



JOHANNES GUTENBERG
UNIVERSITÄT MAINZ

**SYNTHESEN VON C-GLYCOSYLIERTEN
AMINOSÄUREN UND PEPTIDEN
UNTER EINSATZ SPEZIELL
KONSTRUIERTER MIKROREAKTOREN**

DISSERTATION

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

Stefan Koch
geboren in Kirchheimbolanden

Mainz, 1. Februar 2012

Für Mareike.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit
vom 16. Januar 2008 bis 1. Februar 2012
am Institut für Organische Chemie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. H. Kunz
und Herrn Prof. Dr. H. Löwe angefertigt.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|------------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Epithelzellen und Glycokalyx | 1 |
| 1.2 | Zelladhäsionsprozesse | 4 |
| 1.3 | Sialyl-Lewis ^x als Zelladhäsionsinhibitor | 6 |
| 1.4 | Tumorassoziierte Antigene und Krebsimmuntherapie | 9 |
| 1.5 | C-Glycosylaminosäuren | 13 |
| 1.6 | Mikrostrukturierte Reaktorsysteme | 16 |
| 2 | Zielsetzung | 21 |
| 3 | Allgemeiner Teil | 25 |
| 3.1 | Herstellung der Sialyl-Lewis ^x -Mimetika | 27 |
| 3.1.1 | Die Glucosaminbausteine | 27 |
| 3.1.2 | Der Fucosebaustein | 30 |
| 3.1.3 | Der Galactosebaustein | 31 |
| 3.1.4 | Der Cyclohexylmilchsäurebaustein | 32 |
| 3.1.5 | Die Synthesen der Disaccharide | 33 |
| 3.1.6 | Die Synthesen der Trisaccharide | 38 |
| 3.1.7 | Die Synthesen der Sialyl-Lewis ^x -Mimetika | 40 |
| 3.2 | Die Saccharidbausteine für die C-Glycosylaminosäuren | 42 |
| 3.2.1 | Galactosebaustein mit 3,4-Benzylidenacetal-Schutzgruppe via β -Anomer | 42 |
| 3.2.2 | Galactosebaustein mit 3,4-Benzylidenacetal-Schutzgruppe via α -Anomer | 44 |
| 3.2.3 | Galactonolactone mit 3,4-Benzylidenacetal-Schutzgruppe | 45 |
| 3.2.4 | Galactonolacton mit 4,6-Benzylidenacetal-Schutzgruppe | 47 |
| 3.2.5 | Gluconolacton mit 4,6-Benzylidenacetal-Schutzgruppe | 48 |
| 3.2.6 | Fuconolacton | 50 |
| 3.2.7 | Die Petasis-Olefinierungen | 51 |
| 3.2.8 | Hydroborierungen der <i>exo</i> -Glycale | 58 |
| 3.3 | Boc-geschützte Aminosäurebausteine | 64 |
| 3.4 | Suzuki-Miyaura-Kupplungen - erste Versuche | 66 |
| 3.5 | Suzuki-Miyaura-Kupplungen unter optimierten Bedingungen | 69 |
| 3.6 | Suzuki-Kupplung Fmoc-geschützter Aminosäurebausteine | 71 |
| 3.7 | Weitere Funktionalisierungen der C-Glycosylaminosäuren | 76 |
| 3.8 | Direkte Synthese von C-Lactosylaminosäuren | 82 |
| 3.9 | Block-Glycosylierungen zu komplexen C-Glycosylaminosäuren | 85 |
| 3.10 | Synthese C-glycosidisch funktionalisierter MUC1-Glycopeptide | 92 |
| 3.11 | Biologische Evaluierung der MUC1-Glycopeptide | 102 |
| 3.12 | Weitere Versuche zur C-Glycosidsynthese | 109 |
| 4 | Zusammenfassung | 113 |
| 5 | Experimenteller Teil | 125 |
| 5.1 | Allgemeines und Messgeräte | 125 |
| 5.2 | Die Sialyl-Lewis ^x -Mimetika | 129 |
| 5.2.1 | Die Glucosaminbausteine | 129 |

| | | |
|-------|--|------------|
| 5.2.2 | Der Fucosebaustein | 135 |
| 5.2.3 | Der Galactosebaustein | 138 |
| 5.2.4 | Der Cyclohexylmilchsäurebaustein | 143 |
| 5.2.5 | Die Disaccharide | 147 |
| 5.2.6 | Die Trisaccharide | 152 |
| 5.2.7 | Die Sialyl-Lewis ^x -Mimetika | 156 |
| 5.3 | Die Saccharidbausteine für die C-Glycosylaminosäuren | 161 |
| 5.3.1 | Die Galactosebausteine | 161 |
| 5.3.2 | Der Glucosebaustein und das Fuconolacton | 175 |
| 5.3.3 | Die Petasis-Olefinierungen | 180 |
| 5.3.4 | Hydroborierung der <i>exo</i> -Glycale | 189 |
| 5.4 | Die Aminosäurebausteine | 196 |
| 5.4.1 | Die Bausteine für die Tyrosin-Mimetika | 196 |
| 5.4.2 | Die Bausteine für die Serin-Mimetika | 200 |
| 5.4.3 | Die Bausteine für die Threonin-Mimetika | 207 |
| 5.5 | Die Suzuki-Miyaura-Kupplungen | 212 |
| 5.6 | Weitere Funktionalisierungen der C-Glycosylaminosäuren | 235 |
| 5.7 | Direkte Synthese der C-Lactosylaminosäuren | 259 |
| 5.8 | Die komplex funktionalisierten C-Glycosylaminosäuren | 277 |
| 5.9 | Die Synthesen der Glycopeptide | 289 |
| 5.10 | Weitere Versuche zur C-Glycosidsynthese | 305 |
| | Literaturverzeichnis | 347 |
| | Spektrenanhang | 365 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-----------------------|--|
| α | Spezifischer Drehwert |
| Å | Ångström |
| Abb. | Abbildung(en) |
| absol. | absolut |
| Ac | Acetyl |
| Ac ₂ O | Essigsäureanhydrid |
| All | Allyl |
| äq | äquatorial |
| Äquiv. | Äquivalent |
| Ar | Aryl |
| AS | Aminosäurerest |
| Aufl. | Auflage |
| b | breit |
| ax | axial |
| BB | Breitband (entkoppeltes ¹³ C-Spektrum) |
| ber. | berechnet |
| Bn | Benzyl |
| Boc | <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl |
| BSA | <i>Bovine Serum Albumin</i> |
| Bzn | Benzyliden |
| <i>c</i> | Konzentration |
| C | Celsius |
| COSY | <i>Correlated Spectroscopy</i> |
| Cp | Cyclopentadienyl |
| CRD | <i>Carbohydrate Recognition Domain</i> |
| δ | Chemische Verschiebung |
| d | Tag(e); Dublett |
| <i>d_b</i> | breites Dublett |
| DBU | 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en |
| DC | Dünnschichtchromatographie |
| DCC | <i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid |
| dd | Dublett vom Dublett |
| <i>dd_b</i> | breites Dublett vom Dublett |
| ddd | Dublett vom Dublett vom Dublett |
| dppf | Bis(diphenylphosphanyl)ferrocen |
| dq | Dublett vom Quartett |
| dt | Dublett vom Triplett |
| DEPT | <i>Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer</i> |
| DIBAL | Diisobutylaluminiumhydrid |
| DIPEA | <i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin |
| DMAP | 4-Dimethylaminopyridin |
| DMF | <i>N,N</i> -Dimethylformamid |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |

| | |
|-------------|---|
| d. Th. | der Theorie |
| EDTA | Ethylendiamin-tetraessigsäure |
| EGF | <i>Epidermal Growth Factor</i> |
| ELISA | <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> |
| ER | Endoplasmatisches Retikulum |
| ESI | <i>Elektronenspray Ionisation</i> |
| ESL-1 | E-Selektin-Ligand-1 |
| Et | Ethyl |
| et al. | <i>et alii</i> |
| EtOH | Ethanol |
| FD | <i>Field Desorption</i> |
| Fmoc | Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl |
| Fuc | L-Fucose |
| g | Gramm |
| Gal | D-Galactose |
| ges. | gesättigt |
| Glc | D-Glucose |
| GlcN | D-Glucosamin |
| h | Stunde(n) |
| HMQC | <i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i> |
| HOAc | Essigsäure |
| HPLC | <i>High Performance Liquid Chromatography</i> |
| Hrsg. | Herausgeber |
| HSQC | <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> |
| Hünigs-Base | N-Ethyl-diisopropylamin |
| Hz | Hertz |
| ICAM-1 | <i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i> |
| i. Hochvak. | im Hochvakuum |
| i. Vak. | im Vakuum |
| <i>J</i> | Kopplungskonstante |
| Kat. | Katalysator |
| konz. | konzentriert |
| λ | Wellenlänge |
| L | Liter |
| LFA-1 | Leukozytenfunktionsantigen-1 |
| Lit. | Literatur |
| Lsg. | Lösung |
| <i>m</i> | meta |
| m | Meter; Multipllett |
| M | molar |
| max. | maximal |
| m_c | zentriertes Multipllett |
| Me | Methyl |
| MHz | Megahertz |
| min | Minute(n) |
| mind. | mindestens |

| | |
|-------------|--|
| mol | Mol |
| MS | Molekularsieb; Massenspektrometrie |
| <i>n</i> Bu | <i>n</i> -Butyl |
| NMR | <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> |
| NOESY | <i>Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy</i> |
| <i>o</i> | ortho |
| <i>p</i> | para |
| p.a. | <i>pro analysi</i> |
| Ph | Phenyl |
| ppm | <i>Parts Per Million</i> |
| PSGL-1 | P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1 |
| PTFE | Polytetrafluorethylen |
| q | Quartett; quartär |
| q* | Pseudoquartett |
| quant. | quantitativ |
| Raumtemp. | Raumtemperatur |
| R_f | Retentionsfaktor |
| RK | Reaktionskoordinate |
| RP | <i>Reversed Phase</i> |
| RT | Raumtemperatur |
| s | Singulett |
| S. | Seite |
| s_b | breites Singulett |
| Schmp. | Schmelzpunkt |
| Su | Succinimidyl |
| t | Triplett |
| t* | Pseudotriplett |
| T | Temperatur |
| TBAB | Tetra- <i>n</i> -butylammoniumbromid |
| TBAF | Tetra- <i>n</i> -butylammoniumfluorid |
| <i>t</i> Bu | <i>tert</i> -Butyl |
| <i>tert</i> | tertiär |
| TBDPS | <i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl |
| TBS | <i>tert</i> -Butyldimethylsilyl |
| Tf | Trifluormethansulfonyl |
| TFA | Trifluoressigsäure |
| THF | Tetrahydrofuran |
| TIS | Triisopropylsilan |
| TOCSY | <i>Total Correlation Spectroscopy</i> |
| Troc | 2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl |
| TsOH | Toluolsulfonsäure |
| UV | Ultraviolett |
| V | Volumen; Volt |
| vgl. | vergleiche |

1 Einleitung

1.1 Epithelzellen und Glycokalyx

Das Epithel stellt neben dem Binde-, Muskel- und Nervengewebe eine der vier Grundgewebeararten dar.¹ Die dicht aneinander liegenden Epithelzellen kleiden innere und äußere Oberflächen des Körpers aus und schützen somit die darunterliegenden Zellschichten vor schädlichen Einflüssen. Das mehrschichtige Epidermisgewebe beispielsweise zeichnet sich durch sehr hohe mechanische Belastbarkeit aus, während das einschichtige Endothelgewebe als glatte, innere Auskleidung der Blut- und Lymphgefäße fungiert.

Der polare Aufbau ist für Epithelzellen besonders charakteristisch. Die Begrenzung der basalen Seite, auf der sich das Bindegewebe anschließt, erfolgt über die Basalmembran. Auf der apikalen Seite, die dem Zelläußeren oder Lumen zugewandt ist, ist der Zellmembran eine zusätzliche Deckschicht aufgelagert. Diese 10 bis 20 nm dicke Schicht aus Glycoproteinen, -lipiden und -sphingolipiden sowie Proteoglycanen heißt Glycokalyx und dient als zusätzlicher Schutz der Zelloberfläche (Abb. 1.1).²

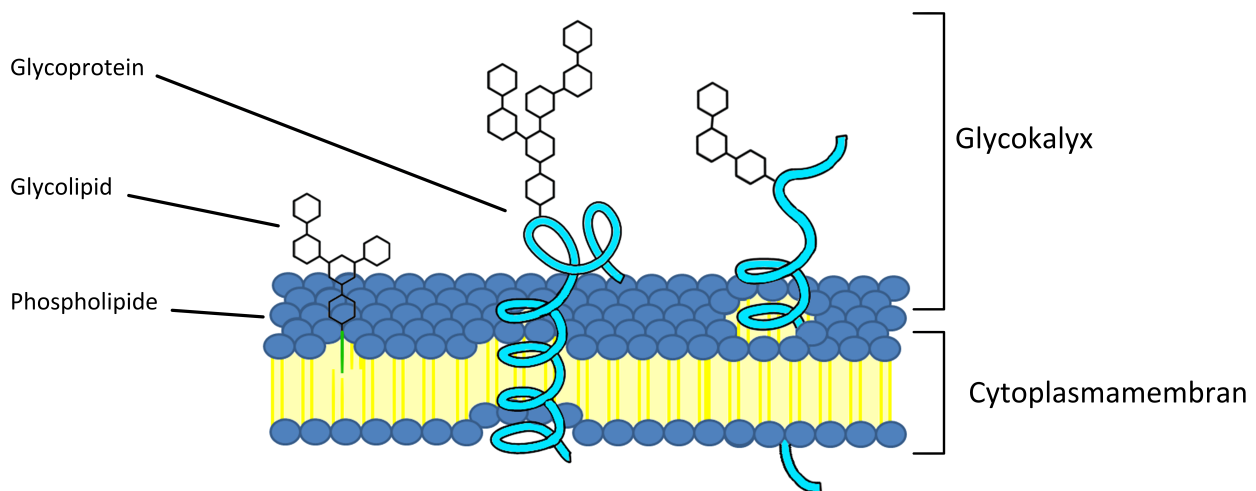


Abbildung 1.1: Schematische Darstellung der äußeren Zellmembran einer Epithelzelle. In die Phospholipid-Doppelschicht sind Glycolipide und -peptide als Bestandteile der Glycokalyx eingelagert

Die kohlenhydrathaltigen Bausteine der Zellmembran werden auf unterschiedlichen Wegen synthetisiert. In *N*-verknüpften Glycoproteinen ist immer ein *N*-Acetylglucosamin-Baustein über den

¹ Munk, K. *Biochemie, Zellbiologie, Ökologie, Evolution*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, 2000.

² Hirsch-Kauffmann, M.; Schweiger, M.; Schweiger, M.-R. *Biologie und molekulare Medizin*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009.

Amidstickstoff eines Asparagin-Restes β -glycosidisch gebunden. Die potenziellen Glycosylierungsstellen innerhalb eines Proteins sind dabei durch die Konsensussequenz Asn-X-Ser/Thr gegeben, wobei X jede Aminosäure außer Prolin oder Asparagin sein kann. Die Bildung von *N*-Glycosiden erfolgt cotranslational im Endoplasmatischen Retikulum (ER). Während der ablaufenden Peptidsynthese wird ein Oligosaccharid aus 9 Mannose-, 3 Glucose- und 2 GlcNAc-Resten *en bloc* übertragen. Anschließend werden durch enzymatische Prozessierung zunächst im ER und später im Golgi-Apparat einige Zuckerbausteine abgespalten und andere angefügt, um die endgültige Oberflächenstruktur zu generieren (Abb. 1.2).³

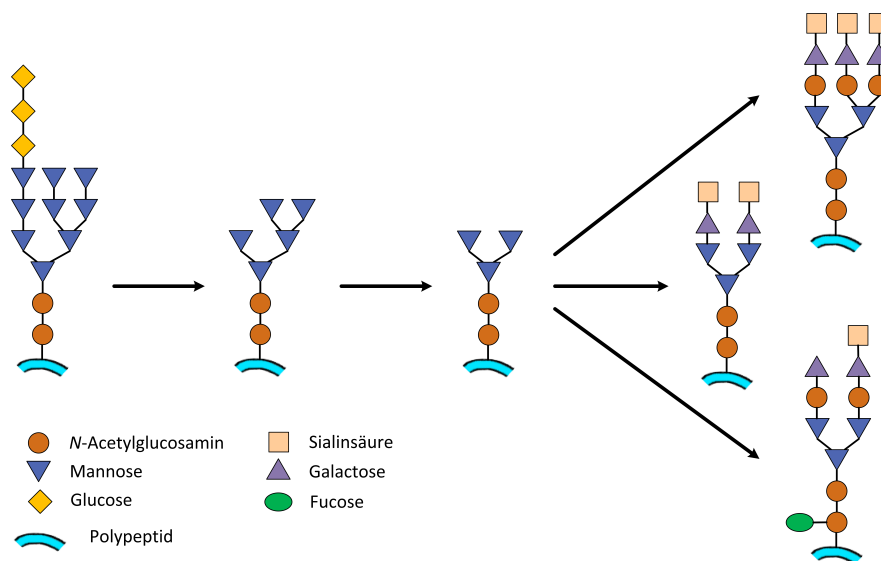


Abbildung 1.2: Schematische Darstellung der Biosynthese *N*-glycosylierter Proteine. Nach cotranslationaler Übertragung eines Oligosaccharides auf Asparagin erfolgt die Modifikation der ursprünglichen Struktur im ER und im Golgi-Apparat

Bei membranständigen *O*-Glycoproteinen erfolgt die glycosidische Verknüpfung der Saccharide über die Hydroxylfunktionen von Serin oder Threonin. Hier existiert, anders als bei den *N*-Glycosiden, keine einheitliche Aminosäuresequenz, die potenzielle Glycosylierungsstellen markiert. Die Positionen, an denen Saccharide angeknüpft werden können, sind stattdessen durch Sekundär- und Tertiärstruktur des unglycosylierten Proteins bestimmt. Dabei handelt es sich meist um gut zugängliche Schleifen (*loops*) und Biegungen (*turns*) auf der Oberfläche. Diese Tatsache liegt in der Biosynthese der *O*-Glycoside begründet, die im Golgi-Apparat erfolgt. Durch verschiedene Glycosyltransferasen werden dort einzelne Monosaccharideinheiten sukzessive auf eine bereits fertige Polypeptidkette übertragen.

Glycolipide werden meist in der Membran des Endoplasmatischen Retikulums synthetisiert und anschließend in Vesikeln zur äußeren Zellmembran transportiert. Bei Glycosphingolipiden erfolgt

³ Voet, D.; Voet, J. G.; Pratt, C. W. *Lehrbuch der Biochemie*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2002.

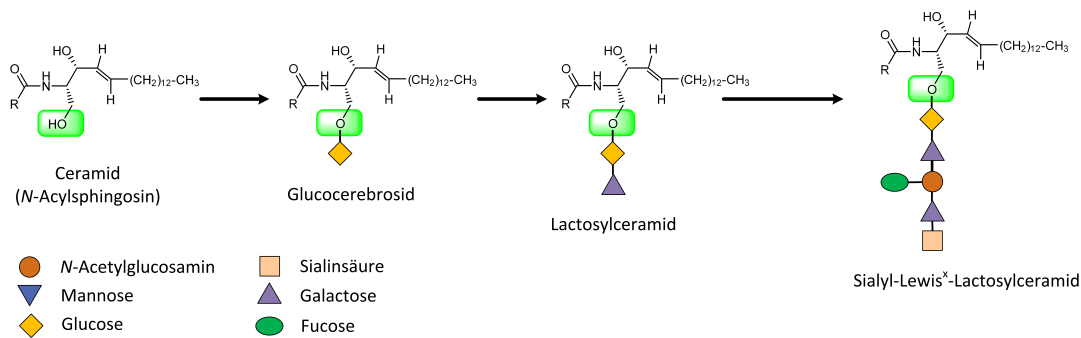


Abbildung 1.3: Schematische Darstellung der Biosynthese von Glycolipiden. Die Übertragung der Kohlenhydratreste erfolgt wie bei O-Glycoproteinen stufenweise

erst der Aufbau des Ceramids (N-Acylsphingosin) und anschließend die schrittweise Glycosylierung durch verschiedene Glycosyltransferasen an der primären OH-Gruppe des Lipids (Abb. 1.3). Man unterscheidet unter anderem zwischen Cerebrosiden, bei denen nur ein Monosaccharid angeknüpft ist, Globosiden, die neutrale Oligosaccharidseitenketten besitzen und Gangliosiden, welche in den Oligosaccharidresten Sialinsäure beinhalten. Die gemeinsame Grundstruktur der meisten Glycosphingolipide stellt das Lactosylceramid dar, welches durch Übertragung eines Galactoserestes auf 1-β-Glucosylceramid erhalten wird.

Die Glycokalix auf der Zelloberfläche schirmt diese jedoch nicht nur vor äußeren Einflüssen ab. Die aufgelagerten Kohlenhydratstrukturen dienen neben der Schutzfunktion auch der Vermittlung verschiedenster Zell-Zell-Interaktionen. Durch die hohe Dichte an Stereozentren in einer einzelnen Kohlenhydrateinheit und den vielfältigen Möglichkeiten, mit denen sich Saccharide untereinander räumlich verbinden können, besitzen Oligosaccharide das Potenzial, extrem spezifische biologische Informationen zu tragen. Lectine, die ebenfalls auf Zelloberflächen vorkommen, sind Proteine, die sehr selektiv an bestimmte Mono- oder Oligosaccharidstrukturen binden. Die Wechselwirkungen zwischen beiden Bindungspartnern erfolgen über Wasserstoffbrückenbindungen des Proteins mit den charakteristisch ausgerichteten Hydroxylgruppen des Saccharids und van-der-Waals-Wechselwirkungen unpolarer Bereiche.

Die Klassifizierung nach dem AB0-Blutgruppensystem beispielsweise beruht auf den Kohlenhydratstrukturen, die sich auf den Zelloberflächen befinden. Ein Individuum mit Blutgruppe A trägt Glycolipide mit A-Antigenen in den Zellmembranen und besitzt Anti-B-Antikörper im Blut. Bei einer Transfusion von Blut des Typs B in das Typ-A-Individuum, kommt es zur selektiven Erkennung der zugeführten Typ-B-Erythrozyten durch die Anti-B-Antikörper. Das daraus resultierende Verklumpen der roten Blutkörperchen hat oft fatale Folgen. Die beiden Antigene A und B unterscheiden sich lediglich in Position 2 der endständigen Galactose, was die enorme Selektivität des Erkennungsprozesses deutlich werden lässt (Abb. 1.4).

Spezifische Zell-Zell-Interaktionen auf molekularer Ebene sind die Grundvoraussetzung vieler

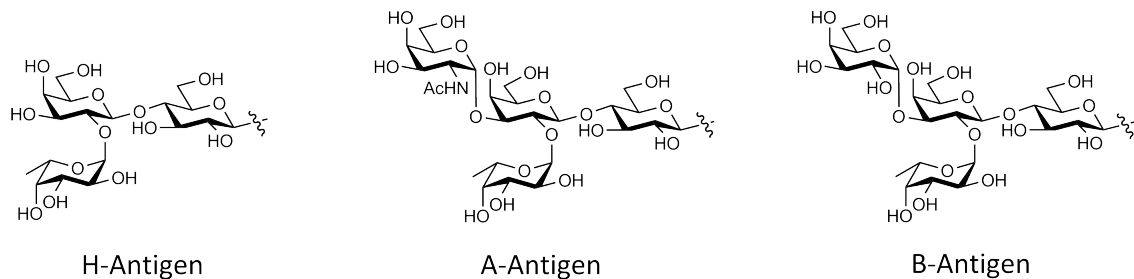


Abbildung 1.4: Strukturen der Determinanten der Blutgruppen H, A und B (Typ-0-Individuen tragen das H-Antigen)

biologischer Prozesse, wie der embryonalen Entwicklung, der Morphogenese oder der Immunantwort. Im Verlauf von pathologischen Ereignissen wie chronischen Entzündungen,⁴ Autoimmun- oder Krebserkrankungen, einschließlich des Prozesses der Metastasierung von Tumoren beobachtet man häufig veränderte Glycosylierungsmuster auf den betroffenen Zelloberflächen.⁵⁻¹¹ Diese werden durch veränderte Enzymaktivitäten in Folge der Erkrankung hervorgerufen und führen zu Störungen der zellulären Abläufe. Die Identifizierung der jeweiligen Oberflächenstrukturen dient in der Medizin als diagnostisches Mittel für bestimmte Krankheitsbilder oder als Tumormarker.¹² Darüber hinaus bietet die detaillierte Kenntnis über die Kohlenhydratstrukturen auf den malignen Zellen auch Ansatzpunkte für die Entwicklung möglicher Therapien.

1.2 Zelladhäsionsprozesse

Der Aufenthalt einer Zelle im Blutstrom ist nur vorübergehend und dient dem Transport zum Bestimmungsort.¹³ Zur Bekämpfung einer bakteriellen Entzündung beispielweise müssen Leukozyten in der Nähe des Entzündungsherdes die Blutbahn verlassen, um in das betroffene Gewebe

⁴ McMurray, R. W. *Semin. Arthritis Rheum.*, **1996**, 25, 215.

⁵ Turner, G. A.; Catterall, J. B. *Biochem. Soc. Trans.*, **1996**, 25, 234.

⁶ Kannagi, R. *Glycoconjugate J.*, **1997**, 14, 577.

⁷ McEver, R. P. *Glycoconjugate J.*, **1997**, 14, 585.

⁸ Renkonen, R.; Mattila, P.; Majuri, M.-L.; Rabinä, J.; Toppila, S.; Renkonen, J.; Hirvas, L.; Niittymäki, J.; Turunen, J. P.; Renkonen, O.; Paavonen, T. *Glycoconjugate J.*, **1997**, 14, 593.

⁹ Renkonen, J.; Paavonen, T.; Renkonen, R. *Int. J. Cancer*, **1997**, 74, 296.

¹⁰ Krause, T.; Turner, G. A. *Clin. Exp. Metastasis*, **1999**, 17, 183.

¹¹ Borsig, L. *News Physiol. Sci.*, **2004**, 19, 16.

¹² Reis, C. A.; Osorio, H.; Silva, L.; Gomes, C.; David, L. *J. Clin. Pathol.*, **2010**, 63, 322.

¹³ Sharon, N.; Lis, H. *Spektrum der Wissenschaft*, **1993**, 3, 66.

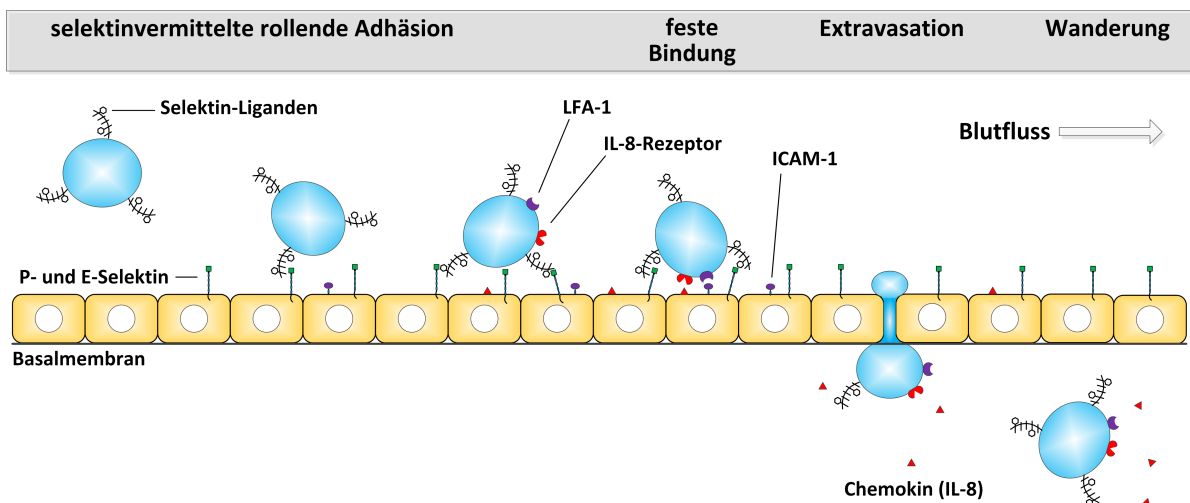


Abbildung 1.5: Schematischer Ablauf der Immunantwort bei einer Entzündung

zu gelangen (Diapedese).¹⁴⁻¹⁶ Die genauen Mechanismen der Zelladhäsion sind sehr komplex und noch nicht vollständig geklärt.¹⁷ In einem einfachen Modell lässt sich der Adhäsionsvorgang allerdings als eine Abfolge aufeinander folgender Schritte beschreiben (Abb. 1.5).

Im initialen Schritt muss der in der Blutbahn schwimmende Leukozyt einen lockeren Kontakt zum Gefäßendothel herstellen, wodurch er abgebremst wird und mit reduzierter Geschwindigkeit an der Gefäßwand entlang rollt.^{18,19} Daraufhin kommt es zu zusätzlichen und stärkeren Wechselwirkungen, was zu einem festen Anhaften des Leukozyten an den Endothelzellen führt. Ist die Fixierung erfolgt, so kommt es zu einer Abflachung der gebundenen Immunzelle und anschließend zur Extravasation, also der Migration durch die Gefäßwand hindurch. Die Wanderung zum Ort der Entzündung erfolgt entlang eines Chemokingradienten.¹³

Die Interaktionen zwischen Endothel und Leukozyt finden über membranständige Adhäsionsmoleküle und deren Liganden statt, die auf eine gegenseitige Erkennung auf molekularer Ebene ausgerichtet sind. Zu diesen Adhäsionsmolekülen zählen unter anderem die Cadherine,²⁰ die Integrine,²¹ die Mitglieder der Immunglobulinsuperfamilie²² und die Selektine.¹⁶ Während die ersten drei

¹⁴ Janeway, C. A.; Travers, P.; Walport, M.; Shlomchik, M. *Immunologie*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, 5. Auflage, 2002.

¹⁵ Springer, T.A. *Nature*, **1990**, 346, 425.

¹⁶ Simanek, L. L.; McGarvey, G. J.; Jablonowski, J. A.; Wong, C.-H. *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 833.

¹⁷ Ley, K., Hrsg. *Adhesion Molecules: Function and Inhibition*. Birkhäuser Verlag AG, Basel, Schweiz, 2007.

¹⁸ McEver, R. P.; Moore, K. L.; Cummings, R. D. *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 11025.

¹⁹ McEver, R. P. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2002**, 14, 581.

²⁰ Vleminckx, K.; Kemler, R. *BioEssays*, **1999**, 21, 211.

²¹ Shattil, S.; Ginsberg, M. H. *J. Clin. Invest*, **1997**, 100, 1.

²² Edelmann, G. M.; Crossin, K. L. *Annu. Rev. Biochem.*, **1991**, 60, 155.

Klassen viele Zell-Zell-Wechselwirkungen im Organismus beeinflussen, treten die Selektine spezifisch bei der gegenseitigen Erkennung von Endothelzellen und Blutzellen in Erscheinung.

Zu Beginn der inflammatorischen Kaskade werden am Entzündungsort verschiedene Signalmoleküle (z. B. Zytokine, Histamin, Peroxidradikale) ausgeschüttet, die nahe gelegene Endothelzellen zur Präsentation von Selektinen stimulieren.²³ P-Selektin wird in Endothelzellen konstitutiv exprimiert und in Weibel-Palade-Körperchen gespeichert und kann daher innerhalb kürzester Zeit auf der Zelloberfläche erscheinen. Die Expression von E-Selektin muss erst induziert werden und benötigt daher mehr Zeit. Das Maximum der E-Selektin-Konzentration wird etwa 4 bis 6 Stunden nach der Induktion erreicht und klingt dann langsam wieder ab. L-Selektin befindet sich auf der Zelloberfläche von Leukozyten und wird von diesen konstitutiv präsentiert.

Abbildung 1.6 zeigt den schematischen Aufbau der Selektine. Sie besitzen lange extrazelluläre Domänen, die weit in den Blutstrom hineinreichen. Dadurch können sie Wechselwirkungen mit den passenden kohlenhydrathaltigen Liganden wie dem P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1 (PSGL-1) oder dem E-Selektin-Ligand-1 (ESL-1) auf der Oberfläche von Leukozyten eingehen. Die vergleichsweise schwachen Bindungen können schnell gebildet und wieder gelöst werden, was die Translokation der Bindungsstelle zwischen dem langsamer werdenden weißen Blutkörperchen und dem Endothel erlaubt.

Die Selektine sind folglich für die inflammatorische Kaskade von großer Bedeutung, da sie für den initialen Wechselwirkungsschritt der rollenden Adhäsion verantwortlich sind.¹⁴ Die feste Adhäsion erfolgt später über stärkere Bindungen zwischen Molekülen der Integrin-Familie und deren Liganden, wie dem *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1).

1.3 Sialyl-Lewis^x als Zelladhäsionsinhibitor

Bei chronischen Entzündungen kommt es zu einer ständigen und unkontrollierten Immunantwort, wodurch in der Folge auch gesundes Gewebe geschädigt wird. Auch allergische Reaktionen oder die Abstoßung von Transplantaten²⁴ nach einer Operation lassen sich unter anderem mit einer solchen unerwünschten Abwehrreaktion begründen.

Die übermäßige Leukozytenrekrutierung am Entzündungsort müsste in diesen Fällen unterbunden werden, um eine antiinflammatorische Wirkung zu erzielen. Durch kompetitiv an Selektine bindende Wirkstoffmoleküle, sollte sich die Adhäsion von Leukozyten am Endothel direkt zu Beginn der Wechselwirkungskaskade reduzieren oder sogar unterdrücken lassen.²⁵

²³ Philipps, M. L.; Nudelmann, E.; Gaeta, F. C. A.; Perez, M.; Sinhhai, A. K.; Hakomori, S. I.; Paulson, J. C. *Science*, **1990**, 250, 1130.

²⁴ Turunen, J. P.; Paavonen, T.; Majuri, M.-L.; Tiisala, S.; Mattila, P.; Mennander, A.; Gahmberg, C. G.; Häyry, P.; Tamatani, T.; Miyasaka, M.; Renkonen, R. *Eur. J. Immunol.*, **1994**, 24, 1130.

²⁵ Ehrhardt, C.; Kneuer, C.; Bakowsky, U. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2004**, 56, 527.

Dieser Idee folgt die Suche nach synthetischen Liganden für die Bindungsdomäne der Selektine, welche aufgrund ihrer Affinität zu Oligosaccharidstrukturen als *Carbohydrate Recognition Domain* (CRD) bezeichnet wird. Diese calciumabhängige, etwa 120 Aminosäuren umfassende Lektin-Domäne befindet sich am *N*-Terminus des extrazellulären Bereiches (vgl. Abb. 1.6). Darauf folgt der *epidermal growth factor* (EGF) und eine vom Typ des jeweiligen Selektins abhängige Anzahl kurzer Wiederholungseinheiten (SCR, *short consensus repeat*). Die Verankerung in der Zellmembran erfolgt durch einen Transmembranteil und nur ein kurzer Abschnitt am Carboxyterminus befindet sich im Cytoplasma.

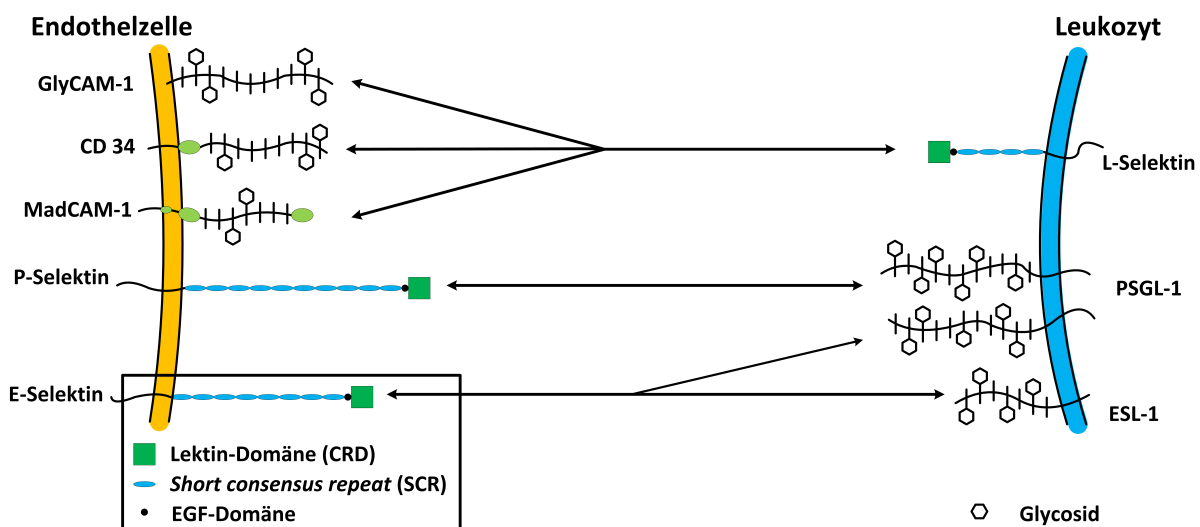


Abbildung 1.6: Selektine als membranständige Zelladhäsionsmoleküle auf Endothelzellen und Leukozyten

Eine Oligosaccharidstruktur, die eine hohe Bindungsaffinität an die CRD-Region zeigt, ist Sialyl-Lewis^x, ein Tetrasaccharid, an dessen Gerüst die nötigen pharmakophoren Gruppen in geeigneter räumlicher Lage für starke Wechselwirkungen angeordnet sind.^{16,26,27} Es besteht aus der Verknüpfung der vier Bausteine *N*-Acetyl-D-neuraminsäure, D-Galactose, D-Glucosamin und L-Fucose. Da nicht alle Strukturelemente für die Bindungseigenschaften zwingend notwendig sind,²⁸⁻³⁰ ist man bei Synthesen von Selektininhibitoren bestrebt, insbesondere die gegen Abbau anfälligen und

²⁶ Bevilacqua, M. P.; Stengelin, S.; Gimbrone jr., M. A.; Seed, B. *Science*, **1989**, 243, 1160.

²⁷ Buerke, M.; Weyrich, A. S.; Zheng, Z.; Gaeta, F. C. A.; Forrest, M. J.; Lefer, A. M. *J. Clin. Invest.*, **1994**, 93, 1140.

²⁸ Stahl, W.; Sprengard, U.; Kretschmar, G.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **1994**, 106, 2186.

²⁹ Bradley, B. K.; Kiso, M.; Abbas, S.; Nikrad, P.; Srivasatava, O.; Foxall, C.; Oda, Y.; Hasegawa, A. *Glycobiology*, **1993**, 3, 633.

³⁰ Filser, Christian. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2005.

teuren Bausteine durch nicht-saccharidische Mimetika zu ersetzen.^{31,32} Ein Beispiel ist der Austausch der *N*-Acetyl-D-neuraminsäure gegen die einfache, aber voluminöse (*S*)-Cyclohexylmilchsäure.^{33,30} Durch diesen Ansatz nach *Kolb* und *Ernst*, der auch bei *Novartis* zur Herstellung zahlreicher Mimetika angewandt wurde,³⁴⁻³⁶ erhofft man sich eine längere Persistenzzeit des Wirkstoffes im Körper. Die unnatürlichen Strukturen sollten *in vivo* weniger leicht von Enzymen als Substrate erkannt und verwertet werden. Die Variation der Sialyl-Lewis^x-Leitstruktur kann aber noch viel weiter gehen, was in Übersichtsartikeln von *Wong et al.*,¹⁶ *Unger*³⁷ oder *Kaila* und *Thomas*³⁸ umfangreich beleuchtet wird.

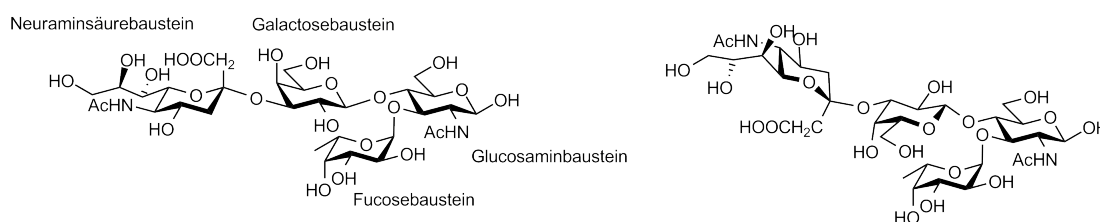


Abbildung 1.7: Struktur von Sialyl-Lewis^x- links schematisch und rechts in bioaktiver Konformation

Das Sialyl-Lewis^x-Oligosaccharid kommt in der Natur nicht als isolierte Struktur vor, sondern ist entweder als Teil eines Glycopeptides oder -lipides in der Membran verankert. Bei Sialyl-Lewis^x-Glycopeptiden lässt sich feststellen, dass die Peptidsequenz nicht nur als Matrix zur membranständigen Präsentation des Saccharides dient. Vielmehr ist die Bindungsaffinität gegenüber den verschiedenen Selektinen stark von der vorliegenden Aminosäuresequenz abhängig. Diese spielt entweder durch direkte Wechselwirkungen einzelner Aminosäuren mit der CRD- oder EGF-Domäne der Selektine und/oder durch Beeinflussung der bioaktiven Konformation des gesamten Liganden eine Rolle.³⁹ So liegt die beobachtete Bindungsstärke komplexerer Liganden deutlich über derjenigen des einfachen Tetrasaccharids.⁴⁰

³¹ Wong, C.-H.; Moris-Varas, F.; Hung, S.-C.; Marron, T.G.; Lin, C.-C.; Gong, K.W.; Weitz-Schmidt, G.J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *110*, 8125.

³² Rösch, M., D.; Herzner, H.; Wild, M.; Vestweber, D.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **2001**, *40*, 3836.

³³ Ohmoto, H.; Nakamura, K.; Inoue, T.; Kondo, N.; Inoue, Y.; Yoshino, K.; Kondo, H.; Ishida, H.; Kiso, M.; Hasegawa, A. *J. Med. Chem.*, **1996**, *39*, 1339.

³⁴ Thoma, G.; Kinzy, W.; Bruns, C.; Patton, J. T.; Magnani, J. L.; Banteli, R. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 4909.

³⁵ Banteli, R.; Herold, P.; Bruns, C.; Patton, J. T.; Magnani, J. L.; Thoma, G. *Helv. Chim. Acta*, **2000**, *83*, 2893.

³⁶ Thoma, G.; Schwarzenbach, F. *Helv. Chim. Acta*, **2003**, *86*, 855.

³⁷ Unger, F. M. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **2001**, *57*, 207.

³⁸ Thomas IV, B. E.; Kaila, N. *Med. Res. Rev.*, **2002**, *22*, 566.

³⁹ Kansas, G. S.; Saunders, K. B.; Ley, K.; Zakrzewics, A.; Gibson, R. M.; Furie, B.; Furie, B. C.; Tedder, T. F. *J. Cell Biol.*, **1994**, *106*, 188.

⁴⁰ Fukuda, M.; Hiraoka, N.; Yeh, J.-C. *J. Cell Biol.*, **1999**, *147*, 467.

Sialyl-Lewis^x ist nicht nur ein essentieller Bestandteil von Selektinliganden wie dem PSGL-1 und spielt bei der Inflammation eine wichtige Rolle, sondern es lässt sich auch auf Tumorgewebe als Glycopeptid oder -lipid in teilweise stark erhöhter Konzentration nachweisen.⁴¹⁻⁴⁵ Es gilt daher ebenso als tumorassoziiertes Antigen, wie die Strukturen, die im nächsten Abschnitt beschrieben werden. Da gerade metastasierende Tumore eine starke Überexpression der Sialyl-Lewis^x-Strukturen zeigen,^{6,46,47} wird vermutet, dass die Metastasierung über einen ähnlichen Mechanismus abläuft wie die Leukozytenrekretierung. Eine Tumorzelle, die nach dem Herauslösen aus dem ursprünglichen Tumorgewebe im Blutstrom schwimmt, könnte sich demnach mittels der membranständigen Sialyl-Lewis^x-Strukturen (in Analogie zu den kohlenhydrathaltigen Liganden PSGL-1 und ESL-1) an Selektine auf Endothelzellen anheften und so an einer anderen Stelle im Körper die Blutbahn verlassen.⁴⁸ Die medikamentöse Gabe von Sialyl-Lewis^x beinhaltenen Wirkstoffen, die kompetitiv an Selektine binden,⁴⁹ würde wie im Falle der chronischen Entzündungen einen Therapieansatz durch Verhinderung der rollenden Adhäsion bieten. Eine Metastasierung könnte so unterdrückt oder zumindest verzögert und somit Zeit für die Therapie gewonnen werden.

1.4 Tumorassoziierte Antigene und Krebsimmuntherapie

Neben Sialyl-Lewis^x existieren weitere tumorassoziierte Kohlenhydratstrukturen. Diese kommen zwar nicht ausschließlich, aber in stark erhöhtem Maße auf der Zelloberfläche kranker Zellen vor. Aufgrund veränderter Enzymaktivitäten^{50,51} im Krankheitsfall handelt es sich um recht kleine, häufig mit Sialinsäure terminierte Saccharide, die in Form von Glycopeptiden an membranständige Proteine angeheftet vorliegen (Abb. 1.8).

Insbesondere in der Arbeitsgruppe *Kunz* ist dabei das Mucins MUC1⁵² Gegenstand intensiver Forschung. Mucine⁵³ sind eine Gruppe hochmolekularer Glycoproteine, die bei verschiedenen Arten von Epithelzellen als Teil der Glycokalyx exprimiert werden.

⁴¹ Yamaguchi, A.; Ding, K.; Maehara, M.; Goi, T.; Nakagawara, G. *Oncology*, **1998**, *55*, 357.

⁴² Shimodaira, K.; Nakayama, J.; Nakamura, N.; Hasebe, O.; Katsuyama, T.; Fukuda, M. *Cancer Res.*, **1997**, *57*, 5201.

⁴³ Burdick, M. D.; Harris, A.; Reid, C. J.; Iwamura, T.; Hollingsworth, M. A. *J. Biol. Chem.*, **1997**, *272*, 24198.

⁴⁴ Hanski, C.; Hanski, M. L.; Zimmer, T.; Ogorek, D.; Devine, P.; Riecken, E. O. *Cancer Res.*, **1995**, *55*, 928.

⁴⁵ St. Hill, C. A.; Bullard, K. M.; Walcheck, B. *Cancer Lett.*, **2005**, *217*, 105.

⁴⁶ Nakamori, S.; Kameyama, M.; Imaoka, S.; Furukawa, H.; Ishikawa, O.; Sasaki, Y.; Izumi, Y.; Irimura, T. *Dis. Colon Rectum*, **1997**, *40*, 420.

⁴⁷ Cazet, A.; Julien, S.; Bobowski, M.; Krzewinski-Recchi, M.-A.; Harduin-Lepers, A.; Groux-Degroote, S.; Delanoy, P. *Carbohydr. Res.*, **2010**, *345*, 1377.

⁴⁸ Kim, Y. J.; Borsig, L.; Han, H.-L.; Varki, N. M.; Varki, A. *Am. J. Pathol.*, **1999**, *155*, 461.

⁴⁹ Baumann, K.; Kowalczyk, D.; Gutjahr, T.; Pieczyk, M.; Jones, C.; Wild, M. K.; Vestweber, D.; Kunz, H. *Angew.*

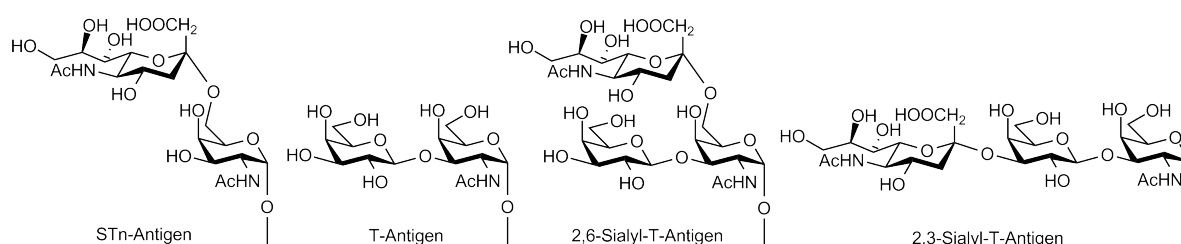


Abbildung 1.8: Einige tumorassoziierte Kohlenhydrat-Antigene

Die verschiedenen bekannten Mucine unterscheiden sich zwar bezüglich ihrer Aminosäurezusammensetzung, jedoch gibt es Gemeinsamkeiten im grundsätzlichen Aufbau. Die Proteinkernstruktur besteht aus einer variablen Zahl repetitiver Sequenzeinheiten, den so genannten *tandem repeats*, die reich an Prolin, Serin und Threonin sind (Abb. 1.9). Zudem sind sie hochgradig glycosyliert,⁵⁴ so dass der Gewichtsanteil der Kohlenhydratstrukturen bis zu 90% erreichen kann.⁵⁵⁻⁵⁷

Durch den hohen Anteil an helixbrechendem Prolin, den vielen komplexen Kohlenhydratseitenketten mit deprotoniert vorliegenden Sialinsäure-Resten, welche sich untereinander elektrostatisch abstoßen, nimmt MUC1 eine gestreckte Konformation ein, und ragt weit über die Glycocalyx hinaus in das Lumen (200-800 nm).⁵⁸

-His-Gly-Val-**Thr-Ser**-Ala-Pro-Asp-**Thr**-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-**Ser-Thr**-Ala-Pro-Pro-Ala-

Abbildung 1.9: Tandem repeat-Struktur des Mucins MUC1. Potenzielle O-Glycosylierungsstellen sind fett markiert

Chem. Int. Ed., **2009**, 48, 3174.

⁵⁰ Brockhausen, I.; Yang, J.-M.; Bruchell, J.; Whitehouse, C.; Taylor-Papadimitriou, J. *Eur. J. Biochem.*, **1995**, 233, 607.

⁵¹ Baker, M. A.; Kanani, A.; Brockhausen, I.; Schachter, H.; Hindenburg, A.; Taub, R. N. *Cancer Res.*, **1987**, 47, 2763.

⁵² Hanisch, F.-G.; Muller, S. *Glycobiology*, **2000**, 10, 439.

⁵³ Roussel, P.; Lamblin, G. *Glycoproteins and Disease*, Vol. 30. Elsevier, Amsterdam, 1996.

⁵⁴ Hanisch, F.-G. *Biol. Chem.*, **2001**, 382, 143.

⁵⁵ Gum Jr., J. R. *Biochem. Soc. Trans.*, **1995**, 23, 795.

⁵⁶ Carlstedt, I.; Davies, J. R. *Biochem. Soc. Trans.*, **1997**, 25, 241.

⁵⁷ Ju, T.; Aryal, R. P.; Stowell, C. J.; Cummings, R. D. *J. Cell Biol.*, **2008**, 182, 531.

⁵⁸ Hilkins, J.; Ligtenberg, M. J. L.; Vos, H. L.; Litvinov, S. V. *Trends Biochem. Sci.*, **1992**, 17, 359.

Liegt nun eine Krebserkrankung vor, so kommt nicht nur MUC1 selbst in stark erhöhtem Maße auf der Zelloberfläche vor,^{52,59-67} sondern anstelle der komplexen Oligosaccharidstrukturen der Seitenketten treten nun zum Teil die verkürzten tumorassoziierten Kohlenhydratstrukturen (vgl. Abb. 1.8).⁶⁸⁻⁷⁹ Damit einher gehen mehrere Veränderungen. So geht unter anderem die Zellpolarisation verloren und MUC1 ist nicht mehr nur an der apikalen Seite lokalisiert, sondern über die gesamte Zelloberfläche verteilt.⁸⁰ Es wird vermutet, dass es dadurch leichter zu einer Abspaltung der Zelle aus dem Verbund kommen und eine Metastasierung eingeleitet werden kann.⁸¹

-
- ⁵⁹ Gendler, S. J.; Lancaster, C. A.; Taylor-Papadimitriou, J.; Duhig, T.; Peat, N.; Burchell, J. M.; Pemberton, L.; Lalani, E.; Wilson, D. *J. Biol. Chem.*, **1990**, *265*, 15286.
- ⁶⁰ Taylor-Papadimitriou, J.; Burchell, J. M.; Miles, D. W.; Dalziel, M. *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**, *1455*, 301.
- ⁶¹ Gendler, S. J. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **2001**, *6*, 339.
- ⁶² Taylor-Papadimitriou, J.; Burchell, J. M.; Plunkett, T.; Graham, R.; Correra, I.; Miles, D.; Smith, M. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **2002**, *7*, 209.
- ⁶³ Hanisch, F.-G. *Biochem. Soc. Trans.*, **2005**, *33*, 705.
- ⁶⁴ Yonezawa, S.; Goto, M.; Yamada, N.; Higashi, M.; Nomoto, M. *Proteomics*, **2008**, *8*, 3329.
- ⁶⁵ Vlad, A. M.; Kettel, J. C.; Alajez, N. M.; Carlos, C. A.; Finn, O. J. *Adv. Immunol.*, **2004**, *82*, 249.
- ⁶⁶ Sangha, R.; Butts, C. *Clin. Cancer Res.*, **2007**, *13*, 4652.
- ⁶⁷ Girling, A.; Bartkova, J.; Burchell, J.; Gendler, S.; Gillett, C.; Taylor-Papadimitriou, J. *Int. J. Cancer*, **1989**, *43*, 1072.
- ⁶⁸ Schultz, P. G. *Angew. Chem.*, **1989**, *101*, 1336.
- ⁶⁹ Ikehara, Y.; Kojima, N.; Kurosawa, N.; Kudo, T.; Kono, M.; Nishihara, S.; Issiki, S.; Morozumi, K.; Itzkowitz, S. H.; Tsuda, T.; Nishimura, S. I.; Tsuji, S.; Narimatsu, H. *Glycobiology*, **1999**, *9*, 1213.
- ⁷⁰ Itzkowitz, S. H.; Yuan, M.; Montgomery, C. K.; Kjeldsen, T.; Takahashi, H. K.; Bigbee, W. L.; Kim, Y. S. *Cancer Res.*, **1989**, *49*, 197.
- ⁷¹ Inoue, H. *Obstet. Gynecol.*, **1990**, *75*, 1031.
- ⁷² Takahashi, I.; Maehara, I.; Kusumoto, T.; Yoshida, M.; Kakej, K.; Kusumoto, T.; Furusawa, M.; Sugimachi, K. *Cancer*, **1993**, *72*, 1836.
- ⁷³ Soares, R.; Marinho, A.; Schmitt, F. *Pathol. Res. Pract.*, **1996**, *192*, 1182.
- ⁷⁴ Julien, S.; Picco, G.; Sewell, R.; Vercoutter-Edouart, A.-S.; Tarp, M.; Miles, D.; Clausen, H.; Taylor-Papadimitriou, J.; Burchell, J. M. *British J. Cancer*, **2009**, *100*, 1746.
- ⁷⁵ Friedenreich, V. *The Thomsen Hemagglutination Phenomenon*. Levin and Munksgaard, Copenhagen, 1930.
- ⁷⁶ Irazoqui, F. J.; Nores, G. A. *Curr. Cancer Drug Targets*, **2003**, *3*, 433.
- ⁷⁷ Springer, G. F.; Fry, W. A.; Desai, R. R.; Semerdjan, R. A.; Tegtmeyer, H.; Neybert, C. G.; Scanlon, E. F. *Cancer Detect. Preven.*, **1985**, *8*, 95.
- ⁷⁸ Müller, S.; Hanisch, F.-G. *J. Biol. Chem.*, **2002**, *277*, 26103.
- ⁷⁹ Baeckström, D. *J. Biol. Chem.*, **1997**, *272*, 11503.
- ⁸⁰ Zotter, S.; Hageman, P. C.; Lossnitzer, A.; Mooi, W. J.; Hilgers, J. H. M.; an den Tweel, J.; Hilkens, J. *Int. J. Cancer*, **1988**, *3*, 38.
- ⁸¹ Ligtenberg, M. J. L.; Buijs, F.; Vos, H. L.; Hilkens, J. *Cancer Res.*, **1992**, *52*, 2318.

Wie in Abbildung 1.10 schematisch dargestellt, ist mit den verkürzten Kohlenhydratstrukturen keine komplette Abschirmung des Peptidrückgrates mehr gegeben, sondern dieses ist nun dem Immunsystem zur Erkennung zugänglich.

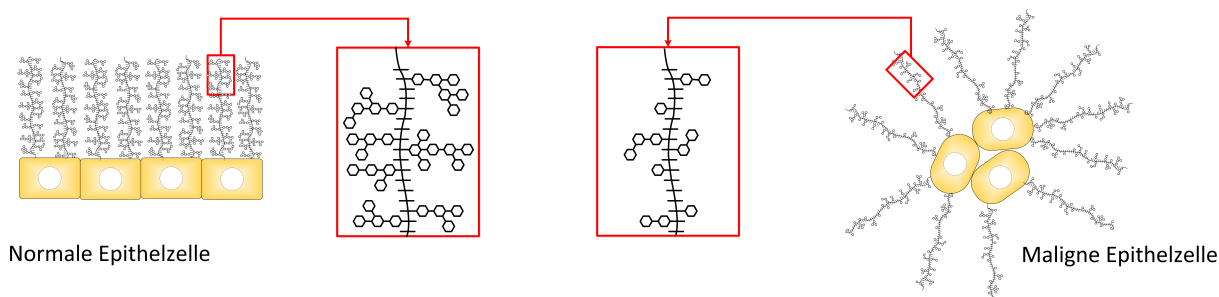


Abbildung 1.10: Struktureller Unterschied zwischen gesunder (links) und kranker Zelle (rechts)

Für eine Krebs-Immuntherapie⁸²⁻⁸⁵ bietet dies einen interessanten Ansatzpunkt. Durch chemische Synthese einer charakteristischen Partialstruktur des malignen MUC1-Glycopeptids und anschließender Konjugation mit einer die Immunantwort verstärkenden Komponente zu einem synthetischen Vakzin, kann die natürliche Toleranz gegenüber der veränderten Glycopeptidstruktur überwunden und das Immunsystem zur Produktion von Antikörpern gegen diese angeregt werden (Abb. 1.11).⁸⁶⁻⁹⁰ Im Mausversuch konnte diese Strategie bereits erfolgreich angewandt werden.⁹¹⁻⁹³ Im Idealfall ließe sich so in Zukunft eine auf die Oberflächenstruktur von Tumorzellen spezifische Impfung auch beim Menschen durchführen.

Da sich die benötigten Strukturen nicht einfach in brauchbaren Mengen isolieren oder biochemisch als Reinsubstanzen herstellen lassen, stellt die chemische Synthese von glycosylierten Aminosäurebausteinen die Basis für einen solchen Ansatz dar.⁹⁴

⁸² Mitchell, M. S. *Int. Immunopharmacol.*, **2003**, 3, 10515.

⁸³ Moingeon, P. *Vaccine*, **2001**, 19, 1305.

⁸⁴ Yu, Z.; Restifo, N. P. *J. Clin. Invest.*, **2002**, 110, 289.

⁸⁵ Jäger, E.; Jäger, D.; Knuth, A. *Int. J. Cancer*, **2003**, 106, 817.

⁸⁶ Dziadek, S.; Kunz, H. *Chem. Rec.*, **2004**, 3, 308.

⁸⁷ Becker, T.; Dziadek, S.; Wittrock, S.; Kunz, H. *Curr. Cancer Drug Targets*, **2006**, 6, 491.

⁸⁸ Liakatos, A.; Kunz, H. *Curr. Opin. Mol. Ther.*, **2007**, 9, 35.

⁸⁹ Wittrock, S.; Kunz, H. *BioTec Zeitschrift für Biotechnologie*, **2006**, 34.

⁹⁰ Keil, S.; Kaiser, A.; Syed, F.; Kunz, H. *Synthesis*, **2009**, 1355.

⁹¹ Dziadek, S.; Hobel, A.; Schmitt, E.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **2005**, 117, 7803.

⁹² Westerlind, U.; Hobel, A.; Gaidzik, N.; Schmitt, E.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **2008**, 120, 7662.

⁹³ Gaidzik, N.; Kaiser, A.; Kowalczyk, D.; Westerlind, U.; Gerlitzki, B.; Sinn, H. P.; Schmitt, E.; Kunz, H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, 50, 9977.

⁹⁴ Kunz, H.; Herzner, H.; Reipen, T.; Schulz, M. *Chem. Rev.*, **2000**, 4495.

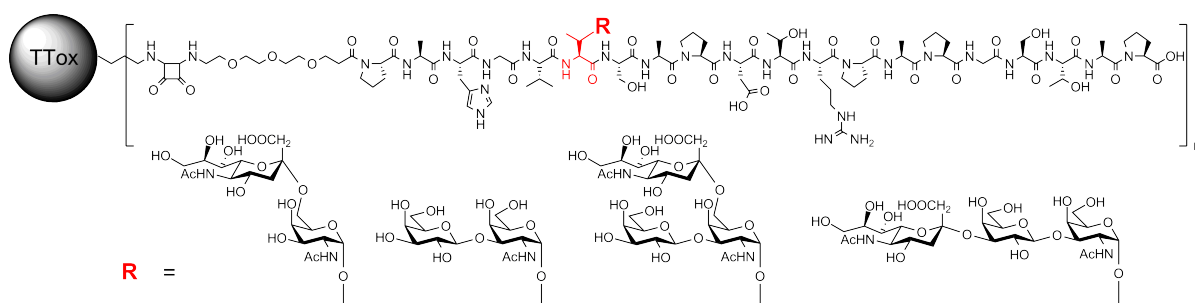


Abbildung 1.11: Beispiel einer vollsynthetischen Vakzine von A. Kaiser

1.5 C-Glycosylaminosäuren

Da definierte Glycopeptidstrukturen als Bestandteile potenzieller Wirkstoffe Therapiemöglichkeiten für eine ganze Reihe von Krankheiten eröffnen,⁹⁵ wäre es wünschenswert, wenn diese eine möglichst lange Lebensdauer im Organismus aufweisen würden.⁹⁶

Natürliche Glycopeptide liegen jedoch bis auf wenige Ausnahmen als *N*- oder *O*-Glycoside vor.



Abbildung 1.12: Unterschied zwischen einem *O*-Glycosid (links) und einem *C*-Glycosid (rechts)

Betrachtet man beispielsweise das *O*-Glycosid in Abbildung 1.12, so erkennt man, dass die glycosidische Bindung des Glycosylaminosäure-Bausteins als acetalische Struktur empfindlich gegenüber Säureeinwirkung ist. Zudem kann im basischen Milieu eine β -Eliminierung erfolgen, da das α -Proton der Aminosäure eine gewisse CH-Acidität aufweist und der Kohlenhydratrest in geeigneter Stellung für eine Abspaltung steht. Zudem kommen in Organismen Glycosidasen vor, die glycosidische Bindungen spalten und so das Kohlenhydrat von der Aminosäure ablösen können. Eine Möglichkeit, die intrinsische Stabilität solcher Bausteine zu erhöhen, ist der formale Austausch des exozyklischen Sauerstoffatoms gegen eine Methyleneinheit. Dies führt zu so genannten *C*-Glycosiden, welche als zyklische Etherstrukturen unter den Einflüssen *in vivo* unverändert bleiben.

Geometrisch ändert sich aufgrund ähnlicher Bindungslängen und -winkel beim Wechsel von einem sp^3 -hybridisierten Sauerstoffatom mit zwei freien Elektronenpaaren zu einem ebenfalls sp^3 -hybridisierten Kohlenstoffatom mit zwei gebundenen Wasserstoffatomen recht wenig. Allerdings entfällt beim *C*-Glycosid der strukturbeeinflussende *exo*-anomere-Effekt, der bei *O*-Glycosiden eine eher gestreckte Konformation bedingt.

⁹⁵ Schweizer, F. *Angew. Chem.*, **2002**, *114*, 240.

⁹⁶ Ernst, B.; Magnani, J. L. *Nature Rev.*, **2009**, *8*, 661.

Die große Anzahl an Publikationen, die sich mit der Synthese von C-Glycosylaminosäuren befassen, zeigt, dass dieser Ansatz weit verbreitet als erfolgversprechend angesehen wird.⁹⁷ Beschränkt man sich auf die Mimetika der natürlichen O-Glycoside, so lässt sich feststellen, dass für die Synthese von C-Glycosyl-Serinen eine ganze Reihe an Methoden unter Verwendung unterschiedlichster Reaktionen publiziert ist.⁹⁸⁻¹⁰⁸ Dabei werden diese Strukturen mit Hilfe auxiliarkontrollierter Reaktionen,^{109,110} Kreuzmetathesen¹¹¹⁻¹¹³ oder auch Wittig- und Horner-Reaktionen¹¹⁴⁻¹¹⁹ aufgebaut. Berichte über die Synthese von Threonin-Analoga^{120,121} finden sich nach aktuellem Stand in zwei, beziehungsweise für Tyrosin-Analoga¹²² in einer einzigen Publikation. Zur Untersuchung der Eignung von C-Glycosylaminosäuren als stabile Analoga der natürlichen Strukturen wäre ein unkomplizierter synthetischer Zugang zu dieser Verbindungsklasse von großem Nutzen.

-
- ⁹⁷ Dondoni, A.; Marra, A. *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, 4395.
- ⁹⁸ BeMiller, J. N.; Petrus L. *Carbohydr. Res.*, **1992**, *230*, 197.
- ⁹⁹ Nolen, E.; Watts, M. M.; Fowler, D. J. *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 3963.
- ¹⁰⁰ Campbell, A. D.; Paterson, D. E.; Raynham, T. M.; Taylor, R. J. K. *Chem. Comm.*, **1999**, 1599.
- ¹⁰¹ Paterson, D. E.; Griffin, F. K.; Alcaraz, M.-L.; Taylor, R. J. K. *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 1323.
- ¹⁰² Dorgan, B. J.; Jackson, R. F. W. *Synlett*, **1996**, 859.
- ¹⁰³ Dondoni, A.; Marra, A.; Massi, A. *Chem. Comm.*, **1998**, 1741.
- ¹⁰⁴ Dondoni, A.; Marra, A.; Massi, A. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 933.
- ¹⁰⁵ Urban, D.; Skrydstrup, T.; Beau, J.-M. *Chem. Comm.*, **1998**, 955.
- ¹⁰⁶ Urban, D.; Skrydstrup, T.; Beau, J.-M. *J. Org. Chem.*, **1998**, 2507.
- ¹⁰⁷ Nuzzi, N.; Massi, A.; Dondoni, A. *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 4485.
- ¹⁰⁸ Lay, L.; Meldal, M.; Panza, L.; Russo, G. *Chem. Comm.*, **1997**, 1469.
- ¹⁰⁹ Arva, P.; Ben, R. N.; Qin, H. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 6131.
- ¹¹⁰ Arva, P.; Ben, R. N. *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 4817.
- ¹¹¹ Dondoni, A.; Marra, A.; Giovannini, P. P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 2380.
- ¹¹² Nolen, E.; Kurish, A.; Wong, K.; Orlando, M. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 2449.
- ¹¹³ Nolen, E.; Kurish, A.; Potter, J.; Donahue, L.; Orlando, M. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 3383.
- ¹¹⁴ Fuchs, T.; Schmidt, R. R. *Synthesis*, **1998**, 753.
- ¹¹⁵ Debenham, S. D.; Debenham, J. S.; Burk, M. J.; Toone, E. J. J. *Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 9897.
- ¹¹⁶ Debenham, S. D.; Cossrow, J.; Toone, E. J. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 9153.
- ¹¹⁷ Bertozzi, C. R.; Hoepflich, P. D.; Bednarski, M. D. *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 6092.
- ¹¹⁸ Bertozzi, C. R.; Cook, D. G.; Kobertz, W. R.; Gonzales-Scarano, F.; Bednarski, M. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 10639.
- ¹¹⁹ Dondoni, A.; Marra, A.; Massi, A. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 2827.
- ¹²⁰ Bagnier, N.; Guillot, R.; Scherrmann, M.-C. *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7*, 3918.
- ¹²¹ Gustafsson, T.; Saxin, M.; Kihlberg, J. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 2506.
- ¹²² Pearce, A. J.; Ramaya, S.; Thorn, S. N.; Bloomberg, G. B.; Walter, D. S.; Gallagher, T. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 5453.

Im Rahmen dieser Arbeit soll daher die selektive Synthese von β -verknüpften C-Glycosylaminosäuren mit Hilfe einer Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung¹²³ versucht werden. Dadurch sollten sich modular alle drei üblicherweise O-glycosylierten Aminosäuren mit verschiedenen Kohlenhydratresten C-glycosidisch verknüpfen lassen (Abb. 1.13).

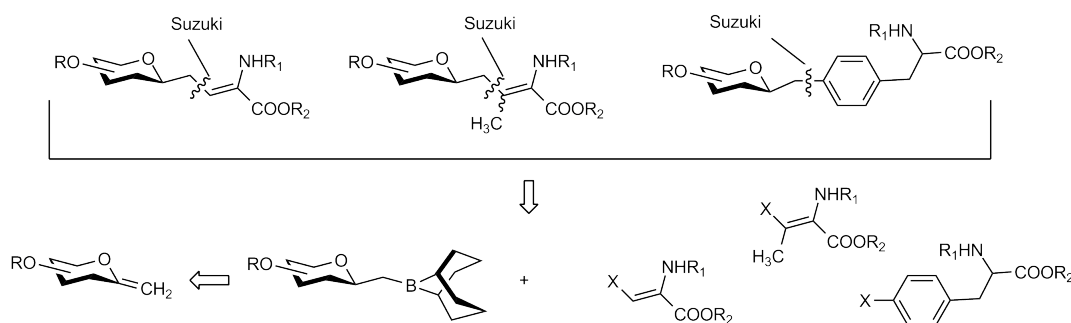


Abbildung 1.13: Strategie zur modularen Synthese von C-Glycosylaminosäuren

Suzuki-Kupplungen haben dabei den Vorteil, dass sie unter recht milden Bedingungen durchgeführt werden können und mit einer Vielzahl an Strukturelementen innerhalb eines Moleküls kompatibel sind. Die verwendeten Bororganyle sind im Gegensatz zu den in der Stille-Kupplung verwendeten Organozinnverbindungen kaum toxisch und daher beim Einsatz in der Synthese eines potenziellen Wirkstoffes weniger problematisch. Zudem sind die benötigten Kupplungsbausteine auf Seiten der Kohlenhydrate durch Hydroborierung der entsprechenden *exo*-Glycale zu erhalten. Diese wiederum sollten sich ausgehend von den natürlichen, ungeschützten Sacchariden synthetisieren lassen.

Die benötigten sp^2 -Halogenalkane als Kupplungspartner sollten ausgehend von den günstigen Grundsubstanzen L-Serin, L-Threonin und L-Phenylalanin herstellbar sein. Für die Synthesen müssen unter den vorkommenden Reaktionsbedingungen geeignete Schutzgruppenmuster auf beiden Seiten gewählt werden. Nach der eigentlichen C-glycosidischen Verknüpfung in der Suzuki-Kupplung folgen weitere Reaktionsschritte, um Funktionalisierungen vorzunehmen oder um die Moleküle in geeignete Bausteine zu überführen, die in einer Festphasensynthese nach Merrifield^{124,125} zum Einsatz kommen können. Die Synthesen der C-Glycosylaminosäuren werden also über viele Stufen verlaufen. Daher ist es notwendig, dass insbesondere die kritischen Reaktionsschritte mit kleinen Mengen optimiert und anschließend unter optimierten Bedingungen größere Mengen umgesetzt werden können. Von den formalen Voraussetzungen also, sollte sich bei diesen Stufen der Einsatz der Mikroreaktionstechnologie lohnen.

¹²³ Miyaura, N.; Ishiyama, T.; Ishikawa, M.; Suzuki, A. *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 6369.

¹²⁴ Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 2149.

¹²⁵ Merrifield, R. B. *Angew. Chem.; Int. Ed. Engl.*, **1985**, 97, 801.

1.6 Mikrostrukturierte Reaktorsysteme

Die Mikroreaktionstechnik hat sich in den letzten Jahren immer mehr in den Fokus der aktuellen Forschung und der Industrie geschoben.¹²⁶⁻¹³³ Die Miniaturisierung erlaubt die Beschreibung von Synthesewegen, die bei einer „traditionellen“ Reaktionsführung im Glaskolben nicht oder nur schwer realisierbar sind.¹³⁴

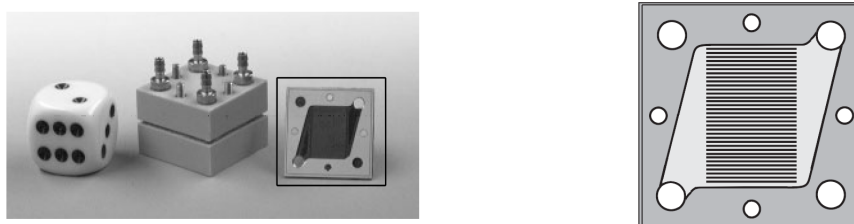


Abbildung 1.14: Größendimension eines mikrostrukturierten Bauteils

Mikrostrukturierung bedeutet nicht Mikrofertigung. Mikroreaktoren sind keine besonders kleinen Kolben, in denen Reaktionen durchgeführt werden, vielmehr arbeitet man bei der Synthese im kontinuierlichen Durchfluss unter Verwendung von Kanälen im Mikrometermaßstab (Kanalquerschnitte typischerweise von 10 μm bis 1 mm, vgl. Abb. 1.14). Bei vielen Abläufen der praktischen Reaktionsdurchführung kann sich dies positiv auswirken.^{135,136}

Betrachtet man eine klassische Reaktion im Kolben, bei der eine Komponente in eine gerührte und gekühlte Reaktionslösung getropft wird, so kommt es an der Eintropfstelle zu einer lokal erhöhten Konzentration der zugeführten Komponente. Das Ausmaß der Konzentrationsheterogenität ist abhängig von der Zugabegeschwindigkeit und der Effektivität des verwendeten Rührers. Durch die unterschiedlichen Temperaturen der Substanzen im Kolben und im Tropftrichter, sowie durch eventuelle Reaktionswärme, die an der Eintropfstelle entsteht, bilden sich zudem Temperaturgefälle in der Reaktionsmischung aus. Dies führt dazu, dass in ungünstigen Fällen die Selektivität

¹²⁶ Watts, P.; Wiles, C. *Chem. Comm.*, **2007**, 443.

¹²⁷ Ahmed-Omer, B.; Brandt, J. C.; Wirth, T. *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, 5, 733.

¹²⁸ Wirth, T.; Brandt, J.; Ahmed-Omer, B. *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, 5, 733.

¹²⁹ McQuade, D. T.; Mason, B. P.; Price, K. E.; Steinbacher, J. L.; Bogdan, A. R. *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 2300.

¹³⁰ Seeberger, P. H.; Geyer, K.; Codée, J. D. C. *Chem. Eur. J.*, **2006**, 12, 8434.

¹³¹ Seeberger, P. H.; Geyer, K.; Gustafsson, T. *Synlett*, **2009**, 15, 2382.

¹³² Jensen, K. F.; Hartman, R. L.; McMullen, J. P. *Angew. Chem.*, **2011**, 123, 7642.

¹³³ Kirschning, A.; Wegner, J.; Ceylan, S. *Chem. Comm.*, **2011**, 47, 4583.

¹³⁴ Jensen, K. F.; Sahoo, H. R.; Kralj, J. G. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 5704.

¹³⁵ von dem Bruch, Karsten. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 1993.

¹³⁶ Koch, M. V.; Van den Bussche, K. M.; Chrisman, R. W. *Micro Instrumentation for High Throughput Experimentation and Process Intensification*. WILEY-VCH Verlag GmbH Co. KGaA, Weinheim, 2007.

einer Reaktion sinkt, wenn durch die breite Temperaturverteilung die Aktivierungsenergie einer Nebenreaktion überschritten wird (Abb. 1.15).¹³⁷

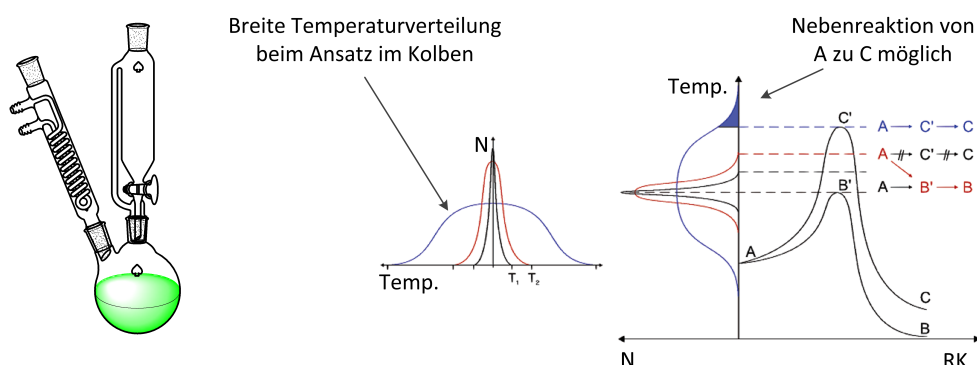


Abbildung 1.15: Temperaturgradienten ermöglichen Nebenreaktionen

Mit steigender Größe des Reaktionsgefäßes bereitet die genaue Temperaturkontrolle einer Reaktion immer größere Probleme, da das Volumen des Gefäßes stärker zunimmt als die Oberfläche, welche mit dem Heiz- oder Kühlmedium in Kontakt steht. Bei starker Wärmetönung einer Umsetzung kann ein beachtlicher Temperaturgradient zwischen dem Inneren des Reaktionskolbens und den Randgebieten zustande kommen. Nicht umsonst bestehen Industrieanlagen zu großen Teilen aus Kühl- und Heizkreisläufen, die sehr energie- und damit kostenintensiv im Betrieb sind.

Bei einer Reaktion im Kolben verbleibt das aus den Reaktionspartnern gebildete Produkt über die gesamte Reaktionsdauer in der Lösung, während weiter zugetropft wird. Die Rückvermischung von Edukten und Produkten, sowie die uneinheitliche Verweilzeit des zu unterschiedlichen Zeitpunkten gebildeten Produktes in der Reaktionslösung ermöglichen Folgereaktionen, welche die Ausbeute der gewünschten Substanz verringern (Abb. 1.16).¹³⁷

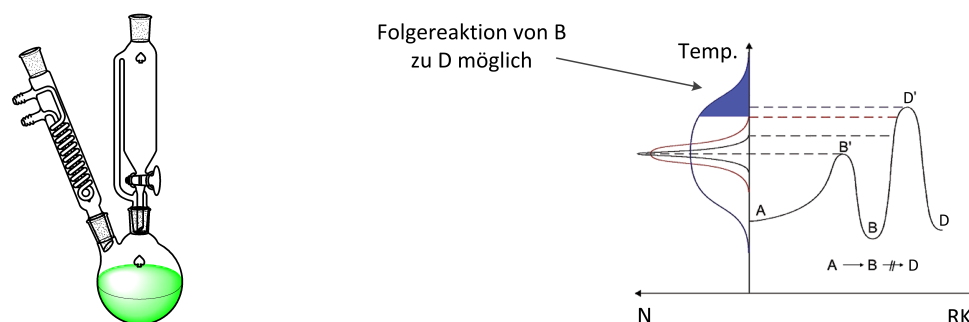


Abbildung 1.16: Uneinheitliche Verweilzeit ermöglicht Folgereaktionen

¹³⁷ Schwalbe, T.; Autze, V.; Hohmann, M.; Stirner, W. *Org. Proc. Res. Dev.*, **2004**, 440.

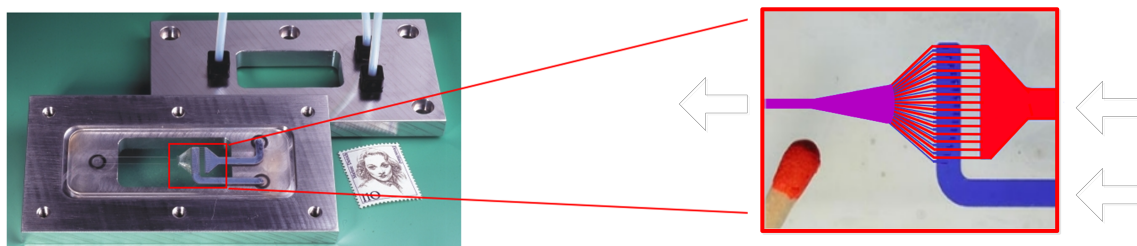


Abbildung 1.17: Mikrogas Interdigital-Mikromischer und dessen Funktionsprinzip

Bei der Durchführung von Reaktionen in mikrostrukturierten Durchflussreaktoren können Mischprozesse dagegen innerhalb kürzester Zeit erfolgen, wodurch Konzentrationsgradienten vermieden werden. Je nach Anwendung stehen unterschiedliche Mischer zur Verfügung. Ein Interdigitalmischer wie in Abbildung 1.17 beispielsweise kontaktiert zwei flüssige Phasen in Form von dünnen Flüssigkeitslamellen. Die Diffusionswege zwischen den einzelnen Schichten sind sehr kurz, so dass eine vollständige Durchmischung sehr schnell erreicht wird. Die Verweilzeit in der Reaktionszone kann genau eingestellt und über die gesamte Versuchsdauer hinweg konstant gehalten werden.

Der meisten positiven Eigenschaften von mikrostrukturierten Reaktorsystemen liegen in einem günstigen Verhältnis von Oberfläche zu Volumen begründet. Betrachtet man einen 1L-Kolben näherungsweise als kugelförmig, so beträgt das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen in etwa 0.05 mm^{-1} . Dagegen beträgt das Verhältnis von Mantelfläche zu Volumen bei einer als zylinderförmig anzusehenden Kapillare bei einem Radius von 1 mm bereits 2.00 mm^{-1} und wächst weiter proportional zu $1/R$ mit kleiner werdendem Kapillarenradius (Abb. 1.18).

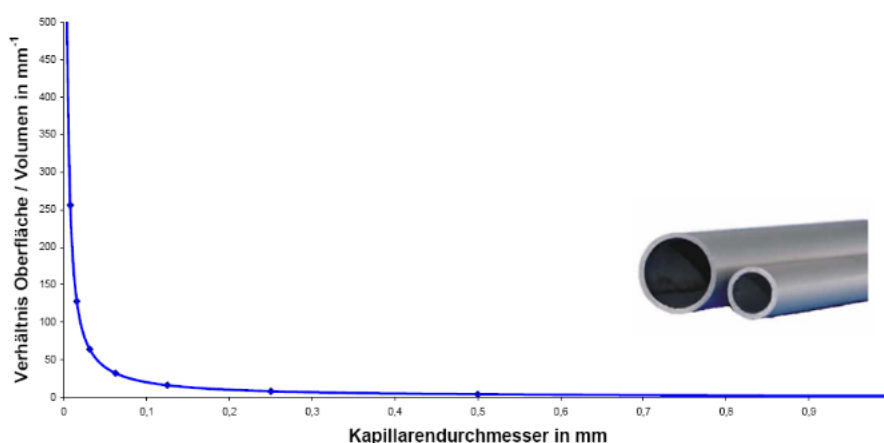


Abbildung 1.18: Oberflächen/Volumenverhältnis vs. Radius einer Kapillare

Die große Oberfläche im Vergleich zum Reaktionsvolumen gewährleistet sehr große Wärmetauscherleistungen, was auch bei schnellen Reaktionen, die mit großen Wärmeumsätzen verbunden sind,

eine quasi-isotherme Reaktionsführung ermöglicht. Die stark exotherme Knallgasreaktion von Wasserstoff und Sauerstoff zu Wasser lässt sich beispielsweise in einem Mikroreaktor kontrolliert durchführen, da die Reaktionswärme innerhalb kürzester Zeit abgeführt werden kann. Auch bei anderen explosiven Reaktionsmischungen sind die dünnen Kanaldurchmesser von Vorteil, da entstehende Radikale schnell durch Wandstöße deaktiviert werden.¹³⁸ Sollte es trotzdem zu einer Explosion des Reaktionsgemisches kommen, so sind die Substanzmengen, die sich in der Reaktionszone befinden deutlich kleiner als bei einem konventionellen Rührreaktor und die damit verbundenen Risiken geringer.¹³⁹ So ergeben sich Synthesemöglichkeiten unter Bedingungen, die in laborüblichen Größendimensionen nicht handhabbar wären, wie beispielsweise die direkte Fluorierung von Toluol mit elementarem Fluor.¹³⁰

Die Reduzierung der Reaktordimensionen auf Größen im Mikrometerbereich bietet gerade auch im Bezug auf heterogen katalysierte Reaktionen Vorteile.¹⁴⁰⁻¹⁴² Bei einer heterogen katalysierten Hydrierung muss beispielsweise eine feste Katalysatorphase mit gasförmigem Wasserstoff und einer flüssigen Phase, in der das Substrat gelöst ist, in Kontakt gebracht werden. Speziell konstruierte Reaktoren, wie der am *Institut für Mikroreaktionstechnik* (Mainz) entwickelte Fallfilmreaktor bieten für diese Probleme im Vergleich zu konventionellen Versuchsaufbauten extrem große Kontaktflächen zwischen allen Reaktionspartnern.

Durch die speziellen Charakteristika mikrostrukturierter Flussreaktoren lassen sich die reaktionsbeeinflussenden Parameter Druck, Temperatur und Konzentrationen sehr genau festlegen und kontrollierten. Durch systematische Variationen gelingt im Idealfall die schrittweise Verbesserung von Umsatz, Ausbeute und Selektivität.¹⁴³ Unter den ermittelten optimalen Reaktionsbedingungen lassen sich größere Mengen des Produktes herstellen, indem der Reaktor über eine längere Zeit mit dem Edukt betrieben wird. In der Großtechnik ließe sich daher bei der Verwendung von Mikroreaktoren ein methodisch simples *numbering-up*, also ein Parallelschalten mehrerer Reaktoren durchführen. Das schwierige Verfahren des *upscalings*, also das Übertragen einer Reaktion vom Kolbenmaßstab über einen größeren Rührkessel bis hin zu einer Produktionsanlage, könnte so entfallen.

Die vorliegende Arbeit beinhaltet also neben der synthetischen Zielstellung auch methodische Aspekte bezüglich des chemischen Syntheseweges zu den C-Glycosiden und der experimentellen Versuchsdurchführung in speziell zu entwickelnden Durchflussreaktoren.

¹³⁸ Kestenbaum, Harry. Dissertation, Johann Wolfgang Goethe-Universität, 2004.

¹³⁹ Mason, B. P.; Price, K. E.; Steinbacher, J. L.; Bogdan, A. R.; McQuade, D. T. *Chem. Rev.*, **2007**, 2300.

¹⁴⁰ Yeong, K. K.; Gavriilidis, A.; Zapf, R.; Hessel, V. *Chem. Engineering Science*, **2004**, 59, 3491–3494.

¹⁴¹ Ladlow, M.; Ley, S.; Holden, J.; Knudsen, K. *Adv. Synth. Catal.*, **2007**, 349, 535.

¹⁴² Koch, Stefan. Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2008.

¹⁴³ Schlicker, Sebastian. Diplomarbeit, Europa Fachhochschule Fresenius, 2007.

2 Zielsetzung

Zelladhäsionsprozesse spielen bei vielen biologischen Prozessen, wie der embryonalen Entwicklung, der Morphogenese oder der Immunantwort, aber auch bei pathologischen Abläufen eine wichtige Rolle. Tumorzellen scheinen sich ähnlicher Mechanismen zu bedienen, um an einen anderen Ort im Körper zu gelangen und Metastasen zu bilden. Fehlgerichtete Immunantworten, die in einer übermäßigen Leukozytenrekutierung begründet liegen, verursachen chronische Entzündungen, führen zu allergischen Reaktionen oder sind Ursache für die Abstoßung von Organen nach Transplantationen.

Die gezielte Hemmung von Zelladhäsionsprozessen über die medikamentöse Gabe löslicher Liganden der beteiligten Zelladhäsionsmoleküle stellt in diesen Fällen einen erfolgversprechenden Ansatz der Therapie dar. Der einleitende Schritt der Zelladhäsionskaskade wird durch Wechselwirkungen von Selektinen mit ihren jeweiligen Liganden gebildet. Als essentieller Bestandteil von Selektinliganden, wie dem PSGL-1, zeigt sich dabei das Oligosaccharid Sialyl-Lewis^x. Die absolute Bindungsstärke des Tetrasaccharides alleine ist allerdings nicht sonderlich hoch, da auch die Peptidstruktur einen bedeutenden Beitrag zur Bindungsenergie an das jeweilige Selektin leistet. Die Suche nach hochaffinen kompetitiven Hemmstoffen der Zelladhäsion geht daher in die Richtung synthetischer Sialyl-Lewis^x-Glycopeptide.

In vorausgehenden Arbeiten im Arbeitskreis *Kunz* wurde beispielsweise von *K. Baumann* ein Mimetikum des Sialyl-Lewis^x-Oligosaccharids auf rein chemischem Wege synthetisiert, welches sich als Baustein für eine Peptid-Festphasensynthese eignete.^{49,144,145} In diesem ist zur Erhöhung der Stabilität *in vivo* die terminale Sialinsäure gegen den von *Ernst* und *Kolb* bei *Novartis* eingeführten (*S*)-Cyclohexylmilchsäurebaustein ausgetauscht.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollen zunächst sehr ähnliche Sialyl-Lewis^x-Mimetika synthetisiert werden. In diesen soll jedoch der in den Arbeiten von *K. Baumann* verwendete Methylester des Cyclohexylmilchsäurebausteins gegen einen *tert*-Butylester substituiert werden, um spätere selektive Schutzgruppenmanipulationen zu erlauben (siehe Abb. 2.1).

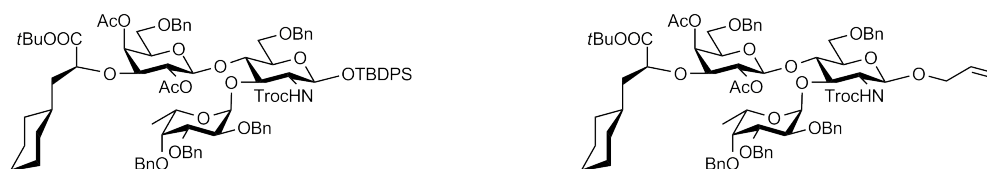


Abbildung 2.1: Geplante Mimetika des Sialyl-Lewis^x-Tetrasaccharides

¹⁴⁴ Baumann, Katharina. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2007.

¹⁴⁵ Baumann, K.; Kowalczyk, D.; Kunz, H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 3445.

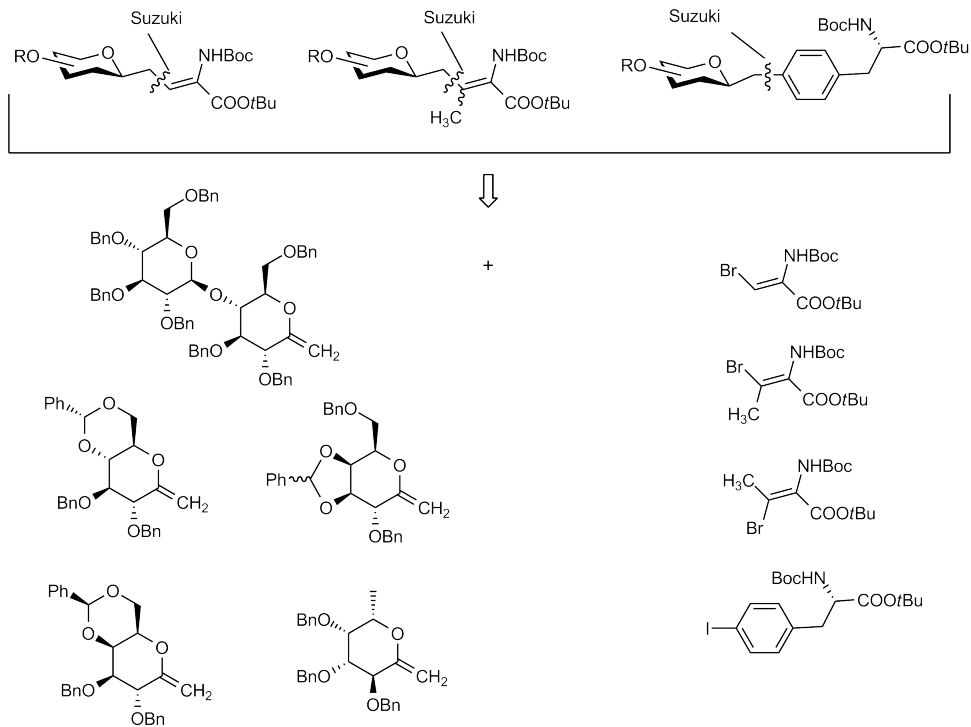


Abbildung 2.2: Synthesen der *C*-Glycosylaminosäuren aus den Einzelbausteinen

Da *C*-Glycosylaminosäuren eine gegenüber den natürlichen *O*- und *N*-Glycosiden stark erhöhte Stabilität aufweisen, soll eine Darstellung β -konfigurierter *C*-Glycoside in einer Reaktionssequenz von Hydroborierung und anschließender Kreuzkupplung erfolgen. Dazu müssen die benötigten *exo*-Glycane aus den passend geschützten Kohlenhydraten und die zur Kupplung geeigneten Aminosäure-Derivate dargestellt werden. Die Schutzgruppenmuster der Kohlenhydrate sollen dabei so gewählt werden, dass nach der Kupplung Funktionalisierungen mit weiteren Kohlenhydratresten möglich sind (vgl. Abb. 2.2).

Die Aminosäurebausteine sollen zunächst mit Boc- und *tert*-Butyl-Schutzgruppen versehen werden, da diese unter den alkalischen Bedingungen der Suzuki-Kupplung stabil sein sollten. Nach der Kupplung sollen die Produkte dann in Bausteine umgewandelt werden, die für eine Glycopeptidsynthese an der festen Phase nach der Fmoc-Strategie geeignet sind (Abb. 2.3).

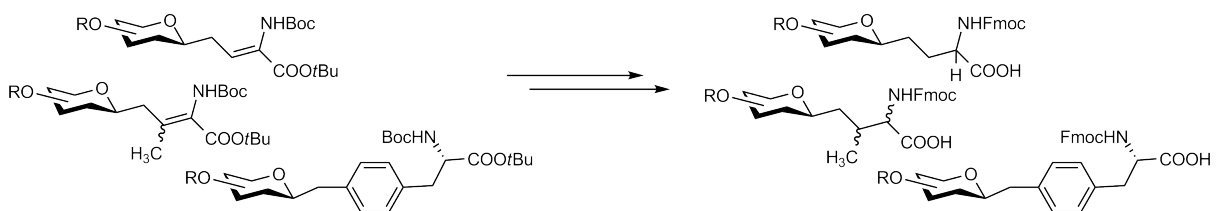


Abbildung 2.3: Umwandlung der *C*-Glycosylaminosäuren in Bausteine für die Festphasensynthese

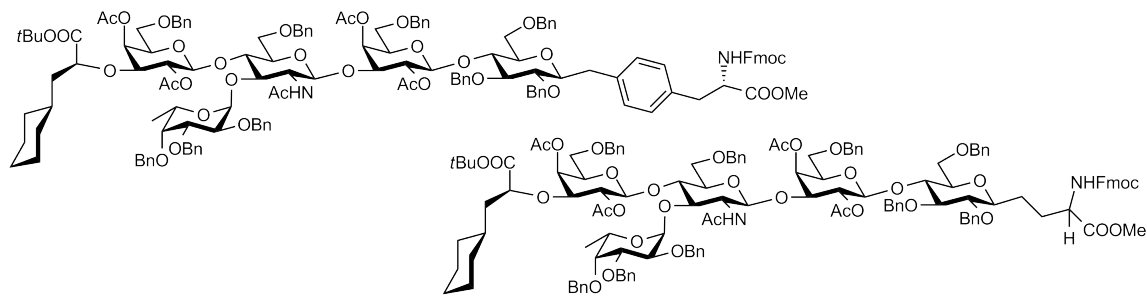


Abbildung 2.4: Sialyl-Lewis^x-C-Lactosyl-Tyrosin- und Serin-Mimetika

Die aus den Suzuki-Kupplungen erhaltenen Moleküle tragen, wie die meisten in der Literatur bekannten C-Glycosylaminosäuren, zunächst nur Monosaccharidreste. Da die überwiegende Anzahl von biologisch relevanten Glycopeptiden aber spezifische Oligosaccharidseitenketten aufweisen, soll untersucht werden, ob sich die Kupplungsprodukte für die Verknüpfung mit weiteren Saccharideinheiten eignen. So soll zunächst eine Galactosylierung der Glucosylaminosäuren vorgenommen und letztendlich C-glycosidisch an eine Aminosäure gebundene Mimetika der Sialyl-Lewis^x-Lactosyl-Determinanten dargestellt werden (Abb. 2.4). Diese Saccharidstruktur findet sich üblicherweise als Glycolipid in der Zellmembran verankert und kommt insbesondere auf Tumorzellen in erhöhter Konzentration vor.

Im Falle einer Krebserkrankung treten noch andere charakteristische Veränderungen der Oberflächenstrukturen von betroffenen Zellen auf. Bei vielen Krebsarten kommt es zu einer stark erhöhten Expression des Mucins MUC1. Dieses trägt auf gesunden Zellen große Oligosaccharidseitenketten, die das Peptidrückgrat verdecken. Im Krankheitsfall befinden sich dort nur noch kurze Kohlenhydrateinheiten, die dem Immunsystem auch Teile der Peptidsequenz zur Erkennung freigeben. Dies bietet einen Ansatz für die Krebsimmuntherapie. Auf chemischem Wege können charakteristische Oberflächenglycoproteine synthetisiert und in Vakzinen eingesetzt werden, um eine gegen Tumorgewebe gerichtete Immunantwort zu induzieren.

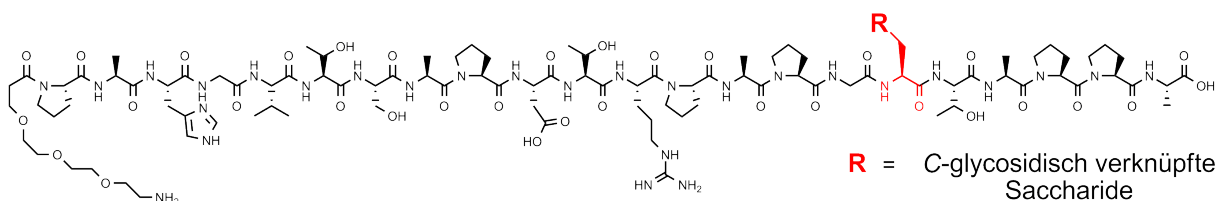


Abbildung 2.5: C-glycosylierte Partialsequenzen aus dem Mucin MUC1

Daher sollen die dargestellten C-Glycosylaminosäurebausteine in die *tandem repeat*-Sequenz des Mucins MUC1 an der festen Phase eingebaut werden (Abb. 2.5). Die resultierenden Glycopeptide sollen dann in Neutralisations-ELISA-Experimenten auf ihre Bindung an Antikörper getestet werden, die durch Vakzinierung mit ähnlichen Glycopeptidstrukturen erhalten wurden. Sollten die

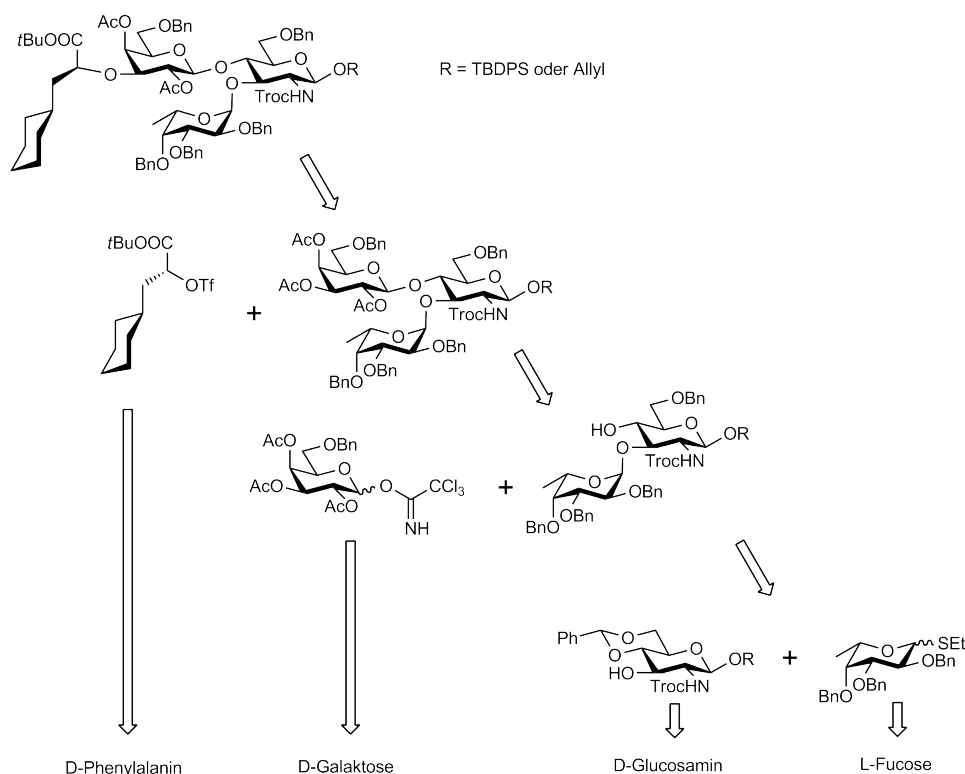
C-Glycopeptide trotz der veränderten chemischen Struktur von den Antikörpern erkannt werden, könnten Sie selbst als Bestandteile vollsynthetischer Vakzine zum Einsatz kommen.

In diesem Zusammenhang soll bei der Durchführung einiger kritischer Stufen der Synthese der sinnvolle Einsatz von geeigneten Mikroreaktoren geprüft werden. *Continuous flow*-Verfahren erlauben die systematische Optimierung einer Reaktion mit geringen Substanzmengen. Größere Ansätze zur präparativen Nutzung können anschließend unter den optimierten Bedingungen durchgeführt werden, da die reaktionsbeeinflussenden Parameter (Druck, Temperatur, Konzentrationen, Verweilzeit) und damit auch die Versuchsergebnisse unabhängig von der eingesetzten Substanzmenge sind. Bei standardmäßigen Ansätzen im Glaskolben führt dagegen eine Skalierung von Versuchsansätzen immer wieder zu Problemen.

3 Allgemeiner Teil

Allgemeines zur Oligosaccharidsynthese

Der Aufbau des Sialyl-Lewis^x-Oligosaccharids erfolgt in Anlehnung an die Arbeiten von *K. Baumann*.^{49,144,145} Dabei wird eine lineare Synthesestrategie verfolgt, bei der zunächst der Glucosaminbaustein in Position 3 fucosyliert wird. Anschließend soll der Galactose-Rest und abschließend der Cyclohexylmilchsäurebaustein angefügt werden. In Schema 3.1 sind der Übersichtlichkeit halber die zwischenzeitlichen Schutzgruppenmanipulationen weggelassen.



Schema 3.1: Retrosynthese des Pseudotetrasaccharides

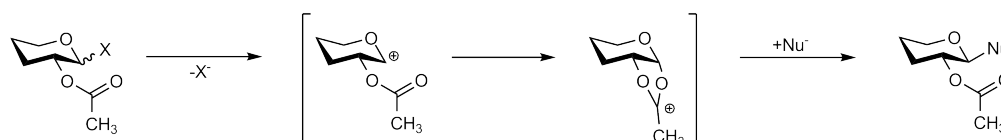
Bei der Planung der Synthese komplexer Oligosaccharidstrukturen spielt die Ausarbeitung des erforderlichen Schutzgruppenmusters eine wesentliche Rolle. Da in einer einzelnen Kohlenhydrateinheit mehrere Hydroxylfunktionen auf engem Raum vorliegen, die Verknüpfungen aber selektiv nur an bestimmten Stellen durchgeführt werden sollen, müssen Wege gefunden werden, die einzelnen funktionellen Gruppen untereinander zu differenzieren.

Die verwendeten Schutzgruppen sollten dabei unter den Reaktionsbedingungen, unter denen an anderen Positionen Modifikationen vorgenommen werden, stabil sein, sich jedoch am Ende der Synthese unter recht milden Bedingungen wieder entfernen lassen. Zudem sollten nicht zu viele unterschiedliche Gruppen zum Einsatz kommen, die unter Umständen allesamt verschiedene Be-

dingungen zur Deblockierung benötigen und die Synthese somit in die Länge ziehen.

Häufig genutzte Hydroxylschutzgruppen sind Benzylether, Acetate und Benzylidenacetale. Während sich Benzylether durch katalytische Hydrierung mild abspalten lassen,¹⁴⁶ können Acetylenschutzgruppen durch Umesterung in methanolischer Lösung unter Zusatz katalytischer Mengen Natriummethanolat bei pH 8.5-9.5, so genannten *Zemplén*-Bedingungen,¹⁴⁷ entfernt werden. Oligosaccharide, die Acetylenschutzgruppen tragen, sind deutlich stabiler gegenüber Säuren als solche mit Benzylschutzgruppen. Dies kann durch die Anwesenheit der vielen Carbonylgruppen erklärt werden, die eine Protonierung und Spaltung der glycosidischen Bindung erschweren. Daher sollten am Ende der Synthese, wenn ein Baustein in der Festphasensynthese eingesetzt werden soll, hauptsächlich Acetylenschutzgruppen im Kohlenhydratanteil zu finden sein, da die Abspaltung vom verwendeten Trägermaterial mit Trifluoressigsäure durchgeführt wird. So verhindert man eine Zersetzung der Saccharidseitenketten während der Behandlung mit der Abspaltlösung.

Die Benzylidenacetal-Schutzgruppe lässt sich nicht nur mit Säure oder hydrogenolytisch abspalten, sondern auch regioselektiv öffnen. Die Gruppe, die zuvor zwei Hydroxylfunktionen als zyklische Einheit schützt, kann so umgesetzt werden, dass eine der beiden OH-Gruppen als Benzylether geschützt bleibt, während die andere deblockiert wird. Auf diese sehr vorteilhafte Reaktion wird später noch genauer eingegangen.



Schema 3.2: Nachbargruppeneffekt einer *N*-Acetylgruppe bei der Glycosylierung

Die gewählten Schutzgruppen beeinflussen allerdings auch maßgeblich die Stereochemie bei Glycosylierungsreaktionen. Befindet sich eine Schutzgruppe, die einen Nachbargruppeneffekt ausüben kann, in Position 2, so kann das gebildete Carbokation intermediär so blockiert werden, dass der Angriff des Glycosylakzeptors nur von einer Seite aus erfolgt. Diese Nachbargruppeneffekte werden im Rahmen dieser Arbeit ausgenutzt, um β -selektive Verknüpfungen der Galactose (durch die Acetylgruppe in Position 2) oder des Galactosamins (durch die benachbarte Troc-Gruppe¹⁴⁸) zu erreichen. Im Falle der Fucose, die α -glycosidisch verknüpft werden soll, wäre ein solcher Nachbargruppeneffekt kontraproduktiv, da er zum β -Anomer führen würde. Daher wird dieser Baustein in benzylierter Form eingesetzt.

Einen Schlüsselschritt in den Synthesen der *exo*-Glycale stellt die Petasis-Olefinierung des ent-

¹⁴⁶ Wuts, P.G.M.; Greene, T.W. *Protective Groups in Organic Synthesis*. Wiley & Sons, 3. Auflage, 1999.

¹⁴⁷ Unverzagt, C.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **1988**, *100*, 1763.

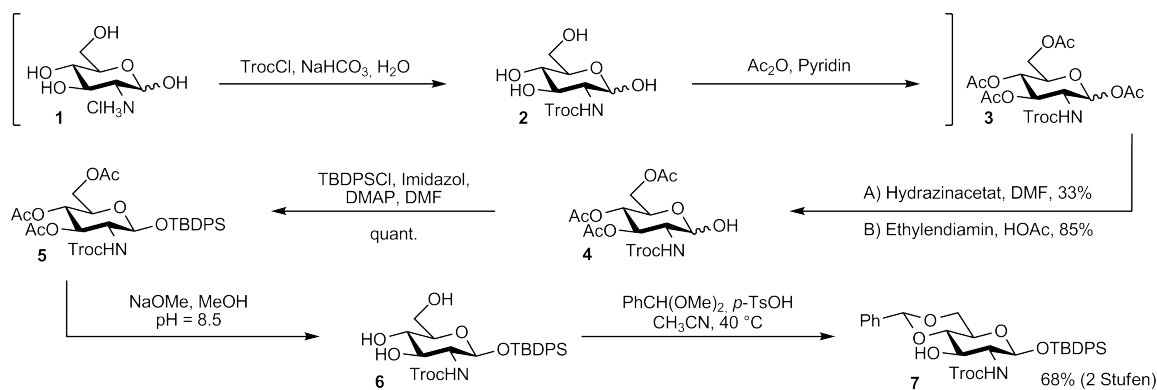
¹⁴⁸ Windholz, T. B.; Johnston, D. B. R. *Tetrahedron Lett.*, **1967**, 2555.

sprechenden Lactons dar. Hier würden Schutzgruppen mit Carbonylgruppen stören, da auch diese reagieren könnten. Auch wenn nach *Gallagher* beispielsweise sterisch gehinderte Pivaloylgruppen unreaktiv sein könnten,¹⁴⁹ werden diese Bausteine lediglich mit Benzylethern und Benzylidenacetalen als Schutzgruppen versehen.

Eine Sonderstellung nimmt zudem die anomere Schutzgruppe des jeweiligen Bausteins ein. Diese muss über viele Stufe hinweg, in denen Funktionalisierungen oder Schutzgruppenmanipulationen an anderen Positionen erfolgen, stabil sein. Letztlich hängt der Erfolg der Synthese entscheidend davon ab, ob die Gruppe später wieder entfernt werden kann, ohne das restliche Molekül in Mitleidenschaft zu ziehen. Wie in den Synthesen von *K. Baumann* wird hier mit Bezug auf die anomere Gruppe des Glucosamins zunächst zweigleisig unter Verwendung der fluoridlabilen *tert*-Butyldiphenylsilyl- (TBDPS)^{150,151} und der Allyl-Schutzgruppe^{152,153} verfahren, um herauszufinden, mit welcher der Gruppen am besten eine Synthese des Zielmoleküls erreicht werden kann. Bei den Intermediaten zur Synthese der *exo*-Glycale wird immer die Allyl-Schutzgruppe verwendet, die in einer zweistufigen Prozedur entfernt werden kann.

3.1 Herstellung der Sialyl-Lewis^X-Mimetika

3.1.1 Die Glucosaminbausteine



Schema 3.3: Synthese des TBDPS-geschützten Glucosaminbausteins

Der an der anomeren Position als *tert*-Butyldiphenylsilylglycosid geschützte Glucosaminbaustein **7** lässt sich über sechs Stufen aus D-Glucosaminhydrochlorid erhalten (Schema 3.3). Dabei blo-

¹⁴⁹ Gallagher, T.; Cook, M. J.; Declan, W. F. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 297.

¹⁵⁰ Hanessian, S.; Lavalley, P. *Can. J. Chem.*, **1975**, 53, 2975.

¹⁵¹ Nelson, T. D.; Crouch, R. D. *Synthesis*, **1996**, 1031.

¹⁵² Cunningham, J.; Gigg, R.; Warren, C. D. *Tetrahedron Lett.*, **1964**, 1191.

¹⁵³ Guibé, F. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 13509.

ckiert man zunächst die Aminofunktion des Monosaccharids durch Umsetzung mit Chlorameisensäure-2,2,2-trichlorethylester (2,2,2-Trichlorethoxycarbonylchlorid, TrocCl) in einer gesättigten wässrigen NaHCO₃-Lösung.¹⁵⁴ Das erhaltene Troc-geschützte Glucosamin-Derivat **2** wird in der darauf folgenden Reaktion mit Hilfe von Essigsäureanhydrid in Pyridin acetyliert,¹⁵⁴ wobei man ein Gemisch aus α - und β -Anomer erhält. Da in der folgenden Reaktion die selektive Entfernung der anomeren Schutzgruppe folgt, ist eine Auftrennung in die beiden Komponenten nicht notwendig. Auf dieser Stufe der Synthese wurden nun die eigenen Arbeiten begonnen, da das Produkt der ersten beiden Syntheseschritte in ausreichender Menge bereits zur Verfügung stand.

Die Deblockierung der anomeren Position von **3** lässt sich unter Einwirkung von Hydrazinacetat bewerkstelligen.¹⁵⁴⁻¹⁵⁶ Dabei ist jedoch festzustellen, dass sich die Reaktion schlecht zu dem gewünschten Zeitpunkt abbrechen lässt und es daher bei zu langer Reaktionsdauer zu der unerwünschten Abspaltung weiterer Acetylgruppen kommt. Dieses Problem führt dazu, dass in diesem Fall die Ausbeute an **4** nur bei rund 33% liegt. Eine weitaus mildere Entfernung gelingt durch den Einsatz von Ethylendiamin unter Zusatz von Essigsäure.¹⁵⁷ Dieses weniger reaktive Reagenz ermöglicht die selektive Deblockierung der OH-Gruppe am anomeren Kohlenstoffatom in einer Ausbeute von 85%, wobei die Reaktion deutlich besser zu kontrollieren ist.

Den erhaltenen Zuckerbaustein bringt man in einer weiteren Stufe mit *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid und Imidazol in Gegenwart katalytischer Mengen 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) zur Reaktion.^{150,156} Diese Umsetzung verläuft nur sehr langsam und benötigt insgesamt eine Reaktionszeit von 5 Tagen, was sich auf den großen sterischen Anspruch der Silylschutzgruppe, die in direkter Nachbarschaft zu der ebenfalls sehr voluminösen Troc-geschützten Position eingeführt werden soll, zurückführen lässt. Zudem ist literaturbekannt, dass sich über kinetische Kontrolle eine leichter zugängliche primäre OH-Gruppe in der 6-Position selektiv mit der TBDPS-Gruppe schützen lässt, während die verbleibenden sekundären OH-Gruppen unberührt bleiben.¹⁵⁰ Die Ausbeute des silylgeschützten Monosaccharids **5** ist dabei im Rahmen dieser Synthese nahezu quantitativ, wobei - ebenfalls aufgrund der sterischen Hinderungen - ausschließlich das β -Anomer erhalten wird, was sich NMR-spektrometrisch durch die große Kopplungskonstante von $^3J_{H1,H2} = 8.0$ Hz belegen lässt (bei einer chemischen Verschiebung von 4.51 ppm).

Im Anschluss an die Silylierung erfolgt eine Deacetylierung unter *Zemplén*-Bedingungen¹⁵⁸ in Methanol unter Zugabe von katalytischen Mengen Natriummethanolat. Dabei ist darauf zu ach-

¹⁵⁴ Dullenkopf, W.; Castro-Palomino, J. C.; Manzoni, L.; Schmidt, R. R. *Carbohydr. Res.*, **1996**, 296, 135.

¹⁵⁵ Excoffier, G.; Gagnaire, D.; Utile, J.-P. *Carbohydr. Res.*, **1975**, 39, 368.

¹⁵⁶ Takatani, M.; Nakama, T.; Kubo, K.; Manabe, S.; Nakahara, Y.; Ito, Y.; Nakahara, Y. *Glycoconjugate J.*, **2000**, 17, 361.

¹⁵⁷ Zhang, J.; Kovác, P. *J. Carbohydr. Chem.*, **1999**, 18, 461.

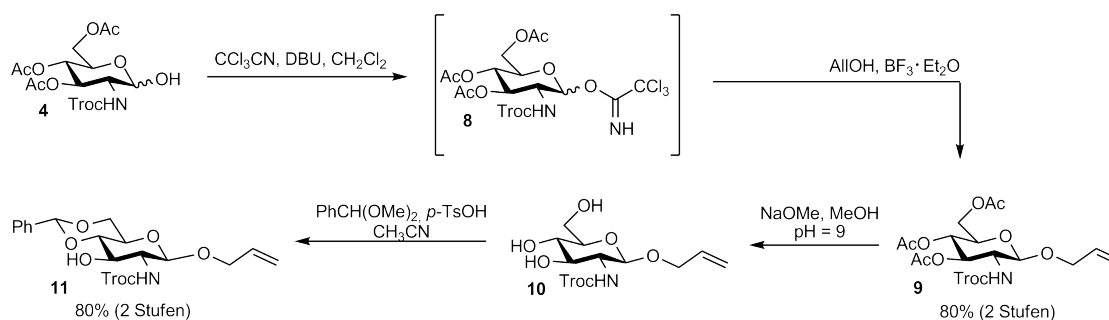
¹⁵⁸ Zemplén, G.; Kunz, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1923**, 56, 1705.

ten, dass der pH-Wert bei dieser Umesterung 8.5 nicht übersteigt, da es sonst zu einer Abspaltung der Troc-Schutzgruppe kommen kann, wie von *K. Baumann*¹⁴⁴ beobachtet wurde. Analog zu den dort ebenfalls erwähnten Ergebnissen, lässt sich der Grad der Zersetzung jedoch durch genaue pH-Kontrolle stark reduzieren, wenn nicht sogar unterbinden.

Durch Umsetzung des derivatisierten Glucosaminbausteins **6**, der nun freie Hydroxylgruppen in 3-, 4- und 6-Position trägt, mit Benzaldehyddimethylacetal unter Zugabe von katalytischen Mengen an 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat (*p*-TsOH) kann man selektiv das 4,6-Benzylidenacetal **7** erhalten.¹⁵⁹ Die ausschließliche Bildung dieses Produktes ist auf die größere Stabilität des entstehenden 6-Ringes gegenüber derjenigen des ebenfalls denkbaren Acetals unter Einbeziehung der OH-Gruppen in 3- und 4-Stellung zurückzuführen, bei der ein 5-Ring entstehen würde.¹⁴⁶

Die Synthese des Acetals gelingt mit einer Ausbeute von 68% über zwei Stufen bezogen auf den silylgeschützten Baustein und mit insgesamt 50% über die durchgeführte 4-stufige Synthese. Der so erhaltene Baustein **7** trägt in der 3-Position eine freie OH-Gruppe, so dass er als Fucosylakzeptor fungieren kann.

Ähnlich lässt sich der an der anomeren Position als Allylglycosid geschützte Baustein **11** darstellen. Dabei geht man von Zwischenprodukt **4** der oben beschriebenen Synthese aus, welches an der anomeren Position deblockiert ist (Schema 3.4). Dieses wird durch basenkatalysierte Addition der



Schema 3.4: Synthese des Allyl-geschützten Glucosaminbausteins

freien Hydroxylgruppe an Trichloroacetimidat umgewandelt, welches nach *Schmidt*¹⁶⁰⁻¹⁶³ unter Säurekatalyse aktiviert und mit Allylalkohol zum Allylglycosid umgesetzt werden kann. Diese beiden Schritte können hierbei ohne Aufarbeitung durchgeführt werden, indem nach vollständigem Umsatz zum Glycosyldonor ein großer Überschuss des Al-

¹⁵⁹ Evans, M. E. *Carbohydr. Res.*, **1972**, 21, 473.

¹⁶⁰ Schmidt, R. R.; Michel, J. *Angew. Chem.*, **1980**, 92, 763.

¹⁶¹ Schmidt, R. R. *Angew. Chem.*, **1986**, 98, 213.

¹⁶² Schmidt, R. R. *Pure Appl. Chem.*, **1989**, 61, 1257.

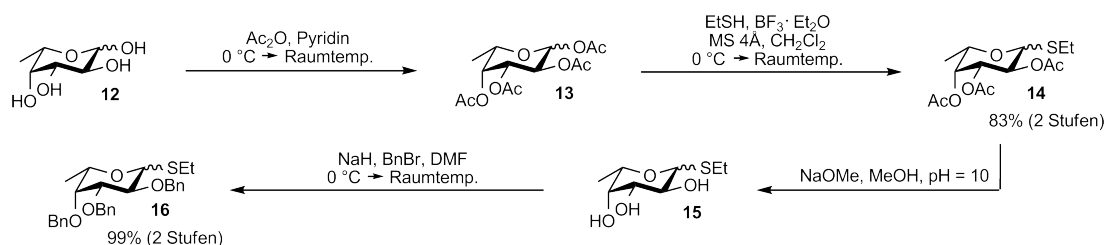
¹⁶³ Schmidt, R. R.; Kinzy, W. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1994**, 50, 21.

kohols zugesetzt und anschließend mit Bortrifluorid-Etherkomplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) der pH-Wert auf 2 eingestellt wird. Es muss also wegen der Variation der anomeren Schutzgruppe kein vollständig neuer Syntheseweg beschriftet werden. Die erzielte Ausbeute von 80% über zwei Stufen zeigt, dass dieses Vorgehen durchaus sinnvoll ist. Aufgrund des Nachbargruppeneffektes der *O*-Acetylgruppe in Position 2 erhält man ausschließlich das reine β -Anomer.

Anschließend verläuft die Synthese von **11** vollkommen analog zu der des Bausteins mit der anomeren TBDPS-Schutzgruppe über Deacetylierung und Bildung des 4,6-Benzylidenacetals mit einer Ausbeute von 80% über die letzten beiden Stufen.

3.1.2 Der Fucosebaustein

Die vierstufige Synthese des Fucosebausteins **16** basiert auf den Arbeiten von Lönn,¹⁶⁴ ausgehend von L-Fucose (**12**, siehe Schema 3.5). Dabei wird der Zucker zunächst mit Essigsäureanhydrid in Pyridin peracetyliert, wobei man ein Gemisch von α - und β -Anomer erhält. Das Anomerengemisch von **13** lässt sich in der folgenden Reaktion mit Ethanthiol unter Aktivierung mit Bortrifluorid-Etherkomplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) umsetzen, wobei sich wiederum beide Anomere des resultierenden Thioglycosids **14** bilden. Die Gesamtausbeute des Thioglycosids beträgt 83% über zwei Stufen.

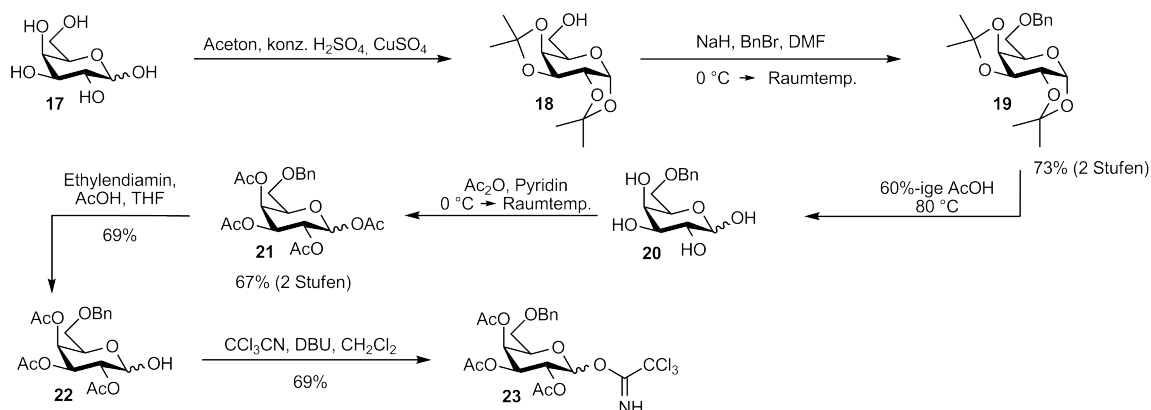


Schema 3.5: Synthese des Fucosebausteins

Nach der erfolgten Differenzierung der anomeren von den anderen Positionen, lassen sich die restlichen Acetylschutzgruppen unter *Zemplén*-Bedingungen¹⁵⁸ in einer methanolischen Natrium-methanolat-Lösung bei einem pH-Wert von 10 quantitativ entfernen. Die Umsetzung des erhaltenen Rohproduktes mit Benzylbromid und Natriumhydrid als Base im Sinne einer *Williamson*-Ethersynthese liefert das benzylierte Fucose-Derivat **16**, welches sich später als Glycosyldonor einsetzen lässt. Die Ausbeute der Anomerenmischung von **16** beträgt über die komplette vierstufige Synthese 82%.

¹⁶⁴ Lönn, H. *Carbohydr. Res.*, **1985**, 139, 105.

3.1.3 Der Galactosebaustein



Schema 3.6: Synthese des Galactosebausteins

Die sechsstufige Synthese des literaturbekannten Galactosebausteins **23** beginnt mit der Bildung des Diacetonids der D-Galactose unter schwefelsaurer Katalyse und dem Zusatz von wasserentziehendem Kupfer(II)-sulfat (Schema 3.6).¹⁶⁵ Dadurch werden alle sekundären Hydroxylfunktionen blockiert, während die primäre OH-Gruppe in 6-Position frei bleibt. Dies beruht auf der Tatsache, dass sich in diesem Fall bevorzugt jeweils 5-gliedrige Ketale mit den zueinander cis-ständigen OH-Gruppen ausbilden, während bei der Bildung eines Benzylidenacetals bevorzugt ein 6-Ring unter Einbeziehung der 4- und 6-OH-Gruppen erfolgen würde, wie später zu sehen sein wird.

Die freie Hydroxylfunktion kann im folgenden Schritt ohne weitere Reinigung mit Natriumhydrid und Benzylbromid als Benzylether geschützt werden. Nach der sauren Hydrolyse der Ketale in 60%-iger Essigsäure bei etwa 80 °C,¹⁶⁶ werden die freien OH-Gruppen von **20** mit Essigsäureanhydrid in Pyridin acetyliert, wobei das Produkt als Mischung der beiden Anomere erhalten wird. Die Ausbeute über die ersten 4 Stufen beträgt 50%.

Zur Überführung des nun vorliegenden Bausteins in den Trichloracetimidat-Donor muss zunächst die anomere Acetylgruppe selektiv entfernt werden. Dies kann wie schon bei dem D-Galactosamin-Baustein nach mehreren Methoden erreicht werden. Nachdem jedoch nach den vorigen Erfahrungen die Deblockierung mit Hydrazinacetat^{144,155,167} nicht gut zu kontrollieren ist, wird hier Ethylendiaminacetat in THF verwendet.¹⁵⁷ Die langsamer ablaufende Reaktion liefert in diesem Fall gute Ausbeuten von 69% des gewünschten Produktes **22** - ebenfalls als Anomerengemisch. Die Überführung in den Donor für die *Schmidt*-Glycosylierung gelingt durch basenkatalysierte Addition an Trichloracetonitril.^{165,168} Unter Verwendung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU)

¹⁶⁵ Stahl, W.; Sprengard, U.; Kretschmar, G.; Schmidt, D. W.; Kunz, H. *J. Prakt. Chem.*, **1995**, 337, 441.

¹⁶⁶ Pannecoucke, X.; Schmitt, G.; Luu, B. *Tetrahedron*, **1994**, 50, 6569.

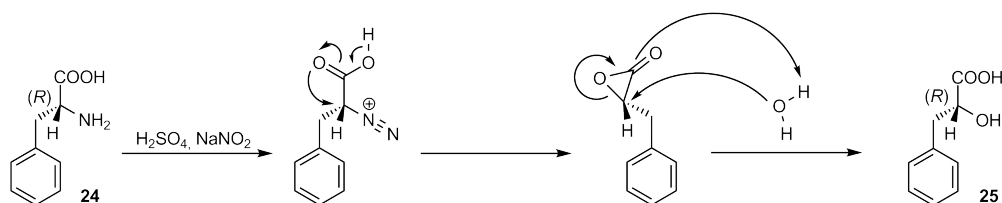
¹⁶⁷ Herzner, H.; Eberling, J.; Schultz, M.; Zimmer, J.; Kunz, H. *J. Carbohydr. Chem.*, **1998**, 17, 759.

¹⁶⁸ Eichler, E.; Jennings, H. J.; Gilbert, M.; Whitfield, D. M. *Carbohydr. Res.*, **1999**, 319, 1.

als Base wird dabei das Trichloracetimidat **23** als Anomerenmischung in einer Ausbeute von 69% erhalten.

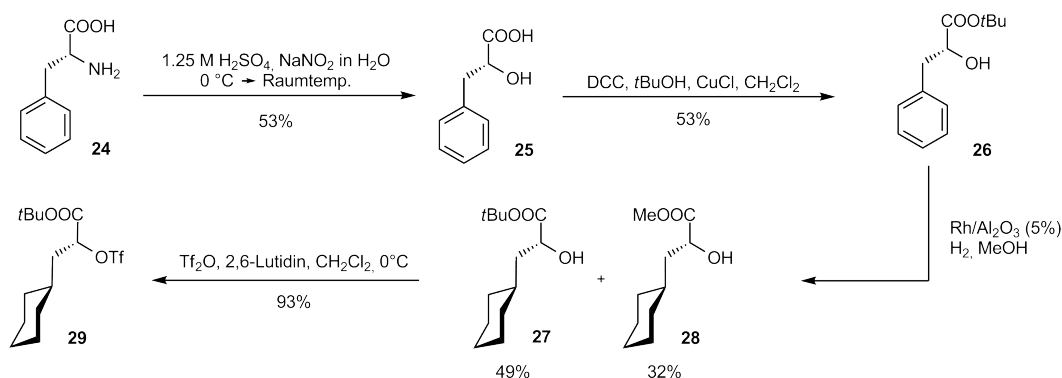
3.1.4 Der Cyclohexylmilchsäurebaustein

Der Cyclohexylmilchsäurebaustein soll später in der Synthese über eine S_N2 -Reaktion an das Trisaccharid angefügt werden. Da dabei das Stereozentrum des Bausteins invertiert wird, beginnt die Synthese mit D-Phenylalanin (Schema 3.8).



Schema 3.7: Mechanismus der Diazotierung von D-Phenylalanin

Dieses wird zunächst diazotiert und die gebildete Diazoverbindung direkt hydrolysiert.^{169,170} Mechanistisch betrachtet wird dabei das Stereozentrum zweimal invertiert, was in der Summe einen Erhalt der ursprünglichen Konfiguration ergibt (Schema 3.7). Die in der Literatur bereits beschriebene Stereoselektivität der Reaktion zeigt sich später auch darin, dass bei der Anknüpfung an das Trisaccharid keine Diastereomeren gefunden werden. Damit lässt sich nachträglich feststellen, dass es auf der Diazotierungsstufe zu keiner Racemisierung des Bausteins kommt.



Schema 3.8: Synthese des (R)-Cyclohexylmilchsäure-Triflats

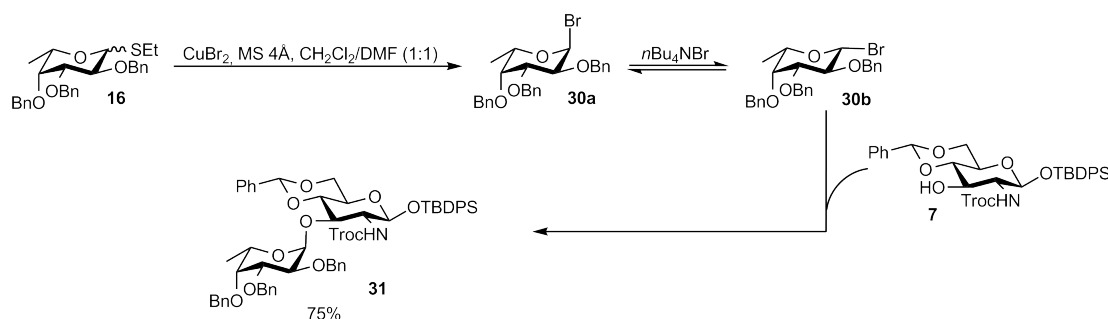
Um später die Säurefunktionen des Cyclohexylmilchsäurebausteins und der Aminosäure differenzieren zu können, wird die gebildete α-Hydroxysäure **25** als *tert*-Butylester geschützt. Dies ge-

¹⁶⁹ Degerbeck, F.; Fransson, B.; Grehn, L.; Ragnarsson, U. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1993**, 11.

¹⁷⁰ Bitan, G.; Gilon, C. *Tetrahedron*, **1995**, 51, 10513.

lingt in 53% Ausbeute durch Reaktion mit *tert*-Butanol unter Aktivierung mit Dicyclohexylcarbodiimid¹⁷¹ (DCC) und Kupfer(I)-chlorid. Anschließend wird im Autoklaven unter erhöhtem Wasserstoffdruck und mit Rhodium auf aktiviertem Aluminiumoxid als Katalysator der aromatische Phenylring hydriert.^{30,172} Durch Verwendung von Methanol als Lösungsmittel kommt es wahrscheinlich durch Einwirkung des basischen Aluminiumoxids als Trägermaterial des Katalysators zu einer partiellen Umesterung, so dass man einen gewissen Anteil des Methylesters **28** erhält. Die Überführung des gewünschten Bausteins **27** in das entsprechende Triflat **29** erfolgt mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid und 2,6-Lutidin als Base in hoher Ausbeute von 93%.^{170,173,174}

3.1.5 Die Synthesen der Disaccharide



Schema 3.9: Fucosylierung des TBDPS-geschützten Glucosaminbausteins

Die α -glycosidische Anknüpfung der Fucose an den Glucosaminbaustein erfolgt unter Ausnutzung des von *Lemieux* entwickelten *in situ*-Anomerisierungsverfahrens (Schema 3.9).¹⁷⁵ Die dabei verwendeten Glycosylbromide sind allerdings nicht sehr stabil, weshalb diese in Anlehnung an die Arbeiten von *Ogawa et al.*¹⁷⁶ aus den Thioglycosiden **16** gewonnen werden. Im Falle der Kupplung mit dem TBDPS-geschützten Glucosaminbaustein wird durch Einwirkung von Kupfer(II)-bromid zunächst eine Mischung der anomeren Bromide der Fucose erzeugt. Dabei ist das β -Anomer **30b** reaktiver, da es nicht durch den anomeren Effekt stabilisiert wird und kann im Sinne einer $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion von der OH-Gruppe des Glucosaminbausteins angegriffen werden. Damit die Reaktion nach dem Verbrauch des ursprünglich enthaltenen Anteils an β -Anomer nicht zum Stillstand kommt, wird durch die Zugabe von Tetra-*n*-butylammoniumbromid (TBAB) eine Gleichgewichtsreaktion zwischen α - und β -Anomer ermöglicht, so dass das abreagierende β -Anomer **30b** immer

¹⁷¹ Vorwinkel, E. *Chem. Ber.*, **1967**, 100, 16.

¹⁷² Damon, D. B.; Hoover, D. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 6439.

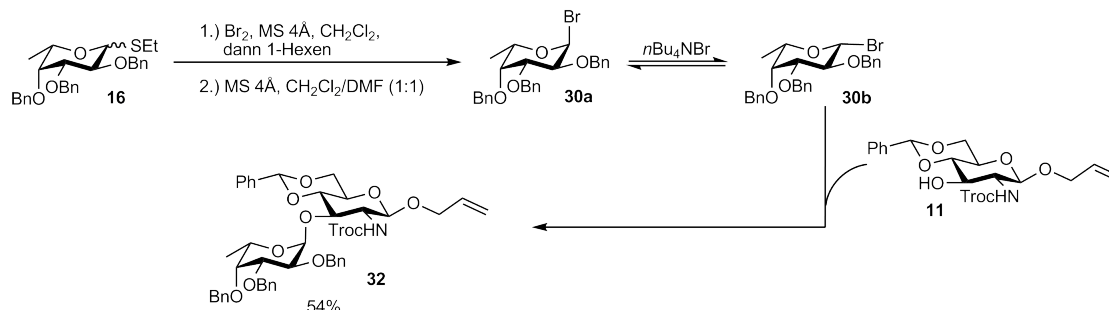
¹⁷³ Feenstra, R. W.; Stokkingreef, E. H. M.; Nivard, R. J. F.; Ottenheim, H. C. J. *Tetrahedron*, **1988**, 44, 5583.

¹⁷⁴ Hoffman, R. V.; Tao, J. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 7119.

¹⁷⁵ Lemieux, R. U.; Hendriks, K. B.; Stick, R. V.; James, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, 97, 4056.

¹⁷⁶ Ogawa, T.; Sato, S.; Mori, M.; Ito, Y. *Carbohydr. Res.*, **1986**, 155, C6.

wieder aus dem α -Anomer **30a** nachgebildet wird. Die Ausbeute liegt mit 75% auf dem Niveau des Literaturwertes aus der Dissertation von *K. Baumann* von 79%.¹⁴⁴ Bei der Synthese des Allyl-geschützten Disaccharids **32** kann ein solch hoher Wert nicht erreicht werden.



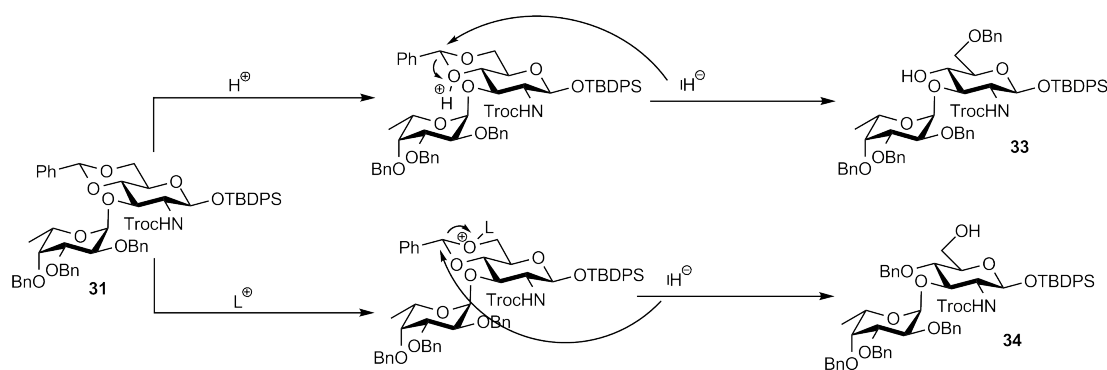
Schema 3.10: Fucosylierung des Allyl-geschützten Glucosaminbausteins

Versucht man die Disaccharidsynthese in analoger Weise unter Verwendung von Kupfer(II)-bromid zur Erzeugung der Fucosylbromide, so liegen die Ausbeuten extrem niedrig, wenn sich überhaupt das Produkt bildet. Stattdessen kann man ein nicht genauer charakterisiertes Produkt isolieren, welches scheinbar zwei Fucoseinheiten beinhaltet. Der Glucosaminbaustein bleibt unbeeinträchtigt und kann zurückgewonnen werden. Dieses Problem tritt in der Arbeit von *K. Baumann* nicht auf. Bei einem analogen Baustein ihrer Arbeit muss aber ebenfalls von der Verwendung von Kupfer(II)-bromid abgewichen werden, da unerwünschte Nebenreaktionen auftreten. Daher wird nun zur Erzeugung der Fucosylbromide das Substrat (**16**) mit elementarem Brom in Dichlormethan behandelt¹⁶⁴ und nach Vernichtung von überschüssigem Brom, die Kupplung mit Hilfe von TBAB durchgeführt. So erhält man reproduzierbare Ergebnisse mit Ausbeuten des gewünschten Disaccharids **32** von brauchbaren 54% (Schema 3.10).

Die zur Anknüpfung des Galactosebausteins benötigte freie OH-Gruppe in 4-Position des Glucosamins lässt sich durch eine regioselektive Acetalöffnung generieren. Dazu wird das 4,6-Benzylidenacetal mit einer Protonensäure aktiviert und Triethylsilan als Hydridüberträger verwendet. Mechanistisch wird dabei das basischere Sauerstoffatom in 4-Position protoniert, wodurch der Hydridtransfer so erfolgt, dass die OH-Gruppe in 6-Position von Verbindung **33** als Benzylether geschützt bleibt.¹⁷⁷ Würde man dagegen mit einer voluminöseren Lewis-Säure arbeiten, so würde in diesem Fall eine Aktivierung des sterisch weniger gehinderten Sauerstoffs in Position 6 erfolgen und letztlich der sekundäre Benzylether **34** gebildet (vgl. Schema 3.11). Grundsätzlich abgeschlossen ist die Diskussion des Mechanismus in der Literatur allerdings nicht, da die beobachteten Regioselektivitäten stark mit den verwendeten Reagenzkombinationen und Lösungsmitteln variieren.¹⁷⁸ Grundsätzlich bereitet dieser Reaktionsschritt in manchen Fällen Probleme. Da neben der Not-

¹⁷⁷ Garegg, P. J.; Hultberg, H.; Wallin, S. *Carbohydr. Res.*, **1982**, 108, 9750.

¹⁷⁸ Ohlin, M.; Johnsson, R.; Ellervik, U. *Carbohydr. Res.*, **2011**, 346, 1358.



Schema 3.11: Mechanismen der regioselektiven 4,6-Benzylidenacetalöffnung

wendigkeit der absoluten Trockenheit der Reagenzien und Lösungsmittel auch Reaktionstemperatur, Reaktionszeit und die Durchmischung eine große Rolle spielen, kommt es in manchen Fällen insbesondere bei der Vergrößerung der Ansätze (*upscaling*) zu Problemen. Nach der literaturbekannten Vorschrift für die Reaktion von **31** zu **33** wird beispielsweise nach *Sakagami et al.*¹⁷⁹ das Saccharid zusammen mit Triethylsilan in absol. Dichlormethan gelöst und auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Dann wird die Säure, gelöst in Dichlormethan, zutropft.¹⁴⁴ Bei dieser Temperatur lässt sich beobachten, dass die verwendete Trifluormethansulfonsäure beim Kontakt mit der kalten Mischung sofort ausfriert. Die Reaktion erfolgt danach wahrscheinlich zu einem großen Teil direkt an der Oberfläche der ausgefrorenen Säurepartikel in der Lösung. Das bedeutet, dass der Erfolg der Reaktion zu großen Teilen von der Anzahl und Größe der beim Zutropfen erzeugten Teilchen abhängt. Dies ist wiederum wahrscheinlich recht komplex abhängig von Rührgeschwindigkeit, Tropfgeschwindigkeit und Verdünnung der Säure. Beim *upscaling* sind diese Einflussparameter schwierig vorzuberechnen, was zumindest teilweise die schlechte Skalierbarkeit dieser Reaktion erklärt. Nach einigen Versuchen lag die maximal erreichte Ausbeute im Rahmen dieser Arbeit für die Reaktion im Kolben bei 77%.

Die beschriebenen Einflussfaktoren auf das Resultat der Acetalöffnung stellen geradezu einen Idealfall dar, bei dem sich ein Versuch im *Continuous flow*-Verfahren anbietet. Die Zusammenführung von Säure- und Substratlösung mit Hilfe eines mikrostrukturierten Mischers garantiert einen schnellen Kontakt aller beteiligten Reaktionspartner. Man vermeidet Konzentrationsgradienten innerhalb der Lösung, wie sie sonst in Rührreaktoren auftreten. Die Reaktion ist ausreichend schnell und kann mit relativ geringen Mengen optimiert werden. Gerade bei den wertvollen Edukten, die über viele Stufen synthetisiert werden müssen, ist dies ein wichtiges Argument, da für Versuchsoptimierungen nur wenig Material verbraucht werden muss. Parameter wie Konzentration, Verweilzeit und Temperatur lassen sich zuverlässig einstellen und konstant halten. Das große Oberflächen-Volumenverhältnis garantiert, dass auch bei Reaktionen mit starker Wärmetönung keine örtlichen

¹⁷⁹ Sakagami, M.; Hamana, H. *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 5547.

oder zeitlichen Temperaturdifferenzen in der Lösung auftreten. Und auch die Skalierung der Reaktion stellt kein Problem dar, da nach der erfolgten Optimierung mit geringen Substanzmengen später größere Mengen dargestellt werden können, indem der Durchflussreaktor einfach länger betrieben wird.

Für die Durchführung der regioselektiven Acetalöffnung nach *De Ninno*¹⁸⁰ wird der in Abbildung 3.1 dargestellte Versuchsaufbau verwendet. Dabei wird mit Trifluoressigsäure anstelle der gegenüber Plastikspritzen sehr aggressiven Trifluormethansulfonsäure gearbeitet. Einen ähnlichen Durchflussreaktor verwendeten auch *Tanaka* und *Fukase* zur regioselektiven Acetalöffnung mit Bortrifluorid-Etherkomplex als Lewis-Säure.¹⁸¹

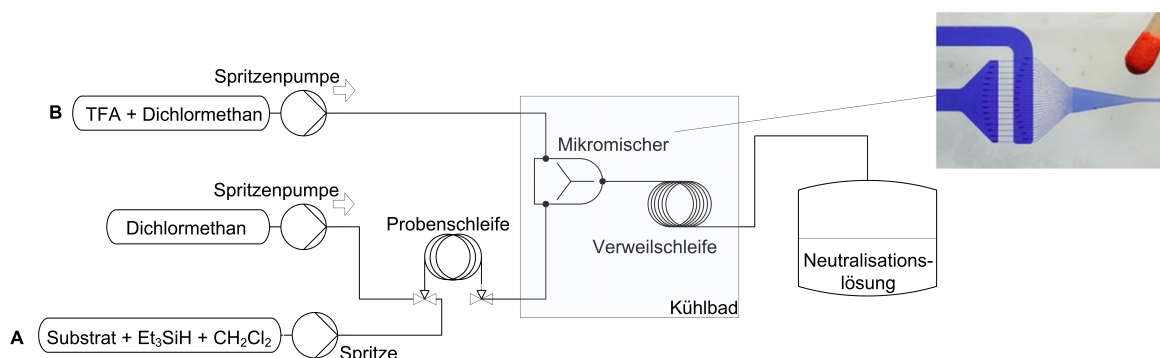


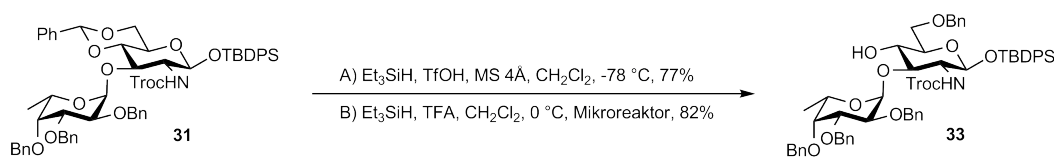
Abbildung 3.1: Continuous flow-Reaktor für die Optimierungsversuche

Die Förderung der beiden Lösungen **A** (Disaccharid **31** in Dichlormethan + Triethylsilan) und **B** (TFA in Dichlormethan) erfolgt mittels einer Spritzenpumpe durch PTFE-Schläuche. Beide Lösungen treffen im Mikromischer aufeinander, wobei hier ein Interdigital-Glasmischer der Firma Mikroglass verwendet wird. In diesem werden die Lösungen nach dem interdigitalen Prinzip - also in Form sich senkrecht zur Fließrichtung abwechselnder Flüssigkeitslamellen - in Kontakt gebracht, woraufhin die komplette Durchmischung über kurze Diffusionswege erfolgt (S. 18). Zur Vervollständigung der Reaktion fließt die gemischte Reaktionslösung durch eine kurze Verweilstrecke und wird dann zur schnellen Neutralisation in übersättigte NaHCO_3 -Lösung eingetropft. Dieser Versuchsaufbau ermöglicht eine einfache Optimierung mit kleinen Mengen. Dazu ist auf der Seite des Saccharids eine Probenschleife eingebaut, die mit einer Lösung von rund 20 mg des Disaccharids in Dichlormethan + Triethylsilan gefüllt wird. Zur Vermeidung von Verdünnungseffekten beim Durchlauf durch den Reaktor muss auf beiden Seiten der Probenlösung eine Lösung von Triethylsilan in Dichlormethan „aufgepfropft“ werden. Diese Probe wird nun durch den Reaktor gefördert und das Ergebnis nach erfolgter Neutralisation mittels DC analysiert.

Da auch Trifluoressigsäure bei zu niedriger Temperatur in der Reaktionsmischung ausfriert und

¹⁸⁰ DeNinno, M. P.; Etienne, J. B.; Duplantier, K. C. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 669.

¹⁸¹ Tanaka, K.; Fukase, K. *Synlett*, **2007**, 1664.



Schema 3.12: Acetalöffnung des TBDPS-geschützten Disaccharids im Kolben und im Durchflussreaktor

die entstehenden Partikel die Kapillaren verstopfen, muss zwangsläufig bei nicht ganz so niedrigen Temperaturen gearbeitet werden. Es zeigt sich, dass die Reaktion unter den Durchflussbedingungen sogar bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt werden kann und die Ausbeute bei präparativer Durchführung unter Verwendung eines leicht veränderten Aufbaus mit 82% deutlich über derjenigen des Batch-Ansatzes liegt (Schema 3.12 und Abb. 3.2). Darüber hinaus bestätigt sich die Annahme, dass das *upscaling* keine Probleme bereiten sollte. Im kontinuierlichen Verfahren können im Experiment unter den optimierten Bedingungen über 3 g der Substanz umgesetzt werden. Im Vergleich zu den Optimierungsschritten mit rund 20 mg bedeutet das einen Faktor von rund 150, um den der Ansatz ohne Probleme vergrößert werden kann. Da die Verweilzeit im Reaktor mit 3.75 Minuten deutlich unter den für Ansätze im Kolben üblichen Reaktionszeiten von mehreren Stunden liegt, erhält man auch größere Mengen des Produktes in angemessener Zeit.

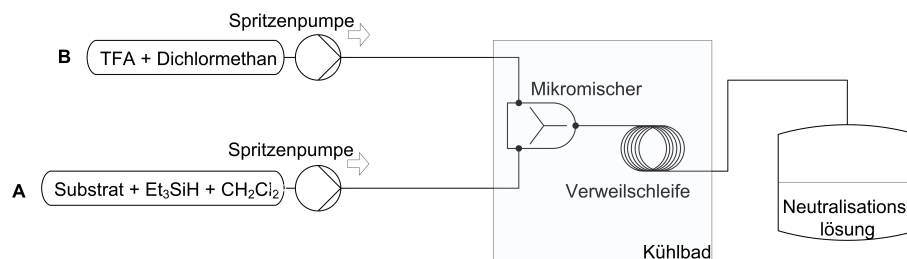
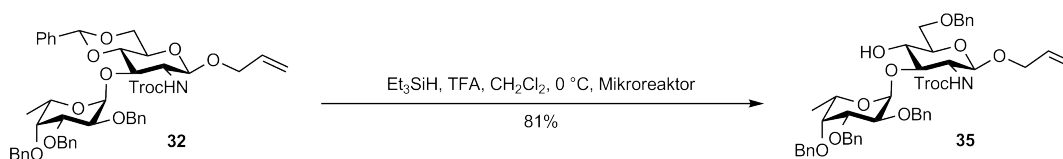


Abbildung 3.2: Continuous flow-Reaktor für die präparative Nutzung

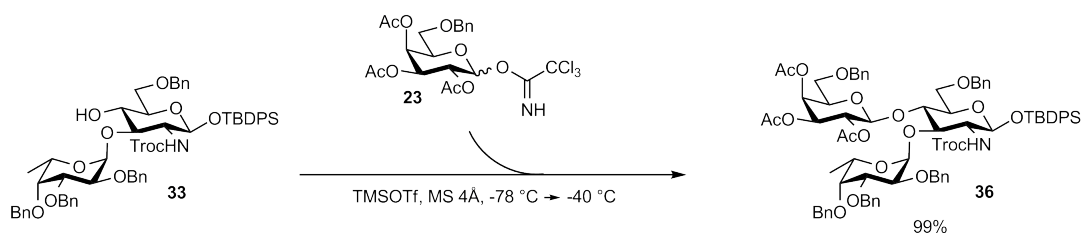


Schema 3.13: Acetalöffnung des Allyl-geschützten Disaccharids im Durchflussreaktor

Auch der Allyl-geschützte Baustein **32** kann in der Reaktion eingesetzt werden (Schema 3.13). Die Ausbeute liegt hier mit 81% auf dem Niveau der Literaturangabe von 82%. Wie schon bei dem TBDPS-geschützten Glycosid ist dabei eine unproblematische Ansatzvergrößerung möglich. Die oben beschriebenen Anlagen und die bewährte Prozedur werden auch später in der Arbeit verwendet, wenn mit anderen Bausteinen regioselektive Acetalöffnungen durchgeführt werden.

3.1.6 Die Synthesen der Trisaccharide

Die Anknüpfung der Galactosyl-Reste gelingt mit Hilfe des Trichloracetimidates nach der Methode von *Schmidt* (Schemata 3.14 und 3.15).¹⁶⁰⁻¹⁶³ Dabei wird der Glycosyldonor mit Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) aktiviert, woraufhin sich das Glycosylkation bildet. Durch den Nachbargruppeneffekt der Acetylgruppe in Position 2 der Galactose wird ein Angriff des Akzeptors von der Unterseite blockiert, sodass sich selektiv das β -Glycosid bildet (Schema 3.2).



Schema 3.14: Galactosylierung zum TBDPS-geschützten Trisaccharid

Die Umsetzungen der beiden Disaccharide **33** und **35** liefern in sehr hohen Ausbeuten die gewünschten Trisaccharide. Diese sind allerdings insbesondere bei den ersten Durchführungen nicht sonderlich gut reproduzierbar. Auch *K. Baumann*¹⁴⁴ stellt Probleme bei dieser Reaktion fest. Sie begründet dies mit der schlechten Zugänglichkeit der OH-Gruppe in Position 4 und einer für die Reaktion ungünstigen Konformation des Disaccharids, insbesondere im Fall des TBDPS-geschützten Derivates **33**. Ein Blick auf die Kristallstruktur eines sehr ähnlichen Derivates, bei dem die betreffende 4-OH-Gruppe acetyliert ist, zeigt tatsächlich, dass die Position sterisch gehindert ist. Zumindest im Festkörper liegt allerdings keine veränderte Konformation vor (vgl. Abb. 3.3).¹⁴²

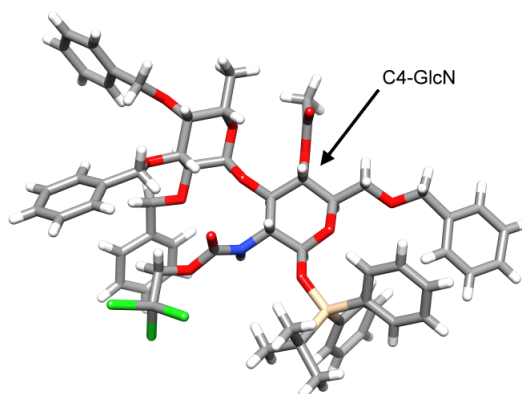
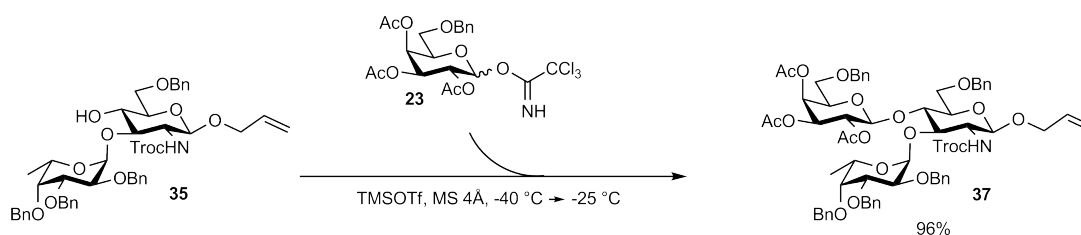


Abbildung 3.3: Kristallstruktur des Derivates von **33** mit acetylierter OH-Gruppe in Position 4 des Glucosaminbausteins. Es liegt keine veränderte Konformation vor.

Aus den genannten Gründen wählt *K. Baumann* als recht hohe Reaktionstemperaturen bei der Synthese von Verbindung **36** -20 °C und bei Verbindung **37** -30 °C.¹⁴⁴ Im Rahmen der vorliegenden Arbeit gelang bei diesen Temperaturen allerdings keine Reaktion, sondern man beobachtet überwiegend die Zersetzung des Trichloracetimidates **23**. Vielmehr lässt sich ein anderer temperaturabhängiger Effekt beobachten. Kühlt man nämlich den jeweiligen Ansatz auf eine zu niedrige Temperatur, so kann man bereits vor der Zugabe des Aktivators eine Eintrübung der Lösung erkennen. Scheinbar fällt also in der Kälte mindestens einer der Reaktionspartner aus der Reaktionsmischung aus und steht so für eine Reaktion nicht mehr zur Verfügung. Gibt man nun die Säure hinzu, so erhält man nur das unveränderte Disaccharid und die Zersetzungsprodukte des Glycosyldonors. Daher wird für die erfolgreiche Galactosylierung so gearbeitet, dass der unter Feuchtigkeitsausschluss gerührte Ansatz im Kühlbad auf die niedrigst mögliche Temperatur gekühlt wird, bei der noch keine Eintrübung auftritt. Dann wird die verdünnte Aktivatorlösung zugesetzt und die Temperatur langsam erhöht. Meist erfolgt die Reaktion, wenn diese erst einmal nach Zugabe der nötigen Menge an Säure eingesetzt hat, sehr schnell, so dass der Umsatz des Trichloracetimidates **23** bereits nach weniger als 30 Minuten vollständig ist. Da der Glycosyldonor zudem in großen Mengen unkompliziert zu synthetisieren ist, kann dieser bei unvollständiger Umsetzung des Disaccharids nachgegeben werden und die Reaktion so nahezu vollständig auf Seite des Trisaccharids geschoben werden.

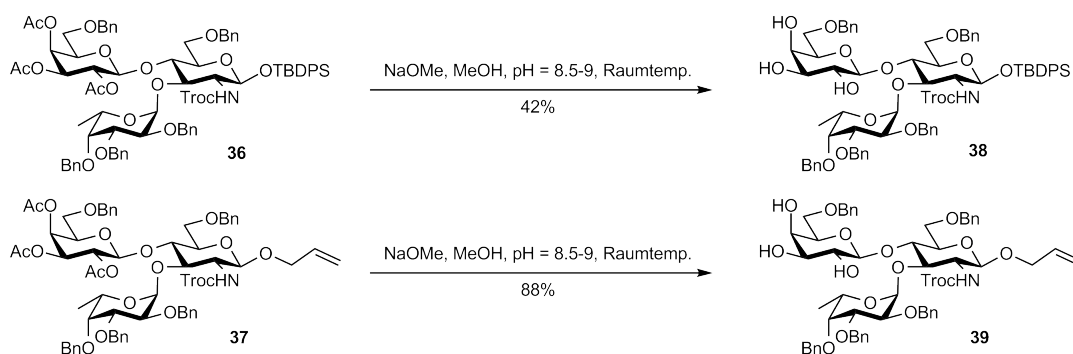


Schema 3.15: Galactosylierung zum Allyl-geschützten Trisaccharid

Die so erhaltenen geschützten Lewis^x-Trisaccharide **36** und **37** sollen später in Position 4 der Galactose weiter verknüpft werden. Dazu müssen zunächst alle Acetylgruppen der Bausteine entfernt werden. Dies gelingt wiederum unter *Zemplén*-Bedingungen¹⁵⁸ in Methanol unter Zugabe katalytischer Mengen Natriummethanolat. Die Umesterung erfolgt bei einem pH-Wert von 8.5-9, wodurch die beiden Trisaccharide **38** und **39** erhalten werden können (Schema 3.16).

Obwohl der pH-Wert genau kontrolliert wurde, kommt es hier im Falle des TBDPS-geschützten Bausteins scheinbar zu einem partiellen Verlust der Troc-Gruppe, was die niedrige Ausbeute erklären könnte. Die Angaben zur Basenlabilität dieser Schutzgruppe sind in der Literatur ohnehin nicht eindeutig.^{146,182}

¹⁸² Ellervik, U.; Magnusson, G. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 1627.

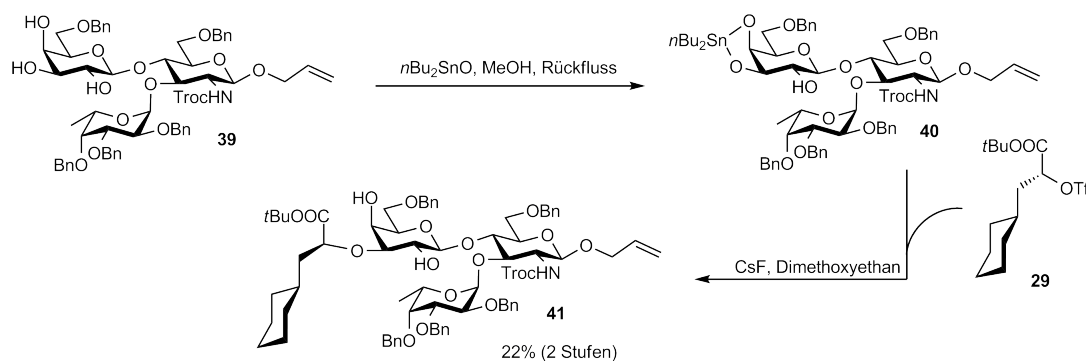


Schema 3.16: Deacetylierung der Lewis^X-Trisaccharide

3.1.7 Die Synthesen der Sialyl-Lewis^X-Mimetika

Bei der Anbindung des Cyclohexylmilchsäurebausteins an die Lewis^X-Trisaccharide wird nach der Stannylen-Methode^{183,184} mit Cäsiumfluorid als aktivierendem Reagenz gearbeitet. Die Silylschutzgruppe des TBDPS-geschützten Trisaccharids **38** könnte dadurch potenziell abgespalten werden, weshalb die Bildung des Sialyl-Lewis^X-Mimetikums im Rahmen der Dissertation von *K. Baumann* nur mit dem Allyl-geschützten Baustein **39** durchgeführt wurde.

In einem ersten Versuch gelingt die Synthese von **41** nur in sehr geringer Ausbeute, da wahrscheinlich nicht ausreichend wasserfrei gearbeitet wurde. Da sich allerdings der TBDPS-geschützte Baustein **38** in der bisherigen Syntheseroute als weniger problematisch erwiesen hatte, wäre es ohnehin wünschenswert, wenn die Anknüpfung an diesen Baustein gelingen sollte. Da zudem in den laufenden Arbeiten von *S. Di Pietro* eine gewünschte Abspaltung der TBDPS-Schutzgruppe mit Cäsiumfluorid nicht zu erreichen war, sollte diese Gruppe also unter den Reaktionsbedingungen stabil sein.

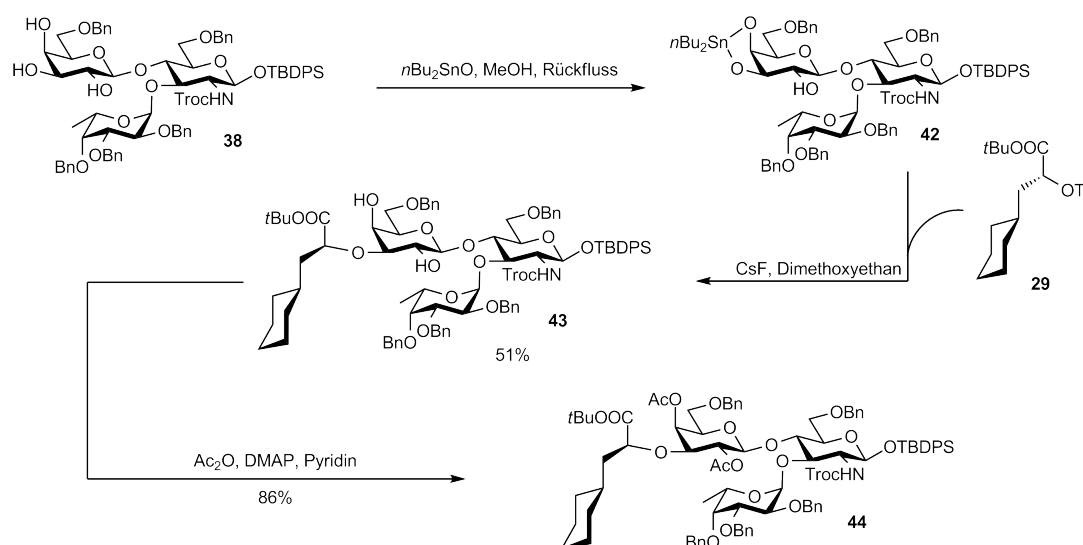


Schema 3.17: Umsetzung zum Allyl-geschützten Pseudotetrasaccharid

¹⁸³ Wagner, D.; Verheyden, J. P. H.; Moffatt, J. G. *J. Org. Chem.*, **1974**, *39*, 24.

¹⁸⁴ David, S.; Hanessian, S. *Tetrahedron*, **1985**, *41*, 643.

Experimentell wird zunächst unter Einbeziehung der cis-ständigen Hydroxylfunktionen in 3- und 4-Position des Trisaccharids mit Di-*n*-butylzinnoxid in siedendem Methanol das Stannyleneacetale **40** bzw. **42** gebildet. Die tatsächliche Struktur der Stannyleneacetale ist auch in der Literatur noch nicht vollständig geklärt. Es wird diskutiert, ob diese als Monomere, Dimere oder Oligomere vorliegen. Unstrittig ist jedoch die Beobachtung, dass nach Aktivierung des Stannyleneacetals bevorzugt die äquatorial stehende Hydroxylgruppe elektrophil angegriffen wird.¹⁸⁵ Auch hier ist der Mechanismus noch nicht abschließend geklärt. Die Reaktion des Cyclohexylmilchsäure-Triflats **29** mit dem TBDPS-geschützten Trisaccharid **42** erfolgt in Anlehnung an die Arbeiten von Bänteli¹⁸⁶ und Thoma *et al.*^{34,35} unter Aktivierung mit Cäsiumfluorid, wodurch das Produkt **43** in einer Ausbeute von 51% erhalten werden kann (Schema 3.18). Die Reaktionsbedingungen wurden hierbei nicht optimiert und die Reaktion nur einmal durchgeführt, da die erhaltene Substanzmenge ausreichend für weitere Experimente war. Es wird davon ausgegangen, dass es sich bei **43** um das (*S*)-konfigurierte Cyclohexylmilchsäure-Derivat handelt, da auch in der Literatur ausschließlich Ergebnisse erzielt werden, bei denen eine reine S_N2-Reaktion abläuft.^{34,35,144} Die Bildung von Diastereomeren, die bei einem S_N1-artigen Intermediat zu erwarten wäre, lässt sich NMR-spektroskopisch ausschließen.



Schema 3.18: Umsetzung zum TBDPS-geschützten Pseudotetrasaccharid

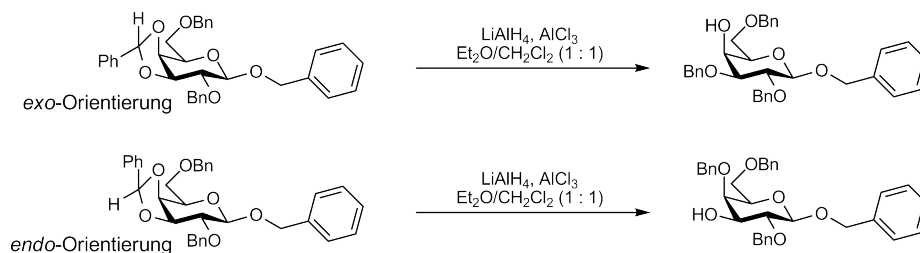
Nach Acetylierung der zwei verbleibenden freien Hydroxylgruppen erhält man das vollständig geschützte Sialyl-Lewis^x-Mimetikum **44**.

¹⁸⁵ Nashed, M. A.; Anderson, L. *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 3503.

¹⁸⁶ Bänteli, R.; Ernst, B. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 4059.

3.2 Die Saccharidbausteine für die C-Glycosylaminosäuren

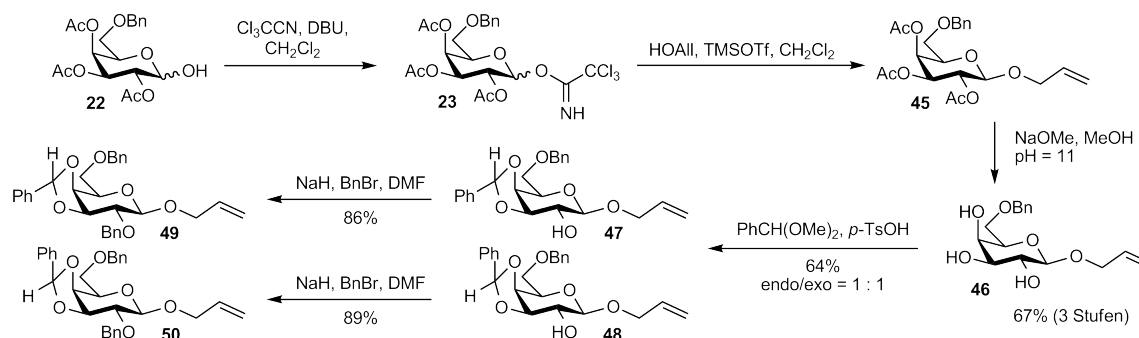
Zur Synthese der *exo*-Glycale müssen zunächst die passend geschützten Lactone dargestellt werden. Diese sollten für die Olefinierung außer der zyklischen Esterfunktion keine weiteren Carbonylgruppen enthalten, die ebenfalls reagieren könnten. Daher finden sich in den Bausteinen am Ende der Synthesen nur Benzyl- und Benzylidenschutzgruppen.



Schema 3.19: Öffnungen von 3,4-Benzylidenacetalen der D-Galactose nach Lipták

Ein Galactosebaustein, der in 3- und 4-Position als Benzylidenacetal geschützt ist, kann sinnvoll sein, wenn man später an diesen Positionen selektiv weitere Funktionalisierungen vornehmen möchte. So lassen sich nach *Lipták* *endo*-orientierte Acetale regioselektiv öffnen, so dass lediglich die OH-Gruppe in Position 3 frei ist, während die *exo*-orientierten Acetale so geöffnet werden können, dass man die OH-Gruppe in Position 4 freilegt.¹⁸⁷⁻¹⁸⁹ Dass dies so ist, wurde exemplarisch mit dem vollständig geschützten Baustein **50** überprüft, allerdings nicht präparativ genutzt.

3.2.1 Galactosebaustein mit 3,4-Benzylidenacetal-Schutzgruppe via β -Anomer



Schema 3.20: Synthese der vollständig geschützten β -Anomere **49** und **50**

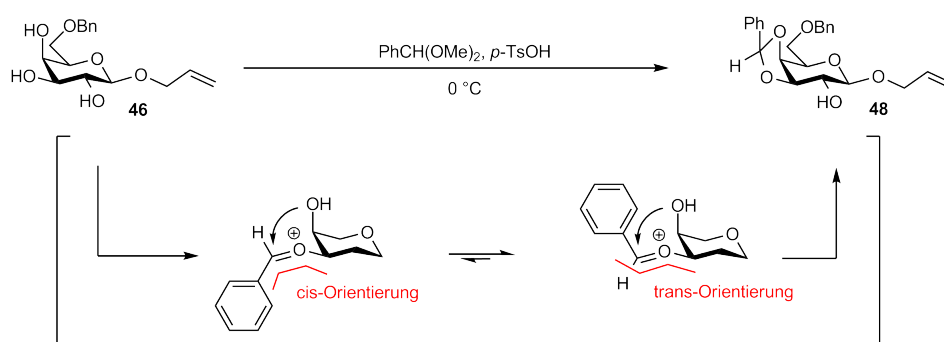
¹⁸⁷ Lipták, A. *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 39, 3551.

¹⁸⁸ Vliegthart, J. F. G.; Kamerling, J. P.; van Dorst, J. *Carbohydr. Res.*, **1997**, 297, 209.

¹⁸⁹ Adinolfi, M.; Barone, G.; De Napoli, L.; Iadonisi, A.; Piceialli, G. *Tetrahedron Letters*, **1996**, 28, 5007.

Die Synthese eines zur Olefinierung geeigneten Galactonolactons kann auf der Stufe von Verbindung **22** begonnen werden, die ja schon in der Synthese des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums benötigt wurde (Schema 3.20). Diese kann durch Überführung in das Trichloracetimidat mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als Base und anschließende *Schmidt*-Glycosylierung von Allylalkohol in das Allyl-geschützte Derivat **45** überführt werden. Wie schon bei der Synthese von **9** ist dies in einem Eintopfverfahren ohne zwischenzeitliche Isolierung und Reinigung des Trichloracetimidates möglich. Auch die folgende Deacetylierung unter *Zemplén*-Bedingungen mit Natriummethanolat in Methanol kann direkt vorgenommen werden. Nach flashchromatographischer Reinigung erhält man das in den Positionen 2, 3 und 4 ungeschützte Galactosederivat **46** in einer Ausbeute von 67% über drei Stufen.

Bringt man nun diese Verbindung mit Benzaldehyddimethylacetal unter saurer Katalyse mit 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat zur Reaktion, so bilden sich zwei dünn-schichtchromatographisch deutlich zu unterscheidende Produkte. Entgegen der ersten Vermutung, dass es sich dabei um ein 2,3-Benzylidenacetal und ein 3,4-Benzylidenacetal handeln könnte, erweisen sich die beiden Produkte in Übereinstimmung mit *Lipták*,¹⁹⁰ der dies bei dem α -Anomer der Verbindung beobachtete, als die *exo*- und *endo*-Isomere des 3,4-Benzylidenacetals (**47** und **48**). Diese lassen sich mittels Flashchromatographie trennen und mit Natriumhydrid und Benzylbromid in die Benzylether **49** und **50** überführen. Da die Trennung der beiden Isomere später auf der Stufe der Lactone leichter durchgeführt werden kann, wird bei größeren Ansätzen allerdings auf eine Isomerentrennung verzichtet und die folgenden Reaktionen werden problemlos mit der Mischung beider Substanzen durchgeführt.



Schema 3.21: Möglicher Mechanismus der selektiven Bildung des *endo*-Acetals

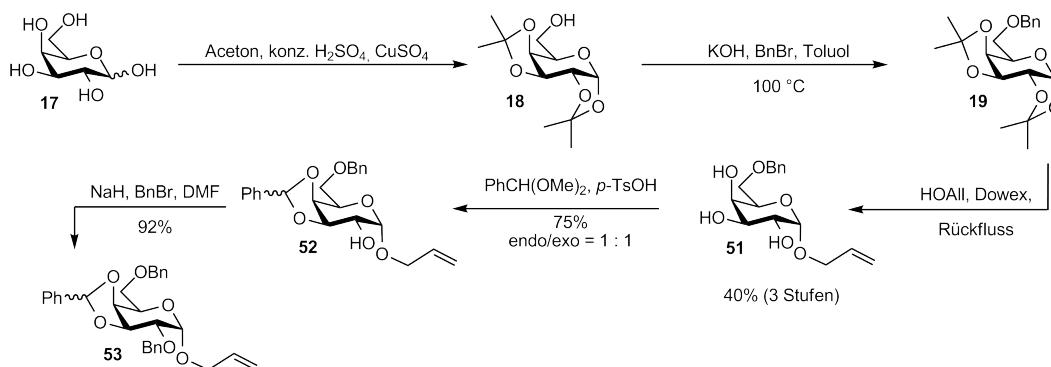
Nach *Lipták* sollte sich auch durch geeignete Reaktionsführung in reinem Benzaldehyddimethylacetal ohne Verwendung eines weiteren Lösungsmittels bei 0 °C selektiv die ausschließliche Bil-

¹⁹⁰ Lipták, A. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae*, **1979**, 90.

dung des *endo*-Acetals **48** realisieren lassen.¹⁹¹ Dies wurde ebenfalls experimentell nachvollzogen. Tatsächlich kann man unter den angegebenen Bedingungen während der Reaktion ausschließlich die Bildung des *endo*-Acetals auf der DC-Platte erkennen. Leider ist der Umsatz der Reaktion so gering, dass die erhaltene Produktmenge an *endo*-Acetal bei einer unselektiven Acetalbildung nach säulenchromatographischer Trennung von **47** und **48** deutlich höher liegt als bei der selektiven Variante. Nichtsdestotrotz ist die selektive Bildung des *endo*-Acetals eine erstaunliche Beobachtung, führt sie doch zu dem scheinbar energetisch ungünstigeren Produkt. Eine Erklärung könnte dabei sein, dass unter kinetischen Bedingungen in der Lösung vor allem das stabilere Carbokation existiert, welches beim Angriff der 4-OH-Gruppe in einer *trans*-Stellung vorliegt (Schema 3.21). Dieser Angriff führt ausschließlich zum *endo*-Isomer. Bei höherer Temperatur und längerer Reaktionszeit erhält man dagegen ein nahezu äquimolares Gemisch, da sich unter saurer Katalyse ein Gleichgewicht zwischen *endo*- und *exo*-Form einstellen kann.¹⁹²

3.2.2 Galactosebaustein mit 3,4-Benzylidenacetal-Schutzgruppe via α -Anomer

Da die Syntheseroute über das β -Anomer insgesamt 10 Stufen bis zu den vollständig geschützten Galactosebausteinen **49** und **50** erfordert, wurde versucht, einen schnelleren Zugang zu finden. Aufgrund der Tatsache, dass die Konfiguration am anomeren Zentrum nicht von Bedeutung ist, da bei der Oxidation zu einem Lacton später ohnehin die Stereoinformation an C1 verloren geht, kann die Synthese auch über das α -Anomer der Galactose erfolgen (Schema 3.22).



Schema 3.22: Synthese des vollständig geschützten α -Anomers **53**

Dazu wird zunächst wie zu Beginn der Synthese des β -Anomers mit Aceton unter schwefelsaurer Katalyse eine Maskierung aller Positionen mit Ausnahme von OH-6 vorgenommen und diese Hydroxylfunktion anschließend als Benzylether blockiert. Im nächsten Schritt erfolgt dann in Al-

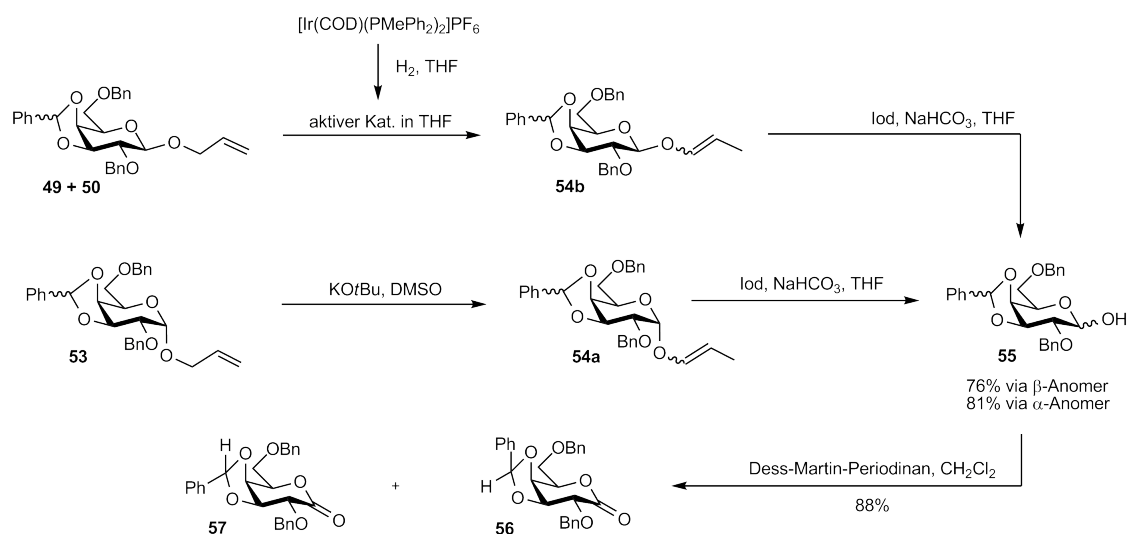
¹⁹¹ Lipták, A.; Kerékgyártó, J. *Carbohydr. Res.*, **1993**, 248, 361.

¹⁹² Lipták, A.; Nánási, P.; Harangi, J.; Oláh, V. A. *Carbohydr. Res.*, **1981**, 98, 165.

lylalkohol in Anlehnung an eine Vorschrift von *Bellucci*¹⁹³ unter sauren Bedingungen mit Dowex[®] 50WX8-200 eine Entfernung der Ketale und gleichzeitig eine *Fischer*-Glycosylierung unter Bildung des α -orientierten Allylglycosids **51**. Auch dieses kann nun als 3,4-Benzylidenacetal geschützt werden, wobei hierbei nach den vorigen Erfahrungen auf Versuche zur selektiven Reaktion zum *endo*-Acetal von **52** verzichtet wird. Die Mischung der beiden Acetale wird mit Natriumhydrid und Benzylbromid behandelt und so eine vollständige Blockierung der funktionellen Gruppen in Verbindung **53** erreicht.¹⁹⁰

3.2.3 Galactonolactone mit 3,4-Benzylidenacetal-Schutzgruppe

Im nächsten Schritt muss nun die Allylschutzgruppe an der anomeren Position entfernt werden, damit anschließend oxidiert werden kann. Dies wurde für die beiden Anomere mit verschiedenen Methoden erreicht, wobei die jeweils andere jedoch ebenfalls funktionieren sollte (Schema 3.23). Allgemein basieren die meisten bekannten Methoden zur Abspaltung von Allylether-Schutzgruppen auf einem zweistufigen Mechanismus. Zunächst wird die Doppelbindung der Allylgruppe in einer durch Übergangsmetalle oder Base¹⁹⁴ katalysierten Reaktion in die entsprechende 1-Propenyl-Verbindung isomerisiert und anschließend die Abspaltung mit Säure,¹⁹⁵ Iod¹⁹⁶ oder Quecksilber(II)-salzen¹⁹⁷ durchgeführt.



Schema 3.23: Umsetzung zu den Galactonolactonen **56** und **57**

¹⁹³ Bellucci, G.; Chiappe, C.; D'Andrea, F. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1995**, 6, 221.

¹⁹⁴ Prosser, T. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83, 1701.

¹⁹⁵ Boss, R.; Scheffold, R. *Angew. Chem.*, **1976**, 88, 578.

¹⁹⁶ Nashed, M. A.; Anderson, L. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1982**, 1274.

¹⁹⁷ Gigg, R.; Warren, C. D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1968**, 1903.

Im Falle des β -Anomers bedient man sich im ersten Teilschritt zur Isomerisierung des *Baudry*-Katalysators, also 1,5-Cyclooctadien-bis(methyldiphenylphosphin)iridium(I)-hexafluorophosphat ($[\text{Ir}(\text{COD})(\text{PMePh}_2)_2]\text{PF}_6$),^{144,198} da dieser sich bei ähnlichen Reaktionen als geeignet erwiesen hat. Dieser muss jedoch zunächst in die reaktive Form überführt werden, indem der in Lösung rote, kommerziell erhältlich Komplex einige Minuten unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt wird. Die Farbe ändert sich dabei nach hellgelb, was vermutlich auf eine Hydrierung der 1,5-Cyclooctadien-Liganden zurückzuführen ist. Anschließend muss der Wasserstoff wieder gründlich aus der Lösung entfernt werden, damit keine Hydrierung des Allylglycosids zum gesättigten Propylglycosid erfolgt.¹⁴⁴

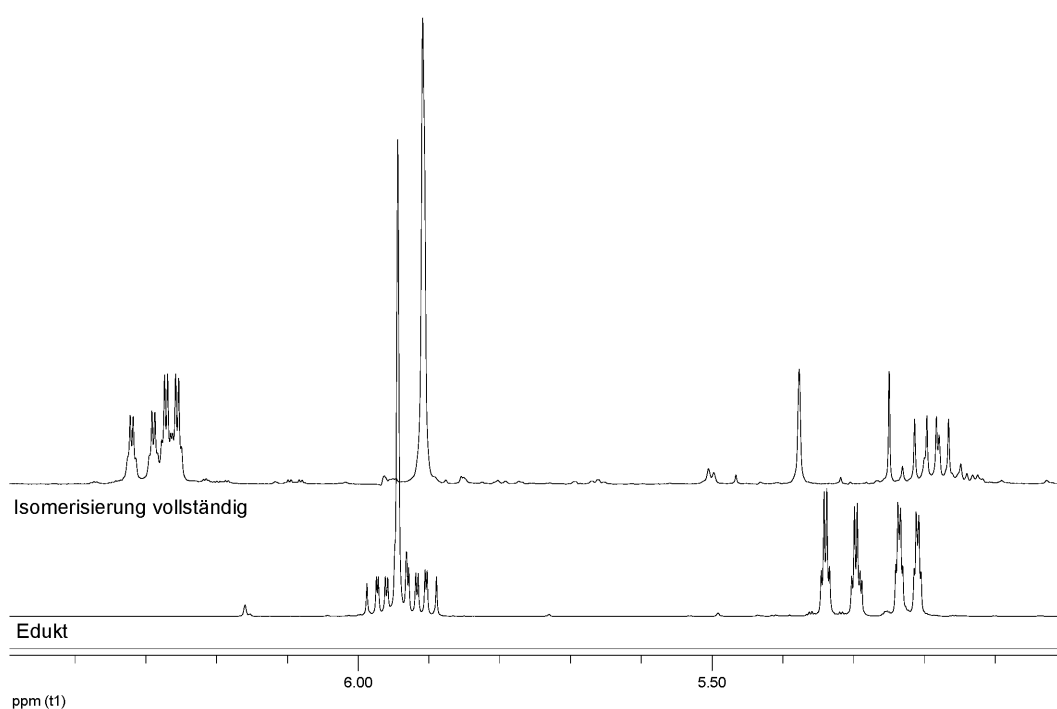


Abbildung 3.4: NMR-Verfolgung der Isomerisierung der Allylschutzgruppe bei der Reaktion von Edukt **50** (unten) zu *endo*-1-Propenylglycosid **54b** (oben)

Hat man die aktivierte Katalysatorlösung zum Substrat gegeben, so lässt sich mittels Dünnschichtchromatographie keine Verfolgung des Reaktionsfortschritts vornehmen, da die Polaritäten von Edukt und Produkt sehr ähnlich sind. Untersucht man allerdings die Reaktion in zeitlichen Abständen mittels NMR-Spektroskopie, so kann man anhand der langsam verschwindenden Allyl-Signale deutlich erkennen, wann die Reaktion vollständig ist (vgl. Abb. 3.4). Das erhaltene 1-Propenylglycosid **54b** wird mit Iod versetzt und somit an der anomeren Position deblockiert. Man erhält das Produkt (**55**) in einer Ausbeute von 76%.

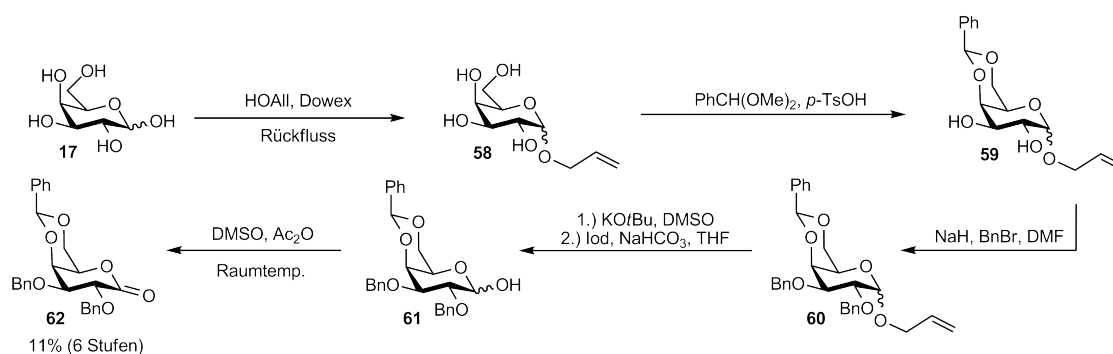
¹⁹⁸ Baudry, D.; Ephritikhine, M.; Felkin, H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1978**, 694.

Geht man vom α -Anomer aus, so erfolgt die Isomerisierung durch Behandlung mit Kalium-*tert*-butylat in DMSO als Base. Dem Ansatz muss eine geringe Menge an Wasser zugesetzt werden, damit nach der erfolgten Deprotonierung auch wieder eine Reprotonierung und damit in der Summe eine Isomerisierung der Doppelbindung erfolgen kann. Auch hier kann der Reaktionsfortschritt mittels NMR-Spektroskopie verfolgt und nach vollständiger Bildung des 1-Propenylglycosids **54a** eine Abspaltung mit Iod vorgenommen werden. Man erhält in diesem Falle das Produkt (**55**) in einer Ausbeute von 81%.

Die Oxidation zu den *endo*- und *exo*-Isomeren des Lactons (**56** und **57**) erfolgt durch Behandlung mit Dess-Martin-Periodinan, wodurch man die Produkte in einer Ausbeute von 88% erhält. Auf dieser Stufe lassen sich wiederum die beiden Diastereomere flashchromatographisch voneinander trennen und charakterisieren. NMR-spektroskopisch lässt sich über die auftretenden NOE-Kontakte des Benzyliden-Protons mit den restlichen Wasserstoffatomen des Pyranoseringes eindeutig eine Unterscheidung von *endo*- und *exo*-Form vornehmen.

3.2.4 Galactonolacton mit 4,6-Benzylidenacetal-Schutzgruppe

Ausgehend von D-Galactose wird ein weiterer Baustein mit einem anderen Schutzgruppenmuster aufgebaut (Schema 3.24). Auch hier gestattet das Benzylidenacetal eine spätere selektive Funktionalisierung. 4,6-Benzylidenacetale der Galactose lassen sich wie die Derivate der Glucose in Abhängigkeit der verwendeten Reaktionsbedingungen und Reagenzien selektiv in beide Richtungen öffnen.^{199,200} So erhält man beispielsweise nach *Misra*²⁰¹ mit Triethylsilan in Kombination mit Iod selektiv Position 4 deblockiert, während nach *Sakagami*¹⁷⁹ eine Kombination von Triethylsilan und Dichlorphenylboran eine Deblockierung in 6-Position ermöglicht.



Schema 3.24: Synthese des vollständig geschützten Galactonolactons **62**

Die Synthese beginnt mit einer *Fischer*-Glycosylierung von D-Galactose in siedendem Allylalko-

¹⁹⁹ Nifantiev, N. E.; Sherman, A. A.; Mironov, Y. *Carbohydr. Res.*, **2003**, 338, –703.

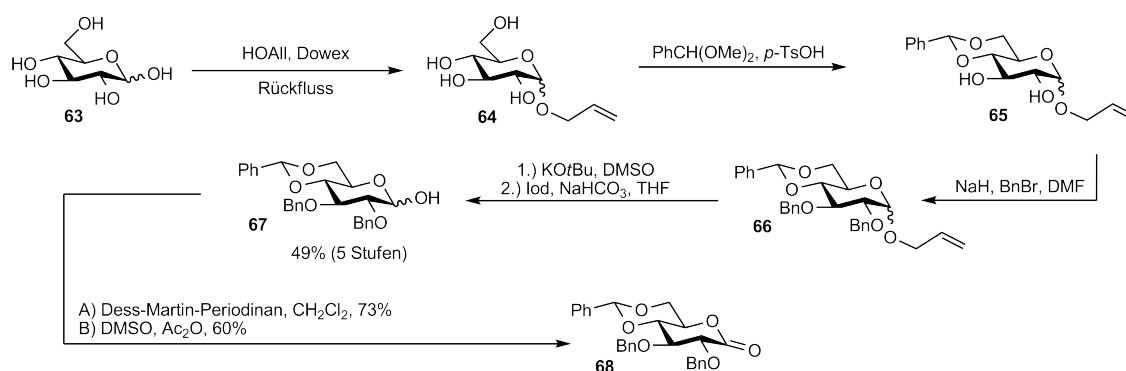
²⁰⁰ Oscarsson, S.; Ek, M.; Garegg, P. J. *J. Carbohydr. Chem.*, **1983**, 2, 305.

²⁰¹ Misra, A. K.; Panchadhayee, R. *Synlett*, **2010**, 8, 1193.

hol unter saurer Katalyse mit Dowex[®] 50WX8-200. Dabei bildet sich vorzugsweise, aber nicht ausschließlich das α -Anomer der Verbindung. Das so erhaltene Rohprodukt wird direkt weiter unter saurer Katalyse mit 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat und Benzaldehyddimethylacetal zum 4,6-Benzylidenacetal **59** umgesetzt. Die Rohausbeute beträgt dabei rund 64% über zwei Stufen. Anschließend blockiert man die beiden verbleibenden freien Hydroxylfunktionen als Benzylether unter Verwendung von Natriumhydrid und Benzylbromid. Die anomere Allylschutzgruppe von **60** wird in der Folge zunächst unter Einwirkung von Kalium-*tert*-butylat in DMSO isomerisiert und anschließend durch Behandlung mit Iod abgespalten. Das Rohprodukt wird im Sinne einer *Goldman-Albright-Oxidation*²⁰² durch Rühren in DMSO und Essigsäureanhydrid zu dem entsprechenden Lacton **62** oxidiert. Diese Methode hat den Vorteil, dass das anomer deblockierte Kohlenhydrat **61** nicht zunächst mittels Chromatographie gereinigt werden muss, sondern direkt als Rohprodukt eingesetzt werden kann. Zudem wären bei größeren Ansätzen auch die Kosten des Dess-Martin-Reagenz durchaus erheblich. So erhält man das gewünschte Produkt nach 6 Stufen in einer Gesamtausbeute von 11% bezogen auf das Startmaterial D-Galactose.

3.2.5 Gluconolacton mit 4,6-Benzylidenacetal-Schutzgruppe

Auch auf Basis von D-Glucose wird ein Baustein synthetisiert, der ein 4,6-Benzylidenacetal trägt, so dass sich die Möglichkeit ergibt, das Acetal später in die gewünschte Richtung zu öffnen. Gerade für 4,6-Benzylidenacetale der Glucose existiert eine Vielzahl an möglichen Kombinationen von Säure und Hydridüberträger mit denen entweder die 4- oder die 6-Position selektiv deblockiert werden kann.²⁰³



Schema 3.25: Synthese des vollständig geschützten Gluconolactons **68**

Die von D-Glucose ausgehenden Synthese verläuft analog zu derjenigen des zuvor beschriebenen Galactose-Derivates in Anlehnung an Arbeiten von *Thiem* (Schema 3.25).²⁰⁴ Zunächst erfolgt eine

²⁰² Albright, J. D.; Goldman, L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 4214.

²⁰³ Nokami, J.; Tanaka, N.; Ogawa, I.; Yoshigase, S. *Carbohydr. Res.*, **2008**, 343, 2675.

²⁰⁴ Pelyvas, I.; Lindhorst, T.; Thiem, J. *Liebigs Ann.*, **1990**, 761.

Fischer-Glycosylierung in siedendem Allylalkohol unter Aktivierung mit saurem Ionentauscher Dowex[®] 50WX8-200. Anschließend wird das Rohprodukt mit 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat als aktivierende Säure und Benzaldehyddimethylacetal zum 4,6-Benzylidenacetal **65** umgesetzt. Nach Benzylierung der verbleibenden freien Hydroxylfunktionen erfolgt die Abspaltung der anomeren Allylgruppe von **66**. Dazu wird diese wiederum mit Kalium-*tert*-butylat in DMSO isomerisiert und anschließend durch Behandlung mit Iod abgespalten. Nach flashchromatographischer Reinigung hält man das reduzierende Saccharid **67** in einer Ausbeute von 49% bezogen auf das Startmaterial D-Glucose. Die folgende Oxidation kann nun einerseits mit Dess-Martin-Periodinan erfolgen, was das Gluconolacton **68** in einer Ausbeute von 73% liefert. Sollen größere Mengen umgesetzt werden, so erfolgt die Oxidation jedoch nach *Goldman-Albright*²⁰² mit DMSO und Essigsäureanhydrid, was mit 60% Ausbeute etwas weniger effektiv, aber deutlich günstiger ist. Das Produkt weist, nach den Kopplungskonstanten im ¹H-NMR-Spektrum zu urteilen, eine veränderte Konformation gegenüber der üblichen ⁴C₁-Struktur auf. Dies bestätigt eine Kristallstrukturanalyse des Moleküls, in der deutlich eine bootförmige Konformation zu erkennen ist (Abb. 3.5).

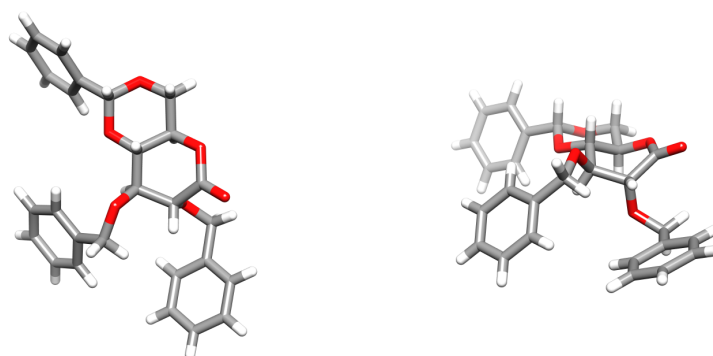
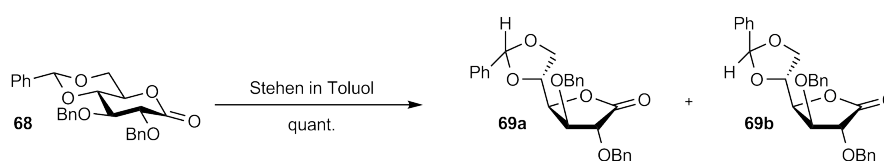


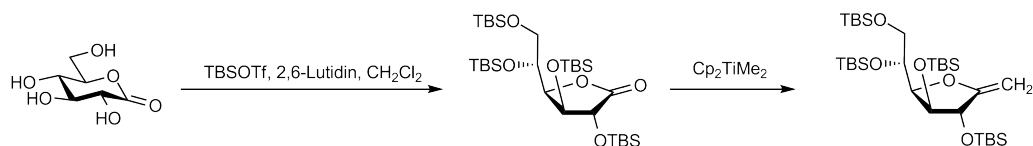
Abbildung 3.5: Kristallstruktur von Verbindung **68** aus zwei verschiedenen Blickwinkeln



Schema 3.26: Isomerisierung des (1,5)-Lactons zu den (1,4)-Lactonen der Glucose

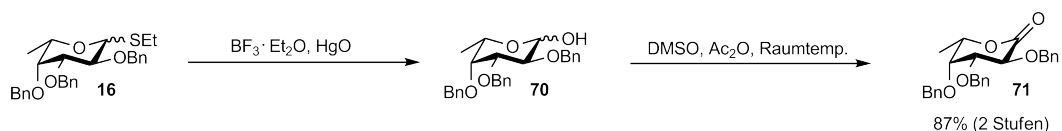
Lässt man das so erhaltene Glucono-(1,5)-lacton **68** mehrere Tage gelöst in Toluol bei Raumtemperatur stehen, so lässt sich im NMR-Spektrum langsam die Bildung zweier neuer Produkte erkennen. Nach mehreren Wochen ist das Glucono-(1,5)-lacton vollständig verschwunden und man erhält zwei Verbindungen, bei denen es sich um die zwei Isomere des Glucono-(1,4)-lactons **69a** und **69b** handeln muss (Schema 3.26). Die beiden Diastereomere unterscheiden sich in der Konfiguration am chiralen Benzylidenacetal-Kohlenstoff. Eine HPLC-chromatographische Trennung

der beiden Isomere gelingt auf dieser Stufe nicht, allerdings können die beiden Verbindungen später nach erfolgter Olefinierung getrennt werden. Diese Isomerisierung ähnelt denjenigen, die bei der Persilylierung des ungeschützten Glucono-(1,5)-lactons in den Arbeiten von Taylor beobachtet wurde (siehe Schema 3.27).²⁰⁵



Schema 3.27: Lacton-Isomerisierung und anschließende Petasis-Olefinierung nach Taylor

3.2.6 Fuconolacton



Schema 3.28: Synthese des Fuconolactons **71**

Basierend auf Verbindung **16**, die ebenfalls schon beim Aufbau des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums benötigt wurde, lässt sich das literaturbekannte Fuconolacton **71** synthetisieren (Schema 3.28).²⁰⁶ Dazu muss zunächst mit Bortrifluorid-Etherkomplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) und Quecksilber(II)-oxid in THF die anomere Schutzgruppe entfernt werden,²⁰⁷ bevor anschließend das Rohprodukt in einer *Goldman-Albright-Oxidation*²⁰² mit DMSO und Essigsäureanhydrid in das gewünschte Lacton überführt werden kann. Nach säulenchromatographischer Reinigung erhält man das Fuconolacton **71** in einer Ausbeute von 87% über zwei Stufen.

Somit stehen nun von allen Bausteinen die benötigten, passend geschützten Lactone zur Verfügung, die in einer Petasis-Olefinierung zur Synthese von *exo*-Glycalen eingesetzt werden können.

²⁰⁵ Murphy, P. V.; McDonnell, C.; Hämig, L.; Paterson, D. E.; Taylor, R. J. K. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, *14*, 79.

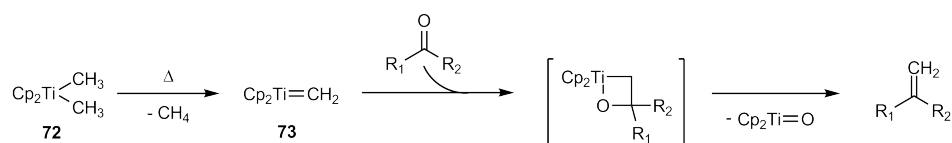
²⁰⁶ Ohtake, H.; Ichiba, N.; Shiro, M.; Ikegami, S. *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 8164.

²⁰⁷ Zhang, Y.-M.; Brodzky, A.; Sinaiy, P.; Saint-Marcoux, G.; Perly, B. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1995**, *5*, 1195.

3.2.7 Die Petasis-Olefinierungen

Das für die Petasis-Olefinierungen²⁰⁸⁻²¹³ benötigte Dimethyltitanocen **72** wird nach einer Vorschrift von Payack²¹⁴ aus Titanocendichlorid und Methylmagnesiumchlorid hergestellt. Die erhaltenen Lösungen des Reagenz in Toluol/THF können über lange Perioden im Kühlschrank aufbewahrt werden, ohne dass es zu einer merklichen Zersetzung kommt.^{215,216}

Olefinierungen mit Dimethyltitanocen werden unter Erwärmung der Lösung auf etwa 65 °C durchgeführt, da zur Bildung der reaktiven Spezies ein Molekül Methan eliminiert werden muss.²¹⁷ Dies stellt zugleich nach bisherigen Erkenntnissen den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Reaktion dar.^{218,219} Dabei bildet sich das reaktive Titan-carbenoid **73**, welches dann in einer Sequenz aus Cycloaddition und Cycloreversion mit dem zu olefinierenden Substrat reagiert (vgl. Schema 3.29).



Schema 3.29: Mechanismus der Petasis-Olefinierung

Abgesehen von den erhöhten Temperaturen hat die Verwendung von Dimethyltitanocen als Methylenierungsmittel einige Vorteile gegenüber möglichen Alternativen. Die ähnlichste Variante, die Tebbe-Reaktion,²²⁰ erlaubt ebenfalls eine Olefinierung unter recht milden Bedingungen, meist bei niedrigen Temperaturen. Das Reagenz ist allerdings extrem empfindlich gegenüber Feuchtigkeit und kann nicht gut gelagert werden. Weitere mögliche Olefinierungsmethoden, wie die Wittig-, Horner-, Julia- oder Peterson-Olefinierungen laufen unter basischen Reaktionsbedingungen ab und

²⁰⁸ Petasis, N. A.; Bzowej, E. I. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 6392.

²⁰⁹ Petasis, N. A.; Patane, M. A. *Tetrahedron Lett.*, **1990**, *31*, 6799.

²¹⁰ Petasis, N. A.; Lu, S.-P. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 141.

²¹¹ Csuk, R.; Glänzer, B. I. *Tetrahedron*, **1991**, *47*, 1655.

²¹² Hartley, R. C.; McKiernan, G. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 2763.

²¹³ Hartley, R. C.; Ji, J. F.; Main, C. A.; McKiernan, G. J. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 4825.

²¹⁴ Payack, J. F.; Hughes, D. L.; Cai, D.; Cottrell, I. F.; Verhoeven, T. R. *Organic Syntheses, Coll. Vol. 10*, **2004**, 355.

²¹⁵ Payack, J. F.; Hughes, D. L.; Cai, D. W.; Cottrell, I. F.; Verhoeven, T. R. *Org. Prep. Proc. Int.*, **1995**, *27*, 707.

²¹⁶ Payack, J. F.; Huffman, M. A.; Cai, D. W.; Hughes, D. L.; Collins, P. C.; Johnson, B. K.; Cottrell, I. F.; Tuma, L. D. *Org. Proc. Res. Dev.*, **2004**, *8*, 256.

²¹⁷ Doye, S.; Siebeneicher, H. *J. Prakt. Chem.*, **2000**, *342*, 102.

²¹⁸ Hughes, D. L.; Payack, J. F.; Cai, D. W.; Verhoeven, T. R.; Reider, P. J. *Organometallics*, **1996**, *15*, 663.

²¹⁹ Meurer, E. C.; Santos, L. S.; Pilli, R. A.; Eberlin, M. N. *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 1391.

²²⁰ Tebbe, F. N.; Parshall, G. W.; Reddy, G. S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, 3611.

lassen sich nicht für die Synthese von Enolethern aus Estern nutzen.²²¹⁻²²⁴

Experimentell wird die Petasis-Olefinierung üblicherweise durchgeführt, indem die Lösung von Substrat und Reagenz in THF/Toluol über viele Stunden unter Lichtausschluss erhitzt wird.^{215,216}

Eine Beschleunigung der Reaktion ist allgemein durch die Erhöhung der Reaktionstemperatur möglich. Allerdings ist man hierbei durch die Verwendung von THF als bei Normaldruck relativ niedrig siedendem Lösungsmittel eingeschränkt. Würde man allerdings unter erhöhtem Druck arbeiten und somit den Siedepunkt des Lösungsmittels nach oben verschieben, sollte sich auch in THF eine schnellere Reaktion realisieren lassen.

Verschiedene Gruppen berichten daher von Petasis-Olefinierungen, die in einem geschlossenen Glasgefäß unter Erhitzung in der Mikrowelle durchgeführt werden konnten. So beschreibt *Ley* die Olefinierung eines komplexen Ketons,²²⁵ *Hartley* die Umsetzung verschiedener Iminoester²²⁶ und *Gallagher* die Petasis-Olefinierung verschiedener Oxalate¹⁴⁹ und erst kürzlich auch unterschiedlicher Zucker-Lactone.²²⁷

In allen Fällen ist die mikrowellengestützte Reaktion unter erhöhtem Druck deutlich beschleunigt. Dies konnte auch für die Petasis-Olefinierungen im Rahmen dieser Arbeit beobachtet werden. Statt erst nach vielen Stunden ist die Reaktion in den meisten Fällen bereits nach 30 Minuten vollständig. Dabei wird parallel zur Erwärmung in der Mikrowelle heftig mit einem Druckluftstrom gekühlt (*cooled microwave heating*).²²⁸ Allerdings lassen sich in den Mikrowellenreaktionsgefäßen aus Platzgründen nur kleine Volumina umsetzen. Die Reaktion von großen Ansätzen wäre allerdings auch nicht sonderlich ratsam, da die erhebliche Gasmenge an schlagartig entstehendem Methan durchaus zur Explosion des verschlossenen Reaktionsgefäßes führen könnte.

Auch an dieser Stelle bietet sich ein Versuch der Reaktion im Durchfluss an. In diesem Falle befinden sich immer nur geringe Mengen des Reagenz in der Reaktionszone, sodass dem Sicherheitsaspekt Rechnung getragen wird. Wiederum sollte es möglich sein, mit kleinen Mengen zu optimieren und später im kontinuierlichen Betrieb größere Ansätze ohne Änderungen bezüglich der Ausbeute durchführen zu können. Mikrowellengestützte Reaktionen im Durchfluss haben sich

²²¹ Maryanoff, B. E.; Reitz, A. B. *Chem. Rev.*, **1989**, 89, 863.

²²² Mikolajczyk, M.; Balczewski, P. *New Aspects in Phosphorous Chemistry II*. Springer Berlin, Heidelberg, 2003.

²²³ Blakemore, P. R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 2563.

²²⁴ van Staden, L. F.; Gravestock, D.; Ager, D. *J. Chem. Soc. Rev.*, **2002**, 31, 195.

²²⁵ Ley, S. V.; Gaunt, M. J.; Jessiman, A. S.; Orsini, P.; Tanner, H. R.; Hook, D. F. *Org. Lett.*, **2003**, 4819.

²²⁶ Hartley, R. C.; Adriaenssens, L. V. *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 10287.

²²⁷ Woodward, H.; Smith, N.; Gallagher, T. *Synlett*, **2010**, 869.

²²⁸ O'Brien, M.; Denton, R.; Ley, S. V. *Synthesis*, **2011**, 1157.

zudem auch bei anderen Reaktionen bereits als nützlich erwiesen.²²⁹⁻²³¹

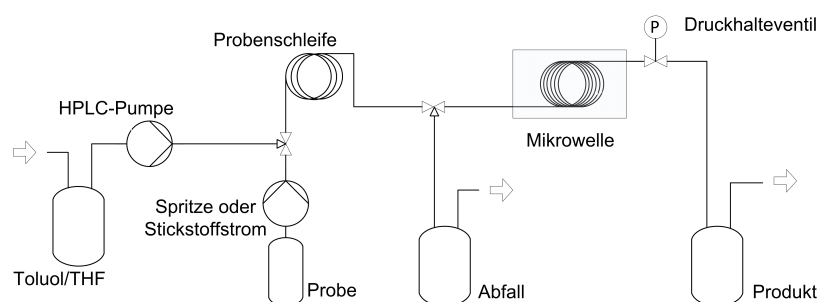


Abbildung 3.6: Continuous flow-Reaktor für die Petasis-Olefinierungen

Der experimentelle Aufbau besteht aus einer HPLC-Pumpe, mit der Lösungsmittel und Reagenz gefördert werden und PTFE-Schläuchen (OD = 3.2 mm, ID = 1.6 mm), die als Probeschleife (Volumen: 6 mL) vor der Reaktionszone sowie als Reaktor (Volumen: 8.5 mL) genutzt werden. Die Erwärmung erfolgt mit Hilfe einer CEM Discover Mikrowelle und der Druck innerhalb der Anlage wird über ein Ventil am Ausgang gesteuert. Um einen Wärmeverlust der Reaktionslösung über die große Oberfläche des Schlauches zu vermeiden, wird der Reaktor innerhalb der Mikrowelle zusätzlich in Glaswolle eingepackt. Dies hat allerdings den Nachteil, dass die genaue Temperatur nicht mehr über den IR-Sensor der Mikrowelle ermittelt werden kann, weshalb die Reaktion bei konstanter Mikrowellenleistung durchgeführt wird. Durch diesen Aufbau sollte es möglich sein, im kontinuierlichen Verfahren unter erhöhtem Druck und erhöhter Temperatur zu arbeiten.

Zur Optimierung der Prozedur mit kleinen Mengen wird wie schon bei den Versuchen zur regio-selektiven Acetalöffnung mit einer Probeschleife vor der eigentlichen Reaktionszone gearbeitet. Diese wird mit einer Lösung von rund 60 mg des Lactons und 2.2 Äquiv. Dimethyltitanocen in Toluol/THF gefüllt. Wiederum werden zur Vermeidung von Verdünnungseffekten jeweils 0.25 mL der Petasis-Reagenz-Lösung auf beiden Seiten der Probenlösung aufgefropft. Mit der HPLC-Pumpe wird dann reines Lösungsmittel gefördert, welches die Probenlösung praktisch vor sich her durch den Reaktor schiebt.

Für die Versuche wird der Druck, welcher über die HPLC-Pumpe detektiert wird, mit dem Ventil am Auslass auf 8 bar eingestellt. Bei einem zu niedrigen Druck würde das Lösungsmittel zu schnell verdampfen und das entstehende Gasvolumen würde die Reaktionslösung schneller aus dem Reaktor pressen als erwünscht. Allerdings darf man den Druck auch nicht zu hoch wählen, da die PTFE-Schläuche insbesondere unter gleichzeitiger Erwärmung leicht platzen können.

²²⁹ Kappe, C. O.; Glasnov, T. N. *Macromol. Rapid Commun.*, **2007**, 28, 395.

²³⁰ Baxendale, I. R.; Hayward, J. J.; Ley, S. V. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, **2007**, 802.

²³¹ Razzaq, R.; Glasnov, T. N.; Kappe, C. O. *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 1321.

Die Optimierungsversuche werden mit dem *endo*-Isomer des 3,4-Benzylidengeschützten Galactosebausteins **56** durchgeführt. Nach jedem Durchlauf durch den Reaktor wird das Reaktionsgemisch ohne vorige Reinigung mittels NMR-Spektroskopie analysiert.

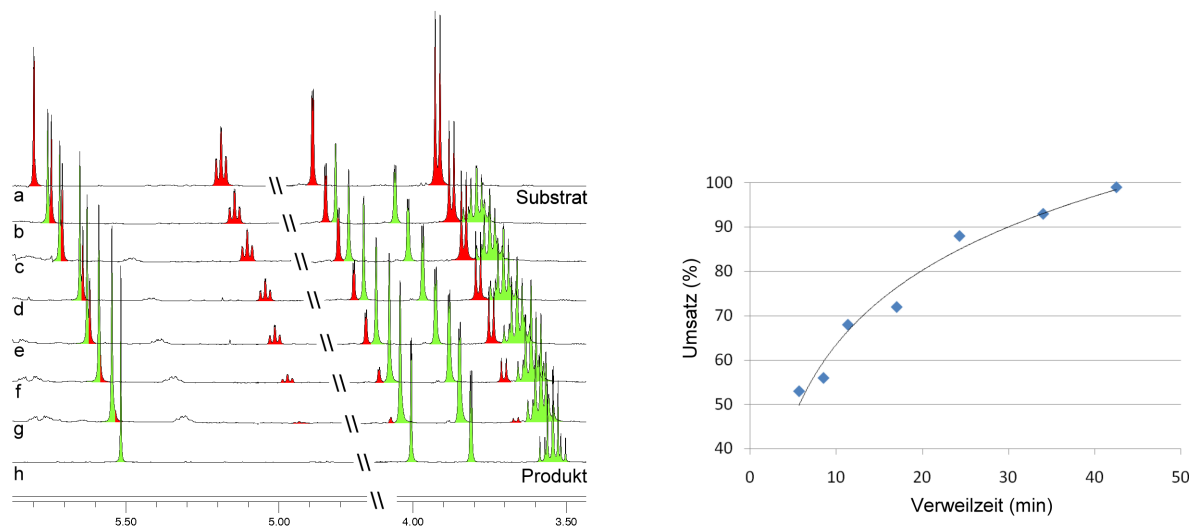


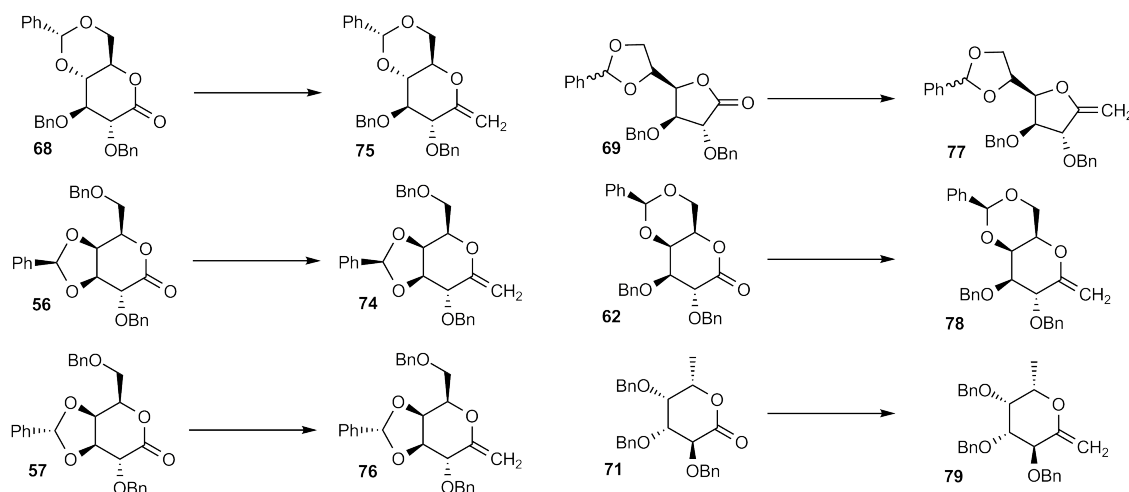
Abbildung 3.7: Systematischer Zusammenhang zwischen Verweilzeit und Umsatz, von Lacton **56** zu *exo*-Glycal **74**; a: Substrat; b: 1.5 mL/min; c: 1.0 mL/min; d: 0.75 mL/min; e: 0.5 mL/min; f: 0.35 mL/min; g: 0.25 mL/min; h: Produkt

Dabei kann man deutlich erkennen, dass es erwartungsgemäß einen systematischen Zusammenhang zwischen Flussrate bzw. Verweilzeit und dem erzielten Umsatz von **56** zu **74** gibt (Abb. 3.7). Verbleiben beispielsweise nach 5.67 Minuten noch 47% des Eduktes, so kann nach 42.5 Minuten praktisch vollständiger Umsatz festgestellt werden. Erstaunlicherweise reagiert der Glucosebaustein **68** unter den exakt gleichen Reaktionsbedingungen deutlich schneller und ist nach 5.67 Minuten bereits vollständig umgesetzt (Tabelle 3.1). Dies widerspricht allerdings der für die thermische Synthese im Glaskolben anerkannten Annahme, dass die Erzeugung der Carbenoid-Spezies **73** der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist. Wenn nämlich die Bildung des aktiven Reagenz **73** in Anwesenheit des Glucosebausteins **68** bereits nach 5.67 Minuten vollständig ist, dann sollte dies in Anwesenheit des Galactosebausteins **56** auch nach dieser Zeit der Fall sein. Daraus kann man schließen, dass unter den gewählten Reaktionsbedingungen in der Mikrowelle unter Durchfluss nun die Reaktion des aktiven Reagenz **73** mit dem jeweiligen Substrat geschwindigkeitsbestimmend ist und daraus die unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeiten resultieren. Zur Überprüfung dieser Annahme wurden Benzophenon und Benzylbenzoat als Substrate getestet. Auch hier zeigen sich deutliche Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit. Benzophenon wird dabei etwas schneller umgesetzt als der Galactosebaustein **56**, während die Olefinierung von Benzylbenzoat auch nach langer Zeit nicht vollständig abläuft.

Tabelle 3.1: Verschiedene Substrate der Petasis-Olefinierungen unter identischen Continuous flow-Bedingungen mit 0.18M Lösung von Cp_2TiMe_2 in Toluol/THF

| Substrat | Zeit | Umsatz |
|---------------|-------------|----------|
| 56 | 5.67 min | 53% |
| | 11.33 min | 68% |
| | 34.00 min | 93% |
| 68 | 5.67 min | >99% |
| | Benzophenon | 5.67 min |
| Benzylbenzoat | 11.33 min | 93% |
| | 11.33 min | 8% |
| | 34.00 min | 17% |

Wenn nun die geschwindigkeitsbestimmende Reaktion eine bimolekulare Reaktion wäre, so sollte diese in ganz besonders drastischer Weise von der Konzentration der Reaktionspartner in der Lösung abhängen. Tatsächlich zeigt sich bei der Erhöhung der Konzentration der Petasis-Reagenz-Lösung von 0.18M auf 0.46M eine deutlich beschleunigte Umsetzung. Beispielsweise ist nun sowohl die Reaktion des Glucosebausteins **68** als auch des Galactosebausteins **56** bei einer Flussrate von bis zu 3.0 mL/min, was einer Verweilzeit von nur 2.8 Minuten entspricht, mit vollständigem Umsatz möglich.



Schema 3.30: Im Reaktor durchgeführte Petasis-Olefinierungen

Die kurzen Verweilzeiten erlauben es nun, die Reaktion präparativ zu nutzen. Für die großen Ansätze wird die Reaktionsmischung direkt mit Hilfe der HPLC-Pumpe gefördert, wobei wiederum reines Reagenz vor und nach der Probenlösung aufgepfropft wird, damit keine Verdünnung stattfindet. Beim Vergleich der Ausbeuten von kontinuierlichem und diskontinuierlichem mikrowel-

Tabelle 3.2: *Petasis-Olefinierungen mit 0.46M Lösung von Cp₂TiMe₂ in Toluol/THF*

| Substrat | Continuous Flow | | Microwave Batch | |
|-----------|-----------------|----------|-----------------|--------|
| | Ausbeute | Zeit | Ausbeute | Zeit |
| 68 | 65% | 5.67 min | 67% | 30 min |
| 56 | 71% | 5.67 min | 70% | 30 min |
| 57 | 70% | 5.67 min | 70% | 30 min |
| 69 | 50% | 5.67 min | 51% | 30 min |
| 62 | 56% | 5.67 min | 50% | 30 min |
| 71 | 74% | 8.50 min | 74% | 30 min |

lengestützten Verfahren zeigt sich, dass die Ausbeuten jeweils vergleichbar sind (Schema 3.30 und Tabelle 3.2). In beiden Fällen sind die Reaktionszeiten deutlich verkürzt im Vergleich zum üblichen thermischen Verfahren im Glaskolben. So wird das Fucose-Derivat **79** auf konventionellem Weg innerhalb von 16 Stunden bei 70 °C mit identischer Ausbeute von 74% erhalten²³² wie im mikrowellengestützten *Batch*-Verfahren nach 30 Minuten und im *Continuous flow*-Verfahren nach nur 8.50 Minuten Reaktionszeit.

Untersucht man die verschiedenen *exo*-Glycale NMR-spektroskopisch auf ihre Konformation, so lassen sich einige Unterschiede feststellen. Die Konformationsanalyse basiert dabei auf der Auswertung der Kopplungskonstanten im ¹H-NMR-Spektrum und den beobachteten NOE-Signale der Verbindungen.^{189,233} Die erhaltenen Ergebnisse werden in zwei Fällen zudem von experimentell erhaltenen Röntgen-Struktur-Untersuchungen bestätigt. Die unterschiedlichen Konformationen sollten bei den folgenden Hydroborierungen eine Rolle spielen. Denn je nachdem, von welcher Seite sich ein Reagenz gut annähern kann, sollten sich Unterschiede im jeweiligen stereochemischen Verlauf der Reaktionen zeigen.

Galactose-Verbindung **78** liegt in Lösung in einer ⁴C₁- und Fucose-Derivat **79** in einer ¹C₄-Sesselform vor. Die beiden nehmen also weiterhin die für Galacto- und Fucopyranosen üblichen Konformationen ein.

Dagegen führen die Anellierung des jeweiligen Benzylidenacetal-Ringes und die sp²-Hybridisierung von C1 in den Verbindungen **74**, **75** und **76** zur Einnahme einer anderen Konformation. Alle drei Derivate liegen in einer B_{2,5}-Bootkonformation vor, bei denen die Benzylgruppe eine axiale Orientierung einnimmt und somit genau in den Raum zeigt, über den ein Angriff auf C1 von der α-Seite aus erfolgen müsste.

Nach der erfolgten Olefinierung ist es auch möglich, die beiden Isomere von **77** mittels HPLC

²³² Van Boom, J. H.; Heskamp, B. M.; Veeneman, G. H.; van der Marel, G. A.; van Boeckel, C. A. A. *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 8397.

²³³ Karplus, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2870.

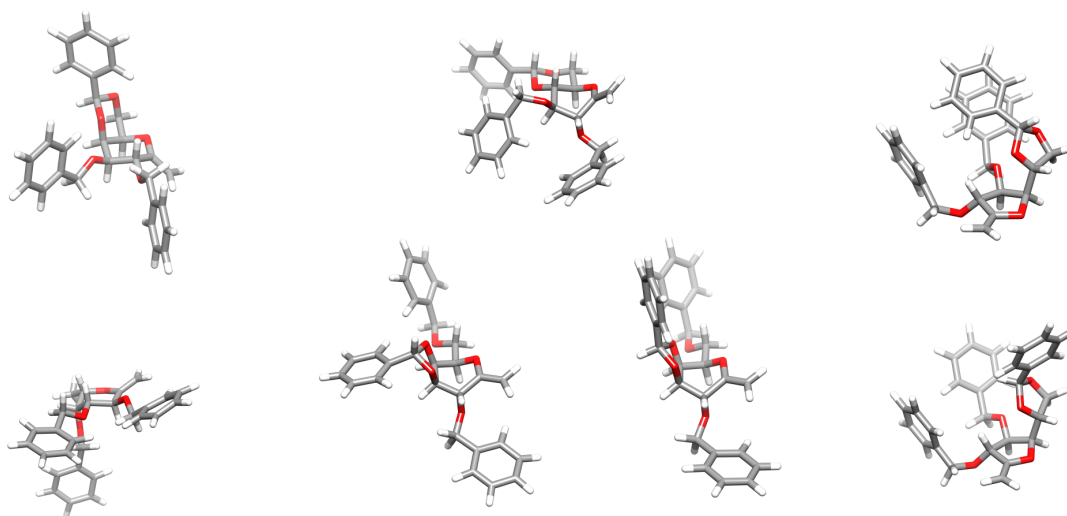


Abbildung 3.8: Aus den NMR-Spektren abgeleitete Konformationen der *exo*-Glycale.
Obere Reihe: 78, 75, (*R*)-77; untere Reihe: 79, 76, 74, (*S*)-77

voneinander zu trennen. Die beiden Verbindungen können klar anhand ihrer NOE-Signale unterschieden werden. Besonders klare Interaktionen lassen sich im Falle des (*S*)-Isomers zwischen Acetal-Proton und H4 des Furanosringes feststellen. Zudem kann man klare Crosspeaks zwischen den *ortho*-Protonen der Phenylgruppe des Benzylidenacetals und H5 erkennen, was auf eine räumliche Nähe schließen lässt.

Auch ein Blick auf die Röntgen-Struktur-Analysen in den Abbildungen 3.9 und 3.10 verdeutlicht, dass in der Boot-Konformation der axiale Substituent an C2 eine Abschirmung von C1 von der Unterseite verursacht.

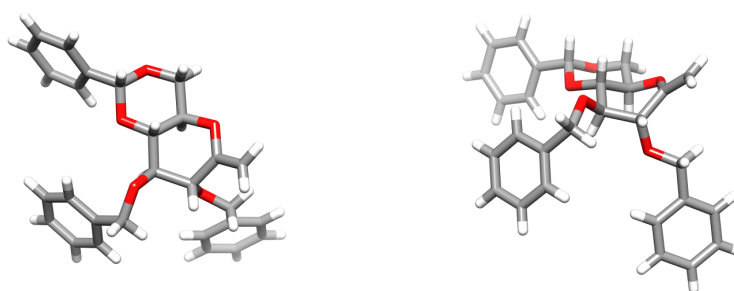


Abbildung 3.9: Kristallstruktur von *Glucose-Derivat 75* aus verschiedenen Blickwinkeln

Exo-Glycale stellen wertvolle Intermediate bei der Synthese vielfältiger Verbindungen dar, was

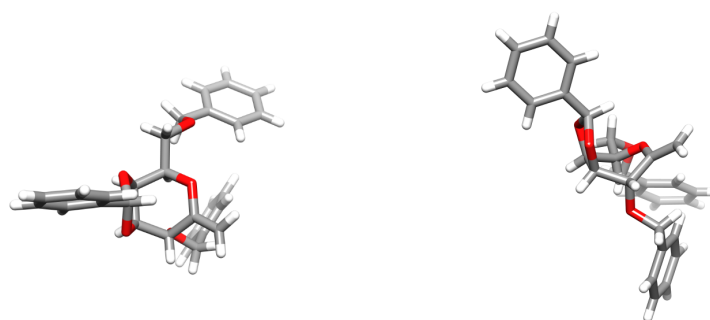
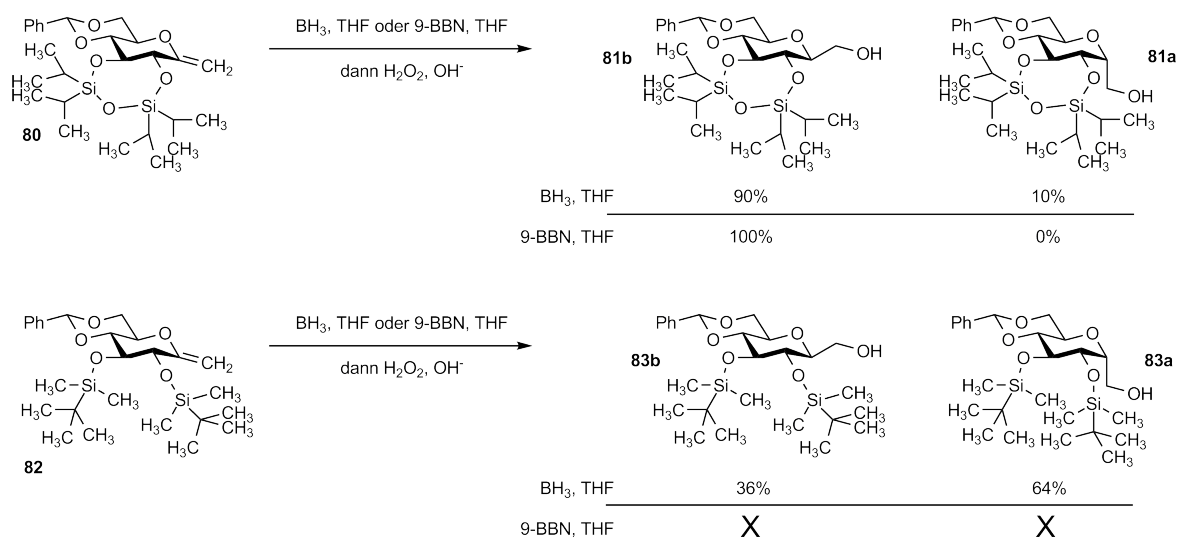


Abbildung 3.10: Kristallstruktur von Galactose-Derivat 76 aus verschiedenen Blickwinkeln

unter anderem in einem Übersichtsartikel von *Chapleur* ausführlich dargestellt wird.²³⁴ Mit den somit erhaltenen Verbindungen ließen sich also auch eine ganze Reihe anderer interessanter Transformationen durchführen.

3.2.8 Hydroborierungen der *exo*-Glycale



Schema 3.31: Stereoselektivitäten der Hydroborierungsreaktion nach Tanaka

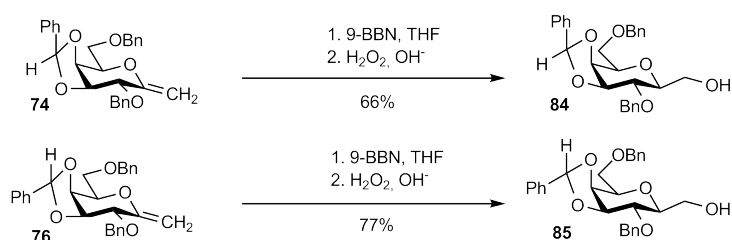
Blickt man in die bekannte Literatur zur Reaktivität von *exo*-Glycalen, so stellt man fest, dass diese vom stereochemischen Blickwinkel her an C1 in fast allen Fällen von der α -Seite aus angegriffen werden. Dies ist insbesondere auch bei den im Rahmen dieser Arbeit relevanten Hydroborierungsreaktionen der Fall.²³⁵ *Tanaka* beispielsweise berichtet von der Hydroborierung zweier

²³⁴ Chapleur, Y.; Taillefumier, C. *Chem. Rev.*, **2004**, 104, 263.

²³⁵ Potter, B. V. L.; Rosenberg, H. J.; Riley, A. M.; Taylor, C. W. *Carbohydr. Res.*, **2000**, 329, 7.

exo-Glycale der Glucose, die sich in den verwendeten Schutzgruppen unterscheiden.²³⁶ Er vermutet, dass das *exo*-Glycal jeweils in einer verzerrten Boot-Konformation vorliegt, bei der der Substituent in Position 2 eine axiale Orientierung aufweist (Schema 3.31). Befindet sich an dieser Stelle eine zyklische Etherfunktion als maskierende Gruppe wie in Verbindung **80**, so kann aufgrund der Konformation bevorzugt ein Angriff von der α -Seite aus erfolgen und man erhält das β -Isomer **81b** im Überschuss. Bei der Verwendung von Boran-THF-Komplex bildet es sich im Verhältnis 9 : 1 zum α -Anomer und mit 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN) als alleiniges Reaktionsprodukt. Wählt man allerdings eine sterisch noch anspruchsvollere Schutzgruppe wie TBS, so zeigt sich, dass mit Boran-THF-Komplex nun das α -Anomer **83a** mit 1.8 : 1 das Hauptprodukt darstellt und mit 9-BBN gar keine Reaktion mehr abläuft. Scheinbar ist nun der abschirmende Charakter der TBS-Gruppe in axialer Position von **82** dominierend, so dass von der α -Seite nur noch erschwert eine Annäherung erfolgen kann.

Da die von Tanaka untersuchte Verbindung **82** eine recht große Ähnlichkeit zu **75** aufweist und auch die Verbindungen **74** und **76** nachgewiesenermaßen in einer Boot-Konformation vorliegen, bei der potenziell die gleichen Probleme auftreten können wie eben beschrieben, werden zunächst einmal isoliert die Hydroborierungen mit anschließender oxidativer Aufarbeitung untersucht.



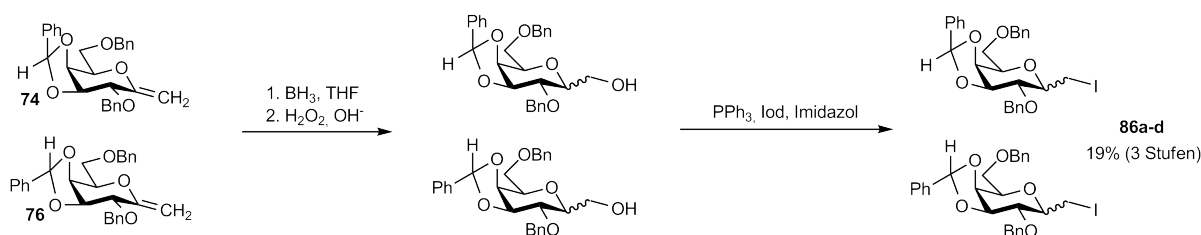
Schema 3.32: Hydroborierung und oxidative Aufarbeitung von **74** und **76**

Dazu werden die *exo*-Glycale **74** und **76** mit 9-BBN hydroboriert und anschließend in der Kälte in alkalischer Lösung mit Wasserstoffperoxid versetzt (Schema 3.32). In beiden Fällen kann man ein Produkt isolieren, was zunächst einmal bedeutet, dass 9-BBN nicht zu groß ist, als dass es nicht mit dem Substrat reagieren könnte. Erwartungsgemäß zeigt sich zudem, dass in beiden Fällen ausschließlich das β -Anomer erhalten wird. Die Benzylschutzgruppe in Position 2 scheint also keinen zu stark sterisch abschirmenden Einfluss auszuüben.

Um zu überprüfen, ob sich mit Boran-THF-Komplex aufgrund einer weniger selektiven Reaktion überhaupt Spuren des α -Anomers bilden, wurde eine Mischung von **74** und **76** mit diesem Reagenz behandelt und anschließend oxidativ aufgearbeitet. Dabei bilden sich tatsächlich nicht nur die zwei Produkte **84** und **85**, sondern man erhält eine Mischung, die säulenchromatographisch nicht

²³⁶ Tanaka, H.; Kawai, K.; Fujiwara, K.; Murai, A. *Tetrahedron*, **2002**, 10017.

zu trennen ist. Daher wird die gesamte Produktmischung mit Triphenylphosphin, Imidazol und Iod in Dichlormethan erwärmt und nach *Garegg-Samuelsson*²³⁷ eine Überführung in die entsprechenden Iodide vorgenommen (Schema 3.33). Die Mischung der erhaltenen vier Verbindungen lässt sich mittels Flashchromatographie trennen und mittels NMR-Spektroskopie analysieren. Mit dem reaktiven Boran-THF-Komplex als Reagenz kommt es demnach tatsächlich zur partiellen Bildung der α -orientierten Produkte.



Schema 3.33: Hydroborierung, oxidative Aufarbeitung und Überführung in die Iodide 86a-d

Bemerkenswert ist bei der Analyse der Konformationen der Produkte, dass die α -Anomere wiederum eine Boot-Konformation einzunehmen scheinen, während die β -Anomere in der üblichen 4C_1 -Konformation vorliegen (vgl. Abbildung 3.11).

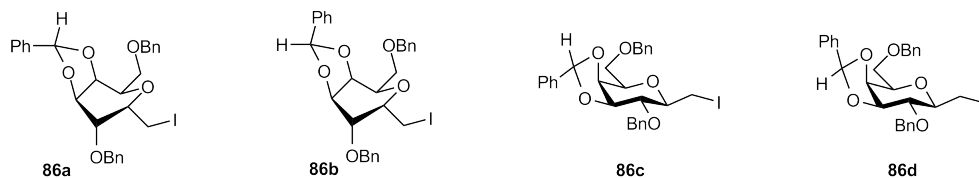
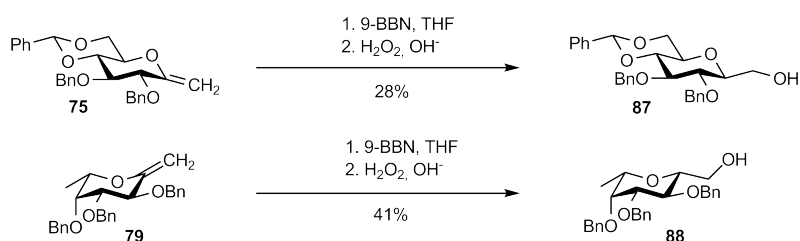


Abbildung 3.11: Konformationsanalyse der erhaltenen Iodide 86a-d

Auch bei der in einer Boot-Konformation vorliegenden Glucose-Verbindung **75** zeigt sich, dass der Angriff ausschließlich von der α -Seite aus erfolgt. Die Ausbeute liegt hier sehr niedrig, da der Versuch nur einmal durchgeführt wurde. In späteren Abschnitten wird sich allerdings zeigen, dass die Beobachtung, dass nur ein Anomer gebildet wird, richtig ist. Im Falle der Fucose erhält man ebenfalls nur ein Produkt. Es stellt sich nach Analyse der Kopplungskonstanten heraus, dass es sich auch hier um das reine β -Anomer handelt. Betrachtet man nun nochmals das *exo*-Glycol der Fucose (**79**), so liegt dieses wie gezeigt in einer 1C_4 -Konformation vor. Ein Angriff wäre aus räumlicher Sicht hierbei fast einfacher unter Bildung des α -Anomers möglich. Die Erklärung, warum die Hydroborierung mit 9-BBN trotzdem ausschließlich unter Bildung des β -orientierten Produktes abläuft, muss also über einfache Sterik hinaus gehen.

Es ist auffällig, dass der Angriff von 9-BBN immer so erfolgt, dass das axial stehende *lone pair* des Ringsauerstoffs in anti-Stellung befindlich ist. Man könnte dies nun so deuten, dass die Hydrobo-

²³⁷ Garegg, P. J.; Samuelsson, B. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1979**, 979.



Schema 3.34: Hydroborierung und oxidative Aufarbeitung von **75** und **79**

rierung nicht vollkommen konzertiert abläuft, sondern teilweise ionischen, zweistufigen Charakter aufweist. Stellt man dies wie in Abbildung 3.12 in einem Extrem dar, so würde in diesem Fall zunächst der Angriff des elektronenreichen Enolethers **76** am Metallzentrum erfolgen. Das anomere Carbokation **I**, welches gebildet wird, ist durch das parallel stehende freie Elektronenpaar des Ringsauerstoffs stabilisiert. Hierbei handelt es sich im Extremfall also um ein Minimum auf der Energiehyperfläche, also ein Zwischenprodukt.

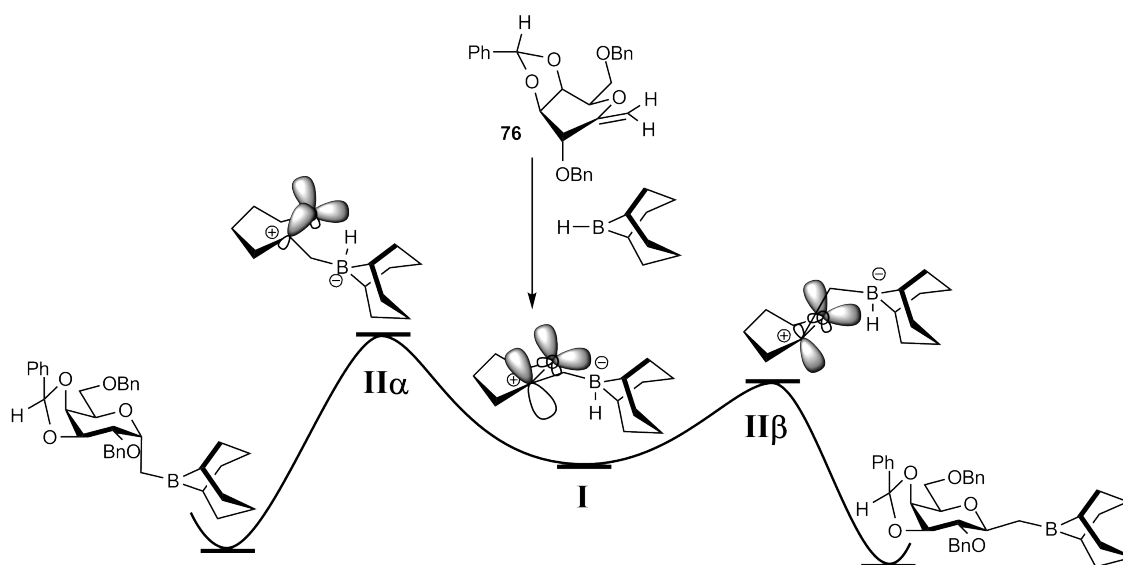
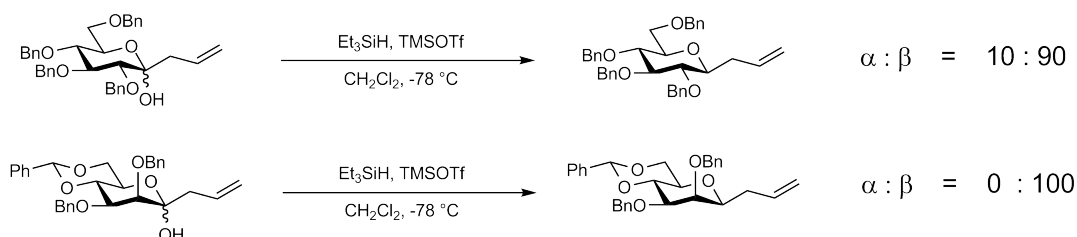


Abbildung 3.12: Postulierter Mechanismus der Hydroborierung mit 9-BBN

Für den zweiten Schritt, in dem das Hydridanion übertragen wird und sich entscheidet, ob sich nun α - oder β -Anomer bildet, muss diese Geometrie verlassen werden, was mit einer Umhybridisierung an C1 einhergeht. Dies erfordert auf dem Weg zum Produkt Energie, es muss also ein lokales Maximum überwunden werden. Im Übergangszustand bei der Übertragung des Hydrid-Anions kann das Molekül nun in zwei Orientierungen vorliegen. Nimmt man wiederum das Beispiel der Galactose, so würde bei Bildung des α -Anomers Übergangszustand **II α** durchlaufen. In diesem kann aus geometrischen Gründen keine Stabilisierung über den Ringsauerstoff erfolgen. Bei Übergangszustand **II β** , welcher bei der Bildung des β -Anomers durchlaufen werden müsste,

ist dies anders. Hier kann nun über das parallel ausgerichtete *lone pair* des Ringsauerstoffs eine Absättigung des Elektronendefizits an C1 erfolgen. Die Aktivierungsenergie über diesen Übergangszustand ist also niedriger und führt nach Übertragung des Hydridions zum β -Produkt. Eine ähnliche Theorie formuliert *Shuto* für die Bildung von β -C-Glycosiden bei der ionischen Hydrierung (vgl. Schema 3.35).²³⁸ Da dabei sowohl das Glucose, als auch das Mannose-Derivat nahezu reine β -Produkte liefern, ist hier sterische Hinderung als alleinige Selektivitätsbegründung hinfällig. Auch der stereochemische Verlauf bei der Reaktion von Glycosylradikalen wird prinzipiell ähnlich gedeutet.²³⁹



Schema 3.35: Bildung von β -C-Glycosiden durch ionische Hydrierung nach *Shuto*

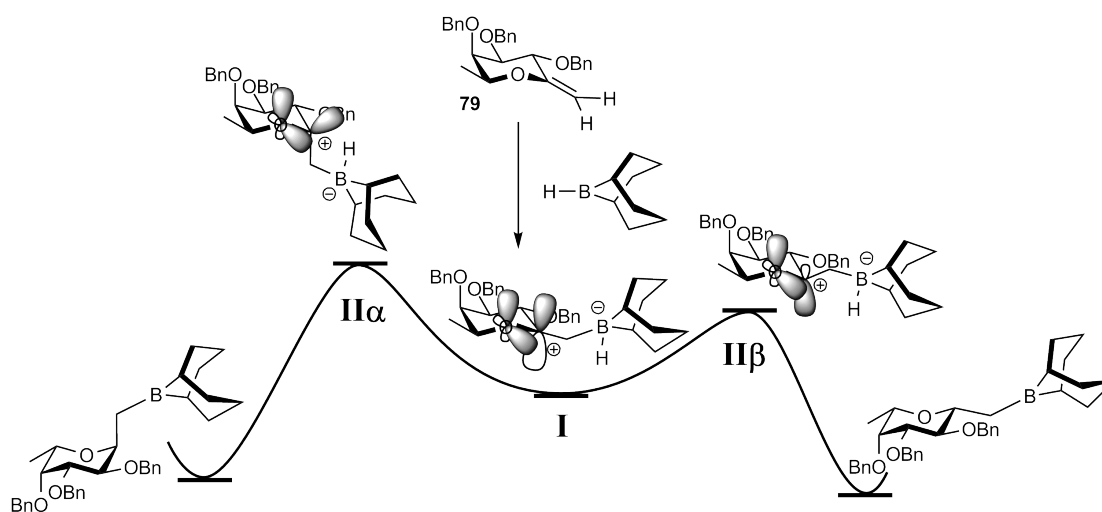


Abbildung 3.13: Hydroborierung des Fucose-Derivates **79** mit 9-BBN

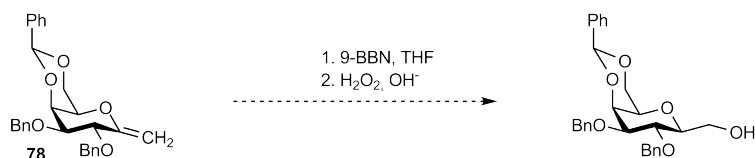
Diese Erklärung lässt sich auch für das Fucose-Derivat **79** anwenden (siehe Abb. 3.13). Hier ist auch nur für den Übergangszustand **II β** , welcher bei der Bildung des β -Anomers durchlaufen wird, eine Stabilisierung über den Ringsauerstoff möglich.

Betrachtet man Galactosebaustein **78**, so ist zu erkennen, dass auch hier ein Angriff von der β -Seite

²³⁸ Shuto, S.; Masaru, T.; Abe, H. *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 3751.

²³⁹ Yokohama, M.; Togo, H.; He, W.; Waki, Y. *Synlett*, **1997**.

unter Bildung des α -Anomers aus sterischer Sicht gar nicht abwegig wäre. Wendet man nun aber wiederum die Deutung der Reaktion als - zumindest im Extremfall - zweistufigen Prozess an, so lässt sich ebenfalls die Bildung des reinen β -Anomers vorhersagen (Schema 3.36). Um die Ergebnisse der kommenden Kapitel vorweg zu nehmen - auch bei der Reaktion von 9-BBN mit *exo*-Glycal **78** kommt es in der Tat ausschließlich zur Bildung des β -Produktes.

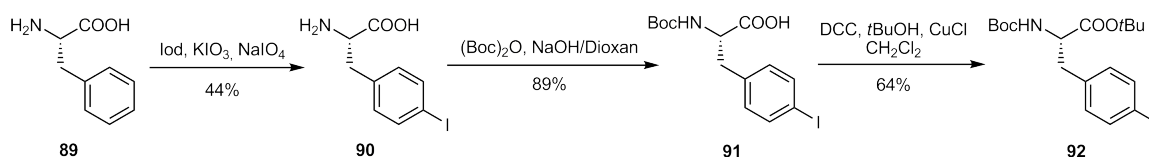


Schema 3.36: Vorhersage des β -selektiven Verlaufs für die Reaktion des Galactose-Derivates **78**

Mit der Sicherheit, dass die Hydroborierung der synthetisierten Bausteine mit 9-BBN möglich ist und in stereoselektiver Art und Weise abläuft, kann nun die Synthese der Kupplungsbausteine auf Basis der Aminosäuren begonnen werden.

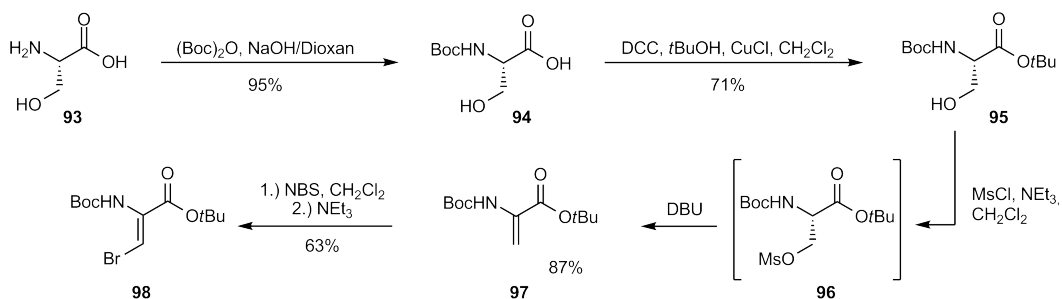
3.3 Boc-geschützte Aminosäurebausteine

Da Suzuki-Kupplungen unter alkalischen Bedingungen durchgeführt werden, wird für die Aminosäurebausteine zunächst eine Schutzgruppenkombination von Boc als Aminoschutzgruppe und *tert*-Butylester für die Säurefunktion gewählt.



Schema 3.37: Kupplungsbaustein für die Boc-geschützten Tyrosin-Analoga

Die Synthese des späteren Tyrosin-Analogons wird mit L-Phenylalanin begonnen. Dieses wird in Anlehnung an eine Vorschrift von Schwabacher²⁴⁰ mit Kaliumiodat und Iod in saurer Lösung in *para*-Stellung iodiert. Das so erhaltene Produkt **90** kann durch Umkristallisation gereinigt und in einer Ausbeute von 44% erhalten werden. Anschließend wird zunächst mit Di-*tert*-butyldicarbonat (Boc_2O) die Aminoschutzgruppe eingeführt bevor mit *tert*-Butanol unter dem aktivierenden Einfluss von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und Kupfer(I)-chlorid der *tert*-Butylester von Baustein **92** gebildet wird.²⁴¹⁻²⁴³



Schema 3.38: Kupplungsbaustein für die Boc-geschützten Serin-Analoga

Im Falle des Serin-Analogons **98** wird mit Bezug auf die Schutzgruppenmanipulationen die gleiche Reihenfolge gewählt. Zunächst schützt man wiederum die Aminofunktion von L-Serin mit der Boc-Gruppe und anschließend erfolgt die Umsetzung zum *tert*-Butylester. Beide Stufen gelingen hierbei in sehr guten Ausbeuten. Die weiteren Schritte erfolgen nach der bereits in der

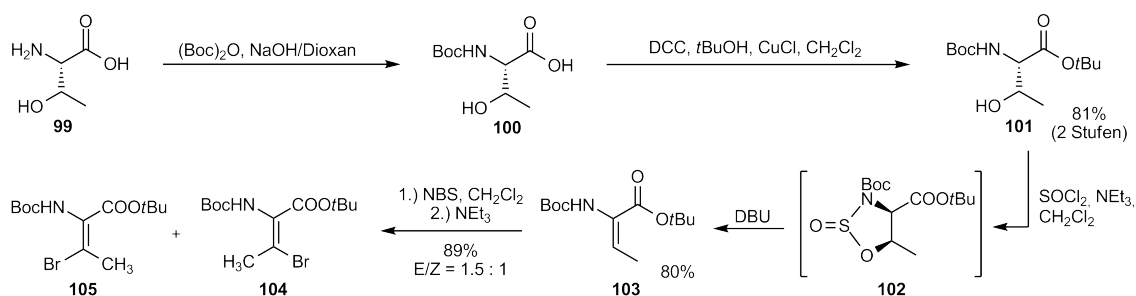
²⁴⁰ Schwabacher, A. W.; Lei, H.; Stoakes, M. S.; Herath, K. P. B.; Lee, J. *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*, 4206.

²⁴¹ Schultz, M.; Kunz, H. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1993**, *40*, 1205.

²⁴² Braum, Günther. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 1991.

²⁴³ Liebe, B.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **1997**, *109*, 629.

Dissertation von S. Wittrock²⁴⁴ bewährten Synthese in Anlehnung an Danion.²⁴⁵ Zur Synthese des Didehydroalanin-Derivates **97** wird die freie Hydroxylfunktion mit Methansulfonsäurechlorid und Triethylamin als Base in das entsprechende Mesylat **96** überführt. Anschließend kann dann unter Verwendung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) eine β -Eliminierung erfolgen. Die Ausbeute liegt mit 87% auf dem Niveau der Literaturlausbeute von 92% über zwei Stufen. Durch Reaktion des Produktes mit *N*-Bromsuccinimid und anschließende Behandlung mit Triethylamin lässt sich die Dehydroaminosäure in β -Stellung bromieren. Da das ¹H-NMR-Spektrum von Verbindung **98** mit den Literaturangaben übereinstimmt und keine Signalverdopplung beobachtet wird, kann man daraus schließen, dass die Reaktion ausschließlich das reine *Z*-Isomer liefert.



Schema 3.39: Kupplungsbausteine für die Boc-geschützten Threonin-Analoga

Auch bei der Synthese der Threonin-Derivate wird ausgehend von L-Threonin zunächst die Aminofunktion und anschließend die Säuregruppe geschützt. Versucht man allerdings, die Eliminierung zur Dehydroaminobuttersäure **103** über das Mesylat zu bewerkstelligen, so zeigt sich, dass das sterisch anspruchsvollere Substrat **101** im Gegensatz zu dem verwandten Serin-Derivat **95** nicht mit Methansulfonsäurechlorid zur Reaktion zu bringen ist. Alternativ könnte man mit Methansulfonsäuretriflat als Reagenz arbeiten, welches reaktiver wäre, jedoch bietet sich in diesem Fall eine einfachere Alternative. Durch Reaktion des Substrates mit Thionylchlorid in Gegenwart von Triethylamin als Base, bildet sich zunächst ein zyklisches Sulfamidat (**102**).²⁴⁶ Dieses kann bei Behandlung mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) eine β -Eliminierung eingehen, wodurch sich das *E*-Isomer der geschützten Dehydroaminobuttersäure **103** in 80% Ausbeute bildet. Durch Reaktion des Produktes mit *N*-Bromsuccinimid und anschließende Behandlung mit Triethylamin bilden sich *E*- und *Z*-Isomer der entsprechenden in β -Position bromierten Verbindung (**104** und **105**). Die Zuordnung der Doppelbindungskonfiguration erfolgt in Anlehnung an ähnliche literaturbekannte Verbindungen. Danach liegen sowohl das ¹H-NMR-Signal des NH-Protons als auch der CH₃-Gruppe des *Z*-Isomers **105** bei tieferem Feld als bei der *E*-Verbindung **104**. Später

²⁴⁴ Wittrock, Sven. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2006.

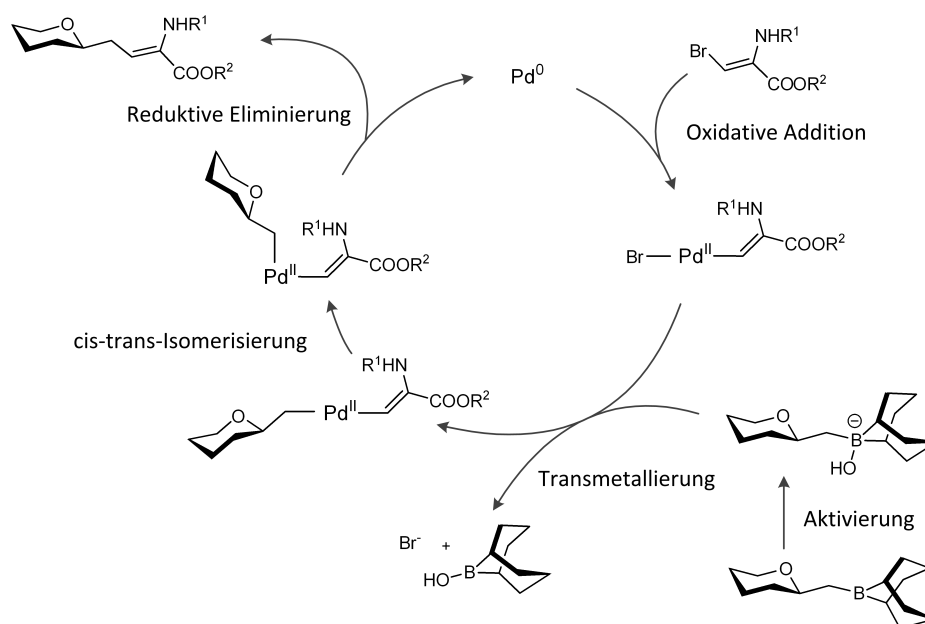
²⁴⁵ Miossec, B.; Danion-Bougot, R.; Danion, D. *Synthesis*, **1994**, 1171.

²⁴⁶ Wandless, T. J.; Stohlmeyer, M. M.; Tanaka, H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 6100.

wird sich anhand der Kristallstruktur eines der Suzuki-Kupplungsprodukte die Richtigkeit dieser Zuordnung zeigen.

3.4 Suzuki-Miyaura-Kupplungen - erste Versuche

Auch die ersten Versuche zur Suzuki-Miyaura-Kreuzkupplung wurden in Anlehnung an die Arbeiten von *S. Wittrock* durchgeführt. *B*-Alkyl-Suzuki-Kupplungen sind in einigen komplexen Synthesen Schlüsselschritte bei der Knüpfung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen.^{247,248} Die Reaktionsbedingungen sind oft mit einer Vielzahl an funktionellen Gruppen kompatibel und die Verknüpfung zwischen einem Alkylboran und dem Kupplungspartner, einem Aryl- oder Vinyl-halogenid, -triflat oder -enolphosphat erfolgt sehr selektiv.²⁴⁹⁻²⁵¹ In neuester Zeit sind zudem auch Kupplungen von sp^3 -Boranen mit sp^3 -Iodiden in besonderen Fällen berichtet worden.²⁵²⁻²⁵⁴ Die Entwicklung ist hier also weiterhin im Gange.



Schema 3.40: Katalysezyklus der *B*-Alkyl-Suzuki-Miyaura-Kupplung

²⁴⁷ Chemler, S. R.; Trauner, D.; Danishefsky, S. J. *Angew. Chem.; Int. Ed. Engl.*, **2001**, *40*, 4544.

²⁴⁸ Lai, K. W.; Paquette, L. A. *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 3781.

²⁴⁹ Paquette, L. A.; Ciblat, S.; Kim, J.; Clyne, D. *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 719.

²⁵⁰ Johnson, C. R.; Johns, B. A.; Pan, Y. T.; Elbein, A. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 4856.

²⁵¹ Sasaki, M.; Noguchi, K.; Fuwa, H.; Tachibana, K. *Tetrahedron Letters*, **2000**, *41*, 1425.

²⁵² Fu, G. C.; Saito, B. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 9602.

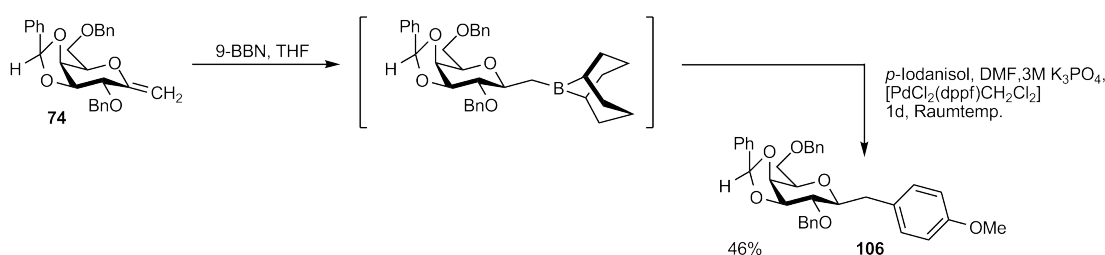
²⁵³ Fu, G. C.; Netherton, M. R.; Dai, C.; Neuschütz, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 10099.

²⁵⁴ Fu, G. C.; Lu, Z. *Angew. Chem.*, **2010**, *37*, 6826.

Bereits 1986 wurde der Katalysezyklus von *Suzuki* und *Miyaura* publiziert.¹²³ Dieser beginnt mit der oxidativen Addition des sp^2 -Halogenids an das Metallzentrum (vgl. Schema 3.40). Anschließend folgt nach Aktivierung durch die Base der Transmetallierungsschritt, bei dem der am leichtesten wandernde Alkylrest des Borans auf das Metallzentrum übertragen wird. Nach cis-trans-Isomerisierung des Komplexes stehen die beiden organischen Reste am Metallkatalysator in passender Orientierung für die reduktive Eliminierung. Dabei bildet sich das Produkt, während gleichzeitig der Palladium(0)-Katalysator zurückgebildet wird.²⁵⁵

Ein Problem bei der Kupplung von Alkylboranen ist die Möglichkeit, dass es nach der Übertragung des Restes auf das Palladium zu einer β -Hydrid-Eliminierung kommen kann.¹²³ Durch die Entwicklung von passenden zweizähligen Liganden wie dppf (Bis(diphenylphosphanyl)ferrocen), die am Komplex eine cis-Stellung einnehmen, wurden *B*-Alkyl-Suzuki-Reaktionen erst präparativ nutzbar. Dadurch gelingt es nämlich, die beiden zu kuppelnden Reste am Metallzentrum ebenfalls in cis-Stellung zu drängen, so dass die Reaktionsgeschwindigkeit der reduktiven Eliminierung erhöht wird und daher die β -Hydrid-Eliminierung als Konkurrenzreaktion effektiv zurückgedrängt werden kann.²⁵⁶

Standardvorschriften literaturbekannter Suzuki-Reaktionen beinhalten zunächst die Hydroborierung der zu kuppelnden Substanz, meist mit kommerziell erhältlicher 0.5M Lösung von 9-BBN in Tetrahydrofuran. Anschließend weichen die Vorschriften teils deutlich voneinander ab. Die weiteren Zutaten der Reaktion sind meist 3M wässrige K_3PO_4 -Lösung als Base, der Katalysator $[Pd(Cl_2(dppf)CH_2Cl_2)]$, der entsprechende Kupplungspartner und eine gewisse Menge DMF, um eine Homogenität der Reaktionsmischung zu erreichen. Die Reihenfolge, in der die einzelnen Komponenten miteinander in Kontakt gebracht werden, variiert sehr stark und ist teilweise in den publizierten Vorschriften gar nicht genau angegeben.^{244,257-259}



Schema 3.41: Test-Suzuki-Kupplung mit *p*-Iodanisol zu einem C-Glycosid

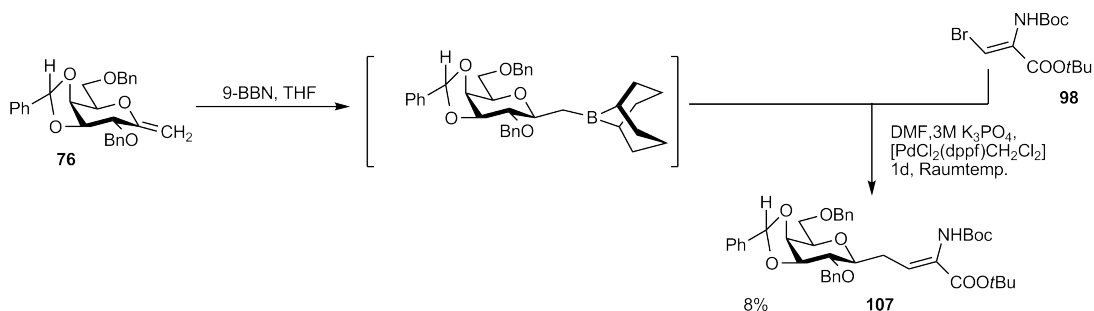
²⁵⁵ Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem. Rev.*, **1995**, 95, 2457.

²⁵⁶ Marcone, J. E.; Moloy, K. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 8527.

²⁵⁷ Collier, P. N.; Campbell, A. D.; Patel, I.; Taylor, R. J. K. *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 7115.

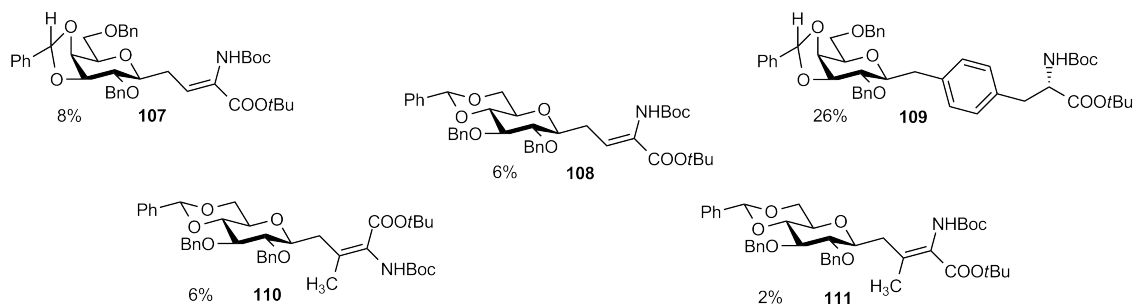
²⁵⁸ Curley, R. W.; Walker, J.; Alshafie, G. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 3038.

²⁵⁹ Taylor, R. J. K.; Campbell, A. D.; Paterson, D. E.; Raynham, T. M. *Chem. Comm.*, **1999**, 1599.



Schema 3.42: Erste Suzuki-Kupplung zu einer C-Glycosylaminosäure

So bedurfte es einiger Versuche, bis letztendlich unter der Verwendung von K_3PO_4 -Lösung als Base überhaupt Produkte dargestellt werden konnten. In einem ersten erfolgreichen Versuch kann dabei *exo*-Glycal **74** mit *p*-Iodanisol gekuppelt werden (Schema 3.41). Wiederum zeigt die große Kopplungskonstante von $^3J_{H1,H2}$ von 9.0 Hz bei einer normalen 4C_1 -Konformation des Kohlenhydrates die reine β -Konfiguration des Kupplungsproduktes an.



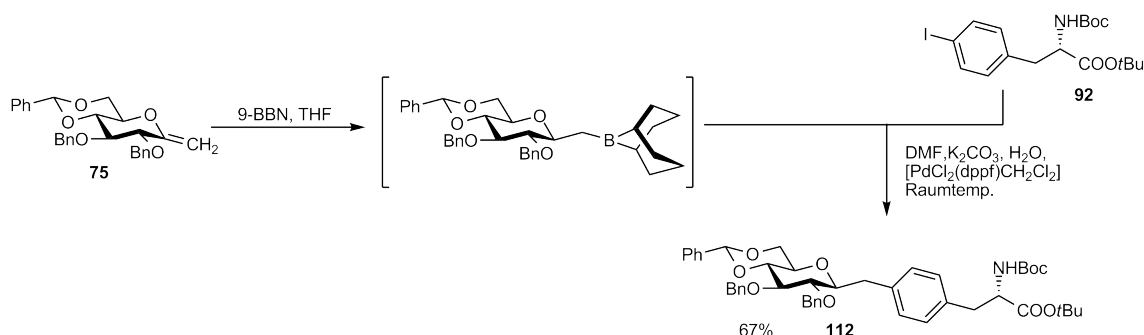
Schema 3.43: Erste Serie gekuppelter C-Glycosylaminosäuren

Die Kupplungen mit den Boc-geschützten Aminosäuren gestalten sich weniger einfach. Die Ausbeuten der gewonnenen Produkte sind äußerst gering (Abb. 3.42 und 3.43). Dies erschwert gleichzeitig den Nachweis und damit die Reinigung der Substanzen nach erfolgter Kupplung. So muss in den meisten Fällen nach der säulenchromatographischen Reinigung eine weitere Isolierung mittels präparativer Dünnschichtchromatographie erfolgen. Die Substanzen lassen sich so zwar reinigen, allerdings liegen die Ausbeuten danach in einem Bereich, der kaum weitere Syntheseschritte ermöglicht.

3.5 Suzuki-Miyaura-Kupplungen unter optimierten Bedingungen

So wurden weitere Versuche unternommen, die Kupplungsprozedur zu optimieren. Dabei wurde der Fokus zunächst auf die Hydroborierungsreaktion gelegt. Je nach Literaturquelle variieren sowohl Reaktionszeiten (1 bis 24 Stunden) als auch die Temperatur (0 °C bis Rückfluss²⁵⁸ in THF) bei verschiedenen Substraten sehr stark. Es zeigt sich, dass der Umsatz des *exo*-Glycals in der vorliegenden Arbeit nur dann zuverlässig erfolgt, wenn dieses zuvor im Hochvakuum getrocknet und ohne voriges Lösen unter einer Argonatmosphäre in flüssigem Stickstoff gekühlt wird. Wenn eine langsame Kondensation von flüssigem Argon im Kolben zu beobachten ist, wird die 9-BBN-Lösung vorsichtig zugetropft. Unter sanftem Schwenken kann man den Kolben dann erwärmen lassen, wobei die Hydroborierung im Normalfall innerhalb von 3 Stunden vollständig ist.

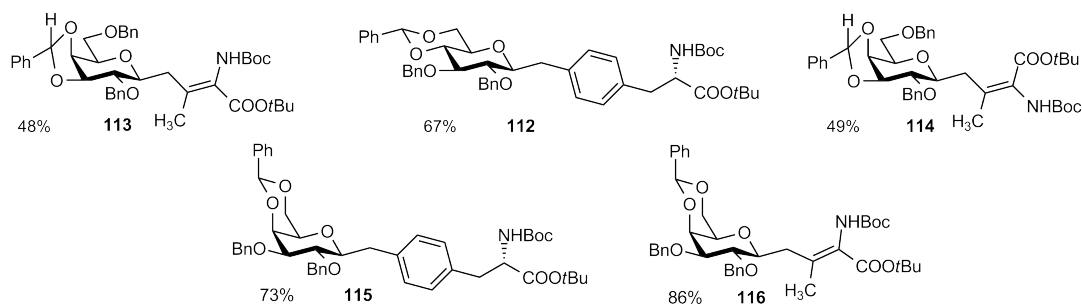
Nachdem dieses Problem somit gelöst war, wurde die Reihenfolge der Mischung mit den anderen nötigen Komponenten variiert. Dabei stellt sich heraus, dass mit K_3PO_4 -Lösung als Base in jedem Fall niedrige Ausbeuten erzielt werden. Deren Ersatz durch festes K_2CO_3 bringt letztlich die entscheidende Verbesserung. In der optimierten Prozedur werden nun alle festen Komponenten parallel zur Hydroborierung eingewogen und unter eine Argonatmosphäre gesetzt. Ist die Hydroborierung vollständig, so wird die Feststoffmischung mit DMF versetzt, schnell die Hydroborierungslösung in den Reaktionskolben für die Kupplung überführt und anschließend langsam eine gewisse Menge Wasser zugetropft, die nötig ist, damit das Boran für die Transmetallierung aktiviert wird.



Schema 3.44: Suzuki-Reaktion unter optimierten Kupplungsbedingungen

Unter diesen Bedingungen ist es möglich, eine ganze Reihe an Kupplungsprodukten darzustellen und zu isolieren. Die Ausbeuten liegen - auch im Vergleich zu alternativen Möglichkeiten von C-Glycosylaminosäuresynthesen - in guten Bereichen (Schemata 3.44 und 3.45).

Galactosyl-Aminosäure **116** kristallisiert nach einiger Zeit beim Stehen aus. Es lässt sich eine Röntgenstrukturanalyse durchführen und man erhält ein bildliches Ergebnis, das einige Dinge widerspiegelt. Zum einen ist in Abbildung 3.14 eindeutig die bislang nur aufgrund der Kopplungskonstanten im 1H -NMR-Spektrum abgeleitete β -Verknüpfung erkennbar. Dies bestätigt nachträg-



Schema 3.45: Unter den optimierten Bedingungen gekuppelte C-Glycosylaminosäuren

lich ebenfalls die Annahme zur erwarteten Stereoselektivität der Hydroborierungsreaktion von Verbindung **78** und stützt den postulierten Mechanismus. Des Weiteren ist erkennbar, dass das Molekül in der erwarteten 4C_1 -Konformation vorliegt, insbesondere wenn man in der Darstellung die Substituenten an C2 ausblendet. Auf Seiten der Aminosäure erkennt man die Z-Konfiguration, was nachträglich die Konfigurationsbestimmung von **104** und **105** mittels NMR-Spektroskopie bestätigt, da es im Verlauf der Suzuki-Reaktion zu keiner Isomerisierung der Doppelbindung kommt.²⁶⁰

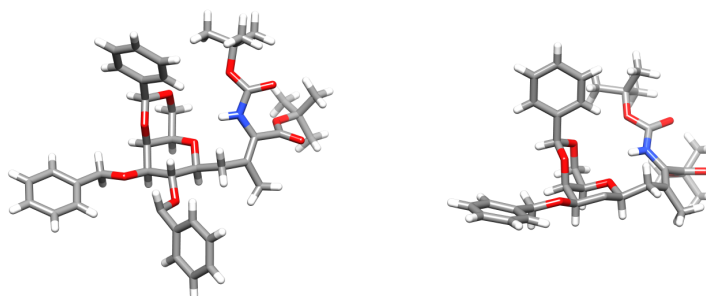
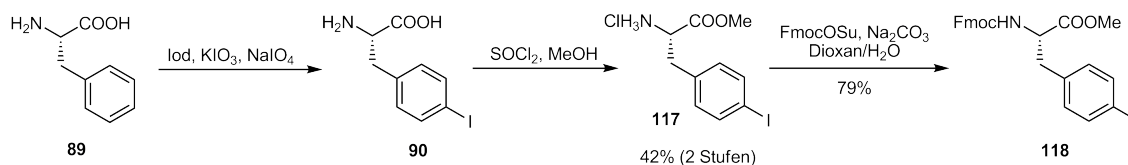


Abbildung 3.14: Kristallstruktur von C-Glycosylaminosäure **116** aus zwei verschiedenen Blickwinkeln. In der rechten Darstellung wurden die Substituenten an C2 ausgeblendet

Kaliumcarbonat stellt nun eine schwächere Base dar als Kaliumphosphat, da $\text{p}K_B(\text{CO}_3^{2-}) = 3.67$ und $\text{p}K_B(\text{PO}_4^{3-}) = 1.68$. Daher ist es denkbar, dass unter Verwendung der schwächeren Base K_2CO_3 in der Suzuki-Reaktion auch eine Umsetzung von Fmoc-geschützten Aminosäurebausteinen möglich ist. Dies würde mehrere Vorteile bieten. Zum einen sollte sich das gebildete Produkt aufgrund der starken UV-Absorption gut auf der DC-Platte detektieren lassen, was eine Reinigung deutlich erleichtern sollte. Zum anderen wird diese Gruppe ohnehin für eine Festphasensynthese nach dem Standardprotokoll benötigt, so dass die Boc-Gruppe nicht ausgetauscht werden müsste. Daher werden in der Folge nun die passenden Aminosäure-Derivate synthetisiert.

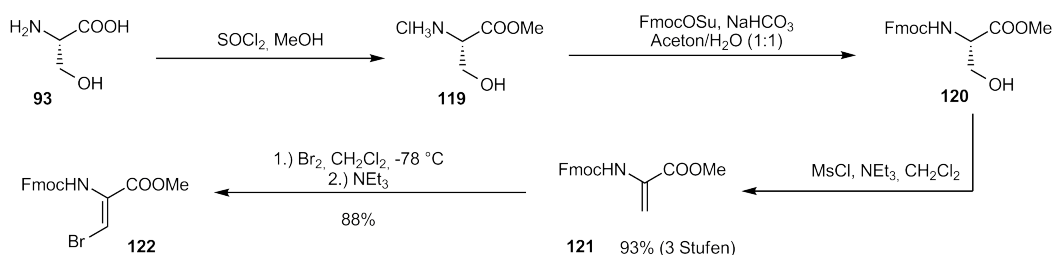
²⁶⁰ Quieroz, M.-J.; Silva, N.; Abreu, A. *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 2524.

3.6 Suzuki-Kupplung Fmoc-geschützter Aminosäurebausteine



Schema 3.46: Kupplungsbaustein für die Fmoc-geschützten Tyrosin-Analoga

Die Darstellung des Kupplungsbausteins für die Tyrosin-Analoga verläuft dabei wie schon bei der Synthese des Boc-Derivates zunächst über die Iodierung in *para*-Stellung (Schema 3.46). Anschließend wird der Methyl ester nach der Methode von Brenner²⁶¹ mit Thionylchlorid in Methanol eingeführt. Dabei verläuft der zweite Schritt zu **117** nahezu quantitativ. Anschließend wird mit Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (FmocOSu) und Natriumcarbonat als Base in 79% Ausbeute die Fmoc-Schutzgruppe von Baustein **118** eingeführt.



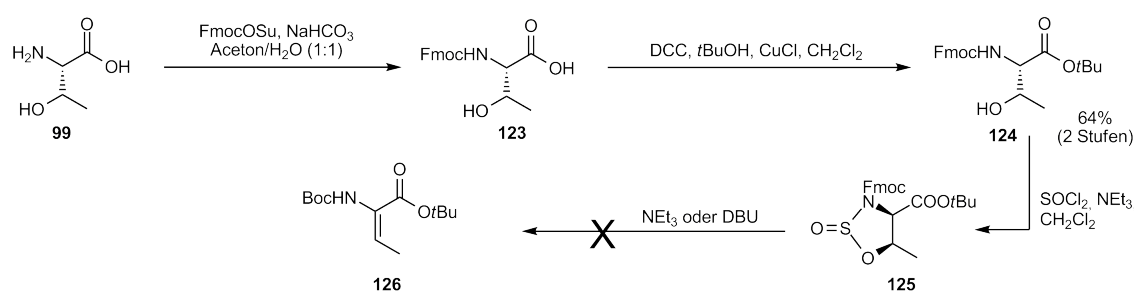
Schema 3.47: Kupplungsbaustein für die Boc-geschützten Serin-Analoga

Die Syntheseroute des Fmoc-geschützten Serin-Bausteins **122** verläuft nach Einführung des Methyl esters nach Brenner und anschließender Fmoc-Anknüpfung prinzipiell zunächst analog zur Synthese des Boc-geschützten Bausteins (Schema 3.47). Die freie Hydroxylfunktion wird in das entsprechende Mesylat überführt und anschließend erfolgt eine β -Eliminierung zu Produkt **121**. Allerdings muss man hier sehr genau auf die verwendeten Mengen an Triethylamin als Base achten. Mit knapp über 2 Äquivalenten gelingt die Synthese in 93% Ausbeute. Dabei wird ein Äquivalent für die Bildung des Mesylats verbraucht, während das zweite Äquivalent von der bei der Eliminierung entstehenden Methansulfonsäure neutralisiert wird. So kommt es zu keiner nennenswerten Abspaltung der basenlabilen Fmoc-Gruppe. Durch den geringen Überschuss an Base ist die Reaktion allerdings nicht wie bei dem Boc-geschützten Derivat nach maximal 2 Stunden beendet, sondern benötigt etwas mehr Zeit. Arbeitet man den Ansatz schon nach wenigen Minuten auf, so kann man auch das saubere Mesylat isolieren.

Die vorgesehene Bromierung mit *N*-Bromsuccinimid gelingt mit dem Fmoc-geschützten Derivat

²⁶¹ Brenner, M.; Huber, W. *Helv. Chim. Acta*, **1953**, *36*, 1109.

vat **121** nicht. Spätestens bei der Zugabe der Base im zweiten Reaktionsschritt kommt es zum Verlust der Fmoc-Gruppe und der Zersetzung des Eduktes. In diesem Fall gelingt allerdings die Bromierung der Doppelbindung mit elementarem Brom. Dabei erfolgt zunächst die Addition an die Doppelbindung, woraufhin nach Zugabe von einem Äquivalent Triethylamin eine Dehydrohalogenierung folgt. Man erhält das Z-Isomer von Verbindung **122**, wobei die Bestimmung der Konfiguration mittels NMR-Spektroskopie erfolgt. Nach S. Wittrock²⁴⁴ finden sich in der Literatur für die $^3J_{C,H}$ -Kopplung der Z-Isomere ähnlicher Verbindungen Werte von $^3J_{C,H} = 5$ Hz, während die Kopplung im Falle der E-Isomere üblicherweise $^3J_{C,H} = 11$ Hz beträgt.^{262,263} Im Falle von Verbindung **122** kann man eine Kopplung von $^3J_{C,H} \approx 3.3$ Hz bestimmen, was auf das Vorliegen des Z-Isomers hindeutet.



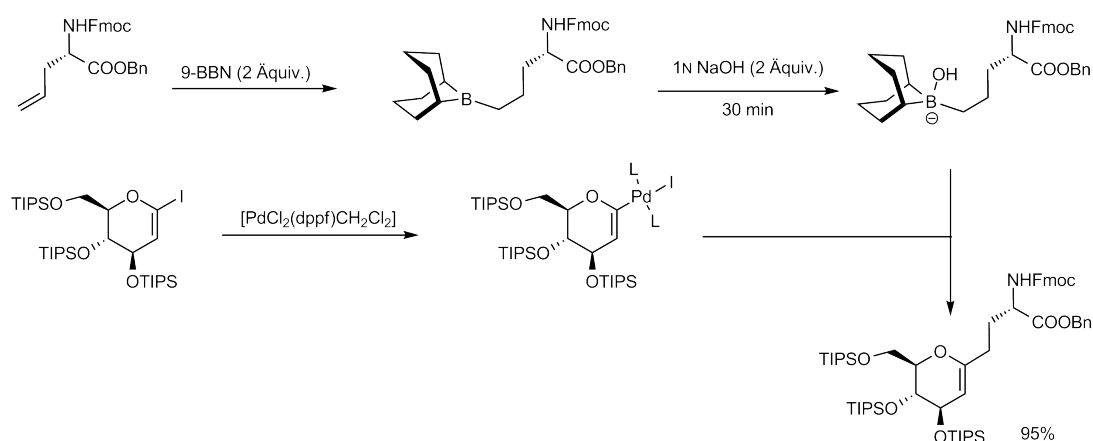
Schema 3.48: Syntheseversuch des Fmoc-geschützten Threonin-Kupplungsbausteins

Bei der Synthese des Threonin-Analogons kommt es wie schon im Falle des Boc-geschützten Bausteins zu Problemen bei der Eliminierung (Schema 3.48). Gelingen die Einführung der Fmoc-Schutzgruppe und die Umsetzung zum *tert*-Butylester noch problemlos in guten Ausbeuten von 64% über zwei Stufen, so lässt sich auch bei Baustein **124** eine Überführung in das Mesylat mit Methansulfonsäurechlorid nicht realisieren. Wiederum ist es jedoch möglich, die Bildung des zyklischen Sulfamidates **125** zu erreichen. Dieses lässt sich isolieren und mittels NMR und Massenspektrometrie nachweisen. Eine β -Eliminierung gelingt in diesem Falle jedoch nicht. Bevor sich mit einer ausreichenden Menge an Triethylamin oder DBU als Basen eine Bildung des ungesättigten Eliminierungsproduktes **126** zeigen kann, kommt es zur Abspaltung der Fmoc-Gruppe und der Zersetzung des Moleküls. So kann kein Threonin-Derivat mit dem Schutzgruppenmuster von Fmoc- und *tert*-Butylester erhalten werden. Eventuell wäre eine Eliminierung bei einer Kombination von Fmoc- und Methylester möglich. Dies wurde jedoch aus Zeitgründen nicht mehr untersucht.

In der Literatur findet sich lediglich eine Vorschrift, bei der sich während der Durchführung einer *B*-Alkyl-Suzuki-Reaktion eine Fmoc-Gruppe im Molekül befindet (Schema 3.49). Potuzak berichtet 2004 von der Synthese einer *C*-Glycosylaminosäure, bei der die ungesättigte Aminosäureein-

²⁶² Nitz, T. J.; Holt, E. M.; Rubin, B.; Stammer, C. H. *J. Org. Chem.*, **1981**, *46*, 2667.

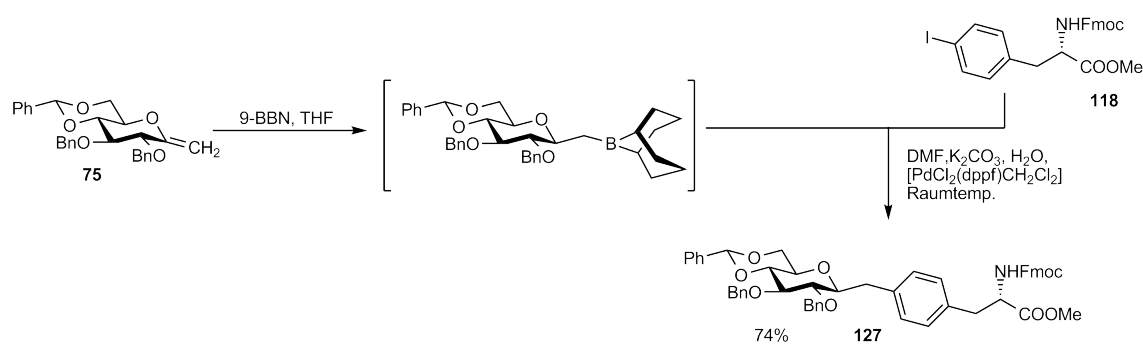
²⁶³ Prokof'ev, E. P.; Karpeiskaya, E. I. *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 737.



Schema 3.49: *B*-Alkyl-Suzuki-Kupplung von Potuzak

heit zunächst hydroboriert wird.²⁶⁴ Bevor das *B*-Alkyl-Derivat zu der mit dem Katalysator vorgerührten Lösung des Iodides gegeben wird, wird die Hydroborierungslösung 30 Minuten mit 1N Natronlauge behandelt, um eine Aktivierung für die Kreuzkupplung zu erreichen. Die Ausbeute der Kupplungsreaktion liegt bei hervorragenden 95%.

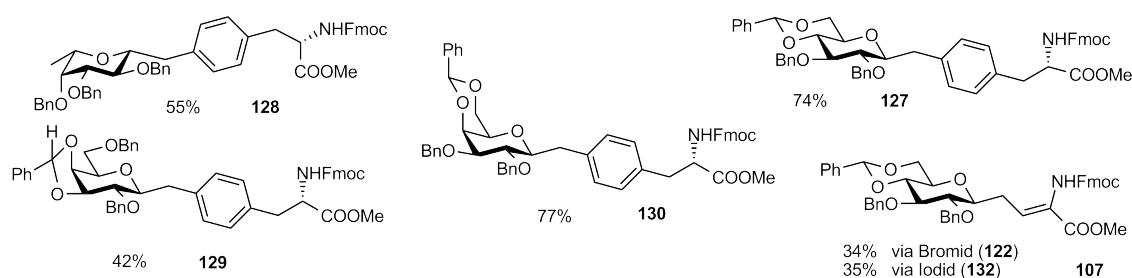
Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde dies ebenfalls versucht. Leider lässt sich bei Voraktivierung der Hydroborierungslösung nach dem von Potuzak angewandten Verfahren gar keine Bildung des Produktes feststellen. Daher werden die Suzuki-Kupplungen mit den neu synthetisierten Fmoc-geschützten Aminosäuren ebenfalls unter den zuvor für die Boc-geschützten Derivate optimierten Bedingungen durchgeführt (Schema 3.50).



Schema 3.50: Suzuki-Kupplung zu Fmoc-geschützten C-Glycosylaminosäuren

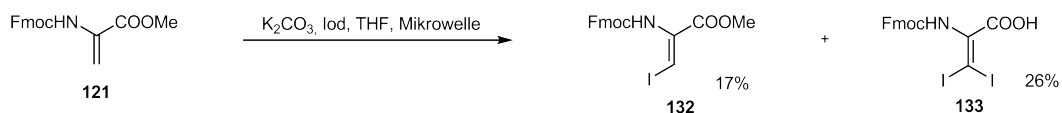
Aus der Kombination der verschiedenen *exo*-Glycale mit dem entsprechenden Kupplungspartner (**118**) lassen sich verschiedene Analoga der Glycosyl-Tyrosine erhalten. Auffällig ist, dass beim Wechsel von Tyrosin-Derivat **118** zu Serin-Derivat **122** bei der Kupplung mit Glucosebaustein **75** auch bei mehrfach wiederholter Durchführung ein drastischer Abfall der Ausbeute zu verzeich-

²⁶⁴ Potuzak, J. S.; Tan, D. S. *Tetrahedron Letters*, **2004**, 45, 1797.



Schema 3.51: Synthetisierte Fmoc-geschützte C-Glycosylaminosäuren

nen ist. Tatsächlich funktioniert beim Blick auf die Ausbeuten in Schema 3.51 die Kupplung zum Serin-Derivat am schlechtesten. Unter den Bedingungen der Kupplung kommt es zu einer Konkurrenz zwischen Kreuzkupplung und Abspaltung der Fmoc-Gruppe. Da durch Variation der Menge der zugesetzten Base keine höhere Ausbeute erzielt werden konnte, was dem Versuch einer Reduzierung der Geschwindigkeit der Fmoc-Abspaltung gleichgekommen wäre, wurde alternativ versucht, die Geschwindigkeit der Kupplung zu erhöhen. Dazu wurde ein weiteres Aminosäure-Derivat (**132**) synthetisiert, welches anstelle des Brom-Substituenten, ein Iodid als Abgangsgruppe trägt. Dieses reagiert bekanntermaßen in Suzuki-Kupplungen deutlich schneller, wodurch sich eine vermehrte Bildung des Kupplungsproduktes erreichen lassen sollte.



Schema 3.52: Synthese des Iodid-Bausteins ausgehend von Serin

Dazu wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von *Pereira*²⁶⁵ das ungesättigte Aminobuttersäure-Derivat **121** mit K_2CO_3 und Iod in Tetrahydrofuran unter Erwärmung in der Mikrowelle umgesetzt. Dadurch erhält man unter nicht optimierten Bedingungen der Reaktion zwar nur eine geringe Menge des gewünschten Produktes **132** und einen größeren Teil eines deutlich polareren diiodierten Produktes **133**, die Substanzmenge ist allerdings ausreichend für den Einsatz in der Kupplungsreaktion. Die Stereochemie der Doppelbindung in **132** als reine Z-Konfiguration wird auf dieser Stufe nicht geklärt.

Setzt man anstelle des Bromids nun das Iodid in der Kupplungsreaktion ein, so erhält man unter den Standardbedingungen das Kupplungsprodukt in einer Ausbeute von 35%. Vergleicht man die 1H -NMR-Spektren der Kupplungsprodukte unter Verwendung von **122** und **132**, so lässt sich deutlich erkennen, dass die Verbindungen identisch sind (Abb. 3.15). Damit lässt sich auch die Konfiguration der Doppelbindung im Iod-Derivat **132** nachträglich klar zuordnen, da der Kupp-

²⁶⁵ Pereira, G.; Ferreira, P. M. T.; Monteiro, L. S. *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 4676.

lungspartner wiederum an der Stelle steht, an der zuvor das Halogenid zu finden war.

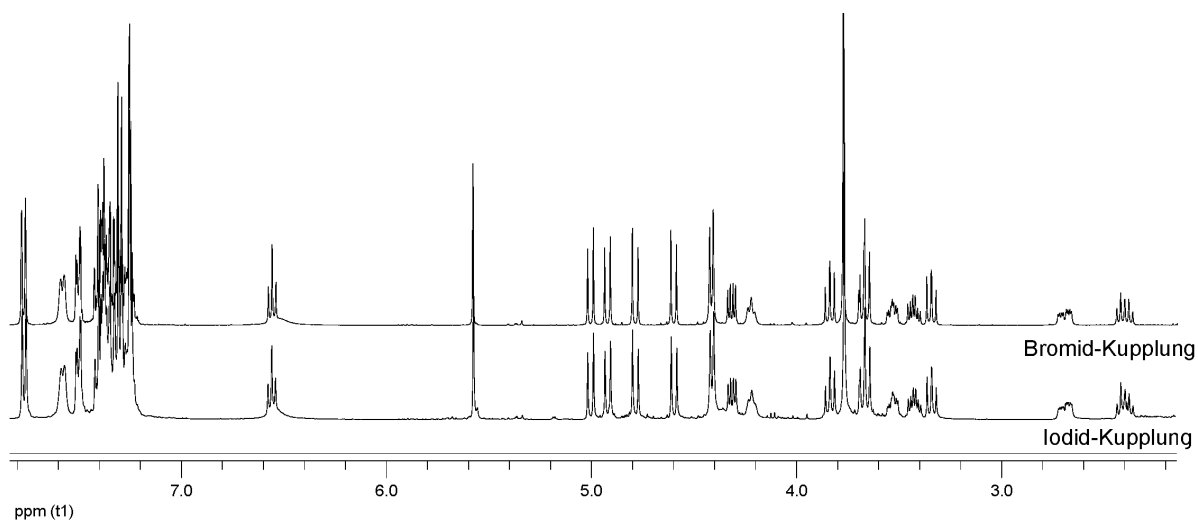
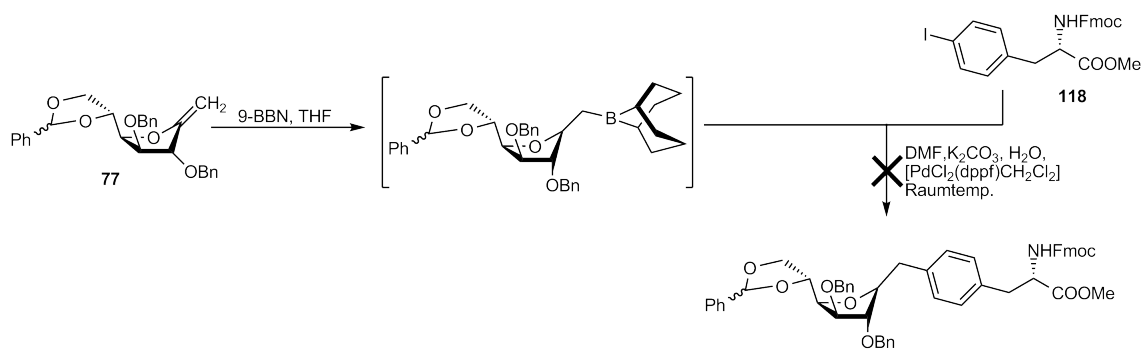


Abbildung 3.15: $^1\text{H-NMR}$ -Vergleich der aus den beiden Kupplungen mit Bromid **122** und Iodid **132** erhaltenen Produkte

Der Vollständigkeit halber sei an dieser Stelle erwähnt, dass auch der Versuch unternommen wurde, die *exo*-Glycale der Glucono-(1,4)-lactone **77** zu koppeln. Hierbei kommt es allerdings nur zur erfolgreichen Hydroborierung. Scheinbar sind die gebildeten *B*-Alkyl-Verbindungen der Furano-seformen nicht reaktiv genug, um an einer Transmetallierung teilzunehmen (Schema 3.53). Um dies zu bestätigen, müssen aber weitere Versuche unternommen werden, wovon im Rahmen dieser Arbeit aus Zeitgründen abgesehen wurde.

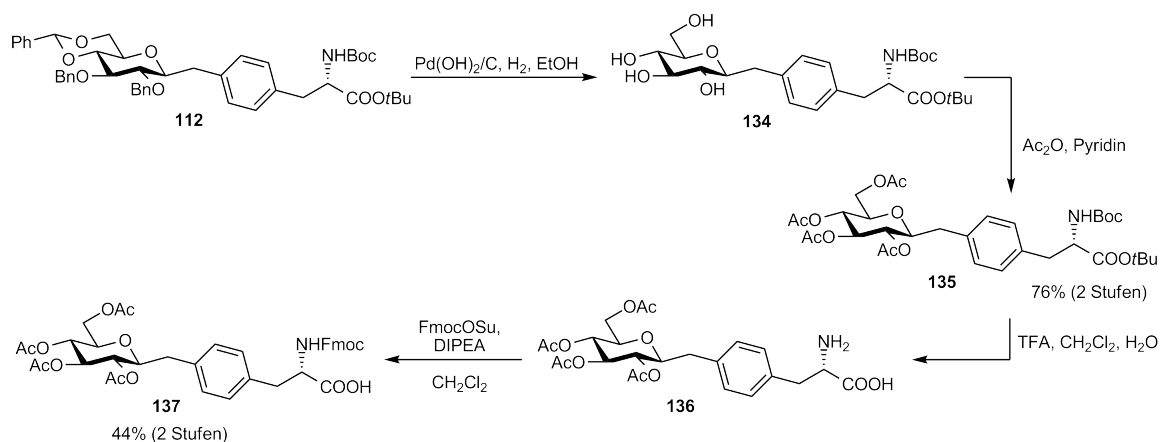


Schema 3.53: Vergleichliche Umsetzung der Glucono-(1,4)-lactone **77**

3.7 Weitere Funktionalisierungen der C-Glycosylaminosäuren

Möchte man die C-Glycosylaminosäuren in einer Festphasen-Peptidsynthese einsetzen, so sollten diese Fmoc-geschützt vorliegen und das Carboxyl-Ende zur Kupplung mit dem an der festen Phase wachsenden Peptidstrang frei sein. Im Falle der Boc- und *tert*-Butylester-geschützten Derivate muss also ein Schutzgruppenwechsel erfolgen.

Ausgehend von **112** wird zunächst im Kohlenhydratanteil ein Austausch der Benzylether- gegen Acetyl-Schutzgruppen vorgenommen (Schema 3.54). Dazu werden unter Verwendung des *Pearlman*-Katalysators²⁰² ($\text{Pd}(\text{OH})_2$ auf Aktivkohle) hydrogenolytisch die Benzylether gespalten. Anschließend werden die freien Hydroxylgruppen mit Essigsäureanhydrid in Pyridin behandelt, wodurch das Produkt **135** in 76% über zwei Stufen erhalten werden kann. Da sowohl Boc- als auch *tert*-Butylester unter sauren Bedingungen instabil sind, können beide Gruppen gleichzeitig durch Behandlung mit Trifluoressigsäure entfernt und in einer weiteren Synthesestufe mit Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (FmocOSu) das Fmoc-geschützte Derivat **137** erhalten werden. Die Ausbeute liegt über beide Stufen bei nur 44%, was sich auf einen partiellen Verlust an Acetylgruppen im ersten Teilschritt zurückführen lassen könnte. Dies wurde allerdings nicht genauer überprüft.



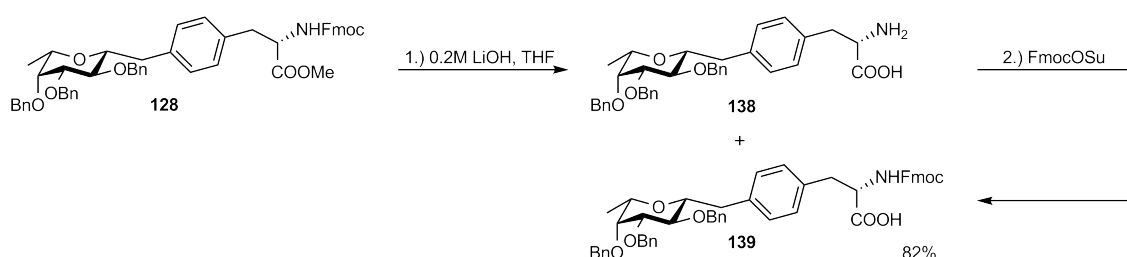
Schema 3.54: Überführung von **112** in einen geeigneten Baustein für die Festphasensynthese

Im Falle der Fmoc-/Methylester-geschützten Bausteine muss eine alkalische Hydrolyse des Methylesters ohne Verlust der Fmoc-Gruppe erreicht werden. Dies ist nach Prüfung der literaturbekannten Vorschriften am besten mit Lithiumhydroxid-Lösung in THF als Lösungsmittel möglich. Meistens werden dabei hohe Ausbeuten berichtet, ohne dass ein Verlust der Fmoc-Gruppe als Problem erwähnt wird.^{266,267} So wird bei der Esterhydrolyse von Substrat **128** unter langsamer

²⁶⁶ Qabar, M. N.; Urban, J.; Kahn, M. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 11171.

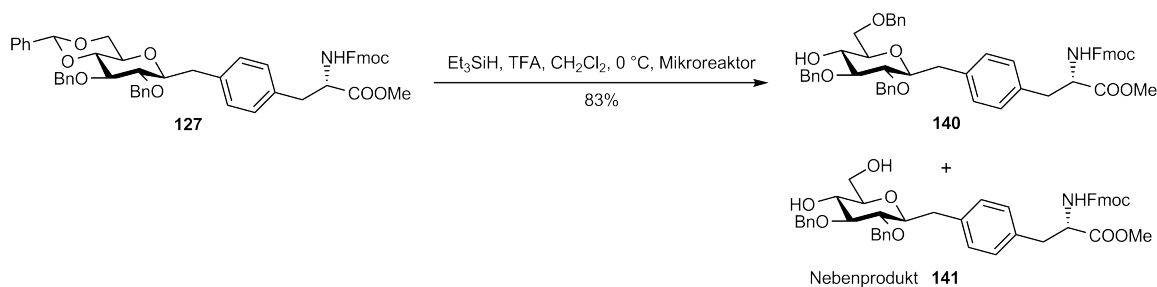
²⁶⁷ Ye, B.; Akamatsu, M.; Shoelson, S. E.; Wolf, G.; Giorgetti-Peraldi, S.; Yan, X.; Roller, P. P.; Burke, T. R. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38, 4270.

Zugabe der Basenlösung über viele Stunden hinweg gearbeitet. Der pH-Wert der Lösung bleibt dabei recht konstant, da durch Reaktion jedes Äquivalents LiOH mit dem Substrat ein Äquivalent Säure entsteht, welches die Base neutralisiert. Trotzdem kann man dünnschichtchromatographisch beobachten, dass es, wie auch bei der Deacetylierung anderer Fmoc-geschützter Glycosylaminosäuren beobachtet,^{244,268-270} zur teilweisen Abspaltung der Fmoc-Gruppe kommt. Nachdem der vollständige Umsatz des Eduktes festgestellt werden kann, wird daher eine Wiederanknüpfung der teilweise verlorenen Fmoc-Gruppe mit Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (FmocOSu) als Reagenz vorgenommen. Nach flashchromatographischer Reinigung erhält man den zur Festphasensynthese geeigneten Baustein **139** in einer Ausbeute von 82% über die Reaktionssequenz (Schema 3.55).



Schema 3.55: Überführung von **128** in einen geeigneten Baustein für die Festphasensynthese

Möchte man später nicht nur mit C-Glycosylaminosäuren mit Kohlenhydrat-Anteilen, die man direkt aus den Suzuki-Kupplungen erhalten kann, in der Festphasensynthese arbeiten, so kann man die Fmoc-geschützten Kupplungsprodukte nutzen und diese weiter funktionalisieren. So lässt sich beispielsweise an Baustein **127** eine regioselektive Acetalöffnung im Mikroreaktor durchführen (Schema 3.56). Dies würde bei den Boc-/tert-Butylester-geschützten Derivaten aufgrund der hohen Säurelabilität der Schutzgruppen wahrscheinlich nicht funktionieren.



Schema 3.56: Regioselektive Acetalöffnung von **127** im Mikroreaktor

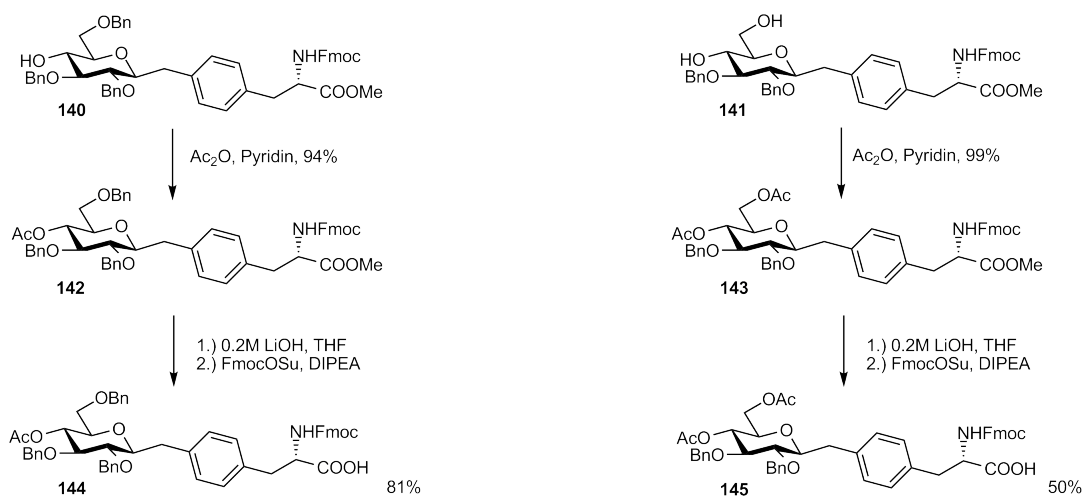
²⁶⁸ Dziadek, Sebastian. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2005.

²⁶⁹ Becker, Torsten. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2006.

²⁷⁰ Kaiser, Anton. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2009.

Benutzt man die Kombination von Trifluoressigsäure als Aktivator und Triethylsilan als Hydridüberträger, so kann man wiederum in hoher Ausbeute von 83% das in 4-Position ungeschützte Derivat **140** erhalten. Man erkennt die große Stabilität der C-glycosidischen Verknüpfung, da sich bei Anwesenheit von Feuchtigkeitsspuren lediglich ein Nebenprodukt (**141**) nachweisen lässt. Bei diesem ist die Benzylidenacetalgruppe komplett abgespalten. Rechnet man die Substanzmengen an Produkt und Nebenprodukt zusammen, so landet man praktisch bei 100 Prozent. Eine säurebedingte unspezifische Zersetzung des Produktes erfolgt anders als bei den Acetalöffnungen der O-Glycoside **31** und **32** nicht.

Aus den beiden erhaltenen Molekülen **140** und **141** lassen sich, nach Acetylierung und anschließender Verseifung der Methyl ester, für die Festphasensynthese geeignete Bausteine (**144** und **145**) erhalten (Schema 3.57). Dabei liegt die Ausbeute bei der Verseifung von **142** mit 81% deutlich über derjenigen bei der Verseifung von **143**, was wiederum auf eine eventuelle partielle Abspaltung von Acetylenschutzgruppen zurückzuführen ist. Die Unterschiede zwischen beiden Verbindungen lassen sich zum einen darauf zurückführen, dass dies bei Verbindung **143** aus rein statistischen Gründen öfter passieren kann als bei **142**. Zum anderen ist bekannt, dass bei der Verseifung von Acetylgruppen an Kohlenhydraten, diese zunächst an Position 6 wandern und dann erst abgespalten werden.²⁷¹⁻²⁷³ Da diese Position allerdings in **142** als Benzylether blockiert ist, kann dieser Weg dort nicht ablaufen und die Abspaltung erfolgt langsamer als bei **143**.



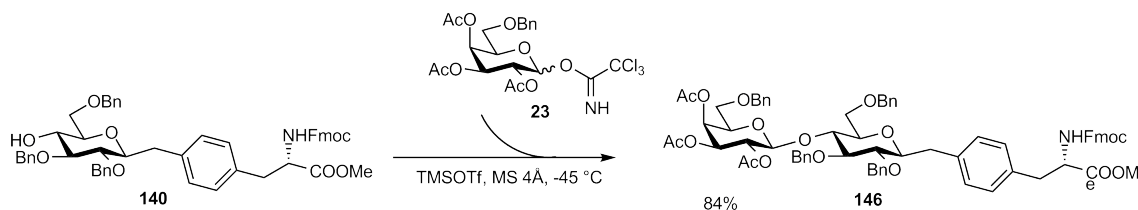
Schema 3.57: Überführung von **140** und **141** in die Festphasenbausteine

²⁷¹ Dziadek, S.; Kunz, H. *Synlett*, **2003**, 1623.

²⁷² Brocke, C.; Kunz, H. *Synlett*, **2003**, 2052.

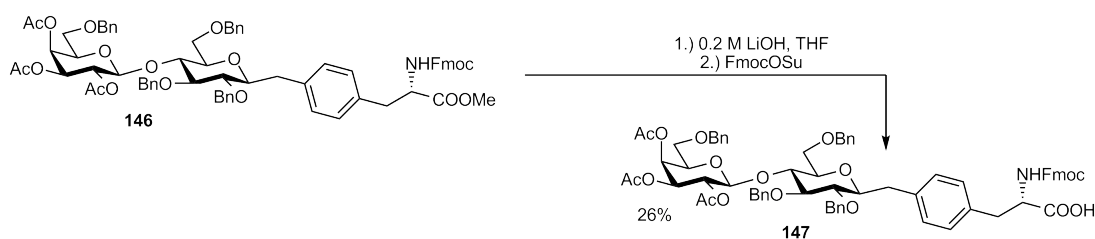
²⁷³ Dziadek, S.; Brocke, C.; Kunz, H. *Chem. Eur. J.*, **2004**, *10*, 4150.

Die Anknüpfung eines Galactose-Restes in Position 4 kann wie schon bei der Synthese des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums nach *Schmidt* über das Trichloracetimidat erfolgen. Durch Aktivierung mit Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) als Lewis-Säure erhält man das Reaktionsprodukt **146** in guter Ausbeute von 84% (Schema 3.58).



Schema 3.58: Galactosylierung von **140** nach *Schmidt*

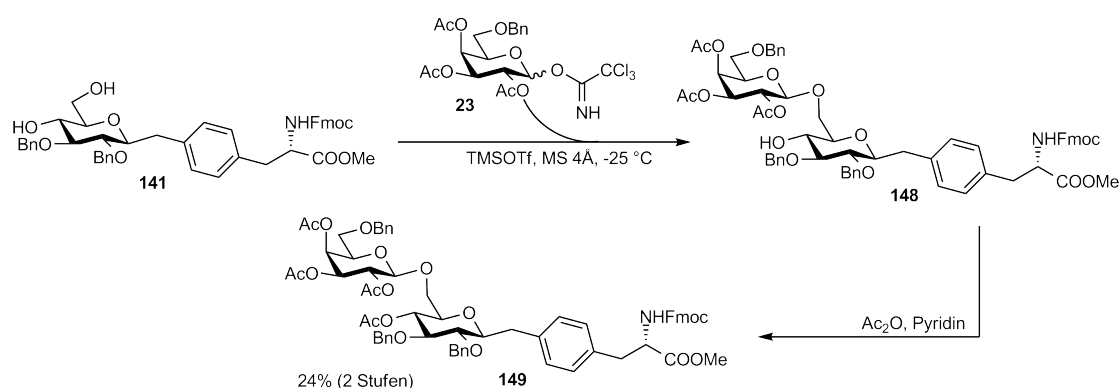
Auch dieser Baustein kann anschließend durch Verseifung des Methylesters mit Lithiumhydroxid als Reagenz in den für eine Festphasensynthese geeigneten Baustein **147** überführt werden (Schema 3.59). Mit 26% liegt die Ausbeute allerdings noch niedriger als im Falle der zuvor beschriebenen Verseifung der Monosaccharid-Bausteine **142** und **143**. Dies kann wiederum statistische Gründe haben, da nun im Molekül drei Acetylgruppen vorhanden sind, die alle potentiell unter den alkalischen Bedingungen verloren gehen können.



Schema 3.59: Überführung von **146** in einen geeigneten Festphasenbaustein

Auch das Nebenprodukt der regioselektiven Acetalöffnung **141** kann von Nutzen sein (Schema 3.60). Einerseits wäre es möglich, mit Benzaldehyddimethylacetal und aktivierender Säure wieder das Benzylidenacetal **127** zurück zu bilden. Andererseits unterscheiden sich die beiden freien Hydroxylgruppen ohnehin bereits bezüglich ihrer Reaktivität. Statt also zur selektiven Reaktion in 6-Stellung eine regioselektive Acetalöffnung von **127** mit einer anderen Reagenzienkombination durchzuführen, um so ausschließlich die OH-Gruppe an dieser Stelle zu deblockieren, ist es einen Versuch wert, zu überprüfen, ob bereits der vorhandene Reaktivitätsunterschied der beiden Gruppen ausreichend für eine selektive Funktionalisierung ist.

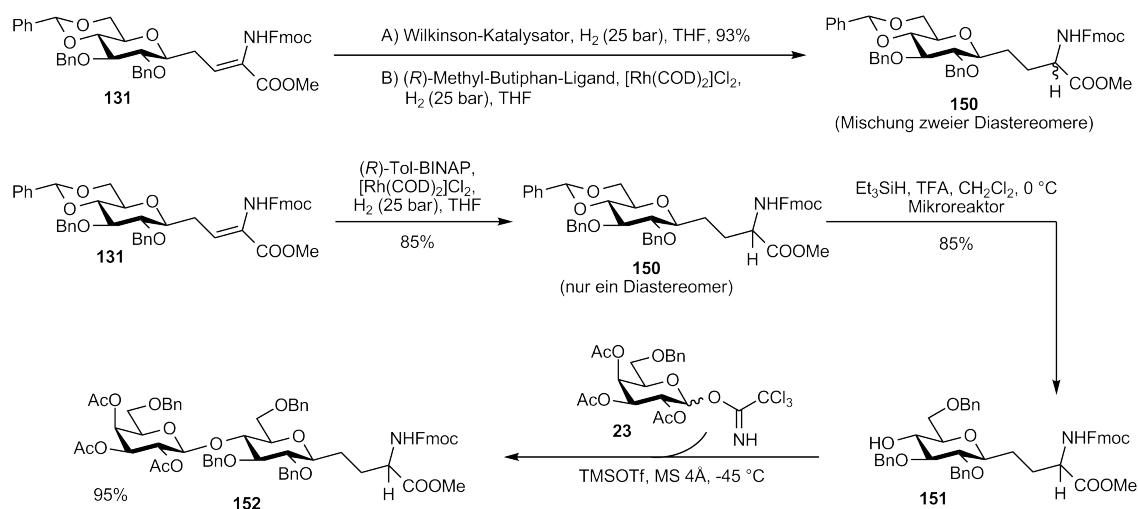
Dazu wird Baustein **141** in einer *Schmidt*-Glycosylierung mit dem Galactosyl-trichloracetimidat **23** zur Reaktion gebracht. Tatsächlich kann man nach der anschließenden Acetylierung ein Produkt isolieren, welches sich deutlich von der 1-4-verknüpften Verbindung **147** unterscheidet. Allerdings



Schema 3.60: Galactosylierung nach Schmidt in Position 6 der Glucose

ist die Ausbeute an **149** mit 24% über zwei Stufen verbesserungswürdig. Prinzipiell ist die gezielte Funktionalisierung an Position 6 über diesen Syntheseweg möglich.

Möchte man auch an C-Glucosyl-Serin-Baustein **131** das Acetal regioselektiv öffnen, so muss man zunächst die Doppelbindung im Molekül reduzieren. Dabei erzeugt man am α -C-Atom ein Stereozentrum, über das die Aminosäure dann in die D- oder L-Serie einzuordnen ist.



Schema 3.61: Hydrierungsversuche von Serin-Derivat **131** und Umsetzung zum diastereomerenreinen Lactose-Derivat von **152**

In ersten Versuchen zeigt sich, dass eine unselektive Reduktion der Doppelbindung mit dem *Wilkinson-Katalysator*²⁷⁴ Tris(triphenylphosphin)rhodium(I)-chlorid ($[\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3]\text{Cl}$) unter erhöhtem Druck in guter Ausbeute gelingt (vgl. Schema 3.61). Man erhält das Produkt als Gemisch zweier Diastereomere von **150** (Verhältnis 1 : 1.7). Das Substrat bedingt also bereits eine Bevorzugung eines Diastereomers (de = 26%) bei Verwendung eines achiralen Katalysators.

²⁷⁴ Corey, E. J.; Suggs, J. W. *J. Org. Chem.*, **1973**, *38*, 3224.

Zur stärkeren diastereoselektiven Hydrierung ist es jedoch nötig, einen chiralen Katalysator zu verwenden. Daher sollen verschiedene, in der Literatur bei ähnlichen Substraten bewährte Liganden, auf ihre Wirkung hin untersucht werden. Zunächst wird (-)-2,3-Bis((2*R*,5*R*)-2,5-dimethylphospholano)benzo[*b*]thiophen(1,5-cyclooctadien)rhodium(I)-tetrafluoroborat ((*R*)-Methyl-Butiphan-Katalysator) verwendet, welcher nach *Salzer*²⁷⁵ hohe Selektivitäten bei der Hydrierung von α,β -unge-sättigten Estern ermöglicht. Die Selektivität der Hydrierung von **150** ist im Experiment leider nicht sonderlich hoch. Mit einem Verhältnis von 1 : 0.8 wird nun allerdings das entgegengesetzte Isomer gebildet (de = 11%).

Schon der zweite Versuch der asymmetrischen Hydrierung bringt überraschenderweise ein bemerkenswertes Ergebnis. Verwendet man (*R*)-(+)-2,2'-Bis(di-*p*-tolylphosphino)-1,1'-binaphthyl ((*R*)-Tol-BINAP) als Liganden, so zeigt sich nach der Reaktion nur ein Diastereomer. Die Reaktion gelingt unter erhöhtem Druck in einer Ausbeute von 85% mit vollständiger Diastereoselektivität, wobei die Konfiguration am α -Kohlenstoff von **150** bislang noch nicht bestimmt wurde.

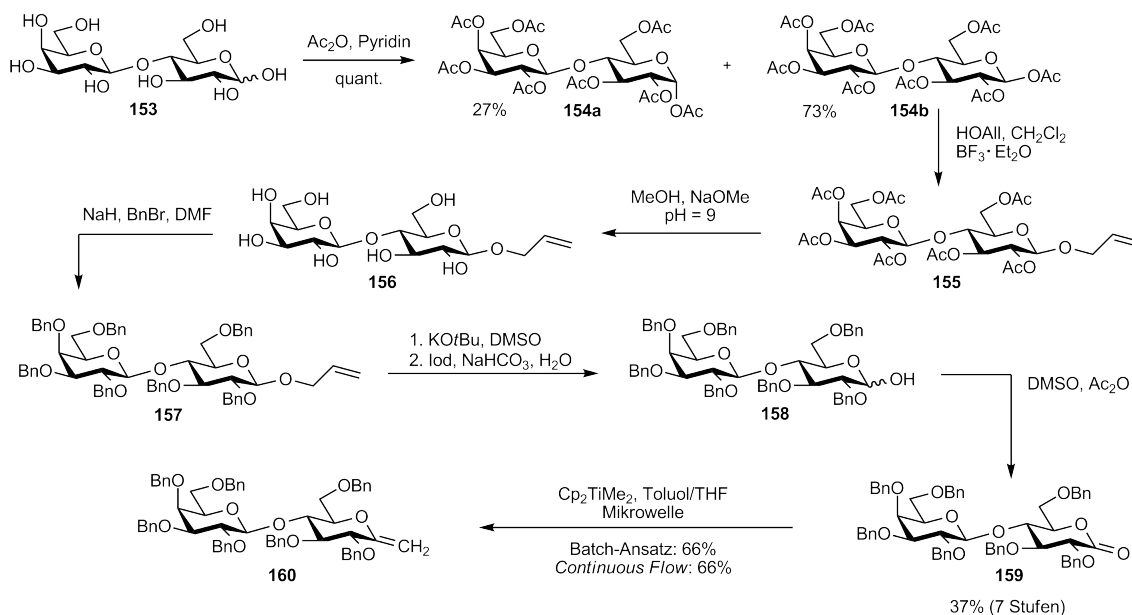
Anschließend kann im Durchflussreaktor unter den oben beschriebenen Bedingungen in hoher Ausbeute von 85% das Benzylidenacetal mit der gewünschten Regioselektivität geöffnet werden. Die Anknüpfung des Galactosebausteins erfolgt wie im Falle des Tyrosin-Analogons über das Galactosyl-trichloracetimidat **23** nach *Schmidt*. Nach flashchromatographischer Reinigung erhält man das von Lactose abgeleitete Produkt **152** in 95% Ausbeute.

²⁷⁵ Berens, U.; Englert, U.; Geysler, S.; Runsink, J.; Salzer, A. *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 2100.

3.8 Direkte Synthese von C-Lactosylaminosäuren

Die bisher hergestellten C-Lactosyl-Tyrosin-Bausteine könnten sich alternativ über eine direkte Kupplung eines *exo*-Glycals der Lactose synthetisieren lassen. Diese würden zwar einerseits ein anderes, weniger differenziertes Schutzgruppenmuster tragen, andererseits ließen sich dadurch allerdings einige Syntheseschritte einsparen.

Der dazu nötige Saccharidbaustein kann, wie in Schema 3.62 gezeigt, in 8 Stufen aus D-Lactose erhalten werden. Zunächst erfolgt eine Peracetylierung des Startmaterials mit Essigsäureanhydrid in Pyridin. Das so erhaltene Anomerengemisch von **154** wird mit Allylalkohol unter dem aktivierenden Einfluss von Bortrifluorid-Etherkomplex ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) in Dichlormethan umgesetzt. Dabei zeigt sich, dass ausschließlich das β -Anomer **154b** reagiert, wobei sich durch den Nachbargruppeneffekt der Acetylgruppe in Position 2 das β -Allylglycosid **155** bildet. Das α -Anomer **154a** der peracetylierten Verbindung ist über den anomeren Effekt stabilisiert. Es bleibt unter den gewählten Reaktionsbedingungen stabil (vgl. Abb. 3.16). Ohne Trennung der beiden in der Mischung enthaltenen Verbindungen wird anschließend nach Zemplén¹⁵⁸ mit Natriummethanolat-Lösung in Methanol deacetyliert. Das so erhaltene Rohprodukt wird direkt in der nächsten Stufe eingesetzt, in der mit Benzylbromid und Natriumhydrid als Base alle freien Hydroxylfunktionen als Benzylether blockiert werden.



Schema 3.62: Synthese des *exo*-Glycals der Lactose

Die anomere Allyl-Schutzgruppe von **157** wird nach Isomerisierung mit Kalium-*tert*-butylat in DMSO und Behandlung mit Iod abgespalten und der so erhaltene reduzierende Zucker **158** anschließend in einer Goldman-Albright-Oxidation²⁰² zum entsprechenden Lacton **159** umgesetzt.

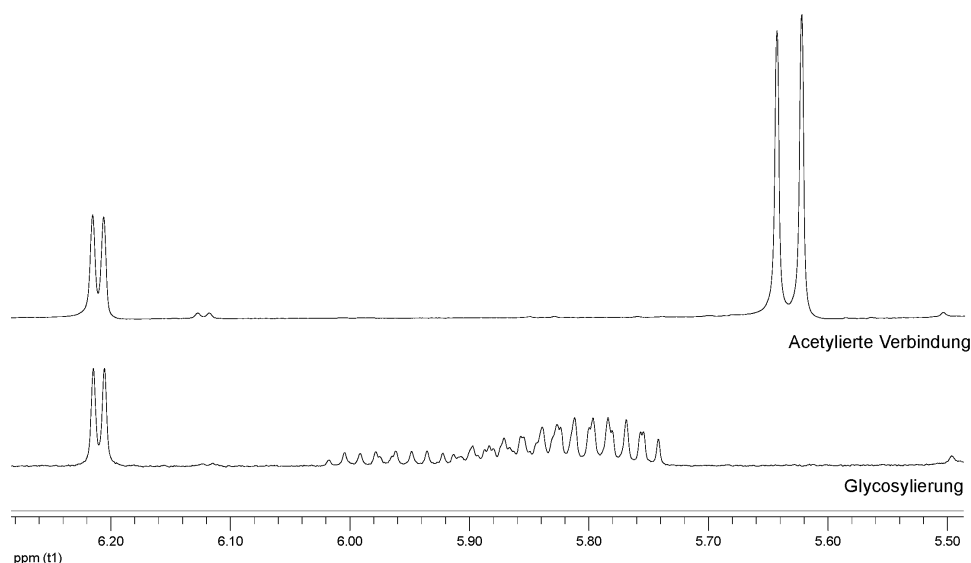
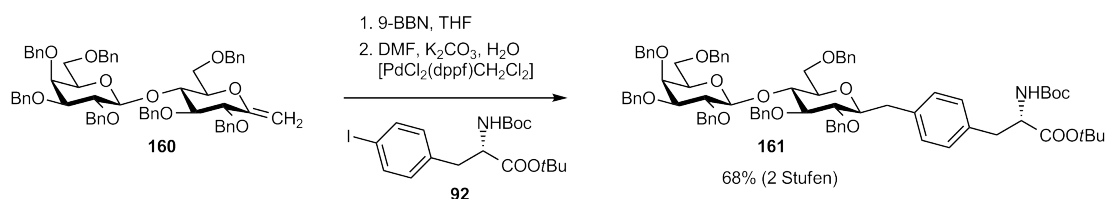


Abbildung 3.16: $^1\text{H-NMR}$ -Verfolgung der Glycosylierung von **154** (oben) zu **155** (unten) unter Aktivierung mit Bortrifluorid-Etherkomplex. Nur das Signal des anomeren Protons des β -Isomers bei 5.63 ppm verschwindet im Laufe der Reaktion

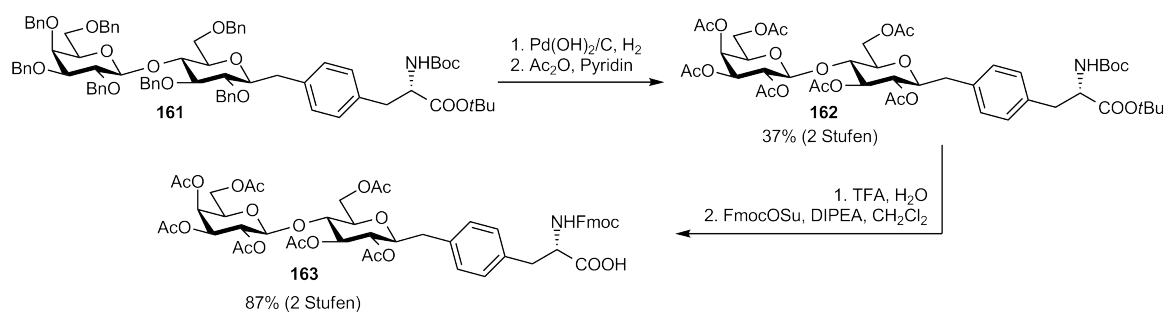
Man erhält das Produkt nach diesen 7 Stufen in einer Gesamtausbeute von 37%. Die anschließende Petasis-Olefinierung gelingt ebenfalls und *exo*-Glycal **160** kann in guter Ausbeute von 66% isoliert werden.

Da das Kupplungsprodukt **161** auf der Kohlenhydratseite nicht weiter funktionalisiert werden soll, wird mit *N*-Boc-*p*-iod-L-phenylalanin-*tert*-butylester **92** gekuppelt (Schema 3.63). Die Domino-Reaktion gelingt unter den oben beschriebenen Bedingungen unter Verwendung von K_2CO_3 als Base in einer Ausbeute von 68%. Um auf späteren Stufen Löslichkeitsprobleme zu vermeiden, werden nun hydrogenolytisch unter Verwendung des *Pearlman*-Katalysators die Benzylgruppen entfernt und die freien Hydroxylgruppen mit Essigsäureanhydrid in Pyridin acetyliert. Die sich anschließende Entfernung von Boc- und *tert*-Butyl-schutzgruppe unter Einwirkung von Trifluoressigsäure sowie die Anknüpfung der Fmoc-Gruppe verlaufen in guten Ausbeuten und liefern den für die Festphasensynthese geeigneten Baustein **163** (Schema 3.64).

Die Kupplung des *exo*-Glycals **160** zum *Z*-Threonin-Analogon **164** verläuft nach diesem Verfah-



Schema 3.63: Suzuki-Kupplung zu *C*-Glycosyl-Tyrosin **161**



Schema 3.64: Überführung von **161** in einen geeigneten Baustein für die Festphasensynthese

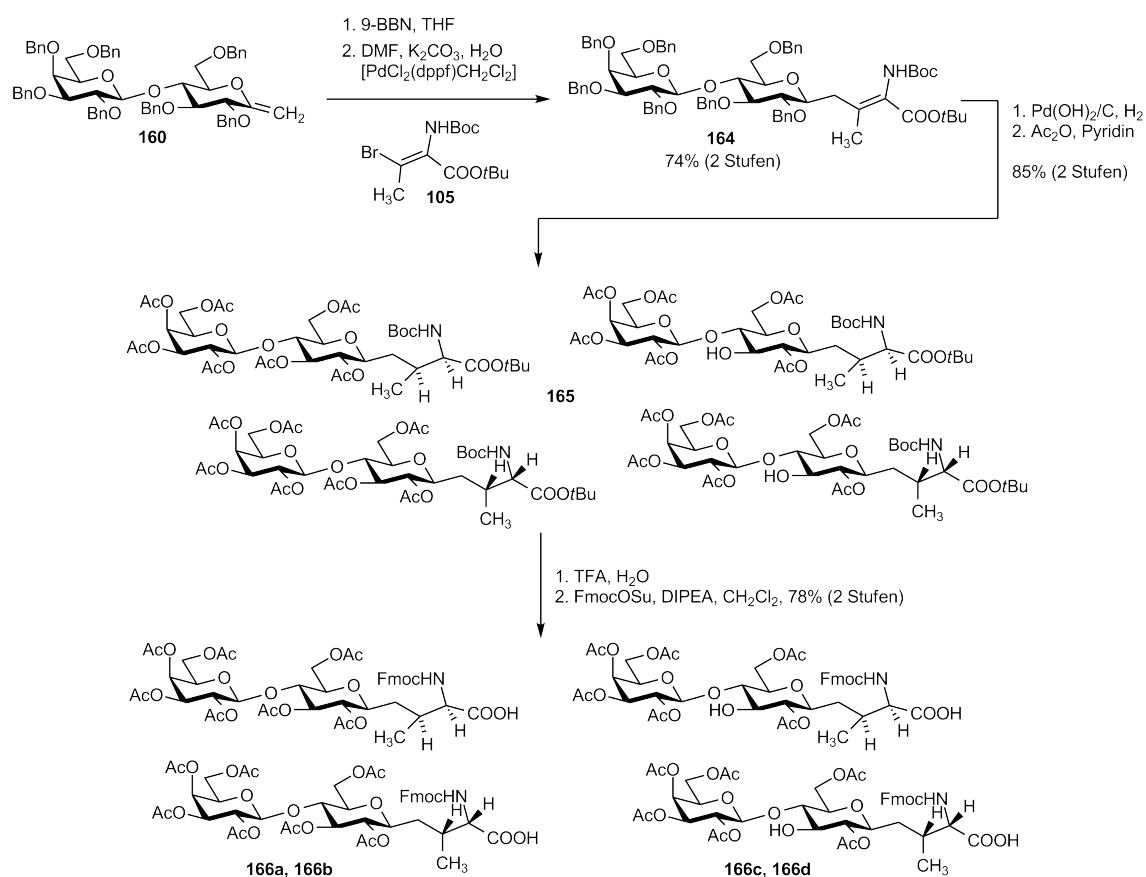
ren ebenfalls in hoher Ausbeute (Schema 3.65). So erhält man das Produkt der Hydroborierungs-Suzukikupplungs-Kaskade nach flashchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 75%. Wie im Falle der Serin-Kupplungen stellt sich jedoch das Problem, dass die Doppelbindung in diesem Baustein noch hydriert werden muss, wobei im Threonin-Analogen gleich zwei Stereozentren aufgebaut werden. Wieder wurde die Hydrierung unter Verwendung von (*R*)-Tol-BINAP als Ligand getestet, wobei sich allerdings auch bei wiederholter Durchführung kein Umsatz feststellen ließ. Auch bei Versuchen der Hydrierung mit dem *Wilkinson*-Katalysator²⁷⁴ zeigte sich kein Umsatz. Scheinbar ist durch die großen Schutzgruppen und die zusätzliche Methylgruppe im Threonin-Derivat **164** die Doppelbindung für den Katalysator nur sehr schwer zugänglich.

Es wird deshalb die Hydrierung mit dem Pearlman-Katalysator²⁷⁶ (Pd(OH)₂ auf Aktivkohle) durchgeführt. Dieser führt nicht nur zu der gesättigten Verbindung, sondern sorgt unter Wasserstoffatmosphäre auch für eine Abspaltung der Benzylgruppen. Nach Acetylierung aller so freigelegten Hydroxylfunktionen mit Essigsäureanhydrid in Pyridin erhält man das Produkt (**165**) in einer Ausbeute von 85% über zwei Stufen. Dieses liegt erwartungsgemäß in einer Mischung zweier Diastereomere vor. Zudem zeigt die isolierte Produktfraktion NMR-Signale eines Diastereomerensatzes, bei dem in Position 3 der Glucose keine Acetylierung stattgefunden hat.

Die so erhaltene peracetylierte Verbindung wird mit Trifluoressigsäure von Boc-Gruppe und *tert*-Butylester befreit. Anschließend wird mit Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (FmocOSu) die Fmoc-Gruppe angeknüpft. Die in einer Ausbeute von 78% über zwei Stufen erhaltene Diastereomerenmischung wird mittels RP-HPLC getrennt. Man erhält dabei die erwarteten zwei peracetylierten Diastereomere **166a** und **166b**, sowie den bereits zuvor erwähnten Diastereomerensatz aus **166c** und **166d**, bei dem in Position 3 der Glucose eine Acetylgruppe fehlt.

Dies ist beim Vergleich der HSQC-Spektren der 4 Isomere deutlich zu erkennen (siehe Abb. 3.66). Während die Spektren von **166a** und **166b**, beziehungsweise **166c** und **166d** untereinander sehr ähnlich sind, erkennt man zwischen den jeweiligen Diastereomerenpaaren deutliche Änderungen. So wandern die Signale von C3 und C4 der Glucose wegen des Fehlens einer Acetylgruppe deut-

²⁷⁶ Pearlman, W. M. *Tetrahedron Lett.*, **1967**, 1663.



Schema 3.65: Suzuki-Kupplung Bildung der 4 Diastereomere **166a-d**

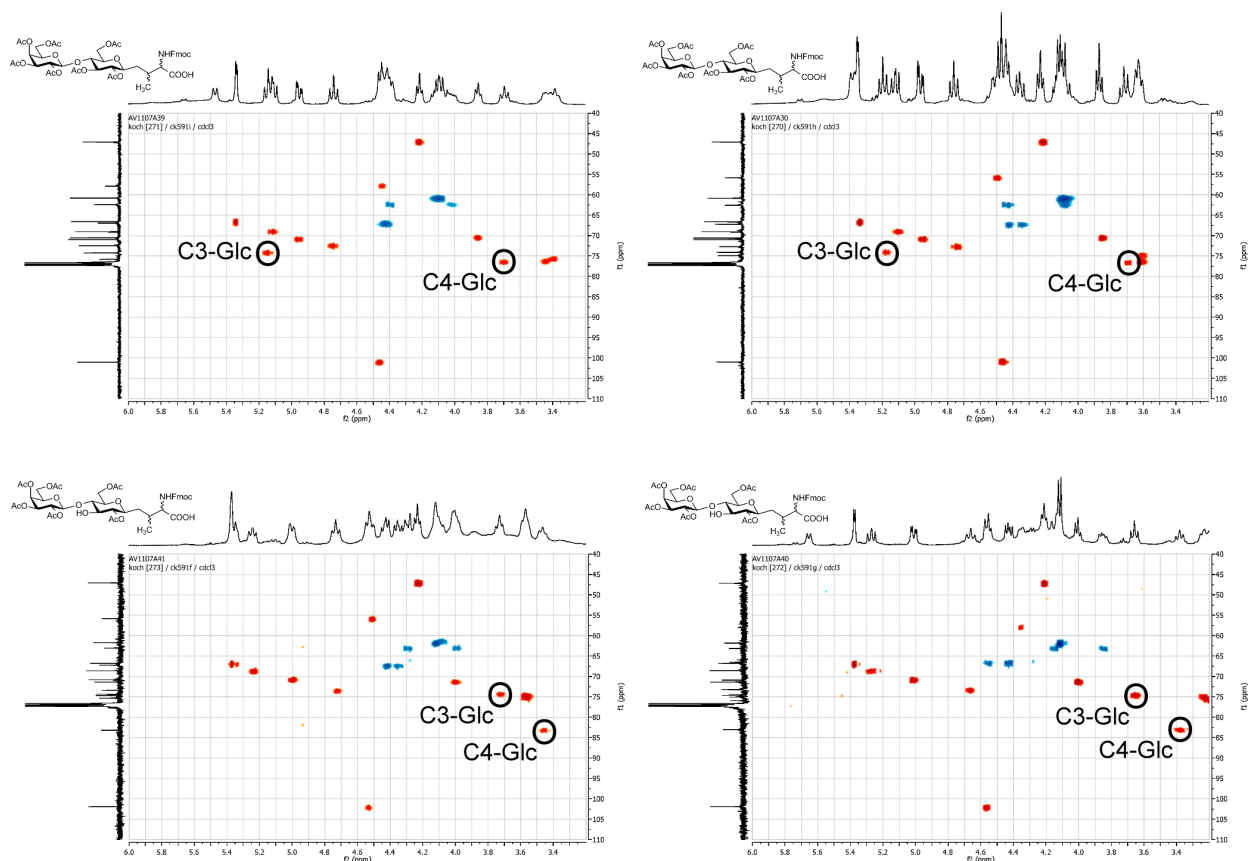
lich zu höheren ¹H- und niedrigeren ¹³C-Verschiebungen. Da an C4 der Galactoserest fixiert ist und die Änderung der chemischen Verschiebungen bei C3 am größten ist, kann man daraus schließen, dass die Acetylgruppe an dieser Position fehlt.

3.9 Block-Glycosylierungen zu komplexen C-Glycosylaminosäuren

Nachdem gezeigt werden konnte, dass von Lactose abgeleitete C-Glycosylaminosäuren sich direkt aus der Suzuki-Kupplung eines Disaccharids erhalten lassen, sollen nun komplexere Saccharid-Reste betrachtet werden.

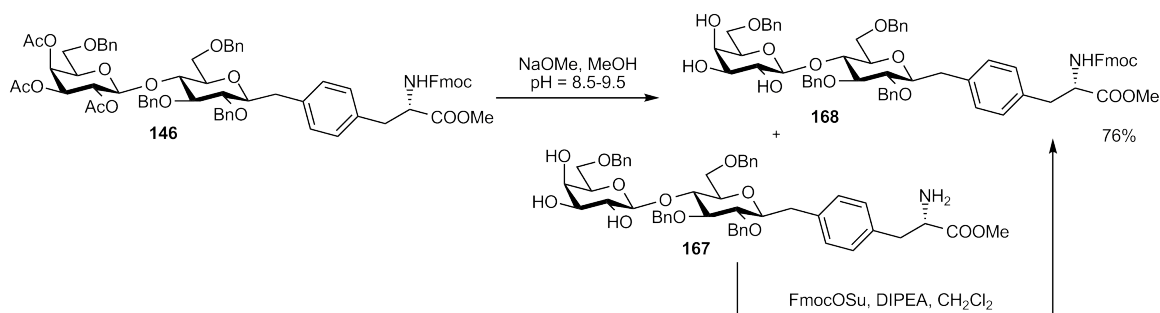
In dem Fall der C-Lactose-Verknüpfung war es von Vorteil, dass der Kohlenhydratbaustein kommerziell günstig und in großen Mengen erhältlich ist. Dies ist beispielsweise bei dem zuvor synthetisierten Sialyl-Lewis^x-Mimetikum **44** nicht der Fall.

Retrosynthetisch wäre es für dieses Zielmolekül sicherlich nur schwer oder gar nicht möglich, zuerst die komplette Pseudotetrasaccharid-Einheit aufzubauen und diese anschließend über eine Suzuki-Kupplung an eine Aminosäure anzufügen. Dies würde voraussetzen, ein Schutzgruppenmuster zu entwickeln, das einerseits die komplette Verknüpfung in der gewünschten Stereochemie



Schema 3.66: HSQC-Spektren der 4 Diastereomere; oben: **166a** und **166b**; unten: **166c** und **166d**

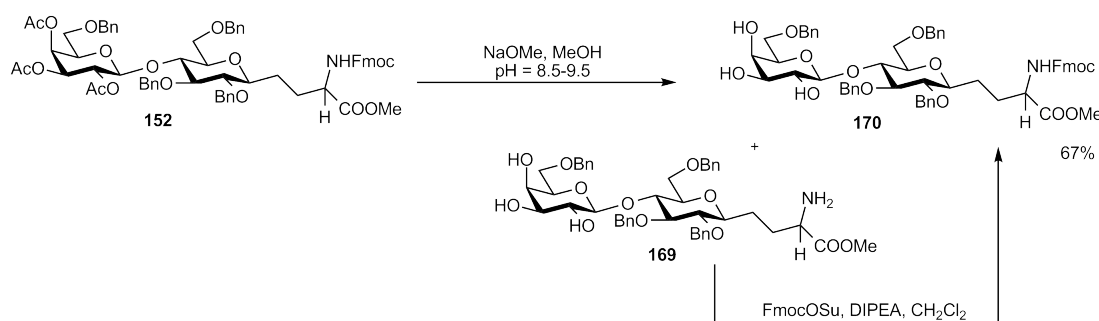
erlaubt (man beachte beispielsweise die zuvor erwähnten Nachbargruppeneffekte) und das gleichzeitig so modifizierbar ist, dass zum Zeitpunkt der Olefinierung außer dem Lacton keine weiteren reaktiven Carbonylgruppen mehr im Molekül vorhanden sind.



Schema 3.67: Deacetylierung und Wiederanknüpfung der Fmoc-Gruppe am Tyrosin-Baustein

Zur Synthese der Mimetika der Sialyl-Lewis^x-Lactosylaminosäuren werden daher weitere Funktionalisierungen an den Bausteinen **146** und **152** vorgenommen (Schemata 3.67 und 3.68). Diese können zunächst nach Zemplén¹⁵⁸ mit Natriummethanolat in Methanol deacetyliert werden. Es

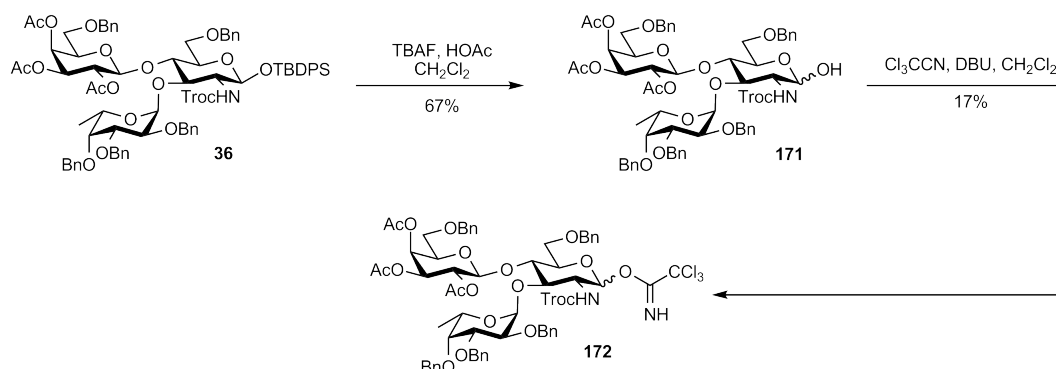
wird darauf geachtet, dass ein pH-Wert von 8.5-9.5 eingehalten wird, so dass es nur in geringem Maße zum Verlust der Fmoc-Gruppe kommen sollte. Trotzdem ist ein partieller Verlust der Aminoschutzgruppe zu beobachten. Durch säulenchromatographische Reinigung kann man anschließend jeweils sowohl das Produkt (**168** bzw. **170**) als auch die Verbindung ohne Fmoc-Gruppe (**167** bzw. **169**) isolieren. Die so erhaltenen Nebenprodukte können durch Reaktion mit Fluoren-9-ylmethylsuccinimidyl-carbonat (FmocOSu) nachträglich in die gewünschten Produkte überführt werden. Man erhält im Falle des Tyrosin-Analogons das in 2-, 3- und 4-Position der Galactose ungeschützte Derivat **168** in einer Ausbeute von 76% und im Falle des Serin-Mimetikums **170** in 67%.



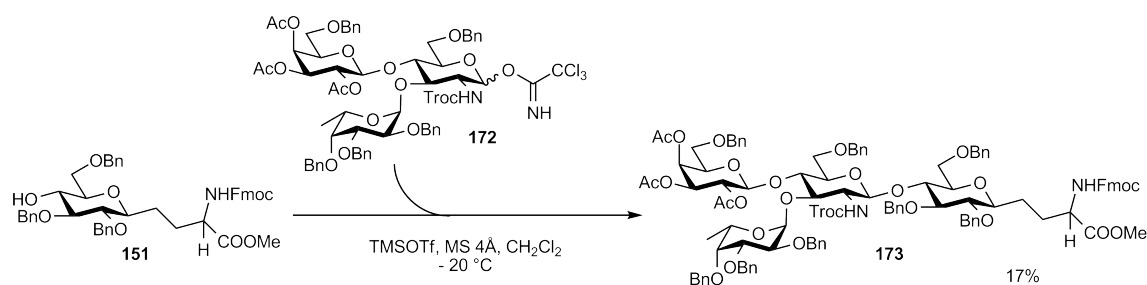
Schema 3.68: Deacetylierung und Wiederanknüpfung der Fmoc-Gruppe am Serin-Baustein

Die weitere Verknüpfung soll über die Hydroxylfunktion in Position 3 erfolgen. Dazu sollten keine weiteren Schutzgruppen für die anderen OH-Gruppen nötig sein, da die Reaktivitäten dieser beiden funktionellen Gruppen aus sterischen und elektronischen Gründen gegenüber der äquatorialen OH-Gruppe an C3 deutlich herabgesetzt sind. Dies zeigt sich beispielsweise an den Ergebnissen der Sialylierung eines ähnlichen Bausteins in der Dissertation von *K. Baumann*, bei der auch nur eine Verknüpfung über Position 3 beobachtet wird.

Zunächst wird überprüft, ob eine Block-Glycosylierung an einer C-Glycosylaminosäure prinzipiell möglich ist. Man entfernt dazu auf der Stufe des Lewis^x-Bausteins **36** die anomere TBDPS-Schutzgruppe durch Behandlung mit Tetra-*n*-butylammoniumfluorid.



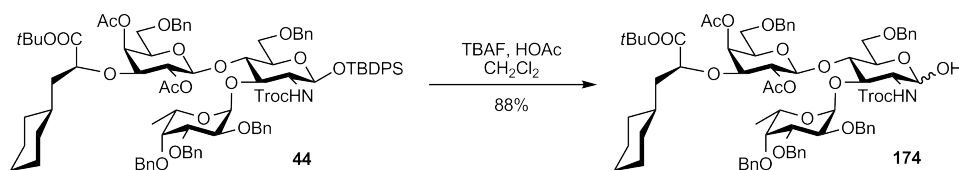
Schema 3.69: Überführung in den Schmidt-Donor **172**



Schema 3.70: Block-Glycosylierung des C-Glucose-Derivates **151**

Getrieben durch die hohe Si-F-Bindungsenergie²⁷⁷ wird das anomere Sauerstoffatom praktisch als Austrittsgruppe vom Silizium-Zentrum verdrängt und man erhält den reduzierenden Zucker **171** als Anomerenmischung in einer Ausbeute von 67%. Anschließend wird durch Addition an Trichloracetonitril unter Einwirkung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) das Trichloracetimidat erzeugt. Säulenchromatographische Reinigung liefert das saubere Produkt, wobei es leider auf dem sauren Kieselgel als Säulenmaterial zur partiellen Hydrolyse des Rohproduktes kommt, so dass in diesem Schritt die Ausbeute nur bei mageren 17% liegt (Schema 3.69). Die Verwendung von Triethylamin als Additiv zum Laufmittel wäre hier sicherlich hilfreich gewesen, obwohl auch dies wie bei *K. Baumann*¹⁴⁴ nicht immer zu einer zufriedenstellenden Steigerung der isolierbaren Produktmenge führt.

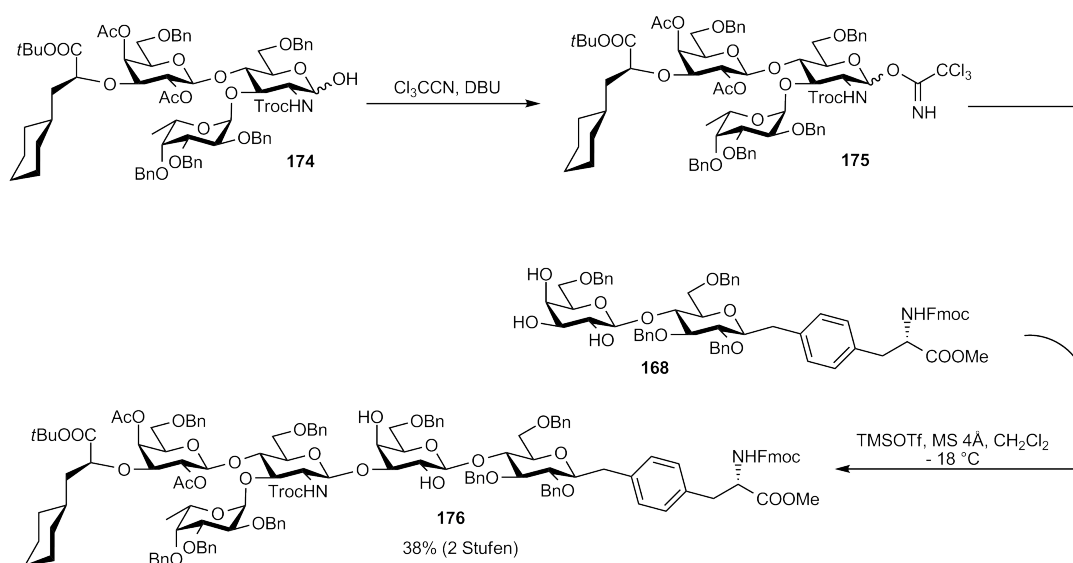
Auch die anschließende *Schmidt*-Glycosylierung des C-Glucosyl-Serin-Bausteins **151** verläuft nur mit niedriger Ausbeute, liefert aber selektiv das gewünschte Produkt **173**, welches eindeutig mittels 2D-NMR-Spektroskopie charakterisiert werden kann (Schema 3.70). So sollte es auch bei optimierter Arbeitsweise prinzipiell möglich sein, die Verknüpfung des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums mit dem Lactose-Derivat in einer Block-Glycosylierung zu bewerkstelligen.



Schema 3.71: Anomere Deblockierung des Pseudotetrasaccharides

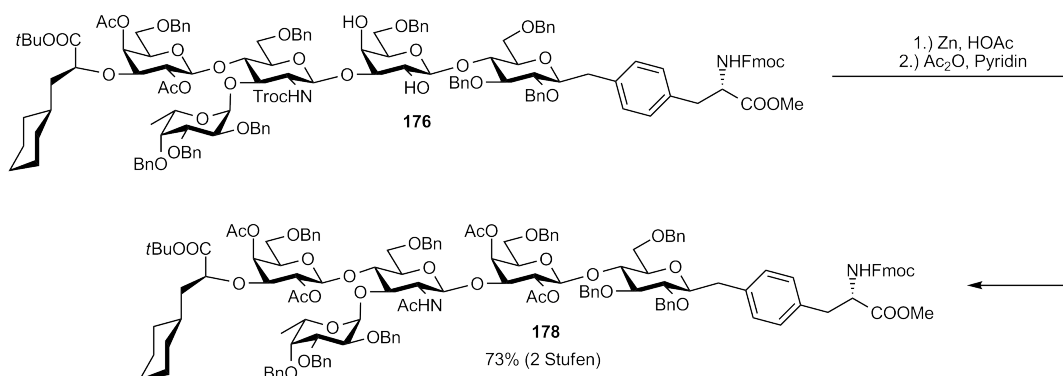
Da auch diese Verknüpfung nach *Schmidt* durchgeführt werden soll, muss zunächst auf der Stufe des Pseudotetrasaccharids **44** die anomere TBDPS-Schutzgruppe entfernt werden. In diesem Fall erhält man den reduzierenden Zucker **174** nach Behandlung mit Tetra-*n*-butylammoniumfluorid und säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 88% (Schema 3.71).

²⁷⁷ Pawlenko, S. *Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Vol. XIII/5*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1980.



Schema 3.72: Block-Glycosylierung des C-Lactosyl-Tyrosin-Bausteins

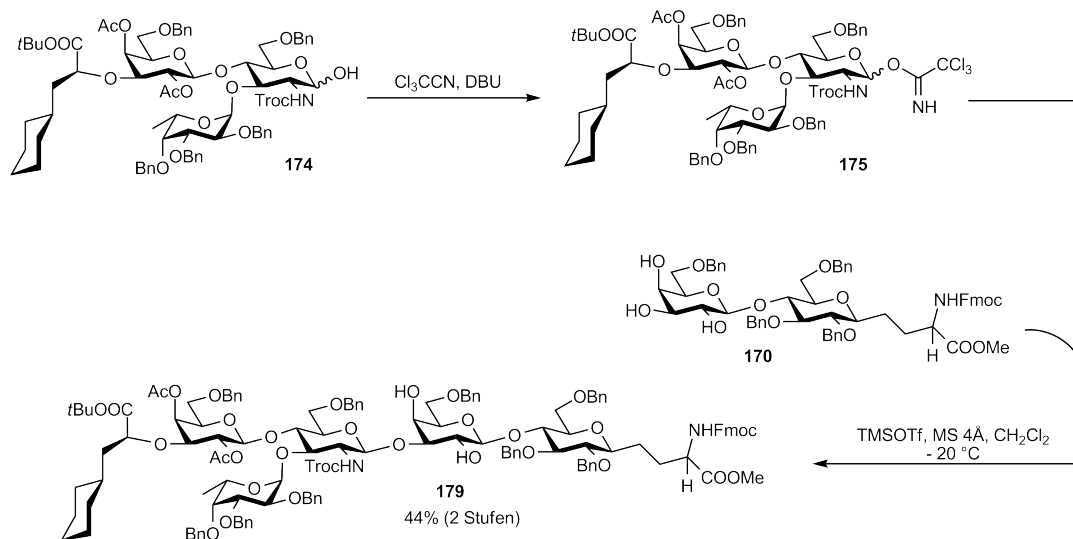
Anschließend wird wiederum durch Addition der anomeren OH-Gruppe an Trichloracetimidat unter Katalyse mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) das entsprechende Trichloracetimidat gebildet. Das Produkt wird nach den Erfahrungen mit Lewis^x-Trichloracetimidat **172** bezüglich der Stabilität nur grob mittels Säulenchromatographie gereinigt. Das erhaltene Rohprodukt wird direkt ohne weitere Charakterisierung mit dem Lactosyl-Akzeptor **168** unter dem aktivierenden Einfluss von Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) umgesetzt (Schema 3.72). Bei der Reaktion wird das Trichloracetimidat des Pseudotetrasaccharids **175** im Unterschuss eingesetzt, so dass man bei der anschließenden säulenchromatographischen Reinigung neben dem Produkt **176** in 38% Ausbeute über zwei Stufen auch 40% des eingesetzten C-Glycosids **168** zurückgewinnen kann.



Schema 3.73: Entfernung der Troc-Gruppe und Acetylierung zu **178**

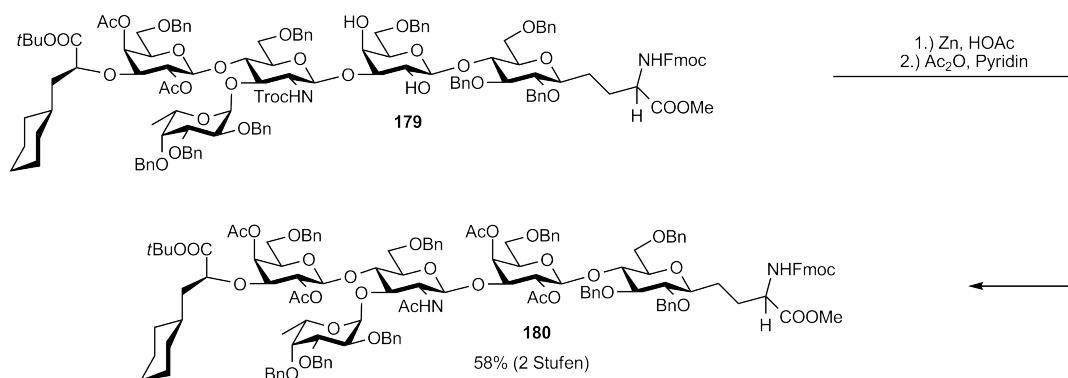
In den zwei letzten Syntheseschritten wird die Troc-Schutzgruppe durch Reduktion mit Zink in

Eisessig²⁴¹ abgespalten und die freie Aminofunktion, sowie die beiden ungeschützten Hydroxylfunktionen werden mit Essigsäureanhydrid in Pyridin acetyliert (Schema 3.73). Man erhält so das vollständig geschützte Sialyl-Lewis^x-Lactosyl-Tyrosin-Mimetikum **178** in einer Ausbeute von 73% über zwei Stufen.



Schema 3.74: Block-Glycosylierung des C-Lactosyl-Serin-Bausteins

Bei der Synthese des Serin-Derivates **179** wird nach der gleichen Methode verfahren und auf eine zwischenzeitliche Reinigung des Trichloracetimidates **175** verzichtet. Arbeitet man wie im Falle des Tyrosin-Analogons mit einem Überschuss des C-Glycosids, so kann man hier das Produkt **179** in 44% über zwei Stufen erhalten und 39% des eingesetzten Lactosyl-Serin-Bausteins **170** zurückisolieren. Auch bei diesem Baustein erfolgt abschließend ein Austausch der Troc- gegen eine Acetylschutzgruppe durch Behandlung mit aktiviertem Zink in Essigsäure und anschließende Reaktion mit Essigsäureanhydrid in Pyridin (Schema 3.75).



Schema 3.75: Entfernung der Troc-Gruppe und Acetylierung zu **180**

Nach beiden Glycosylierungsreaktionen kann an den Produkten NMR-spektroskopisch die ausschließliche Verknüpfung über die 3-Position der Galactose nachgewiesen werden. So konnte die Synthese des C-Glycosyl-Tyrosins **178** in insgesamt 44 Stufen mit vollständiger Kontrolle beim Aufbau aller Stereozentren erreicht werden. C-Glycosyl-Serin **180** konnte nach 46 Stufen ebenfalls unter kompletter Kontrolle aller Stereozentren synthetisiert werden. Lediglich die Zuordnung der Konfiguration am α -C-Atom der Aminosäure steht noch aus. Auf weitere Schutzgruppenmanipulationen, die einen Einbau der Bausteine in eine Peptidsequenz nach dem Standardprotokoll für die Fmoc-Strategie der Festphasensynthese erlauben, wurde aus Zeitgründen verzichtet. Es wurde jedoch mit anderen im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Bausteinen eine automatisierte Peptidsynthese durchgeführt.

3.10 Synthese C-glycosidisch funktionalisierter MUC1-Glycopeptide

Die Eignung der synthetisierten C-Glycosylaminosäurebausteine für eine Festphasensynthese soll anhand des Einbaus in eine Partialsequenz der extrazellulären Domäne des Mucins MUC1 erfolgen. Diese besteht zu einem großen Teil aus einer sich häufig wiederholenden Abfolge von Aminosäuren, die an verschiedenen Stellen (*) glycosyliert ist (-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr*-Ser*-Ala-Pro-Asp-Thr*-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Ser*-Thr*-Ala-Pro-). Dieses Epitop sollte im tumorassoziierten Fall von B-Zellen erkannt werden und könnte dazu dienen, eine Immunreaktion auszulösen. Da MUC1 in Tumorgewebe überexprimiert wird und zudem durch die Krebserkrankung veränderte Enzymaktivitäten vorliegen, die eine Änderung der Glycosylierungsmuster bewirken, bietet sich in dieser Struktur ein Ansatzpunkt für eine Immuntherapie gegen Krebs. Viele Aspekte dieser Herangehensweise wurden in der Arbeitsgruppe Kunz aber auch außerhalb des Hauses bereits betrachtet. Grundsätzlich beruht der Ansatz auf der vollsynthetischen Herstellung einer glycosylierten MUC1-Partialsequenz, die anschließend über einen nicht-immunogenen Spacer an eine die Immunantwort verstärkende Komponente, meist Tetanus-toxoid oder BSA gekuppelt wird (siehe Abb. 3.17).^{93,278-284}



Abbildung 3.17: Schematischer Aufbau eines synthetischen Vakzins

Den ersten Schritt stellt dabei der selektive Aufbau der Glycopeptidsequenz dar.^{285,286} Dies lässt sich am einfachsten in einer Festphasenpeptidsynthese nach Merrifield durchführen.^{124-125,287-288} Diese beruht darauf, dass der wachsende Peptidstrang während der Synthese am Carboxyl-Ende

²⁷⁸ Leclerc, C.; Przewlocki, G.; Schultz, M.-P.; Chedid, L. *Eur. J. Immunol.*, **1987**, *17*, 269.

²⁷⁹ Agrawal, B.; Krautz, M. J.; Raddish, M. J.; Longenecker, B. M. *Nat. Med.*, **1988**, *4*, 43.

²⁸⁰ Chan, A. K.; Lockhart, D. C.; von Bernstorff, W.; Spanjaard, R. A.; Joo, H.-G.; Eberlein, T. J.; Goedegebuure, P. S. *Int. J. Cancer*, **1999**, *82*, 721.

²⁸¹ Jiang, Z.-H.; Kogenty, R. R. *Curr. Med. Chem.*, **2003**, *10*, 1423.

²⁸² Hui, C.; Huang, Z.-H.; Zou, P.; Shi, L.; Zhao, Y.-F.; Kunz, H.; Li, Y.-M. *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, 3685.

²⁸³ Hui, C.; Huang, Z.-H.; Shi, L.; Zhao, Y.-F.; Kunz, H.; Li, Y.-M. *Chemistry Eur. J.*, **2011**, *17*, 6396.

²⁸⁴ Hoffman-Röder, A.; Kaiser, A.; Wagner, S.; Gaidzik, N.; Kowalczyk, D.; Westerlind, U.; Gerlitzki, B.; Schmitt, E.; Kunz, H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 8498.

²⁸⁵ Kunz, H.; Dombo, B. *Angew. Chem.*, **1988**, *100*, 732.

²⁸⁶ Kunz, H. *Pure Appl. Chem.*, **1993**, *65*, 1223.

²⁸⁷ Kunz, H.; Kosch, W.; März, J.; Ciommer, M.; Günther, W.; Unverzagt, C. *Innovations and Perspectives in Solid Phase Synthesis and Related Technologies*. Intercept Ltd., Andover, U. K., 1992.

²⁸⁸ Fields, G. B.; Noble, R. L. *Int. J. Pept. Protein Res.*, **1990**, *35*, 161.

über einen spaltbaren Anker an einen polymeren Träger gekuppelt ist.²⁸⁹⁻²⁹¹ Dadurch muss nicht nach jeder Reaktion eine Reinigung einer Reaktionslösung erfolgen, sondern alle flüssigen oder löslichen Reagenzien können vom festen Material abgewaschen werden.¹²⁴ Die Kupplung erfolgt nach einem dreistufigem Zyklus (Abb. 3.18). Zunächst wird die Aminofunktion des Peptidstranges deblockiert, dann die Kupplung mit dem nächsten Baustein vollzogen und anschließend werden in einem Capping-Schritt alle nicht umgesetzten Aminofunktionen acetyliert. Dadurch entstehen keine Fehlsequenzen, sondern man erhält als Nebenprodukte nur die auf der jeweiligen Stufe abgebrochenen Sequenzen, die sich leichter abtrennen lassen.

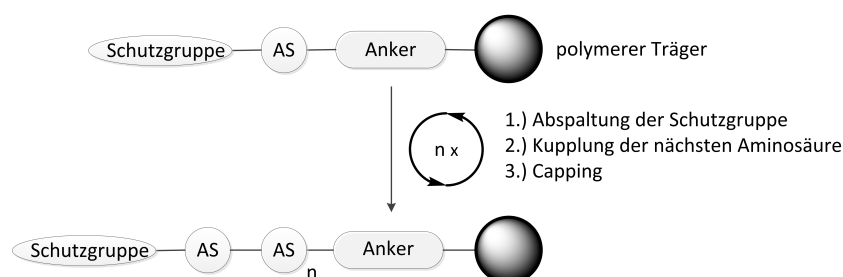


Abbildung 3.18: Grundlegendes Prinzip der Peptidfestphasensynthese

Als Aminoschutzgruppe wäre dabei neben der Fmoc-Schutzgruppe,²⁹² die in der vorliegenden Arbeit zum Einsatz kommt, auch die Boc-Schutzgruppe^{293,294} denkbar. Unter den Bedingungen der sauren Abspaltung könnten allerdings auch glycosidische Bindungen des Kohlenhydratanteils gespalten werden.²⁹⁵ Daher wird bei der Synthese von Glycopeptiden von der Verwendung dieser Schutzgruppe an der festen Phase abgesehen.

Auch die verwendeten Ankersysteme sind von großer Bedeutung, da die Abspaltbedingungen mit den hergestellten Glycopeptidsequenzen kompatibel sein müssen. Einen recht ausführlichen Überblick über häufig verwendete Ankersysteme und Harze, die je nach Problemstellung eine Abspaltung vom polymeren Träger auch unter basischen Bedingungen,²⁹⁶ mit Fluorid²⁹⁷ oder auch durch

²⁸⁹ Warras, R. *Combinatorial Chemistry*, 1. Aufl. Wiley-VCH, Weinheim, 1999.

²⁹⁰ Meldal, M. *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 3077.

²⁹¹ Bayer, E.; Rapp, W. *Chemistry of Peptides and Proteins*, volume 3. Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York, 1986.

²⁹² Carpino, L. A.; Han, G. Y. *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, 92, 5748.

²⁹³ McKay, F. C.; Albertson, N. F. *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 4686.

²⁹⁴ Anderson, G. W.; McGregor, A. C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 6180.

²⁹⁵ Mort, A. J.; Lamport, D. T. *Anal. Biochem.*, **1977**, 82, 289.

²⁹⁶ DeGrado, W. F.; Kaiser, E. T. *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 1295.

²⁹⁷ Wagner, M.; Kunz, H. *Angew. Chem.; Int. Ed. Engl.*, **2002**, 41, 317.

Bestrahlung mit UV-Licht^{298,299} erlauben, gibt beispielsweise A. Kaiser in seiner Dissertation.²⁷⁰

Da die im Rahmen der vorliegenden Arbeit zu synthetisierenden Glycopeptide sich durch eine hohe Säurestabilität auszeichnen sollten, wurde für die durchgeführten Festphasensynthesen häufig verwendetes Tentagel-Harz^{291,300} mit dem säurelabilen Trityl-Anker^{301,302} eingesetzt. Durch dessen Verwendung lässt sich eine häufige Nebenreaktion bei Peptidsynthesen nach der Fmoc-Strategie, die 2,5-Diketopiperazinbildung,³⁰³ wirksam unterdrücken. Dabei kann es im Verlauf der Fmoc-Abspaltung unter alkalischen Bedingungen auf der Stufe des Dipeptids zu einem intramolekularen Angriff der deblockierten Aminogruppe auf die Carbonylgruppe der Startaminosäure kommen, wodurch ein beträchtlicher Teil der wachsenden Peptidstränge verloren gehen kann. Durch den voluminösen Tritylanker wird die Diketopiperazinbildung sterisch effektiv unterbunden.

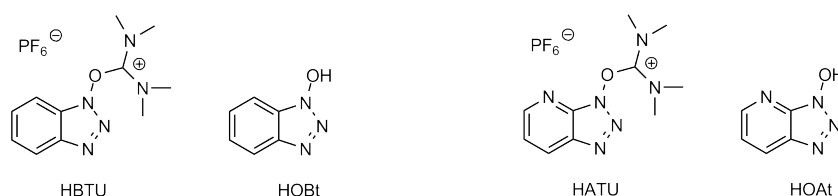


Abbildung 3.19: Verwendete Kupplungsreagenzien und Additive

Um bei der Kupplung die Aminosäuren *in situ* zu aktivieren, kann es eine breite Palette an möglichen Kupplungsreagenzien verwendet werden.^{304,305} Im Rahmen dieser Arbeit kommen die Uroniumsalze *O*-(Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HBTU)^{306,307} und *O*-(Azobenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HATU)^{308,309} zum Einsatz (Abb. 3.19). Diese sind sehr reaktiv und verursachen insbesondere bei Zusatz der

²⁹⁸ Rich, D. H.; Gurwara, S. K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1973**, 610.

²⁹⁹ Tjoeng, F. S.; Heavner, G. A. *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 355.

³⁰⁰ Bayer, E. *Angew. Chem.*, **1991**, 103, 117.

³⁰¹ Fyles, T. M.; Leznoff, C. C. *Can. J. Chem.*, **1976**, 54, 1328.

³⁰² Frechet, J. M.; Haque, K. E. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 16, 3055.

³⁰³ Rothe, M.; Mazánek, J. *Liebigs Ann. Chem.*, **1974**, 439.

³⁰⁴ Han, S.-Y.; Kim, Y.-A. *Tetrahedron*, **2004**, 60, 2447.

³⁰⁵ Albericio, F.; Chinchilla, R.; Dodsworth, D. J.; Najera, C. *Org. Prep. Proced. Int.*, **2001**, 33, 203.

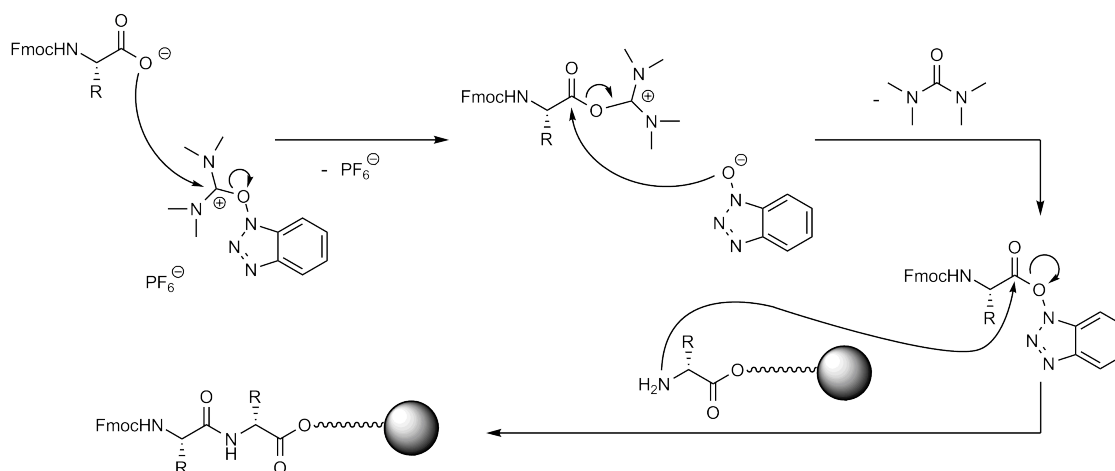
³⁰⁶ Dourtoglou, V.; Ziegler, J. C.; Gross, B. *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 1269.

³⁰⁷ Dourtoglou, V.; Gross, B.; Lambropoulou, V.; Zioudrou, C. *Synthesis*, **1984**, 572.

³⁰⁸ Carpino, L. A.; El-Faham, A.; Minor, C. A.; Albericio, F. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 201.

³⁰⁹ Carpino, L. A.; El-Faham, A.; Albericio, F. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 2279.

Additive 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt)³¹⁰ bzw. 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt)³¹¹ keine Racemisierung der zu kuppelnden Aminosäure (Abb. 3.19).



Schema 3.76: Peptidkupplung unter Verwendung von HBTU und HOBt als Additiv

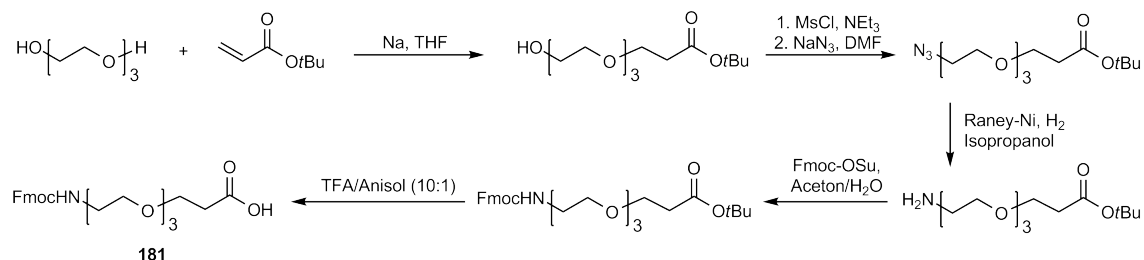
Mechanistisch gesehen erfolgt bei der Kupplung unter Verwendung von HBTU zunächst eine Deprotonierung der zu kuppelnden Aminosäure und des Additivs HOBt mit *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA). Das negativ geladene Sauerstoffatom des Carboxylats greift nun am Uroniumsalz HBTU an und deprotoniertes HOBt tritt aus. Dieses greift erneut am primär gebildeten *O*-Acyl-isouroniumsalz an und bildet einen reaktiven Ester, der nun von der freien Aminofunktion des an der festen Phase befindlichen Peptides unter Ausbildung der neuen Amidbindung angegriffen werden kann (Schema 3.76). Der mit HOBt gebildete Aktivester besitzt eine besonders hohe Reaktivität. Seine Bildung lässt sich durch Zusatz von HOBt als Additiv in der Kupplung stark beschleunigen, so dass eine schnelle Weiterreaktion zum Produkt erfolgt. Die Gefahr der Racemisierung der Carbonsäurekomponente kann dadurch entscheidend herabgesetzt werden.

Setzt man die 7-Aza-Analoga von HBTU und HOBt, HATU und HOAt als Kupplungsreagenzien in Verbindung mit *N*-Methylmorpholin (NMP) als Base ein, so gewinnt man nochmals an Reaktivität.³⁰⁸ Durch den zusätzlichen, elektronenziehenden Stickstoff im Ring, ist HOAt verglichen mit HOBt eine stärkere Säure und die deprotonierte Form entsprechend eine bessere Abgangsgruppe. Mechanistisch verläuft die Reaktion prinzipiell analog zu der Umsetzung mit HBTU. Einher mit der erhöhten Reaktivität geht auch eine dadurch nochmals verminderte Racemisierungsgefahr.

³¹⁰ Koenig, W.; Geiger, R. *Chem Ber.*, **1970**, *103*, 788.

³¹¹ Carpino, L. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 4397.

Als Spacereinheit hat sich der Triethylenglykolspacer **181** bewährt,^{268-270,312-315} der auch im Rahmen dieser Arbeit verwendet wird. Dieser ist selbst nicht immunogen und verändert die Konformation der Glycopeptide nicht. Die sechsstufige Synthese (siehe Schema 3.77) wurde nicht selbst durchgeführt, sondern die Substanzen wurden von *Sebastian Hartmann* und *Jochen Renkel* zur Verfügung gestellt.



Schema 3.77: Syntheschema des Triethylenglycol-Spacers **181**

Allgemeines Protokoll der automatisierten Peptid-Festphasensynthese

Alle Peptid-Festphasensynthesen im Rahmen dieser Arbeit wurden mit einem ABI-433A-Peptid-synthesizer der Firma *Applied Biosystems* nach der Fmoc-Strategie^{292,316,317} durchgeführt. Das Tentagel-Harz der Firma *Rapp Polymere* wird bereits mit Fmoc-geschütztem Alanin vorbeladen eingesetzt. Die Beladungskonzentration wird relativ niedrig gewählt (0.16-0.17 mmol/g), um eine eventuelle störende Beeinflussung der einzelnen Peptidstränge untereinander zu vermeiden.

Um eine eindeutige Verknüpfung zu gewährleisten, müssen die funktionellen Gruppen in den Seitenketten der Aminosäurebausteine orthogonal geschützt werden (Abb. 3.20).¹⁴⁶ Im Falle von Serin und Threonin werden die Hydroxylfunktionen als *tert*-Butylether maskiert und die Säurefunktion der Asparaginsäure als *tert*-Butylester geschützt.³¹⁸ Die Guanidino-Funktion der Arginin-Bausteine wird mit der Pbf-Schutzgruppe (2,2,5,7,8-Pentamethyl-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl) versehen und die Histidin-Seitenkette wird mit der maskierenden Trityl-Schutzgruppe eingesetzt. Da alle diese Gruppen säurelabil sind, können sie nach der Synthese zusammen mit der Abspaltung vom Harz in einem Schritt entfernt werden.⁹²

³¹² Seitz, O.; Kunz, H. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 813.

³¹³ Seitz, O.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **1995**, 107, 901.

³¹⁴ Johannes, M.; Hoffmann-Röder, A. *Chem. Comm.*, **2011**, 47, 9903.

³¹⁵ Gaidzik, Nikola. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2011.

³¹⁶ Meienhofer, J.; Waki, M.; Heimer, E. P.; Lambros, T. J.; Macofsky, R. C.; Chang, C. D. *Int J. Pept. Protein Res.*, **1979**, 13, 35.

³¹⁷ Meienhofer, J.; Chang, C. D. *Int J. Pept. Protein Res.*, **1978**, 11, 246.

³¹⁸ Anderson, G. W.; Callahan, F. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 3359.

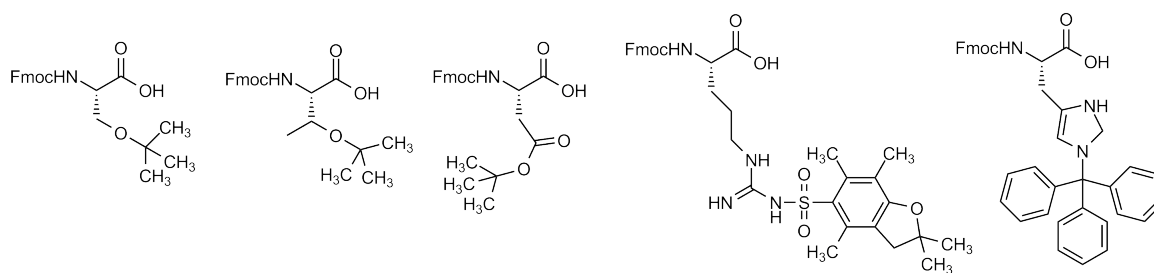


Abbildung 3.20: Serin-, Threonin-, Asparagin-, Arginin- und Histidin-Bausteine für die Festphasensynthese mit geeigneten Schutzgruppen

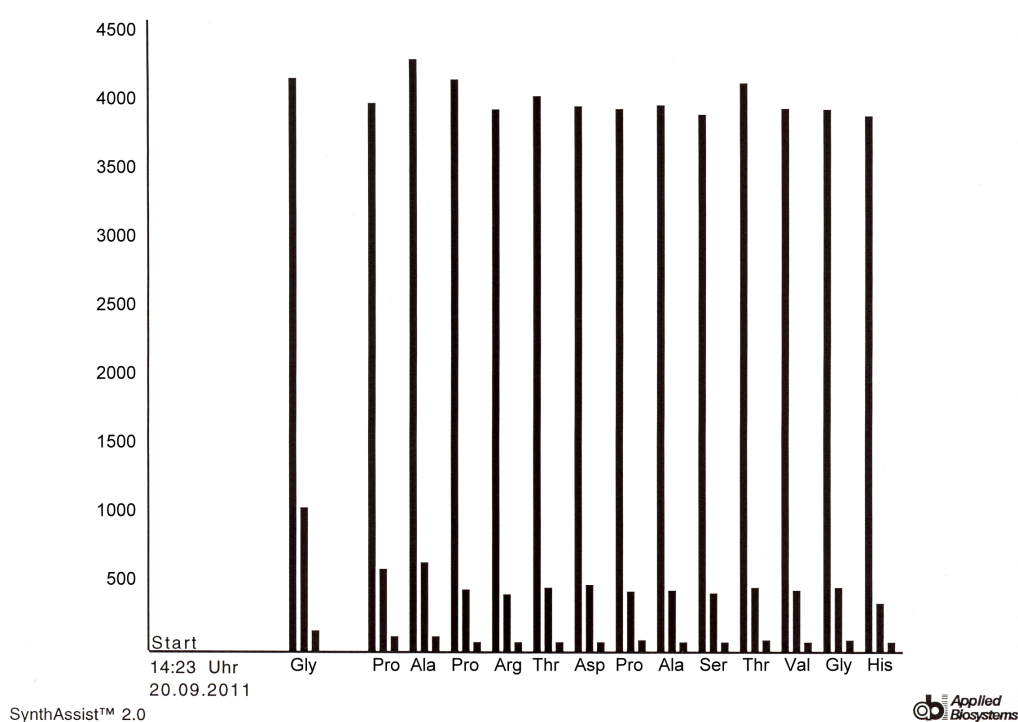


Abbildung 3.21: Fmoc-Abspaltprotokoll bei der Synthese einer Aminosäuresequenz

Bei jeder Aminosäure, die an den wachsenden Strang gekuppelt wird, wird der gleiche dreistufige Syntheszyklus durchlaufen. Dabei wird im ersten Schritt die an der Festphase angeknüpfte basenlabile Fmoc-Schutzgruppe durch 2.5-minütige Behandlung mit einer 20%-igen Lösung von Piperidin³¹⁹ in *N*-Methylpyrrolidin-2-on entfernt. Dabei bildet sich ein Addukt aus dem gebildeten Dibenzofulven und Piperidin, welches durch Messung der UV-Absorption der Abspaltlösung bei $\lambda = 301$ nm quantifiziert werden kann. Auf diese Art und Weise kann die Vollständigkeit des Abspaltvorgangs überprüft werden. Erst wenn nach einem erneuten Behandlungszyklus des Harzes mit der Abspaltlösung das UV-Signal sich nicht mehr um über 10% vom vorigen Wert unterscheidet,

³¹⁹ Ferrari, B.; Pavia, A. A. *Tetrahedron*, **1985**, *41*, 1939.

det, geht der Automat zum nächsten Schritt über (vgl. Abb. 3.21).

Im zweiten Schritt erfolgt die Kupplung der Aminosäure (0.1 mmol) mit den Kupplungsreagenzien HBTU (0.1 mmol) und HOBt (0.1 mmol) sowie *Hünigs*-Base (0.2 mmol) in *N,N*-Dimethylformamid. Die Reaktion dauert etwa 15 Minuten, wobei bei problematischen Kupplungen zur Steigerung des Umsatzes das Harz nach einem Waschschrift auf analoge Weise nochmals mit der identischen Kupplungsmischung behandelt wird (Doppelkupplung). Bei den Kupplungen der Glycosylaminoäurebausteine und des Spacers werden die reaktiveren Reagenzien HATU und HOAt in Verbindung mit *N*-Methylmorpholin als Base mit einer verlängerten Reaktionsdauer von 8 Stunden verwendet. Als Lösungsmittel kommt in diesem Fall *N*-Methylpyrrolidin-2-on zum Einsatz.

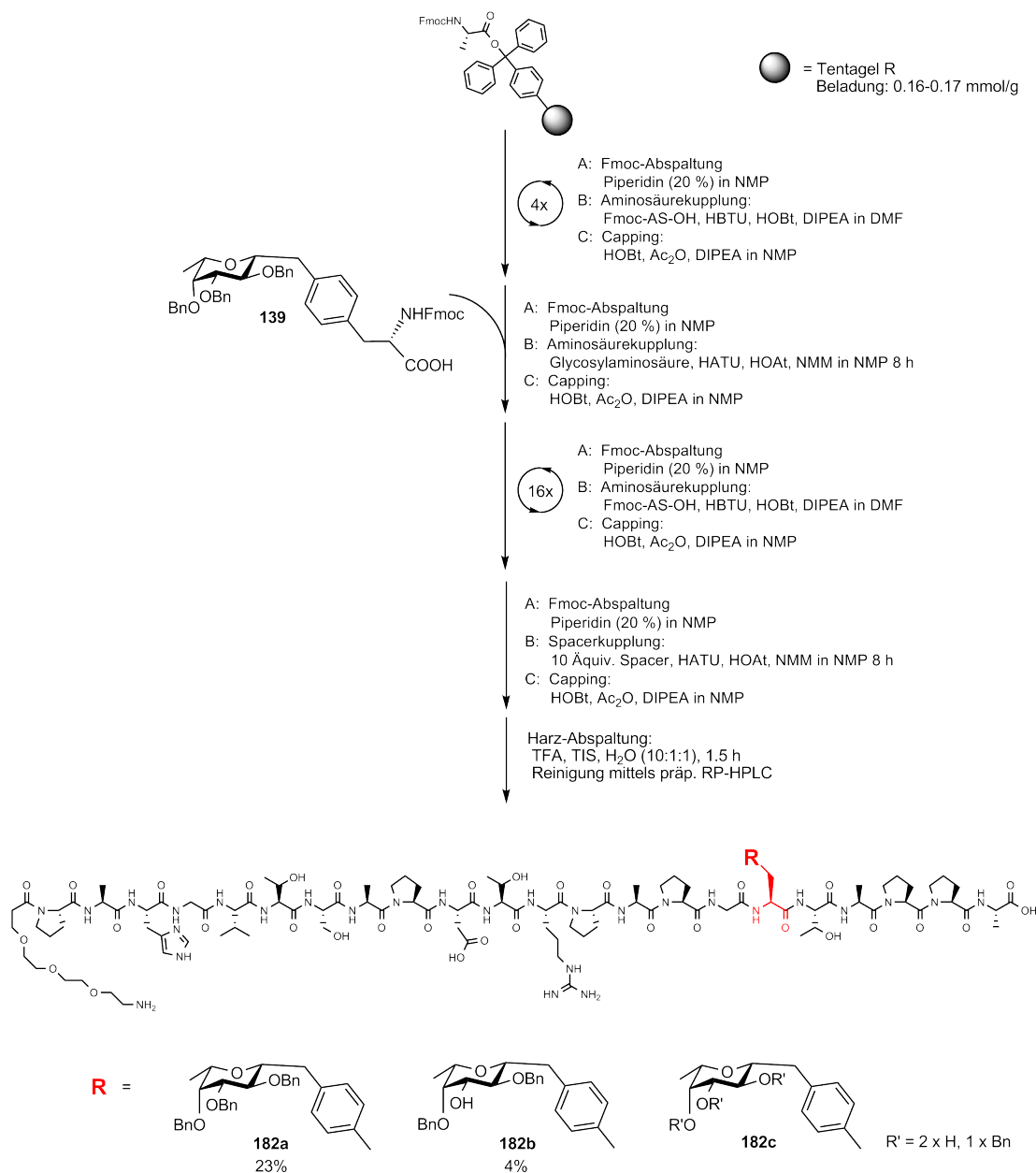
Um die Bildung von Fehlsequenzen zu vermeiden, wird nach jeder Kupplung ein Capping-Schritt durchgeführt. Dabei werden unumgesetzte Aminofunktionen durch 5-minütige Behandlung mit Capping-Reagenz (Acetanhydrid, *Hünigs*-Base und HOBt) acetyliert. Zur Gewährleistung einer optimalen Durchmischung der Reaktionsmischung, wird der Reaktor jeweils während der Reaktion stark geschüttelt (Vortex).

Durch Wiederholung dieser drei aufeinanderfolgenden Syntheseschritte für jeden einzubauenden Aminosäurerest wird das gewünschte Glycopeptid am festen Träger aufgebaut. Nach beendeter Synthese wird das Harz zusätzlich mit Dichlormethan gewaschen und im Stickstoffstrom getrocknet. Das trockene Harz kann zur weiteren Behandlung in einen *Merrifield*-Festphasenreaktor überführt werden.

Um später in biologischen Tests eine Aussage über die Rolle der glycosylierten Aminosäure in der Partialsequenz treffen zu können, werden die drei verschiedenen *C*-Glycosyl-Tyrosin-Bausteine **139**, **145** und **163** in eine zu den von *N. Gaidzik*⁹³ beschriebenen Glycopeptiden analoge Peptidsequenz eingebaut. Diese besteht aus 22 Aminosäuren, wobei bereits sehr früh in der Festphasensynthese der Glycosylaminoäurebaustein eingefügt wird (Schemata 3.78 und 3.79).

Aus sterischen Gründen schwer zu kuppelnde Aminosäurebausteine, werden jeweils in einer Doppelkupplung angefügt. Dabei handelt es sich um den Alanin-Baustein, der auf die beiden Proline folgt (Ala¹⁹) und das Glycin nach der Kupplung des Glycosylaminoäurebausteins (Gly¹⁶). *C*-Glycosylaminoäure und Spacer werden wie beschrieben mit verlängerter Reaktionszeit und den aktiveren Reagenzien gekuppelt. Nach Abschluss der Synthese wird eine Abspaltung von Harz in einer Mischung aus Trifluoressigsäure/Wasser/Triisopropylsilan im *Merrifield*-Reaktor vorgenommen.

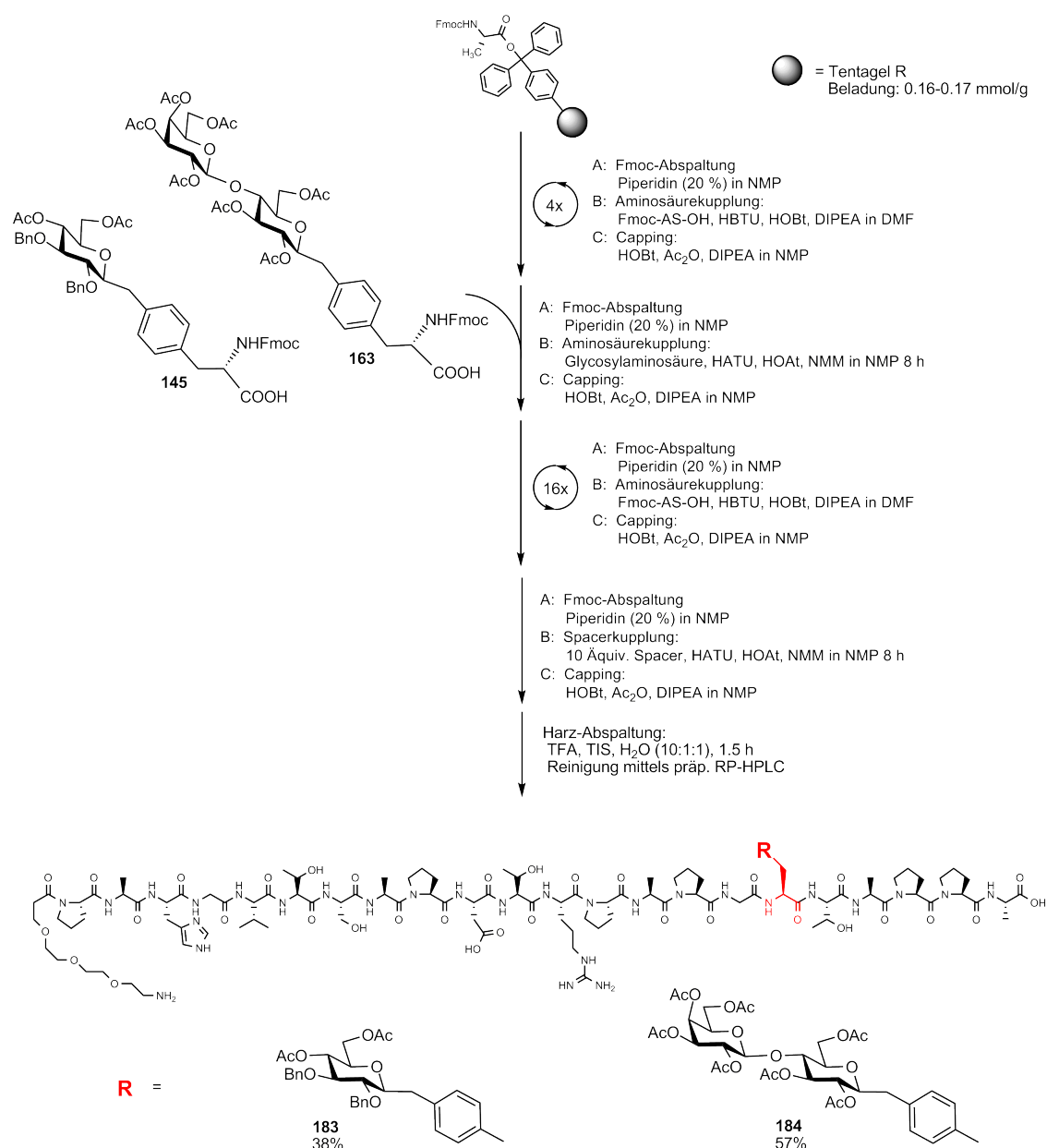
Nach RP-HPLC kann man im Falle des Peptides mit dem Fucosebaustein das Produkt **182a** in einer Ausbeute von 23% erhalten. Darüber hinaus lässt sich eine weitere Produktfraktion isolieren, bei der in Position 3 des Glycosids die Benzylgruppe unter den Bedingungen der Harzabspaltung verloren gegangen ist. Im HMBC-Spektrum von Verbindung **182b** ist trotz der vielen Signale klar erkennbar, dass lediglich für C-3 kein Crosspeak mehr zu einer CH₂-Gruppe eines Benzylethers mehr existiert. Eine weitere Fraktion enthält ein Nebenprodukt (**182c**) mit zwei fehlenden



Schema 3.78: Peptidsynthese mit dem Fucosebaustein **139**

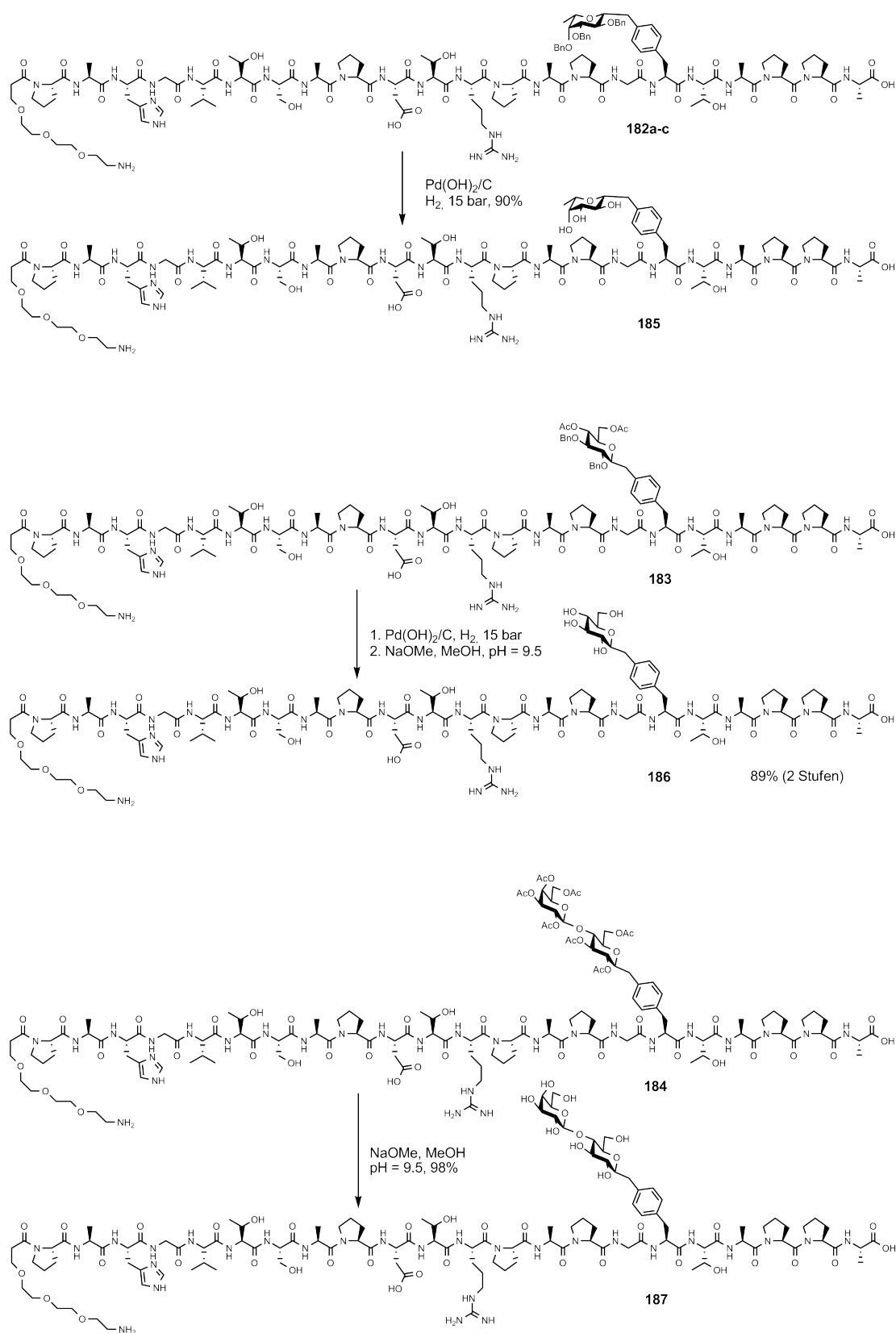
Benzylgruppen, was sich massenspektroskopisch nachweisen lässt. Da im Anschluss ohnehin die Benzylgruppen hydrogenolytisch entfernt werden, kann man diese drei Produktfraktionen wieder vereinen. Auch die Glycopeptide **183** und **184** lassen sich nach der Synthese mittels RP-HPLC isolieren. Die Ausbeuten liegen dabei bei 38% im Falle des Glucose enthaltenden Produktes bzw. 57% für das Lactose tragende Peptid.

Im Anschluss an die erfolgten Peptidsynthesen werden die Schutzgruppen der Kohlenhydratseitenketten entfernt. Im Falle der Benzylether gelingt dies durch Hydrierung in Methanol unter Verwendung des *Pearlman*-Katalysators. Dabei wird wiederum unter erhöhtem Druck gearbei-



Schema 3.79: Peptidsynthesen mit den Bausteinen **145** und **163**

tet, damit es nicht zu Kontaktproblemen zwischen dem heterogenen Katalysator in der Lösung und der Gasphase kommt. Die Deacetylierungen werden wie schon zuvor unter *Zemplén*-Bedingungen mit Natriummethanolat in Methanol durchgeführt. Dabei kommt es beim Lactose-Derivat **184** mit fortschreitender Reaktion zur Eintrübung der methanolischen Lösung. In diesem Fall wird der Reaktionsmischung etwas Wasser zugesetzt und die Reaktionslösung weitergerührt. Die Ausbeuten liegen für die komplette Deblockierung bei 90% für das Fucose- (**185**), 89% für das Glucose- (**186**) und 98% für das Lactose-Derivat (**187**).



Schema 3.80: Entfernung der Schutzgruppen zu den Peptiden *MUC1(22)Tyr¹⁷cFuc-Spacer (185)*, *MUC1(22)Tyr¹⁷cGlc-Spacer (186)* und *MUC1(22)Tyr¹⁷cLac-Spacer (187)*

3.11 Biologische Evaluierung der MUC1-Glycopeptide

Die so erhaltenen Glycopeptide könnte man weiter zu vollsynthetischen Vakzinen umsetzen. Wie in der Arbeitsgruppe Kunz bereits häufig angewandt, lässt sich dies über die gezielte *N*-terminale Derivatisierung mit einem Quadratsäurediester nach *Tietze et al.* realisieren.³²⁰⁻³²⁴ Bringt man die freie Aminofunktion des Glycopeptides mit Quadratsäurediethylester in Pufferlösung von pH 8 zur Reaktion, so bildet sich zunächst das Monosquarat, welches dann bei pH 9 mit den Lysinseitenketten des verwendeten Carrier-Proteins reagieren kann (Schema 3.81). Die so erhaltenen Vakzine können im Tierversuch zur Immunisierung von Mäusen eingesetzt werden. Dabei rufen die Konjugate eine Immunantwort hervor, die letztendlich zur Produktion von Antikörpern führt, welche selektiv auf bestimmte Strukturelemente des verwendeten Vakzins reagieren.^{270,315} So zeigte sich bei der Vakzinierung von Mäusen mit den TTox-Konjugaten MUC1(22)-Thr¹⁸ST_N-TTox und MUC1(22)-Ser¹⁷ST_N-TTox beispielsweise eine Produktion von Antikörpern, die selektiv an Brusttumorgewebe binden. Diese so erreichte Differenzierung zwischen gesunden und kranken Zellen durch das Immunsystem könnte bei Krebspatienten eine aktive Immunisierung gegen ihr eigenes Tumorgewebe erlauben.⁹³

Die Selektivität der so generierten Antikörper, also die Güte, mit der diese die künstlichen Strukturen gegenüber anderen erkennen, lässt sich in einem ELISA-Experiment in Kombination mit einer vorherigen Neutralisierung der Antikörper durch strukturähnliche Peptide testen. Hierbei wurden Seren mit Antikörpern untersucht, die mit drei verschiedenen Vakzinen aus der Arbeitsgruppe *Kunz* erzeugt wurden.

1. MUC1(20)-Thr⁶T-TTox
2. MUC1(22)-Thr¹⁸ST_N-TTox
3. MUC1(22)-Ser¹⁷ST_N-TTox

Das ELISA-Experiment beruht darauf, dass das zur Immunisierung verwendete Antigen als BSA-Konjugat auf eine Mikrotiterplatte aufgebracht wird (Abb. 3.22). Dieses wird anschließend mit den im Serum der Mäuse enthaltenen Primärantikörpern inkubiert, wodurch diese die Struktur auf der Platte erkennen und daran binden sollten. Um diese Bindung zu visualisieren, wird anschließend

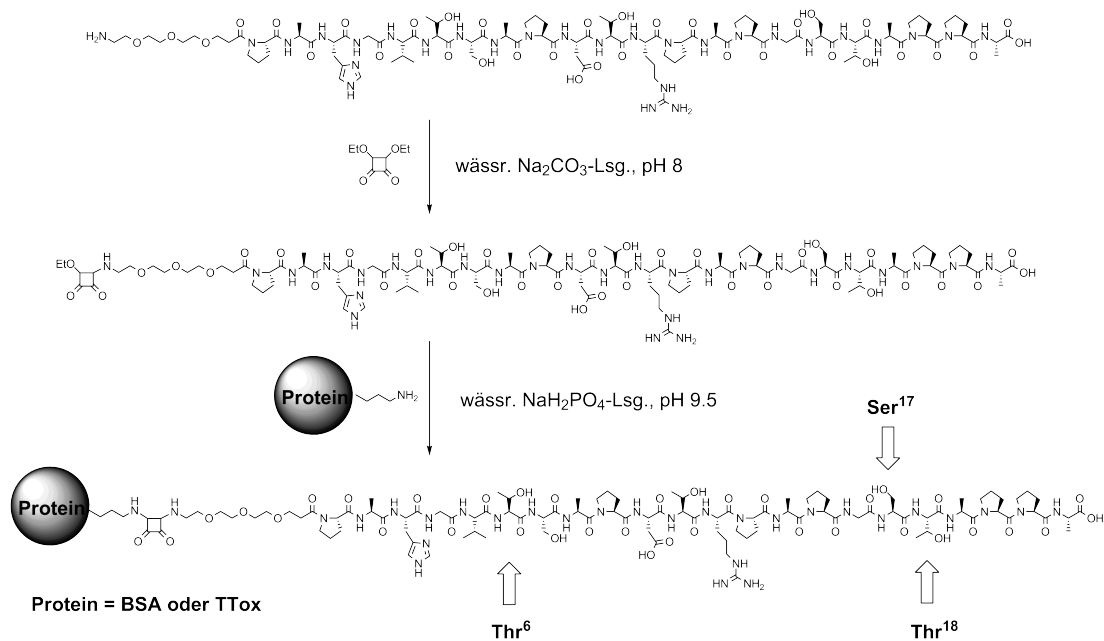
³²⁰ Tietze, L. F.; Arlt, M.; Beller, M.; Glüsenkamp, K.-H.; Jähde, E.; Rajewsky, M. F. *Chem. Ber.*, **1991**, *124*, 1215.

³²¹ Tietze, L. F.; Schröter, C.; Gabius, S.; Brinck, U.; Goerlach-Graw, A.; Gabius, H.-J. *Bioconjugate Chem.*, **1991**, *2*, 148.

³²² Spjut, S.; Pudielko, M.; Hartmann, M.; Elofsson, M. *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 349.

³²³ Dziadek, S.; Kowalczyk, D.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **2005**, *117*, 7798.

³²⁴ Trap, M. A.; Sørensen, A. L.; Mandel, U.; Paulsen, H.; Burchell, J.; Taylor-Papadimitriou, J.; Clausen, H. *Glycobiology*, **2007**, *17*, 197.



Schema 3.81: *Verwendete T- und ST_N-Glycopeptide - die Immunisierungen wurden mit den jeweiligen TTox-Konjugaten durchgeführt, die ELISA-Platten mit den BSA-Konjugaten gecoatet. Die Glycosylierungsstellen sind hervorgehoben*

ein Sekundärantikörper aufgebracht, der an den Primärantikörper bindet. Da der Primärantikörper ein Mausantikörper ist, wird als Sekundärantikörper ein biotinylierter Anti-Maus-Antikörper eingesetzt.

Der nächste Schritt ist nun die Inkubation mit Meerrettichperoxidase-funktionalisiertem Streptavidin, welches an Biotin bindet. Nach Zugabe farbloser 2,2-Azino-bis-3-ethylbenz-thiazolin-6-sulfonsäure (ABTS) und Wasserstoffperoxid katalysiert die Meerrettichperoxidase (HPO) die Bildung des grünen Radikalkations des ABTS, welches photometrisch bei einer Wellenlänge von $\lambda = 414 \text{ nm}$ bestimmt werden kann.

Die ELISA-Versuche wurden von *N. Gaidzik* nach folgendem, in ihrer Dissertation³¹⁵ beschriebenen Verfahren durchgeführt:

1. Aufbringen der Beschichtung (Coat) (50 μL /Well)

Es werden je 50 μL Substrat in Coating-Puffer (2.5 - 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) in jedes Loch (Well) der Mikrotiterplatte gegeben. Es wird über Nacht im Kühlschrank oder 60 min bei 37 °C inkubiert.
2. Die Mikrotiterplatten werden dreimal mit Wasch-Puffer gewaschen.
3. Blocken (100 μL /Well)

Es werden je 100 μL Blockpuffer in jedes Loch (Well) der Mikrotiterplatte gegeben. Es wird 30 min bei 37 °C inkubiert.

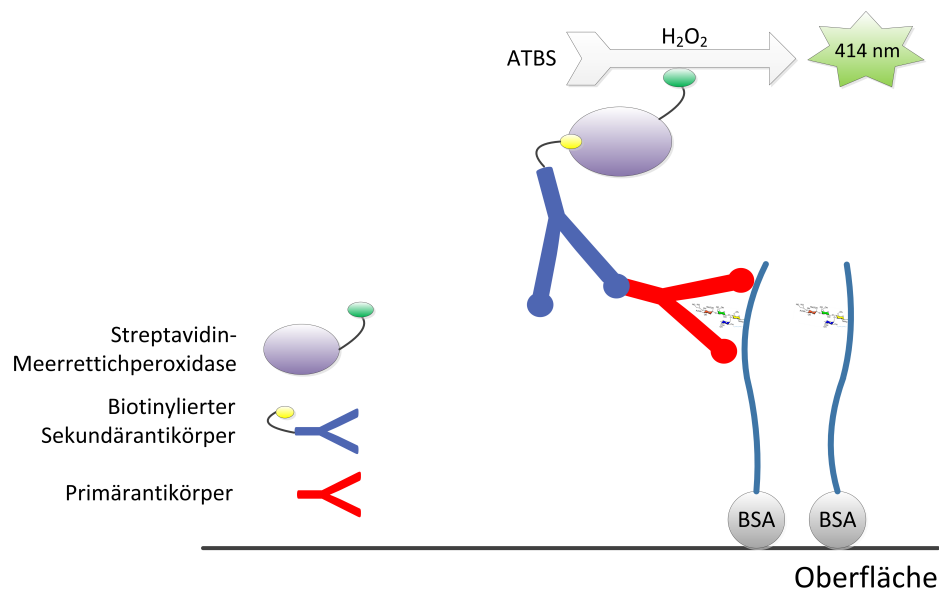


Abbildung 3.22: Farbreaktion bei einem ELISA-Experiment

4. Die Mikrotiterplatten werden ausgeklopft.

5. Titration der Seren (50 μ L/Well)

Es wird je 50 μ L Blockpuffer in jedes Loch (Well) der Mikrotiterplatte vorgelegt. Dann werden jeweils in das erste Loch (Well) einer Reihe 50 μ L vorverdünntes Serum zugegeben und dieses im Verhältnis 1:2 verdünnt. Es wird 60 min bei 37 °C inkubiert.

6. Die Mikrotiterplatten werden dreimal mit Wasch-Puffer gewaschen.

7. Sekundärantikörper (50 μ L/Well)

Es werden jeweils 50 μ L Sekundärantikörper in Blockpuffer (laut angegebener Verdünnung) in jedes Loch (Well) der Mikrotiterplatte gegeben. Es wird 60 min bei 37 °C inkubiert.

8. Die Mikrotiterplatten werden dreimal mit Wasch-Puffer gewaschen.

9. SA-HPO (50 μ L/well)

Es werden jeweils 50 μ L Streptavidin-Meerrettichperoxidase (SA-HPO) in Blockpuffer (Verdünnung 1/10.000) in jedes Loch (Well) der Mikrotiterplatte gegeben. Es wird 30 min bei 37 °C inkubiert.

10. Die Mikrotiterplatten werden dreimal mit Wasch-Puffer gewaschen.

11. ABTS/ H_2O_2 (50 μ L/Well)

Es werden jeweils 50 μ L einer Lösung aus ABTS (1 mg/mL) und Wasserstoffperoxid (30%-

ig, 1/4.000fach verdünnt) in Citratpuffer in jedes Loch (Well) der Mikrotiterplatte gegeben. Nach 5 -10 min wird die optische Dichte bei 410 nm ausgemessen.

Mit dem ELISA-Experiment wird eine Kombination aus Konzentration und Bindungsaffinität des Antikörpers an das auf der Platte aufgetragene und damit immobilisierte Konjugat bestimmt. Die Spezifität, mit der der Antikörper dieses und keine anderen, ähnlichen Verbindungen erkennt, kann in einem Neutralisation-ELISA-Experiment ermittelt werden. Dieses läuft prinzipiell genau so ab, wie das normale ELISA-Experiment, jedoch erfolgt vor der Zugabe des Antikörpers zu dem immobilisieren Konjugat eine Inkubation mit dem zu testenden Glycopeptid. Zu diesem Zweck werden dreimal vier (1:2)-Verdünnungsstufen des Serums hergestellt, so dass im Anschluss an die Versuche ein Mittelwert für jede Verdünnungsstufe gebildet werden kann. Zu den verdünnten Seren werden die entsprechenden Glycopeptide gegeben und die Lösungen nach erfolgter Inkubation auf die vorbereitete ELISA-Platte übertragen. Danach wird das ELISA-Experiment normal fortgeführt. Die Konzentration der Neutralisierungs-Peptide beträgt 100 µg/mL.

Ansetzten der Neutralisierungslösungen:

Es werden je 40 µL PBS mit 0.1% BSA in jedes Loch (Well) der Flachbodenplatte vorgelegt. Das vorverdünnte Serum wird zugegeben und zunehmend verdünnt (Standard 1:2 oder 1:3). Es werden je 10 µL der neutralisierenden Substanz ($c_{\text{end}} = 10\text{-}100 \mu\text{g/mL}$) zugegeben. Es wird 60 min bei 37 °C inkubiert.

Durchführung ELISA:

1. Aufbringen des Coats (50 µL/Well)

Es werden je 50 µL Substrat in Coating-Puffer (2.5-10 µg/mL) in jedes Loch (Well) der Mikrotiterplatte gegeben. Es wird über Nacht im Kühlschrank oder 60 min bei 37 °C inkubiert.

2. Die Mikrotiterplatten werden dreimal mit Wasch-Puffer gewaschen.

3. Blocken (100 µL/Well)

Es werden je 100 µL Blockpuffer in jedes Loch (Well) der Mikrotiterplatte gegeben. Es wird 30 min bei 37 °C inkubiert.

4. Die Mikrotiterplatten werden ausgeklopft.

5. Es wird die Neutralisierungslösung eins zu eins auf die ELISA-Mikrotiterplatte übertragen. Es wird 60 min bei 37 °C inkubiert.

6. Die Punkte 6 Bis 11 des Standard-ELISA-Protokolls werden durchgeführt.

Bindet das untersuchte Glycopeptid an den Antikörper in der Neutralisationslösung, so blockiert dieses die mögliche Bindung des Antikörpers an die immobilisierte Substanz und das letztlich detektierte Farbsignal verliert an Intensität. Um eine verlässliche Aussage über die Bindungsspezifität des Antikörpers treffen zu können, muss man die Neutralisationsexperimente mit Blick auf die Referenzwerte interpretieren. Zum einen bezüglich des Farbsignals ohne gecoatetes Konjugat als der Negativkontrolle, dann in Relation zum Referenzwert ohne Neutralisation, also mit maximal verfügbarer Antikörperkonzentration zur Bindung an die immobilisierten BSA-Konjugate und schließlich in Bezug auf die Daten, die aus den Neutralisationsexperimenten gewonnen werden, die mit den Glycopeptidstrukturen durchgeführt werden, mit denen auch die Immunisierung erfolgte. Im Normalfall sollte bei letzteren die Erkennung natürlich am größten sein und die Bindungs-Linie am niedrigsten liegen.

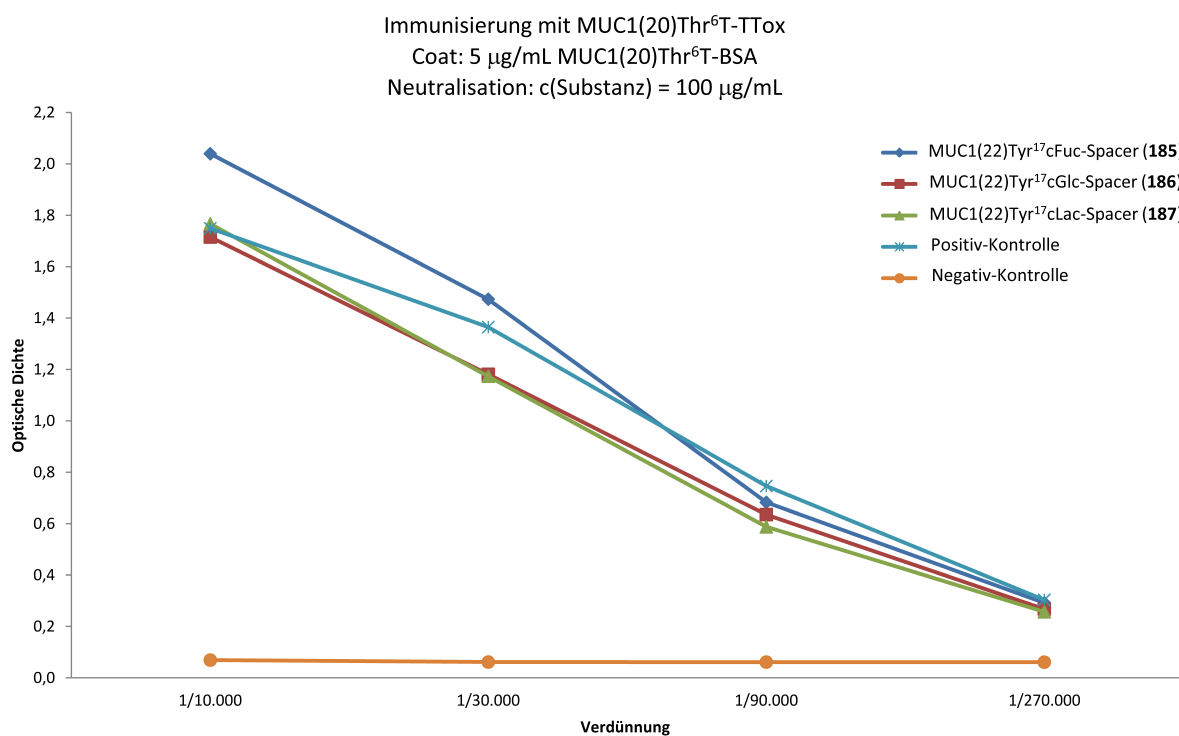


Abbildung 3.23: Neutralisations-ELISA-Experiment mit Serum 1

Betrachtet man das Neutralisations-ELISA für Serum 1, so erkennt man nur eine geringe Wirkung der drei getesteten C-Glycopeptide **185**, **186** und **187**. Die Farbintensität ändert sich gegenüber der Positiv-Kontrolle nur wenig, so dass kaum eine Bindung zwischen Antikörper und den Neutralisations-Substanzen zu erfolgen scheint (Abb. 3.23). Dies ist aufgrund der doch sehr unterschiedlichen Strukturen von Vakzin²⁸⁴ und den drei Glycopeptiden nicht überraschend. Nicht nur die Länge der Aminosäuresequenz (20 bzw. 22) unterscheidet sich hierbei, sondern auch die Glycosylierungsstelle liegt komplett an einer anderen Stelle im Molekül.

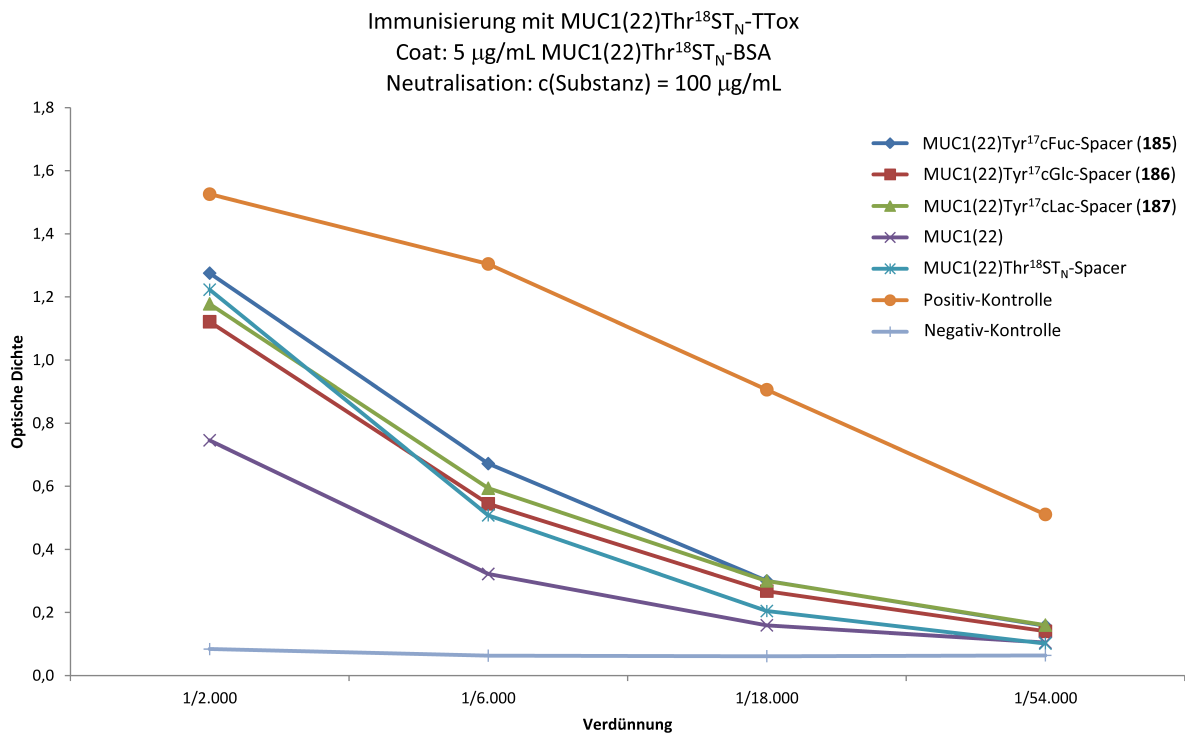


Abbildung 3.24: Neutralisations-ELISA-Experiment mit Serum 2

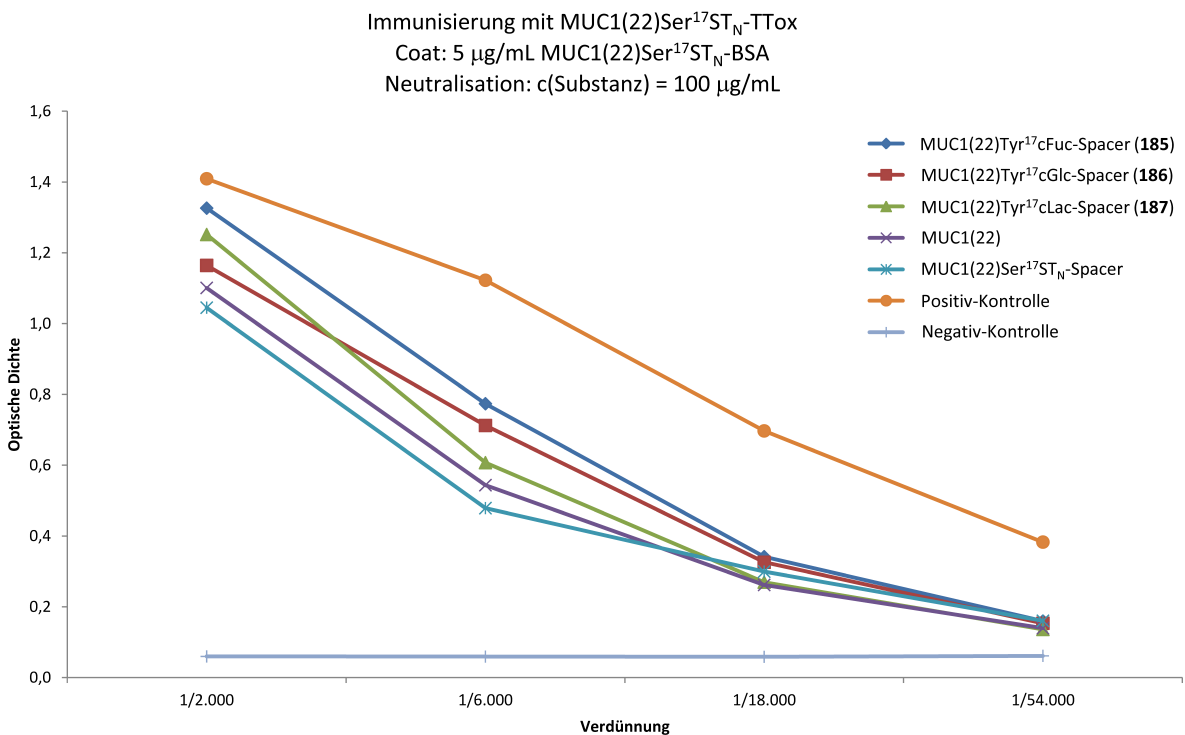


Abbildung 3.25: Neutralisations-ELISA-Experiment mit Serum 3

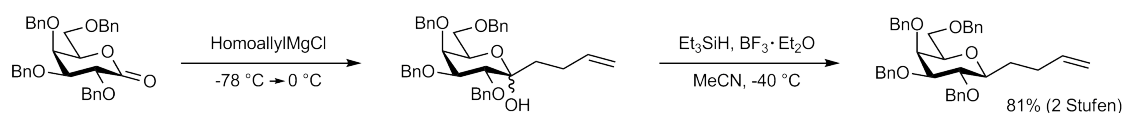
Bei Versuchsreihe 2 (Abb. 3.24) mit dem Serum, welches in der Peptidsequenz übereinstimmt, die Glycosylierungsstelle aber um eine Position verschoben ist, zeigt sich schon eine größere Affinität der C-Glycopeptide zu den Anti-MUC1-Antikörpern. Die Linien liegen deutlich unter den Werten, die ohne Neutralisation erzielt werden. Es findet also eine Erkennung statt, die sogar auf dem Niveau der Glycopeptidstruktur liegt, mit der auch immunisiert wurde. Allerdings erkennt man, dass bei allen Glycopeptiden die Intensitätsabnahme nicht so stark ausfällt wie bei der Neutralisierung mit der unglycosylierten MUC1-Sequenz, so dass man annehmen muss, dass die Erkennung zwischen Antikörper und (Glyco)-Peptid in diesem Fall vor allem auf der Erkennung der zugänglichen Peptidsequenz beruht.

Ebenfalls gute Ergebnisse im Rahmen der Neutralisationen zeigen sich, wenn wie in Versuchsreihe 3 (Abb. 3.25) sowohl Aminosäuresequenz also auch Glycosylierungsstelle übereinstimmen. Auch hier liegen die erzielten Werte im Rahmen der Messgenauigkeit nahezu auf dem Niveau der in der Immunisierung verwendeten Glycopeptidstruktur. Wiederum zeigt sich auch im Fall der unglycosylierten MUC1-Sequenz eine deutliche Intensitätsabnahme. Aus den Versuchsreihen lässt sich schließen, dass die Art des angeknüpften Kohlenhydrats bei der Erkennung durchaus eine Rolle spielt, allerdings nicht so schwer ins Gewicht fällt wie die Veränderung der Peptidsequenz oder der Glycosylierungsposition.

Zudem ist nicht auszuschließen, dass die Tatsache, dass die unglycosylierte MUC1-Sequenz eine gute Bindung an die Antikörper zeigt, daher rührt, dass im Organismus eine schnelle Abspaltung des Glycosylrestes erfolgt und anschließend eine Antikörperproduktion auch gegen die unglycosylierte Struktur erfolgt. In weiterführenden Experimenten wäre es daher von besonderem Interesse, die Synthesen der C-Glycosyl-Peptide **185**, **186** und **187** zu vollsynthetischen Vakzinen auszubauen und diese stabilen Konstrukte in Immunisierungsversuchen anzuwenden.

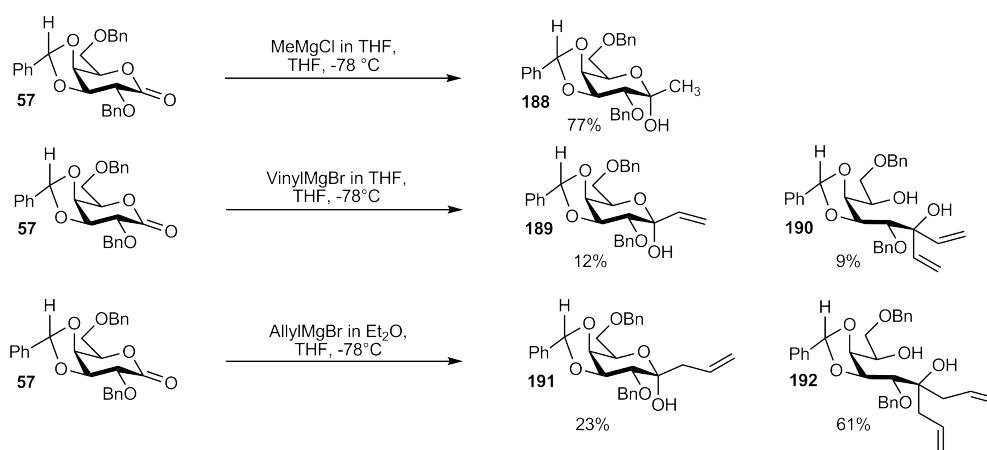
3.12 Weitere Versuche zur C-Glycosidsynthese

Über die bislang beschriebenen Versuche hinaus wurde auch nach Wegen gesucht, die erarbeitete Hydroborierung-Kreuzkupplung-Methodik auf andere Strukturen auszudehnen. Beispielsweise ließen sich durch Verwendung von *C*-Vinyl- oder *C*-Allylglycosiden in der Kupplung mit den gleichen Aminosäurepartnern *C*-Glycosylaminosäuren mit längeren Ketten darstellen. In der Literatur sind bereits Möglichkeiten beschrieben worden, solche ungesättigten *C*-Glycoside zu synthetisieren. So können beispielsweise *C*-Allylreste in α -Orientierung wie bei *S. Wittrock*²⁴⁴ in einer *Keck*-Allylierung über ein Zinnorganyl oder unter saurer Aktivierung mit Allyltrimethylsilan³²⁵ eingefügt werden.



Schema 3.82: Synthese eines β -*C*-Glycosids nach Gustafsson

β -Orientierte *C*-Glycoside lassen sich dagegen beispielsweise durch die Addition einer Grignardverbindung an ein Lacton und anschließende ionische Hydrierung erhalten.^{238,326} Dabei sind die Reaktionsbedingungen der ionischen Hydrierung unter Verwendung von aktivierender Säure und Hydridüberträger die gleichen wie bei einer regioselektiven Acetalöffnung (Schema 3.82).^{326,325} Daher wurde zunächst dieser Reaktionsweg versucht, da sich unter den Bedingungen des zweiten Reaktionsschrittes eventuell zwei Stufen in einer realisieren lassen könnten.



Schema 3.83: Addition von Grignardverbindungen an Lacton 57

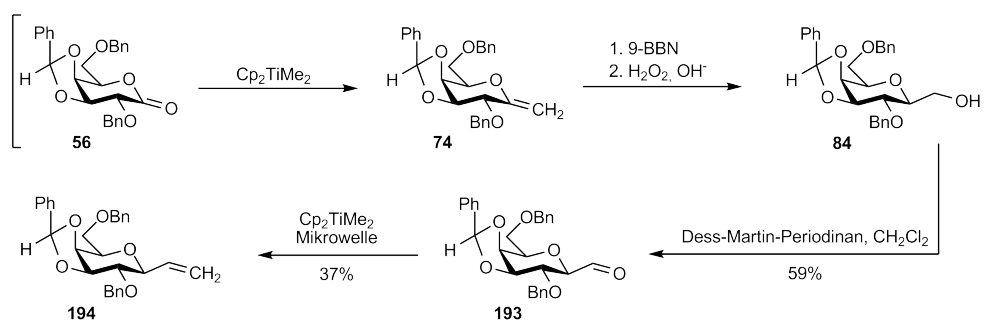
³²⁵ Beignet, J.; Tiernan, J.; Woo, C. H.; Kariuki, B. M.; Cox, L. R. *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 6341.

³²⁶ Kihlberg, J.; Wellner, E.; Gustafsson, T.; Bäcklund, J. *ChemBioChem*, **2000**, *1*, 272.

Zu Testzwecken wird daher in THF bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ Zucker-Lacton **57** mit verschiedenen Grignardverbindungen umgesetzt (Schema 3.83). Dabei zeigt sich im Falle des Methylmagnesiumchlorides (3M in THF) die ausschließliche Bildung eines Produktes (**188**), während die Reaktionen mit Vinyl- (in THF) und Allyl-magnesiumbromid (in Diethylether) zu zwei Produkten führen. Hier wird scheinbar das intermediär gebildete Halbacetal gespalten und der Pyranosering geöffnet. Am offenkettigen Aldehyd kann dann eine Weiterreaktion zum divinylierten oder diallylierten Produkt erfolgen. Dies ähnelt den Ergebnissen, der Lactonreduktion mit DIBAL unter Verwendung gut und schlecht koordinierender Lösungsmittel, die ebenfalls entweder zum zyklischen Acetal oder zum komplett reduzierten Alkohol verlaufen können. Die Bildung der diallylierten **192** und der divinylierten Produkte **190** könnte sich in diesem Fall durch die Wahl eines unpolaren Lösungsmittels vermeiden lassen.

Sollte sich dies bestätigen, so wäre es interessant zu untersuchen, wie sich die Bausteine **188**, **189** und **191** unter den Bedingungen einer ionischen Hydrierung, beispielsweise mit Triethylsilan und Trifluoressigsäure unter den erprobten Durchflussbedingungen verhalten.

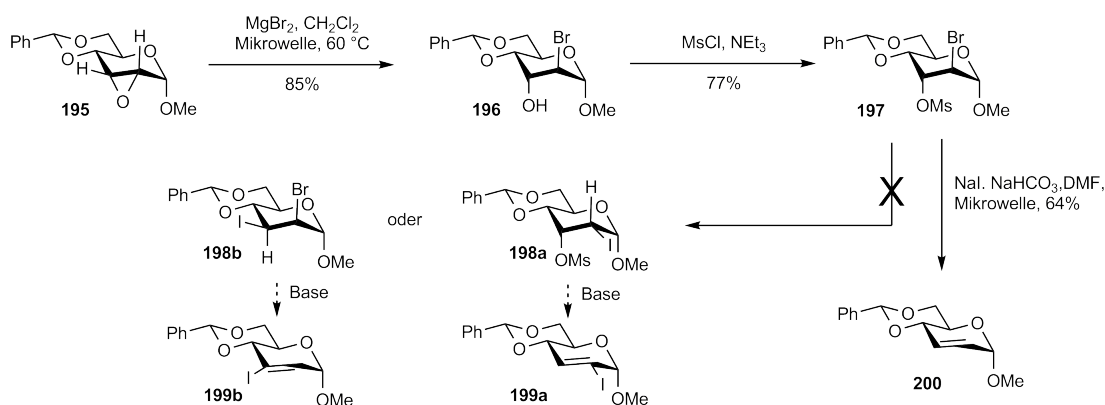
Ein anderer Weg, zu homologen Verbindungen zu gelangen, ist in Schema 3.84 dargestellt. In dem iterativen Verfahren erfolgt zunächst eine Olefinierung des Lactons **56**. Dieses kann hydroboriert und oxidiert werden, wie in den vorigen Kapiteln bereits beschrieben. Man erhält den β -orientierten Alkohol **84**, der mit Dess-Martin-Periodinan in Dichlormethan in einer Ausbeute von 59% zu Aldehyd **193** oxidiert werden kann. Dieser kann nun wiederum in einer Petasis-Olefinierung methyleniert werden, wodurch man das Vinylglycosid **194** in einer Ausbeute von 37% erhält. Theoretisch ist dieser iterative Ansatz also möglich, jedoch über mehrere Kohlenstoff-Verlängerungen hinweg zu wenig ergiebig.



Schema 3.84: Iterativer Ansatz zur Kettenverlängerung

In einem letzten Teilprojekt sollte versucht werden, ein Vinyl-Halogenid eines Kohlenhydrates zu synthetisieren, sodass bei einer Suzuki-Kupplung ein C-glycosidisch verknüpftes Disaccharid entstehen sollte (Schema 3.85). Dazu wurde Verbindung **195**, die im organisch-chemischen Fortge-

schrittenpraktikum in 4 Stufen synthetisiert worden war, mit Magnesiumbromid³²⁷ in einer mikrowellenunterstützten Reaktion umgesetzt und das Epoxid so nach *Fürst-Plattner*¹³³ trans-diaxial unter Bildung des *Z*-Brom-altrosids **196** geöffnet. Anschließend wurde durch Reaktion mit Methansulfonsäurechlorid das Mesylat **197** gebildet.



Schema 3.85: Syntheseversuch eines kohlenhydratbasierten Vinyl-Halogenides

Nun sollte durch nucleophile Substitution entweder des Bromids (zu **198a**) oder des Mesylates (zu **198b**) ein äquatorial stehender Iod-Substituent eingeführt werden. Anschließend sollte ein Wasserstoffatom in der richtigen Orientierung für eine β -Eliminierung zu finden sein, so dass man entweder Vinylhalogenid **199a** oder **199b** erhalten sollte. Bei der Umsetzung mit Natriumiodid unter Mikrowelleneinwirkung kommt es aber nicht zu der gewünschten Substitution, sondern zu einer Eliminierung unter Bildung des Enosids **200**. Leider konnte also auf diesem Weg kein geeigneter Kupplungsbaustein erhalten werden. Auch hier sind weiterführende Untersuchungen erforderlich.

³²⁷ Wise, W. S.; Wiggins, L. F.; Richards, G. N. *J. Chem. Soc.*, **1956**, 496.

4 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Synthese von C-Glycosylaminosäuren mit Kohlenhydratseitenketten unterschiedlicher Komplexität. Diese Verbindungen besitzen verglichen mit den natürlichen O- und N-Glycosiden eine erhöhte intrinsische Stabilität gegenüber chemischem und biologischem Abbau. Als Bausteine potenzieller Glycopeptid-Wirkstoffe sollten sie diesen eine verlängerte Persistenzzeit *in vivo* verleihen.



Abbildung 4.1: Struktur analogie von O- (links) und C-Glycosylaminosäuren (rechts)

Eines der möglichen Anwendungsgebiete ist die Hemmung von Zelladhäsionsprozessen, die durch Wechselwirkungen von Selektinen mit ihren spezifischen Liganden eingeleitet werden. Im Falle einer chronischen Entzündung könnte dadurch eine übermäßige Leukozytenrekrutierung vermieden und somit eine antiinflammatorische Wirkung erzielt werden. Die Metastasierung von Tumoren wird ebenfalls mit Selektin-vermittelten Zelladhäsionsprozessen in Verbindung gebracht. Eine medikamentöse Gabe von geeigneten Wirkstoffen zur kompetitiven Hemmung der Wechselwirkungen könnte hier eine Bildung neuer Tumore verhindern. Selektin-Liganden wie der PSGL-1 tragen als Seitengruppe häufig Glycane, welche Sialyl-Lewis^x beinhalten. Um die Stabilität *in vivo* zu erhöhen, wird in synthetischen Mimetika dieses Tetrasaccharides die terminale Sialinsäure häufig gegen (S)-Cyclohexylmilchsäure ersetzt (Abb. 4.2). Diese Substitution wurde auch bei den komplexen C-Glycosylaminosäurebausteinen vorgenommen, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit synthetisiert wurden.

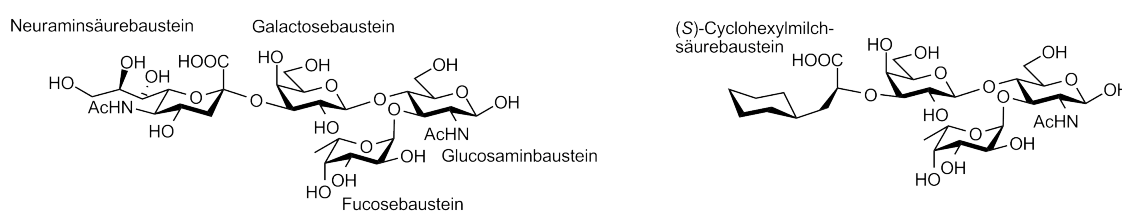


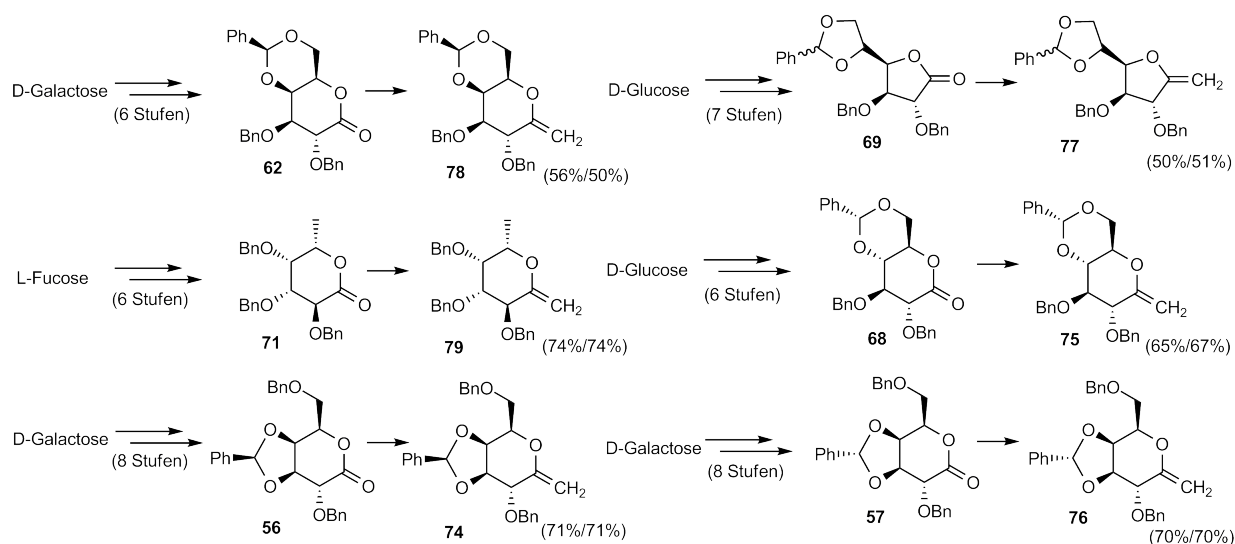
Abbildung 4.2: Sialyl-Lewis^x (links) und dessen Mimetikum (rechts)

Ein anderes Anwendungsgebiet bildet die Krebsimmuntherapie. Hierbei werden Glycopeptidstrukturen, die charakteristisch für die Zelloberfläche von malignen Zellen sind, als Teil von synthetischen Vakzinen zur Immunisierung eingesetzt. Ein besonders interessantes Molekül ist in diesem Zusammenhang das Mucin MUC1, das im Falle einer Krebserkrankung in stark erhöhtem Maße und mit drastisch verkürzten Saccharidseitenketten im betroffenen Gewebe vorkommt. In der Arbeitsgruppe Kunz konnte mit Vakzinen auf der Basis von glycosylierten MUC1-Partialstrukturen bereits eine Bildung von Antikörpern erreicht werden, die spezifisch an Brustkrebsgewebe binden.

Verschiedene C-Glycosylaminosäuren kamen daher ebenfalls als Bausteine von MUC1-Glycopeptiden zum Einsatz. Die Auswirkungen der veränderten chemischen Struktur auf die Erkennung durch verschiedene Antikörper wurde in ELISA-Experimenten analysiert.

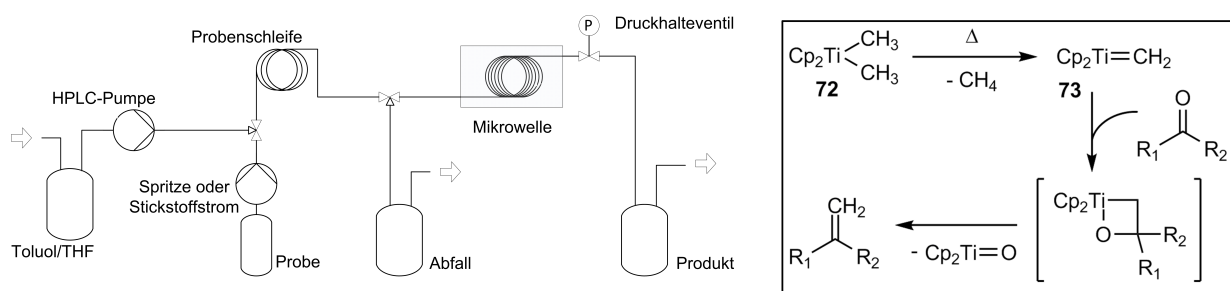
In der Fachliteratur beziehen sich die Berichte über Synthesen von C-Glycosylaminosäuren meist nur auf spezielle Kombinationen von einzelnen Kohlenhydraten mit Serin oder seltener Threonin und Tyrosin. Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher ein modularer synthetischer Zugang zu β -verknüpften C-Glycosylaminosäuren entwickelt.

Dazu wurden aus den ungeschützten Monosacchariden die entsprechenden Lactone synthetisiert, welche anschließend zu *exo*-Glycalen olefiniert werden konnten (Schema 4.1). Die angewandte Petais-Olefinierung wurde dabei unter Mikrowellenheizung in einem geschlossenen Reaktionsgefäß durchgeführt, was die Synthese unter erhöhtem Druck ermöglichte. Die Reaktionstemperatur konnte so erhöht und eine deutliche Reaktionsbeschleunigung erreicht werden. Da das Reaktionsvolumen im diskontinuierlichen Ansatz allerdings stark limitiert ist, wurde ein Versuchsaufbau entwickelt, der die Olefinierung im Durchfluss erlaubt (Abb. 4.2).



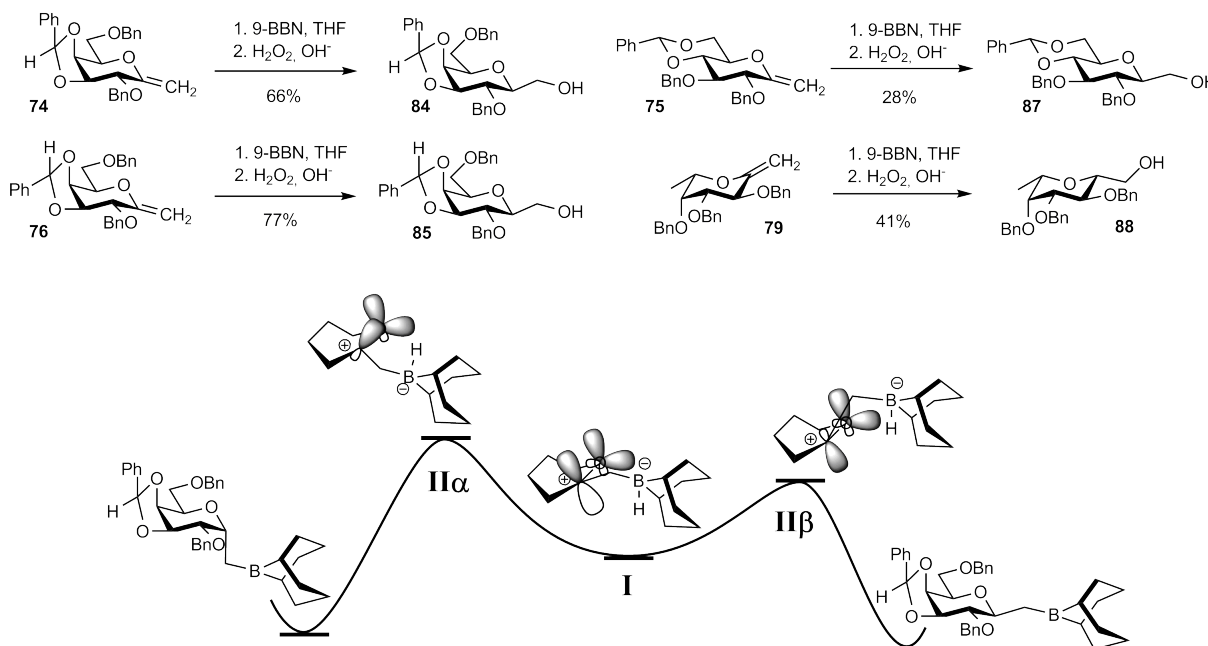
Schema 4.1: Synthese der Glyconolactone und anschließende Petais-Olefinierungen. In Klammern angegeben sind die Ausbeuten im kontinuierlichen/diskontinuierlichen Verfahren

Der spezielle Aufbau mit einer Probenschleife vor der eigentlichen Reaktionszone erlaubte eine Optimierung der kritischen Reaktionsparameter Druck, Mikrowellenleistung und Verweilzeit in der Reaktionszone mit geringen Substanzmengen. Während der Optimierung zeigte sich, dass die Reaktionszeit in den besten Fällen auf unter 3 Minuten reduziert werden konnte. Im Vergleich zu literaturbekannten Verfahren mit Reaktionszeiten von mehr als 12 Stunden bedeutet dies eine Verkürzung der Reaktionsdauer auf weniger als ein Hundertstel. Die präparative Nutzung erfolgte bei geringfügig höherer Verweilzeit im Reaktor ohne Ausbeuteänderungen gegenüber den diskontinuierlichen Ansätzen.



Schema 4.2: Durchflussreaktor für die Petasis-Olefinierung in der Mikrowelle (links) und deren mechanistischer Ablauf (rechts)

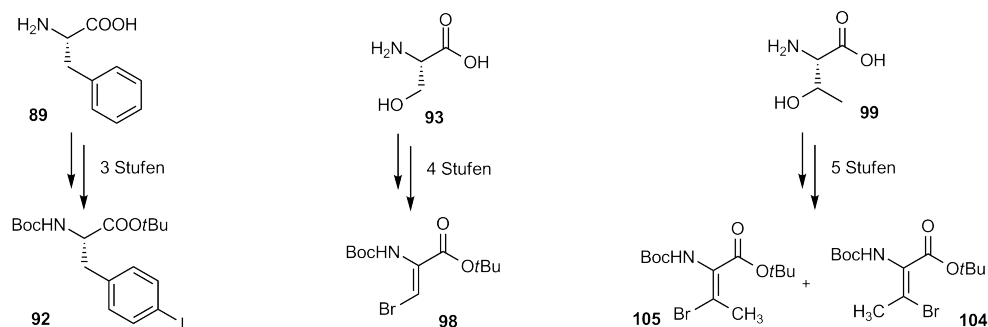
Die experimentellen Daten bezüglich der Reaktionsgeschwindigkeiten verschiedener Substrate ließen zudem Rückschlüsse auf den Mechanismus der Reaktion zu. Im Gegensatz zur thermischen Reaktion scheint der geschwindigkeitsbestimmende Schritt unter den gegebenen Mikrowellenbedingungen nicht die Methaneliminierung aus dem Reagenz, sondern die Reaktion der aktiven Titan-carbenoid-Spezies mit der Carbonylverbindung zu sein.



Schema 4.3: Die Hydroborierung von *exo*-Glycalen und eine mechanistische Deutung der beobachteten Stereochemie

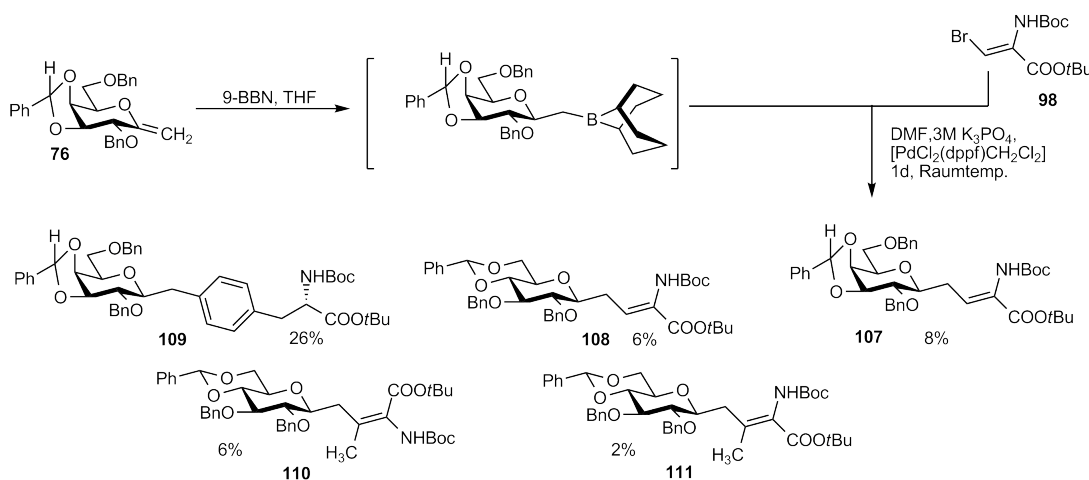
Die *exo*-Glycale wurden anschließend mit 9-BBN hydroboriert und oxidativ zu den entsprechenden Alkoholen umgesetzt, um die Stereoselektivität dieser Transformation zu untersuchen. Es zeigte sich, dass bezogen auf die Struktur des *exo*-Glycals der Angriff von 9-BBN immer in anti-Stellung zum axial stehenden freien Elektronenpaar des Ringsauerstoffs erfolgt. Dies kann mecha-

nistisch so gedeutet werden, dass immer das Produkt gebildet wird, bei dem im Übergangszustand $\text{II}\beta$ eine Stabilisierung der positiven Ladung am anomeren Zentrum über das axial orientierte freie Elektronenpaar des Ringsauerstoffs erfolgen kann. Die Energiebarriere wird dadurch abgesenkt und die Bildung des β -orientierten Produktes ermöglicht (Schema 4.3).



Schema 4.4: Boc-geschützte Aminosäurebausteine für die Suzuki-Kupplungen

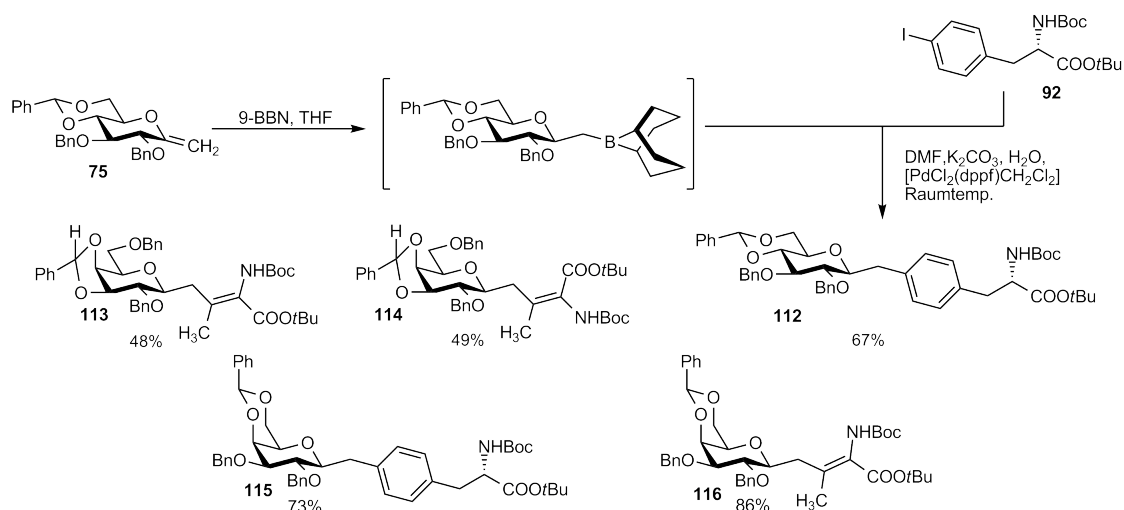
Anschließend sollten aus den *exo*-Glycalen in einer Reaktionssequenz aus Hydroborierung und anschließender Suzuki-Kupplung verschiedene *C*-Glycosylaminosäuren synthetisiert werden. Die dazu benötigten Boc-geschützten Kupplungspartner ließen sich ausgehend von L-Serin, L-Threonin und L-Phenylalanin herstellen (Schema 4.4).



Schema 4.5: *C*-Glycosylaminosäuren aus *exo*-Glycalen durch Hydroborierung und anschließende Suzuki-Kupplungen

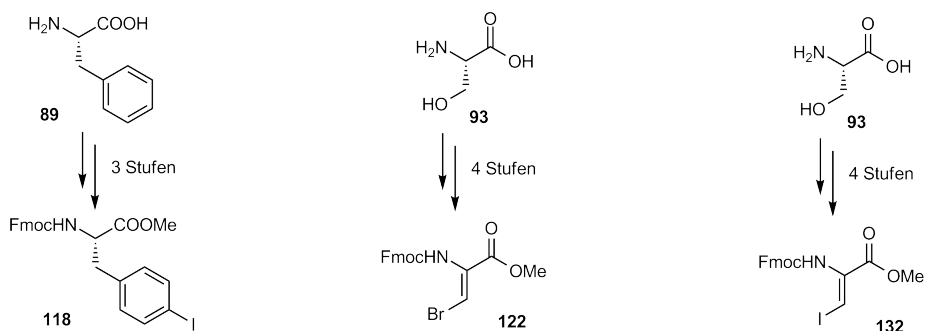
In den literaturbekannten *B*-Alkyl-Suzuki-Kupplungen wird meistens mit wässriger K_3PO_4 -Lösung als Base gearbeitet. In den Versuchen, die unter diesen Bedingungen unternommen wurden, um verschiedene Kombinationen von *exo*-Glycalen und Aminosäuren miteinander zu koppeln, konnten die gewünschten Produkte nur in sehr geringen Ausbeuten erhalten werden (Schema 4.5).

In umfangreichen Experimenten musste zunächst die Hydroborierung und anschließend die Reihenfolge der Zugabe der anderen für die Reaktion benötigten Komponenten (Katalysator, Kupplungspartner, Base, zusätzliche Lösungsmittel) optimiert werden. Der Durchbruch gelang schließlich bei Verwendung von festem K_2CO_3 als Base und anschließender Zugabe einer geringen Menge Wasser zu der Reaktionsmischung, was zu Ausbeuten von bis zu 86% führte (Schema 4.6).



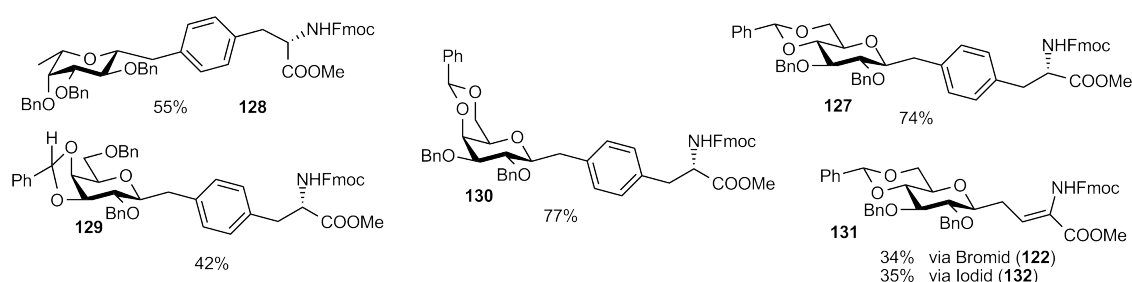
Schema 4.6: Suzuki-Kupplungen mit Boc-Aminosäuren unter optimierten Bedingungen

Nach diesem Verfahren ließ sich eine Reihe von C-Glycosylaminosäuren synthetisieren. Die Verwendung des im Vergleich zu K_3PO_4 weniger basischen K_2CO_3 eröffnete die Möglichkeit, auch Fmoc-geschützte Aminosäuren in der Suzuki-Kupplung zu verwenden.



Schema 4.7: Fmoc-geschützte Aminosäurebausteine für die Suzuki-Kupplungen

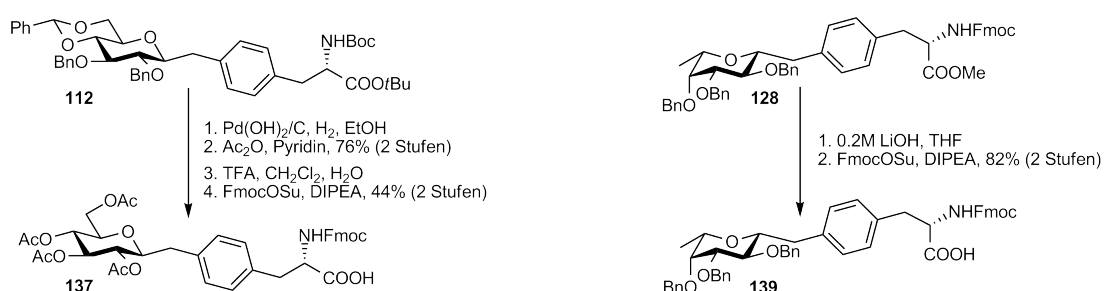
In der Literatur findet sich bislang nur ein Fall einer B-Alkyl-Suzuki-Kupplung, in dem diese Schutzgruppe unter den Reaktionsbedingungen erhalten bleibt. Die als Kupplungspartner benötigten halogensubstituierten Fmoc-Aminosäuren konnten ausgehend von Tyrosin und Serin erhalten werden, während die Synthese eines analogen Fmoc-geschützten Threonin-Bausteins nicht gelang (Schema 4.7).



Schema 4.8: Fmoc-C-Glycosylaminosäuren durch Suzuki-Kupplungen unter optimierten Bedingungen

Die exemplarisch durchgeführten Suzuki-Kupplungen gelingen auch in Anwesenheit der basenlabilen Schutzgruppe bei einer Reihe von Verbindungen in guten Ausbeuten. Da die Ausbeute bei der Kupplung des Serin-Bromids **122** sehr niedrig ist, wurde der analoge Iodid-Kupplungsbaustein **132** synthetisiert und die Kupplung wiederholt. Trotz erhöhter Reaktivität war jedoch keine Ausbeutesteigerung zu erreichen (Schemata 4.8 und 4.7).

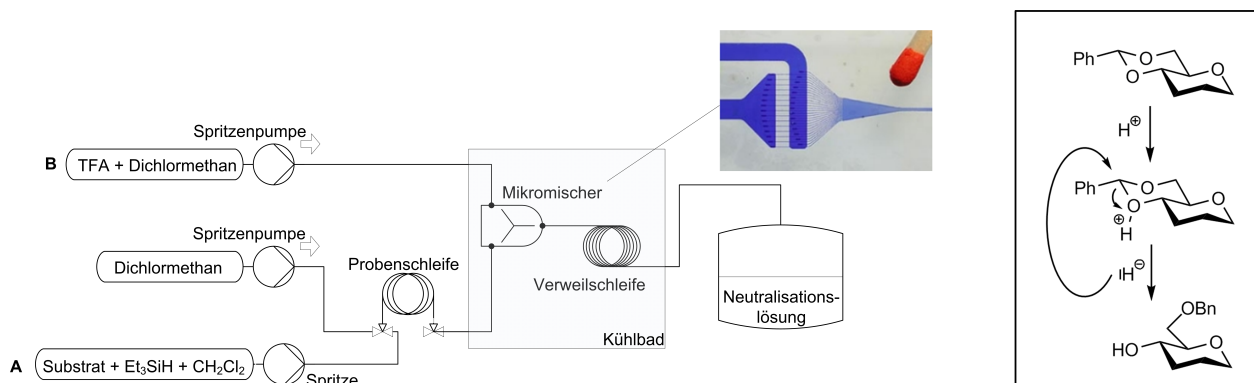
Die aus den Suzuki-Reaktionen erhaltenen Kupplungsprodukte lassen sich in Bausteine für die Festphasen-Peptidsynthese umwandeln. Dies gelingt sowohl für das Boc-geschützte Derivat **112** als auch für das Fmoc-geschützte Molekül **128** (Schema 4.9).



Schema 4.9: Exemplarischer Umbau zu geeigneten Festphasenbausteinen

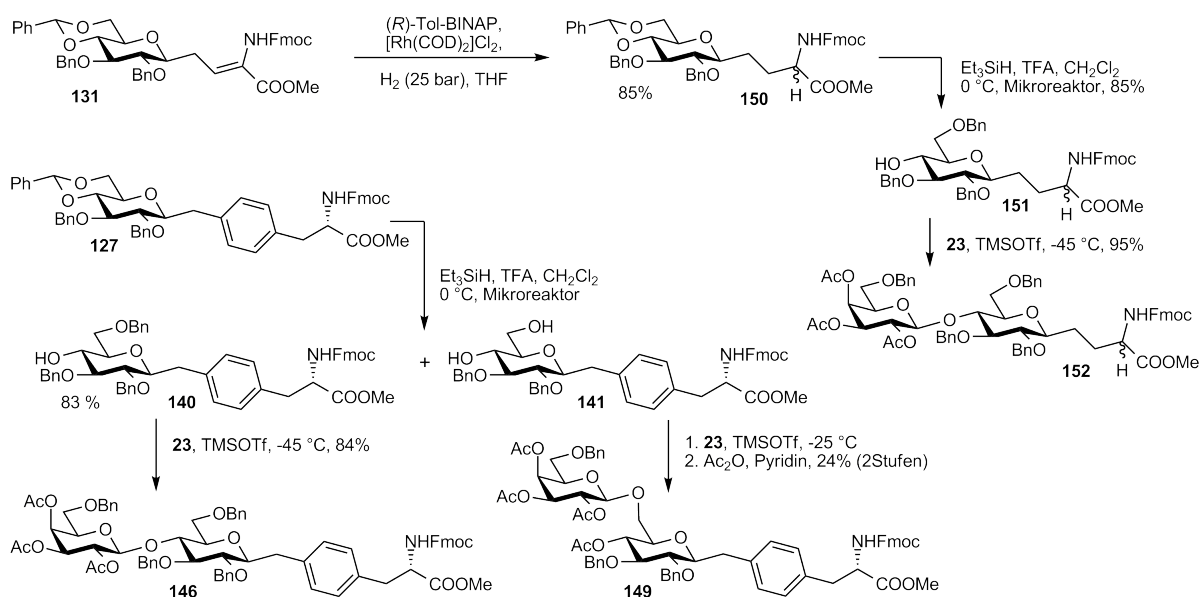
Zur weiteren Funktionalisierung lässt sich an den 4,6-Benzylidenacetalen wie **127** eine regioselektive Acetalöffnung durchführen. Die Verwendung eines speziellen Durchflussreaktors bietet hierbei Vorteile gegenüber der Synthese im Glaskolben (Abb. 4.10). So gewährleistet die Verwendung eines mikrostrukturierten Mischers einen schnellen Kontakt der Reaktionspartner unter isothermen Bedingungen. Durch die Verwendung einer Probenschleife vor dem Mischer lässt sich die Reaktion zunächst mit geringen Substanzmengen optimieren. Unter den optimalen Bedingungen gelingt anschließend die Synthese im präparativen Maßstab. Die erzielten Ausbeuten an **140** von 83% und **151** von 85% sind reproduzierbar hoch (Schema 4.11).

Die im Falle des Serin-Bausteins **131** notwendige Rhodium-katalysierte Hydrierung der Dehydroaminosäure gelingt unter Verwendung von (*R*)-Tol-BINAP als Ligand mit kompletter Diastereoselektivität. Die Aufklärung der Konfiguration am α -C-Atom der Aminosäure steht noch aus.



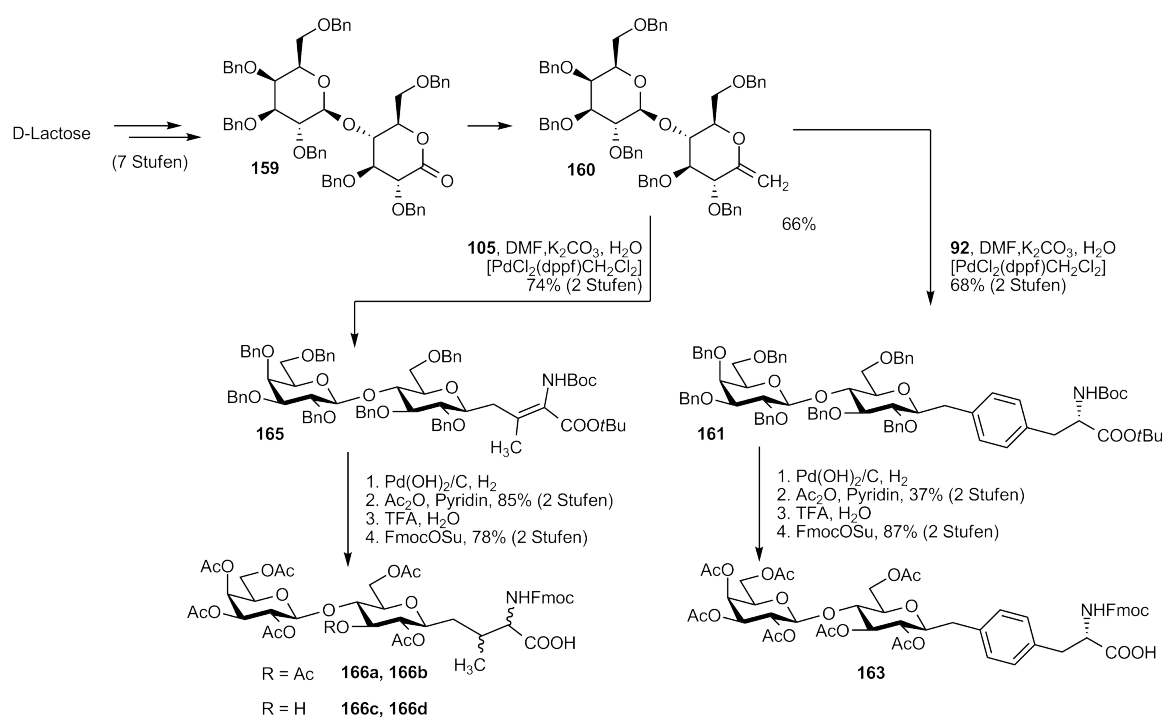
Schema 4.10: Die regioselektive Acetalöffnung im Durchflussreaktor (links) und deren Mechanismus (rechts) unter Verwendung einer Protonensäure

Die Galactosylierung von **140** und **151** nach *Schmidt* zu den C-Lactosylaminosäuren **146** und **152** gelingt in hohen Ausbeuten. Das Nebenprodukt der Acetalöffnung **141** kann zur selektiven Anknüpfung eines Galactoserestes in Position 6 genutzt werden, da die primäre OH-Gruppe deutlich reaktiver als die sekundäre OH-Gruppe in Position 4 ist (Schema 4.11).



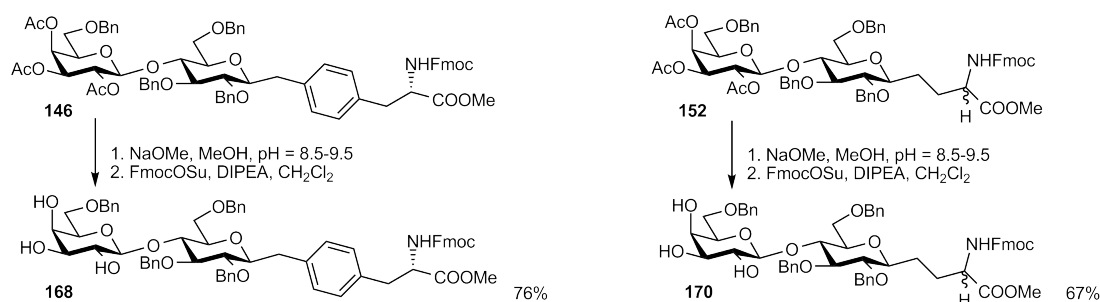
Schema 4.11: Lactose-Funktionalisierungen der C-Glycosylaminosäuren

C-Lactosylaminosäuren lassen sich auch direkt durch Kupplung eines *exo*-Glycals der Lactose gewinnen (Schema 4.12). Das benötigte Lacton **159** ist in 7 Stufen aus D-Lactose zugänglich. Es reagiert glatt in der mikrowellengestützten Petasis-Reaktion. Das gebildete *exo*-Glycal **160** kann über die Hydroborierungs-/Suzuki-Reaktionskaskade sowohl zu Tyrosin-Analogon **161** als auch zu Threonin-Analogon **165** in hohen Ausbeuten von 68% bzw. 74% gekuppelt werden.



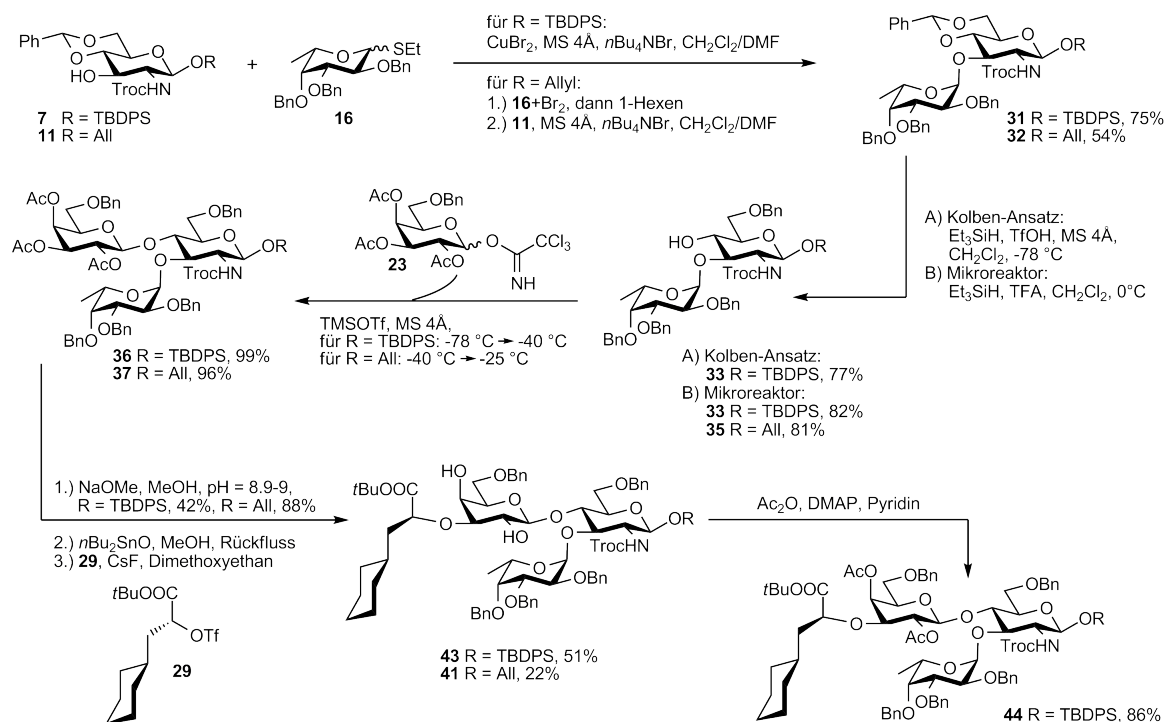
Schema 4.12: Direkte Kupplung zu C-Lactosylaminosäuren mit einem Lactose-Synthon

Nach der Suzuki-Kupplung erfolgen Schutzgruppenmanipulationen, die einen Einsatz in der Festphasensynthese erlauben. Tyrosin-Baustein **163** lässt sich ohne große Probleme über vier weitere Stufen erhalten. Eine diastereoselektive Hydrierung der Doppelbindung von Threonin-Baustein **165** gelingt nicht. Unter Verwendung des *Pearlman*-Katalysators bilden sich zwei Diastereomere, da die Wasserstoffübertragung erwartungsgemäß cis-selektiv abläuft. Durch unvollständige Acetylierung oder Abspaltung einer Acetylgruppe unter sauren Bedingungen erhält man am Ende der Synthese ein weiteres Diastereomerenpaar, bei dem eine Acetylgruppe in Position 3 der Glucose fehlt. Alle vier Verbindungen (**166a-d**) lassen sich mittels RP-HPLC trennen und durch zweidimensionale NMR-Spektroskopie charakterisieren.



Schema 4.13: Lactose-funktionalisierte Glycosylakzeptoren

Zur Synthese von C-Glycosylaminosäuren mit größeren Saccharidstrukturen nutzt man die Fmoc-geschützten Lactose-Bausteine **146** und **152**, die zunächst deacetyliert werden. In den beiden Produkten **168** und **170** zeigt die äquatoriale OH-Gruppe in Position 3 die höhere Reaktivität gegenüber den OH-Gruppen in Position 2 und 4 der Galactose (Schema 4.13).



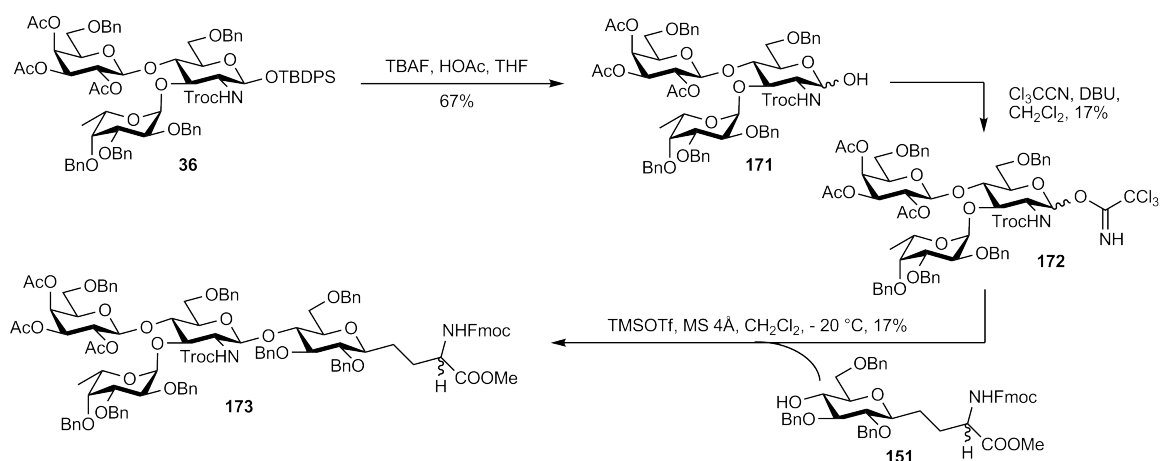
Schema 4.14: Synthese der Sialyl-Lewis^x-Mimetika

Das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum **44** wird in Anlehnung an die Synthesestrategie von *K. Baumann* synthetisiert (Schema 4.14).^{49,144,145} Nach der beschriebenen Fucosylierung des Glucosaminbausteins wird die anschließende Acetalöffnung nun unter Durchflussbedingungen im Mikroreaktor durchgeführt.

Die *Continuous flow*-Reaktion bietet den Vorteil, dass die Optimierung der Bedingungen mit Substanzmengen von etwa 20 Milligramm erfolgen kann. Präparativ werden unter optimierten Bedingungen bis zu 3 Gramm des Substrates (Faktor von 150) in sehr guter Ausbeute umgesetzt. Die Verweilzeit im Reaktor liegt bei 3.75 Minuten, während die üblichen Reaktionszeiten im Kolben mehrere Stunden betragen.

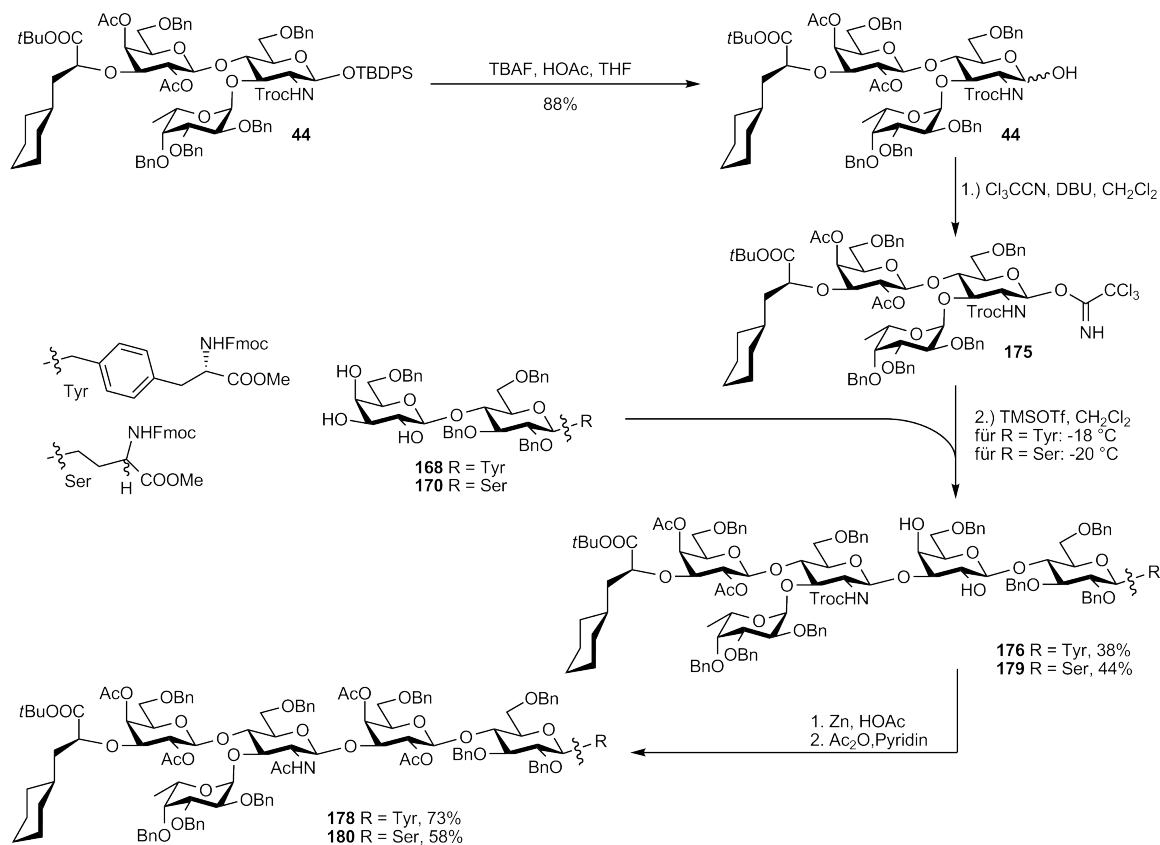
Die Galactosylierung der jeweiligen Disaccharide erfolgt nach *Schmidt* über das Trichloracetimidat. Anschließend wird deacetyliert und der Cyclohexylmilchsäurebaustein durch regioselektive S_N2-Reaktion nach dem Stannylen-Verfahren^{183,184} eingefügt. Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Reaktionen lagen die Ausbeuten in Anwesenheit der anomeren TBDPS-Schutzgruppe höher als die in Gegenwart der Allylschutzgruppe erreichten.

Die Eignung einer Block-Glycosylierung für den Aufbau komplexer C-Glycosylaminosäuren wird



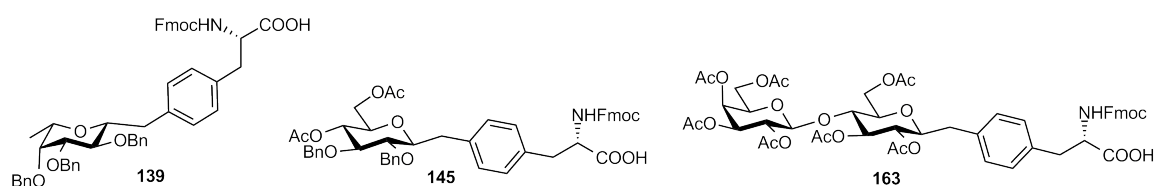
Schema 4.15: Untersuchung der Strategie der Block-Glycosylierung an C-Lactosylaminosäuren

zunächst anhand der Kupplung des Lewis^x-Derivates **172** mit C-Glucosyl-Serin **151** überprüft (Schema 4.15). Trotz der niedrigen Ausbeute führt diese konvergente Strategie grundsätzlich zum Ziel.



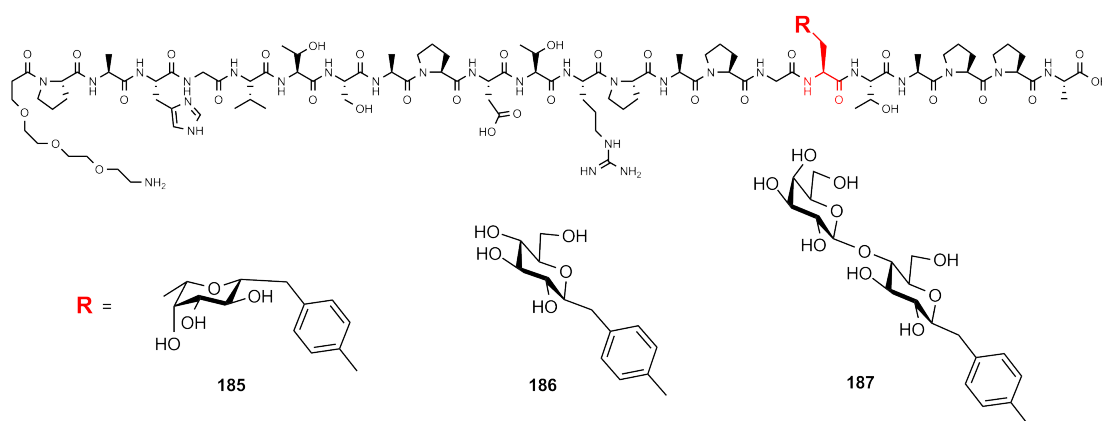
Schema 4.16: Konvergente Synthese von Sialyl-Lewis^x-C-Lactosylaminosäuren

In der Folge wird daher auch das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum **44** als Pseudotetrasaccharid in das Trichloracetimidat **175** umgewandelt und anschließend mit den C-Lactosyl-Akzeptoren **168** und **170** zur Reaktion gebracht (Schema 4.16). Wie erwartet erfolgt die Block-Glycosylierung ausschließlich an Position 3 der Galactose. An den gewonnenen Sialyl-Lewis^x-C-Lactosylaminosäuren **176** und **179** wird anschließend noch jeweils die Troc-Gruppe entfernt und die freien funktionellen Gruppen werden acetyliert. Die Synthesen der Bausteine **178** und **180** können damit nach insgesamt 44 bzw. 46 Stufen abgeschlossen werden. Diese komplexen C-Glycosylaminosäuren wurden noch nicht in Glycopeptidsynthesen eingesetzt.



Schema 4.17: Bausteine für die Glycopeptid-Festphasensynthese

Dagegen wurden die einfacheren Bausteine **139**, **145** und **163**, die eine vergleichbare Größe wie die tumorassoziierten Antigene T, T_N oder ST_N aufweisen, zu Festphasen-Glycopeptidsynthesen von Partialsequenzen des tumorassoziierten Mucins MUC1 herangezogen (Schema 4.17). Man erhält beim Einsatz dieser Bausteine in der automatisierten Festphasensynthese nach der Fmoc-Strategie die entsprechenden C-Glycopeptide in guten Ausbeuten. Nach Entfernung aller Schutzgruppen wurden mit den C-Glycopeptiden **185**, **186** und **187** Neutralisations-ELISA-Experimente mit an Tumorzellen bindenden Antisera und Antikörpern durchgeführt (Schema 4.18).



Schema 4.18: Synthetisierte C-Glycosylpeptide für die ELISA-Experimente

Hierbei zeigt sich, dass die Bindung der C-Glycopeptide an die Antikörper umso stärker ist, je ähnlicher diese C-Glycopeptide den bei der Immunisierung verwendeten O-Glycopeptidstrukturen sind. Stimmen weder Peptidsequenz noch Glycosylierungsposition überein, so ist praktisch keine

Erkennung der *C*-Glycopeptide durch die Antikörper zu beobachten. Im Gegensatz dazu liegen die Bindungsaffinitäten bei der Übereinstimmung beider Parameter nahezu auf dem Niveau des zur Vakzinierung verwendeten naturidentischen *O*-Glycopeptides. Man kann feststellen, dass die Art der Glycosylaminosäure die Bindung an den Antikörper zwar beeinflusst, jedoch auch das unglycosylierte MUC1-Peptid sehr gut vom Antikörper erkannt wird. Die Immunantwort richtet sich demnach vor allem gegen den Peptidanteil des Vakzins.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Peptide mit *C*-glycosidisch angeknüpften Seitenketten ähnliche Effekte hervorrufen wie die natürlichen *O*-Glycoside. Diese stabilen Mimetika maligner MUC1-Glycopeptidstrukturen sollen daher als Bestandteil synthetischer Vakzine in Immunisierungsexperimenten eingesetzt werden können.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeines und Messgeräte

Allgemeines

Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Reaktionen bei Raumtemperatur und unter Rühren durchgeführt. Alle mit „im Vakuum“ bezeichneten Destillationen wurden mit einem Rotationsverdampfer des Typs *Büchi* Rotavapor-RE111 unter Membranpumpenvakuum und Erhitzen im 40 °C warmen Wasserbad ausgeführt. Zum Erzeugen eines „Hochvakuums“ wurde eine Ölpumpe des Typs *Vakuubrand* RZ-8 verwendet.

Lösungsmittel

Alle Reaktionen wurden, soweit nicht anders vermerkt, in Lösungsmitteln der Reinheitsstufe *pro analysi* (p.a.) ausgeführt. Zur Absolutierung von Dichlormethan, Acetonitril und 1,2-Dimethoxyethan wurden diese mit CaH_2 mehrere Stunden unter Rückfluss gekocht und dann kurz vor der Verwendung frisch abdestilliert. Diethylether wurde, wenn nötig, über Natrium/Benzophenon getrocknet und ebenfalls frisch destilliert, Toluol und Tetrahydrofuran wurden über Kalium getrocknet. Absolutes *N,N*-Dimethylformamid wurde über Molekularsieb gelagert in durch Septen verschlossenen Flaschen von der Firma *Fluka* (Schweiz) bezogen.

Molekularsieb

Bei allen Reaktionen, die unter Verwendung von Molekularsieb durchgeführt wurden, kam kugelförmiges Molekularsieb der Firma *Alfa Aesar*, Karlsruhe (Korngröße 1-2 mm) zum Einsatz. Dieses wurde vor der Verwendung im Reaktionskolben mehrere Stunden im Hochvakuum ausgeheizt. Die verwendete Porengröße ist jeweils angegeben.

Dünnschichtchromatographie

Alle dünn-schichtchromatographischen Untersuchungen wurden auf mit Kieselgel 60 F_{254} beschichteten DC-Alufolien von *Merck*, Darmstadt durchgeführt. Detektiert wurden die einzelnen Substanzen unter UV-Licht (Wellenlänge 254 nm) und mit Hilfe folgender Anfärbereagenzien:

- Zucker-Reagenz (1:1 Mischung aus 0.2%-iger ethanolischer *p*-Methoxyphenol-Lösung und 2N ethanolischer Schwefelsäure)
- Wässrige Kaliumpermanganat-Lösung
- Seebach-Reagenz (Lösung von 1.0 g Cer(IV)-sulfat-tetrahydrat und 2.5 g Molybdätophosphorsäure in einer Mischung aus 94 mL Wasser und 6 mL konz. Schwefelsäure)

Die Entwicklung der Chromatogramme erfolgte dabei jeweils durch Erhitzen mit einem Heißluftfön.

Flashchromatographie

Als Säulenmaterial wurde Kieselgel der Korngröße 32-63 μm der Firma *ICN Biomedicals GmbH* (USA) bzw. Kieselgel der Korngröße 35-70 μm der Firma *Acros Organics* (Belgien) verwendet. Die verwendeten Laufmittel sind angegeben, wobei sich die Zusammensetzung bei Gemischen auf die jeweiligen Volumina bezieht.

Drehwerte

Die spezifischen Drehwerte der Substanzen wurden mit einem *Perkin Elmer*-Polarimeter 241 bei $\lambda = 578 \text{ nm}$ und $\lambda = 546 \text{ nm}$ gemessen und die erhaltenen Werte auf die Natrium-D-Linie umgerechnet. Die benutzten Lösungsmittel und Konzentrationen der Messlösungen (in g/100 mL) sind jeweils angegeben. Die Einheiten werden der allgemeinen Konvention entsprechend nicht aufgeführt.

Massenspektrometrie

Die Proben für ESI- und HR-ESI-Massenspektren wurden in einer Konzentration von ca. 0.1 mg/mL in Mischungen aus Acetonitril und Methanol angesetzt und bis auf wenige Ausnahmen mit einem *Waters Micromass-Q-TOF-Ultima-3*-Spektrometer (bei einer Flussrate von 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ und einer Cone-Voltage von 70 V) vermessen. Bei den restlichen Spektren kam ein *ThermoElectron Navigator*-Spektrometer (bei einer Flussrate von 0.75 mL/min, einer Cone-Voltage von 70 V, 45 V oder 30 V und einem N_2 -Strom von 300 L/h) zum Einsatz. Die Daten für FD-Massenspektren wurden mit einem Finnigan MAT 95-Gerät der Firma *ThermoElectron, Boston (USA)* ermittelt. Die bei den Summenformeln in Klammern angegebenen Molmassen resultieren aus der natürlichen Verteilung aller Isotope der Elemente, während sich die in den Massenspektren angegebenen Molekülmassen aus der Summe der reinen Isotope zusammensetzen. Bei allen Verbindungen wird daher wie erwartet ein Isotopenmuster bei der Aufnahme der Massenspektren registriert. Der Einfachheit halber ist jedoch lediglich ein Isotopenpeak - in der Regel der jeweils erste oder der intensivste Peak - zur Interpretation im Protokoll aufgeführt.

NMR-Spektroskopie

Die Proben wurden mit deuterierten Lösungsmitteln der Firma *Deutero* präpariert und an den folgenden Geräten gemessen:

- *Bruker AC-300* (^1H -Spektren 300 MHz und ^{13}C -Spektren 75.5 MHz)
- *Bruker AM-400* (^1H -Spektren 400 MHz und ^{13}C -Spektren 100.6 MHz)
- *Bruker AV-400* (^1H -Spektren 400 MHz und ^{13}C -Spektren 100.6 MHz)
- *Bruker DRX-600* (^1H -Spektren 600 MHz und ^{13}C -Spektren 150.9 MHz)

Die Auswertung erfolgte mit den Programmen *Mestrec* oder *Mestrenova* sowohl für einfache ^1H - und ^{13}C -Experimente also auch für zweidimensionale Spektren. Die chemischen Verschiebungen

beziehen sich auf Tetramethylsilan als Standard und sind in ppm angegeben. Referenziert wurden die Spektren jeweils bezüglich des Signals des deuterierten Lösungsmittels. Die durchgeführten Experimente zur Strukturaufklärung und die verwendeten Lösungsmittel sind bei den jeweiligen Verbindungen aufgeführt.

Die Multiplizitäten der Signale werden wie folgt abgekürzt:

s - Singulett; d - Dublett; dd - Dublett vom Dublett; ddd - Dublett vom Dublett vom Dublett; dt - Dublett vom Triplett; t - Triplett; t* - Pseudotriplett (zum Triplett zusammengefallenes Dublett vom Dublett); q - Quartett; q* - Pseudoquartett (zum Quartett zusammengefallenes Dublett vom Dublett vom Dublett); m - Multipllett; m_c - zentriertes Multipllett. Der Index „b“ gibt an, dass es sich um ein verbreitertes Signal handelt. Bei Pseudotripletts und Pseudoquartetts, die aus der Tatsache resultieren, dass ein Proton Kopplungen zu zwei bzw. drei magnetisch nicht äquivalenten Kernen aufweist, für welche die Kopplungskonstanten sehr ähnliche Werte besitzen, können die Kopplungskonstanten evtl. nur als ungefähre Werte ermittelt werden.

Beim Vergleich einer Kopplungskonstante mit derjenigen, die anhand des Signals des zugehörigen zweiten Kerns ermittelt werden kann, lässt sich teilweise eine leichte Abweichung feststellen. Diese Differenzen, die entgegen der Theorie auftreten, lassen sich durch die nicht immer perfekt symmetrische Form der Peaks erklären. Besonders ins Gewicht fallen diese Abweichungen bei überlagerten und zusammenfallenden Signalen. Ein weiterer Grund für Abweichungen kann die begrenzte digitale Auflösung des verwendeten Spektrometers liegen, welche sich im Bereich von 0.368 Hz bewegt.

Lässt sich die Lage eines Signals für ein bestimmtes Proton innerhalb eines Multipletts anhand der zweidimensionalen Spektren genauer ermitteln, so sind diese chemischen Verschiebungen in geschweiften Klammern hinter der jeweiligen Zuordnung angegeben. Bei der Zuordnung der Signale in den ¹H- und ¹³C-Spektren werden folgende Abkürzungen zur Kennzeichnung der verschiedenen Bausteine benutzt: GlcN – D-Glucosamin; Fuc – L-Fucose; Gal – D-Galactose; Glc – D-Glucose; Cyclo – Cyclohexanring des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins; Gal' – D-Galactose aus der Lactose-Einheit, falls ein weiterer Galactose-Baustein im gleichen Molekül zu finden ist. Die Aminosäuren werden mit dem üblichen 3-Buchstaben-Code abgekürzt oder nur mit dem Index AS, falls nur ein Aminosäurebaustein vorhanden ist.

Mikrowellenunterstützte Synthesen

Mikrowellenunterstützte Synthesen wurden in einem CEM Discover-Gerät durchgeführt. Die Temperaturkontrolle erfolgte durch einen Infrarotsensor, während der Druck mittels einer Piezo-Druckzelle detektiert wurde.

Festphasensynthesen der Glycopeptide

Die Synthesen der Peptide an der festen Phase erfolgten mit einem ABI-433A-Peptidsynthesizer der Firma *Applied Biosystems*, Foster City (USA; in Deutschland: Weiterstadt). Zur Verfolgung der

Fmoc-Abspaltung kam dabei ein Series-200-UV/VIS-Detektor der Firma *PerkinElmer*, Wellesley (USA) zum Einsatz. Der in allen Fällen verwendete polymere Träger, ein mit Fmoc-geschütztem Alanin vorbeladenes Tentagel-Harz, wurde von der Firma *Rapp Polymere*, Tübingen (Deutschland) bezogen. Die verwendeten Fmoc-geschützten Aminosäuren sowie die Kupplungsreagenzien stammten von der Firma *Novabiochem*, Läuflingen (Schweiz). Die verwendeten Lösungsmittel *N*-Methylpyrrolidin-2-on und Dichlormethan wurden von der Firma *Iris Biotech*, Marktrechwitz bezogen, *N,N*-Dimethylformamid stammte von der Firma *Acros Organics*, Geel (Belgien).

RP-HPLC

Analytische RP-HPLC aller Verbindungen mit Ausnahme der Glycopeptide wurde mit einer Anlage bestehend aus einer MaxiStar-K1000-Gradientenpumpe, einem 4-Kanal-Entgaser, einer analytischen Mischkammer sowie einem Diodenarraydetektor DAD K2800 der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland) durchgeführt. Zur Steuerung und Analyse wurde die Software *ChromGate* der Firma *Knauer* verwendet. Für die präparative und semipräparative HPLC wurden zwei *Knauer* Ministar K500-Pumpen in Hochdruckgradientenschaltung in Kombination mit einem variablen Wellenlängenmonitor eingesetzt. Bei der analytischen RP-HPLC der Glycopeptide kam ein HPLC-System der Firma *Jasco*, bestehend aus einer PU-2080 Plus-Pumpe, einer tenären Gradienteneinheit (LG-2080-02), einem 3-Wege-Entgaser (DG-2080-53) und einem Diodenarraydetektor MD-2010 zum Einsatz. Die präparative RP-HPLC der Glycopeptide wurde ebenfalls mit einer Anlage der Firma *Jasco* durchgeführt. Diese bestand aus zwei Gradientenpumpen (PU-2087 Plus) und einem variablen Wellenlängendetektor (UV 2075 Plus). Die Detektion der Produkte erfolgte bei den Wellenlängen $\lambda = 214$ nm bzw. 254 nm. Die analytischen Trennungen wurden bei einer Flussrate von 1 mL/min mit Wasser-Acetonitril-Gemischen als Eluenten durchgeführt. Bei den semipräparativen Trennungen wurde eine Flussrate von 10 mL/min und beiden präparativen Trennungen von 20 mL/min gewählt. In einigen Fällen wurde den Lösungsmitteln dabei 0.1 Vol-% Trifluoressigsäure zugesetzt. Dabei wurde Acetonitril in HPLC-Qualität der Firma *FisherScientific*, Hampton (USA; in Deutschland: Schwerte) benutzt, während das benötigte Wasser einem Simplicity-185-Wasseraufbereitungssystem der Firma *Millipore*, Billerica (USA) entnommen wurde. Vor dem Gebrauch wurden die Lösungsmittel 20 Minuten im Ultraschallbad entgast.

Folgende Säulen kamen zum Einsatz:

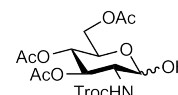
- Phenomenex Luna 5 μ , C18 (2), 250 x 4.6 mm (Analytische HPLC)
- Phenomenex Luna 5 μ , C18 (2), 250 x 4.6 mm (Analytische HPLC der Glycopeptide)
- Phenomenex Luna 10 μ , C18 (2), 250 x 21.2 mm (Semipräparative HPLC)
- Phenomenex Luna 10 μ , C18 (2), 250 x 30.0 mm (Präparative HPLC der Glycopeptide)
- Phenomenex Luna 10 μ , C18 (2), 260 x 50.0 mm (Präparative HPLC)

5.2 Die Sialyl-Lewis^x-Mimetika

5.2.1 Die Glucosaminbausteine

Die Synthese konnte ausgehend von 1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- α,β -D-glucopyranose (**3**) begonnen werden, welche sich über zwei Stufen aus D-Glucose herstellen lässt.^{154,241,328}

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- α,β -D-glucopyranose (4**)**^{144,154}
(α,β -Ac₃GlcNTroc-OH)



Variante A

53.4 g (102 mmol) des vollständig geschützten Zuckers α,β -Ac₃GlcNTroc-OAc (**3**) werden in 500 mL *N,N*-Dimethylformamid gelöst und 12.2 g (132 mmol, 1.3 Äquiv.) Hydrazinacetat zugegeben. Die anfängliche Suspension wird 1.5 Stunden bei Raumtemp. gerührt, wobei sich eine homogene Lösung bildet. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels i. Hochvak. bleiben ca. 70 g einer leicht viskosen, gelben Flüssigkeit zurück. Das Rohprodukt wird in 500 mL Essigsäureethylester aufgenommen und nacheinander mit 150 mL ges. NaCl-Lösung und 100 mL Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden zweimal mit je 75 mL Essigsäureethylester extrahiert. Nach Trocknung über MgSO₄ wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das hellgelbe Öl mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 2) gereinigt.

Ausbeute: 16.0 g (33.2 mmol, 33% d. Th.); Lit.:¹⁵⁴ 83%

Variante B

Man löst 21 mL (18.9 g, 314 mmol, 2.2 Äquiv.) Ethylendiamin in 300 mL Tetrahydrofuran und versetzt diese Lösung unter Wasserkühlung langsam mit 21 mL (22.1 g, 367 mmol, 2.6 Äquiv.) Essigsäure. Dabei entstehen unter Erwärmung der Reaktionslösung farblose Dämpfe und ein ebenfalls farbloser Niederschlag. Zu der bereiteten Reagenzlösung tropft man zügig eine Lösung von 73.6 g (141 mmol, 1.0 Äquiv.) α,β -Ac₃GlcNTroc-OAc (**3**) in 150 mL THF und rührt anschließend 20 Stunden bei Raumtemperatur. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit 300 mL Dichlormethan nachgewaschen. Das Filtrat versetzt man mit 250 mL Wasser, schüttelt aus und trennt die Phasen. Die organische Phase wird mit 250 mL 2N Salzsäure, 250 mL ges. NaHCO₃-Lösung und 250 mL Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 100 mL Dichlormethan extrahiert, bevor die organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet werden. Man entfernt das Lösungsmittel im Vakuum, wobei ein goldgelbes Öl zurück bleibt. Nach flashchroma-

³²⁸ Boullanger, P.; Jouineau, M.; Bouammali, B.; Lafont, D.; Descotes, G. *Carbohydr. Res.*, **1990**, *202*, 151.

tographischer Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 2) erhält man das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 57.8 g (120 mmol, 85% d. Th.); Lit.¹⁵⁴: ca. 72%

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.38$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 2)

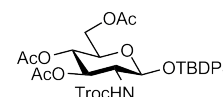
$R_f = 0.50$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 3)

FD-MS (m/z): 478.10 ($[M-H]^+$, ber.: 478.01)

$C_{15}H_{20}Cl_3NO_{10}$ (480.68)

***tert*-Butyldiphenylsilyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlor-**

ethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (5)¹⁴⁴



In 500 mL *N,N*-Dimethylformamid löst man 49.4 g (103 mmol) α,β -Ac₃GlcNTroc-OH (**4**) und versetzt die klare Lösung mit 10.5 g Imidazol (154 mmol, 1.5 Äquiv.), 125 mg (1.02 mmol, 0.01 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) und 42.3 g (154 mmol, 1.5 Äquiv.) *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid. Die Reaktionsmischung wird 5 1/2 Tage bei Raumtemp. gerührt, wobei nach 22 Stunden weitere 1.12 g (9.2 mmol, 0.09 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin zugegeben werden. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt und der Rückstand zweimal mit je 50 mL Toluol kodestilliert. Das braune Rohprodukt wird in Methanol aufgenommen und durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 2). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. und Trocknung i. Hochvak. erhält man das Produkt als ockerfarbenen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 88.7 g (max. 103 mmol, quantitativ); Lit.:¹⁴⁴ 99%

Ockerfarbener amorpher Feststoff

$R_f = 0.45$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +8.0$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{24} = +8$ (c = 1.0, CHCl₃)

FD-MS (m/z): 662.2 ($[M-tBu+2H]^+$, ber.: 662.08)

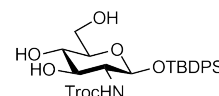
$C_{31}H_{38}Cl_3NO_{10}Si$ (719.08)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.71-7.59 (m, 4H, H_{Ar}-Ph), 7.45-7.31 (m, 6H, H_{Ar}-Ph), 5.05-4.95 (m, 2H, H4-GlcN, H3-GlcN), 4.85 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 9.6 Hz, NH-GlcN), 4.75 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH_{2a}-Troc), 4.53 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH_{2b}-Troc), 4.51 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 8.0 Hz, H1-GlcN), 4.07 (dd, 1H, ²J = 12.1 Hz, ³J = 5.4 Hz, H6a-GlcN), 3.93 (dd, 1H, ²J = 12.1 Hz, ³J =

2.5 Hz, H6b-GlcN), 3.87 (m_c , 1H, H2-GlcN), 3.35 (m_c , 1H, H5-GlcN), 1.98, 1.97, 19.5 (3 x s, 9H, H₃-Ac), 1.05 (s, 9H, CH₃-*t*Bu).

¹³C-NMR [BB] (75.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 170.55, 170.76, 169.37 (C=O-Ac), 153.99 (C=O-Troc), 135.93, 135.74 ($C_{o,m,p}$ -Ph), 132.50 (C_{ipso} -Ph), 130.09, 129.97, 127.69, 127.49 ($C_{o,m,p}$ -Ph), 96.02 (C1-GlcN), 95.21 (CCl₃), 74.60 (CH₂-Troc), 72.33 (C3-GlcN), 71.60 (C5-GlcN), 68.73 (C4-GlcN), 62.16 (C6-GlcN), 57.89 (C2-GlcN), 26.66 (CH₃-*t*Bu), 20.58, 19.08 (CH₃-Ac).

***tert*-Butyldiphenylsilyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (6)**¹⁴⁴
(β -GlcNTroc-OTBDPS)



88.6 g (max. 103 mmol) β -Ac₃GlcNTroc-OTBDPS (**5**) werden in 500 mL Methanol gelöst. Durch Zugabe frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung wird ein pH-Wert von 8.5 eingestellt. Man rührt 7 Stunden bei Raumtemp. und neutralisiert durch Zugabe von saurem Ionentauscher Amberlyst® 15. Nach Abfiltrieren und Nachwaschen mit Methanol wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, wobei ein blassgelber amorpher Feststoff zurückbleibt. Dieser wird nach Trocknung i. Hochvak. direkt weiter in der nächsten Stufe eingesetzt.

Rohausbeute: 75.0 g (max. 103 mmol)

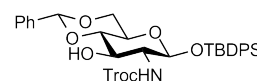
Blassgelber amorpher Feststoff

R_f = 0.53 (Toluol/Ethanol = 5 : 1)

R_f = 0.07 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

C₂₅H₃₂Cl₃NO₇Si (592.97)

***tert*-Butyldiphenylsilyl-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (7)**¹⁴⁴
(β -4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS)



In 200 mL Acetonitril löst man bei 40 °C 19.6 g (max. 26.8 mmol) β -GlcNTroc-OTBDPS (**6**) und versetzt die leicht trübe, gelbe Lösung mit 9.41 g (61.9 mmol, 2.3 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal. Durch Zugabe von 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat wird der pH-Wert auf 3.5 eingestellt, wobei die Reaktionsmischung langsam aufklart. Man rührt über Nacht bei Raumtemperatur, wobei sich schon nach 3 1/2 Stunden dünnschichtchromatographisch vollständiger Umsatz nachweisen lässt. Die Farbe der Lösung vertieft sich während dieser Zeit zu einem orangenen Farbton. Man neutralisiert mit wenigen Tropfen *N*-Ethyl-diisopropylamin, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und

reinigt das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1). Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 12.4 g (18.2 mmol, 68% d. Th. über 2 Stufen); Lit.:¹⁴⁴ 86%

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.61$ (Toluol/Ethanol = 5 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -24.8$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{24} = -23$ (c = 1.0, CHCl₃)

FD-MS (m/z): 680.3 ([M+H]⁺, ber.: 680.14); 624.2 ([M-tBu+2H]⁺, ber.: 624.08)

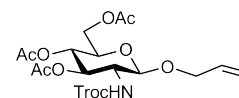
C₃₂H₃₆Cl₃NO₇Si (681.08)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.71-7.64 (m, 4H, H_{Ar}-Ph), 7.46-7.32 (m, 11H, H_{Ar}-Ph), 5.47 (s, 1H, CH-Bzn), 4.79 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 7.3 Hz, NH-GlcN), 4.68 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH_{2a}-Troc), 4.60 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH_{2b}-Troc), 4.57 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.4 Hz, H1-GlcN), 4.10 (dd, 1H, ²J = 10.6 Hz, ³J = 4.8 Hz, H6a-GlcN), 3.72-3.66 (m, 3H, H6b-GlcN, H2-GlcN, H3-GlcN), 5.52 (t*, 1H, ³J_{H3,H4} = ³J_{H4,H5} = 9.0 Hz, H4-GlcN), 3.12 (m_c, 1H, H5-GlcN), 2.96 (s_b, 1H, 3-OH-GlcN), 1.09 (s, 9H, CH₃-tBu).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 154.68 (C=O-Troc), 136.98 (C_{ipso}-Ph), 135.96, 135.85 (C_{o,m,p}-Ph), 132.82, 132.57 (C_{ipso}-Ph), 130.14, 130.02, 129.43, 128.37, 127.76, 127.55, 126.33 (C_{o,m,p}-Ph), 101.89 (CH-Bzn), 96.28 (C1-GlcN), 95.17 (CCl₃), 81.39 (C4-GlcN), 74.90 (CH₂-Troc), 71.65 (C3-GlcN), 68.41 (C6-GlcN), 66.02 (C5-GlcN), 60.39 (C2-GlcN), 26.78 (CH₃-tBu).

Allyl-3,4,5-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonyl-amino)β-D-glucopyranosid (9)¹⁴⁴

(β-Ac₃GlcNTroc-OAll)



16.5 g (34.3 mmol) α,β-Ac₃GlcNTroc-OH (4) werden in ca. 30 mL absol. Dichlormethan gelöst und unter Argon 12 mL (120 mmol, 3.5 Äquiv.) Trichloracetonitril zugegeben. Tropfenweise versetzt man die Reaktionsmischung mit einer Lösung aus 0.3 mL 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) in 0.7 mL Dichlormethan, bis laut DC-Kontrolle die Reaktion einsetzt. Nach 10 Minuten zeigt die DC-Kontrolle vollständigen Umsatz zum Trichloracetimidat an. Daraufhin wird mit 50 mL Allylalkohol verdünnt und der pH-Wert durch langsamen Zusatz von 0.5 mL Bortrifluorid-Etherkomplex (BF₃·Et₂O) in 2 mL absol. Dichlormethan auf 2 eingestellt. Nach weiteren 10 Minuten versetzt man mit 100 mL ges. NaHCO₃-Lösung und 80 mL Wasser. Nach Abtrennung der organischen Phase extrahiert man dreimal mit Dichlormethan, trocknet die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum, bevor mittels Flashchromatogra-

phie an Kieselgel das Reinprodukt erhalten wird (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1 → 3 : 2).

Ausbeute: 14.4 g (27.6 mmol, 80% d. Th. über 2 Stufen)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.40$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +3.9$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{24} = +4$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 542.01 ([M+Na]⁺, ber.: 542.04)

C₁₈H₂₄Cl₃NO₁₀Si (520.74)

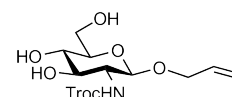
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.93 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 9.1 Hz, NH-GlcN), 5.74 (m_c, 1H, CH-All), 5.24-5.12 (m, 2H, H3-GlcN, =CH₂-All^{trans}), 5.05 (dd_b, 1H, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ⁴J = 1.2 Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.93 (t*, 1H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.6 Hz, H4-GlcN), 4.68-4.53 (m, 3H, CH₂-Troc, H1-GlcN), 4.22 (ddt, 1H, ²J = 12.9 Hz, ³J = 4.9 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, CH_{2a}-All), 4.15 (dd, 1H, ²J = 12.3 Hz, ³J = 5.0 Hz, H6a-GlcN), 4.06-3.94 (m, 2H, H6b-GlcN, CH_{2b}-All), 3.69-3.57 (m, 2H, H5-GlcN, H2-GlcN), 1.96, 1.90, 1.89 (3 x s, 9H, CH₃-Ac).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 170.47, 170.30, 169.26 (C=O-Ac), 154.06 (C=O-Troc), 133.22 (CH-All), 117.35 (=CH₂-All), 99.42 (C1-GlcN), 95.30 (CCl₃), 73.99 (CH₂-Troc), 71.79 (C3-GlcN), 71.22 (C5-GlcN), 69.74 (CH₂-All), 68.72 (C4-GlcN), 61.95 (C6-GlcN), 55.67 (C2-GlcN), 20.37, 20.33, 20.26 (CH₃-Ac).

Allyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-

β-D-glucopyranosid (10)¹⁴⁴

(β-GlcNTroc-OAll)



14.3 g (27.5 mmol) β-Ac₃GlcNTroc-OAll (**9**) werden in 300 mL absol. Methanol gelöst und mit frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung auf einen pH-Wert von 9 gebracht. Man rührt 9 Stunden bei Raumtemperatur, wobei der pH-Wert immer wieder kontrolliert und konstant gehalten wird. Anschließend neutralisiert man durch Zugabe von saurem Ionentauscher Amberlyst[®] 15, filtriert und wäscht mit Methanol. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das erhaltene Rohprodukt direkt in der nächsten Stufe eingesetzt.

Rohausbeute: 12.2 g (max. 27.5 mmol)

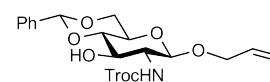
Ockergelber amorpher Feststoff

$R_f = 0.21$ (Toluol/Ethanol = 4 : 1)

C₁₂H₁₈Cl₃NO₇ (394.63)

Allyl-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- β -D-glucopyranosid (11)¹⁴⁴

(β -4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll)



In 300 mL Acetonitril werden 12.2 g (27.5 mmol) β -GlcNTroc-OAll (**10**) gelöst und mit 8.4 mL (56.0 mmol, 2.0 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal versetzt. Mit 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat wird ein pH-Wert von 3 eingestellt. Die Mischung wird 4 Stunden bei Raumtemp. gerührt und nach vollständiger Reaktion durch Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin neutralisiert. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1 \rightarrow 2 : 1), wodurch man das Produkt in Form eines farblosen amorphen Feststoffes erhält.

Ausbeute: 10.7 g (22.2 mmol, 80% d. Th. über 2 Stufen); Lit.:¹⁴⁴ 85% (2 Stufen)

Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.58 (Toluol/Ethanol = 4 : 1)

$[\alpha]_D^{23}$ = -34.8 (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{23}$ = -32 (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 985.08 ([2M+Na]⁺, ber.: 985.08)

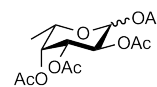
C₁₉H₂₂Cl₃NO₇ (482.74)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.52-7.47 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.42-7.34 (m, 3H, H_{Ar}-Ph), 5.86 (m_c, 1H, CH-All), 5.52 (s, 1H, CH-Bzn), 5.34 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 8.0 Hz, NH-GlcN), 5.29 (ddd, 1H, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ²J = 3.1 Hz, ⁴J = 1.5 Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.20 (dd_b, 1H, ³J_{cis} = 11.6 Hz, ⁴J = 1.2 Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.76 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH_{2a}-Troc), 4.71 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH_{2b}-Troc), 4.62 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.9 Hz, H1-GlcN), 4.37-4.29 (m, 2H, H6a-GlcN, CH_{2a}-All), 4.10-3.99 (m, 2H, CH_{2b}-All, H4-GlcN), 3.77 (t*, 1H, ²J = ³J = 10.3 Hz, H6b-GlcN), 3.54 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 9.2 Hz, H3-GlcN), 3.48-3.39 (m, 2H, H5-GlcN, H2-GlcN), 3.22 (s, 1H, 3-OH-GlcN).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 154.54 (C=O-Troc), 136.96 (C_{ipso}-Ph), 133.39 (CH-All), 129.35, 128.38, 126.34 (C_{o,m,p}-Ph), 117.98 (=CH₂-All), 101.84 (CH-Bzn), 100.08 (C1-GlcN), 95.38 (CCl₃), 81.36 (C3-GlcN), 74.55 (CH₂-Troc), 70.60, 70.38 (C4-GlcN, CH₂-All), 68.55 (C6-GlcN), 66.04 (C5-GlcN), 58.64 (C2-GlcN).

5.2.2 Der Fucosebaustein

1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- α,β -L-fucopyranose (13)^{144,164}
(α,β -Ac₃Fuc-OAc)



8.70 g (53.0 mmol) L-Fucose (**12**) werden in 144 mL Pyridin suspendiert. Dazu werden innerhalb von 40 Minuten unter starkem Rühren 72.5 mL Essigsäureanhydrid getropft. Man rührt 22 Stunden bei Raumtemp. und entfernt dann die überschüssigen Reagenzien i. Vak. und im Hochvakuum. Von restlichem Pyridin befreit man die Reaktionsmischung durch dreimalige Kodestillation mit je 75 mL Toluol. Das zurückbleibende viskose, hellgelbe Öl (ca. 20 g) wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 2) gereinigt. Nach Entfernung des Laufmittels i. Vak. bleibt zunächst ein farbloses Öl zurück, das bei Raumtemp. zu einem farblosen Feststoff erstarrt. Aus den charakteristischen ¹H-NMR-Signalen der beiden anomeren Protonen kann ein Verhältnis von $\alpha : \beta = 1 : 15$ bestimmt werden.

Ausbeute: 19.6 g (max. 53.0 mmol, quantitativ)

Farbloser Feststoff

$R_f = 0.34$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 2)

ESI-MS (m/z): 355.15 ([M+Na]⁺, ber.: 355.10)

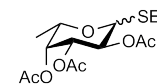
FD-MS (m/z): 331.2 ([M]⁺, ber.: 332.1)

C₁₄H₂₀O₉ (332.30)

Charakteristische NMR-Signale der anomeren Protonen:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 6.30 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 1.9 Hz, H1-Fuc ^{α}), 5.64 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 8.1 Hz, H1-Fuc ^{β}).

Ethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1-thio- α,β -L-fucopyranosid (14)^{144,164}
(α,β -Ac₃Fuc-SEt)



19.6 g (max. 53.0 mmol) α,β -Ac₃Fuc-OAc (**13**) werden in 250 mL absol. Dichlormethan mit 8 g kugelförmigem Molekularsieb (4 Å) versetzt. Zur Trocknung wird diese Mischung unter Argon 90 Minuten gerührt. Man fügt 4.7 mL (3.90 g, 62.5 mmol, 1.2 Äquiv.) Ethanthiol hinzu und rührt weitere 30 Minuten. Nach Kühlung auf 0 °C werden langsam 16.9 mL (19.1 g, 135 mmol, 2.6 Äquiv.) Bortrifluorid-Etherkomplex (BF₃·Et₂O) zugetropft, wobei die Entwicklung von farblosen Dämpfen so gering wie möglich gehalten wird. Die Eiskühlung wird entfernt und man rührt die Reaktionsmischung 26 Stunden bei Raumtemperatur. Nach vollständiger Reaktion wird vom Molekularsieb abfiltriert und gründlich mit Dichlormethan nachgewaschen. Das Filtrat wird unter

Rühren langsam in 400 mL einer gekühlten, ges. NaHCO₃-Lösung getropft, ausgeschüttelt und die Phasen getrennt. Man wäscht die organische Phase nacheinander mit je 250 mL ges. NaHCO₃-Lösung und Wasser, wobei die vereinigten wässrigen Phasen anschließend fünfmal mit je 75 mL Dichlormethan extrahiert werden, bis dünnschichtchromatographisch kein Produkt mehr nachgewiesen werden kann.

Das Lösungsmittel wird nach Trocknung der organischen Phase über MgSO₄ i. Vak. entfernt und das zurückbleibende gelbe Öl (ca. 44 g) mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1). Als Produkte erhält man eine Fraktion an reinem α-Anomer und eine Mischfraktion von α- und β-Anomer.

Ausbeute: 36.2 g (108 mmol, 83% d. Th.); Lit.:¹⁴⁴ 88% d. Th.
davon 2.33 g (6.97 mmol, 5% d. Th.) reines α-Anomer
und 33.8 g (101 mmol, 78% d. Th.) Mischung aus α- und β-Anomer

C₁₄H₂₂Cl₃O₇S (334.39)

α-Anomer

Gelbliches viskoses Öl

$R_f = 0.34$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.15$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1)

FD-MS (m/z): 334.2 ([M]⁺, ber.: 334.11)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.66 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 5.7 Hz, H1-Fuc), 5.5.27-5.16 (m, 3H, H4-Fuc, H2-Fuc, H3-Fuc), 4.47 (q, 1H, ³J_{H5,H6abc} = 6.6 Hz, H5-Fuc), 2.56-2.49 (m, 2H, CH₂-Et), 2.14, 2.05, 1.97 (3 x s, 9H, CH₃-Ac), 1.24 (t, 3H, ³J = 7.4 Hz, CH₃-Et), 1.13 (d, 1H, ³J = 6.6 Hz, H6abc-Fuc).

β-Anomer

Gelbliches viskoses Öl

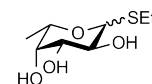
$R_f = 0.25$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.11$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1)

FD-MS (m/z): 334.2 ([M]⁺, ber.: 334.11)

Ethyl-1-thio-α,β-L-fucopyranosid (15)^{144,164}

(α,β-Fuc-SEt)



33.8 g (101 mmol) α,β-Ac₃Fuc-SEt (**14**) werden in 400 mL Methanol gelöst. Unter Rühren wird durch Zugabe von frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung ein pH-Wert von 10 eingestellt.

Man rührt 22 Stunden bei Raumtemp. und neutralisiert mit saurem Ionentauscher Amberlyst® 15. Die neutrale Lösung wird filtriert und mit Methanol nachgewaschen. Der nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. zurückbleibende gelbliche amorphe Feststoff wird einmal mit Dichlormethan kodestilliert und i. Hochvak. getrocknet. Das Rohprodukt wird in der nächsten Stufe direkt weiter umgesetzt.

Rohausbeute: 21.5 g (max. 101 mmol, quantitativ)

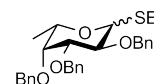
Schwach gelber amorpher Feststoff

$R_f = 0.29$ (Toluol/Ethanol = 4 : 1)

$C_8H_{16}O_4S$ (208.28)

Ethyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1-thio- α,β -L-fucopyranosid (16)^{144,164}

(α,β -Bn₃Fuc-SEt)



Unter Argonatmosphäre werden 21.5 g (max. 101 mmol) α,β -Fuc-SEt (**15**) in 400 mL *N,N*-Dimethylformamid gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach Zusatz von 24.2 g (605 mmol, 2.0 Äquiv. pro OH-Gruppe) einer 60%-igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl wird unter starkem Rühren eine Lösung von 40 mL (57.2 g, 334 mmol, 1.1 Äquiv. pro OH-Gruppe) Benzylbromid in 75 mL DMF zugetropft. Die entstehende farblose Suspension wird 21 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Anschließend beendet man die Reaktion durch langsames Zutropfen von 80 mL Methanol und entfernt das Lösungsmittel im Hochvakuum. Der verbleibende Rückstand wird dreimal mit Toluol kodestilliert, bevor er in 400 mL Dichlormethan und 250 mL Wasser aufgenommen wird. Man schüttelt aus und trennt die Phasen. Die organische Phase wird zweimal mit 150 mL Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden zweimal mit je 100 mL Dichlormethan extrahiert. Man trocknet die organischen Phasen über $MgSO_4$ und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum, wobei ein trübes, gelbes Öl zurückbleibt. Dieses reinigt man mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1). Man erhält das rohe Produkt, welches durch erneute flashchromatographische Reinigung (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 1 \rightarrow 10 : 1) als Anomerenmischung rein erhalten wird.

Ausbeute: 47.7 g (99.7 mmol, 99% d. Th. über zwei Stufen)

$C_{29}H_{34}O_4S$ (478.64)

α -Anomer

Gelbliches Öl

$R_f = 0.32$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1)

β -Anomer

Farbloser wachsartiger Feststoff

$R_f = 0.20$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +9.0$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{24} = +9$ (c = 1.0, CHCl₃)

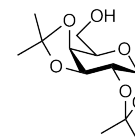
ESI-MS (m/z): 501.15 ([M+Na]⁺, ber.: 501.22)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.40-7.24 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 4.97 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.88 (d, 1H, ²J = 10.2 Hz, CH₂-Bn), 4.80-4.66 (m, 4H, CH₂-Bn), 4.38 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 9.6 Hz, H1-Fuc), 3.81 (t*, 1H, ³J_{H2,H1} = ³J_{H2,H3} = 9.3 Hz, H2-Fuc), 3.59 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.0 Hz, H4-Fuc), 3.56 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 9.3 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.0 Hz, H3-Fuc), 3.46 (q, 1H, ³J_{H5,H6abc} = 7.2 Hz, H5-Fuc), 2.82-2.63 (m, 2H, CH₂-Et), 1.28 (t, 3H, ³J = 7.5 Hz, CH₃-Et), 1.21 (d, 1H, ³J = 6.6 Hz, H6abc-Fuc).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 138.65, 138.44, 138.34 (C_{ipso}-Ph), 128.41, 128.28, 128.18, 128.13, 127.68, 127.63, 127.53, 127.48 (C_{o,m,p}-Ph), 84.92 (C1-Fuc), 84.44 (C3-Fuc), 78.31 (C2-Fuc), 76.41 (C4-Fuc), 75.68, 74.50 (CH₂-Bn), 74.47 (C5-Fuc), 72.84 (CH₂-Bn), 24.65 (CH₂-Et), 17.21 (C6-Fuc), 14.96 (CH₃-Et).

5.2.3 Der Galactosebaustein**1,2:3,4-Di-O-isopropyliden- α -D-galactopyranose (18)**³²⁹

(α -1,2:3,4-*i*Prn-Gal)



40.0 g (222 mmol) D-Galactose (**17**) werden mit 90 g wasserfreiem MgSO₄ in 600 mL Aceton suspendiert und tropfenweise mit 5.5 mL konz. H₂SO₄ versetzt. Nach 24 Stunden Rühren bei Raumtemp. wird die senfgelbe Suspension filtriert und mit Aceton nachgewaschen. Durch Zusatz von festem NaHCO₃ und fortgesetztem Rühren neutralisiert man das Filtrat. Man filtriert erneut, wäscht mehrfach mit Aceton nach, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. vom Filtrat und trocknet den verbleibenden Rückstand im Hochvakuum. Das Rohprodukt wird in Form des gelb-braunen Rückstandes weiter umgesetzt.

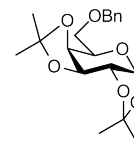
Rohausbeute: 60.3 g (max. 222 mmol)

Gelb-braunes viskoses Öl

$R_f = 0.52$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 2)

C₁₂H₂₀O₆ (260.28)

³²⁹ Whistler, R. L.; Wolfrom, M. L.; BeMiller, J. N. *Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol. II*. Academic Press Inc., New York, London, 1963.

6-*O*-Benzyl-1,2:3,4-di-*O*-isopropyliden- α -D-galactopyranose (19)¹⁶⁶(α -6-Bn-1,2:3,4-*i*Prn-Gal)

Eine Lösung von 60.3 g (max. 222 mmol) α -1,2:3,4-*i*Prn-Gal (**18**) in 300 mL *N,N*-Dimethylformamid wird unter Argonatmosphäre auf 0 °C gekühlt. Portionsweise gibt man 13.6 g (340 mmol, 1.5 Äquiv.) einer 60%-igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl hinzu, entfernt die Kühlung und rührt bei Raumtemp. 2 Stunden bis keine Wasserstoffentwicklung mehr zu beobachten ist. Nach erneutem Kühlen auf 0 °C wird langsam eine Lösung von 40.7 mL (343 mmol, 1.5 Äquiv.) Benzylbromid in 80 mL *N,N*-Dimethylformamid zugetropft und man lässt die Mischung sich auf Raumtemp. erwärmen. Nach 4 Tagen wird durch Zugabe von 8 mL Methanol die Reaktion beendet, wobei der Umsatz wahrscheinlich bereits früher vollständig ist. Das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt und der Rückstand nach dreimaliger Kodestillation mit Toluol in 400 mL Dichlormethan aufgenommen. Man wäscht die organische Phase dreimal mit je 100 mL Wasser, extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen mit 100 mL Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄. Die erhaltene klare rot-braune Lösung wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und das Rohprodukt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1) gereinigt. Man erhält das noch leicht verunreinigte Produkt als gelb-oranges Öl.

Ausbeute: 57.1 g (max. 163 mmol, 73% d. Th. über 2 Stufen); Lit.:¹⁶⁶ 84 % (2 Stufen)

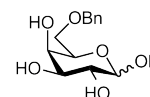
Gelb-oranges Öl

$R_f = 0.36$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1)

C₁₉H₂₆O₆ (350.41)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.39-7.26 (m, 5H, H_{Ar}-Ph), 5.55 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 5.1 Hz, H1-Gal), 4.63 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.61 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 8.0 Hz, ³J_{H3,H4} = 2.4 Hz, H3-Gal), 4.56 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.32 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 5.1 Hz, ³J_{H2,H3} = 2.6 Hz, H2-Gal), 4.28 (dd, 1H, ³J_{H4,H5} = 2.0 Hz, ³J_{H4,H3} = 8.0 Hz, H4-Gal), 4.03 (m_c, 1H, H5-Gal), 3.67 (dd, 1H, ²J = 10.0 Hz, ³J = 5.9 Hz, H6a-Gal), 3.65 (dd, 1H, ²J = 10.0 Hz, ³J = 6.7 Hz, H6b-Gal), 1.55, 1.46, 1.34, 1.33 (4 x s, 12H, CH₃).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 138.16 (C_{ipso}-Ph), 128.2, 127.6, 127.4 (C_{o,m,p}-Ph), 109.03, 108.37 (C-Ketal), 96.23 (C1-Gal), 73.15 (CH₂-Bn), 71.04 (C2-Gal), 70.51, 70.45 (C3-Gal, C4-Gal), 68.74 (C6-Gal), 66.75 (C5-Gal), 26.0, 25.9, 24.8, 24.4 (4 x CH₃).

6-O-Benzyl- α,β -D-galactopyranose (20)¹⁶⁶ $(\alpha,\beta$ -6-Bn-Gal)

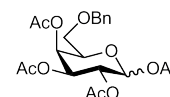
57.1 g (max. 163 mmol) α -6-Bn-1,2:3,4-*i*Prn-Gal (**19**) werden in 1000 mL 60%-iger Essigsäure 4 Stunden auf 80 °C erwärmt. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Hochvak. und kodestilliert mehrfach mit Toluol, bis kein Geruch nach Essigsäure mehr wahrnehmbar ist. Das zurückbleibende Rohprodukt wird direkt weiter in der nächsten Stufe eingesetzt.

Rohausbeute: 50.5 g (max. 163 mmol)

Gelbliches Öl

$R_f = 0.18$ (Essigsäureethylester/Ethanol = 10 : 1)

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

1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-benzyl- α,β -D-galactopyranose (21)¹⁶⁶ $(\alpha,\beta$ -6-Bn-Ac₃Gal-OAc)

In 450 mL Pyridin werden 50.5 g (max. 163 mmol) α,β -6-Bn-Gal (**20**) auf 0 °C gekühlt. Man versetzt mit 230 mL Essigsäureanhydrid, entfernt die Kühlung und rührt bei Raumtemp. über Nacht. Anschließend entfernt man überschüssige Reagenzien und Lösungsmittel i. Hochvak. und kodestilliert mehrmals mit Toluol, bis kein Pyridingeruch mehr wahrnehmbar ist. Der Rückstand wird in zwei Portionen mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1) gereinigt, wobei das Produkt als Anomerengemisch erhalten wird.

Ausbeute: 48.2 g (110 mmol, 50% d. Th. über 4 Stufen bezogen auf D-Galactose)

Hellgelbes sehr viskoses Öl

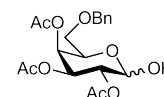
$R_f = 0.24$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1, Anomerengemisch)

$R_f^\alpha = 0.22$; $R_f^\beta = 0.19$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1)

$C_{21}H_{26}O_{10}$ (438.43)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.32-7.20 (m, 10H, H_{Ar}-Ph), 6.32 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 2.9 Hz, H1-Gal ^{α}), 5.65 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 8.5 Hz, H1-Gal ^{β}), 5.53 (s_b, 1H, H4-Gal ^{α}), 5.46 (d_b, 1H, ³J_{H4,H3} = 2.5 Hz, H4-Gal ^{β}), 5.29-5.24 (m, 3H, H2-Gal ^{α} , H2-Gal ^{β} , H3-Gal ^{α}), 5.05 (dd, 3H, ³J_{H3,H2} = 10.5 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.4 Hz, H3-Gal ^{β}), 4.50 (d, 2H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.38-4.32 (m, 2H, CH₂-Bn), 4.26 (t_b^{*}, 1H, ³J_{H5,H6ab} = 6.5 Hz, H5-Gal ^{α}), 4.96 (t_b^{*}, 1H, ³J_{H5,H6ab} = 6.5 Hz, H5-Gal ^{β}), 3.62-3.36 (m, 4H, H6ab-Gal ^{α} , H6ab-Gal ^{β}), 2.10, 20.5, 20.1, 2.00, 1.99, 1.96, 1.95, 1.94 (m, 24H, 8 x CH₃-Ac).

2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranose (22)^{144,167}
 (α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OH)



In 50 mL THF werden 3.60 mL (53.9 mmol, 1.9 Äquiv.) Ethylendiamin unter Wasserkühlung mit 3.60 mL (62.9 mmol, 2.2 Äquiv.) Essigsäure versetzt, wobei unter Bildung farbloser Dämpfe ein farbloser Niederschlag entsteht. Unter starkem Rühren wird langsam eine Lösung von 12.4 g (28.2 mmol) α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OAc (**21**) in 40 mL THF zugetropft und nach beendeter Zugabe weitere 18 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Anschließend gibt man 50 mL Wasser und 100 mL Dichlormethan zu, schüttelt aus und trennt die Phasen. Die organische Phase wäscht man nacheinander mit 70 mL 2N Salzsäure, 70 mL ges. NaHCO₃-Lsg. und 50 mL Wasser. Die vereinigten wässrigen Phasen werden einmal mit 100 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel entfernt man i. Vak. und reinigt das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1).

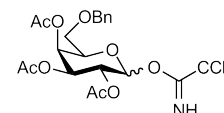
Ausbeute: 7.68 g (19.4 mmol, 69% d. Th.); Lit.:¹⁴⁴ 71%

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.28$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1)

C₁₉H₂₄O₉ (396.39)

2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranosyl-trichloracetimidat (23)^{165,168}
 (α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃)



8.64 g (21.8 mmol) α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OH (**22**) werden in 200 mL absol. Dichlormethan gelöst und mit 10 mL (99.7 mmol, 4.6 Äquiv.) Trichloracetonitril versetzt. Man tropft eine Lösung von 0.2 mL 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) in 1 mL absol. Dichlormethan zu und kontrolliert den Reaktionsfortschritt per DC. Nach 10 Minuten ist die Reaktion vollständig. Man gibt Kieselgel zu der Reaktionsmischung, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1). Neben geringen Mengen der reinen Substanzen, erhält man das Produkt größtenteils als Mischung von α - und β -Anomer.

Ausbeute: 7.99 g (14.8 mmol, 69% d. Th.); Lit.:¹⁶⁸ 86%

Farbloser amorpher Feststoff

C₂₁H₂₄Cl₃NO₉ (540.78)

α -Anomer:

$R_f = 0.15$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +76.4$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{24} = +76$ (c = 1.00, CHCl₃)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.65 (s, 1H, NH), 7.34-7.20 (m, 5H, H_{Ar}-Ph), 6.57 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 3.5 Hz, H1-Gal), 5.62 (d_b, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.2 Hz, H4-Gal), 5.41 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 10.9 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.2 Hz, H3-Gal), 5.33 (dd, 1H, ³J_{H2,H3} = 10.8 Hz, ³J_{H2,H1} = 3.6 Hz, H2-Gal), 4.52 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.42-4.35 (m, 2H, H5-Gal, CH₂-Bn), 3.52 (dd, 1H, ²J = 9.6 Hz, ³J = 5.8 Hz, H6a-Gal), 3.45 (dd, 1H, ²J = 9.6 Hz, ³J = 7.3 Hz, H6b-Gal), 2.03, 2.00, 1.99 (3 x s, 9H, CH₃-Ac).

¹³C-NMR [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 169.90, 169.80, 169.70 (C=O-Ac), 160.74 (C=NH), 137.22 (C_{ipso}-Ph), 128.24, 127.71, 127.65 (C_{o,m,p}-Ph), 93.49 (C1-Gal), 90.65 (CCl₃), 73.19 (CH₂-Bn), 69.85 (C5-Gal), 67.58, 67.48 (C3-Gal, C4-Gal), 66.93, 66.85 (C2-Gal, C6-Gal), 20.52, 20.47, 20.38, 20.34 (CH₃-Ac).

 β -Anomer:

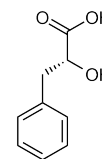
$R_f = 0.11$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.70 (s, 1H, NH), 7.36-7.20 (m, 5H, H_{Ar}-Ph), 5.81 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 8.3 Hz, H1-Gal), 5.52 (d_b, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.4 Hz, H4-Gal), 5.45 (dd, 1H, ³J_{H2,H3} = 10.4 Hz, ³J_{H2,H1} = 8.3 Hz, H2-Gal), 5.10 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 10.4 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.4 Hz, H3-Gal), 4.54 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.39 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.04 (m_c, 1H, H5-Gal), 3.58 (dd, 1H, ²J = 9.5 Hz, ³J = 5.7 Hz, H6a-Gal), 3.49 (dd, 1H, ²J = 9.5 Hz, ³J = 7.4 Hz, H6b-Gal), 2.05, 1.99, 1.98 (3 x s, 9H, CH₃-Ac).

¹³C-NMR [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 170.08, 169.94, 169.08 (C=O-Ac), 161.01 (C=NH), 137.34 (C_{ipso}-Ph), 128.38, 127.95, 127.82 (C_{o,m,p}-Ph), 96.11 (C1-Gal), 90.34 (CCl₃), 73.37 (CH₂-Bn), 73.03 (C5-Gal), 70.82 (C4-Gal), 67.84 (C3-Gal), 67.07 (C2-Gal), 66.64 (C6-Gal), 20.62, 20.61, 20.55 (CH₃-Ac).

5.2.4 Der Cyclohexylmilchsäurebaustein

(*R*)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure (**25**)^{169,170}



26.1 g (158 mmol) D-Phenylalanin (**24**) werden in 140 mL 1.25M Schwefelsäure gelöst und auf 0° C gekühlt. Eine Lösung von 32.8 g (475 mmol, 3.0 Äquiv.) NaNO₂ in 160 mL Wasser wird innerhalb einer Stunde zugetropft und sechs Tage bei Raumtemp. gerührt. Daraufhin gibt man 200 mL Essigsäureethylester zu, sättigt die wässrige Phase mit NaCl, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird fünfmal mit je 150 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in Essigsäureethylester aufgenommen, so dass er sich gerade löst, und anschließend *n*-Pentan zugegeben, bis das Produkt als farbloser Feststoff ausfällt. Dieser wird abfiltriert und i. Hochvak. getrocknet.

Ausbeute: 14.0 g (84.4 mmol, 53% d. Th.); Lit.:¹⁷⁰ 75%

Farbloser nadelförmiger Feststoff

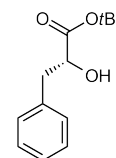
$[\alpha]_D^{23} = +21.2$ (c = 2.0, H₂O); Lit.:¹⁷⁰ $[\alpha]_D^{25} = +21$ (c = 2.0, H₂O)

C₉H₁₀O₃ (166.17)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, DMSO-d₆, MeOD): δ (ppm) = 7.32-7.16 (m, 5H, H_{Ar}-Ph), 5.22 (s_b, 1H, OH), 4.38 (dd, 1H, ³J = 7.5 Hz, ³J = 4.1 Hz, CH), 3.12 (dd, 1H, ²J = 14.0 Hz, ³J = 4.1 Hz, CH_{2a}), 2.90 (dd, 1H, ²J = 14.0 Hz, ³J = 7.5 Hz, CH_{2b}).

¹³C-NMR [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl₃, DMSO-d₆, MeOD): δ (ppm) = 176.29 (COOH), 136.57 (C_{ipso}-Ph), 129.38, 128.22 (C_{o,m}-Ph), 126.64 (C_p-Ph), 70.93 (CH), 40.11 (CH₂).

(*R*)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure-*tert*-butylester (**26**)³³⁰



13.0 g (62.8 mmol, 1.6 Äquiv.) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC), 6.05 g (81.6 mmol, 2.0 Äquiv.) *tert*-Butanol und 143 mg (1.4 mmol, 0.04 Äquiv.) Kupfer(I)-chlorid werden unter einer Argonatmosphäre und Lichtausschluss fünf Tage bei Raumtemp. gerührt. Dann wird mit 50 mL absol. Dichlormethan verdünnt und langsam eine Lösung von 6.65 g (40.0 mmol, 1.0 Äquiv.) (*R*)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure (**25**) in 50 mL absol. Dichlormethan zugetropft, wobei gelegentlich in einem Wasserbad gekühlt werden muss. Nach vollständiger Zugabe wird weitere drei Stunden bei Raumtemp. gerührt. Der ausgefallene *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff wird abfiltriert. Der Rückstand wird mit ges. NaHCO₃-Lösung gewaschen, die organische

³³⁰ Lerchen, H.-G.; Kunz, H. *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 1873.

Phase über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1) und als klares gelbliches Öl isoliert.

Ausbeute: 4.70 g (21.2 mmol, 53% d. Th.)

Gelbliches Öl

$R_f = 0.39$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +1.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3); Lit.:³³⁰ $[\alpha]_D^{24} = +9$ ($c = 0.6$, CHCl_3)

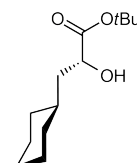
ESI-MS (m/z): 245.11 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 245.12)

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_3$ (222.28)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.31-7.18 (m, 5H, H_{Ar} -Ph), 4.31 (dd, 1H, $^3J = 5.8$ Hz, $^3J = 5.0$ Hz, CH); 3.07 (dd, 1H, $^2J = 14.0$ Hz, $^3J = 4.8$ Hz, CH_{2a}), 2.97-2.89 (m, 2H, CH_{2b} , OH), 1.42 (s, 9H, CH_3 -*t*Bu).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 173.38 ($\text{COO}t\text{Bu}$), 136.62 (C_{ipso} -Ph), 129.56, 128.14 ($\text{C}_{o,m}$ -Ph), 126.62 (C_p -Ph), 82.50 (C_q -*t*Bu), 71.18 (CH), 40.45 (CH_2), 27.89 (CH_3 -*t*Bu).

(*R*)-2-Hydroxy-3-cyclohexylpropansäure-*tert*-butylester (27)



6.20 g (27.9 mmol) (*R*)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure-*tert*-butylester (**26**) werden in einem Autoklavenröhrchen in 10 mL Methanol gelöst und mit 1.25 g Rhodium auf aktiviertem Aluminiumoxid (5 Gew-%) versetzt. Durch dreimaliges Evakuieren und Fluten mit Argon wird die Lösung im Autoklaven entgast und anschließend durch erneutes Evakuieren und Belüften unter eine Wasserstoffatmosphäre gesetzt. Bei einem Druck von 25 bar Wasserstoff wird anschließend zwei Tage bei Raumtemp. gerührt. Die Reaktionslösung wird in einen Kolben überführt, Kieselgel zugesetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1) und erhält das Produkt als farblose Flüssigkeit. Daneben isoliert man Anteile des durch Umesterung entstandenen Methylsters.

Ausbeute: 3.14 g (13.8 mmol, 49% d. Th.)

Farblose Flüssigkeit

$R_f = 0.25$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +8.9$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

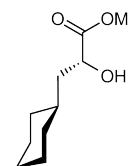
$\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_3$ (228.33)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 4.06 (m_c , 1H, CHCOOtBu), 2.80 (d, 1H, $^3J = 5.9$ Hz, OH), 1.81 (d_b , 1H, $^2J = 12.9$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{CHCOOtBu}$), 1.72-1.36 (m, 16H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$, CH-Cyclo, $\text{CH}_{2b}\text{CHCOOtBu}$, $\text{CH}_3\text{-}t\text{Bu}$ {1.45}), 1.30-1.06 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 0.98-0.81 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 175.30 (COOtBu), 82.07 ($\text{C}_q\text{-}t\text{Bu}$), 68.62 (CHCOOtBu), 42.25 ($\text{CH}_2\text{CHCOOtBu}$), 33.98 ($\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 33.78 (CH-Cyclo), 32.34 ($\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 27.95 ($\text{CH}_3\text{-}t\text{Bu}$), 26.85, 26.06 ($\text{CH}_2\text{-Cyclo}$).

Nebenprodukt:

(*R*)-2-Hydroxy-3-cyclohexylpropansäure-methylester (**28**)¹⁷²



Ausbeute: 1.68 g (9.02 mmol, 32% d. Th.)

Farblose Flüssigkeit

$R_f = 0.12$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1)

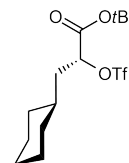
$[\alpha]_D^{23} = -1.1$ ($c = 1.0$, CHCl_3); Lit.:³⁰ $[\alpha]_D^{23} = -2$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_3$ (186.25)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 4.19 (m_c , 1H, CHCOOMe), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 2.95 (d, 1H, $^3J = 6.0$ Hz, OH), 1.79 (d_b , 1H, $^2J = 12.7$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{CHCOOMe}$), 1.69-1.42 (m, 7H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$, CH-Cyclo, $\text{CH}_{2b}\text{CHCOOMe}$), 1.28-1.04 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 0.97-0.78 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 176.30 (COOMe), 68.34 (CHCOOMe), 52.17 (OCH_3), 42.00 ($\text{CH}_2\text{CHCOOMe}$), 33.84 ($\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 33.50 (CH-Cyclo), 32.12, 26.77, 26.36, 26.16, 25.92 ($\text{CH}_2\text{-Cyclo}$).

(*R*)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäure-*tert*-butylester (**29**)



1.58 g (6.92 mmol) (*R*)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure-*tert*-butylester (**27**) werden in 15 mL absol. Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nacheinander werden langsam 2.7 mL (23.2 mmol, 3.4 Äquiv.) 2,6-Dimethylpyridin (2,6-Lutidin) und 2.7 mL (16.1 mmol, 2.3 Äquiv.) Trifluormethansulfonsäureanhydrid (TF_2O) zugetropft. Man rührt 30 Minuten bei 0 °C, setzt Kieselgel hinzu und entfernt das Lösungsmittel bei einer Badtemperatur von unter 35 °C i. Vak. am Rotationsverdampfer. Man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1) und erhält das Produkt als farbloses Öls.

Ausbeute: 2.31 g (6.42 mmol, 93% d. Th.)

Farbloses Öl

$R_f = 0.59$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1)

$C_{14}H_{23}F_3O_5S$ (360.39)

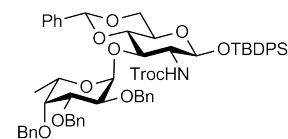
1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 5.02 (dd, 1H, $^3J = 9.2$, $^3J = 4.1$ Hz, $\underline{C}HCOOtBu$), 1.92-1.59 (m, 7H, CH_2 -Cyclo, CH-Cyclo, $\underline{C}H_2CHCOOtBu$), 1.51-1.37 (m, 10H, CH_3 -*t*Bu {1.48}, CH_2 -Cyclo), 1.28-1.09 (m, 3H, CH_2 -Cyclo), 1.03-0.82 (m, 2H, CH_2 -Cyclo).

^{13}C -NMR [BB, DEPT] (100.6 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 166.60 ($COOtBu$), 118.43 (q, $J_{C,F} = 319$ Hz, CF_3), 84.13 ($\underline{C}HCOOtBu$), 82.46 (C_q -*t*Bu), 39.16 ($\underline{C}H_2CHCOOtBu$), 33.42 (CH_2 -Cyclo), 33.32 (CH-Cyclo), 31.88 (CH_2 -Cyclo), 27.62 (CH_3 -*t*Bu), 26.09, 25.96, 25.69 (CH_2 -Cyclo).

5.2.5 Die Disaccharide

tert-Butyldiphenylsilyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**31**)¹⁴⁴

(β -3-(α -Bn₃Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS)



Eine Lösung von 12.0 g (17.7 mmol, 1.0 Äquiv.) β -4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS (**7**) und 10.2 g (21.2 mmol, 1.2 Äquiv.) α,β -Bn₃Fuc-SEt (**16**) in einer Mischung aus 200 mL *N,N*-Dimethylformamid und 200 mL absol. Dichlormethan wird mit ca. 5 g Molekularsieb (4 Å) versetzt und eine Stunde unter Argon bei Raumtemp. gerührt. Anschließend werden 7.80 g (24.2 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **16**) Tetra-*n*-butylammoniumbromid und 5.32 g (23.8 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **16**) trockenes Kupfer(II)-bromid zugegeben und der Ansatz unter Lichtausschluss 18 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Man filtriert über eine dünne Schicht Celite[®] und wäscht viermal mit je 50 mL Dichlormethan nach. Das Filtrat wird dreimal mit je 200 mL ges. NaHCO₃-Lösung und einmal mit 200 mL ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 100 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel zunächst i. Vak. und später im Hochvakuum. Zur Entfernung von Resten an *N,N*-Dimethylformamid kodestilliert man noch dreimal mit je 70 mL Toluol und reinigt das zurückbleibende bräunliche Öl zunächst durch Filtration über eine etwa 10 cm dicke Kieselgelschicht, wobei mit viel Dichlormethan nachgewaschen wird. Nach erneutem Einengen wird das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 4 : 1) gereinigt und das Produkt als gelb-brauner amorpher Feststoff erhalten.

Ausbeute: 14.6 g (13.3 mmol, 75% d. Th.); Lit.:¹⁴⁴ 79%

Gelb-brauner amorpher Feststoff

R_f = 0.67 (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

R_f = 0.34 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1)

$[\alpha]_D^{23}$ = -50.2 (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{24}$ = -56 (c = 1.0, CHCl₃)

C₅₉H₆₄Cl₃NO₁₁Si (1097.58)

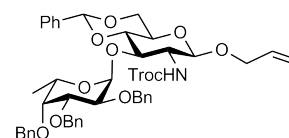
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.65-7.63 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.60-7.57 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.42-7.24 (m, 26H, H_{Ar}-Ph), 5.41 (s, 1H, CH-Bzn), 5.17 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 7.8 Hz, NH-GlcN), 5.12 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 3.6 Hz, H1-Fuc), 4.89 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂), 4.81-4.78 (m, 3H, CH₂, H1-GlcN {4.80}), 4.72-4.53 (m, 4H, CH₂), 4.40 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂), 4.14-3.99 (m, 4H, H5-Fuc, H3-GlcN, H2-Fuc, H6a-GlcN), 3.90 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 10.2 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.3 Hz, H3-Fuc), 3.62-3.47 (m, 4H, H6b-GlcN, H4-GlcN, H4-Fuc, H2-GlcN), 3.07 (m_c, 1H, H5-GlcN), 1.03

(s, 9H, CH₃-*t*Bu), 0.75 (d, 3H, ³*J* = 6.2 Hz, H_{6abc}-Fuc).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 153.71 (C=O-Troc), 138.82, 138.52, 138.46, 137.20 (C_{ipso}-Ph), 135.83, 135.76 (C_{o,m,p}-Ph), 133.12, 132.70 (C_{ipso}-Ph), 129.89, 129.77, 128.98, 128.49, 128.34, 128.25, 128.13, 128.07, 127.81, 127.52, 127.45, 127.34, 127.28, 126.10 (C_{o,m,p}-Ph), 101.47 (CH-Bzn), 97.74 (C1-Fuc), 95.78 (C1-GlcN), 95.11 (CCl₃), 80.40 (C4-GlcN), 79.45 (C3-Fuc), 77.70 (C4-Fuc), 77.07 (C2-Fuc), 74.84, 74.63 (CH₂), 74.46 (C3-GlcN), 73.56, 73.02 (CH₂), 68.48 (C6-GlcN), 66.68 (C5-Fuc), 65.86 (C5-GlcN), 60.99 (C2-GlcN), 26.75 (CH₃-*t*Bu), 16.21 (C6-Fuc).

Allyl-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (32)¹⁴⁴

(β-3-(α-Bn₃Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll)



1.25 g (3.88 mmol, 1.5 Äquiv.) Tetra-*n*-butylammoniumbromid werden zweimal i. Hochvak. aufgeschmolzen und kristallisieren gelassen. Nach dem Erkalten werden 1.24 g (2.57 mmol) β-4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll (**11**) und 7.5 g frisch ausgeheiztes Molekularsieb (4 Å) zugesetzt und als Lösungsmittel 15 mL absol. Dichlormethan und 15 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid zugegeben. Man rührt den Ansatz eine Stunde bei Raumtemp. unter Argonatmosphäre. In einem weiteren Kolben werden 1.52 g (3.18 mmol, 1.24 Äquiv.) α,β-Bn₃Fuc-SEt (**16**) i. Hochvak. getrocknet, anschließend in 10 mL absol. Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Langsam wird nun eine Lösung von 0.2 mL Brom in 5 mL absol. Dichlormethan zugetropft bis die Bromfarbe nicht mehr verschwindet. Man rührt 25 Minuten in der Kälte weiter und vernichtet überschüssiges Brom durch Zutropfen von 0.1 mL 1-Hexen. Die Lösung des rohen Fucosylbromids wird mit einer Spritze zur Lösung des Glucosaminbausteins getropft und der Ansatz 2 Tage bei Raumtemp. gerührt. Die Lösung wird filtriert, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1). Man erhält das Produkt als farblosen Feststoff.

Ausbeute: 1.24 g (1.38 mmol, 54% d. Th.); Lit.:¹⁴⁴ 76%

Farbloser Feststoff

R_f = 0.67 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

R_f = 0.24 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1)

[α]_D²³ = -67.4 (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ [α]_D²⁵ = -67 (c = 1.0, CHCl₃)

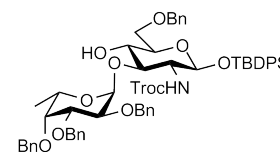
C₄₆H₅₀Cl₃NO₁₁ (899.25)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.46-7.40 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.40-7.21 (m, 18H, H_{Ar}-Ph), 5.81 (m_c, 1H, CH-All), 5.48 (s, 1H, CH-Bzn), 5.42 (s_b, 1H, NH-GlcN), 5.24 (ddd, 1H, ³J_{trans} = 17.3 Hz, ²J = 3.1 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, =CH_{2a}-All^{trans}), 5.18-5.13 (m, 2H, =CH₂-All^{cis}, H1-Fuc), 4.90 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂), 4.85-4.65 (m, 6H, 5 x CH₂, H1-GlcN {4.79}), 4.58 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂), 4.56 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂), 4.35-4.20 (m, 3H, H6a-GlcN, CH_{2a}-All, H3-GlcN), 4.09-3.99 (m, 3H, H5-Fuc, H2-Fuc, CH_{2b}-All), 3.92 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 10.2 Hz, ³J_{H3,H4} = 2.7 Hz, H3-Fuc), 3.75 (t*, 1H, ²J = ³J = 10.3 Hz, H6b-GlcN), 3.59 (t*, 1H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.3 Hz, H4-GlcN), 3.55 (d_b, 1H, ³J_{H4,H3} = 1.7 Hz, H4-Fuc), 3.44 (m_c, 1H, H5-GlcN), 3.33 (q*, 1H, ³J_{H2,H1} = ³J_{H2,H3} = ³J_{H2,NH} = 8.5 Hz, H2-GlcN), 0.77 (d, 3H, ³J = 6.5 Hz, H6abc-Fuc).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 153.89 (C=O-Troc), 138.75, 138.54, 138.28, 137.18 (C_{ipso}-Ph), 133.51 (CH-All), 129.06, 128.52, 128.37, 128.26, 128.18, 128.14, 128.09, 127.81, 127.52, 127.47, 127.30, 126.20 (C_{o,m,p}-Ph), 117.72 (=CH₂-All), 101.66 (CH-Bzn), 100.04 (C1-GlcN), 98.07 (C1-Fuc), 95.43 (CCl₃), 80.47 (C4-GlcN), 79.59 (C3-Fuc), 77.70 (C4-Fuc), 76.91 (C2-Fuc), 74.86 (CH₂), 74.36 (C3-GlcN, CH₂), 73.89, 72.91 (CH₂), 70.52 (CH₂-All), 68.73 (C6-GlcN), 66.87 (C5-Fuc), 66.25 (C5-GlcN), 59.03 (C2-GlcN), 16.20 (C6-Fuc).

tert-Butyldiphenylsilyl-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucofuranosid (33)¹⁴⁴

(β-3-(α-Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)



Batch-Ansatz:¹⁴⁴

Eine Mischung aus 11.7 g (10.6 mmol) β-3-(α-Bn₃Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS (**31**) und 4.4 g Molekularsieb (4 Å) wird mit 400 mL absol. Dichlormethan versetzt und 1 Stunde unter Argon bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt auf -78 °C und gibt 2.57 mL (15.9 mmol, 1.5 Äquiv.) Triethylsilan zu. Zu dieser Reaktionsmischung tropft man unter starkem Rühren sehr langsam 1.39 mL (15.9 mmol, 1.5 Äquiv.) vorgekühlte Trifluormethansulfonsäure. Nach zwei Stunden bei -78 °C gibt man auf die gleiche Weise weitere 0.75 Äquivalente der Säure hinzu und lässt erneut 2.5 Stunden unter fortgesetzter Kühlung rühren. Zum Beenden der Umsetzung werden 10 mL Methanol zugetropft und die Lösung noch in der Kälte unter ständiger pH-Kontrolle durch tropfenweise Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin neutralisiert. Man entfernt das Kühlbad, filtriert nach Erwärmung auf Raumtemp. vom Molekularsieb ab und wäscht mehrmals mit Dichlormethan nach. Das Filtrat wird nacheinander mit 200 mL ges. NaHCO₃-Lösung und 150 mL ges. NaCl-Lösung gewaschen und die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 50 mL Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das zurückbleibende gelbliche Öl wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Lauf-

mittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 6 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als blassgelben amorphen Feststoff.

Ausbeute: 7.70 g (7.00 mmol, 66% d. Th.); Lit.:¹⁴⁴ 77%

Continuous Flow-Ansatz:

Mit Spritzenpumpen werden jeweils zwei Lösungen durch PTFE-Schläuche (OD = 3.18 mm, ID = 1.76 mm) gefördert. Die Mischung erfolgt mit einem Mikrogas Interdigital Mischer aus Glas, auf den eine Verweilschleife aus PTFE-Schläuchen (Gesamtvolumen: 3.0 mL) folgt. Nach Durchlaufen der Verweilschleife wird die Reaktionsmischung unter starkem Rühren in kalte, übersättigte NaHCO₃-Lösung eingetropft, um eine schnelle Neutralisation der sauren Mischung zu ermöglichen. Während der Reaktion werden Mikromischer, Verweilschleife und NaHCO₃-Lösung in einem Eisbad gekühlt.

Unter Schutzgas werden folgende drei Lösungen angesetzt:

A: 3.08 g (2.81 mmol) β -3-(α -Bn₃Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS (**31**), 30 mL absol. Dichlormethan, 11.4 mL (71.4 mmol, 25 Äquiv.) Triethylsilan

B: 5 mL absol. Dichlormethan, 1.8 mL (11.3 mmol) Triethylsilan

C: 32 mL absol. Dichlormethan, 16.1 mL (209 mmol) Trifluoressigsäure (wasserfrei)

Zur Konditionierung werden mit Spritzenpumpen zunächst etwa jeweils 2 mL der Lösungen **B** und **C** mit einer Flussrate von 0.4 mL/min gefördert. Im Anschluss erfolgt die gleichzeitige Förderung der Lösungen **A** und **C**, bis Lösung **A** aufgebraucht ist (Flussrate: 0.4 mL/min). Dann wird erneut mit den Lösungen **B** und **C** nachgespült (Flussrate: 0.4 mL/min), bevor auf beiden Kanälen mit je 40 mL absol. Dichlormethan gespült wird (Flussrate: 0.4 mL/min \rightarrow 1.0 mL/min).

Die neutralisierte Reaktionsmischung wird mit Wasser verdünnt, bis sich überschüssiges NaHCO₃ gelöst hat. Man schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 6 : 1).

Ausbeute: 2.53 g (2.30 mmol, 82% d. Th.)

Blassgelber amorpher Feststoff

$R_f = 0.60$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.24$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 4 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -17.8$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{24} = -18$ (c = 1.0, CHCl₃)

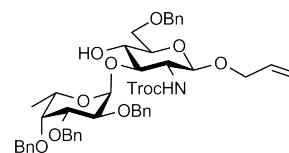
ESI-MS (m/z): 1120.33 ([M+Na]⁺, ber.: 1120.34)

C₅₉H₆₆Cl₃NO₁₁Si (1099.60)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.75-7.72 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.69-7.66 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.44-7.22 (m, 26H, H_{Ar}-Ph), 4.96 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂), 4.88 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 8.8 Hz, NH-GlcN), 4.83 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂), 4.79 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 3.6 Hz, H1-Fuc), 4.76 (d_b, 2H, ²J = 11.8 Hz, CH₂), 4.72 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂), 4.61 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂), 4.60 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂), 4.56 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.7 Hz, H1-GlcN), 4.50 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂), 4.44 (d, 1H, ²J = 12.5 Hz, CH₂), 4.27 (d_b, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂), 4.10-4.06 (m, 2H, H5-Fuc, 4-OH-GlcN), 4.03 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 10.3 Hz, ³J_{H2,H3} = 3.3 Hz, H2-Fuc), 3.92 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 9.9 Hz, ³J_{H3,H4} = 2.6 Hz, H3-Fuc), 3.66-3.63 (m, 2H, H4-Fuc, H2-GlcN), 3.62-3.57 (d, 2H, ³J = 3.7 Hz, H6ab-GlcN), 3.50 (dt_b, 1H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9 Hz, ³J_{H4,OH} = 1.5 Hz, H4-GlcN), 3.10 (m_c, 1H, H5-GlcN), 1.12 (d, 3H, ³J = 6.6 Hz, H6abc-Fuc), 1.08 (s, 9H, CH₃-*t*Bu).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 154.09 (C=O-Troc), 138.67, 138.43, 138.31 (C_{ipso}-Ph), 136.05, 135.94 (C_{o,m,p}-Ph), 133.15, 132.86 (C_{ipso}-Ph), 129.86, 129.71, 128.49, 128.43, 128.37, 128.24, 127.93, 127.68, 127.57, 127.52, 127.39 (C_{o,m,p}-Ph), 98.88 (C1-Fuc), 95.75 (C1-GlcN), 95.40 (CCl₃), 84.83 (C3-GlcN), 78.90 (C3-Fuc), 77.57 (C4-Fuc), 76.34 (C2-Fuc), 74.91 (CH₂), 74.85 (C5-GlcN), 74.46, 73.78, 73.52, 73.35 (CH₂), 69.89 (C4-GlcN), 69.14 (C6-GlcN), 68.07 (C5-Fuc), 58.00 (C2-GlcN), 26.78 (CH₃-*t*Bu), 16.62 (C6-Fuc).

Allyl-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (35)¹⁴⁴
(β-3-(α-Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll)



Experimenteller Aufbau wie bei der Synthese von **33**.

Unter Schutzgas werden folgende drei Lösungen angesetzt:

- A:** 500 mg (0.556 mmol) β-3-(α-Bn₃Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll (**32**), 9 mL absol. Dichlormethan, 2.0 mL (12.5 mmol, 22.5 Äquiv.) Triethylsilan
B: 4.5 mL absol. Dichlormethan, 1.0 mL (5.7 mmol) Triethylsilan
C: 7 mL absol. Dichlormethan, 4.0 mL (51.9 mmol) Trifluoressigsäure (wasserfrei)

Zur Konditionierung werden mit Spritzenpumpen zunächst etwa jeweils 1.5 mL der Lösungen **B** und **C** mit einer Flussrate von 0.4 mL/min gefördert. Im Anschluss erfolgt die gleichzeitige Förderung der Lösungen **A** und **C**, bis Lösung **A** aufgebraucht ist (Flussrate: 0.4 mL/min). Dann wird erneut mit den Lösungen **B** und **C** nachgespült (Flussrate: 0.4 mL/min), bevor auf beiden Kanälen mit je 20 mL absol. Dichlormethan gespült wird (Flussrate: 0.4 mL/min → 1.0 mL/min).

Die neutralisierte Reaktionsmischung wird mit Wasser verdünnt, bis sich überschüssiges NaHCO_3 gelöst hat. Man schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1).

Ausbeute: 408 mg (0.453 mmol, 81% d. Th.); Lit.:¹⁴⁴ 82% im Kolben

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.22$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -27.3$ (c = 1.0, CHCl_3); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{25} = -28$ (c = 1.0, CHCl_3)

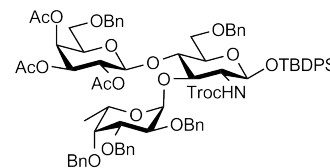
ESI-MS (m/z): 922.23 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 922.25)

$\text{C}_{46}\text{H}_{52}\text{Cl}_3\text{NO}_{11}$ (901.26)

5.2.6 Die Trisaccharide

***tert*-Butyldiphenylsilyl-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (36)**¹⁴⁴

(β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)



1.00 g (0.909 mmol) β -3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**33**) und 600 mg (1.11 mmol, 1.2 Äquiv.) α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**23**) werden in einem Kolben in absol. Dichlormethan gelöst, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und die Mischung 30 Minuten i. Hochvak. getrocknet. Dann belüftet man mit Argon, fügt 2 g frisch ausgeheiztes Molekularsieb (4 Å) und 17 mL absol. Dichlormethan hinzu und rührt 2 Stunden unter Schutzgas. Anschließend kühlt man auf -78 °C und tropft sofort nach Erreichen der Temperatur 0.25 mL einer Lösung von 0.1 mL Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in 0.9 mL absol. Dichlormethan zu der klaren Reaktionsmischung. Binnen 4 Stunden lässt man auf -30 °C erwärmen. Da dünnschichtchromatographisch noch kein vollständiger Umsatz zu beobachten ist, kühlt man erneut auf -50 °C und gibt weitere 1.2 g (2.22 mmol, 2.4 Äquiv.) α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**23**) zu. Dann versetzt man mit 0.3 mL einer Lösung von 0.05 mL Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in 0.95 mL absol. Dichlormethan. Nach 15 Minuten erkennt man dünnschichtchromatographisch vollständigen Umsatz. Man versetzt in der Kälte mit einem Spatel festem NaHCO_3 und 20 mL ges. NaHCO_3 -Lösung und lässt über Nacht auftauen. Anschließend trennt man die organische Phase ab und

extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan. Man trocknet die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 , entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 4 : 1 \rightarrow 3 : 1).

Ausbeute: 1.33 g (0.900 mmol, 99% d. Th.); Lit.:¹⁴⁴ 63%

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.16$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -40.0$ (c = 1.0, CHCl_3); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{24} = -34$ (c = 1.0, CHCl_3)

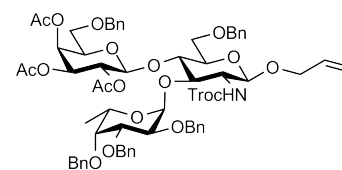
ESI-MS (m/z): 1498.50 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1498.47)

$\text{C}_{78}\text{H}_{88}\text{Cl}_3\text{NO}_{19}\text{Si}$ (1477.97)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.70-7.66 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.61-7.57 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.43-7.16 (m, 29H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.16-7.12 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 5.38 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 3.3$ Hz, H4-Gal), 5.22 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}_2} = 7.8$ Hz, NH-GlcN), 5.18 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 3.2$ Hz, H1-Fuc), 4.98-4.91 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$, H2-Gal), 4.88 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 7.7$ Hz, H1-GlcN), 4.84-4.78 (m, 3H, H3-Gal, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.73-4.48 (m, 8H, H1-Gal, H5-Fuc, $\text{CH}_{2a}\text{-Troc}$, $\text{CH}_{2b}\text{-Troc}$, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.41 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.23 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.09 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 3.7$ Hz, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 10.1$ Hz, H2-Fuc), 4.04 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 9.2$ Hz, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = \text{H}_3\text{-GlcN}$), 3.96 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = ^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 9.2$ Hz, H4-GlcN), 3.93 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.1$ Hz, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 2.4$ Hz, H3-Fuc), 3.63-3.55 (m, 3H, H6a-GlcN, H5-Gal, H4-Fuc), 3.50 (dd, 1H, $^2J = 8.9$ Hz, $^3J = 5.3$ Hz, H6a-Gal), 3.36-3.24 (m, 3H, H6b-Gal, H2-GlcN, H6b-GlcN), 2.93 (m_c, 1H, H5-GlcN), 1.91, 1.86, 1.75 (s, 9H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1.16 (d, 3H, $^3J = 6.5$ Hz, H6abc-Fuc), 1.03 (s, 9H, $\text{CH}_3\text{-tBu}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 169.81, 169.57, 168.62 (C=O-Ac), 153.26 (C=O-Troc), 138.72, 138.48, 138.38, 137.74, 137.24 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$), 135.71, 135.60 ($\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 133.30, 132.63 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$), 129.64, 129.46, 128.31, 128.26, 128.22, 128.06, 127.91, 127.66, 127.62, 127.47, 127.45, 127.42, 127.35, 127.14, 126.87 ($\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 99.37 (C1-Gal), 97.12 (C1-Fuc), 94.98 (CCl_3), 94.58 (C1-GlcN), 79.80 (C3-Fuc), 77.36 (C4-Fuc), 77.20 (C2-Fuc), 74.62 (C5-GlcN), 74.52 ($\text{CH}_2\text{-Troc}$), 74.09 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 73.94 (C4-GlcN), 73.81 (C3-GlcN), 73.42, 73.09, 72.99 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 71.28 (C5-Gal), 70.99 (C3-Gal), 68.86 (C2-Gal), 67.18 (C4-Gal), 67.00 (C6-GlcN), 66.39 (C6-Gal), 66.06 (C5-Fuc), 61.27 (C2-GlcN), 26.62 ($\text{CH}_3\text{-tBu}$), 20.46, 20.42, 19.00 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$), 16.55 (C6-Fuc).

Allyl-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (37)¹⁴⁴



(β-4-(β-6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α-Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll)

340 mg (0.377 mmol) β-3-(α-Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**35**) und 395 mg (0.731 mmol, 1.9 Äquiv.) α,β-6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**23**) werden in einem Kolben in absol. Dichlormethan gelöst, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und die Mischung 30 Minuten i. Hochvak. getrocknet. Dann belüftet man mit Argon, fügt 1 g frisch ausgeheiztes Molekularsieb (4 Å) und 10 mL absol. Dichlormethan hinzu und rührt 2 Stunden unter Argon. Man kühlt auf -40 °C und tropft vorsichtig 2 Tropfen Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zu der klaren Reaktionsmischung. Binnen 3 Stunden lässt man auf -25 °C erwärmen. Man versetzt in der Kälte mit einem Spatel festem K₂CO₃ und 20 mL ges. NaHCO₃-Lösung und lässt den Ansatz auf Raumtemp. erwärmen. Anschließend versetzt man mit Wasser und Essigsäureethylester, trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Essigsäureethylester. Man trocknet die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1).

Ausbeute: 461 mg (0.360 mmol, 96% d. Th.); Lit.:¹⁴⁴ 92%

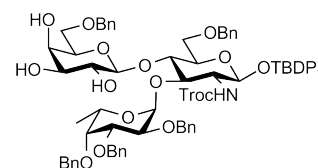
Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.37$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 2)

$[\alpha]_D^{23} = -34.2$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{22} = -35$ (c = 1.0, CHCl₃)

C₆₅H₇₄Cl₃NO₁₉ (1279.64)

tert-Butyldiphenylsilyl-4-O-(6-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (38)¹⁴⁴



(β-4-(β-6-Bn-Gal)-3-(α-Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)

4.62 g (3.13 mmol) des Trisaccharids (**36**) werden in 200 mL Methanol gelöst und mit frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung ein pH-Wert von 8.5-9 eingestellt. Man rührt drei Stunden bei Raumtemp. und neutralisiert anschließend durch Zugabe von saurem Ionentauscher Amberlyst[®] 15. Nach Filtration und Nachwaschen mit Methanol wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 1.80 g (1.33 mmol, 42% d. Th.); Lit.:¹⁴⁴ 85%

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.20$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -41.6$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{24} = -44$ (c = 1.0, CHCl₃)

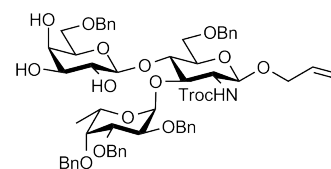
ESI-MS (m/z): 1372.40 ([M+Na]⁺, ber.: 1372.44)

C₇₂H₈₂Cl₃NO₁₆Si (1351.86)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.72-7.66 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.62-7.57 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.45-7.23 (m, 29H, H_{Ar}-Ph), 7.18-7.13 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 5.61 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 7.4 Hz, NH-GlcN), 5.23 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 3.3 Hz, H1-Fuc), 4.93 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂), 4.91 (d, 1H, ²J = 10.8 Hz, CH₂), 4.85 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂), 4.79-4.63 (m, 4H, H1-GlcN {4.66}, CH₂), 4.56 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂), 4.52-4.42 (m, 5H, H1-Gal {4.48}, CH₂), 4.38 (q, 1H, ³J_{H5,H6abc} = 6.2 Hz, H5-Fuc), 4.27 (d, 1H, ²J = 12.2 Hz, CH₂), 4.10-3.94 (m, 4H, H2-Fuc {4.07}, H4-GlcN {4.05}, H3-GlcN {3.99}, H3-Fuc {3.96}), 3.92 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 2.5 Hz, H4-Gal), 3.76 (dd, 1H, ²J = 11.8 Hz, ³J = 2.4 Hz, H6a-GlcN), 3.73-3.66 (m, 2H, H6a-Gal {3.70}, H4-Fuc {3.68}), 3.62 (dd, 1H, ²J = 9.5 Hz, ³J = 5.2 Hz, H6b-Gal), 3.51-3.35 (m, 4H, H5-Gal {3.46}, H2-Gal {3.46}, H3-Gal {3.42}, H2-GlcN {3.39}), 3.30 (d_b, 1H, ²J = 11.3 Hz, H6b-GlcN), 3.00 (d_b, 1H, ³J_{H5,H4} = 9.3 Hz, H5-GlcN), 2.78 (s_b, 1H, OH), 2.65 (s_b, 1H, OH), 1.81 (s_b, 1H, OH), 1.11 (d, 3H, ³J = 6.4 Hz, H6abc-Fuc), 1.04 (s, 9H, CH₃-*t*Bu).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 153.72 (C=O-Troc), 138.69, 138.64, 138.04, 138.01, 137.74 (C_{ipso}-Ph), 135.80, 135.75 (C_{o,m,p}-Ph), 133.49, 132.77 (C_{ipso}-Ph), 129.71, 129.53, 128.51, 128.44, 128.38, 128.26, 128.14, 128.10, 127.96, 127.76, 127.53, 127.50, 127.47, 127.39, 127.25, 127.15 (C_{o,m,p}-Ph), 100.62 (C1-Gal), 97.59 (C1-Fuc), 95.49 (CCl₃), 95.22 (C1-GlcN), 79.53 (C3-Fuc), 77.79 (C4-Fuc), 77.16 (C2-Fuc), 76.45 (C3-GlcN), 74.94 (CH₂), 74.54 (C5-GlcN), 74.44 (CH₂), 74.23 (C4-GlcN), 74.13, 73.51 (CH₂), 73.42 (C3-Gal), 73.37 (CH₂), 72.82 (C2-Gal), 72.65 (CH₂), 72.25 (C5-Gal), 68.71 (C6-Gal), 68.23 (C4-Gal), 67.89 (C6-GlcN), 66.98 (C5-Fuc), 60.29 (C2-GlcN), 26.72 (CH₃-*t*Bu), 16.84 (C6-Fuc).

Allyl-4-O-(6-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (39)
(β -4-(β -6-Bn-Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll)



360 mg (0.281 mmol) des Trisaccharids (**37**) werden in 15 mL Methanol gelöst und mit frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung ein pH-Wert von 8.5-9 eingestellt. Man rührt drei Stunden bei Raumtemp. und neutralisiert anschließend mit saurem Ionentauscher Amberlyst[®] 15. Nach

Filtration und Nachwaschen mit Methanol wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 286 mg (0.248 mmol, 88% d. Th.); Lit.:¹⁴⁴ 89%

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.13$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -42.3$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{24} = -45$ (c = 1.0, CHCl₃)

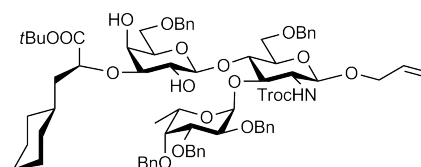
ESI-MS (m/z): 1174.30 ([M+Na]⁺, ber.: 1174.35)

C₅₉H₆₈Cl₃NO₁₆ (1153.53)

5.2.7 Die Sialyl-Lewis^x-Mimetika

Allyl-4-O- $\{$ 6-O-benzyl-3-O- $[(1S)$ -2-cyclohexyl-1-*tert*-butyloxycarbonylethyl]- β -D-galactopyranosyl $\}$ -3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucoPyranosid (41)

(β -Bn₅CycloLe^xNTrocCOO*t*Bu-OAll)



220 mg (0.191 mmol) β -4-(β -6-Bn-Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**39**) werden in 20 mL absol. Methanol mit 84 mg (0.337 mmol, 1.8 Äquiv.) Di-*n*-butylzinnoxid versetzt. Man erwärmt bei 80 °C Badtemperatur für 20 Stunden unter Rückfluss. Die klare Lösung wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit, mit Toluol kdestilliert und der Rückstand 4 Stunden i. Hochvak. getrocknet. Anschließend wird das rohe Stannyleneacetal in 10 mL absol. 1,2-Dimethoxyethan gelöst und mit 90 mg (0.592 mmol, 3.1 Äquiv.) wasserfreiem Cäsiumfluorid versetzt. Man tropft 200 mg (0.555 mmol, 2.9 Äquiv.) (*R*)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäure-*tert*-butylester (**29**) in 5 mL absol. 1,2-Dimethoxyethan zu und rührt die Suspension 5 Stunden bei Raumtemperatur. Man versetzt mit Kieselgel, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1 \rightarrow 1 : 2). Dabei kann man neben dem gewünschten Produkt auch 143 mg (0.124 mmol, 65% d. Th.) des Eduktes β -4-(β -6-Bn-Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**39**) zurückgewinnen.

Ausbeute: 58 mg (0.043 mmol, 22% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.13$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1)

$R_f = 0.20$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -31.2$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 1448.68 ($[\text{M}+2\text{Na}+\text{MeCN}]^+$, ber.: 1448.53)

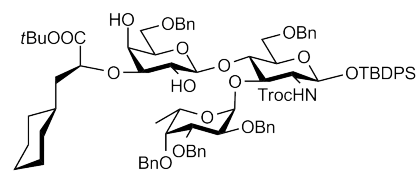
$\text{C}_{72}\text{H}_{90}\text{Cl}_3\text{NO}_{18}$ (1363.84)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.41-7.22 (m, 25H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 5.84 (m_c , 1H, =CH-All), 5.62 (s_b , 1H, NH-GlcN), 5.23 (ddd, 1H, $^3J_{trans} = 17.4$ Hz, $^2J = 3.2$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.19 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 3.5$ Hz, H1-Fuc), 5.14 (ddt_b, 1H, $^3J_{cis} = 10.5$ Hz, $^2J = 2.8$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.96 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, CH₂), 4.85 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH₂), 4.82-4.57 (m, 8H, H1-GlcN {4.79}, CH₂), 4.57-4.45 (m, 5H, H5-Fuc {4.52}, H1-Gal {4.50}, CH₂), 4.29 (ddt, 1H, $^2J = 12.9$ Hz, $^3J = 5.3$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, CH_{2a}-All), 4.20 (t*, 1H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 9.4$ Hz, H3-GlcN), 4.10-3.95 (m, 6H, H2-Fuc {4.07}, H4-GlcN {4.04}, CH_{2b}-All {4.02}, CHCOOtBu {4.00}, H3-Fuc {3.99}, H6a-GlcN {3.97}), 3.84-3.77 (m, 3H, H4-Gal {3.83}, H6b-GlcN {3.80}, H6a-Gal {3.80}), 3.75-3.67 (m, 3H, H4-Fuc {3.74}, H2-Gal {3.71}, H6b-Gal {3.70}), 3.53 (d_b , 1H, $^3J_{H5,H4} = 8.5$ Hz, H5-GlcN), 3.46 (t*_b, 1H, $^3J_{H5,H6a} = ^3J_{H5,H6b} = 6.4$ Hz, H5-Gal), 3.39 (d, 1H, $^3J = 1.6$ Hz, OH), 3.26 (q*, 1H, $^3J_{H2,H1} = ^3J_{H2,H3} = ^3J_{H2,NH} = 8.2$ Hz, H2-GlcN), 3.13 (s_b , 1H, OH), 3.11 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 9.2$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.1$ Hz, H3-Gal), 1.85-1.77 (m, 1H, CH₂-Cyclo), 1.75-1.62 (m, 5H, CH₂-Cyclo, CH_{2a}CHCOOtBu), 1.60-1.53 (m, 2H, CH_{2b}CHCOOtBu, CH-Cyclo), 1.47 (s, 9H, CH₃-tBu), 1.30-1.13 (m, 6H, CH₂-Cyclo, H6abc-Fuc), 1.02-0.83 (m, 2H, CH₂-Cyclo).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 174.43 (COOtBu), 153.64 (C=O-Troc), 138.82, 138.79, 138.12, 138.06 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$), 133.86 (CH-All), 128.43, 128.28, 128.08, 128.06, 127.72, 127.55, 127.53, 127.37, 127.21 ($\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 117.39 (=CH₂-All), 100.94 (C1-Gal), 99.12 (C1-GlcN), 97.43 (C1-Fuc), 95.46 (CCl_3), 83.53 (C3-Gal), 82.12 ($\text{C}_q\text{-tBu}$), 79.56 (C3-Fuc), 78.00 (C4-Fuc), 77.36 (CHCOOtBu), 76.50 (C2-Fuc), 75.21 (C3-GlcN), 75.01 (CH₂), 74.71 (C5-GlcN), 74.27 (CH₂), 74.17 (C4-GlcN), 73.97, 73.25, 72.55 (CH₂), 72.52 (C5-Gal, CH₂), 71.07 (C2-Gal), 70.13 (CH₂-All), 68.47 (C6-GlcN), 68.21 (C6-Gal), 66.85 (C5-Fuc), 65.62 (C4-Gal), 58.38 (C2-GlcN), 40.99 (CH₂CHCOOtBu), 33.79, 33.69 (CH₂-Cyclo, CH-Cyclo), 32.20 (CH₂-Cyclo), 27.87 (CH₃-tBu), 26.39, 26.20, 26.02 (CH₂-Cyclo), 16.72 (C6-Fuc).

***tert*-Butyldiphenylsilyl-4-*O*-{6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-*tert*-butyloxycarbonylethyl]- β -D-galactopyranosyl}-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (43)**

(β -Bn₅CycloLe^xNTrocCOO*t*Bu-OTBDPS)



1.75 g (1.30 mmol) β -4-(β -6-Bn-Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**38**) werden in 80 mL absol. Methanol mit 584 mg (2.35 mmol, 1.8 Äquiv.) Di-*n*-butylzinnoxid versetzt. Man erwärmt bei 80 °C Badtemperatur 16 Stunden unter Rückfluss. Die klare Lösung wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand 4 Stunden i. Hochvak. getrocknet. Anschließend wird das rohe Stannylenacetal in 16 mL absol. 1,2-Dimethoxyethan gelöst und mit 615 mg (4.05 mmol, 3.1 Äquiv.) wasserfreiem Cäsiumfluorid versetzt. Man rührt 20 Minuten bei Raumtemperatur, bevor 1.53 g (4.25 mmol, 3.2 Äquiv.) (*R*)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäure-*tert*-butylester (**29**) in 4.7 mL absol. 1,2-Dimethoxyethan zugetropft werden. Man rührt die Suspension 5 Stunden bei Raumtemperatur, wobei diese aufklart und am Ende als klare, gelbe Lösung vorliegt. Es wird mit weiteren 0.77 g (2.12 mmol, 1.6 Äquiv.) (*R*)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäure-*tert*-butylester (**29**) gelöst in 2.3 mL absol. 1,2-Dimethoxyethan versetzt und über Nacht bei Raumtemp. weiter gerührt. Nach Zugabe von Kieselgel entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1 \rightarrow 5 : 1 \rightarrow 2 : 3). Dabei kann man neben dem gewünschten Produkt auch 347 mg (0.246 mmol, 20% d. Th.) des Eduktes β -4-(β -6-Bn-Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**38**) zurückgewinnen.

Ausbeute: 1.03 g (0.661 mmol, 51% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.19$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 6)

$[\alpha]_D^{23} = -30.0$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

C₈₅H₁₀₄Cl₃NO₁₈Si (1562.18)

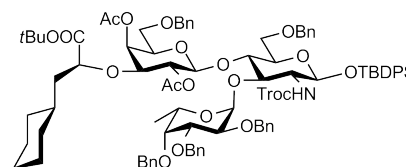
¹H-NMR [¹H¹H-COSY, TOCSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.71 (m, 2H, H_{A_r}-Ph), 7.62 (m, 2H, H_{A_r}-Ph), 7.47-7.24 (m, 29H, H_{A_r}-Ph), 7.22-7.17 (m, 2H, H_{A_r}-Ph), 5.40 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 7.5 Hz, NH-GlcN), 5.22 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 3.4 Hz, H1-Fuc), 4.97 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂), 4.90-4.81 (m, 3H, CH₂, H1-GlcN {4.86}), 4.78-4.56 (m, 5H, CH₂, H5-Fuc {4.59}), 4.54-4.45 (m, 5H, CH₂, H1-Gal {4.49}), 4.28 (d, 1H, ²J = 12.2 Hz, CH₂), 4.12-3.96 (m, 5H, H2-Fuc {4.08}, CHCOO*t*Bu {4.06}, H4-GlcN {4.06}, H3-GlcN {4.01}, H3-Fuc {3.98}), 3.86-3.74 (m, 4H, H4-Gal {3.83}, H6a-GlcN {3.81}, H6a-Gal {3.80}, H4-Fuc {3.76}), 3.70-3.63 (m, 2H, H6b-Gal {3.67}, H2-Gal

{3.66}), 3.48 (m_c, 1H, H5-Gal), 3.41-3.30 (m, 3H, H2-GlcN {3.36}, H6b-GlcN {3.33}, OH), 3.13 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 9.2 Hz, ³J_{H3,H4} = 2.9 Hz, H3-Gal), 3.08 (m_c, 1H, H5-GlcN), 2.81 (s_b, 1H, OH), 1.83-1.76 (m, 1H, CH₂-Cyclo), 1.74-1.62 (m, 5H, 4 x CH₂-Cyclo, CH_{2a}CHCOOtBu), 1.59-1.52 (m, 2H, CH_{2b}CHCOOtBu, CH-Cyclo), 1.48 (s, 9H, CH₃-tBu), 1.30-1.09 (m, 6H, CH₂-Cyclo, H6abc-Fuc {1.15}), 1.06 (s, 9H, CH₃-tBu), 1.02-0.86 (m, 2H, CH₂-Cyclo).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 174.43 (COOtBu), 153.43 (C=O-Troc), 138.96, 138.92, 138.44, 138.33, 138.09 (C_{ipso}-Ph), 135.81, 135.73 (C_{o,m,p}-Ph), 133.50, 132.84 (C_{ipso}-Ph), 129.68, 129.49, 128.40, 128.28, 128.21, 128.16, 128.07, 127.72, 127.52, 127.40, 127.37, 127.29, 127.23, 127.10 (C_{o,m,p}-Ph), 100.91 (C1-Gal), 97.50 (C1-Fuc), 95.18 (C1-GlcN), 94.96 (CCl₃), 83.63 (C3-Gal), 82.11 (C_q-tBu), 79.53 (C3-Fuc), 78.19 (C4-Fuc), 77.35 (C3-GlcN), 76.90 (C2-Fuc), 75.27 (CHCOOtBu), 75.04 (CH₂), 74.70 (C5-GlcN), 74.59 (CH₂), 73.89 (C4-GlcN), 73.70, 73.36, 73.27 (CH₂), 72.52 (C5-Gal, CH₂), 71.08 (C2-Gal), 68.15 (C6-Gal), 67.85 (C6-GlcN), 66.59 (C5-Fuc), 65.60 (C4-Gal), 61.08 (C2-GlcN), 40.98 (CH₂CHCOOtBu), 33.80 (CH₂-Cyclo), 33.70 (CH-Cyclo), 32.17 (CH₂-Cyclo), 27.87, 26.74 (CH₃-tBu), 26.40, 26.21, 26.01 (CH₂-Cyclo), 16.69 (C6-Fuc).

tert-Butyldiphenylsilyl-4-O-{2,4-di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-tert-butyloxycarbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxy-carbonylamino)-β-D-glucopyranosid (44)

(β-Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOOtBu-OTBDPS)



1.03 g (0.661 mmol) β-Bn₅CycloLe^xNTrocCOOtBu-OTBDPS (**43**) werden in 20 mL Pyridin mit 10 mL Essigsäureanhydrid, sowie 64 mg 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) versetzt. Man rührt zwei Tage bei Raumtemperatur, entfernt das Lösungsmittel anschließend i. Vak. und kodestilliert den Rückstand zweimal mit Toluol. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 6 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 905 mg (0.550 mmol, 86% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.23 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 3)

[α]_D²³ = -28.8 (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 1666.66 ([M+Na]⁺, ber.: 1666.62)

HR-ESI-MS (m/z): 1666.6261 ([M+Na]⁺, ber.: 1666.6197)

C₈₉H₁₀₈Cl₃NO₂₀Si (1646.25)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, TOCSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.74-7.67 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.66-7.60 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.45-7.23 (m, 29H, H_{Ar}-Ph), 7.21-7.15 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 5.58 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.4 Hz, H4-Gal), 5.26-5.17 (m, 2H, H1-Fuc {5.22}, NH-GlcN {5.21}), 5.02-4.94 (m, 2H, H2-Gal {4.98}, CH₂), 4.89 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.4 Hz, H1-GlcN), 4.86-4.63 (m, 5H, CH₂), 4.62-4.52 (m, 5H, H5-Fuc {4.59}, H1-Gal {4.54}, CH₂), 4.41 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂), 4.34 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂), 4.22 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂), 4.11 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 3.7 Hz, ³J_{H2,H3} = 10.1 Hz, H2-Fuc), 4.05 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 9.0 Hz, H3-GlcN), 3.99-3.92 (m, 2H, H3-Fuc, H4-GlcN), 3.90 (t, 1H, ³J = 6.2 Hz, CHCOOtBu), 3.65-3.59 (m, 2H, H6a-GlcN {3.62}, H4-Fuc {3.61}), 3.55-3.49 (m, 2H, H6a-Gal {3.52}, H5-Gal {3.52}), 3.42-3.34 (m, 3H, H6b-Gal {3.38}, H2-GlcN {3.37}, H3-Gal {3.36}), 3.31 (dd, 1H, ²J = 11.4 Hz, ³J = 1.4 Hz, H6b-GlcN), 2.97 (d_b, ³J_{H5,H4} = 9.1 Hz, H5-GlcN), 1.91, 1.87 (2 x s, 6H, CH₃-Ac), 1.70-1.59 (m, 5H, CH₂-Cyclo), 1.51-1.42 (m, 11H, CH₃-tBu {1.48}, CH₂CHCOOtBu), 1.30 (m_c, 1H, CH-Cyclo), 1.24-1.10 (m, 6H, H6abc-Fuc {1.21}, CH₂-Cyclo), 1.06 (s, 9H, CH₃-tBu), 0.92-0.79 (m, 2H, CH₂-Cyclo).

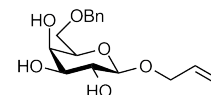
¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 171.50, 169.45, 168.41 (C=O-Ac, COOtBu), 153.39 (C=O-Troc), 138.95, 138.67, 138.57, 138.05, 137.72 (C_{ipso}-Ph), 135.83, 135.74 (C_{o,m,p}-Ph), 133.50, 132.76 (C_{ipso}-Ph), 129.75, 129.53, 128.38, 128.33, 128.15, 128.04, 127.62, 127.54, 127.51, 127.47, 127.38, 127.24, 126.92 (C_{o,m,p}-Ph), 99.73 (C1-Gal), 97.11 (C1-Fuc), 95.11 (C1-GlcN), 94.82 (CCl₃), 81.64 (C_q-tBu), 79.86 (C3-Fuc), 78.33 (CHCOOtBu), 77.68 (C4-Fuc), 77.14 (C2-Fuc), 76.95 (C3-Gal), 74.99 (C5-GlcN), 74.67, 74.29 (CH₂), 73.90 (C3-GlcN, C4-GlcN), 73.59, 73.39, 73.02 (CH₂), 72.46 (C5-Gal), 71.87 (C2-Gal), 68.92 (C4-Gal), 67.74 (C6-Gal), 67.42 (C6-GlcN), 66.30 (C5-Fuc), 61.15 (C2-GlcN), 40.40 (CH₂CHCOOtBu), 33.69 (CH₂-Cyclo), 33.54 (CH-Cyclo), 33.15 (CH₂-Cyclo), 27.99, 26.73 (CH₃-tBu), 26.30, 26.08, 26.01 (CH₂-Cyclo), 20.82, 20.73 (CH₃-Ac), 16.58 (C6-Fuc).

5.3 Die Saccharidbausteine für die C-Glycosylaminosäuren

5.3.1 Die Galactosebausteine

Allyl-6-*O*-benzyl-β-D-galactopyranosid (**46**)

(β-6-Bn-Gal-OAll)



Zu 840 mg (2.12 mmol) α,β-6-Bn-Ac₃Gal-OH (**22**) in wenig absol. Dichlormethan werden 1.06 mL (10.6 mmol, 5.0 Äquiv.) Trichloracetonitril gegeben. Die unter Schutzgas gerührte Mischung wird mit 4 Tropfen 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt. Innerhalb weniger Minuten ändert sich die Farbe der Reaktionsmischung nach dunkelorange. Nachdem dünnschichtchromatographisch die vollständige Umsetzung zu α,β-6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**23**) nachgewiesen werden kann, versetzt man mit 2 mL Allylalkohol und gibt so viel einer Lösung von 0.25 mL Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in 0.75 mL absol. Dichlormethan zu, dass sich die Lösung deutlich aufhellt und ein pH-Wert von ungefähr 4 erreicht wird. Man rührt eine Stunde bei Raumtemp. und neutralisiert durch langsame Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin. Nach dem Einengen der Reaktionsmischung i. Vak. und i. Hochvak. löst man den bräunlichen Rückstand in Methanol und stellt durch Zugabe von frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung einen pH-Wert von 11 ein. Nach Rühren über Nacht neutralisiert man durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst[®] 15, filtriert und wäscht mit Methanol nach. Das Filtrat wird i. Vak. eingengt und das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Essigsäureethylester/Cyclohexan/Methanol = 7 : 3 : 0.5) gereinigt. Erst nach einer zweiten Flashchromatographie (Laufmittel: Essigsäureethylester/Methanol = 10 : 1) wird das Produkt sauber erhalten.

Ausbeute: 438 mg (1.41 mmol, 67% d. Th. über 3 Stufen)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.22$ (Dichlormethan/Methanol = 10 : 1)

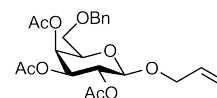
ESI-MS (m/z): 333.09 ([M]⁺, ber.: 333.14)

C₁₆H₂₂O₆ (310.34)

Analytische Daten des Zwischenproduktes:

Allyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-β-D-galactopyranosid (**45**)

(β-6-Bn-Ac₃Gal-OAll)



Das acetylierte Zwischenprodukt bei der vorigen Reaktion kann anstelle der direkten Deacetylierung für analytische Zwecke mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1) gereinigt werden.

Farbloser amorpher Feststoff

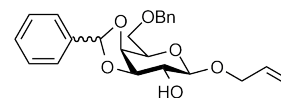
$R_f = 0.39$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$C_{22}H_{28}O_9$ (436.45)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.36-7.22 (m, 5H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 5.83 (m_c , 1H, =CH-All), 5.44 (d_b , 1H, $^3J_{H4,H3} = 3.4$ Hz, H4-Gal), 5.28-5.14 (m, 3H, H2-Gal, =CH₂-All^{trans}, =CH₂-All^{cis}), 5.01 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.4$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.4$ Hz, H3-Gal), 4.54 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.50 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 8.0$ Hz, H1-Gal), 4.41 (d, 1H, $^2J = 11.9$ Hz, CH₂-Bn), 4.33 (ddt, 1H, $^2J = 13.3$ Hz, $^3J = 4.8$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, CH_{2a}-All), 4.07 (ddt, 1H, $^2J = 13.3$ Hz, $^3J = 6.0$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, CH_{2b}-All), 3.84 (m_c , 1H, H5-Gal), 3.56 (dd, 1H, $^2J = 9.6$ Hz, $^3J = 6.0$ Hz, H6a-Gal), 3.49 (dd, 1H, $^2J = 9.6$ Hz, $^3J = 6.8$ Hz, H6b-Gal), 2.03 (s, 6H, CH₃-Ac), 1.96 (s, 3H, CH₃-Ac).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 170.15, 170.05, 169.43 (C=O-Ac), 137.33 ($C_{ipso}\text{-Ph}$), 133.24 (CH-All), 128.31, 127.77, 127.74 ($C_{o,m,p}\text{-Ph}$), 117.31 (=CH₂-All), 99.94 (C1-Gal), 73.37 (CH₂-Bn), 71.90 (C5-Gal), 70.99 (C3-Gal), 69.81 (CH₂-All), 68.93 (C2-Gal), 67.44 (C4-Gal), 67.32 (C6-Gal), 20.62, 20.49, 20.46 (CH₃-Ac).

***endo,exo*-Allyl-6-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden- β -D-galactopyranosid (47,48)**



(*endo,exo*- β -6-Bn-3,4-Bzn-Gal-OAll)

2.49 g (8.02 mmol) β -6-Bn-Gal-OAll (**46**) werden in 10 mL Acetonitril und 2 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und mit 15 mL (99.9 mmol, 12.5 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal versetzt. Man gibt 100 mg (0.53 mmol, 0.07 Äquiv.) 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat zu und rührt bei Raumtemp. über Nacht. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes neutralisiert man mit wenigen Tropfen *N*-Ethyl-diisopropylamin, versetzt mit Kieselgel und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1) gereinigt. Dabei kann man die beiden Anomere des Produktes trennen.

Gesamtausbeute: 2.06 g (5.17 mmol, 64% d. Th.)

$C_{23}H_{26}O_6$ (398.45)

***exo*-Isomer (47)**

Ausbeute: 0.88 g (2.21 mmol, 28% d. Th.)

Blassgelber amorpher Feststoff

$R_f = 0.54$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +15.0$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 421.23 ([M+Na]⁺, ber.: 421.16)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.47-7.27 (m, 10H, H_{Ar}-Ph), 6.18 (s, 1H, CH-Bzn), 5.98 (m_c, 1H, CH-All), 5.36 (ddt, 1H, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ²J = ⁴J = 1.6 Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.26 (ddt_b, 1H, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ²J = 1.6 Hz, ⁴J = 1.2 Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.66 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.57 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.48-4.41 (m, 2H, CH_{2a}-All, H3-Gal), 4.33 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 8.2 Hz, H1-Gal), 4.21-4.15 (m, 2H, CH_{2b}-All, H4-Gal), 3.95 (m, 1H, H5-Gal), 3.86 (d_b, 2H, ³J = 6.0 Hz, H6ab-Gal), 3.78 (t_b^{*}, 1H, ³J_{H2,H1} = 8.2 Hz, ³J_{H2,H3} = 7.3 Hz, H2-Gal), 1.86 (s_b, 1H, 2-OH-Gal).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 138.57, 137.95 (C_{ipso}-Ph), 133.57 (CH-All), 128.98, 128.31, 128.26, 127.61, 127.56, 126.09 (C_{o,m,p}-Ph), 118.12 (=CH₂-All), 103.25 (CH-Bzn), 101.02 (C1-Gal), 79.74 (C3-Gal), 73.63 (C4-Gal), 73.54 (CH₂-Bn), 72.64 (C5-Gal), 71.00 (C2-Gal), 70.06 (CH₂-All), 69.50 (C6-Gal).

endo-Isomer (48)

Ausbeute: 1.18 g (2.96 mmol, 37% d. Th.)

Blassgelber amorpher Feststoff

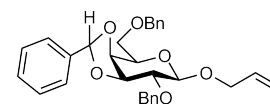
$R_f = 0.48$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 2)

$[\alpha]_D^{23} = -39.1$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 421.24 ([M+Na]⁺, ber.: 421.16)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.53-7.50 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.39-7.28 (m, 8H, H_{Ar}-Ph), 5.94 (s, 1H, CH-Bzn), 5.93 (m_c, 1H, CH-All), 5.32 (ddt, 1H, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ²J = ⁴J = 1.6 Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.22 (ddt_b, 1H, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ²J = 1.6 Hz, ⁴J = 1.2 Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.66 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.59 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.41 (ddt, 1H, ²J = 12.5 Hz, ³J = 5.2 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, CH_{2a}-All), 4.30 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 8.2 Hz, H1-Gal), 4.24-4.20 (m, 2H, H3-Gal, H4-Gal), 4.13 (ddt, 1H, ²J = 12.5 Hz, ³J = 6.5 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, CH_{2b}-All), 4.04 (m_c, 1H, H5-Gal), 3.89 (m_c, 2H, H6ab-Gal), 3.63 (m_c, 1H, H2-Gal), 2.63 (s_b, 1H, 2-OH-Gal).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 137.97, 137.21 (C_{ipso}-Ph), 133.54 (CH-All), 128.27, 128.36, 128.29, 127.68, 127.63, 126.67 (C_{o,m,p}-Ph), 118.12 (=CH₂-All), 104.62 (CH-Bzn), 101.16 (C1-Gal), 78.23 (C3-Gal), 76.12 (C5-Gal), 73.95 (C2-Gal), 73.59 (CH₂-Bn), 72.28 (C4-Gal), 70.11 (CH₂-All), 69.24 (C6-Gal).

exo-Allyl-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-β-D-galactopyranosid (49)*(exo-β-3,4-Bzn-Bn₂Gal-OAll)*

Zu 880 mg (2.21 mmol) *exo-β-6-Bn-3,4-Bzn-Gal-OAll* (**47**) in 8 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid werden langsam 106 mg (4.42 mmol, 2.0 Äquiv.) Natriumhydrid (95%-ig) gegeben. Nach kurzem Rühren bei Raumtemp. tropft man 0.53 mL (4.42 mmol, 2.0 Äquiv.) Benzylbromid zu und rührt eine Stunde bei Raumtemperatur. Anschließend wird 1 mL Methanol zugegeben, das Lösungsmittel i. Hochvak. entfernt und der Rückstand dreimal mit Toluol kodestilliert. Man nimmt den Rückstand in Dichlormethan auf, versetzt mit Kieselgel und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1).

Ausbeute: 928 mg (1.90 mmol, 86% d. Th.)

Blassgelber amorpher Feststoff

$R_f = 0.51$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

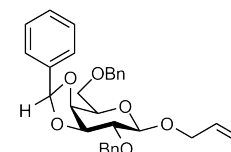
$[\alpha]_D^{23} = +15.2$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 511.20 ([M+Na]⁺, ber.: 511.21)

C₃₀H₃₂O₆ (488.57)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.47-7.30 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 6.01 (m_c, 1H, CH-All), 5.96 (s, 1H, CH-Bzn), 5.41 (ddt, 1H, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ²J = ⁴J = 1.7 Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.26 (ddt_b, 1H, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ²J = 1.6 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.96 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.88 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.66 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.58 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.54 (m_c, 1H, H3-Gal), 4.49 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 8.0 Hz, H1-Gal), 4.48 (m_c, 1H, CH_{2a}-All), 4.24-4.19 (m, 2H, H4-Gal, CH_{2b}-All), 3.92 (m, 1H, H5-Gal), 3.85 (m, 2H, H6ab-Gal) 3.61 (t*, 1H, ³J_{H2,H3} = ³J_{H2,H3} = 7.8 Hz, H2-Gal).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 138.43, 138.09, 138.06 (C_{ipso}-Ph), 133.89 (CH-All), 129.16, 128.35, 128.24, 128.13, 127.63, 127.60, 126.30 (C_{o,m,p}-Ph), 117.30 (=CH₂-All), 103.31 (CH-Bzn), 101.67 (C1-Gal), 80.11 (C3-Gal), 77.00 (C2-Gal), 73.94 (C4-Gal), 73.74 (CH₂-Bn), 73.59 (CH₂-Bn), 72.53 (C5-Gal), 69.95 (CH₂-All), 69.66 (C6-Gal).

endo-Allyl-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-β-D-galactopyranosid (50)*(endo-β-3,4-Bzn-Bn₂Gal-OAll)*

Zu 1.18 g (2.96 mmol) *endo-β-6-Bn-3,4-Bzn-Gal-OAll* (**48**) in 10 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid werden langsam 142 mg (4.42 mmol, 2.0 Äquiv.) Natriumhydrid (95%-ig) gegeben. Nach

kurzem Rühren bei Raumtemp. tropft man 0.70 mL (5.89 mmol, 2.0 Äquiv.) Benzylbromid zu und rührt eine Stunde bei Raumtemperatur. Anschließend wird 1 mL Methanol zugetropft, das Lösungsmittel i. Hochvak. entfernt und der Rückstand dreimal mit Toluol kodestilliert. Man nimmt den Rückstand in Dichlormethan auf, versetzt mit Kieselgel und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1).

Ausbeute: 1.28 g (2.63 mmol, 89% d. Th.)

Blassgelber amorpher Feststoff

$R_f = 0.43$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +23.1$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 511.20 ([M+Na]⁺, ber.: 511.21)

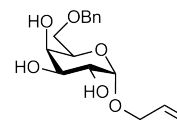
C₃₀H₃₂O₆ (488.57)

¹H-NMR [**¹H¹H-COSY, NOESY**] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.45-7.26 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 5.99 (m_c, 1H, CH-All), 5.93 (s, 1H, CH-Bzn), 5.38 (ddt, 1H, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ²J = ⁴J = 1.7 Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.24 (ddt_b, 1H, ³J_{cis} = 10.4 Hz, ²J = 1.6 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.83 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.76 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.67 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.60 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.48 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.8 Hz, H1-Gal), 4.46 (m_c, 1H, CH_{2a}-All), 4.36 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 6.3 Hz, H3-Gal), 4.27 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 6.2 Hz, ³J_{H4,H5} = 2.2 Hz, H4-Gal), 4.19 (m_c, 1H, CH_{2b}-All), 4.04 (m_c, 1H, H5-Gal), 3.89 (m_c, 2H, H6ab-Gal), 3.55 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 8.0 Hz, ³J_{H2,H3} = 6.5 Hz, H2-Gal).

¹³C-NMR [**BB, HSQC**] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 138.16, 138.05, 137.15 (C_{ipso}-Ph), 133.88 (CH-All), 129.29, 128.37, 128.25, 128.18, 128.01, 127.67, 127.51, 126.78 (C_{o,m,p}-Ph), 117.31 (=CH₂-All), 104.55 (CH-Bzn), 101.85 (C1-Gal), 80.16 (C2-Gal), 78.69 (C3-Gal), 76.14 (C4-Gal), 73.60 (CH₂-Bn), 73.53 (CH₂-Bn), 72.01 (C5-Gal), 69.97 (CH₂-All), 69.32 (C6-Gal).

Allyl-6-O-benzyl- α -D-galactopyranosid (**51**)

(α -6-Bn-Gal-OAll)



20 g (111 mmol) D-Galactose (**17**), 40 g Kupfer(I)-sulfat und 300 mL Aceton werden unter einer Argonatmosphäre mit 2.5 mL konz. Schwefelsäure versetzt und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird der Feststoff abfiltriert, mehrfach mit Aceton gewaschen und das Filtrat durch Zugabe von Ca(OH)₂ neutralisiert. Wiederum wird filtriert, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand i. Hochvak. getrocknet. Das bräunliche Öl wird dann in 150 mL absol. Toluol und mit 150 mL Benzylbromid und 90 g gepulvertem Kaliumhydroxid versetzt. Man erwärmt die Reaktionsmischung 5 Stunden auf 100 °C und lässt dann abkühlen. Nach Zugabe

von 300 mL Eiswasser wird gerührt, bis sich alle Salze gelöst haben. Die organische Phase wird abgetrennt und mit Wasser gewaschen. Man trocknet die organische Phase über MgSO_4 und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das Diaceton-Derivat wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 9 : 1) gereinigt. Die erhaltenen 34 g (max. 97.0 mmol) α -6-Bn-1,2:3,4-*i*Prn-Gal (**19**) werden in 100 mL Allylalkohol mit 3 g Dowex[®] 50WX8-200 versetzt. Man erhitzt 3 Stunden unter leichtem Rückfluss, entfernt 10 mL des Lösungsmittels i. Vak. und erhitzt erneut über Nacht. Die abgekühlte Lösung wird abgesaugt, wobei aus dem Filtrat ein farbloser Feststoff ausfällt. Das so erhaltene Produkt (8.4 g) wird abfiltriert, das Filtrat eingengt, auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie gereinigt (Laufmittel: Essigsäureethylester). Dadurch kann man weitere 5.5 g des Produktes erhalten.

Rohausbeute: 13.9 g (44.8 mmol, 40% d. Th. über drei Stufen); Lit.:¹⁹³ 45% (1 Stufe)

Farbloser Feststoff

$R_f = 0.19$ (Essigsäureethylester)

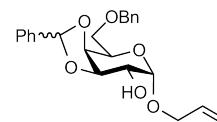
$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_6$ (310.34)

Charakteristische Signale des gebildeten, reinen α -Anomers:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.40-7.27 (m, 5H, H_{Ar} -Ph), 5.98 (m_c , 1H, CH-All), 5.33 (ddd, 1H, ³ $J_{trans} = 17.2$ Hz, ² $J = 3.3$ Hz, ⁴ $J = 1.6$ Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.20 (ddd, 1H, ³ $J_{cis} = 10.4$ Hz, ² $J = 3.1$ Hz, ⁴ $J = 1.3$ Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.93 (d, 1H, ³ $J_{H1,H2} = 3.2$ Hz, H1-Gal), 4.27-4.21 (m, 1H, CH_{2a}-All), 4.10-4.04 (m, 1H, CH_{2b}-All).

***endo,exo*-Allyl-6-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden- α -D-galactopyranosid (**52**)¹⁹⁰**

(*endo,exo*- α -6-Bn-3,4-Bzn-Gal-OAll)



8.40 g (27.1 mmol) α -6-Bn-Gal-OAll (**51**) werden mit 40 mL Tetrahydrofuran, 32 mL (213 mmol, 7.9 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal und 300 mg (1.58 mmol, 0.06 Äquiv.) 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat versetzt und eine Stunde gerührt. Dabei bildet sich eine klare, dunkelorangene Lösung. Man neutralisiert durch Zugabe von wenigen Tropfen Triethylamin, zieht die Reaktionsmischung auf Kieselgel auf und reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel. Dabei wird mit Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1 das überschüssige Benzaldehyddimethylacetal abgetrennt und mit Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1 das Produkt eluiert. Man erhält 6.64 g einer Mischung der beiden Isomere des Acetals (Verhältnis 1 : 1) und zusammen mit der Fraktion des abgetrennten Benzaldehyddimethylacetals ein Nebenprodukt, welches an OH-2 als gemischtes Acetal (**52b**) geschützt ist. Dieses kann durch Rühren in Methanol/Wasser = 5 : 1 hydrolysiert und säulenchromatographisch gereinigt werden. Dies ergibt zusätzlich 1.5 g des Produktes.

Ausbeute: 8.14 g (20.4 mmol, 75% d. Th.); Lit.:¹⁹⁰ 91%

Gelbes viskoses Öl

$R_f = 0.27$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

ESI-MS (m/z): 421.18 ($[M+Na]^+$, ber.: 421.16)

$C_{23}H_{26}O_6$ (398.45)

exo-Acetal:

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.52-7.47 (m, 1H, H_{Ar} -Ph), 7.44-7.40 (m, 1H, H_{Ar} -Ph), 7.39-7.24 (m, 8H, H_{Ar} -Ph), 6.16 (s, 1H, CH-Bzn), 5.93 (m_c , 1H, CH-All), 5.33-5.25 (m, 1H, =CH₂-All^{trans}), 5.24-5.18 (m, 1H, =CH₂-All^{cis}), 5.00 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 3.9$ Hz, H1-Gal), 4.63 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.53 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.45 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 6.8$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 5.5$ Hz, H3-Gal), 4.34-4.21 (m, 3H, H5-Gal, H4-Gal, CH_{2a}-All), 4.13-4.05 (m, 1H, CH_{2b}-All), 3.96-3.89 (m, 1H, H6a-Gal), 3.84-3.72 (m, 2H, H2-Gal, H6b-Gal), 2.38 (s_b , 1H, 2-OH-Gal).

endo-Acetal:

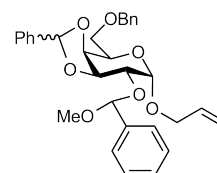
1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.52-7.47 (m, 1H, H_{Ar} -Ph), 7.44-7.40 (m, 1H, H_{Ar} -Ph), 7.39-7.24 (m, 8H, H_{Ar} -Ph), 5.93 (m_c , 1H, CH-All), 5.86 (s, 1H, CH-Bzn), 5.33-5.25 (m, 1H, =CH₂-All^{trans}), 5.24-5.18 (m, 1H, =CH₂-All^{cis}), 4.96 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 4.0$ Hz, H1-Gal), 4.63 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.55 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.39 (t*, 1H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 6.1$ Hz, H3-Gal), 4.34-4.21 (m, 3H, H5-Gal, H4-Gal, CH_{2a}-All), 4.13-4.05 (m, 1H, CH_{2b}-All), 3.96-3.89 (m, 1H, H6a-Gal), 3.84-3.72 (m, 2H, H2-Gal, H6b-Gal), 2.50 (s_b , 1H, 2-OH-Gal).

Nebenprodukt mit gemischtem Acetal an OH-2 (52b):

$R_f = 0.51$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

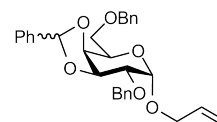
ESI-MS (m/z): 541.25 ($[M+Na]^+$, ber.: 541.22)

$C_{31}H_{34}O_7$ (518.60)



endo,exo-Allyl-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden- α -D-galactopyranosid (53)¹⁹⁰

(endo,exo- α -3,4-Bzn-Bn₂Gal-OAll)



6.64 g (16.7 mmol) endo,exo- α -6-Bn-3,4-Bzn-Gal-OAll (**52**) werden in 66 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und auf 0 °C gekühlt. Man versetzt mit 500 mg (19.8 mmol, 1.2 Äquiv.) Natriumhydrid (95%-ig) und lässt unter Wasserstoffentwicklung auf Raumtemp. erwärmen. Bei Raumtemp. werden langsam 2.0 mL (16.8 mmol, 1.0 Äquiv.) Benzylbromid zugetropft. Nach 45 Minuten Rühren und erneutem Kühlen auf 0 °C beendet man die Reaktion durch Zugabe von 2 mL Methanol. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand zweimal mit Toluol kodi-

stilliert. Dann wird in Dichlormethan aufgenommen, die organische Phase mit Wasser gewaschen und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Man trocknet die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 und entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und im Hochvakuum.

Rohausbeute: 7.49 g (15.3 mmol, 92% d. Th.); Lit.:¹⁹⁰ 69%

Gelbes viskoses Öl

$R_f = 0.56$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_6$ (488.57)

exo-Acetal:

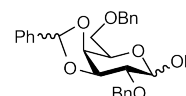
¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.42-7.15 (m, 15H, H_{Ar} -Ph), 5.93 (s, 1H, CH-Bzn), 5.90 (m_c , 1H, CH-All), 5.32-5.28 (m, 1H, $=\text{CH}_2$ -All^{trans}), 5.23-5.17 (m, 1H, $=\text{CH}_2$ -All^{cis}), 4.92 (d, 1H, ³ $J_{H1,H2} = 3.6$ Hz, H1-Gal), 4.85-4.74 (4H, CH_2 -Bn, {4 x d, ² $J = 12.0$ Hz}), 4.67 (dd, 1H, ³ $J_{H3,H2} = 8.0$ Hz, ³ $J_{H3,H4} = 5.2$ Hz, H3-Gal), 4.30-4.25 (m, 1H, H4-Gal), 4.22-4.16 (m, 2H, CH_2 -All), 4.00 (m_c , 1H, H5-Gal), 3.74-3.70 (m, 2H, H6ab-Gal), 3.65 (dd, 1H, ³ $J_{H2,H1} = 3.6$ Hz, ³ $J_{H2,H3} = 8.0$ Hz, H2-Gal).

endo-Acetal:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.42-7.15 (m, 15H, H_{Ar} -Ph), 5.90 (m_c , 1H, CH-All), 5.88 (s, 1H, CH-Bzn), 5.36-5.33 (m, 1H, $=\text{CH}_2$ -All^{trans}), 5.23-5.17 (m, 1H, $=\text{CH}_2$ -All^{cis}), 4.80 (d, 1H, ³ $J_{H1,H2} = 3.6$ Hz, H1-Gal), 4.85-4.74 (5H, CH_2 -Bn {4 x d, ² $J = 12.0$ Hz}, H3-Gal {4.51}), 4.30-4.25 (m, 1H, H4-Gal), 4.22-4.16 (m, 2H, CH_2 -All), 4.03 (m_c , 1H, H5-Gal), 3.82 (dd, 1H, ² $J = 10.2$ Hz, ³ $J_{H6a,H5} = 5.1$ Hz, H6a-Gal), 3.77-3.73 (m, 1H, H6b-Gal), 3.53 (dd, 1H, ³ $J_{H2,H1} = 3.6$ Hz, ³ $J_{H2,H3} = 7.6$ Hz, H2-Gal).

endo,exo-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden- α,β -D-galactopyranose (55)

(endo,exo- α,β -3,4-Bzn-Bn₂Gal-OH)



Aus endo,exo- α -3,4-Bzn-Bn₂Gal-OAll (53):

1.62 g (3.31 mmol) endo,exo- α -3,4-Bzn-Bn₂Gal-OAll (53) werden in 14 mL Dimethylsulfoxid gelöst und 800 mg (7.14 mmol, 2.2 Äquiv.) Kalium-*tert*-butylat zugegeben. Man versetzt mit 2 Tropfen Wasser und erwärmt 30 Minuten auf 50-60 °C. Die Reaktionslösung wird in 50 mL ges. NaHCO_3 -Lösung gegossen und mit 100 mL Wasser und 50 mL Tetrahydrofuran verdünnt. Dann gibt man in 2 Portionen 2.10 g (8.28 mmol, 2.5 Äquiv.) Iod zu. Man rührt eine Stunde bei Raumtemperatur, bevor durch Zugabe von NaHSO_3 entfärbt wird. Die wässrige Phase wird viermal mit Essigsäureethylester extrahiert, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohpro-

dukt anschließend mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1).

Ausbeute: 1.20 mg (2.68 mmol, 81% d. Th.)

Aus *endo,exo*- β -3,4-Bzn-Bn₂Gal-OAll (**49,50**):

1.08 g (2.21 mmol) *endo,exo*- β -3,4-Bzn-Bn₂Gal-OAll (**49,50**) werden in 10 mL absol. Tetrahydrofuran gelöst. 75 mg (0.089 mmol, 0.04 Äquiv.) 1,5-Cyclooctadien-bis(methyldiphenylphosphin)iridium(I)-hexafluorophosphat werden in einem anderen Kolben in 5 mL absol. Tetrahydrofuran gelöst. Nach drei Zyklen von Entgasen und anschließendem Fluten mit Wasserstoff rührt man 15 Minuten unter einer Wasserstoffatmosphäre. Die Farbe der Lösung ändert sich dabei von rot nach gelb. Durch dreimaliges Evakuieren und Belüften mit Argon entfernt man restlichen Wasserstoff und überführt die aktivierte Katalysator-Lösung mit einer Spritze in den Kolben mit der Kohlenhydratlösung. Diese wird über Nacht bei Raumtemp. gerührt und anschließend das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser und anschließend mit ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das isomerisierte Zwischenprodukt wird erneut in 30 mL Tetrahydrofuran gelöst und 700 mg NaHCO₃ in 25 mL Wasser zugesetzt. Anschließend gibt man 1.40 g (5.52 mmol, 2.5 Äquiv.) Iod hinzu und rührt die Mischung über Nacht bei Raumtemperatur. Man entfärbt durch Zugabe von festem NaHSO₃, versetzt mit Dichlormethan und Wasser, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1).

Ausbeute: 750 mg (1.67 mmol, 76% d. Th.)

Gelbes viskoses Öl

$R_f = 0.23$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

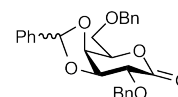
$R_f = 0.11$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

ESI-MS (m/z): 471.20 ([M+Na]⁺, ber.: 471.18)

C₂₇H₂₈O₆ (448.51)

***endo,exo*-2,6-di-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden-D-galactono-(1,5)-lacton (56,57)**

(*endo,exo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=O)



1.20 g (0.268 mmol) α,β -3,4-Bzn-Bn₂Gal-OH (**55**) werden bei Raumtemp. in 20 mL absol. Dichlormethan gelöst. Man tropft langsam insgesamt 2.04 mL (1.72 mmol, 6.4 Äquiv.) einer 15 gew.-%igen Lösung von Dess-Martin-Periodinan in Dichlormethan zu und kontrolliert den Reaktionsfortschritt mittels DC. Nach Rühren über Nacht versetzt man mit ges. NaHCO₃-Lösung und Dichlormethan, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 8 : 1) gereinigt. Auf dieser Stufe kann man *endo*- und *exo*-Isomer des Benzylidenacetals voneinander trennen.

Gesamtausbeute: 1.06 g (2.37 mmol, 88% d. Th.)

C₂₇H₂₆O₆ (446.49)

endo-Isomer (**56**)

Gelbes viskoses Öl

$R_f = 0.32$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +68.0$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 469.23 ([M+Na]⁺, ber.: 469.16)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.45-7.29 (m, 15H, H_{A,r}-Ph), 5.75 (s, 1H, CH-Bzn), 5.15 (dt*, 1H, ³J_{H5,H6a} = ³J_{H5,H6b} = 6.4 Hz, ³J_{H5,H4} = 1.3 Hz, H5-Gal), 4.76 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.66-4.55 (m, 5H, CH₂-Bn, H3-Gal, H4-Gal), 4.28 (d, 1H, ³J_{H2,H3} = 1.9 Hz, H2-Gal), 3.87 (d, 2H, ³J = 6.4 Hz, H6ab-Gal).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 167.23 (C1-Gal), 137.54, 135.82, 134.79 (C_{ipso}-Ph), 130.13, 128.57, 128.43, 128.38, 128.32, 127.79, 127.74, 127.12 (C_{o,m,p}-Ph), 104.36 (CH-Bzn), 75.19, 75.14 (C5-Gal, C3-Gal), 74.93 (C2-Gal), 73.66, 72.74 (CH₂-Bn), 72.49 (C4-Gal), 68.30 (C6-Gal).

exo-Isomer (**57**)

Gelbes viskoses Öl

$R_f = 0.40$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +58.9$ (c = 1.0, CHCl₃)

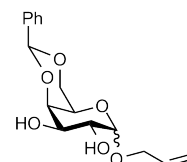
ESI-MS (m/z): 469.21 ([M+Na]⁺, ber.: 469.16)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$, NOESY] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.42-7.30 (m, 15H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 6.15 (s, 1H, CH-Bzn), 5.10 (dt*, 1H, $^3J_{\text{H}5,\text{H}6a} = ^3J_{\text{H}5,\text{H}6b} = 6.3$ Hz, $^3J_{\text{H}5,\text{H}4} = 1.5$ Hz, H5-Gal), 4.74 (d, 1H, $^2J = 11.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.69 (d, 1H, $^2J = 11.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.65-4.61 (m, 2H, H4-Gal, H3-Gal), 4.61 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.57 (d, 1H, $^2J = 11.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.30 (d, 1H, $^3J_{\text{H}2,\text{H}3} = 2.2$ Hz, H2-Gal), 3.92 (d, 2H, $^3J = 6.4$ Hz, H6ab-Gal).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB , HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 167.42 (C1-Gal), 137.57, 137.34, 135.83 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$), 129.26, 128.57, 128.45, 128.42, 128.39, 128.27, 127.82, 127.76, 125.87 ($\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 104.57 (CH-Bzn), 76.14 (C5-Gal), 75.01 (C2-Gal), 74.63 (C3-Gal), 73.69, 72.72 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 72.09 (C4-Gal), 68.24 (C6-Gal).

Allyl-4,6-O-benzyliden- α,β -D-galactopyranosid (**59**)³³¹

(α,β -4,6-Bzn-Gal-OAll)



Fischer-Glycosylierung mit Allylalkohol

40.0 g (222 mmol) D-Galactose (**17**) werden in 330 mL Allylalkohol suspendiert und 12 g saurer Ionentauscher Dowex[®] 50WX8-200 zugegeben. Man erhitzt 4 Stunden unter leichtem Rückfluss und lässt die Reaktionsmischung dann erkalten. Es wird vom Ionentauscher abfiltriert und dreimal mit Methanol nachgewaschen. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt, der Rückstand mit einer Mischung aus Essigsäureethylester und Toluol (1 : 2) kodestilliert und direkt weiter umgesetzt.

Bildung des Benzylidenacetals

Die erhaltenen 52.2 g des viskosen Allyl-galactosids werden mit 100 mL (666 mmol, 3.0 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal und 420 mg (2.21 mmol, 0.01 Äquiv.) 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat versetzt und 30 Minuten bei 50 °C und 270 mbar am Rotationsverdampfer gerührt. Nach dieser Zeit wird die homogene Lösung über Nacht bei Raumtemp. weitergerührt, wobei die Viskosität stark zunimmt. Anschließend versetzt man mit 100 mL Toluol, erwärmt die Reaktionsmischung am Rotationsverdampfer auf 40 °C und gibt dann 300 mL Petrolether, 200 mL ges. NaHCO_3 -Lsg. und 100 mL Wasser hinzu. Dabei scheidet sich ein viskoses Öl ab, von dem die flüssigen Phasen dekantiert werden. Man digeriert einmal mit Wasser und einmal mit Petrolether, löst den Rückstand dann in Ethanol, versetzt mit Toluol und entfernt die Lösungsmittel i. Vak. Das zurückbleibende gelbe, viskose Öl wird zweimal mit einer Mischung aus Ethanol und Toluol, dreimal mit techn. Toluol und zweimal mit absol. Toluol kodestilliert. Das NMR-Spektrum zeigt sowohl die enthaltene Allyl- als auch die Benzylidenacetal-Schutzgruppe an. Auf eine genauere Charakterisierung wird verzichtet und das Rohprodukt direkt in der nächsten Stufe eingesetzt.

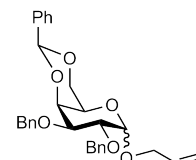
³³¹ Ikegami, S.; Namme, R.; Mitsugi, T. *Tetrahedron*, **2006**, 62, 9183.

Rohausbeute: 43.5 g (max. 141 mmol, max. 64% d. Th.)

Gelbes viskoses Öl

$C_{16}H_{20}O_6$ (308.33)

Allyl-2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden- α,β -D-galactopyranosid (60)³³¹
(α,β -4,6-Bzn-Bn₂Gal-OAll)



43.5 g (max. 141 mmol) α,β -4,6-Bzn-Gal-OAll (**59**) werden in 300 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid portionsweise mit 12.4 g (1.1 Äquiv. pro OH-Gruppe) einer 60%-igen Dispersion von NaH in Mineralöl versetzt. Langsam werden dann unter moderater Gasentwicklung 35.4 mL (1.05 Äquiv. pro OH-Gruppe) Benzylbromid zugetropft. Es wird weitere 45 Minuten bei Raumtemp. gerührt. Dünnschichtchromatographisch zeigt sich nach dieser Zeit vollständiger Umsatz, sodass die Reaktion durch Zugabe von 5 mL Methanol beendet werden kann. Man versetzt mit Dichlormethan und Wasser, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden i. Vak. und i. Hochvak. vom Lösungsmittel befreit. Das verbleibende, orangefarbene Öl wird dreimal mit Toluol kodestilliert und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Stufe eingesetzt. Für analytische Zwecke kann eine Reinigung mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 5 : 1) erfolgen.

Rohausbeute: 70 g (max. 141 mmol)

Oranges leichtviskoses Öl

$C_{30}H_{32}O_6$ (488.57)

α -Anomer

Blassgelbes viskoses Öl

$R_f = 0.51$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.38$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.18$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 4 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +82.6$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$)

ESI-MS (m/z): 511.20 ($[M]^+$, ber.: 511.21)

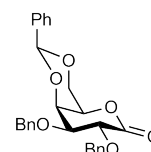
HR-ESI-MS (m/z): 511.2076 ($[M]^+$, ber.: 511.2097)

¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.57-7.51 (m, 2H, H_{Ar} -Ph), 7.46-7.26 (m, 13H, H_{Ar} -Ph), 5.94 (m_c , 1H, CH-All), 5.50 (s, 1H, CH-Bzn), 5.33 (ddd, 1H, ³ $J_{trans} = 17.2$ Hz, ² $J = 3.1$ Hz, ⁴ $J = 1.5$ Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.23 (dd_b, 1H, ³ $J_{cis} = 10.3$ Hz, ² $J = 2.7$ Hz, ⁴ $J = 1.2$ Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.99 (d, 1H, ³ $J_{H1,H2} = 3.4$ Hz, H1-Gal), 4.88 (d, 1H, ² $J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.86

(d, 1H, $^2J = 12.2$ Hz, CH₂-Bn), 4.76 (d, 1H, $^2J = 12.2$ Hz, CH₂-Bn), 4.69 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.24-4.14 (m, 3H, H6a-Gal {4.22}, H4-Gal {4.21}, CH_{2a}-All {4.17}), 4.12-3.99 (m, 4H, H2-Gal {4.10}, CH_{2b}-All {4.06}, H3-Gal {4.04}), H6b-Gal {4.02}), 3.65 (*s_b*, 1H, H5-Gal).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 138.80, 138.58, 137.76 (*C_{ipso}*-Ph), 133.76 (CH-All), 128.79, 128.32, 128.23, 128.03, 127.90, 127.55, 127.46, 126.29 (*C_{o,m,p}*-Ph), 118.03 (=CH₂-All), 101.02 (CH-Bzn), 96.85 (C1-Gal), 76.02 (C3-Gal), 75.42 (C2-Gal), 74.75 (C4-Gal), 73.54, 72.17 (CH₂-Bn), 69.34 (C6-Gal), 68.39 (CH₂-All), 62.63 (C5-Gal).

2,3-Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzyliden-D-galactono-(1,5)-lacton (62)³³² (4,6-Bzn-Bn₂Gal=O)



Abspaltung der Allylschutzgruppe

10.0 g des Rohproduktes aus der vorigen Reaktion (max. 20.5 mmol) α,β-4,6-Bzn-Bn₂Gal-OAll (60) werden in 35 mL Dimethylsulfoxid mit 5.2 g (46.3 mmol, 2.26 Äquiv.) Kalium-*tert*-butylat versetzt. Man gibt 4 Tropfen Wasser zu und erwärmt am Rotationsverdampfer 4 Stunden bei 700 mbar auf 65-70 °C. Dabei wird alle 30 Minuten ein weiterer Tropfen Wasser zugesetzt. Nach dieser Zeit zeigt das NMR-Spektrum eine vollständige Isomerisierung der Doppelbindung an. Man versetzt mit 40 mL Tetrahydrofuran, 40 mL ges. NaHCO₃-Lösung und 4.8 g Iod und rührt 15 Minuten am Rotationsverdampfer bei Raumtemperatur. Danach gibt man 40 mL Essigsäureethylester, 40 mL Wasser und weitere 4.8 g Iod zu und rührt 5 Stunden weiter. Da die Reaktion nicht vollständig zu sein scheint, wird die organische Phase abgetrennt, die wässrige Phase fünfmal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden auf etwa 200 mL eingeeengt. Diese werden mit 4.5 g K₂CO₃ und 40 mL Wasser versetzt und über Nacht gerührt. Die Dünnschichtchromatographie zeigt danach fast vollständigen Umsatz des Zwischenproduktes an. Erneut wird mit Dichlormethan extrahiert und die organischen Extrakte werden auf etwa 150 mL eingeeengt. Nochmals setzt man 4 g Iod, 7.2 g K₂CO₃ und 80 mL Wasser zu und rührt 1.5 Stunden bei Raumtemperatur. Durch Zusatz von NaHSO₃ wird überschüssiges Iod reduziert, bevor fünfmal mit Dichlormethan extrahiert wird. Nach Entfernung des Lösungsmittels wird dreimal mit Toluol kodestilliert und das Rohprodukt direkt weiter umgesetzt.

Goldman-Albright-Oxidation

Das erhaltene braune Öl wird in 60 mL Dimethylsulfoxid gelöst und bei 20 °C mit 30 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Nach 4 Stunden Rühren bei Raumtemp. kann man NMR-spektroskopisch vollständigen Umsatz erkennen. Man versetzt unter Kühlung im Eisbad langsam mit 120 mL Wasser und rührt über Nacht weiter, wobei sich ein brauner Feststoff abscheidet. Man dekantiert die

³³² Pabba, J.; Rempel, B. P.; Withers, S. G.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta*, **2006**, *89*, 635.

flüssige Phase, digeriert den Rückstand einmal mit Wasser und kodestilliert das Rohprodukt zur Trocknung zweimal mit Toluol. Man zieht das Rohprodukt in Dichlormethan auf Kieselgel auf und reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1 → 2 : 1). Man erhält das Produkt als gelbes viskoses Öl.

Ausbeute: 1.52 g (3.40 mmol, 11% d. Th. über 6 Stufen bzgl. D-Galactose)

Gelbes hochviskoses Öl

$R_f = 0.07$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$R_f = 0.16$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.48$ (Toluol/Ethanol = 1 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +57.7$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 469.18 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 469.16)

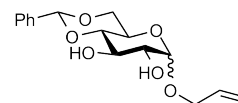
$\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{O}_6$ (446.49)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.57-7.32 (m, 15H, H_{Ar} -Ph), 5.55 (s, 1H, CH-Bzn), 5.27 (d, 1H, $^2J = 10.8$ Hz, CH_2 -Bn), 4.85 (d, 1H, $^2J = 12.3$ Hz, CH_2 -Bn), 4.84 (d, 1H, $^2J = 10.7$ Hz, CH_2 -Bn), 4.78 (d, 1H, $^2J = 12.3$ Hz, CH_2 -Bn), 4.58 (d, 1H, $^3J_{H2,H1} = 10.0$ Hz, H2-Gal), 4.37 (s_b , 1H, H4-Gal), 4.35 (d_b , 1H, $^2J = 14.3$ Hz, H6a-Gal), 4.03 (s_b , 1H, H5-Gal), 3.96 (d_b , 1H, $^2J = 14.1$ Hz, H6b-Gal), 3.93 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.3$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 2.4$ Hz, H3-Gal).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 170.20 (C1-Gal), 137.54, 137.45, 136.87 (C_{ipso} -Ph), 129.11, 128.25, 128.17, 128.07, 127.71, 127.54, 126.09 ($\text{C}_{o,m,p}$ -Ph), 100.66 (CH-Bzn), 76.79 (C3-Gal), 76.12 (C2-Gal), 75.40 (C4-Gal), 72.48, 72.24 (CH_2 -Bn), 70.16 (C6-Gal), 68.57 (C5-Gal).

5.3.2 Der Glucosebaustein und das Fuconolacton

Allyl-4,6-O-benzyliden- α , β -D-glucopyranosid (65)^{204,333}
(α , β -4,6-Bzn-Glc-OAll)



Fischer-Glycosylierung mit Allylalkohol

40.0 g (222 mmol) D-Glucose (**63**) werden in 330 mL Allylalkohol suspendiert und mit 12 g saurem Ionentauscher Dowex[®] 50WX8-200 versetzt. Man erhitzt 2 Stunden unter leichtem Rückfluss und lässt dann erkalten. Es wird vom Ionentauscher abfiltriert und dreimal mit Methanol nachgewaschen. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt, der Rückstand mit einer Mischung aus Essigsäureethylester und Toluol (1 : 2) kdestilliert und direkt weiter umgesetzt.

Bildung des Benzylidenacetals

Die erhaltenen 48 g eines viskosen Öls werden mit 100 mL (666 mmol, 3.0 Äquiv.) Benzaldehyd, dimethylacetal und 410 mg (2.16 mmol, 0.01 Äquiv.) 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat versetzt und 30 Minuten bei 50 °C und 270 mbar am Rotationsverdampfer gerührt. Nach dieser Zeit wird die homogene, leicht bräunliche Lösung über Nacht bei Raumtemp. weitergerührt, wobei die Viskosität stark zunimmt. Danach versetzt man mit 100 mL Toluol, erwärmt am Rotationsverdampfer auf 40 °C und gibt 150 mL Petrolether, 100 mL ges. NaHCO₃-Lsg. und 50 mL Wasser hinzu. Dabei scheidet sich ein blassgelber, gummiartiger Niederschlag ab, von dem die flüssigen Phasen dekantiert werden. Man digeriert einmal mit Wasser und einmal mit Petrolether, löst den Rückstand dann in Ethanol, versetzt mit Toluol und entfernt die Lösungsmittel im Vakuum. Das zurückbleibende gelbe, viskose Öl wird zweimal mit Toluol kdestilliert. Das NMR-Spektrum zeigt sowohl die enthaltene Allyl- als auch die Benzylidenacetal-Schutzgruppe. Aus dem ¹H-NMR-Spektrum lässt sich ein Anomerenverhältnis von α zu β von 2 : 1 bestimmen.

Ausbeute: 51.1 g (max. 166 mmol)

Gelbes viskoses Öl

C₁₆H₂₀O₆ (308.33)

Charakteristische ¹H-NMR-Signale der beiden Anomere:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, MeOD): δ (ppm) = 5.95 (m_c, 1H, CH-All), 5.54 (s, 1H, CH-Bzn), 5.36 (m_c, 1H, =CH₂-All^{trans}), 5.25 (m_c, 1H, =CH₂-All^{cis}), 4.94 (d, ³J_{H1,H2} = 3.9 Hz, H1-Glc ^{α}), 4.45 (d, ³J_{H1,H2} = 7.7 Hz, H1-Glc ^{β}).

β -Anomer

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 133.30 (CH-All), 118.14 (=CH₂-All), 102.05

³³³ Petitou, M.; Duchaussoy, P.; Lederman, I.; Choay, J. *Carbohydr. Res.*, **1986**, *147*, 221.

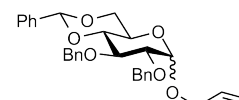
(C1-Glc), 101.75 (CH-Bzn), 80.41 (C4-Glc), 74.37 (C3-Glc), 73.04 (C2-Glc), 70.48 (CH₂-All), 68.54 (C6-Glc), 66.23 (C5-Glc).

α -Anomer

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 133.30 (=CH-All), 118.14 (CH₂-All), 101.75 (CH-Bzn), 97.83 (C1-Glc), 80.86 (C4-Glc), 72.65 (C2-Glc), 71.42 (C3-Glc), 68.76 (CH₂-All), 68.70 (C6-Glc), 62.49 (C5-Glc).

Allyl-2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden- α , β -D-glucoopyranosid (66)³³³

(α , β -4,6-Bzn-Bn₂Glc-OAll)



51.1 g (max. 166 mmol) des erhaltenen gelblichen Feststoffes α , β -4,6-Bzn-Glc-OAll (**65**) werden in 300 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid portionsweise mit 9.94 g (393 mmol, 1.2 Äquiv. pro OH-Gruppe) NaH (95%-ig) versetzt. Langsam werden dann unter moderater Gasentwicklung 43.5 mL (1.1 Äquiv. pro OH-Gruppe) Benzylbromid zugetropft. Es wird weitere 50 Minuten bei Raumtemp. gerührt. Laut Dünnschichtchromatographie ist der Umsatz nach dieser Zeit vollständig, sodass die Reaktion durch Zugabe von 6 mL Methanol beendet werden kann. Man versetzt mit Dichlormethan und Wasser, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird noch dreimal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden i. Vak. und i. Hochvak. vom Lösungsmittel befreit. Das verbleibende, orangene Öl wird dreimal mit Toluol kodestilliert und ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Stufe eingesetzt.

Ausbeute: 85.6 g (max. 166 mmol)

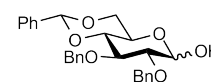
Oranges viskoses Öl

C₃₀H₃₂O₆ (488.57)

α -Anomer:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, MeOD): δ (ppm) = 7.58-7.30 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 5.99 (m_c, 1H, CH-All), 5.60 (s, 1H, CH-Bzn), 5.38 (dd, 1H, ³J_{trans} = 17.2 Hz, ²J = 1.5 Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.28 (dd, 1H, ³J_{cis} = 10.3 Hz, ²J = 1.3 Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.97 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂-Bn), 4.89 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂-Bn), 4.88 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.85 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 3.8 Hz, H1-Glc), 4.73 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.30 (dd, 1H, ²J = 10.2 Hz, ³J = 4.8 Hz, H6a-Glc), 4.23 (dd, 1H, ²J = 12.9 Hz, ³J = 5.2 Hz, CH_{2a}-All), 4.13 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 9.3 Hz, H3-Glc), 4.08 (dd, 1H, ²J = 13.2 Hz, ³J = 7.3 Hz, CH_{2b}-All), 3.94 (dt*, 1H, ³J_{H5,H6b} = ³J_{H5,H4} = 10.0 Hz, ³J_{H5,H6a} = 4.8 Hz, H5-Glc), 3.74 (t*, 1H, ²J = ³J = 10.3 Hz, H6b-Glc), 3.66 (t*, 1H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.5 Hz, H4-Glc), 3.62 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 3.7 Hz, ³J_{H2,H3} = 9.3 Hz, H2-Glc).

2,3-Di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden- α , β -D-glucopyranose (67)³³⁴
(α , β -4,6-Bzn-Bn₂Glc-OH)



6.00 g (max. 12.3 mmol) rohes α -4,6-Bzn-Bn₂Glc-OAll (66) werden in 60 mL Dimethylsulfoxid gelöst und mit 3.0 g (26.7 mmol, 2.2 Äquiv.) Kalium-*tert*-butylat und 0.5 mL Wasser versetzt. Man erwärmt die Reaktionsmischung im Wasserbad 30 Minuten auf 55 °C und kontrolliert die Reaktion per NMR, da dünnschichtchromatographisch keine signifikante Änderung zu beobachten ist. Bei vollständigem Umsatz gibt man 100 mL Wasser, 80 ml ges. NaHCO₃-Lsg. und 6.9 g (27.2 mmol, 2.2 Äquiv.) Iod unter kräftigem Rühren hinzu. Nach zwei Stunden gibt man weitere 1.1 g (4.3 mmol, 0.3 Äquiv.) Iod und 60 mL THF zu und verdünnt nach weiteren 30 Minuten mit Essigsäureethylester. Durch Zugabe von festem NaCl wird eine Phasentrennung erreicht. Die zweiphasige Mischung wird weitere 2 Stunden bei Raumtemp. gerührt, bevor durch Zugabe von NaHSO₃ entfärbt wird. Die organische Schicht wird abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit Essigsäureethylester extrahiert. Das Extrakt wird mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die flashchromatographische Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1) liefert das Produkt als Mischung beider Anomere in Form eines farblosen Feststoffes.

Ausbeute: 2.71g (6.01 mmol, 49% d. Th. bezogen auf D-Glucose)
Farbloser Feststoff

$R_f = 0.30$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

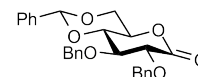
C₂₇H₂₈O₆ (448.51)

Charakteristische Signale der beiden Anomere:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, MeOD): δ (ppm) = 5.66 (s, CH-Bzn ^{α}), 5.65 (s, CH-Bzn ^{β}), 5.24 (d, ³ $J_{H1,H2} = 3.6$ Hz, H1-Glc ^{α}), 4.81 (d, ³ $J_{H1,H2} = 7.6$ Hz, H1-Glc ^{β}).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 101.1 (CH-Bzn ^{α}), 100.9 (CH-Bzn ^{β}).

2,3-Di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden-D-glucono-(1,5)-lacton (68)
(4,6-Bzn-Bn₂Glc=O)



Variante A: Dess-Martin-Oxidation

Zu 3.20 g (7.14 mmol) α , β -4,6-Bzn-Bn₂Glc-OH (67) in 100 mL absol. Dichlormethan werden bei Raumtemp. langsam 15 mL (7.23 mmol, 1.01 Äquiv.) einer 15 gew-%-igen Lösung von Dess-Martin-Periodinan in Dichlormethan zugetropft. Nach 30 Minuten werden nochmals 5 mL (2.41

³³⁴ Garneau, S.; Qiao, L.; Chen, L.; Walker, S.; Vederas, J. C. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 6473.

mmol, 0.34 Äquiv.) und nach 60 Minuten erneut 2 mL (0.96 mmol, 0.13 Äquiv.) der Reagenzlösung eingetropft. Nach weiteren 30 Minuten wird die Reaktionsmischung mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1) gereinigt. Man erhält das Lacton zunächst als viskoses, gelbliches Öl, das nach einiger Zeit erstarrt.

Ausbeute: 2.34 g (5.24 mmol, 73% d. Th.)

Variante B: Goldman-Albright-Oxidation

7.60 g (max. 16.9 mmol) rohes α, β -4,6-Bzn-Bn₂Glc-OH (**67**) in 60 mL Dimethylsulfoxid werden bei 20 °C mit 30 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Man rührt 22 Stunden bei Raumtemp. und versetzt anschließend mit Wasser und Essigsäureethylester. Es wird ausgeschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert und die vereinigten organischen Extrakte werden i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Man kodestilliert zweimal mit Toluol und reinigt das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel. Dabei trennt man zunächst mit reinem Petrolether unpolare Verunreinigungen ab und eluiert dann das Produkt mit Petrolether/Essigsäureethylester = 6 : 1 von der Säule.

Ausbeute: 1.45 g (10.2 mmol, 60% d. Th.)

Farbloser kristalliner Feststoff

$R_f = 0.51$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.33$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 3)

$[\alpha]_D^{23} = +45.0$ (c = 1.0, CHCl₃)

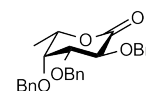
ESI-MS (m/z): 469.22 ([M+Na]⁺, ber.: 469.16)

Die Daten der Röntgen-Kristallstruktur-Untersuchung finden sich im Anhang.

C₂₇H₂₆O₆ (446.49)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.57-7.52 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.49-7.33 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.62 (s, 1H, CH-Bzn), 4.93 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.74 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.68 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.67 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.56-4.49 (m, 2H, H5-Glc, H6a-Glc), 4.20 (d, 1H, ³J_{H2,H3} = 3.6 Hz, H2-Glc), 4.01 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 3.6 Hz, ³J_{H3,H4} = 7.9 Hz, H3-Glc), 3.95 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 8.1 Hz, ³J_{H4,H5} = 9.3 Hz, H4-Glc), 3.83 (m_c, 1H, H6b-Glc).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 167.70 (C1-Glc), 137.17, 136.49, 136.28 (C_{ipso}-Ph), 129.16, 128.44, 128.31, 128.20, 127.84, 127.76, 125.95 (C_{o,m,p}-Ph), 101.33 (CH-Bzn), 79.91 (C4-Glc, C3-Glc), 78.56 (C2-Glc), 73.18, 72.86 (CH₂-Bn), 67.99 (C6-Glc), 66.55 (C5-Glc).

2,3,4-Tri-*O*-benzyl-L-fuconolacton (71)²⁰⁶(Bn₃Fuc=O)Abspaltung der anomeren Schutzgruppe²⁰⁷

2.90 g (6.06 mmol) α,β -Bn₃Fuc-SEt (**16**) werden in einer Mischung aus 15 mL THF und 3 mL Wasser gelöst. In einem weiteren Kolben werden 1.90 g (8.77 mmol, 1.45 Äquiv.) rotes Quecksilber(II)-oxid mit 15 mL Tetrahydrofuran und 2.5 mL (20.3 mmol, 3.34 Äquiv.) Bortrifluorid-Etherkomplex (BF₃·Et₂O) unter Rühren vermischt. Die Substratlösung wird nun langsam hinzugefügt und die orangene Suspension drei Stunden bei Raumtemp. gerührt. Anschließend versetzt man mit ges. NaHCO₃-Lösung und Wasser und extrahiert dreimal mit Dichlormethan. Die organischen Phasen werden mit 10%-iger Kaliumiodid-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird direkt weiter umgesetzt.

Goldman-Albright-Oxidation

Das Rohprodukt wird in 40 mL Dimethylsulfoxid bei 20 °C mit 20 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Nach 20 Stunden Rühren bei Raumtemp. versetzt man mit 100 mL Wasser und 100 mL Dichlormethan, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird viermal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1 → 4 : 1).

Ausbeute: 2.25 g (5.20 mmol, 87% d. Th. über 2 Stufen)

Gelbes, viskoses Öl

$R_f = 0.39$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -35.1$ (c = 1.0, CHCl₃)

C₂₇H₂₈NO₅ (432.51)

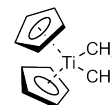
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.53-7.48 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.45-7.34 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.28 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 5.05 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂-Bn), 4.87 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.86 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.77 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.76 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.55 (d, 1H, ³J_{H2,H3} = 9.7 Hz, H2-Fuc), 4.37 (dq, 1H, ³J_{H5,H6abc} = 6.3 Hz, ³J_{H5,H4} = 1.1 Hz, H5-Fuc), 3.96 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 9.7 Hz, ³J_{H3,H4} = 2.1 Hz, H3-Fuc), 3.88 (s_b, 1H, H4-Fuc), 1.40 (d, 3H, ³J = 6.5 Hz, H6abc-Fuc).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 170.48 (C1-Fuc), 137.74, 137.52, 137.50 (C_{ipso}-Ph), 128.28, 128.25, 128.19, 128.16, 127.96, 127.74, 127.68, 127.63, 127.34 (C_{o,m,p}-Ph), 80.14, 76.72, 75.57, 75.21 (C2-Fuc, C3-Fuc, C4-Fuc, C5-Fuc), 75.01, 74.49, 72.69 (CH₂-Bn), 16.98 (C6-Fuc).

5.3.3 Die Petasis-Olefinierungen

Dimethyltitanocen (Petasis-Reagenz, 72)

(Cp₂TiMe₂)



In einem 500 mL Dreihalskolben mit Innenthermometer, Argonballon und Septum werden 9.20 g (37.0 mmol) Titanocendichlorid vorgelegt und in ca. 100 mL abs. Toluol suspendiert. Man kühlt auf -10 bis -5 °C ab und tropft langsam 28 mL einer 3M Lösung (22 Gew.-%) von Methylmagnesiumchlorid in THF zu, so dass während der Zugabe die Innentemperatur nicht über 0 °C ansteigt. Nach vollendeter Zugabe rührt man weiter bei einer Temperatur von 0 bis 5 °C. Zur Reaktionskontrolle werden mit Hilfe einer Spritze mit dicker Kanüle (um eine repräsentative Probe zu erhalten) 0.2 mL der Reaktionsmischung entnommen und in 1 mL Wasser eingetropft. Anschließend extrahiert man mit ca. 1 mL CDCl₃, trocknet die organische Phase über MgSO₄ und vermischt die Lösung NMR-spektrometrisch. Dabei erkennt man nach 3 Stunden Reaktionszeit lediglich die Cp-Protonen des gewünschten Produktes ($\delta = 6.05$ ppm), während keine Signale von Cp₂TiMeCl ($\delta = 6.22$ ppm) oder Cp₂TiCl₂ ($\delta = 6.56$ ppm) mehr zu erkennen sind.

Man tropft die Reaktionslösung langsam in 26 mL einer 6%-igen NH₄Cl-Lösung, welche auf 0 bis 2 °C gekühlt wird. Man spült den Reaktionskolben mit Toluol nach und überführt die gesamte zweiphasige Mischung in einen Scheidetrichter. Man trennt die wässrige Phase ab und wäscht die organische Schicht dreimal mit jeweils 50 mL Wasser und einmal mit 50 mL ges. NaCl-Lösung. Nach dem Trocknen über Na₂SO₄ wird die Lösung bei einer Wasserbadtemperatur von unter 35 °C am Rotationsverdampfer i. Vak. auf ca. 90 mL eingengt, zur längeren Lagerung in eine Braunglasflasche überführt und mit einer stabilisierend wirkenden Menge an absol. THF verdünnt. Die Konzentration des Reagenz wird über das NMR-Spektrum ermittelt. Man erhält eine leuchtend rote Lösung in Toluol/THF.

C₁₂H₁₆Ti (208.12)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 6.05 (s, 10H, H-Cp), -0.05 (s, 6H, CH₃).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 113.20 (C-Cp), 45.77 (CH₃).

Allgemeine Vorschriften für die Petasis-Olefinierungen

Mikrowellenunterstützter Batch-Ansatz

Für die Reaktion wird eine 0.46M Lösung von Cp_2TiMe_2 in Toluol/THF benutzt. Das zu olefinierende Lacton wird in der Reagenzlösung gelöst und per NMR-Spektroskopie kontrolliert, dass die Reaktionsmischung 2.2 Äquivalente Cp_2TiMe_2 enthält. Der Ansatz wird dann im verschlossenen Röhrchen in einem Mikrowellengerät (CEM Discover) erhitzt. Die verwendete Leistung, die Reaktionszeit, die eingestellte maximale Temperatur und der maximal eingestellte Druck sind bei der jeweiligen Verbindung angegeben. In allen Fällen wird unter gleichzeitiger starker Kühlung mit Hilfe von Druckluft gearbeitet (*Cooled microwave heating*), so dass die extern gemessene Reaktionstemperatur unter 65 °C bleibt. Nach der Reaktion erfolgt die bei der betreffenden Verbindung jeweils angegebene Aufarbeitung.

Continuous-Flow-Ansatz: Optimierung mit kleinen Mengen

Für die Reaktion wird eine 0.46M Lösung von Cp_2TiMe_2 in Toluol/THF benutzt. Das Reaktionssystem wird 15 Minuten mit den angegebenen Parametern für Druck, Mikrowellenleistung und Flussrate unter Verwendung einer Mischung aus Toluol/THF (1:1) betrieben und so konditioniert. Anschließend wird die Probenschleife geleert und mit einem trockenen Stickstoff-Strom durchgespült. Mit einer Spritze füllt man dann die Probenschleife folgendermaßen:

0.25 mL 0.46M Cp_2TiMe_2 -Lösung

0.7-1.0 mL Lösung des Lactons in Cp_2TiMe_2 -Lösung (2.2 Äquiv.)

0.25 mL 0.46M Cp_2TiMe_2 -Lösung

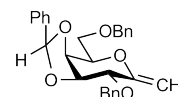
Nach Umstellen der entsprechenden Ventile wird die Pumpe gestartet, um die Probe kontinuierlich durch die Reaktionszone innerhalb der Mikrowelle (CEM Discover) zu fördern. Die vollständige Probe wird gesammelt und nach der jeweiligen Prozedur aufgearbeitet.

Continuous-Flow-Ansatz: Präparative Nutzung

Für die Reaktion wird eine 0.46M Lösung von Cp_2TiMe_2 in Toluol/THF benutzt. Das Reaktionssystem wird 15 Minuten mit den angegebenen Parametern für Druck, Mikrowellenleistung und Flussrate unter Verwendung einer Mischung aus Toluol/THF (1:1) betrieben und so konditioniert. Anschließend wird mit Hilfe der HPLC-Pumpe eine Lösung des Lactons in Cp_2TiMe_2 -Lösung (2.2 Äquiv.) aus einem Vorratsgefäß angesaugt und kontinuierlich durch die Reaktionszone innerhalb der Mikrowelle (CEM Discover) gefördert. Die vollständige Probe wird gesammelt und nach der jeweiligen Prozedur aufgearbeitet.

endo-2,6-Di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-1-deoxy-1-methyliden-D-galactopyranose (74)

(endo-3,4-Bzn-Bn₂Glc=CH₂)



Synthese nach allgemeiner Vorschrift im Mikrowellenröhrchen

Leistung: 200W Temp.: 75 °C Druck: max. 14 bar Zeit: 30 min

Ansatzgröße: 459 mg (1.03 mmol) endo-3,4-Bzn-Bn₂Gal=O (**56**)

Synthese im kontinuierlichen Mikroreaktorprozess

Leistung: 100W Flussrate: 1.5 mL/min Verweilzeit: 5 min 40 sec

Ansatzgröße: 394 mg (0.882 mmol) endo-3,4-Bzn-Bn₂Gal=O (**56**)

Nach vollständiger Reaktion wird der gesamte Ansatz in einen Kolben überführt und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das zurückbleibende Pulver mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 30 : 1 → 20 : 1 → 10 : 1). Man erhält das Produkt als farbloses viskoses Öl.

Ausbeute im Röhrchen: 320 mg (0.720 mmol, 70% d. Th.)

Ausbeute im kontinuierlichen Prozess: 279 mg (0.627 mmol, 71% d. Th.)

Farbloses viskoses Öl

$R_f = 0.29$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +83.5$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 467.18 ([M+Na]⁺, ber.: 467.18)

HR-ESI-MS (m/z): 467.1833 ([M+Na]⁺, ber.: 467.1834)

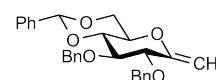
C₂₈H₂₈O₅ (444.52)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.52-7.49 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.41-7.27 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.75 (s, 1H, CH-Bzn), 4.77 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.77 (d, 1H, ²J = 1.0 Hz, CH_{2a}-exo), 4.73 (m_c, 1H, H5-Gal), 4.65 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.56 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.53 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 2.1 Hz, ³J_{H3,H4} = 8.0 Hz, H3-Gal), 4.49 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 8.0 Hz, ³J_{H4,H5} = 1.2 Hz, H4-Gal), 4.47 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.23 (d, 1H, ²J = 1.0 Hz, CH_{2b}-exo), 4.04 (d, 1H, ³J_{H2,H3} = 2.2 Hz, H2-Gal), 3.82-3.73 (m, 2H, H6ab-Gal).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 152.02 (C1-Gal), 137.98, 137.43, 135.89 (C_{ipso}-Ph), 129.91, 128.46, 128.38, 128.02, 127.85, 127.77, 127.66, 127.51 (C_{o,m,p}-Ph), 104.47 (CH-Bzn), 94.13 (CH₂-exo), 74.70 (C2-Gal), 74.11 (C3-Gal), 73.74 (C4-Gal), 73.50 (CH₂-Bn), 71.04 (C5-Gal), 69.70 (CH₂-Bn), 69.44 (C6-Gal).

2,3-Di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden-1-deoxy-1-methyliden-D-glucopyranose (75)

(4,6-Bzn-Bn₂Glc=CH₂)



Synthese nach allgemeiner Vorschrift im Mikrowellenröhrchen

Leistung: 200W Temp.: 75 °C Druck: max. 14 bar Zeit: 30 min

Ansatzgröße: 1.23 g (2.75 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Glc=O (68)

Synthese im kontinuierlichen Mikroreaktorprozess

Leistung: 100W Flussrate: 1.5 mL/min Verweilzeit: 5 min 40 sec

Ansatzgröße: 1.84 g (4.12 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Glc=O (68)

Nach vollständiger Reaktion wird der gesamte Ansatz in einen Kolben überführt und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das zurückbleibende Pulver mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 1 → 10 : 1). Man erhält das Produkt als farbloses viskoses Öl. Eine kleine Probe der Substanz kann aus Ethanol kristallisiert und die Struktur durch Röntgendiffraktometrie bestimmt werden.

Ausbeute im Röhrchen: 822 mg (1.85 mmol, 67% d. Th.)

Ausbeute im kontinuierlichen Prozess: 1.19 g (2.68 mmol, 65% d. Th.)

Farbloses viskoses Öl

$R_f = 0.35$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1)

$R_f = 0.46$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +7.1$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 467.17 ([M+Na]⁺, ber.: 467.18)

HR-ESI-MS (m/z): 467.1828 ([M+Na]⁺, ber.: 467.1834)

Die Daten der Röntgen-Kristallstruktur-Untersuchung finden sich im Anhang.

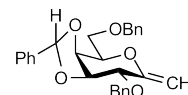
C₂₈H₂₈O₅ (444.52)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.56-7.52 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.45-7.32 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.61 (s, 1H, CH-Bzn), 4.85 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.78 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.76 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.65 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.76 (t_b^{*}, 1H, ²J = ⁴J = 1.0 Hz, CH_{2a}-exo), 4.59 (t^{*}, 1H, ²J = ⁴J = 1.0 Hz, CH_{2b}-exo), 4.47 (dd, 1H, ²J = 10.4 Hz, ³J = 5.1 Hz, H6a-Glc), 4.03 (d_b, 1H, ³J_{H2,H3} = 4.9 Hz, H2-Glc), 4.00 (ddd, 1H, ³J_{H5,H6b} = ³J_{H5,H4} = 10.0 Hz, ³J_{H5,H6a} = 4.9 Hz, H5-Glc), 3.93 (dd, 1H, ³J_{H3,H4} = 7.6 Hz, ³J_{H3,H2} = 4.5 Hz, H3-Glc), 3.87 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 7.6 Hz, ³J_{H4,H5} = 9.4 Hz, H4-Glc), 3.79 (t^{*}, 1H, ²J = ³J = 10.4 Hz, H6b-Glc).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 154.73 (C1-Glc), 138.08, 137.66, 137.18 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$), 128.97, 128.41, 128.31, 128.19, 127.86, 127.82, 127.79, 127.66, 126.05 ($\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 101.22 (CH-Bzn), 95.06 ($\text{CH}_2\text{-exo}$), 81.63 (C4-Glc), 81.24 (C3-Glc), 78.79 (C2-Glc), 73.28, 71.79 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 69.04 (C6-Glc), 67.49 (C5-Glc).

***exo*-2,6-Di-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden-1-deoxy-1-methyliden-*D*-galactopyranose (76)**

(*exo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=CH₂)



Synthese nach allgemeiner Vorschrift im Mikrowellenröhrchen

Leistung: 200W Temp.: 75 °C Druck: max. 14 bar Zeit: 30 min

Ansatzgröße: 386 mg (0.864 mmol) *exo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=O (57)

Synthese im kontinuierlichen Mikroreaktorprozess

Leistung: 100W Flussrate: 1.5 mL/min Verweilzeit: 5 min 40 sec

Ansatzgröße: 362 mg (0.811 mmol) *exo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=O (57)

Nach vollständiger Reaktion wird der gesamte Ansatz in einen Kolben überführt und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das zurückbleibende Pulver mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 30 : 1 → 20 : 1 → 10 : 1). Man erhält das Produkt als farbloses viskoses Öl.

Ausbeute im Röhrchen: 269 mg (0.605 mmol, 70% d. Th.)

Ausbeute im kontinuierlichen Prozess: 252 mg (0.568 mmol, 70% d. Th.)

Farbloses viskoses Öl

$R_f = 0.35$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +56.7$ (c = 1.0, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 467.20 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 467.18)

HR-ESI-MS (m/z): 467.1815 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 467.1834)

Die Daten der Röntgen-Kristallstruktur-Untersuchung finden sich im Anhang.

$\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{O}_5$ (444.52)

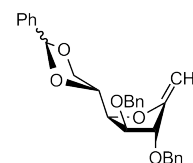
$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$, NOESY] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.46-7.42 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.40-7.29 (m, 13H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 6.16 (s, 1H, CH-Bzn), 4.76 (d, 1H, $^2J = 11.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.76 (sb, 1H, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$), 4.71 (m_c, 1H, H5-Gal), 4.71 (d, 1H, $^2J = 11.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.65 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 2.5$ Hz, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 7.6$ Hz, H3-Gal), 4.60 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.56 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3}$

= 7.6 Hz, $^3J_{H4,H5}$ = 1.5 Hz, H4-Gal), 4.47 (d, 1H, 2J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.28 (d, 1H, 2J = 1.0 Hz, CH_{2b}-exo), 4.04 (d, 1H, $^3J_{H2,H3}$ = 2.5 Hz, H2-Gal), 3.85 (dd, 1H, 2J = 10.1 Hz, 3J = 6.8 Hz, H6a-Gal), 3.85 (dd, 1H, 2J = 10.1 Hz, 3J = 5.7 Hz, H6b-Gal).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 152.58 (C1-Gal), 137.94, 137.74, 137.36 (C_{ipso}-Ph), 129.22, 128.45, 128.36, 127.94, 127.84, 127.77, 127.66, 126.21 (C_{o,m,p}-Ph), 104.65 (CH-Bzn), 94.42 (CH₂-exo), 74.63 (C2-Gal), 74.05 (C3-Gal), 73.51 (CH₂-Bn), 73.37 (C4-Gal), 72.57 (C5-Gal), 69.57 (CH₂-Bn), 69.44 (C6-Gal).

2,3-Di-*O*-benzyl-5,6-*O*-benzyliden-1-deoxy-1-methyliden-*D*-glucofuranose (77)

(5,6-Bzn-Bn₂Glc=CH₂)



Das isomerisierte Lacton **69** wird vor der Reaktion mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 1) gereinigt. Eine vollständige Charakterisierung erfolgt erst nach der Olefinierung.

Synthese nach allgemeiner Vorschrift im Mikrowellenröhrchen

Leistung: 200 W Temp.: 75 °C Druck: max. 14 bar Zeit: 30 min
 Ansatzgröße: 835 mg (1.87 mmol) isomerisiertes Lacton **69**

Synthese im kontinuierlichen Mikroreaktorprozess

Leistung: 100 W Flussrate: 1.0 mL/min Verweilzeit: 8 min 30 sec
 Ansatzgröße: 1.034 g (2.32 mmol) isomerisiertes Lacton **69**

Nach vollständiger Reaktion wird der gesamte Ansatz in einen Kolben überführt und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das zurückbleibende Pulver mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 0 → 20 : 1 → 10 : 1 → 5 : 1). Man erhält das Produkt als blassgelbes viskoses Öl. Die Mischung der Diastereomere lässt sich HPLC-chromatographisch trennen.

Ausbeute im Röhrchen: 424 mg (0.954 mmol, 51% d. Th.)

Ausbeute im kontinuierlichen Prozess: 515 mg (1.16 mmol, 50% d. Th.)

R_f = 0.21 (Petrolether/Essigsäureethylester = 5 : 1)

$[\alpha]_D^{23}$ = +14.1 (c = 1.0, CHCl₃), 1:1-Mischung der Diastereomere

C₂₈H₂₈O₅ (444.52)

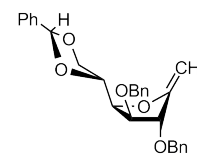
(R)-Acetal:

Farbloser, amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: $R_t = 22.4$ min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O, (75:25)→(100:0),

60 min, $\lambda = 214$ nm); Semipräp. HPLC: $R_t = 63.0$ min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O, (75:25)→(100:0), 90 min, $\lambda = 214$ nm)

ESI-MS (m/z): 467.17 ([M+Na]⁺, ber.: 467.18)



¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.51-7.48 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.41-7.27 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.80 (s, 1H, CH-Bzn), 4.67 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.63 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.76 (s_b, 1H, CH_{2a}-exo), 4.61-4.52 (m, 3H, CH₂-Bn, H5-Glc, H4-Glc), 4.44 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.28 (dd, 1H, ²J = 8.4 Hz, ³J = 3.9 Hz, H6a-Glc), 4.21 (s_b, 1H, H2-Glc), 4.18 (d, 1H, ²J = 2.0 Hz, CH_{2b}-exo), 4.15 (dd, 1H, ²J = 8.5 Hz, ³J = 6.5 Hz, H6b-Glc), 4.08 (d, 1H, ³J_{H3,H4} = 3.0 Hz, H3-Glc).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 159.43 (C1-Glc), 137.55, 137.47, 137.23 (C_{ipso}-Ph), 129.36, 128.49, 128.40, 128.34, 127.84, 127.77, 127.68, 126.71 (C_{o,m,p}-Ph), 104.00 (CH-Bzn), 87.26 (CH₂-exo), 83.65 (C4-Glc), 80.69 (C3-Glc), 80.17 (C2-Glc), 73.27 (C5-Glc), 72.25, 69.85 (CH₂-Bn), 68.03 (C6-Glc).

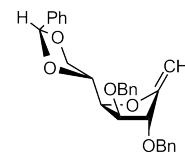
(S)-Acetal:

Farbloser, amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: $R_t = 23.6$ min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O, (75:25)→(100:0),

60 min, $\lambda = 214$ nm); Semipräp. HPLC: $R_t = 66.0$ min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O, (75:25)→(100:0), 90 min, $\lambda = 214$ nm)

ESI-MS (m/z): 467.17 ([M+Na]⁺, ber.: 467.18)

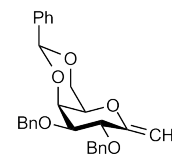


¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.50-7.47 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.40-7.26 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.97 (s, 1H, CH-Bzn), 4.70 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.66 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.5 Hz, ³J_{H4,H5} = 6.5 Hz, H4-Glc), 4.63 (d, 1H, ²J = 1.5 Hz, CH_{2a}-exo), 4.63 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.57 (q*, 1H, ³J_{H5,H6a} = ³J_{H5,H6b} = ³J_{H5,H4} = 6.5 Hz, H5-Glc), 4.55 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.47 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.28 (dd, 1H, ²J = 8.6 Hz, ³J = 6.5 Hz, H6a), 4.23 (s_b, 1H, H2-Glc), 4.21 (d, 1H, ²J = 2.0 Hz, CH_{2b}-exo), 4.12 (d_b, 1H, ³J_{H3,H4} = 3.5 Hz, H3-Glc), 4.09 (dd, 1H, ²J = 8.8 Hz, ³J = 6.5 Hz, H6b-Glc).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 159.39 (C1-Glc), 137.95, 137.44, 137.3 (C_{ipso}-Ph), 129.14, 128.52, 128.43, 128.32, 127.90, 127.82, 127.71, 126.42 (C_{o,m,p}-Ph), 103.58 (CH-Bzn), 87.42 (CH₂-exo), 83.67 (C4-Glc), 80.94 (C3-Glc), 79.99 (C2-Glc), 73.14 (C5-Glc), 72.22, 69.89 (CH₂-Bn), 67.79 (C6-Glc).

2,3-Di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden-1-deoxy-1-methyliden-D-galactopyranose (78)³³⁵

(4,6-Bzn-Bn₂Gal=CH₂)



Synthese nach allgemeiner Vorschrift im Mikrowellenröhrchen

Leistung: 200W Temp.: 75 °C Druck: max. 14 bar Zeit: 30 min

Ansatzgröße: 300 mg (0.672 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Gal=O (**62**)

Synthese im kontinuierlichen Mikroreaktorprozess

Leistung: 100W Flussrate: 1.5 mL/min Verweilzeit: 5 min 40 sec

Ansatzgröße: 159 mg (0.356 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Gal=O (**62**)

Nach vollständiger Reaktion wird der gesamte Ansatz in einen Kolben überführt und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das zurückbleibende Pulver mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 1 → 10 : 1). Man erhält das Produkt als blassgelbes viskoses Öl.

Ausbeute im Röhrchen: 149 mg (0.335 mmol, 50% d. Th.)

Ausbeute im kontinuierlichen Prozess: 88 mg (0.198 mmol, 56% d. Th.)

Blassgelbes viskoses Öl

$R_f = 0.36$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +69.4$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:³³⁵ $[\alpha]_D^{24} = +86$ (c = 1.2, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 467.15 ([M+Na]⁺, ber.: 467.18)

C₂₈H₂₈O₅ (444.52)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.62-7.59 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.46-7.31 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.56 (s, 1H, CH-Bzn), 4.90 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂-Bn), 4.88 (s_b, 1H, CH_{2a}-exo), 4.87 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.82 (s_b, 1H, CH_{2b}-exo), 4.82 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂-Bn), 4.81 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.76 (dt*, 1H, ⁴J_{H2,H_{exo,a} = ⁴J_{H2,H_{exo,b} = 1.8 Hz, ³J_{H2,H3} = 9.8 Hz, H2-Gal), 4.37 (dd, 1H, ²J = 12.7 Hz, ³J = 1.6 Hz, H6a-Gal), 4.27 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.3 Hz, ³J_{H4,H5} = 1.6 Hz, H4-Gal), 4.00 (dd, 1H, ²J = 12.7 Hz, ³J = 1.8 Hz, H6b-Gal), 3.68 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 9.8 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.5 Hz, H3-Gal), 3.48 (m_c, 1H, H5-Gal).}}

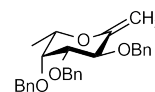
¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 158.20 (C1-Gal), 138.29, 138.17, 137.61 (C_{ipso}-Ph), 128.92, 128.28, 128.08, 127.76, 127.60, 127.56, 126.34 (C_{o,m,p}-Ph), 101.11 (CH-Bzn), 94.50 (CH₂-exo), 79.98 (C3-Gal), 76.02 (C2-Gal), 74.49 (C4-Gal), 74.31, 72.00 (CH₂-Bn), 71.03

³³⁵ Wickham, J.; Zhu, X.; Jin, Y. *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 2670.

(C5-Gal), 69.27 (C6-Gal).

2,3,4-Tri-*O*-benzyl-1-deoxy-1-methylen-L-fucopyranose (79)²³²

(Bn₃Fuc=CH₂)



Synthese nach allgemeiner Vorschrift im Mikrowellenröhrchen

Leistung: 200 W Temp.: 75 °C Druck: max. 14 bar Zeit: 30 min

Ansatzgröße: 155 mg (0.358 mmol) Bn₃Fuc=O (71)

Synthese im kontinuierlichen Mikroreaktorprozess

Leistung: 50 W Flussrate: 1.0 mL/min Verweilzeit: 8 min 30 sec

Ansatzgröße: 161 mg (0.374 mmol) Bn₃Fuc=O (71)

Nach vollständiger Reaktion wird der gesamte Ansatz in einen Kolben überführt und mit Kiesegel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das zurückbleibende Pulver mittels Flashchromatographie an Kiesegel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 1 → 10 : 1). Man erhält das Produkt als gelbliches viskoses Öl.

Ausbeute im Röhrchen: 114 mg (0.265 mmol, 74% d. Th.); Lit.:²³² 74% (thermisch)

Ausbeute im kontinuierlichen Prozess: 119 mg (0.276 mmol, 74% d. Th.)

Gelbliches viskoses Öl

$R_f = 0.24$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1)

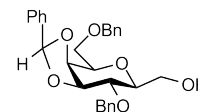
$[\alpha]_D^{23} = -62.3$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 453.16 ([M+Na]⁺, ber.: 453.20)

C₂₈H₃₀O₄ (430.54)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.50-7.31 (m, 15H, H_{A_r}-Ph) 5.05 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂-Bn), 4.89 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.83 (s_b, 2H, CH_{2a}-exo, CH_{2b}-exo), 4.80 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂-Bn), 4.76 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.75 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.73 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.47 (dt, 1H, ³J_{H₂,H₃} = 9.3 Hz, ⁴J_{H₂,H_{exo,a}} = ⁴J_{H₂,H_{exo,b}} = 1.5 Hz, H₂-Fuc), 3.77-3.72 (m, 2H, H₄-Fuc, H₅-Fuc), 4.47 (dd, 1H, ³J_{H₃,H₂} = 9.5 Hz, ³J_{H₃,H₄} = 3.0 Hz, H₃-Fuc), 1.30 (d, 3H, ³J = 6.5 Hz, H_{6abc}-Fuc).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 158.28 (C₁-Fuc), 138.54, 138.37, 138.17 (C_{ipso}-Ph), 128.34, 128.31, 128.19, 127.87, 127.58, 127.53, 127.42 (C_{o,m,p}-Ph), 93.87 (CH₂-exo), 82.77, 77.16 76.76, 75.86 (C₂-Fuc, C₃-Fuc, C₄-Fuc, C₅-Fuc), 74.57, 73.95, 73.05 (CH₂-Bn), 16.97 (C₆-Fuc).

5.3.4 Hydroborierung der *exo*-Glycale***endo*- β -C-(Hydroxymethyl)-2,6-di-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden-D-galactopyranose (84)***endo*- β -3,4-Bzn-Bn₂Gal-CH₂OH

480 mg (1.08 mmol) *endo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**74**) werden i. Hochvak. getrocknet und mehrfach mit Argon belüftet. Anschließend wird der Kolben in flüssigem Stickstoff gekühlt bis eine kleine Menge Argon zu kondensieren beginnt. Dann werden 4.32 mL (2.16 mmol, 2.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF zugetropft und man lässt den Ansatz unter sanftem Schütteln sich auf Raumtemp. erwärmen. Nach 4 Stunden versetzt man bei 0 °C mit 4 mL 5%-iger Kalilauge und 2.0 mL Wasserstoffperoxidlösung (30% in Wasser). Nach 30 Minuten gibt man Wasser und Dichlormethan hinzu, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die Extrakte nach Trocknung über MgSO₄ mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1 → 1 : 1) Man erhält das Produkt in Form eines farblosen amorphen Feststoffes.

Ausbeute: 310 mg (0.67 mmol, 66% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

 $R_f = 0.32$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1) $R_f = 0.08$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1) $[\alpha]_D^{23} = -25.0$ (c = 1.0, CHCl₃)ESI-MS (m/z): 485.19 ([M+Na]⁺, ber.: 485.19)C₂₈H₃₀O₆ (462.53)

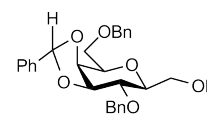
¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.56-7.50 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.45-7.40 (m, 3H, H_{Ar}-Ph), 7.39-7.28 (m, 8H, H_{Ar}-Ph), 7.28-7.23 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 5.95 (s, 1H, CH-Bzn), 4.84 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂-Bn), 4.66 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.58 (d, 2H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.43 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 6.3 Hz, H3-Gal), 4.32 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 6.2 Hz, ³J_{H4,H5} = 2.2 Hz, H4-Gal), 4.06 (dt*, 1H, ³J_{H5,H6a} = ³J_{H5,H6b} = 6.1 Hz, ³J_{H5,H4} = 2.3 Hz, H5-Gal), 3.90 (dd, 1H, ²J = 11.8 Hz, ³J = 3.1 Hz, CH_{2a}-exo), 3.85 (d, 2H, ³J = 6.1 Hz, H6ab-Gal), 3.68 (dd, 1H, ²J = 11.8 Hz, ³J = 5.5 Hz, CH_{2b}-exo), 3.59 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 9.5 Hz, ³J_{H2,H3} = 6.3 Hz, H2-Gal), 3.42 (m_c, 1H, H1-Gal), 2.39 (s_b, 1H, OH).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 137.82, 137.71, 137.24 (C_{ipso}-Ph), 129.33, 128.35, 128.28, 128.01, 127.70, 126.76 (C_{o,m,p}-Ph), 104.40 (CH-Bzn), 79.03 (C3-Gal), 77.88 (C1-Gal), 76.51, 76.42 (C2-Gal, C4-Gal), 74.94 (C5-Gal), 73.47, 72.45 (CH₂-Bn), 69.43

(C6-Gal), 62.80 (CH₂-exo).

***exo*-β-C-(Hydroxymethyl)-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-D-galactopyranose (85)**

(*exo*-β-3,4-Bzn-Bn₂Gal-CH₂OH)



75 mg (0.169 mmol) *exo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**76**) werden i. Hochvak. getrocknet undmehrfach mit Argon belüftet. Anschließend wird der Kolben in flüssigem Stickstoff gekühlt bis eine kleine Menge Argon zu kondensieren beginnt. Dann werden 2.50 mL (1.25 mmol, 7.4 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF zugetropft und man lässt den Ansatz unter sanftem Schütteln sich auf Raumtemp. erwärmen. Nach 4 Stunden versetzt man bei 0 °C mit 2 mL 5%-iger Kalilauge und 2.0 mL Wasserstoffperoxidlösung (30% in Wasser). Nach 30 Minuten gibt man Wasser und Essigsäureethylester hinzu, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Essigsäureethylester extrahiert, die Extrakte nach Trocknung über MgSO₄ mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1) Man erhält das Produkt in Form eines farblosen amorphen Feststoffes.

Ausbeute: 60 mg (0.130 mmol, 77% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.26$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

ESI-MS (m/z): 485.22 ([M+Na]⁺, ber.: 485.19)

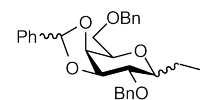
C₂₈H₃₀O₆ (462.53)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.49-7.26 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 6.07 (s, 1H, CH-Bzn), 4.95 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.74 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.62 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.59 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 6.8 Hz, ³J_{H3,H4} = 5.5 Hz, H3-Gal), 4.53 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.25 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 5.5 Hz, ³J_{H4,H5} = 1.9 Hz, H4-Gal), 3.97 (dd, 1H, ²J = 11.7 Hz, ³J = 3.1 Hz, CH_{2a}-exo), 3.95 (dt*, 1H, ³J_{H5,H6a} = ³J_{H5,H6b} = 5.2 Hz, ³J_{H5,H4} = 2.1 Hz, H5-Gal), 3.82-3.72 (m, 3H, CH_{2b}-exo, H6ab-Gal), 3.67 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 9.7 Hz, ³J_{H2,H3} = 6.9 Hz, H2-Gal), 3.38 (m_c, 1H, H1-Gal), 2.11 (s_b, 1H, OH).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 138.69, 137.84, 137.70 (C_{ipso}-Ph), 129.22, 128.44, 128.38, 128.34, 128.25, 128.21, 127.91, 127.71, 126.23 (C_{o,m,p}-Ph), 103.34 (CH-Bzn), 80.65 (C3-Gal), 77.62 (C1-Gal), 75.52 (C5-Gal), 74.18 (C4-Gal), 73.52 (CH₂-Bn), 73.18 (C2-Gal), 72.78 (CH₂-Bn), 69.78 (C6-Gal), 62.69 (CH₂-exo).

***endo,exo*- α,β -C-(Iodomethyl)-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-D-galactopyranose (86)**

(*endo,exo*- α,β -3,4-Bzn-Bn₂Gal-CH₂I)



Hydroborierung und oxidative Aufarbeitung

240 mg (0.54 mmol) *endo,exo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**74+76**) werden in 5 mL absol. THF gelöst und auf -78 °C gekühlt. Langsam werden 0.54 mL Boran-Tetrahydrofuran-Komplex (1.0M in THF) zugetropft. Man lässt innerhalb einer Stunde unter Rühren auf Raumtemp. erwärmen, wobei sich die Farbe der Reaktionsmischung von leicht gelb nach leicht grün ändert. Nach erneuter Kühlung auf 0 °C versetzt man langsam mit 1.75 mL 5%-iger Kalilauge und 3.5 mL Wasserstoffperoxidlösung (30% in Wasser). Nach 30 Minuten gibt man Wasser und Dichlormethan hinzu, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten Extrakte über MgSO₄ getrocknet. Da per Dünnschichtchromatographie keine Trennung der Isomere erreicht werden kann, im NMR-Spektrum aber ein Gemisch zu erkennen ist, wird das Rohprodukt direkt weiter umgesetzt.

Überführung in die Iodide

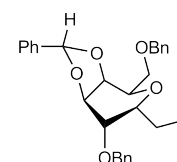
Das vorstehend beschriebene Rohprodukt wird in 10 mL absol. Dichlormethan gelöst und mit 294 mg (1.12 mmol, 2.1 Äquiv.) Triphenylphosphin, 168 mg (2.48 mmol, 4.6 Äquiv.) Imidazol und 290 mg (1.14 mmol, 2.1 Äquiv.) Iod versetzt. Man erwärmt 4 Stunden auf 40 °C, versetzt die Lösung mit Kieselgel und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 5 : 1 → 2 : 1). Man erhält saubere Fraktionen aller 4 möglichen Isomere, wobei nicht auf eine hohe Ausbeute, sondern auf Reinheit geachtet wurde.

C₂₈H₂₉IO₅ (572.43)

Analytische Daten der Isomere:

***exo*- α -C-(Iodomethyl)-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-D-galactopyranose (86a)**

(*exo*- α -3,4-Bzn-Bn₂Gal-CH₂I)



Farbloser amorpher Feststoff

Ausbeute: 12 mg (0.0209 mmol, 4% d. Th.)

R_f = 0.55 (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

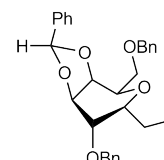
ESI-MS (m/z): 595.10 ([M+Na]⁺, ber.: 595.42)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.45-7.28 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 6.21 (s, 1H,

CH-Bzn), 4.74 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH₂-Bn), 4.67 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH₂-Bn), 4.63 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn), 4.60 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 3.8$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 7.4$ Hz, H3-Gal), 4.54 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.35 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 7.4$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 1.7$ Hz, H4-Gal), 4.30 (ddd, 1H, $^3J_{H1,H2} = 3.8$ Hz, $^3J_{H1,H_{exo,a}} = 9.2$ Hz, $^3J_{H1,H_{exo,b}} = 6.2$ Hz, H1-Gal), 4.21-4.14 (m, 2H, H5-Gal, H2-Gal), 3.76-3.67 (m, 2H, H6ab-Gal), 3.47 (t*, 1H, $^2J = ^3J = 9.4$ Hz, CH_{2a}-exo), 3.27 (dd, 1H, $^2J = 9.5$ Hz, $^3J = 6.1$ Hz, CH_{2b}-exo).

***endo*- α -C-(Iodomethyl)-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-D-galactopyranose (86b)**

(*endo*- α -3,4-Bzn-Bn₂Gal-CH₂I)



Farbloser amorpher Feststoff

Ausbeute: 6 mg (0.0105 mmol, 2% d. Th.)

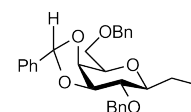
$R_f = 0.51$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

ESI-MS (m/z): 595.10 ([M+Na]⁺, ber.: 595.42)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.53-7.49 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.42-7.30 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.79 (s, 1H, CH-Bzn), 4.75 (d, 1H, $^2J = 11.3$ Hz, CH₂-Bn), 4.67 (d, 1H, $^2J = 11.3$ Hz, CH₂-Bn), 4.60 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.54 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 3.0$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 8.0$ Hz, H3-Gal), 4.53 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.35 (ddd, 1H, $^3J_{H1,H2} = 3.3$ Hz, $^3J_{H1,H_{exo,a}} = 9.6$ Hz, $^3J_{H1,H_{exo,b}} = 5.4$ Hz, H1-Gal), 4.33 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 8.0$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 1.6$ Hz, H4-Gal), 4.24 (dt*, 1H, $^3J_{H5,H6a} = ^3J_{H5,H6b} = 6.3$ Hz, $^3J_{H5,H4} = 1.6$ Hz, H5-Gal), 4.14 (t*, 1H, $^3J_{H2,H1} = ^3J_{H2,H3} = 3.1$ Hz, H2-Gal), 3.73-3.64 (m, 2H, H6ab-Gal), 3.45 (t*, 1H, $^2J = ^3J = 9.6$ Hz, CH_{2a}-exo), 3.25 (dd, 1H, $^2J = 9.3$ Hz, $^3J = 5.4$ Hz, CH_{2b}-exo).

***exo*- β -C-(Iodomethyl)-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-D-galactopyranose (86c)**

(*exo*- β -3,4-Bzn-Bn₂Gal-CH₂I)



Farbloser amorpher Feststoff

Ausbeute: 30 mg (0.0524 mmol, 10% d. Th.)

$R_f = 0.45$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

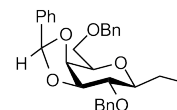
ESI-MS (m/z): 595.10 ([M+Na]⁺, ber.: 595.42)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.47-7.27 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 6.11 (s, 1H, CH-Bzn), 4.97 (d, 1H, $^2J = 11.3$ Hz, CH₂-Bn), 4.74 (d, 1H, $^2J = 11.3$ Hz, CH₂-Bn), 4.68 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn), 4.58 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 6.5$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 5.6$ Hz, H3-Gal), 4.56 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn), 4.26 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 5.5$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 2.0$ Hz, H4-Gal), 3.97 (dt*, 1H,

$^3J_{H5,H6a} = ^3J_{H5,H6b} = 6.0$ Hz, $^3J_{H5,H4} = 1.9$ Hz, H5-Gal), 3.79 (d, 2H, $^3J = 5.9$ Hz, H6ab-Gal), 3.60 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 3.0$ Hz, CH_{2a}-exo), 3.54 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 9.1$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 6.7$ Hz, H2-Gal), 3.35 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 6.4$ Hz, CH_{2b}-exo), 3.16 (ddd, 1H, $^3J_{H1,H2} = 9.3$ Hz, $^3J_{H1,H_{exo,a}} = 3.0$ Hz, $^3J_{H1,H_{exo,b}} = 6.4$ Hz, H1-Gal).

endo-β-C-(Iodomethyl)-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-D-galactopyranose (86d)

(endo-β-3,4-Bzn-Bn₂Gal-CH₂I)



Farbloser amorpher Feststoff

Ausbeute: 8 mg (0.0140 mmol, 3% d. Th.)

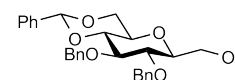
$R_f = 0.40$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

ESI-MS (m/z): 595.10 ([M+Na]⁺, ber.: 595.42)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.56-7.50 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.43-7.19 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.92 (s, 1H, CH-Bzn), 4.79 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, CH₂-Bn), 4.70 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.59 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.52 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, CH₂-Bn), 4.41 (t*, 1H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 6.2$ Hz, H3-Gal), 4.32 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 6.2$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 2.2$ Hz, H4-Gal), 4.07 (ddd, 1H, $^3J_{H5,H6a} = 7.4$ Hz, $^3J_{H5,H6b} = 5.3$ Hz, $^3J_{H5,H4} = 2.2$ Hz, H5-Gal), 3.89-3.80 (m, 2H, H6ab-Gal), 3.52 (dd, 1H, $^2J = 10.5$ Hz, $^3J = 3.2$ Hz, CH_{2a}-exo), 3.48 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 8.8$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 6.2$ Hz, H2-Gal), 3.28 (dd, 1H, $^2J = 10.5$ Hz, $^3J = 6.3$ Hz, CH_{2b}-exo), 3.19 (ddd, 1H, $^3J_{H1,H2} = 8.8$ Hz, $^3J_{H1,H_{exo,a}} = 3.2$ Hz, $^3J_{H1,H_{exo,b}} = 6.3$ Hz, H1-Gal).

β-C-(Hydroxymethyl)-2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden-D-glucopyranosid (87)

(β-4,6-Bzn-Bn₂Glc-CH₂OH)



370 mg (0.832 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Glc=CH₂ (**75**) werden i. Hochvak. getrocknet und mehrfach mit Argon belüftet. Anschließend wird auf 0 °C gekühlt und 2.0 mL (1.00 mmol, 1.2 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF zugetropft. Man rührt eine Stunde bei 0 °C, entfernt dann das Kühlbad und rührt über Nacht bei Raumtemp. weiter. Dann versetzt man bei 0 °C mit 3 mL 5%-iger Kalilauge und 1.5 mL Wasserstoffperoxidlösung (30% in Wasser). Nach 30 Minuten gibt man Wasser und Dichlormethan hinzu, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die Extrakte nach Trocknung über MgSO₄ mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1 → 1 : 1) Man erhält das Produkt in Form eines farblosen amorphen Feststoffes.

Ausbeute: 109 mg (0.236 mmol, 28% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.35$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +0.8$ (c = 0.2, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 485.21 ([M+Na]⁺, ber.: 485.52)

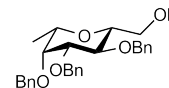
C₂₈H₃₀O₆ (462.53)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.60-7.53 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.48-7.31 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.63 (s, 1H, CH-Bzn), 5.07 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂-Bn), 5.00 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.88 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂-Bn), 4.73 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.39 (dd, 1H, ²J = 11.0 Hz, ³J = 5.5 Hz, H6a-Glc), 3.96-3.89 (m, 2H, H3-Glc {3.93}, CH_{2a}-exo {3.90}), 3.81-3.66 (m, 4H, H6b-Glc {3.77}, CH_{2b}-exo {3.74}, H4-Glc {3.72}, H2-Glc {3.69}), 3.58-3.50 (m, 2H, H5-Glc {3.54}, H1-Glc {3.53}) 2.05 (s_b, 1H, OH).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 138.40, 137.88, 137.23 (C_{ipso}-Ph), 128.84, 128.38, 128.27, 128.15, 128.00, 127.93, 127.82, 127.58, 125.88 (C_{o,m,p}-Ph), 101.01 (CH-Bzn), 82.93 (C3-Glc), 82.19 (C4-Glc), 79.85 (C1-Glc), 77.12 (C2-Glc), 75.20, 74.87 (CH₂-Bn), 70.20 (C5-Glc), 68.68 (C6-Glc), 61.90 (CH₂-exo).

β-C-(Hydroxymethyl)-2,3,4-tri-O-benzyl-L-fucopyranosid (88)

(β-Bn₃Fuc-CH₂OH)



80 mg (0.186 mmol) Bn₃Fuc=CH₂ (**79**) werden i. Hochvak. getrocknet und mehrfach mit Argon belüftet. Anschließend wird der Kolben in flüssigem Stickstoff gekühlt, bis eine kleine Menge Argon zu kondensieren beginnt. Dann werden 1.11 mL (0.555 mmol, 3.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF zugetropft und man lässt den Ansatz unter sanftem Schütteln auf Raumtemp. erwärmen. Nach 6 Stunden versetzt man bei 0 °C mit 1 mL 1N Natronlauge und 0.6 mL Wasserstoffperoxidlösung (30% in Wasser). Nach 30 Minuten gibt man Wasser und Dichlormethan hinzu, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die Extrakte nach Trocknung über MgSO₄ mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1 → 4 : 1). Man erhält das Produkt in Form eines gelblichen amorphen Feststoffes.

Ausbeute: 34 g (0.0758 mmol, 41% d. Th.)

Gelblicher amorpher Feststoff

$R_f = 0.50$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -12.3$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 471.19 ([M+Na]⁺, ber.: 471.21)

C₂₈H₃₂O₅ (448.55)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.44-7.28 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 5.03 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.96 (d, 1H, ²J = 10.9 Hz, CH₂-Bn), 4.81 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.76 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.72 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.69 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 3.94 (t*, 1H, ³J_{H2,H1} = ³J_{H2,H3} = 9.4 Hz, H2-Fuc), 3.88 (dd, 1H, ²J = 11.7 Hz, ³J = 2.9 Hz, CH_{2a}-exo), 3.72 (dd, 1H, ²J = 11.7 Hz, ³J = 5.6 Hz, CH_{2b}-exo), 3.70-3.64 (m, 2H, H4-Fuc {3.69}, H3-Fuc {3.66}), 3.54 (qd, 1H, ³J_{H5,H6abc} = 6.4 Hz, ³J_{H5,H4} = 0.7 Hz, H5-Fuc), 3.36 (ddd, 1H, ³J_{H1,H2} = 9.5 Hz, ³J_{H1,Hexo,b} = 5.6 Hz, ³J_{H1,Hexo,a} = 2.9 Hz, H1-Fuc), 1.21 (d, 3H, ³J = 6.5 Hz, H6abc-Fuc).

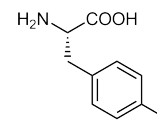
¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 138.49, 138.32, 138.23 (C_{ipso}-Ph), 128.43, 128.38, 128.26, 128.19, 128.12, 127.74, 127.68, 127.65, 127.61, 127.49 (C_{o,m,p}-Ph), 84.97 (C3-Fuc), 79.44 (C1-Fuc), 76.53 (C4-Fuc), 75.22 (C2-Fuc, CH₂-Bn), 74.62 (CH₂-Bn), 74.25 (C5-Fuc), 72.41 (CH₂-Bn), 62.62 (CH₂-exo), 17.18 (C6-Fuc).

5.4 Die Aminosäurebausteine

5.4.1 Die Bausteine für die Tyrosin-Mimetika

p-Iod-L-phenylalanin (**90**)²⁴⁰

(H-*p*-I-Phe-OH)



8.00 g (48.4 mmol) L-Phenylalanin (**89**) und 4.9 g (19.3 g mmol, 0.40 Äquiv.) Iod werden in 50 mL Eisessig suspendiert. Anschließend gibt man 2.3 g (10.7 mmol, 0.22 Äquiv.) Kaliumiodat sowie 6.0 mL konz. Schwefelsäure hinzu und erwärmt die Reaktionsmischung 40 Stunden auf 80 °C. Nach dem Erkalten des Kolbens fügt man 0.5 g NaIO₄ zu und erwärmt wieder auf 80 °C. Dabei ändert sich die Farbe der Lösung von tiefrot nach hellorange. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand mit 100 mL Wasser versetzt. Die wässrige Phase wird einmal mit 100 mL Diethylether und einmal mit 100 mL Dichlormethan gewaschen, anschließend mit 0.25 g Aktivkohle versetzt und nach 3-minütigem Rühren filtriert. Das blassgelbe Filtrat wird langsam unter Rühren mit Kalilauge neutralisiert. Der sich bei pH 7 abscheidende farblose Feststoff wird abfiltriert, zweimal mit je 100 mL Wasser und einmal mit 60 mL Ethanol gewaschen und aus 150 mL Essigsäure umkristallisiert. Der in der Kälte ausfallende farblose Feststoff wird durch Dekantieren von der überstehenden Essigsäure abgetrennt, mit wenig kalter Essigsäure und mit Ethanol im Kolben gewaschen und anschließend i. Vak. getrocknet. Zur Entfernung letzter Essigsäurereste wird zweimal mit Toluol kodestilliert.

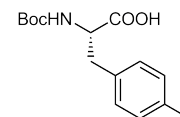
Ausbeute: 6.14 g (21.1 mmol, 44% d. Th.) Lit.:²⁴⁰ 53%

Farbloser Feststoff

C₉H₁₀INO₂ (291.09)

N-*tert*-Butyloxycarbonyl-*p*-iod-L-phenylalanin (**91**)³³⁶

(Boc-*p*-I-Phe-OH)



6.14 g (21.1 mmol) H-*p*-I-Phe-OH (**90**) werden in einer Mischung aus 3.3 g (58.8 mmol, 2.8 Äquiv.) KOH in 60 mL Wasser und 60 mL Dioxan gelöst. Bei Raumtemperatur werden 7.7 g (35.2 mmol, 1.7 Äquiv.) Di-*tert*-butyldicarbonat (Boc₂O) zugegeben. Nach 22 h entfernt man Dioxan i. Vak. und extrahiert die wässrige Phase mit Diethylether. Die wässrige Phase wird unter Rühren mit 2N HCl auf pH 7 eingestellt, Essigsäureethylester zugegeben und durch weitere HCl-Zugabe ein pH von 2-2.5 eingestellt. Man extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Essigsäureethylester und

³³⁶ Augé, J.; Ousmer, M.; Boucard, V. *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 1216.

entfernt nach Trocknung über MgSO_4 das Lösungsmittel im Vakuum. Das schwach verunreinigte Produkt wird direkt in der nächsten Stufe eingesetzt.

Ausbeute: 7.32 g (18.7 mmol, 89% d. Th.); Lit.:³³⁶ 90%

Gelblicher amorpher Feststoff

$[\alpha]_D^{23} = +13.1$ (c = 1.0, MeOH); Lit.:³³⁷ $[\alpha]_D^{20} = +14$ (c = 1.0, MeOH)

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{INO}_4$ (391.20)

Das Produkt liegt als Mischung zweier Rotamere (Verhältnis etwa 55 : 45) vor.

Rotamer 1:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 11.36 (s, 1H, COOH), 7.55 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -AS), 6.88 (d, 2H, $^3J = 8.0$ Hz, H_{Ar} -AS), 5.16 (d, 1H, $^3J_{NH,H^\alpha} = 8.1$ Hz, NH-AS), 4.55 (m_c , 1H, H^α -AS), 3.12-3.06 (m, 1H, H_a^β -AS), 2.95 (dd, 1H, $^2J = 13.9$ Hz, $^3J = 6.4$ Hz, H_b^β -AS), 1.36 (s, 9H, CH_3 -Boc).

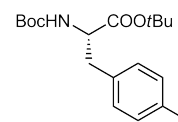
$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 175.50 (COOH), 155.33 (C=O-Boc), 137.52 (C_m -AS), 135.70 (C_{ipso} -AS), 131.47 (C_o -AS), 92.58 (C_p -AS), 80.37 (C_q -Boc), 54.02 (C^α -AS), 37.35 (C^β -AS), 28.28 (CH_3 -Boc).

Rotamer 2:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 11.36 (s, 1H, COOH), 7.55 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -AS), 6.92 (d, 2H, $^3J = 8.0$ Hz, H_{Ar} -AS), 6.69 (d, 1H, $^3J_{NH,H^\alpha} = 7.6$ Hz, NH-AS), 4.29 (m_c , 1H, H^α -AS), 3.12-3.06 (m, 1H, H_a^β -AS), 2.79 (dd, 1H, $^2J = 13.4$ Hz, $^3J = 9.1$ Hz, H_b^β -AS), 1.26 (s, 9H, CH_3 -Boc).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 177.01 (COOH), 156.75 (C=O-Boc), 137.52 (C_m -AS), 136.17 (C_{ipso} -AS), 131.54 (C_o -AS), 92.50 (C_p -AS), 81.96 (C_q -Boc), 55.88 (C^α -AS), 38.44 (C^β -AS), 27.99 (CH_3 -Boc).

N-tert-Butyloxycarbonyl-p-iod-L-phenylalanin-tert-butylester (92)³³⁶
(Boc-*p*-I-Phe-*Ot*Bu)



Unter Lichtausschluss und Argon werden 6.05 g (81.6 mmol) *tert*-Butanol, 16.16 g (78.3 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 135 mg (1.36 mmol) Kupfer(I)-chlorid 3 Tage bei Raumtemp. gerührt. Man verdünnt mit 25 mL absol. Dichlormethan und gibt dann langsam eine Lösung von 7.2 g (18.4 mmol) Boc-*p*-I-Phe-OH (**91**) in 50 mL absol. Dichlormethan bei Raumtemp. zu. Nach drei Tagen filtriert man von ausgefallenem *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff ab, wäscht viermal mit Dichlormethan nach und versetzt mit Kieselgel. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak.

reinigt man mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1).

Ausbeute: 5.28 g (11.8 mmol, 64% d. Th.); Lit.:³³⁶ 93%

Blassgelbes sehr viskoses Öl

$R_f = 0.43$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 9 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +33.4$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:³³⁶ $[\alpha]_D^{25} = +36.5$ (c = 1.0, CHCl₃)

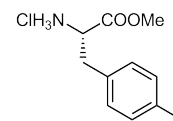
C₁₈H₂₆INO₄ (447.31)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.58 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, H_{Ar}-AS), 6.90 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, H_{Ar}-AS), 5.02 (d, 1H, ³J_{NH,H α} = 7.9 Hz, NH-AS), 4.40 (m_c, 1H, H ^{α} -AS), 3.01 (dd, 1H, ²J = 13.9 Hz, ³J = 6.2 Hz, H ^{β} -AS), 2.94 (dd, 1H, ²J = 13.9 Hz, ³J = 6.0 Hz, H ^{β} -AS), 1.40, 1.39 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 170.54 (COO*t*Bu), 154.90 (C=O-Boc), 137.20 (C_m-AS), 136.04 (C_{ipso}-AS), 131.40 (C_o-AS), 92.14 (C_p-AS), 82.21 (C_q-*t*Bu), 79.66 (C_q-Boc), 54.49 (C ^{α} -AS), 37.91 (C ^{β} -AS), 28.20, 27.85 (CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

***p*-Iod-L-phenylalanin-methylester-hydrochlorid (117)³³⁸**

(H-*p*-I-Phe-OMe·HCl)



16.0 g (96.9 mmol) L-Phenylalanin (**89**) werden, wie zuvor geschrieben, zu H-*p*-I-Phe-OH (**90**) umgesetzt und das erhaltene Rohprodukt in 250 mL Methanol suspendiert. Nach Kühlung auf 0 °C versetzt man langsam mit 6 mL (82.7 mmol) Thionylchlorid und rührt eine Stunde in der Kälte. Nach dieser Zeit erhitzt man die klare gelbliche Lösung 2 Stunden unter Rückfluss und entfernt i. Vak. das Lösungsmittel. Der Rückstand wird einmal mit Methanol kodestilliert und erneut in der Hitze in 50 mL Methanol gelöst. Durch Zugabe von 250 mL Diethylether fällt das Produkt fein verteilt aus und kann nach dem Erkalten der Lösung abfiltriert werden. Zur Trocknung wird einmal mit Toluol kodestilliert.

Ausbeute: 13.8 g (40.4 mmol, 42% d. Th. über 2 Stufen)

Farbloser amorpher Feststoff

$[\alpha]_D^{23} = +12.8$ (c = 1.0, MeOH); Lit.:³³⁸ $[\alpha]_D^{30} = +10$ (c = 2.2, MeOH)

C₁₀H₁₃ClINO₂ (341.57)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.50 (d, 2H, ³J = 8.0 Hz, H_{Ar}-AS), 6.84 (d, 2H, ³J = 8.1

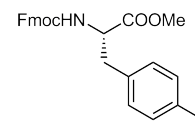
³³⁸ Schwabacher, A. W.; Stefanescu, A. D.; Rehman, A. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 1784.

Hz, H_{Ar} -AS), 4.02 (m_c , 1H, H^α -AS), 3.61 (s, 3H, OCH₃), 3.06-3.00 (m, 2H, 2 x H^β -AS).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 168.47 (COOMe), 137.74 (C_m -AS), 133.02 (C_{ipso} -AS), 130.98 (C_o -AS), 93.03 (C_p -AS), 62.83 (OCH₃), 53.37 (C^α -AS), 35.26 (C^β -AS).

N-Fluorenyl-9-methoxycarbonyl-*p*-iod-L-phenylalanin-methylester (118)^{339,340}

(Fmoc-*p*-I-Phe-OMe)



Zu einer Lösung von 3.00 g (8.78 mmol) H-*p*-I-Phe-OMe·HCl (**117**) in 8 mL Dioxan und 17 mL Wasser gibt man zunächst 1.70 g (16.0 mmol, 1.8 Äquiv.) Na₂CO₃ und kühlt nach Aufklaren der Lösung auf 0 °C ab. In der Folge werden 3.25 g (9.63 mmol, 1.1 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethylsuccinimidyl-carbonat (FmocOSu) in 18 mL Dioxan zugegeben. Man entfernt das Kühlbad und lässt bei Raumtemp. weiterrühren. Nach 2 Stunden setzt man 20 mL Aceton zu und rührt über Nacht. Man versetzt mit Wasser und Dichlormethan, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand kodestilliert man zweimal mit Toluol und löst das Rohprodukt unter Rückfluss in 25 mL Essigsäureethylester. Durch Zugabe von 160 mL Petrolether trübt sich die Lösung ein und beim Abkühlen fällt das Produkt in Form eines farblosen Pulvers aus. Dieses wird abgesaugt und i. Hochvak. getrocknet.

Ausbeute: 3.68 g (6.98 mmol, 79% d. Th.)

Farbloses Pulver

$R_f = 0.54$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +10.1$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:³⁴⁰ $[\alpha]_D^{29} = +10$ (c = 1.3, CHCl₃)

C₂₅H₂₂INO₄ (527.35)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.78 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.63-7.53 (m, 4H, H_{Ar} -Fmoc), 7.42 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.35-7.30 (m, 2H, ³J = 7.4 Hz, H_{Ar} -AS), 6.82 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, H_{Ar} -AS), 5.27 (d, 2H, ³J_{NH, H^α} = 8.1 Hz, NH-AS), 4.65 (m_c , 1H, H^α -AS), 4.48 (dd, 1H, ²J = 10.6 Hz, ³J = 7.1 Hz, CH_{2a}-Fmoc), 4.37 (dd, 1H, ²J = 10.6 Hz, ³J = 6.8 Hz, CH_{2b}-Fmoc), 4.21 (t, 1H, ³J = 6.8 Hz, CH-Fmoc), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.09 (dd, 1H, ²J = 13.9 Hz, ³J = 5.7 Hz, H_a^β -AS), 3.02 (dd, 1H, ²J = 13.9 Hz, ³J = 5.9 Hz, H_b^β -AS).

¹³C-NMR [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 171.58 (COOMe), 155.43 (C=O-Fmoc),

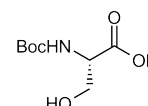
³³⁹ Debaene, F.; Da Silva, J. A.; Pianowski, Z.; Duran, F. J.; Winssinger, N. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 6577.

³⁴⁰ Castilla, A. M.; Ballester, P.; Conn, M. M. *Beilstein J. Org. Chem.*, **2010**, *6*.

143.74, 143.58 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.30 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 137.61 (C_m -AS), 135.33 (C_{ipso} -AS), 131.25 (C_o -AS), 127.72 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.04 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.01, 124.94 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.99, 119.96 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 92.67 (C_p -AS), 66.83 (CH₂-Fmoc), 54.46 (C^α -AS), 52.46 (OCH₃), 47.09 (CH-Fmoc), 37.64 (C^β -AS).

5.4.2 Die Bausteine für die Serin-Mimetika

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-*L*-serin (94)**³⁴¹⁻³⁴³
(Boc-Ser-OH)



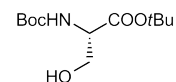
Man löst 7.00 g (66.6 mmol) *L*-Serin (**93**) in 125 mL 1M Natronlauge und 63 mL 1,4-Dioxan und kühlt auf 0 °C. Nun werden 16.3 g (74.7 mmol, 1.1 Äquiv.) Di-*tert*-butyldicarbonat (Boc₂O) zugegeben. Das Eisbad wird entfernt und 12 h bei Raumtemp. gerührt. Das Dioxan wird i. Vak. abdestilliert und die wässrige Phase anschließend mit 100 mL Diethylether extrahiert. Nach Zugabe von 125 mL Essigsäureethylester wird der pH-Wert der wässrigen Phase mit 2N HCl auf 2-2.5 eingestellt. Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase erneut mit etwa 100 mL Essigsäureethylester. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man erhält das Produkt als viskoses gelbliches Öl.

Ausbeute: 13.0 g (63.1 mmol, 95% d. Th.); Lit.³⁴³ 95%
Gelbes viskoses Öl

C₈H₁₅NO₅ (205.21)

Die Signale in den NMR-Spektren sind stark verbreitert und daher nicht zur Auswertung geeignet.

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-*L*-serin-*tert*-butylester (95)**^{242,244}
(Boc-Ser-OtBu)



Unter Argonatmosphäre und Lichtausschluss werden 18.8 g (254 mmol, 4.3 Äquiv.) *tert*-Butanol, 40.2 g (195 mmol, 2.2 Äquiv.) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und eine katalytische Menge Kupfer(I)-chlorid (563 mg, 5.7 mmol) 5 Tage bei Raumtemp. gerührt. Man verdünnt das grünschwarze Reaktionsgemisch mit 120 mL absol. Dichlormethan und tropft 12.0 g (58.5 mmol, 1.0

³⁴¹ Muges, G.; Phadnis, P. *Org. Biol. Chem.*, **2005**, *3*, 2476.

³⁴² Sinou, D.; Bayardon, J. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, *16*, 2965.

³⁴³ Kim, Y.; Yoo, D.; Oh, J. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 2979.

Äquiv.) Boc-Ser-OH (**94**) in 80 mL absol. Dichlormethan unter Eiskühlung hinzu. Man lässt die Reaktionslösung innerhalb von 1 h auf Raumtemp. kommen und kühlt danach wieder auf 0 °C ab. Der ausgefallene *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff wird über Celite® abfiltriert und der Filterkuchen fünfmal mit je 80 mL kaltem Dichlormethan gewaschen. Das dunkelgrüne Filtrat wird dreimal mit je 160 mL ges. NaHCO₃-Lsg. und dreimal mit je 80 mL ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Man extrahiert die wässrigen Phasen einmal mit 120 mL Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Extrakte über MgSO₄. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1 → 2 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 10.8 g (41.4 mmol, 71% d. Th.); Lit.:²⁴⁴ 79%

Klares gelbes Öl

$[\alpha]_D^{23} = +60.0$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:¹⁴⁴ $[\alpha]_D^{20} = -20$ (c = 2.0, EtOH)

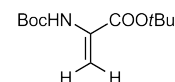
C₁₂H₂₃NO₅ (261.31)

Die Signale im ¹H-NMR-Spektrum sind sehr stark verbreitert und daher wenig aussagekräftig.

¹³C-NMR [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 169.52 (COO*t*Bu), 155.40 (C=O-Boc), 81.22 (C_q-*t*Bu), 79.00 (C_q-Boc), 62.35 (C^β-Ser), 55.77 (C^α-Ser), 27.69, 27.31 (CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)- α,β -dehydroalanin-*tert*-butylester (**97**)**²⁴⁴

(Boc- Δ Ala-*Ot*Bu)



In 220 mL absol. Dichlormethan werden 10.8 g (41.4 mmol) Boc-Ser-*Ot*Bu (**95**) gelöst und mit 7.83 mL (55.8 mmol, 1.3 Äquiv.) Triethylamin versetzt. Man tropft 4.3 mL (55.7 mmol, 1.3 Äquiv.) Methansulfonsäurechlorid bei Raumtemp. zu und rührt über Nacht unter Argon-Atmosphäre. Man verdünnt mit 220 mL Essigsäureethylester und wäscht die organische Phase zweimal mit je 220 mL Wasser und einmal mit ges. NaHCO₃-Lösung. Die wässrigen Phasen extrahiert man einmal mit Essigsäureethylester und trocknet die vereinigten organischen Extrakte über MgSO₄. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel im Vakuum, löst den Rückstand in 150 mL absol. Dichlormethan und gibt 7.6 mL (50.8 mmol, 1.2 Äquiv.) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) zu. Man rührt 2 h bei Raumtemperatur. Die Reaktionsmischung wird mit 200 mL Dichlormethan verdünnt, zweimal mit 200 mL 1M KHSO₄-Lsg. und dann einmal mit 200 mL ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Die wässrigen Phasen werden mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 8.72 g (35.8 mmol, 87% d. Th.); Lit.:²⁴⁴ 92%

Gelbes leichtviskoses Öl

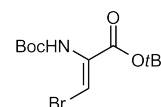
$R_f = 0.57$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$C_{12}H_{21}NO_4$ (243.30)

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.04 (s_b , 1H, NH-AS), 6.06 (s_b , 1H, H_a^β -AS), 5.63 (d, 1H, $^2J = 1.3$ Hz, H_b^β -AS), 1.51, 1.47 (2 x s, 18H, CH_3 -Boc und CH_3 -*t*Bu).

(Z)-N-(tert-Butyloxycarbonyl)- β -brom- α,β -dehydroalanin-tert-butylester (98)^{244,245}

(Boc-Z- Δ Ala- β -Br-*Ot*Bu)



Unter Rühren gibt man 6.79 g (38.3 mmol, 1.1 Äquiv.) *N*-Bromsuccinimid zu einer Lösung von 8.72 g (35.8 mmol) Boc- Δ Ala-*Ot*Bu (**97**) in 130 mL Dichlormethan. Nach 17 Stunden Rühren unter Argonatmosphäre gibt man 10.1 mL (72.0 mmol, 2.0 Äquiv.) Triethylamin zu, rührt weitere 3 Stunden bei Raumtemp. und verdünnt mit 260 mL Dichlormethan. Die organische Phase wird mit 200 mL Wasser und danach mit 250 mL ges. NaCl-Lsg. gewaschen. Die wässrigen Phasen werden mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über $MgSO_4$ getrocknet. Das Lösungsmittel entfernt man i. Vak. und reinigt das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 25 : 1).

Ausbeute: 7.16 g (22.5 mmol, 63% d. Th.); Lit.:²⁴⁴ 78%

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.17$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 25 : 1)

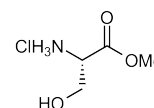
$C_{12}H_{20}BrNO_4$ (322.20)

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 6.79 (s_b , 1H, H^β -AS), 6.13 (s_b , 1H, NH-AS), 1.49, 1.47 (2 x s, 18H, CH_3 -Boc und CH_3 -*t*Bu).

^{13}C -NMR [BB, DEPT] (100.6 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 161.15 (COO*t*Bu), 151.78 (C=O-Boc), 133.74 (C^α -AS) 108.41 (C^β -AS) 82.77 (C_q -*t*Bu), 81.30 (C_q -Boc), 28.06, 27.86 (CH_3 -Boc und CH_3 -*t*Bu).

L-Serin-methylester-hydrochlorid (119)³⁴⁴

(H-Ser-OMe·HCl)



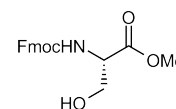
8.00 g (76.1 mmol) L-Serin (**93**) werden in 75 mL Methanol gelöst. Anschließend gibt man langsam 5.5 mL (75.8 mmol, 1.0 Äquiv.) Thionylchlorid hinzu und erhitzt etwa vier Stunden unter leichtem Rückfluss. Daraufhin wird die Reaktionsmischung i. Vak. auf etwa 1/5 eingengt, wobei im Vorlagekolben des Rotationsverdampfers eine wässrige KOH-Lsg. vorgelegt wird, um überschüssiges Thionylchlorid zu vernichten. Anschließend wird mit 20 mL Toluol kdestilliert. Man erhält das Produkt in Form eines farblosen pulvrigen Feststoffes.

Rohausbeute: 12.3 g (max. 76.1 mmol)

Farbloser pulvriger Feststoff

C₄H₁₀ClNO₃ (155.58)**N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-serin-methylester (120)**^{141,345}

(Fmoc-Ser-OMe)



12.3 g (max. 76.1 mmol) H-Ser-OMe·HCl (**119**) werden in einer NaHCO₃-Lösung (14.8 g in 160 mL H₂O) gelöst und im Eisbad gekühlt. Daraufhin wird eine Lösung von 24.0 g (71.2 mmol, 1.0 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (FmocOSu) in Dioxan (166.11 mL) innerhalb von 30 Minuten zugetropft und über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Man extrahiert viermal mit je 100 mL Essigsäureethylester, wäscht die vereinigten Extrakte mit 80 mL 0.2N Salzsäure und mit ges. NaCl-Lösung. Nach dem Trocknen über MgSO₄ und dem Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. erhält man das Produkt in Form eines farblosen Feststoffes.

Rohausbeute: 27.8 g (max. 76.13 mmol)

Farbloser Feststoff

 $R_f = 0.21$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1) $[\alpha]_D^{23} = +7.1$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:³⁴⁵ $[\alpha]_D^{20} = +7.6$ (c = 1.1, CHCl₃)ESI-MS (m/z): 364.15 ([M+Na]⁺, ber.: 364.12)C₁₉H₁₉NO₅ (341.36)

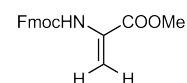
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.75 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.63-7.56 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.39 (t, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.30 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 5.98 (d,

³⁴⁴ Guttman, S.; Boissonnas, R. A. *Helv. Chim. Acta*, **1958**, *41*, 1852.³⁴⁵ Zhang, F.; Zhang, Y.; Liu, G.; Zhang, W.; Curran, D. P. *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 2594.

^1H , $^3J_{\text{NH},\text{H}^\alpha} = 8.0$ Hz, NH-Ser), 4.49-4.34 (m, 3H, CH_2 -Fmoc, H^α -Ser), 4.21 (t_b , 1H, $^3J = 6.9$ Hz, CH-Fmoc), 3.98 (d_b , 1H, $^2J = 10.4$ Hz, H_a^β -Ser), 3.88 (d_b , 1H, $^2J = 10.5$ Hz, H_b^β -Ser), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.00 (s_b , 1H, OH).

^{13}C -NMR [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 171.07 (COOMe), 156.25 (C=O-Fmoc), 143.53 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.17 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.62 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 126.97 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 124.96 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.88 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 66.91 (CH_2 -Fmoc), 62.92 (C^β -Ser), 55.93 (C^α -Ser), 52.60 (OCH_3), 46.94 (CH-Fmoc).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)- α,β -dehydroalanin-methylester (121)**³⁴⁶
(Fmoc- Δ Ala-OMe)



6.00 g (17.6 mmol) Fmoc-Ser-OMe (**120**) werden in 200 mL absol. Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. 1.56 mL (20.2 mmol, 1.2 Äquiv.) Methansulfonsäurechlorid werden langsam zutropft und 10 Minuten gerührt, bevor 5.28 mL (38.0 mmol, 2.2 Äquiv.) Triethylamin zutropft werden. Man lässt die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemp. erwärmen und rührt über Nacht weiter. Man versetzt mit dem gleichen Volumen an Wasser, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird zweimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über MgSO_4 getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1). Man erhält das Produkt in Form eines farblosen nadelförmigen Feststoffes.

Ausbeute: 5.26 g (16.3 mmol, 93% d. Th.)

Farbloser nadelförmiger Feststoff

$R_f = 0.39$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1)

ESI-MS (m/z): 346.12 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 346.11)

$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ (323.34)

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.79 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.61 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.42 (t, 2H, $^3J = 7.3$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.37-7.31 (m, 2H, H_{Ar} -Fmoc), 7.28 (s_b , 1H, NH-AS), 6.26 (s_b , 1H, H_a^β -AS), 5.81 (s, 1H, H_b^β -AS), 4.47 (d, 2H, $^3J = 7.0$ Hz, CH_2 -Fmoc), 4.27 (t_b , 1H, $^3J = 6.9$ Hz, CH-Fmoc), 3.86 (s, 3H, OCH_3).

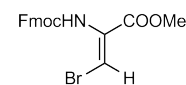
^{13}C -NMR [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 164.23 (COOMe), 153.13 (C=O-Fmoc), 143.57 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.27 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 130.88 (C^α -AS), 127.77 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.09 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 124.95 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.02 (C4-Fmoc,

³⁴⁶ Panda, G.; Rao, N. V. *Synlett*, **2004**, 4, 714.

C5-Fmoc), 106.18 (C^β-AS), 67.12 (CH₂-Fmoc), 52.96 (OCH₃), 46.91 (CH-Fmoc).

(Z)-N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-β-brom-α,β-dehydroalanin-methylester (122)

(Fmoc-Z-ΔAla-β-Br-OMe)



2.04 g (6.31 mmol) Fmoc-ΔAla-OMe (**121**) werden in 26 mL absol. Dichlormethan auf -78 °C gekühlt. Langsam tropft man eine Lösung von 4.5 g Brom in 8.8 mL absol. Dichlormethan zu, bis keine Entfärbung der Lösung mehr zu beobachten ist, und rührt ab dann 15 Minuten weiter in der Kälte. Anschließend tropft man eine Lösung von 0.9 mL (6.49 mmol, 1.0 Äquiv.) Triethylamin in 2.1 mL absol. Dichlormethan zu und rührt eine weitere Stunde bei -78 °C. Nach Erwärmung der Reaktionsmischung auf Raumtemp. versetzt man mit ges. NaCl-Lösung und stellt mit 2N Salzsäure einen pH-Wert von 1 ein. Schnell werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase vier weitere Male mit Dichlormethan extrahiert. Nach Aufziehen auf Kieselgel in Dichlormethan reinigt man mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1 → 5 : 1 → 2 : 1). Man erhält das Produkt in Form eines farblosen amorphen Feststoffes, der sich beim Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. bereits abscheidet.

Ausbeute: 2.22 g (5.52 mmol, 88% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.36$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

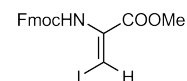
ESI-MS (m/z): 424.02 ([M+Na]⁺, ber.: 424.02)

C₁₉H₁₆BrNO₄ (402.24)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.78 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.62 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.42 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.36-7.30 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.15 (s_b, 1H, NH-AS), 6.54 (s_b, 1H, H^β-AS), 4.48 (d, 2H, ³J = 7.2 Hz, CH₂-Fmoc), 4.27 (t_b, 1H, ³J = 7.1 Hz, CH-Fmoc), 3.81 (s, 3H, OCH₃).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 162.32 (COOMe), 152.85 (C=O-Fmoc), 143.39 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.18 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 131.82 (C^α-AS), 127.69 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.01 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 124.95 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.91 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 112.84 (C^β-AS), 67.76 (CH₂-Fmoc), 52.81 (OCH₃), 46.81 (CH-Fmoc).

(Z)-N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)- β -iod- α,β -dehydroalanin-methylester (132)



(Fmoc-Z- Δ Ala- β -I-OMe)

In einem Mikrowellenröhrchen werden 400 mg (1.20 mmol) Fmoc- Δ Ala-OMe (**121**) in 4.7 mL Tetrahydrofuran gelöst. Man gibt 264 mg (1.44 mmol, 1.2 Äquiv.) K_2CO_3 und 360 mg (1.42 mmol, 1.2 Äquiv.) Iod hinzu und erwärmt diese Mischung in der Mikrowelle 160 Minuten auf 80 °C. Man versetzt die Reaktionsmischung mit Wasser, sättigt mit NaCl und extrahiert dreimal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Extrakte werden über $MgSO_4$ getrocknet, das Rohprodukt auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1 \rightarrow 2 : 1) gereinigt. Man erhält neben dem gewünschten Produkt eine große Menge an diiodierter Verbindung als Säure (**133**).

Ausbeute: 90 mg (0.200 mmol, 17% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.35 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 12 : 5)

ESI-MS (m/z): 471.99 ($[M+Na]^+$, ber.: 472.00)

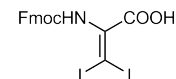
$C_{19}H_{16}INO_4$ (449.24)

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.77 (d, 2H, 3J = 7.5 Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.61 (d, 2H, 3J = 7.5 Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.44-7.39 (m, 3H, H_{Ar} -Fmoc, H^β -AS), 7.36-7.30 (m, 2H, H_{Ar} -Fmoc), 6.42 (s_b , 1H, NH-AS), 4.47 (d, 2H, 3J = 7.2 Hz, CH_2 -Fmoc), 4.28 (t_b , 1H, 3J = 7.2 Hz, CH-Fmoc), 3.80 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C -NMR [BB, HSQC, HMBC] (100.6 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 161.55 (COOMe), 152.87 (C=O-Fmoc), 143.42 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.23 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 136.69 (C^α -AS), 127.75 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.08 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.03 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.98 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 87.79 (C^β -AS), 67.83 (CH_2 -Fmoc), 52.98 (OCH_3), 46.86 (CH-Fmoc).

Nebenprodukt:

N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)- β,β -di-iod- α,β -dehydroalanin (133)



(Fmoc- Δ Ala- β -I₂-OH)

Ausbeute: 178 mg (0.317 mmol, 26% d. Th.)

Gelblicher amorpher Feststoff

R_f = 0.12 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 12 : 5)

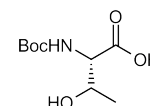
$C_{18}H_{13}I_2NO_4$ (561.11)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{MeOD}$): δ (ppm) = 7.72 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.56 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.36 (t, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.30-7.24 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 4.35 (d, 2H, $^3J = 6.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 4.18 (t_b , 1H, $^3J = 6.9$ Hz, CH-Fmoc).

5.4.3 Die Bausteine für die Threonin-Mimetika

N-tert-Butyloxycarbonyl-L-threonin (**100**)³⁴⁷

(Boc-Thr-OH)



6.20 g (52.0 mmol) L-Threonin (**99**) werden in 150 mL 1N Natronlauge und 75 mL 1,4-Dioxan gelöst. Nach Zugabe von 16.8 g (76.7 mmol, 1.5 Äquiv.) Di-*tert*-butyldicarbonat (Boc_2O) wird 3 Tage bei Raumtemp. gerührt. Anschließend entfernt man den Ether i. Vak. und versetzt mit Wasser. Die wässrige, alkalische Phase wird mit Diethylether extrahiert und durch langsame Zugabe von 2N Salzsäure auf einen pH-Wert von 2.5 gebracht. Die nun saure wässrige Phase wird dreimal mit insgesamt 500 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das zurückbleibende farblose Öl direkt in der nächsten Stufe weiter umgesetzt.

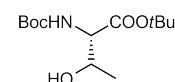
Rohausbeute: 11.6 g (max. 52.0 mmol)

Farbloses, viskoses Öl

$\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_5$ (219.24)

N-tert-Butyloxycarbonyl-L-threonin-tert-butylester (**101**)³⁴⁸

(Boc-Thr-*Ot*Bu)



Unter Lichtausschluss werden unter Argon 16.0 g (216 mmol) *tert*-Butanol, 35.0 g (105 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und 380 mg (3.84 mmol) Kupfer(I)-chlorid 3 Tage bei Raumtemp. gerührt. Man verdünnt mit 100 mL absol. Dichlormethan und gibt dann langsam eine Lösung von 11.6 g (max. 52.0 mmol) Boc-Thr-OH (**100**) in 150 mL absol. Dichlormethan bei Raumtemp. zu. Nach 2.5 Stunden filtriert man von ausgefallenem *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff ab, wäscht fünfmal mit Dichlormethan und versetzt mit Kieselgel. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. reinigt man mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 7 : 1).

³⁴⁷ Wuensch, E.; Wendlberger, G. *Chem Ber.*, **1964**, *97*, 2504.

³⁴⁸ Moore, J. W.; Szelke, M. *Tetrahedron Lett.*, **1970**, *11*, 4423.

Rohausbeute: 11.6 g (42.1 mmol, 81% d. Th. über 2 Stufen)

Farbloses viskoses Öl

$R_f = 0.29$ (Toluol/Essigsäureethylester = 4 : 1)

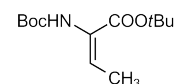
$R_f = 0.32$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -27.8$ (c = 2.0, MeOH); Lit.:³⁴⁸ $[\alpha]_D^{27} = -28$ (c = 2.0, MeOH)

$C_{13}H_{25}NO_5$ (275.34)

***N*-tert-Butyloxycarbonyl- α,β -dehydro-2-aminobuttersäure-*tert*-butylester (103)**

(Boc- Δ Abu-*O*tBu)



11.2 g (40.7 mmol) Boc-Thr-*O*tBu (**101**) werden unter einer Argonatmosphäre in absol. Dichlormethan auf -78 °C gekühlt. In der Kälte versetzt man mit 113 mL (82.4 g, 20 Äquiv.) Triethylamin, bevor vorsichtig 4.43 mL (7.26 g, 61.1 mmol, 1.5 Äquiv.) Thionylchlorid zugetropft werden. Die Lösung verfärbt sich dabei gelblich. Man rührt weitere 2 Stunden bei -78 °C und entfernt anschließend das Kühlbad. Das Lösungsmittel und überschüssige Reagenzien werden i. Vak. entfernt und das Rohprodukt einmal mit Toluol kodestilliert. Man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1).

Die so erhaltenen 10.2 g eines gelben Öls werden erneut in 200 mL Dichlormethan gelöst und nach Zusatz von 3 mL (20.1 mmol, 0.5 Äquiv.) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) 20 Minuten bei Raumtemp. gerührt. Man versetzt das Produkt mit dem gleichen Volumen Wasser und stellt mit Zitronensäure einen pH-Wert von 4 ein. In einem Scheidetrichter trennt man die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase zweimal mit je 100 mL Dichlormethan. Die vereinigten organischen Extrakte werden über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das erhaltene gelbe Öl ist nach NMR-Analyse bereits rein, so dass auf eine weitere Reinigung verzichtet wird.

Ausbeute: 8.40 g (32.6 mmol, 80% d. Th.)

Gelbes viskoses Öl

$R_f = 0.50$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

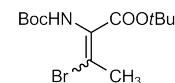
$R_f = 0.32$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1)

$C_{13}H_{23}NO_4$ (257.33)

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 6.53 (q, 1H, $^3J = 7.2$ Hz, H^β -AS), 6.03 (s_b , 1H, NH-AS), 1.75 (d, 3H, $^3J = 7.2$ Hz, CH_3 -AS), 1.46, 1.44 (2 x s, 18H, CH_3 -Boc und CH_3 -*t*Bu).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 163.95 ($\text{COO}t\text{Bu}$), 153.02 ($\text{C}=\text{O-Boc}$), 130.07 ($\text{C}^\beta\text{-AS}$), 127.69 ($\text{C}^\alpha\text{-AS}$), 81.35 ($\text{C}_q\text{-}t\text{Bu}$), 80.06 ($\text{C}_q\text{-Boc}$), 28.14, 27.97 ($\text{CH}_3\text{-Boc}$ und $\text{CH}_3\text{-}t\text{Bu}$), 14.25 ($\text{CH}_3\text{-AS}$).

***N-tert-Butyloxycarbonyl- β -brom- α,β -dehydro-2-aminobuttersäure-
tert-butylester (104,105)***
(Boc- Δ Abu- β -Br- O tBu)



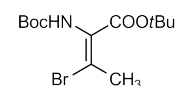
8.30 g (32.3 mmol) Boc- Δ Abu- O tBu (**103**) werden in 150 mL absol. Dichlormethan gelöst. Man versetzt mit 6.32 g (35.5 mmol, 1.1 Äquiv.) *N*-Bromsuccinimid und rührt 16 Stunden bei Raumtemperatur. Anschließend werden 8.96 mL (64.5 mmol, 2.0 Äquiv.) Triethylamin zugetropft, wobei sich die Reaktionsmischung aufhellt. Man versetzt den Ansatz mit Kieselgel, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 1). Dabei kann man die beiden Isomere trennen und charakterisieren.

$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{BrNO}_4$ (336.22)

(Z)-Isomer (105)

Ausbeute: 5.49 g (16.3 mmol, 51% d. Th.)

Farbloser, amorpher Feststoff



R_f = 0.59 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

R_f = 0.52 (Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 6.21 (s_b , 1H, NH-AS), 2.50 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-AS}$), 1.51, 1.46 (2 x s, 18H, $\text{CH}_3\text{-Boc}$ und $\text{CH}_3\text{-}t\text{Bu}$).

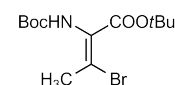
$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 161.44 ($\text{COO}t\text{Bu}$), 152.29 ($\text{C}=\text{O-Boc}$), 128.72 ($\text{C}^\beta\text{-AS}$), 82.58 ($\text{C}_q\text{-}t\text{Bu}$), 81.01 ($\text{C}_q\text{-Boc}$), 28.11, 27.88 ($\text{CH}_3\text{-Boc}$ und $\text{CH}_3\text{-}t\text{Bu}$), 24.30 ($\text{CH}_3\text{-AS}$).

Das Signal von $\text{C}^\alpha\text{-AS}$ ist aufgrund schwacher Intensität des Signals und zu kurzer Messzeit nicht zu erkennen. Es müsste bei etwa δ = 120 ppm liegen.

(E)-Isomer (104)

Ausbeute: 4.10 g (12.2 mmol, 38% d. Th.)

Farbloser, amorpher Feststoff



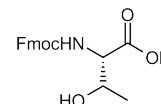
R_f = 0.51 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

R_f = 0.34 (Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 5.95 (*s_b*, 1H, NH-AS), 2.36 (*s*, 3H, CH_3 -AS), 1.52, 1.45 (2 *x s*, 18H, CH_3 -Boc und CH_3 -*t*Bu).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 162.82 ($\text{COO}t\text{Bu}$), 152.66 ($\text{C}=\text{O}$ -Boc), 127.39 (C^β -AS), 120.46 (C^α -AS), 82.62 (C_q -*t*Bu), 81.07 (C_q -Boc), 28.12, 27.92 (CH_3 -Boc und CH_3 -*t*Bu), 25.67 (CH_3 -AS).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-threonin (123)**³⁴⁹
(Fmoc-Thr-OH)



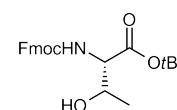
12.0 g (101 mmol) L-Threonin (**99**) und 8.40 g (100 mmol, 1.0 Äquiv) NaHCO_3 werden in einer Mischung aus 250 mL Aceton und 250 mL Wasser suspendiert. Dazu gibt man portionsweise 33.7 g (100 mmol, 1.0 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (Fmoc-OSu) und rührt 24 Stunden bei Raumtemperatur. Mit konz. Salzsäure bringt man den pH-Wert auf 2. Im Vakuum entfernt man das Aceton, wobei sich zwei Phasen bilden. Man extrahiert das Produkt mit 400 mL Dichlormethan, wäscht die organische Phase nacheinander mit je 200 mL 1N Salzsäure und Wasser. Man extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen zweimal mit je 50 mL Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 . Entfernt man das Lösungsmittel im Vakuum, bleibt ein gelb-grüner amorpher Feststoff zurück, welcher direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt wird.

Rohausbeute: 37.9 g (max. 101 mmol)

Gelb-grüner, amorpher Feststoff

$\text{C}_{19}\text{H}_{198}\text{NO}_5$ (341.36)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-threonin-*tert*-butylester (124)**²⁴²
(Fmoc-Thr-*Ot*Bu)



Unter Lichtausschluss rührt man eine Mischung von 67.8 g (329 mmol, 3.3 Äquiv.) Dicyclohexylcarbodiimid, 41 mL (31.3 g, 422 mmol, 4.2 Äquiv.) *tert*-Butanol und 0.74 g (7.5 mmol, 0.07 Äquiv.) wasserfreiem Kupfer(I)-chlorid 5 Tage unter Argonatmosphäre. Danach verdünnt man die Reaktionsmischung mit 120 mL absol. Dichlormethan und tropft unter Wasserkühlung langsam eine Lösung von 37.9 g (max. 101 mmol) Fmoc-Thr-OH (**123**) in 100 mL absol. Dichlormethan zu. In der Folge rührt man 22 Stunden unter Argon. Nach dem Abfiltrieren von ausgefallenem *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff wäscht man mit eiskaltem Dichlormethan nach und engt das grünblaue Filtrat i. Vak. auf das halbe Volumen ein. Man wäscht dreimal mit je 100 mL

³⁴⁹ Paquet, A. *Can. J. Chem.*, **1982**, 60, 976.

ges. NaHCO₃-Lösung, trocknet über MgSO₄ und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Den Rückstand nimmt man erneut in Essigsäureethylester auf, lagert die Lösung mehrere Stunden bei -25 °C und filtriert dann weiteren ausfallenden Dicyclohexylharnstoff ab. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1) gereinigt. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. erhält man einen gelblichen, amorphen Feststoff. Dieser wird aus Petrolether/Diethylether umkristallisiert, wobei man das Produkt als Feststoff mit einem leicht gelblichen Farbstich erhält.

Ausbeute: 25.5 g (64.0 mmol, 64% d. Th. bezogen auf L-Threonin); Lit.:¹⁴⁴ 68%

Blassgelber pulveriger Feststoff

$R_f = 0.24$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -10.0$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:²⁴² $[\alpha]_D^{22} = -10$ (c = 1.05, CHCl₃)

FD-MS (m/z): 397.3 ([M]⁺, ber.: 397.19); 794.5 ([2M]⁺, ber.: 794.6)

C₂₃H₂₇NO₅ (397.46)

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.74 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.59 (d, 2H, ³J = 7.2 Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.41-7.27 (m, 4H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc), 5.59 (d, 1H, ³J_{NH,H α = 9.0 Hz, NH-Thr), 4.39 (d, 2H, ³J = 7.2 Hz, CH₂-Fmoc), 4.29-4.19 (m, 3H, CH-Fmoc, Thr ^{α} , Thr ^{β}), 2.12 (d, 1H, ³J = 5.4 Hz, OH-Thr), 1.47 (s, 9H, CH₃-*t*Bu), 1.22 (d, 3H, ³J = 6.0 Hz, Thr ^{γ}).}

5.5 Die Suzuki-Miyaura-Kupplungen

Allgemeine Vorschrift der Hydroborierung-Kreuzkupplungs-Sequenz

Hydroborierung

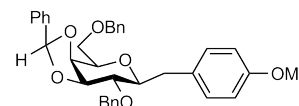
In einen Schlenkkolben wird die benötigte Menge des jeweiligen *exo*-Glycals als Lösung in absol. Dichlormethan vorgelegt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Anschließend wird 30 Minuten i. Hochvak. getrocknet, wobei immer wieder mit Argon belüftet wird. Danach wird der Kolben in flüssigem Stickstoff gekühlt, bis eine kleine Menge Argon zu kondensieren beginnt. Man entfernt den Kolben aus dem Stickstoffbad und tropft die jeweilige Menge an 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF zu. Es bildet sich eine farblose Suspension, da bei niedriger Temperatur 9-BBN nur wenig in THF löslich ist. Man stellt den Kolben auf eine Schüttelplatte und lässt den Ansatz sich unter sanftem Schwenken auf Raumtemp. erwärmen. Dabei geht zunächst das *exo*-Glycal in Lösung während das ausgefallene 9-BBN sich erst bei Annäherung an Raumtemp. wieder löst und langsam mit dem *exo*-Glycal reagiert. Die Reaktionszeit ab der Zugabe der 9-BBN-Lösung ist jeweils angegeben.

Kreuzkupplung

Nach vollständigem Umsatz der Hydroborierung (DC-Kontrolle) werden in einem weiteren Schlenkkolben die gewünschte Aminosäure, die Base (3M wässrige K_3PO_3 -Lösung oder festes K_2CO_3) und der Katalysator $[PdCl_2(dppf)CH_2Cl_2]$ eingewogen. Durch dreimaliges vorsichtiges Evakuieren und Belüften mit Argon wird diese Mischung entgast. Man gibt die jeweilige Menge an entgastem *N,N*-Dimethylformamid zu, überführt sofort danach die Hydroborierungslösung in den Kolben für die Kreuzkupplung und tropft die angegebene Menge entgastem Wasser langsam hinzu (nur bei Verwendung von K_2CO_3). Dabei ist darauf zu achten, dass es insbesondere bei den Fmoc-Aminosäuren beim Rühren in der basischen *N,N*-Dimethylformamid-Lösung zu schnellem Verlust der Aminoschutzgruppe kommt. Auch von der Geschwindigkeit der Wasserzugabe hängt der Erfolg der Reaktion ab. Meist setzt die Reaktion ein, wenn das K_2CO_3 nicht mehr pulvrig erscheint, sondern eine schleimige Konsistenz angenommen hat. Der Verlauf der Reaktion muss sorgfältig per DC überwacht werden. Nach der angegebenen Zeit wird mit der jeweils beschriebenen Aufarbeitungsprozedur begonnen.

Weitere Besonderheiten oder Abweichungen vom Standardprotokoll bei einzelnen Verbindungen sind jeweils angegeben.

1-[endo-2,6-Di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl]-*p*-methoxy-toluol (106)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift der Hydroborierung-Kreuzkupplungs-Sequenz. Die Zugabe von 9-BBN erfolgt jedoch bei 0 °C statt bei -78 °C.

Hydroborierung

70 mg (0.157 mmol) *endo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**74**)

0.75 mL (0.375 mmol, 3.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 2 h

Kreuzkupplung

42 mg (0.179 mmol, 1.14 Äquiv.) *p*-Iodanisol

0.1 mL (0.30 mmol, 1.91 Äquiv.) 3M K₃PO₄-Lösung

15 mg (12 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

0.3 mL *N,N*-Dimethylformamid

Reaktionszeit: 2 Tage

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt und viermal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. und i. Hochvak entfernt. Das Rohprodukt wird mittels präparativer Dünnschichtchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 40 mg (72.4 μmol, 46% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.52$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -35.4$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 575.27 ([M+Na]⁺, ber.: 575.24)

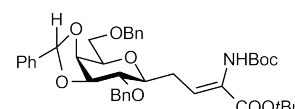
C₃₅H₃₆O₆ (552.66)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.47-7.25 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 7.21-7.16 (m, 2H, H_{Ar}-Anisol), 6.84-6.76 (m, 2H, H_{Ar}-Anisol), 5.92 (s, 1H, CH-Bzn), 4.79 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂-Bn), 4.57 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.53 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.50 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.41 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 6.1 Hz, H3-Gal), 4.30 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 6.3 Hz, ³J_{H4,H5} = 2.2 Hz, H4-Gal), 3.95 (ddd, 1H, ³J_{H5,H6b} = 7.1 Hz, ³J_{H5,H6a} = 4.9 Hz, ³J_{H5,H4} = 2.1 Hz, H5-Gal), 3.86 (dd, 1H, ²J = 10.4 Hz, ³J = 5.0 Hz, H6a-Gal), 3.80 (dd, 1H, ²J = 10.4 Hz, ³J = 7.0 Hz, H6b-Gal), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.54 (m_c, 1H, H1-Gal), 3.42 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 9.0 Hz, ³J_{H2,H3} = 6.0 Hz, H2-Gal), 3.14 (dd, 1H, ²J = 14.4 Hz, ³J = 3.1 Hz, CH_{2a}-exo),

2.73 (dd, 1H, $^2J = 14.4$ Hz, $^3J = 7.9$ Hz, CH_{2b}-exo).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 157.98 (C-OMe), 138.27, 138.00, 137.48 (C_{ipso}-Ph), 130.71 (C_{ipso}-Anisol), 130.40 (C_{ipso}-Ph), 129.31, 128.31, 128.29, 128.07, 127.69, 127.61, 127.52, 126.96 (C_{o,m,p}-Ph), 113.43 (C_{o,m}-Anisol), 104.55 (CH-Bzn), 79.18 (C3-Gal), 78.73, 78.72 (C1-Gal, C2-Gal), 76.53 (C4-Gal), 75.11 (C5-Gal), 73.47, 72.16 (CH₂-Bn), 69.77 (C6-Gal), 55.12 (OCH₃), 37.28 (CH₂-exo).

(Z)-N-(tert-Butyloxycarbonyl)-γ-[exo-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl]-α,β-dehydro-2-amino-buttersäure-tert-butylester (107)



(Boc-Z-ΔAbu-[exo-β-3,4-Bzn-Bn₂Gal]-OtBu)

Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift der Hydroborierung-Kreuzkupplungs-Sequenz. Das *exo*-Glycal wird jedoch zunächst in 2 mL absol. THF gelöst und anschließend bei 0 °C statt bei -78 °C mit der Lösung von 9-BBN in THF versetzt. Zusätzlich wird nach Erwärmung auf Raumtemp. 90 Minuten auf 60 °C erwärmt.

Hydroborierung

68 mg (0.153 mmol) *exo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**76**)

2.0 mL (1.00 mmol, 6.5 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 2 h, davon 1.5 h bei 60 °C

Kreuzkupplung

60 mg (0.186 mmol, 1.22 Äquiv.) Boc-Z-ΔAla-β-Br-OtBu (**98**)

0.1 mL (0.30 mmol, 1.96 Äquiv.) 3M K₃PO₄-Lösung

10 mg (8 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

0.3 mL *N,N*-Dimethylformamid

Reaktionszeit: 20 h

Zur Aufarbeitung wird mit Wasser und Dichlormethan versetzt, ausgeschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 1 → 10 : 1).

Ausbeute: 10 mg (14.5 μmol, 8% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.48 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.12$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -4.2$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

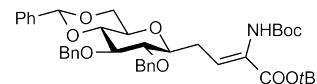
ESI-MS (m/z): 710.31 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 710.81)

$\text{C}_{40}\text{H}_{49}\text{NO}_9$ (687.82)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.48-7.24 (m, 15H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 6.52 (s_b , 1H, NH-AS), 6.45 (t_b , 1H, $^3J = 7.5$ Hz, =CH), 6.07 (s, 1H, CH-Bzn), 4.95 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.72 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.67 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.54 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 6.1$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 5.6$ Hz, H3-Gal), 4.51 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.23 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 5.5$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 1.9$ Hz, H4-Gal), 3.88 (dt*, 1H, $^3J_{H5,H6a} = ^3J_{H5,H6b} = 6.0$ Hz, $^3J_{H5,H4} = 1.8$ Hz, H5-Gal), 3.74 (d, 2H, $^3J = 6.0$ Hz, H6ab-Gal), 3.45 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 9.4$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 6.6$ Hz, H2-Gal), 3.36 (m_c , 1H, H1-Gal), 2.79 (ddd, 1H, $^2J = 15.1$ Hz, $^3J_{H_{exo,a},=CH} = 7.4$ Hz, $^3J_{H_{exo,a},H1} = 2.4$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$), 2.42 (ddd, 1H, $^2J = 15.2$ Hz, $^3J_{H_{exo,b},=CH} = 7.4$ Hz, $^3J_{H_{exo,b},H1} = 8.0$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$), 1.49, 1.47 (2 x s, 18H, $\text{CH}_3\text{-Boc}$ und $\text{CH}_3\text{-}t\text{Bu}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 163.83 ($\text{COO}t\text{Bu}$), 153.28 ($\text{C}=\text{O-Boc}$), 138.71, 137.98, 137.59 ($C_{ipso}\text{-Ph}$), 129.16, 128.40, 128.38, 128.35, 128.32, 128.31, 127.87, 127.66, 127.55, 126.19 ($C_{o,m,p}\text{-Ph}$, $\text{C}^\beta\text{-AS}$, $\text{C}^\alpha\text{-AS}$), 103.31 (CH-Bzn), 81.28 ($\text{C}_q\text{-}t\text{Bu}$), 80.55 (C3-Gal), 80.04 ($\text{C}_q\text{-Boc}$), 77.10 (C1-Gal), 76.16 (C2-Gal), 75.55 (C5-Gal), 74.15 (C4-Gal), 73.52, 72.67 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 69.63 (C6-Gal), 30.82 ($\text{CH}_2\text{-exo}$), 28.19, 27.96 ($\text{CH}_3\text{-Boc}$ und $\text{CH}_3\text{-}t\text{Bu}$).

(Z)-N-(tert-Butyloxycarbonyl)- γ -[2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden- β -D-glucopyranosyl]- α,β -dehydro-2-aminobuttersäure-tert-butylester (108)



(Boc-Z- Δ Abu-[β -4,6-Bzn-Bn $_2$ Glc]-O t Bu)

Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift der Hydroborierung-Kreuzkupplungs-Sequenz. Das *exo*-Glycal wird jedoch zunächst in 2 mL absol. THF gelöst und anschließend bei 0 °C statt bei -78 °C mit der Lösung von 9-BBN in THF versetzt.

Hydroborierung

158 mg (0.355 mmol) 4,6-Bzn-Bn $_2$ Glc=CH $_2$ (**75**)

2.0 mL (1.00 mmol, 2.8 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 20 h

Kreuzkupplung

129 mg (0.400 mmol, 1.13 Äquiv.) Boc-Z- Δ Ala- β -Br-O t Bu (**98**)

0.23 mL (0.69 mmol, 1.95 Äquiv.) 3M K_3PO_4 -Lösung

20 mg (7 mol%) [$\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{CH}_2\text{Cl}_2$]

0.6 mL *N,N*-Dimethylformamid

Reaktionszeit: 2 Tage

Zur Aufarbeitung wird eine Lösung von 250 mg Zitronensäure in 3 mL Wasser zugegeben und nach 5 Minuten Rühren bei Raumtemp. mit 13 mL Wasser und 15 mL Dichlormethan versetzt. Nach weiteren 5 Minuten wird durch Zugabe von 5 mL ges. NaHCO₃-Lösung ein pH-Wert von 7 eingestellt. Nach Zugabe von 0.5 mL Ethanolamin wird die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1 → 2 : 1). Das noch leicht verunreinigte Produkt wird nochmals mittels präparativer Dünnschichtchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 2) gereinigt.

Ausbeute: 14 mg (20.4 μmol, 6% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.48$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

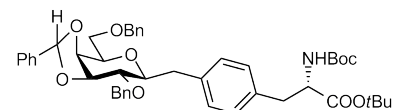
$[\alpha]_D^{23} = -20.0$ ($c = 0.5$, CHCl₃)

C₄₀H₄₉NO₉ (687.82)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.53-7.47 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.42-7.27 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 6.41 (t_b, 1H, ³J = 7.0 Hz, =CH), 6.23 (s_b, 1H, NH-AS), 5.59 (s, 1H, CH-Bzn), 5.00 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂-Bn), 4.92 (d, 1H, ²J = 10.6 Hz, CH₂-Bn), 4.79 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂-Bn), 4.60 (d, 1H, ²J = 10.7 Hz, CH₂-Bn), 4.35 (dd, 1H, ²J = 10.4 Hz, ³J = 5.0 Hz, H_{6a}-Glc), 3.83 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 9.0 Hz, H₃-Glc), 3.75-3.64 (m, 2H, H₄-Glc, H_{6b}-Glc), 3.53 (m_c, 1H, H₁-Glc), 3.44 (dt*, 1H, ³J_{H5,H6a} = 5.0 Hz, ³J_{H5,H6b} = ³J_{H5,H4} = 9.8 Hz, H₅-Glc), 3.35 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 9.4 Hz, ³J_{H2,H3} = 8.6 Hz, H₂-Glc), 2.76-2.67 (m, 1H, CH_{2a}-exo), 2.42 (m_c, 1H, CH_{2b}-exo), 1.50, 1.44 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-*C*-[*exo*-2,6-di-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden-β-D-galactopyranosyl]-*L*-tyrosin-*tert*-butylester (109)**

(Boc-C-Tyr-[*exo*-β-3,4-Bzn-Bn₂Gal]-*O**t*Bu)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift der Hydroborierung-Kreuzkupplungs-Sequenz. Das *exo*-Glycal wird jedoch bei Raumtemp. statt bei -78 °C mit der Lösung von 9-BBN in THF versetzt und die Hydroborierungslösung anschließend zusätzlich 90 Minuten auf 80 °C erwärmt.

Hydroborierung

45 mg (0.101 mmol) *exo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**76**)

2.0 mL (1.00 mmol, 9.90 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 2 h, davon 1.5 h bei 80 °C

Kreuzkupplung

110 mg (0.246 mmol, 2.26 Äquiv.) Boc-*p*-I-Phe-*Or*Bu (**92**)

0.1 mL (0.30 mmol, 2.97 Äquiv.) 3M K₃PO₄-Lösung

7 mg (8 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

0.2 mL *N,N*-Dimethylformamid

Reaktionszeit: 20 h

Zur Aufarbeitung wird mit Wasser und Dichlormethan versetzt, ausgeschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1 → 2 : 1). Das so erhaltene Rohprodukt wird nochmals mittels präparativer Dünnschichtchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 20 mg (26.1 µmol, 26% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

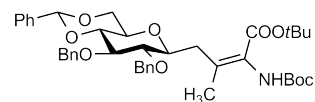
$R_f = 0.32$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

C₄₆H₅₅NO₉ (765.93)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.38-7.05 (m, 17H, H_{Ar}-Ph, H_{Ar}-Tyr), 6.93 (d, 2H, ³J = 7.9 Hz, H_{Ar}-Tyr), 5.95 (s, 1H, CH-Bzn), 4.86 (d, 1H, ³J_{NH,H^α} = 8.2 Hz, NH-Tyr), 4.82 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂-Bn), 4.57 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂-Bn), 4.44 (m_c, 1H, H₃-Gal), 4.38 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.35-4.26 (m, 2H, CH₂-Bn, H^α-Tyr), 4.13 (dd, 1H, ³J_{H₄,H₃} = 5.5 Hz, ³J_{H₄,H₅} = 1.6 Hz, H₄-Gal), 3.70-3.54 (m, 3H, H_{6a}-Gal, H_{6b}-Gal, H₅-Gal), 3.39-3.30 (m, 2H, H₁-Gal, H₂-Gal), 3.09 (d_b, 1H, ²J = 14.4 Hz, CH_{2a}-exo), 2.88 (m_c, 2H, 2 x H^β-Tyr), 2.65-2.55 (m, 1H, CH_{2b}-exo), 1.30, 1.27 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

(E)-N-(tert-Butyloxycarbonyl)-C-[2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden-β-D-glucopyranosyl]-α,β-dehydrovalin-tert-butylester (110)

(Boc-E-ΔVal-[β-4,6-Bzn-Bn₂Glc]-OtBu)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift der Hydroborierung-Kreuzkupplungs-Sequenz. Das *exo*-Glycal wird jedoch zunächst in 2 mL absol. THF gelöst und anschließend bei 0 °C statt bei -78 °C mit der Lösung von 9-BBN in THF versetzt.

Hydroborierung

158 mg (0.355 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Glc=CH₂ (**75**)

2.0 mL (1.00 mmol, 2.8 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 20 h

Kreuzkupplung

133 mg (0.396 mmol, 1.14 Äquiv.) Boc-E-ΔAbu-β-Br-OtBu (**104**)

0.23 mL (0.69 mmol, 1.95 Äquiv.) 3M K₃PO₄-Lösung

20 mg (7 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

0.6 mL *N,N*-Dimethylformamid

Reaktionszeit: 2 Tage

Zur Aufarbeitung wird eine Lösung von 250 mg Zitronensäure in 3 mL Wasser zugegeben und nach 5 Minuten Rühren bei Raumtemp. mit 13 mL Wasser und 15 mL Dichlormethan versetzt. Der pH-Wert beträgt 4.5 und wird durch Zugabe von 5 mL ges. NaHCO₃-Lösung auf pH 7 eingestellt. Nach Zugabe von 0.5 mL Ethanolamin wird die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1 → 2 : 1). Das noch leicht verunreinigte Produkt wird nochmals mittels präparativer Dünnschichtchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 2) gereinigt.

Ausbeute: 15 mg (21.0 μmol, 6% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.49$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -0.2$ (c = 0.5, CHCl₃)

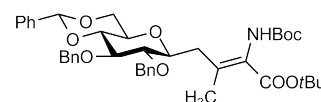
ESI-MS (m/z): 724.32 ([M+Na]⁺, ber.: 724.35)

C₄₁H₅₁NO₉ (701.84)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.52-7.46 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.42-7.26 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 6.77 (s_b, 1H, NH-AS), 5.59 (s, 1H, CH-Bzn), 5.01 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂-Bn), 4.97 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂-Bn), 4.79 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂-Bn), 4.66 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.35 (dd, 1H, ²J = 10.3 Hz, ³J = 4.8 Hz, H6a-Glc), 3.84 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 8.8 Hz, H3-Glc), 3.76-3.64 (m, 2H, H4-Glc {3.72}, H6b-Glc {3.68}), 3.49 (m_c, 1H, H1-Glc), 3.41 (m_c, 1H, H5-Glc), 3.35 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 9.2 Hz, ³J_{H2,H3} = 8.6 Hz, H2-Glc), 2.42-2.33 (m, 2H, CH₂-exo), 1.94 (s, 3H, CH₃-AS), 1.51, 1.46 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 164.26 (COO*t*Bu), 153.50 (C=O-Boc), 138.39, 137.73, 137.24 (C_{ipso}-Ph), 132.90 (C^β-AS), 128.97, 128.50, 128.40, 128.26, 128.13, 128.06, 128.00, 127.73 (C_{o,m,p}-Ph), 126.99 (C^α-AS), 125.97 (C_{o,m,p}-Ph), 101.16 (CH-Bzn), 83.09 (C3-Glc), 82.23 (C4-Glc), 81.09 (C2-Glc), 80.74 (C_q-*t*Bu), 79.96 (C1-Glc), 79.70 (C_q-Boc), 75.32, 75.01 (CH₂-Bn), 70.08 (C5-Glc), 68.61 (C6-Glc), 37.06 (CH₂-exo), 28.25, 28.01 (CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu), 19.20 (CH₃-AS).

(Z)-N-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-C-[2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden-β-D-glucopyranosyl]-α,β-dehydrovalin-*tert*-butylester (111)



(Boc-Z-ΔVal-[β-4,6-Bzn-Bn₂Glc]-O*t*Bu)

Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift der Hydroborierung-Kreuzkupplungs-Sequenz. Das *exo*-Glycal wird jedoch zunächst in 2 mL absol. THF gelöst und anschließend bei 0 °C statt bei -78 °C mit der Lösung von 9-BBN in THF versetzt.

Hydroborierung

158 mg (0.355 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Glc=CH₂ (**75**)

2.0 mL (1.00 mmol, 2.8 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 20 h

Kreuzkupplung

128 mg (0.381 mmol, 1.07 Äquiv.) Boc-Z-ΔAbu-β-Br-O*t*Bu (**105**)

0.23 mL (0.69 mmol, 1.95 Äquiv.) 3M K₃PO₄-Lösung

20 mg (7 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

0.6 mL *N,N*-Dimethylformamid

Reaktionszeit: 2 Tage

Zur Aufarbeitung wird eine Lösung von 250 mg Zitronensäure in 3 mL Wasser zugegeben und nach 5 Minuten Rühren bei Raumtemp. mit 13 mL Wasser und 15 mL Dichlormethan versetzt.

Nach weiteren 5 Minuten wird durch Zugabe von 5 mL ges. NaHCO₃-Lösung ein pH-Wert von 7 eingestellt. Nach Zugabe von 0.5 mL Ethanolamin wird die organische Phase abgetrennt, und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 10 : 1 → 2 : 1). Das noch leicht verunreinigte Produkt wird nochmals mittels präparativer Dünnschichtchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 2) gereinigt.

Ausbeute: 6 mg (8.5 μmol, 2% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.60$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

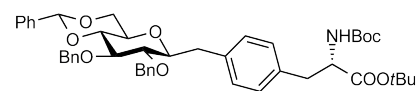
ESI-MS (m/z): 724.32 ([M+Na]⁺, ber.: 724.35)

C₄₁H₅₁NO₉ (701.84)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.50-7.44 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.40-7.24 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.65 (s_b, 1H, NH-AS), 5.54 (s, 1H, CH-Bzn), 4.97 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂-Bn), 4.94 (d, 1H, ²J = 10.8 Hz, CH₂-Bn), 4.76 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂-Bn), 4.62 (d, 1H, ²J = 10.9 Hz, CH₂-Bn), 4.26 (dd, 1H, ²J = 10.4 Hz, ³J = 5.0 Hz, H6a-Glc), 3.81 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 9.0 Hz, H3-Glc), 3.63 (t*, 2H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.6 Hz, H4-Glc und ²J = ³J = 9.6 Hz, H6b-Glc), 3.56 (dt*, 1H, ³J_{H1,H_{exo,a}} = 3.2 Hz, ³J_{H1,H_{exo,b}} = ³J_{H1,H2} = 9.5 Hz, H1-Glc), 3.37-3.26 (m, 2H, H5-Glc {3.33}, H2-Glc {3.30}), 2.94 (d_b, 1H, ²J = 13.5 Hz, CH_{2a}-exo), 2.72 (dd, 1H, ²J = 13.5 Hz, ³J = 9.8 Hz, CH_{2b}-exo), 1.77 (s, 3H, CH₃-AS), 1.45, 1.43 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-*C*-[2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzyliden-β-D-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin-*tert*-butylester (112)**

(Boc-C-Tyr-[β-4,6-Bzn-Bn₂Glc]-*Ot*Bu)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift der Hydroborierung-Kreuzkupplungs-Sequenz. Das *exo*-Glycal wird jedoch bei 0 °C statt bei -78 °C mit der Lösung von 9-BBN in THF versetzt. Bei der Kupplung werden zusätzlich 3 mL THF zum Nachspülen des Hydroborierungskolbens verwendet, die dann auch zu der Kupplungslösung gegeben werden.

Hydroborierung

256 mg (0.576 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Glc=CH₂ (**75**)

3.0 mL (1.50 mmol, 2.60 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 2.5 h

Kreuzkupplung

308 mg (0.689 mmol, 1.20 Äquiv.) Boc-*p*-I-Phe-*Ot*Bu (**92**)

450 mg (3.26 mmol, 5.65 Äquiv.) K₂CO₃

15 mg (3 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

6.0 mL *N,N*-Dimethylformamid

3.0 mL THF

0.2 mL Wasser

Reaktionszeit: 20 h

Zur Aufarbeitung wird mit Wasser und Dichlormethan versetzt, ausgeschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Nach zweimaliger Kodestillation mit Toluol reinigt man den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 4 : 1 → 2 : 1).

Ausbeute: 294 mg (0.384 mmol, 67% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.49$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +1.7$ (c = 1.0, CHCl₃)

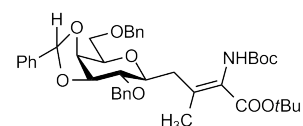
ESI-MS (m/z): 788.43 ([M+Na]⁺, ber.: 788.38)

C₄₆H₅₅NO₉ (765.93)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.51-7.47 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.42-7.27 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 7.13 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, H_{Ar}-Tyr), 7.08 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, H_{Ar}-Tyr), 5.57 (s, 1H, CH-Bzn), 5.04-4.98 (m, 2H, CH₂-Bn), 4.79 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂-Bn), 4.67 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.44 (m_c, 1H, H^α-Tyr), 4.26 (dd, 1H, ²J = 10.4 Hz, ³J = 5.0 Hz, H_{6a}-Glc), 3.87 (t*, 1H, ³J_{H₃,H₂} = ³J_{H₃,H₄} = 8.8 Hz, H₃-Glc), 3.73-3.63 (m, 2H, H_{6b}-Glc {3.70}, H₄-Glc {3.67}), 3.59 (dt_b*, 1H, ³J_{H₁,H₂} = ³J_{H₁,H_{exo,b}} = 9.1 Hz, ³J_{H₁,H_{exo,a}} = 1.9 Hz H₁-Glc), 3.39-3.30 (m, 2H, H₂-Glc {3.36}, H₅-Glc {3.34}), 3.14 (dd, 1H, ²J = 14.3 Hz, ³J = 1.8 Hz, CH_{2a}-exo), 3.07-2.96 (m, 2H, 2 x H^β-Tyr), 2.65 (dd, 1H, ²J = 14.4 Hz, ³J = 8.7 Hz, CH_{2b}-exo), 1.43, 1.39 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 171.02 (COO*t*Bu), 155.07 (C=O-Boc), 138.47, 138.17, 137.40 (C_{ipso}-Ph), 136.84, 134.25 (C_{ipso}-Tyr), 129.53, 129.29 (C_{o,m}-Tyr), 128.88, 128.47, 128.38, 128.23, 128.10, 127.92, 127.82, 127.69, 125.95 (C_{o,m,p}-Ph), 101.05 (CH-Bzn), 83.37 (C₃-Glc), 82.56 (C₄-Glc), 81.89 (C_q-*t*Bu), 81.09 (C₂-Glc), 80.49 (C₁-Glc), 79.61 (C_q-Boc), 75.33, 75.01 (CH₂-Bn), 70.03 (C₅-Glc), 68.91 (C₆-Glc), 54.78 (C^α-Tyr), 38.19 (C^β-Tyr), 37.69 (CH₂-exo), 28.30, 27.92 (CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

(Z)-N-(tert-Butyloxycarbonyl)- γ -[exo-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden- β -D-galactopyranosyl]- α,β -dehydrovalin-tert-butylester (113)



(Boc-Z- Δ Val-[exo- β -3,4-Bzn-Bn₂Gal]-OtBu)

Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplung-Sequenz.

Hydroborierung

90 mg (0.202 mmol) 3,4-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**76**)

1.33 mL (0.665 mmol, 3.28 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 5 h

Kreuzkupplung

75 mg (0.223 mmol, 1.10 Äquiv.) Boc-Z- Δ Abu- β -Br-OtBu (**105**)

60 mg (0.434 mmol, 2.15 Äquiv.) K₂CO₃

15 mg (9 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

1.5 mL *N,N*-Dimethylformamid

0.1 mL Wasser

Reaktionszeit: 4 h

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Wasser und Dichlormethan versetzt. Mit 2N HCl wird ein pH-Wert von 7 eingestellt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel anschließend i. Vak. und i. Hochvak entfernt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 68 mg (96.9 μ mol, 48% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.40 (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1)

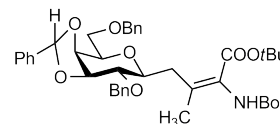
$[\alpha]_D^{23}$ = -23.1 (c = 1.0, CHCl₃)

C₄₁H₅₁NO₉ (701.84)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.47-7.22 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 6.09 (s, 1H, CH-Bzn), 4.96 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.74 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.68 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.51 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 6.2 Hz, H3-Gal), 4.44 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.18 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 5.5 Hz, ³J_{H4,H5} = 1.7 Hz, H4-Gal), 3.83 (m_c, 1H, H5-Gal), 3.74-3.62 (m,

2H, H6ab-Gal), 3.42 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 9.3$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 6.7$ Hz, H2-Gal), 3.29 (m_c, 1H, H1-Gal), 2.47 (d_b, 2H, $^3J = 5.3$ Hz, CH₂-exo), 1.97 (s, 3H, CH₃-AS), 1.48, 1.42 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

(E)-N-(*tert*-Butyloxycarbonyl)- γ -[*exo*-2,6-di-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden- β -D-galactopyranosyl]- α,β -dehydrovalin-*tert*-butylester (114)



(Boc-E- Δ Val-[*exo*- β -3,4-Bzn-Bn₂Gal]-*Ot*Bu)

Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplung-Sequenz.

Hydroborierung

90 mg (0.202 mmol) *exo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**76**)

1.33 mL (0.665 mmol, 3.28 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 5 h

Kreuzkupplung

75 mg (0.223 mmol, 1.10 Äquiv.) Boc-E- Δ Abu- β -Br-*Ot*Bu (**104**)

60 mg (0.434 mmol, 2.15 Äquiv.) K₂CO₃

15 mg (9 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

1.5 mL *N,N*-Dimethylformamid

0.2 mL Wasser

Reaktionszeit: 4 h

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Wasser und Dichlormethan versetzt. Mit 2N HCl wird ein pH-Wert von 7 eingestellt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel anschließend i. Vak. und i. Hochvak entfernt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 70 mg (0.100 mmol, 49% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.30$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1)

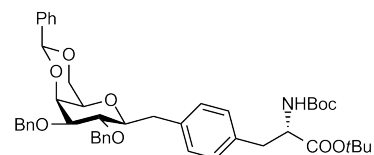
C₄₁H₅₁NO₉ (701.84)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.50-7.27 (m, 15H, H_{Ar}-Ph),

6.07 (s, 1H, CH-Bzn), 5.67 (*s_b*, 1H, NH-AS), 4.97 (d, 1H, $^2J = 11.6$ Hz, CH₂-Bn), 4.73 (d, 1H, $^2J = 11.6$ Hz, CH₂-Bn), 4.63-4.50 (m, 3H, CH₂-Bn, H3-Gal), 4.26 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 5.5$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 1.8$ Hz, H4-Gal), 3.84 (*m_c*, 1H, H5-Gal), 3.79-3.70 (m, 2H, H6ab-Gal), 3.53 (*m_c*, 1H, H1-Gal), 3.44 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 9.1$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 6.5$ Hz, H2-Gal), 3.23 (*d_b*, 1H, $^2J = 13.1$ Hz, CH_{2_a}-exo), 2.57 (dd, 1H, $^2J = 13.9$ Hz, $^3J = 6.5$ Hz, CH_{2_b}-exo), 1.86 (s, 3H, CH₃), 1.50, 1.48 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 164.06 (COO*t*Bu), 153.47 (C=O-Boc), 138.78, 138.24, 137.91 (*C_{ipso}*-Ph), 129.12 (C^β-AS), 128.37, 128.27, 128.24, 128.18, 127.63, 127.43, 126.23 (*C_{o,m,p}*-Ph), 125.16 (C^α-AS), 103.31 (CH-Bzn), 81.07 (C_{*q*}-*t*Bu), 80.57 (C3-Gal), 79.78 (C_{*q*}-Boc), 77.33, 77.25 (C1-Gal, C2-Gal), 75.58 (C5-Gal), 74.22 (C4-Gal), 73.43, 72.46 (CH₂-Bn), 69.86 (C6-Gal), 36.56 (CH₂-exo), 28.21, 27.98 (CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu), 20.05 (CH₃-AS).

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-*C*-[2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzyliden-β-*D*-galactopyranosyl]-*L*-tyrosin-*tert*-butylester (115)**
(Boc-Tyr-*C*-[β-4,6-Bzn-Bn₂Gal]-*Ot*Bu)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplung-Sequenz.

Hydroborierung

78 mg (0.176 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**78**)

1.06 mL (0.530 mmol, 3.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 2 h

Kreuzkupplung

98 mg (0.219 mmol, 1.24 Äquiv.) Boc-*p*-I-Phe-*Ot*Bu (**92**)

73 mg (0.528 mmol, 3.0 Äquiv.) K₂CO₃

14 mg (10 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

1.5 mL *N,N*-Dimethylformamid

0.1 mL Wasser

Reaktionszeit: 2 h

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Wasser und Dichlormethan versetzt, ausgeschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Man extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. und i. Hochvak entfernt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1 → 4 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 98 mg (0.128 mmol, 73% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.54$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$R_f = 0.25$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +24.0$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 788.38 ([M+Na]⁺, ber.: 788.38)

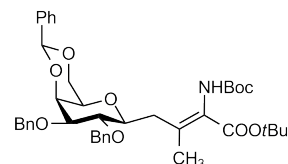
HR-ESI-MS (m/z): 788.3765 ([M+Na]⁺, ber.: 788.3775)

C₄₆H₅₅NO₉ (765.93)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.59-7.53 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.44-7.26 (m, 15H, H_{Ar}-Ph, H_{Ar}-Tyr), 7.08 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, H_{Ar}-Tyr), 5.49 (s, 1H, CH-Bzn), 5.03 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.77 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.72 (d, 1H, ²J = 12.2 Hz, CH₂-Bn), 4.64 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.46 (m_c, 1H, H^α-Tyr), 4.24 (dd, 1H, ²J = 12.2 Hz, ³J = 1.2 Hz, H6a-Gal), 4.20 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 2.9 Hz, H4-Gal), 3.95 (dd, 1H, ²J = 12.2 Hz, ³J = 1.6 Hz, H6b-Gal), 3.76 (t*, 1H, ³J_{H2,H1} = ³J_{H2,H3} = 9.2 Hz, H2-Gal), 3.67 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 9.2 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.5 Hz, H3-Gal), 3.49 (m_c, 1H, H1-Gal), 3.26-3.19 (m, 2H, CH_{2a}-exo, H5-Gal), 3.06-3.02 (m, 2H, 2 x H^β-Tyr), 2.87 (dd, 1H, ²J = 14.3 Hz, ³J = 8.4 Hz, CH_{2b}-exo), 1.44, 1.40 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-tBu).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 171.01 (COOtBu), 155.08 (C=O-Boc), 138.59, 138.25, 138.02, 137.52 (C_{ipso}-Ph, C_{ipso}-Tyr), 133.89 (C_{ipso}-Tyr), 129.84, 129.14 (C_{o,m}-Tyr), 128.91, 128.37, 128.34, 128.14, 128.11, 127.89, 127.72, 127.66, 127.62, 126.44, 126.40 (C_{o,m,p}-Ph), 101.20 (CH-Bzn), 81.94 (C3-Gal), 81.86 (C_q-tBu), 79.94 (C1-Gal), 79.55 (C_q-Boc), 77.22 (C2-Gal), 75.26 (CH₂-Bn), 73.76 (C4-Gal), 71.02 (CH₂-Bn), 69.69 (C6-Gal), 69.16 (C5-Gal), 54.75 (C^α-Tyr), 38.03 (C^β-Tyr), 37.39 (CH₂-exo), 28.27, 27.90 (CH₃-Boc und CH₃-tBu).

(Z)-N-(tert-Butyloxycarbonyl)-γ-[2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl]-α,β-dehydrovalin-tert-butylester (116)
(Boc-Z-ΔVal-[β-4,6-Bzn-Bn₂Gal]-OtBu)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplung-Sequenz.

Hydroborierung

78 mg (0.176 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**78**)

1.06 mL (0.530 mmol, 3.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 2 h

Kreuzkupplung74 mg (0.220 mmol, 1.25 Äquiv.) Boc-Z- Δ Abu- β -Br-*Or*Bu (**105**)73 mg (0.528 mmol, 3.0 Äquiv.) K₂CO₃14 mg (10 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]1.5 mL *N,N*-Dimethylformamid

0.1 mL Wasser

Reaktionszeit: 2 h

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Wasser und Dichlormethan versetzt, ausgeschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Man extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. und i. Hochvak entfernt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1 \rightarrow 4 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 106 mg (0.151 mmol, 86% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

 $R_f = 0.23$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1) $R_f = 0.62$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1) $[\alpha]_D^{23} = +37.2$ ($c = 1.0$, CHCl₃)ESI-MS (m/z): 724.35 ([M+Na]⁺, ber.: 724.35)HR-ESI-MS (m/z): 724.3469 ([M+Na]⁺, ber.: 724.3462)

Die Daten der Röntgen-Kristallstruktur-Untersuchung finden sich im Anhang.

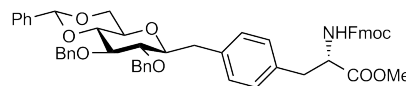
C₄₁H₅₁NO₉ (701.84)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.60-5.56 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 5.43-5.26 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.49 (s, 1H, CH-Bzn), 5.01 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.79 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.73 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.65 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.26 (d_b, 1H, ²J = 12.9 Hz, H6a-Gal), 4.23 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.3 Hz, H4-Gal), 3.97 (d_b, 1H, ²J = 12.7 Hz, H6b-Gal), 3.75 (t*, 1H, ³J_{H2,H1} = ³J_{H2,H3} = 9.5 Hz, H2-Gal), 3.64 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 9.4 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.5 Hz, H3-Gal), 3.75 (dt*, 1H, ³J_{H1,H2} = ³J_{H1,H_{exo,a}} = 9.5 Hz, ³J_{H1,H_{exo,b}} = 1.3 Hz, H1-Gal), 3.31 (s_b, 1H, G5-Gal), 2.68 (dd, 1H, ²J = 13.1 Hz, ³J = 9.8 Hz, CH_{2a}-exo), 2.45 (d_b, 1H, ²J = 13.1 Hz, CH_{2b}-exo), 1.98 (s, 3H, CH₃-AS), 1.53 (s, 9H, CH₃-Boc), 1.42 (s, 9H, CH₃-*t*Bu).

¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 164.55 (COO*t*Bu), 153.86 (C=O-Boc), 138.19, 138.17, 137.99 (C_{ipso}-Ph), 132.48 (C ^{β} -AS), 128.90, 128.39, 128.38, 128.09,

127.98, 127.76, 127.73, 127.68 ($C_{o,m,p}$ -Ph), 127.44 (C^α -AS), 126.48 ($C_{o,m,p}$ -Ph), 101.30 (CH-Bzn), 81.64 (C3-Gal), 80.75 (C_q -*t*Bu), 79.31 (C_q -Boc), 78.62 (C1-Gal), 77.57 (C2-Gal), 75.39 (CH₂-Bn), 73.54 (C4-Gal), 71.07 (CH₂-Bn), 69.55 (C6-Gal), 69.25 (C5-Gal), 37.19 (CH₂-exo), 28.17, 27.99 (CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu), 19.06 (CH₃-AS).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzyliden- β -D-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (127)**
(Fmoc-C-Tyr-[β -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-OMe)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift der Hydroborierung-Kreuzkupplungs-Sequenz.

Hydroborierung

370 mg (0.832 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Glc=CH₂ (**75**)

5.0 mL (2.50 mmol, 3.00 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 1 h 15 min

Kreuzkupplung

439 mg (0.832 mmol, 1.00 Äquiv.) Fmoc-*p*-I-Phe-OMe (**118**)

345 mg (2.50 mmol, 3.00 Äquiv.) K₂CO₃

68 mg (10 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

6.0 mL *N,N*-Dimethylformamid

1.5 mL Wasser

Reaktionszeit: 20 h

Zur Aufarbeitung wird mit Wasser und Dichlormethan versetzt, ausgeschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 4 : 1 → 2 : 1).

Ausbeute: 520 mg (0.615 mmol, 74% d. Th.)

Blassgelber amorpher Feststoff

$R_f = 0.25$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.36$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +7.0$ (c = 1.0, CHCl₃)

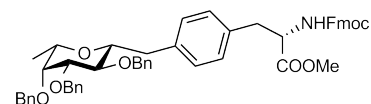
ESI-MS (m/z): 868.45 ([M+Na]⁺, ber.: 868.35)

C₅₃H₅₁NO₉ (845.97)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.77 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.57 (t, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.51-7.46 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.43-7.27 (m, 17H, $\text{CH}_{\text{Ar-Fmoc}}$, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.15 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Tyr}}$), 7.01 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Tyr}}$), 5.57 (s, 1H, CH-Bzn), 5.27 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H}^\alpha} = 8.3$ Hz, NH-Tyr), 5.02 (d, 1H, $^2J = 11.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 5.01 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.79 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.72-4.63 (m, 2H, $\text{H}^\alpha\text{-Tyr}$ {4.68}, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.44 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 7.3$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{-Fmoc}$), 4.35 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 6.9$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-Fmoc}$), 4.26 (dd, 1H, $^2J = 10.4$ Hz, $^3J = 5.0$ Hz, H6a-Glc), 4.22 (t, 1H, $^3J = 7.1$ Hz, CH-Fmoc), 3.86 (t*, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = ^3J_{\text{H3,H4}} = 8.8$ Hz, H3-Glc), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.72-3.63 (m, 2H, H6b-Glc {3.69}, H4-Glc {3.66}), 3.59 (m_c, 1H, H1-Glc), 3.38-3.29 (m, 2H, H2-Glc, H5-Glc), 3.17-3.04 (m, 3H, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$, 2 x $\text{H}^\beta\text{-Tyr}$), 2.66 (dd, 1H, $^2J = 14.4$ Hz, $^3J = 8.6$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 171.98 (COOMe), 155.52 (C=O-Fmoc), 143.82, 143.70 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.28 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 138.45, 138.17, 137.42 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 137.26, 133.52 ($\text{C}_{\text{ipso-Tyr}}$), 129.83, 129.09 ($\text{C}_{o,m}\text{-Tyr}$), 128.87, 128.47, 128.39, 128.21, 128.11, 127.90, 127.83, 127.70, 127.04, 125.96 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, $\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 125.10, 125.05 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.98 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 101.03 (CH-Bzn), 83.35 (C3-Glc), 82.53 (C4-Glc), 81.01 (C2-Glc), 80.36 (C1-Glc), 75.29, 75.01 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 70.02 (C5-Glc), 68.88 (C6-Glc), 66.94 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 54.72 ($\text{C}^\alpha\text{-Tyr}$), 52.34 (OCH₃), 47.11 (CH-Fmoc), 37.81 ($\text{C}^\beta\text{-Tyr}$), 37.68 ($\text{CH}_2\text{-exo}$).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -*L*-fucopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (128)**
(Fmoc-C-Tyr-[β -Bn₃Fuc]-OMe)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplung-Sequenz.

Hydroborierung

440 mg (1.022 mmol) $\text{Bn}_3\text{Fuc}=\text{CH}_2$ (**79**)

6.1 mL (3.05 mmol, 3.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 2.5 h

Kreuzkupplung

539 mg (1.02 mmol, 1.00 Äquiv.) Fmoc-*p*-I-Phe-OMe (**118**)

283 mg (2.04 mmol, 2.00 Äquiv.) K_2CO_3

84 mg (10 mol%) $[\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{CH}_2\text{Cl}_2]$

6.0 mL *N,N*-Dimethylformamid

2.0 mL Wasser

Reaktionszeit: 3.5 h

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung zunächst mit Wasser und Dichlormethan versetzt und anschließend unter Rühren mit Essigsäure neutralisiert. Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel anschließend i. Vak. und i. Hochvak. entfernt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 6 : 1 \rightarrow 5 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 468 mg (0.563 mmol, 55% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.10$ Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1

$[\alpha]_D^{23} = +12.0$ (c = 1.0, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 854.37 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 854.37)

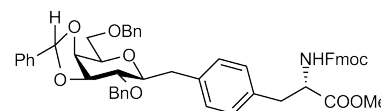
$\text{C}_{53}\text{H}_{53}\text{NO}_8$ (831.09)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.80 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.61 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.46-7.30 (m, 19, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.26 (d, 2H, $^3J = 8.0$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Tyr}$), 7.00 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Tyr}$), 5.31 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}^\alpha} = 8.3$ Hz, NH-Tyr), 5.05 (d, 1H, $^2J = 10.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 5.04 (d, 1H, $^2J = 10.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.84-4.66 (m, 5H, 4 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$, $\text{H}^\alpha\text{-Tyr}$ {4.69}), 4.48 (dd, 1H, $^2J = 10.5$ Hz, $^3J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{-Fmoc}$), 4.38 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 6.9$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-Fmoc}$), 4.24 (t, 1H, $^3J = 7.0$ Hz, CH-Fmoc), 3.79 (t, 1H, $^3J_{\text{H}2,\text{H}1} = ^3J_{\text{H}2,\text{H}3} = 9.3$ Hz, $\text{H}2\text{-Fuc}$), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.69 (d, 1H, $^3J_{\text{H}4,\text{H}3} = 2.3$ Hz, $\text{H}4\text{-Fuc}$), 3.64 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}3,\text{H}2} = 9.3$ Hz, $^3J_{\text{H}3,\text{H}4} = 2.6$ Hz, $\text{H}3\text{-Fuc}$), 3.45-3.33 (m, 2H, $\text{H}1\text{-Fuc}$, $\text{H}5\text{-Fuc}$), 3.18-3.10 (m, 3H, 2 x $\text{H}^\beta\text{-Tyr}$, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$), 2.78 (dd, 1H, $^2J = 14.3$ Hz, $^3J = 9.4$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$), 1.14 (d, 3H, $^3J = 6.3$ Hz, $\text{H}6\text{abc-Fuc}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [**BB**, **HSQC**] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 171.94 (COOMe), 155.49 (C=O-Fmoc), 143.81, 143.67 ($\text{C}1a\text{-Fmoc}$, $\text{C}8a\text{-Fmoc}$), 141.24 ($\text{C}4a\text{-Fmoc}$, $\text{C}5a\text{-Fmoc}$), 138.58, 138.50, 138.44, 138.34 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$, $\text{C}_{ipso}\text{-Tyr}$), 133.01 ($\text{C}_{ipso}\text{-Tyr}$), 129.76, 128.87 ($\text{C}_{o,m}\text{-Tyr}$), 128.41, 128.37, 128.19, 128.13, 128.02, 127.65, 127.55, 127.52, 127.00 ($\text{C}3\text{-Fmoc}$, $\text{C}6\text{-Fmoc}$, $\text{C}2\text{-Fmoc}$, $\text{C}7\text{-Fmoc}$, $\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 125.07, 125.00 ($\text{C}1\text{-Fmoc}$, $\text{C}8\text{-Fmoc}$), 119.91 ($\text{C}4\text{-Fmoc}$, $\text{C}5\text{-Fmoc}$), 85.37 ($\text{C}3\text{-Fuc}$), 80.56 ($\text{C}1\text{-Fuc}$), 78.54 ($\text{C}2\text{-Fuc}$), 76.24 ($\text{C}4\text{-Fuc}$), 75.31, 74.40 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 73.97 ($\text{C}5\text{-Fuc}$), 72.33 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 66.82 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 54.71 ($\text{C}^\alpha\text{-Tyr}$), 52.24 (OCH_3), 47.10 (CH-Fmoc), 37.75 ($\text{C}^\beta\text{-Tyr}$), 37.41 ($\text{CH}_2\text{-exo}$), 17.16 ($\text{C}6\text{-Fuc}$).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[*exo*-2,6-di-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden- β -D-galactopyranosyl]-L-tyrosinmethylester (**129**)**

(Fmoc-C-Tyr-[*exo*- β -3,4-Bzn-Bn₂Gal]-OMe)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplungs-Sequenz.

Hydroborierung

90 mg (0.202 mmol) *exo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**76**)

1.33 mL (0.665 mmol, 3.3 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 5 h

Kreuzkupplung

118 mg (0.224 mmol, 1.11 Äquiv.) Fmoc-*p*-I-Phe-OMe (**118**)

60 mg (0.434 mmol, 2.15 Äquiv.) K₂CO₃

15 mg (9 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

1.5 mL *N,N*-Dimethylformamid

0.2 mL Wasser

Reaktionszeit: 16 h

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Wasser und Dichlormethan versetzt, mit 2N Salzsäure ein pH-Wert von 7 eingestellt, ausgeschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Man extrahiert die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel anschließend i. Vak. und i. Hochvak entfernt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 7.5 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 72 mg (85 μ mol, 42% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.17 (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$[\alpha]_D^{23}$ = +5.6 (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 868.35 ([M+Na]⁺, ber.: 868.35)

C₅₃H₅₁NO₉ (845.97)

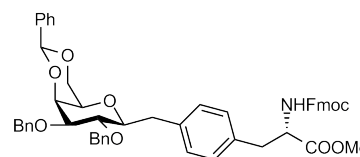
¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.79 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{A_r}-Fmoc), 7.58 (t, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{A_r}-Fmoc), 7.51-7.21 (m, 21H, H_{A_r}-Fmoc, H_{A_r}-Ph), 7.02 (d, 2H, ³J = 7.9 Hz, H_{A_r}-Tyr), 6.11 (s, 1H, CH-Bzn), 5.31 (d, 1H, ³J_{NH,H α} = 8.3 Hz, NH-Tyr), 4.98 (d, 1H, ²J

= 11.6 Hz, CH₂-Bn), 4.72 (d, 1H, ²J = 11.6 Hz, CH₂-Bn), 4.69 (m_c, 1H, H^α-Tyr), 4.60-4.56 (m, 1H, H₃-Gal), 4.50 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.48-4.41 (m, 2H, CH₂-Bn, CH_{2a}-Fmoc), 4.36 (dd, 1H, ²J = 10.6 Hz, ³J = 7.0 Hz, CH_{2b}-Fmoc), 4.26 (dd, 1H, ³J_{H₄,H₃} = 5.6 Hz, ³J_{H₄,H₅} = 1.6 Hz, H₄-Gal), 4.23 (t_b, 1H, ³J = 7.1 Hz, CH-Fmoc), 3.83-3.68 (m, 6H, H₅-Gal {3.79}, H_{6a}-Gal, H_{6b}-Gal {3.75}, OCH₃ {3.73}), 3.51-3.47 (m, 2H, H₂-Gal, H₁-Gal), 3.24 (d_b, 1H, ²J = 13.9 Hz, CH_{2a}-exo), 3.13 (dd, 1H, ²J = 13.9 Hz, ³J = 5.6 Hz, H_a^β-Tyr), 3.07 (dd, 1H, ²J = 13.8 Hz, ³J = 6.1 Hz, H_b^β-Tyr), 2.75 (dd, 1H, ²J = 14.3 Hz, ³J = 8.0 Hz, CH_{2b}-exo).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 171.97 (COOMe), 155.50 (C=O-Fmoc), 143.78, 143.70 (C_{1a}-Fmoc, C_{8a}-Fmoc), 141.23 (C_{4a}-Fmoc, C_{5a}-Fmoc), 138.82, 138.15, 137.83 (C_{ipso}-Ph), 137.48, 133.40 (C_{ipso}-Tyr), 129.86, 129.14 (C_{o,m}-Tyr), 129.02, 128.40, 128.38, 128.21, 128.17, 127.81, 127.65, 127.50, 127.46, 127.00, 126.21 (C₃-Fmoc, C₆-Fmoc, C₂-Fmoc, C₇-Fmoc, C_{o,m,p}-Ph), 125.08, 125.02 (C₁-Fmoc, C₈-Fmoc), 119.92 (C₄-Fmoc, C₅-Fmoc), 103.35 (CH-Bzn), 80.58 (C₃-Gal), 78.62 (C₁-Gal), 76.19 (C₂-Gal), 75.59 (C₅-Gal), 74.27 (C₄-Gal), 73.34, 72.51 (CH₂-Bn), 69.71 (C₆-Gal), 66.90 (CH₂-Fmoc), 54.72 (C^α-Tyr), 52.28 (OCH₃), 47.06 (CH-Fmoc), 37.82, 37.79 (C^β-Tyr, CH₂-exo).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzyliden-β-D-galactopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (**130**)**

(Fmoc-Tyr-*C*-[β-4,6-Bzn-Bn₂Gal]-OMe)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplung-Sequenz.

Hydroborierung

78 mg (0.176 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Gal=CH₂ (**78**)

1.06 mL (0.530 mmol, 3.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 2 h

Kreuzkupplung

116 mg (0.220 mmol, 1.25 Äquiv.) Fmoc-*p*-I-Phe-OMe (**118**)

73 mg (0.528 mmol, 3.0 Äquiv.) K₂CO₃

14 mg (10 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

1.5 mL *N,N*-Dimethylformamid

0.1 mL Wasser

Reaktionszeit: 2 h

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Wasser und Dichlormethan versetzt, ausgeschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Man extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel anschließend i. Vak. und i. Hochvak entfernt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 4 : 1 \rightarrow 2 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 115 mg (0.136 mmol, 77% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.38$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1)

ESI-MS (m/z): 863.40 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 863.37)

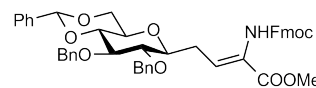
$\text{C}_{53}\text{H}_{51}\text{NO}_9$ (845.97)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.77 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.63-7.53 (m, 4H, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.47-7.27 (m, 19H, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$, $\text{H}_{\text{Ar-Tyr}}$), 7.03 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Tyr}}$), 5.49 (s, 1H, CH-Bzn), 5.33 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}^\alpha} = 8.4$ Hz, NH-Tyr), 5.06 (d, 1H, $^2J = 10.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.79 (d, 1H, $^2J = 12.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.73 (d, 1H, $^2J = 12.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.70 (m_c , 1H, $\text{H}^\alpha\text{-Tyr}$), 4.66 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.47 (dd, 1H, $^2J = 10.4$ Hz, $^3J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{-Fmoc}$), 4.34 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 7.1$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-Fmoc}$), 4.26-4.16 (m, 3H, CH-Fmoc, H4-Gal, H6a-Gal), 3.90 (t, 1H, $^2J = 12.2$ Hz, $^3J = 1.6$ Hz, H6b-Gal), 3.76 (t^* , 1H, $^3J_{\text{H}2,\text{H}1} = ^3J_{\text{H}2,\text{H}3} = 9.3$ Hz, H2-Gal), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.66 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}3,\text{H}2} = 9.2$ Hz, $^3J_{\text{H}3,\text{H}4} = 3.5$ Hz, H3-Gal), 3.47 (m_c , 1H, H1-Gal), 3.22 (d_b , 1H, $^2J = 14.0$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$), 3.19-3.06 (m, 3H, 2 x $\text{H}^\beta\text{-Tyr}$, H5-Gal), 2.89 (dd, 1H, $^2J = 14.0$ Hz, $^3J = 8.5$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 171.98 (COOMe), 155.51 (C=O-Fmoc), 143.72, 143.69 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.21, 141.18 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 138.61, 138.25, 138.04 ($C_{\text{ipso}}\text{-Ph}$), 137.93, 133.19 ($C_{\text{ipso}}\text{-Tyr}$), 130.09, 128.89 ($C_{o,m}\text{-Tyr}$), 128.34, 128.12, 127.83, 127.70, 127.66, 127.60, 127.02, 126.42 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, $C_{o,m,p}\text{-Ph}$), 125.11, 125.00 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.89 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 101.13 (CH-Bzn), 81.86 (C3-Gal), 79.79 (C1-Gal), 77.17 (C2-Gal), 75.18 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 73.70 (C4-Gal), 70.95 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 69.64 (C6-Gal), 69.10 (C5-Gal), 66.88 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 54.69 ($\text{C}^\alpha\text{-Tyr}$), 52.28 (OCH_3), 47.03 (CH-Fmoc), 37.79 ($\text{C}^\beta\text{-Tyr}$), 37.36 ($\text{CH}_2\text{-exo}$).

(Z)-N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)- γ -[2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden- β -D-glucopyranosyl]- α,β -dehydro-2-amino-buttersäure-methylester (131)

(Fmoc-Z- Δ Abu-[β -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-OMe)



Variante A: Aus Fmoc-Z- Δ Ala- β -Br-OMe (**122**)

Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplung-Sequenz.

Hydroborierung

257 mg (0.578 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Glc=CH₂ (**75**)

3.47 mL (1.73 mmol, 3.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 1 h

Kreuzkupplung

220 mg (0.547 mmol, 0.95 Äquiv.) Fmoc-Z- Δ Ala- β -Br-OMe (**122**)

160 mg (1.16 mmol, 2.0 Äquiv.) K₂CO₃

47 mg (10 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

3.5 mL *N,N*-Dimethylformamid

1.0 mL Wasser

Reaktionszeit: 45 Minuten

Variante B: Aus Fmoc-Z- Δ Ala- β -I-OMe (**132**)

Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplung-Sequenz.

Hydroborierung

103 mg (0.232 mmol) 4,6-Bzn-Bn₂Glc=CH₂ (**75**)

1.40 mL (0.700 mmol, 3.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 4 h

Kreuzkupplung

90 mg (0.200 mmol, 0.865 Äquiv.) Fmoc-Z- Δ Ala- β -I-OMe (**132**)

64 mg (0.463 mmol, 2.00 Äquiv.) K₂CO₃

19 mg (10 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

2.0 mL *N,N*-Dimethylformamid

0.5 mL Wasser

Reaktionszeit: 1 h

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt und durch tropfenweise Zugabe von Essigsäure ein pH-Wert von 7 eingestellt. Man extrahiert viermal mit Dichlormethan. Die ver-

einigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel anschließend i. Vak. und i. Hochvak. entfernt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 4 : 1 \rightarrow 2 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute nach Variante A: 151 mg (0.197 mmol, 34% d. Th.)

Ausbeute nach Variante B: 63 mg (82.1 μmol , 35% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.29$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -32.9$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 790.34 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 790.30)

$\text{C}_{47}\text{H}_{45}\text{NO}_9$ (767.86)

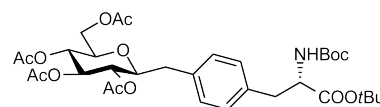
$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.79 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.60 (d_b , 2H, $^3J = 7.0$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.55-7.49 (m, 2H, H_{Ar}), 7.46-7.22 (m, 17H, H_{Ar}), 6.58 (t, 1H, $^3J = 7.3$ Hz, =CH), 5.60 (s, 1H, CH-Bzn), 5.03 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.95 (d, 1H, $^2J = 10.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.81 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.62 (d, 1H, $^2J = 10.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.44 (d, 2H, $^3J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 4.34 (dd, 1H, $^2J = 10.4$ Hz, $^3J = 5.0$ Hz, $\text{H}_{6a}\text{-Glc}$), 4.24 (t_b , 1H, $^3J = 6.5$ Hz, CH-Fmoc), 3.86 (t_b^* , 1H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 8.8$ Hz, $\text{H}_3\text{-Glc}$), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 3.73-3.66 (m, 2H, $\text{H}_{6b}\text{-Glc}$, $\text{H}_4\text{-Glc}$), 3.56 (ddd, 1H, $^3J_{H1,H2} = 9.8$ Hz, $^3J_{H1,H_{exo,a}} = 3.3$ Hz, $^3J_{H1,H_{exo,b}} = 7.5$ Hz, $\text{H}_1\text{-Glc}$), 3.45 (dt^* , 1H, $^3J_{H5,H4} = ^3J_{H5,H6b} = 9.9$ Hz, $^3J_{H5,H6a} = 5.0$ Hz, $\text{H}_5\text{-Glc}$), 3.37 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 9.4$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 8.5$ Hz, $\text{H}_2\text{-Glc}$), 2.72 (ddd, 1H, $^2J = 16.0$ Hz, $^3J_{H_{exo,a},=CH} = 7.0$ Hz, $^3J_{H_{exo,a},H1} = 3.1$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$) 2.42 (dt, 1H, $^2J = 15.6$ Hz, $^3J_{H_{exo,b},=CH} = ^3J_{H_{exo,b},H1} = 7.5$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 164.69 (COOMe), 153.80 ($\text{C}=\text{O}\text{-Fmoc}$), 143.69, 143.62 ($\text{C}_{1a}\text{-Fmoc}$, $\text{C}_{8a}\text{-Fmoc}$), 141.30 ($\text{C}_{4a}\text{-Fmoc}$, $\text{C}_{5a}\text{-Fmoc}$), 138.33, 137.76, 137.27 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$), 131.12 (=CH), 128.95, 128.43, 128.40, 128.25, 128.10, 128.08, 127.89, 127.74, 127.07, 125.94 ($\text{C}_3\text{-Fmoc}$, $\text{C}_6\text{-Fmoc}$, $\text{C}_2\text{-Fmoc}$, $\text{C}_7\text{-Fmoc}$, $\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 125.04, 125.03 ($\text{C}_1\text{-Fmoc}$, $\text{C}_8\text{-Fmoc}$), 119.99 ($\text{C}_4\text{-Fmoc}$, $\text{C}_5\text{-Fmoc}$), 101.10 (CH-Bzn), 83.00 ($\text{C}_3\text{-Glc}$), 82.33 ($\text{C}_4\text{-Glc}$), 80.57 ($\text{C}_2\text{-Glc}$), 78.83 ($\text{C}_1\text{-Glc}$), 75.35, 75.03 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 70.23 ($\text{C}_5\text{-Glc}$), 68.70 ($\text{C}_6\text{-Glc}$), 67.27 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 52.46 (OCH_3), 47.04 (CH-Fmoc), 30.56 ($\text{CH}_2\text{-exo}$).

5.6 Weitere Funktionalisierungen der C-Glycosylaminosäuren

N-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-*C*-[2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin-*tert*-butylester (**135**)

(Boc-*C*-Tyr-[β -Ac₄Glc]-*O**t*Bu)



Entfernung der Benzylschutzgruppen

156 mg (0.204 mmol) Boc-*C*-Tyr-[β -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-*O**t*Bu (**112**) werden in 10 mL Ethanol gelöst und durch mehrfaches Evakuieren und Belüften mit Argon entgast. Anschließend werden 40 mg Palladium(II)-hydroxid (15-20 Gew.-%) auf Aktivkohle zugesetzt und die Reaktionsmischung unter eine Wasserstoffatmosphäre gesetzt. Man rührt 28 Stunden bei Raumtemperatur, filtriert über 2 Lagen Filterpapier und wäscht gründlich mit Ethanol nach. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. wird das Rohprodukt direkt weiter umgesetzt.

Acetylierung der freien OH-Gruppen

Das erhaltene farblose Öl wird in 5 mL Pyridin gelöst und mit 2.5 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Man rührt 5 Stunden bei Raumtemp. und entfernt die überschüssigen Reagenzien i. Vak. und im Hochvakuum. Das Rohprodukt wird dreimal mit Toluol kodestilliert und i. Hochvak. getrocknet. Das erhaltene blassgelbe viskose Öl ist ausreichend sauber für die Charakterisierung und den Einsatz in der nächsten Stufe.

Rohausbeute: 103 mg (0.155 mmol, 76% d. Th. über zwei Stufen)

Blassgelbes viskoses Öl

$R_f = 0.23$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 2)

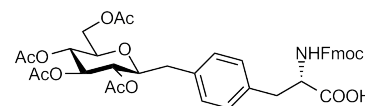
C₃₃H₄₇NO₁₃ (665.73)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.14-7.01 (m, 4H, H_{Ar}-Tyr), 5.12 (t*, 1H, ³J_{H₃,H₂} = ³J_{H₃,H₄} = 9.4 Hz, H₃-Glc), 5.01 (t*, 1H, ³J_{H₄,H₃} = ³J_{H₄,H₅} = 9.7 Hz, H₄-Glc), 4.89 (t*, 1H, ³J_{H₂,H₁} = ³J_{H₂,H₃} = 9.6 Hz, H₂-Glc), 4.38 (q*, 1H, ³J_{H α ,NH} = ³J_{H α ,H β} = 6.8 Hz, H α -Tyr), 4.19 (dd, 1H, ²J = 12.2 Hz, ³J = 5.2 Hz, H_{6b}-Glc), 3.99 (dd, 1H, ²J = 12.2 Hz, ³J = 2.1 Hz, H_{6b}-Glc), 3.65-3.50 (m, 2H, H₁-Glc, H₅-Glc), 3.00-2.92 (m, 2H, 2 x H β -Tyr), 2.76-2.67 (m, 2H, CH₂-exo), 2.00, 1.97, 1.95, 1.93 (4 x s, 12H, CH₃-Ac), 1.37, 1.36 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu).

¹³C-NMR [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 170.90, 170.58, 170.35, 169.62, 169.42 (COO*t*Bu, C=O-Ac), 155.01 (C=O-Boc), 135.55, 134.52 (C_{ipso}-Tyr), 128.93, 128.13 (C_{o,m}-Tyr), 81.91 (C_q-*t*Bu), 79.56 (C_q-Boc), 78.23 (C₁-Glc), 75.38 (C₅-Glc), 74.29 (C₃-Glc), 71.85 (C₂-Glc), 68.51 (C₄-Glc), 62.09 (C₆-Glc), 54.70 (C α -Tyr), 37.90 (C β -Tyr), 37.38 (CH₂-exo), 28.21, 27.86 (CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu), 21.90, 20.69, 20.54 (4 x CH₃-Ac).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin (**137**)**

(Fmoc-C-Tyr-[β -Ac₄Glc]-OH)



Abspaltung der Schutzgruppen der Aminosäure

103 mg (0.155 mmol) Boc-C-Tyr-[β -Ac₄Glc]-OtBu (**135**) werden bei Raumtemp. langsam mit 8 mL Trifluoressigsäure und 1 mL Wasser versetzt. Nach 3.5 Stunden gibt man 25 mL Toluol zu und entfernt Lösungsmittel und überschüssige Säure im Vakuum. Zum Entfernen letzter Reste an Trifluoressigsäure wird noch zweimal mit Toluol kodestilliert.

Anknüpfung der Fmoc-Gruppe

Das Rohprodukt wird in 20 mL Dichlormethan mit *N*-Ethyl-diisopropylamin auf einen pH-Wert von 9-9.5 eingestellt. Man gibt 64 mg (0.190 mmol, 1.2 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethylsuccinimidylcarbonat (Fmoc-OSu) hinzu und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Mit Essigsäure stellt man einen pH-Wert von 6 ein, fügt Kieselgel hinzu und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie an Kiesegel (Laufmittel: Dichlormethan/Ethanol/Essigsäure = 300 : 15 : 7.5 \rightarrow 200 : 2 : 5) gereinigt.

Ausbeute: 50 mg (0.068 mmol, 44% d. Th. über zwei Stufen)

Blassgelber amorpher Feststoff

$R_f = 0.39$ (Dichlormethan/Ethanol/Essigsäure = 20 : 1 : 0.5)

$[\alpha]_D^{23} = +10.1$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 754.23 ([M+Na]⁺, ber.: 754.25)

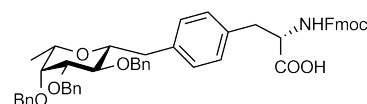
HR-ESI-MS (m/z): 754.2490 ([M+Na]⁺, ber.: 754.2476)

C₃₉H₄₁NO₁₃ (731.74)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.79-7.76 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.55 (d, 1H, ³*J* = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.49 (d, 1H, ³*J* = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.43-7.36 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.34-7.26 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.15-7.06 (m, 4H, H_{Ar}-Tyr), 5.32 (d, 1H, ³*J*_{NH,H α} = 8.2 Hz, NH-Tyr), 5.11 (t*, 1H, ³*J*_{H3,H2} = ³*J*_{H3,H4} = 9.3 Hz, H3-Glc), 5.00 (t*, 1H, ³*J*_{H4,H3} = ³*J*_{H4,H5} = 9.7 Hz, H4-Glc), 4.89 (t*, 1H, ³*J*_{H2,H1} = ³*J*_{H2,H3} = 9.5 Hz, H2-Glc), 4.71 (q*, 1H, ³*J*_{H α ,NH} = ³*J*_{H α ,H β} = 6.9 Hz, H α -Tyr), 4.43 (dd, 1H, ²*J* = 10.6 Hz, ³*J* = 7.0 Hz, CH_{2a}-Fmoc), 4.27 (dd, 1H, ²*J* = 10.4 Hz, ³*J* = 7.5 Hz, CH_{2b}-Fmoc), 4.20-4.11 (m, 2H, CH-Fmoc, H6a-Glc), 3.96 (dd, 1H, ²*J* = 12.1 Hz, ³*J* = 1.6 Hz, H6b-Glc), 3.50-3.43 (m, 1H, H1-Glc), 3.42-3.35 (m, 1H, H5-Glc), 3.21 (dd, 1H, ²*J* = 14.0 Hz, ³*J* = 5.3 Hz, H β -Tyr), 3.06 (dd, 1H, ²*J* = 14.0 Hz, ³*J* = 7.0 Hz, H β -Tyr), 2.78-2.67 (m, 2H, CH₂-exo), 2.02, 2.00, 1.99, 1.96 (4 x s, 12H, CH₃-Ac).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 175.31, 170.83, 170.46, 169.78, 169.53 (COOH, C=O-Ac), 155.74 (C=O-Fmoc), 143.68, 143.56 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.21 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 136.05, 133.84 (C_{ipso} -Tyr), 129.70, 129.19 ($C_{o,m}$ -Tyr), 127.74 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.04 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.14, 125.00 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.03 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 78.07 (C1-Glc), 75.30 (C5-Glc), 74.30 (C3-Glc), 71.91 (C2-Glc), 68.53 (C4-Glc), 67.08 (CH_2 -Fmoc), 62.13 (C6-Glc), 54.50 (C^α -Tyr), 47.00 (CH-Fmoc), 37.46 (C^β -Tyr), 37.39 (CH_2 -exo), 20.71, 20.63, 20.59 (4 x CH_3 -Ac).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -*L*-fucopyranosyl]-*L*-tyrosin (139)**
(Fmoc-*C*-Tyr-[β -Bn₃Fuc]-OH)



229 mg (0.275 mmol) Fmoc-*C*-Tyr-[β -Bn₃Fuc]-OMe (**128**) werden in 16 mL Tetrahydrofuran gelöst und auf 0 °C gekühlt. 1.93 mL 0.2M LiOH-Lösung (0.386 mmol, 1.4 Äquiv.) werden mit 6 mL Wasser verdünnt und über Nacht langsam zu der Substratlösung getropft. Da die Reaktion unvollständig ist, werden erneut 0.83 mL 0.2M LiOH-Lösung (0.166 mmol, 0.60 Äquiv.) mit 1.7 mL Wasser verdünnt und bis zum nächsten Tag langsam bei Raumtemp. zu der Substratlösung getropft. Da der Umsatz des Eduktes noch nicht vollständig ist, werden nochmals 2.0 mL 0.2M LiOH-Lösung (0.400 mmol, 1.5 Äquiv.) sowie 5 mL Methanol zugesetzt und weitere 4 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Dünnschichtchromatographisch lässt sich dann vollständiger Umsatz des Edukes feststellen. Um die teilweise abgespaltene Fmoc-Schutzgruppe wieder anzuknüpfen, werden zu der Reaktionsmischung, deren pH-Wert bei 8-9 liegt, 106 mg (0.314 mmol, 1.1 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (Fmoc-OSu) gegeben. Nach 30 Minuten stellt man den pH-Wert mit Essigsäure auf einen Wert von 5 ein, versetzt mit Kieselgel und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Den Rückstand reinigt man mittels Flashchromatographie an Kieselgel, wobei zunächst mit Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1 die Verunreinigungen entfernt werden bevor anschließend mit Cyclohexan/Essigsäureethylester/Essigsäure = 15 : 5 : 1 das Produkt eluiert wird.

Ausbeute: 185 mg (0.226 mmol, 82% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.13 (Cyclohexan/Essigsäureethylester/Essigsäure = 15 : 5 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +20.3$ (c = 1.0, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 840.35 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 840.35)

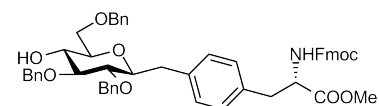
HR-ESI-MS (m/z): 840.3516 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 840.3512)

$\text{C}_{52}\text{H}_{51}\text{NO}_8$ (817.96)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.72-7.67 (m, 2H, H_{Ar} -Fmoc), 7.54-7.50 (m, 2H, H_{Ar} -Fmoc), 7.37-7.23 (m, 19H, H_{Ar} -Fmoc, H_{Ar} -Ph), 7.18-7.15 (m, 2H, H_{Ar} -Tyr), 7.06-7.12 (m, 2H, H_{Ar} -Tyr), 4.96 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH_2 -Bn), 4.93 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH_2 -Bn), 4.74-4.62 (m, 4H, CH_2 -Bn), 4.54 (m, 1H, H^α -Tyr), 4.38 (dd, 1H, $^2J = 10.4$ Hz, $^3J = 7.0$ Hz, CH_{2a} -Fmoc), 4.23 (dd, 1H, $^2J = 10.4$ Hz, $^3J = 7.0$ Hz, CH_{2b} -Fmoc), 4.11 (t, 1H, $^3J = 7.0$ Hz, CH-Fmoc), 3.70 (t, 1H, $^3J_{H_2,H_1} = ^3J_{H_2,H_3} = 9.4$ Hz, H2-Fuc), 3.62 (d, 1H, $^3J_{H_4,H_3} = 2.7$ Hz, H4-Fuc), 3.56 (dd, 1H, $^3J_{H_3,H_2} = 9.6$ Hz, $^3J_{H_3,H_4} = 2.7$ Hz, H3-Fuc), 3.33 (t_b, 1H, $^3J_{H_1,H_2} = ^3J_{H_1,H_{exo,b}} = 9.2$ Hz, H1-Fuc), 3.28 (m_c, 1H, H5-Fuc), 3.13 (dd, 1H, $^2J = 13.9$ Hz, $^3J = 5.2$ Hz, H_a^β -Tyr), 3.0 (d_b, 1H, $^2J = 14.3$ Hz, CH_{2a} -exo), 3.00 (dd, 1H, $^2J = 13.9$ Hz, $^3J = 6.8$ Hz, H_b^β -Tyr), 2.66 (dd, 1H, $^2J = 14.3$ Hz, $^3J = 9.4$ Hz, CH_{2b} -exo), 1.05 (d, 3H, $^3J = 6.3$ Hz, H6abc-Fuc).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 173.41 (COOH), 155.83 (C=O-Fmoc), 143.45, 143.38 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 140.87 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 138.08, 137.96, 137.93, 137.77 (C_{ipso} -Ph, C_{ipso} -Tyr), 133.46 (C_{ipso} -Tyr), 129.18, 128.72, 128.61, 128.10, 128.07, 128.04, 127.84, 127.76, 127.41, 127.33, 127.25, 126.69 ($\text{C}_{o,m}$ -Tyr, C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, $\text{C}_{o,m,p}$ -Ph), 124.77, 124.68 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.53 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 84.75 (C3-Fuc), 80.24 (C1-Fuc), 78.25 (C2-Fuc), 76.19 (C4-Fuc), 75.01, 74.35 (CH_2 -Bn), 73.67 (C5-Fuc), 71.94 (CH_2 -Bn), 66.45 (CH_2 -Fmoc), 54.50 (C^α -Tyr), 46.72 (CH-Fmoc), 37.07, 36.97 (C^β -Tyr, CH_2 -exo), 16.63 (C6-Fuc).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl- β -*D*-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (140)**
(Fmoc-*C*-Tyr-[β -Bn₃Glc]-OMe)



Man geht experimentell wie bei der Synthese von **33** vor.

Unter Schutzgas werden folgende drei Lösungen angesetzt:

A: 406 mg (0.480 mmol) Fmoc-*C*-Tyr-[β -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-OMe (**127**), 5 mL absol. Dichlormethan, 2.0 mL (12.5 mmol, 22.5 Äquiv.) Triethylsilan

B: 5 mL absol. Dichlormethan, 2.0 mL (12.5 mmol) Triethylsilan

C: 20 mL absol. Dichlormethan, 10 mL (130 mmol) Trifluoressigsäure (wasserfrei)

Zur Konditionierung werden mit Spritzenpumpen zunächst etwa jeweils 1.5 mL der Lösungen **B** und **C** mit einer Flussrate von 0.4 mL/min gefördert. Im Anschluss erfolgt die gleichzeitige Förderung der Lösungen **A** und **C**, bis Lösung **A** aufgebraucht ist (Flussrate: 0.4 mL/min). Dann wird erneut mit den Lösungen **B** und **C** nachgespült (Flussrate: 0.4 mL/min), bevor auf beiden Kanälen mit je 20 mL absol. Dichlormethan gespült wird (Flussrate: 0.4 mL/min \rightarrow 1.0 mL/min). Die neutralisierte Reaktionsmischung wird mit Wasser verdünnt und mit Essigsäure neutralisiert,

so dass sich überschüssiges NaHCO_3 auflöst. Man schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO_4 getrocknet und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1).

Ausbeute: 337 mg (0.397 mmol, 83% d. Th.)

Farbloses hochviskoses Öl

$R_f = 0.18$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +7.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 870.37 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 870.37)

HR-ESI-MS (m/z): 870.3600 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 870.3618)

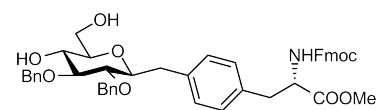
$\text{C}_{53}\text{H}_{53}\text{NO}_9$ (847.99)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.80 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.61 (d, 1H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.58 (d, 1H, $^3J = 7.4$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.47-7.29 (m, 19 H, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.23 (d, 2H, $^3J = 7.8$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Tyr}$), 7.03 (d, 2H, $^3J = 7.8$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Tyr}$), 5.35 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}\alpha} = 8.3$ Hz, NH-Tyr), 4.99 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.96 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.92 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.71 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.56 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.51 (d, 1H, $^2J = 12.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.46 (dd, 1H, $^2J = 10.7$ Hz, $^3J = 7.3$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{-Fmoc}$), 4.37 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 7.1$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-Fmoc}$), 4.24 (t, 1H, $^3J = 7.1$ Hz, CH-Fmoc), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.74-3.66 (m, 3H, $\text{H}_4\text{-Glc}$ {3.70}, $\text{H}_{6ab}\text{-Glc}$ {3.68}), 3.60 (t^* , 1H, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = ^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 8.8$ Hz, $\text{H}_3\text{-Glc}$), 3.51 (t_b^* , 1H, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = ^3J_{\text{H}_1,\text{H}_{\text{exo},b}} = 9.2$ Hz, $\text{H}_1\text{-Glc}$), 3.34 (m_c , 2H, $\text{H}_2\text{-Glc}$, $\text{H}_5\text{-Glc}$), 3.20-3.05 (m, 3H, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$ {3.16}, $\text{H}_a^\beta\text{-Tyr}$ {3.12}, $\text{H}_b^\beta\text{-Tyr}$ {3.10}), 2.77 (s, 4-OH-Glc), 2.69 (dd, 1H, $^2J = 14.0$ Hz, $^3J = 8.7$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 171.95 (COOMe), 155.48 (C=O-Fmoc), 143.74, 143.66 ($\text{C}_{1a}\text{-Fmoc}$, $\text{C}_{8a}\text{-Fmoc}$), 141.20 ($\text{C}_{4a}\text{-Fmoc}$, $\text{C}_{5a}\text{-Fmoc}$), 138.59, 138.08, 137.86 ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{-Ph}$), 137.61, 133.34 ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{-Tyr}$), 129.75, 128.95 ($\text{C}_{o,m}\text{-Tyr}$), 128.47, 128.43, 128.30, 127.83, 127.79, 127.72, 127.63, 127.55, 126.98 ($\text{C}_3\text{-Fmoc}$, $\text{C}_6\text{-Fmoc}$, $\text{C}_2\text{-Fmoc}$, $\text{C}_7\text{-Fmoc}$, $\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 125.06, 124.99 ($\text{C}_1\text{-Fmoc}$, $\text{C}_8\text{-Fmoc}$), 119.91 ($\text{C}_4\text{-Fmoc}$, $\text{C}_5\text{-Fmoc}$), 86.76 ($\text{C}_3\text{-Glc}$), 81.24 ($\text{C}_2\text{-Glc}$), 79.85 ($\text{C}_1\text{-Glc}$), 77.58 ($\text{C}_5\text{-Glc}$), 75.20, 75.00, 73.48 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 72.73 ($\text{C}_4\text{-Glc}$), 70.43 ($\text{C}_6\text{-Glc}$), 66.88 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 54.68 ($\text{C}^\alpha\text{-Tyr}$), 52.25 (OCH_3), 37.72 ($\text{C}^\beta\text{-Tyr}$), 37.39 ($\text{CH}_2\text{-exo}$).

Nebenprodukt, wenn nicht ausreichend wasserfrei gearbeitet wird:

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3-di-*O*-benzyl-
β-*D*-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (141)
(Fmoc-*C*-Tyr-[β-Bn₂Glc]-OMe)**



Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.10$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.26$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 2)

$[\alpha]_D^{23} = +10.3$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

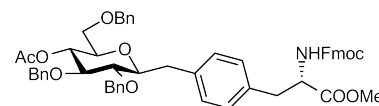
ESI-MS (m/z): 780.36 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 780.31)

$\text{C}_{46}\text{H}_{47}\text{NO}_9$ (757.87)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.82 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.64 (d, 1H, $^3J = 7.4$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.61 (d, 1H, $^3J = 7.4$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.48-7.32 (m, 14H, H_{Ar} -Fmoc, H_{Ar} -Ph), 7.20 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -Tyr), 7.07 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -Tyr), 5.49 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}^\alpha} = 8.4$ Hz, NH-Tyr), 5.02-4.97 (m, 2H, CH_2 -Bn), 4.90 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH_2 -Bn), 4.764.69 (m, 2H, H^α -Tyr {4.71}, CH_2 -Bn), 4.48 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 7.3$ Hz, CH_{2a} -Fmoc), 4.39 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 7.0$ Hz, CH_{2b} -Fmoc), 4.26 (t, 1H, $^3J = 7.0$ Hz, CH-Fmoc), 3.84-3.66 (m, 5H, H6a-Glc {3.78}, OCH_3 {3.75}, H6b-Glc {3.68}), 3.64-3.57 (m, 2H, H4-Glc {3.59}, H3-Glc {3.59}), 3.53 (dt*, 1H, $^3J_{\text{H}1,\text{H}2} = ^3J_{\text{H}1,\text{H}_{\text{exo},b}} = 9.3$ Hz, $^3J_{\text{H}1,\text{H}_{\text{exo},a}} = 1.7$ Hz, H1-Glc), 3.33 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}2,\text{H}1} = ^3J_{\text{H}2,\text{H}3} = 8.9$ Hz, H2-Glc), 3.23-3.14 (m, 2H, CH_{2a} -exo {3.17}, H_a^β -Tyr {3.14}), 3.09 (dd, 1H, $^2J = 13.9$ Hz, $^3J = 6.2$ Hz, H_b^β -Tyr), 2.96 (s, 4-OH-Glc), 2.66 (dd, 1H, $^2J = 14.3$ Hz, $^3J = 9.3$ Hz, CH_{2b} -exo), 2.28 (s_b , 1H, 6-OH-Glc).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 171.95 (COOMe), 155.49 ($\text{C}=\text{O}$ -Fmoc), 143.72, 143.62 ($\text{C}1a$ -Fmoc, $\text{C}8a$ -Fmoc), 141.15 ($\text{C}4a$ -Fmoc, $\text{C}5a$ -Fmoc), 138.42, 137.90 (C_{ipso} -Ph), 137.31, 133.49 (C_{ipso} -Tyr), 129.46, 129.01 ($\text{C}_{o,m}$ -Tyr), 128.48, 128.45, 128.40, 127.79, 127.77, 127.72, 127.59, 126.93 ($\text{C}3$ -Fmoc, $\text{C}6$ -Fmoc, $\text{C}2$ -Fmoc, $\text{C}7$ -Fmoc, $\text{C}_{o,m,p}$ -Ph), 125.02, 124.97 ($\text{C}1$ -Fmoc, $\text{C}8$ -Fmoc), 119.86 ($\text{C}4$ -Fmoc, $\text{C}5$ -Fmoc), 86.66 ($\text{C}3$ -Glc), 81.61 ($\text{C}2$ -Glc), 79.51 ($\text{C}1$ -Glc), 78.59 ($\text{C}5$ -Glc), 75.15, 74.95 (CH_2 -Bn), 71.18 ($\text{C}4$ -Glc), 66.83 (CH_2 -Fmoc), 62.54 ($\text{C}6$ -Glc), 54.70 (C^α -Tyr), 52.24 (OCH_3), 46.97 (CH-Fmoc), 37.72 (C^β -Tyr), 37.40 (CH_2 -exo).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[4-*O*-acetyl-2,3,6-tri-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (**142**)**
(Fmoc-*C*-Tyr-[β -AcBn₃Glc]-OMe)



120 mg (0.142 mmol) Fmoc-*C*-Tyr-[β -Bn₃Glc]-OMe (**140**) werden in 6 mL Pyridin gelöst und mit 3 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Man rührt über Nacht bei Raumtemperatur, entfernt die überschüssigen Reagenzien i. Vak. und im Hochvakuum, bevor mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1) gereinigt wird.

Ausbeute: 119 mg (0.134 mmol, 94% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.27$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +8.9$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 890.46 ($[M+H]^+$, ber.: 890.39)

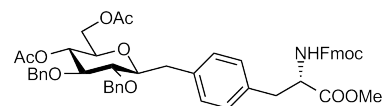
C₅₅H₅₅NO₁₀ (890.03)

¹H-NMR [**¹H¹H-COSY**] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.79 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.60 (d, 1H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.57 (d, 1H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.46-7.24 (m, 19H, H_{Ar}-Fmoc, H_{Ar}-Ph), 7.23 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar}-Tyr), 7.02 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar}-Tyr), 5.31 (d, 1H, $^3J_{NH,H\alpha} = 7.3$ Hz, NH-Tyr), 5.04 (t*, 1H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H4,H5} = 9.4$ Hz, H4-Glc), 4.93 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.85 (d, 1H, $^2J = 11.3$ Hz, CH₂-Bn), 4.74-4.64 (m, 3H, CH₂-Bn {4.72}, H ^{α} -Tyr {4.69}, CH₂-Bn {4.67}), 4.50-4.38 (m, 3H, CH₂-Bn, CH_{2a}-Fmoc), 4.36 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 7.1$ Hz, CH_{2b}-Fmoc), 4.22 (t, 1H, $^3J = 7.1$ Hz, CH-Fmoc), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.71 (t*, 1H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 9.1$ Hz, H3-Glc), 3.56-3.35 (m, 5H, H1-Glc {3.51}, H6ab-Glc {3.49}, H5-Glc {3.43}, H2-Glc {3.38}), 3.21-3.01 (m, 3H, CH_{2a}-exo {3.15}, H ^{α} -Tyr {3.11}, H ^{β} -Tyr {3.08}), 2.70 (dd, 1H, $^2J = 14.4$ Hz, $^3J = 8.9$ Hz, CH_{2b}-exo), 1.87 (s, 3H, CH₃-Ac).

¹³C-NMR [**BB, HSQC**] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 171.95, 169.81 (C=O-Ac, COOMe), 155.50 (C=O-Fmoc), 143.76, 143.70 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.22 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 138.14, 138.00, 137.92, 137.41 (C_{ipso}-Ph, C_{ipso}-Tyr), 133.46 (C_{ipso}-Tyr), 129.76, 129.02 (C_{o,m}-Tyr), 128.47, 128.40, 128.20, 127.91, 127.88, 127.72, 127.68, 127.65, 127.49, 127.00 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, C_{o,m,p}-Ph), 125.09, 125.02 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.92 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 84.71 (C3-Glc), 81.39 (C2-Glc), 79.87 (C1-Glc), 77.34 (C5-Glc), 75.21, 75.10, 73.41 (CH₂-Bn), 71.47 (C4-Glc), 69.68 (C6-Glc), 66.89 (CH₂-Fmoc), 54.69 (C ^{α} -Tyr), 52.28 (OCH₃), 47.06 (CH-Fmoc), 37.74 (C ^{β} -Tyr), 37.27 (CH₂-exo), 20.83 (CH₃-Ac).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[4,6-di-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (**143**)**

(Fmoc-C-Tyr-[β -Ac₂Bn₂Glc]-OMe)



220 mg (0.290 mmol) Fmoc-C-Tyr-[β -Bn₂Glc]-OMe (**141**) werden in 4 mL Pyridin mit 2 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Man rührt 2.5 Stunden bei Raumtemperatur, entfernt überschüssige Reagenzien i. Vak. und kodestilliert den Rückstand zweimal mit Toluol. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1 \rightarrow 3 : 2) gereinigt. Man erhält das Reinprodukt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 242 mg (0.287 mmol, 99% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.44$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$R_f = 0.28$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 2)

$R_f = 0.12$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +7.1$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 864.39 ([M+Na]⁺, ber.: 864.34)

ESI-MS (m/z): 864.3354 ([M+Na]⁺, ber.: 864.3360)

C₅₀H₅₁NO₁₁ (841.94)

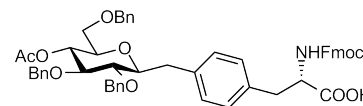
¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.79 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.61 (d, 1H, ³J = 7.4 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.56 (d, 1H, ³J = 7.4 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.46-7.29 (m, 14H, H_{Ar}-Fmoc, H_{Ar}-Ph), 7.21 (d, 2H, ³J = 7.9 Hz, H_{Ar}-Tyr), 7.05 (d, 2H, ³J = 7.9 Hz, H_{Ar}-Tyr), 5.38 (d, 1H, ³J_{NH,H α} = 8.4 Hz, NH-Tyr), 5.05 (t*, 1H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.7 Hz, H4-Glc), 4.93 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.86 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂-Bn), 4.72 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂-Bn), 4.71 (m_c, 1H, H α -Tyr), 4.68 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂-Bn), 4.47 (dd, 1H, ³J = 7.1 Hz, ²J = 10.5 Hz, CH_{2a}-Fmoc), 4.34 (dd, 1H, ³J = 7.2 Hz, ²J = 10.6 Hz, CH_{2b}-Fmoc), 4.26-4.19 (m, 2H, H6a-Glc {4.23}, CH-Fmoc {4.21}), 3.97 (dd, 1H, ²J = 12.1 Hz, ³J = 2.3 Hz, H6b-Glc), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.68 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 9.0 Hz, H3-Glc), 3.46-3.34 (m, 3H, H1-Glc {3.41}, H2-Glc {3.38}, H5-Glc {3.36}), 3.18 (dd, 1H, ²J = 13.9 Hz, ³J = 5.5 Hz, H_a ^{β} -Tyr), 3.13-3.05 (m, 2H, CH_{2a}-exo {3.11}, H_b ^{β} -Tyr {3.08}), 2.68 (dd, 1H, ²J = 14.3 Hz, ³J = 8.3 Hz, CH_{2b}-exo), 2.04 (s, 3H, CH₃-Ac), 1.96 (s, 3H, CH₃-Ac).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 171.90, 170.59, 169.63 (C=O-Ac, COOMe), 155.44 (C=O-Fmoc), 143.67 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.15 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 137.99, 137.82, 137.24 (C_{ipso}-Ph, C_{ipso}-Tyr), 133.49 (C_{ipso}-Tyr), 129.74, 128.91 (C_{o,m}-Tyr), 128.42, 128.37, 127.83, 127.68, 127.65, 127.60, 126.95 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, C_{o,m,p}-

Ph), 125.06, 124.95 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.87 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 84.46 (C3-Glc), 81.28 (C2-Glc), 79.87 (C1-Glc), 75.45 (C5-Glc), 75.20, 75.06 (CH₂-Bn), 70.48 (C4-Glc), 66.82 (CH₂-Fmoc), 62.54 (C6-Glc), 54.63 (C^α-Tyr), 52.22 (OCH₃), 46.99 (CH-Fmoc), 37.70 (C^β-Tyr), 37.04 (CH₂-exo), 20.71, 20.65 (CH₃-Ac).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[4-*O*-acetyl-2,3,6-tri-*O*-benzyl-β-*D*-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin (144)**

(Fmoc-*C*-Tyr-[β-AcBn₃Glc]-OH)



119 mg (0.134 mmol) Fmoc-*C*-Tyr-[β-AcBn₃Glc]-OMe (**142**) werden in 10 mL Tetrahydrofuran auf 0 °C gekühlt. 0.67 mL 0.2M LiOH-Lösung (0.134 mmol, 1.0 Äquiv.) werden mit 4 mL Wasser verdünnt und innerhalb von 2 Stunden langsam zu der Substratlösung getropft. Da die Reaktion unvollständig ist, werden anschließend erneut insgesamt 1.3 mL 0.2M LiOH-Lösung (0.260 mmol, 1.9 Äquiv.) in drei Portionen über 4.5 Stunden verteilt zugegeben. Nach 5 Stunden Reaktionsdauer wird mit 2N Salzsäure ein pH-Wert von 3-4 eingestellt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird mit Toluol kodestilliert und die verbleibende Substanz mit 10 mL Dichlormethan versetzt. Unter Rühren werden nun 35 mg (0.104 mmol, 0.77 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (Fmoc-OSu) zugegeben und mit *N*-Ethyl-diisopropylamin ein pH-Wert von 9 eingestellt. Man rührt 3 Stunden bei Raumtemperatur, neutralisiert dann durch Zugabe von Essigsäure, versetzt mit Kieselgel und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt, wobei zunächst mit Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1 die Verunreinigungen abgetrennt werden, bevor mit der Mischung Cyclohexan/Essigsäureethylester/Essigsäure = 10 : 10 : 0.5 das Produkt eluiert wird.

Ausbeute: 95 mg (0.108 mmol, 81% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.06$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester/Essigsäure = 15 : 5 : 0.5)

$R_f = 0.28$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester/Essigsäure = 10 : 10 : 0.5)

$[\alpha]_D^{23} = +2.2$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 898.33 ([M+Na]⁺, ber.: 898.36)

C₅₄H₅₃NO₁₀ (876.00)

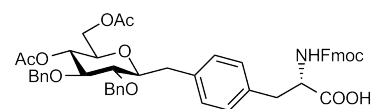
¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.78 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.58 (d, 1H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.54 (d, 1H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.45-7.20 (m, 21H, H_{Ar}-Fmoc, H_{Ar}-Ph, H_{Ar}-Tyr), 7.11 (d, 2H, ³J = 7.7 Hz, H_{Ar}-Tyr), 5.43 (d_b, 1H, ³J_{NH,H^α} = 7.3 Hz, NH-Tyr), 5.05 (t*, 1H, ³J_{H⁴,H³} = ³J_{H⁴,H⁵} = 9.5 Hz, H⁴-Glc), 4.93 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.86 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂-Bn), 4.76-4.63 (m, 3H, CH₂-Bn {4.72}, H^α-Tyr {4.68}, CH₂-Bn

{4.67}), 4.49-4.37 (m, 3H, CH₂-Bn, CH_{2a}-Fmoc), 4.32 (m_c, 1H, CH_{2b}-Fmoc), 4.20 (t, 1H, ³J = 6.8 Hz, CH-Fmoc), 3.70 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 9.0 Hz, H3-Glc), 3.55-3.35 (m, 5H, H1-Glc {3.49}, H6ab-Glc {3.47}, H5-Glc {3.39}, H2-Glc {3.38}), 3.23 (dd, 1H, ²J = 13.7 Hz, ³J = 4.5 Hz, H_a^β-Tyr), 3.15 (d_b, 1H, ²J = 14.0 Hz, CH_{2a}-exo), 3.07 (dd, 1H, ²J = 14.0 Hz, ³J = 6.9 Hz, H_b^β-Tyr), 2.68 (dd, 1H, ²J = 14.3 Hz, ³J = 9.0 Hz, CH_{2b}-exo), 1.88 (s, 3H, CH₃-Ac).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 175.40 (COOH), 169.91 (C=O-Ac), 155.76 (C=O-Fmoc), 143.65 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.16 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 138.09, 137.86, 137.81, 137.33 (C_{ipso}-Ph, C_{ipso}-Tyr), 133.68 (C_{ipso}-Tyr), 129.71, 129.08 (C_{o,m}-Tyr), 128.43, 128.38, 128.19, 127.89, 127.86, 127.71, 127.67, 127.63, 127.52, 126.99 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, C_{o,m,p}-Ph), 125.10, 125.00 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.88 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 84.61 (C3-Glc), 81.43 (C2-Glc), 79.86 (C1-Glc), 77.20 (C5-Glc), 75.16, 75.06, 73.32 (CH₂-Bn), 71.39 (C4-Glc), 69.51 (C6-Glc), 66.97 (CH₂-Fmoc), 54.78 (C^α-Tyr), 46.96 (CH-Fmoc), 37.27 (C^β-Tyr, CH₂-exo), 20.78 (CH₃-Ac).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[4,6-di-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzyl-β-*D*-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin (145)**

(Fmoc-*C*-Tyr-[β-Ac₂Bn₂Glc]-OH)



240 mg (0.285 mmol) Fmoc-*C*-Tyr-[β-Ac₂Bn₂Glc]-OMe (**143**) werden in 10 mL Tetrahydrofuran auf 0 °C gekühlt. Binnen 9 Stunden tropft man insgesamt 2.85 mL 0.2M LiOH-Lösung (0.570 mmol, 2.0 Äquiv.) zu und rührt anschließend 14 Stunden unter langsamer Erwärmung auf Raumtemp. weiter. Mit wenigen Tropfen 2N Salzsäure wird ein pH-Wert von 6 eingestellt und direkt danach 1 mL ges. NaHCO₃-Lösung zugesetzt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und mit Toluol kodestilliert. Der Rückstand wird mit 10 mL Dichlormethan versetzt, 96 mg (0.285 mmol, 1.0 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (Fmoc-OSu) zugegeben und mit einer Lösung von *N*-Ethyl-diisopropylamin in Dichlormethan ein pH-Wert von 9 eingestellt. Dieser wird über 8 Stunden hinweg immer wieder kontrolliert und durch Zugabe der *N*-Ethyl-diisopropylamin-Lösung nachjustiert. Nach erfolgter Reaktion wird mit wenigen Tropfen Essigsäure ein pH-Wert von 4.5 eingestellt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel. Dabei werden die unpolaren Verunreinigungen mit Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1 abgetrennt, bevor das Produkt mit Cyclohexan/Essigsäureethylester/Essigsäure = 10 : 10 : 0.5 eluiert wird. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und zweimal mit Toluol kodestilliert. Man nimmt das erhaltene Produkt in Dichlormethan auf, filtriert durch einen Spritzenfilter und entfernt das Lösungsmittel erneut i. Vak. und im Hochvakuum.

Ausbeute: 119 mg (0.144 mmol, 50% d. Th. über zwei Stufen)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.23$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester/Essigsäure = 10 : 10 : 0.5)

$[\alpha]_D^{23} = +9.4$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 850.43 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 850.32)

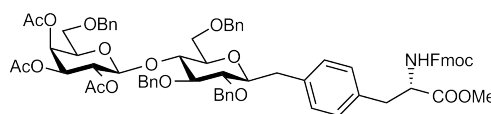
$\text{C}_{49}\text{H}_{49}\text{NO}_{11}$ (827.91)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.78 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.59 (d, 1H, $^3J = 7.4$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.53 (d, 1H, $^3J = 7.4$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.46-7.29 (m, 14H, H_{Ar} -Fmoc, H_{Ar} -Ph), 7.21 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -Tyr), 7.13 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -Tyr), 5.45 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}^\alpha} = 8.0$ Hz, NH-Tyr), 5.05 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = ^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = 9.7$ Hz, H4-Glc), 4.99-4.90 (m, 2H, CH_2 -Bn), 4.86 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH_2 -Bn), 4.78-4.64 (m, 2H, CH_2 -Bn, H^α -Tyr), 4.47-4.39 (m, 1H, CH_2 -Fmoc), 4.36-4.28 (m, 1H, CH_2 -Fmoc), 4.24-4.12 (m, 2H, CH-Fmoc, H6a-Glc), 3.97 (d_b, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, H6b-Glc), 3.66 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = ^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 8.6$ Hz, H3-Glc), 3.43-3.21 (m, 3H, H1-Glc, H2-Glc, H5-Glc), 3.14-3.03 (m, 3H, 2 x H^β -Tyr, CH_2 -exo), 2.66 (dd, 1H, $^2J = 13.4$ Hz, $^3J = 7.5$ Hz, CH_2 -exo), 2.04 (s, 3H, CH_3 -Ac), 1.96 (s, 3H, CH_3 -Ac).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 170.98, 169.81 (C=O-Ac), 155.78 (C=O-Fmoc), 143.65, 143.59 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.15 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 137.97, 137.78, 137.25 (C_{ipso} -Ph, C_{ipso} -Tyr), 133.58 (C_{ipso} -Tyr), 129.78, 128.54 ($\text{C}_{o,m}$ -Tyr), 128.45, 128.40, 127.94, 127.89, 127.83, 127.70, 127.64, 127.00 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, $\text{C}_{o,m,p}$ -Ph), 125.12, 124.99 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.89 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 84.40 (C3-Glc), 81.38 (C2-Glc), 79.88 (C1-Glc), 75.39 (C5-Glc), 75.22, 75.11 (CH_2 -Bn), 70.51 (C4-Glc), 66.98 (CH_2 -Fmoc), 62.60 (C6-Glc), 54.60 (C^α -Tyr), 46.95 (CH-Fmoc), 37.33 (C^β -Tyr), 37.08 (CH_2 -exo), 20.71, 20.67 (CH_3 -Ac).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- β -*D*-galactopyranosyl)- β -*D*-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (146)**

(Fmoc-Tyr-C-[β Ac₃Bn₄Lac]-OMe)



1.3 g Molekularsieb (3 Å) werden in einem Schlenkkolben i. Hochvak. ausgeheizt und immer wieder mit Argon belüftet. In einem anderen Kolben werden 337 mg (0.397 mmol) Fmoc-C-Tyr-[β -Bn₃Glc]-OMe (**140**) und 301 mg (0.596 mmol, 1.5 Äquiv.) α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**23**) in absol. Dichlormethan gelöst, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und die Mischung 30 Minuten i. Hochvak. getrocknet. Dann belüftet man mit Argon, löst die Kohlenhydratmischung in 20 mL absol. Dichlormethan und überführt diese in den Kolben mit dem frisch ausgeheizten Molekularsieb.

Der Ansatz wird 30 Minuten bei Raumtemp. unter Schutzgas gerührt und anschließend auf $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt. Zu der klaren Lösung gibt man tropfenweise 0.2 mL einer Lösung von 0.05 mL Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in 0.95 mL absol. Dichlormethan. Nach 10 Minuten ist die Reaktionsmischung trüb und dünnschichtchromatographisch lässt sich kein Trichloracetimidat mehr erkennen. Um letzte Reste an unumgesetzten Fmoc-C-Tyr- $[\beta\text{-Bn}_3\text{Glc}]\text{-OMe}$ (**140**) in das Produkt zu überführen, wird die Reaktionsmischung aus dem Kühlbad herausgenommen und gerührt bis diese wieder klar ist. Man versetzt an diesem Punkt mit 100 mg (0.198 mmol, 0.50 Äquiv.) $\alpha,\beta\text{-6-Bn-Ac}_3\text{Gal-OC(NH)CCl}_3$ (**23**) und tropft direkt 0.1 mL der TMSOTf-Lösung in Dichlormethan zu. Man stellt den Kolben wieder in das Kühlbad und rührt weitere 15 Minuten bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Anschließend wird der Kolben aus dem Kältebad genommen und 100 mL ges. NaHCO_3 -Lösung zugefügt. Man schüttelt aus, trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Extrakte werden über MgSO_4 getrocknet, Kieselgel zugesetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 407 mg (0.332 mmol, 84% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.21$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 2)

$[\alpha]_D^{23} = -1.3$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 1248.51 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1248.49)

HR-ESI-MS (m/z): 1248.4933 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1248.4933)

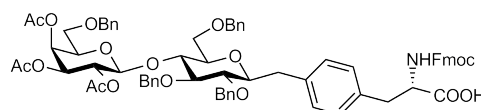
$\text{C}_{72}\text{H}_{75}\text{NO}_{17}$ (1226.36)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.76 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.56 (t, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.43-7.27 (m, 20H, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.24-7.13 (m, 6H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$, $\text{H}_{Ar}\text{-Tyr}$), 6.98 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Tyr}$), 5.40 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 3.5$ Hz, H4-Gal), 5.24 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}^\alpha} = 8.3$ Hz, NH-Tyr), 5.11-5.05 (m, 2H, H2-Gal {5.09}, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.97 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.84 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.4$ Hz, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 3.5$ Hz, H3-Gal), 4.71-4.60 (m, 4H, 3 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$ {4.69, 4.68, 4.63}, $\text{H}^\alpha\text{-Tyr}$ {4.66}), 4.56 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 8.0$ Hz, H1-Gal), 4.49-4.31 (m, 4H, 2 x $\text{CH}_2\text{-Fmoc}$ {4.42-4.34}, 2 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$ {4.47-4.40}), 4.24-4.14 (m, 2H, CH-Fmoc, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 3.97 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = ^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = 9.5$ Hz, H4-Glc), 3.73 (s, 3H, OCH_3), 3.69-3.54 (m, 4H, H5-Gal {3.58}, H3-Glc {3.59}, H6a-Glc {3.64}, H6b-Glc {3.62}), 3.39 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = ^3J_{\text{H}_1,\text{H}_{exo,b}} = 8.5$ Hz, H1-Glc), 3.31-3.21 (m, 3H, H6a-Gal {3.27}, H2-Glc {3.27}, H6b-Gal {3.23}), 3.18 (m_c, 1H, H5-Glc), 3.11-3.01 (m, 3H, 2 x $\text{H}^\beta\text{-Tyr}$ {3.08}, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$ {3.08}), 2.65 (dd, 1H, $^2J = 14.3$ Hz, $^3J = 8.9$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$), 1.99, 1.96, 1.93 (3 x s, 9H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 171.99, 170.09, 170.03, 169.27 (C=O-Ac, COOMe), 155.54 (C=O-Fmoc), 143.82, 143.70 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.28 (C4a-Fmoc,

C5a-Fmoc), 139.04, 138.33, 137.79, 137.89 (C_{ipso} -Ph), 137.76, 133.36 (C_{ipso} -Tyr), 129.86, 129.02 ($C_{o,m}$ -Tyr), 128.51, 128.46, 128.40, 128.02, 127.97, 127.90, 127.78, 127.73, 127.31, 127.05 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, $C_{o,m,p}$ -Ph), 125.09, 125.07 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.00 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.00 (C1-Gal), 85.15 (C3-Glc), 81.09 (C2-Glc), 80.19 (C1-Glc), 78.74 (C5-Glc), 76.50 (C4-Glc), 75.25, 75.15, 73.52, 73.29 (CH_2 -Bn), 71.72 (C5-Gal), 71.25 (C3-Gal), 69.76 (C2-Gal), 67.79 (C6-Glc), 67.33 (C4-Gal), 66.99 (CH_2 -Fmoc), 66.47 (C6-Gal), 54.75 (C^α -Tyr), 52.35 (OCH₃), 47.11 (CH-Fmoc), 37.79 (C^β -Tyr), 37.51 (CH_2 -exo), 20.76, 20.63, 20.61 (CH_3 -Ac).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin (147)**
(Fmoc-Tyr-C-[β Ac₃Bn₄Lac]-OH)



205 mg (0.167 mmol) Fmoc-Tyr-C-[β Ac₃Bn₄Lac]-OMe (**146**) werden in 10 mL Tetrahydrofuran gelöst und auf 0 °C gekühlt. Über 5 Stunden gibt man portionsweise insgesamt 4.5 mL 0.2M LiOH-Lösung (0.900 mmol, 5.4 Äquiv.) in 5 Portionen hinzu. Danach stellt man mit 2N Salzsäure einen pH-Wert von 7 ein, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und kdestilliert den Rückstand mit Toluol. Nach Zugabe von 10 mL Dichlormethan versetzt man mit 56 mg (0.166 mmol, 1.0 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (Fmoc-OSu) und stellt mit *N*-Ethyl-diisopropylamin den pH-Wert auf 9 ein. Nach 2 Stunden neutralisiert man mit Essigsäure, versetzt mit Kieselgel und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt. Dabei trennt man mit Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1 die Verunreinigungen ab, bevor mit der Mischung Cyclohexan/Essigsäureethylester/Essigsäure = 10 : 10 : 0.5 das Produkt eluiert wird.

Ausbeute: 52 mg (42.9 μ mol, 26% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.18$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester/Essigsäure = 10 : 10 : 0.5)

$[\alpha]_D^{23} = +3.0$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

C₇₁H₇₃NO₁₁ (1212.34)

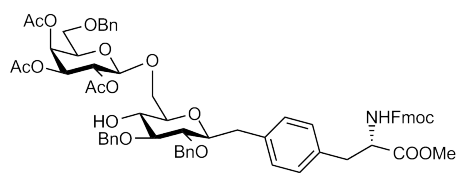
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.76 (d, 2H, ³*J* = 7.4 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.59-7.52 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.45-7.22 (m, 24H, H_{Ar}-Fmoc, H_{Ar}-Ph), 7.20 (d, 2H, ³*J* = 7.4 Hz, H_{Ar}-Tyr), 7.07 (d, 2H, ³*J* = 7.4 Hz, H_{Ar}-Tyr), 5.42 (d, 1H, ³*J*_{H4,H3} = 3.3 Hz, H4-Gal), 5.14-5.07 (m, 2H, H2-Gal, CH_2 -Bn), 4.98 (d, 1H, ²*J* = 11.0 Hz, CH_2 -Bn), 4.86 (dd, 1H, ³*J*_{H3,H2} = 10.3 Hz, ³*J*_{H3,H4} = 3.4 Hz, H3-Gal), 4.73-4.60 (m, 3H, CH_2 -Bn, H ^{α} -Tyr), 4.57 (d, 1H, ³*J*_{H1,H2} = 8.0 Hz, H1-Gal), 4.51-

4.31 (m, 5H, CH₂-Fmoc, CH₂-Bn), 4.24-4.16 (m, 2H, CH-Fmoc, CH₂-Bn), 3.97 (t*, 1H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.5 Hz, H4-Glc), 3.70-3.55 (m, 4H, H6a-Glc, H6b-Glc, H5-Gal, H3-Glc), 3.41 (t*, 1H, ³J_{H1,H2} = ³J_{H1,H_{exo,b}} = 8.7 Hz, H1-Glc), 3.35-3.24 (m, 3H, H2-Glc, H6ab-Gal), 3.23-3.15 (m, 2H, H5-Glc, CH_{2a}-exo), 3.13-3.02 (m, 2H, 2 x H^β-Tyr), 2.66 (dd, 1H, ²J = 14.0 Hz, ³J = 8.8 Hz, CH_{2b}-exo), 2.01, 1.99, 1.94 (3 x s, 9H, CH₃-Ac).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 170.14, 170.06, 169.28 (C=O-Ac, COOH), 155.77 (C=O-Fmoc), 143.73, 143.62 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.22 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 138.91, 138.26, 137.77, 137.68 (C_{ipso}-Ph), 137.64, 133.95 (C_{ipso}-Tyr), 129.83, 129.06 (C_{o,m}-Tyr), 128.50, 128.41, 128.37, 127.98, 127.92, 127.90, 127.86, 127.85, 127.72, 127.70, 127.31, 127.02 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, C_{o,m,p}-Ph), 125.06, 125.02 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.96 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 99.95 (C1-Gal), 85.08 (C3-Gal), 80.99 (C2-Glc), 80.11 (C1-Glc), 78.62 (C5-Glc), 76.46 (C4-Glc), 75.25, 75.08, 73.46, 73.25 (CH₂-Bn), 71.67 (C5-Gal), 71.21 (C3-Glc), 69.83 (C2-Gal), 67.33 (C6-Glc), 67.03 (C4-Gal), 66.47 (CH₂-Fmoc, C6-Gal), 53.40 (C^α-Tyr), 47.02 (CH-Fmoc), 37.61, 37.45 (C^β-Tyr, CH₂-exo), 20.59, 20.57 (3 x CH₃-Ac).

N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-C-[2,3-di-O-benzyl-6-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl]-L-tyrosin-methylester (148)

(Fmoc-Tyr-C-[β-6-(β-6-Bn-Ac₃Gal)-Bn₂Glc]-OMe)



In einem Kolben werden 209 mg (0.276 mmol) Fmoc-C-Tyr-[β-Bn₂Glc]-OMe (**141**) und 205 mg (0.406 mmol, 1.5 Äquiv.) α,β-6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**23**) in absol. Dichlormethan gelöst, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und die Mischung 30 Minuten i. Hochvak. getrocknet. Dann belüftet man mit Argon, löst die Kohlenhydratmischung in 20 mL absol. Dichlormethan und gibt 4.4 g frisch ausgeheiztes Molekularsieb (4 Å) zu. Man rührt 2 Stunden unter Argon bei Raumtemp. bevor auf -25 °C gekühlt wird. Man gibt 2 Tropfen Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zu, versetzt nach 30 Minuten mit 100 mL ges. NaHCO₃-Lösung und lässt auf Raumtemp. erwärmen. Man trennt die organische Phase ab, extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. reinigt man mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1 → 1 : 1).

Ausbeute: 90 mg (max. 0.079 mmol), leicht verunreinigt

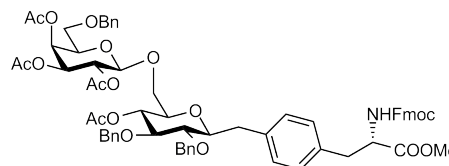
Blassgelber amorpher Feststoff

R_f = 0.29 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1)

C₆₅H₆₉NO₁₇ (1136.24)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.74 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.55 (d, 1H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.52 (d, 1H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.41-7.21 (m, 19H, H_{Ar} -Fmoc, H_{Ar} -Ph), 7.13 (d, 2H, $^3J = 7.8$ Hz, H_{Ar} -Tyr), 7.01 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -Tyr), 5.39 (d, 1H, $^3J_{H4,H3} = 3.1$ Hz, H4-Gal), 5.31 (d, 1H, $^3J_{NH,H\alpha} = 8.3$ Hz, NH-Tyr), 5.11 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 8.0$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.4$, H2-Gal), 4.95-4.83 (m, 4H, H3-Gal, CH_2 -Bn), 4.66-4.60 (m, 2H, H^α -Tyr, CH_2 -Bn), 4.52-4.28 (m, 5H, 2 x CH_2 -Fmoc, 2 x CH_2 -Bn, H1-Gal), 4.19 (t, 1H, $^3J = 7.1$ Hz, CH-Fmoc), 3.94 (dd, 1H, $^2J = 11.3$ Hz, $^3J = 3.6$ Hz, H6a-Glc), 3.75-3.65 (m, 5H, OCH_3 , H6b-Glc, H4-Glc), 3.54-3.40 (m, 5H, H6ab-Gal, H5-Gal, H1-Glc, H3-Glc), 3.28-3.20 (m, 2H, H2-Glc, H5-Glc), 3.14-3.07 (m, 2H, H_a^β -Tyr, CH_{2a} -exo), 3.02 (dd, 1H, $^2J = 13.9$ Hz, $^3J = 6.3$ Hz, H_b^β -Tyr) 2.60 (dd, 1H, $^2J = 14.5$ Hz, $^3J = 9.1$ Hz, CH_{2b} -exo), 2.48 (s, 1H, 4-OH-Glc), 2.01, 1.95, 1.94 (3 x s, 9H, CH_3 -Ac).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[4-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzyl-6-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (149)**



(Fmoc-Tyr-C-[β -4-Ac-6-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-Bn₂Glc]-OMe)

90 mg (max. 0.079 mmol) leicht verunreinigtes Fmoc-Tyr-C-[β -6-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-Bn₂Glc]-OMe (**148**) werden in 4 mL Pyridin mit 2 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Man rührt 1.5 Stunden bei Raumtemp. und entfernt überschüssige Reagenzien i. Vak. und im Hochvakuum. Der Rückstand wird mit Toluol kdestilliert und das Rohprodukt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 78 mg (0.0662 mmol, 24% d. Th. über zwei Stufen)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.19$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 2)

$R_f = 0.34$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -12.1$ (c = 1.0, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 1200.47 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1200.46)

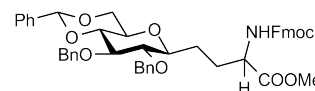
$\text{C}_{67}\text{H}_{71}\text{NO}_{18}$ (1178.28)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.77 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.58 (d, 1H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.54 (d, 1H, $^3J = 7.3$ Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.44-7.25 (m, 19H, H_{Ar} -Fmoc, H_{Ar} -Ph), 7.18 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -Tyr), 7.09 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -Tyr), 5.44-5.39 (m, 2H, H4-Gal {5.42}, NH-Tyr {5.40}), 5.07 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 8.0$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.4$ Hz, H2-Gal), 4.93-4.80 (m, 4H, 2 x CH_2 -Bn {4.90, 4.82}, H3-Gal, H4-Glc {4.86, 4.84}), 4.73-4.61 (m, 3H, 2 x CH_2 -Bn {4.69, 4.63}, H^α -Tyr {4.67}), 4.52 (d, 1H, $^2J = 11.9$ Hz, CH_2 -Bn), 4.44 (d,

^1H , $^3J_{H_1,H_2} = 8.0$ Hz, H1-Gal), 4.43-4.30 (m, 3H, 2 x CH_2 -Fmoc, CH_2 -Bn), 4.23 (t, 1H, $^3J = 7.1$ Hz, CH-Fmoc), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 3.76-3.40 (m, 8H, H6a-Glc {3.72}, H3-Glc {3.69}, H5-Gal {3.63}, H6b-Glc {3.61}, H1-Glc {3.56}, H6a-Gal {3.49}, H6b-Gal {3.44}, H5-Glc {3.43}), 3.33 (t*, 1H, $^3J_{H_2,H_1} = ^3J_{H_2,H_3} = 9.1$ Hz, H2-Glc), 3.20-3.12 (m, 2H, H_a^β -Tyr, CH_{2a} -exo), 3.04 (dd, 1H, $^2J = 14.0$ Hz, $^3J = 6.8$ Hz, H_b^β -Tyr), 2.68 (dd, 1H, $^2J = 14.8$ Hz, $^3J = 8.8$ Hz, CH_{2b} -exo), 2.03, 1.99, 1.93, 1.91 (4 x s, 12H, CH_3 -Ac).

^{13}C -NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 172.05, 170.11, 170.03, 169.85, 169.48 (C=O-Ac, COOMe), 155.62 (C=O-Fmoc), 143.79, 143.76 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.22 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 138.02, 137.80, 137.42 (C_{ipso} -Ph), 137.21, 133.91 (C_{ipso} -Tyr), 129.46, 129.27 ($\text{C}_{o,m}$ -Tyr), 128.50, 128.44, 128.41, 127.93, 127.88, 127.81, 127.76, 127.66, 127.64, 127.00 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, $\text{C}_{o,m,p}$ -Ph), 125.12, 125.05 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.91 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.66 (C1-Gal), 84.50 (C3-Glc), 81.24 (C2-Glc), 79.72 (C1-Glc), 78.30 (C5-Glc), 75.28, 75.16, 73.46 (CH_2 -Bn), 71.75 (C5-Gal), 71.03, 70.97 (C4-Glc, C3-Gal), 68.95 (C2-Gal), 67.89 (C6-Glc), 67.40 (C4-Gal), 67.21 (C6-Gal), 66.95 (CH_2 -Fmoc), 54.75 (C^α -Tyr), 52.34 (OCH_3), 47.04 (CH-Fmoc), 37.47 (C^β -Tyr), 37.35 (CH_2 -exo), 20.77, 20.63, 20.58, 20.57 (CH_3 -Ac).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzyliden- β -D-glucopyranosyl]-serin-methylester (150)**
(Fmoc-*C*-Ser-[β -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-OMe)



Homogene Hydrierung

275 mg (0.358 mmol) Fmoc-Z- Δ Abu-[β -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-OMe (**131**) werden in 10 mL Tetrahydrofuran und 1 mL Methanol gelöst und in ein Autoklavenröhrchen überführt. Man gibt 81 mg (87.5 μmol , 0.24 Äquiv.) *Wilkinson*-Katalysator hinzu, verschließt das Autoklavengefäß und setzt die Reaktionsmischung durch Evakuieren und Belüften unter eine Wasserstoffatmosphäre. Bei einem Wasserstoffdruck von 25 bar wird 48 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Man überführt den Ansatz in einen Kolben, versetzt mit Kieselgel und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 256 mg (0.333 mmol, 93% d. Th.), zwei Diastereomere (Verhältnis 1 : 1.7)

Farbloser amorpher Feststoff

$[\alpha]_D^{23} = -30.0$ (c = 1.0, CHCl_3)

Diastereoselektive Hydrierung

402 mg (0.524 mmol) Fmoc-Z- Δ Abu-[β -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-OMe (**131**) werden in 20 mL Tetrahydro-

drofuran gelöst und in ein Autoklavenröhrchen überführt. Man gibt 40 mg (98.5 μmol , 0.188 Äquiv.) Bis(cycloocta-1,5-dien)rhodium(I)-tetrafluoroborat ($[\text{Rh}(\text{COD})_2]\text{BF}_4$) und 100 mg (0.147 mmol, 0.281 Äquiv.) (*R*)-Tol-BINAP hinzu und leitet 10 Minuten einen leichten Argonstrom durch die Lösung. Anschließend wird das Autoklavengefäß verschlossen, unter eine Wasserstoffatmosphäre gesetzt und bei einem Wasserstoffdruck von 30 bar 24 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Man überführt den Ansatz in einen Kolben, versetzt mit Kieselgel und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 341 mg (0.443 mmol, 85% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$[\alpha]_D^{23} = -19.9$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

$R_f = 0.40$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$R_f = 0.12$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 5 : 1)

ESI-MS (m/z): 792.35 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 792.31)

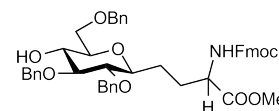
HR-ESI-MS (m/z): 792.3173 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 792.3149)

$\text{C}_{47}\text{H}_{47}\text{NO}_9$ (769.88)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.81 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.68-7.62 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.57-7.53 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.47-7.28 (m, 17H, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 5.59 (s, 1H, CH-Bzn), 5.37 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}^\alpha} = 8.3$ Hz, NH-Ser), 5.04 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.98 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.84 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.66 (d, 1H, $^2J = 10.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.51 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 6.9$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{-Fmoc}$), 4.42 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 6.9$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-Fmoc}$), 4.39-4.31 (m, 2H, H6a-Glc {4.34}, $\text{H}^\alpha\text{-Ser}$ {4.37}), 4.27 (t_b , 1H, $^3J = 6.8$ Hz, CH-Fmoc), 3.86 (t^* , 1H, $^3J_{\text{H}3,\text{H}2} = ^3J_{\text{H}3,\text{H}4} = 8.7$ Hz, H3-Glc), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.72-3.64 (m, 2H, H6b-Glc {3.69}, H4-Glc {3.67}), 3.47-3.35 (m, 2H, H1-Glc {3.39}, H5-Glc {3.42}), 3.31 (t^* , 1H, $^3J_{\text{H}2,\text{H}1} = ^3J_{\text{H}2,\text{H}3} = 8.8$ Hz, H2-Glc), 1.99-1.79 (m, 3H, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$ {1.92}, $\text{H}_a^\beta\text{-Ser}$ {1.91}, $\text{H}_b^\beta\text{-Ser}$ {1.85}), 1.53-1.42 (m, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [**BB**, **HSQC**] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 172.74 (COOMe), 155.89 (C=O-Fmoc), 143.82, 143.69 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.24, 141.22 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 138.39, 137.86, 137.32 ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{-Ph}$), 128.85, 128.39, 128.32, 128.18, 128.12, 128.06, 128.01, 127.87, 127.64, 127.00, 125.90 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, $\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 124.99, 124.94 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.94 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.99 (CH-Bzn), 83.08 (C3-Glc), 82.39 (C4-Glc), 80.88 (C2-Glc), 79.06 (C1-Glc), 75.33, 74.92 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 70.14 (C5-Glc), 68.73 (C6-Glc), 66.79 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 53.66 ($\text{C}^\alpha\text{-Ser}$), 52.31 (OCH_3), 47.08 (CH-Fmoc), 28.13 ($\text{C}^\beta\text{-Ser}$), 27.48 ($\text{CH}_2\text{-exo}$).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl]-serin-methylester (151)**
(Fmoc-C-Ser-[β -Bn₃Glc]-OMe)



Man geht experimentell wie bei der Synthese von **33** vor.

Unter Schutzgas werden folgende drei Lösungen angesetzt:

A: 340 mg (0.442 mmol) Fmoc-C-Ser-[β -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-OMe (**150**), 5 mL absol. Dichlormethan, 2.0 mL (12.5 mmol, 22.5 Äquiv.) Triethylsilan

B: 5 mL absol. Dichlormethan, 2.0 mL (12.5 mmol) Triethylsilan

C: 20 mL absol. Dichlormethan, 10 mL (130 mmol) Trifluoressigsäure (wasserfrei)

Zur Konditionierung werden mit Spritzenpumpen zunächst etwa jeweils 1.5 mL der Lösungen **B** und **C** mit einer Flussrate von 0.4 mL/min gefördert. Im Anschluss erfolgt die gleichzeitige Förderung der Lösungen **A** und **C**, bis Lösung **A** aufgebraucht ist (Flussrate: 0.4 mL/min). Dann wird erneut mit den Lösungen **B** und **C** nachgespült (Flussrate: 0.4 mL/min), bevor auf beiden Kanälen mit je 20 mL absol. Dichlormethan gespült wird (Flussrate: 0.4 mL/min \rightarrow 1.0 mL/min). Die neutralisierte Reaktionsmischung wird mit Wasser versetzt und mit Essigsäure neutralisiert, so dass sich überschüssiges NaHCO₃ auflöst. Man schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1).

Ausbeute: 289 mg (0.374 mmol, 85% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.15$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -15.2$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 794.32 ([M+Na]⁺, ber.: 794.33)

HR-ESI-MS (m/z): 794.3311 ([M+Na]⁺, ber.: 794.3305)

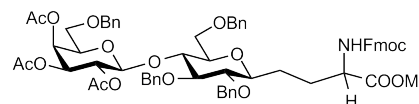
C₄₇H₄₉NO₉ (771.89)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.79 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.66-7.60 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.46-7.27 (m, 19H, H_{Ar}-Fmoc, H_{Ar}-Ph), 5.44 (d, 1H, ³J_{NH,H α} = 8.2 Hz, NH-Ser), 4.95 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂-Bn), 4.90 (d, 1H, ²J = 10.8 Hz, CH₂-Bn), 4.88 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂-Bn), 4.64 (d, 1H, ²J = 11.0 Hz, CH₂-Bn), 4.59 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.54 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.45 (dd, 1H, ²J = 10.6 Hz, ³J = 7.1 Hz, CH_{2a}-Fmoc), 4.42-4.32 (m, 2H, CH_{2b}-Fmoc {4.40}, H α -Ser {4.36}), 4.24 (t, 1H, ³J = 7.0 Hz, CH-Fmoc), 3.78-

3.61 (m, 6H, OCH₃ {3.73}, H6a-Glc, H6b-Glc {3.70}, H4-Glc {3.66}), 3.55 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 8.4 Hz, H3-Glc), 3.439 (m_c, 1H, H5-Glc), 3.31-3.20 (m, 2H, H1-Glc {3.28}, H2-Glc {3.25}), 2.67 (d, 1H, ³J = 2.1 Hz, 4-OH), 1.99-1.80 (m, 3H, CH_{2a}-exo, 2 x H^β-Ser), 1.53-1.41 (m, 1H, CH_{2b}-exo).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 172.79 (COOMe), 155.93 (C=O-Fmoc), 143.85, 143.72 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.22 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 138.55, 137.84, 137.73 (C_{ipso}-Ph), 128.56, 128.52, 128.43, 128.36, 128.32, 128.05, 128.00, 127.89, 127.83, 127.78, 127.74, 127.69, 127.64, 127.00 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, C_{o,m,p}-Ph), 125.05, 125.00 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.92 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 86.56 (C3-Glc), 81.26 (C2-Glc), 78.38 (C1-Glc), 77.65 (C5-Glc), 75.20, 75.08, 73.51 (CH₂-Bn), 72.47 (C4-Glc), 70.31 (C6-Glc), 66.83 (CH₂-Fmoc), 53.75 (C^α-Ser), 52.28 (OCH₃), 47.06 (CH-Fmoc), 28.17 (C^β-Ser), 27.39 (CH₂-exo).

N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-C-[2,3,6-tri-O-benzyl-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl]-serin-methylester (152)
(Fmoc-Ser-C-[β-Ac₃Bn₄Lac]-OMe)



1.3 g Molekularsieb (3 Å) werden in einem Schlenkkolben i. Hochvak. ausgeheizt und immer wieder mit Argon belüftet. In einem anderen Kolben werden 375 mg (0.486 mmol) Fmoc-C-Ser-[β-Bn₃Glc]-OMe (**151**) und 368 mg (0.729 mmol, 1.5 Äquiv.) α,β-6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**23**) in absol. Dichlormethan gelöst. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und die Mischung 30 Minuten i. Hochvak. getrocknet. Dann belüftet man mit Argon, löst die Kohlenhydratmischung in 20 mL absol. Dichlormethan und überführt sie in den Kolben mit dem frisch ausgeheizten Molekularsieb. Der Ansatz wird 30 Minuten bei Raumtemp. unter Argon gerührt und auf -45 °C gekühlt. Zu der klaren Lösung gibt man tropfenweise 0.15 mL einer Lösung von 0.05 mL Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in 0.95 mL absol. Dichlormethan. Nach 5 Minuten ist die Reaktionsmischung trüb. Sie wird aus dem Kühlbad herausgenommen und gerührt bis sie wieder klar ist. Dünnschichtchromatographisch lässt sich kein Trichloracetimidat (**23**) mehr erkennen, das Edukt ist vollständig umgesetzt. Es werden in der Kälte 100 mL ges. NaHCO₃-Lösung zugefügt und man lässt unter Rühren auf Raumtemp. erwärmen. Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Extrakte werden über MgSO₄ getrocknet. Es wird Kieselgel zugesetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrol-ether/Essigsäureethylester = 3 : 2) gereinigt.

Ausbeute: 532 mg (0.463 mmol, 95% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.18$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 2)

$[\alpha]_D^{23} = -15.4$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 1172.42 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1172.46)

HR-ESI-MS (m/z): 1172.4579 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1172.4620)

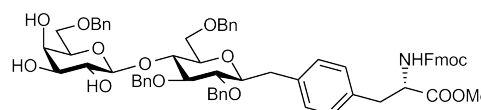
$\text{C}_{66}\text{H}_{71}\text{NO}_{17}$ (1150.27)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$, TOCSY] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.78 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.66-7.60 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.45-7.15 (m, 24H, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.42 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_4, \text{H}_3} = 3.3$ Hz, H4-Gal), 5.39 (d, 1H, $^3J_{\text{NH}, \text{H}^\alpha} = 8.3$ Hz, NH-Ser), 5.14-5.05 (m, 2H, H2-Gal {5.10}, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.91 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.84 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_3, \text{H}_2} = 10.4$ Hz, $^3J_{\text{H}_3, \text{H}_4} = 3.5$ Hz, H3-Gal), 4.75 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.71 (d, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.60 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.55 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_1, \text{H}_2} = 8.0$ Hz, H1-Gal), 4.51-4.32 (m, 5H, $\text{CH}_{2a}\text{-Fmoc}$ {4.43}, $\text{CH}_{2b}\text{-Fmoc}$ {4.37}, $\text{H}^\alpha\text{-Ser}$ {4.36}, 2 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.28-4.18 (m, 2H, CH-Fmoc {4.24}, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 3.98 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_4, \text{H}_3} = ^3J_{\text{H}_4, \text{H}_5} = 9.4$ Hz, H4-Glc), 3.75-3.65 (m, 5H, OCH_3 {3.72}, H6a-Glc {3.69}, H6b-Glc {3.68}), 3.61-3.54 (m, 2H, H5-Gal {3.58}, H3-Glc {3.57}), 3.33-3.17 (m, 5H, H6a-Gal {3.28}, H5-Glc {3.25}, H6b-Gal {3.25}, H2-Glc {3.21}, H1-Glc {3.20}), 2.01, 1.99, 1.97 (3 x s, 9H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1.92-1.81 (m, 3H, 2 x $\text{H}^\beta\text{-Ser}$, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$), 1.51-1.38 (m, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB , HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 172.84, 170.05, 169.97, 169.22 (C=O-Ac, COOMe), 155.93 (C=O-Fmoc), 143.85, 143.73 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.24 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 138.99, 138.06, 137.72, 137.61 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 128.54, 128.38, 128.35, 128.06, 127.96, 127.81, 127.69, 127.66, 127.25, 127.02 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, $\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 125.10, 125.02 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.94 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 99.93 (C1-Gal), 84.94 (C3-Glc), 80.95 (C2-Glc), 78.66 (C5-Glc), 78.58 (C1-Glc), 76.40 (C4-Glc), 75.17, 75.14, 73.54, 73.25 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 71.70 (C5-Gal), 71.18 (C3-Gal), 69.84 (C2-Gal), 67.64 (C6-Glc), 67.27 (C4-Gal), 66.94 (CH₂-Fmoc), 66.45 (C6-Gal), 53.68 ($\text{H}^\alpha\text{-Ser}$), 52.29 (OCH_3), 47.08 (CH-Fmoc), 28.19 ($\text{C}^\beta\text{-Ser}$), 27.35 ($\text{CH}_2\text{-exo}$), 20.73, 20.57, 20.56 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(6-*O*-benzyl- β -*D*-galactopyranosyl)- β -*D*-glucopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (**168**)**

(Fmoc-Tyr-C-[β -Bn₄Lac]-OMe)



Deacetylierung

407 mg (0.332 mmol) Fmoc-Tyr-C-[β -Ac₃Bn₄Lac]-OMe (**146**) werden in 40 mL Methanol suspendiert und absol. Toluol unter Rühren zugegeben bis sich eine klare Lösung bildet. Durch Zugabe von frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung wird ein pH-Wert von 8.5-9.5 eingestellt. Man rührt 4 Stunden bei Raumtemperatur, bis dünnschichtchromatographisch vollständiger Umsatz nachweisbar ist. Mit wenigen Tropfen Essigsäure wird ein pH-Wert von 5-6 eingestellt, Kieselgel zugesetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Den Rückstand reinigt man mittels Flashchromatographie an Kieselgel, wobei mit Essigsäureethylester/Ethanol 12 : 1 \rightarrow 12 : 1.5 das noch leicht verunreinigte, gewünschte Produkt (**168**) erhalten wird und anschließend mit Essigsäureethylester/Ethanol/Triethylamin 10 : 1 : 0.25 das Nebenprodukt mit fehlender Fmoc-Gruppe (**167**) eluiert werden kann.

Wiederanknüpfung der Fmoc-Gruppe an das Nebenprodukt

Die so erhaltenen 185 mg (max. 0.211 mmol) H-Tyr-C-[β -Bn₄Lac]-OMe (**167**) werden in 10 mL Dichlormethan mit 142 mg (421 μ mol, 2.0 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethylsuccinimidylcarbonat (Fmoc-OSu) versetzt. Mit verdünnter *N*-Ethyl-diisopropylamin-Lösung wird ein pH-Wert von 8.5-9 eingestellt. Dünnschichtchromatographisch erkennt man nach 1.5 Stunden vollständigen Umsatz und Bildung von **168**. Es wird mit Essigsäure neutralisiert und der Ansatz zusammen mit der leicht verunreinigten Produktfraktion aus der oben beschriebenen Reinigung auf Kieselgel aufgezogen. Zusammen reinigt man erneut mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 2 \rightarrow 1 : 3).

Ausbeute: 278 mg (0.253 mmol, 76% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.18$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 3)

$R_f = 0.38$ (Essigsäureethylester/Ethanol/Triethylamin 12 : 1 : 0.5)

$[\alpha]_D^{23} = +19.3$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 1122.43 ([M+Na]⁺, ber.: 1122.46)

HR-ESI-MS (m/z): 1122.4630 ([M+Na]⁺, ber.: 1122.4616)

C₆₆H₆₉N O₁₄ (1100.25)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.76 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{A_r}-Fmoc), 7.57 (d, 1H, ³J = 7.5 Hz, H_{A_r}-Fmoc), 7.54 (d, 1H, ³J = 7.5 Hz, H_{A_r}-Fmoc), 7.39 (t, 2H, ³J = 7.5

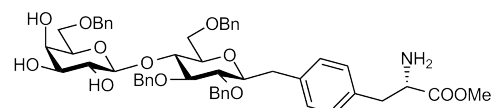
Hz, H_{Ar} -Fmoc), 7.36-7.22 (m, 22H, H_{Ar} -Fmoc, H_{Ar} -Ph), 7.16 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -Tyr), 6.99 (d, 2H, $^3J = 7.9$ Hz, H_{Ar} -Tyr), 5.28 (d, 1H, $^3J_{NH,H\alpha} = 8.3$ Hz, NH-Tyr), 5.10 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, CH_2 -Bn), 4.87 (d, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, CH_2 -Bn), 4.85 (d, 1H, $^2J = 10.8$ Hz, CH_2 -Bn), 4.71-4.53 (m, 5H, H^α -Tyr {4.68}, H1-Gal {4.60}, 3 x CH_2 -Bn {4.64, 4.63, 4.57}), 4.42 (dd, 1H, $^2J = 10.5$ Hz, $^3J = 7.2$ Hz, CH_{2a} -Fmoc), 4.38-4.31 (m, 3H, CH_{2b} -Fmoc {4.34}, 2 x CH_2 -Bn {4.37}), 4.20 (t, 1H, $^3J = 7.1$ Hz, CH-Fmoc), 4.04 (t*, 1H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H4,H5} = 9.4$ Hz, H4-Glc), 3.93-3.87 (m, 2H, H4-Gal {3.91}, H6a-Glc {3.90}), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.70 (t*, 1H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 9.0$ Hz, H3-Glc), 3.65-3.50 (m, 3H, H6b-Glc {3.63}, H2-Gal {3.57}, H6a-Gal {3.53}), 3.45-3.26 (m, 6H, H3-Gal {3.43}, H1-Glc {3.42}, H6b-Gal {3.38}, H5-Gal {3.31}, H2-Glc {3.31}, H5-Glc {3.29}), 3.16-3.02 (m, 3H, 2 x H^β -Tyr, CH_{2a} -exo), 2.65 (dd, 1H, $^2J = 14.3$ Hz, $^3J = 8.8$ Hz, CH_{2b} -exo).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 172.00 (COOMe), 155.53 (C=O-Fmoc), 143.76, 143.69 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.25 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 139.03, 137.96, 137.75 (C_{ipso} -Ph), 137.52 (C_{ipso} -Tyr), 137.50 (C_{ipso} -Ph), 133.46 (C_{ipso} -Tyr), 129.84, 129.01 ($C_{o,m}$ -Tyr), 128.47, 128.37, 128.20, 127.96, 127.90, 127.88, 127.82, 127.70, 127.63, 127.20, 127.02, 126.81 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc, $C_{o,m,p}$ -Ph), 125.09, 125.03 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.97, 119.95 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 103.42 (C1-Gal), 86.33 (C3-Glc), 81.73 (C2-Glc), 80.27 (C1-Glc), 78.39 (C5-Glc), 76.81 (C4-Glc), 75.23, 74.78, 73.60 (CH_2 -Bn), 73.41, 73.39 (CH_2 -Bn, C3-Gal), 73.13 (C5-Gal), 73.03 (C2-Gal), 68.72 (C6-Glc), 68.48 (C6-Gal, C4-Gal), 66.95 (CH_2 -Fmoc), 54.72 (C^α -Tyr), 52.33 (OCH₃), 47.08 (CH-Fmoc), 37.79 (C^β -Tyr), 37.55 (CH_2 -exo).

Zwischenprodukt ohne Fmoc-Gruppe

C-[2,3,6-Tri-O-benzyl-4-O-(6-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]-L-tyrosin-methylester (167)

(H-Tyr-C-[β -Bn₄Lac]-OMe)



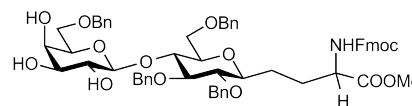
$R_f = 0.12$ (Essigsäureethylester/Ethanol/Triethylamin 12 : 1 : 0.5)

ESI-MS (m/z): 878.39 ([M+H]⁺, ber.: 878.41)

C₅₁H₅₉N O₁₂ (878.01)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(6-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-gluco-pyranosyl]-serin-methylester (**170**)**

(Fmoc-Ser-C-[β -Bn₄Lac]-OMe)



Deacetylierung

445 mg (0.387 mmol) Fmoc-Ser-C-[β -Ac₃Bn₄Lac]-OMe (**152**) werden in 20 mL Methanol suspendiert und 21 mL absol. Toluol unter Rühren zugegeben bis sich eine klare Lösung bildet. Durch Zugabe von frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung wird ein pH-Wert von 8.5-9.5 eingestellt. Man rührt 2 Stunden bei Raumtemp. bis dünnschichtchromatographisch vollständiger Umsatz nachweisbar ist. Mit wenigen Tropfen Essigsäure wird ein pH-Wert von 6 eingestellt, Kieselgel zugesetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Den Rückstand reinigt man mittels Flashchromatographie an Kieselgel, wobei zunächst mit Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 3 das gebildete Dibenzofulvenaddukt abgetrennt wird, dann mit Essigsäureethylester/Ethanol 12 : 1 das gewünschte Produkt (**170**) erhalten wird und anschließend mit Essigsäureethylester/Ethanol/Triethylamin 12 : 2 : 0.5 das Nebenprodukt mit fehlender Fmoc-Gruppe (**169**) eluiert werden kann.

Wiederanknüpfung der Fmoc-Gruppe an das Nebenprodukt

Die so erhaltenen 90 mg (max. 0.119 mmol) H-Ser-C[β -Bn₄Lac]-OMe (**169**) werden in 10 mL Dichlormethan mit 81 mg (0.240 mmol, 2.0 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (Fmoc-OSu) versetzt. Mit verdünnter *N*-Ethyl-diisopropylamin-Lösung wird ein pH-Wert von 8.5-9 eingestellt. Dünnschichtchromatographisch kann man nach einer Stunde vollständigen Umsatz und Bildung von (**170**) erkennen. Es wird mit Essigsäure neutralisiert und der Ansatz zusammen mit der leicht verunreinigten Produktfraktion der oben beschriebenen Reinigung auf Kieselgel aufgezogen. Zusammen reinigt man erneut mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 2 \rightarrow 1 : 3).

Ausbeute: 264 mg (0.258 mmol, 67% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.15$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 4)

$R_f = 0.53$ (Essigsäureethylester/Ethanol 12 : 1)

$R_f = 0.60$ (Essigsäureethylester/Ethanol/Triethylamin 12 : 2 : 0.5)

$[\alpha]_D^{23} = +6.0$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 1046.39 ([M+Na]⁺, ber.: 1046.43)

HR-ESI-MS (m/z): 1046.4302 ([M+Na]⁺, ber.: 1046.4303)

C₆₀H₆₅N₁O₁₄ (1024.16)

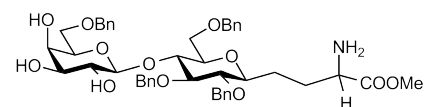
$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$, TOCSY] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.79 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.67-7.61 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.46-7.21 (m, 24H, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 5.42 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}^\alpha} = 8.3$ Hz, NH-Ser), 5.12 (d, 1H, $^2J = 11.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.83 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.68 (d, 1H, $^2J = 12.2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.61-4.54 (m, 3H, H1-Gal {4.55}, 2 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.50-4.34 (m, 5H, $\text{CH}_{2a}\text{-Fmoc}$ {4.46}, $\text{CH}_{2b}\text{-Fmoc}$ {4.37}, $\text{H}^\alpha\text{-Ser}$ {4.38}, 2 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.25 (t, 1H, $^3J = 7.0$ Hz, CH-Fmoc), 4.04 (t*, 1H, $^3J_{\text{H4},\text{H3}} = ^3J_{\text{H4},\text{H5}} = 9.4$ Hz, H4-Glc), 3.96 (dd, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, $^3J_{\text{H6a},\text{H5}} = 3.2$ Hz, H6a-Glc), 3.91 (d, 1H, $^3J_{\text{H4},\text{H3}} = 3.0$ Hz, H4-Gal), 3.78-3.56 (m, 7H, H6b-Glc {3.74}, OCH_3 {3.72}, H3-Glc {3.68}, H2-Gal {3.62}, H6a-Gal {3.58}), 3.47-3.33 (m, 4H, H6b-Gal {3.58}, H3-Gal {3.42}, H5-Glc {3.39}, H5-Gal {3.35}), 3.29-3.21 (m, 2H, H1-Glc {3.24}, H2-Glc {3.24}), 1.93-1.81 (m, 3H, 2 x $\text{H}^\beta\text{-Ser}$, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$), 1.51-1.38 (m, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB , HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 172.80 (COOMe), 155.91 (C=O-Fmoc), 143.79, 143.66 (C1a-Fmoc , C8a-Fmoc), 141.19 (C4a-Fmoc , C5a-Fmoc), 138.97, 137.80, 137.53 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$), 128.35, 128.31, 128.29, 128.10, 127.84, 127.79, 127.72, 127.62, 127.59, 127.52, 127.15, 127.08, 126.99 (C3-Fmoc , C6-Fmoc , C2-Fmoc , C7-Fmoc , $\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 125.03, 124.95 (C1-Fmoc , C8-Fmoc), 119.90 (C4-Fmoc , C5-Fmoc), 103.13 (C1-Gal), 85.82 (C3-Glc), 81.41 (C2-Glc), 78.53 (C1-Glc), 78.44 (C5-Glc), 76.86 (C4-Glc), 75.14, 74.79 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 73.44, 73.39, 73.30 (2 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$, C3-Gal), 73.12 (C5-Gal), 72.67 (C2-Gal), 68.63 (C6-Gal), 68.46 (C6-Glc , C4-Gal), 66.89 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$), 53.65 ($\text{H}^\alpha\text{-Ser}$), 52.27 (OCH_3), 47.01 (CH-Fmoc), 28.12 ($\text{C}^\beta\text{-Ser}$), 27.24 ($\text{CH}_2\text{-exo}$).

Zwischenprodukt ohne Fmoc-Gruppe

C-[2,3,6-Tri-O-benzyl-4-O-(6-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucoopyranosyl]-serin-methylester (169)

(H-Tyr-C-[β -Bn₄Lac]-OMe)

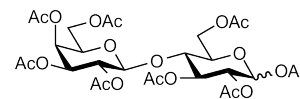


$R_f = 0.42$ (Essigsäureethylester/Ethanol/Triethylamin 12 : 2 : 0.5)

$\text{C}_{45}\text{H}_{55}\text{N O}_{12}$ (801.92)

5.7 Direkte Synthese der C-Lactosylaminosäuren

4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-1,2,3,6-tetra-*O*-acetyl- α,β -D-glucopyranose (154)³⁵⁰
(α,β -4-(β -Ac₄Gal)-Ac₃Glc-OAc)



12.0 g (35.0 mmol) α,β -D-Lactose (**153**) werden in 160 mL Pyridin suspendiert und 80 mL Essigsäureanhydrid bei Raumtemp. zugesetzt. Man rührt die Reaktionsmischung über Nacht, wobei diese klar wird. Man entfernt die überschüssigen Reagenzien i. Vak und i. Hochvakuum, bevor einmal mit Toluol kodestilliert wird. Man versetzt das Rohprodukt mit Wasser und Dichlormethan, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird zweimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird mit Toluol kodestilliert und für die nächste Stufe verwendet. Aus den ¹H-NMR-Signalen kann das Anomerenverhältnis von $\alpha : \beta = 1 : 2.7$ bestimmt werden.

Ausbeute: Quantitativ (max. 35.0 mmol)

Gelbes viskoses Öl

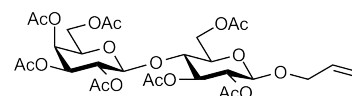
$R_f = 0.19$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 1 : 1)

C₂₈H₃₈O₁₉ (678.59)

Charakteristische NMR-Signale der anomeren Protonen:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 6.21 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 3.7 Hz, H1-Glc ^{α}), 5.63 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 8.3 Hz, H1-Glc ^{β}).

1-Allyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-2,3,6-tri-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosid (155)
(β -4-(β -Ac₄Gal)-Ac₃Glc-OAll)



Das Rohprodukt α,β -4-(β -Ac₄Gal)-Ac₃Glc-OAc (**154**) aus der vorigen Stufe (max. 35.0 mmol) wird in 40 mL absol. Dichlormethan mit 12 mL (176 mmol, 5.0 Äquiv.) Allylalkohol versetzt und auf 0 °C abgekühlt. Man tropft anschließend 4.4 mL (35.7 mmol, 1.0 Äquiv.) Bortrifluorid-Etherkomplex (BF₃·Et₂O) zu und lässt auf Raumtemp. erwärmen. Nach 3.5 Stunden versetzt man bei Raumtemp. mit weiteren 4.4 mL (35.7 mmol, 1.0 Äquiv.) BF₃·Et₂O, sowie nach einer weiteren Stunde mit 8.8 mL (71.3 mmol, 2.0 Äquiv.) BF₃·Et₂O. Nach 7.5 Stunden lässt sich im

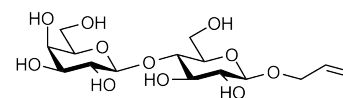
³⁵⁰ Allavudeen, S. S.; Kuberan, B.; Loganathan, D. *Carbohydr. Res.*, **2002**, 337, 965.

NMR-Spektrum das vollständige Verschwinden des β -Anomers (**154b**) beobachten, während das α -Anomer (**154a**) unverändert vorliegt. Man gießt die Reaktionsmischung unter Rühren langsam in Wasser und stellt mit NaOH-Lösung einen pH-Wert von 6 ein. Die wässrige Phase wird viermal mit Dichlormethan extrahiert, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand mit Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt, das neben β -4-(β -Ac₄Gal)-Ac₃Glc-OAll (**155**) auch noch α -4-(β -Ac₄Gal)-Ac₃Glc-OAc (**154a**) enthält, wird ohne weitere Reinigung direkt in der nächsten Stufe eingesetzt.

Blassgelbes viskoses Öl

C₂₉H₄₀O₁₈ (676.62)

1-O-Allyl-4-O-(β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosid (156)
(β -4-(β -Gal)-Glc-OAll)



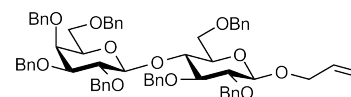
Das Rohprodukt β -4-(β -Ac₄Gal)-Ac₃Glc-OAll (**155**) aus der vorigen Reaktion wird in 200 mL Methanol mit frisch angesetzter Natriummethanolat-Lösung ein pH-Wert von etwa 9 eingestellt. Dieser wird innerhalb der 14 Stunden Reaktionsdauer mehrfach nachreguliert. Anschließend wird durch Zugabe von saurem Ionentauscher Amberlyst® 15 neutralisiert, filtriert und mehrfach mit Methanol nachgewaschen. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das Rohprodukt zweimal mit Toluol kodestilliert. Anschließend trocknet man den zurückbleibenden amorphen Feststoff i. Hochvakuum, bevor er ohne weitere Charakterisierung in der nächsten Stufe eingesetzt wird.

Rohausbeute: 14.5 g (max. 35.0 mmol)

Blassgelber amorpher Feststoff

C₁₅H₂₆O₁₁ (382.36)

1-Allyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (157)
(β -4-(β -Bn₄Gal)-Bn₃Glc-OAll)



Das Rohprodukt β -4-(β -Gal)-Glc-OAll (**156**) aus der vorigen Stufe wird unter Erwärmen in 150 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Nach Abkühlung auf 15 °C werden portionsweise 12.0 g (300 mmol, 1.2 Äquiv. pro OH-Gruppe) einer 60%-igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl zugegeben. Langsam tropft man anschließend 32 mL (269 mmol, 1.1 Äquiv. pro OH-Gruppe) Benzylbromid zu und rührt 50 Minuten bei Raumtemperatur. Da der Umsatz noch nicht vollständig ist, werden weitere 3.70 g (92.5 mmol, 0.38 Äquiv. pro OH-Gruppe) der Natriumhydrid-Dispersion

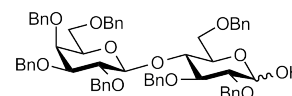
zugegeben und weitere 10 mL (84.2 mmol, 0.34 Äquiv. pro OH-Gruppe) Benzylbromid zuge-
tropft. Nach einer weiteren Stunde beendet man die Reaktion durch Zugabe von 5 mL Methanol
und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird in Wasser und Dichlormethan
aufgenommen, ausgeschüttelt und die organische Phase abgetrennt. Man extrahiert die wässrige
Phase viermal mit Dichlormethan, trocknet die vereinigten organischen Extrakte über MgSO_4 und
entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das zurückbleibende dunkelgelbe Öl wird direkt weiter
umgesetzt.

Dunkelgelbes Öl

$\text{C}_{64}\text{H}_{68}\text{O}_{11}$ (1013.22)

**4-O-(2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-2,3,6-tri-O-
benzyl-β-D-glucopyranose (158)**³⁵¹

(α,β -4-(β - Bn_4Gal)- Bn_3Glc -OH)



Das Rohprodukt β -4-(β - Bn_4Gal)- Bn_3Glc -OAll (**157**) aus der vorigen Stufe wird in 200 mL Di-
methylsulfoxid gelöst und 4.32 g (38.5 mmol, 1.1 Äquiv.) Kalium-*tert*-butylat sowie nach kurzem
Schwenken 5 Tropfen Wasser zugesetzt. Man erwärmt eine Stunde im Wasserbad auf 55-60 °C.
Nach dieser Zeit gibt man weitere 8.50 g (75.8 mmol, 2.2 Äquiv.) Kalium-*tert*-butylat und 10
Tropfen Wasser zu und erwärmt erneut. Nach 20 Minuten wird eine letzte Portion von 4.32 g (38.5
mmol, 1.1 Äquiv.) Kalium-*tert*-butylat zugesetzt und der Ansatz 30 Minuten auf 60-70 °C erwärmt.
Das NMR-Spektrum zeigt nach dieser Zeit vollständigen Umsatz an. Man versetzt mit 300 mL Es-
sigsäureethylester und 200 mL Wasser, sowie 55 g Iod und rührt den Ansatz über Nacht. Durch
Zugabe von NaHSO_3 reduziert man überschüssiges Iod und gibt Wasser hinzu bis sich der Nie-
derschlag vollständig gelöst hat. Die organische Schicht wird abgetrennt und die wässrige Phase
fünfmal mit Essigsäureethylester extrahiert. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und kodestil-
liert den Rückstand dreimal mit Toluol. Die zurückbleibende braune Flüssigkeit wird direkt weiter
in der nächsten Stufe verwendet.

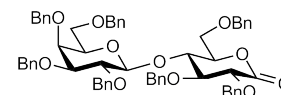
Braune leicht viskose Flüssigkeit

$\text{C}_{61}\text{H}_{64}\text{O}_{11}$ (973.15)

³⁵¹ Yamanoi, T.; Misawa, N.; Matsuda, S.; Watanabe, M. *Carbohydr. Res.*, **2008**, *343*, 1366.

4-O-(2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-2,3,6-tri-O-benzyl-D-gluconolacton (159)

(4-(β-Bn₄Gal)-Bn₃Glc=O)



Das Rohprodukt α,β-4-(β-Bn₄Gal)-Bn₃Glc-OH (**158**) aus der vorigen Stufe wird bei 10 °C mit 200 mL Dimethylsulfoxid und 100 mL Essigsäureanhydrid versetzt und anschließend über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Man versetzt mit Wasser und extrahiert die wässrige Phase viermal mit Essigsäureethylester. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und dreimal mit Toluol kodestilliert. Man erhält eine dunkelbraune Lösung. Diese wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan → Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1 → 3 : 1). Das so erhaltene schwach verunreinigte gelbe Öl wird erneut mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 5 : 1), wodurch man das Produkt in Form eines gelben sehr viskosen Öls erhält.

Ausbeute: 11.5 g (11.8 mmol, 37% d. Th. über 7 Stufen)

Gelbes hochviskoses Öl

$R_f = 0.32$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +30.1$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 993.46 ([M+Na]⁺, ber.: 993.42)

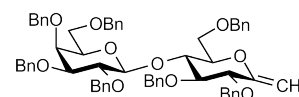
C₆₁H₆₂O₁₁ (971.14)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, TOCSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.43-7.18 (m, 35H, H_{Ar}-Ph), 4.98 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.86 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.81 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂-Bn), 4.75-4.69 (m, 4H, CH₂-Bn), 4.63-4.58 (m, 4H, CH₂-Bn, H5-Glc), 4.50 (d, 1H, ²J = 12.0 Hz, CH₂-Bn), 4.42 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.7 Hz, H1-Gal), 4.40-4.32 (m, 3H, CH₂-Bn), 4.20 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 4.2 Hz, ³J_{H4,H5} = 8.2 Hz, H4-Glc), 4.13-4.07 (m, 2H, H3-Glc, H2-Glc), 3.93 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 2.9 Hz, H4-Gal), 3.80 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 7.7 Hz, ³J_{H2,H3} = 9.7 Hz, H2-Gal), 3.72 (dd, 1H, ²J = 11.2 Hz, ³J = 3.8 Hz, H6a-Glc), 3.65 (dd, 1H, ²J = 11.1 Hz, ³J = 2.6 Hz, H6b-Glc), 3.60-3.55 (m, 1H, H6a-Gal), 3.49-3.42 (m, 3H, H3-Gal, H5-Gal, H6b-Gal).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 168.86 (C1-Glc), 138.64, 138.43, 138.28, 137.85, 137.72, 137.68, 136.87 (C_{ipso}-Ph), 128.39, 128.34, 128.25, 128.21, 128.19, 128.11, 128.07, 127.98, 127.85, 127.82, 127.79, 127.78, 127.66, 127.62, 127.55, 127.51, 127.48 (C_{o,m,p}-Ph), 103.99 (C1-Gal), 82.24 (C3-Gal), 80.02 (C3-Glc), 79.31 (C2-Gal), 78.13 (C5-Glc), 76.95 (C2-Glc), 76.34 (C4-Glc), 75.31, 74.68 (CH₂-Bn), 73.44, 73.37, 73.27, 73.13 (CH₂-Bn, C4-Gal, C5-Gal), 72.75 (CH₂-Bn), 68.35 (C6-Gal), 68.12 (C6-Glc).

4-O-(2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-2,3,6-tri-O-benzyl-1-deoxy-1-methyliden-D-glucopyranose (160)

(4-(β-Bn₄Gal)-Bn₃Glc=CH₂)



Synthese nach allgemeiner Vorschrift im Mikrowellenröhrchen

Leistung: 200W Temp.: 65 °C Druck: max. 14 bar Zeit: 30 min

Ansatzgröße: 1.02 g (1.05 mmol) 4-(β-Bn₄Gal)-Bn₃Glc=O (**159**)

Synthese im kontinuierlichen Mikroreaktorprozess

Leistung: 50W Flussrate: 1.0 mL/min Verweilzeit: 8 min 30 sec

Ansatzgröße: 917 mg (0.944 mmol) 4-(β-Bn₄Gal)-Bn₃Glc=O (**159**)

Nach vollständiger Reaktion wird der gesamte Ansatz in einen Kolben überführt und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das zurückbleibende Pulver mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 20 : 1 → 10 : 1 → 5 : 1). Man erhält das Produkt als blassgelbes viskoses Öl.

Ausbeute im Röhrchen: 647 mg (0.695 mmol, 66% d. Th.)

Ausbeute im kontinuierlichen Prozess: 600 mg (0.619 mmol, 66% d. Th.)

Blassgelbes viskoses Öl

$R_f = 0.41$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +11.1$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 991.46 ([M+Na]⁺, ber.: 991.44)

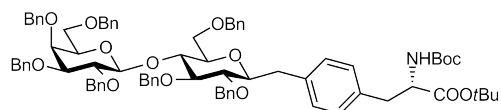
HR-ESI-MS (m/z): 991.4398 ([M+Na]⁺, ber.: 991.4397)

C₆₂H₆₄O₁₀ (969.17)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, TOCSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.43-7.14 (m, 35H, H_{Ar}-Ph), 5.00 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂-Bn), 4.91 (d, 1H, ²J = 11.3 Hz, CH₂-Bn), 4.81 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂-Bn), 4.78-4.57 (m, 9H, CH₂-Bn, CH_{2a}-exo {4.74}), 4.56 (s_b, 1H, CH_{2b}-exo), 4.45 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.7 Hz, H1-Gal), 4.42 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.38 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.30 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.10 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 6.7 Hz, ³J_{H4,H5} = 9.9 Hz, H4-Glc), 3.94 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.9 Hz, H4-Gal), 3.93 (s_b, 1H, H2-Glc), 3.89-3.82 (m, 2H, H6a-Glc, H5-Glc), 3.79 (d_b, 1H, ³J_{H3,H4} = 6.8 Hz, H3-Glc), 3.77 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 3.5 Hz, ³J_{H2,H3} = 7.8 Hz, H2-Gal), 3.74-3.69 (m_c, 1H, H6b-Glc), 3.60 (t*, 1H, ²J = ³J = 8.3 Hz, H6a-Gal), 3.47-3.37 (m, 3H, H6b-Gal, H5-Gal, H3-Gal).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 155.83 (C1-Glc), 138.91, 138.79, 138.69, 138.46, 138.17, 138.02, 137.97 (C_{ipso} -Ph), 128.36, 128.33, 128.25, 128.21, 128.17, 128.15, 128.04, 127.86, 127.82, 127.80, 127.78, 127.72, 127.68, 127.63, 127.60, 127.51, 127.46, 127.41, 127.39, 127.17 ($C_{o,m,p}$ -Ph), 103.27 (C1-Gal), 94.24 (CH_2 -exo), 82.58 (C3-Glc), 82.36 (C3-Gal), 79.67 (C2-Gal), 77.91 (C2-Glc), 77.77 (C5-Glc), 76.90 (C4-Glc), 75.16, 74.65 (CH_2 -Bn), 73.65, 73.53, 73.38, 73.13, 73.02 (CH_2 -Bn, C4-Gal, C5-Gal), 72.62, 72.24 (CH_2 -Bn), 68.28 (C6-Glc), 68.21 (C6-Gal).

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]-L-tyrosin-*tert*-butylester (161)**
(Boc-Tyr-C-[β -Bn₇Lac]-OtBu)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplung-Sequenz.

Hydroborierung

1.10 g (1.13 mmol) 4-(β -Bn₄Gal)-Bn₃Glc=CH₂ (**160**)

6.78 mL (3.39 mmol, 3.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 3 h

Kreuzkupplung

632 mg (1.41 mmol, 1.25 Äquiv.) Boc-*p*-I-Phe-OtBu (**92**)

468 mg (3.39 mmol, 3.0 Äquiv.) K₂CO₃

92 mg (10 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

6 mL *N,N*-Dimethylformamid

1.0 mL Wasser

Reaktionszeit: 30 min

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt und viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. und i. Hochvak. entfernt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1 → 6 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 988 mg (0.765 mmol, 68% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.34 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1)

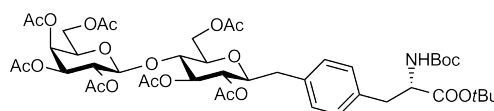
$[\alpha]_D^{23} = +10.3$ (c = 1.0, CHCl₃)

C₈₀H₉₁NO₁₄ (1290.58)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, TOCSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.49-7.26 (m, 35H, H_{Ar}-Ph), 7.23 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Tyr), 7.15 (d, 2H, ³J = 8.0 Hz, H_{Ar}-Tyr), 5.30 (d, 1H, ²J = 10.5 Hz, CH₂-Bn), 5.17-5.02 (m, 3H, NH-Tyr, 2 x CH₂-Bn), 4.90 (m, 2H, CH₂-Bn), 4.82-4.72 (m, 4H, CH₂-Bn), 4.65 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.64 (d, 1H, ²J = 12.4 Hz, CH₂-Bn), 4.58 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.7 Hz, H1-Gal), 4.55-4.44 (m, 3H, H^α-Tyr, 2 x CH₂-Bn), 4.35 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.11 (t*, 1H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.4 Hz, H4-Glc), 4.03 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 2.8 Hz, H4-Gal), 3.94-3.85 (m, 2H, H2-Gal, H6a-Glc), 3.78-3.70 (m, 2H, H6b-Glc, H3-Glc), 3.61 (t*, 1H, ²J = ³J = 7.2 Hz, H6a-Gal), 3.57-3.44 (m, 4H, H1-Glc, H5-Gal, H3-Gal, H6b-Gal), 3.42-3.33 (m, 2H, H2-Glc, H5-Glc), 3.20 (d_b, 1H, ²J = 13.4 Hz, CH_{2a}-exo), 3.11 (m_c, 2H, 2 x H^β-Tyr), 2.77 (t, 1H, ²J = 14.3 Hz, ³J = 8.7 Hz, CH_{2b}-exo), 1.52, 1.46 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-tBu).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 170.96 (COOtBu), 154.98 (C=O-Boc), 139.05, 138.93, 138.59, 138.42, 138.38, 138.00 (C_{ipso}-Ph), 137.32, 133.87 (C_{ipso}-Thr), 129.51, 129.04 (C_{o,m}-Thr), 128.29, 128.23, 128.19, 128.09, 128.05, 127.99, 127.93, 127.85, 127.77, 127.70, 127.67, 127.57, 127.52, 127.36, 127.25, 127.15, 126.95 (C_{o,m,p}-Ph), 102.58 (C1-Gal), 85.44 (C3-Glc), 82.33 (C3-Gal), 81.68 (C_q-tBu), 80.92 (C2-Glc), 79.99, 79.88 (C1-Glc, C2-Gal), 79.42 (C_q-Boc), 79.05 (C5-Glc), 76.68 (C4-Glc), 75.15, 75.09, 74.99, 74.54 (CH₂-Bn), 73.58 (C4-Gal), 73.25 (CH₂-Bn), 72.87 (C5-Gal, CH₂-Bn), 72.47 (CH₂-Bn), 68.09 (C6-Glc), 67.94 (C6-Gal), 54.72 (C^α-Tyr), 38.01 (C^β-Tyr), 37.43 (CH₂-exo), 28.19, 27.78 (CH₃-Boc und CH₃-tBu).

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-C-[2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl]-L-tyrosin-*tert*-butylester (162)**
(Boc-Tyr-C-[β-Ac₇Lac]-OtBu)



Debenzylierung

In einem Autoklavengefäß werden 988 mg (0.765 mmol) Boc-Tyr-C-[β-Bn₇Lac]-OtBu (**161**) in 10 mL Tetrahydrofuran, 5 mL Ethanol, 1 mL Wasser und 1 mL Essigsäure gelöst. Es wird 10 Minuten ein schwacher Argonstrom durch die Lösung geleitet. Man setzt eine Spatelspitze Palladium(II)-hydroxid (15-20 Gew.-%) auf Aktivkohle zu und leitet weitere 10 Minuten einen schwachen Argonstrom durch die Lösung. Der Autoklav wird verschlossen und unter eine Wasserstoffatmosphäre gesetzt (20 bar). Man rührt 5 Tage bei Raumtemp. und überführt die Lösung in einen Rundkolben. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. wird einmal mit einer Mischung aus Ethanol/Toluol (1 : 1) und zweimal mit Toluol kodestilliert. Das zurückbleibende von Aktivkohle schwarze Produkt wird direkt weiter umgesetzt.

Acetylierung

Das Rohprodukt aus der vorigen Reaktion in 40 mL Pyridin wird bei Raumtemp. mit 20 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Man rührt zwei Tage bei Raumtemperatur, entfernt anschließend die überschüssigen Reagenzien i. Vak. und kodestilliert zweimal mit Toluol. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 5 : 2 → 1 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als blassgelben amorphen Feststoff.

Ausbeute: 269 mg (0.282 mmol, 37% d. Th. über 2 Stufen)

Blassgelber amorpher Feststoff

$R_f = 0.23$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +9.2$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

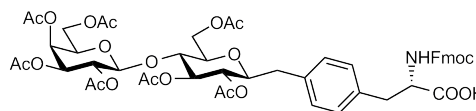
ESI-MS (m/z): 953.39 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 953.39)

$\text{C}_{45}\text{H}_{63}\text{NO}_{21}$ (953.98)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$, TOCSY] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.11-7.01 (m, 4H, H_{Ar} -Tyr), 5.33 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 3.3$ Hz, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = 0.7$ Hz, H4-Gal), 5.15 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = ^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 9.2$ Hz, H3-Glc), 5.09 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 7.9$ Hz, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 10.4$ Hz, H2-Gal), 4.96 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}^\alpha} = 8.1$ Hz, NH-Tyr), 4.94 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.4$ Hz, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 3.4$ Hz, H3-Gal), 4.82 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = ^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 9.6$ Hz, H2-Glc), 4.46 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 7.9$ Hz, H1-Gal), 4.43-4.37 (m, 2H, H6a-Glc, H^α -Tyr), 4.16-4.02 (m, 3H, H6ab-Gal, H6b-Glc), 3.85 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6b} = ^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6a} = 6.8$ Hz, H5-Gal), 3.72 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = ^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = 9.5$ Hz, H4-Glc), 3.62-3.54 (m, 1H, H1-Glc), 3.51-3.45 (m, 1H, H5-Glc), 3.07-2.92 (m, 2H, 2 x H^β -Tyr), 2.78-2.64 (m, 2H, CH_2 -exo), 2.13, 2.05, 2.04, 2.02, 2.01, 1.97, 1.95 (7 x s, 21H, CH_3 -Ac), 1.41, 1.40 (2 x s, 18H, CH_3 -Boc, CH_3 -*t*Bu).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB , HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 170.93, 170.33, 170.14, 170.06, 169.97, 169.93, 169.02 ($\text{COO}t\text{Bu}$, $\text{C}=\text{O}$ -Ac), 155.06 ($\text{C}=\text{O}$ -Boc), 135.59, 134.52 (C_{ipso} -Thr), 129.41, 129.33 ($\text{C}_{o,m}$ -Thr), 101.04 (C1-Gal), 81.97 (C_q -*t*Bu), 79.64 (C_q -Boc), 77.95 (C1-Glc), 77.20 (C4-Glc), 76.34 (C5-Glc), 74.38 (C3-Glc), 72.19 (C2-Glc), 70.94 (C3-Gal), 70.59 (C5-Gal), 69.07 (C2-Gal), 66.56 (C4-Gal), 62.11 (C6-Glc), 60.74 (C6-Gal), 54.76 (C^α -Tyr), 37.93 (C^β -Tyr), 37.35 (CH_2 -exo), 28.27, 27.93 (CH_3 -Boc, CH_3 -*t*Bu), 20.83, 20.81, 20.70, 20.60, 20.58, 20.56, 20.47 (7 x CH_3 -Ac).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]-L-tyrosin (**163**)**



(Fmoc-Tyr-C-[β -Ac₇Lac]-OH)

Abspaltung der Schutzgruppen der Aminosäure

Zu 269 mg (0.282 mmol) Boc-Tyr-C-[β -Ac₇Lac]-OtBu (**162**) in 10 mL Dichlormethan werden langsam 10 mL Trifluoressigsäure getropft. Man rührt zwei Stunden bei Raumtemp. und entfernt Lösungsmittel und Säure im Vakuum, wobei im Vorlagekolben eine wässrige KOH-Lösung vorgelegt wird. Der Rückstand wird dreimal mit Toluol kodestilliert und anschließend ohne weitere Charakterisierung umgesetzt.

Anknüpfung der Fmoc-Gruppe

Das Rohprodukt aus der vorigen Stufe wird in 14 mL Aceton gelöst und 5 mL Wasser zugesetzt. Zu der klaren Lösung gibt man 120 mg (0.355 mmol, 1.3 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidylcarbonat (Fmoc-OSu) und 88 mg (1.05 mmol, 3.7 Äquiv.) NaHCO₃ und rührt bei Raumtemp. für 30 Minuten. Dünnschichtchromatographisch lässt sich nach dieser Zeit die Bildung des Produktes erkennen. Man tropft 0.3 mL Essigsäure hinzu, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und kodestilliert zweimal mit einer Mischung aus Ethanol und Toluol und einmal mit Toluol. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan/Ethanol auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt. Dazu werden zunächst die unerwünschten Nebenprodukte mit Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1 → 1 : 2 abgetrennt und anschließend das Produkt mit Essigsäureethylester und später Essigsäureethylester + 5% Essigsäure eluiert. Man erhält das Produkt (**163**) als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 249 mg (0.244 mmol, 87% d. Th. über 2 Stufen)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.10$ (Petrolether/Essigsäureethylester/Essigsäure = 10 : 10 : 0.3)

$[\alpha]_D^{23} = +17.0$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 1042.33 ([M+Na]⁺, ber.: 1042.35)

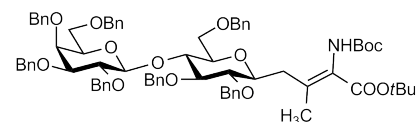
C₅₁H₅₇NO₂₁ (1019.99)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, TOCSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.79-7.70 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.57-7.48 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.42-7.35 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.30-7.25 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.10-7.04 (m, 4H, H_{Ar}-Tyr), 5.42 (d, 1H, ³J_{NH,H α} = 8.2 Hz, NH-Tyr), 5.33 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.3 Hz, H4-Gal), 5.15-5.06 (m, 2H, H3-Glc, H2-Gal), 4.96 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 10.4 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.4 Hz, H3-Gal), 4.80 (t*, 1H, ³J_{H2,H1} = ³J_{H2,H3} = 9.5 Hz, H2-Glc), 4.70-4.62 (m, 1H, H α -Tyr), 4.46 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.9 Hz, H1-Gal), 4.43-4.25 (m, 4H, 2 x CH₂-Fmoc, CH-Fmoc, H6a-Glc), 4.17-4.02

(m, 3H, H6b-Glc, H6ab-Gal), 3.85 (t*, 1H, $^3J_{H5,H6a} = ^3J_{H5,H6b} = 6.8$ Hz, H5-Gal), 3.69 (t*, 1H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H4,H5} = 9.5$ Hz, H4-Glc), 3.55-3.47 (m, 1H, H1-Glc), 3.42-3.36 (m, 1H, H5-Glc), 3.18 (dd, 1H, $^2J = 13.9$ Hz, $^3J = 4.9$ Hz, H $^{\beta}_a$ -Tyr), 3.05 (dd, 1H, $^2J = 13.8$ Hz, $^3J = 6.5$ Hz, H $^{\beta}_b$ -Tyr), 2.75-2.63 (m, 2H, CH₂-exo), 2.14, 2.08, 2.03, 2.01, 1.96 (5 x s, 21H, CH₃-Ac).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 176.21, 174.82, 170.53, 170.39, 170.18, 170.09, 170.02, 169.06 (COOH, C=O-Ac), 155.72 (C=O-Fmoc), 143.61, 143.55 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.13 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 135.80, 133.87 (C_{ipso}-Tyr), 129.63, 129.09 (C_{o,m}-Tyr), 127.68, 127.65 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 126.95 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.02, 124.93 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.93 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.88 (C1-Gal), 77.61 (C1-Glc), 76.53 (C4-Glc), 76.18 (C5-Glc), 74.28 (C3-Glc), 72.07 (C2-Glc), 70.88 (C3-Gal), 70.45 (C5-Gal), 69.02 (C2-Gal), 66.97 (CH₂-Fmoc), 66.56 (C4-Gal), 62.05 (C6-Glc), 60.73 (C6-Gal), 54.48 (C $^{\alpha}$ -Tyr), 46.93 (CH-Fmoc), 37.30, 37.21 (C $^{\beta}$ -Tyr, CH₂-exo), 20.72, 20.70, 20.58, 20.48, 20.39 (7 x CH₃-Ac).

(Z)-N-(tert-Butyloxycarbonyl)-C-[2,3,6-tri-O-benzyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]- α,β -dehydrovalin-tert-butylester (164)
(Boc-Z- Δ Val-[β -Bn₇Lac]-OtBu)



Die Synthese erfolgt nach der allgemeinen Vorschrift zur Hydroborierung-Kreuzkupplung-Sequenz.

Hydroborierung

673 mg (0.695 mmol) 4-(β -Bn₄Gal)-Bn₃Glc=CH₂ (**160**)

4.17 mL (2.08 mmol, 3.0 Äquiv.) 0.5M 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan (9-BBN)-Lsg. in THF

Reaktionszeit: 3 h

Kreuzkupplung

292 mg (0.868 mmol, 1.25 Äquiv.) Boc-Z- Δ Abu- β -Br-OtBu (**105**)

288 mg (2.08 mmol, 3.0 Äquiv.) K₂CO₃

57 mg (10 mol%) [PdCl₂(dppf)CH₂Cl₂]

5 mL *N,N*-Dimethylformamid

0.5 mL Wasser

Reaktionszeit: 75 min

Zur Aufarbeitung wird die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt und viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel anschließend i. Vak. und i. Hochvak entfernt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Pe-

trolether/Essigsäureethylester = 6 : 1 → 4 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 635 mg (0.518 mmol, 75% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.25$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 4 : 1)

$R_f = 0.39$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +25.9$ (c = 1.0, CHCl₃)

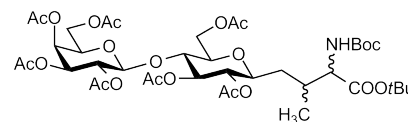
C₇₅H₈₇NO₁₄ (1226.49)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, TOCSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.42-7.11 (m, 35H, H_{Ar}-Ph), 5.20 (d, 1H, ²J = 10.5 Hz, CH₂-Bn), 5.01 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.98 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂-Bn), 4.79 (s, 2H, CH₂-Bn), 4.73-4.71 (m, 2H, CH₂-Bn), 4.70-4.60 (m, 3H, CH₂-Bn), 4.57 (d, 1H, ²J = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.44-4.38 (m, 3H, H1-Gal {4.40}, CH₂-Bn), 4.28 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.03 (t*, 1H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.5 Hz, H4-Glc), 3.91 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 2.5 Hz, H4-Gal), 3.83 (dd, 1H, ²J = 10.7 Hz, ³J = 3.5 Hz, H6a-Glc), 3.76 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 7.8 Hz, ³J_{H2,H3} = 9.7 Hz, H2-Gal), 3.64-3.55 (m, 2H, H6b-Glc, H3-Glc), 3.54-3.47 (m, 1H, H6a-Gal), 3.43-3.35 (m, 4H, H6b-Gal {3.41}, H5-Gal {3.39}, H3-Gal {3.38}, H1-Glc {3.34}), 3.35-3.27 (m, 1H, H5-Glc), 3.24 (t*, 1H, ³J_{H2,H1} = ³J_{H2,H3} = 9.1 Hz, H2-Glc), 2.46 (dd, 1H, ²J = 13.1 Hz, ³J = 9.9 Hz, CH_{2a}-exo), 2.32 (d_b, 1H, ²J = 12.6 Hz, CH_{2b}-exo), 1.96 (s, 3H, CH₃-AS), 1.53, 1.42 (2 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-tBu).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 164.45 (COOtBu), 153.90 (C=O-Boc), 139.08, 138.97, 138.73, 138.50, 138.21, 138.18, 138.07 (C_{ipso}-Ph), 133.33 (C^β-AS), 128.43, 128.36, 128.31, 128.14, 128.11, 128.00, 127.95, 127.84, 127.75, 127.72, 127.64, 127.62, 127.54, 127.47, 127.35, 127.30, 127.08 (C_{o,m,p}-Ph, C^α-AS), 102.65 (C1-Gal), 85.16 (C3-Glc), 82.33 (C3-Gal), 80.95 (C_q-tBu), 80.70 (C2-Glc), 79.82 (C2-Gal), 79.52 (C_q-Boc), 78.76 (C1-Glc), 78.48 (C5-Glc), 76.32 (C4-Glc), 75.21, 74.99, 74.62 (CH₂-Bn), 73.72 (C4-Gal), 73.41 (CH₂-Bn), 73.23 (C5-Gal), 72.58 (CH₂-Bn), 68.26 (C6-Glc, C6-Gal), 37.17 (CH₂-exo), 28.27, 28.01 (CH₃-Boc und CH₃-tBu), 19.24 (CH₃-AS).

***N*-(*tert*-Butyloxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]-threonin-*tert*-butylester (165)**

(Boc-Thr-C-[β -Ac₇Lac]-OtBu)



Hydrierung

In einem Autoklavengefäß werden 590 mg (0.481 mmol) Boc-Z- Δ Val-[β -Bn₇Lac]-OtBu (**164**) in 10 mL Tetrahydrofuran, 10 mL Ethanol und 1 mL Essigsäure gelöst. Es wird 5 Minuten ein schwacher Argonstrom durch die Lösung geleitet. Man setzt eine Spatelspitze Palladium(II)-hydroxid (15-20 Gew.-%) auf Aktivkohle zu und leitet weitere 5 Minuten einen schwachen Argonstrom durch die Lösung. Der Autoklav wird verschlossen und unter eine Wasserstoffatmosphäre gesetzt (25 bar). Man rührt 6 Tage bei Raumtemp. und überführt die Lösung in einen Rundkolben. Nach Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. wird noch einmal mit einer Mischung aus Ethanol/Toluol (1 : 1) und zweimal mit Toluol kodestilliert. Das zurückbleibende von Aktivkohle schwarze Produkt wird direkt weiter umgesetzt.

Acetylierung

Das Rohprodukt aus der vorigen Reaktion in 20 mL Pyridin wird bei Raumtemp. mit 10 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Man rührt 24 Stunden bei Raumtemperatur, entfernt die überschüssigen Reagenzien i. Vak. und kodestilliert zweimal mit Toluol. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 2 \rightarrow 1 : 1) gereinigt. Man erhält das Produkt als blassgelben amorphen Feststoff. Es handelt sich dabei um eine Mischung von 2 Diastereomeren, die bei der Hydrierung gebildet werden. Zudem enthält das Produkt eine geringe Menge einer Verunreinigung zweier Diastereomere, denen jeweils eine Acetylgruppe an Position 3 der Glucose zu fehlen scheint.

Ausbeute: 365 mg (max. 0.409 mmol, 85% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.19$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -4.0$ ($c = 1.0$, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 914.41 ([M+Na]⁺, ber.: 914.36), 1805.82 ([2M+Na]⁺, ber.: 1805.74)

HR-ESI-MS (m/z): 914.3654 ([M+Na]⁺, ber.: 914.3634)

C₄₀H₆₁NO₂₁ (891.91)

Die ¹H-NMR-Signale des Glucose-Bausteins und der Aminosäure können noch für die beiden Isomere Glc und Glc' bzw. Thr und Thr' unterschieden werden. Die Signale der Galactose-Bausteine zeigen nur geringe Differenzen, weshalb sie bis auf das Signal von H1-Gal nicht weiter gekenn-

zeichnet werden.

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.31 (d, 1H, ³J_{H₄,H₃} = 3.4 Hz, H4-Gal), 5.19-5.00 (m, 2H, H3-Glc {5.15}, H3-Glc' {5.12}, H2-Gal {5.08}), 4.91 (dd, 1H, ³J_{H₃,H₂} = 10.4 Hz, ³J_{H₃,H₄} = 3.4 Hz, H3-Gal), 4.76-4.67 (m, 1H, H2-Glc' {4.73}, H2-Glc {4.70}), 4.46 (d, 1H, ³J_{H₁,H₂} = 7.8 Hz, H1-Gal), 4.44 (d, 1H, ³J_{H₁,H₂} = 7.9 Hz, H1-Gal'), 4.42-4.35 (m, 1H, H6a-Glc), 4.25-4.00 (m, 4H, H^α-Thr {4.20}, H^α-Thr' {4.11}, H6a-Gal, H6b-Gal {4.12-4.03}, H6b-Glc {4.05}), 3.83 (t*, 1H, ³J_{H₅,H_{6a}} = ³J_{H₅,H_{6b}} = 6.9 Hz, H5-Gal), 3.76-3.37 (m, 3H, H4-Glc {3.72}, H4-Glc' {3.70}, H1-Glc {3.65}, H5-Glc {3.57}, H5-Glc' {3.49}, H1-Glc' {3.40}), 2.36-2.25 (m, 1H, H^β-Thr), 2.22-2.14 (m, 1H, H^β-Thr'), 2.12, 2.12, 2.08, 2.07, 2.03, 2.01, 2.00, 1.99, 1.98, 1.97, 1.93 (11 x s, 21 H, CH₃-Ac), 1.67-1.51 (m, 1H, CH_{2a}-exo), 1.43, 1.42, 1.40, 1.39 (4 x s, 18H, CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu), 1.32-1.19 (m, 1H, CH_{2b}-exo), 0.81 (d, ³J = 6.9 Hz, CH₃-Thr), 0.79 (d, ³J = 7.2 Hz, CH₃-Thr').

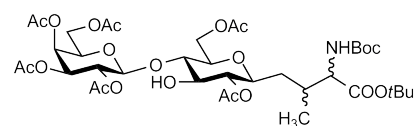
¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 171.24, 170.96, 170.27, 170.11, 170.09, 170.02, 169.99, 169.89, 169.86, 169.75, 169.62, 169.00, 168.91 (C=O-Ac, COO*t*Bu), 155.71, 155.51 (C=O-Boc), 101.02, 100.94 (C1-Gal), 81.83, 81.77 (C_q-*t*Bu), 79.62, 79.50 (C_q-Boc), 77.20 (C4-Glc), 76.56, 76.34 (C5-Glc), 75.16 (C1-Glc), 74.29, 74.22 (C3-Glc), 72.86, 72.57 (C2-Glc), 70.96, 70.92 (C3-Gal), 70.55 (C5-Gal), 69.02, 69.01 (C2-Gal), 66.55 (C4-Gal), 62.38, 62.34 (C6-Glc), 60.74 (C6-Gal), 58.07, 55.71 (C^α-Thr), 35.01, 34.59 (CH₂-exo), 32.23, 31.91 (C^β-Thr), 28.22, 28.18, 27.91 (CH₃-Boc und CH₃-*t*Bu), 20.78, 20.76, 20.71, 20.65, 20.55, 20.53, 20.43, 20.38, 20.30 (CH₃-Ac), 15.48, 14.10 (CH₃-Thr).

Charakteristische Signale der unvollständig acetylierten Verbindung:

Auswertung der isolierten Signale aus dem HSQC-Spektrum.

Es wurde nur die jeweilige Lage des Signals ohne Bestimmung der Kopplungskonstanten ermittelt. Die Lage

der Signale deutet auf ein Fehlen der Acetyl-Schutzgruppe in Position 3-Glc hin.



ESI-MS (m/z): 872.40 ([M+Na]⁺, ber.: 872.86), 1721.82 ([2M+Na]⁺, ber.: 1721.73)

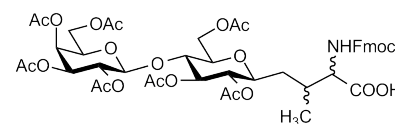
C₃₈H₅₉NO₂₀ (849.87)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 5.35 (d, 1H, ³J_{H₄,H₃} = 3.3 Hz, H4-Gal), 5.21 (m_c, 1H, H2-Gal), 4.97 (m_c, 1H, H3-Gal), 4.51 (m_c, 1H, H1-Gal), 4.00 (m_c, 1H, H5-Gal), 3.48 (m_c, 1H, H4-Glc),

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 101.91 (C1-Gal), 83.10 (C4-Glc), 71.23 (C5-Gal), 70.75 (C3-Gal), 68.59 (C2-Gal), 66.71 (C4-Gal).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]-threonin (**166a**, **166b**)**

(Fmoc-Thr-C-[β -Ac₇Lac]-OH)



Abspaltung der Schutzgruppen der Aminosäure

365 mg (max. 0.409 mmol) Boc-Thr-C-[β -Ac₇Lac]-OtBu (**165**) werden in 40 mL Chloroform gelöst und mit 8 mL Trifluoressigsäure, 1 mL Triethylsilan und 1 mL Wasser versetzt. Man rührt 5 Stunden bei Raumtemp. und entfernt Lösungsmittel und Säure im Vakuum, wobei im Vorlagekolben eine wässrige KOH-Lösung vorgelegt wird. Der Rückstand wird zweimal mit Toluol kodestilliert und anschließend ohne weitere Charakterisierung umgesetzt.

Anknüpfung der Fmoc-Gruppe

Das Rohprodukt aus der vorigen Stufe wird in 25 mL Aceton mit 3 mL Wasser versetzt. Zu der klaren Lösung gibt man 206 mg (0.611 mmol, 1.5 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethylsuccinimidylcarbonat (Fmoc-OSu), eine Mikrospatelspitze festes NaHCO₃ und rührt 30 Minuten bei Raumtemperatur. Man versetzt mit weiteren 3 mL Wasser und gibt erneut eine Mikrospatelspitze festes NaHCO₃ zu, wodurch der pH-Wert der Lösung bei 8 liegt. Man gibt 5 mL Essigsäure und 20 mL Toluol zu, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und kodestilliert zweimal mit einer Mischung aus Ethanol und Toluol und einmal mit Toluol. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan/Ethanol auf Kieselgel aufgezogen und mittels Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt. Dabei werden zunächst die unerwünschten Nebenprodukte mit Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1 → 1 : 2 abgetrennt und anschließend das Produkt mit Essigsäureethylester und später Essigsäureethylester + 5% Essigsäure eluiert. Man erhält das Produkt in Form eines farblosen amorphen Feststoffes. Es handelt sich um eine Mischung von zwei Diastereomeren des gewünschten Produktes (**166a** und **166b**). Daneben kann man zwei weitere Diastereomere erkennen, bei denen die Acetylgruppe an Position 3 der Glucose fehlt (**166c** und **166d**). Die 4 Verbindungen lassen sich mittels RP-HPLC trennen und charakterisieren.

Ausbeute: 307 mg (max. 0.321 mmol, 78% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

C₄₆H₅₅NO₂₁ (957.92)

Isomer **166a**:

Farbloser amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: R_t = 30.1 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O, (50:50) → (65:35), 60 min, λ = 214 nm); Präp. HPLC: R_t = 48.7 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O, (50:50) → (65:35), 60 min, λ =

214 nm)

$[\alpha]_D^{23} = -17.0$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 980.32 ([M+Na]⁺, ber.: 980.32)

HR-ESI-MS (m/z): 980.3167 ([M+Na]⁺, ber.: 980.3164)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, TOCSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.76 (d, 2H, ³J = 7.4 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.61-7.55 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 7.40 (d, 2H, ³J = 7.3 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.30 (d, 2H, ³J = 7.3 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 5.47 (d, 1H, ³J_{NH,H^α} = 8.7 Hz, NH-Thr), 5.34 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.2 Hz, H4-Gal), 5.18-5.08 (m, 2H, H3-Glc {5.15}, H2-Gal {5.11}), 4.95 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 10.4 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.3 Hz, H3-Gal), 4.74 (t*, 1H, ³J_{H2,H1} = ³J_{H2,H3} = 9.4 Hz, H2-Glc), 4.52-4.36 (m, 5H H1-Gal {4.47}, CH_{2a}-Fmoc {4.46}, H^α-Thr {4.45}, CH_{2b}-Fmoc {4.42}, H6a-Glc {4.40}), 4.22 (t, 1H, ³J = 6.8 Hz, CH-Fmoc), 4.16-3.97 (m, 3H, H6a-Gal, H6b-Gal {4.14-4.07}, H6b-Glc {4.02}), 3.86 (t*, 1H, ³J_{H5,H6a} = ³J_{H5,H6b} = 6.7 Hz, H5-Gal), 3.70 (t*, 1H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.3 Hz, H4-Glc), 3.50-3.34 (m, 2H, H1-Glc {3.39}, H5-Glc {3.43}), 2.33-2.25 (m, 1H, H^β-Thr), 2.15, 2.05, 2.03, 2.03, 2.02, 1.97, 1.96 (7 x s, 21H, CH₃-Ac), 1.68-1.53 (m, 1H, CH_{2a}-exo), 1.37-1.30 (m_c, 1H, CH_{2b}-exo), 0.94 (d, 3H, ³J = 6.4 Hz, CH₃-Thr).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 175.10, 170.68, 170.42, 170.19, 170.11, 170.00, 169.14 (C=O-Ac, COOH), 156.33 (C=O-Fmoc), 143.75, 143.64 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.27, 141.25 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 128.98, 128.18, 127.78, 127.75, 127.05 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.25, 124.93 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.03, 120.01 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 101.07 (C1-Gal), 76.62 (C4-Glc), 76.45 (C5-Glc), 75.82 (C1-Glc), 74.24 (C3-Glc), 72.47 (C2-Glc), 70.96 (C3-Gal), 70.56 (C5-Gal), 69.09 (C2-Gal), 66.94 (CH₂-Fmoc), 66.60 (C4-Gal), 62.40 (C6-Glc), 60.79 (C6-Gal), 57.89 (C^α-Thr), 47.08 (CH-Fmoc), 34.72 (CH₂-exo), 32.57 (C^β-Thr), 20.81, 20.64, 20.60, 20.48 (CH₃-Ac), 15.35 (CH₃-Thr).

Isomer **166b**:

Farbloser amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: R_t = 28.2 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O, (50:50)→(65:35), 60 min, λ = 214 nm); Präp. HPLC: R_t = 45.9 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O, (50:50)→(65:35), 60 min, λ = 214 nm)

$[\alpha]_D^{23} = +0.4$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 980.32 ([M+Na]⁺, ber.: 980.32)

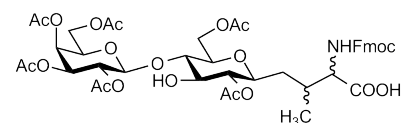
HR-ESI-MS (m/z): 980.3167 ([M+Na]⁺, ber.: 980.3164)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.76 (d, 2H, ³J = 7.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.59 (t, 2H, ³J = 7.3 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.40 (t, 2H, ³J = 7.4 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.35-7.28 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 5.37 (d, 1H, ³J_{NH,H^α} = 8.9 Hz, NH-Thr), 5.34 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.1 Hz, H4-Gal), 5.19 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 9.0 Hz, H3-Glc), 5.11 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 8.0 Hz, ³J_{H2,H3} = 10.4

Hz, H2-Gal), 4.95 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.4$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.4$ Hz, H3-Gal), 4.75 (t*, 1H, $^3J_{H2,H1} = ^3J_{H2,H3} = 9.5$ Hz, H2-Glc), 4.56-4.38 (m, 4H, H $^{\alpha}$ -Thr {4.51}, H1-Gal {4.47}, H6a-Glc {4.44}, CH $_{2a}$ -Fmoc {4.42}), 4.34 (dd, 1H, $^2J = 10.5$ Hz, $^3J = 7.4$ Hz, CH $_{2b}$ -Fmoc), 4.22 (t, 1H, $^3J = 7.0$ Hz, CH-Fmoc), 4.15-4.01 (m, 3H, H6a-Gal, H6b-Gal, H6b-Glc), 3.86 (t*, 1H, $^3J_{H5,H6a} = ^3J_{H5,H6b} = 7.0$ Hz, H5-Gal), 3.71 (t*, 1H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H4,H5} = 9.4$ Hz, H4-Glc), 3.66-3.57 (m, 2H, H1-Glc, H5-Glc), 2.45 (s_b, 1H, H $^{\beta}$ -Thr), 2.08, 2.05, 2.03, 2.01, 1.96, 1.90 (6 x s, 21 H, CH $_3$ -Ac), 1.62-1.51 (m, 1H, CH $_{2a}$ -exo), 1.42-1.31 (m, 1H, CH $_{2b}$ -exo), 0.90 (d, 3H, $^3J = 6.4$ Hz, CH $_3$ -Thr).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl $_3$): δ (ppm) = 175.52, 170.73, 170.41, 170.21, 170.12, 169.86, 169.07 (C=O-Ac, COOH), 156.48 (C=O-Fmoc), 143.71, 143.53 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.26, 141.23 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 128.99, 128.18, 127.79, 127.08 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.03, 124.95 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.02 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.94 (C1-Gal), 76.73 (C4-Glc), 76.52 (C5-Glc), 74.90 (C1-Glc), 74.08 (C3-Glc), 72.70 (C2-Glc), 70.97 (C3-Gal), 70.60 (C5-Gal), 69.06 (C2-Gal), 67.25 (CH $_2$ -Fmoc), 66.62 (C4-Gal), 62.51 (C6-Glc), 60.82 (C6-Gal), 55.78 (C $^{\alpha}$ -Thr), 47.06 (CH-Fmoc), 34.84 (CH $_2$ -exo), 31.59 (C $^{\beta}$ -Thr), 20.81, 20.73, 20.61, 20.58, 20.50 (CH $_3$ -Ac), 15.61 (CH $_3$ -Thr).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,6-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]-threonin (166c, 166d)**
(Fmoc-Tyr-C-[β -Ac $_6$ Lac]-OH)



C $_{44}$ H $_{53}$ NO $_{20}$ (915.89)

Isomer 166c:

Farbloser amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: $R_t = 25.2$ min (Phenomenex Luna, MeCN/H $_2$ O, (50:50) \rightarrow (65:35), 60 min, $\lambda = 214$ nm); Präp. HPLC: $R_t = 41.9$ min (Phenomenex Luna, MeCN/H $_2$ O, (50:50) \rightarrow (65:35), 60 min, $\lambda = 214$ nm)

$[\alpha]_D^{23} = -1.1$ (c = 1.0, CHCl $_3$)

ESI-MS (m/z): 938.30 ([M+Na] $^+$, ber.: 938.31)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl $_3$): δ (ppm) = 7.77 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, H $_{Ar}$ -Fmoc), 7.61-7.56 (m, 2H, H $_{Ar}$ -Fmoc), 7.40 (t, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, H $_{Ar}$ -Fmoc), 7.31 (t, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, H $_{Ar}$ -Fmoc), 5.65 (d, 1H, $^3J_{NH,H^{\alpha}} = 8.9$ Hz, NH-Thr), 5.37 (d, 1H, $^3J_{H4,H3} = 3.3$ Hz, H4-Gal), 5.27 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 8.4$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.2$ Hz, H2-Gal), 5.01 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.4$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.4$ Hz, H3-Gal), 4.66 (t*, 1H, $^3J_{H2,H1} = ^3J_{H2,H3} = 9.6$ Hz, H2-Glc), 4.59-4.52 (m, 2H, H1-Gal {4.57}, CH $_{2a}$ -Fmoc {4.55}), 4.43 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 6.1$ Hz, CH $_{2b}$ -Fmoc), 4.38-4.33 (m_c, 1H, H $^{\alpha}$ -Thr), 4.22 (m_c, 1H, CH-Fmoc), 4.18-4.08 (m, 3H, H6a-Glc {4.15}, H6a-Gal, H6b-Gal

{4.12}), 4.00 (t*, 1H, $^3J_{H5,H6a} = ^3J_{H5,H6b} = 6.4$ Hz, H5-Gal), 3.85 (dd, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, $^3J = 6.5$ Hz, H6b-Glc), 3.66 (t*, 1H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 8.7$ Hz, H3-Glc), 3.38 (t*, 1H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H4,H5} = 8.8$ Hz, H4-Glc), 3.29-3.17 (m, 2H, H1-Glc {3.24}, H5-Glc {3.21}), 2.26-2.18 (m, 1H, H^β-Thr), 2.17, 2.10, 2.05, 2.03, 1.99, 1.87 (6 x s, 18H, CH₃-Ac), 1.62-1.51 (m, 1H, CH_{2a}-exo), 1.40-1.30 (m, 1H, CH_{2b}-exo), 1.01 (d, 3H, $^3J = 6.7$ Hz, CH₃-Thr).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 170.92, 170.57, 170.06, 169.97 (C=O-Ac, COOH), 156.24 (C=O-Fmoc), 143.88, 143.73 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.43, 141.38 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.83, 127.78, 127.11, 126.98 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc), 124.79, 124.77 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.14, 120.03 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 101.90 (C1-Gal), 83.01 (C4-Glc), 75.95 (C5-Glc), 75.04 (C1-Glc), 74.60 (C3-Glc), 73.23 (C2-Glc), 71.36 (C5-Gal), 70.90 (C3-Gal), 68.61 (C2-Gal), 66.83 (C4-Gal), 66.54 (CH₂-Fmoc), 63.16 (C6-Glc), 61.84 (C6-Gal), 57.97 (C^α-Thr), 47.16 (CH-Fmoc), 34.66 (CH₂-exo), 33.69 (C^β-Thr), 20.83, 20.63, 20.60, 20.48, 20.37 (CH₃-Ac), 16.88 (CH₃-Thr).

Isomer **166d**:

Farbloser amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: R_t = 22.2 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O, (50:50)→(65:35), 60 min, λ = 214 nm); Präp. HPLC: R_t = 37.9 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O, (50:50) →(65:35), 60 min, λ = 214 nm)

$[\alpha]_D^{23} = +9.2$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 938.29 ([M+Na]⁺, ber.: 938.31)

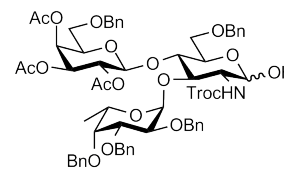
¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.77 (d, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.59 (t, 2H, $^3J = 7.8$ Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.41 (t, 2H, $^3J = 7.3$ Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.35-7.28 (m, 2H, H_{Ar}-Fmoc), 5.37 (s_b, 1H, H4-Gal), 5.24 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 8.1$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.2$ Hz, H2-Gal), 5.00 (d_b, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.2$ Hz, H3-Gal), 4.73 (t*, 1H, $^3J_{H2,H1} = ^3J_{H2,H3} = 8.9$ Hz, H2-Glc), 4.57-4.48 (m, 2H, H1-Gal {4.54}, H^α-Thr {4.52}), 4.43 (dd, 1H, $^2J = 10.1$ Hz, $^3J = 7.4$ Hz, CH_{2a}-Fmoc), 4.35 (dd, 1H, $^2J = 10.6$ Hz, $^3J = 7.2$ Hz, CH_{2b}-Fmoc), 4.32-4.20 (m, 2H, H6a-Glc {4.30}, CH-Fmoc {4.23}), 4.17-4.06 (m, 2H, H6a-Gal, H6b-Gal), 4.04-3.97 (m, 2H, H5-Gal {4.01}, H6b-Glc {4.00}), 3.73 (t*, 1H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 8.1$ Hz, H3-Glc), 3.61-3.52 (m, 2H, H1-Glc, H5-Glc), 3.51-3.43 (m, 1H, H4-Glc), 2.46 (s_b, 1H, H^β-Thr), 2.16, 2.08, 2.07, 2.03, 1.98, 1.95 (6 x s, 18H, CH₃-Ac), 1.63-1.53 (m, 1H, CH_{2a}-exo), 1.44-1.35 (m, 1H, CH_{2b}-exo), 0.92 (d, 3H, $^3J = 6.7$ Hz, CH₃-Thr).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 175.27, 170.94, 170.51, 170.06, 169.99, 169.50 (C=O-Ac, COOH), 156.47 (C=O-Fmoc), 143.60 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.27, 141.25 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.80, 127.10 (C3-Fmoc, C6-Fmoc, C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.04, 124.96 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.05 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 101.97 (C1-Gal), 83.18 (C4-Glc), 75.31 (C5-

Glc), 74.66 (C1-Glc), 74.37 (C3-Glc), 73.45 (C2-Glc), 71.37 (C5-Gal), 70.83 (C3-Gal), 68.64 (C2-Gal), 67.26 (CH₂-Fmoc), 66.77 (C4-Gal), 63.03 (C6-Glc), 61.72 (C6-Gal), 55.79 (C^α-Thr), 47.06 (CH-Fmoc), 34.68 (CH₂-exo), 31.61 (C^β-Thr), 20.74, 20.59, 20.47, 20.38 (CH₃-Ac), 15.72 (CH₃-Thr).

5.8 Die komplex funktionalisierten C-Glycosylaminosäuren

4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- α,β -D-glucopyranose (171**)¹⁴⁴
(α,β -Ac₃Bn₅Le^xNTroc-OH)**



1.57 g (0.909 mmol) β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3(α -Bn₃Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS (**36**) werden in 60 mL Tetrahydrofuran auf 0 °C gekühlt. Man verdünnt in einer Spritze 1.5 mL (1.50 mmol, 1.7 Äquiv.) 1.0M Tetra-*n*-butylammoniumfluorid-Lösung (1.50 mmol, 1.65 Äquiv.) mit Tetrahydrofuran auf 10 mL und in einer weiteren Spritze 0.2 mL (3.50 mmol, 3.9 Äquiv.) Essigsäure ebenfalls mit Tetrahydrofuran auf 10 mL. Beide Lösungen werden nun beginnend mit der Essigsäure-Lösung abwechselnd in 0.2 mL-Portionen zu der Kohlenhydratlösung getropft. Nach 30 Minuten entfernt man das Kühlbad und rührt 3 Tage bei Raumtemp. weiter. Anschließend versetzt man mit Kieselgel und Toluol, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 2 \rightarrow 1 : 1)

Ausbeute: 755 mg (0.609 mmol, 67% d. Th.)

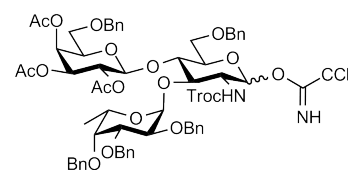
Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.12 (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1)

ESI-MS (m/z): 1260.35 ([M+Na]⁺, ber.: 1260.35)

C₆₂H₇₀Cl₃NO₁₉ (1239.57)

4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- α,β -D-glucopyranosyl-trichloracetimidat (172**)
(α,β -Ac₃Bn₅Le^xNTroc-OC(NH)CCl₃)**



680 mg (0.500 mmol) α,β -Ac₃Bn₅Le^xNTroc-OH (**171**) werden in 10 mL absol. Dichlormethan mit 1 mL (10.0 mmol, 20 Äquiv.) Trichloroacetonitril versetzt. Langsam werden 15 Tropfen einer Lösung aus 0.25 mL 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) in 2.25 mL absol. Dichlormethan zugetropft. Innerhalb von einer Stunde lässt man unter Rühren auf Raumtemp. kommen, wobei sich die Farbe der Reaktionsmischung von farblos nach hellgelb ändert. Überschüssige Reagenzien werden i. Vak. entfernt und der Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel:

Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1 \rightarrow 1 : 1) gereinigt. Neben dem gewünschten Produkt lässt sich auch eine Fraktion von 318 mg (0.257 mmol, 51%) des Eduktes α,β -Ac₃Bn₅Le^xNTroc-OH (**171**) zurückisolieren. Dies ist wahrscheinlich auf Hydrolyse wegen des fehlenden Triethylamins im Laufmittelgemisch zurückzuführen.

Ausbeute: 120 mg (86.7 μ mol, 17% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.26$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 1 : 1)

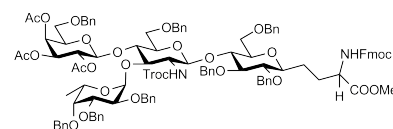
$[\alpha]_D^{23} = +1.3$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 1403.28 ([M+Na]⁺, ber.: 1403.26)

HR-ESI-MS (m/z): 1403.2604 ([M+Na]⁺, ber.: 1403.2602)

C₆₄H₇₀Cl₃N₂O₁₉ (1383.96)

N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-C-[2,3,6-tri-O-benzyl-4-O-{4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosyl]- β -D-glucopyranosyl]-serin-methylester (173**)**



(Fmoc-Ser-C-[(β -Ac₃Bn₅Le^xNTroc)- β -Bn₃Glc]-OMe)

In einem Kolben werden 105 mg (0.138 mmol, 1.6 Äquiv.) Fmoc-C-Ser-[(β -Bn₃Glc)-OMe (**151**) und 120 mg (86.7 μ mol) α,β -Ac₃Bn₅Le^xNTroc-OC(NH)CCl₃ (**172**) in absol. Dichlormethan gelöst. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und die Feststoffmischung 30 Minuten i. Hochvak. getrocknet. Man gibt 0.4 g frisch ausgeheiztes Molekularsieb (3 Å) und 5 mL absol. Dichlormethan zu und rührt eine Stunde bei Raumtemperatur. Dann wird der Ansatz auf - 20 °C gekühlt und mit einer Lösung von 3 μ L Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in 3 mL absol. Dichlormethan versetzt. Man gibt nach 30 Minuten noch in der Kälte ca. 15 mL ges. NaHCO₃-Lösung zu und lässt auf Raumtemp. kommen. Die organische Phase wird abgetrennt, die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1 \rightarrow 3 : 2) gereinigt. Dabei kann man neben dem gewünschten Produkt auch 87 mg (0.113 mmol, 82%) Fmoc-C-Ser-[(β -Bn₃Glc)-OMe (**151**) zurückgewinnen.

Ausbeute: 28 mg (14.1 μ mol, 17% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.16$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 2)

$[\alpha]_D^{23} = -28.5$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 2013.68 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 2013.68)

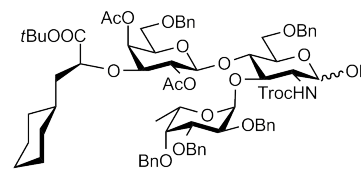
HR-ESI-MS (m/z): 2013.6860 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 2013.6807)

$\text{C}_{109}\text{H}_{117}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O}_{27}$ (1993.45)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$, TOCSY] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.80-7.73 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.66-7.58 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$), 7.46-7.06 (m, 44H, $\text{H}_{Ar}\text{-Fmoc}$, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 5.38 (d, 1H, $^3J_{\text{NH},\text{H}^\alpha} = 8.4$ Hz, NH-Ser), 5.34 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 3.3$ Hz, $\text{H}_4\text{-Gal}$), 5.19 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 3.6$ Hz, $\text{H}_1\text{-Fuc}$), 5.13 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2), 5.00-4.93 (m, 2H, CH_2 , $\text{H}_2\text{-Gal}$ {4.97}), 4.84-4.55 (m, 11H, $\text{H}_3\text{-Gal}$ {4.74}, $\text{H}_5\text{-Fuc}$ {4.66}, CH_2), 4.53-4.38 (m, 5H, $\text{H}_1\text{-Gal}$ {4.51}, $\text{CH}_{2a}\text{-Fmoc}$ {4.43}, CH_2), 4.36-4.16 (m, 8H, $\text{H}^\alpha\text{-Ser}$ {4.33}, $\text{H}_1\text{-GlcN}$ {4.32}, $\text{CH}_{2b}\text{-Fmoc}$ {4.31}, CH-Fmoc {4.23}, CH_2), 4.06 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 3.6$ Hz, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 10.1$ Hz, $\text{H}_2\text{-Fuc}$), 3.99 (t*, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = ^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = 9.0$ Hz, $\text{H}_4\text{-GlcN}$), 3.94-3.86 (m, 2H, $\text{H}_4\text{-Glc}$ {3.91}, $\text{H}_3\text{-Fuc}$ {3.89}), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.68-3.50 (m, 8H, $\text{H}_{6a}\text{-Glc}$ {3.65}, $\text{H}_3\text{-GlcN}$ {3.64}, $\text{H}_4\text{-Fuc}$ {3.59}, $\text{H}_{6b}\text{-Glc}$ {3.57}), $\text{H}_3\text{-Glc}$ {3.56}, $\text{H}_{6ab}\text{-GlcN}$ {3.54}, $\text{H}_2\text{-GlcN}$ {3.51}), 3.47 (m_c , 1H, $\text{H}_{6a}\text{-Gal}$), 3.33 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_{6a}} = 8.5$ Hz, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_{6b}} = 4.9$ Hz, $\text{H}_5\text{-Gal}$), 3.29-3.23 (m, 1H, $\text{H}_{6b}\text{-Gal}$), 3.21-3.11 (m, 3H, $\text{H}_2\text{-Glc}$ {3.17}, $\text{H}_1\text{-Glc}$ {3.15}, $\text{H}_5\text{-Glc}$ {3.15}), 3.01 (d_b , 1H, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_4} = 9.4$ Hz, $\text{H}_5\text{-GlcN}$), 1.96 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1.88-1.81 (m, 3H, 2 x $\text{H}^\beta\text{-Ser}$, $\text{CH}_{2a}\text{-exo}$), 1.74 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1.45-1.39 (m, 1H, $\text{CH}_{2b}\text{-exo}$), 1.30 (d, 3H, $^3J = 6.4$ Hz, $\text{H}_{6abc}\text{-Fuc}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB , HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 172.88, 169.92, 169.64, 168.87 (COOMe , C=O-Ac), 155.97 (C=O-Fmoc), 153.35 (C=O-Troc), 143.94, 143.76 ($\text{C}_{1a}\text{-Fmoc}$, $\text{C}_{8a}\text{-Fmoc}$), 141.28, 141.26 ($\text{C}_{4a}\text{-Fmoc}$, $\text{C}_{5a}\text{-Fmoc}$), 139.41, 138.82, 138.63, 138.11, 138.05, 137.72, 137.37, 137.24 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$), 129.25, 128.98, 128.52, 128.43, 128.37, 128.32, 128.26, 128.15, 128.07, 127.98, 127.79, 127.70, 127.58, 127.50, 127.08, 127.02, 126.97 ($\text{C}_3\text{-Fmoc}$, $\text{C}_6\text{-Fmoc}$, $\text{C}_2\text{-Fmoc}$, $\text{C}_7\text{-Fmoc}$, $\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 125.23, 125.09 ($\text{C}_1\text{-Fmoc}$, $\text{C}_8\text{-Fmoc}$), 119.97 ($\text{C}_4\text{-Fmoc}$, $\text{C}_5\text{-Fmoc}$), 100.16 ($\text{C}_1\text{-GlcN}$), 99.57 ($\text{C}_1\text{-Gal}$), 96.46 ($\text{C}_1\text{-Fuc}$), 95.37 (CCl_3), 85.55 ($\text{C}_3\text{-Glc}$), 80.99 ($\text{C}_2\text{-Glc}$), 79.78 ($\text{C}_3\text{-Fuc}$), 78.72, 78.18 ($\text{C}_1\text{-Glc}$, $\text{C}_5\text{-Glc}$), 77.69 ($\text{C}_4\text{-Fuc}$), 76.56 ($\text{C}_2\text{-Fuc}$), 76.11 ($\text{C}_4\text{-Glc}$), 75.11, 75.09, 74.86 (CH_2 , $\text{C}_5\text{-GlcN}$), 74.50, 74.29 (CH_2), 73.93, 73.85 ($\text{C}_4\text{-GlcN}$, $\text{C}_3\text{-GlcN}$, CH_2), 73.48, 73.35, 73.17, 73.10 (CH_2), 71.09 ($\text{C}_5\text{-Gal}$), 70.81 ($\text{C}_3\text{-Gal}$), 69.09 ($\text{C}_2\text{-Gal}$), 67.44, 67.11, 67.02 ($\text{CH}_2\text{-Fmoc}$, $\text{C}_4\text{-Gal}$, $\text{C}_6\text{-Glc}$, $\text{C}_6\text{-GlcN}$), 66.17 ($\text{C}_5\text{-Fuc}$, $\text{C}_6\text{-Gal}$), 59.15 ($\text{C}_2\text{-GlcN}$), 53.77 ($\text{C}^\alpha\text{-Ser}$), 52.34 (OCH_3), 47.11 (CH-Fmoc), 28.26 ($\text{C}^\beta\text{-Ser}$), 27.47 ($\text{CH}_2\text{-exo}$), 20.69, 20.58, 20.53 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$), 16.72 ($\text{C}_6\text{-Fuc}$).

4-O- $\{2,4$ -di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-*tert*-butyloxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl}-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)- α,β -D-glucopyranose (174)
(β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOO*t*Bu-OH)



905 mg (0.550 mmol) β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOO*t*Bu-OTBDPS (**44**) werden in 40 mL Tetrahydrofuran auf 0 °C gekühlt. Man verdünnt in einer Spritze 0.825 mL (0.825 mmol, 1.5 Äquiv.) 1.0M Tetra-*n*-butylammoniumfluorid-Lösung (1.50 mmol, 1.7 Äquiv.) mit THF auf 5 mL und in einer weiteren Spritze 0.09 mL (1.57 mmol, 2.9 Äquiv.) Essigsäure ebenfalls mit THF auf 5 mL. Beide Lösungen werden nun beginnend mit der Essigsäure-Lösung abwechselnd in 0.2 mL-Portionen zu der Kohlenhydratlösung getropft. Man lässt den Ansatz sich langsam erwärmen und rührt 3 Tage bei Raumtemp. weiter. Anschließend versetzt man mit Kiesegel und Toluol, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kiesegel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1 \rightarrow 4 : 3)

Ausbeute: 682 mg (0.485 mmol, 88% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

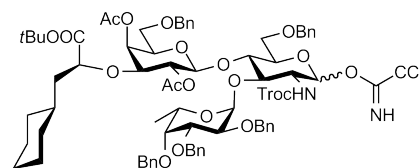
R_f = 0.17 (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

ESI-MS (m/z): 1428.53 ([M+Na]⁺, ber.: 1428.50)

HR-ESI-MS (m/z): 1428.4979 ([M+Na]⁺, ber.: 1428.5019)

C₇₃H₉₀Cl₃NO₂₀ (1407.85)

4-O- $\{2,4$ -Di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-*tert*-butyloxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl}-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)- α,β -D-glucopyranosyl-trichloracetimidat (175)
(α,β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOO*t*Bu-OC(NH)CCl₃)



680 mg (0.485 mmol) α,β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOO*t*Bu-OH (**174**) werden in 9.5 mL absol. Dichlormethan mit 1 mL (10.0 mmol, 21 Äquiv.) Trichloracetonitril versetzt. Bei 10 °C werden 15 Tropfen einer Lösung aus 0.25 mL 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) in 2.25 mL absol. Dichlormethan langsam zugetropft. Innerhalb von 1.5 Stunden lässt man unter Rühren auf Raumtemp. kommen, wobei sich die Farbe der Reaktionsmischung von farblos nach hellgelb ändert. Nach dieser Zeit wird nochmals mit 1 mL Trichloracetonitril versetzt und 5 weitere Tropfen der

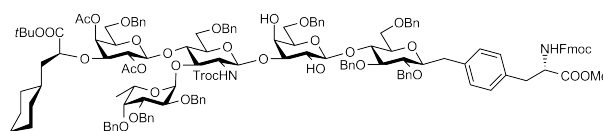
DBU-Lösung zugetropft. Nach weiteren 1.5 Stunden werden das Lösungsmittel und überschüssige Reagenzien i. Vak. entfernt und der Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel über eine kurze Säule gereinigt (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 2 mit 1% NEt₃). Das erhaltene Gemisch aus beiden Anomeren wird ohne Charakterisierung in den folgenden Glycosylierungen eingesetzt.

Gelbes, viskoses Öl

$R_f = 0.55$ und 0.45 (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 2)

C₇₅H₉₀Cl₆N₂O₂₀ (1552.24)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-C-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(6-*O*-benzyl-3-*O*-4-*O*-(2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-**



2-cyclohexyl-1-*tert*-butyloxycarbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl]-L-tyrosin-methylester (176)

(Fmoc-Tyr-C-[(β-Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOOtBu)-β-Bn₄Lac]-OMe)

1.4 g Molekularsieb (3 Å) werden in einem Schlenkkolben i. Hochvak. ausgeheizt und währenddessen mehrfach mit Argon belüftet. Nach 1.5 Stunden lässt man unter Argon abkühlen und setzt im Argongegenstrom ein Septum auf. 278 mg (0.253 mmol) Fmoc-Tyr-C-[β-Bn₄Lac]-OMe (**168**) und max. 0.243 mmol α,β-Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOOtBu-OC(NH)CCl₃ (**175**) werden in einem anderen Kolben zunächst in Chloroform gelöst. Man entfernt dann das Lösungsmittel i. Vak und trocknet den Rückstand i. Hochvak. weitere 30 Minuten. Der Ansatz wird in 10 mL absol. Dichlormethan gelöst, in den Kolben mit dem ausgeheizten Molekularsieb überführt und eine Stunde gerührt. Man kühlt den Ansatz auf - 18 °C, so dass die Lösung klar bleibt und versetzt dann mit 3 Tropfen einer Lösung von 0.025 mL Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in 1 mL absol. Dichlormethan. Dabei kommt es bei der Zugabe bereits zu einer Eintrübung der Reaktionslösung und es lässt sich dünnschichtchromatographisch vollständiger Umsatz des Trichloracetimidates erkennen. Man versetzt in der Kälte mit ca. 15 mL ges. NaHCO₃-Lösung und lässt auf Raumtemp. kommen. Die wässrige Phase wird viermal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan gelöst und auf Kieselgel aufgezogen. Nach flashchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1 → 3 : 2) erhält man das Produkt als farblosen amorphen Feststoff. Spült man die Säule mit reinem Essigsäureethylester nach, so kann man darüber hinaus 111 mg (0.101 mmol, 40%) Fmoc-Tyr-C-[β-Bn₄Lac]-OMe (**168**) zurückgewinnen.

Ausbeute: 231 mg (92.8 μ mol, 38% d. Th. bezogen auf **174** über zwei Stufen)

Farblos amorpher Feststoff

$R_f = 0.23$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 12 : 7)

$[\alpha]_D^{23} = -15.9$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

ESI-MS (m/z): 2510.08 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 2509.96)

HR-ESI-MS (m/z): 2509.9707 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 2509.9632)

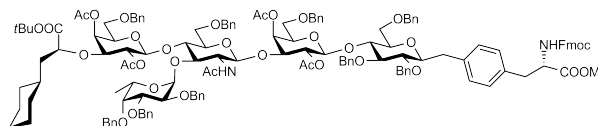
$\text{C}_{139}\text{H}_{157}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O}_{33}$ (2490.09)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$, TOCSY] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.78 (d, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.58 (m_c , 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Fmoc}}$), 7.43-7.17 (m, 51H, H_{Ar}), 7.00 (d, 2H, $^3J = 7.8$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Tyr}}$), 5.83 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H2}} = 8.2$ Hz, NH-GlcN), 5.60 (d, 1H, $^3J_{\text{H3,H4}} = 3.5$ Hz, H4-Gal), 5.27 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H}\alpha} = 8.2$ Hz, NH-Tyr), 5.18 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.5$ Hz, H1-Fuc), 5.15 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 5.07 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 8.2$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 9.8$ Hz, H2-Gal), 4.98-4.92 (m, 3H, 2 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$, H1-GlcN), 4.82-4.72 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$, $\text{CH}_2\text{-Troc}$), 4.71-4.60 (m, 6H, $\text{H}^\alpha\text{-Tyr}$, 5 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.59-4.52 (m, 3H, 2 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$, H1-Gal'), 4.47-4.26 (m, 10H, 6 x $\text{CH}_2\text{-Bn}$, 2 x $\text{CH}_2\text{-Fmoc}$, H1-Gal, H5-Fuc {4.29}), 4.22 (t*, 1H, $^3J = 7.0$ Hz, CH-Fmoc), 4.08 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.7$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 9.9$ Hz, H2-Fuc), 4.05 (t*, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = ^3J_{\text{H4,H5}} = 9.5$ Hz, H4-Glc), 3.98-3.90 (m, 5H, H4-Gal', H6a-GlcN, H3-GlcN, H4-GlcN, $\text{CHCOO}t\text{Bu}$), 3.85 (t*, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.2$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.5$ Hz, H3-Fuc), 3.76-3.61 (m, 10 H, OCH_3 , H2-Gal', H3-Glc, H2-GlcN, H6b-GlcN, H6ab-Glc, H6a-Gal'), 3.56-3.50 (m, 3H, H4-Fuc, H5-Gal, H6a-Gal), 3.48-3.38 (m, 7H, H5-GlcN, H5-Glc, H5-Gal', H3-Gal, H3-Gal', H6b-Gal, H6b-Gal'), 3.33-3.26 (m, 2H, H1-Glc, H2-Glc), 3.14-3.06 (m, 3H, $\text{CH}_2a\text{-exo}$, 2 x $\text{H}^\beta\text{-Tyr}$), 2.68 (m_c , 1H, $\text{CH}_2b\text{-exo}$), 2.02, 1.96 (2 x s, 6H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1.72-1.63 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 1.50 (s, 11H, $\text{CH}_3\text{-}t\text{Bu}$, $\text{CH}_2\text{CHCOO}t\text{Bu}$), 1.37-1.12 (m, 8H, CH-Cyclo, 4 x $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$, H6abc-Fuc {1.15, $^3J = 6.5$ Hz}), 0.92-0.82 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB , HSQC , HMBC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 171.98, 171.57, 169.60, 168.82 (COOMe , $\text{COO}t\text{Bu}$, C=O-Ac), 155.51 (C=O-Fmoc), 154.40 (C=O-Troc), 143.78, 143.69, 141.24, 139.05, 138.76, 138.54, 138.37, 138.20, 138.13, 138.05, 137.68, 137.63, 137.52, 133.32 (C1a-Fmoc , C8a-Fmoc , C4a-Fmoc , C5a-Fmoc , $\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$, $\text{C}_{\text{ipso-Tyr}}$), 129.85, 128.97 $\text{C}_{o,m}\text{-Tyr}$, 128.46, 128.43, 128.39, 128.34, 128.23, 128.17, 128.09, 127.93, 127.84, 127.76, 127.68, 127.58, 127.51, 127.47, 127.43, 127.36, 127.18, 127.14, 127.02 (C2-Fmoc , C3-Fmoc , C6-Fmoc , C7-Fmoc , $\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 125.09, 125.03 (C1-Fmoc , C8-Fmoc), 119.96, 119.94 (C4-Fmoc , C5-Fmoc), 102.59 ($\text{C1-Gal}'$), 100.63 (C1-GlcN), 99.96 (C1-Gal), 97.58 (C1-Fuc), 95.33 (CCl_3), 85.93 (C3-Glc), 81.71 ($\text{C}_q\text{-}t\text{Bu}$), 81.48 (C1-Glc), 81.25 ($\text{C5-Gal}'$), 80.11 (C5-Glc), 79.63 (C3-Fuc), 78.70 (C2-Glc), 78.36 ($\text{CHCOO}t\text{Bu}$), 77.40 (C4-Fuc), 77.20, 76.76 (C3-Gal , C4-Glc , C2-Fuc), 75.16, 75.14 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 74.65, 74.58, 74.42, 73.73 (C3-GlcN , C4-GlcN , C5-GlcN , $\text{CH}_2\text{-Troc}$), 73.58, 73.46, 73.37, 73.33 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 73.22 ($\text{C3-Gal}'$), 72.87 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 72.66 (C5-Gal), 72.02 (C2-Gal), 71.79 ($\text{C2-Gal}'$),

68.81 (C4-Gal), 68.43, 67.81 (C6-GlcN, C6-Glc, C6-Gal, C6-Gal'), 67.45 (C4-Gal'), 66.93 (CH₂-Fmoc), 66.72 (C5-Fuc), 56.31 (C2-GlcN), 54.71 (C^α-Tyr), 52.30 (OCH₃), 47.08 (CH-Fmoc), 40.43 (CH₂CHCOOtBu), 37.78 (C^β-Tyr), 37.54 (CH₂-exo), 33.78 (CH-Cyclo), 33.62, 33.11 (CH₂-Cyclo), 28.01 (CH₃-tBu), 26.30, 26.12, 26.04 (CH₂-Cyclo), 20.92, 20.76 (CH₃-Ac), 16.59 (C6-Fuc).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-{2-acetamido-4-*O*-(2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-*tert*-butyloxycarbonyl-ethyl]-β-*D*-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl-α-*L*-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-β-*D*-glucopyranosyl]-β-*D*-galactopyranosyl]-*L*-tyrosin-methylester (178)**



(Fmoc-Tyr-C-[(β-Ac₂Bn₅CycloLe^xNAcCOOtBu)-β-Ac₂Bn₄Lac]-OMe)

Abspaltung der Troc-Gruppe

231 mg (92.8 μmol) Fmoc-Tyr-C-[(β-Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOOtBu)-β-Bn₄Lac]-OMe (**176**) werden in 15 mL Eisessig gelöst. 1.26 g Zinkstaub werden durch Suspendieren in 2N Salzsäure aktiviert und je zweimal mit Wasser, Ethanol und Petrolether gewaschen. Das aktivierte Zink wird zu der Substratlösung gegeben und die Reaktionsmischung 17 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Anschließend entfernt man das verbleibende Zink durch Filtration und wäscht je viermal mit Eisessig und Essigsäureethylester nach. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der verbleibende Rückstand viermal mit Toluol kodestilliert. Der zurückbleibende amorphe Feststoff (**177**) wird ohne Charakterisierung weiter umgesetzt.

Acetylierung

Das Rohprodukt der vorigen Reaktion wird in 20 mL Pyridin mit 10 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Nach Rühren über Nacht werden die überschüssigen Reagenzien i. Vak. entfernt und das zurückbleibende Rohprodukt dreimal mit Toluol kodestilliert. Nach flashchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 3) und Trocknung i. Hochvak. erhält man das Produkt als farblosen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 165 mg (67.6 μmol, 73% d. Th. über 2 Stufen)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.29$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 3)

$[\alpha]_D^{23} = -8.3$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 2462.18 ([M+Na]⁺, ber.: 2462.09)

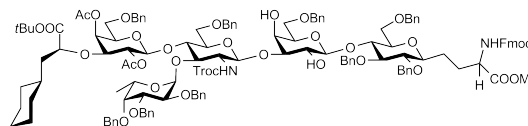
HR-ESI-MS (m/z): 2462.0840 ([M+Na]⁺, ber.: 2462.0907)

C₁₄₂H₁₆₂N₂O₃₄ (2440.80)

¹H-NMR [**¹H¹H-COSY, TOCSY**] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.78 (d, 2H, ³J = 7.4 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.58 (t*, 2H, ³J = 7.6 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.44-7.15 (m, 51H, H_{Ar}), 7.00 (d, 2H, ³J = 7.6 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 5.65-5.60 (m, 2H, H4-Gal, NH-GlcN), 5.46 (d, 1H, ³J_{H3,H4} = 3.5 Hz, H4-Gal'), 5.27 (d, 1H, ³J_{NH,H α} = 8.0 Hz, NH-Tyr), 5.16-4.93 (m, 7H, 3 x CH₂-Bn {5.14, 4.98, 4.95}, H1-GlcN {5.11}, H2-Gal' {5.09}, H2-Gal {5.02}, H1-Fuc {4.96}), 4.86 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.86 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.73-4.60 (m, 8H, 7 x CH₂-Bn, H α -Tyr {4.67}), 4.57 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 8.2 Hz, H1-Gal), 4.55-4.33 (m, 9 H, 5 x CH₂-Bn, 2 x CH₂-Fmoc, H5-Fuc {4.53}, H1-Gal' {4.46}), 4.29-4.20 (m, 3H, CH-Fmoc {4.22}, 1 x CH₂-Bn, H3-GlcN {4.22}), 4.10 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 3.9 Hz, ³J_{H2,H3} = 10.1 Hz, H2-Fuc), 4.00-3.88 (m, 4H, H4-Glc, CHCOOtBu, H4-GlcN, H3-Fuc), 3.85-3.71 (m, 5H, OCH₃, H6ab-GlcN), 3.66-3.50 (m, 8H, H6ab-Glc, H6a-Gal, H3-Gal', H3-Glc, H4-Fuc, H5-Gal, H5-Gal'), 3.49-3.34 (m, 4H, H5-GlcN, H3-Gal, H1-Glc, H6b-Gal), 3.33-3.16 (m, 4H, H6ab-Gal' {3.30}, H5-Glc {3.25}, H2-Glc {3.19}), 3.12-3.06 (m, 4H, CH_{2a}-exo, 2 x H β -Tyr, H2-GlcN), 2.64 (dd, 1H, ²J = 14.1 Hz, ³J = 8.6 Hz, CH_{2b}-exo), 2.03, 1.97, 1.94, 1.89 (4 x s, 12H, CH₃-Ac), 1.71-1.63 (m, 7H, 4 x CH₂-Cyclo, CH₃-Ac), 1.50 (s, 11H, CH₃-tBu, CH₂CHCOOtBu), 1.37-1.14 (m, 6H, CH-Cyclo, H6abc-Fuc {1.20, d, ³J = 6.7 Hz}, CH₂-Cyclo), 0.93-0.82 (m, 4 H, CH₂-Cyclo).

¹³C-NMR [**BB, HSQC**] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 171.96, 171.52, 170.13, 169.69, 169.50, 169.42, 168.68 (COOtBu, COOMe, C=O-Ac), 155.51 (C=O-Fmoc), 143.78, 143.66, 141.24, 139.13, 138.78, 138.66, 138.59, 138.37, 138.33, 138.06, 137.76, 137.60, 133.29 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc, C4a-Fmoc, C5a-Fmoc, C_{ipso}-Ph, C_{ipso}-Tyr), 129.81, 128.97 (C_{o,m}-Tyr), 128.49, 128.39, 128.36, 128.33, 128.28, 128.16, 128.07, 128.03, 127.94, 127.90, 127.86, 127.83, 127.77, 127.68, 127.56, 127.51, 127.20, 127.13, 127.05, 127.01 (C2-Fmoc, C3-Fmoc, C6-Fmoc, C7-Fmoc, C_{o,m,p}-Ph), 125.06, 125.02 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.96, 119.94 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.08 (C1-Gal'), 99.83 (C1-Gal), 99.24 (C1-GlcN), 97.25 (C1-Fuc), 85.11 (C3-Glc), 81.68 (C_q-tBu), 80.95 (C5-Glc), 80.27 (C3-Fuc), 80.08 (C1-Glc), 78.83 (C2-Glc), 78.27 (CHCOOtBu), 77.20 (C4-Fuc), 76.87 (C3-Gal), 76.35, 76.30 (C2-Fuc, C4-Glc, C3-Gal'), 75.20 (CH₂-Bn), 75.06 (CH₂-Bn, C5-GlcN), 74.25 (CH₂-Bn), 73.96 (C4-GlcN), 73.640, 73.468, 73.414, 73.378, 73.335, 72.895 (CH₂-Bn), 72.83 (C3-GlcN), 72.64, 72.15 (CH₂-Bn, C5-Gal, C5-Gal'), 71.91 (C2-Gal), 71.55 (C2-Gal'), 69.66 (C4-Gal'), 68.80 (C4-Gal), 67.98, 67.84, 67.79, 67.50 (C6-Gal, C6-Gal', C6-GlcN, C6-Glc), 66.94 (CH₂-Fmoc), 66.27 (C5-Fuc), 58.33 (C2-GlcN), 54.71 (C α -Tyr), 52.31 (OCH₃), 47.07 (CH-Fmoc), 40.40 (CH₂CHCOOtBu), 37.74 (C β -Tyr), 37.50 (CH₂-exo), 33.69 (CH-Cyclo), 33.56, 33.14 (CH₂-Cyclo), 28.00 (CH₃-tBu), 26.31, 26.09, 26.02 (CH₂-Cyclo), 23.11 (CH₃-NAc), 20.98, 20.91, 20.73 (4 x CH₃), 16.55 (C6-Fuc).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(6-*O*-benzyl-3-*O*-{4-*O*-(2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-*tert*-butyloxycarbonyl-ethyl]- β -*D*-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -*L*-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -*D*-glucopyranosyl}- β -*D*-galactopyranosyl)- β -*D*-glucopyranosyl]-serin-methylester (**179**)
(Fmoc-Ser-C-[(β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOO*t*Bu)- β -Bn₄Lac]-OMe)**



1.15 g Molekularsieb (3 Å) werden in einem Schlenkkolben i. Hochvak. ausgeheizt und währenddessen mehrfach mit Argon belüftet. Nach 1.5 Stunden lässt man unter Argon abkühlen und setzt im Argongegenstrom ein Septum auf. 264 mg (0.258 mmol) Fmoc-Ser-C-[β -Bn₄Lac]-OMe (**170**) und max. 0.243 mmol α,β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOO*t*Bu-OC(NH)CCl₃ (**175**) werden in einem anderen Kolben zunächst in einer Mischung aus Dichlormethan und Essigsäureethylester gelöst. Man entfernt dann das Lösungsmittel i. Vak und trocknet den Rückstand i. Hochvak. weitere 30 Minuten. Der Rückstand wird in insgesamt 10 mL absol. Dichlormethan gelöst, in den Kolben mit dem ausgeheizten Molekularsieb überführt und eine Stunde gerührt. Man kühlt auf -20 °C, so dass die Lösung klar bleibt und versetzt dann mit 10 Tropfen einer Lösung von 0.025 mL Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in 1 mL absol. Dichlormethan. Dabei wird fortlaufend durch Dünnschichtchromatographie verfolgt, wann die Reaktion einsetzt und vollständiger Umsatz des Trichloracetimidates erkennbar ist. Sobald dies der Fall ist, versetzt man in der Kälte mit ca. 15 mL ges. NaHCO₃-Lösung und lässt auf Raumtemp. kommen. Die wässrige Phase wird viermal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Rohprodukt auf Kieselgel aufgezogen. Nach flashchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 2) erhält man das Produkt als farblosen amorphen Feststoff. Spült man die Säule mit reinem Essigsäureethylester nach, so kann man darüber hinaus 102 mg (0.100 mmol, 39%) Fmoc-Ser-C-[β -Bn₄Lac]-OMe (**170**) zurückgewinnen.

Ausbeute: 257 mg (0.107 mmol, 44% d. Th. bzgl. **174** über zwei Stufen)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.25$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 2)

$[\alpha]_D^{23} = -18.0$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 2433.93 ([M+Na]⁺, ber.: 2433.93)

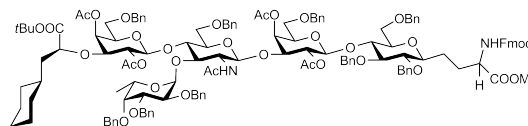
HR-ESI-MS (m/z): 2433.9280 ([M+Na]⁺, ber.: 2433.9319)

C₁₃₃H₁₅₃Cl₃N₂O₃₃ (2413.99)

¹H-NMR [**¹H¹H-COSY, TOCSY**] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.78 (d, 2H, ³J = 7.6 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.62 (t*, 2H, ³J = 6.5 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.44-7.21 (m, 49H, H_{Ar}-Ph), 5.90 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 7.6 Hz, NH-GlcN), 5.60 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.5 Hz, H4-Gal), 5.36 (d, 1H, ³J_{NH,H^α} = 8.2 Hz, NH-Ser), 5.17 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 3.3 Hz, H1-Fuc), 5.13 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂-Bn), 5.07 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 8.4 Hz, ³J_{H2,H3} = 10.0 Hz, H2-Gal), 4.98-4.94 (m, 2H, H1-GlcN, CH₂-Bn), 5.88 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂-Bn), 4.84-4.52 (m, 12H, CH₂-Bn, CH₂-Troc), 4.50 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.8 Hz, H1-Gal'), 4.48-4.27 (m, 10H, H1-Gal {4.40}, H^α-Ser{4.36}, H5-Fuc {4.28}, 2 x CH₂-Fmoc, 5 x CH₂-Bn), 4.24 (d, 1H, ³J = 7.2 Hz, CH-Fmoc), 4.10-4.01 (m, 2H, H2-Fuc {4.08}, H4-Glc {4.02}), 3.99-3.89 (m, 5H, H4-Gal', H3-GlcN, H4-GlcN, CH₂COO*t*Bu, H6a-GlcN), 3.85 (t, 1H, ³J_{H2,H3} = 10.2 Hz, ³J_{H3,H4} = 2.5 Hz, H3-Fuc), 3.78-3.61 (m, 10H, OCH₃ {3.71}, H6b-GlcN, H6ab-Glc, H6a-Gal', H2-Gal' {3.72}, H3-Glc {3.66}, H2-GlcN {3.63}), 3.56-3.36 (m, 10H, H4-Fuc {3.54}, H5-Gal {3.54}, H6ab-Gal, H6b-Gal', H5-GlcN {3.49}, H3-Gal' {3.43}, H3-Gal {3.41}, H5-Gal' {3.40}, H5-Glc {3.38}), 3.25-3.19 (m, 2H, H1-Glc, H2-Glc), 2.02, 1.96 (2 x s, 6H, CH₃-Ac), 1.90-1.84 (m, 3H, 2 x H^β-Ser, CH_{2a}-exo), 1.71-1.62 (m, 4H, CH₂-Cyclo), 1.49 (s_b, 11H, CH₃-*t*Bu, CH₂CHCOO*t*Bu, CH_{2b}-exo), 1.36-1.13 (m, 8H, CH-Cyclo, H6abc-Fuc {1.15, d, ³J = 6.7 Hz}, 4 x CH₂-Cyclo), 0.91-0.82 (m, 2H, CH₂-Cyclo).

¹³C-NMR [**BB, HSQC, HMBC**] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 172.86, 171.56, 171.13, 169.61, 168.83 (COO*t*Bu, COOMe, C=O-Ac), 155.94 (C=O-Fmoc), 154.41 (C=O-Troc), 143.88, 143.75, 141.25, 139.04, 138.73, 138.52, 138.39, 138.03, 138.00, 137.63, 137.508 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc, C4a-Fmoc, C5a-Fmoc, C_{ipso}-Ph), 128.47, 128.41, 128.37, 128.31, 128.24, 128.18, 128.07, 127.95, 127.85, 127.73, 127.66, 127.57, 127.49, 127.43, 127.35, 127.19, 127.15, 127.04 (C2-Fmoc, C3-Fmoc, C6-Fmoc, C7-Fmoc, C_{o,m,p}-Ph), 125.12, 125.04 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.93 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 102.47 (C1-Gal'), 100.67 (C1-GlcN), 99.99 (C1-Gal), 97.67 (C1-Fuc), 95.33 (CCl₃), 85.67 (C3-Glc), 81.72 (C_q-*t*Bu), 81.60 (C5-Gal'), 81.36 (C1-Glc), 79.66 (C3-Fuc), 78.73 (C5-Glc), 78.66 (C2-Glc), 78.35 (CHCOO*t*Bu), 77.20 (C4-Fuc), 76.68, 76.45 (C3-Gal, C4-Glc, C2-Fuc), 75.23, 75.17 (CH₂-Bn), 74.70, 74.59, 74.42, 73.80, 73.67 (C3-GlcN, C4-GlcN, C5-GlcN, CH₂-Troc), 73.47, 73.37, 73.35, 73.27 (C3-Gal', CH₂-Bn), 72.85 (CH₂-Bn), 72.68 (C5-Gal), 72.01 (C2-Gal), 71.55 (C2-Gal'), 68.80 (C4-Gal), 68.47, 67.82 (C6-GlcN, C6-Gal', C6-Gal, C6-Glc), 67.48 (C4-Gal'), 66.94 (CH₂-Fmoc), 66.74 (C5-Fuc), 56.32 (C2-GlcN), 53.78 (C^α-Ser), 52.30 (OCH₃), 47.08 (CH-Fmoc), 40.43 (CH₂CHCOO*t*Bu), 33.77 (CH-Cyclo), 33.61, 33.11 (CH₂-Cyclo), 28.23 (C^β-Ser), 28.01 (CH₃-*t*Bu), 27.46 (CH₂-exo), 26.30, 26.12, 26.04 (CH₂-Cyclo), 20.92, 20.76 (2 x CH₃), 16.60 (C6-Fuc).

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*C*-[2,3,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-(2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-{2-acetamido-4-*O*-(2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-*tert*-butyloxycarbonyl-ethyl]- β -*D*-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -*L*-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)- β -*D*-galactopyranosyl)- β -*D*-glucopyranosyl]-serin-methylester (180)**
 (Fmoc-Ser-C-[(β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNacCOOtBu)- β -Ac₂Bn₄Lac]-OMe)



Abspaltung der Troc-Gruppe

250 mg (104 μ mol) Fmoc-Ser-C-[(β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOOtBu)- β -Bn₄Lac]-OMe (**179**) werden in 15 mL Eisessig gelöst. 1.34 g Zinkstaub werden durch Suspendieren in 2N Salzsäure aktiviert und je zweimal mit Wasser, Ethanol und Petrolether gewaschen. Das aktivierte Zink wird zu der Substratlösung gegeben und die Reaktionsmischung 17 Stunden bei Raumtemp. gerührt. Anschließend entfernt man das verbleibende Zink durch Filtration und wäscht je dreimal mit Eisessig, zweimal mit einer Mischung aus Eisessig und Essigsäureethylester (1 : 1) und viermal mit Essigsäureethylester nach. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der verbleibende Rückstand dreimal mit Toluol kodestilliert. Der zurückbleibende amorphe Feststoff wird ohne Charakterisierung weiter umgesetzt.

Acetylierung

Das Rohprodukt der vorigen Reaktion wird in 20 mL Pyridin mit 10 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Nach Rühren über Nacht werden die überschüssigen Reagenzien i. Vak. entfernt und das zurückbleibende Rohprodukt zweimal mit Toluol kodestilliert. Nach flashchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 3) und Trocknung i. Hochvak. erhält man das Produkt in Form eines farblosen amorphen Feststoffes.

Ausbeute: 142 mg (60.0 μ mol, 58% d. Th. über 2 Stufen)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.29$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 3)

$[\alpha]_D^{23} = -15.3$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 2386.18 ([M+Na]⁺, ber.: 2386.06)

HR-ESI-MS (m/z): 2386.0588 ([M+Na]⁺, ber.: 2386.0594)

C₁₃₆H₁₅₈N₂O₃₄ (2364.70)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, TOCSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.78 (d, 2H, ³J = 7.4 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.62 (t*, 2H, ³J = 6.8 Hz, H_{Ar}-Fmoc), 7.43-7.15 (m, 49H, H_{Ar}), 5.65-5.59 (m, 2H, H4-Gal, NH-GlcN), 5.44 (d, 1H, ³J_{H3,H4} = 3.3 Hz, H4-Gal'), 5.35 (d, 1H, ³J_{NH,H α} = 8.2 Hz, NH-Tyr), 5.13-5.00 (m, 4H, H1-GlcN {5.10}, CH₂-Bn, H2-Gal, H2-Gal'), 4.97-4.84 (m, 4H, H1-Fuc {4.95}, 3

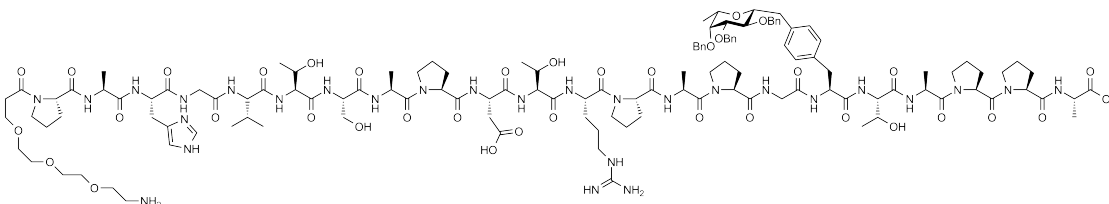
x CH₂-Bn), 4.79 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.73-4.62 (m, 6H, CH₂-Bn), 4.61-4.48 (m, 4H, H1-Gal {4.57}, 2 x CH₂-Bn, H5-Fuc {4.52}), 4.47-4.31 (m, 8H, H1-Gal', 4 x CH₂-Bn, 2 x CH₂-Fmoc, H^α-Ser), 4.29-4.21 (m, 3H, CH-Fmoc, H3-GlcN, CH₂-Bn), 4.10 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 3.7 Hz, ³J_{H2,H3} = 10.2 Hz, H2-Fuc), 3.97-3.87 (m, 4H, H4-Glc, CHCOOtBu, H4-GlcN, H3-Fuc), 3.80 (m_c, 2H, H6ab-GlcN), 3.72-3.65 (m, 5H, OCH₃, H6ab-Glc), 3.62-3.33 (m, 9H, H3-Gal', H4-Fuc, H3-Glc, H6a-Gal, H5-Gal', H5-Gal, H5-GlcN, H3-Gal, H6b-Gal), 3.31-3.06 (m, 6H, H6ab-Gal', H5-Glc, H1-Glc, H2-Glc, H2-GlcN), 2.03, 1.97, 1.96, 1.89 (4 x s, 12H, CH₃-Ac), 1.88-1.80 (m, 3H, 2 x H^β-Ser, CH_{2a}-exo), 1.71-1.62 (m, 7H, CH₃-NAc, 4 x CH₂-Cyclo), 1.49 (s_b, 11H, CH₃-tBu, CH₂CHCOOtBu), 1.66-1.62 (m, 1H, CH_{2b}-exo), 1.35-1.14 (m, 8H, CH-Cyclo, H6abc-Fuc {1.20, d, ³J_{H6,H5} = 6.7 Hz}, 4 x CH₂-Cyclo), 0.93-0.81 (m, 2 H, CH₂-Cyclo).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 172.88, 171.54, 170.14, 169.72, 169.52, 169.44, 168.71 (COOtBu, COOMe, C=O-Ac), 155.95 (C=O-Fmoc), 143.89, 143.76, 141.26, 139.14, 138.81, 138.67, 138.61, 138.38, 138.13, 138.09, 137.88, 137.6 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc, C4a-Fmoc, C5a-Fmoc, C_{ipso}-Ph), 128.51, 128.47, 128.39, 128.36, 128.26, 128.19, 128.11, 128.03, 127.91, 127.78, 127.68, 127.58, 127.53, 127.21, 127.15, 127.07 (C2-Fmoc, C3-Fmoc, C6-Fmoc, C7-Fmoc, C_{o,m,p}-Ph), 125.14, 125.06 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.96 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.09 (C1-Gal'), 99.88 (C1-Gal), 99.26 (C1-GlcN), 97.28 (C1-Fuc), 84.98 (C3-Glc), 81.70 (C_q-tBu), 80.85 (C2-Glc), 80.29 (C3-Fuc), 78.79 (C5-Glc), 78.58 (C1-Glc), 78.30 (CHCOOtBu), 77.20 (C4-Fuc), 76.89 (C3-Gal), 76.36, 76.28 (C2-Fuc, C4-Glc, C3-Gal'), 75.19, 75.13, 75.07 (2 x CH₂-Bn, C5-GlcN), 74.28 (CH₂-Bn), 74.01 (C4-GlcN), 73.66, 73.50, 73.40, 73.37 (CH₂-Bn), 72.90 (CH₂-Bn, C5-Gal), 72.65 (CH₂-Bn, C3-GlcN), 72.19 (C5-Gal'), 71.94 (C2-Gal), 71.57 (C2-Gal'), 69.68 (C4-Gal'), 68.82 (C4-Gal), 68.04, 67.90, 67.73, 67.54 (C6-Gal, C6-Gal', C6-GlcN, C6-Glc), 66.96 (CH₂-Fmoc), 66.31 (C5-Fuc), 58.313 (C2-GlcN), 53.75 (H^α-Ser), 52.31 (OCH₃), 47.11 (CH-Fmoc), 40.42 (CH₂CHCOOtBu), 33.72 (CH-Cyclo), 33.58, 33.17 (CH₂-Cyclo), 28.22 (C^β-Ser), 28.02 (CH₃-tBu), 27.43 (CH₂-exo), 26.33, 26.11, 26.05 (CH₂-Cyclo), 23.15 (CH₃-NAc), 21.01, 20.94, 20.74 (4 x CH₃), 16.58 (C6-Fuc).

5.9 Die Synthesen der Glycopeptide

Amino-4,7,10-trioxa-dodecanylamido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-*C*-[2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -L-fucopyranosyl]-L-tyrosyl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolyl-L-prolyl-L-alanin (**182a**)

(H₂N(CH₂CH₂O)₃CH₂CH₂CONH-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Tyr-*C*-[β -Bn₃Fuc]-Thr-Ala-Pro-Pro-Ala-OH)



Ausgehend von 563 mg (0.09 mmol der Startaminosäure) des mit Fmoc-Ala-*O*-Trt vorbeladenen Tentagel[®]-Harzes (*Rapp Polymere*, Beladung: 0.16 mmol/g) erfolgt der Aufbau des Glycopeptids am Peptidsynthesizer nach dem Standardprotokoll der automatisierten Festphasensynthese. Nach der Kupplung der beiden ersten Prolinbausteine wird der folgende Alaninbaustein in einer Doppelkupplung angefügt und nach der Kupplung des wiederum folgenden Threonins die Glycosylaminosäure manuell gekuppelt. Dazu wird zunächst die Fmoc-Schutzgruppe des wachsenden Peptidstrangs durch Behandlung mit einer 20%-igen Lösung von Piperidin in NMP entfernt (3 x 2.5 min). Anschließend wird eine Lösung von 87 mg (0.106 mmol, 1.18 Äquiv.) Fmoc-Tyr-*C*-[β -Bn₃Fuc]-OH (**139**), 48.3 mg (0.127 mmol, 1.20 Äquiv. bzgl. *C*-Glycosid) HATU, 17.4 mg (0.128 mmol, 1.21 Äquiv. bzgl. *C*-Glycosid) HOAt und 30 μ L (0.273 mmol, 2.57 Äquiv. bzgl. *C*-Glycosid) *N*-Methylmorpholin (NMM) in 2 mL NMP in das Reaktionsgefäß des Synthesizers überführt und dieses 8 h stark geschüttelt. Eventuell verbliebene freie Aminogruppen werden in einem folgenden Capping-Schritt acetyliert, das Harz mit NMP gewaschen, und die folgende Glycin-Aminosäure in einer standardmäßigen Doppelkupplung angeknüpft. Anschließend wird zur weiteren Synthese das Standardprotokoll wieder aufgenommen. Nach der Kupplung des letzten Prolin-Bausteins wird wiederum die *N*-terminale Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung des Harzes mit einer 20%-igen Lösung von Piperidin in NMP abgespalten. Manuell werden nun 444 mg (1.00 mmol) *N*-(9H-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonylamido-4,7,10-trioxadecansäure (**181**), 456 mg (1.20 mmol, 1.20 Äquiv. bzgl. Spacer) HATU und 164 mg (1.20 mmol, 1.20 Äquiv. bzgl. Spacer) HOAt in 3 mL NMP angelöst. Nach Zugabe von 0.28 mL (2.50 mmol, 2.5 Äquiv. bzgl. Spacer) *N*-Methylmorpholin (NMM) und Verschließen der Kartusche wird geschüttelt bis keine ungelösten Bestandteile mehr zu erkennen sind. Die Lösung wird in das Reaktionsgefäß des Syn-

thesizers überführt und dieses 8 h stark geschüttelt. Nach Behandlung mit Capping-Reagenz wird die terminale Fmoc-Schutzgruppe standardmäßig abgespalten, das Harz gründlich mit NMP und Dichlormethan gewaschen und im Stickstoffstrom getrocknet.

Das Harz wird in einen *Merrifield*-Glasreaktor überführt und mit einer Mischung aus 10 mL Trifluoressigsäure, 1 mL Triisopropylsilan und 1 mL H₂O drei Stunden geschüttelt. Anschließend wird filtriert und das Harz viermal mit je 2 mL Trifluoressigsäure gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden mit 12 ml Toluol versetzt. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand zweimal mit einer Mischung aus 3 mL Methanol und 5 mL Toluol kodestilliert. Nach Trocknung i. Hochvak. verbleiben 284 mg Rohprodukt. Dieses wird nun in 1.5 mL Methanol aufgenommen und unter Rühren in 20 mL eiskalten Diethylether eingetropft. Das gefällte Rohprodukt wird abzentrifugiert (3000 rpm, 5 min) und die überstehende Lösung dekantiert. Der farblose Feststoff wird erneut in 5 mL Methanol gelöst und in einem Kolben mit 5 mL Toluol versetzt. Man entfernt die Lösungsmittel i. Vak. und trocknet den zurückbleibenden farblosen, amorphen Feststoff im Hochvakuum. Das Rohpeptid wird durch präparative RP-HPLC (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(70:30), 60 min, λ = 214 nm) gereinigt. Man erhält drei Produktfraktionen - eine mit dem gewünschten Produkt (**182a**) und zwei polarere Substanzen, bei denen eine bzw. zwei der Benzylschutzgruppen bei der Behandlung mit TFA abgespalten wurden.

Ausbeute: 57 mg (20.8 μmol, 23% d. Th. bezogen auf Startaminosäure am Harz)

Farbloser amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: R_t = 36.1 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(65:35), 60 min, λ = 214 nm); Präp. HPLC: R_t = 41.5 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(70:30), 60 min, λ = 214 nm)

$[\alpha]_D^{23} = -84.0$ (c = 1.0, CH₃OH)

ESI-MS (m/z): 1374.78 ([M+2H]²⁺, ber.: 1374.70)

HR-ESI-MS (m/z): 1374.7195 ([M+2H]²⁺, ber.: 1374.7002), 916.85 ([M+3H]³⁺, ber.: 916.80)

C₁₃₁H₁₉₀N₂₈O₃₇ (2749.08)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, TOCSY, ROESY] (400 MHz, MeOD): δ (ppm) = 8.79 (d, 1H, ³J_{H^e,H^δ} = 1.3 Hz, H^e-His), 7.44-7.37 (m, 5H, H^γ-His {7.42}, H_{Ar}-Ph), 7.36-7.25 (m, 8H, H_{Ar}-Ph), 7.17-7.08 (m, 7H, H_{Ar}-Ph, H_{Ar}-Tyr), 4.98-4.91 (m, 2H, CH₂-Bn), 4.81 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.71-4.56 (m, 10H, H^α-Tyr {4.69}, H^α-His {4.68}, H^α-Arg {4.68}, CH₂-Bn {4.68}, H^α-Asp {4.66}, CH₂-Bn {4.66}, CH₂-Bn {4.64}, H^α-Ala {4.62, 4.61, 4.59}), 4.50-4.15 (m, 16H, H^α-Ser {4.45}, H^α-Pro {4.43, 4.40, 4.39, 4.38, 4.35, 4.33}, H^α-Thr {4.42, 4.36, 4.34}, H^α-Ala {4.34}, H^α-Val {4.27}, H^α-Ala {4.26}, H^β-Thr {4.25, 4.23, 4.17}), 4.06-3.87 (m, 3H, H^α_a-Gly₁ {4.03}, H^α_a-Gly₂ {3.93}, H^α_b-Gly₁ {3.91}), 3.86-3.53 (m, 31H, H₄-Fuc {3.84}, H^β_a-Ser {3.84}, 4 x H^δ-Pro {3.77}, H^β_b-Ser {3.77}, 1 x CH₂O-Spacer {3.76}, 3 x CH₂O-Spacer {3.71-3.69}, H₃-Fuc {3.67}, 4 x H^δ-

Pro {3.67}, H_b^α-Gly₂ {3.67}, 8 x CH₂O-Spacer {3.66-3.60}, H₂-Fuc {3.63}, 4 x H^δ-Pro {3.61}, 3.44 (q_b, 1H, ³J_{H5,H6abc} = 6.5 Hz, H₅-Fuc), 3.40-3.28 (m, 2H, H₁-Fuc {3.36}, H_a^β-His {3.34}), 3.24-3.09 (m, 6H, H_b^β-His {3.19}, 2 x H^δ-Arg {3.17}, H_a^β-Tyr {3.15}, 2 x CH₂-Spacer {3.12}), 3.06 (d_b, 1H, ²J = 14.2 Hz, CH_{2a}-exo), 3.04-2.83 (m, 3H, H_b^β-Tyr {2.99}, H_a^β-Asp {2.88}, 1 x CH₂-Spacer {2.88}), 2.72-2.64 (m, 2H, H_b^β-Asp {2.68}, 1 x CH₂-Spacer {2.67}), 2.59 (dd, 1H, ²J = 14.5 Hz, ³J = 9.2 Hz, CH_{2b}-exo), 2.29-2.11 (m, 7H, 6 x H^β-Pro {2.23-2.13}), H^β-Val {2.15}), 2.12-1.59 (m, 22H, 12 x H^γ-Pro {2.07-1.89}, 6 x H^β-Pro {2.01-1.87}, H_a^β-Arg {1.84}, H_b^β-Arg {1.71}, 2 x H^γ-Arg {1.65}), 1.42-1.26 (m, 15H, H^β-Ala {1.39, 1.37, 1.34, 1.33, 1.32}), 1.21-1.09 (m, 12H, H^γ-Thr {1.18, 1.14, 1.13}, H_{6abc}-Fuc {1.13}), 1.01-0.93 (m, 6H, H_a^γ-Val {0.98}, H_b^γ-Val {0.97}).

¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (100.6 MHz, MeOD): δ (ppm) = 174.55, 173.87, 173.83, 173.79, 173.21, 172.89, 172.68, 172.60, 172.58, 172.34, 172.00, 171.79, 171.71, 171.32, 171.17, 171.14, 170.98, 170.91, 170.89, 170.75, 170.44, 170.37, 170.15 (C=O), 157.20 (C=NH), 138.82, 138.66, 138.59 (C_{ipso}-Ph), 137.88, 134.65 (C_{ipso}-Tyr), 133.75 (C^γ-His), 129.23 (C_{o,m}-Tyr), 128.79 (C^ε-His), 128.15, 128.08, 128.04, 127.97, 127.91, 127.88, 127.60, 127.44, 127.39 (C_{o,m,p}-Ph), 117.66 (C^δ-His), 84.86 (C₃-Fuc), 80.36 (C₁-Fuc), 78.31 (C₂-Fuc), 77.26 (C₄-Fuc), 74.95, 74.83 (CH₂-Bn), 73.98 (C₅-Fuc), 71.75 (CH₂-Bn), 70.14, 70.05, 69.88, 69.79 (CH₂O-Spacer), 67.30, 67.22, 66.96 (C^β-Thr), 66.54, 66.37 (CH₂O-Spacer), 61.64 (C^β-Ser), 61.30, 60.97, 60.42, 60.06, 59.90, 59.67 (C^α-Pro), 58.94 (C^α-Val), 58.64, 58.54, 58.46 (C^α-Thr), 55.38 (C^α-Ser), 55.25 (C^α-Tyr), 52.36 (C^α-His), 50.70 (C^α-Arg), 50.48 (C^α-Asp), 49.75 (C^α-Ala), 48.25-47.05 (4 x C^α-Ala, 6 x C^δ-Pro im Lösungsmittelsignal), 42.33, 42.12 (C^α-Gly), 40.79 (C^δ-Arg), 39.28 (CH₂-Spacer), 37.33 (CH₂-exo), 37.06 (C^β-Tyr), 34.45 (C^β-Asp), 34.01 (CH₂-Spacer), 30.22 (C^β-Val), 29.54, 29.37, 29.15, 29.08, 27.96 (6 x C^β-Pro), 28.00 (C^β-Arg), 26.58 (C^β-His), 24.87, 24.80, 24.68, 24.62, 24.55, 24.47 (C^γ-Pro), 24.33 (C^γ-Arg), 18.97, 18.87, 18.60 (C^γ-Thr), 18.53 (C_a^γ-Val), 17.54 (C_b^γ-Val), 16.29 (C₆-Fuc), 16.19, 15.92, 15.83, 15.75, 15.34 (C^β-Ala).

Nebenprodukt mit einer fehlenden Benzylschutzgruppe (182b)

Ausbeute: 10 mg (3.8 μmol, 4% d. Th. bezogen auf Startaminosäure am Harz)

Farbloser amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: R_t = 28.0 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(65:35), 60 min, λ = 214 nm); Präp. HPLC: R_t = 34.5 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(70:30), 60 min, λ = 214 nm)

[α]_D²³ = -74.3 (c = 1.0, CH₃OH)

ESI-MS (m/z): 1329.75 ([M+2H]²⁺, ber.: 1328.67), 886.82 ([M+3H]³⁺, ber.: 886.79)

C₁₂₄H₁₈₄N₂₈O₃₇ (2658.98)

¹H-NMR [**¹H¹H-COSY, TOCSY, ROESY**] (600 MHz, MeOD): δ (ppm) = 8.79 (*s_b*, 1H, H ^{ϵ} -His), 7.45-7.28 (m, 11H, H ^{γ} -His {7.42}, H_{Ar}-Ph), 7.19-7.13 (m, 4H, H_{Ar}-Tyr), 4.98 (d, 1H, ²*J* = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.82 (d, 1H, ²*J* = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.72-4.58 (m, 9H, H ^{α} -Tyr {4.69}, H ^{α} -His {4.69}, H ^{α} -Arg {4.69}, CH₂-Bn {4.65}, H ^{α} -Asp {4.67}, CH₂-Bn {4.60}, H ^{α} -Ala {4.65, 4.63, 4.61}), 4.48-4.18 (m, 16H, H ^{α} -Ser {4.46}, H ^{α} -Pro {4.45, 4.41, 4.40, 4.37, 4.36, 4.33}, H ^{α} -Thr {4.44, 4.37, 4.34}, H ^{α} -Ala {4.36}, H ^{α} -Val {4.29}, H ^{α} -Ala {4.27}, H ^{β} -Thr {4.27, 4.23, 4.19}), 4.06-3.91 (m, 4H, H ^{α} -Gly₁ {4.03}, H ^{α} -Gly₂ {3.93}, H4-Fuc {3.93}, H ^{β} -Gly₁ {3.91}), 3.89-3.55 (m, 31H, H ^{β} -Ser {3.87}, 4 x H ^{δ} -Pro {3.79}, H ^{β} -Ser {3.79}, 2 x CH₂O-Spacer {3.78}, 2 x CH₂O-Spacer {3.72}, H3-Fuc {3.60}, 4 x H ^{δ} -Pro {3.68}, H ^{α} -Gly₂ {3.67}, 8 x CH₂O-Spacer {3.69-3.62}, H2-Fuc {3.57}, 4 x H ^{δ} -Pro {3.62}), 3.44 (m, 1H, H5-Fuc), 3.38-3.33 (m, 2H, H1-Fuc {3.35}, H ^{β} -His {3.35}), 3.25-3.11 (m, 6H, H ^{β} -His {3.21}, 2 x H ^{δ} -Arg {3.22-3.18}, H ^{β} -Tyr {3.18}, 2 x CH₂-Spacer {3.13}), 3.07 (*d_b*, 1H, ²*J* = 14.4 Hz, CH_{2_a}-exo), 3.04-2.85 (m, 3H, H ^{β} -Tyr {3.02}, H ^{β} -Asp {2.92}, 1 x CH₂-Spacer {2.90}), 2.76-2.66 (m, 2H, H ^{β} -Asp, 1 x CH₂-Spacer), 2.62 (dd, 1H, ²*J* = 14.4 Hz, ³*J* = 9.4 Hz, CH_{2_b}-exo), 2.33-2.14 (m, 7H, 6 x H ^{β} -Pro {2.29-2.15}), H ^{β} -Val {2.17}), 2.13-1.66 (m, 22H, 12 x H ^{γ} -Pro {2.12-1.92}, 6 x H ^{β} -Pro {2.05-1.91}, H ^{β} -Arg {1.86}, H ^{β} -Arg {1.75}, 2 x H ^{γ} -Arg {1.69}), 1.44-1.30 (m, 15H, H ^{β} -Ala {1.41, 1.40, 1.37, 1.36, 1.35}), 1.22-1.14 (m, 12H, H ^{γ} -Thr {1.20, 1.19, 1.15}, H_{6abc}-Fuc {1.19}), 1.01-0.93 (m, 6H, H ^{α} -Val {1.01}, H ^{γ} -Val {0.99}).

¹³C-NMR [**BB, HSQC, HMBC**] (150.9 MHz, MeOD): δ (ppm) = 174.53, 173.75, 173.73, 173.13, 173.11, 172.97, 172.64, 172.56, 172.51, 172.29, 171.92, 171.75, 171.54, 171.26, 171.06, 170.94, 170.86, 170.80, 170.68, 170.37, 170.31, 170.08 (C=O), 157.11 (C=NH), 138.65, 138.47 (C_{ipso}-Ph), 137.87, 134.59 (C_{ipso}-Tyr), 133.72 (C ^{γ} -His), 129.16, 128.72 (C_{o,m}-Tyr), 128.00, 127.78, 127.72, 127.35, 127.31 (C ^{ϵ} -His, C_{o,m,p}-Ph), 117.64 (C ^{δ} -His), 83.50 (C3-Fuc), 80.12 (C1-Fuc), 77.87 (C2-Fuc), 74.73 (CH₂-Bn), 73.78 (C5-Fuc), 70.37 (CH₂-Bn), 70.08, 69.99, 69.82, 69.72 (CH₂O-Spacer), 68.64 (C4-Fuc), 67.22, 67.09, 66.89 (C ^{β} -Thr), 66.48, 66.29 (CH₂O-Spacer), 61.55 (C ^{β} -Ser), 61.19, 60.93, 60.24, 59.98, 59.82, 59.56 (C ^{α} -Pro), 58.87 (C ^{α} -Val), 58.51, 58.44, 58.40 (C ^{α} -Thr), 55.30 (C ^{α} -Ser), 55.19 (C ^{α} -Tyr), 52.24 (C ^{α} -His), 50.64 (C ^{α} -Arg), 50.40 (C ^{α} -Asp), 49.61, 48.17 (C ^{α} -Ala), 48.09-47.05 (3 x C ^{α} -Ala, 6 x C ^{δ} -Pro im Lösungsmittelsignal), 42.21, 41.95 (C ^{α} -Gly), 40.71 (C ^{δ} -Arg), 39.20 (CH₂-Spacer), 37.37 (CH₂-exo), 36.97 (C ^{β} -Tyr), 34.35 (C ^{β} -Asp), 33.92 (CH₂-Spacer), 30.16 (C ^{β} -Val), 29.49, 29.31, 29.08, 29.03, 28.66 (6 x C ^{β} -Pro), 27.93 (C ^{β} -Arg), 26.58 (C ^{β} -His), 24.82, 24.72, 24.61, 24.56, 24.48, 24.40 (C ^{γ} -Pro), 24.25 (C ^{γ} -Arg), 18.89, 18.79, 18.52 (C ^{γ} -Thr), 18.45 (C ^{γ} -Val), 17.43 (C ^{γ} -Val), 16.10 (C6-Fuc), 15.90, 15.85, 15.70, 15.63, 15.23 (C ^{β} -Ala).

Nebenprodukt mit zwei fehlenden Benzylschutzgruppen (182c)

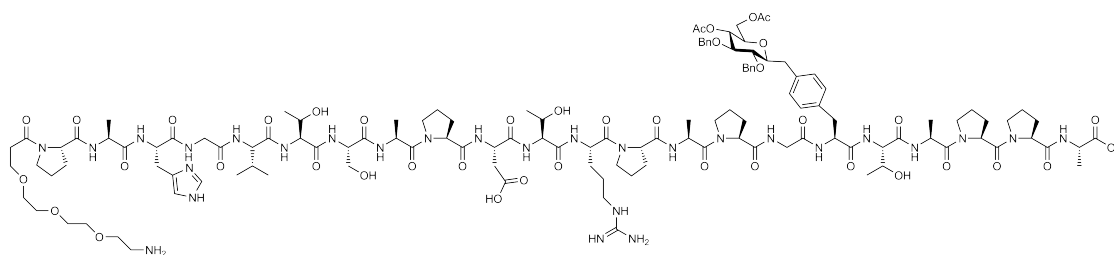
Analyt. HPLC: $R_t = 16.8$ min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(65:35), 60 min, $\lambda = 214$ nm); Präp. HPLC: $R_t = 25.9$ min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(70:30), 60 min, $\lambda = 214$ nm)

ESI-MS (m/z): 1284.73 ([M+2H]²⁺, ber.: 1284.65), 856.81 ([M+3H]³⁺, ber.: 856.77)

C₁₁₇H₁₇₈N₂₈O₃₇ (2568.83)

Amino-4,7,10-trioxa-dodecanylamido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-C-[4,6-di-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzyl- β -D-glucopyranosyl]-L-tyrosyl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolyl-L-prolyl-L-alanin (183)

(H₂N(CH₂CH₂O)₃CH₂CH₂CONH-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Tyr-C-[β -Ac₂Bn₂Glc]-Thr-Ala-Pro-Pro-Ala-OH)



Ausgehend von 563 mg (0.09 mmol der Startaminosäure) des mit Fmoc-Ala-*O*-Trt vorbeladenen Tentagel[®]-Harzes (*Rapp Polymere*, Beladung: 0.16 mmol/g) erfolgt der Aufbau des Glycopeptids am Peptidsynthesizer nach dem Standardprotokoll der automatisierten Festphasensynthese. Nach der Kupplung der beiden ersten Prolinbausteine wird der folgende Alaninbaustein in einer Doppelkupplung angefügt und nach der Kupplung des wiederum folgenden Threonins die Glycosylaminosäure manuell gekuppelt. Dazu wird zunächst die Fmoc-Schutzgruppe des wachsenden Peptidstrangs durch Behandlung mit einer 20%-igen Lösung von Piperidin in NMP entfernt (3 x 2.5 min). Anschließend wird eine Lösung von 104 mg (0.126 mmol, 1.26 Äquiv.) Fmoc-Tyr-C-[β -Ac₂Bn₂Glc]-OH (**145**), 57.5 mg (0.151 mmol, 1.20 Äquiv. bzgl. C-Glycosid) HATU, 20.7 mg (0.152 mmol, 1.21 Äquiv. bzgl. C-Glycosid) HOAt und 35 μ L (0.318 mmol, 2.52 Äquiv. bzgl. C-Glycosid) *N*-Methylmorpholin (NMM) in 2 mL NMP in das Reaktionsgefäß des Synthesizers überführt und dieses 8 h stark geschüttelt. Eventuell verbliebene freie Aminogruppen werden in einem folgenden Capping-Schritt acetyliert, das Harz mit NMP gewaschen, und die folgende Glycin-Aminosäure in einer standardmäßigen Doppelkupplung angeknüpft. Anschließend wird zur weiteren Synthese das Standardprotokoll wieder aufgenommen. Nach der Kupplung des

letzten Prolin-Bausteins wird wiederum die *N*-terminale Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung des Harzes mit einer 20%-igen Lösung von Piperidin in NMP abgespalten. Manuell werden nun 444 mg (1.00 mmol) *N*-(9H-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonylamido-4,7,10-trioxadecansäure (**181**), 456 mg (1.20 mmol, 1.20 Äquiv. bzgl. Spacer) HATU und 164 mg (1.20 mmol, 1.20 Äquiv. bzgl. Spacer) HOAt in 3 mL NMP angelöst. Nach Zugabe von 0.28 mL (2.50 mmol, 2.5 Äquiv. bzgl. Spacer) *N*-Methylmorpholin (NMM) und Verschließen der Kartusche wird geschüttelt bis keine ungelösten Bestandteile mehr zu erkennen sind. Die Lösung wird in das Reaktionsgefäß des Synthesizers überführt und dieses 8 h stark geschüttelt. Nach Behandlung mit Capping-Reagenz wird die terminale Fmoc-Schutzgruppe standardmäßig abgespalten, das Harz gründlich mit NMP und Dichlormethan gewaschen und im Stickstoffstrom getrocknet.

Das Harz wird in einen *Merrifield*-Glasreaktor überführt und mit einer Mischung aus 10 mL Trifluoressigsäure, 1 mL Triisopropylsilan und 1 mL H₂O drei Stunden geschüttelt. Anschließend wird filtriert und das Harz viermal mit je 2 mL Trifluoressigsäure gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden mit 12 ml Toluol versetzt. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand zweimal mit einer Mischung aus 3 mL Methanol und 5 mL Toluol kodestilliert. Dieses wird nun in insgesamt 1.5 mL Methanol aufgenommen und unter Rühren in 25 mL eiskalten Diethylether eingetroppt. Das gefällte Rohprodukt wird abzentrifugiert (3000 rpm, 5 min) und die überstehende Lösung dekantiert. Das farblose Rohpeptid wird nach vollständigem Verdampfen des Ethers durch präparative RP-HPLC (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(70:30), 60 min, λ = 214 nm) gereinigt.

Ausbeute: 94 mg (34.3 μmol, 38% d. Th. bezogen auf Startaminosäure am Harz)

Farbloses Lyophilisat

Analyt. HPLC: R_t = 30.3 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(70:30), 60 min, λ = 214 nm); Präp. HPLC: R_t = 38.3 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(70:30), 60 min, λ = 214 nm)

$[\alpha]_D^{23} = -92.8$ (c = 1.0, MeOH)

ESI-MS (m/z): 1379.77 ([M+2H]²⁺, ber.: 1379.68)

HR-ESI-MS (m/z): 1379.6985 ([M+2H]²⁺, ber.: 1379.6847)

C₁₂₈H₁₈₈N₂₈O₄₀ (2759.03)

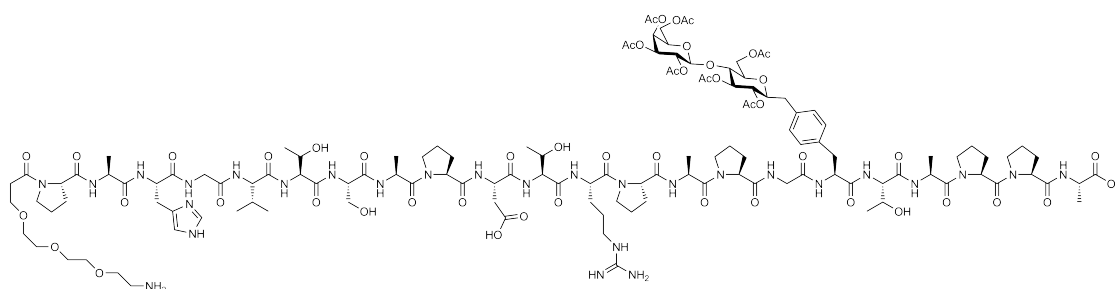
¹H-NMR [¹H¹H-COSY, ROESY] (400 MHz, MeOD): δ (ppm) = 8.80 (d, 1H, ³J_{H^ε,H^δ} = 1.3 Hz, H^ε-His), 7.44-7.25 (m, 11H, H^γ-His {7.42}, H_{Ar}-Ph), 7.21-7.12 (m, 4H, H_{Ar}-Tyr), 4.96-4.85 (m, 2H, H4-Glc {4.93}, CH₂-Bn {4.88}), 4.80 (d, 1H, ²J = 11.4 Hz, CH₂-Bn), 4.75-4.55 (m, 9H, H^α-Tyr {4.72}, H^α-His {4.69}, CH₂-Bn {4.69}, H^α-Arg {4.68}, CH₂-Bn {4.66}, H^α-Asp {4.66}, H^α-Ala {4.65, 4.64, 4.60}), 4.52-4.17 (m, 17H, H^α-Ser {4.46}, H^α-Pro {4.44, 4.43, 4.41, 4.39, 4.38, 4.35}, H^α-Thr {4.43, 4.38, 4.35}, H^α-Ala {4.35}, H^α-Val {4.29}, H^α-Ala {4.27}, H6a-Glc

{4.20}, H^β-Thr {4.25, 4.22, 4.19}), 4.06-3.90 (m, 4H, H^α-Gly₁ {4.03}, H^α-Gly₂ {3.94}, H_{6b}-Glc {3.93}, H^α-Gly₁ {3.93}), 4.88-3.57 (m, 28H, H^β-Ser {3.86}, 4 x H^δ-Pro {3.78}, H^β-Ser {3.78}, 1 x CH₂O-Spacer {3.78}, 3 x CH₂O-Spacer {3.72-3.69}, H₃-Glc {3.67}, 4 x H^δ-Pro {3.66}, H^α-Gly₂ {3.66}, 8 x CH₂O-Spacer {3.67-3.60}, 4 x H^δ-Pro {3.62}), 3.56-3.47 (m, 2H, H₅-Glc {3.53}, H₁-Glc {3.51}), 3.40-3.29 (m, 2H, H^β-His {3.36}, H₂-Glc {3.32}), 3.25-2.86 (m, 10H, H^β-His {3.20}, 2 x H^δ-Arg {3.19}, H^β-Tyr {3.18}, 2 x CH₂-Spacer {3.12}, CH_{2a}-exo {3.06}, H^β-Tyr {2.99}, H^β-Asp {2.89}, 1 x CH₂-Spacer {2.89}), 2.72-2.60 (m, 3H, H^β-Asp {2.68}, 1 x CH₂-Spacer {2.68}), CH_{2b}-exo {2.63}), 2.30-1.80 (m, 32H, 6 x H^β-Pro {2.26-2.14}, H^β-Val {2.15}, 12 x H^γ-Pro {2.10-1.91}, CH₃-Ac {1.99, 1.94}, 6 x H^β-Pro {2.03-1.89}, H^β-Arg {1.86}), 1.78-1.68 (m, 3H, H^β-Arg {1.73}, 2 x H^γ-Arg {1.69}), 1.42-1.24 (m, 15H, H^β-Ala {1.40, 1.39, 1.35, 1.34, 1.33}), 1.21-1.10 (m, 9H, H^γ-Thr {1.19, 1.18, 1.16}), 1.02-0.96 (m, 6H, H^γ-Val {0.99}, H^γ-Val {0.98}).

¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (100.6 MHz, MeOD): δ (ppm) = 174.51, 173.87, 173.85, 173.72, 173.20, 172.85, 172.66, 172.59, 172.57, 172.33, 171.97, 171.77, 171.74, 171.31, 171.18, 171.10, 170.98, 170.89, 170.75, 170.47, 170.44, 170.36, 170.14 (C=O), 157.20 (C=NH), 138.42, 138.36 (C_{ipso}-Ph), 136.94, 135.05 (C_{ipso}-Tyr), 133.76 (C^γ-His), 129.40, 129.25 (C_{o,m}-Tyr), 128.90 (C^ε-His), 128.17, 128.13, 127.64, 127.62, 127.54, 127.47 (C_{o,m,p}-Ph), 117.65 (C^δ-His), 84.42 (C₃-Glc), 81.32 (C₂-Glc), 79.78 (C₁-Glc), 75.43 (C₅-Glc), 75.00, 74.68 (CH₂-Bn), 70.87 (C₄-Glc), 70.13, 70.04, 69.87, 69.78 (CH₂O-Spacer), 67.30, 67.23, 66.97 (C^β-Thr), 66.53, 66.36 (CH₂O-Spacer), 62.55 (C₆-Glc), 61.66 (C^β-Ser), 61.31, 61.01, 60.45, 60.25, 60.05, 59.90 (C^α-Pro), 59.63 (C^α-Val), 58.91, 58.63, 58.48 (C^α-Thr), 55.37 (C^α-Ser), 55.23 (C^α-Tyr), 52.38 (C^α-His), 50.70 (C^α-Arg), 50.49 (C^α-Asp), 49.76 (C^α-Ala), 48.26-47.02 (4 x C^α-Ala, 6 x C^δ-Pro im Lösungsmittelsignal), 42.33, 42.14 (C^α-Gly), 40.78 (C^δ-Arg), 39.27 (CH₂-Spacer), 37.10, 36.99 (CH₂-exo, C^β-Tyr), 34.58 (C^β-Asp), 34.44 (CH₂-Spacer), 30.24 (C^β-Val), 29.53, 29.39, 29.16, 29.08 (6 x C^β-Pro), 27.99 (C^β-Arg), 26.58 (C^β-His), 24.87, 24.80, 24.70, 24.62, 24.54, 24.47 (C^γ-Pro), 24.33 (C^γ-Arg), 19.66, 19.61 (CH₃-Ac), 18.97, 18.91, 18.59 (C^γ-Thr), 18.53 (C^γ-Val), 17.55 (C^γ-Val), 16.19, 15.90, 15.80, 15.34 (5 x C^β-Ala).

Amino-4,7,10-trioxa-dodecanyl-amido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-*C*-[2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]-L-tyrosyl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolyl-L-prolyl-L-alanin (184)

(H₂N(CH₂CH₂O)₃CH₂CH₂CONH-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr-Ser-Ala-Pro-Asp-Thr-Arg-Pro-Ala-Pro-Gly-Tyr-*C*-[β -Ac₇Lac]-Thr-Ala-Pro-Pro-Ala-OH)



Ausgehend von 588 mg (0.10 mmol der Startaminosäure) des mit Fmoc-Ala-*O*-Trt vorbeladenen Tentagel[®]-Harzes (*Rapp Polymere*, Beladung: 0.17 mmol/g) erfolgt der Aufbau des Glycopeptids am Peptidsynthesizer nach dem Standardprotokoll der automatisierten Festphasensynthese. Nach der Kupplung der beiden ersten Prolinbausteine wird der folgende Alaninbaustein in einer Doppelkupplung angefügt und nach der Kupplung des wiederum folgenden Threonins die Glycosylaminosäure manuell gekuppelt. Dazu wird zunächst die Fmoc-Schutzgruppe des wachsenden Peptidstrangs durch Behandlung mit einer 20%-igen Lösung von Piperidin in NMP entfernt (3 x 2.5 min). Anschließend wird eine Lösung von 104 mg (0.102 mmol, 1.02 Äquiv.) Fmoc-Tyr-[*C*- β -Ac₇Lac]-OH (**163**), 46.5 mg (0.122 mmol, 1.20 Äquiv. bzgl. *C*-Glycosid) HATU, 16.7 mg (0.123 mmol, 1.20 Äquiv. bzgl. *C*-Glycosid) HOAt und 28 μ L (0.255 mmol, 2.50 Äquiv. bzgl. *C*-Glycosid) *N*-Methylmorpholin (NMM) in 2 mL NMP in das Reaktionsgefäß des Synthesizers überführt und dieses 8 h stark geschüttelt. Eventuell verbliebene freie Aminogruppen werden in einem folgenden Capping-Schritt acetyliert, das Harz mit NMP gewaschen, und die folgende Glycin-Aminosäure in einer standardmäßigen Doppelkupplung angeknüpft. Anschließend wird zur weiteren Synthese das Standardprotokoll wieder aufgenommen. Nach der Kupplung des letzten Prolin-Bausteins wird wiederum die *N*-terminale Fmoc-Schutzgruppe durch Behandlung des Harzes mit einer 20%-igen Lösung von Piperidin in NMP abgespalten. Manuell werden nun 444 mg (1.00 mmol) *N*-(9H-Fluoren-9-yl)-methoxycarbonylamido-4,7,10-trioxadecansäure (**181**), 456 mg (1.20 mmol, 1.20 Äquiv. bzgl. Spacer) HATU und 164 mg (1.20 mmol, 1.20 Äquiv. bzgl. Spacer) HOAt in 3 mL NMP angelöst. Nach Zugabe von 0.28 mL (2.50 mmol, 2.5 Äquiv. bzgl. Spacer) *N*-Methylmorpholin (NMM) und Verschließen der Kartusche wird geschüttelt bis keine

ungelösten Bestandteile mehr zu erkennen sind. Die Lösung wird in das Reaktionsgefäß des Synthesizers überführt und dieses 8 h stark geschüttelt. Nach Behandlung mit Capping-Reagenz wird die terminale Fmoc-Schutzgruppe standardmäßig abgespalten, das Harz gründlich mit NMP und Dichlormethan gewaschen und im Stickstoffstrom getrocknet.

Das Harz wird in einen *Merrifield*-Glasreaktor überführt und mit einer Mischung aus 10 mL Trifluoressigsäure, 1 mL Triisopropylsilan und 1 mL H₂O drei Stunden geschüttelt. Anschließend wird filtriert und das Harz viermal mit je 2 mL Trifluoressigsäure gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden mit 12 ml Toluol versetzt. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und der Rückstand zweimal mit einer Mischung aus 3 mL Methanol und 5 mL Toluol kodestilliert. Nach Trocknung i. Hochvak. verbleiben 284 mg Rohprodukt. Dieses wird nun in 1.5 mL Methanol aufgenommen und unter Rühren in 25 mL eiskalten Diethylether eingetroppt. Das gefällte Rohprodukt wird abzentrifugiert (3000 rpm, 5 min) und die überstehende Lösung dekantiert. Nach Abdampfen des restlichen Ethers wird das Rohprodukt durch präparative RP-HPLC (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(65:30), 60 min, λ = 214 nm) gereinigt.

Ausbeute: 168 mg (56.8 μmol, 57% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: R_t = 18.3 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(70:30), 60 min, λ = 214 nm); Präp. HPLC: R_t = 31.3 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(65:35), 60 min, λ = 214 nm)

$[\alpha]_D^{23} = -86.1$ (c = 1.0, CH₃OH)

ESI-MS (m/z): 1475.71 ([M+2H]²⁺, ber.: 1475.69), 984.14 ([M+3H]³⁺, ber.: 984.13)

HR-ESI-MS (m/z): 1475.6866 ([M+2H]²⁺, ber.: 1475.6906)

C₁₃₀H₁₉₆N₂₈O₅₀ (2951.10)

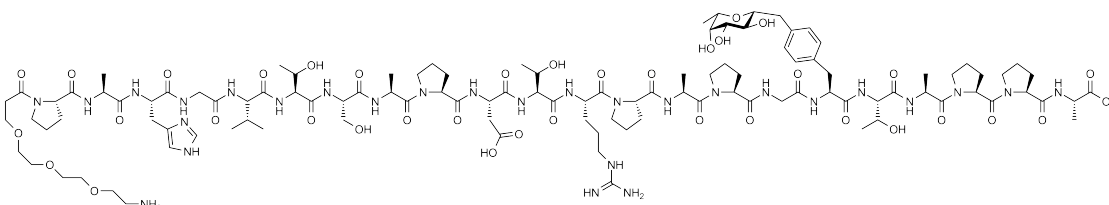
¹H-NMR [¹H¹H-COSY, ROESY] (400 MHz, MeOD): δ (ppm) = 8.80 (d, 1H, ³J_{H^ε,H^δ} = 1.3 Hz, H^ε-His), 7.43 (s, 1H, H^γ-His), 7.16 (d, 2H, ³J = 8.0 Hz, H_{Ar}-Tyr), 7.12 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, H_{Ar}-Tyr), 5.35 (d, 1H, ³J_{H₄,H₃} = 3.3 Hz, H₄-Gal), 5.15 (t*, 1H, ³J_{H₃,H₂} = ³J_{H₃,H₄} = 9.2 Hz, H₃-Glc), 5.11 (dd, 1H, ³J_{H₃,H₂} = 10.3 Hz, ³J_{H₃,H₄} = 3.2 Hz, H₃-Gal), 5.00 (dd, 1H, ³J_{H₂,H₃} = 10.3 Hz, ³J_{H₂,H₁} = 7.9 Hz, H₂-Gal), 4.78 (t*, 1H, ³J_{H₂,H₁} = ³J_{H₂,H₃} = 9.4 Hz, H₂-Glc), 4.74-4.56 (m, 8H, H₁-Gal {4.69}, H^α-Tyr {4.69}, H^α-His {4.68}, H^α-Arg {4.67}, H^α-Asp {4.66}, H^α-Ala {4.64, 4.62, 4.59}), 4.51-4.10 (m, 21H, H^α-Ser {4.45}, H^α-Pro {4.42, 4.40, 4.39, 4.38, 4.36, 4.34}, H^α-Thr {4.42, 4.36, 4.34}, H_{6a}-Glc {4.41}, H^α-Ala {4.33}, H^α-Val {4.28}, H^α-Ala {4.26}, H^β-Thr {4.24, 4.22, 4.17}, H_{6b}-Glc {4.14}, H_{6ab}-Gal {4.11}, H₅-Gal {4.11}), 4.06-3.89 (m, 3H, H_a^α-Gly₁ {4.03}, H_a^α-Gly₂ {3.96}, H_b^α-Gly₁ {3.93}), 3.87-3.57 (m, 30H, H_a^β-Ser {3.84}, 4 x H^δ-Pro {3.78}, H₄-Glc {3.70}, H_b^β-Ser {3.77}, 2 x CH₂O-Spacer {3.75}, 2 x CH₂O-Spacer {3.70}, H₁-Glc {3.70}, 4 x H^δ-Pro {3.66}, H_b^α-Gly₂ {3.67}, 8 x CH₂O-Spacer {3.66-3.59}, 4 x H^δ-Pro {3.62},

H5-Glc {3.58}), 3.36 (m_c , 1H, H_a^β -His), 3.25-3.10 (m, 4H, H_b^β -His {3.19}, 2 x H^δ -Arg {3.18}, H_a^β -Tyr {3.17}, 2 x CH_2 -Spacer {3.12}), 3.04-2.83 (m, 3H, H_b^β -Tyr {2.99}, H_a^β -Asp {2.88}, 1 x CH_2 -Spacer {2.88}), 2.78 (d_b , 1H, $^2J = 14.0$ Hz, CH_{2a} -exo), 2.72-2.64 (m, 3H, H_b^β -Asp {2.68}, 1 x CH_2 -Spacer {2.67}, CH_{2b} -exo {2.67}), 2.31-1.84 (m, 47H, 6 x H^β -Pro {2.25-2.17}, H^β -Val {2.15}, 7 x CH_3 -Ac {2.13, 2.05, 2.03, 1.95, 1.93}, 12 x H^γ -Pro {2.01-1.96}, 6 x H^β -Pro {2.00-1.91}, H_a^β -Arg {1.84}), 1.78-1.63 (m, 3H, H_b^β -Arg {1.71}, 2 x H^γ -Arg {1.66}), 1.42-1.27 (m, 15H, H^β -Ala {1.40, 1.38, 1.36, 1.34, 1.33}), 1.21-1.11 (m, 9H, H^γ -Thr {1.18, 1.16, 1.14}), 1.01-0.95 (m, 6H, H_a^γ -Val {0.99}, H_b^γ -Val {0.97}).

^{13}C -NMR [BB, HSQC, HMBC] (100.6 MHz, MeOD): δ (ppm) = 174.54, 173.86, 173.77, 173.21, 172.87, 172.68, 172.62, 172.57, 172.29, 172.00, 171.78, 171.75, 171.35, 171.19, 171.15, 171.09, 170.99, 170.89, 170.74, 170.65, 170.63, 170.44, 170.39, 170.32, 170.13, 169.86 (C=O), 157.21 (C=NH), 135.81, 135.31 (C_{ipso} -Tyr), 133.78 (C^γ -His), 129.42 ($C_{o,m}$ -Tyr), 129.27 (C^ϵ -His), 128.92 ($C_{o,m}$ -Tyr), 117.66 (C^δ -His), 100.65 (C1-Gal), 77.57 (C1-Glc), 76.71 (C4-Glc), 76.38 (C5-Glc), 74.67 (C3-Glc), 72.32 (C2-Glc), 71.12 (C4-Gal), 70.37 (C5-Gal), 70.14, 70.05, 69.88, 69.79 (CH_2O -Spacer), 69.38 (C2-Gal), 67.34, 67.26, 67.23, 66.97 (3 x C^β -Thr, C4-Gal), 66.54, 66.38 (CH_2O -Spacer), 62.50 (C6-Glc), 61.66 (C^β -Ser), 61.31 (C6-Gal), 60.98, 60.47, 60.06, 59.91 (6 x C^α -Pro), 59.64 (C^α -Val), 58.91, 58.63, 58.49 (C^α -Thr), 55.38 (C^α -Ser), 55.20 (C^α -Tyr), 52.38 (C^α -His), 50.71 (C^α -Arg), 50.48 (C^α -Asp), 49.77 (C^α -Ala), 48.12-47.20 (4 x C^α -Ala, 6 x C^δ -Pro im Lösungsmittelsignal), 42.32, 42.15 (C^α -Gly), 40.79 (C^δ -Arg), 39.29 (CH_2 -Spacer), 37.17 (CH_2 -exo), 37.04 (C^β -Tyr), 34.60 (C^β -Asp), 34.46 (CH_2 -Spacer), 30.25 (C^β -Val), 29.55, 29.40, 29.19, 29.09, 28.02 (6 x C^β -Pro), 27.97 (C^β -Arg), 26.59 (C^β -His), 24.89, 24.81, 24.71, 24.64, 24.57, 24.48 (C^γ -Pro), 24.34 (C^γ -Arg), 19.89, 19.66, 19.50, 19.45, 19.34, 19.21 (7 x CH_3 -Ac), 18.98, 18.88, 18.60 (C^γ -Thr), 18.54 (C_a^γ -Val), 17.56 (C_b^γ -Val), 16.21, 15.92, 15.84, 15.81, 15.36 (C^β -Ala).

Amino-4,7,10-trioxa-dodecanylamido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-C-[β -D-fucopyranosyl]-L-tyrosyl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolyl-L-prolyl-L-alanin (185)

(MUC1(22)Tyr¹⁷cFuc-Spacer)



Die vereinigten Produktfraktionen der Festphasensynthese von (**182a-c**) (max. 24.6 μmol) werden im Autoklaven in 15 mL Methanol, 1 mL Essigsäureethylester und 1 mL Essigsäure gelöst. Man entgast das Lösungsmittel, indem 10 Minuten ein leichter Argonstrom durchgeleitet wird, versetzt dann die Reaktionsmischung mit einer Spatelspitze Palladium(II)-hydroxid (15-20 Gew.-%) auf Aktivkohle und entgast erneut. Das Autoklavengefäß wird fest verschlossen und der Ansatz 5 Tage bei Raumtemp. und 15 bar Wasserstoffdruck gerührt. Anschließend filtriert man über drei Lagen Filterpapier und wäscht gründlich mit Methanol + 0.1% TFA, Wasser + 0.1% TFA und einer Mischung daraus nach. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt und das zurückbleibende Rohprodukt mittels RP-HPLC (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(35:65), 60 min, $\lambda = 214$ nm) gereinigt.

Ausbeute: 55 mg (22.2 μmol , 90% d. Th.)

Farblos amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: $R_t = 13.0$ min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(40:60), 60 min, $\lambda = 214$ nm), Präp. HPLC: $R_t = 30.4$ min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(35:65), 60 min, $\lambda = 214$ nm)

$[\alpha]_D^{23} = -84.2$ ($c = 1.0$, CH₃OH)

ESI-MS (m/z): 1239.65 ($[M+2H]^{2+}$, ber.: 1239.63)

HR-ESI-MS (m/z): 1239.6283 ($[M+2H]^{2+}$, ber.: 1239.6298)

C₁₁₀H₁₇₂N₂₈O₃₇ (2478.71)

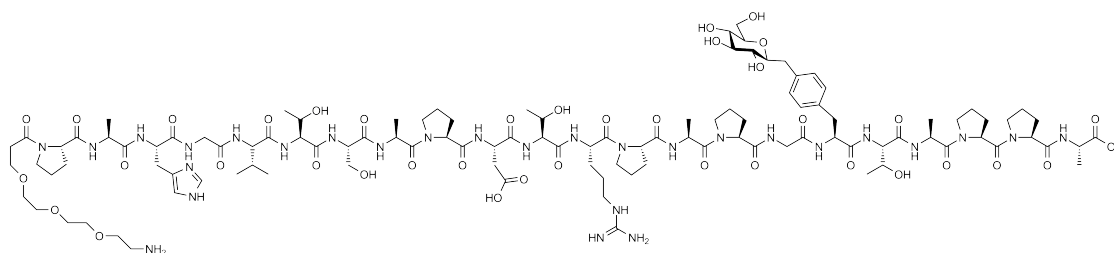
¹H-NMR [¹H¹H-COSY, ROESY] (600 MHz, MeOD): δ (ppm) = 8.79 (*s_b*, 1H, H ^{ϵ} -His), 7.42 (*s*, 1H, H ^{γ} -His), 7.18 (*d*, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, H_{A r} -Tyr), 7.13 (*d*, 2H, ³*J* = 8.1 Hz, H_{A r} -Tyr), 4.71-4.56 (*m*, 7H, H ^{α} -Tyr {4.69}, H ^{α} -His {4.67}, H ^{α} -Arg {4.67}, H ^{α} -Asp {4.65}, H ^{α} -Ala {4.64, 4.61, 4.58}), 4.46-4.30 (*m*, 11H, H ^{α} -Ser {4.44}, H ^{α} -Pro {4.43, 4.42, 4.38, 4.37, 4.35, 4.33}, H ^{α} -Thr

{4.42, 4.35, 4.33}, H^α-Ala {4.33}), 4.29-4.15 (m, 5H, H^α-Val {4.27}, H^α-Ala {4.25}, H^β-Thr {4.24, 4.20, 4.17}), 4.05-3.89 (m, 3H, H^α-Gly₁ {4.02}, H^α-Gly₂ {3.98}, H^β-Gly₁ {3.92}), 3.86-3.57 (m, 28H, H^β-Ser {3.84}, 4 x H^δ-Pro {3.78}, H^β-Ser {3.77}, 2 x CH₂O-Spacer {3.75}, 2 x CH₂O-Spacer {3.70}, 4 x H^δ-Pro {3.66}, H^α-Gly₂ {3.67}, 8 x CH₂O-Spacer {3.66-3.59}, 4 x H^δ-Pro {3.63}, H4-Fuc {3.62}), 3.47-3.37 (m, 3H, H2-Fuc {3.40}, H3-Fuc {3.43}, H5-Fuc {3.44}), 3.37-3.32 (m, 1H, H^β-His), 3.26-3.09 (m, 8H, H1-Fuc {3.23}, H^β-His {3.19}, 2 x H^δ-Arg {3.18}, H^β-Tyr {3.16}, 2 x CH₂-Spacer {3.12}, CH_{2a}-exo {3.11}), 3.01 (m_c, 1H, H^β-Tyr), 2.95-2.83 (m, 2H, H^β-Asp {2.88}, 1 x CH₂-Spacer {2.88}), 2.73-2.63 (m, 2H, H^β-Asp {2.68}, 1 x CH₂-Spacer {2.68}), 2.60 (dd, 1H, ²J = 14.5 Hz, ³J = 9.5 Hz, CH_{2b}-exo), 2.29-1.81 (m, 26H, 6 x H^β-Pro {2.24-2.15}, H^β-Val {2.15}, 12 x H^γ-Pro {2.11-1.93}, 6 x H^β-Pro {2.02-1.91}, H^β-Arg {1.85}), 1.76-1.64 (m, 3H, H^β-Arg {1.71}, 2 x H^γ-Arg {1.66}), 1.42-1.27 (m, 15H, H^β-Ala {1.39, 1.38, 1.35, 1.34, 1.33}), 1.20-1.11 (m, 12H, H^γ-Thr {1.18, 1.16, 1.13}, H6abc-Fuc {1.15}), 1.01-0.95 (m, 6H, H^γ-Val {0.98}, H^γ-Val {0.97}).

¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (150.9 MHz, MeOD): δ (ppm) = 174.53, 173.83, 173.80, 173.20, 172.85, 172.68, 172.59, 172.54, 172.35, 171.98, 171.77, 171.70, 171.30, 171.15, 171.12, 170.97, 170.87, 170.86, 170.72, 170.43, 170.38, 170.14 (C=O), 157.14 (C=NH), 138.08, 134.60 (C_{ipso}-Tyr), 133.75 (C^γ-His), 129.24 (C_{o,m}-Tyr), 128.73 (C^ε-His), 117.64 (C^δ-His), 81.13 (C1-Fuc), 75.22 (C3-Fuc), 74.00 (C5-Fuc), 72.32 (C4-Fuc), 70.97, 70.10, 70.01, 69.84 (CH₂O-Spacer), 69.74 (C2-Fuc), 67.29, 67.21, 66.95 (C^β-Thr), 66.50, 66.32 (CH₂O-Spacer), 61.61 (C^β-Ser), 61.27, 60.98, 60.40, 60.02, 59.86, 59.58 (C^α-Pro), 58.89 (C^α-Val), 58.56, 58.49, 58.44 (C^α-Thr), 55.34 (C^α-Ser), 55.22 (C^α-Tyr), 52.32 (C^α-His), 50.68 (C^α-Arg), 50.44 (C^α-Asp), 49.71 (C^α-Ala), 48.12-47.20 (4 x C^α-Ala, 6 x C^δ-Pro im Lösungsmittelsignal), 42.28, 42.08 (C^α-Gly), 40.74 (C^δ-Arg), 39.23 (CH₂-Spacer), 37.18 (CH₂-exo), 37.03 (C^β-Tyr), 34.50 (C^β-Asp), 34.40 (CH₂-Spacer), 30.23 (C^β-Val), 29.52, 29.36, 29.13, 29.07 (6 x C^β-Pro), 27.98 (C^β-Arg), 26.56 (C^β-His), 24.87, 24.77, 24.67, 24.60, 24.52, 24.44 (C^γ-Pro), 24.30 (C^γ-Arg), 18.94, 18.85, 18.56 (C^γ-Thr), 18.50 (C^γ-Val), 17.52 (C^γ-Val), 16.13 (C6-Fuc), 15.89, 15.87, 15.77, 15.70, 15.30 (C^β-Ala).

Amino-4,7,10-trioxa-dodecanylamido-N-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-C-[β -D-glucosyl]-L-tyrosyl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolyl-L-prolyl-L-alanin (186)

(MUC1(22)Tyr¹⁷cGlc-Spacer)



Debenzylierung

Die vereinigten Produktfraktionen der Festphasensynthese von **(183)** (max. 34.3 μ mol) werden im Autoklaven in 15 mL Methanol und 1 mL Essigsäure gelöst. Man entgast das Lösungsmittel, indem 10 Minuten ein leichter Argonstrom durchgeleitet wird, versetzt dann die Reaktionsmischung mit einer Spatelspitze Palladium(II)-hydroxid (15-20 Gew.-%) auf Aktivkohle und entgast erneut. Das Autoklavengefäß wird fest verschlossen und der Ansatz 5 Tage bei Raumtemp. und 15 bar Wasserstoffdruck gerührt. Anschließend filtriert man über drei Lagen Filterpapier und wäscht gründlich mit Methanol + 0.1% TFA, Wasser + 0.1% TFA und einer Mischung daraus nach. Die Lösungsmittel werden i. Vak. entfernt, das Rohprodukt i. Hochvak. getrocknet und ohne vollständige Charakterisierung oder weitere Reinigung direkt in der folgenden Deacetylierung eingesetzt.

Rohausbeute: 145 mg

Farbloser amorpher Feststoff

ESI-MS (m/z): 1289.76 ($[M+2H]^{2+}$, ber.: 1289.64), 860.17 ($[M+3H]^{3+}$, ber.: 860.09)

HR-ESI-MS (m/z): 1289.6368 ($[M+2H]^{2+}$, ber.: 129.6378)

C₁₁₄H₁₇₆N₂₈O₄₀ (2578.78)

Deacetylierung

Das Rohprodukt der vorigen Stufe wird in 35 mL Methanol gelöst. Durch Zugabe frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung stellt man einen pH-Wert von 9.5 ein und rührt 21 Stunden bei Raumtemperatur. Anschließend versetzt man mit 1 mL Essigsäure, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und kodestilliert den Rückstand einmal mit einer Mischung aus 2 mL Methanol und 15 mL Toluol, sowie einmal mit 15 mL Toluol. Das zurückbleibende Rohprodukt wird mittels RP-HPLC

(Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(35:65), 60 min, λ = 214 nm) gereinigt.

Ausbeute: 76 mg (30.5 μmol, 89% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: R_t = 13.3 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(40:60), 60 min, λ = 214 nm); Präp. HPLC: R_t = 29.9 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(35:65), 60 min, λ = 214 nm)

[α]_D²³ = -87.9 (c = 1.0, CH₃OH)

ESI-MS (m/z): 1247.49 ([M+2H]²⁺, ber.: 1247.63), 831.98 ([M+3H]³⁺, ber.: 832.09)

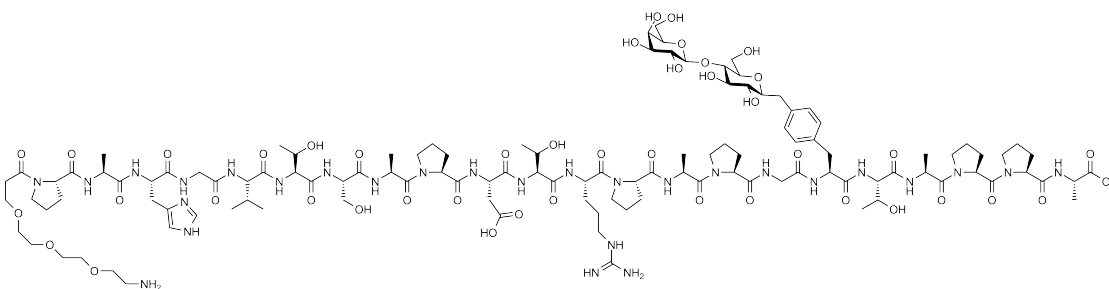
C₁₁₀H₁₇₂N₂₈O₃₈ (2494.24)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, ROESY] (600 MHz, MeOD): δ (ppm) = 8.79 (s_b, 1H, H^ε-His), 7.42 (s, 1H, H^γ-His), 7.21 (d, 2H, ³J = 7.7 Hz, H_{Ar}-Tyr), 7.13 (d, 2H, ³J = 7.6 Hz, H_{Ar}-Tyr), 4.76-4.58 (m, 7H, H^α-Tyr {4.72}, H^α-His {4.71}, H^α-Arg {4.68}, H^α-Asp {4.66}, H^α-Ala {4.66, 4.65, 4.61}), 4.54-4.17 (m, 16H, H^α-Ser {4.47}, H^α-Pro {4.46, 4.45, 4.43, 4.41, 4.37, 4.36}, H^α-Thr {4.46, 4.39, 4.37}, H^α-Ala {4.36}, H^α-Val {4.31}, H^α-Ala {4.28}, H^β-Thr {4.27, 4.23, 4.19}), 4.07-3.93 (m, 3H, H^α-Gly₁ {4.05}, H^α-Gly₂ {3.98}, H^β-Gly₁ {3.95}), 3.89-3.60 (m, 29H, H^β-Ser {3.87}, 4 x H^δ-Pro {3.81}, H^β-Ser {3.79}, H_{6a}-Glc {3.78}, 2 x CH₂O-Spacer {3.78}, 2 x CH₂O-Spacer {3.73}, 4 x H^δ-Pro {3.69}, H^β-Gly₂ {3.70}, 8 x CH₂O-Spacer {3.69-3.61}, 4 x H^δ-Pro {3.64}, H_{6b}-Glc {3.64}): 3.40-3.32 (m, 3H, H^β-His {3.38}, H₁-Glc {3.37} H₃-Glc {3.36}), 3.26 (t*, 1H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H4,H5} = 9.3 Hz, H₄-Glc), 3.25-3.13 (m, 8H, H^β-His {3.22}, 2 x H^δ-Arg {3.20}, H^β-Tyr {3.20}, CH_{2a}-exo {3.15}, H₅-Glc {3.15}, 2 x CH₂-Spacer {3.15}), 3.08 (t*, 1H, ³J_{H2,H1} = ³J_{H2,H3} = 9.1 Hz, H₂-Glc), 3.03 (m_c, 1H, H^β-Tyr), 2.98-2.86 (m, 2H, H^β-Asp {2.92}, 1 x CH₂-Spacer {2.92}), 2.76-2.66 (m, 3H, H^β-Asp {2.71}, 1 x CH₂-Spacer {2.71}, CH_{2b}-exo {2.68}), 2.33-1.84 (m, 26H, 6 x H^β-Pro {2.26-2.17}, H^β-Val {2.17}, 12 x H^γ-Pro {2.12-1.95}, 6 x H^β-Pro {2.04-1.93}, H^β-Arg {1.87}), 1.79-1.67 (m, 3H, H^β-Arg {1.76}, 2 x H^γ-Arg {1.69}), 1.44-1.30 (m, 15H, H^β-Ala {1.41, 1.40, 1.38, 1.37, 1.35}), 1.24-1.14 (m, 9H, H^γ-Thr {1.20, 1.19, 1.17}), 1.04-0.96 (m, 6H, H^γ-Val {1.01}, H^γ-Val {0.99}).

¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (150.9 MHz, MeOD): δ (ppm) = 174.53, 173.83, 173.80, 173.77, 173.18, 172.85, 172.66, 172.57, 172.51, 172.49, 172.32, 171.94, 171.75, 171.67, 171.29, 171.12, 171.09, 170.94, 170.82, 170.68, 170.40, 170.34, 170.11 (C=O), 157.11 (C=NH), 137.40, 134.68 (C_{ipso}-Tyr), 133.71 (C^γ-His), 129.44 (C_{o,m}-Tyr), 129.16 (C^ε-His), 128.71 (C_{o,m}-Tyr), 117.60 (C^δ-His), 80.22 (C₁-Glc), 80.05 (C₅-Glc), 78.46 (C₃-Glc), 73.49 (C₂-Glc), 70.48 (C₄-Glc), 70.06, 69.97, 69.80, 69.70 (CH₂O-Spacer), 67.28, 67.19, 66.93 (C^β-Thr), 66.47, 66.29 (CH₂O-Spacer), 61.60 (C^β-Ser), 61.21 (C₆-Glc), 60.93, 60.36, 60.18, 59.99, 59.84 (6 x C^α-Pro), 59.52 (C^α-Val), 58.84, 58.54, 58.42 (C^α-Thr), 55.30 (C^α-Ser), 55.18 (C^α-Tyr), 52.28 (C^α-His), 50.68 (C^α-Arg), 50.40 (C^α-Asp), 49.68 (C^α-Ala), 48.12-47.20 (4 x C^α-Ala, 6 x C^δ-Pro im Lösungsmittelsignal),

42.24, 42.06 (C^α -Gly), 40.71 (C^δ -Arg), 39.20 (CH_2 -Spacer), 37.05 (CH_2 -exo), 36.97 (C^β -Tyr), 34.53 (C^β -Asp), 34.36 (CH_2 -Spacer), 30.22 (C^β -Val), 29.50, 29.33, 29.11, 29.05 (6 x C^β -Pro), 27.95 (C^β -Arg), 26.53 (C^β -His), 24.84, 24.74, 24.66, 24.58, 24.50, 24.42 (C^γ -Pro), 24.27 (C^γ -Arg), 18.92, 18.82, 18.54 (C^γ -Thr), 18.48 (C_a^γ -Val), 17.49 (C_b^γ -Val), 16.11, 15.88, 15.76, 15.70, 15.30 (C^β -Ala).

Amino-4,7,10-trioxa-dodecanylamido-*N*-L-prolyl-L-alanyl-L-histidyl-L-glycyl-L-valyl-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-*C*-[β -D-lactosyl]-L-tyrosyl-L-threonyl-L-alanyl-L-prolyl-L-prolyl-L-alanin (187)
(MUC1(22)Tyr¹⁷cLac-Spacer)



Das Produkt der vorhergehenden Festphasensynthese von **(184)** (56.8 μ mol) wird in 35 mL Methanol gelöst. Durch Zugabe frisch hergestellter Natriummethanolat-Lösung stellt man einen pH-Wert von 9.5-10 ein und rührt 21 Stunden bei Raumtemperatur. Dabei trübt sich die Lösung mit fortschreitender Reaktion langsam ein. Nach Zusatz von 14 mL Wasser und Einstellen des pH-Wertes auf 10.5-11 rührt man die dann klare Lösung weitere 6 Stunden. Anschließend versetzt man mit 1 mL Essigsäure, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und kodestilliert den Rückstand mehrfach mit einer Mischung aus 2 mL Methanol und 15 mL Toluol. Das zurückbleibende Rohprodukt wird mittels RP-HPLC (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(35:65), 60 min, λ = 214 nm) gereinigt.

Ausbeute: 148 mg (55.7 μ mol, 98% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

Analyt. HPLC: R_t = 13.5 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(35:65), 60 min, λ = 214 nm); Präp. HPLC: R_t = 27.5 min (Phenomenex Luna, MeCN/H₂O + 0.1% TFA, (5:95)→(40:60), 60 min, λ = 214 nm)

$[\alpha]_D^{23}$ = -91.0 (c = 1.0, CH₃OH)

ESI-MS (m/z): 1328.84 ([M+2H]²⁺, ber.: 1328.65), 886.22 ([M+3H]³⁺, ber.: 886.11)

HR-ESI-MS (m/z): 1328.6477 ([M+2H]²⁺, ber.: 1328.6536)

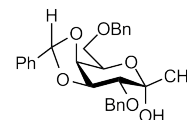
C₁₁₆H₁₈₂N₂₈O₄₃ (2656.85)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, ROESY] (400 MHz, MeOD): δ (ppm) = 8.79 (d, 1H, ³J_{H^ε,H^δ} = 1.2 Hz, H^ε-His), 7.42 (s, 1H, H^γ-His), 7.21 (d, 2H, ³J = 7.8 Hz, H_{Ar}-Tyr), 7.14 (d, 2H, ³J = 7.9 Hz, H_{Ar}-Tyr), 4.75-4.59 (m, 7H, H^α-Tyr {4.71}, H^α-His {4.70}, H^α-Arg {4.69}, H^α-Asp {4.67}, H^α-Ala {4.65, 4.63, 4.61}), 4.51-4.15 (m, 17H, H^α-Ser {4.47}, H^α-Pro {4.44, 4.42, 4.40, 4.39, 4.38, 4.36}, H^α-Thr {4.45, 4.38, 4.36}, C1-Gal {4.36}, H^α-Ala {4.34}, H^α-Val {4.30}, H^α-Ala {4.27}, H^β-Thr {4.24, 4.21, 4.18}), 4.08-3.89 (m, 3H, H^α-Gly₁ {4.04}, H^α-Gly₂ {3.96}, H^β-Gly₁ {3.95}), 3.87-3.47 (m, 36H, H^β-Ser {3.84}, H4-Gal {3.83}, 4 x H^δ-Pro {3.79}, 2 x CH₂O-Spacer {3.76}, 2 x CH₂O-Spacer {3.71}, H^β-Gly₂ {3.70}, H6a-Gal, H6b-Gal, H6a-Glc, H6b-Glc {3.81-3.75}, 4 x H^δ-Pro {3.66}, 8 x CH₂O-Spacer {3.67-3.61}, 4 x H^δ-Pro {3.64}, H5-Gal {3.60}, H4-Glc {3.53}, H2-Gal {3.52}, H3-Gal {3.51}, H3-Glc {3.50}), 3.40-3.33 (m, 2H, H^β-His {3.35}, H1-Glc {3.36}), 3.28-3.10 (m, 9H, H5-Glc {3.25}, H^β-His {3.20}, 2 x H^δ-Arg {3.18}, H^β-Tyr {3.17}, H2-Glc {3.16}, CH_{2a}-exo {3.14}, 2 x CH₂-Spacer {3.13}), 3.05-2.83 (m, 3H, H^β-Tyr {3.00}, H^β-Asp {2.88}, 1 x CH₂-Spacer {2.88}), 2.73-2.60 (m, 3H, H^β-Asp {2.69}, 1 x CH₂-Spacer {2.69}, CH_{2b}-exo {2.65}), 2.31-1.82 (m, 26H, 6 x H^β-Pro {2.24-2.15}, H^β-Val {2.14}, 12 x H^γ-Pro {2.09-1.93}, 6 x H^β-Pro {2.00-1.91}, H^β-Arg {1.85}), 1.77-1.63 (m, 3H, H^β-Arg {1.72}, 2 x H^γ-Arg {1.67}), 1.42-1.28 (m, 15H, H^β-Ala {1.39, 1.38, 1.35, 1.34, 1.33}), 1.21-1.10 (m, 9H, H^γ-Thr {1.18, 1.17, 1.14}), 1.02-0.95 (m, 6H, H^γ-Val {0.99}, H^γ-Val {0.97}).

¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (100.6 MHz, MeOD): δ (ppm) = 174.56, 173.87, 173.84, 173.80, 173.20, 172.91, 172.70, 172.60, 172.55, 172.36, 171.99, 171.78, 171.75, 171.34, 171.19, 171.17, 170.99, 170.88, 170.73, 170.49, 170.47, 170.40, 170.18 (C=O), 157.19 (C=NH), 137.42, 134.80 (C_{ipso}-Tyr), 133.80 (C^γ-His), 129.49 (C_{o,m}-Tyr), 129.25 (C^ε-His), 128.79 (C_{o,m}-Tyr), 117.66 (C^δ-His), 103.78 (C1-Gal), 80.23 (C1-Glc), 79.91 (C2-Gal), 78.65 (C5-Glc), 76.82 (C3-Glc), 75.76 (C5-Gal), 73.48 (C3-Gal), 73.35 (C2-Glc), 71.26 (C4-Glc), 70.13, 70.05, 69.85, 69.79 (CH₂O-Spacer), 68.99 (C4-Gal), 67.34, 67.26, 67.01 (C^β-Thr), 66.54, 66.39 (CH₂O-Spacer), 61.69, 61.23, 60.97, 60.46, 60.08, 59.92, 59.60 (C^β-Ser, C6-Gal, C6-Glc, 6 x C^α-Pro), 58.91 (C^α-Val), 58.62, 58.53, 58.49 (C^α-Thr), 55.37 (C^α-Ser), 55.23 (C^α-Tyr), 52.38 (C^α-His), 50.74 (C^α-Arg), 50.48 (C^α-Asp), 49.77, 48.57 (C^α-Ala), 48.25-47.05 (3 x C^α-Ala, 6 x C^δ-Pro im Lösungsmittelsignal), 42.36, 42.17 (C^α-Gly), 40.80 (C^δ-Arg), 39.31 (CH₂-Spacer), 37.06 (CH₂-exo), 36.95 (C^β-Tyr), 34.66 (C^β-Asp), 34.47 (CH₂-Spacer), 30.30 (C^β-Val), 29.56, 29.39, 29.18, 29.11 (6 x C^β-Pro), 28.03 (C^β-Arg), 26.62 (C^β-His), 24.90, 24.81, 24.73, 24.65, 24.57, 24.49 (C^γ-Pro), 24.35 (C^γ-Arg), 19.00, 18.89, 18.61 (C^γ-Thr), 18.56 (C^γ_a-Val), 17.58 (C^γ_b-Val), 16.22, 15.96, 15.87, 15.82, 15.41 (C^β-Ala).

5.10 Weitere Versuche zur C-Glycosidsynthese

exo-2,6-Di-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden-1-*C*-methyl- β -D-galactopyranose (188)



50 mg (0.112 mmol) *exo*-3,4-Bzn-Bn₂Glc=O (**57**) werden in 5 mL absol. Tetrahydrofuran gelöst -78 °C gekühlt. In der Kälte gibt man nun 0.2 mL (0.600 mmol, 3.6 Äquiv.) einer 3.0M Lösung von Methylmagnesiumchlorid in THF zu, rührt 30 Minuten und versetzt danach mit weiteren 0.3 mL (0.900 mmol, 8.0 Äquiv.) der Grignardreagenz-Lösung. Innerhalb einer Stunde lässt man auf Raumtemp. kommen, versetzt dann vorsichtig mit Wasser und Dichlormethan, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das blassgelbe hochviskose Öl ist bereits rein.

Rohausbeute: 40 mg (86.5 μ mol, 77% d. Th.)

Blassgelbes hochviskoses Öl

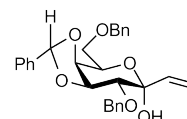
R_f = 0.28 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

C₂₈H₃₀O₆ (462.53)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.50-7.26 (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 6.02 (s, 1H, CH-Bzn), 4.98 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.84 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.71 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 6.9 Hz, ³J_{H3,H4} = 5.5 Hz, H3-Gal), 4.65 (d, 1H, ²J = 12.2 Hz, CH₂-Bn), 4.54 (d, 1H, ²J = 12.2 Hz, CH₂-Bn), 4.42 (ddd, 1H, ³J_{H5,H6a} = 7.6 Hz, ³J_{H5,H6b} = 5.5 Hz, ³J_{H5,H4} = 2.2 Hz, H5-Gal), 4.27 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 5.5 Hz, ³J_{H4,H5} = 2.2 Hz, H4-Gal), 3.80-3.71 (m, 2H, H6ab-Gal), 3.52 (d, 1H, ³J_{H2,H3} = 6.9 Hz, H2-Gal), 3.40 (s_b, 1H, OH), 1.53 (s, 3H, CH₃).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 138.89, 138.00, 137.42 (C_{ipso}-Ph), 129.10, 128.55, 128.38, 128.36, 128.27, 127.97, 127.91, 127.87, 127.69, 127.55, 126.18 (C_{o,m,p}-Ph), 103.06 (CH-Bzn), 96.71 (C1-Gal), 78.16 (C3-Gal), 76.20 (C2-Gal), 74.04 (C4-Gal), 73.37, 73.17 (CH₂-Bn), 69.53 (C6-Gal), 67.53 (C5-Gal), 26.45 (CH₃).

exo-2,6-Di-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden-1-*C*-vinyl- β -D-galactopyranose (189)



56 mg (0.126 mmol) *exo*-3,4-Bzn-Bn₂Glc=O (**57**) werden in 5 mL absol. Tetrahydrofuran auf -78 °C gekühlt. In der Kälte gibt man nun 0.2 mL (0.200 mmol, 1.6 Äquiv.) einer 3.0M Lösung von Vinylmagnesiumbromid in THF zu. Innerhalb einer Stunde lässt man auf Raumtemp. kommen,

versetzt vorsichtig mit Wasser und Dichlormethan, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird zweimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird zweimal mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 10 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 7 mg (14.8 μmol , 12% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.53$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -18.1$ ($c = 1.0$, CHCl_3)

$\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (474.54)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.51-7.46 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.42-7.24 (m, 11H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.20-7.15 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 5.89 (s, 1H, CH-Bzn), 5.77 (m_c , 1H, CH-Vinyl), 4.97 (dd, 1H, $^3J_{trans} = 17.2$ Hz, $^2J = 1.6$ Hz, =CH₂-Vinyl^{trans}), 4.92 (dd, 1H, $^3J_{cis} = 10.2$ Hz, $^2J = 1.2$ Hz, =CH₂-Vinyl^{cis}), 4.80 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH₂-Bn), 4.65-4.55 (m, 3H, CH₂-Bn), 4.53 (t*, 1H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 6.2$ Hz, H3-Gal), 4.42 (ddd, 1H, $^3J_{H5,H6b} = 6.6$ Hz, $^3J_{H5,H6a} = 6.0$ Hz, $^3J_{H5,H4} = 2.5$ Hz, H5-Gal), 4.34 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 6.4$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 2.5$ Hz, H4-Gal), 3.84 (dd, 1H, $^2J = 10.0$ Hz, $^3J = 5.9$ Hz, H6a-Gal), 3.75 (dd, 1H, $^2J = 10.0$ Hz, $^3J = 6.7$ Hz, H6b-Gal), 3.46 (d, 1H, $^3J_{H2,H3} = 5.9$ Hz, H2-Gal), 3.15 (s_b , 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 138.60 (CH-Vinyl), 138.27, 137.48, 137.32 ($C_{ipso}\text{-Ph}$), 129.35, 128.48, 128.37, 128.34, 127.93, 127.65, 127.58, 126.86 ($C_{o,m,p}\text{-Ph}$), 114.76 (=CH₂-Vinyl), 104.07 (CH-Bzn), 97.47 (C1-Gal), 77.77 (C2-Gal), 76.85 (C3-Gal), 75.62 (C4-Gal), 73.42, 72.97 (CH₂-Bn), 69.33 (C6-Gal), 67.30 (C5-Gal).

Nebenprodukt durch Divinylierung (190)

Ausbeute: 6 mg (11.9 μmol , 9% d. Th.)

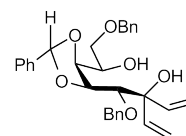
Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.38$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

ESI-MS (m/z): 525.26 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 525.23)

$\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_6$ (502.60)

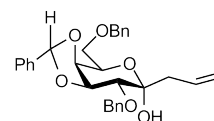
$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.59-7.52 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.41-7.24 (m, 13H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 6.18 (dd, 1H, $^3J_{trans} = 17.4$ Hz, $^3J_{cis} = 10.8$ Hz, =CH-Vinyl), 6.03 (dd, 1H, $^3J_{trans} = 17.3$ Hz, $^3J_{cis} = 10.7$ Hz, =CH-Vinyl), 5.79 (s, 1H, CH-Bzn), 5.38 (2 x dd, 2H, $^3J_{trans} = 17.4$ Hz, $^2J = 1.3$ Hz, =CH₂-Vinyl^{trans}), 5.27 (dd, 1H, $^3J_{cis} = 10.8$ Hz, $^2J = 1.2$ Hz, =CH₂-Vinyl^{cis}), 5.16 (dd, 1H, $^3J_{cis} = 10.7$ Hz, $^2J = 1.2$ Hz, =CH₂-Vinyl^{cis}), 4.93 (d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.68



(d, 1H, $^2J = 11.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.58 (d, 1H, $^2J = 12.0$ Hz, CH₂-Bn), 4.55 (d, 1H, $^2J = 11.9$ Hz, CH₂-Bn), 4.46 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 8.4$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 6.8$ Hz, H3-Gal), 4.32 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 6.8$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 1.6$ Hz, H4-Gal), 4.19 (m_c, 1H, H5-Gal), 4.15 (d, 1H, $^3J_{H2,H3} = 8.4$ Hz, H2-Gal), 3.59-3.54 (m, 2H, H6ab-Gal), 2.23 (s_b, 1H, OH).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 140.48 (CH-Vinyl), 139.61 (CH-Vinyl, C_{ipso}-Ph), 138.08, 136.86 (C_{ipso}-Ph), 129.33, 128.45, 128.42, 128.39, 128.24, 127.74, 126.56 (C_{o,m,p}-Ph), 114.62, 114.60 (=CH₂-Vinyl), 102.31 (CH-Bzn), 81.00 (C2-Gal), 79.38 (C3-Gal), 77.22 (C1-Gal), 77.19 (C4-Gal), 75.47, 73.41 (CH₂-Bn), 72.03 (C6-Gal), 68.65 (C5-Gal).

***exo*-2,6-Di-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden-1-*C*-allyl-β-*D*-galactopyranose (191)**



140 mg (0.314 mmol) *exo*-3,4-Bzn-Bn₂Glc=O (**57**) werden in 7 mL absol. Tetrahydrofuran auf -78 °C gekühlt. In der Kälte gibt man nun 1.0 mL (1.00 mmol, 3.2 Äquiv.) einer 1.0M Lösung von Allylmagnesiumbromid in Diethylether zu. Man rührt eine Stunde bei -78 °C, lässt langsam auf Raumtemp. kommen, versetzt vorsichtig mit Wasser und Dichlormethan, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird zweimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird zweimal mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1) gereinigt.

Ausbeute: 36 mg (73.7 μmol, 23% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.38$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -129.3$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 511.25 ([M+Na]⁺, ber.: 511.21)

C₃₀H₃₂O₆ (488.57)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.54-7.49 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.44-7.26 (m, 11H, H_{Ar}-Ph), 7.24-7.18 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 5.91 (s, 1H, CH-Bzn), 5.86 (m_c, 1H, CH-All), 5.21-5.16 (m, 1H, =CH₂-All^{trans}), 5.13-5.06 (m, 1H, =CH₂-All^{cis}), 4.81 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH₂-Bn), 4.65 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn), 4.62-4.54 (m, 3H, CH₂-Bn, H3-Gal {4.56}), 4.44 (ddd, 1H, $^3J_{H5,H6a} = 6.7$ Hz, $^3J_{H5,H6b} = 5.9$ Hz, $^3J_{H5,H4} = 2.5$ Hz, H5-Gal), 4.35 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 6.4$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 2.5$ Hz, H4-Gal), 3.87 (dd, 1H, $^2J = 10.0$ Hz, $^3J = 5.8$ Hz, H6a-Gal), 3.77 (dd, 1H, $^2J = 10.0$ Hz, $^3J = 6.8$ Hz, H6b-Gal), 3.52 (d, 1H, $^3J_{H2,H3} = 6.2$ Hz, H2-Gal), 3.22 (s_b, 1H, OH), 2.54-2.40 (m, 2H, CH₂-All).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 138.22, 137.48, 137.42 ($C_{\text{ipso-Ph}}$), 132.08 (CH-All), 129.29, 128.46, 128.33, 128.32, 128.29, 127.82, 127.63, 127.56, 126.85 ($C_{o,m,p\text{-Ph}}$), 120.13 ($=\text{CH}_2\text{-All}$), 104.03 (CH-Bzn), 96.82 (C1-Gal), 77.73 (C2-Gal), 76.90 (C3-Gal), 75.78 (C4-Gal), 73.40, 73.01 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 69.28 (C6-Gal), 67.30 (C5-Gal), 42.85 ($\text{CH}_2\text{-All}$).

Nebenprodukt durch Dialylierung (192)

Ausbeute: 101 mg (0.190 mmol, 61% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.24 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 2 : 1)

ESI-MS (m/z): 553.23 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 553.26)

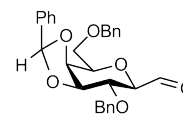
$\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{O}_6$ (530.65)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.63-7.56 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.42-7.24 (m, 13H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.98-5.79 (m, 3H, 2 x CH-All, CH-Bzn {5.85}), 5.24-5.01 (m, 5H, 2 x $=\text{CH}_2\text{-All}^{\text{trans}}$, 2 x $=\text{CH}_2\text{-All}^{\text{cis}}$, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.69 (d, 1H, 2J = 11.2 Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.61 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2}$ = 8.4 Hz, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4}$ = 7.1 Hz, H3-Gal), 4.57 (s_b , 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.38 (dd, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3}$ = 6.8 Hz, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5}$ = 1.0 Hz, H4-Gal), 4.29 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3}$ = 8.7 Hz, H2-Gal), 4.18 (q*, 1H, $^3J_{\text{H}_5,\text{OH}}$ = $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6a}$ = $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_6b}$ = 7.1 Hz, H5-Gal), 3.60-3.52 (m, 2H, H6ab-Gal), 2.63-2.25 (m, 6H, 4 x $\text{CH}_2\text{-All}$, 2 x OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, DEPT] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 138.51, 138.09, 136.96 ($C_{\text{ipso-Ph}}$), 133.33, 133.21 (CH-All), 129.21, 128.38, 128.31, 128.21, 128.04, 127.61, 127.57, 127.50, 126.46 ($C_{o,m,p\text{-Ph}}$), 119.78, 119.42 ($=\text{CH}_2\text{-All}$), 102.22 (CH-Bzn), 79.48, 79.23 (C2-Gal, C3-Gal), 77.28 (C4-Gal), 74.92 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 74.82 (C1-Gal), 73.16 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 71.87 (C6-Gal), 68.59 (C5-Gal), 42.05, 39.80 ($\text{CH}_2\text{-All}$).

(endo-2,6-Di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden- β -D-galactopyranosyl)-methanal (193)

(endo- β -3,4-Bzn-Bn₂Gal-CHO)



310 mg (0.670 mmol) endo- β -3,4-Bzn-Bn₂Gal- CH_2OH (**84**) werden in 10 mL absol. Dichlormethan gelöst und mit 2 mL (0.963 mmol, 1.4 Äquiv.) einer 15 gew.-%-igen Lösung von Dess-Martin-Periodinan in Dichlormethan versetzt. Nach 30 Minuten werden nochmals 3 mL (1.45 mmol, 2.2 Äquiv.) der Reagenzlösung zugetropft und der Ansatz nach weiteren 30 Minuten mit 20 mL ges. NaHCO_3 -Lösung versetzt. Man schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 3 : 1 \rightarrow 2 : 1).

Ausbeute: 181 mg (0.393 mmol, 59% d. Th.)

Farbloses viskoses Öl

$R_f = 0.23$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 2 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = -1.4$ (c = 1.0, CHCl₃)

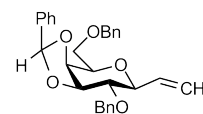
C₂₈H₂₈O₆ (460.52)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.57 (s, 1H, CHO), 7.51-7.43 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.39-7.22 (m, 13H, H_{Ar}-Ph), 5.78 (s, 1H, CH-Bzn), 4.67 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.65 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.60 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.54 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.47 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 4.1 Hz, ³J_{H3,H4} = 7.5 Hz, H3-Gal), 4.34 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 7.5 Hz, ³J_{H4,H5} = 1.8 Hz, H4-Gal), 4.31-4.26 (m, 2H, H1-Gal, H5-Gal), 3.97 (t*, 1H, ³J_{H2,H1} = ³J_{H2,H3} = 3.9 Hz, H2-Gal), 3.84-3.74 (m, 2H, H6ab-Gal).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 200.56 (C=O), 137.83, 136.90, 136.14 (C_{ipso}-Ph), 129.57, 128.43, 128.31, 128.28, 128.00, 127.87, 127.75, 127.64, 126.80 (C_{o,m,p}-Ph), 104.44 (CH-Bzn), 80.42, 74.72, 74.58, 73.81, 73.50 (C1-Gal, C2-Gal, C3-Gal, C4-Gal), 72.50 (CH₂-Bn), 72.13 (C5-Gal), 69.37 (C6-Gal).

***endo*-β-C-(Ethenyl)-2,6-di-O-benzyl-3,4-O-benzyliden-D-galactopyranosid (194)**

(β-*endo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal-CH=CH₂)



Synthese im kontinuierlichen Mikroreaktorprozess

Leistung: 100W Flussrate: 1.0 mL/min Verweilzeit: 8 min 30 sec

Ansatzgröße: 165 mg (0.358 mmol) β-*endo*-3,4-Bzn-Bn₂Gal-CHO (**193**)

Nach vollständiger Reaktion wird der gesamte Ansatz in einen Kolben überführt und mit Kieselgel versetzt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das zurückbleibende Pulver per Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigsäureethylester = 12 : 1 → 8 : 1). Man erhält das Produkt als farbloses viskoses Öl.

Ausbeute: 60 mg (0.131 mmol, 37% d. Th.)

Farbloses viskoses Öl

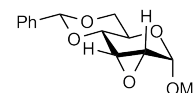
$R_f = 0.14$ (Petrolether/Essigsäureethylester = 8 : 1)

C₂₉H₃₀O₅ (458.55)

$^1\text{H-NMR}$ [$^1\text{H}^1\text{H-COSY}$] (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.52-7.48 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.42-7.25 (m, 13H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 6.00-5.91 (m, 2H, =CH {5.96}, CH-Bzn {5.94}), 5.42 (dt, 1H, $^3J_{trans} = 17.3$ Hz, $^2J = ^4J = 1.5$ Hz, =CH trans), 5.26 (dt, 1H, $^3J_{cis} = 10.6$ Hz, $^2J = ^4J = 1.5$ Hz, =CH cis), 4.78 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH $_2$ -Bn), 4.67 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH $_2$ -Bn), 4.59 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH $_2$ -Bn), 4.57 (d, 1H, $^2J = 11.5$ Hz, CH $_2$ -Bn), 4.41 (t, 1H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H3,H4} = 6.3$ Hz, H3-Gal), 4.34 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 6.3$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 2.3$ Hz, H4-Gal), 4.06 (ddd, 1H, $^3J_{H5,H6a} = 6.7$ Hz, $^3J_{H5,H6b} = 5.6$ Hz, $^3J_{H5,H4} = 2.3$ Hz, H5-Gal), 3.89-3.77 (m, 3H, H6ab-Gal, H1-Gal {3.80}), 3.41 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 9.3$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 6.3$ Hz, H2-Gal).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 138.14, 137.96, 137.44 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$), 135.36 (=CH), 129.34, 128.41, 128.38, 128.27, 128.04, 127.79, 127.70, 127.66, 126.89 ($\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 117.59 (=CH $_2$), 104.49 (CH-Bzn), 80.14 (C2-Gal), 79.05 (C3-Gal), 78.39 (C1-Gal), 76.45 (C4-Gal), 74.82 (C5-Gal), 73.62, 72.87 (CH $_2$ -Bn), 69.47 (C6-Gal).

Methyl-2,3-anhydro-4,6-O-benzyliden- α -D-allopyranosid (195)^{352,353}



Die Verbindung kann in 4 Stufen ausgehend von D-Glucose hergestellt werden.

Farblos amorpher Feststoff

$R_f = 0.13$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +125.4$ (c = 1.0, CHCl_3); Lit.:³⁵³ $[\alpha]_D^{20} = +140$ (c = 1.0, CHCl_3)

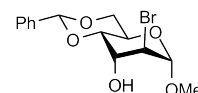
$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_5$ (264.27)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7.44-7.38 (m, 2H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 7.32-7.25 (m, 3H, $\text{H}_{Ar}\text{-Ph}$), 5.49 (s, 1H, CH-Bzn), 4.80 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 2.6$ Hz, H1), 4.14 (dd, 1H, $^2J = 10.4$ Hz, $^3J = 5.0$ Hz, H6a), 3.97 (ddd, 1H, $^3J_{H5,H4} = 9.2$ Hz, $^3J_{H5,H6a} = 5.0$ Hz, $^3J_{H5,H6b} = 10.3$ Hz, H5), 3.88 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 1.1$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 9.1$ Hz, H4), 3.60 (t*, 1H, $^2J = ^3J = 10.3$ Hz, H6b), 3.43 (d $_b$, 1H, $^3J_{H3,H2} = 4.4$ Hz, H3), 3.41 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 2.8$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 4.3$ Hz, H2), 3.37 (s, 3H, OCH $_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ [BB] (100.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 136.85 ($\text{C}_{ipso}\text{-Ph}$), 129.08, 128.12, 126.08 ($\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 102.54 (CH-Bzn), 95.05 (C1), 77.56 (C4), 68.62 (C6), 59.83 (C5), 55.62 (OCH $_3$), 52.95, 50.55 (C3, C2).

³⁵² Robertson, G. J.; Griffith, C. F. *J. Chem. Soc.*, **1935**, 1193.

³⁵³ Szeja, W. *Carbohydr. Res.*, **1988**, 183, 135.

Methyl-4,6-*O*-benzyliden-2-brom-2-desoxy- α -D-altropyranosid (196)³²⁷

400 mg (1.51 mmol) Methyl-2,3-anhydro-4,6-*O*-benzyliden- α -D-allopyranosid (**195**) werden in einem Mikrowellenröhrchen in 5 mL absol. Dichlormethan unter leichtem Erwärmen gelöst, mit 210 mg (1.14 mmol, 0.76 Äquiv.) Magnesiumbromid versetzt und kurz gerührt. Dann werden weitere 330 mg (1.79 mmol, 1.2 Äquiv.) Magnesiumbromid zugesetzt und die Mischung in der Mikrowelle 5 Minuten auf 45 °C (Leistung: max. 60 Watt) erwärmt. Die Reaktionsmischung wird mit Dichlormethan in einen Kolben gespült, mit Kieselgel versetzt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. man reinigt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1).

Ausbeute: 442 mg (1.28 mmol, 85% d. Th.); Lit.:³²⁷ 52%

Farbloser amorpher Feststoff

R_f = 0.21 (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$[\alpha]_D^{23}$ = +58.2 (c = 1.0, CHCl₃)

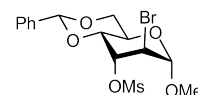
ESI-MS (m/z): 367.00 ([M+Na]⁺, ber.: 367.02)

HR-ESI-MS (m/z): 367.0170 ([M+Na]⁺, ber.: 367.0152)

C₁₄H₁₇BrO₅ (345.19)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.54-7.47 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.42-7.33 (m, 3H, H_{Ar}-Ph), 5.68 (s, 1H, CH-Bzn), 4.92 (s_b, 1H, H1), 4.40-4.20 (m, 5H, H3, H5, H6ab, H2), 3.88 (m_c, 1H, H4), 3.45 (s, 3H, OCH₃), 3.00 (d, 1H, ³J = 6.5 Hz, OH).

¹³C-NMR [BB] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 137.00 (C_{ipso}-Ph), 129.23, 128.31, 126.20 (C_{o,m,p}-Ph), 102.25 (CH-Bzn), 101.62 (C1), 74.82 (C4), 69.72 (C3), 68.98 (C6), 58.51 (C5), 56.01 (OCH₃), 46.70 (C2).

Methyl-4,6-*O*-benzyliden-2-brom-2-desoxy-3-*O*-methansulfonyl- α -D-altropyranosid (197)

200 mg (0.579 mmol) Methyl-4,6-*O*-benzyliden-2-brom-2-desoxy- α -D-altropyranosid (**196**) werden i. Hochvak. getrocknet, unter Argon in 6 mL absol. Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Man versetzt mit 0.32 mL (2.30 mmol, 4.0 Äquiv.) Triethylamin und anschließend mit 0.09 mL (1.16 mmol, 2.0 Äquiv.) Methansulfonsäurechlorid. Man rührt 25 Minuten in der Kälte, verdünnt anschließend mit Dichlormethan und gibt dann Wasser hinzu. Es wird ausgeschüttelt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden über MgSO₄ getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt

und der Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester) gereinigt.

Ausbeute: 188 mg (0.444 mmol, 77% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.28$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +36.0$ (c = 1.0, CHCl₃)

ESI-MS (m/z): 423.04 ([M+H]⁺, ber.: 423.01)

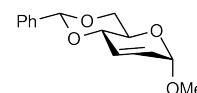
HR-ESI-MS (m/z): 423.0120 ([M+H]⁺, ber.: 423.0108)

C₁₅H₁₉BrO₇S (423.28)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.47-7.42 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.38-7.34 (m, 3H, H_{Ar}-Ph), 5.64 (s, 1H, CH-Bzn), 5.14 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} = ³J_{H3,H4} = 2.7 Hz, H3), 4.90 (s_b, 1H, H1), 4.40 (dd, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.0 Hz, ³J_{H4,H5} = 9.6 Hz, H4), 4.37-4.24 (m, 3H, H2, H6a, H5), 3.83 (t*, 1H, ²J = ³J = 10.0 Hz, H6b), 3.41 (s, 3H, OCH₃), 2.94 (s, 3H, CH₃-Mesylat).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 136.74 (C_{ipso}-Ph), 129.19, 128.23, 125.91 (C_{o,m,p}-Ph), 102.00 (CH-Bzn), 100.97 (C1), 76.34 (C3), 72.23 (C4), 68.77 (C6), 58.55 (C5), 55.79 (OCH₃), 45.24 (C2), 38.49 (CH₃-Mesylat).

Methyl-4,6-O-benzyliden-2,3-dideoxy-2-en- α -D-glucopyranosid (200)^{354,355}



120 mg (0.284 mmol) Methyl-4,6-O-benzyliden-2-brom-2-desoxy-3-O-methansulfonyl- α -D-altropyranosid (**197**) werden mit 425 mg (2.84 mmol, 10 Äquiv.) Natriumiodid und 239 mg (2.84 mmol, 10 Äquiv.) NaHCO₃ in einem Mikrowellenröhrchen eingewogen. Man gibt 3 mL *N,N*-Dimethylformamid zu, rührt kurz bei Raumtemp. und gibt dann weitere 5 mL *N,N*-Dimethylformamid in das Gläschen. Der Ansatz wird in der Mikrowelle bei einer Leistung von 75 Watt erwärmt bis eine Temperatur von 80 °C erreicht ist. An diesem Punkt wird die Mikrowellenheizung abgeschaltet und 5 Minuten ohne Kühlung gerührt. Anschließend kühlt man den Ansatz im Luftstrom auf Raumtemp. und überprüft den Reaktionsfortschritt mittels DC. Nach 4 Zyklen von Erwärmen und anschließendem Kühlen ist der Umsatz vollständig. Man überführt den Ansatz in einen Kolben, wäscht mit Dichlormethan nach und versetzt mit Kieselgel. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und i. Hochvak. und reinigt den Rückstand mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigsäureethylester = 4 : 1).

³⁵⁴ Bolliger, H. R.; Prins, D. A. *Helv. Chim. Acta*, **1946**, 29, 1061.

³⁵⁵ Lemieux, R. U.; Fraga, E.; Watanabe, K. A. *Can. J. Chem.*, **1968**, 46, 61.

Ausbeute: 45 mg (0.181 mmol, 64% d. Th.)

Farbloser amorpher Feststoff

$R_f = 0.42$ (Cyclohexan/Essigsäureethylester = 3 : 1)

$[\alpha]_D^{23} = +125.0$ (c = 1.0, CHCl₃); Lit.:³⁵⁵ $[\alpha]_D^{25} = +129$ (c = 1.4, CHCl₃)

C₁₄H₁₆O₄ (248.27)

¹H-NMR [¹H¹H-COSY, NOESY] (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.53-7.48 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.41-7.35 (m, 3H, H_{Ar}-Ph), 6.14 (d_b, 1H, ³J_{H2,H3} = 10.8 Hz, H2), 5.74 (dt*, 1H, ³J_{H3,H2} = 10.3 Hz, ³J_{H3,H4} = 2.5 Hz, H3), 5.59 (s, 1H, CH-Bzn), 4.91 (d_b, 1H, ³J_{H1,H2} = 1.5 Hz, H1), 4.32 (dd, 1H, ²J = 9.6 Hz, ³J = 4.1 Hz, H6a), 4.16 (ddt, 1H, ³J_{H4,H3} = 2.5 Hz, ³J_{H4,H5} = 8.3 Hz, ⁴J_{H4,H2} = 1.4 Hz, H4), 3.93-3.85 (m, 1H, H5), 3.82 (dd, 1H, ²J = 9.5 Hz, ³J = 10.5 Hz, H6b), 3.47 (s, 3H, OCH₃).

¹³C-NMR [BB, HSQC] (100.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 137.32 (C_{ipso}-Ph), 130.75 (C2), 129.13, 128.30 (C_{m,p}-Ph), 126.60 (C3), 126.23 (C_o-Ph), 102.15 (CH-Bzn), 96.07 (C1), 75.21 (C4), 69.39 (C6), 63.88 (C5), 55.92 (OCH₃).

Daten der Röntgen-Kristallstruktur-Untersuchung von
exo-2,6-Di-*O*-benzyl-3,4-*O*-benzyliden-1-deoxy-
1-methyliden-D-galactopyranose (**76**)

| | | |
|------------------|---|-------------------------|
| Summenformel | C ₂₈ H ₂₈ O ₅ | |
| Molgewicht | 444.5 g mol ⁻¹ | |
| Absorption | μ = 0.69 mm ⁻¹ | |
| Kristallgröße | 0.2 x 0.4 x 0.6 mm ³ farblose Platte | |
| Raumgruppe | P 1 (triklin) | |
| Gitterkonstanten | a = 6.1215(4) Å | α = 89.139(4)° |
| (berechnet aus | b = 8.6562(5) Å | β = 85.136(4)° |
| 25 Reflexen mit | c = 11.3073(6) Å | γ = 82.480(4)° |
| 65° < θ < 69°) | V = 591.87(6) Å ³ | z = 1 F(000) = 236 |
| Temperatur | -80°C | |
| Dichte | d _{rön} = 1.247 g cm ⁻³ | |

Datensammlung

| | |
|----------------|---|
| Diffraktometer | Turbo Cad4 |
| Strahlung | Cu-K _α Graphitmonochromator |
| Scan – Typ | ω/2θ-scans |
| Scan – Breite | 0.9°+0.14*tan(θ) |
| Meßbereich | 2° ≤ θ < 70° -7 ≤ h ≤ 7 -9 ≤ k ≤ 10 -13 ≤ l ≤ 13 |
| Reflexzahl: | |
| gemessen | 4643 |
| unabhängige | 4323 (R _{int} = 0.0127) |
| beobachtete | 4270 (F /σ (F) > 4.0) |

Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

| | |
|--|--|
| Korrekturen | Lorentz- und Polarisationskorrektur. Intensitätsschwankungen mit kubischen Spline korrigiert |
| Lösung | Programm: SIR-97 (Direkte Methoden) |
| Verfeinerung | Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren). 298 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung: w=1/[σ ² (F _o ²) + (0.0968*P) ² +0.05*P] wobei P=(Max(F _o ² ,0)+2*F _o ²)/3. Wasserstoffatome geometrisch eingefügt und reitend verfeinert. Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert. |
| Diskrepanzfaktor | wR2 = 0.1176 (R1=0.0458 für beobachtete Reflexe, 0.0461 für alle Reflexe) |
| Fitgüte | S = 1.029 |
| Flack Parameter | x = 0.1(1) |
| maximale Änderung der Parameter | 0.001 * e.s.d |
| maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese | 0.25, -0.35 eÅ ⁻³ |

Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter (\AA^2)

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

| Atom | X | Y | Z | $U_{\text{äq}}$ |
|------|------------|-----------|-----------|-----------------|
| C1 | 0.4125(2) | 0.6547(2) | 0.5396(1) | 0.0255(4) |
| C2 | 0.6377(2) | 0.7010(2) | 0.4980(1) | 0.0264(4) |
| O3 | 0.6201(2) | 0.8373(1) | 0.4251(1) | 0.0355(4) |
| C4 | 0.6802(3) | 0.7922(2) | 0.3059(2) | 0.0298(5) |
| O5 | 0.8271(2) | 0.6516(1) | 0.3101(1) | 0.0316(3) |
| C6 | 0.7791(2) | 0.5743(2) | 0.4199(1) | 0.0274(5) |
| C7 | 0.6564(3) | 0.4358(2) | 0.3993(2) | 0.0302(5) |
| C8 | 0.4253(3) | 0.4928(2) | 0.3674(1) | 0.0296(5) |
| O9 | 0.3048(2) | 0.6032(2) | 0.4407(1) | 0.0331(4) |
| C10 | 0.2565(3) | 0.7865(2) | 0.5981(1) | 0.0310(5) |
| O11 | 0.0708(2) | 0.7329(2) | 0.6632(1) | 0.0324(4) |
| C12 | 0.1194(3) | 0.6828(3) | 0.7792(2) | 0.0477(7) |
| C13 | -0.0703(3) | 0.6095(2) | 0.8390(2) | 0.0330(5) |
| C14 | -0.1814(3) | 0.5102(2) | 0.7779(2) | 0.0364(5) |
| C15 | -0.3555(4) | 0.4434(2) | 0.8345(2) | 0.0417(6) |
| C16 | -0.4201(4) | 0.4748(3) | 0.9532(2) | 0.0497(7) |
| C17 | -0.3071(5) | 0.5700(3) | 1.0147(2) | 0.0559(8) |
| C18 | -0.1343(4) | 0.6385(3) | 0.9584(2) | 0.0455(7) |
| C19 | 0.7960(3) | 0.9161(2) | 0.2419(1) | 0.0308(5) |
| C20 | 0.7065(4) | 0.9962(3) | 0.1472(2) | 0.0426(6) |
| C21 | 0.8099(5) | 1.1170(3) | 0.0931(2) | 0.0582(8) |
| C22 | 0.9995(5) | 1.1558(3) | 0.1340(2) | 0.0582(8) |
| C23 | 1.0914(4) | 1.0753(3) | 0.2275(2) | 0.0556(8) |
| C24 | 0.9923(3) | 0.9531(3) | 0.2805(2) | 0.0435(6) |
| O25 | 0.6565(2) | 0.3500(1) | 0.5085(1) | 0.0349(4) |
| C26 | 0.5856(5) | 0.1993(3) | 0.4995(2) | 0.0552(8) |
| C27 | 0.5132(3) | 0.1475(2) | 0.6217(2) | 0.0363(5) |
| C28 | 0.6565(3) | 0.0530(2) | 0.6886(2) | 0.0414(6) |
| C29 | 0.5885(4) | 0.0087(3) | 0.8028(2) | 0.0499(7) |
| C30 | 0.3780(4) | 0.0592(3) | 0.8515(2) | 0.0498(7) |
| C31 | 0.2334(4) | 0.1525(3) | 0.7858(2) | 0.0479(7) |
| C32 | 0.2993(3) | 0.1969(2) | 0.6717(2) | 0.0425(6) |
| C33 | 0.3378(3) | 0.4475(3) | 0.2722(2) | 0.0413(6) |

anisotrope Auslenkungsparameter

| Atom | U_{11} | U_{22} | U_{33} | U_{12} | U_{13} | U_{23} |
|------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|------------|
| C1 | 0.0208(6) | 0.0287(8) | 0.0267(7) | -0.0048(5) | 0.0032(5) | -0.0056(6) |
| C2 | 0.0224(7) | 0.0276(8) | 0.0287(7) | -0.0048(6) | 0.0033(6) | -0.0023(6) |
| O3 | 0.0419(6) | 0.0256(6) | 0.0360(6) | -0.0041(5) | 0.0135(5) | -0.0029(5) |
| C4 | 0.0261(7) | 0.0289(9) | 0.0338(8) | -0.0035(6) | 0.0018(6) | -0.0021(6) |
| O5 | 0.0293(5) | 0.0284(6) | 0.0340(6) | -0.0005(4) | 0.0105(4) | -0.0010(5) |
| C6 | 0.0203(6) | 0.0287(9) | 0.0316(8) | -0.0009(6) | 0.0030(6) | -0.0004(6) |
| C7 | 0.0308(8) | 0.0261(8) | 0.0319(8) | -0.0033(6) | 0.0079(6) | -0.0051(6) |
| C8 | 0.0272(7) | 0.0307(9) | 0.0306(8) | -0.0095(6) | 0.0096(6) | -0.0070(6) |
| O9 | 0.0225(5) | 0.0418(7) | 0.0347(6) | -0.0040(5) | 0.0022(4) | -0.0159(5) |
| C10 | 0.0293(8) | 0.0316(9) | 0.0306(8) | -0.0034(6) | 0.0057(6) | -0.0048(6) |
| O11 | 0.0227(5) | 0.0437(7) | 0.0285(6) | -0.0006(5) | 0.0055(4) | -0.0036(5) |
| C12 | 0.0350(9) | 0.081(2) | 0.0270(9) | -0.0113(9) | 0.0016(7) | 0.0010(9) |
| C13 | 0.0334(8) | 0.0360(9) | 0.0271(8) | 0.0021(7) | 0.0021(6) | -0.0013(6) |
| C14 | 0.0397(9) | 0.0379(10) | 0.0286(8) | 0.0063(7) | -0.0016(7) | -0.0050(7) |
| C15 | 0.052(1) | 0.0316(10) | 0.0420(10) | -0.0054(8) | -0.0076(8) | 0.0008(7) |
| C16 | 0.058(1) | 0.046(1) | 0.045(1) | -0.0169(10) | 0.0061(9) | 0.0103(9) |
| C17 | 0.078(2) | 0.058(1) | 0.0314(9) | -0.021(1) | 0.0184(10) | -0.0060(9) |
| C18 | 0.063(1) | 0.045(1) | 0.0297(9) | -0.0144(9) | 0.0051(8) | -0.0082(8) |
| C19 | 0.0319(8) | 0.0295(9) | 0.0295(8) | -0.0035(6) | 0.0063(6) | -0.0033(6) |
| C20 | 0.047(1) | 0.040(1) | 0.0394(9) | -0.0030(8) | -0.0008(8) | 0.0030(8) |
| C21 | 0.086(2) | 0.040(1) | 0.044(1) | -0.001(1) | 0.008(1) | 0.0115(9) |
| C22 | 0.075(2) | 0.040(1) | 0.057(1) | -0.018(1) | 0.028(1) | 0.0002(10) |
| C23 | 0.052(1) | 0.057(1) | 0.060(1) | -0.029(1) | 0.016(1) | -0.008(1) |
| C24 | 0.0398(9) | 0.049(1) | 0.0432(10) | -0.0140(8) | 0.0023(7) | 0.0017(8) |
| O25 | 0.0441(6) | 0.0231(6) | 0.0363(6) | -0.0053(5) | 0.0046(5) | -0.0013(5) |
| C26 | 0.098(2) | 0.0262(10) | 0.042(1) | -0.023(1) | 0.017(1) | -0.0093(8) |
| C27 | 0.049(1) | 0.0224(8) | 0.0375(9) | -0.0089(7) | 0.0030(7) | -0.0034(6) |
| C28 | 0.0352(9) | 0.0340(10) | 0.054(1) | -0.0027(7) | 0.0006(8) | -0.0114(8) |
| C29 | 0.061(1) | 0.037(1) | 0.052(1) | 0.0000(9) | -0.0183(10) | 0.0002(9) |
| C30 | 0.069(1) | 0.045(1) | 0.0369(10) | -0.0158(10) | 0.0039(9) | 0.0007(8) |
| C31 | 0.042(1) | 0.047(1) | 0.053(1) | -0.0053(9) | 0.0102(9) | -0.0105(9) |
| C32 | 0.044(1) | 0.033(1) | 0.049(1) | 0.0015(8) | -0.0064(8) | -0.0017(8) |
| C33 | 0.0355(9) | 0.053(1) | 0.0365(9) | -0.0130(8) | 0.0070(7) | -0.0151(8) |

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

| Atom | X | Y | Z | U_{iso} |
|------|----------|----------|---------|------------------|
| H1 | 0.43348 | 0.56691 | 0.59775 | 0.0306 |
| H2 | 0.71795 | 0.72035 | 0.56869 | 0.0317 |
| H4 | 0.54636 | 0.77484 | 0.26553 | 0.0358 |
| H6 | 0.91947 | 0.53781 | 0.45693 | 0.0329 |
| H7 | 0.73776 | 0.36948 | 0.33394 | 0.0362 |
| H10A | 0.33750 | 0.84215 | 0.65253 | 0.0371 |
| H10B | 0.20364 | 0.86132 | 0.53646 | 0.0371 |
| H12A | 0.14639 | 0.77290 | 0.82628 | 0.0573 |
| H12B | 0.25498 | 0.60625 | 0.77472 | 0.0573 |
| H14 | -0.13754 | 0.48806 | 0.69670 | 0.0437 |
| H15 | -0.43095 | 0.37597 | 0.79192 | 0.0501 |
| H16 | -0.54162 | 0.43074 | 0.99169 | 0.0597 |
| H17 | -0.34794 | 0.58887 | 1.09666 | 0.0671 |
| H18 | -0.05911 | 0.70557 | 1.00141 | 0.0546 |
| H20 | 0.57476 | 0.96935 | 0.11883 | 0.0511 |
| H21 | 0.74844 | 1.17215 | 0.02783 | 0.070 |
| H22 | 1.06823 | 1.23882 | 0.09770 | 0.0698 |
| H23 | 1.22255 | 1.10331 | 0.25588 | 0.0667 |
| H24 | 1.05866 | 0.89495 | 0.34298 | 0.0522 |
| H26A | 0.70873 | 0.12409 | 0.46412 | 0.0663 |
| H26B | 0.46153 | 0.20516 | 0.44815 | 0.0663 |
| H28 | 0.80255 | 0.01832 | 0.65601 | 0.0497 |
| H29 | 0.68788 | -0.05679 | 0.84769 | 0.0599 |
| H30 | 0.33274 | 0.02970 | 0.93019 | 0.0598 |
| H31 | 0.08754 | 0.18658 | 0.81904 | 0.0575 |
| H32 | 0.19846 | 0.26139 | 0.62705 | 0.0510 |
| H33A | 0.19320 | 0.49149 | 0.25553 | 0.0495 |
| H33B | 0.41989 | 0.37106 | 0.22084 | 0.0495 |

Daten der Röntgen-Kristallstruktur-Untersuchung von
2,3-Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzyliden-1-deoxy-1-methyliden-D-glucopyranose (75)

| | | | |
|------------------|---|-----------------|--------------|
| Summenformel | C ₂₈ H ₂₈ O ₅ | | |
| Molgewicht | 444.5 gmol ⁻¹ | | |
| Absorption | μ = 0.69 mm ⁻¹ | | |
| Kristallgröße | 0.05 x 0.1 x 0.5 mm ³ farblose Nadel | | |
| Raumgruppe | P 2 ₁ (monoklin) | | |
| Gitterkonstanten | a = 5.0312(11) Å | | |
| (berechnet aus | b = 18.8623(11) Å | β = 92.117(10)° | |
| 25 Reflexen mit | c = 12.314(2) Å | | |
| 25° < θ < 42°) | V = 1167.8(4) Å ³ | z = 2 | F(000) = 472 |
| Temperatur | -80°C | | |
| Dichte | d _{rön} = 1.264 gcm ⁻³ | | |

Datensammlung

| | |
|----------------|--|
| Diffraktometer | Turbo Cad4 |
| Strahlung | Cu-K _α Graphitmonochromator |
| Scan – Typ | ω/2θ-scans |
| Scan – Breite | 1.0°+0.14*tan(θ) |
| Meßbereich | 2° ≤ θ < 70° |
| | -6 ≤ h ≤ 0 0 ≤ k ≤ 22 -15 ≤ l ≤ 15 |
| Reflexzahl: | |
| gemessen | 5046 (mit Friedel Paaren) |
| unabhängige | 4360 (R _{int} = 0.0322) |
| beobachtete | 3937 (F /σ (F) > 4.0) |

Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

| | |
|--|--|
| Korrekturen | Lorentz- und Polarisationskorrektur. Intensitätsschwankungen mit kubischen Spline korrigiert |
| Lösung | Programm: SIR-97 (Direkte Methoden) |
| Verfeinerung | Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren). 299 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung: w=1/[σ ² (F _o ²) + (0.1115*P) ² +0.15*P] wobei P=(Max(F _o ² ,0)+2*F _o ²)/3. Wasserstoffatome geometrisch eingefügt und reitend verfeinert. Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert. |
| Diskrepanzfaktor | wR2 = 0.1607 (R1=0.0593 für beobachtete Reflexe, 0.0666 für alle Reflexe) |
| Fitgüte | S = 1.04 |
| Flack Parameter | x = -0.1(2) |
| maximale Änderung der Parameter | 0.001 * e.s.d |
| maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese | 0.28, 0.30 -0. eÅ ⁻³ |

Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter (\AA^2)

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

| Atom | X | Y | Z | $U_{\text{äq}}$ |
|------|------------|------------|-----------|-----------------|
| O1 | 0.3596(4) | 0.0491(1) | 0.4537(2) | 0.0349(6) |
| C2 | 0.5131(6) | 0.0688(1) | 0.5499(2) | 0.0273(7) |
| C3 | 0.6172(7) | 0.0003(2) | 0.5994(2) | 0.0358(9) |
| O4 | 0.7444(4) | 0.0148(1) | 0.7024(2) | 0.0350(6) |
| C5 | 0.5669(6) | 0.0489(2) | 0.7735(2) | 0.0288(8) |
| O6 | 0.4827(4) | 0.11496(9) | 0.7304(1) | 0.0276(5) |
| C7 | 0.3363(5) | 0.1057(1) | 0.6292(2) | 0.0256(7) |
| C8 | 0.2594(5) | 0.1775(1) | 0.5838(2) | 0.0262(7) |
| C9 | 0.2102(5) | 0.1730(2) | 0.4589(2) | 0.0279(8) |
| C10 | 0.1693(5) | 0.0978(2) | 0.4197(2) | 0.0279(7) |
| C11 | 0.7231(6) | 0.0612(2) | 0.8784(2) | 0.0297(8) |
| C12 | 0.6776(7) | 0.0192(2) | 0.9681(2) | 0.0398(9) |
| C13 | 0.8340(8) | 0.0284(2) | 1.0631(3) | 0.046(1) |
| C14 | 1.0329(7) | 0.0773(2) | 1.0671(3) | 0.046(1) |
| C15 | 1.0798(7) | 0.1194(2) | 0.9772(3) | 0.044(1) |
| C16 | 0.9227(6) | 0.1111(2) | 0.8826(2) | 0.0364(9) |
| O17 | 0.0291(4) | 0.2004(1) | 0.6369(2) | 0.0324(6) |
| C18 | -0.0091(7) | 0.2753(2) | 0.6339(3) | 0.0401(10) |
| C19 | 0.2021(6) | 0.3149(2) | 0.7001(2) | 0.0341(8) |
| C20 | 0.3221(8) | 0.3744(2) | 0.6596(3) | 0.052(1) |
| C21 | 0.5116(9) | 0.4113(2) | 0.7215(4) | 0.062(1) |
| C22 | 0.5860(8) | 0.3887(2) | 0.8233(4) | 0.057(1) |
| C23 | 0.4678(9) | 0.3298(3) | 0.8642(3) | 0.063(1) |
| C24 | 0.2764(8) | 0.2933(2) | 0.8036(3) | 0.051(1) |
| O25 | 0.4367(4) | 0.2047(1) | 0.4111(1) | 0.0305(6) |
| C26 | 0.4017(6) | 0.2128(2) | 0.2963(2) | 0.0331(8) |
| C27 | 0.6113(6) | 0.2611(2) | 0.2547(2) | 0.0330(8) |
| C28 | 0.7152(7) | 0.2496(2) | 0.1541(3) | 0.0421(10) |
| C29 | 0.8995(7) | 0.2958(3) | 0.1126(3) | 0.055(1) |
| C30 | 0.9828(8) | 0.3542(2) | 0.1712(4) | 0.059(1) |
| C31 | 0.8825(8) | 0.3658(2) | 0.2734(4) | 0.058(1) |
| C32 | 0.6979(7) | 0.3198(2) | 0.3149(3) | 0.043(1) |
| C33 | -0.0280(6) | 0.0769(2) | 0.3543(2) | 0.0345(9) |

anisotrope Auslenkungsparameter

| Atom | U_{11} | U_{22} | U_{33} | U_{12} | U_{13} | U_{23} |
|------|------------|-----------|------------|-------------|-------------|-------------|
| O1 | 0.039(1) | 0.035(1) | 0.0296(10) | 0.0048(9) | -0.0087(8) | -0.0095(8) |
| C2 | 0.029(1) | 0.029(1) | 0.023(1) | 0.001(1) | -0.0021(10) | -0.003(1) |
| C3 | 0.047(2) | 0.030(1) | 0.030(1) | 0.005(1) | -0.004(1) | -0.004(1) |
| O4 | 0.041(1) | 0.035(1) | 0.0284(10) | 0.0070(9) | -0.0037(8) | -0.0026(8) |
| C5 | 0.031(1) | 0.030(1) | 0.026(1) | -0.002(1) | 0.002(1) | 0.004(1) |
| O6 | 0.0316(10) | 0.0288(9) | 0.0220(9) | 0.0018(7) | -0.0026(7) | -0.0013(7) |
| C7 | 0.022(1) | 0.031(1) | 0.023(1) | -0.0024(10) | -0.0002(10) | 0.000(1) |
| C8 | 0.028(1) | 0.027(1) | 0.023(1) | 0.0004(10) | -0.0019(10) | -0.0026(10) |
| C9 | 0.025(1) | 0.034(1) | 0.025(1) | 0.001(1) | -0.0016(10) | 0.001(1) |
| C10 | 0.024(1) | 0.037(1) | 0.022(1) | -0.001(1) | 0.0040(10) | 0.002(1) |
| C11 | 0.030(1) | 0.033(1) | 0.026(1) | 0.002(1) | 0.003(1) | 0.001(1) |
| C12 | 0.042(2) | 0.045(2) | 0.033(2) | -0.003(1) | 0.000(1) | 0.007(1) |
| C13 | 0.054(2) | 0.056(2) | 0.028(1) | -0.001(2) | 0.001(1) | 0.014(1) |
| C14 | 0.049(2) | 0.060(2) | 0.028(1) | -0.002(2) | -0.006(1) | 0.001(1) |
| C15 | 0.046(2) | 0.049(2) | 0.037(2) | -0.009(1) | -0.005(1) | -0.002(1) |
| C16 | 0.042(2) | 0.039(2) | 0.029(1) | -0.004(1) | 0.001(1) | 0.004(1) |
| O17 | 0.0304(10) | 0.037(1) | 0.0300(9) | 0.0033(8) | 0.0028(8) | -0.0044(8) |
| C18 | 0.046(2) | 0.040(2) | 0.034(2) | 0.013(1) | -0.008(1) | -0.006(1) |
| C19 | 0.043(2) | 0.030(1) | 0.029(1) | 0.010(1) | 0.003(1) | -0.001(1) |
| C20 | 0.070(3) | 0.038(2) | 0.050(2) | 0.009(2) | 0.009(2) | 0.016(1) |
| C21 | 0.062(3) | 0.033(2) | 0.092(3) | -0.008(2) | 0.022(2) | 0.004(2) |
| C22 | 0.055(2) | 0.040(2) | 0.077(3) | -0.002(2) | 0.002(2) | -0.022(2) |
| C23 | 0.077(3) | 0.063(2) | 0.047(2) | -0.015(2) | -0.017(2) | -0.003(2) |
| C24 | 0.070(2) | 0.045(2) | 0.036(2) | -0.016(2) | -0.007(2) | 0.008(1) |
| O25 | 0.0320(10) | 0.036(1) | 0.0233(9) | -0.0041(8) | 0.0002(7) | 0.0032(8) |
| C26 | 0.034(1) | 0.040(2) | 0.025(1) | -0.004(1) | -0.004(1) | 0.004(1) |
| C27 | 0.031(1) | 0.036(1) | 0.032(1) | 0.002(1) | -0.002(1) | 0.009(1) |
| C28 | 0.036(2) | 0.056(2) | 0.034(2) | -0.005(1) | -0.005(1) | 0.008(1) |
| C29 | 0.041(2) | 0.086(3) | 0.039(2) | -0.001(2) | 0.005(1) | 0.023(2) |
| C30 | 0.042(2) | 0.057(2) | 0.076(3) | -0.005(2) | 0.006(2) | 0.034(2) |
| C31 | 0.052(2) | 0.034(2) | 0.087(3) | -0.008(2) | 0.004(2) | 0.006(2) |
| C32 | 0.044(2) | 0.032(2) | 0.055(2) | 0.000(1) | 0.006(1) | -0.001(1) |
| C33 | 0.031(1) | 0.043(2) | 0.029(1) | -0.003(1) | -0.002(1) | -0.004(1) |

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

| Atom | X | Y | Z | U_{iso} |
|--------------|---------|----------|---------|------------------|
| H2 | 0.66402 | 0.10033 | 0.53076 | 0.0328 |
| H3A | 0.46836 | -0.03324 | 0.60839 | 0.043 |
| H3B | 0.74566 | -0.02174 | 0.55057 | 0.043 |
| H5 | 0.40991 | 0.01788 | 0.78616 | 0.0345 |
| H7 | 0.17337 | 0.07664 | 0.64053 | 0.0307 |
| H8 | 0.40737 | 0.21167 | 0.60020 | 0.0314 |
| H9 | 0.04848 | 0.20147 | 0.43813 | 0.0334 |
| H12 | 0.54104 | -0.01560 | 0.96500 | 0.048 |
| H13 | 0.80112 | 0.00043 | 1.12531 | 0.055 |
| H14 | 1.14036 | 0.08261 | 1.13168 | 0.055 |
| H15 | 1.21829 | 0.15362 | 0.98030 | 0.053 |
| H16 | 0.95332 | 0.13985 | 0.82101 | 0.044 |
| H18A-0.18587 | | 0.28662 | 0.66216 | 0.048 |
| H18B-0.00734 | | 0.29165 | 0.55756 | 0.048 |
| H20 | 0.27447 | 0.39039 | 0.58837 | 0.063 |
| H21 | 0.59033 | 0.45275 | 0.69282 | 0.074 |
| H22 | 0.71818 | 0.41355 | 0.86511 | 0.069 |
| H23 | 0.51792 | 0.31371 | 0.93513 | 0.075 |
| H24 | 0.19487 | 0.25268 | 0.83372 | 0.061 |
| H26A | 0.22332 | 0.23273 | 0.27852 | 0.040 |
| H26B | 0.41370 | 0.16587 | 0.26065 | 0.040 |
| H28 | 0.65955 | 0.20940 | 0.11273 | 0.051 |
| H29 | 0.96881 | 0.28710 | 0.04315 | 0.066 |
| H30 | 1.10747 | 0.38624 | 0.14221 | 0.070 |
| H31 | 0.94120 | 0.40566 | 0.31505 | 0.069 |
| H32 | 0.62975 | 0.32828 | 0.38461 | 0.052 |
| H33A-0.03808 | | 0.02894 | 0.33112 | 0.041 |
| H33B-0.16034 | | 0.10986 | 0.33029 | 0.041 |

Daten der Röntgen-Kristallstruktur-Untersuchung von
2,3-Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzyliden-D-glucono-(1,5)-lacton (**68**)

| | | | |
|-----------------------|--|----------------------------|--------------|
| Summenformel | C ₂₇ H ₂₆ O ₆ | | |
| Molgewicht | 446.98 gmol ⁻¹ | | |
| Absorption | $\mu = 0.76 \text{ mm}^{-1}$ | | |
| Kristallgröße | 0.16 x 0.16 x 0.5 mm ³ farblose Nadel | | |
| Raumgruppe | P 2 ₁ (monoklin) | | |
| Gitterkonstanten | a = 4.9198(7) Å | | |
| (berechnet aus | b = 20.526(2) Å | $\beta = 102.077(5)^\circ$ | |
| 25 Reflexen mit | c = 11.383(1) Å | | |
| 65° < θ < 69°) | V = 1124.0(2) Å ³ | z = 2 | F(000) = 472 |
| Temperatur | -80°C | | |
| Dichte | $d_{\text{rön}} = 1.319 \text{ gcm}^{-3}$ | | |

Datensammlung

| | |
|----------------|--|
| Diffraktometer | Turbo Cad4 |
| Strahlung | Cu-K _{α} Graphitmonochromator |
| Scan – Typ | $\omega/2\theta$ -scans |
| Scan – Breite | 0.9° + 0.14 * tan(θ) |
| Meßbereich | 2° ≤ θ < 70° |
| | 0 ≤ h ≤ 5 0 ≤ k ≤ 25 -13 ≤ l ≤ 13 |
| Reflexzahl: | |
| gemessen | 4836 (mit Friedel Paaren) |
| unabhängige | 4153 (R _{int} = 0.0561) |
| beobachtete | 4056 ($ F /\sigma(F) > 4.0$) |

Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

| | |
|--|---|
| Korrekturen | Lorentz- und Polarisationskorrektur. Intensitätsschwankungen mit kubischen Spline korrigiert |
| Lösung | Programm: SIR-97 (Direkte Methoden) |
| Verfeinerung | Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren). 299 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung: w = 1 / [$\sigma^2(F_o^2) + (0.1144 * P)^2 + 0.12 * P$] wobei P = (Max(F _o ² , 0) + 2 * F _o ²) / 3. Wasserstoffatome geometrisch eingefügt und reitend verfeinert. Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert. |
| Diskrepanzfaktor | wR2 = 0.1430 (R1 = 0.0541 für beobachtete Reflexe, 0.055 für alle Reflexe) |
| Fitgüte | S = 1.039 |
| maximale Änderung der Parameter | 0.001 * e.s.d |
| maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese | 0.21, -0.27 eÅ ⁻³ |
| Flack Parameter | x = 0.1(2) |

Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter (\AA^2)

$$U_{\text{äq}} = (1/3) * \sum \sum_{ij} a_i * a_j * \mathbf{a}_i \mathbf{a}_j$$

| Atom | X | Y | Z | $U_{\text{äq}}$ |
|------|------------|------------|-----------|-----------------|
| O1 | 0.1890(3) | 0.63208(7) | 0.8086(1) | 0.0274(4) |
| C2 | 0.0620(4) | 0.5819(1) | 0.8653(2) | 0.0264(6) |
| C3 | 0.2754(5) | 0.5552(1) | 0.9706(2) | 0.0323(7) |
| C4 | 0.3871(6) | 0.6108(1) | 1.0537(2) | 0.0410(8) |
| O5 | 0.4989(4) | 0.65887(8) | 0.9869(1) | 0.0372(5) |
| C6 | 0.2915(5) | 0.6827(1) | 0.8899(2) | 0.0311(6) |
| C7 | -0.0437(4) | 0.5285(1) | 0.7763(2) | 0.0248(6) |
| C8 | -0.0291(4) | 0.4618(1) | 0.8392(2) | 0.0290(6) |
| C9 | -0.0314(5) | 0.4656(1) | 0.9734(2) | 0.0334(7) |
| O10 | 0.1382(4) | 0.51072(8) | 1.0376(1) | 0.0388(5) |
| C11 | 0.4284(5) | 0.7337(1) | 0.8270(2) | 0.0293(6) |
| C12 | 0.5915(5) | 0.7153(1) | 0.7462(2) | 0.0330(7) |
| C13 | 0.7335(5) | 0.7618(1) | 0.6957(2) | 0.0396(8) |
| C14 | 0.7087(6) | 0.8272(1) | 0.7228(3) | 0.0444(8) |
| C15 | 0.5444(6) | 0.8457(1) | 0.8017(3) | 0.0433(8) |
| C16 | 0.4047(5) | 0.7993(1) | 0.8537(2) | 0.0368(7) |
| O17 | -0.3188(3) | 0.54482(7) | 0.7176(1) | 0.0280(4) |
| C18 | -0.4170(5) | 0.5108(1) | 0.6070(2) | 0.0336(7) |
| C19 | -0.2656(4) | 0.5295(1) | 0.5092(2) | 0.0290(6) |
| C20 | -0.2339(6) | 0.4840(1) | 0.4230(2) | 0.0420(8) |
| C21 | -0.1031(7) | 0.5004(2) | 0.3310(3) | 0.053(1) |
| C22 | -0.0030(7) | 0.5628(2) | 0.3244(3) | 0.056(1) |
| C23 | -0.0345(7) | 0.6085(2) | 0.4087(3) | 0.056(1) |
| C24 | -0.1649(6) | 0.5917(1) | 0.5013(2) | 0.0428(8) |
| O25 | 0.2229(3) | 0.43219(8) | 0.8249(2) | 0.0361(5) |
| C26 | 0.2417(6) | 0.3639(1) | 0.8536(3) | 0.0432(8) |
| C27 | 0.0297(5) | 0.3245(1) | 0.7679(2) | 0.0367(7) |
| C28 | -0.0128(6) | 0.3346(1) | 0.6442(3) | 0.0444(8) |
| C29 | -0.2116(7) | 0.2996(2) | 0.5657(3) | 0.0512(9) |
| C30 | -0.3737(7) | 0.2545(1) | 0.6082(3) | 0.054(1) |
| C31 | -0.3328(7) | 0.2433(1) | 0.7305(3) | 0.054(1) |
| C32 | -0.1311(6) | 0.2780(1) | 0.8097(3) | 0.0456(9) |
| O33 | -0.1639(4) | 0.4304(1) | 1.0233(2) | 0.0469(6) |

anisotrope Auslenkungsparameter

| Atom | U_{11} | U_{22} | U_{33} | U_{12} | U_{13} | U_{23} |
|------|------------|------------|------------|-------------|-----------|-------------|
| O1 | 0.0276(7) | 0.0299(7) | 0.0257(7) | 0.0005(6) | 0.0075(5) | -0.0014(6) |
| C2 | 0.0258(10) | 0.0290(9) | 0.0263(9) | 0.0005(8) | 0.0100(8) | -0.0016(8) |
| C3 | 0.033(1) | 0.036(1) | 0.0291(10) | -0.0007(8) | 0.0088(8) | 0.0037(9) |
| C4 | 0.048(1) | 0.046(1) | 0.027(1) | -0.008(1) | 0.0030(9) | 0.0009(9) |
| O5 | 0.0391(9) | 0.0410(9) | 0.0299(8) | -0.0074(7) | 0.0035(7) | -0.0004(7) |
| C6 | 0.031(1) | 0.032(1) | 0.032(1) | 0.0008(8) | 0.0093(8) | -0.0069(9) |
| C7 | 0.0222(10) | 0.0294(10) | 0.0252(9) | 0.0016(7) | 0.0102(7) | -0.0003(7) |
| C8 | 0.026(1) | 0.0275(10) | 0.034(1) | 0.0026(8) | 0.0088(8) | 0.0012(8) |
| C9 | 0.035(1) | 0.032(1) | 0.035(1) | 0.0040(9) | 0.0098(9) | 0.0053(9) |
| O10 | 0.048(1) | 0.0406(9) | 0.0289(8) | -0.0063(7) | 0.0110(7) | 0.0044(7) |
| C11 | 0.025(1) | 0.031(1) | 0.031(1) | 0.0011(8) | 0.0026(8) | -0.0028(8) |
| C12 | 0.031(1) | 0.032(1) | 0.038(1) | 0.0031(8) | 0.0100(9) | -0.0005(9) |
| C13 | 0.033(1) | 0.046(1) | 0.041(1) | 0.0012(10) | 0.0097(9) | 0.006(1) |
| C14 | 0.037(1) | 0.041(1) | 0.052(1) | -0.009(1) | 0.001(1) | 0.010(1) |
| C15 | 0.046(1) | 0.029(1) | 0.050(1) | -0.0024(10) | -0.002(1) | -0.004(1) |
| C16 | 0.034(1) | 0.034(1) | 0.041(1) | 0.0003(9) | 0.0029(9) | -0.0074(10) |
| O17 | 0.0227(7) | 0.0346(8) | 0.0287(7) | 0.0040(5) | 0.0096(6) | -0.0003(6) |
| C18 | 0.028(1) | 0.043(1) | 0.030(1) | -0.0075(9) | 0.0065(8) | 0.0002(9) |
| C19 | 0.024(1) | 0.036(1) | 0.0266(9) | 0.0022(8) | 0.0047(7) | 0.0025(8) |
| C20 | 0.050(1) | 0.041(1) | 0.035(1) | 0.002(1) | 0.010(1) | -0.0041(10) |
| C21 | 0.066(2) | 0.065(2) | 0.033(1) | 0.011(1) | 0.021(1) | -0.004(1) |
| C22 | 0.057(2) | 0.083(2) | 0.035(1) | 0.002(1) | 0.024(1) | 0.011(1) |
| C23 | 0.069(2) | 0.055(2) | 0.049(2) | -0.015(1) | 0.024(1) | 0.012(1) |
| C24 | 0.058(2) | 0.038(1) | 0.039(1) | -0.006(1) | 0.023(1) | -0.0005(10) |
| O25 | 0.0290(8) | 0.0322(8) | 0.0476(9) | 0.0066(6) | 0.0093(7) | -0.0034(7) |
| C26 | 0.042(1) | 0.036(1) | 0.048(1) | 0.0137(10) | -0.001(1) | -0.001(1) |
| C27 | 0.040(1) | 0.031(1) | 0.039(1) | 0.0125(9) | 0.0081(9) | 0.0008(9) |
| C28 | 0.046(1) | 0.044(1) | 0.045(1) | 0.000(1) | 0.012(1) | 0.004(1) |
| C29 | 0.055(2) | 0.053(2) | 0.043(1) | 0.009(1) | 0.004(1) | -0.001(1) |
| C30 | 0.051(2) | 0.037(1) | 0.069(2) | 0.003(1) | 0.004(1) | -0.006(1) |
| C31 | 0.057(2) | 0.034(1) | 0.074(2) | -0.002(1) | 0.022(2) | 0.005(1) |
| C32 | 0.055(2) | 0.038(1) | 0.047(1) | 0.011(1) | 0.020(1) | 0.006(1) |
| O33 | 0.052(1) | 0.048(1) | 0.0443(10) | -0.0077(8) | 0.0184(8) | 0.0100(8) |

Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome(Å²)

| Atom | X | Y | Z | U _{iso} |
|------|----------|---------|---------|------------------|
| H2 | -0.09758 | 0.60069 | 0.89578 | 0.0316 |
| H3 | 0.42956 | 0.53270 | 0.94172 | 0.0387 |
| H4A | 0.23599 | 0.62989 | 1.08795 | 0.0492 |
| H4B | 0.53370 | 0.59471 | 1.12067 | 0.0492 |
| H6 | 0.13556 | 0.70263 | 0.92147 | 0.0373 |
| H7 | 0.07546 | 0.52696 | 0.71517 | 0.0298 |
| H8 | -0.18907 | 0.43442 | 0.79808 | 0.0348 |
| H12 | 0.60484 | 0.67065 | 0.72599 | 0.0396 |
| H13 | 0.84853 | 0.74917 | 0.64222 | 0.0476 |
| H14 | 0.80472 | 0.85923 | 0.68701 | 0.0533 |
| H15 | 0.52765 | 0.89049 | 0.82021 | 0.0519 |
| H16 | 0.29189 | 0.81216 | 0.90799 | 0.0441 |
| H18A | -0.61770 | 0.51979 | 0.57879 | 0.0403 |
| H18B | -0.39517 | 0.46334 | 0.62201 | 0.0403 |
| H20 | -0.30286 | 0.44099 | 0.42729 | 0.0504 |
| H21 | -0.08202 | 0.46888 | 0.27253 | 0.064 |
| H22 | 0.08779 | 0.57418 | 0.26139 | 0.067 |
| H23 | 0.03295 | 0.65151 | 0.40366 | 0.067 |
| H24 | -0.18498 | 0.62329 | 0.55986 | 0.0513 |
| H26A | 0.21322 | 0.35756 | 0.93640 | 0.0518 |
| H26B | 0.43029 | 0.34803 | 0.85082 | 0.0518 |
| H28 | 0.09667 | 0.36586 | 0.61354 | 0.053 |
| H29 | -0.23677 | 0.30681 | 0.48170 | 0.061 |
| H30 | -0.51273 | 0.23110 | 0.55401 | 0.064 |
| H31 | -0.44286 | 0.21188 | 0.76045 | 0.065 |
| H32 | -0.10291 | 0.26969 | 0.89345 | 0.055 |

Daten der Röntgen-Kristallstruktur-Untersuchung von
(Z)-N-(*tert*-Butyloxycarbonyl)- γ -[2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzyliden- β -D-galactopyranosyl]- α,β -dehydrovalin-*tert*-butylester (**116**)

| | | | |
|--------------------------|---|-----------------------------|---------------|
| Summenformel | C ₄₁ H ₅₁ NO ₉ | | |
| Molgewicht | 701.8 gmol ⁻¹ | | |
| Raumgruppe | P 1 (triklin) | | |
| Absorption | $\mu = 0.083 \text{ mm}^{-1}$ | | |
| Kristallgröße | 0.08 x 0.2 x 0.5 mm ³ farblose Nadel | | |
| Gitterkonstanten | a = 9.7254(3) Å | $\alpha = 101.076(3)^\circ$ | |
| (berechnet aus 86681 | b = 19.2642(6) Å | $\beta = 91.551(3)^\circ$ | |
| Reflexen mit | c = 31.954(1) Å | $\gamma = 89.989(3)^\circ$ | |
| 2.3° < θ < 33.3°) | V = 5872.9(3) Å ³ | z = 6 | F(000) = 2256 |
| Temperatur | -80°C | | |
| Dichte | $d_{\text{rön}} = 1.191 \text{ gcm}^{-3}$ | | |

Datensammlung

| | |
|----------------|---|
| Diffraktometer | STOE IPDS-2T |
| Strahlung | Mo-K α Graphitmonochromator |
| Scan – Typ | ω scans |
| Scan – Breite | 1° |
| Meßbereich | 2° ≤ θ ≤ 28° -12 ≤ h ≤ 12 -25 ≤ k ≤ 25 -42 ≤ l ≤ 42 |
| Reflexzahl: | |
| gemessen | 151564 |
| unabhängige | 54139 (R _{int} = 0.1587) |
| beobachtete | 27431 (F /σ(F) > 4.0) |

Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

| | |
|---|---|
| Korrekturen | Lorentz- und Polarisationskorrektur. |
| Lösung | Programm: SIR-97 (Direkte Methoden) |
| Verfeinerung | Programm: SHELXL-97 (Vollmatrixverfahren). 2839 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung: $w = 1 / [\sigma^2(F_o^2) + (0.2504 * P)^2]$ wobei $P = (\text{Max}(F_o^2, 0) + 2 * F_o^2) / 3$. Wasserstoffatome geometrisch eingefügt und reitend verfeinert, Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert. |
| Diskrepanzfaktor | wR2 = 0.3959 (R1 = 0.1341 für beobachtete Reflexe, 0.1998 für alle Reflexe) |
| Fitgüte | S = 0.996 |
| maximale Änderung der Parameter | 0.001 * e.s.d |
| maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese | 1.31, -0.59 eÅ ⁻³ |
| Bemerkung | Struktur enthält 6 unabhängige Moleküle, absolute Konfiguration nicht bestimmbar |

Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter (\AA^2)

$$U_{\text{äq}} = (1/3) * \sum_{ij} a_i * a_j * \mathbf{a}_i \mathbf{a}_j$$

| Atom | X | Y | Z | $U_{\text{äq}}$ |
|------|------------|-----------|-----------|-----------------|
| O1A | 0.5859(4) | 0.7291(2) | 0.4762(1) | 0.043(1) |
| C2A | 0.5861(6) | 0.7460(3) | 0.4338(2) | 0.043(2) |
| C3A | 0.6779(6) | 0.8079(3) | 0.4325(2) | 0.043(2) |
| C4A | 0.8233(6) | 0.7920(3) | 0.4476(2) | 0.043(2) |
| C5A | 0.8170(6) | 0.7769(3) | 0.4927(2) | 0.041(2) |
| C6A | 0.7176(6) | 0.7167(3) | 0.4935(2) | 0.047(2) |
| O7A | 0.7692(4) | 0.8400(2) | 0.5199(1) | 0.042(1) |
| C8A | 0.7505(6) | 0.8313(3) | 0.5617(2) | 0.046(2) |
| O9A | 0.6528(4) | 0.7783(2) | 0.5640(1) | 0.048(1) |
| C10A | 0.6969(7) | 0.7107(3) | 0.5399(2) | 0.050(2) |
| C11A | 0.6976(6) | 0.9005(3) | 0.5854(2) | 0.046(2) |
| C12A | 0.5649(7) | 0.9221(4) | 0.5773(2) | 0.058(2) |
| C13A | 0.5204(8) | 0.9894(4) | 0.5967(2) | 0.063(2) |
| C14A | 0.6079(9) | 1.0330(4) | 0.6240(2) | 0.070(3) |
| C15A | 0.7372(8) | 1.0113(4) | 0.6330(2) | 0.067(3) |
| C16A | 0.7839(8) | 0.9450(4) | 0.6139(2) | 0.058(2) |
| C17A | 0.4347(6) | 0.7618(3) | 0.4254(2) | 0.042(2) |
| C18A | 0.3335(6) | 0.7028(3) | 0.4227(2) | 0.043(2) |
| C19A | 0.3092(8) | 0.6568(4) | 0.3784(2) | 0.059(2) |
| C20A | 0.2730(6) | 0.6896(3) | 0.4575(2) | 0.043(2) |
| C21A | 0.1633(6) | 0.6339(3) | 0.4540(2) | 0.048(2) |
| O22A | 0.0609(5) | 0.6316(2) | 0.4316(2) | 0.058(2) |
| O23A | 0.1972(4) | 0.5846(2) | 0.4774(1) | 0.045(1) |
| C24A | 0.1024(6) | 0.5274(3) | 0.4816(2) | 0.050(2) |
| C25A | 0.1811(8) | 0.4888(4) | 0.5120(3) | 0.065(3) |
| C26A | -0.0292(7) | 0.5589(4) | 0.5015(3) | 0.059(2) |
| C27A | 0.0731(8) | 0.4790(3) | 0.4380(2) | 0.061(2) |
| N28A | 0.3145(5) | 0.7225(3) | 0.4989(2) | 0.045(2) |
| C29A | 0.2354(6) | 0.7325(3) | 0.5324(2) | 0.043(2) |
| O30A | 0.1067(5) | 0.7240(2) | 0.5302(1) | 0.051(1) |
| O31A | 0.3071(4) | 0.7542(3) | 0.5687(1) | 0.053(1) |
| C32A | 0.2450(7) | 0.7781(4) | 0.6097(2) | 0.058(2) |
| C33A | 0.1545(10) | 0.7207(5) | 0.6214(3) | 0.081(3) |
| C34A | 0.3693(9) | 0.7924(5) | 0.6400(2) | 0.076(3) |
| C35A | 0.166(1) | 0.8450(5) | 0.6085(3) | 0.091(4) |
| O36A | 0.6778(4) | 0.8174(2) | 0.3892(1) | 0.048(1) |
| C37A | 0.6670(9) | 0.8900(4) | 0.3850(2) | 0.067(3) |
| C38A | 0.6683(6) | 0.8960(3) | 0.3401(2) | 0.048(2) |
| C39A | 0.5872(9) | 0.9459(4) | 0.3250(3) | 0.070(3) |
| C40A | 0.5888(10) | 0.9531(5) | 0.2826(3) | 0.082(3) |
| C41A | 0.6726(10) | 0.9092(5) | 0.2549(3) | 0.080(3) |
| C42A | 0.7558(10) | 0.8606(4) | 0.2696(3) | 0.075(3) |
| C43A | 0.7541(8) | 0.8539(4) | 0.3112(3) | 0.068(3) |
| O44A | 0.9107(4) | 0.8501(2) | 0.4453(1) | 0.046(1) |
| C45A | 1.0542(8) | 0.8361(5) | 0.4555(4) | 0.090(4) |
| C46A | 1.1432(6) | 0.8932(3) | 0.4483(3) | 0.056(2) |
| C47A | 1.2498(8) | 0.9169(4) | 0.4791(3) | 0.068(3) |
| C48A | 1.3448(8) | 0.9654(4) | 0.4722(3) | 0.067(3) |

| Atom | X | Y | Z | U _{äq} |
|------|------------|------------|-----------|-----------------|
| C49A | 1.3317(8) | 0.9946(4) | 0.4361(3) | 0.068(3) |
| C50A | 1.2277(8) | 0.9760(4) | 0.4076(3) | 0.064(3) |
| C51A | 1.1339(8) | 0.9247(4) | 0.4139(3) | 0.066(3) |
| O1B | 1.0811(4) | 0.2840(2) | 0.4405(1) | 0.041(1) |
| C2B | 1.0894(6) | 0.2673(3) | 0.4823(2) | 0.042(2) |
| C3B | 1.1814(6) | 0.2061(3) | 0.4841(2) | 0.042(2) |
| C4B | 1.3255(6) | 0.2216(3) | 0.4690(2) | 0.041(2) |
| C5B | 1.3098(6) | 0.2358(3) | 0.4243(2) | 0.044(2) |
| C6B | 1.2121(6) | 0.2967(3) | 0.4236(2) | 0.047(2) |
| O7B | 1.2576(4) | 0.1727(2) | 0.3972(1) | 0.044(1) |
| C8B | 1.2294(7) | 0.1809(3) | 0.3552(2) | 0.049(2) |
| O9B | 1.1315(5) | 0.2341(2) | 0.3532(1) | 0.053(1) |
| C10B | 1.1803(7) | 0.3020(3) | 0.3772(2) | 0.051(2) |
| C11B | 1.1736(7) | 0.1106(4) | 0.3317(2) | 0.053(2) |
| C12B | 1.0405(8) | 0.0892(4) | 0.3412(2) | 0.064(2) |
| C13B | 0.9941(9) | 0.0226(4) | 0.3216(3) | 0.069(3) |
| C14B | 1.0751(10) | -0.0227(4) | 0.2944(3) | 0.073(3) |
| C15B | 1.2025(10) | -0.0027(5) | 0.2855(3) | 0.074(3) |
| C16B | 1.2504(8) | 0.0661(4) | 0.3033(2) | 0.060(2) |
| C17B | 0.9380(6) | 0.2524(3) | 0.4913(2) | 0.044(2) |
| C18B | 0.8392(6) | 0.3123(3) | 0.4941(2) | 0.046(2) |
| C19B | 0.8231(8) | 0.3571(4) | 0.5378(2) | 0.057(2) |
| C20B | 0.7730(6) | 0.3254(3) | 0.4593(2) | 0.045(2) |
| C21B | 0.6623(7) | 0.3803(3) | 0.4624(2) | 0.049(2) |
| O22B | 0.5630(5) | 0.3822(3) | 0.4845(2) | 0.063(2) |
| O23B | 0.6931(4) | 0.4287(2) | 0.4388(1) | 0.048(1) |
| C24B | 0.5959(7) | 0.4864(3) | 0.4354(3) | 0.059(2) |
| C25B | 0.6702(8) | 0.5242(4) | 0.4042(3) | 0.069(3) |
| C26B | 0.4625(7) | 0.4536(4) | 0.4151(3) | 0.063(3) |
| C27B | 0.5752(8) | 0.5346(4) | 0.4776(3) | 0.073(3) |
| N28B | 0.8057(5) | 0.2905(3) | 0.4179(2) | 0.046(2) |
| C29B | 0.7210(7) | 0.2787(3) | 0.3840(2) | 0.045(2) |
| O30B | 0.5913(4) | 0.2887(2) | 0.3864(1) | 0.052(1) |
| O31B | 0.7850(4) | 0.2566(3) | 0.3484(1) | 0.056(2) |
| C32B | 0.7135(7) | 0.2324(4) | 0.3071(2) | 0.061(2) |
| C33B | 0.6187(10) | 0.2871(6) | 0.2953(3) | 0.086(4) |
| C34B | 0.8327(9) | 0.2172(6) | 0.2769(3) | 0.079(3) |
| C35B | 0.635(1) | 0.1649(5) | 0.3094(3) | 0.090(4) |
| O36B | 1.1881(4) | 0.1961(2) | 0.5274(1) | 0.044(1) |
| C37B | 1.1808(8) | 0.1239(3) | 0.5309(2) | 0.055(2) |
| C38B | 1.1924(7) | 0.1170(3) | 0.5768(2) | 0.050(2) |
| C39B | 1.1157(8) | 0.0673(4) | 0.5922(3) | 0.061(2) |
| C40B | 1.1276(9) | 0.0589(5) | 0.6331(3) | 0.076(3) |
| C41B | 1.215(1) | 0.1012(5) | 0.6617(3) | 0.080(3) |
| C42B | 1.2974(10) | 0.1520(5) | 0.6471(3) | 0.077(3) |
| C43B | 1.2850(8) | 0.1574(4) | 0.6042(2) | 0.061(2) |
| O44B | 1.4117(4) | 0.1637(2) | 0.4719(1) | 0.045(1) |
| C45B | 1.5532(8) | 0.1780(5) | 0.4632(4) | 0.097(5) |
| C46B | 1.6436(7) | 0.1200(3) | 0.4701(3) | 0.061(2) |
| C47B | 1.7463(8) | 0.0964(4) | 0.4388(3) | 0.068(3) |
| C48B | 1.8382(8) | 0.0476(4) | 0.4460(3) | 0.063(2) |

| Atom | X | Y | Z | $U_{\text{äq}}$ |
|------|------------|-----------|------------|-----------------|
| C49B | 1.8321(8) | 0.0179(3) | 0.4814(3) | 0.063(2) |
| C50B | 1.7350(8) | 0.0392(4) | 0.5117(3) | 0.064(3) |
| C51B | 1.6422(7) | 0.0896(4) | 0.5057(3) | 0.062(2) |
| O1C | 1.1616(5) | 0.9494(2) | 0.1090(1) | 0.052(1) |
| C2C | 1.1709(7) | 0.9332(3) | 0.1510(2) | 0.053(2) |
| C3C | 1.2708(7) | 0.8728(3) | 0.1529(2) | 0.051(2) |
| C4C | 1.4075(7) | 0.8880(3) | 0.1354(2) | 0.054(2) |
| C5C | 1.3880(7) | 0.9021(3) | 0.0909(2) | 0.053(2) |
| C6C | 1.2886(7) | 0.9632(3) | 0.0910(2) | 0.059(2) |
| O7C | 1.3340(5) | 0.8403(2) | 0.0634(1) | 0.054(1) |
| C8C | 1.3050(8) | 0.8488(4) | 0.0217(2) | 0.063(2) |
| O9C | 1.2079(5) | 0.9035(3) | 0.0209(2) | 0.065(2) |
| C10C | 1.2572(8) | 0.9709(4) | 0.0458(2) | 0.064(3) |
| C11C | 1.2466(8) | 0.7818(4) | -0.0027(2) | 0.064(3) |
| C12C | 1.1181(9) | 0.7585(5) | 0.0053(3) | 0.075(3) |
| C13C | 1.070(1) | 0.6948(5) | -0.0143(3) | 0.086(3) |
| C14C | 1.152(1) | 0.6483(5) | -0.0443(3) | 0.088(4) |
| C15C | 1.278(1) | 0.6700(5) | -0.0519(3) | 0.089(4) |
| C16C | 1.329(1) | 0.7377(5) | -0.0322(3) | 0.086(3) |
| C17C | 1.0237(7) | 0.9175(3) | 0.1607(2) | 0.054(2) |
| C18C | 0.9203(7) | 0.9761(3) | 0.1623(2) | 0.049(2) |
| C19C | 0.9078(8) | 1.0245(4) | 0.2054(2) | 0.062(2) |
| C20C | 0.8539(7) | 0.9873(3) | 0.1266(2) | 0.049(2) |
| C21C | 0.7454(8) | 1.0421(3) | 0.1294(2) | 0.055(2) |
| O22C | 0.6451(6) | 1.0443(3) | 0.1504(2) | 0.070(2) |
| O23C | 0.7753(5) | 1.0901(2) | 0.1055(2) | 0.056(1) |
| C24C | 0.6787(8) | 1.1486(3) | 0.1015(3) | 0.063(3) |
| C25C | 0.7562(10) | 1.1860(4) | 0.0712(3) | 0.079(3) |
| C26C | 0.5446(9) | 1.1173(4) | 0.0821(3) | 0.072(3) |
| C27C | 0.6644(10) | 1.1952(4) | 0.1448(3) | 0.078(3) |
| N28C | 0.8876(6) | 0.9512(3) | 0.0855(2) | 0.054(2) |
| C29C | 0.8022(9) | 0.9428(3) | 0.0518(2) | 0.057(2) |
| O30C | 0.6744(5) | 0.9537(3) | 0.0538(2) | 0.061(2) |
| O31C | 0.8668(5) | 0.9204(3) | 0.0160(2) | 0.068(2) |
| C32C | 0.7962(9) | 0.9010(5) | -0.0260(2) | 0.069(3) |
| C33C | 0.710(1) | 0.9592(7) | -0.0368(3) | 0.109(5) |
| C34C | 0.916(1) | 0.8874(6) | -0.0557(3) | 0.090(4) |
| C35C | 0.711(1) | 0.8330(6) | -0.0261(3) | 0.100(4) |
| O36C | 1.2780(5) | 0.8680(2) | 0.1966(2) | 0.061(2) |
| C37C | 1.320(1) | 0.8005(4) | 0.2053(3) | 0.083(3) |
| C38C | 1.2481(7) | 0.7855(4) | 0.2430(2) | 0.058(2) |
| C39C | 1.131(1) | 0.7495(7) | 0.2386(5) | 0.114(5) |
| C40C | 1.057(2) | 0.7382(8) | 0.2721(7) | 0.138(8) |
| C41C | 1.104(2) | 0.7613(9) | 0.3122(6) | 0.131(8) |
| C42C | 1.226(2) | 0.8014(7) | 0.3193(3) | 0.117(6) |
| C43C | 1.3012(9) | 0.8133(4) | 0.2836(3) | 0.071(3) |
| O44C | 1.4950(5) | 0.8281(2) | 0.1363(2) | 0.052(1) |
| C45C | 1.6284(8) | 0.8371(4) | 0.1203(3) | 0.077(3) |
| C46C | 1.7238(7) | 0.7803(4) | 0.1279(2) | 0.058(2) |
| C47C | 1.8279(8) | 0.7606(4) | 0.0988(3) | 0.067(3) |
| C48C | 1.9257(9) | 0.7107(4) | 0.1063(3) | 0.075(3) |

| Atom | X | Y | Z | $U_{\text{äq}}$ |
|------|------------|-----------|------------|-----------------|
| C49C | 1.9174(9) | 0.6806(4) | 0.1415(3) | 0.077(3) |
| C50C | 1.8109(9) | 0.6982(4) | 0.1688(3) | 0.075(3) |
| C51C | 1.7202(9) | 0.7480(4) | 0.1629(3) | 0.067(3) |
| O1D | 0.6591(5) | 0.3861(2) | 0.1425(1) | 0.051(1) |
| C2D | 0.6531(7) | 0.4055(3) | 0.1008(2) | 0.049(2) |
| C3D | 0.7446(7) | 0.4680(3) | 0.0994(2) | 0.050(2) |
| C4D | 0.8901(7) | 0.4532(3) | 0.1138(2) | 0.051(2) |
| C5D | 0.8896(8) | 0.4365(3) | 0.1588(2) | 0.054(2) |
| C6D | 0.7923(7) | 0.3752(3) | 0.1585(2) | 0.055(2) |
| O7D | 0.8380(5) | 0.4984(2) | 0.1870(2) | 0.061(2) |
| C8D | 0.8228(9) | 0.4863(4) | 0.2283(2) | 0.071(3) |
| O9D | 0.7295(6) | 0.4316(3) | 0.2301(2) | 0.064(2) |
| C10D | 0.7745(9) | 0.3659(3) | 0.2051(2) | 0.060(2) |
| C11D | 0.801(2) | 0.5468(7) | 0.2592(4) | 0.069(4) |
| C12D | 0.855(2) | 0.5647(8) | 0.3005(5) | 0.087(4) |
| C13D | 0.807(2) | 0.6237(9) | 0.3282(4) | 0.098(5) |
| C14D | 0.704(2) | 0.6648(7) | 0.3145(5) | 0.103(6) |
| C15D | 0.649(2) | 0.6469(8) | 0.2732(6) | 0.098(5) |
| C16D | 0.697(2) | 0.5879(9) | 0.2455(4) | 0.099(5) |
| C11G | 0.746(1) | 0.5566(4) | 0.2531(3) | 0.049(4) |
| C12G | 0.8032(9) | 0.5872(6) | 0.2927(3) | 0.068(6) |
| C13G | 0.746(1) | 0.6480(6) | 0.3162(3) | 0.063(5) |
| C14G | 0.631(1) | 0.6781(4) | 0.3001(3) | 0.071(6) |
| C15G | 0.574(1) | 0.6475(4) | 0.2605(3) | 0.073(6) |
| C16G | 0.631(1) | 0.5868(5) | 0.2370(3) | 0.075(6) |
| C17D | 0.4991(7) | 0.4193(3) | 0.0934(2) | 0.052(2) |
| C18D | 0.4043(7) | 0.3596(3) | 0.0931(2) | 0.051(2) |
| C19D | 0.3774(9) | 0.3097(4) | 0.0507(3) | 0.072(3) |
| C20D | 0.3468(7) | 0.3493(3) | 0.1294(2) | 0.054(2) |
| C21D | 0.2410(8) | 0.2932(4) | 0.1296(3) | 0.065(3) |
| O22D | 0.1387(6) | 0.2854(3) | 0.1086(2) | 0.081(2) |
| O23D | 0.2821(6) | 0.2520(3) | 0.1570(2) | 0.070(2) |
| C24D | 0.1945(10) | 0.1941(5) | 0.1673(4) | 0.090(4) |
| C25D | 0.280(1) | 0.1609(6) | 0.1952(5) | 0.115(5) |
| C26D | 0.0700(9) | 0.2287(5) | 0.1885(4) | 0.089(4) |
| C27D | 0.161(1) | 0.1407(4) | 0.1260(5) | 0.112(5) |
| N28D | 0.3896(6) | 0.3895(3) | 0.1699(2) | 0.057(2) |
| C29D | 0.3074(8) | 0.4069(4) | 0.2024(2) | 0.057(2) |
| O30D | 0.1806(6) | 0.3964(3) | 0.1997(2) | 0.069(2) |
| O31D | 0.3794(6) | 0.4361(3) | 0.2374(2) | 0.071(2) |
| C32D | 0.3129(9) | 0.4696(4) | 0.2762(2) | 0.068(3) |
| C33D | 0.230(1) | 0.4158(6) | 0.2935(3) | 0.102(5) |
| C34D | 0.4372(10) | 0.4931(5) | 0.3056(2) | 0.082(3) |
| C35D | 0.231(1) | 0.5333(4) | 0.2680(3) | 0.078(3) |
| O36D | 0.7401(5) | 0.4792(2) | 0.0570(1) | 0.056(1) |
| C37D | 0.734(1) | 0.5525(3) | 0.0541(2) | 0.069(3) |
| C38D | 0.7384(8) | 0.5602(4) | 0.0082(2) | 0.062(2) |
| C39D | 0.663(1) | 0.6093(5) | -0.0071(3) | 0.082(3) |
| C40D | 0.669(2) | 0.6180(6) | -0.0493(4) | 0.114(5) |
| C41D | 0.760(2) | 0.5782(6) | -0.0756(4) | 0.113(5) |
| C42D | 0.838(1) | 0.5285(5) | -0.0607(3) | 0.090(4) |

| Atom | X | Y | Z | $U_{\text{äq}}$ |
|------|------------|------------|------------|-----------------|
| C43D | 0.8283(10) | 0.5205(4) | -0.0185(3) | 0.075(3) |
| O44D | 0.9785(5) | 0.5101(2) | 0.1115(1) | 0.051(1) |
| C45D | 1.1232(10) | 0.4947(5) | 0.1150(5) | 0.103(5) |
| C46D | 1.2098(8) | 0.5524(4) | 0.1096(3) | 0.068(3) |
| C47D | 1.311(1) | 0.5777(5) | 0.1413(3) | 0.083(3) |
| C48D | 1.3979(10) | 0.6297(4) | 0.1363(3) | 0.078(3) |
| C49D | 1.3872(9) | 0.6593(4) | 0.1008(3) | 0.076(3) |
| C50D | 1.2917(9) | 0.6370(4) | 0.0702(3) | 0.070(3) |
| C51D | 1.2018(9) | 0.5826(4) | 0.0742(3) | 0.075(3) |
| O1E | 0.7271(4) | 0.0559(2) | 0.8071(1) | 0.044(1) |
| C2E | 0.7284(6) | 0.0737(3) | 0.7647(2) | 0.045(2) |
| C3E | 0.8231(6) | 0.1361(3) | 0.7637(2) | 0.045(2) |
| C4E | 0.9659(6) | 0.1211(3) | 0.7806(2) | 0.047(2) |
| C5E | 0.9573(6) | 0.1049(3) | 0.8250(2) | 0.046(2) |
| C6E | 0.8614(6) | 0.0428(3) | 0.8238(2) | 0.048(2) |
| O7E | 0.9066(5) | 0.1657(2) | 0.8530(1) | 0.051(1) |
| C8E | 0.8886(8) | 0.1522(4) | 0.8945(2) | 0.062(2) |
| O9E | 0.7924(5) | 0.0989(3) | 0.8950(1) | 0.059(2) |
| C10E | 0.8345(8) | 0.0319(4) | 0.8693(2) | 0.059(2) |
| C11E | 0.8265(9) | 0.2217(5) | 0.9210(3) | 0.073(2) |
| C12E | 0.890(2) | 0.2439(8) | 0.9615(5) | 0.132(3) |
| C13E | 0.815(1) | 0.3134(7) | 0.9833(4) | 0.111(3) |
| C14E | 0.711(1) | 0.3377(7) | 0.9680(4) | 0.114(3) |
| C15E | 0.654(1) | 0.3113(6) | 0.9300(4) | 0.100(3) |
| C16E | 0.709(1) | 0.2507(5) | 0.9059(3) | 0.093(3) |
| C17E | 0.5772(6) | 0.0903(3) | 0.7562(2) | 0.042(2) |
| C18E | 0.4761(6) | 0.0310(3) | 0.7567(2) | 0.045(2) |
| C19E | 0.4503(8) | -0.0194(4) | 0.7142(2) | 0.061(2) |
| C20E | 0.4168(6) | 0.0220(3) | 0.7921(2) | 0.044(2) |
| C21E | 0.3093(7) | -0.0327(3) | 0.7926(2) | 0.053(2) |
| O22E | 0.2048(5) | -0.0386(3) | 0.7717(2) | 0.070(2) |
| O23E | 0.3509(4) | -0.0770(2) | 0.8184(2) | 0.056(2) |
| C24E | 0.2619(8) | -0.1349(4) | 0.8266(3) | 0.073(3) |
| C25E | 0.345(1) | -0.1695(5) | 0.8551(4) | 0.102(4) |
| C26E | 0.1306(9) | -0.1037(5) | 0.8473(4) | 0.092(4) |
| C27E | 0.2296(10) | -0.1855(4) | 0.7849(4) | 0.095(4) |
| N28E | 0.4575(6) | 0.0620(3) | 0.8330(2) | 0.050(2) |
| C29E | 0.3767(7) | 0.0747(3) | 0.8666(2) | 0.049(2) |
| O30E | 0.2506(4) | 0.0633(2) | 0.8644(1) | 0.050(1) |
| O31E | 0.4507(5) | 0.1019(3) | 0.9018(1) | 0.063(2) |
| C32E | 0.3851(8) | 0.1294(4) | 0.9422(2) | 0.067(3) |
| O22F | -0.2942(5) | 0.7228(3) | 0.8083(2) | 0.069(2) |
| C33E | 0.303(1) | 0.0699(6) | 0.9561(3) | 0.102(5) |
| C34E | 0.506(1) | 0.1514(6) | 0.9715(2) | 0.091(4) |
| C35E | 0.295(1) | 0.1942(5) | 0.9383(3) | 0.087(3) |
| O36E | 0.8228(5) | 0.1433(2) | 0.7204(1) | 0.052(1) |
| C37E | 0.8616(10) | 0.2117(4) | 0.7135(3) | 0.076(3) |
| C38E | 0.7864(7) | 0.2251(3) | 0.6744(2) | 0.052(2) |
| C39E | 0.672(1) | 0.2662(6) | 0.6795(4) | 0.096(3) |
| C40E | 0.601(2) | 0.2781(9) | 0.6428(6) | 0.136(4) |
| C41E | 0.634(1) | 0.2529(7) | 0.6078(4) | 0.112(3) |

| Atom | X | Y | Z | U _{äq} |
|------|------------|-----------|-----------|-----------------|
| C42E | 0.750(1) | 0.2150(6) | 0.5982(3) | 0.093(3) |
| C43E | 0.8289(9) | 0.2002(4) | 0.6345(3) | 0.073(2) |
| O44E | 1.0526(4) | 0.1809(2) | 0.7803(1) | 0.046(1) |
| C45E | 1.1903(7) | 0.1708(4) | 0.7940(3) | 0.069(3) |
| C46E | 1.2810(7) | 0.2288(3) | 0.7872(2) | 0.054(2) |
| C47E | 1.3915(8) | 0.2505(4) | 0.8153(3) | 0.062(2) |
| C48E | 1.4848(8) | 0.2992(4) | 0.8095(3) | 0.065(3) |
| C49E | 1.4674(8) | 0.3318(4) | 0.7742(3) | 0.071(3) |
| C50E | 1.3593(9) | 0.3121(4) | 0.7454(3) | 0.068(3) |
| C51E | 1.2672(7) | 0.2614(4) | 0.7522(3) | 0.059(2) |
| O1F | 0.2214(4) | 0.6248(2) | 0.7757(1) | 0.045(1) |
| C2F | 0.2275(7) | 0.6074(3) | 0.8170(2) | 0.046(2) |
| C3F | 0.3222(7) | 0.5451(3) | 0.8185(2) | 0.045(2) |
| C4F | 0.4646(7) | 0.5596(3) | 0.8031(2) | 0.047(2) |
| C5F | 0.4488(6) | 0.5773(3) | 0.7578(2) | 0.046(2) |
| C6F | 0.3519(6) | 0.6381(3) | 0.7584(2) | 0.046(2) |
| O7F | 0.3943(5) | 0.5151(2) | 0.7298(1) | 0.051(1) |
| C8F | 0.3682(9) | 0.5278(4) | 0.6885(2) | 0.064(2) |
| O9F | 0.2743(5) | 0.5828(2) | 0.6882(1) | 0.057(2) |
| C10F | 0.3220(7) | 0.6487(3) | 0.7133(2) | 0.051(2) |
| C11F | 0.2886(10) | 0.4568(4) | 0.6637(3) | 0.043(3) |
| C12F | 0.3368(9) | 0.4272(5) | 0.6237(3) | 0.058(3) |
| C13F | 0.274(1) | 0.3671(5) | 0.5999(3) | 0.064(3) |
| C14F | 0.163(1) | 0.3366(4) | 0.6161(3) | 0.062(3) |
| C15F | 0.1144(10) | 0.3661(5) | 0.6561(3) | 0.063(3) |
| C16F | 0.177(1) | 0.4262(5) | 0.6799(2) | 0.052(3) |
| C11H | 0.336(1) | 0.4679(5) | 0.6581(3) | 0.054(3) |
| C12H | 0.382(1) | 0.4505(6) | 0.6166(3) | 0.066(3) |
| C13H | 0.331(1) | 0.3904(6) | 0.5893(3) | 0.086(4) |
| C14H | 0.235(1) | 0.3475(5) | 0.6037(3) | 0.061(3) |
| C15H | 0.189(1) | 0.3649(5) | 0.6452(3) | 0.072(3) |
| C16H | 0.240(1) | 0.4250(6) | 0.6725(3) | 0.063(3) |
| C17F | 0.0807(7) | 0.5926(3) | 0.8259(2) | 0.048(2) |
| C18F | -0.0212(7) | 0.6515(3) | 0.8251(2) | 0.048(2) |
| C19F | -0.0399(7) | 0.7027(4) | 0.8674(2) | 0.058(2) |
| C20F | -0.0852(6) | 0.6597(3) | 0.7891(2) | 0.045(2) |
| C21F | -0.1924(8) | 0.7169(3) | 0.7882(2) | 0.055(2) |
| O23F | -0.1563(5) | 0.7575(2) | 0.7607(2) | 0.057(2) |
| C24F | -0.2481(8) | 0.8144(4) | 0.7505(3) | 0.073(3) |
| C25F | -0.162(1) | 0.8483(6) | 0.7222(4) | 0.100(4) |
| C26F | -0.3777(9) | 0.7833(5) | 0.7308(4) | 0.089(4) |
| C27F | -0.2746(9) | 0.8671(4) | 0.7927(3) | 0.085(3) |
| N28F | -0.0530(5) | 0.6187(3) | 0.7488(2) | 0.048(2) |
| C29F | -0.1391(7) | 0.6039(3) | 0.7156(2) | 0.051(2) |
| O30F | -0.2645(5) | 0.6150(2) | 0.7174(1) | 0.054(2) |
| O31F | -0.0739(5) | 0.5732(3) | 0.6808(1) | 0.060(2) |
| C32F | -0.1483(8) | 0.5435(4) | 0.6413(2) | 0.058(2) |
| C33F | -0.235(1) | 0.5983(5) | 0.6247(3) | 0.082(3) |
| C34F | -0.0303(9) | 0.5212(4) | 0.6111(2) | 0.070(3) |
| C35F | -0.2326(9) | 0.4804(5) | 0.6478(3) | 0.078(3) |
| O36F | 0.3267(5) | 0.5357(2) | 0.8616(1) | 0.055(1) |

| Atom | X | Y | Z | $U_{\text{äq}}$ |
|------|------------|-----------|-----------|-----------------|
| C37F | 0.353(2) | 0.4644(5) | 0.8657(3) | 0.126(6) |
| C38F | 0.322(1) | 0.4488(6) | 0.9062(3) | 0.033(2) |
| C39F | 0.208(1) | 0.4089(7) | 0.9120(4) | 0.091(4) |
| C40F | 0.168(1) | 0.4049(8) | 0.9529(5) | 0.104(5) |
| C41F | 0.244(2) | 0.4408(9) | 0.9881(3) | 0.101(5) |
| C42F | 0.358(2) | 0.4808(9) | 0.9823(3) | 0.117(5) |
| C43F | 0.397(1) | 0.4847(6) | 0.9413(4) | 0.067(3) |
| C38G | 0.2961(8) | 0.4557(5) | 0.9102(2) | 0.062(4) |
| C39G | 0.1734(9) | 0.4177(7) | 0.9028(3) | 0.146(8) |
| C40G | 0.108(1) | 0.3965(8) | 0.9364(4) | 0.158(8) |
| C41G | 0.165(1) | 0.4132(7) | 0.9774(3) | 0.102(5) |
| C42G | 0.288(1) | 0.4512(8) | 0.9849(2) | 0.097(5) |
| C43G | 0.353(1) | 0.4724(7) | 0.9512(2) | 0.081(4) |
| O44F | 0.5507(4) | 0.5001(2) | 0.8035(1) | 0.049(1) |
| C45F | 0.6914(4) | 0.5153(4) | 0.7951(2) | 0.089(4) |
| C46F | 0.7801(7) | 0.4545(4) | 0.8003(3) | 0.065(3) |
| C47F | 0.8793(9) | 0.4313(4) | 0.7699(3) | 0.075(3) |
| C48F | 0.9720(10) | 0.3792(4) | 0.7773(3) | 0.080(3) |
| C49F | 0.9646(9) | 0.3493(4) | 0.8116(3) | 0.078(3) |
| C50F | 0.8639(9) | 0.3699(4) | 0.8412(3) | 0.071(3) |
| C51F | 0.7742(9) | 0.4243(4) | 0.8357(3) | 0.073(3) |

anisotrope Auslenkungsparameter

| Atom | U_{11} | U_{22} | U_{33} | U_{12} | U_{13} | U_{23} |
|------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| O1A | 0.044(2) | 0.034(2) | 0.053(2) | -0.003(2) | -0.005(2) | 0.016(2) |
| C2A | 0.050(3) | 0.031(2) | 0.045(3) | 0.004(2) | -0.004(2) | 0.006(2) |
| C3A | 0.058(3) | 0.029(2) | 0.043(3) | -0.002(2) | -0.001(2) | 0.005(2) |
| C4A | 0.043(3) | 0.028(2) | 0.057(3) | -0.002(2) | 0.005(2) | 0.006(2) |
| C5A | 0.040(3) | 0.030(2) | 0.054(3) | -0.002(2) | 0.000(2) | 0.011(2) |
| C6A | 0.046(3) | 0.034(3) | 0.059(3) | 0.005(2) | -0.006(3) | 0.009(2) |
| O7A | 0.046(2) | 0.033(2) | 0.048(2) | 0.000(2) | 0.004(2) | 0.009(2) |
| C8A | 0.053(3) | 0.034(3) | 0.052(3) | -0.007(2) | -0.006(3) | 0.011(2) |
| O9A | 0.054(2) | 0.038(2) | 0.054(2) | -0.004(2) | -0.001(2) | 0.015(2) |
| C10A | 0.052(3) | 0.034(3) | 0.067(4) | -0.002(2) | -0.006(3) | 0.022(3) |
| C11A | 0.051(3) | 0.042(3) | 0.047(3) | 0.003(2) | 0.005(2) | 0.014(2) |
| C12A | 0.062(4) | 0.055(4) | 0.055(4) | 0.007(3) | -0.003(3) | 0.005(3) |
| C13A | 0.064(4) | 0.064(4) | 0.063(4) | 0.011(3) | 0.022(3) | 0.013(3) |
| C14A | 0.101(6) | 0.049(4) | 0.057(4) | 0.003(4) | 0.025(4) | 0.000(3) |
| C15A | 0.068(5) | 0.070(4) | 0.058(4) | -0.004(4) | 0.000(3) | -0.006(3) |
| C16A | 0.062(4) | 0.055(4) | 0.053(4) | -0.015(3) | -0.002(3) | 0.002(3) |
| C17A | 0.042(3) | 0.035(3) | 0.048(3) | 0.002(2) | -0.006(2) | 0.008(2) |
| C18A | 0.047(3) | 0.037(3) | 0.048(3) | -0.001(2) | -0.008(2) | 0.015(2) |
| C19A | 0.069(4) | 0.051(3) | 0.053(4) | -0.004(3) | -0.002(3) | 0.006(3) |
| C20A | 0.045(3) | 0.037(3) | 0.047(3) | 0.001(2) | 0.000(2) | 0.009(2) |
| C21A | 0.044(3) | 0.047(3) | 0.054(3) | 0.001(2) | -0.008(3) | 0.011(3) |
| O22A | 0.059(3) | 0.049(2) | 0.070(3) | -0.008(2) | -0.016(2) | 0.019(2) |
| O23A | 0.041(2) | 0.038(2) | 0.057(2) | 0.001(2) | -0.001(2) | 0.016(2) |
| C24A | 0.044(3) | 0.038(3) | 0.073(4) | -0.001(2) | 0.004(3) | 0.019(3) |
| C25A | 0.065(4) | 0.049(4) | 0.088(5) | 0.005(3) | 0.004(4) | 0.029(3) |
| C26A | 0.048(4) | 0.054(4) | 0.079(5) | 0.007(3) | 0.017(3) | 0.022(3) |
| C27A | 0.061(4) | 0.040(3) | 0.077(4) | -0.001(3) | -0.003(3) | 0.000(3) |

| Atom | U ₁₁ | U ₂₂ | U ₃₃ | U ₁₂ | U ₁₃ | U ₂₃ |
|------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| N28A | 0.046(3) | 0.046(3) | 0.043(3) | 0.002(2) | -0.005(2) | 0.011(2) |
| C29A | 0.052(3) | 0.039(3) | 0.039(3) | -0.007(2) | -0.008(2) | 0.008(2) |
| O30A | 0.052(3) | 0.053(2) | 0.048(2) | -0.003(2) | -0.004(2) | 0.010(2) |
| O31A | 0.045(2) | 0.066(3) | 0.044(2) | -0.006(2) | -0.002(2) | 0.005(2) |
| C32A | 0.061(4) | 0.065(4) | 0.047(3) | -0.010(3) | 0.003(3) | 0.008(3) |
| C33A | 0.092(6) | 0.091(6) | 0.064(4) | -0.042(5) | -0.015(4) | 0.024(4) |
| C34A | 0.090(6) | 0.086(5) | 0.048(4) | -0.019(4) | -0.010(4) | 0.004(4) |
| C35A | 0.097(7) | 0.079(6) | 0.088(6) | 0.012(5) | 0.000(5) | -0.005(5) |
| O36A | 0.062(3) | 0.033(2) | 0.051(2) | -0.006(2) | 0.005(2) | 0.011(2) |
| C37A | 0.096(6) | 0.041(3) | 0.063(4) | 0.003(3) | 0.007(4) | 0.010(3) |
| C38A | 0.052(3) | 0.042(3) | 0.055(3) | -0.012(3) | 0.002(3) | 0.019(3) |
| C39A | 0.072(5) | 0.065(4) | 0.079(5) | 0.001(4) | 0.004(4) | 0.023(4) |
| C40A | 0.085(6) | 0.074(5) | 0.094(6) | -0.002(4) | -0.013(5) | 0.035(5) |
| C41A | 0.092(6) | 0.095(6) | 0.058(4) | -0.027(5) | -0.005(4) | 0.028(4) |
| C42A | 0.091(6) | 0.065(5) | 0.071(5) | -0.006(4) | 0.009(4) | 0.019(4) |
| C43A | 0.066(4) | 0.064(4) | 0.071(5) | -0.009(3) | 0.012(4) | 0.006(4) |
| O44A | 0.045(2) | 0.032(2) | 0.063(2) | 0.004(2) | 0.007(2) | 0.015(2) |
| C45A | 0.056(4) | 0.067(5) | 0.160(9) | 0.009(4) | -0.010(5) | 0.057(6) |
| C46A | 0.040(3) | 0.048(3) | 0.087(5) | 0.007(3) | 0.016(3) | 0.029(3) |
| C47A | 0.071(5) | 0.061(4) | 0.076(5) | 0.025(4) | 0.017(4) | 0.023(4) |
| C48A | 0.067(4) | 0.044(3) | 0.083(5) | 0.007(3) | 0.010(4) | -0.004(3) |
| C49A | 0.056(4) | 0.053(4) | 0.095(6) | -0.008(3) | 0.022(4) | 0.010(4) |
| C50A | 0.072(5) | 0.053(4) | 0.075(5) | -0.003(3) | 0.022(4) | 0.028(3) |
| C51A | 0.062(4) | 0.058(4) | 0.086(5) | -0.003(3) | -0.002(4) | 0.029(4) |
| O1B | 0.040(2) | 0.040(2) | 0.047(2) | 0.000(2) | 0.004(2) | 0.014(2) |
| C2B | 0.049(3) | 0.034(3) | 0.040(3) | -0.001(2) | 0.003(2) | 0.003(2) |
| C3B | 0.049(3) | 0.029(2) | 0.046(3) | -0.001(2) | 0.000(2) | 0.000(2) |
| C4B | 0.042(3) | 0.027(2) | 0.052(3) | -0.001(2) | 0.001(2) | 0.002(2) |
| C5B | 0.042(3) | 0.035(3) | 0.054(3) | -0.002(2) | 0.003(2) | 0.005(2) |
| C6B | 0.044(3) | 0.033(3) | 0.061(4) | -0.006(2) | 0.004(3) | 0.004(2) |
| O7B | 0.044(2) | 0.038(2) | 0.051(2) | 0.006(2) | 0.002(2) | 0.011(2) |
| C8B | 0.057(4) | 0.046(3) | 0.049(3) | 0.001(3) | 0.010(3) | 0.018(3) |
| O9B | 0.055(2) | 0.051(2) | 0.056(2) | 0.007(2) | 0.007(2) | 0.019(2) |
| C10B | 0.054(3) | 0.044(3) | 0.058(4) | 0.007(3) | 0.009(3) | 0.019(3) |
| C11B | 0.052(4) | 0.056(4) | 0.052(3) | 0.004(3) | 0.001(3) | 0.014(3) |
| C12B | 0.070(5) | 0.062(4) | 0.059(4) | -0.003(3) | 0.009(3) | 0.006(3) |
| C13B | 0.071(5) | 0.065(4) | 0.071(5) | -0.005(4) | -0.009(4) | 0.012(4) |
| C14B | 0.097(6) | 0.051(4) | 0.067(5) | -0.006(4) | -0.009(4) | 0.000(3) |
| C15B | 0.087(6) | 0.067(5) | 0.062(4) | -0.004(4) | 0.012(4) | -0.005(4) |
| C16B | 0.058(4) | 0.066(4) | 0.053(4) | 0.001(3) | 0.003(3) | 0.003(3) |
| C17B | 0.045(3) | 0.040(3) | 0.048(3) | 0.000(2) | 0.008(2) | 0.012(2) |
| C18B | 0.047(3) | 0.039(3) | 0.052(3) | 0.002(2) | 0.006(3) | 0.010(2) |
| C19B | 0.071(4) | 0.051(3) | 0.046(3) | -0.002(3) | 0.008(3) | 0.001(3) |
| C20B | 0.044(3) | 0.037(3) | 0.055(3) | 0.001(2) | 0.008(3) | 0.009(2) |
| C21B | 0.057(4) | 0.041(3) | 0.048(3) | -0.001(3) | 0.003(3) | 0.003(2) |
| O22B | 0.058(3) | 0.058(3) | 0.077(3) | 0.016(2) | 0.023(2) | 0.023(2) |
| O23B | 0.046(2) | 0.036(2) | 0.065(3) | 0.003(2) | 0.004(2) | 0.013(2) |
| C24B | 0.043(3) | 0.045(3) | 0.091(5) | -0.005(3) | -0.008(3) | 0.023(3) |
| C25B | 0.062(4) | 0.053(4) | 0.101(6) | -0.009(3) | -0.012(4) | 0.041(4) |
| C26B | 0.049(4) | 0.054(4) | 0.090(5) | -0.006(3) | -0.009(3) | 0.022(4) |
| C27B | 0.062(4) | 0.043(3) | 0.110(6) | 0.006(3) | -0.007(4) | 0.007(4) |
| N28B | 0.046(3) | 0.042(2) | 0.050(3) | 0.004(2) | -0.001(2) | 0.009(2) |
| C29B | 0.059(4) | 0.038(3) | 0.040(3) | -0.003(2) | 0.005(3) | 0.010(2) |
| O30B | 0.047(2) | 0.055(2) | 0.057(2) | -0.001(2) | 0.003(2) | 0.016(2) |
| O31B | 0.042(2) | 0.074(3) | 0.050(2) | -0.001(2) | 0.004(2) | 0.008(2) |
| C32B | 0.053(4) | 0.085(5) | 0.045(3) | 0.004(3) | 0.001(3) | 0.014(3) |
| C33B | 0.086(6) | 0.112(7) | 0.065(5) | 0.028(5) | 0.011(4) | 0.025(5) |

| Atom | U ₁₁ | U ₂₂ | U ₃₃ | U ₁₂ | U ₁₃ | U ₂₃ |
|------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| C34B | 0.073(5) | 0.104(6) | 0.058(4) | 0.008(5) | 0.011(4) | 0.006(4) |
| C35B | 0.091(6) | 0.089(6) | 0.082(6) | -0.017(5) | 0.003(5) | -0.005(5) |
| O36B | 0.054(2) | 0.032(2) | 0.046(2) | 0.000(2) | 0.001(2) | 0.010(2) |
| C37B | 0.077(4) | 0.037(3) | 0.054(3) | -0.002(3) | -0.002(3) | 0.013(3) |
| C38B | 0.061(4) | 0.037(3) | 0.055(3) | 0.010(3) | 0.003(3) | 0.012(2) |
| C39B | 0.062(4) | 0.048(3) | 0.075(4) | -0.001(3) | -0.001(3) | 0.022(3) |
| C40B | 0.077(5) | 0.074(5) | 0.086(6) | 0.015(4) | 0.021(4) | 0.037(4) |
| C41B | 0.098(6) | 0.087(6) | 0.064(5) | 0.024(5) | 0.007(4) | 0.039(4) |
| C42B | 0.093(6) | 0.067(5) | 0.065(4) | 0.012(4) | -0.021(4) | 0.006(4) |
| C43B | 0.075(5) | 0.047(3) | 0.063(4) | -0.001(3) | -0.005(3) | 0.016(3) |
| O44B | 0.035(2) | 0.035(2) | 0.066(2) | -0.004(2) | -0.002(2) | 0.011(2) |
| C45B | 0.043(4) | 0.082(6) | 0.19(1) | -0.003(4) | 0.017(5) | 0.076(7) |
| C46B | 0.044(3) | 0.046(3) | 0.098(5) | -0.012(3) | -0.015(3) | 0.029(3) |
| C47B | 0.069(5) | 0.069(4) | 0.066(4) | -0.026(4) | -0.010(4) | 0.019(4) |
| C48B | 0.059(4) | 0.052(4) | 0.072(4) | -0.006(3) | 0.008(3) | -0.003(3) |
| C49B | 0.058(4) | 0.039(3) | 0.089(5) | 0.005(3) | -0.003(4) | 0.007(3) |
| C50B | 0.073(5) | 0.052(4) | 0.068(4) | -0.006(3) | -0.004(4) | 0.019(3) |
| C51B | 0.055(4) | 0.055(4) | 0.079(5) | 0.003(3) | 0.010(3) | 0.018(3) |
| O1C | 0.062(3) | 0.041(2) | 0.057(2) | 0.005(2) | 0.009(2) | 0.020(2) |
| C2C | 0.070(4) | 0.036(3) | 0.053(3) | 0.008(3) | 0.018(3) | 0.006(3) |
| C3C | 0.073(4) | 0.033(3) | 0.051(3) | 0.012(3) | 0.011(3) | 0.013(2) |
| C4C | 0.061(4) | 0.035(3) | 0.062(4) | 0.005(3) | 0.007(3) | 0.001(3) |
| C5C | 0.051(3) | 0.043(3) | 0.065(4) | 0.004(3) | 0.007(3) | 0.012(3) |
| C6C | 0.064(4) | 0.038(3) | 0.076(4) | 0.004(3) | 0.019(3) | 0.014(3) |
| O7C | 0.066(3) | 0.043(2) | 0.054(2) | 0.007(2) | 0.002(2) | 0.010(2) |
| C8C | 0.065(4) | 0.067(4) | 0.061(4) | 0.006(3) | 0.002(3) | 0.024(3) |
| O9C | 0.076(3) | 0.065(3) | 0.062(3) | 0.015(2) | 0.012(2) | 0.026(2) |
| C10C | 0.078(5) | 0.050(4) | 0.073(4) | 0.008(3) | 0.016(4) | 0.034(3) |
| C11C | 0.077(5) | 0.060(4) | 0.054(4) | 0.007(4) | -0.001(3) | 0.010(3) |
| C12C | 0.084(6) | 0.073(5) | 0.065(5) | 0.007(4) | 0.006(4) | 0.010(4) |
| C13C | 0.103(7) | 0.080(6) | 0.071(5) | 0.007(5) | -0.023(5) | 0.007(4) |
| C14C | 0.106(7) | 0.074(5) | 0.075(5) | -0.007(5) | -0.025(5) | -0.002(4) |
| C15C | 0.112(7) | 0.077(5) | 0.063(5) | 0.001(5) | -0.008(5) | -0.023(4) |
| C16C | 0.106(7) | 0.082(6) | 0.064(5) | 0.012(5) | 0.004(4) | -0.004(4) |
| C17C | 0.064(4) | 0.042(3) | 0.057(4) | 0.008(3) | 0.007(3) | 0.015(3) |
| C18C | 0.061(4) | 0.035(3) | 0.053(3) | 0.004(2) | 0.006(3) | 0.013(2) |
| C19C | 0.076(5) | 0.062(4) | 0.051(4) | 0.005(3) | 0.010(3) | 0.016(3) |
| C20C | 0.060(4) | 0.037(3) | 0.051(3) | 0.002(3) | 0.003(3) | 0.010(2) |
| C21C | 0.066(4) | 0.046(3) | 0.051(3) | 0.003(3) | 0.010(3) | 0.005(3) |
| O22C | 0.080(3) | 0.063(3) | 0.072(3) | 0.015(3) | 0.022(3) | 0.027(2) |
| O23C | 0.066(3) | 0.040(2) | 0.064(3) | -0.002(2) | -0.005(2) | 0.020(2) |
| C24C | 0.071(4) | 0.038(3) | 0.084(5) | -0.002(3) | -0.011(4) | 0.023(3) |
| C25C | 0.093(6) | 0.055(4) | 0.099(6) | -0.005(4) | -0.012(5) | 0.041(4) |
| C26C | 0.073(5) | 0.065(4) | 0.084(5) | -0.004(4) | -0.020(4) | 0.035(4) |
| C27C | 0.094(6) | 0.045(4) | 0.090(6) | 0.005(4) | -0.017(5) | 0.004(4) |
| N28C | 0.059(3) | 0.050(3) | 0.051(3) | 0.008(2) | 0.003(2) | 0.007(2) |
| C29C | 0.097(6) | 0.040(3) | 0.035(3) | -0.001(3) | 0.011(3) | 0.008(2) |
| O30C | 0.058(3) | 0.066(3) | 0.061(3) | 0.002(2) | 0.005(2) | 0.015(2) |
| O31C | 0.069(3) | 0.080(3) | 0.055(3) | -0.002(3) | 0.014(2) | 0.008(2) |
| C32C | 0.077(5) | 0.079(5) | 0.046(4) | 0.006(4) | 0.000(3) | 0.002(3) |
| C33C | 0.16(1) | 0.121(8) | 0.057(5) | 0.049(8) | 0.019(6) | 0.035(5) |
| C34C | 0.097(6) | 0.114(7) | 0.056(4) | 0.024(6) | 0.009(4) | 0.009(5) |
| C35C | 0.132(9) | 0.084(6) | 0.080(6) | -0.013(6) | 0.006(6) | 0.006(5) |
| O36C | 0.082(3) | 0.051(2) | 0.054(2) | 0.019(2) | 0.007(2) | 0.016(2) |
| C37C | 0.122(7) | 0.060(4) | 0.074(5) | 0.038(5) | 0.031(5) | 0.027(4) |
| C38C | 0.057(4) | 0.057(4) | 0.063(4) | 0.009(3) | 0.001(3) | 0.014(3) |
| C39C | 0.086(7) | 0.131(10) | 0.128(9) | -0.013(7) | -0.016(7) | 0.033(8) |

| Atom | U ₁₁ | U ₂₂ | U ₃₃ | U ₁₂ | U ₁₃ | U ₂₃ |
|------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| C40C | 0.109(10) | 0.14(1) | 0.19(2) | -0.016(8) | 0.03(1) | 0.08(1) |
| C41C | 0.101(9) | 0.15(1) | 0.18(2) | 0.051(9) | 0.057(10) | 0.10(1) |
| C42C | 0.20(1) | 0.107(8) | 0.048(4) | 0.069(9) | 0.000(6) | 0.015(5) |
| C43C | 0.083(5) | 0.058(4) | 0.073(5) | 0.013(4) | -0.006(4) | 0.017(4) |
| O44C | 0.053(2) | 0.039(2) | 0.065(3) | 0.004(2) | 0.002(2) | 0.012(2) |
| C45C | 0.055(4) | 0.065(5) | 0.119(7) | 0.006(3) | 0.031(4) | 0.031(5) |
| C46C | 0.054(4) | 0.048(3) | 0.069(4) | -0.007(3) | -0.006(3) | 0.007(3) |
| C47C | 0.063(4) | 0.059(4) | 0.079(5) | 0.014(3) | 0.001(4) | 0.013(4) |
| C48C | 0.069(5) | 0.060(4) | 0.087(6) | 0.011(4) | 0.005(4) | -0.005(4) |
| C49C | 0.078(5) | 0.053(4) | 0.093(6) | 0.017(4) | -0.021(5) | -0.001(4) |
| C50C | 0.080(5) | 0.061(4) | 0.084(5) | 0.002(4) | -0.015(4) | 0.013(4) |
| C51C | 0.074(5) | 0.061(4) | 0.068(4) | 0.005(4) | -0.008(4) | 0.014(4) |
| O1D | 0.059(3) | 0.042(2) | 0.051(2) | -0.003(2) | 0.001(2) | 0.010(2) |
| C2D | 0.066(4) | 0.033(3) | 0.046(3) | -0.001(3) | -0.005(3) | 0.000(2) |
| C3D | 0.060(4) | 0.036(3) | 0.053(3) | 0.003(3) | 0.005(3) | 0.005(2) |
| C4D | 0.067(4) | 0.030(3) | 0.056(3) | -0.001(3) | 0.005(3) | 0.009(2) |
| C5D | 0.066(4) | 0.047(3) | 0.049(3) | -0.005(3) | 0.010(3) | 0.009(3) |
| C6D | 0.069(4) | 0.030(3) | 0.064(4) | 0.005(3) | -0.011(3) | 0.007(3) |
| O7D | 0.079(3) | 0.048(2) | 0.057(3) | -0.017(2) | 0.012(2) | 0.006(2) |
| C8D | 0.084(5) | 0.069(4) | 0.057(4) | -0.027(4) | 0.014(4) | 0.004(3) |
| O9D | 0.089(3) | 0.052(3) | 0.051(2) | -0.015(2) | 0.005(2) | 0.008(2) |
| C10D | 0.085(5) | 0.043(3) | 0.058(4) | -0.002(3) | 0.004(3) | 0.020(3) |
| C11D | 0.072(7) | 0.065(6) | 0.071(7) | -0.006(4) | 0.008(4) | 0.015(4) |
| C12D | 0.091(8) | 0.088(7) | 0.082(7) | -0.003(5) | 0.005(5) | 0.017(5) |
| C13D | 0.101(8) | 0.096(8) | 0.096(8) | -0.007(5) | 0.008(5) | 0.014(5) |
| C14D | 0.11(1) | 0.10(1) | 0.10(1) | -0.002(5) | 0.008(5) | 0.017(5) |
| C15D | 0.097(8) | 0.096(8) | 0.100(8) | 0.005(5) | 0.007(5) | 0.014(5) |
| C16D | 0.100(9) | 0.098(9) | 0.097(9) | 0.005(5) | 0.004(5) | 0.016(5) |
| C11G | 0.057(9) | 0.051(7) | 0.039(6) | -0.011(7) | -0.003(6) | 0.012(6) |
| C12G | 0.066(10) | 0.08(1) | 0.042(7) | -0.018(9) | 0.010(7) | -0.016(7) |
| C13G | 0.045(8) | 0.061(8) | 0.071(10) | -0.023(8) | 0.010(7) | -0.020(8) |
| C14G | 0.12(1) | 0.040(6) | 0.047(7) | -0.032(8) | 0.053(9) | -0.018(6) |
| C15G | 0.07(1) | 0.044(7) | 0.11(1) | 0.004(7) | 0.014(9) | 0.025(8) |
| C16G | 0.12(1) | 0.040(7) | 0.059(8) | 0.030(8) | -0.031(9) | -0.010(6) |
| C17D | 0.060(4) | 0.046(3) | 0.050(3) | -0.004(3) | -0.005(3) | 0.010(3) |
| C18D | 0.061(4) | 0.040(3) | 0.052(3) | -0.005(3) | -0.004(3) | 0.007(2) |
| C19D | 0.090(6) | 0.054(4) | 0.067(4) | -0.013(4) | -0.003(4) | 0.003(3) |
| C20D | 0.060(4) | 0.038(3) | 0.061(4) | 0.001(3) | -0.002(3) | 0.006(3) |
| C21D | 0.061(4) | 0.061(4) | 0.075(5) | 0.002(3) | 0.010(4) | 0.017(4) |
| O22D | 0.075(4) | 0.068(3) | 0.098(4) | -0.020(3) | -0.013(3) | 0.016(3) |
| O23D | 0.074(3) | 0.049(2) | 0.094(4) | -0.001(2) | 0.019(3) | 0.026(3) |
| C24D | 0.084(6) | 0.064(5) | 0.134(8) | 0.014(4) | 0.051(6) | 0.046(5) |
| C25D | 0.101(8) | 0.092(7) | 0.17(1) | 0.009(6) | 0.034(7) | 0.062(8) |
| C26D | 0.071(5) | 0.072(5) | 0.125(8) | -0.006(4) | 0.034(5) | 0.018(5) |
| C27D | 0.102(7) | 0.040(4) | 0.19(1) | -0.002(4) | 0.045(8) | 0.009(6) |
| N28D | 0.063(3) | 0.058(3) | 0.049(3) | -0.004(3) | 0.008(3) | 0.007(2) |
| C29D | 0.071(5) | 0.047(3) | 0.053(4) | 0.012(3) | -0.003(3) | 0.010(3) |
| O30D | 0.069(3) | 0.067(3) | 0.071(3) | 0.004(2) | 0.005(3) | 0.013(3) |
| O31D | 0.070(3) | 0.091(4) | 0.047(3) | 0.016(3) | 0.004(2) | 0.000(2) |
| C32D | 0.083(5) | 0.066(4) | 0.057(4) | 0.018(4) | 0.007(4) | 0.012(3) |
| C33D | 0.135(9) | 0.120(8) | 0.062(5) | -0.010(7) | 0.013(5) | 0.039(5) |
| C34D | 0.097(6) | 0.094(6) | 0.050(4) | 0.029(5) | -0.006(4) | 0.003(4) |
| C35D | 0.101(6) | 0.065(5) | 0.063(4) | 0.013(4) | -0.006(4) | 0.003(4) |
| O36D | 0.081(3) | 0.039(2) | 0.047(2) | -0.005(2) | 0.006(2) | 0.009(2) |
| C37D | 0.110(6) | 0.037(3) | 0.062(4) | 0.004(3) | 0.004(4) | 0.012(3) |
| C38D | 0.081(5) | 0.049(3) | 0.059(4) | -0.010(3) | 0.001(3) | 0.023(3) |
| C39D | 0.110(7) | 0.065(5) | 0.077(5) | -0.002(5) | -0.005(5) | 0.024(4) |

| Atom | U ₁₁ | U ₂₂ | U ₃₃ | U ₁₂ | U ₁₃ | U ₂₃ |
|------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| C40D | 0.19(1) | 0.084(7) | 0.077(6) | -0.007(8) | -0.016(7) | 0.042(5) |
| C41D | 0.19(1) | 0.081(6) | 0.081(6) | -0.015(7) | 0.016(7) | 0.038(6) |
| C42D | 0.120(8) | 0.084(6) | 0.066(5) | -0.006(5) | 0.019(5) | 0.014(4) |
| C43D | 0.100(6) | 0.060(4) | 0.067(5) | 0.001(4) | 0.011(4) | 0.015(4) |
| O44D | 0.055(2) | 0.035(2) | 0.065(3) | -0.001(2) | 0.011(2) | 0.009(2) |
| C45D | 0.072(5) | 0.065(5) | 0.19(1) | 0.013(4) | 0.016(6) | 0.063(6) |
| C46D | 0.058(4) | 0.046(3) | 0.105(6) | 0.012(3) | 0.019(4) | 0.025(4) |
| C47D | 0.099(7) | 0.079(5) | 0.074(5) | 0.039(5) | 0.015(5) | 0.020(4) |
| C48D | 0.079(5) | 0.053(4) | 0.098(6) | -0.001(4) | -0.002(5) | 0.005(4) |
| C49D | 0.069(5) | 0.047(4) | 0.106(7) | 0.002(3) | 0.012(5) | -0.005(4) |
| C50D | 0.075(5) | 0.061(4) | 0.080(5) | -0.007(4) | 0.005(4) | 0.024(4) |
| C51D | 0.080(5) | 0.048(4) | 0.099(6) | -0.010(4) | -0.012(4) | 0.020(4) |
| O1E | 0.051(2) | 0.035(2) | 0.048(2) | -0.001(2) | 0.001(2) | 0.009(2) |
| C2E | 0.058(3) | 0.036(3) | 0.039(3) | 0.001(2) | -0.003(2) | 0.003(2) |
| C3E | 0.050(3) | 0.027(2) | 0.054(3) | -0.003(2) | 0.002(3) | 0.000(2) |
| C4E | 0.053(3) | 0.034(3) | 0.052(3) | 0.001(2) | 0.003(3) | 0.005(2) |
| C5E | 0.050(3) | 0.037(3) | 0.050(3) | -0.002(2) | 0.003(3) | 0.008(2) |
| C6E | 0.054(3) | 0.042(3) | 0.050(3) | 0.009(3) | 0.004(3) | 0.014(2) |
| O7E | 0.060(3) | 0.043(2) | 0.049(2) | -0.006(2) | 0.004(2) | 0.007(2) |
| C8E | 0.081(5) | 0.056(4) | 0.048(3) | -0.013(3) | -0.002(3) | 0.008(3) |
| O9E | 0.072(3) | 0.056(3) | 0.051(2) | 0.001(2) | 0.004(2) | 0.013(2) |
| C10E | 0.069(4) | 0.049(3) | 0.063(4) | -0.008(3) | -0.005(3) | 0.026(3) |
| C11E | 0.083(4) | 0.074(4) | 0.058(3) | -0.016(3) | 0.007(3) | 0.006(3) |
| C12E | 0.133(6) | 0.135(6) | 0.122(6) | -0.012(4) | 0.008(4) | 0.009(4) |
| C13E | 0.116(5) | 0.109(5) | 0.101(5) | -0.013(4) | 0.011(4) | 0.002(4) |
| C14E | 0.120(5) | 0.105(5) | 0.112(5) | -0.007(4) | 0.019(4) | 0.009(4) |
| C15E | 0.115(5) | 0.086(4) | 0.097(5) | 0.009(4) | 0.010(4) | 0.015(4) |
| C16E | 0.102(5) | 0.080(4) | 0.094(4) | 0.008(4) | 0.005(4) | 0.008(4) |
| C17E | 0.046(3) | 0.033(2) | 0.046(3) | 0.000(2) | -0.005(2) | 0.006(2) |
| C18E | 0.050(3) | 0.042(3) | 0.041(3) | -0.002(2) | -0.004(2) | 0.006(2) |
| C19E | 0.064(4) | 0.063(4) | 0.048(3) | 0.006(3) | -0.008(3) | -0.006(3) |
| C20E | 0.049(3) | 0.030(2) | 0.051(3) | 0.002(2) | -0.006(2) | 0.004(2) |
| C21E | 0.053(4) | 0.037(3) | 0.068(4) | 0.004(3) | 0.002(3) | 0.008(3) |
| O22E | 0.061(3) | 0.055(3) | 0.092(4) | -0.011(2) | -0.016(3) | 0.012(3) |
| O23E | 0.046(2) | 0.040(2) | 0.084(3) | -0.003(2) | 0.008(2) | 0.018(2) |
| C24E | 0.059(4) | 0.041(3) | 0.119(7) | -0.006(3) | 0.025(4) | 0.013(4) |
| C25E | 0.109(7) | 0.072(5) | 0.144(9) | 0.006(5) | 0.039(7) | 0.065(6) |
| C26E | 0.071(5) | 0.059(4) | 0.149(9) | 0.007(4) | 0.051(6) | 0.019(5) |
| C27E | 0.078(5) | 0.035(3) | 0.167(10) | -0.006(3) | 0.015(6) | 0.008(5) |
| N28E | 0.065(3) | 0.042(3) | 0.041(3) | -0.003(2) | 0.011(2) | 0.002(2) |
| C29E | 0.070(4) | 0.036(3) | 0.043(3) | -0.001(3) | -0.005(3) | 0.012(2) |
| O30E | 0.050(3) | 0.058(2) | 0.046(2) | -0.001(2) | 0.000(2) | 0.014(2) |
| O31E | 0.056(3) | 0.085(3) | 0.046(2) | 0.004(2) | 0.003(2) | 0.010(2) |
| C32E | 0.073(5) | 0.080(5) | 0.048(4) | 0.011(4) | 0.014(3) | 0.012(3) |
| O22F | 0.055(3) | 0.060(3) | 0.096(4) | 0.015(2) | 0.032(3) | 0.021(3) |
| C33E | 0.123(8) | 0.120(8) | 0.073(6) | -0.008(7) | 0.014(5) | 0.045(6) |
| C34E | 0.108(7) | 0.116(7) | 0.044(4) | 0.018(6) | -0.010(4) | -0.002(4) |
| C35E | 0.096(6) | 0.087(6) | 0.070(5) | 0.019(5) | 0.002(4) | -0.008(4) |
| O36E | 0.067(3) | 0.044(2) | 0.047(2) | -0.012(2) | -0.002(2) | 0.016(2) |
| C37E | 0.112(6) | 0.055(4) | 0.069(4) | -0.033(4) | -0.031(4) | 0.035(4) |
| C38E | 0.056(4) | 0.049(3) | 0.056(4) | -0.005(3) | 0.001(3) | 0.023(3) |
| C39E | 0.089(4) | 0.100(5) | 0.101(5) | 0.004(4) | 0.018(4) | 0.024(4) |
| C40E | 0.127(6) | 0.138(6) | 0.146(6) | 0.009(4) | 0.002(4) | 0.032(5) |
| C41E | 0.111(5) | 0.120(5) | 0.113(5) | -0.006(4) | -0.021(4) | 0.044(4) |
| C42E | 0.113(5) | 0.092(4) | 0.075(4) | -0.032(4) | 0.013(4) | 0.019(3) |
| C43E | 0.084(4) | 0.065(3) | 0.073(4) | -0.001(3) | 0.003(3) | 0.021(3) |
| O44E | 0.044(2) | 0.037(2) | 0.058(2) | -0.001(2) | -0.003(2) | 0.013(2) |

| Atom | U ₁₁ | U ₂₂ | U ₃₃ | U ₁₂ | U ₁₃ | U ₂₃ |
|------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| C45E | 0.057(4) | 0.058(4) | 0.099(6) | 0.003(3) | -0.015(4) | 0.038(4) |
| C46E | 0.046(3) | 0.041(3) | 0.077(4) | 0.008(3) | 0.007(3) | 0.019(3) |
| C47E | 0.062(4) | 0.058(4) | 0.067(4) | 0.004(3) | 0.006(3) | 0.012(3) |
| C48E | 0.068(4) | 0.046(3) | 0.076(5) | -0.003(3) | 0.002(4) | 0.001(3) |
| C49E | 0.063(4) | 0.045(3) | 0.097(6) | -0.017(3) | 0.019(4) | -0.005(4) |
| C50E | 0.078(5) | 0.050(4) | 0.079(5) | 0.007(3) | 0.025(4) | 0.015(3) |
| C51E | 0.049(4) | 0.051(3) | 0.079(5) | 0.000(3) | 0.009(3) | 0.018(3) |
| O1F | 0.054(2) | 0.035(2) | 0.048(2) | 0.001(2) | 0.000(2) | 0.013(2) |
| C2F | 0.068(4) | 0.029(2) | 0.038(3) | 0.002(2) | 0.006(3) | 0.001(2) |
| C3F | 0.067(4) | 0.028(2) | 0.038(3) | 0.001(2) | 0.003(3) | 0.004(2) |
| C4F | 0.058(4) | 0.031(2) | 0.049(3) | 0.004(2) | -0.004(3) | 0.003(2) |
| C5F | 0.052(3) | 0.043(3) | 0.042(3) | 0.005(2) | 0.000(2) | 0.005(2) |
| C6F | 0.046(3) | 0.035(3) | 0.058(3) | -0.007(2) | -0.003(3) | 0.013(2) |
| O7F | 0.067(3) | 0.039(2) | 0.045(2) | 0.007(2) | -0.005(2) | 0.005(2) |
| C8F | 0.083(5) | 0.061(4) | 0.051(4) | 0.017(4) | -0.004(3) | 0.023(3) |
| O9F | 0.076(3) | 0.045(2) | 0.048(2) | 0.008(2) | -0.005(2) | 0.007(2) |
| C10F | 0.058(4) | 0.038(3) | 0.061(4) | 0.004(3) | -0.002(3) | 0.018(3) |
| C11F | 0.046(5) | 0.044(4) | 0.040(4) | 0.002(4) | 0.005(4) | 0.008(4) |
| C12F | 0.062(5) | 0.058(5) | 0.052(5) | 0.006(4) | -0.002(4) | 0.005(4) |
| C13F | 0.062(6) | 0.063(5) | 0.065(5) | -0.002(4) | 0.002(4) | 0.009(4) |
| C14F | 0.066(5) | 0.054(5) | 0.064(5) | 0.010(4) | -0.013(4) | 0.008(4) |
| C15F | 0.069(5) | 0.053(5) | 0.067(5) | -0.004(4) | -0.001(4) | 0.008(4) |
| C16F | 0.054(5) | 0.050(5) | 0.053(5) | -0.002(4) | -0.003(4) | 0.012(4) |
| C11H | 0.058(5) | 0.052(5) | 0.054(5) | 0.005(4) | -0.002(4) | 0.014(4) |
| C12H | 0.067(5) | 0.066(5) | 0.065(5) | 0.000(4) | 0.003(4) | 0.010(4) |
| C13H | 0.091(6) | 0.085(6) | 0.079(6) | 0.010(5) | 0.000(5) | 0.012(5) |
| C14H | 0.066(6) | 0.052(5) | 0.063(5) | 0.002(4) | -0.003(4) | 0.009(4) |
| C15H | 0.079(6) | 0.063(5) | 0.073(6) | -0.005(4) | -0.004(4) | 0.015(4) |
| C16H | 0.059(5) | 0.064(5) | 0.065(5) | -0.004(4) | -0.001(4) | 0.009(4) |
| C17F | 0.061(4) | 0.035(3) | 0.046(3) | -0.001(3) | 0.009(3) | 0.003(2) |
| C18F | 0.055(4) | 0.037(3) | 0.052(3) | 0.003(2) | 0.013(3) | 0.007(2) |
| C19F | 0.062(4) | 0.052(3) | 0.059(4) | 0.002(3) | 0.009(3) | 0.006(3) |
| C20F | 0.048(3) | 0.036(3) | 0.052(3) | 0.003(2) | 0.008(3) | 0.010(2) |
| C21F | 0.068(4) | 0.034(3) | 0.061(4) | 0.002(3) | 0.003(3) | 0.005(3) |
| O23F | 0.055(3) | 0.039(2) | 0.078(3) | 0.001(2) | 0.005(2) | 0.014(2) |
| C24F | 0.061(4) | 0.047(4) | 0.117(7) | 0.004(3) | -0.008(4) | 0.033(4) |
| C25F | 0.081(6) | 0.092(6) | 0.147(9) | 0.010(5) | 0.003(6) | 0.071(7) |
| C26F | 0.069(5) | 0.058(4) | 0.139(8) | -0.001(4) | -0.022(5) | 0.017(5) |
| C27F | 0.074(5) | 0.044(4) | 0.132(8) | 0.001(3) | -0.011(5) | 0.003(4) |
| N28F | 0.047(3) | 0.047(3) | 0.047(3) | 0.004(2) | -0.006(2) | 0.001(2) |
| C29F | 0.070(4) | 0.036(3) | 0.046(3) | 0.003(3) | 0.005(3) | 0.008(2) |
| O30F | 0.051(3) | 0.057(3) | 0.053(2) | 0.005(2) | 0.003(2) | 0.007(2) |
| O31F | 0.057(3) | 0.070(3) | 0.048(2) | -0.002(2) | 0.000(2) | 0.002(2) |
| C32F | 0.073(4) | 0.056(4) | 0.046(3) | -0.010(3) | -0.006(3) | 0.010(3) |
| C33F | 0.101(6) | 0.088(6) | 0.063(5) | 0.015(5) | -0.003(4) | 0.027(4) |
| C34F | 0.085(5) | 0.073(5) | 0.048(4) | -0.009(4) | 0.006(3) | 0.000(3) |
| C35F | 0.085(6) | 0.073(5) | 0.068(5) | -0.022(4) | 0.004(4) | -0.002(4) |
| O36F | 0.085(3) | 0.038(2) | 0.045(2) | 0.013(2) | 0.007(2) | 0.014(2) |
| C37F | 0.25(2) | 0.065(5) | 0.081(6) | 0.067(7) | 0.062(8) | 0.039(5) |
| C38F | 0.032(4) | 0.029(4) | 0.038(4) | 0.008(3) | 0.010(3) | 0.009(3) |
| C39F | 0.089(7) | 0.089(7) | 0.096(7) | 0.000(5) | 0.000(5) | 0.018(5) |
| C40F | 0.101(8) | 0.106(8) | 0.106(8) | 0.002(5) | 0.007(5) | 0.020(5) |
| C41F | 0.104(8) | 0.098(8) | 0.102(8) | 0.001(5) | 0.005(5) | 0.022(5) |
| C42F | 0.125(9) | 0.114(9) | 0.113(9) | 0.001(5) | 0.001(5) | 0.023(5) |
| C43F | 0.073(6) | 0.065(5) | 0.065(5) | 0.001(4) | 0.000(4) | 0.014(4) |
| C38G | 0.065(7) | 0.057(7) | 0.065(7) | 0.012(4) | 0.007(4) | 0.016(4) |
| C39G | 0.15(1) | 0.15(1) | 0.15(1) | 0.001(5) | 0.002(5) | 0.031(5) |

| Atom | U ₁₁ | U ₂₂ | U ₃₃ | U ₁₂ | U ₁₃ | U ₂₃ |
|------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| C40G | 0.16(1) | 0.16(1) | 0.16(1) | -0.002(5) | 0.005(5) | 0.033(5) |
| C41G | 0.102(8) | 0.106(8) | 0.101(8) | 0.005(5) | 0.003(5) | 0.027(5) |
| C42G | 0.099(8) | 0.098(8) | 0.094(7) | 0.002(5) | 0.009(5) | 0.017(5) |
| C43G | 0.085(7) | 0.078(6) | 0.081(7) | -0.003(5) | 0.004(5) | 0.017(5) |
| O44F | 0.050(2) | 0.039(2) | 0.058(2) | -0.002(2) | -0.002(2) | 0.013(2) |
| C45F | 0.051(4) | 0.071(5) | 0.156(9) | -0.002(4) | -0.004(5) | 0.052(6) |
| C46F | 0.053(4) | 0.045(3) | 0.101(6) | -0.013(3) | -0.025(4) | 0.024(4) |
| C47F | 0.074(5) | 0.060(4) | 0.091(6) | -0.003(4) | -0.009(4) | 0.013(4) |
| C48F | 0.090(6) | 0.046(4) | 0.098(6) | 0.006(4) | -0.003(5) | 0.001(4) |
| C49F | 0.081(5) | 0.045(4) | 0.104(6) | 0.004(4) | -0.020(5) | 0.010(4) |
| C50F | 0.080(5) | 0.049(4) | 0.086(5) | -0.003(4) | -0.011(4) | 0.021(4) |
| C51F | 0.069(5) | 0.063(4) | 0.094(6) | 0.008(4) | -0.005(4) | 0.033(4) |

Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome(Å²)

| Atom | X | Y | Z | U _{iso} |
|------|----------|---------|---------|------------------|
| H2A | 0.61625 | 0.70392 | 0.41264 | 0.051 |
| H3A | 0.64176 | 0.85127 | 0.45125 | 0.052 |
| H4A | 0.85815 | 0.74902 | 0.42823 | 0.052 |
| H5A | 0.91063 | 0.76445 | 0.50263 | 0.049 |
| H6A | 0.75578 | 0.67146 | 0.47737 | 0.056 |
| H8A | 0.84027 | 0.81995 | 0.57474 | 0.055 |
| H10A | 0.62659 | 0.67409 | 0.54123 | 0.060 |
| H10B | 0.78413 | 0.69645 | 0.55246 | 0.060 |
| H12A | 0.50445 | 0.89124 | 0.55853 | 0.070 |
| H13A | 0.43000 | 1.00456 | 0.59108 | 0.076 |
| H14A | 0.57850 | 1.07905 | 0.63678 | 0.084 |
| H15A | 0.79570 | 1.04183 | 0.65264 | 0.081 |
| H16A | 0.87395 | 0.93016 | 0.62022 | 0.069 |
| H17A | 0.40604 | 0.80083 | 0.44832 | 0.050 |
| H17B | 0.42800 | 0.77937 | 0.39827 | 0.050 |
| H19A | 0.36370 | 0.67530 | 0.35761 | 0.088 |
| H19B | 0.21141 | 0.65758 | 0.37032 | 0.088 |
| H19C | 0.33701 | 0.60809 | 0.37901 | 0.088 |
| H25A | 0.26504 | 0.46836 | 0.49857 | 0.098 |
| H25B | 0.12327 | 0.45092 | 0.51875 | 0.098 |
| H25C | 0.20554 | 0.52219 | 0.53838 | 0.098 |
| H26A | -0.07726 | 0.58452 | 0.48188 | 0.088 |
| H26B | -0.00676 | 0.59156 | 0.52835 | 0.088 |
| H26C | -0.08864 | 0.52087 | 0.50727 | 0.088 |
| H27A | 0.02389 | 0.50573 | 0.41919 | 0.091 |
| H27B | 0.01664 | 0.43871 | 0.44190 | 0.091 |
| H27C | 0.16022 | 0.46179 | 0.42527 | 0.091 |
| H28A | 0.40003 | 0.73769 | 0.50282 | 0.054 |
| H33A | 0.20967 | 0.67841 | 0.62219 | 0.122 |
| H33B | 0.07955 | 0.70910 | 0.60010 | 0.122 |
| H33C | 0.11592 | 0.73776 | 0.64955 | 0.122 |
| H34A | 0.41854 | 0.74805 | 0.64028 | 0.114 |
| H34B | 0.33882 | 0.81205 | 0.66887 | 0.114 |
| H34C | 0.43078 | 0.82624 | 0.63056 | 0.114 |

| Atom | X | Y | Z | U _{iso} |
|------|---------|----------|---------|------------------|
| H35A | 0.08658 | 0.83428 | 0.58885 | 0.136 |
| H35B | 0.22614 | 0.87916 | 0.59861 | 0.136 |
| H35C | 0.13489 | 0.86512 | 0.63711 | 0.136 |
| H37A | 0.74482 | 0.91744 | 0.40063 | 0.080 |
| H37B | 0.58051 | 0.91015 | 0.39769 | 0.080 |
| H39A | 0.52933 | 0.97567 | 0.34409 | 0.084 |
| H40A | 0.53340 | 0.98769 | 0.27280 | 0.098 |
| H41A | 0.67268 | 0.91257 | 0.22565 | 0.096 |
| H42A | 0.81485 | 0.83157 | 0.25047 | 0.090 |
| H43A | 0.81211 | 0.82011 | 0.32078 | 0.082 |
| H45A | 1.06328 | 0.83117 | 0.48573 | 0.108 |
| H45B | 1.08314 | 0.79110 | 0.43749 | 0.108 |
| H47A | 1.25497 | 0.89884 | 0.50474 | 0.081 |
| H48A | 1.41908 | 0.97892 | 0.49200 | 0.080 |
| H49A | 1.39750 | 1.02852 | 0.43135 | 0.082 |
| H50A | 1.21832 | 0.99772 | 0.38335 | 0.077 |
| H51A | 1.06124 | 0.91138 | 0.39342 | 0.080 |
| H2B | 1.12362 | 0.30950 | 0.50322 | 0.050 |
| H3B | 1.14244 | 0.16274 | 0.46521 | 0.051 |
| H4B | 1.36383 | 0.26486 | 0.48822 | 0.050 |
| H5B | 1.40164 | 0.24792 | 0.41419 | 0.053 |
| H6B | 1.25338 | 0.34188 | 0.43962 | 0.056 |
| H8B | 1.31629 | 0.19245 | 0.34188 | 0.059 |
| H10C | 1.10920 | 0.33849 | 0.37609 | 0.061 |
| H10D | 1.26432 | 0.31640 | 0.36414 | 0.061 |
| H12B | 0.98435 | 0.11985 | 0.36042 | 0.077 |
| H13B | 0.90432 | 0.00788 | 0.32720 | 0.083 |
| H14B | 1.04139 | -0.06838 | 0.28169 | 0.088 |
| H15B | 1.25940 | -0.03480 | 0.26738 | 0.089 |
| H16B | 1.33703 | 0.08147 | 0.29531 | 0.072 |
| H17C | 0.90373 | 0.21342 | 0.46852 | 0.053 |
| H17D | 0.93626 | 0.23506 | 0.51849 | 0.053 |
| H19D | 0.88078 | 0.33809 | 0.55851 | 0.085 |
| H19E | 0.72664 | 0.35656 | 0.54579 | 0.085 |
| H19F | 0.85155 | 0.40577 | 0.53744 | 0.085 |
| H25D | 0.75719 | 0.54424 | 0.41740 | 0.104 |
| H25E | 0.61196 | 0.56225 | 0.39737 | 0.104 |
| H25F | 0.68885 | 0.49025 | 0.37799 | 0.104 |
| H26D | 0.48169 | 0.42191 | 0.38803 | 0.095 |
| H26E | 0.39993 | 0.49101 | 0.40978 | 0.095 |
| H26F | 0.41958 | 0.42654 | 0.43435 | 0.095 |
| H27D | 0.66398 | 0.55449 | 0.48931 | 0.109 |
| H27E | 0.53496 | 0.50771 | 0.49741 | 0.109 |
| H27F | 0.51302 | 0.57299 | 0.47366 | 0.109 |
| H28B | 0.89051 | 0.27512 | 0.41413 | 0.055 |
| H33D | 0.54356 | 0.29551 | 0.31541 | 0.130 |
| H33E | 0.58077 | 0.27044 | 0.26635 | 0.130 |
| H33F | 0.66979 | 0.33130 | 0.29623 | 0.130 |
| H34D | 0.89307 | 0.18184 | 0.28603 | 0.119 |
| H34E | 0.88482 | 0.26088 | 0.27740 | 0.119 |
| H34F | 0.79688 | 0.19909 | 0.24793 | 0.119 |

| Atom | X | Y | Z | U _{iso} |
|------|---------|----------|----------|------------------|
| H35D | 0.55927 | 0.17604 | 0.32910 | 0.135 |
| H35E | 0.69748 | 0.13138 | 0.31955 | 0.135 |
| H35F | 0.59820 | 0.14384 | 0.28094 | 0.135 |
| H37C | 1.25630 | 0.09741 | 0.51485 | 0.067 |
| H37D | 1.09239 | 0.10324 | 0.51825 | 0.067 |
| H39B | 1.05277 | 0.03812 | 0.57338 | 0.073 |
| H40B | 1.07494 | 0.02333 | 0.64222 | 0.091 |
| H41B | 1.22034 | 0.09644 | 0.69074 | 0.096 |
| H42B | 1.35941 | 0.18161 | 0.66607 | 0.092 |
| H43B | 1.34214 | 0.18985 | 0.59374 | 0.073 |
| H45C | 1.58412 | 0.22249 | 0.48212 | 0.117 |
| H45D | 1.55954 | 0.18447 | 0.43332 | 0.117 |
| H47B | 1.74897 | 0.11515 | 0.41346 | 0.081 |
| H48B | 1.90856 | 0.03350 | 0.42613 | 0.076 |
| H49B | 1.89565 | -0.01798 | 0.48514 | 0.075 |
| H50B | 1.73272 | 0.01897 | 0.53653 | 0.076 |
| H51B | 1.57494 | 0.10416 | 0.52661 | 0.074 |
| H2C | 1.20370 | 0.97627 | 0.17160 | 0.064 |
| H3C | 1.23165 | 0.82789 | 0.13585 | 0.062 |
| H4C | 1.44967 | 0.93071 | 0.15405 | 0.065 |
| H5C | 1.47876 | 0.91451 | 0.08028 | 0.063 |
| H6C | 1.33025 | 1.00801 | 0.10746 | 0.070 |
| H8C | 1.39168 | 0.86039 | 0.00834 | 0.075 |
| H10E | 1.18612 | 1.00765 | 0.04539 | 0.076 |
| H10F | 1.34113 | 0.98594 | 0.03301 | 0.076 |
| H12C | 1.06212 | 0.78814 | 0.02517 | 0.090 |
| H13C | 0.98031 | 0.68024 | -0.00820 | 0.103 |
| H14C | 1.11708 | 0.60354 | -0.05835 | 0.105 |
| H15C | 1.33498 | 0.63932 | -0.07087 | 0.107 |
| H16C | 1.41707 | 0.75313 | -0.03877 | 0.103 |
| H17E | 0.99078 | 0.87685 | 0.13892 | 0.064 |
| H17F | 1.02423 | 0.90225 | 0.18861 | 0.064 |
| H19G | 0.96790 | 1.00762 | 0.22640 | 0.093 |
| H19H | 0.81227 | 1.02463 | 0.21443 | 0.093 |
| H19I | 0.93511 | 1.07266 | 0.20326 | 0.093 |
| H25G | 0.84238 | 1.20580 | 0.08512 | 0.119 |
| H25H | 0.69940 | 1.22416 | 0.06386 | 0.119 |
| H25I | 0.77674 | 1.15198 | 0.04515 | 0.119 |
| H26G | 0.56085 | 1.08771 | 0.05414 | 0.108 |
| H26H | 0.48104 | 1.15542 | 0.07875 | 0.108 |
| H26I | 0.50464 | 1.08834 | 0.10082 | 0.108 |
| H27G | 0.75445 | 1.21508 | 0.15518 | 0.117 |
| H27H | 0.62904 | 1.16716 | 0.16470 | 0.117 |
| H27I | 0.60034 | 1.23370 | 0.14253 | 0.117 |
| H28C | 0.97058 | 0.93317 | 0.08200 | 0.064 |
| H33G | 0.63329 | 0.96831 | -0.01709 | 0.164 |
| H33H | 0.67278 | 0.94547 | -0.06610 | 0.164 |
| H33I | 0.76554 | 1.00217 | -0.03435 | 0.164 |
| H34G | 0.97430 | 0.85052 | -0.04757 | 0.134 |
| H34H | 0.96922 | 0.93102 | -0.05368 | 0.134 |
| H34I | 0.88065 | 0.87183 | -0.08504 | 0.134 |

| Atom | X | Y | Z | U _{iso} |
|------|---------|---------|----------|------------------|
| H35G | 0.77126 | 0.79606 | -0.01894 | 0.150 |
| H35H | 0.66857 | 0.81679 | -0.05450 | 0.150 |
| H35I | 0.63878 | 0.84328 | -0.00500 | 0.150 |
| H37E | 1.42051 | 0.80059 | 0.21080 | 0.100 |
| H37F | 1.29775 | 0.76299 | 0.18021 | 0.100 |
| H39C | 1.09669 | 0.73066 | 0.21060 | 0.137 |
| H40C | 0.97102 | 0.71385 | 0.26713 | 0.166 |
| H41C | 1.05557 | 0.75060 | 0.33565 | 0.158 |
| H42C | 1.25738 | 0.82049 | 0.34753 | 0.140 |
| H43C | 1.38498 | 0.83940 | 0.28745 | 0.085 |
| H45E | 1.66657 | 0.88362 | 0.13431 | 0.093 |
| H45F | 1.62013 | 0.83647 | 0.08924 | 0.093 |
| H47C | 1.83231 | 0.78088 | 0.07401 | 0.080 |
| H48C | 1.99776 | 0.69784 | 0.08685 | 0.089 |
| H49C | 1.98503 | 0.64771 | 0.14701 | 0.093 |
| H50C | 1.80136 | 0.67482 | 0.19221 | 0.090 |
| H51C | 1.65137 | 0.76156 | 0.18334 | 0.081 |
| H2D | 0.68283 | 0.36431 | 0.07894 | 0.059 |
| H3D | 0.70853 | 0.51076 | 0.11881 | 0.060 |
| H4D | 0.92401 | 0.41046 | 0.09399 | 0.061 |
| H5D | 0.98440 | 0.42480 | 0.16810 | 0.064 |
| H6D | 0.83180 | 0.33108 | 0.14140 | 0.066 |
| H8D | 0.91408 | 0.46812 | 0.23630 | 0.085 |
| H10G | 0.70581 | 0.32828 | 0.20596 | 0.072 |
| H10H | 0.86302 | 0.35176 | 0.21696 | 0.072 |
| H12D | 0.92585 | 0.53661 | 0.30982 | 0.104 |
| H13D | 0.84441 | 0.63600 | 0.35639 | 0.118 |
| H14D | 0.67075 | 0.70518 | 0.33342 | 0.123 |
| H15D | 0.57852 | 0.67498 | 0.26388 | 0.118 |
| H16D | 0.65995 | 0.57560 | 0.21732 | 0.118 |
| H12G | 0.88173 | 0.56665 | 0.30369 | 0.081 |
| H13G | 0.78468 | 0.66889 | 0.34325 | 0.076 |
| H14G | 0.59132 | 0.71962 | 0.31618 | 0.085 |
| H15G | 0.49501 | 0.66810 | 0.24955 | 0.088 |
| H16G | 0.59206 | 0.56585 | 0.20999 | 0.090 |
| H17G | 0.47051 | 0.45906 | 0.11592 | 0.063 |
| H17H | 0.48786 | 0.43486 | 0.06575 | 0.063 |
| H19J | 0.42852 | 0.32609 | 0.02840 | 0.107 |
| H19K | 0.27879 | 0.30886 | 0.04344 | 0.107 |
| H19L | 0.40760 | 0.26194 | 0.05288 | 0.107 |
| H25J | 0.35891 | 0.13870 | 0.17958 | 0.172 |
| H25K | 0.22647 | 0.12476 | 0.20550 | 0.172 |
| H25L | 0.31269 | 0.19659 | 0.21955 | 0.172 |
| H26J | 0.01476 | 0.24924 | 0.16785 | 0.133 |
| H26K | 0.09871 | 0.26620 | 0.21244 | 0.133 |
| H26L | 0.01495 | 0.19346 | 0.19906 | 0.133 |
| H27J | 0.10398 | 0.16349 | 0.10682 | 0.169 |
| H27K | 0.11109 | 0.10026 | 0.13277 | 0.169 |
| H27L | 0.24673 | 0.12425 | 0.11198 | 0.169 |
| H28D | 0.47597 | 0.40358 | 0.17340 | 0.069 |
| H33J | 0.15153 | 0.40022 | 0.27426 | 0.153 |

| Atom | X | Y | Z | U _{iso} |
|------|---------|----------|----------|------------------|
| H33K | 0.19755 | 0.43708 | 0.32180 | 0.153 |
| H33L | 0.28850 | 0.37502 | 0.29577 | 0.153 |
| H34J | 0.49327 | 0.52611 | 0.29341 | 0.123 |
| H34K | 0.49229 | 0.45172 | 0.30868 | 0.123 |
| H34L | 0.40579 | 0.51663 | 0.33366 | 0.123 |
| H35J | 0.29223 | 0.56598 | 0.25728 | 0.117 |
| H35K | 0.19093 | 0.55749 | 0.29464 | 0.117 |
| H35L | 0.15742 | 0.51747 | 0.24676 | 0.117 |
| H37G | 0.81280 | 0.57818 | 0.07030 | 0.083 |
| H37H | 0.64818 | 0.57342 | 0.06674 | 0.083 |
| H39D | 0.60389 | 0.63900 | 0.01167 | 0.099 |
| H40D | 0.61081 | 0.65099 | -0.05960 | 0.136 |
| H41D | 0.76892 | 0.58493 | -0.10411 | 0.135 |
| H42D | 0.89856 | 0.49952 | -0.07914 | 0.108 |
| H43D | 0.88497 | 0.48692 | -0.00821 | 0.090 |
| H45G | 1.14325 | 0.48309 | 0.14342 | 0.123 |
| H45H | 1.14514 | 0.45260 | 0.09321 | 0.123 |
| H47D | 1.31788 | 0.55791 | 0.16633 | 0.099 |
| H48D | 1.46703 | 0.64578 | 0.15750 | 0.093 |
| H49D | 1.44852 | 0.69627 | 0.09781 | 0.092 |
| H50D | 1.28526 | 0.65836 | 0.04575 | 0.084 |
| H51D | 1.13481 | 0.56635 | 0.05232 | 0.090 |
| H2E | 0.75792 | 0.03178 | 0.74334 | 0.054 |
| H3E | 0.78532 | 0.17985 | 0.78169 | 0.053 |
| H4E | 1.00457 | 0.07906 | 0.76125 | 0.056 |
| H5E | 1.05092 | 0.09298 | 0.83517 | 0.055 |
| H6E | 0.90119 | -0.00098 | 0.80648 | 0.057 |
| H8E | 0.97845 | 0.14076 | 0.90746 | 0.074 |
| H10I | 0.76130 | -0.00405 | 0.86854 | 0.070 |
| H10J | 0.91913 | 0.01489 | 0.88188 | 0.070 |
| H12E | 0.96429 | 0.22115 | 0.97332 | 0.158 |
| H13E | 0.85233 | 0.33834 | 1.00975 | 0.133 |
| H14E | 0.66923 | 0.37794 | 0.98468 | 0.137 |
| H15E | 0.57620 | 0.33356 | 0.91959 | 0.119 |
| H16E | 0.66714 | 0.22930 | 0.87937 | 0.111 |
| H17I | 0.55013 | 0.13151 | 0.77798 | 0.050 |
| H17J | 0.56921 | 0.10439 | 0.72807 | 0.050 |
| H19M | 0.50308 | -0.00354 | 0.69204 | 0.091 |
| H19N | 0.35205 | -0.01984 | 0.70647 | 0.091 |
| H19O | 0.47922 | -0.06717 | 0.71675 | 0.091 |
| H25M | 0.42754 | -0.18950 | 0.84050 | 0.153 |
| H25N | 0.29141 | -0.20743 | 0.86347 | 0.153 |
| H25O | 0.37238 | -0.13480 | 0.88065 | 0.153 |
| H26M | 0.15411 | -0.07087 | 0.87393 | 0.138 |
| H26N | 0.07238 | -0.14188 | 0.85339 | 0.138 |
| H26O | 0.08076 | -0.07831 | 0.82783 | 0.138 |
| H27M | 0.31557 | -0.20450 | 0.77211 | 0.142 |
| H27N | 0.18011 | -0.16035 | 0.76532 | 0.142 |
| H27O | 0.17240 | -0.22450 | 0.79043 | 0.142 |
| H28E | 0.54157 | 0.07950 | 0.83614 | 0.060 |
| H33M | 0.22435 | 0.05645 | 0.93622 | 0.153 |

| Atom | X | Y | Z | U _{iso} |
|------|----------|---------|---------|------------------|
| H33N | 0.26890 | 0.08648 | 0.98491 | 0.153 |
| H33O | 0.36205 | 0.02875 | 0.95599 | 0.153 |
| H34M | 0.56225 | 0.10993 | 0.97348 | 0.137 |
| H34N | 0.47367 | 0.17262 | 0.99992 | 0.137 |
| H34O | 0.56088 | 0.18610 | 0.96045 | 0.137 |
| H35M | 0.21686 | 0.17893 | 0.91845 | 0.131 |
| H35N | 0.34964 | 0.22919 | 0.92748 | 0.131 |
| H35O | 0.25988 | 0.21533 | 0.96633 | 0.131 |
| H37I | 0.96209 | 0.21360 | 0.70973 | 0.091 |
| H37J | 0.83764 | 0.24824 | 0.73847 | 0.091 |
| H39E | 0.64067 | 0.28612 | 0.70714 | 0.115 |
| H40E | 0.52229 | 0.30791 | 0.64609 | 0.164 |
| H41E | 0.57485 | 0.25976 | 0.58483 | 0.135 |
| H42E | 0.77712 | 0.19914 | 0.56963 | 0.111 |
| H43E | 0.91064 | 0.17302 | 0.63021 | 0.087 |
| H45I | 1.22493 | 0.12526 | 0.77806 | 0.082 |
| H45J | 1.19215 | 0.16847 | 0.82472 | 0.082 |
| H47E | 1.40157 | 0.22985 | 0.83994 | 0.075 |
| H48E | 1.56058 | 0.31116 | 0.82896 | 0.077 |
| H49E | 1.53007 | 0.36751 | 0.77007 | 0.085 |
| H50E | 1.34863 | 0.33346 | 0.72106 | 0.082 |
| H51E | 1.19243 | 0.24848 | 0.73254 | 0.071 |
| H2F | 0.26154 | 0.64940 | 0.83814 | 0.055 |
| H3F | 0.28250 | 0.50168 | 0.79988 | 0.054 |
| H4F | 0.50568 | 0.60149 | 0.82286 | 0.056 |
| H5F | 0.54065 | 0.58953 | 0.74786 | 0.055 |
| H6F | 0.39413 | 0.68216 | 0.77562 | 0.055 |
| H8F | 0.45519 | 0.53613 | 0.67421 | 0.076 |
| H10K | 0.25098 | 0.68550 | 0.71338 | 0.061 |
| H10L | 0.40646 | 0.66428 | 0.70110 | 0.061 |
| H12F | 0.41286 | 0.44808 | 0.61262 | 0.070 |
| H13F | 0.30672 | 0.34692 | 0.57252 | 0.077 |
| H14F | 0.11945 | 0.29551 | 0.59980 | 0.075 |
| H15F | 0.03832 | 0.34528 | 0.66718 | 0.076 |
| H16F | 0.14446 | 0.44644 | 0.70728 | 0.063 |
| H12H | 0.44722 | 0.47977 | 0.60679 | 0.080 |
| H13H | 0.36200 | 0.37851 | 0.56094 | 0.103 |
| H14H | 0.20018 | 0.30644 | 0.58505 | 0.073 |
| H15H | 0.12358 | 0.33562 | 0.65501 | 0.086 |
| H16H | 0.20880 | 0.43688 | 0.70086 | 0.075 |
| H17K | 0.07851 | 0.57952 | 0.85438 | 0.058 |
| H17L | 0.04890 | 0.55079 | 0.80474 | 0.058 |
| H19P | 0.01777 | 0.68769 | 0.88967 | 0.087 |
| H19Q | -0.13657 | 0.70267 | 0.87529 | 0.087 |
| H19R | -0.01281 | 0.75042 | 0.86443 | 0.087 |
| H25P | -0.07613 | 0.86595 | 0.73750 | 0.151 |
| H25Q | -0.21199 | 0.88785 | 0.71390 | 0.151 |
| H25R | -0.14008 | 0.81351 | 0.69665 | 0.151 |
| H26P | -0.42576 | 0.76054 | 0.75120 | 0.134 |
| H26Q | -0.35808 | 0.74807 | 0.70527 | 0.134 |
| H26R | -0.43572 | 0.82061 | 0.72293 | 0.134 |

| Atom | X | Y | Z | U _{iso} |
|------|----------|---------|---------|------------------|
| H27P | -0.18690 | 0.88746 | 0.80512 | 0.128 |
| H27Q | -0.31856 | 0.84215 | 0.81279 | 0.128 |
| H27R | -0.33497 | 0.90502 | 0.78680 | 0.128 |
| H28F | 0.03095 | 0.60181 | 0.74574 | 0.058 |
| H33P | -0.17599 | 0.63828 | 0.62150 | 0.123 |
| H33Q | -0.30712 | 0.61497 | 0.64478 | 0.123 |
| H33R | -0.27623 | 0.57710 | 0.59688 | 0.123 |
| H34P | 0.02217 | 0.56316 | 0.60779 | 0.105 |
| H34Q | -0.06759 | 0.49744 | 0.58326 | 0.105 |
| H34R | 0.03036 | 0.48876 | 0.62297 | 0.105 |
| H35P | -0.17290 | 0.44697 | 0.65909 | 0.116 |
| H35Q | -0.27418 | 0.45701 | 0.62041 | 0.116 |
| H35R | -0.30535 | 0.49636 | 0.66800 | 0.116 |
| H37K | 0.45276 | 0.45470 | 0.86205 | 0.151 |
| H37L | 0.30203 | 0.43170 | 0.84299 | 0.151 |
| H39F | 0.15649 | 0.38435 | 0.88794 | 0.110 |
| H40F | 0.09019 | 0.37765 | 0.95691 | 0.125 |
| H41F | 0.21668 | 0.43813 | 1.01610 | 0.121 |
| H42F | 0.40946 | 0.50530 | 1.00632 | 0.141 |
| H43F | 0.47575 | 0.51200 | 0.93735 | 0.081 |
| H39G | 0.13422 | 0.40632 | 0.87473 | 0.175 |
| H40G | 0.02411 | 0.37062 | 0.93134 | 0.190 |
| H41G | 0.12056 | 0.39874 | 1.00043 | 0.122 |
| H42G | 0.32711 | 0.46257 | 1.01290 | 0.116 |
| H43G | 0.43723 | 0.49827 | 0.95629 | 0.097 |
| H45K | 0.72340 | 0.55839 | 0.81505 | 0.106 |
| H45L | 0.69752 | 0.52400 | 0.76563 | 0.106 |
| H47F | 0.88357 | 0.45051 | 0.74475 | 0.090 |
| H48F | 1.04204 | 0.36466 | 0.75739 | 0.096 |
| H49F | 1.02869 | 0.31387 | 0.81575 | 0.093 |
| H50F | 0.85583 | 0.34731 | 0.86501 | 0.085 |
| H51F | 0.70839 | 0.44060 | 0.85672 | 0.088 |

Literatur

- ¹ Munk, K. *Biochemie, Zellbiologie, Ökologie, Evolution*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, 2000.
- ² Hirsch-Kauffmann, M.; Schweiger, M.; Schweiger, M.-R. *Biologie und molekulare Medizin*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2009.
- ³ Voet, D.; Voet, J. G.; Pratt, C. W. *Lehrbuch der Biochemie*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2002.
- ⁴ McMurray, R. W. *Semin. Arthritis Rheum.*, **1996**, 25, 215.
- ⁵ Turner, G. A.; Catterall, J. B. *Biochem. Soc. Trans.*, **1996**, 25, 234.
- ⁶ Kannagi, R. *Glycoconjugate J.*, **1997**, 14, 577.
- ⁷ McEver, R. P. *Glycoconjugate J.*, **1997**, 14, 585.
- ⁸ Renkonen, R.; Mattila, P.; Majuri, M.-L.; Rabinä, J.; Toppila, S.; Renkonen, J.; Hirvas, L.; Niittymäki, J.; Turunen, J. P.; Renkonen, O.; Paavonen, T. *Glycoconjugate J.*, **1997**, 14, 593.
- ⁹ Renkonen, J.; Paavonen, T.; Renkonen, R. *Int. J. Cancer*, **1997**, 74, 296.
- ¹⁰ Krause, T.; Turner, G. A. *Clin. Exp. Metastasis*, **1999**, 17, 183.
- ¹¹ Borsig, L. *News Physiol. Sci.*, **2004**, 19, 16.
- ¹² Reis, C. A.; Osorio, H.; Silva, L.; Gomes, C.; David, L. *J. Clin. Pathol.*, **2010**, 63, 322.
- ¹³ Sharon, N.; Lis, H. *Spektrum der Wissenschaft*, **1993**, 3, 66.
- ¹⁴ Janeway, C. A.; Travers, P.; Walport, M.; Shlomchik, M. *Immunologie*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, 5. Auflage, 2002.
- ¹⁵ Springer, T.A. *Nature*, **1990**, 346, 425.
- ¹⁶ Simanek, L. L.; McGarvey, G. J.; Jablonowski, J. A.; Wong, C.-H. *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 833.
- ¹⁷ Ley, K., Hrsg. *Adhesion Molecules: Function and Inhibition*. Birkhäuser Verlag AG, Basel, Schweiz, 2007.
- ¹⁸ McEver, R. P.; Moore, K. L.; Cummings, R. D. *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 11025.
- ¹⁹ McEver, R. P. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2002**, 14, 581.

- ²⁰ Vleminckx, K.; Kemler, R. *BioEssays*, **1999**, *21*, 211.
- ²¹ Shattil, S.; Ginsberg, M. H. *J. Clin. Invest.*, **1997**, *100*, 1.
- ²² Edelmann, G. M.; Crossin, K. L. *Annu. Rev. Biochem.*, **1991**, *60*, 155.
- ²³ Philipps, M. L.; Nudelmann, E.; Gaeta, F. C. A.; Perez, M.; Sinhhai, A. K.; Hakomori, S. I.; Paulson, J. C. *Science*, **1990**, *250*, 1130.
- ²⁴ Turunen, J. P.; Paavonen, T.; Majuri, M.-L.; Tiisala, S.; Mattila, P.; Mennander, A.; Gahmberg, C. G.; Häyry, P.; Tamatani, T.; Miyasaka, M.; Renkonen, R. *Eur. J. Immunol.*, **1994**, *24*, 1130.
- ²⁵ Ehrhardt, C.; Kneuer, C.; Bakowsky, U. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2004**, *56*, 527.
- ²⁶ Bevilacqua, M. P.; Stengelin, S.; Gimbrone jr., M. A.; Seed, B. *Science*, **1989**, *243*, 1160.
- ²⁷ Buerke, M.; Weyrich, A. S.; Zheng, Z.; Gaeta, F. C. A.; Forrest, M. J.; Lefer, A. M. *J. Clin. Invest.*, **1994**, *93*, 1140.
- ²⁸ Stahl, W.; Sprengard, U.; Kretzschmar, G.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **1994**, *106*, 2186.
- ²⁹ Bradley, B. K.; Kiso, M.; Abbas, S.; Nikrad, P.; Srivasatava, O.; Foxall, C.; Oda, Y.; Hasegawa, A. *Glycobiology*, **1993**, *3*, 633.
- ³⁰ Filser, Christian. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2005.
- ³¹ Wong, C.-H.; Moris-Varas, F.; Hung, S.-C.; Marron, T.G.; Lin, C.-C.; Gong, K.W.; Weitz-Schmidt, G.J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *110*, 8125.
- ³² Rösch, M., D.; Herzner, H.; Wild, M.; Vestweber, D.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **2001**, *40*, 3836.
- ³³ Ohmoto, H.; Nakamura, K.; Inoue, T.; Kondo, N.; Inoue, Y.; Yoshino, K.; Kondo, H.; Ishida, H.; Kiso, M.; Hasegawa, A. *J. Med. Chem.*, **1996**, *39*, 1339.
- ³⁴ Thoma, G.; Kinzy, W.; Bruns, C.; Patton, J. T.; Magnani, J. L.; Banteli, R. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 4909.
- ³⁵ Banteli, R.; Herold, P.; Bruns, C.; Patton, J. T.; Magnani, J. L.; Thoma, G. *Helv. Chim. Acta*, **2000**, *83*, 2893.
- ³⁶ Thoma, G.; Schwarzenbach, F. *Helv. Chim. Acta*, **2003**, *86*, 855.
- ³⁷ Unger, F. M. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **2001**, *57*, 207.
- ³⁸ Thomas IV, B. E.; Kaila, N. *Med. Res. Rev.*, **2002**, *22*, 566.

- ³⁹ Kansas, G. S.; Saunders, K. B.; Ley, K.; Zakrzewics, A.; Gibson, R. M.; Furie, B.; Furie, B. C.; Tedder, T. F. *J. Cell Biol.*, **1994**, *106*, 188.
- ⁴⁰ Fukuda, M.; Hiraoka, N.; Yeh, J.-C. *J. Cell Biol.*, **1999**, *147*, 467.
- ⁴¹ Yamaguchi, A.; Ding, K.; Maehara, M.; Goi, T.; Nakagawara, G. *Oncology*, **1998**, *55*, 357.
- ⁴² Shimodaira, K.; Nakayama, J.; Nakamura, N.; Hasebe, O.; Katsuyama, T.; Fukuda, M. *Cancer Res.*, **1997**, *57*, 5201.
- ⁴³ Burdick, M. D.; Harris, A.; Reid, C. J.; Iwamura, T.; Hollingsworth, M. A. *J. Biol. Chem.*, **1997**, *272*, 24198.
- ⁴⁴ Hanski, C.; Hanski, M. L.; Zimmer, T.; Ogorek, D.; Devine, P.; Riecken, E. O. *Cancer Res.*, **1995**, *55*, 928.
- ⁴⁵ St. Hill, C. A.; Bullard, K. M.; Walcheck, B. *Cancer Lett.*, **2005**, *217*, 105.
- ⁴⁶ Nakamori, S.; Kameyama, M.; Imaoka, S.; Furukawa, H.; Ishikawa, O.; Sasaki, Y.; Izumi, Y.; Irimura, T. *Dis. Colon Rectum*, **1997**, *40*, 420.
- ⁴⁷ Cazet, A.; Julien, S.; Bobowski, M.; Krzewinski-Recchi, M.-A.; Harduin-Lepers, A.; Groux-Degroote, S.; Delannoy, P. *Carbohydr. Res.*, **2010**, *345*, 1377.
- ⁴⁸ Kim, Y. J.; Borsig, L.; Han, H.-L.; Varki, N. M.; Varki, A. *Am. J. Pathol.*, **1999**, *155*, 461.
- ⁴⁹ Baumann, K.; Kowalczyk, D.; Gutjahr, T.; Pieczyk, M.; Jones, C.; Wild, M. K.; Vestweber, D.; Kunz, H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, 3174.
- ⁵⁰ Brockhausen, I.; Yang, J.-M.; Bruchell, J.; Whitehouse, C.; Taylor-Papadimitriou, J. *Eur. J. Biochem.*, **1995**, *233*, 607.
- ⁵¹ Baker, M. A.; Kanani, A.; Brockhausen, I.; Schachter, H.; Hindenburg, A.; Taub, R. N. *Cancer Res.*, **1987**, *47*, 2763.
- ⁵² Hanisch, F.-G.; Muller, S. *Glycobiology*, **2000**, *10*, 439.
- ⁵³ Roussel, P.; Lamblin, G. *Glycoproteins and Disease, Vol. 30*. Elsevier, Amsterdam, 1996.
- ⁵⁴ Hanisch, F.-G. *Biol. Chem.*, **2001**, *382*, 143.
- ⁵⁵ Gum Jr., J. R. *Biochem. Soc. Trans.*, **1995**, *23*, 795.
- ⁵⁶ Carlstedt, I.; Davies, J. R. *Biochem. Soc. Trans.*, **1997**, *25*, 241.

- ⁵⁷ Ju, T.; Aryal, R. P.; Stowell, C. J.; Cummings, R. D. *J. Cell Biol.*, **2008**, *182*, 531.
- ⁵⁸ Hilkins, J.; Ligtenberg, M. J. L.; Vos, H. L.; Litvinov, S. V. *Trends Biochem. Sci.*, **1992**, *17*, 359.
- ⁵⁹ Gendler, S. J.; Lancaster, C. A.; Taylor-Papadimitriou, J.; Duhig, T.; Peat, N.; Burchell, J. M.; Pemberton, L.; Lalani, E.; Wilson, D. *J. Biol. Chem.*, **1990**, *265*, 15286.
- ⁶⁰ Taylor-Papadimitriou, J.; Burchell, J. M.; Miles, D. W.; Dalziel, M. *Biochim. Biophys. Acta*, **1999**, *1455*, 301.
- ⁶¹ Gendler, S. J. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **2001**, *6*, 339.
- ⁶² Taylor-Papadimitriou, J.; Burchell, J. M.; Plunkett, T.; Graham, R.; Correra, I.; Miles, D.; Smith, M. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, **2002**, *7*, 209.
- ⁶³ Hanisch, F.-G. *Biochem. Soc. Trans.*, **2005**, *33*, 705.
- ⁶⁴ Yonezawa, S.; Goto, M.; Yamada, N.; Higashi, M.; Nomoto, M. *Proteomics*, **2008**, *8*, 3329.
- ⁶⁵ Vlad, A. M.; Kettel, J. C.; Alajez, N. M.; Carlos, C. A.; Finn, O. J. *Adv. Immunol.*, **2004**, *82*, 249.
- ⁶⁶ Sangha, R.; Butts, C. *Clin. Cancer Res.*, **2007**, *13*, 4652.
- ⁶⁷ Girling, A.; Bartkova, J.; Burchell, J.; Gendler, S.; Gillett, C.; Taylor-Papadimitriou, J. *Int. J. Cancer*, **1989**, *43*, 1072.
- ⁶⁸ Schultz, P. G. *Angew. Chem.*, **1989**, *101*, 1336.
- ⁶⁹ Ikehara, Y.; Kojima, N.; Kurosawa, N.; Kudo, T.; Kono, M.; Nishihara, S.; Issiki, S.; Morozumi, K.; Itzkowitz, S. H.; Tsuda, T.; Nishimura, S. I.; Tsuji, S.; Narimatsu, H. *Glycobiology*, **1999**, *9*, 1213.
- ⁷⁰ Itzkowitz, S. H.; Yuan, M.; Montgomery, C. K.; Kjeldsen, T.; Takahashi, H. K.; Bigbee, W. L.; Kim, Y. S. *Cancer Res.*, **1989**, *49*, 197.
- ⁷¹ Inoue, H. *Obstet. Gynecol.*, **1990**, *75*, 1031.
- ⁷² Takahashi, I.; Maehara, I.; Kusumoto, T.; Yoshida, M.; Kakej, K.; Kusumoto, T.; Furusawa, M.; Sugimachi, K. *Cancer*, **1993**, *72*, 1836.
- ⁷³ Soares, R.; Marinho, A.; Schmitt, F. *Pathol. Res. Pract.*, **1996**, *192*, 1182.

- ⁷⁴ Julien, S.; Picco, G.; Sewell, R.; Vercoutter-Edouart, A.-S.; Tarp, M.; Miles, D.; Clausen, H.; Taylor-Papadimitriou, J.; Burchell, J. M. *British J. Cancer*, **2009**, *100*, 1746.
- ⁷⁵ Friedenreich, V. *The Thomsen Hemagglutination Phenomenon*. Levin and Munksgaard, Copenhagen, 1930.
- ⁷⁶ Irazoqui, F. J.; Nores, G. A. *Curr. Cancer Drug Targets*, **2003**, *3*, 433.
- ⁷⁷ Springer, G. F.; Fry, W. A.; Desai, R. R.; Semerdjan, R. A.; Tegtmeyer, H.; Neybert, C. G.; Scanlon, E. F. *Cancer Detect. Preven.*, **1985**, *8*, 95.
- ⁷⁸ Müller, S.; Hanisch, F.-G. *J. Biol. Chem.*, **2002**, *277*, 26103.
- ⁷⁹ Baeckström, D. *J. Biol. Chem.*, **1997**, *272*, 11503.
- ⁸⁰ Zotter, S.; Hageman, P. C.; Lossnitzer, A.; Mooi, W. J.; Hilgers, J. H. M.; an den Tweel, J.; Hilkens, J. *Int. J. Cancer*, **1988**, *3*, 38.
- ⁸¹ Ligtenberg, M. J. L.; Buijs, F.; Vos, H. L.; Hilkens, J. *Cancer Res.*, **1992**, *52*, 2318.
- ⁸² Mitchell, M. S. *Int. Immunopharmacol.*, **2003**, *3*, 10515.
- ⁸³ Moingeon, P. *Vaccine*, **2001**, *19*, 1305.
- ⁸⁴ Yu, Z.; Restifo, N. P. *J. Clin. Invest.*, **2002**, *110*, 289.
- ⁸⁵ Jäger, E.; Jäger, D.; Knuth, A. *Int. J. Cancer*, **2003**, *106*, 817.
- ⁸⁶ Dziadek, S.; Kunz, H. *Chem. Rec.*, **2004**, *3*, 308.
- ⁸⁷ Becker, T.; Dziadek, S.; Wittrock, S.; Kunz, H. *Curr. Cancer Drug Targets*, **2006**, *6*, 491.
- ⁸⁸ Liakatos, A.; Kunz, H. *Curr. Opin. Mol. Ther.*, **2007**, *9*, 35.
- ⁸⁹ Wittrock, S.; Kunz, H. *BioTec Zeitschrift für Biotechnologie*, **2006**, *34*.
- ⁹⁰ Keil, S.; Kaiser, A.; Syed, F.; Kunz, H. *Synthesis*, **2009**, 1355.
- ⁹¹ Dziadek, S.; Hobel, A.; Schmitt, E.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **2005**, *117*, 7803.
- ⁹² Westerlind, U.; Hobel, A.; Gaidzik, N.; Schmitt, E.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **2008**, *120*, 7662.
- ⁹³ Gaidzik, N.; Kaiser, A.; Kowalczyk, D.; Westerlind, U.; Gerlitzki, B.; Sinn, H. P.; Schmitt, E.; Kunz, H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 9977.
- ⁹⁴ Kunz, H.; Herzner, H.; Reipen, T.; Schulz, M. *Chem. Rev.*, **2000**, 4495.

- ⁹⁵ Schweizer, F. *Angew. Chem.*, **2002**, *114*, 240.
- ⁹⁶ Ernst, B.; Magnani, J. L. *Nature Rev.*, **2009**, *8*, 661.
- ⁹⁷ Dondoni, A.; Marra, A. *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, 4395.
- ⁹⁸ BeMiller, J. N.; Petrus L. *Carbohydr. Res.*, **1992**, *230*, 197.
- ⁹⁹ Nolen, E.; Watts, M. M.; Fowler, D. J. *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 3963.
- ¹⁰⁰ Campbell, A. D.; Paterson, D. E.; Raynham, T. M.; Taylor, R. J. K. *Chem. Comm.*, **1999**, 1599.
- ¹⁰¹ Paterson, D. E.; Griffin, F. K.; Alcaraz, M.-L.; Taylor, R. J. K. *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 1323.
- ¹⁰² Dorgan, B. J.; Jackson, R. F. W. *Synlett*, **1996**, 859.
- ¹⁰³ Dondoni, A.; Marra, A.; Massi, A. *Chem. Comm.*, **1998**, 1741.
- ¹⁰⁴ Dondoni, A.; Marra, A.; Massi, A. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 933.
- ¹⁰⁵ Urban, D.; Skrydstrup, T.; Beau, J.-M. *Chem. Comm.*, **1998**, 955.
- ¹⁰⁶ Urban, D.; Skrydstrup, T.; Beau, J.-M. *J. Org. Chem.*, **1998**, 2507.
- ¹⁰⁷ Nuzzi, N.; Massi, A.; Dondoni, A. *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 4485.
- ¹⁰⁸ Lay, L.; Meldal, M.; Panza, L.; Russo, G. *Chem. Comm.*, **1997**, 1469.
- ¹⁰⁹ Arva, P.; Ben, R. N.; Qin, H. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 6131.
- ¹¹⁰ Arva, P.; Ben, R. N. *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 4817.
- ¹¹¹ Dondoni, A.; Marra, A.; Giovannini, P. P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 2380.
- ¹¹² Nolen, E.; Kurish, A.; Wong, K.; Orlando, M. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 2449.
- ¹¹³ Nolen, E.; Kurish, A.; Potter, J.; Donahue, L.; Orlando, M. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 3383.
- ¹¹⁴ Fuchs, T.; Schmidt, R. R. *Synthesis*, **1998**, 753.
- ¹¹⁵ Debenham, S. D.; Debenham, J. S.; Burk, M. J.; Toone, E. J. J. *Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 9897.
- ¹¹⁶ Debenham, S. D.; Cossrow, J.; Toone, E. J. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 9153.
- ¹¹⁷ Bertozzi, C. R.; Hoeplich, P. D.; Bednarski, M. D. *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 6092.

- ¹¹⁸ Bertozzi, C. R.; Cook, D. G.; Kobertz, W. R.; Gonzales-Scarano, F.; Bednarski, M. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 10639.
- ¹¹⁹ Dondoni, A.; Marra, A.; Massi, A. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 2827.
- ¹²⁰ Bagnier, N.; Guillot, R.; Scherrmann, M.-C. *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7*, 3918.
- ¹²¹ Gustafsson, T.; Saxin, M.; Kihlberg, J. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 2506.
- ¹²² Pearce, A. J.; Ramaya, S.; Thorn, S. N.; Bloomberg, G. B.; Walter, D. S.; Gallagher, T. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 5453.
- ¹²³ Miyaura, N.; Ishiyama, T.; Ishikawa, M.; Suzuki, A. *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27*, 6369.
- ¹²⁴ Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2149.
- ¹²⁵ Merrifield, R. B. *Angew. Chem.; Int. Ed. Engl.*, **1985**, *97*, 801.
- ¹²⁶ Watts, P.; Wiles, C. *Chem. Comm.*, **2007**, 443.
- ¹²⁷ Ahmed-Omer, B.; Brandt, J. C.; Wirth, T. *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, *5*, 733.
- ¹²⁸ Wirth, T.; Brandt, J.; Ahmed-Omer, B. *Org. Biomol. Chem.*, **2007**, *5*, 733.
- ¹²⁹ McQuade, D. T.; Mason, B. P.; Price, K. E.; Steinbacher, J. L.; Bogdan, A. R. *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 2300.
- ¹³⁰ Seeberger, P. H.; Geyer, K.; Codée, J. D. C. *Chem. Eur. J.*, **2006**, *12*, 8434.
- ¹³¹ Seeberger, P. H.; Geyer, K.; Gustafsson, T. *Synlett*, **2009**, *15*, 2382.
- ¹³² Jensen, K. F.; Hartman, R. L.; McMullen, J. P. *Angew. Chem.*, **2011**, *123*, 7642.
- ¹³³ Kirschning, A.; Wegner, J.; Ceylan, S. *Chem. Comm.*, **2011**, *47*, 4583.
- ¹³⁴ Jensen, K. F.; Sahoo, H. R.; Kralj, J. G. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, 5704.
- ¹³⁵ von dem Bruch, Karsten. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 1993.
- ¹³⁶ Koch, M. V.; Van den Bussche, K. M.; Chrisman, R. W. *Micro Instrumentation for High Throughput Experimentation and Process Intensification*. WILEY-VCH Verlag GmbH Co. KGaA, Weinheim, 2007.
- ¹³⁷ Schwalbe, T.; Autze, V.; Hohmann, M.; Stirner, W. *Org. Proc. Res. Dev.*, **2004**, 440.
- ¹³⁸ Kestenbaum, Harry. Dissertation, Johann Wolfgang Goethe-Universität, 2004.

- 139 Mason, B. P.; Price, K. E.; Steinbacher, J. L.; Bogdan, A. R.; McQuade, D. T. *Chem. Rev.*, **2007**, 2300.
- 140 Yeong, K. K.; Gavriilidis, A.; Zapf, R.; Hessel, V. *Chem. Engineering Science*, **2004**, 59, 3491–3494.
- 141 Ladlow, M.; Ley, S.; Holden, J.; Knudsen, K. *Adv. Synth. Catal.*, **2007**, 349, 535.
- 142 Koch, Stefan. Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2008.
- 143 Schlicker, Sebastian. Diplomarbeit, Europa Fachhochschule Fresenius, 2007.
- 144 Baumann, Katharina. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2007.
- 145 Baumann, K.; Kowalczyk, D.; Kunz, H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 3445.
- 146 Wuts, P.G.M.; Greene, T.W. *Protective Groups in Organic Synthesis*. Wiley & Sons, 3. Auflage, 1999.
- 147 Unverzagt, C.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **1988**, 100, 1763.
- 148 Windholz, T. B.; Johnston, D. B. R. *Tetrahedron Lett.*, **1967**, 2555.
- 149 Gallagher, T.; Cook, M. J.; Declan, W. F. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 297.
- 150 Hanessian, S.; Lavallee, P. *Can. J. Chem.*, **1975**, 53, 2975.
- 151 Nelson, T. D.; Crouch, R. D. *Synthesis*, **1996**, 1031.
- 152 Cunningham, J.; Gigg, R.; Warren, C. D. *Tetrahedron Lett.*, **1964**, 1191.
- 153 Guibé, F. *Tetrahedron*, **1997**, 53, 13509.
- 154 Dullenkopf, W.; Castro-Palomino, J. C.; Manzoni, L.; Schmidt, R. R. *Carbohydr. Res.*, **1996**, 296, 135.
- 155 Excoffier, G.; Gagnaire, D.; Utille, J.-P. *Carbohydr. Res.*, **1975**, 39, 368.
- 156 Takatani, M.; Nakama, T.; Kubo, K.; Manabe, S.; Nakahara, Y.; Ito, Y.; Nakahara, Y. *Glycoconjugate J.*, **2000**, 17, 361.
- 157 Zhang, J.; Kovác, P. *J. Carbohydr. Chem.*, **1999**, 18, 461.
- 158 Zemplén, G.; Kunz, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1923**, 56, 1705.
- 159 Evans, M. E. *Carbohydr. Res.*, **1972**, 21, 473.

- ¹⁶⁰ Schmidt, R. R.; Michel, J. *Angew. Chem.*, **1980**, *92*, 763.
- ¹⁶¹ Schmidt, R.R. *Angew. Chem.*, **1986**, *98*, 213.
- ¹⁶² Schmidt, R. R. *Pure Appl. Chem.*, **1989**, *61*, 1257.
- ¹⁶³ Schmidt, R. R.; Kinzy, W. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1994**, *50*, 21.
- ¹⁶⁴ Lönn, H. *Carbohydr. Res.*, **1985**, *139*, 105.
- ¹⁶⁵ Stahl, W.; Sprengard, U.; Kretzschmar, G.; Schmidt, D. W.; Kunz, H. *J. Prakt. Chem.*, **1995**, *337*, 441.
- ¹⁶⁶ Pannecoucke, X.; Schmitt, G.; Luu, B. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 6569.
- ¹⁶⁷ Herzner, H.; Eberling, J.; Schultz, M.; Zimmer, J.; Kunz, H. *J. Carbohydr. Chem.*, **1998**, *17*, 759.
- ¹⁶⁸ Eichler, E.; Jennings, H. J.; Gilbert, M.; Whitfield, D. M. *Carbohydr. Res.*, **1999**, *319*, 1.
- ¹⁶⁹ Degerbeck, F.; Fransson, B.; Grehn, L.; Ragnarsson, U. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1993**, 11.
- ¹⁷⁰ Bitan, G.; Gilon, C. *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 10513.
- ¹⁷¹ Vorwinkel, E. *Chem. Ber.*, **1967**, *100*, 16.
- ¹⁷² Damon, D. B.; Hoover, D. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 6439.
- ¹⁷³ Feenstra, R. W.; Stokkingreef, E. H. M.; Nivard, R. J. F.; Ottenheim, H. C. J. *Tetrahedron*, **1988**, *44*, 5583.
- ¹⁷⁴ Hoffman, R. V.; Tao, J. *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 7119.
- ¹⁷⁵ Lemieux, R. U.; Hendriks, K. B.; Stick, R. V.; James, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97*, 4056.
- ¹⁷⁶ Ogawa, T.; Sato, S.; Mori, M.; Ito, Y. *Carbohydr. Res.*, **1986**, *155*, C6.
- ¹⁷⁷ Garegg, P. J.; Hultberg, H.; Wallin, S. *Carbohydr. Res.*, **1982**, *108*, 9750.
- ¹⁷⁸ Ohlin, M.; Johnsson, R.; Ellervik, U. *Carbohydr. Res.*, **2011**, *346*, 1358.
- ¹⁷⁹ Sakagami, M.; Hamana, H. *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 5547.
- ¹⁸⁰ DeNinno, M. P.; Etienne, J. B.; Duplantier, K. C. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 669.
- ¹⁸¹ Tanaka, K.; Fukase, K. *Synlett*, **2007**, 1664.

- 182 Ellervik, U.; Magnusson, G. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 1627.
- 183 Wagner, D.; Verheyden, J. P. H.; Moffatt, J. G. *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 24.
- 184 David, S.; Hanessian, S. *Tetrahedron*, **1985**, 41, 643.
- 185 Nashed, M. A.; Anderson, L. *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 3503.
- 186 Bánteli, R.; Ernst, B. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 4059.
- 187 Lipták, A. *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 39, 3551.
- 188 Vliegenthart, J. F. G.; Kamerling, J. P.; van Dorst, J. *Carbohydr. Res.*, **1997**, 297, 209.
- 189 Adinolfi, M.; Barone, G.; De Napoli, L.; Iadonisi, A.; Piceiali, G. *Tetrahedron Letters*, **1996**, 28, 5007.
- 190 Lipták, A. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae*, **1979**, 90.
- 191 Lipták, A.; Kerékgyártó, J. *Carbohydr. Res.*, **1993**, 248, 361.
- 192 Lipták, A.; Nánási, P.; Harangi, J.; Oláh, V. A. *Carbohydr. Res.*, **1981**, 98, 165.
- 193 Bellucci, G.; Chiappe, C.; D'Andrea, F. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1995**, 6, 221.
- 194 Prosser, T. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83, 1701.
- 195 Boss, R.; Scheffold, R. *Angew. Chem.*, **1976**, 88, 578.
- 196 Nashed, M. A.; Anderson, L. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1982**, 1274.
- 197 Gigg, R.; Warren, C. D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1968**, 1903.
- 198 Baudry, D.; Ephritikhine, M.; Felkin, H. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1978**, 694.
- 199 Nifantiev, N. E.; Sherman, A. A.; Mironov, Y. *Carbohydr. Res.*, **2003**, 338, –703.
- 200 Oscarsson, S.; Ek, M.; Garegg, P. J. *J. Carbohydr. Chem.*, **1983**, 2, 305.
- 201 Misra, A. K.; Panchadhayee, R. *Synlett*, **2010**, 8, 1193.
- 202 Albright, J. D.; Goldman, L. *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 4214.
- 203 Nokami, J.; Tanaka, N.; Ogawa, I.; Yoshigase, S. *Carbohydr. Res.*, **2008**, 343, 2675.
- 204 Pelyvas, I.; Lindhorst, T.; Thiem, J. *Liebigs Ann.*, **1990**, 761.

- 205 Murphy, P. V.; McDonnell, C.; Hämig, L.; Paterson, D. E.; Taylor, R. J. K. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, *14*, 79.
- 206 Ohtake, H.; Ichiba, N.; Shiro, M.; Ikegami, S. *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 8164.
- 207 Zhang, Y.-M.; Brodzky, A.; Sinaiy, P.; Saint-Marcoux, G.; Perly, B. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1995**, *5*, 1195.
- 208 Petasis, N. A.; Bzowej, E. I. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 6392.
- 209 Petasis, N. A.; Patane, M. A. *Tetrahedron Lett.*, **1990**, *31*, 6799.
- 210 Petasis, N. A.; Lu, S.-P. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 141.
- 211 Csuk, R.; Glänzer, B. I. *Tetrahedron*, **1991**, *47*, 1655.
- 212 Hartley, R. C.; McKiernan, G. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 2763.
- 213 Hartley, R. C.; Ji, J. F.; Main, C. A.; McKiernan, G. J. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 4825.
- 214 Payack, J. F.; Hughes, D. L.; Cai, D.; Cottrell, I. F.; Verhoeven, T. R. *Organic Syntheses, Coll. Vol. 10*, **2004**, 355.
- 215 Payack, J. F.; Hughes, D. L.; Cai, D. W.; Cottrell, I. F.; Verhoeven, T. R. *Org. Prep. Proc. Int.*, **1995**, *27*, 707.
- 216 Payack, J. F.; Huffman, M. A.; Cai, D. W.; Hughes, D. L.; Collins, P. C.; Johnson, B. K.; Cottrell, I. F.; Tuma, L. D. *Org. Proc. Res. Dev.*, **2004**, *8*, 256.
- 217 Doye, S.; Siebeneicher, H. *J. Prakt. Chem.*, **2000**, *342*, 102.
- 218 Hughes, D. L.; Payack, J. F.; Cai, D. W.; Verhoeven, T. R.; Reider, P. J. *Organometallics*, **1996**, *15*, 663.
- 219 Meurer, E. C.; Santos, L. S.; Pilli, R. A.; Eberlin, M. N. *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 1391.
- 220 Tebbe, F. N.; Parshall, G. W.; Reddy, G. S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, *100*, 3611.
- 221 Maryanoff, B. E.; Reitz, A. B. *Chem. Rev.*, **1989**, *89*, 863.
- 222 Mikolajczyk, M.; Balczewski, P. *New Aspects in Phosphorous Chemistry II*. Springer Berlin, Heidelberg, 2003.
- 223 Blakermore, P. R. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 2563.
- 224 van Staden, L. F.; Gravestock, D.; Ager, D. *J. Chem. Soc. Rev.*, **2002**, *31*, 195.

- 225 Ley, S. V.; Gaunt, M. J.; Jessiman, A. S.; Orsini, P.; Tanner, H. R.; Hook, D. F. *Org. Lett.*, **2003**, 4819.
- 226 Hartley, R. C.; Adriaenssens, L. V. *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 10287.
- 227 Woodward, H.; Smith, N.; Gallagher, T. *Synlett*, **2010**, 869.
- 228 O'Brien, M.; Denton, R.; Ley, S. V. *Synthesis*, **2011**, 1157.
- 229 Kappe, C. O.; Glasnov, T. N. *Macromol. Rapid Commun.*, **2007**, 28, 395.
- 230 Baxendale, I. R.; Hayward, J. J.; Ley, S. V. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, **2007**, 802.
- 231 Razzaq, R.; Glasnov, T. N.; Kappe, C. O. *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 1321.
- 232 Van Boom, J. H.; Heskamp, B. M.; Veeneman, G. H.; van der Marel, G. A.; van Boeckel, C. A. A. *Tetrahedron*, **1995**, 51, 8397.
- 233 Karplus, M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 2870.
- 234 Chapleur, Y.; Taillefumier, C. *Chem. Rev.*, **2004**, 104, 263.
- 235 Potter, B. V. L.; Rosenberg, H. J.; Riley, A. M.; Taylor, C. W. *Carbohydr. Res.*, **2000**, 329, 7.
- 236 Tanaka, H.; Kawai, K.; Fujiwara, K.; Murai, A. *Tetrahedron*, **2002**, 10017.
- 237 Garegg, P. J.; Samuelsson, B. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1979**, 979.
- 238 Shuto, S.; Masaru, T.; Abe, H. *Org. Lett.*, **2004**, 6, 3751.
- 239 Yokohama, M.; Togo, H.; He, W.; Waki, Y. *Synlett*, **1997**.
- 240 Schwabacher, A. W.; Lei, H.; Stoakes, M. S.; Herath, K. P. B.; Lee, J. *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 4206.
- 241 Schultz, M.; Kunz, H. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1993**, 40, 1205.
- 242 Braum, Günther. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 1991.
- 243 Liebe, B.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **1997**, 109, 629.
- 244 Wittrock, Sven. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2006.
- 245 Miossec, B.; Danion-Bougot, R.; Danion, D. *Synthesis*, **1994**, 1171.
- 246 Wandless, T. J.; Stohlmeyer, M. M.; Tanaka, H. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 6100.

- 247 Chemler, S. R.; Trauner, D.; Danishefsky, S. J. *Angew. Chem.; Int. Ed. Engl.*, **2001**, *40*, 4544.
- 248 Lai, K. W.; Paquette, L. A. *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 3781.
- 249 Paquette, L. A.; Ciblat, S.; Kim, J.; Clyne, D. *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 719.
- 250 Johnson, C. R.; Johns, B. A.; Pan, Y. T.; Elbein, A. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 4856.
- 251 Sasaki, M.; Noguchi, K.; Fuwa, H.; Tachibana, K. *Tetrahedron Letters*, **2000**, *41*, 1425.
- 252 Fu, G. C.; Saito, B. *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 9602.
- 253 Fu, G. C.; Netherton, M. R.; Dai, C.; Neuschütz, K. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 10099.
- 254 Fu, G. C.; Lu, Z. *Angew. Chem.*, **2010**, *37*, 6826.
- 255 Miyaura, N.; Suzuki, A. *Chem. Rev.*, **1995**, *95*, 2457.
- 256 Marcone, J. E.; Moloy, K. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, *120*, 8527.
- 257 Collier, P. N.; Campbell, A. D.; Patel, I.; Taylor, R. J. K. *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 7115.
- 258 Curley, R. W.; Walker, J.; Alshafie, G. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, *14*, 3038.
- 259 Taylor, R. J. K.; Campbell, A. D.; Paterson, D. E.; Raynham, T. M. *Chem. Comm.*, **1999**, 1599.
- 260 Quieroz, M.-J.; Silva, N.; Abreu, A. *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 2524.
- 261 Brenner, M.; Huber, W. *Helv. Chim. Acta*, **1953**, *36*, 1109.
- 262 Nitz, T. J.; Holt, E. M.; Rubin, B.; Stammer, C. H. *J. Org. Chem.*, **1981**, *46*, 2667.
- 263 Prokof'ev, E. P.; Karpeiskaya, E. I. *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 737.
- 264 Potuzak, J. S.; Tan, D. S. *Tetrahedron Letters*, **2004**, *45*, 1797.
- 265 Pereira, G.; Ferreira, P. M. T.; Monteiro, L. S. *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 4676.
- 266 Qabar, M. N.; Urban, J.; Kahn, M. *Tetrahedron*, **1997**, *53*, 11171.
- 267 Ye, B.; Akamatsu, M.; Shoelson, S. E.; Wolf, G.; Giorgetti-Peraldi, S.; Yan, X.; Roller, P. P.; Burke, T. R. *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 4270.
- 268 Dziadek, Sebastian. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2005.
- 269 Becker, Torsten. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2006.
- 270 Kaiser, Anton. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2009.

- 271 Dziadek, S.; Kunz, H. *Synlett*, **2003**, 1623.
- 272 Brocke, C.; Kunz, H. *Synlett*, **2003**, 2052.
- 273 Dziadek, S.; Brocke, C.; Kunz, H. *Chem. Eur. J.*, **2004**, *10*, 4150.
- 274 Corey, E. J.; Suggs, J. W. *J. Org. Chem.*, **1973**, *38*, 3224.
- 275 Berens, U.; Englert, U.; Geysler, S.; Runsink, J.; Salzer, A. *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 2100.
- 276 Pearlman, W. M. *Tetrahedron Lett.*, **1967**, 1663.
- 277 Pawlenko, S. *Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Vol. XIII/5*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1980.
- 278 Leclerc, C.; Przewlocki, G.; Schultz, M.-P.; Chedid, L. *Eur. J. Immunol.*, **1987**, *17*, 269.
- 279 Agrawal, B.; Krautz, M. J.; Raddish, M. J.; Longenecker, B. M. *Nat. Med.*, **1988**, *4*, 43.
- 280 Chan, A. K.; Lockhart, D. C.; von Bernstorff, W.; Spanjaard, R. A.; Joo, H.-G.; Eberlein, T. J.; Goedegebuure, P. S. *Int. J. Cancer*, **1999**, *82*, 721.
- 281 Jiang, Z.-H.; Kogenty, R. R. *Curr. Med. Chem.*, **2003**, *10*, 1423.
- 282 Hui, C.; Huang, Z.-H.; Zou, P.; Shi, L.; Zhao, Y.-F.; Kunz, H.; Li, Y.-M. *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, 3685.
- 283 Hui, C.; Huang, Z.-H.; Shi, L.; Zhao, Y.-F.; Kunz, H.; Li, Y.-M. *Chemistry Eur. J.*, **2011**, *17*, 6396.
- 284 Hoffman-Röder, A.; Kaiser, A.; Wagner, S.; Gaidzik, N.; Kowalczyk, D.; Westerlind, U.; Gerlitzki, B.; Schmitt, E.; Kunz, H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 8498.
- 285 Kunz, H.; Dombo, B. *Angew. Chem.*, **1988**, *100*, 732.
- 286 Kunz, H. *Pure Appl. Chem.*, **1993**, *65*, 1223.
- 287 Kunz, H.; Kosch, W.; März, J.; Ciommer, M.; Günther, W.; Unverzagt, C. *Innovations and Perspectives in Solid Phase Synthesis and Related Technologies*. Intercept Ltd., Andover, U. K., 1992.
- 288 Fields, G. B.; Noble, R. L. *Int. J. Pept. Protein Res.*, **1990**, *35*, 161.
- 289 Warras, R. *Combinatorial Chemistry, 1. Aufl.* Wiley-VCH, Weinheim, 1999.
- 290 Meldal, M. *Tetrahedron Lett.*, **1992**, *33*, 3077.

- ²⁹¹ Bayer, E.; Rapp, W. *Chemistry of Peptides and Proteins*, volume 3. Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York, 1986.
- ²⁹² Carpino, L. A. ; Han, G. Y. *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, *92*, 5748.
- ²⁹³ McKay, F. C.; Albertson, N. F. *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, *79*, 4686.
- ²⁹⁴ Anderson, G. W.; McGregor, A. C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, *79*, 6180.
- ²⁹⁵ Mort, A. J.; Lamport, D. T. *Anal. Biochem.*, **1977**, *82*, 289.
- ²⁹⁶ DeGrado, W. F.; Kaiser, E. T. *J. Org. Chem.*, **1980**, *45*, 1295.
- ²⁹⁷ Wagner, M.; Kunz, H. *Angew. Chem.; Int. Ed. Engl.*, **2002**, *41*, 317.
- ²⁹⁸ Rich, D. H.; Gurwara, S. K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1973**, 610.
- ²⁹⁹ Tjoeng, F. S.; Heavner, G. A. *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 355.
- ³⁰⁰ Bayer, E. *Angew. Chem.*, **1991**, *103*, 117.
- ³⁰¹ Fyles, T. M.; Leznoff, C. C. *Can. J. Chem.*, **1976**, *54*, 1328.
- ³⁰² Frechet, J. M.; Haque, K. E. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, *16*, 3055.
- ³⁰³ Rothe, M.; Mazánek, J. *Liebigs Ann. Chem.*, **1974**, 439.
- ³⁰⁴ Han, S.-Y.; Kim, Y.-A. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 2447.
- ³⁰⁵ Albericio, F.; Chinchilla, R.; Dodsworth, D. J.; Najera, C. *Org. Prep. Proced. Int.*, **2001**, *33*, 203.
- ³⁰⁶ Dourtoglou, V.; Ziegler, J. C.; Gross, B. *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 1269.
- ³⁰⁷ Dourtoglou, V.; Gross, B.; Lambropoulou, V.; Zioudrou, C. *Synthesis*, **1984**, 572.
- ³⁰⁸ Carpino, L. A.; El-Faham, A.; Minor, C. A.; Albericio, F. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 201.
- ³⁰⁹ Carpino, L. A.; El-Faham, A.; Albericio, F. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 2279.
- ³¹⁰ Koenig, W.; Geiger, R. *Chem Ber.*, **1970**, *103*, 788.
- ³¹¹ Carpino, L. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 4397.
- ³¹² Seitz, O.; Kunz, H. *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 813.

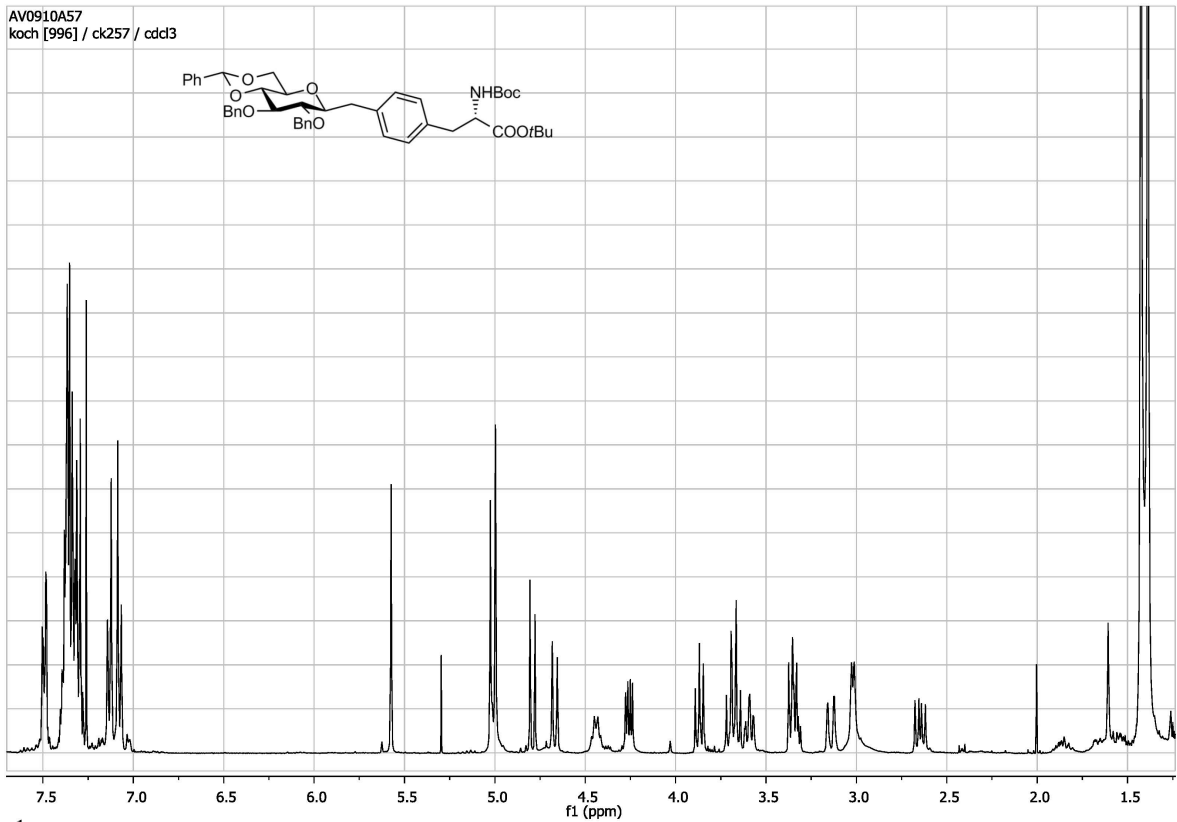
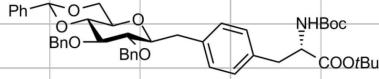
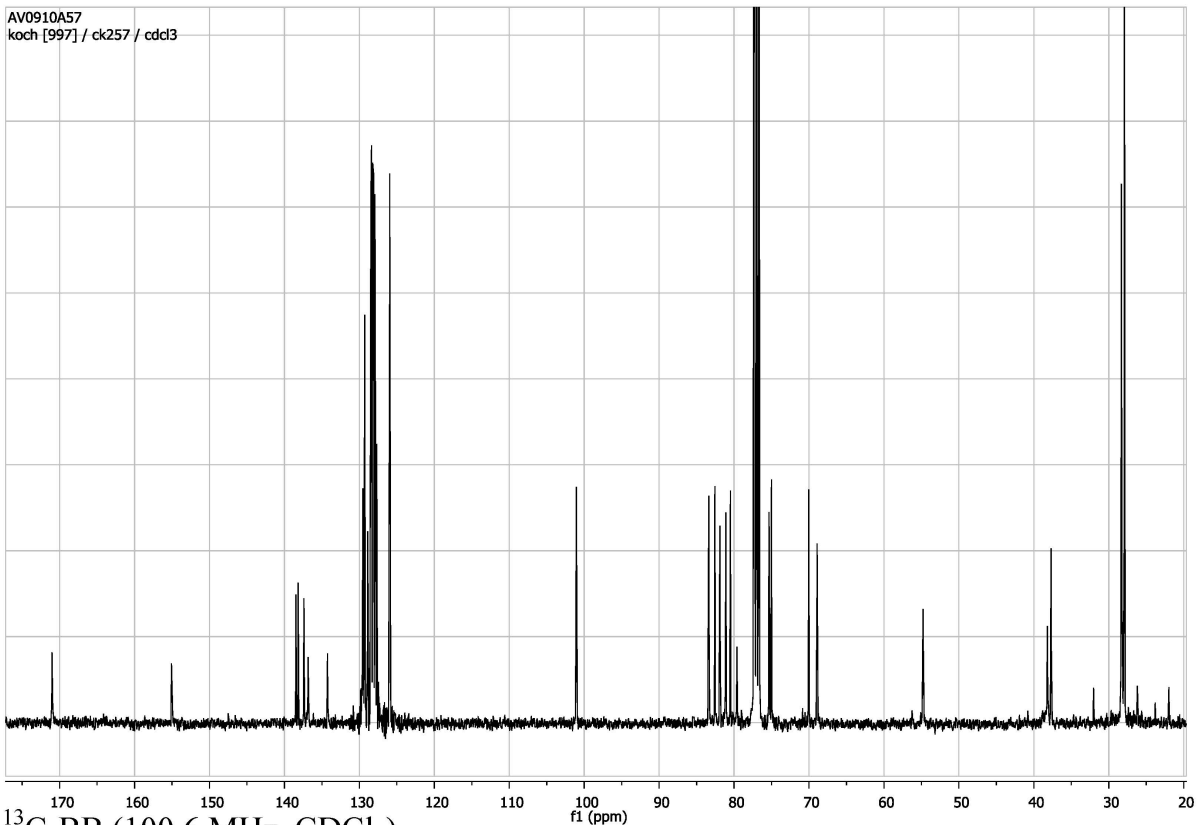
- 313 Seitz, O.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **1995**, *107*, 901.
- 314 Johannes, M.; Hoffmann-Röder, A. *Chem. Comm.*, **2011**, *47*, 9903.
- 315 Gaidzik, Nikola. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, 2011.
- 316 Meienhofer, J.; Waki, M.; Heimer, E. P.; Lambros, T. J.; Macofske, R. C.; Chang, C. D. *Int J. Pept. Protein Res.*, **1979**, *13*, 35.
- 317 Meienhofer, J.; Chang, C. D. *Int J. Pept. Protein Res.*, **1978**, *11*, 246.
- 318 Anderson, G. W.; Callahan, F. M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, *82*, 3359.
- 319 Ferrari, B.; Pavia, A. A. *Tetrahedron*, **1985**, *41*, 1939.
- 320 Tietze, L. F.; Arlt, M.; Beller, M.; Glüsenkamp, K.-H.; Jähde, E.; Rajewsky, M. F. *Chem. Ber.*, **1991**, *124*, 1215.
- 321 Tietze, L. F.; Schröter, C.; Gabius, S.; Brinck, U.; Goerlach-Graw, A.; Gabius, H.-J. *Bioconjugate Chem.*, **1991**, *2*, 148.
- 322 Spjut, S.; Pudelko, M.; Hartmann, M.; Elofsson, M. *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 349.
- 323 Dziadek, S.; Kowalczyk, D.; Kunz, H. *Angew. Chem.*, **2005**, *117*, 7798.
- 324 Trap, M. A.; Sørensen, A. L.; Mandel, U.; Paulsen, H.; Burchell, J.; Taylor-Papadimitriou, J.; Clausen, H. *Glycobiology*, **2007**, *17*, 197.
- 325 Beignet, J.; Tiernan, J.; Woo, C. H.; Kariuki, B. M.; Cox, L. R. *J. Org. Chem.*, **2004**, *69*, 6341.
- 326 Kihlberg, J.; Wellner, E.; Gustafsson, T.; Bäcklund, J. *ChemBioChem*, **2000**, *1*, 272.
- 327 Wise, W. S.; Wiggins, L. F.; Richards, G. N. *J. Chem. Soc.*, **1956**, 496.
- 328 Boullanger, P.; Jouineau, M.; Bouammali, B.; Lafont, D.; Descotes, G. *Carbohydr. Res.*, **1990**, *202*, 151.
- 329 Whistler, R. L.; Wolfrom, M. L.; BeMiller, J. N. *Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol. II*. Academic Press Inc., New York, London, 1963.
- 330 Lerchen, H.-G.; Kunz, H. *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28*, 1873.
- 331 Ikegami, S.; Namme, R.; Mitsugi, T. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 9183.
- 332 Pabba, J.; Rempel, B. P.; Withers, S. G.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta*, **2006**, *89*, 635.

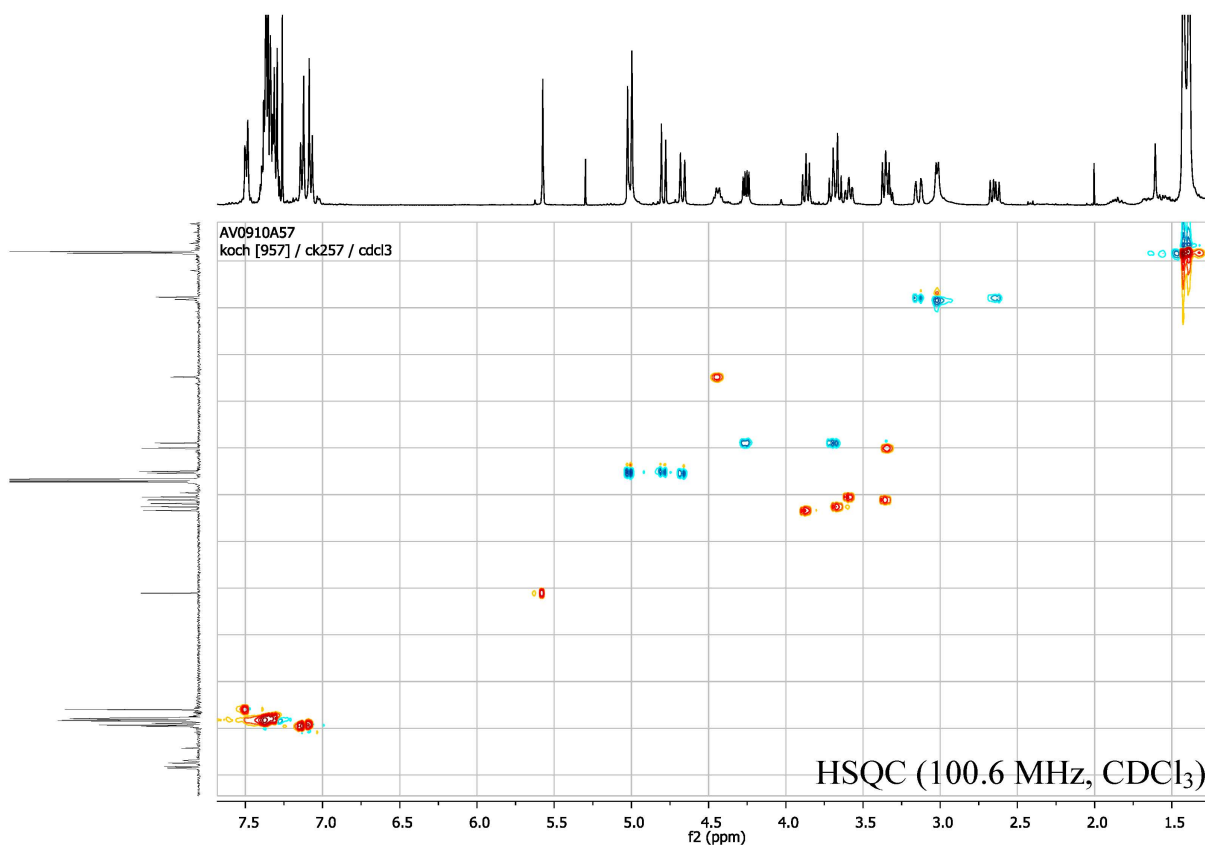
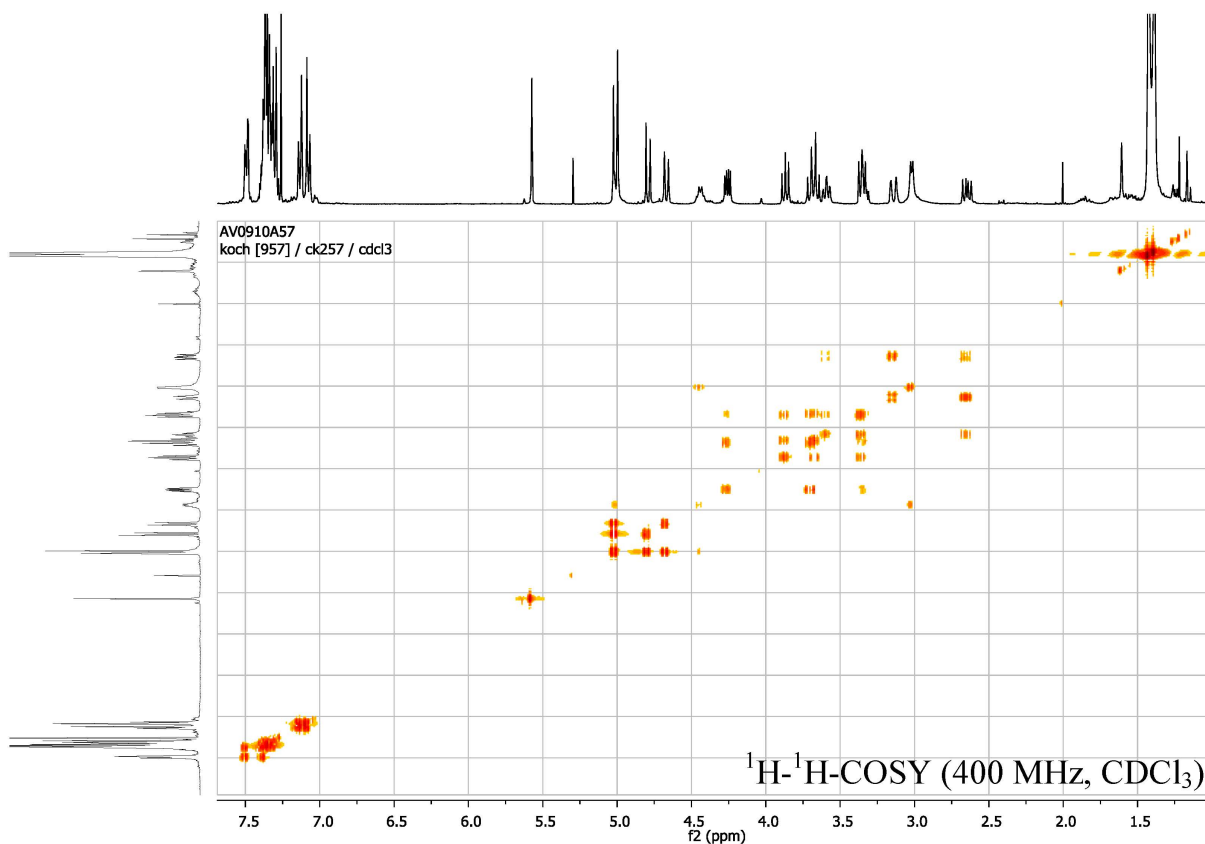
- 333 Petitou, M.; Duchaussoy, P.; Lederman, I.; Choay, J. *Carbohydr. Res.*, **1986**, *147*, 221.
- 334 Garneau, S.; Qiao, L.; Chen, L.; Walker, S.; Vederas, J. C. *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, *12*, 6473.
- 335 Wickham, J.; Zhu, X.; Jin, Y. *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 2670.
- 336 Augé, J.; Ousmer, M.; Boucard, V. *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 1216.
- 337 van Nispen, J. W.; Bijl, W. A. A. J.; Hendrix, A. M. M.; Greven, H. M. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, **1893**, *102*, 276.
- 338 Schwabacher, A. W.; Stefanescu, A. D.; Rehman, A. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 1784.
- 339 Debaene, F.; Da Silva, J. A.; Pianowski, Z.; Duran, F. J.; Winssinger, N. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 6577.
- 340 Castilla, A. M.; Ballester, P.; Conn, M. M. *Beilstein J. Org. Chem.*, **2010**, *6*.
- 341 Mugesh, G.; Phadnis, P. *Org. Biol. Chem.*, **2005**, *3*, 2476.
- 342 Sinou, D.; Bayardon, J. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, *16*, 2965.
- 343 Kim, Y.; Yoo, D.; Oh, J. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 2979.
- 344 Guttman, S.; Boissonnas, R. A. *Helv. Chim. Acta*, **1958**, *41*, 1852.
- 345 Zhang, F.; Zhang, Y.; Liu, G.; Zhang, W.; Curran, D. P. *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 2594.
- 346 Panda, G.; Rao, N. V. *Synlett*, **2004**, *4*, 714.
- 347 Wuensch, E.; Wendlberger, G. *Chem Ber.*, **1964**, *97*, 2504.
- 348 Moore, J. W.; Szelke, M. *Tetrahedron Lett.*, **1970**, *11*, 4423.
- 349 Paquet, A. *Can. J. Chem.*, **1982**, *60*, 976.
- 350 Allavudeen, S. S.; Kuberan, B.; Loganathan, D. *Carbohydr. Res.*, **2002**, *337*, 965.
- 351 Yamanoi, T.; Misawa, N.; Matsuda, S.; Watanabe, M. *Carbohydr. Res.*, **2008**, *343*, 1366.
- 352 Robertson, G. J.; Griffith, C. F. *J. Chem. Soc.*, **1935**, 1193.
- 353 Szeja, W. *Carbohydr. Res.*, **1988**, *183*, 135.
- 354 Bolliger, H. R.; Prins, D. A. *Helv. Chim. Acta*, **1946**, *29*, 1061.
- 355 Lemieux, R. U.; Fraga, E.; Watanabe, K. A. *Can. J. Chem.*, **1968**, *46*, 61.

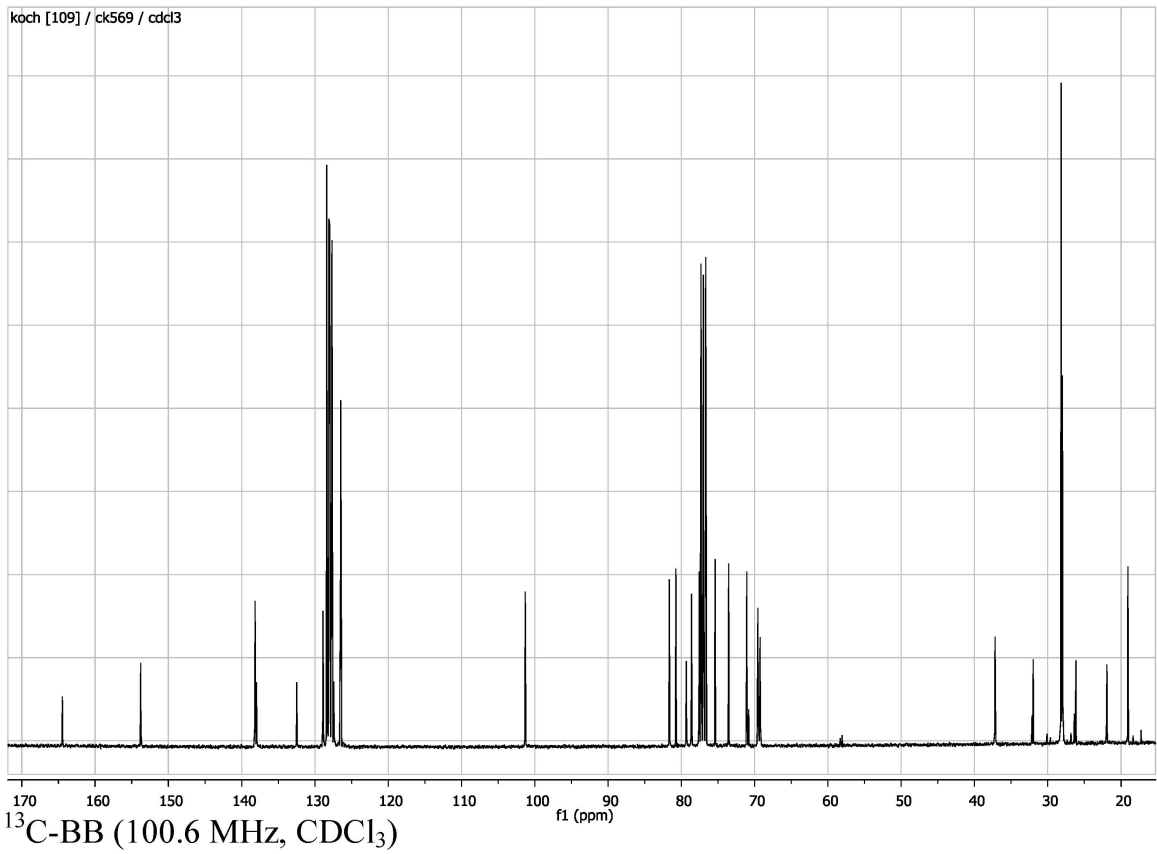
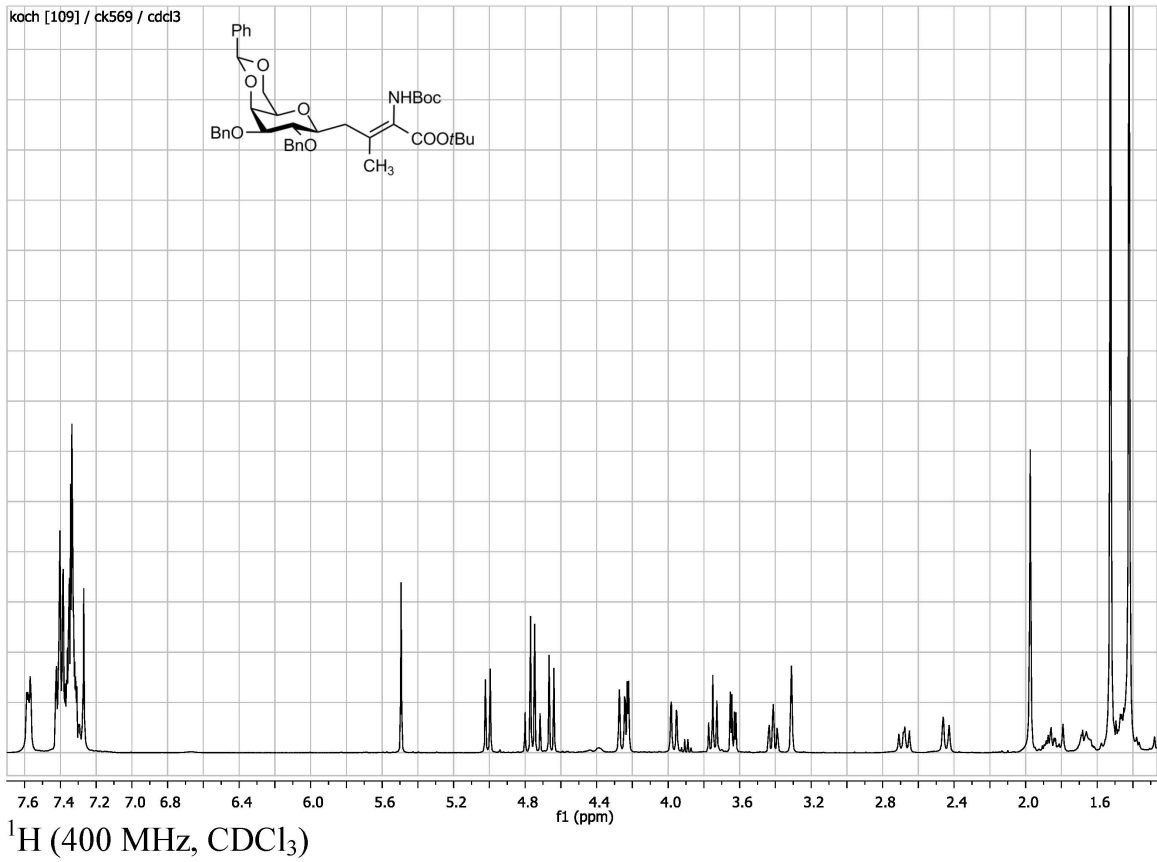
Spektrenanhang

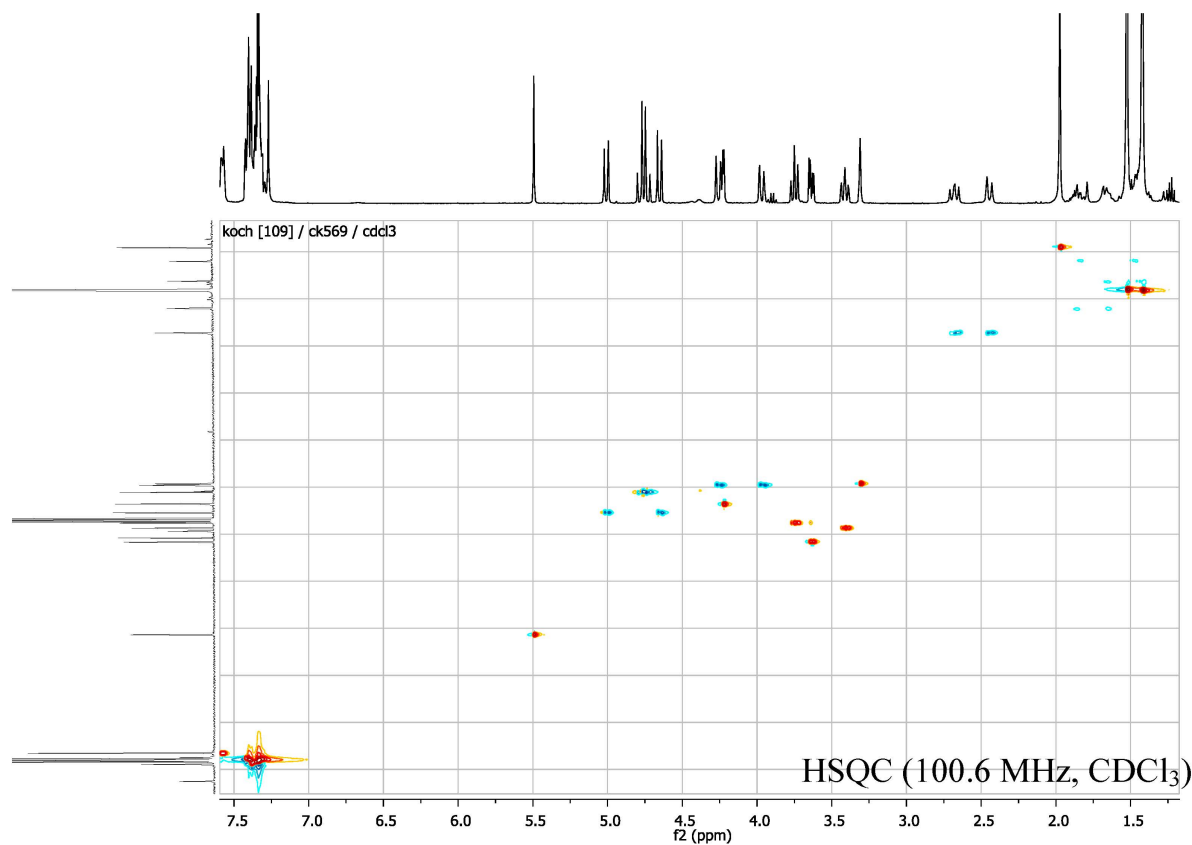
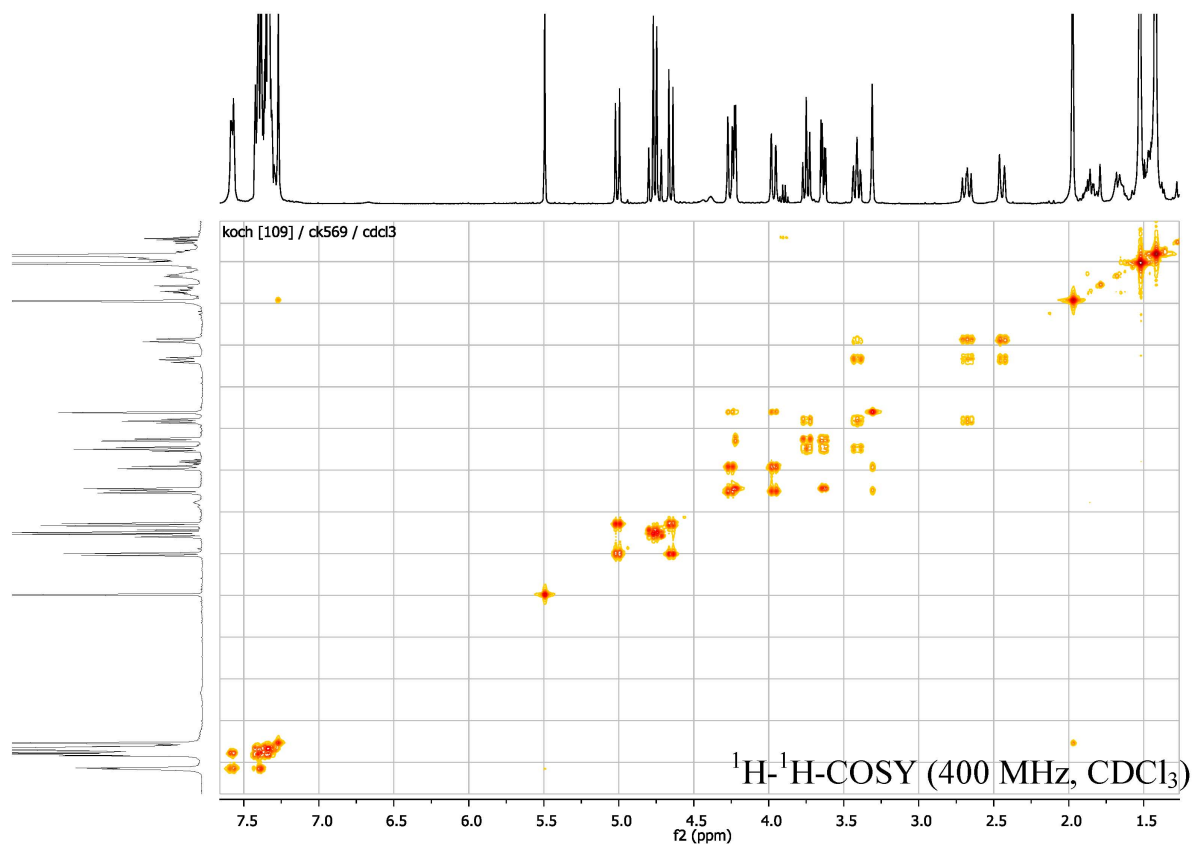
Auf den folgenden Seiten befinden sich Spektren zu ausgewählten Verbindungen, die im Rahmen der Arbeit synthetisiert wurden.

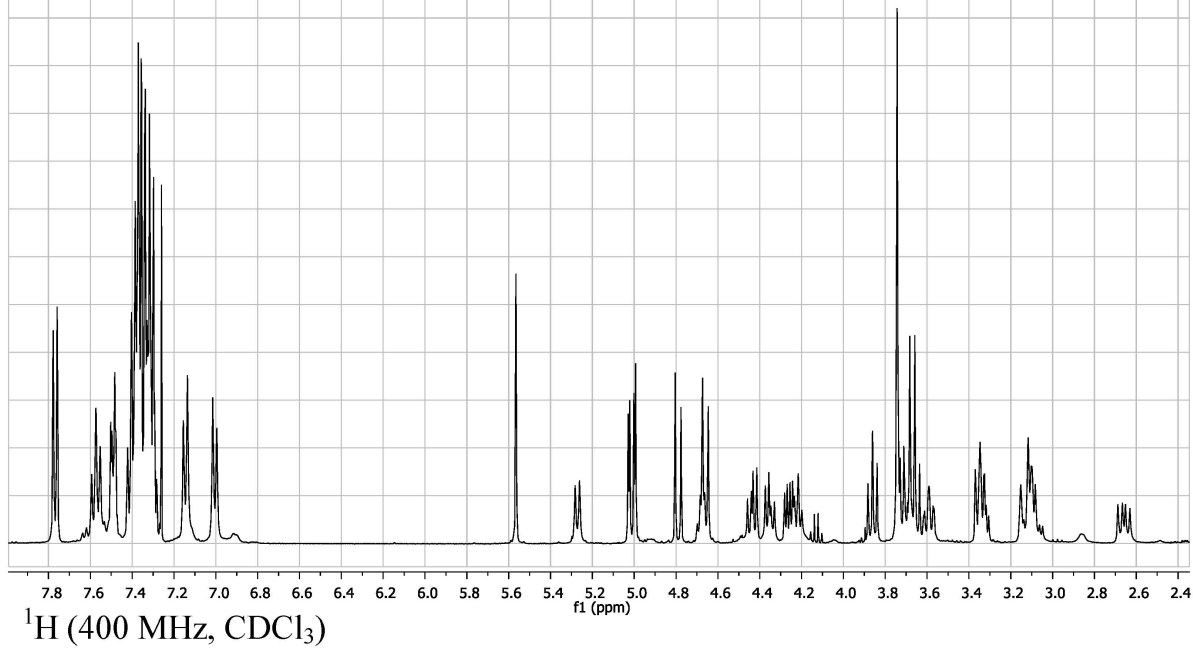
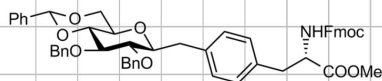
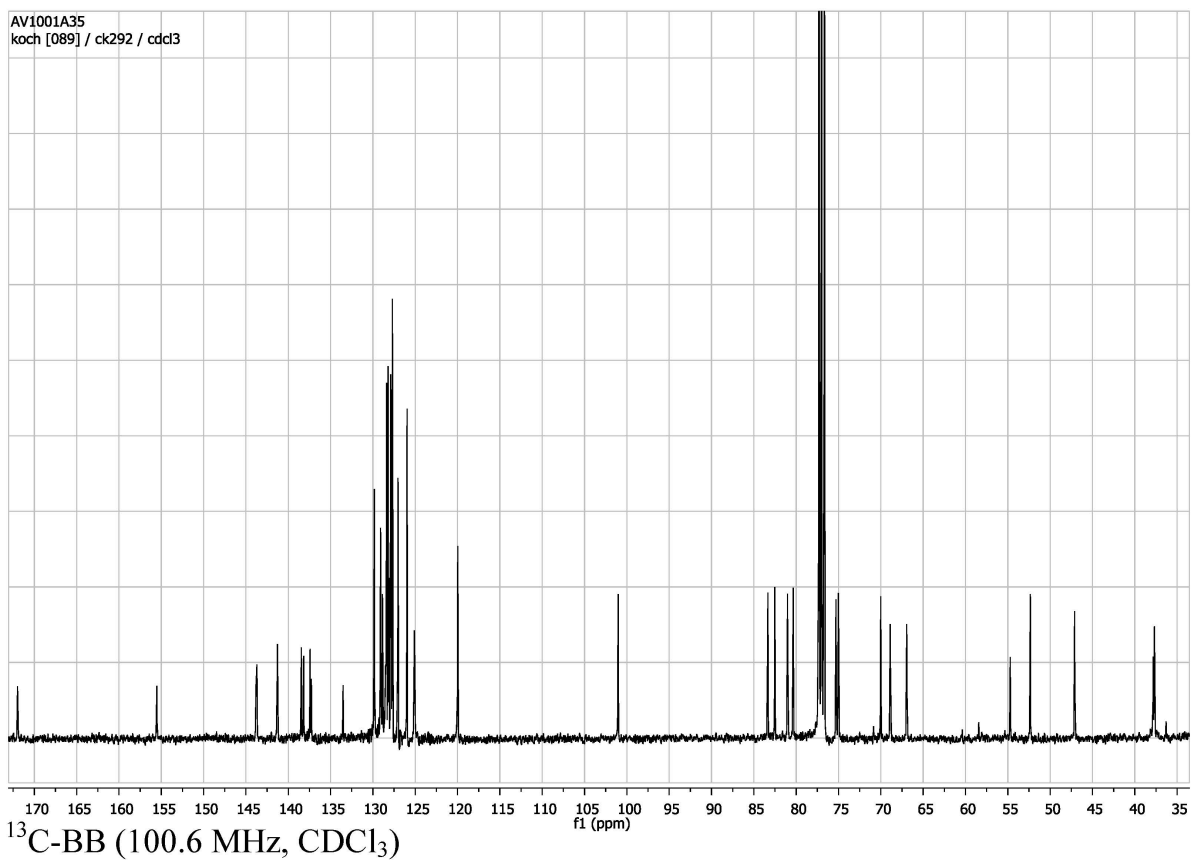
| | |
|---|-----|
| Boc-C-Tyr-[β -4,6-Bzn-Bn ₂ Glc]- <i>t</i> Bu (112) | 366 |
| Boc-Z- Δ Val-[β -4,6-Bzn-Bn ₂ Gal]- <i>Ot</i> Bu (116) | 368 |
| Fmoc-C-Tyr-[β -4,6-Bzn-Bn ₂ Glc]-OMe (127) | 370 |
| Fmoc-Z- Δ Abu-[β -4,6-Bzn-Bn ₂ Glc]-OMe (131) | 372 |
| Boc-Tyr-C-[β -Bn ₇ Lac]- <i>Ot</i> Bu (161) | 374 |
| Fmoc-Tyr-C-[β -Bn ₄ Lac]-OMe (168) | 376 |
| Fmoc-Ser-C-[β -Bn ₄ Lac]-OMe (170) | 378 |
| β -Ac ₂ Bn ₅ CycloLe ^x NTrocCOO <i>t</i> Bu-OTBDPS (44) | 380 |
| Fmoc-Tyr-C-[(β -Ac ₂ Bn ₅ CycloLe ^x NAcCOO <i>t</i> Bu)- β -Ac ₂ Bn ₄ Lac]-OMe (178) | 382 |
| Fmoc-Ser-C-[(β -Ac ₂ Bn ₅ CycloLe ^x NAcCOO <i>t</i> Bu)- β -Ac ₂ Bn ₄ Lac]-OMe (180) | 384 |
| MUC1(22)-Tyr ¹⁷ cFuc-Spacer (185) | 386 |
| MUC1(22)-Tyr ¹⁷ cGlc-Spacer (186) | 388 |
| MUC1(22)-Tyr ¹⁷ cLac-Spacer (187) | 390 |

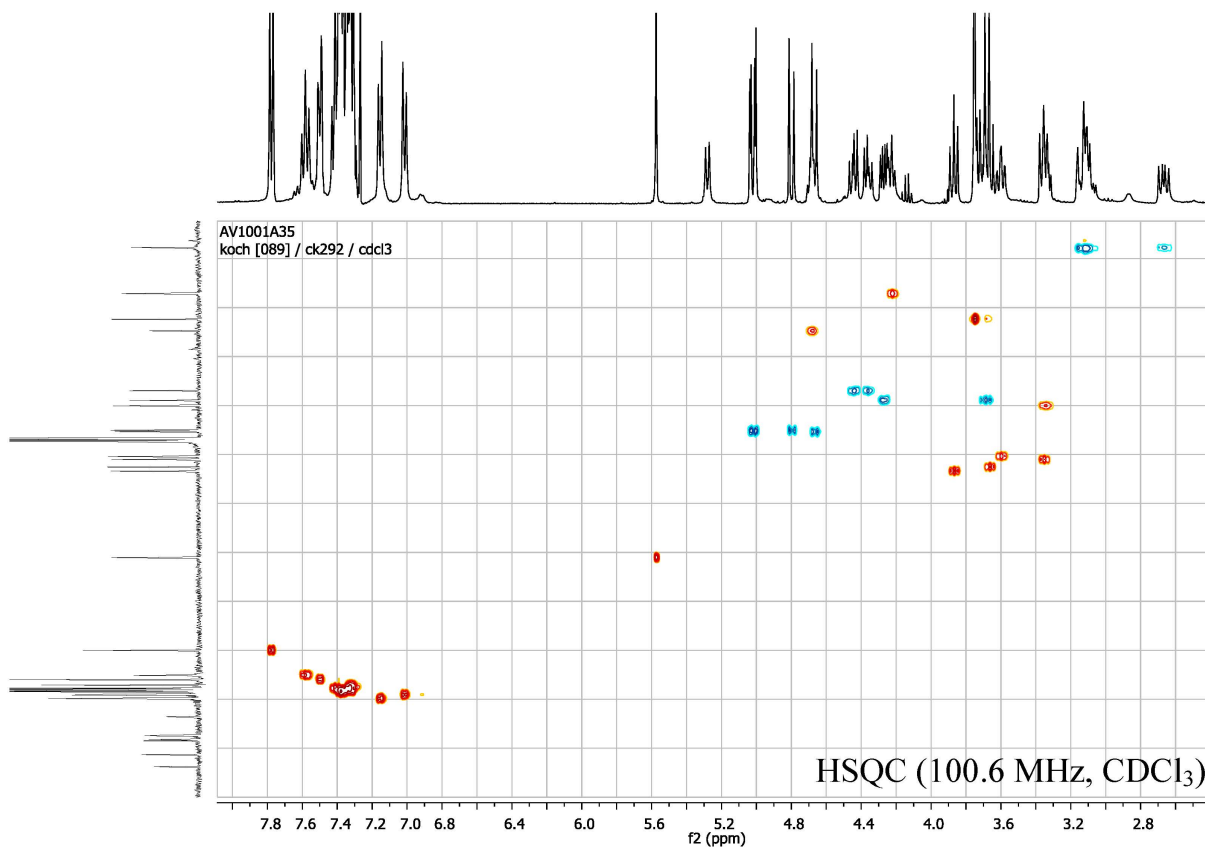
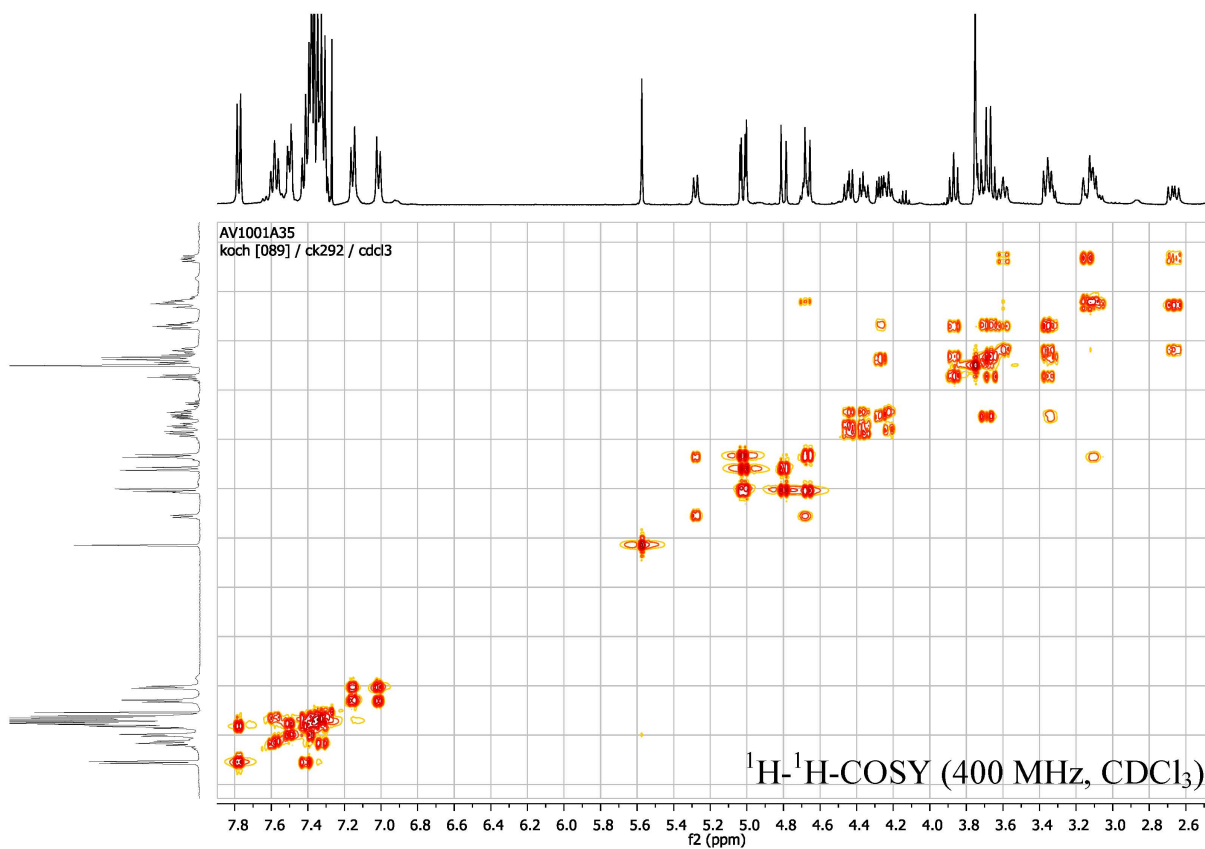
Boc-C-Tyr-[β -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-tBu (112)AV0910A57
koch [996] / ck257 / cdcl3¹H (400 MHz, CDCl₃)AV0910A57
koch [997] / ck257 / cdcl3¹³C-BB (100.6 MHz, CDCl₃)

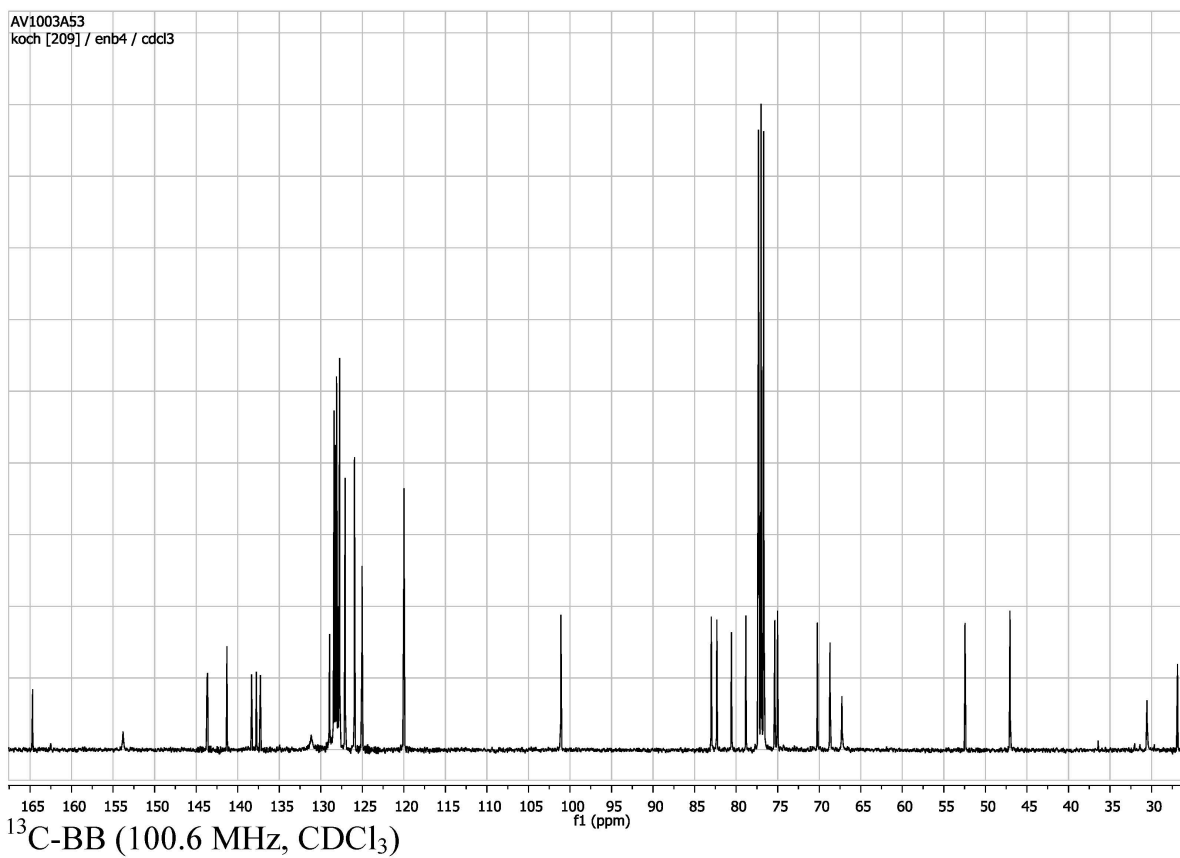
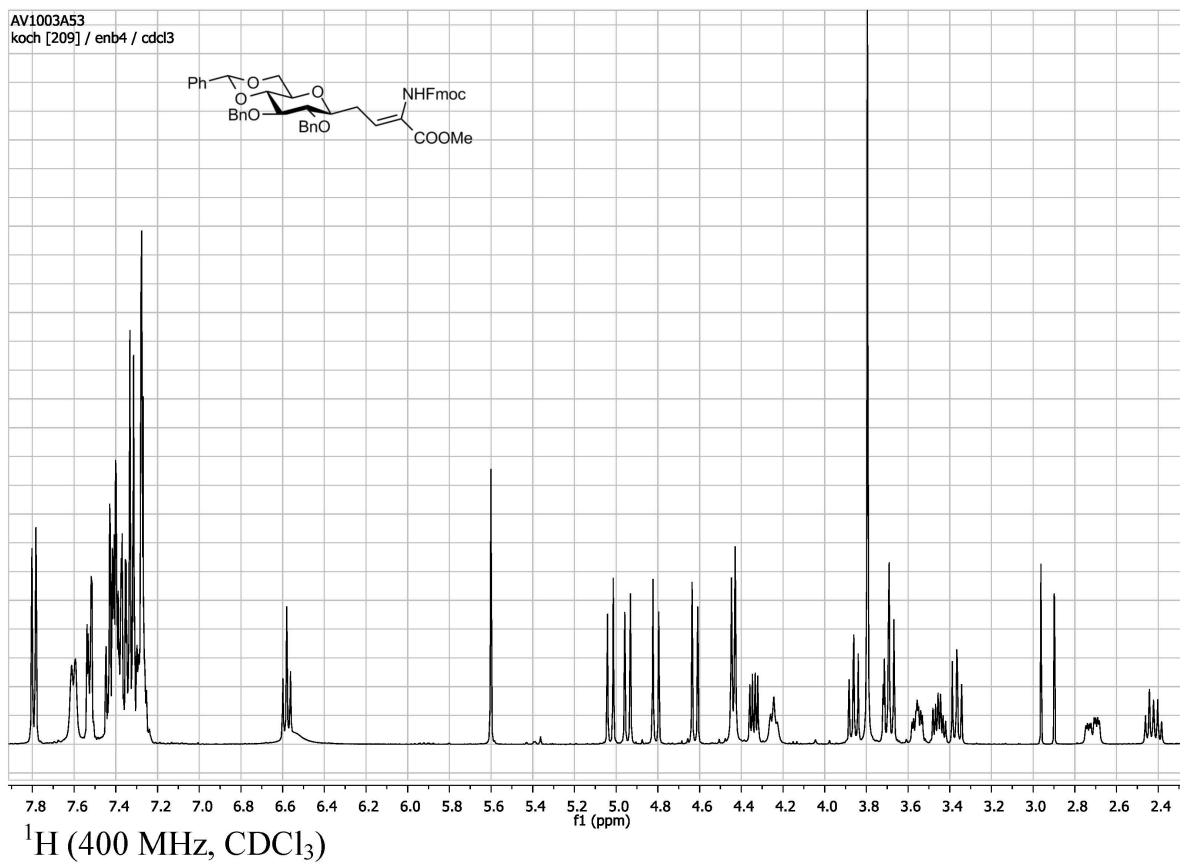


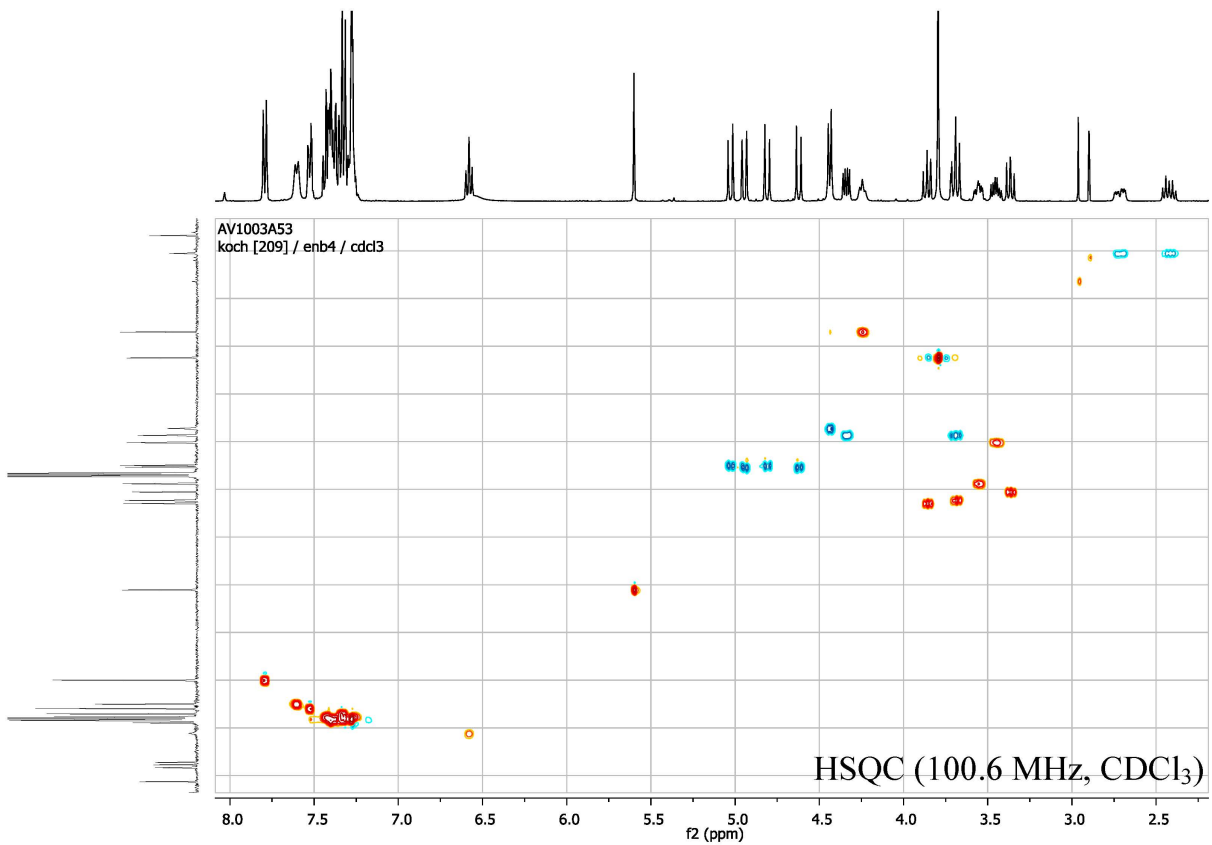
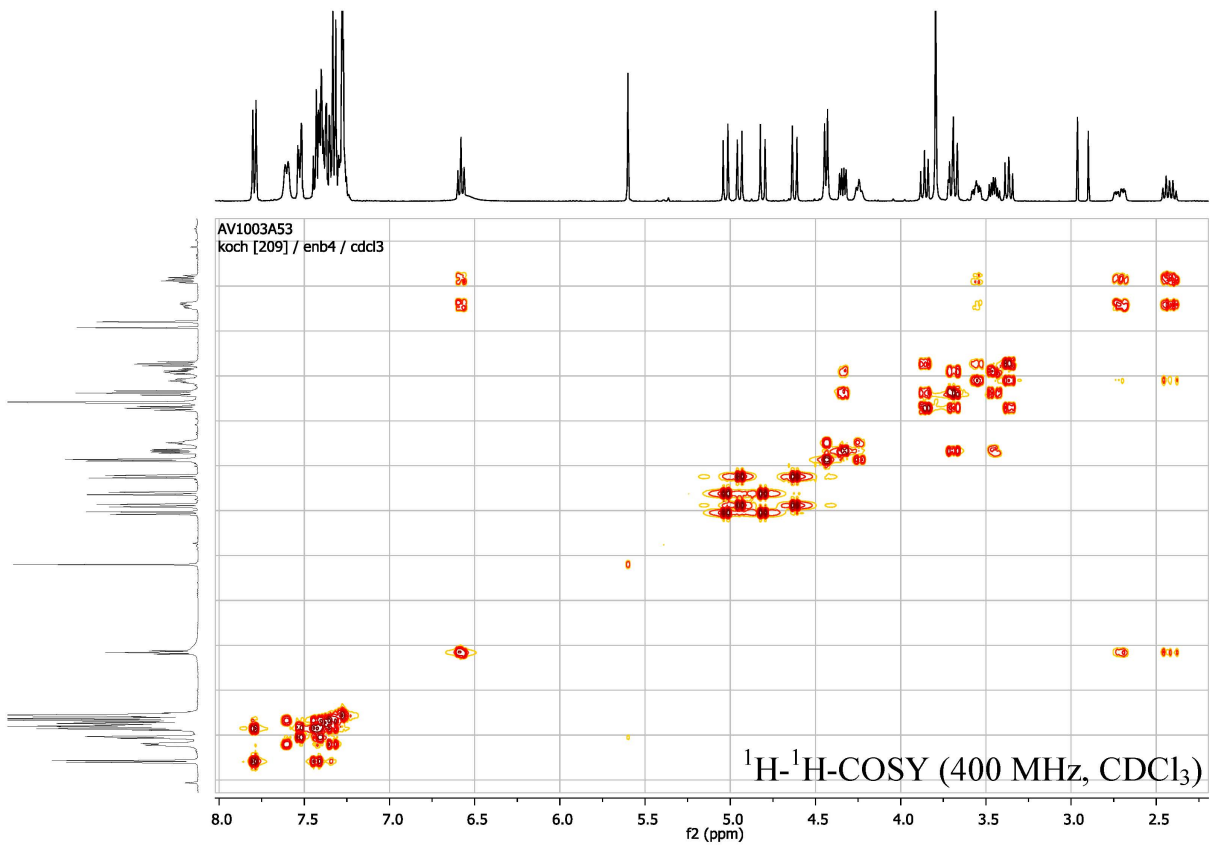
Boc-Z- Δ Val-[β -4,6-Bzn-Bn₂Gal]-OtBu (116)

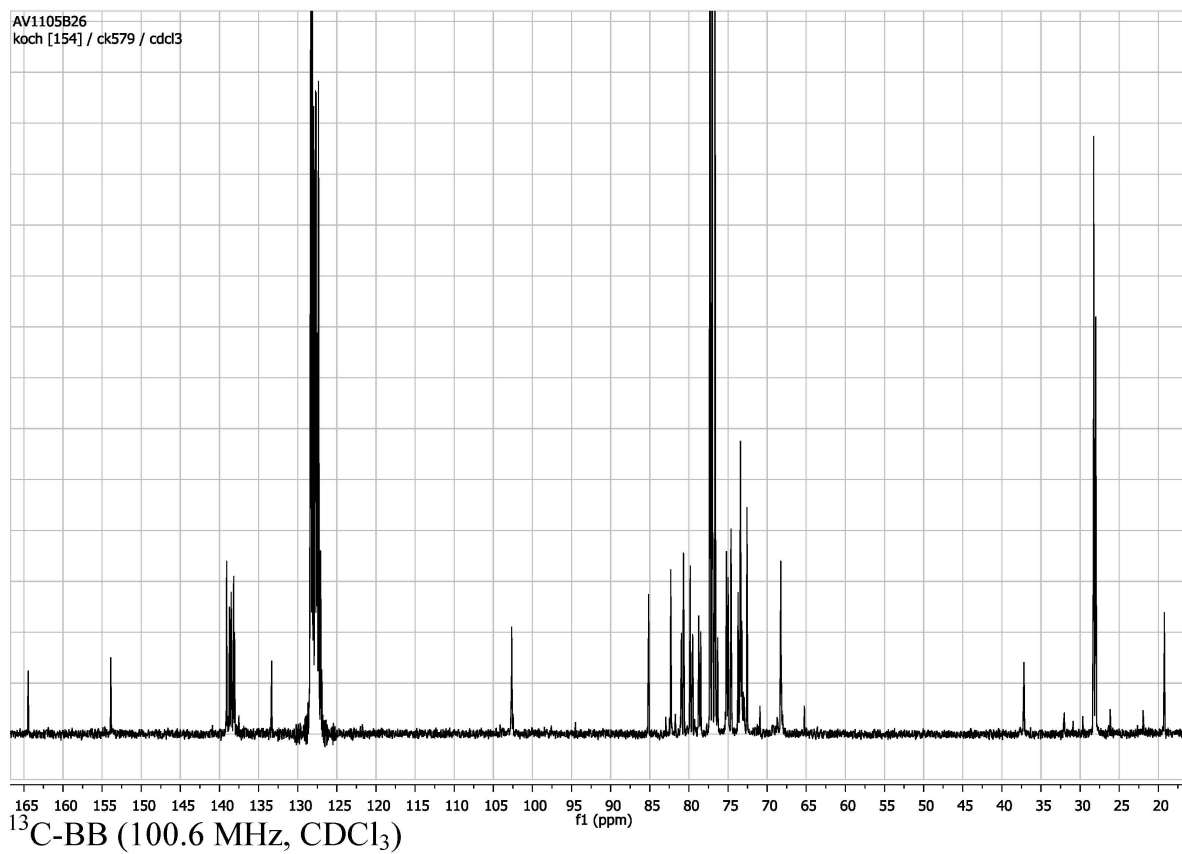
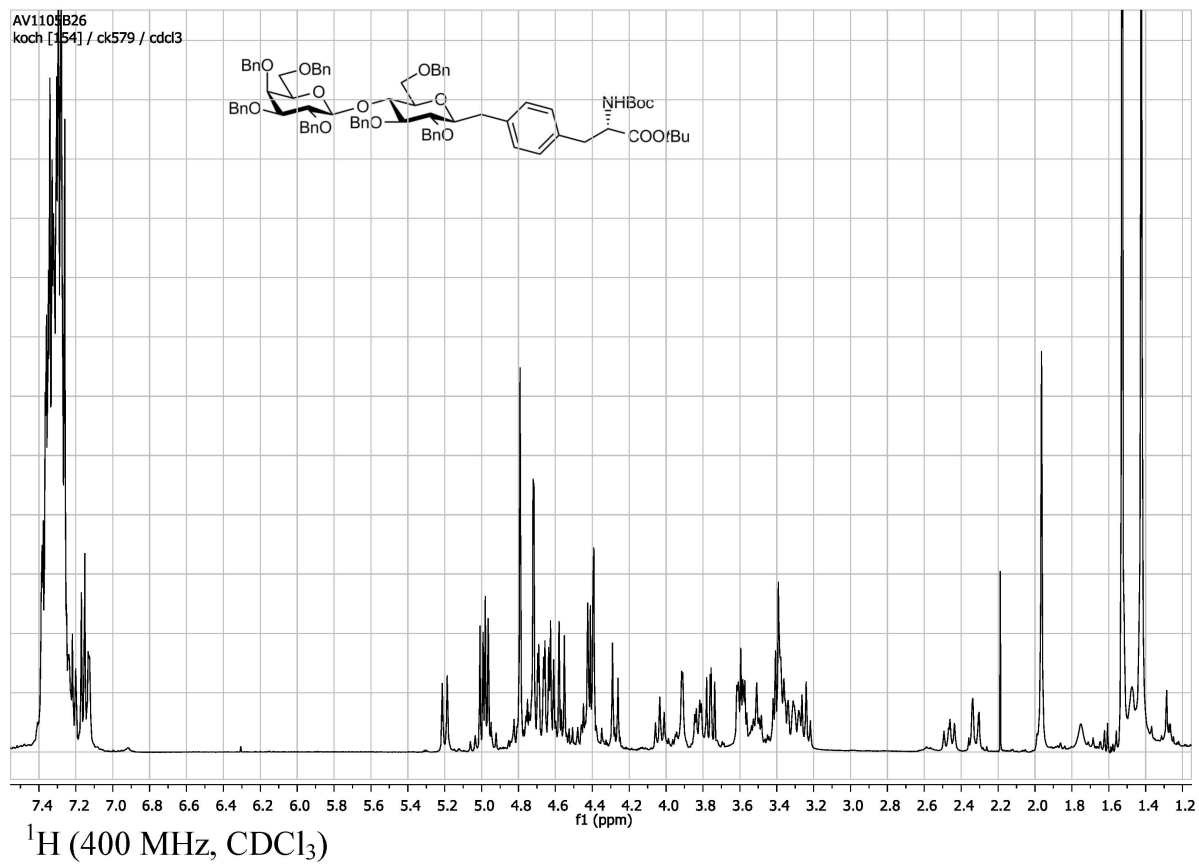


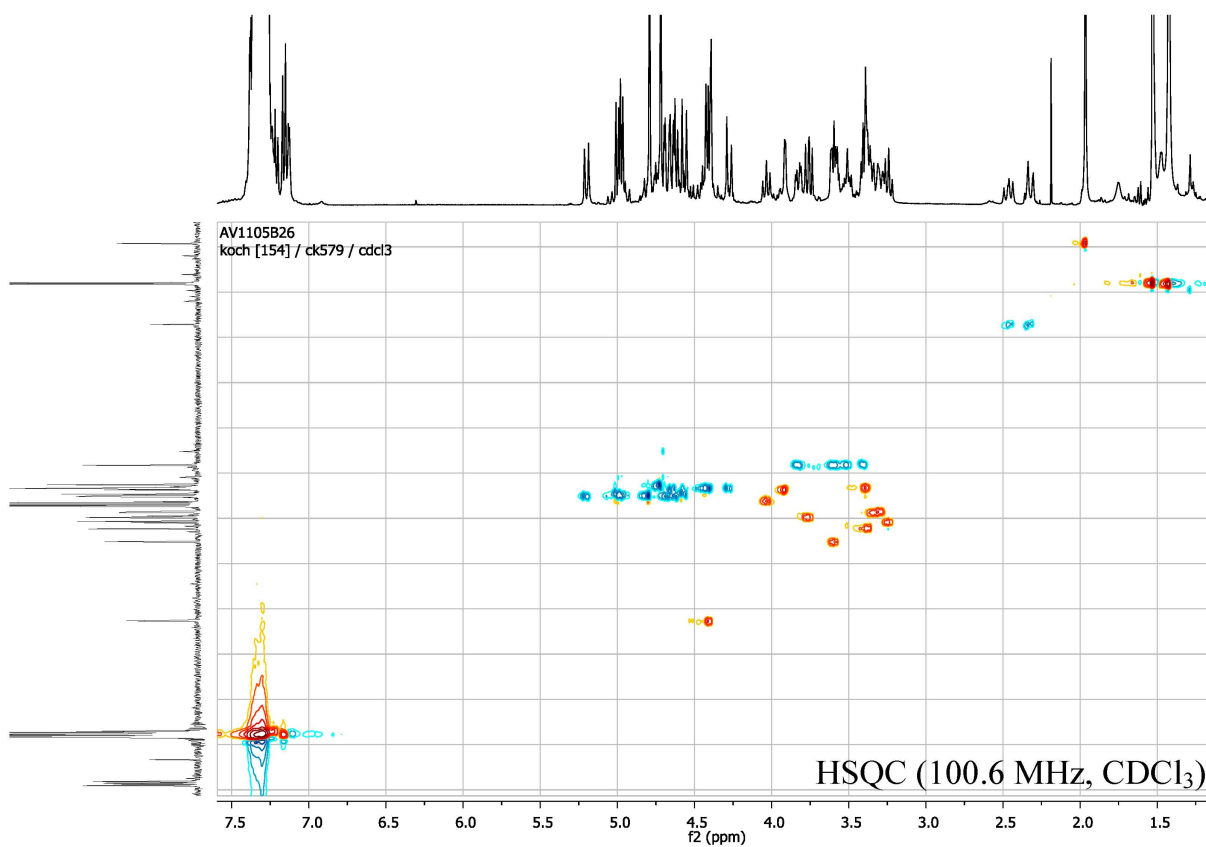
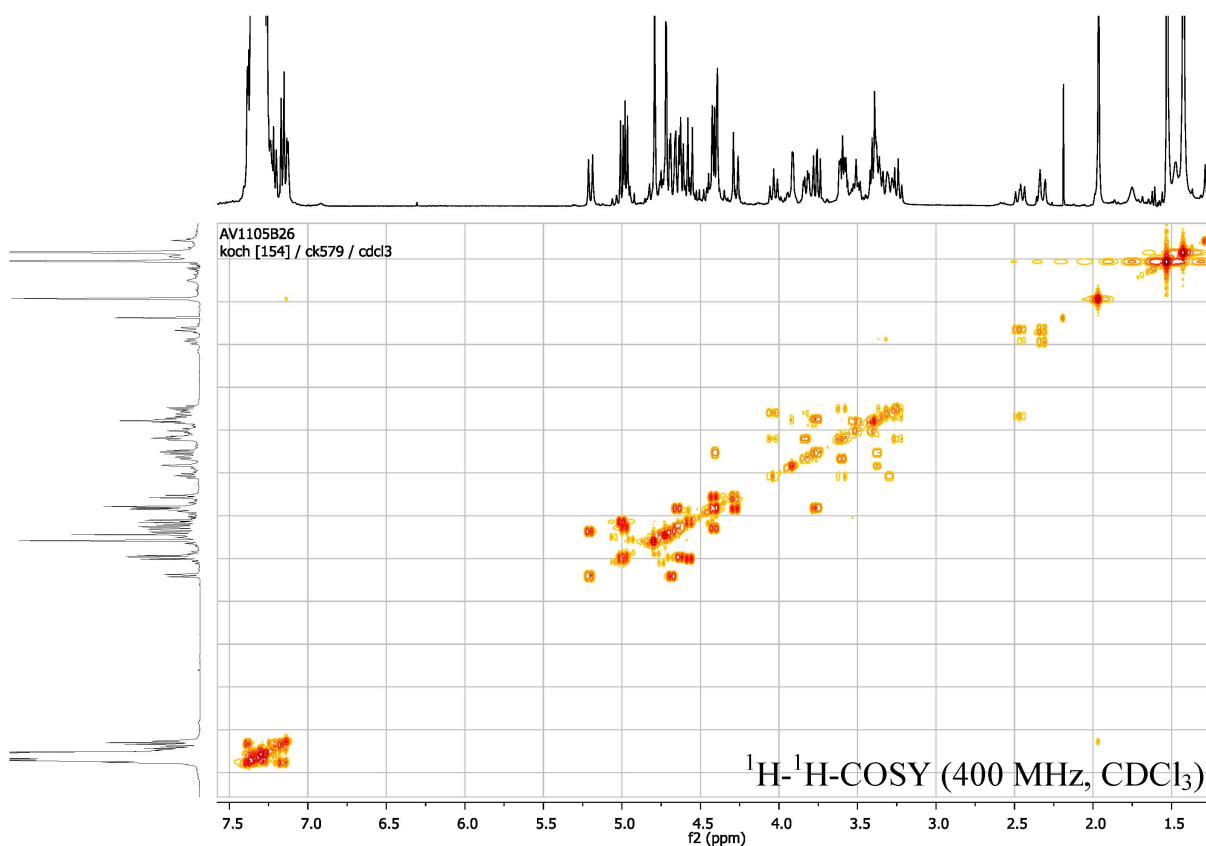
Fmoc-C-Tyr- $[\beta$ -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-OMe (127)AV1001A35
koch [089] / ck292 / ccd3AV1001A35
koch [089] / ck292 / ccd3

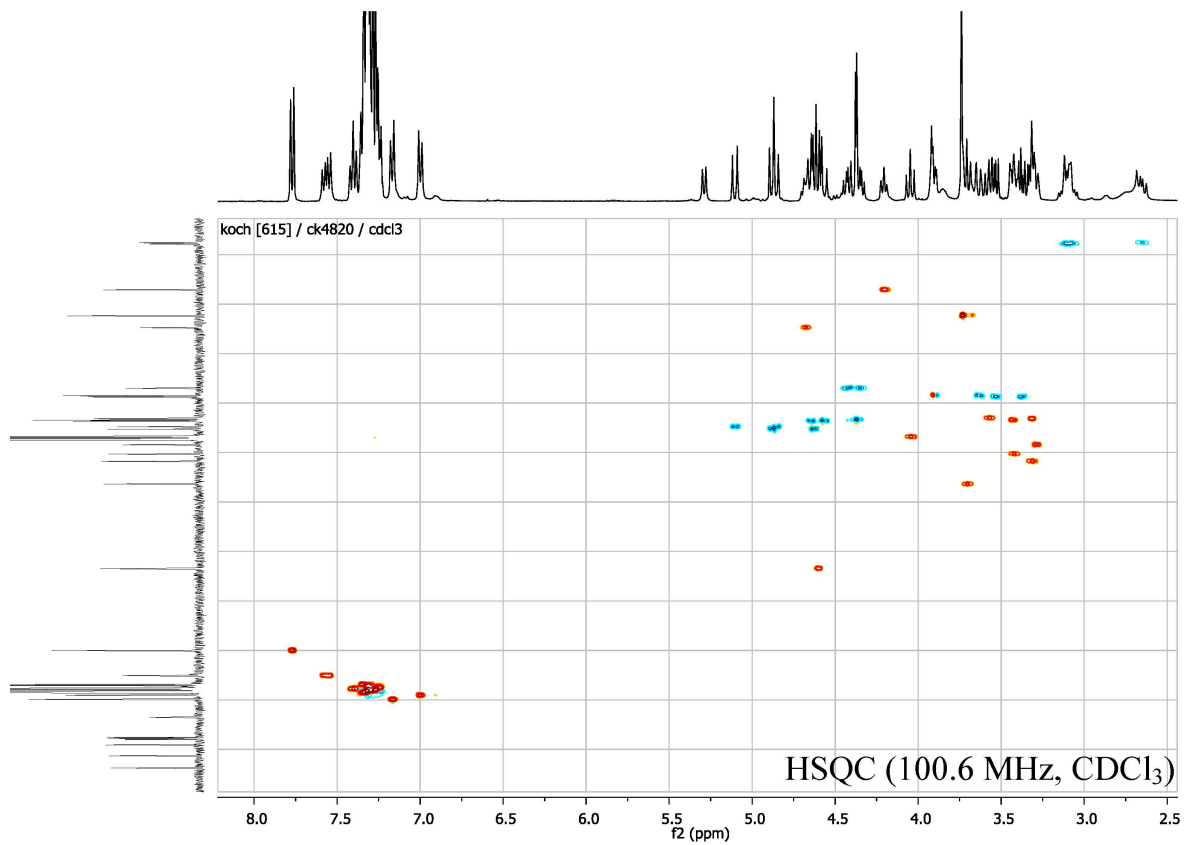
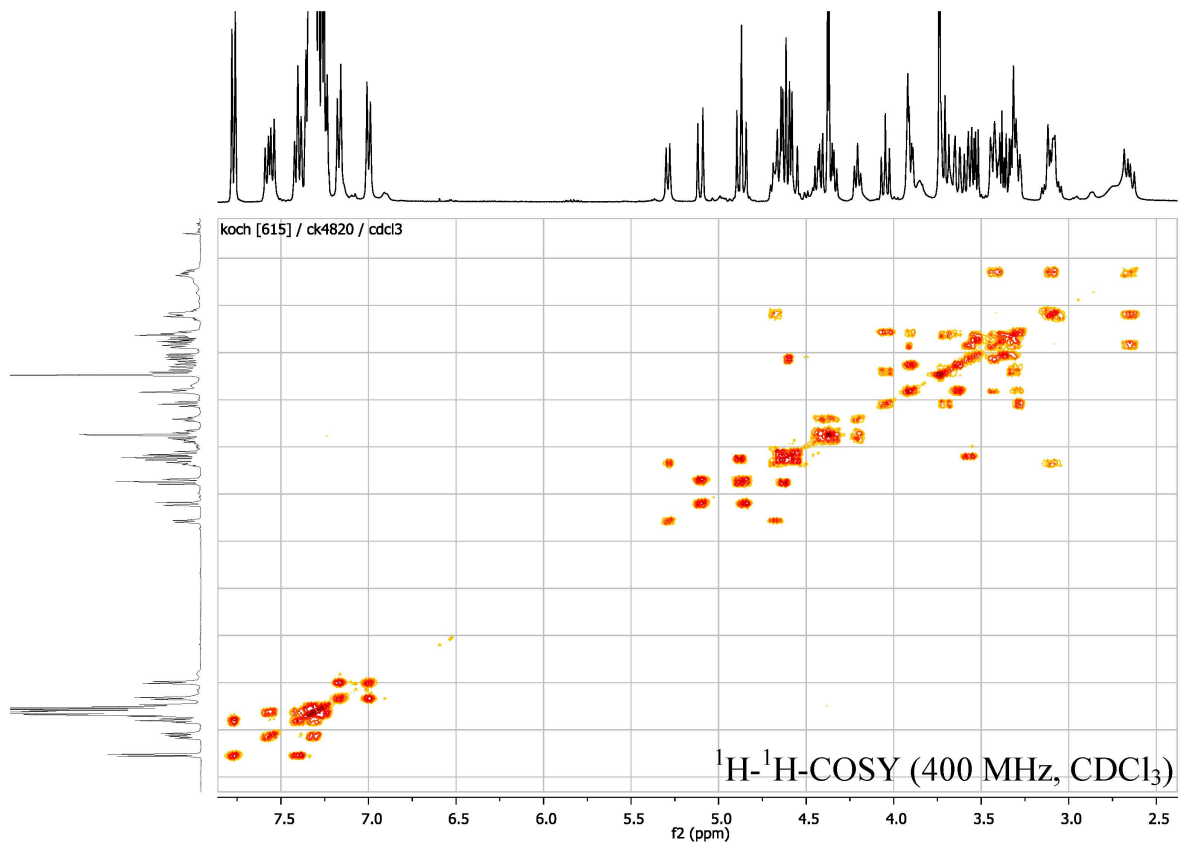


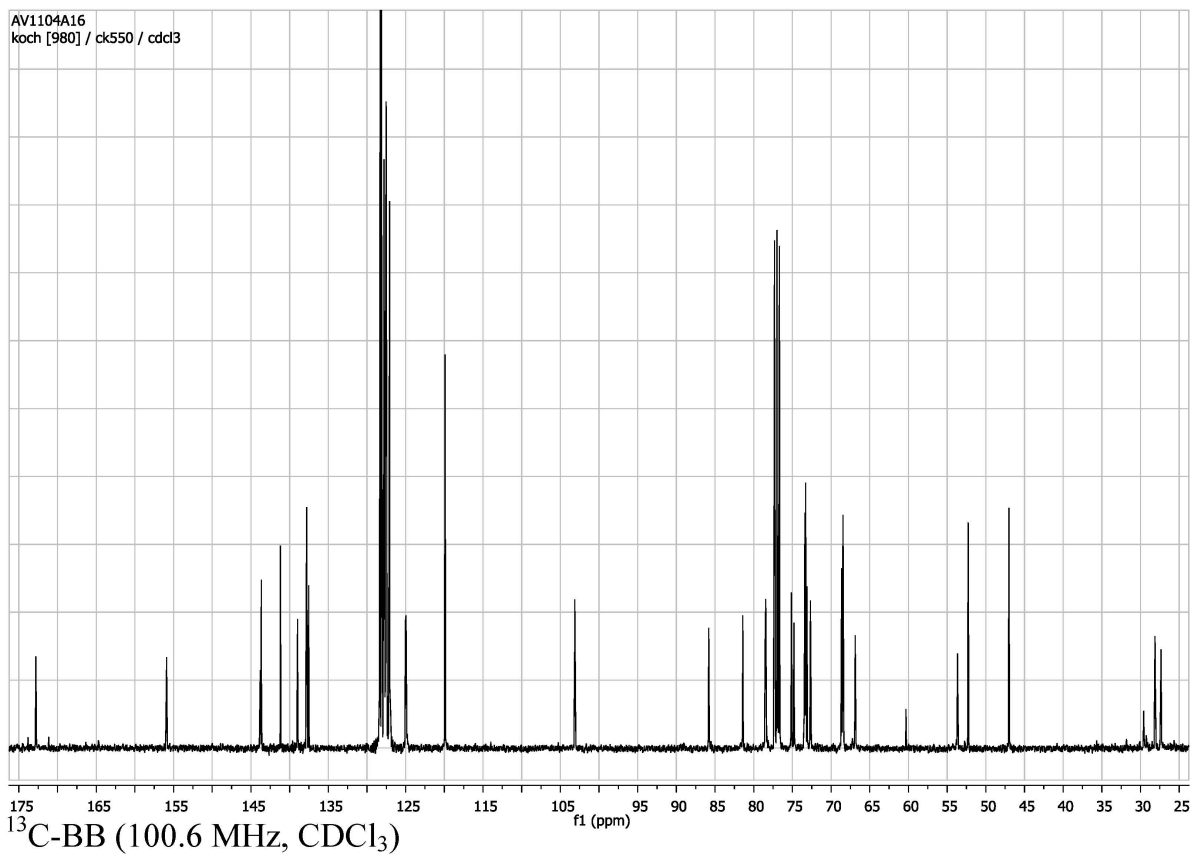
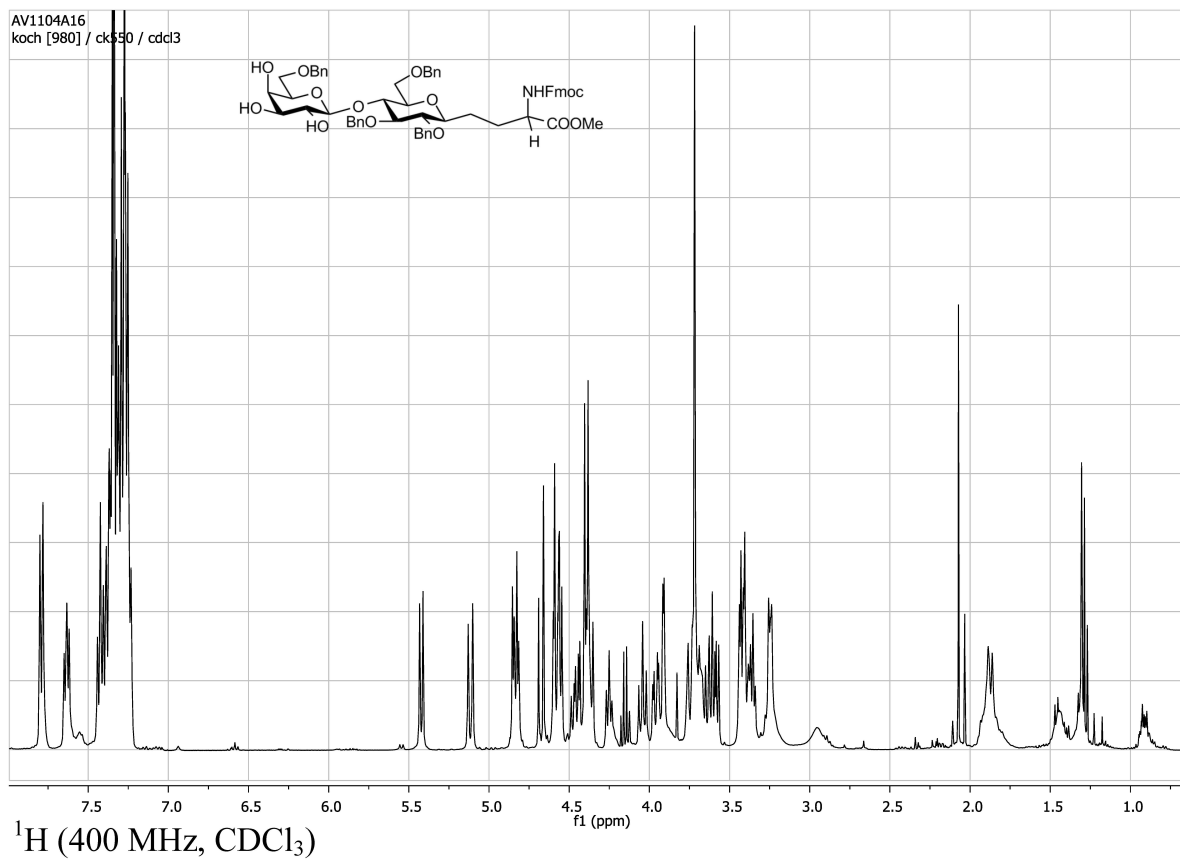
Fmoc-Z- Δ Abu- $[\beta$ -4,6-Bzn-Bn₂Glc]-OMe (131)

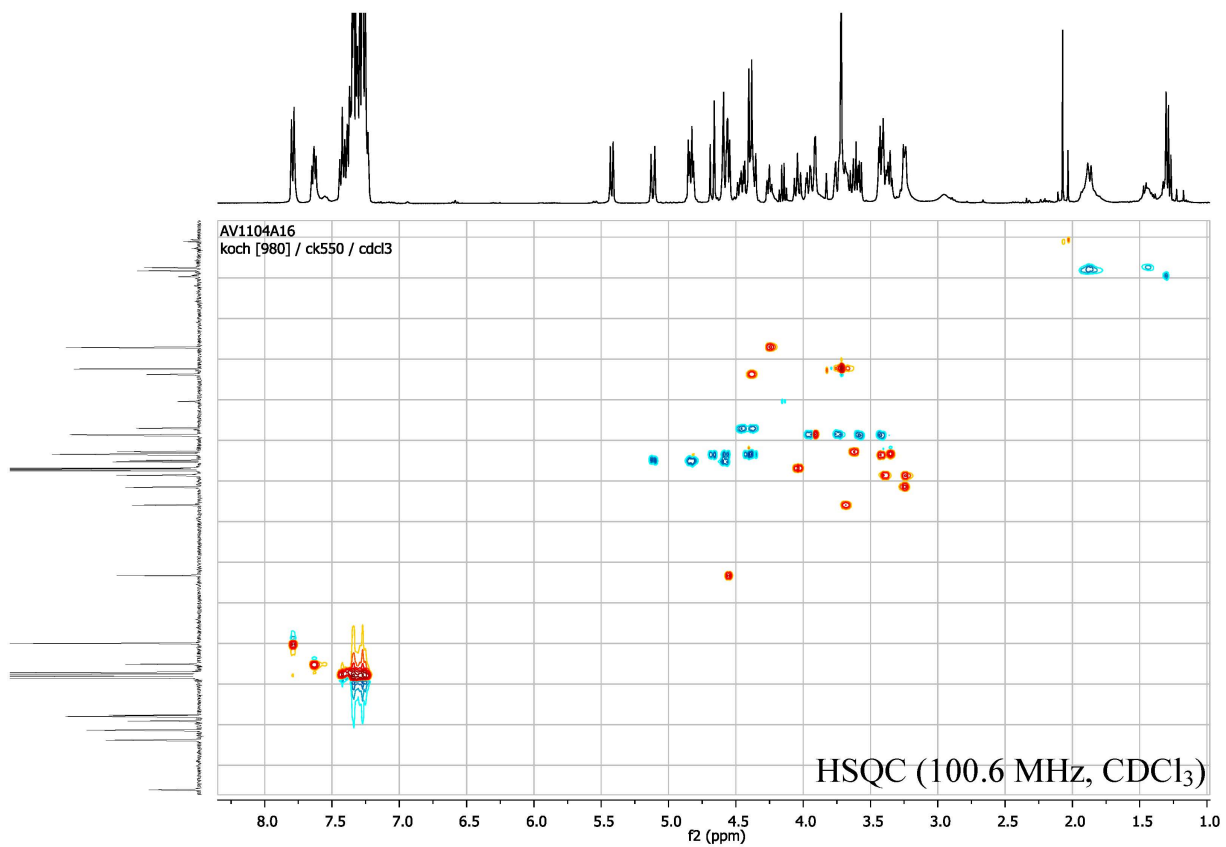
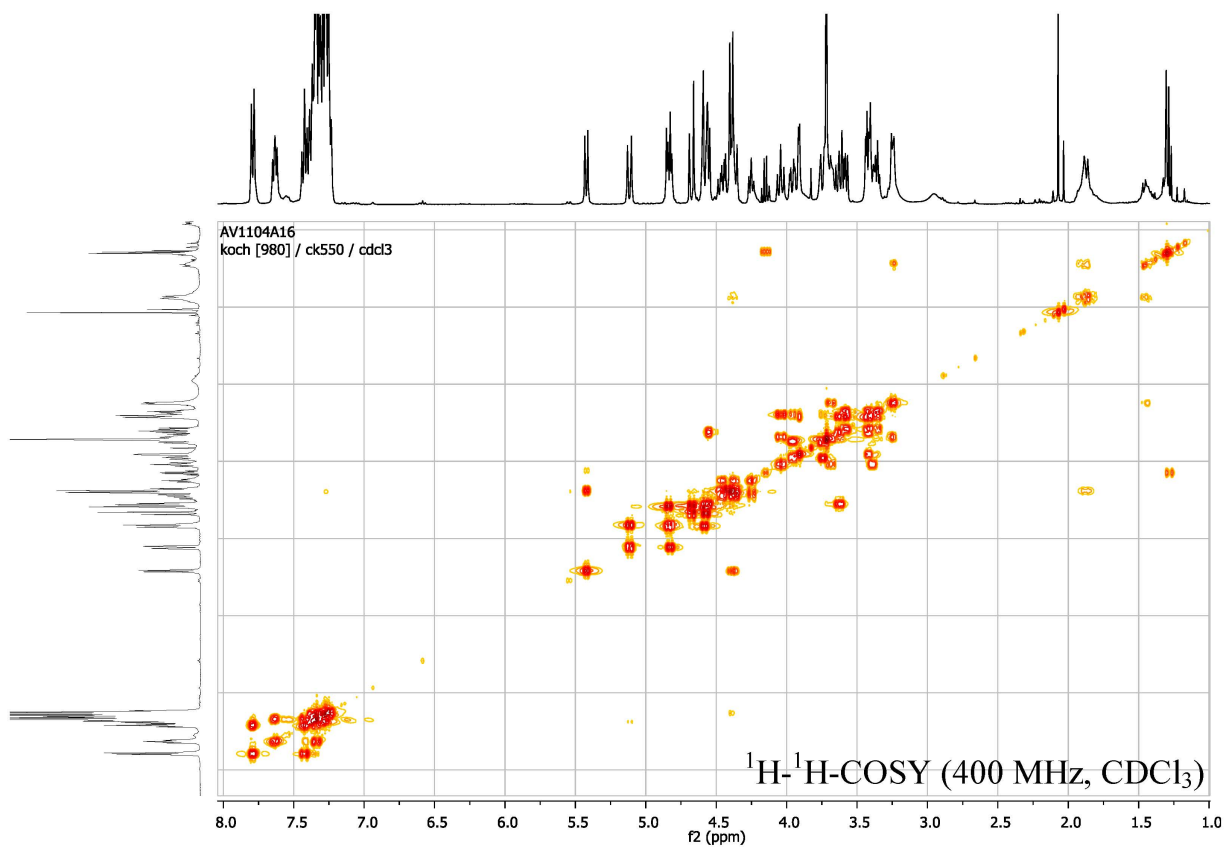


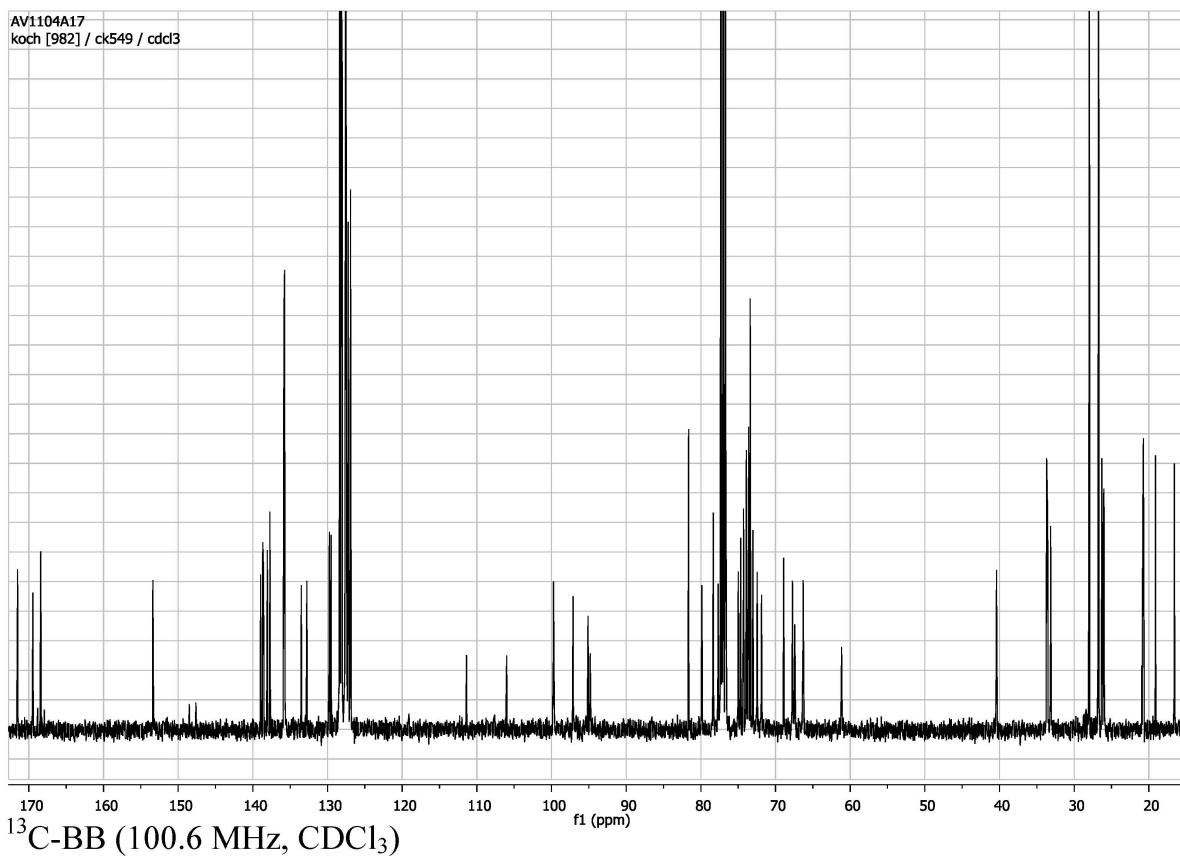
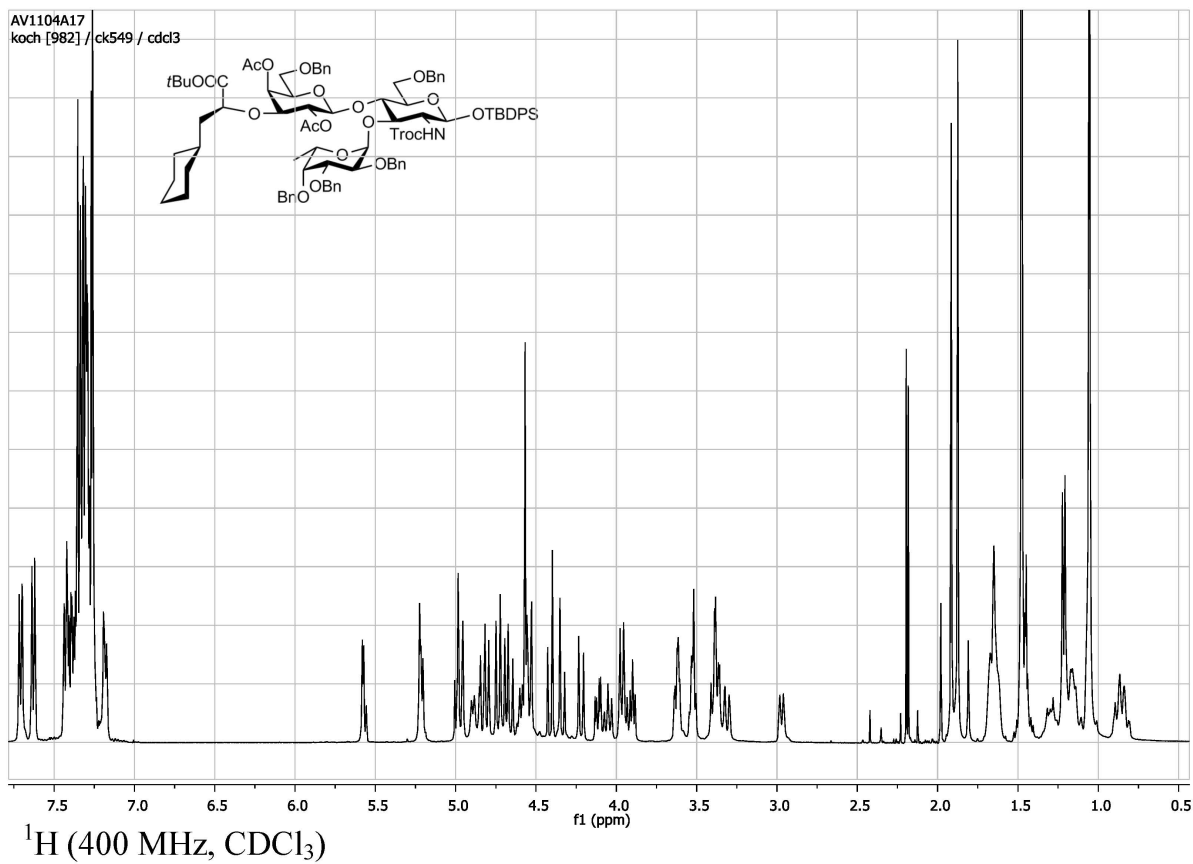
Boc-Tyr-C-[β -Bn₇Lac]-OtBu (161)

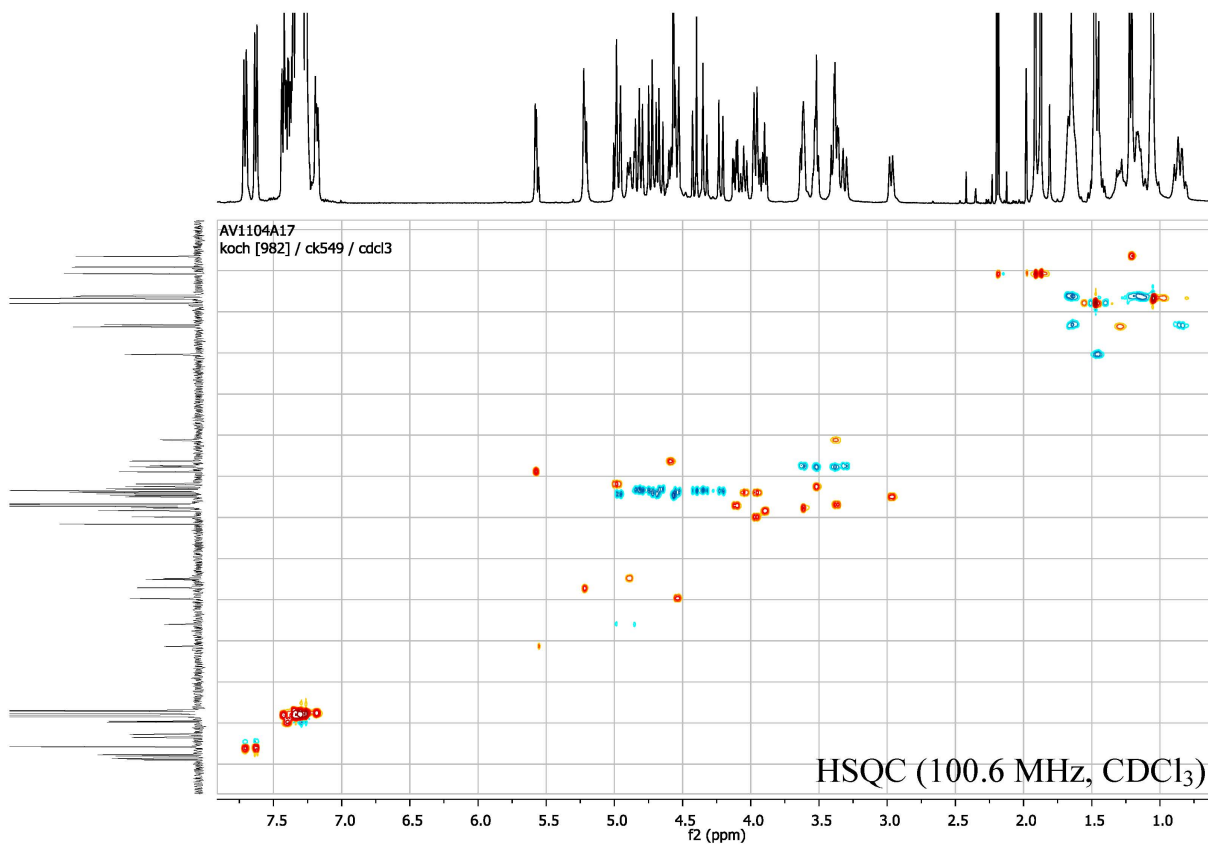
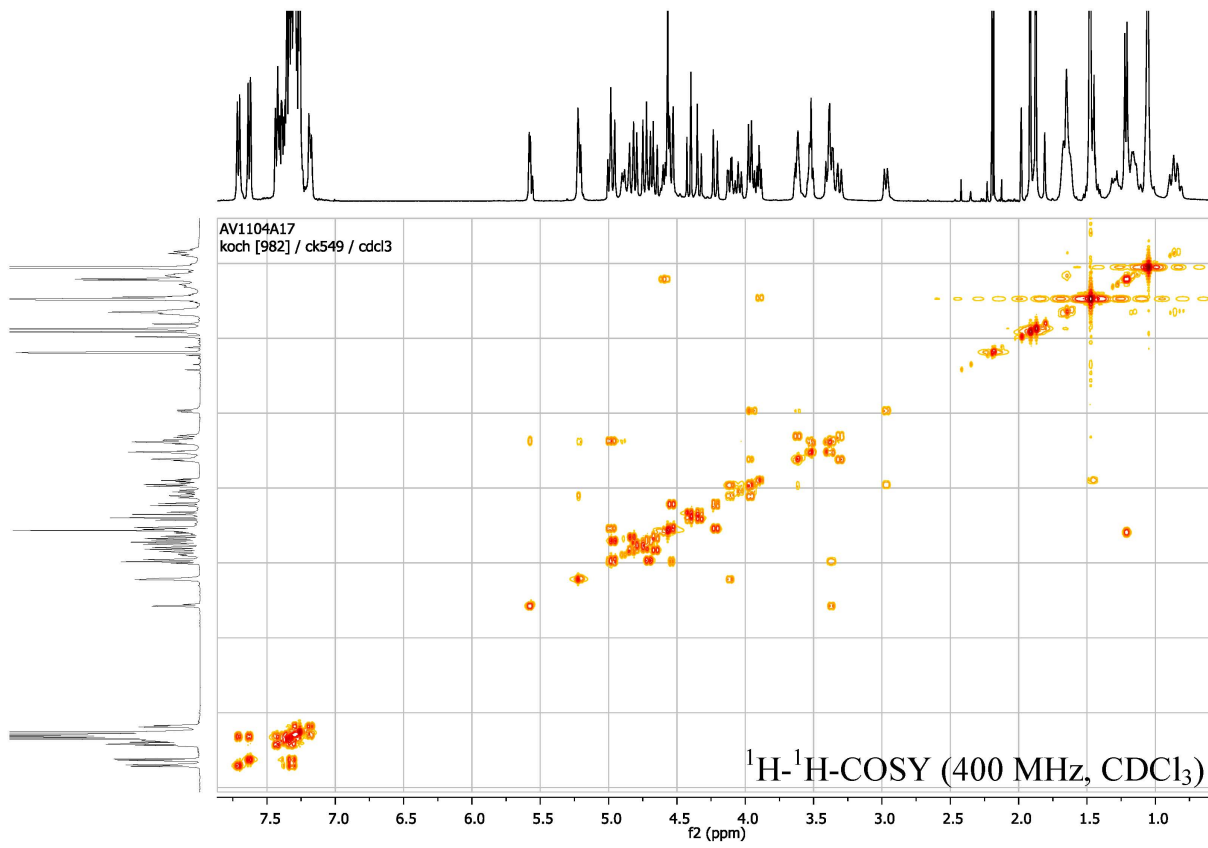


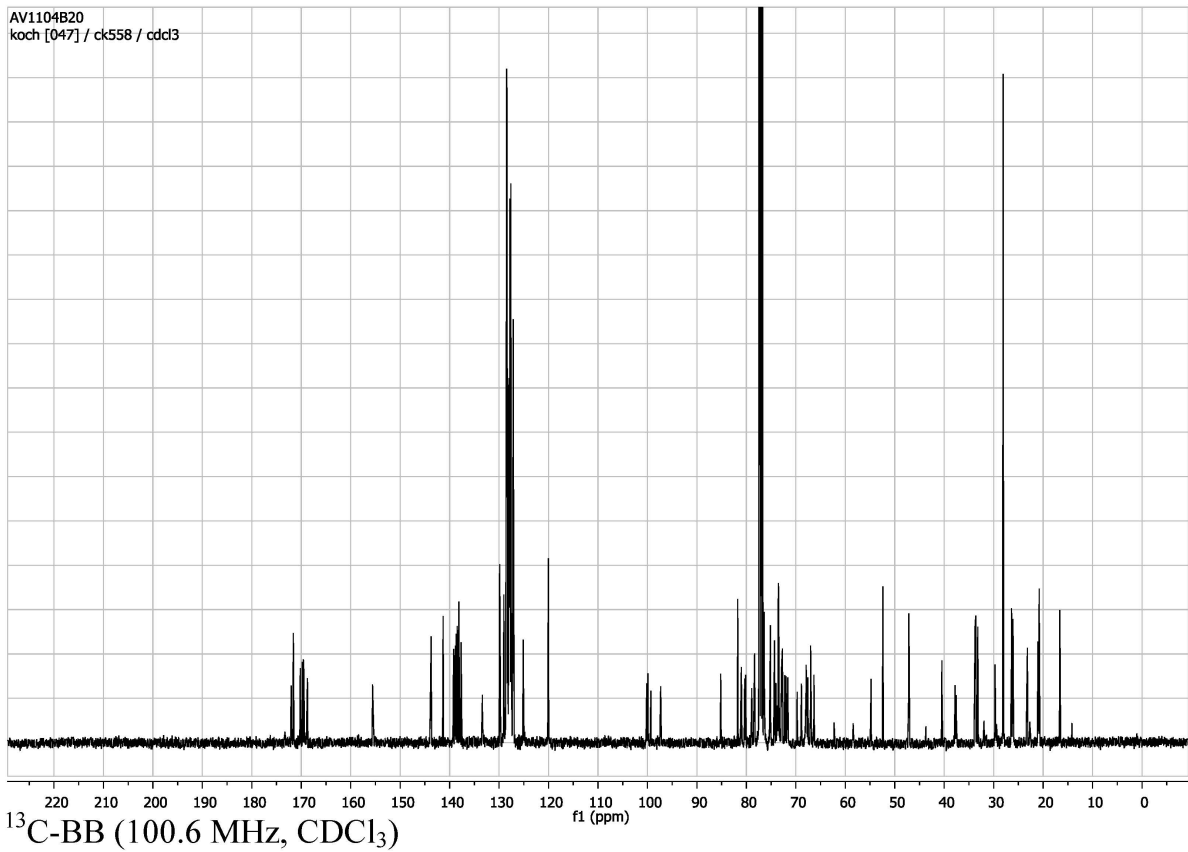
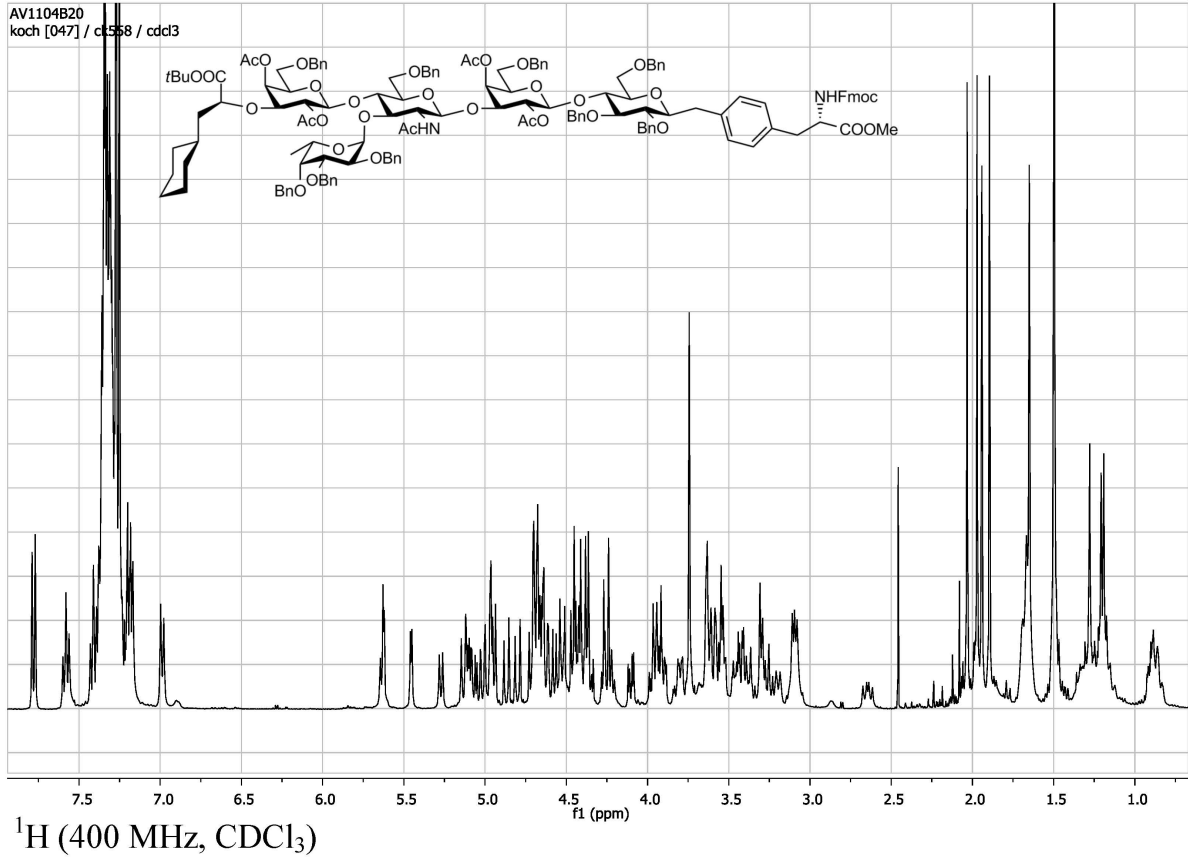


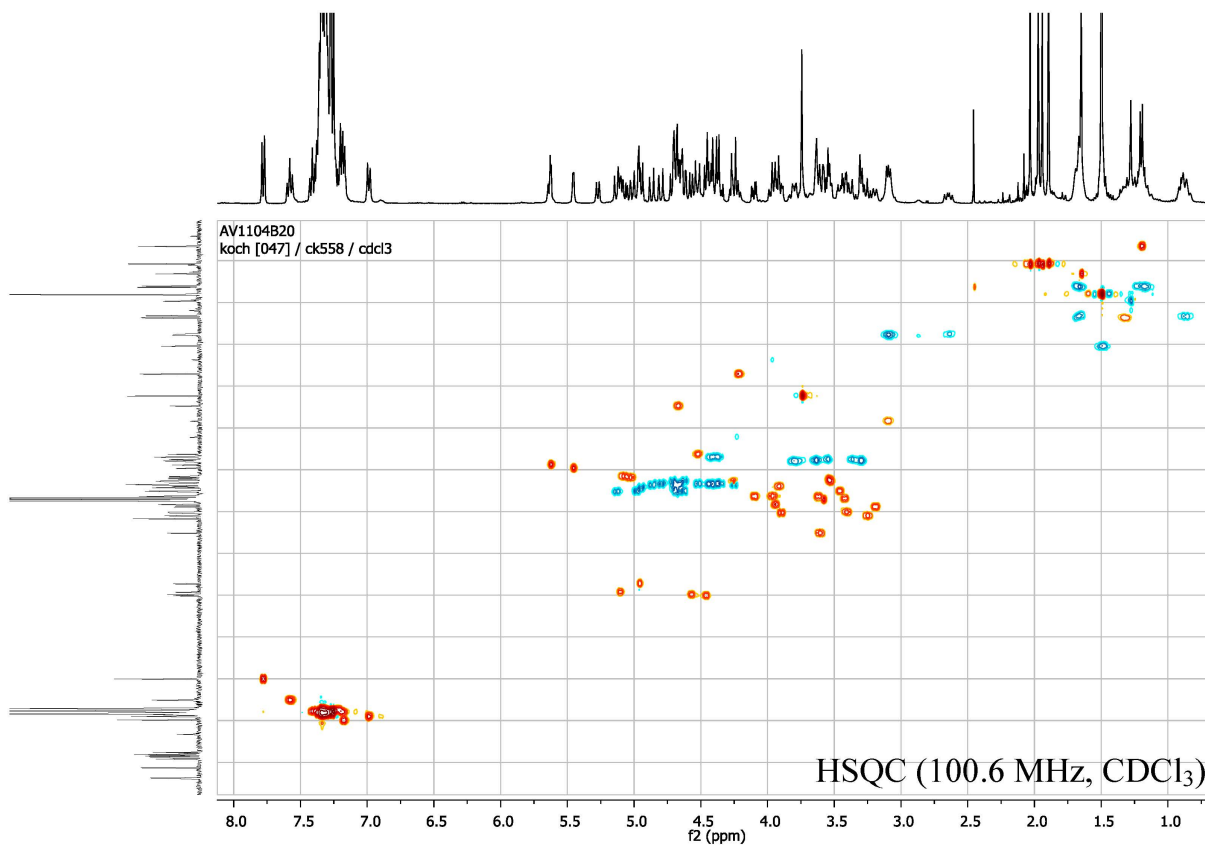
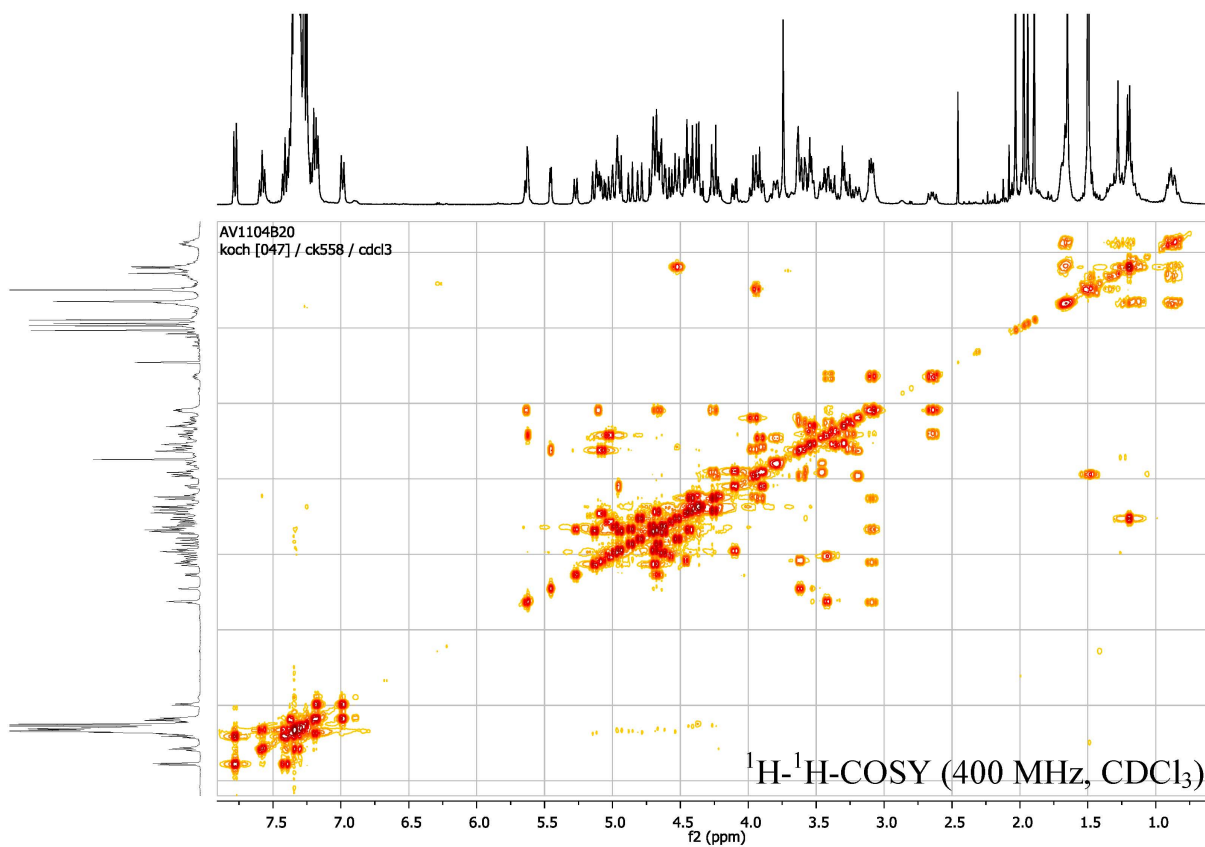
Fmoc-Ser-C-[β -Bn₄Lac]-OMe (170)

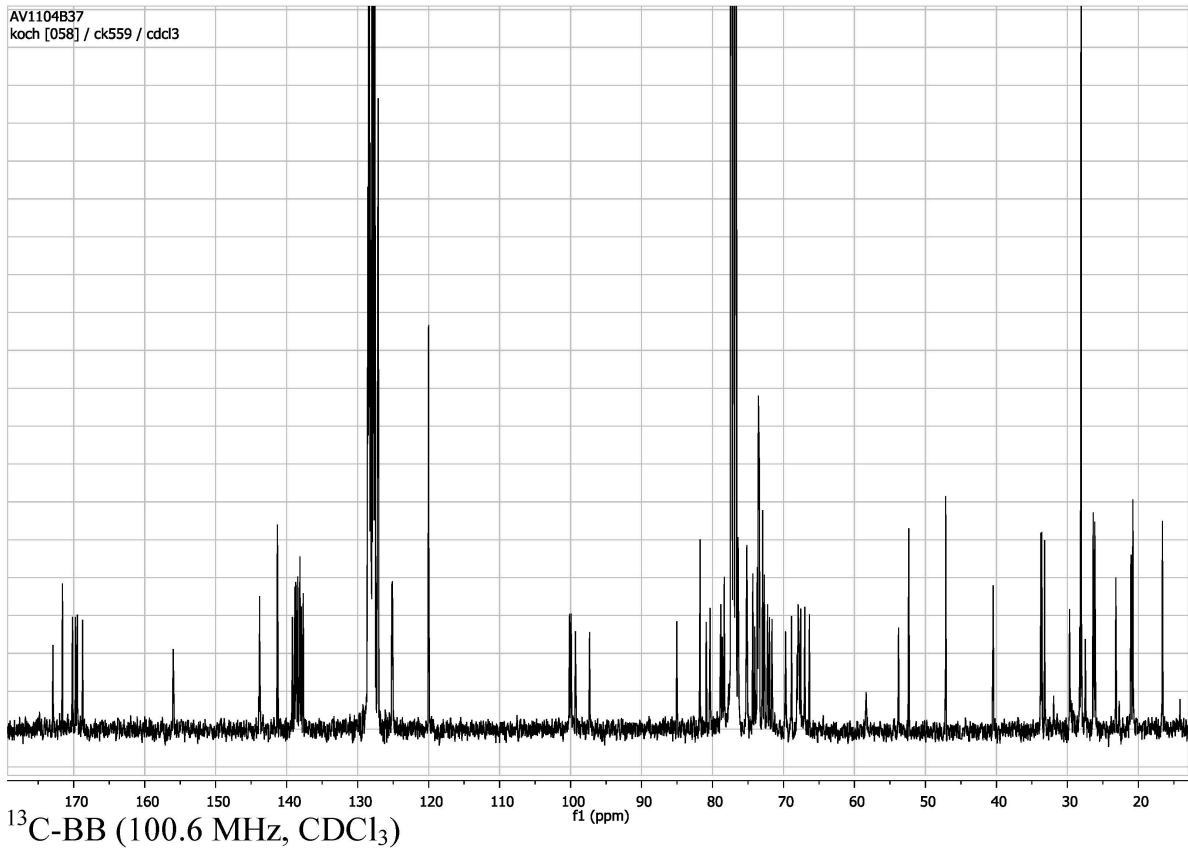
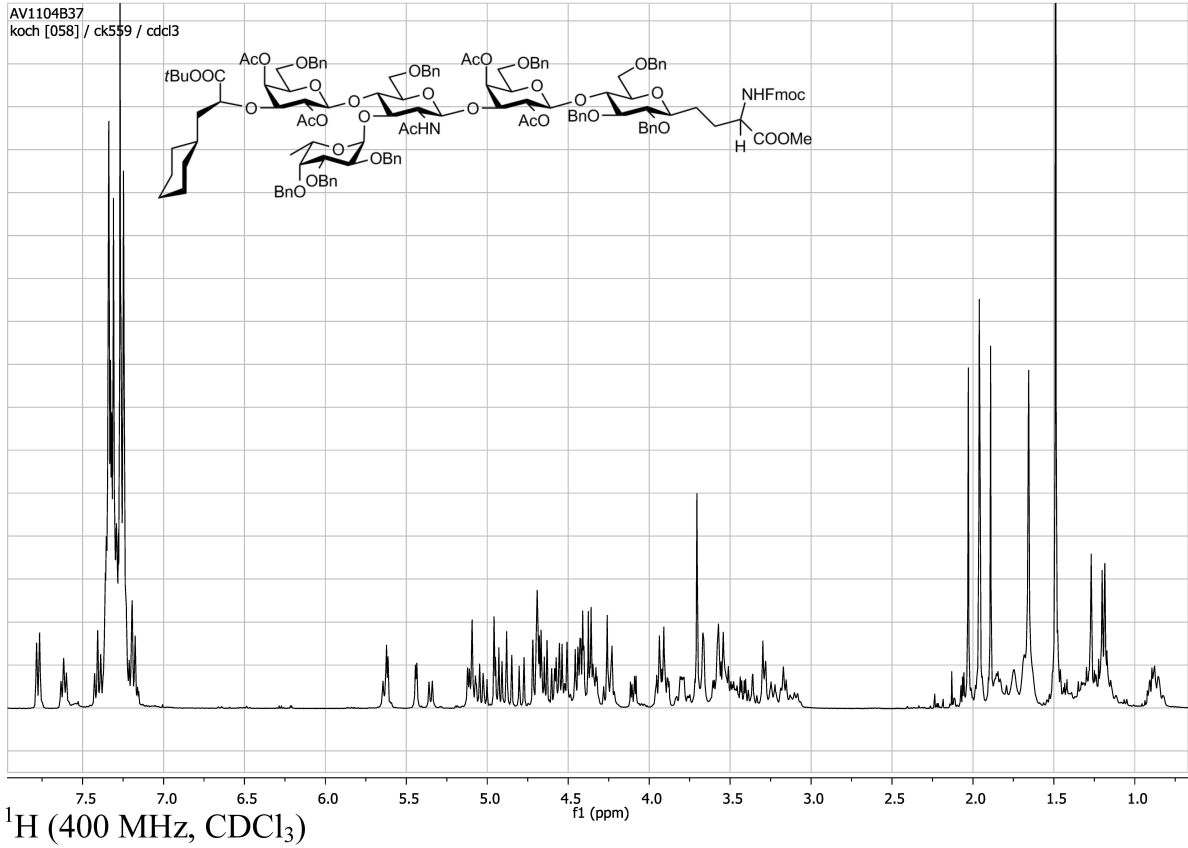


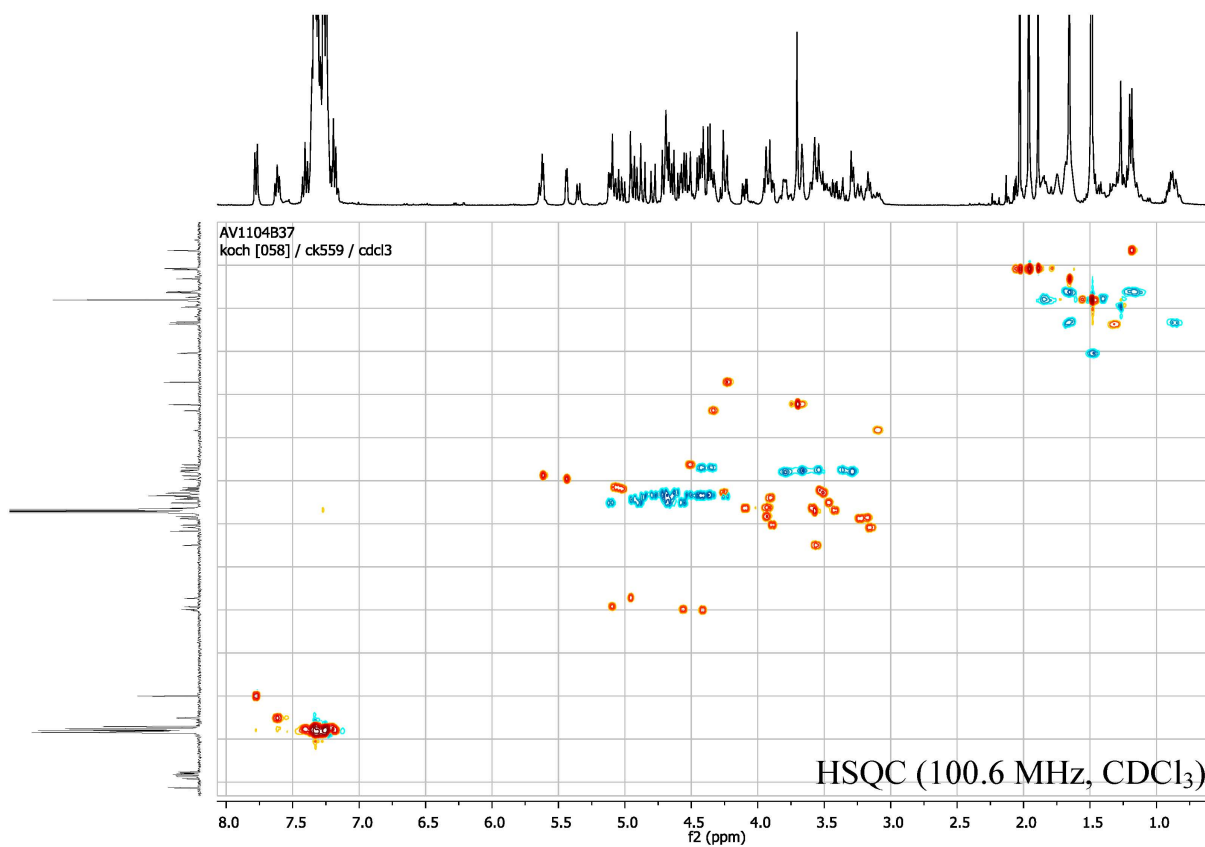
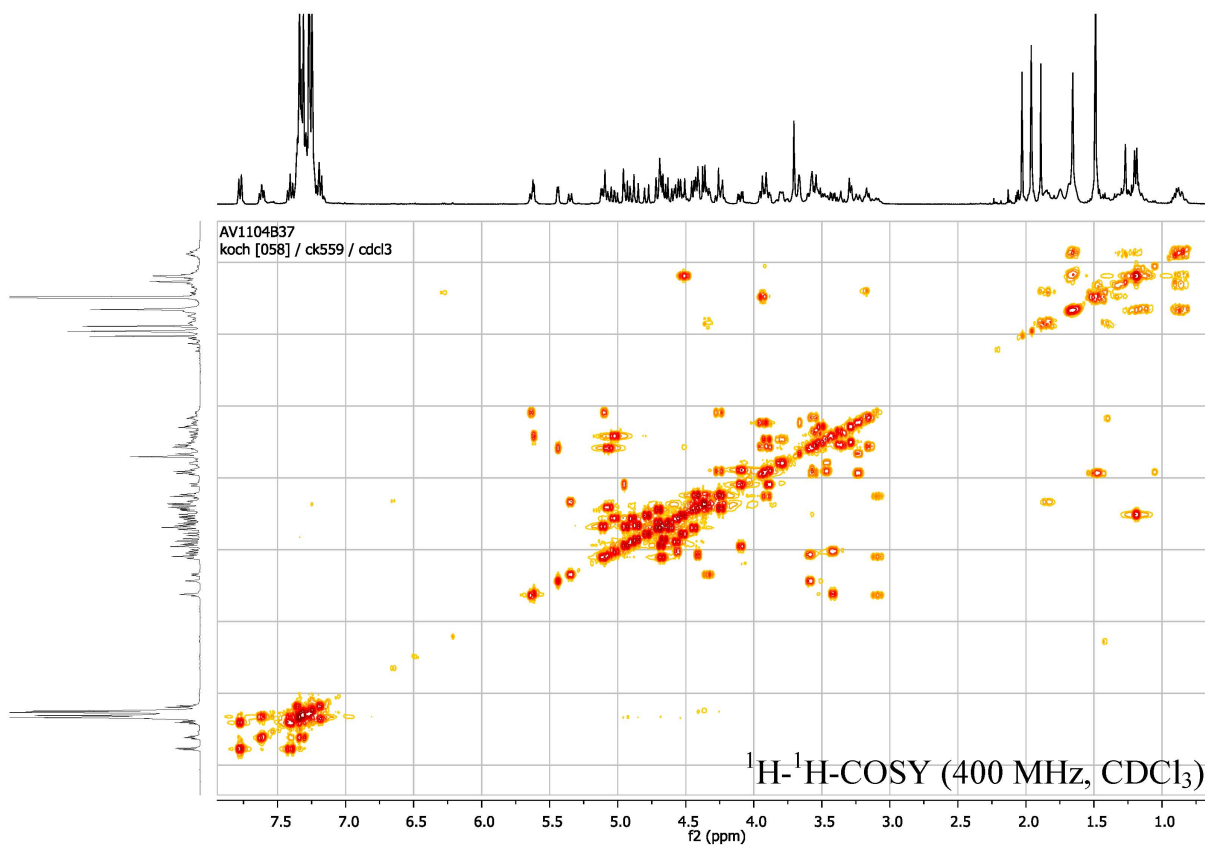
β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNTrocCOOtBu-OTBDPS (44)

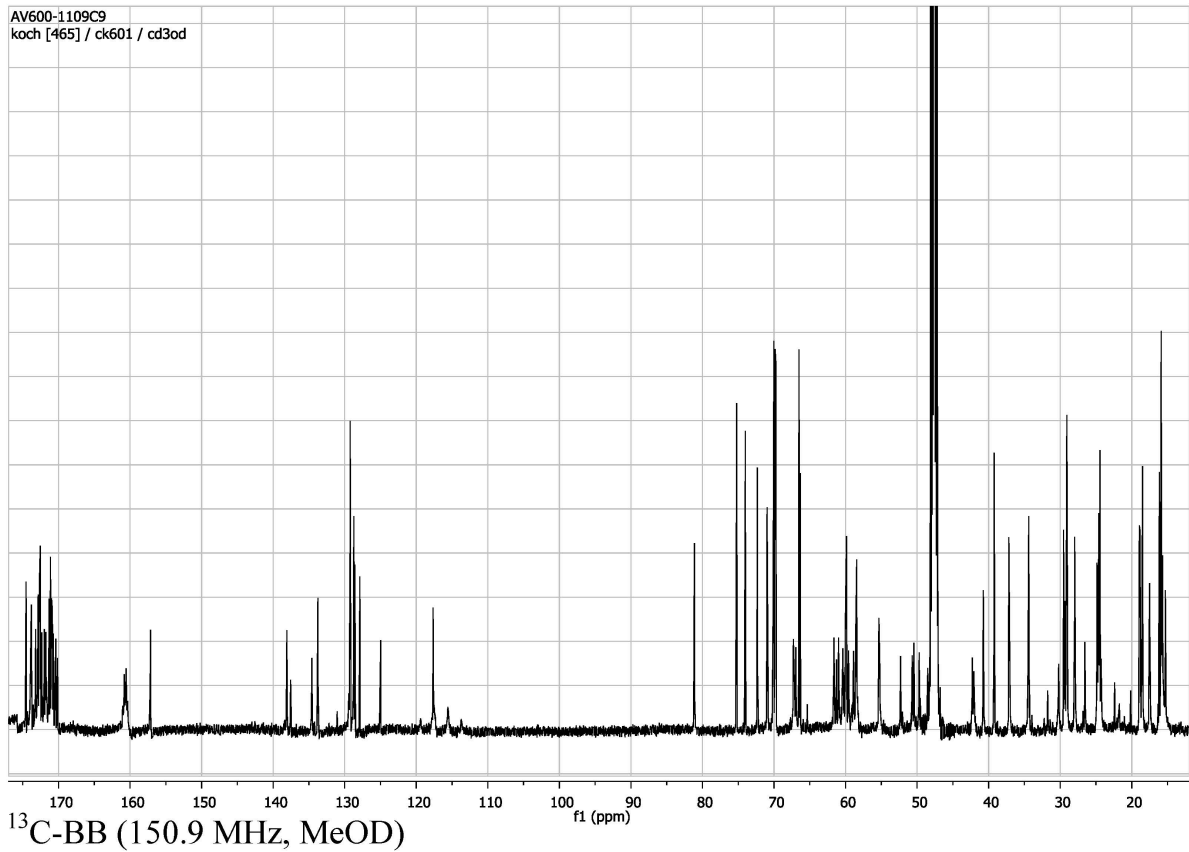
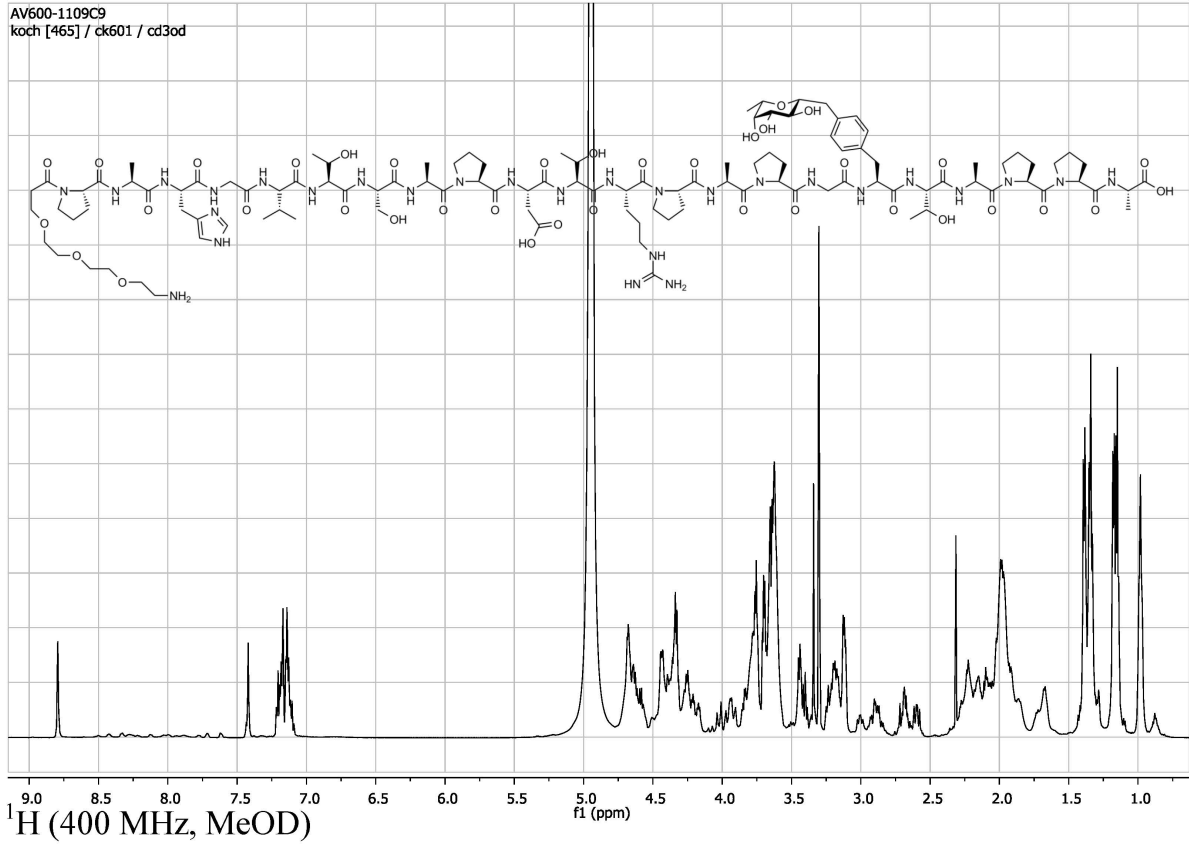


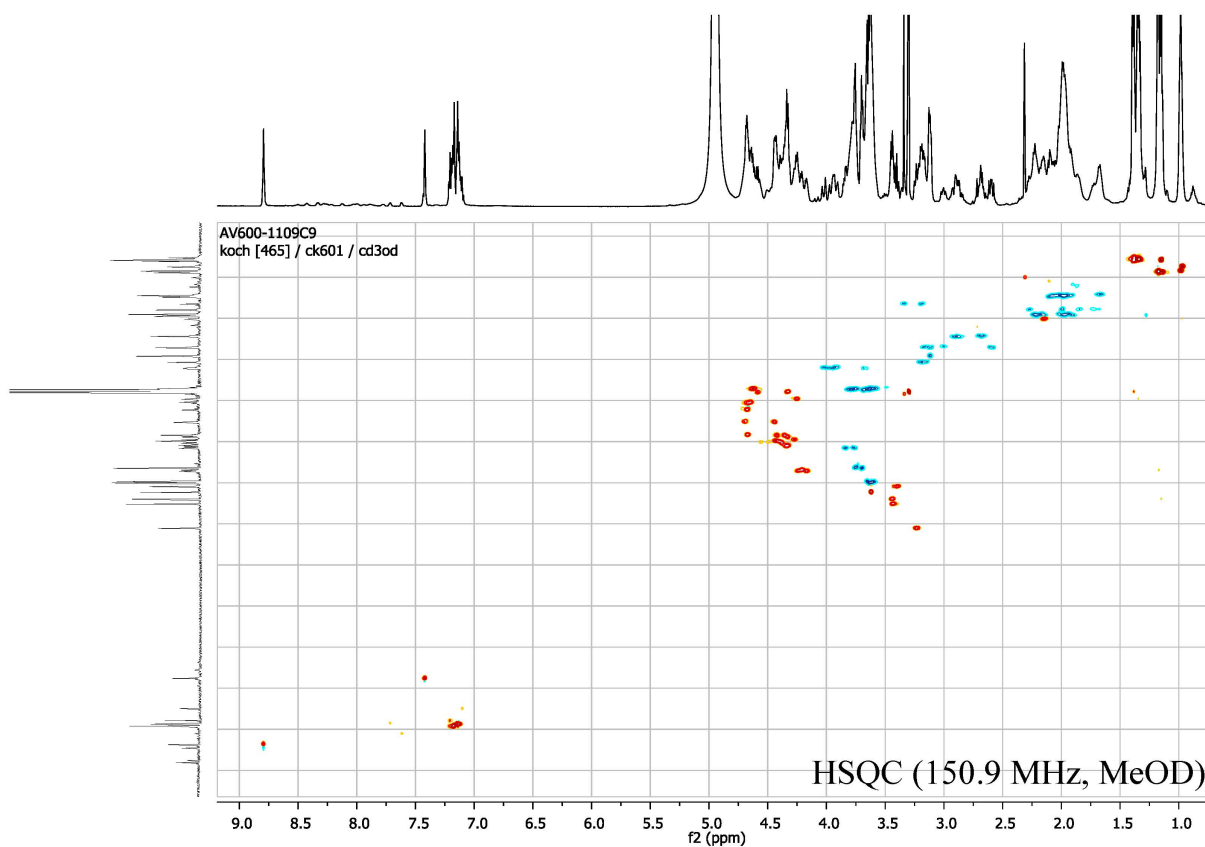
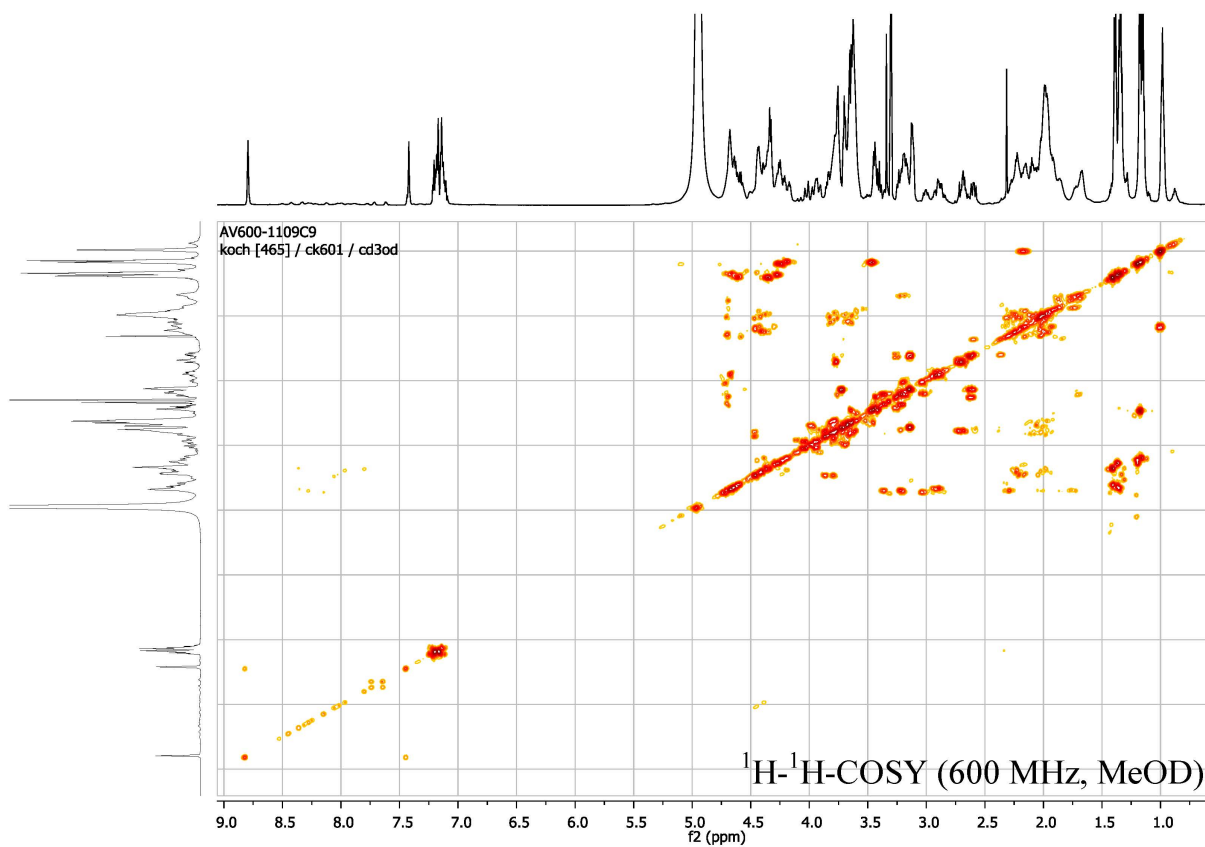
Fmoc-Tyr-C-[(β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNAcCOOtBu)- β -Ac₂Bn₄Lac]-OMe (178)

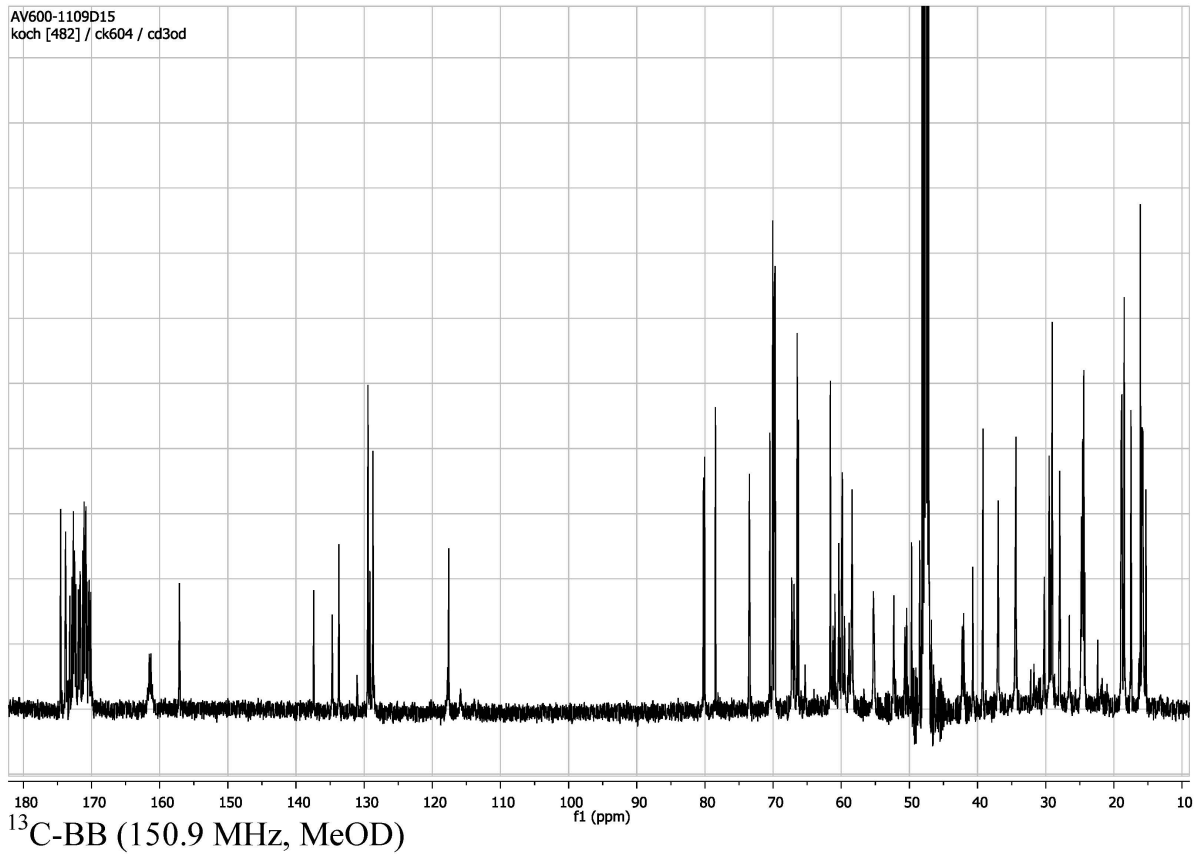
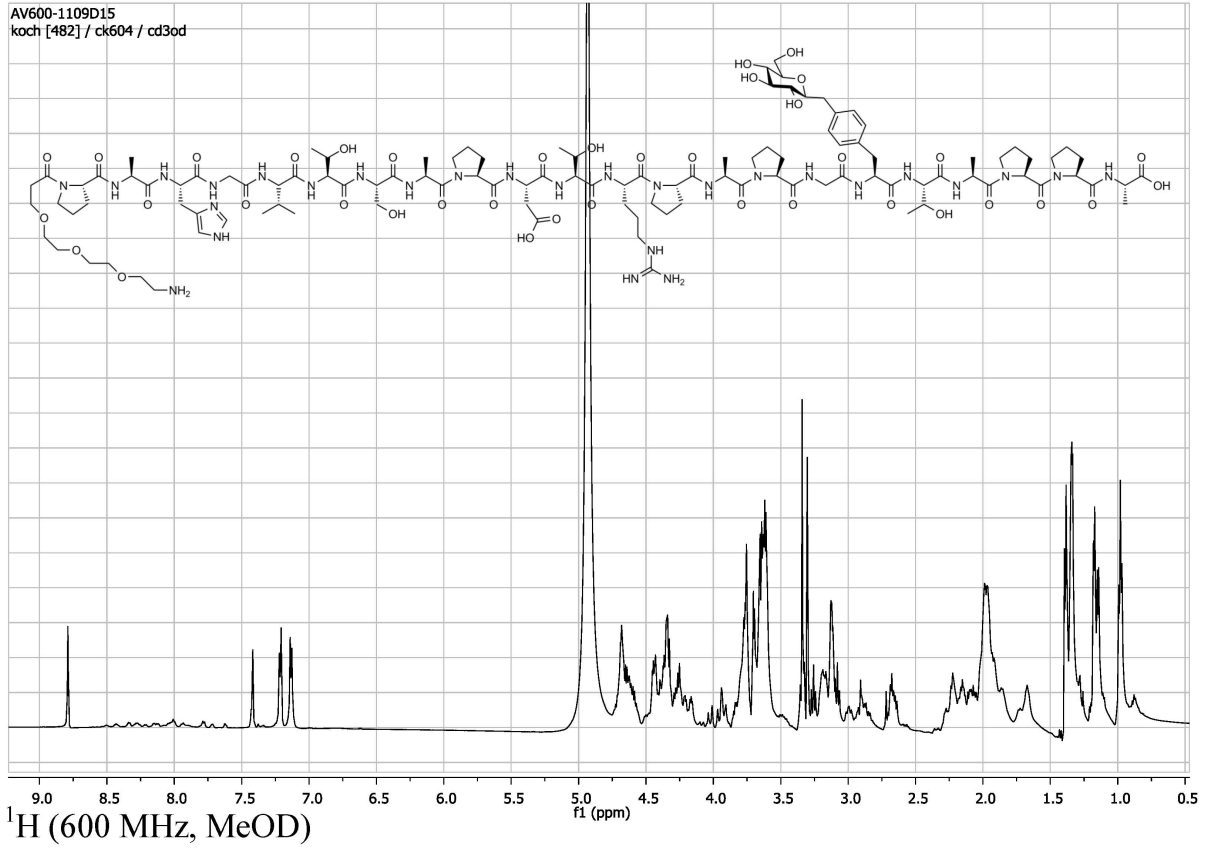


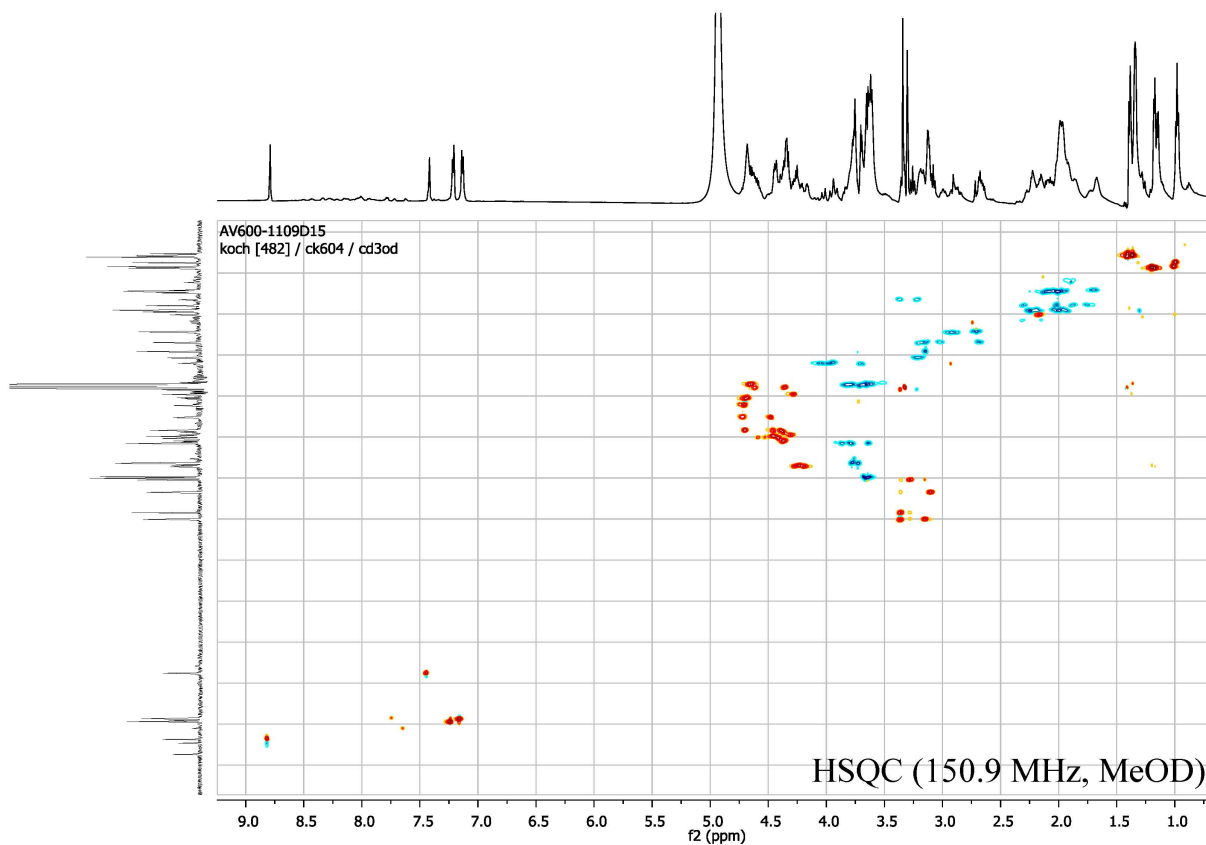
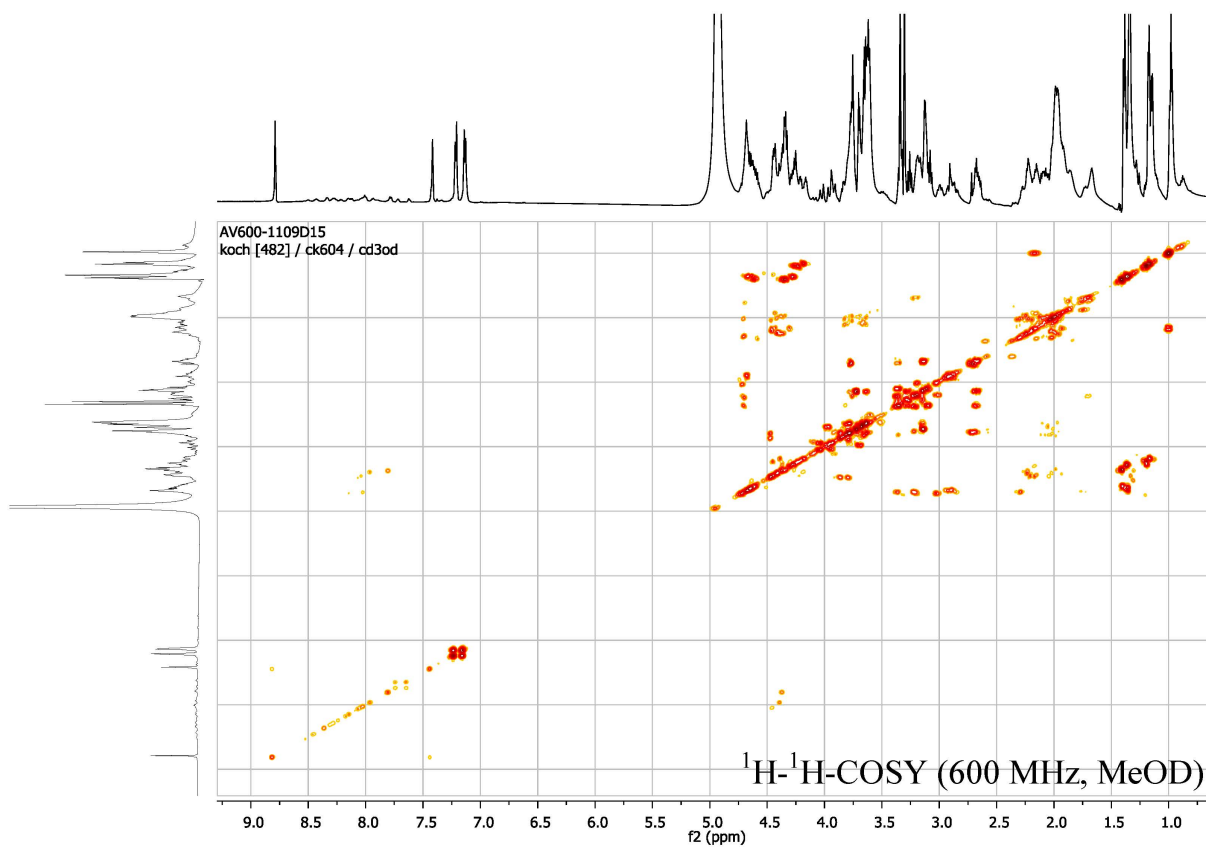
Fmoc-Ser-C-[(β -Ac₂Bn₅CycloLe^xNAcCOOtBu)- β -Ac₂Bn₄Lac]-OMe (180)



MUC1(22)-Tyr¹⁷cFuc-Spacer (185)



MUC1(22)-Tyr¹⁷cGlc-Spacer (186)



MUC1(22)-Tyr¹⁷cLac-Spacer (187)