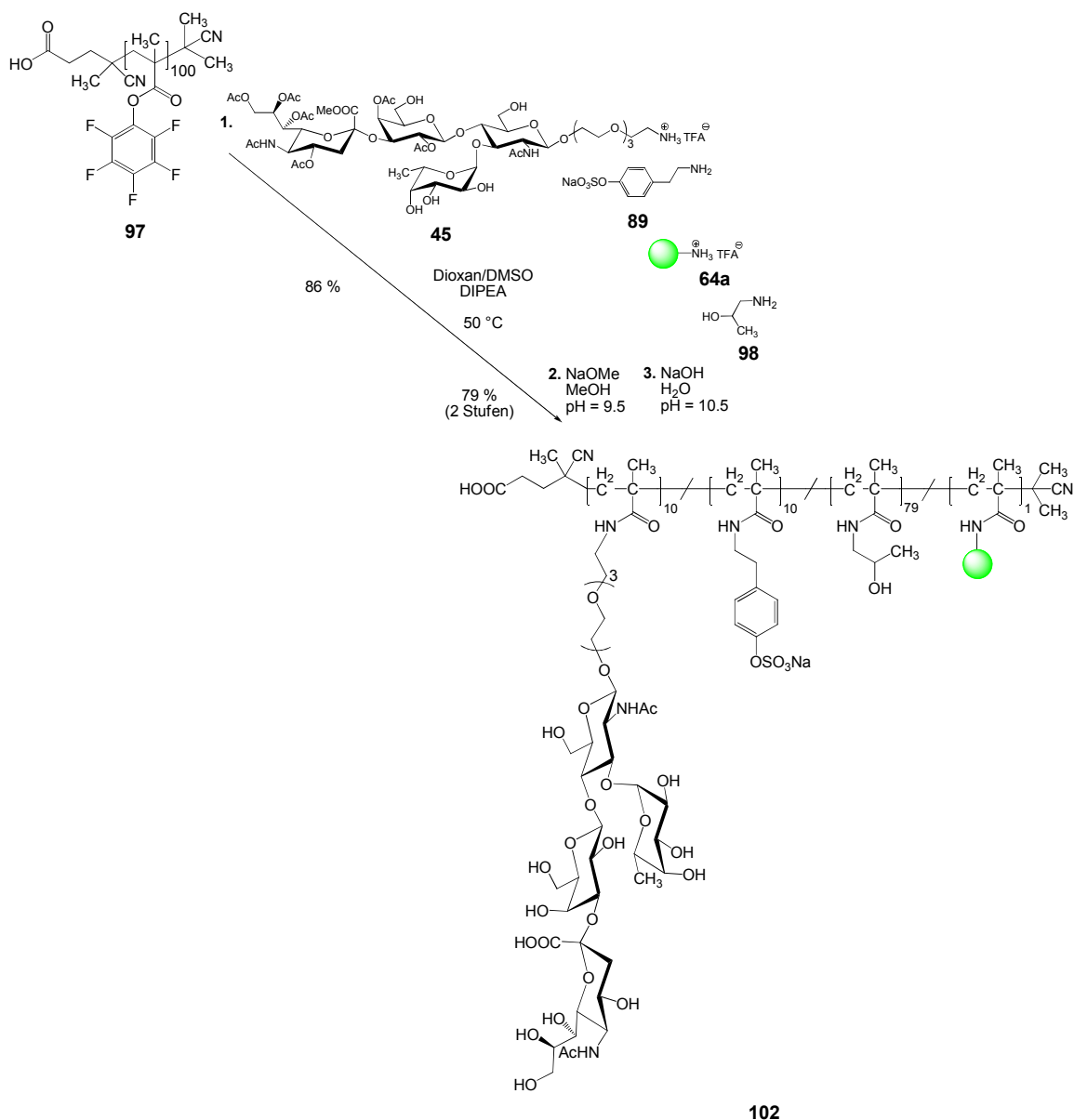


Abb. 3.67: HSQC-Spektrum von Polymer 101. Gemessen in  $D_2O$ .

Um die Sequenz des Universalliganden PSGL-1 noch effektiver nachzuahmen, werden zusätzlich zu den Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Einheiten sulfatiertes Tyramin **89** der polymeranalogen Umsetzung zugegeben. Es wird ein statistischer Einbau von 10 Mol-% Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Ligand **45**, 10 Mol-% sulfatiertem Tyramin **89** sowie 1 Mol-% Fluoreszenzfarbstoff **64a** angestrebt. Die verbliebenen Reaktivester-Einheiten werden mit 1-Amino-2-propanol (**98**) umgesetzt.



**Abb. 3.68:** Polymeranaloge Umsetzung zur Synthese des sulfatierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymers.

Das <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum von Polymer **102** zeigt das Vorhandensein von sulfatierten Tyramin-Einheiten an. Anhand der chemischen Verschiebung von Tyramin im NMR-Kohlenstoffspektrum kann darauf geschlossen werden, dass es nicht zu einer Desulfatierung der Tyramin-Einheiten gekommen ist, da die entsprechenden aromatischen Kohlenstoffsignale eine für Sulfatgruppen typische Tieffeldverschiebung aufweisen.

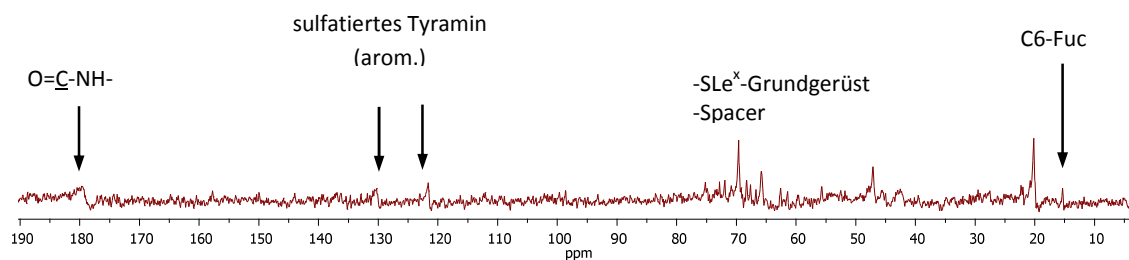
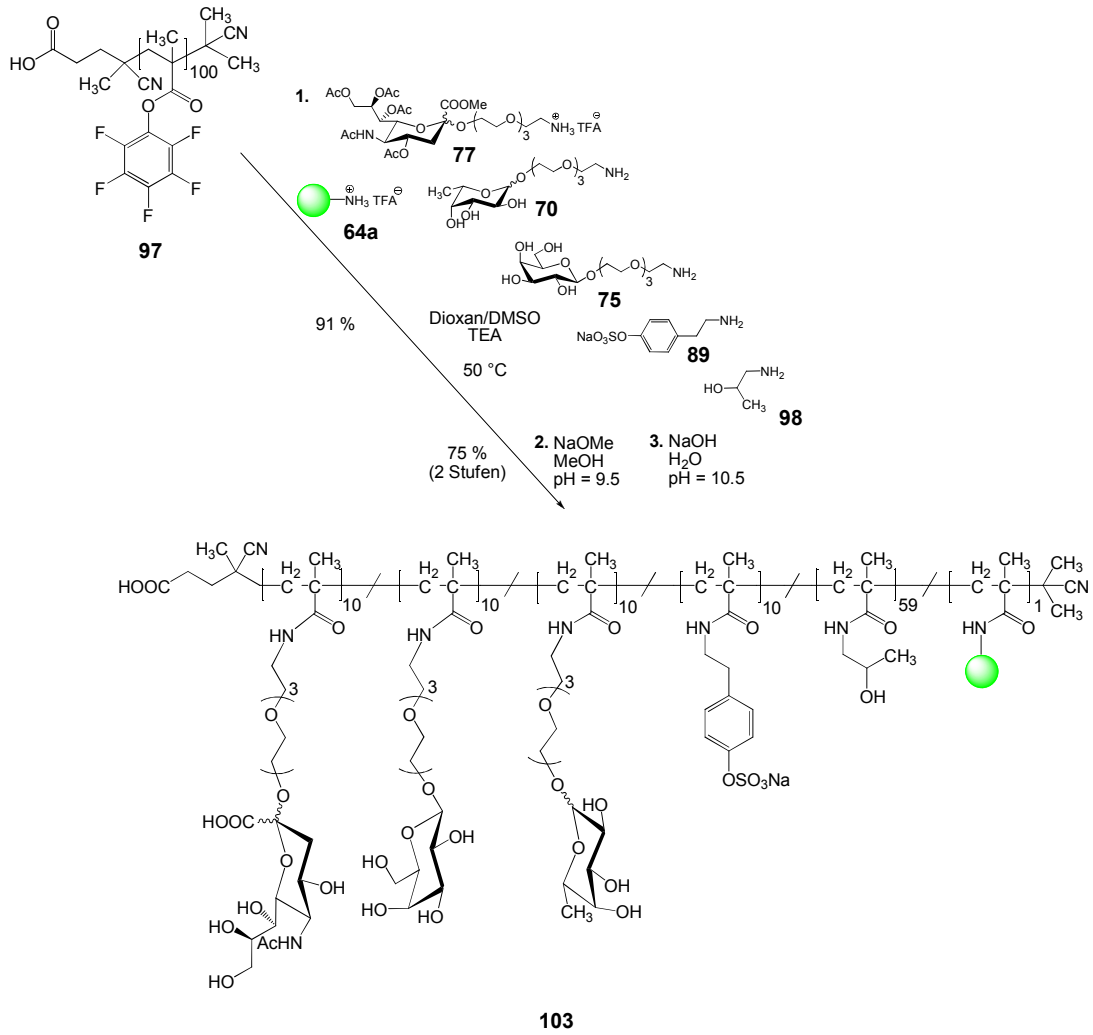


Abb. 3.69: 100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Polymer 102. Gemessen in  $\text{D}_2\text{O}$ .

### 3.6.3 Die polymeren Mimetika

Ausgehend vom Reaktivester-Polymer **97** wird die Umsetzung der einzelnen für die Bindung an die Selektine benötigten Bausteine, die aus dem Neuraminsäure-Liganden **77**, Fucose-Liganden **70**, Galactose-Liganden **75** sowie sulfatiertem Tyramin-Liganden **89** bestehen, angestrebt. Um eine Vergleichbarkeit mit dem synthetisierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymeren **101** und **102** zu erlangen, wird jeder einzelne Ligand ebenfalls statistisch mit 10 Mol-% an das Polymer gebunden. Die Umsetzung erfolgt im Lösemittelgemisch aus absolutem Dioxan sowie absolutem Dimethylsulfoxid, wobei die Liganden im gleichen Lösemittelsystem als Gemisch gelöst zu dem Reaktivester-Polymer in einer Portion zugegeben werden. Nach 36 Stunden konnte ein vollständiger Umsatz mittels einer dünn-schichtchromatographischen Analyse der einzelnen Liganden festgestellt werden. Um die überschüssigen Reaktivester-Einheiten zu entfernen, wird 1-Amino-2-propanol (**98**) im Überschuss zugesetzt und der Ansatz für 24 Stunden bei 50 °C gerührt. Anschließend erfolgt zur Reinigung des Polymers eine Dialyse an einer Cellulose-Membran mit einer Ausschlussgrenze von 3500 g/mol gegen destilliertes Wasser. Nach einer Lyophilisierung wird ein schwach orangeroter Feststoff erhalten. Dieser wird in die nachfolgende Deacetylierung nach Zemplén<sup>[175]</sup> bei einem pH-Wert von 9.5-10.0 eingesetzt. Nach 18 Stunden wird der Ansatz mit Essigsäure neutralisiert und das Rohprodukt einer Esterverseifung in verdünnter wässriger Natronlauge bei einem pH-Wert von 10.5 zugeführt. Nach 36 Stunden wird das Polymer einer weiteren Dialyse an einer Cellulose-Membran mit einer Ausschlussgrenze von 3500 g/mol unterzogen.



**Abb. 3.70:** Synthese eines mimetischen polymeren Therapeutikums auf Basis der Bausteine von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>.

Die Charakterisierung mittels COSY- und HSQC-Spektren zeigt Ähnlichkeiten zu dem Sialyl-Lewis<sup>x</sup> enthaltenen Polymer **102**. Auch kann mittels der Kreuzpeaks zwischen den aromatischen Protonen des sulfatierten Tyramin-Bausteins sowie seinen entsprechenden Kohlenstoffsignalen im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum eine Korrelation gezeigt werden.

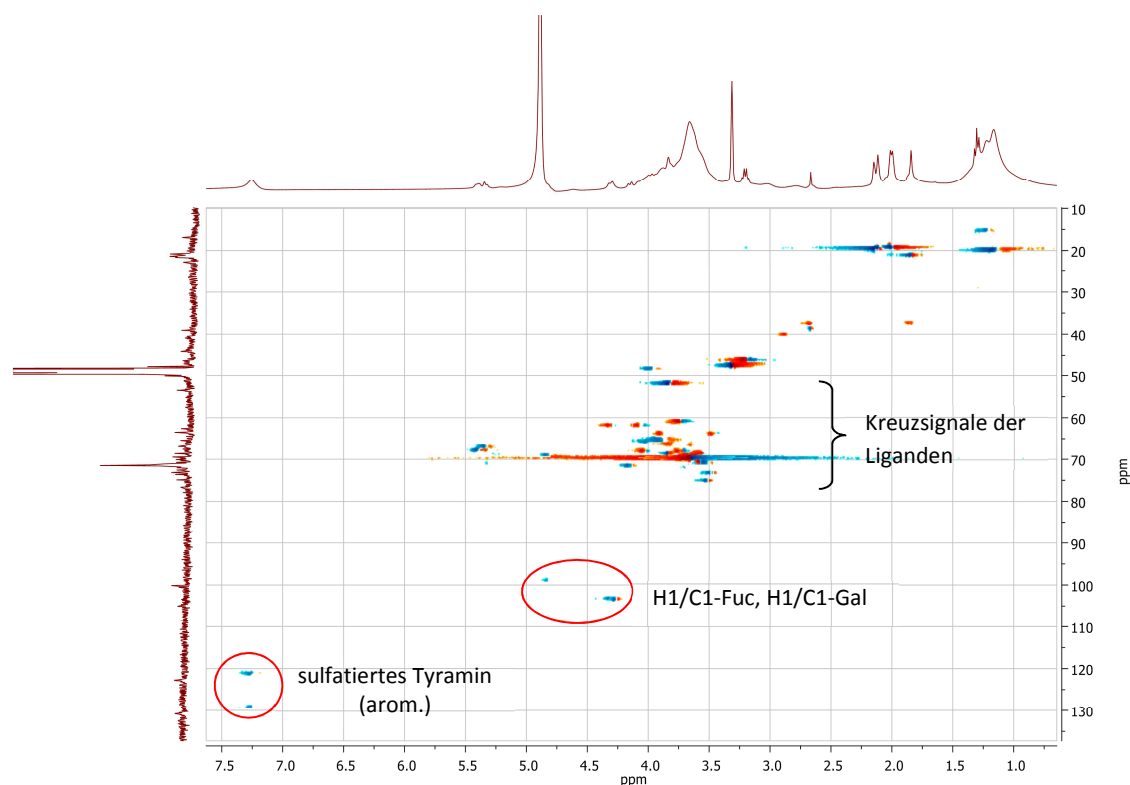
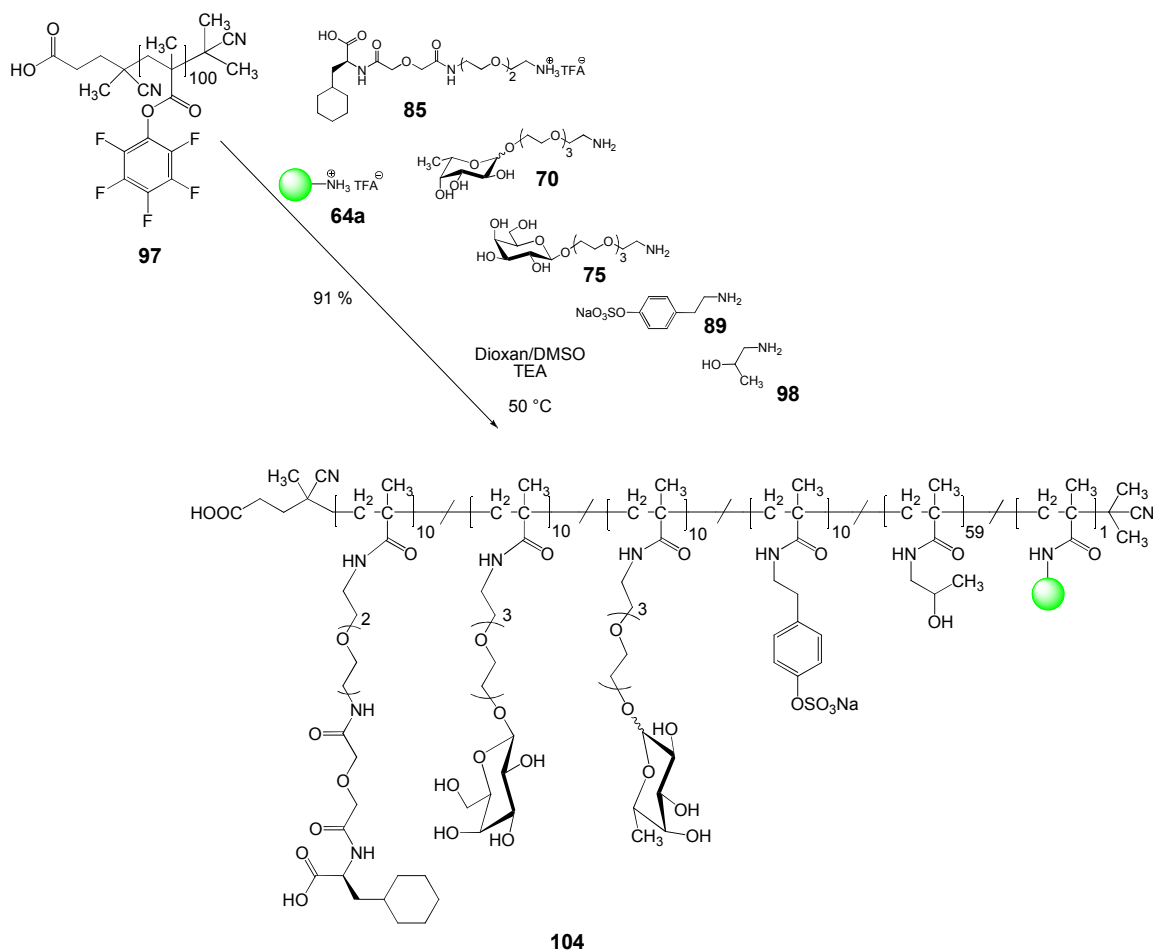


Abb. 3.71: HSQC-Spektrum von Polymer **103** ohne Deblockierung der Neuraminsäure. Gemessen in MeOD.

Ausgehend von diesen vielversprechenden Ergebnissen wird im Anschluss an die Synthese des polymeren Mimetikums **103** die *N*-Acetyl-D-neuraminsäure durch den (*S*)-Cyclohexylalanin-Liganden **85** ersetzt. Die Reaktion wird analog zu den bereits beschriebenen polymeranalogen Umsetzungen in einem Lösemittelgemisch aus absol. Dioxan und absol. Dimethylsulfoxid bei 50 °C durchgeführt. Nach 48 Stunden wird ein Überschuss an 1-Amino-2-propanol (**98**) zugegeben und der Ansatz weitere 24 Stunden bei 50 °C bis zum vollständigen Umsatz der Reaktivester-Einheiten gerührt. Anschließend wird zur Reinigung des Polymers eine Dialyse in destilliertem Wasser mit einer Cellulose-Membran der Ausschlussgrenze von 3500 g/mol durchgeführt.



**Abb. 3.72:** Synthese eines polymeren Mimetikums unter Verwendung von (S)-Cyclohexylalanin.

Die Charakterisierung dieses Polymers **104** erweist sich als schwieriger, da der (S)-Cyclohexylalanin-Baustein **85** deutlich weniger charakteristische Signale als der N-Acetyl-D-neuraminsäure-Baustein **77** aufweist, die zu seiner Identifizierung herangezogen werden können. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Polymer **104** können allerdings zur Identifizierung des Cyclohexylalaninrestes  $\text{CH}_2$ -Signale bei einer chemischen Verschiebung von 33.3 ppm, 31.8 ppm sowie 25.9 ppm identifiziert werden, die mit hoher Wahrscheinlichkeit dem Cyclohexylring des gebundenen (S)-Cyclohexylalanin-Liganden **85** zugeordnet werden können (s. Abb. 3.73).

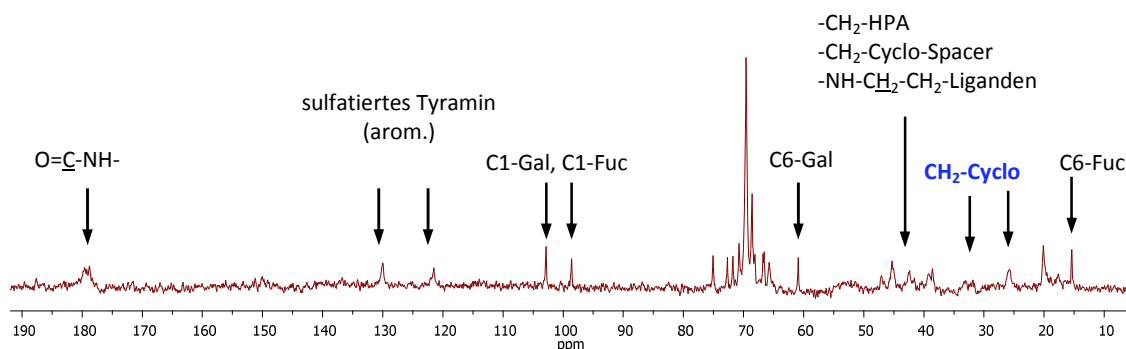


Abb. 3.73: 100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von Polymer **104**. Gemessen in  $\text{D}_2\text{O}$ .

Nach den zuvor beschriebenen polymeranalogen Umsetzungen stehen zwei Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymere, wobei eines davon in sulfatierter Form vorliegt, für biologische Evaluierungen zur Verfügung. Um in ebenfalls biologischen Experimenten feststellen zu können, ob eine statistische Mischung der für die Bindung verantwortlichen Strukturen ebenfalls eine inhibitorische Wirkung zeigt, wurden ebenfalls zwei mimetische Polymere synthetisiert, wobei ein Mimetikum den Neuraminsäure-Liganden **77** sowie eines den (S)-Cyclohexylalanin-Liganden **85** enthält.

## 3.7 Multivalenz und Wirkstofftransport auf Basis von Cyclodextrinen

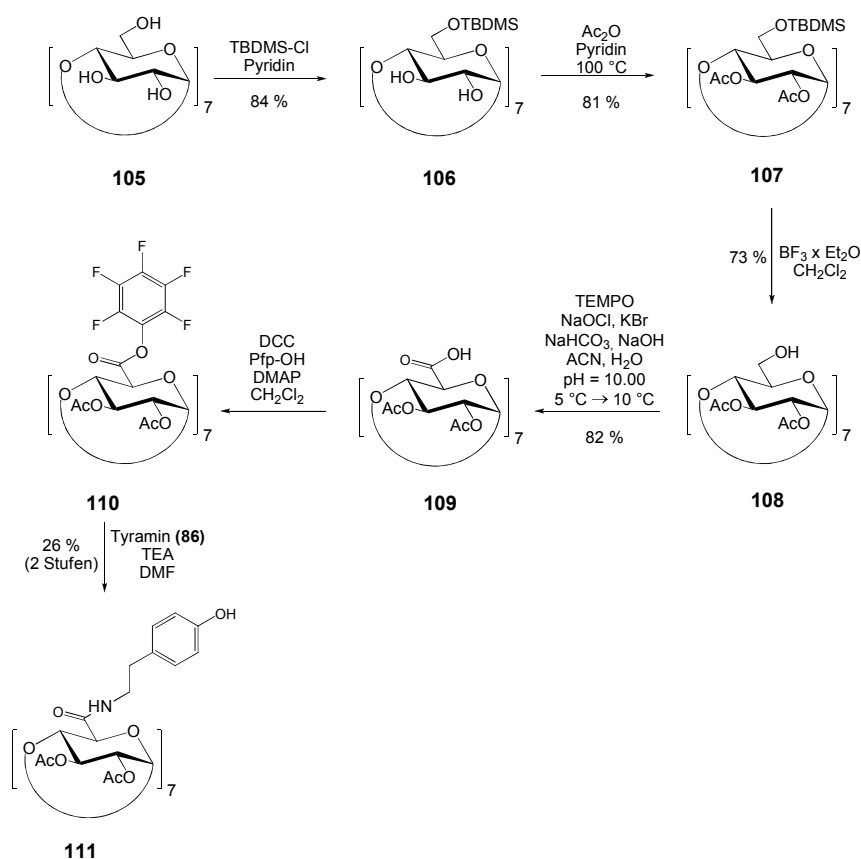
### 3.7.1 Der Cyclodextrin-Reaktivester

Ausgehend von  $\beta$ -Cyclodextrin (**105**) soll der Versuch einer gleichmäßigen und exakten Funktionalisierung der 6-OH-Position mit beliebigen Amino-Liganden angestrebt werden. Die Funktionalisierung soll anhand eines Pentafluorphenyl-Reaktivesters erfolgen, welcher am Schluss der Synthese mit einem primären Amin zur Reaktion gebracht werden soll.

Die Darstellung des mit Tyramin-Einheiten funktionalisierten  $\beta$ -Cyclodextrins erfolgt in einer 6-stufigen Synthese, wobei die ersten vier Synthesestufen literaturbekannt sind.<sup>[280]</sup> Ausgehend von  $\beta$ -Cyclodextrin (**105**) erfolgt im ersten Reaktionsschritt eine vollständige Blockierung der 6-Position mittels der *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe (TBDMS) zu Verbindung **106**. Bei der Reaktion muss auf ein wasserfreies Reaktionsmedium geachtet werden. Hierbei ist auch das im Cyclodextrin eingelagerte Wasser keinesfalls zu



unterschätzen! Daher muss das Cyclodextrin vor Reaktionsbeginn im Hochvakuum bei 100 °C mehrere Stunden getrocknet werden. Nach anschließender flashchromatographischer Reinigung wird das in 6-Position vollständig blockierte Cyclodextrin **106** in einer Ausbeute von 84 % erhalten. Anstelle der flashchromatographischen Reinigung bietet sich die Reinigung durch Umkristallisation an. Allerdings ist aufgrund des im Überschuss eingesetzten und schwierig zu entfernenden TBDMS-Cl mit Ausbeuteverlusten zu rechnen.



**Abb. 3.74:** Synthese eines  $\beta$ -Cyclodextrin-Amids.

Die anschließende Acetylierung erfolgt bei 100 °C mit im Überschuss eingesetzten Acetanhydrid in Pyridin. Nach erfolgter flashchromatographischer Reinigung wird die acetylierte Verbindung **107** mit einer Ausbeute von 81 % erhalten. Um selektiv die TBDMS-Schutzgruppen in den 6-Positionen abzuspalten, wird Verbindung **107** mit Bortrifluorid-Diethyletherat (BF<sub>3</sub> x Et<sub>2</sub>O) im Überschuss versetzt und 7 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die sich anschließende wässrige Aufarbeitung des Reaktionsansatzes erweist sich als schwierig, da sich die gebildeten Borverbindungen nur schwierig abtrennen lassen. Um letzte Borverunreinigungen zu entfernen, bedarf es

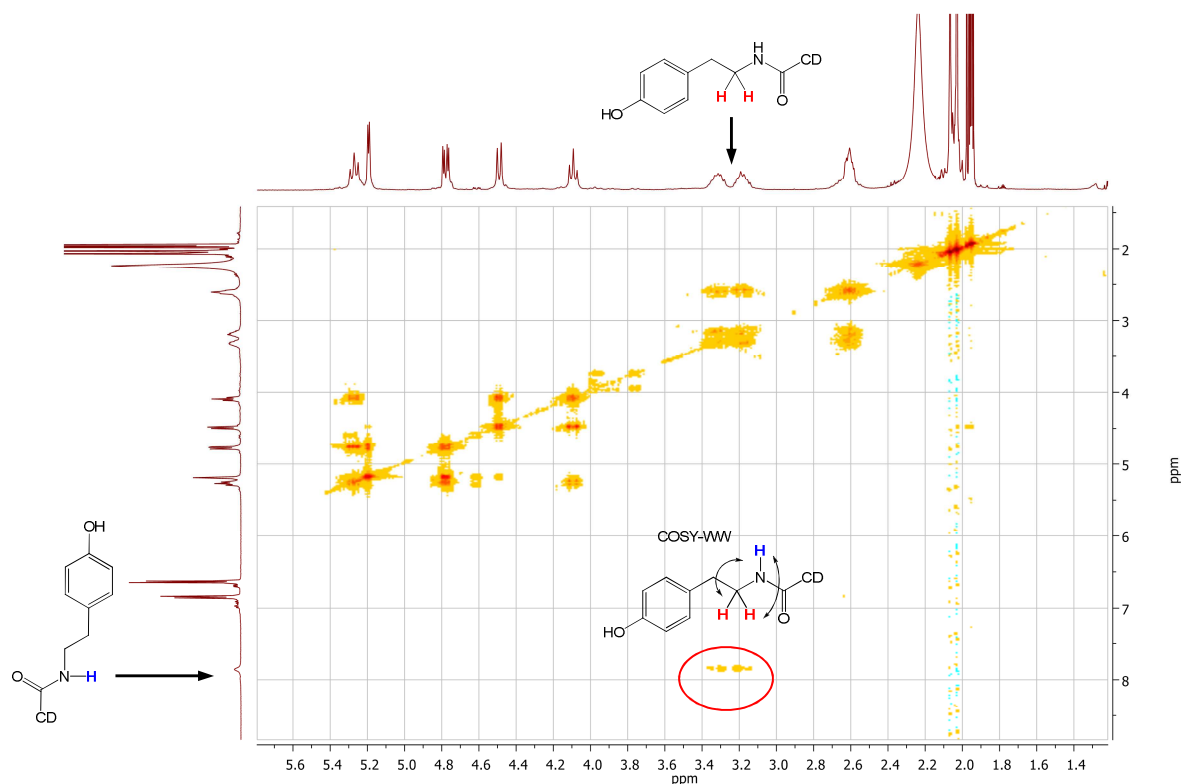
abermals einer flashchromatographischen Reinigung an Kieselgel. Die bereits für vielfältige Funktionalisierungen verwendbare Verbindung **108** wird mit einer Ausbeute von 73 % isoliert.

Zur Einführung der Carboxyl-Funktion in 6-Position macht man sich die selektiv an primären Hydroxylgruppen ablaufende TEMPO-Oxidation zu Nutze.<sup>[281,282]</sup> Um die Reaktion zu beschleunigen, wird bei Temperaturen um 10 °C mit einem Zusatz an Kaliumbromid gearbeitet. Als Co-Oxidans wird Natriumhypochlorit-Lösung zugesetzt. Um die Reaktion zum Schutz der basenlabilen Acetyl-Schutzgruppen so schnell wie möglich ablaufen zu lassen, wird bei einem für TEMPO-Oxidationen optimalen pH-Wert von 10.00 gearbeitet. Die Kontrolle des pH-Wertes muss aufgrund der stark oxidierenden Eigenschaften von Natriumhypochlorit mit einer elektrischen pH-Sonde erfolgen. Nach einer Reaktionsdauer von 30 Minuten wird die Reaktion durch die Zugabe von Methanol gestoppt. Um das TEMPO-Reagenz wieder zu entfernen, wird der Ansatz mit Diethylether mehrfach extrahiert. Zur Isolierung der Glucuronsäure **109** wird die Reaktionsmischung mit verdünnter Salzsäurelösung bei einer Temperatur von 5 °C auf einen pH-Wert von 1.5 eingestellt und mehrfach mit Ethylacetat extrahiert. Verbindung **109** wird als farbloses amorphes Pulver in einer Ausbeute von 82 % erhalten.

Die Synthese des Reaktivesters **110** stellte sich als schwierig heraus, da die Reaktion nur unter dem Einsatz von großen Überschüssen an Kupplungsreagenz *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) sowie Pentafluorphenol (**48**) unter dem Zusatz an katalytischen Mengen 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP) oder 4-Pyrrolidino-pyridin in akzeptabler Ausbeute verlief. Der erhaltene Reaktivester **110** erwies sich zudem, bei dem Versuch, ihn flashchromatographisch zu reinigen, als instabil. Aufgrund der Empfindlichkeit des Reaktivesters wurde auf eine Reinigung verzichtet und die Rohverbindung für die nachfolgende Umsetzung mit Tyramin (**86**) verwendet. Die Wahl der umzusetzenden Base fiel auf Tyramin (**86**), da es Protonen im aromatischen Bereich enthält, die nicht mit den Protonen des Cyclodextringerüsts zu Signalüberlappungen bei NMR-spektroskopischen Experimenten führen. Unter Zusatz der Hilfsbase Triethylamin konnte schließlich der Reaktivester **110** mit Tyramin (**86**) innerhalb weniger Minuten vollständig zur Reaktion gebracht werden. Nach dem Ausfällen des gebildeten *N,N'*-Dicyclohexylharnstoffs in Ethylacetat sowie einer sich anschließenden flashchromatographischen Reinigung erfolgte die Reinigung von Amid **111** mittels eines semipräparativen HPLC-Systems mit einer Ausbeute von 26 % über zwei Stufen. Die niedrige Ausbeute ist

vermutlich auf die hohe Labilität des Reaktivesters sowie auf die aufwendige Reinigung zurückzuführen.

Die Messung von COSY- sowie HSQC-Spektren belegen die Struktur von Amid **111**. Das gemessene COSY-Spektrum soll im Nachfolgenden näher erläutert werden.

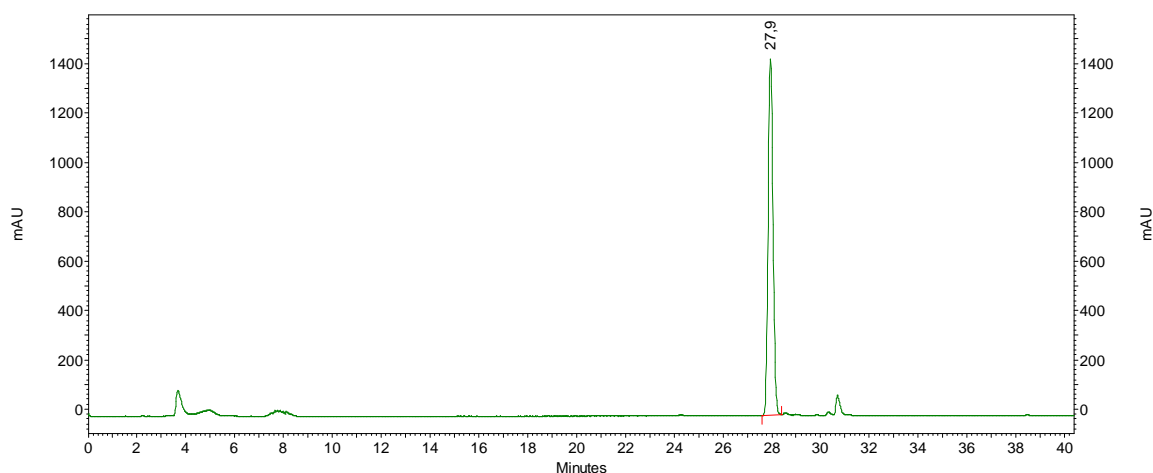


**Abb. 3.75:** COSY-NMR-Spektrum von Verbindung **111**. Gemessen in  $ACN-d_3$ .

Es kann aufgrund der signalverbreiternden Effekte bei einer chemischen Verschiebung von 3.2 ppm im  $^1H$ -NMR-Spektrum gezeigt werden, dass eine rotationsgehinderte Bindung, wie sie bei Amiden vorkommt, vorliegt. Der Kreuzpeak zwischen 3.2 ppm sowie 7.8 ppm weist ebenfalls auf eine amidische Bindung hin. Es kann somit ausgeschlossen werden, dass es sich hierbei um einen Komplex zwischen dem Cyclodextrin sowie dem Amin Tyramin (**86**) handelt. Bei einer entsprechenden Analyse der Integrale wurden des Weiteren die korrekten Integrationsverhältnisse zwischen den aromatischen Wasserstoffatomen des Tyramins (**86**) sowie den Wasserstoffatomen des Cyclodextringerüstes ermittelt.

Die hochaufgelöste massenspektrometrische Analyse sowie die Analyse der gereinigten Verbindung **111** mittels analytischer HPLC bekräftigen das Ergebnis der Interpretation

der NMR-Spektren: Es wird nach chromatographischer Reinigung ausschließlich das siebenfach substituierte Cyclodextrinderivat **111** erhalten.



*Abb. 3.76:* Analytisches HPLC-Chromatogramm der gereinigten Verbindung **111**. Gemessen mit Methode Ana-4 bei einer Wellenlänge von 214 nm.

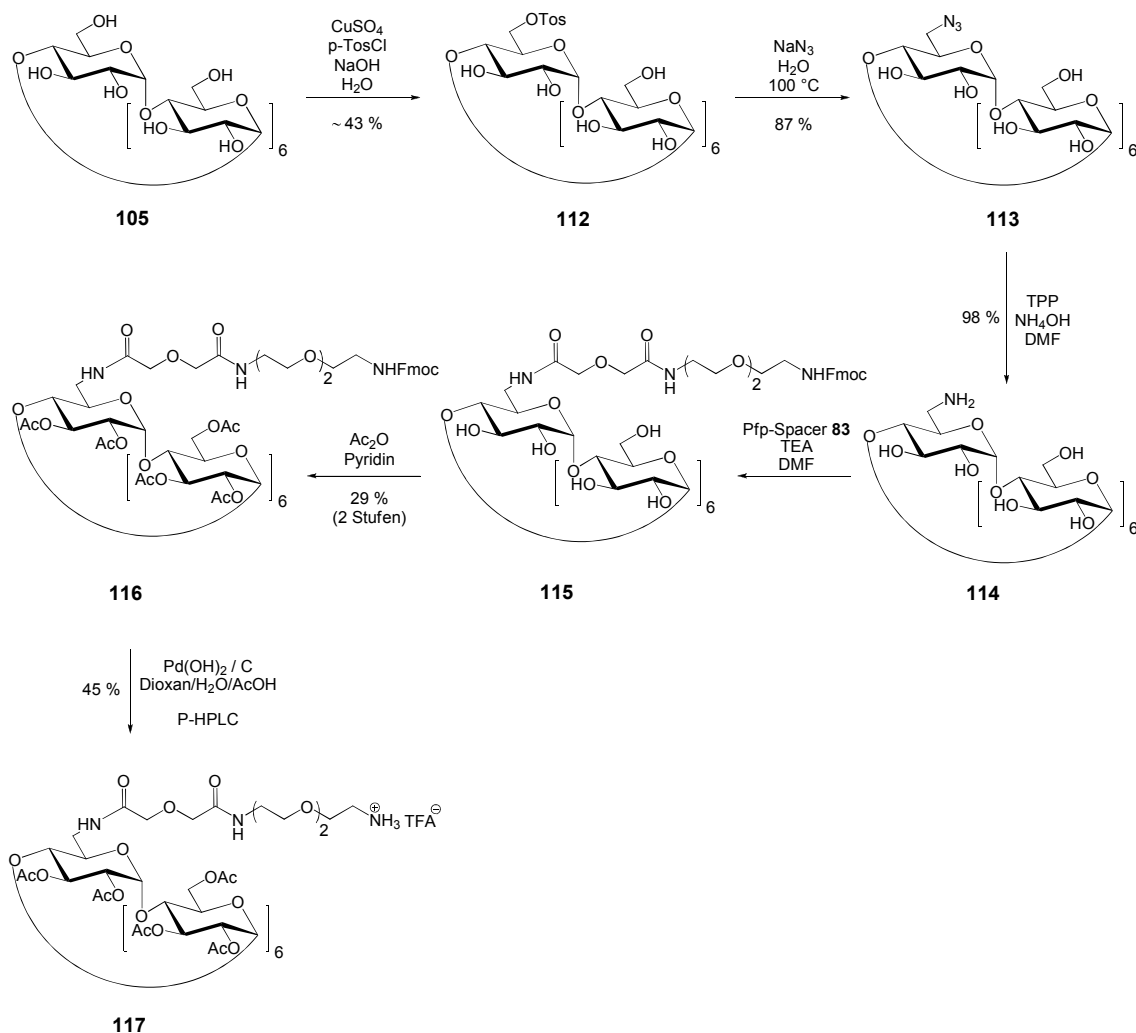
Eine mit Sicherheit interessante Reaktion, die im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr durchgeführt werden konnte, ist die vollständige Sulfatierung und Deacetylierung von Amid **111** und eine sich anschließende Prüfung auf eine mögliche antiinflammatorische Wirkung. Auch ist eine weitere Funktionalisierung von Reaktivester **110** mit den unterschiedlichsten Amin-Liganden denkbar. Somit kann der neue  $\beta$ -Cyclodextrin-Reaktivester-Baustein auf eine vielfältige Weise in das Konzept einer oligomeren Multivalenz eingebracht werden.

### 3.7.2 Der Cyclodextrin-Wirkstofftransporter

Um die Vielfältigkeit und die Möglichkeiten der Reaktivester-Polymere aufzuzeigen, soll an dieser Stelle die Synthese eines definierten Systems zum Wirkstofftransport gezeigt werden. Ausgehend von  $\beta$ -Cyclodextrin (**105**) wurde eine Monofunktionalisierung der 6-Position mit einem Spacer angestrebt. Die Synthese basiert auf dem bereits synthetisierten Reaktivester-Spacer **83**, wobei die ersten drei Stufen der Synthese literaturbekannt sind.

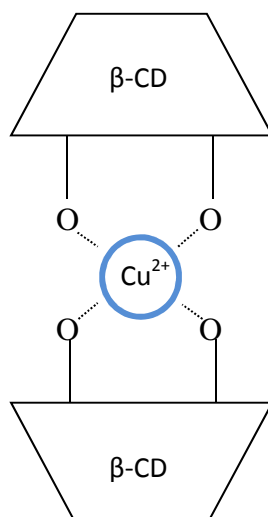
Zur Monofunktionalisierung von  $\beta$ -Cyclodextrinen finden sich in der Literatur einige Methoden, basierend auf einer Monotosylierung der 6-Position. Beschrieben wird die Verwendung von Tosylanhydrid in Pyridin sowie Reaktionen unter Verwendung von

Tosylchlorid und Kupfer(II)-sulfat. Da bei Verwendung von Tosylanhydrid nicht die gewünschte Verbindung **112** isoliert werden konnte, wird der von Kupfersalz unterstützten Reaktion der Vorzug gegeben.<sup>[283]</sup>



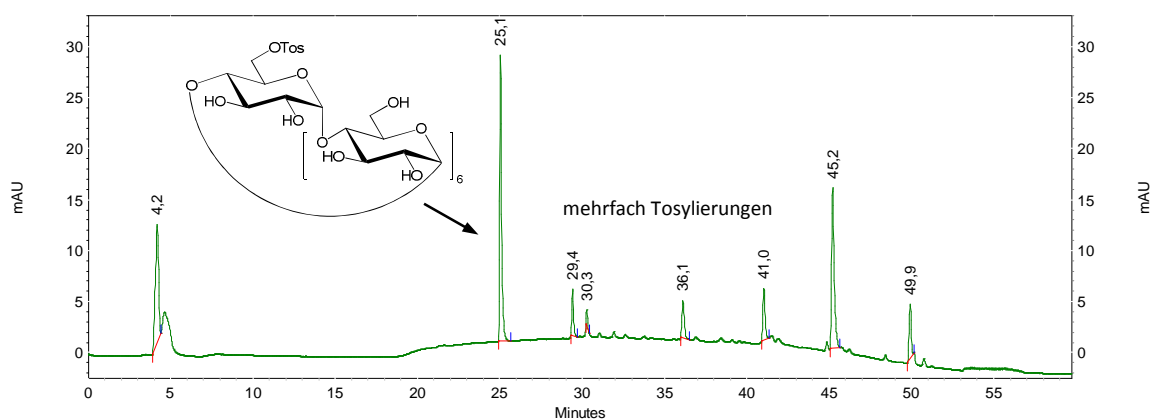
**Abb. 3.77:** Synthese des monofunktionalisierten  $\beta$ -Cyclodextrins.

Das zum Einsatz kommende Kupfer(II)-sulfat im stark basischen dient der Komplexierung der 2- und 3-Position des  $\beta$ -Cyclodextrins (s. Abb. 3.78). Durch die sterische Hinderung des sandwichartigen Komplexes soll es zu einer ausschließlichen Tosylierung einer 6-Position zum entsprechenden Monotosylat kommen. Hierbei stellt sich die nicht unberechtigte Frage, ob sich auch ausschließlich ein Monotosylat bildet oder ob auch mit einer mehrfachen Tosylierung des  $\beta$ -Cyclodextrins zu rechnen ist. Durch den Einsatz einer analytischen HPLC-Anlage sowie einer C18-Reversed-Phase-Chromatographiesäule kann die Frage der mehrfachen Tosylierung leicht beantwortet werden.



**Abb. 3.78:** Temporäre Blockierung der 2- und 3-Position eines  $\beta$ -Cyclodextrins durch Kupfer(II)-Ionen.

Wie das HPLC-Chromatogramm aus Abb. 3.79 zeigt, entsteht zwar hauptsächlich die gewünschte monotosylierte Spezies **112**, es findet allerdings auch eine mehrfache Tosylierung, sehr wahrscheinlich in den 6-Positionen des Cyclodextrins, statt.



**Abb. 3.79:** HPLC-Chromatogramm nach der wässrigen Aufarbeitung von Verbindung **112**. Gemessen mit Methode Ana-1 bei einer Wellenlänge von 214 nm.

Die relativ hohe Signalintensität der mehrfach tosylierten Verbindungen beruht auf der Tatsache, dass die nun ebenfalls mehrfach vorkommenden aromatischen Kerne der Tosylgruppe zu einer jeweils x-fach stärkeren Absorption des eingestrahlt Lichtes führen. Dies erweckt den Anschein, dass es zu einer wesentlich stärkeren Bildung mehrfach tosylierter Cyclodextrine gekommen ist. Eine konkrete Aussage über die

Menge an gebildetem mehrfachtosyliertem Produkt ist nur über eine entsprechende Kalibrierung zu erreichen. Die Quantifizierung der gebildeten Nebenprodukte wurde allerdings im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter verfolgt.

Eine chromatographische Reinigung des hauptsächlich monotosylierten Cyclodextrins **112** kommt allerdings in dieser Synthesestufe nicht in Frage, da für dieses Trennproblem die Verwendung großer Mengen an teurem Reversed-Phase-Kieselgel notwendig wäre. Eine Reinigung mittels präparativer HPLC ist aufgrund der für die Synthese benötigten Substanzmengen ebenfalls ausgeschlossen, daher wird das Rohprodukt ohne weitere Reinigung in die nachfolgende Reaktion eingesetzt.

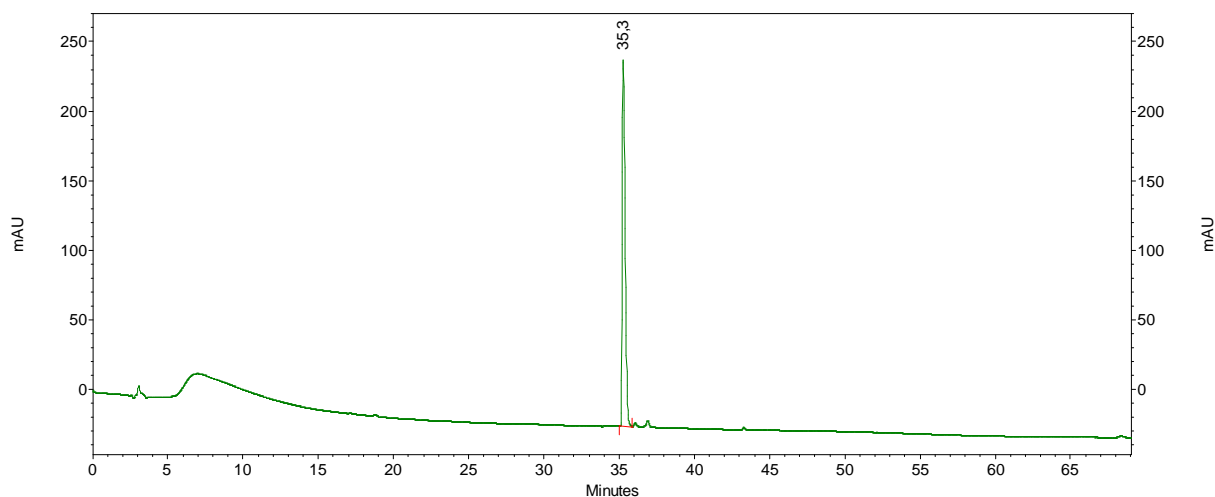
Das hauptsächlich monotosylierte Produkt **112** wird in einer  $S_N$ -Reaktion mit Natriumazid in Wasser unter Rückflussbedingungen zu dem entsprechen Monoazid **113** umgesetzt. Die Reaktion verläuft innerhalb von vier Stunden mit einer Ausbeute von 87 %. Um Verbindung **113** zu Amin **114** zu reduzieren, wird die *Staudinger-Reaktion*<sup>[284]</sup> angewandt. Hierbei wird dem Azid **113** in *N,N*-Dimethylformamid Triphenylphosphin zugefügt und anschließend zur Freisetzung des Amins Ammoniak-Lösung zugegeben. Nach beendeter Reaktion kann das Produkt in Aceton ausgefällt werden. Verbindung **114** wird nach einer Trocknung im Hochvakuum in fast quantitativer Ausbeute erhalten.<sup>[285]</sup>

Der nachfolgende Syntheseschritt ermöglicht die Reaktion des Reaktivesters **83** mit der freien primären Aminogruppe des Cyclodextrins **114**. Dieser wird in *N,N*-Dimethylformamid mit dem Cyclodextrinderivat **114** bei Raumtemperatur zur Reaktion gebracht. Wird anstelle des Reaktivesters **83** die entsprechende Carbonsäure **82** (s. Kapitel 3.4.4) eingesetzt und die Kupplungsreaktion mit *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) durchgeführt, so wird Produkt **115** in vergleichbarer Ausbeute erhalten.

Die sich anschließende Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin zu Verbindung **116** dient der leichteren flashchromatographischen Reinigung an Normal-Phase-Kieselgel, wobei Verbindung **116** in einer Ausbeute von 29 % über zwei Stufen erhalten wird. Die nicht zufriedenstellende Ausbeute ist zum einen auf die schwierige Zugänglichkeit der primären Aminogruppe sowie auf die mehrfach funktionalisierten Nebenprodukte zurückzuführen, deren Abtrennung in diesem Schritt der Synthese erstmals praktikabel gelang.

Aufgrund massenspektrometrischer Analysen sowie hochaufgelöster zweidimensionaler NMR-Spektren kann davon ausgegangen werden, dass nach der beschriebenen Reinigung ausschließlich ein monofunktionalisiertes Cyclodextrin erhalten wird. Um mittels einer hochaufgelösten chromatographischen Methode festzustellen, ob es sich

tatsächlich um ein monofunktionalisiertes Cyclodextrinderivat handelt, wurde Verbindung **116** mittels analytischer HPLC an einer C18 Reversed-Phase-Chromatographiesäule untersucht. Dabei konnte nach einer Retentionszeit von 35.3 Minuten ein definierter und symmetrischer Peak erhalten werden (s. Abb. 3.80).

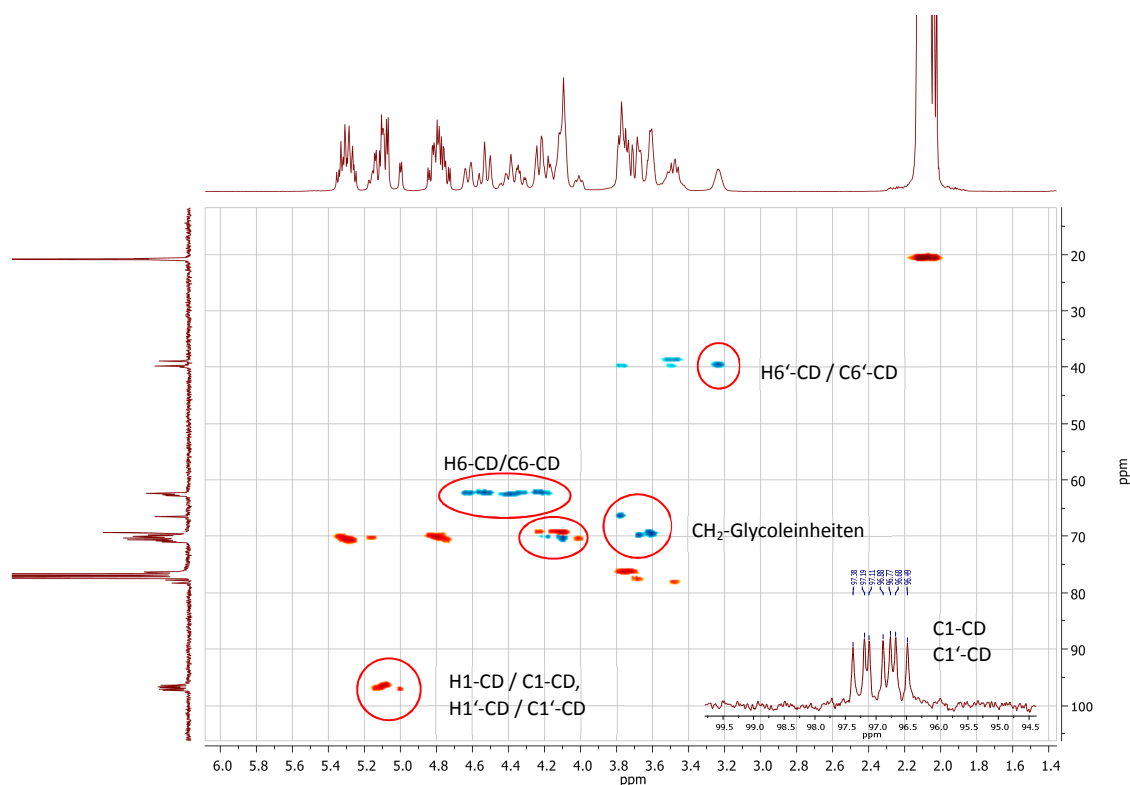


**Abb. 3.80:** HPLC-Chromatogramm der gereinigten Verbindung **116**. Gemessen mit Methode Ana-4 bei einer Wellenlänge von 214 nm.

Eine anschließende Entfernung der Fmoc-Schutzgruppe durch katalytische Hydrierung führt mit einer Ausbeute von 45 % zu einem Liganden, der potentiell für eine Anbindung an Reaktivester-Polymere geeignet ist.

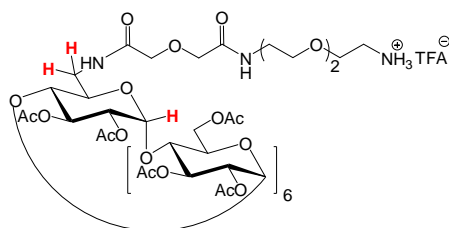
Die NMR-spektroskopische Analyse von Verbindung **117** führt zu komplexen Spektren. Dies ist auf die unsymmetrische Funktionalisierung des Cyclodextrins **117** zurückzuführen und erfordert zwingend die Aufnahme von zweidimensionalen NMR-Spektren in Form von COSY- sowie HSQC-Spektren.





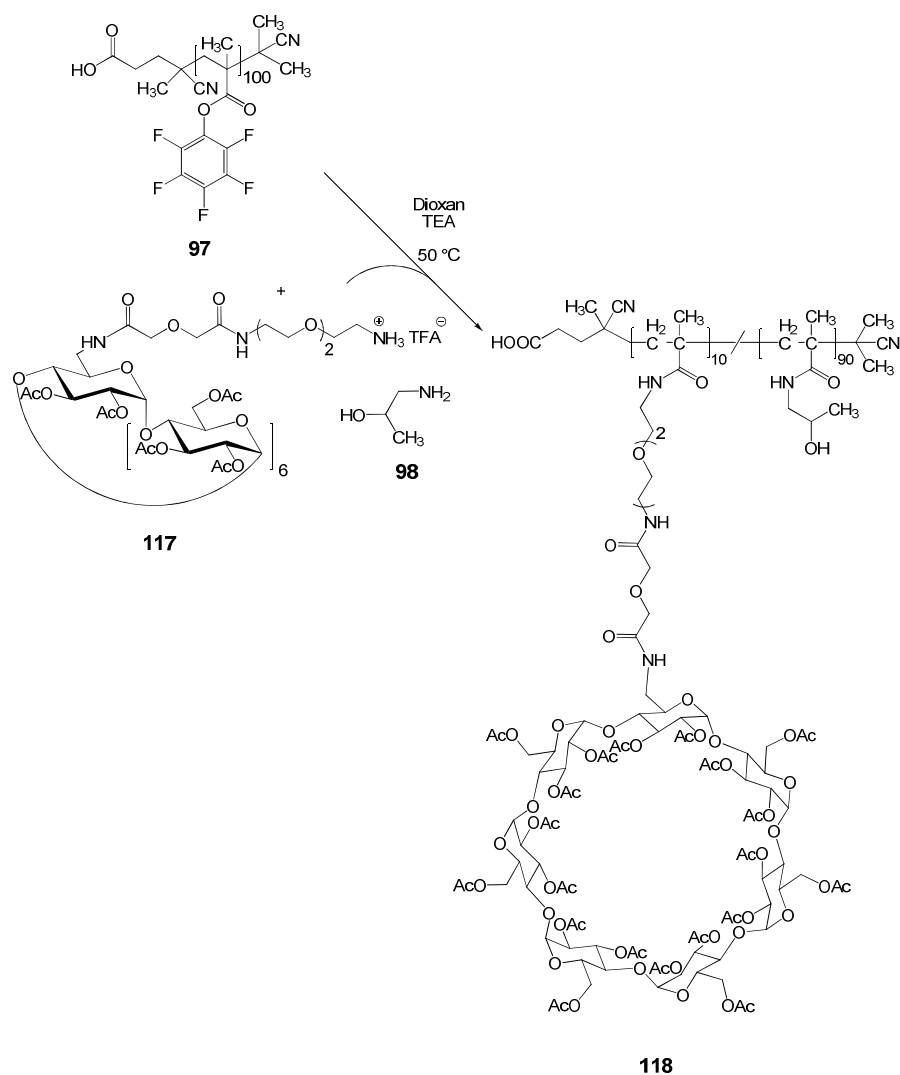
**Abb. 3.81:** Ausschnitt des HSQC-Spektrums von Verbindung **117**. Gemessen in  $\text{CDCl}_3$ . Der Apoptroph hinter einer Zuordnung gibt an, dass es sich um die entsprechende monofunktionalisierte Einheit des Cyclodextrins handelt.

Mit Hilfe des HSQC-Experiments können die Protonen des Cyclodextrin-Gerüsts ihren entsprechenden Kohlenstoffatomen zugeordnet werden. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Signale der anomeren Position des funktionalisierten Kohlenhydrates sowie insbesondere die der Methylengruppe in 6-Position eine deutliche chemische Verschiebung im Vergleich zu den Signalen der nicht funktionalisierten Kohlenhydrat-Einheiten aufweisen (s. Abb. 3.82). Erwähnenswert sind auch die Effekte, die im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum zu beobachten sind. Aufgrund der Monofunktionalisierung kann im Kohlenstoffspektrum der Verbindung **117** jedes anomere Kohlenstoffatom gefunden werden (siehe Abb. 3.81, rechts unten).



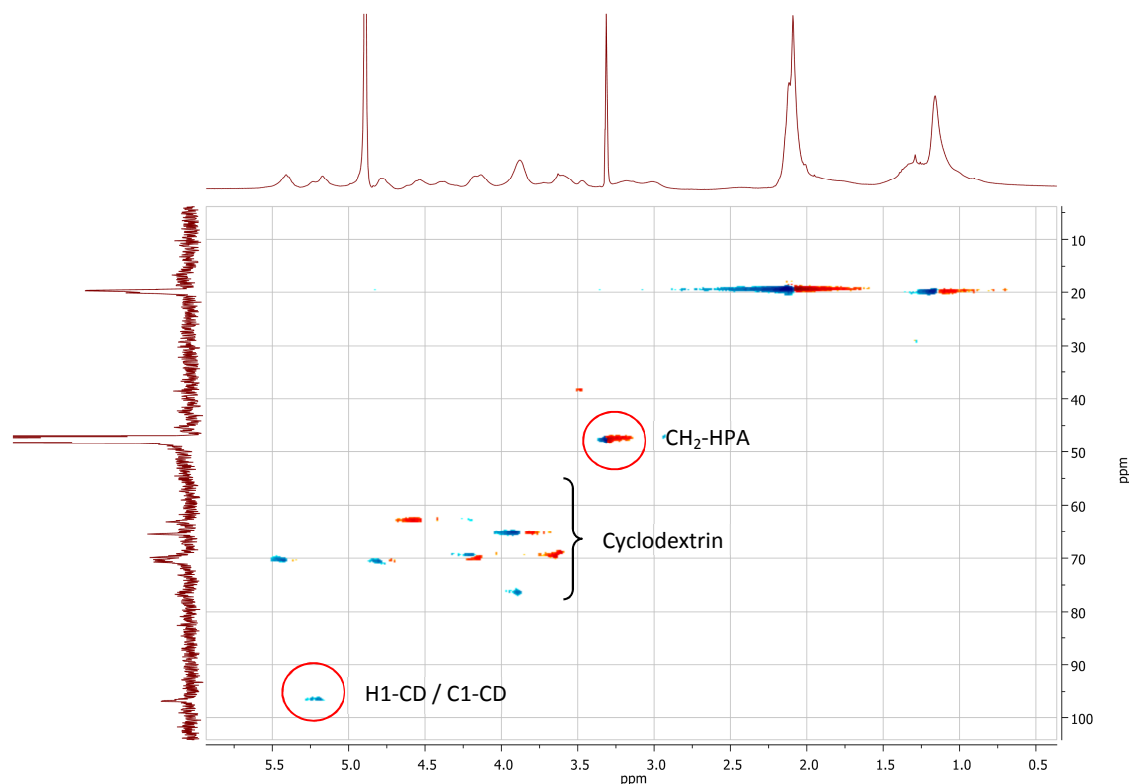
**Abb. 3.82:** Wasserstoffatome, die eine deutliche chemische Verschiebung aufweisen.

Um das Cyclodextrin **117** als potentiell polymeres Wirkstoffdepot verfügbar zu machen, wird es einer polymeranalogen Umsetzung mit dem Reaktivester-Polymer **97** zugeführt. Dabei erfolgt die Reaktion in absolutem Dioxan ohne Fluoreszenzmarkierung. Die Reaktionszeit bis zum vollständigen Umsatz des Cyclodextrin-Liganden **117** beträgt aufgrund der sterisch anspruchsvollen Gruppierung 64 Stunden. Um die restlichen freien Pentafluorphenylester-Einheiten umzusetzen, wird dem Ansatz ein Überschuss an 1-Amino-2-propanol (**98**) zugesetzt und nochmals 24 Stunden bei 50 °C gerührt. Die anschließende Reinigung erfolgt mittels einer semipräparativen Gelpermeationschromatographie an einer PL-Aquagel-Säule (Eluent: Methanol/Wasser, 1:1). Hierbei kann sichergestellt werden, dass eine Trennung von nicht gebundenem Cyclodextrin erfolgt.



**Abb. 3.83:** Synthese des Cyclodextrin-HPMA-Polymers.

Mittels eines HSQC-Experimentes lassen sich die einzelnen Signale des Cyclodextrins einwandfrei zuordnen. Hierbei kommt es, wie bei den zuvor charakterisierten polymeren Verbindungen auch, zu starken signalverbreiternden Effekten, die eine detaillierte Auswertung der Signalaufspaltungen unmöglich machen.



**Abb. 3.84:** Ausschnitt aus dem HSQC-Spektrum von Polymer **118**. Gemessen in MeOD.

Experimente zur Beladung sowie zur Stabilität der resultierenden Komplexe aus Cyclodextrin und Wirkstoff sind nicht mehr Gegenstand dieser Arbeit. An dieser Stelle ergeben sich einige interessante Fragen zu dem polymeranbindbaren Wirkstoffdepot. Scheinbar hat der eingeführte Spacer einen nicht unerheblichen Einfluss auf das gesamte Cyclodextrin, wie sich aus den NMR-spektroskopischen Messungen zeigt. Es wäre von Interesse, die Komplexstabilitäten aus literaturbekannten Cyclodextrin-Inklusionskomplexen mit dem polymergebundenen Cyclodextrin bzw. mit dem reinen  $\beta$ -Cyclodextrin **105** zu vergleichen. Hierbei bietet sich beispielsweise das entzündungshemmende und schwer wasserlösliche Glucocorticoid Dexamethason an.<sup>[286]</sup>

Das monofunktionalisierte Cyclodextrin **117** bietet auch vielfältige Möglichkeiten der Modifizierung der Cyclodextrinstruktur in Form einer Deacetylierung und anschließenden weiteren Funktionalisierung der 2- und 3-Position, beispielsweise in Form von

Hydroxypropyl-Cyclodextrin (HP-Cyclodextrin), an, welches sogar eine Eignung zur intravenösen Applikation im Menschen aufweist.<sup>[287,288]</sup> In statistischer Kombination mit den synthetisierten Mimetika oder als Block-Copolymere könnten völlig neuartige polymere Therapeutika erzeugt werden, die möglicherweise interessante Anwendungsgebiete bei der Behandlung von inflammatorischen sowie metastasierender Erkrankungen eröffnen.

### **3.8 Biologische Evaluierung**

Für die biologische Evaluierung der synthetisierten polymeren Verbindungen und für die Prüfung der Bindungsstärke wurde die in der pharmazeutischen Forschung etablierte Oberflächen-Plasmonen-Resonanz-Spektroskopie (SPR: Surface Plasmon Resonance) herangezogen. Nach diesem Verfahren ist es möglich, den sogenannten IC<sub>50</sub>-Wert zu bestimmen. Dieser steht für die Konzentration an Substanz, die notwendig ist, um 50 % der Rezeptoren zu inhibieren. Daraus ergeben sich für niedrige IC<sub>50</sub>-Werte im unteren mikromolaren Bereich hohe Affinitäten zu den Rezeptoren. Bei hohen IC<sub>50</sub>-Werten im unteren millimolaren Bereich ist eine hohe Konzentration an Ligand bzw. Inhibitor für eine 50 %ige Inhibierung der Rezeptoren notwendig. Dementsprechend handelt es sich um schwache Inhibitoren der entsprechenden Rezeptoren.

#### **3.8.1 Bekannte multivalente Effekte von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>**

Für den natürlichen Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Liganden existieren eine Reihe von IC<sub>50</sub>-Werten in der chemischen, pharmazeutischen und medizinischen Fachliteratur. Abhängig von den vermessenen Selektinen sowie den eingesetzten Verfahren kann es zu einer geringen Abweichung der IC<sub>50</sub>-Werte untereinander kommen. Das am häufigsten angewandte Verfahren zur Messung der Bindungsaffinität stellt das ELISA-Verfahren (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) dar. In dieser Arbeit wird allerdings die Verwendung des SPR-Verfahrens favorisiert, da hierfür entsprechende Bindungsassays gut etabliert und zur direkten Anwendung zur Verfügung standen.

In der Literatur können die folgenden  $IC_{50}$ -Werte für die Bindung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> gefunden werden:

- E-Selektin: 0.60 mM<sup>[289]</sup> / 0.75 mM<sup>[290]</sup>
- L-Selektin: 1.0 mM<sup>[290]</sup> / 2.5 mM<sup>[291]</sup>
- P-Selektin: 1.0 mM<sup>[290]</sup> / 3.0 mM<sup>[292]</sup>

Aus den  $IC_{50}$ -Werten geht hervor, dass Sialyl-Lewis<sup>x</sup> monovalent nur recht schwach bindet. Im Allgemeinen kann anhand der  $IC_{50}$ -Werte geschlossen werden, dass die Bindung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> am stärksten an E-Selektin erfolgt. Die Bindungsstärken an P- sowie L-Selektin sind um den Faktor 2 bis 3 schwächer und ähneln sich. Daher ist es von Interesse, ein multivalentes Bindungskonzept von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> sowie seinen mimetischen Verbindungen zu etablieren, wobei man sich den Glycocluster-Effekt zu Nutze macht.

In der Literatur finden sich Beispiele zur Multivalenz von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>. So konnten *Wittmann et al.*<sup>[293]</sup> für dimeres Sialyl-Lewis<sup>x</sup> an E-Selektin, abhängig von dem Abstand der synthetisierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Einheiten,  $IC_{50}$ -Werte von 70  $\mu$ M bis 228  $\mu$ M feststellen. Für P-Selektin konnten bei den gleichen dimeren Verbindungen nur  $IC_{50}$ -Werte oberhalb von 300  $\mu$ M gemessen werden.

Wie *Sprengard et al.*<sup>[294]</sup> zeigen konnten, weist auch ein trimeres Sialyl-Lewis<sup>x</sup>, gebunden an ein cyclisches Peptid, ebenfalls einen multivalenten Effekt auf. Bei den Messungen an humanen E-Selektin-IgG konnte ein  $IC_{50}$ -Wert von 350 bis 600  $\mu$ M bestimmt werden. Das entspricht einer 2 bis 3-fach besseren Bindung als es bei dem monomeren Sialyl-Lewis<sup>x</sup> der Fall wäre. Ähnliche Resultate konnten *Kretschmar et al.*<sup>[295]</sup> bei ihren dimeren und trimeren Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Strukturen feststellen. So war ebenfalls eine Bindungsverstärkung um den Faktor 2 bis 5 im Vergleich zu den monovalenten Strukturen auszumachen.

Wird ein Vergleich von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> tragenden Polymeren aufgestellt, so kann festgestellt werden, dass abhängig von dem Grad des Einbaus aktiver Kohlenhydratstrukturen, unterschiedliche Erhöhungen an Affinität der Polymere beobachtet werden können. So konnte *Miyauchi et al.*<sup>[296]</sup> zeigen, dass ein vollständiges aus Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Einheiten bestehendes Acrylamid-Polymer eine Bindungsverstärkung um den Faktor 10

pro Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Einheit im Vergleich zum entsprechenden Monomer zeigt. Auch konnte *S. Enders*<sup>[297]</sup> im Rahmen seiner Dissertation zeigen, dass Sialyl-Lewis<sup>x</sup>, gebunden an Polyacrylamid (20 Mol-%) in SPR-Experimenten, eine deutliche inhibitorische Wirkung mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 200 μM bezogen auf eine einzelne Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Einheit an L-Selektin zeigt. Wurde die inhibitorische Fähigkeit auf das von ihm untersuchte Gesamtpolymermolekül (30000 – 40000 g/mol) bezogen, so erhielt er einen IC<sub>50</sub>-Wert von 21 μM.

### 3.8.2 Funktionsweise des SPR-Verfahrens

Das SPR-Messverfahren hat im Laufe der letzten Jahre zunehmend an Bedeutung für bioanalytische Fragestellungen gewonnen. Es eignet sich hervorragend, um die Bindungsstärke und Bindungskinetiken von Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen in Echtzeit zu bestimmen und zu quantifizieren. Die Vorteile dieses Verfahrens sind seine hohe Zeitauflösung, die Robustheit des Messverfahrens, eine hohe Sensivität sowie Selektivität und die label- sowie zerstörungsfreie Detektion der Analyten. Als nachteilig anzusehen sind Einflüsse von möglichen Verunreinigungen aus der Probenmatrix, die zu unspezifischen Wechselwirkungen mit den verwendeten Goldoberflächen führen können. Dies ist besonders bei komplexen Matrices, wie beispielsweise Zell- oder Lebensmittelaufschlüssen, der Fall.<sup>[298,299]</sup>

Das Messprinzip der SPR beruht auf dem Phänomen der Totalreflexion. Trifft ein Lichtstrahl auf eine spiegelnde Oberfläche, so ist im Idealfall immer eine vollständige Reflektion des Lichtes gegeben (Totalreflektion), wobei der Einfallswinkel  $\theta_1$  des Lichtes gleich des Ausfallswinkels  $\theta_2$  ist ( $\theta_1 = \theta_2$ ). Tritt allerdings ein Lichtstrahl von einem optisch dichteren Medium (z.B. Wasser) in ein optisch dünneres Medium (z.B. Luft) ein, so findet bis zu dem kritischen Winkel  $\theta_c$  eine Brechung des Lichtes nach dem Gesetz von *Snellius* vom Lot hin weg statt. Das bedeutet, dass der Ausfallswinkel  $\theta_2$  größer ist als der Einfallswinkel  $\theta_1$  ( $\theta_2 > \theta_1$ ).

Wird der kritische Winkel  $\theta_c$  überschritten, so kommt es zu dem Phänomen der Totalreflexion. Das Licht wird nun vollständig in das optisch dichtere Medium reflektiert, wobei es idealerweise zu keinem Energieverlust kommt.

Das Phänomen der Totalreflektion an nicht spiegelnden Oberflächen weist einen anderen Mechanismus auf als die Totalreflektion an Spiegeln. So generiert Licht (hier: monochromatisch sowie polarisiert) an der Oberfläche von nichtspiegelnden Materialien, bei

dem Übergang aus einem optisch dichteren in ein optisch dünneres Medium, ein sogenanntes *evaneszierendes* Feld. Befindet sich in der Nähe dieses Feldes eine leitende Oberfläche, z.B. aus Gold, so kann das evaneszierende Feld bei korrekter Wellenlänge und einem bestimmten Einfallswinkel mit dem Metall unter Resonanzbedingungen in Wechselwirkung treten und Plasmonen erzeugen. Dies äußert sich in einer Energie-reduktion des austretenden Lichtes, wobei bei Resonanz ein Intensitätsminimum des abgestrahlten Lichtes gefunden wird. Die so erzeugten Plasmonen erstrecken sich in einem gewissen Bereich (ca. 300 nm) oberhalb der Metalloberfläche, wobei sie allerdings exponentiell an Intensität verlieren. Wird nun die Chipoberfläche mit einem Analyten aufgrund von spezifischen Wechselwirkungen beladen, so kommt es zu einer detektierbaren Massen- sowie Schichtdickenzunahme. Dies führt zu einer Verschiebung des SPR-Winkels des Energieminimums, welcher gemessen werden kann. Aus der Differenz der gemessenen SPR-Winkel ergibt sich schließlich das so genannte Sensorgramm (s. Abb. 3.85, rechts).<sup>[300]</sup>

*Abb. 3.85: Messanordnung einer SPR-Einheit von Biacore. Quelle: Firma Biacore.*

Die sehr hohe Empfindlichkeit dieser Methode ermöglicht das Messen von Anlagerungen, die sich im unteren Ångström-Bereich befinden. Wobei das Verfahren nicht zwischen einer Anlagerung von vielen kleinen oder wenigen großen Molekülen unterscheiden kann. Dies hat zur Konsequenz, dass die zu vermessenden Proben einen gewissen Reinheitsgrad erfüllen müssen, da sonst eine quantitative Auswertung kaum möglich ist.

Die Messung kann in einer offenen oder geschlossenen SPR-Apparatur vorgenommen werden. In der pharmazeutischen Industrie hat sich die Verwendung von geschlossenen

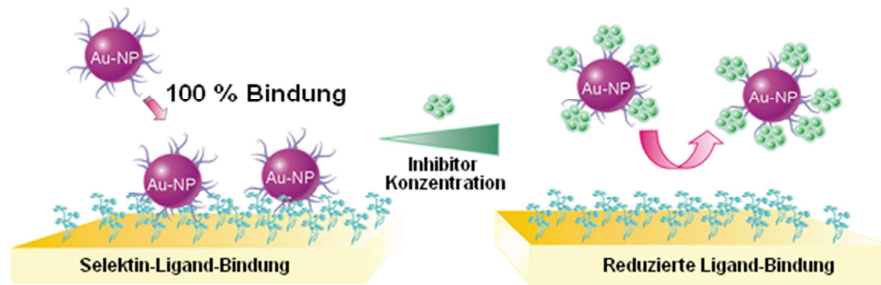
Systemen mit einer rechnergestützten Auswertung durchgesetzt. Die Firma *Biacore* aus Schweden ist einer der bekanntesten Hersteller und Entwickler solcher SPR-Einheiten, die auch für die Vermessung der synthetisierten Verbindungen Anwendung gefunden haben.

Die für die Messung notwendigen Referenzverbindungen befinden sich auf einem Sensorchip, der aus einer mit Gold bedampften Glasoberfläche besteht. Auf der Goldoberfläche befinden sich funktionalisierbare Dextraneinheiten, die das universelle Anbinden von Strukturen, die für die Messung notwendig sind, ermöglichen (s. Abb. 3.86). Der verwendete Sensorchip wies eine Beladung von 20 Mol-% Sialyl-Lewis<sup>x</sup> sowie 5 Mol-% sulfatiertes Tyrosin auf.

*Abb. 3.86: Aufbau eines Sensorchips. Quelle: Firma Biacore.*

Werden nun in einer Durchflusszelle auf Gold-Nanopartikel fixierte Selektine als Analyt an den immobilisierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Strukturen sowie sulfatierten Tyrosin-Einheiten vorbeigeleitet, so findet eine vollständige Bindung der Selektin-Goldnanopartikel an der Chipoberfläche statt (s. Abb. 3.87). Die Schichtdicke nimmt zu und der Brechungsindex ändert sich entsprechend. Dies führt zu einer Verschiebung des Detektorsignals. Es kann mit dieser Vorgehensweise das maximal mögliche Bindungssignal in RU (Resonanz-Einheiten: Resonance Units) ermittelt werden. Werden nun die Selektin-Gold-Nanopartikel vor ihrer Vermessung in der Flusszelle mit inhibierenden Substanzen inkubiert, so vermindert sich das Detektorsignal entsprechend der Wirksamkeit der inhibierenden Substanzen. Dabei entspricht 1 RU der Massenzunahme von ca.  $1 \text{ pg/mm}^2$ .<sup>[301]</sup>





**Abb. 3.87:** Gold-Nanopartikel (Au-NP) und ihre Verwendung bei den SPR-Messungen (nach Weinhart et al.).<sup>[302]</sup>

Da es bereits bei der Injektion zu einer Veränderung des Brechungsindex kommen kann, bedarf es in dem Messsystem einer Referenzzelle. Diese befindet sich ebenfalls auf dem Sensorchip, beinhaltet allerdings keine bindungsfähigen Liganden. Wird das Signal der Referenzzelle von dem Signal der mit Liganden funktionalisierten Zelle subtrahiert, so erhält man das eigentliche Messsignal. Dieses Verfahren weist somit auch eine hohe Eignung auf, unspezifische Wechselwirkungen zu eliminieren. Diese können beispielsweise durch die Wechselwirkung des polymeren Trägers mit der Chipoberfläche auftreten.

### 3.8.3 Probenvorbereitung

Die Messung des  $IC_{50}$ -Wertes mittels einer SPR-Einheit bedarf einer sorgfältigen Probenvorbereitung, die im Nachfolgenden erklärt werden soll. Um die Menge an wertvollen Selektinen so gering wie möglich zu halten, wird auf die Verwendung von Gold-Nanopartikel zurückgegriffen (s. Abb. 3.87). Hierbei findet im ersten Schritt eine Immobilisierung der Selektine an die Gold-Nanopartikel statt. Die Gold-Nanopartikel werden hierfür von der Lagerflüssigkeit durch Zentrifugation abgetrennt und nach einer Resuspendierung mit Pufferlösung (einem Gemisch aus HEPES-Lösung, Natriumchlorid-Lösung sowie Calciumchlorid-Lösung) mit dem benötigten Selektin-IgG versetzt. Nach einer 30 minütigen Schüttelinkubation und weiterer Pufferzugabe zur gewünschten Endkonzentration ist die Gold-Nanopartikel-Lösung bereit für den Einsatz der potentiell inhibierenden Verbindungen.

Die zu vermessenden potentiellen Inhibitoren werden für die eigentliche Messung in Pufferlösung gelöst und kurz vor der Messung mit der Gold-Selektin-Nanopartikel-Lösung versetzt und 18 Minuten inkubiert. Anschließend erfolgt die Injektion des Gemisches in

die Probenschleife der *Biacore* SPR-Einheit. Bei einer Temperatur von 25.0 °C sowie einer Flussrate von 20 µl/min erfolgt die Messung der Inhibierungsstärke, wobei ein Sensorgramm, wie in Abb. 3.88 gezeigt, erhalten wird.

*Abb. 3.88: Beispielhaftes Sensorgramm einer SPR-Messung. Bindungsansicht: Schwarz: Immobilisiertes Sialyl-Lewis<sup>x</sup> sowie immobilisiertes sulfatiertes Tyrosin. Rot: Gold-Selektin-Nano-partikel. Abbildung verändert. Quelle: Firma Biacore.*

Ein typisches Sensorgramm besteht aus mehreren charakteristischen Bereichen, die die einzelnen Abschnitte einer Messung darstellen. Vor Beginn der Messung liegen unbeladene Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Liganden sowie sulfatiertes Tyrosin immobilisiert auf dem Sensorchip vor. Bei der Messung erfolgt dann das Beladen der Sensorchipoberfläche mit Analyt, was zu einer Steigung der Basislinie führt (Abb. 3.88: Assoziation). Bei diesem Schritt kommt es idealerweise zu spezifischen Wechselwirkungen zwischen Rezeptor und Ligand. Dabei soll eine feste Bindung entstehen, die im nachfolgenden Dissoziationsschritt idealerweise bestehen bleibt. Nach erfolgter Dissoziation kann auf die Menge an Ligand geschlossen werden, die fest gebunden ist. Um den Sensorchip für eine nachfolgende Messung wieder verfügbar zu machen, erfolgt eine Konditionierung mit einer 4 M Magnesiumchlorid-Lösung (Abb. 3.88: Regeneration). Hierbei werden sämtliche Analytmoleküle von dem Sensorchip gelöst. Es kann anschließend mit einer neuen Messung begonnen werden.

### 3.8.4 Bestimmung der IC<sub>50</sub>-Werte an E-Selektin

Bei den durchgeführten SPR-Messungen am Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie der Charité Berlin unter der Leitung von Dr. Jens Dervedde zeigte sich in allen Fällen eine deutlich inhibitorische Wirkung der polymeren Mimetika sowie der Polymere basierend auf Sialyl-Lewis<sup>x</sup>. Um die inhibitorische Wirkung mit Fluoreszenzfarbstoff markierten monovalentem Sialyl-Lewis<sup>x</sup> **68a/b** an E-Selektin zu zeigen, wurde in einem für diese Verbindung erwarteten Konzentrationsbereich von 25 µM bis 2500 µM die inhibitorische Wirkung gemessen. Erstaunlicherweise konnte hierbei ein niedriger IC<sub>50</sub>-Wert von 170 µM bestimmt werden. Dies entspricht einem Faktor von 4 bis 5 stärkerer inhibitorischer Wirkung als Sialyl-Lewis<sup>x</sup> es in natürlicher Form für E-Selektin aufweist. Es ist aufgrund des angebundenen Fluoreszenzfarbstoffs davon auszugehen, dass die entsprechend nun zusätzliche vorhandene negative Ladung am aromatischen Phenylrest des Farbstoffs für die stärkere Bindung an E-Selektin mitverantwortlich ist.

Die Vermessung des nur mit Fluoreszenzfarbstoff (1 Mol-%) markierten Referenzpolymers **99** führte erwartungsgemäß zu einem hohen IC<sub>50</sub>-Wert, der mit 3.4 mM bestimmt wurde. Es ist davon auszugehen, dass es sich hierbei allerdings um eher unspezifische Wechselwirkungen auf Basis des eingesetzten Polyacrylamids handelt, welches mit der ebenfalls aus Polyacrylamid bestehenden Chipoberfläche der SPR-Einheit wechselwirkt. Ein weiterer Erklärungsansatz lässt sich in der möglichen Interaktion der HPMA-Einheiten mit den Rezeptoren finden, da bei Kohlenhydraten sowie den HPMA-Einheiten eine Vielzahl an Hydroxylgruppen vorhanden sind. Auch wenn diese, wie im Falle der HPMA-Einheiten, nicht den erforderlichen Bindungsmustern der Kohlenhydratliganden entsprechen.

Die inhibitorische Wirkung von unsulfatiertem Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymer **101** wurde in einem Konzentrationsbereich von 0.1 µM bis 100 µM gemessen. Bei den Messungen konnte ein IC<sub>50</sub>-Wert von 39 µM für E-Selektin bestimmt werden (s. Abb. 3.89). Wird der IC<sub>50</sub>-Wert auf die einzelnen Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Einheiten bezogen, so entspricht es einer 2- bis 3-fach stärkeren Inhibierung im Vergleich zum natürlich vorkommenden monovalenten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Liganden.

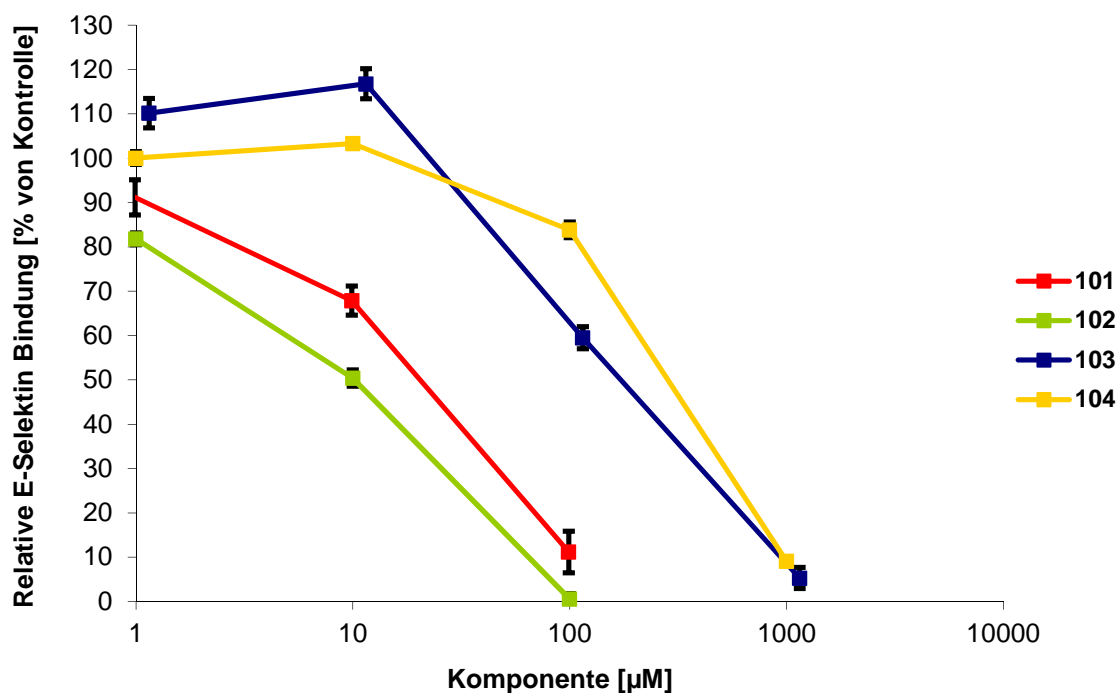
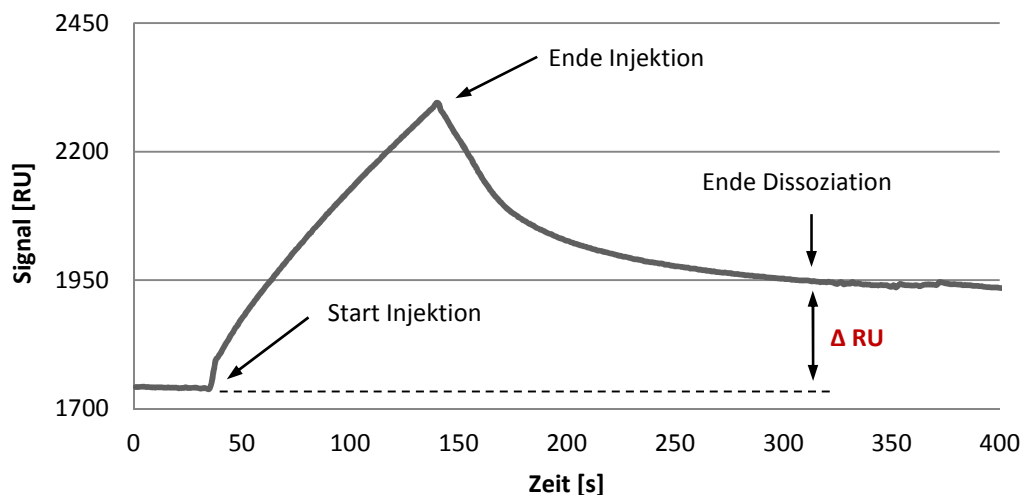


Abb. 3.89: Affinitäten der Glycopolymere an E-Selektin.

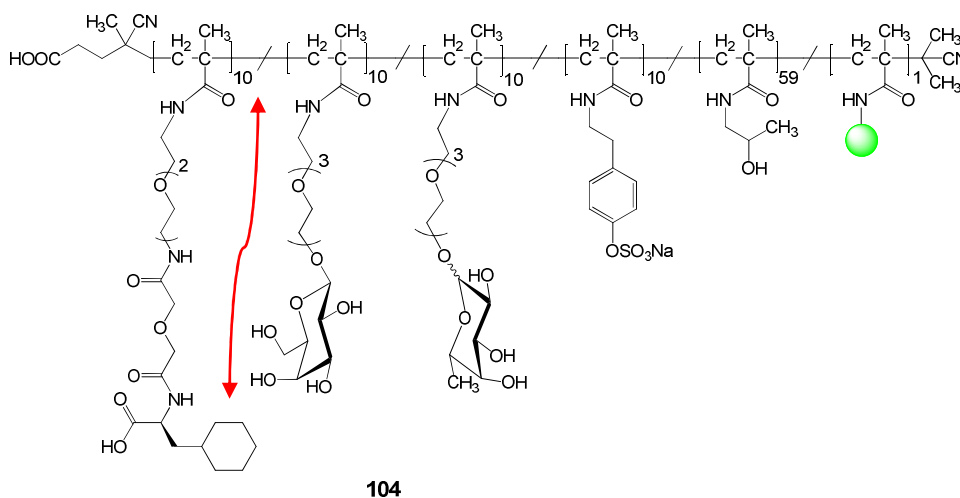
Bei dem sulfatierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymer **102** konnte eine ähnliche inhibitorische Wirkung ( $IC_{50} = 11 \mu\text{M}$ ) im Vergleich zu dem unsulfatierten Polymer **101** festgestellt werden. Dies beruht auf der Tatsache, dass E-Selektin keine Bindungstasche für Sulfatgruppen aufweist.

Die inhibierende Wirkung der mimetischen Polymere lag bei E-Selektin insgesamt niedriger als die Wirkung der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymere **101** und **102**. Es konnte bei dem polymeren Neuraminsäure-Mimetikum **103** ein  $IC_{50}$ -Wert von  $298 \mu\text{M}$  bestimmt werden. Diese inhibitorische Konzentration legt die Vermutung nahe, dass die eingesetzten mimetischen Liganden zwar eine Bindung mit E-Selektin eingehen, diese aber deutlich schwächer ausgeprägt ist als bei dem natürlichen Liganden Sialyl-Lewis<sup>x</sup>. Dies ist vermutlich auf die nicht korrekte räumliche Orientierung der mimetischen Kohlenhydrate im Vergleich zum Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Tetrasaccharid sowie auf den nicht vollständig anomerenreinen Aufbau der mimetischen Liganden zurückzuführen. Die nachfolgende Abb. 3.90 gibt ein gemessenes Sensorgramm für Polymer **103** bei einer Konzentration von  $100 \mu\text{M}$  wieder, wobei sich aus den gemessenen  $\Delta\text{RU}$ -Werten, nach abgeschlossener Dissoziation, der  $IC_{50}$ -Wert ermitteln lässt.



**Abb. 3.90:** Beispiel eines Sensorgramms von Polymer **103** für E-Selektin. Gemessen auf einem Biacore X bei einer Konzentration von  $100 \mu\text{M}$ .

Die Wirksamkeit des synthetisierten mimetischen (S)-Cyclohexylalanin-Polymers **104** lag bei der Bestimmung des  $\text{IC}_{50}$ -Wertes bei  $513 \mu\text{M}$  für E-Selektin. Dieser Wert legt die Vermutung nahe, dass das im mimetischen Polymer zum Einsatz gekommene (S)-Cyclohexylalanin aufgrund seiner Hydrophobizität zu einer Überstrukturbildung neigt. Es ist davon auszugehen, dass der unpolare Cyclohexylrest sich in der Nähe des ebenfalls unpolaren Polymerrückgrates bevorzugt aufhält. Dies führt vermutlich dazu, dass die Zugänglichkeit der Kohlenhydrate sowie die für die Bindung nicht unerhebliche Carboxylgruppe des (S)-Cyclohexylalanins nicht mehr ausreichend zur Geltung kommen können.



**Abb. 3.91:** Die Wechselwirkung des Cyclohexylrestes mit dem Polymerrückgrat führt vermutlich zu einer für eine Bindung ungünstige Überstrukturbildung bei Polymer **104**.

Um die These der Überstrukturbildung zu verifizieren, werden in naher Zukunft Fluoreszenz-Korrelations-Messungen (FCS-Messungen) durchgeführt. Anhand dieses Verfahrens kann bestimmt werden, ob es zu einer Bildung von mizellenartigen Strukturen mittels der Anbindung der (S)-Cyclohexylmilchsäure gekommen ist. Da sämtliche mit Liganden funktionalisierte Polymere bereits Fluoreszenzfarbstoff tragen, kann auf eine erneute Darstellung der funktionalisierten Polymere verzichtet werden.

Werden die Ergebnisse der SPR-Messungen für E-Selektin zusammengefasst, so kann festgestellt werden, dass die Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Struktur modifiziert mit Fluoreszenzfarbstoff oder gebunden am Polymer die höchste Affinität zu E-Selektin aufweist. Hierbei spielt es keine Rolle, ob der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Ligand monovalent oder in multivalenter Form vorliegt, wobei allerdings festgestellt werden kann, dass die multivalente Form eine 2- bis 3-fach höhere Bindungsstärke im Vergleich zum Originalliganden aufweist.

Die Untersuchung der mimetischen Polymere **103** sowie **104** legt die Vermutung nahe, dass E-Selektin bevorzugt die natürliche Struktur Sialyl-Lewis<sup>x</sup> bindet. Tab. 3.2 fasst die gemessenen IC<sub>50</sub>-Werte für E-Selektin zusammen.

**Tab. 3.2** Zusammengefasste IC<sub>50</sub>-Werte für E-Selektin

Verbindung	E-Selektin IC <sub>50</sub> [μM]
SLe <sup>x</sup> -Fluorescein <b>68a/b</b>	170
Poly(HPMA) <b>99</b>	3380
Poly(SLe <sup>x</sup> -HPMA) <b>101</b>	39
Poly(SLe <sup>x</sup> -sTyr-HPMA) <b>102</b>	11
Poly(Sia-Fuc-Gal-sTyr-HPMA) <b>103</b>	298
Poly(Cyclo-Fuc-Gal-sTyr-HPMA) <b>104</b>	513

### 3.8.5 Bestimmung der IC<sub>50</sub>-Werte an L-Selektin

Bei der Bestimmung der IC<sub>50</sub>-Werte für L-Selektin ergibt sich ein vollständig anderes Bild der Affinitäten im Vergleich zum E-Selektin. Es konnte festgestellt werden, dass das nicht sulfatierte Sialyl-Lewis<sup>x</sup> Polymer **101** bereits eine hohe Affinität zu L-Selektin aufweist (s. Abb. 3.92). Der ermittelte IC<sub>50</sub>-Wert von 7 μM zeigt, dass es zu einer

deutlichen Bindungsverstärkung im Vergleich zum monovalenten Sialyl-Lewis<sup>x</sup> gekommen ist, welches durchschnittlich mit ca. 1700  $\mu\text{M}$  an L-Selektin bindet. Wird der Bindungswert des polymergebundenen Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Liganden auf den monovalenten natürlichen Liganden bezogen, so ergibt sich für eine Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Einheit eine Bindungsverstärkung um den Faktor 30 bis 40.

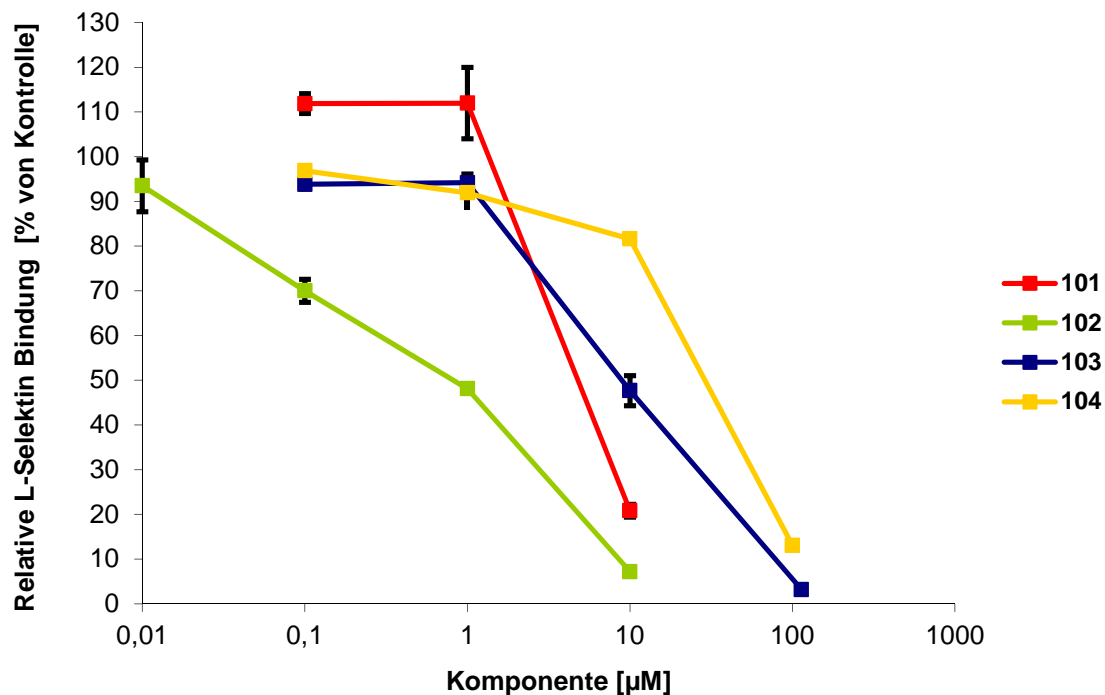


Abb. 3.92: Affinitäten der Glycopolymeren an L-Selektin.

Wird eine Mischung aus polymergebundenem Sialyl-Lewis<sup>x</sup> mit sulfatierten Tyramin-Einheiten vermessen, so wird sogar ein  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 0.9  $\mu\text{M}$  erhalten. Dies spiegelt die Fähigkeit von L-Selektin wieder, im Gegensatz zu E-Selektin, auch sulfatierte Einheiten zu binden. Hierbei scheint es unerheblich zu sein, ob die sulfatierten Einheiten als Tyrosin oder Tyramin Einheiten vorliegen.

Wie Haag *et al.* und Dervedde *et al.* zeigen konnten, binden auch ausschließlich sulfatierte Strukturen auf Basis von Polyglycerin an die Selektine, wobei beobachtet werden konnte, dass der Grad der Sulfatierung sowie die räumliche Präsentation dieser Gruppen von entscheidender Bedeutung für eine hohe Affinität der Bindung sind.<sup>[143,303,304]</sup>

Vergleicht man die Polymere, die die mimetischen Liganden tragen, so wird festgestellt, dass das Sialinsäure-Mimetikum **103** mit einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 10  $\mu\text{M}$  eine sehr ähnliche

Affinität zum Rezeptor besitzt wie das polymergebundene nicht Sulfat-Einheiten enthaltende Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymer **101**; wobei davon ausgegangen werden kann, dass die Sulfatgruppen in dem Mimetikum **103** einen nicht unerheblichen Beitrag zur Bindung leisten.

Wird das polymere Cyclohexylalanin-Mimetikum **104** mit dem polymeren Sialinsäure-Mimetikum **103** verglichen, so muss festgestellt werden, dass es auch in diesem Falle zu einem Affinitätsverlust am Rezeptor gekommen ist. Der ermittelte IC<sub>50</sub>-Wert von 52 µM, im Vergleich zu dem polymeren Sialinsäure-Mimetikum **103**, das um den Faktor 5 affiner bindet, impliziert, dass die räumliche Struktur des Polymers bedeutend für die Bindung an die Selektine ist. Auch in diesem Fall dürfte die Bildung einer Überstruktur die Ursache für die geringere Affinität von Polymer **104** zu L-Selektin verantwortlich sein. Tab. 3.3 zeigt die zusammengefassten IC<sub>50</sub>-Werte für L-Selektin.

*Tab. 3.3: Zusammengefasste IC<sub>50</sub>-Werte für L-Selektin.*

<b>Verbindung</b>	<b>L-Selektin IC<sub>50</sub>[µM]</b>
Poly(SLe <sup>x</sup> -HPMA) <b>101</b>	7
Poly(SLe <sup>x</sup> -sTyr-HPMA) <b>102</b>	0.9
Poly(Sia-Fuc-Gal-sTyr-HPMA) <b>103</b>	10
Poly(Cyclo-Fuc-Gal-sTyr-HPMA) <b>104</b>	52

### 3.8.6 Bestimmung der IC<sub>50</sub>-Werte an P-Selektin

Die Bestimmung der IC<sub>50</sub>-Werte an P-Selektin weist ein interessantes Muster für die verschiedenen Affinitäten auf. So konnte für das nicht sulfatierte Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymer **101** ein IC<sub>50</sub>-Wert von 26 µM für das sulfatierte Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymer **102** ein IC<sub>50</sub>-Wert von 70 nM ermittelt werden (s. Abb. 3.93). Dieser sehr starke Kontrast beruht vermutlich ausschließlich auf der Sulfatierung von Polymer **102**.



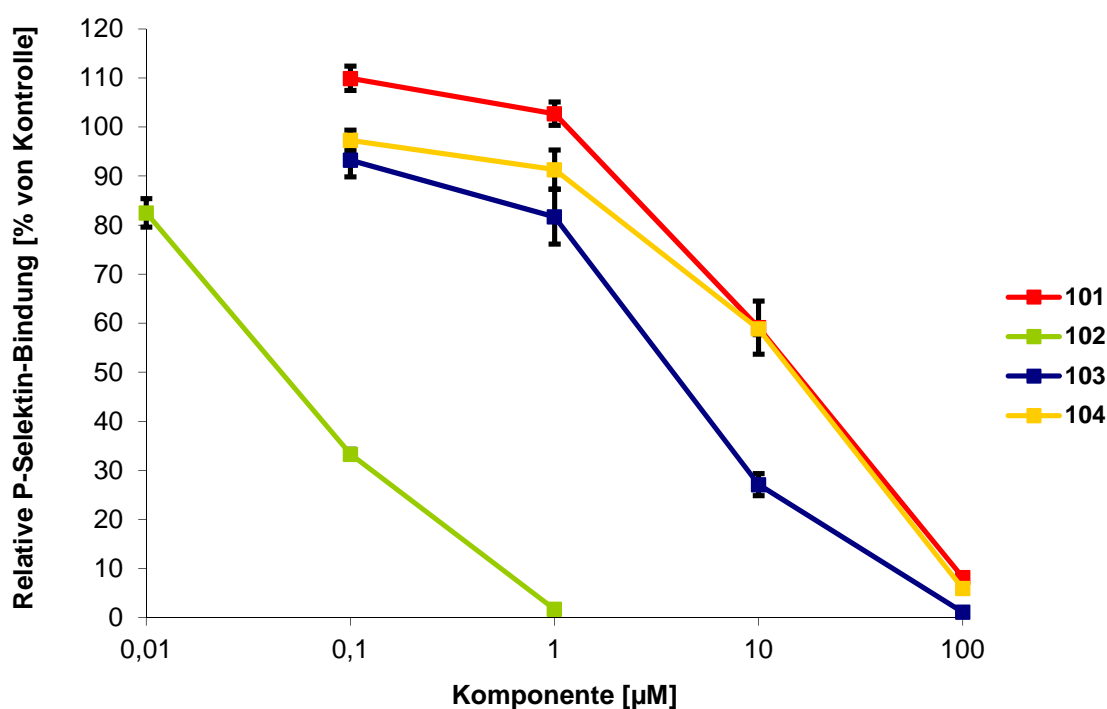


Abb. 3.93: Affinitäten der Glycopolymere an P-Selektin.

Im Vergleich zu dem mimetischen Sialinsäure-Polymer **103**, welches mit einem  $IC_{50}$ -Wert von 6  $\mu\text{M}$  bindet, konnte bei dem mimetischen Cyclohexylalanin Polymer **104** ein  $IC_{50}$ -Wert von 26  $\mu\text{M}$  ermittelt werden. Dies zeigt, dass im Vergleich zu den Messungen an E- und L-Selektin für das Cyclohexylalanin-Polymer **104** eine deutliche Affinitäts-erhöhung festzustellen ist. Auch in diesem Falle scheint das Vorhandensein einer Sulfatierung einen erheblichen Einfluss auf die Affinität zu dem Rezeptor zu haben. Tab. 3.4 gibt zusammenfassend Auskunft über die gemessenen  $IC_{50}$ -Werte an P-Selektin.

Tab. 3.4: Zusammengefasste  $IC_{50}$ -Werte für P-Selektin.

Verbindung	P-Selektin $IC_{50}$ [ $\mu\text{M}$ ]
Poly(SLe <sup>x</sup> -HPMA) <b>101</b>	26
Poly(SLe <sup>x</sup> -sTyr-HPMA) <b>102</b>	0.07
Poly(Sia-Fuc-Gal-sTyr-HPMA) <b>103</b>	6
Poly(Cyclo-Fuc-Gal-sTyr-HPMA) <b>104</b>	26



## 4 Zusammenfassung

Die Behandlung chronisch entzündlicher Erkrankungen stellt nach wie vor eine Herausforderung für die Medizin dar. So leiden allein in Deutschland ca. 800 000 Menschen an rheumatoider Arthritis oder an anderen chronisch entzündlichen Erkrankungen, wie z.B. Morbus Crohn, bei welchem der Darm in nicht unerheblicher Weise in Mitleidenschaft gezogen wird.<sup>[3,10]</sup> Auch Metastasierungsprozesse im menschlichen Organismus basieren auf ähnlichen Mechanismen wie die inflammatorischen Prozesse. Da die Behandlung mittels nichtsteroidaler Antirheumatika, wie beispielsweise Arylpropionsäurederivaten oder solchen aus der Klasse der Steroidhormone, wie Kortison, mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden ist, besteht großes Interesse daran, den Entzündungsvorgang bereits vor dem Auftreten von Gewebeschädigungen zu unterbinden.<sup>[15,16]</sup> Hierzu könnten polymer gebundene Saccharide als natürliche Liganden der Selektine nützlich sein.

In der vorliegenden Arbeit wurde daher der natürliche Selektin-Ligand, das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup>, synthetisiert, in polymer gebundenen Formen und in polymeren Mimetika entwickelt, wobei bei letzteren die komplexen Synthesen umgangen werden. Anschließend wurde in biologischen Prüfungen ermittelt, inwieweit sich mit dem polymergebundenen Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Liganden im Vergleich zu der polymergebundenen „Mischung“ der einzelnen Kohlenhydrate, unter Ausnutzung des Glycocluster-Effekts, Bindungen an die Selektine erzielen lassen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Synthese von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> und seinen Konjugaten nach *K. Baumann*<sup>[172,196,197]</sup> herangezogen und an einigen Stellen optimiert. Die Syntheseroute weist im Gegensatz zu anderen, in der Literatur bekannten Verfahren zur Darstellung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>,<sup>[294,305–307]</sup> den Einsatz der TBDPS-Schutzgruppe in der anomeren Position auf.

Nach einer 6-stufigen Synthese<sup>[170–172]</sup> wird der in 2-Position mit der *N*-Troc-Schutzgruppe sowie in 4- und 6-Position als Benzylidenacetal-blockierte Baustein **7** in einer Gesamtausbeute von 40 % erhalten.

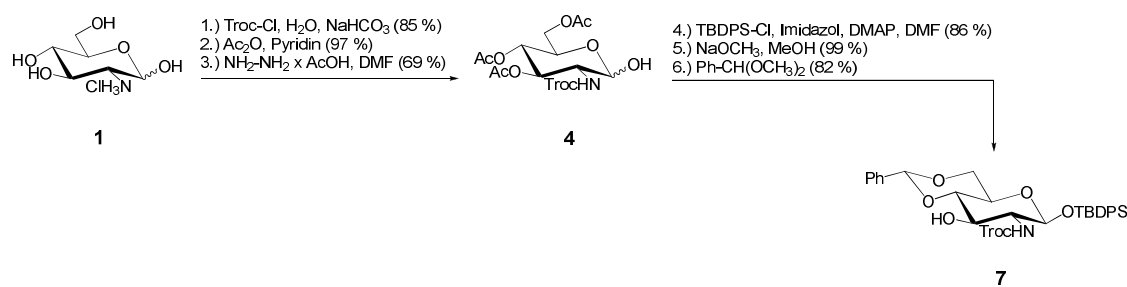


Abb. 4.1: Synthese des Glucosamin-Bausteins.

Die Synthese des L-Fucose-Bausteins **12** erfolgt nach einer Vorschrift von Lönn,<sup>[177]</sup> wobei die 4-stufige Synthese des Thiofucosids **12** mit einer Gesamtausbeute von 68 % gelingt. Eine Trennung der  $\alpha,\beta$ -Anomere ist nicht erforderlich, da im später folgenden Anomerisierungsverfahren nach Lemieux<sup>[195]</sup> auch Anomerengemische eingesetzt werden können.

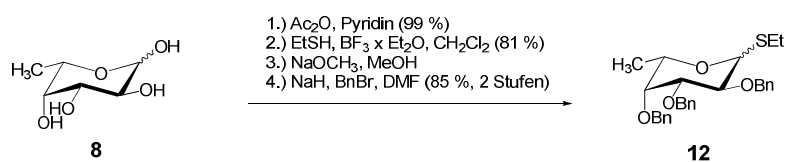


Abb. 4.2: Synthese des Fucose-Bausteins.

Die Synthese des Galactose-Bausteins **19** aus D-Galactose (**13**) ist ebenfalls literaturbekannt.<sup>[178]</sup> Baustein **19** wird in einer 6-stufigen Synthese in einer Gesamtausbeute von 29 % erhalten.

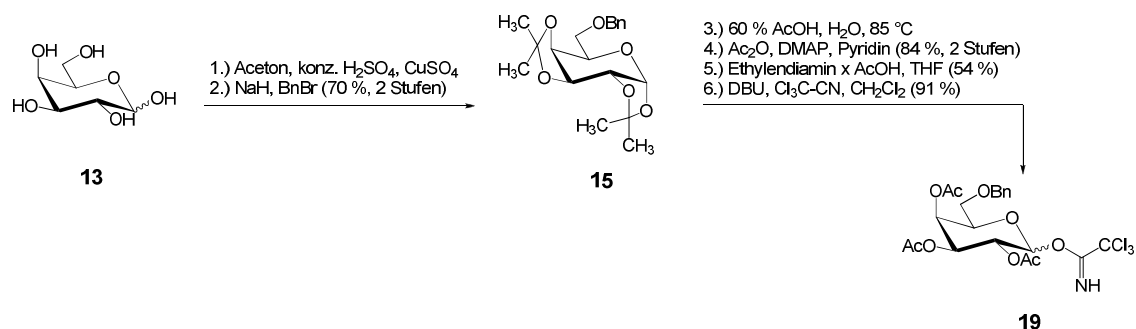
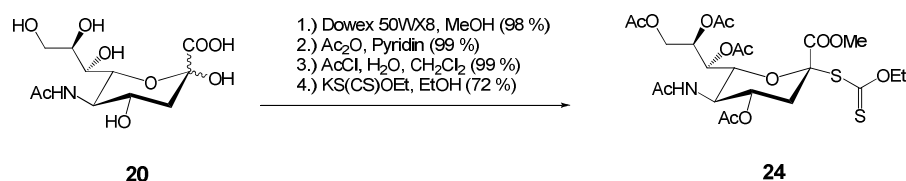


Abb. 4.3: Synthese des Galactose-Bausteins.

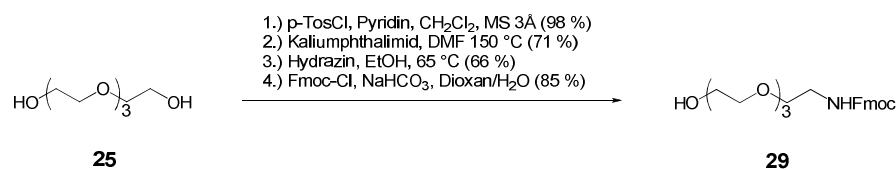
Als weiterer Baustein zur Synthese des Tetrasaccharids Sialyl-Lewis<sup>x</sup> wird aus *N*-Acetyl-D-neuraminsäure (**20**) das entsprechende Neuraminsäurexanthogenat **24** als Sialyl-Donor

aufgebaut. Dies gelingt in einer 4-stufigen Synthese mit einer Gesamtausbeute von 69 %.<sup>[184-187]</sup>



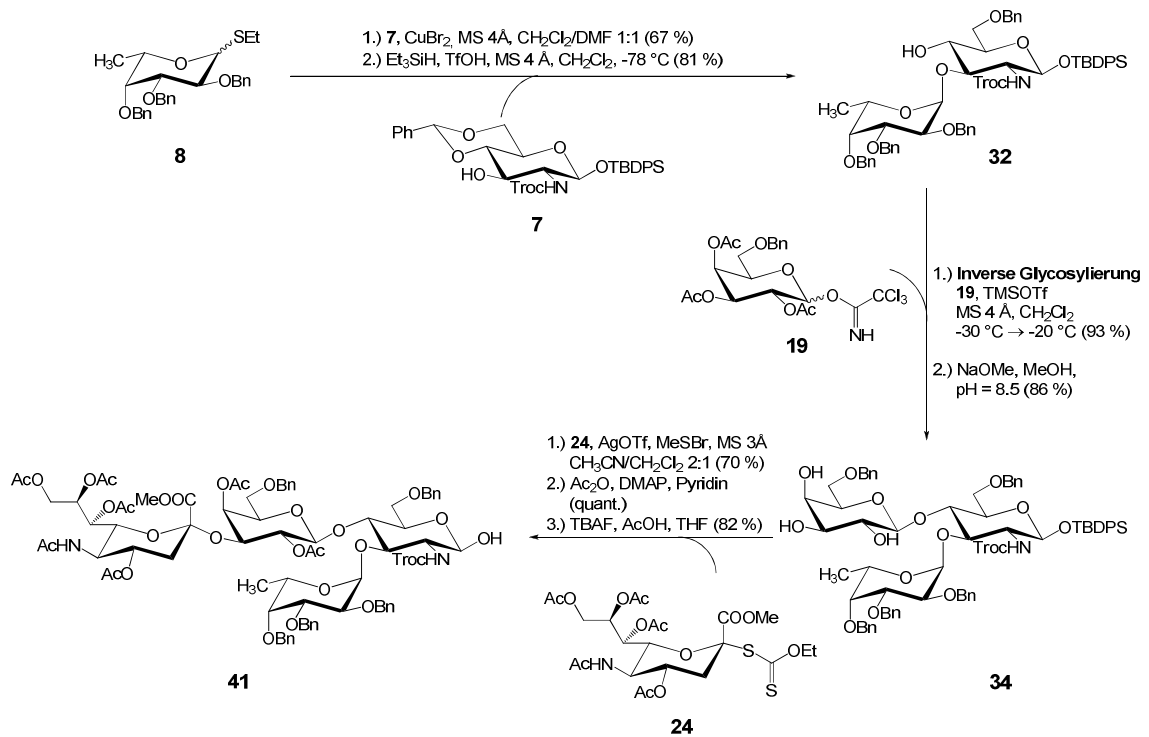
**Abb. 4.4:** Synthese des Neuraminsäurexanthogenats.

Zur Anbindung der Liganden an Reaktivester-Polymere vom Pentafluorphenylestertyp wird eine genügend reaktive Aminofunktionalität benötigt. Hierfür wurde ein Abstandshalter („Spacer“) **29** aus Tetraethylglycol (**25**) synthetisiert, der bei Sialyl-Lewis<sup>x</sup> selbst sowie bei seinen mimetischen Strukturen zum Einsatz kam. Als Amino-Schutzgruppe wurde die Fmoc-Schutzgruppe ausgewählt, da die nachfolgenden Syntheseschritte den Einsatz einer säurestabilen Schutzgruppe erfordern. Einen weiteren Vorteil dieser Schutzgruppe stellt ihre hervorragende UV-Detektierbarkeit dar.



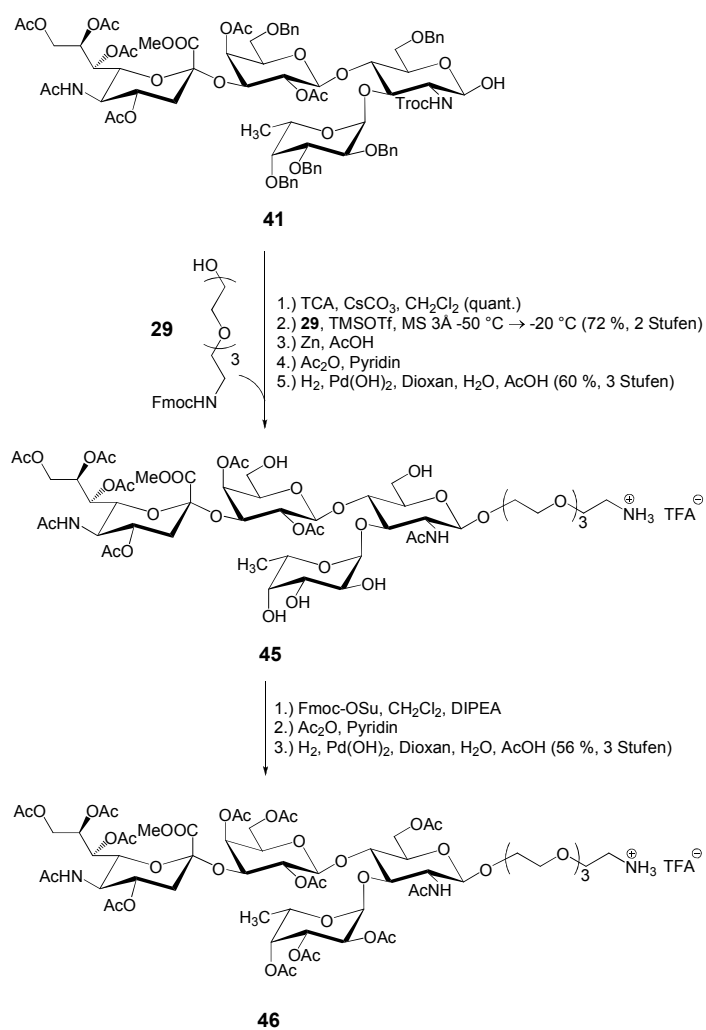
**Abb. 4.5:** Synthese des Fmoc-blockierten Spacers.

Der Aufbau der Oligosaccharide aus den beschriebenen Bausteinen gelang nach der Strategie von *K. Baumann*,<sup>[172,196,197]</sup> wobei durch Optimierungen deutliche Ausbeuteerhöhungen bei der Bildung des Trisaccharids **33** durch inverse Glycosylierung erzielt werden konnten.



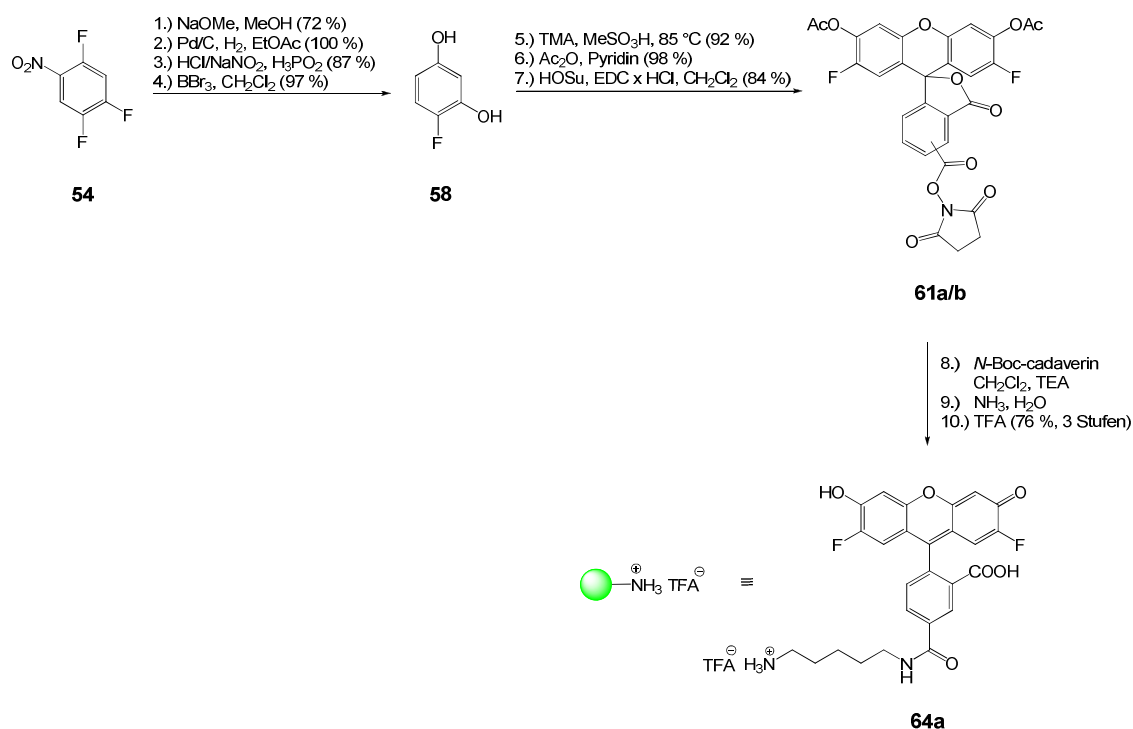
**Abb. 4.6:** Synthese von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>.

Auch die Synthese des wertvollen Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Trichloracetimidats **42** konnte durch Anwendung der Base Cäsiumcarbonat anstelle von DBU oder von Kaliumcarbonat verbessert werden. Die sich anschließenden Schutzgruppenmanipulationen führen zu den Bausteinen **45** und **46**, die beide für die Umsetzung mit polymeren Reaktivestern geeignet sind.



**Abb. 4.7:** Synthese der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Liganden.

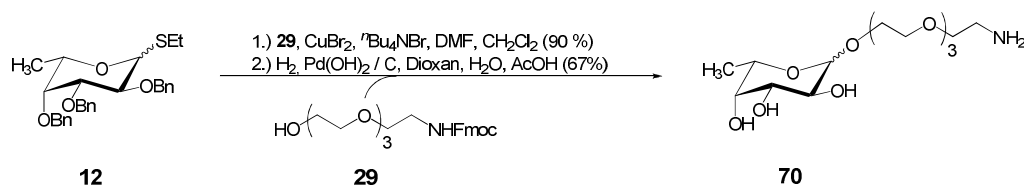
Um die synthetisierten Polymere sowie das Sialyl-Lewis<sup>x</sup> in verschiedenen biologischen Experimenten verfolgen zu können, erfolgte die Markierung der Strukturen mit dem Fluoreszenzfarbstoff **64a**, der auf einem lichtstabilen difluorierten Xanthen-Grundgerüst beruht. Der für die Anbindung an Polymere geeignete Farbstoff wurde in einer 10-stufigen Synthese in einer Gesamtausbeute von 35 % synthetisiert.<sup>[233]</sup>



**Abb. 4.8:** Synthese des Fluoreszenzfarbstoffs.

Um die aufwendige Synthese von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> zu vermeiden, wurden mimetische Liganden entwickelt, die den natürlichen P-Selektin-Liganden PSGL-1 imitieren sollen. Hierzu wurden die für eine Bindung an Selektine notwendigen Teilstrukturen mit einem flexiblen Abstandshalter auf Basis von Tetraethylglycol (**25**) versehen.

Die Synthese des L-Fucose-Liganden **70** erfolgt, ausgehend von dem Thiofucosid **12** und dem Spacer **29**, nach der Methode von Lemieux.<sup>[195]</sup> Ligand **70** wird in einem  $\alpha$ -anomeren Überschuss von 3:1 erhalten.



**Abb. 4.9:** Synthese des Fucose-Liganden.

Die Synthese des D-Galactose-Liganden **75** ist aufgrund der Nachbargruppenaktivität der Acetyl-Schutzgruppen in Form des benötigten  $\beta$ -Anomers möglich. Die Anbindung des Tetraethylglycol-Spacers **29** erfolgt in einer Glycosylierungsreaktion nach Koenigs-Knorr<sup>[189]</sup>. Baustein **75** wird in einer Gesamtausbeute von 21 % erhalten.



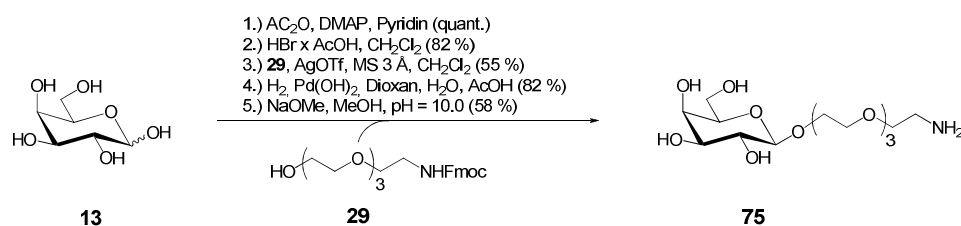


Abb. 4.10: Synthese des *D*-Galactose-Liganden.

Die Synthese des Neuraminsäure-Liganden **77** wurde ausgehend von dem Sialylchlorid **23** und dem Spacer **29** erreicht. Diese Vorgehensweise ermöglicht in Tetrahydrofuran als Lösemittel und bei tiefen Temperaturen die Bildung eines Überschusses an  $\alpha$ -Anomer zu  $\beta$ -Anomer im Verhältnis 4:1.

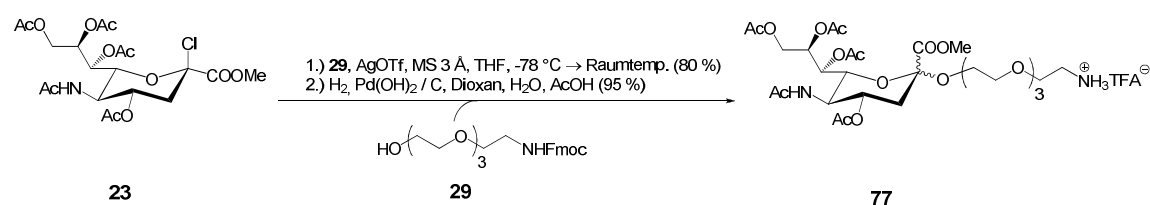


Abb. 4.11: Synthese des Neuraminsäure-Liganden.

Die Neuraminsäure wurde durch die gegen enzymatischen Abbau beständige Aminosäure (*S*)-Cyclohexylalanin ausgetauscht, die ebenfalls mit einem an polymere Reaktivester anbindbaren Spacer ausgestattet wurde.

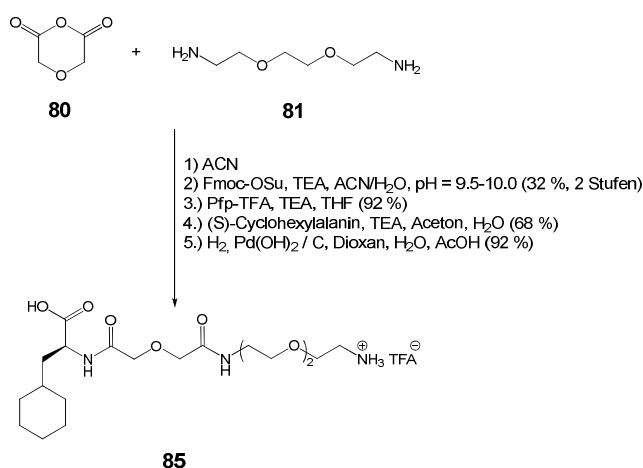
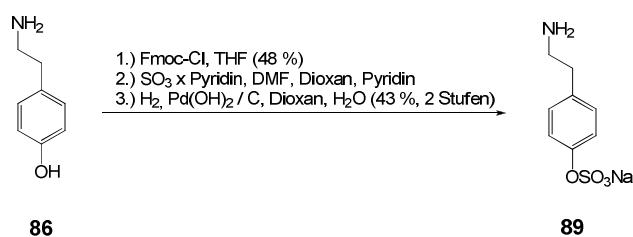


Abb. 4.12: Synthese des (*S*)-Cyclohexylalanin-Liganden.

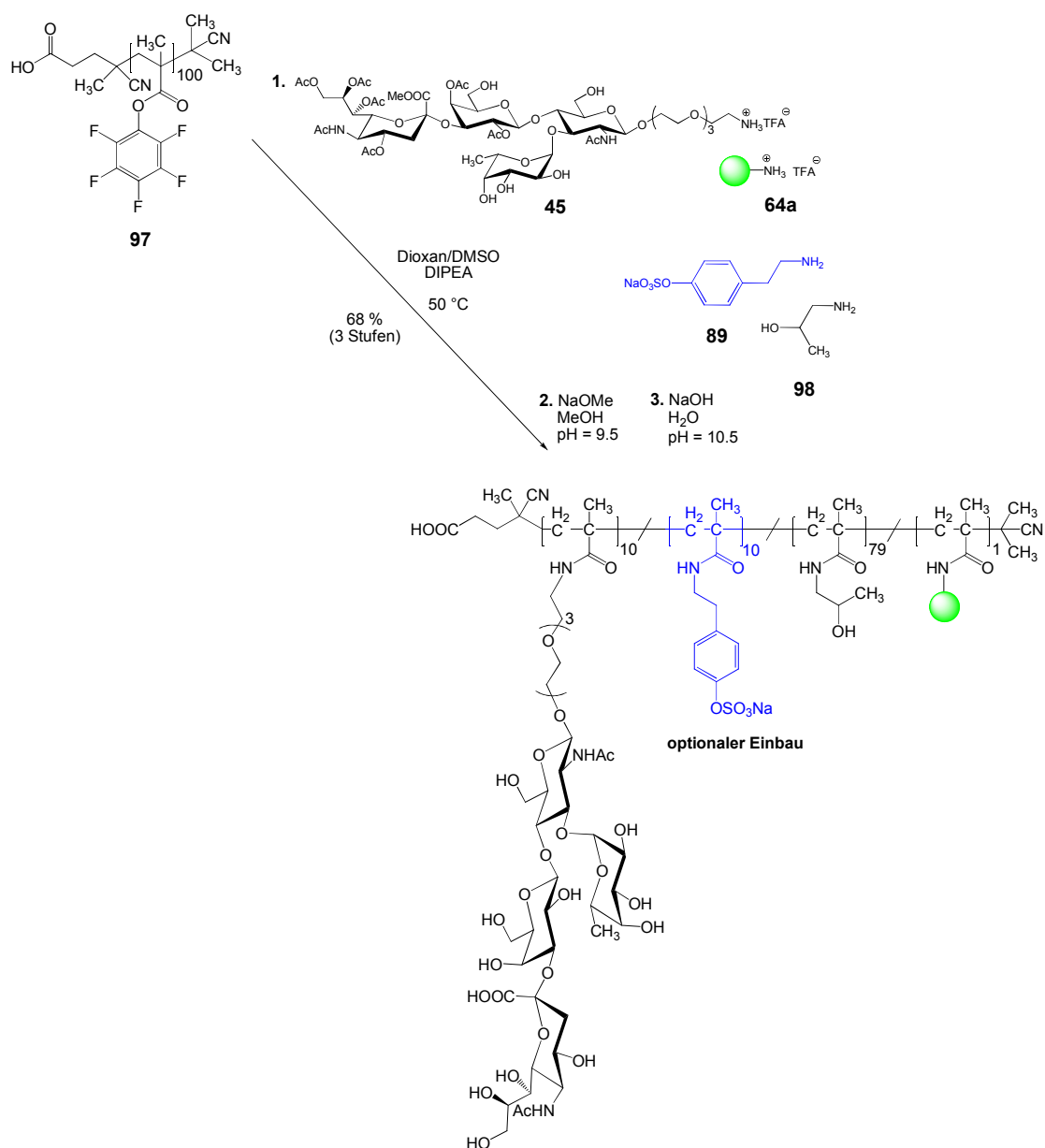
Um die sulfatierten Tyrosin-Einheiten am Universalliganden PSGL-1 nachzubilden, wurden diese am Polymer mit sulfatiertem Tyramin **89** ersetzt. Die Synthese des

sulfatierten Tyramins **89** erfolgte in einer dreistufigen Synthese ausgehend von Tyramin (**86**).



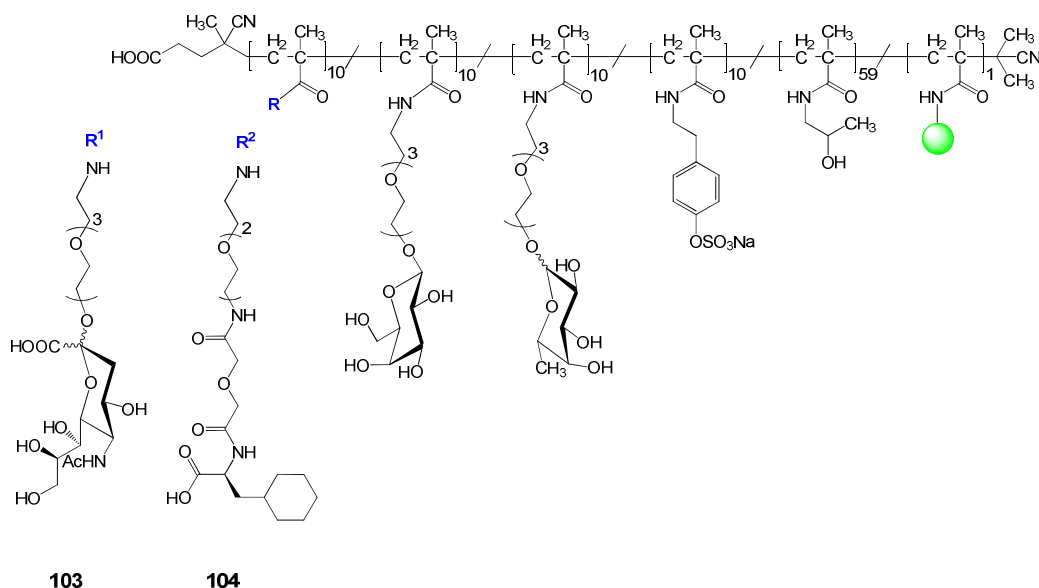
*Abb. 4.13: Synthese von sulfatiertem Tyramin.*

Der synthetisierte Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Ligand **45** wurde an das Reaktivester-Polymer **97** mittels einer polymeranalogen Umsetzung *statistisch* gebunden. Die Markierung der Polymere erfolgte in sämtlichen Fällen mit dem Fluoreszenzfarbstoff **64a** mit einer Beladung von 1 Mol-%. Sämtliche Liganden wurden im Rahmen dieser Arbeit mit 10 Mol-% an die Polymere gebunden. Die Umsetzung der restlichen Reaktivester-Einheiten erfolgte mit 1-Amino-2-propanol (**98**).



**Abb. 4.14:** Synthese der Sialyl-Lewis<sup>x</sup> Polymere. Blau eingezeichnet: Optionaler Einbau von sulfatiertem Tyramin bei Polymer **102**.

Um die Synthese von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> zu umgehen, wurden die Teilstrukturen in einer *statistischen* Mischung aus *N*-Acetyl-D-neuraminsäure-, L-Fucose- sowie D-Galactose-Elementen an Polymere angekuppelt. Ebenso wurde der (*S*)-Cyclohexylalanin-Ligand **85** an Stelle des Sialinsäure-Liganden **77** einer polymeranalogen Umsetzung mit den bindenden Kohlenhydraten sowie sulfatiertem Tyramin **89** unterzogen (s. Abb. 4.15).



**Abb. 4.15:** *Mimetische polymere Strukturen auf Basis von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>. R<sup>1</sup> stellt den N-Acetyl-D-neuraminsäure-Liganden, R<sup>2</sup> den (S)-Cyclohexylalanin-Liganden dar.*

Die biologische Prüfung der synthetisierten Verbindungen auf Bindungsfähigkeit an E-, L- und P-Selektin lässt sich, wie Tab. 4.1 zeigt, zusammenfassen.

**Tab. 4.1:** *IC<sub>50</sub>-Werte der synthetisierten Verbindungen.*

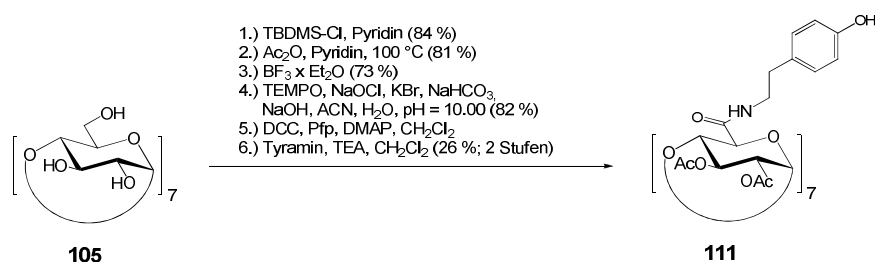
Verbindung	E-Selektin IC <sub>50</sub> [μM]	L-Selektin IC <sub>50</sub> [μM]	P-Selektin IC <sub>50</sub> [μM]
SLe <sup>x</sup> -Fluorescein <b>68a/b</b>	170	-	-
Poly (HPMA) <b>99</b>	3380	-	-
Poly(SLe <sup>x</sup> -HPMA) <b>101</b>	39	7	26
Poly(SLe <sup>x</sup> -sTyr-HPMA) <b>102</b>	11	0.9	0.07
Poly(Sia-Fuc-Gal-sTyr-HPMA) <b>103</b>	298	10	6
Poly(Cyclo-Fuc-Gal-sTyr-HPMA) <b>104</b>	513	52	26

Die geringsten Affinitäten wurden durchweg an E-Selektin erzielt. Die höchsten Affinitäten an diesem Rezeptor erreichten die natürlichen Liganden Sialyl-Lewis<sup>x</sup>, gebunden am Polymer (Verbindungen **101** und **102**), mit einem durchschnittlichen IC<sub>50</sub>-Wert von 25 μM. Die mimetischen Polymere **103** sowie **104** wiesen eine um den Faktor 12 bis 21 geringere inhibitorische Wirkung im Vergleich zu den Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymeren **101** und **102** auf.

Die inhibitorischen Wirkungen an L-Selektin waren durchweg stärker als bei E-Selektin. So wiesen das unsulfatierte Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymer **101** sowie das mimetische Sialinsäure-Polymer **103** sehr ähnliche inhibitorische Fähigkeiten von durchschnittlich 8  $\mu\text{M}$  auf. Das ist bei dem mimetischen Polymer **103** nicht zuletzt auf das Vorhandensein von Sulfatgruppen in Form von sulfatiertem Tyramin zurückzuführen.

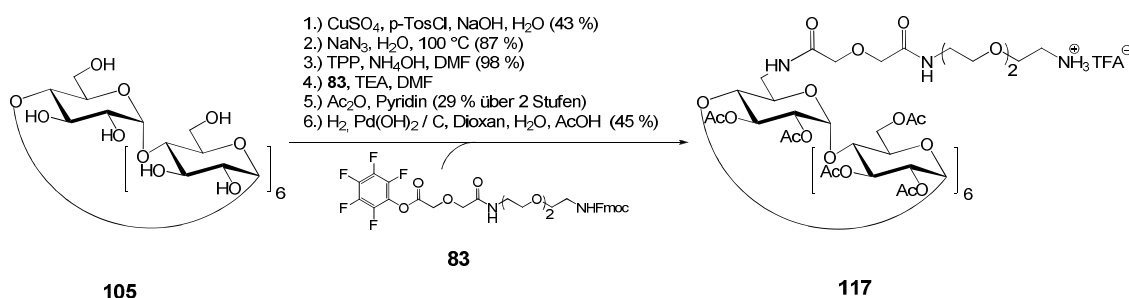
Die mit Abstand höchsten Affinitäten konnten bei P-Selektin gefunden werden. So bindet das sulfatierte Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymer **102** mit einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 70 nM. Dies stellt eine außerordentlich starke Bindung dar, die im starken Kontrast zu dem unsulfatierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Polymer **101** steht, welches mit 26  $\mu\text{M}$  an den Rezeptor bindet. Scheinbar binden die eingesetzten sulfatierten Tyramin-Einheiten besonders effektiv an P-Selektin. Dies würde auch die vergleichsweise hohe Affinität des mimetischen (S)-Cyclohexylalanin-Polymers **104** mit einem  $\text{IC}_{50}$ -Wert von 26  $\mu\text{M}$  erklären, welches bei L-Selektin und insbesondere bei E-Selektin nur mäßige Affinitäten zeigte.

Der letzte Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigte sich mit dem Thema der oligomeren Multivalenz bei Cyclodextrinen. Es wurde ein Pentafluorphenyl-Reaktivester auf Basis von  $\beta$ -Cyclodextrin (**105**) synthetisiert, der analog zu den polymeren Reaktivestern die Anbindung von primären Aminen ermöglicht. Die Synthese des Reaktivesters besteht aus fünf Syntheseschritten, wobei die sechste Synthesestufe die Umsetzung mit dem biogenen Amin Tyramin (**86**) darstellt.



**Abb. 4.16:** Synthese eines mit Tyramin-Einheiten funktionalisierten  $\beta$ -Cyclodextrins.

Um das Feld der Anwendungen der synthetisierten Polymere zu erweitern, wurde auch ein monofunktionalisiertes  $\beta$ -Cyclodextrin synthetisiert. Dabei wurde auf den Pentafluorphenylester **83** zurückgegriffen. Die Synthese umfasst 6-Stufen und liefert ein reines monofunktionalisiertes und über Reaktivester anbindbares potentiellles Wirkstofftransportsystem.



**Abb. 4.17:** *Synthese eines monofunktionalisierten Cyclodextrins.*

Die polymeranaloge Umsetzung von Verbindung **117** wurde im Rahmen dieser Arbeit bereits durchgeführt. Es bleibt allerdings die Frage zu klären, ob und inwieweit sich das  $\beta$ -Cyclodextrin **117** oder seine deacetylierte Form als Wirkstofftransporter eignen. Durch die Modifikation auch nur einer Hydroxylgruppe konnte NMR-spektroskopisch ein deutlicher Einfluss auf die verbliebenen Kohlenhydrat-Einheiten festgestellt werden. Daher ist anzunehmen, dass sich die Komplexstabilitäten von eingelagerten Verbindungen in Bezug auf literaturbekannte Komplexstabilitäten unterscheiden werden.

## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Allgemeines und Messgeräte

Sämtliche Reaktionen wurden, sofern nicht anders angegeben, bei Raumtemperatur und unter Rühren durchgeführt. Destillationen, die im Vakuum oder Hochvakuum stattfanden, wurden bei einer Wasserbadtemperatur von 40 °C ausgeführt.

#### Entgasen von Flüssigkeiten für die Polymerisation (Pump and Freeze)

Der zu entgasende Ansatz, der das Reaktionsgefäß maximal bis zur Hälfte ausfüllt, wird in flüssigem Stickstoff eingefroren und anschließend im Hochvakuum evakuiert. Der Kolben wird vom Vakuum getrennt, wobei das Vakuum im Kolben bestehen bleibt, bei Raumtemperatur aufgetaut, mit Argon geflutet und erneut dem Zyklus von Einfrieren, Evakuieren und Auftauen unterworfen.

#### Lösemittel

Sämtliche zum Einsatz gekommenen Lösemittel wiesen den Reinheitsgrad *pro analysi* (p.a.) auf.

Absolutes Acetonitril, 1,2-Dichlorethan sowie *N,N*-Dimethylformamid wurden von den Firmen *Acros Organics*, Geel (Belgien) sowie *Sigma-Aldrich*, St. Louis (USA) in Septumflaschen bezogen.

Die Lösemittel Dioxan und Tetrahydrofuran wurden über einer Kalium-Natriumlegierung mit Benzophenon bei Bedarf absolutiert und frisch destilliert.

Die Lösemittel Dichlormethan, Chloroform und Pyridin wurden über Calciumhydrid bei Bedarf absolutiert und frisch destilliert.

Methanol wurde bei Bedarf über Magnesium absolutiert und frisch destilliert.

#### Molekularsieb

Es wurde Molekularsieb der Porengröße 3 Å sowie 4 Å in Pulverform der Firma Sigma Aldrich, St. Louis (USA) verwendet. Vor jedem Einsatz wurde das Molekularsieb mit

einer Quarzlampe für 3-4 Stunden im Hochvakuum ausgeheizt und anschließend unter einer Argonatmosphäre gelagert.

### Dünnschichtchromatographie

Zur dünn-schichtchromatographischen Analyse wurden Aluminiumfertigplatten der Firma Merck, Darmstadt verwendet. Für Normalphasentrennungen (NP: *Normal-Phase*) wurden Kieselgelplatten des Typs 60 F<sub>254</sub>, für Umkehrphasentrennungen (RP: *Reversed-Phase*) hydrophob modifizierte Kieselgelplatten des Typs RP 18 F<sub>254S</sub> eingesetzt.

Die Detektion erfolgte mittels UV-Licht der Wellenlängen 254 nm und 303 nm sowie der folgenden Färbereagenzien:

- „Zucker-Reagenz“:  
2.5 ml 3-Methoxyphenol, 200 ml Ethanol und 5.5 ml konz. Schwefelsäure.
  
- „Seebach-Reagenz“:  
2.0 g Cer(IV)-sulfat, 5.0 g Molybdätophosphorsäure, 188 ml Wasser und 12 ml konz. Schwefelsäure.
  
- „Ninhydrin-Reagenz“:  
0.6 g Ninhydrin, 200 ml Ethanol und 6 ml Eisessig.
  
- „Kaliumpermanganat-Reagenz“:  
2.0 g Kaliumpermanganat, 10.0 g Natriumcarbonat und 200 ml Wasser.
  
- Iod-Kammer:  
Seesand (Füllhöhe ca. 2 cm), Iod

Die Entwicklung der Chromatogramme erfolgte, nach Eintauchen in eine der oben genannten Lösungen (mit Ausnahme der Anfärbung durch Iod), durch Wärme-einwirkung.



### Flashchromatographie

Flashchromatographische Trennungen wurden an Kieselgel mit einer Partikelgröße von 35-70  $\mu\text{m}$  der Firma *Acros Organics*, Geel (Belgien) vorgenommen. Es wurde mit einem Überdruck von ca. 0.7 bar gearbeitet.

### Filterkartuschen

Zum Entfernen von Palladium auf Aktivkohle kamen Reversed-Phase Filterkartuschen der Firma *Machery-Nagel*, Düren (Deutschland) vom Typ Chromabond<sup>®</sup> C<sub>18</sub> Hydra zum Einsatz. Die Filterkartuschen wurden vor ihrem Einsatz mit den jeweils in den Versuchsvorschriften vermerkten Eluenten konditioniert.

### Dialysemembranen

Zur Reinigung von Polymeren kamen Dialysemembranen der Firma *Spectrum*, Rancho Dominguez (USA) vom Typ Spectra/Por<sup>®</sup> 3 aus regenerierter Cellulose mit einer Ausschlussgrenze von 3500 g/mol zum Einsatz. Die Dialysemembranen wurden vor ihrer Verwendung in dest. Wasser konditioniert und während der Dialyse magnetisch gerührt. Das Dialysegewässer wurde während der Reinigung (Dialysedauer ca. 48-72 h) mehrfach ausgetauscht.

### Drehwerte

Die Messung der spezifischen Drehwerte erfolgte mittels eines Polarimeters der Firma *Perkin Elmer*, Wellesley (USA) vom Typ 241 bei den Wellenlängen 546 nm sowie 578 nm in einer 10 cm langen Polarimeterzelle. Die Drehwerte wurden auf die Natrium-D-Linie ( $\lambda = 589 \text{ nm}$ ) interpoliert. Sämtliche Drehwerte wurden bei der Umgebungstemperatur gemessen, wobei die entsprechende Temperatur, das verwendete Lösemittel sowie die Konzentration der Probe bei den Drehwerten vermerkt ist. Nach der allgemeinen Konvention werden keine Einheiten angegeben.

### Schmelzpunkte

Schmelzpunkte wurden mit einem automatischen Schmelzpunktblock der Firma *Mettler-Toledo*, Greifensee (Schweiz) vom Typ FP62 gemessen und sind nicht korrigiert.

### Elementaranalysen

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

### pH-Wert Bestimmungen

pH-Werte wurden in organischen Lösemitteln mit pH-Indikatorstäbchen der Firma *Merck*, Darmstadt, die über einen kovalent gebundenen Indikator verfügen, bestimmt.

Hierbei kamen folgende Produkte zum Einsatz:

- *Acilit*<sup>®</sup> (pH-Bereich: 0-6)
- *Neutalit*<sup>®</sup> (pH-Bereich: 5-10)
- *Alkalit*<sup>®</sup> (pH-Bereich: 7.5-14)
- *Universalindikator* (pH-Bereich: 0-14)

Es war hierbei unerlässlich, die pH-Indikatorstäbchen vor ihrer Verwendung mit Wasser anzufeuchten und dann mit Zellstoff zu trocknen. Anschließend wurden die Stäbchen ausreichend lange (mindestens 15 s) in die zu messende Probe eingetaucht und anschließend der pH-Wert direkt abgelesen.

Genaue pH-Wert Messungen in wässrigen Lösemitteln erfolgte mittels eines elektronischen pH-Wert Messgerätes der Firma *WTW*, Weilheim vom Typ pH 538. Als pH-Elektrode kam das Modell *SenTIX 61* der gleichen Firma zum Einsatz. Die Kalibrierung des pH-Wert Messgerätes erfolgte mit Kalibrierlösungen der pH-Werte  $4.00 \pm 0.05$ ,  $7.00 \pm 0.05$  sowie  $10.00 \pm 0.05$ .

### Massenspektroskopie

FD-Massenspektren wurden mit einem Massenspektrometer der Firma *Thermo Electron*, Boston (USA) vom Typ *Finnigan-MAT-95* aufgenommen.

ESI-Massenspektren wurden mit einem der folgenden Massenspektrometer aufgenommen:

- Gerät 1: Navigator-Instrument der Firma *Thermo Electron*, Boston (USA).  
Messparameter: Flussrate: 0.75 ml/min, Cone-Voltage: 35-70 V, Stickstoffstrom: 300 l/min. Die Substanzproben wurden unter Verwendung von Acetonitril/Methanol und/oder Wasser als Lösemittel (eventueller Zusatz von 0.1 % TFA) mit einer Konzentration von 0.1 mg/ml angesetzt und vor der Messung über einen PTFE- oder PVDF-Spritzenfilter filtriert.
- Gerät 2: Micromass-Q-TOF-Ultima-3 Spektrometer der Firma *Waters*, Milford (USA). Messparameter: Flussrate: 5 µl/min, Cone-Voltage: 70-80 V.  
Probenvorbereitung: siehe Gerät 1.

Die Messung von hochaufgelösten ESI-Massen (HR-ESI-MS) erfolgte mit Gerät 2. Die Kalibrierung erfolgte mit einer Lösung aus 400 mg Natriumiodid und 10 mg Cäsiumiodid in einem Gemisch aus Wasser und Isopropanol (1:1), wobei der Gerätehersteller eine Genauigkeit von mindestens 5 ppm für den Quotienten aus dem Differenzbetrag der gemessenen und berechneten Molekülmasse angibt. Die in dieser Arbeit angegebenen Massen beziehen sich auf die entsprechenden Neutalmoleküle, auch wenn die kationische oder anionische Form angegeben ist. Die Kalibrierung des Gerätes berücksichtigt die Masse des Elektrons von 0.000549 u. Zur Berechnung der Molmassen wurden die natürlichen Isotopenverteilungen der entsprechenden Elemente verwendet. Die Molmassenberechnung für die massenspektroskopische Betrachtung erfolgte mittels der reinen Isotope  $^1\text{H}$ ,  $^{12}\text{C}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{32}\text{S}$ ,  $^{35}\text{Cl}$  und  $^{39}\text{K}$ . Sämtliche Verbindungen wiesen in den Massenspektren die zu erwartende Isotopenverteilung auf. Zur Vereinfachung wird in dieser Arbeit in der Regel der erste Isotopenpeak angegeben.

#### Analytische und semipräparative HPLC-Trennungen

Die Analyse und Trennung von Substanzgemischen erfolgte mittels eines semipräparativen HPLC-Systems der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland). Die HPLC-Anlage bestand aus zwei HPLC-Pumpen des Typs Smartline 1000. Zur Entgasung der Lösemittel wurde ein 2-Kanal-Online-Degasser mit einem Totvolumen von 7.7 ml pro Kanal eingesetzt. Die Durchmischung der eingesetzten Lösemittel erfolgte in einem dynamischen Mischer mit einem internen Volumen von 5.9 ml.

Für die Detektion kamen ein UV/VIS-Detektor vom Typ Smartline 2500 und ein RI-Detektor des Typs Smartline 2400 zum Einsatz. Die Probenschleife wies eine maximale Füllkapazität von 2000 µl auf, wobei für analytische Messungen 20 µl an Probe injiziert wurden. Die Steuerung der HPLC-Anlage und die Auswertung der HPLC-Chromatogramme erfolgten rechnergestützt mittels der Software ChromGate® in der Version 3.1.7.

Als Eluent für Reversed-Phase-Trennungen kam ein Gemisch aus Acetonitril in HPLC-Qualität der Firma *VWR International*, West Chester (USA) und Milli-Q-Wasser zum Einsatz. Bei Bedarf wurden die Eluenten mit 0.1 % TFA versetzt. Die Flussraten lagen bei analytischen Messungen bei 1.00 ml/min und bei semipräparativen Trennungen bei 10.00 ml/min. Die für die analytischen und semipräparativen Trennungen verwendete Wellenlänge betrug 214 nm.

Semipräparative Trennungen von polymeren Systemen wurden mittels einer Gelpermeationssäule durchgeführt. Hierbei wurde ein isokratischer Eluent aus 50 % Milli-Q-Wasser und 50 % Methanol p.a. der Firma *Sigma-Aldrich*, St. Louis (USA) verwendet.

Für analytische und semipräparative Trennungen wurden die folgenden HPLC-Säulen eingesetzt:

#### Säule A (analytisch)

Hersteller: *MZ-Analytik*, Mainz (Deutschland)  
Dimension: 250 mm x 4.0 mm  
Säulenmaterial: MZ-Gel SD-Plus, RP-C18, 5 µm  
Flussrate: 1.00 ml/min

#### Säule P1 (semipräparativ)

Hersteller: *Phenomenex*, Torrance (USA)  
Dimension: 250 mm x 30.0 mm  
Säulenmaterial: Luna RP-C18(2), 100 A, Axia, 10 µm  
Flussrate: 10.00 ml/min

Säule P2 (semipräparativ)

Hersteller: *Agilent Technologies*, Santa Clara (USA)

Dimension: 250 mm x 25.0 mm

Säulenmaterial: PL-Aquagel 30, 8  $\mu\text{m}$  (GPC)

Flussrate: 10.00 ml/min

Folgende Gradienten kamen für analytische- (Ana-Methoden) und semipräparative Trennungen (Präp-Methoden) zum Einsatz:

Gradient: Ana-1/Präp-1

Zeit (min)	Wasser (%)	Acetonitril (%)
0	95	5
40	0	100
60	0	100

Gradient: Ana-2/Präp-2

Zeit (min)	Wasser (%)	Acetonitril (%)
0	10	90
20	0	100
40	0	100

Gradient: Ana-3/Präp-3

Zeit (min)	Wasser (%)	Acetonitril (%)
0	20	80
30	0	100
50	0	100

Gradient: Ana-4/Präp-4

Zeit (min)	Wasser (%)	Acetonitril (%)
0	80	20
35	10	90
50	0	100

### SPR-Messungen

Die SPR-Messungen wurden am Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie der Charité in Berlin durchgeführt.

Die Ermittlung der Bindungsstärke der synthetisierten Verbindungen erfolgte mittels eines SPR-Gerätes der Firma *Biacore*, Uppsala (Schweden) vom Typ „X“. Der für die Messungen verwendete Sensorchip SA wies zwei Spuren auf, wobei eine Spur 20 Mol-% immobilisiertes Sialyl-Lewis<sup>x</sup> sowie 5 Mol-% sulfatiertes Tyrosin auf Polyacrylamid-basis enthielt. Die Referenzspur enthielt *N*-Acetyl-lactosamin ebenfalls auf Basis von Polyacrylamid (LacNAc-PAA). Die eingesetzten Protein A-beschichteten Gold-Nano-

partikel (Durchmesser: 15 nm) wurden von der Firma *Biotrend Chemikalien GmbH*, Köln (Deutschland) bezogen. Das L-Selektin-IgG, P-Selektin-IgG and E-Selektin-IgG wurde von der Firma *R&D Systems GmbH*, Wiesbaden-Nordenstadt (Deutschland) bezogen.

Sämtliche Messungen und Verdünnungsschritte erfolgten in der wie folgt zusammengesetzten Pufferlösung:

- 20 mM HEPES-Puffer
- 150 mM Natriumchlorid-Lösung
- 1 mM Calciumchlorid-Lösung

#### Durchführung der SPR-Messungen

Für einen Messansatz werden 30 µl der Gold-Nanopartikellösung 15 min bei 15000 UPM zentrifugiert, die klare Lösung abdekantiert und die roten Gold-Nanopartikel in ca. 12 µl Pufferlösung resuspendiert. Man gibt 6 µl einer 20 nM E-, L- oder P-Selektin-IgG-Lösung zu, füllt auf 30 µl mit Pufferlösung auf und inkubiert 30 min bei Raumtemperatur unter Schütteln. Anschließend werden weitere 30 µl Puffer-Lösung zugegeben (Endvolumen 60 µl). Die auf diese Weise vorbereitete Selektin-Gold-Nanopartikellösung wird direkt vor der Messung mit Inhibitor (gelöst in Pufferlösung) für 18 min inkubiert und anschließend in das SPR-Gerät injiziert.

Messparameter:

- Injektionsvolumen: 35 µl
- Flussrate: 20 µl/min
- Injektionszeit: 105 s
- Dissoziationszeit: 180 s
- Messtemperatur: 25 °C

Nach jeder Messung wurde das SPR-System mit 100 µl einer 4 M Magnesiumchlorid-Lösung konditioniert. Jeder beschriebene Messpunkt stellt den Mittelwert aus mindestens drei Messungen dar.

### Charakterisierung der polymeren Systeme

Für die analytische Trennung und Charakterisierung von Polymeren wurde eine GPC-Anlage der Firma *Jasco*, Groß-Umstadt (Deutschland) verwendet. Es kamen hierbei eine HPLC-Pumpe vom Typ PU1580, ein Degasser vom Typ DG-2080-53 und die Detektoren mit der Typenbezeichnung UV-1575 (Ultraviolett-Detektion), RI-1530 (Brechungsindex-Detektion) und miniDAWN (Lichtstreu-Detektion, *Wyatt Technology*, Santa Barbara, USA) zum Einsatz. Die Probenaufgabe (Probenkonzentration jeweils 3-4 mg/ml) erfolgte automatisch über einen Probengeber mit der Bezeichnung AS-1555. Als Eluent kam Tetrahydrofuran p.a. (stabilisiert) der Firma *Sigma-Aldrich*, St. Louis (USA) mit einer Flussrate von 1.00 ml/min zum Einsatz.

Die Trennung der Polymere erfolgte über eine Gelpermeationssäule der Firma *MZ-Analytik*, Mainz (Deutschland) mit der Porengröße 103-104 Å. Für die Kalibration wurden Polystyrol-Standards der Firma *Polymer Standard Services*, Mainz (Deutschland) eingesetzt. Die Steuerung der Anlage und die Auswertung der Messergebnisse erfolgten rechnergestützt mit der Software *PSS WinGPC Unity* (Build 6807).

Das Molekulargewicht der polymeranalog umgesetzten Polymere basiert auf dem Molekulargewicht der Reaktivester-Polymere (bestimmt mittels GPC; Standard: Polystyrol) sowie der rechnerischen Ermittlung des Molekulargewichts bei einem vollständigem Umsatz der eingesetzten Liganden.

### UV/VIS-Spektroskopie

Für die Messung von UV/VIS-Spektren kam ein UV/VIS-Spektrometer der Firma *Jasco*, Groß-Umstadt (Deutschland) vom Typ V-630 zum Einsatz. Die Steuerung des Spektrometers und die Auswertung der Messergebnisse erfolgten rechnergestützt mit der Software *Spectra Manager* in der Version 2.04. Für sämtliche Messungen wurden Quarzglasküvetten mit einer Schichtdicke von 10 mm eingesetzt.

### NMR-Spektroskopie:

Für die Messung von Kernresonanzspektren kamen drei verschiedene NMR-Geräte der Firma *Bruker*, Billerica (USA) zum Einsatz:

- Bruker AC-300: 300 MHz- $^1\text{H}$ -NMR und 75.5 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR
- Bruker AV-400: 400 MHz- $^1\text{H}$ -NMR und 100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR
- Bruker DRX-400: 377 MHz- $^{19}\text{F}$ -NMR

Die angegebenen chemischen Verschiebungen  $\delta$  in ppm beziehen sich auf das Signal des deuterierten Lösemittels und sind relativ zum Standard Tetramethylsilan zu verstehen.

Zur Kennzeichnung der Signale aus den NMR-Spektren werden die Multiplizitäten wie folgt angegeben:

s	Singulett	h	Heptett
$s_b$	breites Singulett	t	Triplet
br	breites komplexes Signal	$t^*$	pseudo Triplet
d	Dublett	tdd	Triplet vom Dublett vom Dublett
$d_b$	breites Dublett	q	Quartett
dd	Dublett vom Dublett	$q^*$	pseudo Quartett
ddd	Dublett vom Dublett vom Dublett	m	Multiplet
dq	Dublett vom Quartett	$m_c$	zentriertes Multiplet
dt	Dublett vom Triplet		

Die Messung von 2D-NMR-Spektren erfolgte mit dem *Bruker* AM-400 NMR-Gerät. Hierbei kamen die folgenden strukturaufklärenden NMR-Techniken zur Anwendung:

- $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -Correlation Spectroscopy ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY)  
Gleichartige Kerne (homonukleare COSY) werden über ihre skalaren Kopplungen miteinander in Korrelation gesetzt. Diese Technik erlaubt es, überlappende Multipletts und Teilspektren höherer Ordnung zuzuordnen.
- $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -Total Correlated Spectroscopy ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -TOCSY)  
Gleichartige Kerne werden wie im COSY-Experiment auch über ihre skalaren Kopplungen miteinander in Korrelation gesetzt. Darüber hinaus werden auch Kopplungen registriert, die über mehrere Bindungen indirekt hinausgehen und dem gleichen Spinsystem zugeordnet werden können. Dieses Experiment ist für hochmolekulare Substanzen mit begrenzten Spinsystemen geeignet.



- $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -Heteronuclear Single Quantum Coherence ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC)

Unterschiedlich skalar koppelnde Nuklide können hierbei korreliert werden. In dieser Arbeit wurden  $^1\text{H}$ - zu  $^{13}\text{C}$ -Korrelationen gemessen. Auf diese Weise konnten die einzelnen Wasserstoffatome direkt ihren zugehörigen Kohlenstoffatomen zugeordnet werden.

- $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -Heteronuclear Multiple Bond Coherence ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HMBC)

Wie beim HSQC-Experiment, werden unterschiedliche Kerne korreliert. Der Unterschied zu dem zuvor beschriebenen Experiment besteht darin, dass bei einem HMBC-Experiment Kopplungen über mehrere Bindungen hinweg erfasst werden. Somit können die in Nachbarschaft zu einem Wasserstoffkern befindlichen Kohlenstoffkerne erkannt und zugeordnet werden.

Die als „pseudo“ gekennzeichneten Wasserstoffsignale weisen eine sehr ähnliche Kopplung zu zwei bzw. drei Kernen auf, die chemisch und magnetisch nicht äquivalent sind. Daher kann die Kopplung, die für diese Kerne angegeben ist, nur als ungefähr („ $\approx$ “) angesehen werden. Ist die Lage eines Protons innerhalb eines Multipletts mittels zweidimensionaler NMR-Experimente oder bereits anhand seines Aufspaltungsmusters erkennbar, so werden die chemischen Verschiebungen und, falls ersichtlich, auch die Multiplizität sowie die Kopplungskonstante(n) in geschweiften Klammern { } angegeben. Um innerhalb von Cyclodextrinen einen monosubstituierten Baustein zu kennzeichnen, werden die entsprechenden Signale, sofern identifizierbar, mit einem Apostroph („'“) versehen.

Die Zuordnung der Wasserstoff- und Kohlenstoffsignale mittels der oben beschriebenen zweidimensionalen Verfahren hat nicht in allen Fällen zu einer vollständigen Interpretation der NMR-Spektren geführt, da die Auflösung der  $^1\text{H}$ -NMR- sowie die der  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren höher ist als die digitale Auflösung des Spektrometers im zweidimensionalen Modus. Daher kann die Zuordnung einzelner Signale mit Unsicherheiten behaftet sein.

Die Zuordnungen der Kohlenhydratsignale bei den mimetischen Polymeren beziehen sich, sofern kein anomerenreines Kohlenhydrat eingesetzt wurde, auf die entsprechenden  $\alpha$ -Anomere.

Für die einzelnen Bausteine werden die folgenden Abkürzungen verwendet:

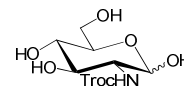
CD	Cyclodextrin
Cyclo	Cyclohexanring von (S)-Cyclohexylalanin, (S)-Cyclohexylalanin-Baustein
Fuc	L-Fucose
Gal	D-Galactose
GlcN	D-Glucosamin
HPA	Hydroxypropylamid
PMA	Polymethacrylamid
Sia	Sialinsäure; <i>N</i> -Acetyl-D-neuraminsäure
Spa	Spacer
Tyr	Tyramin

## 5.2 Die Synthesen der Monosaccharide und des Spacers

### 5.2.1 Die Synthese des Glucosamin-Bausteins

**2-Desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranose (2)**<sup>[170, 171]</sup>

( $\alpha,\beta$ -GlcNTroc-OH)



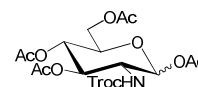
In einem 2 l Erlenmeyerkolben werden 400 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung vorgelegt und unter gut wirksamer mechanischer Rührung mit 56.0 g (260 mmol) D-Glucosamin-Hydrochlorid (**1**) versetzt. Die Lösung wird dann innerhalb von 35 min tropfenweise mit 66.2 g (312 mmol) Chlorameisensäure-2,2,2-trichlorethylester versetzt und 3 h gerührt. Nach 1 h werden weitere 300 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung zugefügt. Das Ende der Reaktion kündigt sich durch eine nachlassende Schaumbildung an. Das Rohprodukt wird anschließend abgesaugt, portionsweise mit 500 ml Wasser und 300 ml eiskaltem Diethylether gewaschen, im Hochvakuum bei 40 °C getrocknet und ohne Reinigung und Charakterisierung der nachfolgenden Reaktion zugeführt.

Ausbeute: 78.5 g (221 mmol, 85 %); farbloser amorpher Feststoff.

$C_9H_{14}Cl_3NO_7$  (354.57)

**1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranose (3)**<sup>[170, 171]</sup>

( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>3</sub>GlcNTroc-OAc)



Eine Lösung von 78.5 g (221 mmol)  $\alpha,\beta$ -GlcNTroc-OH (**2**) in 400 ml Pyridin wird tropfenweise bei 0 °C mit 200 ml (216 g, 2.12 mol) Acetanhydrid zügig versetzt. Nach 17 h Rühren bei Raumtemp. wird das überschüssige Acetanhydrid sowie das Lösemittel im Hochvakuum entfernt und der schwach gelbe hochviskose Rückstand in Diethylether aufgenommen und mehrfach mit dest. Wasser gewaschen. Das Entfernen der Lösemittel erfolgt im Vakuum, wobei die Trocknung des Rohprodukts im Hochvakuum vorgenommen wird. Erhalten wird ein  $\alpha,\beta$ -Anomerengemisch ( $\alpha:\beta = 100:2.8$ , mittels NMR-Spektroskopie bestimmt).

Ausbeute: 112.6 g (215 mmol, 97 %), Lit.:<sup>[171]</sup> 92 % bezogen auf D-Glucosamin-Hydrochlorid; farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.38$  (cHex/EtOAc, 1:1),  $R_f = 0.66$  (cHex/EtOAc, 2:3).

Charakteristische NMR-Signale zur Bestimmung des Anomerenverhältnisses:

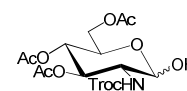
300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = 6.22 (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 3.7$  Hz, H1-GlcN <sup>$\alpha$</sup> ), 5.73 (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 8.8$  Hz, H1-GlcN <sup>$\beta$</sup> ).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [ $m/z$ ] = 544.01 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 544.02),  
585.10 ([M+CH<sub>3</sub>CN+Na]<sup>+</sup>, ber.: 585.04).

C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>11</sub> (522.72)

### 3,4,6-Tri-O-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranose (4)<sup>[171]</sup>

( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>3</sub>GlcNTroc-OH)



Eine Lösung von 70.2 g (134 mmol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>3</sub>GlcNTroc-OAc (**3**) in 650 ml *N,N*-Dimethylformamid wird mit 16.0 g (174 mmol, 1.3 Äquiv.) Hydrazinacetat in einer Portion versetzt und der Ansatz 40 min gerührt, wobei der Reaktionsfortschritt kontinuierlich mittels Dünnschichtchromatographie überprüft wird. Die Entfernung des Lösemittels erfolgt zügig im Hochvakuum, wobei der Rückstand anschließend mit 100 ml dest. Wasser, 100 ml Natriumchlorid-Lösung und nochmals mit 100 ml Wasser gewaschen wird. Das Extrahieren der vereinigten wässrigen Phasen erfolgt mit Ethylacetat (3 x 80 ml), die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes wird flashchromatographisch an Kieselgel vorgenommen (cHex /EtOAc, 3:2).

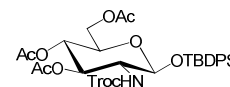
Ausbeute: 44.4 g (92.3 mmol, 69 %), Lit.:<sup>[171]</sup> 83 %; farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.21$  (cHex/EtOAc, 3:2).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [ $m/z$ ] = 502.03 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 502.01),  
542.99 ([M+CH<sub>3</sub>CN+Na]<sup>+</sup>, ber.: 543.03).

C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>10</sub> (480.68)

***tert*-Butyldiphenylsilyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- $\beta$ -D-glucopyranosid (5)<sup>[172]</sup>**

( $\beta$ -Ac<sub>3</sub>GlcNTroc-OTBDPS)



Eine Lösung von 4.25 g (62.4 mmol) Imidazol, 0.50 g 4-(Dimethylamino)pyridin in 250 ml *N,N*-Dimethylformamid wird mit 20.0 g (41.6 mmol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>3</sub>GlcNTroc-OH (4) sowie 17.3 g (62.8 mmol) *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid versetzt und bei 60 °C 30 h erhitzt. Anschließend wird das Lösemittel im Hochvakuum entfernt, der Rückstand zweimal mit je 80 ml Toluol kodestilliert und anschließend flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc, 2:1) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 25.5 g (35.5 mmol, 86 %); Lit.:<sup>[172]</sup> 99 %; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = +8$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>[172]</sup>  $[\alpha]_D^{24} = +8$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.81$  (cHex/EtOAc, 2:3).

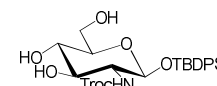
300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 7.70-7.62$  (m, 4H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 7.43-7.34 (m, 6H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 5.06-4.94 (q, 2H, H4-GlcN {<sup>3</sup> $J_{H4,H3} \approx {}^3J_{H4,H5} \approx 9.2$  Hz}), H3-GlcN {4.94, <sup>3</sup> $J_{H3,H2} \approx {}^3J_{H3,H4} \approx 9.2$  Hz}), 4.86 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,H2} = 9.6$  Hz, NH-GlcN), 4.74 (d, 1H, <sup>2</sup> $J = 12.1$  Hz, CH<sub>2a</sub>-Troc), 4.57-4.52 (m, 2H, CH<sub>2b</sub>-Troc {4.54, d, <sup>2</sup> $J = 11.7$  Hz}, H1-GlcN {4.52, d, <sup>3</sup> $J_{H1,H2} = 8.1$  Hz}), 4.05 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{H6,H5} = 5.5$  Hz, <sup>2</sup> $J_{H6a,H6b} = 12.1$  Hz, H6a-GlcN), 3.97-3.88 (m, 2H, H6b-GlcN {3.93, dd, <sup>3</sup> $J_{H6b,H5} = 2.4$  Hz, <sup>2</sup> $J_{H6b,H6a} = 12.1$  Hz}, H2-GlcN), 3.40-3.36 (m<sub>c</sub>, 1H, H5-GlcN), 1.99, 1.98, 1.96 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub>-Ac), 1.01 (s, 9H, CH<sub>3</sub>-<sup>t</sup>Bu).

ESI-MS (Gerät 1, positiv):  $[m/z] = 739.96$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 740.12).

C<sub>31</sub>H<sub>38</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>10</sub>Si (719.08)

***tert*-Butyldiphenylsilyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- $\beta$ -D-glucopyranosid (6)<sup>[172]</sup>**

( $\beta$ -GlcNTroc-OTBDPS)



Eine Lösung von 25.5 g (35.5 mmol)  $\beta$ -Ac<sub>3</sub>GlcNTroc-OTBDPS (5) in 450 ml Methanol wird mit einer katalytischen Menge verdünnter Natriummethanolat-Lösung solange versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5 erreicht ist. Es wird 4 h gerührt und das

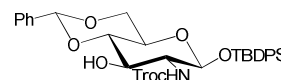
Reaktionsgemisch mit dem sauren Ionenaustauscher Amberlyst 15 neutralisiert. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert, mit 100 ml Methanol gewaschen und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der ölige Rückstand wird flashchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: cHex/EtOAc, 2:5) gereinigt.

Ausbeute: 20.9 g (35.2 mmol, 99 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.36$  (Tol/EtOH, 5:1),  $R_f = 0.25$  (cHex/EtOAc, 2:5).

$C_{25}H_{32}Cl_3NO_7Si$  (592.97)

**tert-Butyldiphenylsilyl-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonyl-amino)- $\beta$ -D-glucopyranosid (7)**<sup>[172]</sup>

( $\beta$ -4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS)



Unter Rühren werden bei 40 °C 20.6 g (34.7 mmol)  $\beta$ -GlcNTroc-OTBDPS (**6**) in 450 ml Acetonitril gelöst und mit 10.0 g (65.7 mmol, 1.9 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal versetzt. Mit einer Lösung von *p*-Toluolsulfonsäure in Acetonitril wird ein pH-Wert von 3.0-3.5 eingestellt, der Ansatz 5 h bei 40 °C gerührt und anschließend mit *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) neutralisiert. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc; 3:1) an Kieselgel.

Ausbeute: 19.5 g (28.6 mmol, 82 %); Lit.:<sup>[172]</sup> 86 % bezogen auf **5**; farbloser Feststoff;  $[\alpha]_D^{22} = -20$  ( $c = 1.00$ ,  $CHCl_3$ ), Lit.:<sup>[172]</sup>  $[\alpha]_D^{24} = -23$  ( $c = 1.00$ ,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.52$  (cHex/EtOAc, 2:1).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ):  $[\delta/ppm] = 7.71-7.64$  (m, 4H,  $H_{Ar-Ph}$ ), 7.48-7.36 (m, 8H,  $H_{Ar-Ph}$ ), 7.32-7.27 (m, 3H,  $H_{Ar-Ph}$ ), 5.48 (s, 1H, CH-Bzn), 4.83 (d, 1H,  $^3J_{NH,H2} = 8.2$  Hz, NH-GlcN), 4.70 (d, 1H,  $^2J = 11.8$  Hz,  $CH_{2a-Troc}$ ), 4.62 (d, 1H,  $^2J = 12.0$  Hz,  $CH_{2b-Troc}$ ), 4.51 (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 7.0$  Hz, H1-GlcN), 4.05 (dd, 1H,  $^3J_{H6a,H5} = 4.8$  Hz,  $^2J_{H6a,H6b} = 10.3$  Hz, H6a-GlcN), 3.70-3.49 (m, 4H, H6b-GlcN, H2-GlcN, H3-GlcN, H4-GlcN), 3.13-3.05 (m, 2H, H5-GlcN, 3-OH-GlcN), 1.08 (s, 9H,  $CH_3-tBu$ ).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR ( $CDCl_3$ ):  $[\delta/ppm] = 154.67$  (C=O-Troc), 136.95 ( $C_{ipso-Bzn}$ ), 135.92, 135.83 ( $C_{o,m,p-Ph}$ ), 132.81, 132.54 ( $C_{ipso-Ph}$ ), 130.09, 129.97, 129.30, 128.32, 127.71, 127.50, 126.32 ( $C_{o,m,p-Ph}$ ), 101.84 (CH-Bzn), 96.24 (C1-GlcN), 81.34 (C4-GlcN), 74.87

(CH<sub>2</sub>-Troc), 71.57 (C3-GlcN), 68.35 (C6-GlcN), 65.97 (C5-GlcN), 60.34 (C2-GlcN), 26.73 (CH<sub>3</sub>-<sup>t</sup>Bu), 19.18 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

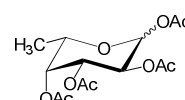
ESI-MS (Gerät 1, positiv):  $[m/z] = 702.14$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 702.12).

C <sub>32</sub> H <sub>36</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>7</sub> Si (681.08)	ber.:	C 56.43	H 5.33	N 2.06
	gef.:	C 56.55	H 5.33	N 1.86

## 5.2.2 Die Synthese des Fucose-Bausteins

### 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranose (**9**)<sup>[177]</sup>

( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>3</sub>Fuc-OAc)



Eine Suspension von 25.0 g (152 mmol) L-Fucose (**8**) in 400 ml Pyridin wird bei 0 °C innerhalb von einer Stunde mit 205 ml (221 g, 2.17 mol) Acetanhydrid versetzt und 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das überschüssige Acetanhydrid sowie das Lösemittel werden anschließend im Hochvakuum entfernt und der Rückstand zweimal mit 100 ml Toluol kodestilliert. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt flashchromatographisch auf Kieselgel (Laufmittel: cHex/EtOAc, 3:2). Es wird hauptsächlich das  $\alpha$ -Anomer gebildet ( $\alpha:\beta = 10:1$ , mittels NMR-Spektroskopie bestimmt).

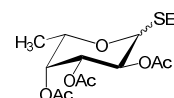
Ausbeute: 54.2 g (163 mmol, quant.); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.40$  (cHex/EtOAc, 3:2).

Charakteristische Signale zur Bestimmung des Anomerenverhältnisses:

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 6.33$  (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 2.2$  Hz, H1-Fuc <sup>$\alpha$</sup> ), 5.67 (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 8.1$  Hz, H1-Fuc <sup>$\beta$</sup> ).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 355.11$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 355.10).

C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub> (332.30)

**Ethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranosid (10)**<sup>[177]</sup> $(\alpha,\beta\text{-Ac}_3\text{Fuc-SEt})$ 

Eine Lösung von 19.8 g (59.6 mmol)  $\alpha,\beta\text{-Ac}_3\text{Fuc-OAc}$  (**9**) in 250 ml absol. Dichlormethan wird mit ca. 10 g Molekularsieb (3 Å) unter einer Argonatmosphäre 30 min gerührt, mit 5.4 ml (4.5 g, 72.1 mmol, 1.2 Äquiv.) Ethanthiol versetzt und weitere 30 min gerührt. Der Ansatz wird auf 0 °C abgekühlt und mit 19.5 ml (21.8 g, 154 mmol, 2.6 Äquiv.) Bortrifluorid-Diethyletherat (48 %) innerhalb von 20 min tropfenweise versetzt. Nach 18 h Rühren bei Raumtemp. wird der Ansatz über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und das Filtrat mit je zweimal 250 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung sowie mit 150 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die Extraktion der vereinigten wässrigen Phasen erfolgt mit 2 x 75 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc, 5:1) an Kieselgel gereinigt.

Gesamtausbeute: 16.1 g (48.1 mmol, 81 %).

$\alpha,\beta$ -Gemisch: 1.45 g (4.34 mmol); schwach gelblicher wachsartiger Feststoff.

$\alpha$ -Anomer: 3.68 g (11.0 mmol); farbloses Öl;  $R_f = 0.66$  (EtOAc/cHex, 2:3).

$\beta$ -Anomer: 11.0 g (32.9 mmol); schwach gelblicher wachsartiger Feststoff;  $R_f = 0.56$  (EtOAc/cHex, 2:3).

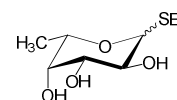
300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): [ $\delta/\text{ppm}$ ] = 5.23 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 3.3$  Hz,  $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = 0.6$  Hz, H4-Fuc), 5.17 (t\*, 1H,  $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} \approx ^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} \approx 9.9$  Hz, H2-Fuc), 4.99 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 9.9$  Hz,  $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 3.3$  Hz, H3-Fuc), 4.41 (d, 1H,  $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 9.9$  Hz, H1-Fuc), 3.78 (dq, 1H,  $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_4} = 0.6$  Hz,  $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6\text{abc}} = 6.6$  Hz, H5-Fuc), 2.78-2.59 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-Et}$ ), 2.13, 2.03, 1.95 (3 x s, 9H,  $\text{CH}_3\text{-Ac}$ ), 1.24 (t, 3H,  $^3J = 7.4$  Hz,  $\text{CH}_3\text{-Et}$ ), 1.17 (d, 3H,  $^3J_{\text{H}_6\text{abc},\text{H}_5} = 6.6$  Hz, H6a,b,c-Fuc).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB] ( $\text{CDCl}_3$ ): [ $\delta/\text{ppm}$ ] = 170.61, 170.08, 169.62 (C=O-Ac), 83.47 (C1-Fuc), 73.12, 72.31, 70.41 (C2-Fuc, C3-Fuc, C4-Fuc), 67.28 (C5-Fuc), 24.07 ( $\text{CH}_2\text{-Et}$ ), 20.81, 20.66, 20.60 ( $\text{CH}_3\text{-Ac}$ ), 16.37 (C6-Fuc), 14.69 ( $\text{CH}_3\text{-Et}$ ).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [ $m/z$ ] = 357.10 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 357.10).

$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_7\text{S}$  (334.39)



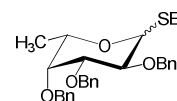
**Ethyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranosid (11)**<sup>[177]</sup> $(\alpha,\beta\text{-Fuc-SEt})$ 

Eine Lösung von 35.1 g (105 mmol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>3</sub>Fuc-Set (**10**) in 450 ml Methanol wird solange tropfenweise mit verdünnter Natriummethanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 9.0-9.5 erreicht ist. Nach 18 h Rühren erfolgt eine Neutralisation mit Amberlyst® 15. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert, gewaschen und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet und das Rohprodukt ohne Reinigung der nachfolgenden Reaktion unterworfen.

Rohausbeute: 21.6 g (max. 104 mmol); bräunlicher Feststoff;  $R_f = 0.29$  (Tol/EtOH, 4:1).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 231.07$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 231.07).

C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>S (208.28)

**Ethyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranosid (12)**<sup>[177]</sup> $(\alpha,\beta\text{-Bn}_3\text{Fuc-SEt})$ 

Eine 0 °C kalte Lösung von 21.4 g (max. 103 mmol)  $\alpha,\beta$ -Fuc-SEt (**11**) in 450 ml *N,N*-Dimethylformamid wird unter einer Argonatmosphäre unter kräftigem Rühren portionsweise mit 24.2 g (605 mmol; 2.0 Äquiv. pro OH-Gruppe) Natriumhydrid in Mineralöl (60 %) versetzt. Die anfänglich schwach bräunliche Lösung geht bei fortschreitender Zugabe von Natriumhydrid unter Gasentwicklung in eine viskosere dunkelgelbe Suspension über. Nach beendeter Zugabe werden ebenfalls bei 0 °C 40.0 ml (57.6 g, 334 mmol, 1.1 Äquiv. pro OH-Gruppe) Benzylbromid in 60 ml *N,N*-Dimethylformamid innerhalb von 40 min zugetropft. Den Ansatz lässt man auf Raumtemp. erwärmen und rührt ihn weitere 2 h. Anschließend werden, zur Vernichtung des nicht umgesetzten Natriumhydrids, vorsichtig bei 0 °C 60 ml Methanol zugetropft. Die Entfernung des Lösemittels erfolgt im Hochvakuum mit anschließender viermaliger Kodestillation mit je 60 ml Toluol. Der Rückstand wird in 250 ml Dichlormethan aufgenommen und dreimal mit je 200 ml Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 80 ml Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und flashchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: *c*Hex/EtOAc, 10:1).

Gesamtausbeute: 41.6 g (86.9 mmol, 85 % bezogen auf **10**), Lit.:<sup>[177]</sup> 56 % bezogen auf L-Fucose).

$\alpha,\beta$ -Gemisch: 37.3 g (77.9 mmol, 76 % bezogen auf **10**); schwach gelblicher wachsartiger Feststoff.

$\beta$ -Anomer: 4.30 g (8.98 mmol, 8 % bezogen auf **10**);  $[\alpha]_D^{20} = +8$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>[172]</sup>  $[\alpha]_D^{24} = +11$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.68$  ( $\text{cHex/EtOAc}$ , 3:1).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 7.41\text{-}7.24$  (m, 15H,  $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$ ), 5.00 (d, 1H,  $^2J = 11.8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-Bn}$ ), 4.91 (d, 1H,  $^2J = 10.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{-Bn}$ ), 4.81-4.67 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{-Bn}$  {4 x d, 4.81, 4.78, 4.75, 4.71,  $^2J = 10.6$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz}), 4.40 (d, 1H,  $^3J_{\text{H1,H2}} = 9.6$  Hz, H1-Fuc), 3.82 (t\*, 1H,  $^3J_{\text{H2,H1}} \approx ^3J_{\text{H2,H3}} \approx 9.2$  Hz, H2-Fuc), 3.60 (d, 1H,  $^3J_{\text{H4,H3}} = 2.6$  Hz, H4-Fuc), 3.55 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H3,H2}} = 9.2$  Hz,  $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.9$  Hz, H3-Fuc), 3.48 (q, 1H,  $^3J_{\text{H5,H6abc}} = 6.6$  Hz, H5-Fuc), 2.84-2.64 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-Et}$ ), 1.29 (t, 3H,  $^3J = 7.7$  Hz,  $\text{CH}_3\text{-Et}$ ), 1.19 (d, 3H,  $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.6$  Hz, H6a,b,c-Fuc).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 138.65, 138.43, 138.34$  ( $\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$ ), 128.40, 128.28, 128.16, 128.11, 127.66, 127.60, 127.51, 127.45 ( $\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$ ), 84.90, 84.42 (C1-Fuc, C3-Fuc), 78.30 (C2-Fuc), 75.62, 74.50, 74.48 ( $\text{CH}_2\text{-Bn}$ ), 72.82 ( $\text{CH}_2\text{-Bn}$ ), 24.62 ( $\text{CH}_2\text{-Et}$ ), 17.19 (C6-Fuc), 14.95 ( $\text{CH}_3\text{-Et}$ ).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 501.23$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 501.21),

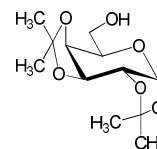
517.24 ( $[\text{M}+\text{K}]^+$ , ber.: 517.18).

$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{S}$ (478.64)	ber.: C 72.77	H 7.16	S 6.70
	gef.: C 72.90	H 7.08	S 6.29

### 5.2.3 Die Synthese des Galactose-Bausteins

#### 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose (**14**)<sup>[179]</sup>

( $\alpha$ -1,2:3,4-*i*-Prn-Gal)



Eine Suspension von 60.0 g (0.33 mol) D-Galactose (**13**) und 134.0 g (0.84 mol) wasserfreiem Kupfer(II)-sulfat wird tropfenweise mit 8 ml konz. Schwefelsäure versetzt. Nach 24 h wird die bräunliche Suspension über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und solange mit Calciumhydroxid versetzt, bis ein pH-Wert von 7 erreicht ist. Ausgefallenes Calcium-

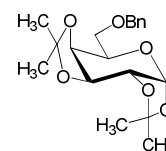
sulfat wird über Hyflo<sup>®</sup> abfiltriert und das Filtrat anschließend über einen Faltenfilter filtriert, um letzte Schwebstoffe zu entfernen. Das Entfernen des Lösemittels erfolgt im Vakuum, wobei der stark viskose Rückstand ohne Reinigung und Charakterisierung in die nachfolgende Reaktion eingesetzt wird.

Rohausbeute: 77.5 g (max. 298 mmol), Lit.:<sup>[179]</sup> 76-92 %; braunes Öl;  $R_f = 0.54$  (cHex /EtOAc, 1:2),  $R_f = 0.42$  (cHex /EtOAc, 1:1).

$C_{12}H_{20}O_6$  (260.28)

### 6-*O*-Benzyl-1,2:3,4-di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose (**15**)<sup>[180]</sup>

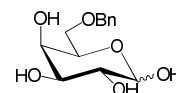
( $\alpha$ -6-Bn-1,2:3,4-*i*Prn-Gal)



Eine Lösung von 77.5 g (max. 298 mmol) rohem  $\alpha$ -6-Bn-1,2:3,4-*i*Prn-Gal (**14**) in 400 ml *N,N*-Dimethylformamid wird auf 0 °C abgekühlt und unter einem schwachem Argonstrom mit 20.4 g Natriumhydrid (510 mmol, 60 % in Mineralöl) portionsweise versetzt. Die bräunliche Lösung geht langsam in eine schwarze viskosere Suspension über. Es wird 1 h gerührt, mit 60.0 ml (86.4 g, 505 mmol) Benzylbromid in 40 ml *N,N*-Dimethylformamid tropfenweise versetzt und 16 h unter einer Argonatmosphäre gerührt. Zum Deaktivieren von überschüssigem Natriumhydrid werden 20 ml Methanol zugetropft, das Lösemittel im Hochvakuum entfernt und der Rückstand mit 3 x 70 ml Toluol kodestilliert. Der Rückstand wird in 400 ml Dichlormethan aufgenommen, dreimal mit 200 ml Wasser gewaschen und die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet. Der resultierende Rückstand wird über Kieselgel (Laufmittel: cHex/EtOAc, 10:1) gereinigt und ohne Charakterisierung in die nachfolgende Reaktion eingesetzt.

Ausbeute: 82.0 g (234 mmol, 70 % bezogen auf D-Galactose), Lit.:<sup>[180]</sup> 84 %; gelbes Öl;  $R_f = 0.48$  (cHex/EtOAc, 5:1),  $R_f = 0.83$  (cHex/EtOAc, 2:1).

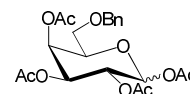
$C_{19}H_{26}O_6$  (350.41)

**6-O-Benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (16)**<sup>[180]</sup> $(\alpha,\beta$ -6-Bn-Gal)

Eine Lösung von 82.0 g (234 mmol)  $\alpha$ -6-Bn-1,2:3,4-*i*-Prn-Gal (**15**) in 1.50 l 60 %iger Essigsäure wird auf 85 °C erwärmt und 20 h gerührt. Anschließend werden die Lösemittel im Hochvakuum entfernt und der Rückstand zweimal mit je 150 ml Toluol kodestilliert und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das resultierende Produkt ist ausreichend rein und wird für die nachfolgende Umsetzung ohne Reinigung und Charakterisierung weiter verwendet.

Rohausbeute: 73.2 g (max. 273 mmol), Lit.:<sup>[180]</sup> 87 % nach Reinigung; bräunliches Öl,  $R_f = 0.17$  (cHex/EtOAc, 10:1).

$C_{13}H_{18}O_6$  (270.28)

**1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (17)**<sup>[180]</sup> $(\alpha,\beta$ -6-Bn-Ac<sub>3</sub>Gal-OAc)

Eine Lösung von 73.2 g (max. 273 mmol)  $\alpha,\beta$ -6-Bn-Gal (**16**) und 84.4 mg DMAP in 600 ml Pyridin wird auf 0 °C abgekühlt und innerhalb von 1 h mit 300 ml (324 g, 3.17 mol) Essigsäureanhydrid tropfenweise versetzt. Nach 20 h Rühren bei Raumtemp. wird das Lösemittel sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid im Hochvakuum entfernt und das Rohprodukt dreimal mit 120 ml Toluol kodestilliert. Die Reinigung erfolgt flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc, 3:1) an Kieselgel, wobei ein  $\alpha,\beta$ -Anomerengemisch erhalten wird.

Ausbeute: 86.0 g (196 mmol, 84 % bezogen auf **16**), Lit.:<sup>[180]</sup> 85 %, 74 % bezogen auf **16**; gelbes Öl,  $R_f = 0.61$  (cHex/EtOAc, 1:1).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ): [ $\delta/ppm$ ] = 7.35-7.24 (m, 10H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 6.34 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 2.6 Hz, H1-Gal <sup>$\alpha$</sup> ), 5.67 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 8.5 Hz, H1-Gal <sup>$\beta$</sup> ), 5.54 (s<sub>b</sub>, 1H, H4-Gal <sup>$\alpha$</sup> ), 5.49 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3</sub> = 3.7 Hz, H4-Gal <sup>$\beta$</sup> ), 5.32-5.25 (m, 3H, H2-Gal <sup>$\alpha$</sup> , H2-Gal <sup>$\beta$</sup> , H3-Gal <sup>$\alpha$</sup> ), 5.05 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub> = 10.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub> = 3.3 Hz, H3-Gal <sup>$\beta$</sup> ), 4.52 (d, 2H, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.40-4.35 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-Bn {2 x d, 4.37, 4.34, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz}), 4.27 (t<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H5,H6ab</sub> = 6.6 Hz, H5-Gal <sup>$\alpha$</sup> ), 3.97 (t<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H5,H6ab</sub> = 6.3 Hz, H5-Gal <sup>$\beta$</sup> ), 3.56-3.37 (m,

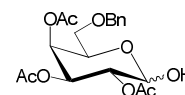
4H, H6a-Gal<sup>α</sup>, H6b-Gal<sup>α</sup>, H6a-Gal<sup>β</sup>, H6b-Gal<sup>β</sup>, 2.12, 2.08, 2.03, 2.01, 1.99, 1.97, 1.96 (7 x s, 24H, CH<sub>3</sub>-Ac).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 461.12$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 461.14),

C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub> (438.43)

### 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (**18**)<sup>[181]</sup>

( $\alpha,\beta$ -6-Bn-Ac<sub>3</sub>Gal-OH)



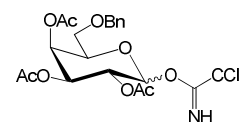
Eine Lösung von 8.70 ml (7.83 g, 130 mmol) Ethylendiamin in 120 ml Tetrahydrofuran wird innerhalb von 20 min mit 8.70 ml (9.14 g, 152 mmol) Eisessig versetzt. Es bildet sich ein farbloser Niederschlag. Zu dieser Suspension werden 30.5 g (69.6 mmol)  $\alpha,\beta$ -6-Bn-Ac<sub>3</sub>Gal-OAc (**17**) in 100 ml Tetrahydrofuran innerhalb von 1 h zugetropft. Nach 4 ½ h Rühren wird filtriert, der Filtrückstand mit 150 ml kaltem Tetrahydrofuran gewaschen, das Filtrat mit 100 ml Wasser und 200 ml Dichlormethan versetzt und extrahiert. Die organische Phase wird dann nacheinander mit 150 ml 2 M Salzsäure-Lösung, ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 100 ml Wasser gewaschen und über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: cHex/EtOAc, 2:1) gereinigt. Der Rückstand wird ohne Charakterisierung der nachfolgenden Reaktion unterworfen.

Ausbeute: 14.9 g (37.6 mmol, 54 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.51$  (cHex/EtOAc, 1:1).

C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub> (396.39)

### 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranosyl-trichloracetimidat (**19**)<sup>[178,183]</sup>

( $\alpha$ -6-Bn-Ac<sub>3</sub>Gal-OC(NH)CCl<sub>3</sub>)



Zu einer Lösung von 14.9 g (37.6 mmol)  $\alpha,\beta$ -6-Bn-Ac<sub>3</sub>Gal-OH (**18**) in 100 ml absol. Dichlormethan werden unter einer Argonatmosphäre 18.9 ml (27.2 g, 189 mmol) Trichloracetonitril und 15 Tropfen 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en gegeben, wobei sich die farblose Lösung braun verfärbt. Nach 4 h Rühren wird das Lösemittel sowie

überschüssiges Trichloracetonitril im Vakuum entfernt und das Rohprodukt einer zügigen flashchromatographischen Reinigung unterzogen (Laufmittel: cHex/EtOAc, 7:2). Erhalten wird eine reine Fraktion des  $\alpha$ -Anomers sowie die Hauptfraktion als  $\alpha,\beta$ -Anomerengemisch.

Um das reine  $\alpha$ -Anomer zu erhalten, wird das  $\alpha,\beta$ -Anomerengemisch in der gerade zum Lösen ausreichenden Menge an Ethylacetat gelöst und langsam mit Cyclohexan versetzt. Um die Kristallisation zu initiieren, wird mit einem Glasstab an der Innenwand des Gefäßes gerieben. Das  $\alpha$ -Anomer fällt als farbloser Niederschlag aus, der abgesaugt und mit kaltem Cyclohexan gewaschen wird.

Gesamtausbeute: 18.6 g (34.4 mmol, 91 %), Lit.:<sup>[183]</sup> 86 %.

$\alpha$ -Anomer: 13.7 g (25.3 mmol; 67 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[a]_D^{21} = +79$  (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>[308]</sup>  $[a]_D^{22} = +76$  (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.33$  (cHex/EtOAc, 3:1).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 8.61$  (s, 1H, NH), 7.33-7.22 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 6.56 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 3.7 Hz, H1-Gal), 5.61 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3</sub> = 1.8 Hz, H4-Gal), 5.40 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub> = 10.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub> = 3.3 Hz, H3-Gal), 5.32 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H2,H1</sub> = 3.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H2,H3</sub> = 10.6 Hz, H2-Gal), 4.51 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.40-4.41-4.33 (m, 2H, H5-Gal, CH<sub>2</sub>-Bn), 3.52 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H6a,H5</sub> = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H6a,H6b</sub> = 9.6 Hz, H6a-Gal), 3.44 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H6b,H5</sub> = 7.0 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H6b,H6b</sub> = 9.6 Hz, H6b-Gal), 2.03, 1.99, 1.98 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub>-Ac).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 170.09, 169.97, 169.88$  (C=O-Ac), 160.99 (C=NH), 137.35 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 128.39, 127.86, 127.80 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph), 93.64 (C1-Gal), 73.38 (CH<sub>2</sub>-Bn), 70.02 (C5-Gal), 67.75, 67.64 (C3-Gal, C4-Gal), 67.09, 67.02 (C2-Gal, C6-Gal), 20.65, 20.52 (CH<sub>3</sub>-Ac).

ESI-MS (Gerät 1, positiv):  $[m/z] = 562.01$  ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 562.04).

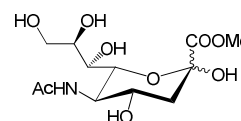
C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>9</sub> (540.78)	ber.: C 46.64	H 4.47	N 2.59
	gef.: C 46.62	H 4.50	N 2.56

### 5.2.4 Die Synthese des Neuraminsäure-Bausteins

#### Methyl-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha,\beta$ -D-galacto-non-2-ulo-pyranosonat

(**21**)<sup>[184]</sup>

( $\alpha,\beta$ -Neu5AcCOOMe)



Eine Lösung von 20.0 g (64.7 mmol) *N*-Acetyl-D-neuraminsäure (**20**) in 1000 ml Methanol wird portionsweise mit 15.0 g Ionenaustauscher Dowex<sup>®</sup> 50WX8 (100-200 Mesh) versetzt. Nach 15 h Rühren bei Raumtemp. wird der Ionenaustauscher durch zwei übereinander gesteckte Faltenfilter abfiltriert, mit Methanol gewaschen und das Lösemittel im Vakuum entfernt.

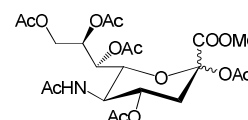
Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung und Charakterisierung der nachfolgenden Reaktion unterworfen.

Ausbeute: 20.5 g (63.4 mmol, 98 %), Lit.:<sup>[184]</sup> 97 % nach Reinigung; farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.56$  (*n*-BuOH/AcOH/H<sub>2</sub>O, 5:2:2).

C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>9</sub> (323.30)

#### Methyl-5-acetamido-2,4,7,8,9-penta-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha,\beta$ -D-galacto-non-2-ulopyranosonat (**22**)<sup>[185,186]</sup>

( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>4</sub>Neu5AcCOOMe-OAc)



Eine Lösung von 20.5 g (64.7 mmol)  $\alpha,\beta$ -Neu5AcCOOMe (**21**) in 400 ml Pyridin wird bei 0 °C tropfenweise innerhalb von 40 min mit 200 ml (216 g, 2.12 mol) Essigsäureanhydrid versetzt. Der Ansatz wird 18 h bei Raumtemp. gerührt, das Lösemittel sowie überschüssiges Acetanhydrid im Hochvakuum entfernt und der Rückstand zweimal mit je 100 ml Toluol kodestilliert. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt an Kieselgel (Laufmittel: Ethylacetat), wobei ein  $\alpha,\beta$ -Anomerengemisch erhalten wird. Das Produkt wird ohne vollständige Charakterisierung der nachfolgenden Reaktion unterworfen.

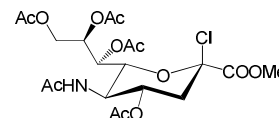
Ausbeute: 35.0 g (65.6 mmol, quant.), Lit.:<sup>[185]</sup> 97 %; farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.25$  (EtOAc).

*FD-MS (positiv):*  $[m/z] = 534.4$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 534.2).

$C_{22}H_{31}NO_{14}$  (533.48)

**Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2-chlor-3,5-dideoxy- $\beta$ -D-glycero-D-galacto-non-2-ulo-pyranosid (23)**<sup>[187]</sup>

( $\beta$ -Ac<sub>4</sub>Neu<sub>5</sub>AcCOOMe-Cl)



Zu einer Lösung von 10.0 g (18.7 mmol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>5</sub>Neu<sub>5</sub>AcCOOMe-OAc (**22**) in 75 ml Dichlormethan werden bei 0 °C innerhalb von 35 min 17.9 ml (19.7 g; 251 mmol) Acetylchlorid und anschließend innerhalb von 5 min 1.79 ml konz. Salzsäure zugetropft. Nach Entfernen der Kühlung wird in einem mit einem Septum verschlossenen Kolben (Überdruck beachten!) weitere 20 h gerührt, das Lösemittel und das Acetylchlorid im Vakuum entfernt und das Rohprodukt viermal mit je 80 ml Toluol kodestilliert. Die Endtrocknung des Rohproduktes erfolgt im Hochvakuum. Das Rohprodukt wird ohne Reinigung und ohne vollständige Charakterisierung in die nachfolgende Reaktion eingesetzt.

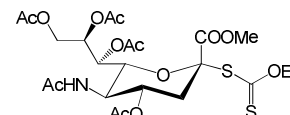
Ausbeute: 10.8 g (21.2 mmol, quant.); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.39$  (EtOAc).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 532.15$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 532.12).

$C_{20}H_{28}ClNO_{12}$  (509.89)

***O*-Ethyl-*S*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]dithiocarbonat (24)**<sup>[187]</sup>

( $\alpha$ -Ac<sub>4</sub>Neu<sub>5</sub>AcCOOMe-Xan)



Eine Lösung von 10.7 g (max. 21.0 mmol)  $\beta$ -Ac<sub>4</sub>Neu<sub>5</sub>AcCOOMe-Cl (**23**) in 90 ml Ethanol wird unter einer Argonatmosphäre mit 4.57 g (28.5 mmol) Kaliummethylxanthogenat versetzt. Es wird 23 h bei Raumtemp. unter Lichtausschluss gerührt und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt nimmt man in 200 ml Dichlormethan auf und wäscht es dreimal mit 60 ml Wasser. Die vereinigten wässrigen Phasen werden zweimal mit je 40 ml Dichlormethan extrahiert, die organischen Phasen vereinigt und



über Magnesiumsulfat getrocknet. Die Reinigung erfolgt flashchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: EtOAc/cHex, 3:1).

Ausbeute: 9.03 g (15.2 mmol, 72 %), Lit.:<sup>[187]</sup> 71 % bezogen auf **22**; schwach gelblicher amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{22} = +75$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>[187]</sup>  $[\alpha]_D^{20} = +79$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.29$  (EtOAc),  $R_f = 0.14$  (cHex/EtOAc, 1:2).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 5.31\text{-}5.23$  (m, 3H, NH-Sia, H7-Sia, H8-Sia), 4.90-4.72 (m, 2H, H4-Sia {4.86, dt\*,  $^3J_{\text{H4,H3äq}} = 4.8$  Hz,  $^3J_{\text{H4,H3ax}} \approx ^3J_{\text{H4,H5}} \approx 10.6$  Hz},  $\text{CH}_{2\text{a}}$ -Et {4.78}), 4.57-4.46 (m, 2H, H6-Sia,  $\text{CH}_{2\text{b}}$ -Et), 4.32 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H9a,H8}} = 2.6$  Hz,  $^2J_{\text{H9a,H9b}} = 12.3$  Hz, H9a-Sia), 4.18 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H9b,H8}} = 5.2$  Hz,  $^2J_{\text{H9b,H9a}} = 12.5$  Hz, H9b-Sia), 4.00 (q\*, 1H,  $^3J_{\text{H5,H4}} \approx ^3J_{\text{H5,H6}} \approx ^3J_{\text{H5,NH}} \approx 10.3$  Hz, H5-Sia), 3.77 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 2.59 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H3äq,H3ax}} = 12.9$  Hz,  $^3J_{\text{H3äq,H4}} = 4.4$  Hz, H3<sub>äq</sub>-Sia), 2.11, 2.10 (2 x s, 6H,  $\text{CH}_3$ -Ac), 2.02-1.98 (m, 7H, H3<sub>ax</sub>-Sia,  $\text{CH}_3$ -Ac {2.00, s}), 1.86 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ -Ac), 1.34 (t, 3H,  $^3J = 6.9$  Hz,  $\text{CH}_3$ -Et).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 207.14$  (C=S), 170.81, 170.53, 170.21, 170.06 (C=O-Ac), 168.65 (C1-Sia), 86.46 (C2-Sia), 75.06 (C6-Sia), 70.42 ( $\text{CH}_2$ -Et), 70.12 (C8-Sia), 68.76 (C4-Sia), 67.65 (C7-Sia), 61.98 (C9-Sia), 53.27 ( $\text{COOCH}_3$ ), 49.15 (C5-Sia), 37.05 (C3-Sia), 23.11, 21.03, 20.83, 20.77, 20.74 ( $\text{CH}_3$ -Ac), 13.28 ( $\text{CH}_3$ -Et).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 618.17$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 618.13), 634.16 ( $[\text{M}+\text{K}]^+$ , ber.: 634.10).

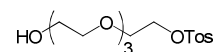
$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}_{13}\text{S}_2$  (595.64)

## 5.2.5 Die Synthese des Spacers

### Tetraethylenglycol-monotosylat (**26**)

(TosO-Spa-OH)

#### Methode A<sup>[192]</sup>



Eine Suspension von 100 g (515 mmol) Tetraethylenglycol (**25**), 40 ml Pyridin und 7 g Molekularsieb (3Å) in 200 ml absol. Dichlormethan wird 1 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend innerhalb von 90 min mit einer Lösung von 19.1 g (100 mmol, 0.19 Äquiv.)

*p*-Toluolsulfonsäurechlorid in 100 ml Dichlormethan bei Raumtemp. versetzt und 20 h unter einer Argonatmosphäre gerührt.

Anschließend wird die Suspension über Hyflo<sup>®</sup> filtriert, zweimal mit 150 ml Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Zur vollständigen Entfernung von Pyridin wird zweimal mit je 100 ml Toluol kodestilliert und das resultierende Öl im Hochvakuum getrocknet. Das monotosylierte Produkt wird in hoher Reinheit erhalten.

Ausbeute: 34.0 g (97.6 mmol, 98 %); Lit.:<sup>[192]</sup> 75 % nach Reinigung; farbloses Öl;  $R_f = 0.12$  (cHex/EtOAc, 3:2),  $R_f = 0.24$  (cHex/EtOAc, 1:4).

#### Methode B<sup>[194]</sup>

Zu einer Mischung aus 2.74 g (68.5 mmol) Natriumhydroxid in 15 ml Wasser sowie 15 ml Tetrahydrofuran werden 88.8 g (457 mmol) Tetraethylenglycol (**25**) gegeben. Die auf 0 °C abgekühlte Lösung wird unter kräftigem Rühren tropfenweise mit einer Lösung aus 8.30 g (43.5 mmol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in 100 ml Tetrahydrofuran innerhalb von 90 min versetzt. Nach weiteren 2 h Rühren bei 0 °C sowie bei Raumtemp. wird der Ansatz auf Eiswasser gegossen und viermal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert, zweimal mit je 50 ml Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt und das resultierende Öl im Hochvakuum getrocknet. Das monotosylierte Produkt wird in hoher Reinheit erhalten.

Ausbeute: 14.1 g (40.5 mmol, 93 %), Lit.:<sup>[194]</sup> 90 %; schwach gelbes Öl;  $R_f = 0.12$  (cHex/EtOAc, 3:2),  $R_f = 0.24$  (cHex/EtOAc, 1:4),  $R_f = 0.30$  (EtOAc).

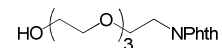
$300 \text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): [ $\delta/\text{ppm}$ ]: 7.78 (d, 2H,  $J = 8.5 \text{ Hz}$ ,  $-\text{SO}_2\text{-}o\text{-Ar-H}$ ), 7.33 (d, 2H,  $J = 8.5 \text{ Hz}$ ,  $-\text{SO}_2\text{-}m\text{-Ar-H}$ ), 4.15 (t, 2H,  $J = 4.5 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{-OTos}$ ), 3.71-3.51 (m, 14H,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ ), 2.43 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

*ESI-MS* (Gerät 2, positiv): [ $m/z$ ] = 371.09 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 371.11).

$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{S}$  (348.41).

***N*-(11-Hydroxy-3,6,9-trioxaundecyl)phthalimid (27)**<sup>[192]</sup>

(PhthN-Spa-OH)



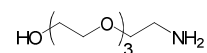
Eine Suspension von 14.1 g (40.5 mmol) Tetraethylenglycol-monotosylat (**26**), 9.00 g (48.6 mmol; 1.2 Äquiv.) Kaliumphthalimid und 3 g Molekularsieb (3 Å) in 100 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird unter kräftigem Rühren 10 h auf 150 °C erhitzt und weitere 8 h bei Raumtemp. gerührt. Feste Rückstände werden anschließend über Hyflo<sup>®</sup> abfiltriert und mit *N,N*-Dimethylformamid gewaschen. Das Lösemittel wird im Hochvakuum entfernt und der Rückstand viermal mit je 70 ml Toluol kodestilliert und flashchromatographisch (Laufmittel: EtOAc) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 9.28 g (28.7 mmol, 71 %); Lit.:<sup>[192]</sup> 57 %; leicht gelbliches Öl;  $R_f = 0.34$  (EtOAc).

$300\text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}]$ : 7.84-7.80 (m, 2H, Ar-H), 7.72-7.68 (m, 2H, Ar-H), 3.88 (t, 2H,  $J = 5.5\text{ Hz}$ , N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.72 (t, 2H,  $J = 5.8\text{ Hz}$ , N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.70-3.50 (m, 12H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 2.69 (s<sub>b</sub>, 1H, OH).

*ESI-MS* (Gerät 1, positiv):  $[m/z] = 346.18$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 346.13).

$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_6$  (323.34)

**1-Amino-11-hydroxy-3,6,9-trioxaundecan (28)**<sup>[192]</sup>(H<sub>2</sub>N-Spa-OH)

Eine Lösung von 9.00 g (27.8 mmol) *N*-(11-Hydroxy-3,6,9-trioxaundecyl)phthalimid (**27**) in 50 ml Ethanol wird mit 1.68 ml (1.72 g, 36.1 mmol) Hydrazin Hydrat (51 %) versetzt und 2 ½ h auf 80 °C erhitzt, wobei ein farbloser Feststoff ausfällt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemp. wird die Suspension mit 1.0 M Salzsäure unter Rühren bis pH-Wert 1 versetzt und das Methanol vollständig im Vakuum entfernt. Nach Verdünnen des Ansatzes mit 100 ml Wasser und einer Filtration über Hyflo<sup>®</sup> (mit Wasser nachwaschen), wird das Filtrat mit einer Natriumhydroxid-Lösung auf einen pH-Wert von 11 eingestellt und 20 min bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird das Lösemittel im Vakuum vollständig entfernt und der Rückstand in 150 ml Chloroform aufgenommen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und über Hyflo<sup>®</sup> filtriert. Das Lösemittel wird im Vakuum

entfernt und der Rückstand ohne vollständige Charakterisierung in die nächste Reaktion eingesetzt.

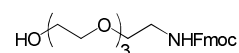
Ausbeute: 3.57 g (18.5 mmol, 66 %); orangefarbenes Öl.

*ESI-MS* (Gerät 1, positiv):  $[m/z] = 194.20$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 194.14).

$C_8H_{19}NO_4$  (193.24)

### 1-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-11-hydroxy-3,6,9-trioxaundecan (29)<sup>[193]</sup>

(Fmoc-NH-Spa-OH)



Eine 0 °C kalte Lösung von 3.22 g (16.7 mmol) 1-Amino-11-hydroxy-3,6,9-trioxaundecan (**28**) in einem Gemisch aus 50 ml Dioxan und 25 ml einer 10 %igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung wird innerhalb von 40 min mit einer Lösung von 4.09 g (15.8 mmol) Fluoren-9-ylmethoxycarbonylchlorid (Fmoc-Cl) in 35 ml Dioxan versetzt. Die Kühlung wird weitere 2 h aufrechterhalten und die Reaktionslösung dann 15 h bei Raumtemp. gerührt, mit 80 ml Wasser verdünnt und viermal mit je 80 ml Dichlormethan extrahiert. Das Rohprodukt wird über Magnesiumsulfat getrocknet, die Lösemittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch (Laufmittel: EtOAc / EtOH, 5:0.2) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 5.59 g (13.5 mmol, 85 %), Lit.:<sup>[193]</sup> 87 %; farbloses hochviskoses Öl;  $R_f = 0.27$  (EtOAc/EtOH, 5:0.2),  $R_f = 0.62$  (EtOAc/EtOH, 5:1).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ):  $[\delta/ppm] = 7.75$  (d, 2H,  $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H5,H6} = 7.5$  Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.63 (d, 2H,  $^3J_{H1,H2} = ^3J_{H8,H7} = 7.3$  Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.39 (t\*, 2H,  $^3J_{H3,H2} \approx ^3J_{H3,H4} \approx ^3J_{H6,H5} \approx ^3J_{H6,H7} \approx 7.4$  Hz, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.30 (t\*, 2H,  $^3J_{H2,H3} \approx ^3J_{H7,H6} \approx ^3J_{H7,H8} \approx 7.4$  Hz, H2-Fmoc, H7-Fmoc), 6.33 (t, 1H,  $^3J_{NH,CH2} = 5.4$  Hz, NH-Fmoc), 4.41 (d, 2H,  $^3J = 6.9$  Hz, CH<sub>2</sub>-Fmoc), 4.22 (t, 1H,  $^3J = 6.8$  Hz, H9-Fmoc), 3.74-3.44 (m, 14H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.42-3.20 (m, 2H, NH-CH<sub>2</sub>).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB] ( $CDCl_3$ ):  $[\delta/ppm] = 156.69$  (C=O-Fmoc), 144.00 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.20 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.50 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 126.91 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.01 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.80 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 72.50, 70.52, 70.31, 69.98 (CH<sub>2</sub>-O), 66.23 (CH<sub>2</sub>-Fmoc), 61.36 (CH<sub>2</sub>OH), 47.22 (C9-Fmoc), 40.82 (NH-CH<sub>2</sub>).

ESI-MS (Gerät 1, positiv):  $[m/z] = 416.15$  ( $[M]^+$ , ber.: 416.21), 438.18 ( $[M+Na]^+$ , ber.: 438.19).

HR-ESI-MS (positiv):  $[m/z] = 438.1880$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 438.1893).

$C_{23}H_{29}NO_6$  (415.48)

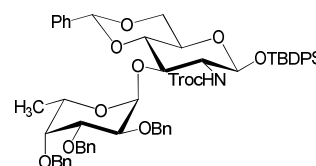
## 5.3 Die Synthesen der Oligosaccharide

### 5.3.1 Die Synthese des Disaccharids

*tert*-Butyldiphenylsilyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- $\beta$ -D-glucopyranosid

(**31**)<sup>[172]</sup>

( $\beta$ -3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS)



Eine Lösung von 5.00 g (7.34 mmol)  $\beta$ -4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS (**7**) und 4.23 g (8.84 mmol, 1.2 Äquiv.)  $\alpha$ , $\beta$ -Bn<sub>3</sub>Fuc-SEt (**12**) in einer Mischung aus 170 ml absol. Dichlormethan und 170 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird mit 10 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Im schwachen Argon-Gegengasstrom gibt man anschließend 3.19 g (9.90 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **12**) trockenes Tetra-*n*-butylammoniumbromid und 2.21 g (9.89 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **12**) trockenes Kupfer(II)-bromid hinzu. Die Reaktionsmischung wird unter Lichtausschluss 23 h bei Raumtemp. gerührt, wobei nach 20 h weitere 300 mg (1.34 mmol) trockenes Kupfer(II)-bromid zur Vervollständigung der Reaktion zugegeben werden. Anschließend werden die unlöslichen Bestandteile abfiltriert, zweimal mit je 60 ml Dichlormethan gewaschen und die Lösemittel im Vakuum sowie Hochvakuum entfernt, wobei eine zweimalige Kodestillation des erhaltenen Rückstandes mit je 100 ml Toluol im Hochvakuum erfolgt. Der Rückstand wird in 200 ml Dichlormethan aufgenommen, dreimal mit je 100 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und die vereinigten wässrigen Phasen dreimal mit je 70 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden im Anschluss über Magnesiumsulfat getrocknet,

das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc, 9:1) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 5.40 g (4.92 mmol, 67 %), Lit.:<sup>[172]</sup> 79 %; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{24} = -51$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>[172]</sup>  $[\alpha]_D^{24} = -56$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.57$  (cHex/EtOAc, 4:1),  $R_f = 0.10$  (cHex/EtOAc, 9:1).

$300 \text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 7.66\text{-}7.65$  (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$ ),  $7.61\text{-}7.58$  (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$ ),  $7.44\text{-}7.22$  (m, 26H,  $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$ ),  $5.42$  (s, 1H, CH-Bzn),  $5.16\text{-}5.12$  (m, 2H, NH-GlcN, H1-Fuc { $5.13$ , d,  $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.7 \text{ Hz}$ }),  $4.89$  (d, 1H,  $^2J = 11.7 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2$ ),  $4.85\text{-}4.80$  (m, 3H,  $\text{CH}_2$ ),  $4.71$ ,  $4.66$ ,  $4.60$ ,  $4.56$ ,  $4.41$  (5 x d, 5H,  $^2J = 11.8 \text{ Hz}$ ,  $2 \times ^2J = 11.4 \text{ Hz}$ ,  $2 \times ^2J = 12.1 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2$ ),  $4.06\text{-}3.98$  (m, 4H, H5-Fuc { $4.06$ }, H3-GlcN { $4.03$ }, H2-Fuc { $4.03$ , dd,  $^3J_{\text{H2,H1}} = 2.9 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.3 \text{ Hz}$ }, H6a-GlcN { $4.00$ }),  $3.92$  (dd, 1H,  $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.6 \text{ Hz}$ , H3-Fuc),  $3.62\text{-}3.43$  (m, 4H, H6b-GlcN { $3.60$ }, H4-GlcN { $3.58$ }, H4-Fuc { $3.54$ }, H2-GlcN { $3.49$ }),  $3.12\text{-}3.02$  (m<sub>c</sub>, 1H, H5-GlcN),  $1.03$  (s, 9H,  $\text{CH}_3\text{-}^t\text{Bu}$ ),  $0.77$  (d, 3H,  $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.6 \text{ Hz}$ , H6a,b,c-Fuc).

$100.6 \text{ MHz-}^{13}\text{C-NMR}$  [BB, HMQC] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 153.72$  (C=O-Troc),  $138.83$ ,  $138.53$ ,  $138.45$ ,  $137.20$  ( $\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$ ),  $135.84$ ,  $135.77$  ( $\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$ ),  $133.12$ ,  $132.70$  ( $\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$ ),  $129.89$ ,  $129.76$ ,  $128.98$ ,  $128.49$ ,  $128.36$ ,  $128.25$ ,  $128.13$ ,  $128.07$ ,  $127.82$ ,  $127.52$ ,  $127.45$ ,  $127.35$ ,  $127.28$ ,  $126.10$  ( $\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$ ),  $101.47$  (CH-Bzn),  $97.73$  (C1-Fuc),  $95.79$  (C1-GlcN),  $95.12$  ( $\text{CCl}_3$ ),  $80.41$  (C4-GlcN),  $79.44$  (C3-Fuc),  $77.71$  (C4-Fuc),  $77.07$  (C2-Fuc),  $74.84$ ,  $74.62$  ( $\text{CH}_2$ ),  $74.45$  (C3-GlcN),  $73.57$ ,  $73.03$  ( $\text{CH}_2$ ),  $68.49$  (C6-GlcN),  $66.68$  (C5-Fuc),  $65.87$  (C5-GlcN),  $60.99$  (C2-GlcN),  $26.75$  ( $\text{CH}_3\text{-}^t\text{Bu}$ ),  $19.10$  ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ),  $16.20$  (C6-Fuc).

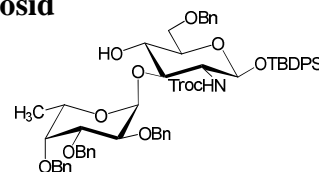
ESI-MS (Gerät 1, positiv):  $[m/z] = 1118.32$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 1118.32).

$\text{C}_{59}\text{H}_{64}\text{Cl}_3\text{NO}_{11}\text{Si}$  (1097.58)

**tert-Butyldiphenylsilyl-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- $\beta$ -D-glucopyranosid**

(32)<sup>[172]</sup>

( $\beta$ -3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)



Eine Mischung aus 5.00 g (4.56 mmol)  $\beta$ -3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS (31) und 3 g Molekularsieb (4 Å) in 170 ml absol. Dichlormethan wird nach 1 h Rühren

unter einer Argonatmosphäre auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  abgekühlt und mit 1.10 ml (0.80 g, 6.88 mmol) Triethylsilan versetzt. Anschließend werden innerhalb von 20 min 2 ml einer Lösung aus 1.00 ml (1.71 g, 11.4 mmol) Trifluormethansulfonsäure (Ampulle) in 15 ml absol. Dichlormethan langsam zugetropft. Die restliche Trifluormethansulfonsäure-Lösung wird analog in einem Zeitraum von 4 h in 2 ml Portionen tropfenweise zugegeben, wobei der Reaktionsfortschritt kontinuierlich mittels Dünnschichtchromatographie überwacht wird. Nach vollständigem Umsatz wird die Reaktionsmischung bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit 5 ml Methanol gequenchet und ebenfalls bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) neutralisiert, wobei ein pH-Wert von 8-9 eingestellt wird. Die Suspension wird über einen Faltenfilter filtriert, der Filtrerrückstand mit je drei Portionen 70 ml Dichlormethan gewaschen und die vereinigten org. Phasen mit 60 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 70 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden zweimal mit je 40 ml Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rückstandes erfolgt flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc,  $R_f = 0.16$ ) an Kieselgel.

Ausbeute: 4.06 g (3.69 mmol, 81 %), Lit.:<sup>[172]</sup> 77 %; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{24} = -17$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>[172]</sup>  $[\alpha]_D^{24} = -18$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.36$  (cHex/EtOAc, 4:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 7.74\text{-}7.71$  (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$ ), 7.67-7.66 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$ ), 7.42-7.22 (m, 26H,  $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$ ), 4.94 (d, 1H,  $^2J = 11.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 4.85-4.80 (m, 2H, NH-GlcN {4.84},  $\text{CH}_2$  {4.82, d,  $^2J = 11.7$  Hz}), 4.79 (d, 1H,  $^3J_{\text{H1,H2}} = 4.0$  Hz, H1-Fuc), 4.76-4.70 (m, 3H,  $\text{CH}_2$  {4.75, 4.71, 2 x d,  $^2J = 12.1$  Hz,  $^2J = 11.7$  Hz}), 4.62-4.58 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  {4.60, 4.60, 2 x d,  $^2J = 11.4$  Hz,  $^2J = 12.1$  Hz}), 4.55 (d, 1H,  $^3J_{\text{H1,H2}} = 7.7$  Hz, H1-GlcN), 4.49, 4.43 (2 x d, 2H, 2 x  $^2J = 12.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 4.26 (db, 1H,  $^2J = 11.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 4.10-4.07 (m, 2H, H5-Fuc {4.09}, 4-OH-GlcN {4.08}), 4.02 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.3$  Hz,  $^3J_{\text{H2,H3}} = 9.9$  Hz, H2-Fuc), 3.92 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.3$  Hz,  $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.2$  Hz, H3-Fuc), 3.63-3.58 (m, 4H, H4-Fuc {3.63}, H2-GlcN {3.61}, H6a,b-GlcN {3.58}), 3.49 (dt<sub>b</sub> \*, 1H,  $^3J_{\text{H4,H3}} \approx ^3J_{\text{H4,H5}} \approx 9.0$  Hz,  $^3J_{\text{H4,OH}} = 1.6$  Hz, H4-GlcN), 3.19 (m<sub>c</sub>, 1H, H3-GlcN), 3.09 (m<sub>c</sub>, 1H, H5-GlcN), 1.13 (d, 3H,  $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.3$  Hz, H6a,b,c-Fuc), 1.07 (s, 9H,  $\text{CH}_3$ -<sup>t</sup>Bu).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HMQC] (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = 154.10 (C=O-Troc), 138.67, 138.44, 138.38, 138.32 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 136.04, 135.94 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph), 133.17, 132.88 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 129.85, 129.70, 128.50, 128.43, 128.37, 128.24, 127.93, 127.67, 127.61, 127.58, 127.53, 127.41 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph), 98.88 (C1-Fuc), 95.76 (C1-GlcN), 95.40 (CCl<sub>3</sub>), 84.80 (C3-GlcN), 78.91 (C3-Fuc), 77.59 (C4-Fuc), 76.35 (C2-Fuc), 74.92 (CH<sub>2</sub>), 74.85 (C5-GlcN), 74.48, 73.79, 73.52, 73.35 (CH<sub>2</sub>), 69.90 (C4-GlcN), 69.16 (C6-GlcN), 68.08 (C5-Fuc), 58.04 (C2-GlcN), 26.79 (CH<sub>3</sub>-<sup>t</sup>Bu), 19.16 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 16.61 (C6-Fuc).

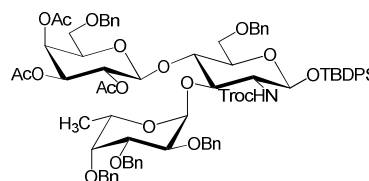
ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 1120.42 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 1120.34)

C <sub>59</sub> H <sub>66</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>11</sub> Si (1099.60)	ber.: C 64.44	H 6.05	N 1.27
	gef.: C 64.18	H 6.07	N 1.26

### 5.3.2 Die Synthese des Lewis<sup>x</sup>-Bausteins

**tert**-Butyldiphenylsilyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-β-*D*-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl-α-*L*-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-*D*-glucopyranosid (**33**)<sup>[172]</sup>

(β-4-(β-6-Bn-Ac<sub>3</sub>Gal)-3-(α-Bn<sub>3</sub>Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)



#### Methode A:<sup>[172]</sup>

Eine Lösung von 3.61 g (3.28 mmol) β-3-(α-Bn<sub>3</sub>Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**32**) und 2.14 g (3.96 mmol) α-6-Bn-Ac<sub>3</sub>Gal-OC(NH)CCl<sub>3</sub> (**19**) in 90 ml absol. Dichlormethan wird mit ca. 2 g Molekularsieb (4 Å) versetzt und 1 h bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wird der Ansatz auf – 30 °C abgekühlt und mit 77 µl (91.0 mg, 0.39 mmol, 0.1 Äquiv. bezogen auf **19**) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf), gelöst in 5 ml absol. Dichlormethan, innerhalb von 2 h versetzt. Der Ansatz wird weitere 2 h bei einer Temperatur von – 15 °C gerührt und anschließend bei dieser Temperatur mit 0.6 ml (0.46 g, 3.55 mmol) *N*-Ethyldiisopropylamin (DIPEA) neutralisiert. Das Molekularsieb wird abfiltriert, dreimal mit je 70 ml Dichlormethan gewaschen, die wässrigen Phasen mit 40 ml Dichlormethan extrahiert und das Filtrat mit 60 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die wässrige Phase wird mit 40 ml Dichlormethan extrahiert und nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Den



Rückstand unterzieht man einer flashchromatographischen Reinigung (Laufmittel: cHex/EtOAc,  $R_f = 0.23$ ) an Kieselgel, wobei 2.00 g des eingesetzten Disaccharids **32** erhalten werden.

Ausbeute: 1.15 g (0.78 mmol, 24 %), Lit.:<sup>[172]</sup> 63 %; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{24} = -36$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>[172]</sup>  $[\alpha]_D^{24} = -34$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.37$  (cHex/EtOAc, 3:1),  $R_f = 0.73$  (Tol/EtOH, 6:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 7.69\text{--}7.66$  (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 7.59-7.57 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 7.41-7.22 (m, 27H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 7.19-7.12 (m, 4H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 5.37 (d, 1H,  $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 2.9$  Hz, H4-Gal), 5.20-5.16 (m, 2H, NH-GlcN {5.17}, H1-Fuc {5.16}), 4.96-4.90 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.94, d,  $^2J = 11.0$  Hz}, H2-Gal {4.92}), 4.88 (d, 1H,  $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 8.0$  Hz, H1-GlcN), 4.84-4.78 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.82, 4.81, 2 x d,  $^2J = 11.4$  Hz,  $^2J = 10.0$  Hz}, H3-Gal {4.80}), 4.71-4.61 (m, 4H, CH<sub>2</sub> {4.69, 4.66, 4.62, 3 x d,  $^2J = 11.4$  Hz,  $^2J = 11.8$  Hz,  $^2J = 11.4$  Hz}, H1-Gal {4.64}), 4.58 (q, 1H,  $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_{6\text{abc}}} = 6.3$  Hz, H5-Fuc), 4.57-4.48 (m, 3H, CH<sub>2a</sub>-Troc {4.52, d,  $^2J = 11.8$  Hz}, CH<sub>2</sub>-Bn {4.51, d,  $^2J = 12.1$  Hz}, CH<sub>2b</sub>-Troc {4.50, d,  $^2J = 11.9$  Hz}), 4.41 (d, 1H,  $^2J = 12.1$  Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.23 (d, 2H,  $^2J = 12.1$  Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.10-4.00 (m, 2H, H2-Fuc {4.08, dd,  $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 3.7$  Hz,  $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 10.3$  Hz}, H3-GlcN {4.03, t\*,  $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} \approx ^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} \approx 9.4$  Hz}), 3.98-3.89 (m, 2H, H4-GlcN {3.95, t\*,  $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} \approx ^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} \approx 9.2$  Hz}, H3-Fuc {3.92, dd,  $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.2$  Hz,  $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 2.5$  Hz}), 3.62-3.56 (m, 3H, H6a-GlcN {3.59}, H5-Gal {3.57}, H4-Fuc {3.56}), 3.48 (m<sub>c</sub>, 1H, H6a-Gal), 3.34-3.24 (m, 3H, H6b-Gal {3.31}, H2-GlcN {3.30}, H6b-GlcN {3.24}), 2.92 (m<sub>c</sub>, 1H, H5-GlcN), 1.92, 1.87, 1.76 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub>-Ac), 1.15 (d, 3H,  $^3J_{\text{H}_{6\text{abc}},\text{H}_5} = 6.3$  Hz, H6a,b,c-Fuc), 1.02 (s, 9H, CH<sub>3</sub>-<sup>t</sup>Bu).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC, HMBC] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 169.98, 169.73, 168.77$  (C=O-Ac), 153.37 (C=O-Troc), 138.85, 138.63, 138.53, 137.90, 137.37 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 135.85, 135.74 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph), 133.46, 132.79 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 129.76, 129.57, 128.44, 128.39, 128.34, 128.19, 128.04, 127.80, 127.77, 127.57, 127.49, 127.47, 127.27, 127.00 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph), 99.51 (C1-Gal), 97.27 (C1-Fuc), 95.09 (CCl<sub>3</sub>), 94.68 (C1-GlcN), 79.95 (C3-Fuc), 77.55 (C4-Fuc), 77.17 (C2-Fuc), 74.76 (C5-GlcN), 74.67 (CH<sub>2</sub>-Troc), 74.24 (CH<sub>2</sub>-Bn), 74.10 (C4-GlcN), 73.96 (C3-GlcN), 73.58, 73.56, 73.25, 73.12 (CH<sub>2</sub>-Bn), 71.41 (C5-Gal), 71.13 (C3-Gal), 69.02 (C2-Gal), 67.33 (C4-Gal), 67.15 (C6-GlcN), 66.55 (C6-Gal), 66.18 (C5-Fuc), 61.43 (C2-GlcN), 26.75 (CH<sub>3</sub>-<sup>t</sup>Bu), 20.60, 20.56 (CH<sub>3</sub>-Ac), 19.13 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 16.67 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 1498.48$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1498.47).

$C_{78}H_{88}Cl_3NO_{19}Si$ (1477.97)	ber.: C 63.39	H 6.00	N 0.95
	gef.: C 62.97	H 5.88	N 1.05

### Method B:

Eine Mischung aus 4.23 g (3.85 mmol)  $\beta$ -3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**32**) und 3 g Molekularsieb (4 Å) wird in 60 ml absol. Dichlormethan unter einer Argonatmosphäre 45 min bei Raumtemp. gerührt. Die auf – 35 °C abgekühlte Suspension wird nacheinander mit 50  $\mu$ l (62 mg, 0.27 mmol, 0.07 Äquiv. bezogen auf **32**) Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (TMSOTf) gelöst in 15 ml absol. Dichlormethan innerhalb von 10 min sowie anschließend mit 2.50 g (4.62 mmol, 1.2 Äquiv. bezogen auf **32**)  $\alpha$ -6-Bn-Ac<sub>3</sub>Gal-OC(NH)CCl<sub>3</sub> (**19**) gelöst in 30 ml absol. Dichlormethan innerhalb von 30 min tropfenweise versetzt und weitere 30 min bei dieser Temperatur nachgerührt. Nach der Neutralisation mit *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) wird das Molekularsieb über Hyflo<sup>®</sup> abfiltriert und der Filtrerrückstand mit Dichlormethan gewaschen. Nach Entfernen des Lösemittels erfolgt eine flashchromatographische Reinigung (Laufmittel: cHex/EtOAc, 5:1) an Kieselgel.

Ausbeute: 5.29 g (3.58 mmol, 93 %); farbloser amorpher Feststoff.

Sämtliche analytische Daten stimmen vollständig mit denen der Referenzsubstanz überein (s. Methode A).

### **tert**-Butyldiphenylsilyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-4-*O*-(6-*O*-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**34**)<sup>[172]</sup>



Eine Lösung von 7.77 g (5.26 mmol)  $\beta$ -4-( $\beta$ -6-Bn-Ac<sub>3</sub>Gal)-3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**33**) in 400 ml Methanol wird bis zu einem pH-Wert von 9.0 tropfenweise mit verdünnter methanolischer Natriummethanolat-Lösung versetzt. Nach 14 h erfolgt die Neutralisation des Ansatzes mit Essigsäure. Das Lösemittel wird im

Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc,  $R_f = 0.22$ ) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 6.12 g (4.53 mmol, 86 %), Lit.:<sup>[172]</sup> 89 %; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{24} = -42$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>[172]</sup>  $[\alpha]_D^{22} = -45$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.08$  (cHex/EtOAc, 3:1),  $R_f = 0.43$  (Tol/EtOH, 6:1).

*ESI-MS* (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 1372.41$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 1372.44).

$\text{C}_{72}\text{H}_{82}\text{Cl}_3\text{NO}_{16}\text{Si}$  (1351.86)

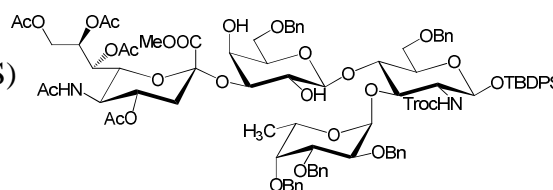
### 5.3.3 Die Synthesen der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Bausteine

#### Herstellung einer 1.6 M Methylsulfonylbromid-Lösung

Eine Lösung von 0.36 ml (375 mg; 4.01 mmol) Dimethyldisulfid in 5 ml absol. 1,2-Dichlorethan wird unter Lichtausschluss mit 0.21 ml Brom (655 mg; 4.09 mmol) innerhalb von 10 min versetzt und 20 h gerührt. Die bordeauxrote, klare Lösung wird maximal vier Tage für Sialylierungsreaktionen eingesetzt.

***tert*-Butyldiphenylsilyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-4-*O*-(6-*O*-benzyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -Dgalactonon-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl]-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- $\beta$ -D-glucopyranosid (39)<sup>[172]</sup>**

( $\beta$ -Ac<sub>4</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-OTBDPS)



Eine Mischung aus 1.20 g (0.89 mmol)  $\beta$ -3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>Fuc)-4-( $\beta$ -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**34**), 1.60 g (2.68 mmol, 3.0 Äquiv. bezogen auf **34**)  $\alpha$ -Ac<sub>4</sub>Neu<sub>5</sub>AcCOOMe-Xan (**24**) und 3.5 g Molekularsieb (3 Å) in einem Lösemittelgemisch aus 40 ml absol. Acetonitril und 21.5 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre 45 min gerührt. Unter Lichtausschluss werden 0.69 g (2.68 mmol, 1.0 Äquiv. bezogen auf **24**)

trockenes Silbertriflat (AgOTf) gelöst in 3 ml absol. Acetonitril zugegeben und bei Raumtemp. 1 ½ h gerührt. Die Suspension wird auf – 50 °C abgekühlt und tropfenweise innerhalb von 60 min mit 1.68 ml (2.68 mmol, 1.0 Äquiv. bezogen auf **24**) einer 1.6 M Methylsulfenylbromid-Lösung versetzt und 45 min bei – 50 °C gerührt. Der Ansatz wird anschließend auf – 25 °C erwärmt und weitere 22 h gerührt. Das Abbrechen der Reaktion erfolgt mit 0.72 ml (0.53 g; 4.10 mmol) *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA). Nach Erwärmen auf Raumtemp. wird der Ansatz über Hyflo<sup>®</sup> filtriert, mit Dichlormethan in mehreren Portionen gewaschen und im Vakuum von den Lösemitteln befreit. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc, 2:5) an Kieselgel.

Ausbeute: 1.13 g (0.62 mmol; 70 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{24} = -38$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>[172]</sup>  $[\alpha]_D^{22} = -36$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.25$  (cHex/EtOAc, 1:3),  $R_f = 0.20$  (cHex/EtOAc, 2:5).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 7.67-7.65$  (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 7.56-7.54 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 7.40-7.15 (m, 31H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 5.46 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,H2</sub> = 7.6 Hz, NH-GlcN), 5.39 (m<sub>c</sub>, 1H, H8-Sia), 5.29 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H7,H6</sub> = 1.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H7,H8</sub> = 8.8 Hz, H7-Sia), 5.24-5.21 (m, 2H, NH-Sia {5.23}, H1-Fuc {5.23, d, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 3.3 Hz}), 4.97-4.87 (m, 2H, H4-Sia {4.91}, CH<sub>2</sub>-Bn {4.90, d, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz}), 4.85-4.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.84, 4.82, 2 x d, <sup>2</sup>J = 11.0 Hz, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz}), 4.71-4.63 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.68, 4.64, 2 x d, 2 x <sup>2</sup>J = 12.1 Hz}, CH<sub>2a</sub>-Troc {4.66, d, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz}, H1-GlcN {4.64}), 4.58 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, H1-Gal), 4.54-4.33 (m, 7H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.53, d, <sup>2</sup>J = 11.4 Hz}, H5-Fuc {4.50}, CH<sub>2b</sub>-Troc {4.45, d, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz}, CH<sub>2</sub>-Bn {4.42, 4.39, 4.34, 3 x d, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz}), 4.19 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H9a,H8</sub> = 2.2 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H9a,H9b</sub> = 12.5 Hz, H9a-Sia), 4.13-3.89 (m, 7H, H4-GlcN {4.10, t\*, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H4,H5</sub> ≈ 9.6 Hz}, H6-Sia {4.07}, H2-Fuc {4.03, dd, <sup>3</sup>J<sub>H2,H1</sub> = 3.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H2,H3</sub> = 10.4 Hz}, H9b-Sia {4.00}, H5-Sia {3.98}, H3-Fuc {3.98}, H3-GlcN {3.95}), 3.90 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub> = 9.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub> = 3.3 Hz, H3-Gal), 3.74-3.66 (m, 7H, COOCH<sub>3</sub> {3.74}, H6a-GlcN {3.74}, H4-Gal {3.70}, H6a-Gal {3.69}, H4-Fuc {3.65}), 3.58 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H6b,H5</sub> = 5.1 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H6b,H6a</sub> = 9.2 Hz, H6b-Gal), 3.54-3.48 (m, 2H, H2-Gal {3.51}, H5-Gal {3.49}), 3.42 (m<sub>c</sub>, 1H, H2-GlcN), 3.28 (m<sub>c</sub>, 1H, H6b-GlcN), 3.02 (m<sub>c</sub>, 1H, H5-GlcN), 2.65 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H3äq,H3ax</sub> = 12.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3äq,H4</sub> = 4.4 Hz, H3äq-Sia), 2.08-2.02 (m, 10H, CH<sub>3</sub>-Ac {2.09, 2.05, 2 x s}, H3ax-Sia {2.03}, CH<sub>3</sub>-Ac {2.02, s}), 1.91, 1.87 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub>-Ac), 1.08 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>H6abc,H5</sub> = 6.5 Hz, H6a,b,c-Fuc), 1.00 (s, 9H, CH<sub>3</sub>-<sup>t</sup>Bu).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HMQC, HMBC] (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = 170.87, 170.48, 170.29, 169.91, 169.65 (C=O-Ac), 168.07 (C1-Sia), 153.64 (C=O-Troc), 138.90, 138.85, 138.66, 138.29, 137.97 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 135.81, 135.74 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph), 133.58, 132.84 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 129.64, 129.43, 128.40, 128.32, 128.29, 128.18, 128.06, 127.76, 127.61, 127.33, 127.19, 127.06 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph), 100.86 (C1-Gal), 97.84 (C2-Sia), 97.65 (C1-Fuc), 95.53 (C1-GlcN), 95.21 (CCl<sub>3</sub>), 79.66 (C3-Fuc), 78.16 (C4-Fuc), 77.32 (C2-Fuc, C3-Gal), 75.48 (C3-GlcN), 74.95 (CH<sub>2</sub>-Bn), 74.73 (C5-GlcN), 74.63 (CH<sub>2</sub>-Troc), 73.81 (CH<sub>2</sub>-Bn), 73.35 (C4-GlcN), 73.17, 72.81 (CH<sub>2</sub>-Bn), 72.63 (C6-Sia, CH<sub>2</sub>-Bn), 72.15 (C5-Gal), 69.93 (C2-Gal), 68.56 (C4-Sia), 68.05 (C6-Gal, C8-Sia), 67.65 (C6-GlcN), 67.46 (C4-Gal), 66.82 (C7-Sia), 66.65 (C5-Fuc), 62.10 (C9-Sia), 60.53 (C2-GlcN), 53.06 (COOCH<sub>3</sub>), 49.46 (C5-Sia), 37.37 (C3-Sia), 26.75 (CH<sub>3</sub>-<sup>t</sup>Bu), 23.13, 21.10, 20.80, 20.69, 20.60 (CH<sub>3</sub>-Ac), 19.10 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 16.74 (C6-Fuc).

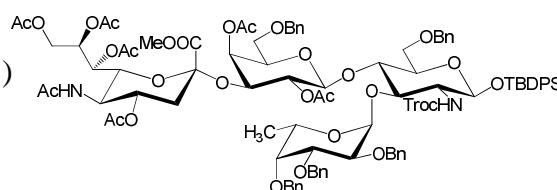
ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1845.69 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 1845.59).

HR-ESI-MS (positiv) : [m/z] = 1845.5887 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 1845.5899).

C<sub>92</sub>H<sub>109</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>28</sub>Si (1825.29)

**tert-Butyldiphenylsilyl-4-O-{2,4-di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-α-D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]-β-D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (40)**<sup>[172]</sup>

(β-Ac<sub>6</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-OTBDPS)



Eine Lösung von 2.00 g (1.10 mmol) β-Ac<sub>4</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-OTBDPS (**39**), 50 mg 4-(Dimethylamino)-pyridin (DMAP) in 25 ml Pyridin wird bei 0 °C innerhalb von 10 min tropfenweise mit 4.00 ml (4.32 g, 42.3 mmol) Acetanhydrid versetzt und 24 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösemittel sowie überschüssiges Acetanhydrid werden im Hochvakuum entfernt und der Rückstand dreimal mit je 20 ml Toluol kodestilliert. Die Reinigung des Rückstandes erfolgt flashchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: cHex/EtOAc, 1:5) sowie für analytische Zwecke an einem semipräparativen HPLC-System.

Ausbeute: 2.20 g (1.15 mmol, quant., 70 % bezogen auf **34**), Lit.:<sup>[172]</sup> 70 % bezogen auf **34**; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{24} = -27$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>[172]</sup>  $[\alpha]_D^{30} = -30$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.25$  (cHex/EtOAc, 2:5),  $R_f = 0.33$  (cHex/EtOAc, 1:3),  $R_f = 0.17$  (cHex/EtOAc, 3:5), RP-DC:  $R_f = 0.23$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 3:0.2);  $R_t = 31.0$  min (Säule: A, Gradient: Ana-3),  $R_t = 43.9$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-2).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 7.70\text{-}7.68$  (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 7.62-7.59 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 7.44-7.19 (m, 31H, H<sub>Ar</sub>-Ph), 5.54 (m<sub>c</sub>, 1H, H8-Sia), 5.38 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H7,H6</sub> = 2.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H7,H8</sub> = 9.2 Hz, H7-Sia), 5.24 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 3.5 Hz, H1-Fuc), 5.17 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,H2</sub> = 8.0 Hz, NH-GlcN), 5.10-5.06 (m, 2H, NH-Sia {5.07}, H4-Gal {5.06, d, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3</sub> = 3.5 Hz}), 4.97-4.83 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.97, d, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz}, H4-Sia {4.92}, H1-GlcN {4.86}, H2-Gal {4.85}, H1-Gal {4.84}, CH<sub>2</sub>-Bn {4.84, d, <sup>2</sup>J = 11.3 Hz}), 4.79 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 11.5 Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.74-4.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.72, 4.69, 2 x d, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, <sup>2</sup>J = 12.5 Hz}), 4.65-4.51 (m, 5H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.64, d, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz}, H5-Fuc {4.62}, H3-Gal {4.56}, CH<sub>2a</sub>-Troc {4.56, d, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz}, CH<sub>2b</sub>-Troc {4.52, d, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz}), 4.46-4.34 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.44, 4.41, 4.36, 3 x d, <sup>2</sup>J = 12.1 Hz, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz}), 4.26 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.20 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H9a,H8</sub> = 2.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H9a,H9b</sub> = 12.5 Hz, H9a-Sia), 4.12-3.99 (m, 5H, H2-Fuc {4.10, dd, <sup>3</sup>J<sub>H2,H1</sub> = 3.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H2,H3</sub> = 10.2 Hz}, H3-GlcN {4.03}, H4-GlcN {4.03}, H5-Sia {4.03}, H9b-Sia {4.02}), 3.95 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub> = 2.5 Hz, H3-Fuc), 3.85 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.76 (m<sub>c</sub>, 1H, H5-Gal), 3.68 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H6a,H5</sub> = 3.1 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H6a,H6b</sub> = 11.3 Hz, H6a-GlcN), 3.61-3.56 (m, 2H, H4-Fuc {3.60}, H6-Sia {3.58, dd, <sup>3</sup>J<sub>H6,H5</sub> = 10.8 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H6,H7</sub> = 2.7 Hz}), 3.48 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H6a,H5</sub> = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H6a,H6b</sub> = 9.6 Hz, H6a-Gal), 3.44-3.35 (m, 2H, H6b-GlcN {3.44}, H2-GlcN {3.39}), 3.30 (t\*, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H6b,H5</sub> ≈ <sup>2</sup>J<sub>H6b,H6a</sub> ≈ 8.8 Hz, H6b-Gal), 3.05 (m<sub>c</sub>, 1H, H5-GlcN), 2.54 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H3äq,H3ax</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3äq,H4</sub> = 4.6 Hz, H3äq-Sia), 2.10, 2.09, 2.06, 2.01, 1.94, 1.86, 1.79 (7 x s, 21H, CH<sub>3</sub>-Ac), 1.69 (t\*, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H3ax,H3äq</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H3ax,H4</sub> ≈ 12.5 Hz, H3ax-Sia), 1.20 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>H6abc,H5</sub> = 6.4 Hz, H6a,b,c-Fuc), 1.04 (s, 9H, CH<sub>3</sub>-<sup>t</sup>Bu).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC, HMBC] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 170.87, 170.51, 170.35, 169.89, 169.73, 169.47, 169.08$  (C=O-Ac), 167.73 (C1-Sia), 153.41 (C=O-Troc), 139.01, 138.73, 138.63, 138.57, 137.81 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 135.85, 135.75 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph), 133.46, 132.84 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 129.70, 129.52, 128.39, 128.31, 128.29, 128.27, 128.16, 128.06, 128.04, 127.67, 127.55, 127.49, 127.44, 127.34, 127.25, 127.07, 126.93 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph), 99.32 (C1-Gal), 97.03 (C1-Fuc), 96.82 (C2-Sia), 95.10 (CCl<sub>3</sub>), 94.74 (C1-GlcN), 79.82 (C3-Fuc), 77.82 (C4-Fuc), 77.20 (C2-Fuc), 75.10 (C5-GlcN), 74.69 (CH<sub>2</sub>-Troc), 74.25 (CH<sub>2</sub>-Bn),

73.96, 73.73 (C3-GlcN, C4-GlcN), 73.40, 73.11, 72.99, 72.81 (CH<sub>2</sub>-Bn), 71.89 (C6-Sia), 71.83 (C3-Gal), 71.19 (C5-Gal), 70.40 (C2-Gal), 69.41 (C4-Sia), 67.88 (C4-Gal), 67.73 (C6-GlcN), 67.39 (C8-Sia), 67.17 (C6-Gal), 66.84 (C7-Sia), 66.25 (C5-Fuc), 62.01 (C9-Sia), 61.20 (C2-GlcN), 53.10 (COOCH<sub>3</sub>), 49.06 (C5-Sia), 37.52 (C3-Sia), 26.76 (CH<sub>3</sub>-<sup>t</sup>Bu), 23.16, 21.31, 20.83, 20.75, 20.74, 20.66, 20.60 (CH<sub>3</sub>-Ac), 19.13 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 16.75 (C6-Fuc).

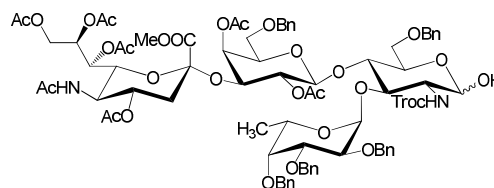
ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 1929.66$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1929.61).

HR-ESI-MS (positiv):  $[m/z] = 1929.6129$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1929.6111).

C<sub>96</sub>H<sub>113</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>30</sub>Si (1909.36)

**4-*O*-{2,4-Di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranose (41)<sup>[172]</sup>**

( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-OH)



Eine 0 °C kalte Lösung von 2.00 g (1.05 mmol)  $\beta$ -Ac<sub>6</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-OTBDPS (**40**) in 80 ml absol. THF (frisch destilliert) wird unter einer Argonatmosphäre mit 190  $\mu$ l (200 mg, 3.30 mmol, 3.1 Äquiv. bezogen auf **40**) Essigsäure und dann tropfenweise mit 15.8 ml einer 0.1 M Lösung aus Tetra-*n*-butylammoniumfluorid (1.58 mmol, 1.5 Äquiv. bezogen auf **40**) in absol. Tetrahydrofuran innerhalb von 10 min versetzt. Nach 64 h Rühren bei Raumtemp. werden weitere 0.75 Äquiv. Tetra-*n*-butylammoniumfluorid sowie 1.5 Äquiv. Essigsäure zugegeben und 60 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird das Lösemittel bei 35 °C fast vollständig im Vakuum entfernt, der Rückstand in 100 ml Dichlormethan aufgenommen und einmal mit 50 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 50 ml Wasser gewaschen. Die vereinten wässrigen Phasen werden zweimal mit 50 ml Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird flashchromatographisch (Laufmittel: cHex / EtOAc, 1:5) an Kieselgel gereinigt.

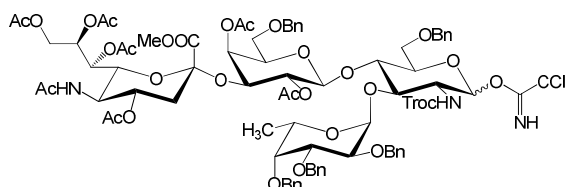
Ausbeute: 1.44 g (0.86 mmol, 82 %); Lit.:<sup>[172]</sup> 69 %; farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.45$  (EtOAc),  $R_f = 0.16$  (cHex/EtOAc, 1:5), RP-DC:  $R_f = 0.65$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 3:0.2).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 1691.59$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1691.50).

C<sub>80</sub>H<sub>95</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>30</sub> (1670.96)

**4-O-{2,4-Di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl-trichloracetimidat (42)**

( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-OC(NH)CCl<sub>3</sub>)



**Methode A:**<sup>[172]</sup>

Eine Lösung von 418 mg (0.25 mmol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-OH (**41**), 0.75 ml (1.08 g, 7.51 mmol, 30 Äquiv. bezogen auf **41**) Trichloracetonitril in 10 ml absol. Dichlormethan wird mit 9.30  $\mu$ l (9.49 mg; 62.3  $\mu$ mol, 0.25 Äquiv. bezogen auf **41**) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en in 2 ml absol. Dichlormethan tropfenweise versetzt und bei Raumtemp. 6 h gerührt. Das Lösemittel und das überschüssige Trichloracetonitril werden im Vakuum entfernt und der Rückstand zügig flashchromatographisch an Kieselgel (Lösemittel: cHex/EtOAc, 1:4 mit 0.1 % Triethylamin) gereinigt.

Ausbeute: 200 mg (0.11 mmol, 44 %), Lit.:<sup>[172]</sup> 50 %; farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.62$  (EtOAc).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 1967.44$  ( $[M+DBU+H]^+$ , ber.: 1967.55) (Rohprodukt).

**Methode B:**

Eine Lösung von 400 mg (0.24 mmol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-OH (**41**) und 1.20 ml (1.72 g, 12.0 mmol, 50 Äquiv.) Trichloracetonitril in 10 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre mit 39 mg (0.12 mmol, 0.5 Äquiv. bezogen auf **41**) Cäsiumcarbonat in einer Portion unter kräftigem Rühren versetzt und bei Raumtemp. 1 h gerührt. Anschließend wird der Ansatz mit 50 ml Dichlormethan verdünnt, viermal mit Wasser gewaschen und die vereinigten wässrigen Phasen viermal mit je 30 ml



Dichlormethan extrahiert. Nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Feststoff ohne vollständige Charakterisierung in die nächste Reaktion eingesetzt.

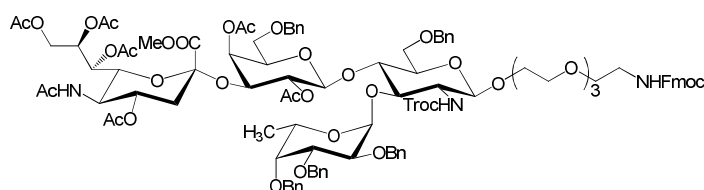
Ausbeute: 450 mg (0.25 mmol, quant.), Lit.:<sup>[172]</sup> 50 %; schwach gelblicher amorpher Feststoff.

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 1834.61$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1834.40), 1850.57 ( $[M+K]^+$ , ber.: 1850.38).

$C_{82}H_{95}Cl_6N_3O_{30}$  (1815.35)

**11-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-3,6,9-trioxa-undecyl-4-O-{2,4-di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**44**)**

( $\beta$ -c<sub>6</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-O-Spa-NH-Fmoc)



Eine Mischung aus 1.00 g (0.55 mmol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-OC(NH)CCl<sub>3</sub> (**42**), 458 mg (1.10 mmol, 2.0 Äquiv.) Fmoc-NH-Spa-OH (**29**) und 1 g Molekularsieb (3 Å) in 50 ml absol. Dichlormethan wird 1 h bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre gerührt, auf – 50 °C abgekühlt und mit 15  $\mu$ l (18.4 mg, 82.8  $\mu$ mol, 0.15 Äquiv. bezogen auf **42**) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) gelöst in 5 ml absol. Dichlormethan innerhalb von 10 min versetzt. Die Temperatur wird innerhalb von 1 h auf – 25 °C erhöht und der Ansatz mit *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) neutralisiert, das Molekularsieb über Hyflo<sup>®</sup> abfiltriert und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird flashchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: cHex/EtOAc, 1:5) gereinigt.

Ausbeute: 840 mg (0.41 mmol, 74 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{24} = -20$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.25$  (EtOAc),  $R_f = 0.16$  (cHex/EtOAc, 1:5),  $R_f = 0.45$

(CHCl<sub>3</sub>/EtOH, 4:0.2), R<sub>t</sub> = 18.5 min (Säule: A, Gradient: Ana-3), R<sub>t</sub> = 30.3 min (Säule: P-1, Gradient: Präp-2).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = 7.76 (d, 2 H, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3</sub> = <sup>3</sup>J<sub>H5,H6</sub> = 7.5 Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.61 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>H8,H7</sub> = 7.4 Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.42-7.16 (m, 29H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc, H<sub>ar</sub>-Ph), 5.94 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,H2</sub> = 8.2 Hz, NH-GlcN), 5.57 (m<sub>c</sub>, 1H, H8-Sia), 5.49 (s<sub>b</sub>, 1H, NH-Fmoc), 5.39 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H7,H6</sub> = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H7,H8</sub> = 9.3 Hz, H7-Sia), 5.36 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 3.2 Hz, H1-Fuc), 5.12-5.05 (m, 2H, NH-Sia {5.09}, H4-Gal {5.07, d, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3</sub> = 3.7 Hz}), 5.07 (d, J = 3.6 Hz, 2H), 4.97-4.88 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.94, d, <sup>2</sup>J = 11.7 Hz}, H2-Gal {4.92}, H4-Sia {4.92}), 4.86-4.50 (m, 14H, H1-Gal {4.82}, H1-GlcN {4.76}, CH<sub>2</sub>-Troc {4.66}, H5-Fuc {4.61}, H3-Gal {4.57}), 4.44-4.33 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.42}, CH<sub>2</sub>-Fmoc {4.37}), 4.30-4.19 (m, 3H, H9a-Sia {4.27}, CH<sub>2</sub>-Bn {4.27}, H9-Fmoc {4.22}), 4.10-3.99 (m, 5H, H2-Fuc {4.08}, H5-Sia {4.05}, H9b-Sia {4.03}, H4-GlcN {4.02}, H3-GlcN {4.00}), 3.94 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub> = 2.5 Hz, H3-Fuc), 3.84 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.83-3.79 (m, 2H, H6a-GlcN, H6b-GlcN), 3.77-3.44 (m, 20H, H5-Gal {3.75}, H6-Sia {3.61}, H4-Fuc {3.60}, H2-GlcN {3.55}, H6a-Gal {3.52}, H5-GlcN {3.47}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.37 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-NH-Fmoc), 3.30 (t\*, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H6b,H5</sub> ≈ <sup>2</sup>J<sub>H6b,H6a</sub> ≈ 8.9 Hz, H6b-Gal), 2.56 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H3äq,H3ax</sub> = 12.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3äq,H4</sub> = 4.7 Hz, H3äq-Sia), 2.20, 2.08, 2.05, 2.01, 1.98, 1.86, 1.81 (7 x s, 21H, CH<sub>3</sub>-Ac), 1.71 (t\*, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H3ax,H3äq</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H3ax,H4</sub> ≈ 12.4 Hz, H3ax-Sia), 1.22 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>H6abc,H5</sub> = 6.4 Hz, H6a,b,c-Fuc).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC] (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = 171.02, 170.66, 170.53, 170.20, 169.85, 169.69, 169.50 (C=O-Ac), 167.89 (C1-Sia), 156.68 (C=O-Fmoc), 154.30 (C=O-Troc), 144.15, 144.13 (C1a-Fmoc), 141.43, 141.42 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 139.16, 138.89, 138.67, 138.55, 137.92 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 128.45, 128.43, 128.33, 128.28, 127.78, 127.71, 127.67, 127.46, 127.39, 127.23, 127.17, 127.11 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph, C2-Fmoc, C3-Fmoc, C6-Fmoc, C7-Fmoc), 125.23 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.06 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.92 (C1-GlcN), 99.79 (C1-Gal), 97.05 (C1-Fuc), 96.89 (C2-Sia), 95.69 (CCl<sub>3</sub>), 79.81 (C3-Fuc), 78.04 (C4-Fuc), 77.48 (C2-Fuc), 75.67 (C5-GlcN), 74.63 (C3-GlcN), 74.45 (CH<sub>2</sub>), 74.40 (C3-GlcN), 74.35 (C4-GlcN), 73.28, 73.16, 72.91 (CH<sub>2</sub>), 72.11 (C6-Sia), 71.90 (C3-Gal), 71.37 (C5-Gal), 71.00, 70.63, 70.57, 70.41 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 70.05 (C2-Gal), 69.55 (C4-Sia), 68.68 (C7-Sia), 68.56 (C6-GlcN), 67.94 (C4-Gal), 67.63 (C8-Sia), 67.25 (C6-Gal), 67.12 (CH<sub>2</sub>-Fmoc), 66.65 (C7-Sia), 66.50 (C5-Fuc), 62.29 (C9-Sia), 58.28 (C2-GlcN), 53.29 (COOCH<sub>3</sub>), 49.23 (C5-Sia), 47.39 (C9-Fmoc), 40.96 (CH<sub>2</sub>-NH-Fmoc), 37.69 (C3-Sia), 23.33, 21.45, 21.02, 20.91, 20.83 (CH<sub>3</sub>-Ac), 16.92 (C6-Fuc).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 2088.69$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 2088.68).

*HR-ESI-MS (positiv):*  $[m/z] = 2088.6763$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 2088.6822).

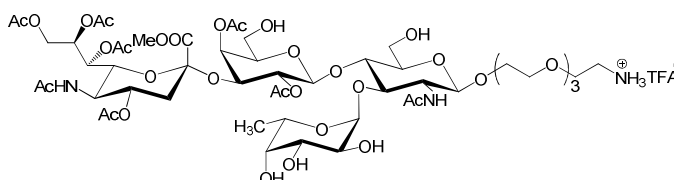
$C_{103}H_{122}Cl_3N_3O_{35}$  (2068.43)

### Aktivierung von Zink

Zinkstaub wird unter einer Argonatmosphäre in 2 M Salzsäure-Lösung unter kräftigem Rühren eingetragen, wobei sich das Zinkpulver unter einer Wasserstoffentwicklung verklumpt und sich schwarz färbt. Nach 3-4 min wird die Salzsäure-Lösung unter Schutzgas abdekantiert und das Zink mehrfach mit Wasser (dest.), dann mit Methanol und zur Trocknung mit Diethylether gewaschen. Das aktivierte Zink wird dann der Reaktion unter Schutzgasbedingungen zugeführt.

### 11-Amino-3,6,9-trioxa-undecyl-4-O-{2,4-di-O-acetyl-3-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-O-( $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-2-acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid-hydrotrifluoracetat (45)

( $\beta$ -Ac<sub>6</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>COOMe-O-Spa-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)



#### Abspaltung der Troc-Gruppe

Eine Lösung von 777 mg (0.38 mmol)  $\beta$ -Ac<sub>6</sub>Bn<sub>5</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>NTrocCOOMe-O-Spa-NH-Fmoc (44) in 20 ml Eisessig wird unter einer Argonatmosphäre mit 5 g aktiviertem Zink unter kräftigem Rühren versetzt. Nach 18 h wird der Ansatz über Hyflo<sup>®</sup> filtriert, mit Essigsäure nachgewaschen, das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand dreimal mit Toluol kdestilliert. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

Analytische Daten des Rohprodukts:

$R_f = 0.25$  (CHCl<sub>3</sub>/EtOH, 4:0.2),  $R_f = 0.60$  (CHCl<sub>3</sub>/EtOH, 4:0.5).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 1892.83$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 1892.80), 1914.84 ( $[M+Na]^+$ ,

ber.: 1914.78).*HR-ESI-MS (positiv):*  $[m/z] = 1914.7781$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 1914.7780).

$C_{102}H_{125}N_3O_{35}$  (1953.08)

### Acetylierung

Der Rückstand der Deblockierung wird in 35 ml Pyridin gelöst und mit 5 ml Acetanhydrid tropfenweise versetzt. Nach 5 h wird das Lösemittel und überschüssiges Acetanhydrid im Vakuum entfernt und der Rückstand zweimal mit je 30 ml Toluol kodestilliert. Anschließend erfolgt eine flashchromatographische Reinigung (Laufmittel: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH, 4:0.2) an Kieselgel.

Ausbeute: 560 mg (0.29 mmol, 77 % über 2 Stufen); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.20$  (CHCl<sub>3</sub>/EtOH, 4:0.2),  $R_f = 0.83$  (CHCl<sub>3</sub>/EtOH, 4:0.5),  $R_t = 38.0$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-4).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 1956.83$  ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 1956.79).

*HR-ESI-MS (positiv):*  $[m/z] = 1956.7845$  ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 1956.7886).

C<sub>102</sub>H<sub>123</sub>N<sub>3</sub>O<sub>34</sub> (1935.07)

### Debenzylierung

Das Produkt der Acetylierung wird in einer Lösung von 25 ml Dioxan, 9 ml dest. Wasser und 1.75 ml Eisessig mehrfach im Membranpumpenvakuum (20 mbar) entgast und mit katalytischen Mengen (4-5 Spatelspitzen) Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) versetzt. Nach erneutem Entgasen wird das Reaktionsgefäß mit Wasserstoff geflutet (Hydrierblase) und der Ansatz 60 h bei Raumtemp. kräftig gerührt. Anschließend wird die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre getauscht und der Katalysator mittels einer RP-C18-Filterkartusche entfernt (Eluent: Acetonitril). Um letzte Spuren des Katalysators zu entfernen, wird die Lösung durch einen PTFE-Spritzenfilter (0.45 µm) filtriert und einer chromatographischen Trennung auf einem semipräparativen HPLC-System unterzogen.

Ausbeute: 310 mg (0.25 mmol, 78 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{28} = -40$  ( $c = 1.00$ , MeOH); RP-DC:  $R_f = 0.70$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 1:1 mit 0.1 % TFA);  $R_t = 19.0$  min (Säule: A, Gradient: Ana-1 mit 0.1 % TFA),  $R_t = 23.4$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-1 mit 0.1 % TFA).

*400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (MeOD):*  $[\delta/ppm] = 5.63$  (m<sub>c</sub>, 1H, H8-Sia), 5.38 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H7,H6</sub> = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H7,H8</sub> = 9.3 Hz, H7-Sia), 5.09-5.04 (m, 2H, H1-Fuc {5.07}, H4-Gal {5.05}), 4.96-4.88 (m, 2H, H4-Sia {4.92}, H2-Gal {4.91}), 4.85-4.76 (m, 2H, H1-

Gal {4.83, d,  $^3J_{H1,H2} = 8.1$  Hz}, H5-Fuc {4.81}), 4.65 (dd, 1H,  $^3J_{H3,H2} = 10.1$  Hz,  $^3J_{H3,H4} = 3.6$  Hz, H3-Gal), 4.49-4.40 (m, 2H, H1-GlcN {4.44}, H9a-Sia {4.45}), 4.07-3.75 (m, 15H, H9b-Sia {4.04}, H6a-GlcN {3.98}, H5-Sia {3.95}, H2-GlcN {3.92}, H6b-GlcN {3.90}, COOCH<sub>3</sub> {s, 3.86}, H6-Sia {3.80}), 3.73-3.55 (m, 17H, H4-Fuc {3.67}, H2-Gal {3.65}, H6a-Gal {3.59}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.46-3.39 (m, 2H, H6b-Gal {3.42}), 3.20 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 2.58 (dd, 1H,  $^2J_{H3\ddot{a}q,H3ax} = 12.5$  Hz,  $^3J_{H3\ddot{a}q,H4} = 4.7$  Hz, H3<sub>äq</sub>-Sia), 2.26, 2.19, 2.11, 2.07, 2.05, 1.98, 1.97, 1.81 (8 x s, 24 H, CH<sub>3</sub>-Ac), 1.54 (t\*, 1H,  $^2J_{H3ax,H3\ddot{a}q} \approx ^3J_{H3ax-H4} \approx 12.3$  Hz, H3<sub>ax</sub>-Sia), 1.24 (d, 3H,  $^3J_{H6abc,H5} = 6.3$  Hz, H6a,b,c-Fuc).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC] (MeOD): [ $\delta/ppm$ ] = 173.94, 173.54, 172.79, 172.52, 171.78, 171.68, 171.53, 171.14 (C=O-Ac), 169.25 (C1-Sia), 102.96 (C1-GlcN), 101.35 (C1-Gal), 162.75-160.84 (F<sub>3</sub>C-COO<sup>-</sup>), 100.05 (C1-Fuc), 98.19 (C2-Sia), 77.29, 75.65, 75.52, 75.40, 73.90, 72.94, 71.62, 71.40, 71.22, 71.19, 71.10, 71.01 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 70.66, 70.53, 69.85, 69.67 (Gal-4), 69.12 (C8-Sia), 68.69 (C7-Sia), 67.80, 67.51 (C5-Fuc), 63.67 (C9-Sia), 61.55 (C6-Gal), 61.22 (C6-GlcN), 57.13 (C2-GlcN), 53.72 (COOCH<sub>3</sub>), 49.81 (C5-Sia), 40.54 (CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 38.63 (C3-Sia), 23.09, 22.72, 21.62, 21.46, 20.99, 20.93, 20.77, 20.67 (CH<sub>3</sub>-Ac), 16.74 (C6-Fuc).

Es wurden nur die Protonen- und Kohlenstoffsignale zugeordnet, die anhand der aufgenommenen Spektren sicher identifiziert werden konnten.

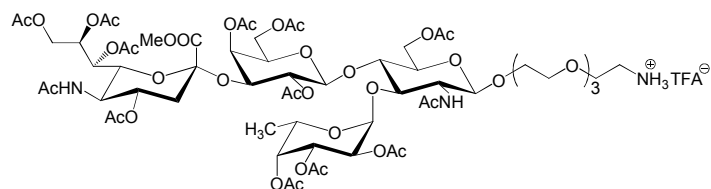
ESI-MS (Gerät 2, positiv): [ $m/z$ ] = 1262.67 ([M-TFA+H]<sup>+</sup>, ber.: 1262.50), 1284.64 ([M-TFA+Na]<sup>+</sup>, ber.: 1284.49).

HR-ESI-MS (positiv): [ $m/z$ ] = 1262.5018 ([M-TFA+Na]<sup>+</sup>, ber.: 1262.5038).

C<sub>54</sub>H<sub>84</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>34</sub> (1376.24)

**11-Amino-3,6,9-trioxa-undecyl-4-O-{2,4,5-tri-O-acetyl-3-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-2-O-acetamido-6-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid-hydrotrifluoracetat (46)**

( $\beta$ -Ac<sub>11</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>COOMe-O-Spa-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)



Blockierung mit Fmoc

Eine Lösung von 46.0 mg (33.4  $\mu$ mol)  $\beta$ -Ac<sub>6</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>COOMe-O-Spa-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> (**45**) in 6 ml absol. Dichlormethan wird mit *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) versetzt, bis ein pH-Wert von 9.5-10.0 erreicht ist. Anschließend werden 16.0 mg (47.4  $\mu$ mol, 1.4 Äquiv.) Fmoc-OSu in 1 ml absol. Dichlormethan bei Raumtemp. zugetropft. Um den Reaktionsfortschritt zu gewährleisten (DC-Kontrolle!), erfolgt während der Reaktion eine erneute Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes wird der Ansatz mit Essigsäure auf pH 6 eingestellt und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Ohne Reinigung wird das Rohprodukt in die nachfolgende Acetylierung eingesetzt.

RP-DC:  $R_f = 0.50$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 1:1 mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 1506.52$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1506.55).

HR-ESI-MS (positiv):  $[m/z] = 1506.5520$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1506.5538).

C<sub>67</sub>H<sub>93</sub>N<sub>3</sub>O<sub>34</sub> (1484.46)

Acetylierung

Das Rohprodukt der Fmoc-Blockierung wird in 4 ml Pyridin bei Raumtemp. tropfenweise mit 1.5 ml Acetanhydrid versetzt und 18 h gerührt. Das Lösemittel sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid wird im Hochvakuum entfernt und der Rückstand zweimal mit 15 ml Toluol kodestilliert. Die Reinigung erfolgt mittels eines semipräparativen HPLC-Systems. Das Produkt wird ohne vollständige Charakterisierung in die nachfolgende Reaktion eingesetzt.

Ausbeute: 35.0 mg (20.7  $\mu$ mol, 56% über 2. Stufen); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{26} = -47$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>); RP-DC:  $R_f = 0.21$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 1:1 mit 1 Trpf. AcOH/ml

LM);  $R_t = 30.3$  min (Säule: A, Gradient: Ana-4),  $R_t = 38.0$  min (Säule: P1; Gradient: Präp-4).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 1716.66$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1716.61).

*HR-ESI-MS (positiv):*  $[m/z] = 1716.6034$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1716.6066).

$C_{77}H_{103}N_3O_{39}$  (1694.64)

### Abspaltung von Fmoc

Das Produkt der Acetylierung wird in 3.5 ml Dioxan, 1.2 ml dest. Wasser und 0.2 ml Eisessig mehrfach im Membranpumpenvakuum (20 mbar) entgast und mit katalytischen Mengen (1-2 Spatelspitzen) Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) versetzt. Nach erneutem Entgasen wird das Reaktionsgefäß mit Wasserstoff geflutet (Hydrierblase) und der Ansatz 4 h bei Raumtemp. kräftig gerührt. Anschließend wird die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre getauscht und der Katalysator mittels einer RP-C18-Filterkartusche entfernt (Eluent: Acetonitril). Um letzte Spuren des Katalysators zu entfernen, wird die Lösung durch einen PTFE-Spritzenfilter (0.45  $\mu$ m) filtriert und einer chromatographischen Trennung auf einem semipräparativen HPLC-System unterzogen.

Ausbeute: 35 mg (22.1  $\mu$ mol, quant.); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{32} = -46$  ( $c = 1.00$ ,  $CHCl_3$ ); RP-DC:  $R_f = 0.38$  (ACN/ $H_2O$ , 1:1 mit 1 Trpf. AcOH / ml LM);  $R_t = 25.7$  min (Säule: A, Gradient: Ana-1 mit 0.1 % TFA),  $R_t = 28.8$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-1 mit 0.1 % TFA).

*400 MHz- $^1H$ -NMR [ $^1H$ - $^1H$ -COSY, TOCSY] ( $CDCl_3$ ):*  $[\delta/ppm] = 7.62$  (s, 3H,  $NH_3^+$ ), 7.24 (d, 1H,  $^3J_{NH,H2} = 7.9$  Hz, NH-GlcN), 5.49 (m<sub>c</sub>, 1H, H8-Sia), 5.43 (dd, 1H,  $^3J_{H7,H6} = 2.6$  Hz,  $^3J_{H7,H8} = 9.7$  Hz, H7-Sia), 5.32 (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 3.8$  Hz, H1-Fuc), 5.31 (d, 1H,  $^3J_{H4,H3} = 3.2$  Hz, H4-Fuc), 5.24 (d, 1H,  $^3J_{NH,H5} = 10.3$  Hz, NH-Sia), 5.20 (dd, 1H,  $^3J_{H3,H2} = 11.0$  Hz,  $^3J_{H3,H4} = 3.4$  Hz, H3-Fuc), 5.01 (dd, 1H,  $^3J_{H2,H1} = 3.8$  Hz,  $^3J_{H2,H3} = 10.9$  Hz, H2-Fuc), 4.99-4.84 (m, 4H, H5-Fuc {4.97}, H4-Gal {4.95}, H2-Gal {4.91}, H4-Sia {4.86}), 4.70 (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 8.2$  Hz, H1-Gal), 4.64 (d\*, 2H,  $^2J_{H6a,H6b} \approx 11.0$  Hz, H6a-GlcN, H1-GlcN), 4.52 (dd, 1H,  $^3J_{H3,H2} = 10.1$  Hz,  $^3J_{H3,H4} = 3.4$  Hz, H3-Gal), 4.41 (dd, 1H,  $^3J_{H6a,H5} = 11.5$  Hz,  $^2J_{H6a,H6b} = 6.4$  Hz, H6a-Gal), 4.28 (dd, 1H,  $^3J_{H9a,H8} = 2.5$  Hz,  $^2J_{H9a,H9b} = 12.9$  Hz, H9a-Sia), 4.22-3.97 (m, 5H, H6b-Gal {4.18}, H6b-GlcN {4.11}, H9b-Sia {4.07}, H3-GlcN {4.04}, H5-Sia {3.99}), 3.95-3.50 (m, 22H, H4-GlcN {3.88},  $COOCH_3$  {3.85}, H5-Gal {3.82},  $CH_2-CH_2-O$  {3.82-3.76}, H2-GlcN {3.71}, H6-Sia {3.63, dd,  $^3J_{H6,H5} =$

10.7 Hz,  $^3J_{\text{H6,H7}} = 2.5$  Hz}, H5-GlcN {3.52}), 3.22 (s<sub>b</sub>, 2H, CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 2.58 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H3äq,H3ax}} = 12.6$  Hz,  $^3J_{\text{H3äq,H4}} = 4.6$  Hz, H3<sub>äq</sub>-Sia), 2.19, 2.14, 2.13, 2.11, 2.07, 2.07, 2.06, 2.06, 2.05, 1.99, 1.97, 1.94, 1.85 (13 x s, 39 H, CH<sub>3</sub>-Ac), 1.66 (t\*, 1H,  $^2J_{\text{H3ax,H3äq}} \approx ^3J_{\text{H3ax,H4}} \approx 12.4$  Hz, H3<sub>ax</sub>-Sia), 1.17 (d, 3H,  $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.5$  Hz, H6a,b,c-Fuc).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, DEPT, HSQC, HMBC] (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = 173.23, 171.32, 170.97, 170.94, 170.64, 170.60, 170.50, 169.92, 169.54, 169.41 (C=O-Ac), 168.00 (C1-Sia), 162.04-159.92 (F<sub>3</sub>C-COO<sup>-</sup>), 100.82 (C1-GlcN), 100.14 (C1-Gal), 96.91 (C2-Sia), 95.56 (C1-Fuc), 74.59 (C4-GlcN), 73.56 (C5-GlcN, C3-GlcN), 71.94 (C6-Sia), 71.69 (C4-Fuc), 71.50 (C3-Gal), 70.92 (C5-Gal), 70.30, 70.04, 69.93 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 69.82 (C2-Gal), 69.56 (C4-Sia), 68.63 (C2-GlcN), 68.24 (C2-Fuc), 68.11 (C3-Fuc), 67.64 (C8-Sia), 67.35 (C4-Gal), 67.19 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 66.67 (C7-Sia), 64.34 (C5-Fuc), 62.01 (C6-GlcN), 61.84 (C9-Sia), 61.40 (C6-Gal), 53.31 (COOCH<sub>3</sub>), 49.26 (C5-Sia), 39.88 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 37.50 (C3-Sia), 23.25, 23.13, 21.59, 20.89, 20.75 (CH<sub>3</sub>-Ac), 15.93 (C6-Fuc).

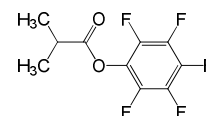
ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1472.68 ([M-TFA+H]<sup>+</sup>, ber.: 1472.56).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 1472.5552 ([M-TFA+H]<sup>+</sup>, ber.: 1472.5566).

C<sub>64</sub>H<sub>94</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>39</sub> (1586.42)

## 5.4 Prüfung der selektiven Reaktivität von Pentafluorphenylestern

### Isobuttersäurepentafluorphenylester (49)



Eine Lösung von 4.04 g (21.9 mmol) Pentafluorphenol (**48**) in 100 ml absol. Dichlormethan wird mit 2.29 ml (2.33 g, 21.9 mmol) Isobuttersäurechlorid (**47**) und anschließend bei 0 °C tropfenweise mit 2.70 ml (2.65 g, 33.5 mmol) Pyridin versetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemp. wird der Ansatz mit 50 ml Dichlormethan verdünnt, mit einer 0.1 M Salzsäurelösung sowie einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Anschließend wird die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet und die Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Produkt wird ohne weitere Reinigung in die nachfolgende Reaktion eingesetzt.



Ausbeute: 5.20 g (20.5 mmol, 94 %); farbloses Öl;  $R_f = 0.53$  (cHex/EtOAc, 4:0.1).

300 MHz- $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 2.93$  (h, 1H,  $J_{\text{H,CH}_3} = 7.0$  Hz, CH), 1.37, 1.34 (2 x s, 6H,  $\text{CH}_3$ ).

75.5 MHz- $^1\text{H-NMR}$  [BB] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 173.18$  (C=O), 143.23-142.75, 141.60-140.86, 140.20-139.33, 138.23-137.57, 136.73-136.00 (Ar-C), 125.83-125.11 (Ar-C), 33.89 (CH), 18.82 ( $\text{CH}_3$ ).

377 MHz- $^{19}\text{F-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = -153.21 - -153.32$  (m, 2F,  $\text{COO-}o\text{-r-F}$ ),  $-158.36$  (t, 1F,  $J = 21.7$  Hz,  $\text{COO-}p\text{-Ar-F}$ ),  $-162.44 - -162.61$  (m, 2F,  $\text{COO-}m\text{-Ar-F}$ ).

$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{F}_5\text{O}_2$  (254.15)

### Selektivitätstest mit dem Isobuttersäurepentafluorphenylester

Zu einer Lösung von 5 mg (3.63  $\mu\text{mol}$ )  $\beta\text{-Ac}_6(\text{Fuc})\text{SLe}^x\text{COOMe-O-Spa-NH}_3^+$  (**45**) und 18.4  $\mu\text{l}$  (13.4 mg, 132  $\mu\text{mol}$ , 36 Äquiv.) Triethylamin in 0.5 ml absol. Dioxan werden 33.7 mg (132  $\mu\text{mol}$ , 36 Äquiv.) Isobuttersäurepentafluorphenylester (**49**) zugegeben und 7 d bei 50 °C unter einer Argonatmosphäre gerührt, wobei täglich ein Massenspektrum sowie eine dünnschichtchromatographische Analyse des Gemisches angefertigt wird.

Analytische Daten der entstandenen Verbindung:

RP-DC:  $R_f = 0.65$  (ACN/ $\text{H}_2\text{O}$ , 1:1 mit 1 Trpf. AcOH/ml LM).

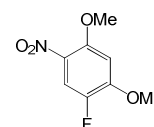
ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 1433.83$  ( $[\text{M}+\text{TEA}+\text{H}]^+$ , ber.: 1433.67).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 1433.6632$  ( $[\text{M}+\text{TEA}+\text{H}]^+$ , ber.: 1433.6661).

$\text{C}_{56}\text{H}_{89}\text{N}_3\text{O}_{33}$  (1332.31)

## 5.5 Die Synthesen der Fluoreszenzfarbstoffe

### 2,4-Dimethoxy-5-fluornitrobenzol (**55**)<sup>[233]</sup>



Eine Lösung von 4.34 ml (6.68 g, 37.7 mmol) 1,2,4-Trifluor-5-nitrobenzol (**54**) in 200 ml absol. Methanol wird auf 4 °C abgekühlt und unter einer Argonatmosphäre tropfenweise mit 15.4 ml (82.9 mmol, 2.2 Äquiv.) Natriummethanolat-Lösung in Methanol (30 %, 5.4 M) versetzt, wobei nach der Hälfte der Zugabe ein farbloser Feststoff ausfällt. Nach beendetem Zutropfen wird der Ansatz 3 h bei Raumtemp. gerührt, mit 5.6 ml Zitronensäurelösung (1 M) langsam versetzt und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der verbleibende Rückstand wird in 200 ml Chloroform aufgenommen, zweimal mit je 75 ml Zitronensäurelösung sowie mit 75 ml ges. Kochsalzlösung gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen der Lösemittel im Vakuum erfolgt ein Umkristallisieren aus 200 ml Ethanol.

Ausbeute: 7.11 g (35.3 mmol, 93 %), Lit.:<sup>[233]</sup> 96 %; nadelförmige, leicht gelbliche Kristalle;  $R_f = 0.40$  (cHex/EtOAc, 1:1), Smp.: 150 °C, Lit.:<sup>[233]</sup> 146-149 °C.

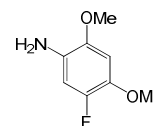
300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = 7.95 (d, 1H,  $J = 11.2$  Hz, H6), 7.01 (d, 1H,  $J = 7.4$  Hz, H3), 4.00 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>) 3.97 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

377 MHz-<sup>19</sup>F-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = -144.10 (dd,  $J = 11.2$  Hz, 7.3 Hz).

FD-MS (positiv): [ $m/z$ ] = 201.03 ([M]<sup>+</sup>, ber.: 201.04).

C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>FNO<sub>4</sub> (201.15)

### 1-Amino-2,4-dimethoxy-5-fluorbenzol (**56**)<sup>[233]</sup>



Eine Lösung von 7.42 g (36.9 mmol) 2,4-Dimethoxy-5-fluornitrobenzol (**55**) in einem Gemisch aus 50 ml Ethanol und 50 ml Ethylacetat wird mehrfach im Membranpumpenvakuum (20 mbar) entgast und mit 371 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %) versetzt. Nach erneutem Entgasen wird das Reaktionsgefäß mit Wasserstoff geflutet (Hydrierblase) und der Ansatz 3 h bei Raumtemp. kräftig gerührt. Anschließend wird die Wasser-

stoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre getauscht und der Katalysator vorsichtig über Hyflo<sup>®</sup> abfiltriert, die Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand einer Lyophilisation aus Benzol unterzogen.

Ausbeute: 6.31 g (36.9 mmol, quant.), Lit.:<sup>[233]</sup> quant.; rötliches Lyophilisat;  $R_f = 0.51$  (cHex/EtOAc, 1:1),  $R_f = 0.20$  (cHex/EtOAc, 4:1).

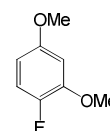
300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = 6.52 (d, 1H,  $J = 7.7$  Hz, H6), 6.50 (d, 1H,  $J = 12.2$  Hz, H3), 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.57 (s, 2H, NH<sub>2</sub>).

377 MHz-<sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = -144.04 (dd,  $J = 11.1$  Hz,  $J = 7.8$  Hz).

FD-MS (positiv): [ $m/z$ ] = 171.3 ([M]<sup>+</sup>, ber.: 171.1).

C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>FNO<sub>2</sub> (171.17)

### 1,3-Dimethoxy-4-fluorbenzol (57)<sup>[233]</sup>



Ein Gemisch aus 5.95 g (34.8 mmol) 5-Fluor-2,4-dimethoxyanilin (**56**) in 77 ml dest. Wasser und 39 ml konz. Salzsäure wird auf -5 °C abgekühlt und tropfenweise mit einer Lösung aus 2.52 g Natriumnitrit (36.5 mmol, 1.05 Äquiv.) in 15 ml Wasser unter Rühren versetzt. Der Ansatz färbt sich dabei blau/violett und der gebildete Feststoff geht in Lösung. Nach 30 minütigem Nachrühren bei -5 °C werden 76 ml (695 mmol, 20 Äquiv.) Phosphinsäure (50 wt. % in Wasser) zugetropft und der Ansatz innerhalb von 3 h auf Raumtemp. kommen lassen. Anschließend wird bei 0 °C mit ca. 500 ml 2 M Natriumhydroxid-Lösung neutralisiert und der Ansatz dreimal mit Diethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organischen Phasen werden mit Natriumsulfat getrocknet, vom Lösemittel im Vakuum befreit und einer flashchromatographischen Reinigung (Laufmittel: Et<sub>2</sub>O/Hex, 2.5:97.5) an Kieselgel unterzogen.

Ausbeute: 4.73 g (30.3 mmol, 87 %), Lit.:<sup>[233]</sup> 87 %; farblose Flüssigkeit;  $R_f = 0.60$  (cHex/Et<sub>2</sub>O, 4:2),  $R_f = 0.47$  (cHex/EtOAc, 4:1),  $R_f = 0.23$  (Et<sub>2</sub>O/Hex, 2.5:97.5).

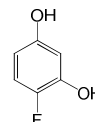
300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = 6.97 (dd, 1H,  $J = 11.1$  Hz, 8.9 Hz, H5), 6.52 (dd, 1H,  $J = 7.2$  Hz, 2.9 Hz, H6), 6.36 (dt, 1H,  $J = 8.9$  Hz, 3.1 Hz, H2), 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

377 MHz-<sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = - 146.17 (m).

FD-MS (positiv): [m/z] = 156.2 ([M]<sup>+</sup>, ber.: 156.06).

C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>FO<sub>2</sub> (156.15)

#### 4-Fluorrescorinol (**58**)<sup>[233]</sup>



Eine Lösung von 4.50 g (28.8 mmol) 1-Fluor-2,4-dimethoxybenzol (**57**) in 60 ml absol. Dichlormethan wird bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre mit einer Lösung aus 8.20 ml (21.7 g, 86.5 mmol, 3.0 Äquiv.) Bortribromid (Vorsicht!) in 90 ml absol. Dichlormethan tropfenweise versetzt und 20 h gerührt. Der Ansatz wird dann vorsichtig mit 100 ml dest. Wasser versetzt und dreimal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und die Lösemittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rückstandes erfolgt flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc, 1:1) an Kieselgel.

Ausbeute: 3.64 g (28.4 mmol, 98 %), Lit.<sup>[233]</sup> 95 %; farbloser wachsartiger Feststoff; R<sub>f</sub> = 0.30 (cHex/EtOAc, 1:1), R<sub>f</sub> = 0.20 (Et<sub>2</sub>O/Hex, 2:4). Smp.: 93 °C, Lit.<sup>[233]</sup> 94-96 °C.

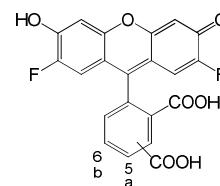
300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = 9.59 (sb, 1H, OH), 9.13 (sb, 1H, OH), 6.86 (dd, 1H, J = 11.3 Hz, 8.8 Hz, H5), 6.36 (dd, 1H, J = 7.6 Hz, 2.9 Hz, H6), 6.11 (m, 1H, H2).

377 MHz-<sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = - 149.22 (m).

FD-MS (positiv): [m/z] = 128.2 ([M]<sup>+</sup>, ber.: 128.0).

C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>FO<sub>2</sub> (128.10)

#### 5(6)-Carboxy-2',7'-difluorfluorescein (**59a/b**)<sup>[233]</sup>



Eine Mischung aus 3.80 g (29.7 mmol, 2.0 Äquiv.) 1,3-Dihydroxy-4-fluorbenzol (**58**) und 2.85 g (14.9 mmol) Trimellitsäureanhydrid in 60 ml absol. Methansulfonsäure wird 24 h auf 85 °C erhitzt. Die farblose Mischung geht dabei in eine dunkelrote Lösung über.

Nach Abkühlen auf Raumtemp. wird der Ansatz auf 500 ml Eiswasser gegossen und der entstehende orange Niederschlag abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und bis zur Gewichtskonstanz im Hochvakuum bei 50 °C getrocknet. Das Regioisomerengemisch (5,6-Isomer) wird ohne weitere Reinigung in die nächste Reaktion eingesetzt.

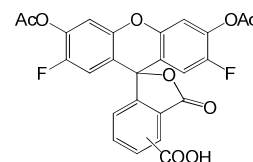
Ausbeute: 5.81 g (14.1 mmol, 96 %), Lit.:<sup>[233]</sup> 92 %; rostroter amorpher Feststoff;  $R_f = 0.08$  (Tol/EtOH, 3:0.3 mit 1 Trpf. AcOH/ml LM), RP-DC:  $R_f = 0.55$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 1:1).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 413.07$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 413.05).

*HR-ESI-MS (positiv):*  $[m/z] = 413.0480$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 413.0473).

C<sub>21</sub>H<sub>10</sub>F<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (412.30)

### 5(6)-Carboxy-2',7'-difluorfluorescein-diacetat (60a/b)<sup>[233]</sup>



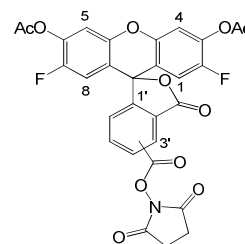
Eine Mischung aus 2.50 g (6.06 mmol) 5(6)-Carboxy-2',7'-difluorfluorescein (**59a/b**), 1.00 ml (0.98 g, 12.4 mmol) Pyridin und 6.0 ml (6.48 g; 63.5 mmol) Acetanhydrid wird zügig 5 min auf 80 °C erhitzt, wobei der Feststoff in Lösung geht und seine Farbigkeit verliert. Überschüssiges Acetanhydrid wird dann im Hochvakuum entfernt und der Rückstand zweimal mit je 20 ml Toluol kodestilliert, in 100 ml Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit je 60 ml 1 M Zitronensäurelösung gewaschen. Nach dem Trocknen der organischen Phase mit Magnesiumsulfat wird eine flashchromatographische Reinigung (Laufmittel: Tol/EtOH, 3:0.15 mit 1 % AcOH) an Kieselgel durchgeführt.

Ausbeute: 2.81 g (5.66 mmol, 95 %); gelblicher amorpher Feststoff (Regioisomerengemisch);  $R_f = 0.33$  (Tol/EtOH, 3:0.3 mit 1 Trpf. AcOH/ml LM),  $R_f = 0.16$  (Tol/EtOH, 3:0.15 mit 1 Trpf. AcOH/ml LM).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 497.15$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 497.07).

*HR-ESI-MS (positiv):*  $[m/z] = 497.0668$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 497.0684).

C<sub>25</sub>H<sub>14</sub>F<sub>2</sub>O<sub>9</sub> (496.37)

**5(6)-Carboxy-2',7'-difluorfluorescein-diacetat-*N*-hydroxysuccinimidester (61a/b)**

Ein Gemisch aus 1.50 g (3.02 mmol) 5(6)-Carboxy-2',7'-difluorfluorescein-diacetat (**60a/b**) und 382 mg (3.32 mmol, 1.1 Äquiv.) *N*-Hydroxysuccinimid (HOSu) in 60 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre mit 636 mg (3.32 mmol) 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid (EDC x HCl) versetzt und 4 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Verdünnen des Ansatzes mit 60 ml Dichlormethan wird dieser zweimal mit je 80 ml Wasser gewaschen und die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc, 1:1) an Kieselgel zügig gereinigt.

Gesamtausbeute: 1.49 g (2.51 mmol, 84 %).

5-Isomer (**61a**): Ausbeute: 785 mg (1.32 mmol, 44 %); blassgelber Feststoff;  $R_f = 0.55$  (Tol/EtOH, 3:0.3),  $R_f = 0.30$  (cHex/EtOAc, 1:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = 8.82 (s, 1H, H3'), 8.46 (dd, 1H,  $J = 8.1, 1.5$  Hz, H5'), 7.39 (d, 1H,  $J = 8.1$  Hz, H6'), 7.16 (d, 2H,  $J = 6.3$  Hz, H4, H5), 6.58 (d, 2H,  $J = 9.7$  Hz, H1, H8), 2.94 (s, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2.34 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-Ac).

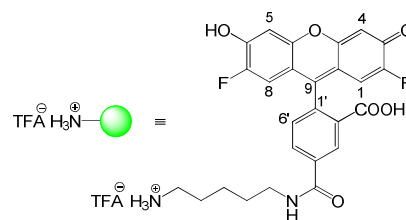
ESI-MS (Gerät 2, positiv): [ $m/z$ ] = 594.12 ([M+H]<sup>+</sup>, ber.: 594.08), 616.09 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber. 616.07).

6-Isomer (**61b**): Ausbeute 708 mg (1.19 mmol, 40 %); blassgelber Feststoff;  $R_f = 0.44$  (Tol/EtOH, 3:0.3),  $R_f = 0.20$  (cHex/EtOAc, 1:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = 8.42 (d, 1H,  $J = 8.0, 1.3$  Hz, H4'), 8.19 (dd, 1H,  $J = 8.0, 0.6$  Hz, H3'), 7.94 (s, 1H, H6'), 7.17 (d, 2H,  $J = 6.3$  Hz, H4, H5), 6.58 (d, 2H,  $J = 9.7$  Hz, H1, H8), 2.88 (s, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 2.35 (s, 6H, CH<sub>3</sub>-Ac).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [ $m/z$ ] = 594.12 ([M+H]<sup>+</sup>, ber.: 594.08), 616.09 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber. 616.07).

C<sub>29</sub>H<sub>17</sub>F<sub>2</sub>NO<sub>11</sub> (593.44)

**5-(5-Aminopentyl)carbamoyl-2',7'-difluorfluorescein-hydrotrifluoracetat (64a)**(FFS-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)Anbinden von *N*-Boc-cadaverin

Eine Lösung von 350 mg (0.59 mmol) 5-Carboxysuccinimid-2',7'-difluorfluorescein-diacetat (**61a**) in 10 ml absol. Dichlormethan wird tropfenweise innerhalb von 5 min unter Rühren bei Raumtemp. mit einem Gemisch aus 125 mg (0.62 mmol, 1.05 Äquiv.) *N*-Boc-cadaverin und 163 µl (119 mg, 1.18 mmol, 2.0 Äquiv.) Triethylamin in 3 ml absol. Dichlormethan versetzt. Nach beendeter Zugabe wird 30 min nachgerührt und die Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung der nachfolgenden Deacetylierung unterworfen.

$R_f = 0.30$  (Tol/EtOH, 3:0.3).

*ESI-MS* (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 703.23$  ( $[M+Na]^+$ , ber. 703.21).

C<sub>35</sub>H<sub>34</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub> (680.65)

Abspalten der Acetyl-Schutzgruppen

Der Rückstand der Kupplung wird in 15 ml Methanol gelöst, mit 1 ml Ammoniak-Lösung (27 %) versetzt und 3 h bei Raumtemp. gerührt. Die Lösemittel werden im Vakuum entfernt und der Rückstand wird zweimal mit je 20 ml Toluol kodestilliert und im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird ohne Reinigung und Charakterisierung in die nächste Reaktion eingesetzt.

C<sub>31</sub>H<sub>33</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub> (613.61)

Abspalten der Boc-Schutzgruppe

Der Rückstand der Deacetylierung wird in 15 ml Trifluoressigsäure aufgenommen und 1.5 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird der Ansatz mit 20 ml Chloroform verdünnt und das Lösemittel sowie die Trifluoressigsäure im Vakuum entfernt. Um letzte Spuren an Trifluoressigsäure zu entfernen, wird der rote viskose Rückstand mit 50 ml Chloroform kodestilliert und mittels semipräparativer HPLC gereinigt und anschließend lyophilisiert.

Ausbeute: 266 mg (0.49 mmol, 76 %); orangefarbenes Lyophilisat; RP-DC:  $R_f = 0.65$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 1:1 mit 0.1 % TFA),  $R_t = 25.0$  min (Säule: A, Gradient: Ana-1 mit 0.1 % TFA),  $R_t = 26.6$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-1 mit 0.1 % TFA).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (MeOD): [ $\delta/ppm$ ] = 8.46 (s, 1H, H3'), 8.22 (dd, 1H,  $J = 8.0, 1.6$  Hz, H5'), 7.36 (d, 1H,  $J = 8.0$  Hz, H6'), 6.85 (d, 2H,  $J = 7.5$  Hz, H1, H8), 6.44 (d, 2H,  $J = 11.1$  Hz, H4, H5), 3.47 (t, 2H,  $J = 7.0$  Hz, O=C-NH-CH<sub>2</sub>), 2.95 (t, 2H,  $J = 7.7$  Hz, CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 1.78 – 1.67 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.56 – 1.45 (m, 2H, CH<sub>2</sub>).

101.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (MeOD): [ $\delta/ppm$ ] = 169.70 (COOH), 168.42 (CONH), 163.09, 162.77, 162.38, 161.46-160.80 (F<sub>3</sub>C-COO<sup>-</sup>), 151.34, 149.97, 148.90, 138.30, 128.50, 125.93, 125.41, 110.01 (C1', C1a, C2', C2, C3, C4', C4a, C5a, C6, C7, C8a, C9), 135.60 (C5'), 125.93 (C3'), 125.41 (C6'), 114.49, 114.28 (C1, C8), 106.17, 106.15 (C4, C5), 40.74, 40.61 (O=C-NH-CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 29.90, 28.20, 24.77 (CH<sub>2</sub>).

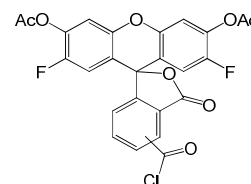
377 MHz-<sup>19</sup>F-NMR (MeOD): [ $\delta/ppm$ ] = -78.60 (s, F<sub>3</sub>C-COO<sup>-</sup>), -143.59 (s<sub>b</sub>, Aryl-F).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [ $m/z$ ] = 497.16 ([M+H]<sup>+</sup>, ber.: 497.15), 519.14 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 519.13).

HR-ESI-MS (positiv): [ $m/z$ ] = 497.1532 ([M-TFA+H]<sup>+</sup>, ber.: 497.1524).

C<sub>28</sub>H<sub>23</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (594.48)

### 5(6)-Chlorcarbonyl-2',7'-difluorfluorescein-diacetat (67a/b)



Eine Lösung von 100 mg (0.20 mmol) 5(6)-Carboxy-2',7'-difluorfluorescein-diacetat (**60a/b**) in 5 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre mit 30  $\mu$ l absol. *N,N*-Dimethylformamid und tropfenweise mit 0.40 ml (592 mg, 4.66 mmol) Oxalylchlorid bei Raumtemp. versetzt (Gasentwicklung!). Nach 1 h Rühren bei Raumtemp. wird das Lösemittel sowie überschüssiges Oxalylchlorid im Vakuum entfernt und der Rückstand zweimal mit je 10 ml absol. Chloroform und dreimal mit je 10 ml absol. Toluol kodestilliert. Der ockerfarbene Rückstand wird ohne weitere Reinigung in die Fluoreszenzmarkierungen eingesetzt.



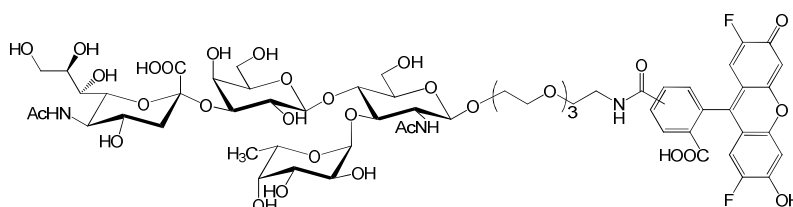
Ausbeute: 103 mg (0.20 mmol, quant.); gelblicher amorpher Feststoff;  $R_f = 0.23$  (cHex/EtOAc, 1:2).

*FD-MS (positiv):*  $[m/z] = 514.3$  ( $[M]^+$ , ber.: 514.0).

$C_{25}H_{13}ClF_2O_8$  (514.82)

### 5.5.1 Die Fluoreszenzmarkierung von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>

**11-(2,7-Difluorfluoresciny-5(6)-carbonylamino)-3,6,9-trioxa-undecyl-4-O-(3-O-[5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosylonsäure])- $\beta$ -D-galactopyranosyl-3-O-( $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-2-O-acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (68a/b)**



Eine Lösung von 5.00 mg (3.15  $\mu$ mol)  $\beta$ -Ac<sub>11</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup>COOMe-O-Spa-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> (**46**) und 4.40  $\mu$ l (3.20 mg, 31.5  $\mu$ mol, 10 Äquiv.) Triethylamin in 1 ml absol. Dichlormethan wird mit einer Lösung von 3.56 mg (6.9  $\mu$ mol, 2.2 Äquiv.) 5(6)-Chlorcarbonyl-2',7'-difluorfluorescein-diacetat (**67a/b**) in 0.5 ml absol. Dichlormethan tropfenweise versetzt und 1 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird der Ansatz mit Eisessig neutralisiert und die Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung der nachfolgenden Deacetylierung unterworfen.

RP-DC:  $R_f = 0.14$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 1:1 mit 0.1 % TFA).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 1950.58$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 1950.61), 1972.57 ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1972.59).

*HR-ESI-MS (positiv):*  $[m/z] = 1972.5874$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1972.5886).

$C_{87}H_{105}F_2N_3O_{45}$  (1950.75)

### Deacetylierung

Der Rückstand der Fluoreszenzmarkierung wird in 5 ml Methanol aufgenommen und ein pH-Wert von 9.5 mit verdünnter Natriummethanolat-Lösung eingestellt. Nach 16 h Rühren bei Raumtemp. wird der Ansatz mit Essigsäure neutralisiert und die Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung und Charakterisierung der nachfolgenden Verseifungsreaktion unterworfen.

RP-DC:  $R_f = 0.61$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 1:1 mit 0.1 % TFA).

C<sub>61</sub>H<sub>78</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>32</sub> (1426.26)

### Verseifung des Methylesters

Der Rückstand der Deacetylierung wird in 1.5 ml dest. Wasser aufgenommen und ein pH-Wert von 10.5 mit einer verdünnten Natriumhydroxid-Lösung eingestellt. Nach 24 h Rühren bei Raumtemp. wird der Ansatz mit Eisessig neutralisiert, über einen PVDF-Spritzenfilter (0.45 µm) filtriert und die Lösung einer Reinigung auf einem semipräparativen HPLC-System unterzogen.

Ausbeute: 3.2 mg (2.30 µmol, 68 % über drei Stufen); gelbes Lyophilisat; RP-DC:  $R_f = 0.74$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 1:1 mit 0.1 % TFA);  $R_t = 25.9$  min (Präp-1 mit 0.1 % TFA);  $R_t = 30.5$  min (Säule: A, Gradient: Ana-1 mit 0.1 % TFA).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 1412.47$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1412.44).

*HR-ESI-MS (positiv):*  $[m/z] = 1390.4524$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 1390.4537).

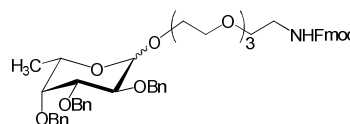
C<sub>60</sub>H<sub>77</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>32</sub> (1390.25)

## 5.6 Die Synthesen der mimetischen Liganden

### 5.6.1 Die Synthese des Fucose-Liganden

#### 11-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-3,6,9-trioxa-undecyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranosid (**69**)

( $\alpha,\beta$ -Bn<sub>3</sub>Fuc-O-Spa-NH-Fmoc)



Eine Mischung aus 750 mg (1.57 mmol)  $\alpha,\beta$ -Bn<sub>3</sub>Fuc-SEt (**12**), 522 mg (1.26 mmol, 0.8 Äquiv.) Fmoc-NH-Spa-OH (**29**) und 2 g Molekularsieb (3 Å) in 25 ml absol. Dichlormethan und 25 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird unter einer Argonatmosphäre 1 ½ h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend werden unter Lichtausschluss 556 mg (1.73 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **12**) trockenes Tetra-*n*-butylammoniumbromid und 386 mg (1.73 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **12**) trockenes Kupfer(II)-bromid in einer Portion zugegeben und der Ansatz unter Lichtausschluss 15 h bei Raumtemp. gerührt. Zum Entfernen der unlöslichen Bestandteile wird über Hyflo<sup>®</sup> filtriert, mit Dichlormethan nachgewaschen und das Dichlormethan im Vakuum, *N,N*-Dimethylformamid im Hochvakuum entfernt. Der Rückstand wird zweimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert und flashchromatographisch (Laufmittel: cHex/EtOAc, 1:1) an Kieselgel gereinigt.

Gesamtausbeute: 945 mg (1.14 mmol, 90 %,  $\alpha/\beta$ : 3:1); farbloses hochviskoses Öl.

$\alpha$ -Anomer (nach semipräparativer HPLC): farbloses hochviskoses Öl;  $[\alpha]_D^{24} = -24$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.33$  (cHex/EtOAc, 2:3);  $R_t = 43.5$  min (Säule: P1, Gradient: Ana-4),  $R_t = 57.6$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-4).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 7.76$  (d, 2H, <sup>3</sup> $J_{H4,H3} = ^3J_{H5,H6} = 7.5$  Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.61 (d, 2H, <sup>3</sup> $J_{H1,H2} = ^3J_{H8,H7} = 7.4$  Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.43-7.23 (m, 19H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc, H<sub>Ar</sub>-Ph), 5.38 (sb, 1H, NH-Fmoc), 4.98 (d, 1H, <sup>2</sup> $J = 11.6$  Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.89-4.84 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-Bn {4.87, d, <sup>2</sup> $J \approx 11.6$  Hz}, H1-Fuc {4.87, d, <sup>3</sup> $J_{H1,H2} \approx 4.0$  Hz}), 4.80 (d, 1H, <sup>2</sup> $J = 12.0$  Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.73 (d, 1H, <sup>2</sup> $J = 11.8$  Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.69 (d, 1H, <sup>2</sup> $J = 12.1$  Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.65 (d, 1H, <sup>2</sup> $J = 11.6$  Hz, CH<sub>2</sub>-Bn), 4.40 (d, 2H, <sup>3</sup> $J_{CH2-Fmoc,H9-Fmoc} = 6.9$  Hz, CH<sub>2</sub>-Fmoc), 4.22 (t, 1H, <sup>3</sup> $J_{H9-Fmoc,CH2-Fmoc} = 6.9$  Hz, H9-Fmoc), 4.04 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{H2,H1} = 3.7$  Hz, <sup>3</sup> $J_{H2,H3} = 10.1$  Hz, H2-Fuc), 3.97-3.87 (m, 2H, H3-Fuc {3.93}, H5-Fuc {3.91}), 3.76-3.51 (m, 15H, H4-Fuc

{3.67}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.38 (q, 2H, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, CH<sub>2</sub>-NH), 1.10 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>H6abc,H5</sub> = 6.5 Hz, H6a,b,c-Fuc).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC] (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = 156.61 (C=O-Fmoc), 144.10 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.41 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 139.11, 138.84, 138.73 (C<sub>ipso</sub>-Ph), 128.54, 128.46, 128.39, 128.28, 128.03, 127.76 (C<sub>o,m,p</sub>-Ph), 127.67 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.53, 127.14 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.19 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.06 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 97.80 (C1-Fuc), 79.41 (C3-Fuc), 77.81 (C4-Fuc), 76.50 (C2-Fuc), 74.90, 73.34, 73.17 (CH<sub>2</sub>-Bn), 70.66, 70.43, 70.14 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 66.96 (CH<sub>2</sub>), 66.66 (CH<sub>2</sub>-Fmoc), 66.30 (C5-Fuc), 47.37 (C9-Fmoc), 41.01 (CH<sub>2</sub>-NH), 16.76 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 854.37 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 854.39).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 854.3851 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 854.3880).

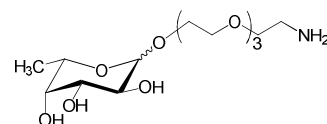
β-Anomer: R<sub>f</sub> (β-Anomer) = 0.34 (cHex/EtOAc, 2:3);

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 854.37 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 854.39).

C<sub>50</sub>H<sub>57</sub>NO<sub>10</sub> (831.99)

### 11-Amino-3,6,9-trioxa-undecyl-α,β-L-fucopyranosid (70)

(α,β-Fuc-O-Spa-NH<sub>2</sub>)



Eine Lösung von 196 mg (0.24 mmol) α,β-Bn<sub>3</sub>Fuc-O-Spa-NH-Fmoc (**69**) in 15 ml Dioxan, 5 ml dest. Wasser und 1 ml Eisessig wird mehrfach im Membranpumpenvakuum (20 mbar) entgast und mit katalytischen Mengen (4-5 Spatelspitzen) Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) versetzt. Nach erneutem Entgasen wird das Reaktionsgefäß mit Wasserstoff geflutet (Hydrierblase) und der Ansatz 36 h bei Raumtemp. kräftig gerührt. Anschließend wird die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre getauscht und der Katalysator mittels einer RP-C18-Filterkartusche entfernt (Eluent: Acetonitril/Wasser, 90:10). Nach Entfernen der Lösemittel im Vakuum wird der Rückstand einer flashchromatographischen Reinigung (Laufmittel: EtOH/H<sub>2</sub>O/TEA, 4:0.5:0.5) an Kieselgel unterzogen.

Gesamtausbeute: 54.0 mg (0.16 mmol, 67 %); farbloses hochviskoses Öl.

$\alpha$ -Anomer:  $[\alpha]_D^{28} = -92$  ( $c = 1.00$ , MeOH);  $R_f = 0.33$  (EtOH/H<sub>2</sub>O/TEA, 4:1:0.5),  
 $R_f = 0.23$  (EtOH/H<sub>2</sub>O/TEA, 4:0.5:0.5).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (MeOD):  $[\delta/ppm] = 4.80$  (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 2.8$  Hz, H1-Fuc), 4.00 (q, 1H,  $^3J_{H5,H6a,b,c} = 6.6$  Hz, H5-Fuc), 3.84 – 3.54 (m, 19H, H2-Fuc {3.73}, H3-Fuc {3.67}, H4-Fuc {3.65}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> {3.57, t,  $^3J = 5.1$  Hz}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 2.86 (sb, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 1.21 (d, 3H,  $^3J_{H6abc, H5} = 6.6$  Hz, H6a,b,c-Fuc).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, DEPT, HSQC] (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 100.55$  (C1-Fuc), 73.61 (C4-Fuc), 71.65 (C3-Fuc), 71.50, 71.45, 71.32, 71.09 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 70.02 (C2-Fuc), 68.06 (Fuc-CH<sub>2</sub>), 67.57 (C5-Fuc), 41.75 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 16.68 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 340.16$  ([M+H]<sup>+</sup>, ber.: 340.20), 362.18 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 362.18).

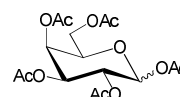
HR-ESI-MS (positiv):  $[m/z] = 362.1791$  ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 362.1791).

C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>8</sub> (339.38)

## 5.6.2 Die Synthese des Galactose-Liganden

### Per-Acetyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (71)<sup>[309]</sup>

( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>5</sub>Gal)



Eine Suspension aus 5.00 g (27.8 mmol) D-Galactose (**13**), 200 mg (1.64 mmol) 4-(Dimethylamino)-pyridin (DMAP) in 80 ml Pyridin wird tropfenweise innerhalb von 10 min mit 40 ml (43.2 g, 0.42 mol) Acetanhydrid versetzt und 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Lösemittel sowie überschüssiges Acetanhydrid werden im Vakuum entfernt und der Rückstand zweimal mit je 40 ml Toluol kodestilliert. Anschließend wird der viskose Rückstand in 150 ml Ethylacetat aufgenommen, dreimal mit je 100 ml Zitronensäurelösung (0.25 M) und einmal mit dest. Wasser gewaschen und die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wird ohne vollständige Charakterisierung und Reinigung in die nachfolgende Reaktion eingesetzt.

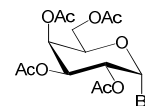
Ausbeute: 10.8 g (27.7 mmol, quant.), Lit.:<sup>[309]</sup> 94 %; schwach gelbes hochviskoses Öl;  $R_f = 0.35$  (cHex/EtOAc, 3:2).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 413.04$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 413.11), 429.07 ( $[M+K]^+$ , ber.: 429.08).

$C_{16}H_{22}O_{11}$  (390.34)

### 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-bromid (**72**)<sup>[309]</sup>

( $\alpha$ -Ac<sub>4</sub>Gal-Br)



Eine Lösung von 5.00 g (12.8 mmol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>5</sub>Gal (**71**) in Eisessig wird unter kräftigem Rühren mit 16.0 ml HBr in Eisessig (33 %) tropfenweise versetzt und 1 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird der Ansatz mit 150 ml Dichlormethan verdünnt, mit 100 ml Wasser und zweimal mit 100 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, die Lösemittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

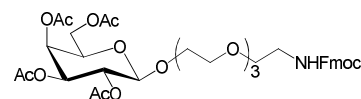
Ausbeute: 4.31 g (max. 10.5 mmol, 82 %), Lit.:<sup>[309]</sup> 92 %; farbloses hochviskoses Öl;  $R_f = 0.55$  (cHex/EtOAc, 3:2).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ):  $[\delta/ppm] = 6.68$  (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 4.0$  Hz, H1-Gal), 5.50 (dd, 1H,  $^3J_{H4,H3} = 3.3$  Hz,  $^3J_{H4,H5} = 1.4$  Hz, H4-Gal), 5.38 (dd, 1H,  $^3J_{H3,H2} = 10.7$  Hz,  $^3J_{H3,H4} = 3.3$  Hz, H3-Gal), 5.03 (dd, 1H,  $^3J_{H2,H1} = 3.9$  Hz,  $^3J_{H2,H3} = 10.7$  Hz, H2-Gal), 4.47 (t\*, 1H,  $^3J_{H5,H6a} \approx ^3J_{H5,H6b} \approx 6.8$  Hz, H5-Gal), 4.17 (dd, 1H,  $^3J_{H6a,H5} = 6.3$  Hz,  $^2J_{H6a,H6b} = 11.4$  Hz, H6a-Gal), 4.09 (dd, 1H,  $^3J_{H6b,H5} = 6.8$  Hz,  $^2J_{H6b,H6a} = 11.4$  Hz, H6b-Gal), 2.13, 2.09, 2.04, 1.99 (4 x s, 12H, Ac-CH<sub>3</sub>).

$C_{14}H_{19}BrO_9$  (411.20)

### 11-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-3,6,9-trioxaundecyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (**73**)

( $\beta$ -Ac<sub>4</sub>Gal-O-Spa-NH-Fmoc)



Eine Mischung aus 2.50 g (6.08 mmol)  $\alpha$ -Ac<sub>4</sub>Gal-Br (**72**), 2.53 g (6.15 mmol; 1.0 Äquiv.) Fmoc-NH-Spa-OH (**29**) und 3 g Molekularsieb (3 Å) in 100 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Im Argon-Gegenstrom gibt man unter Lichtausschluss 1.87 g (7.28 mmol, 1.2 Äquiv.) Silber-

trifluormethansulfonat (AgOTf) in einer Portion zu und lässt 8 h bei Raumtemp. rühren. Nach dem Neutralisieren des Ansatzes mit Triethylamin wird das Molekularsieb über Hyflo<sup>®</sup> abgesaugt und mit Dichlormethan gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels erfolgt eine flashchromatographische Reinigung (Laufmittel: cHex/EtOAc, 1.5:4) an Kieselgel.

Ausbeute: 2.50 g (3.35 mmol, 55 %); farbloses hochviskoses Öl;  $[\alpha]_D^{23} = -6$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.58$  (EtOAc),  $R_f = 0.17$  (cHex / EtOAc, 1.5:4),  $R_t = 35.9$  min (Säule: A, Gradient: Ana-4).

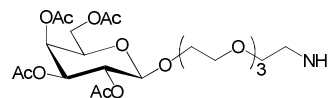
400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 7.76$  (d, 2H,  $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H5,H6} = 7.5$  Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.60 (d, 2H,  $^3J_{H1,H2} = ^3J_{H8,H7} = 7.4$  Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.39 (t\*, 2H,  $^3J_{H3,H2} \approx ^3J_{H3,H4} \approx ^3J_{H6,H5} \approx ^3J_{H6,H7} \approx 7.4$  Hz, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.30 (t\*, 2H,  $^3J_{H2,H1} \approx ^3J_{H2,H3} \approx ^3J_{H7,H6} \approx ^3J_{H7,H8} \approx 7.4$  Hz, H2-Fmoc, H7-Fmoc), 5.42 (t<sub>b</sub>, 1H,  $^3J_{NH-Fmoc,CH2} = 5.3$  Hz, NH-Fmoc), 5.36 (dd, 1H,  $^3J_{H4,H3} = 3.4$  Hz,  $^3J_{H4,H5} = 0.8$  Hz, H4-Gal), 5.19 (dd, 1H,  $^3J_{H2,H1} = 8.0$  Hz,  $^3J_{H2,H3} = 10.5$  Hz, H2-Gal), 4.99 (dd, 1H,  $^3J_{H3,H2} = 10.5$  Hz,  $^3J_{H3,H4} = 3.4$  Hz, H3-Gal), 4.51 (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 8.0$  Hz, H1-Gal), 4.39 (d, 2H,  $^3J_{CH2-Fmoc,H9-Fmoc} = 7.0$  Hz, CH<sub>2</sub>-Fmoc), 4.21 (t, 1H,  $^3J_{H9-Fmoc,CH2-Fmoc} = 6.8$  Hz, H9-Fmoc), 4.17-4.07 (m, 2H, H6a-Gal, H6b-Gal), 3.95-3.89 (m, 1H, Gal-CHH-CH<sub>2</sub>-O), 3.86 (t\*, 1H,  $^3J_{H5,H6a} \approx ^3J_{H5,H6b} \approx 6.7$  Hz, H5-Gal), 3.75-3.53 (m, 13H, Gal-CHH-CH<sub>2</sub>-O {3.70}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.39 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-NH-Fmoc), 2.12, 2.03, 2.02, 1.97 (4 x s, 12H, Ac-CH<sub>3</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC] (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 170.49$ , 170.36, 170.28, 169.57 (C=O-Ac), 156.61 (C=O-Fmoc), 144.08 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.39 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.76 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.13 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.18 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.06 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 101.40 (C1-Gal), 70.99, 70.77 (C5-Gal, C3-Gal), 70.70, 70.65, 70.61, 70.40, 70.34, 70.14, 69.12 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 68.89 (C2-Gal), 67.14 (C4-Gal), 66.66 (CH<sub>2</sub>-Fmoc), 61.37 (C6-Gal), 47.35 (C9-Fmoc), 41.00 (CH<sub>2</sub>-NH-Fmoc), 20.86, 20.76, 20.69 (Ac-CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 768.22$  ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 768.28).

HR-ESI-MS (positiv):  $[m/z] = 768.2845$  ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 768.2843).

C<sub>37</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>15</sub> (745.77)

**11-Amino-3,6,9-trioxa-undecyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-*O*- $\beta$ -D-galactopyranosid (74)** $(\beta\text{-Ac}_4\text{Gal-O-Spa-NH}_2)$ 

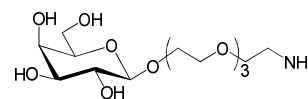
Eine Lösung von 2.10 g (2.82 mmol)  $\beta\text{-Ac}_4\text{Gal-Spa-NH-Fmoc}$  (**73**) in 20 ml Dioxan, 7 ml dest. Wasser und 1.5 ml Eisessig wird im Membranpumpenvakuum (20 mbar) entgast und mit katalytischen Mengen (4-5 Spatelspitzen) Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) versetzt. Nach erneutem Entgasen wird das Reaktionsgefäß mit Wasserstoff geflutet (Hydrierblase) und der Ansatz 40 h bei Raumtemp. kräftig gerührt. Anschließend wird die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre getauscht und der Katalysator mittels einer RP-C18-Filterkartusche entfernt (Eluent: Acetonitril). Nach Entfernen des Lösemittels im Vakuum erfolgt eine flashchromatographische Reinigung (Laufmittel: cHex/EtOH/TEA, 2:3:0.15) an Kieselgel.

Ausbeute: 1.21 g (2.31 mmol, 82 %); schwach gelbes hochviskoses Öl;  $R_f = 0.20$  (cHex/EtOH/TEA, 2:3:0.5),  $R_f = 0.44$  (MeOH/TEA, 4:0.5).

*ESI-MS* (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 524.24$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 524.23).

*HR-ESI-MS* (positiv):  $[m/z] = 524.2352$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 524.2343).

$C_{22}H_{37}NO_{13}$  (523.53)

**11-Amino-3,6,9-trioxa-undecyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (75)** $(\beta\text{-Gal-O-Spa-NH}_2)$ 

Eine Lösung von 1.10 g (2.10 mmol)  $\beta\text{-Ac}_4\text{Gal-Spa-NH}_2$  (**74**) in 25 ml Methanol wird tropfenweise unter Rühren mit einer methanolischen Natriummethanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 10.0 erreicht ist. Nach 24 h wird mit Essigsäure neutralisiert, das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch (Laufmittel: EtOH/H<sub>2</sub>O/TEA, 3:0.5:0.5) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 396 mg (1.11 mmol, 58 %); farbloses hochviskoses Öl;  $[\alpha]_D^{24} = -6$  ( $c = 1.00$ , MeOH);  $R_f = 0.20$  (EtOH/H<sub>2</sub>O/TEA, 3:0.5:0.5).



400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (MeOD): [ $\delta/ppm$ ] = 4.27 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 7.3 Hz, H1-Gal), 4.04 (m, 1H, Gal-CH<sub>2</sub>-O), 3.83 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H2,H1</sub> = 0.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H2,H3</sub> = 3.2 Hz, H4-Gal), 3.78-3.46 (m, 19H, Gal-CH<sub>2</sub>-O {3.75}, H6a-Gal {3.73} H6b-Gal {3.70}, H2-Gal {3.53}, H5-Gal {3.52}, H3-Gal {3.49}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 2.87 (s<sub>b</sub>, 2H, CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC] (MeOD): [ $\delta/ppm$ ] = 104.97 (C1-Gal), 76.71 (C5-Gal), 74.84 (C3-Gal), 72.47 (C2-Gal), 71.46, 71.43, 71.37, 71.06 (O-CH<sub>2</sub>), 70.24 (C4-Gal), 69.61 (Gal-CH<sub>2</sub>-O), 62.48 (C6-Gal), 41.70 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [ $m/z$ ] = 356.18 ([M+H]<sup>+</sup>, ber.: 356.19), 378.20 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber. 378.17).

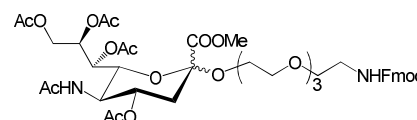
HR-ESI-MS (positiv): [ $m/z$ ] = 356.1937 ([M+H]<sup>+</sup>, ber.: 356.1921).

C<sub>14</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>9</sub> (355.38)

### 5.6.3 Die Synthese des Neuraminsäure-Liganden

#### 11-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-3,6,9-trioxaundecyl-methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat (76)

( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>4</sub>Neu5AcCOOMe-O-Spa-NH-Fmoc)



Eine Mischung aus 1.47 g (3.53 mmol) Fmoc-NH-Spa-OH (**29**), 1.11 g (4.31 mmol) Silbertrifluormethansulfonat (AgOTf) und 2 g Molekularsieb (3 Å) in 50 ml absol. Tetrahydrofuran wird bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre 1 h gerührt und anschließend auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  abgekühlt. Unter kräftigem Rühren tropft man 2.00 g (3.92 mmol)  $\beta$ -Ac<sub>4</sub>NeuNAcCOOMe-Cl (**23**) in 30 ml absol. Tetrahydrofuran innerhalb von 30 min zu und rührt den Ansatz 18 h, wobei man die Temperatur auf Raumtemp. ansteigen lässt. Zum Entfernen der unlöslichen Bestandteile wird über Hyflo<sup>®</sup> filtriert, mit Tetrahydrofuran nachgewaschen, die Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: EtOAc) gereinigt.

Gesamtausbeute: 2.51 g (2.82 mmol, 80 %,  $\alpha/\beta$ : 4:1); farbloser amorpher Feststoff.

Reines  $\alpha$ -Anomer kann mittels einer semipräparativen HPLC-Trennung erhalten werden.

$\alpha$ -Anomer (gewünschtes Produkt):  $[\alpha]_D^{25} = -13$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.23$  (EtOAc),  
 RP-DC:  $R_f = 0.47$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 1:1);  $R_t = 28.4$  min (Säule: A, Gradient: Ana-4),  $R_t = 37.3$   
 min (Säule: P1, Gradient: Präp-4).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 7.76$  (d, 2H,  $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = ^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6} = 7.5$   
 Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.60 (d, 2H,  $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = ^3J_{\text{H}_8,\text{H}_7} = 7.4$  Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc),  
 7.39 (t\*, 2H,  $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} \approx ^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} \approx ^3J_{\text{H}_6,\text{H}_5} \approx ^3J_{\text{H}_6,\text{H}_7} \approx 7.4$  Hz, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.31 (t\*,  
 2H,  $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} \approx ^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} \approx ^3J_{\text{H}_7,\text{H}_6} \approx ^3J_{\text{H}_7,\text{H}_8} \approx 7.4$  Hz, H2-Fmoc, H7-Fmoc), 5.48 (sb, 1H, NH-  
 Fmoc), 5.40-5.36 (mc, 1H, H8-Sia), 5.31 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H}_7,\text{H}_6} = 1.6$  Hz,  $^3J_{\text{H}_7,\text{H}_8} = 8.6$  Hz, H7-  
 Sia), 5.24 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},\text{H}_5} = 5.8$  Hz, NH-Sia), 4.90-4.78 (mc, 1H, H4-Sia), 4.39 (d, 2H,  
 $^3J_{\text{CH}_2\text{-Fmoc},\text{H}_9\text{-Fmoc}} = 6.9$  Hz, CH<sub>2</sub>-Fmoc), 4.29 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H}_9\text{a},\text{H}_8} = 2.7$  Hz,  $^2J_{\text{H}_9\text{a},\text{H}_9\text{b}} = 12.4$   
 Hz, H9a-Sia), 4.22 (t, 1H,  $^3J_{\text{H}_9\text{-Fmoc},\text{CH}_2\text{-Fmoc}} = 6.9$  Hz, H9-Fmoc), 4.10-4.01 (m, 3H, H9b-  
 Sia {4.09}, H6-Sia {4.07}, H5-Sia {4.04}), 3.89 (m, 1H, Sia-CHH-CH<sub>2</sub>-O), 3.77 (s, 3H,  
 COOCH<sub>3</sub>), 3.69-3.32 (m, 15H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 2.60 (dd, 1H,  $^2J_{\text{H}_3\text{äq},\text{H}_3\text{ax}} = 12.8$  Hz,  $^3J_{\text{H}_6,\text{H}_7} =$   
 4.6 Hz, H3<sub>äq</sub>-Sia), 2.13, 2.12, 2.03, 2.00, 1.87 (5 x s, 15H, CH<sub>3</sub>-Ac), 1.96 (t\*, 1H,  
 $^2J_{\text{H}_3\text{ax},\text{H}_3\text{äq}} \approx ^3J_{\text{H}_3\text{ax},\text{H}_4} \approx 12.6$  Hz, H3<sub>ax</sub>-Sia).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC, HMBC] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 171.00$ , 170.68, 170.34,  
 170.13, 170.08 (C=O-Ac), 168.24 (C1-Sia), 156.54 (C=O-Fmoc), 144.01 (C1a-Fmoc,  
 C8a-Fmoc), 141.30 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.65 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.04 (C2-  
 Fmoc, C7-Fmoc), 125.09 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.95 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 98.79  
 (C2-Sia), 72.40 (C6-Sia), 70.51, 70.35, 70.09 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 69.06 (C4-Sia), 68.39 (C8-  
 Sia), 67.27 (C7-Sia), 66.61 (CH<sub>2</sub>-Fmoc), 64.40 (Sia-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 62.36 (C9-Sia), 52.77  
 (COOCH<sub>3</sub>), 49.44 (C5-Sia), 47.26 (C9-Fmoc), 40.94 (CH<sub>2</sub>-NH-Fmoc), 37.92 (C3-Sia),  
 23.16, 21.11, 20.85, 20.84, 20.77 (CH<sub>3</sub>-Ac).

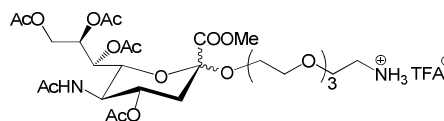
ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 889.34$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , ber.: 888.35), 911.25 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  
 ber.: 911.34).

HR-ESI-MS (positiv):  $[m/z] = 911.3458$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 911.3426).

$\text{C}_{43}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{18}$ (888.91)	ber.: C 58.10	H 6.35	N 3.15
	gef.: C 57.76	H 6.24	N 3.28

**11-Amino-3,6,9-trioxaundecyl-methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-*D*-glycero- $\alpha$ -*D*-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat-hydrotrifluoracetat (77)**

( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>4</sub>Neu5AcCOOMe-O-Spa-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)



Eine Lösung von 500 mg (0.56 mmol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>4</sub>Neu5AcCOOMe-O-Spa-NH-Fmoc (**76**) in 15 ml Dioxan, 5 ml dest. Wasser und 1 ml Eisessig wird mehrfach im Membranpumpenvakuum (20 mbar) entgast und mit katalytischen Mengen (4-5 Spatelspitzen) Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) versetzt. Nach erneutem Entgasen wird das Reaktionsgefäß mit Wasserstoff geflutet (Hydrierblase) und der Ansatz 16 h bei Raumtemp. kräftig gerührt. Anschließend wird die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre getauscht und der Katalysator mittels einer RP-C18-Filterkartusche entfernt (Eluent: Acetonitril), wobei letzte Spuren an Katalysator durch einen PTFE-Spritzenfilter (0.45  $\mu$ m) beseitigt werden. Das Rohprodukt wird einer chromatographischen Reinigung auf einem semipräparativen HPLC-System unterzogen.

Ausbeute: 355 mg (0.53 mmol, 95 %); farbloser amorpher Feststoff.

Analytische Daten des gewünschten  $\alpha$ -Anomers:

$[\alpha]_D^{22} = -12$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_t = 19.8$  min (Säule: A, Gradient: Ana-1 mit 0.1 % TFA),  $R_t = 24.6$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-1 mit 0.1 % TFA).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 7.54$  (s<sub>b</sub>, 3H, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 6.05 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,H5</sub> = 8.5 Hz, NH-Sia), 5.40-5.33 (m<sub>c</sub>, 1H, H8-Sia), 5.31 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H7,H6</sub> = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H7,H8</sub> = 6.8 Hz, H7-Sia), 4.90-4.78 (dt\*, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3äq</sub> = 4.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3ax</sub>  $\approx$  <sup>3</sup>J<sub>H4,H5</sub>  $\approx$  11.9 Hz, H4-Sia), 4.30 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H9a,H8</sub> = 1.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H9a,H9b</sub> = 12.2 Hz, H9a-Sia), 4.13 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H6,H5</sub> = 10.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H6,H7</sub> = 2.0 Hz, H6-Sia), 4.07-3.96 (m, H9b-Sia {4.13, dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H9b,H8</sub> = 5.8 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H9b,H9a</sub> = 12.2 Hz}, H5-Sia {3.99}), 3.90-3.52 (m, 18H, Sia-CHH-CH<sub>2</sub>-O {3.86}, COOCH<sub>3</sub> {3.82, s}, Sia-CHH-CH<sub>2</sub>-O {3.56}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.26 (s<sub>b</sub>, 2H, CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 2.61 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H3äq,H3ax</sub> = 12.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H6,H7</sub> = 4.6 Hz, H3äq-Sia), 2.13, 2.03, 2.01, 1.94 (4 x s, 15H, CH<sub>3</sub>-Ac), 1.96 (t\*, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H3ax,H3äq</sub>  $\approx$  <sup>3</sup>J<sub>H3ax,H4</sub>  $\approx$  12.4 Hz, H3ax-Sia).  
100.6 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [BB, HSQC] (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 172.56$ , 171.25, 171.21, 171.04, 170.26 (C=O-Ac), 168.53 (C1-Sia), 161.45-159.59 (F<sub>3</sub>C-COO<sup>-</sup>), 98.96 (C2-Sia), 72.28 (C6-Sia), 70.25, 70.06, 70.05, 69.96, 69.94 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 68.78 (C4-Sia), 68.38 (C8-Sia), 67.35 (C7-Sia), 66.85 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 64.12 (Sia-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 62.53 (C9-Sia),

53.44 (COOCH<sub>3</sub>), 49.64 (C5-Sia), 40.23 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 37.18 (C3-Sia), 22.92, 21.21, 20.86, 20.82, 20.81 (CH<sub>3</sub>-Ac).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 667.25$  ([M-TFA+H]<sup>+</sup>, ber.: 667.29).

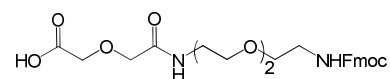
HR-ESI-MS (positiv):  $[m/z] = 667.2921$  ([M-TFA+H]<sup>+</sup>, ber.: 667.2926).

C<sub>30</sub>H<sub>47</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>18</sub> (780.69)

### 5.6.4 Die Synthese des (S)-Cyclohexylalanin-Liganden

#### 3-Oxa-glutarsäure-N-(8-[fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino]-3,6-dioxa-octyl)amid (82)<sup>[244]</sup>

(HOOC-Spa-NH-Fmoc)



Eine Lösung von 4.40 ml (4.44 g, 30.0 mmol) 1,8-Diamino-3,6-dioxaoctan (**81**) in 100 ml Acetonitril wird innerhalb von 30 min mit 3.48 g (30.0 mmol) Diglycolsäureanhydrid (**80**) in 50 ml Acetonitril unter kräftigem Rühren bei Raumtemp. tropfenweise versetzt, wobei sich ein wachsartiger Feststoff bildet. Nach 2 h Nachrühren und 1 h Stehenlassen wird das Lösemittel vorsichtig abdekantiert und der Niederschlag in einem Gemisch aus 250 ml Acetonitril/Wasser (1:1) gelöst, der pH-Wert mit Triethylamin auf 9.5-10 eingestellt, und die 0 °C kalte Lösung tropfenweise unter Rühren mit einer Lösung von 13.2 g (39.1 mmol, 1.3 Äquiv.) N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyloxy)-succinimid (Fmoc-OSu) in 100 ml Acetonitril versetzt. Nach 16 h wird der Ansatz mit Essigsäure auf pH 6.5 eingestellt, das Lösemittel im Vakuum entfernt, der Rückstand mit 125 ml einer 5%igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt und mit 100 ml Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wird mit 1 M Salzsäure-Lösung auf pH 1.5 gebracht und viermal mit je 80 ml Ethylacetat extrahiert. Nach Vereinigen der organischen Phasen werden diese einmal mit ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, die Lösemittel im Vakuum entfernt und der ölige Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Aceton/CHCl<sub>3</sub>, 4:1) gereinigt.

Ausbeute: 4.63 g (9.51 mmol, 32 %), Lit.:<sup>[244]</sup> 76 %; farbloses Öl; R<sub>f</sub> = 0.25 (Aceton/CHCl<sub>3</sub>, 4:1 mit 0.1 % TFA).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): [δ/ppm] = 12.85 (s, 1H, COOH), 7.88 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3</sub> = <sup>3</sup>J<sub>H5,H6</sub> = 7.1 Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.82 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,CH2</sub> = 5.7 Hz, NH-Fmoc), 7.70 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>H8,H7</sub> = 7.3 Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.41 (t\*, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H6,H5</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H6,H7</sub> ≈ 7.3 Hz, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.33 (t\*, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H2,H1</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H2,H3</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H7,H6</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H7,H8</sub> ≈ 7.4 Hz, H2-Fmoc, H7-Fmoc), 4.30 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>CH2-Fmoc,H9-Fmoc</sub> = 6.8 Hz, CH<sub>2</sub>-Fmoc), 4.22 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H9-Fmoc,CH2-Fmoc</sub> = 6.3 Hz, H9-Fmoc), 4.12 (s, 2H, C=O-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-C=O), 3.97 (s, 2H, C=O-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-C=O), 3.55-3.34 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-O), 3.27 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-NH-C=O-CH<sub>2</sub>), 3.14 (m, 2H, Fmoc-NH-CH<sub>2</sub>).

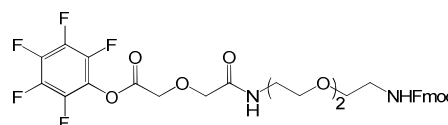
ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 487.28 ([M+H]<sup>+</sup>, ber.: 487.21), 509.24 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 509.19), 525.20 ([M+K]<sup>+</sup>, ber.: 525.16).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 509.1898 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 509.1900).

C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (486.51)

### 3-Oxa-glutarsäure-N-(8-[fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino]-3,6-dioxaoctyl)carbamoyl-pentafluorphenylester (83)

(PfpOOC-Spa-NH-Fmoc)



#### Methode A:

Eine Lösung von 150 mg (0.31 mmol) HOOC-Spa-NH-Fmoc (**82**) in 3 ml absol. Tetrahydrofuran wird mit 108 µl (78.4 mg, 0.78 mmol, 2.5 Äquiv.) Triethylamin und 173 mg (0.62 mmol, 2.0 Äquiv.) Trifluoressigsäurepentafluorphenylester bei Raumtemp. versetzt und 2 h gerührt. Anschließend wird der Ansatz mit 25 ml Ethylacetat verdünnt und mit 15 ml einer 0.1 M Salzsäurelösung sowie einer 5%igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen und die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet. Um überschüssigen Trifluoressigsäurepentafluorphenylester zu entfernen, werden zu dem öligen Rückstand dreimal je 1 ml Ethylacetat zugegeben und das Produkt jeweils mit 20 ml *n*-Hexan bei 0 °C ausgefällt und abzentrifugiert.

Ausbeute: 186 mg (0.29 mmol, 92 %); farbloses Öl; R<sub>f</sub> = 0.41 (EtOAc).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = 7.76 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3</sub> = <sup>3</sup>J<sub>H5,H6</sub> = 7.4 Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.59 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>H8,H7</sub> = 7.3 Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.39 (t\*, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H6,H5</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H6,H7</sub> ≈ 7.4 Hz, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.30 (t\*, 2H, <sup>3</sup>J<sub>H2,H1</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H2,H3</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H7,H6</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H7,H8</sub> ≈ 7.4 Hz, H2-Fmoc, H7-Fmoc), 6.97 (s<sub>b</sub>, 1H, NH), 5.37 (s<sub>b</sub>, 1H,

NH), 4.48 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-NH-C=O-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-C=O), 4.42 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>-Fmoc,H<sub>9</sub>-Fmoc</sub> = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>-Fmoc), 4.21 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H<sub>9</sub>-Fmoc,CH<sub>2</sub>-Fmoc</sub> = 6.7 Hz, H<sub>9</sub>-Fmoc), 4.12 (s, 2H, C=O-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-C=O), 3.66-3.24 (m, 12H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [δ/ppm] = 168.14 (C=O-O-Pfp), 165.78 (NHC=O-CH<sub>2</sub>O), 156.46 (Fmoc-NH-C=O), 143.91 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 142.76-142.38 (COO-*m*-ArC-F), 141.28 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 139.65-139.10 (COO-*o*-ArC-F), 138.33-137.94 (COO-*p*-ArC-F), 136.55-135.88 (COO-ArC-F), 127.65 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.00 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 124.97 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.94 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 71.02, 70.22, 70.06, 69.59, 67.61, 67.46 (CH<sub>2</sub>), 66.48 (CH<sub>2</sub>-Fmoc), 53.43, 47.23 (C<sub>9</sub>-Fmoc), 40.86 (CH<sub>2</sub>-NH-C=O-CH<sub>2</sub>), 38.66 (Fmoc-NH-CH<sub>2</sub>).

<sup>19</sup>F-NMR (377 MHz, CDCl<sub>3</sub>) [δ/ppm] = -152.31 (d, 2F, J = 17.6 Hz, COO-*o*-Ar-F), -156.61 (t, 1F, J = 21.7 Hz, COO-*p*-Ar-F), -161.42 (t, 2F, J = 19.7 Hz, COO-*m*-Ar-F).

#### Methode B:

Eine Lösung von 1.00 g (2.06 mmol) HOOC-Spa-NH-Fmoc (**82**) und 0.50 g (2.72 mmol, 1.3 Äquiv.) Pentafluorphenol (**48**) in 50 ml absol. Dichlormethan wird bei 0 °C in einer Portion mit 512 mg (2.68 mmol, 1.3 Äquiv.) 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbo-diimid Hydrochlorid unter einer Argonatmosphäre versetzt und 2 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird der Ansatz mit 30 ml Dichlormethan verdünnt und zweimal mit je 40 ml Wasser, einmal zügig mit 40 ml 2.5 %iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und nochmals mit 40 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt.

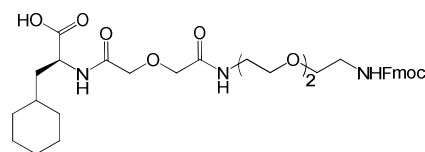
Ausbeute: 1.20 g (1.84 mmol, 90 %); leicht gelbes Öl; R<sub>f</sub> = 0.41 (EtOAc).

Analytische Daten: siehe Methode A.

C<sub>31</sub>H<sub>29</sub>F<sub>5</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (652.56)

**(S)-21-Cyclohexyl-1-(9H-fluoren-9-yl)-3,14,18-trioxo-2,7,10,16-tetraoxa-4,13,19-triazahenicosan-20-carbonsäure (84)**

(Cyclo-NH-Spa-NH-Fmoc)



Eine Lösung von 434 mg (2.53 mmol) (S)-Cyclohexylalanin (**79**) und 1.70 ml (1.23 g, 12.2 mmol, 4.8 Äquiv.) Triethylamin in einem Lösemittelgemisch aus 15 ml Wasser und 15 ml Aceton wird tropfenweise innerhalb von 15 min mit 1.20 g (1.84 mmol) PfpOOC-Spa-NH-Fmoc (**83**) gelöst in 15 ml Aceton unter Rühren versetzt. Nach weiteren 30 min Rühren bei Raumtemp. werden 100 ml 0.1 M Salzsäure zugegeben und die Suspension viermal mit je 75 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden anschließend mit 75 ml ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und die Lösemittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rückstandes erfolgt flashchromatographisch (Laufmittel: CHCl<sub>3</sub>/EtOH/AcOH, 4:0.5:0.05) an Kieselgel.

Ausbeute: 796 mg (1.24 mmol, 68 %); schwach gelbliches hochviskoses Öl;  $[\alpha]_D^{25} = +2$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.28$  (CHCl<sub>3</sub>/EtOH/AcOH, 4:0.5:0.05),  $R_f = 0.48$  (CHCl<sub>3</sub>/EtOH/AcOH, 4:1:0.05),  $R_t = 33.4$  min (Säule: A, Gradient: Ana-1 mit 0.1 % TFA),  $R_t = 41.2$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-1 mit 0.1 % TFA).

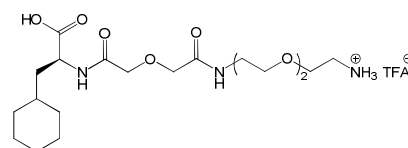
*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 640.37$  ( $[M+H]^+$ , ber.: 640.32), 662.35 ( $[M+Na]^+$ , ber.: 662.30), 678.35 ( $[M+K]^+$ , ber.: 678.28).

*HR-ESI-MS (positiv):*  $[m/z] = 662.3042$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 662.3054).

C<sub>34</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub> (639.74)

**(S)-2-Carboxy-1-cyclohexyl-4,8-dioxo-6,12,15-trioxa-3,9-diazaheptadecan-17-ammonium-trifluoracetat (85)**

(Cyclo-NH-Spa-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)



Eine Lösung von 745 mg (1.16 mmol) Cyclo-NH-Spa-NH-Fmoc (**84**) in 20 ml Dioxan, 8 ml dest. Wasser und 2 ml Eisessig wird im Membranpumpenvakuum (20 mbar) entgast

und mit katalytischen Mengen (3-4 Spatelspitzen) Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) versetzt. Nach erneutem Entgasen wird das Reaktionsgefäß mit Wasserstoff geflutet (Hydrierblase) und der Ansatz 18 h bei Raumtemp. kräftig gerührt. Anschließend wird die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre getauscht und der Katalysator mittels einer RP-C18-Filterkartusche entfernt (Eluent: Dioxan/Wasser, 3:1). Um letzte Spuren des Katalysators zu entfernen, wird die Lösung durch einen PTFE-Spritzenfilter (0.45  $\mu\text{m}$ ) filtriert und einer chromatographischen Trennung auf einem semipräparativen HPLC-System unterzogen.

Ausbeute: 447 mg (0.84 mmol, 92 %); schwach gelbes hochviskoses Öl;  $[\alpha]_D^{25} = -4$  ( $c = 1.00$ , MeOH);  $R_f = 0.23$  (MeOH/ $\text{CHCl}_3$ , 3:1 mit 1 Trpf. AcOH/ml LM);  $R_t = 21.8$  min (Säule: A, Gradient: Ana-1 mit 0.1 % TFA),  $R_t = 26.2$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-1 mit 0.1 % TFA).

400 MHz- $^1\text{H-NMR}$  (MeOD):  $[\delta/\text{ppm}] = 4.54$  (dd, 1H,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^3J = 10.1$  Hz,  $\underline{\text{CHCOOH}}$ ), 4.13 (d, 2H,  $^2J = 1.2$  Hz,  $\underline{\text{CH}_2\text{C=O-NH-Cyclo}}$ ), 4.08 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2$ ), 3.72-3.68 (m, 2H,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_3^+$ ), 3.68-3.65 (m, 4H,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ ), 3.61 (t,  $^3J = 5.6$  Hz, 2H,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2$ ), 3.49-3.43 (m, 2H,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2$ ), 3.15-3.10 (m, 2H,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_3^+$ ), 1.90-1.58 (m, 7H,  $\underline{\text{CH}_2\text{-CH-COOH}}$ ,  $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$ ), 1.38 (m<sub>c</sub>, 1H,  $\text{CH-Cyclo}$ ), 1.31-1.13 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$ ), 1.09-0.84 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$ ).

100.6 MHz- $^{13}\text{C-NMR}$  [BB, HSQC] (MeOD):  $[\delta/\text{ppm}] = 175.86$  (COOH), 171.98, 171.88 (C=O), 163.52-162.39 ( $\text{F}_3\text{C-COO}^-$ ), 71.55 ( $\text{CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2$ ), 71.34 ( $\underline{\text{CH}_2\text{C=O-NH-Cyclo}}$ ), 71.27, 71.24 ( $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ ), 70.46 ( $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2$ ), 67.85 ( $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_3^+$ ), 51.08 ( $\underline{\text{CHCOOH}}$ ), 40.67 ( $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_3^+$ ), 39.98 ( $\underline{\text{CH}_2\text{-CH-COOH}}$ ), 39.75 ( $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2$ ), 35.50 ( $\text{CH-Cyclo}$ ), 34.79, 33.18, 27.52, 27.34, 27.14 ( $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$ ).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 418.24$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , ber.: 418.25).

HR-ESI-MS (positiv):  $[m/z] = 418.2564$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , ber.: 418.2553).

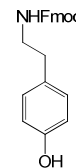
$\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_9$  (531.52)



### 5.6.5 Die Synthese des Tyramin-Liganden

#### *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-tyramin (**87**)<sup>[246]</sup>

(Fmoc-NH-Tyr-OH)



Eine Suspension von 5.93 g (43.2 mmol) Tyramin (**86**) in 500 ml Tetrahydrofuran wird bei 0 °C mit einer Lösung von 11.2 g (43.2 mmol) (9-Fluorenylmethyl)-chlorformiat (Fmoc-Cl) in 100 ml Diethylether tropfenweise innerhalb von 2 h versetzt. Nach weiteren 2 h Rühren bei Raumtemp. wird das Lösemittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in 100 ml Ethylacetat aufgenommen und dreimal mit je 50 ml einer 1 M Salzsäure-Lösung und dreimal mit je 50 ml Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen der organischen Phase mit Magnesiumsulfat wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in wenig Ethylacetat aufgenommen und in *n*-Hexan unter Kühlen gefällt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und im Hochvakuum getrocknet.

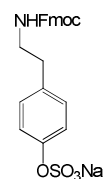
Ausbeute: 7.37 g (20.5 mmol, 48 %), Lit.:<sup>[246]</sup> 78 %; schwach bräunliches Pulver;

$R_f = 0.24$  (cHex/EtOAc, 3:1).

$300\text{ MHz-}^1\text{H-NMR (DMSO-}d_6\text{): } [\delta/\text{ppm}] = 7.89$  (d, 2H,  $^3J_{\text{H4,H3}} = ^3J_{\text{H5,H6}} = 7.6$  Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.68 (d, 2H,  $^3J_{\text{H1,H2}} = ^3J_{\text{H8,H7}} = 7.3$  Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.41 (t\*, 2H,  $^3J_{\text{H3,H2}} \approx ^3J_{\text{H3,H4}} \approx ^3J_{\text{H6,H5}} \approx ^3J_{\text{H6,H7}} \approx 7.3$  Hz, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.34 (t\*, 2H,  $^3J_{\text{H2,H1}} \approx ^3J_{\text{H2,H3}} \approx ^3J_{\text{H7,H6}} \approx ^3J_{\text{H7,H8}} \approx 7.3$  Hz, H2-Fmoc, H7-Fmoc), 6.97 (d, 2H,  $J = 8.3$  Hz, CH<sub>2</sub>-*o*-Ar-H), 6.68 (d, 2H,  $J = 8.3$  Hz, CH<sub>2</sub>-*m*-Ar-H), 4.30 (d, 2H,  $^3J_{\text{CH2-Fmoc,H9-Fmoc}} = 7.0$  Hz, CH<sub>2</sub>-Fmoc), 4.20 (t, 1H,  $^3J_{\text{H9-Fmoc,CH2-Fmoc}} = 7.0$  Hz, H9-Fmoc), 3.15 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Ar), 2.60 (t, 2H,  $J = 7.4$  Hz, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Ar).

*FD-MS (positiv):*  $[m/z] = 359.2$  ( $[\text{M}]^+$ , ber.: 359.2).

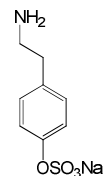
C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub> (359.42)

**Natrium-*N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-tyramin-*O*-sulfat (88)**(Fmoc-NH-Tyr-OSO<sub>3</sub>Na)

Eine Lösung aus 500 mg (1.39 mmol) Fmoc-NH-Tyr-OH (**87**) in 4 ml absol. Dimethylformamid, 1 ml absol. Pyridin und 0.5 ml absol. Dioxan wird unter kräftigem Rühren mit einer Portion 640 mg (4.18 mmol, 3.0 Äquiv.) *N,N*-Dimethylformamid-Schwefeltrioxid-Komplex (DMF x SO<sub>3</sub>) versetzt und 4 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Entfernen der Lösemittel im Hochvakuum wird der Rückstand zweimal mit je 15 ml Toluol kodestilliert, in 30 ml kaltes Wasser aufgenommen und mit einer 5%igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung in der Kälte zügig neutralisiert. Zum Entfernen von nicht umgesetztem Edukt wird die Lösung zweimal mit je 25 ml Ethylacetat gewaschen und die wässrige Phase im Anschluss einer Lyophilisation unterzogen. Das Lyophilisat wird in Isopropanol aufgenommen, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und verworfen und das Lösemittel des Filtrats im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird ohne weitere Reinigung und Charakterisierung der nachfolgenden Deblockierung unterworfen.

Ausbeute: 371 mg (max. 0.80 mmol); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.61$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 4:2).

C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>NNaO<sub>6</sub>S (461.46)

**Natrium-tyramin-*O*-sulfat (89)**(NH<sub>2</sub>-Tyr-O-SO<sub>3</sub>Na)

Eine Lösung von 371 mg (max. 0.80 mmol) Fmoc-NH-Tyr-OSO<sub>3</sub>Na (**88**) in 3 ml Dioxan und 3 ml dest. Wasser wird mehrfach im Membranpumpenvakuum (20 mbar) entgast und mit katalytischen Mengen (1-2 Spatelspitzen) Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) versetzt. Nach erneutem Entgasen wird das Reaktionsgefäß mit Wasserstoff geflutet (Hydrierblase) und der Ansatz 48 h bei Raumtemp. kräftig gerührt. Anschließend wird die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre getauscht und der Katalysator

mittels einer RP-C18-Filterkartusche entfernt (Eluent: Acetonitril/Wasser, 1:1). Um letzte Spuren an Katalysator zu entfernen, wird die Lösung durch einen PTFE-Spritzefilter (0.45  $\mu\text{m}$ ) filtriert und einer chromatographischen Reinigung auf einem semi-präparativen HPLC-System (Eluent:  $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ , 95:5) unterzogen.

Ausbeute: 150 mg (0.63 mmol, 45 % über 2 Stufen); farbloses Lyophilisat;  $R_f = 0.43$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ , 1:1.5 mit 0.1 % AcOH);  $R_t = 27.8$  min (Säule: P1, isokratisch: 95 %  $\text{H}_2\text{O}$  / 5 % ACN); Smp.: 285 °C (Zersetzung).

300  $\text{MHz}$ - $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 7.14$  (m, 4H, Ar-H), 3.00 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Ar}$ ), 2.78 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Ar}$ ).

75.5  $\text{MHz}$ - $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 152.36$  (Ar-C-O- $\text{SO}_3^-$ ), 131.88 ( $\text{CH}_2\text{-ArC}$ ), 129.10 ( $\text{CH}_2\text{-}o\text{-ArC}$ ), 120.82 ( $\text{CH}_2\text{-}m\text{-ArC}$ ), 40.23 ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Ar}$ ), 32.57 ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Ar}$ ).

ESI-MS (Gerät 2, negativ):  $[m/z] = 216.04$  ( $[\text{M-Na}]^+$ , ber.: 216.03).

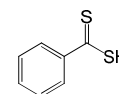
HR-ESI-MS (negativ):  $[m/z] = 216.0331$  ( $[\text{M-Na}]^+$ , ber.: 216.0337).

$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{NNaO}_4\text{S}$  (239.22)

## 5.7 Die Synthesen der Polymere

### 5.7.1 Die Synthese des Kettentransferreagenzes

#### Dithiobenzoessäure (91)<sup>[275]</sup>



Eine Lösung von 100 ml absol. Tetrahydrofuran und 41 ml (10.7 g, 77.9 mmol) Phenylmagnesiumchlorid (90) in Tetrahydrofuran (25 wt.%) wird auf 40 °C erwärmt und unter einer Argonatmosphäre tropfenweise unter kräftigem Rühren mit 7.0 ml (8.82 g, 116 mmol, 1.5 Äquiv.) Schwefelkohlenstoff so zügig versetzt, dass die Temperatur nicht über 50 °C ansteigt. Es wird 1 h bei 40 °C nachgerührt, der Ansatz auf ein Gemisch aus 175 ml Wasser, 25 ml konz. Salzsäure und Eis gegossen, mit 200 ml Diethylether extrahiert und die organische Phase dreimal mit 150 ml ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des

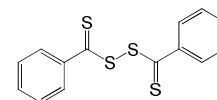
Lösemittels wird das luft- und lichtempfindliche violette Öl direkt in die nächste Reaktion eingesetzt.

Ausbeute: 9.53 g (max. 61.8 mmol, 79 %); violettes Öl.

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = 8.06 (d, 2H,  $J$  = 8.2 Hz, HSSC-*o*-Ar-H), 7.59 (t, 1H,  $J$  = 7.7 Hz, HSSC-*p*-Ar-H), 7.40 (t, 2H,  $J$  = 8.2 Hz, HSSC-*m*-Ar-H), 6.35 (s<sub>b</sub>, 1H, SH).

C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>S<sub>2</sub> (154.25)

### Dithiobenzoyldisulfit (**92**)<sup>[276]</sup>

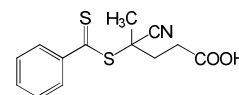


Zu den vereinigten Lösungen aus 7.08 g (27.9 mmol) Iod, gelöst in 100 ml Diethylether, und 4.77 g (28.7 mmol) Kaliumiodid, gelöst in 240 ml Milli-Q-Wasser, wird unter kräftigem Rühren tropfenweise 9.53 g (max. 61.8 mmol) Dithiobenzoesäure (**91**) gelöst, in 60 ml Diethylether, eingetragen (Die Iod-Lösung wird während des Zutropfens viskoser und dann violett). Nach beendetem Zutropfen werden die Phasen getrennt und die organische Phase dreimal mit je 100 ml Milli-Q-Wasser gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird ohne Reinigung und Charakterisierung in die nachfolgende Reaktion eingesetzt.

Ausbeute: 9.40 g (max. 30.7 mmol, 99 %); violetter Feststoff.

C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>S<sub>4</sub> (306.49)

### 4-Cyano-4-thiobenzoyl-sulfanyl-pentansäure (**93**)<sup>[277]</sup>



Eine Lösung von 6.50 g (max. 21.2 mmol) Dithiobenzoylsulfid (**92**) und 8.88 g (31.7 mmol, 1.5 Äquiv.) 4,4'-Azo-bis-(cyanovaleriansäure) in 125 ml Ethylacetat wird im Hochvakuum dreimal entgast und anschließend 14 h unter Rückfluss erhitzt. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der

Rückstand zweimalig flashchromatographisch (Laufmittel:  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ , 5:0.5) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 8.26 g (29.6 mmol, 70 %), Lit.:<sup>[277]</sup> 68 %; roter amorpher Feststoff;  $R_f = 0.28$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ , 5:0.5),  $R_f = 0.55$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ , 5:0.7).

$300 \text{ MHz}^{-1}\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 7.91$  (d, 2H,  $J = 8.4$  Hz, CSS-*o*-Ar-H), 7.57 (t, 1H,  $J = 7.4$  Hz, CSS-*p*-Ar-H), 7.40 (t, 2H,  $J = 7.7$  Hz, CSS-*m*-Ar-H), 2.80-2.38 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ), 1.94 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$75.5 \text{ MHz}^{-1}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 219.56$  (CSS), 177.59 (COOH), 144.59 (CSS-ArC), 133.23 (CSS-*p*-ArC), 128.72 (CSS-*m*-ArC), 126.81 (CSS-*o*-ArC), 118.50 (CN), 45.71 ( $\text{CCH}_3$ ), 33.10 ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ ), 29.68 ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ ), 24.29 ( $\text{CH}_3$ ).

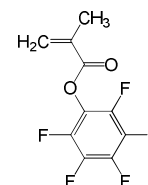
*ESI-MS* (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 302.03$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 302.03).

$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_2\text{S}_2$  (279.38)

## 5.7.2 Die Synthese des Monomers

### Pentafluorphenylmethacrylat (**95**)<sup>[135,278]</sup>

(PFPPMA)



Eine Mischung aus 26.0 g (141 mmol) Pentafluorphenol (**48**), 20 g Molekularsieb (3 Å, Pulver) und 20.0 ml (14.5 g, 144 mmol) Triethylamin in 260 ml absol. Dichlormethan wird 1 h unter einer Argonatmosphäre bei Raumtemp. gerührt. Nach erfolgter Kühlung auf 0 °C und tropfenweiser Zugabe von 14.0 ml (15.1 g, 144 mmol) frisch destilliertem Methacrylsäurechlorid (**94**) wird die Kühlung entfernt und der Ansatz 16 h bei Raumtemp. gerührt. Zum Entfernen der unlöslichen Bestandteile erfolgt eine Filtration über Hyflo<sup>®</sup>, wobei mit 100 ml Dichlormethan nachgespült wird. Das Filtrat wird dreimal mit je 200 ml dest. Wasser gewaschen, die vereinigten wässrigen Phasen mit 150 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels im Vakuum erfolgt eine Destillation des Rohproduktes im Hochvakuum bei 65 °C und einem Druck von  $1.8 \times 10^{-2}$  mbar.

Ausbeute: 30.7 g (122 mmol, 84 %), Lit.:<sup>[135]</sup> 62 %; farbloses Öl;  $R_f = 0.27$  (cHex).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = 6.45 (qd, 1H,  $J = 0.9$  Hz, C=CHH), 5.92-5.90 (m, 1H, C=CHH), 2.09 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

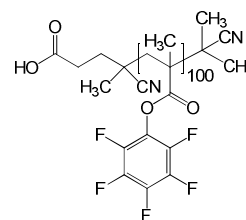
75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = 163.25 (C=O), 143.11, 141.31, 139.67, 137.86, 136.50 (ArC), 133.87 (H<sub>2</sub>C=C), 130.10 (H<sub>2</sub>C=C), 18.39 (CH<sub>3</sub>).

377 MHz-<sup>19</sup>F-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = -153.14 (d, 2F, COO-*o*-Aryl-F), -158.56 (t, 1F, COO-*p*-Aryl-F), -162.85 (t, 2F, COO-*m*-Aryl-F).

C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>F<sub>5</sub>O<sub>2</sub> (252.14)

### 5.7.3 Die Synthese des Polymers

#### Poly(pentafluorphenylmethacrylat) (**97**)<sup>[135]</sup>



#### Polymerisation

Eine Lösung von 2.52 g (10.0 mmol) Pentafluorphenylmethacrylat (**95**) und 44.0 mg (0.16 mmol) 4-Cyano-4-thiobenzoyl-sulfanylpentansäure (**93**) in 7 ml absol. Dioxan wird im Hochvakuum zweimal entgast und mit 2.59 mg (15.8  $\mu$ mol) Azo-bis-(isobutyronitril) (AIBN) gelöst in 100  $\mu$ l absol. Dioxan versetzt. Nach erneutem Entgasen wird der Polymerisationsansatz auf 70 °C erhitzt (vortemperiertes Ölbad) und 14 h bei dieser Temperatur unter kräftigem Rühren belassen. Man fällt das Polymer dreimal in *n*-Hexan aus und trocknet es bei 40 °C 12 h im Hochvakuum.

Ausbeute: 1.26 g (ca. 50.4  $\mu$ mol, 50 %); rosafarbener amorpher Feststoff.

#### Verkochen der Dithioesterendgruppe mit AIBN<sup>[270]</sup>

Eine Lösung von 1.15 g (46.0  $\mu$ mol) Poly(pentafluorphenylmethacrylat) in 10 ml absol. Dioxan wird mit 302 mg (1.84 mmol, 40 Äquiv.) Azo-bis-(isobutyronitril) in einer Portion versetzt und 5 h auf 70 °C erhitzt. Die farblose Lösung wird anschließend im Vakuum eingengt, dreimal in einem Gemisch aus *n*-Hexan/Diethylether (1:1) gefällt und abzentrifugiert (4000 UPM, 15 min) und im Hochvakuum 14 h bei 40 °C getrocknet.

Ausbeute: 1.15 g (ca. 45.6  $\mu\text{mol}$ , 91 %); farbloser amorpher Feststoff; GPC [UV-Detektor]:  $M_n = 25200$  g/mol,  $M_w = 28200$  g/mol,  $M_z = 31700$  g/mol, PDI: 1.12.

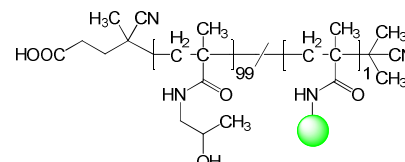
$300\text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 2.60\text{-}2.24$  (br, 2H,  $\text{CH}_2\text{-PMA}$ ),  $1.88\text{-}1.05$  (br, 3H,  $\text{CH}_3\text{-PMA}$ ).

$75.5\text{ MHz-}^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 172.88$  (C=O), 143.00, 141.79, 139.77, 138.08, 136.53, 124.84 (Ar-C), 46.20 ( $\text{CH}_2\text{-PMA}$ ), 19.21, 17.66 ( $\text{CH}_3\text{-PMA}$ ).

$377\text{ MHz-}^{19}\text{F-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = -150.25 - -152.63$  (br, 2F,  $\text{COO-}o\text{-Ar-F}$ ),  $-157.29$  (br, 1F,  $\text{COO-}p\text{-Ar-F}$ ),  $-162.46$  (br, 2F,  $\text{COO-}m\text{-Ar-F}$ ).

## 5.8 Die polymeranalogen Umsetzungen

### Poly(HPMA) (99)



Eine Lösung von 70.0 mg Poly(pentafluorophenylmethacrylat) (**97**) und 1.65 mg (2.76  $\mu\text{mol}$ , 0.01 Äquiv.) FFS- $\text{NH}_3^+$  (**64a**) in 1.5 ml absol. Dioxan und 1.5 ml absol. Dimethylsulfoxid wird mit 192  $\mu\text{l}$  (140 mg, 1.38 mmol, 5 Äquiv. bezogen auf **97**) Triethylamin versetzt und 24 h bei 50 °C unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend werden 84.0  $\mu\text{l}$  (83.0 mg, 1.11 mmol, 4.0 Äquiv.) 1-Amino-2-propanol (**98**) zugegeben und die Lösung wird weitere 36 h bei 50 °C gerührt und dann mit Essigsäure neutralisiert. Die Reinigung des Polymers erfolgt mittels eines semi-präparativen GPC-Systems (Säule: P2, Eluent: Methanol/Wasser, 1:1) mit anschließender Lyophilisation.

Ausbeute: 40.0 mg (ca. 2.68  $\mu\text{mol}$ , 97 %); schwach orangefarbenes Lyophilisat.

Charakteristische NMR-Signale:

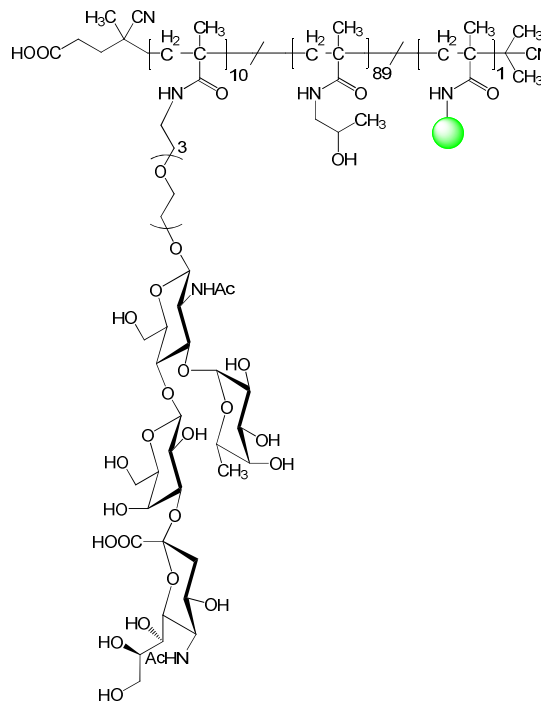
$300\text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$  ( $\text{MeOD}$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 4.05\text{-}3.70$  (br, 1H, CH-HPA),  $3.30\text{-}2.87$  (br, 2H,  $\text{CH}_2\text{-HPA}$ ),  $2.22\text{-}1.58$  (br, 2H,  $\text{CH}_2\text{-PMA}$ ),  $1.44\text{-}0.76$  (br, 6H,  $\text{CH}_3\text{-PMA}$ ,  $\text{CH}_3\text{-HPA}$ ).

$75.5\text{ MHz-}^{13}\text{C-NMR}$  [BB] ( $\text{MeOD}$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 179.78$  (CONH), 66.91 (CH-HPA), 53.20 ( $\text{CH}_2\text{-PMA}$ ), 46.81 ( $\text{CH}_2\text{-HPA}$ ), 21.43 ( $\text{CH}_3\text{-HPA}$ ), 18.80 ( $\text{CH}_3\text{-PMA}$ ).

$M \approx 1.49 \times 10^4$  g/mol.

**Poly(SLe<sup>x</sup>-HPMA) (101)**Polymeranaloge Umsetzung

Eine Lösung von 50.0 mg Poly(pentafluorphenylmethacrylat) (**97**), 27.2 mg (19.8  $\mu\text{mol}$ , 0.1 Äquiv.)  $\beta\text{-Ac}_6(\text{Fuc})\text{SLe}^x$  COOMe-O-Spa-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> (**45**) sowie 0.98 mg (1.98  $\mu\text{mol}$ , 0.01 Äquiv.) FFS-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> (**64a**) in 1.5 ml absol. Dioxan und 1.0 ml absol. Dimethylsulfoxid wird mit 82  $\mu\text{l}$  (59.5 mg, 0.59 mmol, 3.0 Äquiv. bezogen auf **97**) Triethylamin versetzt und 36 h bei 50 °C unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend werden 30.0  $\mu\text{l}$  (29.2 mg, 389  $\mu\text{mol}$ , 2.0 Äquiv.) 1-Amino-2-propanol (**98**) zugegeben und weitere 20 h bei 50 °C gerührt. Der mit Essigsäure neutralisierte und über einen PTFE-Spritzenfilter (0.45  $\mu\text{m}$ ) filtrierte Ansatz wird im Vakuum von Dioxan befreit und einer Reinigung mittels eines semipräparativen GPC-Systems (Säule: P2, Eluent: Methanol/Wasser, 50:50) unterzogen.



Ausbeute: 45.6 mg (ca. 1.70  $\mu\text{mol}$ , 86 %); schwach orangefarbenes Lyophilisat.

## Charakteristische NMR-Signale:

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (MeOH): [ $\delta/\text{ppm}$ ] = 5.63 (m<sub>c</sub>, H8-Sia), 5.37 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H7,H6</sub> = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H7,H8</sub> = 9.2 Hz, H7-Sia), 5.06 (br, H1-Fuc), 4.83 (br, H5-Fuc), 4.82 (br, H1-Gal), 4.68 (dd, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub> = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub> = 3.1 Hz, H3-Gal), 4.52 (br, H1-GlcN), 4.45 (br, H9a-Sia), 4.10-3.75 (br, H9b-Sia {4.07}, H2-GlcN {3.94}, COOCH<sub>3</sub> {3.87}, CH-HPA), 3.35-2.98 (br, CH<sub>2</sub>-HPA), 2.58 (dd, <sup>2</sup>J<sub>H3äq,H3ax</sub> = 12.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3äq,H4</sub> = 4.6 Hz, H3äq-Sia), 1.55 (t\*, 1H, <sup>2</sup>J<sub>H3ax,H3äq</sub>  $\approx$  <sup>3</sup>J<sub>H3ax,H4</sub>  $\approx$  12.5 Hz, H3<sub>ax</sub>-Sia), 2.32-1.63 (br, CH<sub>3</sub>-Ac {8 x s, 2.27, 2.18, 2.11, 2.08, 2.05, 1.98, 1.99, 1.81}, CH<sub>2</sub>-PMA), 1.45-0.82 (br, H6a,b,c-Fuc {1.25}, CH<sub>3</sub>-PMA, CH<sub>3</sub>-HPA).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC] (MeOD): [ $\delta/\text{ppm}$ ] = 179.90 (CONH), 173.55, 172.72, 172.29, 171.91, 171.82, 171.71, 171.59, 171.19 (C=O-Ac), 169.21 (C1-Sia), 102.37 (C1-GlcN), 101.36 (C1-Gal), 100.09 (C1-Fuc), 98.23 (C2-Sia), 67.41 (C5-Fuc), 66.91 (CH-HPA), 63.67 (C9-Sia), 61.68, 61.41 (C6-Gal, C6-GlcN), 57.17 (C2-GlcN), 53.77



(COOCH<sub>3</sub>), 46.76, 46.45 (CH<sub>2</sub>-HPA, 38.64 (C3-Sia), 23.35, 22.68, 21.57, 21.38, 21.31, 21.03, 20.88, 20.72 (CH<sub>3</sub>-Ac, CH<sub>3</sub>-PMA, CH<sub>3</sub>-HPA), 16.81 (C6-Fuc).

$M \approx 2.68 \times 10^4$  g/mol.

### Deblockierung

Das Lyophilisat der polymeranalogen Umsetzung wird in 5 ml Methanol gelöst und unter Rühren mit verdünnter Natriummethanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 9.5-10.0 erreicht ist. Nach 18 h wird der Ansatz mit Essigsäure neutralisiert, das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 5 ml dest. Wasser aufgenommen und mit einer verdünnten Natriumhydroxid-Lösung so lange versetzt, bis ein pH-Wert von 10.5-11.0 erreicht ist. Nach 36 h erfolgt die Reinigung des Polymers dialytisch gegen dest. Wasser an einer Cellulose-Membran mit anschließender Lyophilisation.

Ausbeute: 32.5 mg (ca. 1.35  $\mu$ mol; 79 %); schwach orangefarbenes Lyophilisat.

### Charakteristische NMR-Signale:

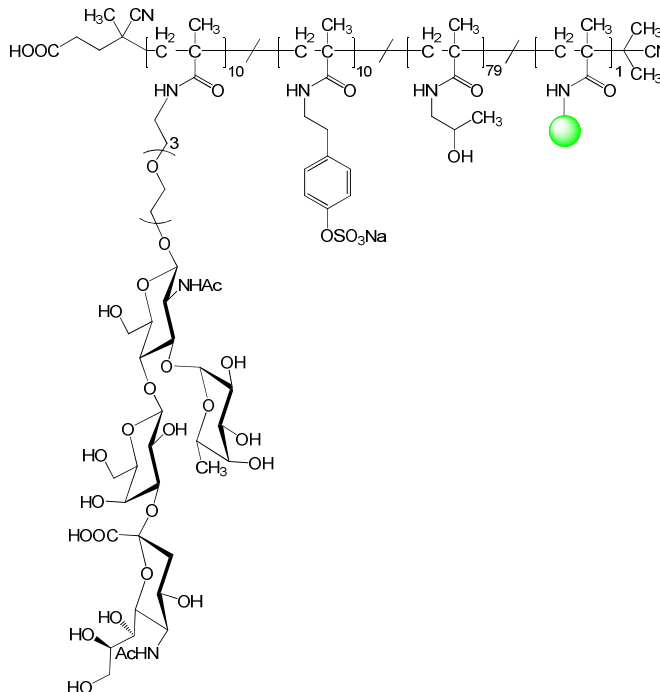
*400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (D<sub>2</sub>O):* [ $\delta/ppm$ ] = 5.08 (br, H1-Fuc), 4.85 (br, H5-Fuc), 4.55 (d, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, H1-GlcN), 4.50 (d, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 7.5 Hz, H1-Gal), 4.19-3.80 (br, H6-GlcN {3.97}, H3-Gal {3.96}, H4-GlcN {3.93}, H2-GlcN, H4-Gal {3.90}, H9a-Sia {3.87}, H5-Sia {3.82}, H4-Fuc {3.80}, CH-HPA), 3.76-3.47 (br, H3-GlcN {3.74}, H6-Gal {3.68}, H2-Fuc {3.66}, H9b-Sia {3.64}, H5-GlcN, H5-Gal {3.59}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.30-2.93 (br, H3<sub>äq</sub>-Sia {2.73}, CH<sub>2</sub>-HPA), 2.32-1.63 (br, CH<sub>3</sub>-Ac {2.01}, H3<sub>ax</sub>-Sia {1.80}, CH<sub>2</sub>-PMA), 1.50-0.75 (br, H6a,b,c-Fuc {1.16}, CH<sub>3</sub>-HPA, CH<sub>3</sub>-PMA).

*100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC] (D<sub>2</sub>O):* [ $\delta/ppm$ ] = 179.25 (CONH), 174.96, 174.15 (C=O-Ac), 101.59 (C1-Gal), 100.76 (C1-GlcN), 99.61 (C2-Sia), 98.60 (C1-Fuc), 75.57 (C3-Gal), 75.22 (C5-GlcN), 74.89 (C3-GlcN), 74.78 (C5-Gal), 73.30 (C4-GlcN), 72.82 (C6-Sia), 71.88, 71.77 (C4-Fuc, C8-Sia), 69.72, 69.61 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 69.27 (C2-Gal), 68.99 (C3-Fuc), 68.22, 68.03 (C4-Sia, C7-Sia), 67.65 (C2-Fuc), 67.23 (C4-Gal), 66.62 (C5-Fuc), 65.69 (CH-HPA), 62.50 (C9-Sia), 61.41 (C6-Sia), 59.60 (C6-GlcN), 55.59 (C2-GlcN), 51.68 (C5-Sia), 47.00 (CH<sub>2</sub>-HPA, CH<sub>2</sub>-PMA), 39.50 (C3-Sia), 22.26, 21.97 (CH<sub>3</sub>-Ac), 20.15 (CH<sub>3</sub>-PMA, CH<sub>3</sub>-HPA), 15.25 (C6-Fuc).

$M \approx 2.41 \times 10^4$  g/mol.

**Poly(SLe<sup>x</sup>-sTyr-HPMA) (102)**Polymeranaloge Umsetzung

Eine Lösung von 50.0 mg Poly(pentafluorphenylmethacrylat) (**97**), 27.2 mg (19.8 μmol, 0.1 Äquiv.) β-Ac<sub>6</sub>(Fuc)SLe<sup>x</sup> COO-Me-O-Spa-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> (**45**), 4.60 mg (19.8 μmol, 0.1 Äquiv.) NaSO<sub>3</sub>-O-Tyr-NH<sub>2</sub> (**89**) sowie 1.00 mg (1.94 μmol, 0.01 Äquiv.) FFS-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> (**64a**) in 1.5 ml absol. Dioxan und 1.0 ml absol. Dimethylsulfoxid wird mit 100 μl (76.6 mg, 0.59 mmol, 3.0 Äquiv. bezogen auf **97**) *N*-Ethyldiisopropylamin (DIPEA) versetzt und 48 h bei 50 °C unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend werden 30.0 ml (29.2 mg, 389 μmol, 2.0 Äquiv.) 1-Amino-2-propanol (**98**) zugegeben und weitere 24 h bei 50 °C gerührt. Die Reinigung des Polymers erfolgt dialytisch gegen dest. Wasser unter Verwendung einer Cellulose-Membran mit anschließender Lyophilisation.



Ausbeute: 45.5 mg (ca. 1.60 μmol, 88 %); schwach orangefarbenes Lyophilisat.

Charakteristische NMR-Signale:

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (MeOH): [δ/ppm] = 7.24 (br, Ar-H-sTyr), 5.63 (m<sub>c</sub>, H8-Sia), 5.37 (dd, <sup>3</sup>J<sub>H7,H6</sub> = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H7,H8</sub> = 9.2 Hz, H7-Sia), 5.07 (br, H1-Fuc), 4.83 (br, H5-Fuc), 4.82 (br, H1-Gal), 4.69 (dd, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub> = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub> = 3.1 Hz, H3-Gal), 4.52 (br, H1-GlcN), 4.45 (br, H9a-Sia), 4.10-3.75 (br, H9b-Sia {4.07}, H2-GlcN {3.94}, COOCH<sub>3</sub> {3.87}, CH-HPA), 3.26-2.92 (br, 2H, CH<sub>2</sub>-HPA), 2.58 (H3<sub>aq</sub>-Sia), 2.32-1.70 (br, CH<sub>3</sub>-Ac {8 x s, 2.27, 2.18, 2.10, 2.08, 2.05, 1.98, 1.99, 1.82}, H3<sub>ax</sub>-Sia {1.55} CH<sub>2</sub>-PMA), 1.45-0.82 (br, H6a,b,c-Fuc {1.25}, CH<sub>3</sub>-PMA, CH<sub>3</sub>-HPA).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC] (MeOD): [δ/ppm] = 179.99 (CONH), 173.54, 172.79, 172.34, 171.90, 171.81, 171.73, 171.26, 171.19 (C=O-Ac), 169.25 (C1-Sia), 152.60 (Ar-C-O-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>-sTyr), 130.71 (CH<sub>2</sub>-*o*-Ar-C-sTyr), 122.65 (CH<sub>2</sub>-*m*-Ar-C-sTyr), 102.33 (C1-GlcN), 101.34 (C1-Gal), 100.53 (C1-Fuc), 98.70 (C2-Sia), 67.31 (C5-Fuc), 66.95 (CH-

HPA), 63.67 (C9-Sia), 61.70, 61.50 (C6-Gal, C6-GlcN), 53.65 (COOCH<sub>3</sub>), 46.74, 46.51 (CH<sub>2</sub>-HPA, CH<sub>2</sub>-HPMA), 38.64 (C3-Sia), 23.70, 22.75, 21.53, 21.32, 21.25, 21.00, 20.92, 20.74 (CH<sub>3</sub>-Ac, CH<sub>3</sub>-PMA, CH<sub>3</sub>-HPA), 16.70 (C6-Fuc).

$M \approx 2.84 \times 10^4$  g/mol.

### Deblockierung

Das Lyophilisat der polymeranalogen Umsetzung wird in 5 ml Methanol solange unter Rühren mit verdünnter Natriummethanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 9.5-10.0 erreicht ist. Nach 48 h wird der Ansatz mit Essigsäure neutralisiert, das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 5 ml dest. Wasser aufgenommen und mit einer verdünnten Natriumhydroxid-Lösung solange versetzt, bis ein pH-Wert von 10.5-11.0 erreicht ist. Nach 36 h erfolgt die Reinigung des Polymers dialytisch gegen dest. Wasser unter Verwendung einer Cellulose-Membran mit anschließender Lyophilisation.

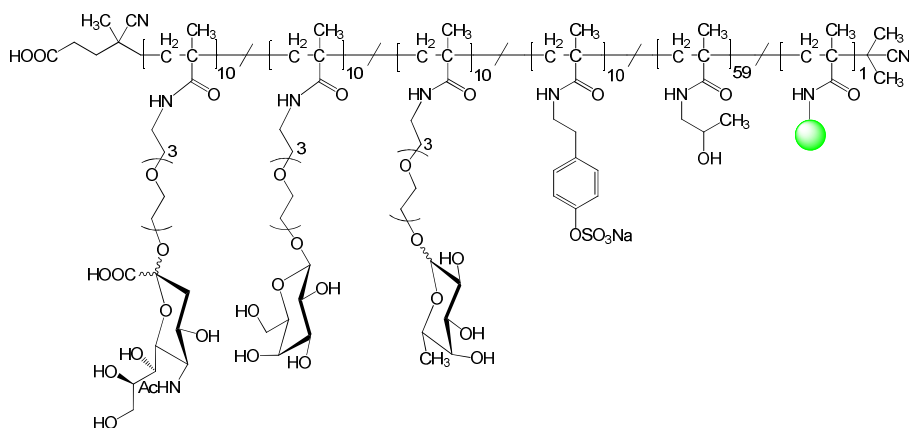
Ausbeute: 32.0 mg (1.24  $\mu$ mol, 77 %), schwach orangefarbenes Lyophilisat.

### Charakteristische NMR-Signale:

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (D<sub>2</sub>O): [ $\delta$ /ppm] = 7.25 (br, Ar-H-sTyr), 5.05 (br, H1-Fuc), 4.85 (br, H5-Fuc), 4.57 (br, H1-GlcN), 4.50 (br, H1-Gal), 4.04-3.80 (br, H6-GlcN {3.97}, H4-GlcN {3.93}, H2-GlcN, H9a-Sia {3.83}, CH-HPA), 3.78-3.40 (br, H4-Fuc {3.75}, H3-GlcN {3.74}, H6-Gal {3.68}, H2-Fuc {3.66}, H9b-Sia {3.60}, H5-GlcN, H5-Gal {3.66}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 3.28-2.90 (br, CH<sub>2</sub>-HPA), 2.30-1.49 (br, CH<sub>3</sub>-Ac {2.00}, CH<sub>2</sub>-PMA), 1.50-0.75 (br, H6a,b,c-Fuc {1.20}, CH<sub>3</sub>-HPA, CH<sub>3</sub>-PMA).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC] (D<sub>2</sub>O): [ $\delta$ /ppm] = 179.64 (CONH), 174.48, 174.15 (C=O-Ac), 130.35 (CH<sub>2</sub>-o-Ar-C-sTyr), 121.93 (CH<sub>2</sub>-m-Ar-C-sTyr), 101.54 (C1-Gal), 100.86 (C1-GlcN), 99.67 (C2-Sia), 98.53 (C1-Fuc), 75.40 (C3-Gal), 75.13 (C5-GlcN), 74.80 (C3-GlcN), 74.73 (C5-Gal), 73.28 (C4-GlcN), 72.82 (C6-Sia), 72.02, 71.95 (C4-Fuc, C8-Sia), 69.82, 69.63 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 69.25 (C2-Gal), 68.94 (C3-Fuc), 68.26, 68.03 (C4-Sia, C7-Sia), 67.65 (C2-Fuc), 66.66 (C5-Fuc), 65.78 (CH-HPA), 62.55 (C9-Sia), 61.42 (C6-Sia), 59.70 (C6-GlcN), 55.66 (C2-GlcN), 51.78 (C5-Sia), 47.11 (CH<sub>2</sub>-HPA, CH<sub>2</sub>-PMA), 39.55 (C3-Sia), 22.29, 21.99 (CH<sub>3</sub>-Ac), 20.20 (CH<sub>3</sub>-PMA, CH<sub>3</sub>-HPA), 15.32 (C6-Fuc).

$M \approx 2.58 \times 10^4$  g/mol.

**Poly(Sia-Fuc-Gal-sTyr-HPMA) (103)**Polymeranaloge Umsetzung

Eine Lösung von 60.0 mg Poly(pentafluorphenylmethacrylat) (**97**), 18.5 mg (23.7  $\mu\text{mol}$ , 0.1 Äquiv.)  $\alpha,\beta\text{-Ac}_4\text{Neu}_5\text{Ac-COOMe-O-Spa-NH}_3^+$  (**77**), 8.04 mg (23.7  $\mu\text{mol}$ , 0.1 Äquiv.)  $\alpha,\beta\text{-Fuc-Spa-NH}_2$  (**70**), 8.40 mg (23.7  $\mu\text{mol}$ , 0.1 Äquiv.)  $\beta\text{-Gal-O-Spa-NH}_2$  (**75**), 5.15 mg (23.7  $\mu\text{mol}$ , 0.1 Äquiv.)  $\text{NaSO}_3\text{-O-Tyr-NH}_2$  (**89**) sowie 1.72 mg (2.37  $\mu\text{mol}$ , 0.01 Äquiv.)  $\text{FFS-NH}_3^+$  (**64a**) in 2 ml absol. Dioxan und 1.5 ml absol. Dimethylsulfoxid wird mit 100  $\mu\text{l}$  (72.6 mg, 0.72 mmol, 3.0 Äquiv. bezogen auf **97**) Triethylamin versetzt und 36 h bei 50 °C unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend werden 36.0  $\mu\text{l}$  (35.6 mg, 474  $\mu\text{mol}$ , 2.0 Äquiv.) 1-Amino-2-propanol (**98**) zugegeben und weitere 24 h bei 50 °C gerührt. Die Reinigung des Polymers erfolgt dialytisch gegen dest. Wasser unter Verwendung einer Cellulose-Membran und anschließender Lyophilisation.

Ausbeute: 60.5 mg (2.17  $\mu\text{mol}$ , 91 %); schwach orangefarbenes Lyophilisat.

Charakteristische NMR-Signale:

400 MHz- $^1\text{H-NMR}$  [ $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$ ] (MeOD): [ $\delta/\text{ppm}$ ] = 7.26 (br, Ar-H-sTyr), 5.43-5.29 (m, H8-Sia), 4.83 (br, H1-Fuc), 4.31 (br, H1-Gal), 4.12-3.40 (br, H5-Fuc {3.96},  $\text{COOCH}_3$  {3.83}, H6-Gal {3.75}, H2-Fuc {3.73}, H4-Fuc {3.67}, H3-Fuc {3.59}, H5-Gal {3.57}, H3-Gal {3.51},  $\text{CH}_2\text{-O}$ , CH-HPA), 2.66 (br,  $\text{H}_{3\text{äq}}\text{-Sia}$ ), 2.22-1.68 (br,  $\text{CH}_3\text{-Ac}$  {5 x s, 2.14, 2.11, 2.01, 1.99, 1.84},  $\text{H}_3\text{-Sia}_{\text{ax}}$  {1.87},  $\text{CH}_2\text{-PMA}$ ), 1.42-0.78 (br,  $\text{CH}_3\text{-PMA}$ ,  $\text{CH}_3\text{-HPA}$ , H6a,b,c-Fuc {1.23}).

100.6 MHz- $^{13}\text{C-NMR}$  [BB, HSQC] (MeOD): [ $\delta/\text{ppm}$ ] = 179.70 (CONH), 172.41, 171.94, 171.88, 171.80, 171.55 (C=O-Ac), 169.47 (C1-Sia), 152.75 (Ar-C-O-SO $_3^-$ -Tyr), 130.82 ( $\text{CH}_2\text{-o-Ar-C-sTyr}$ ), 122.74 ( $\text{CH}_2\text{-m-Ar-C-sTyr}$ ), 103.53 (C1-Gal), 100.57 (C1-Fuc),

98.15 (C2-Sia), 76.68 (C5-Gal), 74.91 (C3-Gal), 73.61 (C4-Fuc), 72.57 (C2-Gal), 71.49, 70.74 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O), 70.07 (C2-Fuc), 67.59 (C5-Fuc), 66.95 (CH-HPA), 62.54 (C6-Gal), 53.44 (COOCH<sub>3</sub>), 46.69 (CH<sub>2</sub>-PMA), 40.83 (O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C=O), 39.06 (C3-Sia), 22.75, 21.62, 21.38, 21.03, 20.82 (CH<sub>3</sub>-Ac, CH<sub>3</sub>-PMA, CH<sub>3</sub>-HPA), 16.81 (C6-Fuc).

$M \approx 2.79 \times 10^4$  g/mol.

### Deblockierung

Das Lyophilisat der polymeranalogen Umsetzung wird in 5 ml Methanol solange unter Rühren mit verdünnter Natriummethanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 9.5-10.0 erreicht ist. Nach 18 h wird der Ansatz mit Essigsäure neutralisiert, das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 5 ml dest. Wasser aufgenommen und mit einer verdünnten Natriumhydroxid-Lösung solange versetzt, bis ein pH-Wert von 10.5-11.0 erreicht ist. Nach 36 h erfolgt die Reinigung des Polymers dialytisch gegen dest. Wasser an einer Cellulose-Membran mit anschließender Lyophilisation.

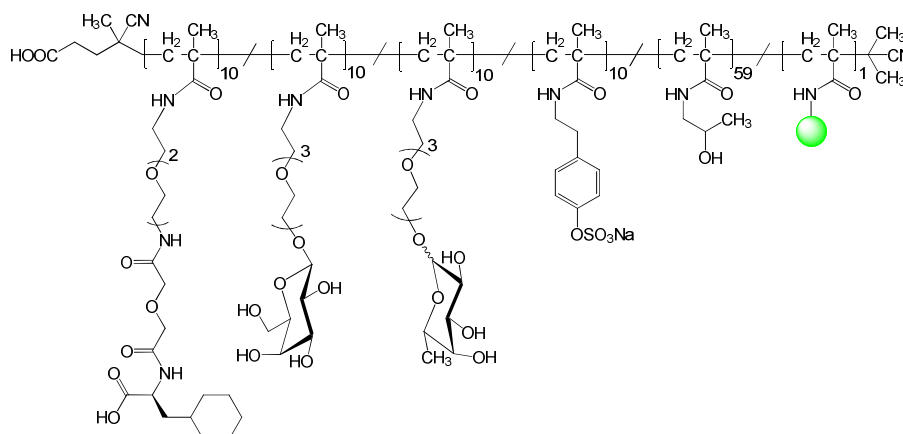
Ausbeute: 42.3 mg (1.79  $\mu$ mol, 75 %); schwach orangefarbenes Lyophilisat.

Charakteristische NMR-Signale:

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (D<sub>2</sub>O): [ $\delta$ /ppm] = 7.27 (br, Ar-H-sTyr), 4.77 (br, H1-Fuc), 4.40 (br, H1-Gal), 4.13-3.10 (br, CH<sub>2</sub>-O, CH-HPA), 2.22-1.75 (br, CH<sub>3</sub>-Ac {2.01}, CH<sub>2</sub>-PMA), 1.53-0.78 (br, CH<sub>3</sub>-HPA, CH<sub>3</sub>-PMA).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, DEPT, HSQC] (D<sub>2</sub>O): [ $\delta$ /ppm] = 179.49 (CONH), 152.75 (Ar-C-O-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Tyr), 130.13 (CH<sub>2</sub>-o-Ar-C-sTyr), 121.40 (CH<sub>2</sub>-m-Ar-C-sTyr), 101.72 (C1-Gal), 100.76 (C1-Fuc), 98.68 (C2-Sia), 75.09 (C3-Gal), 69.55, 69.34 (CH<sub>2</sub>-O), 65.67 (CH-HPA), 62.56 (C6-Gal), 51.76 (C<sub>quat</sub>-PMA), 39.61 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C=O), 20.11, 19.94 (CH<sub>3</sub>-PMA, CH<sub>3</sub>-HPA), 15.28 (C6-Fuc).

$M \approx 2.61 \times 10^4$  g/mol.

**Poly(Cyclo-Fuc-Gal-sTyr-HPMA) (104)**

Eine Lösung von 75.0 mg Poly(pentafluorphenylmethacrylat) (**97**), 15.7 mg (29.6  $\mu\text{mol}$ , 0.1 Äquiv.) Cyclo-Spa- $\text{NH}_3^+$  (**85**), 10.0 mg (29.6  $\mu\text{mol}$ , 0.1 Äquiv.)  $\alpha,\beta$ -Fuc-Spa- $\text{NH}_2$  (**70**), 10.5 mg (29.6  $\mu\text{mol}$ , 0.1 Äquiv.)  $\beta$ -Gal-O-Spa- $\text{NH}_2$  (**75**), 6.40 mg (29.6  $\mu\text{mol}$ , 0.1 Äquiv.)  $\text{SO}_3\text{-O-Tyr-NH}_2$  (**89**) sowie 1.47 mg (2.96  $\mu\text{mol}$ , 0.01 Äquiv.) FFS- $\text{NH}_3^+$  (**64a**) in 1.5 ml absol. Dioxan und 1 ml absol. Dimethylsulfoxid wird unter Rühren mit 118  $\mu\text{l}$  (85.7 mg, 0.85 mmol, 3.0 Äquiv. bezogen auf Polymer) Triethylamin versetzt und 48 h bei 50 °C unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend werden 45.0  $\mu\text{l}$  (43.8 mg, 583  $\mu\text{mol}$ , 2.0 Äquiv.) 1-Amino-2-propanol (**98**) zugegeben, und es wird weitere 24 h bei 50 °C gerührt. Die Reinigung des Polymers erfolgt dialytisch gegen dest. Wasser unter Verwendung einer Cellulose-Membran und anschließender Lyophilisation.

Ausbeute: 52.3 mg (2.06  $\mu\text{mol}$ , 69 %); schwach orangefarbenes Lyophilisat.

Charakteristische NMR-Signale:

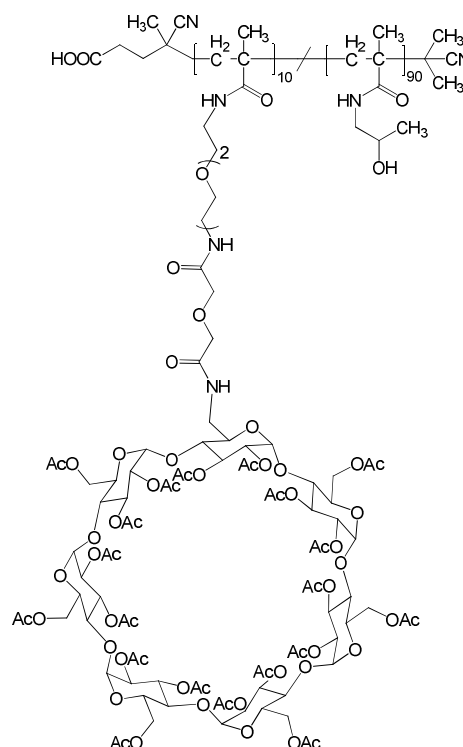
400 MHz- $^1\text{H-NMR}$  [ $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$ ] ( $\text{D}_2\text{O}$ ): [ $\delta/\text{ppm}$ ] = 7.25 (br, Ar-H-sTyr), 4.95 (br, H1-Fuc), 4.42-2.62 (br, H1-Gal {4.38}, H6-Gal {3.77}, H5-Gal {3.66}, H3-Gal {3.64},  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ , CH-HPA,  $\text{CH}_2\text{-HPA}$ ), 2.53-0.53 (br, H6a,b,c-Fuc {1.16},  $\text{CH}_3\text{-HPA}$ ,  $\text{CH}_3\text{-PMA}$ ).

100.6 MHz- $^{13}\text{C-NMR}$  [BB, HSQC] ( $\text{D}_2\text{O}$ ): [ $\delta/\text{ppm}$ ] = 179.26 (CONH), 130.02 ( $\text{CH}_2\text{-o-Ar-C-sTyr}$ ), 121.56 ( $\text{CH}_2\text{-m-Ar-C-sTyr}$ ), 102.96 (C1-Gal), 98.37 (C1-Fuc), 75.14 (C5-Gal), 72.63 (C3-Gal), 71.77, 70.77 (C2-Fuc, C3-Fuc), 69.53 ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ ), 66.76 (C5-Fuc), 65.75 (CH-HPA), 60.90 (C6-Gal), 38.99 ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-}$ ), 26.03, 25.89, 25.58 ( $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$ ), 20.06 ( $\text{CH}_3\text{-PMA}$ ,  $\text{CH}_3\text{-HPA}$ ), 15.38 (C6-Fuc).

$M \approx 2.54 \times 10^4$  g/mol.

**Poly(Ac- $\beta$ -CD-HPMA) (118)**

Eine Lösung von 50.0 mg (1.98  $\mu\text{mol}$ ) Poly(pentafluorphenylmethacrylat) (**97**) und 43.8 mg (18.6  $\mu\text{mol}$ , 0.1 Äquiv.) Mono-6-Spa- $\text{NH}_3^+$ -Per-2,3-Ac- $\beta$ -CD (**117**) in 3 ml absol. Dioxan wird mit 100  $\mu\text{l}$  (76.6 mg, 3.0 Äquiv. bezogen auf Polymer) *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) versetzt. Der Ansatz wird anschließend auf 50 °C erwärmt, 64 h gerührt und dann mit 30.0  $\mu\text{l}$  (29.2 mg, 389  $\mu\text{mol}$ , 2 Äquiv.) 1-Amino-2-propanol (**98**) versetzt und weitere 24 h bei 50 °C gerührt. Die Reinigung des Polymers erfolgt gelpermeationschromatographisch (Eluent: Methanol/Wasser, 1:1) mit anschließender Lyophilisation.



Ausbeute: 60.5 mg (1.68  $\mu\text{mol}$ , 97 %); farbloses Lyophilisat.

Charakteristische NMR-Signale:

400 MHz- $^1\text{H}$ -NMR [ $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY] (MeOD): [ $\delta/\text{ppm}$ ] = 5.49-5.33 (br, H3-CD, H3'-CD), 5.30-5.06 (m, H1-CD, H3'-CD), 4.83-4.69 (m, H2-CD, H2'-CD), 4.64-4.27 (m, H6-CD), 4.26-4.03 (m, H4-CD, H5-CD, H5'-CD, H6-CD), 4.00-3.36 (m, H4-CD, H4'-CD, H6'-CD,  $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -O,  $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -NH, CH-HPA), 3.32-2.89 (br,  $\text{CH}_2$ -HPA), 2.22-1.58 (m, Ac- $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ -PMA), 1.49-0.69 ( $\text{CH}_3$ -HPA,  $\text{CH}_3$ -PMA).

100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR [BB, HSQC] (MeOD): [ $\delta/\text{ppm}$ ] = 179.57 (CONH), 172.72-171.29 (C=O), 98.44-97.63 (C1-CD, C1'-CD), 78.57-77.48 (C4-CD, C4'-CD), 72.64-70.69 (C2-CD, C2'-CD, C3-CD, C3'-CD, C5-CD, C5'-CD,  $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -O,  $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -N), 67.12-66.65 (CH-HPA), 64.61-64.07 (C6-CD), 46.64 ( $\text{CH}_2$ -HPA,  $\text{CH}_2$ -PMA) 22.16-20.74 ( $\text{CH}_3$ -Ac,  $\text{CH}_3$ -PMA,  $\text{CH}_3$ -HPA).

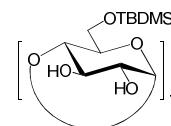
$M \approx 3.60 \times 10^4$  g/mol

## 5.9 Die Synthesen der Cyclodextrin-Derivate

### 5.9.1 Die Synthese und Umsetzung des $\beta$ -Cyclodextrin-Reaktivesters

#### Heptakis-(6-*tert*-butyldimethylsilyl-6-deoxy)- $\beta$ -cyclodextrin (**106**)<sup>[280]</sup>

(Per(6-O-TBDMS)- $\beta$ -CD)



Eine Lösung von 11.6 g (10.2 mmol) trockenem  $\beta$ -Cyclodextrin (**105**) in 300 ml absol. Pyridin wird bei 0 °C unter einer Argonatmosphäre tropfenweise und unter kräftigem Rühren innerhalb von 2 h mit einer Lösung von 18.4 g (122 mmol, 12.0 Äquiv. bezogen auf **105**) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMS-Cl) in 100 ml absol. Pyridin versetzt. Die Lösung wird weitere 2 h bei dieser Temperatur gerührt, auf Raumtemp. gebracht und 16 h nachgerührt. Den ausgefallenen Feststoff filtriert man über Hyflo<sup>®</sup> ab, wäscht mit Pyridin nach und entfernt das Lösemittel im Hochvakuum. Nach Aufnahme des Rückstandes in 300 ml Dichlormethan wird mit 200 ml 1 M Salzsäurelösung und zweimal mit 150 ml ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird einer flashchromatographischen Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O, 4:1:0.1) unterzogen.

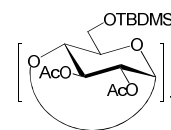
Ausbeute: 16.5 g (8.53 mmol, 84 %), Lit.:<sup>[280]</sup> 85 %; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{22} = +101$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>[310]</sup>  $[\alpha]_D^{22} = +107$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.26$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O, 4:1:0.1).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 6.73$  (s, 1H, HO-CD), 5.27 (s, 1H, HO-CD), 4.89 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 3.3 Hz, H1-CD), 4.04 (t\*, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub>  $\approx$  <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub>  $\approx$  9.0 Hz, H3-CD), 3.91 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H6a,H5</sub> = 2.3 Hz, <sup>2</sup>J<sub>H6a,H6b</sub> = 11.4 Hz, H6a-CD), 3.76-3.49 (m, 4H, H6b-CD {3.71}, H2-CD, H5-CD {3.63}, H4-CD {3.55, t\*, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3</sub>  $\approx$  <sup>3</sup>J<sub>H4,H5</sub>  $\approx$  9.5 Hz), 0.87 (s, 9H, CH<sub>3</sub>-<sup>t</sup>Bu), 0.04 (s, 3H, Si-CH<sub>3</sub>), 0.03 (s, 3H, Si-CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 1956.22$  ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 1955.96).

C<sub>84</sub>H<sub>168</sub>O<sub>35</sub>Si<sub>7</sub> (1934.81)



**Heptakis-(2,3-di-*O*-acetyl-6-*tert*-butyldimethylsilyl)- $\beta$ -cyclodextrin (107)**<sup>[280]</sup>(Per(Ac<sub>2</sub>-6-O-TBDMS)- $\beta$ -CD)

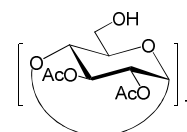
Eine Lösung von 16.0 g (8.27 mmol) Per(6-O-TBDMS)- $\beta$ -CD (**106**) in 180 ml Pyridin wird mit 135 ml Acetanhydrid versetzt und 5 h bei 100 °C gerührt. Das Lösemittel wird anschließend im Hochvakuum entfernt, der Rückstand dreimal mit je 40 ml Toluol kodestilliert und flashchromatographisch (Laufmittel: Tol/EtOH, 10:0.3) an Kieselgel gereinigt.

Ausbeute: 17.0 g (6.74 mmol, 81 %), Lit.:<sup>[280]</sup> quant.; farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.68$  (EtOAc),  $R_f = 0.31$  (Tol/EtOH, 5:0.4),  $R_f = 0.43$  (Tol/EtOH, 5:0.6).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): [ $\delta/ppm$ ] = 5.35 (t\*, 1H,  $^3J_{H3,H2} \approx ^3J_{H3,H4} \approx 8.6$  Hz, H3-CD), 4.89 (d, 1H,  $^3J_{H1,H2} = 3.6$  Hz, H1-CD), 4.69 (dd, 1H,  $^3J_{H2,H1} = 3.6$  Hz,  $^3J_{H2,H3} = 10.0$  Hz, H2-CD), 4.03 (db, 1H,  $^2J_{H6a,H6b} = 11.4$  Hz, H6a-CD), 3.86 (m, 2H, H4-CD, H5-CD), 3.71 (db, 1H,  $^2J_{H6b,H6a} = 11.7$  Hz, H6b-CD), 2.05, 2.04 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub>-Ac), 0.87 (s, 9H, <sup>1</sup>CH<sub>3</sub>), 0.03 (s, 6H, Si-CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [ $m/z$ ] = 2545.11 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 2545.12).

C<sub>112</sub>H<sub>196</sub>O<sub>49</sub>Si<sub>7</sub> (2523.32)

**Heptakis-(2,3-di-*O*-acetyl)- $\beta$ -cyclodextrin (108)**<sup>[280]</sup>(Per(Ac<sub>2</sub>-6-OH)- $\beta$ -CD)

Eine Lösung von 7.70 g (3.05 mmol) Per(Ac<sub>2</sub>-6-O-TBDMS)- $\beta$ -CD (**107**) in 90 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre tropfenweise mit 7.80 ml (8.74 g, 61.6 mmol) Bortrifluorid-Diethyletherat versetzt und 7 h gerührt. Der Ansatz wird auf 500 ml Eiswasser gegossen, die Phasen getrennt und die wässrige Phase zweimal mit je 150 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden anschließend mit je 100 ml ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und einer flashchromatographischen Reinigung an Kieselgel (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 7:1) unterzogen.

Ausbeute: 3.84 g (2.23 mmol, 73 %), Lit.:<sup>[280]</sup> 80 %; schwach gelblicher amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{22} = +95$  (CHCl<sub>3</sub>, c = 0.60), Lit.:<sup>[310]</sup>  $[\alpha]_D^{22} = +82$  (CHCl<sub>3</sub>, c = 1.2);  $R_f = 0.40$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 4:1),  $R_f = 0.27$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 7:1).

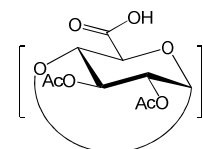
300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $[\delta/ppm] = 5.35$  (dd, 1H,  $^3J_{H_3,H_2} = 10.1$  Hz,  $^3J_{H_3,H_4} = 8.1$  Hz, H3-CD), 5.09 (d, 1H,  $^3J_{H_1,H_2} = 3.3$  Hz, H1-CD), 4.79 (s<sub>b</sub>, 1H, HO-CD), 4.60 (dd, 1H,  $^3J_{H_2,H_1} = 3.4$  Hz,  $^3J_{H_2,H_3} = 10.3$  Hz, H2-CD), 3.88-3.73 (m, 3H, H4, H5, H6a-CD), 3.61 (dd, 1H,  $^3J_{H_6b,H_5} = 2.3$  Hz,  $^2J_{H_6a,H_6b} = 11.4$  Hz, H6b-CD), 2.02, 2.01 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub>-Ac).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 1745.54$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1745.51).

C<sub>70</sub>H<sub>98</sub>O<sub>49</sub> (1723.50).

### Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl-5-carboxy-5-dehydroxymethyl)-β-cyclodextrin (**109**)<sup>[281]</sup>

(Per(Ac<sub>2</sub>-6-COOH)-β-CD)



Eine Lösung von 1.35 g (0.78 mmol) Per(Ac<sub>2</sub>-6-OH)-β-CD (**108**) in einem Lösemittelgemisch aus 53 ml dest. Wasser und 4 ml Acetonitril wird nacheinander bei 5 °C mit 665 mg (5.59 mmol, 7.2 Äquiv.) Kaliumbromid, 983 mg (11.7 mmol, 15 Äquiv.) Natriumhydrogencarbonat sowie 872 mg (5.59 mmol, 7.2 Äquiv.) 2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxyl (TEMPO) in 5 ml Acetonitril versetzt. Anschließend werden 29.0 ml (19.5 mmol, 25 Äquiv.) einer 0 °C kalten 0.67 M Natriumhypochlorit-Lösung zugetropft und der pH-Wert (Kontrolle mittels pH-Meter) auf 10.00 mittels einer 0.5 M Natriumhydroxid-Lösung eingestellt. Nach weiteren 30 min Rühren bei 10 °C gibt man 1 ml Methanol zu und extrahiert zur Entfernung von TEMPO den Ansatz viermal mit je 30 ml Diethylether. Zur Extraktion der Carbonsäure wird bei 5 °C der pH-Wert mit einer 1 M Salzsäure auf 1.5 eingestellt und die Reaktionslösung fünfmal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 1.17 g (max. 0.64 mmol, 82 %), Lit.:<sup>[281]</sup> 68 % nach Reinigung; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{22} = +108$  (c = 1.00, ACN), Lit.:<sup>[281]</sup>  $[\alpha]_D^{23} = +103$  (c = 0.40, ACN); RP-DC:  $R_f = 0.47$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 2:3 mit 0.1 % TFA).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): [δ/ppm] = 5.30-5.10 (m, 2H, 5.20 {t\*, <sup>3</sup>J<sub>H3,H2</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H3,H4</sub> ≈ 8.6 Hz, H3-CD), 5.15 (d, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 2.9 Hz, H1-CD), 4.66 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H2,H1</sub> = 2.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H2,H3</sub> = 9.6 Hz, H2-CD), 4.34 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H5,H4</sub> = 8.5 Hz, H5-CD), 3.96 (t\*, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H4,H3</sub> ≈ <sup>3</sup>J<sub>H4,H5</sub> ≈ 8.3 Hz, H4-CD), 2.03, 2.00 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub>-Ac).

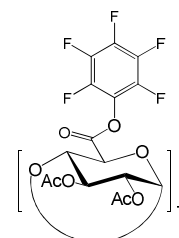
75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): [δ/ppm] = 170.17 (HOOC-CD), 169.29 (C=O-Ac), 96.47 (C1-CD), 77.04 (C4-CD), 71.67 (C5-CD), 69.67 (C2-CD), 68.95 (C3-CD), 20.63 (CH<sub>3</sub>-Ac).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1843.45 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 1843.36).

C<sub>70</sub>H<sub>84</sub>O<sub>56</sub> (1821.38)

### Heptakis(2,3-di-O-acetyl-5-carboxypentafluorphenyl-5-dehydroxymethyl)-β-cyclodextrin (110)

(Per(Ac<sub>2</sub>-6-COOPfp)-β-CD)



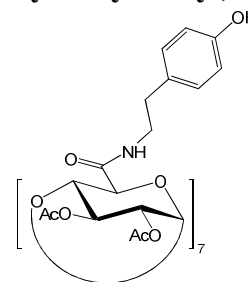
Eine Lösung von 105 mg (57.6 μmol) trockenem Per(Ac<sub>2</sub>-6-COOH)-β-CD (**109**) in 10 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird nacheinander mit 516 mg (2.80 mmol, 48 Äquiv., 7.0 Äquiv. pro COOH-Gruppe) Pentafluorphenol, 1.0 mg (6.7 μmol) 4-(1-Pyrrolidino)pyridin und anschließend mit einer Lösung aus 290 mg (1.41 mmol, 24 Äquiv., 3.5 Äquiv. pro COOH-Gruppe) *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid in 2 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid tropfenweise versetzt. Nach 6 h wird das aktivierte und nicht lagerstabile Cyclodextrinderivat ohne Reinigung in die nächste Reaktion eingesetzt.

FD-MS (positiv): [m/z] = 2984.2 ([M+H]<sup>+</sup>, ber.: 2984.2).

C<sub>112</sub>H<sub>77</sub>F<sub>35</sub>O<sub>56</sub> (2983.72)

**Heptakis(2,3-di-*O*-acetyl-5-[4-hydroxyphenylethyl]carbamoyl-5-dehydroxymethyl)- $\beta$ -cyclodextrin (111)**

(Per(Ac<sub>2</sub>-6-CONHTyr)- $\beta$ -CD)



Das Reaktivester Per(Ac<sub>2</sub>-6-COOPfp)- $\beta$ -CD (**110**) gelöst in 10 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird mit 0.97 ml (708 mg, 7.00 mmol, 2.5 Äquiv. bezogen auf Pentafluorphenol) Triethylamin und anschließend mit 83.0 mg (0.60 mmol, 1.5 Äquiv. pro Reaktivester-Einheit) Tyramin (**86**) in 2 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid tropfenweise versetzt. Nach 30 min werden 5 ml Ethylacetat zugegeben, die Suspension auf  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  abgekühlt und der ausgefallene Harnstoff abfiltriert. Nach Entfernen der Lösemittel im Vakuum und Hochvakuum und einer Kodestillation mit zweimal 10 ml Toluol wird der Rückstand flashchromatographisch (Laufmittel: EtOAc) an Kieselgel sowie anschließend mittels eines semipräparativen HPLC-Systems gereinigt.

Ausbeute: 39.8 mg (15.0  $\mu\text{mol}$ , 26 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{22} = +82$  ( $c = 1.00$ , ACN);  $R_f = 0.25$  (EtOAc), RP-DC:  $R_f = 0.68$  (ACN/H<sub>2</sub>O, 1:1),  $R_t = 29.5$  min (Säule: A, Gradient: Ana-4),  $R_t = 34.1$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-4).

**400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (CD<sub>3</sub>CN):**  $[\delta/\text{ppm}] = 7.85$  (s, 1H, NH), 6.83 (d, 2H,  $J = 8.4$  Hz, CH<sub>2</sub>-*o*-Ar-H-Tyr), 6.62 (d, 2H,  $J = 8.5$  Hz, CH<sub>2</sub>-*m*-Ar-H-Tyr), 5.26 (t\*,  $^3J_{\text{H3,H2}} \approx ^3J_{\text{H3,H4}} \approx 8.6$  Hz, H3-CD), 5.18 (d,  $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.4$  Hz, H1-CD), 4.77 (dd, 1H,  $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.4$  Hz,  $^3J_{\text{H2,H3}} = 9.3$  Hz, H2-CD), 4.49 (d, 1H,  $^3J_{\text{H5,H4}} = 8.4$  Hz, H5-CD), 4.08 (t\*, 1H,  $^3J_{\text{H4,H3}} \approx ^3J_{\text{H4,H5}} \approx 8.2$  Hz, H4-CD), 3.37-3.26 (m, 1H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH), 3.23-3.12 (m, 1H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH), 2.65-2.54 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH), 2.05 (s, 3H, Ac-CH<sub>3</sub>), 2.02 (s, 3H, Ac-CH<sub>3</sub>).  
**100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR [BB, HSQC] (CD<sub>3</sub>CN):**  $[\delta/\text{ppm}] = 171.44$ , 170.85 (C=O-Ac), 169.08 (CONH), 156.31 (CH<sub>2</sub>-Ar-C-OH-Tyr), 130.93 (CH<sub>2</sub>-Ar-C<sub>ipso</sub>-Tyr), 130.66 (CH<sub>2</sub>-*o*-Ar-C-Tyr), 116.14 (CH<sub>2</sub>-*m*-Ar-C-Tyr), 98.11 (C1-CD), 78.04 (C4-CD), 72.95 (C5-CD), 71.09 (C3-CD), 70.71 (C2-CD), 42.38 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH), 35.16 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH), 21.28 (CH<sub>3</sub>-Ac).

**ESI-MS (Gerät 2, positiv):**  $[m/z] = 2676.94$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 2676.88).

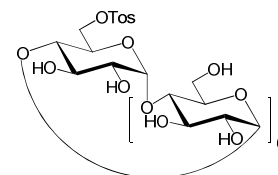
**HR-ESI-MS (positiv):**  $[m/z] = 2676.8845$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 2676.8768).

C<sub>126</sub>H<sub>147</sub>N<sub>7</sub>O<sub>56</sub> (2655.53)

## 5.9.2 Die Synthese des $\beta$ -Cyclodextrin-Wirkstofftransporters

### Mono-[6-deoxy-6-(*p*-toluolsulfonyl)]- $\beta$ -cyclodextrin (**112**)<sup>[283]</sup>

(Mono-6-Tos- $\beta$ -CD)



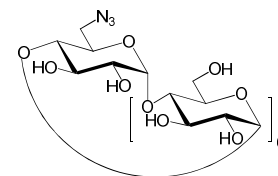
Eine Suspension von 11.4 g (10.0 mmol) trockenem  $\beta$ -Cyclodextrin (**105**) in 500 ml dest. Wasser wird nacheinander mit einer Lösung von 7.51 g (30.1 mmol, 3.0 Äquiv.) Kupfer(II)-sulfat Pentahydrat in 750 ml dest. Wasser sowie einer Lösung von 10.0 g (251 mmol, 25 Äquiv.) Natriumhydroxid in 250 ml dest. Wasser zügig versetzt. Nach 10 min Rühren wird die Suspension bei Raumtemp. tropfenweise mit einer Lösung von 15.1 g (79.2 mmol, 7.9 Äquiv.) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in 100 ml Acetonitril innerhalb von 3 h versetzt und 14 h gerührt. Anschließend wird mit 1 M Salzsäurelösung neutralisiert und der blaue Niederschlag abzentrifugiert (4500 UPM, 2 min). Das klare Dekantat wird bei 4 °C über 48 h zur Kristallisation gebracht, abgesaugt und aus wässriger 10 mM EDTA-Lösung (Dinatriumsalz) umkristallisiert und 14 h bei 40 °C im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 5.58 g (max. 4.33 mmol, 43 %), Lit.:<sup>[283]</sup> 48 %; farbloser pulveriger Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = +130$  (c = 1.00, DMSO), Lit.:<sup>[311]</sup>  $[\alpha]_D^{20} = +122$  (c = 1.00, DMSO).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $[\delta/ppm] = 7.75$  (d, 14H,  $J = 8.2$  Hz, 2H, SO<sub>2</sub>-*o*-Ar-H), 7.43 (d, 14H,  $J = 8.0$  Hz, SO<sub>2</sub>-*m*-Ar-H), 5.73 (s<sub>b</sub>, 14H, HO-2, HO-2', HO-3, HO-3'), 4.84 (d, 6H,  $^3J_{H1,H2} = 3.3$  Hz, H1-CD), 4.77 (d, 1H,  $^3J_{H1',H2'} = 3.3$  Hz, H1'-CD), 4.50 (s<sub>b</sub>, 6H, 6-OH), 3.75-3.16 (m, 35H, H2-CD, H2'-CD, H3-CD, H3'-CD, H5-CD, H5'-CD, H6a-CD, H6a'-CD, H6b-CD, H6b'-CD), 2.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 1311.36$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1311.37).

C<sub>49</sub>H<sub>76</sub>O<sub>37</sub>S (1289.17)

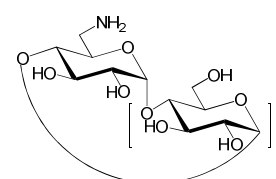
**Mono-[6-deoxy-6-azido]- $\beta$ -cyclodextrin (113)**<sup>[285]</sup>(Mono-6-N<sub>3</sub>- $\beta$ -CD)

Eine Suspension von 3.50 g (max. 2.31 mmol) Mono-6-Tos- $\beta$ -CD (**112**) und 3.00 g (46.1 mmol, 20 Äquiv.) Natriumazid in 50 ml Wasser wird 4 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird der Ansatz auf Raumtemp. abgekühlt, mit 50 ml Aceton versetzt und 16 h bei 4 °C zur Kristallisation gebracht. Der farblose Feststoff wird abgesaugt, mit kaltem Aceton gewaschen und im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 2.70 g (max. 23.3 mmol, 87 %), Lit.:<sup>[285]</sup> 98%; farbloses Pulver;  $[\alpha]_D^{23} = +133$  (c = 1.00, DMSO), Lit.:<sup>[311]</sup>  $[\alpha]_D^{20} = +140$  (c = 1.00, DMSO).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 1182.38$  ( $[M+Na]^+$ , ber.: 1182.37).

C<sub>42</sub>H<sub>69</sub>N<sub>3</sub>O<sub>34</sub> (1160.00)

**Mono-[6-deoxy-6-amino]- $\beta$ -cyclodextrin (114)**<sup>[285]</sup>(Mono-6-NH<sub>2</sub>- $\beta$ -CD)

Eine Lösung von 2.30 g (max. 1.98 mmol) Mono-6-N<sub>3</sub>- $\beta$ -CD (**113**) in 100 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird portionsweise mit 2.10 g (8.00 mmol, 4.0 Äquiv.) Triphenylphosphin versetzt und 3 h gerührt. Nach beendeter Gasentwicklung werden 20 ml konz. Ammoniak-Lösung zugegeben und der Ansatz weitere 14 h gerührt. Anschließend werden die Lösemittel im Hochvakuum entfernt, der Rückstand in 20 ml konz. Ammoniak-Lösung aufgenommen und 30 min gerührt. Nach Absaugen und Waschen des Feststoffs mit 30 ml Wasser wird das Filtrat im Vakuum auf ca. 15 ml eingengt und in 200 ml Aceton ausgefällt. Der abgesaugte und mit Aceton gewaschene Feststoff wird bei 45 °C im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Ausbeute: 2.20 g (max. 1.94 mmol, 98 %), Lit.:<sup>[285]</sup> 98%; farbloses feines Pulver;  $[\alpha]_D^{23} = +141$  (c = 1.00, DMSO), Lit.:  $[\alpha]_D^{20} = +130$  (c = 0.50, H<sub>2</sub>O).

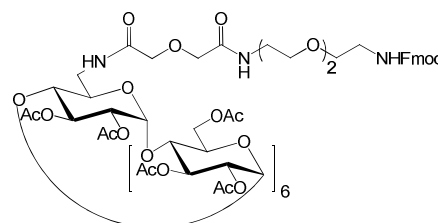
300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>): [ $\delta$ /ppm] = 5.80-5.66 (m, 14H, 2,3-OH), 4.82 (d, 7H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 3.2 Hz, H1-CD, H1'-CD), 4.51-4.41 (m, 6H, 6-OH), 3.72-3.51 (m, 30H, H2-CD, H2'-CD, H3-CD, H3'-CD, H4-CD, H4'-CD, H5-CD, H5'-CD), 3.40-3.24 (m, 14H, H6a-CD, H6a'-CD, H6b-CD, H6b'-CD).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [ $m/z$ ] = 1134.42 ([M+H]<sup>+</sup>, ber.: 1134.39).

C<sub>42</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>34</sub> (1134.00)

**(9H-Fluoren-9-yl)methyl-1-(heptakis-2,3-di-*O*-acetyl-mono-[6-deoxy-6-amino]- $\beta$ -cyclodextryl)-1,5-dioxo-3,9,12-trioxa-6-azatetradecan-14-ylcarbammat (116)**

(Mono-6-Spa-NH-Fmoc-Per-2,3-Ac- $\beta$ -CD)



Kupplung des Spacers

Eine Lösung von 300 mg (max. 0.26 mmol) Mono-6-NH<sub>2</sub>- $\beta$ -CD (**114**) und 200  $\mu$ l (145 mg; 1.43 mmol; 5.5 Äquiv.) Triethylamin in 15 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird tropfenweise mit einer Lösung von 225 mg (0.34 mmol, 1.3 Äquiv.) PfpOOC-Spa-NH-Fmoc (**83**) in 3 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid tropfenweise versetzt. Nach 2 h wird der Ansatz mit Essigsäure neutralisiert, das Lösemittel im Hochvakuum entfernt und der Rückstand zweimal mit je 20 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird ohne vollständige Charakterisierung und Reinigung der nachfolgenden Acetylierung zugeführt.

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [ $m/z$ ] = 1624.59 ([M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 1624.57).

C<sub>67</sub>H<sub>99</sub>N<sub>3</sub>O<sub>41</sub> (1602.50)

Acetylierung

Das Rohprodukt der Kupplung wird in 15 ml Pyridin tropfenweise mit 25 ml Acetanhydrid versetzt. Nach 4 d wird das Lösemittel und überschüssiges Acetanhydrid im Hochvakuum entfernt, der Rückstand zweimal mit je 25 ml Toluol kodestilliert und einer flashchromatographischen Reinigung (Laufmittel: CHCl<sub>3</sub>/EtOH, 4:0.2) unterworfen.

Ausbeute: 190 mg (77.8  $\mu\text{mol}$ , 29 % über 2 Stufen); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = +76$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.41$  ( $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ , 4:0.2),  $R_t = 35.3$  min (Säule: A, Gradient: Präp-4).

$400 \text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$  [ $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$ ] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 7.75$  (d, 2H,  $^3J_{\text{H4,H3}} = ^3J_{\text{H5,H6}} = 7.5$  Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.59 (d, 2H,  $^3J_{\text{H1,H2}} = ^3J_{\text{H8,H7}} = 7.4$  Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.38 (t\*, 2H,  $^3J_{\text{H3,H2}} \approx ^3J_{\text{H3,H4}} \approx ^3J_{\text{H6,H5}} \approx ^3J_{\text{H6,H7}} \approx 7.4$  Hz, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.30 (t\*, 2H,  $^3J_{\text{H2,H1}} \approx ^3J_{\text{H2,H3}} \approx ^3J_{\text{H7,H6}} \approx ^3J_{\text{H7,H8}} \approx 7.4$  Hz, H2-Fmoc, H7-Fmoc), 7.23 (t, 1H,  $^3J_{\text{NH,CH2}} = 6.0$  Hz,  $\text{NH-CH}_2\text{-CD}$ ), 7.17 (t, 1H,  $^3J_{\text{NH,CH2}} = 5.2$  Hz,  $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NHC=O-CH}_2$ ), 5.45 (t, 1H,  $^3J_{\text{NH,CH2}} = 5.1$  Hz, NH-Fmoc), 5.37-5.22 (m, 7H, H3-CD, H3'-CD), 5.18-5.05 (m, 6H, H1-CD), 4.97 (d, 1H,  $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.8$  Hz, H1'-CD), 4.87-4.71 (m, 7H, H2-CD, H2'-CD), 4.63 (dd, 2H,  $^3J_{\text{H6a,H5}} = 4.9$  Hz,  $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 11.4$  Hz, H6-CD), 4.57-4.45 (m, 4H, H6-CD), 4.41-3.97 (m, 20H,  $\text{CH}_2\text{-Fmoc}$  {4.38, d,  $^3J = 7.1$  Hz}, H9-Fmoc {4.20}, H5-CD, H5'-CD, H6-CD), 3.83-3.64 (m, 8H, H6'a-CD {3.81}, H4-CD, H4'-CD), 3.63-3.32 (m, 13H, H6b'-CD {3.41},  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ), 2.15-1.99 (m, 60H,  $\text{Ac-CH}_3$ ).

$100.6 \text{ MHz-}^1\text{H-NMR}$  [BB, DEPT, HSQC, HMBC] ( $\text{CDCl}_3$ ):  $[\delta/\text{ppm}] = 170.92$ , 170.90, 170.83, 170.80, 170.73, 170.65, 170.62, 170.52, 169.62, 169.58, 169.48, 169.46, 169.39, 169.36, 169.14, 169.07 (C=O), 156.63 (C=O-Fmoc), 144.10 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.41 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.78 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.15 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.20 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.08 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 97.66, 97.23, 97.23, 97.17, 96.91, 96.69, 96.31 (C1-CD), 78.18, 77.36, 76.62, 76.55, 76.36 (C4-CD), 71.27, 71.16, 71.11, 70.87, 70.80, 70.63, 70.41, 70.26, 70.12, 69.80, 69.65, 69.53, 69.46, 69.21 (C2-CD, C2'-CD, C3-CD, C3'-CD, C5-CD, C5'-CD,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$ ), 66.74 ( $\text{CH}_2\text{-Fmoc}$ ), 62.84, 62.63, 62.44 (C6-CD), 47.36 (C9-Fmoc), 40.98 ( $\text{CH}_2\text{-NH-Fmoc}$ ), 40.49 (C6'-CD), 38.86 ( $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CO-CH}_2$ ), 20.98, 20.93, 20.90, 20.88, 20.85, 20.79 ( $\text{CH}_3\text{-Ac}$ ).

ESI-MS (Gerät 2, positiv):  $[m/z] = 2464.78$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 2464.78).

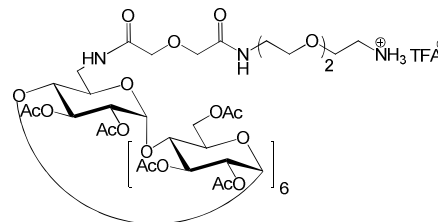
HR-ESI-MS (positiv):  $[m/z] = 2442.8030$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , ber.: 2442.7945).

$\text{C}_{107}\text{H}_{139}\text{N}_3\text{O}_{61}$  (2443.23)



**1-(Heptakis-2,3-di-*O*-acetyl-mono-[6-deoxy-6-amino]- $\beta$ -cyclodextryl)-1,5-dioxo-3,9,12-trioxa-6-azatetradecan-14-ammonium-tetrafluoroacetat (117)**

(Mono-6-Spa-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>-Per-2,3-Ac- $\beta$ -CD)



Eine Lösung von 100 mg (40.9  $\mu$ mol) Mono-6-Spa-NH-Fmoc-Per-2,3-Ac- $\beta$ -CD (**116**) in 7.5 ml Dioxan, 2 ml dest. Wasser und 0.5 ml Eisessig wird mehrfach im Membranpumpenvakuum (20 mbar) entgast und mit katalytischen Mengen (1-2 Spatelspitzen) Palladiumhydroxid auf Aktivkohle (20 %) versetzt. Nach erneutem Entgasen wird das Reaktionsgefäß mit Wasserstoff geflutet (Hydrierblase) und der Ansatz 60 h bei Raumtemp. kräftig gerührt. Anschließend wird die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre getauscht und der Katalysator mittels einer RP-C18-Filterkartusche entfernt (Eluent: Acetonitril). Um letzte Spuren des Katalysators zu entfernen, wird die Lösung durch einen PTFE-Spritzenfilter (0.45  $\mu$ m) filtriert und einer chromatographischen Reinigung auf einem semipräparativen HPLC-System unterzogen.

Ausbeute: 41 mg (17.6  $\mu$ mol, 45 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = +81$  (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>);  $R_t = 32.0$  min (Säule: A, Gradient: Ana-1 mit 0.1 % TFA),  $R_t = 34.3$  min (Säule: P1, Gradient: Präp-1 mit 0.1 % TFA).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY] (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 7.86$  (s<sub>b</sub>, 3H, NH<sub>3</sub>), 7.77 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,CH2</sub> = 5.3 Hz, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C=O-CH<sub>2</sub>), 7.25 (s<sub>b</sub>, 1H, NH-CH<sub>2</sub>-CD), 5.37-5.23 (m, 6H, H3-CD), 5.18-5.05 (m, 7H, H1-CD, H3'-CD {5.15}), 4.97 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H1,H2</sub> = 3.7 Hz, H1'-CD), 4.86-4.70 (m, 7H, H2-CD, H2'-CD), 4.65-4.46 (m, 5H, H6-CD), 4.45-4.28 (m, 4H, H6-CD), 4.26-3.96 (m, 14H, H5-CD, H5'-CD, H6-CD), 3.80-3.40 (m, 19H, H4-CD, H4'-CD, H6'a-CD {3.75}, H6'b-CD {3.48}, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH), 3.23 (s<sub>b</sub>, 2H, CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 2.18-1.98 (m, 60H, Ac-CH<sub>3</sub>).

100.6 MHz-<sup>1</sup>H-NMR [BB, DEPT, HSQC, HMBC] (CDCl<sub>3</sub>):  $[\delta/ppm] = 171.64, 171.19, 171.00, 170.89, 170.85, 170.79, 170.77, 170.74, 170.63, 170.25, 170.11, 169.65, 169.63, 169.55, 169.51, 169.50$  (C=O), 161.03-160.61 (CF<sub>3</sub>-C=O<sup>-</sup>), 97.38, 97.19, 97.11, 96.88, 96.77, 96.68, 96.49 (C1-CD), 78.39, 77.88, 77.48, 77.36, 77.16, 76.84, 76.59, 76.44 (C4-CD, C4'-CD), 71.19, 71.08, 70.98, 70.81, 70.69, 70.65, 70.51, 70.35, 70.19, 69.95, 69.66,

69.61, 69.52, 69.43 (C2-CD, C2'-CD, C3-CD, C3'-CD, C5-CD, C5'-CD, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N), 66.57 (C=O-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-C=O), 62.90, 62.77, 62.71, 62.57, 62.48 (C6-CD), 40.16 (C6'-CD), 39.99 (CH<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 39.11 (O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CO-CH<sub>2</sub>), 20.95, 20.90, 20.86, 20.79 (CH<sub>3</sub>-Ac).

*ESI-MS (Gerät 2, positiv):*  $[m/z] = 2220.69$  ([M-TFA+H]<sup>+</sup>, ber.: 2220.73).

*HR-ESI-MS (positiv):*  $[m/z] = 2220.7251$  ([M-TFA+H]<sup>+</sup>, ber.: 2220.7264).

C<sub>94</sub>H<sub>130</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>61</sub> (2335.02)

## 6 Literaturverzeichnis

- [1] T. K. Lindhorst, *Chem. unserer Zeit* **2000**, *34*, 38.
- [2] G. F. Clark, S. Oehinger, M. S. Patankar, R. Koistinen, A. Dell, H. R. Morris, H. Koistinen, M. Seppälä, *Hum. Reprod.* **1996**, *11*, 467.
- [3] N. Rinaldi, M. Schwarz-Eywill, *Z. Rheumatol.* **1999**, *58*, 333.
- [4] A. Solovey, Y. Lin, P. Browne, S. Choong, E. Wayner, R. P. Hebbel, *N. Engl. J. Med.* **1997**, *337*, 1584.
- [5] C. M. Moore, M. Ehlayel, L. E. Leiva, R. U. Sorensen, *Ann. Allergy Asthma Immunol.* **1996**, *76*, 385.
- [6] Y. J. Kim, L. Borsig, N. M. Varki, A. Varki, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1998**, *95*, 9325.
- [7] R. P. McEver, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 585.
- [8] P. Brodt, L. Fallavollita, R. S. Bresalier, S. Meterissian, C. R. Norton, B. A. Wolitzky, *Int. J. Cancer.* **1997**, *71*, 612.
- [9] S. Aigner, C. L. Ramos, A. Hafezi-Moghadam, M. B. Lawrence, J. Friederichs, P. Altevoigt, K. Ley, *FASEB J.* **1998**, *12*, 1241.
- [10] N. Pooley, L. Ghosh, P. Sharon, *Digest Dis. Sci.* **1995**, *40*, 219.
- [11] B. Vainer, O. H. Nielsen, T. Horn, *Digest Dis. Sci.* **1998**, *43*, 596.
- [12] F. Arnett, S. Edworthy, D. Bloch, D. McShane, J. Fries, N. Cooper, L. Healey, S. Kaplan, M. Liang, H. Luthra, *Arthritis & Rheum.* **1988**, *31*, 315.
- [13] D. L. Scott, C. Smith, G. Kingsley, *Clin. Exp. Rheumatol.* **2003**, *21*, 20.
- [14] H. Ji, K. Ohmura, U. Mahmood, D. M. Lee, F. M. A. Hofhuis, S. A. Boackle, K. Takahashi, V. M. Holers, M. Walport, C. Gerard, A. Ezekowitz, M. C. Carroll, M. Brenner, R. Weissleder, J. S. Verbeek, V. Duchatelle, C. Degott, C. Benoist, D. Mathis, *Immunity* **2002**, *16*, 157.
- [15] La García Rodríguez, H. Jick, *The Lancet* **1994**, *343*, 769.
- [16] A. L. Buchman, *J. Clin. Gastroenterol.* **2001**, *33*, 289.
- [17] V. M. Ingram, *Nature* **1957**, *180*, 326.
- [18] D. R. Powars, *Hemoglobin* **1990**, *14*, 573.
- [19] N. M. Matsui, *Blood* **2001**, *98*, 1955.
- [20] B. Ernst, J. L. Magnani, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2009**, *8*, 661.

- [21] J. Chang, J. T. Patton, A. Sarkar, B. Ernst, J. L. Magnani, P. S. Frenette, *Blood* **2010**, *116*, 1779.
- [22] A. Tozeren, H. Kleinman, D. Grant, D. Morales, A. Mercurio, S. Byers, *Int. J. Cancer*. **1995**, *60*, 426.
- [23] J. P. Stone, D. D. Wagner, *J. Clin. Invest.* **1993**, *92*, 804.
- [24] G. Mannori, P. Crottet, O. Cecconi, K. Hanasaki, A. Aruffo, R. Nelson, A. Varki, M. Bevilacqua, *Cancer res.* **1995**, *55*, 4425.
- [25] T. Jørgensen, A. Berner, O. Kaalhus, K. J. Tveter, H. E. Danielsen, M. Bryne, *Cancer res.* **1995**, *55*, 1817.
- [26] Y. Kim, L. Borsig, N. Varki, A. Varki, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1998**, *95*, 9325.
- [27] A. Weller, S. Isenmann, D. Vestveber, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 15176.
- [28] A. Falus, K. Meretey, *Immunol. today* **1992**, *13*, 154.
- [29] A. Dunne, La O'Neill, *Sci. STKE* **2003**, *2003*, re3.
- [30] K. E. Norman, K. L. Moore, R. P. McEver, K. Ley, *Blood* **1995**, *86*, 4417.
- [31] M. B. Lawrence, T. A. Springer, *J. Immunol.* **1993**, *151*, 6338.
- [32] K. Ley, C. Laudanna, M. I. Cybulsky, S. Nourshargh, *Nat. Rev. Immunol.* **2007**, *7*, 678.
- [33] R. Rothlein, *J. Exp. Med.* **1986**, *163*, 1132.
- [34] M. J. Briskin, L. M. McEvoy, E. C. Butcher, *Nature* **1993**, *363*, 461.
- [35] E. L. Berg, L. M. McEvoy, C. Berlin, R. F. Bargatze, E. C. Butcher, *Nature* **1993**, *366*, 695.
- [36] M. J. Elices, L. Osborn, Y. Takada, C. Crouse, S. Luhowskyj, M. E. Hemler, R. R. Lobb, *Cell* **1990**, *60*, 577.
- [37] K. Okkenhaug, B. Vanhaesebroeck, *Nat. Rev. Immunol.* **2003**, *3*, 317.
- [38] M. A. M. Gakidis, *J. Cell Biol.* **2004**, *166*, 273.
- [39] W. Muller, S. A. Weigl, X. Deng, D. M. Phillips, *J. Exp. Med.* **1993**, *178*, 449.
- [40] A. Schenkel, Z. Mamdouh, X. Chen, R. Liebman, W. Muller, *Nat. Immunol.* **2002**, *3*, 143.
- [41] P. F. Bradfield, S. Nourshargh, M. Aurrand-Lions, B. A. Imhof, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2007**, *27*, 2104.
- [42] D. Vestweber, *Immunol. Rev.* **2007**, *218*, 178.
- [43] M. P. Bevilacqua, J. S. Pober, D. L. Mendrick, R. S. Cotran, M. A. Gimbrone, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1987**, *84*, 9238.
- [44] M. Bevilacqua, S. Stengelin, M. Gimbrone, B. Seed, *Science* **1989**, *243*, 1160.

- [45] W. M. Gallatin, I. L. Weissman, E. C. Butcher, *Nature* **1983**, 304, 30.
- [46] T. F. Tedder, A. C. Penta, H. B. Levine, A. S. Freedman, *J. Immunol.* **1990**, 144, 532.
- [47] R. P. McEver, M. N. Martin, *J. Biol. Chem.* **1984**, 259, 9799.
- [48] R. Bonfanti, B. C. Furie, B. Furie, D. D. Wagner, *Blood* **1989**, 73, 1109.
- [49] A. Day, *Biochem. Soc. Trans.* **1994**, 22, 83.
- [50] T. F. Tedder, D. A. Steeber, A. Chen, P. Engel, *FASEB J.* **1995**, 9, 866.
- [51] W. D. Hanley, *J. Cell Sci.* **2004**, 117, 2503.
- [52] S. H. Li, D. K. Burns, J. M. Rumberger, D. H. Presky, V. L. Wilkinson, M. Anostario, B. A. Wolitzky, C. R. Norton, P. C. Familletti, K. J. Kim, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 4431.
- [53] C. Ehrhardt, C. Kneuer, U. Bakowsky, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, 56, 527.
- [54] C. Foxall, *J. Cell Biol.* **1992**, 117, 895.
- [55] M. Polley, M. Phillips, E. Wayner, E. Nudelman, A. Singhal, S. Hakomori, J. Paulson, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1991**, 88, 6224.
- [56] B. J. van Klinken, J. Dekker, H. A. Buller, A. W. Einerhand, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **1995**, 269, G613-G627.
- [57] A. Etzioni, J. M. Harlan, S. Pollack, L. M. Phillips, R. Gershoni-Baruch, J. C. Paulson, *Immunodeficiency* **1993**, 4, 307.
- [58] T. Marquardt, K. Lühn, G. Srikrishna, H. Freeze, E. Harms, D. Vestweber, *Blood* **1999**, 94, 3976.
- [59] J. Ramphal, Z. Zheng, C. Perez, L. Walker, S. DeFrees, F. Gaeta, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 3459.
- [60] W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 2186.
- [61] R. Banteli, B. Ernst, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 459.
- [62] D. Tyrrell, P. James, N. Rao, C. Foxall, S. Abbas, F. Dasgupta, M. Nashed, A. Hasegawa, M. Kiso, D. Asa, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1991**, 88, 10372.
- [63] C. T. Yuen, A. M. Lawson, W. Chai, M. Larkin, M. S. Stoll, A. C. Stuart, F. X. Sullivan, T. J. Ahern, T. Feizi, *Biochemistry* **1992**, 31, 9126.
- [64] B. K. Brandley, M. Kiso, S. Abbas, P. Nikrad, O. Srivasatava, C. Foxall, Y. Oda, A. Hasegawa, *Glycobiology* **1993**, 3, 633.
- [65] M. J. Bamford, M. Bird, P. M. Gore, D. S. Holmes, R. Priest, J. C. Prodger, V. Saez, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 239.

- [66] A. Hasegawa, K. Fushimi, H. Ishida, M. Kiso, *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 1203.
- [67] R. Nelson, O. Cecconi, W. Roberts, A. Aruffo, R. Linhardt, M. Bevilacqua, *Blood* **1993**, *82*, 3253.
- [68] K. L. Moore, *J. Cell Biol.* **1992**, *118*, 445.
- [69] K. L. Moore, *J. Cell Biol.* **1995**, *128*, 661.
- [70] P. Wilkins, K. Moore, R. McEver, R. Cummings, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 22677.
- [71] K. Snapp, H. Ding, K. Atkins, R. Warnke, F. Luscinskas, G. Kansas, *Blood* **1998**, *91*, 154.
- [72] A. Leppänen, P. Mehta, Y.-B. Ouyang, T. Ju, J. Helin, K. L. Moore, I. van Die, W. M. Canfield, R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 24838.
- [73] D. A. Carlow, K. Gossens, S. Naus, K. M. Veerman, W. Seo, H. J. Ziltener, *Immunol. Rev.* **2009**, *230*, 75.
- [74] F. Li, H. P. Erickson, J. A. James, K. L. Moore, R. D. Cummings, R. P. McEver, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 6342.
- [75] D. Sako, K. Comess, K. Barone, R. Camphausen, D. Cumming, G. Shaw, *Cell* **1995**, *83*, 323.
- [76] T. Pouyani, B. Seed, *Cell* **1995**, *83*, 333.
- [77] A. Leppänen, S. P. White, J. Helin, R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 39569.
- [78] K. L. Moore, S. F. Eaton, de Lyons, H. S. Lichenstein, R. D. Cummings, R. P. McEver, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 23318.
- [79] I. S. Trowbridge, *J. Exp. Med.* **1978**, *148*, 313.
- [80] S. Aigner, Z. M. Sthoeger, M. Fogel, E. Weber, J. Zarn, M. Ruppert, Y. Zeller, D. Vestweber, R. Stahel, M. Sammar, P. Altevogt, *Blood* **1997**, *89*, 3385.
- [81] M. Fogel, J. Friederichs, Y. Zeller, M. Husar, A. Smirnov, L. Roitman, P. Altevogt, Z. Sthoeger, *Cancer Lett.* **1999**, *143*, 87.
- [82] J. Friederichs, Y. Zeller, A. Hafezi-Moghadam, H. Gröne, K. Ley, P. Altevogt, *Cancer res.* **2000**, *60*, 6714.
- [83] G. Kristiansen, M. Sammar, P. Altevogt, *J. Mol. Histol.* **2004**, *35*, 255.
- [84] S. Baumheter, M. S. Singer, W. Henzel, S. Hemmerich, M. Renz, S. D. Rosen, La Lasky, *Science* **1993**, *262*, 436.

- [85] S. Hemmerich, H. Leffler, S. Rosen, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 12035.
- [86] R. Mebius, D. Dowbenko, A. Williams, C. Fennie, L. Lasky, S. Watson, *J. Immunol.* **1993**, *151*, 6769.
- [87] J.-P. Girard, T. A. Springer, *Immunol. today* **1995**, *16*, 449.
- [88] C. Berlin, E. Berg, M. Briskin, D. Andrew, P. Kilshaw, B. Holzmann, I. Weissman, A. Hamann, E. Butcher, *Cell* **1993**, *74*, 185.
- [89] D. Dowbenko, A. Kikuta, C. Fennie, N. Gillett, La Lasky, *J. Clin. Invest.* **1993**, *92*, 952.
- [90] Y. Lmai, L. Lasky, S. Rosen, *Nature* **1993**, *361*, 555.
- [91] S. Hemmerich, E. C. Butcher, S. D. Rosen, *J. Exp. Med.* **1994**, *180*, 2219.
- [92] S. Hwang, M. Singer, P. Gibling, T. Yednock, K. Bacon, S. Simon, S. Rosen, *J. Exp. Med.* **1996**, *184*, 1343.
- [93] A. Levinovitz, J. Mühlhoff, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1993**, *121*, 449.
- [94] M. Steegmaier, E. Borges, J. Berger, H. Schwarz, D. Vestweber, *J. Cell Sci.* **1997**, *110*, 687.
- [95] M. Lenter, A. Levinovitz, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1994**, *125*, 471.
- [96] S. Gout, C. Morin, F. Houle, J. Huot, *Cancer res.* **2006**, *66*, 9117.
- [97] S. Gout, P. Tremblay, J. Huot, *Clin. Exp. Metastasis* **2008**, *25*, 335.
- [98] L. Gros, H. Ringsdorf, H. Schupp, *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 311.
- [99] J. Manuel, in *El Conde Lucanor*, Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes, **2004**.
- [100] K. Strebhardt, A. Ullrich, *Nat. Rev. Cancer* **2008**, *8*, 473.
- [101] H. Batz, G. Franzmann, H. Ringsdorf, *Angew. Chem.* **1972**, *84*, 1189.
- [102] G. Franzmann, H. Ringsdorf, *Macromol. Chem. Phys.* **1976**, *177*, 2547.
- [103] V. Hofmann, M. Przybylski, H. Ringsdorf, H. Ritter, *Makromol. Chem.* **1976**, *177*, 1791.
- [104] H. Bader, H. Ringsdorf, B. Schmidt, *Angew. Makromol. Chem.* **1984**, *123*, 457.
- [105] R. Haag, F. Kratz, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1218.
- [106] H. Ringsdorf, *J. polym. sci., C Polym. symp.* **1975**, *51*, 135.
- [107] R. B. Greenwald, *J. Controlled Release* **2001**, *74*, 159.
- [108] R. Duncan, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2*, 347.
- [109] M. J. Vicent, H. Ringsdorf, R. Duncan, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2009**, *61*, 1117.
- [110] R. Gaspar, R. Duncan, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2009**, *61*, 1220.

- [111] J. Kopeček, H. Bažilová, *Eur. Polym. J.* **1973**, *9*, 7.
- [112] L. Šprincl, J. Exner, O. Štěrba, J. Kopeček, *J. Biomed. Mater. Res.* **1976**, *10*, 953.
- [113] J. Kopeček, P. Kopečková, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2010**, *62*, 122.
- [114] R. Duncan, P. Kopecková-Rejmanová, J. Strohalm, I. Hume, H. C. Cable, J. Pohl, J. B. Lloyd, J. Kopecek, *Brit. J. Cancer* **1987**, *55*, 165.
- [115] R. Duncan, L. Seymour, K. Ulbrich, J. Kopeček, *J. Bioact. Compat. Pol.* **1988**, *3*, 4.
- [116] H. Maeda, J. Wu, T. Sawa, Y. Matsumura, K. Hori, *J. Control. Release* **2000**, *65*, 271.
- [117] R. Duncan, *Pharm. Sci. Technol. Today* **1999**, *2*, 441.
- [118] X. Yan, R. A. Gemeinhart, *J. Control. Release* **2005**, *106*, 198.
- [119] D. P. Nowotnik, E. Cvitkovic, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2009**, *61*, 1214.
- [120] R. Duncan, *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 688.
- [121] A. Hantzsch, J. Urbahn, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1895**, *28*, 753.
- [122] E. Fischer, U. Suzuki, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1905**, *38*, 4173.
- [123] M. Bodanszky, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1960**, *88*, 655.
- [124] G. W. Anderson, J. E. Zimmerman, F. M. Callahan, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3039.
- [125] W. J. Pummer, L. A. Wall, *Science* **1958**, *127*, 643.
- [126] G. W. Cline, S. B. Hanna, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3087.
- [127] H. Mark, H. Fikentscher, in *Production Of Artificial Masses*, US1984417, **1934**.
- [128] R. C. Schulz, P. Elzer, W. Kern, *Makromol. Chem.* **1960**, *42*, 197.
- [129] H. G. Batz, G. Franzmann, H. Ringsdorf, *Makromol. Chem.* **1973**, *172*, 27.
- [130] A. Godwin, M. Hartenstein, A. H. E. Müller, S. Brocchini, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 614.
- [131] M. A. Gauthier, M. I. Gibson, H.-A. Klok, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 50.
- [132] P. Théato, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2008**, *46*, 6677.
- [133] J.-C. Blazejewski, J. W. Hofstraat, C. Lequesne, C. Wakselman, U. E. Wiersum, *J. Fluorine Chem.* **1999**, *97*, 191.
- [134] M. Eberhardt, R. Mruk, R. Zentel, P. Théato, *Eur. Polym. J.* **2005**, *41*, 1569.
- [135] M. Eberhardt, P. Théato, *Macromol. Rapid Commun.* **2005**, *26*, 1488.
- [136] M. Munteanu, S. Choi, H. Ritter, *Macromolecules* **2008**, *41*, 9619.



- [137] M. Barz, F. K. Wolf, F. Canal, K. Koynov, M. J. Vicent, H. Frey, R. Zentel, *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 1492.
- [138] M. Barz, F. Canal, K. Koynov, R. Zentel, M. J. Vicent, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 2274.
- [139] S. Weinbaum, J. M. Tarbell, E. R. Damiano, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2007**, *9*, 121.
- [140] S. Reitsma, D. Slaaf, H. Vink, M. van Zandvoort, M. oude Egbrink, *Pflugers Arch. - Eur. J. Physiol.* **2007**, *454*, 345.
- [141] J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555.
- [142] Y. Miura, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2007**, *45*, 5031.
- [143] I. Papp, J. Dervede, S. Enders, R. Haag, *Chem. Commun.* **2008**, 5851.
- [144] T. K. Lindhorst, in *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, **2008**.
- [145] L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 696.
- [146] L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2006**, *45*, 2348.
- [147] J. E. Gestwicki, C. W. Cairo, L. E. Strong, K. A. Oetjen, L. L. Kiessling, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14922.
- [148] G. Ercolani, L. Schiaffino, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 1800.
- [149] A. Joshi, D. Vance, P. Rai, A. Thiyagarajan, R. S. Kane, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 7738.
- [150] K. H. Mortell, R. V. Weatherman, L. L. Kiessling, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2297.
- [151] M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 2754.
- [152] J. Szejtli, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743.
- [153] A. Villiers, *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris* **1891**, *112*.
- [154] F. Schardinger, *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* **1903**, *6*, 865.
- [155] M. Sakurai, M. Kitagawa, H. Hoshi, Y. Inoue, R. Chûjô, *Carbohydr. Res.* **1990**, *198*, 181.
- [156] M. E. Davis, M. E. Brewster, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3*, 1023.
- [157] K. A. Connors, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1325.
- [158] H. van Doorne, E. H. Bosch, C. F. Lerk, *Pharm. World Sci.* **1988**, *10*, 80.

- [159] A. Preiss, W. Mehnert, K.-H. Frömming, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **1994**, 327, 729.
- [160] J. Szejtli, *Pure Appl. Chem.* **2004**, 76, 1825.
- [161] S. J. Hwang, N. C. Bellocq, M. E. Davis, *Bioconjugate Chem.* **2001**, 12, 280.
- [162] F. Bachmann, J. Höpken, R. Kohli, D. Lohmann, J. Schneider, *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, 17, 1359.
- [163] T. Furuike, R. Sadamoto, K. Niikura, K. Monde, N. Sakairi, S.-I. Nishimura, *Tetrahedron* **2005**, 61, 1737.
- [164] K. Shailubhai, S. Z. Abbas, G. S. Jacob, *Biochem. Bioph. Res. Co.* **1996**, 229, 488.
- [165] M. E. Wall, M. C. Wani, C. E. Cook, K. H. Palmer, A. T. McPhail, G. A. Sim, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 3888.
- [166] C. Young, T. Schluep, J. Hwang, S. Eliasof, *Curr. Bioact. Compd.* **2011**, 7, 8.
- [167] S. Svenson, M. Wolfgang, J. Hwang, J. Ryan, S. Eliasof, *J. Control. Release* **2011**, 153, 49.
- [168] J. A. Conti, N. E. Kemeny, L. B. Saltz, Y. Huang, W. P. Tong, T. C. Chou, M. Sun, S. Pulliam, C. Gonzalez, *J. Clin. Oncol.* **1996**, 14, 709.
- [169] V. M. Herben, W. W. ten Bokkel Huinink, J. H. Beijnen, *Clin. Pharmacokinet.* **1996**, 31, 85.
- [170] M. Schultz, H. Kunz, *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, 4, 1205.
- [171] W. Dullenkopf, J. C. Castro-Palomino, L. Manzoni, R. R. Schmidt, *Carbohydr. Res.* **1996**, 296, 135.
- [172] K. Baumann, *Dissertation*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2007**.
- [173] S. Hanessian, P. Lavallee, *Can. J. Chem.* **1975**, 53, 2975.
- [174] G. Höfle, W. Steglich, H. Vorbrüggen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, 17, 569.
- [175] G. Zemplén, A. Kunz, *Ber. dtsh. Chem. Ges. A/B* **1923**, 56, 1705.
- [176] M. E. Evans, *Carbohydr. Res.* **1972**, 21, 473.
- [177] H. Lönn, *Carbohydr. Res.* **1985**, 139, 105.
- [178] W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretzschmar, D. W. Schmidt, H. Kunz, *J. prakt. Chem.* **1995**, 337, 441.
- [179] O. T. Schmidt, in *Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol. II*, R. L. Whistler, M. L. Wolfrom, J. N. BeMiller (Hrsg.), Academic Press Inc., New York, London, **1963**, S. 318.

- [180] X. Pannecoucke, G. Schmitt, B. Luu, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 6569.
- [181] J. Zhang, P. Kováč, *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 461.
- [182] G. Excoffier, D. Gagnaire, J.-P. Utille, *Carbohydr. Res.* **1975**, *39*, 368.
- [183] E. Eichler, H. J. Jennings, M. Gilbert, D. M. Whitfield, *Carbohydr. Res.* **1999**, *319*, 1.
- [184] R. Kuhn, P. Lutz, D. L. Macdonald, *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 611.
- [185] A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1989**, *190*, 317.
- [186] J. Xue, Y. Pan, Z. Guo, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1599.
- [187] A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1989**, *187*, 35.
- [188] J. B. Corbell, J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 95.
- [189] W. Koenigs, E. Knorr, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, *34*, 957.
- [190] R. R. Schmidt, J. Michel, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 763.
- [191] S. Gabriel, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1887**, *20*, 2224.
- [192] H. Xie, O. Braha, L.-Q. Gu, S. Cheley, H. Bayley, *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 109.
- [193] O. M. Martin, S. Mecozzi, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 5539.
- [194] P. R. Ashton, J. Huff, S. Menzer, I. W. Parsons, J. A. Preece, J. F. Stoddart, M. S. Tolley, A. J. P. White, D. J. Williams, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 31.
- [195] R. U. Lemieux, K. B. Hendriks, R. V. Stick, K. James, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4056.
- [196] K. Baumann, D. Kowalczyk, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2008**, *47*, 3445.
- [197] K. Baumann, D. Kowalczyk, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 3494.
- [198] S. Sato, M. Mori, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1986**, *155*, C6.
- [199] P. J. Garegg, H. Hultberg, S. Wallin, *Carbohydr. Res.* **1982**, *108*, 97.
- [200] M. P. DeNinno, J. B. Etienne, K. C. Duplantier, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 669.
- [201] M. Sakagami, H. Hamana, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5547.
- [202] S. S. Bhattacharjee, P. A. J. Gorin, *Can. J. Chem.* **1969**, *47*, 1195.
- [203] R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213.
- [204] R. R. Schmidt, *Pure Appl. Chem.* **1989**, *61*, 1257.
- [205] L. Manzoni, L. Lay, R. Schmidt, *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, *17*, 739.
- [206] C. Unverzagt, G. Gundel, S. Eller, R. Schuberth, J. Seifert, H. Weiss, M. Niemietz, M. Pischl, C. Raps, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 12292.
- [207] R. R. Schmidt, A. Toepfer, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 3353.
- [208] G.-J. Boons, A. V. Demchenko, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4539.

- [209] A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1990**, *195*, 303.
- [210] F. Dasgupta, P. J. Garegg, *Carbohydr. Res.* **1988**, *177*, c13.
- [211] R. R. Schmidt, M. Behrendt, A. Toepfer, *Synlett* **1990**, *1990*, 694.
- [212] I. Braccini, C. Derouet, J. Esnault, C. H. de Penhoat, J.-M. Mallet, V. Michon, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1993**, *246*, 23.
- [213] A. J. Ratcliffe, B. Fraser-Reid, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 747.
- [214] H. Hori, T. Nakajima, Y. Nishida, H. Ohruï, H. Meguro, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 6317.
- [215] U. Dabrowski, H. Friebolin, R. Brossmer, M. Supp, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 4637.
- [216] H. Paulsen, H. Tietz, *Carbohydr. Res.* **1984**, *125*, 47.
- [217] D. J. M. van der Vleugel, W. A. R. van Heeswijk, J. F. G. Vliegenthart, *Carbohydr. Res.* **1982**, *102*, 121.
- [218] K. Okamoto, T. Kondo, T. Goto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *60*, 637.
- [219] K. Freudenberg, O. Ivers, *Ber. dtsh. Chem. Ges. A/B* **1922**, *55*, 929.
- [220] J. R. Allen, J. G. Allen, X.-F. Zhang, L. J. Williams, A. Zatorski, G. Ragupathi, P. O. Livingston, S. J. Danishefsky, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1366.
- [221] H.-P. Wessel, D. R. Bundle, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1985**, 2251.
- [222] H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1763.
- [223] R. Appel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, *14*, 801.
- [224] F. J. Urban, B. S. Moore, R. Breitenbach, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4421.
- [225] T. Flessner, S. Doye, *J. prakt. Chem.* **1999**, *341*, 186.
- [226] B. Brunnhöfer, *Dissertation*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2007**.
- [227] C. Filser, *Dissertation*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2005**.
- [228] W. M. Pearlman, *Tetrahedron Lett.* **1967**, *8*, 1663.
- [229] G. Thoma, J. L. Magnani, J. T. Patton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 923.
- [230] L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 5748.
- [231] A. Isidro-Llobet, M. Álvarez, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2455.
- [232] P. Schultheiß-Reimann, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1983**, *95*, 64.
- [233] W.-C. Sun, K. R. Gee, D. H. Klaubert, R. P. Haugland, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6469.
- [234] A. Baeyer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1871**, *4*, 555.
- [235] H. H. Schlubach, V. Prochownick, *Ber. dtsh. Chem. Ges. A/B* **1930**, *63*, 2298.
- [236] M. Bárczai-Martos, F. Kőrösy, *Nature* **1950**, *165*, 369.

- [237] M. Oberthür, C. Leimkuhler, R. G. Kruger, W. Lu, C. T. Walsh, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10747.
- [238] S. J. Keding, A. Endo, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7023.
- [239] H. C. Kolb, B. Ernst, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1571.
- [240] R. Bünteli, P. Herold, C. Bruns, J. T. Patton, J. L. Magnani, G. Thoma, *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 2893.
- [241] B. Ernst, B. Wagner, G. Baisch, A. Katopodis, T. Winkler, R. Öhrlein, *Can. J. Chem.* **2000**, *78*, 892.
- [242] C. R. Ganellin, P. B. Bishop, R. B. Bambal, S. M. T. Chan, J. K. Law, B. Marabout, P. M. Luthra, A. N. J. Moore, O. Peschard, P. Bourgeat, C. Rose, F. Vargas, J.-C. Schwartz, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 664.
- [243] F. X. Tavares, V. Boncek, D. N. Deaton, A. M. Hassell, S. T. Long, A. B. Miller, A. A. Payne, L. R. Miller, L. M. Shewchuk, K. Wells-Knecht, D. H. Willard, L. L. Wright, H.-Q. Zhou, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 588.
- [244] A. Song, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 161.
- [245] M. Green, J. Berman, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5851.
- [246] G. Panigrahi, B.-p. Zhao, J. J. Krepinsky, P. D. Sadowski, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12004.
- [247] K. Baumann, D. Kowalczyk, T. Gutjahr, M. Pieczyk, C. Jones, M. K. Wild, D. Vestweber, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2009**, *48*, 3174.
- [248] S. Futaki, T. Taike, T. Yagami, T. Ogawa, T. Akita, K. Kitagawa, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 1739.
- [249] D. Balsved, J. R. Bundgaard, J. W. Sen, *Analytical Biochemistry* **2007**, *363*, 70.
- [250] K. Baumann, D. Kowalczyk, T. Gutjahr, M. Pieczyk, C. Jones, M. K. Wild, D. Vestweber, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2009**, *48*, 3174.
- [251] H. Mark, *Naturwissenschaften* **1937**, *25*, 753.
- [252] P. D. Bartlett, *Angew. Chem.* **1955**, *67*, 45.
- [253] M. Buback, *Makromol. Chem.* **1990**, *191*, 1575.
- [254] D. H. Solomon, P. Cacioli, G. Moad, *Pure Appl. Chem.* **1985**, *57*, 985.
- [255] O. W. Webster, *Science* **1991**, *251*, 887.
- [256] K. Ziegler, *Angew. Chem.* **1936**, *49*, 499.
- [257] C. Szwarc, *Nature* **1956**, *178*, 1168.
- [258] N. Hadjichristidis, M. Pitsikalis, S. Pispas, H. Iatrou, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3747.
- [259] R. P. Quirk, B. Lee, *Polym. Int.* **1992**, *27*, 359.

- [260] J. Chiefari, Y. K. Chong, F. Ercole, J. Krstina, J. Jeffery, T. P. T. Le, R. T. A. Mayadunne, G. F. Meijs, C. L. Moad, G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Macromolecules* **1998**, *31*, 5559.
- [261] M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, T. Higashimura, *Macromolecules* **1995**, *28*, 1721.
- [262] J.-S. Wang, K. Matyjaszewski, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5614.
- [263] P. Delduc, C. Tailhan, S. Z. Zard, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 308.
- [264] K. Matyjaszewski, J. Spanswick, *Materials Today* **2005**, *8*, 26.
- [265] T. R. Darling, T. P. Davis, M. Fryd, A. A. Gridnev, D. M. Haddleton, S. D. Ittel, R. R. Matheson, G. Moad, E. Rizzardo, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2000**, *38*, 1706.
- [266] G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Aust. J. Chem.* **2005**, *58*, 379.
- [267] D. Greszta, D. Mardare, K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **1994**, *27*, 638.
- [268] D. Pissuwan, C. Boyer, K. Gunasekaran, T. P. Davis, V. Bulmus, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 412.
- [269] R. T. A. Mayadunne, E. Rizzardo, J. Chiefari, J. Krstina, G. Moad, A. Postma, S. H. Thang, *Macromolecules* **2000**, *33*, 243.
- [270] S. Perrier, P. Takolpuckdee, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2005**, *43*, 5347.
- [271] C. Barner-Kowollik, M. Buback, B. Charleux, M. L. Coote, M. Drache, T. Fukuda, A. Goto, B. Klumperman, A. B. Lowe, J. B. Mcleary, G. Moad, M. J. Monteiro, R. D. Sanderson, M. P. Tonge, P. Vana, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2006**, *44*, 5809.
- [272] A. Goto, K. Sato, Y. Tsujii, T. Fukuda, G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Macromolecules* **2001**, *34*, 402.
- [273] P. Vana, T. P. Davis, C. Barner-Kowollik, *Macromol. Theory Simul.* **2002**, *11*, 823.
- [274] G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Polymer* **2008**, *49*, 1079.
- [275] J. Houben, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1906**, *39*, 3219.
- [276] K. A. Aamer, G. N. Tew, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* **2007**, *45*, 5618.
- [277] S. H. Thang, Y. K. Chong, R. T. A. Mayadunne, G. Moad, E. Rizzardo, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2435.
- [278] J. K. Kim, D. H. Suh, *J. Fluorine Chem.* **2004**, *125*, 369.
- [279] S. Perrier, P. Takolpuckdee, C. A. Mars, *Macromolecules* **2005**, *38*, 2033.

- [280] A. W. Coleman, P. Zhang, C.-C. Ling, H. Parrot-Lopez, H. Galons, *Carbohydr. Res.* **1992**, 224, 307.
- [281] T. Kraus, M. Buděšínský, J. Závada, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2000, 3133.
- [282] P. L. Bragd, H. van Bekkum, A. C. Besemer, *Top. Catal.* **2004**, 27, 49.
- [283] I. Baussanne, J. M. Benito, C. O. Mellet, J. M. Garcia Fernandez, H. Law, J. Defaye, *Chem. Commun.* **2000**, 1489.
- [284] H. Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635.
- [285] V. Bonnet, R. Duval, V. Tran, C. Rabiller, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2003, 4810.
- [286] R. F. L. Vianna, M. V. L. B. Bentley, G. Ribeiro, F. S. Carvalho, A. F. Neto, D. C. R. de Oliveira, J. H. Collett, *Int. J. Pharm.* **1998**, 167, 205.
- [287] T. O. Carpenter, A. Gerloczy, J. Pitha, *J. Pharm. Sci.* **1995**, 84, 222.
- [288] S. Gould, R. C. Scott, *Food Chem. Toxicol.* **2005**, 43, 1451.
- [289] R. M. Nelson, S. Dolich, A. Aruffo, O. Cecconi, M. P. Bevilacqua, *J. Clin. Invest.* **1993**, 91, 1157.
- [290] H. Ohmoto, K. Nakamura, T. Inoue, N. Kondo, Y. Inoue, K. Yoshino, H. Kondo, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1339.
- [291] W. J. Sanders, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 5271.
- [292] N. Kaila, B. E. Thomas, *Expert Opin. Ther. Patents* **2003**, 13, 305.
- [293] V. Wittmann, S. Takayama, K. W. Gong, G. Weitz-Schmidt, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 5137.
- [294] U. Sprengard, M. Schudok, W. Schmidt, G. Kretzschmar, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 321.
- [295] G. Kretzschmar, U. Sprengard, H. Kunz, E. Bartnik, W. Schmidt, A. Toepfer, B. Hörsch, M. Krause, D. Seiffge, *Tetrahedron* **1995**, 51, 13015.
- [296] H. Miyauchi, M. Tanaka, H. Koike, N. Kawamura, M. Hayashi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 985.
- [297] S. Enders, *Dissertation*, Freie Universität Berlin, **2007**.
- [298] P. Pattnaik, *Appl. Biochem. Biotech.* **2005**, 126, 79.
- [299] J. Homola, *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, 377, 528.
- [300] J. Homola, S. S. Yee, G. Gauglitz, *Sensor Actuat B-Chem.* **1999**, 54, 3.
- [301] GE Healthcare Bio-Sciences AB, in *Concentration Analysis Handbook*, **2007**.
- [302] M. Weinhart, D. Gröger, S. Enders, J. Dervede, R. Haag, *Biomacromolecules* **2011**, 12, 2502.
- [303] H. Türk, R. Haag, S. Alban, *Bioconjugate Chem.* **2004**, 15, 162.

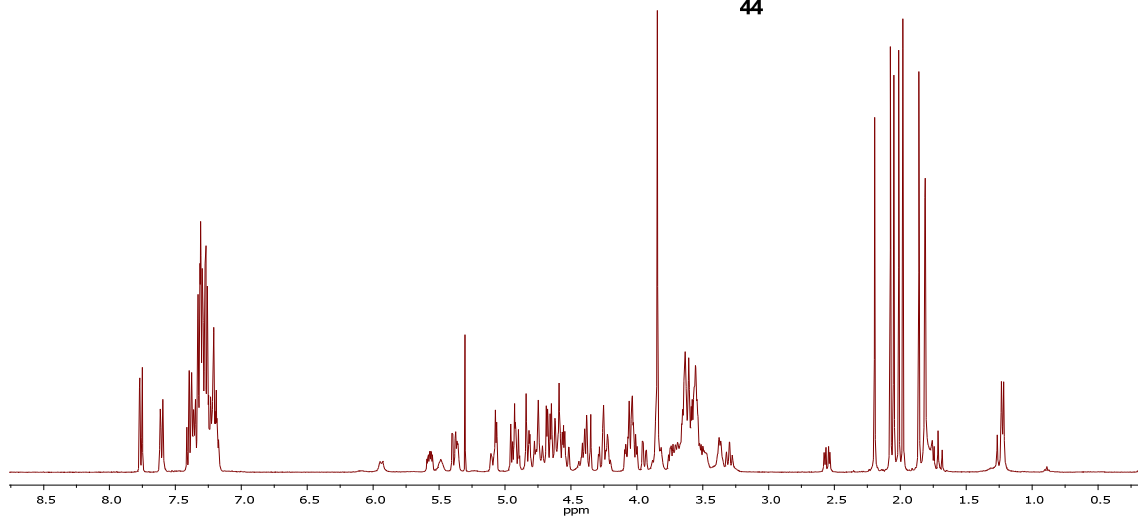
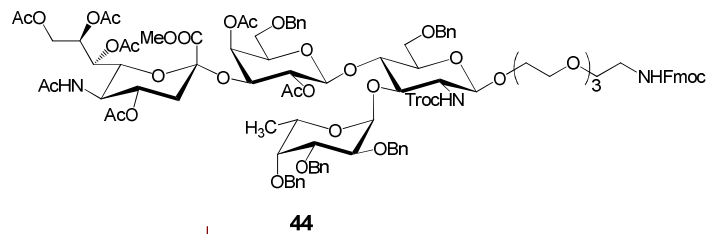
- [304] J. Dervede, A. Rausch, M. Weinhart, S. Enders, R. Tauber, K. Licha, M. Schirner, U. Zugel, A. von Bonin, R. Haag, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107*, 19679.
- [305] A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1991**, *209*, C1.
- [306] K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, N. J. Bockovich, C.-H. Wong, *J. Chem. Soc., Chem. Commun* **1991**, 870.
- [307] S. J. Danishefsky, J. Gervay, J. M. Peterson, F. E. McDonald, K. Koseki, D. A. Griffith, T. Oriyama, S. P. Marsden, *J. Am. Chem. Soc* **1995**, *117*, 1940.
- [308] G. Hummel, R. R. Schmidt, *Pol. J. Chem.* **1999**, *73*, 941.
- [309] R. Bukowski, L. M. Morris, R. J. Woods, T. Weimar, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *2001*, 2697.
- [310] H. H. Baer, Y. Shen, F. Santoyo González, A. Vargas Berenguel, J. Isac García, *Carbohydr. Res.* **1992**, 235.
- [311] C. Loukou, P. Changenet-Barret, M.-N. Rager, P. Plaza, M. M. Martin, J.-M. Mallet, *Org. Biomol. Chem* **2011**, *9*, 2209.



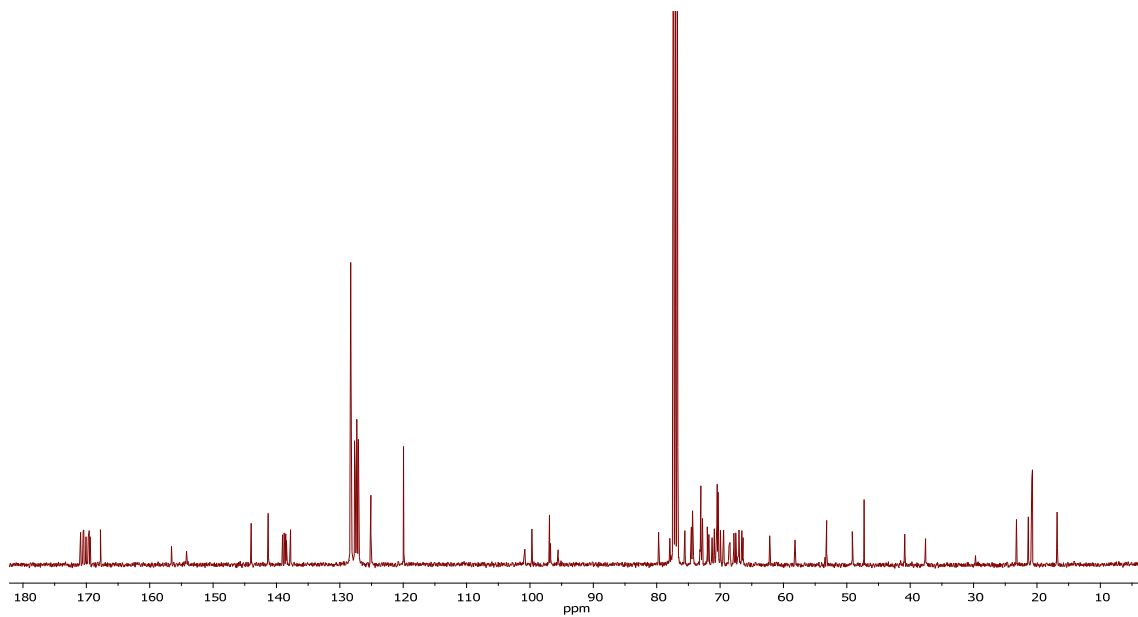
# 7 Spektrenanhang

## 7.1 NMR-Spektren

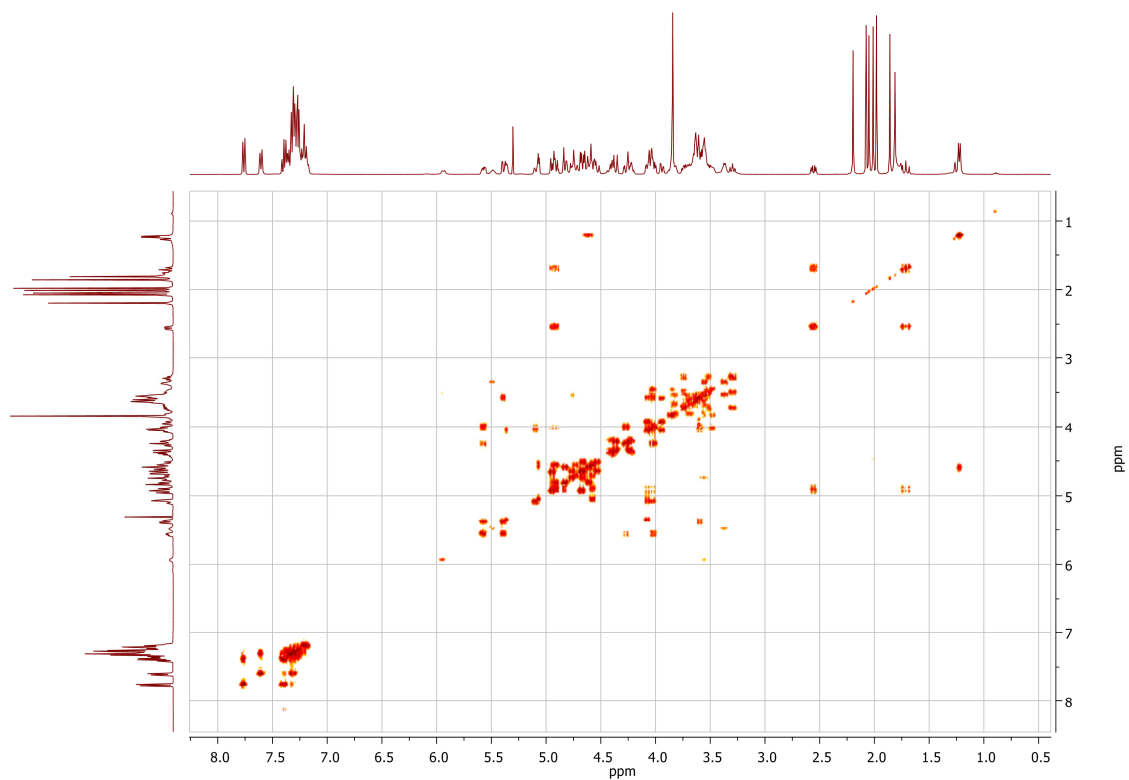
$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):



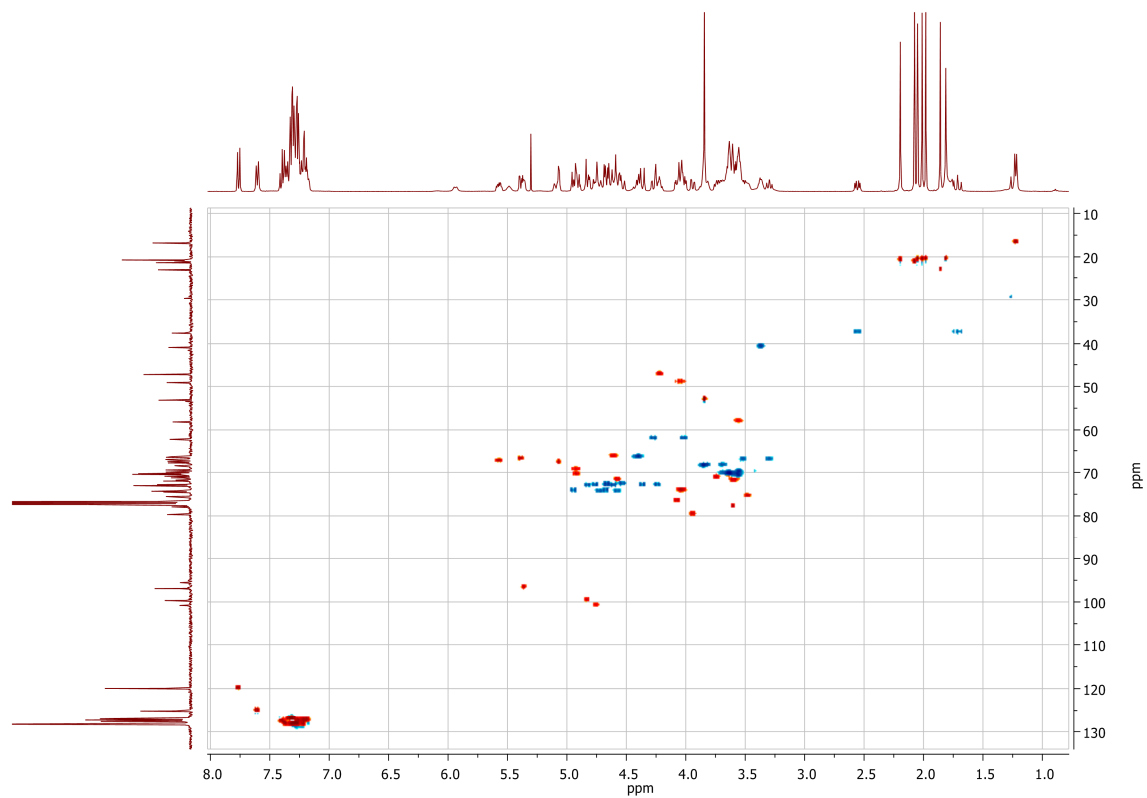
$^{13}\text{C}$ -BB (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

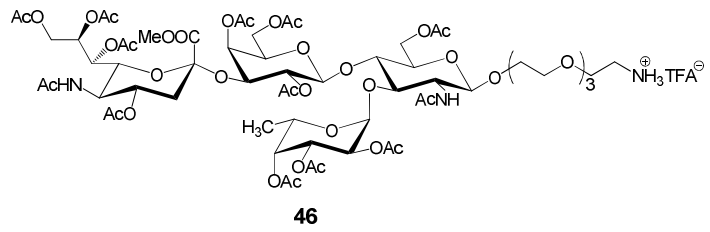


$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

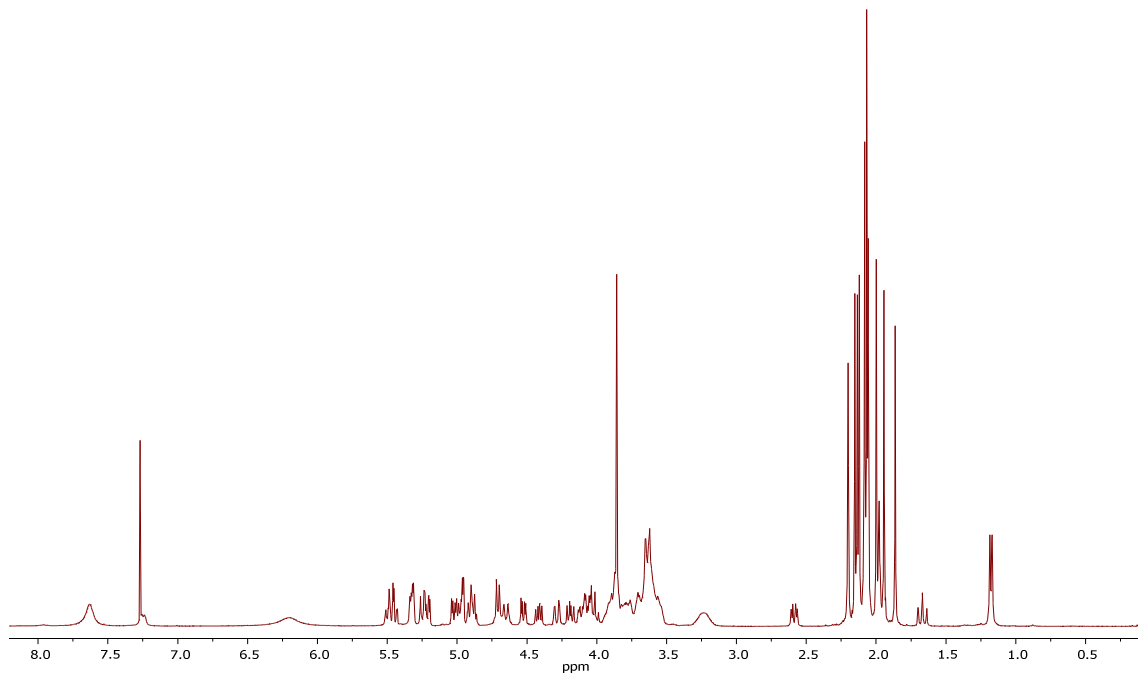


HSQC-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):

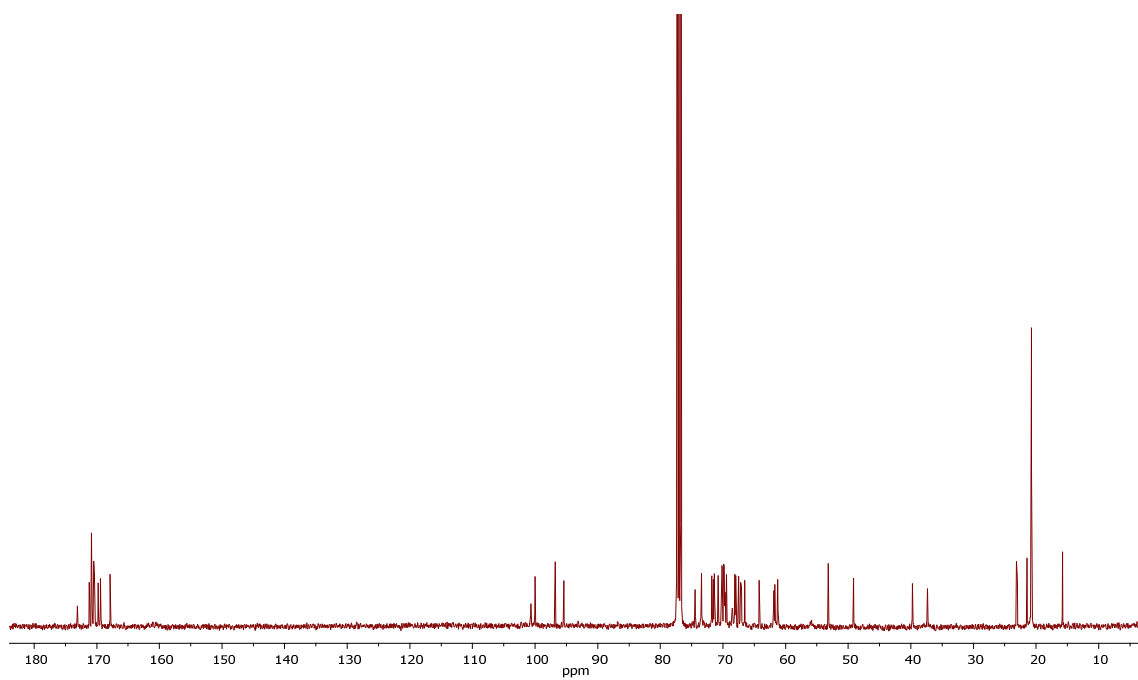




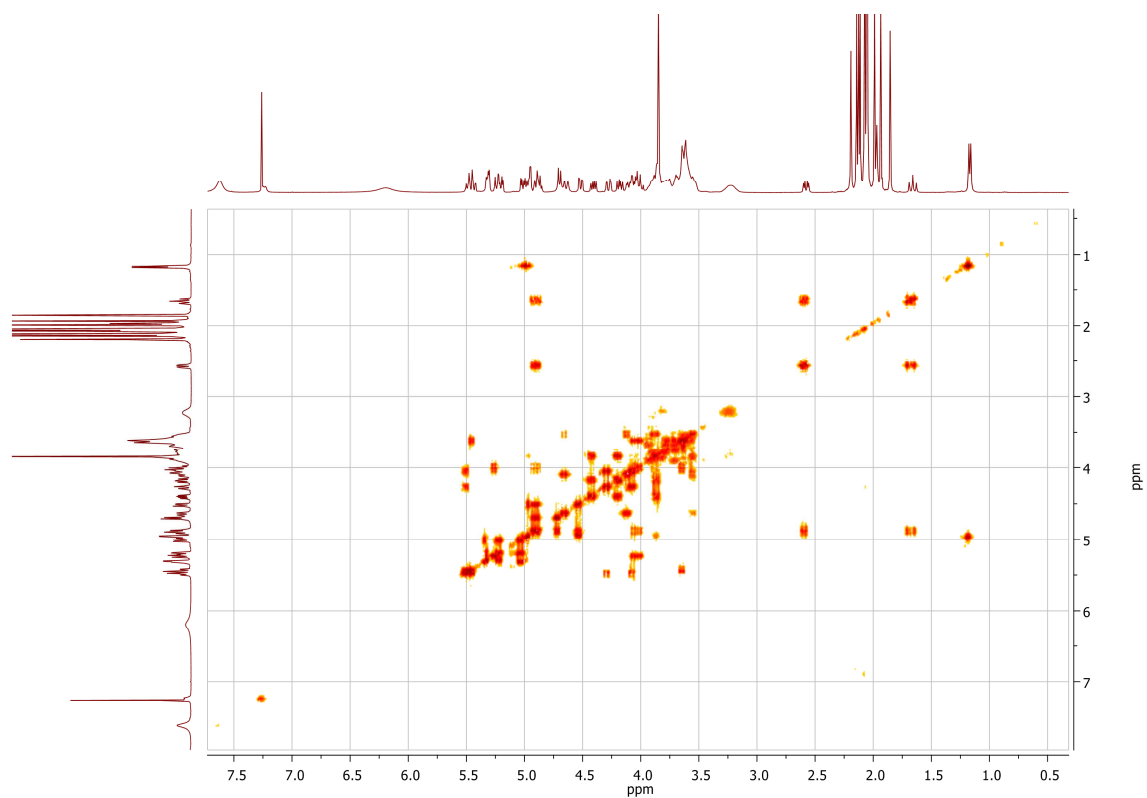
$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):



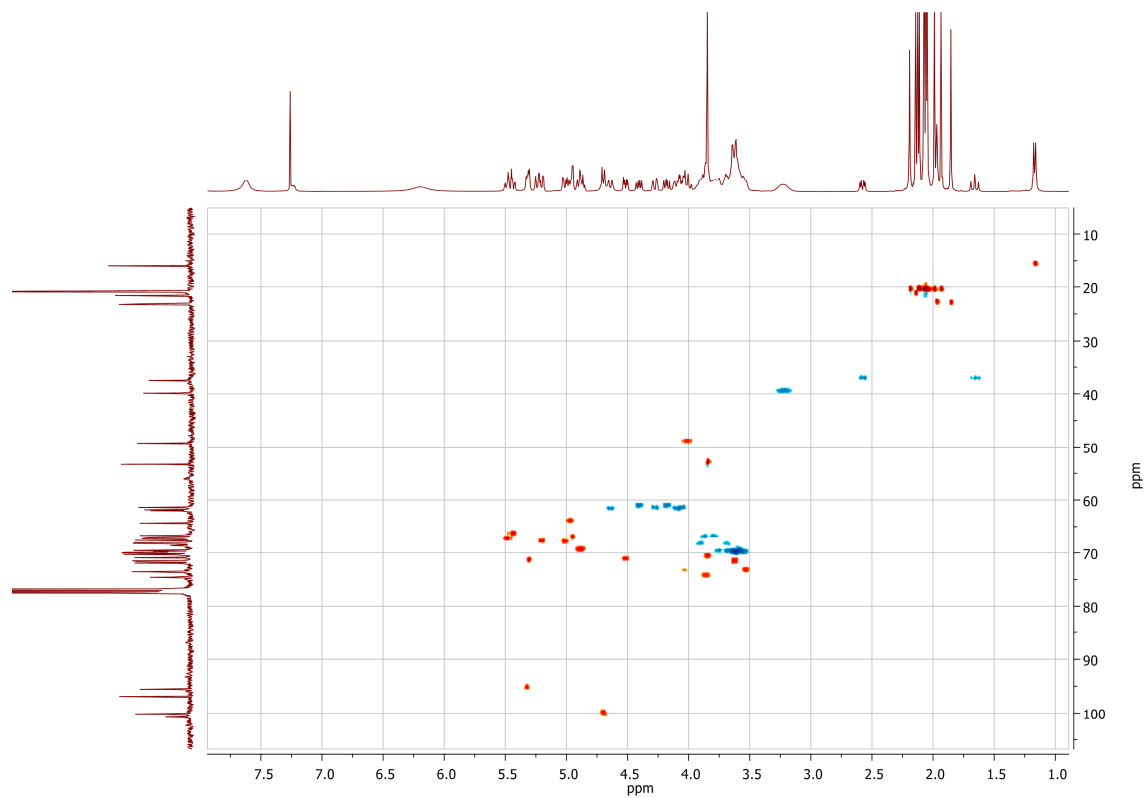
$^{13}\text{C}$ -BB (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

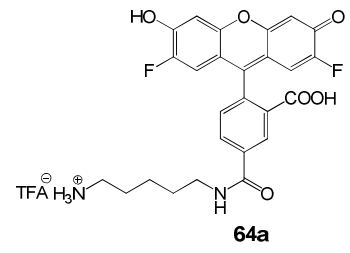


$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

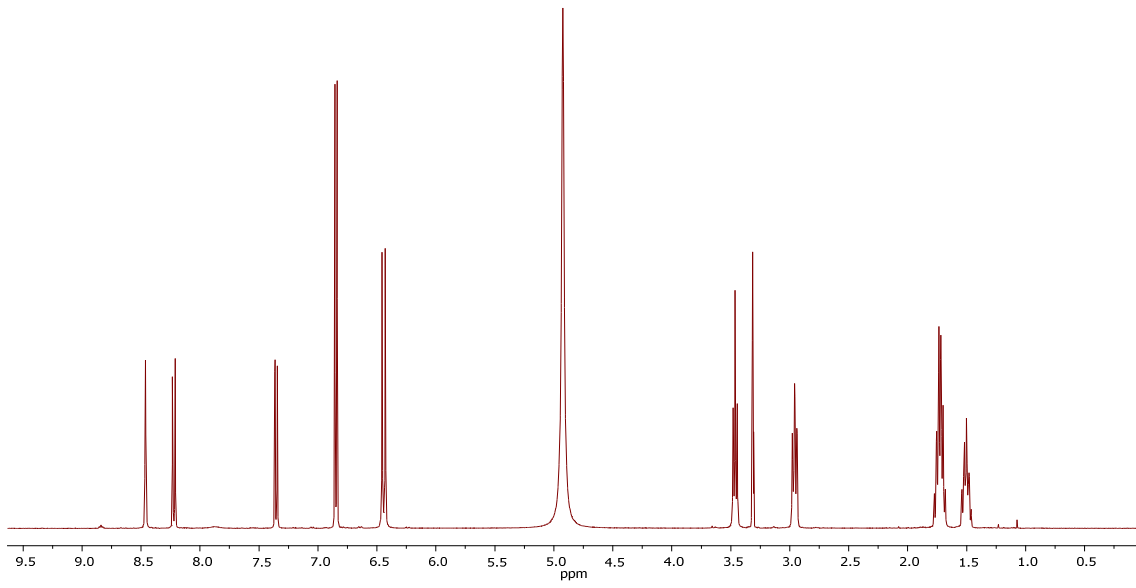


HSQC (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

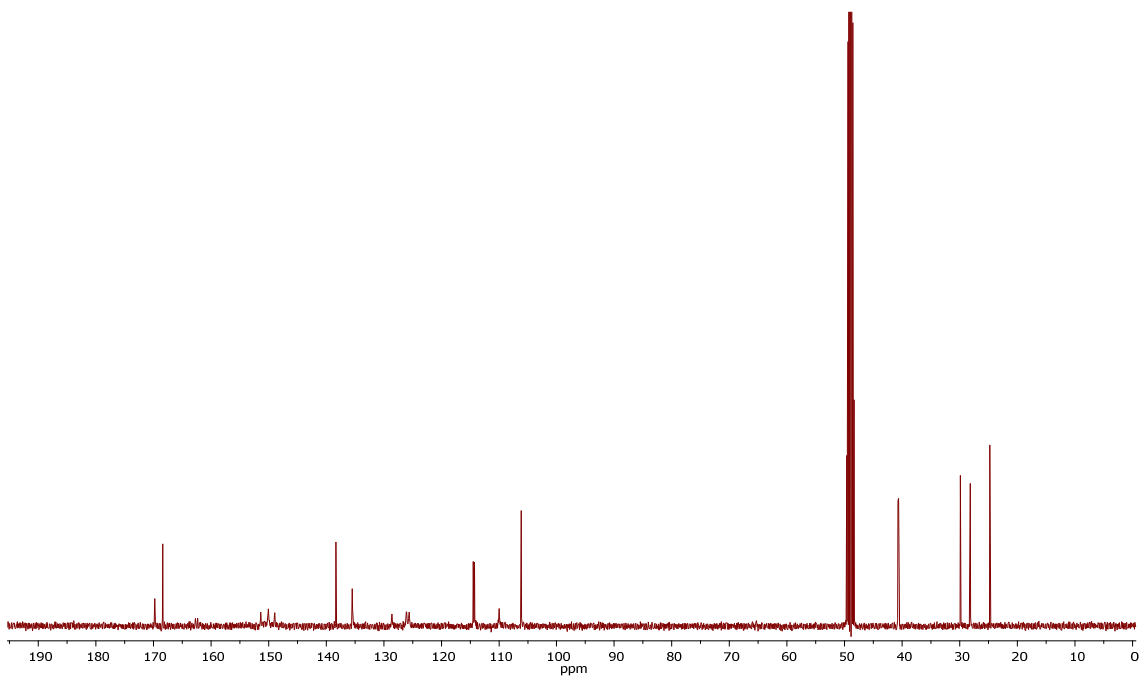




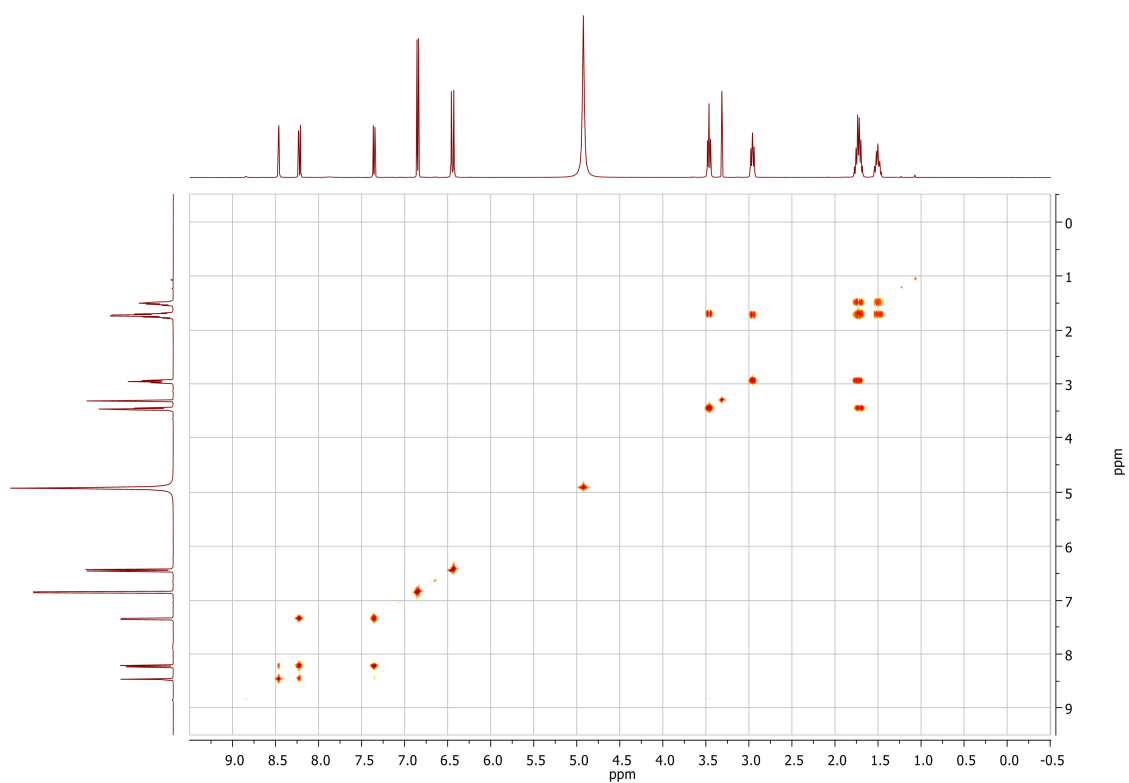
<sup>1</sup>H (400 MHz, MeOD):



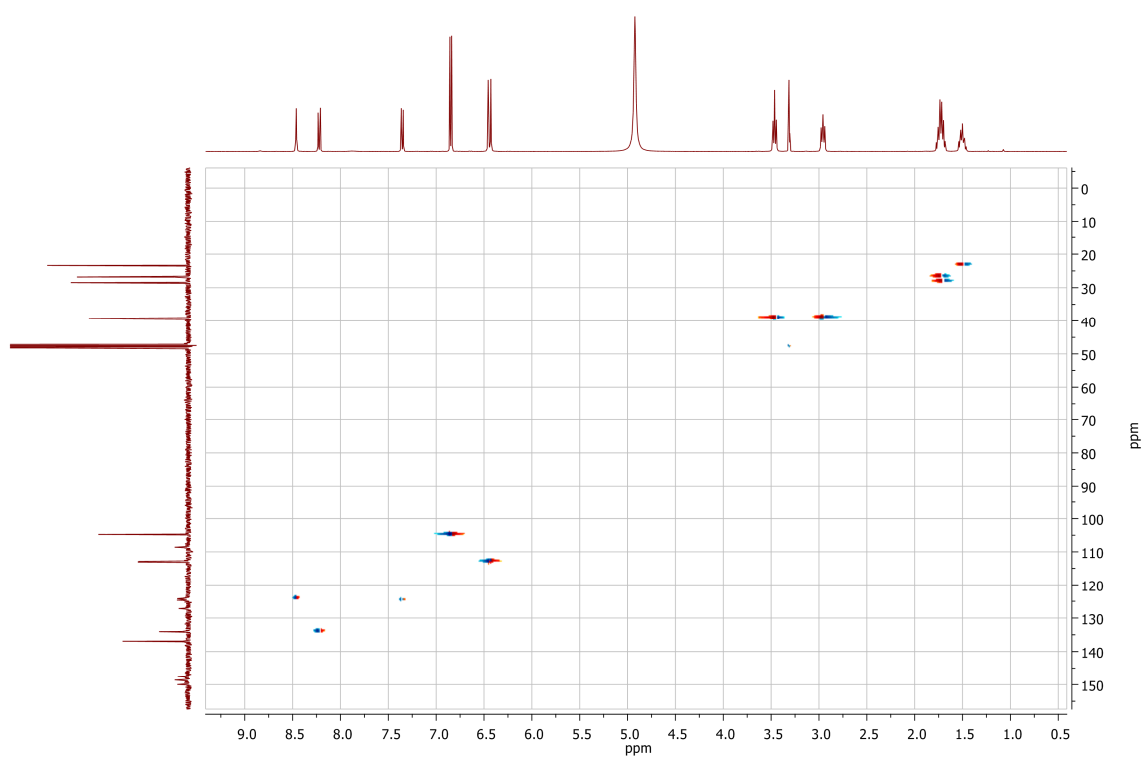
<sup>13</sup>C-BB (100.6 MHz, MeOD):

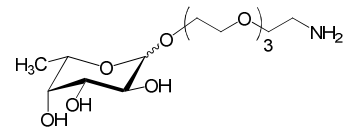


$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, MeOD):



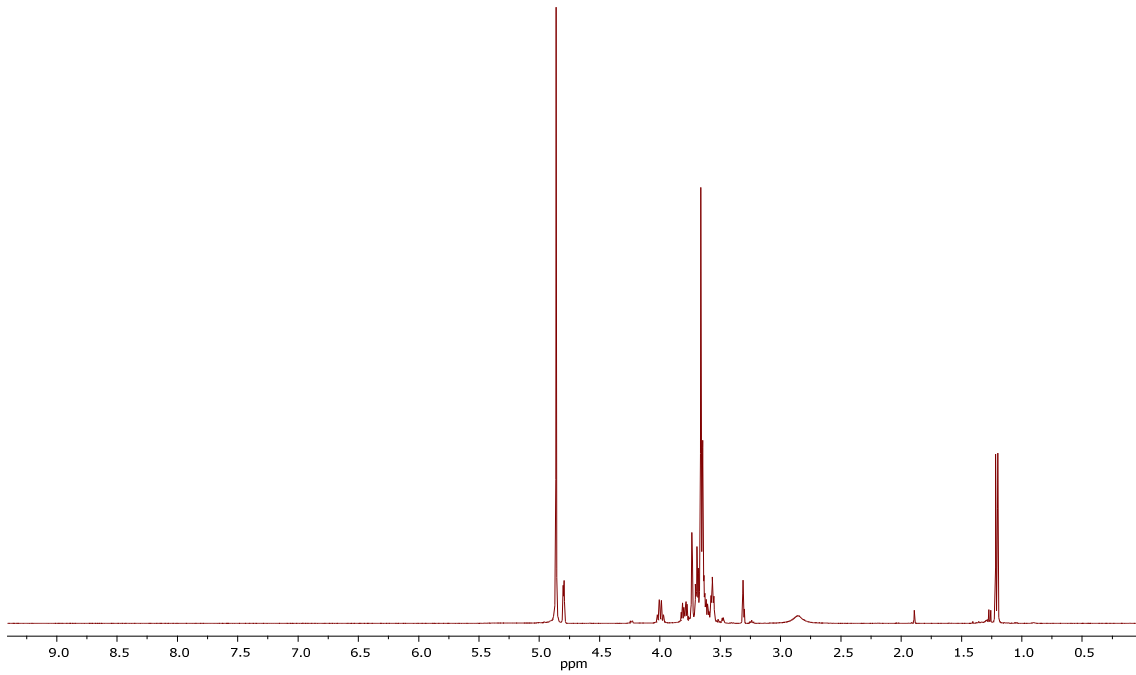
HSQC (100.6 MHz, MeOD):



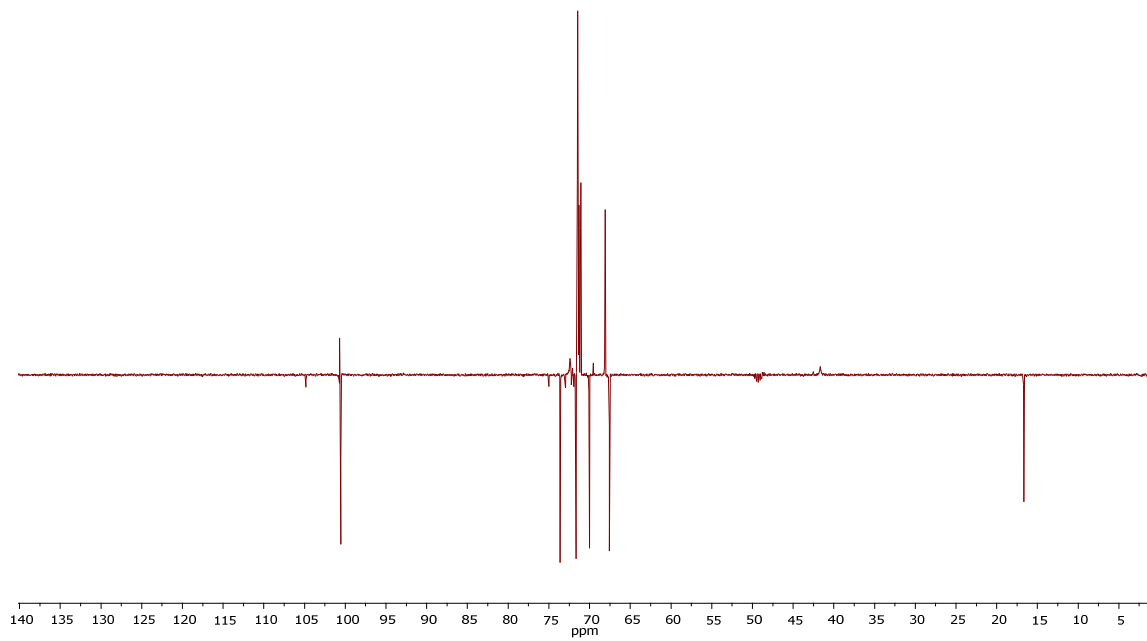


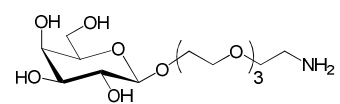
70

$^1\text{H}$  (400 MHz, MeOD):



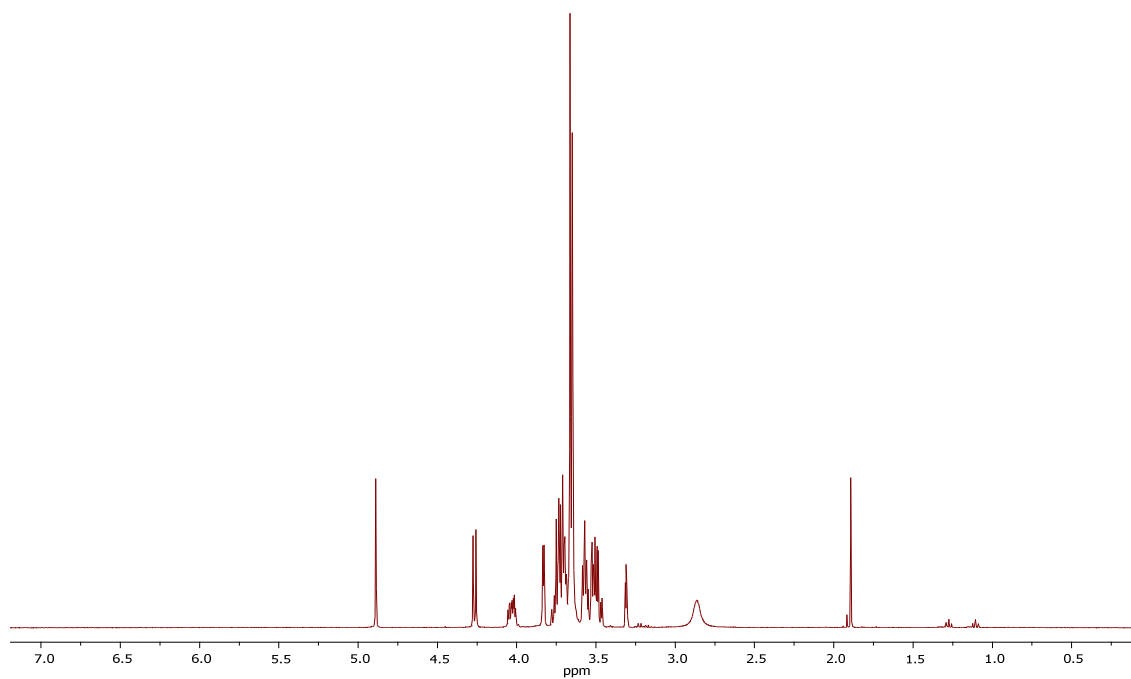
$^{13}\text{C}$ -DEPT (100.6 MHz, MeOD):



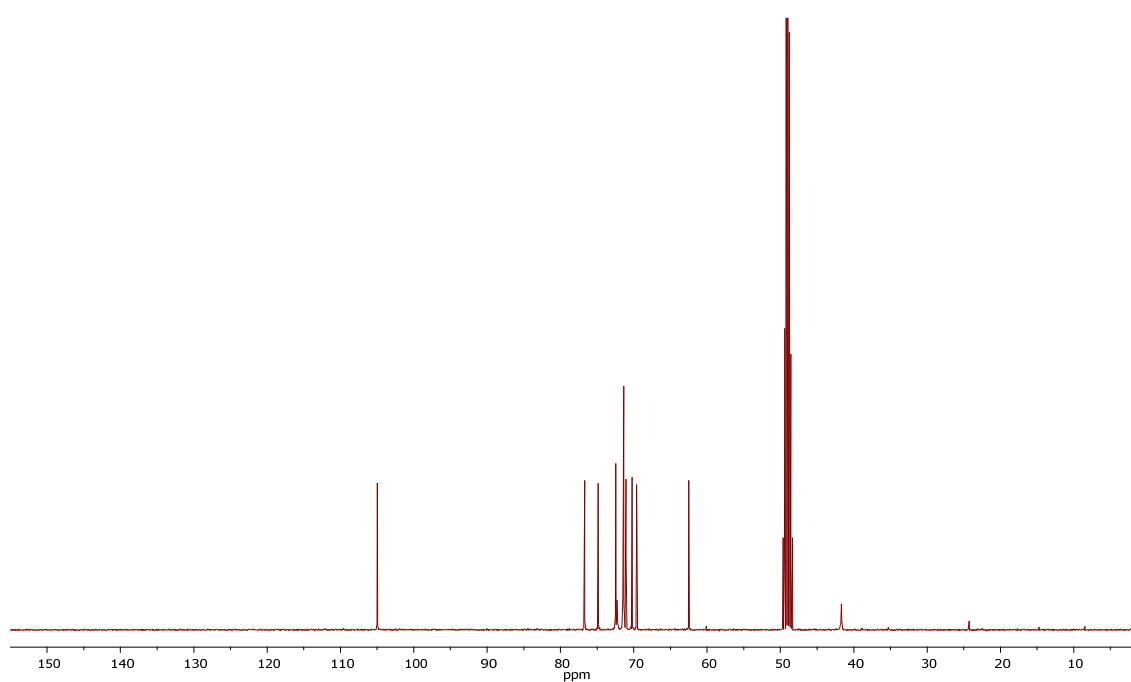


75

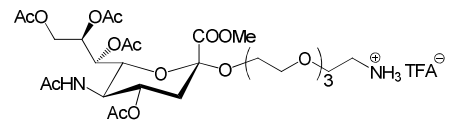
$^1\text{H}$  (400 MHz, MeOD):



$^{13}\text{C}$ -BB (400 MHz, MeOD):

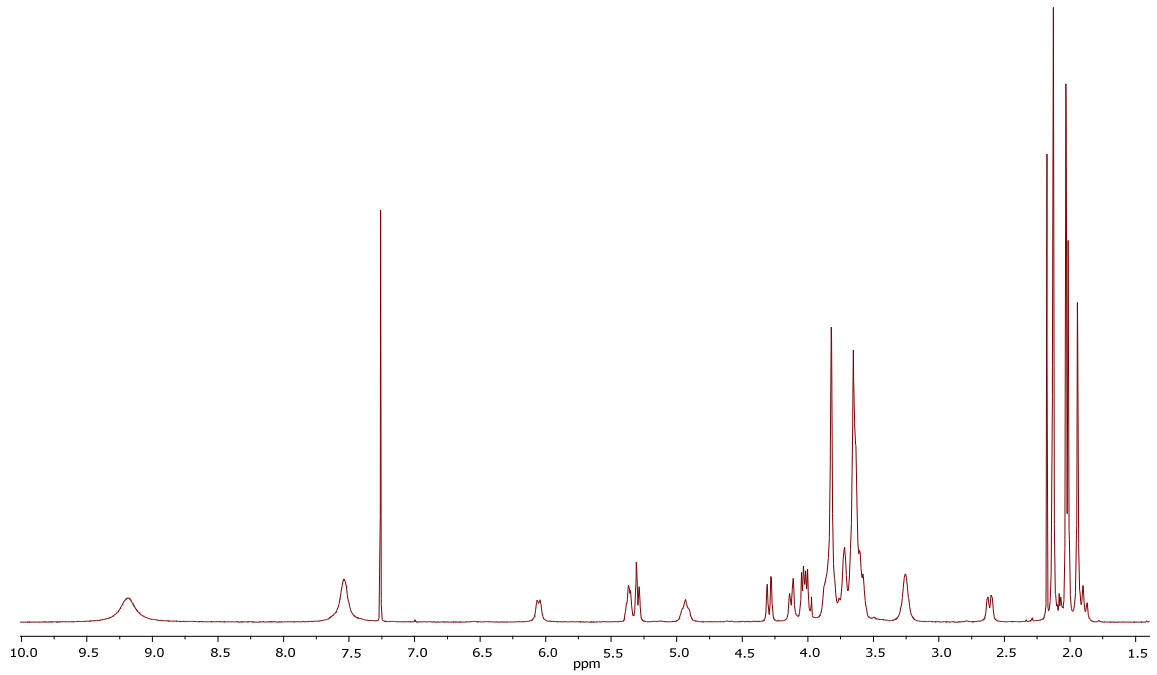




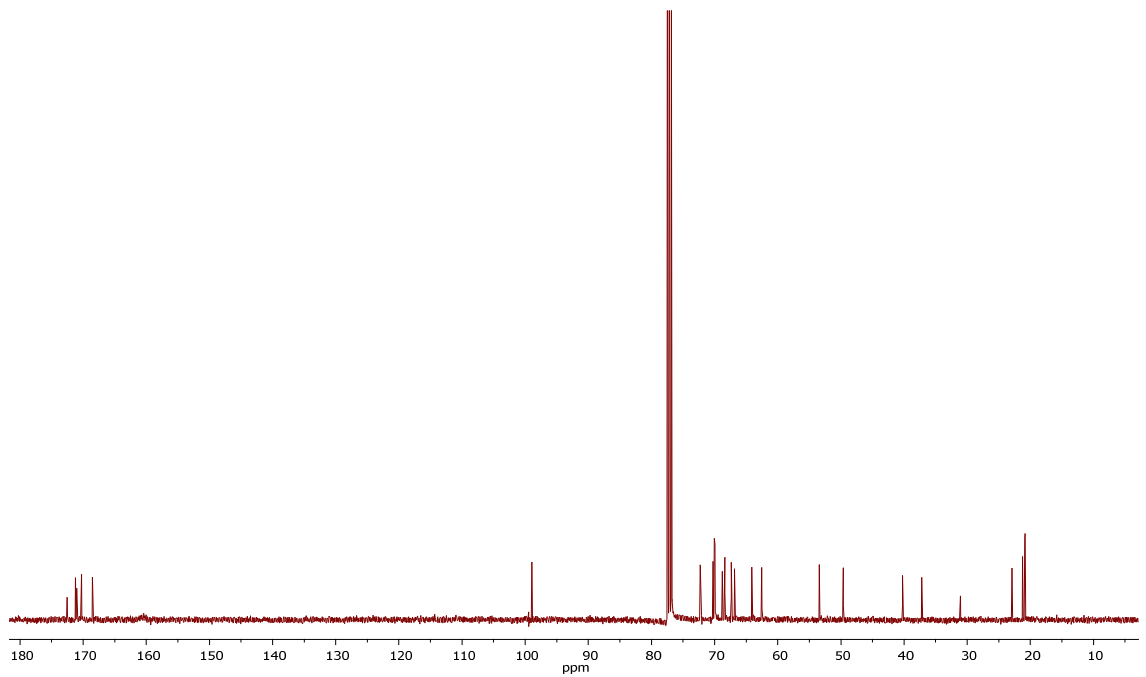


77

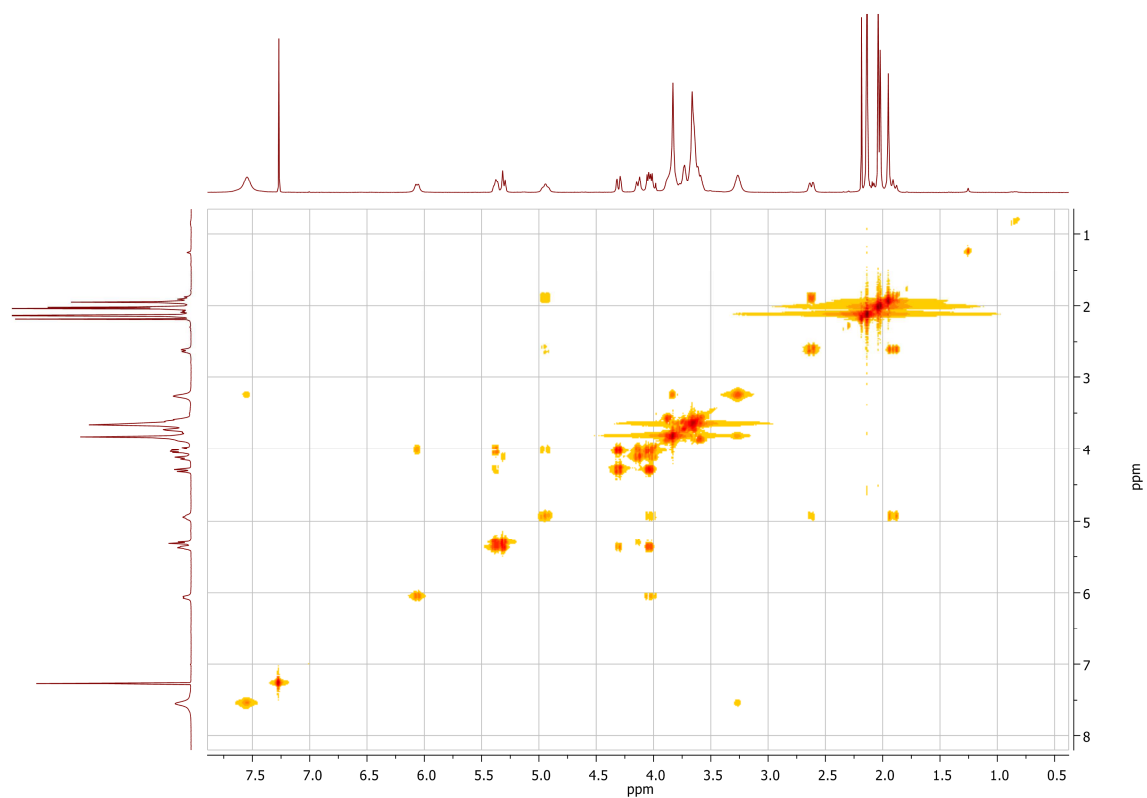
$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):



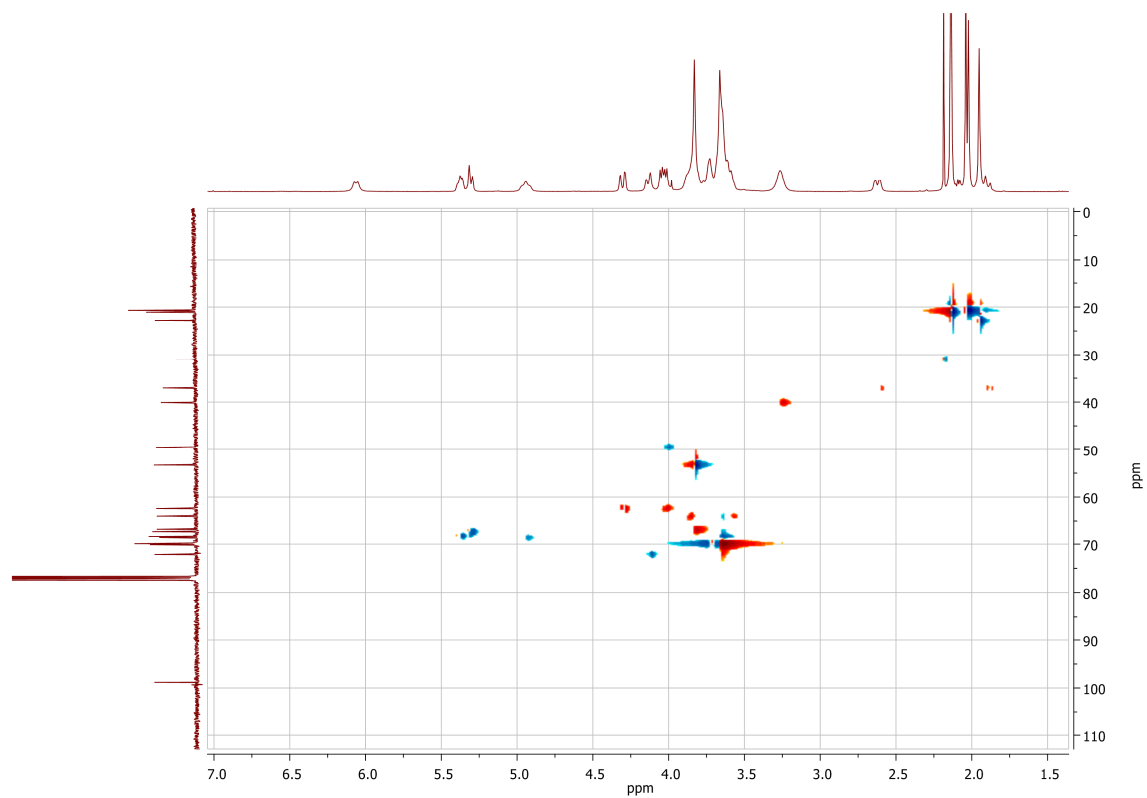
$^{13}\text{C}$ -BB (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

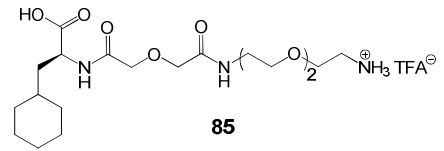


$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

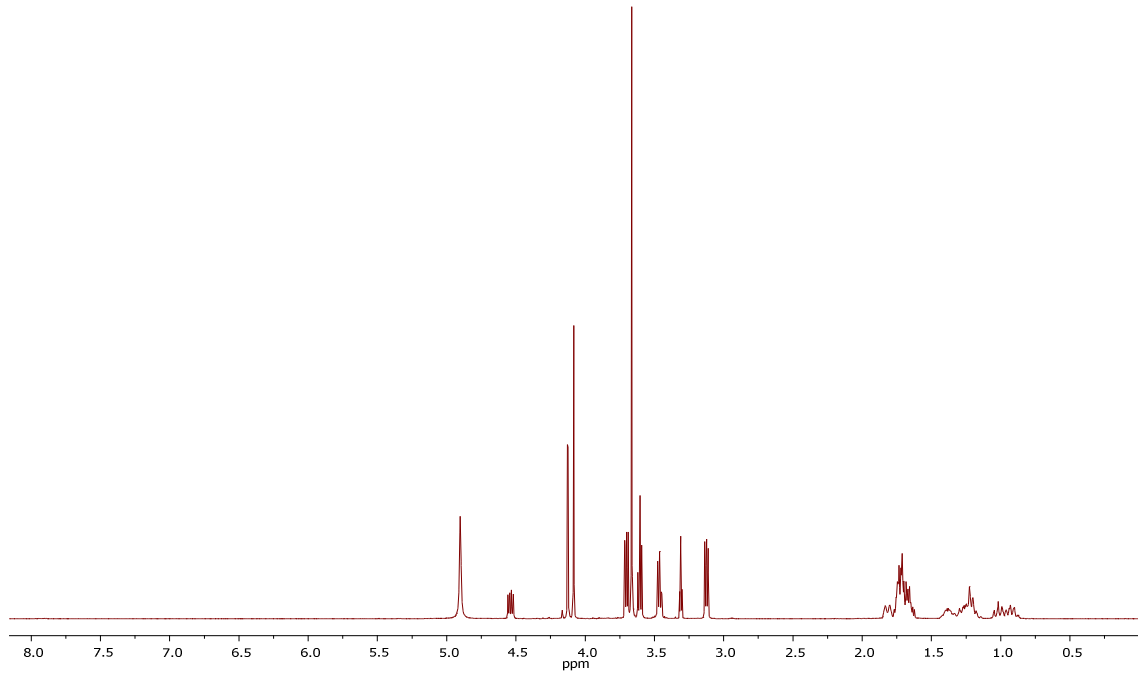


HSQC (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

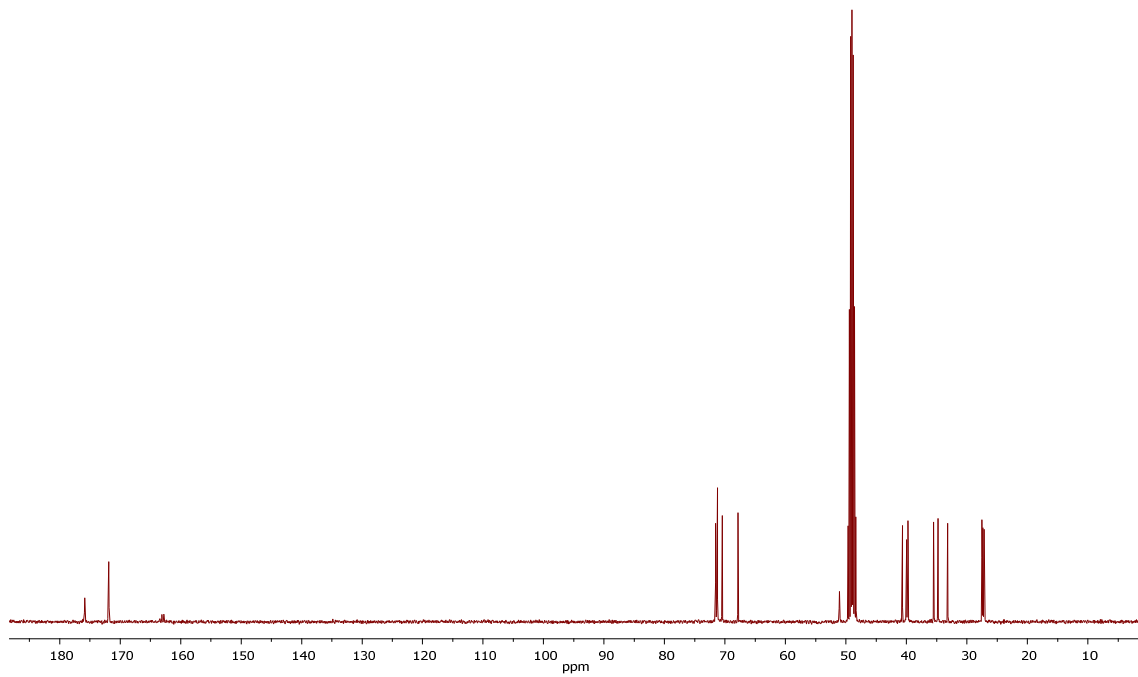




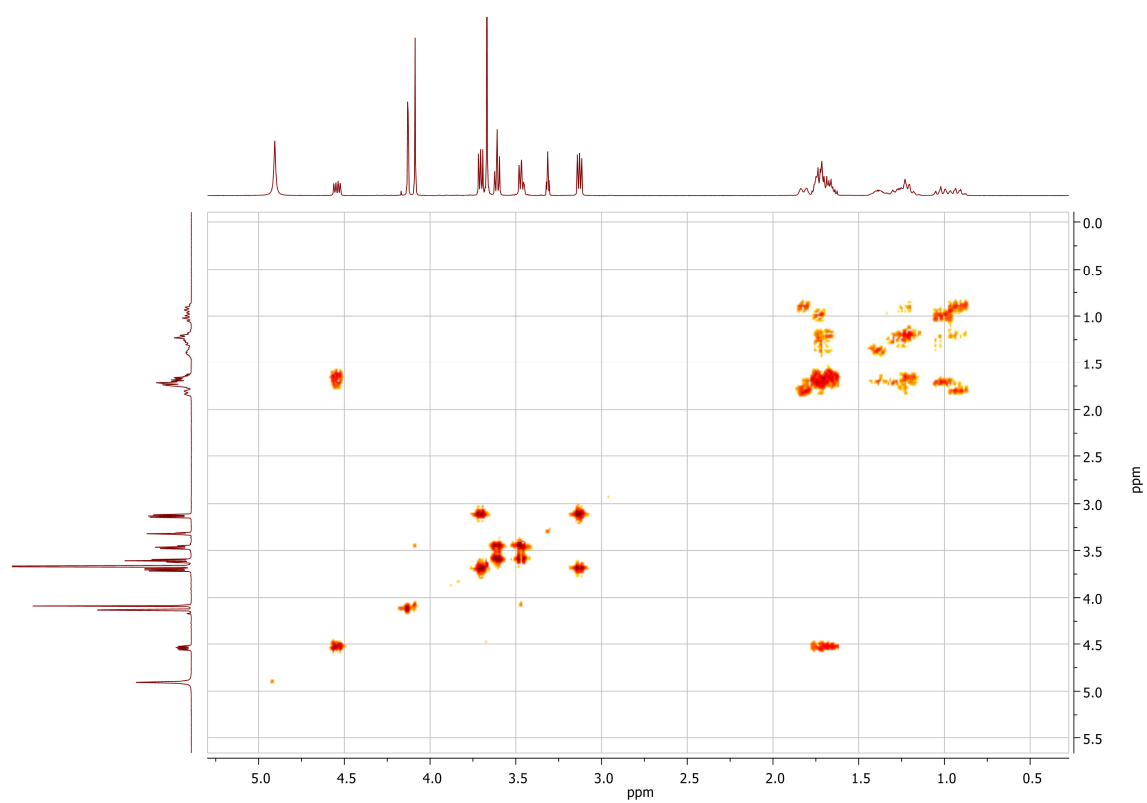
<sup>1</sup>H (400 MHz, MeOD):



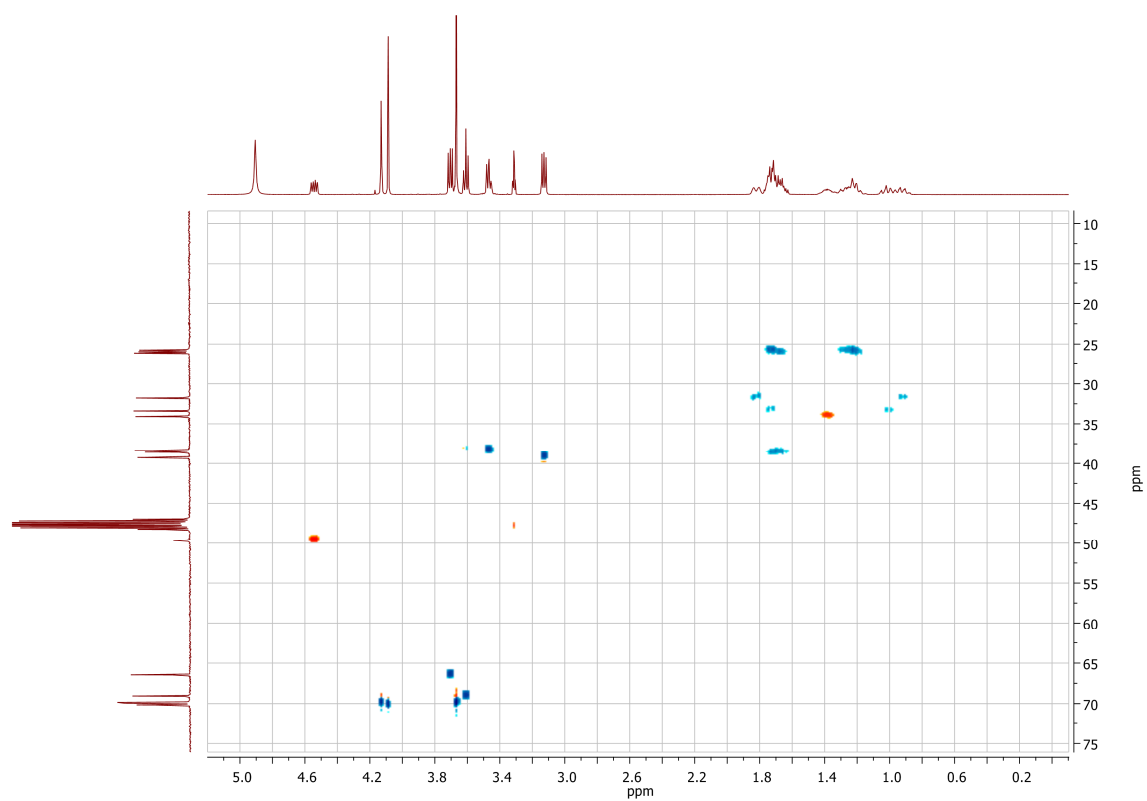
<sup>13</sup>C-BB (100.6 MHz, MeOD):

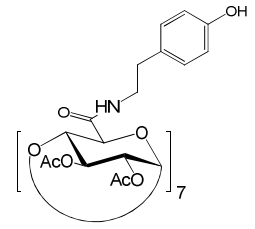


$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, MeOD):



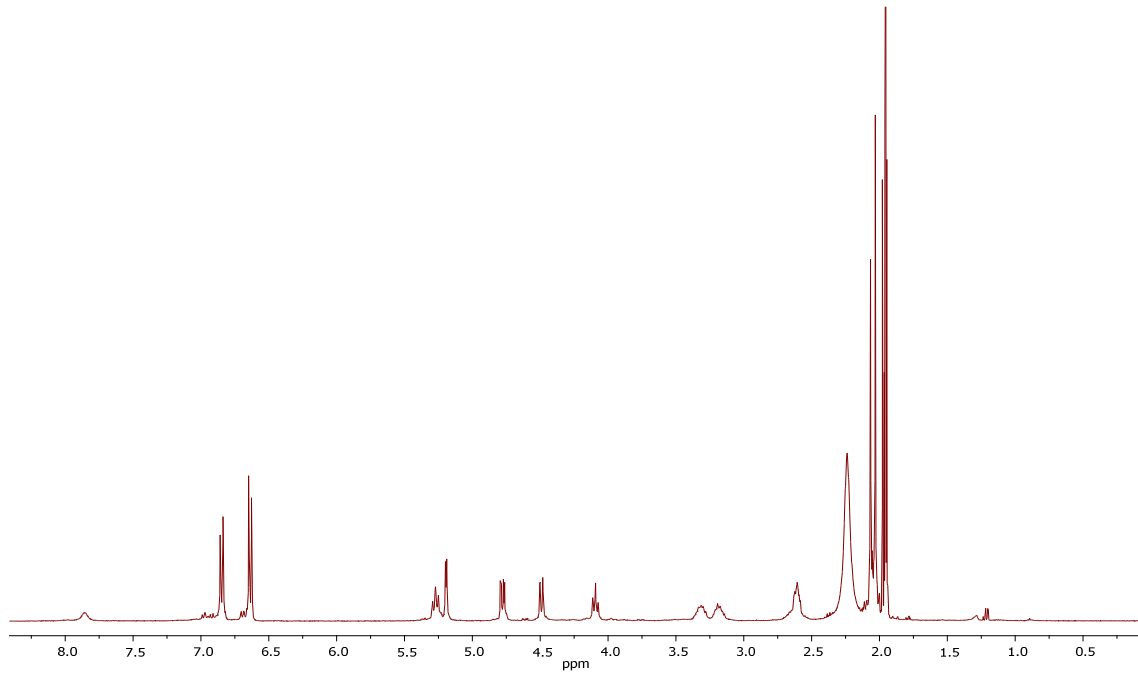
HSQC (100.6 MHz, MeOD):



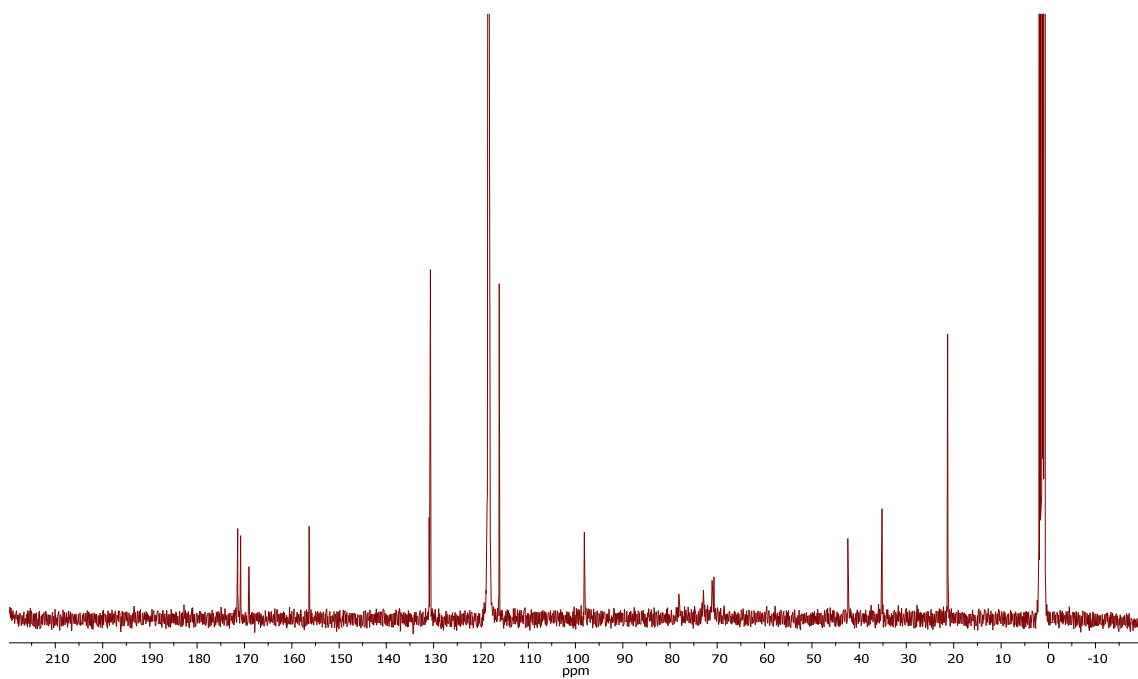


111

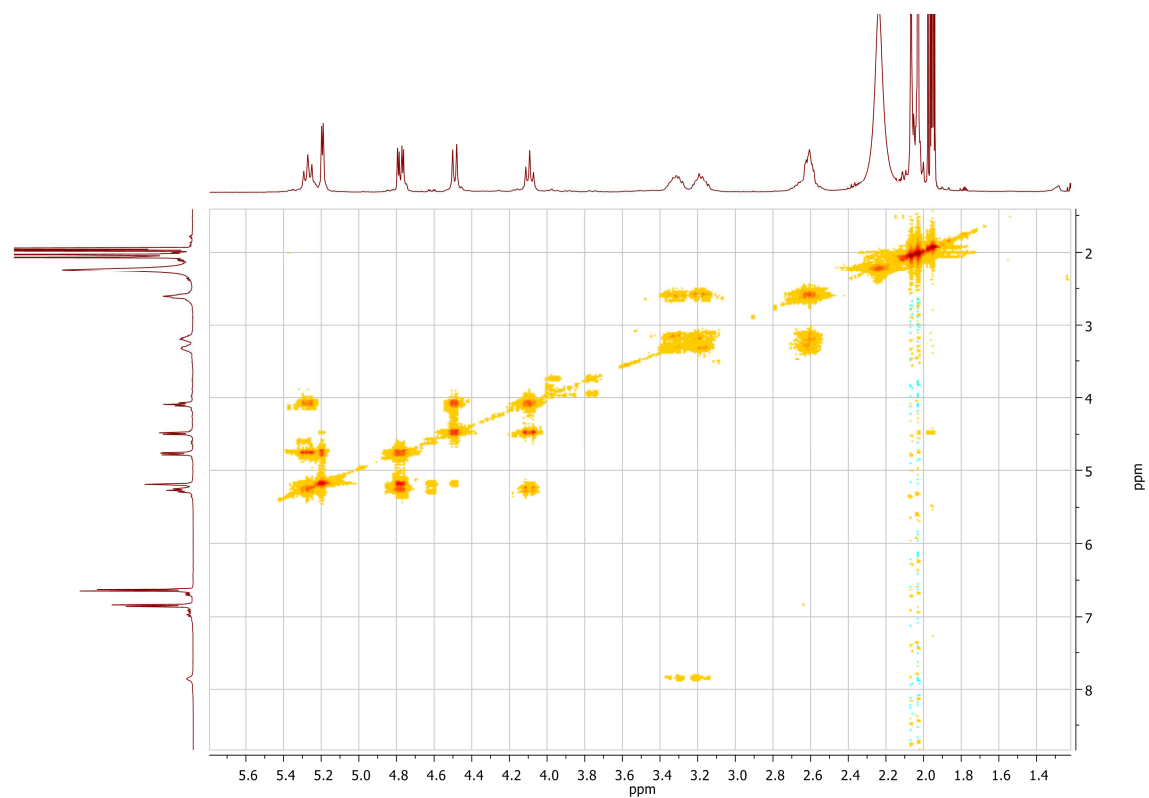
$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{ACN-d}_3$ ):



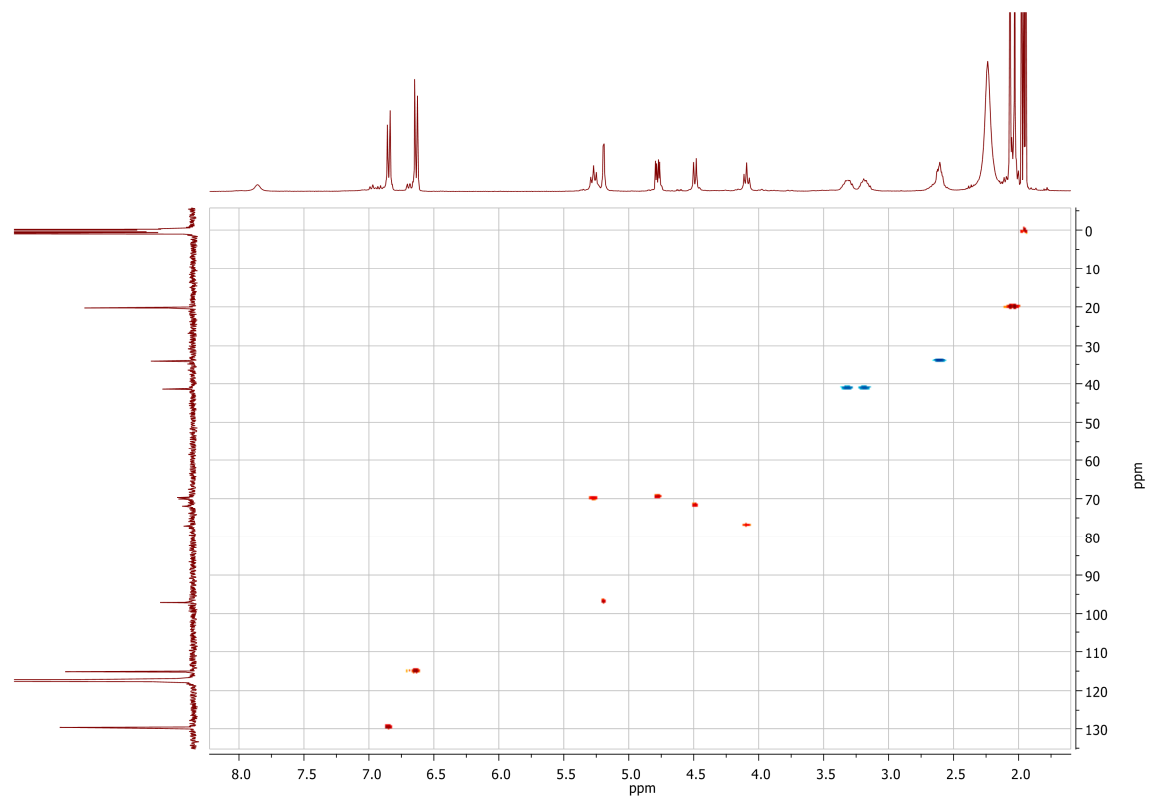
$^{13}\text{C}$ -BB (100.6 MHz,  $\text{ACN-d}_3$ ):

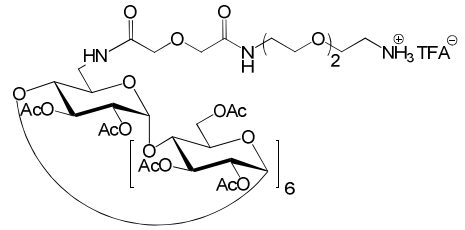


$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, ACN- $\text{d}_3$ ):

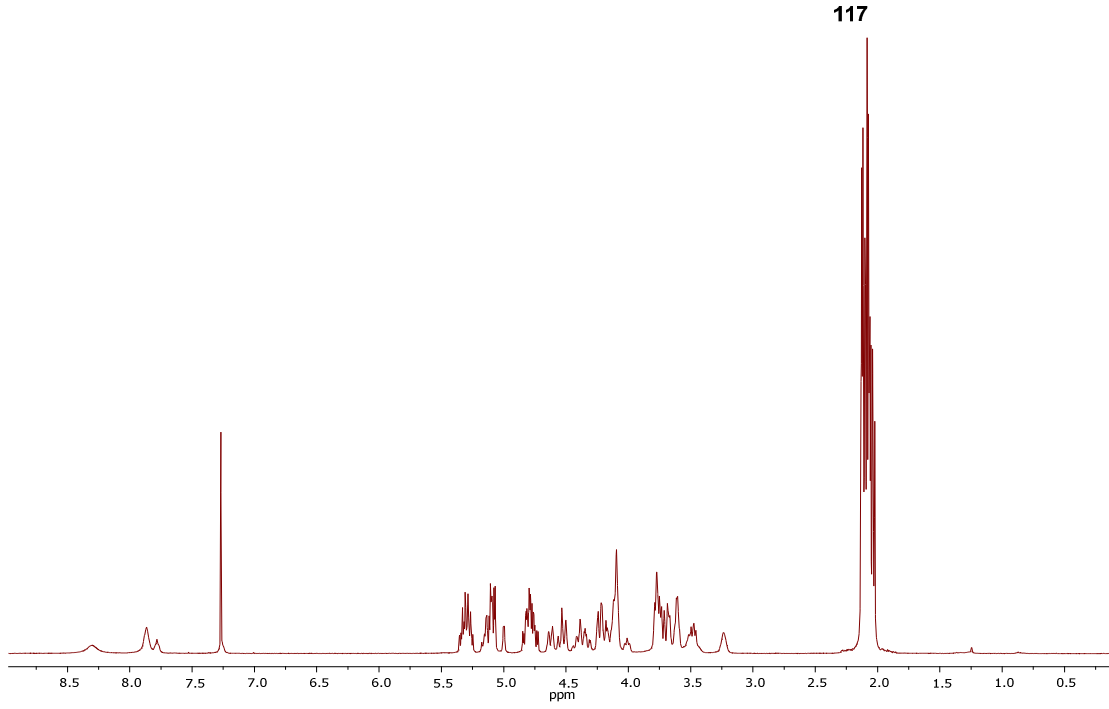


HSQC (100.6 MHz, ACN- $\text{d}_3$ ):

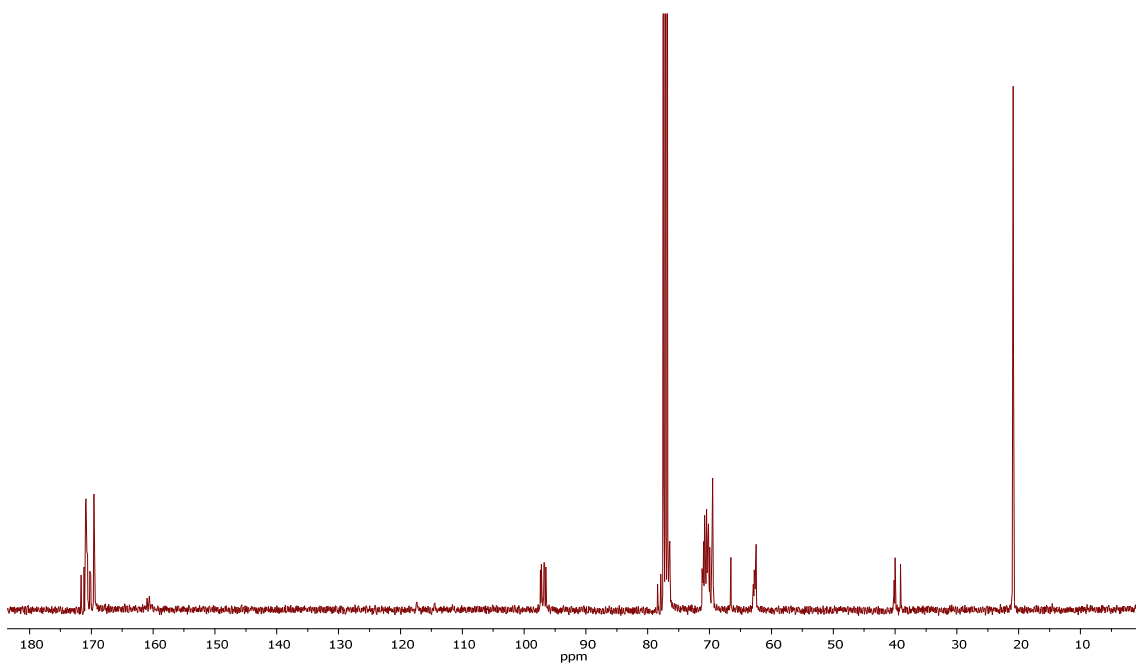




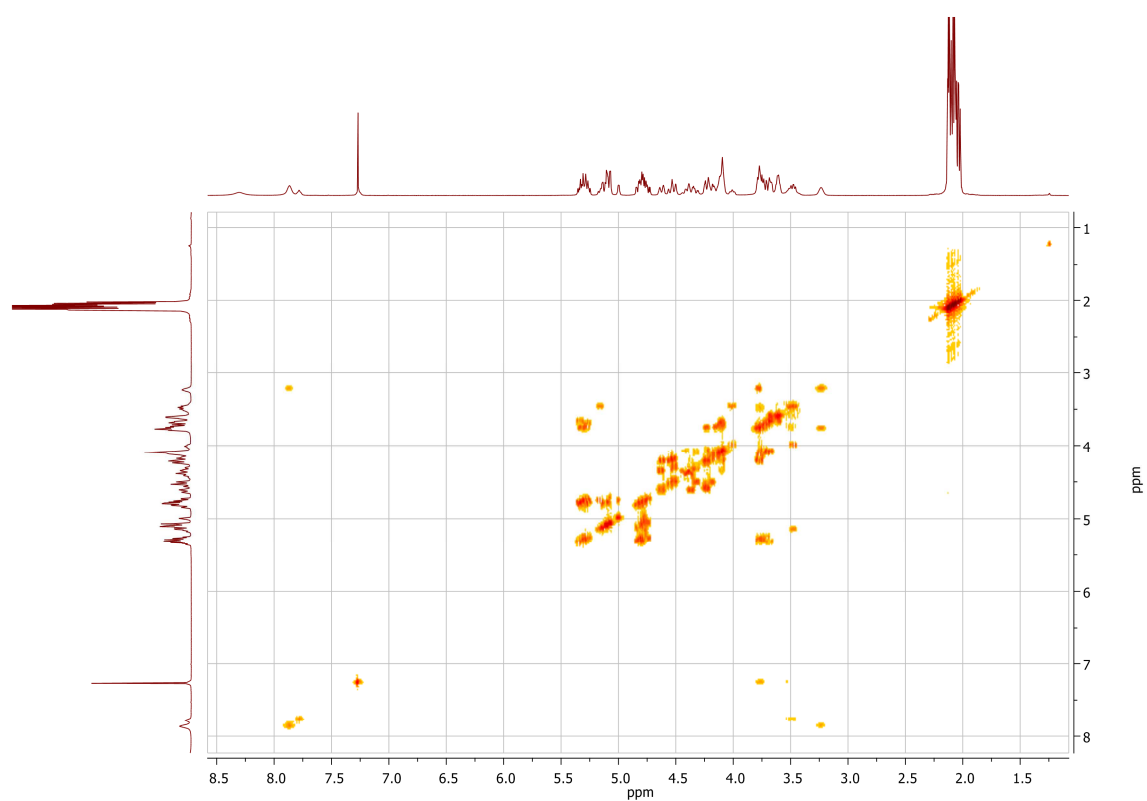
$^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):



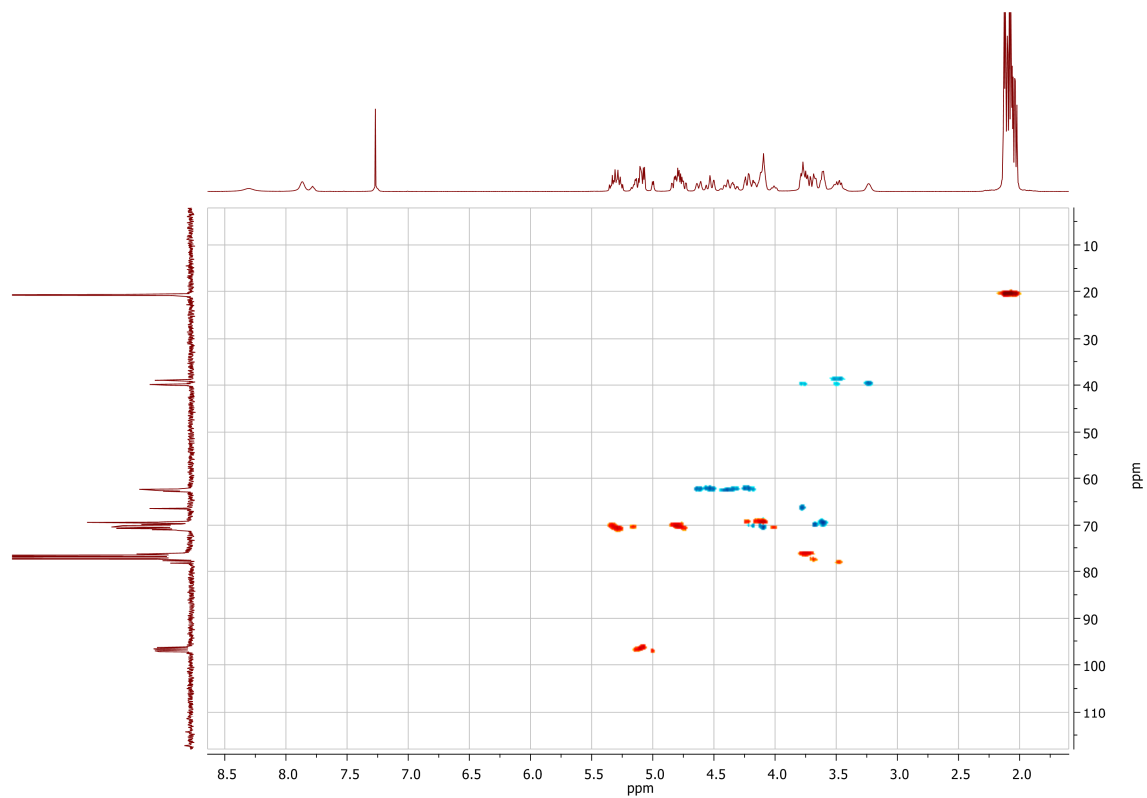
$^{13}\text{C}$ -BB (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):



$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

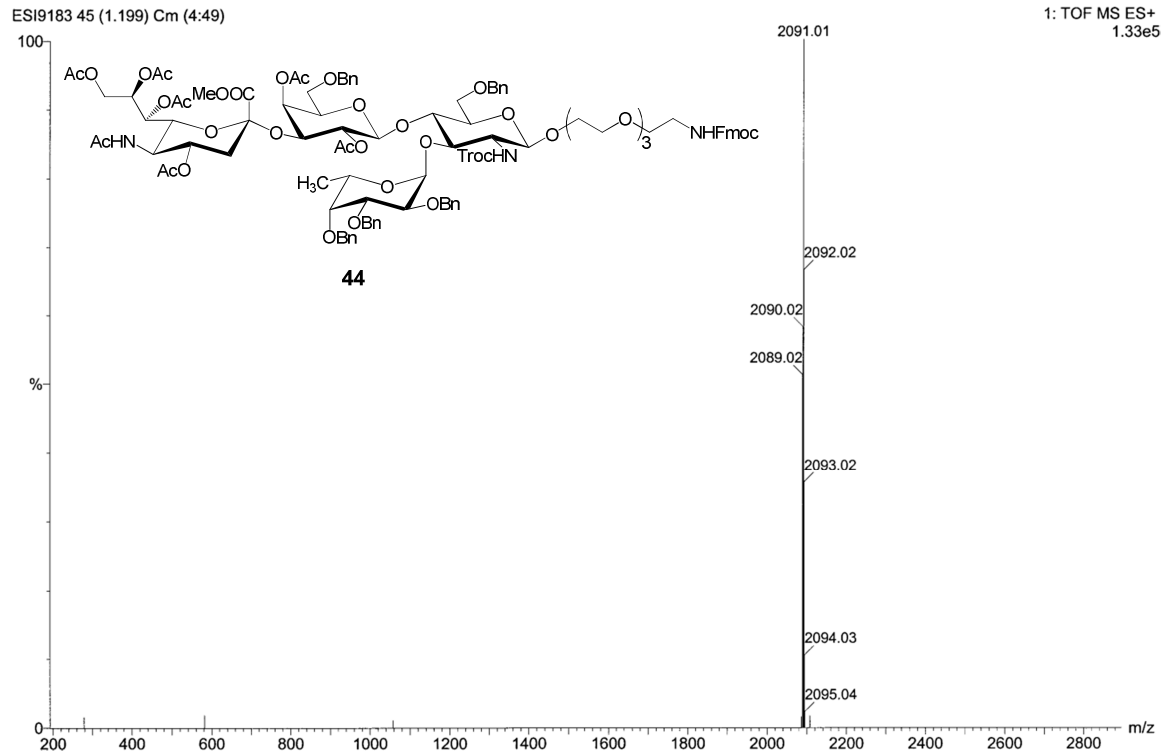
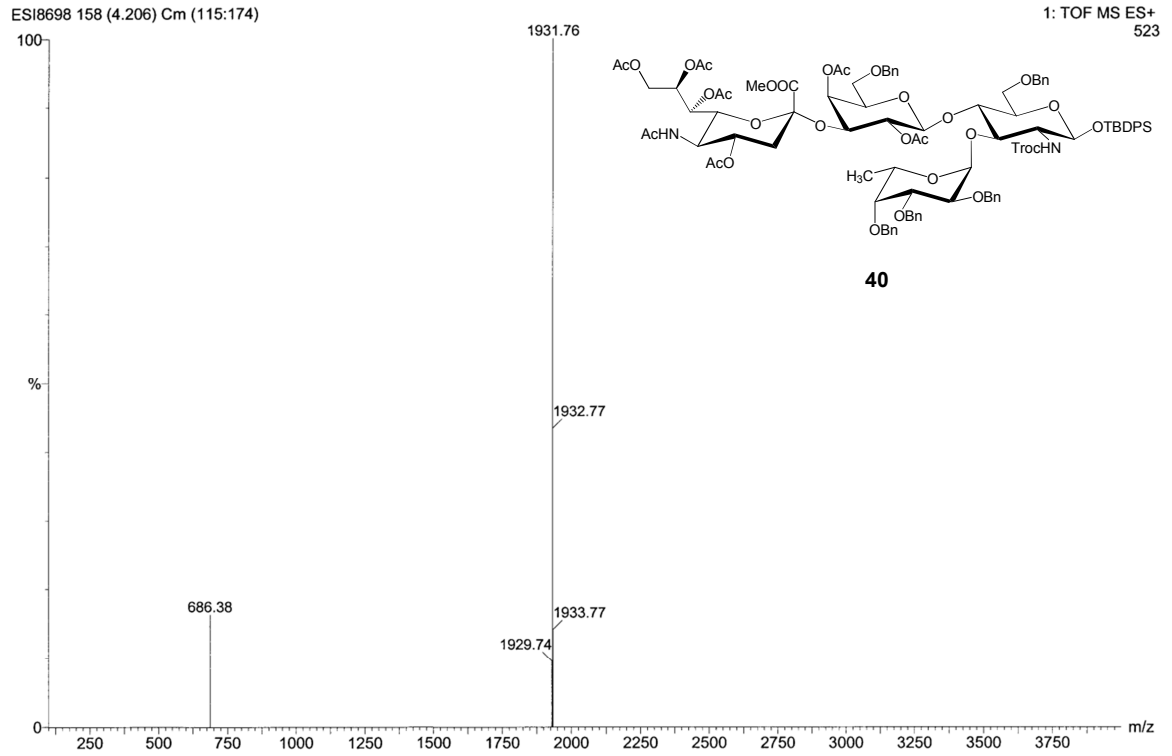


HSQC (100.6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

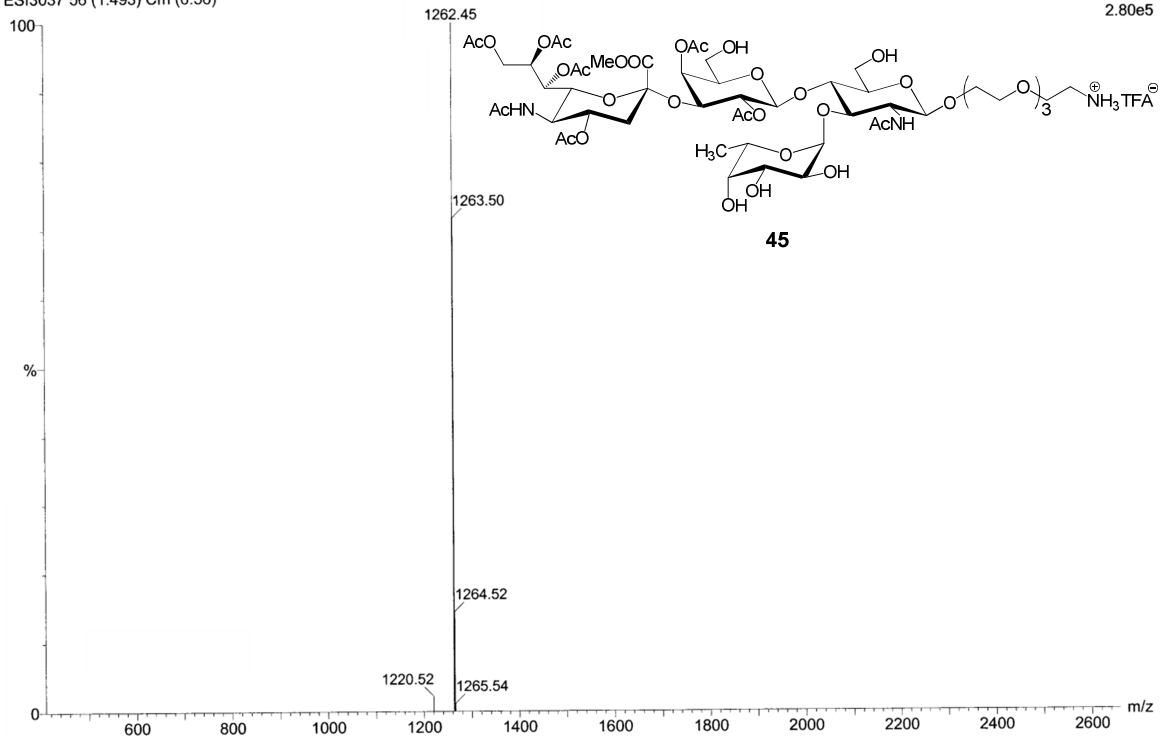




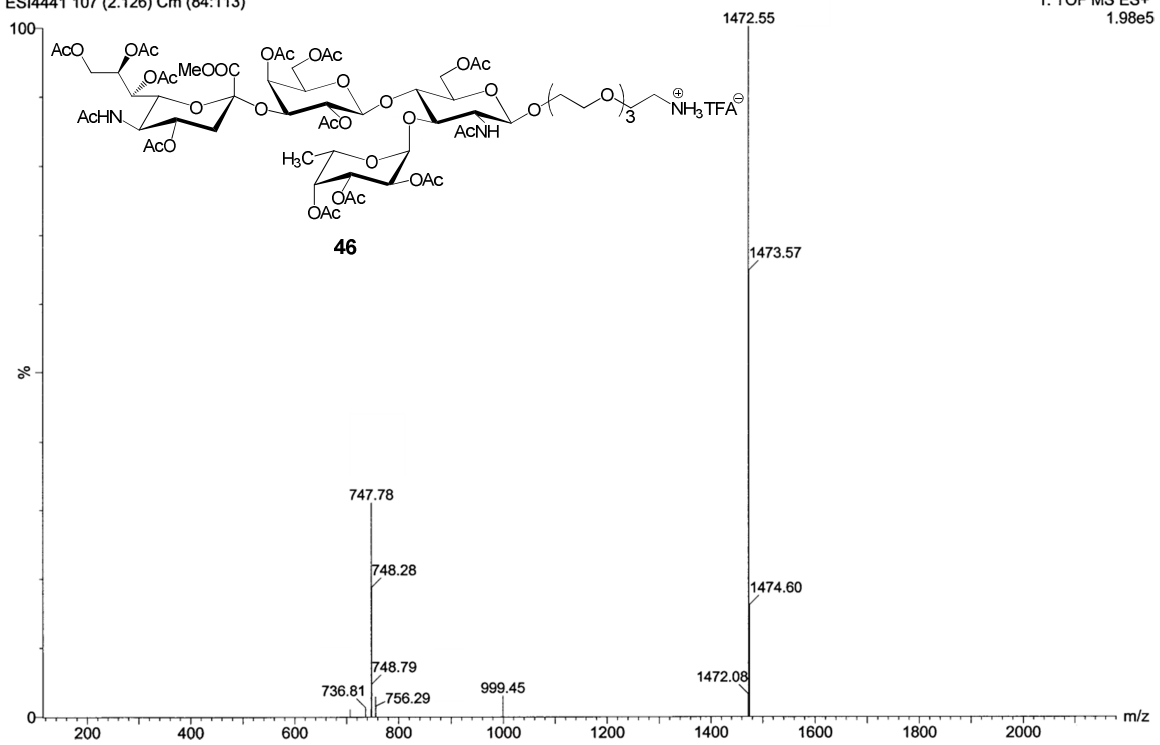
## 7.2 ESI-Massenspektren



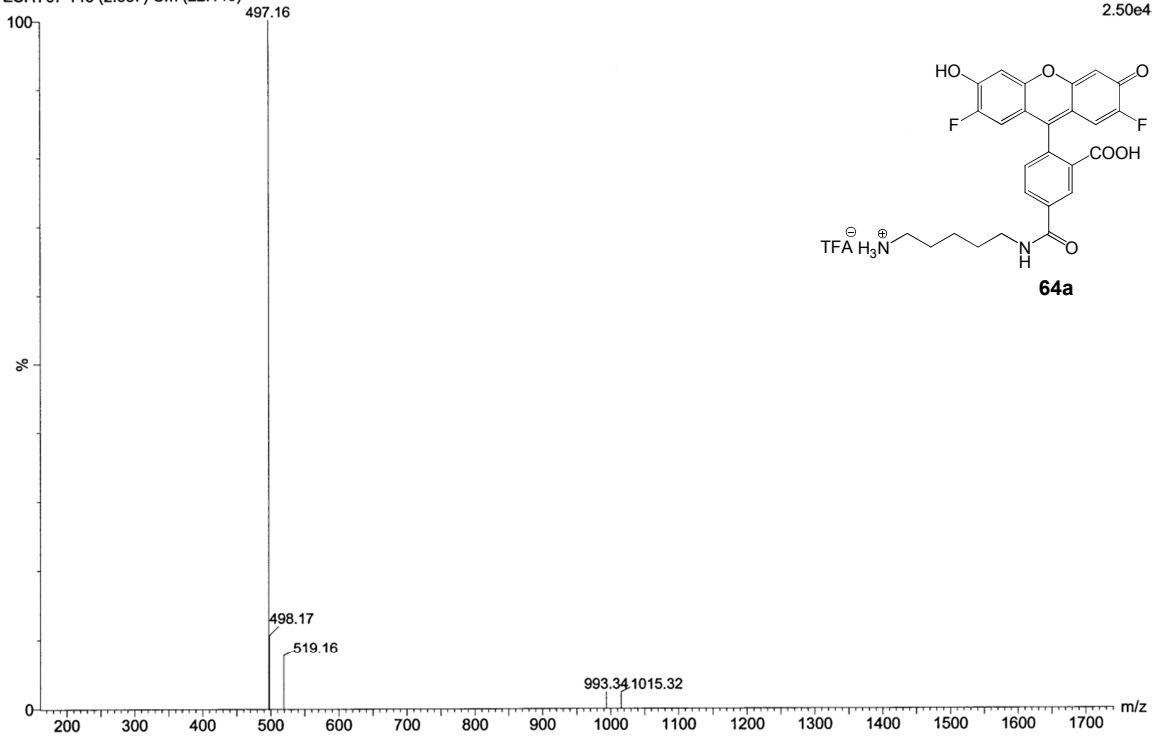
ESI3037 56 (1.493) Cm (6:56)

1: TOF MS ES+  
2.80e5

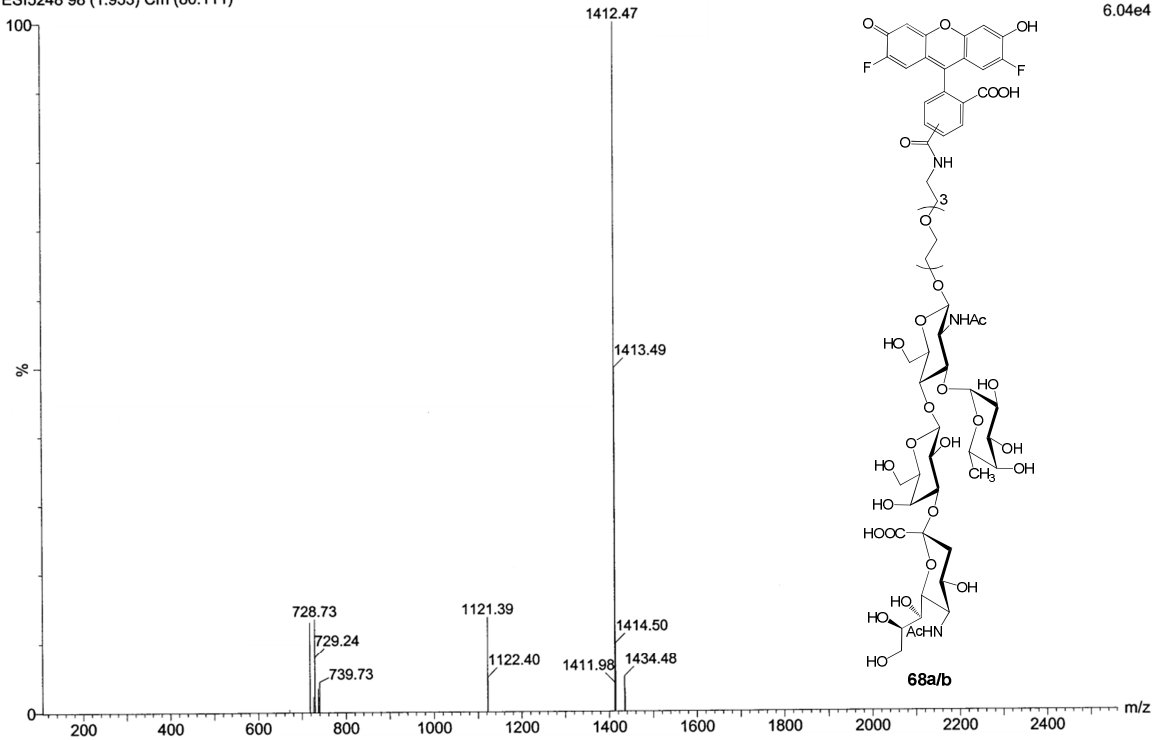
ESI4441 107 (2.126) Cm (84:113)

1: TOF MS ES+  
1.98e5

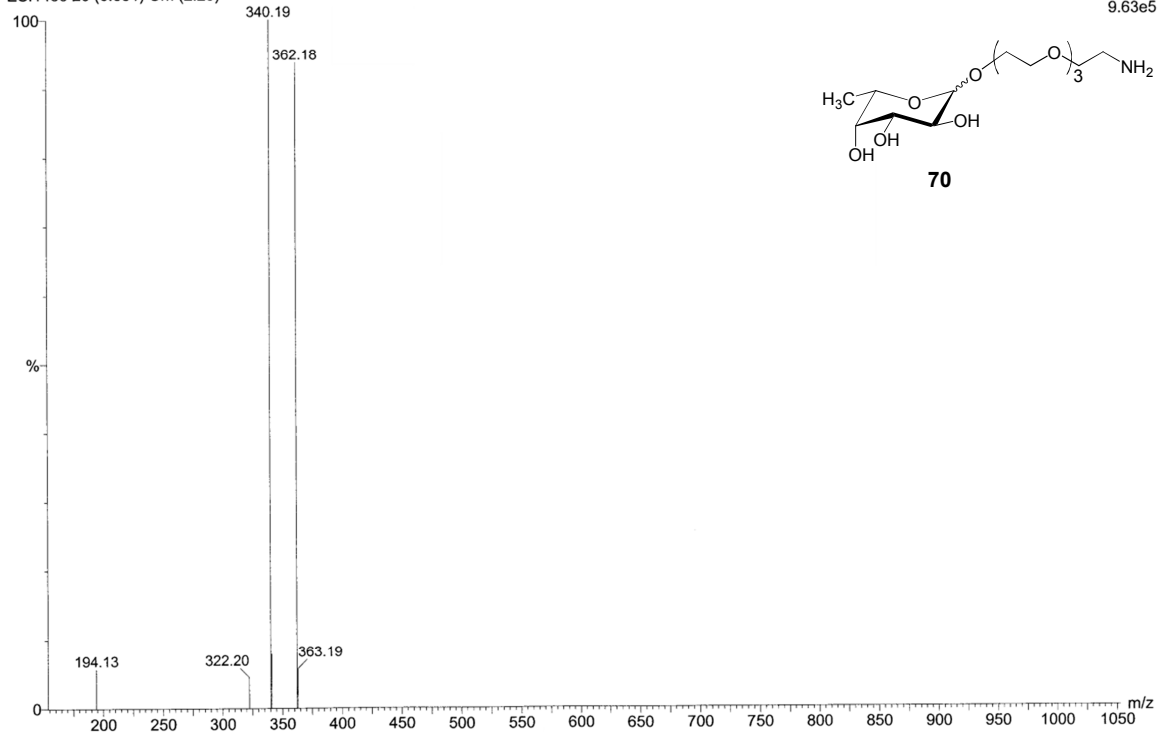
ESI4707 145 (2.887) Cm (22:146)



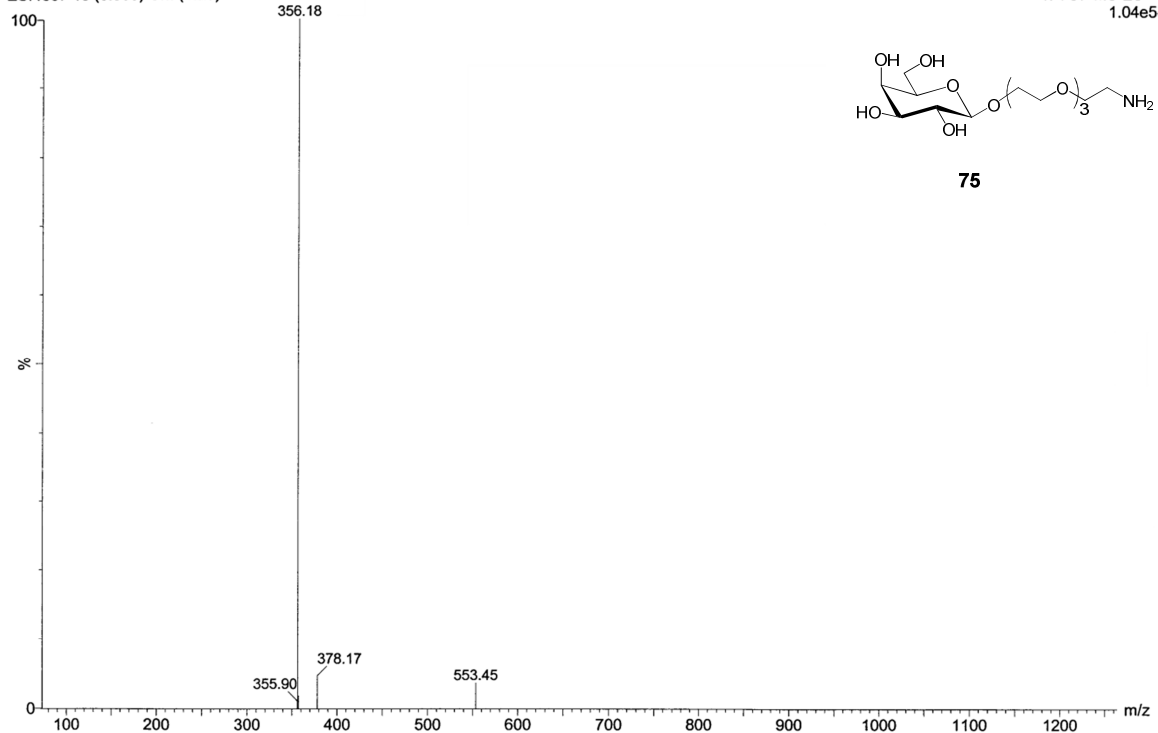
ESI5248 98 (1.953) Cm (80:111)



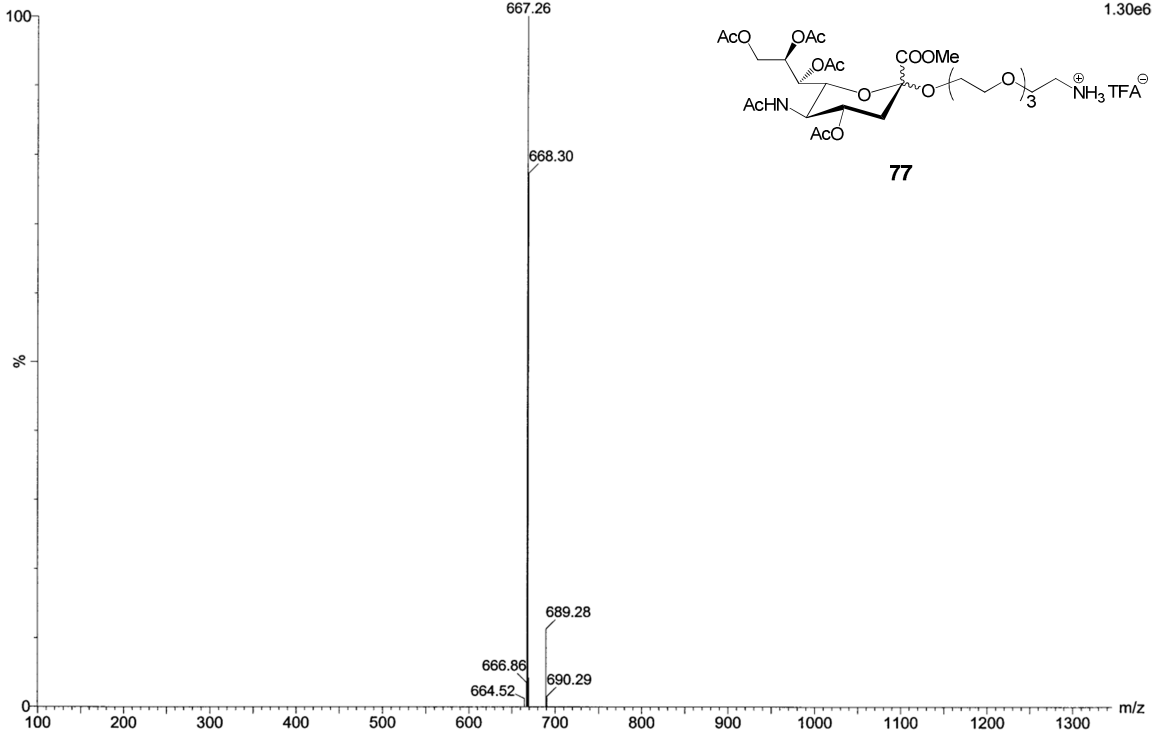
ESI1435 20 (0.531) Cm (2:29)



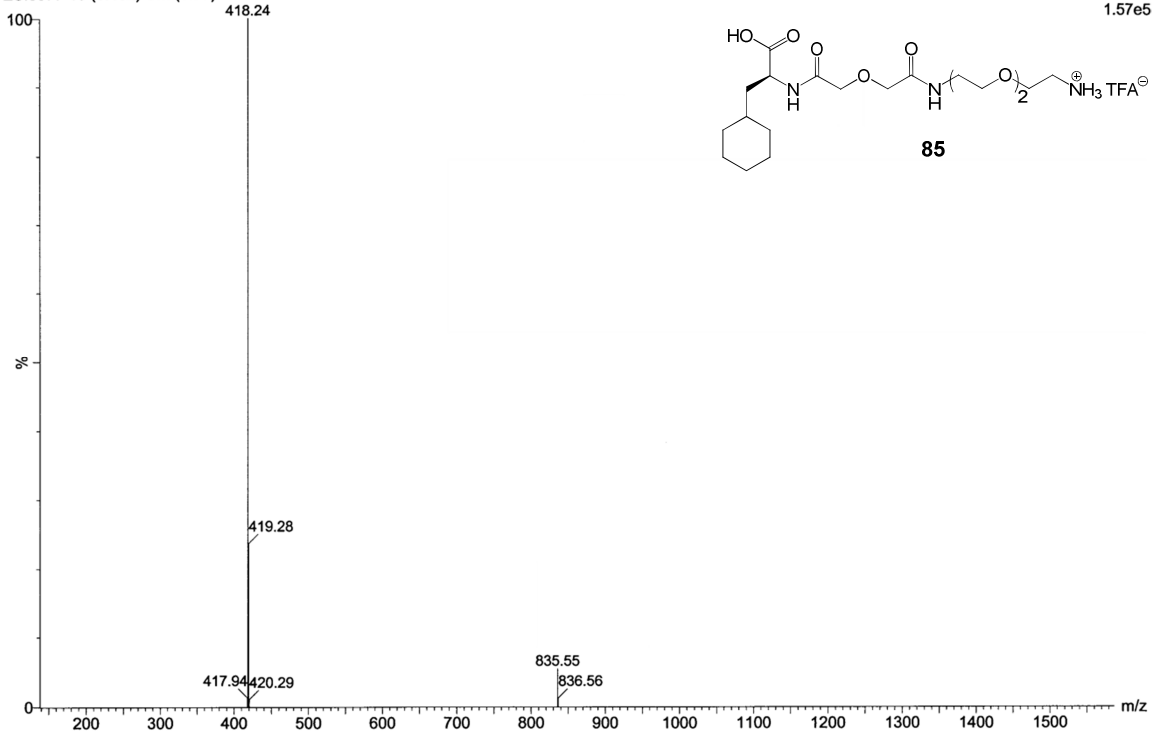
ESI4837 15 (0.309) Cm (4:20)



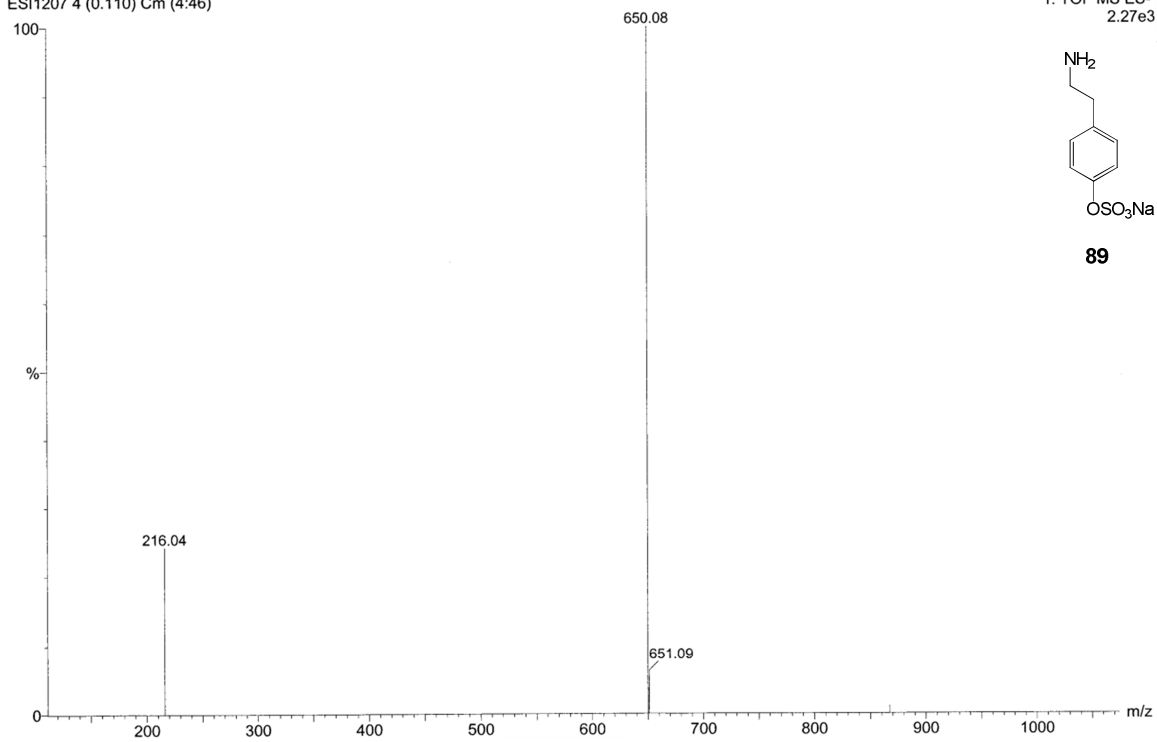
ESI5521 3 (0.065) Cm (2:38)



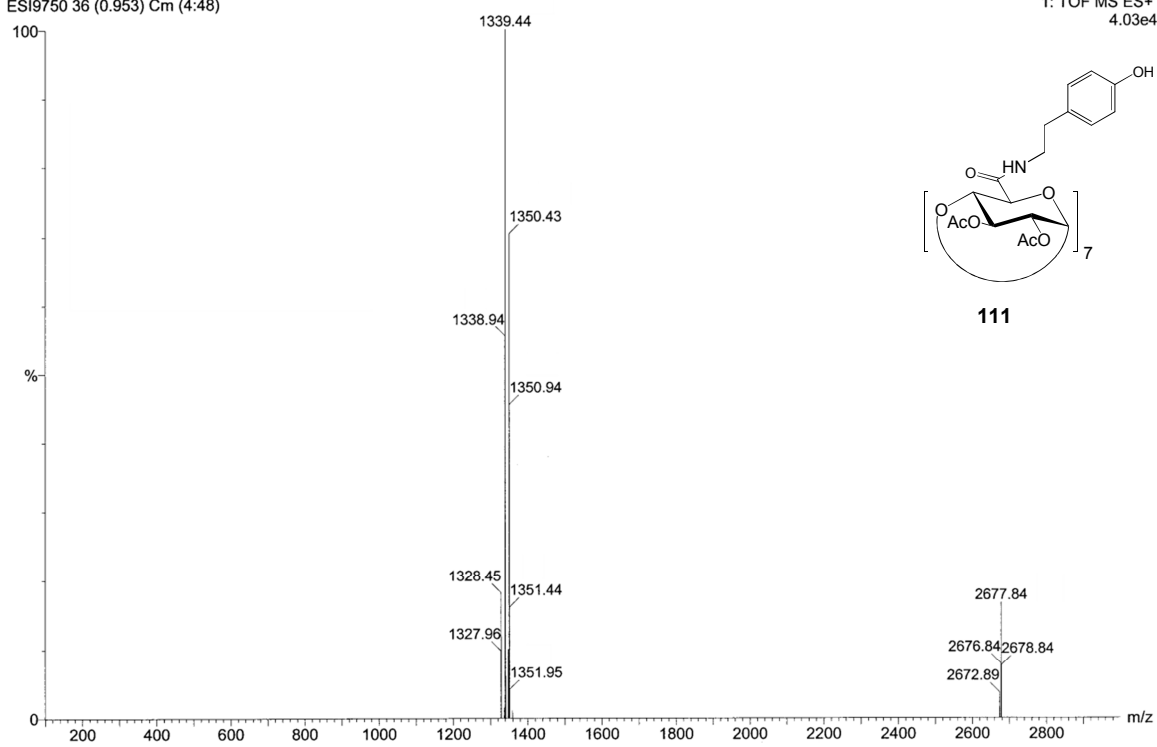
ESI3977 10 (0.192) Cm (5:77)



ESI1207 4 (0.110) Cm (4:46)



ESI9750 36 (0.953) Cm (4:48)



ESI5966 15 (0.284) Cm (15:60)

1: TOF MS ES+  
4.90e5