

**Synthese von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Glycopeptiden  
und -Mimetika als  
Zelladhäsionsinhibitoren für E-Selektin**

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

Christian Filser  
geboren in Freiburg

Mainz, September 2005

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b> .....	1
1.1 Zelladhäsion – Die interzelluläre Kommunikation .....	1
1.2 Name und Struktur der Selektine .....	3
1.3 Liganden der Selektine.....	4
1.3.1 P-Selektin und seine Liganden.....	5
1.3.2 E-Selektin und seine Liganden .....	6
1.3.3 L-Selektin und seine Liganden .....	7
1.4 Einsatzmöglichkeiten antiadhäsiver Therapien.....	7
1.5 Pharmakophore Gruppen und Mimetika von Sialyl-Lewis <sup>x</sup> .....	8
1.6 Literaturbekannte Sialyl-Lewis <sup>x</sup> -Synthesen.....	12
1.6.1 Die konvergente Synthesestrategie .....	13
1.6.2 Die linearen Synthesestrategien .....	13
<b>2 Zielsetzung</b> .....	18
<b>3 Allgemeiner Teil</b> .....	20
3.1 Die Herstellung der Sialyl-Lewis <sup>x</sup> -Mimetika.....	20
3.1.1 Der Glucosamin-Baustein .....	21
3.1.2 Der Galactose-Baustein.....	24
3.1.3 Der Neuraminsäure-Baustein .....	25
3.1.4 Der Cyclohexylmilchsäure-Baustein .....	26
3.1.5 Der Fucose-Baustein .....	28
3.1.6 Der Arabinose-Baustein .....	28
3.1.7 Der L-Galactose-Baustein .....	30
3.1.8 Der Disaccharid-Baustein .....	32
3.1.9 Die Trisaccharid-Bausteine.....	36
3.1.10 Die Synthesen der Tetrasaccharide – die Sialylierung.....	37
3.1.11 Die Synthesen der Tetrasaccharid-Mimetika.....	41
3.2 Die Reduktionen der Glycosylazide zu den Glycosylaminen.....	43
3.3 Die Glycosylaminosäuren als Festphasen-Bausteine.....	45
3.4 Synthesestrategien bei der Glycopeptid-Festphasensynthese .....	54
3.5 Das Protokoll der automatisierten Festphasensynthese .....	56
3.6 Die Synthesen von Glycopeptiden mit einer Partialsequenz des E-Selektin-Liganden-1 .....	57

<b>4 Zusammenfassung</b> .....	64
<b>5 Experimenteller Teil</b> .....	69
5.1 Allgemeines und Messgeräte.....	69
5.2 Die Synthesen von Sialyl-Lewis <sup>x</sup> und Sialyl-Lewis <sup>x</sup> -Mimetika .....	74
5.2.1 Die Synthese des Glucosamin-Bausteins .....	74
5.2.2 Die Synthese des Galactose-Bausteins.....	79
5.2.3 Die Synthese des Neuraminsäure-Bausteins .....	83
5.2.4 Die Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins .....	86
5.2.5 Die Synthese des Fucose-Bausteins .....	88
5.2.6 Die Synthese des Arabinose-Bausteins .....	92
5.2.7 Die Synthese des L-Galactose-Bausteins .....	95
5.2.8 Die Synthesen der Disaccharide.....	100
5.2.9 Die Synthesen der Trisaccharide.....	104
5.2.10 Die Synthesen der Tetrasaccharide und Tetrasaccharid-Mimetika.....	110
5.3 Die Synthesen der Glycosylaminosäuren.....	124
5.4 Die Synthesen der Glycopeptide .....	156
<b>6 Literaturverzeichnis</b> .....	176
<b>7 Spektrenanhang</b> .....	182

# Abkürzungsverzeichnis

$\alpha$	Spezifischer Drehwert
Abb.	Abbildung
absol.	absolutiert
Ac	Acetyl
AcOH	Essigsäure
Ac <sub>2</sub> O	Essigsäureanhydrid
All	Allyl
Ara	D-Arabinose
Arg	L-Arginin
aromat.	aromatisch
Asn	L-Asparagin
Asp	L-Asparaginsäure
äq	äquatorial
Äquiv.	Äquivalent(e)
ax	axial
BB	Breitband (entkoppeltes <sup>13</sup> C-Spektrum)
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
Bu	Butyl
<sup>n</sup> Bu	<i>n</i> -Butyl
<sup>t</sup> Bu	<i>tert</i> -Butyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Bz	Benzoyl
Bzn	Benzyliden
<i>c</i>	Konzentration
CFR	Cysteine-rich FGF Receptor
COD	Cyclooctadien
COSY	Correlation Spectroscopy
CRD	Carbohydrate Recognition Domain
$\delta$	Chemische Verschiebung
d	Dublett, Tag(e)
D	L-Asparaginsäure
Da	Dalton
d <sub>b</sub>	breites Dublett
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCC	<i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
dd	Dublett vom Dublett
ddd	Dublett vom Dublett vom Dublett
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
DIPEA	<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMTST	Dimethyl(methylthio)sulfoniumtrifluormethansulfonat
dt	Dublett vom Triplett
DTBP	2,6-Di- <i>tert</i> -butylpyridin
dq	Dublett vom Quartett
E	L-Glutaminsäure
EDC	<i>N</i> -Ethyl- <i>N'</i> -(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid, <i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -Ethyl-carbodiimid-hydrochlorid
EEDQ	1-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin
EGF	Epidermal Growth Factor
ELAM-1	Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule-1
engl.	englisch
ESI	Electrospray Ionisation
ESL-1	E-Selektin-Ligand-1
Et	Ethyl

et al.	et alii
Et <sub>2</sub> O	Diethylether
EtOAc	Ethylacetat, Essigsäureethylester
FGF	Fibroblast Growth Factor
Fmoc	Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl
FmocOSu	<i>N</i> -(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid
Fuc	L-Fucose
G	L-Glycin
Gal	D-Galactose
GASPE	Gated Spin Echo
gef.	gefunden
gem	geminal
ges.	gesättigt
GMP-140	Granule Membrane Protein-140
Glc	D-Glucose
GlcNac	<i>N</i> -Acetyl-D-glucosamin
Glu	L-Glutaminsäure
Gly	L-Glycin
GlyCAM-1	Glycosylation-dependent Cell Adhesion Molecule-1
h	Stunde(n)
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumhexafluorophosphat
HBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumhexafluorophosphat
HOAt	7-Aza-1-hydroxybenzotriazol
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HR-ESI	High Resolution Electrospray Ionisation
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1
i. Hochvak.	im Hochvakuum
IIDQ	1-Isobutyloxycarbonyl-2-isobutoxy-1,2-dihydrochinolin
i. Vak.	im Vakuum
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
<i>J</i>	Kopplungskonstante
kat.	katalytisch
konz.	konzentriert
L	L-Leucin
LAD-II	Leukozyten-Adhäsions-Defizienz-II
LECAM-1	Lectin Adhesion Molecule-1
Leu	L-Leucin
Le <sup>x</sup>	Lewis <sup>x</sup>
LFA-1	Leukozytenfunktionsantigen-1
Lit.	Literatur(wert)
L-Gal	L-Galactose
m	Multipllett
<i>m</i>	meta
M	Molar
m <sub>c</sub>	zentriertes Multipllett
min	Minuten
MadCAM-1	Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1
Me	Methyl
MeOH	Methanol
MS	Molekularsieb
MSB	Methylsulfenylbromid
N	L-Asparagin
Neu	D-Neuraminsäure
Neu5Ac	<i>N</i> -Acetyl-D-neuraminsäure
NIS	<i>N</i> -Iodsuccinimid
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidin-2-on, 1-Methyl-2-pyrrolidon
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy

<i>o</i>	ortho
OAc	Acetat
OTf	Trifluormethansulfonat, Triflat
<i>p</i>	para
PADGEM	Platelet Activation-dependent Granule External Membrane
PE	Petrolether
Ph	Phenyl
ppm	Parts per million
PSGL-1	P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1
q	Quartett
quant.	quantitativ
R	Rest
Raumtemp.	Raumtemperatur
$R_f$	Retentionsfaktor
ROESY	Rotating frame Overhauser Enhancement Spectroscopy
RP-HPLC	Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography
$R_t$	Retentionszeit
s	Singulett
S	L-Serin
$s_b$	breites Singulett
Schmp.	Schmelzpunkt
SCR	Short Consensus Repeat
Ser	L-Serin
sgp200	Sulphated glycoprotein 200
sLe <sup>a</sup>	Sialyl-Lewis <sup>a</sup>
sLe <sup>x</sup>	Sialyl-Lewis <sup>x</sup>
t	Triplett
T	L-Threonin
TBDPS	<i>tert</i> -Butyl-diphenylsilyl
TBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-yl)- <i>N,N,N,N'</i> -tetramethyluroniumtetrafluoroborat
tdd	Triplett vom Dublett vom Dublett
<i>tert</i>	tertiär
TES	Triethylsilan
TFA	Trifluoressigsäure
Tf <sub>2</sub> O	Trifluormethansulfonsäureanhydrid
TfOH	Trifluormethansulfonsäure
THF	Tetrahydrofuran
Thr	L-Threonin
TIS	Triisopropylsilan
TMSOTf	Trimethylsilyltrifluormethansulfonat
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
TOCSY	Total Correlation Spectroscopy
4-TsOH	4-Toluolsulfonsäure
Tyr	L-Tyrosin
u.a.	und andere
UV	Ultraviolett
vgl.	vergleiche
vic.	vicinal
Zers.	Zersetzung

# 1 Einleitung

## 1.1 Zelladhäsion - Die interzelluläre Kommunikation

Die interzelluläre Kommunikation findet zu einem großen Teil zwischen membranständigen Adhäsionsmolekülen und ebenfalls membranständigen Liganden, die auf der Oberfläche von Nachbarzellen präsentiert werden, statt. Zu diesen Adhäsionsmolekülen zählen die Cadherine,<sup>1</sup> die Integrine,<sup>2</sup> die Mitglieder der Immunglobulin-Superfamilie<sup>3</sup> sowie die Selektine<sup>4,5,6</sup> (E-, P- und L-Selektin).

Zelladhäsionsprozesse kontrollieren zahlreiche biologische Vorgänge wie z.B. die Embryogenese, die Wundheilung, Entzündungsprozesse und die Immunantwort.<sup>7</sup>

So wird die Immunantwort auf körperfremde Stoffe mit Hilfe der weißen Blutkörperchen (Leukozyten) bewirkt. Zu diesen zählen die Lymphozyten, Monozyten sowie neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten. Alle diese Zellen zirkulieren im Blut, wobei sie ihre Hauptaufgabe aber außerhalb des Blutgefäßsystems erfüllen. Sie müssen dafür die Gefäßwand passieren. Der Gefäßwand-Durchtritt wird dabei eingeleitet durch eine rezeptorvermittelte Adhäsion von Leukozyten an die Wände feiner Blutgefäße, den Hochendothel-Venolen. Nach dieser vorübergehenden Adhäsion dringen die Leukozyten durch das Endothel<sup>8</sup> in das umliegende Gewebe oder in sekundäre lymphatische Organe ein, wo sie ihre immunologische Wirkung entfalten.<sup>9</sup>

Eine solche rezeptorvermittelte Wechselwirkung zwischen Leukozyten und Endothelzellen findet auch im Rahmen von Entzündungsprozessen statt. Dabei werden vom Entzündungsherd zahlreiche, spezifische Signalmoleküle, wie z.B. Interleukin-1, der Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Histamin, oder Peroxidradikale ausgeschüttet.<sup>10</sup> Diese stimulieren die Endothelzellen einer in der Nähe des Entzündungsherds befindlichen Ader zur Präsentation von Selektinen (E- und P-Selektin). P-Selektin wird in intrazellulären Speichern der Endothelzellen aufbewahrt und kann innerhalb von Minuten nach Eintreffen des Signals mobilisiert und auf die Zelloberfläche transportiert werden. Stunden später

---

<sup>1</sup> K. Vleminckx, R. Kemler, *BioEssays* **1999**, *21*, 211-220.

<sup>2</sup> S. J. Shattil, M. H. Ginsberg, *J. Clin. Invest.* **1997**, *100*, 1-5.

<sup>3</sup> G. M. Edelman, K. L. Crossin, *Annu. Rev. Biochem.* **1991**, *60*, 155-190.

<sup>4</sup> E. E. Simanek, G. J. McGarvey, J. A. Jablonowski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833-862.

<sup>5</sup> F. M. Unger, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2001**, *57*, 207-435.

<sup>6</sup> C. Ehrhardt, C. Kneuer, U. Bakowsky, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, *56*, 527-549.

<sup>7</sup> R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1440-1456.

<sup>8</sup> Endothel: dünner einschichtiger Belag aus platten Zellen auf der Innenseite der Blut- und Lymphgefäße.

<sup>9</sup> N. Sharon, H. Lis, *Spektrum der Wissenschaft* **1993**(3), 66-74.

<sup>10</sup> M. L. Phillips, E. Nudelmann, F. C. A. Gaeta, M. Perez, A. K. Singhal, S.-I. Hakomori, J. C. Paulson, *Science* **1990**, *250*, 1130-1132.

werden große Mengen von E-Selektin auf den Endothellzellen exprimiert.<sup>10,11</sup> Die im Blutstrom zirkulierenden Leukozyten präsentieren auf ihrer Oberfläche kohlenhydrathaltige Selektinliganden, wie z.B. PSGL-1 (P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1) oder ESL-1 (E-Selektin-Ligand-1), die mit den Selektinen wechselwirken. Dadurch werden die Leukozyten im Blutstrom abgebremst und beginnen entlang des Endothels zu „rollen“ (Abb. 1.1).<sup>12</sup> Die feste Adhäsion der Leukozyten an die Endothelzellen wird schließlich durch starke Protein-Protein-Wechselwirkungen der Adhäsionsmoleküle der Integrin-Familie (z.B. LFA-1, Leukozytenfunktionsantigen-1) mit ihren Liganden (z.B. ICAM-1, Intercellular Adhesion Molecule-1) bewirkt. Daraufhin kommt es zur Abflachung der Leukozyten und schließlich zur Migration durch das Endothel in das umliegende Gewebe. Dieser Prozess wird als Diapedese bezeichnet. Anschließend wandern die Leukozyten entlang eines Chemokin-Gradienten (z.B. Interleukin-8) in Richtung des Entzündungsherdes, wo sie ihre immunologische Wirkung entfalten.

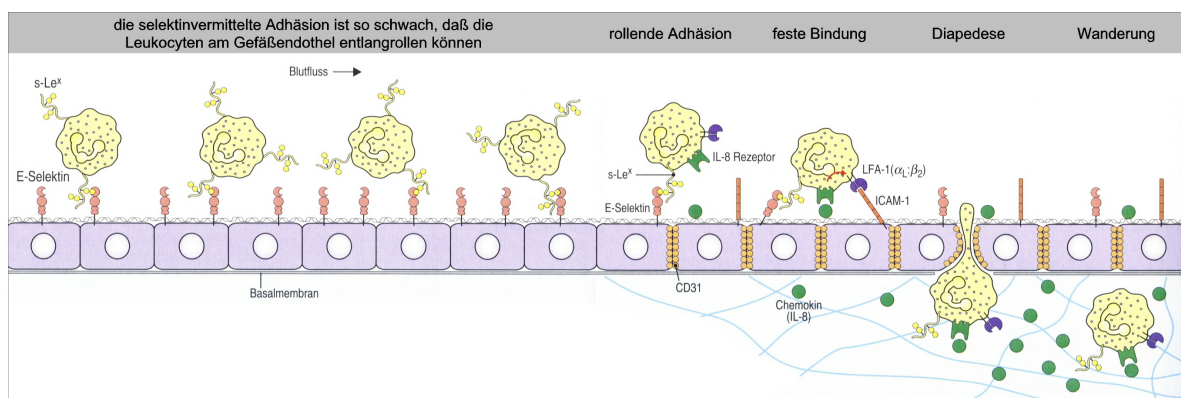


Abb. 1.1: Die Reaktionskaskade bei Entzündungsprozessen.

Die Bedeutung der Selektine für Zelladhäsionsprozesse, insbesondere für den oben beschriebenen Vorgang des Abbremsens von Leukozyten, konnte durch Experimente mit Knock-Out-Mäusen bewiesen werden.<sup>13,14,15</sup>

<sup>11</sup> M. P. Bevilacqua, S. Stengelin, M. A. Gimbrone Jr., B. Seed, *Science* **1989**, *243*, 1160-1165.

<sup>12</sup> C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *Immunologie*, 5. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, **2002**, 78-82.

<sup>13</sup> T. N. Mayadas, R. C. Johnson, H. Rayburn, R. O. Hynes, D. D. Wagner, *Cell* **1993**, *74*, 541-554.

<sup>14</sup> M. L. Arbones, D. C. Ord, K. Ley, H. Ratech, C. Maynard-Curry, D. J. Capon, T. F. Tedder, *Immunity* **1994**, *1*, 247-260.

<sup>15</sup> M. A. Labow, C. R. Norton, J. M. Rumberger, K. M. Lombard-Gillooly, D. J. Shuster, J. Hubbard, R. Bertko, P. A. Knaack, R. W. Terry, M. L. Harbison, F. Kontgen, C. L. Stewart, K. W. McIntyre, P. C. Will, D. K. Burns, B. A. Wolitzky, *Immunity* **1994**, *1*, 709-720.

## 1.2 Name und Struktur der Selektine

Cadherine, Integrine und die Mitglieder der Immunglobulin-Superfamilie beeinflussen zahlreiche Zell-Zell-Wechselwirkungen im ganzen Körper. Dagegen ist die durch Selektine vermittelte Zelladhäsion auf die Wechselwirkung von Leukozyten mit Endothelzellen und Blutplättchen (Thrombozyten) beschränkt. Dieser selektiven Vermittlung von Zellkontakten sowie der strukturellen Ähnlichkeit zur Klasse der Lektine verdankt diese Gruppe von Adhäsionsmolekülen ihren Namen: Selektine.<sup>9,16</sup>

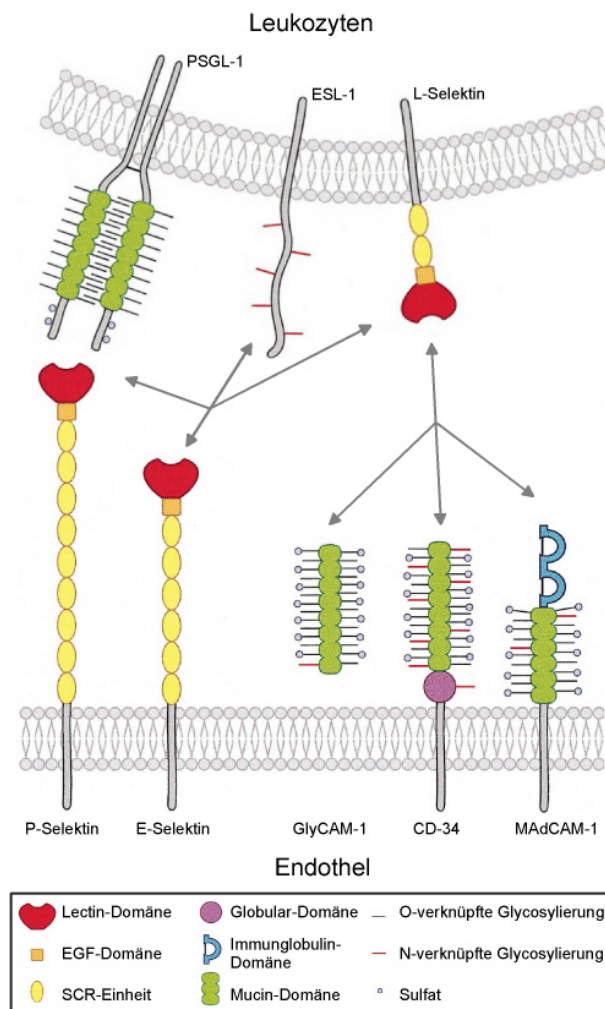


Abb. 1.2: Die Strukturen der Selektine und der Selektin-Liganden.

Es sind drei Selektine bekannt, die jeweils nach dem Zelltyp, auf dem sie erstmals entdeckt wurden, benannt sind (Abb. 1.2):

L-Selektin (ältere Bezeichnungen: CD62L, LECAM-1,<sup>16</sup> MEL-14) wurde mit Hilfe des Antikörpers MEL-14 auf Lymphozyten nachgewiesen.<sup>17</sup>

<sup>16</sup> Eine ältere Bezeichnung ist LECAM: Lectin Adhesion Molecule.

<sup>17</sup> W. M. Gallatin, I. L. Weissman, E. C. Butcher, *Nature* **1983**, 304, 30-34.

E-Selektin (ältere Bezeichnungen: CD62E, LECAM-2, ELAM-1<sup>18</sup>) konnte durch monoklonale Antikörper auf Endothelzellen identifiziert werden.<sup>19</sup>

P-Selektin (ältere Bezeichnungen: CD62P, LECAM-3, PADGEM,<sup>20</sup> GMP-140<sup>21</sup>) wurde in den Granula von Blutplättchen (engl.: platelets) entdeckt.<sup>22</sup>

Allen drei Selektinen ist eine charakteristische, extrazelluläre Region gemeinsam, die am Aminoterminus eine den calciumabhängigen Lektinen<sup>23</sup> homologe Domäne besitzt. Diese Domäne (CRD, Carbohydrate Recognition Domain) bewirkt die Wechselwirkung mit den kohlenhydrathaltigen Selektinliganden. Es folgt eine dem Epidermal Growth Factor (EGF) verwandte Domäne und eine je nach Selektintyp unterschiedliche Anzahl von kurzen Wiederholungseinheiten (SCR, Short Consensus Repet). In der Zellmembran werden die Selektine durch eine einzige Transmembran-Peptidkette verankert, an die sich am Carboxyterminus eine kurze in das Cytoplasma reichende Region anschließt.<sup>4</sup>

### 1.3 Die Liganden der Selektine

Aufgrund der großen Homologie der CRD-Domänen erkennen und binden alle drei Selektine das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (sLe<sup>x</sup>), sein Regioisomeres Sialyl-Lewis<sup>a</sup> (sLe<sup>a</sup>) sowie verwandte Strukturen (Abb. 1.3).<sup>4</sup>

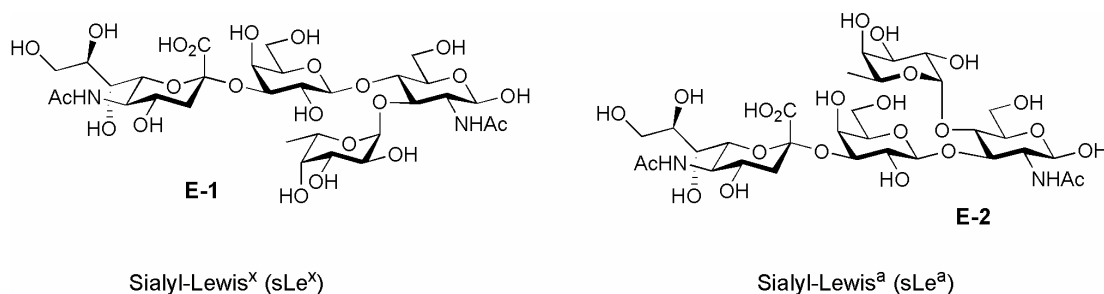


Abb. 1.3: Die Strukturen von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (sLe<sup>x</sup>) und Sialyl-Lewis<sup>a</sup> (sLe<sup>a</sup>).

Um die einzelnen Saccharid-Bausteine von sLe<sup>x</sup> leichter erkennen zu können, ist sLe<sup>x</sup> in Abb. 1.3 nicht in seiner bioaktiven Konformation dargestellt (diese wird in Abb. 1.4 gezeigt).

<sup>18</sup> ELAM-1: Endothelial Leuocyte Adhesion Molecule-1.

<sup>19</sup> M. P. Bevilacqua, J. S. Pober, D. L. Mendrick, R. S. Cotran, M. A. Gimbrone Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1987**, *84*, 9238-9242.

<sup>20</sup> PADGEM: Platelet Activation-dependent Granule External Membrane.

<sup>21</sup> GMP-140: Granule Membrane Protein-140.

<sup>22</sup> S.-C. Hsu-Lin, C. L. Berman, B. C. Furie, D. August, B. Furie, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 9121-9126.

<sup>23</sup> H. Lis, N. Sharon, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637-674.

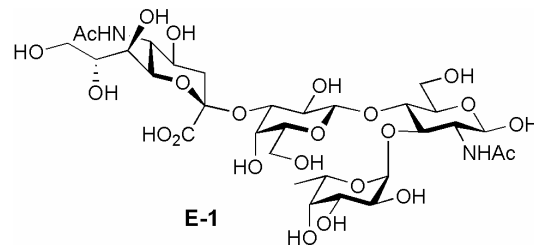


Abb. 1.4: Die bioaktive Konformation von sLe<sup>x</sup>.

Die Bedeutung dieser Sacchariderkennung für die Immunantwort konnte durch Untersuchungen an Patienten mit der Erbkrankheit Leukozyten-Adhäsions-Deffizienz-II (LAD-II) belegt werden.<sup>24,25</sup> Bei dieser Immundefizienz liegt eine Störung des Fucose-Stoffwechsels vor, so dass die oben genannten Saccharide nicht aufgebaut werden können.<sup>26</sup> Dadurch wird ein wesentlicher Schritt der Immunantwort, die Adhäsion von Leukozyten an Endothelzellen gestört, was häufig wiederkehrende, schwere Infektionen bei diesen Patienten zur Folge hat. Durch die tägliche Verabreichung von Fucose können an LAD-II erkrankte Patienten wieder sLe<sup>x</sup> und Selektinliganden aufbauen und dadurch auch wieder normale Leukozyten-Spiegel im Blut erreichen.<sup>27</sup>

Die oben genannten Saccharide stellen jedoch nur einen Teil der komplexen Ligandenstrukturen dar. Für die spezifische Rezeptorbindung sind weitere Partialstrukturen verantwortlich, für die eine Wechselwirkung der Selektinliganden mit der EGF-Domäne diskutiert wird. So zeigen chimäre Selektine, deren CRD-Domänen von L-Selektin und deren EGF-Domänen von P-Selektin stammen, duale Ligandenbindungsspezifitäten.<sup>28</sup>

### 1.3.1 P-Selektin und seine Liganden

P-Selektin wird in den  $\alpha$ -Granula der Blutplättchen sowie in den Weibel-Palade-Vesikeln von Endothelzellen aufbewahrt.<sup>29</sup> Nach Stimulierung durch Signalstoffe wie Histamin, Thrombin, Peroxidradikale, Teile des Komplement-Systems u.a. kommt es innerhalb von Minuten zur Mobilisierung von P-Selektin und dessen Präsentation auf der Zelloberfläche.<sup>30</sup>

<sup>24</sup> A. Etzioni, M. Frydman, S. Pollack, I. Avidor, M. L. Phillips, J. C. Paulson, R. Gershoni-Baruch, *N. Engl. J. Med.* **1992**, 327, 1789-1792.

<sup>25</sup> M. L. Phillips, B. R. Schwartz, A. Etzioni, R. Bayer, H. D. Ochs, J. C. Paulson, J. M. Harlan, *J. Clin. Invest.* **1995**, 96, 2898-2906.

<sup>26</sup> A. Karsan, C. J. Cornejo, R. K. Winn, B. R. Schwartz, W. Way, N. Lannir, R. Gershoni-Baruch, A. Etzioni, H. D. Ochs, J. M. Harlan, *J. Clin. Invest.* **1998**, 101, 2438-2445.

<sup>27</sup> K. Lühn, T. Marquardt, E. Harms, D. Vestweber, *Blood* **2001**, 97, 330-332.

<sup>28</sup> G. S. Kansas, K. B. Saunders, K. Ley, A. Zakrzewics, R. M. Gibson, B. C. Furie, B. Furie, T. F. Tedder, *J. Cell Biol.* **1994**, 124, 609-618.

<sup>29</sup> R. P. McEver, J. H. Beckstead, K. L. Moore, L. Marshal-Carlson, D. F. Bainton, *J. Clin. Invest.* **1989**, 84, 92-99.

<sup>30</sup> T. F. Tedder, D. A. Steeber, A. Chen, P. Engel, *FASEB J.* **1995**, 9, 866-873.

Als natürlicher Ligand dieses Selektins konnte das Glycoprotein PSGL-1 (P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1) identifiziert werden, ein disulfidverbrücktes Homodimer mit zwei 120 kDa großen Untereinheiten.<sup>31</sup> PSGL-1 besitzt bis zu drei *N*-glycosidisch sowie zahlreiche *O*-glycosidisch verknüpfte Kohlenhydrate. Durch die Arbeiten von Sako et al.<sup>32</sup> und Pouyani und Seed<sup>33</sup> konnte gezeigt werden, dass für die Bindung an P-Selektin die 19 Aminosäuren am Aminoterminus von entscheidender Bedeutung sind. In diesem Bereich ist sLe<sup>x</sup> über ein an Threonin (Thr<sup>57</sup>) geknüpft Glycan an das Protein gebunden.<sup>34</sup> Ebenfalls in diesem Bereich liegen drei Tyrosinreste (Tyr<sup>46</sup>, Tyr<sup>48</sup>, Tyr<sup>51</sup>), von denen mindestens einer sulfatiert vorliegen muss, um eine effektive Bindung zu P-Selektin zu gewährleisten.<sup>35</sup> Eine Röntgenkristallstruktur von einem P-Selektinfragment (bestehend aus der CRD- und der EGF-Domäne), das an PSGL-1 gebunden ist, konnte von Camphausen et al. erhalten werden.<sup>36</sup> Sulfatide, Heparin, Fucoidin und Dextransulfate binden ebenfalls an P-Selektin.<sup>4</sup>

### 1.3.2 E-Selektin und seine Liganden

Im Gegensatz zu P-Selektin ist die Expression von E-Selektin auf Endothelzellen beschränkt. Außerdem ist E-Selektin nicht konstitutiv in den Endothelzellen vorhanden, sondern wird erst nach Stimulierung durch Mediatoren wie z.B. TNF- $\alpha$  oder Interleukin-1 auf transkriptioneller Ebene exprimiert.<sup>5</sup> Daher weist E-Selektin im Vergleich zu P-Selektin eine verzögerte Expressionskinetik auf: P-Selektin wird nach wenigen Minuten auf der Zelloberfläche präsentiert, E-Selektin dagegen erst nach einigen Stunden.<sup>11</sup> Da PSGL-1 ebenfalls an E-Selektin bindet, wenn auch wesentlich schwächer, wird vermutet, dass E-Selektin im späteren Verlauf eines Entzündungsprozesses teilweise die Aufgabe des P-Selektins übernimmt. Vestweber et al. konnten durch Affinitäts-Chromatographie ESL-1 (E-Selektin-Ligand-1) als spezifischen Liganden für E-Selektin isolieren.<sup>37</sup> Dieses aus 1148 Aminosäuren bestehende Glycoprotein besitzt fünf potenzielle *N*-Glycosylierungsstellen. Massenspektrometrische Untersuchungen an mit Endoglycosidase F *N*-deglycosylierten ESL-1 und an der unglycosylierten Peptidsequenz lassen vermuten, dass keine *O*-glycosidisch verknüpften Kohlenhydrate vorliegen.<sup>38</sup>

---

<sup>31</sup> K. L. Moore, N. L. Stults, S. Diaz, D. F. Smith, R. D. Cummings, A. Varki, R. P. McEver, *J. Cell. Biol.* **1992**, *118*, 445-456.

<sup>32</sup> D. Sako, K. M. Comess, K. M. Barone, R. T. Camphausen, D. A. Cumming, G. D. Shaw, *Cell* **1995**, *83*, 323-331.

<sup>33</sup> T. Pouyani, B. Seed, *Cell* **1995**, *83*, 333-343.

<sup>34</sup> R. Kumar, R. T. Camphausen, F. X. Sullivan, D. A. Cumming, *Blood* **1996**, *88*, 3872-3879.

<sup>35</sup> V. Ramachandran, M. U. Nollert, H. Qiu, W.-J. Liu, R. D. Cummings, C. Zhu, R. P. McEver, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 13771-13776.

<sup>36</sup> W. S. Somers, J. Tang, G. D. Shaw, R. T. Camphausen, *Cell* **2000**, *103*, 467-479.

<sup>37</sup> A. Levinovitz, J. Mühlhoff, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1993**, *121*, 449-459.

<sup>38</sup> M. Lenter, A. Levinovitz, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1994**, *125*, 471-481.

### 1.3.3 L-Selektin und seine Liganden

L-Selektin wird im Unterschied zu E- und P-Selektin nicht auf Endothelzellen, sondern auf Leukozyten konstitutiv exprimiert. Es ist an der Diapedese von Lymphozyten in die peripheren Lymphknoten als so genannter „homing receptor“ beteiligt. Weiterhin trägt L-Selektin bei Entzündungsprozessen kooperativ mit P-Selektin zur Rekrutierung von Leukozyten an das Endothel bei.<sup>39</sup> Diese durch L-Selektin vermittelte Zelladhäsion wird durch eine gesteigerte Expression von L-Selektinliganden auf den Endothelzellen reguliert. Als Liganden sind bisher die Glycoproteine GlyCAM-1 (Glycosylation-dependent Cell Adhesion Molecule-1), CD34, MadCAM-1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1), sgp200 (sulphated glycoprotein 200) sowie PSGL-1 bekannt. Bei CD34<sup>40</sup>, sgp200<sup>41</sup> und GlyCAM-1<sup>42</sup> handelt es sich um mucinartige Glycoproteine mit O-glycosidisch verknüpften Kohlenhydraten. Damit GlyCAM-1 an L-Selektin binden kann, muss es in der 6-Position des Glucosamin- oder Galactoseteils von sLe<sup>x</sup> sulfatiert sein.<sup>43</sup> MadCAM-1 ist ein L-Selektinligand mit immunglobulin- und mucinartigen Domänen.<sup>44</sup> Außer mit L-Selektin kann es auch mit dem Integrinrezeptor  $\alpha_4\beta_7$  wechselwirken und ist damit in der Lage, Lymphozyten sowohl zum Selektin vermittelten „Rollen“, als auch zur Integrin vermittelten Adhäsion zu befähigen.<sup>45</sup> Sulfatide, Heparinsulfat und Fucoidin sind weitere Liganden des L-Selektins.<sup>4</sup>

## 1.4 Einsatzmöglichkeiten antiadhäsiver Therapien

Die Adhäsion von Leukozyten an das Endothel ist für zahlreiche biologische Prozesse unerlässlich (vgl. Kapitel 1.1). Etliche Krankheiten gehen dagegen mit einer übermäßigen, durch Selektine vermittelten Zelladhäsion einher. Eine solche Beteiligung der Selektine und ihrer Liganden konnte z.B. bei Erkrankungen der Herzkranzgefäße,<sup>46</sup> bei rheumatoider Arthritis<sup>47</sup> oder beim Reperfusionssyndrom<sup>48</sup> nachgewiesen werden. Zur Therapie dieser

---

<sup>39</sup> A. Giannis, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 188-191.

<sup>40</sup> S. Baumhueter, M. S. Singer, W. Henzel, S. Hemmerich, M. Renz, S. D. Rosen, L. A. Lasky, *Science* **1993**, *262*, 436-438.

<sup>41</sup> S. Hemmerich, E. C. Butcher, S. D. Rosen, *J. Exp. Med.* **1994**, *180*, 2219-2226.

<sup>42</sup> D. Crommie, S. D. Rosen, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 22614-22624.

<sup>43</sup> S. Hemmerich, H. Leffler, S. D. Rosen, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 12035-12047.

<sup>44</sup> E. L. Berg, L. M. McEvoy, C. Berlin, R. F. Bargatze, E. C. Butcher, *Nature* **1993**, *366*, 695-698.

<sup>45</sup> C. Berlin, E. L. Berg, M. J. Briskin, D. P. Andrew, P. J. Kilshaw, B. Holzmann, I. L. Weissman, A. Hamann, E. C. Butcher, *Cell* **1993**, *74*, 185-195.

<sup>46</sup> W. Sluiter, A. Pietersma, J. M. J. Lamers, J. F. Koster, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1993**, *22*, S37-S44.

<sup>47</sup> T. Ochi, S. Hakomori, M. Fujimoto, M. Okamura, H. Owaki, S. Wakitani, Y. Shimaoka, K. Hayashida, T. Tomita, S. Kawamura, K. Ono, *J. Rheumatol.* **1993**, 2038-2045.

<sup>48</sup> M. Buerke, A. S. Weyrich, Z. Zheng, F. C. A. Gaeta, M. J. Forrest, A. M. Lefler, *J. Clin. Invest.* **1994**, *93*, 1140-1148.

Erkrankungen versucht man, lösliche Selektinliganden zu verabreichen, die kompetitiv an die Selektine binden und damit die übermäßige Adhäsion von Leukozyten an das Endothel unterdrücken. Als Leitstruktur für solche Zelladhäsionsinhibitoren wird vor allem das Tetrasaccharid sLe<sup>x</sup> (Abb. 1.3) angesehen, da dieses Saccharid einen essentiellen Bestandteil der natürlichen Selektinliganden darstellt. Sialyl-Lewis<sup>x</sup> wurde bereits erfolgreich in Tierversuchen bei von P-Selektin abhängigen, vom Cobra-Venom induzierten Lungenerkrankungen<sup>49</sup> und bei myokardialen Reperfusionsverletzungen<sup>48</sup> eingesetzt.

Weitere mögliche Anwendungsgebiete antiadhäsiver Therapien sind Autoimmunerkrankungen wie akute Polyarthritis, entzündliche und allergische Hauterkrankungen und Herz-Kreislauf-Störungen.<sup>5</sup> Ebenso wird die Behandlung metastasierender Tumore diskutiert, da Krebszellen die selektinvermittelte Zelladhäsion ausnutzen, um zur Bildung von Sekundär-Tumoren aus dem Blutstrom auszuwandern.<sup>50,51,52,53</sup>

## 1.5 Pharmakophore Gruppen und Mimetika von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>

Da die Synthese von sLe<sup>x</sup> aufwendig und teuer ist, da es bei oraler Verabreichung inaktiv ist und zudem seine Affinität zu den Selektinen nur im millimolaren Bereich liegt, beschäftigen sich mehrere Arbeitsgruppen mit der Synthese hochaffiner sLe<sup>x</sup>-Mimetika. Für deren Synthese ist es notwendig, die pharmakophoren Gruppen von sLe<sup>x</sup> zu kennen.

Durch Variation der funktionellen Gruppen der vier Kohlenhydratbausteine von sLe<sup>x</sup> konnte gezeigt werden, dass die Hydroxygruppen der Fucose,<sup>54,55</sup> die 4- und 6-Hydroxygruppen der Galactose<sup>56,57</sup> sowie die Carboxygruppe der Neuraminsäure für eine effektive Bindung an E- und L-Selektin unerlässlich sind.<sup>58</sup> Bei P-Selektin ist von den drei Hydroxygruppen der Fucose nur die 3-Hydroxygruppe unerlässlich, ein Austausch der 2- und 4-Hydroxygruppen durch Protonen bewirkt „nur“ eine Reduzierung der Affinität.<sup>55</sup> Der Glucosamin-Baustein

---

<sup>49</sup> M. S. Mulligan, J. C. Paulson, S. DeFrees, Z.-L. Zheng, J. B. Lowe, P. A. Ward, *Nature* **1993**, *364*, 149-151.

<sup>50</sup> T. Nakashio, T. Narita, M. Sato, S. Akiyama, Y. Kasai, M. Fujiwara, K. Ito, H. Takagi, R. Kannagi, *Anticancer Res.* **1997**, *17*, 293-299.

<sup>51</sup> R. Renkonen, P. Mattila, M.-L. Majuri, J. Rabinä, S. Toppila, J. Renkonen, L. Hirvas, J. Niittymäki, J. P. Turunen, O. Renkonen, T. Paavonen, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 593-600.

<sup>52</sup> R. Kannagi, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 577-584.

<sup>53</sup> L. Borsig, *News Physiol. Sci.* **2004**, *19*, 16-21.

<sup>54</sup> J. Y. Ramphal, Z.-L. Zheng, C. Perez, L. E. Walker, S. A. DeFrees, F. C. A. Gaeta, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3459-3463.

<sup>55</sup> B. K. Bradley, M. Kiso, S. Abbas, P. Nikrad, O. Srivasatava, C. Foxall, Y. Oda, A. Hasegawa, *Glycobiology* **1993**, *3*, 633-641.

<sup>56</sup> W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretzschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2186-2188.

<sup>57</sup> R. Banteli, B. Ernst, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 459-462.

<sup>58</sup> D. Tyrell, P. James, N. Rao, C. Foxall, S. Abbas, F. Dasgupta, M. Nashed, A. Hasegawa, M. Kiso, D. Asa, J. Kidd, B. K. Bradley, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1991**, *88*, 10372-10376.

dient als Abstandhalter für die richtige Orientierung von Fucose und Galactose.<sup>59</sup> Die Acetamido- und die Glycerinseitenkette der Neuraminsäure haben fast keinen Einfluss auf die Selektinbindung.<sup>55,58</sup> Mit Hilfe des Austauschs einzelner Aminosäuren (Punktmutations-Experimente) konnten die für die Kohlenhydraterkennung entscheidenden Aminosäuren der CRD-Domäne der Selektine ausfindig gemacht werden.<sup>60</sup> Die von Camphausen et al.<sup>36</sup> veröffentlichte Röntgenstrukturanalyse der Komplexe aus sLe<sup>x</sup> mit der CRD- und EGF-Domäne von P- und E-Selektin liefert eine gute Vorstellung für die Struktur dieser Komplexe (Abb. 1.5): Die Bindung von sLe<sup>x</sup> an E-Selektin wird durch Koordination von Ca<sup>2+</sup> an die Seitenketten von Glu<sup>80</sup>, Asn<sup>82</sup>, Asn<sup>83</sup>, Asn<sup>105</sup>, Asp<sup>106</sup>, an die  $\alpha$ -Carbonylgruppe von Asp<sup>106</sup> sowie an die 3- und 4-Hydroxygruppe der Fucose bewirkt (die Koordinationen von Glu<sup>80</sup> und der  $\alpha$ -Carbonylgruppe von Asp<sup>106</sup> an Ca<sup>2+</sup> sind aufgrund der besseren Übersichtlichkeit in Abb. 1.5 nicht eingezeichnet). Wasserstoffbrücken zwischen den Hydroxygruppen der Fucose und bestimmten Aminosäuren verstärken die Bindung. Des Weiteren bindet die Galactose über eine Wasserstoffbrücke mit ihrer 4-Hydroxygruppe an Tyr<sup>94</sup> und mit ihrer 6-Hydroxygruppe an Glu<sup>92</sup>. Die Neuraminsäure bildet Wasserstoffbrücken zwischen ihrer Carboxygruppe und Tyr<sup>48</sup> und Arg<sup>97</sup> aus, wobei letztere Aminosäure gleichzeitig an das glycosidische Sauerstoffatom der Neuraminsäure koordiniert.

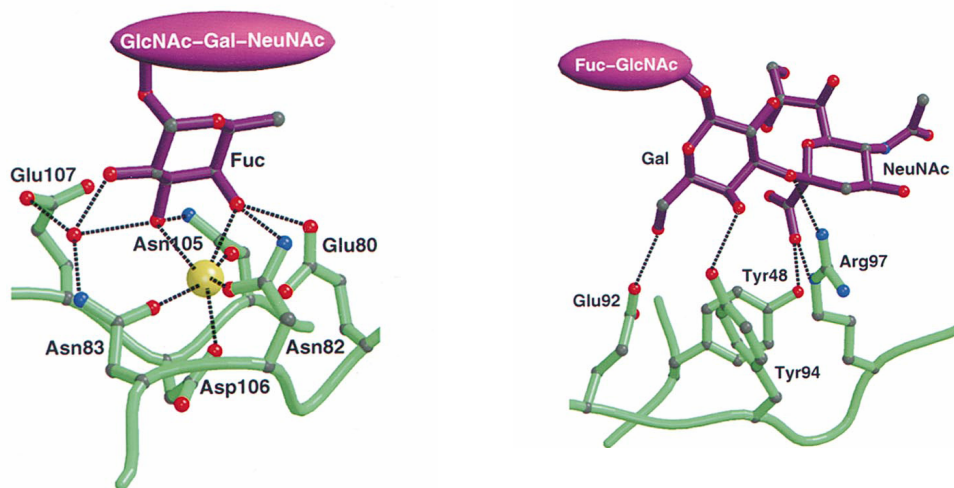


Abb. 1.5: Die Wechselwirkungen von sLe<sup>x</sup> mit E-Selektin.

Im P-Selektin ist Arg<sup>97</sup> durch Serin substituiert, wodurch eine starke Wechselwirkung verloren geht. Dies dürfte – neben einigen Unterschieden bei der Fucose-Koordinierung – wohl die Hauptursache für die höhere Affinität von sLe<sup>x</sup> an E-Selektin im Vergleich zum

<sup>59</sup> M. J. Bamford, M. Bird, P. M. Gore, D. S. Holmes, R. Priest, J. C. Prodger, V. Saez, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 239-244.

<sup>60</sup> T. B. Kogan, B. M. Revelle, S. Tapp, D. Scott, P. J. Beck, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 14047-14055.

P-Selektin sein. Wegen der schon erwähnten niedrigen Affinität und der teuren Synthese von sLe<sup>x</sup> bemühen sich mehrere Arbeitsgruppen die einzelnen Kohlenhydratbausteine durch nichtsaccharidische Gruppen zu ersetzen. Vor allem die Neuraminsäure möchte man aufgrund ihres hohen Preises und der häufig nur in mäßigen Ausbeuten durchzuführenden Sialylierung substituieren. Die einzige pharmakophore Gruppe dieses Saccharids ist die Carboxyfunktion. Es gelang, die Neuraminsäure durch Sulfat- und Phosphatreste sowie durch Glycolsäure zu ersetzen.<sup>61</sup> Eine besonders viel versprechende Substitution der Neuraminsäure gelang Kolb und Ernst unter Verwendung der (*S*)-Cyclohexylmilchsäure.<sup>62</sup> Darauf basierend synthetisierten Thoma et al. (Novartis) zahlreiche sLe<sup>x</sup>-Mimetika, von denen Verbindung **E-3** (Abb. 1.6) eine ca. 30fach höhere Affinität zu E-Selektin – verglichen mit sLe<sup>x</sup> – in einem zellfreien Bindungs-Assay aufwies.<sup>63</sup>

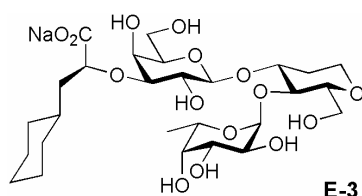


Abb. 1.6: Das sLe<sup>x</sup>-Mimetikum **E-3** von Novartis.

Da der Glucosamin-Baustein nicht zur Bindung beiträgt, kann er leicht durch vicinale Diolen substituiert werden.<sup>59,63</sup> Allerdings ist dieser Baustein wichtig für die Präorganisation der bioaktiven Konformation,<sup>64,65</sup> d.h. je ähnlicher die Konformation eines ungebundenen sLe<sup>x</sup>-Mimetikums der Konformation des an ein Selektin gebundenen Mimetikums ist, desto höher ist auch die Affinität des Mimetikums zum Selektin (Entropieeffekt). Schwieriger ist ein Ersetzen der Galactose, da hier zwei Gruppen an der Bindung zu den Selektinen beteiligt sind.<sup>66</sup> Die Fucose wurde nur in wenigen Fällen durch eine nicht-saccharidische Struktur substituiert.<sup>67</sup>

<sup>61</sup> 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*, 1339-1343.

<sup>62</sup> H. C. Kolb, B. Ernst, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1571-1578.

<sup>63</sup> G. Thoma, W. Kinzy, C. Bruns, J. T. Patton, J. L. Magnani, R. Banteli, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4909-4913.

<sup>64</sup> S. A. DeFrees, F. C. A. Gaeta, Y.-C. Lin, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7549-7550.

<sup>65</sup> G. Thoma, J. L. Magnani, J. T. Patton, B. Ernst, W. Jahnke, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1995-1999.

<sup>66</sup> R. Banteli, B. Ernst, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4059-4062.

<sup>67</sup> C. L. Martens, S. E. Cwirla, R. Y.-W. Lee, E. Whitehorn, E. Y.-F. Chen, A. Bakker, E. L. Martin, C. Wagstrom, P. Gopalan, C. W. Smith, E. Tate, K. J. Koller, P. J. Schatz, W. J. Dower, R. W. Barrett, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 21129-21136.

Sie lässt sich aber durch D-Mannose,<sup>68,69</sup> D-Arabinose<sup>54,70</sup> und L-Galactose<sup>71,72</sup> ersetzen, da diese Saccharide die essentiellen Hydroxygruppen der L-Fucose in ähnlicher räumlicher Ausrichtung präsentieren (Abb. 1.7).

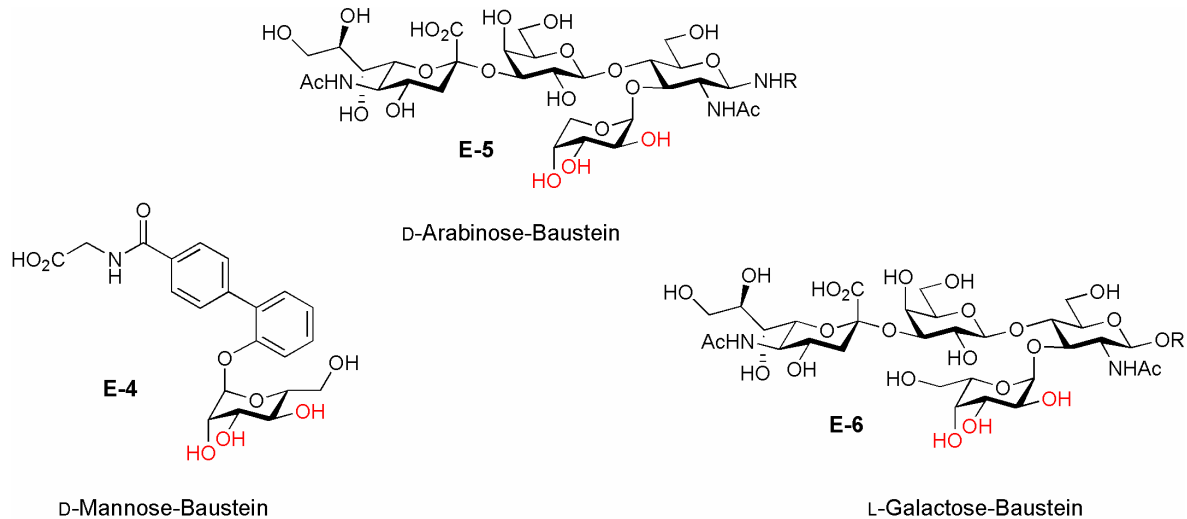


Abb. 1.7: *sLe<sup>x</sup>-Mimetika*, die D-Mannose<sup>68</sup>, D-Arabinose<sup>70</sup> oder L-Galactose<sup>72</sup> enthalten.

Affinitätssteigerungen sind nicht nur durch Substitution der Monosaccharide, sondern auch durch zusätzliche Einführung bestimmter Gruppen<sup>73,74</sup> sowie durch multivalentes Präsentieren von *sLe<sup>x</sup>* und *sLe<sup>x</sup>-Mimetika* zu erreichen.<sup>75,76,77,78</sup> Eine Zusammenfassung zahlreicher Mimetika liefern die Übersichtsartikel von Wong et al.,<sup>4</sup> Unger<sup>5</sup> und Kaila und Thomas.<sup>79</sup>

- <sup>68</sup> T. P. Kogan, B. Dupré, K. M. Keller, I. L. Scott, H. Bui, R. V. Market, P. J. Beck, J. A. Voytus, B. M. Revelle, D. Scott, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4976-4984.
- <sup>69</sup> N. Kaila, L. Chen, B. E. Thomas IV, D. Tsao, S. Tam, P. W. Bedard, R. T. Camphausen, J. C. Alvarez, G. Ullas, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1563-1566.
- <sup>70</sup> M. Rösch, H. Herzner, W. Dippold, M. Wild, D. Vestweber, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3954-3957.
- <sup>71</sup> M. W. Cappi, W. J. Moree, L. Qiao, T. G. Marron, G. Weitz-Schmidt, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 283-296.
- <sup>72</sup> G. Baisch, R. Öhrlein, A. Katopodis, M. Streiff, F. Kolbinger, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2447-2450.
- <sup>73</sup> C.-H. Wong, F. Moris-Varas, S.-C. Hung, T. G. Marron, C.-C. Lin, K. W. Gong, G. Weitz-Schmidt, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8152-8158.
- <sup>74</sup> M. Hayashi, M. Tanaka, M. Itoh, H. Miyauchi, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2938-2945.
- <sup>75</sup> J. P. Turunen, M.-L. Majuri, A. Seppo, S. Tiisala, T. Paavonen, M. Miyasaka, K. Lemström, L. Pentillä, O. Renkonen, R. Renkonen, *J. Exp. Med.* **1995**, *182*, 1133-1142.
- <sup>76</sup> V. H. Thomas, Y. Yang, K. G. Rice, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 19035-19040.
- <sup>77</sup> U. Sprengard, M. Schudok, W. Schmidt, G. Kretzschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 359-362.
- <sup>78</sup> G. Thoma, R. O. Duthaler, J. L. Magnani, J. T. Patton, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10113-10114.
- <sup>79</sup> N. Kaila, B. E. Thomas IV, *Med. Res. Rev.* **2002**, *6*, 566-601.

## 1.6 Literaturbekannte Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Synthesen

Aufgrund der großen biologischen Bedeutung des Tetrasaccharids sLe<sup>x</sup> wurden zahlreiche Versuche zu dessen Synthese unternommen. Neben den allgemein bei Kohlenhydraten bestehenden Forderungen nach Regio- und Stereoselektivität, erschweren zusätzliche Eigenheiten des sLe<sup>x</sup>-Tetrasaccharids die Synthese. So muss die Galactose in die wenig reaktive 4-Position des Glucosamin-Bausteins eingeführt werden, was zusätzlich durch sterische Wechselwirkungen mit der Fucose in der 3-Position behindert wird. Eine weitere Erschwernis ist die Säurelabilität der  $\alpha$ -fucosidischen Bindung, die bei Schutzgruppenmanipulationen und Glycosylierungsreaktionen beachtet werden muss. Aufgrund der strukturellen Besonderheit der Neuraminsäure-Bausteine (Abb. 1.8) stellt die Sialylierung das größte Problem bei der Synthese von sLe<sup>x</sup>-Derivaten dar (vgl. Kapitel 3.1.10).

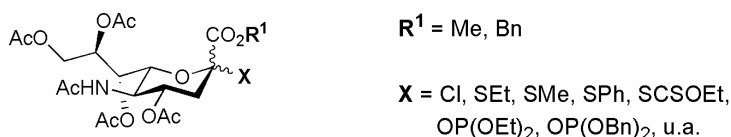


Abb. 1.8: Vollständig geschützte Neuraminsäure-Bausteine.

An der 3-Position der Neuraminsäure fehlt eine Funktionalität, so dass kein Nachbargruppeneffekt für eine stereoselektive Glycosylierung ausgenutzt werden kann. Außerdem wird die Sialylierung durch elektronische und sterische Effekte, verursacht durch die Carboxyfunktion am anomeren Zentrum, erschwert. Bei Aktivierung eines Neuraminsäure-Donors kann durch Abspaltung des Protons in der 3-Position leicht das Eliminierungsprodukt entstehen, weshalb der teure Donor im Überschuss zugegeben werden muss. Daher sind Synthesen sialylierter Oligosaccharide ein wichtiges und lohnendes Forschungsfeld für den Einsatz enzymatischer Saccharidsynthesen unter Verwendung von sowohl Glycosyltransferasen als auch Glycosidasen.<sup>80,81,82</sup> Im Folgenden werden einige ausgewählte Synthesestrategien für sLe<sup>x</sup> vorgestellt. Diese können in zwei Kategorien eingeteilt werden. Bei der konvergenten Synthese von sLe<sup>x</sup> werden zwei Disaccharide miteinander verknüpft, bei der linearen Methode wird das Tetrasaccharid sukzessive aus Monosacchariden aufgebaut.

<sup>80</sup> B. Neubacher, D. Schmidt, P. Ziegel Müller, J. Thiem, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 1551-1556.

<sup>81</sup> O. Blixt, J. C. Paulson, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 687-690.

<sup>82</sup> C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2507-2510.

### 1.6.1 Die konvergente Synthesestrategie

Die erste Totalsynthese eines sLe<sup>x</sup>-Derivates wurde von Hasegawa et al. nach dem [2+2]-Konzept 1991 beschrieben (Abb. 1.9).<sup>83</sup> Diese konvergente Strategie bietet gegenüber der linearen Methode den Vorteil, dass die Disaccharide in voneinander unabhängigen Synthesen hergestellt werden und dadurch eine Optimierung der Teilreaktionen an den kleineren Molekülen leichter durchführbar ist. Da aber die Sialylierung an Monosacchariden wie **E-8** nicht zu wesentlich höheren Ausbeuten führt<sup>84</sup> – verglichen mit Sialylierungen an Oligosacchariden – und zudem der teure Neuraminsäure-Baustein sehr früh in die Synthese eingebracht werden muss, wird heute die konvergente Strategie zum Aufbau von sLe<sup>x</sup>-Derivaten kaum mehr angewandt.

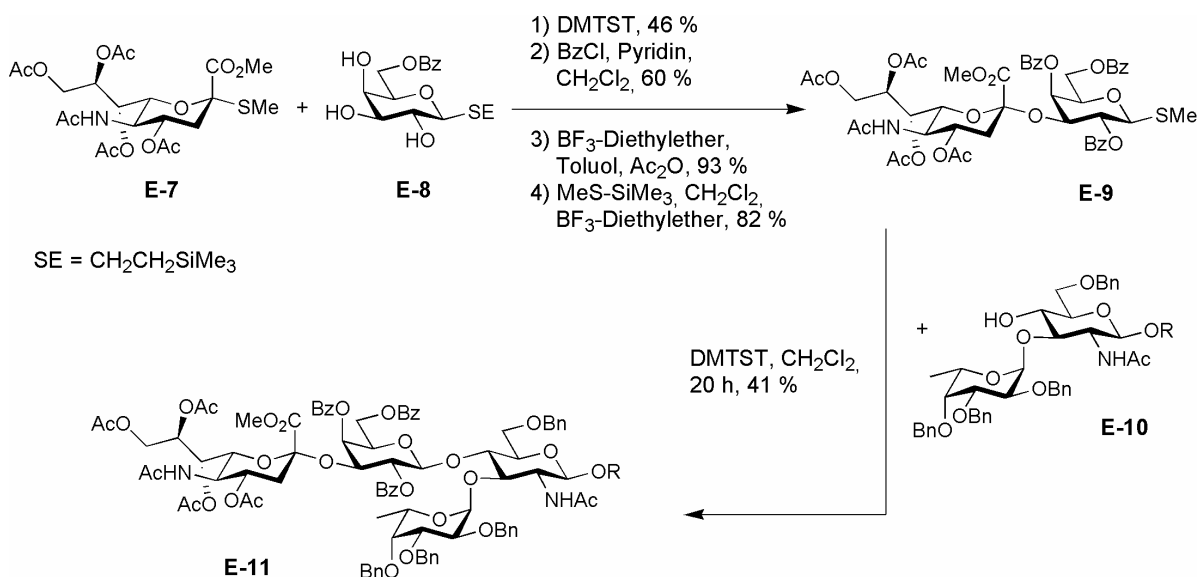


Abb. 1.9: Die erste Totalsynthese eines sLe<sup>x</sup>-Derivates nach Hasegawa et al.

### 1.6.2 Die linearen Synthesestrategien

Der Neuraminsäure-Baustein ist der teuerste der vier Kohlenhydratbausteine und wird daher in den meisten Synthesen als letzter eingeführt. Nicolaou et al. verwendeten nach der Methode von Mukaiyama<sup>85</sup> das Galactosylfluorid **E-12**, um das Lactosamin-Derivat **E-14** zu synthetisieren (Abb. 1.10).<sup>86</sup> Nach Abspaltung des Allylethers wird die α-fucosidische Bindung geknüpft und anschließend die Sialylierung unter Helferich-Bedingungen

<sup>83</sup> A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1991**, *209*, c1-c4.

<sup>84</sup> A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1990**, *200*, 269-285.

<sup>85</sup> T. Mukaiyama, Y. Murai, S. Shoda, *Chem. Lett.* **1981**, 431-432.

<sup>86</sup> K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, N. J. Bockovich, C.-H. Wong, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 870-872.

durchgeführt. Die Thiophenylgruppe an der 3-Position des Neuraminsäure-Donors **E-17** dient nach Ogawa<sup>87</sup> als dirigierender Substituent bei der stereoselektiven Bildung des  $\alpha$ -Anomers.

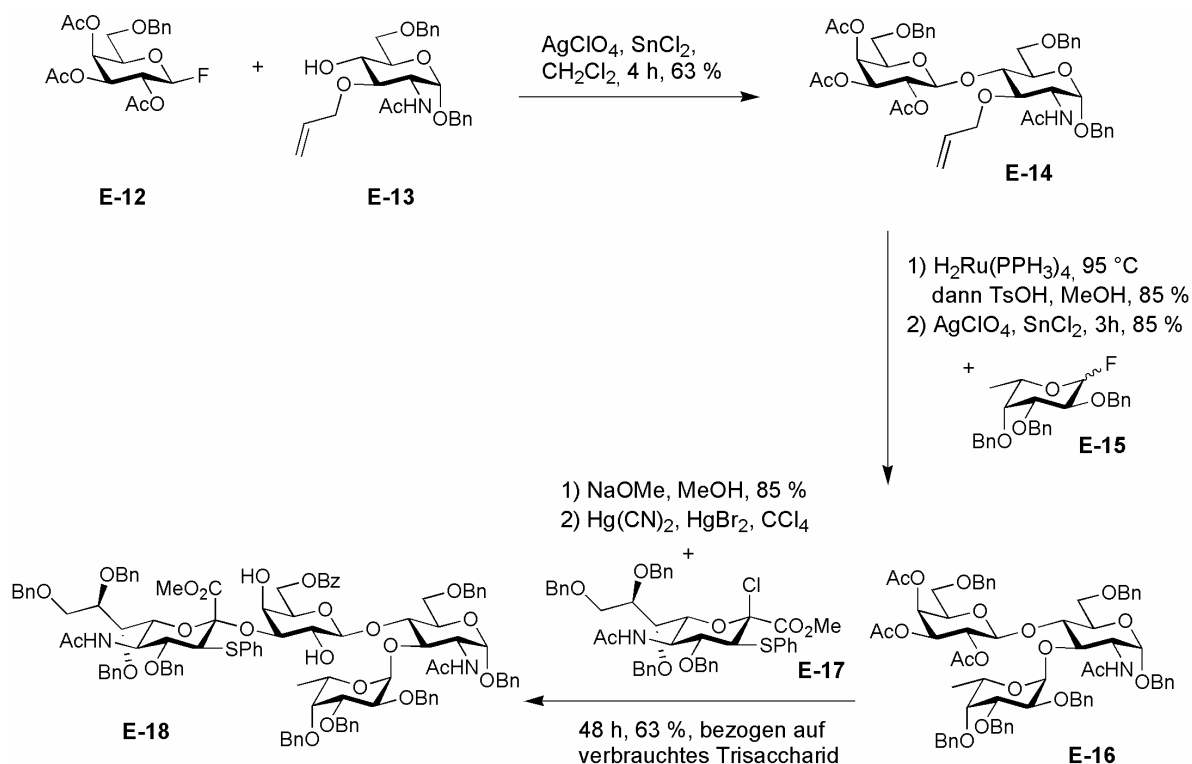


Abb. 1.10: Die Synthese eines sLe<sup>x</sup>-Derivates nach Nicolaou et al.

Aufgrund des höheren Aufwands zur Synthese solcher Neuraminsäure-Donoren und der nach der Sialylierung erforderlichen Abspaltung der dirigierenden Gruppe sowie des Umstandes, dass die selektive Bildung der  $\alpha$ -glycosidisch verknüpften Neuraminsäure auch durch eine geeignete Wahl des Lösungsmittels und der Reaktionstemperatur erreicht werden kann, wird diese Methode nur noch selten benutzt. Ein weiterer Nachteil dieser Synthese besteht in der Verwendung von Schwermetall-Reagenzien bei allen drei Glycosylierungsreaktionen.

Bei den meisten sLe<sup>x</sup>-Synthesen wird zuerst die Fucose, dann die Galactose und als letztes die Neuraminsäure eingeführt. Nach diesem Schema synthetisierten auch Danishefsky et al. ein sLe<sup>x</sup>-Derivat aus einem Glucal (Abb. 1.11).<sup>88</sup> Dabei nutzten sie die geringe Reaktivität der 4-Hydroxygruppe in dem nur an der primären Hydroxygruppe geschützten Glucal **E-20** zur regioselektiven Knüpfung der  $\alpha$ -fucosidischen Bindung. Anschließend wird die Galactose als reaktives Trichloracetimidat **E-22** eingeführt. Die Sialylierung mit dem

<sup>87</sup> Y. Ito, T. Ogawa, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 89-102.

<sup>88</sup> 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*, 1940-1953.

Neuraminsäurechlorid **E-24** nach Königs-Knorr ergibt schließlich das Tetrasaccharid **E-25**. Das Glucal kann je nach Bedarf weiter funktionalisiert werden.

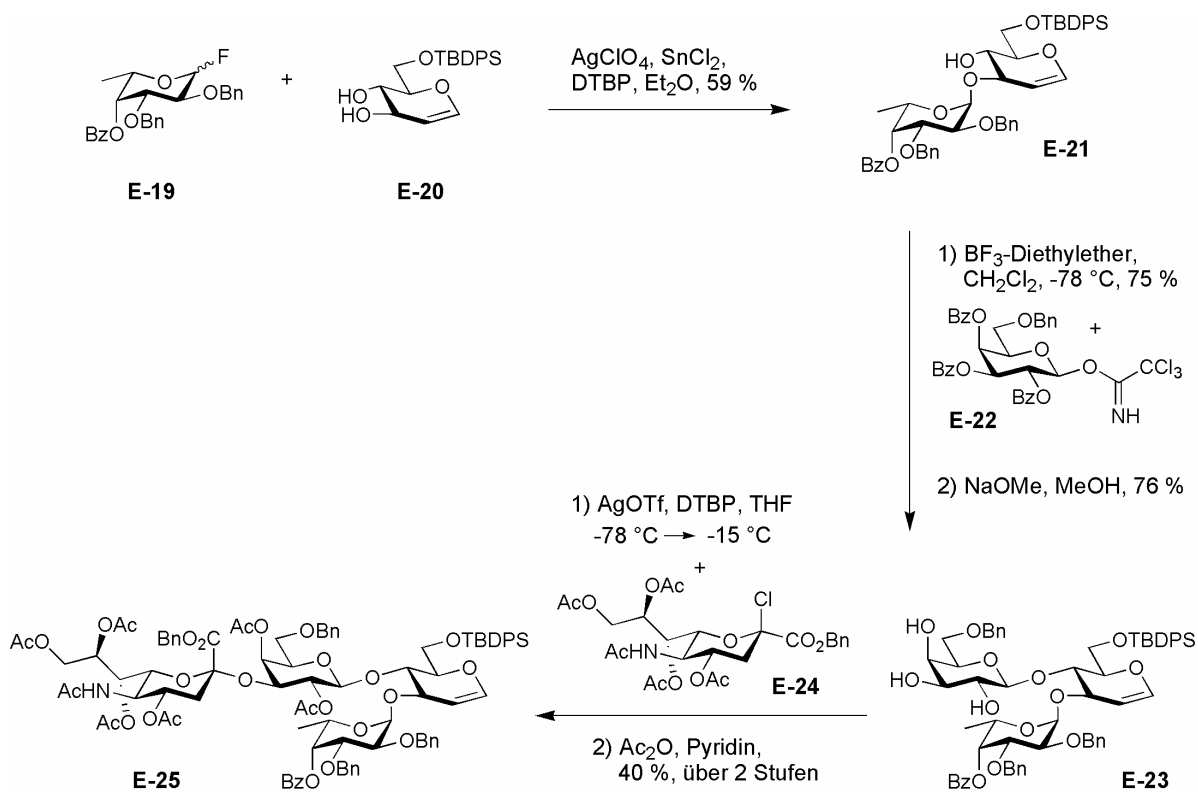


Abb. 1.11: Die Synthese eines sLe<sup>x</sup>-Derivates nach Danishefsky et al.

Auch Kunz et al. verwendeten eine lineare Strategie für den Aufbau eines sLe<sup>x</sup>-Derivates.<sup>89</sup> Statt des gegenüber Elektrophilen wenig beständigen Glucals von Danishefsky wird hierbei die anomere Funktion des Glucosamin-Bausteins durch eine Azidogruppe temporär geschützt. Die Verwendung dieser anomeren Azidogruppe bringt etliche Vorteile mit sich:

- Die Synthese des durch die Azidogruppe geschützten Glucosamin-Bausteins ist problemlos und in guten Ausbeuten durchführbar.
- Aufgrund des exo-anomeren Effekts sind solche Glycosylazide im Gegensatz zu den Alkylaziden stabile Verbindungen. Dieser exo-anomere Effekt wird als eine Überlappung des  $\pi$ -Orbitals der N-N-Doppelbindung der Azidogruppe mit dem energetisch niedrig liegenden  $\sigma^*$ -Orbital der C-O-Bindung des Kohlenhydrats gedeutet.
- Das Glycosylazid vereinigt die Funktionen einer temporären Schutzgruppe und eines variablen Syntheseäquivalents, was aufwendige Schutzgruppenmanipulationen überflüssig macht. So lassen sich die  $\beta$ -Glycosylazide zu  $\beta$ -Glycosylaminen reduzieren,

<sup>89</sup> U. Sprengard, G. Kretschmar, E. Bartnik, C. Hüls, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1104-1107.

wobei ein heterogener Katalysator geringer Aktivität, wie z.B. neutral gewaschenes Raney-Nickel, im Molekül enthaltene Benzylethergruppen nicht angreift. Diese  $\beta$ -Glycosylamine sind für die Synthese von Glycopeptiden von großer Bedeutung. Zudem kann das Glycosylazid durch eine 1,3-dipolare Cycloaddition von Acetylen-dicarbon säure-di-*tert*-butylester an das anomere Azid und einer anschließenden Behandlung mit Fluorwasserstoff/Pyridin in das Glycosylfluorid überführt werden, wodurch wieder ein Glycosyldonor erhalten wird.<sup>90,91</sup>

Zum Aufbau des Fucosylglucosamins wird die  $\alpha$ -fucosidische Bindung in einer Variante von Ogawa<sup>92</sup> nach Lemieux unter In-situ-Anomerisierungsbedingungen<sup>93</sup> stereoselektiv geknüpft (Abb. 1.12).

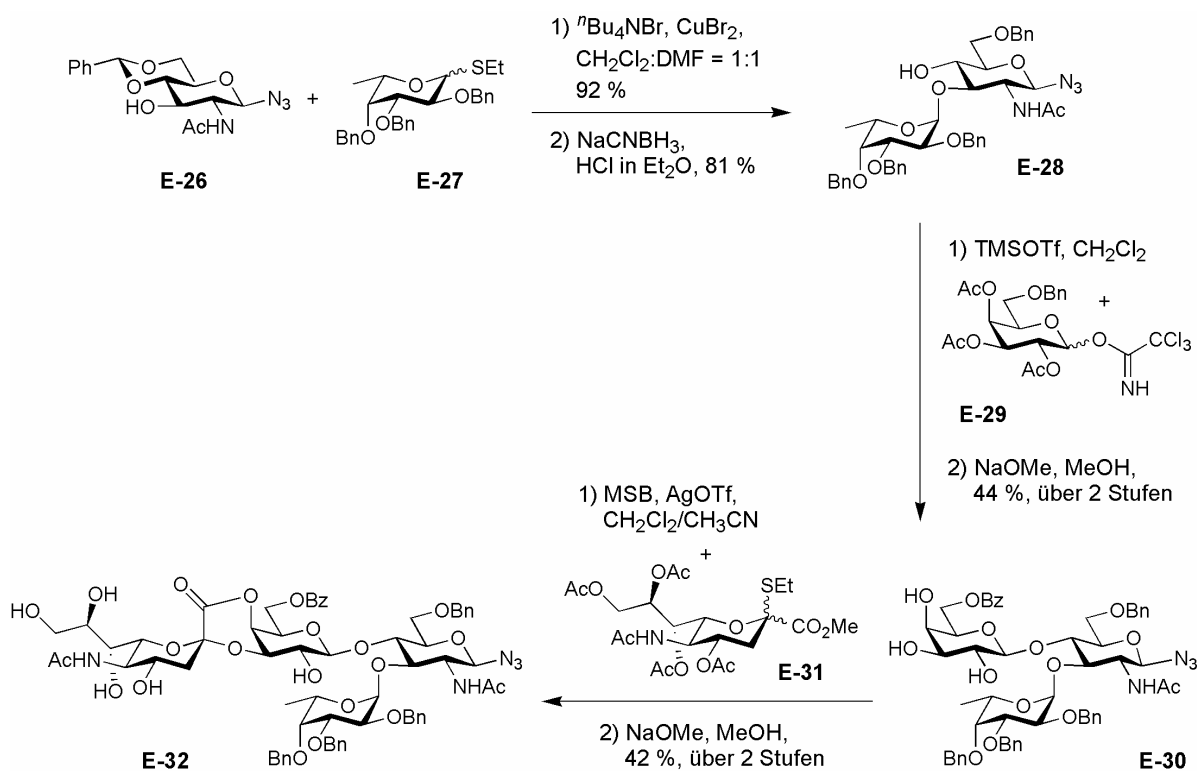


Abb. 1.12: Die Synthese eines  $s\text{Le}^x$ -Derivates nach Kunz et al.

Nach regioselektiver Benzylidenacetalöffnung<sup>94</sup> wird die Galactose als Trichloracetimidat **E-29** eingeführt. Für die Sialylierung kommt das Neuraminsäurethioglycosid **E-31** zum Einsatz, welches gegenüber dem Neuraminsäurechlorid **E-24** bei Danishefsky den Vorteil besitzt, dass es stabil und lagerfähig ist. Zudem sind die Ausbeuten bei Sialylierungen mit

<sup>90</sup> W. Bröder, H. Kunz, *Carbohydr. Res.* **1993**, 249, 221-241.

<sup>91</sup> W. Bröder, H. Kunz, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5, 1-19.

<sup>92</sup> S. Sato, M. Mori, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1986**, 155, c6-c10.

<sup>93</sup> R. U. Lemieux, K. B. Hendricks, R. V. Stick, K. James, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4056-4062.

<sup>94</sup> P. J. Garegg, H. Hultberg, S. Wallin, *Carbohydr. Res.* **1982**, 108, 97-101.

Neuraminsäurethioglycosiden im Vergleich zu Sialylierungen mit Neuraminsäurechloriden im Allgemeinen deutlich besser. Durch eine sich anschließende Umesterung entsteht unter den Reaktionsbedingungen das Lacton **E-32**, wodurch eine intramolekulare Maskierung der Säurefunktion für nachfolgende Glycopeptidsynthesen erreicht wird. Das Lacton lässt sich unter milden Bedingungen hydrolysieren.

Bei allen oben genannten Synthesen müssen Schwermetalle eingesetzt werden, was im Hinblick auf eine mögliche pharmazeutische Herstellung im Kilogramm-Maßstab ein Problem darstellt. Dekany et al. verwendeten daher für die Synthese von sLe<sup>x</sup> ausschließlich Thioglycoside, die ohne Zusatz von Schwermetallen aktiviert werden können.<sup>95</sup> Vergleichende Studien zur Synthese von sLe<sup>x</sup> im Labormaßstab und im Multigramm-Maßstab wurden 1998 von Kretzschmar und Stahl veröffentlicht.<sup>96</sup> Einen chemoenzymatischen Ansatz für den Aufbau von sLe<sup>x</sup>-Derivaten stellten Wong et al. vor.<sup>97,98</sup> Der Vorteil einer solchen Strategie besteht darin, dass ohne aufwendige Schutzgruppenmanipulationen stereo- und regioselektive glycosidische Verknüpfungen möglich sind. Als Nachteil dieser Methode muss der hohe Preis der notwendigen Glycosyldonoren und der spezifischen Glycosyltransferasen genannt werden. Ein weiterer Nachteil dieser Methode besteht darin, dass die Synthese von sLe<sup>x</sup>-Mimetika nur sehr begrenzt möglich ist.

Die vorgestellten Methoden stellen nur einen Teil der in der Literatur beschriebenen Synthesen von sLe<sup>x</sup>-Derivaten dar. Das Interesse an effizienten und preiswerten Ansätzen zur Herstellung von sLe<sup>x</sup> und sLe<sup>x</sup>-Mimetika ist aufgrund der zuvor genannten biologischen Bedeutung dieser Oligosaccharide unverändert hoch.

---

<sup>95</sup> G. Dekany, K. Wright, I. Toth, *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, *16*, 983-999.

<sup>96</sup> G. Kretzschmar, W. Stahl, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6341-6358.

<sup>97</sup> H. Kondo, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8748-8750.

<sup>98</sup> G. J. McGarvey, C.-H. Wong, *Liebigs Ann. Recl.* **1997**, 1059-1074.

## 2 Zielsetzung

Die durch Selektine, eine Familie von calciumabhängigen Lektinen, vermittelte Adhäsion von Leukozyten an das Endothel ist für zahlreiche biologische Prozesse (z.B. Entzündungsprozesse) unerlässlich. Etliche Krankheiten gehen dagegen mit einer übermäßigen, durch Selektine vermittelten Zelladhäsion einher. Daher ist das Ziel dieser Arbeit die Synthese von Selektininhibitoren, um pathologische Zelladhäsionsprozesse, wie man sie z.B. bei rheumatoider Arthritis, bei Erkrankungen der Herzkranzgefäße oder im Verlauf von Tumormetastasierungen findet, bekämpfen zu können. Als Leitstruktur für solche Zelladhäsionsinhibitoren wurde das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (sLe<sup>x</sup>) identifiziert, ein Bestandteil der natürlichen Selektinliganden (vgl. Einleitung).

Ein Nachteil von sLe<sup>x</sup> im Hinblick auf seine pharmakologische Verwendung besteht darin, dass sowohl die fucosidische Bindung als auch die glycosidische Verknüpfung zur Neuraminsäure durch Enzyme leicht gespalten werden, wodurch sLe<sup>x</sup> als potenzielles Anti-Adäsionsmolekül an Wert verliert. Daher versucht man, anstelle der Neuraminsäure und der Fucose, Strukturen einzubauen, die nicht durch Enzyme angegriffen werden, aber dennoch die gewünschten biologischen Bindungseigenschaften sicherstellen. In dieser Arbeit sollen daher neben der L-Fucose die im Menschen nicht vorkommenden Kohlenhydrate D-Arabinose und L-Galactose sowie neben der Neuraminsäure die (S)-Cyclohexylmilchsäure zur Herstellung von sechs sLe<sup>x</sup>-Derivaten verwendet werden.

Das Tetrasaccharid sLe<sup>x</sup> stellt nur einen Teil der natürlichen Selektinliganden dar und bindet auch nur im millimolaren Bereich an die Selektine. Die komplexen natürlichen Selektinliganden wie z.B. ESL-1 (E-Selektin-Ligand-1) oder PSGL-1 (P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1), die an verschiedenen Glycosylierungsstellen sLe<sup>x</sup> präsentieren, binden mit deutlich höherer Affinität an die Selektine. Für eine spezifische Rezeptorbindung sind daher weitere Partialstrukturen verantwortlich, wobei gezeigt werden konnte, dass ein Anknüpfen von sLe<sup>x</sup>-Derivaten an bestimmte Peptidsequenzen eine Affinitätssteigerung hervorruft.<sup>70</sup> Die Partialsequenz 672-681 des ESL-1 enthält eine der fünf im Glycoprotein vorhandenen potentiellen *N*-Glycosylierungsstellen. Die Partialsequenz dieses Glycoproteins liegt in verschiedenen Speziesvarianten (MG160 / Ratte / Mensch, CFR<sup>99</sup> / Huhn) hochkonserviert vor.<sup>100</sup> Sie dürfte wahrscheinlich für die hochaffine Bindung dieses Liganden an E-Selektin mitverantwortlich sein.

Aus diesem Grund sollen die herzustellenden sechs sLe<sup>x</sup>-Derivate *N*-glycosidisch an die Seitenkette von Asparaginsäure gekuppelt werden und dann als Glycosylaminosäuren in

---

<sup>99</sup> CFR: Cysteine-rich EGF Receptor (FGF, Fibroblast Growth Factor).

<sup>100</sup> Z. Mourelatos, J. O. Gonatas, E. Cinato, N. K. Gonatas, *DNA Cell Biol.* **1996**, *15*, 1121-1128.

einer Glycopeptid-Festphasensynthese zu den sechs potentiellen E-Selektin-Inhibitoren **1-6** mit der Partialsequenz 672-681 des ESL-1 zusammengesetzt werden (Abb. 2.1).

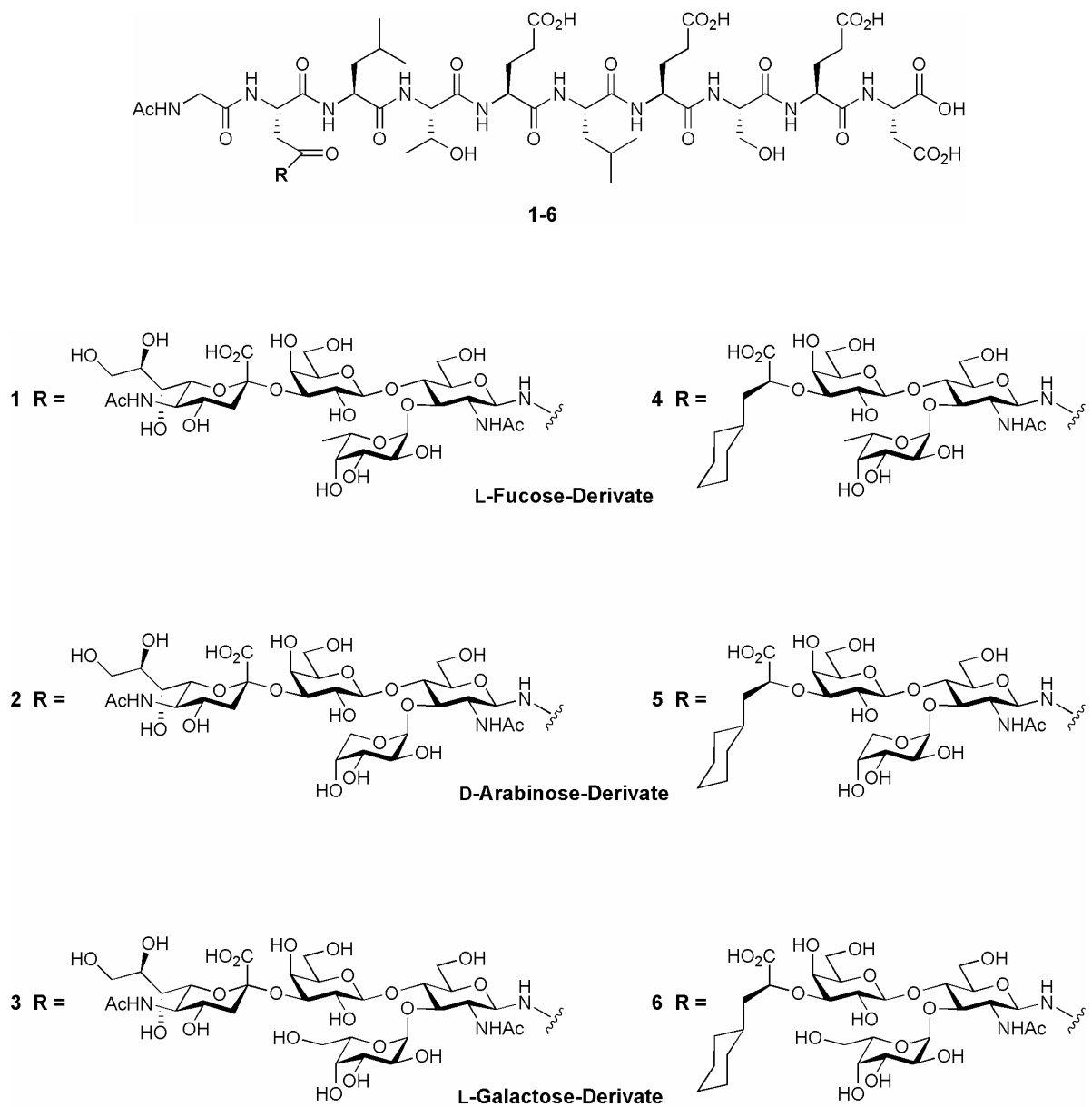


Abb. 2.1: Die sechs potentiellen E-Selektin-Inhibitoren **1-6**.

Diese sollen dann in biologischen Tests auf ihre Wirksamkeit als Zelladhäsionsinhibitoren für E-Selektin geprüft werden. Zudem sollten sich durch die biologischen Tests und den Vergleich dieser sechs Glycopeptide Erkenntnisse über Struktur-Wirkungs-Beziehungen gewinnen lassen.

### 3 Allgemeiner Teil

#### 3.1 Die Herstellung der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Mimetika

Die Herstellung der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Mimetika (sLe<sup>x</sup>-Mimetika) erfolgt nach einer parallelen Synthesestrategie ausgehend vom Disaccharid **21** (Abb. 3.1). Dieses wird mit den drei Monosacchariden **18**, **19** und **20** zu den entsprechenden Trisacchariden **14-16** umgesetzt, welche dann nach Reaktion mit dem Neuraminsäure-Baustein **13** bzw. dem Cyclohexylmilchsäure-Baustein **17** die sechs sLe<sup>x</sup>-Mimetika **7-12** ergeben (Acetylierungs- und Deacetylierungsschritte sind aufgrund der besseren Übersichtlichkeit nicht dargestellt).

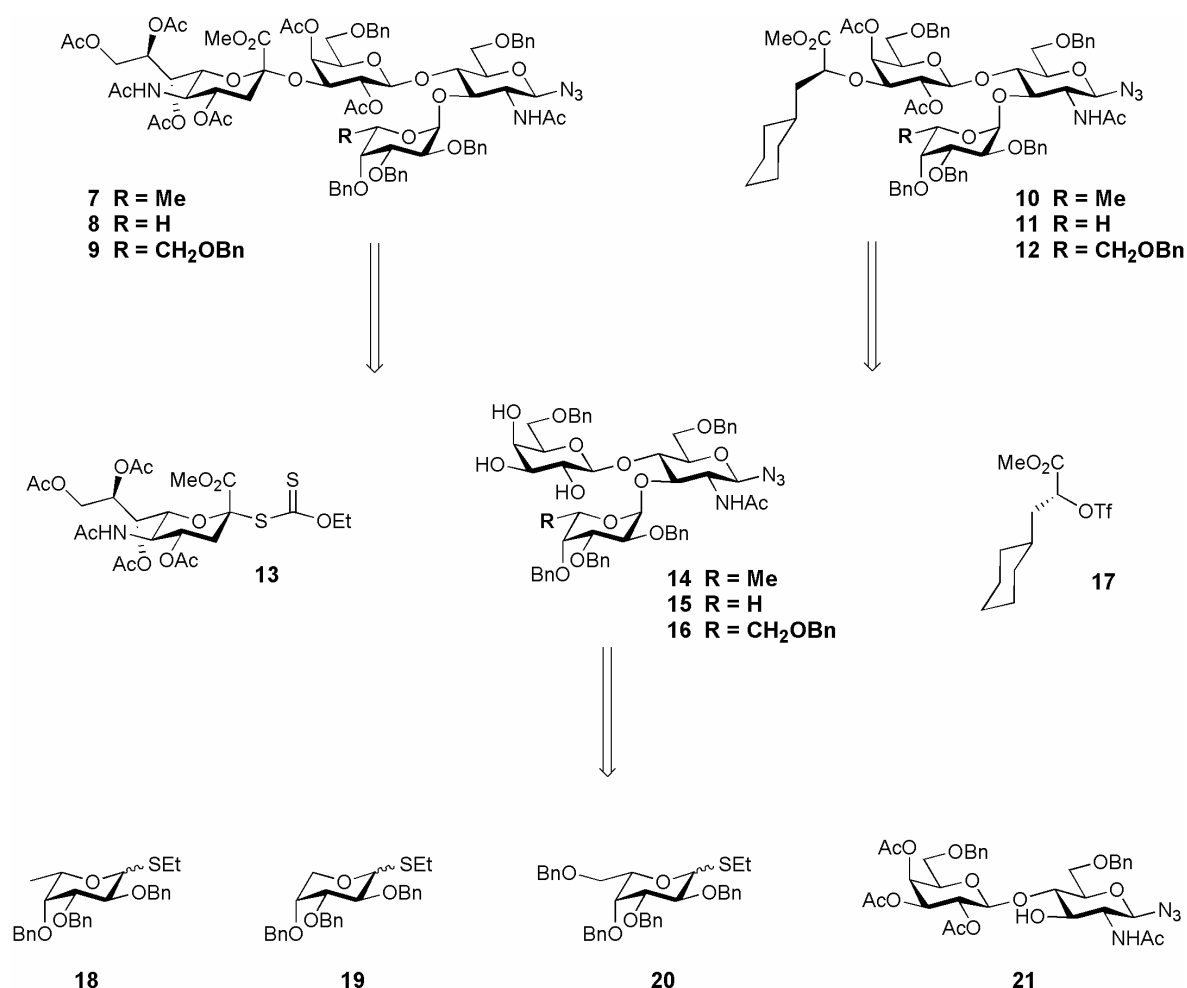


Abb. 3.1: Das Retrosyntheseschema der sechs sLe<sup>x</sup>-Mimetika **7-12**.

Die Vorgängerstufe des Disaccharids **21**, das allylierte Disaccharid **22**, wird aus dem sehr reaktiven Trichloracetimidat **23** und dem Glucosamin-Baustein **24** synthetisiert, welcher am reduzierenden Ende eine Azidogruppe trägt (Abb. 3.2). Diese kann zu einer Aminofunktion

reduziert werden, die für die geplante *N*-glycosidische Anbindung der sLe<sup>x</sup>-Mimetika an die Seitenkette der Asparaginsäure benötigt wird.

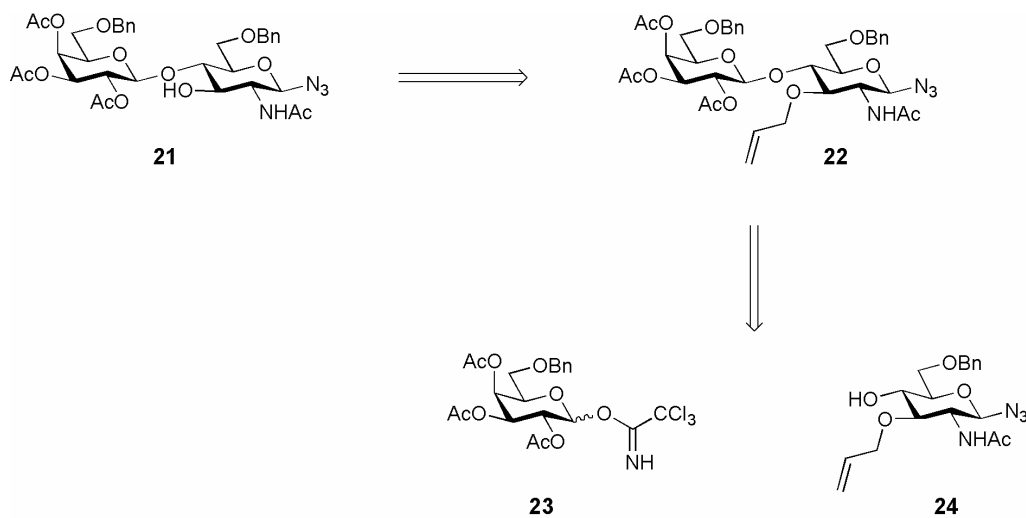


Abb. 3.2: Das Retrosyntheseschema des Disaccharids **21**.

### 3.1.1 Der Glucosamin-Baustein

Ausgehend von D-Glucosaminhydrochlorid (**25**) erhält man zunächst das benzylidengeschützte *N*-Acetylglucosaminazid **30** in einer literaturbekannten fünfstufigen Synthese (Abb. 3.3).<sup>101,102,103,104,105</sup> Im ersten Schritt wird durch eine fünfminütige Behandlung von D-Glucosaminhydrochlorid (**25**) mit einer stöchiometrischen Menge Natriummethanolat in Methanol das Glucosamin freigesetzt und vom dabei ausgefallenen Natriumchlorid abfiltriert. Wird zu lange geschüttelt oder mechanisch gerührt, fällt ein erheblicher Teil des gebildeten Glucosamins zusammen mit Natriumchlorid aus und kann nicht mehr abgetrennt werden. Die methanolische Lösung des Glucosamins wird direkt im Anschluss mit Essigsäureanhydrid versetzt, wobei das *N*-Acetyl-D-glucosamin (**26**) in 88%iger Ausbeute erhalten wird.<sup>101</sup> Anschließend werden die Hydroxygruppen mit Acetylchlorid acetyliert. Dabei reagiert der bei der Reaktion entstehende Chlorwasserstoff mit der anomeren Funktion zum Glucosylchlorid **27** (Ausbeute: 73 %),<sup>102,103</sup> wobei aufgrund des anomeren Effekts ausschließlich das  $\alpha$ -Anomer gebildet wird. Unter Verwendung des Phasentransferkatalysators Aliquat<sup>®</sup> 336 (Methyltrioctylammoniumchlorid) wird das Chlorid **27** mit Natriumazid zum  $\beta$ -Glucosylazid **28**<sup>106</sup> in 76%iger

<sup>101</sup> Y. Inouye, K. Onodera, S. Kitaoka, S. Hirano, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 4722-4726.

<sup>102</sup> F. Micheel, F.-P. van de Kamp, H. Petersen, *Chem. Ber.* **1957**, 90, 521-526.

<sup>103</sup> D. Horton, *Org. Synth.* **1966**, 46, 1-5.

<sup>104</sup> K. von dem Bruch, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1993**.

<sup>105</sup> C. Unverzagt, H. Kunz, *J. Prakt. Chem.* **1992**, 334, 570-578.

<sup>106</sup> F. Micheel, H. Wulff, *Chem. Ber.* **1956**, 89, 1521-1530.

Ausbeute umgesetzt.<sup>104,105</sup> Aufgrund des Nachbargruppeneffekts der *N*-Acetylgruppe entsteht ausschließlich das  $\beta$ -Anomer. Es folgt eine *O*-Acetylgruppen-Abspaltung nach Zemplén<sup>107</sup> (Ausbeute: 95 %). Das so erhaltene 2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (**29**)<sup>105,106</sup> wird durch eine säurekatalysierte Umacetalisierung mit Benzaldehyddimethylacetal bei einem pH-Wert kleiner 4.5 in 69%iger Ausbeute in das 4,6-*O*-benzylidengeschützte *N*-Acetylglucosaminazid **30**<sup>108</sup> überführt.<sup>104</sup>

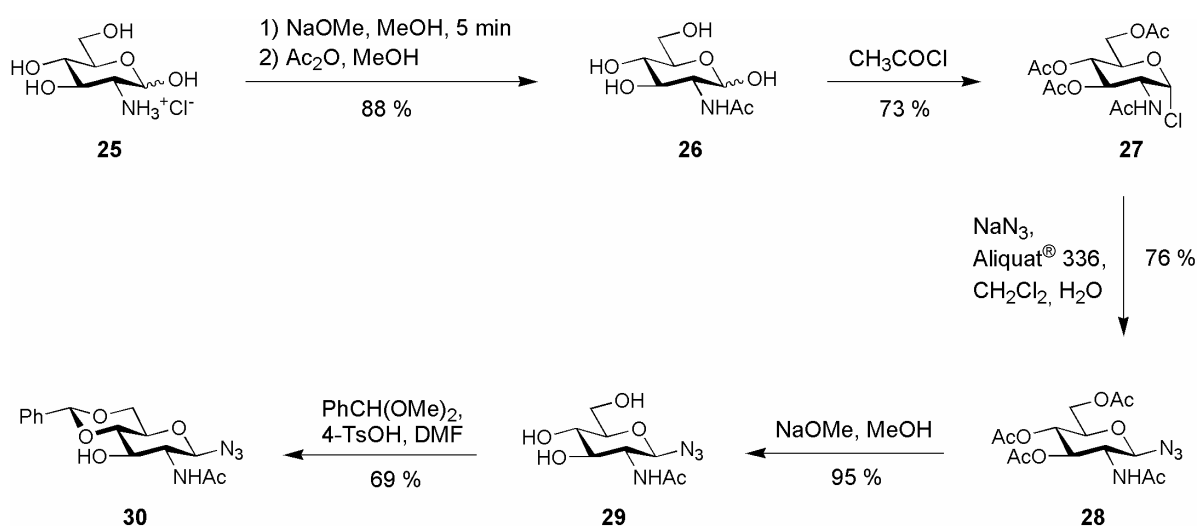


Abb. 3.3: Die Synthese des benzylidengeschützten *N*-Acetylglucosaminazids **30**.

Aufgrund der größeren Stabilität des sechsgliedrigen Acetals **30** wird die Bildung des isomeren 3,4-Acetals (ein fünfgliedriges Acetal) vollständig unterdrückt. Man führt die Reaktion bei 50 °C und 40-70 mbar am Rotationsverdampfer aus, um das sich bildende Methanol ständig dem Reaktionsgemisch zu entziehen und damit das Gleichgewicht zugunsten des Produkts **30** zu verschieben. Die Synthesen der Verbindungen **26-30** verlaufen durchweg in hohen Ausbeuten und ergeben kristalline Verbindungen, die sich alle durch Umkristallisation oder Umfällen reinigen lassen. Der Allylether **31** wird mit Natriumhydrid als Base und Allylbromid als Allylierungsreagenz aus Verbindung **30** in 77%iger Ausbeute erhalten (Abb. 3.4).

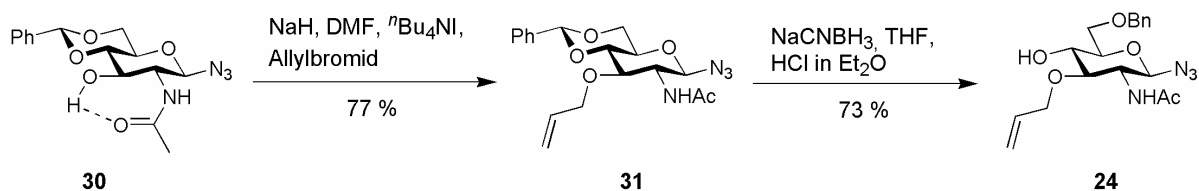


Abb. 3.4: Die Synthese des Glucosamin-Bausteins **24**.

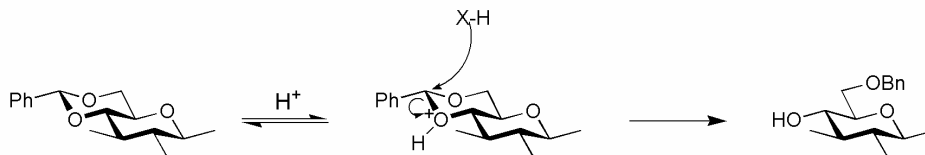
<sup>107</sup> G. Zemplén, A. Kunz, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1923**, 56, 1705-1710.

<sup>108</sup> M. A. E.-M. Shaban, R. W. Jeanloz, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, 54, 3570-3576.

Da die Reaktivität der 3-Hydroxygruppe durch eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen der freien Hydroxyfunktion und der benachbarten Acetamidogruppe herabgesetzt ist,<sup>109</sup> werden dem Allylbromid katalytische Mengen Tetrabutylammoniumiodid zugesetzt, so dass sich intermediär das wesentlich reaktivere Allyliodid bildet. Ohne Zusatz von Tetrabutylammoniumiodid gelingt die Reaktion nicht.<sup>104</sup> Werden mehr als 1.1 Äquivalente Natriumhydrid und Allylbromid eingesetzt, wird in einer Nebenreaktion auch der Stickstoff der Acetamidogruppe allyliert.<sup>110,111</sup> Um den Akzeptor **24** für die Einführung des Galactose-Bausteins zu erhalten, muss das 4,6-*O*-Benzylidenacetal **31** regioselektiv zum 6-*O*-Benzylether **24** geöffnet werden. Dies gelingt unter reduktiven Bedingungen mit Natriumcyanoborhydrid und einer gesättigten Lösung von Chlorwasserstoff in Diethylether (Abb. 3.4).

Dabei wird das stärker abgeschirmte, aber basischere Sauerstoffatom in der 4-Position protoniert, so dass anschließend Natriumcyanoborhydrid den Acetalring durch Hydridübertragung zum 6-*O*-Benzylether **24** öffnet. Die Bildung des 4-*O*-Benzylethers wird unter diesen Reaktionsbedingungen vollständig unterdrückt. Unter Verwendung einer voluminösen Lewis-Säure, wie z.B. Aluminiumtrichlorid anstatt des Chlorwasserstoffs wird dagegen der sterisch leichter zugängliche Sauerstoff in der 6-Position aktiviert. Bei der anschließenden Hydridübertragung durch Lithiumaluminiumhydrid wird das Acetal selektiv zum 4-*O*-Benzylether geöffnet (Abb. 3.5).<sup>94</sup>

Regioselektive Benzylidenacetalöffnung mit Protonen:



Regioselektive Benzylidenacetalöffnung mit voluminösen Lewis-Säuren:

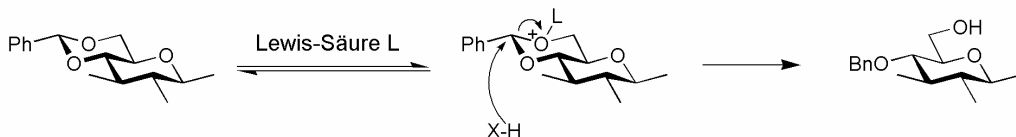


Abb. 3.5: Mechanismus der regioselektiven 4,6-*O*-Benzylidenacetalöffnung.

Die Reinigung des Produkts **24** bereitet erhebliche Probleme, da sich die Borverunreinigungen nur schwer abtrennen lassen. Diese müssen aber vollständig entfernt

<sup>109</sup> J. März, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1991**.

<sup>110</sup> C. Filser, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2001**.

<sup>111</sup> O. Knöll, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2004**.

werden, da sie sonst die freie Hydroxygruppe komplexieren und so die nachfolgende Galactosylierung beeinträchtigen.<sup>112</sup> Nach zahlreichen Waschschrritten und einer Flashchromatographie kann der Glucosamin-Baustein **24** in 73%iger Ausbeute und frei von Borverunreinigungen erhalten werden.

Um die Probleme mit den Borverunreinigungen zu umgehen, wird die 4,6-*O*-Benzylidenacetalöffnung im System Trifluoressigsäure/Triethylsilan in Tetrahydrofuran nach DeNinno getestet.<sup>113</sup> Aber auch nach Zugabe von fünf Äquivalenten Trifluoressigsäure/Triethylsilan und sieben Tagen Rühren bei Raumtemperatur kann an diesem Substrat kein Umsatz beobachtet werden.

### 3.1.2 Der Galactose-Baustein

Für den Aufbau des Trichloracetimidats **23** hat sich die in Abb. 3.6 dargestellte literaturbekannte Strategie bewährt.<sup>114,115,116,117</sup> Durch säurekatalysierte Reaktion von D-Galactose (**32**) mit Aceton wird 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose (**33**) als Rohprodukt quantitativ erhalten.<sup>114</sup>

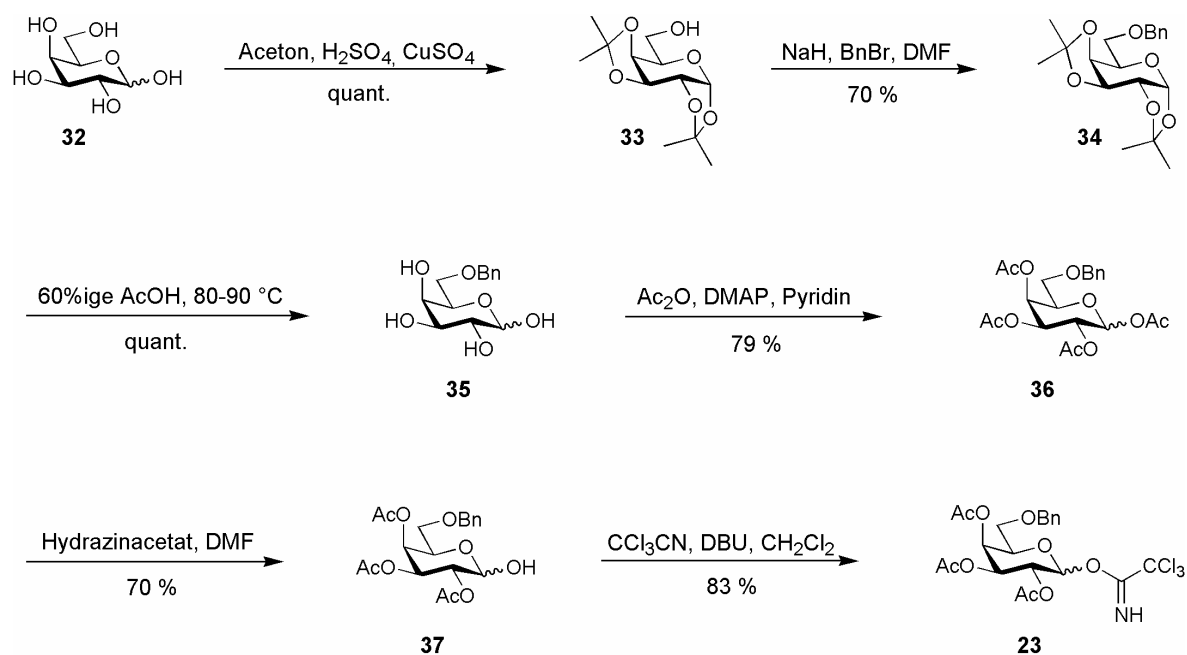


Abb. 3.6: Die Synthese des Galactose-Bausteins **23**.

<sup>112</sup> U. Sprengard, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1993**.

<sup>113</sup> M. P. DeNinno, J. B. Etienne, K. C. Duplantier, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 669-672.

<sup>114</sup> O. T. Schmidt in *Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol. II* (Hrsg.: R. L. Whistler, M. L. Wolfrom, J. N. BeMiller), Academic Press Inc., New York, London, **1963**, S. 318-325.

<sup>115</sup> X. Pannecoucke, G. Schmitt, B. Luu, *Tetrahedron* **1994**, 50, 6569-6578.

<sup>116</sup> H. Herzner, J. Eberling, M. Schultz, J. Zimmer, H. Kunz, *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, 17, 759-776.

<sup>117</sup> E. Eichler, H. J. Jennings, M. Gilbert, D. M. Whitfield, *Carbohydr. Res.* **1999**, 319, 1-16.

Wasserfreies Kupfer(II)-sulfat fängt das bei der Acetalisierung entstehende Wasser ab. Die primäre Hydroxygruppe wird mit Natriumhydrid deprotoniert und anschließend mit Benzylbromid zum Galactose-Derivat **34** verethert (Ausbeute: 70 %).<sup>115</sup> Mit warmer, wässriger Essigsäure werden die Isopropylidengruppen quantitativ abgespalten. Das Rohprodukt **35** wird ohne weitere Reinigung mit Essigsäureanhydrid, Pyridin und katalytischen Mengen an 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin in 79%iger Ausbeute zur 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (**36**) umgesetzt.<sup>115</sup> Die selektive Hydrazinolyse der anomeren Acetylgruppe zur 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (**37**) gelingt mit Hydrazinacetat in *N,N*-Dimethylformamid in 70%iger Ausbeute.<sup>116</sup> Der Reaktionsverlauf muss dabei dünnschichtchromatographisch verfolgt werden, um Nebenreaktionen wie die Wanderung oder die weitere Hydrazinolyse von Acetylgruppen zu vermeiden. Die Synthese des Trichloracetimidats **23** erfolgt durch basenkatalysierte Reaktion von Trichloracetonitril mit dem in der 1-Position ungeschützten Galactose-Derivat **37**.<sup>117,118</sup> Nach flashchromatographischer Reinigung wird eine Fraktion reines  $\alpha$ -Anomer (59 %) sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemisches (24 %) erhalten. Bei der flashchromatographischen Reinigung empfiehlt sich der Zusatz von 0.1 % Triethylamin zum Laufmittelgemisch, da das  $\beta$ -Anomer sonst teilweise hydrolysiert wird. Für die nachfolgende Galactosylierung des Glucosamin-Baustein **24** kann auch das  $\alpha,\beta$ -Gemisch eingesetzt werden, da aufgrund der nachbargruppenaktiven Acetylgruppe selektiv das  $\beta$ -verknüpfte Disaccharid entsteht. Eine Trennung der Anomere ist daher nicht notwendig.

### 3.1.3 Der Neuraminsäure-Baustein

Als Neuraminsäure-Baustein wird in dieser Arbeit das von Marra und Sinaÿ erstmals in Sialylierungen von Sacchariden eingesetzte Xanthogenat **13**<sup>119</sup> verwendet. Im ersten Schritt wird *N*-Acetyl-D-neuraminsäure (**38**) durch den sauren Ionenaustauscher Dowex<sup>®</sup> 50WX8-200 in Methanol verestert und anschließend durch Essigsäureanhydrid und Pyridin in 80%iger Ausbeute zur Verbindung **39**<sup>120,121</sup> peracetyliert (Abb. 3.7).<sup>122</sup>

Daraus ist das Neuraminsäurechlorid **40** in quantitativer Ausbeute durch Behandlung mit Acetylchlorid und konzentrierter Salzsäure in Dichlormethan erhältlich. Aufgrund des anomeren Effekts entsteht ausschließlich das  $\beta$ -Anomer. Da das Chlorid **40** nicht sehr stabil ist, wird es ohne weitere Reinigung umgehend mit Kaliumxanthogenat in einer

<sup>118</sup> Trichloracetimidatverfahren von Schmidt: R. R. Schmidt, J. Michel, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 763-764.

<sup>119</sup> A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1989**, *187*, 35-42.

<sup>120</sup> R. Kuhn, P. Lutz, D. L. MacDonald, *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 611-617.

<sup>121</sup> A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1989**, *190*, 317-322.

<sup>122</sup> J. Xue, Y. Pan, Z. Guo, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1599-1602.

$S_N2$ -Reaktion zum Neuraminsäure-Baustein **13** umgesetzt (Ausbeute 67%).<sup>119</sup> Dabei entsteht zu ca. 10 % (durch NMR-Spektroskopie bestimmt) das Eliminierungsprodukt **41**, welches sich flashchromatographisch kaum vollständig abtrennen lässt. Da dieses Eliminierungsprodukt Glycosylierungen aber nicht beeinflusst und zudem sowieso bei Sialylierungen als Nebenprodukt entsteht, kann auf eine aufwendige Trennung verzichtet werden.

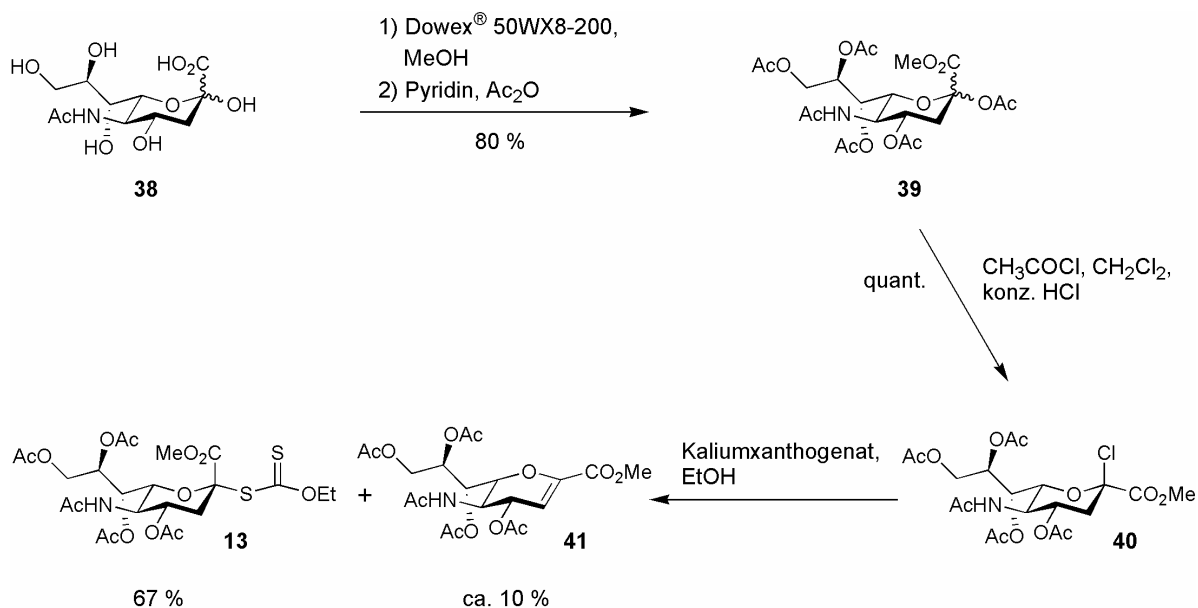


Abb. 3.7: Die Synthese des Neuraminsäure-Bausteins **13**.

### 3.1.4 Der Cyclohexylmilchsäure-Baustein

Aufgrund von Modeling-Studien synthetisierten Kolb und Ernst sLe<sup>x</sup>-Derivate, in denen die Neuraminsäure durch (*S*)-Cyclohexylmilchsäure substituiert ist.<sup>62</sup> Daraufhin stellten Ernst et al. sowie Thoma et al.<sup>63</sup> (Novartis) zahlreiche solcher Mimetika her, die sich in biologischen Tests als potente E-Selektin-Antagonisten erwiesen und zudem nicht durch Sialyltransferasen abgebaut werden (vgl. Seite 10). Bisher wurde allerdings noch kein sLe<sup>x</sup>-Glycopeptid-Mimetikum mit einem Cyclohexylmilchsäure-Baustein synthetisiert. Daher wird in dieser Arbeit der (*R*)-Cyclohexylmilchsäure-Baustein **17** als Mimetikum der Neuraminsäure hergestellt. Da die Kupplung des Triflats **17** an die Trisaccharide **14-16** als  $S_N2$ -Reaktion unter Inversion abläuft, muss das *R*-Enantiomer der Cyclohexylmilchsäure eingesetzt werden, um in den Produkten die erforderliche *S*-Konfiguration des Milchsäure-Derivates zu erhalten. Dazu wird D-Phenylalanin (**42**) diazotiert und anschließend unter Retention in 65%iger Ausbeute zur  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **43** hydrolysiert (Abb. 3.8).<sup>123</sup>

<sup>123</sup> F. Degerbeck, B. Fransson, L. Grehn, U. Ragnarsson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1993**, 11-14.

Neuere Untersuchungen dieser Reaktion durch analytische HPLC an einer chiralen Säule deuten darauf hin, dass doch zu einem kleinen Anteil (2-5 %) das *S*-Enantiomer gebildet wird.<sup>124</sup>

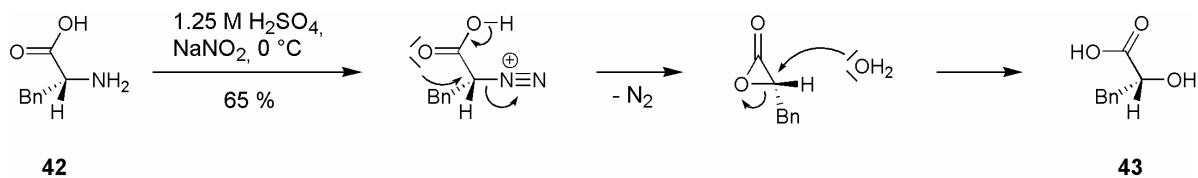


Abb. 3.8: Der Mechanismus zur Bildung von (*R*)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure (**43**).

In dieser Arbeit wird als Bestätigung der optischen Reinheit nur der Drehwert von Verbindung **43** herangezogen, eine analytische HPLC-Kontrolle an einer chiralen Säule wird nicht durchgeführt. Sollten sich kleine Mengen des *S*-Enantiomers bilden, erhielte man nach Kupplung des Triflats **17** an die Trisaccharide **14-16** Diastereomergemische, die dann durch eine normale RP-HPLC sowie durch NMR-Spektroskopie detektiert und flashchromatographisch getrennt werden könnten. Die Bildung solcher Diastereomergemische wird allerdings in dieser Arbeit nicht beobachtet. Nach quantitativer Veresterung der  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäure **43** durch den sauren Ionenaustauscher Dowex<sup>®</sup> 50WX8-200 in Methanol, wird der Phenylring des Methylesters **44** über Rhodium auf aktiviertem Aluminiumoxid mit Wasserstoff hydriert (Ausbeute: 89 %). Den fertigen Cyclohexylmilchsäure-Baustein **17** erhält man durch Umsetzung von Verbindung **45** mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid und 2,6-Lutidin (2,6-Dimethylpyridin) in 91%iger Ausbeute (Abb. 3.9).<sup>125</sup> Wird als Base Pyridin verwendet, tritt eine Eliminierung zur  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Verbindung auf. Das Triflat **17** kann bei  $-30\text{ }^\circ\text{C}$  ohne Zersetzung monatelang gelagert werden.

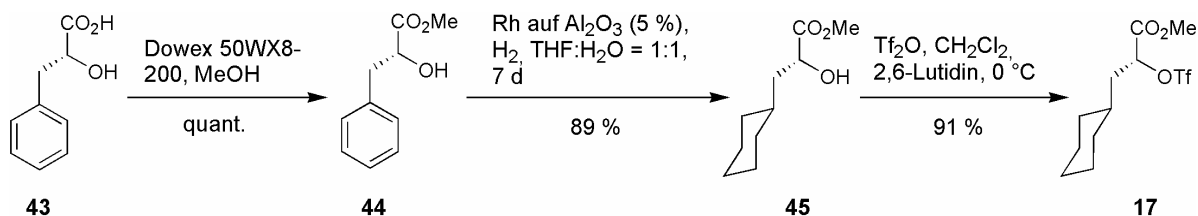


Abb. 3.9: Die Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **17**.

<sup>124</sup> T. Storz, P. Dittmar, *Org. Process Res. Dev.* **2003**, 7, 559-570.

<sup>125</sup> R. V. Hoffman, J. Tao, *Tetrahedron* **1997**, 53, 7119-7126.

### 3.1.5 Der Fucose-Baustein

Der Fucose-Baustein **18** wird nach der Vorschrift von Lönn in vier Stufen aus L-Fucose (**46**) synthetisiert (Abb. 3.10).<sup>126</sup>

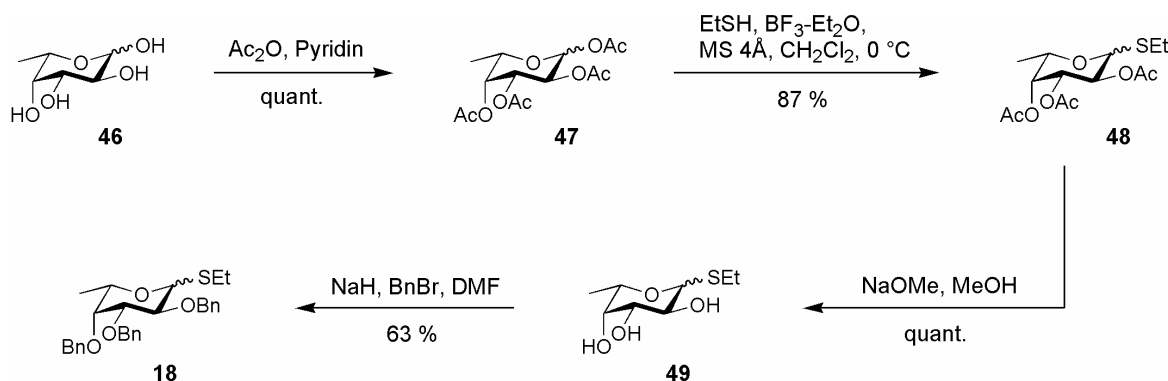


Abb. 3.10: Die Synthese des Fucose-Bausteins **18**.

Im ersten Schritt wird L-Fucose (**46**) mit Essigsäureanhydrid und Pyridin quantitativ acetyliert. Das Thioglycosid **48** erhält man in 87%iger Ausbeute durch Umsetzung der peracetylierten Fucose **47** mit Ethanthiol und Bortrifluorid-Diethylether als Promotor. Nach quantitativer Deacetylierung der Verbindung **48** mit Natriummethanolat in Methanol werden die freien Hydroxygruppen des Fucose-Derivats **49** mit Natriumhydrid deprotoniert und dann mit Benzylbromid zum fertigen Fucose-Baustein **18** verethert (Ausbeute: 63 %). Dieser trägt am anomeren Zentrum eine stabile, aktivierbare Thioethylgruppe und an der 2-Position eine Benzyletherschutzgruppe, die nicht nachbargruppenaktiv ist, was eine notwendige Voraussetzung für die Knüpfung einer  $\alpha$ -fucosidischen Bindung ist. Da bei der Fucosylierung beide Anomere des Fucose-Bausteins **18** eine  $\alpha$ -glycosidische Bindung ergeben (vgl. Kapitel 3.1.9), kann das  $\alpha,\beta$ -Gemisch für die Fucosylierung verwendet werden. Es muss nicht aufgetrennt werden.

### 3.1.6 Der Arabinose-Baustein

In Analogie zur Synthese des Fucose-Bausteins wird der Arabinose-Baustein **19** hergestellt. Nach quantitativer Acetylierung von D-Arabinose (**50**) mit Essigsäureanhydrid und Pyridin erhält man das Anomerengemisch **51**, welches mit Ethanthiol und Bortrifluorid-Diethylether in 47%iger Ausbeute zum Thioglycosid **52** umgesetzt wird (Abb. 3.11).<sup>70,127</sup> M. Rösch führte in seiner Dissertation die mäßige Ausbeute auf die Säurelabilität dieses Bausteines

<sup>126</sup> H. Lönn, *Carbohydr. Res.* **1985**, *139*, 105-113.

<sup>127</sup> M. Rösch, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1999**.

zurück.<sup>127</sup> Dies kann in dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Vielmehr liegt der Grund für die mäßige Ausbeute in der durch den anomeren Effekt hervorgerufenen Stabilität des peracetylierten  $\beta$ -Anomers **51 $\beta$** , das selbst mit Lewis-Säuren wie z.B. Bortrifluorid-Diethylether nicht zum Thioglycosid **52** reagiert und bei der flashchromatographischen Reinigung zurückgewonnen wird.



Abb. 3.11: Die Synthese des Thioglycosids **52**.

Auch bei anderen Kohlenhydrat-Bausteinen wie z.B. der peracetylierten Glucose oder Galactose ist diese Stabilität der axialen 1-O-Acetyl-Saccharide gegenüber Lewis-Säuren bei Glycosylierungen beschrieben worden.<sup>128</sup> Erstaunlich ist, dass das entsprechende peracetylierte Fucose-Derivat **47** anders als die analoge Arabinose-Verbindung mit Ethanthiol und Bortrifluorid-Diethylether reagiert. Um die Ausbeute zu erhöhen, müsste man die Reaktionsbedingungen bei der Acetylierung so wählen, dass der Anteil des Anomers, bei dem die Acetylgruppe am anomeren Zentrum äquatorial steht, erhöht wird. Bekanntermaßen kann das durch die Verwendung von Natriumacetat in siedender Essigsäure erreicht werden. Wendet man diese Reaktionsbedingungen auf die Arabinose an, verbessert sich zwar das Verhältnis des  $\alpha$ -Anomers zum  $\beta$ -Anomer, allerdings entstehen dann in zunehmendem Maße auch die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Furanoseformen, die mit Ethanthiol und Bortrifluorid-Diethylether zu den entsprechenden  $\alpha,\beta$ -Thiofuranosiden reagieren. Diese sind nur schwer von den gewünschten  $\alpha,\beta$ -Thiopyranosiden zu trennen, was diese Methode im Falle der Arabinose oder auch der Galactose unvorteilhaft macht. Alle anderen literaturbekannten Methoden zur selektiven Synthese des  $\alpha$ -Anomers der Arabinose benötigen zusätzliche Syntheseschritte und erhöhen damit den präparativen Aufwand. Da die Arabinose aber nicht teuer ist und das nicht umgesetzte peracetylierte  $\beta$ -Anomer leicht vom Thioglycosid **52** abzutrennen ist, stellt die mäßige Ausbeute von 47 % kein Problem dar. Nach quantitativer Deacetylierung der Verbindung **52** mit Natriummethanolat in Methanol werden die freien Hydroxygruppen des Arabinose-Derivats **53** mit Natriumhydrid deprotoniert und dann mit Benzylbromid zum fertigen Arabinose-Baustein **19** verethert (Ausbeute: 78 %, Abb. 3.12).<sup>70,127</sup>

<sup>128</sup> B. Ernst, G. W. Hart, P. Sinaÿ (Hrsg.), *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Wiley-VCH, Weinheim, 2000.

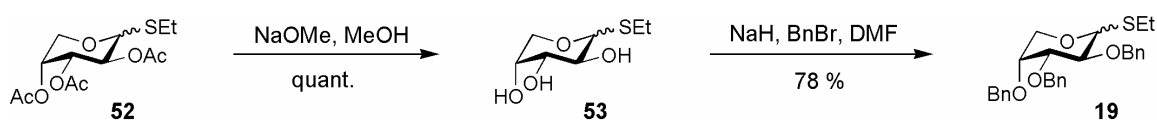


Abb. 3.12: Die Synthese des Arabinose-Bausteins **19**.

### 3.1.7 Der L-Galactose-Baustein

Da die benötigten Mengen an L-Galactose (**57**) viel zu teuer sind (bei Fluka: 1 g: 594.10 €, bei Acros: 1 g: 424.50 €) wird sie in dieser Arbeit aus dem sehr viel preiswerteren (bei Sigma: 5 g: 74 €) L-Galactono-1,4-lacton (**54**) durch Reduktion des Lactons zum Aldehyden synthetisiert. Ursprünglich wurde diese Reaktion mit Natriumamalgam durchgeführt.<sup>129</sup> Um die Verwendung von Quecksilber zu vermeiden, verwendeten Thiem et al. in situ hergestelltes Diisoamylboran zur Reduktion verschiedener Kohlenhydrat-Lactone.<sup>130</sup> In Analogie dazu wird im ersten Schritt L-Galactono-1,4-lacton (**54**) quantitativ mit Essigsäureanhydrid und Pyridin acetyliert (Abb. 3.13).<sup>131</sup> Aus Boran-Dimethylsulfid und 2-Methyl-but-2-en in Dichlormethan wird in situ Diisoamylboran hergestellt, welches zur Reduktion von Verbindung **55** zur peracetylierten  $\alpha,\beta$ -L-Galactofuranose **56** verwendet wird (Ausbeute: 90 %). Durch Deacetylierung mit Natriummethanolat in Methanol erhält man nach Umkristallisation aus Methanol in 85%iger Ausbeute L-Galactose (**57**).

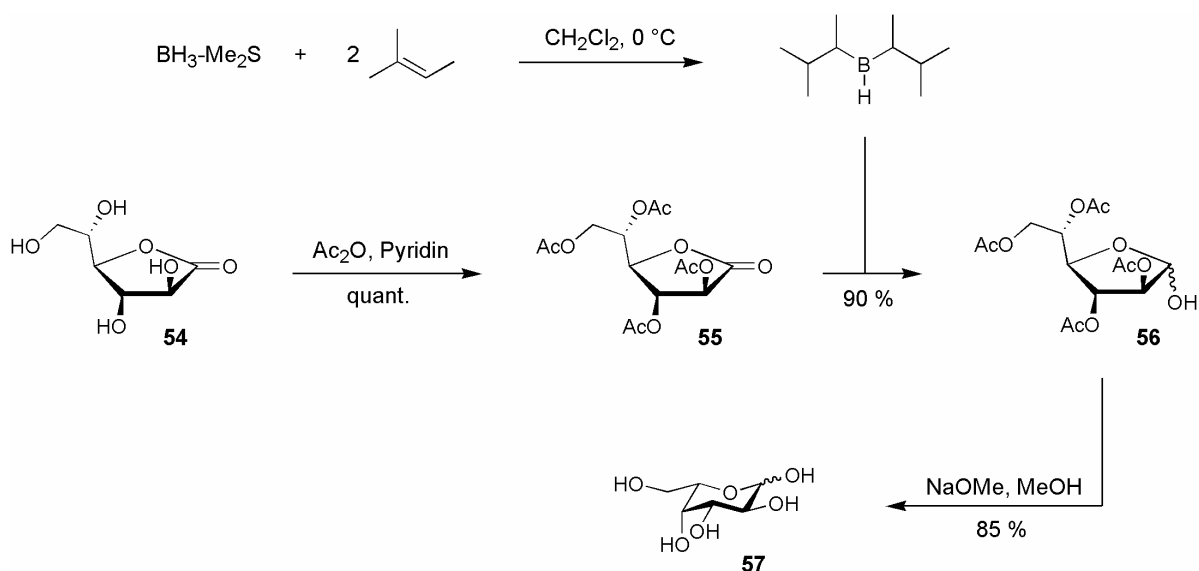


Abb. 3.13: Die Synthese von L-Galactose (**57**).

<sup>129</sup> H. L. Frush, H. S. Isbell in *Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol. I* (Hrsg.: R. L. Whistler, M. L. Wolfrom, J. N. BeMiller, F. Shafizadeh), Academic Press, New York, London, **1962**, S. 127-130.

<sup>130</sup> In diesem Artikel ist auch die Synthese von L-Galactose aus L-Galactono-1,4-lacton unter Verwendung von Natriumborhydrid beschrieben: H. Binch, K. Stangier, J. Thiem, *Carbohydr. Res.* **1998**, *306*, 409-419.

<sup>131</sup> M. L. Wolfrom, J. M. Berkebile, A. Thompson, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 2360-2362.

Wie schon bei der Arabinose müssen auch bei der L-Galactose die Reaktionsbedingungen bei der Acetylierung so gewählt werden, dass ein möglichst hoher Anteil der reaktiveren peracetylierten  $\beta$ -Pyranose **58b** entsteht, da die durch den anomeren Effekt stabilisierte  $\alpha$ -Pyranose **58a** nicht mit Ethanthiol und Bortrifluorid-Diethylether reagiert. Da unter Verwendung von Essigsäureanhydrid und Pyridin überwiegend das unerwünschte Anomer **58a** entsteht, wird als Acetylierungsreagenz Natriumacetat in siedendem Essigsäureanhydrid verwendet, wodurch Verbindung **58b** als Hauptprodukt erhalten wird. Dabei entstehen allerdings auch die L-Galactofuranoside **58c** und **58d** (Abb. 3.14), die flashchromatographisch kaum abzutrennen sind (das Isomerenverhältnis wurde durch NMR-Spektroskopie bestimmt).

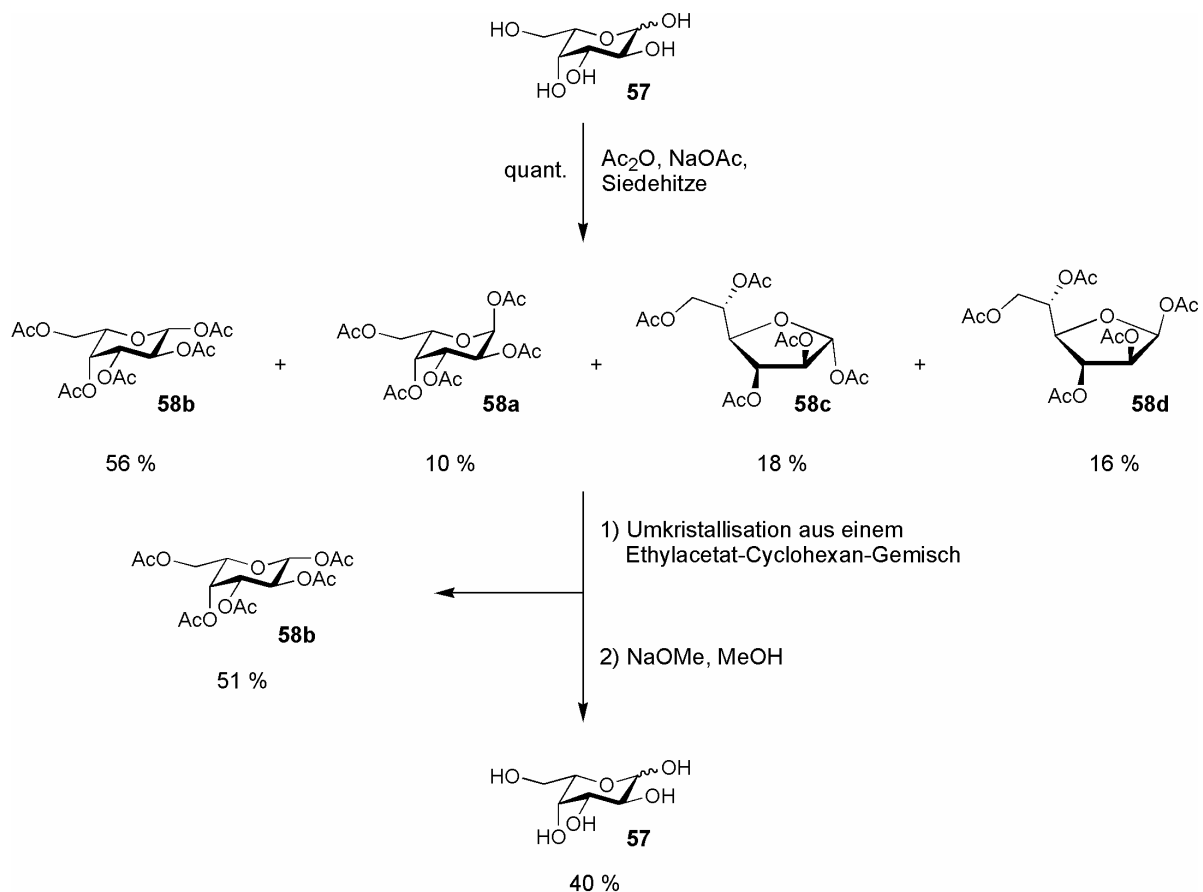


Abb. 3.14: Die Acetylierung von L-Galactose (**57**).

Auch durch Variation der Reaktionsbedingungen konnte das Isomerenverhältnis nicht weiter zugunsten des Anomers **58b** verschoben werden. Die Entstehung der L-Galactofuranoside bereitet aber keine größeren Probleme, da das gewünschte Produkt **58b** aus einem Ethylacetat-Cyclohexan-Gemisch in 51%iger Ausbeute auskristallisiert, während die drei anderen Isomere **58a**, **58c** und **58d** fast vollständig in Lösung bleiben. Diese werden mit Natriummethanolat in Methanol deacetyliert, wodurch nach Umkristallisation aus

Methanol die wertvolle L-Galactose zu 40 % zurückgewonnen wird. Insgesamt gehen also nur 9 % der L-Galactose verloren.

Die peracetylierte  $\beta$ -L-Galactose **58b** wird mit Ethanthiol und Bortrifluorid-Diethylether zum Thioglycosid **59** in 84%iger Ausbeute umgesetzt (Abb. 3.15). Nach quantitativer Deacetylierung der Verbindung **59** mit Natriummethanolat in Methanol werden die freien Hydroxygruppen des L-Galactose-Derivats **60** mit Natriumhydrid deprotoniert und dann mit Benzylbromid zum fertigen L-Galactose-Baustein **20** verethert (Ausbeute: 84 %).

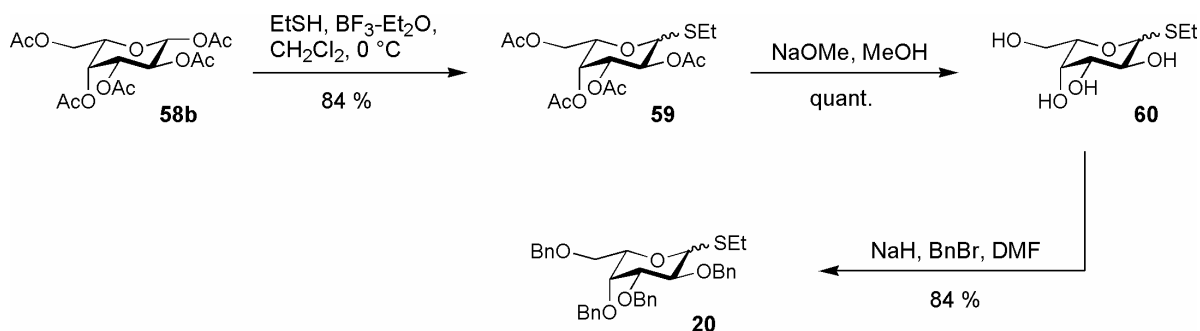


Abb. 3.15: Die Synthese des L-Galactose-Bausteins **20**.

### 3.1.8 Der Disaccharid-Baustein

Üblicherweise wird bei der Synthese von  $\text{sLe}^x$  zuerst die Fucose in die 3-Position des Glucosamins eingeführt, dann die Galactose in die 4-Position und als letztes die Neuraminsäure (vgl. Kapitel 1.6). Dieser Syntheseweg hat mehrere Nachteile. Zum einen wird der nach der Neuraminsäure teuerste Baustein, die Fucose, als erster Zucker eingeführt. Er muss also in größeren Mengen hergestellt werden. Zum anderen wird die ohnehin geringe Reaktivität der 4-Hydroxygruppe der Glucose durch den Raumbedarf der Fucose in der 3-Position so weit herabgesetzt, dass die Galactosylierung selbst mit den reaktiven Trichloracetimidaten meist nur noch mit mäßigen Ausbeuten durchzuführen ist. Außerdem dürfen bei allen weiteren Reaktionen aufgrund der säurelabilen fucosidischen Bindung die Reaktionsbedingungen nicht zu sauer werden, was z.B. bei der Aktivierung von Trichloracetimidaten mit Trimethylsilyltrifluormethansulfonat oder bei der Acetalöffnung mit HCl in Diethylether zu Problemen führen kann. Um diese Schwierigkeiten zu umgehen, wird in dieser Arbeit zuerst die Galactose in Form des reaktiven Trichloracetimidats **23** in die Oligosaccharidsynthese eingeführt, anschließend die Fucose (bzw. Arabinose und L-Galactose) und zuletzt die Neuraminsäure (bzw. die Cyclohexylmilchsäure).

Das Trichloracetimidat **23** wird nach dem Schmidt'schen Trichloracetimidatverfahren mit einer Lewis-Säure (hier: Trimethylsilyltrifluormethansulfonat) aktiviert.<sup>118,132</sup> Unter diesen Bedingungen wird die Allyletherschutzgruppe des Glucosamin-Bausteins **24** nicht angegriffen und das Disaccharid **22** in 70%iger Ausbeute erhalten (Abb. 3.16).

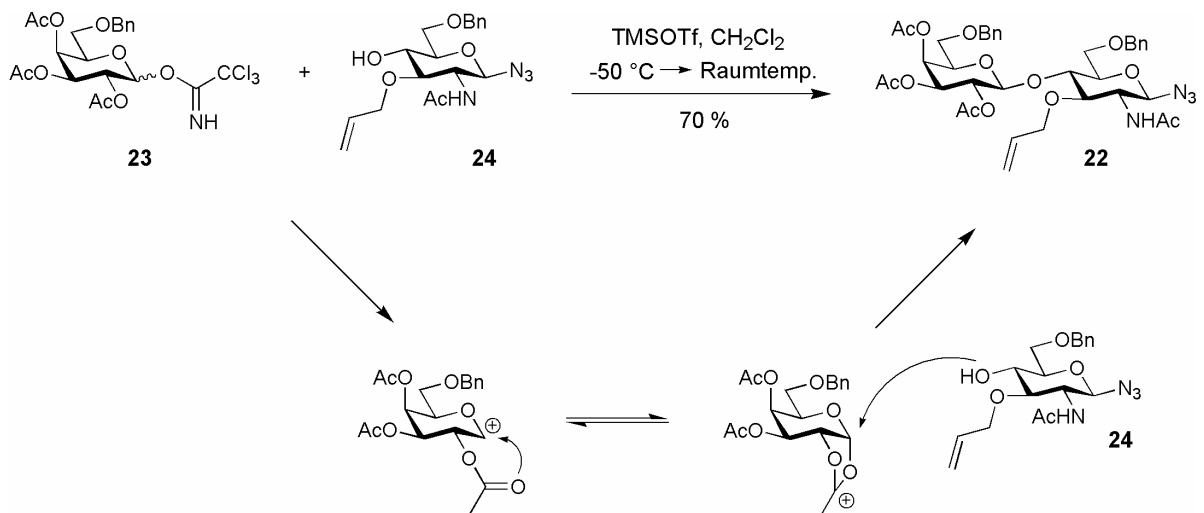


Abb. 3.16: Die Synthese des allyletherschutzten Disaccharids **22**.

Da die Galactose in der 2-Position eine nachbargruppenaktive Acetylschutzgruppe trägt, kann sowohl das  $\alpha$ -Anomer als auch das  $\beta$ -Anomer des Trichloracetimidats **23** eingesetzt werden, um die  $\beta$ -glycosidische Bindung zu knüpfen. Das Vorliegen der  $\beta$ -glycosidischen Bindung im Produkt **22** wird durch die Kopplungskonstante des Dubletts von H-1 der Galactose,  $^3J_{1,2} = 8.2$  Hz, eindeutig belegt. Um das Disaccharid **22** für die Glycosylierungen zu den Trisacchariden vorzubereiten, muss der Allylether in der 3-Position des Glucosamin-Restes abgespalten werden. In der Literatur sind zahlreiche Methoden zur Spaltung von Allylethern beschrieben.<sup>133</sup> Meistens werden diese Übergangsmetallkatalysiert zu Prop-1-enylethern isomerisiert, die anschließend unter leicht sauren Bedingungen gespalten werden können (Abb. 3.17).

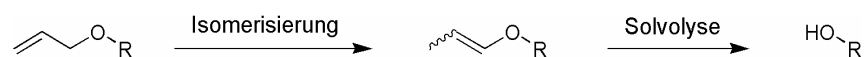


Abb. 3.17: Die Isomerisierung von Allylethern zu Prop-1-enylethern und deren anschließende Solvolyse.

Dabei kann zur Isomerisierung des Allylethers **22** nicht auf den Wilkinson-Katalysator Tris(triphenylphosphin)rhodium(I)-chlorid zurückgegriffen werden, da dieser, um den Allylether zu koordinieren, Triphenylphosphin teilweise freigibt, welches die anomere

<sup>132</sup> R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 213-236.

<sup>133</sup> F. Guibé, *Tetrahedron* **1997**, 53, 13509-13556.

Azidogruppe nach Staudinger zum Amin reduzieren kann.<sup>104</sup> Außerdem wird in der Literatur immer wieder beschrieben, dass bei Verwendung des Wilkinson-Katalysators der Allylether zum Teil zum Propylether hydriert wird, welcher nicht mehr abgespalten werden kann.<sup>133</sup> Im Wesentlichen werden zwei Mechanismen für die Isomerisierung des Allylethers zum Prop-1-enylether diskutiert, welche in Abb. 3.18 schematisch dargestellt sind (die Liganden des Metalls M sind aufgrund besserer Übersichtlichkeit nicht eingezeichnet).<sup>133</sup>

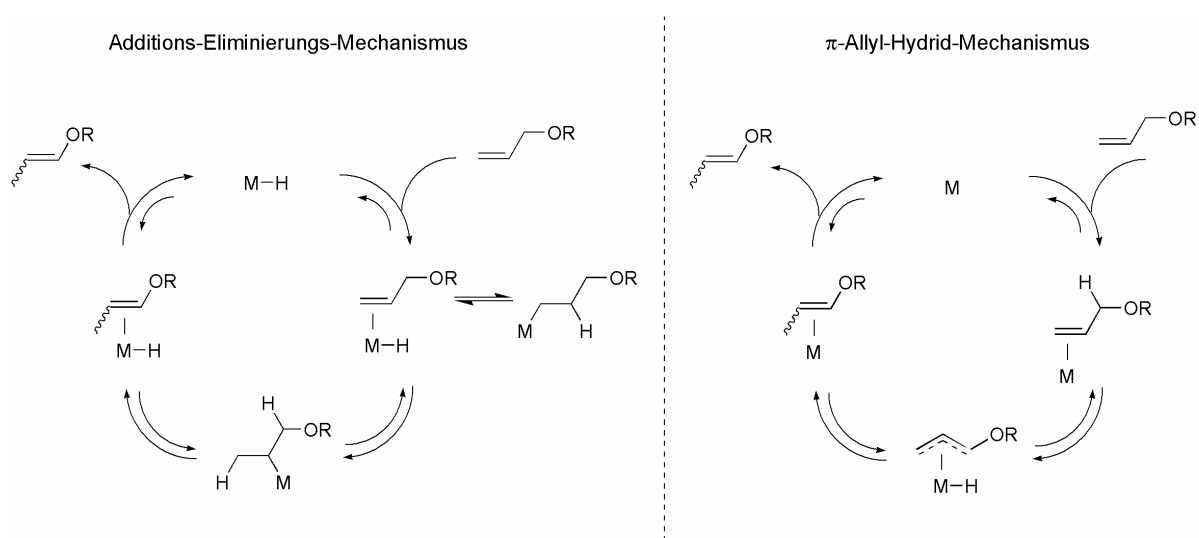
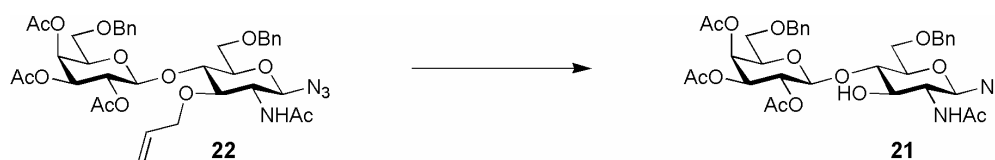


Abb. 3.18: Die zwei Isomerisierungs-Mechanismen von Allylethern zu Prop-1-enylethern.

Im Additions-Eliminierungs-Mechanismus koordiniert ein Metallhydrid an die Doppelbindung und überträgt anschließend ein Hydrid auf den Allylether. Durch eine β-Eliminierung entsteht dann entweder die Ausgangsverbindung wieder zurück oder der gewünschte Prop-1-enylether. Im π-Allyl-Hydrid-Mechanismus koordiniert kein Metallhydrid, sondern das Metall (mit Liganden) allein an die Doppelbindung. Nach einer 1,3-Wasserstoff-Verschiebung wird der Prop-1-enylether erhalten. Durch Deuterium-Austausch-Experimente kann zwischen den beiden Mechanismen unterschieden werden, da nur beim Additions-Eliminierungs-Mechanismus Deuterium in die 2-Position eingebaut wird. Von den einstufigen Abspaltungsverfahren wird am häufigsten die Methode von Ogawa<sup>134</sup> unter Verwendung von Palladium(II)-chlorid in äquimolaren Mengen angewandt, welche auch in dieser Arbeit getestet werden soll. Der exakte Reaktionsmechanismus dieser Allyletherspaltung ist nicht bekannt, wobei verschiedene Möglichkeiten in der Literatur diskutiert werden.<sup>133</sup> Versetzt man das Disaccharid **22** mit mindestens stöchiometrischen Mengen an Palladium(II)-chlorid in einem Natriumacetat-Essigsäure-Wasser-Gemisch bei 50 °C, so erhält man das gewünschte Produkt **21** in 49%iger Ausbeute (Abb. 3.19).

<sup>134</sup> T. Ogawa, S. Nakabayashi, *Carbohydr. Res.* **1981**, *93*, c1-c5.

Von der mäßigen Ausbeute abgesehen, stellt der Einsatz von stöchiometrischen Mengen des teuren Palladium(II)-chlorids einen erheblichen Nachteil dar. Daher wird in einer Variante nach Ogawa die Allyletherabspaltung mit sub-stöchiometrischen Mengen an Palladium(II)-chlorid in Methanol bei Raumtemperatur durchgeführt. Dadurch wird nicht mehr so viel Palladium(II)-chlorid benötigt, die Ausbeute (47 %) verbessert sich aber nicht. In einem weiteren Versuch soll nach der Methode von Nagakura<sup>135</sup> der Allylether durch 4-Toluolsulfinsäure und katalytischen Mengen an Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) gespalten werden. Allerdings wird weder in 1,4-Dioxan noch in 1,2-Dimethoxyethan<sup>136</sup> ein Umsatz beobachtet. Auch durch die Verwendung einer neuen Charge des Katalysators und frisch hergestellter 4-Toluolsulfinsäure in destillierten und entgasten Lösungsmitteln gelingt die Reaktion nicht.



Methode A: 1.1 Äquiv. PdCl<sub>2</sub>, NaOAc, AcOH, H<sub>2</sub>O, 50 °C, 49 %

Methode B: 0.27 Äquiv. PdCl<sub>2</sub>, MeOH, 47 %

Methode C: Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, 4-Toluolsulfinsäure, 1,4-Dioxan oder DME, keine Reaktion

Methode D: 1) [Ir<sup>I</sup>(COD)(PMePh<sub>2</sub>)<sub>2</sub>][PF<sub>6</sub>], absol. THF, H<sub>2</sub>

2) 4-Toluolsulfonsäure, MeOH, 85 %

Abb. 3.19: Die Synthese des deallylierten Disaccharids **21**.

Unter Anwendung des Baudry-Katalysators (1,5-Cyclooctadien-bis(methyldiphenylphosphin)iridium(I)-hexafluorophosphat, [Ir<sup>I</sup>(COD)(PMePh<sub>2</sub>)<sub>2</sub>][PF<sub>6</sub>])<sup>137,138</sup> verläuft die Isomerisierung zum Prop-1-enylether dagegen problemlos. Der Iridium(I)-Katalysator wird in absolutem und entgasten Tetrahydrofuran gelöst und unter einer Wasserstoffatmosphäre aktiviert, was durch die Farbänderung von orangerot nach hellgelb gut verfolgt werden kann. Dabei entsteht keine Metallhydrid-Spezies, vielmehr wird vermutlich eine Doppelbindung des Cyclooctadienrings hydriert, wodurch der aktive Katalysator entsteht. Daraus ist zu schließen, dass die Isomerisierung mit dem Baudry-Katalysator nach dem  $\pi$ -Allyl-Hydrid-Mechanismus verläuft. Nach der Aktivierung wird die Wasserstoffatmosphäre durch eine Argonatmosphäre ersetzt und der Allylether **22** hinzugegeben. Nach vollendeter Isomerisierung, die dünnschichtchromatographisch gut zu verfolgen ist, wird der

<sup>135</sup> M. Honda, H. Morita, I. Nagakura, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 8932-8936.

<sup>136</sup> T. Opatz, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 10185-10188.

<sup>137</sup> D. Baudry, M. Ephritikhine, H. Felkin, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 694-695

<sup>138</sup> J. J. Oltoort, C. A. A. van Boeckel, J. H. de Koning, J. H. van Boom, *Synthesis* **1981**, 305-308.

Prop-1-enylether durch Methanol und 4-Toluolsulfonsäure gespalten und das deallylierte Disaccharid **21** in 85%iger Ausbeute erhalten.

### 3.1.9 Die Trisaccharid-Bausteine

Als optimaler Weg zur Einführung der  $\alpha$ -L-fucosidischen (bzw.  $\alpha$ -L-galactosidischen und  $\beta$ -D-arabinosidischen) Bindung hat sich in vielen Synthesen das von Lemieux et al. entwickelte In-situ-Anomerisierungsverfahren erwiesen.<sup>93</sup> Dabei wird aus den thermodynamisch stabileren axialen Halogenosen **61a-c** durch Zusatz eines quartären Ammoniumsalzes wie Tetrabutylammoniumbromid ein Gleichgewicht zwischen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Halogenosen eingestellt (Abb. 3.20). Die äquatorialen Glycosylbromide **62a-c** sind wesentlich reaktiver als die axialen Glycosylbromide **61a-c**, da sie nicht durch den anomeren Effekt stabilisiert werden. Sie werden vom Disaccharid **21** in einer  $S_N2$ -Reaktion unter Ausbildung einer  $\alpha$ -glycosidischen bzw. im Falle der D-Arabinose einer  $\beta$ -glycosidischen Bindung angegriffen.

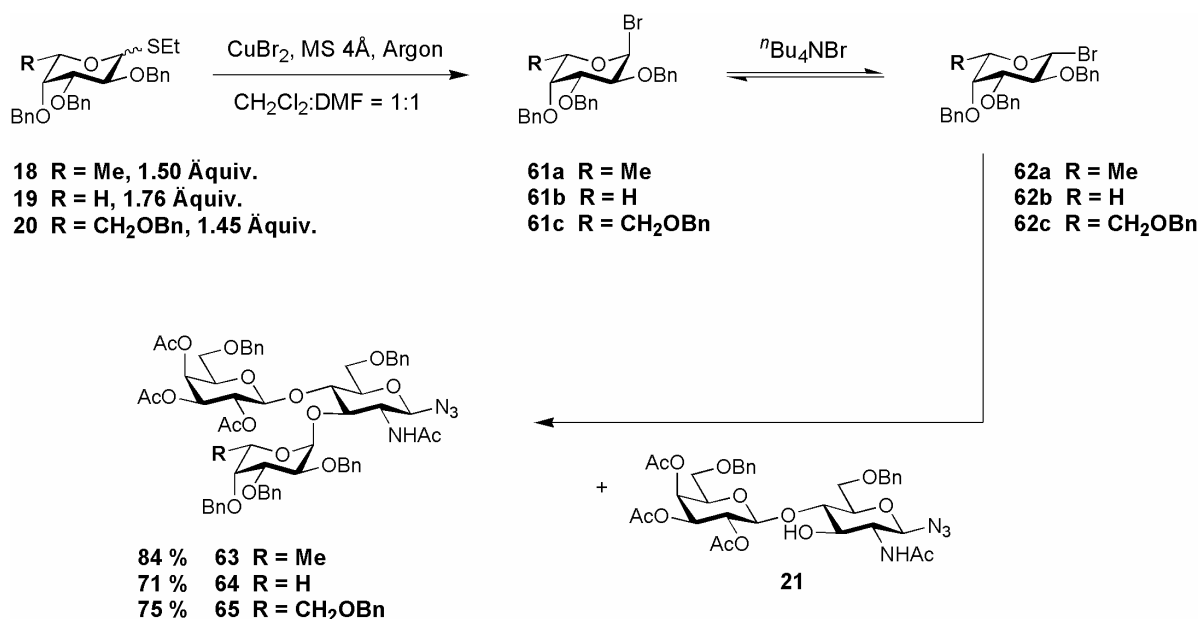


Abb. 3.20: Die Synthesen der vollständig geschützten Trisaccharide **63-65**.

Die umgesetzten äquatorialen Halogenosen **62a-c** werden durch die oben genannte Gleichgewichtsreaktion ständig aus den axialen Halogenosen **61a-c** nachgebildet. Ein Nachteil dieser Reaktion nach Lemieux ist der Einsatz von Halogenosen, da diese (mit Ausnahme der Glycosylfluoride) nicht sehr stabil sind. Daher werden in dieser Arbeit solche Glycosylierungen nicht mit den Glycosylbromiden **61a-c**, sondern mit den stabilen, lagerfähigen Thioglycosiden **18-20** in einer Variante nach Ogawa durchgeführt.<sup>92</sup> Dabei

werden, ausgehend von den Verbindung **18-20**, mit Kupfer(II)-bromid intermediäre Glycosylkationen erzeugt, die mit einem Bromidion zu den Glycosylbromiden **61a-c** reagieren, welche dann nach dem In-situ-Anomerisierungsverfahren zu den entsprechenden Trisacchariden **63-65** umgesetzt werden. Die Glycosyldonoren **18-20** werden im Überschuss eingesetzt, um die geringe Reaktivität der 3-Hydroxygruppe des Glucosamin-Restes zu kompensieren (vgl. Abb. 3.4). Das Vorliegen der axialen glycosidischen Bindung in den Produkten **63-65** wird durch die Kopplungskonstanten der Dubletts von H-1 der L-Fucose, der D-Arabinose und der L-Galactose eindeutig belegt: L-Fucose:  $^3J_{1,2} = 3.9$  Hz; D-Arabinose:  $^3J_{1,2} = 3.1$  Hz; L-Galactose:  $^3J_{1,2} = 3.5$  Hz. Durch Deacetylierung der Trisaccharide **63-65** mit Natriummethanolat in Methanol werden die Akzeptoren **14-16** für die nachfolgende Sialylierung bzw. für die Umsetzung mit dem Cyclohexylmilchsäure-Baustein **17** erhalten (Abb. 3.21).

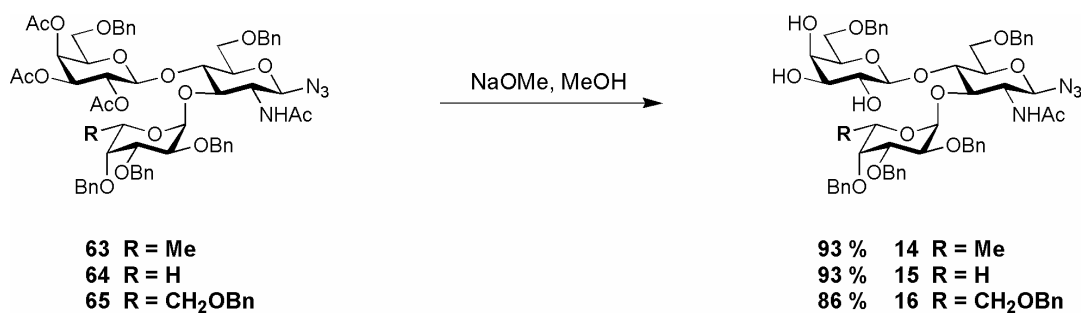


Abb. 3.21: Die Synthesen der deacetylierten Trisaccharide **14-16**.

### 3.1.10 Die Synthesen der Tetrasaccharide – die Sialylierung

Sialylierungen sind aufgrund struktureller Besonderheiten der Neuraminsäure im Allgemeinen schwieriger durchzuführen als andere Glycosylierungsreaktionen.<sup>139</sup> Durch die direkte Nachbarschaft des anomeren Zentrums zu einem Ester wird die Sialylierung sterisch erschwert. Zudem wirken sich die elektronenziehenden Effekte (–M-Effekt, –I-Effekt) der Carboxygruppe destabilisierend auf das während der Aktivierung entstehende Glycosylkation aus. So spaltet das Glycosylkation **66** leicht ein Proton unter Entstehung des Eliminierungsproduktes **41** ab, weshalb der teure Donor **13** im Überschuss zugegeben werden muss (Abb. 3.22). Neben der Bildung des Eliminierungsproduktes bereitet die Stereokontrolle bei Sialylierungsreaktionen Probleme, da die Neuraminsäure in der zum anomeren Zentrum benachbarten 3-Position keine funktionelle Gruppe trägt. So können keine Nachbargruppeneffekte zur stereoselektiven Bildung einer  $\alpha$ - oder  $\beta$ -konfigurierten glycosidischen Bindung genutzt werden.

<sup>139</sup> G.-J. Boons, A. V. Demchenko, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4539-4565.

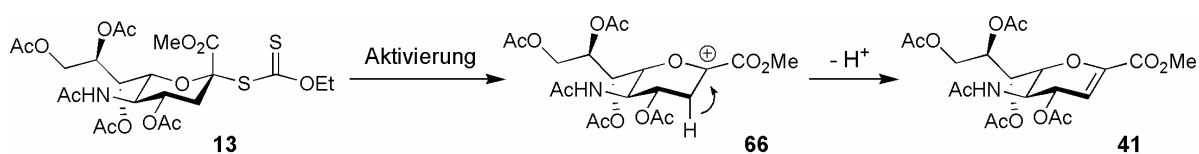


Abb. 3.22: Bildung des Eliminierungsproduktes **41** der Neuraminsäure nach Aktivierung.

Der stereoselektive Reaktionsverlauf der Sialylierung zugunsten der erwünschten  $\alpha$ -glycosidischen Bindung kann aber durch die Wahl des Lösungsmittels und der Reaktionsbedingungen gesteuert werden: Führt man die Sialylierung in einem Acetonitril-Dichlormethan-Gemisch bei tiefen Temperaturen durch, kann man den so genannten Nitrileffekt zur Stereokontrolle ausnutzen.<sup>140,141,142,143</sup> Da der Schmelzpunkt von Acetonitril bei  $-45.7\text{ }^\circ\text{C}$  liegt, wird Dichlormethan hinzugegeben, um auch bei Temperaturen bis  $-70\text{ }^\circ\text{C}$  arbeiten zu können. Nach der Aktivierung des Neuraminsäure-Donors **13** mit in situ hergestelltem Methylsulfonyltriflat **67**<sup>144</sup> und der folgenden Abspaltung der Abgangsgruppe werden Nitrile am entstehenden Glycosylkation **66** koordiniert (Abb. 3.23).

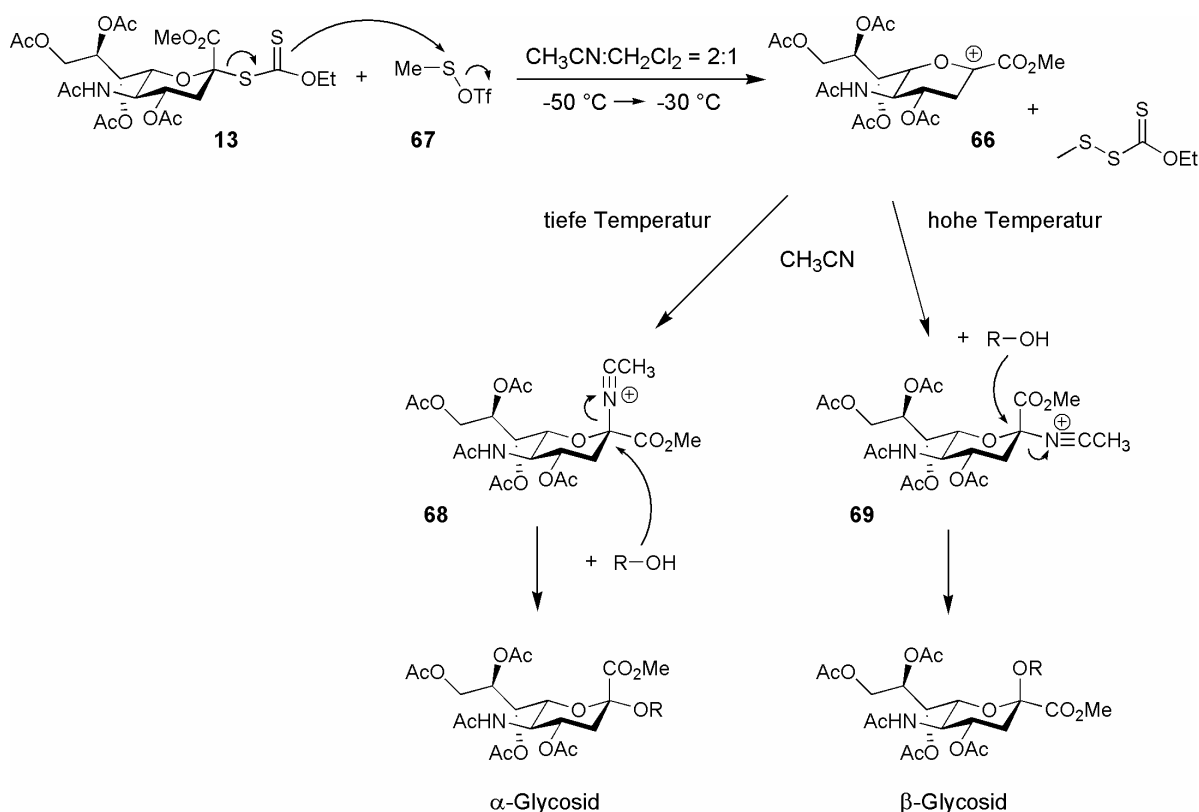


Abb. 3.23: Der Nitrileffekt bei Sialylierungsreaktionen.

<sup>140</sup> A. J. Ratliffe, B. Fraser-Reid, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 747-750.

<sup>141</sup> R. R. Schmidt, M. Behrendt, A. Toepfer, *Synlett* **1990**, 694-696.

<sup>142</sup> A. Hasegawa, T. Nagahama, H. Ohki, K. Hotta, H. Ishida, M. Kiso, *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 493-498.

<sup>143</sup> I. Braccini, C. Derouet, J. Esnault, C. Hervé du Penhoat, J.-M. Mallet, V. Michon, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1993**, *246*, 13-22.

<sup>144</sup> F. Dasgupta, P. J. Garegg, *Carbohydr. Res.* **1988**, *177*, c13-c17.

Bei tiefen Temperaturen entsteht in einer kinetisch kontrollierten Reaktion das axiale  $\beta$ -Nitrilium-Konjugat **68** und bei höheren Temperaturen das thermodynamisch stabilere, äquatoriale  $\alpha$ -Nitrilium-Konjugat **69**. Der anschließende Angriff eines Nucleophils führt so je nach Reaktionsbedingungen zu sterisch einheitlichen Produkten oder zumindest zu einem deutlichen Überschuss eines Anomers. Eine weitere Möglichkeit, die Stereoselektivität zu beeinflussen, besteht in der Einführung eines dirigierenden Substituenten in die 3-Position (vgl. Kapitel 1.6.2). Aufgrund des höheren Aufwands zur Synthese solcher Donoren und der nach der Sialylierung erforderlichen Abspaltung der dirigierenden Gruppe wird diese Methode nur noch selten angewandt. Die Regioselektivität stellt bei Sialylierungsreaktionen mit 6-*O*-geschützten Galactose-Bausteinen kein schwerwiegendes Problem dar, da der Reaktivitätsunterschied der 2-, 3- und 4-Hydroxygruppe der Galactose groß genug ist. Die höhere Nucleophilie der äquatorialen 3-Hydroxygruppe und die sterische Hinderung durch Nachbargruppen an den 2- und 4-Hydroxygruppen bewirkt die regioselektive Sialylierung an der 3-Position der Galactose. Man erspart sich so aufwendige Schutzgruppenmanipulationen und gewährleistet, dass die zu sialylierende Position nicht durch benachbarte Schutzgruppen sterisch oder elektronisch behindert wird.<sup>145</sup> Aufgrund ihrer Stabilität und Reaktivität werden heute bevorzugt die Thioglycoside und Xanthogenate der Neuraminsäure als Donoren in Sialylierungen verwendet. In dieser Arbeit werden das Neuraminsäurexanthogenat **13** als Donor und die Trisaccharide **14-16** als Akzeptoren in den Sialylierungsreaktionen eingesetzt (Abb. 3.24).

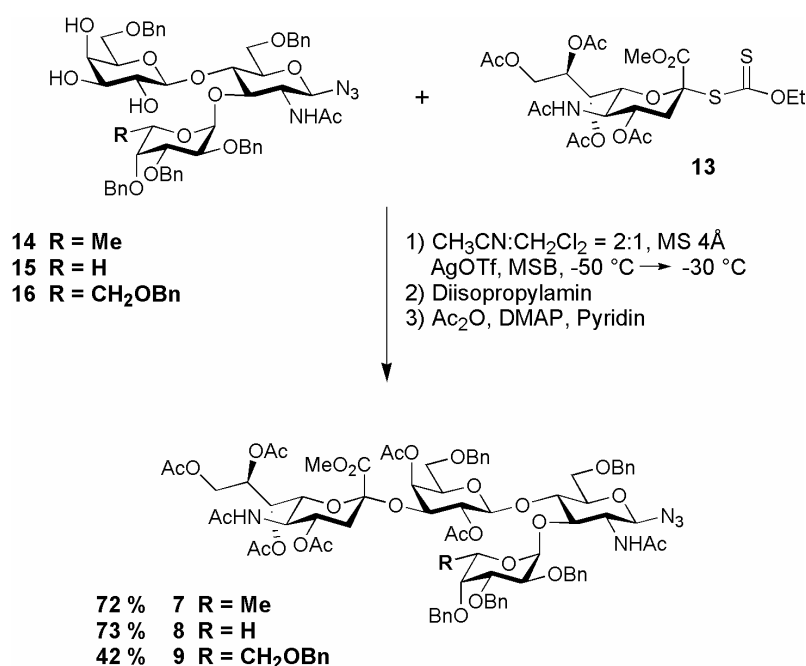


Abb. 3.24: Die Synthesen der vollständig geschützten Tetrasaccharide **7-9**.

<sup>145</sup> W. Birberg, H. Lönn, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 7457-7458.

In parallelen Ansätzen wird der Donor **13** in 1.89fachen bis 2.40fachen Überschüssen mit den Trisacchariden **14-16** in Acetonitril-Dichlormethan-Gemischen bei  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  zur Reaktion gebracht. Als Promotor dient aus Methylsulfenylbromid und Silbertriflat in situ hergestelltes Methylsulfenyltriflat,<sup>144</sup> welches die Xanthogenatgruppe elektrophil angreift (Abb. 3.23). Nach zwei Stunden werden die Reaktionsmischungen auf  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  erwärmt, weitere 15 Stunden gerührt, dann mit Diisopropylamin in der Kälte neutralisiert und schließlich flashchromatographisch gereinigt. Allerdings können dadurch nicht sämtliche Verunreinigungen und Nebenprodukte abgetrennt werden. Nach Acetylierung der 2- und 4-Hydroxygruppen der Galactose mit Essigsäureanhydrid und Pyridin in Gegenwart katalytischer Mengen an 4-Dimethylaminopyridin und abermaliger flashchromatographischer Reinigung, werden die Tetrasaccharide **7** und **8** in für Sialylierungsreaktionen sehr guten Ausbeuten (72 % und 73 %) und das Tetrasaccharid **9** in akzeptabler Ausbeute (42 %) erhalten. Im Falle der Synthese des Tetrasaccharids **9** werden 35 % von nicht umgesetztem Trisaccharid **16** zurückgewonnen.

Da das anomere Zentrum der Neuraminsäure ein quartärer Kohlenstoff ist, kann die übliche Methode zur Bestimmung der anomeren Konfiguration, die Messung der Kopplungskonstanten  $^3J_{\text{H-1,H-2}}$  und  $^1J_{\text{C-1,H-1}}$  nicht angewandt werden. Für peracetylierte Neuraminsäureglycoside sind in der Literatur empirische Regeln für die Zuordnung der anomeren Konfiguration zu finden.<sup>146</sup> Drei davon basieren auf Unterschiede in den chemischen Verschiebungen  $\delta$  und eine auf Differenzen bei den Kopplungskonstanten  $J$ .

- 1)  $\delta_{\text{H-3}\ddot{a}\text{q}}(\alpha\text{-Anomer}) > \delta_{\text{H-3}\ddot{a}\text{q}}(\beta\text{-Anomer})$
- 2)  $\delta_{\text{H-4}}(\alpha\text{-Anomer}) < \delta_{\text{H-4}}(\beta\text{-Anomer})$
- 3)  $\delta_{\text{H-9a}} - \delta_{\text{H-9b}}(\alpha\text{-Anomer}) < \delta_{\text{H-9a}} - \delta_{\text{H-9b}}(\beta\text{-Anomer})$
- 4)  $^3J_{\text{H-7,H-8}}(\alpha\text{-Anomer}) > ^3J_{\text{H-7,H-8}}(\beta\text{-Anomer})$

Diese Regeln sind allerdings nicht generell gültig. Die anomere Konfiguration kann aber durch ein HMBC-Experiment (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) eindeutig bestimmt werden. Exemplarisch ist ein Ausschnitt des HMBC-Spektrums des  $\alpha$ -Anomers von Verbindung **7** in Abb. 3.25 dargestellt. Darin sind die Kopplungen der beiden Protonen an C-3 der Neuraminsäure zu benachbarten Kohlenstoffatomen zu erkennen. Für die Bestimmung der anomeren Konfiguration sind hierbei nur die Kopplungen mit C-1 von Interesse. Nach der Karplusbeziehung koppelt das äquatoriale Proton an C-3 sowohl zum  $\alpha$ - als auch zum  $\beta$ -Anomer so schwach, dass ein Kreuzpeak im HMBC-Spektrum nicht auftaucht. Das axiale Proton an C-3 zeigt im Falle des  $\alpha$ -Anomers aufgrund des

<sup>146</sup> H. Hori, T. Nakajima, Y. Nishida, H. Ohru, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 6317-6320.

180 °-Winkels zwischen H-3<sub>ax</sub> und C-1 eine starke Kopplung, so dass ein Kreuzpeak zu erwarten ist. Im Falle des  $\beta$ -Anomers besteht zwischen H-3<sub>ax</sub> und C-1 eine axial-äquatoriale Wechselwirkung, was nach der Karplusbeziehung wiederum nur zu einer schwachen Kopplung führt, die im HMBC-Spektrum nicht zu erkennen ist. Da im HMBC-Spektrum von Verbindung **7** ein Kreuzpeak zwischen H-3<sub>ax</sub> und C-1 klar auszumachen ist, liegt ein eindeutiger Beweis der  $\alpha$ -glycosidischen Verknüpfung der Neuraminsäure vor.

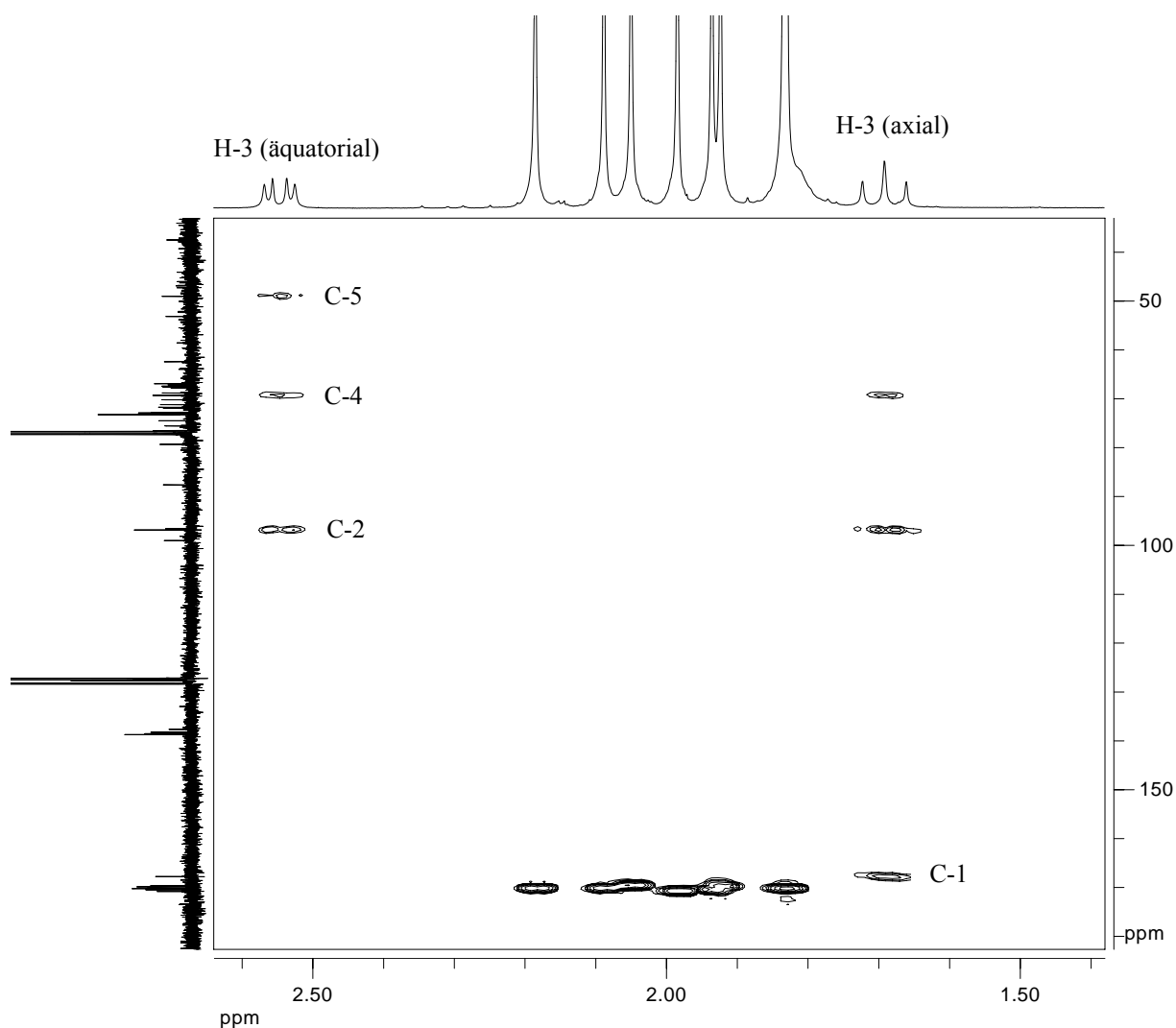


Abb. 3.25: Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von Verbindung **7**.

### 3.1.11 Die Synthesen der Tetrasaccharid-Mimetika

Die Einführung des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins als Mimetikum der Neuraminsäure gelingt nach der Stannylen-Methode.<sup>147</sup> Dabei werden die Trisaccharide **14-16** mit 1.5 Äquivalenten Dibutylzinnoxid in refluxierendem Methanol zu den entsprechenden

<sup>147</sup> S. David, S. Hanessian, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 643-663.

Stannylene umgesetzt, welche nach Entfernung des Lösungsmittels als farblose amorphe Feststoffe erhalten werden (Abb. 3.26).

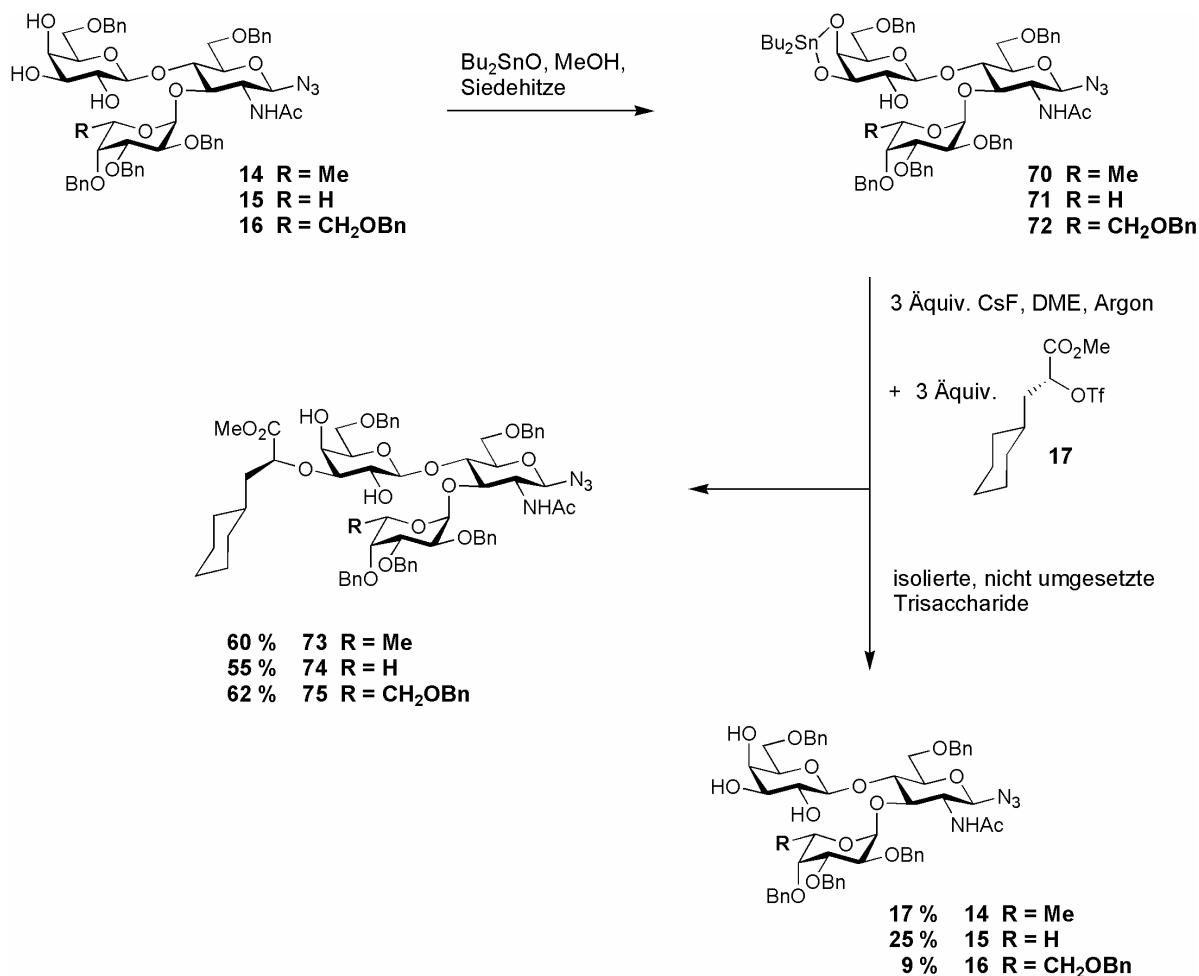


Abb. 3.26: Die Synthesen der Tetrasaccharid-Mimetika **73-75** nach der Stannylene-Methode.

Untersuchungen deuten darauf hin, dass solche Stannylene nicht als Monomere, sondern als Dimere oder gar Oligomere vorliegen. Da sowohl die eigentliche Struktur als auch der tatsächliche Reaktionsmechanismus der Folgereaktionen nicht vollständig aufgeklärt sind und in der Literatur kontrovers behandelt werden, wird in dieser Arbeit auf eine Diskussion dieses Mechanismus verzichtet und auf den sehr interessanten, wenn auch etwas älteren Übersichtsartikel von David und Hanessian verwiesen.<sup>147</sup> Bekannt ist aber, dass Galactose-Bausteine mit freien 2-, 3- und 4-Hydroxygruppen Stannylene über die 3- und 4-Hydroxypositionen bilden und dass der Angriff eines zugesetzten Elektrophils anschließend an der 3-Position stattfindet. Zur Aktivierung der Stannylene **70-72** wird in Analogie zur Arbeit von Thoma et al.<sup>63</sup> Cäsiumfluorid in 1,2-Dimethoxyethan zugesetzt (Abb. 3.26). Nach Zugabe des Triflats **17** werden die Tetrasaccharid-Mimetika **73-75** in für solche Reaktionen typischen Ausbeuten erhalten, wobei nach flashchromatographischer Reinigung die nicht umgesetzten Trisaccharide **14-16** zum Teil wieder zurückgewonnen

werden. Auf den Umsatz bezogen verliert man nur einen kleinen Anteil der wertvollen Trisaccharide **14-16**. Die Konfiguration an C-2 des Cyclohexylmilchsäure-Restes in den Tetrasaccharid-Mimetika **73-75** kann nicht durch die Bestimmung von Kopplungskonstanten belegt werden, und da diese Verbindungen nicht kristallin sind, scheidet eine Konfigurations-Bestimmung über Röntgenstrukturanalyse aus. Würde das Triflat **17** allerdings nicht in der angegebenen  $S_N2$ -Reaktion, sondern in einer eher  $S_N1$ -artigen Reaktion reagieren, müssten Diastereomere entstehen. Dies kann aber sowohl durch NMR-Spektroskopie als auch durch analytische RP-HPLC widerlegt werden. Daher kann die angegebene *R*-Konfiguration an C-2 in den Mimetika **73-75** als sicher angesehen werden. Zudem stimmen diese Ergebnisse auch mit in der Literatur beschriebenen analogen Reaktionen überein.<sup>62,63</sup>

Durch Acetylierung der 2- und 4-Hydroxygruppen der Galactose mit Essigsäureanhydrid und Pyridin in Gegenwart katalytischer Mengen an 4-Dimethylaminopyridin und abermaliger flashchromatographischer Reinigung, werden die Tetrasaccharid-Mimetika **10-12** in Ausbeuten zwischen 94-97 % erhalten (Abb. 3.27).

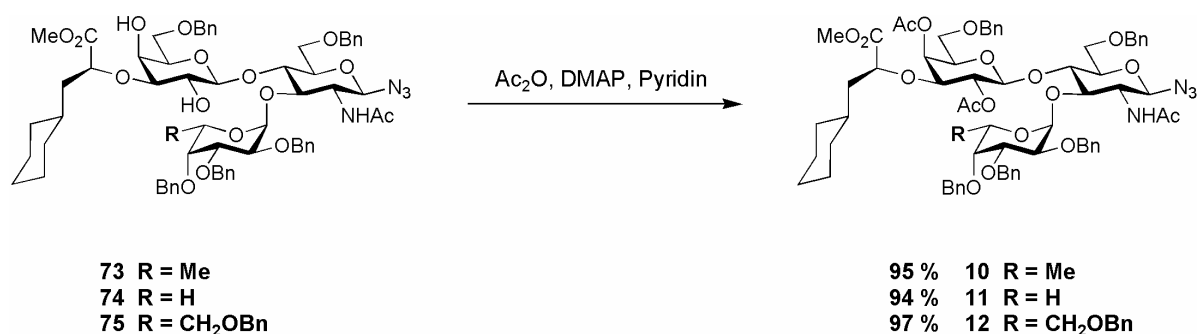


Abb. 3.27: Die Synthesen der vollständig geschützten Tetrasaccharid-Mimetika **10-12**.

### 3.2 Die Reduktionen der Glycosylazide zu den Glycosylaminen

Die Tetrasaccharide **7-9** und Tetrasaccharid-Mimetika **10-12** sind in der anomeren Position durch eine Azidogruppe geschützt. Um diese Glycosylazide an die Seitenkette der Asparaginsäure anzuknüpfen, ist es notwendig, die Azidogruppe zur Aminogruppe zu reduzieren. Diese Reduktion muss möglichst quantitativ verlaufen, damit die aufgrund ihrer Halbaminalstruktur sehr empfindlichen Glycosylamine nicht gereinigt werden müssen. Des Weiteren muss sie möglichst anomerisierungsfrei verlaufen, um die in natürlichen *N*-Glycopeptiden<sup>148</sup> vorkommende  $\beta$ -glycosidische Bindung bilden zu können. Zudem muss

<sup>148</sup> H. Herzner, T. Reipen, M. Schultz, H. Kunz, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4495-4537.

die Reduktion unter Bedingungen durchgeführt werden, bei denen die Benzyletherschutzgruppen nicht angegriffen werden. In mehreren Untersuchungen hat sich zur Erfüllung all dieser Anforderungen die Verwendung von neutral gewaschenem, käuflichem Raney-Nickel bewährt.<sup>104,111,127,149,150,151,152</sup> Dabei wird durch wiederholtes Aufschlännen des Katalysators in Wasser und anschließendes Abdekantieren der überstehenden Lösung die Aktivität des Katalysators so weit herabgesetzt, dass die Benzyletherschutzgruppen nicht gespalten werden, die Azidogruppe aber dennoch zum Amin reduziert wird. Man wiederholt das Aufschlännen und Abdekantieren so lange, bis die überstehende Lösung einen pH-Wert von 7.0 annimmt. Das bei der Reduktion entstehende Halbaminol unterliegt sowohl säure- als auch basenkatalysiert einer raschen Anomerisierung. Daher muss sowohl bei der Reduktion als auch bei der anschließenden Kupplung an die Asparaginsäure unbedingt auf neutrale Reaktionsbedingungen geachtet werden.

Zur Reduktion werden die Glycosylazide **7-12** in Isopropanol-Wasser-Gemischen (v:v = 9:1) gelöst und mit neutral gewaschenem Raney-Nickel versetzt (Abb. 3.28). Anschließend werden diese Mischungen mehrfach entgast und dann drei Stunden bei 0 °C unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt.

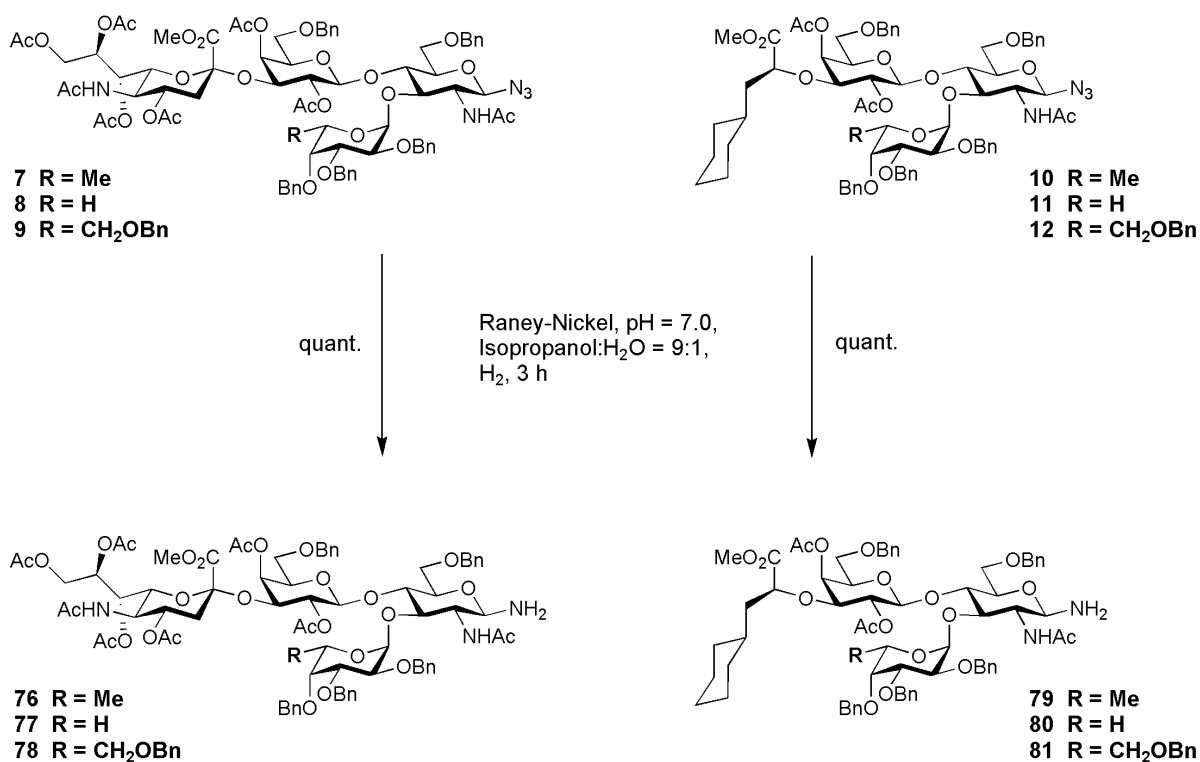


Abb. 3.28: Die Reduktionen der Glycosylazide **7-12** zu den entsprechenden Glycosylaminen **76-81**.

<sup>149</sup> C. Unverzagt, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1988**.

<sup>150</sup> H. Herzner, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2001**.

<sup>151</sup> U. Sprengard, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1996**.

<sup>152</sup> H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1763-1765.

Nach der Reduktion wird der Katalysator über Celite abfiltriert und gründlich mit Isopropanol gewaschen, um die adsorbierten Glycosylamine **76-81** zu desorbieren. Dabei muss man darauf achten, dass der Katalysator immer mit einer Lösungsmittelschicht bedeckt bleibt, da er sich sonst an der Luft entzündet. Da die quantitativ entstandenen Glycosylamine **76-81** instabil sind und leicht anomerisieren, werden sie ohne Reinigung und Charakterisierung sofort weiter zu den entsprechenden Glycosylaminosäuren umgesetzt.

### 3.3 Die Glycosylaminosäuren als Festphasen-Bausteine

Die Synthesen der *N*-Glycopeptide **1-6** sollen an fester Phase durch sukzessive Kupplung der einzelnen Aminosäure-Bausteine nach der Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl-(Fmoc)<sup>153</sup>-Strategie erfolgen.<sup>154</sup> An der Glycosylierungsstelle wird im Unterschied zur normalen Peptidsynthese anstelle eines temporär geschützten Aminosäure-Derivates ein Glycosylaminosäure-Baustein eingeführt. Die Kupplungsprodukte von Glycosylaminen mit in der Seitenkette deblockierten Asparaginsäure-Derivaten haben sich als solche Glycosylaminosäure-Bausteine bewährt.<sup>127,149,150,151</sup> Da die Glycopeptide nach der Fmoc-Strategie aufgebaut werden sollen, wird das am Aminoterminus Fmoc-geschützte Asparaginsäure-Derivat **82** verwendet. Die *tert*-Butylesterschutzgruppe am  $\alpha$ -Carboxyterminus bietet einen orthogonal stabilen Schutz zur Fmoc-Gruppe sowie zu den Acetyl- und Benzyletherschutzgruppen. Sie lässt sich nach erfolgreicher Kupplung der Seitenkettenfunktion mit dem Glycosylamin **76** abspalten, ohne dass die restlichen Schutzgruppen angegriffen werden. Die Verknüpfung des Glycosylamins **76** mit dem Asparaginsäure-Derivat **82** muss möglichst anomerisierungsfrei verlaufen (s. Abb. 3.32), da eine Anomerisierung während der Kupplungsreaktion nicht nur die Ausbeute vermindert, sondern darüber hinaus zu schwer trennbaren Anomerengemischen führt. Zur Ermittlung geeigneter Kupplungsmethoden für die Acylierung von Glycosylaminen unter Erhalt der Konfiguration verglich U. Sprengard eine Reihe von Kupplungsreagenzien.<sup>151</sup> Es zeigte sich, dass die Aktivierung mit Uroniumsalzen anderen Kupplungsmethoden wie der Aktivierung mit Carbodiimiden (DCC,<sup>155</sup> EDC<sup>156</sup>) oder auch mit Dihydrochinolinen (EEDQ,<sup>157</sup> IIDQ<sup>158</sup>) zur Bildung der Glycosylamide deutlich überlegen ist. Als

<sup>153</sup> L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 5748-5749.

<sup>154</sup> E. Atherton, R. C. Sheppard, *Solid Phase Peptide Synthesis. A Practical Approach*, Oxford University Press, Oxford, **1989**.

<sup>155</sup> J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067-1068.

<sup>156</sup> J. C. Sheehan, P. A. Cruickshank, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 2492-2493.

<sup>157</sup> B. Belleau, G. Malek, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 1651-1652.

<sup>158</sup> Y. Kiso, H. Yajima, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 942-943.

Uroniumsalze werden üblicherweise TBTU,<sup>159</sup> HBTU<sup>160</sup> oder das reaktivere, aber auch teurere HATU<sup>161</sup> verwendet, wobei Röntgenstrukturanalysen allerdings zu der Erkenntnis führten, dass HBTU und HATU als Guanidiniumsalze vorliegen (Abb. 3.29).<sup>162</sup> Wird das übliche Herstellungsverfahren durch rasche Aufarbeitung und striktes Ausschließen von tertiären Aminen modifiziert, können die Uroniumsalze von HBTU und HATU dennoch erhalten werden.<sup>163</sup> Dies ist von Bedeutung, da die Uroniumsalze effektivere Kupplungsreagenzien als die entsprechenden Guanidiniumsalze sind.

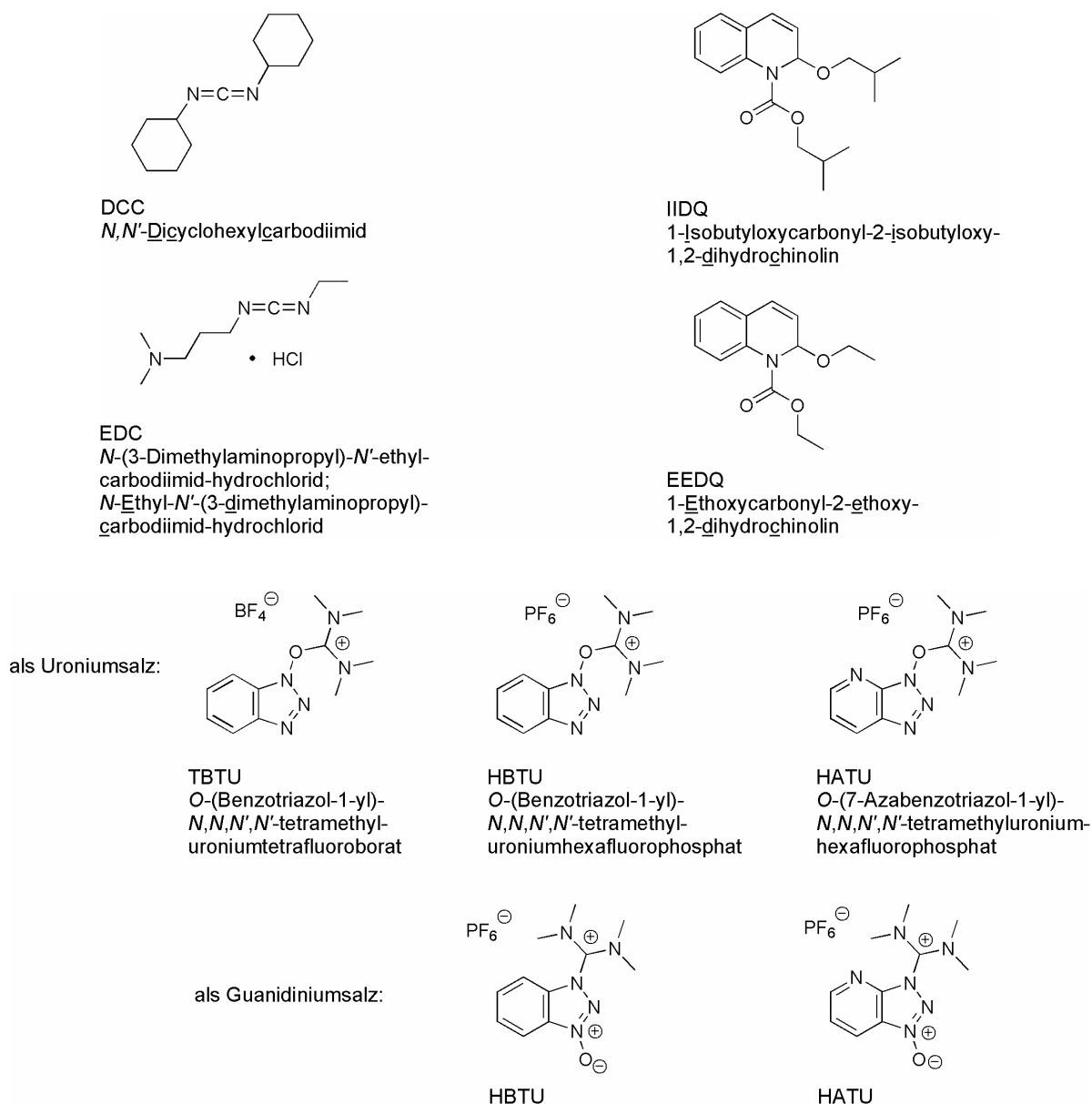


Abb. 3.29: Die Strukturen einiger üblicher Kupplungsreagenzien.

<sup>159</sup> R. Knorr, A. Trzeiak, W. Bannwarth, D. Gillesen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 1927-1930.

<sup>160</sup> V. Dourtoglou, J.-C. Ziegler, B. Gross, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 19, 1269-1272.

<sup>161</sup> L. A. Carpino, A. El-Faham, C. Minor, F. Albericio, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 201-203.

<sup>162</sup> I. Abdelmoty, F. Albericio, L. A. Carpino, B. M. Foxman, S. A. Kates, *Lett. Pept. Sci.* **1994**, ???, 57-???

<sup>163</sup> L. A. Carpino, H. Imazumi, A. El-Faham, F. J. Ferrer, C. Zhang, Y. Lee, B. M. Foxman, P. Henklein, C. Hanay, C. Mücke, H. Wenschuh, J. Klose, M. Beyermann, M. Bienert, *Angew. Chem.* **2002**, 114, 458-461.

Bei den Kupplungen mit TBTU und HBTU wird HOBt<sup>164</sup> als Additiv zur Verhinderung der Racemisierung verwendet, bei Reaktionen mit HATU bewährte sich entsprechend das 7-Aza-Analogon HOAt<sup>165</sup> (Abb. 3.30).

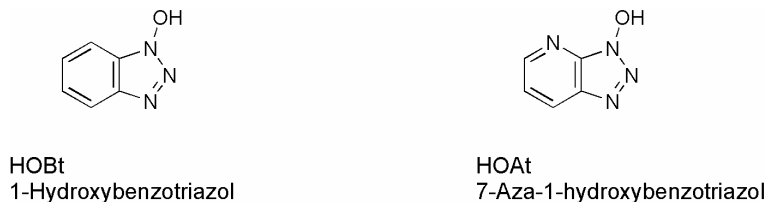


Abb. 3.30: Die Strukturen von HOBt und HOAt.

Die experimentelle Vorgehensweise ist bei allen Kupplungen mit Uroniumsalzen gleich, was in Abb. 3.31 am Beispiel der Kupplungsreagenzien TBTU und HOBt dargestellt ist. Zuerst wird die Carbonsäurekomponente, in dieser Arbeit das Asparaginsäure-Derivat **82**, mit dem Uroniumsalz TBTU und dem Additiv HOBt in einem geeigneten Lösungsmittel vorgelegt.

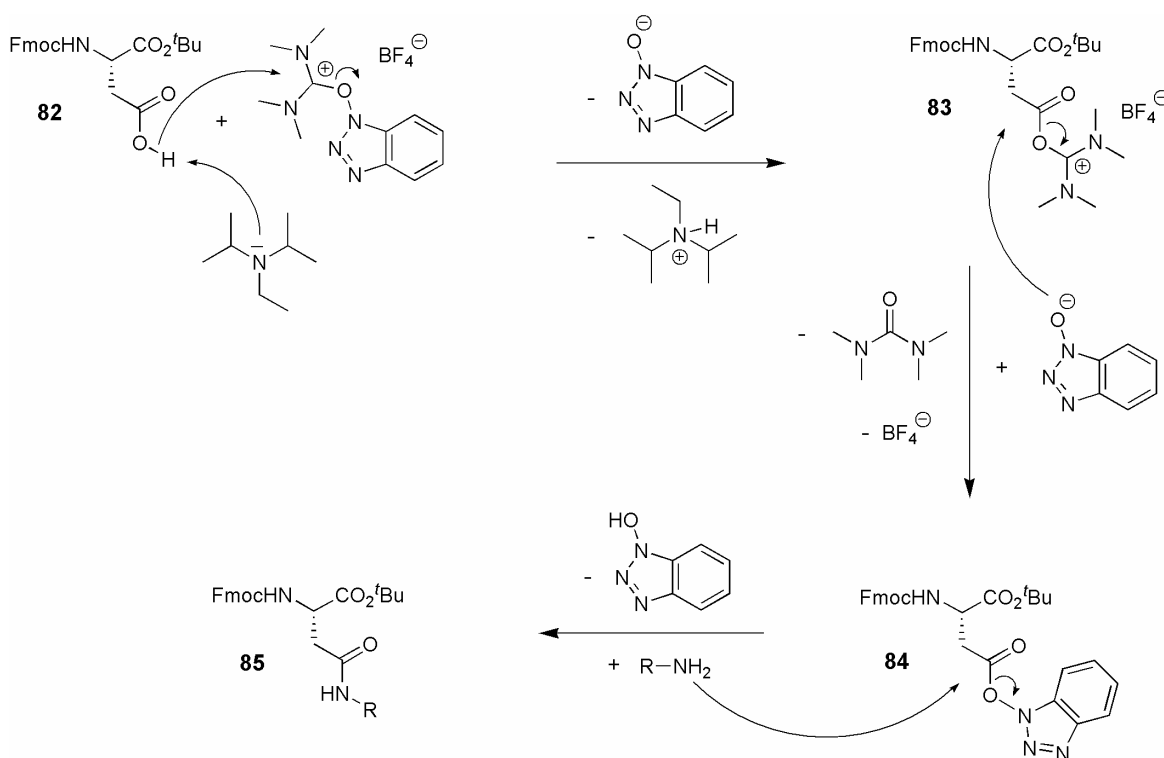


Abb. 3.31: Der Mechanismus der Peptidkupplung unter Verwendung von TBTU und HOBt.

<sup>164</sup> W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 788-798.

<sup>165</sup> L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.

Dann werden sowohl die Carbonsäure als auch das saure, aber supernucleophile Additiv mit einer äquimolaren Menge an *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) deprotoniert, wonach sich als Zwischenstufe das reaktive *O*-Acyl-Uroniumsalz **83** bildet, das wiederum mit dem deprotonierten HOBt zum Aktivester **84** reagiert. Zuletzt wird die Aminokomponente zugesetzt und das entsprechende Amid **85** erhalten. Nach diesem Mechanismus wird die Kupplung des Glycosylamins **76** mit dem Asparaginsäure-Derivat **82** unter Aktivierung mit TBTU/HOBt bei 0 °C durchgeführt (Abb. 3.32). Um die sowohl säure- als auch basenkatalysierte Anomerisierung des Amins **76** so weit wie möglich zu unterdrücken, muss der pH-Wert während der Reaktion zwischen 6.5 und 7.5 gehalten werden, was durch die kontrollierte Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin erreicht werden kann. Unter diesen Reaktionsbedingungen erhält man die beiden Anomere **86α** und **86β** in einem Verhältnis von  $\alpha:\beta = 6:94$  (durch analytische RP-HPLC bestimmt), welche sich flash-chromatographisch kaum trennen lassen (Ausbeute: 83 %). Durch eine präparative RP-HPLC können die reinen Anomere aber isoliert werden.

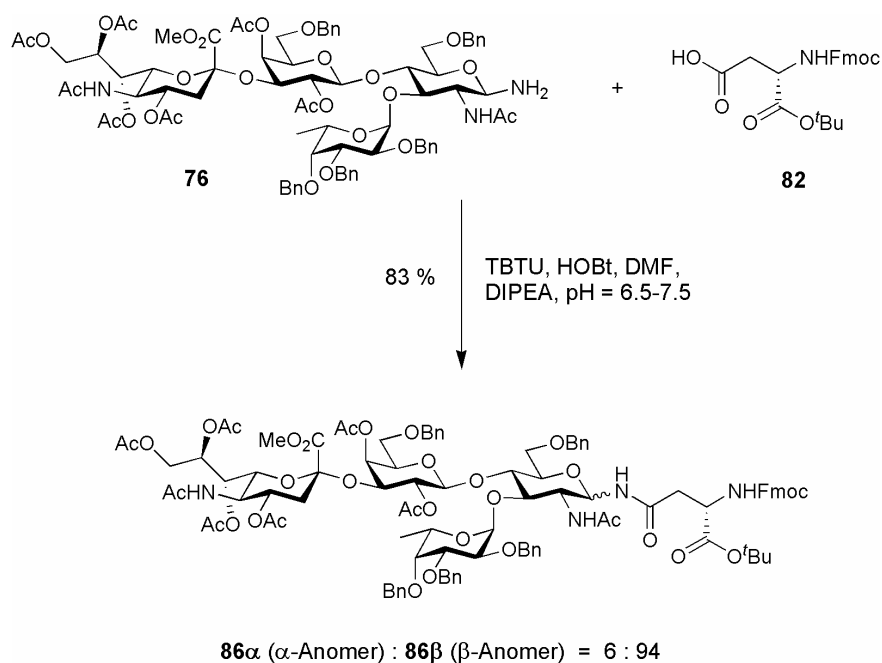


Abb. 3.32: Die Synthese der Fmoc-geschützten Glycosylasparagin-Derivate **86α** und **86β**.

Die Konfigurationen der anomeren *N*-Glycosylasparagin-Derivate **86α** und **86β** lassen sich durch NMR-Experimente eindeutig zuordnen. Die starke Tieffeldverschiebung des Dubletts für das anomere Proton ( $\delta = 5.69$  ppm) ist für das  $\alpha$ -Anomer charakteristisch. Die Kopplungskonstante von  $^3J_{\text{NH},1} = 8.2$  Hz wird nicht durch die Kopplung zu H-2 des Glucose-Restes verursacht, sondern durch die Kopplung zum anomeren Amidproton. Die Kopplung zu H-2 ist so klein, dass sie im 400 MHz-NMR-Spektrum (in deuteriertem Chloroform gemessen) nicht aufgelöst wird, sondern nur zu einer leichten Verbreiterung des

Signals führt. Das entsprechende Signal für das anomere Proton des  $\beta$ -Anomers wird bei  $\delta = 5.06$  ppm detektiert. Das zu erwartende Dublett vom Dublett ist allerdings so stark verbreitert und schlecht aufgelöst, dass eine Angabe der Kopplungskonstante wenig sinnvoll ist. Des Weiteren ist für das  $\alpha$ -Anomer eine starke Hochfeldverschiebung für das Signal des anomeren Amidprotons Glc-1-NH ( $\delta = 6.57$  ppm) im Vergleich zum entsprechenden Signal des  $\beta$ -Anomers ( $\delta = 7.62$  ppm) zu beobachten.

Um aus Verbindung **86 $\beta$**  einen Baustein für die Glycopeptid-Festphasensynthese zu erhalten, muss die *tert*-butylestergeschützte Carboxyfunktion der Aminosäure deblockiert werden, was üblicherweise durch 50-95%ige Trifluoressigsäure in Anwesenheit eines Kationenfängers wie Triisopropylsilan geschieht. Auch die Abspaltung der *tert*-Butylschutzgruppen der Säure- und Hydroxyfunktionen des zu bildenden Glycopeptids sowie die Abspaltung vom Wang-Harz<sup>166</sup> (vgl. Kapitel 3.6) müssen unter diesen Reaktionsbedingungen stattfinden. In mehreren Arbeiten wurde jedoch festgestellt, dass die säurelabile  $\alpha$ -fucosidische Bindung von analogen Oligosacchariden solchen Bedingungen gegenüber nicht stabil ist.<sup>111,127,149,152</sup> So untersuchte O. Knöll die Stabilität der  $\alpha$ -fucosidischen Bindung eines Lewis<sup>x</sup>-Azids in Abhängigkeit von der Säurekonzentration und der Einwirkungszeit.<sup>111</sup> Dabei stellte sich heraus, dass schon bei Behandlung mit 10%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan nach zehn Minuten die vollständige Abspaltung des Fucose-Restes zu beobachten war. Man kann dieses Problem der Säurelabilität im Saccharidteil der Glycopeptide umgehen, indem man neutral spaltbare Allyl-<sup>70</sup> oder (2-Phenyl-2-trimethylsilyl)ethyl-Anker<sup>167</sup> für die Festphasensynthesen verwendet. In dieser Arbeit soll aber ein anderer Weg beschrieben werden. Kunz und Unverzagt konnten zeigen, dass durch einen Austausch der Benzyletherschutzgruppen der Fucose durch Acetylschutzgruppen die Stabilität der  $\alpha$ -fucosidischen Bindung gegenüber Säuren so weit erhöht wird, dass *tert*-Butylschutzgruppen ohne Spaltung der Fucosid-Bindung entfernt werden können.<sup>149,152</sup> Daher soll in dieser Arbeit die Glycosylaminosäure **86 $\beta$**  debenzyliert und anschließend acetyliert werden. Standardmäßig werden solche Debenzylierungen hydrogenolytisch mit Palladium auf Aktivkohle (10 %) unter einer Wasserstoffatmosphäre in polaren Lösungsmitteln mit und ohne Säurezusatz durchgeführt. Entscheidend ist, dass die Fmoc-Schutzgruppe unter solchen Bedingungen erhalten bleibt, wie es z.B. bei Carpino und Han beschrieben wurde.<sup>153</sup> Dagegen fanden Atherton et al., dass die Fmoc-Schutzgruppe innerhalb weniger Stunden unter analogen Bedingungen gespalten wird, wobei sich das mesomeriestabilisierte Dibenzofulven **87** bildet (Abb. 3.33).<sup>168</sup>

<sup>166</sup> S.-S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1328-1333.

<sup>167</sup> M. Wagner, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 315-319.

<sup>168</sup> E. Atherton, C. Bury, R. C. Sheppard, B. J. Williams, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3041-3042.

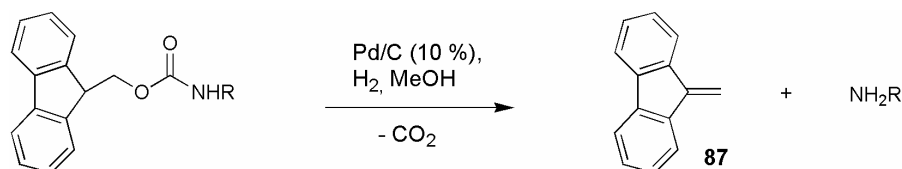
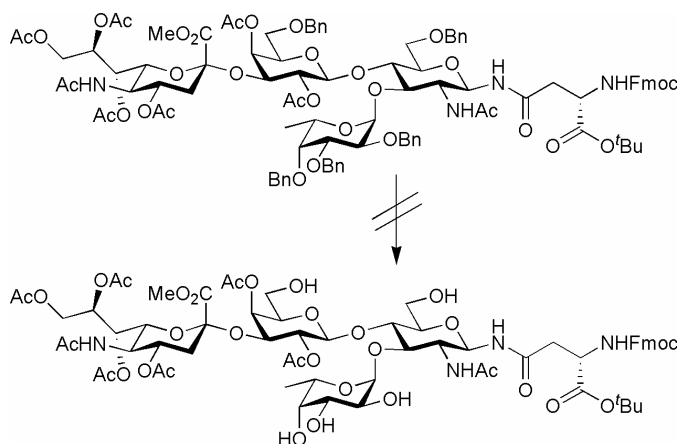


Abb. 3.33: Die unerwünschte Spaltung der Fmoc-Schutzgruppe unter hydrogenolytischen Bedingungen.

Diese widersprüchlichen Beobachtungen decken sich auch mit den Erfahrungen in den eigenen und anderen Arbeiten zur Glycopeptidsynthese. Daher sollen in dieser Arbeit verschiedene Reaktionsbedingungen zur Debenzylierung der Glycosylaminosäure **86β** unter Erhalt der Fmoc-Schutzgruppe getestet werden. Allerdings wird bei den in Abb. 3.34 dargestellten Versuchen A-L festgestellt, dass gleichzeitig mit der Debenzylierung die Fmoc-Abspaltung stattfindet. Eine Variation der Lösungsmittel, der Reaktionszeit, des Katalysators oder das Arbeiten im Autoklaven führten nicht zum Erfolg. Bei der Spaltung der Benzyletherschutzgruppen mit wasserfreiem Eisen(III)-chlorid in Dichlormethan (Versuch M) nach einer Vorschrift von Fraser-Reid et al.,<sup>169</sup> bleibt zwar die Fmoc-Schutzgruppe erhalten, dafür sind die Reaktionsbedingungen so sauer, dass die  $\alpha$ -fucosidische Bindung gebrochen wird.



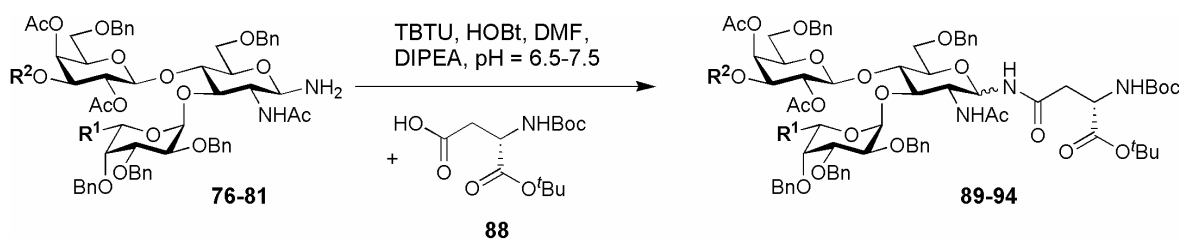
- Versuch A: Pd/C (10 %), H<sub>2</sub>, MeOH  
 Versuch B: Pd/C (10 %), H<sub>2</sub>, MeOH:AcOH = 9:1  
 Versuch C: Pd/C (10 %), H<sub>2</sub>, THF  
 Versuch D: Pd/C (10 %), H<sub>2</sub>, THF, Ultraschall  
 Versuch E: Pd/C (10 %), H<sub>2</sub>, MeOH, 2 bar  
 Versuch F: Pd/C (10 %), H<sub>2</sub>, MeOH, 5 bar  
 Versuch G: Pd/C (10 %), H<sub>2</sub>, MeOH:AcOH = 9:1, 5 bar  
 Versuch H: Pd(OH)<sub>2</sub>/C, H<sub>2</sub>, MeOH  
 Versuch I: Pd(4 %)-Pt(1 %)-Mischkatalysator/C, H<sub>2</sub>, THF  
 Versuch J: Pd(4 %)-Pt(1 %)-Mischkatalysator/C, H<sub>2</sub>, MeOH  
 Versuch K: Pd(4.5 %)-Rh(0.5 %)-Mischkatalysator/C, H<sub>2</sub>, THF  
 Versuch L: Pd(4.5 %)-Rh(0.5 %)-Mischkatalysator/C, H<sub>2</sub>, MeOH  
 Versuch M: wasserfreies FeCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

Abb. 3.34: Die Versuche zur Benzyletherspaltung unter Erhalt der Fmoc-Schutzgruppe.

<sup>169</sup> R. Rodebaugh, J. S. Debenham, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 3041-3042.

Die von Fraser-Reid beschriebene Stabilität einer  $\alpha$ -fucosidischen Bindung unter diesen Reaktionsbedingungen rührt wohl daher, dass der von ihm getestete Fucose-Baustein zwei die fucosidische Bindung stabilisierende Benzoylschutzgruppen trägt.

Da es unter keinen der geprüften Bedingungen gelungen ist, die Benzyletherschutzgruppen unter Erhalt der Fmoc-Schutzgruppe zu spalten, muss diese nach Acetylierung der Hydroxygruppen wieder eingeführt werden. Bei dieser Acetylierung wäre dann die Carboxyfunktion der Aminosäure deblockiert. Da die Fmoc-Schutzgruppe also sowieso am Ende der Schutzgruppenmanipulationen wieder eingeführt werden muss, ist es sinnvoller, anstelle der Fmoc-Gruppe die im Säuren spaltbare *tert*-Butyloxycarbonyl-(Boc)-Schutzgruppe<sup>170</sup> zu verwenden, was den Vorteil besitzt, dass bei der Debenzylierung und Acetylierung der Hydroxygruppen die Carboxyfunktion der Aminosäure geschützt bleibt. Zusammen mit dem *tert*-Butylester kann dann die Boc-Gruppe gespalten und die Aminofunktion anschließend selektiv Fmoc-geschützt werden, wodurch der Baustein für die Glycopeptid-Festphasensynthese erhalten wird. Unter den gleichen Reaktionsbedingungen wie bei der Synthese der Fmoc-geschützten Glycosylaminosäure **86**, werden die Glycosylamine **76-81** mit dem Boc-geschützten Asparaginsäure-Derivat **88** zu den sechs Glycosylaminosäuren **89-94** in Ausbeuten von 80 % bis 93 % umgesetzt (Abb. 3.35).



R <sup>2</sup>	R <sup>1</sup> = Me		R <sup>1</sup> = H		R <sup>1</sup> = CH <sub>2</sub> OBn	
	Verbindung (Ausbeute)	$\alpha$ : $\beta$	Verbindung (Ausbeute)	$\alpha$ : $\beta$	Verbindung (Ausbeute)	$\alpha$ : $\beta$
	<b>89</b> (82 %)	7:93	<b>90</b> (80 %)	14:86	<b>91</b> (81 %)	3:97
	<b>92</b> (93 %)	3:97	<b>93</b> (85 %)	3:97	<b>94</b> (90 %)	0.1:99.9

Abb. 3.35: Die Synthesen der Boc-geschützten Glycosylasparagin-Derivate **89-94**.

<sup>170</sup> L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 98-101.

Nur im Falle der Verbindung **91** können die Anomere flashchromatographisch getrennt werden. Auf eine Trennung der Anomere durch präparative RP-HPLC kann auf dieser Stufe verzichtet werden, da die Reinigung der Festphasen-Bausteine nach den Schutzgruppenmanipulationen durch präparative RP-HPLC leichter zu bewerkstelligen ist (mit Ausnahme von Verbindung **90**). Für analytische Zwecke, vor allem für die NMR-spektroskopischen Untersuchungen, werden kleine Mengen der Verbindungen **89** und **90** durch präparative RP-HPLC gereinigt.

Die Debenzylierungen der Glycosylaminosäuren **89-94** werden mit Palladium auf Aktivkohle (10 %) in einem Methanol-Essigsäure-Gemisch (v:v = 95:5) unter einer Wasserstoffatmosphäre durchgeführt. Da keine Fmoc-Gruppe anwesend ist, gelingt dies ohne Probleme. Nach Entfernung des Katalysators und der Lösungsmittel werden die freien Hydroxygruppen mit Essigsäureanhydrid und Pyridin in Anwesenheit katalytischer Mengen an 4-Dimethylaminopyridin acetyliert.

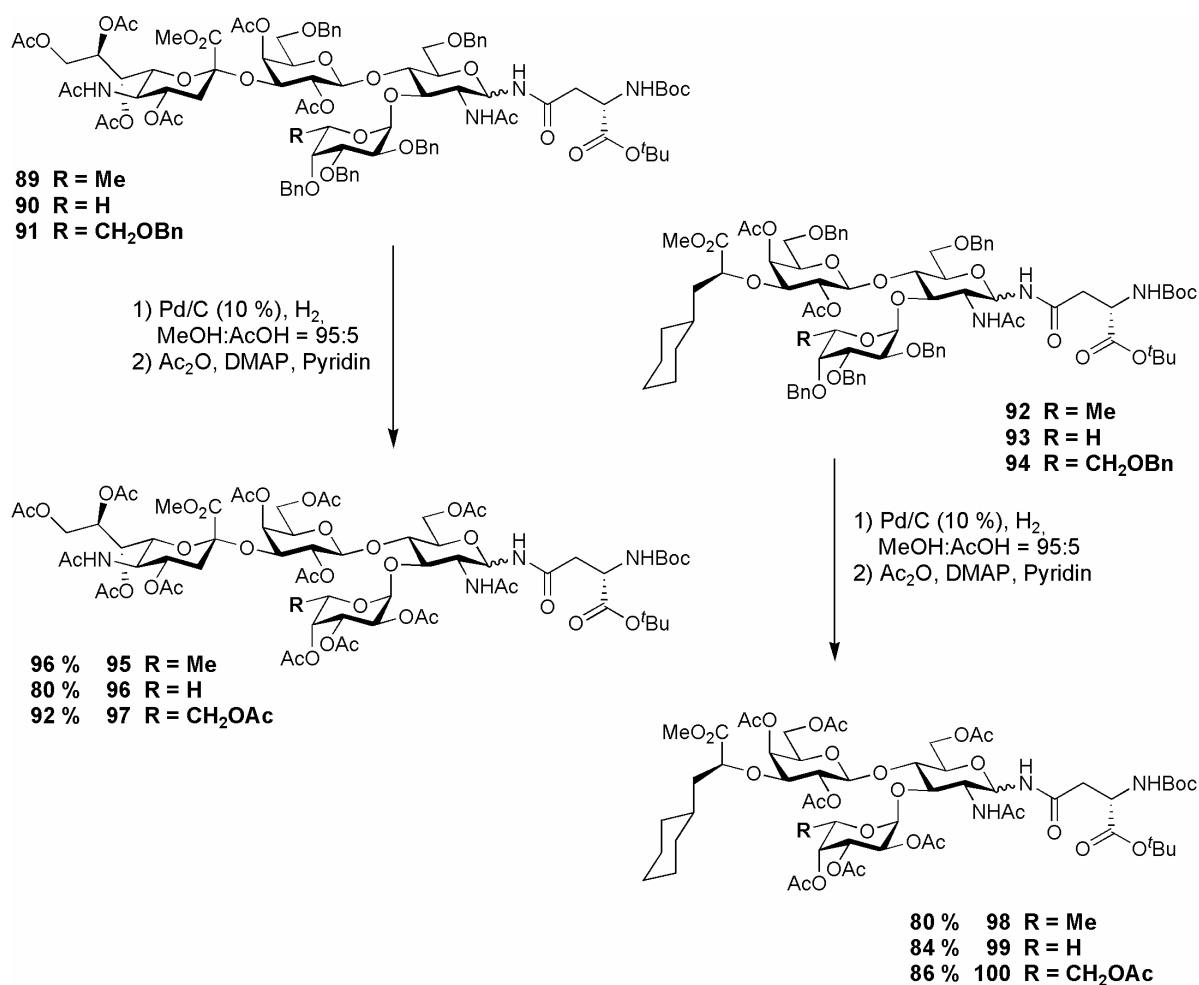


Abb. 3.36: Die Synthesen der vollständig geschützten Glycosylaminosäuren **95-100**.

Nach flashchromatographischer Reinigung werden die vollständig geschützten Glycosylaminosäuren **95-100** in Ausbeuten von 80 % bis 96 % erhalten. Von Massenspektren

abgesehen werden die peracetylierten Produkte **95-100** ohne weitere Charakterisierung zu den Festphasen-Bausteinen **101-106** umgesetzt.

Um die fertigen Festphasen-Bausteine **101-106** zu erhalten, werden sowohl die Boc- als auch die *tert*-Butylesterschutzgruppen in einem Trifluoressigsäure-Dichlormethan-Gemisch (v:v = 1:2) in Anwesenheit des Kationenfängers Triethylsilan abgespalten (Abb. 3.37).<sup>171</sup>

Unter diesen Reaktionsbedingungen bleibt die  $\alpha$ -fucosidische Bindung stabil. Die freien Aminofunktionen werden in Dichlormethan bei einem pH-Wert von 9.0-9.5 mit *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid (FmocOSu) zu den fertigen Festphasen-Bausteinen **101-106** umgesetzt. Bei den Verbindungen **101** und **104-106** werden die reinen  $\beta$ -Anomere nach präparativer RP-HPLC erhalten.

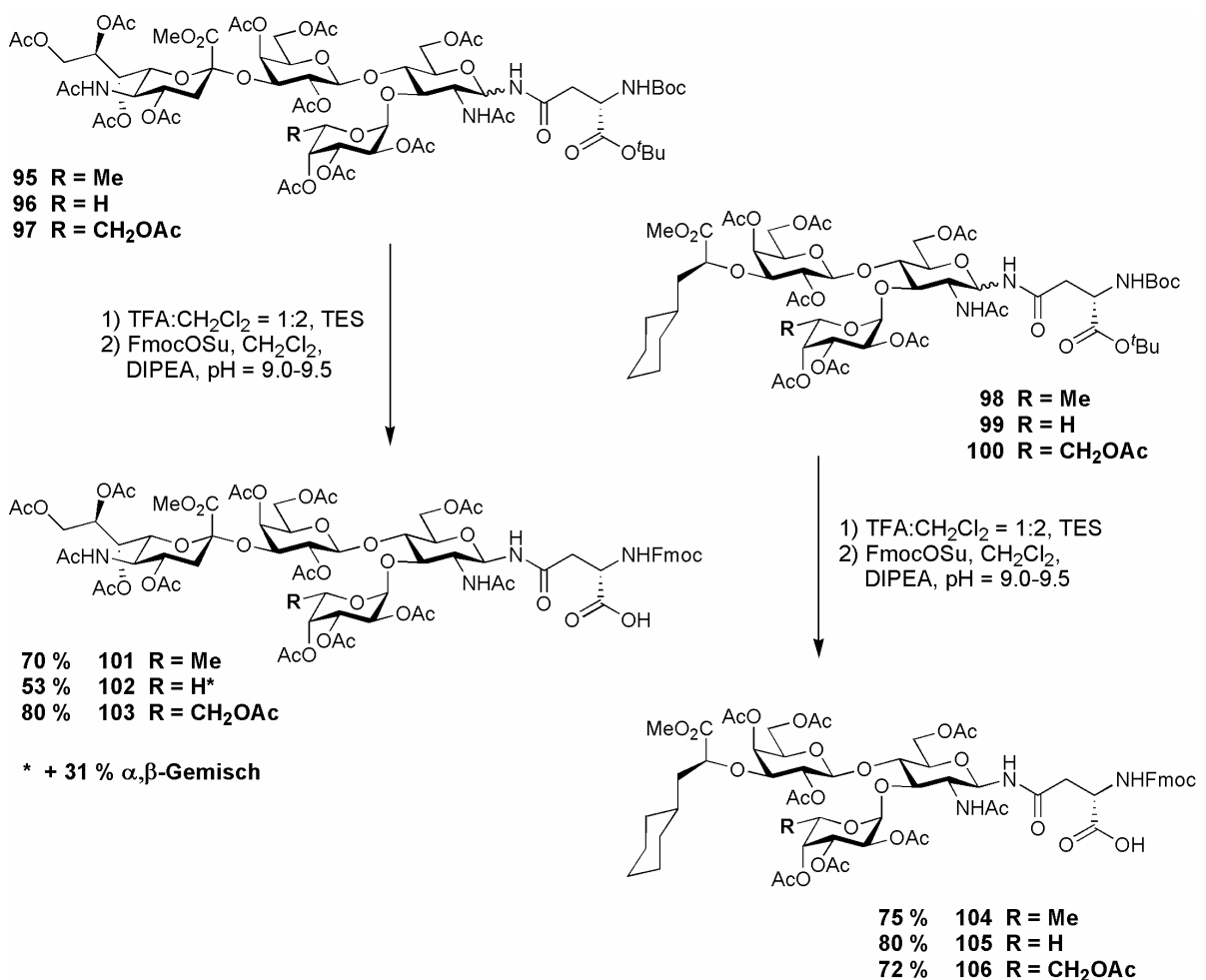


Abb. 3.37: Die Synthesen der Festphasen-Bausteine **101-106**.

Bei der sialylierten, das  $\alpha$ -L-Galactosid enthaltenden Verbindung **103** wurde das  $\alpha$ -Anomer schon nach der Kupplung an die Aminosäure abgetrennt. Probleme bereitet nur die Abtrennung des  $\alpha$ -Anomers der analogen, das  $\beta$ -Arabinosid enthaltenden Verbindung **102**,

<sup>171</sup> A. Mehta, R. Jaouhari, T. J. Benson, K. T. Douglas, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5441-5444.

da sich diese durch präparative RP-HPLC auch nach mehreren Versuchen mit unterschiedlichen Gradienten nicht in ihre Anomere auftrennen lässt. Durch eine flashchromatographische Reinigung aber wird eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten. Da die so erhaltene Substanzmenge an reinem  $\beta$ -Anomer für die Folgereaktionen ausreicht, wird das  $\alpha,\beta$ -Gemisch nicht durch weitere Flashchromatographien aufgetrennt. Die Glycosylaminosäuren **101-106** können nun als orthogonal stabil geschützte Bausteine in die automatisierte Glycopeptid-Festphasensynthese eingesetzt werden. Durch die vorangegangenen Schutzgruppenmanipulationen bieten diese Bausteine den Vorteil eines einheitlichen Schutzgruppenkonzeptes. Das ermöglicht es, dass nach der Synthese der Glycopeptide alle Schutzgruppen des Oligosaccharidteiles in einem Schritt unter basischen Bedingungen gespalten werden können.

### 3.4 Synthesestrategien bei der Glycopeptid-Festphasensynthese

Die Grundlage der Festphasensynthese stellt die 1963 von Merrifield veröffentlichte Festphasenpeptidsynthese dar, für die quervernetztes Polystyrol als Trägermaterial eingesetzt wurde.<sup>172</sup> Diese Pionierarbeit wurde 1984 mit dem Nobelpreis gewürdigt. Bei einer solchen Festphasenpeptidsynthese wird eine *N*-terminal geschützte Aminosäure über ihre Carboxyfunktion an eine geeignete Ankergruppe gebunden, die wiederum an ein unlösliches, leicht abfiltrierbares Polymer geknüpft ist. Anschließend wird von der am polymeren Träger verankerten Aminosäure die Aminoschutzgruppe selektiv entfernt und die freie Aminofunktion mit der nächsten *N*-terminal geschützten Aminosäure unter Einsatz eines geeigneten Kupplungsreagenzes umgesetzt. Um eventuell entstandene Fehlsequenzen im Anschluss an die Peptidsynthese besser abtrennen zu können, werden nicht umgesetzte Aminofunktionen im so genannten Capping-Schritt acetyliert und so der weiteren Kettenverlängerung entzogen. Durch Wiederholung dieser drei Reaktionsschritte kann ein vollständig geschütztes Peptid aufgebaut werden. Im letzten Schritt der Festphasenpeptidsynthese wird das Peptid vom Harz gespalten, wobei der polymere Träger durch eine einfache Filtration entfernt wird. Je nach Wahl der Seitenkettenschutzgruppen können diese zusammen mit oder nach der Abspaltung vom Harz entfernt werden. Der Vorteil der Synthese an fester Phase gegenüber der Synthese in Lösung beruht darauf, dass das herzustellende (Glyco-)Peptid während der gesamten Synthese am Polymerharz gebunden bleibt, die Reagenzien aber in Lösung sind und sich so nach jedem Reaktionsschritt durch einfache Filtration und gründliches Waschen entfernen lassen. Diese

---

<sup>172</sup> R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.

einfache Art der Reinigung ermöglicht auch den Einsatz großer Reagenzienüberschüsse, die wiederum im Allgemeinen für einen nahezu quantitativen Umsatz nötig sind. Durch das Entfallen aufwendiger Isolierungs- und Reinigungsschritte kann die Festphasenpeptid-synthese automatisiert werden. Bei der Glycopeptid-Festphasensynthese werden bereits vorgefertigte glycosylierte Aminosäuren an der gewünschten Stelle in die Peptidsequenz eingebaut. Für die (Glyco-)Peptid-Festphasensynthese haben besonders zwei Schutzgruppentaktiken breite Anwendung gefunden.

Bei der Boc-Strategie wird als temporäre Aminoschutzgruppe die Boc-Gruppe verwendet. Unter den Bedingungen der sich beim Peptidaufbau wiederholenden acidolytischen Boc-Abspaltungen durch 20-50%ige Trifluoressigsäure muss die Stabilität der Seitenketten-schutzgruppen der Aminosäuren gewährleistet sein. Beispiele solcher Schutzgruppen sind z.B. die hydrogenolytisch spaltbare Benzylgruppe oder der durch starke Säuren spaltbare 2,6-Dichlorbenzylether. Ein Nachteil der Boc-Strategie ist darin zu sehen, dass viele Saccharid-Bindungen säureempfindlich sind und dass säurelabile Ankerbindungen wie beim häufig verwendeten Wang-Harz nicht benutzt werden können, da diese unter den Bedingungen der Boc-Abspaltung ebenfalls gespalten werden. Man muss daher bei der Boc-Strategie entweder basen- oder photolabile Anker oder Ankerbindungen verwenden, die nur durch starke Säuren (z.B. Fluorwasserstoff) gespalten werden. Es gibt zwar noch andere Ankergruppen,<sup>154</sup> die eine orthogonale Stabilität gegenüber der Boc-Gruppe besitzen, allerdings werden diese kaum benutzt. Daher findet die Boc-Strategie heutzutage immer weniger Anwendung.

Die am häufigsten verwendete Strategie – die Fmoc-Strategie – stellt dagegen eine mildere Alternative dar. Bei dieser wird zum temporären Schutz der Aminofunktion die Fmoc-Schutzgruppe benutzt, die durch die sekundären Basen Morpholin oder Piperidin wieder abgespalten werden kann. Dabei entsteht durch Deprotonierung an der CH-aciden 9-Position der Fmoc-Gruppe das Dibenzofulven **87** als Zwischenprodukt (Abb. 3.38).

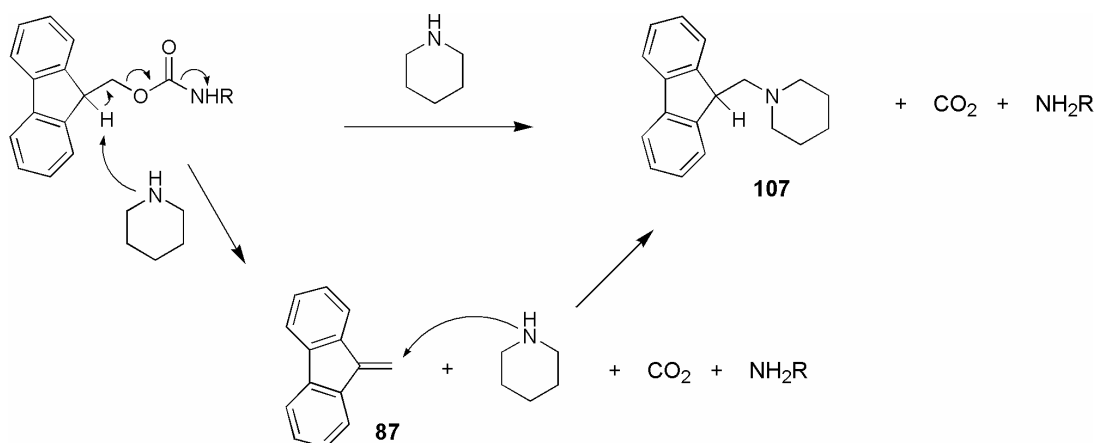


Abb. 3.38: Der Mechanismus der Fmoc-Abspaltung mit Piperidin.

Dieses reagiert anschließend mit der Base zu dem stabilen Addukt **107**, dessen starke UV-Absorption zur Reaktionskontrolle der Fmoc-Abspaltung genutzt werden kann. Zur Blockierung der Seitenkettenfunktionen müssen zur Fmoc-Gruppe orthogonal abspaltbare Schutzgruppen eingesetzt werden. Besonders geeignet sind hierfür die säurelabilen *tert*-Butylschutzgruppen sowie die hydrogenolytisch spaltbaren Benzylschutzgruppen. In aller Regel werden bei der Fmoc-Strategie säurelabile Anker verwendet.

### 3.5 Das Protokoll der automatisierten Festphasensynthese

Sämtliche Festphasensynthesen werden in dieser Arbeit an einem ABI-433A-Peptidsynthesizer der Firma *Applied Biosystems* nach der Fmoc-Strategie durchgeführt. Als polymerer Träger wird kommerziell erhältliches, niedrig beladenes (zwischen 0.21 mmol/g und 0.27 mmol/g) TentaGel<sup>®173</sup> benutzt. TentaGel<sup>®</sup> ist ein Polystyrol-Harz, an das Polyethylenglycol-Einheiten (12-20) aufgepfropft sind. Dieses Harz quillt besonders gut in organischen aprotischen Lösungsmitteln wie z.B. Dichlormethan, *N,N*-Dimethylformamid oder *N*-Methylpyrrolidin-2-on (NMP, 1-Methyl-2-pyrrolidon), besitzt aber auch eine gewisse Quellbarkeit in polaren protischen Lösungsmitteln wie z.B. Methanol. Eine niedrige Beladung wird gewählt, damit die wachsenden Peptidketten voneinander räumlich getrennt und dadurch die Wechselwirkungen zwischen den zu synthetisierenden Peptidketten minimiert werden. An das Harz ist über den säurelabilen Wang-Anker<sup>166</sup> die Fmoc-geschützte Startaminosäure gebunden. Der Wang-Anker hat sich bereits in vielen Fällen als für die Glycopeptid-Festphasensynthese geeignet erwiesen.<sup>154</sup> Er lässt sich nach Beendigung der Festphasensynthese durch 50-95%ige Trifluoressigsäure unter Verlust von allen verwendeten säurelabilen Schutzgruppen spalten. Zum Blockieren der Seitenkettenfunktionen der Aminosäuren kommen hier ausschließlich *tert*-Butylschutzgruppen zum Einsatz.

Bei der automatisierten Glycopeptid-Festphasensynthese wird nacheinander für jede zu kuppelnde Aminosäure der gleiche Syntheszyklus durchlaufen, welcher sich aus den drei vorgenannten Teilschritten zusammensetzt. Im ersten Schritt wird die aminoterminalen Fmoc-Schutzgruppe durch 2.5-minütige Behandlung mit einer 20%igen Lösung von Piperidin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on entfernt. Dieser Prozess wird mindestens zweimal wiederholt, wobei nach jeder Abspaltung durch Messung der UV-Absorption der Abspaltlösung der Gehalt des gebildeten Dibenzofulven-Piperidin-Addukts **107** ermittelt wird. Ändert sich der Wert der gemessenen UV-Absorption um mehr als 10 % im Vergleich

---

<sup>173</sup> E. Bayer, W. Rapp, *Chem. Pept. Proteins* **1986**, 3, 3-8.

zum vorangegangenen Wert, wird ein weiterer Abspaltzyklus durchgeführt. Nachdem der Aminoterminus deblockiert ist, wird im zweiten Schritt die in der Sequenz folgende Fmoc-geschützte Aminosäure innerhalb eines Zeitraumes von 20-30 Minuten gekuppelt. Hierfür werden zehn Äquivalente der entsprechenden Aminosäure sowie der Kupplungsreagenzien HBTU und HOBt und 20 Äquivalente *N*-Ethyl-diisopropylamin in *N,N*-Dimethylformamid verwendet. Die Kupplung der Glycosylaminosäure wird mit den reaktiveren Kupplungsreagenzien HATU und HOAt anstelle von HBTU und HOBt durchgeführt, wie im folgenden Kapitel näher erläutert wird. Nach der erfolgten Peptidkupplung werden im letzten Schritt eventuell nicht umgesetzte Aminofunktionen mit dem Capping-Reagenz, einer Mischung aus Essigsäureanhydrid, *N*-Ethyl-diisopropylamin und katalytischen Mengen an HOBt in *N*-Methylpyrrolidin-2-on, acetyliert. Dieses Vorgehen minimiert die Bildung von Fehlsequenzen, die dem gewünschten Glycopeptid sehr ähnlich sein könnten. Die somit deutlich kürzeren Abbruchsequenzen lassen sich normalerweise leicht chromatographisch vom gewünschten Produkt abtrennen. Nach jedem Teilschritt wird die Reaktionslösung durch Filtration entfernt und das Harz gründlich mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen. Eine starke Durchmischung der Reagenzien im Synthesereaktor wird durch Schütteln (Vortex) erreicht. Durch Wiederholung dieser drei Syntheseschritte werden die einzelnen Aminosäure-Bausteine und die Glycosylaminosäure zum Glycopeptid zusammengefügt. Nach Beendigung der Festphasensynthese wird das Harz zusätzlich mit Dichlormethan gewaschen und in einem Stickstoffstrom getrocknet.

### 3.6 Die Synthesen von Glycopeptiden mit einer Partiaalsequenz des E-Selektin-Liganden-1

Wie in der Einleitung beschrieben, konnte E-Selektin-Ligand-1 (ESL-1) als spezifischer Bindungspartner für E-Selektin identifiziert werden.<sup>37</sup> Auch einige andere Glycoproteine weisen eine hohe Bindungsaffinität zu E-Selektin auf wie z.B. MG160 aus Rattenhirnmembranen oder CFR,<sup>99</sup> ein den Fibroblast-Wachstumsfaktor (FGF, Fibroblast Growth Factor) bindendes Protein aus Hühnermembranen. Ein Vergleich dieser Glycoproteine fördert eine hohe Übereinstimmung in der Sequenz von 88-95 % zu Tage.<sup>100</sup> In allen drei Molekülen blieben fünf potentielle *N*-Glycosylierungsstellen und deren benachbarte Aminosäuren weitgehend konserviert, was zu der Vermutung führt, dass diese Sequenzen eine entscheidende biologische Bedeutung besitzen. Die für diese Arbeit ausgewählte Partiaalsequenz 672-681 enthält eine dieser fünf potentiellen *N*-Glycosylierungsstellen (Abb. 3.39). Daher sollen in dieser Arbeit anstelle des Asparagins die Glycosylasparagin-Derivate **101-106** zur Synthese der potentiellen E-Selektin-

Inhibitoren **1-6** eingesetzt werden. Die Glycopeptid-Festphasensynthesen erfolgen nach dem in Kapitel 3.5 dargestellten Protokoll.

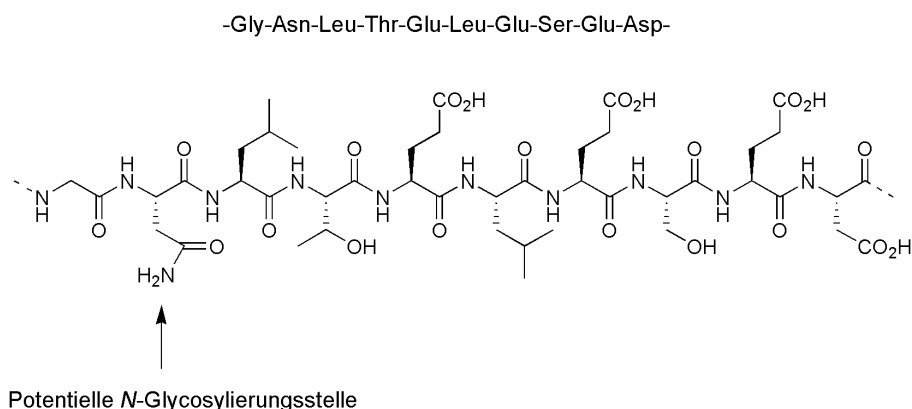


Abb. 3.39: Die Partialsequenz 672-681 des ESL-1.

Zunächst wird das mit Asparaginsäure (0.1 mmol) beladene TentaGel<sup>®</sup> durch automatisierte Kupplungen mit den sieben Aminosäuren Glutaminsäure, Serin, Glutaminsäure, Leucin, Glutaminsäure, Threonin und Leucin in das an den polymeren Träger gebundene Octapeptid **108** überführt (Abb. 3.40).

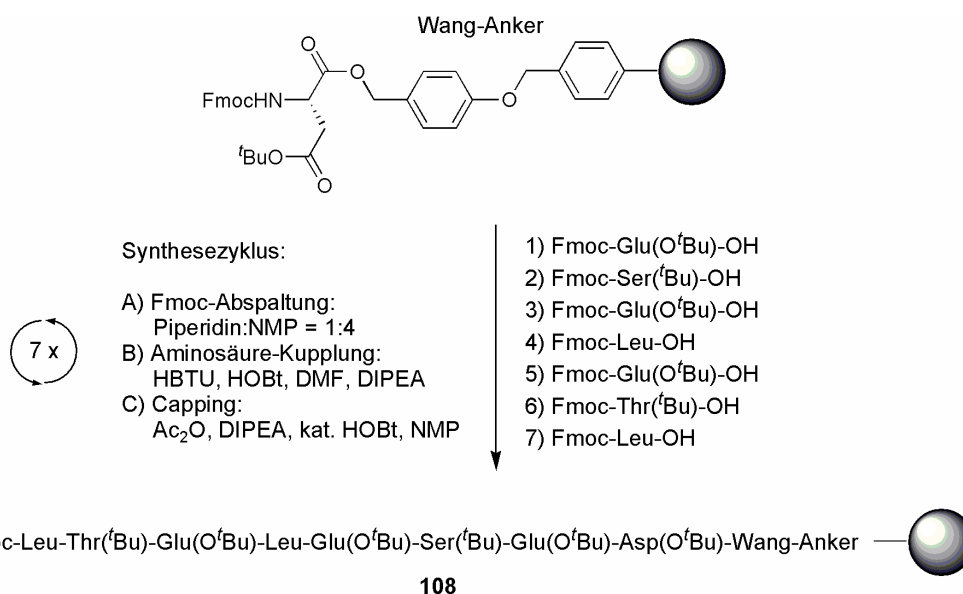
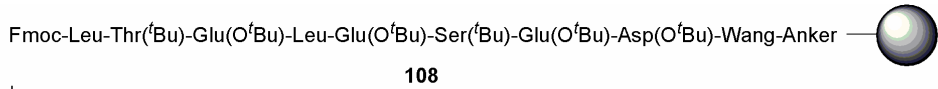
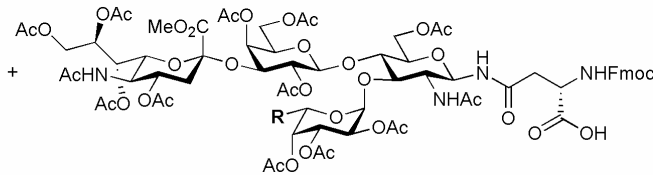


Abb. 3.40: Die Festphasenpeptidsynthese des Octapeptids **108**.

Nach Entfernung der aminoterminalen Fmoc-Schutzgruppe werden zwei Äquivalente des Glycosylasparagin-Derivats **101** in einer Lösung aus HATU, HOAt und *N*-Methylmorpholin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on sechs Stunden gekuppelt. Danach folgen der Cappingschritt und die Kupplung der letzten Aminosäure (Glycin) nach dem Festphasenprotokoll (Abb. 3.41).

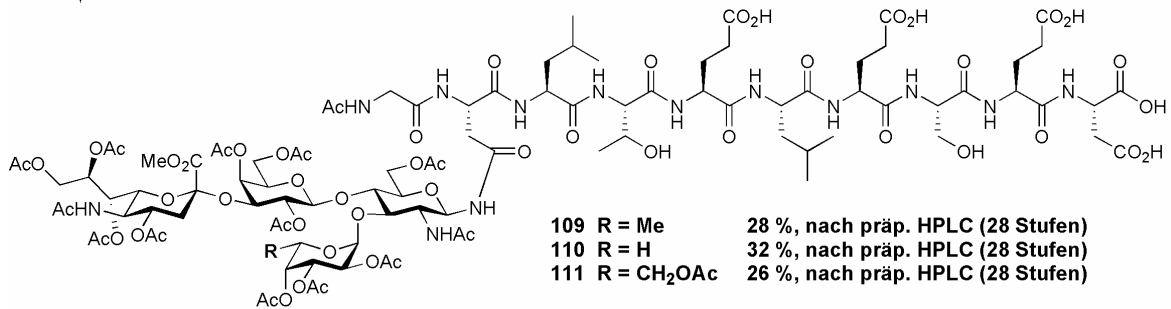


- 1) Piperidin:NMP = 1:4
- 2) HATU, HOAt, NMM, NMP

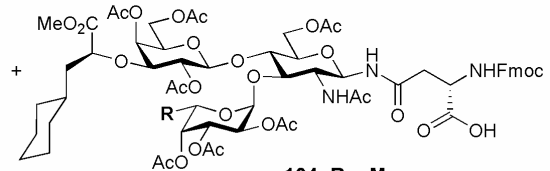


- 101 R = Me**  
**102 R = H**  
**103 R = CH<sub>2</sub>OAc**

- 3) Ac<sub>2</sub>O, DIPEA, kat. HOBt, NMP
- 4) Piperidin:NMP = 1:4
- 5) Fmoc-Gly-OH, HBTU, HOBt, DMF, DIPEA
- 6) Ac<sub>2</sub>O, DIPEA, kat. HOBt, NMP
- 7) TFA:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 1:1, TIS (2.5 %), H<sub>2</sub>O (2.5 %), 2 h



- 1) Piperidin:NMP = 1:4
- 2) HATU, HOAt, NMM, NMP



- 104 R = Me**  
**105 R = H**  
**106 R = CH<sub>2</sub>OAc**

- 3) Ac<sub>2</sub>O, DIPEA, kat. HOBt, NMP
- 4) Piperidin:NMP = 1:4
- 5) Fmoc-Gly-OH, HBTU, HOBt, DMF, DIPEA
- 6) Ac<sub>2</sub>O, DIPEA, kat. HOBt, NMP
- 7) TFA:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 1:1, TIS (2.5 %), H<sub>2</sub>O (2.5 %), 2 h

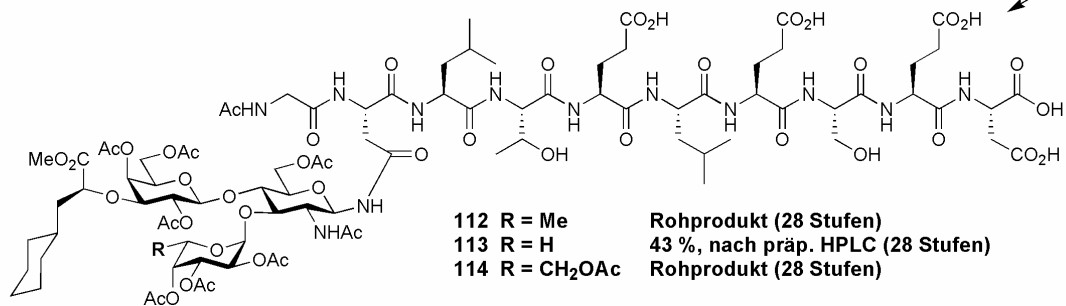


Abb. 3.41: Die Glycopeptid-Festphasensynthesen der Verbindungen 109-114.

Nach dem gleichen Schema werden auch die Glycosylasparagin-Derivate **102-106** umgesetzt, wobei bei der Kupplung mit dem Baustein **102** statt der einmaligen Kupplung mit zwei Äquivalenten, eine Doppelkupplung mit je einem Äquivalent durchgeführt wird. Hierzu wird das Harz jeweils zweimal ohne zwischenzeitliche Acetylierung mit einem Äquivalent der Glycosylaminosäure **102** behandelt. Eine signifikante Erhöhung der Kupplungsausbeute kann aber nicht festgestellt werden. Die Kupplungsreagenzien HATU und HOAt besitzen, verglichen mit den standardmäßig verwendeten Reagenzien HBTU und HOBt, bessere Eigenschaften bezüglich der Reaktivität und der Verminderung der Racemisierungsanfälligkeit. Dafür sind zwei Punkte ausschlaggebend: Zum einen ist die Reaktivität der mit HATU gebildeten Aktivester aufgrund des zusätzlichen Stickstoffatoms (pyridinartiges System) deutlich erhöht. Zudem ist HOAt eine stärkere Säure als HOBt und daher auch eine bessere Abgangsgruppe. Zum anderen koordiniert das zusätzliche Stickstoffatom während der Aminolyse das angreifende Amin über eine Wasserstoffbrücke und sorgt damit für eine Vororientierung beim folgenden nucleophilen Angriff, wodurch die Racemisierungsgefahr deutlich vermindert wird (Abb. 3.42).

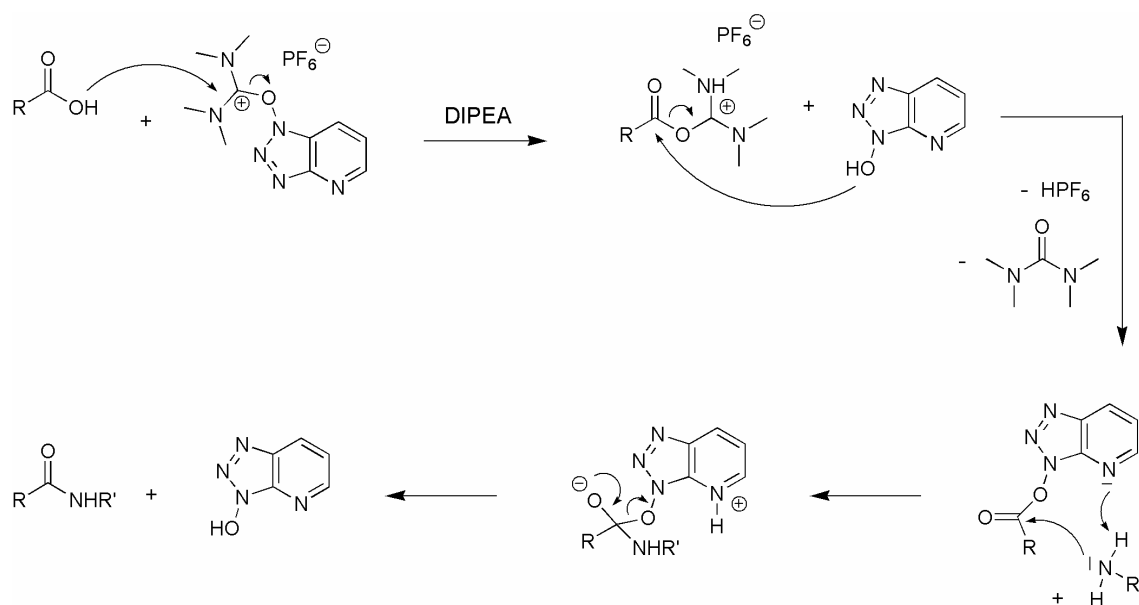


Abb. 3.42: Mechanismus der Peptidkupplung mit HATU und HOAt.

Die Kombination von HATU und HOAt eignet sich daher besser als die Kombination von HBTU und HOBt für die Kupplung der sterisch anspruchsvollen Glycosylaminosäuren **101-106**, die aufgrund ihrer aufwendigen Herstellung in nur zweifachem Überschuss in der Festphasensynthese eingesetzt werden.

Die synthetisierten Glycopeptide werden durch zweistündige Behandlung mit Trifluoressigsäure-Dichlormethan-Gemischen (v:v = 1:1) unter Zusatz des Kationenfängers Triisopropylsilan vom Harz abgespalten, wobei gleichzeitig alle *tert*-Butylschutzgruppen

der Seitenkettenfunktionen der Aminosäuren entfernt werden. Die  $\alpha$ -L-fucosidische,  $\alpha$ -L-galactosidische und  $\beta$ -D-arabinosidische Bindungen bleiben dank der *O*-Acetylschutzgruppen unter diesen Bedingungen stabil. Als einziges bedeutendes Nebenprodukt bei allen sechs Festphasensynthesen entsteht, wie zu erwarten, die Abbruchsequenz **115**, was durch RP-HPLC und Massenspektrometrie belegt werden kann (Abb. 3.43).

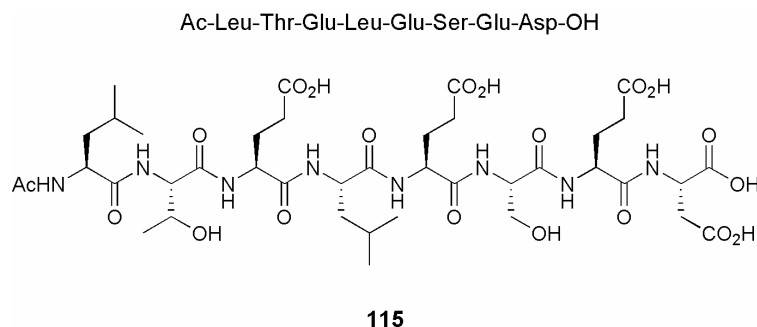


Abb. 3.43: Die Abbruchsequenz **115**.

Daraus ist zu folgern, dass selbst mit den reaktiven Kupplungsreagenzien HATU und HOAt bis zu 54 % (durch analytische RP-HPLC bestimmt) des Octapeptids **108** nicht mit den in zweifachem Überschuss eingesetzten Glycosylaminosäuren **101-106** reagieren (Abb. 3.41). Dies ist vermutlich auf den hohen sterischen Anspruch dieser Bausteine zurückzuführen. Die Verbindungen **112** und **114** werden als Rohprodukte in den Folgereaktionen eingesetzt, da bei den entstehenden Endprodukten **4** und **6** die Abbruchsequenz **115** durch präparative RP-HPLC abgetrennt werden kann. Man erspart sich so eine Reinigung durch präparative RP-HPLC. Bei den Glycopeptiden **109-111** und **113** bereitet die Abtrennung des Peptids **115** von den entsprechenden Endprodukten **1-3** und **5** durch präparative RP-HPLC erhebliche Probleme. Daher werden bereits die Glycopeptide **109-111** und **113** durch präparative RP-HPLC gereinigt. Die Abtrennung der Abbruchsequenz **115** bereitet auf dieser Stufe keine Schwierigkeiten. Um die potentiellen E-Selektin-Inhibitoren **1-6** zu erhalten, müssen noch die basenlabilen *O*-Acetylschutzgruppen entfernt sowie die Methylester der Verbindungen **109-114** hydrolysiert werden. Durch eine 15-stündige Behandlung mit Natriummethanolat in Methanol bei einem pH-Wert von 8.5-9.5 werden die meisten *O*-Acetylgruppen entfernt. Die Abspaltung der Acetylgruppe an der 4-Position des  $\beta$ -D-Galactose-Restes bereitet erfahrungsgemäß unter diesen Bedingungen Schwierigkeiten.<sup>127,174</sup> So zeigen RP-HPLC-Analysen Produktgemische an, was auf eine nur partielle Deacetylierung schließen lässt. Dies stellt in dieser Arbeit aber kein Problem dar, da im Anschluss an die Deacetylierung die Methylester der Verbindungen **109-114** durch 15-stündige Behandlung mit wässriger Natronlauge bei einem pH-Wert von 9.5-10.5

<sup>174</sup> A. Kuhn, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2005**.

hydrolysiert werden. Unter diesen Bedingungen werden auch alle eventuell noch vorhandenen *O*-Acetylschutzgruppen abgespalten (Abb. 3.44).

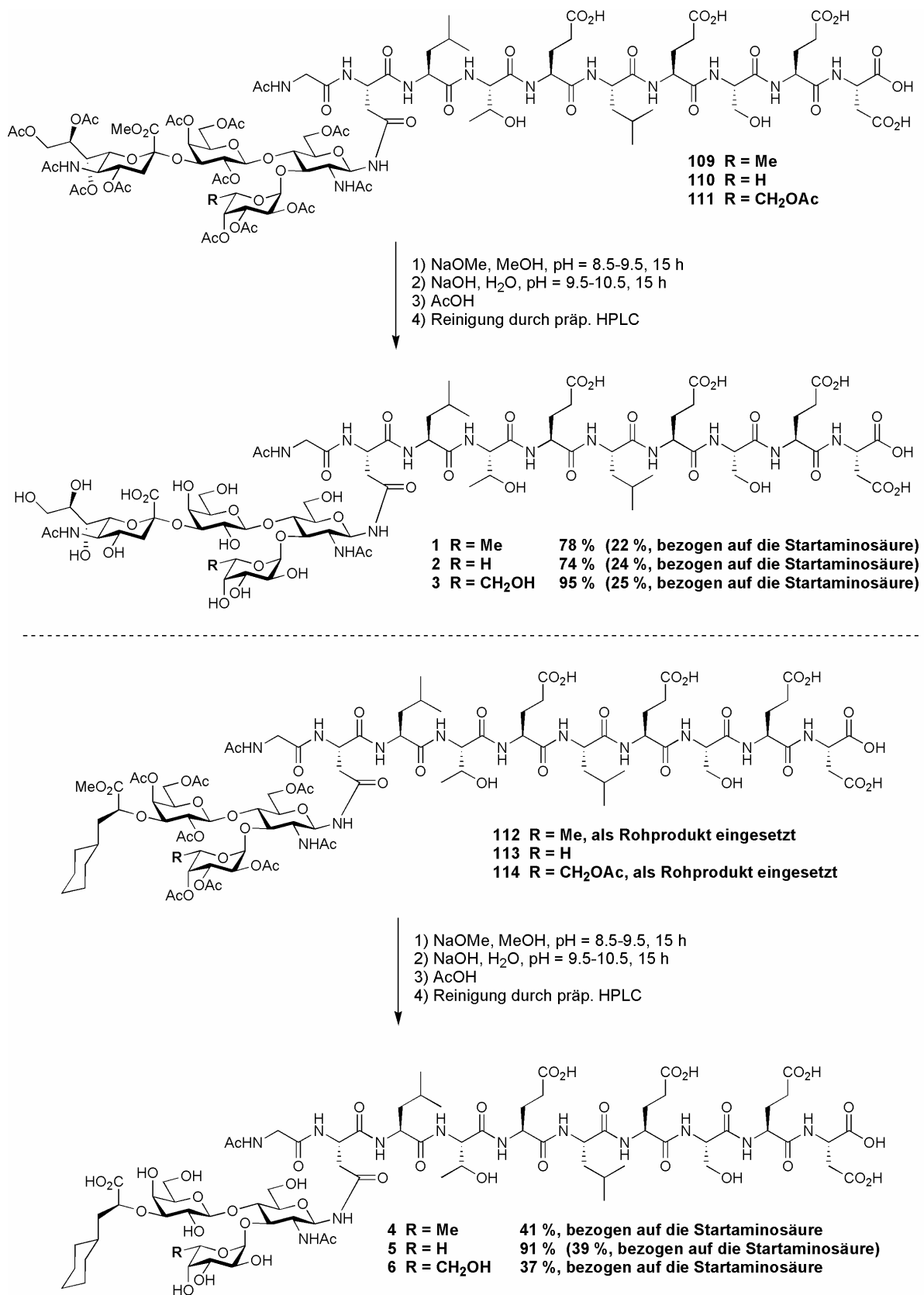


Abb. 3.44: Die Synthesen der vollständig deblockierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Glycopeptide und -Mimetika 1-6.

Die Reaktionslösungen werden mit Essigsäure neutralisiert und die Rohprodukte anschließend durch präparative RP-HPLC gereinigt, wodurch die Zielverbindungen **1-6** in Ausbeuten zwischen 22 % und 41 %, bezogen auf die Startaminosäure am Harz, erhalten werden. Unter diesen milden Bedingungen ist die Gefahr einer Racemisierung bzw. Epimerisierung minimiert. Sie kann innerhalb der Messgenauigkeiten der analytischen HPLC-Untersuchungen und NMR-Spektren auch nicht beobachtet werden. Die Strukturen aller sechs Glycopeptide **1-6** werden sowohl durch hoch auflösende massenspektrometrische Analysen als auch durch ein- und zweidimensionale NMR-Experimente belegt (vgl. Kapitel 5.4).

Die Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Glycopeptide und -Mimetika **1-6** können nun auf ihre Wirksamkeit als Zelladhäsionsinhibitoren für E-Selektin getestet werden. Diese biologischen Tests werden in einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. D. Vestweber in Münster in Kürze durchgeführt. Daraus sollten sich Erkenntnisse über Struktur-Wirkungs-Beziehungen gewinnen lassen, insbesondere was das kooperative Zusammenwirken von Saccharid- und Peptidteilstrukturen in der Erkennung der Liganden durch das E-Selektin anbetrifft.

## 4 Zusammenfassung

Die Selektine initiieren im Verlauf von Entzündungsprozessen einen ersten Zellkontakt zwischen Leukozyten und Endothelzellen und ermöglichen so die Auswanderung der Leukozyten aus den Blutgefäßen in das umliegende Gewebe, wo sie ihre immunologische Wirkung entfalten können. Viele Krankheiten gehen allerdings mit einer übermäßigen, durch Selektine vermittelten Zelladhäsion einher. Daher war es das Ziel dieser Arbeit, Selektininhibitoren zu synthetisieren, die pathologische Zelladhäsionsprozesse, wie man sie z.B. bei rheumatoider Arthritis, bei Erkrankungen der Herzkranzgefäße oder im Verlauf von Tumormetastasierungen findet, unterbinden können. Als Leitstruktur für solche Inhibitoren dient das auf den natürlichen Selektinliganden vorkommende Tetrasaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (Abb. 4.1).

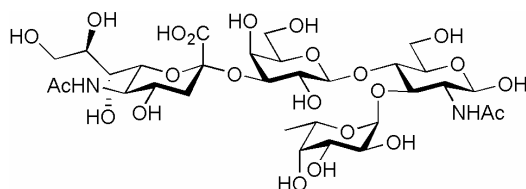


Abb. 4.1 Das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup>.

Sialyl-Lewis<sup>x</sup> stellt aber nur einen Teil der natürlichen Selektinliganden dar. Es bindet auch nur im millimolaren Bereich an die Selektine. Die komplexen natürlichen Selektinliganden wie z.B. ESL-1 (E-Selektin-Ligand-1), die an verschiedenen Glycosylierungsstellen des Glycoproteins Sialyl-Lewis<sup>x</sup> präsentieren, binden mit deutlich höherer Affinität an die Selektine. Für eine spezifische Rezeptorbindung sind daher außer dem Tetrasaccharid weitere Partialstrukturen verantwortlich, wobei gezeigt werden konnte, dass ein Anknüpfen von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Derivaten an die Partiaalsequenz 672-681 des ESL-1 eine Affinitätssteigerung hervorruft.<sup>70</sup> Ein weiterer Nachteil des natürlichen Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Tetrasaccharids im Hinblick auf seine pharmakologische Verwendung besteht darin, dass sowohl die fucosidische Bindung als auch die glycosidische Verknüpfung zur Neuraminsäure durch Enzyme leicht gespalten werden, wodurch Sialyl-Lewis<sup>x</sup> als potenzielles Anti-Adäsionsmolekül an Wert verliert.

Um die Kohlenhydratliganden vor einem solchen enzymatischen Abbau zu bewahren, werden in dieser Arbeit neben der im Sialyl-Lewis<sup>x</sup> vorliegenden L-Fucose die im Menschen nicht vorkommenden Kohlenhydrate D-Arabinose und L-Galactose sowie neben der Neuraminsäure die (*S*)-Cyclohexylmilchsäure zur Herstellung von sechs Glycopeptid-Selektinliganden mit der Partiaalsequenz 672-681 des ESL-1 verknüpft. Die Tetrasaccharide **7-9** und Tetrasaccharid-Mimetika **10-12** können aus den geschützten Monosacchariden und

der geschützten (*S*)-Cyclohexylmilchsäure in parallelen Synthesen im Gramm-Maßstab hergestellt werden (Abb. 4.2). Nach dem Schmidt'schen Trichloracetimidatverfahren<sup>118</sup> wird das Disaccharid **22** aus dem Trichloracetimidat **23** und dem Glucosamin-Baustein **24** in 70%iger Ausbeute erhalten.

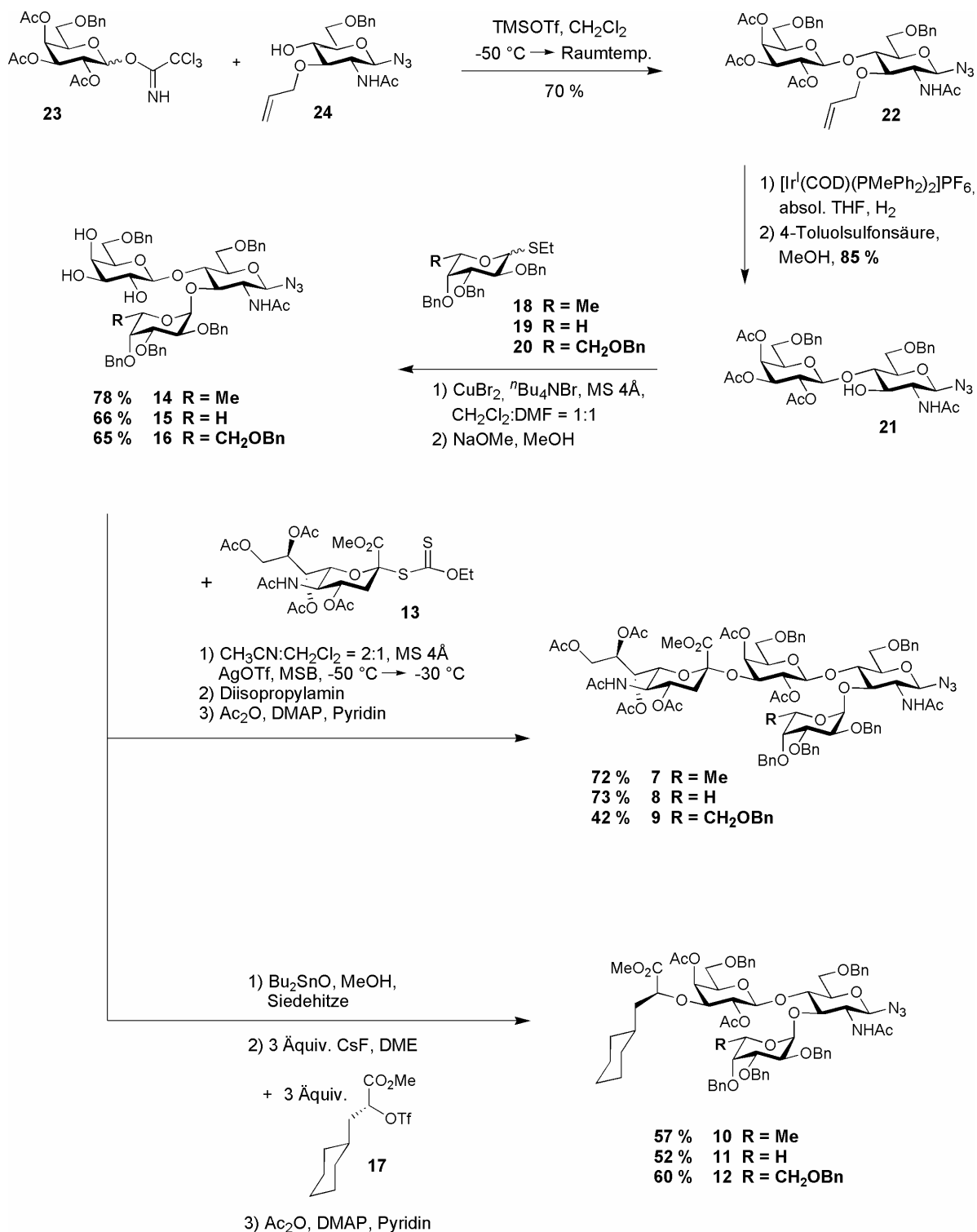
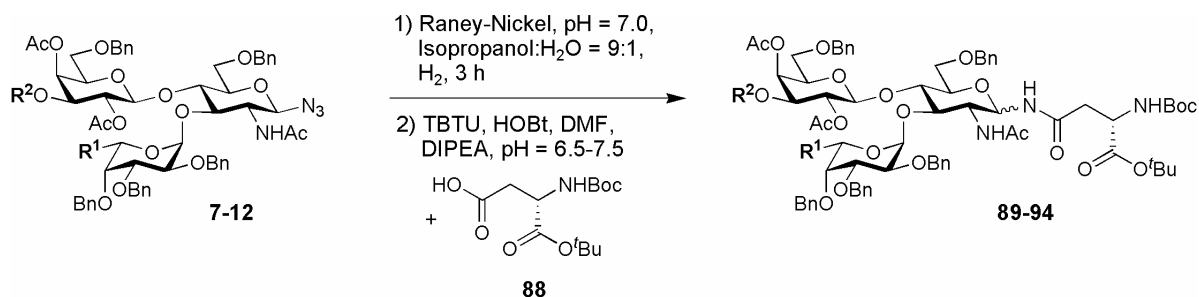


Abb. 4.2: Die Synthesen der Tetrasaccharide **7-9** und Tetrasaccharid-Mimetika **10-12**.

Die Abspaltung des Allylethers zum Disaccharid **21** erfolgt mit dem Baudry-Katalysator  $[\text{Ir}^{\text{I}}(\text{COD})(\text{PMePh}_2)_2]\text{PF}_6$  in 85%iger Ausbeute. Anschließend werden die drei fucoseartigen Kohlenhydrat-Bausteine **18-20** nach dem In-situ-Anomerisierungsverfahren von Lemieux<sup>93</sup> in einer Variante nach Ogawa<sup>92</sup> eingeführt. Nach Abspaltung der *O*-Acetylgruppen werden die drei Trisaccharide **14-16** in Ausbeuten zwischen 65-78 % erhalten, die anschließend mit dem Neuraminsäure-Donor **13** umgesetzt werden können. Nach Acetylierung ergeben sie die Tetrasaccharide **7-9** in Ausbeuten zwischen 42-73 %. Zur Sialylierung erfolgt die Aktivierung des Xanthogenats **13** mit in situ hergestelltem Methylsulfonyltriflat<sup>144</sup> in einem Dichlormethan-Acetonitril-Gemisch unter Ausnutzung des Nitrileffekts. Die Tetrasaccharid-Mimetika **10-12** werden nach der Stannylene-Methode<sup>147</sup> aus den Trisacchariden **14-16** und dem Cyclohexylmilchsäure-Baustein **17** und nachfolgender Acetylierung in Ausbeuten zwischen 52-60 % erhalten, wobei nicht umgesetzte Trisaccharide zu 9-25 % wieder zurückgewonnen werden. Die Reduktionen der Glycosylazide **7-12** zu den entsprechenden Glycosylaminen gelingen mit neutral gewaschenem Raney-Nickel unter einer Wasserstoffatmosphäre in quantitativer Ausbeute. Die anschließenden Kupplungen an den Boc-geschützten Asparaginsäure-Baustein **88** führen zu den vollständig geschützten Glycosylaminosäuren **89-94** in Ausbeuten zwischen 80-93 % (Abb. 4.3).



R <sup>2</sup>	R <sup>1</sup> = Me		R <sup>1</sup> = H		R <sup>1</sup> = CH <sub>2</sub> OBn	
	Verbindung (Ausbeute)	α:β	Verbindung (Ausbeute)	α:β	Verbindung (Ausbeute)	α:β
	<b>89</b> (82 %)	7:93	<b>90</b> (80 %)	14:86	<b>91</b> (81 %)	3:97
	<b>92</b> (93 %)	3:97	<b>93</b> (85 %)	3:97	<b>94</b> (90 %)	0.1:99.9

Abb. 4.3 Die Synthesen der vollständig geschützten Glycosylaminosäuren **89-94**.

Nur im Falle der Verbindung **91** können die Anomere flashchromatographisch getrennt werden. Nach hydrogenolytischer Spaltung der Benzylether mit Palladium auf Aktivkohle (10 %) werden die freien Hydroxygruppen zur Stabilisierung der glycosidischen Bindungen acetyliert. Anschließend werden sowohl die Boc- als auch die *tert*-Butylschutzgruppen in Anwesenheit des Kationenfängers Triethylsilan sauer gespalten. Durch Umsetzung der freien Aminofunktionen mit *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid (FmocOSu) erhält man die Bausteine **101-106** für die Glycopeptid-Festphasensynthese in Ausbeuten zwischen 60-74 %. Die Verbindungen **101** und **104-106** können durch präparativer RP-HPLC und die Verbindungen **102** und **103** durch Flashchromatographie gereinigt werden.

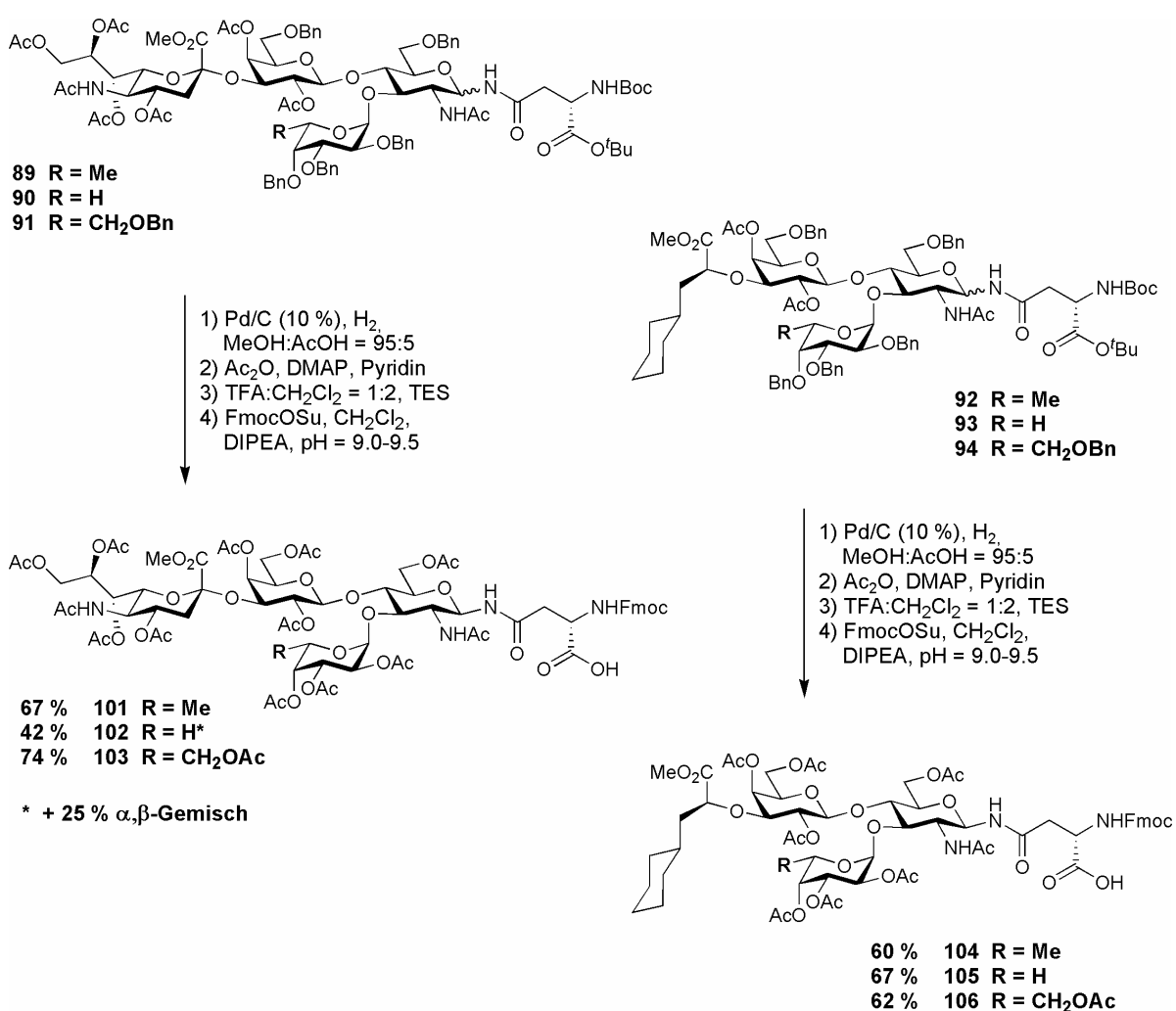


Abb. 4.4 Die Synthesen der Bausteine **101-106** für die Glycopeptid-Festphasensynthese.

Die automatisierten Glycopeptid-Festphasensynthesen werden an einem Peptidsynthesizer nach der Fmoc-Strategie unter Verwendung von mit Asparaginsäure vorbeladenen TentaGel<sup>®</sup>-Harzen durchgeführt. Dabei erfolgt die Aktivierung der Aminosäuren mit den Kupplungsreagenzien HBTU und HOBt und die Aktivierung der Glycosylaminosäuren

**101-106** mit den reaktiveren Reagenzien HATU und HOAt. Als einziges bedeutendes Nebenprodukt entsteht bei allen sechs Festphasensynthesen die Abbruchsequenz **115**. Dies ist vermutlich auf den hohen sterischen Anspruch der eingesetzten Glycosylaminosäuren **101-106** im Kupplungsschritt zurückzuführen. Nach saurer Abspaltung vom Harz werden die *O*-Acetylgruppen aus den Saccharidseitenketten unter Zemplén-Bedingungen<sup>107</sup> entfernt. Die Methylester der Sialinsäure und der Cyclohexylmilchsäure werden durch verdünnte Natronlauge hydrolysiert. Die Zielverbindungen **1-6** werden nach präparativer RP-HPLC in Ausbeuten zwischen 22-41 %, bezogen auf die Startaminosäure am Harz, erhalten. Die Strukturen aller sechs Glycopeptide (Abb. 4.5) können sowohl durch hoch auflösende massenspektrometrische Analysen als auch durch ein- und zweidimensionale NMR-Experimente belegt werden.

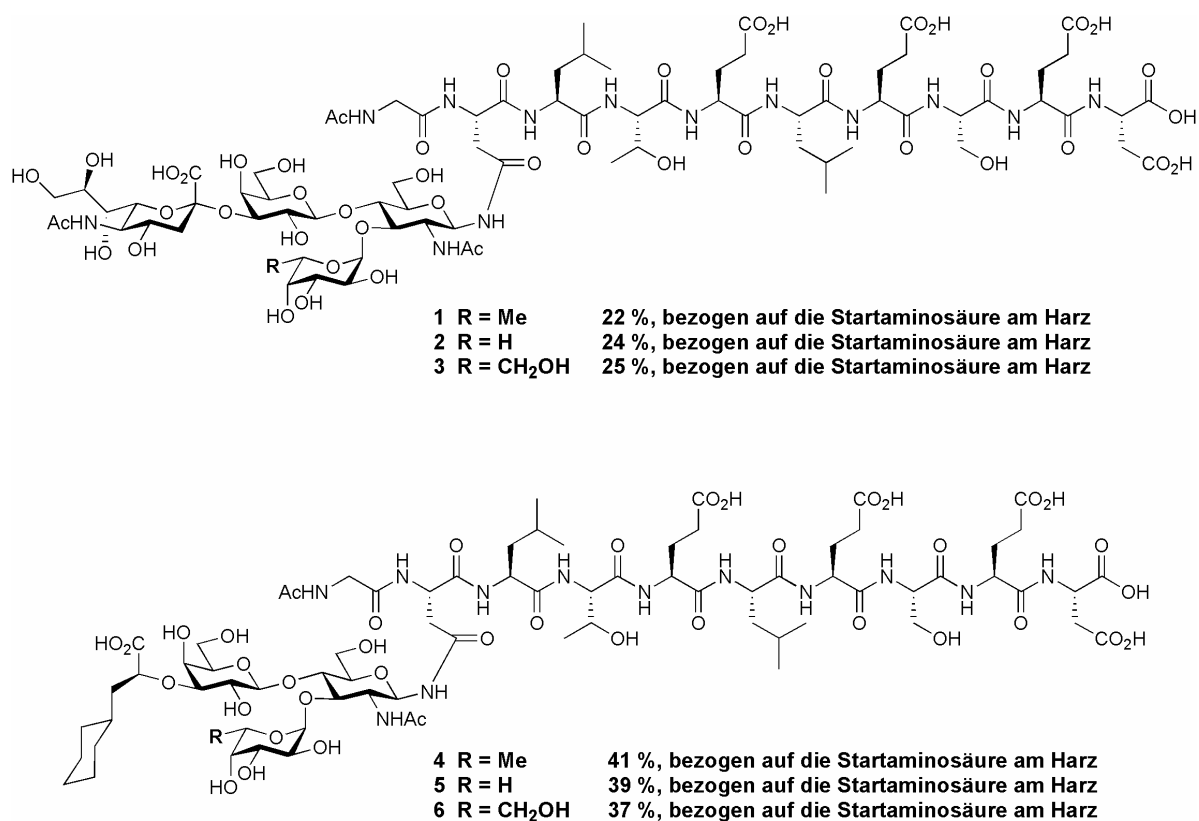


Abb. 4.5 Übersicht über die synthetisierten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Glycopeptide und -Mimetika **1-6**.

Als Ergebnis dieser Arbeit liegen sechs Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Glycopeptide und -Mimetika mit der Partialsequenz 672-681 des ESL-1 vor. Diese werden in Kürze in einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. D. Vestweber in Münster auf ihre Wirksamkeit als Zelladhäsionsinhibitoren für E-Selektin getestet. Daraus sollen sich Erkenntnisse über Struktur-Wirkungs-Beziehungen gewinnen lassen, insbesondere was das kooperative Zusammenwirken von Saccharid- und Peptidteilstrukturen in der Erkennung der Liganden durch das E-Selektin anbetrifft.

## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Allgemeines und Messgeräte

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

Die bei den Summenformeln angegebenen Molmassen beziehen sich auf die natürliche Isotopenverteilung, die Molmassen bei den Massenspektren dagegen auf die Massen der reinen Isotope  $^1\text{H}$ ,  $^{12}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{39}\text{K}$ ,  $^{14}\text{N}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{16}\text{O}$  und  $^{32}\text{S}$ .

#### Dünnschichtchromatographie:

Für die dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle wurden mit Kieselgel 60 F<sub>254</sub> beschichtete Aluminiumfertigplatten der Firma *Merck*, Darmstadt (Deutschland) verwendet. Die Detektion erfolgte durch UV-Licht bei einer Wellenlänge von 254 nm und mittels folgender Färbereagenzien:

- Methoxyphenol-Reagenz (Mischung aus 1 M Schwefelsäure in Ethanol und 0.2%iger ethanolischer 3-Methoxyphenol-Lösung im Volumenverhältnis 1:1);
- Seebach-Reagenz (Lösung aus 1.0 g Cer(IV)-sulfat-Tetrahydrat und 2.5 g Molybdato-phosphorsäure in 94 ml Wasser und 6 ml Schwefelsäure);
- Ninhydrin-Reagenz (1.5 g Ninhydrin in einer Mischung aus 15 ml Essigsäure und 15 ml Methanol).

#### Flashchromatographie:

Als Säulenmaterial für die Flashchromatographie wurde Kieselgel mit einer Korngröße von 0.032-0.063 mm der Firma *MP Biomedicals*, Irvine (USA; in Deutschland: Eschwege) verwendet. Die Säulengröße (Höhe x Durchmesser), die Menge an Kieselgel sowie die verwendeten Lösungsmittelgemische sind bei den einzelnen Verbindungen angegeben. Die Zusammensetzungen der Lösungsmittelgemische sind stets in Volumenverhältnissen angegeben. War das exakte Volumenverhältnis nicht bekannt, wurde stattdessen der  $R_f$ -Wert der zu isolierenden Substanz vermerkt.

#### Lösungsmittel:

Soweit nicht gesondert vermerkt, wurden Lösungsmittel der Qualität *pro analysi* verwendet. Absolutes *N,N*-Dimethylformamid wurde in Septenflaschen über Molekularsieb von der Firma *Fluka*, Buchs (Schweiz) bezogen. Absolutes Acetonitril, 1,2-Dimethoxyethan,

Dichlorethan und Dichlormethan wurden durch Destillation über Calciumhydrid, absolutes Tetrahydrofuran und absoluter Diethylether durch Destillation über Natrium/Benzophenon und absolutes Ethanol durch Destillation über Natrium/Phthalsäurediethylester erhalten.<sup>175</sup>

#### Drehwerte:

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

#### Elementaranalysen:

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

#### Schmelzpunkte:

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

#### NMR-Spektroskopie:

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

- *Bruker* AC-200: 200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR und 50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR
- *Bruker* AC-300: 300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR
- *Bruker* AM-400: 400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR und 100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR
- *Bruker* DRX-600: 600 MHz-<sup>1</sup>H-NMR und 150.9 MHz-<sup>13</sup>C-NMR

Die durchgeführten NMR-Experimente sowie die verwendeten Lösungsmittel sind bei den einzelnen Verbindungen verzeichnet. Zur Kennzeichnung der Multiplizität wurden folgende Abkürzungen genutzt: s, Singulett; s<sub>b</sub>, breites Singulett; d, Dublett; dd, Dublett vom Dublett; dt, Dublett vom Triplet; dq, Dublett vom Quartett; ddd, Dublett vom Dublett vom Dublett; t, Triplet; tdd, Triplet vom Dublett vom Dublett; q, Quartett; m, Multiplett; m<sub>c</sub>, zentriertes Multiplett. Die angegebenen Werte für die chemischen Verschiebungen beziehen sich auf das Signal des deuterierten Lösungsmittels bei relativer Kalibrierung zu Tetramethylsilan

---

<sup>175</sup> D. D. Perrin, W. L. F. Amarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd ed., Pergamon Press, Oxford, 1988.

als Standard ( $\delta = 0$  ppm). Bei der schriftlichen Interpretation der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Signale wurden die Cyclohexanring-Atome des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins sowie die Atome der Saccharid-Bausteine mit folgenden Abkürzungen bezeichnet:

D-Glucose: Glc      D-Galactose: Gal      D-Arabinose: Ara  
L-Fucose: Fuc      L-Galactose: L-Gal      Sialinsäure: Sia  
Cyclohexanring: Cyclo

Die Benennung der Aminosäure-Bausteine sowie die Nummerierung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Signale folgen der IUPAC-Empfehlung von 1983.<sup>176</sup>

#### Massenspektrometrie:

- FD-Massenspektren wurden mit einem *Finnigan*-MAT-95-Spektrometer der Firma *ThermoElectron*, Boston (USA) gemessen.
- ESI-Massenspektren wurden auf folgenden Geräten aufgenommen:  
Gerät 1: Navigator-Instrument der Firma *ThermoElectron*, Boston (USA) bei Verwendung von Acetonitril als Lösungsmittel, einer Probenkonzentration von 0.1 mg/ml, einer Flussrate von 0.75 ml/min, einer Cone Voltage von 70 V (oder 40 V) und einem  $\text{N}_2$ -Strom von 300 l/h.  
Gerät 2: Micromass-Q-TOF-Ultima-3-Spektrometer der Firma *Waters*, Milford (USA) bei Verwendung von Acetonitril-Wasser-Gemischen als Lösungsmittel, einer Probenkonzentration von 0.1 mg/ml, einer Flussrate von 5  $\mu\text{l}/\text{min}$  und einer Cone Voltage von 70-80 V.
- Hochauflösende ESI-Massenspektren (HR-ESI) wurden mit Gerät 2 aufgenommen, wobei hier zur Kalibrierung eine Lösung von 400 mg Natriumiodid und 10 mg Cäsiumiodid in 400 ml eines Wasser-Isopropanol-Gemischs (v:v = 1:1) zum Einsatz kam. Der Gerätehersteller garantiert eine Genauigkeit von mindestens 5 ppm bezogen auf die Differenz von gemessener zur berechneten Masse geteilt durch die berechnete Masse. Die bei den Spektren angegebenen Werte der gemessenen und berechneten Molekülmassen beziehen sich auf die Neutralkomplexe, obwohl die Molekülkationen angegeben sind. Das Gerät ist so kalibriert, dass die Masse des Elektrons von 0.000549 u berücksichtigt wird.

#### Festphasensynthesen:

Festphasensynthesen wurden mit einem ABI-433A-Peptidsynthesizer der Firma *Applied Biosystems*, Foster City (USA; in Deutschland: Weiterstadt) durchgeführt. Zur Verfolgung

---

<sup>176</sup> International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry, *Pure Appl. Chem.* **1994**, 56, 595-624.

der Fmoc-Abspaltung kam ein Series-200-UV/VIS-Detektor der Firma *PerkinElmer*, Wellesley (USA) zum Einsatz. Als polymere Träger wurden TentaGel<sup>®</sup>-Harze der Firma *Rapp Polymere*, Tübingen (Deutschland) verwendet. Die eingesetzten Aminosäuren sowie die Kupplungsreagenzien lieferten die Firmen *Novabiochem*, Läuflingen (Schweiz) und *Orpegen*, Heidelberg (Deutschland). *N*-Methylpyrrolidin-2-on wurde von der Firma *SDS*, Peypin (Frankreich) und *N,N*-Dimethylformamid von der Firma *Roth*, Karlsruhe (Deutschland) erworben.

#### Analytische und präparative RP-HPLC:

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

Präparative RP-HPLC-Trennungen wurden unter Verwendung zweier MiniStar-K500-Gradientenpumpen in Verbindung mit einer präparativen Mischkammer sowie einem variablen Wellenlängendetektor der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland) durchgeführt

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

Folgende Säulen und Gradienten wurden verwendet:

Analytische RP-HPLC-Säule:

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

Präparative RP-HPLC-Säule:

- Säule B: Luna C18(2) (10  $\mu$ m, 250 x 50.00 mm), Firma *Phenomenex*

Gradient A:

Zeit [min]	0	80	100
H <sub>2</sub> O [%]	95	0	0
CH <sub>3</sub> CN [%]	5	100	100

Gradient B:

Zeit [min]	0	40	60
H <sub>2</sub> O [%]	95	0	0
CH <sub>3</sub> CN [%]	5	100	100

Gradient C:

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

Gradient D:

<b>Zeit [min]</b>	0	30	50
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	20	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	80	100	100

Gradient E:

<b>Zeit [min]</b>	0	30	50
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	50	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	50	100	100

Gradient F:

<b>Zeit [min]</b>	0	50	70
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	90	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	10	100	100

Gradient G:

<b>Zeit [min]</b>	0	120	140	160
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	70	50	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	30	50	100	100

Gradient H:

<b>Zeit [min]</b>	0	30	40	60
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	70	30	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	30	70	100	100

Gradient I:

<b>Zeit [min]</b>	0	70	80	100
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	70	50	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	30	50	100	100

Gradient J:

<b>Zeit [min]</b>	0	60	70	100
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	70	30	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	30	50	100	100

Gradient K:

<b>Zeit [min]</b>	0	140	150	170
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	70	50	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	30	50	100	100

Gradient L:

<b>Zeit [min]</b>	0	50	60	80
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	95	60	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	5	40	100	100

Gradient M:

<b>Zeit [min]</b>	0	100	110	140
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	95	60	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	5	40	100	100

Gradient N:

<b>Zeit [min]</b>	0	30	50	70
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	95	50	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	5	50	100	100

Gradient O:

<b>Zeit [min]</b>	0	50	60	80
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	95	50	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	5	50	100	100

Gradient P:

<b>Zeit [min]</b>	0	80	90	120
<b>H<sub>2</sub>O [%]</b>	95	50	0	0
<b>CH<sub>3</sub>CN [%]</b>	5	50	100	100

## 5.2 Die Synthesen von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> und Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Mimetika

### 5.2.1 Die Synthese des Glucosamin-Bausteins

#### 2-Acetamido-2-desoxy- $\alpha$ -D-glucopyranose (**26**)<sup>101</sup>

In einer Natriummethanolat-Lösung aus 11.5 g (500 mmol) Natrium in 500 ml Methanol suspendiert man 108 g (500 mmol) D-Glucosaminhydrochlorid (**25**) und schüttelt den Ansatz 5 Minuten. Anschließend wird ausgefallenes Natriumchlorid zügig abfiltriert. Zum Filtrat tropft man langsam und unter kräftigem Rühren 47.2 ml (51.0 g, 500 mmol) Essigsäureanhydrid hinzu, und rührt die Lösung nach Beendigung der Zugabe 3 h. Zur Vervollständigung der Fällung wird die Suspension 15 h auf 5 °C gekühlt. Der Niederschlag wird abfiltriert und mit 100 ml eiskaltem Ethanol und 100 ml eiskaltem Diethylether gewaschen.

Ausbeute: 97.6 g (441 mmol, 88 %), Lit.:<sup>101</sup> quant.; farblose Kristalle; Schmp.: 198-202 °C (Zers.), Lit.:<sup>101</sup> 200-204 °C (208 °C nach Umkristallisation);  $[\alpha]_D^{22} = 37$  ( $c = 1.0$ , H<sub>2</sub>O), Lit.:<sup>101</sup>  $[\alpha]_D = 40.5$  ( $c = 1$ , H<sub>2</sub>O nach 24 h);  $R_f = 0.68$  (MeOH).

200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.62 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 7.8 Hz, Glc-NH), 6.40, 4.89, 4.61 (3 × d, 4H, <sup>3</sup>J = 4.4 Hz, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J = 4.9 Hz, Glc-1, Glc-1-OH, Glc-3-OH, Glc-4-OH), 4.41 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>6-OH,6</sub> = 5.6 Hz, Glc-6-OH), 3.70-3.41 (m, 5H, Glc-2, Glc-3, Glc-4, Glc-6a, Glc-6b), 3.09 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 1.80 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 169.4 (C=O), 90.5 (Glc-1), 72.0, 71.1, 70.4 (Glc-3, Glc-4, Glc-5), 61.1 (Glc-6), 54.2 (Glc-2), 22.6 (CH<sub>3</sub>).

C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>6</sub> (221.2)

#### 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- $\alpha$ -D-glucopyranosylchlorid (**27**)<sup>102,103</sup>

Man versetzt 97.5 g (441 mmol) 2-Acetamido-2-desoxy- $\alpha$ -D-glucopyranose (**26**) unter Rühren mit 250 ml (276 g, 3.52 mol) Acetylchlorid. Die Mischung beginnt nach ca. 30 min spontan zu sieden und wird nach Abklingen der Reaktion 14 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend destilliert man überschüssiges Acetylchlorid i. Vak. ab und löst den resultierenden braunen Rückstand in 500 ml Dichlormethan. Die Lösung wird unter kräftigem Rühren auf eine Mischung aus 500 ml einer 10%igen Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 500 g Eis gegeben. Nach Abklingen der Gasentwicklung gibt man so lange festes Natriumhydrogencarbonat hinzu, bis ein pH-Wert zwischen 8 und 9 erreicht ist. Danach wird die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 100 ml

Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. auf ca. 200 ml eingengt. Nach Filtration über eine 3-4 cm dicke Schicht Kieselgel wird das Dichlormethan i. Vak. entfernt und das resultierende rotbraune Öl durch Zugabe eines Diethylether-Petrolether-Gemischs (v:v = 1:1) kristallisiert.

Ausbeute: 117 g (320 mmol, 73 %), Lit.:<sup>103</sup> 67-79 %; farblose Kristalle; Schmp.: 127 °C (Zers.), Lit.:<sup>103</sup> 127-128 °C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = 118$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>177</sup>  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = 117.5$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>103</sup>  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = 110$  ( $c = 1.04$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.38$  (PE:EtOAc = 1:3).

200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 6.16 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 3.9$  Hz, Glc-1), 5.83 (db, 1H,  $^3J_{\text{NH},2} = 8.3$  Hz, Glc-NH), 5.30, 5.18 (2 × t, 2H,  $^3J_{\text{vic}} = 9.8$  Hz,  $^3J_{\text{vic}} = 9.5$  Hz, Glc-3, Glc-4), 4.51 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{vic}} = 10.3$  Hz,  $^3J_{\text{vic}} = 8.8$  Hz,  $^3J_{\text{vic}} = 3.9$  Hz, Glc-5), 4.30-4.07 (m, 3H, Glc-2, Glc-6a, Glc-6b), 2.08 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.02 (s, 6H,  $\text{CH}_3$ ) 1.96 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (GASPE,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 171.4, 170.5, 170.2, 169.1 (4 × C=O), 93.7 (Glc-1), 70.9, 70.1, 67.0 (Glc-3, Glc-4, Glc-5), 61.1 (Glc-6), 53.4 (Glc-2), 23.0 ( $\text{CH}_3$ ), 20.7 (2 ×  $\text{CH}_3$ ), 20.5 ( $\text{CH}_3$ ).

$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_8\text{Cl}$  (365.8)

## 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucoopyranosylazid (**28**)<sup>106,104</sup>

Zu einer Lösung von 117 g (320 mmol) 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- $\alpha$ -D-glucoopyranosylchlorid (**27**) in 300 ml Dichlormethan gibt man 41.6 g (640 mmol) Natriumazid in 140 ml Wasser hinzu. Diese Mischung wird mit einer Lösung von 4.50 g (11.1 mmol) Aliquat<sup>®</sup> 336 (Methyltrioctylammoniumchlorid) in 14 ml Dichlormethan versetzt und vier Tage so kräftig gerührt, dass eine intensive Vermischung beider Phasen erfolgt. Anschließend trennt man die Phasen und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit je 150 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden dreimal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 100 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknung mit Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel i. Vak. weitgehend entfernt und das resultierende rötliche Öl durch Zugabe von Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 90.5 g (243 mmol, 76 %), Lit.:<sup>104</sup> 86 %; farblose Nadeln; Schmp.: 166-167 °C (Zers.), Lit.:<sup>104</sup> 166-167 °C (Zers.), Lit.:<sup>106</sup> 160-161 °C (Zers.);  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -44$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>106</sup>  $[\alpha]_{\text{D}} = -43$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.20$  (PE:EtOAc = 1:3).

200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.87 (sb, 1H, Glc-NH), 5.24, 5.06 (2 × t, 2H,  $^3J = 9.5$  Hz,  $^3J = 9.3$  Hz, Glc-3, Glc-4), 4.75 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 9.3$  Hz, Glc-1), 4.25 (dd, 1H,

<sup>177</sup> Y. Inouye, K. Onodera, S. Kitaoka, H. Ochiai, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 4218-4222.

$^3J_{5,6a} = 4.7$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.2$  Hz, Glc-6a), 4.13 (dd, 1H,  $^3J_{5,6b} = 2.4$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 12.2$  Hz, Glc-6b), 3.91 (q, 1H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = ^3J_{NH,2} = 9.3$  Hz, Glc-2), 3.78 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 2.07, 2.01, 2.00, 1.95 (4 × s, 12H, CH<sub>3</sub>).

50.3 MHz- $^{13}C$ -NMR (GASPE, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.8, 170.71, 170.66, 169.3 (4 × C=O), 88.4 (Glc-1), 73.9, 72.2, 68.2 (Glc-3, Glc-4, Glc-5), 61.9 (Glc-6), 54.1 (Glc-2), 23.2, 20.7, 20.62, 20.57 (4 × CH<sub>3</sub>).

C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (372.3)

ber.: C 45.16 H 5.41 N 15.05

gef.: C 45.06 H 5.38 N. 15.09

### 2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (29)<sup>106,104,178</sup>

Eine Lösung von 90.4 g (243 mmol) 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (**28**) in 1 l Methanol wird unter Rühren so lange mit Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 9-10 erreicht ist, und anschließend 3 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst<sup>®</sup> 15, filtriert den Ionenaustauscher ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird durch Zugabe von 100 ml eines Methanol-Ethylacetat-Gemischs (v:v = 1:2) kristallisiert. Die resultierenden farblosen Kristalle werden zweimal mit je 200 ml Ethylacetat gewaschen.

Ausbeute: 56.8 g (231 mmol, 95 %), Lit.:<sup>178</sup> quant., Lit.:<sup>106</sup> 69 %; farblose Kristalle; Schmp.: 147-148 °C (Zers.), Lit.:<sup>178</sup> 146-148 °C, Lit.:<sup>106</sup> 142 °C (Zers.);  $[\alpha]_D^{22} = -19$  ( $c = 1.0$ , H<sub>2</sub>O), Lit.:<sup>104</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -26.9$  ( $c = 1$ , H<sub>2</sub>O), Lit.:<sup>106</sup>  $[\alpha]_D = -30$  ( $c = 1$ , H<sub>2</sub>O);  $R_f = 0.71$  (MeOH).

200 MHz- $^1H$ -NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.82 (d, 1H,  $^3J_{NH,2} = 9.3$  Hz, Glc-NH), 5.14, 4.67 (2 × s<sub>b</sub>, 3H, Glc-3-OH, Glc-4-OH, Glc-6-OH), 4.35 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 9.3$  Hz, Glc-1), 3.69 (d<sub>b</sub>, 1H,  $^2J_{6a,6b} = 11.7$  Hz, Glc-6a), 3.56-3.05 (m, 5H, Glc-2, Glc-3, Glc-4, Glc-5, Glc-6b), 1.82 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

50.3 MHz- $^{13}C$ -NMR (GASPE, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 169.4 (C=O), 88.4 (Glc-1), 79.3, 73.8, 70.0 (Glc-3, Glc-4, Glc-5), 60.7 (Glc-6), 54.8 (Glc-2), 22.9 (CH<sub>3</sub>).

C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> (246.2)

<sup>178</sup> K. Donsbach, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 1996.

**2-Acetamido-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (30)<sup>108,104</sup>**

Eine Lösung von 56.7 g (230 mmol) 2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (**29**), 69.3 ml (70.0 g, 460 mmol) Benzaldehyddimethylacetal und 4.40 g (23.1 mmol) 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat in 600 ml *N,N*-Dimethylformamid wird 5 h bei 50 °C und 40-70 mbar am Rotationsverdampfer durchmischt. Anschließend neutralisiert man das Reaktionsgemisch durch Zugabe von 3.20 ml (2.34 g, 23.1 mmol) Triethylamin, entfernt das Lösungsmittel und überschüssiges Benzaldehyddimethylacetal i. Hochvak. bei 50 °C und kodestilliert dreimal mit je 100 ml Toluol. Das resultierende Öl wird in 1.2 l siedendem Methanol gelöst. Beim Abkühlen dieser Lösung fällt das Produkt in farblosen Kristallen aus.

Ausbeute: 52.8 g (158 mmol, 69 %), Lit.:<sup>104</sup> 97 %, Lit.:<sup>108</sup> 76 %; farblose Kristalle; Schmp.: 211 °C (Zers.), Lit.:<sup>108</sup> 214-216 °C (korr., Zers.), Lit.:<sup>104</sup> 216 °C (korr., Zers.);  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -96$  ( $c = 1.0$ , MeOH), Lit.:<sup>108</sup>  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -101.3$  ( $c = 1$ , MeOH);  $R_f = 0.19$  (EtOAc).

200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.99 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{\text{NH},2} = 8.8$  Hz, Glc-NH), 7.45-7.35 (m, 5H, Ph), 5.61 (s, 1H, CHPh), 5.45 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{\text{OH},3} = 4.88$  Hz, OH), 4.60 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.8$  Hz, Glc-1), 4.22 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 3.9$  Hz, <sup>2</sup> $J_{6a,6b} = 9.5$  Hz, Glc-6a), 3.81-3.40 (m, 5H, Glc-2, Glc-3, Glc-4, Glc-5, Glc-6b), 1.85 (s, 1H, CH<sub>3</sub>).

50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 169.5 (C=O), 137.5 (Ph<sub>ipso</sub>), 128.8, 128.0, 126.3 (5 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 100.7 (CHPh), 88.7 (Glc-1), 80.7, 70.2, 68.1, 67.4 (Glc-3, Glc-4, Glc-5, Glc-6), 55.4 (Glc-2), 22.9 (CH<sub>3</sub>).

C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> (334.3)

ber.: C 53.89 H 5.43 N 16.76

gef.: C 53.80 H 5.53 N.16.62

**2-Acetamido-3-*O*-allyl-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (31)**

Zu einer Lösung von 28.9 g (86.4 mmol) 2-Acetamido-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (**30**) in 800 ml *N,N*-Dimethylformamid gibt man bei 0 °C und unter einer Argonatmosphäre portionsweise 3.81 g (95.3 mmol) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl hinzu. Nach Abklingen der Gasentwicklung und Erwärmen auf Raumtemp. werden 200 mg Tetrabutylammoniumiodid zugegeben. Anschließend tropft man 8.04 ml (11.5 g, 95.0 mmol) Allylbromid in 50 ml *N,N*-Dimethylformamid langsam zu und rührt die Reaktionsmischung 4 h bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre. Nach Zugabe von 10 ml Methanol wird *N,N*-Dimethylformamid i. Hochvak. abdestilliert und der Rückstand dreimal mit je 60 ml Toluol kodestilliert. Unter Erwärmen löst man das Rohprodukt in 400 ml eines Dichlormethan-Methanol-Gemischs (v:v = 4:1) und zieht auf

45 g Kieselgel auf. Das beladene Kieselgel wird nach Trocknung i. Hochvak. auf eine Säule mit 630 g Kieselgel aufgebracht und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 20 x 10 cm, Laufmittel: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOAc = 6:1).

Ausbeute: 24.9 g (66.5 mmol, 77 %); farblose Kristalle; Schmp.: 204 °C (Zers.), Lit.:<sup>104</sup> 207 °C (Zers.);  $[\alpha]_D^{22} = -24$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>104</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -26.8$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.55$  (EtOAc).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 8.13 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 8.9 Hz, Glc-NH), 7.46-7.39 (m, 5H, Ph), 5.83 (m<sub>c</sub>, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.71 (s, 1H, CHPh), 5.18 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 3.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>trans</sub> = 17.1 Hz, <sup>4</sup>J = 1.7 Hz, CH=CH<sub>2</sub><sup>trans</sup>), 5.07 (ddb, 1H, <sup>3</sup>J<sub>cis</sub> = 10.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.8 Hz, CH=CH<sub>2</sub><sup>cis</sup>), 4.69 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 9.3 Hz, Glc-1), 4.25 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 4.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 10.2 Hz, Glc-6a), 4.20 (tdd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 5.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, CH<sub>2a</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.05 (tdd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 13.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 5.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, CH<sub>2b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.79 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 10.2 Hz, Glc-3), 3.76-3.54 (m, 4H, Glc-2, Glc-4, Glc-5, Glc-6b), 1.85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 169.4 (C=O), 137.4 (Ph<sub>ipso</sub>), 135.3 (CH=CH<sub>2</sub>), 128.8, 128.1, 125.9 (5 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 115.8 (CH=CH<sub>2</sub>), 100.1 (CHPh), 88.6 (Glc-1), 80.4, 77.9 (Glc-4, Glc-5), 72.2 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 67.7 (Glc-3), 67.4 (Glc-6), 53.8 (Glc-2), 22.7 (CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 1), positiv  $[m/z] = 438.2$  (100 %,  $[M + \text{MeCN} + \text{Na}]^+$ , ber.: 438.2), 397.3 (52 %,  $[M + \text{Na}]^+$ , ber.: 397.1).

C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> (374.4)	ber.: C 57.75	H 5.92	N 14.96
	gef.: C 57.69	H 5.95	N 14.90

## 2-Acetamido-3-*O*-allyl-6-*O*-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (24)

( $\beta$ -3-All-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub>)

Ein Gemisch aus 21.2 g (56.6 mmol) 2-Acetamido-3-*O*-allyl-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (**31**), 21.3 g (339 mmol) Natriumcyanoborhydrid und 10 g pulverförmigem Molekularsieb 4 Å in 800 ml absol. Tetrahydrofuran wird 30 min unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend werden bei 0 °C 60 ml einer bei -25 °C ges. Lösung von Chlorwasserstoff in absol. Diethylether zugetropft. Man rührt 1 h bei 0 °C und weitere 15 h bei Raumtemperatur. Der Ansatz wird mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und über Celite<sup>®</sup> filtriert. Man wäscht das Filtrat dreimal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen mit 50 ml Tetrahydrofuran. Um noch vorhandene borhaltige Verunreinigungen zu entfernen, werden die vereinigten organischen Phasen 30 min mit 250 ml 1 M Salzsäure kräftig

gerührt. Anschließend gibt man 600 ml Dichlormethan hinzu, trennt die Phasen und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit je 50 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal je 30 min mit je 250 ml 1 M Salzsäure kräftig gerührt und die wässrigen Phasen mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert. Dann wäscht man die vereinigten organischen Phasen dreimal mit je 250 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 250 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung und extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen mit 50 ml Dichlormethan. Nach Trocknung der vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat und Entfernung der Lösungsmittel i. Vak. wird das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 25 x 10 cm, 790 g Kieselgel, PE:EtOAc = 1:4). Anschließend kristallisiert man aus einem Petrolether-Ethylacetat-Gemisch (v:v = 1:4) um.

Ausbeute: 15.6 g (41.4 mmol, 73 %); farblose Kristalle; Schmp.: 143 °C (Zers.);  $[\alpha]_D^{22} = -33$  ( $c = 1.0$ , MeOH);  $R_f = 0.34$  (EtOAc).

600 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.99 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 9.0 Hz, Glc-NH), 7.36-7.25 (m, 5H, Ph), 5.84 (m<sub>c</sub>, 1H, CH=CH<sub>2</sub>), 5.47 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>OH,4</sub> = 6.3 Hz, OH), 5.18 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>trans</sub> = 17.2 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, CH=CH<sub>2</sub><sup>trans</sup>), 5.05 (dd<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>cis</sub> = 10.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, CH=CH<sub>2</sub><sup>cis</sup>), 4.52 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.50 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.6 Hz, Glc-1), 4.23 (tdd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 5.5 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, CH<sub>2a</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.06 (tdd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 5.3 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz, CH<sub>2b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.73 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 1.2 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.0 Hz, Glc-6a), 3.59-3.55 (m, 2H, Glc-2, Glc-6b), 3.49 (t<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 7.0 Hz, Glc-5), 3.31-3.24 (m, 2H, Glc-3, Glc-4), 1.82 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 169.2 (C=O), 138.4 (Ph<sub>ipso</sub>), 135.8 (CH=CH<sub>2</sub>), 128.2, 127.4, 127.3 (5 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 115.5 (CH=CH<sub>2</sub>), 88.0 (Glc-1), 81.9, 77.6 (Glc-4, Glc-5), 72.7, 72.3 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Ph), 69.6 (Glc-3), 69.2 (Glc-6), 53.6 (Glc-2), 22.7 (CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 1), positiv [*m/z*] = 399.3 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 399.2), 371.2 (91 %, [M + Na - N<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 371.2), 356.1 (62 %, [M + Na - Ac]<sup>+</sup>, ber.: 356.1).

C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> (376.4)

ber.: C 57.44 H 6.43 N 14.88

gef.: C 57.27 H 6.45 N 14.78

## 5.2.2 Die Synthese des Galactose-Bausteins

### 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose (33)<sup>114</sup>

Zu einer Suspension von 90.0 g (500 mmol) D-Galactose (32) und 200 g (1.25 mol) wasserfreiem Kupfer(II)-sulfat in 1500 ml Aceton gibt man 12 ml konz. Schwefelsäure und rührt

24 h. Anschließend wird das Kupfer(II)-sulfat abfiltriert und das Filtrat mit Calciumhydroxid neutralisiert. Man filtriert über Celite<sup>®</sup> und entfernt das Aceton im Vakuum. Das Rohprodukt ist ausreichend rein und wird ohne weitere Reinigung und ohne Charakterisierung weiter zu Verbindung **34** umgesetzt.

Rohausbeute: 130 g (quant.), Lit.:<sup>114</sup> 76-92 %; gelbes Öl;  $R_f = 0.32$  (PE:EtOAc = 1:1).

$C_{12}H_{20}O_6$  (260.3)

### 6-*O*-Benzyl-1,2:3,4-di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose (**34**)<sup>115</sup>

Eine Lösung von 130 g (499 mmol) roher 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose (**33**) in 750 ml *N,N*-Dimethylformamid wird auf 0 °C abgekühlt. Unter einer Argonatmosphäre gibt man portionsweise 30.0 g (750 mmol) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl hinzu. Die Kühlung wird entfernt und der Ansatz 1 h bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt erneut auf 0 °C ab und tropft 88.8 ml (128 g, 749 mmol) Benzylbromid in 50 ml *N,N*-Dimethylformamid hinzu. Anschließend wird die Reaktionsmischung 15 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von 20 ml Methanol werden die Lösungsmittel und überschüssiges Benzylbromid i. Hochvak. entfernt. Der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert, dann in 500 ml Dichlormethan aufgenommen und die resultierende gelbe Lösung wird dreimal mit je 100 ml Wasser gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das Rohprodukt wird flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 25 x 10 cm, 790 g Kieselgel, Laufmittel: PE:EtOAc = 10:1).

Ausbeute: 122 g (348 mmol, 70 %), Lit.:<sup>115</sup> 84 %; gelbes Öl;  $[\alpha]_D^{22} = -62$  ( $c = 1.0$ ,  $CHCl_3$ ), Lit.:<sup>179</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -65 \pm 0.5$  ( $c = 2.679$ ,  $CHCl_3$ );  $R_f = 0.33$  (PE:EtOAc = 5:1).

200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.33-7.23 (m, 5H, Ph), 5.50 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 5.4$  Hz, Gal-1), 4.61-4.46 (m, 3H, Gal-3,  $\underline{CH}_2Ph$ ), 4.28-4.19 (m, 2H, Gal-2, Gal-4), 3.99 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-5), 3.71-3.55 (m, 2H, Gal-6a, Gal-6b), 1.49, 1.41, 1.29, 1.27 (4 x s, 12H,  $CH_3$ ).

50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (*BB*,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 138.3 ( $Ph_{ipso}$ ), 128.3, 127.7, 127.6 (5 x  $Ph_{o,m,p}$ ), 109.2, 108.6 (2 x  $\underline{C}(CH_3)_2$ ), 96.4 (Gal-1), 73.3 ( $\underline{CH}_2Ph$ ), 71.2, 70.7, 70.6, 68.9, 66.9 (Gal-2, Gal-3, Gal-4, Gal-5, Gal-6), 26.1, 26.0, 25.0, 24.5 (4 x  $CH_3$ ).

$C_{19}H_{26}O_6$  (350.4)

<sup>179</sup> J. Stanek, A. Sele, R. Jaques, A. Rossi, *Helv. Chim. Acta* **1972**, 55, 434-446.

**6-O-Benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (35)<sup>115</sup>**

Eine Lösung von 122 g (348 mmol) 6-O-Benzyl-1,2:3,4-di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose (**34**) in 800 ml 60%iger Essigsäure wird 5 h bei 80-90 °C gerührt. Anschließend destilliert man das Essigsäure-Wasser-Gemisch i. Hochvak. ab und kodestilliert so oft mit Toluol bis kein Essigsäure-Geruch mehr wahrnehmbar ist. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung und ohne Charakterisierung weiter zu Verbindung **36** umgesetzt.

Rohausbeute: 94.1 g (quant.), Lit.:<sup>115</sup> 87 % nach Chromatographie; gelbes Öl;  $R_f = 0.19$  (EtOAc:EtOH = 10:1).

$C_{13}H_{18}O_6$  (270.3)

**1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (36)<sup>115</sup>**

Eine Lösung von 94.1 g (348 mmol) roher 6-O-Benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (**35**) in 500 ml Pyridin wird auf 0 °C abgekühlt. Nach Zugabe von 250 mg 4-Dimethylaminopyridin tropft man unter Rühren 250 ml Essigsäureanhydrid hinzu, entfernt die Kühlung und rührt weitere 15 h bei Raumtemperatur. Die Reaktionsmischung wird von Pyridin und überschüssigem Essigsäureanhydrid i. Hochvak. befreit und sechsmal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt löst man in 500 ml Dichlormethan und wäscht diese Lösung dreimal mit je 150 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 25 x 10 cm, 790 g Kieselgel, Laufmittel: PE:EtOAc = 4:1). Dadurch wird eine Fraktion reines  $\alpha$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten.

Gesamtausbeute: 121 g (276 mmol, 79 %, bezogen auf **34**), Lit.:<sup>115</sup> 85 % (74 %, bezogen auf **34**).

**$\alpha,\beta$ -Gemisch:** 110 g (251 mmol, 72 % bezogen auf **34**); gelbes Öl;  $R_f$  ( $\alpha$ -Anomer) = 0.37 (PE:EtOAc = 2:1),  $R_f$  ( $\beta$ -Anomer) = 0.35 (PE:EtOAc = 2:1).

**$\alpha$ -Anomer:** 11 g (25.1 mmol, 7 %, bezogen auf **34**); gelbes Öl;  $[\alpha]_D^{22} = 64$  ( $c = 1.0$ ,  $CHCl_3$ ).  
200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.35-7.24 (m, 5H, Ph), 6.34 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 2.4$  Hz, Gal-1), 5.54 (s<sub>b</sub>, 1H, Gal-4), 5.31-5.29 (m, 2H, Gal-2, Gal-3), 4.53, 4.37 (2 x d, 2H,  $2 \times ^2J_{gem} = 12.2$  Hz,  $CH_2Ph$ ), 4.27 (t<sub>b</sub>, 1H,  $^3J_{5,6} = 6.9$  Hz, Gal-5), 3.52-3.36 (m, 2H, Gal-6a, Gal-6b), 2.12, 2.03, 1.99, 1.97 (4 x s, 12H,  $CH_3$ ).

50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 170.1, 169.9, 169.1 (4 x C=O), 137.4 (Ph<sub>ipso</sub>), 128.5, 127.94, 127.89 (5 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 89.9 (Gal-1), 73.6 (CH<sub>2</sub>Ph), 70.1, 67.9, 67.6, 67.3, 66.7 (Gal-2, Gal-3, Gal-4, Gal-5, Gal-6), 20.9, 20.7, 20.6, 20.5 (4 x CH<sub>3</sub>).

C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub> (438.4)

### 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (**37**)<sup>116</sup>

Zu einer Lösung von 121 g (276 mmol) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (**36**) in 900 ml *N,N*-Dimethylformamid gibt man unter einer Argonatmosphäre 38.1 g (414 mmol) Hydrazinacetat hinzu und rührt 3 h. Anschließend wird die Reaktionsmischung von *N,N*-Dimethylformamid i. Hochvak. befreit und viermal mit je 50 ml Toluol kdestilliert. Das Rohprodukt löst man in 600 ml Dichlormethan und wäscht diese Lösung nacheinander mit 100 ml Wasser, zweimal mit je 150 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zuletzt mit 100 ml Wasser. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, die Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 25 x 10 cm, 790 g Kieselgel, Laufmittel: PE:EtOAc = 3:1). Ohne Charakterisierung wird Verbindung **37** umgehend zum Trichloracetimidat **23** umgesetzt.

Ausbeute: 76.6 g (193 mmol, 70 %), Lit.:<sup>116</sup> 69 %; gelbes Öl;  $R_f$  = 0.45 (PE:EtOAc = 1:1).

C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub> (396.4)

### 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranosyltrichloracetimidat (**23**)<sup>117</sup>

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

Man löst 76.6 g (193 mmol) 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\alpha,\beta$ -D-galactopyranose (**37**) in 500 ml absol. Dichlormethan und gibt unter einer Argonatmosphäre 38.7 ml (55.7 g, 386 mmol) Trichloracetonitril hinzu. Anschließend werden 20 Tropfen 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en zugegeben. Die sich braun färbende Lösung wird 4 h gerührt. Man entfernt Dichlormethan und überschüssiges Trichloracetonitril i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 25 x 10 cm, 790 g Kieselgel, Laufmittel: Cyclohexan:EtOAc:  $R_f$  = 0.11 mit 0.3 % Triethylamin). Dadurch wird eine Fraktion reines  $\alpha$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten. Das  $\alpha$ -Anomer löst man in 150 ml Ethylacetat und gibt so lange Cyclohexan hinzu, bis das Produkt kristallin ausfällt.

Gesamtausbeute: 86.3 g (160 mmol, 83 %), Lit.:<sup>117</sup> 86 %.

$\alpha,\beta$ -Gemisch: 24.6 g (45.5 mmol, 24 %); farbloser Feststoff;  $R_f$ ( $\alpha$ -Anomer) = 0.55 (PE:EtOAc = 1:1),  $R_f$ ( $\beta$ -Anomer) = 0.50 (PE:EtOAc = 1:1).

**$\alpha$ -Anomer:** 61.7 g (114 mmol, 59 %); farblose Kristalle; Schmp.: 130 °C, Lit.:<sup>180</sup> 127 °C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = 78$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>180</sup>  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = 75.6$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>117</sup>  $[\alpha]_{\text{D}}^{\text{n}} = 68.7$  ( $c = 0.38$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

*200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):*  $\delta$  [ppm] = 8.60 (s, 1H, NH), 7.34-7.21 (m, 5H, Ph), 6.56 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 3.4$  Hz, Gal-1), 5.62 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 2.9$  Hz, <sup>3</sup> $J_{4,5} = 1.0$  Hz, Gal-4), 5.41 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.7$  Hz, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 2.9$  Hz, Gal-3), 5.31 (dd 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 3.4$  Hz, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.7$  Hz, Gal-2), 4.52 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.41-4.34 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ , Gal-5), 3.56-3.39 (m, 2H, Gal-6a, Gal-6b), 2.03, 2.00, 1.99 (3  $\times$  s, 9H, CH<sub>3</sub>).

*50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (GASPE, CDCl<sub>3</sub>):*  $\delta$  [ppm] = 170.1, 170.0, 169.9 (3  $\times$  C=O), 161.0 (C=NH), 137.4 (Ph<sub>ipso</sub>), 128.4, 127.9, 127.8 (5  $\times$  Ph<sub>o,m,p</sub>), 93.7 (Gal-1), 73.4 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 70.1, 67.8, 67.7, 67.2 (Gal-2, Gal-3, Gal-4, Gal-5), 67.1 (Gal-6), 20.7, 20.6 (3  $\times$  CH<sub>3</sub>).

Bei der verwendeten Probenkonzentration (25 mg in 0.6 ml  $\text{CDCl}_3$ ) geht das Signal für  $\text{CCl}_3$  im Rauschen unter.

$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{Cl}_3\text{NO}_9$  (540.8)

ber.: C 46.64 H 4.47 N 2.59

gef.: C 46.67 H 4.46 N.2.55

### 5.2.3 Die Synthese des Neuraminsäure-Bausteins

#### Methyl-5-acetamido-2,4,7,8,9-penta-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha,\beta$ -D-galactonon-2-ulopyranosonat (**39**)<sup>120,121,122</sup>

( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>5</sub>-Neu5AcCOOMe)

Eine Mischung aus 20.8 g (67.2 mmol) *N*-Acetyl-D-neuraminsäure (**38**) und 12 g saurem Ionenaustauscher Dowex<sup>®</sup> 50WX8-200 in 800 ml Methanol wird 15 h geschüttelt. Anschließend filtrierte man den Ionenaustauscher ab, entfernt das Lösungsmittel i. Vak., löst das Rohprodukt in 500 ml Pyridin und tropft langsam 250 ml Essigsäureanhydrid zu. Die Reaktionsmischung wird von Pyridin und überschüssigem Essigsäureanhydrid i. Hochvak. befreit und zweimal mit je 100 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt löst man in 300 ml Dichlormethan und wäscht diese Lösung nacheinander mit 100 ml 1 M Salzsäure, zweimal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zuletzt mit 50 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 22 x 10 cm, 700 g Kieselgel, Laufmittel: Cyclohexan:EtOAc:  $R_f = 0.14$ ). Dadurch wird eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten.

<sup>180</sup> G. Hummel, R. R. Schmidt, *Pol. J. Chem.* **1999**, 73, 941-954.

Gesamtausbeute: 28.6 g (53.6 mmol, 80 %), Lit.:<sup>122</sup> 88 %.

**$\alpha,\beta$ -Gemisch:** 25.4 g (47.6 mmol, 71 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f(\alpha\text{-Anomer}) = 0.34$  (EtOAc),  $R_f(\beta\text{-Anomer}) = 0.30$  (EtOAc).

**$\beta$ -Anomer:** 3.20 g (6.00 mmol, 9 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{22} = -29$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>121</sup>  $[\alpha]_D^{20 \pm 2} = -32$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.44 (db, 1H,  $^3J_{\text{NH},5} = 9.4$  Hz, Sia-NH), 5.34 (d, 1H,  $^3J = 3.9$  Hz, Sia-7), 5.21 (mc, 1H, Sia-4), 5.03 (mc, 1H, Sia-8), 4.46 (dd, 1H,  $^3J_{8,9a} = 2.3$  Hz,  $^2J_{9a,9b} = 12.5$  Hz, Sia-9a), 4.11-4.06 (m, 3H, Sia-5, Sia-6, Sia-9b), 3.76 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 2.51 (dd, 1H,  $^2J_{3\text{äq},3\text{ax}} = 13.7$  Hz,  $^3J_{3\text{äq},4} = 5.1$  Hz, Sia-3<sub>äq</sub>), 2.113, 2.109 (2 x s, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 2.05 (mc, 1H, Sia-3<sub>ax</sub>), 2.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.00 (s, 6H,  $\text{CH}_3$ ), 1.86 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, HMBC,  $\text{CDCl}_3$ ), 50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 171.0, 170.6, 170.3, 170.2, 168.2 (6 x  $\text{C}=\text{O}^{\text{Ac}}$ ), 166.3 (Sia-1), 97.5 (Sia-2), 72.8 (Sia-6), 71.4 (Sia-8), 68.3 (Sia-4), 67.8 (Sia-7), 62.1 (Sia-9), 53.2 ( $\text{COOCH}_3$ ), 49.3 (Sia-5), 35.9 (Sia-3), 23.1, 20.9, 20.8, 20.7 (6 x  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ).

FD-MS, positiv [ $m/z$ ] = 535.0 (100 %,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , ber.: 534.2), 474.9 (8 %,  $[\text{M} - \text{COOCH}_3]^+$ , ber.: 474.2).

$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{NO}_{14}$  (533.5)

ber.: C 49.53 H 5.86 N 2.63

gef.: C 49.37 H 5.92 N 2.42

**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 (13)<sup>119</sup>**

( $\alpha$ -Ac<sub>4</sub>-Neu5AcCOOMe-Xan)

Zu einer Lösung von 27.9 g (52.3 mmol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>5</sub>-Neu5AcCOOMe (**39**) in 200 ml Dichlormethan wird bei 0 °C 50 ml Acetylchlorid und dann 5 ml konz. Salzsäure zugetropft. Anschließend entfernt man die Kühlung und rührt den Ansatz 15 h bei Raumtemperatur. Die Reaktionsmischung wird von Dichlormethan und überschüssigem Acetylchlorid i. Vak. befreit und viermal mit je 40 ml Toluol kdestilliert. Das als Rohprodukt quantitativ erhaltene Neuraminsäurechlorid **40** wird unter einer Argonatmosphäre in 250 ml absol. Ethanol gelöst und mit 12.6 g (78.6 mmol) Kaliumxanthogenat versetzt. Man rührt die Reaktionsmischung 15 h unter Lichtausschluss und unter einer Argonatmosphäre und destilliert anschließend das Ethanol i. Vak. ab. Das Rohprodukt wird in 300 ml Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung dreimal mit je 100 ml Wasser gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 25 x 10 cm, 790 g

Kieselgel, Laufmittel: Cyclohexan:EtOAc:  $R_f = 0.09$ ). Das so erhaltene Produkt **13** ist zu ca. 10 % (durch NMR-Spektroskopie bestimmt) mit seinem Eliminierungsprodukt **41** verunreinigt, welches sich flashchromatographisch nicht vollständig abtrennen lässt. Da dieses Eliminierungsprodukt Sialylierungen aber nicht beeinflusst, kann auf eine aufwendige Trennung verzichtet werden. Für die Analytik wurden 150 mg reines Produkt durch eine präparative RP-HPLC erhalten ( $R_t = 64.1$ -68.5 min, Säule B, Gradient A).

Ausbeute: 20.9 g (35.1 mmol, 67 %, das Eliminierungsprodukt ist bereits herausgerechnet), Lit.:<sup>119</sup> 71 %; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{22} = 87$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>119</sup>  $[\alpha]_D^{20 \pm 2} = 79$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) Lit.:<sup>181</sup>  $[\alpha]_D^{21} = 84.7$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.29$  (EtOAc);  $R_t = 26$  min (Säule A, Gradient B).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.45 (db, 1H,  $^3J_{\text{NH},5} = 9.8$  Hz, Sia-NH), 5.30-5.24 (m, 2H, Sia-7 {5.29}, Sia-8 {5.25}), 4.85 (dt, 1H,  $^3J_{3\text{äq},4} = 4.3$  Hz,  $^3J_{3\text{ax},4} = ^3J_{4,5} = 10.6$  Hz, Sia-4), 4.77 (dq, 1H,  $^3J_{\text{vic}} = 7.0$  Hz,  $^2J_{\text{gem}} = 10.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{aCH}_3$ ), 4.55 (dd, 1H,  $^3J_{5,6} = 10.6$  Hz,  $^3J_{6,7} = 1.2$  Hz, Sia-6), 4.50 (dq, 1H,  $^3J_{\text{vic}} = 7.0$  Hz,  $^2J_{\text{gem}} = 10.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{bCH}_3$ ), 4.30 (dd, 1H,  $^3J_{8,9\text{a}} = 2.7$  Hz,  $^2J_{9\text{a},9\text{b}} = 12.5$  Hz, Sia-9a), 4.16 (dd, 1H,  $^3J_{8,9\text{b}} = 5.5$  Hz,  $^2J_{9\text{a},9\text{b}} = 12.5$  Hz, Sia-9b), 4.01 (q, 1H,  $^3J_{4,5} = ^3J_{5,6} = ^3J_{\text{NH},5} = 10.2$  Hz, Sia-5), 3.77 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 2.59 (dd, 1H,  $^2J_{3\text{äq},3\text{ax}} = 12.9$  Hz,  $^3J_{3\text{äq},4} = 4.3$  Hz, Sia-3<sub>äq</sub>), 2.11, 2.09 (2 x s, 6H,  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 2.00 (sb, 7H, Sia-3<sub>ax</sub>,  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 1.87 (s, 3H,  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 1.34 (t, 3H,  $^3J_{\text{vic}} = 7.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, HMBC,  $\text{CDCl}_3$ ), 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 207.1 (C=S), 170.8, 170.5, 170.19, 170.16, 170.0 (5 x C=O<sup>Ac</sup>), 168.6 (Sia-1), 86.5 (Sia-2), 75.1 (Sia-6), 70.4 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 70.1 (Sia-8), 68.8 (Sia-4), 67.7 (Sia-7), 62.0 (Sia-9), 53.3 ( $\text{COOCH}_3$ ), 49.2 (Sia-5), 37.1 (Sia-3), 23.1, 21.0, 20.8, 20.73, 20.70 (5 x  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 13.3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

FD-MS, positiv [ $m/z$ ] = 596.9 (11 %,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , ber.: 596.1), 474.8 (100 %,  $[\text{M} - \text{SCSOEt}]^+$ , ber.: 474.2).

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}_{13}\text{S}_2$ (595.6)	ber.: C 46.38	H 5.58	N 2.35	S 10.77
	gef.: C 46.50	H 5.18	N 2.24	S 10.83

NMR-Daten des Eliminierungsproduktes **41**:

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.97 (d, 1H,  $^3J_{3,4} = 3.3$  Hz, Sia-3), 5.68 (sb, 1H, Sia-NH), 5.48-5.45 (m, 2H, Sia-7, Sia-4), 5.32 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-8), 4.58 (dd, 1H,  $^3J_{8,9\text{a}} = 3.3$  Hz,  $^2J_{9\text{a},9\text{b}} = 12.1$  Hz, Sia-9a), 4.39-4.35 (m, 2H, Sia-5, Sia-6), 4.16 (dd, 1H,  $^3J_{8,9\text{b}} = 7.0$  Hz,  $^2J_{9\text{a},9\text{b}} = 12.5$  Hz, Sia-9b), 3.77 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 2.09, 2.05, 2.03, 2.02, 1.90 (5 x s, 15H,  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ).

<sup>181</sup> F. D. Tropper, F. O. Andersson, S. Cao, R. Roy, *J. Carbohydr. Chem.* **1992**, *11*, 741-750.



300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.31-7.19 (m, 5H, Ph), 4.44 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 4.4 Hz, CHCOOCH<sub>3</sub>), 3.75 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.11 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 13.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 4.4 Hz, CH<sub>2a</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 2.95 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 13.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 6.6 Hz, CH<sub>2b</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 2.77 (s<sub>b</sub>, 1H, OH).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 174.5 (C=O), 136.3 (Ph<sub>ipso</sub>), 129.4, 128.4, (2 x Ph<sub>o</sub>, 2 x Ph<sub>m</sub>), 126.8 (Ph<sub>p</sub>), 71.2 (CHCOOCH<sub>3</sub>), 52.4 (COOCH<sub>3</sub>), 40.5 (CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>).

FD-MS, positiv [m/z] = 180.5 (100 %, [M]<sup>+</sup>, ber.: 180.1), 120.3 (98 %, [M - H - COOCH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 120.1).

C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> (180.2)	ber.: C 66.65	H 6.71
	gef.: C 66.78	H 6.96

### (R)-2-Hydroxy-3-cyclohexylpropansäuremethylester (45)

Man löst 31.7 g (176 mmol) (R)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäuremethylester (**44**) in 500 ml eines gründlich entgasteten Tetrahydrofuran-Wasser-Gemischs (v:v = 1:1) und gibt unter einer Argonatmosphäre 1.34 g Rhodium auf aktiviertem Aluminiumoxid (5 %) hinzu. Anschließend wird die Reaktionsmischung sieben Tage unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Man filtriert den Katalysator über Celite<sup>®</sup> ab, entfernt die Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 15 x 5.5 cm, 145 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc: R<sub>f</sub> = 0.30).

Ausbeute: 29.2 g (157 mmol, 89 %); farblose Flüssigkeit; n<sub>D</sub><sup>20</sup> = 1.4460; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> = -2 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.46 (PE:EtOAc = 4:1).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 4.20 (m<sub>c</sub>, 1H, CHCOOCH<sub>3</sub>), 3.73 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 2.66 (s<sub>b</sub>, 1H, OH), 1.79 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.5 Hz, CH<sub>2a</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 1.64-1.44 (m, 7H, CH<sub>2b</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>, Cyclo-CH, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.29-1.08 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 0.96-0.79 (m, 2H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 176.3 (C=O), 68.5 (CHCOOCH<sub>3</sub>), 52.3 (COOCH<sub>3</sub>), 42.1 (CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 33.9 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 33.6 (Cyclo-CH), 32.2, 26.4, 26.2, 26.0 (4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>).

FD-MS, positiv [m/z] = 186.5 (100 %, [M]<sup>+</sup>, ber.: 186.1).

C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub> (186.2)	ber.: C 64.49	H 9.74
	gef.: C 64.26	H 9.72

**(R)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäuremethylester (17)**<sup>125</sup>

Eine Lösung von 29.2 g (157 mmol) (R)-2-Hydroxy-3-cyclohexylpropansäuremethylester (**45**) in 800 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre bei 0 °C mit 33.0 ml (56.4 g, 200 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid versetzt. Anschließend tropft man innerhalb von 30 min 21.0 ml (19.4 g, 181 mmol) 2,6-Dimethylpyridin zur Reaktionsmischung und rührt weitere 30 min bei 0 °C. Die Reaktionslösung wird mit 300 ml einer 1 M Dikaliumhydrogenphosphat-Lösung gewaschen, die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. (T < 32 °C) entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 30 x 8 cm, 610 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f$  = 0.50). Das Produkt **17** wird bei -30 °C unter einer Argonatmosphäre gelagert.

Ausbeute: 45.5 g (143 mmol, 91 %), Lit.:<sup>125</sup> 86 %; farbloses Öl;  $[\alpha]_D^{23} = 41$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.65$  (PE:EtOAc = 8:1).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.17 (dd, 1H,  $^3J_{\text{vic}} = 9.2$  Hz,  $^3J_{\text{vic}} = 4.0$  Hz,  $\text{CHCOOCH}_3$ ), 3.81 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 1.95-1.55 (m, 7H,  $\text{CH}_2\text{CHCOOCH}_3$ , Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 1.39 (m, 1H, Cyclo-CH), 1.27-1.07 (m, 3H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 0.99-0.85 (m, 2H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 168.1 (C=O), 118.4 (q,  $J = 320$  Hz,  $\text{CF}_3$ ), 81.7 ( $\text{CHCOOCH}_3$ ), 53.2 ( $\text{COOCH}_3$ ), 39.3 ( $\text{CH}_2\text{CHCOOCH}_3$ ), 33.4 (Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 33.2 (Cyclo-CH), 31.9, 26.1, 25.9, 25.7 (4 x Cyclo- $\text{CH}_2$ ).

ESI-MS (Gerät 2), positiv  $[m/z] = 227.2$  (100 %,  $[\text{M} - \text{Tf} + \text{CH}_3\text{CN} + \text{H}]^+$ , ber.: 227.2), 186.2 (6 %,  $[\text{M} - \text{Tf} + \text{H}]^+$ , ber.: 186.1).

$\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{O}_5\text{S}$ (318.3)	ber.: C 41.51	H 5.38	S 10.07
	gef.: C 40.78	H 4.93	S 10.50

**5.2.5 Die Synthese des Fucose-Bausteins****1,2,3,4-Tetra-O-acetyl- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranose (47)**<sup>126</sup>

Man löst 15.9 g (96.8 mmol) L-Fucose (**46**) in 240 ml Pyridin, tropft 120 ml Essigsäureanhydrid bei 10 °C langsam zu und rührt weitere 15 h bei Raumtemperatur. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird viermal mit je 40 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 150 ml Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung zweimal mit je 30 ml Wasser gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und filtriert das Rohprodukt über eine 5 cm dicke Kiesegelschicht (Laufmittel: PE:EtOAc:  $R_f$  = 0.45). Das

Produkt wird ohne weitere Charakterisierung umgehend zum Thiofucopyranosid **48** umgesetzt.

Ausbeute: 32.1 g (quant.); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.26$  (PE:EtOAc = 2:1).

$C_{14}H_{20}O_9$  (332.3).

### **Ethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranosid (**48**)<sup>126</sup>**

Eine Mischung aus 32.1 g (96.6 mmol) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranose (**47**) und 7 g pulverförmigem Molekularsieb 4 Å in 500 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre 30 min bei Raumtemp. gerührt. Anschließend kühlt man den Ansatz auf 0 °C ab, gibt 8.60 ml (7.22 g, 116 mmol) Ethanthiol hinzu und tropft danach langsam 29.8 ml (34.4 g, 242 mmol) Bortrifluorid-Diethylether zur Reaktionsmischung zu. Nach 15 h Rühren bei Raumtemp. filtriert man das Molekularsieb über Celite<sup>®</sup> ab und gießt das Filtrat unter kräftigem Rühren in eine Mischung aus 300 g Eis und 300 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Nach Abklingen der Gasentwicklung wird die Lösung mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Man trennt die Phasen und extrahiert die wässrige zweimal mit je 100 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand wird flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 43 x 7.5 cm, 770 g Kieselgel, PE:EtOAc:  $R_f = 0.10$ ). Dadurch wird eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten.

Gesamtausbeute: 28.2 g (84.3 mmol, 87 %).

**$\alpha,\beta$ -Gemisch:** 23.0 g (68.8 mmol, 71 %); farbloser wachsartiger Feststoff;  $R_f(\alpha\text{-Anomer}) = 0.50$  (PE:EtOAc = 2:1),  $R_f(\beta\text{-Anomer}) = 0.38$  (PE:EtOAc = 2:1).

**$\alpha$ -Anomer:** 200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.66 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 4.9$  Hz, Fuc-1), 5.28-5.19 (m, 3H, Fuc-2, Fuc-3, Fuc-4), 4.46 (q, 1H,  $^3J_{5,6} = 6.6$  Hz, Fuc-5), 2.63-2.42 (m, 2H,  $\underline{CH_2}CH_3$ ), 2.13, 2.04, 1.95 (3 x s, 9H,  $CH_3^{Ac}$ ), 1.23 (t, 3H,  $^3J_{vic} = 7.3$  Hz,  $\underline{CH_2}CH_3$ ), 1.12 (d, 3H,  $^3J_{5,6} = 6.8$  Hz, Fuc-6).

**$\beta$ -Anomer:** 5.20 g (15.6 mmol, 16 %); farblose Kristalle; Schmp.: 78-79 °C;  $[\alpha]_D^{22} = 21$  ( $c = 1.0$ , MeOH).

200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.24 (dd, 1H,  $^3J_{3,4} = 3.4$  Hz,  $^3J_{4,5} = 1.0$  Hz, Fuc-4), 5.19 (t, 1H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.8$  Hz, Fuc-2), 5.01 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 9.8$  Hz,  $^3J_{3,4} = 3.4$  Hz, Fuc-3), 4.42 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 9.8$  Hz, Fuc-1), 3.79 (dq, 1H,  $^3J_{4,5} = 0.9$  Hz,  $^3J_{5,6} = 6.3$  Hz, Fuc-5), 2.79-2.61 (m, 2H,  $\underline{CH_2}CH_3$ ), 2.14, 2.03, 1.95 (3 x s, 9H,  $CH_3^{Ac}$ ), 1.24 (t, 3H,  $^3J_{vic} = 7.6$  Hz,  $\underline{CH_2}CH_3$ ), 1.18 (d, 3H,  $^3J_{5,6} = 6.3$  Hz, Fuc-6).

50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.6, 170.1, 169.7 (3 x C=O), 83.5 (Fuc-1), 73.2, 72.4, 70.5, 67.3 (Fuc-2, Fuc-3, Fuc-4, Fuc-5), 24.1 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 20.8, 20.7, 20.6 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 16.4, 14.7 (Fuc-6, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [*m/z*] = 357.1 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 357.1).

C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>7</sub> S (334.4)	ber.: C 50.29	H 6.63	S 9.59
	gef.: C 50.33	H 6.67	S 9.51

### Ethyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranosid (**49**)<sup>126</sup>

Eine Lösung von 28.2 g (84.3 mmol) Ethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranosid (**48**) in 400 ml Methanol wird unter Rühren so lange mit Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 10 erreicht ist, und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst<sup>®</sup> 15, filtriert den Ionenaustauscher ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung und ohne Charakterisierung umgehend zum benzylierten Thiofucopyranosid **18** umgesetzt.

Ausbeute: 17.5 g (quant.); bräunlicher amorpher Feststoff; *R<sub>f</sub>* = 0.23 (EtOAc).

C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>S (208.3)

### Ethyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranosid (**18**)<sup>126</sup>

( $\alpha,\beta$ -Bn<sub>3</sub>-Fuc-SEt)

Eine Lösung von 17.5 g (84.0 mmol) Ethyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranosid (**49**) in 400 ml *N,N*-Dimethylformamid wird auf 0 °C abgekühlt. Unter einer Argonatmosphäre gibt man portionsweise 11.8 g (295 mmol) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl hinzu. Die Kühlung wird entfernt und der Ansatz 1 h bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt erneut auf 0 °C ab und tropft 35.0 ml (50.5 g, 295 mmol) Benzylbromid in 50 ml *N,N*-Dimethylformamid hinzu. Anschließend wird die Reaktionsmischung 15 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von 20 ml Methanol wird *N,N*-Dimethylformamid und überschüssiges Benzylbromid i. Hochvak. entfernt und der Rückstand zweimal mit je 40 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 400 ml Dichlormethan aufgenommen und die resultierende Lösung zweimal mit je 80 ml Wasser gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand flashchromatographisch (Säulengröße: 37 x 7.5 cm, 660 g Kieselgel, PE:EtOAc: *R<sub>f</sub>* = 0.11). Dadurch wird eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten.

Gesamtausbeute: 25.4 g (53.1 mmol, 63 %; 55 %, bezogen auf L-Fucose), Lit.:<sup>126</sup> 56 % (bezogen auf L-Fucose).

**$\alpha,\beta$ -Gemisch:** 14.4 g (30.1 mmol, 36 %); farbloser wachsartiger Feststoff;  $R_f$  ( $\alpha$ -Anomer) = 0.38 (PE:EtOAc = 5:1),  $R_f$  ( $\beta$ -Anomer) = 0.29 (PE:EtOAc = 5:1).

**$\alpha$ -Anomer:** 200 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.41-7.24 (m, 15H, Ph), 5.45 (d, 1H,  $^3J_{1,2}$  = 5.4 Hz, Fuc-1), 4.97, 4.85, 4.75, 4.70, 4.67, 4.64 (6 x d, 6H, 3 x  $^2J_{gem}$  = 11.7 Hz, 2 x  $^2J_{gem}$  = 11.2 Hz, 1 x  $^2J_{gem}$  = 12.2 Hz,  $\underline{CH_2}Ph$ ), 4.28 (dd, 1H,  $^3J_{1,2}$  = 5.4 Hz,  $^3J_{2,3}$  = 10.3 Hz, Fuc-2), 4.18 (q, 1H,  $^3J_{5,6}$  = 6.8 Hz, Fuc-5), 3.77 (dd, 1H,  $^3J_{2,3}$  = 10.3 Hz,  $^3J_{3,4}$  = 2.9 Hz, Fuc-3), 3.62 (d, 1H,  $^3J_{3,4}$  = 2.9 Hz, Fuc-4), 2.67-2.37 (m, 2H,  $\underline{CH_2}CH_3$ ), 1.26 (t,  $^3J_{vic}$  = 7.3 Hz,  $\underline{CH_2}CH_3$ ), 1.11 (d, 3H,  $^3J_{5,6}$  = 6.8 Hz, Fuc-6).

**$\beta$ -Anomer:** 11.0 g (23.0 mmol, 27 %); farblose Kristalle; Schmp.: 52 °C, Lit.:<sup>126</sup> 53 °C;  $[\alpha]_D^{22} = 9$  ( $c = 1.0$ ,  $CHCl_3$ ),  $[\alpha]_D^{22} = -14.0$  ( $c = 1.5$ ,  $CH_2Cl_2$ ), Lit.:<sup>126</sup>  $[\alpha]_{578}^{22} = -16$  ( $c = 1.5$ ,  $CH_2Cl_2$ ), Lit.:<sup>184</sup>  $[\alpha]_D^{20} = 11.5$  ( $c = 0.2$ ,  $CHCl_3$ ).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.42-7.25 (m, 15H, Ph), 5.00, 4.90, 4.81, 4.78, 4.74, 4.70 (6 x d, 6H, 4 x  $^2J_{gem}$  = 11.7 Hz, 2 x  $^2J_{gem}$  = 10.2 Hz,  $\underline{CH_2}Ph$ ), 4.40 (d, 1H,  $^3J_{1,2}$  = 9.8 Hz, Fuc-1), 3.83 (t, 1H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.4$  Hz, Fuc-2), 3.62 (db, 1H,  $^3J_{3,4} = 2.3$  Hz, Fuc-4), 3.57 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 9.0$  Hz,  $^3J_{3,4} = 2.7$  Hz, Fuc-3), 3.48 (q, 1H,  $^3J_{5,6} = 6.3$  Hz, Fuc-5), 2.82-2.67 (m, 2H,  $\underline{CH_2}CH_3$ ), 1.30 (t, 3H,  $^3J_{vic} = 7.4$  Hz,  $\underline{CH_2}CH_3$ ), 1.21 (d, 3H,  $^3J_{5,6} = 6.6$  Hz, Fuc-6).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC,  $CDCl_3$ ) und 50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 138.7, 138.5, 138.4 (3 x  $Ph_{ipso}$ ), 128.5, 128.3, 128.22, 128.18, 127.70, 127.67, 127.6, 127.5 (15 x  $Ph_{o,m,p}$ ), 85.0, 84.5 (Fuc-1, Fuc-3), 78.4 (Fuc-2), 76.6 (Fuc-4), 75.7 ( $\underline{CH_2}Ph$ ), 74.6 (Fuc-5,  $\underline{CH_2}Ph$ ), 72.9 ( $\underline{CH_2}Ph$ ), 24.7 ( $\underline{CH_2}CH_3$ ), 17.3 (Fuc-6), 15.0 ( $\underline{CH_2}CH_3$ ).

$C_{29}H_{34}O_4S$  (478.6)

ber.: C 72.77 H 7.16 S 6.70

gef.: C 72.78 H 7.11 S 6.73

<sup>184</sup> P. V. Murphy, R. E. Hubbard, D. T. Manallack, R. E. Wills, J. G. Montana, R. J. K. Taylor, *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 2421-2439.

## 5.2.6 Die Synthese des Arabinose-Bausteins

### 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha,\beta$ -D-arabinopyranose (**51**)

Man löst 12.8 g (85.3 mmol) D-Arabinose (**50**) in 220 ml Pyridin, tropft 110 ml Essigsäureanhydrid langsam zu und rührt 5 h. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird viermal mit je 40 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 150 ml Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung zweimal mit je 30 ml Wasser gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und filtriert das Rohprodukt über eine 5 cm dicke Kiesegelschicht (Laufmittel: PE:EtOAc:  $R_f$  = 0.45). Das Produkt wird ohne weitere Reinigung umgehend zum Thioarabinopyranosid **52** umgesetzt.

Ausbeute: 27.1 g (quant.),  $\alpha:\beta$  = 1:1 (durch NMR-Spektroskopie bestimmt); gelbes Öl;  $R_f$  = 0.27 (PE:EtOAc = 2:1).

Charakteristische NMR-Signale zur Bestimmung des Anomerenverhältnisses:

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 6.31 (d, 1H,  $^3J_{1,2}$  = 2.4 Hz, Ara-1 <sup>$\beta$ -Anomer</sup>), 5.63 (d, 1H,  $^3J_{1,2}$  = 7.3 Hz, Ara-1 <sup>$\alpha$ -Anomer</sup>).

$C_{13}H_{18}O_9$  (318.3).

### Ethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -D-arabinopyranosid (**52**)<sup>70</sup>

Eine Mischung aus 27.1 g (85.1 mmol) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha,\beta$ -D-arabinopyranose (**51**) und 5 g pulverförmigem Molekularsieb 4 Å in 300 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre 15 min gerührt. Anschließend kühlt man den Ansatz auf -30 °C ab, gibt 9.50 ml (7.98 g, 129 mmol) Ethanthiol hinzu und tropft danach langsam 26.4 ml (30.5 g, 215 mmol) Bortrifluorid-Diethylether zur Reaktionsmischung zu. Nach 15 h Rühren bei -30 °C filtriert man das Molekularsieb über Celite<sup>®</sup> ab und gießt das Filtrat unter kräftigem Rühren in eine Mischung aus 300 g Eis und 300 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Nach Abklingen der Gasentwicklung wird die Lösung mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Man trennt die Phasen und extrahiert die wässrige zweimal mit je 100 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand wird flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 22 x 9.5 cm, 630 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f$  = 0.06). Dadurch wird eine Fraktion reines  $\alpha$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten. Außerdem gewinnt man nicht umgesetzte 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-arabinopyranose (**51 $\beta$** ) zurück.

Gesamtausbeute: 12.8 g (40.0 mmol, 47 %), Lit.:<sup>70</sup> 49 %.

Zurückgewonnene 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-arabinopyranose (**51 $\beta$** ): 10.8 g (33.9 mmol, 40 %).

**$\alpha,\beta$ -Gemisch** : 12.0 g (37.4 mmol, 44 %); farbloses Öl;  $R_f$ ( $\beta$ -Anomer) = 0.49 (PE:EtOAc = 2:1),  $R_f$ ( $\alpha$ -Anomer) = 0.42 (PE:EtOAc = 2:1).

**$\alpha$ -Anomer**: 818 mg (2.55 mmol, 3 %); farbloses Öl;  $[\alpha]_D^{22} = 4$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.25 (m<sub>c</sub>, 1H, Ara-4), 5.19 (t, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 8.8$  Hz, Ara-2), 5.03 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 8.8$  Hz, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.3$  Hz, Ara-3), 4.48 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.6$  Hz, Ara-1), 4.06 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{4,5a} = 3.5$  Hz, <sup>2</sup> $J_{5a,5b} = 12.9$  Hz, Ara-5a), 3.63 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{4,5b} = 2.0$  Hz, <sup>2</sup> $J_{5a,5b} = 12.9$  Hz, Ara-5b), 2.75-2.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.10, 2.04, 2.00 (3  $\times$  s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.24 (t, 3H, <sup>3</sup> $J_{vic} = 7.6$  Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

50.3 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.3, 170.0, 169.6 (3  $\times$  C=O), 83.9 (Ara-1), 70.8, 68.2, 67.9, 66.1 (Ara-2, Ara-3, Ara-4, Ara-5), 24.5 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 20.9, 20.8, 20.7 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 14.8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>7</sub>S (320.4)

ber.: C 48.74 H 6.29 S 10.01

gef.: C 48.67 H 6.33 S 10.04

### Ethyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -D-arabinopyranosid (**53**)<sup>70</sup>

Eine Lösung von 28.5 g (89.0 mmol) Ethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -D-arabinopyranosid (**52**) in 400 ml Methanol wird unter Rühren so lange mit Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 10 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst<sup>®</sup> 15, filtriert den Ionenaustauscher ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung und ohne Charakterisierung umgehend zum benzylierten Thioarabinopyranosid **19** umgesetzt.

Ausbeute: 17.3 g (quant.), Lit.:<sup>70</sup> quant.; gelbes Öl;  $R_f = 0.43$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 5:1).

C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>S (194.3)

### Ethyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -D-arabinopyranosid (**19**)<sup>70</sup>

( $\alpha,\beta$ -Bn<sub>3</sub>-Ara-SEt)

Eine Lösung von 17.3 g (89.0 mmol) Ethyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -D-arabinopyranosid (**53**) in 500 ml *N,N*-Dimethylformamid wird auf 0 °C abgekühlt. Unter einer Argonatmosphäre gibt man portionsweise 12.5 g (313 mmol) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl hinzu. Die Kühlung wird entfernt und der Ansatz 1 h bei Raumtemp. gerührt.

Man kühlt erneut auf 0 °C ab und tropft 37.0 ml (53.4 g, 312 mmol) Benzylbromid in 50 ml *N,N*-Dimethylformamid hinzu. Anschließend wird die zähe Reaktionsmischung 15 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von 50 ml Methanol wird *N,N*-Dimethylformamid und überschüssiges Benzylbromid i. Hochvak. entfernt und der Rückstand viermal mit je 40 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 300 ml Dichlormethan aufgenommen und die resultierende Lösung dreimal mit je 100 ml Wasser gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand flashchromatographisch (Säulengröße: 22 x 9.5 cm, 630 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f = 0.11$ ). Dadurch wird eine Fraktion reines  $\alpha$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten.

Gesamtausbeute: 32.3 g (69.5 mmol, 78 %), Lit.:<sup>70</sup> 88 %.

**$\alpha,\beta$ -Gemisch:** 18.2 g (39.2 mmol, 44 %); schwach gelbes Öl;  $R_f(\alpha\text{-Anomer}) = 0.32$  (PE:EtOAc = 5:1),  $R_f(\beta\text{-Anomer}) = 0.43$  (PE:EtOAc = 5:1).

**$\alpha$ -Anomer:** 14.1 g (30.3 mmol, 34 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{25} = 21$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.:<sup>127</sup>  $[\alpha]_D^{22} = 20.4$  ( $c = 1.00$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.38-7.26 (m, 15H, Ph), 4.78 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.71 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.70 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.63-4.60 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.59 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.0$  Hz, Ara-1), 4.18 (dd, 1H,  $^3J_{4,5a} = 5.1$  Hz,  $^2J_{5a,5b} = 12.1$  Hz, Ara-5a), 3.83 (t, 1H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 7.1$  Hz, Ara-2), 3.78 (m<sub>c</sub>, 1H, Ara-4), 3.61 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 7.4$  Hz,  $^3J_{3,4} = 3.5$  Hz, Ara-3), 3.36 (dd, 1H,  $^3J_{4,5b} = 2.0$  Hz,  $^2J_{5a,5b} = 12.1$  Hz, Ara-5b), 2.79-2.64 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.30 (t, 3H,  $^3J_{\text{vic}} = 7.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMQC, BB,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 138.3, 138.2 (3 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.4, 128.2, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6 (15 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 84.7 (Ara-1), 79.3 (Ara-3), 78.0 (Ara-2), 74.6 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 72.3 (Ara-4), 72.2, 71.0 (2 x  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 63.9 (Ara-5), 25.3 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 15.1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

Charakteristisches NMR-Signal für das  $\beta$ -Anomer:

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.22 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 3.9$  Hz, Ara-1).

FD-MS, positiv [ $m/z$ ] = 928.3 (28 %,  $[2M]^+$ , ber.: 928.4), 464.9 (100 %,  $[M + H]^+$ , ber.: 465.2), 404.0 (2 %,  $[M - \text{SCH}_2\text{CH}_3 + H]^+$ , ber.: 404.2).

$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{S}$ (464.6)	ber.: C 72.38	H 6.94	S 6.90
	gef.: C 72.38	H 7.07	S 7.03

## 5.2.7 Die Synthese des L-Galactose-Bausteins

### 2,3,5,6-Tetra-*O*-acetyl-L-galactono-1,4-lacton (**55**)<sup>131</sup>

Zu einer Lösung von 45.3 g (254 mmol) L-Galactono-1,4-lacton (**54**) in 400 ml Pyridin tropft man bei 0 °C 200 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt den Ansatz 5 h bei Raumtemperatur. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird viermal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 300 ml Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung dreimal mit je 70 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat und entfernt das Dichlormethan im Vakuum. Das Rohprodukt ist ausreichend rein und wird direkt weiter umgesetzt. Für die Analytik werden 100 mg flashchromatographisch gereinigt.

Ausbeute: 88.0 g (quant.), Lit.:<sup>131</sup> 83 % (nach Umkristallisation aus absol. Ethanol oder Toluol); gelbes Öl;  $R_f = 0.43$  (PE:EtOAc = 1:1).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.57 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 7.3 Hz, L-Gal-2), 5.40 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 7.0 Hz, L-Gal-3), 5.30 (m<sub>c</sub>, 1H, L-Gal-5), 4.56 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 7.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 2.9 Hz, L-Gal-4), 4.31 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.8 Hz, L-Gal-6a), 4.20 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 6.6 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.8 Hz, L-Gal-6b), 2.15, 2.13, 2.09, 2.05 (4 x s, 12H, CH<sub>3</sub>).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.3, 169.8, 169.7, 169.3, 168.0 (4 x C=O<sup>Ac</sup>, L-Gal-1), 77.3, 72.1, 71.9, 68.2 (L-Gal-2, L-Gal-3, L-Gal-4, L-Gal-5), 61.6 (L-Gal-6), 20.6 (2 x CH<sub>3</sub>), 20.4, 20.3 (2 x CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [ $m/z$ ] = 715.2 (4 %, [2M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 715.2), 369.1 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 369.1).

C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub> (346.3)	ber.: C 48.56	H 5.24
	gef.: C 48.96	H 5.34

### 2,3,5,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha,\beta$ -L-galactofuranose (**56**)

Zu einer Lösung von 91.0 ml (71.9 g, 946 mmol) Boran-Dimethylsulfid in 100 ml absol. Dichlormethan tropft man bei 0 °C und unter einer Argonatmosphäre 208 ml (132 g, 1.88 mol) 2-Methyl-but-2-en hinzu. Nach 2 h Rühren bei 0 °C werden 88.0 g (254 mmol) 2,3,5,6-Tetra-*O*-acetyl-L-galactono-1,4-lacton (**55**) in 150 ml absol. Dichlormethan innerhalb von 2 h zugetropft. Anschließend erwärmt man den Ansatz auf Raumtemp., rührt 15 h, gibt dann langsam 150 ml Wasser zur Reaktionsmischung hinzu und entfernt die Lösungsmittel im Vakuum. Um Bor-Reste als Trimethylborat destillativ zu entfernen, wird der Rückstand dreimal mit je 300 ml Methanol kodestilliert. Das Rohprodukt wird

flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 30 x 10 cm, 950 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f = 0.13$ ) und direkt weiter zu L-Galactose (**57**) umgesetzt.

Ausbeute: 79.4 g (228 mmol, 90 %); schwach gelbes Öl;  $R_f = 0.24$  (PE:EtOAc = 1:1).

ESI-MS (Gerät 1), positiv [ $m/z$ ] = 719.4 (32 %,  $[2M + Na]^+$ , ber.: 719.2), 371.3 (100 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 371.1), 387.3 (19 %,  $[M + K]^+$ , ber.: 387.1).

$C_{14}H_{20}O_{10}$  (348.3)

### L-Galactose (**57**)

Eine Lösung von 79.4 g (228 mmol) 2,3,5,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha,\beta$ -L-galactofuranose (**56**) in 600 ml Methanol wird so lange mit festem Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 10-11 erreicht ist. Nach 15 h Rühren neutralisiert man den Ansatz mit Amberlyst<sup>®</sup> 15, filtriert den Ionenaustauscher ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das Produkt wird aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 34.9 g (194 mmol, 85 %); farbloser Feststoff; Schmp.: 165-166 °C, Lit.<sup>185</sup> 166-167 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -77$  ( $c = 1.0$ , H<sub>2</sub>O, nach 1 h), Lit.<sup>129</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -80$  ( $c = 4.0$ , H<sub>2</sub>O, nach Einstellung des Gleichgewichts), Lit.<sup>185</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -80 \pm 2$  ( $c = 5.0$ , H<sub>2</sub>O, nach 24 h);  $R_f = 0.37$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O = 4:2.5:0.5).

ESI-MS (Gerät 1), positiv [ $m/z$ ] = 540.5 (16 %,  $[3M + H]^+$ , ber.: 541.2), 399.3 (6 %,  $[2M + K]^+$ , ber.: 399.1), 383.3 (100 %,  $[2M + Na]^+$ , ber.: 383.1), 219.1 (12 %,  $[M + K]^+$ , ber.: 219.0), 203.1 (48 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 203.1).

$C_6H_{12}O_6$  (180.2)

ber.: C 40.00 H 6.71

gef.: C 39.91 H 6.87

### 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\alpha,\beta$ -L-galactopyranose (**58a und 58b**)<sup>186</sup> und 1,2,3,5,6-Penta-*O*-acetyl- $\alpha,\beta$ -L-galactofuranose (**58c und 58d**)

Eine Mischung aus 8.10 g (98.8 mmol) wasserfreiem Natriumacetat und 125 ml Essigsäureanhydrid wird zum Sieden erhitzt. Dazu gibt man portionsweise 8.72 g (48.4 mmol) L-Galactose (**57**) und rührt den Ansatz 15 min. Anschließend wird überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt, einmal mit 100 ml Toluol kodestilliert und der Rückstand in 200 ml Dichlormethan aufgenommen. Man wäscht die organische Phase viermal mit je 150 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung,

<sup>185</sup> Fluka-Katalog, *Laborchemikalien und analytische Reagenzien 2005/06*, 864-865.

<sup>186</sup> T. Araki, *J. Chem. Soc. Jpn. (Nippon Kagaku Kaishi)* **1938**, 59, 424-432.

trocknet sie mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das Rohprodukt wird flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 15 x 7.5 cm, 270 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f = 0.08$ ), wodurch ein Gemisch aller vier Isomere erhalten wird ( $\beta(\text{Pyr}):\alpha(\text{Pyr}):\beta(\text{Fur}):\alpha(\text{Fur}) = 56:10:18:16$ , durch NMR-Spektroskopie bestimmt). Man löst das Isomerengemisch in Ethylacetat und gibt so viel Cyclohexan hinzu bis 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\beta$ -L-galactopyranose (**58b**) kristallin ausfällt. Die drei anderen Isomere bleiben dabei fast vollständig in Lösung. Die Mutterlauge wird eingeeengt und durch Zugabe von Cyclohexan werden weitere Mengen an peracetylierter  $\beta$ -L-Galactopyranose **58b** gewonnen. Man wiederholt diesen Vorgang noch zweimal. Um für die Analytik das vollständig isomerenreine Produkt zu erhalten, werden 100 mg der oben gewonnenen peracetylierten  $\beta$ -L-Galactopyranose **58b** nochmals aus einem Ethylacetat-Cyclohexan-Gemisch umkristallisiert. Die in der Mutterlauge übrig gebliebenen drei unerwünschten peracetylierten Isomere werden mit Natriummethanolat in Methanol (pH = 10-11) deacetyliert. Nach anschließender Umkristallisation aus Methanol erhält man so die wertvolle L-Galactose (**57**) wieder zurück.

Charakteristische NMR-Signale zur Bestimmung des Isomerenverhältnisses der peracetylierten Isomere: 300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 6.33 (s<sub>b</sub>, 1H, L-Gal-1 <sup>$\alpha$ -Pyr</sup>), 6.28 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 4.8$  Hz, L-Gal-1 <sup>$\alpha$ -Fur</sup>), 6.14 (s<sub>b</sub>, 1H, L-Gal-1 <sup>$\beta$ -Fur</sup>), 5.67 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.5$  Hz, L-Gal-1 <sup>$\beta$ -Pyr</sup>).

Zurückgewonnene L-Galactose (**57**): 3.49 g (19.4 mmol, 40 %).

Nach einmaliger Umkristallisation mit 1-2 % der drei anderen Isomeren verunreinigte 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\beta$ -L-galactopyranose (**58b**): 9.58 g (24.5 mmol, 51 %); farblose Kristalle.

Reine 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\beta$ -L-galactopyranose (**58b**), nach zweimaliger Umkristallisation: farblose Kristalle; Schmp.: 140-141 °C, Lit.:<sup>186</sup> 142-143 °C, Lit. (Schmp. des Enantiomers):<sup>185</sup> 139-142 °C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -24$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>186</sup>  $[\alpha]_{\text{D}}^{11} = -13.61$  ( $c = 0.8$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit. (Drehwert des Enantiomers):<sup>185</sup>  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 23 \pm 1$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.55$  (PE:EtOAc = 0.55).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.67 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.5$  Hz, L-Gal-1), 5.39 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.3$  Hz, L-Gal-4), 5.30 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.5$  Hz, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.3$  Hz, L-Gal-2), 5.05 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.3$  Hz, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.3$  Hz, L-Gal-3), 4.17-4.00 (m, 3H, L-Gal-5, L-Gal-6a, L-Gal-6b), 2.13, 2.09 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub>), 2.01 (s, 6H, CH<sub>3</sub>), 1.96 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.3, 170.0, 169.9, 169.3, 168.9 (5 x C=O), 92.1 (L-Gal-1), 71.6, 70.8, 67.7, 66.7 (L-Gal-2, L-Gal-3, L-Gal-4, L-Gal-5), 61.0 (L-Gal-6), 20.7 (CH<sub>3</sub>), 20.6 (3 x CH<sub>3</sub>), 20.5 (CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 1), positiv  $[m/z] = 413.2$  (63 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 413.1), 353.2 (100 %,  $[M - HCOOCH_3 + Na]^+$ , ber.: 353.1), 331.2 (13 %,  $[M - HCOOCH_3 + H]^+$ , ber.: 331.1)  
 $C_{16}H_{22}O_{11}$  (390.3) ber.: C 49.23 H 5.68  
gef.: C 49.29 H 5.63

### Ethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-galactopyranosid (59)

Eine Mischung aus 12.4 g (31.8 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\beta$ -L-galactopyranose (**58b**), die mit 1-2 % mit ihren Isomeren verunreinigt ist, und 5 g pulverförmigem Molekularsieb 4 Å in 300 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre 30 min gerührt. Anschließend kühlt man den Ansatz auf 0 °C ab, gibt 4.70 ml (3.95 g, 63.6 mmol) Ethanthiol hinzu und tropft danach langsam 7.82 ml (9.02 g, 63.6 mmol) Bortrifluorid-Diethylether zur Reaktionsmischung zu und erwärmt auf Raumtemperatur. Nach 15 h Rühren filtriert man das Molekularsieb über Celite® ab und gießt das Filtrat unter kräftigem Rühren in eine Mischung aus 200 g Eis und 150 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Nach Abklingen der Gasentwicklung wird die Lösung mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Man trennt die Phasen und extrahiert die wässrige zweimal mit je 100 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand wird flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 25 x 10 cm, 790 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f = 0.06$ ). Dadurch wird eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten.

Gesamtausbeute: 10.5 g (26.8 mmol, 84 %).

**$\alpha,\beta$ -Gemisch:** 9.13 g (23.3 mmol, 73 %); hellgelbes Öl;  $R_f(\alpha\text{-Anomer}) = 0.65$  (PE:EtOAc = 1:1),  $R_f(\beta\text{-Anomer}) = 0.62$  (PE:EtOAc = 1:1).

**$\beta$ -Anomer:** 1.37 g (3.49 mmol, 11 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{20} = 10$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit. (Drehwert des Enantiomers):<sup>187</sup>  $[\alpha]_D^{28} = -8.1$  ( $c = 0.98$ , CHCl<sub>3</sub>).

300 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.40 (d, 1H,  $^3J_{3,4} = 3.3$  Hz, L-Gal-4), 5.21 (t, 1H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{2,3} = 9.9$  Hz, L-Gal-2), 5.02 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 9.9$  Hz,  $^3J_{3,4} = 3.3$  Hz, L-Gal-3), 4.46 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 9.9$  Hz, L-Gal-1), 4.14 (dd, 1H,  $^3J_{5,6a} = 6.6$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.4$  Hz, L-Gal-6a), 4.07 (dd, 1H,  $^3J_{5,6b} = 6.6$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 11.4$  Hz, L-Gal-6b), 3.90 (t, 1H,  $^3J_{5,6} = 6.6$  Hz, L-Gal-5), 2.79-2.61 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.12, 2.03, 2.01, 1.95 (4 x s, 12H, CH<sub>3</sub>), 1.25 (t, 3H,  $^3J_{vic} = 7.4$  Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

<sup>187</sup> G. Vic, J. J. Hastings, O. W. Howarth, D. H. G. Crout, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 7, 709-720.

75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.3, 170.2, 170.0, 169.5 (4 x C=O), 84.0 (L-Gal-1), 74.3, 71.8, 67.2, 67.1 (L-Gal-2, L-Gal-3, L-Gal-4, L-Gal-5), 61.4 (L-Gal-6), 24.3 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.6 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.5 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 14.8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

FD-MS, positiv [*m/z*] = 785.5 (100 %, [2M + H]<sup>+</sup>, ber.: 785.2), 392.8 (83 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 393.1), 331.7 (11 %, [M – SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> + H]<sup>+</sup>, ber.: 332.1).

C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub>S (392.4)                      ber.: C 48.97    H 6.16    S 8.17  
    gef.: C 49.13    H 6.16    S 8.52

### Ethyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-galactopyranosid (60)

Eine Lösung von 11.2 g (28.5 mmol) Ethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-galactopyranosid (**59**) in 250 ml Methanol wird unter Rühren so lange mit Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 10-11 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst<sup>®</sup> 15, filtriert den Ionenaustauscher ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung und ohne Charakterisierung umgehend zum benzylierten Thio-L-galactopyranosid **20** umgesetzt.

Ausbeute: 6.39 g (quant.); gelbes Öl;  $R_f$ ( $\alpha$ -Anomer) = 0.68 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 4:2),  $R_f$ ( $\beta$ -Anomer) = 0.58 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 4:2).

C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>S (224.3)

### Ethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-galactopyranosid (20)

( $\alpha,\beta$ -Bn<sub>4</sub>-L-Gal-SEt)

Eine Lösung von 6.39 g (28.5 mmol) Ethyl-1-thio- $\alpha,\beta$ -L-galactopyranosid (**60**) in 200 ml *N,N*-Dimethylformamid wird auf 0 °C abgekühlt. Unter einer Argonatmosphäre gibt man portionsweise 5.47 g (137 mmol) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl hinzu. Die Kühlung wird entfernt und der Ansatz 1 h bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt erneut auf 0 °C ab und tropft 14.8 ml (21.4 g, 125 mmol) Benzylbromid in 50 ml *N,N*-Dimethylformamid hinzu. Anschließend wird die Reaktionsmischung 15 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von 30 ml Methanol wird *N,N*-Dimethylformamid und überschüssiges Benzylbromid i. Hochvak. entfernt und der Rückstand viermal mit je 30 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 300 ml Dichlormethan aufgenommen und die resultierende Lösung dreimal mit je 100 ml Wasser gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand flashchromatographisch (Säulengröße: 24 x 10 cm, 760 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:

$R_f = 0.11$ ). Dadurch wird eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha, \beta$ -Gemischs erhalten.

Gesamtausbeute: 14.0 g (23.9 mmol, 84 %).

**$\alpha, \beta$ -Gemisch:** 13.1 g (22.4 mmol, 79 %); farbloser wachsartiger Feststoff;  $R_f(\alpha\text{-Anomer}) = 0.32$  (PE:EtOAc = 8:1),  $R_f(\beta\text{-Anomer}) = 0.21$  (PE:EtOAc = 8:1).

**$\beta$ -Anomer:** 900 mg (1.54 mmol, 5 %); farbloser wachsartiger Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = 6$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit. (Drehwert des Enantiomers):<sup>188</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -6.4$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.39-7.23 (m, 20H, Ph), 4.94 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.86 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{\text{gem}} = 10.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.78 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{\text{gem}} = 10.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.71 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.60 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.44 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.42 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 9.8$  Hz, L-Gal-1), 4.39 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.94 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 2.7$  Hz, L-Gal-4), 3.81 (t, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = \text{}^3J_{2,3} = 9.8$  Hz, L-Gal-2), 3.59-3.54 (m, 4H, L-Gal-3, L-Gal-5, L-Gal-6a, L-Gal-6b), 2.80-2.65 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1.28 (t, 3H, <sup>3</sup> $J_{\text{vic}} = 7.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, BB,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 138.7, 138.3, 138.2, 137.8, (4 x  $\text{Ph}_{\text{ipso}}$ ), 128.4, 128.3, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4 (20 x  $\text{Ph}_{o,m,p}$ ), 85.3 (L-Gal-1), 84.1 (L-Gal-3 oder L-Gal-5), 78.3 (L-Gal-2), 77.1 (L-Gal-3 oder L-Gal-5), 75.7, 74.4 (2 x  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 73.5 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ , L-Gal-4), 72.7 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 68.7 (L-Gal-6), 24.8 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 15.0 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

FD-MS, positiv  $[m/z] = 1171.0$  (100 %,  $[\text{2M} + \text{H}]^+$ , ber.: 1169.5), 585.1 (27 %,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , ber.: 585.3).

$\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{O}_5\text{S}$  (584.8)

ber.: C 73.94 H 6.89 S 5.48

gef.: C 73.28 H 7.06 S 5.49

## 5.2.8 Die Synthesen der Disaccharide

### 2-Acetamido-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-3-O-allyl-6-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (**22**)

( $\beta$ -4-( $\beta$ -Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-3-All-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub>)

Eine Mischung aus 7.83 g (20.8 mmol)  $\beta$ -3-All-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**24**), 14.1 g (26.1 mmol)  $\alpha, \beta$ -Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal-Trichloracetimidat (**23**) und 5 g pulverförmigem Molekularsieb 4 Å in 300 ml absol. Dichlormethan wird 30 min unter einer Argonatmosphäre gerührt. Man kühlt

<sup>188</sup> L. Käsbeck, H. Kessler, *Liebigs Ann. Recl.* **1997**, 169-173.

auf  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  ab, tropft 1.50 ml (1.73 g, 7.78 mmol) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat hinzu und lässt die Reaktionsmischung innerhalb von 15 h auf Raumtemp. kommen. Der Ansatz wird mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und dann über Celite<sup>®</sup> filtriert. Man wäscht die organische Phase zweimal mit je 70 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 50 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung und trocknet sie anschließend mit Magnesiumsulfat. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 24 x 9 cm, 615 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f=0.06$ ). Neben dem Produkt werden so 820 mg (2.18 mmol, 10 %) von nicht umgesetztem Glucosamin-Baustein **24** zurückgewonnen.

Ausbeute: 11.0 g (14.6 mmol, 70 %, bezogen auf **24**); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -47$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.53$  (EtOAc).

Zurückgewonnener Glucosamin-Baustein **24**: 820 mg (2.18 mmol, 10 %).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 8.00 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},2} = 9.0$  Hz, Glc-NH), 7.36-7.26 (m, 10H, Ph), 5.82 (m<sub>c</sub>, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.29 (d<sub>b</sub>, 1H,  $^3J_{3,4} = 3.1$  Hz, Gal-4), 5.13 (m<sub>c</sub>, 1H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 5.06 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 10.2$  Hz,  $^3J_{3,4} = 3.1$  Hz, Gal-3), 5.00 (m<sub>c</sub>, 1H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 4.89 (dd, 1H,  $^3J_{1,2} = 8.2$  Hz,  $^3J_{2,3} = 10.2$  Hz, Gal-2), 4.69 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 8.2$  Hz, Gal-1), 4.60 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.57-4.50 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ , Glc-1 {4.54}), 4.39 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.24 (dd<sub>b</sub>, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.3$  Hz,  $^3J_{\text{vic}} = 5.3$  Hz,  $\text{CH}_{2\text{a}}-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.02-3.99 (m, 2H,  $\text{CH}_{2\text{b}}-\text{CH}=\text{CH}_2$ , Gal-5), 3.72-3.57 (m, 5H, Glc-4 {3.69}, Glc-2 {3.61}, Glc-5 {3.59}, Glc-6a, Glc-6b), 3.47-3.37 (m, 3H, Gal-6a, Gal-6b, Glc-3), 2.02, 1.96, 1.90, 1.84 (4 x s, 12H,  $\text{CH}_3$ ).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 135.6 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 115.3 ( $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 99.4 (Gal-1), 87.8 (Glc-1), 79.7 (Glc-3), 76.0 (Glc-5), 75.8 (Glc-4), 72.7, 72.3, 71.9 ( $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ , 2 x  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 70.7 (Gal-5), 70.4 (Gal-3), 69.2 (Gal-2), 67.6 (Glc-6), 67.1 (Gal-4), 66.9 (Gal-6), 53.5 (Glc-2), 22.8 ( $\text{CH}_3^{\text{NAc}}$ ), 20.4 ( $\text{CH}_3^{\text{OAc}}$ ), 20.3 (2 x  $\text{CH}_3^{\text{OAc}}$ ).

Die Werte für die chemische Verschiebung der <sup>13</sup>C-Signale sind aus dem HMOC-Spektrum entnommen und können dadurch nur mit einer Genauigkeit von  $\pm 0.2$  angegeben werden.

Die quartären C-Atome zeigen im HMOC-Experiment keine Signale.

$\text{C}_{37}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_{13}$  (754.8)

ber.: C 58.88 H 6.14 N 7.42

gef.: C 58.94 H 6.09 N 7.00

**2-Acetamido-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-β-D-glucofuranosylazid (21)** $(\beta\text{-4-(}\beta\text{-Ac}_3\text{-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N}_3)$ 

**Methode A:** Abspaltung des Allylethers durch stöchiometrische Mengen an Palladium(II)-chlorid

Eine Mischung aus 5.94 g (7.87 mmol)  $\beta\text{-4-(}\beta\text{-Ac}_3\text{-6-Bn-Gal)-3-All-6-Bn-GlcNAc-N}_3$  (**22**), 1.54 g (8.69 mmol) Palladium(II)-chlorid und 5.62 g (41.3 mmol) Natriumacetat-Trihydrat in 150 ml Essigsäure und 12 ml Wasser wird 3 h bei 50 °C gerührt. Anschließend entfernt man die Lösungsmittel i. Vak., nimmt den Rückstand in 150 ml Ethylacetat auf und filtriert über Celite<sup>®</sup>. Das Filtrat wird zweimal mit je 60 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 50 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 24 x 6 cm, 275 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f=0.09$ ). Die analytischen Daten stimmen mit denen von nach Methode C gewonnenem Produkt überein.

Ausbeute: 2.77 g (3.88 mmol, 49 %); farbloser amorpher Feststoff.

 $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_{13}$  (714.7)

**Methode B:** Abspaltung des Allylethers durch sub-stöchiometrische Mengen an Palladium(II)-chlorid

Eine Mischung aus 1.83 g (2.42 mmol)  $\beta\text{-4-(}\beta\text{-Ac}_3\text{-6-Bn-Gal)-3-All-6-Bn-GlcNAc-N}_3$  (**22**) und 116 mg (654  $\mu\text{mol}$ ) Palladium(II)-chlorid in 75 ml Methanol wird 15 h gerührt. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 25 x 6 cm, 285 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f=0.07$ ). Die analytischen Daten stimmen mit denen von nach Methode C gewonnenem Produkt überein.

Ausbeute: 813 g (1.14 mmol, 47 %); farbloser amorpher Feststoff.

 $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_{13}$  (714.7)

**Methode C:** Abspaltung des Allylethers durch 1,5-Cyclooctadien-bis(methyldiphenylphosphin)iridium(I)-hexafluorophosphat ( $[\text{Ir}^{\text{I}}(\text{COD})(\text{PMePh}_2)_2]\text{PF}_6$ )

Eine Lösung von 1.24 g (1.47 mmol)  $[\text{Ir}^{\text{I}}(\text{COD})(\text{PMePh}_2)_2]\text{PF}_6$  in 50 ml absol. Tetrahydrofuran wird entgast und anschließend so lange unter einer Wasserstoffatmosphäre

gerührt, bis die Farbe der Lösung von orangerot nach hellgelb umschlägt (5-25 min). Man entfernt den Wasserstoff und gibt die Lösung unter einer Argonatmosphäre zu einer entgasten Lösung von 17.0 g (22.5 mmol)  $\beta$ -4-( $\beta$ -Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-3-All-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**22**) in 300 ml absol. Tetrahydrofuran hinzu. Nach 1.5 h werden 751 mg (3.95 mmol) 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat in 20 ml Methanol zur Reaktionsmischung gegeben und diese wird weitere 30 min gerührt. Man neutralisiert die Lösung mit 0.60 ml (432 mg, 4.27 mmol) Triethylamin, entfernt die Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 24 x 9.5 cm, 690 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f = 0.09$ ).

Ausbeute: 13.7 g (19.2 mmol, 85 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{24} = -17$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>150</sup>  $[\alpha]_D^{21} = -17.9$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.29$  (PE:EtOAc = 1:3).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.36-7.24 (m, 10H, Ph), 5.76 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,2} = 7.4$  Hz, Glc-NH), 5.25 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.1$  Hz, Gal-4), 5.12 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 7.8$  Hz, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.2$  Hz, Gal-2), 4.97 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 9.4$  Hz, Glc-1), 4.93 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.2$  Hz, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.5$  Hz, Gal-3), 4.65 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{gem} = 12.1$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.53-4.47 (m, 3H, Gal-1 {4.51}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.36 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{gem} = 12.1$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.02 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{vic} = 10.2$  Hz, <sup>3</sup> $J_{vic} = 8.2$  Hz, Glc-3), 3.82 (tb, <sup>3</sup> $J_{5,6} = 6.3$  Hz, Gal-5), 3.68-3.54 (m, 4H, Glc-4, Glc-5, Glc-6a, Glc-6b), 3.49 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 7.4$  Hz, <sup>2</sup> $J_{6a,6b} = 9.0$  Hz, Gal-6a), 3.38-3.31 (m, 2H, Glc-2, Gal-6b), 2.03, 1.97 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub>), 1.96 (s, 6H, CH<sub>3</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMQC, BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.7 (C=O), 170.0 (2 x C=O), 169.2 (C=O), 137.8, 137.1 (2 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.5, 128.0, 127.9, 127.7 (10 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 101.1 (Gal-1), 87.6 (Glc-1), 80.7 (Glc-4), 76.0 (Glc-5), 73.6 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 72.3 (Gal-5), 71.4 (Glc-3), 70.8 (Gal-3), 69.0 (Gal-2), 67.6 (Glc-6), 67.5 (Gal-6), 67.2 (Gal-4), 56.7 (Glc-2), 23.5, 20.7 (2 x CH<sub>3</sub>), 20.5 (2 x CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 2), positiv  $[m/z] = 1451.6$  (47 %, [2M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1451.5), 737.3 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 737.3).

C<sub>34</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>13</sub> (714.7)

ber.: C 57.14 H 5.92 N 7.84

gef.: C 56.87 H 5.88 N 7.81

## 5.2.9 Die Synthesen der Trisaccharide

### 2-Acetamido-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (**63**)<sup>150</sup>

( $\beta$ -4-( $\beta$ -Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>-Fuc)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub>)

In einer Mischung aus 250 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid und 250 ml absol. Dichlormethan werden unter einer Argonatmosphäre 11.2 g (15.7 mmol)  $\beta$ -4-( $\beta$ -Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**21**), 11.3 g (23.6 mmol)  $\alpha,\beta$ -Bn<sub>3</sub>-Fuc-SEt (**18**) und 10 g pulverförmiges Molekularsieb 4 Å 1 h gerührt. Anschließend gibt man im Argon-Gegenstrom 8.37 g (26.0 mmol) Tetrabutylammoniumbromid und 5.80 g (26.0 mmol) Kupfer(II)-bromid hinzu und rührt die Reaktionsmischung 15 h unter einer Argonatmosphäre. Dichlormethan wird i. Vak. und *N,N*-Dimethylformamid i. Hochvak. entfernt und der Rückstand in 400 ml Dichlormethan aufgenommen und über Celite® filtriert. Man wäscht das Filtrat siebenmal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 100 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 28 x 9 cm, 720 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f$  = 0.09).

Ausbeute: 14.9 g (13.2 mmol, 84 %, bezogen auf **21**), Lit.:<sup>150</sup> 69 %; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{29} = -71$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>150</sup>  $[\alpha]_D^{21} = -66.3$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.32$  (PE: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] = 7.35-7.15 (m, 25H, Ph), 5.90 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 7.8 Hz, Glc-NH), 5.39 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.0 Hz, Gal-4), 5.11 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.0 Hz, Glc-1), 5.02 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.9 Hz, Fuc-1), 4.99 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.6 Hz, Gal-2), 4.93 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.85 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.83 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.5 Hz, Gal-3), 4.71 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.68-4.59 (m, 4H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.53 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, Gal-1), 4.44 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.43 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.28 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.25 (m<sub>c</sub>, 1H, Fuc-5), 4.11-4.07 (m, 2H, Glc-3, Fuc-2), 3.93 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 7.2 Hz, Glc-4), 3.84 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 2.3 Hz, Fuc-3), 3.79-3.78 (m, 2H, Glc-6a, Glc-6b), 3.58-3.53 (m, 3H, Gal-5, Glc-5, Fuc-4), 3.49 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.0 Hz, Gal-6a), 3.43 (q<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 7.4 Hz, Glc-2), 3.34 (pseudo-t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 8.6 Hz, Gal-6b), 1.98, 1.94, 1.85, 1.72 (4 x s, 12H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.10 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.3 Hz, Fuc-6).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMQC, DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.4, 169.9, 169.8, 169.4 (4 x C=O), 138.6, 138.53, 138.48, 137.6, 137.3 (5 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.6, 128.5, 128.4, 128.3,

128.2, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.2 (25 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.5 (Gal-1), 97.3 (Fuc-1), 87.4 (Glc-1), 79.9 (Fuc-3), 77.0 (Fuc-4), 76.7 (Fuc-2), 76.2 (Glc-5), 74.4, 73.8, 73.5 (3 x CH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (Glc-4), 73.33 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.28 (Glc-3), 72.8 (CH<sub>2</sub>Ph), 71.7 (Gal-5), 70.8 (Gal-3), 69.0 (Gal-2), 67.9 (Glc-6), 67.2 (Gal-4), 66.64 (Fuc-5), 66.60 (Gal-6), 55.1 (Glc-2), 23.0, 20.7, 20.6, 20.5 (4 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 16.7 (Fuc-6).

*FD-MS, positiv*  $[m/z] = 1131.7$  (100 %,  $[M + H]^+$ , ber.: 1131.5), 1103.6 (48 %,  $[M - N_2 + H]^+$ , ber.: 1103.5), 1089.6 (43 %,  $[M - N_3 + H]^+$ , ber.: 1089.5).

C<sub>61</sub>H<sub>70</sub>N<sub>4</sub>O<sub>17</sub> (1131.2)                      ber.: C 64.77    H 6.24    N 4.95  
    gef.: C 64.66    H 6.40    N 4.85

## 2-Acetamido-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-4-O-(6-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (**14**)<sup>150,89</sup>

( $\beta$ -3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>-Fuc)-4-( $\beta$ -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub>)

Eine Lösung von 16.6 g (14.7 mmol)  $\beta$ -4-( $\beta$ -Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>-Fuc)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**63**) in 500 ml Methanol wird unter Rühren so lange mit Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 10-11 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst<sup>®</sup> 15, filtriert den Ionenaustauscher ab, entfernt das Lösungsmittel im Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 28 x 8 cm, 570 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f = 0.10$ ).

Ausbeute: 13.8 g (13.7 mmol, 93 %), Lit.:<sup>150</sup> 97 %; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{29} = -92$  ( $c = 1.0$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), Lit.:<sup>150</sup>  $[\alpha]_D^{22} = -63.1$  ( $c = 1$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), Lit.:<sup>151</sup>  $[\alpha]_D^{20} = -90.3$  ( $c = 1$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>);  $R_f = 0.34$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 20:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.35-7.24 (m, 25H, Ph), 6.09 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 6.7 Hz, Glc-NH), 5.13 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, Fuc-1), 4.90 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.89 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.77 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 9.0 Hz, Glc-1), 4.73 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.65 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.63 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.60 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.55 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.52 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.50 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.4 Hz, Gal-1), 4.46 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.26 (q, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.3 Hz, Fuc-5), 4.13-4.01 (m, 3H, Glc-3, Glc-4, Fuc-2), 3.96 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 3.3 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.5 Hz, Glc-6a), 3.92-3.89 (m, 2H, Gal-4, Fuc-3), 3.76 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 1.8 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.5 Hz, Glc-6b), 3.72-3.68 (m, 2H, Gal-6a, Fuc-4), 3.63 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.8 Hz, Gal-6b), 3.58 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 3.53-3.47 (m, 2H, Gal-2, Gal-5), 3.42 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-3), 3.36 (q<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub>  $\approx$  <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub>  $\approx$  <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub>  $\approx$  9.0 Hz, Glc-2), 1.61 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.11 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.3 Hz, Fuc-6).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMQC, DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 170.8 (C=O), 138.5, 138.3, 138.0, 137.7, 137.6 (5 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.7, 128.44, 128.40, 128.3, 128.2, 128.0, 127.7, 127.6, 127.5, 127.2 (25 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 100.9 (Gal-1), 98.2 (Fuc-1), 88.0 (Glc-1), 79.7 (Fuc-3), 77.3 (Fuc-4), 77.08, 77.06 (Fuc-2, Glc-3), 76.8 (Glc-5), 75.0, 74.6 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 74.3 (Glc-4), 73.6 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (Gal-3), 73.4 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.0, 72.3 (Gal-2, Gal-5), 72.0 (CH<sub>2</sub>Ph), 68.8 (Gal-6), 68.3 (Gal-4), 68.2 (Glc-6), 67.4 (Fuc-5), 56.6 (Glc-2), 23.0 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 16.9 (Fuc-6).  
 FD-MS, positiv [m/z] = 1005.8 (7 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1005.4), 962.7 (100 %, [M - N<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 962.4).

C<sub>55</sub>H<sub>64</sub>N<sub>4</sub>O<sub>14</sub> (1005.1)

ber.: C 65.72 H 6.42 N 5.57

gef.: C 65.11 H 6.60 N 5.50

**2-Acetamido-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-β-D-arabinopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosylazid (64)**  
 (β-4-(β-Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-3-(β-Bn<sub>3</sub>-Ara)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub>)

In einer Mischung aus 280 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid und 280 ml absol. Dichlormethan werden unter einer Argonatmosphäre 15.7 g (22.0 mmol) β-4-(β-Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**21**), 18.0 g (38.7 mmol) α,β-Bn<sub>3</sub>-Ara-SEt (**19**) und 10 g pulverförmiges Molekularsieb 4 Å 1 h gerührt. Anschließend gibt man im Argon-Gegenstrom 13.7 g (42.5 mmol) Tetrabutylammoniumbromid und 9.50 g (42.5 mmol) Kupfer(II)-bromid hinzu und rührt die Reaktionsmischung 15 h unter einer Argonatmosphäre. Dichlormethan wird i. Vak. und *N,N*-Dimethylformamid i. Hochvak. entfernt und der Rückstand in 400 ml Dichlormethan aufgenommen und über Celite<sup>®</sup> filtriert. Man wäscht das Filtrat achtmal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 100 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 32 x 8 cm, 650 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc: R<sub>f</sub> = 0.09).

Ausbeute: 17.5 g (15.7 mmol, 71 %, bezogen auf **21**); farbloser amorpher Feststoff; [α]<sub>D</sub><sup>29</sup> = -99 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>127</sup> [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -90.2 (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.42 (PE:EtOAc = 1:2).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.33-7.18 (m, 25H, Ph), 6.15 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 8.2 Hz, Glc-NH), 5.39 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-4), 5.09 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.1 Hz, Ara-1), 5.04 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.6 Hz, Gal-2), 4.91-4.88 (m, 2H, Gal-3 Glc-1), 4.82 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.69 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.64 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.5 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.59 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.5 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.58 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz,

$\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 4.54 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 4.53 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 4.51 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.8$  Hz, Gal-1), 4.46 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 4.41 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 4.30 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 4.03-3.98 (m, 3H, Ara-2 {4.01}, Glc-3, Glc-4), 3.81 (db, 1H,  $^2J_{5a,5b} = 12.5$  Hz, Ara-5a), 3.79-3.76 (m, 3H, Ara-3, Glc-6a, Glc-6b), 3.70 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-2), 3.66-3.62 (m, 3H, Ara-4, Gal-5, Glc-5), 3.60 (dd, 1H,  $^3J_{4,5b} = 3.1$  Hz,  $^2J_{5a,5b} = 12.1$  Hz, Ara-5b), 3.47 (dd, 1H,  $^3J_{5,6a} = 5.7$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 9.2$  Hz, Gal-6a), 3.36 (dd, 1H,  $^3J_{5,6b} = 7.6$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 9.2$  Hz, Gal-6b), 1.99, 1.95, 1.88, 1.79 (4 x s, 12H, CH<sub>3</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.4, 169.8 (4 x C=O), 138.5, 138.4, 138.3, 137.7, 137.4 (5 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.5, 128.4, 127.93, 127.85, 127.8, 127.7, 127.6, 127.4 (25 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.2 (Gal-1), 97.9 (Ara-1), 87.9 (Glc-1), 77.3 (Ara-3), 76.7 (Ara-2), 76.0 (Glc-5), 74.3 (Glc-3 oder Glc-4), 74.0 ( $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 73.6 (Ara-4 oder Gal-5), 73.5, 73.4 (2 x  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 73.0 (Glc-3 oder Glc-4), 72.2 ( $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 71.9 (Ara-4 oder Gal-5), 71.4 ( $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 70.7 (Gal-3), 69.3 (Gal-2), 68.4 (Glc-6), 67.3 (Gal-4), 66.8 (Gal-6), 60.8 (Ara-5), 52.8 (Glc-2), 23.0, 20.8, 20.54, 20.49 (4 x CH<sub>3</sub>).

FD-MS, positiv  $[m/z] = 1117.9$  (100 %,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , ber.: 1117.5), 1089.8 (36 %,  $[\text{M} - \text{N}_2 + \text{H}]^+$ , ber.: 1089.5), 1074.8 (23 %,  $[\text{M} - \text{Ac} + \text{H}]^+$ , ber.: 1074.4).

C <sub>60</sub> H <sub>68</sub> N <sub>4</sub> O <sub>17</sub> (1117.2)	ber.: C 64.50	H 6.13	N 5.01
	gef.: C 64.35	H 6.10	N 4.93

## 2-Acetamido-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl)-4-O-(6-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (15)<sup>70,127</sup>

( $\beta$ -3-( $\beta$ -Bn<sub>3</sub>-Ara)-4-( $\beta$ -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub>)

Eine Lösung von 17.3 g (15.5 mmol)  $\beta$ -4-( $\beta$ -Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-3-( $\beta$ -Bn<sub>3</sub>-Ara)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**64**) in 500 ml Methanol wird unter Rühren so lange mit Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 10-11 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst<sup>®</sup> 15, filtriert den Ionenaustauscher ab, entfernt das Lösungsmittel im Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 29 x 8 cm, 590 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f = 0.06$ ).

Ausbeute: 14.3 g (14.4 mmol, 93 %), Lit.:<sup>70</sup> 93 %; farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_{\text{D}}^{29} = -100$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>127</sup>  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -92.4$  ( $c = 1.00$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.30$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 20:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.30-7.23 (m, 25H, Ph), 6.21 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},2} = 7.0$  Hz, Glc-NH), 5.15 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 2.7$  Hz, Ara-1), 4.86 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.0$  Hz,

$\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 4.63-4.59 (m, 3H,  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 4.56-4.43 (m, 8H, Glc-1 {4.49}, Gal-1 {4.45},  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 4.06 (t, 1H,  ${}^3J_{2,3} = {}^3J_{3,4} = 9.0$  Hz, Glc-3), 4.00 (dd, 1H,  ${}^3J_{1,2} = 2.7$  Hz,  ${}^3J_{2,3} = 9.0$  Hz, Ara-2), 3.94-3.84 (m, 4H, Ara-5a, Gal-4, Glc-4, Glc-6a), 3.81 (dd, 1H,  ${}^3J_{2,3} = 9.4$  Hz,  ${}^3J_{3,4} = 2.7$  Hz, Ara-3), 3.78-3.76 (m, 2H, Ara-4, Glc-6b), 3.66-3.60 (m, 2H, Ara-5b, Gal-6a), 3.58-3.51 (m, 4H, Gal-2, Gal-6b, Glc-2, Glc-5), 3.45 (tb, 1H,  ${}^3J_{5,6a} = {}^3J_{5,6b} = 5.7$  Hz, Gal-5), 3.38 (dd, 1H,  ${}^3J_{2,3} = 9.4$  Hz,  ${}^3J_{3,4} = 3.1$  Hz, Gal-3), 1.61 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (HMOC, DEPT, BB,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 171.0 (C=O), 138.2, 138.1, 137.9, 137.8, 137.7 (5 x  $\text{Ph}_{\text{ipso}}$ ), 128.7, 128.5, 128.4, 128.2, 127.74, 127.68, 127.64, 127.61, 127.4 (25 x  $\text{Ph}_{o,m,p}$ ), 100.7 (Gal-1), 99.2 (Ara-1), 88.5 (Glc-1), 78.1 (Glc-4), 77.4 (Ara-3), 77.3 (Ara-2), 77.1 (Glc-5), 74.9 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ ), 73.6 (Gal-3), 73.5, 73.4 (2 x  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ ), 73.1 (Glc-3, Ara-4, Gal-5), 72.3 (Gal-2), 71.4 (2 x  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ ), 68.7 (Gal-6), 68.5 (Gal-4), 68.4 (Glc-6), 61.0 (Ara-5), 55.7 (Glc-2), 22.9 ( $\text{CH}_3$ ).

FD-MS, positiv [ $m/z$ ] = 992.0 (2 %,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , ber.: 991.4), 948.8 (100 %,  $[\text{M} - \text{N}_3]^+$ , ber.: 948.4).

$\text{C}_{54}\text{H}_{62}\text{N}_4\text{O}_{14}$ (991.1)	ber.: C 65.44	H 6.31	N 5.65
	gef.: C 65.47	H 6.26	N 5.51

**2-Acetamido-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -L-galactopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (65)**  
( $\beta$ -4-( $\beta$ -Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-3-( $\alpha$ -Bn<sub>4</sub>-L-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub>)

In einer Mischung aus 160 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid und 160 ml absol. Dichlormethan werden unter einer Argonatmosphäre 7.28 g (10.2 mmol)  $\beta$ -4-( $\beta$ -Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**21**), 8.68 g (14.8 mmol)  $\alpha,\beta$ -Bn<sub>4</sub>-L-Gal-SEt (**20**) und 7 g pulverförmiges Molekularsieb 4 Å 1 h gerührt. Anschließend gibt man im Argon-Gegenstrom 5.35 g (16.6 mmol) Tetrabutylammoniumbromid und 3.71 g (16.6 mmol) Kupfer(II)-bromid hinzu und rührt die Reaktionsmischung 15 h unter einer Argonatmosphäre. Dichlormethan wird i. Vak. und *N,N*-Dimethylformamid i. Hochvak. entfernt und der Rückstand in 400 ml Dichlormethan aufgenommen und über Celite<sup>®</sup> filtriert. Man wäscht das Filtrat sechsmal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 100 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 22 x 10 cm, 700 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f = 0.08$ ).

Ausbeute: 9.40 g (7.60 mmol, 75 %, bezogen auf **21**); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -42$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.43$  (PE:EtOAc = 1:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.34-7.13 (m, 30H, Ph), 6.33 (sb, 1H, Glc-NH), 5.31 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.5 Hz, Gal-4), 5.25 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.4 Hz, Glc-1), 5.16 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, Gal-2), 5.04 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, L-Gal-1), 4.90-4.80 (m, 4H, Gal-1 {4.88}, Gal-3 {4.82}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.69-4.57 (m, 5H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.52-4.47 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.43 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.41 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-3), 4.34 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.23 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.19 (m<sub>c</sub>, 1H, L-Gal-5), 4.05 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, L-Gal-2), 3.96 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-4), 3.89 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 2.4 Hz, L-Gal-3), 3.80-3.76 (m, 3H, L-Gal-4, Glc-6a, Glc-6b), 3.63-3.58 (m, 3H, Gal-5, L-Gal-6a, Glc-5), 3.50 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.6 Hz, Gal-6a), 3.41 (m<sub>c</sub>, 1H, L-Gal-6b), 3.37-3.33 (Gal-6b, Glc-2), 2.00, 1.98, 1.75, 1.65 (4 x s, 12H, CH<sub>3</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 170.6, 170.2, 169.9, 169.4 (4 x C=O), 138.6, 138.5, 138.4, 137.9, 137.70, 137.67 (6 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.7, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.74, 127.65, 127.5, 127.1 (30 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.6 (Gal-1), 96.0 (L-Gal-1), 87.2 (Glc-1), 79.0 (L-Gal-3), 76.4 (Glc-5), 76.1 (L-Gal-2), 74.8 (L-Gal-4), 74.6 (CH<sub>2</sub>Ph), 74.4 (Glc-3), 73.84, 73.77 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 73.7 (Glc-4, CH<sub>2</sub>Ph), 73.3, 72.5 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 72.2 (Gal-5), 71.2 (Gal-3), 69.6 (L-Gal-5), 69.5 (L-Gal-6), 69.4 (Gal-2), 68.2 (Glc-6 oder Gal-6), 67.6 (Gal-4), 67.5 (Glc-6 oder Gal-6), 55.1 (Glc-2), 23.0, 20.8, 20.6, 20.3 (4 x CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 1), positiv [m/z] = 1259.9 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1259.5).

C<sub>68</sub>H<sub>76</sub>N<sub>4</sub>O<sub>18</sub> (1237.3)

ber.: C 66.01 H 6.19 N 4.53

gef.: C 66.81 H 6.51 N 4.98

## 2-Acetamido-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-benzyl-α-L-galactopyranosyl)-4-O-(6-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-β-D-glucofuranosylazid (16)

(β-3-(α-Bn<sub>4</sub>-L-Gal)-4-(β-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub>)

Eine Lösung von 17.3 g (14.0 mmol) β-4-(β-Ac<sub>3</sub>-6-Bn-Gal)-3-(α-Bn<sub>4</sub>-L-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**65**) in 500 ml Methanol wird unter Rühren so lange mit Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 10-11 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst<sup>®</sup> 15, filtriert den Ionenaustauscher ab, entfernt das Lösungsmittel im Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 25 x 10 cm, 790 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH: R<sub>f</sub> = 0.07).

Ausbeute: 13.4 g (12.1 mmol, 86 %); farbloser amorpher Feststoff; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> = -31 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.38 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 20:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.37-7.22 (m, 30H, Ph), 6.95 (sb, 1H, Glc-NH), 5.51 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.6 Hz, Glc-1), 5.12 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, L-Gal-1), 4.90 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.84 (mc, 1H, Glc-3), 4.83 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.78 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.70 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.68 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.65 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.58 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.51-4.44 (m, 5H, Gal-1 {4.50}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.35 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.20 (mc, 1H, L-Gal-5), 4.10 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 10.2 Hz, Glc-4), 4.05 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, L-Gal-2), 4.02 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 3.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.0 Hz, Glc-6a), 3.92 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 2.3 Hz, L-Gal-3), 3.86 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-4), 3.82 (db, 1H, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.0 Hz, Glc-6b), 3.79-3.72 (m, 2H, L-Gal-4 {3.75}, Glc-5 {3.73}), 3.68 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.9 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.8 Hz, Gal-6a), 3.60 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 5.9 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.8 Hz, Gal-6b), 3.58-3.47 (m, 2H, Gal-5 {3.55}, L-Gal-6a), 3.44 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-3), 3.32 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 3.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.8 Hz, L-Gal-6b), 3.27 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.4 Hz, Gal-2), 3.00 (mc, 1H, Glc-2), 1.56 (CH<sub>3</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 171.4 (C=O), 138.3, 138.24, 138.15, 137.8, 137.5, 136.5 (6 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.61, 128.55, 128.5, 128.42, 128.37, 128.31, 128.25, 128.2, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4 (30 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 98.7 (Gal-1), 93.7 (L-Gal-1), 86.5 (Glc-1), 78.8 (L-Gal-3), 76.0 (Glc-5), 75.7 (L-Gal-2), 75.1 (L-Gal-4), 74.5 (CH<sub>2</sub>Ph), 74.2 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (Gal-3), 73.2 (Gal-5), 73.1 (CH<sub>2</sub>Ph), 72.4 (Glc-3), 71.7 (Gal-2, Glc-4), 70.9 (L-Gal-6), 70.2 (L-Gal-5), 69.0 (Gal-6), 68.5 (Glc-6), 68.4 (Gal-4), 57.9 (Glc-2), 22.9 (CH<sub>3</sub>).

ESI-MS (Gerät 1), positiv [m/z] = 1133.9 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1133.4).

C <sub>62</sub> H <sub>70</sub> N <sub>4</sub> O <sub>15</sub> (1111.2)	ber.: C 67.01	H 6.35	N 5.04
	gef.: C 66.12	H 6.24	N 4.31

## 5.2.10 Die Synthesen der Tetrasaccharide und Tetrasaccharid-Mimetika

### Herstellung einer Methylsulfonylbromid-Lösung (1.6 M in absol. Dichlorethan)<sup>144</sup>

Eine Mischung aus 1.42 ml (1.51 g, 16.0 mmol) Dimethyldisulfid und 20 ml absol. Dichlorethan wird unter einer Argonatmosphäre mit 818 µl (2.55 g, 16.0 mmol) Brom versetzt und unter Lichtausschluss 15 h gerührt. Bei den folgenden Sialylierungen werden maximal vier Tage alte Methylsulfonylbromid-Lösungen verwendet.

**2-Acetamido-4-O-{2,4-di-O-acetyl-6-O-benzyl-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-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (7)**

( $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-sLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub>)

In einer Mischung aus 70 ml absol. Acetonitril und 45 ml absol. Dichlormethan werden unter einer Argonatmosphäre 4.44 g (4.42 mmol)  $\beta$ -3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>-Fuc)-4-( $\beta$ -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**14**), 6.34 g (10.6 mmol)  $\alpha$ -Ac<sub>4</sub>-Neu5AcCOOMe-Xan (**13**) und 6 g pulverförmiges Molekularsieb 4 Å 45 min gerührt. Anschließend gibt man bei -50 °C und unter Lichtausschluss 2.75 g (10.7 mmol) Silbertriflat in 20 ml absol. Acetonitril hinzu und tropft dann 6.65 ml (10.6 mmol) einer auf -30 °C vorgekühlten 1.6 M Lösung von Methylsulfenylbromid in Dichlorethan (vgl. Seite 110) innerhalb von 45 min hinzu. Die Reaktionsmischung wird 2 h bei -50 °C und weitere 15 h bei -30 °C gerührt und anschließend bei -30 °C mit 3.00 ml (2.17 g, 21.4 mmol) Diisopropylamin neutralisiert. Man gibt 100 ml Dichlormethan hinzu, filtriert über Celite<sup>®</sup>, entfernt die Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand flashchromatographisch (Säulengröße: 40 x 5.5 cm, 380 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f$ =0.06). Das so erhaltene Produkt (noch leicht mit Nebenprodukten verunreinigt) wird in 100 ml Pyridin gelöst, mit 50 ml Essigsäureanhydrid und 480 mg 4-Dimethylaminopyridin versetzt und die Reaktionsmischung wird 15 h gerührt. Anschließend entfernt man Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. und kodestilliert dreimal mit je 40 ml Toluol. Der Rückstand wird flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 40 x 5.5 cm, 380 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f$ =0.07).

Ausbeute: 4.98 g (3.19 mmol, 72 %, bezogen auf **14**); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = -60$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>), Lit.:<sup>150</sup>  $[\alpha]_D^{22} = -59.9$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.29$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 20:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.37-7.20 (m, 25H, Ph), 6.18 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 8.6 Hz, Glc-NH), 5.58 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-8), 5.34 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7,8</sub> = 9.4 Hz, Sia-7), 5.13 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,5</sub> = 10.2 Hz, Sia-NH), 5.11 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, Fuc-1), 5.03 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.5 Hz, Gal-4), 4.96 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 5.9 Hz, Glc-1), 4.94-4.85 (m, 3H, Gal-2 {4.92}, CH<sub>2</sub>Ph {4.91}, Sia-4 {4.88}), 4.77 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.73 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, Gal-1), 4.72 (d, 2H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.62 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.61 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.58 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.9 Hz, Gal-3), 4.55 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.41 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.37 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.32 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-9a), 4.30 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph),

4.06 (pseudo-dd,  ${}^3J_{1,2} = 3.5$  Hz,  ${}^3J_{2,3} = 10.2$  Hz, Fuc-2), 4.04-3.96 (m, 4H, Sia-5 {4.03}, Fuc-5 {4.00}, Glc-3 {3.99}, Glc-4 {3.97}), 3.94 (dd, 1H,  ${}^3J_{8,9b} = 5.9$  Hz,  ${}^2J_{9a,9b} = 12.1$  Hz, Sia-9b), 3.86-3.83 (m, 3H, Glc-5, Glc-6a, Glc-6b), 3.83 (COOCH<sub>3</sub>), 3.79-3.75 (m, 3H, Glc-2 {3.77}, Gal-5 {3.76}, Fuc-3), 3.60 (dd, 1H,  ${}^3J_{5,6} = 11.0$  Hz,  ${}^3J_{6,7} = 2.7$  Hz, Sia-6), 3.47-3.42 (m, 2H, Fuc-4 {3.46}, Gal-6a {3.43}), 3.33 (dd, 1H,  ${}^3J_{5,6b} = 7.4$  Hz,  ${}^2J_{6a,6b} = 9.4$  Hz, Gal-6b), 2.55 (dd, 1H,  ${}^2J_{3\text{äq},3\text{ax}} = 12.5$  Hz,  ${}^3J_{3\text{äq},4} = 4.3$  Hz, Sia-3<sub>äq</sub>), 2.12, 2.09, 2.05, 1.99, 1.94, 1.93, 1.84, 1.83 (8 x s, 24H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.69 (t, 1H,  ${}^2J_{3\text{äq},3\text{ax}} = {}^3J_{3\text{ax},4} = 12.5$  Hz, Sia-3<sub>ax</sub>), 1.04 (d, 3H,  ${}^3J_{5,6} = 6.3$  Hz, Fuc-6).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMBC, HMQC, DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.8, 170.5, 170.4, 170.24, 170.18, 169.9, 169.6 (8 x C=O<sup>Ac</sup>), 167.8 (Sia-1), 138.7, 138.6, 138.5, 138.3, 137.7 (5 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.40, 128.35, 128.3, 128.20, 128.17, 127.74, 127.67, 127.6, 127.55, 127.50, 127.4, 127.21, 127.18 (25 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.0 (Gal-1), 96.9 (Sia-2), 96.6 (Fuc-1), 87.6 (Glc-1), 79.3 (Fuc-3), 77.4 (Fuc-4), 76.5 (Fuc-2), 75.6 (Glc-5), 74.5 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.2 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 73.1, 72.9, 72.8 (Glc-3, Glc-4, 2 x CH<sub>2</sub>Ph), 72.0 (Sia-6), 71.8 (Gal-5), 71.2 (Gal-3), 70.2 (Gal-2), 69.3 (Sia-4), 68.8 (Glc-6), 67.8 (Gal-4), 67.6 (Sia-8), 67.4 (Gal-6), 67.1 (Sia-7), 66.9 (Fuc-5), 62.4 (Sia-9), 53.2 (COOCH<sub>3</sub>), 52.1 (Glc-2), 49.0 (Sia-5), 37.5 (Sia-3), 23.13, 23.06, 21.4, 20.9 (4 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.8 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.7, 20.6 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 16.6 (Fuc-6).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [*m/z*] = 1600.8 (24 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1600.7), 1584.8 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1584.6).

C<sub>79</sub>H<sub>95</sub>N<sub>5</sub>O<sub>28</sub> (1562.6)

ber.: C 60.72 H 6.13 N 4.48

gef.: C 60.37 H 6.18 N 4.09

**2-Acetamido-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- $\beta$ -D-arabinopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (8)**

( $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Ara)-sLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub>)

In einer Mischung aus 80 ml absol. Acetonitril und 45 ml absol. Dichlormethan werden unter einer Argonatmosphäre 4.71 g (4.75 mmol)  $\beta$ -3-( $\beta$ -Bn<sub>3</sub>-Ara)-4-( $\beta$ -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**15**), 5.60 g (9.40 mmol)  $\alpha$ -Ac<sub>4</sub>-Neu5AcCOOMe-Xan (**13**) und 6 g pulverförmiges Molekularsieb 4 Å 45 min gerührt. Anschließend gibt man bei -50 °C und unter Lichtausschluss 2.42 g (9.42 mmol) Silbertriflat in 10 ml absol. Acetonitril hinzu und tropft dann 5.90 ml (9.44 mmol) einer auf -30 °C vorgekühlten 1.6 M Lösung von Methylsulfonylbromid in Dichlorethan (vgl. Seite 110) innerhalb von 45 min hinzu. Die Reaktionsmischung wird 2 h bei -50 °C und weitere 15 h bei -30 °C gerührt und

anschließend bei  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit 2.64 ml (1.91 g, 18.9 mmol) Diisopropylamin neutralisiert. Man gibt 100 ml Dichlormethan hinzu, filtriert über Celite<sup>®</sup>, entfernt die Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand flashchromatographisch (Säulengröße: 40 x 5.5 cm, 380 g Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ :  $R_f=0.07$ ). Das so erhaltene Produkt (noch leicht mit Nebenprodukten verunreinigt) wird in 100 ml Pyridin gelöst, mit 50 ml Essigsäureanhydrid und 500 mg 4-Dimethylaminopyridin versetzt und die Reaktionsmischung wird 15 h gerührt. Anschließend entfernt man Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. und kodestilliert dreimal mit je 40 ml Toluol. Der Rückstand wird flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 40 x 5.5 cm, 380 g Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ :  $R_f=0.05$ ).

Ausbeute: 5.35 g (3.45 mmol, 73 %, bezogen auf **15**); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -73$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0.29$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 20:1$ ).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.35-7.16 (m, 25H, Ph), 6.36 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},2} = 8.2$  Hz, Glc-NH), 5.59 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-8), 5.34 (dd, 1H,  $^3J_{6,7} = 2.5$  Hz,  $^3J_{7,8} = 9.2$  Hz, Sia-7), 5.16 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 3.1$  Hz, Ara-1), 5.14 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},5} = 12.1$  Hz, Sia-NH), 5.01 (d<sub>b</sub>, 1H,  $^3J_{3,4} = 3.5$  Hz, Gal-4), 4.94 (dd, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.8$  Hz,  $^3J_{2,3} = 9.8$  Hz, Gal-2), 4.88 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-4), 4.84 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 5.5$  Hz, Glc-1), 4.77-4.70 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$  {4.75}, Gal-1 {4.73},  $\text{CH}_2\text{Ph}$  {4.72}), 4.62-4.54 (m, 4H, Gal-3 {4.57},  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.52 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.49 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.43 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.37-4.34 (m, 2H, Sia-9a {4.35},  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.31 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.09-4.01 (m, 2H, Sia-5 {4.05}, Glc-4 {4.03}), 3.98 (dd,  $^3J_{1,2} = 3.1$  Hz,  $^3J_{2,3} = 9.4$  Hz, Ara-2), 3.96-3.89 (m, 4H, Glc-3 {3.94}, Glc-2 {3.91}, Sia-9b {3.91}, Glc-5 {3.89}), 3.83 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 3.81-3.77 (m, 3H, Gal-5 {3.78}, Glc-6a, Glc-6b), 3.70 (dd<sub>b</sub>, 1H,  $^3J_{2,3} = 9.0$  Hz,  $^3J_{3,4} = 2.0$  Hz, Ara-3), 3.64-3.57 (m, 4H, Sia-6 {3.61}, Ara-4 {3.59}, Ara-5a, Ara-5b), 3.42 (dd, 1H,  $^3J_{5,6a} = 5.9$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 9.8$  Hz, Gal-6a), 3.34 (dd, 1H,  $^3J_{5,6b} = 7.4$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 9.8$  Hz, Gal-6b), 2.56 (dd, 1H,  $^2J_{3\text{äq},3\text{ax}} = 12.5$  Hz,  $^3J_{3\text{äq},4} = 4.3$  Hz, Sia-3<sub>äq</sub>), 2.20, 2.09, 2.06, 1.99, 1.94, 1.93, 1.87, 1.83 (8 x s, 24H,  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 1.70 (t, 1H,  $^2J_{3\text{äq},3\text{ax}} = ^3J_{3\text{ax},4} = 12.5$  Hz, Sia-3<sub>ax</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMBC, HMQC, DEPT, BB,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 170.8, 170.6, 170.5, 170.4, 170.3, 169.9, 169.7 (8 x  $\text{C}=\text{O}^{\text{Ac}}$ ), 167.8 (Sia-1), 138.5, 138.3, 138.2, 137.7 (5 x  $\text{Ph}_{\text{ipso}}$ ), 128.4, 128.3, 128.2, 127.8, 127.7, 127.5, 127.43, 127.38, 127.3 (25 x  $\text{Ph}_{o,m,p}$ ), 98.7 (Gal-1), 97.3 (Ara-1), 96.8 (Sia-2), 88.0 (Glc-1), 76.8 (Ara-3), 76.5 (Ara-2), 75.5 (Glc-5), 74.1 (Glc-3), 73.59 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 73.56 (Ara-4), 73.3, 72.9 (2 x  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 72.5 (Glc-4), 72.2 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 72.0 (Sia-6), 71.9 (Gal-5), 71.3 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 71.1 (Gal-3), 70.3 (Gal-2), 69.3 (Sia-4), 69.0 (Glc-6), 67.9 (Gal-4), 67.6 (Gal-6, Sia-8), 67.2 (Sia-7), 62.5 (Sia-9), 60.8

(Ara-5), 53.2 (COOCH<sub>3</sub>), 50.8 (Glc-2), 49.0 (Sia-5), 37.5 (Sia-3), 23.1, 23.0, 21.4, 20.9 (4 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.8 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.64, 20.55 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

*ESI-MS (Gerät 1), positiv [m/z] = 1586.8 (7 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1586.7), 1570.9 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1570.6).*

C<sub>78</sub>H<sub>93</sub>N<sub>5</sub>O<sub>28</sub> (1548.6)                      ber.: C 60.50    H 6.05    N 4.52  
    gef.: C 60.16    H 6.07    N 4.28

**2-Acetamido-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-(2,3,4,6-tetra-O-benzyl-α-L-galactopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-β-D-gluco-pyranosylazid (9)**

(β-Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>6</sub>-(L-Gal)-sLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub>)

In einer Mischung aus 80 ml absol. Acetonitril und 45 ml absol. Dichlormethan werden unter einer Argonatmosphäre 4.04 g (3.64 mmol) β-3-(α-Bn<sub>4</sub>-L-Gal)-4-(β-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**16**), 4.09 g (6.87 mmol) α-Ac<sub>4</sub>-Neu5AcCOOMe-Xan (**13**) und 6 g pulverförmiges Molekularsieb 4 Å 45 min gerührt. Anschließend gibt man bei –50 °C und unter Lichtausschluss 1.77 g (6.89 mmol) Silbertriflat in 10 ml absol. Acetonitril hinzu und tropft dann 4.30 ml (6.88 mmol) einer auf –30 °C vorgekühlten 1.6 M Lösung von Methylsulfenylbromid in Dichlorethan (vgl. Seite 110) innerhalb von 45 min hinzu. Die Reaktionsmischung wird 2 h bei –50 °C und weitere 15 h bei –30 °C gerührt und anschließend bei –30 °C mit 2.00 ml (1.44 g, 14.2 mmol) Diisopropylamin neutralisiert. Man gibt 100 ml Dichlormethan hinzu, filtriert über Celite<sup>®</sup>, entfernt die Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand flashchromatographisch (Säulengröße: 40 x 5.5 cm, 380 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH: R<sub>f</sub>=0.06). Dabei gewinnt man 1.42 g (1.28 mmol, 35 %) nicht umgesetztes Trisaccharid **16** zurück. Das erhaltene Tetrasaccharid (noch leicht mit Nebenprodukten verunreinigt) wird in 60 ml Pyridin gelöst, mit 30 ml Essigsäureanhydrid und 380 mg 4-Dimethylaminopyridin versetzt und die Reaktionsmischung wird 15 h gerührt. Anschließend entfernt man Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. und kodestilliert dreimal mit je 40 ml Toluol. Der Rückstand wird flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 40 x 5.5 cm, 380 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH: R<sub>f</sub>=0.06). Neben dem Produkt werden so 1.42 g (1.28 mmol, 35 %) von nicht umgesetztem Trisaccharid **16** zurückgewonnen.

Ausbeute: 2.53 g (1.52 mmol, 42 %, bezogen auf **16**); farbloser amorpher Feststoff; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> = –48 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.33 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 20:1).

Zurückgewonnenes Trisaccharid **16**: 1.42 g (1.28 mmol, 35 %).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.35-7.14 (m, 30H, Ph), 6.14 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 7.8 Hz, Glc-NH), 5.58 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-8), 5.35 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7,8</sub> = 9.4 Hz, Sia-7), 5.14 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, L-Gal-1), 5.10 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,5</sub> = 10.2 Hz, Sia-NH), 5.05 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.8 Hz, Gal-2), 5.03 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 2.7 Hz, Gal-4), 5.02 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 6.7 Hz, Glc-1), 4.91 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-4), 4.84 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.83 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.4 Hz, Gal-1), 4.78 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.71 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.68 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.62-4.57 (m, 3H, Gal-3 {4.60}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.55 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.50 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.44 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.37 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.34 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 10.6 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.27 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>8,9a</sub> = 2.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>9a,9b</sub> = 12.1 Hz, Sia-9a), 4.20 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.16-4.13 (m, 2H, L-Gal-5 {4.15}, Glc-3 {4.14}), 4.09-4.01 (m, 3H, L-Gal-2 {4.07}, Sia-5 {4.05}, Glc-4 {4.02}), 3.93 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>8,9b</sub> = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>9a,9b</sub> = 12.5 Hz, Sia-9b), 3.87-3.84 (m, 4H, L-Gal-4 {3.87}, Glc-5 {3.85}, Glc-6a, Glc-6b), 3.84 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.81-3.76 (m, 2H, L-Gal-3 {3.80}, Gal-5 {3.77}), 3.69 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-2), 3.62 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 11.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.7 Hz, Sia-6), 3.59 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.9 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 8.6 Hz, L-Gal-6a), 3.51 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 8.6 Hz, L-Gal-6b), 3.44 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.8 Hz, Gal-6a), 3.32 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 7.8 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.8 Hz, Gal-6b), 2.62 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3äq,3ax</sub> = 12.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3äq,4</sub> = 4.7 Hz, Sia-3äq), 2.21, 2.07, 2.05, 1.99, 1.93, 1.84, 1.78, 1.77 (8 x s, 24H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.75 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-3ax).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMBC, HMQC, DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 170.9, 170.5, 170.4, 170.3, 170.1, 169.6 (8 x C=O<sup>Ac</sup>), 167.8 (Sia-1), 138.8, 138.7, 138.6, 138.3, 138.2, 137.9 (6 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.7, 127.6, 127.4, 127.3, 127.1 (30 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.1 (Gal-1), 96.9 (Sia-2), 95.9 (L-Gal-1), 87.5 (Glc-1), 78.9 (L-Gal-3), 76.4 (L-Gal-2), 75.8 (L-Gal-4), 74.9 (Glc-5), 74.6, 73.6, 73.3, 73.2, 73.0 (5 x CH<sub>2</sub>Ph), 72.8 (Glc-3, Glc-4), 72.7 (CH<sub>2</sub>Ph), 72.03 (Gal-5), 71.97 (Sia-6), 71.6 (Gal-3), 70.5 (Gal-2), 69.6 (L-Gal-5), 69.4 (Sia-4), 68.8 (Glc-6), 68.6 (L-Gal-6), 67.7 (Gal-4), 67.5 (Gal-6, Sia-8), 67.1 (Sia-7), 62.3 (Sia-9), 53.2 (COOCH<sub>3</sub>), 52.5 (Glc-2), 49.1 (Sia-5), 37.6 (Sia-3), 23.1, 23.0, 21.3, 21.0 (4 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.8 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.6, 20.4 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [m/z] = 1691.0 (59 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1690.7), 556.3 (100 %).

C<sub>86</sub>H<sub>101</sub>N<sub>5</sub>O<sub>29</sub> (1668.7)

ber.: C 61.90 H 6.10 N 4.20

gef.: C 62.12 H 6.23 N 4.25

**2-Acetamido-4-O-{6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (73)**

( $\beta$ -Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub>)

Eine Mischung von 4.00 g (3.98 mmol)  $\beta$ -3-( $\alpha$ -Bn<sub>3</sub>-Fuc)-4-( $\beta$ -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**14**) und 1.49 g (5.99 mmol) Dibutylzinnoxid in 350 ml Methanol wird 15 h refluxiert. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak., trocknet den Rückstand 4 h i. Hochvak. und löst diesen dann unter einer Argonatmosphäre in 250 ml absol. 1,2-Dimethoxyethan. Nach Zugabe von 1.81 g (11.9 mmol) wasserfreiem Cäsiumfluorid im Argongegenstrom werden 3.80 g (11.9 mmol) (*R*)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäuremethylester (**17**) in 15 ml absol. 1,2-Dimethoxyethan innerhalb von 30 min zugetropft und die Reaktionslösung wird 15 h unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend gibt man 300 ml Wasser und 100 ml Dichlormethan zur Reaktionsmischung, trennt die Phasen und extrahiert die wässrige Phase dreimal mit je 100 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet, die Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand wird flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 40 x 5.5 cm, 380 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH: *R<sub>f</sub>* = 0.05). Neben dem Produkt werden so 673 mg (670  $\mu$ mol, 17 %) von nicht umgesetztem Trisaccharid **14** zurückgewonnen.

Ausbeute: 2.82 g (2.40 mmol, 60 %, bezogen auf **14**); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = -56$  (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); *R<sub>f</sub>* = 0.35 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 30:1).

Zurückgewonnenes Trisaccharid **14**: 673 mg (670  $\mu$ mol, 17 %).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.33-7.22 (m, 25H, Ph), 5.92 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>NH,2</sub> = 7.0 Hz, Glc-NH), 5.06 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 9.0 Hz, Glc-1), 5.05 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, Fuc-1), 4.92 (d, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.91 (d, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.72 (d, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.65 (d, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.64 (d, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>gem</sub> = 10.6 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.60 (d, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.57 (d, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.51 (d, 1H, <sup>2</sup>*J*<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.46 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.44 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, Gal-1), 4.38 (q, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6</sub> = 6.7 Hz, Fuc-5), 4.25 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>vic</sub> = 9.8 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>vic</sub> = 3.1 Hz, CHCOOCH<sub>3</sub>), 4.16 (t, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 9.2 Hz, Glc-3), 4.07 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, Fuc-2), 4.02 (t, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 9.2 Hz, Glc-4), 3.98-3.93 (m, 2H, Glc-6a {3.95}, Fuc-3 {3.94}), 3.84 (db, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 2.7 Hz, Gal-4), 3.78-3.75 (m, 2H, Glc-6b, Gal-6a), 3.73 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.72-3.64 (m, 3H, Fuc-4 {3.71}, Gal-2 {3.67}, Gal-6b {3.65}), 3.61 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 3.45 (t<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 6.5 Hz, Gal-5), 3.20 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-2), 3.12 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 9.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-2), 1.80 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH<sub>2</sub>),

1.69-1.62 (m, 5H, Cyclo-CH<sub>2</sub>, CH<sub>2a</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 1.59 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.56-1.54 (m, 2H, CH<sub>2b</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>, Cyclo-CH), 1.24-1.15 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.13 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.7 Hz, Fuc-6), 0.97-0.82 (m, 2H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>):  
 $\delta$  [ppm] = 175.4, 170.7 (C=O<sup>Ac</sup>, COOCH<sub>3</sub>), 138.7, 138.5, 138.4, 138.1, 137.9 (5 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.7, 128.4, 128.2, 128.1, 127.9, 127.7, 127.5, 127.2 (25 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 101.0 (Gal-1), 98.1 (Fuc-1), 87.5 (Glc-1), 82.7 (Gal-3), 79.8 (Fuc-3), 77.6 (Fuc-4), 76.9 (CHCOOCH<sub>3</sub>), 76.8 (Glc-5, Fuc-2), 76.0 (Glc-3), 75.1, 74.4 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 74.1 (Glc-4), 73.5, 73.3 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 72.8 (Gal-5), 72.1 (CH<sub>2</sub>Ph), 71.6 (Gal-2), 68.5 (Gal-6), 68.2 (Glc-6), 67.1 (Fuc-5), 66.3 (Gal-4), 57.6 (Glc-2), 52.2 (COOCH<sub>3</sub>), 41.0 (CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 33.9 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 33.6 (Cyclo-CH), 32.1, 26.4, 26.2, 26.0 (4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 23.1 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 16.8 (Fuc-6).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [m/z] = 1211.5 (26 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1211.5), 1195.5 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1195.5).

C<sub>65</sub>H<sub>80</sub>N<sub>4</sub>O<sub>16</sub> (1173.3) ber.: C 66.54 H 6.87 N 4.77

gef.: C 66.59 H 6.61 N 4.89

**2-Acetamido-4-O-{2,4-di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxy-carbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (10)**

( $\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub>)

Man löst 4.17 g (3.55 mmol)  $\beta$ -Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub> (**73**) in 80 ml Pyridin, gibt 200 mg 4-Dimethylaminopyridin hinzu, tropft dann 40 ml Essigsäureanhydrid langsam zur Reaktionslösung und rührt 5 h. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird viermal mit je 40 ml Toluol kodestilliert und anschließend flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 35 x 5.5 cm, 325 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH: R<sub>f</sub> = 0.08).

Ausbeute: 4.22 g (3.36 mmol, 95 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -59$  (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.46 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 30:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.36-7.24 (m, 25H, Ph), 6.13 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 5.1 Hz, Glc-NH), 5.52 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 2.7 Hz, Gal-4), 5.07 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.1 Hz, Fuc-1), 5.05 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.4 Hz, Glc-1), 5.01 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-2), 4.91 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.78 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.71 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.61 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.50 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.43 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.41 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.37 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.35 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, Gal-1), 4.07-4.01 (m, 4H, Fuc-2)

{4.06}, Glc-3 {4.02}, Fuc-5 {4.01},  $\underline{\text{CH}}\text{COOCH}_3$  {4.01}), 3.91 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-4), 3.83-3.76 (m, 3H, Fuc-3 {3.77}, Glc-6a, Glc-6b), 3.71 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.71-3.66 (m, 2H, Glc-2 {3.69}, Glc-5 {3.67}), 3.55 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-5), 3.50-3.40 (m, 4H, Fuc-4 {3.44}, Gal-3 {3.41}, Gal-6a, Gal-6b), 2.02, 1.97, 1.84 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.72-1.59 (m, 5H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.56-1.41 (m, 2H,  $\underline{\text{CH}}_2\text{CHCOOCH}_3$ ), 1.30 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH), 1.23-1.11 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.05 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 5.9 Hz, Fuc-6), 0.89-0.80 (m, 2H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMBC, HMQC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 172.7 (COOCH<sub>3</sub>), 170.3, 169.8, 169.5 (3 x C=O<sup>Ac</sup>), 138.7 (2 x Ph<sub>ipso</sub>), 138.5, 137.8, 137.6 (3 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.47, 128.44, 128.38, 128.35, 128.2, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 127.2 (25 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.5 (Gal-1), 96.6 (Fuc-1), 87.7 (Glc-1), 79.5 (Fuc-3), 77.8 ( $\underline{\text{CH}}\text{COOCH}_3$ ), 77.3, 77.2 (Gal-3, Fuc-4), 76.5 (Fuc-2), 75.7 (Glc-5), 74.5 ( $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 73.5 (2 x  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 73.3 ( $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 72.94 (Gal-5), 72.86 (Glc-4,  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 72.6 (Glc-3), 71.7 (Gal-2), 68.6 (Glc-6), 68.5 (Gal-4), 68.1 (Gal-6), 66.9 (Fuc-5), 52.0 (Glc-2, COOCH<sub>3</sub>), 40.4 ( $\underline{\text{CH}}_2\text{CHCOOCH}_3$ ), 33.6 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 33.5 (Cyclo-CH), 32.9, 26.3, 26.1, 26.0 (4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 23.1, 21.0, 20.8 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 16.6 (Fuc-6).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [m/z] = 1279.6 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1279.6).

C<sub>69</sub>H<sub>84</sub>N<sub>4</sub>O<sub>18</sub> (1257.4)

ber.: C 65.91 H 6.73 N 4.46

gef.: C 65.36 H 6.88 N 4.54

**2-Acetamido-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-β-D-arabinopyranosyl)-4-O-{6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl}-6-O-benzyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosylazid (74)**

(β-Bn<sub>5</sub>-(Ara)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub>)

Eine Mischung von 2.15 g (2.17 mmol) β-3-(β-Bn<sub>3</sub>-Ara)-4-(β-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**15**) und 809 mg (3.25 mmol) Dibutylzinnoxid in 220 ml Methanol wird 15 h refluxiert. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak., trocknet den Rückstand 5 h i. Hochvak. und löst diesen dann unter einer Argonatmosphäre in 150 ml absol. 1,2-Dimethoxyethan. Nach Zugabe von 988 mg (6.50 mmol) wasserfreiem Cäsiumfluorid im Argongegenstrom werden 2.07 g (6.50 mmol) (R)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäuremethylester (**17**) in 15 ml absol. 1,2-Dimethoxyethan innerhalb von 30 min zugetropft und die Reaktionslösung wird 15 h unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend gibt man 200 ml Wasser und 200 ml Dichlormethan zur Reaktionsmischung, trennt die Phasen und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit je 200 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet, die Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand wird flashchromatographisch gereinigt

(Säulengröße: 38 x 5.5 cm, 360 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f$  = 0.10). Neben dem Produkt werden so 538 mg (543 µmol, 25 %) von nicht umgesetztem Trisaccharid **15** zurückgewonnen.

Ausbeute: 1.39 g (1.20 mmol, 55 %, bezogen auf **15**); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = -77$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.34$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 30:1).

Zurückgewonnenes Trisaccharid **15**: 538 mg (543 µmol, 25 %).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.37-7.24 (m, 25H, Ph), 6.06 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 6.7 Hz, Glc-NH), 5.13 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.1 Hz, Ara-1), 4.94 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.86 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.6 Hz, Glc-1), 4.69-4.44 (m, 10H, Gal-1 {4.48}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.24 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 9.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 3.5 Hz, CHCOOCH<sub>3</sub>), 4.12-4.04 (m, 4H, Ara-5a {4.10}, Ara-2 {4.07}, Glc-3 {4.07}, Glc-4 {4.07}), 3.94 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 3.3 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 11.6 Hz, Glc-6a), 3.90 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 2.7 Hz, Ara-3), 3.86-3.85 (m, 2H, Ara-4, Gal-4), 3.75 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.75-3.71 (m, 2H, Gal-2 {3.74}, Gal-6a {3.72}), 3.70-3.60 (m, 3H, Ara-5a {3.69}, Gal-6b {3.64}, Glc-5 {3.61}), 3.49 (t<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 6.3 Hz, Gal-5), 3.37 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-2), 3.15 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-3), 1.83 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.73-1.64 (m, 5H, Cyclo-CH<sub>2</sub>, CH<sub>2a</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 1.63 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.61-1.55 (m, 2H, CH<sub>2b</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>, Cyclo-CH), 1.28-1.13 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.00-0.86 (m, 2H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMQC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 175.4, 170.9 (C=O<sup>Ac</sup>, COOCH<sub>3</sub>), 138.4, 138.31, 138.25, 138.1, 137.8 (5 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.7, 128.4, 128.34, 128.31, 128.1, 128.0, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4 (25 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 101.0 (Gal-1), 98.9 (Ara-1), 88.0 (Glc-1), 82.9 (Gal-3), 77.7 (Ara-3), 77.1, 77.0 (CHCOOCH<sub>3</sub>, Glc-5, Ara-2, [Glc-3 oder Glc-4]), 74.7 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.5 ([Glc-3 oder Glc-4], CH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (Ara-4, CH<sub>2</sub>Ph), 73.0 (Gal-5), 71.5 (Gal-2), 71.4, 71.3 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 68.6 (Gal-6), 68.3 (Glc-6), 66.4 (Gal-4), 60.8 (Ara-5), 56.7 (Glc-2), 52.2 (COOCH<sub>3</sub>), 41.0 (CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 33.9 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 33.5 (Cyclo-CH), 32.1, 26.4, 26.2, 26.0 (4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 23.0 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

ESI-MS (Gerät 2), positiv  $[m/z] = 1197.8$  (9 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1197.5), 1181.8 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1181.5).

C<sub>64</sub>H<sub>78</sub>N<sub>4</sub>O<sub>16</sub> (1159.3)

ber.: C 66.30 H 6.78 N 4.83

gef.: C 65.56 H 7.03 N 4.63

**2-Acetamido-4-O-{2,4-di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxy-carbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (11)**

( $\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Ara)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub>)

Man löst 2.26 g (1.95 mmol)  $\beta$ -Bn<sub>5</sub>-(Ara)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub> (**74**) in 60 ml Pyridin, gibt 250 mg 4-Dimethylaminopyridin hinzu, tropft dann 30 ml Essigsäureanhydrid langsam zur Reaktionslösung und rührt 15 h. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird zweimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert und anschließend flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 35 x 5.5 cm, 325 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f$  = 0.10).

Ausbeute: 2.29 g (1.84 mmol, 94 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = -93$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.44$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 30:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.37-7.22 (m, 25H, Ph), 6.40 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 8.6 Hz, Glc-NH), 5.54 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-4), 5.15 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.1 Hz, Ara-1), 5.07 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.8 Hz, Gal-2), 4.92 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 5.1 Hz, Glc-1), 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.64-4.53 (m, 4H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.49-4.38 (m, 4H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.36 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, Gal-1), 4.06 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 5.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 7.8 Hz, CHCOOCH<sub>3</sub>), 4.02-3.98 (m, 3H, Glc-4 {4.01}, Ara-2 {4.00}, Glc-3 {4.00}), 3.94 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-2), 3.82-3.81 (m, 2H, Glc-6a, Glc-6b), 3.77 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 3.73 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.72 (m<sub>c</sub>, 1H, Ara-3), 3.64-3.58 (m, 4H, Gal-5 {3.62}, Ara-4 {3.59}, Ara-5a, Ara-5b), 3.50-3.47 (m, 3H, Gal-3 {3.48}, Gal-6a, Gal-6b), 2.06, 2.02, 1.93 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.71-1.60 (m, 5H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.59-1.46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 1.34 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH), 1.26-1.11 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 0.93-0.83 (m, 2H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMQC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 172.8, 170.4, 169.9 (3 x C=O<sup>Ac</sup>, COOCH<sub>3</sub>), 138.6, 138.5, 138.3, 137.9, 137.6 (5 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.4, 128.3, 127.8, 127.68, 127.65, 127.6, 127.5, 127.4 (25 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.2 (Gal-1), 97.2 (Ara-1), 88.0 (Glc-1), 77.7 (CHCOOCH<sub>3</sub>), 77.1 (Gal-3), 76.7 (Ara-3), 76.3 (Ara-2), 75.6 (Glc-5), 73.6, 73.52, 73.47 (3 x CH<sub>2</sub>Ph), 73.47, 73.3, 73.2 (Ara-4, Gal-5, [Glc-3 oder Glc-4]), 72.5 (Glc-3 oder Glc-4), 72.3 (CH<sub>2</sub>Ph), 71.8 (Gal-2), 71.4 (CH<sub>2</sub>Ph), 68.9 (Glc-6), 68.5 (Gal-4), 68.2 (Gal-6), 60.8 (Ara-5), 52.0 (COOCH<sub>3</sub>), 50.3 (Glc-2), 40.4 (CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 33.6 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 33.5 (Cyclo-CH), 32.9, 26.3, 26.1, 26.0 (4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 23.0, 21.1, 20.7 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

ESI-MS (Gerät 2), positiv  $[m/z] = 1281.8$  (58 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1281.5), 1265.8 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1265.6).

$C_{68}H_{82}N_4O_{18}$ (1243.4)	ber.: C 65.69	H 6.65	N 4.51
	gef.: C 65.78	H 6.70	N 4.14

**2-Acetamido-4-O-{6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -L-galactopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosylazid (75)**

( $\beta$ -Bn<sub>6</sub>-(L-Gal)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub>)

Eine Mischung von 6.84 g (6.16 mmol)  $\beta$ -3-( $\alpha$ -Bn<sub>4</sub>-L-Gal)-4-( $\beta$ -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNAc-N<sub>3</sub> (**16**) und 2.30 g (9.24 mmol) Dibutylzinnoxid in 450 ml Methanol wird 15 h refluxiert. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak., trocknet den Rückstand 4 h i. Hochvak. und löst diesen dann unter einer Argonatmosphäre in 450 ml absol. 1,2-Dimethoxyethan. Nach Zugabe von 2.81 g (18.5 mmol) wasserfreiem Cäsiumfluorid im Argongegenstrom werden 5.88 g (18.5 mmol) (*R*)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäuremethylester (**17**) in 15 ml absol. 1,2-Dimethoxyethan innerhalb von 30 min zugetropft und die Reaktionslösung wird 15 h unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend gibt man 300 ml Wasser und 200 ml Dichlormethan zur Reaktionsmischung, trennt die Phasen und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit je 150 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet, die Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand wird flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 38 x 5.5 cm, 360 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc:  $R_f$  = 0.07). Neben dem Produkt werden so 625 mg (562  $\mu$ mol, 9 %) von nicht umgesetztem Trisaccharid **16** zurückgewonnen.

Ausbeute: 4.90 g (3.83 mmol, 62 %, bezogen auf **16**); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = -16$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.54$  (PE: EtOAc = 1:1).

Zurückgewonnenes Trisaccharid **16**: 625 mg (562  $\mu$ mol, 9 %).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.43-7.13 (m, 31H, Ph, Glc-NH {7.14}), 5.56 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 9.0 Hz, Glc-1), 5.06 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, L-Gal-1), 4.99 (t<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 10.4 Hz, Glc-3), 4.91 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.87 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.81 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.5 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.71-4.63 (m, 4H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.56 (m<sub>c</sub>, 1H, CHCOOCH<sub>3</sub>), 4.52 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.0 Hz, Gal-1), 4.51-4.47 (m, 4H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.34 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.15-4.07 (m, 3H, Glc-4 {4.12}, L-Gal-5 {4.06}, Glc-6a {4.06}), 4.03 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.6 Hz, L-Gal-2), 3.97 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 2.7 Hz, Gal-4), 3.86 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-6b), 3.81 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 3.75-3.70 (m, 5H, Gal-6a {3.74}, COOCH<sub>3</sub> {3.74}, Gal-2 {3.71}), 3.68-3.64 (m, 2H, L-Gal-4 {3.66}, Gal-6b {3.66}), 3.60 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-5), 3.56 (m<sub>c</sub>, 1H, L-Gal-6a), 3.33 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 2.9 Hz,

Gal-3), 3.24 (db, 1H,  $^2J_{6a,6b} = 9.4$  Hz, L-Gal-6b), 3.00 (mc, 1H, Glc-2), 1.88 (mc, 1H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.72-1.46 (m, 10H, 4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>, 2 x CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>, Cyclo-CH {1.56}, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup> {1.56}), 1.17-1.00 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 0.95-0.76 (m, 2H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>):  
 $\delta$  [ppm] = 175.1, 171.6 (C=O<sup>Ac</sup>, COOCH<sub>3</sub>), 138.5, 138.1, 138.0, 137.3, 136.4 (6 x Ph<sub>ipso</sub>), 128.5, 128.4, 128.34, 128.28, 128.2, 127.74, 127.68, 127.64, 127.58, 127.4 (30 x Ph<sub>o,m,p</sub>), 98.1 (Gal-1), 92.7 (L-Gal-1), 86.4 (Glc-1), 81.0 (Gal-3), 78.3 (L-Gal-3), 76.9 (CHCOOCH<sub>3</sub>), 75.8 (Glc-5), 75.6 (L-Gal-4), 75.0 (L-Gal-2), 74.3, 74.2, 73.8, 73.6 (4 x CH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (Gal-5), 71.9 (Gal-2), 71.4 (Glc-3, L-Gal-6), 71.0 (Glc-4), 70.6 (L-Gal-5), 69.3 (Gal-6), 68.8 (Glc-6), 67.6 (Gal-4), 57.6 (Glc-2), 52.0 (COOCH<sub>3</sub>), 40.9 (CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 33.8 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 33.5 (Cyclo-CH), 32.0, 26.4, 26.1, 26.0 (4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 22.9 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [*m/z*] = 1317.8 (43 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1317.6), 1301.8 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1301.6).

C <sub>72</sub> H <sub>86</sub> N <sub>4</sub> O <sub>17</sub> (1279.5)	ber.: C 67.59	H 6.77	N 4.38
	gef.: C 67.62	H 6.78	N 4.21

**2-Acetamido-4-O-{2,4-di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxy-carbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-benzyl-α-L-galactopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosylazid (12)**

(β-Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>6</sub>-(L-Gal)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub>)

Man löst 5.02 g (3.92 mmol) β-Bn<sub>6</sub>-(L-Gal)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub> (**75**) in 80 ml Pyridin, gibt 280 mg 4-Dimethylaminopyridin hinzu, tropft dann 40 ml Essigsäureanhydrid langsam zur Reaktionslösung und rührt 15 h. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird zweimal mit je 100 ml Toluol kodestilliert und anschließend flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 35 x 5.5 cm, 325 g Kieselgel, Cyclohexan:EtOAc: *R<sub>f</sub>* = 0.12).

Ausbeute: 5.19 g (3.81 mmol, 97 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = -48$  (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); *R<sub>f</sub>* = 0.45 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 30:1).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.32-7.17 (m, 30H, Ph), 6.51 (sb, 1H, Glc-NH), 5.47 (d, 1H,  $^3J_{3,4} = 3.1$  Hz, Gal-4), 5.23 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 6.3$  Hz, Glc-1), 5.14 (dd, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz,  $^3J_{2,3} = 9.8$  Hz, Gal-2), 5.13 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 3.9$  Hz, L-Gal-1), 4.86 (d, 1H,  $^2J_{gem} = 11.4$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.76 (d, 1H,  $^2J_{gem} = 11.7$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.71 (d, 1H,  $^2J_{gem} = 12.1$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.69 (d, 1H,  $^2J_{gem} = 11.7$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.68 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.0$  Hz, Gal-1), 4.60 (d, 1H,  $^2J_{gem} = 11.7$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.59 (d, 1H,  $^2J_{gem} = 11.3$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.56 (d, 1H,

$^2J_{\text{gem}} = 11.0$  Hz,  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 4.50 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 10.2$  Hz,  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 4.48 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 10.6$  Hz,  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 4.45 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.3$  Hz,  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 4.38-4.31 (m, 3H, Glc-3 {4.36}, 2 x  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 4.06 (dd, 1H,  $^3J_{1,2} = 3.5$  Hz,  $^3J_{2,3} = 10.2$  Hz, L-Gal-2), 4.04 (m<sub>c</sub>, 1H, L-Gal-5), 4.00-3.96 (m, 2H,  $\underline{\text{CHCOOCH}}_3$  {3.99}, Glc-4 {3.97}), 3.90 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 10.2$  Hz,  $^3J_{3,4} = 2.4$  Hz, L-Gal-3), 3.83-3.82 (m, 2H, Glc-6a, Glc-6b), 3.72-3.70 (m, 5H,  $\text{COOCH}_3$  {3.72}, L-Gal-4 {3.72}, Glc-5 {3.71}), 3.61-3.56 (m, 3H, L-Gal-6a {3.60}, Gal-5 {3.59}, Glc-2 {3.57}), 3.51-3.43 (m, 2H, Gal-6a, Gal-6b), 3.39 (dd, 1H,  $^3J_{5,6b} = 6.3$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 8.6$  Hz, L-Gal-6b), 3.33 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 9.8$  Hz,  $^3J_{3,4} = 3.5$  Hz, Gal-3), 2.04, 1.92, 1.73 (3 x s, 9H,  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 1.68-1.58 (m, 5H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 1.56-1.47 (m, 2H,  $\underline{\text{CH}}_2\text{CHCOOCH}_3$ ), 1.34 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH), 1.21-1.09 (m, 3H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 0.91-0.80 (m, 2H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ).

100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (HMOC, BB,  $\text{CDCl}_3$ ) und 75.5 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (DEPT,  $\text{CDCl}_3$ ):  
 $\delta$  [ppm] = 172.8, 170.5, 170.1, 169.5 (3 x  $\text{C}=\text{O}^{\text{Ac}}$ ,  $\underline{\text{COOCH}}_3$ ), 138.6, 138.5, 138.4, 138.03, 138.00, 137.7 (6 x  $\text{Ph}_{\text{ipso}}$ ), 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.9, 127.8, 127.71, 127.65, 127.61, 127.58, 127.5, 127.2 (30 x  $\text{Ph}_{o,m,p}$ ), 99.7 (Gal-1), 95.4 (L-Gal-1), 87.3 (Glc-1), 78.8 (L-Gal-3), 78.0 ( $\underline{\text{CHCOOCH}}_3$ ), 77.7 (Gal-3), 76.4 (L-Gal-2), 76.0 (Glc-5), 74.8 (L-Gal-4), 74.6 ( $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 73.7 (Glc-3, 2 x  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 73.6, 73.5 (2 x  $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 73.4 (Glc-4), 73.3 (Gal-5), 72.6 ( $\underline{\text{CH}}_2\text{Ph}$ ), 71.9 (Gal-2), 69.9 (L-Gal-5), 69.4 (L-Gal-6), 68.7 (Gal-4, Gal-6), 68.6 (Glc-6), 52.8\* (Glc-2), 51.9 ( $\text{COOCH}_3$ ), 40.5 ( $\underline{\text{CH}}_2\text{CHCOOCH}_3$ ), 33.6 (Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 33.4 (Cyclo-CH), 32.9, 26.3, 26.0, 25.9 (4 x Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 22.9, 21.1, 20.6 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ).

\* Das Signal von Glc-2 war bei dieser Probenkonzentration (20 mg in 0.5 ml  $\text{CDCl}_3$ ) so schwach, dass es nur im HMOC erkannt und zugewiesen werden konnte.

ESI-MS (Gerät 2), positiv  $[m/z] = 1401.8$  (6 %,  $[\text{M} + \text{K}]^+$ , ber.: 1401.6), 1385.8 (100 %,  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , ber.: 1385.6).

$\text{C}_{76}\text{H}_{90}\text{N}_4\text{O}_{19}$  (1363.5)

ber.: C 66.94 H 6.65 N 4.11

gef.: C 66.58 H 6.81 N 4.08

### 5.3 Die Synthesen der Glycosylaminosäuren

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-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*-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-(fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-asparagin-*tert*-butylester (86)**

(Fmoc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-[Fuc]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Zu einer Mischung aus 15 ml Isopropanol und 1.5 ml Wasser werden 282 mg (180  $\mu$ mol)  $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-sLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub> (**7**) und 1.1 g feuchtes, mit Wasser neutral gewaschenes Raney-Nickel (der Firma Acros Organics, Geel (Belgien)) gegeben. Die Reaktionsmischung wird i. Vak. gründlich entgast und dann 15 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Anschließend filtriert man den Ansatz über Celite<sup>®</sup> und spült mit 350 ml Isopropanol nach, wobei man darauf achten muss, dass der Katalysator immer mit einer Lösungsmittelschicht bedeckt bleibt, da er sich sonst an der Luft entzündet. Die Lösungsmittel werden i. Vak. (T < 28 °C) entfernt und der Rückstand wird zweimal mit je 30 ml Toluol kodestilliert. Man erhält als Rohausbeute 260 mg (169  $\mu$ mol, 94 %)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-sLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**76**), das sofort weiter umgesetzt wird ( $R_f \approx 0.47$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1)).

Zu einer Lösung von 96.3 mg (234  $\mu$ mol) Fmoc-Asp-O<sup>t</sup>Bu (**82**) in 7 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid werden im Argongegenstrom 75.1 mg (234  $\mu$ mol) TBTU, 35.8 mg (234  $\mu$ mol) HOBt-Monohydrat und soviel *N*-Ethyl-diisopropylamin gegeben, bis ein pH-Wert von 6.5-7.5 erreicht ist (ca. 40  $\mu$ l, 30 mg, 0.23 mmol). Man rührt die Reaktionsmischung 10 min, gibt dann bei 0 °C 260 mg (169  $\mu$ mol)  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-sLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**76**) in 5 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid innerhalb von 10 min hinzu und rührt 2 h unter einer Argonatmosphäre bei 0 °C. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt, der Rückstand dreimal mit je 40 ml Toluol kodestilliert und dann in 50 ml Dichlormethan gelöst. Man wäscht die organische Phase mit 25 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, trocknet sie mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 25 x 3.5 cm, 95 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f = 0.12$ ). Dabei wird ein  $\alpha,\beta$ -Gemisch erhalten, dass sich flashchromatographisch kaum trennen lässt. Für die Analytik werden 203 mg des  $\alpha,\beta$ -Gemischs durch eine präparative RP-HPLC in eine Fraktion reines  $\alpha$ -Anomer sowie eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer aufgetrennt ( $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 55.0-61.5 min,  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 63.8-66.2 min, Säule B, Gradient C).

Ausbeute (vor präparativer RP-HPLC): 287 mg (149  $\mu\text{mol}$ , 83 %, bezogen auf **7**); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.69$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 10:1$ );  $\alpha:\beta = 6:94$  (durch analytische RP-HPLC bestimmt:  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 20.0 min,  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 23.7 min, Säule A, Gradient D).

**$\alpha$ -Anomer:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -39$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

400 MHz- $^1\text{H}$ -NMR ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.71 (d, 2H,  $^3J_{\text{vic}} = 7.4$  Hz, Fmoc-4, Fmoc-5), 7.57-7.53 (m, 2H, Fmoc-1, Fmoc-8), 7.35-7.16 (m, 29H, Fmoc-2, Fmoc-3, Fmoc-6, Fmoc-7,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 6.75 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},2} = 9.4$  Hz, Glc-2-NH), 6.57 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},1} = 8.2$  Hz, Glc-1-NH), 6.02 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},\alpha} = 8.6$  Hz, Asn-NH), 5.69 (db, 1H,  $^3J_{\text{NH},1} = 8.2$  Hz, Glc-1), 5.54 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-8), 5.34 (dd,  $^3J_{6,7} = 2.4$  Hz,  $^3J_{7,8} = 9.0$  Hz, Sia-7), 5.08 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},5} = 10.2$  Hz, Sia-NH), 5.03 (db, 1H,  $^3J_{3,4} = 3.1$  Hz, Gal-4), 4.95-4.84 (m, 3H, Gal-2 {4.91}, Sia-4 {4.88},  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.83 (db, 1H,  $^3J_{1,2} = 3.1$  Hz, Fuc-1), 4.72 (d, 2H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.64-4.53 (m, 5H, Gal-3 {4.62}, Gal-1 {4.59},  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.49-4.42 (m, 3H, Asn-2 {4.47},  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.37-4.33 (m, 3H, Sia-9a {4.34},  $\text{CH}_2\text{Ph}$ , Fmoc- $\text{CH}_{2a}$ ), 4.27-4.14 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$  {4.25}, Fmoc- $\text{CH}_{2b}$  {4.22}, Glc-5 {4.16}, Fmoc-CH {4.15}, Glc-2 {4.14}), 4.06-4.02 (m, 2H, Sia-5 {4.04}, Glc-3 {4.02}), 3.98-3.86 (m, 4H, Fuc-2 {3.93}, Sia-9b {3.90}, Glc-6a, Glc-6b), 3.84 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 3.79 (tb, 1H,  $^3J_{5,6} = 6.7$  Hz, Gal-5), 3.74 (sb, 1H, Glc-4), 3.64-3.56 (m, 3H, Sia-6 {3.62}, Fuc-3 {3.59}, Fuc-5 {3.56}), 3.42 (dd, 1H,  $^3J_{5,6a} = 5.9$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 9.8$  Hz, Gal-6a), 3.35 (dd, 1H,  $^3J_{5,6b} = 7.0$  Hz,  $^2J_{6a,6b} = 9.6$  Hz, Gal-6b), 3.29 (sb, 1H, Fuc-4), 2.89 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta a} = 4.7$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.4$  Hz, Asn- $\beta a$ ), 2.68 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta b} = 3.5$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.4$  Hz, Asn- $\beta b$ ), 2.57 (dd, 1H,  $^2J_{3\ddot{a}q,3ax} = 12.5$  Hz,  $^3J_{3\ddot{a}q,4} = 4.7$  Hz, Sia-3 $\ddot{a}q$ ), 2.20, 2.14, 2.11, 2.04, 2.03, 1.99, 1.91, 1.84 (8 x s, 24H,  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 1.71 (t, 1H,  $^2J_{3\ddot{a}q,3ax} = ^3J_{3ax,4} = 12.5$  Hz, Sia-3 $ax$ ), 1.42 (s, 9H,  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 0.82 (d, 3H,  $^3J_{5,6} = 6.7$  Hz, Fuc-6).

100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (HMOC, BB,  $\text{CDCl}_3$ ) und 75.5 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (DEPT,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 172.4, 171.2, 170.8, 170.4, 170.0, 169.9, 169.8, 169.7, (8 x  $\text{C}=\text{O}^{\text{Ac}}$ ,  $\text{COO}^{\text{tBu}}$ ,  $\text{C}=\text{O}^{\text{Asn-Amid}}$ ), 167.8 (Sia-1), 156.3 ( $\text{C}=\text{O}^{\text{Carbamat}}$ ), 144.0, 143.9 (Fmoc-1a, Fmoc-8a), 141.2 (Fmoc-4a, Fmoc-5a), 138.7, 138.5, 138.3 (2x), 137.6, (5 x  $\text{CH}_2\text{Ph}_{\text{ipso}}$ ), 128.4, 128.3, 128.24, 128.18, 127.9, 127.7, 127.61, 127.56, 127.4, 127.0 (Fmoc-2, Fmoc-3, Fmoc-6, Fmoc-7, 25 x  $\text{CH}_2\text{Ph}_{o,m,p}$ ), 125.3 (Fmoc-1, Fmoc-8), 119.8 (Fmoc-4, Fmoc-5), 99.5 (Gal-1), 97.1 (Fuc-1), 96.8 (Sia-2), 82.1 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 78.9 (Fuc-3), 77.2 (Fuc-4), 76.2 (Glc-5), 75.7 (Fuc-2), 74.7 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 73.4 (2 x  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 73.2 (Glc-3), 73.0 (2 x  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 72.6 (Glc-4), 72.1 (Sia-6), 72.0 (Gal-5), 70.7 (Gal-3), 70.4 (Glc-1), 70.0 (Gal-2), 69.2 (Sia-4), 68.0 (Sia-8), 67.8 (Gal-4), 67.6 (Gal-6, Glc-6), 67.3, 67.2 (Fmoc- $\text{CH}_2$ , Fuc-5, Sia-7), 62.3 (Sia-9), 53.2 ( $\text{COOCH}_3$ ), 51.0 (Asn- $\alpha$ ), 49.1 (Sia-5), 47.2, 47.1 (Fmoc-CH, Glc-2), 37.9 (Asn- $\beta$ ), 37.5

(Sia-3), 27.8 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 23.2 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 21.4, 20.9 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.7 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.5 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 16.4 (Fuc-6).

**β-Anomer:**  $[\alpha]_D^{22} = -43$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

**400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR** (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.72 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 7.4 Hz, Fmoc-4, Fmoc-5), 7.62 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 7.4 Hz, Glc-1-NH), 7.55 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 7.4 Hz, Fmoc-1, Fmoc-8), 7.39-7.11 (m, 29H, Fmoc-2, Fmoc-3, Fmoc-6, Fmoc-7, CH<sub>2</sub>Ph), 6.85 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 8.6 Hz, Glc-2-NH), 5.95 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,α</sub> = 8.6 Hz, Asn-NH), 5.51 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-8), 5.35 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7,8</sub> = 8.6 Hz, Sia-7), 5.09 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,5</sub> = 10.2 Hz, Sia-NH), 5.06 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-1), 5.04 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-4), 4.98 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, Fuc-1), 4.94 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, Gal-2), 4.90 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-4), 4.88 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.82 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.74 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.72 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.66 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.67 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.6 Hz, Gal-1), 4.62 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.5 Hz, Gal-3), 4.57 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.48 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.44-4.34 (m, 4H, Fmoc-CH<sub>2a</sub> {4.43}, CH<sub>2</sub>Ph {4.41}, Sia-9a {4.37}, Asn-α {4.36}), 4.31 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.20-4.09 (m, 4H, CH<sub>2</sub>Ph {4.19}, Fmoc-CH {4.17}, Glc-2 {4.11}, Fmoc-CH<sub>2b</sub>), 4.07-3.99 (m, 3H, Fuc-2 {4.03}, Sia-5 {4.02}, Glc-4 {4.00}), 3.96-3.85 (m, 4H, Sia-9b {3.93}, Glc-3 {3.90}, Glc-5, Glc-6a {3.86}), 3.83 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.75 (t<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.5 Hz, Gal-5), 3.70 (m<sub>c</sub>, 1H, Fuc-5), 3.66-3.62 (m, 2H, Glc-6b {3.65}, Fuc-3 {3.63}), 3.61 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 10.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.4 Hz, Sia-6), 3.42-3.32 (m, 3H, Fuc-4 {3.37}, Gal-6a, Gal-6b), 2.55 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3äq,3ax</sub> = 12.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3äq,4</sub> = 4.7 Hz, Sia-3äq), 2.49-2.42 (m, 2H, Asn-βa, Asn-βb), 2.21, 2.07, 2.05, 2.00, 1.99, 1.94, 1.88, 1.83 (8 x s, 24H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.70 (t, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3äq,3ax</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3ax,4</sub> = 12.5 Hz, Sia-3ax), 1.41 (s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 0.88 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.3 Hz, Fuc-6).

**100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR** (HMBC, HMQC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und **75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR** (DEPT, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 171.0, 170.9, 170.8, 170.4 (2x), 170.33, 170.25, 170.1, 169.8, 169.7 (8 x C=O<sup>Ac</sup>, COO<sup>tBu</sup>, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 167.8 (Sia-1), 156.2 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 144.0, 143.7 (Fmoc-1a, Fmoc-8a), 141.2 (Fmoc-4a, Fmoc-5a), 138.4, 138.3, 138.2, 137.7, 137.2 (5 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>ipso</sub>), 128.8, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 127.73, 127.67, 127.6, 127.4, 127.3, 127.1, 126.9 (Fmoc-2, Fmoc-3, Fmoc-6, Fmoc-7, 25 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>o,m,p</sub>), 125.3, 125.2 (Fmoc-1, Fmoc-8), 119.9 (Fmoc-4, Fmoc-5), 98.8 (Gal-1), 98.0 (Fuc-1), 96.9 (Sia-2), 82.0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 79.5 (Fuc-3), 77.8 (Glc-1), 76.9 (Fuc-4), 76.3 (Fuc-2), 74.7, 74.5 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 74.4, 73.9 (Glc-3, Glc-5), 73.3, 72.8, 72.6 (3 x CH<sub>2</sub>Ph), 72.2 (Sia-6), 71.8 (Gal-5, Glc-4), 71.1 (Gal-3), 70.3 (Gal-2), 69.7 (Glc-6), 69.3 (Sia-4), 68.1 (Sia-8), 67.8 (Gal-4), 67.5 (Gal-6), 67.4 (Fuc-5), 67.3 (Sia-7), 67.1 (Fmoc-CH<sub>2</sub>), 62.2 (Sia-9), 53.2 (COOCH<sub>3</sub>), 51.0 (Asn-α), 49.1 (Sia-5), 48.5 (Glc-2), 47.1 (Fmoc-CH), 37.6 (Sia-3), 37.4 (Asn-β), 27.9

(3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 23.2, 22.8, 21.3, 21.0 (4 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.8 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.6 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 16.4 (Fuc-6).

*ESI-MS* (Gerät 2), positiv [ $m/z$ ] = 1968.8 (8 %, [M + 1 + K]<sup>+</sup>, ber.: 1968.8), 1952.8 (100 %, [M + 1 + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1952.8).

C <sub>102</sub> H <sub>120</sub> N <sub>4</sub> O <sub>33</sub> (1930.1)	ber.: C 63.47	H 6.27	N 2.90
	gef.: C 63.51	H 6.32	N 3.13

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-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*-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy- $\alpha$ , $\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-*tert*-butoxycarbonyl-L-asparagin-*tert*-butylester (89)**  
(Boc-Asn( $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-[Fuc]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Zu einer Mischung aus 54 ml Isopropanol und 6 ml Wasser werden 1.49 g (954  $\mu$ mol)  $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-sLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub> (**7**) und 8.4 g feuchtes, mit Wasser neutral gewaschenes Raney-Nickel (der Firma Acros Organics, Geel (Belgien)) gegeben. Die Reaktionsmischung wird i. Vak. gründlich entgast und dann 3 h unter einer Wasserstoffatmosphäre bei 0 °C gerührt. Anschließend filtriert man den Ansatz über Celite<sup>®</sup> und spült mit 350 ml Isopropanol nach, wobei man darauf achten muss, dass der Katalysator immer mit einer Lösungsmittelschicht bedeckt bleibt, da er sich sonst an der Luft entzündet. Die Lösungsmittel werden i. Vak. (T < 28 °C) entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 40 ml Toluol kodestilliert. Man erhält als Rohprodukt  $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-sLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**76**), das sofort weiter umgesetzt wird ( $R_f \approx 0.47$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1)).

Zu einer Lösung von 303 mg (1.05 mmol) Boc-Asp-O<sup>t</sup>Bu (**88**), 337 mg (1.05 mmol) TBTU und 161 mg (1.05 mmol) HOBt-Monohydrat in 30 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird unter einer Argonatmosphäre soviel *N*-Ethyl-diisopropylamin gegeben, bis ein pH-Wert von 6.5-7.5 erreicht ist (ca. 180  $\mu$ l, 136 mg, 1.05 mmol). Man rührt die Reaktionsmischung 10 min, gibt dann bei 0 °C  $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-sLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**76**) in 20 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid innerhalb von 20 min hinzu und rührt 3 h unter einer Argonatmosphäre bei 0 °C. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt, der Rückstand dreimal mit je 40 ml Toluol kodestilliert und dann in 120 ml Dichlormethan gelöst. Man wäscht die organische Phase mit 60 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, trocknet sie mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 36 x 3.5 cm, 140 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f = 0.09$ ). Dabei wird ein  $\alpha$ , $\beta$ -Gemisch erhalten, dass sich flashchromatographisch kaum trennen lässt. Für die Analytik werden 452 mg des

$\alpha,\beta$ -Gemischs durch eine präparative RP-HPLC in eine Fraktion reines  $\alpha$ -Anomer sowie eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer aufgetrennt ( $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 45.8-52.2 min,  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 56.5-59.4 min, Säule B, Gradient C).

Ausbeute (vor präparativer RP-HPLC): 1.42 g (785  $\mu$ mol, 82 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f$  = 0.64 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1);  $\alpha$ : $\beta$  = 7:93 (durch analytische RP-HPLC bestimmt:  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 30.2 min,  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 32.2 min, Säule A, Gradient E).

**$\alpha$ -Anomer:**  $[\alpha]_D^{23} = -34$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.35-7.13 (m, 26H, CH<sub>2</sub>Ph, Asn-NH), 6.73 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 9.4 Hz, Glc-2-NH), 6.50 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 7.8 Hz, Glc-1-NH), 5.66 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 7.8 Hz, Glc-1), 5.54 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-8), 5.35 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7,8</sub> = 8.6 Hz, Sia-7), 5.12 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,5</sub> = 10.2 Hz, Sia-NH), 5.03 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.5 Hz, Gal-4), 4.92 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.4 Hz, Gal-2), 4.88 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.87 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-4), 4.83 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, Fuc-1), 4.72 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.71 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.64-4.53 (m, 5H, Gal-3 {4.62}, Gal-1 {4.57}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.46 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.44 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.37-4.33 (m, 3H, Asn- $\alpha$  {4.36}, Sia-9a {4.35}, CH<sub>2</sub>Ph {4.34}), 4.24 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.5 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.16-4.09 (m, 2H, Glc-5 {4.14}, Glc-2 {4.11}), 4.04 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-5), 4.01 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-3), 3.97-3.85 (m, 4H, Glc-6a {3.95}, Fuc-2 {3.94}, Sia-9b {3.91}, Glc-6b {3.86}), 3.84 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.79 (t<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.5 Hz, Gal-5), 3.73 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-4), 3.62 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 10.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.0 Hz, Sia-6), 3.60-3.55 (m, 2H, Fuc-3 {3.58}, Fuc-5 {3.56}), 3.42 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.7 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.6 Hz, Gal-6a), 3.35 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 7.2 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.6 Hz, Gal-6b), 3.28 (s<sub>b</sub>, 1H, Fuc-4), 2.82 (dd, 1H, <sup>3</sup>J <sub>$\alpha,\beta$ a</sub> = 3.5 Hz, <sup>2</sup>J <sub>$\beta$ a, $\beta$ b</sub> = 17.2 Hz, Asn- $\beta$ a), 2.61 (dd, 1H, <sup>3</sup>J <sub>$\alpha,\beta$ b</sub> = 3.5 Hz, <sup>2</sup>J <sub>$\beta$ a, $\beta$ b</sub> = 17.2 Hz, Asn- $\beta$ b), 2.57 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3 $\ddot{a}$ q,3 $\ddot{a}$ x</sub> = 12.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3 $\ddot{a}$ q,4</sub> = 4.3 Hz, Sia-3 $\ddot{a}$ q), 2.19, 2.13, 2.11, 2.05, 2.03, 1.99, 1.90, 1.83 (8 x s, 24H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.71 (t, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3 $\ddot{a}$ q,3 $\ddot{a}$ x</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3 $\ddot{a}$ x,4</sub> = 12.5 Hz, Sia-3 $\ddot{a}$ x), 1.40 (s, 18H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 0.82 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.7 Hz, Fuc-6).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMBC, HMQC, BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 172.1, 171.2, 170.8, 170.4, 170.3, 170.04 (2x), 169.99, 169.9, 169.7, (8 x C=O<sup>Ac</sup>, COO<sup>t</sup>Bu, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 167.8 (Sia-1), 155.8 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 138.7, 138.4, 138.3, 138.2, 137.6, (5 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>ipso</sub>), 128.44, 128.39, 128.3, 128.21, 128.16, 127.9, 127.7, 127.6, 127.5, 127.44, 127.36, 127.0 (25 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.5 (Gal-1), 97.2 (Fuc-1), 96.8 (Sia-2), 81.8, 79.6 (2 x C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 78.8 (Fuc-3), 77.2 (Fuc-4), 76.0 (Glc-5), 75.6 (Fuc-2), 74.6, 73.4 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 73.3 (Glc-3, CH<sub>2</sub>Ph), 73.04, 72.98 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 72.6 (Glc-4), 72.1 (Sia-6), 72.0 (Gal-5), 70.7 (Gal-3), 70.2 (Glc-1), 70.0 (Gal-2), 69.3 (Sia-4), 68.0 (Sia-8), 67.8 (Gal-4), 67.61 (Glc-6), 67.58 (Gal-6), 67.2 (Fuc-5, Sia-7), 62.3 (Sia-9), 53.2 (COOCH<sub>3</sub>), 50.6 (Asn- $\alpha$ ), 49.1 (Sia-5), 47.2 (Glc-2), 38.0

(Asn- $\beta$ ), 37.5 (Sia-3), 28.3 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 27.8 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 23.1 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 21.4, 20.9 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.7 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.5 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 16.3 (Fuc-6).

**$\beta$ -Anomer:**  $[\alpha]_D^{23} = -44$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.54 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 7.4 Hz, Glc-1-NH), 7.40-7.13 (m, 25H, CH<sub>2</sub>Ph), 6.83 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 8.6 Hz, Glc-2-NH), 5.59 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH, $\alpha$</sub>  = 9.0 Hz, Asn-NH), 5.51 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-8), 5.35 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7,8</sub> = 8.6 Hz, Sia-7), 5.11 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,5</sub> = 10.2 Hz, Sia-NH), 5.04 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.5 Hz, Gal-4), 5.02 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-1), 4.97 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, Fuc-1), 4.93 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, Gal-2), 4.89 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.88 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-4), 4.81 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.73 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.72 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.68-4.65 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Ph {4.66}, Gal-1 {4.66}), 4.62 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.5 Hz, Gal-3), 4.58 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.56 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.40 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.36 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>8,9a</sub> = 2.9 Hz, <sup>2</sup>J<sub>9a,9b</sub> = 12.7 Hz, Sia-9a), 4.31 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.26 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\alpha$ ), 4.25 (pseudo-d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.09 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-2), 4.05-3.99 (m, 3H, Fuc-2 {4.03}, Sia-5 {4.03}, Glc-4 {4.01}), 3.94 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>8,9b</sub> = 5.9 Hz, <sup>2</sup>J<sub>9a,9b</sub> = 12.5 Hz, Sia-9b), 3.89 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-3), 3.86-3.83 (m, 2H, Glc-5, Glc-6a), 3.82 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.75 (t<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.5 Hz, Gal-5), 3.69 (m<sub>c</sub>, 1H, Fuc-5), 3.66-3.64 (m, 2H, Glc-6b {3.65}, Fuc-3 {3.64}), 3.60 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 10.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.5 Hz, Sia-6), 3.41-3.38 (m, 2H, Fuc-4 {3.41}, Gal-6a {3.40}), 3.34 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 7.2 Hz, <sup>2</sup>J<sub>6a,6b</sub> = 9.6 Hz, Gal-6b), 2.55 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3 $\ddot{a}$ q,3ax</sub> = 12.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3 $\ddot{a}$ q,4</sub> = 4.7 Hz, Sia-3 $\ddot{a}$ q), 2.46 (dd, 1H, <sup>3</sup>J <sub>$\alpha$ , $\beta$ a</sub> = 4.3 Hz, <sup>2</sup>J <sub>$\beta$ a, $\beta$ b</sub> = 16.4 Hz, Asn- $\beta$ a), 2.37 (dd, 1H, <sup>3</sup>J <sub>$\alpha$ , $\beta$ b</sub> = 4.3 Hz, <sup>2</sup>J <sub>$\beta$ a, $\beta$ b</sub> = 16.4 Hz, Asn- $\beta$ b), 2.20, 2.064, 2.056, 1.994, 1.986, 1.94, 1.91, 1.83 (8 x s, 24H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.70 (t, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3 $\ddot{a}$ q,3ax</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3ax,4</sub> = 12.3 Hz, Sia-3ax), 1.393 (s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 1.391 (s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 0.88 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.3 Hz, Fuc-6).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMBC, HMQC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 171.0, 170.9, 170.5, 170.4, 170.24, 170.21, 170.1, 169.7 (8 x C=O<sup>Ac</sup>, COO<sup>t</sup>Bu, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 167.8 (Sia-1), 155.8 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 138.4, 138.33, 138.30, 137.7, 137.2 (5 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>ipso</sub>), 128.8, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 127.7, 127.6, 127.4, 127.3, 127.0 (25 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>o,m,p</sub>), 98.7 (Gal-1), 97.9 (Fuc-1), 96.9 (Sia-2), 81.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 79.44 (Fuc-3), 79.38 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 77.7 (Glc-1), 77.0 (Fuc-4), 76.3 (Fuc-2), 74.7 (CH<sub>2</sub>Ph), 74.4 (CH<sub>2</sub>Ph, Glc-3), 74.0 (Glc-5), 73.3, 72.8, 72.7 (3 x CH<sub>2</sub>Ph), 72.1 (Sia-6), 71.8 (Gal-5, Glc-4), 71.0 (Gal-3), 70.3 (Gal-2), 69.7 (Glc-6), 69.3 (Sia-4), 68.0 (Sia-8), 67.8 (Gal-4), 67.5 (Gal-6), 67.4 (Fuc-5), 67.2 (Sia-7), 62.3 (Sia-9), 53.2 (COOCH<sub>3</sub>), 50.5 (Asn- $\alpha$ ), 49.1 (Sia-5), 48.5 (Glc-2), 37.5 (Asn- $\beta$ , Sia-3), 28.3 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 27.9 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 23.2, 22.8, 21.3, 21.0 (4 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.8 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.6 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 16.4 (Fuc-6).

*ESI-MS* (Gerät 2), positiv  $[m/z] = 1846.8$  (57 %,  $[M + 1 + K]^+$ , ber.: 1846.7), 1830.8 (100 %,  $[M + 1 + Na]^+$ , ber.: 1830.8).

$C_{92}H_{118}N_4O_{33}$  (1807.9)                      ber.: C 61.12    H 6.58    N 3.10  
    gef.: C 61.26    H 6.79    N 3.13

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galactonon-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\alpha$ , $\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-*tert*-butoxycarbonyl-L-asparagin-*tert*-butylester (95)**  
 (Boc-Asn( $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>11</sub>-[Fuc]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Man löst 1.90 g (1.05 mmol), Boc-Asn( $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-[Fuc]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu (**89**) in einem Gemisch aus 76 ml Methanol und 4 ml Eisessig, entgast die Lösung, gibt dann im Argongegenstrom 300 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %) hinzu und entgast die Reaktionsmischung nochmals. Anschließend wird diese 15 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Man filtriert den Ansatz über Celite<sup>®</sup>, spült mit 400 ml Methanol nach und gibt zum Filtrat 50 ml Toluol. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 40 ml Toluol kodestilliert. Das debenzylierte Zwischenprodukt ( $R_f = 0.27$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 5:1)) wird in 50 ml Pyridin gelöst und mit 70 mg 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Anschließend tropft man 25 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt die Reaktionslösung 15 h. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 40 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 100 ml Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung mit 50 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 37 x 3.5 cm, 145 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f = 0.11$ ). Von einem Massenspektrum abgesehen wird das peracetylierte Produkt **95** ohne weitere Charakterisierung zum Glycosylasparagin-Baustein **101** umgesetzt.

Ausbeute: 1.58 g (1.01 mmol, 96 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.55$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 8:1).

*ESI-MS* (Gerät 2), positiv  $[m/z] = 1605.6$  (5 %,  $[M + K]^+$ , ber.: 1605.5), 1589.6 (100 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 1589.6).

$C_{67}H_{98}N_4O_{38}$  (1567.5).

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galactonon-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-(fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-asparagin (101)**  
(Fmoc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>11</sub>-[Fuc]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-OH)

Man löst 419 mg (267  $\mu$ mol) Boc-Asn( $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>11</sub>-[Fuc]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu (**95**) in einem Gemisch aus 20 ml Dichlormethan, 10 ml Trifluoressigsäure und 78  $\mu$ l (56 mg, 0.48 mmol) Triethylsilan und rührt 15 h. Anschließend werden 40 ml Toluol zur Reaktionsmischung gegeben, die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird viermal mit je 40 ml Toluol kodestilliert. Man löst das Zwischenprodukt und 104 mg (308  $\mu$ mol) *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid in 25 ml Dichlormethan und gibt so lange *N*-Ethyl-diisopropylamin hinzu, bis ein konstanter pH-Wert von 9.0-9.5 erreicht ist. Nach 4 h Rühren wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 24 x 3.5 cm, 95 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH: *R<sub>f</sub>*=0.06). Dabei wird das unerwünschte  $\alpha$ -Anomer weitgehend vom  $\beta$ -Anomer getrennt und verworfen. Um Reste des  $\alpha$ -Anomers und andere evtl. noch vorhandene Verunreinigungen zu entfernen, wird der Glycosylasparagin-Baustein **101** zusätzlich durch eine präparative RP-HPLC gereinigt, wodurch das reine  $\beta$ -Anomer erhalten wird (*R<sub>t</sub>* ( $\beta$ -Anomer) = 89.8-97.5 min, *R<sub>t</sub>* ( $\alpha$ -Anomer) = 85.7-88.0 min, Säule B, Gradient G, mit 0.1 % TFA).

**$\alpha$ -Anomer** (nicht isoliert, nur analytische RP-HPLC und ESI-MS): *R<sub>f</sub>*=0.32 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH = 10:1:0.1); *R<sub>t</sub>* = 25.1 min (Säule A, Gradient H, mit 0.1 % TFA).

**$\beta$ -Anomer:** Ausbeute (nach präparativer RP-HPLC): 305 mg (187  $\mu$ mol, 70 %); farbloses Lyophilisat; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>23</sup> = -27 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); *R<sub>f</sub>* = 0.43 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH = 10:1:0.1); *R<sub>t</sub>* = 25.6 min (Säule A, Gradient H, mit 0.1 % TFA), *R<sub>t</sub>* = 75.6 min (Säule A, Gradient I, 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] = 7.71 (d, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>vic</sub> = 7.4 Hz, Fmoc-4, Fmoc-5), 7.56-7.53 (m, 2H, Fmoc-1, Fmoc-8), 7.35 (t, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>vic</sub> = 7.2 Hz, Fmoc-3, Fmoc-6), 7.26 (t, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>vic</sub> = 7.4 Hz, Fmoc-2, Fmoc-7), 6.95 (db, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>NH,1</sub> = 7.8 Hz, Glc-1-NH), 6.87 (s<sub>b</sub>, 1H, Glc-2-NH), 6.20 (db, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>NH, $\alpha$</sub>  = 7.4 Hz, Asn-NH), 5.49-5.39 (m, 3H, Fuc-1 {5.48}, 5.45 {Sia-8}, 5.40 {Sia-7}), 5.31 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 2.7 Hz, Fuc-4), 5.25 (db, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>NH,5</sub> = 10.2 Hz, Sia-NH), 5.20 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 11.0 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Fuc-3), 5.05 (db, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6</sub> = 6.3 Hz, Fuc-5), 4.98 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-1), 4.95 (db, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 2.7 Hz, Gal-4), 4.91 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 11.0 Hz, Fuc-2), 4.90-4.83 (m, 2H, Sia-4 {4.89}, Gal-2 {4.84}),

4.69 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 8.2$  Hz, Gal-1), 4.61-4.56 (m, 2H, Glc-6a {4.59}, Asn- $\alpha$  {4.57}), 4.54 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 10.2$  Hz,  $^3J_{3,4} = 3.1$  Hz, Gal-3), 4.41-4.34 (m, 2H, Fmoc-CH<sub>2a</sub> {4.39}, Gal-6a {4.35}), 4.29-4.13 (m, 5H, Fmoc-CH<sub>2b</sub> {4.28}, Sia-9a {4.26}, Gal-6b {4.20}, Fmoc-CH {4.15}, Glc-2 {4.14}), 4.07 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-9b), 4.01-3.90 (m, 3H, Glc-6b {4.00}, Sia-5 {3.97}, Glc-4 {3.92}), 3.87-3.84 (m, 2H, Gal-5 {3.85}, Glc-3 {3.85}), 3.83 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.63-3.59 (m, 2H, Sia-6 {3.62}, Glc-5 {3.60}), 2.83 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\beta$ a), 2.71 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\beta$ b), 2.55 (dd, 1H,  $^2J_{3\ddot{a}q,3ax} = 12.3$  Hz,  $^3J_{3\ddot{a}q,4} = 3.7$  Hz, Sia-3 $\ddot{a}q$ ), 2.15, 2.12, 2.09, 2.08, 2.05, 2.03, 2.024, 2.017, 2.00, 1.97 (10 x s, 30H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.93 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.63 (t, 1H,  $^2J_{3\ddot{a}q,3ax} = ^3J_{3ax,4} = 12.3$  Hz, Sia-3<sub>ax</sub>), 1.18 (d, 3H,  $^3J_{5,6} = 5.9$  Hz, Fuc-6).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMBC, HMQC, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$ [ppm] = 173.8, 173.0, 171.5, 171.4, 171.3, 170.9, 170.8, 170.7, 170.5 (3x), 170.4, 169.8, 169.7, 169.5 (13 x C=O<sup>Ac</sup>, COOH, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 167.8 (Sia-1), 156.3 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 143.8, 143.6 (Fmoc-1a, Fmoc-8a), 141.3, 141.2 (Fmoc-4a, Fmoc-5a), 127.7 (Fmoc-3, Fmoc-6), 127.1 (Fmoc-2, Fmoc-7), 125.2, 125.1 (Fmoc-1, Fmoc-8), 120.0 (Fmoc-4, Fmoc-5), 100.0 (Gal-1), 96.8 (Sia-2), 95.0 (Fuc-1), 79.4 (Glc-1), 74.6 (Glc-5), 74.3 (Glc-3), 74.0 (Glc-4), 71.7 (Sia-6), 71.3 (Fuc-4), 71.2 (Gal-3), 71.0 (Gal-5), 69.9 (Gal-2), 69.3 (Sia-4), 68.3 (Fuc-2), 67.6 (Fuc-3, Sia-8), 67.3 (Gal-4), 67.2 (Fmoc-CH<sub>2</sub>), 66.4 (Sia-7), 64.7 (Fuc-5), 61.8 (Glc-6), 61.7 (Sia-9), 61.4 (Gal-6), 55.0 (Glc-2), 53.2 (COOCH<sub>3</sub>), 50.4 (Asn- $\alpha$ ), 49.3 (Sia-5), 47.0 (Fmoc-CH), 37.7 (Asn- $\beta$ ), 37.4 (Sia-3), 23.0, 22.9, 21.5, 20.7, 20.5 (13 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 15.7 (Fuc-6).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [*m/z*] = 1677.6 (3 %, [M + 2Na - H]<sup>+</sup>, ber.: 1677.5), 1671.6 (3 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1671.5), 1655.6 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1655.5), 1633.6 (7 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1633.5).

HR-ESI-MS, positiv [*m/z*] = 1655.5310 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1655.5287).

C<sub>73</sub>H<sub>92</sub>N<sub>4</sub>O<sub>38</sub> (1633.5).

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-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*-benzyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-*tert*-butoxycarbonyl-L-asparagin-*tert*-butylester (90)**  
(Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-[Ara]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Zu einer Mischung aus 180 ml Isopropanol und 20 ml Wasser werden 4.69 g (3.03 mmol)  $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Ara)-sLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub> (**8**) und 20 g feuchtes, mit Wasser neutral gewaschenes Raney-Nickel (der Firma Acros Organics, Geel (Belgien)) gegeben. Die Reaktionsmischung

wird i. Vak. gründlich entgast und dann 3 h unter einer Wasserstoffatmosphäre bei 0 °C gerührt. Anschließend filtriert man den Ansatz über Celite<sup>®</sup> und spült mit 400 ml Isopropanol nach, wobei man darauf achten muss, dass der Katalysator immer mit einer Lösungsmittelschicht bedeckt bleibt, da er sich sonst an der Luft entzündet. Die Lösungsmittel werden i. Vak. ( $T < 28$  °C) entfernt und der Rückstand wird viermal mit je 60 ml Toluol kodestilliert. Man erhält als Rohprodukt  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Ara)-sLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**77**), das sofort weiter umgesetzt wird ( $R_f \approx 0.48$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1)).

Zu einer Lösung von 1.14 g (3.94 mmol) Boc-Asp-O<sup>t</sup>Bu (**88**), 1.26 g (3.92 mmol) TBTU, und 603 mg (3.94 mmol) HOBt-Monohydrat in 120 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird unter einer Argonatmosphäre soviel *N*-Ethyl-diisopropylamin gegeben, bis ein pH-Wert von 6.5-7.5 erreicht ist (ca. 675  $\mu$ l, 510 mg, 3.94 mmol). Man rührt die Reaktionsmischung 10 min, gibt dann bei 0 °C  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Ara)-sLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**77**) in 15 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid innerhalb von 10 min hinzu und rührt 5 h unter einer Argonatmosphäre bei 0 °C. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt, der Rückstand dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert und dann in 150 ml Dichlormethan gelöst. Man wäscht die organische Phase mit 60 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, trocknet sie mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 38 x 3.5 cm, 150 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f = 0.10$ ). Dabei wird ein  $\alpha,\beta$ -Gemisch erhalten, dass sich flashchromatographisch kaum trennen lässt. Für die Analytik werden 192 mg des  $\alpha,\beta$ -Gemischs durch eine präparative RP-HPLC in eine Fraktion reines  $\alpha$ -Anomer sowie eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer aufgetrennt ( $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 46.3-51.2 min,  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 53.0-55.4 min, Säule B, Gradient C).

Ausbeute (vor präparativer RP-HPLC): 4.32 g (2.41 mmol, 80 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.75$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1);  $\alpha:\beta = 14:86$  (durch analytische RP-HPLC bestimmt:  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 29.8 min,  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 31.6 min, Säule A, Gradient E);

**$\alpha$ -Anomer:**  $[\alpha]_D^{23} = -45$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.31-7.10 (m, 25H, CH<sub>2</sub>Ph), 6.74 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 8.2 Hz, Glc-2-NH), 6.41 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 7.4 Hz, Glc-1-NH), 5.66-5.64 (m, 2H, Glc-1, Asn-NH), 5.54 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-8), 5.34 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7,8</sub> = 8.6 Hz, Sia-7), 5.10 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,5</sub> = 10.2 Hz, Sia-NH), 5.01 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-4), 4.94-4.84 (m, 3H, Gal-2 {4.92}, Ara-1 {4.88}, Sia-4 {4.87}), 4.70 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.64-4.55 (m, 6H, Gal-3 {4.62}, Gal-1 {4.58}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.49 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.47 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.41-4.34 (m, 4H, Asn- $\alpha$  {4.36}, Sia-9a {4.35}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.20 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.17-4.11 (m, 2H, Glc-2 {4.15}, Glc-5 {4.13}), 4.08-4.00

(m, 2H, Sia-5 {4.05}, Glc-3 {4.03}), 3.93-3.84 (m, 4H, Sia-9b {3.91}, Ara-2 {3.89}, Glc-6a, Glc-6b), 3.83 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.82-3.77 (m, 2H, Gal-5 {3.81}, Glc-4 {3.78}), 3.62 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 10.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.2 Hz, Sia-6), 3.55 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 2.4 Hz, Ara-3), 3.48-3.38 (m, 4H, Gal-6a {3.46}, Ara-4 {3.44}, Ara-5a {3.43}, Gal-6b {3.40}), 3.32 (db, 1H, <sup>2</sup>J<sub>5a,5b</sub> = 12.1 Hz, Ara-5b), 2.83 (mc, 1H, Asn-βa), 2.62-2.55 (m, 2H, Asn-βb {2.61}, Sia-3<sub>äq</sub> {2.57}), 2.19, 2.14, 2.11, 2.05, 2.03, 1.99, 1.90, 1.83 (8 x s, 24H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.71 (t, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3<sub>äq</sub>,3ax</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3ax,4</sub> = 12.5 Hz, Sia-3<sub>ax</sub>), 1.40 (s, 18H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMBC, HMQC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 171.3, 170.8, 170.4 (3x), 170.31, 170.28, 170.0, 169.9, 169.6 (8 x C=O<sup>Ac</sup>, COO<sup>tBu</sup>, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 167.8 (Sia-1), 155.7 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 138.5, 138.31, 138.27, 138.2, 137.7 (5 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>ipso</sub>), 128.4, 128.3, 128.2, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 127.3, 127.2 (25 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.4 (Gal-1), 97.5 (Ara-1), 96.8 (Sia-2), 81.8, 79.6 (2 x C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 76.6 (Ara-3), 76.3 (Glc-5), 75.7 (Ara-2), 73.7 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.5 (Glc-3), 73.4 (Ara-4, CH<sub>2</sub>Ph), 73.0 (CH<sub>2</sub>Ph), 72.7 (Glc-4), 72.5 (CH<sub>2</sub>Ph), 72.3 (Gal-5), 72.1 (Sia-6), 71.6 (CH<sub>2</sub>Ph), 70.6 (Gal-3), 70.0 (Gal-2), 69.9 (Glc-1), 69.2 (Sia-4), 68.0 (Sia-8), 67.94 (Gal-6), 67.90 (Gal-4), 67.6 (Glc-6), 67.2 (Sia-7), 62.3 (Sia-9), 61.0 (Ara-5), 53.2 (COOCH<sub>3</sub>), 50.6 (Asn-α), 49.1 (Sia-5), 47.0 (Glc-2), 38.0 (Asn-β), 37.5 (Sia-3), 28.3 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 27.8 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 23.1 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 21.4, 20.9 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.7 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.5 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

**β-Anomer:** [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> = -57 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.52 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 7.0 Hz, Glc-1-NH), 7.33-7.12 (m, 25H, CH<sub>2</sub>Ph), 6.99 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 7.8 Hz, Glc-2-NH), 5.61 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,α</sub> = 9.0 Hz, Asn-NH), 5.53 (mc, 1H, Sia-8), 5.35 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7,8</sub> = 9.0 Hz, Sia-7), 5.08 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,5</sub> = 10.2 Hz, Sia-NH), 5.06 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.1 Hz, Ara-1), 4.99 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.5 Hz, Gal-4), 4.97 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.8 Hz, Gal-2), 4.92-4.86 (m, 2H, Sia-4 {4.89}, Glc-1 {4.88}), 4.83 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.73 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.70 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz Gal-1), 4.61-4.51 (m, 6H, Gal-3 {4.58}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.42 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.35-4.27 (m, 4H, Sia-9a {4.32}, Asn-α {4.29}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.07-4.02 (m, 3H, Glc-4 {4.05}, Ara-2 {4.03}, Sia-5 {4.02}), 3.99-3.93 (m, 2H, Glc-2 {3.98}, Sia-9b {3.95}), 3.82 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.81-3.72 (m, 4H, Glc-6a {3.79}, Glc-3 {3.77}, 3.75 {Gal-5}, 3.72 {Glc-5}), 3.64-3.59 (m, 3H, Glc-6b {3.63}, Ara-3 {3.62}, Sia-6 {3.59}), 3.54 (sb, 1H, Ara-4), 3.48-3.34 (m, 4H, Ara-5a, Ara-5b, Gal-6a, Gal-6b), 2.57-2.51 (m, 2H, Asn-βa, Sia-3<sub>äq</sub>), 2.39 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>α,βb</sub> = 4.1 Hz, <sup>2</sup>J<sub>βa,βb</sub> = 16.2 Hz, Asn-βb), 2.20, 2.07, 2.05 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.99 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.92, 1.83, 1.78 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.70 (t, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3<sub>äq</sub>,3ax</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3ax,4</sub> = 12.3 Hz, Sia-3<sub>ax</sub>), 1.394 (s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 1.386 (s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMBC, HMQC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 171.9, 170.9, 170.7, 170.6, 170.41, 170.37, 170.3, 170.1, 169.7, (8 x C=O<sup>Ac</sup>, COO<sup>t</sup>Bu, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 167.8 (Sia-1), 155.7 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 138.3, 138.2, 138.1, 137.9, 137.3 (5 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>ipso</sub>), 128.8, 128.7, 128.4, 128.33, 128.27, 128.2, 127.74, 127.66, 127.6, 127.4, 127.3, 127.1 (25 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.2 (Ara-1), 98.5 (Gal-1), 96.8 (Sia-2), 81.5, 79.4 (2 x C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 78.8 (Glc-1), 77.6 (Ara-3), 77.2 (Ara-2), 77.0 (Glc-3), 74.89 (CH<sub>2</sub>Ph), 74.85 (Glc-5), 73.3 (Ara-4), 73.1, 72.7 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 72.1 (Glc-4), 72.0 (Sia-6), 71.93 (Gal-5), 71.85, 71.5 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 71.2 (Gal-3), 70.5 (Gal-2), 69.3 (Sia-4), 69.2 (Glc-6), 68.0 (Gal-4), 67.82 (Gal-6), 67.76 (Sia-8), 67.2 (Sia-7), 62.3 (Sia-9), 60.9 (Ara-5), 53.2 (COOCH<sub>3</sub>), 50.4 (Asn- $\alpha$ ), 50.2 (Glc-2), 49.1 (Sia-5), 37.5 (Asn- $\beta$ , Sia-3), 28.3 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 27.9 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 23.2, 22.6, 21.3, 21.0 (4 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.8 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.6 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [*m/z*] = 1832.9 (3 %, [M + 1 + K]<sup>+</sup>, ber.: 1832.7), 1816.9 (100 %, [M + 1 + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1816.7).

C<sub>91</sub>H<sub>116</sub>N<sub>4</sub>O<sub>33</sub> (1793.9) ber.: C 60.93 H 6.52 N 3.12

gef.: C 60.60 H 6.77 N 2.87

**N<sup>4</sup>-(2-Acetamido-3-O-{2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl}-4-O-{2,4,6-tri-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}-6-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)-N<sup>2</sup>-tert-butoxycarbonyl-L-asparagin-tert-butylester (96)**

(Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>11</sub>-[Ara]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Man löst 4.32 g (2.41 mmol), Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>5</sub>-[Ara]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu (**90**) in einem Gemisch aus 190 ml Methanol und 10 ml Eisessig, entgast die Lösung, gibt dann im Argongegenstrom 300 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %) hinzu und entgast die Reaktionsmischung nochmals. Anschließend wird diese 15 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Man filtriert den Ansatz über Celite<sup>®</sup>, spült mit 500 ml Methanol nach und gibt zum Filtrat 50 ml Toluol. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das debenzilylierte Zwischenprodukt (*R<sub>f</sub>* = 0.29 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 5:1)) wird in 200 ml Pyridin gelöst und mit 70 mg 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Anschließend tropft man 100 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt die Reaktionslösung 15 h. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 70 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 200 ml Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung zweimal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das

Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 35 x 5.5 cm, 335 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f$  = 0.10). Von einem Massenspektrum abgesehen wird das peracetylierte Produkt **96** ohne weitere Charakterisierung zum Glycosylasparagin-Baustein **102** umgesetzt.

Ausbeute: 3.01 g (1.94 mmol, 80 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f$  = 0.58 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1).

*ESI-MS* (Gerät 2), positiv [ $m/z$ ] = 1591.6 (3 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1591.5), 1575.6 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1575.6), 1553.7 (4 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1553.6).

C<sub>66</sub>H<sub>96</sub>N<sub>4</sub>O<sub>38</sub> (1553.5).

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl-β-D-arabinopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-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*-acetyl-β-D-arabinopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-(fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-asparagin (102)**

(Fmoc-Asn(β-Ac<sub>11</sub>-[Ara]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-OH)

Man löst 1.18 g (760 μmol) Boc-Asn(α,β-Ac<sub>11</sub>-[Ara]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu (**96**) in einem Gemisch aus 40 ml Dichlormethan, 20 ml Trifluoressigsäure und 300 μl (216 mg, 1.89 mmol) Triethylsilan und rührt 15 h. Anschließend werden 75 ml Toluol zur Reaktionsmischung gegeben, die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Man löst das Zwischenprodukt und 283 mg (839 μmol) *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid in 60 ml Dichlormethan und gibt so lange *N*-Ethyl-diisopropylamin hinzu, bis ein konstanter pH-Wert von 9.0-9.5 erreicht ist. Nach 15 h Rühren wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 37 x 3.5 cm, 145 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH = 100:5:0.8). Dabei wird eine Fraktion reines β-Anomer sowie eine Fraktion eines α,β-Gemischs erhalten.

Gesamtausbeute: 1.03 g (636 μmol, 84 %).

**α,β-Gemisch:** 381 mg (235 μmol, 31 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f$ (β-Anomer) = 0.45 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH = 10:1:0.1),  $R_f$ (α-Anomer) = 0.35 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH = 10:1:0.1);  $R_t$ (β-Anomer) = 24.4 min (Säule A, Gradient H, mit 0.1 % TFA),  $R_t$ (β-Anomer) = 72.0 min (Säule A, Gradient I, mit 0.1 % TFA),  $R_t$ (α-Anomer) = 70.6 min (Säule A, Gradient I, mit 0.1 % TFA).

**$\beta$ -Anomer:** 649 mg (401  $\mu$ mol, 53 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -35$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**400 MHz- $^1\text{H}$ -NMR** ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.70 (d, 2H,  $^3J_{\text{vic}} = 7.4$  Hz, Fmoc-4, Fmoc-5), 7.55-7.53 (m, 2H, Fmoc-1, Fmoc-8), 7.35-7.32 (m, 2H, Fmoc-3, Fmoc-6), 7.27-7.22 (m, 2H, Fmoc-2, Fmoc-7), 7.10 (sb, 1H, Glc-2-NH), 7.02 (sb, 1H, Glc-1-NH), 6.27 (db, 1H,  $^3J_{\text{NH},\alpha} = 7.0$  Hz, Asn-NH), 5.53 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 2.7$  Hz, Ara-1), 5.46 (mc, 1H, Sia-8), 5.41 (dd, 1H,  $^3J_{6,7} = 2.0$  Hz,  $^3J_{7,8} = 9.4$  Hz, Sia-7), 5.36 (db, 1H,  $^3J_{3,4} = 2.7$  Hz, Ara-4), 5.25 (db, 1H,  $^3J_{\text{NH},5} = 9.8$  Hz, Sia-NH), 5.20 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 11.0$  Hz,  $^3J_{3,4} = 3.1$  Hz, Ara-3), 5.00 (tb, 1H,  $^3J_{1,2} = ^3J_{\text{NH},1} = 9.2$  Hz, Glc-1), 4.96-4.83 (m, 5H, Ara-2 {4.93}, Gal-4 {4.93}, Sia-4 {4.88}, Gal-2 {4.86}, Ara-5a {4.83}), 4.70 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.8$  Hz, Gal-1), 4.59-4.56 (m, 2H, N-2 {4.58}, Glc-6a {4.57}), 4.55 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 10.2$  Hz,  $^3J_{3,4} = 3.5$  Hz, Gal-3), 4.39-4.33 (m, 2H, Fmoc-CH<sub>2a</sub> {4.37}, Gal-6a {4.34}), 4.28-4.25 (m, 2H, Fmoc-CH<sub>2b</sub>, Sia-9a), 4.20-4.12 (m, 3H, Gal-6b {4.17}, Glc-2 {4.16}, Fmoc-CH {4.13}), 4.06 (mc, 1H, Sia-9b), 4.04-3.94 (m, 3H, Glc-6b {4.01}, Sia-5 {3.98}, Glc-4 {3.95}), 3.88-3.83 (m, 5H, Gal-5 {3.85}, Glc-3 {3.85}, 3.83 {COOCH<sub>3</sub>}), 3.66-3.56 (m, 3H, Glc-5 {3.64}, Sia-6 {3.62}, Ara-5b {3.56}), 2.84 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta a} = 3.7$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.6$  Hz, Asn- $\beta a$ ), 2.70 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta b} = 4.1$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.6$  Hz, Asn- $\beta b$ ), 2.55 (dd, 1H,  $^2J_{3\text{äq},3\text{ax}} = 12.1$  Hz,  $^3J_{3\text{äq},4} = 3.9$  Hz, Sia-3<sub>äq</sub>), 2.16, 2.12, 2.08 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.05 (s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.03 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.02 (s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.01, 1.98, 1.95, 1.94, 1.86 (5 x s, 15H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.64 (t, 1H,  $^2J_{3\text{äq},3\text{ax}} = ^3J_{3\text{ax},4} = 12.1$  Hz, Sia-3<sub>ax</sub>).

**100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR** (HMBC, HMQC,  $\text{CDCl}_3$ ) und **75.5 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR** (DEPT, BB,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 173.9, 173.0, 171.6, 171.4, 171.3, 170.9, 170.8, 170.53, 170.45 (2x), 170.3, 170.2, 169.8, 169.5 (13 x C=O<sup>Ac</sup>, COOH, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 167.8 (Sia-1), 156.4 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 143.8, 143.5 (Fmoc-1a, Fmoc-8a), 141.23, 141.15 (Fmoc-4a, Fmoc-5a), 127.7 (Fmoc-3, Fmoc-6), 127.1 (Fmoc-2, Fmoc-7), 125.2, 125.1 (Fmoc-1, Fmoc-8), 119.9 (Fmoc-4, Fmoc-5), 99.8 (Gal-1), 96.7 (Sia-2), 95.4 (Ara-1), 79.3 (Glc-1), 74.6 (Glc-5), 74.4 (Glc-3), 73.6 (Glc-4), 71.7 (Sia-6), 71.1 (Gal-3), 71.0 (Gal-5), 70.1 (Gal-2), 69.3 (Ara-4), 69.2 (Sia-4), 68.5 (Ara-2), 67.6 (Sia-8), 67.3 (Fmoc-CH<sub>2</sub>), 67.1 (Gal-4), 66.8 (Ara-3), 66.4 (Sia-7), 61.8 (Glc-6), 61.7 (Sia-9), 61.3 (Gal-6), 60.7 (Ara-5), 55.0 (Glc-2), 53.3 (COOCH<sub>3</sub>), 50.3 (Asn- $\alpha$ ), 49.3 (Sia-5), 47.0 (Fmoc-CH), 37.7 (Asn- $\beta$ ), 37.2 (Sia-3), 23.0, 22.9, 21.5, 20.8, 20.72, 20.69, 20.6 (13 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

**ESI-MS** (Gerät 2), positiv [ $m/z$ ] = 1663.6 (11 %,  $[\text{M} + 2\text{Na} - \text{H}]^+$ , ber.: 1663.5), 1657.6 (9 %,  $[\text{M} + \text{K}]^+$ , ber.: 1657.5), 1641.6 (100 %,  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , ber.: 1641.5), 1619.6 (33 %,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , ber.: 1619.5).

**HR-ESI-MS**, positiv [ $m/z$ ] = 1641.5093 (100 %,  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , ber.: 1641.5131).

$\text{C}_{72}\text{H}_{90}\text{N}_4\text{O}_{38}$  (1619.5).

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-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*-{2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- $\alpha$ -L-galactopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-*tert*-butoxycarbonyl-L-asparagin-*tert*-butylester (91)**  
(Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>6</sub>-[L-Gal]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Zu einer Mischung aus 54 ml Isopropanol und 6 ml Wasser werden 812 mg (487  $\mu$ mol)  $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>6</sub>-(L-Gal)-sLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub> (**9**) und 5.0 g feuchtes, mit Wasser neutral gewaschenes Raney-Nickel (der Firma Acros Organics, Geel (Belgien)) gegeben. Die Reaktionsmischung wird i. Vak. gründlich entgast und dann 3 h unter einer Wasserstoffatmosphäre bei 0 °C gerührt. Anschließend filtriert man den Ansatz über Celite<sup>®</sup> und spült mit 350 ml Isopropanol nach, wobei man darauf achten muss, dass der Katalysator immer mit einer Lösungsmittelschicht bedeckt bleibt, da er sich sonst an der Luft entzündet. Die Lösungsmittel werden i. Vak. (T < 28 °C) entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Man erhält als Rohprodukt  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>6</sub>-(L-Gal)-sLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**78**), das sofort weiter umgesetzt wird ( $R_f \approx 0.42$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1)).

Zu einer Lösung von 183 mg (633  $\mu$ mol) Boc-Asp-O<sup>t</sup>Bu (**88**), 203 mg (632  $\mu$ mol) TBTU und 97.0 mg (634  $\mu$ mol) HOBt-Monohydrat in 20 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird unter einer Argonatmosphäre soviel *N*-Ethyl-diisopropylamin gegeben, bis ein pH-Wert von 6.5-7.5 erreicht ist (ca. 105  $\mu$ l, 81.4 mg, 630  $\mu$ mol). Man rührt die Reaktionsmischung 10 min, gibt dann bei 0 °C  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>6</sub>-(L-Gal)-sLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**78**) in 10 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid innerhalb von 10 min hinzu und rührt 3 h unter einer Argonatmosphäre bei 0 °C. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt, der Rückstand dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert und dann in 80 ml Dichlormethan gelöst. Man wäscht die organische Phase mit 40 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, trocknet sie mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel i. Vakuum. Das Rohprodukt weist ein  $\alpha,\beta$ -Verhältnis von  $\alpha:\beta = 3:97$  auf (durch analytische RP-HPLC bestimmt:  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 33.1 min,  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 34.0 min, Säule A, Gradient E). Durch eine flashchromatographische Reinigung (Säulengröße: 24 x 3.5 cm, 95 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f = 0.05$ ) können die Anomere getrennt werden.

Gesamtausbeute: 755 mg (394  $\mu$ mol, 81 %).

**$\alpha$ -Anomer:** 15.0 mg (7.84  $\mu$ mol, 2 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = -31$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>);  $R_f = 0.72$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1);  $R_t = 34.0$  min (Säule A, Gradient E).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.32-7.17 (m, 30H, CH<sub>2</sub>Ph), 6.75 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 9.4 Hz, Glc-2-NH), 6.41 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 8.2 Hz, Glc-1-NH), 5.69 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 8.2 Hz, Glc-1), 5.64 (sb, 1H, Asn-NH), 5.54 (mc, 1H, Sia-8), 5.35 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7,8</sub> = 8.8 Hz, Sia-7), 5.09 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,5</sub> = 10.6 Hz, Sia-NH), 5.05 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-4), 4.95-4.86 (m, 3H, Gal-2 {4.93}, L-Gal-1 {4.92}, Sia-4 {4.87}), 4.86 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.72 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.68-4.62 (m, 3H, Gal-3 {4.62}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.61 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.4 Hz, Gal-1), 4.55 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.47 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.44 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.39 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.37-4.31 (m, 4H, Asn-α {4.36}, Sia-9a {4.34}, CH<sub>2</sub>Ph), 4.30 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.22 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.18-4.15 (m, 2H, Glc-2 {4.17}, Glc-5 {4.16}), 4.09-4.01 (m, 2H, Glc-3 {4.05}, Sia-5 {4.04}), 3.97 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.2 Hz, L-Gal-2), 3.94-3.89 (m, 3H, Glc-6a, Glc-6b, Sia-9b {3.91}), 3.83 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.80-3.75 (m, 4H, Glc-4 {3.79}, Gal-5 {3.77}, L-Gal-4 {3.76}, L-Gal-5), 3.64-3.60 (m, 2H, L-Gal-3 {3.63}, Sia-6 {3.61}), 3.43-3.31 (m, 4H, Gal-6a, Gal-6b, L-Gal-6a, L-Gal-6b), 2.83 (db, 1H, <sup>2</sup>J<sub>βa,βb</sub> = 15.3 Hz, Asn-βa), 2.61 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>α,βb</sub> = 3.5 Hz, <sup>2</sup>J<sub>βa,βb</sub> = 15.3 Hz, Asn-βb), 2.57 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3äq,3ax</sub> = 12.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3äq,4</sub> = 4.3 Hz, Sia-3äq), 2.21, 2.12, 2.08, 2.05, 2.00, 1.99, 1.90, 1.84 (8 x s, 24H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.71 (t, 1H, <sup>2</sup>J<sub>3äq,3ax</sub> = <sup>3</sup>J<sub>3ax,4</sub> = 12.1 Hz, Sia-3ax), 1.39 (s, 18H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMBC, HMQC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 172.1, 171.4, 170.8, 170.3, 169.9, 169.7, (8 x C=O<sup>Ac</sup>, COO<sup>t</sup>Bu, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 167.8 (Sia-1), 159.1 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 138.6, 138.5, 138.3, 138.2, 138.0, 137.7 (6 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>ipso</sub>), 128.4, 128.34, 128.25, 128.2, 128.1, 128.0, 127.64, 127.55, 127.4, 127.32, 127.29 (30 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.5 (Gal-1), 97.0 (L-Gal-1), 96.8 (Sia-2), 81.8, 79.6 (2 x C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 78.7 (L-Gal-3), 76.4 (Glc-5), 75.6 (L-Gal-2), 74.7 (2 x CH<sub>2</sub>Ph, [Gal-5 oder L-Gal-4 oder L-Gal-5]), 73.5 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.4 (Glc-3), 73.2 (2 x CH<sub>2</sub>Ph), 72.9 (Glc-4), 72.8 (CH<sub>2</sub>Ph), 72.1 (Sia-6), 71.8 (Gal-5 oder L-Gal-4 oder L-Gal-5), 70.7 (Gal-3), 70.3 (Gal-5 oder L-Gal-4 oder L-Gal-5), 70.0 (Gal-2), 69.9 (Glc-1), 69.3 (Sia-4), 68.5 (Gal-6 oder L-Gal-6), 68.0 (Sia-8), 67.6 (Gal-4), 67.5 (Glc-6), 67.3 (Gal-6 oder L-Gal-6), 67.2 (Sia-7), 62.2 (Sia-9), 53.2 (COOCH<sub>3</sub>), 50.6 (Asn-α), 49.1 (Sia-5), 46.8 (Glc-2), 38.0 (Asn-β), 37.5 (Sia-3), 28.3 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 27.8 (3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 23.2 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 21.4, 21.0 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.74, 20.71 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.5 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

**β-Anomer (91β):** 740 mg (387 μmol, 79 %); farbloser amorpher Feststoff; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> = -38 (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); R<sub>f</sub> = 0.76 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1); R<sub>t</sub> = 33.1 min (Säule A, Gradient E).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.39 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 7.4 Hz, Glc-1-NH), 7.33-7.14 (m, 30H, CH<sub>2</sub>Ph), 6.79 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 7.8 Hz, Glc-2-NH), 5.61 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,α</sub> = 8.6 Hz, Asn-NH), 5.53 (mc, 1H, Sia-8), 5.36 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6,7</sub> = 2.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>7,8</sub> = 9.0 Hz,



***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-3-*O*-{2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-galactopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*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}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-*tert*-butoxycarbonyl-L-asparagin-*tert*-butylester (97)**

(Boc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>12</sub>-[L-Gal]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Man löst 1.19 g (622  $\mu$ mol), Boc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>6</sub>-Bn<sub>6</sub>-[L-Gal]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu (**91 $\beta$** ) in einem Gemisch aus 47.5 ml Methanol und 2.5 ml Eisessig, entgast die Lösung, gibt dann im Argongegenstrom 200 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %) hinzu und entgast die Reaktionsmischung nochmals. Anschließend wird diese 15 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Man filtriert den Ansatz über Celite<sup>®</sup>, spült mit 400 ml Methanol nach und gibt zum Filtrat 50 ml Toluol. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das debenzilylierte Zwischenprodukt (*R*<sub>f</sub> = 0.15 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 5:1)) wird in 40 ml Pyridin gelöst und mit 80 mg 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Anschließend tropft man 20 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt die Reaktionslösung 15 h. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 100 ml Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung mit 60 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 32 x 3.5 cm, 125 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH: *R*<sub>f</sub> = 0.08). Von einem Massenspektrum abgesehen wird das peracetylierte Produkt **97** ohne weitere Charakterisierung zum Glycosylasparagin-Baustein **103** umgesetzt.

Ausbeute: 928 mg (571  $\mu$ mol, 92 %); farbloser amorpher Feststoff; *R*<sub>f</sub> = 0.70 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1).

*ESI-MS* (Gerät 2), positiv [*m/z*] = 1647.6 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1647.6).

C<sub>69</sub>H<sub>100</sub>N<sub>4</sub>O<sub>40</sub> (1625.5).

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-3-*O*-{2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-galactopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*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}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-(fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-asparagin (103)**

(Fmoc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>12</sub>-[L-Gal]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-OH)

Man löst 928 mg (571  $\mu$ mol) Boc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>12</sub>-[L-Gal]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu (**97**) in einem Gemisch aus 40 ml Dichlormethan, 20 ml Trifluoressigsäure und 230  $\mu$ l (166 mg,

1.43 mmol) Triethylsilan und rührt 15 h. Anschließend werden 80 ml Toluol zur Reaktionsmischung gegeben, die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Man löst das Zwischenprodukt und 212 mg (629  $\mu\text{mol}$ ) *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid in 50 ml Dichlormethan und gibt so lange *N*-Ethyl-diisopropylamin hinzu, bis ein konstanter pH-Wert von 9.0-9.5 erreicht ist. Nach 15 h Rühren wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 35 x 3.5 cm, 135 g Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{AcOH} = 100:5:1$ ).

Ausbeute: 777 mg (459  $\mu\text{mol}$ , 80 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -32$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ),  $R_f = 0.34$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{AcOH} = 10:1:0.1$ );  $R_t = 23.4$  min (Säule A, Gradient H, mit 0.1 % TFA),  $R_t = 116.2$  min (Säule A, Gradient K, mit 0.1 % TFA).

400 MHz- $^1\text{H}$ -NMR ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.71 (d, 2H,  $^3J_{\text{vic}} = 7.4$  Hz, Fmoc-4, Fmoc-5), 7.55-7.52 (m, 2H, Fmoc-1, Fmoc-8), 7.34 (t<sub>b</sub>, 2H,  $^3J_{\text{vic}} = 7.2$  Hz, Fmoc-3, Fmoc-6), 7.26 (t, 2H,  $^3J_{\text{vic}} = 7.4$  Hz, Fmoc-2, Fmoc-7), 6.77 (s<sub>b</sub>, 1H, Glc-1-NH), 5.93 (s<sub>b</sub>, 1H, Asn-NH), 5.67-5.63 (m, 2H, L-Gal-4 {5.66}, L-Gal-1 {5.64}), 5.50 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-8), 5.40 (dd, 1H,  $^3J_{6,7} = 2.0$  Hz,  $^3J_{7,8} = 11.3$  Hz, Sia-7), 5.23 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-NH), 5.17 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-1), 5.12 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 11.3$  Hz,  $^3J_{3,4} = 2.0$  Hz, L-Gal-3), 5.08 (m<sub>c</sub>, 1H, L-Gal-5), 5.03-4.99 (m, 2H, L-Gal-2 {5.02}, Gal-2 {5.00}), 4.95 (d, 1H,  $^3J_{3,4} = 3.5$  Hz, Gal-4), 4.84 (m<sub>c</sub>, 1H, Sia-4), 4.63 (s<sub>b</sub>, 1H, Asn- $\alpha$ ), 4.58 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.8$  Hz, Gal-1), 4.55 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-3), 4.50-4.45 (m, 2H, Glc-6a {4.49}, Gal-6a {4.47}), 4.36-4.26 (m, 4H, Gal-6b {4.28}, Fmoc-CH<sub>2</sub>, Sia-9a {4.29}), 4.17-4.12 (m, 2H, Fmoc-CH {4.15}, Glc-2 {4.13}), 4.04 (dd, 1H,  $^3J_{8,9b} = 2.7$  Hz,  $^2J_{9a,9b} = 12.9$  Hz, Sia-9b), 3.99-3.91 (m, 4H, Sia-5 {3.94}, Glc-6b {3.93}, L-Gal-6a, L-Gal-6b), 3.87-3.78 (m, 6H, Gal-5 {3.86}, Glc-3 {3.84}, COOCH<sub>3</sub> {3.83}, Glc-4 {3.79}), 3.68 (d<sub>b</sub>, 1H,  $^3J_{5,6} = 10.6$  Hz, Sia-6), 3.51 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 2.77 (d<sub>b</sub>, 1H,  $^2J_{\beta a, \beta b} = 12.1$  Hz, Asn- $\beta a$ ), 2.65 (d<sub>b</sub>, 1H,  $^2J_{\beta a, \beta b} = 11.7$  Hz, Asn- $\beta b$ ), 2.47 (dd, 1H,  $^2J_{3\ddot{a}q, 3ax} = 12.1$  Hz,  $^3J_{3\ddot{a}q, 4} = 3.9$  Hz, Sia-3<sub>äq</sub>), 2.19, 2.13 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.12 (s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.02 (s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.01 (s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.00 (s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.944, 1.936, 1.87 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.65 (t, 1H,  $^2J_{3\ddot{a}q, 3ax} = ^3J_{3ax, 4} = 12.1$  Hz, Sia-3<sub>ax</sub>).

Das Signal von Glc-2-NH konnte nicht detektiert werden.

100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (HMBC, HMQC, BB,  $\text{CDCl}_3$ ) und 75.5 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (DEPT,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 171.9, 171.0, 170.9, 170.6, 170.5, 170.4, 169.8, 169.5 (14 x C=O<sup>Ac</sup>, COOH, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 167.8 (Sia-1), 155.9 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 143.7 (Fmoc-1a, Fmoc-8a), 141.2 (Fmoc-4a, Fmoc-5a), 127.7 (Fmoc-3, Fmoc-6), 127.1 (Fmoc-2, Fmoc-7), 125.1 (Fmoc-1, Fmoc-8), 120.0 (Fmoc-4, Fmoc-5), 100.8 (Gal-1\*), 96.8 (Sia-2), 94.8 (L-Gal-1), 79.5 (Glc-1), 74.9 (Glc-4), 74.1 (Glc-5), 73.2 (Glc-3), 71.8 (Sia-6), 71.5 (Gal-3), 71.2 (Gal-5), 69.8 (Gal-2), 69.1 (Sia-4), 68.1 (L-Gal-2, L-Gal-3), 67.8 (L-Gal-4), 67.6 (Sia-8), 67.1

(Fmoc-CH<sub>2</sub>), 67.0 (Gal-4), 66.2 (Sia-7), 65.0 (L-Gal-5\*), 62.0, 61.8, 61.7, 61.3 (Gal-6, L-Gal-6, Glc-6, Sia-9), 54.8 (Glc-2), 53.3 (COOCH<sub>3</sub>), 50.0 (Asn- $\alpha$ ), 49.4 (Sia-5), 47.0 (Fmoc-CH), 38.1 (Asn- $\beta$ \*), 37.1 (Sia-3), 23.3, 21.5, 21.0, 20.8, 20.7, 20.6 (14 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

\* Bei der verwendeten Probenkonzentration (25 mg in 0.55 ml CDCl<sub>3</sub>) nur im HMQC-Spektrum erkennbar, im BB-Spektrum gehen diese Signale im Rauschen unter.

*ESI-MS (Gerät 2), positiv [m/z] = 1729.6 (4 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1729.5), 1713.6 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1713.5), 1691.6 (25 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1691.6).*

*HR-ESI-MS, positiv [m/z] = 1713.5386 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1713.5342).*

C <sub>75</sub> H <sub>94</sub> N <sub>4</sub> O <sub>40</sub> (1691.6)	ber.: C 53.25	H 5.60	N 3.31
	gef.: C 53.16	H 5.56	N 3.20

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxy-carbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy- $\alpha$ , $\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-*tert*-butoxycarbonyl-L-asparagin-*tert*-butylester (92)**

(Boc-Asn( $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-[Fuc]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Zu einer Mischung aus 135 ml Isopropanol und 15 ml Wasser werden 2.67 g (2.12 mmol)  $\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub> (**10**) und 15 g feuchtes, mit Wasser neutral gewaschenes Raney-Nickel (der Firma Acros Organics, Geel (Belgien)) gegeben. Die Reaktionsmischung wird i. Vak. gründlich entgast und dann 3 h unter einer Wasserstoffatmosphäre bei 0 °C gerührt. Anschließend filtriert man den Ansatz über Celite<sup>®</sup> und spült mit 250 ml Isopropanol nach, wobei man darauf achten muss, dass der Katalysator immer mit einer Lösungsmittelschicht bedeckt bleibt, da er sich sonst an der Luft entzündet. Die Lösungsmittel werden i. Vak. (T < 28 °C) entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Man erhält als Rohprodukt  $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**79**), das sofort weiter umgesetzt wird (*R<sub>f</sub>*  $\approx$  0.52 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1)).

Zu einer Lösung von 798 mg (2.76 mmol) Boc-Asp-O<sup>t</sup>Bu (**88**), 886 mg (2.76 mmol) TBTU und 423 mg (2.76 mmol) HOBt-Monohydrat in 60 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird unter einer Argonatmosphäre soviel *N*-Ethyl-diisopropylamin gegeben, bis ein pH-Wert von 6.5-7.5 erreicht ist (ca. 460  $\mu$ l, 347 mg, 2.68 mmol). Man rührt die Reaktionsmischung 20 min, gibt dann bei 0 °C  $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Fuc)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**79**) in 15 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid innerhalb von 15 min hinzu und rührt 3 h unter einer Argonatmosphäre bei 0 °C. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt, der Rückstand dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert und dann in 100 ml Dichlormethan gelöst. Man

wäscht die organische Phase mit 60 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, trocknet sie mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel i. Vakuum. Das Rohprodukt weist ein  $\alpha,\beta$ -Verhältnis von  $\alpha:\beta = 3:97$  auf (durch analytische RP-HPLC bestimmt:  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 36.8 min,  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 37.8 min, Säule A, Gradient E). Durch eine flashchromatographische Reinigung (Säulengröße: 35 x 3.5 cm, 135 g Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ :  $R_f = 0.05$ ) wird eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten.

Gesamtausbeute: 2.96 g (1.97 mmol, 93 %).

**$\alpha,\beta$ -Gemisch:** 2.93 g (1.95 mmol, 92 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f$  ( $\beta$ -Anomer) = 0.28 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 40:1$ ),  $R_f$  ( $\alpha$ -Anomer) = 0.26 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 40:1$ );  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 36.8 min (Säule A, Gradient E),  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 37.8 min (Säule A, Gradient E).

**$\beta$ -Anomer:** 30.0 mg (20.0  $\mu\text{mol}$ , 1 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -56$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

400 MHz- $^1\text{H}$ -NMR ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.53 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},1} = 7.4$  Hz, Glc-1-NH), 7.40-7.16 (m, 25H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 6.81 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},2} = 9.0$  Hz, Glc-2-NH), 5.57 (d, 1H,  $^3J_{\text{NH},\alpha} = 9.0$  Hz, Asn-NH), 5.53 (d, 1H,  $^3J_{3,4} = 3.5$  Hz, Gal-4), 5.05-4.99 (m, 2H, Gal-2 {5.03}, Glc-1 {5.02}), 4.93 (db, 1H,  $^3J_{1,2} = 3.5$  Hz, Fuc-1), 4.88 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.80 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.73 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.72 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.65 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.57 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.42 (d, 2H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.38 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.33 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.26 (mc, 1H, Asn- $\alpha$ ), 4.20 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.8$  Hz, Gal-1), 4.10 (mc, 1H, Glc-2), 4.07-4.01 (m, 2H,  $\text{CHCOOCH}_3$  {4.04}, Fuc-2 {4.02}), 3.93-3.86 (m, 2H, Glc-4 {3.90}, Glc-3 {3.87}), 3.79 (tb, 1H,  $^3J_{5,6a} = ^2J_{6a,6b} = 8.6$  Hz, Glc-6a), 3.70 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 3.69-3.52 (m, 5H, Glc-5 {3.68}, Fuc-5 {3.62}, Glc-6b {3.59}, Fuc-3 {3.57}, Gal-5 {3.53}), 3.47-3.41 (m, 3H, Gal-3 {3.44}, Gal-6a, Gal-6b), 3.39 (mc, 1H, Fuc-4), 2.43 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta a} = 4.3$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.4$  Hz, Asn- $\beta a$ ), 2.36 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta b} = 4.3$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.4$  Hz, Asn- $\beta b$ ), 2.06, 2.04, 1.98 (3 x s, 9H,  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 1.67-1.57 (m, 5H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 1.56-1.43 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CHCOOCH}_3$ ), 1.40 (s, 9H,  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 1.39 (s, 9H,  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 1.31 (mc, 1H, Cyclo-CH), 1.21-1.08 (m, 3H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 0.88 (d, 3H,  $^3J_{5,6} = 6.3$  Hz, Fuc-6), 0.85-0.79 (m, 2H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ).

100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (HMQC, BB,  $\text{CDCl}_3$ ) und 75.5 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (DEPT,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 172.8, 171.0, 170.6, 170.4, 170.2, 170.0 (3 x  $\text{C}=\text{O}^{\text{Ac}}$ ,  $\text{COOCH}_3$ ,  $\text{COO}^{\text{tBu}}$ ,  $\text{C}=\text{O}^{\text{Asn-Amid}}$ ), 155.7 ( $\text{C}=\text{O}^{\text{Carbamat}}$ ), 138.4, 138.3, 137.9, 137.6, 137.2 (5 x  $\text{CH}_2\text{Ph}_{\text{ipso}}$ ), 128.8, 128.7, 128.5, 128.4, 128.2, 127.9, 127.73, 127.70, 127.4, 127.3 (25 x  $\text{CH}_2\text{Ph}_{o,m,p}$ ), 99.1

(Gal-1), 97.9 (Fuc-1), 81.6 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 79.4 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ , Fuc-3), 77.7 (Glc-1), 77.6 ( $\underline{\text{C}}\text{HCOOCH}_3$ ), 77.0 (Gal-3), 76.9 Fuc-4), 76.1 (Fuc-2), 74.7, 74.4 (2 x  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ ), 74.2 (Glc-3, Glc-5), 73.5, 72.3 (2 x  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ ), 73.0 (Gal-5), 72.8 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ ), 71.8 (Glc-4), 71.7 (Gal-2), 69.8 (Glc-6), 68.4 (Gal-4), 68.1 (Gal-6), 67.4 (Fuc-5), 52.0 ( $\text{COO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 50.5 (Asn- $\alpha$ ), 48.0 (Glc-2), 40.4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CHCOOCH}_3$ ), 37.5 (Asn- $\beta$ ), 33.6 (Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 33.5 (Cyclo- $\text{CH}$ ), 32.8 (Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 28.3 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 27.9 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 26.3, 26.0, 25.9 (3 x Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 22.8, 21.2, 20.8 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 16.4 (Fuc-6).

*ESI-MS (Gerät 2), positiv [m/z] = 1540.8 (42 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1540.7), 1524.8 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1524.7).*

$\text{C}_{82}\text{H}_{107}\text{N}_3\text{O}_{23}$  (1502.7)

ber.: C 65.54 H 7.18 N 2.80

gef.: C 65.56 H 7.25 N 3.06

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-*tert*-butoxycarbonyl-L-asparagin-*tert*-butylester (98)**  
(Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Fuc]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Man löst 2.80 g (1.86 mmol) Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-[Fuc]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu (**92**) in einem Gemisch aus 143 ml Methanol und 7 ml Eisessig, entgast die Lösung, gibt dann im Argongegenstrom 350 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %) hinzu und entgast die Reaktionsmischung nochmals. Anschließend wird diese 15 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Man filtriert den Ansatz über Celite<sup>®</sup>, spült mit 300 ml Methanol nach und gibt zum Filtrat 50 ml Toluol. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das debenzylierte Zwischenprodukt ( $R_f = 0.24$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 5:1$ )) wird in 80 ml Pyridin gelöst und mit 80 mg 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Anschließend tropft man 40 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt die Reaktionslösung 15 h. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 150 ml Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung mit 80 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 37 x 3.5 cm, 145 g Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ :  $R_f = 0.08$ ). Von einem Massenspektrum abgesehen wird das peracetylierte Produkt **98** ohne weitere Charakterisierung zum Glycosylasparagin-Baustein **104** umgesetzt.

Ausbeute: 1.87 g (1.48 mmol, 80 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.38$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 20:1$ ).

ESI-MS (Gerät 2), positiv  $[m/z] = 1300.6$  (34 %,  $[M + K]^+$ , ber.: 1300.5), 1284.6 (100 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 1284.5), 1262.6 (6 %,  $[M + H]^+$ , ber.: 1262.6).

$C_{57}H_{87}N_3O_{28}$  (1262.3).

**$N^4$ -(2-Acetamido-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $N^2$ -(fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-asparagin (104)**

(Fmoc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Fuc]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-OH)

Man löst 1.87 g (1.48 mmol) Boc-Asn( $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Fuc]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-*O*<sup>t</sup>Bu (**98**) in einem Gemisch aus 80 ml Dichlormethan, 40 ml Trifluoressigsäure und 600  $\mu$ l (432 mg, 3.71 mmol) Triethylsilan und rührt 15 h. Anschließend werden 120 ml Toluol zur Reaktionsmischung gegeben, die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Man löst das Zwischenprodukt und 550 mg (1.63 mmol) *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid in 80 ml Dichlormethan und gibt so lange *N*-Ethyl-diisopropylamin hinzu, bis ein konstanter pH-Wert von 9.0-9.5 erreicht ist. Nach 15 h Rühren wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 30 x 3.5 cm, 115 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH:  $R_f = 0.04$ ). Dabei wird das unerwünschte  $\alpha$ -Anomer weitgehend vom  $\beta$ -Anomer getrennt und verworfen. Um Reste des  $\alpha$ -Anomers und andere evtl. noch vorhandene Verunreinigungen zu entfernen, wird der Glycosylasparagin-Baustein **104** zusätzlich durch eine präparative RP-HPLC gereinigt (es wurden jeweils ca. 600 mg aufgetragen), wodurch das reine  $\beta$ -Anomer erhalten wird ( $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 77.2-79.4 min,  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 81.0-86.5 min, Säule B, Gradient J, mit 0.1 % TFA).

**$\alpha$ -Anomer** (nicht isoliert, nur analytische RP-HPLC und ESI-MS):  $R_f = 0.47$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH = 10:1:0.1);  $R_t = 36.5$  min (Säule A, Gradient H, mit 0.1 % TFA).

**$\beta$ -Anomer:** Ausbeute (nach präparativer RP-HPLC): 1.48 g (1.11 mmol, 75 %); farbloses Lyophilisat;  $[\alpha]_D^{23} = -32$  ( $c = 1.0$ , MeOH),  $R_f = 0.55$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH = 10:1:0.1);  $R_t = 37.2$  min (Säule A, Gradient H, 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] = 7.71 (d, 2H, <sup>3</sup> $J_{vic} = 7.4$  Hz, Fmoc-4, Fmoc-5), 7.55 (t<sub>b</sub>, 2H, <sup>3</sup> $J_{vic} = 7.0$  Hz, Fmoc-1, Fmoc-8), 7.36-7.32 (m, 2H, Fmoc-3, Fmoc-6), 7.27-7.21 (m, 2H, Fmoc-2, Fmoc-7), 7.02 (s<sub>b</sub>, 1H, Glc-2-NH), 6.92 (s<sub>b</sub>, 1H, Glc-1-NH), 6.39 (s<sub>b</sub>, 1H, Asn-NH), 5.58-5.57 (m, 2H, Fuc-1, Gal-4), 5.32 (s<sub>b</sub>, 1H, Fuc-4), 5.23 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 11.0$  Hz, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.1$  Hz, Fuc-3), 5.05-5.00 (m, 2H, Fuc-5 {5.03}, Gal-2 {5.02}), 4.93 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-1), 4.91 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 3.5$  Hz, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 11.0$  Hz, Fuc-2), 4.60 (s<sub>b</sub>, 1H, Asn- $\alpha$ ), 4.44-4.35 (m, 3H, Fmoc-CH<sub>2a</sub> {4.43}, Glc-6a {4.41}, Gal-6a {4.36}), 4.26

(pseudo-d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, Gal-1), 4.25-4.22 (m, 2H, Gal-6b {4.24}, Fmoc-CH<sub>2b</sub> {4.23}), 4.16-4.09 (m, 3H, Fmoc-CH {4.14}, Glc-2 {4.10}, Glc-6b {4.10}), 4.05 (dd, 1H,  $^3J_{vic} = 5.1$  Hz,  $^3J_{vic} = 7.4$  Hz, CHCOOCH<sub>3</sub>), 3.90-3.81 (m, 2H, Glc-3 {3.87}, Glc-4 {3.82}), 3.75-3.71 (m, 2H, Gal-5 {3.73}, Glc-5 {3.72}), 3.70 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.54 (dd, 1H,  $^3J_{2,3} = 10.0$  Hz,  $^3J_{3,4} = 3.3$  Hz, Gal-3), 2.89 (db, 1H,  $^2J_{\beta a, \beta b} = 12.9$  Hz, Asn- $\beta a$ ), 2.71 (db, 1H,  $^2J_{\beta a, \beta b} = 13.3$  Hz, Asn- $\beta b$ ), 2.13 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.08 (s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.03, 2.00, 1.95, 1.92 (4 x s, 12H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.59-1.52 (m, 5H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.50-1.42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 1.25 (d, 3H,  $^3J_{5,6} = 6.3$  Hz, Fuc-6), 1.24 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH), 1.12-1.04 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 0.84-0.75 (m, 2H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>):  
 $\delta$  [ppm] = 173.4, 172.7, 171.5, 171.44, 171.36, 171.3, 170.8, 170.6, 170.1, 169.6, 169.5 (8 x C=O<sup>Ac</sup>, COOCH<sub>3</sub>, COOH, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 156.3 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 143.9, 143.5 (Fmoc-1a, Fmoc-8a), 141.2, 141.1 (Fmoc-4a, Fmoc-5a), 127.7 (Fmoc-3, Fmoc-6), 127.0 (Fmoc-2, Fmoc-7), 125.2, 125.1 (Fmoc-1, Fmoc-8), 119.9 (Fmoc-4, Fmoc-5), 100.4 (Gal-1), 94.8 (Fuc-1), 79.5 (Glc-1), 77.9 (CHCOOCH<sub>3</sub>), 77.0 (Gal-3), 74.2 (Glc-5), 74.0 (Glc-3), 73.5 (Glc-4), 71.9 (Gal-2), 71.7 (Gal-5), 71.1 (Fuc-4), 68.2 (Fuc-2), 67.7 (Gal-4), 67.4 (Fuc-3), 67.2 (Fmoc-CH<sub>2</sub>), 65.0 (Fuc-5), 62.0 (Glc-6), 61.5 (Gal-6), 54.8 (Glc-2), 52.0 (COOCH<sub>3</sub>), 50.4 (Asn- $\alpha$ ), 47.1 (Fmoc-CH), 40.3 (CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 37.7 (Asn- $\beta$ ), 33.54 (Cyclo-CH), 33.47, 32.9, 26.2 (3 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 25.9 (2 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 22.8 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.8 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.7 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 20.5 (CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 15.4 (Fuc-6).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [m/z] = 1372.5 (6 %, [M + 2Na - H]<sup>+</sup>, ber.: 1372.5), 1366.5 (11 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1366.5), 1350.5 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1350.5), 1328.5 (18 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1328.5).

HR-ESI-MS, positiv [m/z] = 1350.4924 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1350.4904).

C<sub>63</sub>H<sub>81</sub>N<sub>3</sub>O<sub>28</sub> (1328.3).

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxy-carbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy- $\alpha$ , $\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-*tert*-butoxycarbonyl-L-asparagin-*tert*-butylester (93)**

(Boc-Asn( $\alpha$ , $\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-[Ara]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Zu einer Mischung aus 108 ml Isopropanol und 12 ml Wasser werden 2.21 g (1.78 mmol)  $\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Ara)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub> (**11**) und 11.5 g feuchtes, mit Wasser neutral gewaschenes Raney-Nickel (der Firma Acros Organics, Geel (Belgien)) gegeben. Die Reaktionsmischung wird i. Vak. gründlich entgast und dann 3 h unter einer

Wasserstoffatmosphäre bei 0 °C gerührt. Anschließend filtriert man den Ansatz über Celite<sup>®</sup> und spült mit 250 ml Isopropanol nach, wobei man darauf achten muss, dass der Katalysator immer mit einer Lösungsmittelschicht bedeckt bleibt, da er sich sonst an der Luft entzündet. Die Lösungsmittel werden i. Vak. ( $T < 28$  °C) entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Man erhält als Rohprodukt  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Ara)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**80**), das sofort weiter umgesetzt wird ( $R_f \approx 0.62$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1)).

Zu einer Lösung von 669 mg (2.31 mmol) Boc-Asp-O<sup>t</sup>Bu (**88**), 742 mg (2.31 mmol) TBTU und 354 mg (2.31 mmol) HOBt-Monohydrat in 50 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird unter einer Argonatmosphäre soviel *N*-Ethyldiisopropylamin gegeben, bis ein pH-Wert von 6.5-7.5 erreicht ist (ca. 390  $\mu$ l, 294 mg, 2.27 mmol). Man rührt die Reaktionsmischung 20 min, gibt dann bei 0 °C  $\alpha,\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-(Ara)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**80**) in 15 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid innerhalb von 15 min hinzu und rührt 2 h unter einer Argonatmosphäre bei 0 °C. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt, der Rückstand dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert und dann in 100 ml Dichlormethan gelöst. Man wäscht die organische Phase mit 60 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, trocknet sie mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel i. Vakuum. Das Rohprodukt weist ein  $\alpha,\beta$ -Verhältnis von  $\alpha:\beta = 3:97$  auf (durch analytische RP-HPLC bestimmt:  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 36.4 min,  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 37.1 min, Säule A, Gradient E). Durch eine flashchromatographische Reinigung (Säulengröße: 35 x 3.5 cm, 135 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f = 0.05$ ) wird eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten.

Gesamtausbeute: 2.26 g (1.52 mmol, 85 %).

**$\alpha,\beta$ -Gemisch:** 2.21 g (1.48 mmol, 83 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f$  ( $\beta$ -Anomer) = 0.21 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 40:1),  $R_f$  ( $\alpha$ -Anomer) = 0.19 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 40:1);  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 36.4 min (Säule A, Gradient E),  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 37.1 min (Säule A, Gradient E).

**$\beta$ -Anomer:** 50.0 mg (33.6  $\mu$ mol, 2 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = -64$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.45 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 7.4 Hz, Glc-1-NH), 7.34-7.14 (m, 25H, CH<sub>2</sub>Ph), 6.94 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,2</sub> = 7.8 Hz, Glc-2-NH), 5.59 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH, $\alpha$</sub>  = 9.0 Hz, Asn-NH), 5.49 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-4), 5.05 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.8 Hz, Gal-2), 5.01 (db, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, Ara-1), 4.88 (tb, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 6.3 Hz, Glc-1), 4.83 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.74 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.59 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>gem</sub> = 12.5 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.54 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.53

(d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.9$  Hz,  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 4.47 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 4.43 (d, 1H,  $^2J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 4.38 (s, 2H,  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 4.28 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\alpha$ ), 4.22 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 8.2$  Hz, Gal-1), 4.05-3.99 (m, 3H,  $\underline{\text{CHCOOCH}_3}$  {4.03}, Ara-2 {4.02}, Glc-2 {4.00}), 3.95 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-4), 3.77 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-3), 3.71 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 3.68 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-6a), 3.62-3.51 (m, 4H, Glc-5 {3.60}, Glc-6b {3.57}, Ara-3 {3.56}, Gal-5 {3.53}), 3.50-3.38 (m, 5H, Ara-4 {3.48}, Gal-3 {3.40}, Ara-5a {3.39}, Gal-6a, Gal-6b), 3.29 (db, 1H,  $^2J_{5a,5b} = 12.5$  Hz, Ara-5b), 2.48 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta a} = 4.3$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.8$  Hz, Asn- $\beta a$ ), 2.36 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta b} = 4.3$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.8$  Hz, Asn- $\beta b$ ), 2.04 (s, 6H,  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 1.86 (s, 3H,  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 1.68-1.56 (m, 5H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 1.55-1.43 (m, 2H,  $\underline{\text{CH}_2\text{CHCOOCH}_3}$ ), 1.41 (s, 9H,  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 1.39 (s, 9H,  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 1.32 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH), 1.25-1.08 (m, 3H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 0.90-0.79 (m, 2H, Cyclo- $\text{CH}_2$ ).

100.6 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (HMQC, BB,  $\text{CDCl}_3$ ) und 75.5 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (DEPT,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 172.9, 171.7, 170.7, 170.2, 170.1 (3 x  $\text{C}=\text{O}^{\text{Ac}}$ ,  $\underline{\text{COOCH}_3}$ ,  $\text{COO}^t\text{Bu}$ ,  $\text{C}=\text{O}^{\text{Asn-Amid}}$ ), 155.7 ( $\text{C}=\text{O}^{\text{Carbamat}}$ ), 138.3, 138.1, 137.9, 137.8, 137.4 (5 x  $\text{CH}_2\text{Ph}_{\text{ipso}}$ ), 128.8, 128.7, 128.5, 128.44, 128.40, 128.35, 127.9, 127.8, 127.72, 127.69, 127.65, 127.4 (25 x  $\text{CH}_2\text{Ph}_{o,m,p}$ ), 99.0 (Ara-1), 98.9 (Gal-1), 81.5 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 79.4 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 78.4 (Glc-1), 77.8 ( $\underline{\text{CHCOOCH}_3}$ ), 77.4 (Ara-3), 77.2 (Ara-2), 76.9 (Gal-3), 76.3 (Glc-3), 74.9 (Glc-5), 74.8 ( $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 73.4 (2 x  $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 73.3 (Gal-5), 73.2 (Ara-4), 72.1 (Glc-4), 71.9 ( $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ , Gal-2), 71.5 ( $\underline{\text{CH}_2\text{Ph}}$ ), 69.1 (Glc-6), 68.7 (Gal-4), 68.5 (Gal-6), 60.8 (Ara-5), 52.0 ( $\text{COOCH}_3$ ), 50.4 (Asn- $\alpha$ ), 49.5 (Glc-2), 40.5 ( $\underline{\text{CH}_2\text{CHCOOCH}_3}$ ), 37.6 (Asn- $\beta$ ), 33.6 (Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 33.5 (Cyclo-CH), 32.8 (Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 28.3 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 27.9 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 26.3, 26.1, 26.0 (3 x Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 22.6, 21.2, 20.8 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [ $m/z$ ] = 1526.8 (14 %,  $[\text{M} + \text{K}]^+$ , ber.: 1526.7), 1510.8 (100 %,  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , ber.: 1510.7).

$\text{C}_{81}\text{H}_{105}\text{N}_3\text{O}_{23}$  (1488.7)                      ber.: C 65.35    H 7.11    N 2.82  
    gef.: C 64.71    H 6.91    N 3.03

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-*tert*-butoxycarbonyl-L-asparagin-*tert*-butylester (99)**

(Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Ara]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-*O*<sup>t</sup>Bu)

Man löst 2.17 g (1.46 mmol) Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>5</sub>-[Ara]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-*O*<sup>t</sup>Bu (**93**) in einem Gemisch aus 123 ml Methanol und 7 ml Eisessig, entgast die Lösung, gibt dann im Argongegenstrom 350 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %) hinzu und entgast die

Reaktionsmischung nochmals. Anschließend wird diese 15 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Man filtriert den Ansatz über Celite<sup>®</sup>, spült mit 300 ml Methanol nach und gibt zum Filtrat 50 ml Toluol. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das debenzilylierte Zwischenprodukt ( $R_f = 0.34$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 5:1$ )) wird in 70 ml Pyridin gelöst und mit 70 mg 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Anschließend tropft man 35 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt die Reaktionslösung 15 h. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 150 ml Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung mit 80 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 37 x 3.5 cm, 145 g Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ :  $R_f = 0.09$ ). Von einem Massenspektrum abgesehen wird das peracetylierte Produkt **99** ohne weitere Charakterisierung zum Glycosylasparagin-Baustein **105** umgesetzt.

Ausbeute: 1.52 g (1.22 mmol, 84 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.36$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 20:1$ ).

*ESI-MS (Gerät 2), positiv [m/z] = 2535.1 (4 %,  $[2M + 1 + K]^+$ , ber.: 2535.0), 2519.1 (24 %,  $[2M + 1 + Na]^+$ , ber.: 2519.1), 1286.5 (12 %,  $[M + K]^+$ , ber.: 1286.5), 1270.6 (100 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 1270.5), 1248.6 (3 %,  $[M + H]^+$ , ber.: 1248.5).*

$\text{C}_{56}\text{H}_{85}\text{N}_3\text{O}_{28}$  (1248.3).

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-3-O-{2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl}4-O-{2,4,6-tri-O-acetyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl})-6-O-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-(fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-asparagin (**105**)**

(Fmoc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Ara]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-OH)

Man löst 1.52 g (1.22 mmol) Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Ara]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu (**99**) in einem Gemisch aus 80 ml Dichlormethan, 40 ml Trifluoressigsäure und 490  $\mu$ l (353 mg, 3.04 mmol) Triethylsilan und rührt 15 h. Anschließend werden 200 ml Toluol zur Reaktionsmischung gegeben, die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Man löst das Zwischenprodukt und 453 mg (1.34 mmol) *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid in 80 ml Dichlormethan und gibt so lange *N*-Ethyl-diisopropylamin hinzu, bis ein konstanter pH-Wert von 9.0-9.5 erreicht ist. Nach 15 h Rühren wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 30 x 3.5 cm, 115 g Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{AcOH} = 100:5:0.48$ ). Dabei wird das unerwünschte  $\alpha$ -Anomer weitgehend

vom  $\beta$ -Anomer getrennt und verworfen. Um Reste des  $\alpha$ -Anomers und andere evtl. noch vorhandene Verunreinigungen zu entfernen, wird der Glycosylasparagin-Baustein **105** zusätzlich durch eine präparative RP-HPLC gereinigt (jeweils ca. 600 mg aufgetragen), wodurch das reine  $\beta$ -Anomer erhalten wird ( $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 76.1-79.8 min,  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 80.2-84.8 min, Säule B, Gradient J, mit 0.1 % TFA).

**$\alpha$ -Anomer** (nicht isoliert, nur analytische RP-HPLC und ESI-MS):  $R_f$  = 0.45 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH = 10:1:0.1);  $R_t$  = 36.2 min (Säule A, Gradient H, mit 0.1 % TFA).

**$\beta$ -Anomer:** Ausbeute (nach präparativer RP-HPLC): 1.29 g (982  $\mu$ mol, 80 %); farbloses Lyophilisat;  $[\alpha]_D^{23} = -43$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>),  $R_f$  = 0.50 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH = 10:1:0.1);  $R_t$  = 36.5 min (Säule A, Gradient H, 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] = 7.69 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 7.0 Hz, Fmoc-4, Fmoc-5), 7.55-7.52 (m, 2H, Fmoc-1, Fmoc-8), 7.32 (m, 2H, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 7.2 Hz, Fmoc-3, Fmoc-6), 7.26-7.18 (m, 3H, Fmoc-2, Fmoc-7, Glc-2-NH {7.19}), 7.02 (sb, 1H, Glc-1-NH), 6.39 (sb, 1H, Asn-NH), 5.56 (sb, 2H, Ara-1, Gal-4), 5.37 (sb, 1H, Ara-4), 5.22 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 11.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Ara-3), 5.04-4.97 (m, 2H, Gal-2 {5.02}, Glc-1 {4.98}), 4.93 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 3.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 11.0 Hz, Ara-2), 4.78 (db, 1H, <sup>2</sup>J<sub>5a,5b</sub> = 12.5 Hz, Ara-5a), 4.59 (sb, 1H, Asn- $\alpha$ ), 4.43-4.33 (m, 3H, Glc-6a {4.41}, Gal-6a {4.36}, Fmoc-CH<sub>2a</sub> {4.34}), 4.29-4.21 (m, 3H, Gal-1 {4.27}, Fmoc-CH<sub>2b</sub> {4.25}, Gal-6b {4.23}), 4.16-4.09 (m, 3H, Fmoc-CH {4.13}, Glc-2 {4.10}, Glc-6b {4.09}), 4.05 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 5.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>vic</sub> = 7.0 Hz, CHCOOCH<sub>3</sub>), 3.90-3.83 (m, 2H, Glc-3 {3.87}, Glc-4 {3.85}), 3.73-3.68 (m, 5H, Gal-5 {3.71}, COOCH<sub>3</sub> {3.70}, Glc-5 {3.70}), 3.63 (db, 1H, <sup>2</sup>J<sub>5a,5b</sub> = 12.1 Hz, Ara-5b), 3.53 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-3), 2.87 (db, 1H, <sup>2</sup>J <sub>$\beta$ a, $\beta$ b</sub> = 13.9 Hz, Asn- $\beta$ a), 2.71 (db, 1H, <sup>2</sup>J <sub>$\beta$ a, $\beta$ b</sub> = 14.1 Hz, Asn- $\beta$ b), 2.11 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.08 (s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.02 (s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.96, 1.91 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.64-1.54 (m, 5H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.52-1.42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 1.28 (mc, 1H, Cyclo-CH), 1.18-1.04 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 0.87-0.76 (m, 2H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 173.7, 173.0, 172.7, 171.3, 170.8, 170.7, 170.31, 170.25, 169.7 (8 x C=O<sup>Ac</sup>, COOCH<sub>3</sub>, COOH, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 156.4 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 143.9, 143.6 (Fmoc-1a, Fmoc-8a), 141.2 (Fmoc-4a, Fmoc-5a), 127.7 (Fmoc-3, Fmoc-6), 127.0 (Fmoc-2, Fmoc-7), 125.2, 125.1 (Fmoc-1, Fmoc-8), 119.9 (Fmoc-4, Fmoc-5), 100.2 (Gal-1), 95.3 (Ara-1), 79.3 (Glc-1), 77.9 (CHCOOCH<sub>3</sub>), 77.0 (Gal-3), 74.3 (Glc-5), 74.2 (Glc-3), 73.1 (Glc-4), 71.8 (Gal-2, Gal-5), 69.1 (Ara-4), 68.5 (Ara-2), 67.7 (Gal-4), 67.2 (Fmoc-CH<sub>2</sub>), 66.7 (Ara-3), 62.2 (Glc-6), 61.5 (Gal-6), 60.7 (Ara-5), 54.7 (Glc-2), 52.1 (COOCH<sub>3</sub>), 50.3 (Asn- $\alpha$ ), 47.0 (Fmoc-CH), 40.4 (CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 37.6 (Asn- $\beta$ ), 33.5 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 33.4 (Cyclo-CH), 32.9, 26.2, 26.0,

25.9 (4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 22.8, 20.8, 20.7, 20.6 (8 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

*ESI-MS (Gerät 2), positiv [m/z]* = 2651.0 (4 %, [2M + 1 + Na]<sup>+</sup>, ber.: 2651.0), 1358.5 (4 %, [M + 2Na - H]<sup>+</sup>, ber.: 1358.5), 1352.5 (8 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1352.4), 1336.5 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1336.5), 1314.5 (70 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1314.5).

*HR-ESI-MS, positiv [m/z]* = 1336.4713 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1336.4748).

C<sub>62</sub>H<sub>79</sub>N<sub>3</sub>O<sub>28</sub> (1314.3).

**N<sup>4</sup>-(2-Acetamido-4-O-{2,4-di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxy-carbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl}-3-O-{2,3,4,6-tetra-O-benzyl-α-L-galactopyranosyl}-6-O-benzyl-2-desoxy-α,β-D-glucopyranosyl)-N<sup>2</sup>-tert-butoxycarbonyl-L-asparagin-tert-butylester (94)**

(Boc-Asn(α,β-Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>6</sub>-[L-Gal]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Zu einer Mischung aus 162 ml Isopropanol und 18 ml Wasser werden 3.34 g (2.45 mmol) β-Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>6</sub>-(L-Gal)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-N<sub>3</sub> (**12**) und 19 g feuchtes, mit Wasser neutral gewaschenes Raney-Nickel (der Firma Acros Organics, Geel (Belgien)) gegeben. Die Reaktionsmischung wird i. Vak. gründlich entgast und dann 2 h unter einer Wasserstoffatmosphäre bei 0 °C gerührt. Anschließend filtriert man den Ansatz über Celite<sup>®</sup> und spült mit 350 ml Isopropanol nach, wobei man darauf achten muss, dass der Katalysator immer mit einer Lösungsmittelschicht bedeckt bleibt, da er sich sonst an der Luft entzündet. Die Lösungsmittel werden i. Vak. (T < 28 °C) entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kdestilliert. Man erhält als Rohprodukt α,β-Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>6</sub>-(L-Gal)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**81**), das sofort weiter umgesetzt wird (*R<sub>f</sub>* ≈ 0.56 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1)).

Zu einer Lösung von 922 mg (3.19 mmol) Boc-Asp-O<sup>t</sup>Bu (**88**), 1.02 g (3.18 mmol) TBTU und 488 mg (3.19 mmol) HOBt-Monohydrat in 60 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird unter einer Argonatmosphäre soviel *N*-Ethyl-diisopropylamin gegeben, bis ein pH-Wert von 6.5-7.5 erreicht ist (ca. 530 µl, 400 mg, 3.09 mmol). Man rührt die Reaktionsmischung 30 min, gibt dann bei 0 °C α,β-Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>6</sub>-(L-Gal)-cycloLe<sup>x</sup>COOMe-NH<sub>2</sub> (**81**) in 15 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid innerhalb von 20 min hinzu und rührt 2 h unter einer Argonatmosphäre bei 0 °C. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt, der Rückstand dreimal mit je 50 ml Toluol kdestilliert und dann in 125 ml Dichlormethan gelöst. Man wäscht die organische Phase mit 70 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, trocknet sie mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel i. Vakuum. Das Rohprodukt weist ein α,β-Verhältnis von α:β = 0.1:99.9 auf (durch analytische RP-HPLC bestimmt: *R<sub>t</sub>* (α-Anomer) = 37.7 min, *R<sub>t</sub>* (β-Anomer) = 39.0 min, Säule A, Gradient E).

Durch eine flashchromatographische Reinigung (Säulengröße: 35 x 3.5 cm, 135 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:  $R_f$  = 0.10) wird eine Fraktion reines  $\beta$ -Anomer sowie eine Fraktion eines  $\alpha,\beta$ -Gemischs erhalten.

Gesamtausbeute: 3.54 g (2.20 mmol, 90 %).

**$\alpha,\beta$ -Gemisch:** 3.43 g (2.13 mmol, 87 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f$  ( $\alpha$ -Anomer) = 0.56 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 20:1),  $R_f$  ( $\beta$ -Anomer) = 0.58 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 20:1);  $R_t$  ( $\alpha$ -Anomer) = 37.7 min (Säule A, Gradient E),  $R_t$  ( $\beta$ -Anomer) = 39.0 min (Säule A, Gradient E).

**$\beta$ -Anomer:** 106 mg (65.9  $\mu$ mol, 3 %); farbloser amorpher Feststoff;  $[\alpha]_D^{23} = -44$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.41 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,1} = 7.4$  Hz, Glc-1-NH), 7.35-7.14 (m, 30H, CH<sub>2</sub>Ph), 6.80 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,2} = 8.6$  Hz, Glc-2-NH), 5.59 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 9.0$  Hz, Asn-NH), 5.49 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.9$  Hz, Gal-4), 5.07 (db, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 3.5$  Hz, L-Gal-1), 5.03 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.2$  Hz, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 9.8$  Hz, Gal-2), 4.94 (mc, 1H, Glc-1), 4.86 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{gem} = 11.4$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.80 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{gem} = 11.4$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.73 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{gem} = 11.4$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.65 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.50 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{gem} = 11.3$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.46 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{gem} = 12.1$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.40 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{gem} = 11.7$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.38 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{gem} = 11.7$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.36 (d, 1H, <sup>2</sup> $J_{gem} = 11.7$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.31-4.27 (m, 3H, CH<sub>2</sub>Ph, Asn- $\alpha$  {4.29}), 4.21 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.2$  Hz, Gal-1), 4.08 (mc, 1H, Glc-2), 4.06 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 3.5$  Hz, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.2$  Hz, L-Gal-2), 4.01 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{vic} = 5.1$  Hz, <sup>3</sup> $J_{vic} = 7.8$  Hz, CHCOOCH<sub>3</sub>), 3.98-3.93 (m, 2H, Glc-4 {3.96}, L-Gal-5 {3.94}), 3.92-3.87 (m, 2H, L-Gal-4 {3.90}, Glc-3 {3.88}), 3.78 (mc, 1H, Glc-6a), 3.71 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.70-3.60 (m, 3H, L-Gal-3 {3.67}, Glc-5 {3.63}, Glc-6a {3.63}), 3.49-3.47 (m, 2H, L-Gal-6a, L-Gal-6b), 3.44-3.37 (m, 3H, Gal-5 {3.39}, Gal-6a, Gal-6b), 3.34 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.2$  Hz, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.5$  Hz, Gal-3), 2.50 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{\alpha,\beta a} = 4.3$  Hz, <sup>2</sup> $J_{\beta a,\beta b} = 16.4$  Hz, Asn- $\beta a$ ), 2.37 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{\alpha,\beta b} = 4.3$  Hz, <sup>2</sup> $J_{\beta a,\beta b} = 16.4$  Hz, Asn- $\beta b$ ), 2.04, 1.97, 1.92 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.68-1.57 (m, 5H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.53-1.46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 1.41 (s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 1.40 (s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 1.31 (mc, 1H, Cyclo-CH), 1.20-1.08 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 0.90-0.79 (m, 2H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, BB, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 172.7, 171.1, 170.7, 170.2, 170.1, 169.9 (3 x C=O<sup>Ac</sup>, COOCH<sub>3</sub>, COO<sup>t</sup>Bu, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 155.7 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 138.4, 138.3, 138.0, 137.8, 137.7, 137.3 (6 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>ipso</sub>), 129.0, 128.7, 128.6, 128.5, 128.43, 128.38, 128.35, 128.2, 128.0, 127.90, 127.87, 127.71, 127.65, 127.6, 127.2 (30 x CH<sub>2</sub>Ph<sub>o,m,p</sub>), 99.4 (Gal-1), 97.9 (L-Gal-1), 81.6 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 79.4 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 79.0 (L-Gal-3), 78.2 (Glc-1), 77.7 (CHCOOCH<sub>3</sub>), 77.1 (Gal-3), 76.4 (L-Gal-2),

75.1 (Glc-3), 74.9 (Glc-5), 74.8, 74.32 (2 x  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ ), 74.26 (L-Gal-4), 73.6, 73.4, 73.3 (3 x  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ ), 72.7, 72.6 (Glc-4, Gal-5), 72.5 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$ ), 71.8 (Gal-2), 70.1 (L-Gal-5), 69.4 (Glc-6), 68.4 (L-Gal-6), 68.1 (Gal-4), 67.7 (Gal-6), 51.9 ( $\text{COO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 50.5 (Asn- $\alpha$ ), 49.3 (Glc-2), 40.4 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CHCOOCH}_3$ ), 37.6 (Asn- $\beta$ ), 33.6 (Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 33.4 (Cyclo- $\text{CH}$ ), 32.9 (Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 28.3 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 27.8 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{tBu}}$ ), 26.3, 26.04, 25.97 (3 x Cyclo- $\text{CH}_2$ ), 22.8, 21.1, 20.7 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ).

*ESI-MS* (Gerät 2), positiv [ $m/z$ ] = 1646.8 (10 %,  $[\text{M} + \text{K}]^+$ , ber.: 1646.7), 1630.8 (100 %,  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , ber.: 1630.8).

$\text{C}_{89}\text{H}_{113}\text{N}_3\text{O}_{24}$  (1608.9)                      ber.: C 66.44    H 7.08    N 2.61  
    gef.: C 65.99    H 6.79    N 3.05

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]}-3-*O*-{2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-*tert*-butoxycarbonyl-L-asparagin-*tert*-butylester (100)**

(Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>8</sub>-[L-Gal]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu)

Man löst 3.34 g (2.08 mmol) Boc-Asn( $\alpha,\beta$ -Ac<sub>2</sub>-Bn<sub>6</sub>-[L-Gal]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-O<sup>t</sup>Bu (**94**) in einem Gemisch aus 143 ml Methanol und 7 ml Eisessig, entgast die Lösung, gibt dann im Argongegenstrom 350 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %) hinzu und entgast die Reaktionsmischung nochmals. Anschließend wird diese 15 h unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Man filtriert den Ansatz über Celite<sup>®</sup>, spült mit 300 ml Methanol nach und gibt zum Filtrat 50 ml Toluol. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das debenzylierte Zwischenprodukt ( $R_f = 0.25$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 5:1$ )) wird in 100 ml Pyridin gelöst und mit 80 mg 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Anschließend tropft man 50 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt die Reaktionslösung 15 h. Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 150 ml Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung mit 80 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Man trocknet die organische Phase mit Magnesiumsulfat, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt flashchromatographisch (Säulengröße: 37 x 3.5 cm, 145 g Kieselgel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ :  $R_f = 0.05$ ). Von einem Massenspektrum abgesehen wird das peracetylierte Produkt **100** ohne weitere Charakterisierung zum Festphasen-Baustein **106** umgesetzt.

Ausbeute: 2.36 g (1.79 mmol, 86 %); farbloser amorpher Feststoff;  $R_f = 0.25$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 20:1$ ).

ESI-MS (Gerät 2), positiv  $[m/z] = 1358.7$  (23 %,  $[M + K]^+$ , ber.: 1358.5), 1342.7 (100 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 1342.5).

$C_{59}H_{89}N_3O_{30}$  (1320.3).

***N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-α-L-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-*N*<sup>2</sup>-(fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-asparagin (106)**

(Fmoc-Asn(β-Ac<sub>8</sub>-[L-Gal]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-OH)

Man löst 2.36 g (1.79 mmol) Boc-Asn(α,β-Ac<sub>8</sub>-[L-Gal]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-*O*<sup>t</sup>Bu (**100**) in einem Gemisch aus 100 ml Dichlormethan, 50 ml Trifluoressigsäure und 720 μl (518 mg, 4.45 mmol) Triethylsilan und rührt 15 h. Anschließend werden 150 ml Toluol zur Reaktionsmischung gegeben, die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Man löst das Zwischenprodukt und 663 mg (1.97 mmol) *N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid in 100 ml Dichlormethan und gibt so lange *N*-Ethyldiisopropylamin hinzu, bis ein konstanter pH-Wert von 9.0-9.5 erreicht ist. Nach 15 h Rühren wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch gereinigt (Säulengröße: 30 x 3.5 cm, 115 g Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH: *R<sub>f</sub>* = 0.04). Um Reste des α-Anomers und andere evtl. noch vorhandene Verunreinigungen zu entfernen, wird der Glycosylasparagin-Baustein **106** zusätzlich durch eine präparative RP-HPLC gereinigt (jeweils ca. 600 mg aufgetragen, *R<sub>t</sub>* = 81.4-86.3 min, Säule B, Gradient J, mit 0.1 % TFA). Die Mengen an α-Anomer sind so gering, dass sie bei der präparativen RP-HPLC nicht detektiert werden.

Ausbeute (nach präparativer RP-HPLC): 1.79 g (1.29 mmol, 72 %); farbloses Lyophilisat;  $[\alpha]_D^{23} = -32$  (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); *R<sub>f</sub>* = 0.53 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:AcOH = 10:1:0.1); *R<sub>t</sub>* = 35.4 min (Säule A, Gradient H, mit 0.1 % TFA).

400 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.71 (d, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>vic</sub> = 7.8 Hz, Fmoc-4, Fmoc-5), 7.62 (s<sub>b</sub>, 1H, Glc-2-NH), 7.52 (d<sub>b</sub>, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>vic</sub> = 6.7 Hz, Fmoc-1, Fmoc-8), 7.34 (t, 2H, <sup>3</sup>*J*<sub>vic</sub> = 7.4 Hz, Fmoc-3, Fmoc-6), 7.26-7.24 (m, 2H, Fmoc-2, Fmoc-7), 6.99 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>NH,1</sub> = 7.4 Hz, Glc-1-NH), 6.15 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>NH,α</sub> = 7.0 Hz, Asn-NH), 5.65 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 2.7 Hz, L-Gal-4), 5.56 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 3.1 Hz, L-Gal-1), 5.48 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 2.7 Hz, Gal-4), 5.15 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-2), 5.13 (pseudo-dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 2.7 Hz, L-Gal-3), 5.07 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-1), 4.98 (m<sub>c</sub>, 1H, L-Gal-5), 4.92 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 10.6 Hz, L-Gal-2), 4.55-4.48 (m, 3H, Asn-α {4.54}, Gal-6a {4.50}, Glc-6a {4.49}), 4.37-4.27 (m,

3H, Fmoc-CH<sub>2</sub>, Gal-6b {4.31}), 4.25 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 8.2 Hz, Gal-1), 4.15-4.08 (m, 2H, Fmoc-CH {4.13}, Glc-2 {4.11}), 4.05-3.88 (m, 5H, CHCOOCH<sub>3</sub> {4.03}, Glc-6b {4.03}, Glc-3 {3.90}, L-Gal-6a, L-Gal-6b), 3.78-3.71 (m, 2H, Gal-5 {3.76}, Glc-4 {3.72}), 3.67 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>), 3.58 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 3.49 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 9.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.1 Hz, Gal-3), 2.85 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn-βa), 2.72 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn-βb), 2.20, 2.10, 2.09 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.06 (s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.99 (s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.95 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.65-1.57 (m, 5H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.50-1.47 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 1.24 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH), 1.18-1.05 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 0.88-0.79 (m, 2H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

100.6 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (HMOC, CDCl<sub>3</sub>) und 75.5 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (DEPT, BB, CDCl<sub>3</sub>):  
 δ [ppm] = 175.0, 173.0, 172.7, 172.3, 171.9, 171.30, 171.26, 171.2, 170.8, 170.7, 169.9, 169.4 (9 x C=O<sup>Ac</sup>, COOCH<sub>3</sub>, COOH, C=O<sup>Asn-Amid</sup>), 156.4 (C=O<sup>Carbamat</sup>), 143.7, 143.4 (Fmoc-1a, Fmoc-8a), 141.21, 141.18 (Fmoc-4a, Fmoc-5a), 127.8 (Fmoc-3, Fmoc-6), 127.1 (Fmoc-2, Fmoc-7), 125.1, 125.0 (Fmoc-1, Fmoc-8), 120.0 (Fmoc-4, Fmoc-5), 101.1 (Gal-1), 94.7 (L-Gal-1), 78.8 (Glc-1), 78.0 (Gal-3), 77.5 (CHCOOCH<sub>3</sub>), 74.5 (Glc-5), 74.1 (Glc-4), 73.1 (Glc-3), 71.8 (Gal-5), 71.1 (Gal-2), 68.3 (L-Gal-2), 67.7 (L-Gal-3), 67.6 (L-Gal-4), 67.5 (Fmoc-CH<sub>2</sub>), 66.9 (Gal-4), 65.4 (L-Gal-5), 61.8 (Glc-6), 61.5 (Gal-6), 61.1 (L-Gal-6), 54.9 (Glc-2), 52.1 (COOCH<sub>3</sub>), 50.3 (Asn-α), 46.9 (Fmoc-CH), 40.3 (CH<sub>2</sub>CHCOOCH<sub>3</sub>), 37.6 (Asn-β), 33.2 (Cyclo-CH, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 33.1, 26.2, 26.0, 25.9 (4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 22.5, 20.84, 20.77, 20.7, 20.6, 20.5 (9 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>).

ESI-MS (Gerät 2), positiv [m/z] = 1430.5 (15 %, [M + 2Na - H]<sup>+</sup>, ber.: 1430.5), 1424.5 (7 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1424.5), 1408.5 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1408.5), 1386.6 (17 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1386.5).

HR-ESI-MS, positiv [m/z] = 1408.4906 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1408.4959).

C<sub>65</sub>H<sub>83</sub>N<sub>3</sub>O<sub>30</sub> (1386.4).

## 5.4 Die Synthesen der Glycopeptide

### Allgemeines Protokoll der automatisierten Glycopeptid-Festphasensynthese

Sämtliche Glycopeptid-Festphasensynthesen werden an einem ABI-433A-Peptidsynthesizer der Firma *Applied Biosystems* nach der Fmoc-Strategie durchgeführt. Als polymerer Träger wird TentaGel<sup>®</sup> der Firma *Rapp Polymere* benutzt, welches mit Asparaginsäure vorbeladen ist. Die Seitenkettenfunktionen aller verwendeten Aminosäuren sind durch *tert*-Butylgruppen geschützt. Für jede zu kuppelnde Aminosäure wird der gleiche Synthesesyklus durchlaufen, welcher sich aus drei Teilschritten zusammensetzt. Im ersten Schritt wird die aminoterminal Fmoc-Schutzgruppe durch 2.5-minütige Behandlung mit einer 20%igen

Lösung von Piperidin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on entfernt. Dieser Prozess wird mindestens zweimal wiederholt, wobei nach jeder Abspaltung durch Messung der UV-Absorption der Abspaltlösung bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 301$  nm der Gehalt des gebildeten Dibenzofulven-Piperidin-Addukts **107** ermittelt wird. Ändert sich der Wert der gemessenen UV-Absorption um mehr als 10 % im Vergleich zum vorangegangenen Wert, wird ein weiterer Abspaltzyklus durchgeführt. Im zweiten Schritt erfolgt die Kupplung der Aminosäure mit einer Lösung aus 1 mmol der jeweiligen Aminosäure, 1 mmol HBTU, 1 mmol HOBt und 2 mmol *N*-Ethyl-diisopropylamin in *N,N*-Dimethylformamid. Die Kupplung der Glycosylaminosäure wird mit den reaktiveren Kupplungsreagenzien HATU und HOAt anstelle von HBTU und HOBt durchgeführt, wobei die Reaktionsbedingungen bei den einzelnen Verbindungen angegeben sind. Nach der erfolgten Peptidkupplung werden im letzten Schritt eventuell nicht umgesetzte Aminofunktionen mit dem Capping-Reagenz, einer Lösung aus 0.5 M Essigsäureanhydrid, 0.125 M *N*-Ethyl-diisopropylamin und 0.015 M HOBt in *N*-Methylpyrrolidin-2-on, acetyliert. Nach jedem Teilschritt wird die Reaktionslösung durch Filtration entfernt und das Harz gründlich mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen. Eine starke Durchmischung der Reagenzien im Synthesereaktor wird durch Schütteln (Vortex) erreicht. Durch Wiederholung dieser drei Syntheseschritte werden die einzelnen Aminosäure-Bausteine und die Glycosylaminosäure zum Glycopeptid zusammengefügt. Nach Beendigung der Glycopeptid-Festphasensynthese wird das Harz zusätzlich mit Dichlormethan gewaschen und in einem Stickstoffstrom getrocknet.

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*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}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyl-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyl-L-glutamyl-L-seryl-L-glutamyl-L-asparaginsäure (109)**

(Ac-Gly-Asn( $\beta$ -Ac<sub>11</sub>-[Fuc]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Die automatisierte Glycopeptid-Festphasensynthese wird ausgehend von 370 mg (0.100 mmol) eines Fmoc-Asp(O<sup>t</sup>Bu)-PHB vorbeladenen TentaGel<sup>®</sup>-Harzes (Beladung: 0.27 mmol/g) nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll (vgl. Seite 156) durchgeführt. Für den Einbau der Glycosylaminosäure **101** wird die automatisierte Synthese nach erfolgter Fmoc-Abspaltung gestoppt und das Harz mit einer extern angesetzten Lösung aus 327 mg (0.200 mmol) Fmoc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>11</sub>-[Fuc]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-OH (**101**), 84 mg (0.22 mmol) HATU, 30 mg (0.22 mmol) HOAt, 48.5  $\mu$ l (44.6 mg, 0.441 mmol) *N*-Methylmorpholin in

2 ml *N*-Methylpyrrolidin-2-on versetzt und 6 h geschüttelt. Nach Beendigung der Kupplung werden die überschüssigen Reagenzien abfiltriert und das Harz wird mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen und anschließend mit Capping-Reagenz versetzt. Die Anknüpfung der letzten Aminosäure Glycin findet wieder nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll statt. Nach dieser letzten Kupplung wird die aminoterminele Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung des Harzes mit einer 20%igen Lösung von Piperidin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on entfernt und der nun freie Aminoterminus wird mit Capping-Reagenz acetyliert. Zur Abspaltung des Glycopeptids vom Harz und zur gleichzeitigen Deblockierung der Seitenkettenfunktionalitäten der Aminosäuren überführt man das Harz in einen Festphasenreaktor nach Merrifield und schüttelt es 2 h in einer Mischung aus 10 ml Trifluoressigsäure, 10 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan. Das Harz wird abfiltriert und zweimal mit je 10 ml eines Trifluoressigsäure-Dichlormethan-Gemischs (v:v = 1:1) gewaschen. Man gibt zu den vereinigten Filtraten 70 ml Toluol und entfernt die Lösungsmittel i. Vak., wobei man durch die dreimalige Zugabe von je 20 ml Toluol darauf achtet, dass sich die Trifluoressigsäure nicht aufkonzentriert. Das Rohprodukt wird durch eine präparative RP-HPLC gereinigt ( $R_t = 98.0-101.2$  min, Säule B, Gradient M, mit 0.1 % TFA), wodurch die zu ca. 40 % (durch analytische RP-HPLC bestimmt) entstandene Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**) und andere Verunreinigungen abgetrennt werden können. Von einem Massenspektrum abgesehen wird das Produkt **109** ohne weitere Charakterisierung zum deblockierten Glycopeptid **1** umgesetzt.

Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**), nicht isoliert, nur analytische RP-HPLC und ESI-MS:  $R_t = 34.3$  min (Säule A, Gradient L, mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv  $[m/z] = 1015.5$  (4 %,  $[M + K]^+$ , ber.: 1015.4), 999.5 (6 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 999.4), 977.5 (100 %,  $[M + H]^+$ , ber.: 977.4).

Produkt **109**: 67.0 mg (27.6  $\mu$ mol, 28 %, bezogen auf die Startaminosäure am Harz); farbloses Lyophilisat;  $R_t = 52.3$  min (Säule A, Gradient L, mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv  $[m/z] = 2472.2$  (3 %,  $[M + 1 + 2Na - H]^+$ , ber.: 2471.9), 2450.2 (13 %,  $[M + 1 + Na]^+$ , ber.: 2449.9), 1258.6 (79 %,  $[M + 1 + 4Na - 2H]^{2+}$ , ber.: 1258.4), 1247.6 (100 %,  $[M + 1 + 3Na - H]^{2+}$ , ber.: 1247.4).

$C_{100}H_{147}N_{13}O_{56}$  (2427.3)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-4-*O*-{3-*O*-[(5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl]-2-desoxy-3-*O*-{ $\alpha$ -L-fucopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyl-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyl-L-glutamyl-L-seryll-L-glutamyl-L-asparaginsäure (1)**

(Ac-Gly-Asn( $\beta$ -[Fuc]-sLe<sup>x</sup>COOH)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Eine Lösung von 67.0 mg (27.6  $\mu$ mol) Ac-Gly-Asn( $\beta$ -Ac<sub>11</sub>-[Fuc]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**109**) in 15 ml Methanol wird so lange mit Natrium-methanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5-9.5 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von Essigsäure, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und nimmt den Rückstand in 15 ml Wasser auf. Die resultierende Lösung wird durch 1 M Natronlauge auf einen pH-Wert von 9.5-10.5 gebracht und 15 h gerührt. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt durch eine präparative RP-HPLC ( $R_t$  = 62.1-65.0 min, Säule B, Gradient M, mit 0.1 % TFA).

Ausbeute: 42.2 mg (21.6  $\mu$ mol, 78 %; 22 %, bezogen auf die Startamino-säure am Harz); farbloses Lyophilisat;  $[\alpha]_D^{23} = -54$  ( $c = 0.5$ , H<sub>2</sub>O);  $R_t = 16.4$  min (Säule A, Gradient N, mit 0.1 % TFA).

600 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, NOESY, ROESY, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 8.29 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,1} = 8.2$  Hz, Glc-1-NH), 8.20 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.6$  Hz, Asp-NH), 8.15-8.13 (m, 2H, Asn-NH, Gly-NH), 8.01-7.96 (m, 4H, Glc-2-NH, Glu<sup>2</sup>-NH, Glu<sup>4</sup>-NH, Sia-NH), 7.86 (db, 2H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.1$  Hz, 2 x Leu-NH), 7.82 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.6$  Hz, Glu<sup>6</sup>-NH), 7.80 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.3$  Hz, Ser-NH), 7.72 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.0$  Hz, Thr-NH), 5.03-4.94 (m, 2H, OH, Thr-OH {4.94}), 4.92 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-1), 4.83 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 2.9$  Hz, Fuc-1), 4.72 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-6-OH), 4.65 (m<sub>c</sub>, 1H, Fuc-5), 4.56-4.47 (m, 4H, Asn- $\alpha$  {4.53}, Asp- $\alpha$  {4.48}, 2 x OH), 4.34 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 6.8$  Hz, Gal-1), 4.31-4.20 (m, 7H, 3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ , Ser- $\alpha$ , OH), 4.14-4.09 (m, 2H, Thr- $\alpha$  {4.12}, Fuc-4-OH {4.10}), 3.94 (m<sub>c</sub>, 1H, Thr- $\beta$ ), 3.85-3.78 (m, 2H, Glc-6a {3.82}, Gal-3 {3.80}), 3.74-3.70 (m, 2H, Gal-4 {3.72}, Glc-2 {3.72}), 3.69-3.63 (m, 4H, 2 x Gly- $\alpha$  {3.67}, Glc-3 {3.66}, Glc-6b {3.64}), 3.61-3.56 (m, 5H, Glc-4 {3.59}, Sia-4 {3.58}, Sia-9a {3.58}, Ser- $\beta$ a {3.57}, Sia-8 {3.57}), 3.54-3.35 (m, 9H, Fuc-3 {3.52}, Ser- $\beta$ b {3.51}, Sia-5 {3.50}, Gal-6a {3.46}, Fuc-4 {3.42}, Sia-6 {3.40}, Fuc-2 {3.38}, Gal-6b {3.37}, Sia-9b {3.37}), 3.31 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-2), 3.27-3.22 (m, 2H, Sia-7 {3.25}, Glc-5 {3.23}), 3.17 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-5), 3.07 (m<sub>c</sub>, 1H, OH), 2.66 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{\alpha,\beta a} = 6.2$  Hz, <sup>2</sup> $J_{\beta a,\beta b} = 16.7$  Hz, Asp- $\beta$ a), 2.60-2.52 (m, 3H, Asn- $\beta$ a {2.57}, Sia-3<sub>aq</sub> {2.55}, Asp- $\beta$ b {2.54}), 2.42 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\beta$ b), 2.27-2.21 (m, 6H, Glu- $\gamma$ ), 1.94-1.87 (m, 3H, Glu- $\beta$ ), 1.86, 1.84, 1.78 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.76-1.70 (m, 3H, Glu- $\beta$ ), 1.64-1.55 (m, 3H, 2 x Leu- $\gamma$ ,

Sia-3<sub>ax</sub> {1.62}), 1.50-1.41 (m, 4H, Leu-β), 1.02 (d, 3H,  $^3J_{\beta,\gamma} = 6.2$  Hz, Thr-γ), 0.97 (d, 3H,  $^3J_{5,6} = 6.2$  Hz, Fuc-5), 0.86 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu-δ), 0.81 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu-δ). Die OH- und COOH-Signale konnten nicht alle detektiert bzw. eindeutig zugewiesen werden. Das für die RP-HPLC verwendete Acetonitril enthält ca. 0.0005 % Ammoniak. Da dem Laufmittel 0.1 % Trifluoressigsäure zugesetzt wird, entsteht in entsprechenden Mengen  $\text{NH}_4^+$ . Dieses verursacht das stark verbreiterte Signal bei  $\delta = 7.10$  ppm (vgl. Spektrenanhang S. 182). Verbindung **1** (42.2 mg) enthält damit ca. 0.08 mg  $\text{NH}_4^+$ .

150.9 MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR (BB, HMQC, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 174.2, 174.12, 174.10, 172.24, 172.20, 172.1, 171.8, 171.6, 171.1, 171.0, 170.9, 170.5, 170.0, 169.9, 169.8, 169.3 (19 x C=O), 102.3 (Gal-1), 98.8, 98.7 (Fuc-1, Sia-2), 78.1 (Glc-1), 77.5 (Glc-5), 76.2 (Gal-3), 75.9 (Glc-3), 74.8 (Gal-5), 73.6 (Sia-6, Glc-4), 71.7 (Fuc-4), 71.1 (Sia-8), 69.4 (Fuc-3), 68.43 (Sia-7), 68.40 (Gal-2), 68.2 (Fuc-2), 66.9 (Gal-4), 66.8 (Sia-4), 66.4 (Thr-β), 65.8 (Fuc-5), 63.2 (Sia-9), 61.7 (Ser-β), 59.8 (Gal-6), 59.1 (Glc-6), 58.6 (Thr-α), 54.9 (Ser-α), 54.5 (Glc-2), 52.2 (Sia-5), 52.04, 51.96, 51.7, 51.5, 51.2 (3 x Glu-α, 2 x Leu-α), 49.5 (Asn-α), 48.6 (Asp-α), 42.2 (Gly-α), 40.5, 40.3 (2 x Leu-β, Sia-3), 36.9 (Asn-β), 36.0 (Asp-β), 30.2, 30.1, 30.0 (3 x Glu-γ), 27.5 (Glu-β), 27.2 (2 x Glu-β), 24.12, 24.08 (2 x Leu-γ), 23.1 (2 x Leu-δ), 22.9, 22.7, 22.5 (3 x  $\text{CH}_3^{\text{Ac}}$ ), 21.6, 21.5 (2 x Leu-δ), 19.6 (Thr-γ), 16.5 (Fuc-6).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv  $[m/z] = 1988.9$  (4 %,  $[\text{M} + \text{K}]^+$ , ber.: 1988.7), 1972.9 (97 %,  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , ber.: 1972.8), 1950.9 (90 %,  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , ber.: 1950.8), 1804.9 (47 %,  $[\text{M} - \text{Fuc} + \text{H}]^+$ , ber.: 1804.7), 1659.8 (29 %,  $[\text{M} - \text{Sia} + \text{H}]^+$ , ber.: 1659.7), 1513.8 (100 %,  $[\text{M} - \text{Sia} - \text{Fuc} + \text{H}]^+$ , ber.: 1513.6), 1351.7 (94 %,  $[\text{M} - \text{Sia} - \text{Fuc} - \text{Gal} + \text{H}]^+$ , ber.: 1351.6), 998.0 (43 %,  $[\text{M} + 2\text{Na}]^{2+}$ , ber.: 997.9).

HR-ESI-MS (mit 0.1 % TFA), positiv,  $[m/z] = 1972.7614$  (100 %,  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , ber.: 1972.7634).

$\text{C}_{77}\text{H}_{123}\text{N}_{13}\text{O}_{45}$  (1950.9)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl-β-D-arabinopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-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}-6-*O*-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyl-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyl-L-glutamyl-L-seryll-L-glutamyl-L-asparaginsäure (110)**

(Ac-Gly-Asn(β-Ac<sub>11</sub>-[Ara]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Die automatisierte Glycopeptid-Festphasensynthese wird ausgehend von 370 mg (0.100 mmol) eines Fmoc-Asp(O<sup>t</sup>Bu)-PHB vorbeladenen TentaGel<sup>®</sup>-Harzes (Beladung:

0.27 mmol/g) nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll (vgl. Seite 156) durchgeführt. Für den Einbau der Glycosylaminosäure **102** wird die automatisierte Synthese nach erfolgter Fmoc-Abspaltung gestoppt und das Harz mit einer extern angesetzten Lösung aus 162 mg (0.100 mmol) Fmoc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>11</sub>-[Ara]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-OH (**102**), 42 mg (0.11 mmol) HATU, 15 mg (0.11 mmol) HOAt, 24.3  $\mu$ l (22.4 mg, 0.221 mmol) *N*-Methylmorpholin in 2 ml *N*-Methylpyrrolidin-2-on versetzt und 6 h geschüttelt. Nach Beendigung der Kupplung werden die überschüssigen Reagenzien abfiltriert und das Harz wird mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen. Das Harz wird unter den gleichen Bedingungen nochmals mit 0.100 mmol der Glycosylaminosäure **102** gekuppelt, um die Kupplungsausbeute zu erhöhen. Nach Beendigung dieser Doppelkupplung werden die überschüssigen Reagenzien abfiltriert und das Harz wird mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen und anschließend mit Capping-Reagenz versetzt. Die Anknüpfung der letzten Aminosäure Glycin findet wieder nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll statt. Nach dieser letzten Kupplung wird die aminoterminal Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung des Harzes mit einer 20%igen Lösung von Piperidin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on entfernt und der nun freie Aminoterminus wird mit Capping-Reagenz acetyliert. Zur Abspaltung des Glycopeptids vom Harz und zur gleichzeitigen Deblockierung der Seitenkettenfunktionalitäten der Aminosäuren überführt man das Harz in einen Festphasenreaktor nach Merrifield und schüttelt es 2 h in einer Mischung aus 10 ml Trifluoressigsäure, 10 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan. Das Harz wird abfiltriert und zweimal mit je 10 ml eines Trifluoressigsäure-Dichlormethan-Gemischs (v:v = 1:1) gewaschen. Man gibt zu den vereinigten Filtraten 70 ml Toluol und entfernt die Lösungsmittel i. Vak., wobei man durch die dreimalige Zugabe von je 20 ml Toluol darauf achtet, das sich die Trifluoressigsäure nicht aufkonzentriert. Das Rohprodukt wird durch eine präparative RP-HPLC gereinigt ( $R_t$  = 87.5-90.3 min, Säule B, Gradient M, mit 0.1 % TFA), wodurch die zu ca. 26 % (durch analytische RP-HPLC bestimmt) entstandene Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**) und andere Verunreinigungen abgetrennt werden können. Von einem Massenspektrum abgesehen wird das Produkt **110** ohne weitere Charakterisierung zum deblockierten Glycopeptid **2** umgesetzt.

Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**), nicht isoliert, nur analytische RP-HPLC und ESI-MS:  $R_t$  = 29.2 min (Säule A, Gradient O, mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv [ $m/z$ ] = 1015.4 (3 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1015.4), 999.4 (5 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 999.4), 977.5 (100 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 977.4).

Produkt **110**: 78.0 mg (32.3  $\mu$ mol, 32 %, bezogen auf die Startaminosäure am Harz); farbloses Lyophilisat;  $R_t$  = 42.3 min (Säule A, Gradient O, mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv  $[m/z] = 2451.9$  (3 %,  $[M + 1 + K]^+$ , ber.: 2451.9), 2436.0 (6 %,  $[M + 1 + Na]^+$ , ber.: 2435.9), 2414.0 (84 %,  $[M + 1 + H]^+$ , ber.: 2413.9), 2154.9 (50 %,  $[M - Fuc + H]^+$ , ber.: 2154.9), 1939.8 (26 %,  $[M - Sia + H]^+$ , ber.: 1939.7), 1651.7 (36 %,  $[M - Sia - Gal + H]^+$ , ber.: 1651.7), 1226.5 (50 %,  $[M + 1 + K + H]^{2+}$ , ber.: 1226.4), 1218.5 (18 %,  $[M + 1 + Na + H]^{2+}$ , ber.: 1218.4), 1207.5 (100 %,  $[M + 1 + 2H]^{2+}$ , ber.: 1207.5).

$C_{99}H_{145}N_{13}O_{56}$  (2413.3)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-4-*O*-{3-*O*-[(5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-*O*-{ $\beta$ -D-arabino-pyranosyl}-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyl-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyl-L-glutamyl-L-seryll-L-glutamyl-L-asparaginsäure (2)**

(Ac-Gly-Asn( $\beta$ -[Ara]-sLe<sup>x</sup>COOH)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Eine Lösung von 78.0 mg (32.3  $\mu$ mol) Ac-Gly-Asn( $\beta$ -Ac<sub>11</sub>-[Ara]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**110**) in 15 ml Methanol wird so lange mit Natrium-methanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5-9.5 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von Essigsäure, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und nimmt den Rückstand in 15 ml Wasser auf. Die resultierende Lösung wird durch 1 M Natronlauge auf einen pH-Wert von 9.5-10.5 gebracht und 15 h gerührt. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt durch eine präparative RP-HPLC ( $R_t = 63.6$ -67.4 min, Säule B, Gradient M, mit 0.1 % TFA).

Ausbeute: 46.4 mg (24.0  $\mu$ mol, 74 %; 24 %, bezogen auf die Startaminosäure am Harz); farbloses Lyophilisat;  $[\alpha]_D^{23} = -47$  ( $c = 0.5$ , H<sub>2</sub>O);  $R_t = 16.4$  min (Säule A, Gradient N, mit 0.1 % TFA).

600 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, NOESY, ROESY, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 8.29 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,1} = 8.2$  Hz, Glc-1-NH), 8.20 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.6$  Hz, Asp-NH), 8.15-8.13 (m, 2H, Asn-NH, Gly-NH), 8.02-7.95 (m, 4H, Glc-2-NH, Glu<sup>2</sup>-NH, Glu<sup>4</sup>-NH, Sia-NH), 7.86 (db, 2H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 6.5$  Hz, 2 x Leu-NH), 7.82 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.3$  Hz, Glu<sup>6</sup>-NH), 7.80 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.3$  Hz, Ser-NH), 7.72 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.6$  Hz, Thr-NH), 4.99 (s<sub>b</sub>, 1H, OH), 4.93-4.91 (m, 2H, Thr-OH {4.92}, Glc-1 {4.91}), 4.90 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 3.5$  Hz, Ara-1), 4.71 (s<sub>b</sub>, 1H, Glc-6-OH), 4.56-4.44 (m, 5H, Asn- $\alpha$  {4.52}, Asp- $\alpha$  {4.48}, Ara-5a {4.46}, 2 x OH), 4.35 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 7.1$  Hz, Gal-1), 4.30-4.20 (m, 8H, 3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ , Ser- $\alpha$ , 2 x OH), 4.12 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{\alpha,\beta} = 4.9$  Hz, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.2$  Hz, Thr- $\alpha$ ), 3.93 (m<sub>c</sub>, 1H, Thr- $\beta$ ),

3.84-3.75 (m, 2H, Gal-3 {3.81}, Glc-6a {3.78}), 3.75-3.70 (m, 2H, Glc-2 {3.72}, Gal-4 {3.71}), 3.69-3.63 (m, 5H, 2 x Gly- $\alpha$  {3.67}, Glc-3 {3.67}, Ara-4 {3.65}, Glc-6b {3.64}), 3.62-3.54 (m, 6H, Glc-4 {3.60}, Sia-9a {3.58}, Ser- $\beta$ a {3.57}, Sia-4 {3.57}, Sia-8 {3.56}, Ara-3 {3.55}), 3.53-3.34 (m, 7H, Ser- $\beta$ b {3.51}, Sia-5 {3.50}, Gal-6a {3.45}, Ara-2 {3.42}, Gal-6b {3.39}, Sia-6 {3.38}, Sia-9b {3.36}), 3.30 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-2), 3.26-3.21 (m, 2H, Sia-7 {3.24}, Glc-5 {3.22}), 3.19-3.13 (m, 2H, Gal-5 {3.18}, Ara-5b {3.16}), 2.65 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta a} = 6.2$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.7$  Hz, Asp- $\beta$ a), 2.59-2.52 (m, 3H, Asn- $\beta$ a {2.57}, Asp- $\beta$ b {2.55}, Sia-3<sub>äq</sub> {2.54}), 2.42 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\beta$ b), 2.29-2.18 (m, 6H, Glu- $\gamma$ ), 1.93-1.87 (m, 3H, Glu- $\beta$ ), 1.85, 1.84, 1.78 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.76-1.70 (m, 3H, Glu- $\beta$ ), 1.64-1.55 (m, 3H, 2 x Leu- $\gamma$ , Sia-3<sub>ax</sub> {1.63}), 1.50-1.41 (m, 4H, Leu- $\beta$ ), 1.01 (d, 3H,  $^3J_{\beta,\gamma} = 6.2$  Hz, Thr- $\gamma$ ), 0.85 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu- $\delta$ ), 0.81 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu- $\delta$ ).

Die OH- und COOH-Signale konnten nicht alle detektiert bzw. eindeutig zugewiesen werden. Das für die RP-HPLC verwendete Acetonitril enthält ca. 0.0005 % Ammoniak. Da dem Laufmittel 0.1 % Trifluoressigsäure zugesetzt wird, entsteht in entsprechenden Mengen NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Dieses verursacht das stark verbreiterte Signal bei  $\delta = 7.10$  ppm (vgl. Spektrenanhang S. 184). Verbindung **2** (46.4 mg) enthält damit ca. 0.09 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

150.9 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, HMQC, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 174.14, 174.12, 174.09, 172.24, 172.22, 172.1, 171.8, 171.6, 171.1, 171.0, 170.9, 170.4, 170.3, 170.0, 169.9, 169.8, 169.3 (19 x C=O), 102.3 (Gal-1), 99.0 (Ara-1), 98.7 (Sia-2), 78.2 (Glc-1), 77.5 (Glc-5), 76.0 (Gal-3), 75.9 (Glc-3), 74.8 (Gal-5), 73.6 (Sia-6), 73.4 (Glc-4), 71.1 (Sia-8), 68.9 (Ara-4), 68.64 (Ara-2), 68.57 (Ara-3), 68.5 (Gal-2), 68.4 (Sia-7), 66.9 (Gal-4), 66.8 (Sia-4), 66.4 (Thr- $\beta$ ), 63.7 (Ara-5), 63.2 (Sia-9), 61.7 (Ser- $\beta$ ), 59.9 (Gal-6), 59.2 (Glc-6), 58.6 (Thr- $\alpha$ ), 54.9 (Ser- $\alpha$ ), 54.4 (Glc-2), 52.2 (Sia-5), 52.0, 51.9, 51.7, 51.5, 51.1 (3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ ), 49.5 (Asn- $\alpha$ ), 48.6 (Asp- $\alpha$ ), 42.2 (Gly- $\alpha$ ), 40.5, 40.3 (2 x Leu- $\beta$ , Sia-3), 36.9 (Asn- $\beta$ ), 36.0 (Asp- $\beta$ ), 30.2, 30.1, 30.0 (3 x Glu- $\gamma$ ), 27.5 (Glu- $\beta$ ), 27.2 (2 x Glu- $\beta$ ), 24.12, 24.08 (2 x Leu- $\gamma$ ), 23.1 (2 x Leu- $\delta$ ), 22.9, 22.7, 22.4 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 21.6, 21.5 (2 x Leu- $\delta$ ), 19.6 (Thr- $\gamma$ ).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv [*m/z*] = 1974.7 (8 %, [M + K]<sup>+</sup>, ber.: 1974.7), 1958.8 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1958.7), 1936.8 (99 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1936.8), 1645.7 (75 %, [M - Sia + H]<sup>+</sup>, ber.: 1645.7), 1513.7 (50 %, [M - Sia - Ara + H]<sup>+</sup>, ber.: 1513.6), 1351.6 (63 %, [M - Sia - Ara - Gal + H]<sup>+</sup>, ber.: 1351.6), 990.9 (57 %, [M + 2Na]<sup>2+</sup>, ber.: 990.9).

HR-ESI-MS (mit 0.1 % TFA), positiv [*m/z*] = 1958.7511 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1958.7477).

C<sub>76</sub>H<sub>121</sub>N<sub>13</sub>O<sub>45</sub> (1936.8)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-3-*O*-{2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-galactopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*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}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyll-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyll-L-glutamyl-L-seryll-L-glutamyl-L-asparaginsäure (111)**

(Ac-Gly-Asn( $\beta$ -Ac<sub>12</sub>-[L-Gal]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Die automatisierte Glycopeptid-Festphasensynthese wird ausgehend von 370 mg (0.100 mmol) eines Fmoc-Asp(O<sup>t</sup>Bu)-PHB vorbeladenen TentaGel<sup>®</sup>-Harzes (Beladung: 0.27 mmol/g) nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll (vgl. Seite 156) durchgeführt. Für den Einbau der Glycosylaminosäure **103** wird die automatisierte Synthese nach erfolgter Fmoc-Abspaltung gestoppt und das Harz mit einer extern angesetzten Lösung aus 338 mg (0.200 mmol) Fmoc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>12</sub>-[L-Gal]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-OH (**103**), 84 mg (0.22 mmol) HATU, 30 mg (0.22 mmol) HOAt, 48.5  $\mu$ l (44.6 mg, 0.441 mmol) *N*-Methylmorpholin in 2 ml *N*-Methylpyrrolidin-2-on versetzt und 6 h geschüttelt. Nach Beendigung der Kupplung werden die überschüssigen Reagenzien abfiltriert und das Harz wird mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen und anschließend mit Capping-Reagenz versetzt. Die Anknüpfung der letzten Aminosäure Glycin findet wieder nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll statt. Nach dieser letzten Kupplung wird die aminoterminal Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung des Harzes mit einer 20%igen Lösung von Piperidin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on entfernt und der nun freie Aminoterminus wird mit Capping-Reagenz acetyliert. Zur Abspaltung des Glycopeptids vom Harz und zur gleichzeitigen Deblockierung der Seitenkettenfunktionalitäten der Aminosäuren überführt man das Harz in einen Festphasenreaktor nach Merrifield und schüttelt es 2 h in einer Mischung aus 10 ml Trifluoressigsäure, 10 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan. Das Harz wird abfiltriert und zweimal mit je 10 ml eines Trifluoressigsäure-Dichlormethan-Gemischs (v:v = 1:1) gewaschen. Man gibt zu den vereinigten Filtraten 70 ml Toluol und entfernt die Lösungsmittel i. Vak., wobei man durch die dreimalige Zugabe von je 20 ml Toluol darauf achtet, das sich die Trifluoressigsäure nicht aufkonzentriert. Das Rohprodukt wird durch eine präparative RP-HPLC gereinigt ( $R_t$  = 98.6-103.4 min, Säule B, Gradient M, mit 0.1 % TFA), wodurch die zu ca. 54 % (durch analytische RP-HPLC bestimmt) entstandene Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**) und andere Verunreinigungen abgetrennt werden können. Von einem Massenspektrum abgesehen wird das Produkt **111** ohne weitere Charakterisierung zum deblockierten Glycopeptid **3** umgesetzt.

Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**), nicht isoliert, nur analytische RP-HPLC und ESI-MS:  $R_t = 34.5$  min (Säule A, Gradient L, mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv  $[m/z] = 1015.5$  (4 %,  $[M + K]^+$ , ber.: 1015.4), 999.5 (6 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 999.4), 977.5 (100 %,  $[M + H]^+$ , ber.: 977.4).

Produkt **111**: 65.0 mg (26.2  $\mu\text{mol}$ , 26 %, bezogen auf die Startamino-säure am Harz); farbloses Lyophilisat;  $R_t = 52.4$  min (Säule A, Gradient L, mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv  $[m/z] = 2486.1$  (7 %,  $[M + 1 + H]^+$ , ber.: 2485.9), 2155.0 (43 %,  $[M - L\text{-Gal} + H]^+$ , ber.: 2154.8), 2012.0 (65 %,  $[M - \text{Sia} + H]^+$ , ber.: 2011.8), 1723.8 (64 %,  $[M - \text{Sia} - \text{Gal} + H]^+$ , ber.: 1723.7), 1243.6 (100 %,  $[M + 1 + 2H]^{2+}$ , ber.: 1243.5).

$\text{C}_{102}\text{H}_{149}\text{N}_{13}\text{O}_{58}$  (2485.3)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-4-*O*-{3-*O*-[(5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-2-desoxy-3-*O*-{ $\alpha$ -L-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyl-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyl-L-glutamyl-L-seryll-L-glutamyl-L-asparaginsäure (3)**

(Ac-Gly-Asn( $\beta$ -[L-Gal]-sLe<sup>x</sup>COOH)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Eine Lösung von 65.0 mg (26.2  $\mu\text{mol}$ ) Ac-Gly-Asn( $\beta$ -Ac<sub>12</sub>-[L-Gal]-sLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**111**) in 15 ml Methanol wird so lange mit Natrium-methanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5-9.5 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von Essigsäure, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und nimmt den Rückstand in 15 ml Wasser auf. Die resultierende Lösung wird durch 1 M Natronlauge auf einen pH-Wert von 9.5-10.5 gebracht und 15 h gerührt. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt durch eine präparative RP-HPLC ( $R_t = 64.1$ -68.8 min, Säule B, Gradient M, mit 0.1 % TFA).

Ausbeute: 49.0 mg (24.9  $\mu\text{mol}$ , 95 %; 25 %, bezogen auf die Startamino-säure am Harz); farbloses Lyophilisat;  $[\alpha]_D^{23} = -45$  ( $c = 0.5$ , H<sub>2</sub>O);  $R_t = 17.4$  min (Säule A, Gradient N, mit 0.1 % TFA).

600 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, NOESY, ROESY, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 8.29 (d<sub>b</sub>, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH,1</sub> = 7.9 Hz, Glc-1-NH), 8.20 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH, $\alpha$</sub>  = 7.6 Hz, Asp-NH), 8.15-8.12 (m, 2H, Asn-NH, Gly-NH), 8.01-7.94 (m, 4H, Glc-2-NH, Glu<sup>2</sup>-NH, Glu<sup>4</sup>-NH, Sia-NH), 7.87-7.84 (m, 2H, 2 x Leu-NH), 7.82 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH, $\alpha$</sub>  = 7.9 Hz, Glu<sup>6</sup>-NH), 7.80 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH, $\alpha$</sub>  = 7.1 Hz, Ser-NH), 7.72 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>NH, $\alpha$</sub>  = 7.0 Hz, Thr-NH), 5.01 (s<sub>b</sub>, 1H, OH), 4.96-4.91 (m, 2H,

Thr-OH {4.94}, Glc-1 {4.92}), 4.86 (m<sub>c</sub>, 1H, L-Gal-1), 4.71 (s<sub>b</sub>, 1H, Glc-6-OH), 4.60-4.46 (m, 5H, L-Gal-5 {4.56}, Sia-7-OH {4.55}, Asn- $\alpha$  {4.53}, Asp- $\alpha$  {4.48}, OH), 4.42-4.36 (m, 2H, Gal-1 {4.38}, OH), 4.30-4.20 (m, 7H, 3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ , Ser- $\alpha$ , OH), 4.12 (m<sub>c</sub>, 1H, Thr- $\alpha$ ), 3.96-3.90 (m, 2H, Thr- $\beta$  {3.94}, Glc-6a {3.91}), 3.86 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-3), 3.74-3.63 (m, 7H, L-Gal-4 {3.71}, Glc-2 {3.68}, Gal-4 {3.67}, Glc-3 {3.66}, 2 x Gly- $\alpha$  {3.66}, Glc-6b {3.64}), 3.61-3.55 (m, 5H, Glc-4 {3.59}, Sia-8 {3.58}, Sia-9a {3.58}, Ser- $\beta$ a {3.57}, Sia-4 {3.56}), 3.53-3.32 (m, 10H, Ser- $\beta$ b {3.51}, Sia-5 {3.49}, L-Gal-2 {3.45}, L-Gal-3 {3.45}, Gal-6a {3.44}, L-Gal-6a {3.44}, Sia-6 {3.39}, Sia-9b {3.37}, Gal-6b {3.35}, L-Gal-6b {3.35}), 3.29-3.14 (m, 4H, Gal-2 {3.27}, Sia-7 {3.24}, Glc-5 {3.22}, Gal-5 {3.20}), 2.66 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta a} = 6.2$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.7$  Hz, Asp- $\beta$ a), 2.60-2.52 (m, 3H, Asn- $\beta$ a {2.57}, Sia-3<sub>äq</sub> {2.56}, Asp- $\beta$ b {2.54}), 2.42 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\beta$ b), 2.28-2.19 (m, 6H, Glu- $\gamma$ ), 1.94-1.87 (m, 3H, Glu- $\beta$ ), 1.86, 1.84, 1.78 (3 x s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.75-1.69 (m, 3H, Glu- $\beta$ ), 1.62-1.55 (m, 3H, 2 x Leu- $\gamma$ , Sia-3<sub>ax</sub> {1.58}), 1.50-1.41 (m, 4H, Leu- $\beta$ ), 1.01 (d, 3H,  $^3J_{\beta,\gamma} = 6.2$  Hz, Thr- $\gamma$ ), 0.86 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu- $\delta$ ), 0.81 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu- $\delta$ ). Die OH- und COOH-Signale konnten nicht alle detektiert bzw. eindeutig zugewiesen werden. Das für die RP-HPLC verwendete Acetonitril enthält ca. 0.0005 % Ammoniak. Da dem Laufmittel 0.1 % Trifluoressigsäure zugesetzt wird, entsteht in entsprechenden Mengen NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Dieses verursacht das stark verbreiterte Signal bei  $\delta = 7.10$  ppm (vgl. Spektrenanhang S. 186). Verbindung **3** (49.0 mg) enthält damit ca. 0.12 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

150.9 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, HMQC, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 174.2, 174.12, 174.10, 172.24, 172.20, 172.11, 172.08, 171.8, 171.6, 171.13, 171.05, 170.9, 170.6, 170.3, 170.0, 169.9, 169.8, 169.3 (19 x C=O), 102.6 (Gal-1), 99.2 (L-Gal-1), 98.7 (Sia-2), 78.1 (Glc-1), 77.5 (Glc-5), 76.8 (Glc-3), 75.8 (Gal-3), 74.9 (Gal-5), 74.1 (Glc-4), 73.6 (Sia-6), 71.1 (Sia-8), 69.6 (L-Gal-2 oder L-Gal-3), 69.1 (L-Gal-5), 68.6 (L-Gal-2 oder L-Gal-3), 68.43, 68.39 (Gal-2, Sia-7), 68.2 (L-Gal-4), 67.3 (Gal-4), 66.8 (Sia-4), 66.4 (Thr- $\beta$ ), 63.2 (Sia-9), 61.7 (Ser- $\beta$ ), 59.64, 59.55 (Gal-6, L-Gal-6), 58.9 (Glc-6), 58.6 (Thr- $\alpha$ ), 54.9 (Ser- $\alpha$ ), 54.6 (Glc-2), 52.3 (Sia-5), 52.1, 52.0, 51.7, 51.5, 51.2 (3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ ), 49.5 (Asn- $\alpha$ ), 48.6 (Asp- $\alpha$ ), 42.2 (Gly- $\alpha$ ), 40.5, 40.3 (2 x Leu- $\beta$ , Sia-3), 36.9 (Asn- $\beta$ ), 36.0 (Asp- $\beta$ ), 30.2, 30.1, 30.0 (3 x Glu- $\gamma$ ), 27.5 (Glu- $\beta$ ), 27.2 (2 x Glu- $\beta$ ), 24.1 (2 x Leu- $\gamma$ ), 23.1 (2 x Leu- $\delta$ ), 22.9, 22.7, 22.5 (3 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 21.6, 21.5 (2 x Leu- $\delta$ ), 19.6 (Thr- $\gamma$ ).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv [*m/z*] = 1988.9 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1988.8), 1966.9 (77 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1966.8), 1804.8 (7 %, [M - L-Gal + H]<sup>+</sup>, ber.: 1804.7), 1675.8 (45 %, [M - Sia + H]<sup>+</sup>, ber.: 1675.7), 1513.7 (94 %, [M - Sia - L-Gal + H]<sup>+</sup>, ber.: 1513.6), 1351.7 (72 %, [M - Neu - L-Gal - Gal + H]<sup>+</sup>, ber.: 1351.6), 1006.0 (78 %, [M + 2Na]<sup>2+</sup>, ber.: 1005.9).

*HR-ESI-MS* (mit 0.1 % TFA), positiv,  $[m/z] = 1988.7568$  (100 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 1988.7583).

$C_{77}H_{123}N_{13}O_{46}$  (1966.9)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyll-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyll-L-glutamyl-L-seryll-L-glutamyl-L-asparaginsäure (112)**  
(Ac-Gly-Asn( $\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Fuc]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Die automatisierte Glycopeptid-Festphasensynthese wird ausgehend von 476 mg (0.100 mmol) eines Fmoc-Asp(O<sup>t</sup>Bu)-PHB vorbeladenen TentaGel<sup>®</sup>-Harzes (Beladung: 0.21 mmol/g) nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll (vgl. Seite 156) durchgeführt. Für den Einbau der Glycosylaminosäure **104** wird die automatisierte Synthese nach erfolgter Fmoc-Abspaltung gestoppt und das Harz mit einer extern angesetzten Lösung aus 266 mg (0.200 mmol) Fmoc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Fuc]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-OH (**104**), 84 mg (0.22 mmol) HATU, 30 mg (0.22 mmol) HOAt, 48.5  $\mu$ l (44.6 mg, 0.441 mmol) *N*-Methylmorpholin in 2 ml *N*-Methylpyrrolidin-2-on versetzt und 6 h geschüttelt. Nach Beendigung der Kupplung werden die überschüssigen Reagenzien abfiltriert und das Harz wird mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen und anschließend mit Capping-Reagenz versetzt. Die Anknüpfung der letzten Aminosäure Glycin findet wieder nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll statt. Nach dieser letzten Kupplung wird die aminoternale Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung des Harzes mit einer 20%igen Lösung von Piperidin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on entfernt und der nun freie Aminoterminus wird mit Capping-Reagenz acetyliert. Zur Abspaltung des Glycopeptids vom Harz und zur gleichzeitigen Deblockierung der Seitenkettenfunktionalitäten der Aminosäuren überführt man das Harz in einen Festphasenreaktor nach Merrifield und schüttelt es 2 h in einer Mischung aus 10 ml Trifluoressigsäure, 10 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan. Das Harz wird abfiltriert und zweimal mit je 10 ml eines Trifluoressigsäure-Dichlormethan-Gemischs (v:v = 1:1) gewaschen. Man gibt zu den vereinigten Filtraten 70 ml Toluol und entfernt die Lösungsmittel i. Vak., wobei man durch die dreimalige Zugabe von je 20 ml Toluol darauf achtet, dass sich die Trifluoressigsäure nicht aufkonzentriert. Als einziges bedeutendes Nebenprodukt entsteht zu ca. 17 % (durch analytische RP-HPLC bestimmt) die Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**). Von einem Massenspektrum abgesehen wird das Produkt **112** ohne weitere Charakterisierung und ohne Reinigung zum deblockierten Glycopeptid **4** umgesetzt.

Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**), nicht isoliert, nur analytische RP-HPLC und ESI-MS:  $R_t = 22.3$  min (Säule A, Gradient N, mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv  $[m/z] = 999.4$  (6 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 999.4), 977.4 (100 %,  $[M + H]^+$ , ber.: 977.4).

Rohprodukt **112**: 178 mg; farbloser amorpher Feststoff;  $R_t = 37.1$  min (Säule A, Gradient N, mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv  $[m/z] = 2144.9$  (100 %,  $[M + 1 + Na]^+$ , ber.: 2144.9), 1084.0 (43 %,  $[M + 1 + 2Na]^{2+}$ , ber.: 1083.9).

$C_{90}H_{136}N_{12}O_{46}$  (2122.1)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-4-*O*-{3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-carboxy-ethyl]-β-D-galactopyranosyl}-2-desoxy-3-*O*-{α-L-fucopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-L-asparaginyl-L-leucyl-L-threonyl-L-glutamyl-L-leucyl-L-glutamyl-L-seryl-L-glutamyl-L-asparaginsäure (4)**

(Ac-Gly-Asn(β-[Fuc]-cycloLe<sup>x</sup>COOH)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Eine Lösung von 178 mg roher Ac-Gly-Asn(β-Ac<sub>7</sub>-[Fuc]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**112**) in 15 ml Methanol wird so lange mit Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5-9.5 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von Essigsäure, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und nimmt den Rückstand in 15 ml Wasser auf. Die resultierende Lösung wird durch 1 M Natronlauge auf einen pH-Wert von 9.5-10.5 gebracht und 15 h gerührt. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt durch eine präparative RP-HPLC ( $R_t = 65.9-68.8$  min, Säule B, Gradient M, mit 0.1 % TFA).

Ausbeute: 74.5 mg (41.1 μmol, 41 %, bezogen auf die Startamino-säure am Harz); farbloses Lyophilisat;  $[\alpha]_D^{23} = -60$  ( $c = 0.5$ , H<sub>2</sub>O);  $R_t = 23.3$  min (Säule A, Gradient N, mit 0.1 % TFA).

600 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, NOESY, ROESY, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 8.30 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,1} = 8.8$  Hz, Glc-1-NH), 8.17 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 6.2$  Hz, Asp-NH), 8.15-8.12 (m, 2H, Asn-NH, Gly-NH), 8.01-7.96 (m, 3H, Glc-2-NH, Glu<sup>2</sup>-NH, Glu<sup>4</sup>-NH), 7.87-7.84 (m, 2H, 2 x Leu-NH), 7.83 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.3$  Hz, Glu<sup>6</sup>-NH), 7.80 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.3$  Hz, Ser-NH), 7.72 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 6.8$  Hz, Thr-NH), 5.19 (s<sub>b</sub>, 1H, OH), 4.92 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.8$  Hz, Glc-1), 4.89 (m<sub>c</sub>, 1H, Thr-OH), 4.83 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 3.5$  Hz, Fuc-1), 4.75 (s<sub>b</sub>, 1H, OH), 4.63 (m<sub>c</sub>, 1H, Fuc-5), 4.55-4.52 (m, 2H, Asn-α, OH), 4.47 (m<sub>c</sub>, 1H, Asp-α), 4.33-4.21 (m, 9H, CHCOOH

{4.31}, Gal-1 {4.28}, 3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ , Ser- $\alpha$ , OH), 4.14-4.09 (m, 2H, Thr- $\alpha$ , OH), 3.93 (m<sub>c</sub>, 1H, Thr- $\beta$ ), 3.79-3.74 (m, 2H, Gal-4 {3.77}, Glc-6a {3.75}), 3.70 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-2), 3.68-3.55 (m, 6H, 2 x Gly- $\alpha$  {3.66}, Glc-3 {3.65}, Glc-6b {3.63}, Glc-4 {3.58}, Ser- $\beta$ a {3.57}), 3.54-3.48 (m, 3H, Fuc-3 {3.52}, Ser- $\beta$ b {3.51}, Gal-6a {3.50}), 3.46-3.36 (m, 4H, Fuc-4 {3.45}, Gal-2 {3.42}, Fuc-2 {3.39}, Gal-6b {3.38}), 3.25 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 3.20 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-5), 3.12 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-3), 2.65 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta a} = 6.4$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.3$  Hz, Asp- $\beta$ a), 2.60-2.51 (m, 2H, Asn- $\beta$ a {2.58}, Asp- $\beta$ b {2.53}), 2.41 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\beta$ b), 2.26-2.21 (m, 6H, Glu- $\gamma$ ), 1.94-1.85 (m, 4H, Cyclo-CH<sub>2</sub> {1.85}, 3 x Glu- $\beta$ ), 1.84, 1.78 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.76-1.69 (m, 3H, Glu- $\beta$ ), 1.66-1.57 (m, 7H, 4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>, Cyclo-CH {1.63}, 2 x Leu- $\gamma$ ), 1.51-1.40 (m, 6H, 2 x CH<sub>2</sub>CHCOOH, 4 x Leu- $\beta$ ), 1.22-1.08 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.02 (d, 3H,  $^3J_{\beta,\gamma} = 6.2$  Hz, Thr- $\gamma$ ), 0.99 (d, 3H,  $^3J_{5,6} = 6.5$  Hz, Fuc-6), 0.90 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 0.86 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu- $\delta$ ), 0.81 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu- $\delta$ ), 0.80 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

Die OH- und COOH-Signale konnten nicht alle detektiert bzw. eindeutig zugewiesen werden.

*150.9 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, HMQC, DMSO-d<sub>6</sub>):*  $\delta$  [ppm] = 176.3, 174.11, 174.09, 172.2, 172.1, 171.1, 171.0, 170.9, 170.4, 170.0, 169.8, 169.3 (18 x C=O), 101.9 (Gal-1), 98.9 (Fuc-1), 82.0 (Gal-3), 78.0 (Glc-1), 77.5 (Glc-5), 76.1 (Glc-3), 76.0 (CHCOOH), 74.2 (Gal-5), 73.2 (Glc-4), 71.6 (Fuc-4), 70.7 (Gal-2), 69.4 (Fuc-3), 68.2 (Fuc-2), 66.5 (Thr- $\beta$ ), 65.9 (Fuc-5), 65.5 (Gal-4), 61.7 (Ser- $\beta$ ), 59.6 (Gal-6), 59.2 (Glc-6), 58.6 (Thr- $\alpha$ ), 54.9 (Ser- $\alpha$ ), 54.4 (Glc-2), 52.0, 51.9, 51.7, 51.4, 51.1 (3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ ), 49.4 (Asn- $\alpha$ ), 48.6 (Asp- $\alpha$ ), 42.2 (Gly- $\alpha$ ), 40.5, 40.4 (2 x Leu- $\beta$ , CH<sub>2</sub>CHCOOH), 36.9 (Asn- $\beta$ ), 36.1 (Asp- $\beta$ ), 33.5 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 32.9 (Cyclo-CH), 31.7 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 30.2, 30.1, 30.0 (3 x Glu- $\gamma$ ), 27.5 (Glu- $\beta$ ), 27.3 (2 x Glu- $\beta$ ), 26.2, 25.9, 25.7 (3 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 24.1 (2 x Leu- $\gamma$ ), 23.2, 23.1 (2 x Leu- $\delta$ ), 22.9, 22.4 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 21.6, 21.5 (2 x Leu- $\delta$ ), 19.6 (Thr- $\gamma$ ), 16.5 (Fuc-6).

*ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv [m/z]* = 1835.8 (61 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1835.8), 1813.8 (100 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1813.8), 1667.8 (33 %, [M - Fuc + H]<sup>+</sup>, ber.: 1667.7), 1351.6 (31 %, [M - Cyclohexylmilchsäure - Fuc - Gal + H]<sup>+</sup>, ber.: 1351.6), 929.4 (49 %, [M + 2Na]<sup>2+</sup>, ber.: 929.4).

*HR-ESI-MS (mit 0.1 % TFA), positiv, [m/z]* = 1835.7638 (100 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1835.7673).

C<sub>75</sub>H<sub>120</sub>N<sub>12</sub>O<sub>39</sub> (1813.8)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyl-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyl-L-glutamyl-L-seryll-L-glutamyl-L-asparaginsäure (113)**  
(Ac-Gly-Asn( $\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Ara]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Die automatisierte Glycopeptid-Festphasensynthese wird ausgehend von 370 mg (0.100 mmol) eines Fmoc-Asp(O<sup>t</sup>Bu)-PHB vorbeladenen TentaGel<sup>®</sup>-Harzes (Beladung: 0.27 mmol/g) nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll (vgl. Seite 156) durchgeführt. Für den Einbau der Glycosylaminosäure **105** wird die automatisierte Synthese nach erfolgter Fmoc-Abspaltung gestoppt und das Harz mit einer extern angesetzten Lösung aus 263 mg (0.200 mmol) Fmoc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Ara]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-OH (**105**), 84 mg (0.22 mmol) HATU, 30 mg (0.22 mmol) HOAt, 48.5  $\mu$ l (44.6 mg, 0.441 mmol) *N*-Methylmorpholin in 2 ml *N*-Methylpyrrolidin-2-on versetzt und 6 h geschüttelt. Nach Beendigung der Kupplung werden die überschüssigen Reagenzien abfiltriert und das Harz wird mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen und anschließend mit Capping-Reagenz versetzt. Die Anknüpfung der letzten Aminosäure Glycin findet wieder nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll statt. Nach dieser letzten Kupplung wird die aminoterminalen Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung des Harzes mit einer 20%igen Lösung von Piperidin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on entfernt und der nun freie Aminoterminus wird mit Capping-Reagenz acetyliert. Zur Abspaltung des Glycopeptids vom Harz und zur gleichzeitigen Deblockierung der Seitenkettenfunktionalitäten der Aminosäuren überführt man das Harz in einen Festphasenreaktor nach Merrifield und schüttelt es 2 h in einer Mischung aus 10 ml Trifluoressigsäure, 10 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan. Das Harz wird abfiltriert und zweimal mit je 10 ml eines Trifluoressigsäure-Dichlormethan-Gemischs (v:v = 1:1) gewaschen. Man gibt zu den vereinigten Filtraten 70 ml Toluol und entfernt die Lösungsmittel i. Vak., wobei man durch die dreimalige Zugabe von je 20 ml Toluol darauf achtet, dass sich die Trifluoressigsäure nicht aufkonzentriert. Das Rohprodukt wird durch eine präparative RP-HPLC gereinigt ( $R_t$  = 118.3-121.2 min, Säule B, Gradient M, mit 0.1 % TFA), wodurch die zu ca. 22 % (durch analytische RP-HPLC bestimmt) entstandene Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**) und andere Verunreinigungen abgetrennt werden können. Von einem Massenspektrum abgesehen wird das Produkt **113** ohne weitere Charakterisierung zum deblockierten Glycopeptid **5** umgesetzt.

Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**), nicht isoliert, nur analytische RP-HPLC und ESI-MS:  $R_t$  = 33.8 min (Säule A, Gradient L, mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv  $[m/z] = 999.4$  (6 %,  $[M + Na]^+$ , ber.: 999.4), 977.4 (100 %,  $[M + H]^+$ , ber.: 977.4).

Produkt **113**: 90.0 mg (42.7  $\mu$ mol, 43 %, bezogen auf die Startaminosäure am Harz); farbloses Lyophilisat;  $R_t = 59.9$  min (Säule A, Gradient L, mit 0.1 % TFA).

ESI-MS (Gerät 2), positiv  $[m/z] = 2189.8$  (5 %,  $[M + 2Na + K - 2H]^+$ , ber.: 2189.8), 2173.9 (2 %,  $[M + 3Na - 2H]^+$ , ber.: 2173.8), 1106.4 (100 %,  $[M + 3Na + K - 2H]^{2+}$ , ber.: 1106.4).  $C_{89}H_{134}N_{12}O_{46}$  (2108.1)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-3-*O*-{ $\beta$ -D-arabinopyranosyl}-4-*O*-{3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-carboxy-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyl-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyl-L-glutamyl-L-seryll-L-glutamyl-L-asparaginsäure (5)**

(Ac-Gly-Asn( $\beta$ -[Ara]-cycloLe<sup>x</sup>COOH)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Eine Lösung von 90.0 mg (42.7  $\mu$ mol) Ac-Gly-Asn( $\beta$ -Ac<sub>7</sub>-[Ara]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**113**) in 15 ml Methanol wird so lange mit Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5-9.5 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von Essigsäure, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und nimmt den Rückstand in 15 ml Wasser auf. Die resultierende Lösung wird durch 1 M Natronlauge auf einen pH-Wert von 9.5-10.5 gebracht und 15 h gerührt. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt durch eine präparative RP-HPLC ( $R_t = 86.0$ -91.4 min, Säule B, Gradient M, mit 0.1 % TFA).

Ausbeute: 69.8 mg (38.8  $\mu$ mol, 91 %; 39 %, bezogen auf die Startaminosäure am Harz); farbloses Lyophilisat;  $[\alpha]_D^{23} = -29$  ( $c = 0.5$ , H<sub>2</sub>O);  $R_t = 22.6$  min (Säule A, Gradient N, mit 0.1 % TFA).

600 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, NOESY, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 8.31 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,1} = 8.2$  Hz, Glc-1-NH), 8.17 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.4$  Hz, Asp-NH), 8.14-8.10 (m, 2H, Asn-NH, Gly-NH), 8.02-7.97 (m, 3H, Glc-2-NH, Glu<sup>2</sup>-NH, Glu<sup>4</sup>-NH), 7.88-7.85 (m, 2H, 2 x Leu-NH), 7.83 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.6$  Hz, Glu<sup>6</sup>-NH), 7.80 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.3$  Hz, Ser-NH), 7.72 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.1$  Hz, Thr-NH), 5.21 (s<sub>b</sub>, 1H, OH), 4.94-4.88 (m, 3H, Glc-1 {4.91}, Thr-OH {4.90}, Ara-1 {4.89}), 4.76 (s<sub>b</sub>, 1H, OH), 4.56-4.43 (m, 4H, Asn- $\alpha$  {4.53}, Ara-5a {4.47}, Asp- $\alpha$  {4.45}, OH), 4.37-4.20 (m, 10H, Gal-1 {4.29}, CHCOOH {4.27}, 3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ , Ser- $\alpha$ , 2 x OH), 4.12 (m<sub>c</sub>, 1H, Thr- $\alpha$ ), 3.93 (m<sub>c</sub>, 1H, Thr- $\beta$ ), 3.80 (s<sub>b</sub>, 1H, Gal-4), 3.74-3.70 (m, 2H, Glc-6a {3.72}, Glc-2 {3.71}), 3.69-3.61 (m, 5H, Ara-4 {3.68}, Glc-3

{3.66}, 2 x Gly- $\alpha$  {3.66}, Glc-6b {3.62}), 3.60-3.37 (m, 8H, Glc-4 {3.60}, Ser- $\beta$ a {3.57}, Ara-3 {3.54}, Ser- $\beta$ b {3.51}, Gal-6a {3.49}, Ara-2 {3.42}, Gal-2 {3.41}, Gal-6b {3.39}), 3.25 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 3.20 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-5), 3.15 (m<sub>c</sub>, 1H, Ara-5b), 3.10 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-3), 2.64 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta a} = 6.2$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.4$  Hz, Asp- $\beta$ a), 2.58 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\beta$ a), 2.53 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta b} = 6.2$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.4$  Hz, Asp- $\beta$ b), 2.41 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\beta$ b), 2.28-1.19 (m, 6H, Glu- $\gamma$ ), 1.94-1.84 (m, 4H, Cyclo-CH<sub>2</sub> {1.84}, 3 x Glu- $\beta$ ), 1.84, 1.78 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.76-1.69 (m, 3H, Glu- $\beta$ ), 1.64-1.54 (m, 7H, 4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>, Cyclo-CH {1.62}, 2 x Leu- $\gamma$ ), 1.52-1.40 (m, 6H, 2 x CH<sub>2</sub>CHCOOH, 4 x Leu- $\beta$ ), 1.23-1.08 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.01 (d, 3H,  $^3J_{\beta,\gamma} = 6.2$  Hz, Thr- $\gamma$ ), 0.88 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 0.85 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.2$  Hz, Leu- $\delta$ ), 0.81 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu- $\delta$ ), 0.77 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

Die OH- und COOH-Signale konnten nicht alle detektiert bzw. eindeutig zugewiesen werden. Das für die RP-HPLC verwendete Acetonitril enthält ca. 0.0005 % Ammoniak. Da dem Laufmittel 0.1 % Trifluoressigsäure zugesetzt wird, entsteht in entsprechenden Mengen NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Dieses verursacht das stark verbreiterte Signal bei  $\delta = 7.10$  ppm (vgl. Spektrenanhang S. 190). Verbindung **5** (69.8 mg) enthält damit ca. 0.11 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

150.9 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, HMQC, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 176.3, 174.13, 174.12, 174.09, 172.3, 172.2, 172.1, 171.7, 171.1, 171.0, 170.9, 170.4, 170.2, 170.0, 169.8, 169.3 (18 x C=O), 102.0 (Gal-1), 99.2 (Ara-1), 81.8 (Gal-3), 78.1 (Glc-1), 77.5 (Glc-5), 76.3 (CHCOOH), 76.0 (Glc-3), 74.4 (Gal-5), 73.2 (Glc-4), 70.7 (Gal-2), 68.8 (Ara-4), 68.63 (Ara-2), 68.57 (Ara-3), 66.5 (Thr- $\beta$ ), 65.7 (Gal-4), 63.8 (Ara-5), 61.7 (Ser- $\beta$ ), 59.6 (Gal-6), 59.1 (Glc-6), 58.6 (Thr- $\alpha$ ), 54.9 (Ser- $\alpha$ ), 54.4 (Glc-2), 52.0, 51.9, 51.7, 51.4, 51.1 (3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ ), 49.4 (Asn- $\alpha$ ), 48.6 (Asp- $\alpha$ ), 42.2 (Gly- $\alpha$ ), 40.8, 40.5, 40.3 (2 x Leu- $\beta$ , CH<sub>2</sub>CHCOOH), 36.9 (Asn- $\beta$ ), 36.2 (Asp- $\beta$ ), 33.5 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 32.8 (Cyclo-CH), 31.7 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 30.2, 30.1, 30.0 (3 x Glu- $\gamma$ ), 27.4 (Glu- $\beta$ ), 27.3 (2 x Glu- $\beta$ ), 26.2, 25.9, 25.6 (3 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 24.12, 24.08 (2 x Leu- $\gamma$ ), 23.14, 23.12 (2 x Leu- $\delta$ ), 22.9, 22.5 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 21.6, 21.5 (2 x Leu- $\delta$ ), 19.6 (Thr- $\gamma$ ).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv [*m/z*] = 1822.0 (97 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1821.8), 1800.0 (100 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1799.8), 1668.0 (9 %, [M – Cyclohexylmilchsäure + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1667.7), 1373.8 (6 %, [M – Fuc – Gal – Cyclohexylmilchsäure + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1373.6), 922.5 (20 %, [M + 2Na]<sup>2+</sup>, ber.: 922.4).

HR-ESI-MS (mit 0.1 % TFA), positiv, [*m/z*] = 1799.7725 (100 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1799.7698).

C<sub>74</sub>H<sub>118</sub>N<sub>12</sub>O<sub>39</sub> (1799.8)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-acetamido-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyll-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyll-L-glutamyl-L-seryll-L-glutamyl-L-asparaginsäure (114)**  
(Ac-Gly-Asn( $\beta$ -Ac<sub>8</sub>-[L-Gal]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Die automatisierte Glycopeptid-Festphasensynthese wird ausgehend von 476 mg (0.100 mmol) eines Fmoc-Asp(O<sup>t</sup>Bu)-PHB vorbeladenen TentaGel<sup>®</sup>-Harzes (Beladung: 0.21 mmol/g) nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll (vgl. Seite 156) durchgeführt. Für den Einbau der Glycosylaminosäure **106** wird die automatisierte Synthese nach erfolgter Fmoc-Abspaltung gestoppt und das Harz mit einer extern angesetzten Lösung aus 277 mg (0.200 mmol) Fmoc-Asn( $\beta$ -Ac<sub>8</sub>-[L-Gal]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-OH (**106**), 84 mg (0.22 mmol) HATU, 30 mg (0.22 mmol) HOAt, 48.5  $\mu$ l (44.6 mg, 0.441 mmol) *N*-Methylmorpholin in 2 ml *N*-Methylpyrrolidin-2-on versetzt und 6 h geschüttelt. Nach Beendigung der Kupplung werden die überschüssigen Reagenzien abfiltriert und das Harz wird mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen und anschließend mit Capping-Reagenz versetzt. Die Anknüpfung der letzten Aminosäure Glycin findet wieder nach dem allgemeinen Kupplungsprotokoll statt. Nach dieser letzten Kupplung wird die aminoterminal Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung des Harzes mit einer 20%igen Lösung von Piperidin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on entfernt und der nun freie Aminoterminus wird mit Capping-Reagenz acetyliert. Zur Abspaltung des Glycopeptids vom Harz und zur gleichzeitigen Deblockierung der Seitenkettenfunktionalitäten der Aminosäuren überführt man das Harz in einen Festphasenreaktor nach Merrifield und schüttelt es 2 h in einer Mischung aus 10 ml Trifluoressigsäure, 10 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan. Das Harz wird abfiltriert und zweimal mit je 10 ml eines Trifluoressigsäure-Dichlormethan-Gemischs (v:v = 1:1) gewaschen. Man gibt zu den vereinigten Filtraten 70 ml Toluol und entfernt die Lösungsmittel i. Vak., wobei man durch die dreimalige Zugabe von je 20 ml Toluol darauf achtet, dass sich die Trifluoressigsäure nicht aufkonzentriert. Als einziges bedeutendes Nebenprodukt entsteht zu ca. 10 % (durch analytische RP-HPLC bestimmt) die Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**). Von einem Massenspektrum abgesehen wird das Produkt **114** ohne weitere Charakterisierung und ohne Reinigung zum deblockierten Glycopeptid **6** umgesetzt.

Abbruchsequenz Ac-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**115**), nicht isoliert, nur analytische RP-HPLC und ESI-MS:  $R_t = 21.9$  min (Säule A, Gradient N, mit 0.1 % TFA).  
ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv [ $m/z$ ] = 977.5 (100 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 977.4).

Rohprodukt **114**: 172 mg; farbloser amorpher Feststoff;  $R_t = 27.0$  min (Säule A, Gradient F, mit 0.1 % TFA).

*ESI-MS* (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv [ $m/z$ ] = 2218.9 (2 %,  $[M + 1 + K]^+$ , ber.: 2218.8), 2202.9 (15 %,  $[M + 1 + Na]^+$ , ber.: 2202.9), 2180.9 (100 %,  $[M + 1 + H]^+$ , ber.: 2180.9), 1849.8 (22 %,  $[M - L-Gal + H]^+$ , ber.: 1849.8), 1723.7 (17 %,  $[M - Gal - Cyclohexylmilchsäure + H]^+$ , ber.: 1723.7), 1110.0 (12 %,  $[M + 1 + K + H]^{2+}$ , ber.: 1109.9).

$C_{92}H_{138}N_{12}O_{48}$  (2180.1)

***N*-Acetyl-L-glycyl-*N*<sup>4</sup>-(2-Acetamido-4-*O*-{3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-carboxy-ethyl]- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-2-desoxy-3-*O*-{ $\alpha$ -L-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-L-asparaginyll-L-leucyl-L-threonyll-L-glutamyl-L-leucyl-L-glutamyl-L-seryll-L-glutamyl-L-asparaginsäure (6)**

(Ac-Gly-Asn( $\beta$ -[L-Gal]-cycloLe<sup>x</sup>COOH)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH)

Eine Lösung von 172 mg roher Ac-Gly-Asn( $\beta$ -Ac<sub>8</sub>-[L-Gal]-cycloLe<sup>x</sup>COOMe)-Leu-Thr-Glu-Leu-Glu-Ser-Glu-Asp-OH (**114**) in 15 ml Methanol wird so lange mit Natrium-methanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5-9.5 erreicht ist und anschließend 15 h gerührt. Man neutralisiert die Reaktionsmischung durch Zugabe von Essigsäure, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und nimmt den Rückstand in 15 ml Wasser auf. Die resultierende Lösung wird durch 1 M Natronlauge auf einen pH-Wert von 9.5-10.5 gebracht und 15 h gerührt. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt durch eine präparative RP-HPLC ( $R_t = 61.6$ -64.0 min, Säule B, Gradient P, mit 0.1 % TFA).

Ausbeute: 67.0 mg (36.6  $\mu$ mol, 37 %, bezogen auf die Startaminosäure am Harz); farbloses Lyophilisat;  $[\alpha]_D^{23} = -28$  ( $c = 0.5$ , MeOH);  $R_t = 23.1$  min (Säule A, Gradient N, mit 0.1 % TFA).

600 MHz-<sup>1</sup>H-NMR (<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY, NOESY, ROESY, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 8.29 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,1} = 9.1$  Hz, Glc-1-NH), 8.17 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.9$  Hz, Asp-NH), 8.14-8.12 (m, 2H, Asn-NH, Gly-NH), 8.00-7.98 (m, 2H, Glu<sup>2</sup>-NH, Glu<sup>4</sup>-NH), 7.95 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,2} = 8.2$  Hz, Glc-2-NH), 7.87-7.85 (m, 2H, 2 x Leu-NH), 7.83 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.6$  Hz, Glu<sup>6</sup>-NH), 7.80 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.3$  Hz, Ser-NH), 7.72 (d, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.6$  Hz, Thr-NH), 5.31 (s<sub>b</sub>, 1H, OH), 4.95-4.85 (m, 3H, Glc-1 {4.93}, L-Gal-1 {4.88}, OH), 4.77 (s<sub>b</sub>, 1H, OH), 4.59 (s<sub>b</sub>, 1H, OH), 4.55-4.45 (m, 3H, Asn- $\alpha$  {4.53}, Asp- $\alpha$  {4.50}, L-Gal-5 {4.50}), 4.38 (m<sub>c</sub>, 1H, OH), 4.35-4.21 (m, 9H, CHCOOH {4.34}, Gal-1 {4.31}, 3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ , Ser- $\alpha$ , OH), 4.13 (dd, 1H, <sup>3</sup> $J_{NH,\alpha} = 7.3$  Hz, <sup>3</sup> $J_{\alpha,\beta} = 5.0$  Hz, Thr- $\alpha$ ), 3.93 (m<sub>c</sub>, 1H, Thr- $\beta$ ), 3.84-3.80 (m, 2H, Gal-4 {3.83}, Glc-6a {3.82}), 3.73 (m<sub>c</sub>, 1H, L-Gal-4), 3.70-3.62 (m, 5H, Glc-3 {3.69},

Glc-2 {3.68}, 2 x Gly- $\alpha$  {3.67}, Glc-6b {3.63}), 3.61-3.56 (m, 2H, Glc-4 {3.60}, Ser- $\beta$ a {3.57}), 3.53-3.35 (m, 8H, Ser- $\beta$ b {3.51}, L-Gal-2 {3.47}, Gal-6a {3.47}, L-Gal-3 {3.46}, L-Gal-6a {3.45}, L-Gal-6b {3.40}, Gal-2 {3.40}, Gal-6b {3.37}), 3.26 (m<sub>c</sub>, 1H, Glc-5), 3.22 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-5), 3.13 (m<sub>c</sub>, 1H, Gal-3), 2.64 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta a} = 6.4$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.6$  Hz, Asp- $\beta$ a), 2.57 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\beta$ a), 2.53 (dd, 1H,  $^3J_{\alpha,\beta b} = 6.2$  Hz,  $^2J_{\beta a,\beta b} = 16.4$  Hz, Asp- $\beta$ b), 2.41 (m<sub>c</sub>, 1H, Asn- $\beta$ b), 2.26-2.21 (m, 6H, Glu- $\gamma$ ), 1.94-1.85 (m, 4H, Cyclo-CH<sub>2</sub> {1.85}, 3 x Glu- $\beta$ ), 1.84, 1.78 (2 x s, 6H, CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 1.77-1.69 (m, 3H, Glu- $\beta$ ), 1.64-1.55 (m, 7H, 4 x Cyclo-CH<sub>2</sub>, Cyclo-CH {1.59}, 2 x Leu- $\gamma$ ), 1.52-1.40 (m, 6H, 2 x CH<sub>2</sub>CHCOOH, 4 x Leu- $\beta$ ), 1.24-1.07 (m, 3H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 1.01 (d, 3H,  $^3J_{\beta,\gamma} = 6.2$  Hz, Thr- $\gamma$ ), 0.88 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH<sub>2</sub>), 0.85 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu- $\delta$ ), 0.81 (d, 6H,  $^3J_{\gamma,\delta} = 6.5$  Hz, Leu- $\delta$ ), 0.79 (m<sub>c</sub>, 1H, Cyclo-CH<sub>2</sub>).

Die OH- und COOH-Signale konnten nicht alle detektiert bzw. eindeutig zugewiesen werden.

150.9 MHz-<sup>13</sup>C-NMR (BB, HMQC, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 176.0, 174.14, 174.12, 174.09, 172.21, 172.16, 172.1, 171.6, 171.1, 171.00, 170.96, 170.9, 170.5, 170.00, 169.97, 169.96, 169.8, 169.3 (18 x C=O), 102.3 (Gal-1), 99.1 (L-Gal-1), 81.2 (Gal-3), 78.0 (Glc-1), 77.4 (Glc-5), 76.7 (Glc-3), 76.5 (CHCOOH), 74.5 (Gal-5), 73.8 (Glc-4), 70.9 (Gal-2), 69.5 (L-Gal-3), 69.3 (L-Gal-5), 68.5 (L-Gal-2, L-Gal-4), 66.5 (Thr- $\beta$ ), 66.2 (Gal-4), 61.7 (Ser- $\beta$ ), 60.0 (L-Gal-6), 59.4 (Gal-6), 59.0 (Glc-6), 58.6 (Thr- $\alpha$ ), 54.9 (Ser- $\alpha$ ), 54.5 (Glc-2), 52.0, 51.9, 51.7, 51.4, 51.1 (3 x Glu- $\alpha$ , 2 x Leu- $\alpha$ ), 49.4 (Asn- $\alpha$ ), 48.6 (Asp- $\alpha$ ), 42.2 (Gly- $\alpha$ ), 40.7, 40.5, 40.4 (2 x Leu- $\beta$ , CH<sub>2</sub>CHCOOH), 36.9 (Asn- $\beta$ ), 35.9 (Asp- $\beta$ ), 33.4 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 32.8 (Cyclo-CH), 31.8 (Cyclo-CH<sub>2</sub>), 30.2, 30.1, 30.0 (3 x Glu- $\gamma$ ), 27.5 (Glu- $\beta$ ), 27.3 (2 x Glu- $\beta$ ), 26.2, 25.8, 25.6 (3 x Cyclo-CH<sub>2</sub>), 24.12, 24.08 (2 x Leu- $\gamma$ ), 23.2, 23.1 (2 x Leu- $\delta$ ), 23.0, 22.4 (2 x CH<sub>3</sub><sup>Ac</sup>), 21.6, 21.5 (2 x Leu- $\delta$ ), 19.6 (Thr- $\gamma$ ).

ESI-MS (Gerät 2, mit 0.1 % TFA), positiv [*m/z*] = 1851.9 (40 %, [M + Na]<sup>+</sup>, ber.: 1851.8), 1829.9 (100 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1829.8), 1351.7 (32 %, [M - L-Gal - Gal - Cyclohexylmilchsäure + H]<sup>+</sup>, ber.: 1351.6), 937.4 (26 %, [M + 2Na]<sup>2+</sup>, ber.: 937.4), 934.4 (28 %, [M + K + H]<sup>2+</sup>, ber.: 934.4).

HR-ESI-MS (mit 0.1 % TFA), positiv, [*m/z*] = 1829.7859 (100 %, [M + H]<sup>+</sup>, ber.: 1829.7803).

C<sub>75</sub>H<sub>120</sub>N<sub>12</sub>O<sub>40</sub> (1829.8)

## 6 Literaturverzeichnis

- <sup>1</sup> K. Vleminecx, R. Kemler, *BioEssays* **1999**, *21*, 211-220.
- <sup>2</sup> S. J. Shattil, M. H. Ginsberg, *J. Clin. Invest.* **1997**, *100*, 1-5.
- <sup>3</sup> G. M. Edelman, K. L. Crossin, *Annu. Rev. Biochem.* **1991**, *60*, 155-190.
- <sup>4</sup> E. E. Simanek, G. J. McGarvey, J. A. Jablonowski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833-862.
- <sup>5</sup> F. M. Unger, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2001**, *57*, 207-435.
- <sup>6</sup> C. Ehrhardt, C. Kneuer, U. Bakowsky, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, *56*, 527-549.
- <sup>7</sup> R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1440-1456.
- <sup>8</sup> Endothel: dünner einschichtiger Belag aus platten Zellen auf der Innenseite der Blut- und Lymphgefäße.
- <sup>9</sup> N. Sharon, H. Lis, *Spektrum der Wissenschaft* **1993(3)**, 66-74.
- <sup>10</sup> M. L. Phillips, E. Nudelman, F. C. A. Gaeta, M. Perez, A. K. Singhal, S.-I. Hakomori, J. C. Paulson, *Science* **1990**, *250*, 1130-1132.
- <sup>11</sup> M. P. Bevilacqua, S. Stengelin, M. A. Gimbrone Jr., B. Seed, *Science* **1989**, *243*, 1160-1165.
- <sup>12</sup> C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *Immunologie*, 5. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, **2002**, 78-82.
- <sup>13</sup> T. N. Mayadas, R. C. Johnson, H. Rayburn, R. O. Hynes, D. D. Wagner, *Cell* **1993**, *74*, 541-554.
- <sup>14</sup> M. L. Arbones, D. C. Ord, K. Ley, H. Ratech, C. Maynard-Curry, D. J. Capon, T. F. Tedder, *Immunity* **1994**, *1*, 247-260.
- <sup>15</sup> M. A. Labow, C. R. Norton, J. M. Rumberger, K. M. Lombard-Gillooly, D. J. Shuster, J. Hubbard, R. Bertko, P. A. Knaack, R. W. Terry, M. L. Harbison, F. Kontgen, C. L. Stewart, K. W. McIntyre, P. C. Will, D. K. Burns, B. A. Wolitzky, *Immunity* **1994**, *1*, 709-720.
- <sup>16</sup> Eine ältere Bezeichnung ist LECAM: Lectin Adhesion Molecule.
- <sup>17</sup> W. M. Gallatin, I. L. Weissman, E. C. Butcher, *Nature* **1983**, *304*, 30-34.
- <sup>18</sup> ELAM-1: Endothelial Leuocyte Adhesion Molecule-1.
- <sup>19</sup> M. P. Bevilacqua, J. S. Pober, D. L. Mendrick, R. S. Cotran, M. A. Gimbrone Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1987**, *84*, 9238-9242.
- <sup>20</sup> PADGEM: Platelet Activation-dependent Granule External Membrane.
- <sup>21</sup> GMP-140: Granule Membrane Protein-140.
- <sup>22</sup> S.-C. Hsu-Lin, C. L. Berman, B. C. Furie, D. August, B. Furie, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 9121-9126.
- <sup>23</sup> H. Lis, N. Sharon, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637-674.
- <sup>24</sup> A. Etzioni, M. Frydman, S. Pollack, I. Avidor, M. L. Phillips, J. C. Paulson, R. Gershoni-Baruch, *N. Engl. J. Med.* **1992**, *327*, 1789-1792.
- <sup>25</sup> M. L. Phillips, B. R. Schwartz, A. Etzioni, R. Bayer, H. D. Ochs, J. C. Paulson, J. M. Harlan, *J. Clin. Invest.* **1995**, *96*, 2898-2906.
- <sup>26</sup> A. Karsan, C. J. Cornejo, R. K. Winn, B. R. Schwartz, W. Way, N. Lannir, R. Gershoni-Baruch, A. Etzioni, H. D. Ochs, J. M. Harlan, *J. Clin. Invest.* **1998**, *101*, 2438-2445.
- <sup>27</sup> K. Lühn, T. Marquardt, E. Harms, D. Vestweber, *Blood* **2001**, *97*, 330-332.
- <sup>28</sup> G. S. Kansas, K. B. Saunders, K. Ley, A. Zakrzewics, R. M. Gibson, B. C. Furie, B. Furie, T. F. Tedder, *J. Cell Biol.* **1994**, *124*, 609-618.
- <sup>29</sup> R. P. McEver, J. H. Beckstead, K. L. Moore, L. Marshal-Carlson, D. F. Bainton, *J. Clin. Invest.* **1989**, *84*, 92-99.
- <sup>30</sup> T. F. Tedder, D. A. Steeber, A. Chen, P. Engel, *FASEB J.* **1995**, *9*, 866-873.

- <sup>31</sup> K. L. Moore, N. L. Stults, S. Diaz, D. F. Smith, R. D. Cummings, A. Varki, R. P. McEver, *J. Cell. Biol.* **1992**, *118*, 445-456.
- <sup>32</sup> D. Sako, K. M. Comess, K. M. Barone, R. T. Camphausen, D. A. Cumming, G. D. Shaw, *Cell* **1995**, *83*, 323-331.
- <sup>33</sup> T. Pouyani, B. Seed, *Cell* **1995**, *83*, 333-343.
- <sup>34</sup> R. Kumar, R. T. Camphausen, F. X. Sullivan, D. A. Cumming, *Blood* **1996**, *88*, 3872-3879.
- <sup>35</sup> V. Ramachandran, M. U. Nollert, H. Qiu, W.-J. Liu, R. D. Cummings, C. Zhu, R. P. McEver, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 13771-13776.
- <sup>36</sup> W. S. Somers, J. Tang, G. D. Shaw, R. T. Camphausen, *Cell* **2000**, *103*, 467-479.
- <sup>37</sup> A. Levinovitz, J. Mühlhoff, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1993**, *121*, 449-459.
- <sup>38</sup> M. Lenter, A. Levinovitz, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1994**, *125*, 471-481.
- <sup>39</sup> A. Giannis, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 188-191.
- <sup>40</sup> S. Baumhueter, M. S. Singer, W. Henzel, S. Hemmerich, M. Renz, S. D. Rosen, L. A. Lasky, *Science* **1993**, *262*, 436-438.
- <sup>41</sup> S. Hemmerich, E. C. Butcher, S. D. Rosen, *J. Exp. Med.* **1994**, *180*, 2219-2226.
- <sup>42</sup> D. Crommie, S. D. Rosen, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 22614-22624.
- <sup>43</sup> S. Hemmerich, H. Leffler, S. D. Rosen, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 12035-12047.
- <sup>44</sup> E. L. Berg, L. M. McEvoy, C. Berlin, R. F. Bargatze, E. C. Butcher, *Nature* **1993**, *366*, 695-698.
- <sup>45</sup> C. Berlin, E. L. Berg, M. J. Briskin, D. P. Andrew, P. J. Kilshaw, B. Holzmann, I. L. Weissman, A. Hamann, E. C. Butcher, *Cell* **1993**, *74*, 185-195.
- <sup>46</sup> W. Sluiter, A. Pietersma, J. M. J. Lamers, J. F. Koster, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1993**, *22*, S37-S44.
- <sup>47</sup> T. Ochi, S. Hakomori, M. Fujimoto, M. Okamura, H. Owaki, S. Wakitani, Y. Shimaoka, K. Hayashida, T. Tomita, S. Kawamura, K. Ono, *J. Rheumatol.* **1993**, 2038-2045.
- <sup>48</sup> M. Buerke, A. S. Weyrich, Z. Zheng, F. C. A. Gaeta, M. J. Forrest, A. M. Lefer, *J. Clin. Invest.* **1994**, *93*, 1140-1148.
- <sup>49</sup> M. S. Mulligan, J. C. Paulson, S. DeFrees, Z.-L. Zheng, J. B. Lowe, P. A. Ward, *Nature* **1993**, *364*, 149-151.
- <sup>50</sup> T. Nakashio, T. Narita, M. Sato, S. Akiyama, Y. Kasai, M. Fujiwara, K. Ito, H. Takagi, R. Kannagi, *Anticancer Res.* **1997**, *17*, 293-299.
- <sup>51</sup> R. Renkonen, P. Mattila, M.-L. Majuri, J. Rabinä, S. Toppila, J. Renkonen, L. Hirvas, J. Niittymäki, J. P. Turunen, O. Renkonen, T. Paavonen, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 593-600.
- <sup>52</sup> R. Kannagi, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 577-584.
- <sup>53</sup> L. Borsig, *News Physiol. Sci.* **2004**, *19*, 16-21.
- <sup>54</sup> J. Y. Ramphal, Z.-L. Zheng, C. Perez, L. E. Walker, S. A. DeFrees, F. C. A. Gaeta, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3459-3463.
- <sup>55</sup> B. K. Bradley, M. Kiso, S. Abbas, P. Nikrad, O. Srivasatava, C. Foxall, Y. Oda, A. Hasegawa, *Glycobiology* **1993**, *3*, 633-641.
- <sup>56</sup> W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretzschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2186-2188.
- <sup>57</sup> R. Banteli, B. Ernst, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 459-462.
- <sup>58</sup> D. Tyrell, P. James, N. Rao, C. Foxall, S. Abbas, F. Dasgupta, M. Nashed, A. Hasegawa, M. Kiso, D. Asa, J. Kidd, B. K. Bradley, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1991**, *88*, 10372-10376.
- <sup>59</sup> M. J. Bamford, M. Bird, P. M. Gore, D. S. Holmes, R. Priest, J. C. Prodger, V. Saez, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 239-244.
- <sup>60</sup> T. B. Kogan, B. M. Revelle, S. Tapp, D. Scott, P. J. Beck, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 14047-14055.

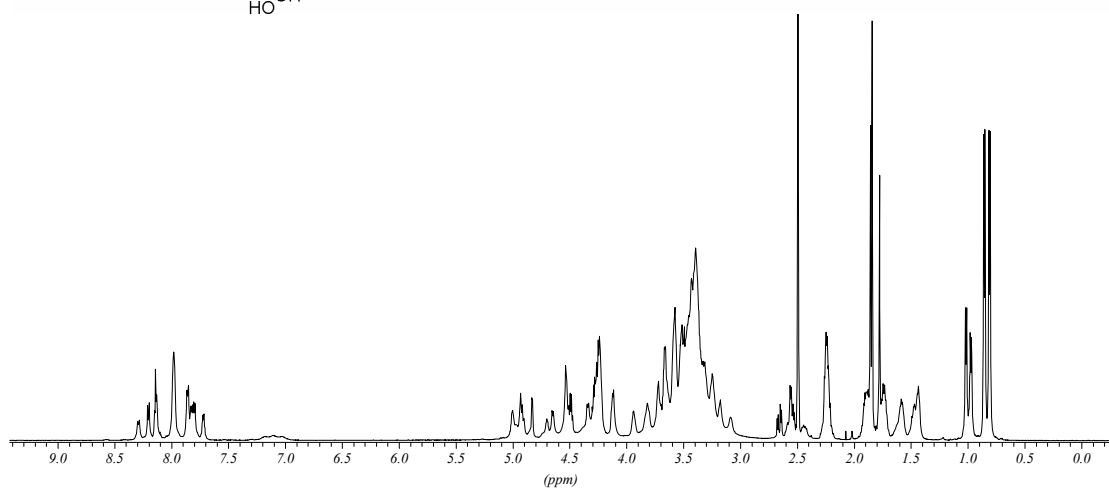
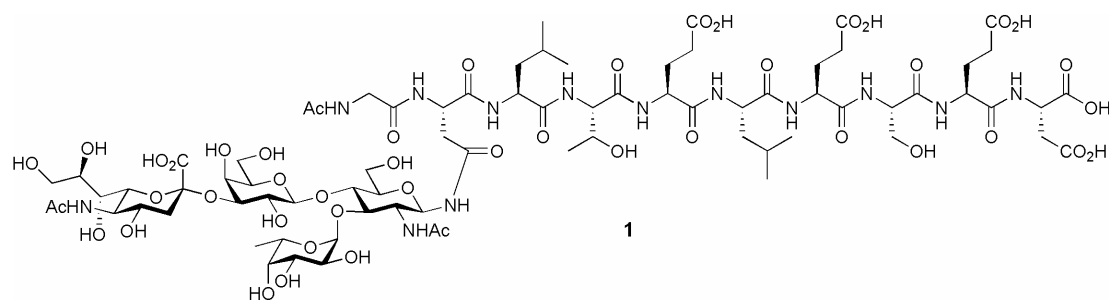
- <sup>61</sup> H. Ohmoto, K. Nakamura, T. Inoue, N. Kondo, Y. Inoue, K. Yoshino, H. Kondo, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1339-1343.
- <sup>62</sup> H. C. Kolb, B. Ernst, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1571-1578.
- <sup>63</sup> G. Thoma, W. Kinzy, C. Bruns, J. T. Patton, J. L. Magnani, R. Banteli, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4909-4913.
- <sup>64</sup> S. A. DeFrees, F. C. A. Gaeta, Y.-C. Lin, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7549-7550.
- <sup>65</sup> G. Thoma, J. L. Magnani, J. T. Patton, B. Ernst, W. Jahnke, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1995-1999.
- <sup>66</sup> R. Banteli, B. Ernst, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4059-4062.
- <sup>67</sup> C. L. Martens, S. E. Cwirra, R. Y.-W. Lee, E. Whitehorn, E. Y.-F. Chen, A. Bakker, E. L. Martin, C. Wagstrom, P. Gopalan, C. W. Smith, E. Tate, K. J. Koller, P. J. Schatz, W. J. Dower, R. W. Barrett, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 21129-21136.
- <sup>68</sup> T. P. Kogan, B. Dupré, K. M. Keller, I. L. Scott, H. Bui, R. V. Market, P. J. Beck, J. A. Voytus, B. M. Revelle, D. Scott, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4976-4984.
- <sup>69</sup> N. Kaila, L. Chen, B. E. Thomas IV, D. Tsao, S. Tam, P. W. Bedard, R. T. Camphausen, J. C. Alvarez, G. Ullas, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1563-1566.
- <sup>70</sup> M. Rösch, H. Herzner, W. Dippold, M. Wild, D. Vestweber, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 3954-3957.
- <sup>71</sup> M. W. Cappi, W. J. Moree, L. Qiao, T. G. Marron, G. Weitz-Schmidt, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 283-296.
- <sup>72</sup> G. Baisch, R. Öhrlein, A. Katopodis, M. Streiff, F. Kolbinger, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 2447-2450.
- <sup>73</sup> C.-H. Wong, F. Moris-Varas, S.-C. Hung, T. G. Marron, C.-C. Lin, K. W. Gong, G. Weitz-Schmidt, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8152-8158.
- <sup>74</sup> M. Hayashi, M. Tanaka, M. Itoh, H. Miyauchi, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2938-2945.
- <sup>75</sup> J. P. Turunen, M.-L. Majuri, A. Seppo, S. Tiisala, T. Paavonen, M. Miyasaka, K. Lemström, L. Pentillä, O. Renkonen, R. Renkonen, *J. Exp. Med.* **1995**, *182*, 1133-1142.
- <sup>76</sup> V. H. Thomas, Y. Yang, K. G. Rice, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 19035-19040.
- <sup>77</sup> U. Sprengard, M. Schudok, W. Schmidt, G. Kretzschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 359-362.
- <sup>78</sup> G. Thoma, R. O. Duthaler, J. L. Magnani, J. T. Patton, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10113-10114.
- <sup>79</sup> N. Kaila, B. E. Thomas IV, *Med. Res. Rev.* **2002**, *6*, 566-601.
- <sup>80</sup> B. Neubacher, D. Schmidt, P. Ziegel Müller, J. Thiem, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 1551-1556.
- <sup>81</sup> O. Blixt, J. C. Paulson, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 687-690.
- <sup>82</sup> C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2507-2510.
- <sup>83</sup> A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1991**, *209*, c1-c4.
- <sup>84</sup> A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1990**, *200*, 269-285.
- <sup>85</sup> T. Mukaiyama, Y. Murai, S. Shoda, *Chem. Lett.* **1981**, 431-432.
- <sup>86</sup> K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, N. J. Bockovich, C.-H. Wong, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 870-872.
- <sup>87</sup> Y. Ito, T. Ogawa, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 89-102.
- <sup>88</sup> 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*, 1940-1953.
- <sup>89</sup> U. Sprengard, G. Kretzschmar, E. Bartnik, C. Hüls, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1104-1107.
- <sup>90</sup> W. Bröder, H. Kunz, *Carbohydr. Res.* **1993**, *249*, 221-241.

- <sup>91</sup> W. Bröder, H. Kunz, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 1-19.
- <sup>92</sup> S. Sato, M. Mori, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1986**, *155*, c6-c10.
- <sup>93</sup> R. U. Lemieux, K. B. Hendricks, R. V. Stick, K. James, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4056-4062.
- <sup>94</sup> P. J. Garegg, H. Hultberg, S. Wallin, *Carbohydr. Res.* **1982**, *108*, 97-101.
- <sup>95</sup> G. Dekany, K. Wright, I. Toth, *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, *16*, 983-999.
- <sup>96</sup> G. Kretzschmar, W. Stahl, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6341-6358.
- <sup>97</sup> H. Kondo, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8748-8750.
- <sup>98</sup> G. J. McGarvey, C.-H. Wong, *Liebigs Ann. Recl.* **1997**, 1059-1074.
- <sup>99</sup> CFR: Cysteine-rich EGF Receptor (FGF, Fibroblast Growth Factor).
- <sup>100</sup> Z. Mourelatos, J. O. Gonatas, E. Cinato, N. K. Gonatas, *DNA Cell Biol.* **1996**, *15*, 1121-1128.
- <sup>101</sup> Y. Inouye, K. Onodera, S. Kitaoka, S. Hirano, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 4722-4726.
- <sup>102</sup> F. Micheel, F.-P. van de Kamp, H. Petersen, *Chem. Ber.* **1957**, *90*, 521-526.
- <sup>103</sup> D. Horton, *Org. Synth.* **1966**, *46*, 1-5.
- <sup>104</sup> K. von dem Bruch, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1993**.
- <sup>105</sup> C. Unverzagt, H. Kunz, *J. Prakt. Chem.* **1992**, *334*, 570-578.
- <sup>106</sup> F. Micheel, H. Wulff, *Chem. Ber.* **1956**, *89*, 1521-1530.
- <sup>107</sup> G. Zemplén, A. Kunz, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1923**, *56*, 1705-1710.
- <sup>108</sup> M. A. E.-M. Shaban, R. W. Jeanloz, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, *54*, 3570-3576.
- <sup>109</sup> J. März, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1991**.
- <sup>110</sup> C. Filser, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2001**.
- <sup>111</sup> O. Knöll, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2004**.
- <sup>112</sup> U. Sprengard, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1993**.
- <sup>113</sup> M. P. DeNinno, J. B. Etienne, K. C. Duplantier, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 669-672.
- <sup>114</sup> O. T. Schmidt in *Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol. II* (Hrsg.: R. L. Whistler, M. L. Wolfrom, J. N. BeMiller), Academic Press Inc., New York, London, **1963**, S. 318-325.
- <sup>115</sup> X. Pannecoucke, G. Schmitt, B. Luu, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 6569-6578.
- <sup>116</sup> H. Herzner, J. Eberling, M. Schultz, J. Zimmer, H. Kunz, *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, *17*, 759-776.
- <sup>117</sup> E. Eichler, H. J. Jennings, M. Gilbert, D. M. Whitfield, *Carbohydr. Res.* **1999**, *319*, 1-16.
- <sup>118</sup> Trichloracetimidatverfahren von Schmidt: R. R. Schmidt, J. Michel, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 763-764.
- <sup>119</sup> A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1989**, *187*, 35-42.
- <sup>120</sup> R. Kuhn, P. Lutz, D. L. MacDonald, *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 611-617.
- <sup>121</sup> A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1989**, *190*, 317-322.
- <sup>122</sup> J. Xue, Y. Pan, Z. Guo, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1599-1602.
- <sup>123</sup> F. Degerbeck, B. Fransson, L. Grehn, U. Ragnarsson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1993**, 11-14.
- <sup>124</sup> T. Storz, P. Dittmar, *Org. Process Res. Dev.* **2003**, *7*, 559-570.
- <sup>125</sup> R. V. Hoffman, J. Tao, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 7119-7126.
- <sup>126</sup> H. Lönn, *Carbohydr. Res.* **1985**, *139*, 105-113.
- <sup>127</sup> M. Rösch, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1999**.
- <sup>128</sup> B. Ernst, G. W. Hart, P. Sinaÿ (Hrsg.), *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- <sup>129</sup> H. L. Frush, H. S. Isbell in *Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol. I* (Hrsg.: R. L. Whistler, M. L. Wolfrom, J. N. BeMiller, F. Shafizadeh), Academic Press, New York, London, **1962**, S. 127-130.
- <sup>130</sup> In diesem Artikel ist auch die Synthese von L-Galactose aus L-Galactono-1,4-lacton unter Verwendung von Natriumborhydrid beschrieben: H. Binch, K. Stangier, J. Thiem, *Carbohydr. Res.* **1998**, *306*, 409-419.

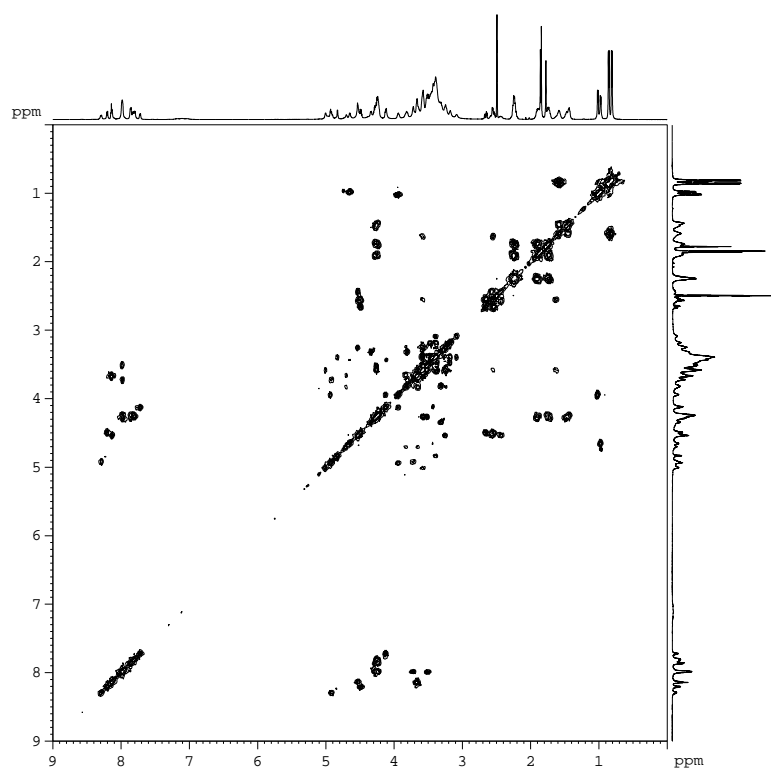
- <sup>131</sup> M. L. Wolfrom, J. M. Berkebile, A. Thompson, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 2360-2362.
- <sup>132</sup> R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213-236.
- <sup>133</sup> F. Guibé, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 13509-13556.
- <sup>134</sup> T. Ogawa, S. Nakabayashi, *Carbohydr. Res.* **1981**, *93*, c1-c5.
- <sup>135</sup> M. Honda, H. Morita, I. Nagakura, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8932-8936.
- <sup>136</sup> T. Opatz, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 10185-10188.
- <sup>137</sup> D. Baudry, M. Ephritikhine, H. Felkin, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 694-695.
- <sup>138</sup> J. J. Oltvoort, C. A. A. van Boeckel, J. H. de Koning, J. H. van Boom, *Synthesis* **1981**, 305-308.
- <sup>139</sup> G.-J. Boons, A. V. Demchenko, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4539-4565.
- <sup>140</sup> A. J. Ratliffe, B. Fraser-Reid, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 747-750.
- <sup>141</sup> R. R. Schmidt, M. Behrendt, A. Toepfer, *Synlett* **1990**, 694-696.
- <sup>142</sup> A. Hasegawa, T. Nagahama, H. Ohki, K. Hotta, H. Ishida, M. Kiso, *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 493-498.
- <sup>143</sup> I. Braccini, C. Derouet, J. Esnault, C. Hervé du Penhoat, J.-M. Mallet, V. Michon, P. Sinay, *Carbohydr. Res.* **1993**, *246*, 13-22.
- <sup>144</sup> F. Dasgupta, P. J. Garegg, *Carbohydr. Res.* **1988**, *177*, c13-c17.
- <sup>145</sup> W. Birberg, H. Lönn, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7457-7458.
- <sup>146</sup> H. Hori, T. Nakajima, Y. Nishida, H. Ohru, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 6317-6320.
- <sup>147</sup> S. David, S. Hanessian, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 643-663.
- <sup>148</sup> H. Herzner, T. Reipen, M. Schultz, H. Kunz, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4495-4537.
- <sup>149</sup> C. Unverzagt, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1988**.
- <sup>150</sup> H. Herzner, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2001**.
- <sup>151</sup> U. Sprengard, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1996**.
- <sup>152</sup> H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1763-1765.
- <sup>153</sup> L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 5748-5749.
- <sup>154</sup> E. Atherton, R. C. Sheppard, *Solid Phase Peptide Synthesis. A Practical Approach*, Oxford University Press, Oxford, **1989**.
- <sup>155</sup> J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067-1068.
- <sup>156</sup> J. C. Sheehan, P. A. Cruickshank, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 2492-2493.
- <sup>157</sup> B. Belleau, G. Malek, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 1651-1652.
- <sup>158</sup> Y. Kiso, H. Yajima, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 942-943.
- <sup>159</sup> R. Knorr, A. Trzeiak, W. Bannwarth, D. Gillesen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1927-1930.
- <sup>160</sup> V. Dourtoglou, J.-C. Ziegler, B. Gross, *Tetrahedron Lett.* **1978**, *19*, 1269-1272.
- <sup>161</sup> L. A. Carpino, A. El-Faham, C. Minor, F. Albericio, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 201-203.
- <sup>162</sup> I. Abdelmoty, F. Albericio, L. A. Carpino, B. M. Foxman, S. A. Kates, *Lett. Pept. Sci.* **1994**, *???*, 57-???
- <sup>163</sup> L. A. Carpino, H. Imazumi, A. El-Faham, F. J. Ferrer, C. Zhang, Y. Lee, B. M. Foxman, P. Henklein, C. Hanay, C. Mügge, H. Wenschuh, J. Klose, M. Beyermann, M. Bienert, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 458-461.
- <sup>164</sup> W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 788-798.
- <sup>165</sup> L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.
- <sup>166</sup> S.-S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 1328-1333.
- <sup>167</sup> M. Wagner, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 315-319.
- <sup>168</sup> E. Atherton, C. Bury, R. C. Sheppard, B. J. Williams, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3041-3042.
- <sup>169</sup> R. Rodebaugh, J. S. Debenham, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3041-3042.
- <sup>170</sup> L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 98-101.

- <sup>171</sup> A. Mehta, R. Jaouhari, T. J. Benson, K. T. Douglas, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 5441-5444.
- <sup>172</sup> R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
- <sup>173</sup> E. Bayer, W. Rapp, *Chem. Pept. Proteins* **1986**, 3, 3-8.
- <sup>174</sup> A. Kuhn, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2005**.
- <sup>175</sup> D. D. Perrin, W. L. F. Amarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd ed., Pergamon Press, Oxford, **1988**.
- <sup>176</sup> International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry, *Pure Appl. Chem.* **1994**, 56, 595-624.
- <sup>177</sup> Y. Inouye, K. Onodera, S. Kitaoka, H. Ochiai, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 4218-4222.
- <sup>178</sup> K. Donsbach, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **1996**.
- <sup>179</sup> J. Stanek, A. Sele, R. Jaques, A. Rossi, *Helv. Chim. Acta* **1972**, 55, 434-446.
- <sup>180</sup> G. Hummel, R. R. Schmidt, *Pol. J. Chem.* **1999**, 73, 941-954.
- <sup>181</sup> F. D. Tropper, F. O. Andersson, S. Cao, R. Roy, *J. Carbohydr. Chem.* **1992**, 11, 741-750.
- <sup>182</sup> G. Bitan, C. Gilon, *Tetrahedron* **1995**, 51, 10513-10522.
- <sup>183</sup> R. W. Feenstra, E. H. M. Stokkingreef, R. J. F. Nivard, H. C. J. Ottenheijm, *Tetrahedron* **1988**, 44, 5583-5595.
- <sup>184</sup> P. V. Murphy, R. E. Hubbard, D. T. Manallack, R. E. Wills, J. G. Montana, R. J. K. Taylor, *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6, 2421-2439.
- <sup>185</sup> Fluka-Katalog, *Laborchemikalien und analytische Reagenzien 2005/06*, 864-865.
- <sup>186</sup> T. Araki, *J. Chem. Soc. Jpn. (Nippon Kagaku Kaishi)* **1938**, 59, 424-432.
- <sup>187</sup> G. Vic, J. J. Hastings, O. W. Howarth, D. H. G. Crout, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, 7, 709-720.
- <sup>188</sup> L. Käsbeck, H. Kessler, *Liebigs Ann. Recl.* **1997**, 169-173.

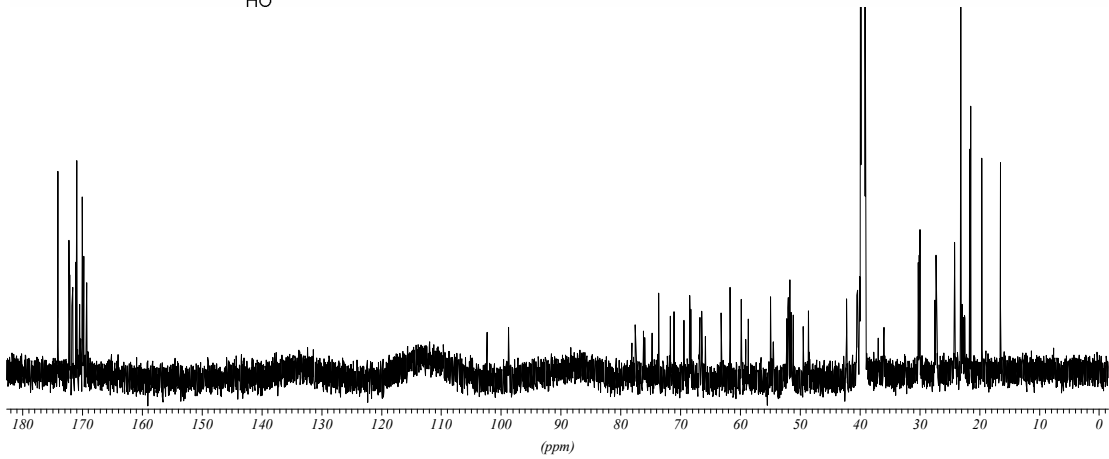
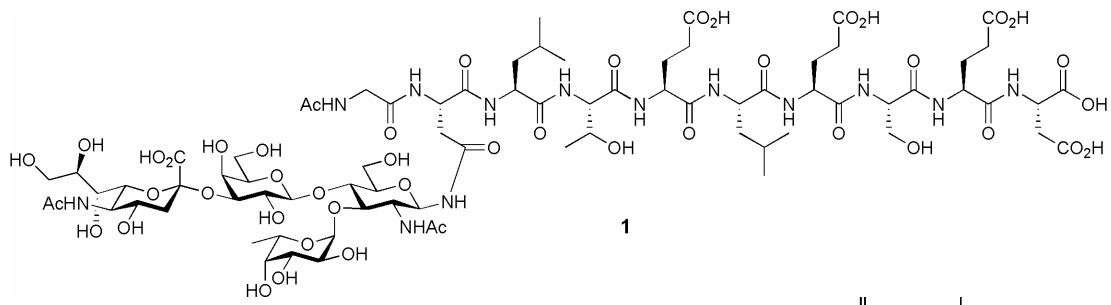
## 7 Spektrenanhang



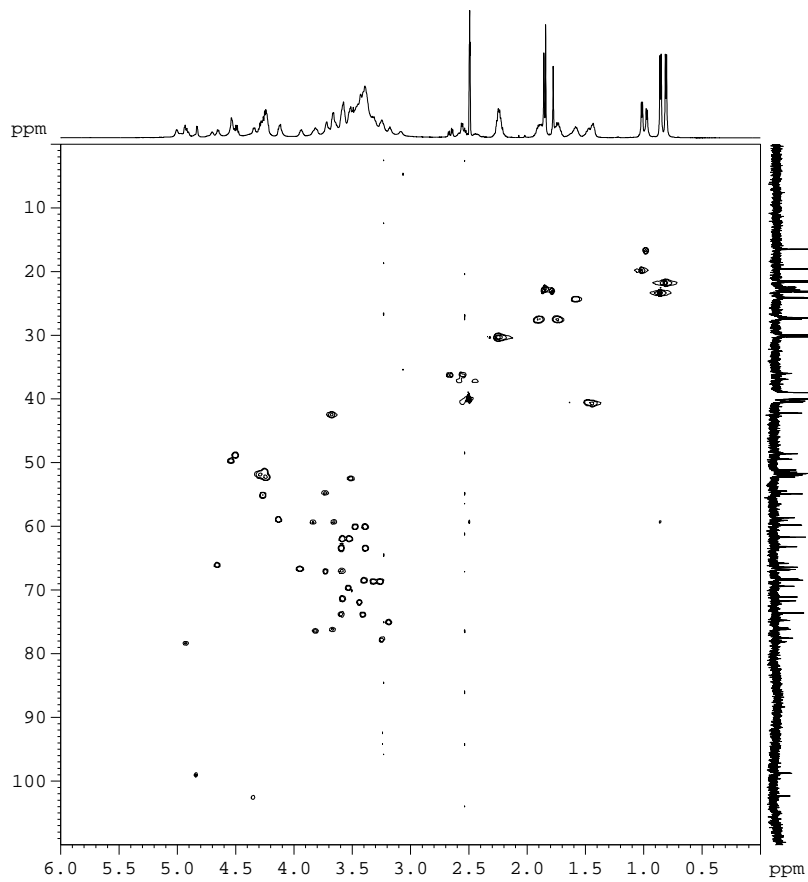
<sup>1</sup>H (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



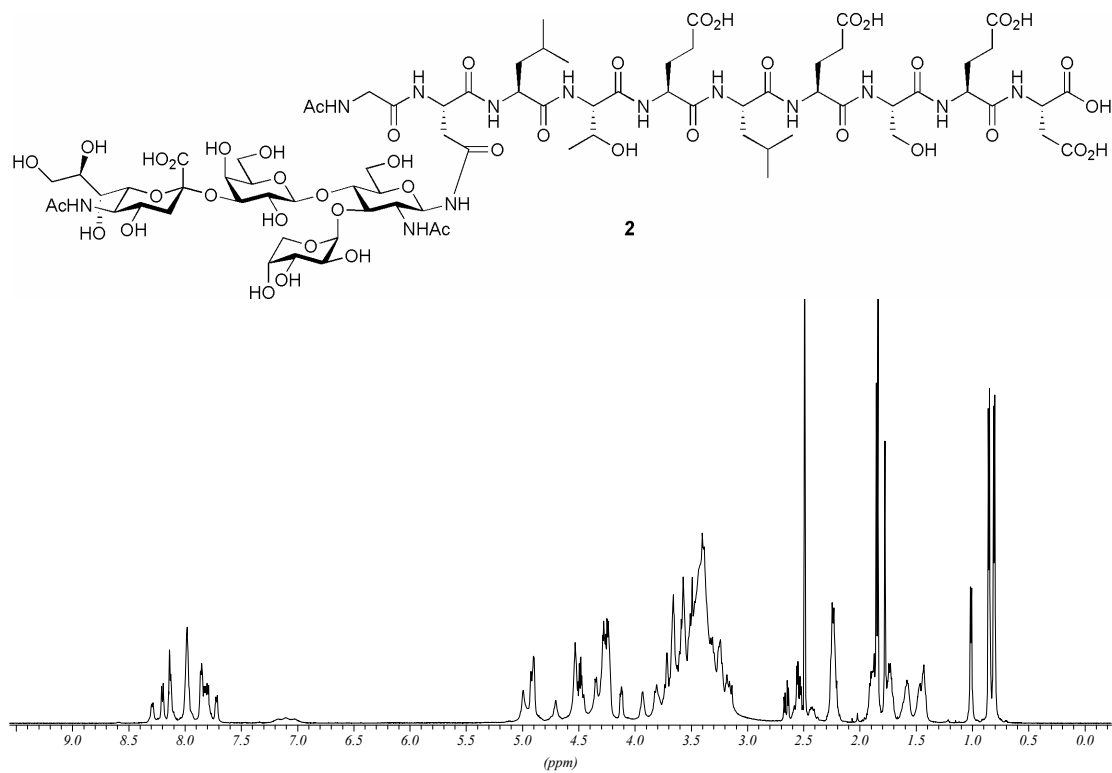
<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



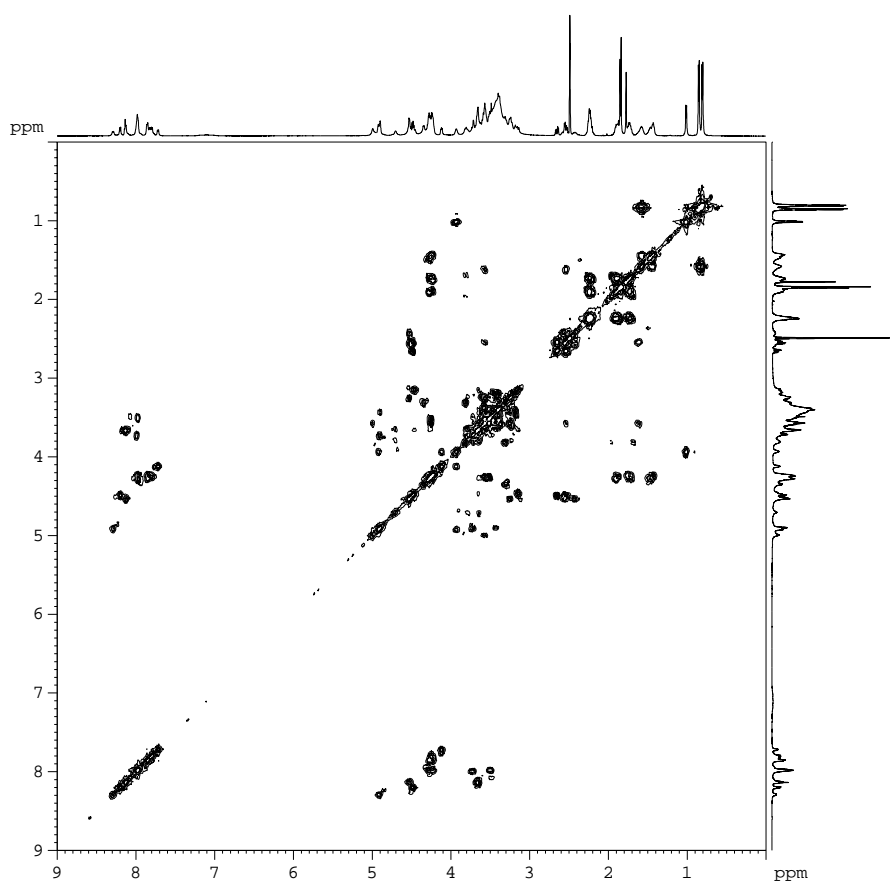
<sup>13</sup>C (150.9 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



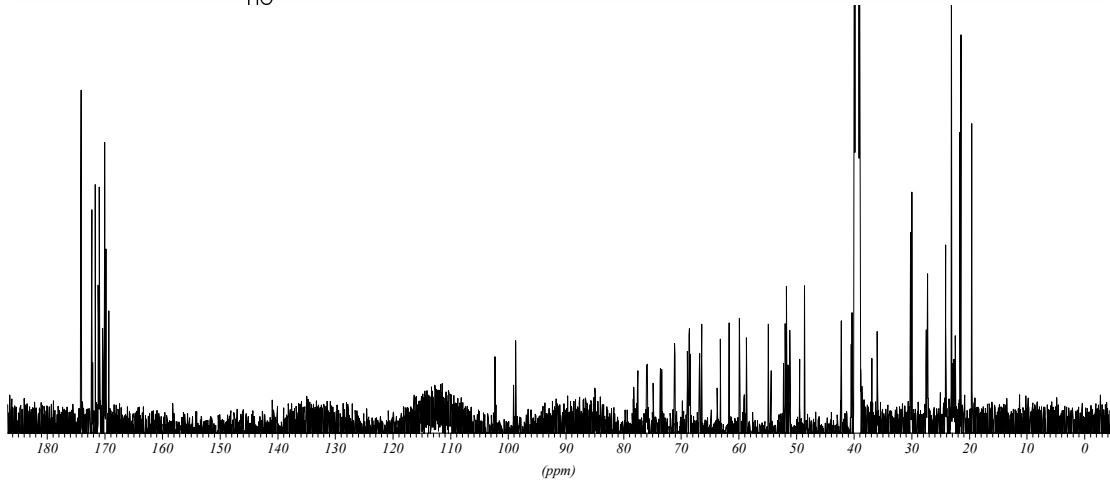
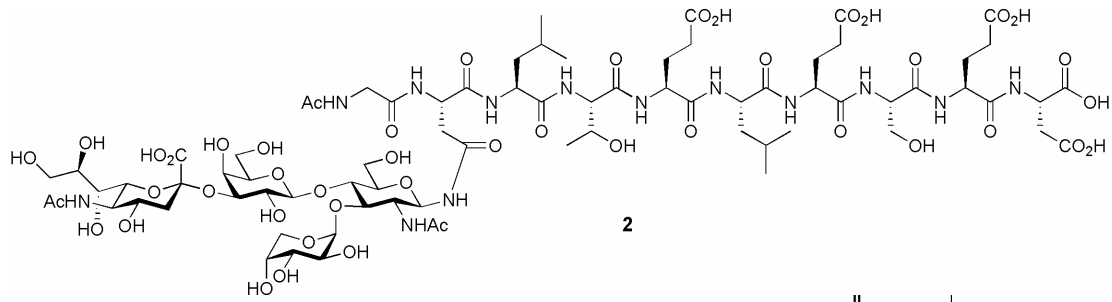
HMQC (150.9 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



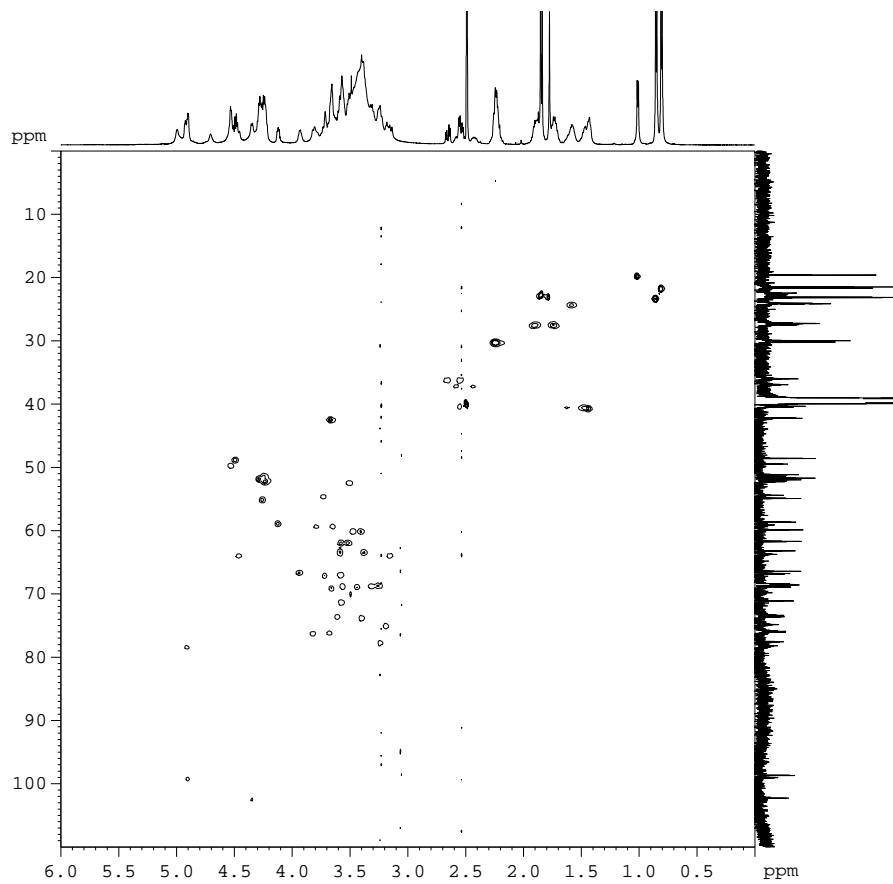
$^1\text{H}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )



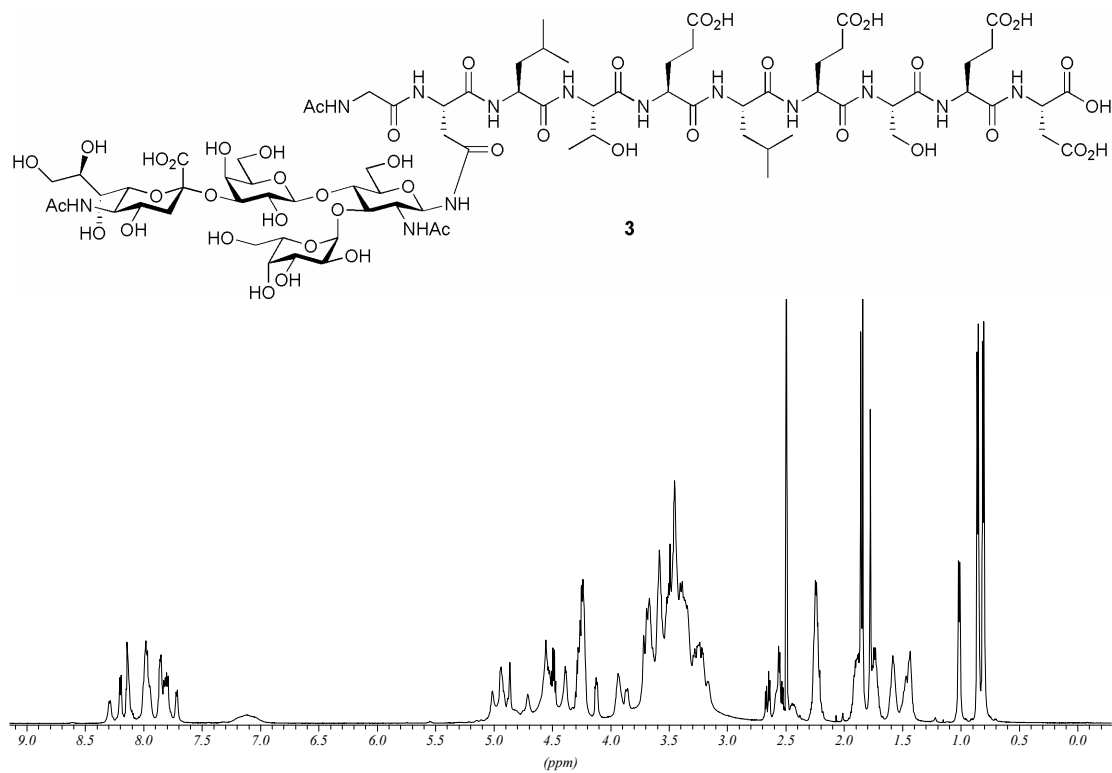
$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (600 MHz, DMSO- $d_6$ )



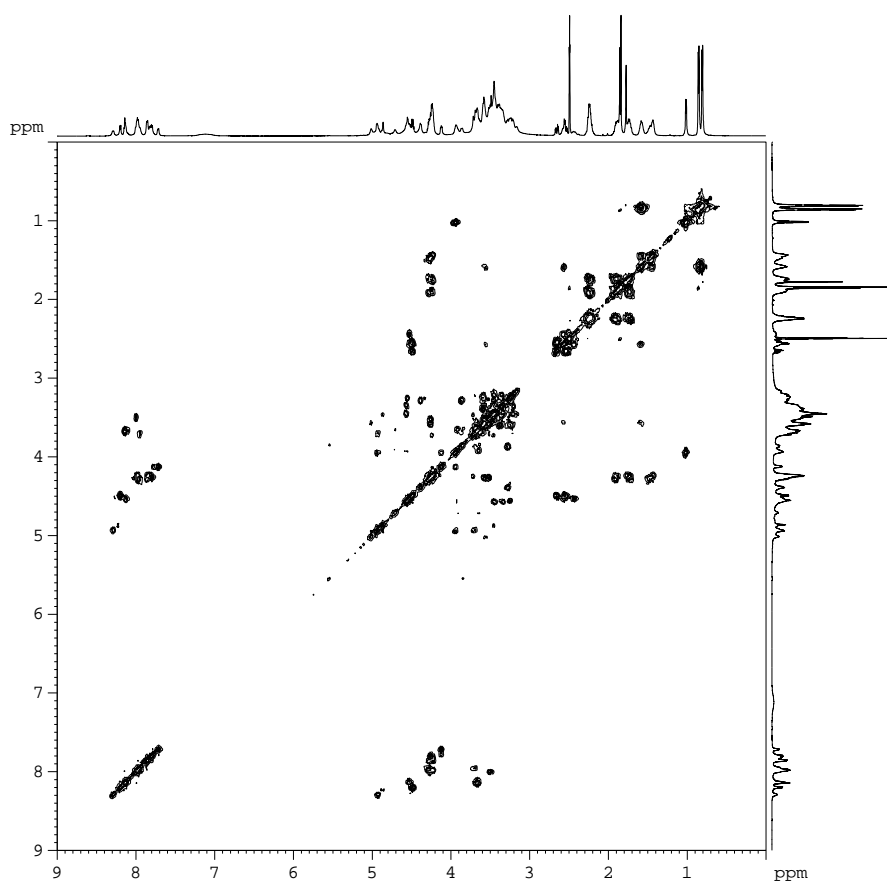
<sup>13</sup>C (150.9 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



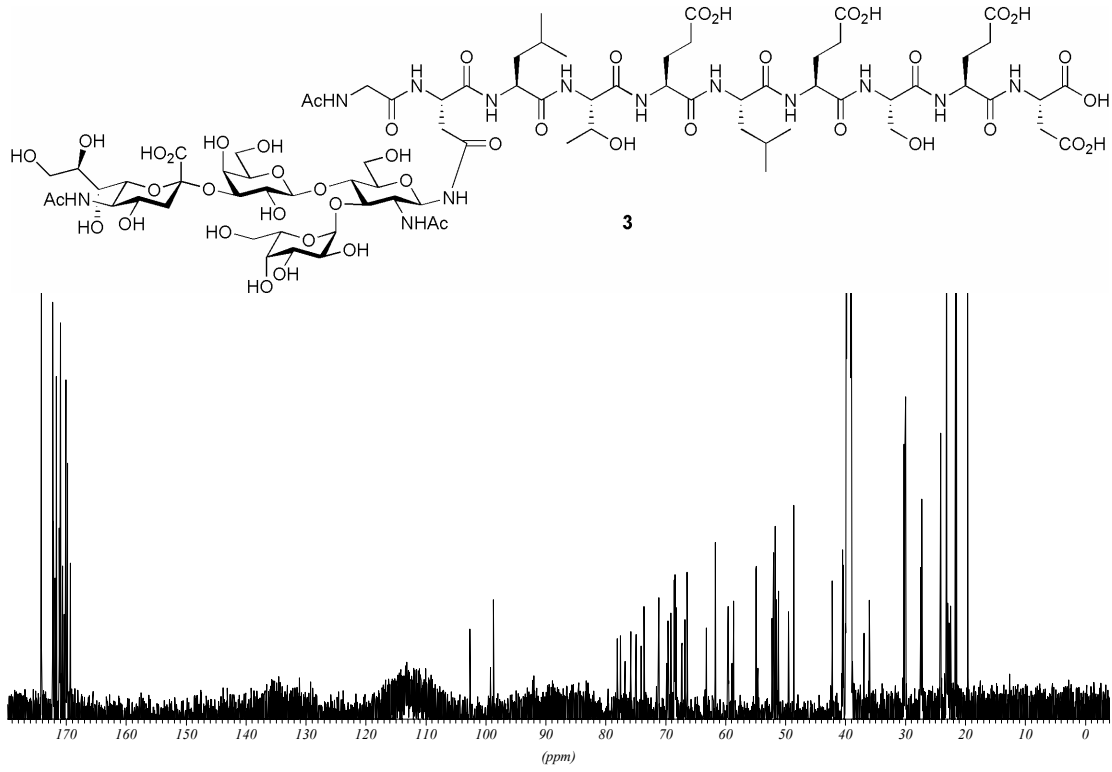
HMQC (150.9 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



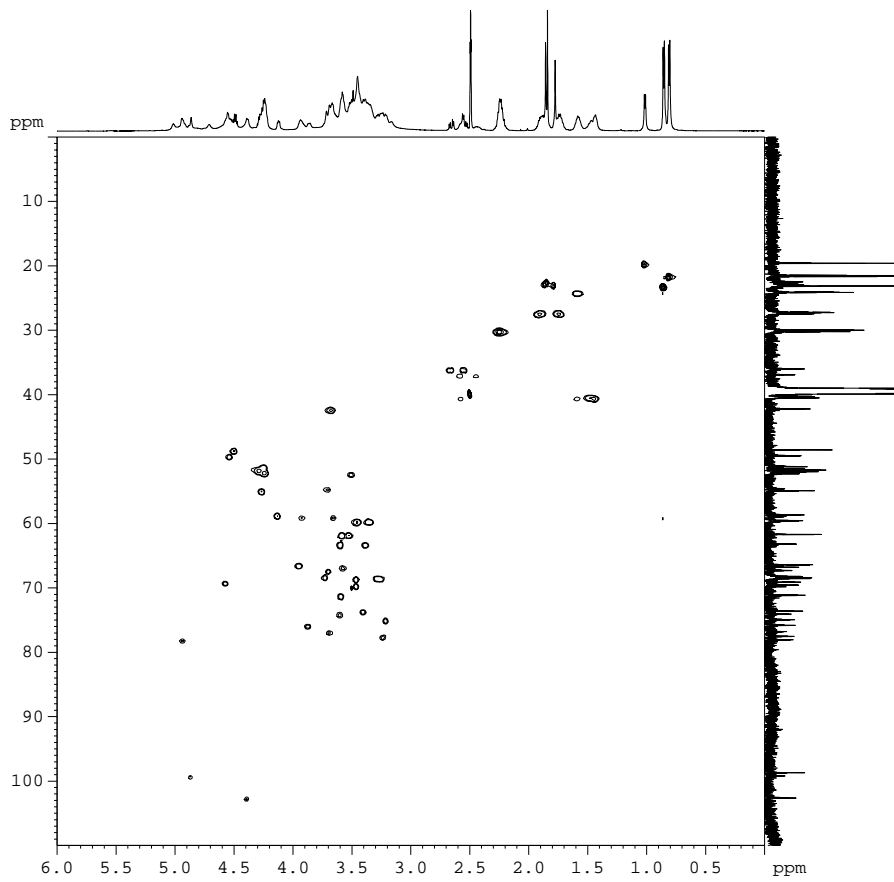
<sup>1</sup>H (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



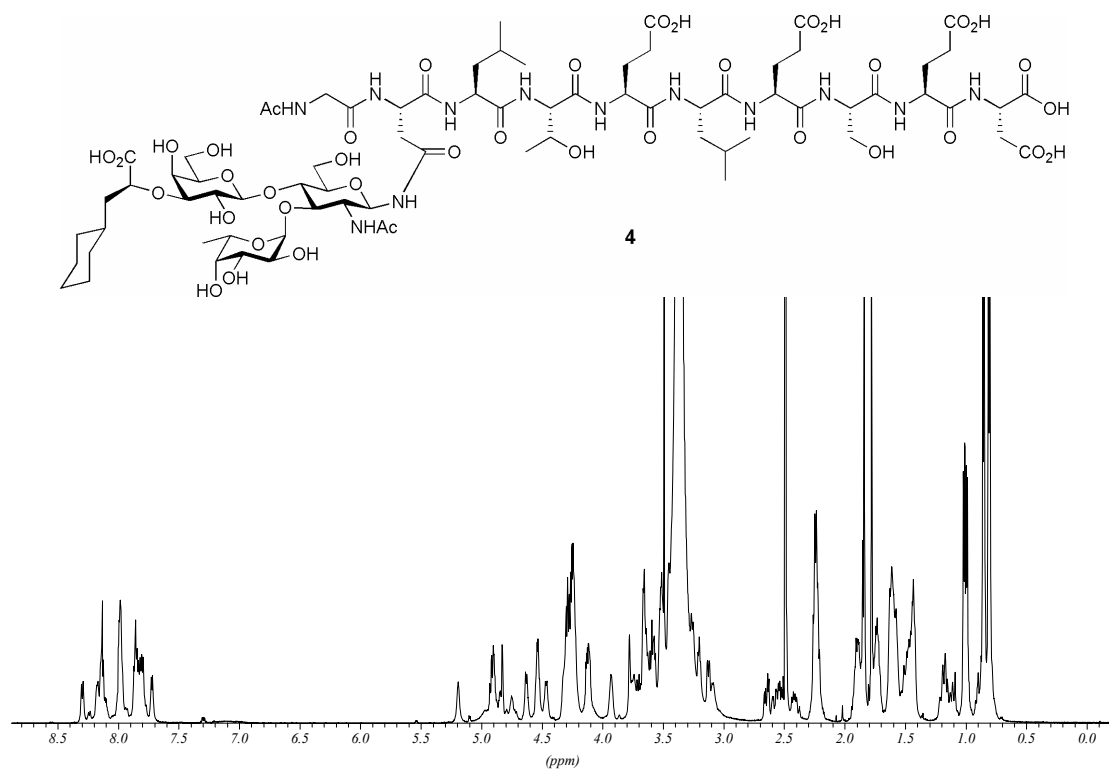
<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



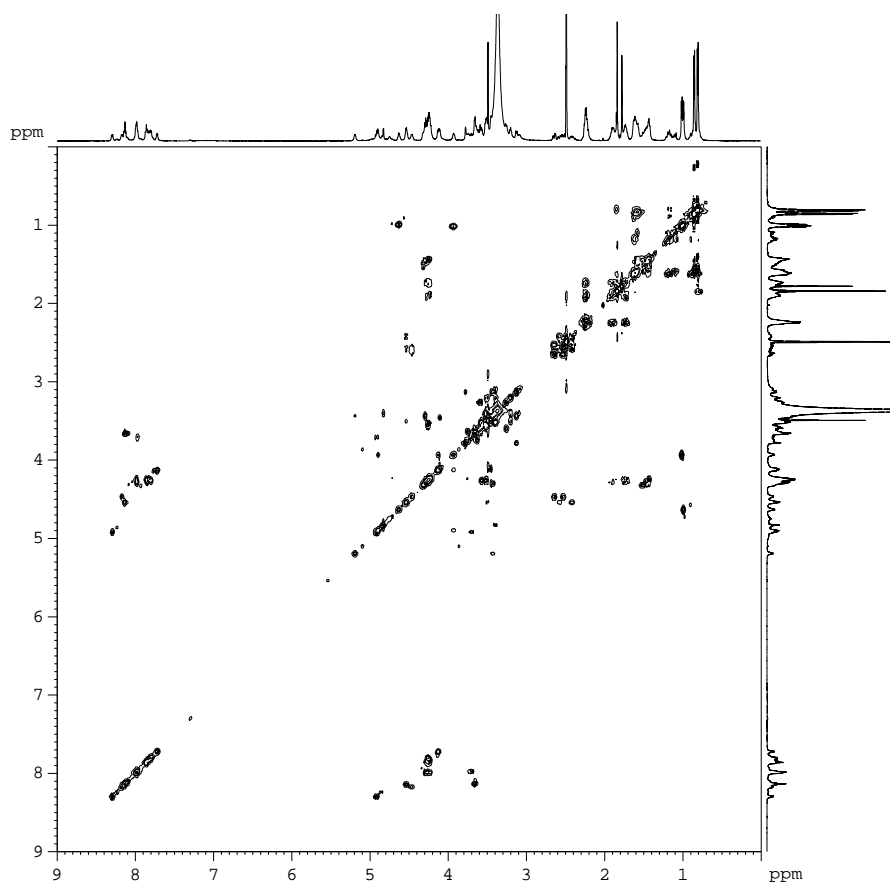
<sup>13</sup>C (150.9 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



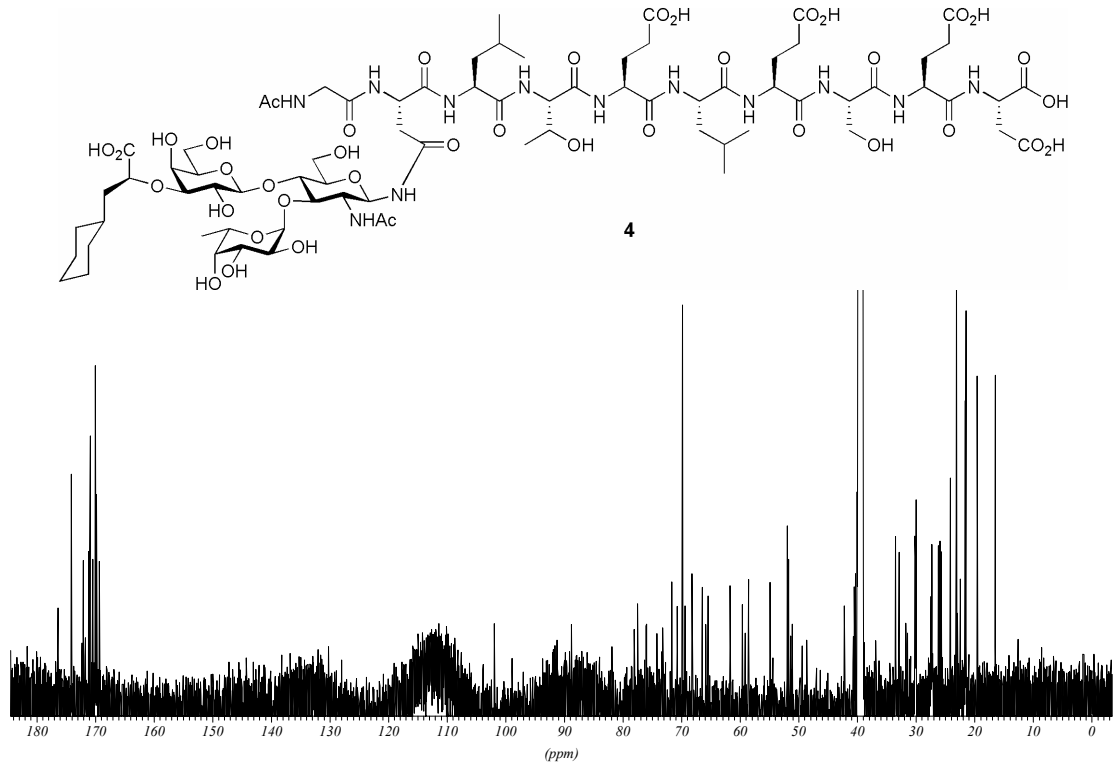
HMQC (150.9 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



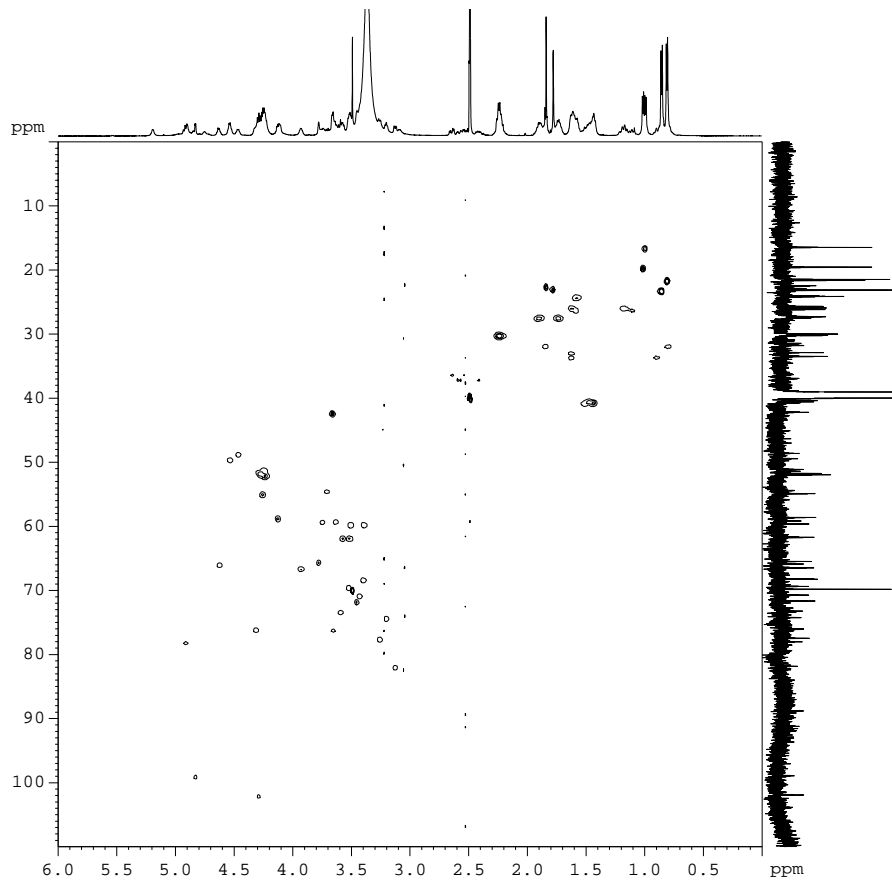
<sup>1</sup>H (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



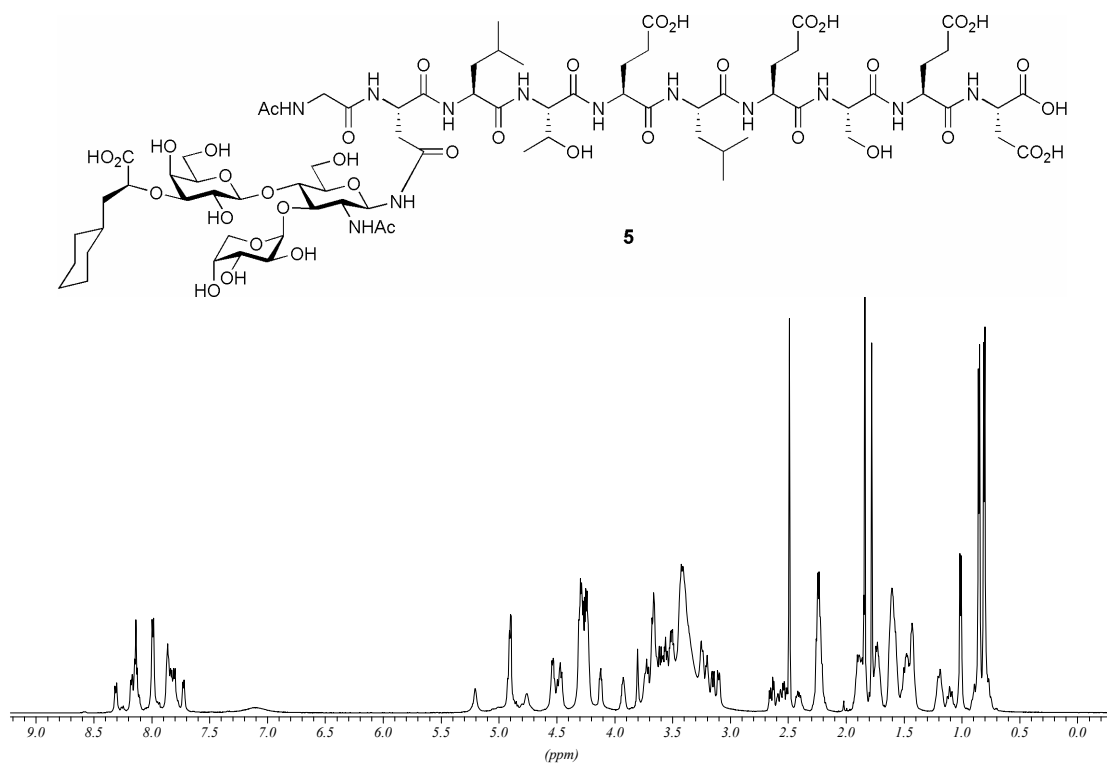
<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



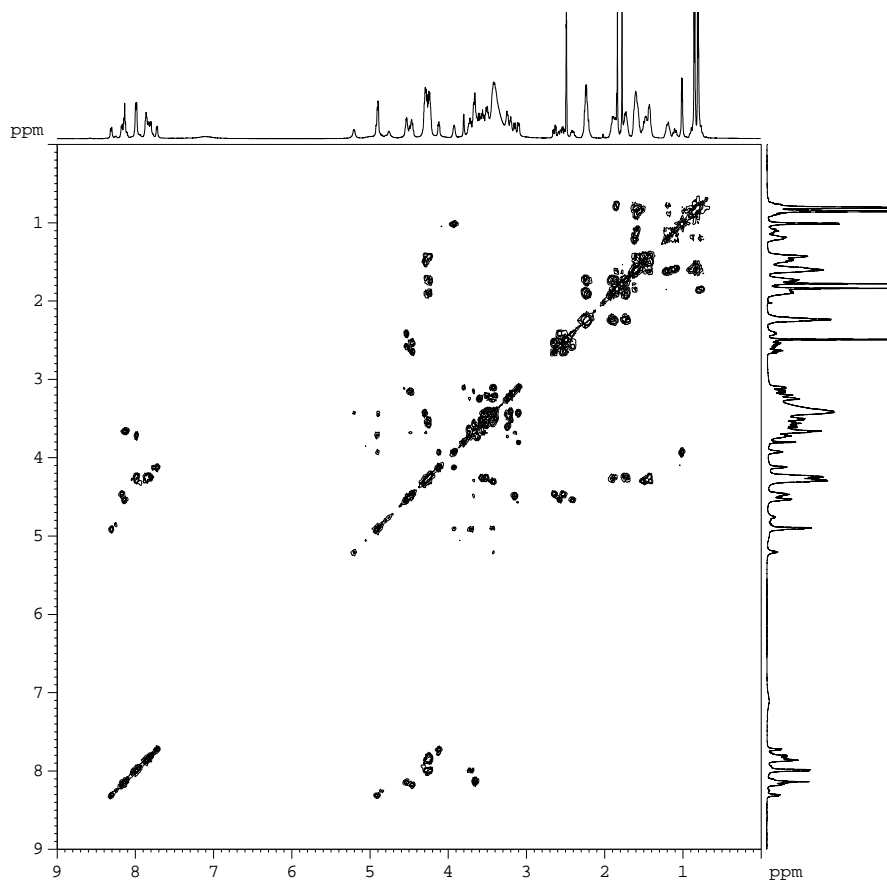
$^{13}\text{C}$  (150.9 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ )



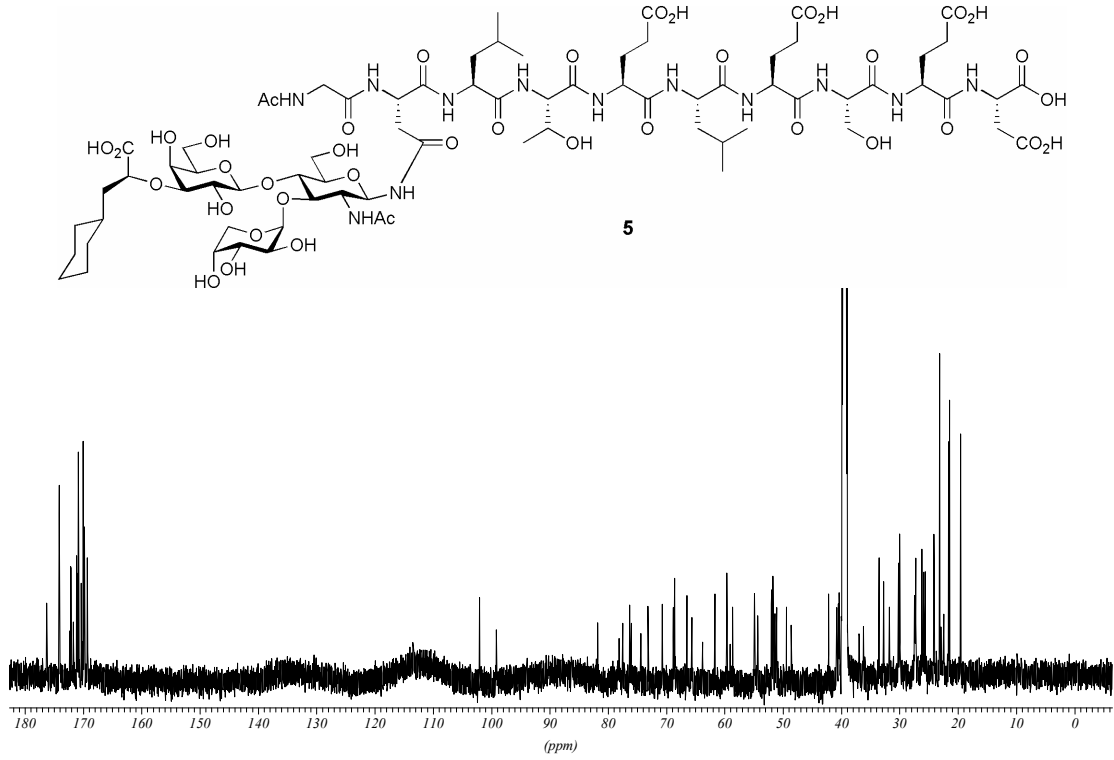
HMQC (150.9 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ )



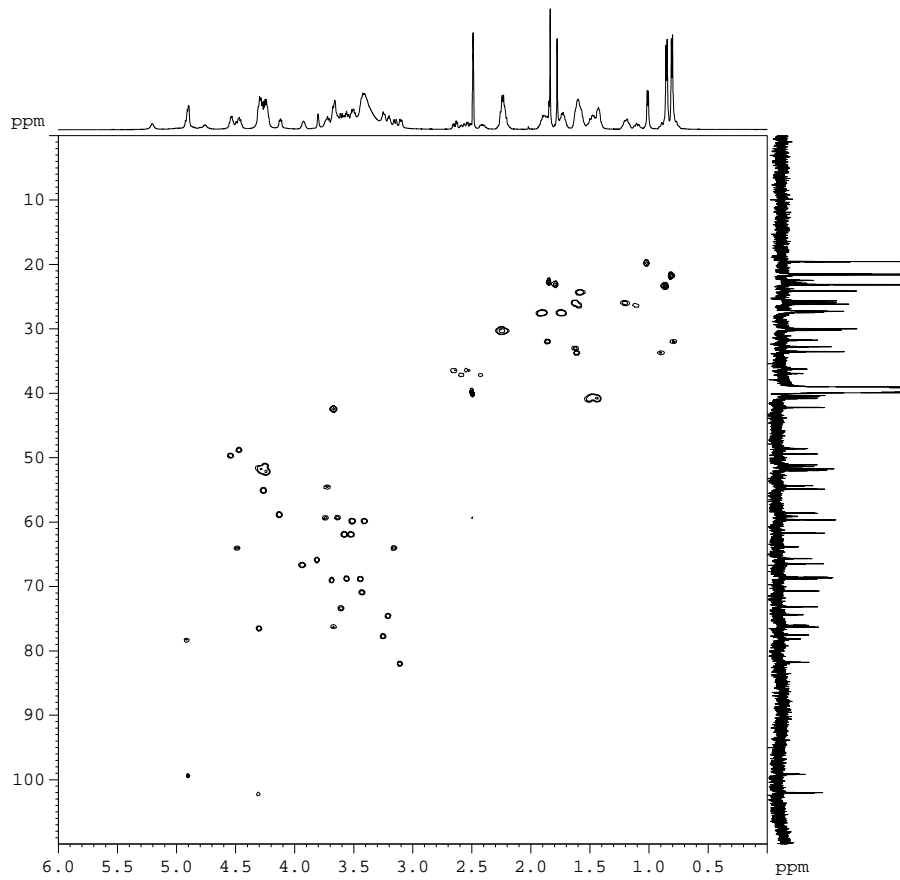
$^1\text{H}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )



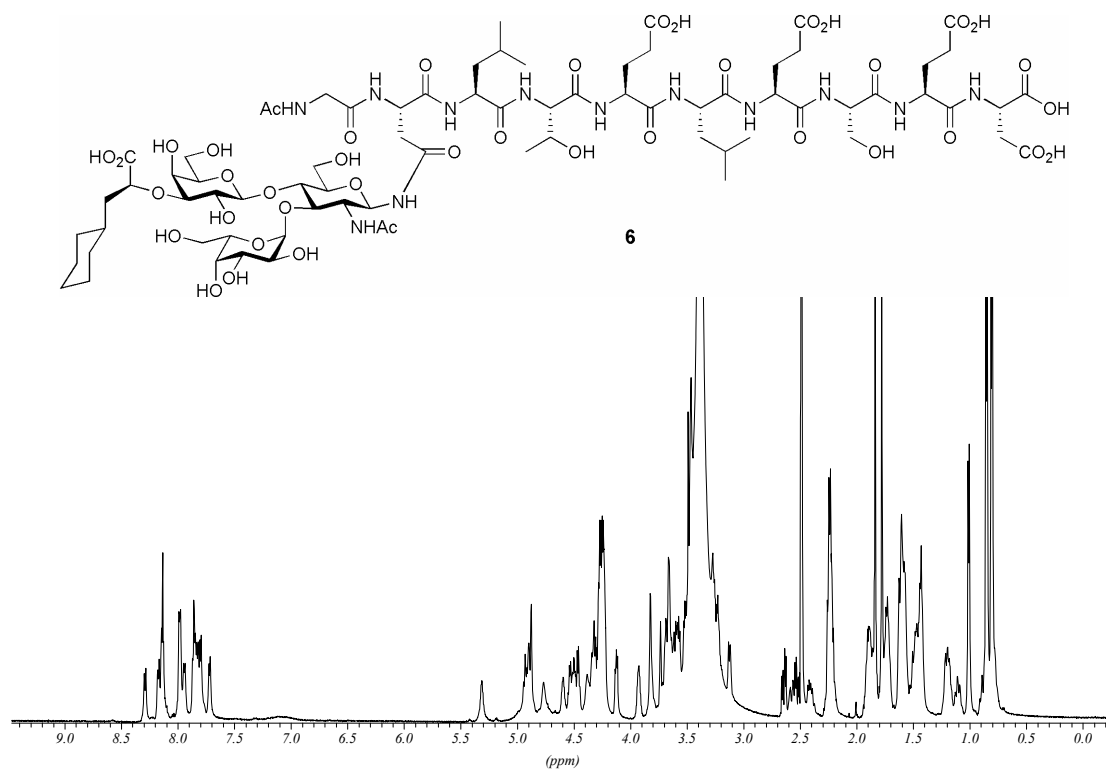
$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (600 MHz, DMSO- $d_6$ )



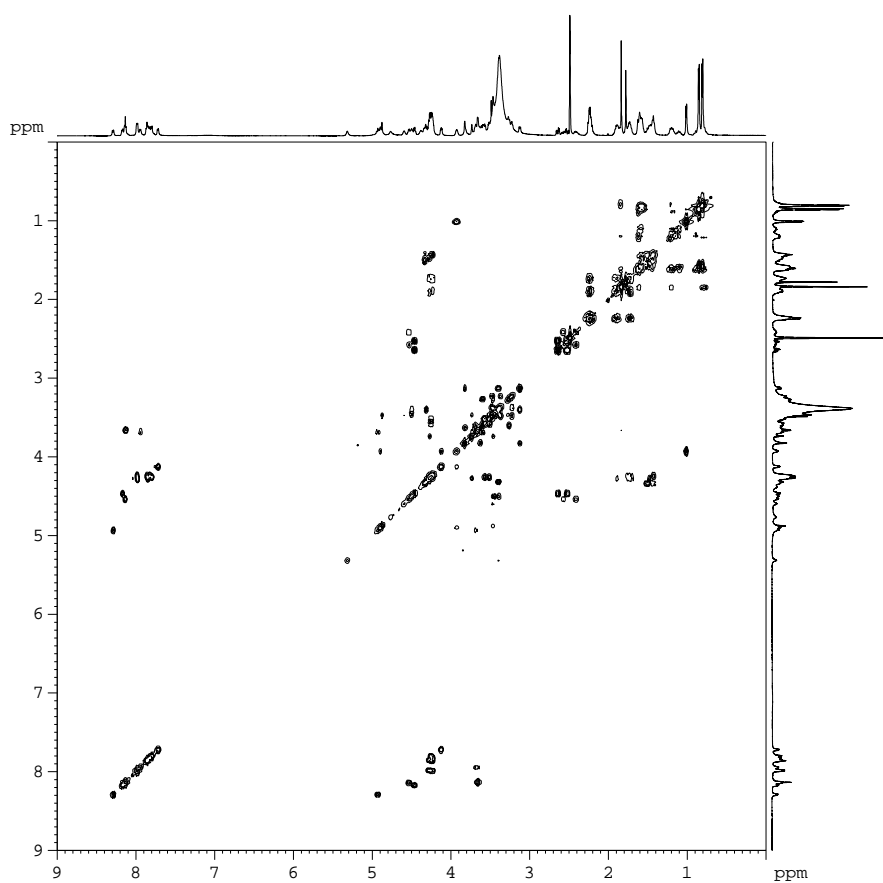
<sup>13</sup>C (150.9 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



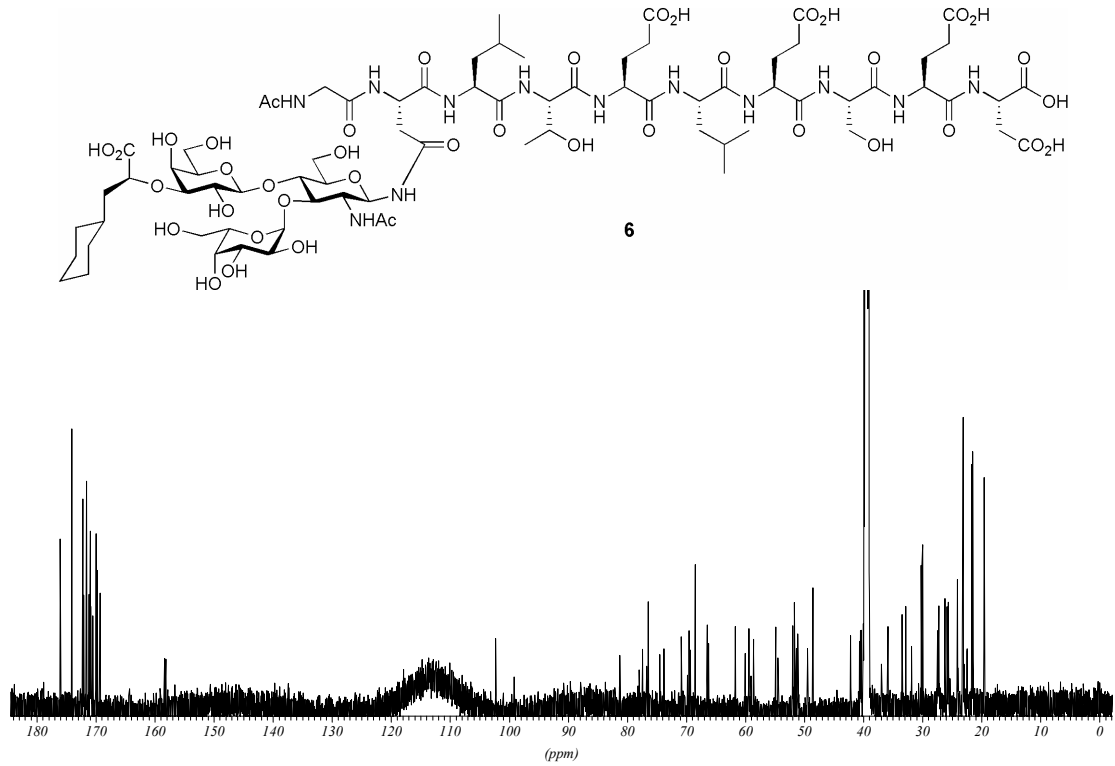
HMQC (150.9 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



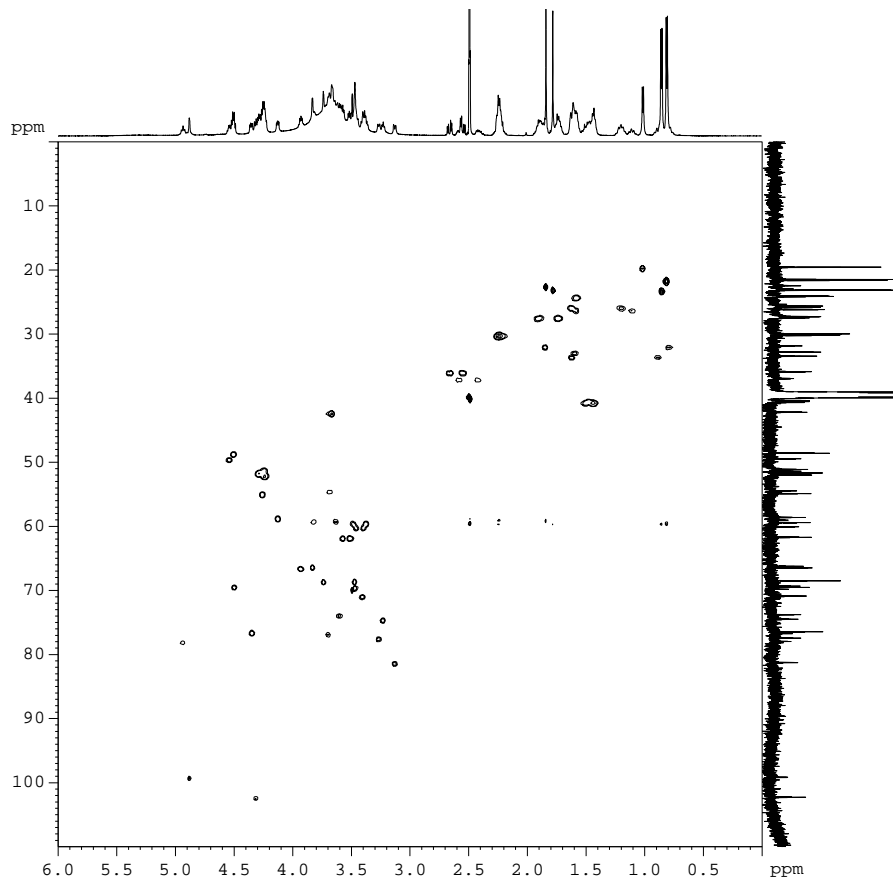
$^1\text{H}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )



$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (600 MHz, DMSO- $d_6$ )



$^{13}\text{C}$  (150.9 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ )



HMQC (150.9 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ )

