

MUCINARTIGE GLYCOPEPTIDE ALS INHIBITOREN SELEKTINVERMITTELT ZELLADHÄSIONSPROZESSE

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

Katharina Baumann
geboren in Frankfurt am Main

Mainz, Januar 2007

Tag der mündlichen Prüfung: 18.04.2007

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit
von September 2002 bis Januar 2007
am Institut für Organische Chemie
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz angefertigt.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Zelladhäsionsphänomene – Grundlegende Prozesse der inflammatorischen Kaskade	1
1.2	Die Selektine	3
1.3	PSGL-1 – Ein bedeutender Selektinligand	5
1.4	Durch Selektine vermittelte Zelladhäsionsphänomene im Krankheitsfall und therapeutische Ansätze	10
1.5	Grundzüge der Glycoprotein-Biosynthese	12
1.6	Bekannte Synthesen von (Sialyl-)Lewis ^x und dieses Motiv enthaltenden Oligosacchariden sowie Glycopeptiden	14
1.7	Mimetika des Tetrasaccharids Sialyl-Lewis ^x	16
2	Zielsetzung	19
3	Allgemeiner Teil	23
3.1	Die konvergente Synthesestrategie zum Aufbau der Hexasaccharid- Threonin-Konjugate und ihrer Mimetika	23
3.2	Die Monosaccharide und das Sialinsäure-Mimetikum	29
3.2.1	<i>Die Glucosamin-Bausteine</i>	29
3.2.2	<i>Der Fucose-Baustein</i>	33
3.2.3	<i>Der Arabinose-Baustein</i>	34
3.2.4	<i>Der Galactose-Baustein</i>	38
3.2.5	<i>Der Neuraminsäure-Baustein</i>	40
3.2.6	<i>Der Cyclohexylmilchsäure-Baustein</i>	41
3.3	Die Disaccharide	42
3.3.1	<i>Die fucosylierten Bausteine</i>	44
3.3.2	<i>Die arabinosylierten Bausteine</i>	46
3.4	Die Trisaccharide	49
3.4.1	<i>Die fucosylierten Bausteine</i>	49
3.4.2	<i>Die arabinosylierten Bausteine</i>	55
3.5	Die Tetrasaccharide und die Tetrasaccharid-Mimetika	57
3.5.1	<i>Der Sialyl-Lewis^x-Baustein</i>	57
3.5.2	<i>Der Arabino-Sialyl-Lewis^x-Baustein</i>	64

3.5.3	<i>Das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum</i>	65
3.5.4	<i>Das Arabino-Sialyl-Lewis^x-Mimetikum</i>	68
3.6	Die Galactose-Threonin-Konjugate	69
3.7	Das Disaccharid-Threonin-Konjugat	73
3.8	Das Hexasaccharid-Threonin-Konjugat und sein Mimetikum als Bausteine für die Glycopeptid-Festphasensynthese	81
3.8.1	<i>Der Sialyl-Lewis^x enthaltende Glycosylaminosäure-Baustein</i>	82
3.8.2	<i>Der das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum enthaltende Glycosylaminosäure-Baustein</i>	93
3.9	Die (Glyco-)Peptide mit einer Partialsequenz aus dem PSGL-1	104
3.9.1	<i>Grundlegende Prinzipien der (Glyco-)Peptidsynthese und das allgemeine Protokoll der automatisierten Festphasensynthese ..</i>	104
3.9.2	<i>Das unglycosylierte Dodecapeptid</i>	111
3.9.3	<i>Das Sialyl-Lewis^x enthaltende Glycododecapeptid</i>	114
3.9.4	<i>Das das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum enthaltende Glycododecapeptid</i>	121
4	Zusammenfassung	131
5	Experimenteller Teil	139
5.1	Allgemeines und Messgeräte	139
5.2	Die Synthesen der Monosaccharide und des Sialinsäure-Mimetikums	147
5.2.1	<i>Die Synthesen der Glucosamin-Bausteine</i>	147
5.2.2	<i>Die Synthese des Fucose-Bausteins</i>	156
5.2.3	<i>Die Synthese des Arabinose-Bausteins</i>	161
5.2.4	<i>Die Synthese des Galactose-Bausteins</i>	166
5.2.5	<i>Die Synthese des Neuraminsäure-Bausteins</i>	170
5.2.6	<i>Die Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins</i>	173
5.3	Die Synthesen der Disaccharide	176
5.3.1	<i>Die Synthesen der fucosylierten Bausteine</i>	176
5.3.2	<i>Die Synthesen der arabinosylierten Bausteine</i>	182
5.4	Die Synthesen der Trisaccharide	188
5.4.1	<i>Die Synthesen der fucosylierten Bausteine</i>	188
5.4.2	<i>Die Synthesen der arabinosylierten Bausteine</i>	197

5.5	Die Synthesen der Tetrasaccharide und der Tetrasaccharid-Mimetika	201
5.5.1	<i>Die Synthese des Sialyl-Lewis^x-Bausteins</i>	202
5.5.2	<i>Die Synthese des Arabino-Sialyl-Lewis^x-Bausteins</i>	207
5.5.3	<i>Die Synthese des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums</i>	210
5.5.4	<i>Die Synthese des Arabino-Sialyl-Lewis^x-Mimetikums</i>	216
5.6	Die Synthesen der Galactose-Threonin-Konjugate	217
5.7	Die Synthesen des Disaccharid-Threonin-Konjugats	227
5.8	Die Synthesen des Hexasaccharid-Threonin-Konjugats und seines Mimetikums	236
5.8.1	<i>Die Synthese des Sialyl-Lewis^x enthaltenden Glycosylaminosäure-Bausteins</i>	236
5.8.2	<i>Die Synthese des das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum enthaltenden Glycosylaminosäure-Bausteins</i>	245
5.9	Die Synthesen der (Glyco-)Peptide mit einer Partialsequenz aus dem PSGL-1	254
5.9.1	<i>Die Synthese des unglycosylierten Dodecapeptids</i>	255
5.9.2	<i>Die Synthese des Sialyl-Lewis^x enthaltenden Glycododecapeptids</i>	258
5.9.3	<i>Die Synthese des das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum enthaltenden Glycododecapeptids</i>	263
6	Literaturverzeichnis	269
7	Spektrenanhang	283

Abkürzungsverzeichnis

α	Spezifischer Drehwert
Å	Ångström
Abb.	Abbildung(en)
absol.	absolut
Ac	Acetyl
Ala	L-Alanin
All	Allyl
Aloc	Allyloxycarbonyl
äq	äquatorial
Äquiv.	Äquivalent(e)
Ar	Aryl
Ara	D-Arabinose
AS	Aminosäurerest
Asn	L-Asparagin
Asp	L-Asparaginsäure
Aufl.	Auflage
ax	axial
BB	Breitband (entkoppeltes ^{13}C -Spektrum)
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Bzn	Benzyliden
<i>c</i>	Konzentration
C	Celsius
cal	Kalorie(n)
CB	<i>Complement Binding</i>
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
$^{\circ}\text{Hex}$	Cyclohexan
CHO	<i>Chinese Hamster Ovary</i>
COD	Cyclooctadien
COSY	<i>Correlated Spectroscopy</i>
CRD	<i>Carbohydrate Recognition Domain</i>
2-CT	2-Chlortrityl
Cyclo	Cyclohexanring der Cyclohexylmilchsäure; Cyclohexylmilchsäure-Baustein
CycloLe ^x	SLe ^x -Mimetikum, in dem Sia durch (S)-Cyclohexylmilchsäure ersetzt ist
δ	Chemische Verschiebung
d	Tag(e); Dublett
Da	Dalton
d _b	breites Dublett
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
dd	Dublett vom Dublett
dd _b	breites Dublett vom Dublett
ddd	Dublett vom Dublett vom Dublett
dq	Dublett vom Quartett
dt	Dublett vom Triplet
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer</i>
DIPEA	<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid

EDTA	Ethylendiamin-tetraessigsäure
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
ELAM-1	Endotheliales Leukozyten-Adhäsions-Molekül-1
engl.	englisch
ESI	<i>Electrospray Ionisation</i>
ESL-1	E-Selektin-Ligand-1
Et	Ethyl
FD	<i>Field Desorption</i>
Fmoc	Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl
Fuc	L-Fucose
Fur	Furanose
g	Gramm
Gal	D-Galactose
GalN	D-Galactosamin
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
Gew.-%	Gewichtsprozent
GlcN	D-Glucosamin
Gln	L-Glutamin
Glu	L-Glutaminsäure
Gly	Glycin
GlyCAM-1	<i>Glycosylation-dependent Cell Adhesion Molecule-1</i>
GMP-140	<i>Granule Membrane Protein-140</i>
GSP	Glycosulfopeptid
h	Stunde(n)
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyl-uroniumhexafluorophosphat
HBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyl-uroniumhexafluorophosphat
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>
HOAt	7-Aza-1-hydroxybenzotriazol
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HR-ESI	<i>High Resolution Electrospray Ionisation</i>
Hrsg.	Herausgeber
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
Hz	Hertz
ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
Ig	Immunglobulin
i. Hochvak.	im Hochvakuum
IL	Interleukin
ⁱ Pr	Isopropyl
ⁱ Prn	Isopropyliden
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
i. Vak.	im Vakuum
<i>J</i>	Kopplungskonstante
Kat.	Katalysator
konz.	konzentriert
λ	Wellenlänge
l	Liter
LAD	Leukozyten-Adhäsions-Defizienz
LAM-1	Leukozyten-Adhäsions-Molekül-1
LECAM	<i>Lectin Adhesion Molecule</i>
Le ^x	Lewis ^x
Leu	L-Leucin
LFA-1	Leukozytenfunktionsantigen-1

Lit.	Literatur
<i>m</i>	meta
m	Meter; Multiplett
M	Molar
max.	maximal
m_c	zentriertes Multiplett
Me	Methyl
Met	L-Methionin
min	Minute(n)
mind.	mindestens
mol	Mol
mRNA	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i>
MS	Molekularsieb; Massenspektrometrie
MUC	Mucin
ⁿ Bu	<i>n</i> -Butyl
Neu5Ac	<i>N</i> -Acetyl-D-neuraminsäure
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidin-2-on
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>
PADGEM	<i>Platelet Activation-dependent Granule External Membrane</i>
PE	Petrolether
Ph	Phenyl
Phe	L-Phenylalanin
PMBzn	4-Methoxybenzyliden / <i>p</i> -Methoxybenzyliden
ppm	<i>parts per million</i>
Pro	L-Prolin
PSGL-1	P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1
Pyr	Pyranose
q _*	Quartett; quartär
q	Pseudoquartett
quant.	quantitativ
Raumtemp.	Raumtemperatur
R_f	Retentionsfaktor
RP-HPLC	<i>Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography</i>
R_t	Retentionszeit
s	Singulett
S	Sialyl
S.	Seite
s_b	breites Singulett
Schmp.	Schmelzpunkt
SCR	<i>Short Consensus Repeats</i>
Ser	L-Serin
SG	Schutzgruppe
Sia	Sialinsäure / <i>N</i> -Acetyl-D-neuraminsäure
SLe ^a	Sialyl-Lewis ^a
SLe ^x	Sialyl-Lewis ^x
Su	Succinimidyl
t	Triplett
t [*]	Pseudotriplett
T	Temperatur; Transferase
t_b	breites Triplett
TBAF	Tetra- <i>n</i> -butylammoniumfluorid

^t Bu	<i>tert</i> -Butyl
<i>tert</i>	tertiär
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
tdd	Triplett vom Dublett vom Dublett
Tf	Trifluormethansulfonyl
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
Thr	L-Threonin
TMS	Trimethylsilyl
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TOCSY	<i>Total Correlation Spectroscopy</i>
Tol	Toluol
Troc	2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl
TsOH	Toluolsulfonsäure
Tyr	L-Tyrosin
UV	Ultraviolett
V	Volumen; Volt
vgl.	vergleiche
Xan	Xanthogenat

1 Einleitung

1.1 Zelladhäsionsphänomene –

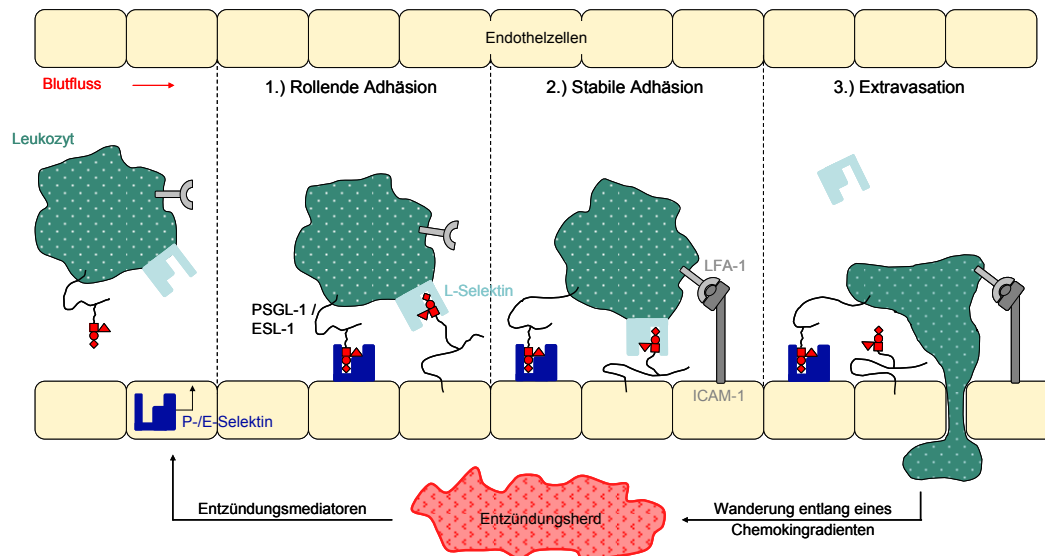
Grundlegende Prozesse der inflammatorischen Kaskade

Zellerkennungs- und Zelladhäsionsphänomene sind von fundamentaler Bedeutung für eine Vielzahl von lebensnotwendigen biologischen Prozessen.^[1] So bilden sie unter anderem eine wesentliche Voraussetzung für die embryonale Entwicklung und kontrollieren den Verlauf von Entzündungsprozessen, die die Heilung von verletztem Gewebe sowie die Abwehr von körperfremden Stoffen durch das Immunsystem einschließen.

Bei akuten Entzündungsreaktionen beispielsweise ist es erforderlich, dass die mit dem Blut zirkulierenden weißen Blutkörperchen, die Leukozyten, aus dem Blutgefäßsystem austreten und in das umliegende geschädigte Gewebe wandern, um schließlich dort ihre Wirkung entfalten zu können.^[2, 3] Eingeleitet wird die Migration der Leukozyten, zu denen man Lymphozyten, Monozyten sowie neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten zählt, durch eine rezeptorvermittelte Adhäsion der Zellen an das vaskuläre Endothel. An dieser sind unterschiedliche Klassen von membranständigen Adhäsionsmolekülen beteiligt,^[4] die Selektine^[5-7] (vgl. Kapitel 1.2), Integrine^[8] sowie Mitglieder der Immunglobulin-Superfamilie.^[9]

Zu Beginn der sogenannten inflammatorischen Kaskade (Schema 1.1) werden zahlreiche spezifische, proinflammatorische Signalmoleküle – beispielsweise Zytokine wie der Tumornekrosefaktor- α (TNF- α)^[10] und Interleukin-1 β (IL-1 β),^[11] Histamin oder Peroxidradikale – am Entzündungsherd ausgeschüttet. Diese induzieren die Expression von P- und E-Selektin auf der Oberfläche in der Nähe befindlicher Endothelzellen.^[6] Da P-Selektin in intrazellulären Speicherpartikeln, den Weibel-Palade-Körperchen, aufbewahrt wird und demzufolge lediglich mobilisiert und an die Zelloberfläche transportiert werden muss, ist bereits innerhalb weniger Minuten nach einer entsprechenden Stimulierung die Präsentation dieses Rezeptors auf den Endothelzellen zu beobachten.^[12, 13] Das Erscheinen von E-Selektin auf der Zelloberfläche hingegen erfordert zunächst die Synthese von mRNA, die das Protein codiert. Dadurch wird erst etwa vier Stunden nach erfolgter Aktivierung eine maximale Konzentration dieses Rezeptors auf dem vaskulären Endothel erreicht.^[14] Im Gegensatz zu P- und E-Selektin wird das dritte Mitglied der Selektinfamilie, L-Selektin, konstitutiv auf Leukozyten präsentiert.^[6] In diesem Fall erfolgt die Regulierung der von dem Rezeptor ausgeübten Funktionen über die Steuerung der Expression der zugehörigen Liganden, wie beispielsweise des *Glycosylation-dependent Cell Adhesion Molecule-1* (GlyCAM-1),^[15-17] auf der Oberfläche von Endothelzellen.

Als Selektinliganden im Allgemeinen fungieren bestimmte kohlenhydrathaltige Moleküle,^[18] insbesondere Glycoproteine wie der P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1 (PSGL-1)^[19-21] und der E-Selektin-Ligand-1 (ESL-1),^[22, 23] welche sich auf der Oberfläche von Leukozyten befinden. Infolge von adhäsiven, durch die drei Selektine und ihre Liganden vermittelten Wechselwirkungen zwischen Endothelzellen und mit dem Blut zirkulierenden Leukozyten werden letztere abgebremst, und die Zellen beginnen, entlang des Endothels zu „rollen“.^[24, 25]



Schema 1.1: Die inflammatorische Kaskade.^[2]

Zusätzliche Interaktionen zwischen L-Selektin und einem geeigneten Liganden – wahrscheinlich PSGL-1^[26-28] – auf bereits adhärierenden Blutzellen bewirken die Assoziation weiterer Zellen aus dem Blutstrom.^[29-31] Diesem initialen Prozess der inflammatorischen Kaskade schließt sich das Auftreten zusätzlicher, stärkerer Wechselwirkungen zwischen den beteiligten Zellen an.^[32, 33] Hierbei handelt es sich um Interaktionen zwischen Integrinen auf Leukozyten,^[8] wie zum Beispiel dem Leukozytenfunktionsantigen-1 (LFA-1), und ihren Liganden, Mitgliedern der Immunglobulin-Superfamilie^[9] wie dem endothelialen Protein *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1),^[34] aus denen eine stabilere Adhäsion resultiert.^[35, 36] In der Folge kommt es zu einem Abflachen der Leukozyten und einer proteolytischen Spaltung des membranständigen L-Selektins, welches dabei in eine lösliche Form überführt wird.^[37, 38] Der Verlust dieses Adhäsionsmoleküls scheint nötig zu sein, um die Migration der Blutzellen durch die Endothelschicht, die sogenannte Extravasation, zu ermöglichen. Innerhalb des Gewebes wandern die Leukozyten schließlich entlang eines Chemokingradienten zum Entzündungsherd, wo sie ihre Wirkung entfalten.^[2]

Die Bedeutung der Selektine für die zu Beginn der inflammatorischen Kaskade auftretenden Adhäsionsphänomene konnte durch den Einsatz von monoklonalen Antikörpern gegen die Selektinstrukturen sowie durch Experimente mit entsprechenden Knock-Out-Mäusen belegt werden.^[39-46]

1.2 Die Selektine

Die Familie der Selektine^[5, 6, 47-49] verdankt ihren Namen zum einen der Tatsache, dass ihre Mitglieder hinsichtlich der Vermittlung von Zellkontakten eine große Selektivität zeigen. Im Gegensatz zu anderen Adhäsionsmolekülen, welche eine Vielzahl von Zell-Zell-Wechselwirkungen im gesamten Organismus kontrollieren, bleiben die Funktionen der Selektine auf die Steuerung von Interaktionen zwischen Leukozyten, Endothelzellen und Blutplättchen, den Thrombozyten, und damit auf das vaskuläre System beschränkt. Zum anderen ist die Bezeichnung „Selektin“ auf die strukturelle Ähnlichkeit dieser spezifischen Rezeptoren zu den Lektinen, einer Klasse von kohlenhydratbindenden Molekülen,^[50, 51] zurückzuführen.

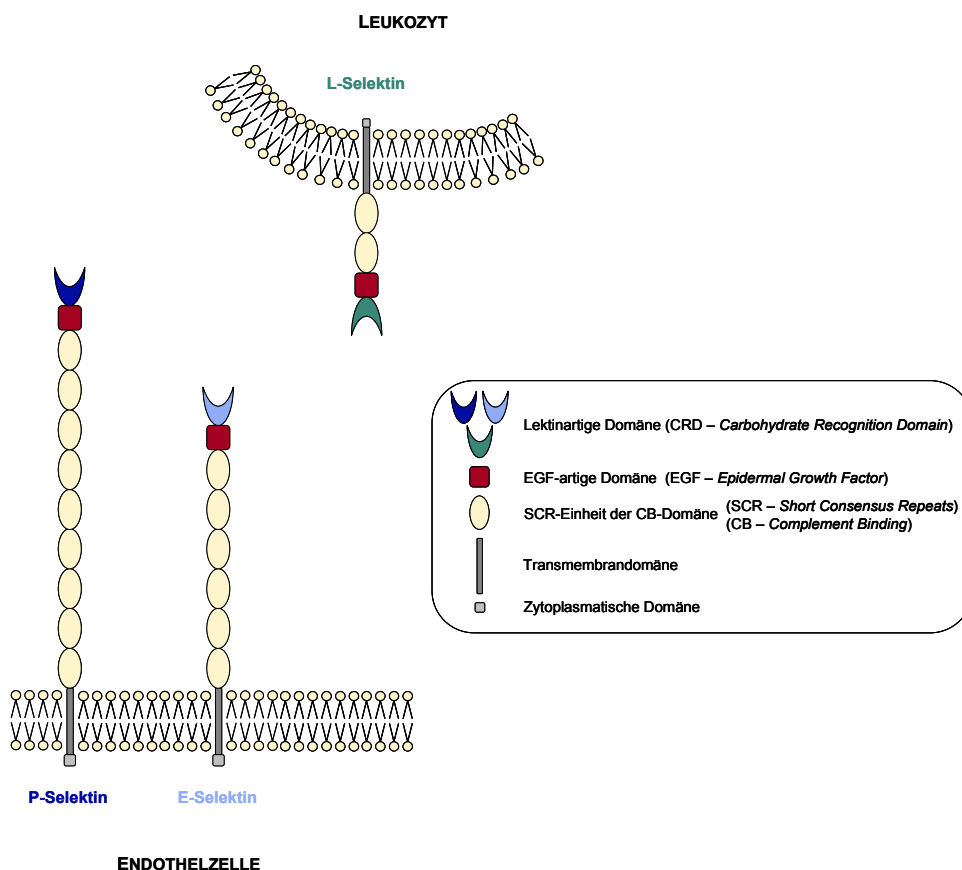
Es sind drei verschiedene Selektine bekannt, deren Benennung sich jeweils von dem Zelltyp ableitet, auf dem sie erstmals identifiziert wurden:

P-Selektin (ältere Bezeichnungen: CD62P, LECAM-3, GMP-140, PADGEM)^[52-58] wurde zunächst in Speichergranula von menschlichen Blutplättchen (engl.: *platelets*) gefunden. Allgemein wird das sowohl in den α -Granula der Thrombozyten als auch in den Weibel-Palade-Körperchen der Endothelzellen permanent vorhandene Adhäsionsmolekül von Blutplättchen und Endothelzellen nach einer entsprechenden Aktivierung durch spezifische Signalstoffe – wie Thrombin, Histamin, Peroxidradikale oder bestimmte Zytokine – als transmembranöses Protein exprimiert.

E-Selektin (ältere Bezeichnungen: CD62E, LECAM-2, ELAM-1)^[59, 60] wurde auf aktivierten Endothelzellen mit Hilfe eines monoklonalen Antikörpers nachgewiesen.

L-Selektin (ältere Bezeichnungen: CD62L, LECAM-1, LAM-1, gp90MEL)^[61-64] wurde ebenfalls mittels eines monoklonalen Antikörpers auf Lymphozyten entdeckt. Allgemein wird dieser Rezeptor auf der Oberfläche der meisten Leukozyten konstitutiv exprimiert. Neben der Ausübung seiner bereits geschilderten Funktionen im Zuge von Entzündungsreaktionen kommt diesem Adhäsionsmolekül eine weitere wichtige Aufgabe zu, die Vermittlung von Zellkontakten, welche eine Wanderung von Lymphozyten aus den Blutgefäßen in die peripheren (sekundären) lymphatischen Organe ermöglichen. Dieser Vorgang, der als *Lymphozyten-Homing* bezeichnet wird, ist von entscheidender Bedeutung für das Zustandekommen effektiver adaptiver Immunantworten.^[65]

Strukturell weisen die Selektine zahlreiche Gemeinsamkeiten auf (Schema 1.2).^[6] So setzt sich die extrazelluläre Region aller drei Proteine aus jeweils drei verschiedenen Domänen zusammen, einer 120 Aminosäuren umfassenden lektinartigen Domäne am Amino-terminus, welche zu einer calciumabhängigen Bindung von Kohlenhydratstrukturen befähigt ist (CRD – *Carbohydrate Recognition Domain*), einer sich anschließenden Sequenz von etwa 35 bis 40 Aminosäuren, die einer Wiederholungseinheit aus dem epidermalen Wachstumsfaktor eng verwandt ist (EGF – *Epidermal Growth Factor*), und einem Bereich, der aus einer je nach Selektintyp und Spezies variierenden Anzahl von kurzen, jeweils etwa 60 Aminosäuren enthaltenden Wiederholungseinheiten (SCR – *Short Consensus Repeats*) besteht. Aufgrund der Ähnlichkeit zwischen diesen zuletzt genannten Aminosäuresequenzen und bestimmten Motiven aus Proteinen, welche für die Regulation des Komplementsystems verantwortlich sind, wird die dritte extrazelluläre Domäne auch als komplementbindende Domäne bezeichnet (CB – *Complement Binding*).



Schema 1.2: Die Strukturen der Selektine.

Die Transmembranregion schließlich sorgt für die Verankerung der Selektine in der Zellmembran, während die kurze, in das Zytoplasma hineinragende Domäne am Carboxy-terminus vermutlich eine Rolle bei der Signaltransduktion spielt.

1.3 PSGL-1 – Ein bedeutender Selektinligand

Wie bereits angesprochen, zeigen die Selektine infolge des lektinartigen Charakters ihrer *N*-terminalen, extrazellulären Domäne Ca^{2+} -abhängige adhäsive Wechselwirkungen mit bestimmten Kohlenhydratstrukturen. Aufgrund der ausgeprägten Homologie der CRDs der einzelnen Selektine bestehen auch zwischen ihren Liganden gewisse strukturelle Gemeinsamkeiten. So sind alle drei Adhäsionsmoleküle in der Lage, das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis^x (SLe^x),^[66-70] sein Regioisomer Sialyl-Lewis^a (SLe^a)^[71] sowie von ihnen abgeleitete, ähnliche Strukturen zu erkennen und zu binden (Abb. 1.1).

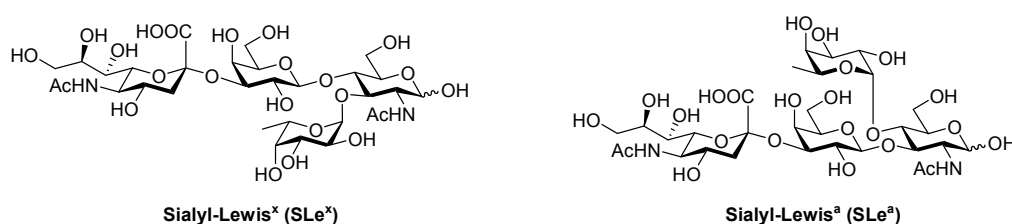


Abb. 1.1: Die Tetrasaccharide Sialyl-Lewis^x und Sialyl-Lewis^a.

An dieser Stelle sei kurz darauf hingewiesen, dass Sialyl-Lewis^x sowohl hier als auch im Folgenden aus Gründen der Übersichtlichkeit in der Regel nicht in seiner bioaktiven Konformation bzw. der in Lösung bevorzugten Konformation, wie sie NMR-spektroskopisch bestimmt wurde, wiedergegeben ist (vgl. Abb. 1.2).^[72-74]

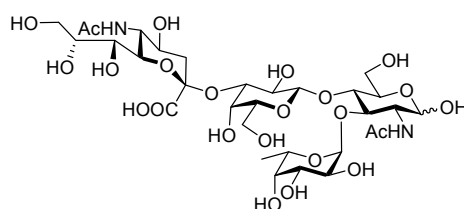


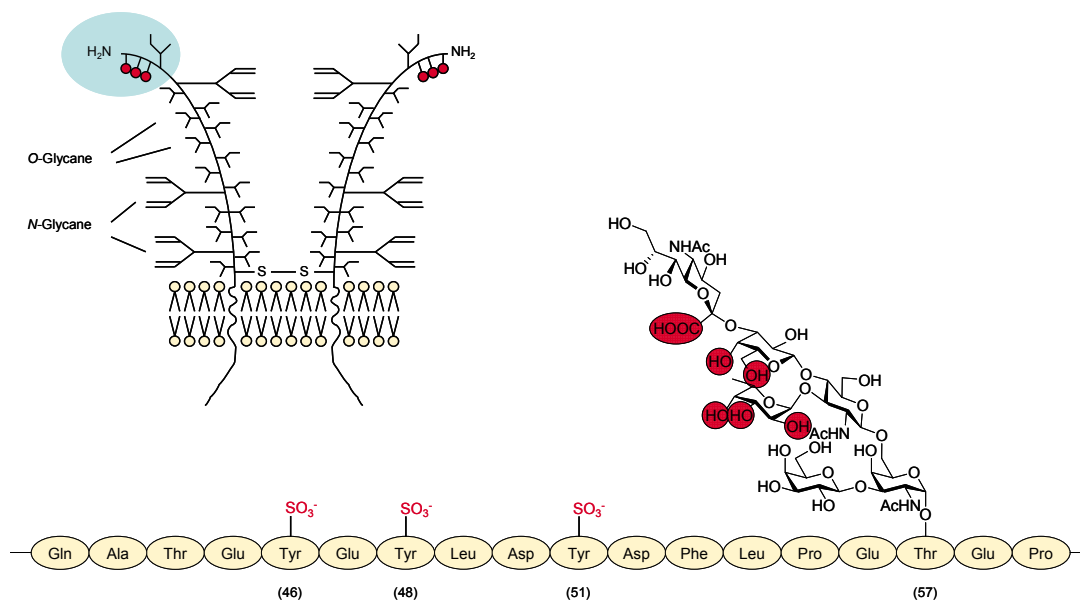
Abb. 1.2: Die bioaktive Konformation von Sialyl-Lewis^x.

Dafür, dass es sich zumindest bei dem in Sialyl-Lewis^x enthaltenen α -glycosidisch verknüpften Fucosylrest – wenn nicht sogar bei der gesamten Oligosaccharideinheit – um ein für die Bindung an die Selektine essentielles Strukturelement handelt, sprechen Beobachtungen, welche bei Patienten mit einer speziellen Erbkrankheit, der sogenannten Leukozyten-Adhäsions-Defizienz-II (LAD-II), gemacht wurden.^[75-77] Infolge eines genetischen Defekts weisen diese Menschen einen gestörten Fucose-Stoffwechsel auf und sind somit nicht dazu in der Lage, das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis^x sowie verwandte fucosylierte Strukturen aufzubauen. Dies äußert sich unter anderem in einer stark

reduzierten Fähigkeit von Leukozyten, an Endothelzellen zu adhären, woraus letzten Endes eine deutlich erhöhte Anfälligkeit der Patienten gegenüber häufig wiederkehrenden, schweren bakteriellen Infektionen resultiert. Wird diesen Personen täglich Fucose oral verabreicht, so kann die Expression von Selektinliganden durch den Organismus ermöglicht und damit eine normale Funktionsweise des Immunsystems gewährleistet werden.^[78, 79]

Zwar bindet das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis^x als solches, wie anfängliche Studien bewiesen, an alle drei Selektine,^[66-70] jedoch zeigte sich bald, dass diese eine deutlich höhere Affinität zu Liganden von vielfach komplexerer Natur zeigen.^[80] Demnach scheinen neben der saccharidischen Einheit weitere Strukturelemente an der spezifischen Rezeptorbindung beteiligt zu sein, die möglicherweise mit der EGF-Domäne der einzelnen Selektine in Wechselwirkung treten.

Den bislang am umfassendsten charakterisierten natürlichen, hochaffinen Selektinliganden stellt das in Kapitel 1.1 bereits erwähnte Glycoprotein PSGL-1 dar.^[19, 81-83] Bei diesem handelt es sich um ein homodimeres membranöses Mucin, dessen Untereinheiten kovalent über eine direkt vor der Transmembranregion angesiedelte Disulfidbrücke zwischen zwei Cysteinresten miteinander verbunden sind (Schema 1.3).



Schema 1.3: Die Struktur des P-Selektin-Glycoprotein-Liganden-1 (PSGL-1) sowie dessen N-terminale Domäne mit den für eine hochaffine Rezeptorbindung essentiellen funktionellen Gruppen.

Jede der beiden Untereinheiten von humanem PSGL-1, die jeweils eine Masse von etwa 120 kDa besitzen, weist drei potentielle N-Glycosylierungsstellen sowie 70 extrazelluläre Threonin- und Serinreste als mögliche Orte der Anbindung von O-Glycanen auf. Die

insgesamt außerordentlich große Zahl von Kohlenhydratseitenketten^[84] ist für die Klasse der Mucine typisch und verleiht den Glycoproteinen eine steife und gestreckte Konformation.^[85] Die *N*-glycosidisch mit dem peptidischen Rückgrat verknüpften Glycane scheinen allerdings keinen signifikanten Beitrag zu der hochaffinen Bindung des Liganden an P-Selektin zu leisten, denn auch nach der Behandlung von PSGL-1 mit einer *N*-Glycosidase, die selektiv *N*-Glycoside in Gegenwart von *O*-Glycosiden spaltet, wurde keine merkliche Beeinträchtigung der adhäsiven Wechselwirkungen festgestellt.^[81, 83]

Des Weiteren konnte durch Versuche mit monoklonalen Antikörpern gegen unterschiedliche Peptidepitope^[85, 86] sowie durch Studien an verschiedenen rekombinanten Glycosulfoproteinen^[87, 88] gezeigt werden, dass hauptsächlich die äußerste *N*-terminale Region des makromolekularen Liganden für seine hohe Affinität zu P-Selektin verantwortlich ist. Der *N*-Terminus beginnt – nach der Abspaltung eines Signalpeptids und eines Propeptids – mit dem Aminosäurerest 42 und beinhaltet drei Tyrosineinheiten in den Positionen 46, 48 und 51 als potentielle Träger von Sulfatgruppen sowie zwei Threonineinheiten in den Positionen 44 und 57, die beide für die Anbindung einer Kohlenhydratseitenkette im Verlauf der Biosynthese in Frage kommen.

Anhand der Ergebnisse von Experimenten mit rekombinantem PSGL-1, in dem mittels gerichteter Mutagenese jeweils einer der Tyrosinreste gegen Phenylalanin bzw. einer der Threoninreste gegen Alanin ausgetauscht wurde, ließ sich ableiten, dass für eine hohe Affinität des Liganden zu P-Selektin mindestens eine Tyrosinsulfateinheit sowie Thr⁵⁷ als *O*-Glycosylierungsstelle erforderlich sind.^[87-91] Die nach der Behandlung von natürlichem PSGL-1 mit einer Arylsulfatase zu beobachtende erhebliche Verringerung der Affinität bestätigte zusätzlich die Notwendigkeit des Vorhandenseins von mindestens einer Sulfatgruppe an einer aromatischen Aminosäure.^[92] Hinsichtlich der strukturellen Anforderungen an die Kohlenhydratseitenkette nahm man an, dass das Oligosaccharid auf der sogenannten *Core 2*-Struktur (vgl. Kapitel 1.5) beruht und das bereits als niedrig affinen Selektinliganden ausgewiesene Tetrasaccharid Sialyl-Lewis^x enthält, da die Synthese von hochaffinem rekombinantem PSGL-1 in CHO(*Chinese Hamster Ovary*)-Zellen der Koexpression einer *Core 2*- β -1,6-*N*-Acetylglucosaminyltransferase und einer α -1,3-Fucosyltransferase bedarf.^[91, 93] Dementsprechend binden Leukozyten von Mäusen, die eines der beiden Enzyme nicht exprimieren, nur schwach an P-Selektin.^[94-96]

All diese Beobachtungen und Vermutungen finden sich auch durch die Resultate nachfolgender Untersuchungen der Bindungseigenschaften von verschiedenen mit chemoenzymatischen Methoden erhaltenen Glyco(sulfo)peptiden aus der *N*-terminalen Region des PSGL-1 bestätigt. Ferner ergab dieser Ansatz weitere wesentliche Hinweise auf die für eine Wechselwirkung mit den Selektinen essentiellen funktionellen Gruppen. Während das Glycosulfopeptid GSP-6 (Abb. 1.3), welches sowohl über die drei Tyrosinsulfatreste als

auch über eine hexasaccharidische Kohlenhydratseitenkette verfügt, eine gegenüber der des natürlichen Liganden nahezu unverändert hohe Affinität zu immobilisiertem sowie zu löslichem P-Selektin zeigt, führen diverse strukturelle Änderungen jeweils zu einer signifikanten Abnahme der Bindungsstärke.^[97]

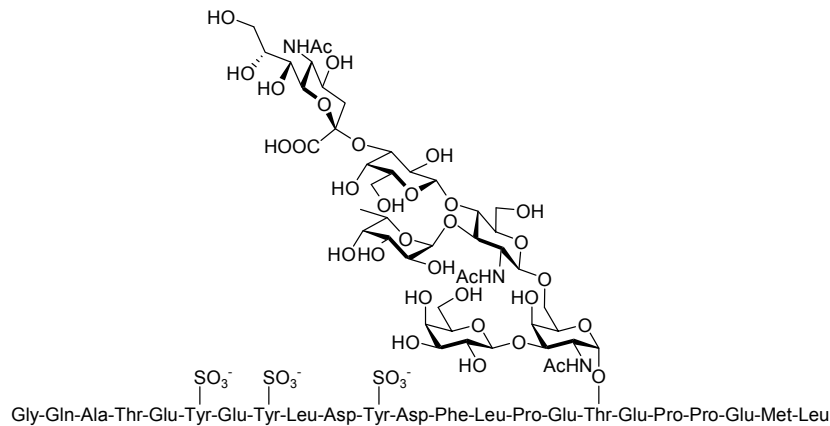


Abb. 1.3: Das Glycosulfopeptid-6 (GSP-6) aus der N-terminalen Domäne des PSGL-1.

Modellsubstanzen, welche entweder vollständig unsulfatiert oder unglycosyliert sind oder die Kohlenhydratseitenkette an Thr⁴⁴ statt an Thr⁵⁷ tragen, binden – im Einklang mit den zuvor auf anderen Wegen erzielten Ergebnissen – nur schwach,^[97, 98] ebenso wie Glycosulfopeptide, die im Glycanteil keinen Fucosylrest aufweisen oder nicht sialyliert sind.^[98] Ist Sialyl-Lewis^x nicht in die verzweigte Core 2-Struktur eingebunden, sondern an die Hydroxylgruppe in 3-Stellung des Galactosylrests aus dem Disaccharid, der sogenannten Core 1-Struktur, geknüpft, so treten ebenfalls nur äußerst schwache Wechselwirkungen mit P-Selektin auf.^[97] Auch Glycosulfopeptide, in welchen Sialyl-Lewis^x von einer bzw. zwei aufeinander folgenden fucosylierten Lactosamineinheit(en) getragen wird, weisen eine deutlich reduzierte Affinität zu dem Rezeptor auf.^[99] Dies erscheint durchaus bemerkenswert in Anbetracht der Tatsache, dass die insgesamt ohnehin nur in geringer Zahl nachweisbaren Fucose enthaltenden O-Glycane in PSGL-1 häufig mehr oder weniger ausgedehnte Polylactosaminketten besitzen und verkürzte Strukturen in der Größenordnung des beschriebenen Hexasaccharids vergleichsweise selten auftreten.^[100]

In Gegenwart von EDTA schließlich kommt es zum vollständigen Verlust der Affinität, was für eine Abhängigkeit der Rezeptor-Ligand-Wechselwirkung von Ca²⁺ spricht.^[97]

Weiterhin wird angenommen, dass der Sulfatrest an Tyr⁴⁸ von größerer Wichtigkeit für die Bindung an P-Selektin ist, als es die beiden anderen aromatischen Sulfate in der Sequenz sind, während allgemein mit abnehmender Zahl der Sulfatreste die Affinität zum Rezeptor sinkt.^[98]

Um die Notwendigkeit einzelner funktioneller Gruppen innerhalb des Tetrasaccharids Sialyl-Lewis^x für eine effektive Bindung an die Selektine zu ermitteln, wurden schon früh die verschiedenen monosaccharidischen Bausteine einer systematischen Variation und die resultierenden Moleküle entsprechenden Untersuchungen unterzogen. Man folgerte, dass sowohl die Carboxylfunktion der Neuraminsäure^[101] als auch die Hydroxylgruppen in 4- und 6-Stellung der Galactose^[102, 103] sowie die Hydroxylgruppen der Fucose^[104] für eine Wechselwirkung mit den Selektinen unerlässlich sind, wobei ein Fehlen der OH-Funktionen in der 2- und der 4-Position der Fucose Interaktionen mit P-Selektin lediglich schwächt, während es eine Bindung an E- und L-Selektin gänzlich ausschließt.^[101] Die einzige Funktion des Glucosaminylrests scheint hingegen die eines Abstandhalters zu sein, der Fucose und Galactose in der erforderlichen räumlichen Anordnung präsentiert.^[105, 106] Zudem war festzustellen, dass die Glycerinseitenkette sowie die Acetamidofunktion der Neuraminsäure die Bindung zu den Selektinen kaum beeinflussen.^[101, 107, 108]

Eine genauere Aufklärung der Bindungsverhältnisse zwischen Selektinen und ihren Liganden gelang schließlich anhand der Kristallstrukturanalysen von Komplexen von Sialyl-Lewis^x mit Partialstrukturen aus humanem P- bzw. E-Selektin, welche sowohl die CRD als auch die EGF-Domäne enthalten.^[109] Dadurch konnten zusätzlich zu den auf der Seite des Liganden unabdingbaren funktionellen Gruppen die an der spezifischen Wechselwirkung beteiligten Aminosäurereste der Selektine ermittelt werden. Man fand, dass im Bereich der Sialyl-Lewis^x-Bindungsstelle ein Calciumion einerseits durch die Hydroxylgruppen in 3- und 4-Stellung der Fucose und andererseits durch die Seitenketten der Aminosäuren Glu⁸⁰, Asn⁸², Asn¹⁰⁵ und Asp¹⁰⁶ sowie durch die an der Amidbindung innerhalb des peptidischen Rückgrats beteiligte Carbonylgruppe von Asp¹⁰⁶ koordiniert wird. Ferner kommt es zur Ausbildung einer Vielzahl von Wasserstoffbrückenbindungen, in die bestimmte Aminosäurereste der Selektine sowie die Carboxylgruppe der Sialinsäure und Hydroxylfunktionen von Fucose und Galactose involviert sind. Eine Kristallstrukturanalyse eines Komplexes der N-terminalen Domäne von PSGL-1 mit einem P-Selektin-Fragment vertiefte schließlich das Verständnis dieser speziellen Rezeptor-Ligand-Interaktion weiter.^[109] Demnach stellt Tyr⁴⁸ die am weitesten N-terminal stehende noch mit dem Rezeptor in Kontakt tretende Aminosäure aus dem PSGL-1-Fragment dar. Über ihre Beteiligung an Wasserstoffbrückenbindungen scheinen alle drei Sauerstoffatome der von ihr getragenen Sulfatgruppe einen entscheidenden Beitrag zu der hochaffinen Bindung an P-Selektin zu leisten. Auch der Tyrosinsulfatrest in der Position 51 interagiert über Wasserstoffbrückenbindungen mit der Aminosäuresequenz des Selektinfragments, während aus dem Glycanteil lediglich das Sialyl-Lewis^x-Motiv direkt an der Rezeptor-

bindung beteiligt zu sein scheint. Bei einem Vergleich der Strukturen der verschiedenen Rezeptor-Ligand-Komplexe lässt sich erkennen, dass es im Falle der Wechselwirkung mit dem Glycosulfopeptid aus der *N*-terminalen Region von PSGL-1 zu einer dramatischen Änderung der Konformation des P-Selektin-Fragments gegenüber der bei der Bindung an das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis^x vorliegenden Orientierung kommt. Dadurch wird das Auftreten weiterer Interaktionen ermöglicht, welche für die signifikant hohe Affinität des natürlichen Selektinliganden PSGL-1 verantwortlich gemacht werden.

Neben seiner zweifelsfrei herausragenden Bedeutung als Ligand des P-Selektins könnte dem mucinartigen Glycoprotein PSGL-1 in der Natur auch eine gewisse Rolle bei Adhäsionsprozessen zukommen, welche durch E-Selektin vermittelt werden.^[110, 111] Dass es weiterhin eine wichtige Funktion als Ligand des L-Selektins zu erfüllen scheint, wurde bereits in Kapitel 1.1 angesprochen.^[26-28, 112] Seine Affinität zu diesen beiden Mitgliedern der Selektinfamilie ist allerdings geringer als diejenige zum primären Rezeptor.^[83, 112, 113] Dabei setzt das Auftreten einer möglichst effizienten Bindung an L-Selektin, dessen Liganden sich üblicherweise durch eine in der 6-Position des Glucosamins sulfatierte Sialyl-Lewis^x-Einheit auszeichnen,^[18, 114-116] das Vorhandensein mindestens eines sulfatierten Tyrosinrests voraus,^[113, 117] wohingegen dies für eine Interaktion mit E-Selektin nicht erforderlich ist.^[91, 118, 119]

1.4 Durch Selektine vermittelte Zelladhäsionsphänomene im Krankheitsfall und therapeutische Ansätze

Obgleich durch Selektine vermittelte Zelladhäsionsprozesse von fundamentaler Bedeutung für die Funktionsweise des Immunsystems und damit letzten Endes für die Abwehr von körperfremden Stoffen sowie die Wundheilung sind, kann eine fehlgeleitete, übermäßige Rekrutierung von Leukozyten nach dem beschriebenen Mechanismus im Krankheitsfall zu schweren Schädigungen von gesundem Gewebe führen.

Dies ist zum Beispiel bei rheumatoider Arthritis sowie diversen anderen Autoimmunerkrankungen der Fall, bei denen es zu einer gegen körpereigene Strukturen gerichteten Immunantwort kommt, welche mit einer chronischen Entzündung einhergeht.^[120] Auch Allergien^[42] und die Abstoßung von Transplantaten^[121] werden durch das Auftreten einer unerwünschten Immunreaktion bedingt, an deren Initiierung die Selektine als Adhäsionsmoleküle entscheidend beteiligt sind. Eine unter anderem durch Wechselwirkungen von Selektinen mit ihren Liganden eingeleitete Schädigung von gesundem Gewebe bis hin zum

Infarkt kann ferner in der Folge eines vorübergehenden ischämischen Zustands – also einer kurzfristig ausbleibenden oder stark verminderten Durchblutung eines Gefäßes – im Zuge des sogenannten Reperfusionssyndroms auftreten,^[122, 123] das in diesem Zusammenhang nicht unerwähnt bleiben soll. Mögliche Gründe bzw. Ursachen für die Ischämie sind Organtransplantationen,^[124] chirurgische Eingriffe im Allgemeinen sowie Gefäßverengungen und -verschlüsse, die wiederum durch Atherosklerose, Thrombose oder eine Embolie hervorgerufen werden können. Sobald der normale Blutfluß wiederhergestellt ist, beobachtet man in diesen Fällen sowohl eine verstärkte Aggregation von Blutplättchen und Leukozyten als auch eine vermehrte Adhäsion von Leukozyten an Endothelzellen und ihre Wanderung in das umliegende Gewebe, was letztlich auf eine Stimulierung der Selektinexpression während des ischämischen Zustands zurückgeführt wird.

Eine die Thrombozytenaggregation sowie das Auftreten anderer Zellkontakte unterstützende, erhöhte Expression von P-Selektin liegt außerdem bei arterieller Thrombose selbst vor.^[125, 126] Auch im Rahmen der Atherosklerose, die letztlich häufig die Entstehung einer arteriellen Thrombose zur Folge hat, wurde ein vermehrtes Auftreten von Selektinen nachgewiesen.^[127-129]

Ebenfalls vielfach diskutiert wird eine Beteiligung von Selektin-Ligand-Wechselwirkungen an der Metastasierung von Tumoren.^[130-136] Es ist bekannt, dass Sialyl-Lewis^x ein tumorassoziiertes Antigen darstellt, also ein Strukturmotiv, welches von malignen Zellen vermehrt gebildet und präsentiert wird. So konnte diese Determinante zum Beispiel bei Brustkrebs sowie bei Darm- und Pankreaskarzinomen nachgewiesen werden.^[137-141]

Weiterhin wurde festgestellt, dass zwischen dem Grad der Expression von Kohlenhydratantigenen auf Krebszellen und dem Ausmaß der Metastasierung, also der Bildung von Sekundär-Tumoren, sowie der für den Patienten resultierenden Prognose eine Korrelation besteht.^[131, 142] Man vermutet daher, dass mit dem Blutstrom transportierte Krebszellen über die an ihrer Oberfläche befindlichen Glycoproteinstrukturen sowohl mit aktivierten Blutplättchen als auch mit Endothelzellen, die nach entsprechender Stimulierung P- bzw. E-Selektin exprimieren, in Wechselwirkung treten und diese Zellkontakte nutzen, um schließlich an einem anderen Ort als dem des primären Tumors das Gefäß zu verlassen und sich im umliegenden Gewebe oder den peripheren lymphatischen Organen ansiedeln zu können.^[143] Im Einklang mit dieser Annahme steht der experimentelle Befund, dass P-Selektin-defiziente Mäuse, denen menschliche Darmkrebszellen intravenös injiziert wurden, weniger Metastasen in der Lunge produzieren als auf die gleiche Weise behandelte genetisch „normale“ Tiere.^[144]

Aufgrund der offensichtlichen Relevanz selektinvermittelter Zelladhäsionsphänomene für das Auftreten zahlreicher Krankheitsbilder besteht ein ausgeprägtes Interesse an

der Auffindung hochaffiner löslicher Selektinliganden, welche in der Lage sind, die diskutierten, unerwünschten Zellkontakte kompetitiv zu inhibieren.^[49] Das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis^x fungiert in diesem Zusammenhang als Leitstruktur, da es einen essentiellen Bestandteil der natürlichen Selektinliganden darstellt.^[145]

So zeigte sich, dass Oligosaccharide und Glycopeptide, welche dieses Motiv enthalten, das Zustandekommen von adhäsiven, durch P-, E- und/oder L-Selektin vermittelten Wechselwirkungen sowohl *in vitro* als auch *in vivo* hemmen können.

Während Sialyl-Lewis^x alleine in millimolaren Konzentrationen die Adhäsion von Zellen an P-Selektin inhibiert, vermag das bereits genannte Glycosulfopeptid GSP-6 aus der *N*-terminalen Region des PSGL-1, schon in mikromolarer Konzentration die Adhäsion von Neutrophilen an P-Selektin *in vitro* abzuwenden.^[97] In Tiermodellen sind lösliche Formen von PSGL-1 dazu imstande, die Thrombolyse zu unterstützen^[146] und Ischämie-Reperfusionsschädigungen zu unterbinden.^[124, 147] Auch synthetisch hergestellte Derivate bzw. Analoga von Sialyl-Lewis^x wurden im Tiermodell erfolgreich zur Verhinderung von – vornehmlich myokardialen – Reperfusionsverletzungen^[148-152] und zur Inhibition der Angiogenese^[153] eingesetzt. Ferner konnte durch die intravenöse Applikation von Sialyl-Lewis^x als solchem eine von P-Selektin abhängige Schädigung der Lunge, die man zur Simulation des Atemnotsyndroms beim Menschen im Tiermodell durch ein Schlangengift, den Cobra-Venom-Faktor, hervorruft,^[154] stark reduziert werden.^[155] Dementsprechend zeigten sich auf Sialyl-Lewis^x basierende Oligosaccharide gegenüber inflammatorischen Verletzungen des Lungengewebes, die im Modell durch IgG-Immunkomplexe induziert werden und von E-Selektin abhängen, ebenso protektiv.^[156]

1.5 Grundzüge der Glycoprotein-Biosynthese

Der Vorgang der Glycoprotein-Biosynthese lässt sich grob in zwei Abschnitte unterteilen, den der ribosomalen Proteinsynthese einerseits sowie den der sich anschließenden, post-translationalen Modifizierungen andererseits.^[157] Zu diesen Modifizierungen zählen sowohl Glycosylierungsreaktionen, welche letzten Endes die vielfältigen, in den unterschiedlichen Glycoproteinen enthaltenen Kohlenhydratseitenketten liefern, als auch mögliche Sulfatierungsreaktionen.

Der Aufbau der komplexen Glycanstrukturen erfolgt schrittweise in verschiedenen Kompartimenten des *Golgi*-Apparats. Initiiert wird er im Falle mucinartiger Strukturen durch die α -glycosidische Verknüpfung von *N*-Acetyl-D-galactosamin mit Threonin oder Serin innerhalb des *cis-Golgi*, die durch eine Reihe von – in ihrer Spezifität hinsichtlich der Peptidsequenz differierenden – Polypeptid-*N*-acetyl-D-galactosaminyltransferasen

katalysiert werden kann.^[158, 159] Demnach hängen die Positionen der Kohlenhydratseitenketten am Polypeptid stark von der Expression der einzelnen Transferasen ab.

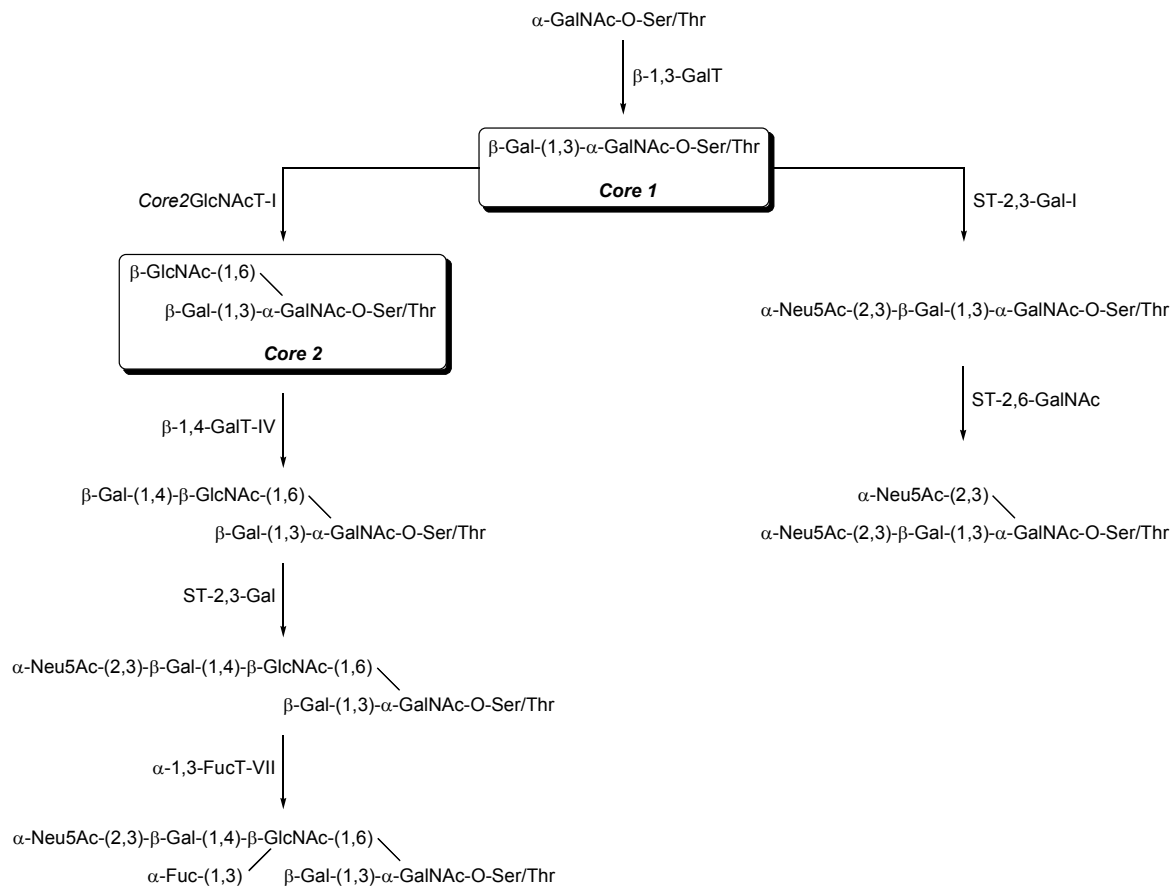
Im Anschluss an die primäre Glycosylierung der Hydroxylaminosäuren werden je nach Gewebe- und Zelltyp sowie in Abhängigkeit vom Entwicklungsstand der betreffenden Zelle verschiedene Kohlenhydrat-Bausteine durch die entsprechenden Glycosyltransferasen auf den *N*-Acetyl- α -D-galactosaminyrest übertragen. Dadurch kommt es zunächst zur Ausbildung bestimmter, charakteristischer Kernstrukturen, der sogenannten *Core*-Strukturen. Auf diesen wird dann durch alternierende Anbindung von *N*-Acetyl-D-glucosamin und D-Galactose das Rückgrat der Kohlenhydratseitenketten errichtet, in dem D-Galactose entweder eine β -(1 $\rightarrow$ 3)- oder eine β -(1 $\rightarrow$ 4)-Verknüpfung zu *N*-Acetyl-D-glucosamin aufweist.^[160] Durch die β -glycosidische Verknüpfung von *N*-Acetyl-D-glucosamin mit der 3- und/oder der 6-Position der Galactoseeinheiten entstehen dabei lineare und verzweigte Oligosaccharidstrukturen. Terminiert wird das Kettenwachstum schließlich innerhalb des *trans-Golgi*, und zwar in der Regel durch Übertragung von *N*-Acetyl-D-neuraminsäure und/oder L-Fucose bzw. durch Sulfatierung.

Aufgrund der Bedeutung der auf der *Core 2*-Struktur basierenden *O*-Glycane für die im Rahmen der vorliegenden Arbeit interessierenden Zelladhäsionsprozesse soll an dieser Stelle auf ihre biologische Entstehung etwas näher eingegangen werden.^[161, 162]

Die durch eine β -1,3-Galactosyltransferase katalysierte Übertragung eines Galactosylrests auf die an die Aminosäure geknüpfte, zentrale *N*-Acetyl- α -D-galactosamineinheit liefert zunächst die *Core 1*-Struktur (Schema 1.4), aus welcher im Folgenden unter dem Einfluss einer β -1,6-*N*-Acetyl-D-glucosaminyltransferase, der *Core2GlcNAcT-I*, die verzweigte *Core 2*-Struktur entstehen kann. Diese Art der Modifizierung des *Core 1*-Grundkörpers konkurriert jedoch mit anderen Reaktionen, unter anderem mit einer Sialylierung in der 3-Position des Galactosylrests, die die Übertragung von *N*-Acetyl-D-glucosamin, auch im weiteren Verlauf des Glycanaufbaus, ausschließt. In diesem Fall kommt es prinzipiell lediglich zur Einführung eines zweiten Neuraminsäurerests.

Welcher der konkurrierenden Wege eingeschlagen wird, hängt von den Aktivitäten der beteiligten Enzyme ab, die wiederum von einer Vielzahl von Faktoren bestimmt werden.^[163, 164] Beispielsweise sind zunächst naive T-Lymphozyten erst nach einer mit einem Antigenkontakt assoziierten Stimulierung durch spezifische Zytokine dazu befähigt, auf *Core 2* basierende Glycane aufzubauen.^[165] Die Bildung und Präsentation derartiger Strukturen scheint für sie jedoch nützlich, wenn nicht erforderlich zu sein, um mit P-Selektin in Wechselwirkung treten und somit die Wanderung an ihren Wirkungsort einleiten zu können. Im Zuge ihrer Differenzierung zu Gedächtniszellen verlieren

T-Lymphozyten dagegen die Fähigkeit, *Core 2*-Strukturen zu generieren. Dadurch wird ihr Verbleiben im Blutkreislauf gewährleistet, und sie entgehen den Prozessen der Apoptose, denen beim Verlust des antigenen Stimulus all jene T-Lymphozyten unterliegen, welche die Expression von *Core 2*-O-Glycanen nicht herunterregulieren.^[166]



Schema 1.4: Die Core-Strukturen 1 und 2 und potentielle biosynthetische Modifizierungen derselben.

Sobald im Verlauf der Glycoprotein-Biosynthese die *Core 2*-Grundstruktur gebildet wurde, ist der Aufbau komplexerer Kohlenhydratketten möglich. So kann es zum Beispiel infolge des sukzessiven Wirkens der $\beta\text{-1,4-Galactosyltransferase-IV}$, einer $\beta\text{-Galactosid-}\alpha\text{-2,3-Sialyltransferase}$ sowie der $\alpha\text{-1,3-Fucosyltransferase-VII}$ zur Ausbildung eines *Core 2*-O-Glycans kommen, welches das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis^x-enthält.

1.6 Bekannte Synthesen von (Sialyl-)Lewis^x und dieses Motiv enthaltenden Oligosacchariden sowie Glycopeptiden

Aufgrund der großen biologischen Bedeutung, die Sialyl-Lewis^x und diversen von ihm abgeleiteten Molekülen zukommt, wurden in der Vergangenheit verschiedene Strategien

zur Synthese des Tetrasaccharids ausgearbeitet und zahlreiche rein saccharidische Verbindungen sowie Glycopeptide und andere Konjugate hergestellt, welche dieses Strukturmotiv aufweisen. Auch zum heutigen Zeitpunkt besteht im Rahmen der Entwicklung wirksamer Therapieansätze für eine Vielzahl von Krankheiten ein nach wie vor hohes Interesse an der Identifizierung sowie der Synthese von hochaffinen, auf Sialyl-Lewis^x basierenden Selektinliganden.

Die erste chemische Synthese eines Derivats des Tetrasaccharids gelang *Hasegawa et al.* im Jahre 1991 unter Anwendung einer konvergenten Strategie, wobei ein sialylierter Galactose-Baustein mit einem entsprechenden Disaccharid aus Fucose und Glucosamin umgesetzt wurde.^[167] Daraufhin wurden zahlreiche andere Methoden für den unter vielerlei Gesichtspunkten anspruchsvollen Aufbau des Moleküls entwickelt, welche in aller Regel auf einem linearen Synthesekonzept beruhen.^[168-170] Ferner führte man Untersuchungen zur Übertragbarkeit der einzelnen Reaktionsbedingungen auf eine für industrielle Zwecke geeignete Synthese im größeren Maßstab durch.^[171] Neben den chemischen Ansätzen erlangten auch chemoenzymatische oder rein enzymatische Syntheserouten, die sich auf den Einsatz von Glycosyltransferasen und/oder Glycosidasen stützen,^[172] in einigen Fällen eine besondere Bedeutung,^[72, 73, 173] obgleich die auf diesen Wegen zu erhaltenden Substanzmengen gering und einzelne Enzyme nur eingeschränkt verfügbar und damit teuer sind.

Der Entwicklung vielfältiger Strategien zur Synthese von Sialyl-Lewis^x schlossen sich Bemühungen an, komplexere Strukturen zu generieren, die in ihrer Gestalt den natürlichen Molekülen näher kommen und damit eine stärkere biologische Wirkung zeigen sollten. So wurden unter anderem Verbindungen hergestellt, welche ein Dimer von Lewis^x enthalten. Dabei wurde die Tri- bzw. – im Falle der Anknüpfung von sialyliertem Lewis^x – die Tetrasaccharideinheit zunächst als Allyl- oder Silylglycosid aufgebaut und dann in einen geeigneten Glycosyldonor überführt.^[174-178] Mittels eines chemoenzymatischen Ansatzes konnte außerdem ein terminal sialyliertes Lewis^x-Trimer synthetisiert werden.^[179] Auch Derivate des Hexasaccharids aus dem in Kapitel 1.3 vorgestellten GSP-6 wurden – teilweise in sulfatierter Form – auf chemischem Wege^[180, 181] oder unter Anwendung enzymatischer Methoden^[182, 183] erhalten. In allen beschriebenen Fällen liegt das Kohlenhydrat allerdings in der Form eines unnatürlichen Glycosids wie der des Methyl- oder der des *p*-Nitrophenylglycosids vor.

An der Herstellung von Glycopeptiden schließlich, die jene hexasaccharidische Struktur bzw. das um den Galactosylrest der *Core 1*-Einheit ärmere Pentasaccharid beinhalten, waren bislang stets enzymatische Methoden beteiligt. Während die Ausgangsverbindungen dieser Synthesen – vollständig unglycosylierte bzw. mit einer oder zwei Kohlenhydrateinheit(en) modifizierte Peptide – häufig mit chemischen Mitteln erzeugt wurden, kamen

für die folgenden Stufen, Glycosylierungs- sowie Sulfatierungsreaktionen, in aller Regel Enzyme zum Einsatz. Beispielsweise konnten durch eine derartige chemoenzymatische Synthese die bereits mehrfach erwähnten Glyco(sulfo)peptide aus der *N*-terminalen Region des PSGL-1^[97] (vgl. Kapitel 1.3) sowie kleinere Ausschnitte aus dieser Sequenz, welche das genannte Pentasaccharid und einen sulfatierten Tyrosinrest aufweisen, erhalten werden.^[184-186] Auch ein Fragment aus dem im Zusammenhang mit tumorassoziierten Antigenstrukturen bedeutsamen Mucin MUC1^[187-189] wurde enzymatisch mit dem hexasaccharidischen *O*-Glycan versehen.^[190]

1.7 Mimetika des Tetrasaccharids Sialyl-Lewis^x

Der große Aufwand, der mit der Herstellung von Sialyl-Lewis^x-Derivaten verbunden ist, die daraus und aus den hohen Preisen für Sialinsäure und Fucose resultierenden immensen Kosten solcher Synthesen sowie die geringe Affinität des „einfachen“ Tetrasaccharids zu den natürlichen Rezeptoren, seine geringe orale Verfügbarkeit und kurze Lebensdauer im Blutkreislauf begründeten die Suche nach potentiellen Mimetika. Diese sollten idealerweise alle für die Rezeptorbindung essentiellen funktionellen Gruppen in der notwendigen räumlichen Anordnung präsentieren, strukturell jedoch möglichst einfach aufgebaut und leicht zu synthetisieren sein.

Besonders ausgeprägt sind die Bestrebungen, die teure und zudem schwierig einzuführende Neuraminsäureeinheit zu ersetzen, deren Carboxylfunktion die einzige pharmakophore Gruppe des Bausteins darstellt. Substitutionen derselben durch einen Sulfat- oder einen Phosphatrest erwiesen sich bereits als erfolgreich.^[101, 191-194] Sehr viel versprechend erscheint die alternative Verwendung von (*S*)-Cyclohexylmilchsäure, ein Ansatz von *Kolb und Ernst*,^[195] den *Thoma et al.* bei der *Novartis Pharma AG* für die Herstellung zahlreicher Mimetika nutzten.^[196-198]

Der Fucose-Baustein wurde dagegen nur in einigen wenigen Fällen durch ein nicht saccharidisches Strukturelement ersetzt. Es bietet sich jedoch an, ihn beispielsweise gegen D-Arabinose auszutauschen.^[198, 199]

Weitere mögliche Substitutionen der verschiedenen Monosaccharideinheiten sowie die Vielzahl der insgesamt synthetisierten Mimetika sollen an dieser Stelle nicht im Einzelnen diskutiert werden. Stattdessen sei auf die Übersichtsartikel von *Wong et al.*,^[200] *Unger*^[7] sowie *Kaila und Thomas*^[201] verwiesen, die eine umfangreiche Zusammenfassung der Forschungsergebnisse liefern.

Prinzipiell sollten sich die unnatürlichen Strukturen gegenüber ihren natürlichen Vorbildern durch eine erhöhte metabolische Stabilität im Körper auszeichnen, da sie für die relevanten Enzyme, wie Fucosidasen und Neuraminidasen, keine geeigneten Substrate mehr darstellen. Dadurch dürften sie hinsichtlich der pharmazeutischen Anwendbarkeit den natürlichen Verbindungen überlegen sein. Durch die Variation der Leitstruktur eine deutliche Steigerung der Affinität zu den Rezeptoren zu erzielen wäre zudem wünschenswert.

2 Zielsetzung

Die Applikation löslicher Selektinliganden stellt – wie in Kapitel 1.4 beschrieben – einen erfolgversprechenden Ansatz zur Therapie einer Vielzahl von Erkrankungen dar, welche mit dem Auftreten unerwünschter selektinvermittelter Zellkontakte verbunden sind. Ob es sich um die Behandlung chronisch entzündlicher Krankheiten, um die Vermeidung einer aus den verschiedensten Gründen akut eintretenden Zerstörung von gesundem Gewebe oder um die Einschränkung der Metastasenbildung von malignen Tumoren handelt – eine effiziente kompetitive Inhibierung von Wechselwirkungen der Selektine mit ihren natürlichen Liganden auf der Oberfläche benachbarter Zellen scheint generell erstrebenswert zu sein, um krankhafte Adhäsionsphänomene bereits in einem frühen Stadium unterbinden und ihren den Organismus nachhaltig schädigenden Folgen somit wirksam vorbeugen zu können.

Dementsprechend liegt das Ziel dieser Arbeit in der Entwicklung einer Strategie, die den Aufbau von Glycopeptiden mit einer Partialsequenz aus der *N*-terminalen Domäne des natürlichen Selektinliganden PSGL-1 auf rein chemischem Wege erlaubt. Die Aminosäuresequenz soll dabei mit jenem hexasaccharidischen *O*-Glycan versehen sein, welches bereits im Falle des chemoenzymatisch erzeugten Glycosulfopeptids GSP-6 das Auftreten einer hochaffinen Rezeptorbindung gewährleistet (vgl. Kapitel 1.3).^[97] Zudem gilt es, das zunächst für die Herstellung der eher natürlichen Struktur auszuarbeitende Konzept im Folgenden auch hinsichtlich seiner Anwendbarkeit bei der Erzeugung von potentiellen Mimetika zu prüfen.

Ein entscheidender Vorteil der chemischen Synthese gegenüber dem Einsatz gen- und biotechnologischer Praktiken sowie der Isolierung der gewünschten Substanz aus biologischem Material ist in dem Umstand zu sehen, dass durch sie eine einzige, wohldefinierte Verbindung erhalten werden kann. Aufgrund des im Rahmen dieser Arbeit zusätzlich angestrebten vollständigen Verzichts auf enzymatische Methoden sollten außerdem vergleichsweise große Mengen der Zielverbindungen zugänglich sein. Die Wahl eines rein chemischen Ansatzes dürfte schließlich auch die geplante Herstellung von potentiellen Mimetika gestatten, die sich bei einer Beteiligung von Enzymen nur in seltenen Fällen, wenn überhaupt, realisieren ließe, da unnatürliche Strukturen von den hochspezifischen Biokatalysatoren in aller Regel nicht als Substrate akzeptiert werden.

Der Aufbau des an die Hydroxylaminosäure gebundenen Hexasaccharids soll nach einem konvergenten Konzept erfolgen, bei dem ein Sialyl-Lewis^x-Derivat mit einem Disaccharid-Threonin-Konjugat zusammengefügt wird (Abb. 2.1). Ein solcher Ansatz erscheint

insbesondere deshalb attraktiv, weil die so entwickelte Strategie letztlich auch für die Synthese anderer Oligosaccharide, welche das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis^x enthalten, genutzt werden kann. Zudem wird auf diese Weise die vermutlich am leichtesten zu knüpfende glycosidische Bindung, diejenige zu der primären Hydroxylfunktion in der 6-Position des Galactosamins, zuletzt erzeugt, so dass Verluste der wertvollen Substanz auf dieser späten Stufe prinzipiell so gering wie möglich ausfallen sollten.

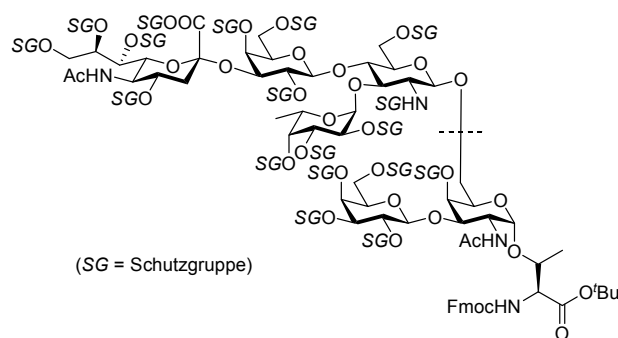


Abb. 2.1: Das zu synthetisierende vollständig blockierte Hexasaccharid-Threonin-Konjugat.

Besondere Bedeutung bei der Planung der Synthese kommt der Wahl eines zweckmäßigen Schutzgruppenmusters zu. Die Spaltung des *tert*-Butylesters der Aminosäure soll schließlich einen vollständig blockierten, für den Einsatz in der Glycopeptid-Festphasensynthese geeigneten Baustein liefern.

Unter Anwendung der ausgearbeiteten Strategie sollen – wie bereits erwähnt – auch potentielle Mimetika des Oligosaccharids hergestellt werden, in denen die L-Fucoseinheit durch D-Arabinose und der Sialinsäure-Baustein durch (S)-Cyclohexylmilchsäure ersetzt ist (Abb. 2.2).

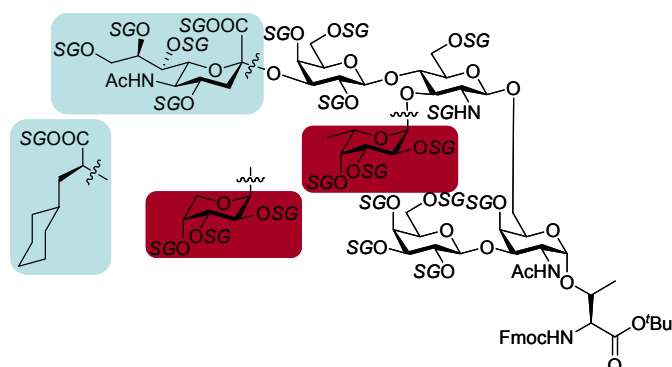


Abb. 2.2: Geplante Substitutionen zur Erzeugung potentieller Mimetika.

Am Ende der geplanten Synthesen steht dann der jeweilige Einbau der einzelnen Glycosylaminosäure-Bausteine in eine Partialsequenz aus der N-terminalen Domäne des PSGL-1.

Da Untersuchungen ergeben haben, dass es sich bei Tyr⁴⁸ – sofern es in sulfatierter Form vorliegt – um die am weitesten *N*-terminal stehende an einer adhäsiven Wechselwirkung mit P-Selektin noch entscheidend beteiligte Aminosäure handelt (vgl. Kapitel 1.3),^[109] soll in dieser Arbeit ein Ausschnitt aus dem natürlichen Selektinliganden gewählt werden, welcher von Tyr⁴⁸ am *N*-Terminus bis Pro⁵⁹ am *C*-Terminus reicht (Abb. 2.3).

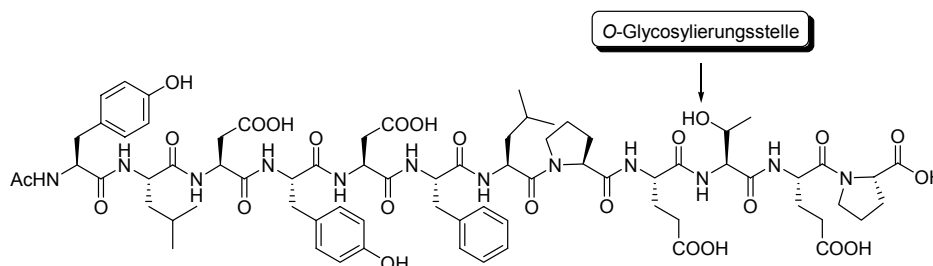


Abb. 2.3: Die Partialsequenz 48-59 aus dem P-Selektin-Glycoprotein-Liganden-1 (PSGL-1).

Nach einer Sulfatierung der beiden Tyrosinseitenketten sollten schließlich Verbindungen zur Verfügung stehen, welche prinzipiell als Inhibitoren von selektinvermittelten Zelladhäsionsprozessen wirksam sein könnten. In biologischen Tests sollen ihre Rezeptorbindungseigenschaften genauer untersucht werden.

3 Allgemeiner Teil

3.1 Die konvergente Synthesestrategie zum Aufbau der Hexasaccharid-Threonin-Konjugate und ihrer Mimetika

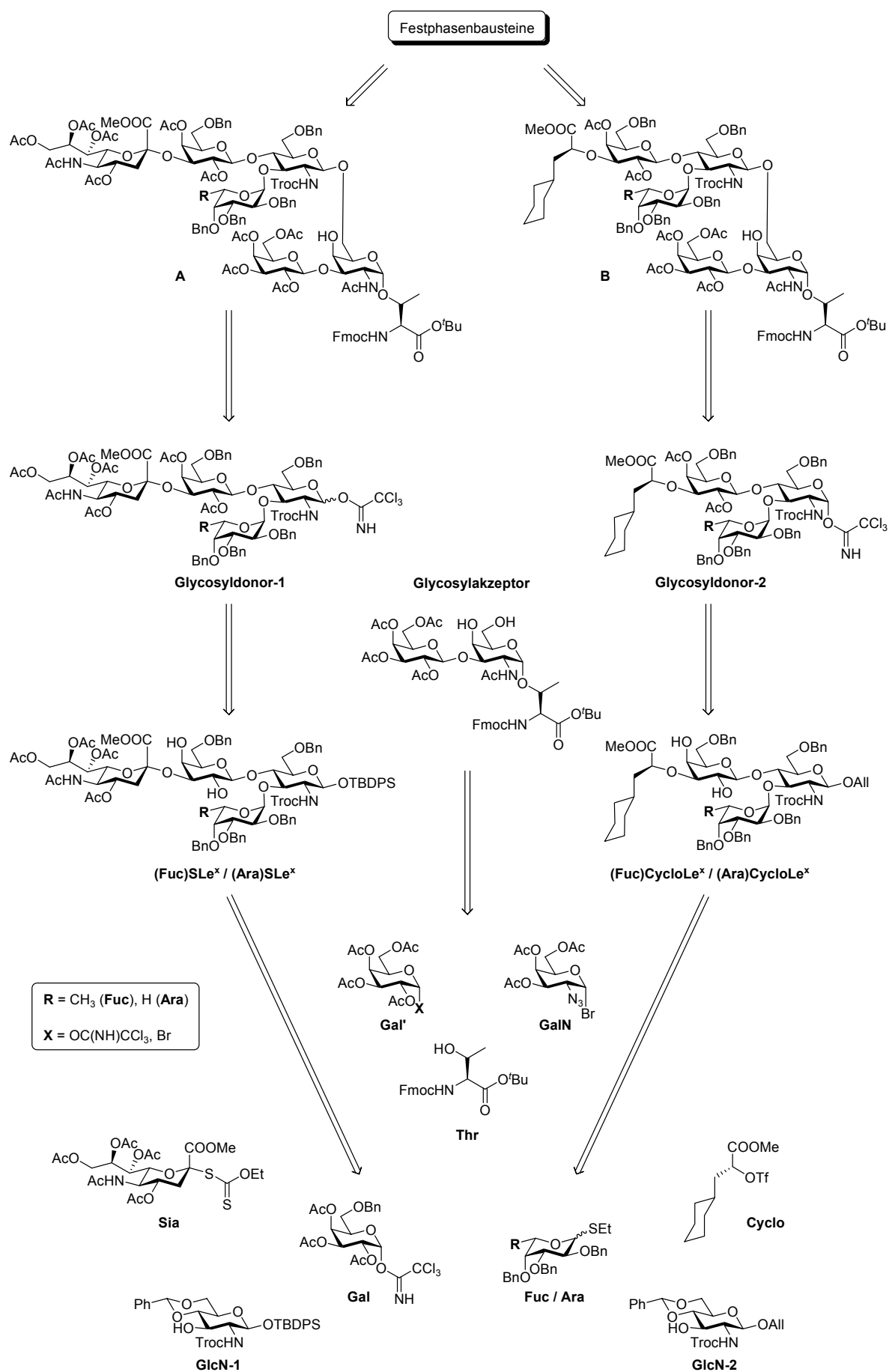
Der Aufbau der Hexasaccharid-Threonin-Konjugate **A** sowie ihrer Mimetika **B** erfolgt – wie in Kapitel 2 bereits angesprochen – nach einer konvergenten Synthesestrategie (Schema 3.1).

Dabei werden zunächst aus den jeweiligen Monosaccharid-Bausteinen und dem Sialinsäure-Mimetikum die Tetrasaccharide **(Fuc)SLe^x** bzw. **(Ara)SLe^x** sowie ihre Mimetika **(Fuc)CycloLe^x** bzw. **(Ara)CycloLe^x** in geeignet blockierter Form hergestellt und in Glycosyldonoren überführt. Diese setzt man dann mit dem Disaccharid-Threonin-Konjugat um, welches seinerseits aus seinen beiden monosaccharidischen Bestandteilen sowie der funktionalisierten Aminosäure aufgebaut wird. Im Anschluss an die Glycosylierungsreaktion werden die erhaltenen, an Threonin gebundenen Oligosaccharid-derivate **A** und **B** jeweils weiteren Schutzgruppenmanipulationen unterzogen, die schließlich die in der Glycopeptid-Festphasensynthese einsetzbaren Bausteine liefern.

(Sämtliche im Laufe der Synthesen erforderlichen Schutzgruppenoperationen sind in Schema 3.1 aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt.)

Bei der Planung der Synthese der komplexen Zielmoleküle spielt die Entwicklung eines geeigneten Schutzgruppenmusters eine fundamentale Rolle. Aufgrund der Polyfunktionalität der Kohlenhydratstrukturen müssen Wege gefunden werden, die es erlauben, die verschiedenen Hydroxylgruppen zu differenzieren. Diese Differenzierung kann durch Ausnutzung der unterschiedlichen Reaktivitäten der einzelnen Hydroxylfunktionen und ein entsprechend gestaltetes Schutzgruppenmuster realisiert werden. Die am Ende vorliegenden Festphasenbausteine sollten allerdings ein Minimum an unter verschiedenen Bedingungen spaltbaren Schutzgruppen aufweisen, um die Zahl der notwendigen Deblockierungsschritte auf der Stufe der wertvollen Glycopeptide möglichst gering zu halten.

Besonders häufig verwendete Gruppierungen zum Schutz der Hydroxylfunktionen von Kohlenhydraten stellen die Benzylether sowie die Acetate dar, welche beide auch in diesem Fall zur Anwendung kommen. Benzylether besitzen den Vorteil, dass sie in der Regel unter sehr milden Bedingungen mittels katalytischer Hydrierung gespalten werden können.^[202] Ferner bewirken sie prinzipiell eine höhere Reaktivität derartig blockierter



Schema 3.1: Das Retrosyntheseschema der Hexasaccharid-Threonin-Konjugate und ihrer Mimetika.

Glycosyldonoren bzw. -akzeptoren verglichen mit derjenigen der entsprechenden Acylgeschützten Bausteine. Acetylgruppen wiederum, welche unter anderem bei einem pH-Wert von 8.5 unter *Zemplén*-Bedingungen^[203] entfernt werden können, erhöhen die Stabilität der glycosidischen Bindungen gegenüber dem Angriff von Säuren.^[204] Diese Stabilisierung ist speziell im Hinblick auf die dem Aufbau der Oligosaccharid-Aminosäure-Konjugate folgende Glycopeptid-Festphasensynthese von entscheidender Bedeutung. Sowohl der zur temporären Blockierung des Carboxyterminus der Glycosyl-aminosäure dienende *tert*-Butylester als auch häufig verwendete Ankergruppierungen zur Anknüpfung der sequentiell aufgebauten (Glyco-)Peptidkette an die feste Phase und Seitenkettenschutzgruppen der Aminosäuren müssen durch Säuren, insbesondere Trifluoressigsäure, gespalten werden können, ohne dass die glycosidischen Bindungen beeinträchtigt werden.

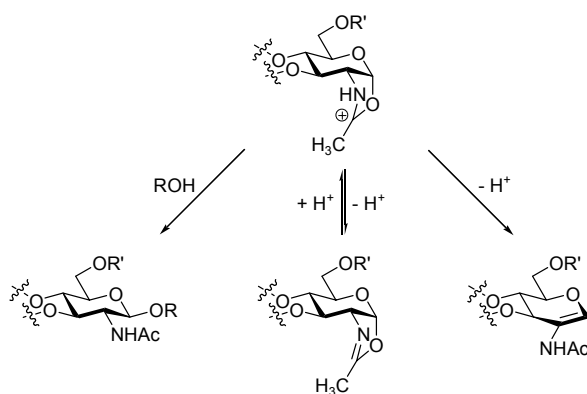
Des Weiteren müssen zur Gewährleistung der stereoselektiven Produktbildung bei den Glycosylierungsreaktionen Nachbargruppeneffekte der in der 2-Position der einzelnen Kohlenhydrate befindlichen Schutzgruppen beachtet werden.

Besondere Bedeutung bei der Erarbeitung des Schutzgruppenkonzepts für die in dieser Arbeit vorgestellten Synthesen kommt der Wahl des Schutzes der anomeren Hydroxylgruppe der Glucosamineinheit einerseits sowie dem der Aminofunktion dieses zentralen Bausteins andererseits zu.

Die Schutzgruppe in der anomeren Position muss über weite Strecken der Synthese unter den verschiedensten Bedingungen stabil sein, sich jedoch nach erfolgreichem Aufbau der Tetrasaccharid- bzw. „Pseudotetrasaccharid“-Bausteine selektiv abspalten lassen, um die Umwandlung in einen Glycosyldonor zu ermöglichen. Zwei Funktionalitäten, welche diesen Anforderungen gerecht werden, stellen das *tert*-Butyldiphenylsilyl(TBDPS)^[205-207]- und das Allyl(All)^[208, 209]-Glycosid dar. Beide werden unter einer Vielzahl von Reaktionsbedingungen, wie sie im Zuge von Schutzgruppenmanipulationen und Glycosylierungen Anwendung finden, nicht angegriffen und lassen sich dennoch auf milde Weise in Gegenwart der übrigen vorhandenen funktionellen Gruppen selektiv spalten. Aus diesem Grund werden sowohl der *tert*-Butyldiphenylsilyl- als auch der Allylrest hinsichtlich ihres Potentials als Schutzgruppe des reduzierenden Endes des Glucosamin-Bausteins untersucht.

Wie bereits erwähnt, muss auch der Blockierung der Aminofunktion des Glucosamin-Bausteins gesonderte Beachtung geschenkt werden, denn auch in diesem Fall bildet eine sorgfältig getroffene Wahl der Schutzgruppe zu Beginn der vielstufigen Synthese die Voraussetzung für das Gelingen der erst in einem späten Stadium durchgeführten

Glycosylierung des Disaccharid-Threonin-Konjugats mit den von den Tetrasacchariden bzw. den „Pseudotetrasacchariden“ abgeleiteten Donoren. Für die stereoselektive Bildung des gewünschten β -glycosidisch verknüpften Produkts wird in der 2-Position des Glycosyldonors eine Schutzgruppe benötigt, welche bei anomerer Aktivierung einen Nachbargruppeneffekt ausübt und somit die Entstehung des 1,2-*trans*-konfigurierten Glycosids bedingt. Die in der natürlich vorkommenden Struktur auftretende und damit bei der chemischen Synthese letzten Endes angestrebte Acetamidofunktion zeigt zwar eine starke Nachbargruppenaktivität und sollte daher über ein intermediär gebildetes Oxazoliniumion die gewünschte Stereoselektivität hervorrufen, in Glycosylierungsreaktionen erwies sie sich in der Vergangenheit jedoch als wenig geeignet.^[210] Dies liegt in der großen Stabilität der Oxazolinstruktur begründet, welche bei anomerer Aktivierung des Glucosaminyldonors durch Abstraktion eines Protons gebildet wird (Schema 3.2). Neben der reversiblen Oxazolinbildung kann außerdem die irreversible Entstehung eines entsprechenden Glucals in Konkurrenz zur Glycosylierung eintreten.



Schema 3.2: Nach anomerer Aktivierung *N*-Acetyl-substituierter Glucosaminyldonoren auftretende Konkurrenzreaktionen.

Die Oxazolinbildung ist zwar reversibel, allerdings sind im Allgemeinen drastische Bedingungen – ein stark saures Reaktionsmedium und eine erhöhte Temperatur – erforderlich, um die Reaktion umzukehren und in Richtung des gewünschten Glycosids zu lenken. Diese Bedingungen sind bei den angestrebten empfindlichen Kohlenhydratstrukturen nicht anwendbar.

Eine erfolgversprechende Lösung des Problems liegt in der Verwendung der 2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl(Troc)^[211]-Gruppe zum Schutz der Aminofunktion. Der Einsatz dieser Schutzgruppe besitzt den Vorteil, dass es – unter Erhalt des erforderlichen Nachbargruppeneffekts – in der Regel nicht zu dem beim *N*-Acetylschutz häufig zu beobachtenden, drastischen Reaktivitätsverlust der Glucosaminyldonoren durch Oxazolinbildung kommt.^[212-214] Ferner lassen sich derartige Carbamate nach erfolgter

Glycosylierung unter milden Bedingungen in Gegenwart einer Vielzahl anderer funktioneller Gruppen selektiv spalten und in die entsprechenden Acetamide überführen. Alternativ wäre auch eine Blockierung der Aminofunktion in Form eines Phthalimids denkbar.^[215, 216] Auch diese in der Kohlenhydratchemie weit verbreitete Art des Schutzes der Aminogruppe erlaubt eine stereoselektive Glycosylierung ohne Einschränkung der Reaktivität des entsprechenden Glucosaminyldonors durch Oxazolinbildung, da letztere mittels Substitution des Amidprotons wirkungsvoll unterdrückt ist.^[210] Allerdings sind die Bedingungen, welche für die vollständige Entfernung der Schutzgruppe angewandt werden müssen, weniger mild als diejenigen, die zur Spaltung der oben beschriebenen Carbamatstruktur führen. Eine typische Methode zur Deblockierung der als Phthalimid geschützten Aminofunktion stellt die Umsetzung mit Hydrazinhydrat in siedendem Ethanol dar. Da die Kompatibilität eines basischen Mediums und einer erhöhten Reaktionstemperatur mit den sensitiven Bindungen innerhalb der Oligosaccharid-Threonin-Konjugate begrenzt ist, wird für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Synthesen auf den Einsatz des Phthalimids zugunsten des Urethans verzichtet, obgleich eine erfolgreiche Verwendung der cyclischen Schutzgruppe bei ähnlichen Problemstellungen in der Literatur belegt ist.^[177, 178, 181] In den dort beschriebenen Fällen liegt allerdings keine glycosidische Bindung zu einer Hydroxylaminosäure vor, die bekanntermaßen besonders anfällig gegenüber dem Angriff von Basen ist, wobei eine β -Eliminierung des Glycans eintritt. Des Weiteren kommt es unter den erwähnten Bedingungen zur simultanen Spaltung der Acetatfunktionen, die erneut eingeführt werden müssen.

Der Aufbau der Sialyl-Lewis^x-Untereinheit der Zielstrukturen bzw. der entsprechenden von ihr abgeleiteten Bausteine folgt einer linearen Syntheseroute, die sich an der bewährten Methode für die Herstellung eines Sialyl-Lewis^x-Derivats orientiert, dessen reduzierendes Ende eine Azidofunktion trägt und das zur Herstellung von *N*-Glycopeptiden dient.^[168]

In Anlehnung an die literaturbekannte Synthese werden die beiden neu entwickelten Glucosamin-Bausteine, welche die spätere *O*-glycosidische Verknüpfung ermöglichen sollen, zunächst in der 3-Position fucosyliert bzw. arabinosyliert, bevor der Galactosylrest – nach regioselektiver Öffnung des Benzylidenacetals – in 4-Stellung eingeführt wird. Dieser wiederum wird nach erfolgter *O*-Deacetylierung in der 3-Position sialyliert bzw. mit dem Cyclohexylmilchsäure-Baustein in einer S_N2-Reaktion umgesetzt.

Für die Herstellung des Disaccharid-Threonin-Konjugats wird auf eine literaturbekannte Strategie zurückgegriffen, welche im Zusammenhang mit Synthesen tumorassoziiierter Antigene von *Kunz et al.* eingeführt wurde und sich an der Glycoprotein-Biosynthese

orientiert.^[217-219] Dabei wird zunächst der Galactosamin-Baustein, in dem die Amino-
gruppe als Azid maskiert ist, an die funktionalisierte Aminosäure gebunden und das
resultierende Konjugat im Anschluss an einige Schutzgruppenoperationen mit einem
vierfach acetylierten Galactosyldonor umgesetzt.

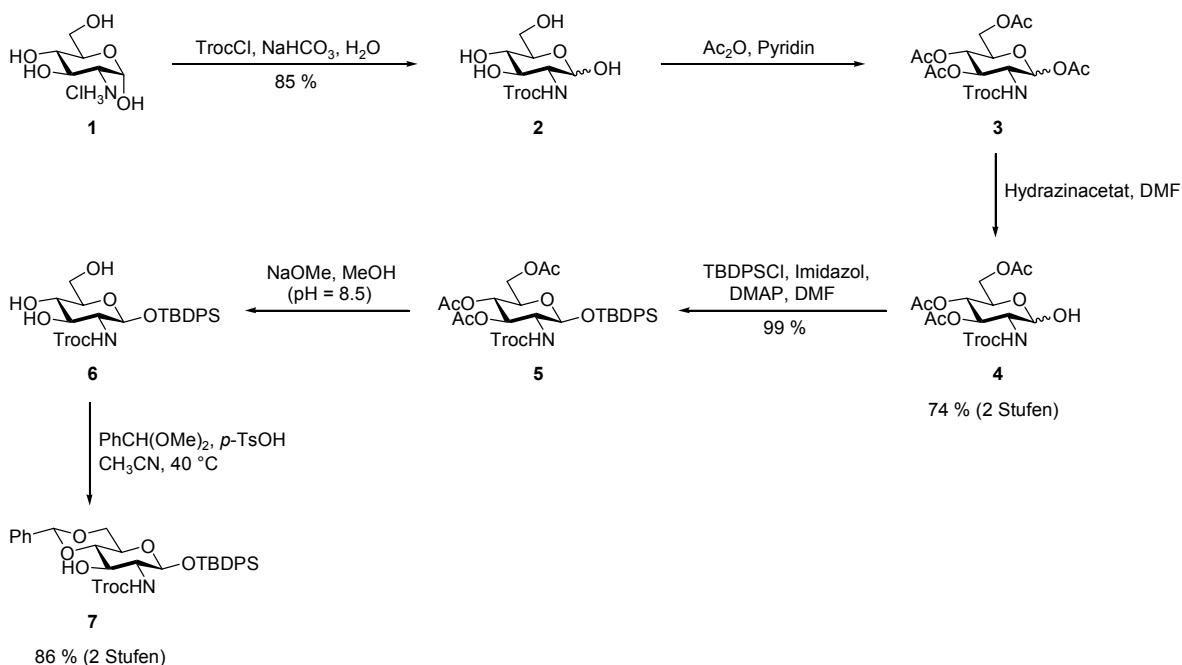
3.2 Die Monosaccharide und das Sialinsäure-Mimetikum

In den folgenden sechs Unterkapiteln werden zunächst die Synthesen sämtlicher – für den Aufbau des Sialyl-Lewis^x-Tetrasaccharids und seiner potentiellen Mimetika – benötigten Monosaccharid-Bausteine sowie die Herstellung des Cyclohexylmilchsäurederivats vorgestellt.

3.2.1 Die Glucosamin-Bausteine

Die Synthesen beider Glucosamin-Bausteine – sowohl die des in der anomeren Position *tert*-Butyldiphenylsilyl(TBDPS)-geschützten Glucosaminderivats **7** als auch die des entsprechenden Allylglucosids **14** – gehen von α -D-Glucosamin-Hydrochlorid (**1**) aus.

Im Falle der Synthese des Silylglucosids **7** blockiert man zunächst die Aminofunktion von **1** als Carbamat durch Umsetzung des Hydrochlorids mit Chlorameisensäure-2,2,2-trichlorethylester (2,2,2-Trichlorethoxycarbonylchlorid, TrocCl) in einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung (Schema 3.3).^[220]



Schema 3.3: Die Synthese des TBDPS-geschützten Glucosamin-Bausteins **7**.

Das resultierende Troc-geschützte Glucosaminderivat **2**, welches man in einer Ausbeute von 85 % erhält, wird im Anschluss acetyliert,^[220] wobei die Verbindung **3** als

Anomerengemisch mit einem Verhältnis von α - zu β -Anomer von etwa 8:1 (mittels NMR-Spektroskopie bestimmt) anfällt. Dies ist für den weiteren Verlauf der Synthese ohne Bedeutung, da im darauf folgenden Schritt die anomere Acetylgruppe ohnehin durch Behandlung mit Hydrazinacetat selektiv entfernt wird.^[220, 221]

Den in einer Ausbeute von 74 % bezogen auf das Troc-geschützte Derivat **2** zu isolierenden reduzierenden Zucker **4** bringt man mit *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid (TBDPSCl) und Imidazol in Gegenwart einer katalytischen Menge an 4-Dimethylaminopyridin (DMAP)^[222] zur Reaktion.^[205, 223] Die nur sehr langsam verlaufende Umsetzung liefert nach einer Reaktionszeit von fünfeinhalb Tagen, dafür aber mit einer Ausbeute von 99 %, das gewünschte Silylglucosid **5**. Dass eine derart lange Reaktionszeit erforderlich ist, lässt sich auf den großen sterischen Anspruch des TBDPS-Rests zurückführen, welcher in direkter Nachbarschaft zu der ebenfalls voluminösen Troc-Gruppe eingeführt wird. Letzten Endes ist dies nicht weiter verwunderlich, wenn man bedenkt, dass man sich die geringere Reaktivität sekundärer Hydroxylgruppen häufig zunutze macht, um die leichter zugängliche Hydroxylgruppe in der 6-Position eines mehrfach ungeschützten Zuckers selektiv als TBDPS-Ether zu blockieren.^[205] Die sterische Hinderung erklärt auch die ausschließliche Bildung des β -Anomers.

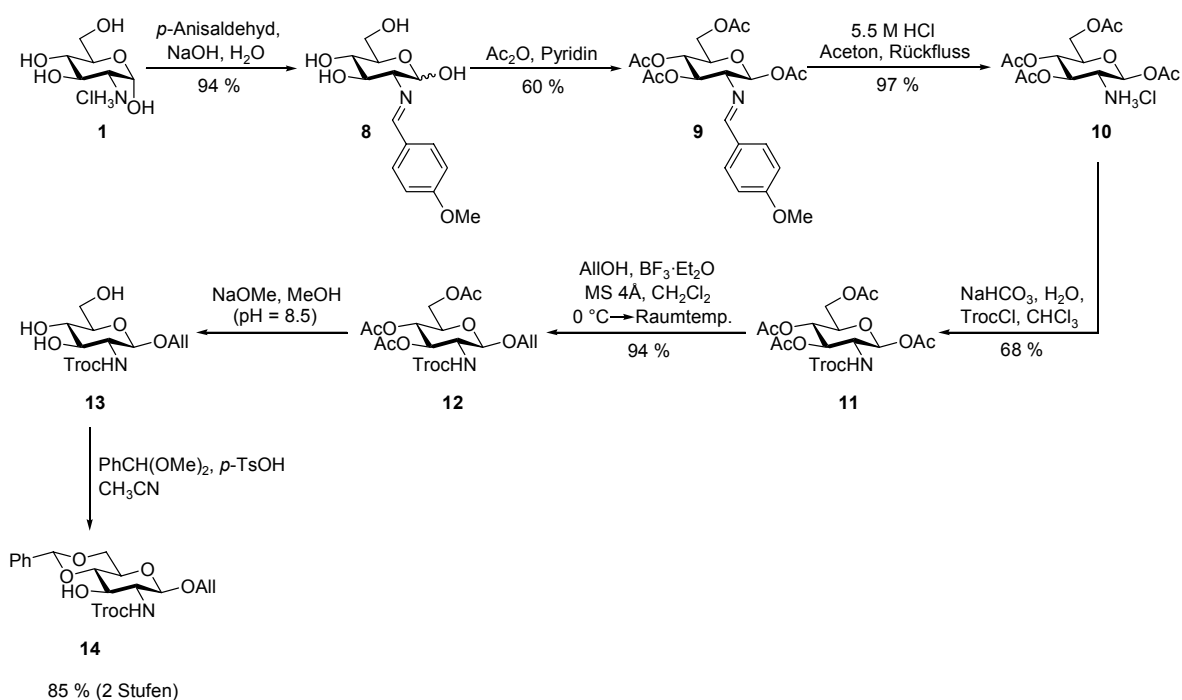
Der Silylierung schließt sich eine vollständige Deacetylierung mit Natriummethanolat in Methanol nach *Zemplén*^[203] zu Verbindung **6** an. Dabei ist zu beachten, dass der pH einen Wert von 8.5 nicht übersteigt, da sonst die Troc-Gruppe in Mitleidenschaft gezogen wird. Die Angaben in der Literatur hinsichtlich der Basenlabilität der Aminoschutzgruppe sind durchaus kontrovers,^[202, 224] jedoch sprechen die im Rahmen dieser Arbeit gemachten Beobachtungen eindeutig dafür, dass ihre Stabilität gegenüber dem Angriff von Basen – zumindest unter den eher schonenden *Zemplén*-Bedingungen – deutlich eingeschränkt ist. Rührt man das dem Baustein **5** entsprechende Allylglucosid **12** beispielsweise einige Stunden in einer methanolischen Natriummethanolat-Lösung bei einem pH-Wert von 9.0 bis 9.5, so kommt es zu einem vollständigen Verlust der Troc-Gruppe.

Bei sorgfältiger Kontrolle des pH-Werts während der Deacetylierung lässt sich der Grad der Solvolyse jedoch so gering halten, dass der gewünschte Benzylidengeschützte Glucosamin-Baustein **7** nach Umsetzung von Verbindung **6** mit Benzaldehyddimethylacetal in Gegenwart einer katalytischen Menge an 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat (*p*-TsOH)^[225] in einer Ausbeute von 86 % über beide Stufen erhalten wird. Bei der Bildung des Benzylidenacetals, welche bei einem pH-Wert von 3.5 durchgeführt wird, ist eine leicht erhöhte Temperatur erforderlich, um das schwer lösliche Glucosaminderivat **6** in Lösung zu halten und somit die Reaktion zu beschleunigen. Die größere Stabilität des sechsgliedrigen 4,6-Acetals **7** gegenüber dem theoretisch ebenfalls möglichen isomeren fünfgliedrigen Acetal, wie es bei einer Reaktion

der Hydroxylgruppen in 3- und 4-Stellung gebildet würde, führt zur ausschließlichen Entstehung des gewünschten Produkts,^[202] welches im Folgenden als Fucosyl- bzw. Arabinosylakzeptor (vgl. Kapitel 3.3) fungieren kann.

Der TBDPS-geschützte Glucosamin-Baustein **7** kann auf diese Weise in insgesamt sechs Schritten, von denen die ersten drei literaturbekannt sind, mit einer Gesamtausbeute von 53 % hergestellt werden.

Für die Herstellung des in der anomeren Position durch den Allylrest geschützten Glucosamin-Bausteins **14** wird nicht der im Falle des entsprechenden Silylglucosids **7** gewählte Syntheseweg eingeschlagen, da eine Allylierung des Glucosaminderivats **4** unter den üblicherweise angewandten Bedingungen – der Umsetzung der freien Hydroxylgruppe mit Natriumhydrid und Allylbromid^[226, 227] – in Gegenwart der basenlabilen Troc-Gruppe nicht praktikabel ist. An dieser Stelle soll auf eine andere wirksame Methode zur Glycosidbildung zurückgegriffen werden, die Aktivierung eines anomeren Acetats mit einer Lewis-Säure und die darauf folgende Reaktion mit einem Alkohol. Da allerdings das α -Anomer der dafür erforderlichen acetylierten Verbindung aufgrund des anomeren Effekts eine zu hohe Stabilität aufweist, um eine solche Reaktion einzugehen, erweist sich das nach der oben beschriebenen Umsetzung zu erhaltende Anomerengemisch **3**, welches überwiegend aus dem unreaktiven α -Anomer besteht, als ungeeignet. Man muss demnach zunächst das Tetraacetat **3** in Form des reinen β -Anomers herstellen, was mittels einer vierstufigen literaturbekannten Synthese gelingt (Schema 3.4).^[212, 228]



Schema 3.4: Die Synthese des Allyl-geschützten Glucosamin-Bausteins **14**.

Aus α -D-Glucosamin-Hydrochlorid (**1**) wird zunächst mit *p*-Anisaldehyd in 1 M Natronlauge die Schiffsche Base **8** in einer Ausbeute von 94 % gebildet.^[228] Bei der folgenden Acetylierung mit einer Mischung aus Essigsäureanhydrid und Pyridin sowie Auskristallisation des Produkts aus Wasser erhält man ausschließlich das reine β -Anomer **9** in einer Ausbeute von 60 %.^[228] Das Imin wird mit einer Ausbeute von 97 % sauer gespalten, wobei das vierfach acetylierte Hydrochlorid **10** entsteht,^[212, 228] welches im Anschluss in einem zweiphasigen System unter Schotten-Baumann-Bedingungen in das entsprechende Carbamat **11** überführt wird.^[212]

Das in einer Ausbeute von 68 % zu isolierende anomenenreine Glucosaminderivat **11** stellt nun ein geeignetes Substrat für die angestrebte Umsetzung mit Allylalkohol und Bortrifluorid-Diethyletherat als Lewis-Säure dar. Man gewinnt dadurch das Allylglucosid **12** in einer reproduzierbar hohen Ausbeute von 94 %. Die ausschließliche Bildung des β -konfigurierten Produkts basiert auf dem Nachbargruppeneffekt der Aminoschutzgruppe, welcher nur einen Angriff des Allylalkohols am anomeren Zentrum aus der äquatorialen Orientierung heraus gestattet.

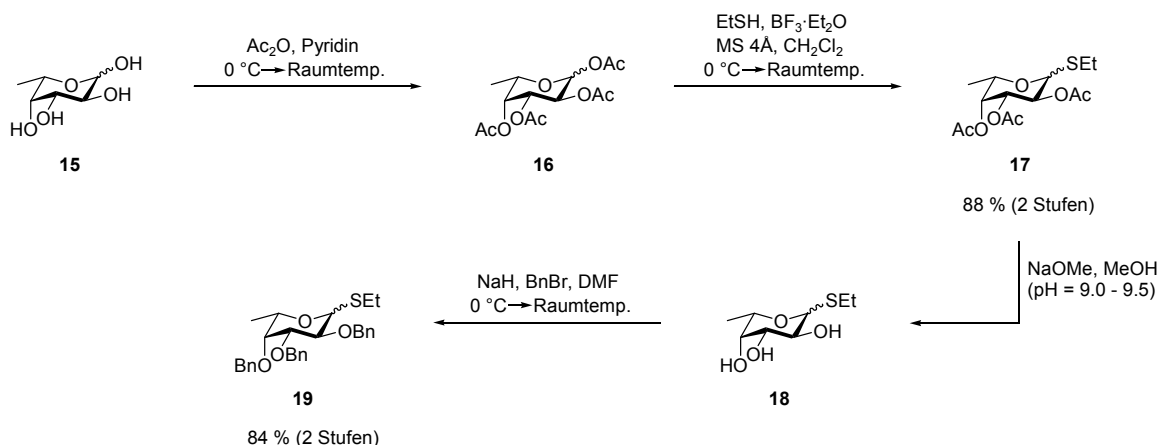
In Analogie zu dem oben beschriebenen Syntheseweg werden durch Umesterung nach *Zemplén*^[203] die Acetylgruppen entfernt, wobei auch hier – wie bereits diskutiert – zum Schutz der Carbamatfunktion die obere Grenze von 8.5 für den pH-Wert strikt eingehalten werden muss. Es schließt sich die Bildung des Benzylidenacetals durch eine säurekatalysierte Umacetalisierung mit Benzaldehyddimethylacetal^[225] an, welche den Glucosamin-Baustein **14** in einer Ausbeute von 85 % über zwei Stufen ergibt. In dem hier vorliegenden Fall kann die Acetalbildung bei Raumtemperatur durchgeführt werden, da das eingesetzte Allylglucosid im Gegensatz zu dem silylierten Baustein **6** eine ausreichende Löslichkeit in Acetonitril zeigt.

Somit wird das in der anomeren Position Allyl-geschützte Glucosaminderivat **14** durch eine insgesamt siebenstufige Synthese, deren erste vier Schritte literaturbekannt sind, in einer Gesamtausbeute von 30 % erhalten.

An dieser Stelle soll noch vermerkt werden, dass der auf den ersten Blick umständlich erscheinende, wenn auch notwendige Weg über das Imin tatsächlich keinen großen synthetischen Aufwand bedeutet, da die ersten drei Stufen zu leicht auskristallisierenden Verbindungen führen, welche vor der weiteren Umsetzung keiner zusätzlichen Reinigung unterzogen werden müssen.

3.2.2 Der Fucose-Baustein

Die vierstufige Synthese des Fucose-Bausteins **19** aus L-Fucose (**15**) folgt einer literaturbekannten Vorschrift von *Lönn* (Schema 3.5).^[229]



Schema 3.5: Die Synthese des Fucose-Bausteins **19**.

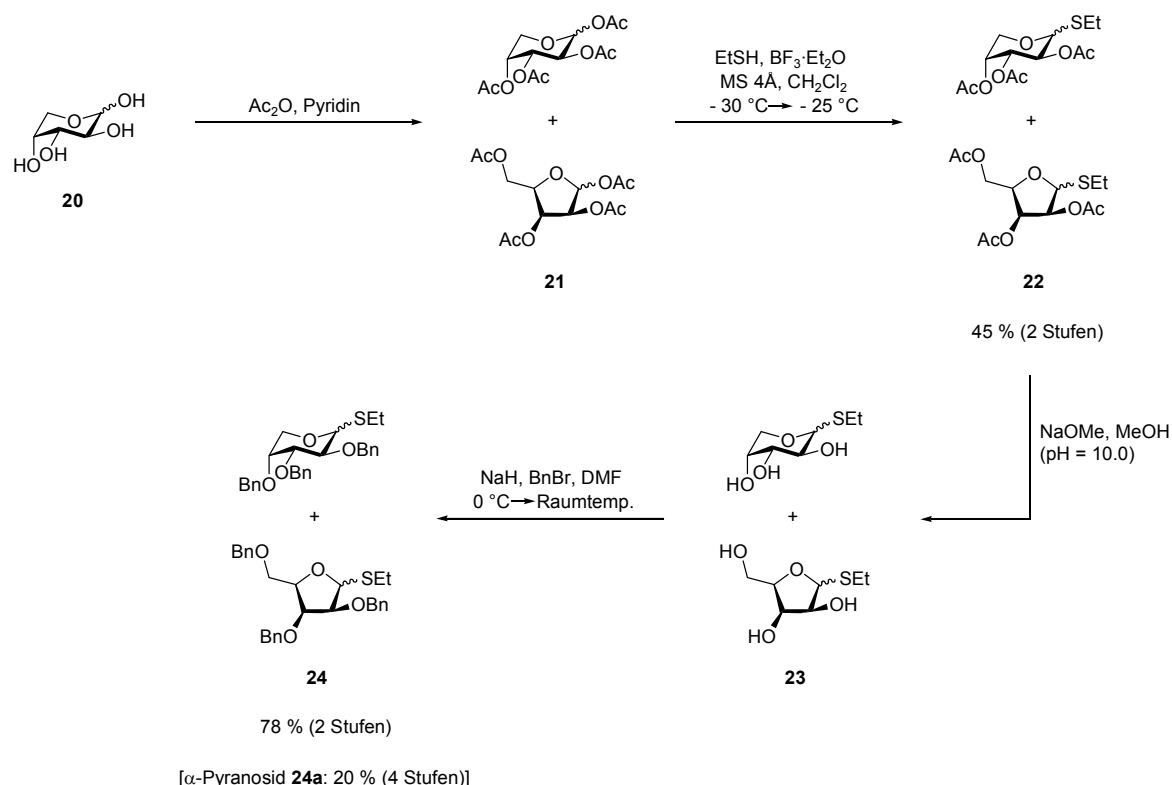
Zunächst wird der 6-Desoxyzucker **15** mit Essigsäureanhydrid in Pyridin quantitativ acetyliert, wobei das Tetraacetat **16** als Anomerengemisch mit einem Verhältnis von α - zu β -Anomer von etwa 8:5 (mittels NMR-Spektroskopie bestimmt) entsteht. Das Vorliegen eines Anomerengemischs spielt für die nachfolgende Reaktion keine Rolle, da sich im Falle der Fucose sowohl die äquatoriale als auch die axiale Acetatfunktion unter dem Einfluss von Bortrifluorid-Diethyletherat mit Ethanthiol unter Bildung des Ethylthiofucosids **17** umsetzen lassen. Dies steht im Gegensatz zu den Beobachtungen bei der anomeren Allylierung des in der 1-Position acetylierten Glucosaminderivats, welche im vorangehenden Abschnitt geschildert wurden. Man erhält das Thiofucosid **17** – ebenfalls als Anomerengemisch – in einer Ausbeute von 88 % bezogen auf L-Fucose (**15**).

Die vollständige Deacetylierung mit einer methanolischen Natriummethanolat-Lösung nach *Zemplén*^[203] bei einem pH-Wert von 9.0 bis 9.5 liefert die Verbindung **18**, die ohne eine vorherige Reinigung direkt mit Natriumhydrid und Benzylbromid zur Reaktion gebracht wird. In einer Ausbeute von insgesamt 84 % bezogen auf das acetylierte Thiofucosid **17** erhält man dadurch das benzylierte Fucosederivat **19** in Form seiner zwei Anomere, welche beide für den Einsatz in der späteren Glycosylierung (vgl. Abschnitt 3.3.1) geeignet sind.

Der gewünschte Fucosebaustein **19** lässt sich somit in vier Stufen mit einer Gesamtausbeute von 70 % bezogen auf L-Fucose (**15**) herstellen.

3.2.3 Der Arabinose-Baustein

Auch für die Herstellung des Arabinose-Bausteins **24** bezieht man sich auf eine vierstufige literaturbekannte Syntheseroute,^[230] welche sich an der des entsprechenden Fucose-Bausteins orientiert (Schema 3.6).



Schema 3.6: Die Synthese des Arabinose-Bausteins **24a**.

In Analogie zu dem oben beschriebenen Vorgehen wird zunächst D-Arabinose mit einer Mischung aus Pyridin und Essigsäureanhydrid vollständig acetyliert.^[230, 231] Dabei erhält man allerdings nicht nur – wie im Falle der Fucose – die beiden Anomere des in 1-, 2-, 3- und 4-Position acetylierten Kohlenhydrats, sondern es entsteht eine Mischung aus insgesamt vier isomeren Verbindungen.

Die NMR-spektroskopische Untersuchung dieses Produktgemischs, dessen Bestandteile sich flashchromatographisch nicht voneinander trennen lassen, bestätigt den Verdacht, dass in diesem Fall neben den beiden anomeren Pyranoseformen **21a** und **21b** auch die entsprechenden Furanoseformen **21c** und **21d** der peracetylierten Verbindung gebildet werden (Abb. 3.1). Im ¹H-NMR-Spektrum lassen sich vier jeweils von einem anomeren Proton hervorgerufene Signale ausmachen, deren chemische Verschiebungen mit den entsprechenden in der Literatur angeführten Werten für die Verbindungen **21a-d**

weitgehend übereinstimmen.^[232] Anhand der Integrale dieser Signale ergibt sich ein ungefähres Isomerenverhältnis von **21a:21b:21c:21d** = 24:46:19:11.

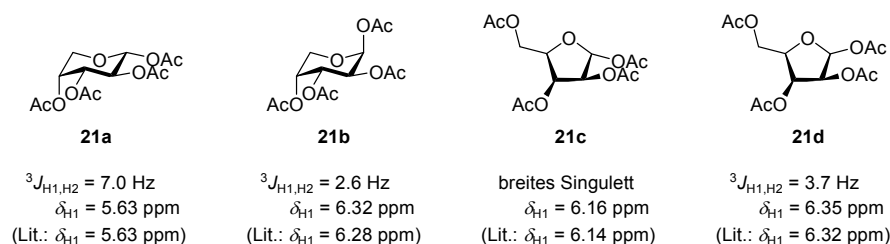


Abb. 3.1: Die bei der Acetylierung von D-Arabinose entstehenden Isomere **21a-d**, die jeweiligen Kopplungskonstanten $^3J_{H1,H2}$ sowie die chemischen Verschiebungen δ der anomeren Protonen.

Dieser präparative Befund steht jedoch in keinsten Weise im Einklang mit den in der Literatur vorherrschenden Angaben hinsichtlich des Verlaufs der Acetylierung der Pentose.^[230, 231, 233] Mit Ausnahme der Arbeit, die für die NMR-Daten zitiert wurde, in der allerdings kommerziell erhältliche D-Arabinose nicht direkt, sondern erst nach einer speziellen Behandlung in die Acetylierungsreaktion eingesetzt wurde, können tatsächlich keinerlei Hinweise darauf gefunden werden, dass dieses Phänomen im Zusammenhang mit der Arabinose bereits in der Vergangenheit beobachtet wurde. In allen Fällen wird lediglich die Bildung eines α,β -Anomerengemischs der Pyranoseform beschrieben. Einzig im Kontext der Acetylierung der mit der D-Arabinose strukturell eng verwandten L-Galactose wurde von C. Filser im Rahmen seiner Dissertation die Entstehung eines vergleichbaren Pyranose-Furanose-Gemischs der peracetylierten Verbindung diskutiert.^[233]

Welche Umstände für das Zustandekommen dieses – im Übrigen durchaus reproduzierbaren – Resultats der Reaktion verantwortlich sind, ließ sich bislang nicht ermitteln.

Es wurden aber Versuche unternommen, die Bildung der unerwünschten Furanoseformen des Tetraacetats **21** durch Variation der Reaktionsbedingungen zurückzudrängen (Tabelle 3.1).

Die Entstehung der Furanoseformen einzuschränken darf allerdings nicht das alleinige Ziel der Optimierung darstellen. Auch die bevorzugte Bildung der α - gegenüber der β -Pyranoseform ist von großem Interesse, da in der nachfolgenden Stufe – wie C. Filser^[233] feststellte – nur das α -Anomer eine Reaktion zeigt, während das entsprechende β -Anomer vollständig zurückgewonnen wird.

Tabelle 3.1: Die Ergebnisse der Variation der Reaktionsbedingungen bei der Acetylierung von D-Arabinose.

Reaktionsbedingungen	α -Pyranose ^[x]	β -Pyranose ^[x]	α -Furanose ^[x]	β -Furanose ^[x]
20 in Pyridin + Ac ₂ O, Raumtemp.	24 %	46 %	19 %	11 %
20 in Pyridin + Ac ₂ O, 0 °C	15 %	57 %	17 %	11 %
Ac ₂ O in Pyridin + 20 , Raumtemp.	15 %	60 %	15 %	10 %
Ac ₂ O in Pyridin + 20 , – 25 °C	0 %	100 %	0 %	0 %
NaOAc in Ac ₂ O + 20 , Rückfluss	46 %	11 %	29 %	14 %

^[x]: Gehalt des jeweiligen Isomers im Gemisch (mittels NMR-Spektroskopie bestimmt)

Wie aus Tabelle 3.1 ersichtlich, beeinflusst eine Änderung der Temperatur, bei der Essigsäureanhydrid zu einer Suspension von D-Arabinose in Pyridin zugetropft wird, das Pyranose-Furanose-Verhältnis nur unbedeutend. Bei tieferer Temperatur ist jedoch erwartungsgemäß die Bildung des β -Anomers gegenüber der des α -Anomers leicht bevorzugt.

Ferner kann, um einer ungünstigen Gleichgewichtseinstellung zwischen den isomeren Formen des ungeschützten Kohlenhydrats in Pyridin entgegenzuwirken, die Reihenfolge, in der die Reaktanden zusammengegeben werden, variiert werden. Wird in diesem Sinne eine Mischung aus Pyridin und dem Acylierungsmittel vorgelegt und bei Raumtemperatur portionsweise mit dem Zucker versetzt, so bleibt das Verhältnis von Pyranose- zu Furanoseformen insgesamt nahezu konstant, während sich die Produktverteilung zwischen den beiden anomeren Pyranosen geringfügig zugunsten des ungewünschten β -Anomers ändert. Ein analoges Vorgehen bei einer Temperatur von – 25 °C resultiert schließlich in der alleinigen Bildung der β -Pyranose **21b**. Letzteres entspricht durchaus der allgemeinen Erfahrung, nach der bei tiefen Temperaturen bevorzugt dasjenige Anomer gebildet wird, bei dem das Acetat am anomeren Zentrum axial steht. Dementsprechend ist bei hohen Temperaturen in der Regel die Entstehung des entgegengesetzten Anomers favorisiert. Effektiv bildet das α -Anomer **21a** bei einer Acetylierung in siedendem Essigsäureanhydrid unter Pufferung durch Natriumacetat mit 46 % den Hauptanteil am Produktgemisch. Während die Ausbeute an dem im Zuge der nächsten Umsetzung reaktionsträgen β -Anomer dabei gleichzeitig deutlich minimiert wird, lässt sich die Furanosebildung bei weitem nicht unterdrücken. Der Anteil an α -Furanose erfährt sogar eine merkliche Zunahme im Vergleich mit dem in den anderen Testansätzen erzielten Gehalt dieses Isomers im Gemisch. Dennoch scheint das zuletzt angeführte Vorgehen in Relation zu den beschriebenen alternativen Verfahren die Methode der Wahl für diese spezielle Acetylierungsreaktion darzustellen.

Da es sich bei D-Arabinose um eine preiswerte Ausgangsverbindung handelt und im Laufe der Synthese des angestrebten benzylierten Thioarabinopyranosids **24a/24b** die ungewünschten Nebenprodukte flashchromatographisch problemlos abgetrennt werden können, wird an dieser Stelle auf eine weitere, aufwendige Optimierung der Reaktion verzichtet.

Stattdessen wird das Isomerengemisch **21** mit Ethanthiol und Bortrifluorid-Diethyletherat als Promotor zu den isomeren Thioarabinosiden **22** umgesetzt.^[199, 231] Im Zuge der flashchromatographischen Reinigung des Rohprodukts können die durch den anomeren Effekt stabilisierten und in diesem Fall völlig unreaktiven β -Anomere **21b** und **21d** des eingesetzten Tetraacetats von dem Produktgemisch abgetrennt werden. Woher die zu beobachtende Diskrepanz zwischen den Reaktivitäten des β -Anomers der peracetylierten Arabinose einerseits und des entsprechenden α -konfigurierten Fucosederivats andererseits rührt, ist ungeklärt.

Durch die chromatographische Reinigung des Rohprodukts kann außerdem unter anderem eine Fraktion des reinen α -Furanosids **22c** gewonnen werden, welches zur Bestätigung der vermuteten Struktur NMR-spektroskopisch mittels verschiedener zweidimensionaler Experimente untersucht werden kann. Nach der Zuordnung sämtlicher Signale mit Hilfe von COSY- und HSQC-Spektren lassen sich anhand des HMBC-Spektrums entscheidende Rückschlüsse auf die tatsächliche Struktur ziehen (Abb. 3.2).

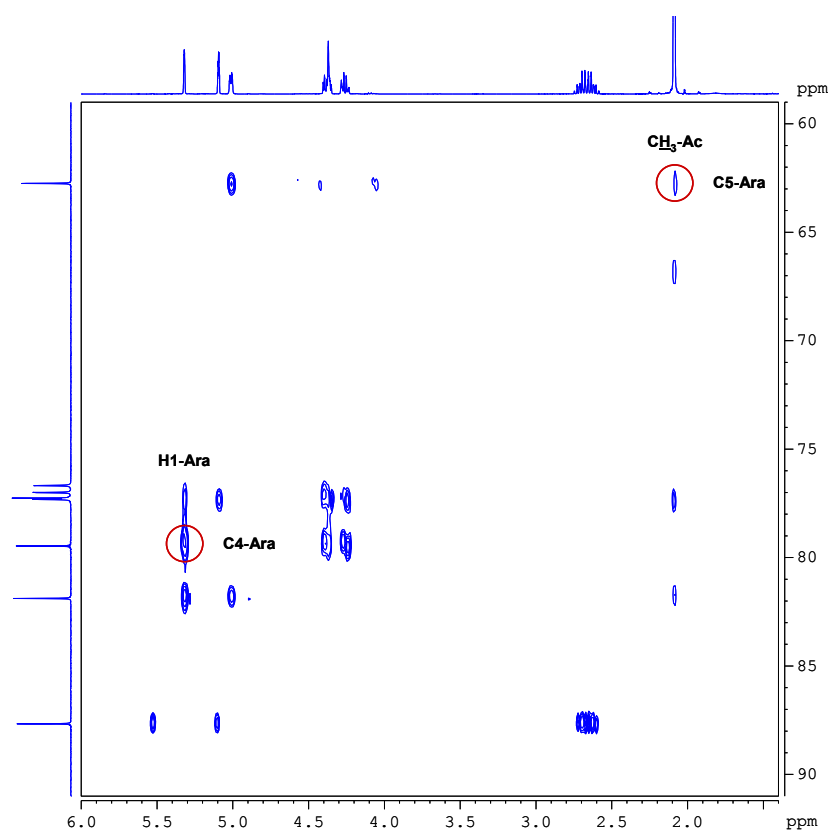


Abb. 3.2: Ein Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum des α -Furanosids **22c**.

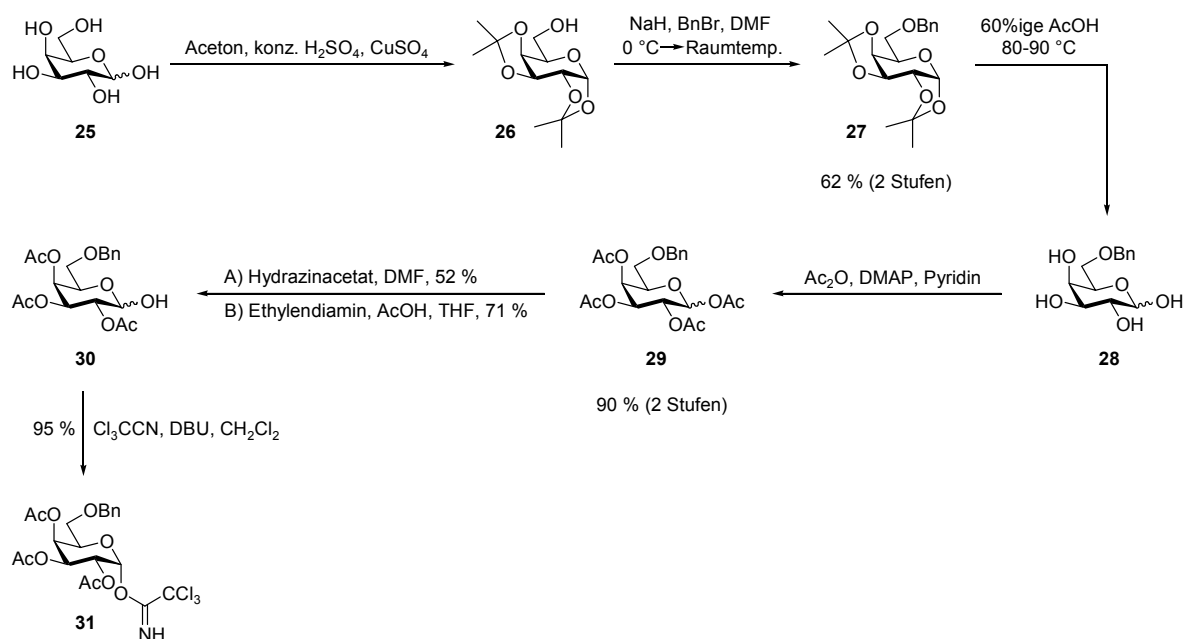
Dieses spezielle NMR-Experiment bildet ^1H - ^{13}C -Kopplungen ab, die über mehr als eine Bindung – in der Regel zwei oder drei Bindungen – hinweg reichen, und sollte somit bei dem hier vorliegenden Fall eine Aussage über die Ringgröße ermöglichen. In der Tat lassen sich sowohl eine Kopplung zwischen dem Proton am anomeren Zentrum und dem Kohlenstoff in der 4-Position des Kohlenhydratgerüsts als auch eine Kopplung des Methylen-Kohlenstoffatoms-5 mit den Protonen einer CH_3 -Gruppe eines Acetylrests erkennen, wobei beide Beobachtungen die Annahme untermauern, dass es sich um einen fünfgliedrigen Ring handelt.

Im Anschluss an die Thioglycosidbildung wird das bezogen auf D-Arabinose (**20**) in einer Ausbeute von insgesamt 45 % erhaltene Isomerengemisch **22** unter *Zemplén*-Bedingungen^[203] von den Acetylgruppen befreit.^[199, 231] Abschließend verethert man die freien Hydroxylgruppen des rohen Gemischs **23** durch Deprotonierung mittels Natriumhydrid und nachfolgende Umsetzung mit Benzylbromid.^[199] Auf dieser Stufe wird das für die beabsichtigte Arabinosylierung (vgl. Abschnitt 3.3.2) taugliche benzylierte Thioarabinopyranosid **24a** von den Furanoseformen flashchromatographisch abgetrennt und in einer Ausbeute von 20 % bezogen auf D-Arabinose (**20**) erhalten. Das entsprechende β -Pyranosid **24b**, welches für die Glycosylierung ebenso geeignet wäre wie das α -Anomer **24a**, kann nur in vernachlässigbarer Menge in einer Mischfraktion mit den beiden Furanoseformen gefunden werden.

3.2.4 Der Galactose-Baustein

Der Galactose-Baustein **31** wird gemäß einer literaturbekannten Strategie in insgesamt sechs Schritten aus D-Galactose (**25**) hergestellt (Schema 3.7).^[234]

Dabei werden zunächst die vier sekundären Hydroxylfunktionen von D-Galactose (**25**) durch eine säurekatalysierte Umsetzung mit Aceton in Gegenwart von Kupfer(II)-sulfat als wasserentziehendem Mittel als Isopropylidenacetale geschützt.^[235] Während bei vergleichbaren Reaktionen mit Benzaldehyddimethylacetal selektiv das 4,6-Acetal entsteht (vgl. Abschnitt 3.2.1), wird im Falle von Isopropylidenacetalen in der Regel der fünfgliedrige Ring, also das 3,4-Acetal, bevorzugt gebildet, sofern die beteiligten OH-Gruppen *cis* zueinander stehen.^[202] Ohne eine vorherige Reinigung des resultierenden Diisopropylidenacetals **26** setzt man im Anschluss die freie, primäre Hydroxylfunktion mit Natriumhydrid und Benzylbromid um, wobei man den Benzylether **27** erzeugt.^[236] Dieser wird – noch leicht verunreinigt – in einer Ausbeute von 62 % nach den ersten beiden Stufen isoliert.



Schema 3.7: Die Synthese des Galactose-Bausteins **31**.

Es folgt die saure Hydrolyse der Acetalfunktionen mit 60%iger Essigsäure bei einer Temperatur von 80 °C bis 90 °C,^[236] bevor die nur in der 6-Position durch den Benzylrest blockierte Verbindung **28** einer vollständigen Acetylierung unterzogen wird. Dies geschieht durch Behandlung des Rohprodukts **28** mit einer Mischung aus Essigsäureanhydrid und Pyridin, der zur Beschleunigung der Veresterung eine katalytische Menge an 4-Dimethylaminopyridin (DMAP)^[237] zugesetzt ist.^[236] Man erhält das Anomerenmisch **29** in einer Ausbeute von 90 % bezogen auf das Diisopropylidenacetal **27**.

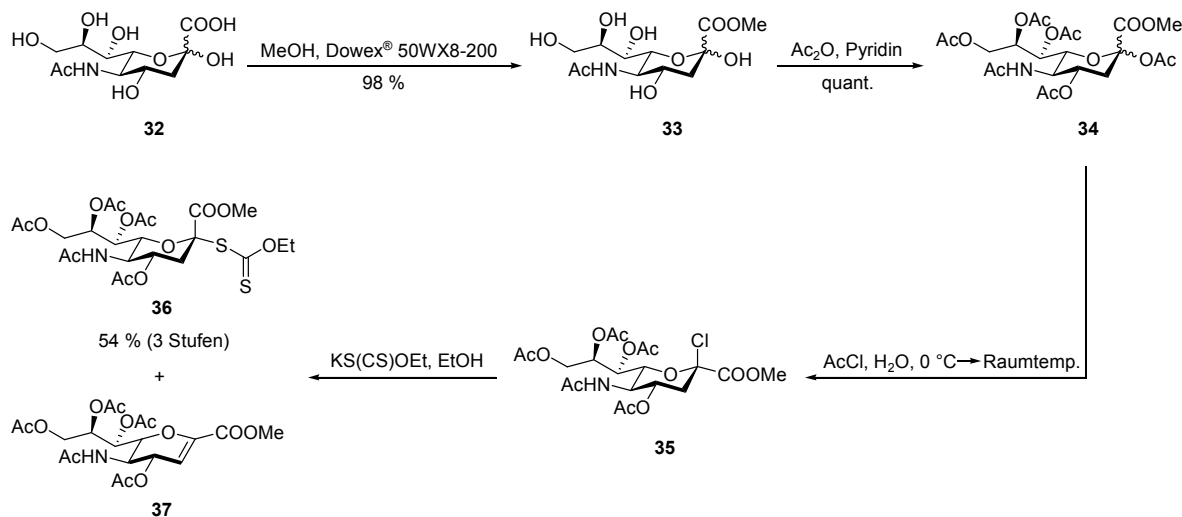
Zur Erzeugung des angestrebten Galactosyldonors muss zunächst die anomere Acetylgruppe selektiv entfernt werden. Zu diesem Zweck können zwei unterschiedliche Methoden angewandt werden. Im ersten Fall setzt man das Tetraacetat **29** mit Hydrazinacetat um,^[221, 238] wonach der reduzierende Zucker **30** in einer Ausbeute von 52 % isoliert wird. Die Hauptursache für die nur mäßige Ausbeute ist vermutlich in der Tatsache zu suchen, dass es neben der Entfernung der anomeren Schutzgruppe zur Spaltung weiterer Acetatfunktionen kommt. Aus diesem Grund bietet sich die alternative Reaktion mit dem Acetat von Ethylendiamin an,^[239] welche in der Regel langsamer verläuft als die Hydrazinolyse und somit eine höhere Selektivität zeigen sollte. Tatsächlich kann in diesem Fall das gewünschte Produkt **30** in einer Ausbeute von 71 % gewonnen werden.

Zum Abschluss der Reaktionssequenz überführt man die Galactopyranose **30** in das entsprechende Trichloracetimidat **31**, was durch eine basenkatalysierte Addition an Trichloracetonitril^[234, 240] mit einer Ausbeute von 95 % gelingt. Dabei wird ausschließlich das thermodynamisch stabilere α -Anomer erhalten.

Der sechsstufigen literaturbekannten Synthesestrategie folgend, kann man somit den zur später durchzuführenden Galactosylierung (vgl. Kapitel 3.4) befähigten Donor **31** mit einer Gesamtausbeute von 30 % bezogen auf D-Galactose (**25**) herstellen.

3.2.5 Der Neuraminsäure-Baustein

Um das Neuraminsäurexanthogenat **36** herzustellen, überführt man zunächst die Carboxylfunktion von *N*-Acetyl-D-neuraminsäure (**32**) in den Methylester **33** (Schema 3.8), indem man die Sialinsäure in Methanol suspendiert und mit dem sauren Ionenaustauscher Dowex[®] 50WX8-200 schüttelt.^[241] Die in einer Ausbeute von 98 % entstandene Verbindung **33** wird mit einer Mischung aus Essigsäureanhydrid und Pyridin vollständig acetyliert,^[242, 243] wobei sich das Pentaacetat **34** quantitativ bildet. Dieses reagiert in Acetylchlorid, dem eine geringe Menge Wasser zugesetzt ist, zum Chlorid **35**,^[244] welches aufgrund des anomeren Effekts ausschließlich als β -Anomer erhalten wird. Das nicht sehr stabile Chlorid **35** wird ohne eine vorherige Reinigung umgehend in einer S_N2-Reaktion mit Kalium-ethylxanthogenat umgesetzt,^[244] wodurch sich das Neuraminsäurederivat **36** in einer Ausbeute von 54 % bezogen auf den Methylester **33** bildet.



Schema 3.8: Die Synthese des Neuraminsäure-Bausteins **36**.

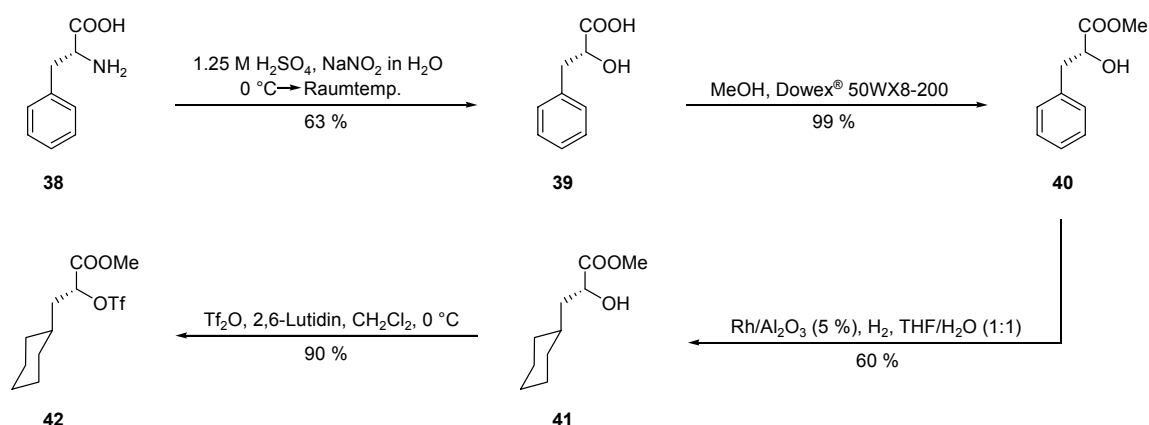
Bei diesem letzten Reaktionsschritt entsteht neben dem gewünschten Produkt **36** auch das Eliminierungsprodukt **37**, welches sich selbst durch zweifache flashchromatographische Reinigung nicht vollständig abtrennen lässt. Da das Glycol **37** allerdings auch im Laufe der sich anschließenden Sialylierungsreaktionen (vgl. Abschnitte 3.5.1 und 3.5.2) gebildet wird und diese nicht negativ beeinflusst, kann an dieser Stelle auf eine weitere Reinigung

verzichtet werden, sofern im Folgenden der Grad der Verunreinigung bei der Ansatzberechnung berücksichtigt wird. Mittels NMR-Spektroskopie lässt sich ein ungefähres Verhältnis der beiden Komponenten im Produktgemisch von Xan:Glycal $\approx 5:1$ ermitteln, was einem Gehalt an Xanthogenat in der Mischung von etwa 86 Gew.-% entspricht. Auf diesen Wert geht auch die Bestimmung der Ausbeute zurück. Für analytische Zwecke kann man durch präparative RP-HPLC reines Produkt erhalten.

Der Neuraminsäure-Baustein **36** wird auf diesem Wege über vier Stufen in einer Gesamtausbeute von 52 % bezogen auf *N*-Acetyl-D-neuraminsäure (**32**) gewonnen.

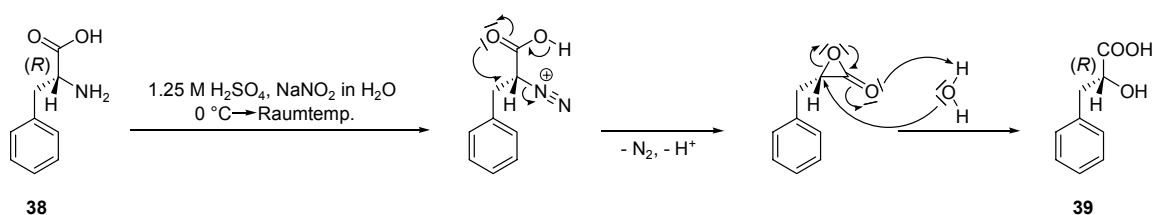
3.2.6 Der Cyclohexylmilchsäure-Baustein

Die vierstufige Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **42** (Schema 3.9) beginnt mit der Umsetzung von D-Phenylalanin (**38**) zu der α -Hydroxycarbonsäure **39**,^[245, 246] welche durch Diazotierung der Aminosäure und anschließende Hydrolyse gelingt.



Schema 3.9: Die Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **42**.

Durch doppelte Inversion am Stereozentrum bleibt dabei die Konfiguration erhalten (Schema 3.10). Man gewinnt das (*R*)-konfigurierte Milchsäurederivat **39** in einer Ausbeute von 63 % nach Kristallisation aus einem Ethylacetat-Hexan-Gemisch.



Schema 3.10: Der Mechanismus der Umwandlung der α -Aminosäure **38** in die α -Hydroxysäure **39**.

Die Kontrolle der optischen Reinheit des Produkts erfolgt in diesem Fall lediglich anhand des Drehwerts. Auf eine zusätzliche Untersuchung mittels analytischer HPLC an einer chiralen Säule wird verzichtet, da eventuelle Unreinheiten nach der weiteren Umsetzung des fertigen Cyclohexylmilchsäure-Bausteins **42** durch die Bildung von Diastereomeren NMR-spektroskopisch festgestellt werden könnten und die unerwünschten Nebenprodukte sich abtrennen lassen sollten. Tatsächlich werden später jedoch auf dieser Stufe keine Diastereomerengemische gefunden (vgl. Abschnitte 3.5.3 und 3.5.4), was den eindeutigen stereoselektiven Verlauf der Reaktion bestätigt.

Die α -Hydroxycarbonsäure **39** wird in Methanol in Gegenwart des sauren Ionenaustauschers Dowex[®] 50WX8-200 mit einer Ausbeute von 99 % verestert^[233] und der Phenylring des Produkts **40** im Anschluss mit Wasserstoff über Rhodium auf aktiviertem Aluminiumoxid hydriert.^[233, 247] Dadurch erhält man das Cyclohexylmilchsäurederivat **41** in einer Ausbeute von 60 %, wobei im Zuge der flashchromatographischen Reinigung des Produkts zusätzlich 33 % des eingesetzten Phenyl-substituierten Bausteins **40** zurückgewonnen werden. Trotz ausgedehnter Reaktionszeiten von bis zu 14 Tagen konnte in dieser Arbeit kein höherer Umsatz bei der Hydrierung des aromatischen Rings erzielt werden, jedoch kann das nicht umgesetzte Edukt leicht vom Produkt abgetrennt und erneut der Reduktion unterzogen werden.

Im letzten Schritt muss die Hydroxylfunktion in eine geeignete Fluchtgruppe überführt werden, um den die Sialinsäure ersetzenden Baustein für die geplanten S_N2-artigen Reaktionen mit den Trisacchariden (vgl. Abschnitte 3.5.3 und 3.5.4) tauglich zu machen. Dies geschieht durch eine Umsetzung der OH-Gruppe mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid (Tf₂O) und 2,6-Lutidin (2,6-Dimethylpyridin),^[246, 248, 249] welche das Triflat **42** in einer Ausbeute von 90 % liefert. Es wird darauf geachtet, dass dieses keinen Temperaturen oberhalb von 32 °C ausgesetzt wird. Bei – 25 °C unter einer Argonatmosphäre aber kann der fertige Cyclohexylmilchsäure-Baustein **42** monatelang ohne Zersetzung gelagert werden.

3.3 Die Disaccharide

Die gewählte Synthesestrategie (vgl. Kapitel 3.1) sieht vor, dass die Glucosamin-Bausteine **7** und **14** in der für eine Reaktion zur Verfügung stehenden 3-Position fucosyliert (vgl. Abschnitt 3.3.1) bzw. arabinosyliert (vgl. Abschnitt 3.3.2) werden.

An dieser Stelle ist in Betracht zu ziehen, dass es alternativ auch denkbar wäre, die freie Hydroxylfunktion in der 3-Position der Glucosaminderivate zunächst mit einer Schutz-

gruppe zu versehen, welche sich später selektiv in Gegenwart der anderen funktionellen Gruppen wieder entfernen ließe. Im Anschluss daran könnte das Benzylidenacetal regioselektiv unter Bildung des primären Benzylethers geöffnet werden, wodurch die Hydroxylgruppe in 4-Stellung für eine Umsetzung mit dem Galactosyldonor **31** zugänglich würde. Nach erfolgter Galactosylierung sollte in diesem Fall die Hydroxylfunktion in der 3-Position deblockiert und mit dem Fucosyldonor **19** bzw. dem Arabinosyldonor **24a** zu den entsprechenden Trisacchariden umgesetzt werden. Einen Ansatz dieser Art wählten beispielsweise *W. Bröder*,^[250] *H. Herzner*^[251] und *C. Filser*^[233] im Rahmen ihrer Dissertationen. Als temporäre Schutzgruppe für die 3-Position des Glucosamin-Bausteins setzten sie dabei den Allyl(All)- bzw. den Allyloxycarbonyl(Aloc)^[252]-Rest ein. Die von *H. Herzner* realisierte Blockierung in Form des Allylcarbonats scheint auch für die im Zuge dieser Arbeit herzustellenden Bausteine geeignet zu sein, da die Schutzgruppe in der Regel unter milden Bedingungen eingeführt werden kann und sie sich – selbst in Anwesenheit eines Allylethers – selektiv abspalten lässt. Diese selektive Deblockierung sollte durch einen Palladium(0)-katalysierten Allyltransfer auf ein adäquates Abfang-nucleophil, wie zum Beispiel Morpholin,^[253] bzw. unter Verwendung des *Wilkinson-Katalysators* ($\text{RhCl(PPh}_3)_3$) gelingen.^[254, 255]

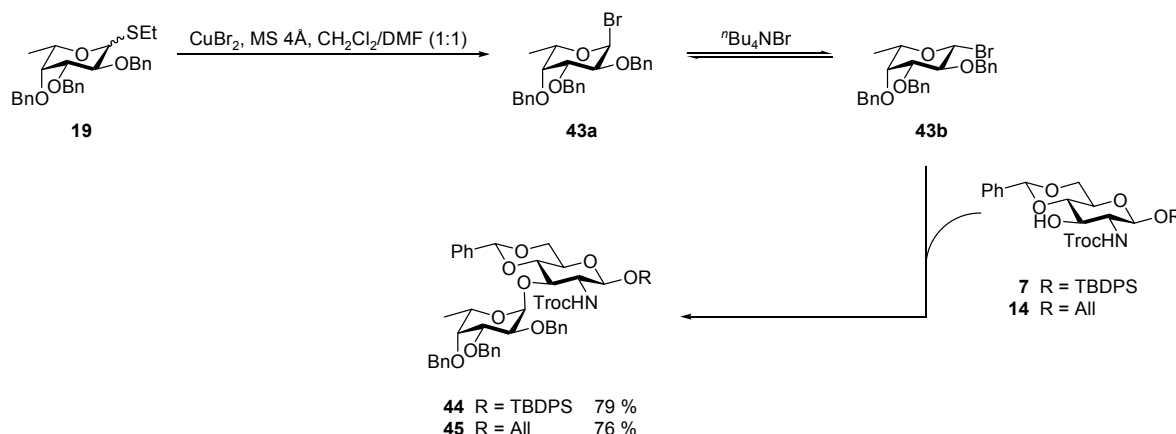
Als Vorteile eines solchen Vorgehens können verschiedene Aspekte angeführt werden: Der gegenüber dem D-Galactosederivat deutlich teurere L-Fucose-Baustein würde erst zu einem späteren Zeitpunkt eingeführt, und die unter sauren Bedingungen durchzuführende Benzylidenacetalöffnung sollte in Abwesenheit der säureempfindlichen fucosidischen bzw. arabinosidischen Bindung mit geringeren Ausbeuteeinbußen verlaufen, als dies häufig bei der analogen Reaktion am Disaccharid der Fall ist. Ferner sind bei der Galactosylierung der ohnehin schwer zugänglichen 4-Position des Glucosaminderivats höhere Ausbeuten zu erwarten, wenn sie nicht in Nachbarschaft des voluminösen dreifach benzylierten Fucosylrests vonstatten gehen muss.

Dem steht allerdings entgegen, dass die bei der Acetalöffnung sowie der Galactosylierung vermutlich zu erzielenden Ausbeutegewinne aller Wahrscheinlichkeit nach mehr oder weniger kompensiert würden durch die Substanzverluste, welche durch die zusätzlichen beiden Reaktionsschritte in Kauf zu nehmen wären.

Nach Abwägung aller augenfälligen Vor- und Nachteile der beiden Strategien wird im Rahmen dieser Arbeit auf die weniger Schritte erfordernde, „klassische“ Methodik zurückgegriffen, nach der man zunächst die Fucose einführt, obgleich ein direkter Vergleich zwischen den beiden Ansätzen sicherlich von Interesse wäre.

3.3.1 Die fucosylierten Bausteine

Für die Einführung der Fucose bedient man sich des bewährten *in situ*-Anomerisierungsverfahrens, welches von *Lemieux et al.*^[256] entwickelt wurde (Schema 3.11). Da die von *Lemieux* eingesetzten Bromide allerdings eine begrenzte Stabilität aufweisen und somit nicht gelagert werden können, wird dabei nach einer Variante von *Ogawa et al.*^[257] verfahren, die von den entsprechenden, deutlich stabileren Thioglycosiden ausgeht.



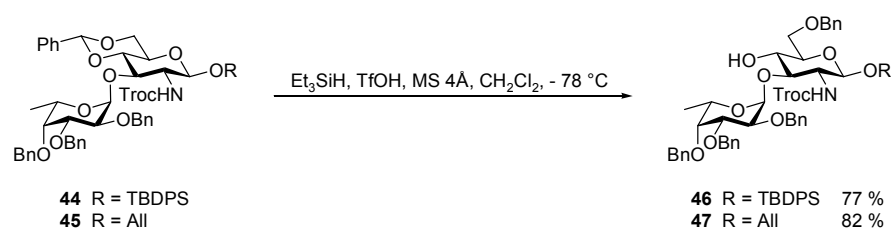
Schema 3.11: Die Fucosylierungen unter Bildung der Disaccharid-Bausteine **44** und **45**.

Durch Reaktion von Kupfer(II)-bromid mit dem benzylierten Thiofucosid **19** entsteht das anomere Bromid **43a**. Das aufgrund des anomeren Effekts stabilere und damit zunächst ausschließlich gebildete α -Anomer wird durch Zugabe von Tetra-*n*-butylammoniumbromid ins Gleichgewicht gebracht mit dem entsprechenden β -Anomer **43b**, welches in einer $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion von dem Glycosylakzeptor **7** bzw. **14** angegriffen wird. Aufgrund der durch den anomeren Effekt hervorgerufenen Stabilität axialer Glycosylhalogenide reagiert bevorzugt das äquatoriale Bromid **43b**, das durch das vorliegende Gleichgewicht immer wieder aus dem α -Anomer nachgebildet wird. Diese Tatsache und die fehlende Nachbargruppenaktivität des Benzylrests in der 2-Position der Fucose führen zur Entstehung der gewünschten, thermodynamisch stabileren α -verknüpften Disaccharide **44** und **45**, welche in einer Ausbeute von 79 % bzw. 76 % isoliert werden können.

Das Vorliegen der α -fucosidischen Bindung kann NMR-spektroskopisch anhand der Kopplungskonstante $^3J_{\text{H1,H2}}$ von 3.5 Hz (für **44**) bzw. 3.9 Hz (für **45**) belegt werden, die entsprechend der Karplus-Beziehung erwartungsgemäß klein ist. Des Weiteren spricht die Tieffeldverschiebung der anomeren Protonen der Verbindungen **44** und **45** für die axiale Bindung an die Glucosaminderivate.

Im Falle der Reaktion mit dem allylierten Glucosamin-Baustein **14** wird allerdings zu einem geringen Anteil auch ein Nebenprodukt erhalten, welches die gleiche Masse besitzt wie das gewünschte Produkt **45**. Vermutlich handelt es sich hierbei erstaunlicherweise um das entsprechende β -verknüpfte Disaccharid. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte dies jedoch nicht zweifelsfrei belegt werden, da die Verbindung nicht in reiner Form isoliert und NMR-spektroskopisch untersucht werden konnte. Sofern es sich tatsächlich um die thermodynamisch nicht favorisierte Struktur handeln sollte, ist ihre Bildung wohl darauf zurückzuführen, dass die Reaktivität des sterisch wenig gehinderten Glucosamin-Bausteins so hoch ist, dass es auch zu einer Reaktion mit dem unreaktiven, axialen Bromid kommt, weil die Einstellung des Gleichgewichts zwischen den beiden Anomeren zu langsam erfolgt.

Um die beiden Disaccharide **44** und **45** in geeignete Glycosylakzeptoren für die nachfolgenden Galactosylierungsreaktionen (vgl. Kapitel 3.4) zu überführen, muss das Benzylidenacetal regioselektiv unter Bildung des primären Benzylethers geöffnet werden (Schema 3.12). Dies gelingt in Anlehnung an die von *DeNinno et al.*^[258] vorgestellte Methode nach einer Variante von *Sakagami et al.*^[259] mit Triethylsilan als Reduktionsmittel und Trifluormethansulfonsäure statt der von *DeNinno* eingesetzten Trifluoressigsäure. Von entscheidendem Vorteil bei der Anwendung dieser Methode anstelle der üblicherweise gewählten Umsetzung mit Natriumcyanoborhydrid und einer gesättigten Lösung von Chlorwasserstoff in Diethylether^[260] ist, dass der Reaktionsverlauf nicht so streng kontrolliert werden muss, da es zumindest bei einer Temperatur von $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ nicht zu einer merklichen Zersetzung infolge eines Angriffs auf die säurelabile fucosidische Bindung kommt. Auch die bei der Verwendung von Natriumcyanoborhydrid im Laufe der späteren Reinigung häufig Probleme bereitenden Borverunreinigungen entfallen. Ferner können der insbesondere in größeren Ansätzen nicht ungefährliche Einsatz von Chlorwasserstoff in Diethylether sowie der damit verbundene präparative Aufwand vermieden werden.

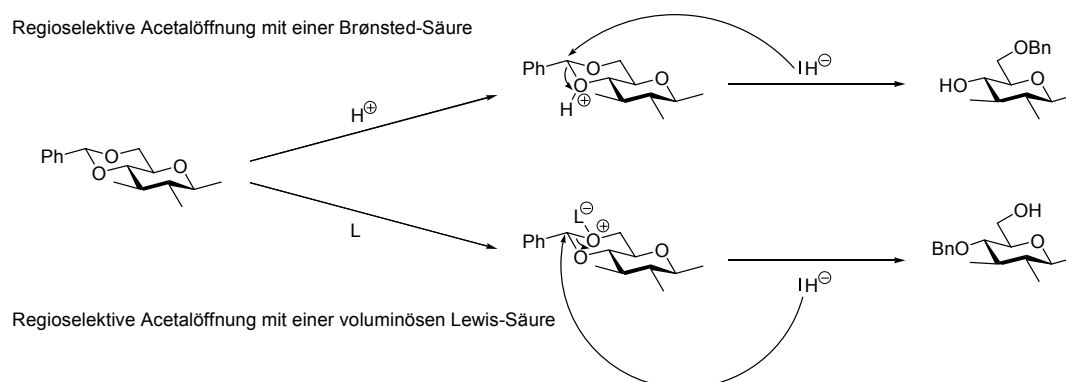


Schema 3.12: Die regioselektive Öffnung der Benzylidenacetale zu den primären Benzylethern **46** und **47**.

Die in der 4-Position des Glucosaminylorests unsubstituierten Bausteine **46** und **47** erhält man auf diese Weise in einer Ausbeute von 77 % bzw. 82 %.

Es sollte noch darauf hingewiesen werden, dass bei allen im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Acetalöffnungen zur Vervollständigung der Umsetzung nach einer Reaktionszeit von etwa zwei Stunden stets weitere 1.5 Äquivalente Trifluormethansulfonsäure zugegeben wurden, nachdem die Reaktionen zunächst mit 1.5 Äquivalenten Triethylsilan sowie 1.5 Äquivalenten Trifluormethansulfonsäure gestartet worden waren. Versetzt man die Reaktionsmischung zusätzlich ein weiteres Mal mit dem Reduktionsmittel, so entsteht in eingeschränktem Maße auch der entsprechende Silylether durch eine Umsetzung des Reagenzes mit der freien Hydroxylgruppe des angestrebten Produkts.

Die Regioselektivität der Reaktion ist darauf zurückzuführen, dass beim Einsatz einer Brønsted-Säure das in der 4-Position des Kohlenhydrats befindliche, basischere Sauerstoffatom protoniert wird, so dass die anschließende Hydridübertragung durch das Reduktionsmittel zum entsprechenden 6-*O*-Benzylether führt (Schema 3.13).^[260]



Schema 3.13: Der Mechanismus der regioselectiven Benzylidenacetalöffnung.

Eine voluminöse Lewis-Säure wie Aluminiumtrichlorid greift dagegen an dem sterisch weniger gehinderten Sauerstoffatom an, also demjenigen in der 6-Position, worauf die Hydridübertragung durch Lithiumaluminiumhydrid schließlich zur Ausbildung des sekundären Benzylethers führt.^[261]

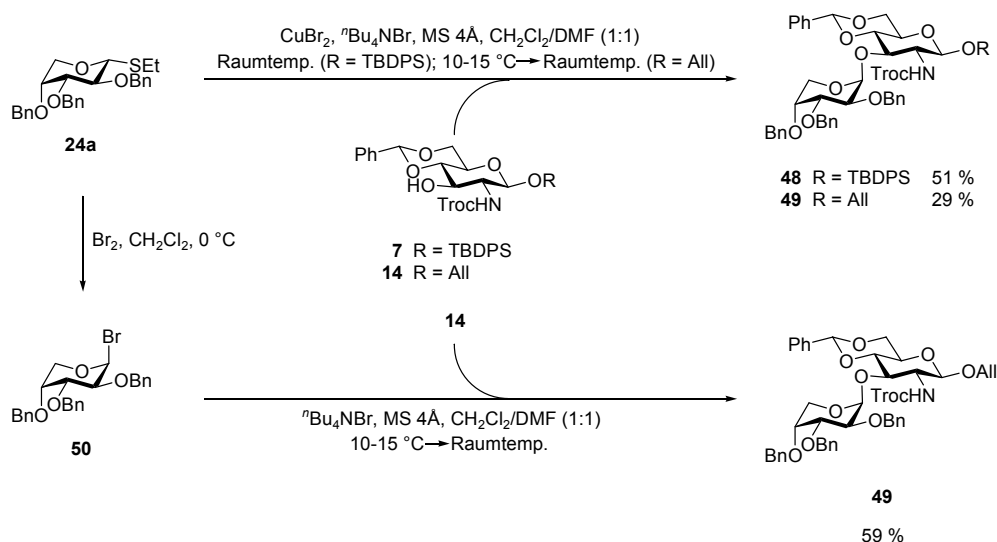
3.3.2 Die arabinosylierten Bausteine

Eine zu der oben beschriebenen Fucosylierung analoge Arabinosylierung der Glucosamin-Bausteine **7** und **14** liefert die beiden Disaccharide **48** und **49** in einer Ausbeute von 51 % bzw. 29 % (Schema 3.14). Auch hier weist die Kopplungskonstante $^3J_{H1,H2}$ von

3.7 Hz (für **48**) bzw. 3.5 Hz (für **49**) eindeutig auf die axiale Bindung der Arabinose an die Glucosaminderivate, also in diesem Fall eine β -glycosidische Verknüpfung, hin.

Weshalb die Ausbeuten der Arabinosylierungen grundsätzlich hinter denen der entsprechenden Fucosylierungen zurückbleiben, konnte bislang nur teilweise aufgeklärt werden.

Im Falle der Glycosylierung des TBDPS-geschützten Glucosaminderivats **7** gibt das Dünnschichtchromatogramm der Reaktionsmischung eigentlich Anlass dazu, eine deutlich höhere Ausbeute zu erwarten. Nach der flashchromatographischen Reinigung des Rohprodukts wird jedoch das gewünschte Disaccharid **48** nur in einer Ausbeute von 51 % erhalten. Als mögliche Ursache für dieses Ergebnis kann hier nur eine Zersetzung des Produkts auf der Kieselgelsäule vermutet werden, was in Anbetracht der säurelabilen arabinosidischen Bindung durchaus möglich wäre.



Schema 3.14: Die Arabinosylierungen unter Bildung der Disaccharid-Bausteine **48** und **49**.

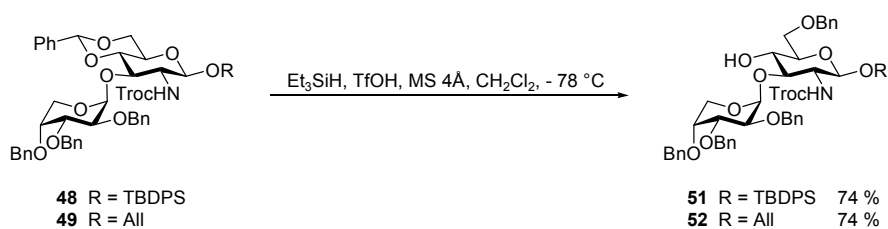
Bei der Fucosylierung zum Allylglucosid **49** sieht man sich zusätzlich mit einem weiteren Problem konfrontiert, welches zu einer drastischen Minderung der zu erzielenden Ausbeute führt: Unter den angewandten Reaktionsbedingungen kommt es in erheblichem Maße zu einem Angriff auf die Doppelbindung des Allylethers. Worum es sich bei dem zu isolierenden Nebenprodukt genau handelt, kann nicht mit Bestimmtheit angegeben werden, jedoch belegt das ^1H -NMR-Spektrum eindeutig das Fehlen der olefinischen Protonen. Das im zugehörigen Massenspektrum zu beobachtende Isotopenmuster legt zusätzlich den Verdacht nahe, dass es im Laufe der Reaktion zur Addition von HBr an die Doppelbindung kommt. Dies erscheint prinzipiell nicht abwegig, ist jedoch bei der Synthese des fucosylierten Allylglucosids **45** auch bei wiederholter Durchführung der Umsetzung nicht zu beobachten, während die Bildung des Nebenprodukts im Zuge der Arabinosylierung

reproduzierbar auftritt. Leider ist die spektrometrisch zu ermittelnde Molekülmasse nicht eindeutig einer Verbindung zuzuordnen. Sie ist zwar identisch mit der Summe aus der Molekülmasse des disaccharidischen HBr-Addukts und der Masse von Kalium, allerdings kann weder der normalerweise wahrscheinlicher zu detektierende $[M+Na]^+$ -Peak gefunden werden, noch stimmt der unter Hochauflösung zu erhaltende potentielle $[M+K]^+$ -Peak innerhalb der Toleranz mit der berechneten $[M+K]^+$ -Masse überein.

Allgemein lässt sich feststellen, dass die Bildung des Nebenprodukts mit der Reaktionszeit deutlich zunimmt, insbesondere bei Raumtemperatur. Optimierungsversuchen zufolge ist für die Umsetzung eine Temperatur von etwa 10 °C angeraten, da in diesem Fall die Nebenreaktion so weit wie möglich eingeschränkt werden kann. Bei tieferen Temperaturen wird dagegen auch die Entstehung des gewünschten Produkts unterdrückt.

Um den Angriff auf die allylische Gruppe vollständig zu unterbinden, muss man jedoch einen anderen Ansatz wählen, bei dem man das Arabinosylbromid **50** separat durch Umsetzung des Thioarabinosids **24a** mit elementarem Brom herstellt.^[198, 229, 262] Dadurch wird die Anwesenheit von Kupfer(II)-bromid bei der Glycosylierungsreaktion vermieden. Die Ausbeute lässt sich so auf 59 % steigern. Allerdings scheint es auch hier wieder zu nicht zu vernachlässigenden Substanzverlusten im Zuge der Reinigung zu kommen.

Die sich anschließende regioselektive Benzylidenacetalöffnung wird entsprechend dem oben beschriebenen Verfahren durchgeführt, wobei die gewünschten Produkte **51** und **52** jeweils in einer Ausbeute von 74 % gewonnen werden (Schema 3.15).



Schema 3.15: Die regioselektive Öffnung der Benzylidenacetale zu den primären Benzylethern **51** und **52**.

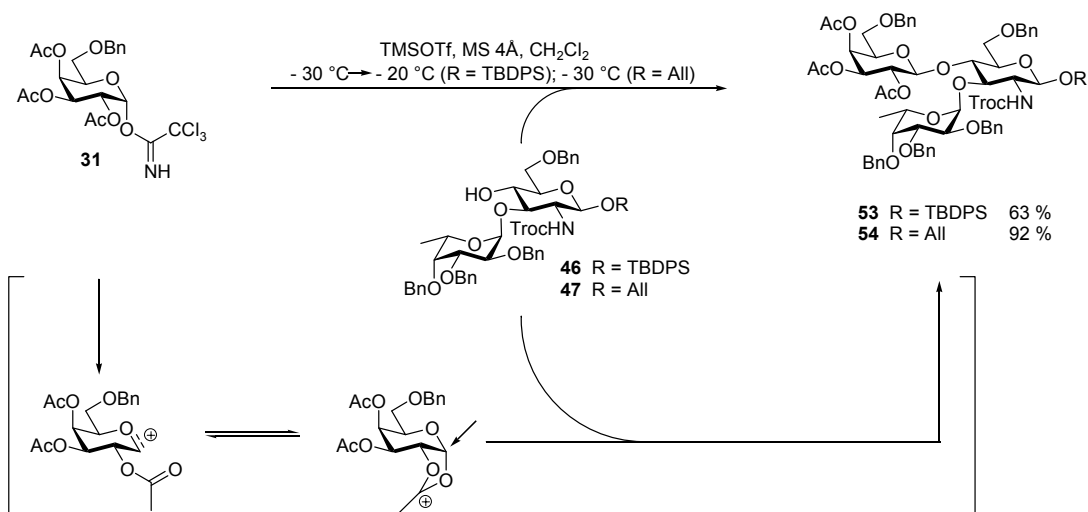
Bemerkenswert ist, dass sich keine entscheidenden Unterschiede hinsichtlich der Ausbeuten zwischen den fucosylierten und den arabinosylierten Bausteinen feststellen lassen, obwohl auch hier die Rohprodukte einer flashchromatographischen Reinigung unterzogen werden. Da das Trennproblem in diesen Fällen deutlich einfacher zu bewältigen ist als im Anschluss an die Glycosylierungen, kann die Reinigung zügiger durchgeführt werden, was die eventuell auf der Säule eintretende Zersetzung minimiert.

3.4 Die Trisaccharide

Mit den vier in der 4-Position des Glucosamins unsubstituierten Disaccharid-Bausteinen **46**, **47**, **51** und **52**, deren Synthesen im vorangehenden Kapitel beschrieben wurden, stehen geeignete Akzeptoren für die im Anschluss vorgesehenen Galactosylierungsreaktionen zu den Lewis^x- (vgl. Abschnitt 3.4.1) sowie den Arabino-Lewis^x- (vgl. Abschnitt 3.4.2) Derivaten zur Verfügung.

3.4.1 Die fucosylierten Bausteine

Die Galactosylierungen der beiden fucosylierten Bausteine **46** und **47** gelingen nach dem *Schmidt'schen* Trichloracetimidatverfahren^[263-266] mit dem Trichloracetimidat **31** als reaktivem Galactosyldonor und Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) als Promotor. Dabei werden die gewünschten Trisaccharide **53** und **54** in einer Ausbeute von 63 % bzw. 92 % erhalten (Schema 3.16).



Schema 3.16: Die Galactosylierungen unter Bildung der Trisaccharid-Bausteine **53** und **54**.

Die ausschließliche Bildung der β -glycosidisch verknüpften Produkte lässt sich auf den von der Acetylgruppe in der 2-Position des Glycosyldonors ausgeübten Nachbargruppen-effekt zurückführen und kann – zumindest für das Allylglycosid **54** – NMR-spektroskopisch anhand der großen Kopplungskonstante $^3J_{H1,H2}$ von 8.2 Hz für das anomere Proton des Galactosylrests eindeutig belegt werden. Bei dem entsprechenden Silylglycosid ist das für die Bestimmung der Konfiguration entscheidende Dublett im ¹H-NMR-Spektrum überlagert, weshalb sich die Kopplungskonstante nicht ermitteln lässt. Aufgrund

der relativen Hochfeldverschiebung jenes Signals kann allerdings dennoch mit Sicherheit auf eine β -glycosidische Verknüpfung geschlossen werden.

Dass die im vorangehenden Kapitel beschriebene regioselektive Benzylidenacetalöffnung an den beiden Disacchariden **44** und **45** tatsächlich zu den in 4-Stellung unsubstituierten Bausteinen **46** und **47** führt und der Galactosylrest damit im Zuge der Glycosylierung in dieser Position angebunden wird, kann auf der Stufe der Trisaccharide leicht durch die Aufnahme von HMBC-Spektren bewiesen werden. Diese lassen eindeutig die Kopplung zwischen dem Kohlenstoffatom-1 der Galactose und dem Proton in der 4-Position des Glucosamins einerseits sowie einen Kreuzpeak zwischen dem anomeren Proton der Galactose und dem Kohlenstoff in der 4-Position des Glucosamins andererseits erkennen.

Hinsichtlich der Ausbeute sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Glycosylierungsreaktionen festzustellen. Für die deutlich geringere Ausbeute im Falle des TBDPS-geschützten Bausteins scheint die eingeschränkte Zugänglichkeit der zu glycosylierenden Hydroxylfunktion von Verbindung **46** verantwortlich zu sein. Sehr wahrscheinlich führt die sterisch anspruchsvolle silylische Schutzgruppe zu einer – für eine Reaktion mit dem voluminösen Galactosylrest – ungünstigen Konformation des Moleküls. Um überhaupt eine Umsetzung des Disaccharids **46** zu erzielen, muss die Reaktionstemperatur von $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ erhöht werden, während die vergleichbare Glycosylierung von Verbindung **47** bereits bei $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit zufriedenstellender Ausbeute abläuft. Trotz dieser Temperaturerhöhung werden im Zuge der flashchromatographischen Reinigung neben dem gewünschten Produkt **53** immer noch 30 % des eingesetzten Galactosylakzeptors **46** isoliert. Eine in Anlehnung an ähnliche Synthesen^[251] zugelassene allmähliche Erhöhung der Reaktionstemperatur auf Raumtemperatur resultiert dagegen – zumindest im Falle des Allyl-substituierten Bausteins – in einer nahezu vollständigen Zersetzung der Substanz, vermutlich infolge eines Angriffs auf die säurelabile fucosidische Bindung, und bietet somit auch keine Möglichkeit zur Steigerung des Umsatzes.

Die nur mäßige Ausbeute von 63 % für das Trisaccharid **53** liegt allerdings völlig in der Größenordnung der Ausbeuten, welche bei Galactosylierungen ähnlicher in 3-Stellung fucosylierter bzw. arabinosylierter Glucosaminderivate zur Bildung von Lewis^x-Strukturen in der Vergangenheit erzielt wurden.^[230, 251, 267] Durchaus bemerkenswert ist hingegen die reproduzierbar hohe Ausbeute, die im Falle des Allyl-substituierten Bausteins erhalten werden kann.

Dass eine Überführung des in hoher Ausbeute zu gewinnenden Allylglucosids **54** in den entsprechenden TBDPS-geschützten Baustein **53** möglich ist, zeigt sich im Folgenden. Bei dieser späten Einführung der silylischen Schutzgruppe kann der Einsatz großer Mengen an dem teuren Silylchlorid auf der Stufe des Monosaccharids vermieden werden. Allerdings bleibt zu bedenken, dass eine Strategie dieser Art zwei zusätzliche Reaktionsschritte am wertvollen Trisaccharid-Baustein erfordert und die Allylabspaltung der Verwendung eines ebenfalls nicht preiswerten Katalysators bedarf.

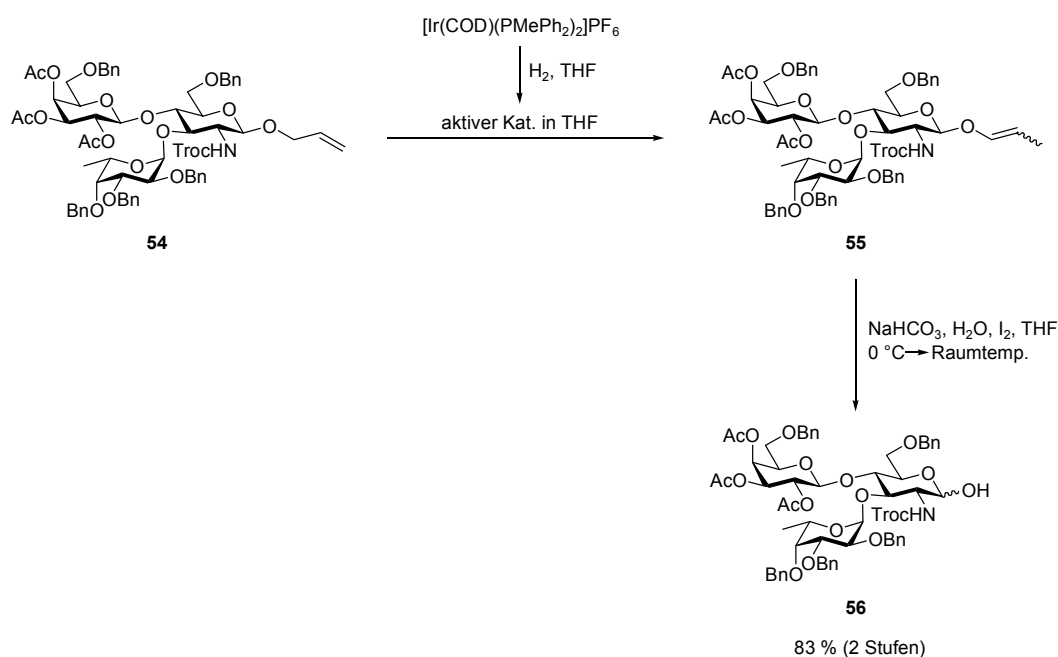
Allgemein bieten sich für die Spaltung von Allylethern verschiedene Methoden an.^[209] In der Mehrzahl der Fälle wird eine zweistufige Reaktionssequenz gewählt, wobei im ersten Schritt eine durch einen Übergangsmetallkomplex oder eine Base^[268] katalysierte Isomerisierung des Allyl(Prop-2-enyl)-Substituenten zum Prop-1-enylrest erfolgt, welcher dann im zweiten Schritt mit Säure,^[269] elementarem Iod^[270] oder Quecksilber(II)-salzen^[271] entfernt werden kann. Dieser Weg wird auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit für die Umsetzung des Allylglycosids **54** eingeschlagen. Der Vollständigkeit halber sei hier allerdings noch kurz erwähnt, dass eine direkte Abspaltung des Allylrests ohne eine vorherige Isomerisierung prinzipiell auch möglich ist. Neben der Umsetzung mit einer stöchiometrischen Menge an Palladium(II)-chlorid^[272] war beispielsweise in einigen Fällen ein Palladium(0)-katalysierter Allyltransfer auf ein adäquates Nucleophil über eine π -Allyl-Palladium-Spezies erfolgreich, welcher speziell für die Spaltung von Allylcarbonaten und -estern zur Anwendung kommt. Im Falle der Allylether erwiesen sich als besonders geeignete Abfangreagenzien für den Allylrest Sulfinsäuren,^[273] die gleichzeitig auch als Protonenquelle dienen. Auf diesem Wege kann der Einsatz von stöchiometrischen Mengen an der Palladiumspezies umgangen werden.^[274]

Da sich bei ähnlichen Problemstellungen für die Abspaltung des Allylrests der zweistufige Prozess unter Verwendung des *Baudry*-Katalysators, 1,5-Cyclooctadien-bis(methyldiphenylphosphin)iridium(I)-hexafluorophosphat ($[\text{Ir}(\text{COD})(\text{PMePh}_2)_2]\text{PF}_6$),^[275, 276] bereits mehrfach bewährt hat,^[177, 178, 277, 278] wird im Rahmen der vorliegenden Arbeit auf diese Methodik zurückgegriffen.

Der Einsatz des Iridiumkatalysators erscheint gegenüber der Verwendung des *Wilkinson*-Katalysators, Tris(triphenylphosphin)rhodium(I)-chlorid ($[\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3]\text{Cl}$),^[279] deutlich von Vorteil zu sein, da es dabei nicht – wie in Gegenwart des Rhodiumkomplexes – vermehrt zur Reduktion der Doppelbindung durch katalytische Wasserstoffübertragung von gängigen organischen Lösungsmitteln wie Alkoholen und cyclischen Ethern kommt,^[209, 280] wodurch das unbrauchbare *n*-Propylglycosid gebildet würde.

Um die zur Allylisomerisierung befähigte, aktive Katalysatorspezies zu erhalten, muss allerdings zunächst der kommerziell erhältliche, stabile Iridiumkomplex durch Wasserstoff aktiviert werden (Schema 3.17), wobei die Farbe der Lösung von tiefrot nach hellgelb umschlägt. Dabei entsteht keine Metallhydridspezies, sondern es tritt vermutlich eine Hydrierung einer Doppelbindung des Cyclooctadienrings ein. Anschließend ersetzt man die Wasserstoffatmosphäre durch eine Argonatmosphäre und überführt die Lösung des aktivierten Katalysators in absolutem und gründlich entgastem Tetrahydrofuran (THF) in einen zweiten Kolben, welcher das Trisaccharid **54** in ungelöster Form enthält.

Innerhalb einer kurzen Reaktionszeit, während der der Fortschritt der Umsetzung mit Hilfe von Kieselgelplatten mit einer Konzentrierungszone verfolgt werden kann, läuft die Isomerisierung vollständig ab. Das erhaltene Prop-1-enylglycosid **55** wird direkt im Anschluss unter Einwirkung von Iod in der anomeren Position deblockiert. Der dabei gebildete reduzierende Zucker **56** kann nach flashchromatographischer Reinigung des Rohprodukts in einer Ausbeute von 83 % bezogen auf das entsprechende Allylglycosid **54** isoliert werden.



Schema 3.17: Die Spaltung des Allylglycosids unter Bildung des reduzierenden Zuckers **56**.

Geht man jedoch in Anlehnung an eine in der Literatur zu findende Vorschrift^[276] von einer Lösung der allylierten Verbindung **54** aus, versetzt diese mit dem Iridiumkomplex und führt die Aktivierung des Katalysators in Anwesenheit der zu isomerisierenden Substanz durch, so kann nach der sich anschließenden Behandlung des Rohprodukts mit Iod der gewünschte reduzierende Zucker **56** nur in einer Ausbeute von 58 % erhalten werden, da es in erheblichem Maße zur Hydrierung der Allyl-Doppelbindung kommt. In

diesem Fall wird als Nebenprodukt das entsprechende *n*-Propylglycosid **57** (Abb. 3.3) in einer Ausbeute von 25 % isoliert.

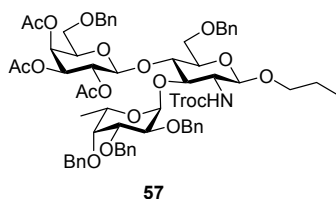
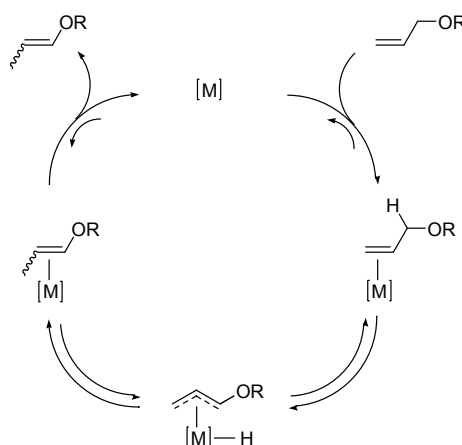


Abb. 3.3: Das *n*-Propylglycosid **57** als Nebenprodukt der Allylisomerisierung.

Zur mechanistischen Deutung der Allylisomerisierung durch den Iridiumkatalysator wird allgemein der sogenannte π -Allyl-Hydrido-Mechanismus herangezogen (Schema 3.18).^[209]

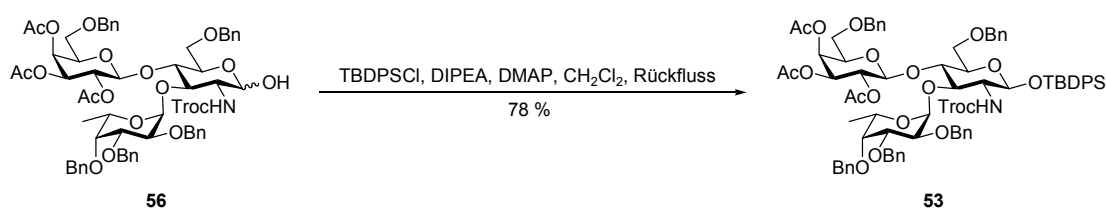


Schema 3.18: Der für die Ir-katalysierte Allylisomerisierung postulierte Allyl-Hydrido-Mechanismus.^[209]

Dabei kommt es zunächst zur Koordination des Übergangsmetalls M an die Doppelbindung und schließlich über eine π -Allyl-Hydrido-Spezies zur 1,3-Wasserstoffverschiebung, welche zu dem entsprechenden Prop-1-enylether bzw. -glycosid führt. (Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Liganden des Übergangsmetalls M in der oben wiedergegebenen schematischen Darstellung nicht abgebildet.)

Die sich an die Allylabsplaltung anschließende anomere Silylierung zum gewünschten TBDPS-Glycosid gestaltet sich schwierig. Der Versuch, die Schutzgruppe in Analogie zu der am Monosaccharid-Baustein vollzogenen Reaktion (vgl. Abschnitt 3.2.1) durch Umsetzung des reduzierenden Zuckers **56** in *N,N*-Dimethylformamid (DMF) mit dem Silylchlorid und Imidazol^[205] in Gegenwart einer katalytischen Menge an 4-Dimethylaminopyridin (DMAP)^[222] einzuführen, scheitert. Auch nach einer Reaktionszeit von fünf Tagen kann dünnschichtchromatographisch kein Produkt nachgewiesen werden. Ein Austausch

des Lösungsmittels gegen Dichlormethan erbringt ebenfalls keinerlei Verbesserung, was vermutlich mit der in diesem Fall unzureichenden Löslichkeit von Imidazol begründet werden kann. Dieser Verdacht wiederum legt nahe, zusätzlich zur Änderung des Lösungsmittels einen Wechsel der Base vorzunehmen. Tatsächlich kann man beim Einsatz von *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) in siedendem Dichlormethan nach fünf Tagen das gewünschte Silylglycosid **53** in einer Ausbeute von 78 % erhalten (Schema 3.19). Allerdings müssen zur Steigerung des Umsatzes wiederholt größere Mengen an dem Silylchlorid und der Base zugegeben werden, und es werden dennoch 11 % der eingesetzten Verbindung **56** im Zuge der flashchromatographischen Reinigung zurückgewonnen.

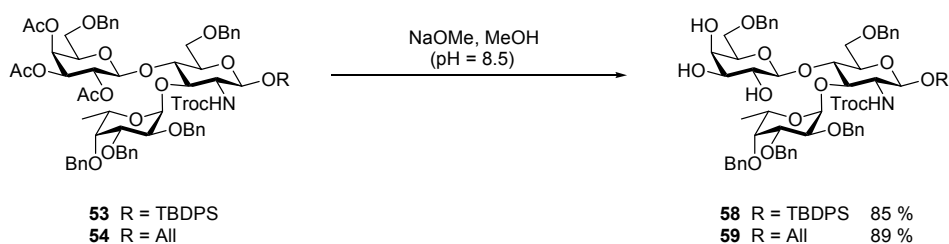


Schema 3.19: Die anomere Silylierung unter Bildung des TBDPS-Glycosids **53**.

Bei der vergleichbaren Umsetzung in Tetrahydrofuran bei 40 °C findet dagegen selbst innerhalb von sechs Tagen keine nennenswerte Reaktion statt.

Die auf diesem Wege erhaltene Verbindung ergibt ein NMR-Spektrum, welches mit dem des durch eine direkte Galactosylierung des TBDPS-geschützten Disaccharids **46** entstehenden Trisaccharids identisch ist. Demnach handelt es sich hier – wie es auch aufgrund sterischer Effekte zu erwarten ist – um das reine β -konfigurierte Silylglycosid **53**.

Um die beiden Trisaccharid-Bausteine **53** und **54** in der nachfolgenden Sialylierungsreaktion (vgl. Abschnitt 3.5.1) bzw. der Umsetzung mit dem Cyclohexylmilchsäurederivat (vgl. Abschnitt 3.5.3) verwenden zu können, müssen zunächst die Acetylgruppen am Galactosylrest entfernt werden. Dies gelingt bei einem pH-Wert von 8.5 unter *Zemplén*-Bedingungen^[203] (Schema 3.20), wobei die Verbindungen **58** und **59** in einer Ausbeute von 85 % bzw. 89 % nach flashchromatographischer Reinigung erhalten werden.

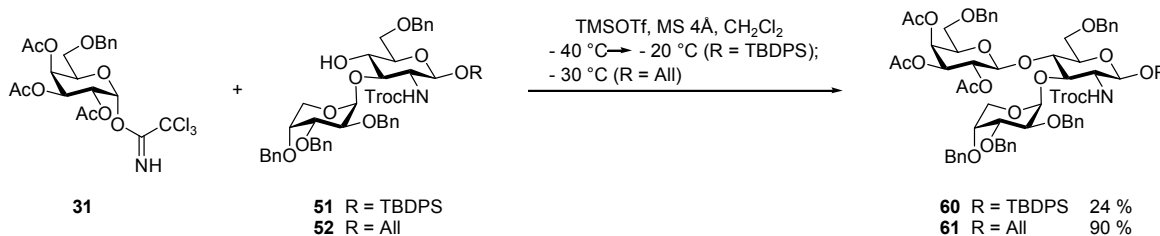


Schema 3.20: Die *Zemplén*-Verseifung zur Bildung der Trisaccharid-Bausteine **58** und **59**.

Bemerkenswert erscheint, dass bei diesen Acetatspaltungen innerhalb kurzer Reaktionszeiten durchweg hohe Ausbeuten erzielt werden, obwohl der pH zum Schutz der Carbamatfunktion einen Wert von 8.5 nicht überschreiten darf. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu den Erfahrungen, die häufig bei entsprechenden Deblockierungen von in der 6-Position benzylierten Galactosylresten in Anwesenheit der ebenfalls basenlabilen Fluoren-9-yl-methoxycarbonyl(Fmoc)-Gruppe gemacht wurden.^[281-283] Da eine Wanderung der Acetylreste an die primäre Hydroxylfunktion bei in 6-Stellung blockierten Galactosederivaten nicht möglich ist und somit die aus dieser Position besonders leicht ablaufende Acetylabsplattung verhindert wird, müssen in der Regel deutliche Einbußen in der Ausbeute in Kauf genommen werden.

3.4.2 Die arabinsylierten Bausteine

In Analogie zu den im vorangehenden Abschnitt beschriebenen Galactosylierungen der fucosylierten Bausteine werden auch die beiden Disaccharide **51** und **52** nach *Schmidt*^[263-266] mit dem Trichloracetimidat **31** und Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zur Reaktion gebracht (Schema 3.21).



Schema 3.21: Die Galactosylierungen unter Bildung der Trisaccharid-Bausteine **60** und **61**.

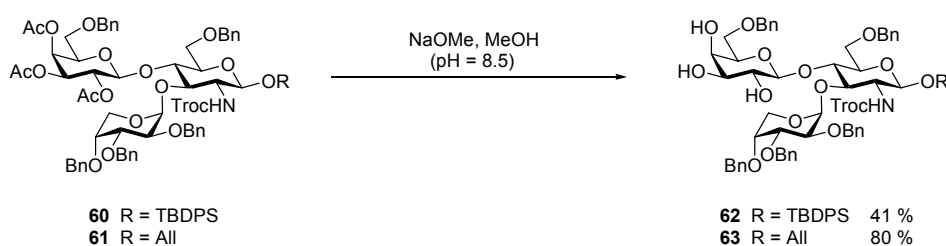
Dabei fällt die Ausbeute an dem TBDPS-geschützten Trisaccharid **60** mit 24 % noch deutlich geringer aus, als dies bei der Herstellung des entsprechenden fucosylierten Bausteins **53** der Fall ist. Befriedigend lassen sich diese Befunde bislang nicht erklären. Es kann jedoch vermutet werden, dass die hier infolge der oben bereits diskutierten geringen Reaktivität des Silylglycosids wiederholt nötigen Zugaben von weiterer Lewis-Säure in Kombination mit einer stark verlängerten Reaktionszeit eine vermehrt eintretende Spaltung der säurelabilen arabinosidischen Bindung hervorrufen. Weiter verstärkt wird der Substanzverlust wahrscheinlich im Zuge der flashchromatographischen Reinigung des Rohprodukts.

Die für das Allylglycosid **61** erzielte Ausbeute hingegen ist mit 90 % ähnlich hoch wie die bei der Synthese des entsprechenden fucosylierten Bausteins **54** erreichte Ausbeute.

In diesem Fall wurde die flashchromatographische Reinigung aufgrund der zuvor gewonnenen Erfahrungen äußerst zügig durchgeführt.

Das Vorliegen der β -glycosidischen Anknüpfung des Galactosylrests an die Glucosamin-Bausteine kann abermals anhand der großen Kopplungskonstante $^3J_{H_{1,H2}}$ von 8.0 Hz (für **60**) bzw. 8.6 Hz (für **61**) für das anomere Proton des Galactosylrests eindeutig belegt werden. Ebenso lässt sich – wie im vorangehenden Abschnitt bereits erwähnt – die Anknüpfung des Galactosylrests an das Glucosamin in 4-Stellung NMR-spektroskopisch anhand der im jeweiligen HMBC-Spektrum zu erkennenden Kopplungen zwischen dem anomeren Kohlenstoff der Galactose und dem Proton in der 4-Position des Glucosamins sowie zwischen dem anomeren Proton der Galactose und dem Kohlenstoffatom-4 des Glucosamins bestätigen.

Im Anschluss erfolgt die Abspaltung der Acetylgruppen mit Hilfe einer methanolischen Natriummethanolat-Lösung bei einem pH-Wert von 8.5, wobei sich die dreifach ungeschützten Trisaccharide **62** und **63** in einer Ausbeute von 41 % bzw. 80 % ergeben (Schema 3.22).



Schema 3.22: Die Zemplén-Verseifung zur Bildung der Trisaccharid-Bausteine **62** und **63**.

Eine Ursache für die relativ große Differenz zwischen den Ausbeuten an den Verbindungen **62** und **63** mag erneut darin zu suchen sein, dass eine in beiden Fällen unterschiedlich schnelle flashchromatographische Reinigung der Rohprodukte vorgenommen wurde. Aus Zeitgründen konnte dieses Phänomen nicht weiter untersucht werden. Sinnvoll wäre es in diesem Zusammenhang sicherlich auch, die Auswirkungen eines Zusatzes von Triethylamin zum Laufmittel zu prüfen, da sich dadurch Substanzverluste infolge einer Hydrolyse auf der sauren Kieselgelsäule einschränken lassen sollten.

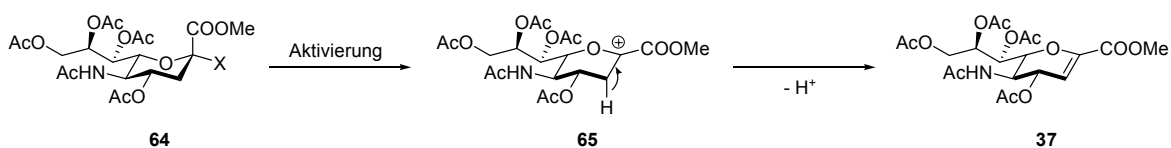
3.5 Die Tetrasaccharide und die Tetrasaccharid-Mimetika

Die am Galactosylrest dreifach ungeschützten Trisaccharide **58**, **59**, **62** und **63**, deren Synthesen im vorangehenden Kapitel vorgestellt wurden, können in die Sialylierungsreaktionen zur Herstellung des Sialyl-Lewis^x- (vgl. Abschnitt 3.5.1) und des Arabino-Sialyl-Lewis^x-Bausteins (vgl. Abschnitt 3.5.2) eingebracht bzw. den Umsetzungen mit dem Cyclohexylmilchsäurederivat **42** zum Aufbau der entsprechenden Tetrasaccharid-Mimetika (vgl. Abschnitte 3.5.3 und 3.5.4) unterworfen werden.

3.5.1 Der Sialyl-Lewis^x-Baustein

Bei der Durchführung von Sialylierungsreaktionen sieht man sich mit einer Reihe von Problemen konfrontiert, die auf der besonderen Struktur der Neuraminsäure beruhen und zu Ausbeuten führen, welche häufig signifikant niedriger sind als diejenigen bei anderen Glycosylierungsreaktionen.^[284, 285]

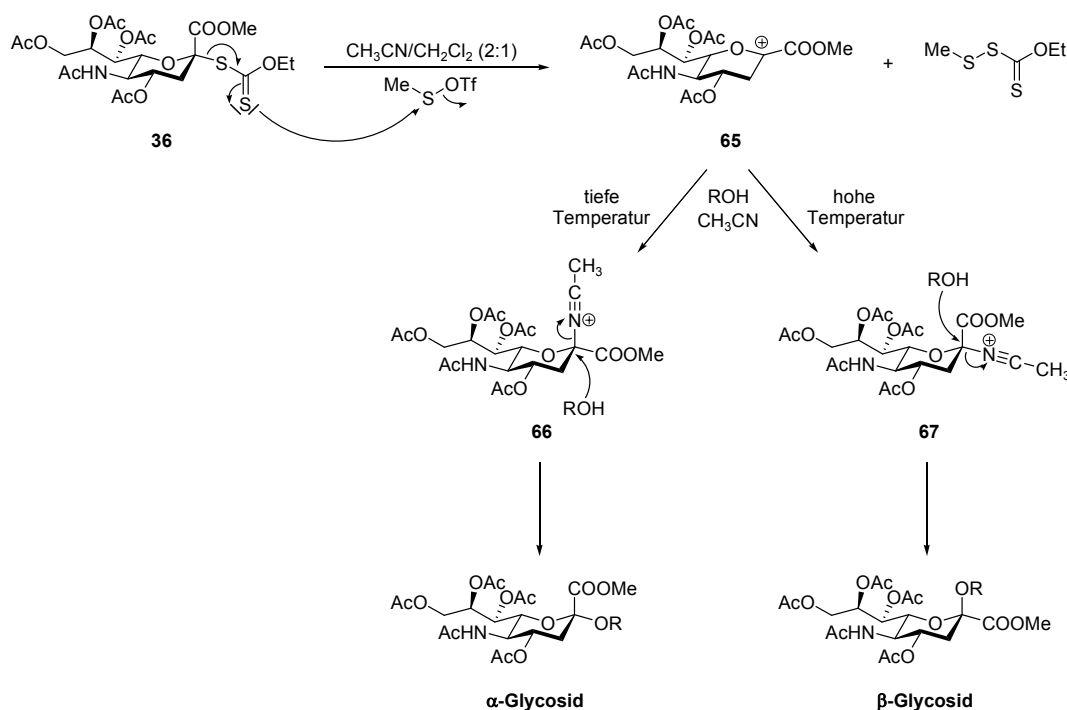
Zum einen kommt es am anomeren Zentrum wegen der benachbarten Esterfunktion zu einer sterischen Hinderung, die den Angriff des Akzeptors deutlich erschwert; zum anderen bewirken von der Carboxylfunktion ausgeübte elektronische Effekte eine Destabilisierung des infolge der Aktivierung mit einem geeigneten Promotor aus dem Sialyldonor **64** sich bildenden Glycosylkations **65** (Schema 3.23). Dadurch tritt leicht eine Abspaltung eines Protons in 3-Stellung ein, wobei das entsprechende Eliminierungsprodukt, das Glycal **37**, entsteht.



Schema 3.23: Die Bildung des Glycals **37** der Neuraminsäure als Nebenreaktion bei der Sialylierung.

Zusätzlich zum Auftreten der Glycalbildung als Nebenreaktion bei der Sialylierung, welche den Einsatz eines großen Überschusses des teuren Neuraminsäuredonors erfordert, erschwert das Fehlen eines Substituenten in der dem anomeren Zentrum benachbarten 3-Position der Sialinsäure die Bildung des gewünschten Produkts in hoher Ausbeute. Da keinerlei Nachbargruppeneffekte ausgenutzt werden können, um die stereoselektive Entstehung einer α - bzw. einer β -glycosidischen Verknüpfung zu gewährleisten, muss hier ein anderer Weg gefunden werden, der eine Kontrolle der Stereochemie gestattet.

Eine Möglichkeit, auf den stereochemischen Verlauf von Sialylierungen gezielt Einfluss zu nehmen, besteht in der Wahl eines geeigneten Lösungsmittels sowie einer zweckdienlichen Reaktionstemperatur.^[286] Setzt man ein Gemisch aus Acetonitril und Dichlormethan als Lösungsmittel ein, so kann der sogenannte Nitrileffekt für die Bildung des gewünschten α -Glycosids ausgenutzt werden (Schema 3.24).^[287-289] Der Zusatz von Dichlormethan wird dabei benötigt, um die Reaktionstemperatur auch unter den Gefrierpunkt von Acetonitril, welcher bei etwa $-46\text{ }^{\circ}\text{C}$ liegt, absenken zu können.



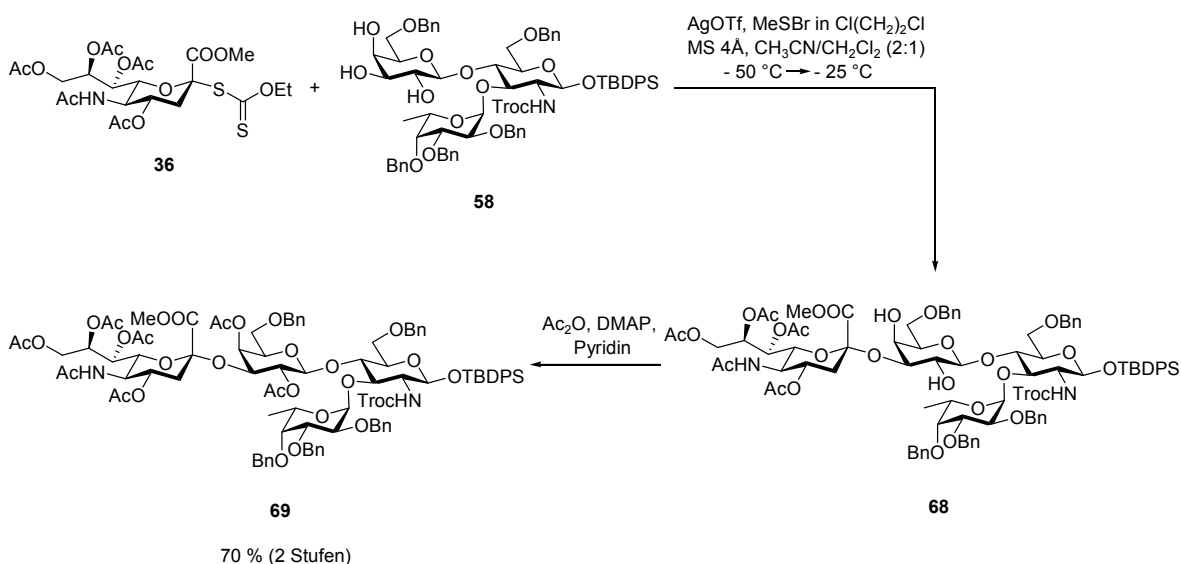
Schema 3.24: Der Nitrileffekt bei Sialylierungsreaktionen.

Nach der Aktivierung des in dieser Arbeit als Sialyldonor gewählten, von *Marra und Sinaj* entwickelten Xanthogenats **36**^[244, 290] mit *in situ* aus Methylsulphenylbromid und Silbertrifluormethansulfonat hergestelltem Methylsulphenyltrifluormethansulfonat (MeSOTf)^[291] und während des Austritts der Abgangsgruppe kommt es zur Koordination von Acetonitril an das Glycosylkation **65**. Bei tiefen Temperaturen bildet sich in einer kinetisch kontrollierten Reaktion bevorzugt das axiale β -Nitrilium-Konjugat **66**, während bei höheren Temperaturen das thermodynamisch stabilere, äquatoriale α -Nitrilium-Konjugat **67** entsteht. Der anschließende Angriff des Nucleophils führt dann zu der alleinigen oder zumindest stark favorisierten Bildung des α -glycosidisch verknüpften Produkts bei tiefer bzw. des β -Glycosids bei höherer Temperatur.

Grundsätzlich ist es auch möglich, die Stereoselektivität bei der Produktbildung durch die Einführung eines dirigierenden Substituenten in die 3-Position des Sialyldonors in der

gewünschten Weise zu beeinflussen.^[284, 285] Da dies jedoch mehrerer zusätzlicher Stufen bedarf, wird im Allgemeinen nicht auf diese Methodik zurückgegriffen, und auch im Rahmen dieser Arbeit wird davon abgesehen.

Stattdessen wird unter Ausnutzung des Nitrileffekts der Trisaccharid-Baustein **58** mit dem Xanthogenat **36** und *in situ* erzeugtem Methylsulphenyltrifluormethansulfonat als Promotor^[291] in einem Gemisch aus Acetonitril und Dichlormethan bei einer Temperatur von $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ zum Sialyl-Lewis^x-Derivat **68** umgesetzt (Schema 3.25). Es gelingt allerdings selbst durch zweimalige flashchromatographische Reinigung nicht, das gewünschte Produkt vollständig von Verunreinigungen abzutrennen. Lediglich durch präparative RP-HPLC lässt sich die reine Verbindung **68** für analytische Zwecke isolieren.



Schema 3.25: Die Synthese des Sialyl-Lewis^x-Derivats **69**.

Da für die nachfolgende Reaktion jedoch eine weitere Reinigung nicht zwingend erforderlich ist, kann direkt weiter gearbeitet und die Acetylierung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin in Gegenwart einer katalytischen Menge an 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) angeschlossen werden. In Anbetracht der Tatsache, dass das im Galactoseteil einfach acetylierte Derivat eine ähnliche Polarität aufweist wie das zweifach acetylierte Produkt und sich die Reaktion selbst mittels analytischer RP-HPLC nicht zweifelsfrei kontrollieren lässt, empfiehlt es sich, vor dem Abbrechen der Umsetzung zusätzlich eine massenspektrometrische Untersuchung durchzuführen. Dabei sollte unbedingt beachtet werden, dass es meistens – anstelle des üblicherweise zu beobachtenden $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -Peaks – zum Auftreten eines Massenpeaks kommt, welcher auf ein Addukt aus dem gewünschten Produkt und protoniertem DMAP zurückzuführen ist. Schließlich erhält man nach erneuter

zweimaliger flashchromatographischer Reinigung die zweifach acetylierte Verbindung **69** in einer für Sialylierungsreaktionen zufriedenstellenden Ausbeute von 70 % bezogen auf das Trisaccharid **58**.

Das dem Baustein **58** entsprechende Allylglycosid **59** erweist sich dagegen für Sialylierungen unter Verwendung des Neuraminsäuredonors **36** erwartungsgemäß als gänzlich ungeeignet, da von dem zur Aktivierung des Xanthogenats benötigten weichen Elektrophil ebenfalls die Doppelbindung des Allylrests angegriffen wird.

Die bei der Sialylierungsreaktion zu beobachtende regioselektive Anknüpfung der Neuraminsäure in der 3-Position des Galactosylrests lässt sich durch die Unterschiede in den Reaktivitäten der OH-Gruppen in 2-, 3- und 4-Stellung erklären. Die äquatoriale Hydroxylfunktion in der 3-Position weist eine höhere Nucleophilie auf und ist zudem sterisch weniger gehindert als die beiden anderen freien OH-Gruppen, so dass es ausschließlich zur Bildung des angestrebten Regioisomers kommt. Auf eine mit zusätzlichem synthetischem Aufwand verbundene Einführung von Schutzgruppen in die 2- sowie die 4-Position kann folglich verzichtet werden, womit sich auch eine Beeinträchtigung der Reaktivität in 3-Stellung durch sterische oder elektronische Effekte benachbarter Substituenten vermeiden lässt. Allein die primäre Hydroxylfunktion muss blockiert sein, um einer Sialylierung dieser Position vorzubeugen.

Eindeutig belegen lässt sich die Art der Verknüpfung anhand der Kopplung zwischen dem Kohlenstoffatom-2 der Neuraminsäure und dem in 3-Stellung am Galactosylrest befindlichen Proton, welche im HMBC-Spektrum der Verbindung zweifelsfrei zu erkennen ist.

Der Nachweis des Vorliegens der α -glycosidischen Bindung kann im Falle von Sialinsäurederivaten nicht auf die übliche Weise anhand der Kopplungskonstante erbracht werden, da es sich hier bei dem anomeren Zentrum um einen quartären Kohlenstoff handelt.

In der Literatur finden sich empirische Regeln für die Zuordnung der anomeren Konfiguration peracetylierter Neuraminsäureglycoside:^[292]

- 1)^[293] $\delta_{H3\ddot{a}q} (\alpha\text{-Anomer}) > \delta_{H3\ddot{a}q} (\beta\text{-Anomer})$
- 2)^[294, 295] $\delta_{H4} (\alpha\text{-Anomer}) < \delta_{H4} (\beta\text{-Anomer})$
- 3)^[296] $|\delta_{H9a} - \delta_{H9b}| (\alpha\text{-Anomer}) < |\delta_{H9a} - \delta_{H9b}| (\beta\text{-Anomer})$
- 4)^[296] $^3J_{H7,H8} (\alpha\text{-Anomer}) > ^3J_{H7,H8} (\beta\text{-Anomer})$

Allgemein gültig sind diese Regeln jedoch nicht.

Zuverlässig bestimmt werden kann die anomere Konfiguration hingegen mit Hilfe eines HMBC-Experiments (Abb. 3.4): Im Falle des α -Anomers ist entsprechend der Karplus-Beziehung eine starke Kopplung zwischen dem Kohlenstoffatom-1 und dem axial orientierten Proton $H_{3_{ax}}$ in der 3-Position zu erwarten, da die von den beiden Kernen ausgehenden Bindungen einen Winkel von 180° einschließen. Demnach sollte diese Kopplung in Form eines Kreuzpeaks im HMBC-Spektrum zu sehen sein, sofern ein α -Glycosid vorliegt. Bei einer β -glycosidischen Verknüpfung dagegen besteht eine axial-äquatorial-Wechselwirkung zwischen den beiden entscheidenden Kernen, woraus nach der Karplus-Beziehung lediglich eine schwache Kopplung resultiert, welche im HMBC-Spektrum nicht zu erkennen ist.

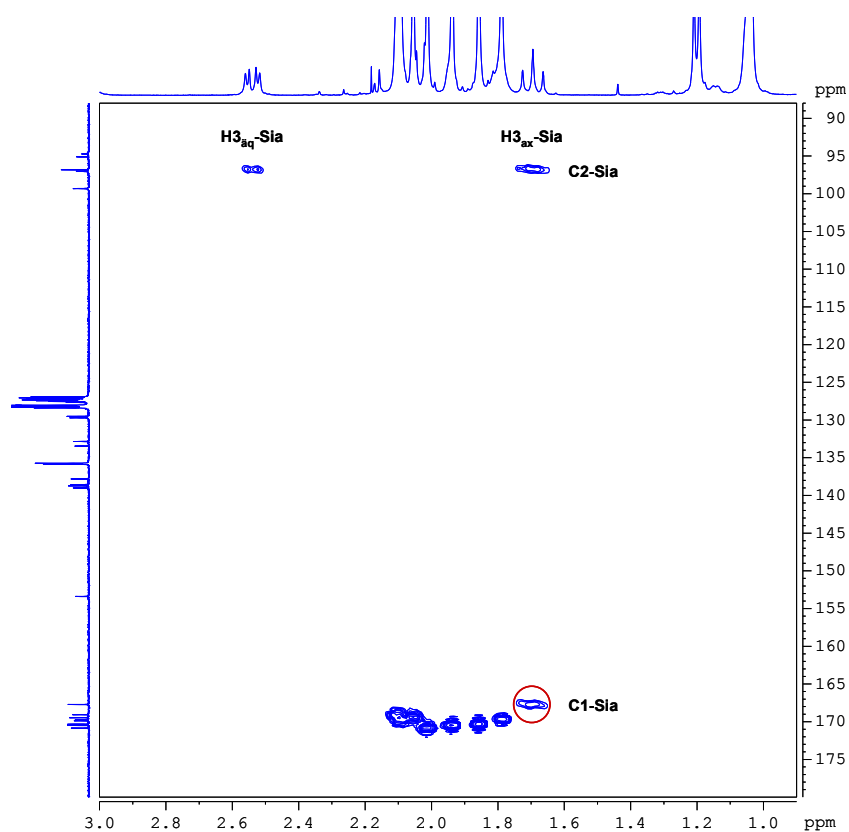


Abb. 3.4: Ein Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum des Sialyl-Lewis^x-Derivats **69**.

Da für Verbindung **69** ein Kreuzpeak zwischen C1 und $H_{3_{ax}}$ im HMBC-Spektrum gefunden wird, lässt sich das Vorliegen der vermuteten Struktur, des α -Sialosids, zweifelsfrei beweisen.

Nachdem für den folgenden Verlauf der Synthese die benzylichen Schutzgruppen nicht mehr benötigt werden, ihre Anwesenheit vielmehr zu Problemen aufgrund einer erhöhten Säurelabilität der glycosidischen, insbesondere der fucosidischen Bindung(en) führt, wäre es erstrebenswert, sie an dieser Stelle durch Acetylreste zu ersetzen.^[204] Dass ein solcher

Austausch spätestens vor der Erzeugung des Glycosylaminosäure-Bausteins für die Glycopeptid-Festphasensynthese erforderlich ist, sofern *tert*-Butylester und -ether zum Schutz der Carboxylfunktion des – das Hexasaccharid tragenden – Threonins bzw. von Seitenkettenfunktionen der Aminosäuren eingesetzt werden sollen, wurde von *O. Knöll* im Rahmen seiner Dissertation gezeigt.^[297] Um in einem späteren Stadium die in der Peptidchemie gängigen säurelabilen Schutzgruppen mit Hilfe von Trifluoressigsäure entfernen zu können, ohne dass die fucosidische Bindung in Mitleidenschaft gezogen wird, muss man ein Vorliegen des Desoxyzuckers in vollständig benzylierter Form umgehen. Dagegen gelingt die saure Schutzgruppenabspaltung bei der Bildung der Festphasenbausteine genauso wie diejenige am fertigen Glycopeptid ohne bemerkenswerte Substanzverluste, wenn die Fucose durch Acetylreste blockiert ist, wie *C. Filser* im Rahmen seiner Dissertation beweisen konnte.^[233]

Ob die Debenzylierung am Tetrasaccharid-Baustein **69** mittels katalytischer Hydrierung in Gegenwart des Trichlorethoxycarbonylrests praktikabel ist, erscheint allgemein fraglich. Da in der Literatur allerdings ein eindeutiger Hinweis auf die Stabilität der Schutzgruppe unter diesen Bedingungen gefunden werden kann,^[202] sollte in der vorliegenden Arbeit ein entsprechender Versuch unternommen werden. Dessen Resultat zeigt jedoch, dass es bei der Hydrierung in Gegenwart einer katalytischen Menge an Palladium auf Kohle in erheblichem Maße zu Reaktionen an der Troc-Funktion kommt, wobei mehrere, anscheinend verschieden stark reduzierte Produkte gebildet werden. Diese lassen sich nicht alle eindeutig charakterisieren, massenspektrometrisch ist anhand des zu beobachtenden Isotopenmusters jedoch ein Verlust von Chloratomen festzustellen. Demzufolge muss der Austausch der Benzyl- gegen die Acetylgruppen auf einen späteren Zeitpunkt verschoben werden.

Man überführt stattdessen den Tetrasaccharid-Baustein **69** direkt in einen Glycosyldonor, der anschließend in der Glycosylierung zur Herstellung des angestrebten Hexasaccharid-Threonin-Konjugats (vgl. Abschnitt 3.8.1) eingesetzt werden kann.

Da Trichloracetimide sich in der Vergangenheit sowohl in eigenen als auch in literaturbekannten Synthesen vielfach als reaktive Glycosyldonoren bewährt haben und ihre Aktivierung, wie im Zuge der Anknüpfung des Galactosylrests festgestellt werden konnte, mit dem vorliegenden Schutzgruppenmuster kompatibel ist, soll auch für die bevorstehende Glycosylierung auf das Trichloracetimidatverfahren zurückgegriffen werden.

Dazu muss zunächst die anomere Hydroxylgruppe des Silylglycosids **69** freigesetzt werden. Dies gelingt mit Tetra-*n*-butylammoniumfluorid (TBAF) in Tetrahydro-

Trotz der an sich starken Triebkraft der Umsetzung, der Ausbildung einer Silicium-Fluor-Bindung, welche energetisch um 30 kcal/mol gegenüber der Silicium-Sauerstoff-Bindung begünstigt ist,^[298] verläuft die Spaltung langsam. Nach einer Reaktionszeit von 14 Stunden kann dünnschichtchromatographisch immer noch ein großer Anteil an nicht umgesetztem Edukt nachgewiesen werden. Auch nach 40 Stunden, nach denen die Reaktion wegen eines ausbleibenden Fortschritts und beginnender Zersetzung abgebrochen wird, erhält man das gewünschte Produkt **70** nur in einer Ausbeute von 69 %. Bei der flashchromatographischen Reinigung werden außerdem 5 % des Silylglycosids **69** isoliert.

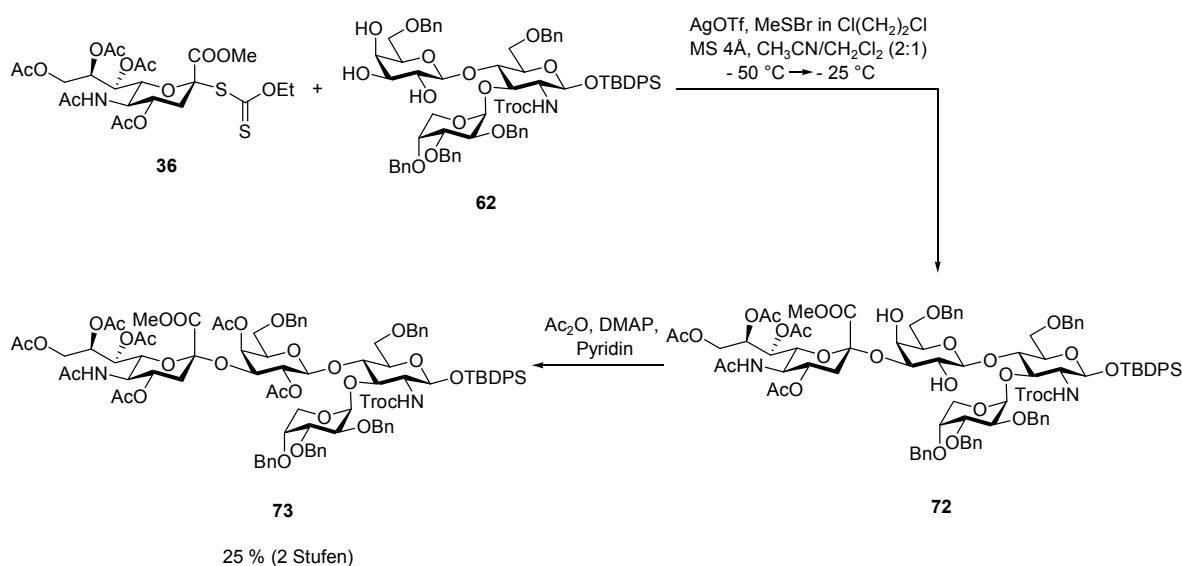
Der Versuch, den Umsatz durch vorheriges Trocknen von Trichloracetonitril über Molekularsieb zu erhöhen, führt nicht zum Erfolg. Ebenso bringt der vollständige Verzicht auf den Einsatz von Molekularsieb, welcher aufgrund des Verdachts geprüft wurde, dessen

Anwesenheit könne in gewissem Maße ein Abfangen der Base bewirken, keine Verbesserung mit sich. Ein Austausch der Base DBU gegen Kaliumcarbonat schließlich ergibt eine noch deutlich geringere Ausbeute. In diesem Fall können lediglich 26 % des Trichloracetimidats **71** isoliert werden, während 61 % der eingesetzten Verbindung **70** zurückgewonnen werden.

Obgleich die zuletzt beschriebene Reaktion alles andere als zufriedenstellend verläuft, steht dennoch nun ein viel versprechender Glycosyldonor für die geplante Glycosylierung zum Hexasaccharid-Threonin-Konjugat zur Verfügung (vgl. Abschnitt 3.8.1).

3.5.2 Der Arabino-Sialyl-Lewis^x-Baustein

Das Arabino-Lewis^x-Derivat **62** wird entsprechend der im vorangehenden Abschnitt dargelegten Herstellung des Sialyl-Lewis^x-Bausteins **68** mit dem Xanthogenat **36** der Neuraminsäure und Silbertrifluormethansulfonat (AgOTf) sowie Methylsulfenylbromid zur Reaktion gebracht (Schema 3.27).



Schema 3.27: Die Synthese des Arabino-Sialyl-Lewis^x-Derivats **73**.

Erneut liefert die flashchromatographische Reinigung das Tetrasaccharid **72** nicht in reiner Form. In diesem Fall scheinen sich allerdings selbst durch RP-HPLC die Verunreinigungen nicht vollständig abtrennen zu lassen. Daher wird direkt die Acetylierung zum komplett blockierten Arabino-Sialyl-Lewis^x-Baustein **73** vollzogen. Nach der Reinigung des Rohprodukts sowohl durch Flashchromatographie als auch durch präparative RP-HPLC kann man das gewünschte Produkt schließlich in reiner Form gewinnen.

Die gewünschte Regioselektivität sowie die Stereoselektivität der Sialylierungsreaktion sind NMR-spektroskopisch mit Hilfe eines HMBC-Experiments eindeutig nachzuweisen (vgl. Abschnitt 3.5.1).

Die Ausbeute ist jedoch – wie im Falle der arabinosylierten Bausteine schon häufig beobachtet – mit 25 % über beide Stufen eher gering. Mögliche Ursachen wurden in den vorangehenden Kapiteln bereits hinreichend diskutiert. An dieser Stelle lässt sich zusätzlich allerdings noch ein Substanzverlust während der Reinigung durch präparative RP-HPLC als Grund für die drastische Ausbeuteminderung anführen.

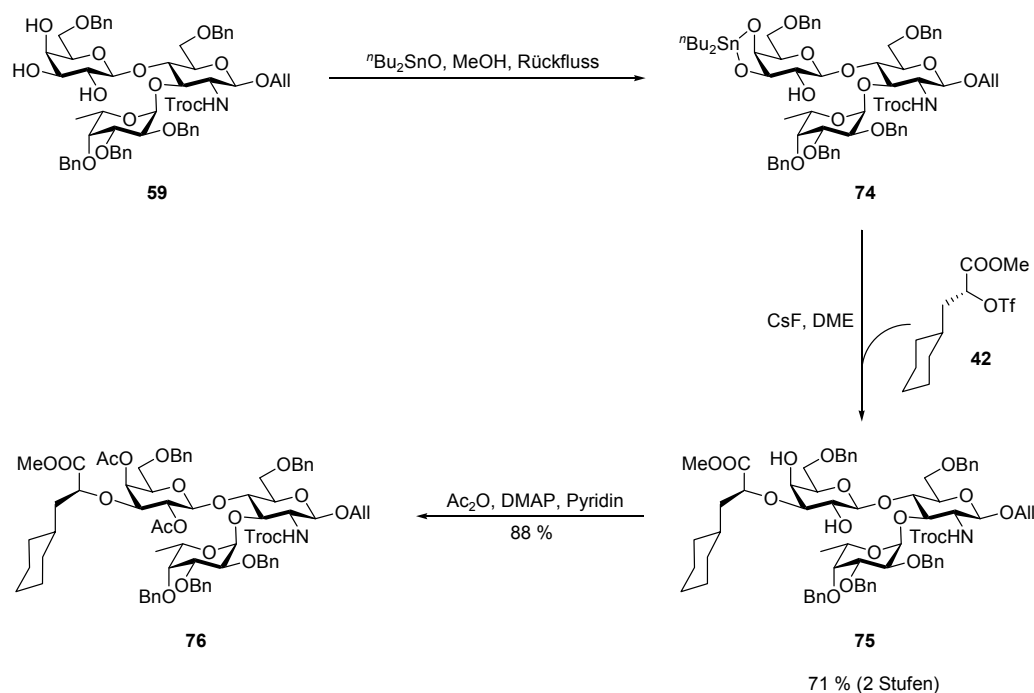
Prinzipiell sollte sich die Verbindung **73** in Analogie zum vergleichbaren fucosylierten Baustein **69** in das entsprechende Trichloracetimidat überführen lassen. Aus Zeitgründen wurde im Rahmen dieser Arbeit jedoch von einer weiteren Umsetzung des Arabino-Sialyl-Lewis^x-Derivats **73** abgesehen.

3.5.3 Das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum

Für die Herstellung des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums, in dem der Neuraminsäure- durch den Cyclohexylmilchsäurerest ersetzt ist, bietet sich der Einsatz des für die Sialylierungsreaktion ungeeigneten Allyl-geschützten Trisaccharids **59** an.

Um bei der Umsetzung des Triflats **42** mit dem dreifach ungeschützten Trisaccharid **59** eine regioselektive Anknüpfung des Milchsäurederivats in der 3-Position des Galactosylrests gewährleisten zu können, greift man auf die Stannylene-Methode^[299, 300] zurück (Schema 3.28). Dabei wird zunächst durch Reaktion der beiden zueinander *cis*-ständigen Hydroxylfunktionen in 3- und 4-Stellung des Trisaccharids **59** mit Di-*n*-butylzinnoxid in siedendem Methanol das Stannyleneacetal **74** gebildet. Dieses liegt vermutlich nicht in Form des Monomers, sondern als Dimer, wenn nicht sogar als Oligomer vor. Im Rahmen dieser Arbeit wurden allerdings keine Versuche unternommen, der tatsächlichen Struktur auf den Grund zu gehen. Auch in der Literatur ist das allgemeine Erscheinungsbild solcher Stannyleneacetale noch nicht hinreichend aufgeklärt. Ebenso wenig besteht Gewissheit über den genauen Mechanismus der sich anschließenden Reaktion. Bekannt ist nur, dass – wie auch im hier vorliegenden Fall festzustellen ist – nach der Aktivierung des Acetals bevorzugt die äquatoriale Hydroxylgruppe elektrophil angegriffen wird.^[301]

Versetzt man in diesem Sinne das Stannyleneacetal **74** in Anlehnung an die Arbeiten von Bänteli^[302] und Thoma *et al.*^[196, 197] zunächst mit Cäsiumfluorid und fügt dann das Cyclohexylmilchsäuretriflat **42** hinzu, so entsteht ausschließlich das in der 3-Position des Galactosylrests substituierte Trisaccharid **75**. Nach flashchromatographischer Reinigung des Rohprodukts kann es in einer Ausbeute von 71 % isoliert werden.



Schema 3.28: Die Synthese des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums **76**.

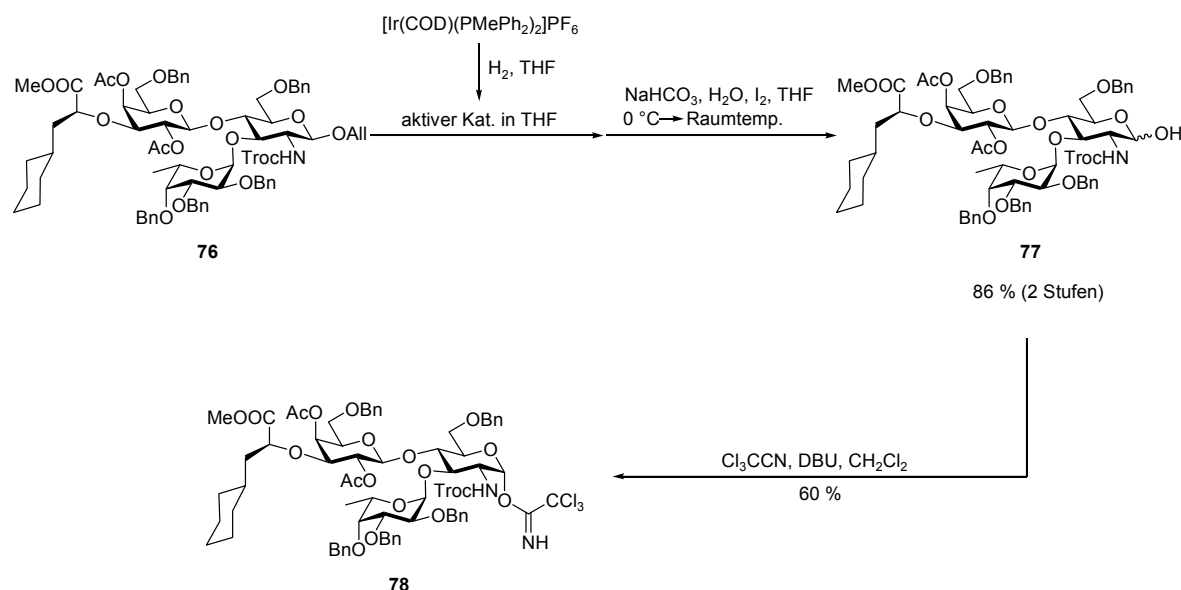
Der regioselektive Verlauf der Reaktion lässt sich erneut NMR-spektroskopisch anhand des HMBC-Spektrums beweisen: Da in diesem sowohl eine Kopplung zwischen dem in α -Stellung zur Esterfunktion befindlichen Kohlenstoffatom des Milchsäurederivats und dem Proton in der 3-Position der Galactose als auch ein Kreuzpeak zwischen dem Proton in der Nachbarschaft zur Esterfunktion und dem Kohlenstoffatom-3 der Galactose klar auszumachen sind, muss die Anbindung des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins an das Trisaccharid in der Tat über das Sauerstoffatom in der 3-Position des Galactosylrests erfolgen.

Die Bestimmung der absoluten Konfiguration am Kohlenstoffatom-2 des Cyclohexylmilchsäurerests ist im Gegensatz zur Bestimmung derjenigen am anomeren Zentrum des sialylierten Bausteins **69** (vgl. Abschnitt 3.5.1) nicht mittels NMR-Spektroskopie zu erreichen. Die alternative Möglichkeit, eine Kristallstrukturanalyse zur Ermittlung der Konfiguration heranzuziehen, besteht hier ebenfalls nicht, da die Verbindung nicht kristallin vorliegt. Es wird jedoch davon ausgegangen, dass es sich tatsächlich um das gewünschte (*S*)-konfigurierte Milchsäurederivat handelt, da der Angriff der OH-Gruppe

an dem elektrophilen Kohlenstoffatom-2 des Triflats im Sinne einer S_N2 -Reaktion ablaufen sollte. Würde es zur Bildung eines S_N1 -artigen Intermediats kommen, so wären diastereomere Produkte zu erwarten, was sich anhand der NMR-Spektren sowie durch eine Untersuchung der erhaltenen Substanz mittels analytischer RP-HPLC zweifelsfrei ausschließen lässt. Ferner sprechen die in der Literatur zu findenden Ergebnisse analoger Reaktionen eindeutig für das Vorliegen der angenommenen Struktur.^[196, 197, 233]

Die sich anschließende Acetylierung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin in Anwesenheit einer katalytischen Menge an 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) liefert schließlich das vollständig blockierte „Pseudotetrasaccharid“ **76** in einer Ausbeute von 88 %. Verzichtet man versuchsweise auf den Zusatz von DMAP, um einerseits möglichen Nebenreaktionen im Basischen vorbeugen und andererseits die Acetylierung der im Allgemeinen schwerer zugänglichen 4-Position der Galactose eventuell vermeiden zu können, wodurch man sich die später gegebenenfalls problematische Deblockierung dieser Hydroxylgruppe ersparen würde, so kommt es zur Entstehung eines Gemischs aus der einfach sowie der zweifach acetylierten Verbindung. Auch nach einer Reaktionszeit von acht Tagen kann kein einheitliches Produkt erhalten werden. Grundsätzlich ist bei dieser Acetylierung eine massenspektrometrische Kontrolle des Reaktionsfortschritts unbedingt angeraten, da das zweifach acetylierte Produkt auch mittels analytischer RP-HPLC nicht von der entsprechenden einfach acetylierten Verbindung zu unterscheiden ist und diese Form der Reaktionskontrolle somit ausscheidet. Zu beachten ist allerdings wiederum, dass das Massenspektrum des Rohprodukts – wie schon in Abschnitt 3.5.1 diskutiert – lediglich den Massenpeak zeigt, welcher einem Addukt aus der gewünschten Verbindung und protoniertem DMAP zuzuordnen ist.

Um auch das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum auf die nachfolgende Glycosylierung des Disaccharid-Threonin-Konjugats (vgl. Abschnitt 3.8.2) vorzubereiten, muss zunächst die anomere Schutzgruppe entfernt werden. Dies gelingt – in kompletter Analogie zu der am Trisaccharid **54** durchgeführten Reaktion (vgl. Abschnitt 3.4.1) – durch Isomerisierung des Allylsubstituenten zum Prop-1-enylrest und anschließende Spaltung des Glycosids mit Hilfe von elementarem Iod (Schema 3.29). Nach flashchromatographischer Reinigung des Rohprodukts wird der reduzierende Zucker **77** in einer Ausbeute von 86 % bezogen auf das Allylglycosid **76** erhalten.

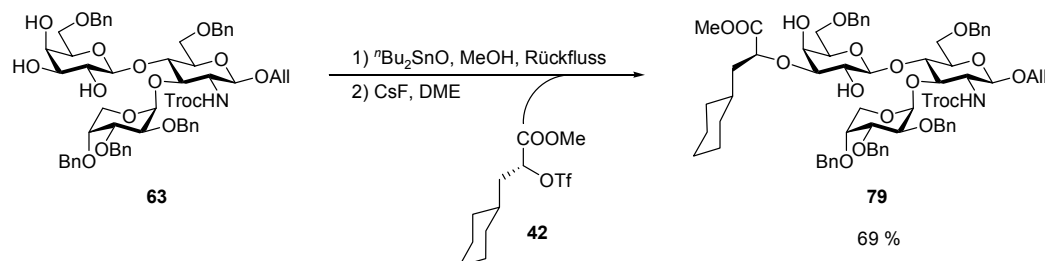


Schema 3.29: Die Synthese des Trichloracetimidats **78**.

Mittels einer basenkatalysierten Addition an Trichloracetonitril ergibt sich das gewünschte Trichloracetimidat **78**, welches man nach flashchromatographischer Reinigung des Rohprodukts ausschließlich in Form des thermodynamisch stabileren α -Anomers in einer Ausbeute von 60 % isoliert. Außerdem können 16 % des reduzierenden Zuckers **77** zurückgewonnen werden. Wie schon zuvor ist auch hier dem bei der Chromatographie zum Einsatz kommenden Laufmittel ein geringer Prozentsatz Triethylamin zuzusetzen, um das Produkt vor saurer Hydrolyse auf der Kieselgelsäule zu bewahren.

3.5.4 Das Arabino-Sialyl-Lewis^x-Mimetikum

Das Arabino-Sialyl-Lewis^x-Mimetikum **79** lässt sich analog zu dem entsprechenden fucosylierten Baustein **75** unter Anwendung der Stannylen-Methode^[299, 300] mit einer Ausbeute von 69 % herstellen (Schema 3.30). Im Zuge der flashchromatographischen Reinigung werden in diesem Fall 4 % des eingesetzten Trisaccharids **63** zurückgewonnen.



Schema 3.30: Die Synthese des Arabino-Sialyl-Lewis^x-Mimetikums **79**.

Hinsichtlich der Möglichkeiten, die Regio- sowie die Stereochemie der Verknüpfung zu belegen, sei an dieser Stelle auf die Ausführungen im vorangehenden Abschnitt verwiesen.

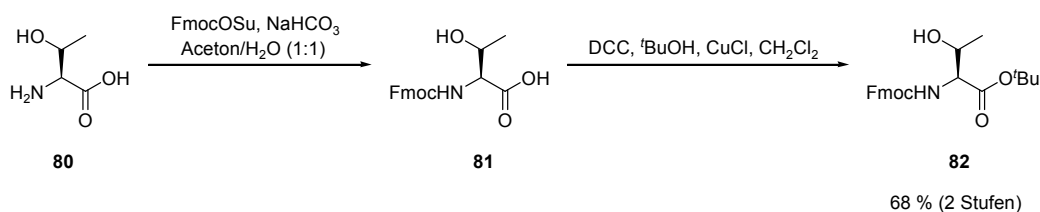
Aus Zeitgründen musste die Synthese des auf dem Arabino-Sialyl-Lewis^x-Mimetikum beruhenden Oligosaccharid-Threonin-Konjugats auf dieser Stufe eingestellt werden, obwohl eine für die weitere Umsetzung durchaus ausreichende Menge des „Pseudo-tetrasaccharids“ zur Verfügung stünde. Sie sollte sich allerdings in kompletter Analogie zu der des vergleichbaren fucosylierten Bausteins fortsetzen lassen.

3.6 Die Galactose-Threonin-Konjugate

Die biomimetische Synthese des Disaccharid-Threonin-Konjugats, welches in den angestrebten Glycosylierungsreaktionen mit dem Sialyl-Lewis^x-Donor **71** bzw. dessen Mimetikum **78** als Glycosylakzeptor fungieren soll (vgl. Kapitel 3.8), orientiert sich – wie in Kapitel 3.1 bereits erwähnt – an einer literaturbekannten Strategie.^[217-219]

Dabei wird zunächst der erste Galactosylrest mit einem geeignet geschützten Threoninderivat verknüpft und das resultierende Konjugat dann nach einigen Schutzgruppenmanipulationen in der 3-Position des Zucker-Bausteins ein weiteres Mal galactosyliert (vgl. Kapitel 3.7).

Um den für die späteren Glycopeptid-Festphasensynthesen nach der Fmoc-Strategie tauglichen, als Galactosylakzeptor geeigneten Aminosäure-Baustein **82** herzustellen, setzt man zunächst die Aminogruppe von L-Threonin (**80**) mit Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (FmocOSu) um,^[303] wobei sich das Carbamat **81** bildet (Schema 3.31).

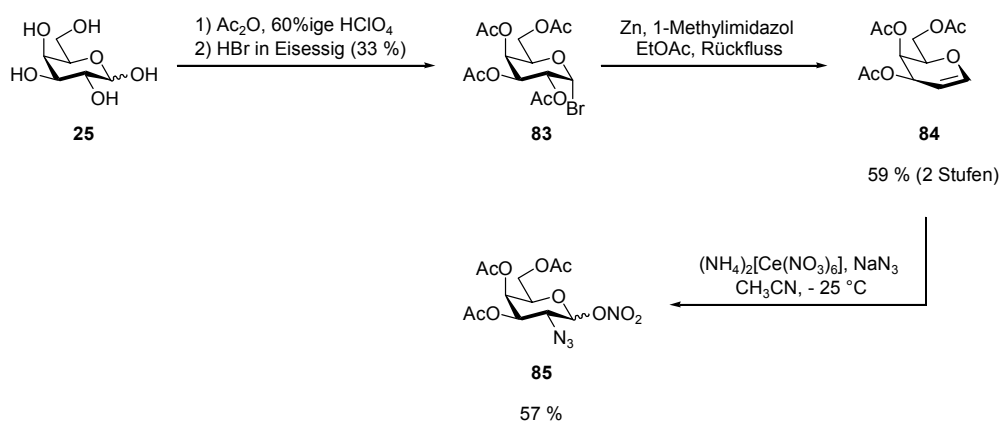


Schema 3.31: Die Synthese des *N*- und *C*-terminal geschützten Threonin-Bausteins **82**.

Anschließend wird dessen freie Carboxylfunktion durch Veresterung mit *tert*-Butanol unter dem aktivierenden Einfluss von *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)^[304] und Kupfer(I)-chlorid als *tert*-Butylester blockiert.^[214, 305, 306] Nach flashchromatographischer Reinigung und Umkristallisation kann man die sowohl *N*- als auch *C*-terminal geschützte

Aminosäure **82** in einer Ausbeute von 68 % bezogen auf L-Threonin (**80**) isolieren. Bei der Durchführung des zweiten Syntheseschritts ist darauf zu achten, dass es aufgrund des großen Überschusses von *tert*-Butanol und DCC nicht zu einer zusätzlichen Blockierung der Hydroxylfunktion des Threonins in Form eines *tert*-Butylethers kommt. Durch eine strenge dünnschichtchromatographische Kontrolle der Umsetzung und die Vermeidung ausgedehnter Reaktionszeiten lässt sie sich jedoch vollständig umgehen.

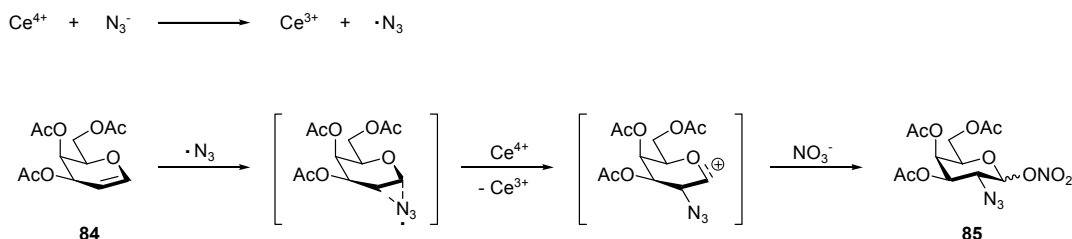
Zur Erzeugung des Galactosederivats, welches in der 2-Position eine in Gestalt eines Azids maskierte Aminofunktion trägt und für die Glycosylierung des geschützten Aminosäure-Bausteins **82** verwendet werden kann, wird D-Galactose (**25**) durch Reaktion mit Essigsäureanhydrid in Gegenwart einer katalytischen Menge an Perchlorsäure peracetyliert und das entstandene Pentaacetat *in situ* mit einer 33%igen Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig zum Galactosylbromid **83** umgesetzt (Schema 3.32).^[307] Dabei bildet sich aufgrund des anomeren Effekts ausschließlich das α -Anomer. Dieses überführt man direkt durch Reduktion mit aktiviertem Zink in Gegenwart einer katalytischen Menge an 1-Methylimidazol in das Galactal **84**,^[307, 308] das nach flashchromatographischer Reinigung des Rohprodukts in einer Ausbeute von 59 % bezogen auf D-Galactose (**25**) anfällt.



Schema 3.32: Die Synthese des Azidonitrats **85**.

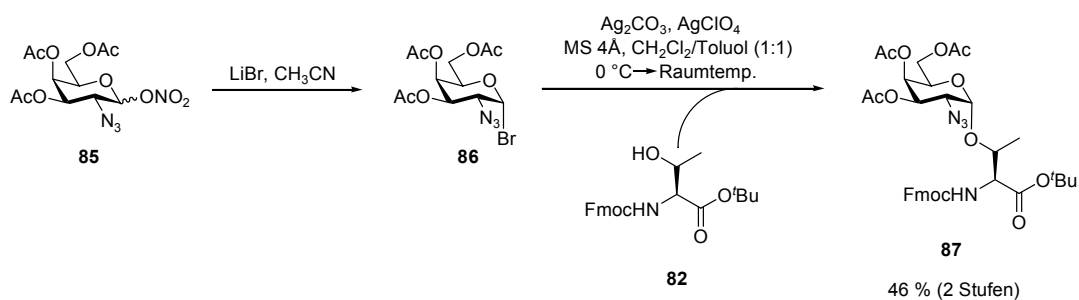
In der sich anschließenden Azidonitratisierung nach Lemieux^[309, 310] mittels Cer(IV)-ammoniumnitrat und Natriumazid werden eine Nitratgruppe am anomeren Zentrum sowie die bereits erwähnte Azidofunktion in 2-Stellung eingeführt. Dies gelingt mit einer Ausbeute von 57 %, wobei das Produkt **85** als Anomerengemisch mit einem ungefähren Verhältnis von α - zu β -Anomer von 1:1 (mittels NMR-Spektroskopie bestimmt) erhalten wird. Durch fraktionierende Kristallisation aus Diethylether lassen sich die beiden Anomere trennen, jedoch ist dies für den nachfolgenden Syntheseschritt nicht erforderlich.

Der Mechanismus der Azidonitratisierung wurde von *Lemieux* in der folgenden Weise gedeutet (Schema 3.33).^[309] Zunächst abstrahiert Ce^{IV} als starkes Oxidationsmittel ein Elektron aus dem Azidanion, wobei es selbst zu Ce^{III} reduziert wird. Das gebildete Azidradikal erfährt dann eine Koordination an die Doppelbindung des Galactals **84**, bevor unter dem Einfluss eines weiteren Ce^{IV} -Ions die Oxidation zum entsprechenden Oxycarbeniumion eintritt, in dem der Azidosubstituent in 2-Stellung angebunden ist. Der Angriff eines Nitratanions am anomeren Zentrum ergibt schließlich das Nitrat **85**.



Schema 3.33: Der Mechanismus der Azidonitratisierung nach *Lemieux*.^[309]

Durch Umsetzung mit Lithiumbromid lässt sich das Azidonitrat **85** in das anomere Bromid **86** überführen (Schema 3.34),^[310] wobei wiederum aufgrund des anomeren Effekts ausschließlich das α -Anomer entsteht. Wegen seiner stark begrenzten Stabilität setzt man dieses ohne eine vorherige Reinigung direkt in die nachfolgende Glycosylierungsreaktion ein, welche nach der von *Paulsen und Hölck*^[311, 312] entwickelten Methode durchgeführt wird.



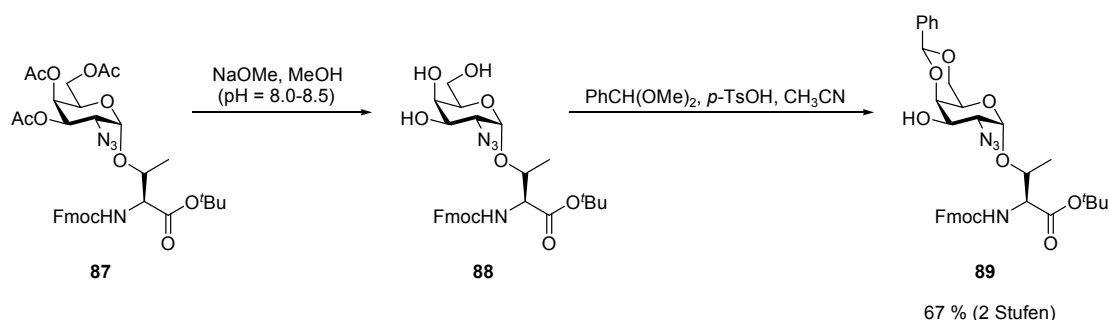
Schema 3.34: Die Galactosylierung des Threoninderivats **82** unter Bildung des Konjugats **87**.

Dabei bringt man das Bromid **86** unter Aktivierung durch eine äquimolare Menge an Silbercarbonat sowie eine katalytische Menge an Silberperchlorat mit dem Threonin-Baustein **82** zur Reaktion.^[217] Infolge der fehlenden Nachbargruppenaktivität der Azidofunktion in der 2-Position des Glycosyldonors kommt es zur Bildung des durch den anomeren Effekt favorisierten α -Glycosids **87**, welches in einer Ausbeute von 46 % bezogen auf das Azidonitrat **85** gewonnen wird.

Das Vorliegen der α -glycosidischen Bindung lässt sich NMR-spektroskopisch anhand der kleinen Kopplungskonstante $^3J_{\text{H1,H2}}$ von 3.4 Hz sowie der relativen Tieffeldverschiebung des anomeren Protons eindeutig belegen.

Bei der späteren Anknüpfung des zweiten Galactosylrests an das Galactose-Threonin-Konjugat (vgl. Kapitel 3.7) sollen zwei unterschiedliche Bausteine als Glycosylakzeptoren geprüft werden, zum einen eine in der 2-Position des Zuckers Azido-substituierte Verbindung, zum anderen ihr Acetamido-substituiertes Analogon.

Zur Herstellung eines als Galactosylakzeptor geeigneten Bausteins mit einer Azidofunktion in 2-Stellung werden zunächst die Acetylgruppen von Verbindung **87** unter *Zemplén*-Bedingungen^[203] entfernt (Schema 3.35).^[219] Dabei muss man – wie schon im Falle der Troc-geschützten Glucosamin-Bausteine (vgl. Abschnitt 3.2.1) – strikt darauf achten, dass ein pH-Wert von 8.5 nicht überschritten wird, um die Abspaltung der basenlabilen Fmoc-Gruppe zu unterdrücken.^[217]



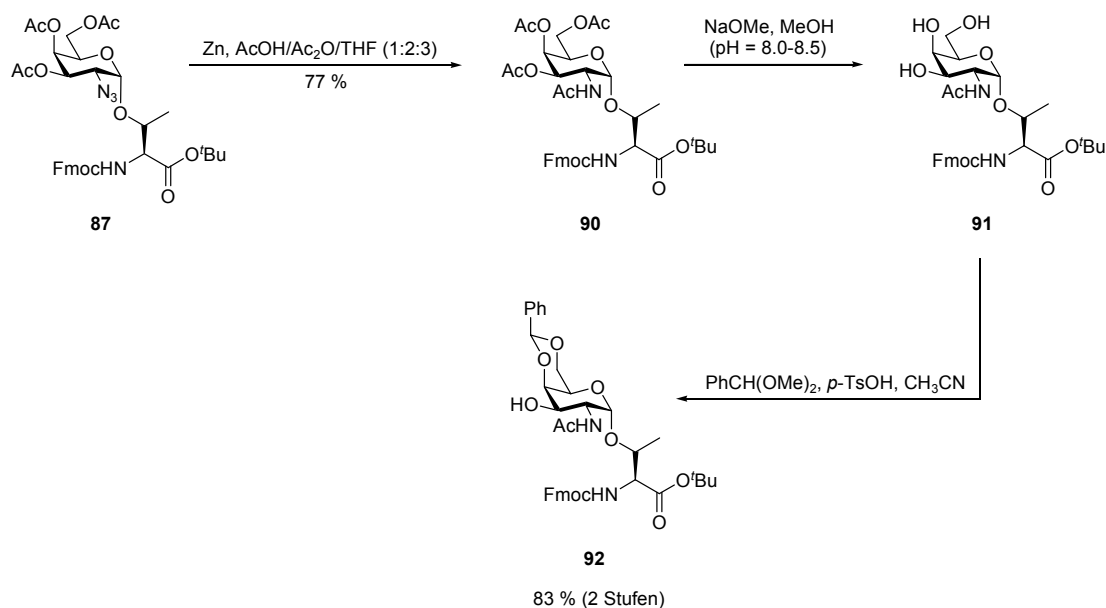
Schema 3.35: Die Synthese des Galactose-Threonin-Konjugats **89**.

Das gewonnene Rohprodukt **88** wird schließlich einer durch 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat (*p*-TsOH) katalysierten Umacetalisierung mit Benzaldehyddimethylacetal unterzogen,^[219, 225] welche das entsprechende 4,6-*O*-Benzyliden-geschützte Galactose-derivat **89** in einer Ausbeute von 67 % bezogen auf den acetylierten Baustein **87** liefert.

Alternativ setzt man das Glycosylierungsprodukt **87** mit aktiviertem Zink in einer Mischung aus Essigsäure, Essigsäureanhydrid und Tetrahydrofuran um, wobei die Azido- zur Aminofunktion reduziert und letztere direkt acetyliert wird (Schema 3.36).^[313, 314]

Das auf diese Weise in einer Ausbeute von 77 % zugängliche Acetamid **90** wird anschließend in Analogie zur weiteren Umsetzung des Azido-funktionalisierten Bausteins **87** nach *Zemplén*^[203] mit einer methanolischen Natriummethanolat-Lösung von den Acetylgruppen befreit.^[217] Dabei entsteht die dreifach ungeschützte Verbindung **91**,

welche ohne eine vorherige Reinigung durch eine säurekatalysierte Umacetalisierung^[225] in das entsprechende Benzyliden-geschützte Galactosederivat **92** überführt wird.^[219]



Schema 3.36: Die Synthese des Galactose-Threonin-Konjugats **92**.

Das ebenfalls für die Galactosylierung in der 3-Position geeignete Galactose-Threonin-Konjugat **92** kann so über zwei Stufen in einer Ausbeute von 83 % erhalten werden.

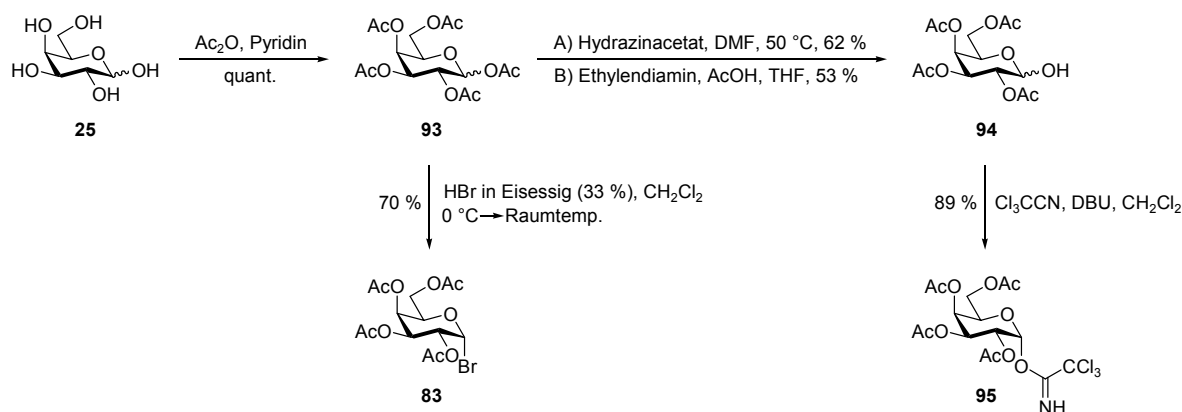
3.7 Das Disaccharid-Threonin-Konjugat

Für die Herstellung des Disaccharid-Threonin-Konjugats, welches zu einem späteren Zeitpunkt als Glycosylakzeptor fungieren soll (vgl. Kapitel 3.8), sollen zwei der gängigen Glycosylierungsmethoden hinsichtlich ihres Potentials in diesem speziellen Fall miteinander verglichen werden, zum einen das bereits diskutierte Trichloracetimidatverfahren nach *Schmidt*,^[263-266] und zum anderen eine von *Helferich* entwickelte Variante^[315, 316] der Glycosylierung nach *Koenigs-Knorr*.^[317]

Zunächst werden die benötigten vierfach acetylierten Galactosyldonoren, das Trichloracetimidat **95** sowie das Bromid **83**, auf literaturbekannte Weise aus D-Galactose (**25**) erzeugt (Schema 3.37).

Dabei überführt man im ersten Schritt D-Galactose (**25**) in einer Mischung aus Essigsäureanhydrid und Pyridin in das Pentaacetat **93**, welches sich quantitativ bildet.

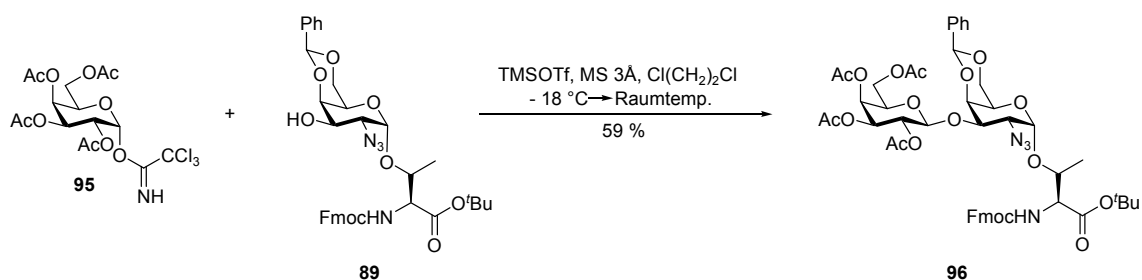
Die selektive Abspaltung der anomeren Schutzgruppe, die sich sowohl durch Umsetzung mit Hydrazinacetat^[221] als auch durch Reaktion mit dem Acetat von Ethylendiamin^[239] realisieren lässt (vgl. Abschnitt 3.2.4), liefert den reduzierenden Zucker **94** in Ausbeuten von 62 % bzw. 53 %. Die nur mäßigen Ausbeuten für diese Deblockierung sind aller Wahrscheinlichkeit nach darauf zurückzuführen, dass es trotz strenger Reaktionskontrolle leicht zur Abspaltung von weiteren, nicht anomeren Acetylgruppen kommt. Nach einer basenkatalysierten Addition an Trichloracetonitril^[264, 266, 318] kann man schließlich das Trichloracetimidat **95** in Form des thermodynamisch stabileren α -Anomers in einer Ausbeute von 89 % bzw. einer Gesamtausbeute von 55 % bezogen auf D-Galactose (**25**) isolieren.



Schema 3.37: Die Synthesen der Galactosyldonoren **95** und **83**.

Die Umsetzung des vollständig geschützten Galactosederivats **93** mit einer 33%igen Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig hingegen ergibt das gewünschte Bromid **83** in einer Ausbeute von 70 %.^[319, 320] Aufgrund des anomeren Effekts wird auch dieser Galactosyldonor ausschließlich in Form seines α -Anomers erhalten.

Bringt man das Galactose-Threonin-Konjugat **89** mit dem Trichloracetimidat **95** nach Schmidt^[263-266] unter dem aktivierenden Einfluss von Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zur Reaktion, so erhält man das Disaccharid-Threonin-Konjugat **96** in einer Ausbeute von 59 % (Schema 3.38). Infolge des von der Acetylgruppe in der 2-Position des Glycosyldonors ausgeübten Nachbargruppeneffekts wird die gewünschte β -glycosidische Verknüpfung der beiden Bausteine erreicht. Eindeutig beweisen lässt sie sich NMR-spektroskopisch anhand der großen Kopplungskonstante $^3J_{\text{H1,H2}}$ von 7.8 Hz.



Schema 3.38: Die Galactosylierung unter Bildung des Disaccharid-Threonin-Konjugats **96**.

An dieser Stelle sollte ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass ein Erwärmen des Ansatzes auf Raumtemperatur vor der Neutralisierung unbedingt erforderlich ist, um eine akzeptable Ausbeute an dem gewünschten Disaccharid **96** zu gewährleisten. Führt man die Neutralisierung bereits bei einer Temperatur von $-15\text{ }^\circ\text{C}$ durch, so sinkt die Ausbeute an der Verbindung **96** dramatisch ab auf etwa 24 %, und es wird hauptsächlich der entsprechende Orthoester **97** isoliert (Abb. 3.5).

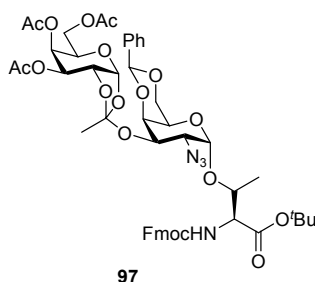


Abb. 3.5: Der Orthoester **97** als Konkurrenzprodukt bei der Galactosylierungsreaktion.

Dass es sich bei dem im zuletzt geschilderten Fall vorwiegend gebildeten Produkt in der Tat um den Orthoester **97** handelt, kann NMR-spektroskopisch eindeutig belegt werden (Abb. 3.6 und 3.7): Zum einen weist das Dublett für das anomere Proton des entscheidenden Galactosylrests die für eine äquatoriale Orientierung typische Tieffeldverschiebung sowie eine – wie für äquatorial-axial-Kopplungen zu erwarten – eher kleine Kopplungskonstante von 4.7 Hz auf; zum anderen weicht die chemische Verschiebung eines der vier Singulets für die Methylprotonen deutlich von der der übrigen ab ($\delta(\text{CH}_3\text{-Orthoester}) = 1.82\text{ ppm}$ gegenüber ($\delta(\text{CH}_3\text{-Ac}) \approx 2.02\text{ ppm}$). Auch im ^{13}C -NMR-Spektrum treten die beiden für derartige Orthoester-Strukturen charakteristischen Signale auf, eines bei $\delta = 121.02\text{ ppm}$ für den quartären Kohlenstoff des Orthoesters^[321] und eines bei $\delta = 23.02\text{ ppm}$ für die entsprechende Methylgruppe.^[322]

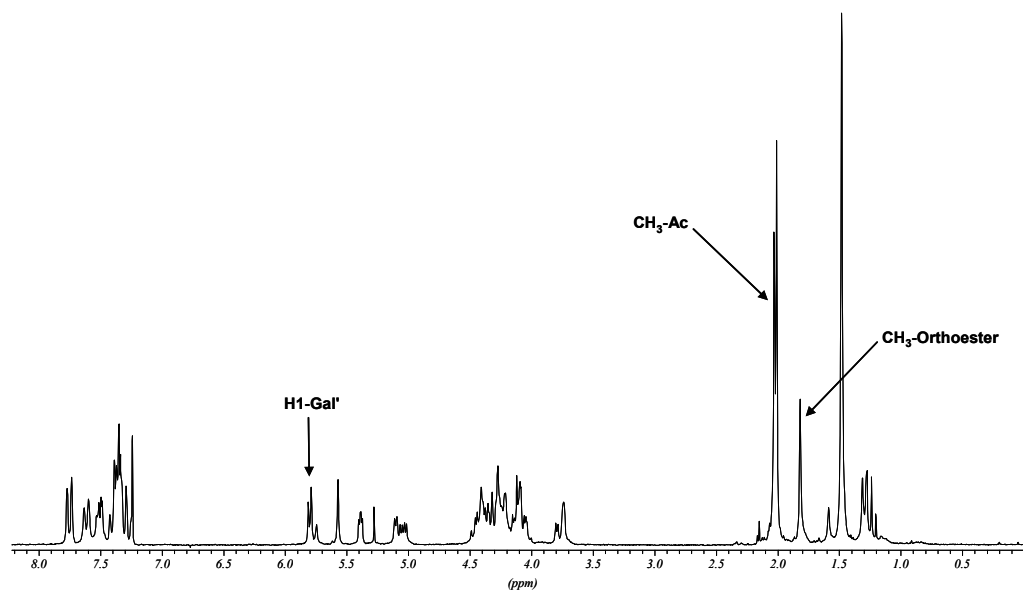


Abb. 3.6: Das ^1H -NMR-Spektrum des Orthoesters **97**.

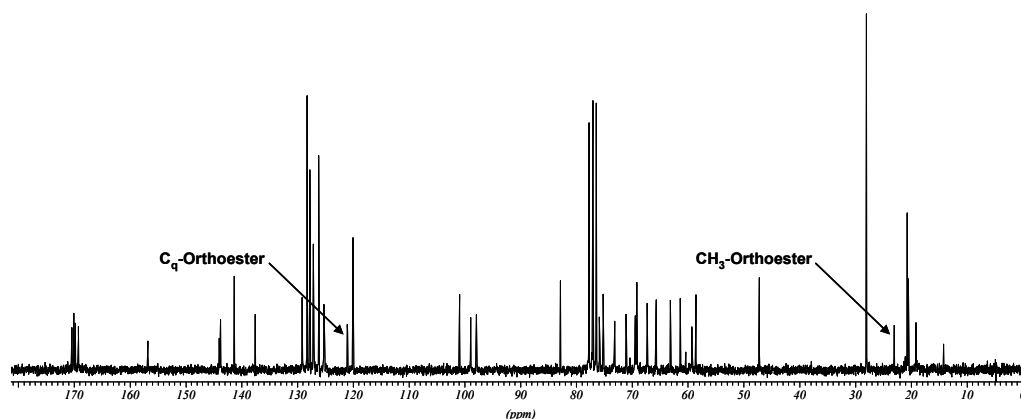
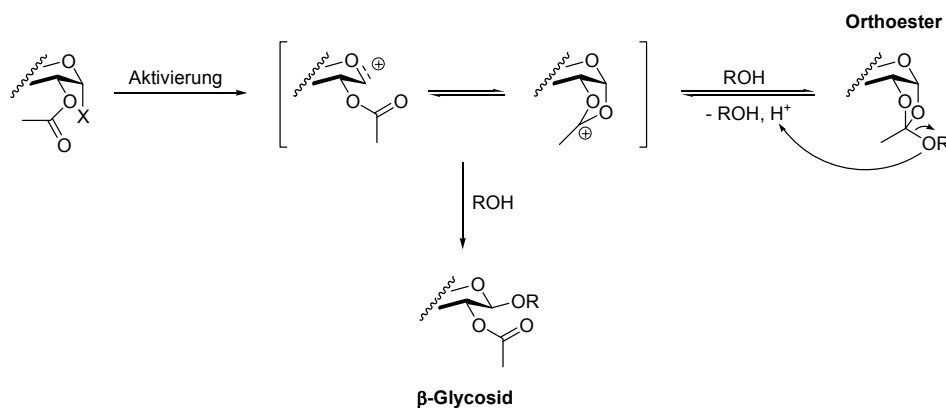


Abb. 3.7: Das ^{13}C -NMR-Spektrum des Orthoesters **97**.

Das Ergebnis der beiden Glycosylierungsreaktionen legt den Verdacht nahe, dass sich ein Großteil des angestrebten β -verknüpften Disaccharids **96** nicht direkt bei Temperaturen zwischen $-18\text{ }^\circ\text{C}$ und $-10\text{ }^\circ\text{C}$ bildet, sondern dass das gewünschte Produkt erst beim Erwärmen des Ansatzes aus dem Orthoester **97** entsteht.

In der Literatur findet sich eine eingehende Beschreibung des allgemeinen Mechanismus derartiger Glycosylierungsreaktionen, welche unter der Beteiligung eines Glycosyldonors mit einem nachbargruppenaktiven Substituenten in der 2-Position ablaufen (Schema 3.39).^[323]



Schema 3.39: Die Orthoesterbildung als Konkurrenzreaktion zur Entstehung des β -Glycosids.

Demnach bestehen prinzipiell zwei Möglichkeiten für den Angriff des Glycosylakzeptors (in der schematischen Darstellung zur Vereinfachung als „ROH“ wiedergegeben) an dem nach Aktivierung des Glycosyldonors vorliegenden Kation. Zum einen kann er orbitalkontrolliert am anomeren Zentrum erfolgen, woraus das gewünschte β -Glycosid resultiert; zum anderen kann es unter Ladungskontrolle zu einer Reaktion am Dioxolenium-Kohlenstoff kommen, wobei der entsprechende Orthoester entsteht. Die Bildung des kinetisch favorisierten Orthoesters ist jedoch reversibel. So wird unter sauren Bedingungen, die in gewissem Maße auch schon durch den Lewis-sauren Promotor selbst bzw. die aus ihm gebildete Säure gegeben sind, eine Umlagerung herbeigeführt, die unter Eliminierung und erneuter Addition des Glycosylakzeptors das thermodynamisch stabilere β -Glycosid liefert.

Anscheinend ist in dem hier beschriebenen speziellen Fall eine Temperaturerhöhung auf Raumtemperatur erforderlich, um diese Umlagerung voranzutreiben.

Das Auftreten derartiger Orthoester-Strukturen wurde bereits von *T. Reipen*^[324] und *C. Brocke*^[218] im Rahmen ihrer Dissertationen bei in 2-Stellung Acetamido-substituierten Glycosylakzeptoren beschrieben. Die im Falle der Acetamido- anstelle der entsprechenden Azido-funktionalisierten Bausteine noch erheblich stärker ausgeprägte Orthoesterbildung wurde von *C. Brocke* auf eine Wechselwirkung zwischen der Säure und dem basischen Sauerstoffatom der der Orthoesterfunktion benachbarten Carbonylgruppe zurückgeführt, welche eine Umlagerung in das gewünschte Disaccharid offenbar weitgehend unterdrücken kann.

Für die Glycosylierung der Akzeptoren, die in der 2-Position eine Acetamidogruppe tragen, zeigte sich daher das Verfahren von *Helferich*^[315, 316] am ertragreichsten.^[218] Bei dieser Methode, bei der die Aktivierung der als Glycosyldonoren eingesetzten Bromide

durch Quecksilber(II)-cyanid erfolgt, wird die Orthoesterbildung dadurch wirkungsvoll vermieden, dass eine vorübergehende Anbindung des Cyanidions an den Dioxolenium-Kohlenstoff eintritt (Abb. 3.8).

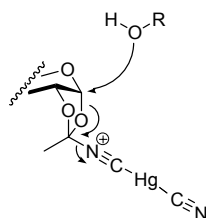
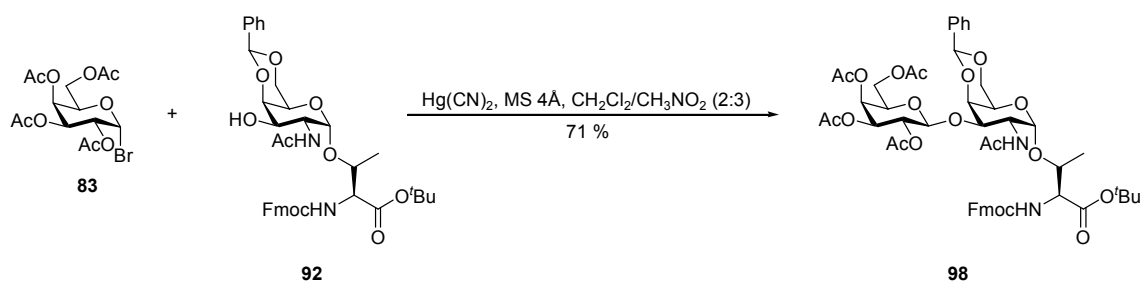


Abb. 3.8: Die Steuerung der Regioselektivität bei Glycosylierungsreaktionen nach der Helferich-Methode.

Durch diese ladungsgetriebene Addition wird schließlich eine selektive Anknüpfung des Glycosylakzeptors an das anomere Zentrum des Glycosyldonors gewährleistet.

Auf der Grundlage dieser Erfahrungen sollte auch in der vorliegenden Arbeit für die Galactosylierung des Acetamido-funktionalisierten Glycosylakzeptors **92** auf das bewährte Verfahren von Helferich^[315, 316] zurückgegriffen werden.

Eine dementsprechende Umsetzung des Konjugats **92** mit dem vierfach acetylierten Galactosylbromid **83** unter dem aktivierenden Einfluss von Quecksilber(II)-cyanid ergibt das gewünschte β -verknüpfte Disaccharid in einer Ausbeute von 71 % (Schema 3.40). Erneut kann das Vorliegen der angestrebten β -Konfiguration NMR-spektroskopisch anhand der großen Kopplungskonstante $^3J_{H1,H2}$ von 7.0 Hz eindeutig bewiesen werden.



Schema 3.40: Die Galactosylierung unter Bildung des Disaccharid-Threonin-Konjugats **98**.

Die bei dieser Reaktion erreichte Ausbeute fällt zwar durchaus zufriedenstellend aus, bleibt jedoch hinter derjenigen zurück, welche von C. Brocke in einem ähnlichen Fall erhalten wurde.^[218]

Allgemein lässt sich eine verminderte Ausbeute bei derartigen Umsetzungen auf die reduzierte Reaktivität der als Nucleophil fungierenden Hydroxylgruppe in der 3-Position

infolge der Ausbildung einer intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung zu der benachbarten Acetylfunktion zurückführen (Abb. 3.9).

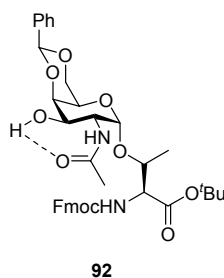
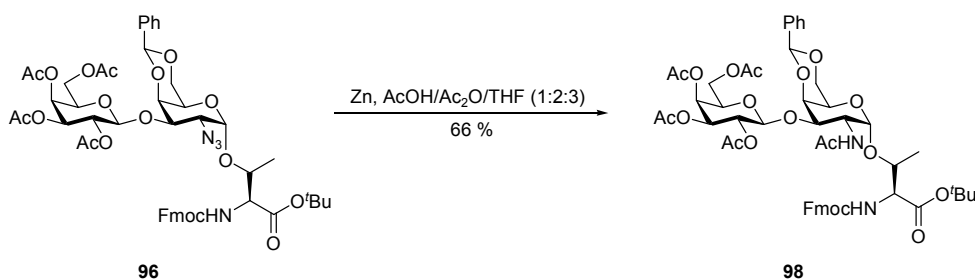


Abb. 3.9: Die Wasserstoffbrückenbindung innerhalb des Acetamido-substituierten Glycosylakzeptors **92**.

Ähnliche Beobachtungen wurden beispielsweise auch schon von *K. von dem Bruch*^[325] und *K. Peilstöcker*^[326] gemacht.

In dem hier vorliegenden Fall kann dieser Sachverhalt jedoch offensichtlich nicht als Begründung für die geringere Ausbeute herangezogen werden, da auch bei der von *C. Brocke* beschriebenen Umsetzung eine solche Konstellation gegeben ist. Allerdings verwendete sie einen in der 6-Position benzylierten Glycosyldonor, der vermutlich reaktiver als das hier zum Einsatz kommende vierfach acetylierte Galactosederivat **83** ist. Entsprechend erhielt *N. Bézay* bei der analogen Reaktion mit dem vierfach acetylierten Baustein ebenfalls nur eine Ausbeute von 63 %.^[219]

Alternativ lässt sich das gewünschte Disaccharid-Threonin-Konjugat **98** auch aus dem Azido-funktionalisierten Baustein **96** durch Reduktion mit aktiviertem Zink und anschließende *N*-Acetylierung *in situ* mit Essigsäureanhydrid in einer Mischung aus Essigsäure und Tetrahydrofuran^[313, 314] in einer Ausbeute von 66 % gewinnen (Schema 3.41).

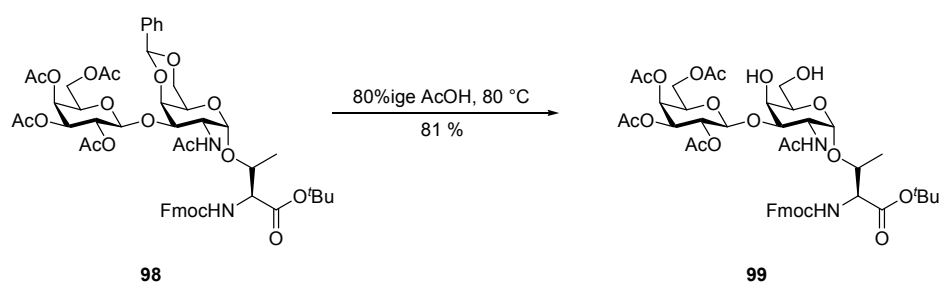


Schema 3.41: Die Synthese des Disaccharid-Threonin-Konjugats **98** durch Reduktion des Bausteins **96**.

Ob eine teilweise eintretende Spaltung des säurelabilen Benzylidenacetals für die nur mäßige Ausbeute verantwortlich ist, bleibt unklar. Allerdings liegt die im Falle der

analogen Umsetzung des acetylierten Galactose-Threonin-Konjugats **87** erreichte Ausbeute mit 77 % ebenfalls nicht sehr hoch, was für eine eher geringe Beeinträchtigung der Ausbeute aufgrund einer Entfernung der Schutzgruppe spricht.

Um das Disaccharid-Threonin-Konjugat **98** schließlich in einen geeigneten Glycosylakzeptor für die nachfolgende Umsetzung mit dem Sialyl-Lewis^x-Donor **71** bzw. seinem Mimetikum **78** (vgl. Kapitel 3.8) zu überführen, spaltet man das Benzylidenacetal in 80%iger Essigsäure bei 80 °C, wobei man den sowohl in 4- als auch in 6-Stellung ungeschützten Baustein **99** in einer Ausbeute von 81 % erhält (Schema 3.42).



Schema 3.42: Die Synthese des Disaccharid-Threonin-Konjugats **99**.

3.8 Das Hexasaccharid-Threonin-Konjugat und sein Mimetikum als Bausteine für die Glycopeptid- Festphasensynthese

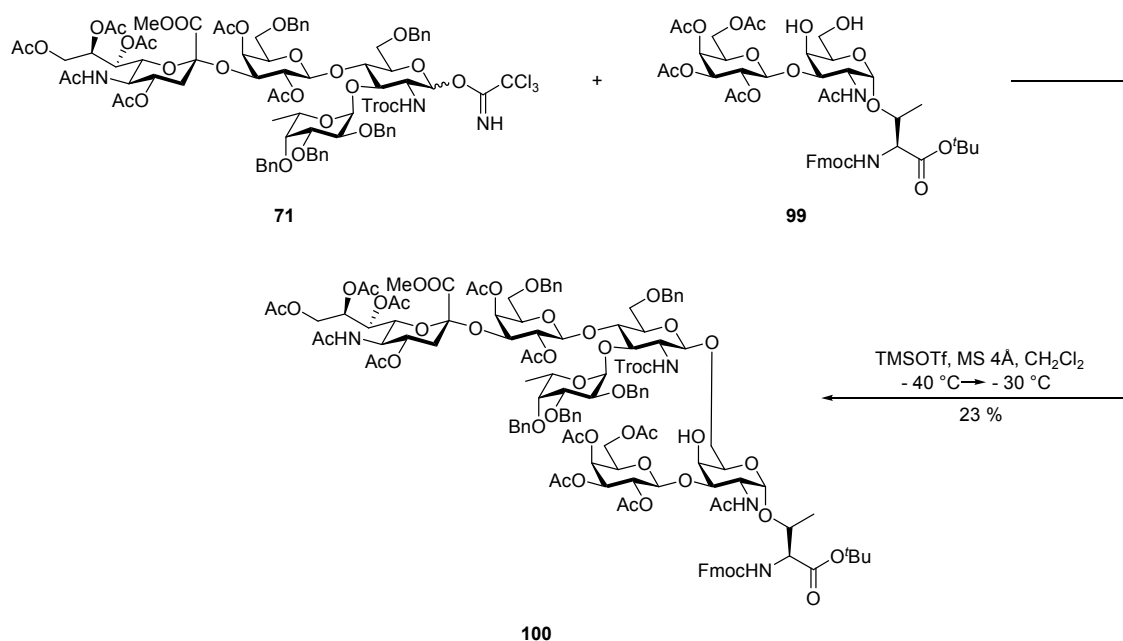
Für die Synthesen des Hexasaccharid-Threonin-Konjugats sowie seines Mimetikums stehen mit den Trichloracetimidaten **71** und **78**, deren Aufbau in den Kapiteln 3.2 bis 3.5 beschrieben wurde, und dem Disaccharid-Threonin-Konjugat **99**, mit dessen Herstellung sich die Kapitel 3.6 und 3.7 befassen, sowohl der jeweilige Glycosyldonor als auch der benötigte -akzeptor zur Verfügung.

Bei der Glycosylierung des Bausteins **99** ist trotz des Vorliegens zweier freier OH-Gruppen nahezu ausschließlich eine Umsetzung der primären Hydroxylfunktion in der 6-Position der Galactosamineinheit zu erwarten. An dieser Stelle sollte die Reaktivität um ein Vielfaches höher sein als in der 4-Position, welche sowohl durch den Raumbedarf des benachbarten Galactosylrests als auch über 1,3-diaxiale Wechselwirkungen eine starke sterische Hinderung erfährt. Bestätigt findet sich diese Annahme mehrfach in der Literatur, beispielsweise im Zusammenhang mit einer ähnlichen Problemstellung.^[181] Selbst bei der Sialylierung eines zusätzlich in 3-Stellung des Zuckers ungeschützten Galactose-Threonin-Konjugats wird regioselektiv die in der 6-Position derivatisierte Verbindung erhalten.^[327]

Es ist auf der Grundlage der allgemeinen Erfahrungen in diesem Sinne anzunehmen, dass für die angestrebten Synthesen eine selektive Deblockierung der primären Hydroxylfunktion des Galactosamins nicht vonnöten ist, um die Bildung eines einheitlichen Produkts bei den Glycosylierungsreaktionen zu gewährleisten. Demzufolge wurde bei der Herstellung des Glycosylakzeptors auf eine regioselektive Öffnung des Benzylidenacetals zugunsten der vollständigen Abspaltung der Schutzgruppe verzichtet (vgl. Kapitel 3.7). Auch im Hinblick auf die wahrscheinliche Beeinträchtigung der Glycosylierungsausbeute, zu der das Vorliegen einer Benzyletherfunktion in 4-Stellung führen mag, und in Anbetracht der eventuell auf einer späteren Stufe auftretenden Probleme bei dem Versuch einer vollständigen Deblockierung erscheint die Entscheidung durchaus sinnvoll.

3.8.1 Der Sialyl-Lewis^x enthaltende Glycosylaminosäure-Baustein

Setzt man das Disaccharid-Threonin-Konjugat **99** nach Schmidt^[263-266] mit dem Trichloracetimidat **71** unter dem aktivierenden Einfluss von Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) um, so kann man das gewünschte Hexasaccharid-Threonin-Konjugat **100** in einer Ausbeute von 23 % isolieren (Schema 3.43).



Schema 3.43: Die Synthese des Hexasaccharid-Threonin-Konjugats **100**.

Dabei wird im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Glycosylierungsreaktionen der Akzeptor in einem geringen Überschuss eingesetzt, um den Verlust an dem wertvollen Tetrasaccharid-Baustein möglichst klein zu halten.

Dass bei der Reaktion tatsächlich die β -glycosidische Bindung gebildet wird, wie es infolge des von der Carbamatfunktion in 2-Stellung des Glycosyldonors ausgeübten Nachbargruppeneffekts zu erwarten ist, lässt sich wiederum NMR-spektroskopisch anhand der großen Kopplungskonstante $^3J_{\text{H1,H2}}$ von 8.0 Hz für das anomere Proton belegen.

Der Nachweis der regiochemischen Gegebenheiten hingegen gelingt in diesem Fall nicht auf die übliche Weise mittels eines HMBC-Experiments, da das entsprechende Spektrum weder eine Kopplung des anomeren Protons des Glucosamins mit dem Kohlenstoffatom-6 (bzw. dem Kohlenstoffatom-4) des Galactosamins noch einen Kreuzpeak zwischen dem anomeren Zentrum und einem Proton in 6- (bzw. 4-) Stellung des Glycosylakzeptors zeigt. Für das Vorliegen der gewünschten Verknüpfung über die 6-Position des Galactosamins sprechen allerdings die NOE-Kontakte zwischen dem anomeren Proton der

Glucosamineinheit und den Methylenprotonen am Kohlenstoffatom-6 des Galactosamins, welche dem zugehörigen NOESY-Spektrum eindeutig zu entnehmen sind, obgleich im ^1H -NMR-Spektrum die Signale für H1-GlcN und H1-Gal zusammenfallen (Abb. 3.10).

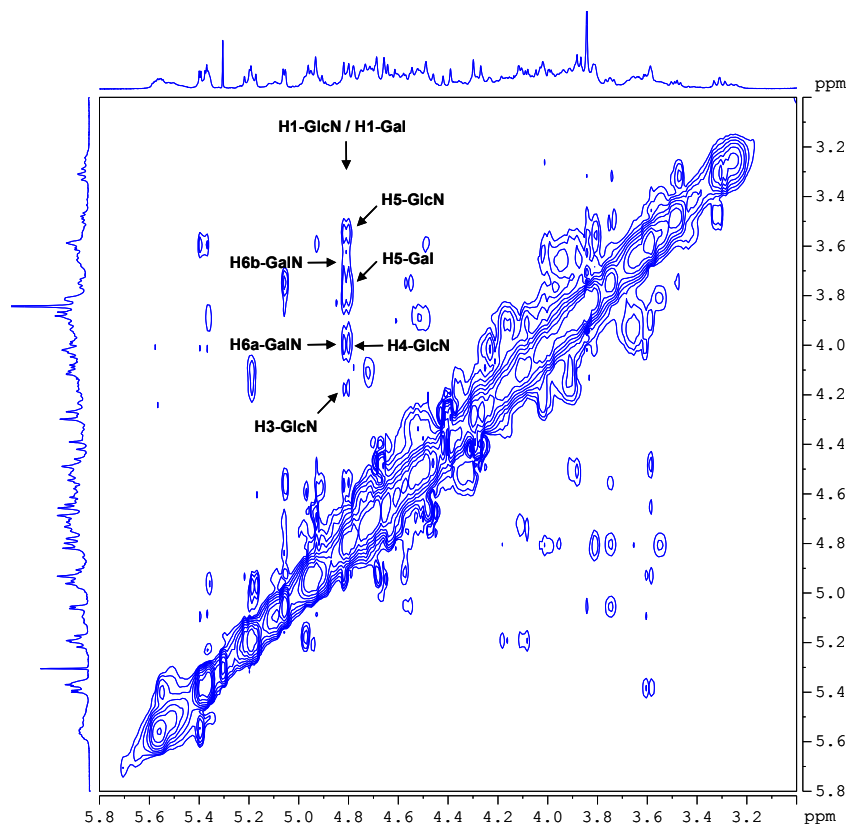


Abb. 3.10: Ein Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von Verbindung **100**.

Ein Signal für einen solchen Kontakt mit dem Proton in der 4-Position des Galactosamins wird nicht aufgefunden. Da dieses NMR-Experiment jedoch lediglich Wechselwirkungen zwischen räumlich benachbarten Kernen und keine Kopplungen über chemische Bindungen wiedergibt und eine räumliche Nähe des anomeren Protons H1-GlcN zu den Methylenprotonen H6a,b-GalN auch denkbar wäre bei einer Anbindung des Tetrasaccharids an das Sauerstoffatom in 4-Stellung, kann das Auffinden der genannten Signale zwar als Anzeichen, nicht aber als zweifelsfreier Beweis für das Vorliegen der angestrebten Verknüpfung gewertet werden. Vielmehr bleibt abzuwarten, ob eine eindeutige Aufklärung der Struktur anhand entsprechender aus dem HMBC-Spektrum zu entnehmender Kopplungen auf einer späteren Stufe der Synthese möglich ist.

Erwähnt werden soll an dieser Stelle allerdings noch, dass die bestehenden NOE-Kontakte zwischen dem anomeren Proton der Glucosamineinheit und den axial orientierten Protonen in 3- sowie in 5-Stellung des Glucosaminylnests zusätzlich das Vorliegen der β -glycosidischen Verknüpfung belegen.

Das angestrebte Hexasaccharid-Threonin-Konjugat **100** kann durch die oben beschriebene Umsetzung zwar gewonnen werden, jedoch führt die Reaktion insgesamt zu einem bemerkenswerten, absolut unerwarteten und interessanten Ergebnis: Während man das gewünschte Produkt **100** nur in einer Ausbeute von 23 % erhält, isoliert man im Zuge der flashchromatographischen Reinigung neben 7 % des eingesetzten Glycosyldonors **71**, der trotz der wässrigen Aufarbeitung in nicht hydrolysierte Form zurückgewonnen wird, eine große Menge einer Substanz, welche deutlich unpolarer als die Verbindung **100** ist, allerdings das gleiche Molekulargewicht wie jene aufweist. Erstaunlicherweise handelt es sich dabei um das Regioisomer der Verbindung **100**, das über die 4-Position der Galactosamineinheit verknüpfte Hexasaccharid-Threonin-Konjugat **101** (Abb. 3.11), welches in einer hohen Ausbeute von 59 % entsteht.

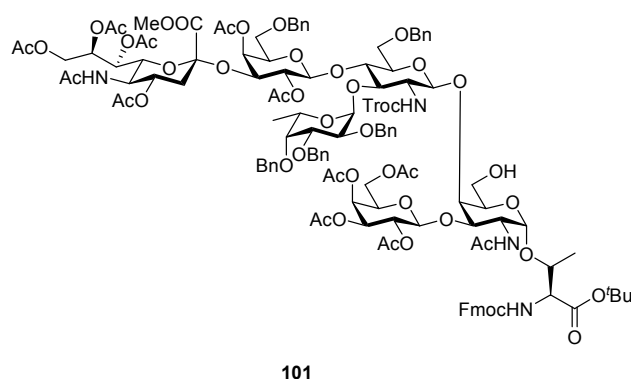


Abb. 3.11: Das Hexasaccharid-Threonin-Konjugat **101** als „Neben“produkt der Glycosylierung.

Zwar ist eine vollständige Interpretation der NMR-Spektren dieser Substanz aufgrund von zu vielen an den entscheidenden Stellen auftretenden Signalüberlagerungen nicht möglich und eine zweifelsfreie Aufklärung der vorliegenden Struktur daher nicht zu erreichen, jedoch ergibt ein Vergleich der für die Verbindungen **100** und **101** zu erhaltenden phasensensitiven ^1H - ^{13}C -korrelierten Spektren (HSQC bzw. HMQC) einen äußerst charakteristischen Unterschied bei einem ansonsten eher ähnlichen Erscheinungsbild: Während sich anhand der Kreuzpeaks für die Methylengruppe des Galactosaminyrests im Falle des gewünschten Produkts **100** eine chemische Verschiebung für das Kohlenstoffatom-6 von 69.15 ppm ermitteln lässt (Abb. 3.12), ist bei dem entsprechenden Konkurrenzprodukt **101**, relativ gesehen, eine deutliche Hochfeldverschiebung zu verzeichnen (Abb. 3.13), sowohl für das Signal des besagten Kohlenstoffatoms ($\delta = 59.15$ ppm) als auch für die Signale der zugehörigen Protonen ($\delta_{\text{H6a}} = 3.73$ ppm und $\delta_{\text{H6b}} = 3.43$ ppm für **101** gegenüber $\delta_{\text{H6a}} = 3.96$ ppm und $\delta_{\text{H6b}} = 3.66$ ppm für **100**).

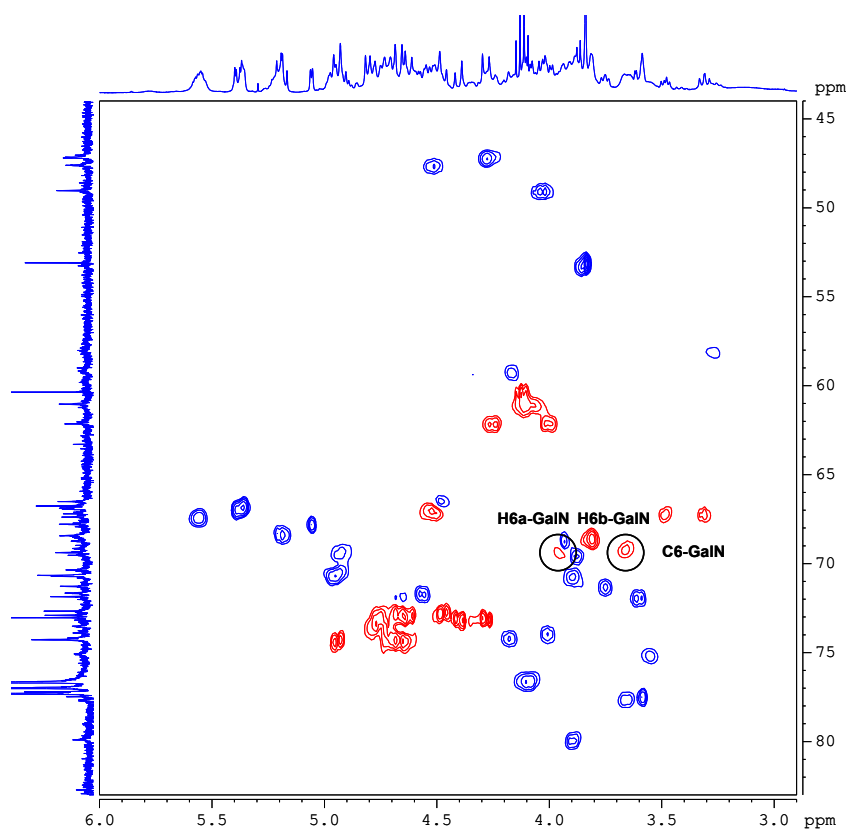


Abb. 3.12: Ein Ausschnitt aus dem HSQC-Spektrum von Verbindung 100.

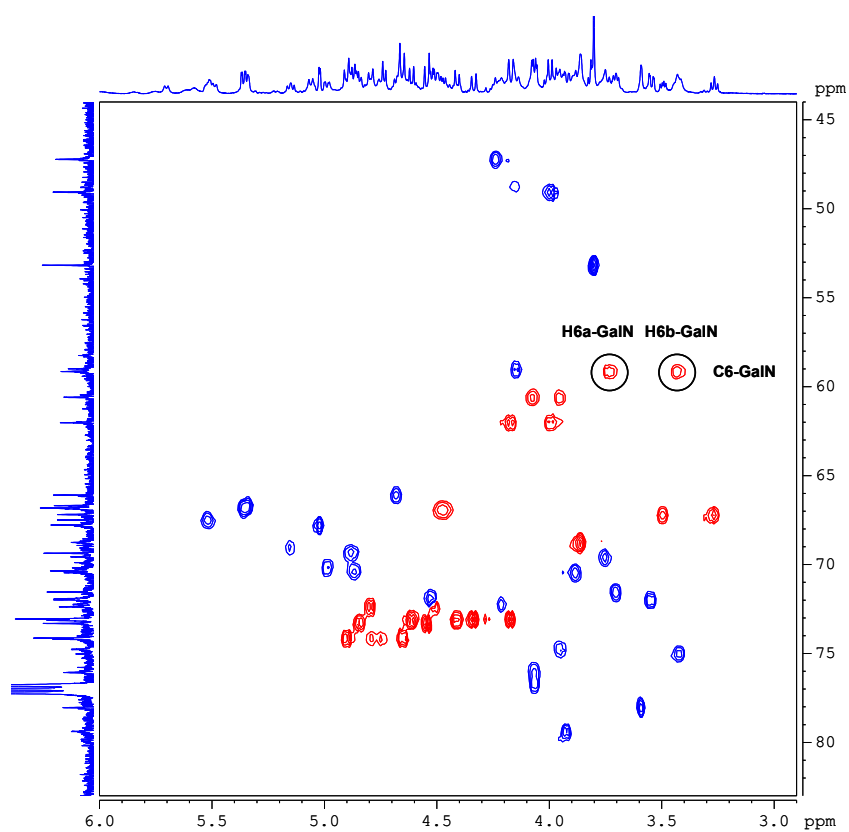


Abb. 3.13: Ein Ausschnitt aus dem HMQC-Spektrum von Verbindung 101.

Dies spricht dafür, dass es sich um eine CH_2 -Gruppe handelt, welche eine unsubstituierte Hydroxylfunktion trägt.

Um diese Vermutung bestätigen zu können, bietet es sich an, die Verbindung **101** einer Acetylierung zu unterziehen. Das aus dieser Umsetzung resultierende Produkt liefert schließlich ein HSQC-Spektrum, in welchem die Kreuzpeaks für die interessierende Methylengruppe abermals signifikant verschoben sind (Abb. 3.14):

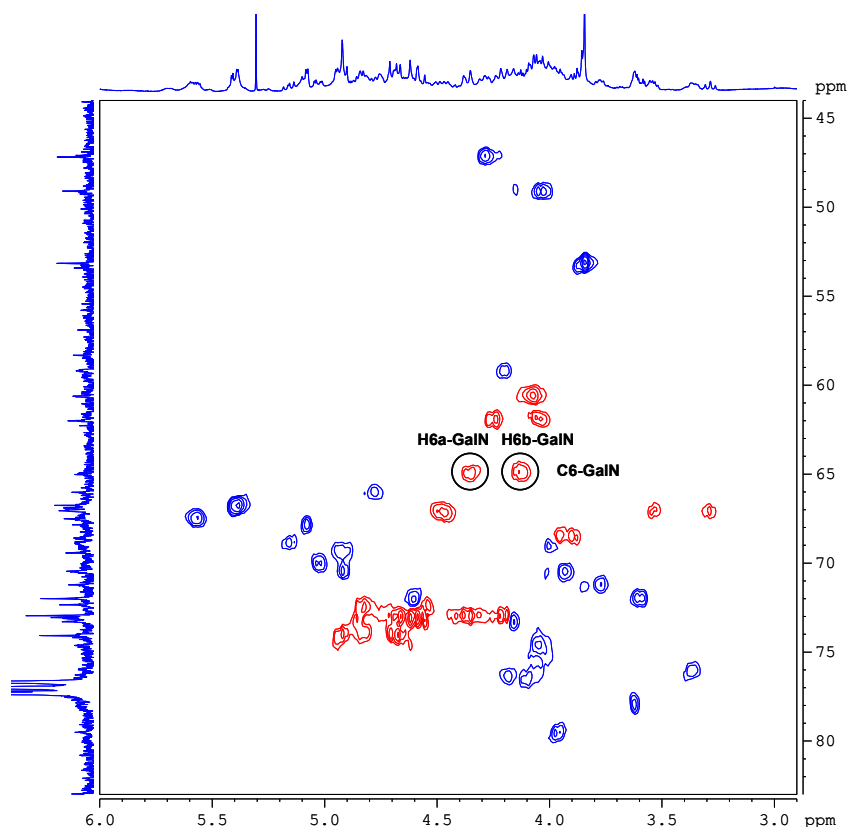


Abb. 3.14: Ein Ausschnitt aus dem HSQC-Spektrum des Produkts der Acetylierung von Verbindung **101**.

Sowohl das Kohlenstoffsignal ($\delta = 65.03$ ppm) als auch die Signale für die zugehörigen Protonen ($\delta_{\text{H6a}} = 4.36$ ppm und $\delta_{\text{H6b}} = 4.14$ ppm) erfahren, relativ zu den Signalen für die entsprechenden Kerne der Ausgangsverbindung gesehen, eine charakteristische Tieffeldverschiebung.

Dieser Befund wiederum bekräftigt den Verdacht, dass die Verbindung **101** über eine freie primäre Hydroxylfunktion verfügt, welche nun in acetylierter Form vorliegt.

Obgleich alle Anzeichen darauf hindeuten, dass die Glycosylierung des zweifach ungeschützten Disaccharid-Threonin-Konjugats **99** tatsächlich in erster Linie zu dem unerwünschten in der 4-Position der Galactosamineinheit substituierten Produkt **101** führt, bleibt zu klären, aus welchem Grund bzw. nach welchem Mechanismus es entgegen aller bisherigen Erfahrungen zu der eher unwahrscheinlich anmutenden Entstehung dieses Regioisomers kommt. Zur Zeit kann über Ursachen und Wege der Bildung dieses Produkts nur spekuliert werden. Eine Deutung des Reaktionsverlaufs bestünde zum Beispiel darin, davon auszugehen, dass es zunächst durch eine entsprechende Umsetzung der erwartungsgemäß reaktiveren Hydroxylgruppe in 6-Stellung intermediär zum Auftreten einer orthoesterartigen Struktur kommt. Diese könnte schließlich aufgrund einer günstigen räumlichen Orientierung einer Umlagerung zu dem über die 4-Position verknüpften Glycosylierungsprodukt unterliegen (Abb. 3.15). Die Bildung der orthoesterartigen Struktur ist allerdings bei Verwendung der Troc-Gruppe sonst nicht zu beobachten.^[212]

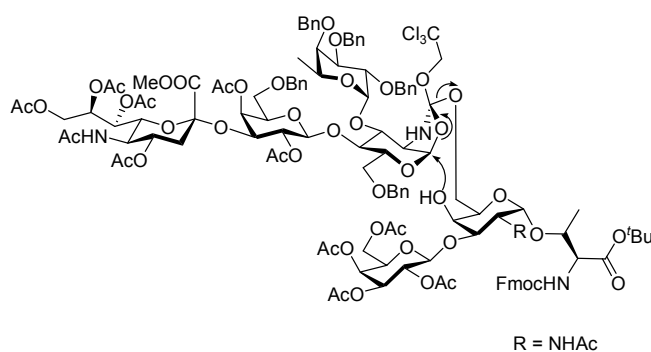


Abb. 3.15: Ein mögliches Intermediat bei der Bildung des Glycosylierungsprodukts **101**.

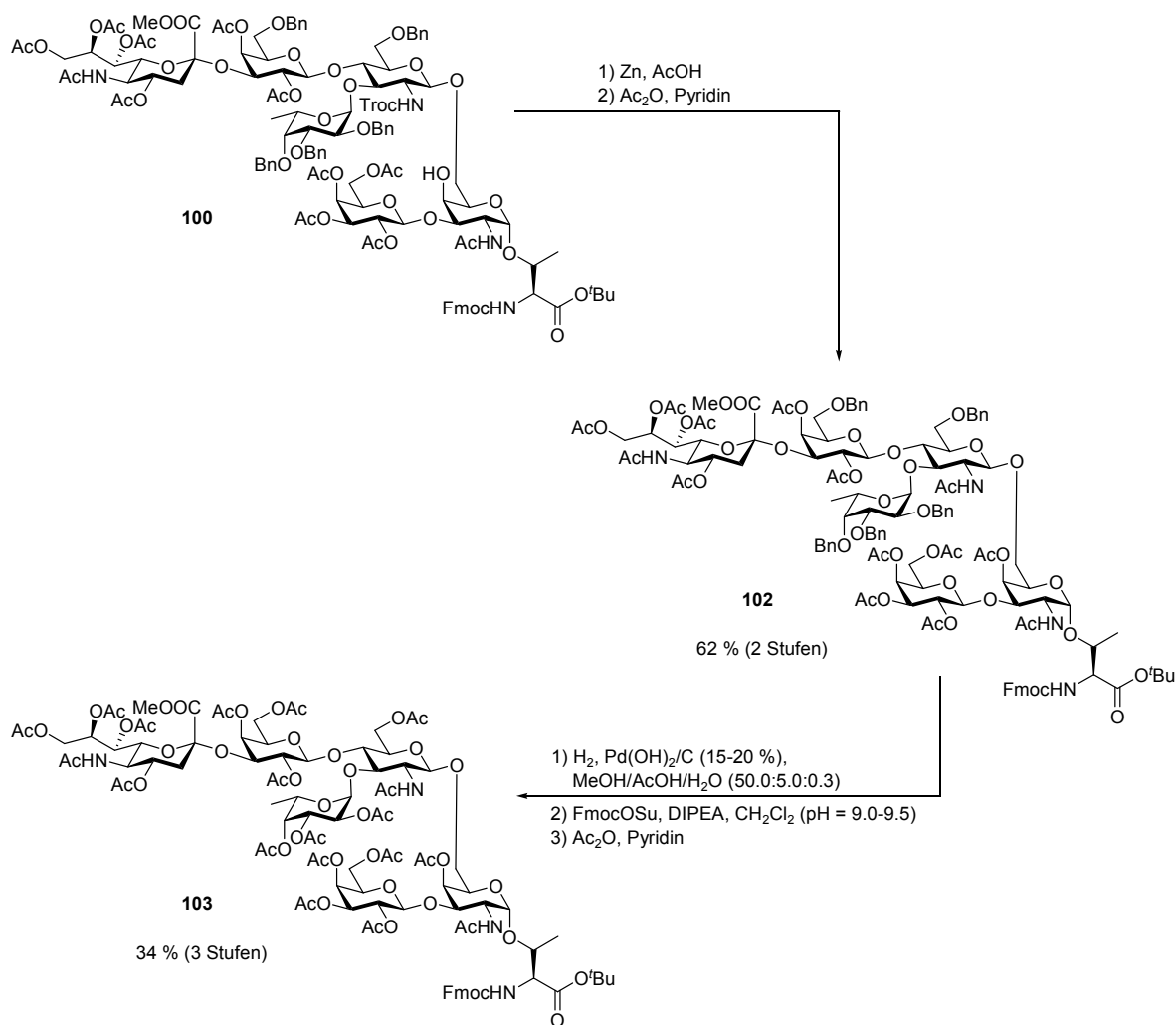
Es wäre von Interesse herauszufinden, inwieweit man durch Änderung der Reaktionsbedingungen, beispielsweise durch Variation der Temperatur, auf das Mengenverhältnis der sich bildenden regioisomeren Produkte Einfluss nehmen kann.

Zu ermitteln wäre ferner, ob der Einsatz eines in 4-Stellung blockierten Glycosylakzeptors eventuell doch, trotz des vermutlichen Auftretens der zu Beginn des Kapitels dargelegten nachteiligen Effekte, einen sinnvollen Ansatz zur Lösung des Problems bieten kann.

Aus Zeitgründen konnten im Rahmen dieser Arbeit derartige Untersuchungen nicht mehr durchgeführt werden.

Die Herstellung des angestrebten Hexasaccharid-Threonin-Bausteins für die Glycopeptid-Festphasensynthese schließlich erfordert noch einige Schutzgruppenmanipulationen an dem Glycosylierungsprodukt **100** (Schema 3.44).

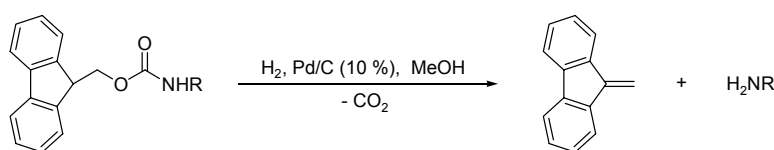
Zunächst wird der Trichlorethoxycarbonylrest reduktiv mit aktiviertem Zink in Essigsäure entfernt.^[214] Die resultierende freie Aminofunktion wird ohne eine vorherige Reinigung des Rohprodukts mit einer Mischung aus Essigsäureanhydrid und Pyridin acetyliert. Dabei kommt es außerdem zu einer Blockierung der Hydroxylgruppe in 4-Stellung der Galactosamineinheit als Acetat, und man erhält das vollständig geschützte Acetamid **102** nach der Reinigung in einer Ausbeute von 62 % bezogen auf Verbindung **100**.



Schema 3.44: Die Synthese des vollständig blockierten Hexasaccharid-Threonin-Konjugats **103**.

In Abwesenheit der Troc-Gruppe kann an dieser Stelle nun auch die reduktive Spaltung der Benzylether vorgenommen werden (vgl. Abschnitt 3.5.1). Zu diesem Zweck scheint der Einsatz des besonders reaktiven *Pearlman*-Katalysators (Pd(OH)₂ auf Aktivkohle)^[328] geeignet zu sein, wie Versuche zur Debenzylierung an dem im Rahmen der vorliegenden

Arbeit hergestellten Mimetikum des Hexasaccharid-Threonin-Konjugats **102** ergaben (vgl. Abschnitt 3.8.2). Bevor alle Benzylreste entfernt sind, kommt es dabei allerdings auch zu einer vollständigen Abspaltung der Fmoc-Gruppe, welche im Folgenden erneut eingeführt werden muss. Die in der Literatur zu findenden Angaben zur Stabilität der Aminoschutzgruppe unter den Bedingungen einer katalytischen Hydrierung sind widersprüchlich: Während *Carpino und Han* deren Erhalt bei hydrogenolytischen Schutzgruppenabspaltungen über Palladium auf Aktivkohle beschrieben,^[329] beobachteten *Atherton et al.* beispielsweise unter analogen Bedingungen die Entstehung des mesomeriestabilisierten Dibenzofulvens,^[330] wobei unter Kohlenstoffdioxidbildung die Aminofunktion freigesetzt wird (Schema 3.45).



Schema 3.45: Der Verlust der Fmoc-Gruppe unter den Bedingungen einer katalytischen Hydrierung.

Auch *C. Filser*, der im Rahmen seiner Dissertation eine Reihe von Versuchen unternahm, Benzylether selektiv in Gegenwart der Carbamatfunktion zu spalten, stellte in allen Fällen eine simultane Entfernung der Fmoc-Gruppe fest.^[233] Da diese sich jedoch leicht wieder einführen lässt, sollte ihr Verlust für die hier beschriebenen Synthesen kein größeres Problem darstellen.

Bei der Durchführung der Debenzylierung ist allerdings unbedingt zu beachten, dass zunächst der Katalysator in einer Mischung aus Essigsäure und Wasser mit Wasserstoff gesättigt wird, bevor man eine gründlich entgaste Lösung des Substrats in Methanol zugibt. Legt man in Analogie zu der bei Debenzylierungsreaktionen üblichen Vorgehensweise eine Lösung der Substanz in einer Mischung aus Methanol, Essigsäure und Wasser vor, versetzt diese mit dem Katalysator und setzt sie erst dann einer Wasserstoffatmosphäre aus, so kommt es in ganz erheblichem Maße zu einer Methylierung der ungeschützten Aminofunktion des Threonins. Dies ist vermutlich auf eine durch den Palladiumkatalysator bewirkte Bildung von Formaldehyd aus Methanol während des Entgasens der Reaktionsmischung in Abwesenheit von Wasserstoff zurückzuführen. Durch Anwendung der oben beschriebenen Methode kann die unerwünschte Nebenreaktion zwar in den meisten Fällen vermieden werden, jedoch lässt sie sich nicht reproduzierbar unterdrücken. Demnach scheint es allgemein ratsam zu sein, einen Wechsel des Lösungsmittels vorzunehmen. Anbieten würde sich für diesen Zweck zum Beispiel der Einsatz von Dioxan anstelle der Verwendung von Methanol. Ob ein solcher Austausch tatsächlich zum Erfolg

führt, konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit aus Zeitgründen allerdings nicht mehr untersucht werden.

Die Debenzylierung betreffend, sollte an dieser Stelle noch angemerkt werden, dass eine Kontrolle des Reaktionsfortschritts mittels analytischer RP-HPLC unter Verwendung eines auf UV/VIS-Absorption beruhenden Detektors nicht zu bewerkstelligen ist. Lediglich das Vorhandensein bzw. die erfolgte Umsetzung des in die Reaktion eingebrachten Edukts lässt sich auf diese Weise überprüfen. Sobald es aber zum Verlust der Fmoc-Gruppe gekommen ist, können die einzelnen, verschieden stark benzylierten Verbindungen nicht mehr detektiert werden, da sie gegenüber dem Fmoc-Spaltprodukt UV/VIS-Licht deutlich schwächer absorbieren. Deshalb muss der Ablauf der Reaktion massenspektrometrisch verfolgt werden.

Die sich anschließende erneute Einführung der Fmoc-Gruppe gelingt durch Umsetzung des Rohprodukts der Debenzylierung mit Fluoren-9-ylmethyl-succinimidylcarbonat (FmocOSu) in Gegenwart von *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) bei einem pH-Wert von 9.0 bis 9.5. Um einen möglichst vollständigen Umsatz zu erzielen, muss man dabei streng darauf achten, dass der pH-Wert eher bei 9.5 als bei 9.0 liegt. In Anbetracht der Tatsache, dass es im basischen Milieu auch zur Abspaltung der Schutzgruppe kommen kann (Halbwertszeit (Fmoc-Val-OH / 50 % DIPEA in DMF) ≈ 10 h),^[202] muss zudem der Nutzen einer verlängerten Reaktionszeit gewissenhaft erwogen werden. Die persönliche Erfahrung zeigt, dass eine sorgfältige Einstellung des pH-Werts von sehr viel größerer Bedeutung für das Erreichen einer hohen Ausbeute ist als die gewählte Reaktionszeit. Hinsichtlich der massenspektrometrischen Untersuchung des aus der Umsetzung resultierenden Rohprodukts sollte festgehalten werden, dass die gewünschte Verbindung vornehmlich als Addukt mit protoniertem DIPEA im Spektrum zu finden ist und das Edukt der Reaktion, das freie Amin, nicht zuverlässig detektiert werden kann.

Die Acetylierung des Rohprodukts mit einer Mischung aus Essigsäureanhydrid und Pyridin liefert schließlich das im Glycanteil vollständig acetylierte Hexasaccharid-Threonin-Konjugat **103** in einer Ausbeute von 34 % bezogen auf die benzylierte Verbindung **102**. Auch hier wird bei der massenspektrometrischen Untersuchung einer direkt aus dem Ansatz entnommenen Probe nur ein Massenpeak gefunden, welcher einem Addukt aus der gewünschten Substanz und protoniertem DIPEA zuzuordnen ist, da auf die Reinigung des in die Reaktion eingesetzten Edukts verzichtet wurde. Nach einer entsprechenden Reinigung des Rohprodukts dieser Stufe tritt jedoch der gewöhnliche $[M+Na]^+$ -Peak im Spektrum auf.

Die nur mäßige Ausbeute ist offensichtlich vor allem auf die unvollständige Wiederanknüpfung der Fmoc-Gruppe im zweiten Schritt der Reaktionssequenz zurückzuführen. Dementsprechend kann im Zuge der flashchromatographischen Reinigung neben dem

gewünschten Produkt **103** ebenfalls die an der Aminofunktion des Threonins acetylierte Verbindung **104** in einer Ausbeute von 24 % isoliert werden (Abb. 3.16).

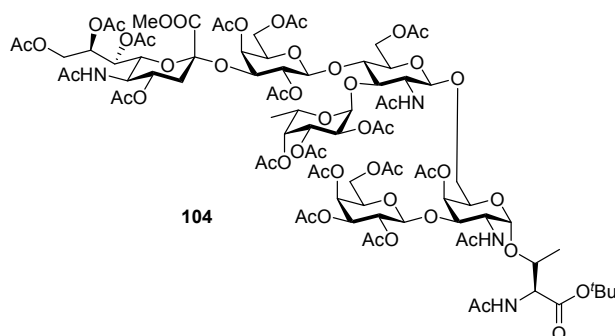


Abb. 3.16: Die an der Aminofunktion des Threonins acetylierte Verbindung **104** als ein Nebenprodukt der Schutzgruppenmanipulationen.

Im Rahmen dieser Arbeit gelang es leider nicht, eine zufriedenstellende Ausbeute für den Austausch der Benzyl- gegen die Acetylgruppen zu erreichen. Bei einem weiteren Ansatz, bei dem die *N*-terminale Blockierung der Aminosäure deutlich erfolgreicher als in dem oben geschilderten Fall verlief, war es im Verlauf der Hydrogenolyse bereits teilweise zu einer Methylierung der Aminofunktion gekommen. Infolgedessen führt die Reaktionssequenz letzten Endes zu einem flashchromatographisch nicht zu trennenden Gemisch aus dem gewünschten Produkt **103** und der entsprechenden methylierten Verbindung **105** (Abb. 3.17) in einem Verhältnis von etwa 1.2:1.0 (mittels analytischer RP-HPLC bei einer Wellenlänge von 214 nm bestimmt). Erstaunlicherweise beeinträchtigt das Vorhandensein der Methylgruppe in diesem Fall die Bildung des Carbamats nicht merklich.

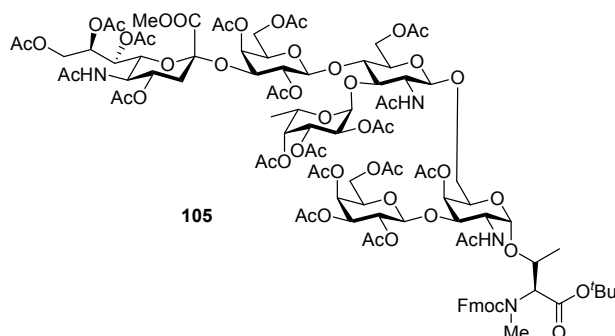


Abb. 3.17: Die an der Aminofunktion des Threonins methylierte Verbindung **105** als ein Nebenprodukt der Schutzgruppenmanipulationen.

Dafür, dass das Nebenprodukt **105** in der Tat die genannte Struktur besitzt, spricht zum einen das Ergebnis der massenspektrometrischen Untersuchung: Auch unter Hoch-

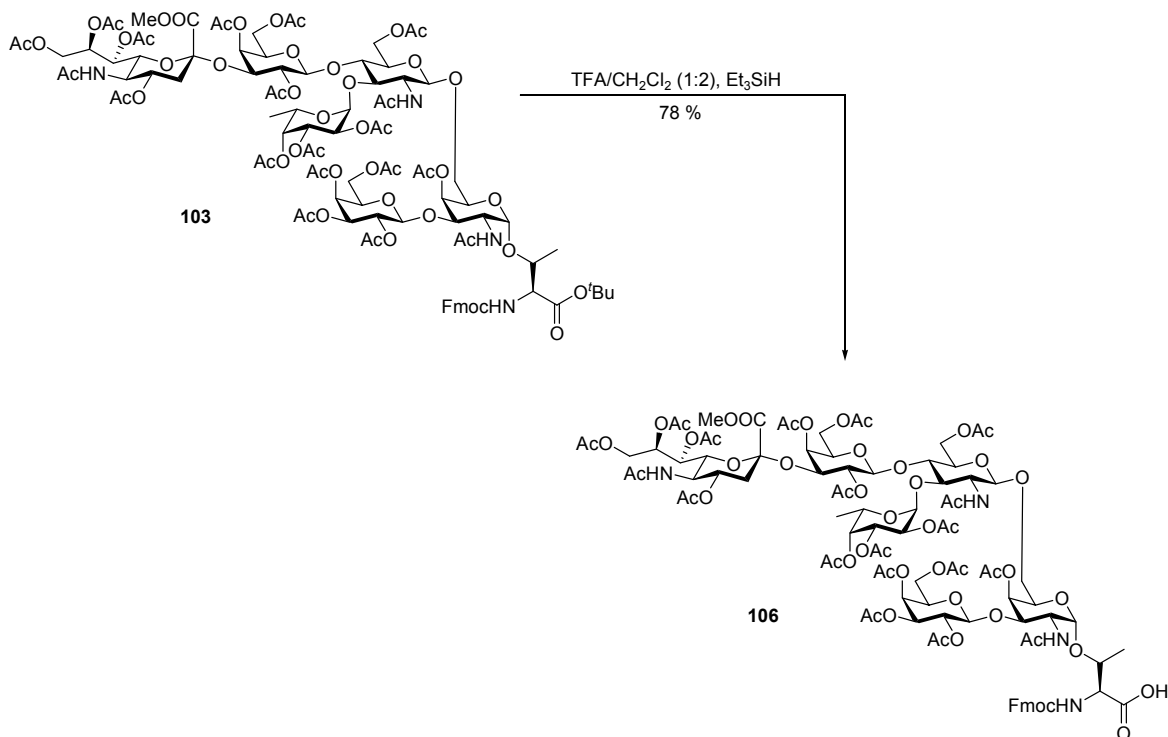
auflösung kann die Anknüpfung einer Methylgruppe belegt werden. Zum anderen weisen charakteristische Signale in den NMR-Spektren einer auf analogem Wege zu erhaltenden, auf dem Sialyl-Lewis^x-Mimetikum beruhenden Verbindung auf das tatsächliche Vorliegen der angenommenen Struktur hin (vgl. Abschnitt 3.8.2).

Dass in Verbindung **103** die Sialyl-Lewis^x-Einheit tatsächlich an das Sauerstoffatom in der 6-Position des Galactosamins gebunden ist, wie zunächst nach der Glycosylierungsreaktion auf der Grundlage der zu beobachtenden NOE-Kontakte vermutet wurde (vgl. Seite 83), kann hingegen auch auf dieser Stufe nicht bewiesen werden. Das HMBC-Spektrum der reinen Substanz lässt erneut weder eine Kopplung zwischen dem anomeren Proton und einem Kern des Galactosamins noch einen Kreuzpeak zwischen dem Kohlenstoffatom-1 des Glucosamins und den entscheidenden Protonen der Galactosamineinheit erkennen. Demzufolge bleibt zu hoffen, dass das Problem zu einem späteren Zeitpunkt endgültig zweifelsfrei gelöst werden kann. Die NMR-Spektren von Verbindung **103** sind allerdings in ihrem Erscheinungsbild denen des entsprechenden auf dem Sialyl-Lewis^x-Mimetikum basierenden Bausteins äußerst ähnlich, wobei sich die angenommene Regiochemie für das Mimetikum eindeutig anhand seines HMBC-Spektrums belegen lässt (vgl. Abschnitt 3.8.2). Dies wiederum spricht auch im Falle des Konjugats **103** für das Vorliegen der gewünschten Struktur.

Die NMR-Spektren von Verbindung **103** betreffend, soll an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass es im Allgemeinen zu einer signifikanten Verbreiterung der einzelnen Signale, insbesondere der ¹³C-Signale für verschiedene Kerne der Glucosamineinheit, kommt. Infolgedessen sind innerhalb des Glucosaminylorests ferner sowohl die ¹H-¹H-Kopplungen als auch die ¹H-¹³C-Kopplungen deutlich schwächer, als dies entsprechend der Theorie einerseits und den bisherigen Erfahrungen andererseits zu erwarten wäre. Dies äußert sich in einem deutlichen Verlust an Intensität, den die Kreuzpeaks in den zweidimensionalen Spektren (COSY, TOCSY, HSQC sowie HMBC) erfahren. Speziell die Lagen der Signale für das Kohlenstoffatom-2 des Glucosamins sowie das zugehörige Proton lassen sich dadurch nur schwer ausmachen. Eine Erklärung für dieses Phänomen steht noch aus.

Obgleich das bislang erzielte Resultat der beschriebenen Schutzgruppenmanipulationen verbesserungsbedürftig erscheint, ist anzunehmen, dass sich die Ausbeute auf der Grundlage der gemachten Erfahrungen in der Zukunft noch deutlich steigern lässt. Nachdem die besonderen Probleme der einzelnen Schritte bekannt sind und erste Lösungsansätze gefunden wurden, sollte sich die Reaktionssequenz entscheidend optimieren lassen.

Zur Herstellung des für den direkten Einsatz in der Festphasensynthese geeigneten Glycosylaminosäure-Bausteins (vgl. Abschnitt 3.9.3) muss abschließend nur noch der *tert*-Butylester des vollständig geschützten Hexasaccharid-Threonin-Konjugats **103** gespalten werden. Dies gelingt mit Trifluoressigsäure (TFA) in Dichlormethan unter Zusatz von Triethylsilan als Kationenfänger (Schema 3.46).^[331]



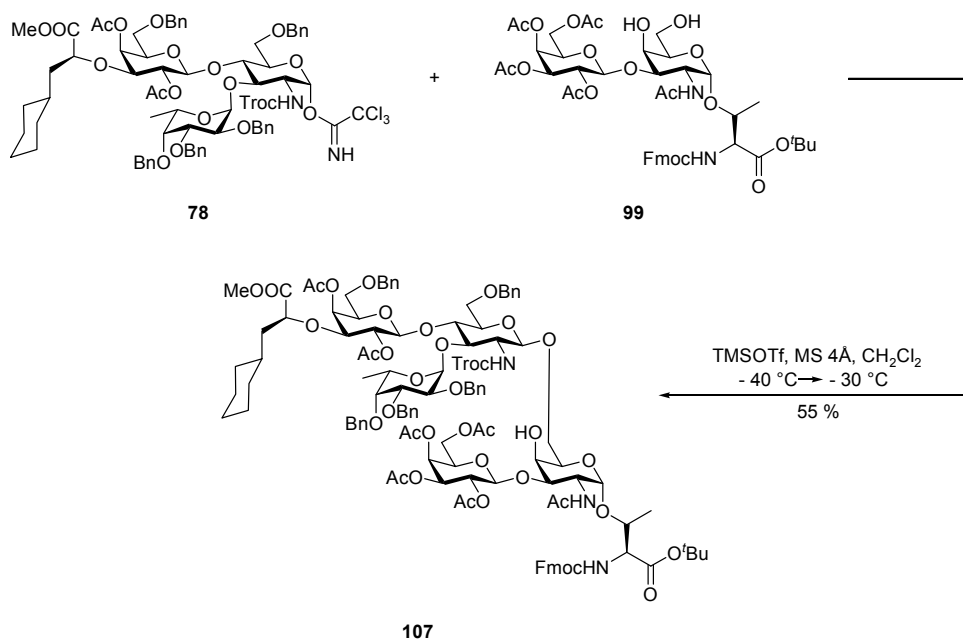
Schema 3.46: Die Synthese des Glycosylaminosäure-Bausteins **106**.

Die fucosidische Bindung bleibt dabei aufgrund des stabilisierenden Effekts der Acetylgruppen erhalten, und man gewinnt die freie Säure **106** nach flashchromatographischer Reinigung des Rohprodukts in einer Ausbeute von 78 %.

3.8.2 Der das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum enthaltende Glycosylaminosäure-Baustein

In Analogie zu der im vorangehenden Abschnitt beschriebenen Glycosylierung des Disaccharid-Threonin-Konjugats **99** mit dem Sialyl-Lewis^x-Derivat **71** wird der Glycosylakzeptor **99** auch mit dem Trichloracetimidat **78** nach Schmidt^[263-266] mit Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (TMSOTf) als Promotor umgesetzt (Schema 3.47). Dadurch kann die Verbindung **107**, ein Mimetikum des Hexasaccharid-Threonin-Konjugats **100**, nach

flashchromatographischer Reinigung des Rohprodukts in einer Ausbeute von 55 % erhalten werden.



Schema 3.47: Die Synthese des „Pseudohexasaccharid“-Threonin-Konjugats **107**.

In diesem Fall wird das dem Baustein **101** entsprechende Nebenprodukt **108** (Abb. 3.18) nur in einer Ausbeute von 33 % isoliert. Die Entstehung des gewünschten über das Sauerstoffatom in 6-Stellung des Galactosamins verknüpften Glycosylierungsprodukts **107** ist hier also tatsächlich gegenüber der Bildung des Regioisomers **108** bevorzugt.

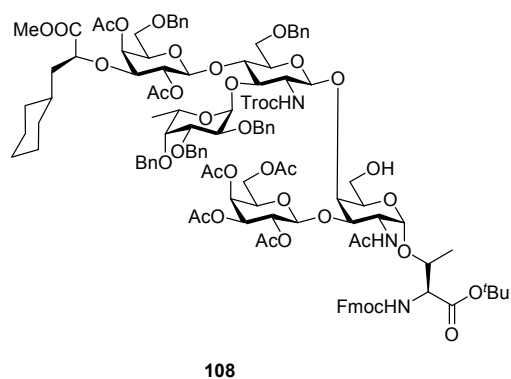


Abb. 3.18: Das „Pseudohexasaccharid“-Threonin-Konjugat **108** als Nebenprodukt der Glycosylierung.

Worauf der Unterschied in den Ergebnissen der beiden Glycosylierungsreaktionen zurückzuführen ist, bleibt unklar, ebenso wie der Mechanismus, nach welchem es überhaupt zur Umsetzung des Lewis^x-Derivats mit der generell unreaktiveren, sekundären Hydroxylfunktion in der 4-Position des Glycosylakzeptors kommen kann.

Die tatsächliche Ausbildung der angestrebten β -glycosidischen Bindung im Produkt **107** kann abermals NMR-spektroskopisch anhand der großen Kopplungskonstante $^3J_{H1,H2}$ von 7.4 Hz für das anomere Proton der Glucosamineinheit belegt werden, während der Nachweis der Regiochemie auf dieser Stufe auch in diesem Fall nicht gelingt. Da – wie schon zuvor bei der sialylierten Verbindung **100** – keine Kreuzpeaks im HMBC-Spektrum der Substanz **107** aufgefunden werden können, welche Aufschluss über den Ort der Anknüpfung geben, muss abgewartet werden, ob eine zweifelsfreie Aufklärung der Struktur auf einer späteren Stufe möglich ist. Als deutliche Anzeichen für das Vorliegen der gewünschten Anbindung können allerdings wiederum die NOE-Kontakte gewertet werden, welche dem NOESY-Spektrum der Verbindung **107** zu entnehmen sind (Abb. 3.19).

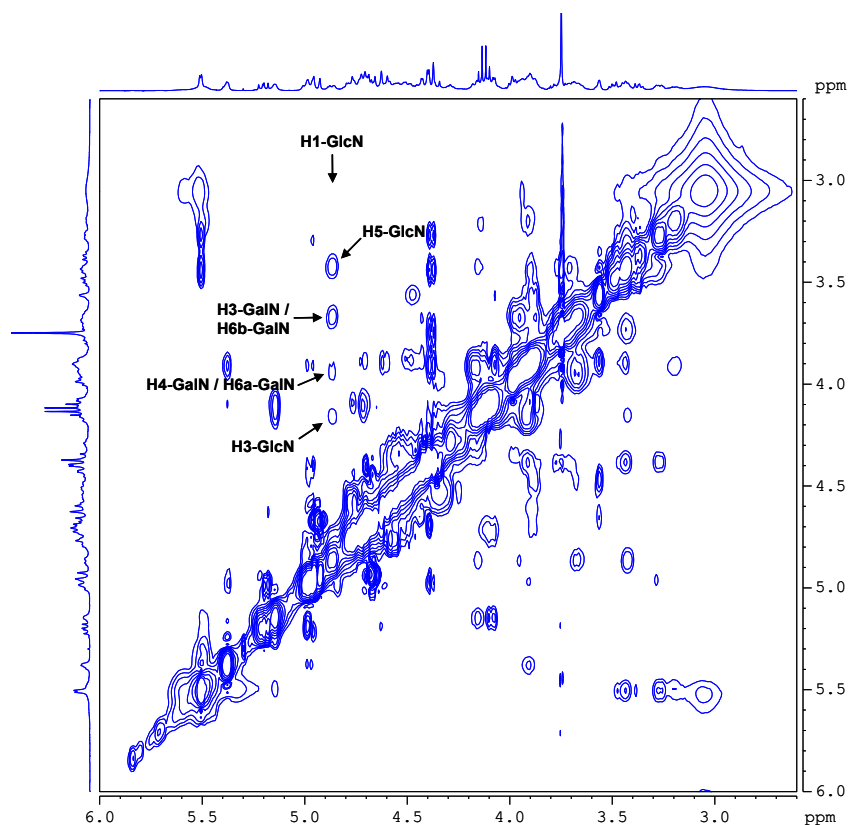


Abb. 3.19: Ein Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von Verbindung **107**.

In diesem Fall ist allerdings zu beachten, dass das Signal für H6a-GalN mit demjenigen für H4-GalN überlagert ist, so dass die Wechselwirkung zwischen dem anomeren Proton des Glucosamins und einem Proton der Methylengruppe der Galactosamineinheit leicht durch einen Kontakt zwischen H1-GlcN und dem Proton in 4-Stellung des Galactosamins vorgetäuscht werden könnte. Da jedoch ein Kontakt zwischen H1-GlcN und dem zweiten Proton der CH₂-Gruppe festzustellen ist, dürfte es sich dennoch um die angegebene Verknüpfung handeln. Zwar fällt auch das Signal für H6b-GalN mit einem weiteren

Signal, und zwar demjenigen für H3-GalN, zusammen, jedoch erscheint eine räumliche Nähe zwischen H1-GlcN und H3-GalN unabhängig von der Art der Verknüpfung der beiden Reaktionspartner unwahrscheinlich.

Wie bereits in Abschnitt 3.8.1 erwähnt, spricht auch hier das Auftreten von Kontakten zwischen H1-GlcN und den axial orientierten Protonen in 3- sowie in 5-Stellung desselben Bausteins für die β -glycosidische Bindung, was bereits aus der Größe der Kopplungskonstante $^3J_{H1,H2}$ abgeleitet wurde.

Die Struktur des Nebenprodukts **108** der Glycosylierung lässt sich NMR-spektroskopisch ebenso wenig zweifelsfrei belegen wie die der sialylierten Verbindung **101**. Ein Vergleich seines HSQC-Spektrums (Abb. 3.20) mit demjenigen des Hauptprodukts **107** (Abb. 3.21) führt allerdings zu dem gleichen Ergebnis wie die Gegenüberstellung der entsprechenden Spektren für die sialylierten Verbindungen, die im vorangehenden Abschnitt beschrieben wurden: Da sowohl das Signal für das Kohlenstoffatom-6 des Galactosamins als auch die Signale für die zugehörigen Protonen im Falle des Nebenprodukts **108** relativ zu den entsprechenden Signalen des gewünschten Produkts **107** eine deutliche Hochfeldverschiebung aufweisen ($\delta_{C6} = 59.19$ ppm, $\delta_{H6a} = 3.80$ ppm sowie $\delta_{H6b} = 3.50$ ppm für **108** gegenüber $\delta_{C6} = 69.56/69.43$ ppm, $\delta_{H6a} = 3.96$ ppm und $\delta_{H6b} = 3.67$ ppm für **107**), dürfte diese Methylengruppe eine unsubstituierte Hydroxylgruppe tragen.

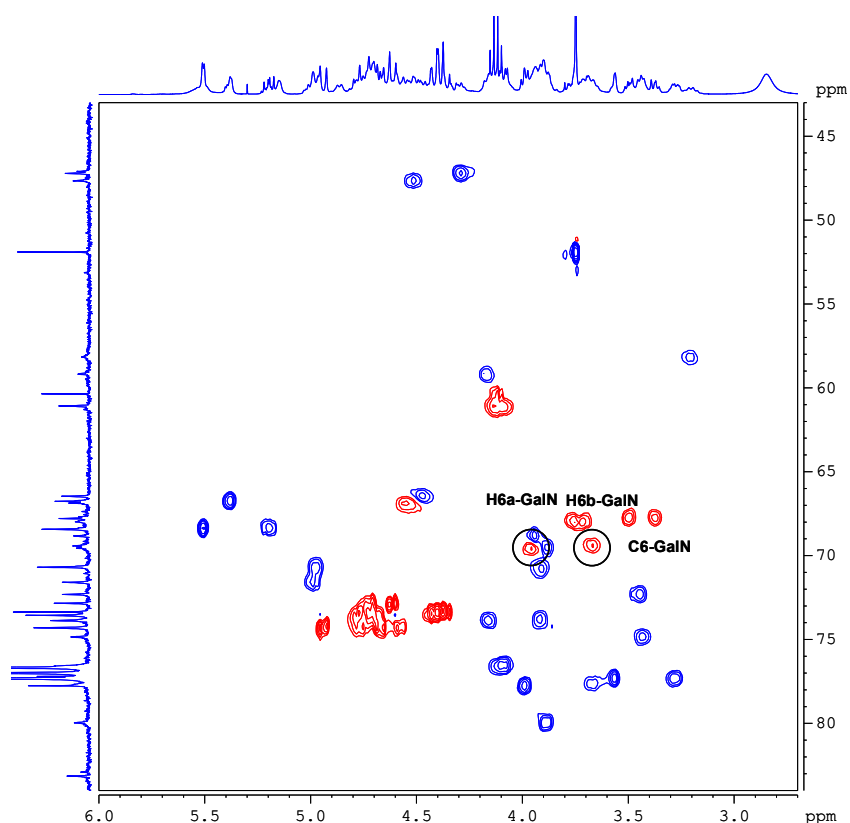


Abb. 3.20: Ein Ausschnitt aus dem HSQC-Spektrum von Verbindung **107**.

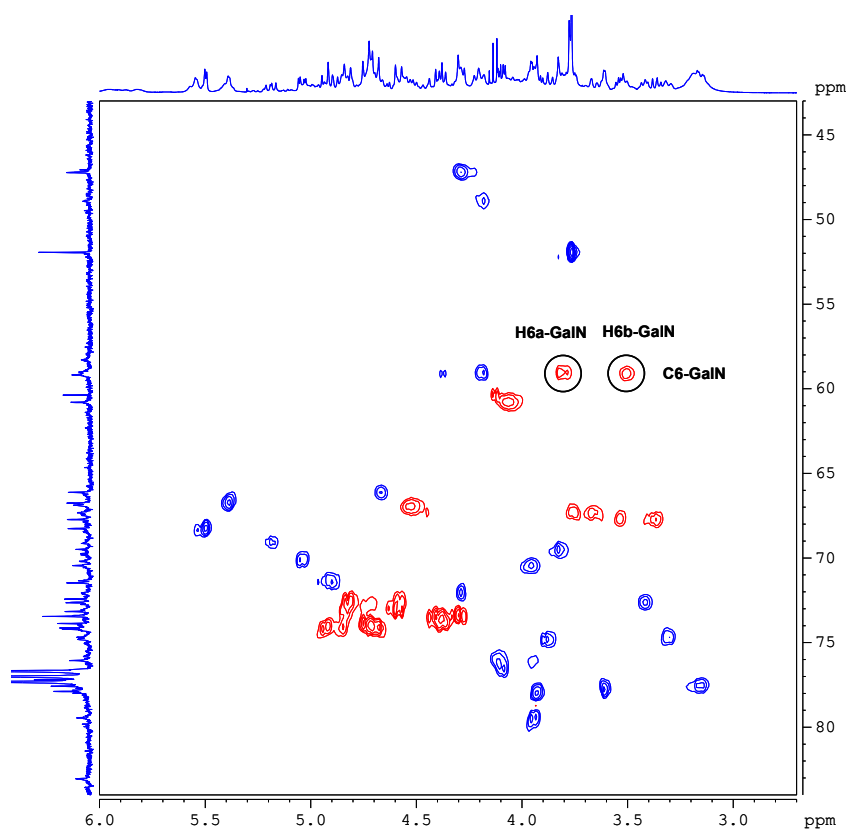


Abb. 3.21: Ein Ausschnitt aus dem HSQC-Spektrum von Verbindung 108.

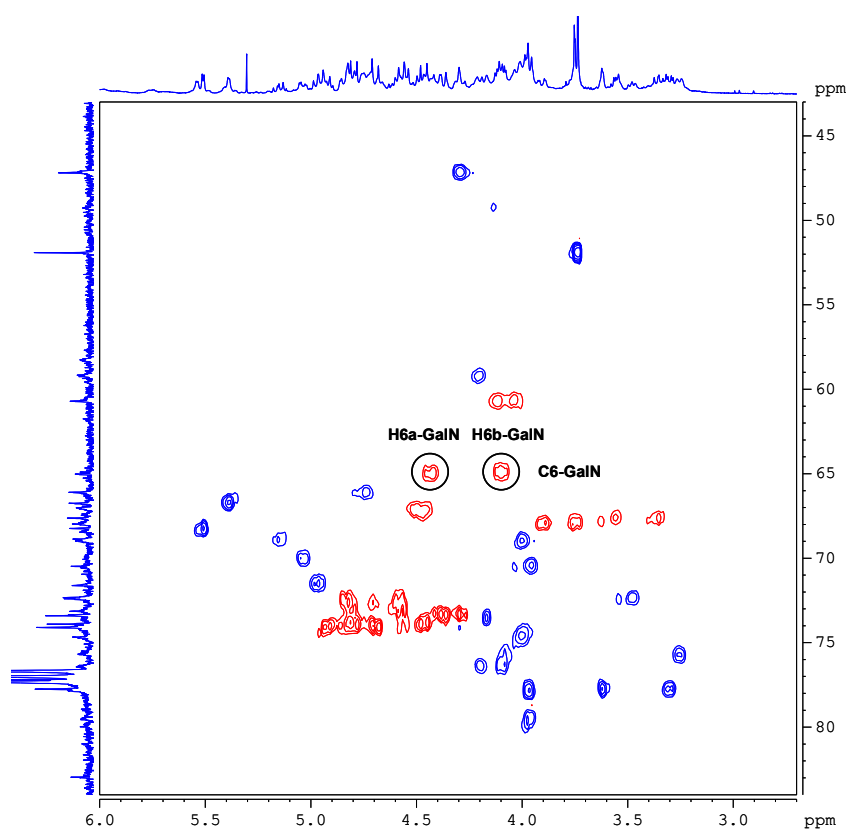
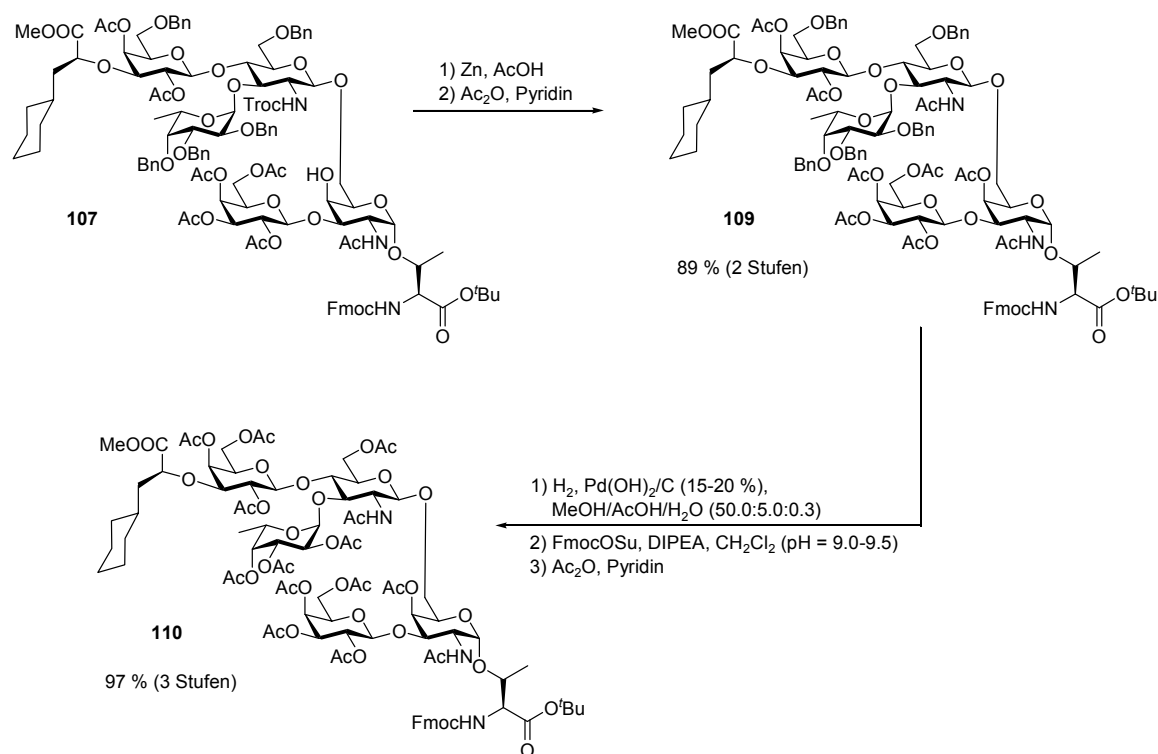


Abb. 3.22: Ein Ausschnitt aus dem HSQC-Spektrum des Produkts der Acetylierung von Verbindung 108.

Im Einklang mit dieser Vermutung steht wieder der Befund, dass es bei einer Acetylierung der Verbindung **108** zu einer charakteristischen Tieffeldverschiebung der entscheidenden Signale kommt ($\delta_{C6} = 65.03$ ppm, $\delta_{H6a} = 4.44$ ppm sowie $\delta_{H6b} = 4.10$ ppm), was erneut für das Vorliegen einer Acetatfunktion an dieser Stelle spricht (Abb. 3.22).

An dem Glycosylierungsprodukt **107** werden schließlich die gleichen Schutzgruppenmanipulationen vollzogen, die bereits im vorangehenden Abschnitt beschrieben wurden (Schema 3.48).

Im ersten Schritt wird die Troc-Gruppe mit aktiviertem Zink in Essigsäure abgespalten,^[214] wobei das entsprechende freie Amin entsteht. Dieses überführt man ohne eine vorherige Reinigung des Rohprodukts mit einer Mischung aus Essigsäureanhydrid und Pyridin in das Acetamid **109**, das in einer Ausbeute von 89 % bezogen auf die Verbindung **107** isoliert werden kann. Auch hier tritt eine Acetylierung der Hydroxylfunktion in der 4-Position des Galactosamins ein.



Schema 3.48: Die Synthese des vollständig blockierten „Pseudohexasaccharid“-Threonin-Konjugats **110**.

Wie in Abschnitt 3.8.1 bereits bemerkt, sollte der fünffach benzylierte Baustein **109** als Substrat für die Optimierung der Reaktionsbedingungen der Debenzylierungsreaktion dienen. Als Katalysatoren (bzw. als Katalysatorvorstufe) für die hydrogenolytische Spaltung der Benzylether bieten sich prinzipiell Palladium(II)-acetat, Palladium auf Aktivkohle sowie Palladium(II)-hydroxid auf Aktivkohle an. Sowohl der Einsatz von

Palladium(II)-acetat als auch die Verwendung von Palladium auf Aktivkohle führen bei der vorliegenden Problemstellung jedoch nicht zum Erfolg: Während unter dem Einfluss der aus $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, Triethylsilan und Triethylamin gebildeten aktiven Katalysatorspezies^[332] unter dem Erhalt sämtlicher Benzyletherfunktionen lediglich die Fmoc-Gruppe entfernt wird, führt die nur langsam ablaufende Hydrierung in Gegenwart von Palladium auf Aktivkohle (10 % Pd) zu einem komplexen Produktgemisch. Beim Einsatz des besonders reaktiven *Pearlman*-Katalysators ($\text{Pd}(\text{OH})_2$ auf Aktivkohle)^[328] hingegen verläuft die Debenzylierung unter gleichzeitigem Verlust der Fmoc-Gruppe innerhalb von drei Tagen glatt. Die massenspektrometrische Kontrolle der Reaktion weist ausschließlich auf die Entstehung des gewünschten Produkts hin.

Das auf diesem Wege erhaltene Rohprodukt muss im Folgenden durch Umsetzung mit Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat (FmocOSu) in Gegenwart von *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) bei einem pH-Wert von 9.0 bis 9.5 wieder mit der Fmoc-Gruppe versehen und anschließend mit einer Mischung aus Essigsäureanhydrid und Pyridin vollständig acetyliert werden. Bei der massenspektrometrischen Untersuchung des Rohprodukts der erneuten Einführung der Aminoschutzgruppe wird in aller Regel wiederum ausschließlich ein Peak gefunden, welcher von einem Addukt aus der gewünschten Substanz und protoniertem DIPEA herrührt (vgl. Abschnitt 3.8.1). Das acetylierte Oligosaccharid-Threonin-Konjugat **110** kann schließlich in einer Ausbeute von 97 % bezogen auf die benzylierte Verbindung **109** erhalten werden.

Auf dieser Stufe gelingt nun der noch ausstehende Beweis der bei der Glycosylierung erzielten Verknüpfungsform: Da das für die acetylierte Verbindung **110** zu erhaltende HMBC-Spektrum zweifelsfrei Kopplungen zwischen dem anomeren Zentrum des Glucosamins und den beiden Protonen in 6-Stellung der Galactosamineinheit erkennen lässt (Abb. 3.23), kann die Struktur bestätigt werden.

Wie schon im vorangehenden Abschnitt zu den NMR-Spektren des Bausteins **103** erwähnt, kommt es auch hier zu einer merklichen Verbreiterung von Signalen. Erneut gilt dies im Besonderen für Peaks im ^{13}C -Spektrum, welche Kernen des Glucosamins zuzuordnen sind. Das Auffinden dieser Signale und derjenigen der entsprechenden Protonen ist dadurch zwar nicht unmöglich, in Anbetracht der unerwartet intensitätsschwachen Kreuzpeaks in den zweidimensionalen Spektren jedoch deutlich erschwert.

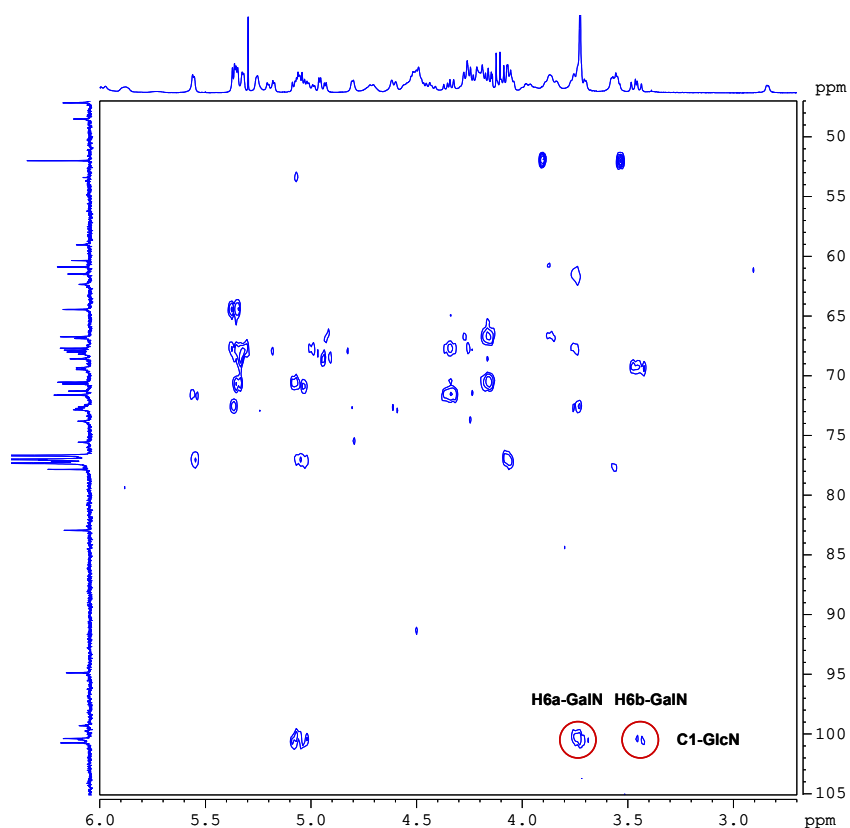
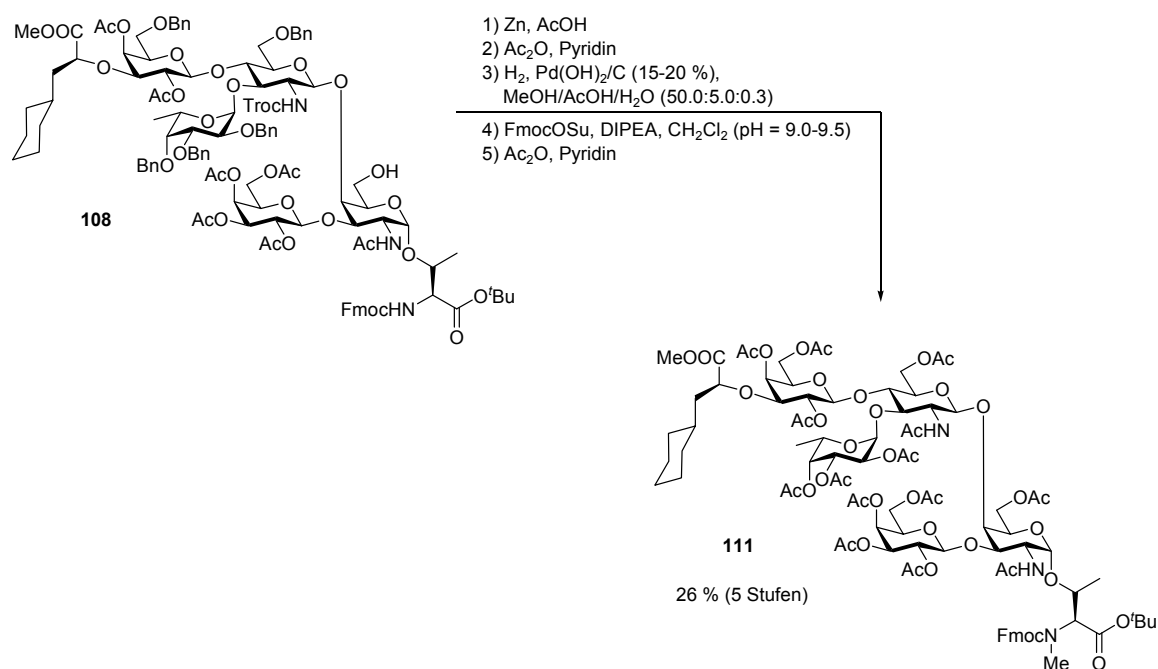


Abb. 3.23: Ein Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von Verbindung **110**.

Schließlich sollte, damit auch für das Nebenprodukt **108** der Glycosylierungsreaktion ein eindeutiger Nachweis der angenommenen Struktur erbracht werden kann, dieses den gleichen Schutzgruppenoperationen unterzogen werden wie zuvor das gewünschte Produkt **107**.

Die bereits beschriebene Reaktionssequenz – Abspaltung des Troc-Rests, Acetylierung, Hydrogenolyse, Wiederanknüpfung der Fmoc-Gruppe sowie eine abschließende vollständige Acetylierung – liefert in diesem Fall die an der Aminofunktion des Threonins methylierte Verbindung **111** in einer Gesamtausbeute von 26 % über die genannten fünf Stufen (Schema 3.49). Im Gegensatz zu den vorherigen Synthesen wurde dabei auf eine flashchromatographische Reinigung der in die Debenzylierung eingesetzten Substanz verzichtet. Ferner legte man zur Spaltung der Benzylether eine Lösung der Verbindung vor und fügte dann den Katalysator hinzu, bevor der Ansatz einer Wasserstoffatmosphäre ausgesetzt wurde. Massenspektrometrisch lässt sich in der Folge ausschließlich die Entstehung der an der Aminofunktion des Threonins methylierten Verbindung nachweisen.



Schema 3.49: Die Schutzgruppenmanipulationen an dem Nebenprodukt **108** der Glycosylierung unter Bildung der N-methylierten Verbindung **111**.

Wie in Abschnitt 3.8.1 bereits vorweggenommen, kann auf der Stufe des acetylierten Bausteins **111** die Bildung des unerwarteten Produkts auch mit Hilfe NMR-spektroskopischer Methoden belegt werden: So zeigt das ¹H-NMR-Spektrum zwei Singulets mit einer chemischen Verschiebung von 3.05 ppm bzw. 2.91 ppm (Abb. 3.24), welche der besagten CH₃-Gruppe zuzuordnen sind. Das Auftreten zweier Signale für den Methylsubstituenten wird durch das Vorliegen von Rotameren um die Amidbindung innerhalb der Carbamatfunktion bewirkt.

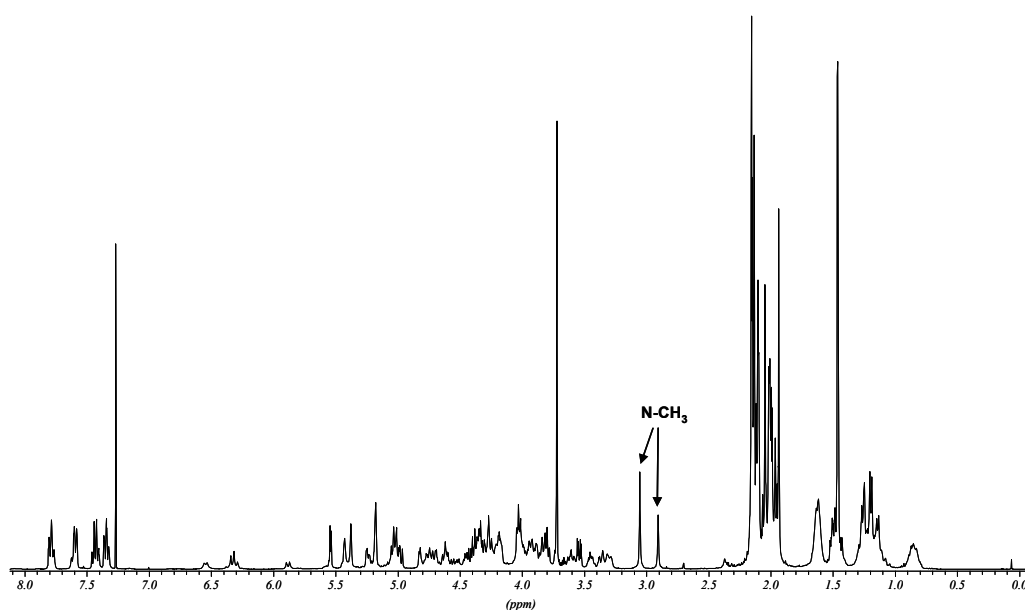


Abb. 3.24: Das ¹H-NMR-Spektrum von Verbindung **111**.

Auch das für die Verbindung **111** zu erhaltende HMBC-Spektrum weist klar auf die *N*-Methylierung hin: In diesem lassen sich eindeutig Kopplungen zwischen den CH₃-Gruppen der beiden Rotamere und dem jeweils benachbarten Carbonyl-Kohlenstoffatom der Carbamatfunktion erkennen (Abb. 3.25).

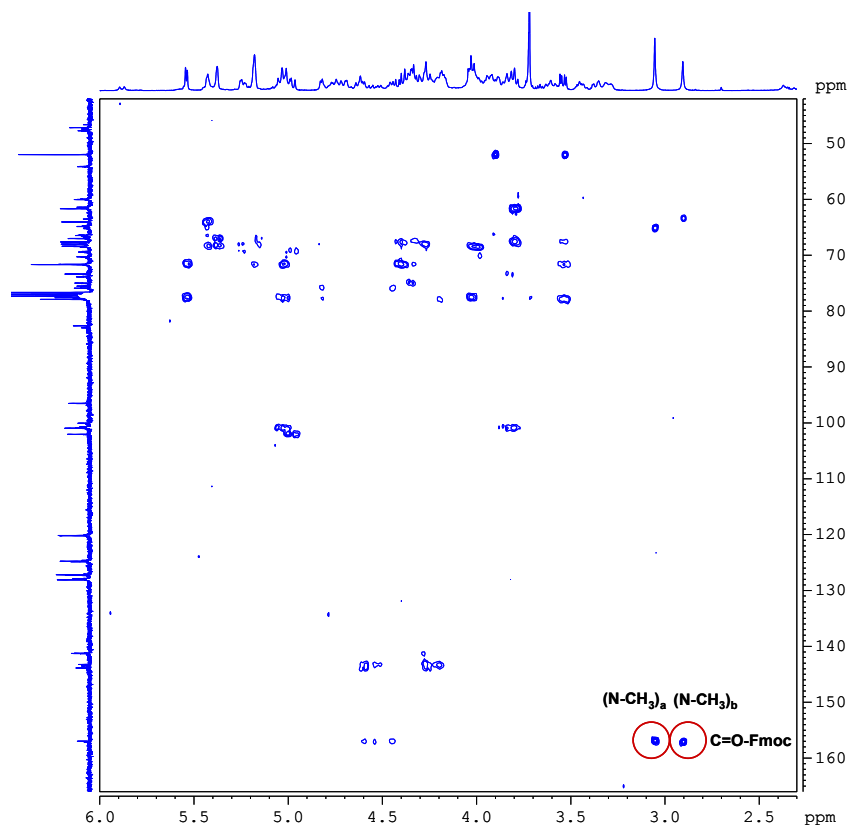
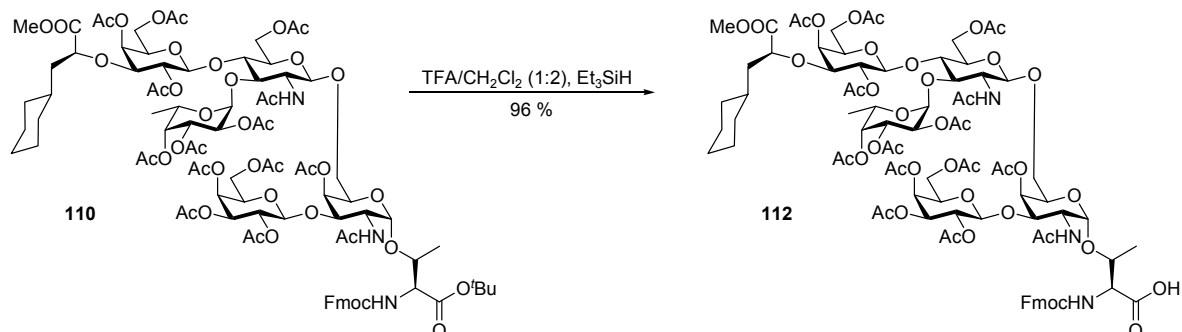


Abb. 3.25: Ein Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum von Verbindung **111**.

Die Anbindung des Lewis^x-Derivats an das Sauerstoffatom in der 4-Position des Galactosamins kann hingegen nach wie vor nicht endgültig bewiesen werden, da es neben dem bereits erwähnten Auftreten zweier Singulets für den Methylrest zu einer Reihe von weiteren Signalverdopplungen kommt, die eine vollständige Interpretation der Spektren unmöglich machen.

Unabhängig davon liegt mit dem vollständig geschützten Oligosaccharid-Threonin-Konjugat **110**, dessen Struktur auf der Grundlage der NMR-spektroskopischen Untersuchungen als gesichert angesehen werden kann, der gewünschte Baustein vor, welcher nach der Spaltung des *tert*-Butylesters direkt in die Glycopeptidsynthese an der festen Phase eingebracht werden kann (vgl. Abschnitt 3.9.4).

Wie schon im Falle der entsprechenden sialylierten Substanz **103** gelingt die Deblockierung der Säurefunktion von Verbindung **110** mit Trifluoressigsäure (TFA) in Dichlormethan unter Zusatz von Triethylsilan als Kationenfänger (Schema 3.50).^[331]



*Schema 3.50: Die Synthese des Glycosylaminosäure-Bausteins **112**.*

Ohne dass eine Spaltung der fucosidischen Bindung eintritt, kann so der Glycosylaminosäure-Baustein **112** in einer Ausbeute von 96 % nach flashchromatographischer Reinigung des Rohprodukts gewonnen werden.

3.9 Die (Glyco-)Peptide mit einer Partialsequenz aus dem PSGL-1

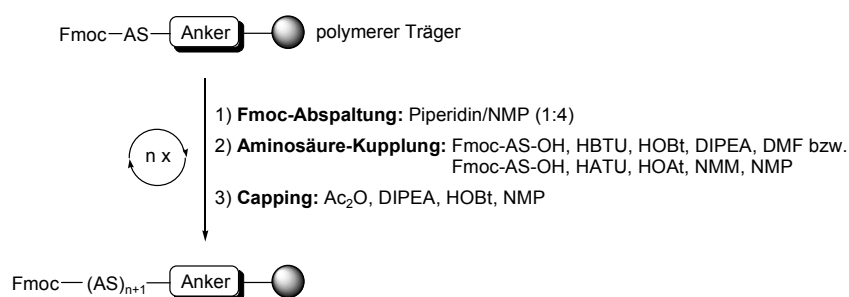
Die erhaltenen Glycosylaminosäure-Bausteine **106** und **112**, deren Herstellung in den vorangehenden Kapiteln beschrieben wurde, können direkt in die geplanten Glycopeptid-synthesen an der festen Phase eingebracht werden (vgl. Abschnitte 3.9.3 und 3.9.4). Zunächst soll allerdings die entsprechende unglycosylierte Aminosäuresequenz aus dem P-Selektin-Glycoprotein-Liganden-1 (PSGL-1) aufgebaut werden (vgl. Abschnitt 3.9.2). Dadurch sollten sich speziell mit der angestrebten Sequenz verbundene Probleme ermitteln und möglicherweise lösen lassen, bevor die wertvollen Oligosaccharid-Aminosäure-Konjugate in die Synthese eingesetzt werden. Ferner kann das gewonnene Peptid bei den vorgesehenen biologischen Tests als Vergleichssubstanz dienen.

3.9.1 Grundlegende Prinzipien der (Glyco-)Peptidsynthese und das allgemeine Protokoll der automatisierten Festphasensynthese

Die Grundlage der Festphasensynthese bilden die bereits 1963 veröffentlichten Arbeiten von *Merrifield*, welche auf dem Einsatz von quervernetztem Polystyrol als Trägermaterial beruhen.^[333] Allgemein geht man bei der sequentiellen (Glyco-)Peptid-Festphasensynthese von einer *N*-terminal geeignet blockierten Aminosäure aus, die über ihre Carboxylfunktion an eine Ankergruppe gebunden ist, welche wiederum mit dem unlöslichen polymeren Träger verknüpft ist. Somit erfolgt der chemische Aufbau von Peptiden, im Gegensatz zu ihrer Biosynthese, ausgehend vom *C*-Terminus. Zum temporären Schutz der Aminofunktion der ersten sowie aller folgenden Aminosäuren dient in der Regel der unter milden Bedingungen abspaltbare, basenlabile Fluoren-9-yl-methoxycarbonyl(Fmoc)-Rest.^[329] Alternativ kann auch die im Säuren zu entfernende *tert*-Butyloxycarbonyl(Boc)-Gruppe verwendet werden.^[334, 335] Da in diesem Fall jedoch nicht auf gängige sauer spaltbare Anker und säurelabile Schutzgruppen für Seitenkettenfunktionen der Aminosäuren zurückgegriffen werden kann und unter den Bedingungen der Boc-Abspaltung zudem die Gefahr eines Angriffs auf die säureempfindlichen saccharidischen Bindungen besteht, wird der Fmoc- gegenüber der Boc-Strategie gewöhnlich der Vorzug gegeben, so auch in dieser Arbeit.

Im ersten Schritt der Synthese wird die Aminogruppe der an das funktionalisierte Harz gebundenen Startaminosäure selektiv deblockiert (Schema 3.51), sofern sie in geschützter

Form vorliegt. Bei Anwendung der Fmoc-Strategie geschieht dies unter Einwirkung von sekundären Basen wie Morpholin^[336] oder Piperidin.^[337] Die resultierende freie Aminofunktion steht für die Anknüpfung der zweiten *N*-terminal geschützten Aminosäure zur Verfügung, welche unter dem Einfluss geeigneter Kupplungsreagenzien gelingt. Um die Entstehung von Fehlsequenzen zu vermeiden, die dem gewünschten Peptid sehr ähnlich und damit am Ende – wenn überhaupt – nur schwer von diesem abzutrennen sind, werden dann im sogenannten *Capping*-Schritt die nicht umgesetzten Aminogruppen durch Reaktion mit Essigsäureanhydrid acetyliert und so der weiteren Kettenverlängerung entzogen. Ein wiederholtes Durchlaufen der dreistufigen Reaktionssequenz liefert schließlich das Peptid in vollständig geschützter Form. Für eventuell vorhandene Seitenkettenfunktionen der Aminosäuren müssen Schutzgruppen gewählt werden, welche während der Festphasensynthese erhalten bleiben, sich später jedoch unter milden Bedingungen abspalten lassen. Zur Herstellung von Glycopeptiden werden vorgefertigte Glycosylaminosäure-Bausteine an der gewünschten Stelle in die Sequenz eingebaut.



Schema 3.51: Das allgemeine Protokoll der automatisierten (Glyco-)Peptid-Festphasensynthese nach der Fmoc-Strategie.

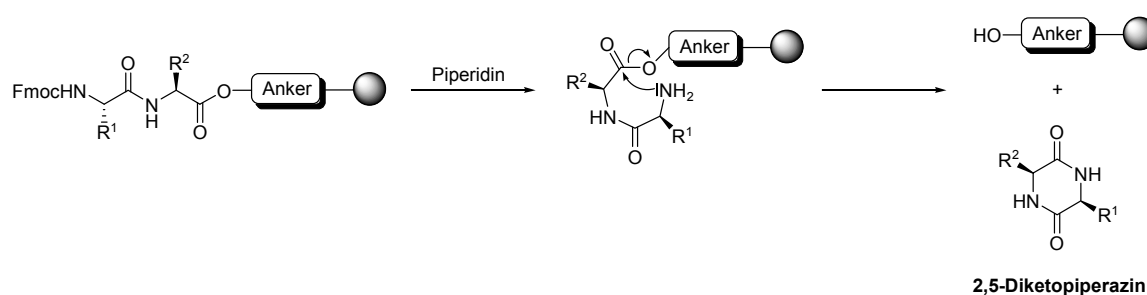
Nach erfolgter Synthese wird das (Glyco-)Peptid vom Harz abgespalten und der polymere Träger durch Filtration entfernt. In Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen kann dabei gleichzeitig eine Ablösung von Seitenkettenschutzgruppen der Aminosäuren eintreten. Verbliebene Schutzgruppen im Peptid- sowie im Glycanteil werden schließlich durch entsprechende Umsetzungen in Lösung entfernt.

Der Aufbau von Aminosäuresequenzen an der festen Phase besitzt gegenüber der entsprechenden Synthese in Lösung den entscheidenden Vorteil, dass die polymergebundenen Peptidketten von den Reagenzien leicht durch Filtration und gründliches Waschen abgetrennt werden können. Diese einfache Form der Reinigung gestattet zum einen den Einsatz großer Reagenzienüberschüsse, die in der Regel für das Erreichen hoher Umsätze innerhalb kurzer Reaktionszeiten erforderlich sind, und ermöglicht zum anderen die Automatisierung der Synthese.

Im Folgenden soll auf die verschiedenen Schritte der Festphasensynthesen, wie sie in dieser Arbeit vollzogen werden, zunächst in allgemeiner Form etwas genauer eingegangen werden, bevor die Reaktionssequenzen zur Herstellung der angestrebten (Glyco-)Peptide im Einzelnen vorgestellt werden.

Durchgeführt werden die Synthesen an einem ABI-433A-Peptidsynthesizer der Firma *Applied Biosystems*. Als polymeren Träger verwendet man ein kommerziell erhältliches Polystyrol-Harz der Firma *Rapp Polymere*, welches über einen 2-Chlortritylanker^[338] mit der C-terminalen Startamino­säure L-Prolin versehen ist (ungefähre Beladung: 0.77 mmol/g). Das gewählte Ankersystem nach *Barlos* ist besonders säurelabil, so dass das fertige (Glyco-)Peptid auf milde Weise mit einer Mischung aus Essigsäure, Trifluorethanol und Dichlormethan vom Harz abgespalten werden kann. Unter diesen Bedingungen bleiben selbst die säurelabilen Schutzgruppen der Seitenkettenfunktionen der eingesetzten Aminosäuren, *tert*-Butylester und -ether, erhalten.

Durch Verwendung des sterisch anspruchsvollen Tritylankersystems lässt sich zudem eine bei Peptidsynthesen nach der Fmoc-Strategie vielfach nicht zu vernachlässigende Nebenreaktion, die 2,5-Diketopiperazinbildung, wirksam unterdrücken. Insbesondere Aminosäuresequenzen, welche Glycin oder Prolin als Startamino­säure am C-Terminus aufweisen, unterliegen häufig in hohem Maße dieser basenkatalysierten Reaktion.^[339] Dabei kommt es unter den Bedingungen der *N*-terminalen Fmoc-Abspaltung auf der Stufe des Dipeptids zu einem intramolekularen Angriff der freien Aminofunktion an der Carboxylgruppe der Startamino­säure und somit letzten Endes zum Verlust der wachsenden Peptidkette (Schema 3.52).



Schema 3.52: Die 2,5-Diketopiperazinbildung als Nebenreaktion bei der Peptidsynthese.

Eine Alternative zur Verwendung eines voluminösen Ankers besteht in der Kupplung eines Dipeptids an die Startamino­säure zur Vermeidung der Diketopiperazinbildung. Sofern das Schutzgruppenmuster und die Struktur des Ankers es zulassen, kann alternativ auch die zweite Aminosäure in Boc-geschützter Form angeknüpft werden. In diesem Fall erfolgt die *N*-terminale Deblockierung in saurem Milieu, wodurch ein Auftreten der Nebenreaktion ausgeschlossen wird.

Prinzipiell könnte anstelle des 2-Chlortritylankers auch der unsubstituierte Tritylanker eingesetzt werden, der häufig in Verbindung mit TentaGel[®][340, 341] als polymerem Träger verwendet wird.* Es zeigt sich jedoch, dass das entsprechend funktionalisierte kommerziell erhältliche Harz nicht zuverlässig von zufriedenstellender Qualität ist: So lässt der Verlauf der Fmoc-Abspaltung von der an die feste Phase gebundenen Aminosäure auf eine deutlich geringere als die vom Hersteller angegebene Beladung schließen. Dies resultiert vermutlich aus einem Angriff auf die Tritylgruppe, welche gegenüber der 2-Chlortrityl-einheit noch deutlich säureempfindlicher ist.^[338] Dass eine verminderte Beladung lediglich durch eine unvollständige *N*-terminale Blockierung der Aminosäure vorgetäuscht wird, was kein Problem für die weitere Synthese darstellen würde, kann ausgeschlossen werden, da auch die Fmoc-Abspaltung von der in der Sequenz folgenden Aminosäure unbefriedigend verläuft. Beim Einsatz des mit dem 2-Chlortritylanker modifizierten Polystyrol-Harzes treten derartige Probleme hingegen nicht auf, und es können durchweg verlässliche Ergebnisse erzielt werden.

In diesem Fall beginnt die (Glyco-)Peptid-Festphasensynthese direkt mit der Anknüpfung der zweiten Aminosäure, da das käufliche Harz die Startaminosäure in *N*-terminal ungeschützter Form trägt. Die Aktivierung der Carboxylfunktion der anzubindenden Aminosäure erfolgt *in situ* durch spezielle Kupplungsreagenzien. Zur Erzeugung der Peptidbindung bei Synthesen an der festen Phase haben sich für die Bildung von Aktivestern insbesondere Uroniumsalze wie HBTU^[342, 343] und HATU^[344, 345] in Kombination mit 1-Hydroxybenzotriazolen wie HOBT^[346] und HOAt^[347] bewährt (Abb. 3.26).

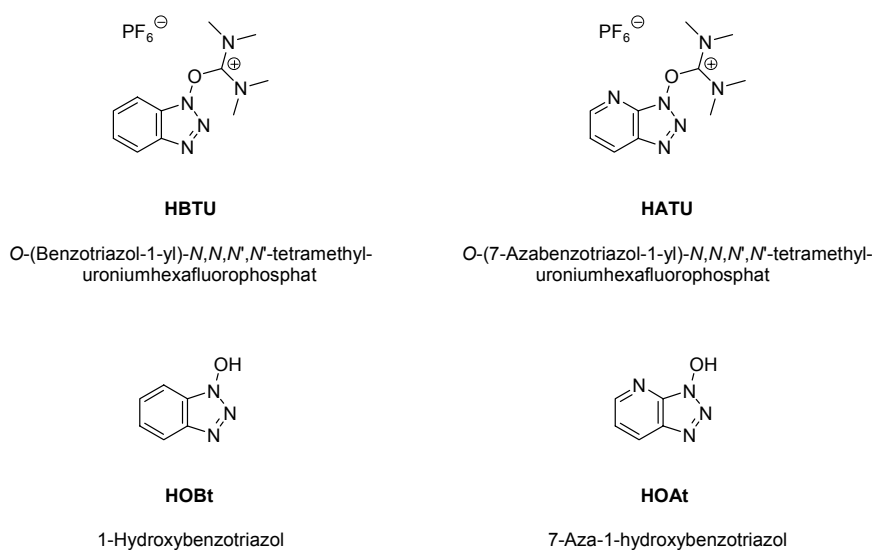
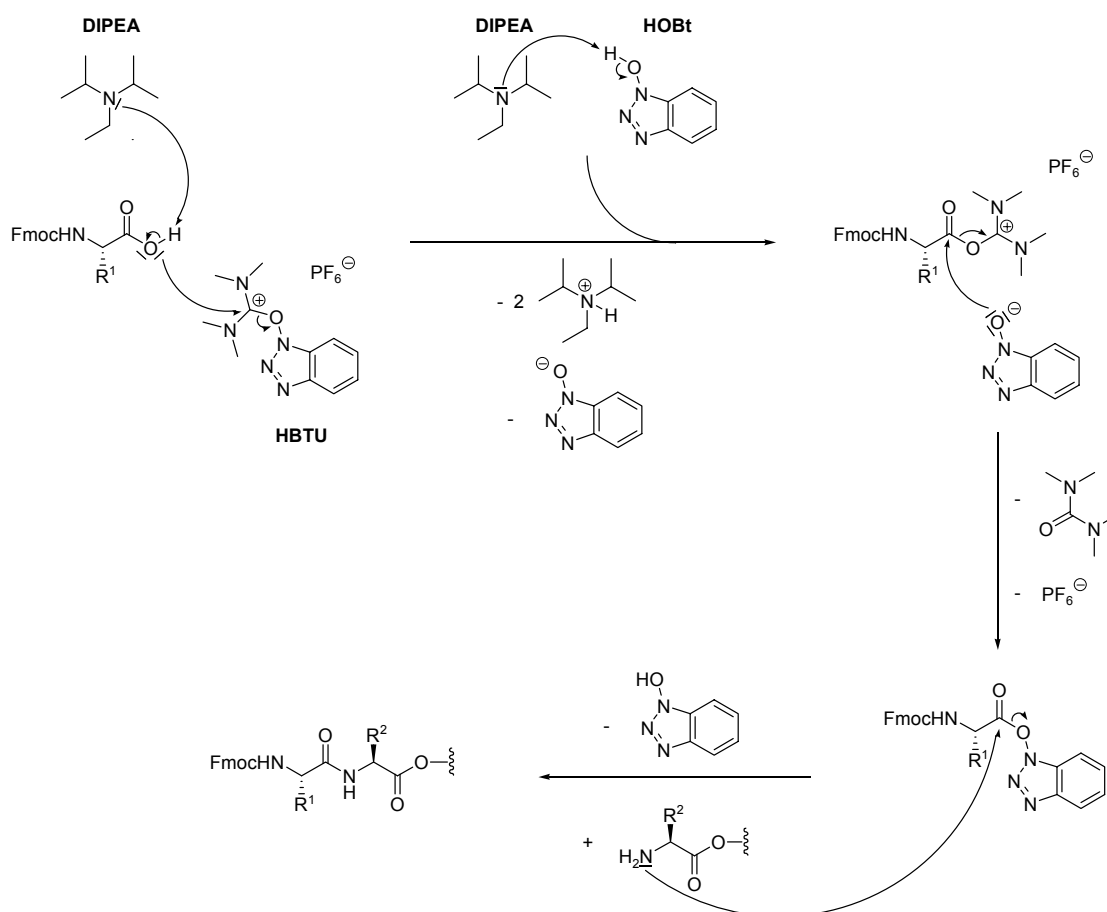


Abb. 3.26: Die Kupplungsreagenzien HBTU und HATU sowie die Additive HOBT und HOAt.

* Bei TentaGel[®] handelt es sich um ein Polystyrol-Harz mit aufgepfropften Polyethylenglycoleinheiten. Es besitzt besonders günstige Quelleigenschaften in organischen aprotischen Lösungsmitteln wie NMP.

Diese sind den ebenfalls als Kupplungsreagenzien gängigen Carbodiimiden^[348] in vielerlei Hinsicht überlegen: Sie verfügen über eine größere Reaktivität, senken die Gefahr der Racemisierung des gebildeten Aktivesters und führen zudem nicht – wie *N,N*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) – zu einem unlöslichen Nebenprodukt, welches nur schwer von dem polymergebundenen Peptid abgetrennt werden kann.

Mechanistisch betrachtet, läuft die Aktivierung durch HBTU und HOBT in der folgenden Weise ab: Zunächst werden die freie Carbonsäure sowie das saure, supernucleophile Additiv HOBT mit einer äquimolaren Menge an *N*-Ethyldiisopropylamin (DIPEA) deprotoniert (Schema 3.53). Daraufhin kommt es zu einer Umsetzung des Carboxylats mit dem Uroniumsalz HBTU, wobei das entsprechende reaktive *O*-Acyl-Uroniumsalz als Zwischenstufe entsteht. Dieses wiederum wird von dem deprotonierten HOBT unter Bildung eines weiteren Aktivesters angegriffen, welcher schließlich mit der freien Aminofunktion reagiert, wodurch die gewünschte amidische Peptidbindung erhalten wird.

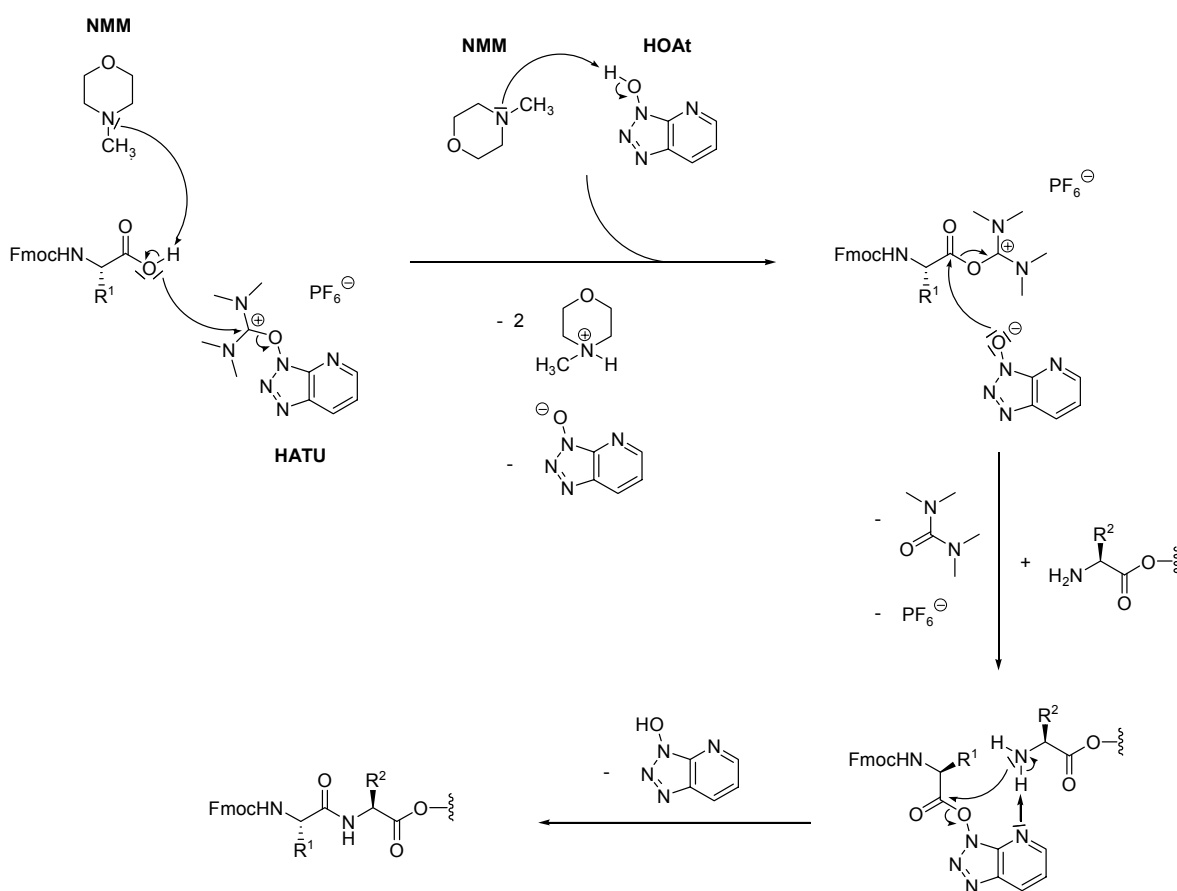


Schema 3.53: Der Mechanismus der Peptidkupplung unter Verwendung von HBTU und HOBT.

Durch Zusatz von HOBT anstelle der alleinigen Verwendung von HBTU als Kupplungsreagenz lässt sich die Gefahr der Racemisierung der Carbonsäurekomponente entscheidend herabsetzen. Dies liegt in der besonders hohen Reaktivität des mit deprotoniertem HOBT

gebildeten Aktivesters begründet, der sich schnell mit der Aminofunktion umsetzt. Damit erhält man die gewünschte Peptidbindung, bevor es zur Racemisierung des aktiven Intermediats kommt.

Der Einsatz der 7-Aza-Analoga von HBTU und HOBt, HATU und HOAt, in Kombination mit *N*-Methylmorpholin (NMP) als Base empfiehlt sich bei Kupplungsreaktionen, welche mit besonderen Problemen behaftet sind, wie die Anknüpfung der sterisch anspruchsvollen Glycosylaminosäure-Bausteine. Verglichen mit den preiswerteren, standardmäßig verwendeten Reagenzien HBTU und HOBt, zeichnen sich HATU und HOAt durch eine nochmals gesteigerte Reaktivität aus.^[344] Die erhöhte Reaktivität sowohl des Reagenzes selbst als auch der entstehenden Aktivester ist auf das zusätzliche elektronenziehende Stickstoffatom zurückzuführen. So stellt HOAt beispielsweise gegenüber HOBt eine stärkere Säure und seine deprotonierte Form dementsprechend eine bessere Abgangsgruppe dar. Die Erhöhung der Reaktivität hat wiederum eine Verminderung der Racemisierungsgefahr zur Folge. Ferner kommt es unter Verwendung von HOAt zur Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen dem zusätzlichen Stickstoffatom des Kupplungsreagenzes und der freien Aminofunktion der polymergebundenen Peptidkette (Schema 3.54).

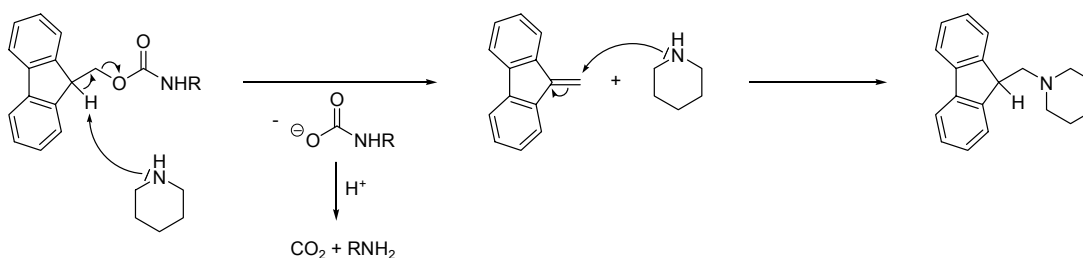


Schema 3.54: Der Mechanismus der Peptidkupplung unter Verwendung von HATU und HOAt.

Dadurch erfährt die Aminokomponente eine Vororientierung, die den folgenden nucleophilen Angriff, die Aminolyse des Aktivesters, erleichtert und somit die Racemisierungsgefahr weiter herabsetzt. Im Falle der Kupplung von Glycosylaminosäuren ist diese Koordination von besonderer Bedeutung, da die Bausteine nicht nur über eine eingeschränkte Reaktivität infolge sterischer Aspekte verfügen, sondern auch in einem deutlich geringeren Überschuss als die kommerziell erhältlichen unglycosylierten Aminosäuren in die Synthese eingesetzt werden.

Dem Kupplungsschritt schließt sich – wie bereits erwähnt – die Acetylierung eventuell nicht umgesetzter Aminofunktionen mit einer Mischung aus Essigsäureanhydrid, *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) und einer katalytischen Menge an HOBt in *N*-Methylpyrrolidin-2-on (NMP) an.

Der nächste Syntheseyklus wird durch die Abspaltung der *N*-terminalen Fmoc-Gruppe mit Piperidin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on (NMP) eingeleitet. Dabei entsteht infolge der Deprotonierung der CH-aciden 9-Position zunächst Dibenzofulven, welches anschließend mit der Base zu einem stabilen Addukt reagiert (Schema 3.55). Dessen starke UV-Absorption wird zur Reaktionskontrolle der Schutzgruppenabspaltung und damit indirekt auch zur Überprüfung der Effizienz des vorangegangenen Kupplungsschritts genutzt.



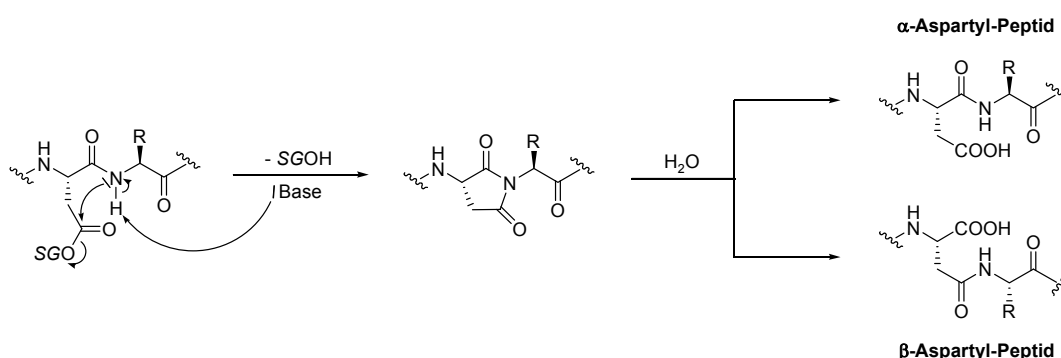
Schema 3.55: Der Mechanismus der Fmoc-Abspaltung mit Piperidin.

Nach erfolgreichem Aufbau der Aminosäuresequenz durch Wiederholung der drei beschriebenen Reaktionsschritte wird das (Glyco-)Peptid vom Harz abgespalten und durch entsprechende Umsetzungen in Lösung von sämtlichen Schutzgruppen befreit.

Schließlich bleibt noch zu erwähnen, dass es bei Aminosäuresequenzen, welche Asparaginsäure(derivate) enthalten, zusätzlich zu der bereits diskutierten Diketopiperazinbildung zu einer weiteren Nebenreaktion im Verlauf der Festphasensynthese und während der Entfernung der Schutzgruppen kommen kann. Bei dieser Nebenreaktion handelt es sich

um die sogenannte Aspartimidumlagerung, deren Auftreten sowohl im Basischen als auch im Sauren möglich ist.^[349-352]

Unter basischen Bedingungen, wie sie beispielsweise während der Fmoc-Abspaltung vorliegen, wird sie initiiert durch die Abstraktion des Amidprotons der C-terminal benachbarten Aminosäure (Schema 3.56). Der folgende nucleophile Angriff des Amid-Stickstoffs an der Carboxylfunktion der Asparaginsäure-Seitenkette resultiert in der Bildung eines Aspartimids, dessen Hydrolyse schließlich entweder das angestrebte α -Aspartyl-Peptid, oder aber das ungewünschte β -Aspartyl-Peptid ergibt.



Schema 3.56: Die Aspartimidumlagerung als Nebenreaktion bei der Peptidsynthese.

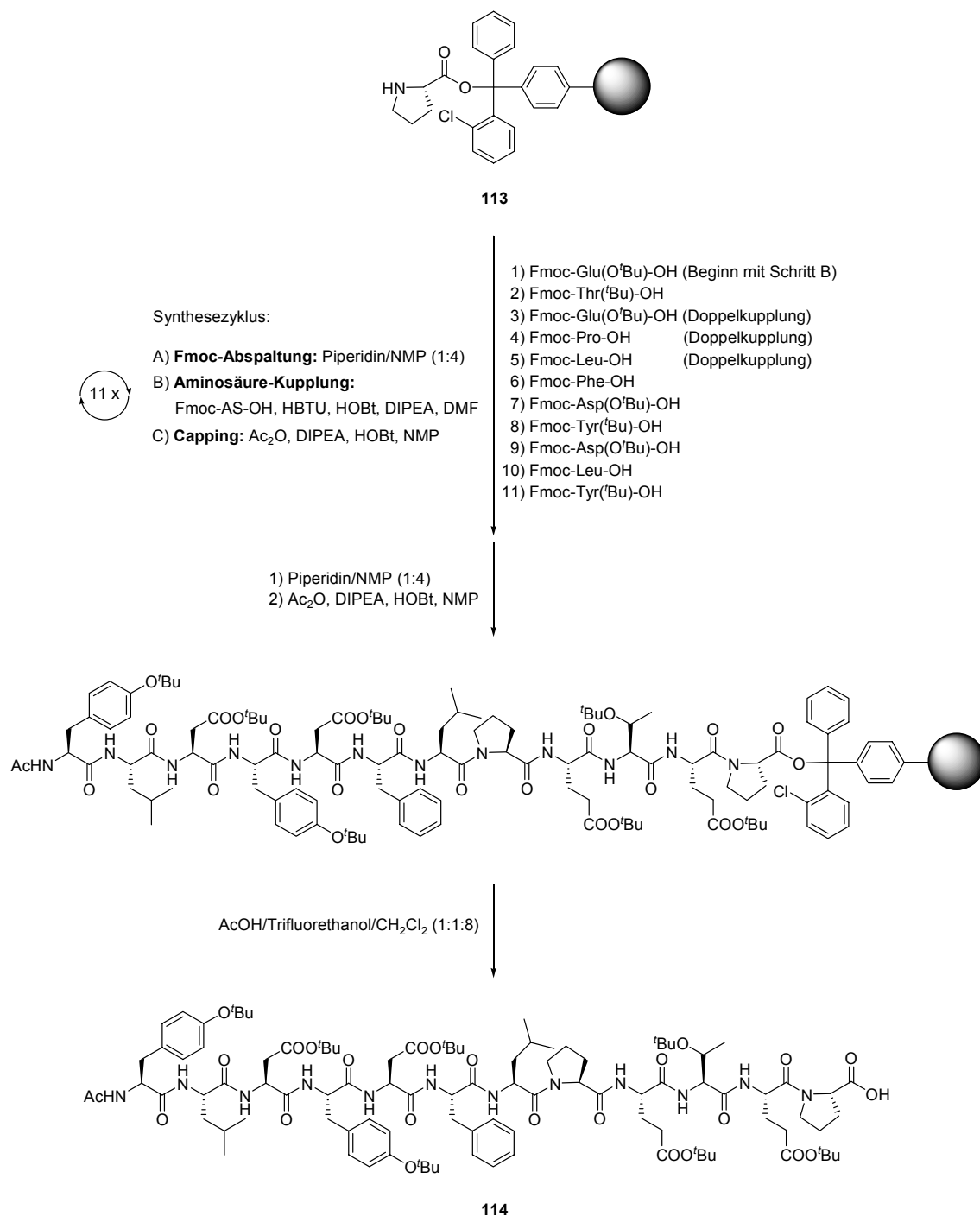
Im Sauren kann die Nebenreaktion beispielsweise im Zuge der Entfernung säurelabiler Schutzgruppen und während der Abspaltung des Peptids vom Harz durch eine ausgedehnte Behandlung mit Trifluoressigsäure induziert werden.

Die Tendenz zur Aspartimidbildung ist abhängig von der jeweiligen Aminosäuresequenz und in Nachbarschaft zu Glycin und in der Seitenkette ungeschütztem Serin besonders ausgeprägt.^[349, 353] Durch Verwendung einer sterisch anspruchsvollen Schutzgruppe für die Carboxylfunktion der Asparaginsäure-Seitenkette lässt sie sich allerdings in vielen Fällen weitgehend unterdrücken. Bewährt hat sich in diesem Sinne vor allem eine Blockierung der Carbonsäure als *tert*-Butylester.^[354] Daher wird auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit auf diese Form des Schutzes zurückgegriffen.

3.9.2 Das unglycosylierte Dodecapeptid

Dem allgemeinen Protokoll der automatisierten (Glyco-)Peptid-Festphasensynthese nach der Fmoc-Strategie folgend, wird die angestrebte Partialsequenz aus dem PSGL-1, welche von Tyr⁴⁸ bis Pro⁵⁹ des natürlichen Selektinliganden reicht, zunächst in unglycosylierter Form aufgebaut.

Wie bereits erwähnt, geht man dabei von dem Polystyrol-Harz **113** aus, in dem die C-terminale Startamino­säure L-Prolin über einen 2-Chlortritylanker (2-CT)^[338] an den polymeren Träger gebunden ist (Schema 3.57).



Schema 3.57: Die Synthese des Peptids **114**.

Durch entsprechende Wiederholung der im vorangehenden Abschnitt geschilderten dreistufigen Reaktionssequenz werden im Peptidsynthesizer Fmoc-geschützte(s) L-Glutaminsäure, L-Threonin, L-Glutaminsäure, L-Prolin, L-Leucin, L-Phenylalanin,

L-Asparaginsäure, L-Tyrosin, L-Asparaginsäure, L-Leucin und L-Tyrosin sukzessive angeknüpft, wobei man jeweils 10 Äquivalente der Aminosäuren einsetzt und zum Schutz der Seitenkettenfunktionen von L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, L-Threonin und L-Tyrosin den *tert*-Butylrest wählt.

Bei den geplanten Glycopeptidsynthesen (vgl. Abschnitte 3.9.3 und 3.9.4) ist aufgrund des hohen sterischen Anspruchs der Glycosylthreonin-Bausteine eine deutliche Minderung der Kupplungsausbeuten insbesondere für die beiden direkt folgenden Aminosäuren, L-Glutaminsäure und L-Prolin, zu erwarten. Deshalb soll zur Anknüpfung dieser Aminosäuren der Kupplungsschritt jeweils einmal wiederholt werden. Um die Ergebnisse der einzelnen Synthesen besser miteinander vergleichen zu können, wird auch bei dem hier beschriebenen Aufbau der unglycosylierten Sequenz in dieser Weise verfahren. Zur Steigerung der Gesamtausbeute erfolgt ferner die Anbindung des sich anschließenden L-Leucins in einer Doppelkupplung. Letzteres geschieht in Anlehnung an die von *O. Knöll* im Rahmen seiner Dissertation gemachten Beobachtungen.^[297]

Am Ende der automatisierten Synthese wird schließlich die *N*-terminale Fmoc-Gruppe entfernt und die resultierende freie Aminofunktion acetyliert.

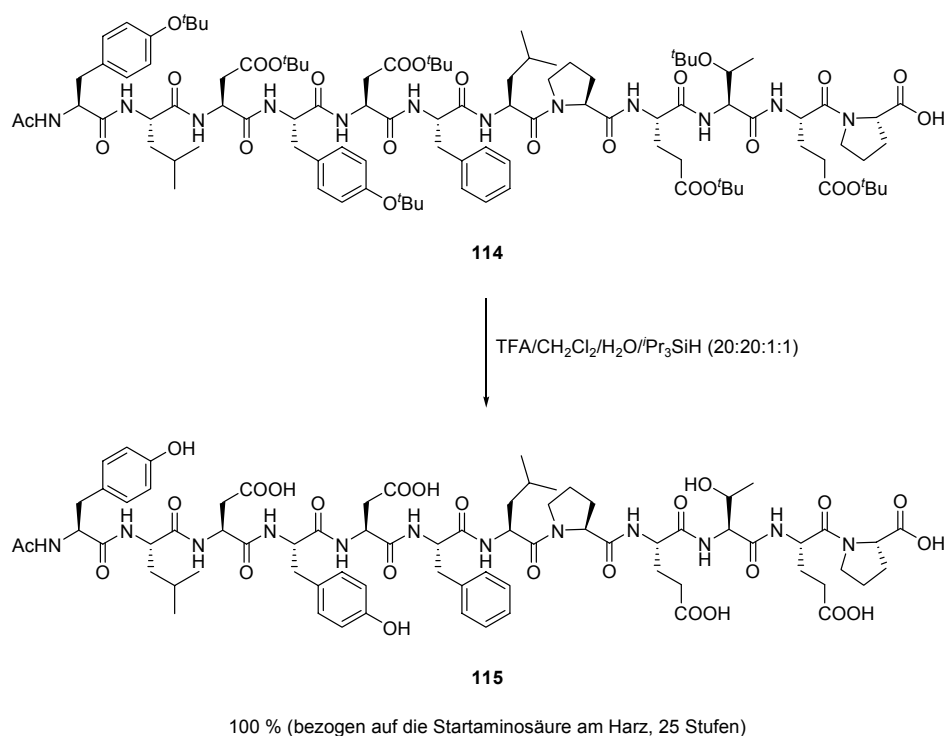
Die Abspaltung des Peptids vom Harz gelingt durch Behandlung mit einer Mischung aus Essigsäure, Trifluorethanol und Dichlormethan,^[338] wobei die säurelabilen Schutzgruppen der Seitenkettenfunktionen der Aminosäuren erhalten bleiben. Um eine möglichst vollständige Abspaltung des Produkts vom polymeren Träger zu erreichen, führt man den Vorgang insgesamt dreimal durch.

Das gewonnene Rohprodukt **114** wird mit Trifluoressigsäure (TFA) in Dichlormethan unter Zusatz von Wasser und dem Kationenfänger Triisopropylsilan^[355] komplett deblockiert (Schema 3.58). Nach präparativer RP-HPLC erhält man das gewünschte ungeschützte Peptid **115** in einer Ausbeute von nahezu 100 % bezogen auf die Startaminosäure am Harz.

Das Vorliegen einer einzigen, reinen Verbindung lässt sich durch Untersuchungen des isolierten Produkts mittels analytischer RP-HPLC und NMR-Spektroskopie innerhalb der Messgenauigkeiten der Methoden zweifelsfrei belegen. Anhand ein- und zweidimensionaler NMR-Experimente sowie mittels hoch auflösender Massenspektrometrie kann die Struktur bewiesen werden.

An dieser Stelle ist zu bemerken, dass das vollständig deblockierte Peptid **115** nur eine stark eingeschränkte Löslichkeit in Wasser aufweist und es – selbst bei Zugabe von bis zu 50 % Acetonitril – zum Auftreten von Aggregationsphänomenen kommt, die eine

erhebliche Verbreiterung sämtlicher Signale in den zugehörigen NMR-Spektren bewirken. Demzufolge muss auf Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel zurückgegriffen werden.



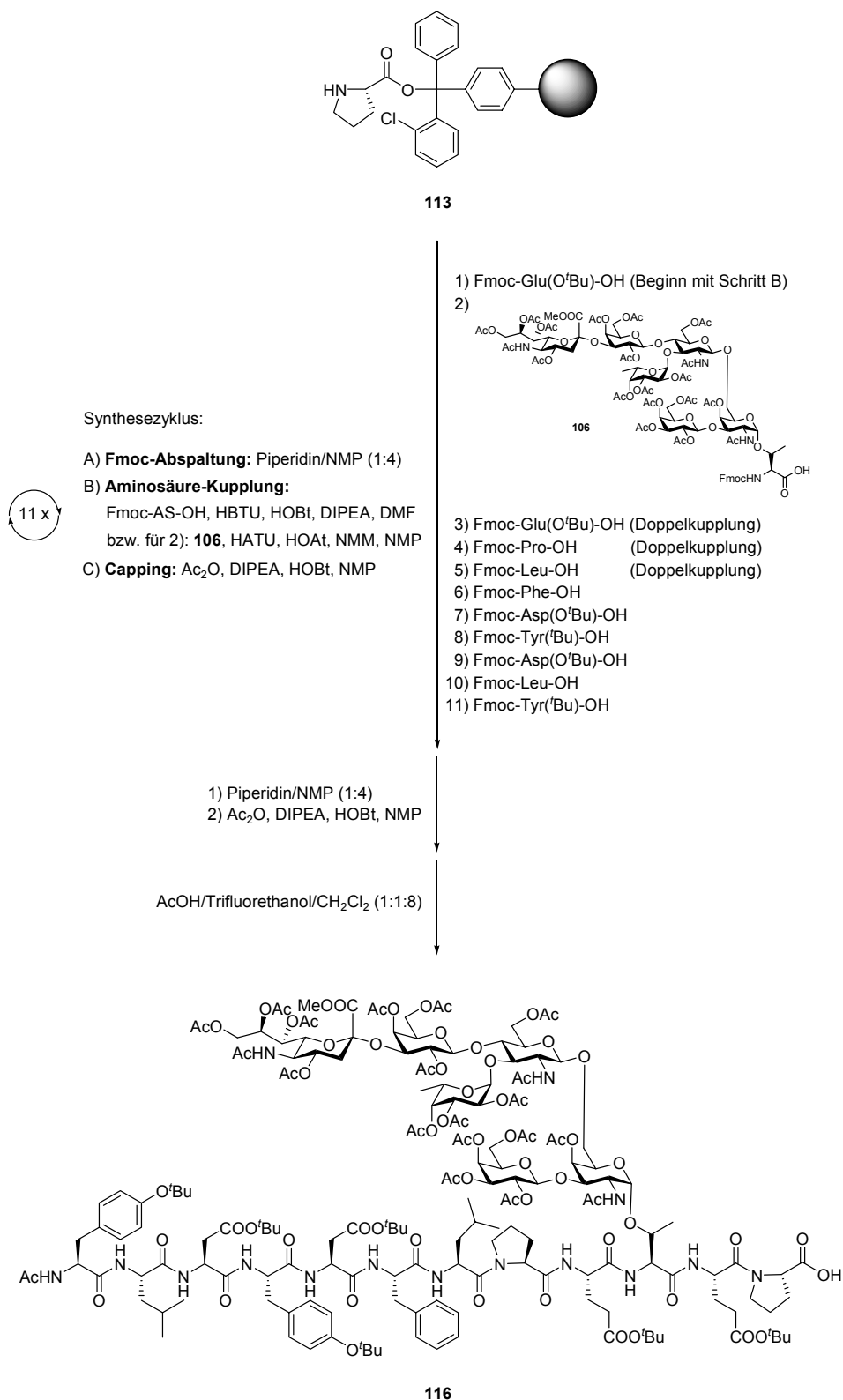
Schema 3.58: Die Synthese des vollständig deblockierten Peptids **115**.

Mit der erfolgreichen Synthese der unglycosylierten Aminosäuresequenz ist nun die Grundlage für die Herstellung der beiden angestrebten Glycopeptide gelegt.

3.9.3 Das Sialyl-Lewis^x enthaltende Glycododecapeptid

Der Aufbau des Glycopeptids **116**, ausgehend von dem funktionalisierten Harz **113**, wird in Analogie zu der im vorangehenden Abschnitt beschriebenen Festphasensynthese des Peptids **114** vollzogen (Schema 3.59). Nach der Fmoc-Abspaltung von der an die Startamino­säure geknüpften L-Glutaminsäureeinheit wird jedoch die automatisierte Synthese unterbrochen und der Glycosylamino­säure-Baustein **106** über einen Zeitraum von 8 h unter Verwendung der besonders reaktiven Reagenzien HATU und HOAt in Kombination mit *N*-Methylmorpholin (NMM) als Base gekuppelt (vgl. Abschnitt 3.9.1). Wegen Substanzmangels kann das Oligosaccharid-Threonin-Konjugat **106** dabei nur in einem Unterschuss von 0.8 Äquivalenten bezüglich der Startamino­säure am Harz eingesetzt werden, was bei der späteren Ausbeutebestimmung entsprechend zu berücksichtigen ist.

Im Anschluss an den manuellen Kupplungsschritt nimmt man die automatisierte Synthese nach dem allgemeinen Protokoll wieder auf und knüpft die übrigen neun Aminosäuren an, wobei für die ersten drei – wie bereits erwähnt – eine Doppelkupplung vorgenommen wird.



Schema 3.59: Die Synthese des Glycopeptids 116.

Zuletzt wird die *N*-terminale Fmoc-Gruppe entfernt und die freie Aminofunktion acetyliert. Erwartungsgemäß weisen die Werte der im Verlauf der Festphasensynthese gemessenen UV-Absorptionen der Fmoc-Abspaltungslösungen auf einen merklichen Einbruch in der Kupplungsausbeute sowohl bei der Anbindung des im Unterschuss eingesetzten Glycosylaminosäure-Bausteins **106** als auch bei der Anknüpfung der direkt auf den sterisch anspruchsvollen Rest folgenden L-Glutaminsäureeinheit hin.

Zur Abspaltung des Glycopeptids vom polymeren Träger wird das Harz viermal je zwei Stunden in einer Mischung aus Essigsäure, Trifluorethanol und Dichlormethan geschüttelt.^[338] Um die Reaktion auf ihre Vollständigkeit zu prüfen, behandelt man das Harz anschließend zusätzlich einmal mit einer Mischung aus Trifluoressigsäure (TFA) und Dichlormethan unter Zusatz kleiner Mengen an Wasser und Triisopropylsilan. Unter diesen etwas weniger milden sauren Bedingungen lässt sich jedoch kein Produkt mehr gewinnen.

Die Untersuchung des Rohprodukts mittels analytischer RP-HPLC belegt, dass ein Gemisch aus drei Verbindungen vorliegt, bei denen es sich vermutlich um das gewünschte Glycopeptid **116** sowie die beiden Abbruchsequenzen, das Dipeptid **117** und das glycosylierte Tripeptid **118** (Abb. 3.27), handelt.

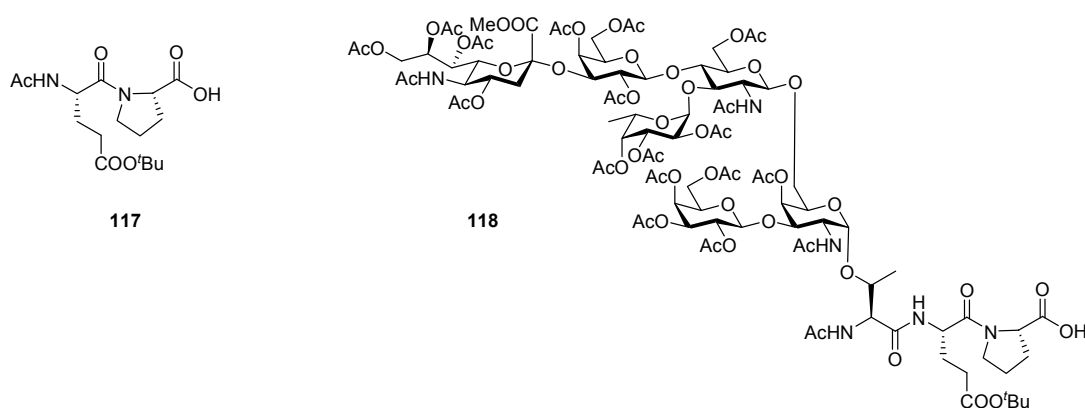
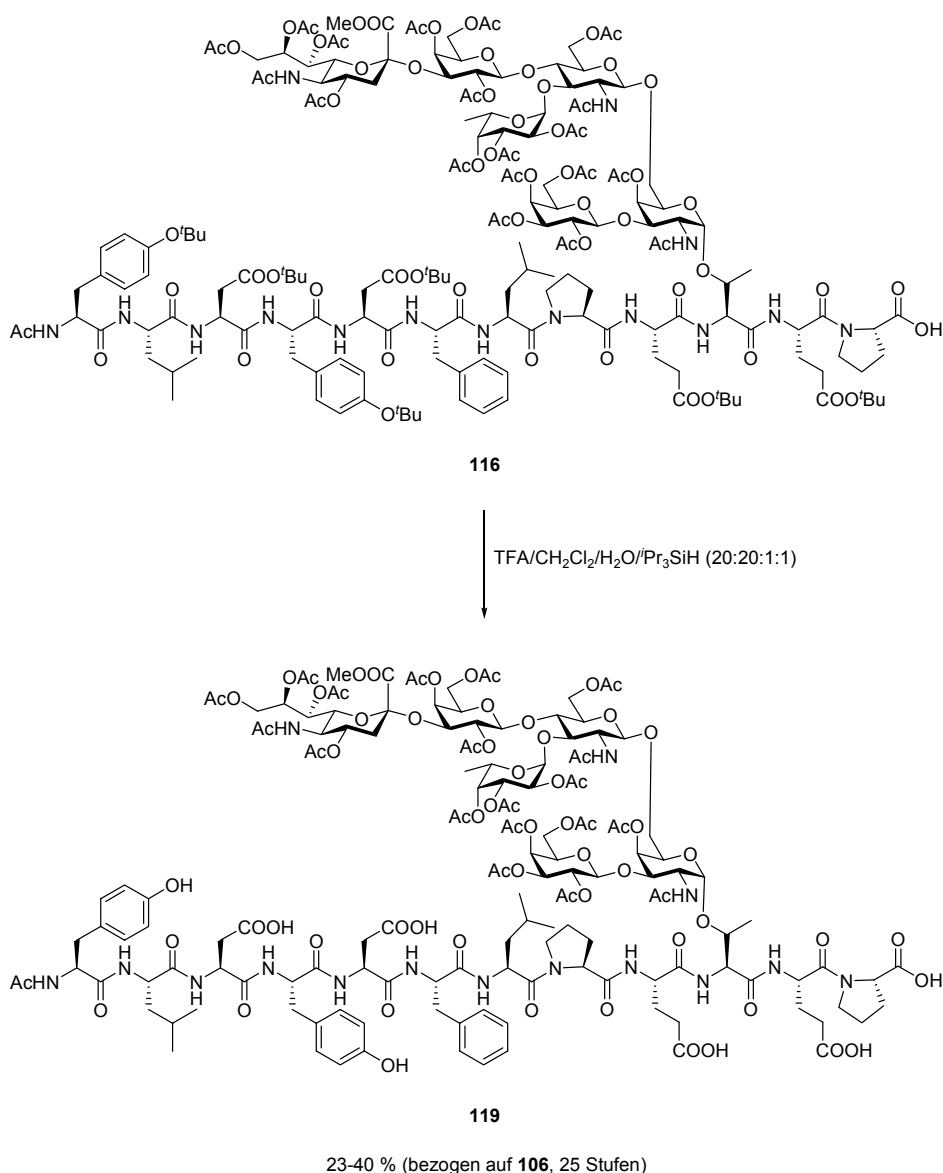


Abb. 3.27: Die Abbruchsequenzen **117** und **118**.

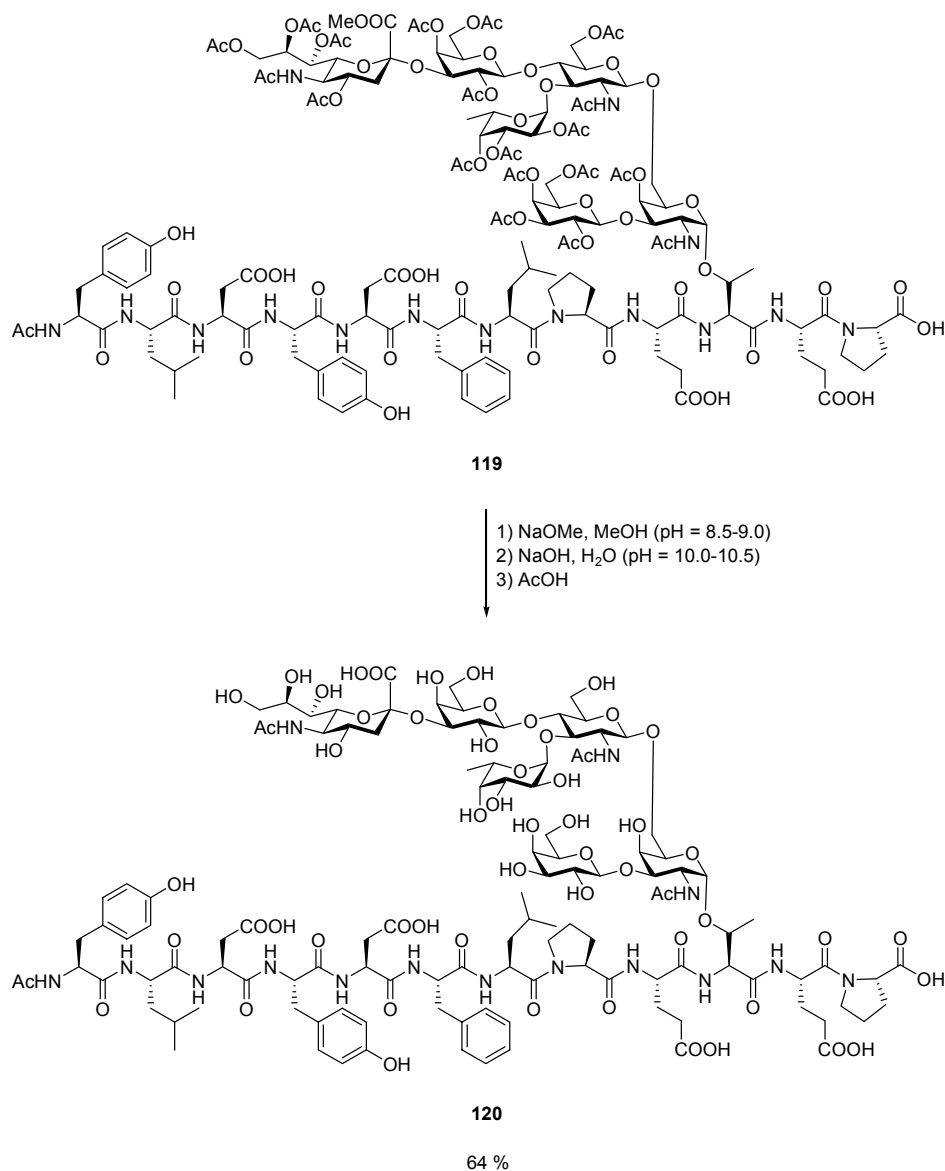
Um die Zahl der Reinigungsschritte möglichst gering zu halten, trennt man die Nebenprodukte jedoch nicht auf dieser Stufe ab, sondern entfernt zunächst die *tert*-Butylreste durch Behandlung des rohen Produktgemischs mit einer Mischung aus Trifluoressigsäure (TFA) und Dichlormethan unter Zusatz von Wasser und dem Kationenfänger Triisopropylsilan (Schema 3.60).^[355] Dabei wird die fucosidische Bindung infolge des stabilisierenden Effekts der Acetylgruppen nicht angegriffen. Nach präparativer RP-HPLC kann die im Peptidteil vollständig deblockierte Verbindung **119** in einer Ausbeute von 23 % bezogen auf den eingesetzten Glycosylaminosäure-Baustein **106**

isoliert werden. Außerdem werden im Zuge der Reinigung mehrere Fraktionen gewonnen, die äußerst ähnliche Retentionszeiten wie die Hauptfraktion aufweisen. Der massenspektrometrischen Untersuchung zufolge enthalten diese vermutlich ebenfalls eine größere Menge an dem gewünschten Produkt, wobei der Unterschied in den Retentionszeiten auf die Bildung verschiedener Konformere und/oder das Vorliegen unterschiedlicher Salze zurückzuführen sein könnte. In Anbetracht der Komplexität des Moleküls und der großen Zahl an freien Carboxylfunktionen erscheint dies nicht abwegig. Ob die vereinigten Nebenfraktionen tatsächlich das angestrebte Glycopeptid **119** und nicht nur Isomere desselben enthalten, womit die Gesamtausbeute bis zu 40 % betragen könnte, wird sich allerdings erst nach der weiteren Umsetzung und einem Vergleich der entsprechenden NMR-Spektren zeigen. Ein solches Vorgehen ist für die nahe Zukunft geplant, soll aus Zeitgründen jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr unternommen werden.



Schema 3.60: Die saure Schutzgruppenabspaltung zur Bildung des partiell deblockierten Glycopeptids **119**.

Stattdessen wird die Hauptfraktion von den verbliebenen, basenlabilen Schutzgruppen im Glycanteil befreit. Dies geschieht durch Behandlung mit Natriummethanolat in Methanol bei einem pH-Wert von 8.5 bis 9.0 und anschließende Hydrolyse in wässriger Natronlauge bei einem pH-Wert von 10.0 bis 10.5 (Schema 3.61).



Schema 3.61: Die Synthese des vollständig deblockierten Glycopeptids **120**.

Den allgemeinen Erfahrungen entsprechend bereitet die *O*-Deacetylierung zunächst, bei einem pH-Wert von 8.5 bis 9.0, Schwierigkeiten. Wie die Reaktionkontrolle mittels analytischer RP-HPLC zeigt, läuft die Umesterung in 18 Stunden nicht vollständig ab und liefert somit ein Produktgemisch. Dies steht im Einklang mit in anderen Arbeiten geschilderten Beobachtungen^[281, 356] und ist vermutlich auf eine erschwerte Schutzgruppenabspaltung in der 4-Position der Galactos(amin)ylreste zurückzuführen.

Da sich der Deacetylierung mit Natriummethanolat jedoch ohnehin die Hydrolyse des Methylesters unter stärker basischen Bedingungen anschließt, sollte die vorerst nur partiell erreichte Freisetzung der Hydroxylgruppen kein Problem darstellen. Tatsächlich kommt es in wässriger Natronlauge bei einem pH-Wert von 10.0 bis 10.5 in weiteren 18 Stunden neben der Hydrolyse des Methylesters zur Entfernung sämtlicher noch vorhandenen Acetylreste. Dabei muss allerdings streng darauf geachtet werden, dass der pH einen Wert von 10.5 nicht überschreitet, da in stärker basischem Milieu leicht Racemisierung bzw. Epimerisierung der Aminosäurereste und β -Eliminierung des Glycans erfolgen können. Unter den gewählten milden Bedingungen ist die Gefahr des Eintretens derartiger Nebenreaktionen dagegen gering. So kann innerhalb der Messgenauigkeiten von analytischer RP-HPLC und NMR-Spektroskopie weder eine Isomerisierung noch eine Zersetzung der gewünschten Verbindung beobachtet werden. Nach Neutralisieren der Reaktionslösung mit Essigsäure und Reinigung des Rohprodukts durch präparative RP-HPLC erhält man das vollständig deblockierte Glycopeptid **120** in einer Ausbeute von 64 %.

Die Struktur kann anhand ein- und zweidimensionaler NMR-Spektren sowie mittels hoch auflösender Massenspektrometrie belegt werden. In diesem Fall empfiehlt es sich, beim Ansetzen der Probe für die massenspektrometrischen Untersuchungen dem Lösungsmittel 0.1 % Trifluoressigsäure zuzusetzen. Dadurch lässt sich gewährleisten, dass die sechs freien Carbonsäurefunktionen in protonierter Form und nicht als Salze vorliegen, was die Anzahl der im Spektrum auftretenden Peaks deutlich minimiert, obgleich die zugegebene Säure teilweise auch zur Spaltung von saccharidischen Bindungen führt.

Mittels der zweidimensionalen NMR-Experimente können die meisten ^1H - und ^{13}C -Signale eindeutig den entsprechenden Kernen zugewiesen werden (vgl. Abschnitt 5.9.2): Für den Peptidteil gelingt die Zuordnung vollständig. Die Signale für die Protonen der freien Carbonsäurefunktionen sind allerdings nicht zu detektieren. Für das Glycan lassen sich aufgrund von zu vielen Signalüberlagerungen die Lagen einiger Signale nicht zweifelsfrei ermitteln. Es werden jedoch für jede einzelne der sechs Monosaccharideinheiten mehrere charakteristische Peaks aufgefunden, die klar den jeweiligen Protonen bzw. Kohlenstoffatomen zugeordnet werden können, so dass die Struktur des Glycopeptids **120** insgesamt belegt werden kann.

Die nachstehenden Abbildungen veranschaulichen die Zuweisung einiger wesentlicher Signale auf der Grundlage der in den zweidimensionalen Spektren – COSY (Abb. 3.28), TOCSY (Abb. 3.29) und HSQC (Abb. 3.30) – auftretenden Kreuzpeaks.

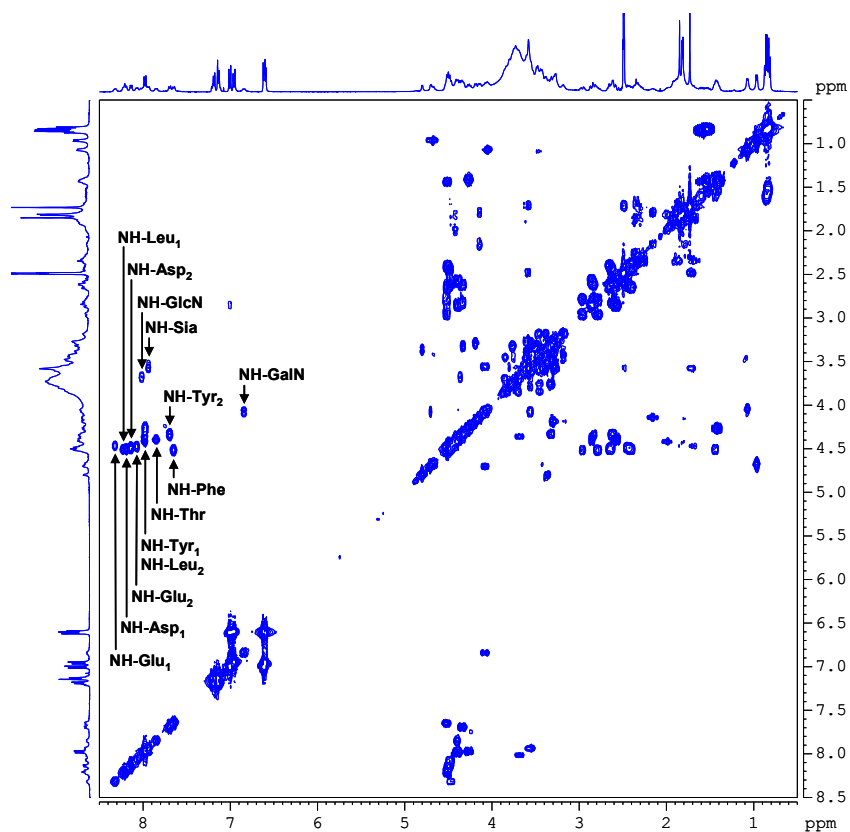


Abb. 3.28: Das COSY-Spektrum des Glycopeptids 120.

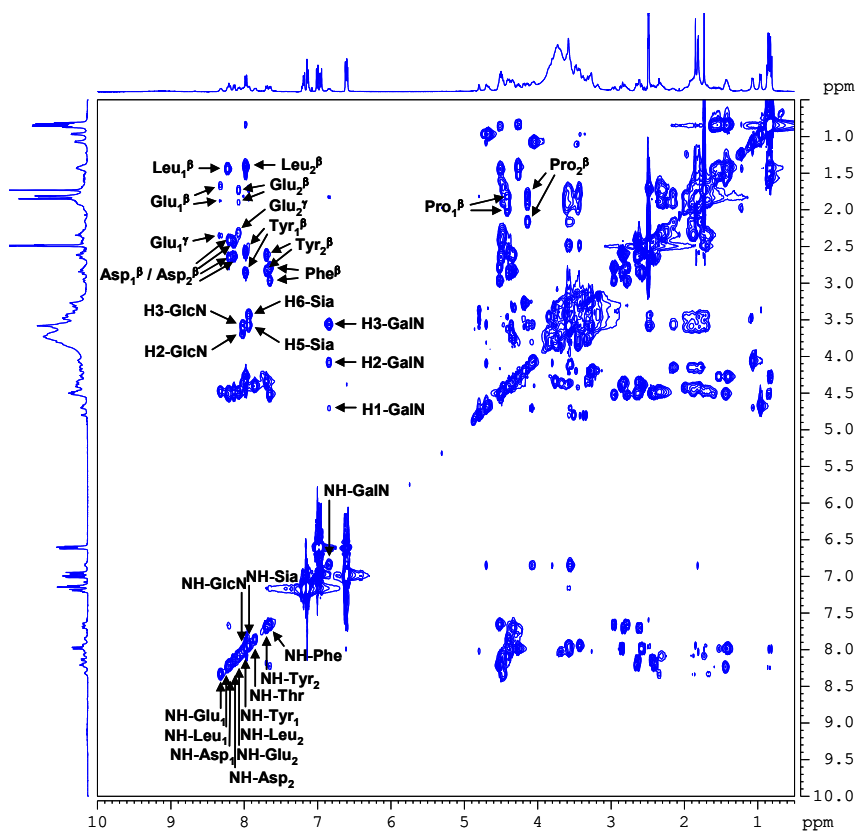


Abb. 3.29: Das TOCSY-Spektrum des Glycopeptids 120.

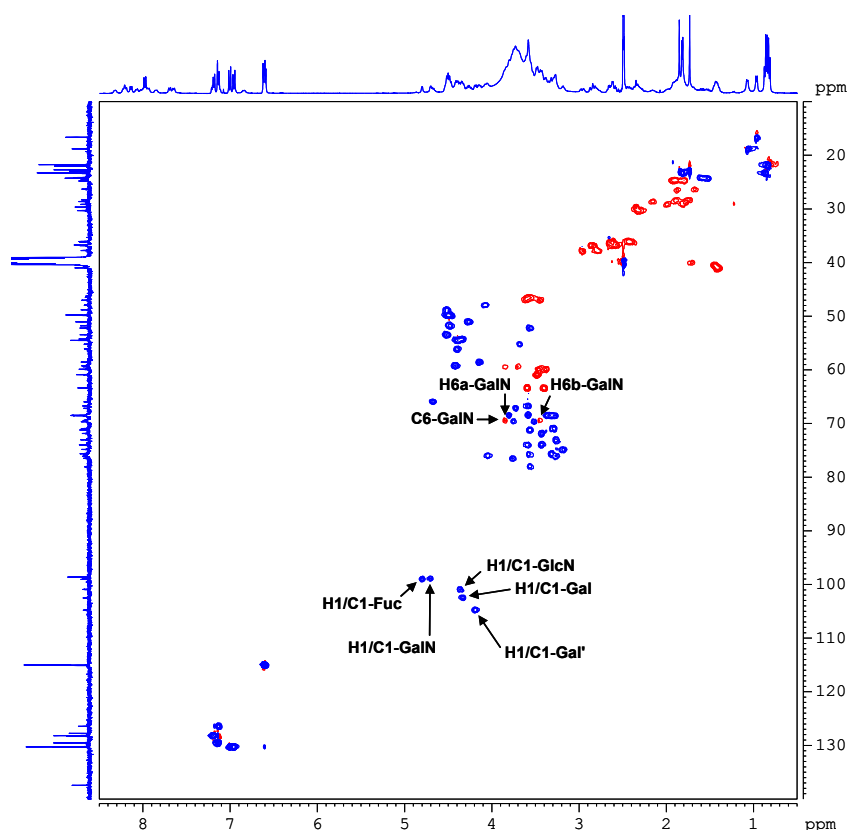
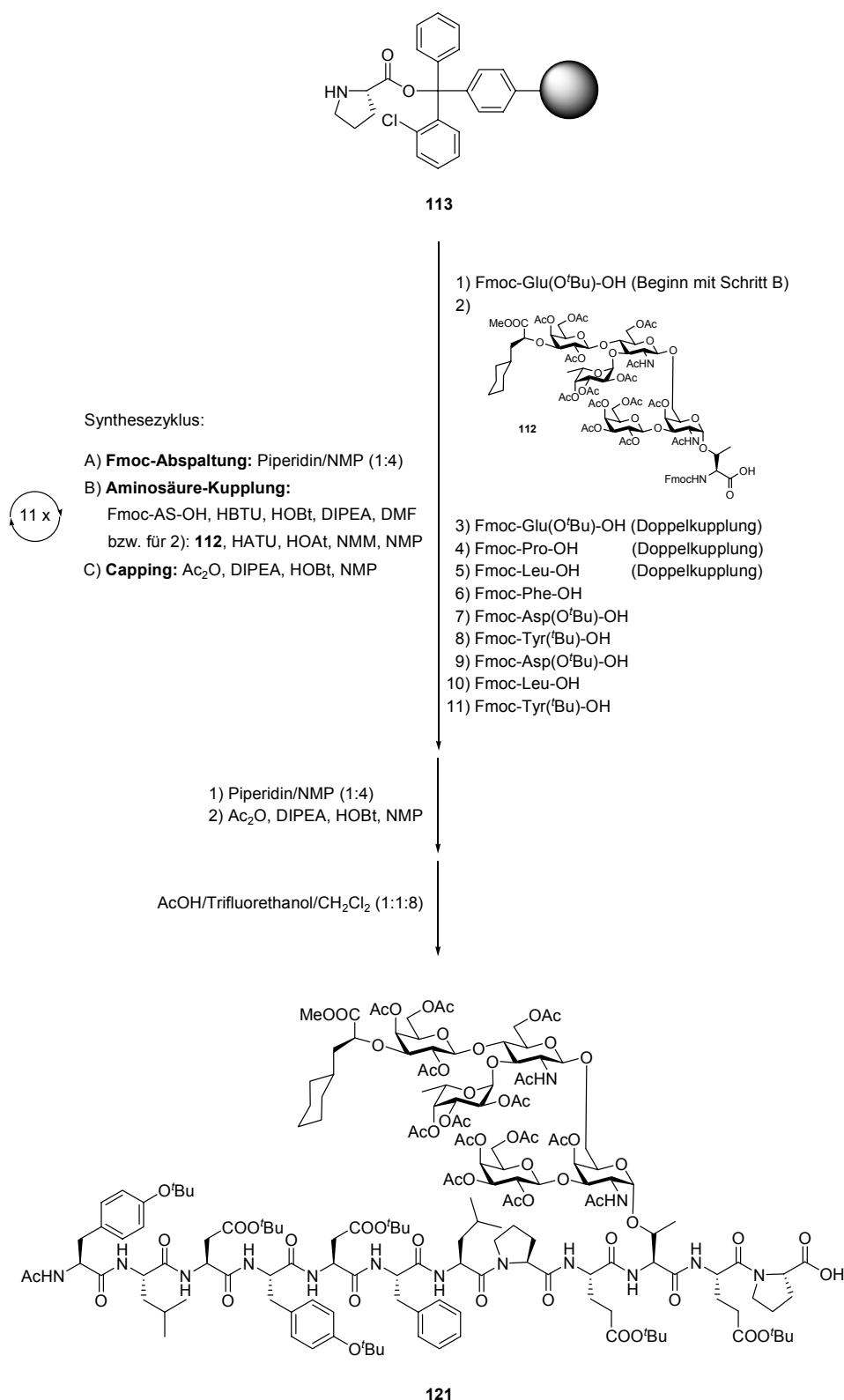


Abb. 3.30: Das HSQC-Spektrum des Glycopeptids 120.

An dieser Stelle sei insbesondere auf den großen Nutzen des TOCSY-Experiments für die Aufklärung der Struktur hingewiesen. Anhand des Spektrums, das ^1H - ^1H -Kopplungen innerhalb eines Spinsystems wiedergibt, lassen sich – speziell über Kreuzpeaks mit NH-Protonen – zahlreiche Signale klar zuordnen, welche im COSY-Spektrum nicht oder nur schwer aufgefunden werden können.

3.9.4 Das das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum enthaltende Glycododecapeptid

In kompletter Analogie zum Aufbau des auf Sialyl-Lewis^x basierenden Glycododecapeptids **116** wird auch die Synthese seines Mimetikums **121** an der festen Phase ausgehend von dem funktionalisierten Harz **113** durchgeführt (Schema 3.62).



Schema 3.62: Die Synthese des Glycopeptids **121**.

Da von dem benötigten Glycosylaminosäure-Baustein **112** eine ausreichende Menge zur Verfügung steht, wird dieser allerdings in einem geringen Überschuss von 1.1 Äquivalenten bezogen auf die Startaminosäure am Harz eingesetzt. Dennoch sprechen

auch hier die Werte der gemessenen UV-Absorptionen der Fmoc-Abspaltungslösungen für eine signifikante Abnahme der Kupplungsausbeute nicht nur bei der Anbindung der dem glycosylierten Threonin folgenden L-Glutaminsäureeinheit, sondern auch bei der Anknüpfung des voluminösen Bausteins selbst. Folglich sollte bei der Abspaltung vom Harz abermals ein Produktgemisch anfallen, das neben dem gewünschten Glycopeptid **121** die beiden Abbruchsequenzen **117** und **122** enthält (Abb. 3.31).

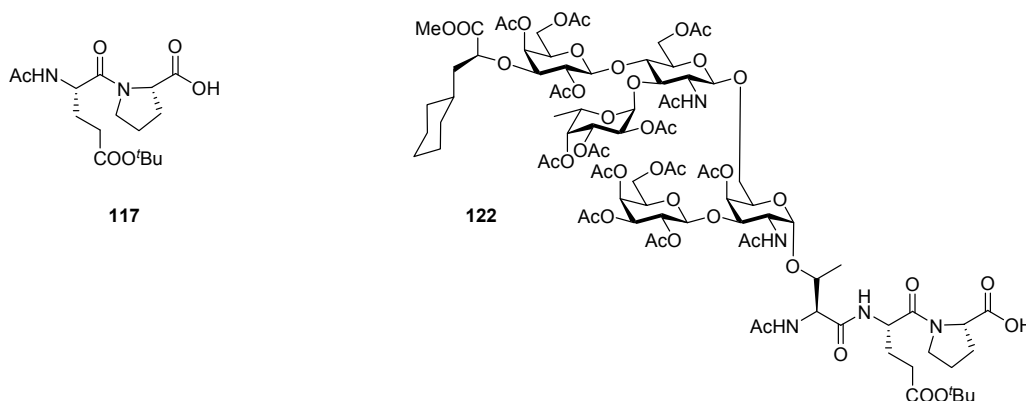
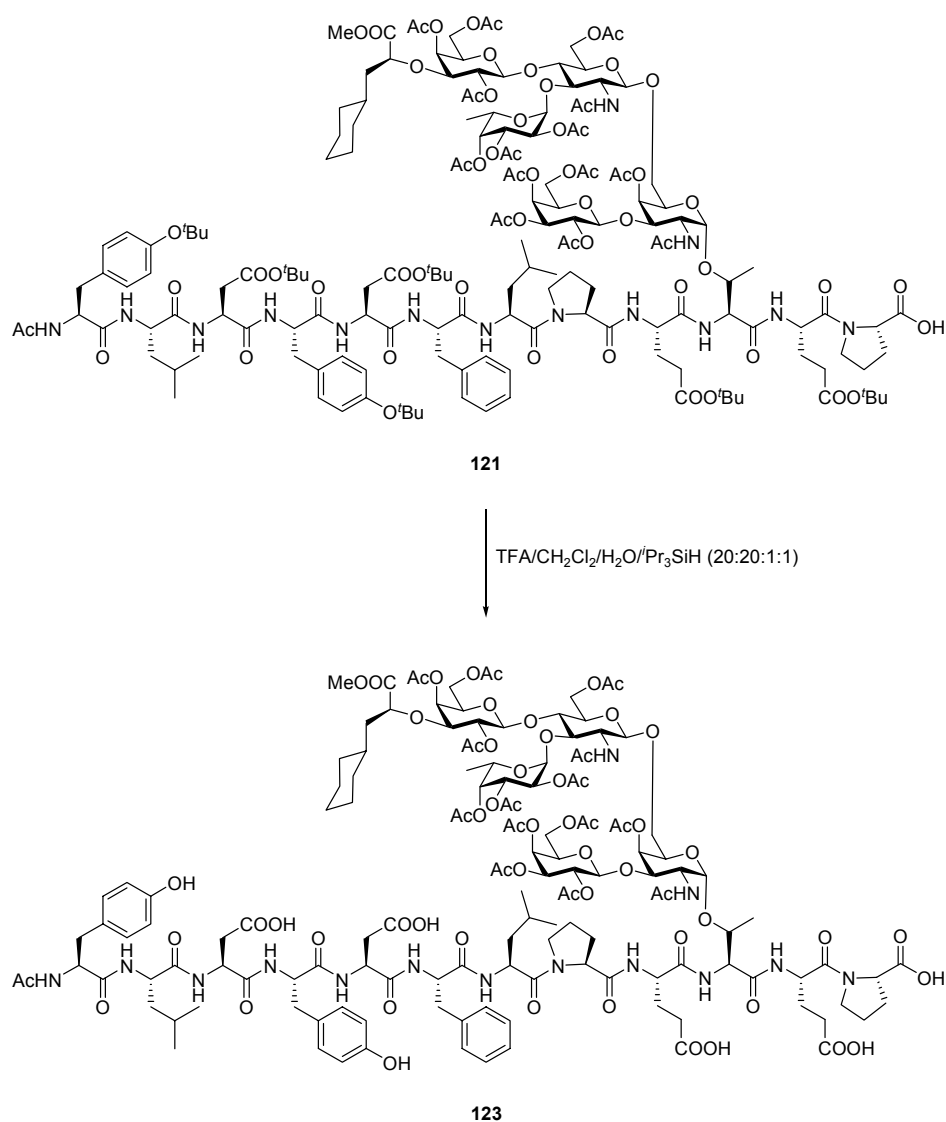


Abb. 3.31: Die Abbruchsequenzen **117** und **122**.

Die Abspaltung des Glycopeptids vom polymeren Träger gelingt erneut durch viermalige jeweils zweistündige Behandlung mit einer Mischung aus Essigsäure, Trifluorethanol und Dichlormethan.^[338] Durch anschließendes zweistündiges Schütteln des Harzes in einer Mischung aus Trifluoressigsäure (TFA) und Dichlormethan unter Zusatz von Wasser und Triisopropylsilan kann in diesem Fall allerdings noch eine kleine Menge an der bereits von den säurelabilen *tert*-Butylresten befreiten Verbindung **123** gewonnen werden.

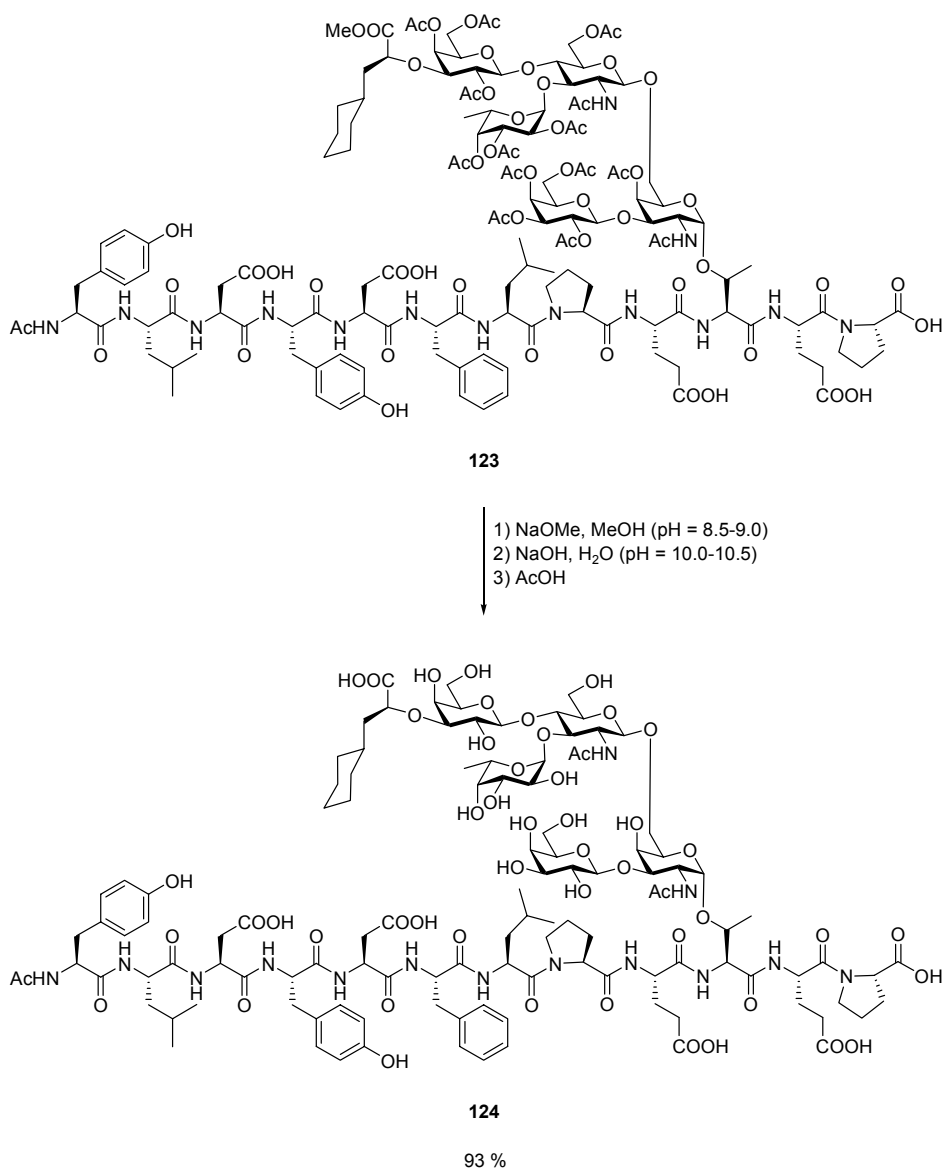
Zur Entfernung der *tert*-Butylgruppen in den übrigen erhaltenen Fraktionen wird das Rohprodukt mit Trifluoressigsäure (TFA) in Dichlormethan unter Zusatz von Wasser und dem Kationenfänger Triisopropylsilan^[355] umgesetzt (Schema 3.63). Erneut wird dabei die fucosidische Bindung infolge des stabilisierenden Effekts der Acetylgruppen nicht angegriffen. Nach präparativer RP-HPLC kann die im Peptidteil vollständig deblockierte Verbindung **123** in einer Ausbeute von 24 % bezogen auf die Startamino­säure am Harz isoliert werden. Auch hier mag die zu erreichende Ausbeute höher liegen als angegeben, da in diesem Fall ebenfalls Fraktionen gewonnen werden können, welche ähnliche Retentionszeiten wie die Hauptfraktion aufweisen und womöglich weiteres Produkt enthalten.



24 % (bezogen auf die Startamino­säure am Harz, 25 Stufen)

Schema 3.63: Die saure Schutzgruppenabspaltung zur Bildung des partiell deblockierten Glycopeptids **123**.

Wie im vorangehenden Abschnitt beschrieben, schließen sich der sauren Schutzgruppenabspaltung die *O*-Deacetylierung mit Natriummethanolat in Methanol bei einem pH-Wert von 8.5 bis 9.0 sowie die Hydrolyse des Methyl­esters und verbliebener Acetat­funktionen in wässriger Natronlauge bei einem pH-Wert von 10.0 bis 10.5 an (Schema 3.64). Im Gegensatz zu den dort geschilderten Beobachtungen lassen sich hier die Acetylgruppen allerdings auch durch Behandlung mit wässriger Natronlauge über einen Zeitraum von 18 Stunden nicht vollständig abspalten, was mittels analytischer RP-HPLC, NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie eindeutig nachzuweisen ist. So zeigt das Massenspektrum des Rohprodukts hauptsächlich Peaks, die Addukten von einfach bzw. zweifach acetylierten Verbindungen zuzuordnen sind.



Schema 3.64: Die Synthese des vollständig deblockierten Glycopeptids **124**.

Nach einer Reaktionszeit von weiteren 18 Stunden sind jedoch sämtliche Schutzgruppen entfernt. Die Reaktionslösung wird mit Essigsäure neutralisiert und das Rohprodukt durch präparative RP-HPLC gereinigt. Dadurch erhält man das vollständig deblockierte Glycopeptid **124** in einer Ausbeute von 93 %.

Innerhalb der Messgenauigkeiten von analytischer RP-HPLC und NMR-Spektroskopie kann auch in diesem Fall das Vorliegen eines Isomerengemischs ausgeschlossen werden. Die Struktur lässt sich wiederum anhand ein- und zweidimensionaler NMR-Spektren sowie mittels hoch auflösender Massenspektrometrie belegen, wobei hier ebenfalls der Zusatz von 0.1 % Trifluoressigsäure zu dem für die massenspektrometrischen Untersuchungen verwendeten Lösungsmittel angeraten ist.

Zur Veranschaulichung seien auch für das das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum enthaltende Glycopeptid **124** nachfolgend die zweidimensionalen NMR-Spektren – COSY (Abb. 3.32), TOCSY (Abb. 3.33) und HSQC (Abb. 3.34) – gezeigt.

Die Zuordnung der ¹H- und ¹³C-Signale gelingt, wie im Falle des Sialyl-Lewis^x enthaltenden Glycopeptids **120**, weitgehend (vgl. Abschnitt 5.9.3), so dass sich die Struktur eindeutig belegen lässt.

Bemerkenswert, wenn auch nicht überraschend, sind die großen Ähnlichkeiten, die zwischen den Spektren des Cyclohexylmilchsäurederivats **124** und denjenigen der sialylierten Verbindung **120** festzustellen sind: Mit Ausnahme der Signale für einige Kerne des Galactosylrests aus der Lewis^x-Einheit weisen alle Peaks für die Verbindung **124** – zumindest diejenigen, die zugeordnet werden können – nahezu identische chemische Verschiebungen wie die entsprechenden Signale für das Glycopeptid **120** auf. Dies spricht für nur minimale Abweichungen in Konformation und elektronischer Struktur der beiden Substanzen und damit für das Potential des Cyclohexylmilchsäurerests als Mimetikum der Sialinsäure.

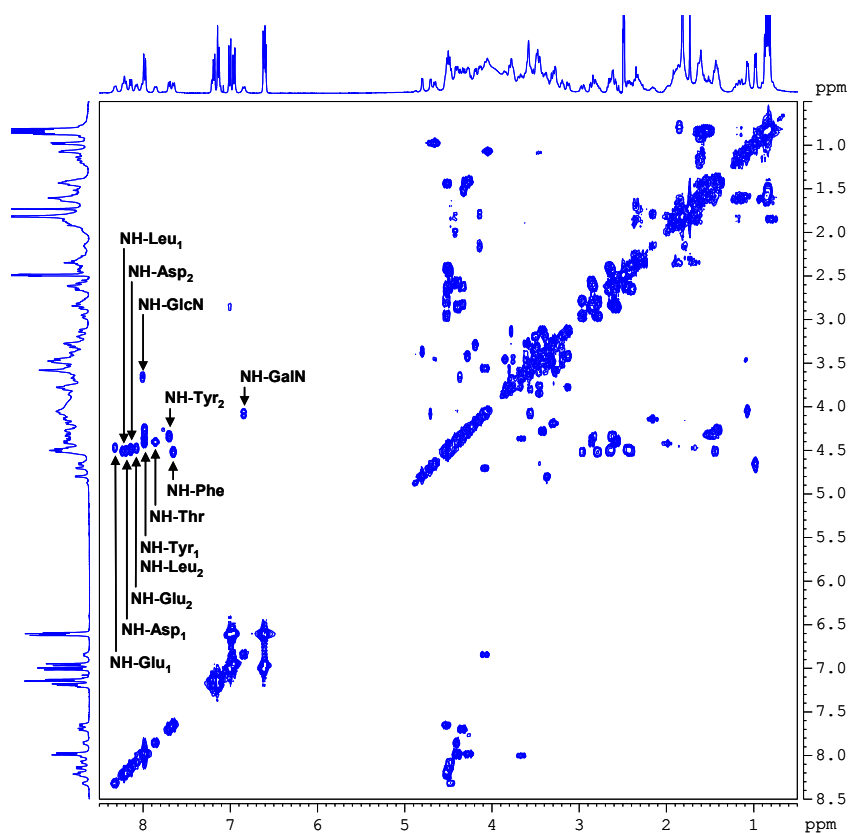


Abb. 3.32: Das COSY-Spektrum des Glycopeptids **124**.

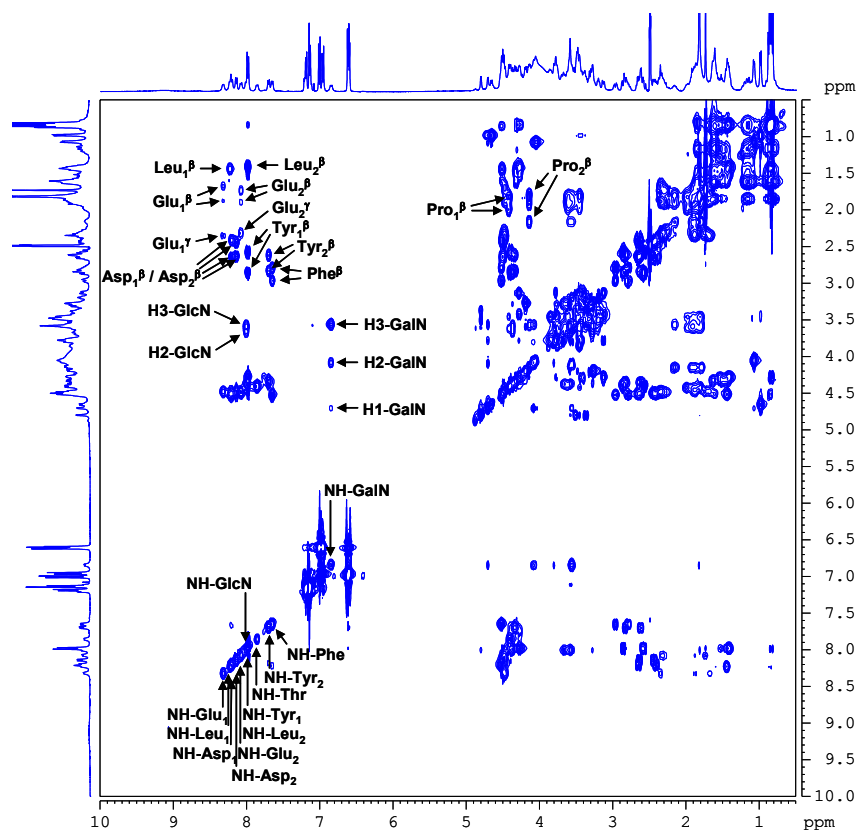


Abb. 3.33: Das TOCSY-Spektrum des Glycopeptids 124.

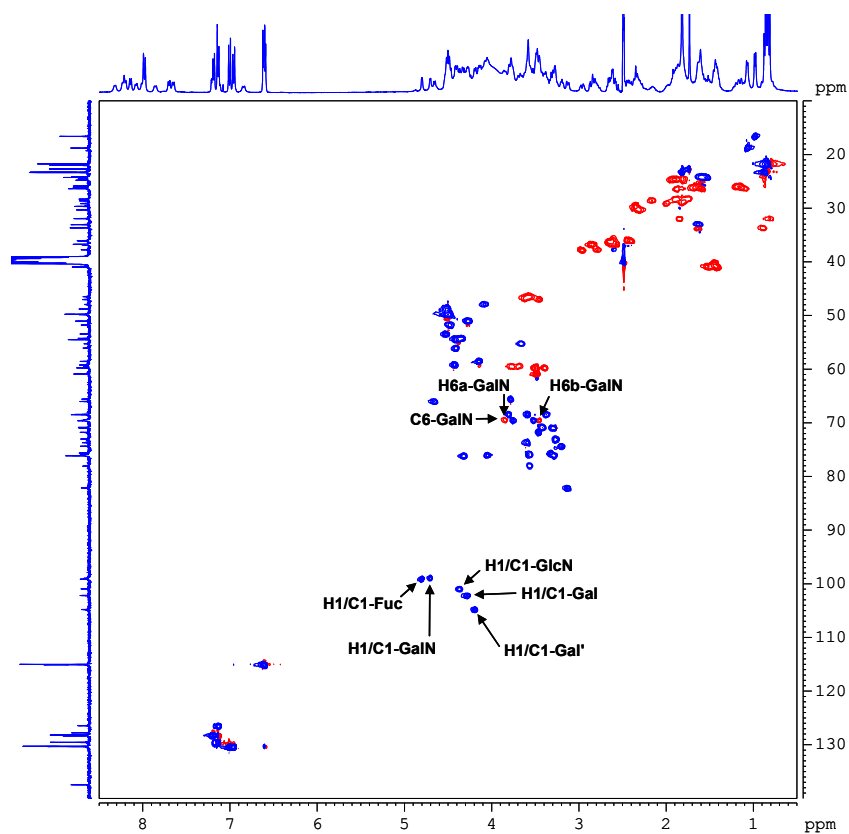


Abb. 3.34: Das HSQC-Spektrum des Glycopeptids 124.

Zum Vergleich sind in den Tabellen 3.2 und 3.3 die chemischen Verschiebungen δ der für beide Glycopeptide zugewiesenen ^1H - und ^{13}C -Signale einander gegenübergestellt.

Tabelle 3.2: Chemische Verschiebungen δ (in ppm) der ^1H -Signale für die Glycopeptide **120** und **124**.

	H	120	124
Tyr	NH	7.98, 7.69	7.98, 7.70
	α	4.39, 4.34	4.39, 4.34
	β	2.86, 2.83, 2.62, 2.58	2.86, 2.83, 2.62, 2.58
	Ar-2,6	7.01, 6.96	7.01, 6.96
	Ar-3,5	6.62-6.59	6.62-6.59
Leu	NH	8.22, 7.98	8.22, 7.98
	α	4.51, 4.27	4.51, 4.28
	β	1.44, 1.44, 1.41, 1.41	1.44, 1.44, 1.42, 1.42
	γ	1.60, 1.52	1.61, 1.53
	δ	0.88-0.81	0.90-0.78
Asp	NH	8.20, 8.14	8.20, 8.14
	α	4.51, 4.49	4.51, 4.49
	β	2.65, 2.64, 2.44, 2.41	2.65, 2.64, 2.44, 2.41
Phe	NH	7.65	7.65
	α	4.52	4.52
	β	2.96, 2.79	2.96, 2.79
	Ar	7.21-7.13	7.21-7.11
Pro	α	4.42, 4.14	4.42, 4.14
	β	2.16, 1.99, 1.82, 1.79	2.16, 1.99, 1.82, 1.79
	γ	1.90, 1.90, 1.80, 1.80	1.90, 1.90, 1.81, 1.81
	δ	3.63-3.53, 3.45	3.63-3.54, 3.46
Glu	NH	8.32, 8.07	8.32, 8.08
	α	4.48, 4.47	4.48, 4.47
	β	1.89, 1.87, 1.73, 1.67	1.89, 1.88, 1.74, 1.67
	γ	2.35, 2.35, 2.31, 2.31	2.35, 2.35, 2.31, 2.31
Thr	NH	7.85	7.86
	α	4.40	4.41
	β	4.05	4.05
	γ	1.07	1.07
GlcN	1	4.36	4.37
	2	3.68	3.66
	3	3.58	3.58
	NH	8.02	8.00
Fuc	1	4.80	4.80
	2	3.37	3.37
	3	3.51	3.52
	4	3.43	3.45
	5	4.67	4.65
	6	0.97	0.98
Gal	1	4.33	4.28
	2	3.33	3.42
	3	3.76	3.13
GalN	1	4.70	4.70
	2	4.08	4.08
	3	3.56	3.56
	4	3.80	3.80
	6	3.85, 3.45	3.85, 3.45
	NH	6.84	6.84
Gal'	1	4.19	4.19
	2	3.28	3.30
	3	3.58	3.58

Tabelle 3.3: Chemische Verschiebungen δ (in ppm) der ^{13}C -Signale für die Glycopeptide **120** und **124**.

	C	120	124
Tyr	α	54.50, 54.25	54.50, 54.27
	β	36.84, 36.73	36.82, 36.73
	Ar-1	128.33, 127.77	128.34, 127.77
	Ar-2,6	130.32, 130.28	130.32, 130.28
	Ar-3,5	115.08, 115.02	115.08, 115.02
	Ar-4	155.95, 155.90	155.96, 155.91
Leu	α	51.05, 49.85 / 49.77 / 48.79	51.05, 49.77 / 48.79
	β	40.99, 40.52	40.98 / 40.92, 40.52
	γ	24.27, 24.17	24.28, 24.16
	δ	23.36, 23.28, 22.01, 21.73	23.37, 23.28, 22.01, 21.73
Asp	α	49.85 / 49.77 / 48.79	49.77 / 48.79
	β	36.17, 36.06	36.15, 36.07
	γ	172.30, 172.05	172.30, 172.05
Phe	α	53.45	53.44
	β	37.75	37.75
	Ar-1	137.44	137.45
	Ar-2,6/Ar-3,5	129.54, 128.18	129.55, 128.18
	Ar-4	126.45	126.44
Pro	α	59.25, 58.56	59.23, 58.56
	β	29.15, 28.62	29.14, 28.63
	γ	24.79, 24.57	24.79, 24.57
	δ	47.02, 46.48	47.03, 46.48
	COOH	173.52	173.53
Glu	α	51.78, 49.85 / 49.77 / 48.79	51.77, 49.77 / 48.79
	β	28.30, 26.31	28.32, 26.36
	γ	30.31, 29.67	30.32, 29.67
	δ	174.47, 174.23	174.47, 174.23
Thr	α	56.09	56.09
	β	76.00	76.02
	γ	18.80	18.81
GlcN	1	100.92	100.95
	2	55.21	55.26
	3	75.86	75.94
Fuc	1	99.06	99.15
	2	68.51	68.47
	3	69.66	69.60
	4	71.86	71.78
	5	65.94	66.03
	6	16.64	16.62
Gal	1	102.52	102.19
	2	75.62	70.86
	3	76.49	82.14
GalN	1	98.98	98.99
	2	47.95	47.94
	3	78.08	78.07
	4	68.51	68.47
	6	69.38	69.44
Gal'	1	104.79	104.79
	2	70.98	70.98
	3	68.51	68.47

4 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, Glycopeptide mit einer Partialsequenz aus der *N*-terminalen Domäne des natürlichen Selektinliganden PSGL-1 zu synthetisieren, welche das Potential besitzen, unerwünschte selektinvermittelte Zelladhäsionsprozesse möglichst effizient kompetitiv zu inhibieren. Auf diesem Wege sollten sich entsprechende chronisch entzündliche Krankheiten wie rheumatoide Arthritis behandeln und bestimmte akut eintretende schwere Schädigungen von gesundem Gewebe sowie die Metastasenbildung maligner Tumore einschränken bzw. idealerweise vollständig unterdrücken lassen.

Der gewählte Ausschnitt aus dem P-Selektin-Glycoprotein-Liganden-1 (PSGL-1) reicht von Tyr⁴⁸ am *N*-Terminus bis Pro⁵⁹ am *C*-Terminus (Abb. 4.1) und umfasst somit sämtliche Aminosäurereste der Sequenz, die für das Auftreten einer hochaffinen Rezeptorbindung erforderlich sind.

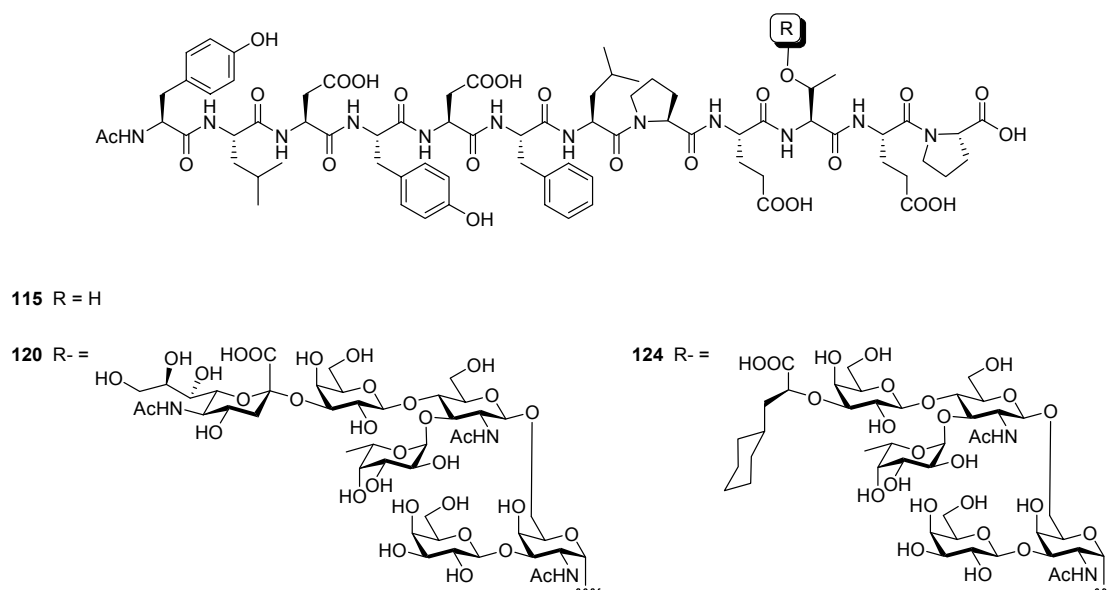
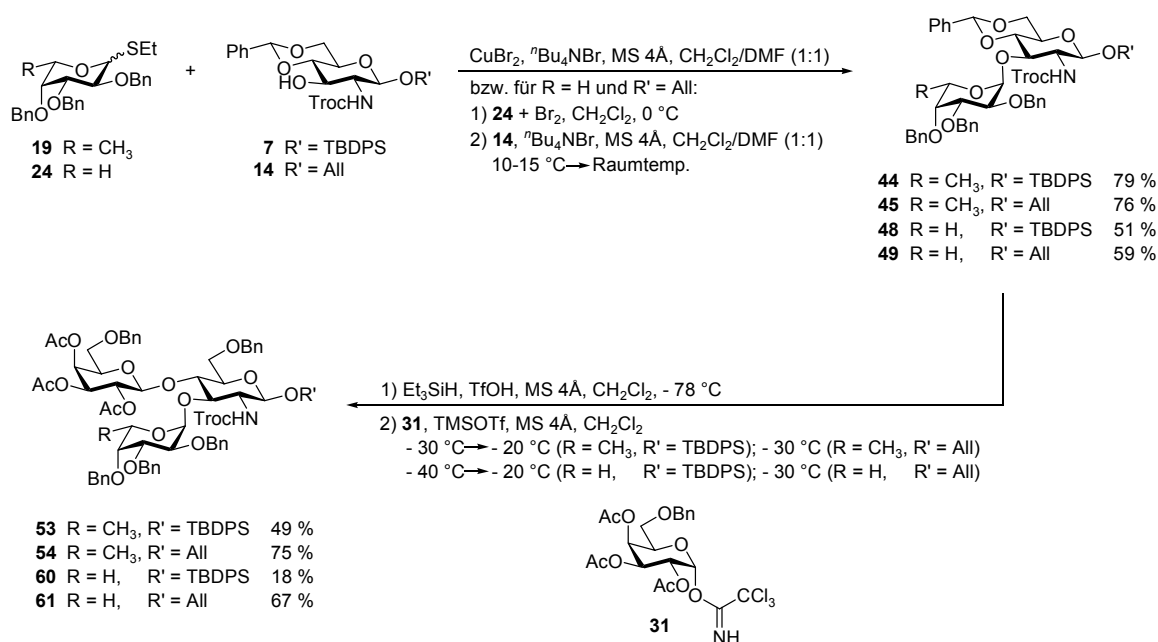


Abb. 4.1: Die Partialsequenz 48-59 aus dem P-Selektin-Glycoprotein-Liganden-1 (PSGL-1) sowie die davon abgeleiteten synthetisierten Glycopeptide **120** und **124**.

Dabei ist die Hydroxylfunktion der Seitenkette von Thr⁵⁷ in den hergestellten Glycopeptiden **120** und **124** mit einem *O*-Glycan modifiziert, welches einerseits das in natürlichen Selektinliganden häufig vorkommende Tetrasaccharid Sialyl-Lewis^x bzw. ein Mimetikum desselben enthält und andererseits die für Mucine typische Form der Anbindung an das peptidische Rückgrat über eine *N*-Acetyl- α -D-galactosamineinheit aufweist.

Zum Aufbau der angestrebten komplexen Glycopeptidstrukturen wurde zunächst eine Strategie für die Synthese des an die Hydroxylaminosäure gebundenen Hexasaccharids ausgearbeitet. Diese sollte allein auf chemischen Methoden basieren und die parallele Herstellung potentieller Mimetika ermöglichen. Besondere Bedeutung bei der Planung der Synthese kam der Wahl eines geeigneten Schutzgruppenmusters zu. So wurden sowohl der Einsatz des *tert*-Butyldiphenylsilyl(TBDPS)-Rests als auch die Verwendung des Allyl(All)-Rests zum Schutz der anomeren Hydroxylgruppe der Glucosamineinheit hinsichtlich ihrer Zweckmäßigkeit geprüft, während die Aminofunktion dieses zentralen Bausteins als Carbamat blockiert wurde. Zur Erzeugung potentieller Sialyl-Lewis^x-Mimetika wurde L-Fucose durch D-Arabinose und *N*-Acetyl-D-neuraminsäure durch (*S*)-Cyclohexylmilchsäure ersetzt.

Bei dem entwickelten konvergenten Synthesekonzept wird zunächst das Glucosaminderivat **7** bzw. **14** fucosyliert bzw. arabinosyliert (Schema 4.1), wobei im Falle der Arabinosylierung des Allylglucosids **14** zum Erreichen einer zufriedenstellenden Ausbeute das als Glycosyldonor fungierende Bromid separat hergestellt werden muss.

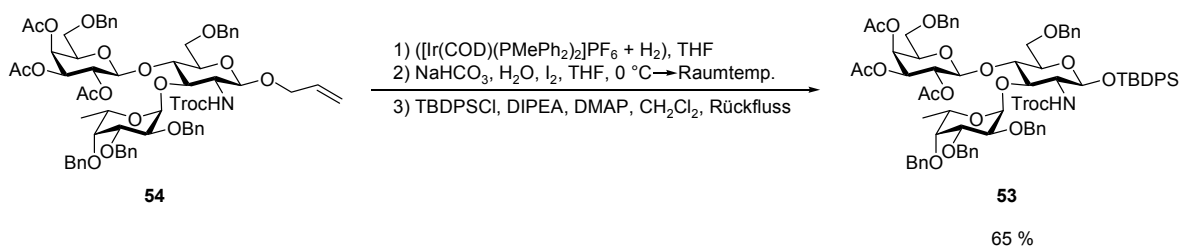


Schema 4.1: Die Synthesen der Trisaccharide **53**, **54**, **60** und **61**.

Nach regioselektiver Öffnung des Benzylidenacetals in den Disacchariden **44**, **45**, **48** und **49** erfolgt die Galactosylierung der allgemein schwer zugänglichen 4-Position des Glucosamins, welche unter Verwendung des Trichloracetimidats **31** als Glycosyldonor gelingt. Aus sterischen Gründen werden dabei für die Allylglucoside **54** und **61** grundsätzlich deutlich höhere Ausbeuten als für die entsprechenden Silylglucoside **53** und **60** erreicht. Bei den arabinosylierten Bausteinen **60** und **61** müssen allerdings in

beiden Fällen, wie auch bei einer Vielzahl der anderen Reaktionsschritte, erhebliche Ausbeuteeinbußen infolge der Säurelabilität der arabinosidischen Bindung in Kauf genommen werden.

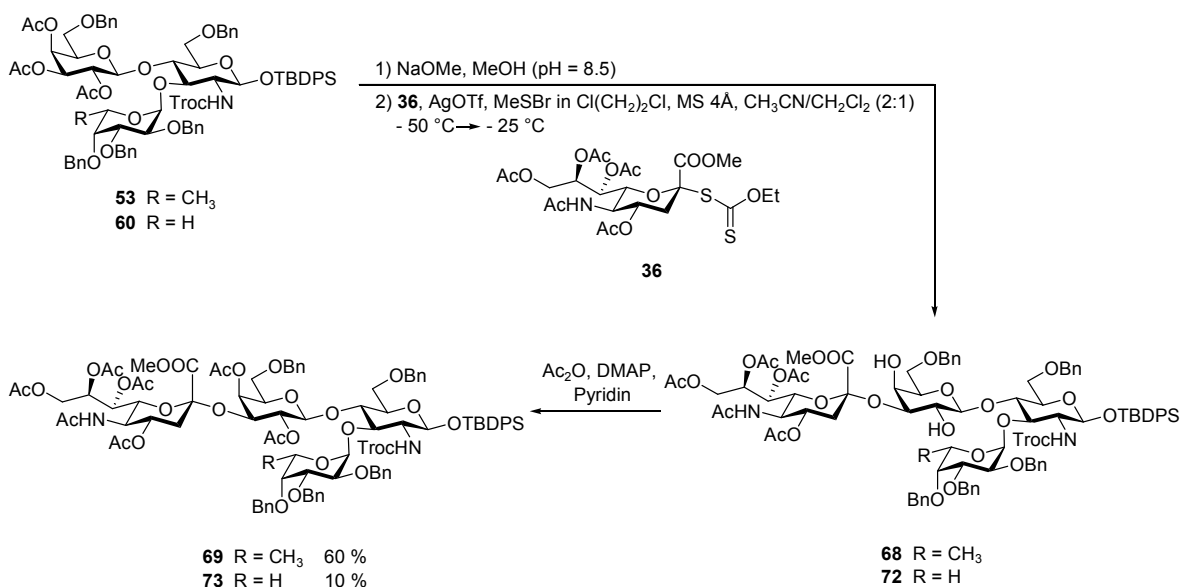
Für das Fucosederivat **54** wurde zudem auf dieser Stufe der Beweis erbracht, dass das in hoher Ausbeute zu erhaltende Allylglucosid **54** in das entsprechende Silylglucosid **53** überführt werden kann (Schema 4.2).



Schema 4.2: Die Umwandlung des Allylglucosids **54** in das Silylglucosid **53**.

So erhält man nach Isomerisierung des Allylsubstituenten, Abspaltung des resultierenden Prop-1-enylrests und anomerer Silylierung das TBDPS-geschützte Trisaccharid **53** in einer Ausbeute von 65 %.

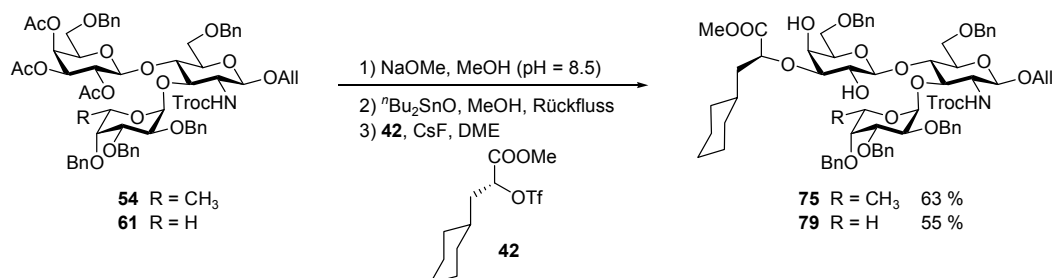
Aus den beiden Silylglucosiden **53** und **60** lassen sich – im Anschluss an die Deacetylierung – die entsprechenden vollständig blockierten Tetrasaccharide **69** und **73** unter Einsatz des Xanthogenats **36** der Sialinsäure herstellen (Schema 4.3).



Schema 4.3: Die Synthesen des Sialyl-Lewis^x-Derivats **69** und des Arabino-Sialyl-Lewis^x-Derivats **73**.

Hingegen können die Allylglucoside **54** und **61** nach vollständiger Deacetylierung und anschließender Bildung der entsprechenden Stannyleneacetale durch Reaktion mit dem

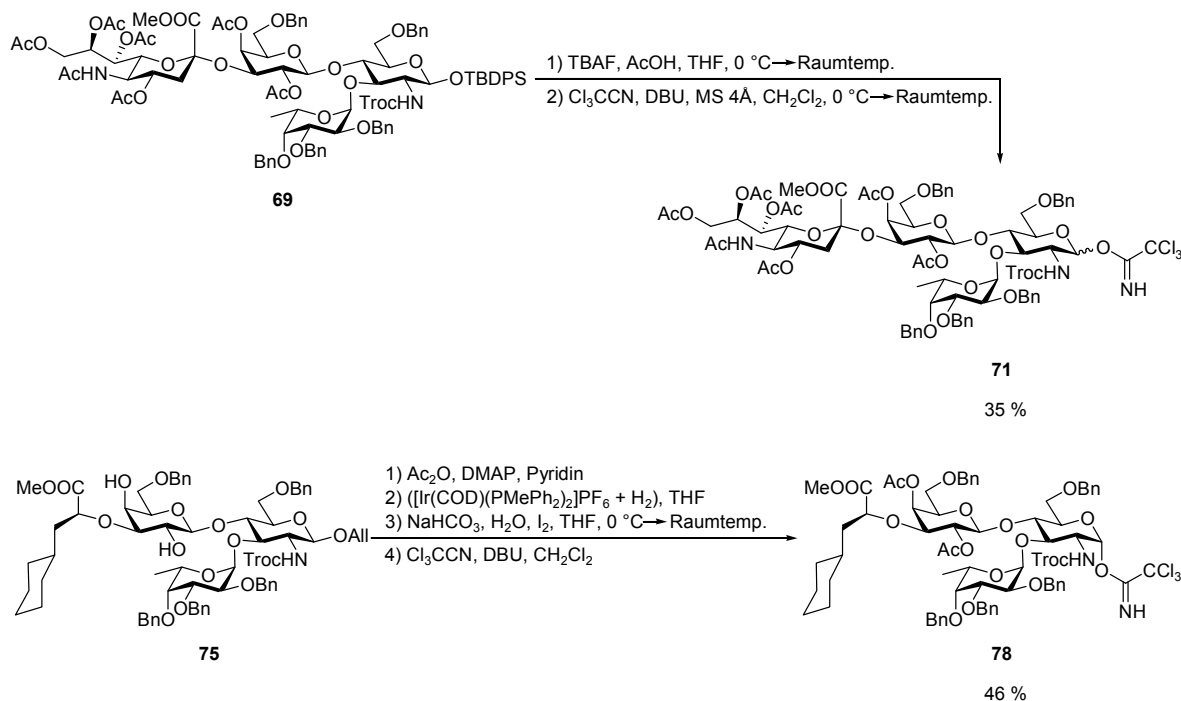
(*R*)-Cyclohexylmilchsäuretriflat **42** in die Sialyl-Lewis^x-Mimetika **75** und **79** überführt werden (Schema 4.4).



Schema 4.4: Die Synthesen der Sialyl-Lewis^x-Mimetika **75** und **79**.

Aus Zeitgründen wurden im Rahmen dieser Arbeit exemplarisch nur die beiden erhaltenen fucosylierten Bausteine **69** und **75** weiter zu den Glycosylaminosäure-Derivaten umgesetzt, während auf die Herstellung der entsprechenden arabinosylierten Strukturen verzichtet wurde. Prinzipiell sollten sich diese jedoch auf analoge Weise aufbauen lassen.

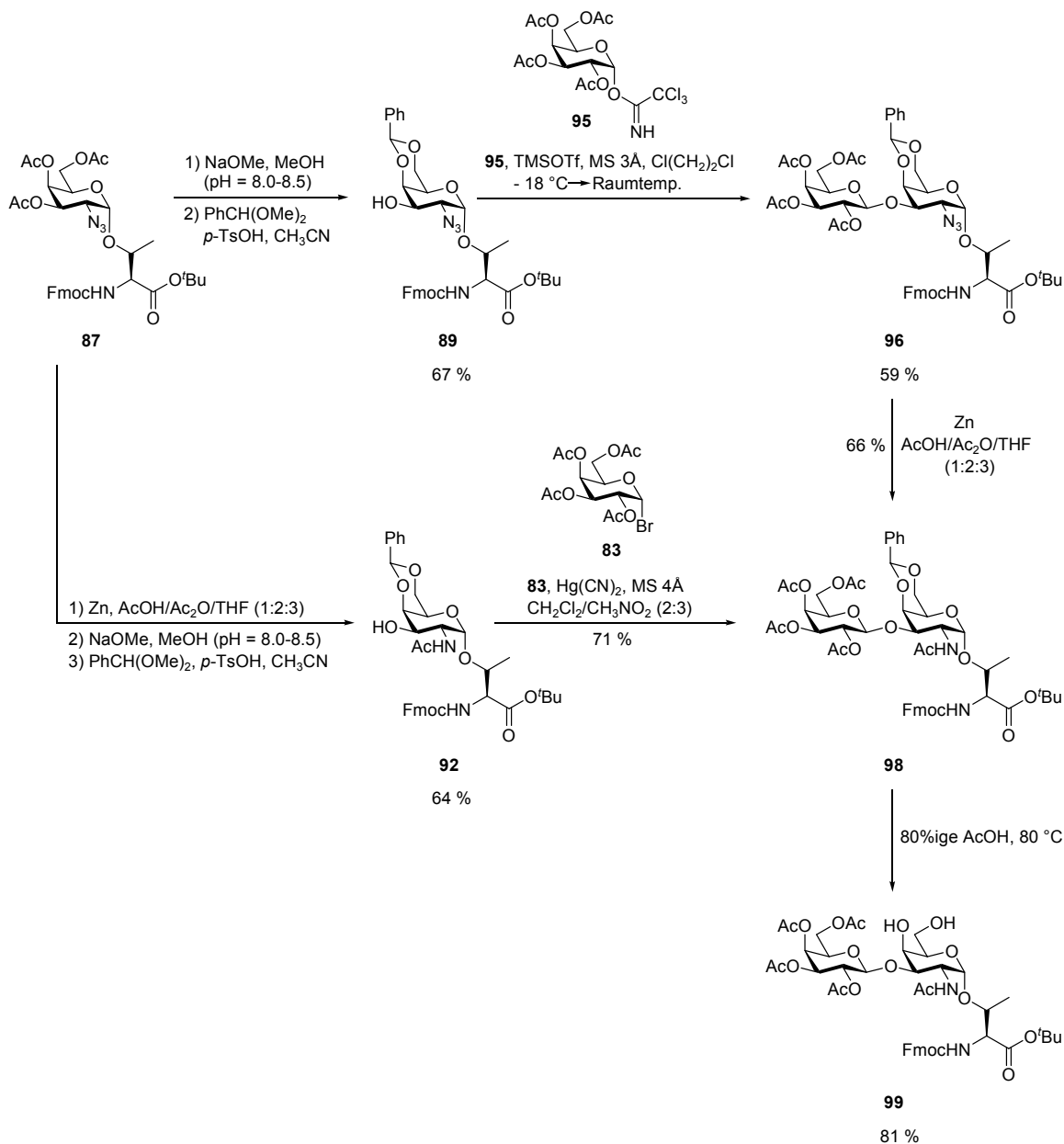
Zunächst werden das Tetrasaccharid **69** und das „Pseudotetrasaccharid“ **75** in die reaktiven Trichloracetimidate **71** und **78** überführt (Schema 4.5), welche später mit dem Disaccharid-Threonin-Konjugat **99** zur Reaktion gebracht werden sollen.



Schema 4.5: Die Synthesen der Trichloracetimidate **71** und **78**.

Zu dessen Synthese wurden in dieser Arbeit zwei der gängigen Glycosylierungsmethoden geprüft (Schema 4.6): Im ersten Fall wurde der in 2-Stellung Azido-substituierte Glycosyl-

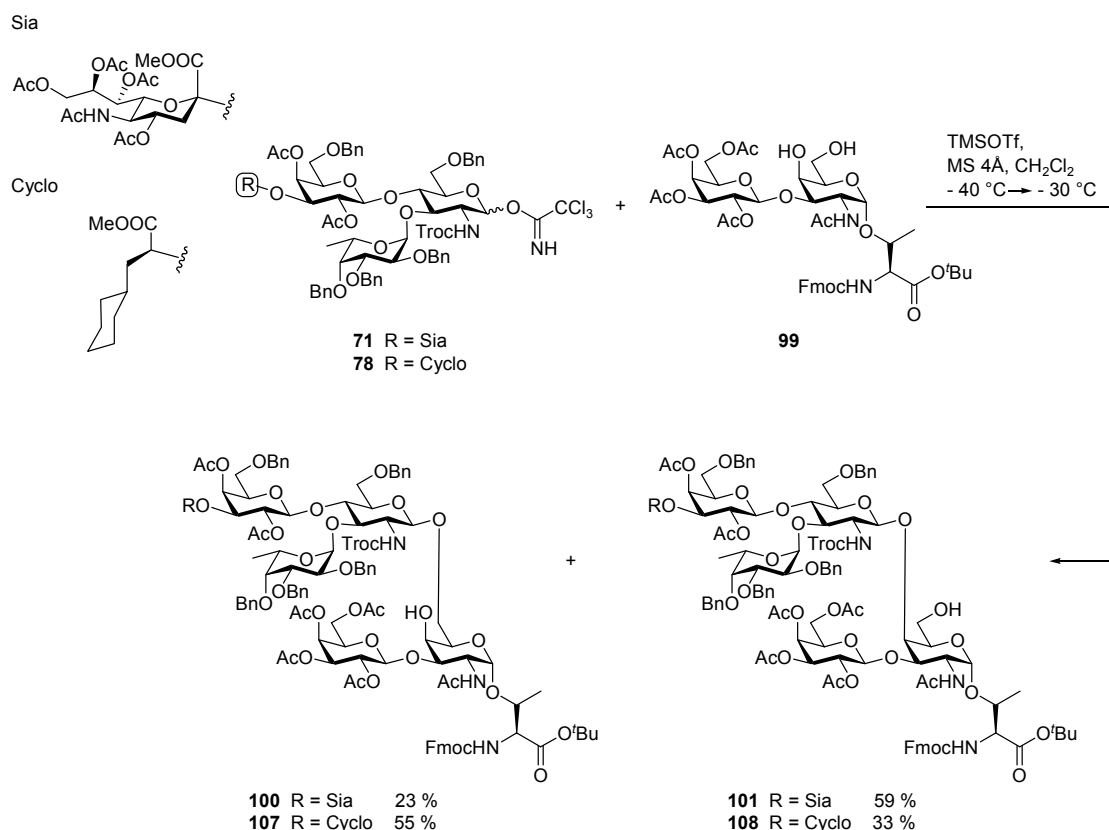
akzeptor **89** mit dem Trichloracetimidat **95** zum Disaccharid-Threonin-Konjugat **96** umgesetzt, bevor die Azido- zur Acetamidofunktion reduziert wurde. Im zweiten Fall wurde dagegen zunächst die Umwandlung des Azids **87** in das Acetamid **92** vorgenommen, welches dann mit dem Bromid **83** unter Bildung des Disaccharid-Threonin-Konjugats **98** zur Reaktion gebracht wurde.



Schema 4.6: Die Synthesen des Disaccharid-Threonin-Konjugats **99**.

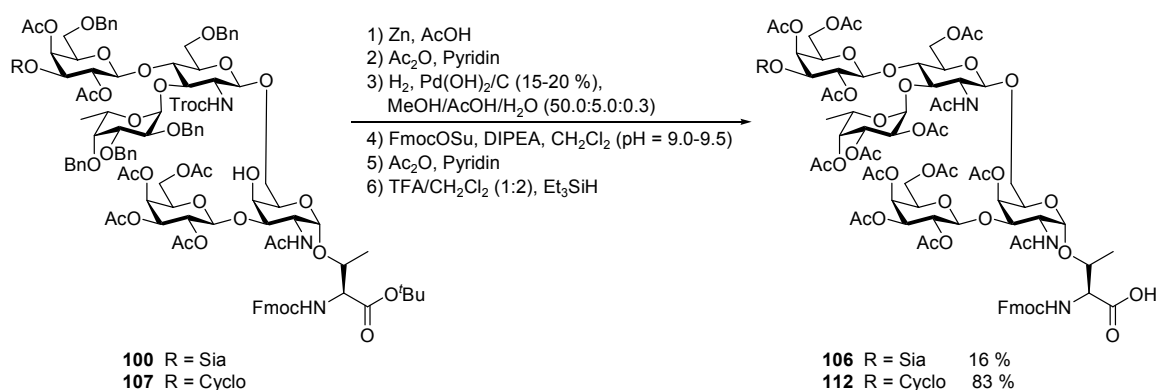
Die Gesamtausbeute, welche bei letzterem Vorgehen erreicht wird, ist der bei Anwendung der ersten Methode zu erzielenden Ausbeute geringfügig überlegen, allerdings bleibt zu bedenken, dass sich im ersten Fall der Einsatz von Quecksilber(II)-cyanid vermeiden lässt. Die Spaltung des Benzylidenacetals liefert schließlich den gewünschten Baustein **99**.

Dieser wird im Folgenden mit den Trichloracetimidaten **71** und **78** zu den angestrebten Oligosaccharid-Threonin-Konjugaten **100** und **107** umgesetzt (Schema 4.7), wobei die Reaktionen insgesamt zu einem unerwarteten Ergebnis führen: Während die gewünschten Verbindungen **100** und **107** zwar erhalten werden – im Falle des Mimetikums **107** zudem in einer für die anspruchsvolle Glycosylierung durchaus zufriedenstellenden Ausbeute –, entsteht bei beiden Umsetzungen in hohem Maße auch das jeweilige Regioisomer, das über die 4-Position des Galactosamins verknüpfte Glycosylierungsprodukt **101** bzw. **108**.



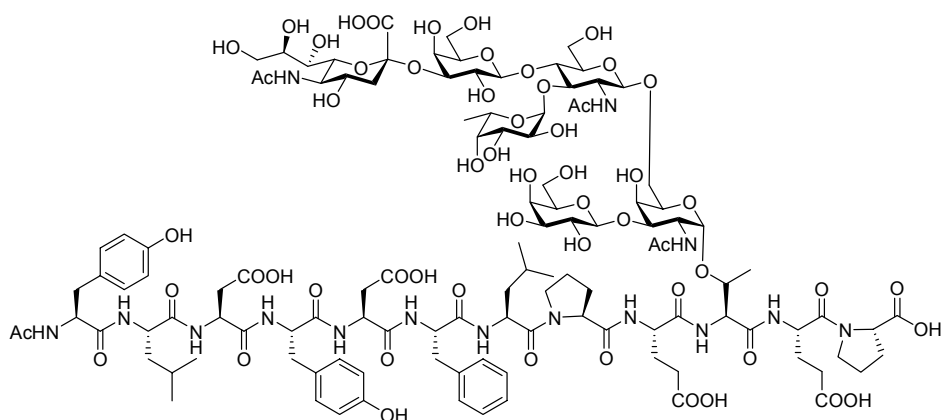
Schema 4.7: Die Glycosylierungen unter Bildung der („Pseudo“-)Hexasaccharid-Threonin-Konjugate **100** und **101** sowie **107** und **108**.

Entsprechende Schutzgruppenmanipulationen an den gewünschten in 6-Stellung substituierten Galactosaminderivaten **100** und **107** liefern schließlich die Glycosylaminosäuren **106** und **112** (Schema 4.8), die direkt in die Glycopeptidsynthesen an der festen Phase eingebracht werden können. An dieser Stelle sei bemerkt, dass sich die im Falle des sialylierten Bausteins **106** geringe Ausbeute in Zukunft noch deutlich steigern lassen sollte, da nun die besonderen Probleme der einzelnen Deblockierungen und Blockierungen bekannt sind und die verschiedenen Reaktionsschritte bereits optimiert werden konnten.



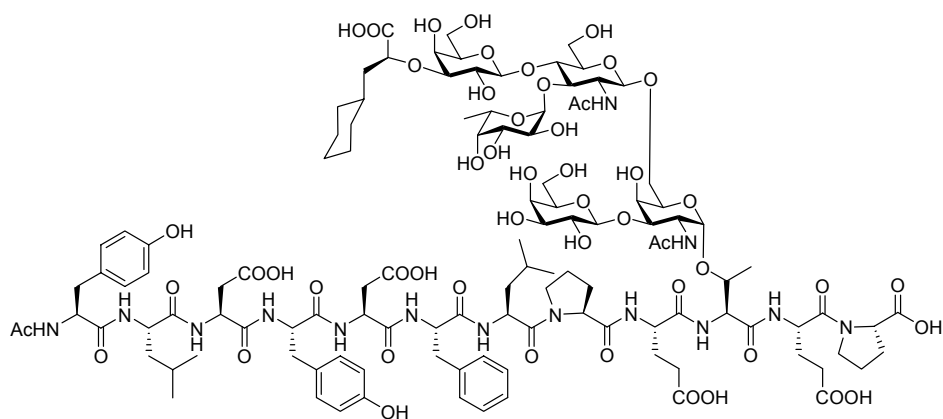
Schema 4.8: Die Synthesen der Glycosylaminosäure-Bausteine **106** und **112**.

Die Glycopeptid-Festphasensynthesen nach der Fmoc-Strategie unter Verwendung eines 2-Chlortritylankersystems ergeben zuletzt – nach anschließender vollständiger Deblockierung – die angestrebten Glycopeptide **120** und **124** in einer Gesamtausbeute von 15 % bzw. 22 % (Abb. 4.2).



120

15 % (bezogen auf den Glycosylaminosäure-Baustein **106**)



124

22 % (bezogen auf die Startaminosäure am Harz)

Abb. 4.2: Die synthetisierten Glycopeptide **120** und **124**.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeines und Messgeräte

Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Reaktionen bei Raumtemperatur und unter Rühren durchgeführt.

Alle Destillationen „i. Vak.“ bzw. „i. Hochvak.“ wurden – soweit nicht anders vermerkt – bei 40 °C ausgeführt.

Im Anschluss an die flashchromatographische Reinigung wurden die erhaltenen Reinstoffen stets einmal mit Dichlormethan kodestilliert und im Hochvakuum getrocknet.

Lösungsmittel:

Sofern nicht anders angegeben, wurden für jede Reaktion Lösungsmittel des Reinheitsgrades *pro analysi* (p.a.) eingesetzt.

Absolutes *N,N*-Dimethylformamid wurde in durch Septen verschlossenen Flaschen über Molekularsieb von der Firma *Fluka*, Buchs (Schweiz) bezogen.

Acetonitril, 1,2-Dichlorethan, Dichlormethan, 1,2-Dimethoxyethan und Nitromethan wurden – soweit erforderlich – über Calciumhydrid getrocknet und direkt vor dem Gebrauch destilliert.

Absoluter Diethylether, absolutes Tetrahydrofuran und absolutes Toluol wurden durch Trocknung über Natrium / Benzophenon erhalten und ebenfalls frisch destilliert.

Molekularsieb:

Bei allen Reaktionen, die in Gegenwart von Molekularsieb durchgeführt wurden, wurde – soweit nicht anders angegeben – kugelförmiges Molekularsieb mit einer Korngröße von 1-2 mm und einer Porengröße von 4 Å der Firma *Alfa Aesar*, Karlsruhe (Deutschland) verwendet. Dieses wurde direkt vor dem Einsatz im Reaktionskolben mehrere Stunden im Hochvakuum mit Hilfe eines Quarzstrahlers ausgeheizt.

Dünnschichtchromatographie:

Für die dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle wurden mit Kieselgel 60 F₂₅₄ beschichtete Aluminiumfertigplatten der Firma *Merck*, Darmstadt (Deutschland) verwendet. In einigen wenigen Fällen wurden zur besseren Trennung von Substanzen sehr ähnlicher Polarität entsprechende DC-Platten der Firma *Merck* eingesetzt, die mit einer Konzentrierungszone versehen sind. Dies ist gegebenenfalls bei der nachfolgenden Beschreibung der einzelnen Synthesen gesondert vermerkt. Bei besonders polaren

Verbindungen wurden teilweise RP-18 F_{254s}-Platten der Firma *Merck* benutzt. Auch dies ist an den entsprechenden Stellen angegeben.

Die Detektion erfolgte mit Hilfe von UV-Licht der Wellenlänge 254 nm und den folgenden drei Anfärbereagenzien:

- „Zucker-Reagenz“
(Mischung aus 1 M ethanolischer Schwefelsäure und 0.2%iger ethanolischer 3-Methoxyphenol-Lösung im Volumenverhältnis 1:1);
- „Seebach-Reagenz“
(Lösung von 1.0 g Cer(IV)-sulfat-Tetrahydrat und 2.5 g Molybdatophosphorsäure in einer Mischung aus 94 ml Wasser und 6 ml konz. Schwefelsäure);
- „Ninhydrin-Reagenz“
(Lösung von 1.5 g Ninhydrin in einer Mischung aus 500 ml Methanol und 15 ml Essigsäure).

Die Entwicklung der Chromatogramme erfolgte jeweils durch Wärmeeinwirkung mittels eines Heißluftföns.

Flashchromatographie:

Für die Flashchromatographie wurde als Säulenmaterial Kieselgel mit einer Korngröße von 32-63 µm der Firma *MP Biomedicals*, Irvine (USA; in Deutschland: Eschwege) bzw. Kieselgel mit einer Korngröße von 35-70 µm der Firma *Acros Organics*, Geel (Belgien) verwendet.

Die Zusammensetzungen der eingesetzten Lösungsmittelgemische sind bei den einzelnen Verbindungen vermerkt und stets in Volumenverhältnissen angegeben.

Schmelzpunkte:

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

Spezifische Drehwerte:

Spezifische Drehwerte wurden mit einem Polarimeter 241 der Firma *PerkinElmer*, Wellesley (USA) bei den Wellenlängen 578 nm und 546 nm (Quecksilberdampfampe) mit einer 1 dm langen Polarimeterzelle gemessen und auf die Natrium-D-Linie ($\lambda = 589$ nm) extrapoliert.

Das verwendete Lösungsmittel, die Konzentration der vermessenen Lösung in g/100ml sowie die Messtemperatur sind bei den einzelnen Verbindungen aufgeführt, die Einheiten werden entsprechend der allgemeinen Konvention nicht angegeben.

NMR-Spektroskopie:

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

- *Bruker AC-200*: 200 MHz- ^1H -NMR und 50.3 MHz- ^{13}C -NMR
- *Bruker AC-300*: 300 MHz- ^1H -NMR und 75.5 MHz- ^{13}C -NMR
- *Bruker AM-400*: 400 MHz- ^1H -NMR und 100.6 MHz- ^{13}C -NMR
- *Bruker AV-400*: 400 MHz- ^1H -NMR und 100.6 MHz- ^{13}C -NMR
- *Bruker DRX-600*: 600 MHz- ^1H -NMR und 150.9 MHz- ^{13}C -NMR

Die chemischen Verschiebungen δ relativ zu dem Signal für den Standard Tetramethylsilan werden dabei durch das Signal des deuterierten Lösungsmittels bestimmt und sind in ppm verzeichnet.

Die jeweils durchgeführten NMR-Experimente sowie die verwendeten Lösungsmittel sind bei den einzelnen Verbindungen genannt.

Zur Angabe der Multiplizität der Signale werden folgende Abkürzungen verwendet:

s – Singulett; d – Dublett; dd – Dublett vom Dublett; ddd – Dublett vom Dublett vom Dublett; dq – Dublett vom Quartett; dt – Dublett vom Triplett; t – Triplett; t* – Pseudotriplett (zum Triplett zusammengefallenes Dublett vom Dublett); tdd – Triplett vom Dublett vom Dublett; q – Quartett; q* – Pseudoquartett (zum Quartett zusammengefallenes Dublett vom Dublett vom Dublett); m – Multiplett; m_c – zentriertes Multiplett.

Der Index „b“ zeigt an, dass es sich um ein verbreitertes Signal handelt.

Bei „Pseudotriplets“ und „Pseudoquartets“, die dadurch zustande kommen, dass ein Proton zu zwei bzw. drei chemisch sowie magnetisch nicht äquivalenten Kernen Kopplungen sehr ähnlicher Größe aufweist, kann der für die jeweiligen Kopplungskonstanten angegebene Wert nur als ungefähr angesehen werden und wird demnach auch entsprechend aufgeführt („ $\approx$ “). Beim jeweiligen Vergleich mit dem der entsprechenden Kopplungskonstante, die anhand des Signals des dazugehörigen zweiten Kerns ermittelt wird, lässt sich teilweise eine leichte Abweichung feststellen. Solche Differenzen, die mitunter auch bei „normalen“ Signalen entgegen der Theorie zu beobachten sind, lassen sich durch die nicht immer perfekt symmetrische Form der Peaks erklären. Diese Abweichungen von der Symmetrie treten insbesondere bei zusammenfallenden und überlagerten Signalen in Erscheinung und führen zu geringfügig verfälschten Werten der zugehörigen Kopplungskonstanten. Des Weiteren gründen sich die zu beobachtenden geringen Unterschiede zwischen Kopplungskonstanten, die der Theorie nach identisch sein sollten, häufig in der begrenzten digitalen Auflösung des Spektrometers. Bei den verwendeten Geräten liegt diese Grenze bei etwa 0.368 Hz.

Lässt sich die Lage eines Signals für ein bestimmtes Proton innerhalb eines Multipletts anhand der zweidimensionalen Experimente oder auch bereits aufgrund des Aufspaltungsmusters genauer ermitteln, so ist die entsprechende chemische Verschiebung in geschweiften Klammern { } hinter der jeweiligen Zuordnung angegeben. Dort werden außerdem – sofern erkennbar – die Multiplizität des Signals sowie gegebenenfalls die entsprechende(n) Kopplungskonstante(n) aufgeführt.

Bei der Zuordnung der ^1H - und ^{13}C -Signale werden folgende Abkürzungen zur Kennzeichnung der verschiedenen Bausteine benutzt:

GlcN	D-Glucosamin
Fuc	L-Fucose
Ara	D-Arabinose
Gal	D-Galactose (an D-Glucosamin geknüpft)
Sia	Sialinsäure; N-Acetyl-D-neuraminsäure
Cyclo	Cyclohexanring der Cyclohexylmilchsäure
GalN	D-Galactosamin
Gal'	D-Galactose (an D-Galactosamin geknüpft)
Thr	L-Threonin

Die Benennung der übrigen Aminosäure-Bausteine sowie die Bezeichnungen der ^1H - und ^{13}C -Signale folgen der IUPAC-Empfehlung von 1983.^[357] Tritt die gleiche Aminosäure innerhalb der Peptidsequenz mehrfach auf, so wird eine willkürliche Nummerierung vorgenommen. Sie dient lediglich der Kennzeichnung der Zugehörigkeit der einzelnen Signale zu einem Aminosäurerest, gibt jedoch nicht dessen Position im (Glyco-)Peptid wieder. Diese lässt sich anhand der aufgenommenen Spektren nicht ermitteln.

Massenspektrometrie:

- FD-Massenspektren wurden mit einem *Finnigan*-MAT-95-Gerät der Firma *ThermoElectron*, Boston (USA) aufgenommen.
- ESI-Massenspektren wurden jeweils mit einem der beiden folgenden Spektrometer gemessen:

Gerät 1: Navigator-Instrument der Firma *ThermoElectron*, Boston (USA) bei Verwendung von Acetonitril als Lösungsmittel, einer Probenkonzentration von 0.1 mg/ml, einer Flussrate von 0.75 ml/min, einer Cone-Voltage von 70 V, 45 V oder 35 V und einem N_2 -Strom von 300 l/h.

Gerät 2: Micromass-Q-TOF-Ultima-3-Spektrometer der Firma *Waters*, Milford (USA) bei Verwendung von Acetonitril und/oder Wasser als Lösungsmittel (evtl. Zusatz von 0.1 % TFA), einer Probenkonzentration von 0.1 mg/ml, einer Flussrate von 5 $\mu\text{l}/\text{min}$ und einer Cone-Voltage von 70 V.

Hochaufgelöste ESI-Massenspektren (HR-ESI) wurden mit dem Gerät 2 aufgenommen, wobei zur Kalibrierung eine Lösung von 400 mg Natriumiodid und 10 mg Cäsiumiodid in 400 ml eines Wasser-Isopropanol-Gemischs (V:V = 1:1) eingesetzt wurde.

Von Seiten des Geräteherstellers wird eine Genauigkeit von mindestens 5 ppm für den Quotienten aus dem Differenzbetrag von gemessener und berechneter Molekülmasse und der berechneten Masse garantiert.

Die bei den Spektren angegebenen Werte der gemessenen und der berechneten Molekülmassen beziehen sich auf die neutralen Moleküle, obgleich die entsprechenden Kationen aufgeführt werden. Das Gerät ist allerdings so kalibriert, dass die Masse des Elektrons von 0.000549 u berücksichtigt wird.

Die bei den Summenformeln in runden Klammern vermerkten Molmassen berücksichtigen die natürliche Isotopenverteilung, die bei den Massenspektren angegebenen Molekülmassen hingegen stützen sich auf die Massen der reinen Isotope ^1H , ^{12}C , ^{35}Cl , ^{19}F , ^{39}K , ^{14}N , ^{23}Na , ^{16}O und ^{32}S .

Bei sämtlichen Verbindungen wird zur Vereinfachung lediglich ein – in der Regel der jeweils erste – Isotopenpeak bei der Interpretation der Massenspektren aufgeführt. An dieser Stelle sei jedoch darauf hingewiesen, dass in allen Fällen das zu erwartende Isotopenmuster zu beobachten ist.

Elementaranalysen:

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

(Glyco-)Peptid-Festphasensynthesen:

Die Synthesen der (Glyco-)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 einem 2-Chlortritylanker versehenes Polystyrol-Harz, wurde von der Firma *Rapp Polymere*, Tübingen (Deutschland) bezogen, während die eingesetzten Fmoc-geschützten Aminosäuren sowie die Kupplungsreagenzien von der Firma *Novabiochem*, Läufelfingen (Schweiz) stammten. *N*-Methylpyrrolidin-2-on wurde von der Firma *SDS*, Peypin (Frankreich) und *N,N*-Dimethylformamid von der Firma *Acros Organics*, Geel (Belgien) erworben.

Analytische RP-HPLC:

Für die Durchführung von analytischer RP-HPLC bediente man sich einer MaxiStar-K1000-Gradientenpumpe, eines Vierkanal-Entgasers, einer analytischen Mischkammer sowie eines Diodenarraydetektors DAD2062 der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland).

Die analytischen Trennungen wurden bei einer Flussrate von 1 ml/min und unter Verwendung von Wasser-Acetonitril-Gemischen als Eluenten bewerkstelligt. In einigen Fällen wurden dem Laufmittel dabei 0.1 % Trifluoressigsäure zugesetzt. Vor dem Gebrauch wurden die Lösungsmittel etwa 20 min im Ultraschallbad entgast. Das eingesetzte Wasser wurde einem Simplicity-185-Wasseraufbereitungssystem der Firma *Millipore*, Billerica (USA) entnommen, und das Acetonitril in HPLC-Qualität wurde von der Firma *FisherScientific*, Hampton (USA; in Deutschland: Schwerte) bezogen.

Die Detektion erfolgte durch UV/VIS-Absorption über einen Wellenlängenbereich von 200 nm bis 500 nm.

Für die durchgeführten analytischen Trennungen kamen die beiden folgenden Säulen der Firma *Phenomenex*, Torrance (USA; in Deutschland: Aschaffenburg) zum Einsatz:

Luna-1: Luna 5 μ C18 (2), 250 x 4.60 mm

Jupiter-1: Jupiter 5 μ C18 (2), 300 Å, 250 x 4.60 mm

Folgende Gradienten wurden verwendet:

Gradient Ana-1:

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	95	5
40	0	100
60	0	100

Gradient Ana-2:

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	10	90
20	0	100
40	0	100

Gradient Ana-3:

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	20	80
30	0	100
50	0	100

Gradient Ana-4:

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	50	50
20	10	90
35	0	100
55	0	100

Gradient Ana-5:

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	25	75
20	10	90
40	0	100
60	0	100

Gradient Ana-6: (+ 0.1 % TFA)

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	50	50
40	0	100
60	0	100

Gradient Ana-7: (+ 0.1 % TFA)

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	90	10
40	0	100
60	0	100

Gradient Ana-8: (+ 0.1 % TFA)

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	95	5
40	0	100
60	0	100

Gradient Ana-9: (+ 0.1 % TFA)

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	70	30
40	0	100
60	0	100

Gradient Ana-10: (+ 0.1 % TFA)

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	50	50
20	10	90
35	0	100
55	0	100

Präparative RP-HPLC:

Um RP-HPLC-Trennungen im präparativen Maßstab durchzuführen, wurden zwei MiniStar-K500-Gradientenpumpen in Verbindung mit einer präparativen Mischkammer sowie einem variablen Wellenlängendetektor der Firma *Knauer*, Berlin (Deutschland) verwendet.

Die Flussrate bei präparativen Trennungen betrug 10 ml/min bzw. 20 ml/min, und die Eluenten entsprachen denen der analytischen RP-HPLC.

Die Detektion erfolgte durch UV/VIS-Absorption bei einer Wellenlänge von 214 nm.

Für die durchgeführten präparativen Trennungen kam jeweils eine der folgenden Säulen der Firma *Phenomenex*, Torrance (USA; in Deutschland: Aschaffenburg) zum Einsatz:

Luna-2: Luna 10 μ C18 (2), 250 x 21.20 mm, Flussrate: 10 ml/min

Luna-3: Luna 10 μ C18 (2), 250 x 50.00 mm, Flussrate: 20 ml/min

Jupiter-2: Jupiter 5 μ C18 (2), 300 Å, 250 x 21.20 mm, Flussrate: 10 ml/min

Folgende Gradienten wurden verwendet:

Gradient Präp-1:

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	95	5
80	0	100
100	0	100

Gradient Präp-2:

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	10	90
40	0	100
60	0	100

Gradient Präp-3:

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	50	50
40	0	100
60	0	100

Gradient Präp-4: (+ 0.1 % TFA)

Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	90	10
80	0	100
100	0	100

Gradient Präp-5: (+ 0.1 % TFA)

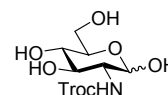
Zeit / min	H ₂ O / %	CH ₃ CN / %
0	70	30
80	0	100
100	0	100

5.2 Die Synthesen der Monosaccharide und des Sialinsäure-Mimetikums

5.2.1 Die Synthesen der Glucosamin-Bausteine

2-Desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- α,β -D-glucopyranose (**2**)^[220]

(α,β -GlcNTroc-OH)



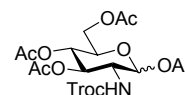
Unter kräftigem Rühren werden 100 g (464 mmol) α -D-Glucosamin-Hydrochlorid (**1**) in 700 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und innerhalb von 30 min tropfenweise mit 117 g (552 mmol, 1.2 Äquiv.) Chlorameisensäure-2,2,2-trichlorethylester (2,2,2-Trichlorethoxycarbonylchlorid) versetzt. Man gibt weitere 200 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung hinzu und rührt das Reaktionsgemisch 3½ h bei Raumtemperatur. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das Filtrat wird mit 1 M Salzsäure neutralisiert und i. Vak. eingengt, und der ausgefallene Feststoff wird erneut abfiltriert. Diese Prozedur wird ein weiteres Mal wiederholt. Die vereinigten Rückstände werden zunächst 3 d an der Luft, anschließend 7 d i. Hochvak. über Phosphorpentoxid getrocknet und ohne Reinigung und Charakterisierung der nachfolgenden Reaktion unterworfen.

Ausbeute: 139 g (392 mmol, 85 %); farbloser Feststoff; R_f = 0.50 bzw. 0.39 (EtOAc/EtOH, 10:1).

$C_9H_{14}Cl_3NO_7$ (354.6)

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- α,β -D-glucopyranose (**3**)^[220]

(α,β -Ac₃GlcNTroc-OAc)



Zu einer Lösung von 20.0 g (56.4 mmol) α,β -GlcNTroc-OH (**2**) in 100 ml Pyridin gibt man 50 ml Essigsäureanhydrid bei 0 °C langsam hinzu. Man rührt das Reaktionsgemisch 17 h bei Raumtemp. und entfernt anschließend überschüssiges Essigsäureanhydrid sowie Pyridin im Hochvakuum. Der Rückstand wird zweimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert und durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^oHex/EtOAc, 2:1) gereinigt, wobei das Produkt – noch leicht verunreinigt – als Anomerengemisch erhalten wird ($\alpha:\beta$ = 8:1, mittels NMR-Spektroskopie bestimmt).

Ausbeute: 30.8 g (quant., leicht verunreinigt), Lit.:^[220] 92 % bezogen auf α -D-Glucosamin-Hydrochlorid; farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.65$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:3), $R_f = 0.40$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:1), $R_f = 0.20$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1).

Charakteristische NMR-Signale zur Bestimmung des Anomerenverhältnisses:

300 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 6.20$ (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.7$ Hz, H1-GlcN $^{\alpha}$), 5.71 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.8$ Hz, H1-GlcN $^{\beta}$).

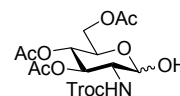
ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 543.8$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 544.0),

584.9 ($[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{Na}]^+$, ber.: 585.1).

$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{Cl}_3\text{NO}_{11}$ (522.7)

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- α,β -D-glucopyranose (**4**)^[220]

(α,β -Ac $_3$ GlcNTroc-OH)



Man löst 30.7 g (max. 56.4 mmol) leicht verunreinigtes α,β -Ac $_3$ GlcNTroc-OAc (**3**) in 300 ml *N,N*-Dimethylformamid und gibt 7.0 g (76.0 mmol, 1.3 Äquiv.) Hydrazinacetat in einer Portion hinzu. Das Reaktionsgemisch wird 1 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend i. Hochvak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand nimmt man in 400 ml Ethylacetat auf, wäscht die Lösung nacheinander mit 100 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung und 100 ml Wasser, extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen zweimal mit je 100 ml Ethylacetat und trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:2) gereinigt.

Ausbeute: 20.0 g (41.6 mmol, 74 % bezogen auf **2**, 63 % bezogen auf α -D-Glucosamin-Hydrochlorid), Lit.:^[220] 83 %, 76 % bezogen auf α -D-Glucosamin-Hydrochlorid; farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.52$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:3), $R_f = 0.18$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:2).

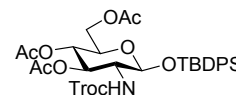
ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 501.9$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 502.0),

542.9 ($[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{Na}]^+$, ber.: 543.0).

$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{Cl}_3\text{NO}_{10}$ (480.7)

***tert*-Butyldiphenylsilyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonyl-amino)- β -D-glucopyranosid (5)**

(β -Ac₃GlcNTroc-OTBDPS)



Eine Lösung von 19.98 g (41.57 mmol) α,β -Ac₃GlcNTroc-OH (4) in 250 ml *N,N*-Dimethylformamid wird mit 4.25 g (62.43 mmol, 1.5 Äquiv.) Imidazol, 0.05 g (0.41 mmol, 0.01 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin und 17.14 g (62.36 mmol, 1.5 Äquiv.) *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid versetzt. Man rührt das Reaktionsgemisch bei Raumtemp. 5½ d, wobei nach 14 h weitere 0.45 g (3.68 mmol, 0.09 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin zur Vervollständigung der Reaktion zugegeben werden. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Hochvak. entfernt und der Rückstand zweimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Das in Ethylacetat und Dichlormethan schwer lösliche Rohprodukt wird in Methanol aufgenommen, auf Kieselgel aufgezogen und durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 29.48 g (41.00 mmol, 99 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = +8$ (*c* = 1.00, CHCl₃); *R_f* = 0.64 (^cHex/EtOAc, 2:3), *R_f* = 0.38 (^cHex/EtOAc, 2:1), *R_f* = 0.62 (Tol/EtOH, 5:1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): [δ /ppm] = 7.68-7.60 (m, 4H, H_{Ar}-Ph), 7.43-7.32 (m, 6H, H_{Ar}-Ph), 5.04-4.92 (m, 2H, H4-GlcN {5.01, t*, ³J_{H4,H3} $\approx$ ³J_{H4,H5} $\approx$ 9.2 Hz}, H3-GlcN {4.95, t*, ³J_{H3,H2} $\approx$ ³J_{H3,H4} $\approx$ 9.2 Hz}), 4.84 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 8.8 Hz, NH-GlcN), 4.74 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH_{2a}-Troc), 4.55-4.50 (m, 2H, CH_{2b}-Troc {4.53, d, ²J = 11.8 Hz}, H1-GlcN {4.51, d, ³J_{H1,H2} = 8.1 Hz}), 4.06 (dd, 1H, ³J_{H6a,H5} = 5.5 Hz, ²J_{H6a,H6b} = 12.1 Hz, H6a-GlcN), 3.95-3.83 (m, 2H, H6b-GlcN {3.93, dd, ³J_{H6b,H5} = 2.4 Hz, ²J_{H6b,H6a} = 12.0 Hz}, H2-GlcN {3.88}), 3.36 (m_c, 1H, H5-GlcN), 1.97, 1.96, 1.93 (3 x s, 9H, CH₃-Ac), 1.05 (s, 9H, CH₃-^tBu).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HMQC] (CDCl₃): [δ /ppm] = 170.78, 170.55, 169.37 (C=O-Ac), 153.99 (C=O-Troc), 135.91, 135.73 (C_{o,m,p}-Ph), 132.58, 132.47 (C_{ipso}-Ph), 130.07, 129.97, 127.68, 127.48 (C_{o,m,p}-Ph), 96.00 (C1-GlcN), 95.21 (CCl₃), 74.57 (CH₂-Troc), 72.31 (C3-GlcN), 71.56 (C5-GlcN), 68.70 (C4-GlcN), 62.15 (C6-GlcN), 57.84 (C2-GlcN), 26.64 (CH₃-^tBu), 20.59, 19.08 (CH₃-Ac).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [*m/z*] = 739.9 ([M+Na]⁺, ber.: 740.1).

HR-ESI-MS (positiv): [*m/z*] = 740.1215 ([M+Na]⁺, ber.: 740.1228).

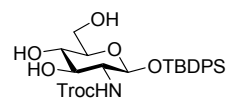
C₃₁H₃₈Cl₃NO₁₀Si (719.1)

ber.: C 51.78 H 5.33 N 1.95

gef.: C 51.83 H 5.16 N 1.88

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

(β -GlcNTroc-OTBDPS)



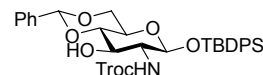
Eine Lösung von 29.3 g (40.7 mmol) β -Ac₃GlcNTroc-OTBDPS (**5**) in 500 ml Methanol wird unter Rühren tropfenweise mit einer frisch hergestellten methanolischen Natrium-methanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5 erreicht ist. Man rührt die Reaktionslösung 7½ h und neutralisiert sie anschließend durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst® 15. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand i. Hochvak. getrocknet und ohne Reinigung und Charakterisierung weiter umgesetzt.

Rohausbeute: 25.9 g; farbloser amorpher Feststoff; R_f = 0.36 (Tol/EtOH, 5:1).

C₂₅H₃₂Cl₃NO₇Si (593.0)

***tert*-Butyldiphenylsilyl-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonyl-amino)- β -D-glucopyranosid (7)**

(β -4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS)



Bei 40 °C werden 25.8 g (max. 40.7 mmol) rohes β -GlcNTroc-OTBDPS (**6**) in 500 ml Acetonitril gelöst und mit 12.4 g (81.5 mmol, 2.0 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal versetzt. Man gibt so lange 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat hinzu, bis ein pH-Wert von 3.5 erreicht ist, und rührt die Mischung 5 h bei 40 °C. Die Reaktionslösung wird durch Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin neutralisiert und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand reinigt man durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 3:1).

Ausbeute: 23.8 g (34.9 mmol, 86 % bezogen auf **5**, 53 % bezogen auf α -D-Glucosamin-Hydrochlorid); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -23$ ($c = 1.00$, CHCl₃); R_f = 0.45 (^cHex/EtOAc, 2:1), R_f = 0.29 (^cHex/EtOAc, 3:1), R_f = 0.17 (^cHex/EtOAc, 4:1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): [δ/ppm] = 7.69-7.63 (m, 4H, H_{Ar}-Ph), 7.45-7.35 (m, 8H, H_{Ar}-Ph), 7.32-7.26 (m, 3H, H_{Ar}-Ph), 5.45 (s, 1H, CH-Bzn), 4.79 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 8.2 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), 4.47 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 7.4 Hz, H1-GlcN), 4.05 (dd, 1H, ³J_{H6a,H5} = 4.9 Hz, ²J_{H6a,H6b} = 10.4 Hz, H6a-GlcN), 3.67-3.46 (m, 4H, H6b-GlcN {3.64}, H2-GlcN {3.64}, H3-GlcN {3.60}, H4-GlcN {3.48}), 3.08-3.02 (m, 2H, H5-GlcN, 3-OH-GlcN), 1.06 (s, 9H, CH₃-^tBu).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HMQC] (CDCl_3): [δ/ppm] = 154.63 (C=O-Troc), 137.01 (C_{ipso} -Bzn), 135.92, 135.83 ($\text{C}_{\text{o,m,p}}$ -Ph), 132.82, 132.54 (C_{ipso} -Ph), 130.09, 129.96, 129.34, 128.35, 127.69, 127.49, 126.39 ($\text{C}_{\text{o,m,p}}$ -Ph), 101.86 (CH-Bzn), 96.27 (C1-GlcN), 95.17 (CCl_3), 81.31 (C4-GlcN), 74.86 (CH_2 -Troc), 71.49 (C3-GlcN), 68.35 (C6-GlcN), 65.94 (C5-GlcN), 60.21 (C2-GlcN), 26.74 (CH_3 - ^tBu).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 680.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 680.1),

701.9 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 702.1).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 702.1239 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 702.1224).

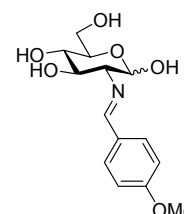
$\text{C}_{32}\text{H}_{36}\text{Cl}_3\text{NO}_7\text{Si}$ (681.1)

ber.: C 56.43 H 5.33 N 2.06

gef.: C 56.92 H 5.77 N 1.98

2-Desoxy-2-(4-methoxybenzylidenamino)- α,β -D-glucopyranose (8)^[228]

(α,β -GlcNPMBzn-OH)



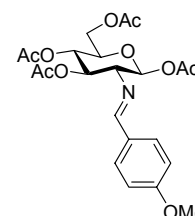
Unter kräftigem Rühren werden 100 g (464 mmol) α -D-Glucosamin-Hydrochlorid (1) in 470 ml einer 1 M Natriumhydroxid-Lösung gelöst und mit 64 g (470 mmol, 1.0 Äquiv.) *p*-Anisaldehyd versetzt, wobei sich sofort ein farbloser Feststoff abzuscheiden beginnt. Man rührt die Mischung 1 h bei Raumtemp. und lässt sie anschließend 1 h bei 0 °C stehen, bevor man den ausgefallenen Feststoff abfiltriert. Dieser wird mit wenig eiskaltem Ethanol und wenig eiskaltem Diethylether gewaschen, i. Hochvak. über Phosphorpentoxid getrocknet und ohne Reinigung und Charakterisierung der nachfolgenden Reaktion unterworfen.

Ausbeute: 129 g (434 mmol, 94 %), Lit.:^[228] 86 %; farbloser Feststoff.

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_6$ (297.3)

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(4-methoxybenzylidenamino)- β -D-glucopyranose (9)^[228]

(β -Ac₃GlcNPMBzn-OAc)



Zu einer Suspension von 128 g (431 mmol) α,β -GlcNPMBzn-OH (8) in 760 ml Pyridin werden 380 ml Essigsäureanhydrid innerhalb von 2 h zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 24 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend langsam in 1200 ml Eiswasser gegossen, wobei sich ein farbloser Feststoff abscheidet. Man lässt die Mischung 1 h bei 0 °C stehen, filtriert sie dann und wäscht den Rückstand mit wenig Eiswasser. Das erhaltene Rohprodukt wird viermal mit je 200 ml Toluol und zweimal mit

je 150 ml Dichlormethan kodestilliert und i. Hochvak. getrocknet. Ohne Reinigung wird es in die nachfolgende Reaktion eingesetzt.

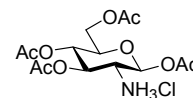
Ausbeute: 120 g (258 mmol, 60 %), Lit.:^[228] mind. 90 %; gelblicher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = +98$ ($c = 1.00$, CHCl_3), Lit.:^[228] $[\alpha]_D^{21} = +99$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.52$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:2).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 8.13$ (s, 1H, N=CH-PMBzn), 7.64 (d, 2H, $^3J = 8.8$ Hz, H_{Ar} -PMBzn), 6.89 (d, 2H, $^3J = 8.8$ Hz, H_{Ar} -PMBzn), 5.92 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.5$ Hz, H1-GlcN), 5.41 (t*, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} \approx ^3J_{\text{H3,H4}} \approx 9.6$ Hz, H3-GlcN), 5.12 (t*, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} \approx ^3J_{\text{H4,H5}} \approx 9.6$ Hz, H4-GlcN), 4.36 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 4.4$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 12.5$ Hz, H6a-GlcN), 4.10 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 2.0$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 12.3$ Hz, H6b-GlcN), 3.95 (mc, 1H, H5-GlcN), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.43 (t*, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} \approx ^3J_{\text{H2,H3}} \approx 9.0$ Hz, H2-GlcN), 2.08, 2.01, 2.00, 1.86 (4 x s, 12H, CH_3 -Ac).

FD-MS (positiv): $[m/z] = 465.7$ ($[\text{M}]^+$, ber.: 465.2).

$\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_{10}$ (465.5)

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-amino-2-desoxy- β -D-glucopyranose-Hydrochlorid (**10**)^[212, 228] (β -Ac₃GlcNH₃Cl-OAc)



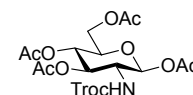
Man löst 120 g (258 mmol) β -Ac₃GlcNPMBzn-OAc (**9**) in 700 ml siedendem Aceton und gibt 55 ml 5.5 M Salzsäure zügig hinzu, worauf die Reaktionsmischung innerhalb einer sehr kurzen Zeit zu einer festen Masse erstarrt. Nach Abkühlen auf 0 °C wird der ausgefallene Feststoff abfiltriert, mit wenig eiskaltem Aceton sowie mit eiskaltem Diethylether gewaschen und anschließend i. Hochvak. über Phosphorpentoxid getrocknet. Der gelbliche Feststoff ist für die nachfolgende Reaktion genügend rein und wird daher ohne Reinigung und Charakterisierung weiter umgesetzt.

Ausbeute: 96 g (250 mmol, 97 %), Lit.:^[228] mind. 90 %; gelblicher Feststoff.

$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{ClNO}_9$ (383.8)

1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranose (**11**)^[212]

(β -Ac₃GlcNTroc-OAc)



Zu einer Suspension von 75.0 g (195 mmol) β -Ac₃GlcNH₃Cl-OAc (**10**) in 1750 ml Wasser gibt man portionsweise insgesamt 32.9 g (392 mmol, 2.0 Äquiv.) Natriumhydrogencarbonat hinzu. Die Mischung wird 30 min gerührt und anschließend mit einer Lösung von

45.8 g (216 mmol, 1.1 Äquiv.) Chlorameisensäure-2,2,2-trichlorethylester (2,2,2-Trichlor-ethoxycarbonylchlorid) in 1000 ml Chloroform versetzt. Man rührt das Reaktionsgemisch 20 h kräftig bei Raumtemp. und trennt dann die Phasen. Die wässrige Phase wird in zwei Portionen aufgeteilt, welche jeweils zweimal mit je 250 ml Chloroform extrahiert werden. Die vereinigten organischen Phasen werden in zwei Portionen zweimal mit je 250 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Man extrahiert die vereinigten wässrigen Waschfraktionen viermal mit je 150 ml Chloroform, trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird i. Hochvak. getrocknet und mit einer Mischung aus Cyclohexan und Ethylacetat (V:V = 2:1) versetzt. Der dabei ausfallende gelbliche Feststoff wird abfiltriert, in reinem Cyclohexan aufgenommen, erneut abfiltriert und mit Cyclohexan gewaschen. Man erhält 40.0 g eines farblosen Feststoffs. Die vereinigten Filtrate werden i. Vak. von den Lösungsmitteln befreit, und der Rückstand wird durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 2:1) gereinigt. Der chromatographisch gereinigte Teil des Produkts wird in Cyclohexan aufgenommen, abfiltriert, mit Cyclohexan sowie mit einer Mischung aus Cyclohexan und Ethylacetat (V:V = 2:1) gewaschen und anschließend mit dem zuvor abgetrennten Feststoff vereinigt. Man löst das Produkt in Dichlormethan und entfernt anschließend das Lösungsmittel im Vakuum.

Ausbeute: 69.4 g (133 mmol, 68 %, 66 % bezogen auf **9**, 37 % bezogen auf α -D-Glucosamin-Hydrochlorid), Lit.:^[212] 48 % nach Umkristallisation bezogen auf **9**; farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23} = +13$ ($c = 1.00$, CHCl_3), Lit.:^[212] $[\alpha]_D^{21} = +15$ ($c = 3.2$, CHCl_3), Lit.:^[213] $[\alpha]_D^{20} = +14$ ($c = 0.9$, CHCl_3); $R_f = 0.52$ (°Hex/EtOAc, 1:1), $R_f = 0.14$ (°Hex/EtOAc, 2:1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 5.71$ (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.8$ Hz, H1-GlcN), 5.32 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H2}} = 9.2$ Hz, NH-GlcN), 5.23 (t*, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} \approx ^3J_{\text{H3,H4}} \approx 9.9$ Hz, H3-GlcN), 5.09 (t*, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} \approx ^3J_{\text{H4,H5}} \approx 9.7$ Hz, H4-GlcN), 4.70 (s, 2H, CH_2 -Troc), 4.27 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 4.4$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 12.5$ Hz, H6a-GlcN), 4.10 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6b,H5}} = 1.8$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 12.5$ Hz, H6b-GlcN), 3.94 (q*, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} \approx ^3J_{\text{H2,H3}} \approx ^3J_{\text{H2,NH}} \approx 9.6$ Hz, H2-GlcN), 3.83 (ddd, 1H, $^3J_{\text{H5,H4}} = 9.9$ Hz, $^3J_{\text{H5,H6a}} = 4.4$ Hz, $^3J_{\text{H5,H6b}} = 2.2$ Hz, H5-GlcN), 2.08, 2.06, 2.02 (3 x s, 12H, CH_3 -Ac).

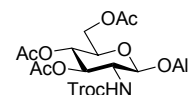
75.5 MHz-¹³C-NMR [BB, DEPT] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 170.87$, 170.64, 169.41, 169.23 (C=O-Ac), 154.18 (C=O-Troc), 95.39 (CCl_3), 92.28 (C1-GlcN), 74.45 (CH_2 -Troc), 71.72, 72.10, 68.07 (C3-GlcN, C4-GlcN, C5-GlcN), 61.62 (C6-GlcN), 55.00 (C2-GlcN), 20.81, 20.67, 20.58, 20.55 (CH_3 -Ac).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 544.1$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 544.0).

C₁₇H₂₂Cl₃NO₁₁ (522.7)

ber.: C 39.06 H 4.24 N 2.68

gef.: C 39.12 H 4.36 N 2.71

Allyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (12) $(\beta\text{-Ac}_3\text{GlcNTroc-OAll})$ 

Eine Lösung von 46.1 g (88.2 mmol) $\beta\text{-Ac}_3\text{GlcNTroc-OAc}$ (**11**) und 25.6 g (440.8 mmol, 5.0 Äquiv.) Allylalkohol in 900 ml absol. Dichlormethan wird mit etwa 20 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Die Mischung wird auf 0 °C abgekühlt und innerhalb von 40 min tropfenweise mit 55.0 ml (62.2 g, 437.9 mmol, 5.0 Äquiv.) Bortrifluorid-Diethyletherat versetzt. Man lässt den Ansatz auf Raumtemp. erwärmen und rührt ihn 4 h unter einer Argonatmosphäre, wobei der Reaktionsfortschritt dünnschichtchromatographisch unter Verwendung von Kieselgelplatten mit einer Konzentrierungszone verfolgt werden kann. Anschließend filtriert man das Molekularsieb über eine dünne Schicht Hyflo[®] ab, wäscht viermal mit je 250 ml Dichlormethan nach und gießt das Filtrat vorsichtig in 500 ml einer eiskalten ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Die organische Phase wird abgetrennt und in zwei Portionen zweimal mit je 300 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 300 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden in zwei Portionen dreimal mit je 300 ml Dichlormethan extrahiert. Man trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, auf Kieselgel aufgezogen und durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 43.3 g (83.2 mmol, 94 %); leicht gelblicher amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = +4$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.59$ (°Hex/EtOAc, 1:1), $R_f = 0.16$ (°Hex/EtOAc, 2:1), $R_f = 0.64$ (Tol/EtOH, 4:1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 5.82$ (m_c, 1H, CH-All), 5.29-5.21 (m, 3H, NH-GlcN {5.27}, H3-GlcN {5.27}, =CH₂-All^{trans} {5.24, ddd, ⁴J = 1.6 Hz, ²J = 3.1 Hz, ³J_{trans} = 17.2 Hz}), 5.16 (dd_b, 1H, ⁴J = 1.6 Hz, ³J_{cis} = 10.4 Hz, =CH₂-All^{cis}), 5.03 (t*, 1H, ³J_{H4,H3} ≈ ³J_{H4,H5} ≈ 9.8 Hz, H4-GlcN), 4.73 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH_{2a}-Troc), 4.66-4.63 (m, 2H, CH_{2b}-Troc {4.64, d, ²J = 11.4 Hz}, H1-GlcN {4.64, d, ³J_{H1,H2} = 8.6 Hz}), 4.32 (tdd, 1H, ⁴J = 1.6 Hz, ³J = 5.1 Hz, ²J = 12.9 Hz, CH_{2a}-All), 4.24 (dd, 1H, ³J_{H6a,H5} = 4.7 Hz, ²J_{H6a,H6b} = 12.1 Hz, H6a-GlcN), 4.12-4.03 (m, 2H, H6b-GlcN {4.10, dd, ³J_{H6b,H5} = 2.1 Hz, ²J_{H6a,H6b} = 12.3 Hz}, CH_{2b}-All {4.06, dd_b, ³J = 6.2 Hz,

$^2J = 12.9 \text{ Hz}$ }), 3.68-3.60 (m, 2H, H5-GlcN {3.67}, H2-GlcN {3.63}), 2.05, 1.99, 1.99 (3 x s, 9H, CH₃-Ac).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HMQC] (CDCl₃): [δ/ppm] = 170.68, 170.62, 169.43 (C=O-Ac), 154.02 (C=O-Troc), 133.29 (CH-All), 117.99 (=CH₂-All), 99.64 (C1-GlcN), 95.41 (CCl₃), 74.39 (CH₂-Troc), 71.83 (C3-GlcN), 71.74 (C5-GlcN), 70.20 (CH₂-All), 68.69 (C4-GlcN), 62.04 (C6-GlcN), 56.21 (C2-GlcN), 20.72, 20.61 (CH₃-Ac).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 542.1 ([M+Na]⁺, ber.: 542.0).

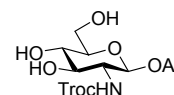
HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 542.0372 ([M+Na]⁺, ber.: 542.0363).

C₁₈H₂₄Cl₃NO₁₀ (520.7) ber.: C 41.52 H 4.65 N 2.69

gef.: C 41.40 H 4.66 N 2.58

Allyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**13**)

(β -GlcNTroc-OAll)



Eine Lösung von 22.8 g (43.8 mmol) β -Ac₃GlcNTroc-OAll (**12**) in 500 ml

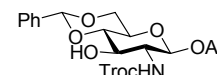
Methanol wird tropfenweise mit einer frisch hergestellten methanolischen Natrium-methanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5 erreicht ist, und 6 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend neutralisiert man die Mischung durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst[®] 15. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand i. Hochvak. getrocknet und ohne Reinigung und Charakterisierung weiter umgesetzt.

Rohausbeute: 21.6 g; leicht gelblicher amorpher Feststoff; $R_f = 0.28$ (Tol/EtOH, 4:1).

C₁₂H₁₈Cl₃NO₇ (394.6)

Allyl-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**14**)

(β -4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll)



Eine Mischung aus 21.6 g (max. 43.8 mmol) rohem β -GlcNTroc-OAll (**13**) und 13.3 g (87.4 mmol, 2.0 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal in 500 ml Acetonitril wird mit 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat so lange versetzt, bis ein pH-Wert von 3.5 erreicht ist. Die Reaktionslösung wird 37 h bei Raumtemp. gerührt, anschließend mit *N*-Ethyl-diisopropylamin neutralisiert und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, auf Kieselgel aufgezogen und durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}$ /EtOAc, 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 17.9 g (37.1 mmol, 85 % bezogen auf **12**, 30 % bezogen auf α -D-Glucosamin-Hydrochlorid); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23} = -32$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.48$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:2), $R_f = 0.20$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1), $R_f = 0.57$ (Tol/EtOH, 4:1).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.49\text{--}7.45$ (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.39-7.34 (m, 3H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.84 (m_c, 1H, CH-All), 5.50 (s, 1H, CH-Bzn), 5.32-5.24 (m, 2H, NH-GlcN {5.31, d, $^3J_{\text{NH,H2}} = 7.8$ Hz}, =CH₂-All^{trans} {5.27, ddd, $^4J = 1.6$ Hz, $^2J = 3.1$ Hz, $^3J_{\text{trans}} = 17.2$ Hz}), 5.18 (ddd, 1H, $^4J = 1.2$ Hz, $^2J = 2.7$ Hz, $^3J_{\text{cis}} = 10.6$ Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.74 (d, 1H, $^2J = 11.8$ Hz, CH_{2a}-Troc), 4.69 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_{2b}-Troc), 4.58 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 7.8$ Hz, H1-GlcN), 4.34-4.29 (m, 2H, H6a-GlcN {4.31, dd, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 4.7$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 10.2$ Hz}, CH_{2a}-All {4.30}), 4.07-4.00 (m, 2H, CH_{2b}-All {4.04, tdd, $^4J = 1.4$ Hz, $^3J = 6.3$ Hz, $^2J = 12.9$ Hz}, H4-GlcN {3.99}), 3.75 (t*, 1H, $^3J_{\text{H6b,H5}} \approx ^2J_{\text{H6b,H6a}} \approx 10.2$ Hz, H6b-GlcN), 3.52 (t*, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} \approx ^3J_{\text{H3,H4}} \approx 9.2$ Hz, H3-GlcN), 3.43-3.37 (m, 2H, H5-GlcN {3.40}, H2-GlcN {3.40}), 3.20 (s_b, 1H, 3-OH-GlcN).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HMQC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 154.52$ (C=O-Troc), 136.98 (C_{ipso}-Bzn), 133.40 (CH-All), 129.35, 128.38, 126.35 (C_{o,m,p}-Ph), 117.96 (=CH₂-All), 101.84 (CH-Bzn), 100.08 (C1-GlcN), 95.39 (CCl₃), 81.36 (C3-GlcN), 74.57 (CH₂-Troc), 70.60 (C4-GlcN), 70.37 (CH₂-All), 68.55 (C6-GlcN), 66.05 (C5-GlcN), 58.65 (C2-GlcN).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 504.2$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 504.0),

545.2 ($[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{Na}]^+$, ber.: 545.1).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 504.0377$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 504.0360).

$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{Cl}_3\text{NO}_7$ (482.7)

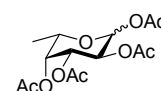
ber.: C 47.27 H 4.59 N 2.90

gef.: C 47.36 H 4.60 N 2.80

5.2.2 Die Synthese des Fucose-Bausteins

1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- α,β -L-fucopyranose (**16**)^[229]

(α,β -Ac₃Fuc-OAc)



In 160 ml Pyridin werden 9.75 g (59.39 mmol) L-Fucose (**15**) suspendiert und bei 0 °C mit 80 ml Essigsäureanhydrid innerhalb von 40 min tropfenweise versetzt. Man rührt die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 22 h und entfernt dann Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid im Hochvakuum. Der Rückstand wird dreimal mit je 75 ml Toluol kodestilliert und durch anschließende Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:2) gereinigt, wobei das Produkt – noch leicht verunreinigt – als Anomeren-gemisch erhalten wird ($\alpha:\beta = 8:5$, mittels NMR-Spektroskopie bestimmt).

Ausbeute: 20.34 g (quant., leicht verunreinigt); farbloses Öl; $R_f = 0.41$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:2).

Charakteristische NMR-Signale zur Bestimmung des Anomerenverhältnisses:

300 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 6.30$ (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 2.6$ Hz, H1-Fuc $^{\alpha}$), 5.64 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.1$ Hz, H1-Fuc $^{\beta}$).

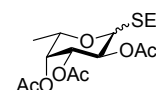
ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 355.3$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 355.1),

396.3 ($[\text{M}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{Na}]^+$, ber.: 396.1).

$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_9$ (332.3)

Ethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1-thio- α,β -L-fucopyranosid (17)^[229]

(α,β -Ac $_3$ Fuc-SEt)



Eine Lösung von 20.3 g (max. 59.4 mmol) leicht verunreinigtem α,β -Ac $_3$ Fuc-OAc (**16**) in 300 ml absol. Dichlormethan wird mit etwa 10 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 90 min bei Raumtemp. gerührt, mit 5.4 ml (4.5 g, 72.1 mmol, 1.2 Äquiv.) Ethanthiol versetzt und weitere 30 min bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt den Ansatz auf 0 °C ab und tropft 19.5 ml (22.0 g, 155.3 mmol, 2.6 Äquiv.) Bortrifluorid-Diethyletherat innerhalb von 20 min zu. Dann lässt man die Mischung auf Raumtemp. erwärmen und rührt sie 26 h unter einer Argonatmosphäre. Das Molekularsieb wird abfiltriert und gründlich mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat gießt man vorsichtig auf 250 ml einer eiskalten ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, schüttelt aus und trennt die organische Phase ab. Diese wird ein weiteres Mal mit 250 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 250 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 150 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Den Rückstand reinigt man durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 5:1), wobei man sowohl eine Fraktion reines α -Anomer als auch eine Fraktion reines β -Anomer neben einer Fraktion des Anomerengemischs erhält.

Gesamtausbeute: 17.5 g (52.3 mmol, 88 % bezogen auf L-Fucose).

α,β -Gemisch: 8.9 g (26.5 mmol, 45 % bezogen auf L-Fucose); gelblicher wachsartiger Feststoff.

α -Anomer: 2.5 g (7.5 mmol, 13 % bezogen auf L-Fucose); gelbliches Öl; $[\alpha]_D^{24} = -224$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.58$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:2), $R_f = 0.23$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 5:1), $R_f = 0.76$ (Tol/EtOH, 4:1).

300 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 5.66$ (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 4.8$ Hz, H1-Fuc), 5.26-5.14 (m, 3H, H4-Fuc, H2-Fuc, H3-Fuc {5.17, dd, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.7$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.9$ Hz}), 4.45 (q,

1H, $^3J_{H5,H6abc} = 6.6$ Hz, H5-Fuc), 2.61-2.41 (m, 2H, CH₂-Et), 2.12, 2.03, 1.95 (3 x s, 9H, CH₃-Ac), 1.22 (t, 3H, $^3J = 7.4$ Hz, CH₃-Et), 1.11 (d, 3H, $^3J_{H6abc,H5} = 6.6$ Hz, H6a,b,c-Fuc).
 75.5 MHz- ^{13}C -NMR [BB] (CDCl₃): [δ/ppm] = 170.49, 170.16, 169.84 (C=O-Ac), 81.88 (C1-Fuc), 70.95, 68.63, 67.98 (C2-Fuc, C3-Fuc, C4-Fuc), 64.57 (C5-Fuc), 24.10 (CH₂-Et), 20.79, 20.61, 20.57 (CH₃-Ac), 15.83 (C6-Fuc), 14.73 (CH₃-Et).

FD-MS (positiv): [m/z] = 334.6 ([M]⁺, ber.: 334.1).

β -Anomer: 6.1 g (18.3 mmol, 31 % bezogen auf L-Fucose); farbloser amorpher Feststoff; [α]_D²⁴ = + 11 ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.49$ (°Hex/EtOAc, 3:2), $R_f = 0.16$ (°Hex/EtOAc, 5:1), $R_f = 0.76$ (Tol/EtOH, 4:1).

300 MHz- 1H -NMR (CDCl₃): [δ/ppm] = 5.22 (dd, 1H, $^3J_{H4,H3} = 3.3$ Hz, $^3J_{H4,H5} = 0.7$ Hz, H4-Fuc), 5.17 (t*, 1H, $^3J_{H2,H1} \approx ^3J_{H2,H3} \approx 9.9$ Hz, H2-Fuc), 5.00 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 9.9$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.3$ Hz, H3-Fuc), 4.41 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 9.9$ Hz, H1-Fuc), 3.78 (dq, 1H, $^3J_{H5,H4} = 0.7$ Hz, $^3J_{H5,H6abc} = 6.3$ Hz, H5-Fuc), 2.77-2.59 (m, 2H, CH₂-Et), 2.12, 2.01, 1.93 (3 x s, 9H, CH₃-Ac), 1.23 (t, 3H, $^3J = 7.4$ Hz, CH₃-Et), 1.17 (d, 3H, $^3J_{H6abc,H5} = 6.3$ Hz, H6a,b,c-Fuc).

75.5 MHz- ^{13}C -NMR [BB] (CDCl₃): [δ/ppm] = 170.56, 170.05, 169.59 (C=O-Ac), 83.44 (C1-Fuc), 73.11, 72.30, 70.41 (C2-Fuc, C3-Fuc, C4-Fuc), 67.27 (C5-Fuc), 24.03 (CH₂-Et), 20.78, 20.63, 20.55 (CH₃-Ac), 16.36 (C6-Fuc), 14.68 (CH₃-Et).

FD-MS (positiv): [m/z] = 334.6 ([M]⁺, ber.: 334.1).

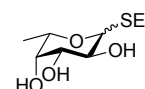
C₁₄H₂₂O₇S (334.4)

ber.: C 50.29 H 6.63 S 9.59

gef.: C 50.36 H 6.50 S 9.57

Ethyl-1-thio- α,β -L-fucopyranosid (18)^[229]

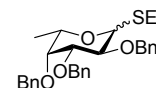
(α,β -Fuc-SEt)



Zu einer Lösung von 33.7 g (100.8 mmol) α,β -Ac₃Fuc-SEt (17) in 400 ml Methanol tropft man so lange eine frisch hergestellte methanolische Natriummethanolat-Lösung zu, bis ein pH-Wert von 9.0 bis 9.5 erreicht ist. Die Reaktionsmischung wird 15 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst® 15 neutralisiert. Man filtriert den Ionenaustauscher ab, wäscht ihn mit Methanol und befreit das Filtrat i. Vak. vom Lösungsmittel. Nach einmaliger Kodestillation mit Dichlormethan und Trocknung des Rückstands i. Hochvak. wird dieser ohne Reinigung und Charakterisierung in die nächste Reaktion eingesetzt.

Rohausbeute: 22.2 g; gelb-brauner amorpher Feststoff; $R_f = 0.24$ (Tol/EtOH, 4:1).

C₈H₁₆O₄S (208.3)

Ethyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1-thio- α,β -L-fucopyranosid (19)^[229]**(α,β -Bn₃Fuc-SEt)**

Man kühlt eine Lösung von 22.2 g (max. 100.8 mmol) rohem α,β -Fuc-SEt (**18**) in 400 ml *N,N*-Dimethylformamid auf 0 °C ab und gibt unter einer Argonatmosphäre 24.2 g (605.0 mmol, 2.0 Äquiv. pro OH-Gruppe) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl portionsweise hinzu. Da sich der Ansatz dabei nach einiger Zeit nicht mehr rühren lässt, werden bereits vor beendeter Natriumhydrid-Zugabe einige Tropfen einer Lösung von 40 ml (57.2 g, 334.4 mmol, 1.1 Äquiv. pro OH-Gruppe) Benzylbromid in 80 ml *N,N*-Dimethylformamid bei 0 °C hinzugefügt, worauf die Mischung wieder rührbar wird. Nach Abschluss der Natriumhydrid-Zugabe wird die verbliebene Benzylbromid-Lösung langsam bei 0 °C zugetropft, bevor man den Ansatz auf Raumtemp. erwärmen lässt und 18 h unter einer Argonatmosphäre rührt. Anschließend kühlt man die Reaktionsmischung erneut auf 0 °C ab, gibt 50 ml Methanol sehr langsam zu, entfernt die Kühlung und destilliert das Lösungsmittel i. Hochvak. ab. Der Rückstand wird viermal mit je 50 ml Toluol kodestilliert, in 400 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 300 ml Wasser versetzt. Man schüttelt aus, trennt die organische Phase ab und wäscht diese zweimal mit je 200 ml Wasser. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 10:1). Dabei werden neben einem α,β -Anomerengemisch, welches die Hauptfraktion bildet, sowohl eine Fraktion reines α -Anomer als auch eine Fraktion reines β -Anomer für analytische Zwecke erhalten.

Gesamtausbeute: 40.6 g (84.8 mmol, 84 % bezogen auf **17**, 70 % bezogen auf L-Fucose), Lit.:^[229] 56 % bezogen auf L-Fucose.

α,β -Gemisch: 38.5 g (80.4 mmol, 80 % bezogen auf **17**); gelblicher wachsartiger Feststoff.

α -Anomer: 1.0 g (2.1 mmol, 2 % bezogen auf **17**); gelbes Öl; $[\alpha]_D^{24} = -106$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.67$ (°Hex/EtOAc, 3:1), $R_f = 0.23$ (°Hex/EtOAc, 10:1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.41-7.24$ (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 5.47 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 5.5 Hz, H1-Fuc), 4.99 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.87 (d, 1H, ²J = 11.8 Hz, CH₂-Bn), 4.78-4.64 (m, 4H, CH₂-Bn {4 x d, 4.76, 4.71, 4.68, 4.65, 2 x ²J = 11.8 Hz, ²J = 12.1 Hz, ²J = 11.4 Hz}), 4.29 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 5.5 Hz, ³J_{H2,H3} = 9.9 Hz, H2-Fuc), 4.19 (q, 1H, ³J_{H5,H6abc} = 6.6 Hz, H5-Fuc), 3.79 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 9.9 Hz, ³J_{H3,H4} = 2.9 Hz, H3-Fuc), 3.64 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 2.2 Hz, H4-Fuc), 2.66-2.42 (m, 2H, CH₂-Et), 1.27 (t, 3H, ³J = 7.4 Hz, CH₃-Et), 1.13 (d, 3H, ³J_{H6abc,H5} = 6.6 Hz, H6a,b,c-Fuc).

75.5 MHz- ^{13}C -NMR [BB, DEPT] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 138.87, 138.55, 138.29$ ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{-Ph}$), 128.36, 128.28, 128.22, 128.13, 127.88, 127.53, 127.44, 127.40 ($\text{C}_{\text{o,m,p}}\text{-Ph}$), 83.38 (C1-Fuc), 79.85, 77.70, 76.03 (C2-Fuc , C3-Fuc , C4-Fuc), 74.83, 73.39, 72.31 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 66.61 (C5-Fuc), 23.68 ($\text{CH}_2\text{-Et}$), 16.52 (C6-Fuc), 14.80 ($\text{CH}_3\text{-Et}$).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 501.1$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 501.2),
517.0 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 517.2).

$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{S}$ (478.6) ber.: C 72.77 H 7.16 S 6.70
gef.: C 72.82 H 7.29 S 6.68

β -Anomer: 1.1 g (2.3 mmol, 2 % bezogen auf **17**); farbloser amorpher Feststoff;
 $[\alpha]_D^{24} = +9$ ($c = 1.00$, CHCl_3), Lit.:^[358] $[\alpha]_D^{20} = +12$ ($c = 0.2$, CHCl_3); $R_f = 0.59$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:1), $R_f = 0.15$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 10:1).

300 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.42\text{--}7.24$ (m, 15H, $\text{H}_{\text{Ar}}\text{-Ph}$), 5.00 (d, 1H, $^2J = 11.8$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.91 (d, 1H, $^2J = 10.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.83-4.68 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$ {4 x d, 4.81, 4.78, 4.74, 4.70, 2 x $^2J = 10.3$ Hz, $^2J = 10.7$ Hz, $^2J = 11.8$ Hz}), 4.40 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 9.9$ Hz, H1-Fuc), 3.83 (t*, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} \approx ^3J_{\text{H2,H3}} \approx 9.4$ Hz, H2-Fuc), 3.62 (d, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 2.6$ Hz, H4-Fuc), 3.57 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 9.2$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.6$ Hz, H3-Fuc), 3.48 (q, 1H, $^3J_{\text{H5,H6abc}} = 6.6$ Hz, H5-Fuc), 2.85-2.65 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Et}$), 1.30 (t, 3H, $^3J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_3\text{-Et}$), 1.21 (d, 3H, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.6$ Hz, H6a,b,c-Fuc).

75.5 MHz- ^{13}C -NMR [BB, DEPT] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 138.64, 138.42, 138.35$ ($\text{C}_{\text{ipso}}\text{-Ph}$), 128.36, 128.24, 128.12, 128.07, 127.62, 127.58, 127.49, 127.43 ($\text{C}_{\text{o,m,p}}\text{-Ph}$), 84.89, 84.43 (C1-Fuc , C3-Fuc), 78.27 (C2-Fuc), 76.42 (C4-Fuc), 75.62, 74.47 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 74.44 (C5-Fuc), 72.81 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 24.58 ($\text{CH}_2\text{-Et}$), 17.18 (C6-Fuc), 14.94 ($\text{CH}_3\text{-Et}$).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 501.0$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 501.2),
517.0 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 517.2).

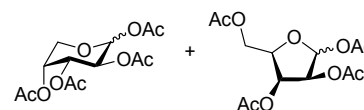
$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{S}$ (478.6) ber.: C 72.77 H 7.16 S 6.70
gef.: C 72.98 H 7.25 S 6.42

5.2.3 Die Synthese des Arabinose-Bausteins

1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- α,β -D-arabinopyranose^[230, 231] und

1,2,3,5-Tetra-*O*-acetyl- α,β -D-arabinofuranose (21)

(α,β -Ac₃Ara-OAc)



Methode A, Variante A:

Man suspendiert 30.0 g (199.8 mmol) D-Arabinose (**20**) in 520 ml Pyridin, tropft 260 ml Essigsäureanhydrid innerhalb von 3 h zu und rührt die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 24 h. Anschließend werden Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt, und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kdestilliert. Das resultierende Rohprodukt reinigt man durch Filtration über eine etwa 10 cm dicke Kieselgelschicht (Laufmittel: ^oHex/EtOAc, 1:1), wobei man ein – noch leicht verunreinigtes – Gemisch der vier Isomere **21a-d** erhält, welche sich flash-chromatographisch nicht trennen lassen ($\alpha(\text{Pyr}):\beta(\text{Pyr}):\alpha(\text{Fur}):\beta(\text{Fur}) = 24:46:19:11$, mittels NMR-Spektroskopie bestimmt).

Gesamtausbeute: 65.5 g (quant., leicht verunreinigt), Gehalt an α -Pyranose im Gemisch: 24 %, Lit.:^[230, 231] quant. reine α,β -Pyranose.

Methode A, Variante B:

Man verfährt mit 15.0 g (99.9 mmol) D-Arabinose (**20**) exakt so, wie bei Variante A angegeben, mit der Ausnahme, dass Essigsäureanhydrid bei 0 °C zugetropft wird. Nach entsprechender Aufarbeitung und Reinigung des Rohprodukts werden die vier Isomere **21a-d** in einem Verhältnis von $\alpha(\text{Pyr}):\beta(\text{Pyr}):\alpha(\text{Fur}):\beta(\text{Fur}) = 15:57:17:11$, mittels NMR-Spektroskopie bestimmt) erhalten.

Methode A, Variante C:

Zu einer Mischung aus 20 ml Pyridin und 10 ml Essigsäureanhydrid werden bei Raumtemp. unter Rühren insgesamt 1.00 g (6.66 mmol) D-Arabinose (**20**) portionsweise innerhalb von 15 min zugegeben, wobei sich die Reaktionsmischung leicht erwärmt. Man rührt den Ansatz 24 h bei Raumtemp. und entfernt dann Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid im Hochvakuum. Der Rückstand wird dreimal mit Toluol kdestilliert und in 20 ml Dichlormethan aufgenommen. Diese Lösung wäscht man zweimal mit je 10 ml Wasser, trocknet sie mit Magnesiumsulfat und befreit sie i. Vak. vom Lösungsmittel. Ohne eine vorherige Reinigung wird das Rohprodukt NMR-spektroskopisch untersucht,

wodurch sich ein Isomerenverhältnis von $\alpha(\text{Pyr})\text{:}\beta(\text{Pyr})\text{:}\alpha(\text{Fur})\text{:}\beta(\text{Fur}) = 15\text{:}60\text{:}15\text{:}10$ ermitteln lässt.

Gehalt an α -Pyranose im Gemisch: 15 %.

Methode A, Variante D:

Eine Mischung aus 20 ml Pyridin und 10 ml Essigsäureanhydrid wird auf $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt und bei dieser Temperatur unter Rühren portionsweise mit insgesamt 1.00 g (6.66 mmol) D-Arabinose (**20**) innerhalb von 30 min versetzt. Man rührt den Ansatz 5 d bei $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ und entfernt dann Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid im Hochvakuum. Der Rückstand wird dreimal mit Toluol kdestilliert und in 20 ml Dichlormethan aufgenommen. Diese Lösung wäscht man zweimal mit je 10 ml Wasser, trocknet sie mit Magnesiumsulfat und befreit sie i. Vak. vom Lösungsmittel. Ohne eine vorherige Reinigung wird der Rückstand NMR-spektroskopisch untersucht, wodurch sich die ausschließliche Bildung der peracetylierten β -D-Arabinopyranose **21b** belegen lässt.

Gehalt an α -Pyranose: 0 %.

Methode B:

Eine Suspension von 0.78 g (9.51 mmol) wasserfreiem Natriumacetat in 20 ml Essigsäureanhydrid wird in der Siedehitze portionsweise mit insgesamt 1.00 g (6.66 mmol) D-Arabinose (**20**) innerhalb von 20 min versetzt. Man rührt die Reaktionsmischung 3 h unter Rückfluss, gießt sie dann – ohne ein vorheriges Abkühlen auf Raumtemp. – langsam auf Eis und gibt 20 ml Dichlormethan hinzu. Die Phasen werden getrennt, und die organische wird zweimal mit je 10 ml Wasser gewaschen und anschließend mit Magnesiumsulfat getrocknet. Dichlormethan wird i. Vak. und Pyridin i. Hochvak. entfernt. Der Rückstand wird dreimal mit Toluol sowie einmal mit Dichlormethan kdestilliert und ohne eine vorherige Reinigung NMR-spektroskopisch untersucht. Dadurch lässt sich ein Isomerenverhältnis von $\alpha(\text{Pyr})\text{:}\beta(\text{Pyr})\text{:}\alpha(\text{Fur})\text{:}\beta(\text{Fur}) = 46\text{:}11\text{:}29\text{:}14$ ermitteln.

Gehalt an α -Pyranose im Gemisch: 46 %.

gelbes Öl; $R_f = 0.54$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:1), $R_f = 0.29$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1).

Charakteristische NMR-Signale zur Bestimmung des Isomerenverhältnisses:

300 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 6.35$ (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.7$ Hz, H1-Ara $^{\beta\text{-Fur}}$), 6.32 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 2.6$ Hz, H1-Ara $^{\beta\text{-Pyr}}$), 6.16 (sb, 1H, H1-Ara $^{\alpha\text{-Fur}}$), 5.63 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 7.0$ Hz, H1-Ara $^{\alpha\text{-Pyr}}$).

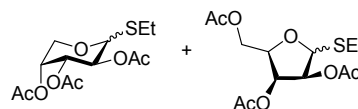
Lit.:^[232] 400 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): [δ /ppm] = 6.32 (H1-Ara ^{β -Fur}), 6.28 (H1-Ara ^{β -Pyr}), 6.14 (H1-Ara ^{α -Fur}), 5.63 (³J_{H1,H2} = 6.8 Hz, H1-Ara ^{α -Pyr}).

C₁₃H₁₈O₉ (318.3)

Ethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-1-thio- α,β -D-arabinopyranosid^[199, 231] und

Ethyl-2,3,5-tri-*O*-acetyl-1-thio- α,β -D-arabinofuranosid (22)

(α,β -Ac₃Ara-SEt)



In 500 ml absol. Dichlormethan werden 65.5 g (max. 199.8 mmol) des leicht verunreinigten Isomerengemischs von α,β -Ac₃Ara-OAc (**21**) gelöst und zusammen mit etwa 12 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 15 min bei Raumtemp. gerührt. Man fügt 23 ml (19.1 g, 307.3 mmol, 1.5 Äquiv.) Ethanthiol hinzu und rührt die Mischung weitere 15 min bei Raumtemperatur. Der Ansatz wird auf – 30 °C abgekühlt, tropfenweise mit 63 ml (71.2 g, 501.6 mmol, 2.5 Äquiv.) Bortrifluorid-Diethyletherat versetzt und 16 h bei – 25 °C unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wird das Molekularsieb abfiltriert und gründlich mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat gießt man unter kräftigem Rühren vorsichtig auf eine Mischung aus 300 g Eis und 300 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und neutralisiert das Gemisch nach Abklingen der Gasentwicklung mit festem Natriumhydrogencarbonat. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 4:1), wobei man ein Isomerengemisch erhält. Für analytische Zwecke lassen sich durch erneute flashchromatographische Reinigung von 300 mg des Gemischs sowohl eine Fraktion reines α -Pyranosid als auch eine Fraktion reines α -Furanosid erhalten.

Gesamtausbeute: 28.5 g (89.0 mmol, 45 % bezogen auf D-Arabinose), Lit.:^[231] 83 % reines α,β -Pyranosid, Lit.:^[199] 49 % reines α,β -Pyranosid; gelbliches Öl.

α -Pyranosid (22a): farbloser amorpher Feststoff; [α]_D³⁰ = + 13 (*c* = 1.00, CHCl₃), Lit.:^[233] [α]_D²² = + 4 (*c* = 1.0, CHCl₃); *R*_f = 0.40 (^cHex/EtOAc, 2:1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): [δ /ppm] = 5.26 (m_c, 1H, H4-Ara), 5.20 (t*, 1H, ³J_{H2,H1} $\approx$ ³J_{H2,H3} $\approx$ 8.6 Hz, H2-Ara), 5.04 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 8.8 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.3 Hz, H3-Ara), 4.49 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 8.5 Hz, H1-Ara), 4.07 (dd, 1H, ³J_{H5a,H4} = 3.7 Hz, ²J_{H5a,H5b} = 12.9 Hz, H5a-Ara), 3.63 (dd, 1H, ³J_{H5b,H4} = 1.8 Hz, ²J_{H5b,H5a} = 12.9 Hz, H5b-Ara), 2.77-2.59 (m, 2H, CH₂-Et), 2.10, 2.05, 2.00 (3 x s, 9H, CH₃-Ac), 1.24 (t, 3H, ³J = 7.5 Hz, CH₃-Et).

75.5 MHz- ^{13}C -NMR [BB, DEPT] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 170.25, 169.98, 169.53$ ($\text{C}=\text{O}-\text{Ac}$), 81.86 ($\text{C}1-\text{Ara}$), 70.77, 68.13, 67.86 ($\text{C}2-\text{Ara}$, $\text{C}3-\text{Ara}$, $\text{C}4-\text{Ara}$), 66.11 ($\text{C}5-\text{Ara}$), 24.51 (CH_2-Et), 20.90, 20.81, 20.66 (CH_3-Ac), 14.77 (CH_3-Et).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 343.2$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 343.1), 359.2 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 359.1), 384.2 ($[\text{M}+\text{Na}+\text{CH}_3\text{CN}]^+$, ber.: 384.1).

$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_7\text{S}$ (320.4)

ber.: C 48.74 H 6.29 S 10.01

gef.: C 48.79 H 6.31 S 10.08

α -Furanosid (22c): farbloses Öl; $[\alpha]_D^{30} = +153$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.44$ ($^c\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1).

400 MHz- ^1H -NMR [$^1\text{H}-^1\text{H}$ -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 5.32$ (s_b , 1H, $\text{H}1-\text{Ara}$), 5.09 (m_c , 1H, $\text{H}2-\text{Ara}$), 5.01 (m_c , 1H, $\text{H}3-\text{Ara}$), 4.40-4.35 (m , 2H, $\text{H}5a-\text{Ara}$ {4.39}, $\text{H}4-\text{Ara}$ {4.37}), 4.26 (m_c , 1H, $\text{H}5b-\text{Ara}$), 2.75-2.58 (m , 2H, CH_2-Et), 2.09, 2.09, 2.08 (3 x s , 9H, CH_3-Ac), 1.28 (t , 3H, $^3J = 7.4$ Hz, CH_3-Et).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 170.50, 169.97, 169.61$ ($\text{C}=\text{O}-\text{Ac}$), 87.67 ($\text{C}1-\text{Ara}$), 81.89 ($\text{C}2-\text{Ara}$), 79.47 ($\text{C}4-\text{Ara}$), 77.26 ($\text{C}3-\text{Ara}$), 62.76 ($\text{C}5-\text{Ara}$), 25.19 (CH_2-Et), 20.70, 20.67 (CH_3-Ac), 14.68 (CH_3-Et).

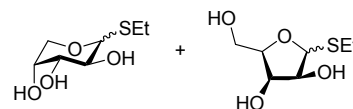
ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 343.2$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 343.1), 359.2 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 359.1), 384.2 ($[\text{M}+\text{Na}+\text{CH}_3\text{CN}]^+$, ber.: 384.1).

$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_7\text{S}$ (320.4)

Ethyl-1-thio- α,β -D-arabinopyranosid^[199, 231] und

Ethyl-1-thio- α,β -D-arabinofuranosid (23)

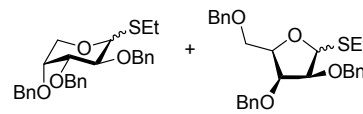
(α,β -Ara-SEt)



Eine Lösung von 28.5 g (89.0 mmol) des Isomerengemischs von α,β -Ac₃Ara-SEt (**22**) in 400 ml Methanol wird unter Rühren so lange mit Natriummethanolat versetzt, bis ein pH-Wert von 10.0 erreicht ist. Man rührt die Reaktionsmischung 16 h bei Raumtemp. und neutralisiert sie anschließend durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst® 15. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Nach einmaliger Kodestillation mit Dichlormethan und Trocknung des Rückstands i. Hochvak. wird dieser ohne Reinigung und Charakterisierung in die nächste Reaktion eingesetzt.

Rohausbeute: 18.3 g, Lit.:^[199, 231] quant.; gelbes Öl; $R_f = 0.42$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 5:1).

$\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_4\text{S}$ (194.2)

Ethyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-1-thio- α,β -D-arabinopyranosid^[199] und**Ethyl-2,3,5-tri-*O*-benzyl-1-thio- α,β -D-arabinofuranosid (24)****(α,β -Bn₃Ara-SEt)**

Eine Lösung von 18.3 g (max. 89.0 mmol) des rohen Isomerengemischs von α,β -Ara-SEt (**23**) in 500 ml *N,N*-Dimethylformamid kühlt man auf 0 °C ab und versetzt sie unter einer Argonatmosphäre portionsweise mit insgesamt 23.5 g (587.5 mmol, 2.2 Äquiv. pro OH-Gruppe) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl. Die Kühlung wird entfernt und die zähe Mischung 1 h bei Raumtemp. gerührt, bevor man sie erneut auf 0 °C abkühlt. Man versetzt den Ansatz tropfenweise mit 35 ml (50.1 g, 292.6 mmol, 1.1 Äquiv. pro OH-Gruppe) Benzylbromid in 50 ml *N,N*-Dimethylformamid, lässt ihn auf Raumtemp. erwärmen und rührt ihn 16 h unter einer Argonatmosphäre. Anschließend werden 50 ml Methanol sehr langsam zugegeben, und das Lösungsmittel wird i. Hochvak. entfernt. Der Rückstand wird viermal mit je 40 ml Toluol kdestilliert, in 300 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 100 ml Wasser versetzt. Man schüttelt aus, trennt die organische Phase ab und wäscht diese zweimal mit je 100 ml Wasser. Die vereinigten wässrigen Phasen werden zweimal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 20:1). Dabei wird neben einem Isomerengemisch eine Fraktion reines α -Pyranosid erhalten.

Gesamtausbeute: 32.4 g (69.7 mmol, 78 % bezogen auf **22**, 35 % bezogen auf D-Arabinose), Lit.:^[199] 88 % reines α,β -Pyranosid.

Isomerengemisch: 14.0 g (30.1 mmol, 34 % bezogen auf **22**); gelbliches Öl.

α -Pyranosid (24a): 18.4 g (39.6 mmol, 44 % bezogen auf **22**, 20 % bezogen auf D-Arabinose); gelbliches Öl; $[\alpha]_D^{32} = +22$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.:^[233] $[\alpha]_D^{25} = +21$ ($c = 1.0$, CHCl₃); $R_f = 0.63$ (°Hex/EtOAc, 2:1), $R_f = 0.29$ (°Hex/EtOAc, 4:1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.37\text{--}7.24$ (m, 15H, H_{Ar}-Ph), 4.79–4.56 (m, 7H, CH₂-Bn {4.77, 4.73, 4.69, 4.59, 4 x d, ²*J* = 10.7 Hz, ²*J* = 11.8 Hz, ²*J* = 12.8 Hz, ²*J* = 12.9 Hz}, H1-Ara {4.57, d, *J*_{H1,H2} = 7.0 Hz}), 4.16 (dd, 1H, ³*J*_{H5a,H4} = 4.8 Hz, ²*J*_{H5a,H5b} = 12.1 Hz, H5a-Ara), 3.83–3.75 (m, 2H, H2-Ara {3.81, t*, ³*J*_{H2,H1} ≈ ³*J*_{H2,H3} ≈ 7.2 Hz}, H4-Ara {3.76, m_c}), 3.59 (dd, 1H, ³*J*_{H3,H2} = 7.5 Hz, ³*J*_{H3,H4} = 3.1 Hz, H3-Ara), 3.35 (dd, 1H, ³*J*_{H5b,H4} = 1.8 Hz, ²*J*_{H5b,H5a} = 12.1 Hz, H5b-Ara), 2.79–2.60 (m, 2H, CH₂-Et), 1.28 (t, 3H, ³*J* = 7.4 Hz, CH₃-Et).

75.5 MHz-¹³C-NMR [BB, DEPT] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 138.30, 138.23$ (C_{ipso}-Ph), 128.39, 128.36, 128.18, 127.85, 127.77, 127.67, 127.64 (C_{o,m,p}-Ph), 84.67 (C1-Ara), 79.29

(C3-Ara), 78.00 (C2-Ara), 74.60 (CH₂-Bn), 72.40 (C4-Ara), 72.19, 71.04 (CH₂-Bn), 63.90 (C5-Ara), 25.29 (CH₂-Et), 15.09 (CH₃-Et).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 487.3$ ($[M+Na]^+$, ber.: 487.2),

503.2 ($[M+K]^+$, ber.: 503.2).

C₂₈H₃₂O₄S (464.6)

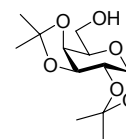
ber.: C 72.38 H 6.94 S 6.90

gef.: C 72.39 H 6.84 S 6.87

5.2.4 Die Synthese des Galactose-Bausteins

1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -D-galactopyranose (**26**)^[235]

(α -1,2:3,4-*i*-Prn-Gal)



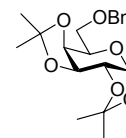
Eine Suspension von 60.0 g (333 mmol) D-Galactose (**25**) und 134.0 g (840 mmol) wasserfreiem Kupfer(II)-sulfat in 1000 ml Aceton wird mit 8 ml konz. Schwefelsäure versetzt und 24 h bei Raumtemp. gerührt. Man filtriert das Kupfer(II)-sulfat über Hyflo[®] ab, wäscht gründlich mit Aceton nach, neutralisiert das Filtrat mit Calciumhydroxid und filtriert die Mischung erneut über eine dünne Schicht Hyflo[®]. Das Aceton wird i. Vak. entfernt und der Rückstand i. Hochvak. getrocknet und ohne Reinigung und Charakterisierung weiter umgesetzt.

Rohausbeute: 88.8 g, Lit.:^[235] 76-92 %; gelb-braunes Öl; $R_f = 0.35$ (^cHex/EtOAc, 1:2).

C₁₂H₂₀O₆ (260.3)

6-*O*-Benzyl-1,2:3,4-di-*O*-isopropyliden- α -D-galactopyranose (**27**)^[236]

(α -6-Bn-1,2:3,4-*i*-Prn-Gal)



Eine Lösung von 88.8 g (max. 333 mmol) rohem α -1,2:3,4-*i*-Prn-Gal (**26**) in 500 ml *N,N*-Dimethylformamid wird auf 0 °C abgekühlt und unter einer Argonatmosphäre portionsweise mit insgesamt 20.4 g (510 mmol, 1.5 Äquiv.) einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl versetzt. Man entfernt die Kühlung und rührt den Ansatz 1 h bei Raumtemperatur. Anschließend wird die Reaktionsmischung erneut auf 0 °C abgekühlt und eine Lösung von 61.0 ml (87.2 g, 510 mmol, 1.5 Äquiv.) Benzylbromid in 100 ml *N,N*-Dimethylformamid zugetropft. Man lässt die Mischung auf Raumtemp. erwärmen und rührt sie 16 h. Nach Zugabe von 8 ml Methanol wird das Lösungsmittel i. Hochvak. entfernt und der Rückstand dreimal mit je 80 ml Toluol kdestilliert, in 600 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 100 ml Wasser versetzt. Man schüttelt aus,

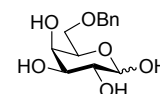
trennt die organische Phase ab, wäscht diese zwei weitere Male mit je 100 ml Wasser und trocknet sie mit Magnesiumsulfat. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 10:1) gereinigt. Das resultierende – noch leicht verunreinigte – Produkt wird ohne Charakterisierung weiter zu Verbindung **28** umgesetzt.

Ausbeute: 72.6 g (max. 207 mmol, max. 62 % bezogen auf D-Galactose, leicht verunreinigt), Lit.:^[236] 84 %; gelbes Öl; $R_f = 0.52$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 5:1).

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_6$ (350.4)

6-*O*-Benzyl- α,β -D-galactopyranose (**28**)^[236]

(α,β -6-Bn-Gal)



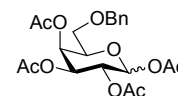
Eine Lösung von 72.6 g (207 mmol) α -6-Bn-1,2:3,4-*i*-Prn-Gal (**27**) in 1500 ml 60%iger Essigsäure wird 4 h bei einer Temperatur von 80 °C bis 90 °C gerührt. Anschließend wird das Essigsäure-Wasser-Gemisch i. Hochvak. entfernt und der Rückstand so oft mit Toluol kodestilliert, bis kein Geruch nach Essigsäure mehr wahrnehmbar ist. Das resultierende Rohprodukt ist ausreichend rein für die folgende Reaktion und wird daher ohne Reinigung und Charakterisierung weiter umgesetzt.

Rohausbeute: 64.5 g, Lit.:^[236] 87 % nach Chromatographie; gelbes Öl; $R_f = 0.19$ (EtOAc/EtOH , 10:1).

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_6$ (270.3)

1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranose (**29**)^[236]

(α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OAc)



Man kühlt eine Lösung von 64.5 g (max. 207 mmol) rohem α,β -6-Bn-Gal (**28**) in 600 ml Pyridin auf 0 °C ab, gibt eine Spatelspitze 4-Dimethylaminopyridin hinzu und tropft anschließend 300 ml Essigsäureanhydrid zu. Die Kühlung wird entfernt und der Ansatz 15 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend werden Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt. Der Rückstand wird sechsmal mit je 60 ml Toluol kodestilliert und durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:1) gereinigt, wobei ein Gemisch der beiden Anomere erhalten wird ($\alpha:\beta = 2:3$, mittels NMR-Spektroskopie bestimmt).

Ausbeute: 81.4 g (186 mmol, 90 % bezogen auf **27**), Lit.:^[236] 85 %, 74 % bezogen auf **27**; gelbes Öl; R_f (α -Anomer) = 0.47 ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:1), R_f (β -Anomer) = 0.43 ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:1).

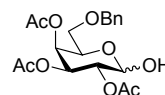
300 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): [δ/ppm] = 7.34-7.24 (m, 10H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 6.34 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 2.9$ Hz, H1-Gal $^{\alpha}$), 5.67 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.5$ Hz, H1-Gal $^{\beta}$), 5.55 (s_b, 1H, H4-Gal $^{\alpha}$), 5.49 (d_b, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 2.6$ Hz, H4-Gal $^{\beta}$), 5.32-5.25 (m, 3H, H2-Gal $^{\alpha}$, H2-Gal $^{\beta}$, H3-Gal $^{\alpha}$), 5.05 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.5$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 3.5$ Hz, H3-Gal $^{\beta}$), 4.52 (d, 2H, $^2J = 11.8$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.40-4.35 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$ {2 x d, 4.38, 4.37, $^2J = 12.1$ Hz, $^2J = 12.2$ Hz}), 4.27 (t_b, 1H, $^3J_{\text{H5,H6ab}} = 6.6$ Hz, H5-Gal $^{\alpha}$), 3.97 (t_b, 1H, $^3J_{\text{H5,H6ab}} = 6.6$ Hz, H5-Gal $^{\beta}$), 3.56-3.37 (m, 4H, H6a-Gal $^{\alpha}$, H6b-Gal $^{\alpha}$, H6a-Gal $^{\beta}$, H6b-Gal $^{\beta}$), 2.12, 2.08, 2.03, 2.01, 1.99, 1.97, 1.96 (7 x s, 24H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 461.3 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 461.1).

$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$ (438.4)

2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α,β -D-galactopyranose (**30**)^[238]

(α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OH)



Methode A.^[238]

Einer Lösung von 13.17 g (30.0 mmol) α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OAc (**29**) in 130 ml *N,N*-Dimethylformamid werden unter einer Argonatmosphäre 4.13 g (44.8 mmol, 1.5 Äquiv.) Hydrazinacetat zugesetzt. Man rührt die Reaktionsmischung 2 h bei Raumtemp. und entfernt dann das Lösungsmittel im Hochvakuum. Der Rückstand wird dreimal mit je 25 ml Toluol kodestilliert und in 250 ml Ethylacetat aufgenommen. Man wäscht die Lösung nacheinander mit 50 ml Wasser, 50 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und ein weiteres Mal mit 50 ml Wasser. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1) gereinigt und das resultierende Reinprodukt ohne vollständige Charakterisierung der nachfolgenden Umsetzung zum entsprechenden Trichloracetimidat **31** unterworfen.

Ausbeute: 6.22 g (15.7 mmol, 52 %), Lit.:^[238] 69 %.

Methode B:

Man versetzt eine Lösung von 3.60 ml (3.20 g, 53.3 mmol, 1.9 Äquiv.) Ethylendiamin in 50 ml Tetrahydrofuran langsam mit 3.58 ml (3.72 g, 62.0 mmol, 1.2 Äquiv. bezogen auf Ethylendiamin) Essigsäure, wobei sich ein farbloser Niederschlag abscheidet. Zu

dieser Mischung wird eine Lösung von 12.60 g (28.7 mmol) α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OAc (**29**) in 40 ml Tetrahydrofuran getropft und der Ansatz 18 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend filtriert man den Feststoff ab und verdünnt das Filtrat mit 40 ml Wasser und 80 ml Dichlormethan. Die organische Phase wird abgetrennt, nacheinander mit 70 ml 2 M Salzsäure, 70 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 40 ml Wasser gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung der Lösungsmittel i. Vak. wird der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 2:1) gereinigt und das resultierende Reinprodukt ohne vollständige Charakterisierung in die nachfolgende Umsetzung zum entsprechenden Trichloracetimidat **31** eingesetzt.

Ausbeute: 8.10 g (20.4 mmol, 71 %).

farbloser amorpher Feststoff; R_f = 0.31 bzw. 0.28 (^cHex/EtOAc, 1:1).

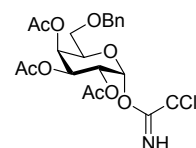
ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 419.3$ ($[M+Na]^+$, ber.: 419.1),

435.1 ($[M+K]^+$, ber.: 435.1).

C₁₉H₂₄O₉ (396.4)

2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- α -D-galactopyranosyl-trichloracetimidat (**31**)^[234, 240]

(α -6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃)



Zu einer Lösung von 6.22 g (15.7 mmol) α,β -6-Bn-Ac₃Gal-OH (**30**) in 40 ml absol. Dichlormethan werden unter einer Argonatmosphäre 11.34 g (78.5 mmol, 5.0 Äquiv.) Trichloracetonitril und 10 Tropfen 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en gegeben. Man rührt die Reaktionsmischung 3½ h bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre und entfernt dann das Lösungsmittel sowie überschüssiges Trichloracetonitril im Vakuum. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 7:2), wobei ausschließlich das reine α -Anomer erhalten wird.

Ausbeute: 8.03 g (14.8 mmol, 95 %, 30 % bezogen auf D-Galactose), Lit.:^[240] 86 %;

farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = +76$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.:^[240] $[\alpha]_D^{rt} = +69$

($c = 0.38$, CHCl₃), Lit.:^[359] $[\alpha]_D^{22} = +76$ ($c = 1.0$, CHCl₃); $R_f = 0.43$ (^cHex/EtOAc, 1:1), $R_f = 0.24$ (^cHex/EtOAc, 3:1), $R_f = 0.20$ (^cHex/EtOAc, 7:2).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 8.60$ (s, 1H, NH), 7.32-7.22 (m, 5H, H_{Ar}-Ph), 6.55 (d, 1H, ³J_{H1,H2} = 3.5 Hz, H1-Gal), 5.61 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.2 Hz, H4-Gal), 5.40 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 10.9 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.2 Hz, H3-Gal), 5.32 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 3.5 Hz,

$^3J_{\text{H2,H3}} = 10.8$ Hz, H2-Gal), 4.51 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn), 4.40-4.35 (m, 2H, H5-Gal {4.38}, CH₂-Bn {4.37, d, $^2J = 12.1$ Hz}), 3.52 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 5.7$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 9.6$ Hz, H6a-Gal), 3.44 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6b,H5}} = 7.2$ Hz, $^2J_{\text{H6b,H6b}} = 9.6$ Hz, H6b-Gal), 2.03, 1.99, 1.99 (3 x s, 9H, CH₃-Ac).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HMQC] (CDCl₃): [δ/ppm] = 170.08, 169.95, 169.86 (C=O-Ac), 160.99 (C=NH), 137.37 (C_{ipso}-Ph), 128.39, 127.85, 127.80 (C_{o,m,p}-Ph), 93.67 (C1-Gal), 73.38 (CH₂-Bn), 70.04 (C5-Gal), 67.77, 67.64 (C3-Gal, C4-Gal), 67.10, 67.06 (C2-Gal, C6-Gal), 20.64, 20.51 (CH₃-Ac).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 562.3 ([M+Na]⁺, ber.: 562.0),

603.3 ([M+CH₃CN+Na]⁺, ber.: 603.1).

C₂₁H₂₄Cl₃NO₉ (540.8)

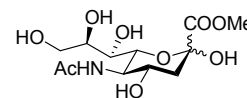
ber.: C 46.64 H 4.47 N 2.59

gef.: C 46.73 H 4.52 N 2.56

5.2.5 Die Synthese des Neuraminsäure-Bausteins

Methyl-5-acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero- α,β -D-galacto-non-2-ulo-pyranosonat (33)^[241]

(α,β -Neu5AcCOOMe)



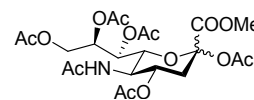
Eine Suspension von 20.0 g (64.7 mmol) *N*-Acetyl-D-neuraminsäure (32) in 1000 ml Methanol wird mit 15.0 g saurem Ionenaustauscher Dowex[®] 50WX8-200 versetzt und 45 h bei Raumtemp. geschüttelt. Anschließend dekantiert man die überstehende Lösung vom Ionenaustauscher ab, filtriert sie und wäscht mit Methanol nach. Der Ionenaustauscher wird drei weitere Male mit je 250 ml Methanol geschüttelt und durch Dekantieren von der überstehenden Lösung abgetrennt, beim dritten Mal dann abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden i. Vak. vom Lösungsmittel befreit, und der Rückstand wird ohne Reinigung und Charakterisierung direkt der nachfolgenden Acetylierung unterworfen.

Ausbeute: 20.5 g (63.4 mmol, 98 %), Lit.:^[241] 97 % nach Chromatographie; farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.60$ (MeOH).

C₁₂H₂₁NO₉ (323.3)

Methyl-5-acetamido-2,4,7,8,9-penta-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- α,β -D-galactonon-2-ulopyranosonat (34)^[242, 243]

(α,β -Ac₄Neu5AcCOOMe-OAc)



Man löst 20.5 g (63.4 mmol) α,β -Neu5AcCOOMe (**33**) in 400 ml Pyridin und tropft 200 ml Essigsäureanhydrid innerhalb von 30 min zu. Das Reaktionsgemisch wird 64 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend von Pyridin und überschüssigem Essigsäureanhydrid i. Hochvak. befreit. Der Rückstand wird zweimal mit je 100 ml Toluol kodestilliert und durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 20:1) gereinigt, wobei ein – noch leicht verunreinigtes – Gemisch der beiden Anomere erhalten wird, welches für die nachfolgende Umsetzung jedoch genügend rein ist.

Ausbeute: 38.2 g (quant., leicht verunreinigt), Lit.^[242] 97 %, Lit.^[243] 88 % bezogen auf *N*-Acetyl-D-neuraminsäure; farbloser amorpher Feststoff;

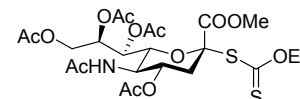
R_f (α -Anomer) = 0.36 (CH₂Cl₂/MeOH, 20:1), R_f (β -Anomer) = 0.32 (CH₂Cl₂/MeOH, 20:1), R_f (α -Anomer) = 0.32 (EtOAc/EtOH, 50:1), R_f (β -Anomer) = 0.26 (EtOAc/EtOH, 50:1).

FD-MS (positiv): $[m/z] = 534.1$ ($[M+H]^+$, ber.: 534.2).

C₂₂H₃₁NO₁₄ (533.5)

***O*-Ethyl-S-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galactonon-2-ulopyranosyl)onat]dithiocarbonat (36)**^[244]

(α -Ac₄Neu5AcCOOMe-Xan)



Bei 0 °C werden 38.2 g (max. 63.4 mmol) leicht verunreinigtes α,β -Ac₄Neu5AcCOOMe-OAc (**34**) in 500 ml Acetylchlorid gelöst. Man gibt 0.5 ml Wasser hinzu, entfernt die Kühlung und rührt den Ansatz bei Raumtemp. 4 d. Anschließend wird überschüssiges Acetylchlorid i. Vak. entfernt und der Rückstand viermal mit je 100 ml Toluol kodestilliert und i. Hochvak. getrocknet (R_f = 0.38 (EtOAc/EtOH, 50:1)).

Das rohe Neuraminsäurechlorid **35** wird in 650 ml Ethanol aufgenommen und unter einer Argonatmosphäre mit 17.3 g (108.0 mmol, 1.7 Äquiv.) Kalium-ethylxanthogenat versetzt. Man rührt die Suspension unter Lichtausschluss und einer Argonatmosphäre bei Raumtemp. 2 d, entfernt dann das Lösungsmittel i. Vak. und nimmt den Rückstand in 600 ml Dichlormethan auf. Diese Lösung wird dreimal mit je 300 ml Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen extrahiert man dreimal mit je 300 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen trocknet man mit Magnesiumsulfat und befreit sie i. Vak. vom Lösungsmittel. Das resultierende Rohprodukt wird durch zweimalige

Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: EtOAc bzw. $^6\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:2) gereinigt. Dabei wird ein Gemisch aus dem gewünschten Xanthogenat **36** und dem Eliminierungsprodukt **37** erhalten (Xan:Glycal = 5:1, mittels NMR-Spektroskopie bestimmt), die sich flashchromatographisch nicht trennen lassen. Da das Eliminierungsprodukt allerdings auch im Laufe der sich anschließenden Sialylierungsreaktionen gebildet wird und diese nicht negativ beeinflusst, kann an dieser Stelle auf eine weitere, aufwendige Reinigung verzichtet werden, sofern im Folgenden der Grad der Verunreinigung bei der Ansatzberechnung berücksichtigt wird (Gehalt an Xanthogenat in der Mischung = 86 Gew.-%). Für analytische Zwecke kann durch präparative RP-HPLC reines Produkt erhalten werden (R_f = 50-52 min, Säule: Luna-2, Gradient: Präp-1).

Ausbeute (Das Eliminierungsprodukt ist bereits – entsprechend der obigen Angaben – herausgerechnet.): 20.2 g (33.9 mmol, 54 % bezogen auf **33**, 52 % bezogen auf *N*-Acetyl-D-neuraminsäure), Lit.:^[244] 71 % bezogen auf **34**; farbloser amorpher Feststoff.

Analytische Daten des Reinprodukts:

$[\alpha]_D^{25} = +78$ ($c = 1.00$, CHCl_3), Lit.:^[244] $[\alpha]_D^{20\pm 2} = +79$ ($c = 1$, CHCl_3); $R_f = 0.29$ (EtOAc), $R_f = 0.14$ ($^6\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:2); $R_t = 27$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-1).

300 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 5.31\text{--}5.24$ (m, 3H, NH-Sia, H7-Sia, H8-Sia), 4.90-4.73 (m, 2H, H4-Sia {4.86, dt*, $^3J_{\text{H4},\text{H3äq}} = 4.3$ Hz, $^3J_{\text{H4},\text{H3ax}} \approx ^3J_{\text{H4},\text{H5}} \approx 10.9$ Hz}, CH_{2a}-Et {4.78}), 4.56-4.46 (m, 2H, H6-Sia, CH_{2b}-Et), 4.30 (dd, 1H, $^3J_{\text{H9a},\text{H8}} = 2.4$ Hz, $^2J_{\text{H9a},\text{H9b}} = 12.3$ Hz, H9a-Sia), 4.17 (dd, 1H, $^3J_{\text{H9b},\text{H8}} = 5.3$ Hz, $^2J_{\text{H9b},\text{H9a}} = 12.3$ Hz, H9b-Sia), 4.00 (q*, 1H, $^3J_{\text{H5},\text{H4}} \approx ^3J_{\text{H5},\text{H6}} \approx ^3J_{\text{H5},\text{NH}} \approx 10.4$ Hz, H5-Sia), 3.77 (s, 3H, COOCH₃), 2.60 (dd, 1H, $^2J_{\text{H3äq},\text{H3ax}} = 12.9$ Hz, $^3J_{\text{H3äq},\text{H4}} = 4.4$ Hz, H3_{äq}-Sia), 2.12, 2.10 (2 x s, 6H, CH₃-Ac), 2.02-1.98 (m, 7H, H3_{ax}-Sia, CH₃-Ac {2.00, s}), 1.87 (s, 3H, CH₃-Ac), 1.34 (t, 3H, $^3J = 7.2$ Hz, CH₃-Et).

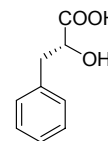
75.5 MHz- ^{13}C -NMR [BB, DEPT] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 207.16$ (C=S), 170.81, 170.50, 170.16, 170.11, 170.05 (C=O-Ac), 168.63 (C1-Sia), 86.50 (C2-Sia), 75.07 (C6-Sia), 70.44 (CH₂-Et), 70.04 (C8-Sia), 68.78 (C4-Sia), 67.65 (C7-Sia), 61.98 (C9-Sia), 53.28 (COOCH₃), 49.23 (C5-Sia), 37.10 (C3-Sia), 23.16, 21.03, 20.79, 20.75, 20.72 (CH₃-Ac), 13.30 (CH₃-Et).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 618.0$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 618.1).

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}_{13}\text{S}_2$ (595.6)	ber.: C 46.38	H 5.58	N 2.35	S 10.77
	gef.: C 46.31	H 5.52	N 2.50	S 10.77

5.2.6 Die Synthese des Cyclohexylmilchsäure-Bausteins

(*R*)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure (**39**)^[245, 246]



Zu einer Lösung von 25.1 g (152 mmol) D-Phenylalanin (**38**) in 135 ml 1.25 M Schwefelsäure wird bei 0 °C eine Lösung von 21.0 g (304 mmol, 2.0 Äquiv.) Natriumnitrit in 105 ml Wasser innerhalb von 1 h zugetropft. Man entfernt die Kühlung und rührt die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 19 h, bevor sie erneut auf 0 °C abgekühlt und eine Lösung von 10.5 g (152 mmol, 1.0 Äquiv.) Natriumnitrit in 50 ml Wasser innerhalb von 30 min zur Vervollständigung der Reaktion zugetropft wird. Der Ansatz wird weitere 6 d bei Raumtemp. gerührt. Anschließend versetzt man die Mischung mit 200 ml Diethylether, worauf sich der abgeschiedene Feststoff löst. Man schüttelt aus und trennt die Phasen. Die wässrige Phase wird weitere 16 Mal mit je 100 ml Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet, und das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Man nimmt den Rückstand in Ethylacetat auf und gibt so lange Hexan zu, bis das Produkt kristallin ausfällt. Es wird abfiltriert, das Filtrat i. Vak. eingengt und der Rückstand nochmals in Ethylacetat gelöst und mit Hexan versetzt, wobei weiteres Produkt auskristallisiert.

Ausbeute: 16.0 g (96.3 mmol, 63 %), Lit.:^[245] 70 %, Lit.:^[246] 75 %; farblose feine Nadeln; Schmp.: 120 °C, Lit.:^[245] 123-124 °C, Lit.:^[246] 126.0-126.5 °C; $[\alpha]_D^{25} = +18$ ($c = 1.00$, MeOH), $[\alpha]_D^{25} = +21$ ($c = 2.00$, H₂O), Lit.:^[246] $[\alpha]_D^{24} = +21$ ($c = 2.00$, H₂O); $R_f = 0.43$ (EtOAc/AcOH, 20:1).

300 MHz-¹H-NMR (CD₃OD): $[\delta/ppm] = 7.27-7.17$ (m, 5H, H_{Ar}-Ph), 4.33 (dd, 1H, ³*J* = 4.4 Hz, ³*J* = 8.1 Hz, CHCOOH), 3.10 (dd, 1H, ³*J* = 4.4 Hz, ²*J* = 14.0 Hz, CH_{2a}CHCOOH), 2.89 (dd, 1H, ³*J* = 8.1 Hz, ²*J* = 14.0 Hz, CH_{2b}CHCOOH).

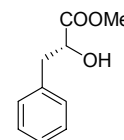
75.5 MHz-¹³C-NMR [BB] (CD₃OD): $[\delta/ppm] = 177.11$ (C=O), 138.83 (C_{ipso}-Ph), 130.53, 129.19, 127.48 (C_{o,m,p}-Ph), 72.72 (CHCOOH), 41.56 (CH₂CHCOOH).

FD-MS (positiv): $[m/z] = 166.1$ ([M]⁺, ber.: 166.1).

C₉H₁₀O₃ (166.2)

ber.: C 65.05 H 6.07

gef.: C 65.01 H 6.15

(R)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäuremethylester (40)^[233]

Eine Mischung aus 15.6 g (93.9 mmol) (R)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäure (**39**) und 7.5 g saurem Ionenaustauscher Dowex[®] 50WX8-200 in 750 ml Methanol wird 6 d bei Raumtemp. geschüttelt. Die überstehende Lösung wird abdekantiert und filtriert. Der Ionenaustauscher wird drei weitere Male mit je 250 ml Methanol geschüttelt und durch Dekantieren von der überstehenden Lösung abgetrennt. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel über eine kurze Säule (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 2:1).

Ausbeute: 16.7 g (92.7 mmol, 99 %), Lit.:^[233] quant.; farbloser wachsartiger Feststoff; $[\alpha]_D^{25} = +8$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.:^[233] $[\alpha]_D^{23} = +7$ ($c = 1.0$, CHCl₃), Lit.:^[248] $[\alpha]_D^{20} = +7$ ($c = 2$, CHCl₃); $R_f = 0.40$ (^cHex/EtOAc, 2:1), $R_f = 0.10$ (^cHex/EtOAc, 7:1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.32-7.19$ (m, 5H, H_{Ar}-Ph), 4.44 (dd, 1H, ³J = 4.4 Hz, ³J = 7.0 Hz, CHCOOMe), 3.75 (s, 3H, COOCH₃), 3.11 (dd, 1H, ³J = 4.4 Hz, ²J = 14.0 Hz, CH_{2a}CHCOOMe), 2.95 (dd, 1H, ³J = 7.0 Hz, ²J = 14.0 Hz, CH_{2b}CHCOOMe), 2.74 (sb, 1H, OH).

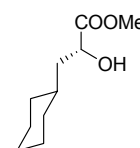
75.5 MHz-¹³C-NMR [BB] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 174.50$ (C=O), 136.26 (C_{ipso}-Ph), 129.39, 128.36, 126.83 (C_{o,m,p}-Ph), 71.22 (CHCOOMe), 52.36 (COOCH₃), 40.49 (CH₂CHCOOMe).

FD-MS (positiv): $[m/z] = 180.1$ ([M]⁺, ber.: 180.1).

C₁₀H₁₂O₃ (180.2)

ber.: C 66.65 H 6.71

gef.: C 66.70 H 6.73

(R)-2-Hydroxy-3-cyclohexylpropansäuremethylester (41)^[233, 247]

Eine Lösung von 16.5 g (91.6 mmol) (R)-2-Hydroxy-3-phenylpropansäuremethylester (**40**) in einer Mischung aus 125 ml Tetrahydrofuran und 125 ml Wasser wird durch sechsmaliges Evakuieren mittels einer Membranpumpe und Fluten mit Argon gründlich entgast. Man gibt unter einer Argonatmosphäre 0.7 g Rhodium auf aktiviertem Aluminiumoxid (5 %) hinzu, entgast die Mischung erneut gründlich und flutet zuletzt mit Wasserstoff. Unter einer Wasserstoffatmosphäre wird der Ansatz 14 d bei Raumtemp. gerührt, wobei nach 12 d noch einmal 0.7 g des Katalysators sowie 60 ml Tetrahydrofuran unter einer Argonatmosphäre zugegeben werden. Anschließend filtriert man den Katalysator über Hyflo[®] ab, wäscht gründlich mit Tetrahydrofuran nach und entfernt die Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird durch Flashchromatographie

an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 7:1) gereinigt, wobei neben dem gewünschten Produkt 5.5 g (30.2 mmol, 33 %) der eingesetzten Verbindung **40** erhalten werden.

Ausbeute: 10.3 g (55.3 mmol, 60 %), Lit.:^[233] 89 %, Lit.:^[247] 92 %; farbloses Öl; $[\alpha]_D^{25} = -1$ ($c = 1.00$, CHCl_3), Lit.:^[233] $[\alpha]_D^{23} = -2$ ($c = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.18$ (°Hex/EtOAc, 7:1).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 4.21$ (m_c , 1H, CHCOOMe), 3.74 (s, 3H, COOCH_3), 2.61 (s_b , 1H, OH), 1.80 (d_b , 1H, $^2J = 12.9$ Hz, $\text{CH}_{2a}\text{CHCOOMe}$), 1.64-1.45 (m, 7H, $\text{CH}_{2b}\text{CHCOOMe}$, CH-Cyclo, CH_2 -Cyclo), 1.30-1.04 (m, 3H, CH_2 -Cyclo), 0.97-0.80 (m, 2H, CH_2 -Cyclo).

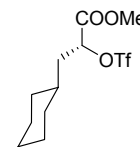
75.5 MHz-¹³C-NMR [BB, DEPT] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 176.39$ (C=O), 68.46 (CHCOOMe), 52.41 (COOCH_3), 42.12 ($\text{CH}_2\text{CHCOOMe}$), 33.93 (CH_2 -Cyclo), 33.61 (CH-Cyclo), 32.23, 26.44, 26.23, 26.00 (CH_2 -Cyclo).

FD-MS (positiv): $[m/z] = 186.1$ ($[\text{M}]^+$, ber.: 186.1).

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_3$ (186.2)	ber.: C 64.49	H 9.74
	gef.: C 64.39	H 9.77

(*R*)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäuremethylester (**42**)^[246, 249]

In 350 ml absol. Dichlormethan löst man 12.0 g (64.4 mmol) (*R*)-2-Hydroxy-3-cyclohexylpropansäuremethylester (**41**), kühlt die Lösung auf 0 °C ab und gibt unter einer Argonatmosphäre 14.0 ml (23.8 g, 84.4 mmol, 1.3 Äquiv.)



Trifluormethansulfonsäureanhydrid hinzu. Anschließend werden 9.0 ml (8.3 g, 77.3 mmol, 1.2 Äquiv.) 2,6-Dimethylpyridin (2,6-Lutidin) innerhalb von 15 min zugetropft. Man rührt die Reaktionsmischung weitere 30 min bei 0 °C unter einer Argonatmosphäre, gießt sie dann auf 120 ml einer 1 M Dikaliumhydrogenphosphat-Lösung und schüttelt aus. Die wässrige Phase wird einmal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. bei einer Temperatur $T < 32$ °C vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird durch zügig durchgeführte Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 9:1) gereinigt und das Reinprodukt bei – 25 °C unter einer Argonatmosphäre gelagert.

Ausbeute: 18.5 g (58.1 mmol, 90 %, 34 % bezogen auf D-Phenylalanin), Lit.:^[246] 70 %, Lit.:^[249] 86 %; farbloses Öl; $[\alpha]_D^{27} = +42$ ($c = 1.00$, CHCl_3), Lit.:^[233] $[\alpha]_D^{23} = +41$ ($c = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.49$ (°Hex/EtOAc, 7:1), $R_f = 0.39$ (°Hex/EtOAc, 9:1).

300 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 5.17$ (dd, 1H, $^3J = 4.2$ Hz, $^3J = 9.0$ Hz, CHCOOMe), 3.82 (s, 3H, COOCH_3), 1.95-1.63 (m, 7H, $\text{CH}_2\text{CHCOOMe}$, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 1.43 (m, 1H, CH-Cyclo), 1.32-1.06 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 1.03-0.84 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$).

75.5 MHz- ^{13}C -NMR [BB, DEPT] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 168.13$ (C=O), 118.43 (q, $J = 320$ Hz, CF_3), 81.75 (CHCOOMe), 53.17 (COOCH_3), 39.26 ($\text{CH}_2\text{CHCOOMe}$), 33.40 ($\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 33.21 (CH-Cyclo), 31.89, 26.11, 25.94, 25.67 ($\text{CH}_2\text{-Cyclo}$).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 227.1$ ($[\text{M-Tf}+\text{CH}_3\text{CN}+\text{H}]^+$, ber.: 227.2).

$\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{O}_5\text{S}$ (318.3)

ber.: C 41.51 H 5.38 S 10.07

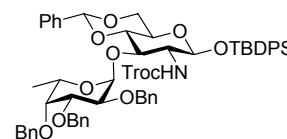
gef.: C 41.60 H 5.46 S 9.88

5.3 Die Synthesen der Disaccharide

5.3.1 Die Synthesen der fucosylierten Bausteine

***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 (44)**

(β -3-(α -Bn₃Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS)



Eine Lösung von 5.00 g (7.34 mmol) β -4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS (**7**) und 4.23 g (8.84 mmol, 1.2 Äquiv.) α,β -Bn₃Fuc-SEt (**19**) in einer Mischung aus 150 ml absol. Dichlormethan und 150 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird mit etwa 5 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Im Argongegenstrom werden 3.19 g (9.90 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **19**) trockenes Tetra-*n*-butylammoniumbromid und 2.21 g (9.89 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **19**) trockenes Kupfer(II)-bromid zugegeben, und die Reaktionsmischung wird 21 h bei Raumtemp. unter Lichtausschluss und einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend filtriert man sie über eine dünne Schicht Hyflo[®], wäscht dreimal mit je 100 ml Dichlormethan nach und befreit das Filtrat i. Vak. von Dichlormethan und i. Hochvak. von *N,N*-Dimethylformamid. Der Rückstand wird zweimal mit je 75 ml Toluol sowie einmal mit 75 ml Dichlormethan kodestilliert und in 250 ml Dichlormethan aufgenommen. Man wäscht die Lösung dreimal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 100 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung und extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen dreimal mit je 100 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Das resultierende Rohprodukt wird zunächst über eine

etwa 10 cm dicke Kieselgelschicht filtriert und dann durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 9:1) gereinigt.

Ausbeute: 6.36 g (5.79 mmol, 79 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -56$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.60$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 4:1), $R_f = 0.17$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 9:1).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.66\text{--}7.65$ (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.61-7.59 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.44-7.22 (m, 26H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.42 (s, 1H, CH-Bzn), 5.17-5.13 (m, 2H, NH-GlcN {5.16, d, $^3J_{\text{NH,H2}} = 7.8$ Hz}, H1-Fuc {5.13, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.5$ Hz}), 4.90 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2), 4.85-4.80 (m, 3H, CH_2 {4.84, 4.81, 2 x d, $^2J = 11.8$ Hz, $^2J = 11.0$ Hz}, H1-GlcN {4.80}), 4.72, 4.68, 4.63, 4.57, 4.42 (5 x d, 5H, $^2J = 11.4$ Hz, 2 x $^2J = 11.7$ Hz, 2 x $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.06-3.98 (m, 4H, H5-Fuc {4.06}, H3-GlcN {4.03}, H2-Fuc {4.03, dd, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.5$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.0$ Hz}, H6a-GlcN {4.00}), 3.91 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.2$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.7$ Hz, H3-Fuc), 3.65-3.45 (m, 4H, H6b-GlcN {3.60}, H4-GlcN {3.58}, H4-Fuc {3.54}, H2-GlcN {3.49}), 3.09 (m, 1H, H5-GlcN), 1.04 (s, 9H, CH_3 - ^tBu), 0.77 (d, 3H, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.2$ Hz, H6a,b,c-Fuc).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HMQC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 153.71$ (C=O-Troc), 138.82, 138.52, 138.46, 137.20 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 135.83, 135.76 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 133.12, 132.70 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 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 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 101.47 (CH-Bzn), 97.74 (C1-Fuc), 95.78 (C1-GlcN), 95.11 (CCl_3), 80.40 (C4-GlcN), 79.45 (C3-Fuc), 77.70 (C4-Fuc), 77.07 (C2-Fuc), 74.84, 74.63 (CH_2), 74.46 (C3-GlcN), 73.56, 73.02 (CH_2), 68.48 (C6-GlcN), 66.68 (C5-Fuc), 65.86 (C5-GlcN), 60.99 (C2-GlcN), 26.75 (CH_3 - ^tBu), 16.21 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1118.3$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1118.3),

1134.3 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 1134.3).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1118.3223$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1118.3312).

$\text{C}_{59}\text{H}_{64}\text{Cl}_3\text{NO}_{11}\text{Si}$ (1097.6)

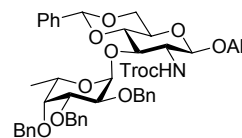
ber.: C 64.56 H 5.88 N 1.28

gef.: C 64.52 H 5.85 N 1.27

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 (45)

(β -3-(α -Bn₃Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll)



In einer Mischung aus 250 ml absol. Dichlormethan und 250 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid werden 5.00 g (10.36 mmol) β -4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll (**14**) und 6.01 g (12.56 mmol, 1.2 Äquiv.) α,β -Bn₃Fuc-SEt (**19**) zusammen mit etwa 10 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 90 min bei Raumtemp. gerührt. Im

Argongegenstrom gibt man 4.50 g (13.96 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **19**) trockenes Tetra-*n*-butylammoniumbromid und 3.09 g (13.83 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **19**) trockenes Kupfer(II)-bromid zu und rührt die Reaktionsmischung 64 h bei Raumtemp. unter Lichtausschluss und einer Argonatmosphäre. Man filtriert den Ansatz über eine dünne Schicht Hyflo[®], wäscht dreimal mit je 100 ml Dichlormethan nach und befreit das Filtrat i. Vak. von Dichlormethan und i. Hochvak. von *N,N*-Dimethylformamid. Nach zweimaliger Kodestillation mit je 100 ml Toluol wird der Rückstand einmal mit 100 ml Dichlormethan kodestilliert und schließlich in 250 ml Dichlormethan aufgenommen. Die Lösung wird dreimal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 100 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, und die vereinigten wässrigen Phasen werden fünfmal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Man trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 4:1), wobei das gewünschte α -glycosidisch verknüpfte Produkt von dem ebenfalls zu einem geringen Anteil gebildeten entsprechenden β -Anomer abgetrennt wird.

Ausbeute: 7.10 g (7.90 mmol, 76 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{25} = -68$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.56$ (^cHex/EtOAc, 2:1), $R_f = 0.18$ (^cHex/EtOAc, 4:1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.45-7.42$ (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.40-7.21 (m, 18H, H_{Ar}-Ph), 5.82 (m_c, 1H, CH-All), 5.48 (s, 1H, CH-Bzn), 5.41 (s_b, 1H, NH-GlcN), 5.24 (ddd, 1H, ⁴*J* = 1.6 Hz, ²*J* = 3.4 Hz, ³*J*_{trans} = 17.4 Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.17-5.14 (m, 2H, =CH₂-All^{cis} {5.16, ddd, ⁴*J* = 1.2 Hz, ²*J* = 2.8 Hz, ³*J*_{cis} = 10.6 Hz}, H1-Fuc {5.15, d, ³*J*_{H1,H2} = 3.9 Hz}), 4.90 (d, 1H, ²*J* = 11.7 Hz, CH₂), 4.85-4.67 (m, 6H, CH₂ {4.83, 4.82, 4.75, 4.72, 4.69, 5 x d, ²*J* = 11.4 Hz, ²*J* = 11.7 Hz, ²*J* = 12.1 Hz, ²*J* = 10.6 Hz, ²*J* = 11.0 Hz}, H1-GlcN {4.79}), 4.60-4.55 (m, 2H, CH₂ {4.58, 4.57, 2 x d, ²*J* = 12.1 Hz, ²*J* = 11.4 Hz}), 4.34-4.21 (m, 3H, H6a-GlcN {4.32, dd, ³*J*_{H6a,H5} = 5.1 Hz, ²*J*_{H6a,H6b} = 10.6 Hz}, CH_{2a}-All {4.30}, H3-GlcN {4.24, t*, ³*J*_{H3,H2} ≈ ³*J*_{H3,H4} ≈ 9.4 Hz}), 4.09-4.00 (m, 3H, H5-Fuc {4.07}, H2-Fuc {4.05}, CH_{2b}-All {4.03}), 3.93 (dd, 1H, ³*J*_{H3,H2} = 10.2 Hz, ²*J*_{H3,H4} = 2.7 Hz, H3-Fuc), 3.75 (t*, 1H, ³*J*_{H6b,H5} ≈ ²*J*_{H6b,H6a} ≈ 10.2 Hz, H6b-GlcN), 3.60 (t*, 1H, ³*J*_{H4,H3} ≈ ³*J*_{H4,H5} ≈ 9.4 Hz, H4-GlcN), 3.56 (d_b, 1H, ³*J*_{H4,H3} = 1.9 Hz, H4-Fuc), 3.45 (m_c, 1H, H5-GlcN), 3.34 (q*, 1H, ³*J*_{H2,H1} ≈ ³*J*_{H2,H3} ≈ ³*J*_{H2,NH} ≈ 9.4 Hz, H2-GlcN), 0.78 (d, 3H, ³*J*_{H6abc,H5} = 6.6 Hz, H6a,b,c-Fuc).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HMQC] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 153.89$ (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).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 920.4$ ($[M+Na]^+$, ber.: 920.2),

936.4 ($[M+K]^+$, ber.: 936.2).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 920.2365$ ($[M+Na]^+$, ber.: 920.2347).

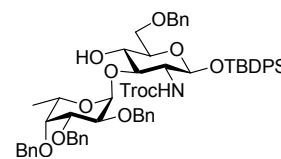
C₄₆H₅₀Cl₃NO₁₁ (899.2)

ber.: C 61.44 H 5.60 N 1.56

gef.: C 61.46 H 5.66 N 1.63

***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-glucopyranosid (46)**

(β -3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)



Eine Mischung aus 11.65 g (10.61 mmol) β -3-(α -Bn₃Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS (**44**) und etwa 4 g Molekularsieb (4 Å) in 400 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Abkühlen des Ansatzes auf -78°C gibt man zunächst 2.57 ml (1.85 g, 15.91 mmol, 1.5 Äquiv.) Triethylsilan und dann tropfenweise innerhalb von 15 min eine vorgekühlte Mischung aus 1.39 ml (2.39 g, 15.93 mmol, 1.5 Äquiv.) Trifluormethansulfonsäure und 5 ml absol. Dichlormethan hinzu. Die Reaktionsmischung wird bei -78°C unter einer Argonatmosphäre 4½ h gerührt, wobei nach 2 h noch einmal 1.5 Äquiv. Trifluormethansulfonsäure in 5 ml absol. Dichlormethan zur Vervollständigung der Umsetzung zugetropft werden. Um die Reaktion abubrechen, gibt man 10 ml Methanol hinzu und neutralisiert den Ansatz bei -78°C durch tropfenweise Zugabe einer Lösung von *N*-Ethyl-diisopropylamin in Dichlormethan unter ständiger Kontrolle des pH-Werts. Das Molekularsieb wird abfiltriert und dreimal mit je 100 ml Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wird nacheinander mit 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 100 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden dreimal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 7:1).

Ausbeute: 8.99 g (8.18 mmol, 77 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -18$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.41$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:1), $R_f = 0.37$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 4:1), $R_f = 0.08$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 7:1).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): [δ/ppm] = 7.74-7.72 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.68-7.66 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.42-7.22 (m, 26H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 4.95 (d, 1H, $^2J = 11.4$ Hz, CH_2), 4.85-4.81 (m, 2H, NH-GlcN {4.84}, CH_2 {4.82, d, $^2J = 11.8$ Hz}), 4.79 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.5$ Hz, H1-Fuc), 4.76-4.70 (m, 3H, CH_2 {4.75, 4.71, 2 x d, $^2J = 12.1$ Hz, $^2J = 11.8$ Hz}), 4.62-4.58 (m, 2H, CH_2 {4.60, 4.60, 2 x d, $^2J = 11.4$ Hz, $^2J = 12.2$ Hz}), 4.54 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 7.8$ Hz, H1-GlcN), 4.49, 4.43 (2 x d, 2H, 2 x $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.26 (d_b , 1H, $^2J = 11.3$ Hz, CH_2), 4.10-4.07 (m, 2H, H5-Fuc {4.08}, 4-OH-GlcN {4.07}), 4.02 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.5$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.2$ Hz, H2-Fuc), 3.92 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.2$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.7$ Hz, H3-Fuc), 3.63-3.58 (m, 4H, H4-Fuc {3.63}, H2-GlcN {3.61}, H6a,b-GlcN {3.58}), 3.49 (dt_b^* , 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} \approx ^3J_{\text{H4,H5}} \approx 9.0$ Hz, $^3J_{\text{H4,OH}} = 1.6$ Hz, H4-GlcN), 3.19 (m_c , 1H, H3-GlcN), 3.09 (m_c , 1H, H5-GlcN), 1.11 (d, 3H, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.2$ Hz, H6a,b,c-Fuc), 1.07 (s, 9H, CH_3 - ^tBu).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HMQC] (CDCl_3): [δ/ppm] = 154.09 (C=O-Troc), 138.67, 138.43, 138.31 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 136.05, 135.94 ($\text{C}_{o,m,p-\text{Ph}}$), 133.15, 132.86 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 129.86, 129.71, 128.49, 128.43, 128.37, 128.24, 127.93, 127.68, 127.57, 127.52, 127.39 ($\text{C}_{o,m,p-\text{Ph}}$), 98.88 (C1-Fuc), 95.75 (C1-GlcN), 95.40 (CCl_3), 84.83 (C3-GlcN), 78.90 (C3-Fuc), 77.57 (C4-Fuc), 76.34 (C2-Fuc), 74.91 (CH_2), 74.85 (C5-GlcN), 74.46, 73.78, 73.52, 73.35 (CH_2), 69.89 (C4-GlcN), 69.14 (C6-GlcN), 68.07 (C5-Fuc), 58.00 (C2-GlcN), 26.78 (CH_3 - ^tBu), 16.62 (C6-Fuc).

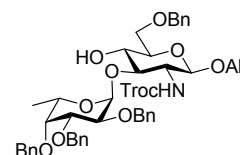
ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1120.4 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1120.3),
1136.3 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 1136.3).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 1120.3344 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1120.3368).

$\text{C}_{59}\text{H}_{66}\text{Cl}_3\text{NO}_{11}\text{Si}$ (1099.6)	ber.: C 64.44	H 6.05	N 1.27
	gef.: C 64.61	H 5.99	N 1.35

Allyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (47)

(β -3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll)



Eine Lösung von 9.51 g (10.58 mmol) β -3-(α -Bn₃Fuc)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll (**45**) in 400 ml absol. Dichlormethan wird mit etwa 4 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt den Ansatz auf -78°C ab und versetzt ihn mit 2.56 ml (1.84 g, 15.85 mmol, 1.5 Äquiv.) Triethylsilan. Anschließend wird eine vorgekühlte Mischung aus 1.38 ml (2.37 g, 15.82 mmol, 1.5 Äquiv.) Trifluormethansulfonsäure und 5 ml absol. Dichlormethan innerhalb von 15 min zugetropft. Man rührt die Reaktionsmischung bei -78°C unter einer Argon-

atmosphäre 4 h, wobei man nach 2 h noch einmal 1.5 Äquiv. Trifluormethansulfonsäure in 5 ml absol. Dichlormethan zur Vervollständigung der Umsetzung tropfenweise zugibt. Zum Abbrechen der Reaktion werden 10 ml Methanol hinzugefügt, und die Mischung wird bei -78°C durch tropfenweise Zugabe einer Lösung von *N*-Ethyl-diisopropylamin in Dichlormethan unter ständiger Kontrolle des pH-Werts neutralisiert. Das Molekularsieb wird abfiltriert und dreimal mit je 100 ml Dichlormethan gewaschen. Man wäscht das Filtrat nacheinander mit 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 100 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung, extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen dreimal mit je 50 ml Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Dichlormethan wird i. Vak. entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:1) gereinigt.

Ausbeute: 7.77 g (8.62 mmol, 82 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{25} = -28$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.58$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:2), $R_f = 0.45$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1), $R_f = 0.20$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:1).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.39\text{--}7.24$ (m, 20H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.85 (m_{c} , 1H, CH-All), 5.31 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H2}} = 7.0$ Hz, NH-GlcN), 5.25 (dd_b, 1H, $^4J = 1.6$ Hz, $^3J_{\text{trans}} = 17.4$ Hz, $=\text{CH}_2\text{-All}^{\text{trans}}$), 5.14 (dd_b, 1H, $^4J = 1.2$ Hz, $^3J_{\text{cis}} = 10.4$ Hz, $=\text{CH}_2\text{-All}^{\text{cis}}$), 4.96-4.92 (m, 2H, CH_2 {4.94, d, $^2J = 11.4$ Hz}, H1-Fuc {4.93}), 4.80 (d, 2H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2), 4.74-4.71 (m, 2H, H1-GlcN {4.73}, CH_2 {4.73, d, $^2J = 11.4$ Hz}), 4.68 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.63-4.56 (m, 5H, CH_2 {4.62, 4.61, 4.59, 4.58, 4 x d, $^2J = 12.5$ Hz, $^2J = 11.4$ Hz, 2 x $^2J = 12.1$ Hz}), 4.34 (dd_b, 1H, $^3J = 5.3$ Hz, $^2J = 13.1$ Hz, $\text{CH}_{2\text{a}}\text{-All}$), 4.12-4.04 (m, 3H, H5-Fuc {4.10}, H2-Fuc {4.06}, $\text{CH}_{2\text{b}}\text{-All}$ {4.06}), 3.93 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.2$ Hz, $^2J_{\text{H3,H4}} = 2.8$ Hz, H3-Fuc), 3.81 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 2.0$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 10.4$ Hz, H6a-GlcN), 3.76-3.66 (m, 3H, H3-GlcN {3.73, dd, $^3J_{\text{H3,H2}} = 7.8$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 10.6$ Hz}, H6b-GlcN {3.70}, H4-Fuc {3.66}), 3.50-3.43 (m, 2H, H4-GlcN {3.47}, H5-GlcN {3.46}), 3.31 (m_{c} , 1H, H2-GlcN), 1.13 (d, 3H, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.3$ Hz, H6a,b,c-Fuc).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HMQC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 153.97$ (C=O-Troc), 138.47, 138.24, 138.13 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 133.77 (CH-All), 128.51, 128.41, 128.34, 128.31, 128.23, 128.06, 127.90, 127.68, 127.59, 127.53, 127.41 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 117.46 ($=\text{CH}_2\text{-All}$), 99.46 (C1-GlcN), 98.05 (C1-Fuc), 95.53 (CCl_3), 83.07 (C3-GlcN), 79.05 (C3-Fuc), 77.26 (C4-Fuc), 75.76 (C2-Fuc), 74.89 (CH_2), 74.80 (C5-GlcN), 74.21, 73.82, 73.47, 72.97 (CH_2), 70.07 ($\text{CH}_2\text{-All}$), 69.80 (C4-GlcN), 69.48 (C6-GlcN), 67.95 (C5-Fuc), 56.45 (C2-GlcN), 16.67 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 922.5$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 922.2),
938.5 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 938.2).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 922.2508$ ($[M+Na]^+$, ber.: 922.2504).

$C_{46}H_{52}Cl_3NO_{11}$ (901.3)

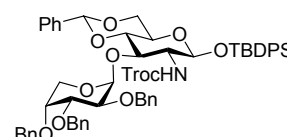
ber.: C 61.30 H 5.82 N 1.55

gef.: C 61.28 H 5.75 N 1.62

5.3.2 Die Synthesen der arabinosylierten Bausteine

***tert*-Butyldiphenylsilyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- β -D-glucopyranosid (48)**

(β -3-(β -Bn₃Ara)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS)



Eine Lösung von 7.57 g (11.11 mmol) β -4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS (**7**) und 6.20 g (13.34 mmol, 1.2 Äquiv.) α -Bn₃Ara-SEt (**24a**) in einer Mischung aus 225 ml absol. Dichlormethan und 225 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid wird mit etwa 7 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 1½ h bei Raumtemp. gerührt. Im Argongegenstrom werden 4.73 g (14.67 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **24a**) trockenes Tetra-*n*-butylammoniumbromid und 3.28 g (14.69 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **24a**) trockenes Kupfer(II)-bromid zugegeben, und die Reaktionsmischung wird 25 h bei Raumtemp. unter Lichtausschluss und einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend filtriert man sie über eine dünne Schicht Hyflo[®], wäscht dreimal mit je 100 ml Dichlormethan nach und befreit das Filtrat i. Vak. von Dichlormethan und i. Hochvak. von *N,N*-Dimethylformamid. Der Rückstand wird zweimal mit je 100 ml Toluol sowie einmal mit 100 ml Dichlormethan kodestilliert und in 300 ml Dichlormethan aufgenommen. Man wäscht die Lösung dreimal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 100 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung und extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen viermal mit je 100 ml Dichlormethan. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Das resultierende Rohprodukt wird durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 9:1) gereinigt.

Ausbeute: 6.11 g (5.64 mmol, 51 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{32} = -74$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.37$ (^cHex/EtOAc, 4:1), $R_f = 0.13$ (^cHex/EtOAc, 9:1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.67$ -7.66 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.62-7.60 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.47-7.27 (m, 26H, H_{Ar}-Ph), 5.47 (s, 1H, CH-Bzn), 5.22-5.20 (m, 2H, NH-GlcN {5.21}, H1-Ara {5.21, d, ³J_{H1,H2} = 3.7 Hz}), 4.91 (d, 1H, ²J = 11.2 Hz, CH₂), 4.79-4.59 (m, 7H, CH₂, H1-GlcN {4.76}), 4.40 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂), 4.08-3.99 (m, 3H, H2-Ara {4.06, dd, ³J_{H2,H1} = 3.5 Hz, ³J_{H2,H3} = 10.0 Hz}, H3-GlcN

{4.02}, H6a-GlcN {4.01}), 3.91-3.82 (m, 2H, H3-Ara {3.90, dd, $^3J_{H3,H2} = 9.8$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.1$ Hz}, H5a-Ara {3.88}), 3.70 (sb, 1H, H4-Ara), 3.66-3.47 (m, 4H, H6b-GlcN {3.60}, H4-GlcN {3.58}, H5b-Ara {3.55}, H2-GlcN {3.49}), 3.06 (mc, 1H, H5-GlcN), 1.06 (s, 9H, CH₃-^tBu).

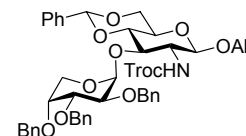
100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC] (CDCl₃): [δ/ppm] = 153.86 (C=O-Troc), 138.67, 138.53, 138.25, 137.19 (C_{ipso}-Ph), 135.85, 135.79 (C_{o,m,p}-Ph), 133.16, 132.72 (C_{ipso}-Ph), 129.89, 129.76, 128.84, 128.54, 128.33, 128.30, 128.16, 127.88, 127.77, 127.58, 127.52, 127.49, 127.35, 125.89 (C_{o,m,p}-Ph), 100.96 (CH-Bzn), 98.32 (C1-Ara), 95.98 (C1-GlcN), 95.23 (CCl₃), 80.50 (C4-GlcN), 77.61 (C3-Ara), 77.21 (C2-Ara), 75.12 (C3-GlcN), 74.58, 74.02 (CH₂), 73.76 (C4-Ara), 72.43, 71.63 (CH₂), 68.44 (C6-GlcN), 65.89 (C5-GlcN), 60.74 (C5-Ara), 60.69 (C2-GlcN), 26.77 (CH₃-^tBu).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 1104.6 ([M+Na]⁺, ber.: 1104.3),
1120.6 ([M+K]⁺, ber.: 1120.3).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 1104.3081 ([M+Na]⁺, ber.: 1104.3055).

C ₅₈ H ₆₂ Cl ₃ NO ₁₁ Si (1083.6)	ber.: C 64.29	H 5.77	N 1.29
	gef.: C 64.31	H 5.74	N 1.36

Allyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (49)
(β -3-(β -Bn₃Ara)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll)



Methode A:

In einer Mischung aus 75 ml absol. Dichlormethan und 75 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid werden 5.00 g (10.36 mmol) β -4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll (**14**) und 5.76 g (12.40 mmol, 1.2 Äquiv.) α -Bn₃Ara-SEt (**24a**) zusammen mit etwa 2 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 90 min bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt die Reaktionsmischung auf 0 °C ab, gibt im Argongegenstrom 4.37 g (13.56 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **24a**) trockenes Tetra-*n*-butylammoniumbromid und 3.03 g (13.57 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **24a**) trockenes Kupfer(II)-bromid zu und lässt den Ansatz anschließend langsam auf 10 °C erwärmen. Dann wird die Mischung zunächst ungefähr 40 h bei etwa 10 °C bis 15 °C unter Lichtausschluss und einer Argonatmosphäre gerührt, bevor sie auf Raumtemp. erwärmt und ungefähr 40 h bei dieser Temperatur gerührt wird. Man filtriert den Ansatz über eine dünne Schicht Hyflo[®], wäscht dreimal mit je 100 ml Dichlormethan nach und befreit das Filtrat i. Vak. von Dichlormethan und i. Hochvak. von *N,N*-Dimethylformamid. Nach dreimaliger Kodestillation mit je 50 ml Toluol wird der Rückstand in 300 ml Dichlormethan aufgenommen. Die Lösung wird zweimal mit je

100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 100 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert. Man trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das resultierende Rohprodukt wird zunächst über eine etwa 5 cm dicke Kieselgelschicht filtriert und dann durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 5:1) gereinigt, wobei das gewünschte Disaccharid von einem nicht eindeutig zu identifizierenden Nebenprodukt abgetrennt wird.

Ausbeute: 2.63 g (2.97 mmol, 29 %).

Methode B:

Man kühlt eine Lösung von 2.02 g (4.35 mmol, 1.2 Äquiv. bezogen auf **14**) $\alpha\text{-Bn}_3\text{Ara-SEt}$ (**24a**) in 10 ml absol. Dichlormethan auf 0 °C ab und tropft innerhalb von 15 min unter Lichtausschluss und einer Argonatmosphäre eine Lösung von 0.27 ml (0.84 g, 5.25 mmol, 1.2 Äquiv. bezogen auf **24a**) Brom in 10 ml absol. Dichlormethan zu. Die Mischung wird bei 0 °C unter Lichtausschluss 2 h gerührt und anschließend zum Abfangen des nicht umgesetzten Broms mit 1 ml Cyclohexen versetzt und weitere 40 min bei 0 °C gerührt. In einem zweiten Kolben werden 1.75 g (3.63 mmol) $\beta\text{-4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll}$ (**14**) zusammen mit etwa 2 g Molekularsieb (4 Å) in einer Mischung aus 55 ml absol. Dichlormethan und 75 ml absol. *N,N*-Dimethylformamid 30 min bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre gerührt und anschließend mit 1.55 g (4.81 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **24a**) trockenem Tetra-*n*-butylammoniumbromid im Argongegenstrom versetzt. Man rührt die Mischung weitere 90 min, kühlt sie dann auf 10 °C ab und tropft die zuvor hergestellte Lösung des Arabinosylbromids **50** in Dichlormethan innerhalb von 30 min zu. Der Ansatz wird unter einer Argonatmosphäre 66 h bei einer Temperatur von 10 °C bis 15 °C sowie 22 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend über eine dünne Schicht Hyflo[®] filtriert. Man wäscht viermal mit je 50 ml Dichlormethan nach und befreit das Filtrat i. Vak. von Dichlormethan und i. Hochvak. von *N,N*-Dimethylformamid. Der Rückstand wird zweimal mit je 50 ml Toluol sowie einmal mit 50 ml Dichlormethan kodestilliert und in 200 ml Dichlormethan aufgenommen. Man wäscht die Lösung nacheinander mit 50 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 50 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung, extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen sechsmal mit je 50 ml Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. reinigt man das Rohprodukt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 5:1).

Ausbeute: 1.89 g (2.14 mmol, 59 %).

farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{32} = -78$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.23$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1), $R_f = 0.16$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 5:1).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.47\text{--}7.42$ (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.39-7.20 (m, 18H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.83 (m_c , 1H, CH-All), 5.54 (s, 1H, CH-Bzn), 5.49 (s_b , 1H, NH-GlcN), 5.29-5.23 (m, 2H, $=\text{CH}_2\text{-All}^{\text{trans}}$ {5.26, ddd, $^4J = 1.6$ Hz, $^2J = 3.1$ Hz, $^3J_{\text{trans}} = 17.2$ Hz}), H1-Ara {5.25, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.5$ Hz}), 5.17 (ddd, 1H, $^4J = 1.3$ Hz, $^2J = 2.8$ Hz, $^3J_{\text{cis}} = 10.5$ Hz, $=\text{CH}_2\text{-All}^{\text{cis}}$), 4.93 (d, 1H, $^2J = 11.2$ Hz, CH_2), 4.85 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.74-4.61 (m, 6H, H1-GlcN {4.71}, CH_2), 4.55 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.36-4.28 (m, 2H, H6a-GlcN {4.34, dd, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 5.0$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 10.4$ Hz}, $\text{CH}_{2a}\text{-All}$ {4.31}), 4.24 (t^* , 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} \approx ^3J_{\text{H3,H4}} \approx 9.4$ Hz, H3-GlcN), 4.09 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.5$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.0$ Hz, H2-Ara), 4.04 (tdd, 1H, $^4J = 1.4$ Hz, $^3J = 6.1$ Hz, $^2J = 12.9$ Hz, $\text{CH}_{2b}\text{-All}$), 3.93-3.89 (m, 2H, H3-Ara {3.91, dd, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.0$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 3.3$ Hz}, H5a-Ara {3.90}), 3.78 (t^* , 1H, $^3J_{\text{H6b,H5}} \approx ^2J_{\text{H6b,H6a}} \approx 10.4$ Hz, H6b-GlcN), 3.71 (s_b , 1H, H4-Ara), 3.62 (t^* , 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} \approx ^3J_{\text{H4,H5}} \approx 9.4$ Hz, H4-GlcN), 3.57 (dd, 1H, $^3J_{\text{H5b,H4}} = 2.0$ Hz, $^2J_{\text{H5b,H5a}} = 12.8$ Hz, H5b-Ara), 3.46-3.34 (m, 2H, H5-GlcN {3.43}, H2-GlcN {3.38}).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 154.02$ (C=O-Troc), 138.57, 138.32, 138.19, 137.12 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 133.47 (CH-All), 128.93, 128.58, 128.34, 128.31, 128.21, 128.17, 127.88, 127.61, 127.52, 127.47, 125.94 ($\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 117.71 ($=\text{CH}_2\text{-All}$), 101.07 (CH-Bzn), 100.26 (C1-GlcN), 98.53 (C1-Ara), 95.49 (CCl_3), 80.50 (C4-GlcN), 77.71 (C3-Ara), 77.25 (C2-Ara), 74.85 (C3-GlcN), 74.30 (CH_2), 73.62 (C4-Ara), 72.35, 71.61 (CH_2), 70.51 ($\text{CH}_2\text{-All}$), 68.66 (C6-GlcN), 66.25 (C5-GlcN), 60.86 (C5-Ara), 58.63 (C2-GlcN).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 906.0$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 906.2).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 906.2213$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 906.2191).

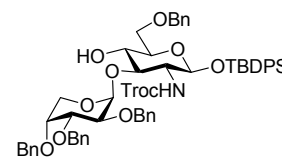
$\text{C}_{45}\text{H}_{48}\text{Cl}_3\text{NO}_{11}$ (885.2)

ber.: C 61.06 H 5.47 N 1.58

gef.: C 61.06 H 5.49 N 1.57

***tert*-Butyldiphenylsilyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (51)**

(β -3-(β -Bn₃Ara)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)



Eine Mischung aus 5.76 g (5.32 mmol) β -3-(β -Bn₃Ara)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OTBDPS (**48**) und etwa 6 g Molekularsieb (4 Å) in 200 ml absol. Dichlormethan wird unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Abkühlen des Ansatzes auf -78 °C

gibt man zunächst 1.34 ml (0.96 g, 8.30 mmol, 1.6 Äquiv.) Triethylsilan und dann tropfenweise innerhalb von 15 min eine vorgekühlte Mischung aus 0.72 ml (1.24 g, 8.25 mmol, 1.6 Äquiv.) Trifluormethansulfonsäure und 10 ml absol. Dichlormethan hinzu. Die Reaktionsmischung wird bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ unter einer Argonatmosphäre 4 h gerührt, wobei nach $2\frac{1}{2}$ h noch einmal 0.40 ml (0.69 g, 4.58 mmol, 0.9 Äquiv.) Trifluormethansulfonsäure in 5 ml absol. Dichlormethan zur Vervollständigung der Umsetzung zugetropft werden. Um die Reaktion abubrechen, gibt man 10 ml Methanol hinzu und neutralisiert den Ansatz bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durch tropfenweise Zugabe einer Lösung von *N*-Ethyl-diisopropylamin in Dichlormethan unter ständiger Kontrolle des pH-Werts. Das Molekularsieb wird abfiltriert und dreimal mit je 50 ml Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wird nacheinander mit 50 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 50 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden zweimal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 5:1), wobei neben dem gewünschten Produkt 0.80 g (0.74 mmol, 14 %) des eingesetzten Disaccharids **48** isoliert werden.

Ausbeute: 4.28 g (3.94 mmol, 74 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{27} = -21$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.48$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1), $R_f = 0.22$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 5:1).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.75\text{--}7.73$ (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.69-7.67 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.45-7.24 (m, 26H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 4.81-4.79 (m, 2H, NH-GlcN {4.80}, H1-Ara {4.80}), 4.74 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.69-4.59 (m, 6H, CH_2 {4.68, 4.66, 4.65, 4.62, 4.61, 5 x d, $^2J = 12.3$ Hz, $^2J = 11.9$ Hz, $^2J = 12.5$ Hz, $^2J = 12.3$ Hz, $^2J = 12.1$ Hz}), 4.55 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.0$ Hz, H1-GlcN), 4.51 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.46 (d, 1H, $^2J = 12.3$ Hz, CH_2), 4.40 (d, 1H, $^2J = 11.7$ Hz, CH_2), 3.86-3.82 (m, 4H, H2-Ara {3.85}, H3-Ara {3.85}, H5a-Ara {3.85}, H4-Ara {3.82}), 3.74 (m_c, 1H, H5b-Ara), 3.65-3.53 (m, 4H, H6a-GlcN {3.61, dd, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 2.7$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 11.0$ Hz}, H2-GlcN {3.61}, H6b-GlcN {3.60, dd, $^3J_{\text{H6b,H5}} = 4.9$ Hz, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = 11.0$ Hz}, H4-GlcN {3.55, dd, $^3J_{\text{H4,H3}} = 9.6$ Hz, $^3J_{\text{H4,H5}} = 8.6$ Hz}), 3.30 (t*, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} \approx ^3J_{\text{H3,H4}} \approx 9.1$ Hz, H3-GlcN), 3.13 (m_c, 1H, H5-GlcN), 1.10 (s, 9H, CH_3 - ^tBu).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 154.00$ (C=O-Troc), 138.39, 138.34, 138.04 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 136.03, 135.90 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 133.06, 132.82 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 129.88, 129.74, 128.44, 128.39, 128.38, 128.25, 128.20, 127.86, 127.78, 127.74, 127.65, 127.59, 127.55, 127.40 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 99.84 (C1-Ara), 95.71 (C1-GlcN), 95.37 (CCl_3), 85.18 (C3-GlcN), 76.11, 76.05 (C2-Ara, C3-Ara), 74.91 (C5-GlcN), 74.45, 74.11, 73.56 (CH_2), 73.30 (C4-Ara), 72.87, 71.94 (CH_2), 69.78 (C4-GlcN), 69.26 (C6-GlcN), 62.06 (C5-Ara), 58.26 (C2-GlcN), 26.77 (CH_3 - ^tBu).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 1106.6$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1106.3).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1106.3206$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1106.3212).

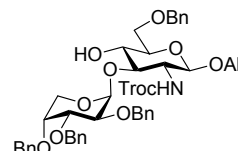
$C_{58}H_{64}Cl_3NO_{11}Si$ (1085.6)

ber.: C 64.17 H 5.94 N 1.29

gef.: C 64.02 H 5.91 N 1.25

Allyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (52)

(β -3-(β -Bn₃Ara)-6-Bn-GlcNTroc-OAll)



Eine Lösung von 4.10 g (4.63 mmol) β -3-(β -Bn₃Ara)-4,6-Bzn-GlcNTroc-OAll (**49**) in 200 ml absol. Dichlormethan wird mit etwa 4 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt den Ansatz auf -78°C ab und versetzt ihn mit 0.97 ml (0.70 g, 6.01 mmol, 1.3 Äquiv.) Triethylsilan. Anschließend wird eine vorgekühlte Mischung aus 0.53 ml (0.91 g, 6.07 mmol, 1.3 Äquiv.) Trifluormethansulfonsäure und 5 ml absol. Dichlormethan innerhalb von 15 min zugetropft. Man rührt die Reaktionsmischung bei -78°C unter einer Argonatmosphäre $4\frac{1}{2}$ h, wobei man nach 2 h noch einmal 1.3 Äquiv. Trifluormethansulfonsäure in 5 ml absol. Dichlormethan zur Vervollständigung der Umsetzung tropfenweise zugibt. Zum Abbrechen der Reaktion werden 10 ml Methanol hinzugefügt, und der Ansatz wird bei -78°C durch tropfenweise Zugabe einer Lösung von *N*-Ethyl-diisopropylamin in Dichlormethan unter ständiger Kontrolle des pH-Werts neutralisiert. Das Molekularsieb wird abfiltriert und dreimal mit je 50 ml Dichlormethan gewaschen. Man wäscht das Filtrat nacheinander mit 50 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 50 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung, extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen dreimal mit je 50 ml Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Dichlormethan wird i. Vak. entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^\circ\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 4:1) gereinigt, wobei neben dem gewünschten Produkt 0.39 g (0.44 mmol, 10 %) des eingesetzten Disaccharids **49** erhalten werden.

Ausbeute: 3.06 g (3.45 mmol, 74 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -36$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.41$ ($^\circ\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1), $R_f = 0.18$ ($^\circ\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 4:1).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.38\text{--}7.27$ (m, 20H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.88 (m_c, 1H, CH-All), 5.27 (ddd, 1H, $^4J = 1.6$ Hz, $^2J = 3.2$ Hz, $^3J_{\text{trans}} = 17.2$ Hz, $=\text{CH}_2\text{-All}^{\text{trans}}$), 5.19-5.14 (m, 2H, $=\text{CH}_2\text{-All}^{\text{cis}}$ {5.17, ddd, $^4J = 1.4$ Hz, $^2J = 2.8$ Hz, $^3J_{\text{cis}} = 10.4$ Hz}, NH-GlcN {5.14}), 4.92 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 2.1$ Hz, H1-Ara), 4.78 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH₂), 4.70-4.60 (m, 10H, H1-GlcN {4.69, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.4$ Hz}, CH₂), 4.36 (tdd, 1H, $^4J = 1.5$ Hz,

$^3J = 5.0$ Hz, $^2J = 13.0$ Hz, CH_{2a}-All), 4.08 (tdd, 1H, $^4J = 1.4$ Hz, $^3J = 6.2$ Hz, $^2J = 13.0$ Hz, CH_{2b}-All), 3.92-3.75 (m, 7H, H₂-Ara {3.90}, H₃-Ara {3.87}, H_{5a}-Ara {3.87}, H₄-Ara {3.85}, H_{6a}-GlcN {3.84}, H_{5b}-Ara {3.78}, H₃-GlcN {3.77}, t*, $^3J_{H3,H2} \approx ^3J_{H3,H4} \approx 9.6$ Hz}), 3.71 (dd, 1H, $^3J_{H6b,H5} = 5.3$ Hz, $^2J_{H6b,H6a} = 10.8$ Hz, H_{6b}-GlcN), 3.52 (t*, 1H, $^3J_{H4,H3} \approx ^3J_{H4,H5} \approx 9.6$ Hz, H₄-GlcN), 3.47 (m_c, 1H, H₅-GlcN), 3.30 (m_c, 1H, H₂-GlcN).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC] (CDCl₃): [δ /ppm] = 153.94 (C=O-Troc), 138.26, 138.20, 138.16, 138.00 (C_{ipso}-Ph), 133.77 (CH-All), 128.45, 128.40, 128.37, 128.32, 128.15, 127.89, 127.78, 127.76, 127.67, 127.63, 127.58, 127.55 (C_{o,m,p}-Ph), 117.45 (=CH₂-All), 99.40 (C1-Ara), 99.36 (C1-GlcN), 95.52 (CCl₃), 83.67 (C3-GlcN), 76.10 (C3-Ara), 75.81 (C2-Ara), 74.82 (C5-GlcN), 74.21, 74.04, 73.53 (CH₂), 73.11 (C4-Ara), 72.65, 71.90 (CH₂), 70.04 (C4-GlcN), 70.01 (CH₂-All), 69.61 (C6-GlcN), 61.93 (C5-Ara), 56.74 (C2-GlcN).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 908.0 ([M+Na]⁺, ber.: 908.2).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 908.2363 ([M+Na]⁺, ber.: 908.2347).

C₄₅H₅₀Cl₃NO₁₁ (887.2)

ber.: C 60.92 H 5.68 N 1.58

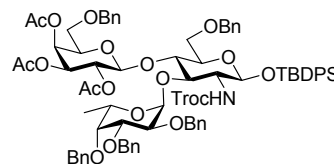
gef.: C 60.84 H 5.64 N 1.52

5.4 Die Synthesen der Trisaccharide

5.4.1 Die Synthesen der fucosylierten Bausteine

***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 (53)**
(β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)

Eine Lösung von 4.21 g (3.83 mmol) β -3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**46**) und 2.50 g (4.62 mmol, 1.2 Äquiv.) α -6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**31**) in 90 ml absol. Dichlor-



methan wird mit etwa 2 g Molekularsieb (4 Å) 90 min bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre gerührt. Man kühlt das Gemisch auf -30 °C ab und tropft eine vorgekühlte Mischung aus 0.09 ml (0.10 g, 0.46 mmol, 0.1 Äquiv. bezogen auf **31**) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat und 1 ml absol. Dichlormethan langsam zu. Der Ansatz wird unter einer Argonatmosphäre bei -30 °C 1 h gerührt, dann lässt man ihn langsam auf -20 °C erwärmen und rührt ihn bei dieser Temperatur erneut 1 h.

Anschließend wird die Reaktionsmischung bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durch tropfenweise Zugabe einer Lösung von *N*-Ethyl-diisopropylamin in Dichlormethan unter ständiger Kontrolle des pH-Werts neutralisiert. Das Molekularsieb wird abfiltriert und zweimal mit je 50 ml Dichlormethan gewaschen. Man wäscht das Filtrat nacheinander mit 50 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 50 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung, extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen dreimal mit je 25 ml Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 5:1) gereinigt, wobei neben dem gewünschten Produkt 1.25 g (1.14 mmol, 30 %) des eingesetzten Galactosylakzeptors **46** erhalten werden.

Ausbeute: 3.58 g (2.42 mmol, 63 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -34$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.27$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:1), $R_f = 0.14$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 5:1), $R_f = 0.75$ (Tol/EtOH, 6:1).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.68\text{--}7.66$ (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), $7.59\text{--}7.57$ (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), $7.41\text{--}7.21$ (m, 27H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), $7.18\text{--}7.12$ (m, 4H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.37 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 3.3$ Hz, H4-Gal), $5.18\text{--}5.15$ (m, 2H, NH-GlcN {5.17}, H1-Fuc {5.16}), $4.95\text{--}4.91$ (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$ {4.94, d, $^2J = 11.0$ Hz}, H2-Gal {4.93}), 4.88 (d, 1H, $^3J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 7.8$ Hz, H1-GlcN), $4.83\text{--}4.78$ (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$ {4.81, 4.80, 2 x d, $^2J = 11.5$ Hz, $^2J = 10.4$ Hz}, H3-Gal {4.80}), $4.71\text{--}4.62$ (m, 4H, CH_2 {4.69, 4.67, 4.63, 3 x d, $^2J = 11.4$ Hz, $^2J = 11.6$ Hz, $^2J = 11.5$ Hz}, H1-Gal {4.64}), 4.58 (q, 1H, $^3J_{\text{H}_5,\text{H}_{6\text{abc}}} = 6.4$ Hz, H5-Fuc), $4.56\text{--}4.48$ (m, 3H, $\text{CH}_{2\text{a-Troc}}$ {4.54, d, $^2J = 11.9$ Hz}, $\text{CH}_2\text{-Bn}$ {4.51, d, $^2J = 11.5$ Hz}, $\text{CH}_{2\text{b-Troc}}$ {4.50, d, $^2J = 11.9$ Hz}), 4.41 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.23 (d, 2H, $^2J = 11.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), $4.09\text{--}4.01$ (m, 2H, H2-Fuc {4.08, dd, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 3.7$ Hz, $^3J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 10.2$ Hz}, H3-GlcN {4.03, t*, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} \approx ^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} \approx 9.4$ Hz}), $3.97\text{--}3.89$ (m, 2H, H4-GlcN {3.95, t*, $^3J_{\text{H}_4,\text{H}_3} \approx ^3J_{\text{H}_4,\text{H}_5} \approx 9.2$ Hz}, H3-Fuc {3.91, dd, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.3$ Hz, $^3J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 2.7$ Hz}), $3.62\text{--}3.56$ (m, 3H, H6a-GlcN {3.59}, H5-Gal {3.57}, H4-Fuc {3.56}), 3.48 (m_c, 1H, H6a-Gal), $3.33\text{--}3.24$ (m, 3H, H6b-Gal {3.31}, H2-GlcN {3.30}, H6b-GlcN {3.25}), 2.92 (m_c, 1H, H5-GlcN), 1.92 , 1.87 , 1.75 (3 x s, 9H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1.14 (d, 3H, $^3J_{\text{H}_{6\text{abc}},\text{H}_5} = 6.5$ Hz, H6a,b,c-Fuc), 1.02 (s, 9H, $\text{CH}_3\text{-}^t\text{Bu}$).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 169.99$, 169.73 , 168.77 (C=O-Ac), 153.37 (C=O-Troc), 138.85 , 138.63 , 138.53 , 137.90 , 137.37 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 135.84 , 135.74 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 133.45 , 132.78 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 129.76 , 129.58 , 128.45 , 128.40 , 128.35 , 128.19 , 128.05 , 127.81 , 127.77 , 127.57 , 127.49 , 127.47 , 127.27 , 127.01 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 99.51 (C1-Gal), 97.28 (C1-Fuc), 95.09 (CCl_3), 94.66 (C1-GlcN), 79.97 (C3-Fuc), 77.51 (C4-Fuc), 77.17 (C2-Fuc), 74.75 (C5-GlcN), 74.67 ($\text{CH}_2\text{-Troc}$), 74.23 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 74.09 (C4-GlcN), 73.94 (C3-GlcN), 73.59 , 73.56 , 73.25 , 73.12 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 71.39 (C5-Gal), 71.12

(C3-Gal), 69.00 (C2-Gal), 67.32 (C4-Gal), 67.13 (C6-GlcN), 66.52 (C6-Gal), 66.17 (C5-Fuc), 61.44 (C2-GlcN), 26.75 (CH₃-^tBu), 20.61, 20.56 (CH₃-Ac), 16.67 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1498.5$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1498.5).

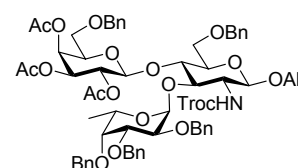
HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1498.4718$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1498.4683).

C₇₈H₈₈Cl₃NO₁₉Si (1478.0)

ber.: C 63.39 H 6.00 N 0.95

gef.: C 63.32 H 5.87 N 1.08

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 (54)
(β-4-(β-6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α-Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll)



Eine Mischung aus 4.75 g (5.27 mmol) β-3-(α-Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**47**), 5.15 g (9.52 mmol, 1.8 Äquiv.) α-6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**31**) und etwa 3 g Molekularsieb (4 Å) in 250 ml absol. Dichlormethan wird 1 h bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre gerührt. Der Ansatz wird auf –35 °C abgekühlt und innerhalb von 10 min tropfenweise mit einer vorgekühlten Mischung aus 0.09 ml (0.10 g, 0.47 mmol, 0.05 Äquiv. bezogen auf **31**) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat und 5 ml absol. Dichlormethan versetzt. Bei –30 °C rührt man die Reaktionsmischung unter einer Argonatmosphäre 2 h, dann neutralisiert man sie bei dieser Temperatur durch tropfenweise Zugabe einer Lösung von *N*-Ethyl-diisopropylamin in Dichlormethan unter ständiger Kontrolle des pH-Werts. Man filtriert das Molekularsieb ab und wäscht es sechsmal mit je 75 ml Dichlormethan. Das Filtrat wird zweimal mit je 75 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 75 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 75 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. reinigt man den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 3:1).

Ausbeute: 6.21 g (4.85 mmol, 92 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{22} = -35$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.49$ (°Hex/EtOAc, 3:2), $R_f = 0.16$ (°Hex/EtOAc, 3:1), $R_f = 0.65$ (Tol/EtOH, 5:1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.38-7.20$ (m, 23H, H_{Ar}-Ph), 7.16-7.13 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 5.82 (m_c, 1H, CH-All), 5.40 (d_b, 1H, ³J_{NH,H2} = 6.8 Hz, NH-GlcN), 5.36 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 2.9 Hz, H4-Gal), 5.22 (ddd, 1H, ⁴J = 1.6 Hz, ²J = 3.3 Hz, ³J_{trans} = 17.3 Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.17-5.10 (m, 2H, H1-Fuc {5.15}, =CH₂-All^{cis} {5.13}),

5.00-4.92 (m, 2H, H2-Gal {4.97, dd, $^3J_{H2,H1} = 8.2$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.3$ Hz}, CH₂-Bn {4.94, d, $^2J = 11.9$ Hz}), 4.83 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 7.4$ Hz, H1-GlcN), 4.79-4.75 (m, 3H, CH₂-Bn {4.78, d, $^2J = 11.3$ Hz}, H3-Gal {4.77}, CH₂-Bn {4.77, d, $^2J = 10.6$ Hz}), 4.73-4.65 (m, 4H, CH₂-Bn {4.72, 4.69, 2 x d, $^2J = 10.4$ Hz, $^2J = 12.5$ Hz}, CH_{2a}-Troc {4.67, d, $^2J = 11.7$ Hz}), 4.63-4.59 (m, 2H, CH₂-Bn {4.62, d, $^2J = 11.3$ Hz}, CH_{2b}-Troc {4.61, d, $^2J = 12.1$ Hz}), 4.58-4.53 (m, 2H, H1-Gal {4.57, d, $^3J_{H1,H2} = 8.2$ Hz}, H5-Fuc {4.53}), 4.41 (d, 2H, $^2J = 12.1$ Hz, CH₂-Bn), 4.30-4.24 (m, 2H, CH_{2a}-All {4.27, tdd, $^4J = 1.6$ Hz, $^3J = 5.3$ Hz, $^2J = 12.9$ Hz}, CH₂-Bn {4.25, d, $^2J = 12.1$ Hz}), 4.15 (t*, 1H, $^3J_{H3,H2} \approx ^3J_{H3,H4} \approx 8.8$ Hz, H3-GlcN), 4.07 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 3.7$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.2$ Hz, H2-Fuc), 4.03-3.92 (m, 2H, CH_{2b}-All {4.00, tdd, $^4J = 1.4$ Hz, $^3J = 6.2$ Hz, $^2J = 12.8$ Hz}, H4-GlcN {3.95, t*, $^3J_{H4,H3} \approx ^3J_{H4,H5} \approx 8.8$ Hz}), 3.88 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.2$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 2.8$ Hz, H3-Fuc), 3.78 (dd, 1H, $^3J_{H6a,H5} = 2.9$ Hz, $^2J_{H6a,H6b} = 10.9$ Hz, H6a-GlcN), 3.72 (dd, 1H, $^3J_{H6b,H5} = 2.5$ Hz, $^2J_{H6b,H6a} = 10.9$ Hz, H6b-GlcN), 3.57-3.43 (m, 3H, H4-Fuc {3.56}, H6a-Gal {3.51}, H5-Gal {3.47}), 3.36 (m_c, 1H, H5-GlcN), 3.31 (t*, 1H, $^3J_{H6b,H5} \approx ^2J_{H6b,H6a} \approx 8.1$ Hz, H6b-Gal), 3.23 (m_c, 1H, H2-GlcN), 1.96, 1.94, 1.77 (3 x s, 9H, CH₃-Ac), 1.16 (d, 3H, $^3J_{H6abc,H5} = 6.4$ Hz, H6a,b,c-Fuc).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC], 75.5 MHz-¹³C-NMR [DEPT] (CDCl₃): [δ/ppm] = 169.95, 169.74, 168.88 (C=O-Ac), 153.58 (C=O-Troc), 138.70, 138.60, 138.30, 137.65, 137.36 (C_{ipso}-Ph), 133.80 (CH-All), 128.56, 128.45, 128.40, 128.33, 128.20, 128.12, 128.08, 128.02, 127.91, 127.86, 127.81, 127.70, 127.59, 127.53, 127.09 (C_{o,m,p}-Ph), 117.55 (=CH₂-All), 99.60 (C1-Gal), 98.68 (C1-GlcN), 97.47 (C1-Fuc), 95.38 (CCl₃), 80.08 (C3-Fuc), 77.25 (C4-Fuc), 76.62 (C2-Fuc), 74.79 (C5-GlcN), 74.37 (CH₂-Troc), 74.28 (C4-GlcN), 74.21 (CH₂-Bn), 73.84 (C3-GlcN), 73.80, 73.49, 73.22, 72.96 (CH₂-Bn), 71.32 (C5-Gal), 71.00 (C3-Gal), 70.15 (CH₂-All), 69.05 (C2-Gal), 67.75 (C6-GlcN), 67.22 (C4-Gal), 66.47 (C6-Gal), 66.33 (C5-Fuc), 58.47 (C2-GlcN), 20.69, 20.64, 20.57 (CH₃-Ac), 16.70 (C6-Fuc).

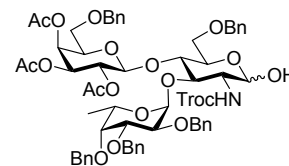
ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 1300.6 ([M+Na]⁺, ber.: 1300.4).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 1300.3832 ([M+Na]⁺, ber.: 1300.3818).

C ₆₅ H ₇₄ Cl ₃ NO ₁₉ (1279.6)	ber.: C 61.01	H 5.83	N 1.09
	gef.: C 60.92	H 5.98	N 1.18

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-trichlor-ethoxycarbonylamino)- α,β -D-glucopyranose (56**)**

(α,β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OH)



Variante A:

Eine Lösung von 202 mg (0.158 mmol) β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**54**) in 15 ml absol. Tetrahydrofuran versetzt man mit 10 mg (0.012 mmol, 0.07 Äquiv) 1,5-Cyclooctadien-bis(methyldiphenylphosphin)iridium(I)-hexafluorophosphat und entgast sie gründlich durch sechsmaliges Evakuieren mit Hilfe einer Membranpumpe und Fluten mit Argon. Anschließend evakuiert man erneut und flutet mit Wasserstoff. Unter einer Wasserstoffatmosphäre wird die zunächst tiefrote Lösung bei Raumtemp. 10 min gerührt, wobei die Farbe allmählich nach hellgelb umschlägt. Man entgast die Mischung ein weiteres Mal gründlich und rührt sie dann unter einer Argonatmosphäre bei Raumtemp. 26 h. Der Reaktionsfortschritt kann dabei dünnschichtchromatographisch unter Verwendung von Kieselgelplatten mit einer Konzentrierungszone verfolgt werden (R_f (**54**) = 0.46 ($^{\circ}$ Hex/EtOAc, 3:2), R_f (**55**) = 0.48 ($^{\circ}$ Hex/EtOAc, 3:2)). Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand in 25 ml Dichlormethan aufgenommen. Man wäscht die Lösung nacheinander mit 5 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 5 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung, extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen viermal mit je 5 ml Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. trocknet man den Rückstand i. Hochvak. und nimmt ihn dann in 2.6 ml Tetrahydrofuran auf. Die Lösung wird auf 0 °C abgekühlt und mit 50 mg (0.595 mmol, 3.8 Äquiv.) Natriumhydrogencarbonat in 1.7 ml Wasser sowie mit 100 mg (0.394 mmol, 2.5 Äquiv.) Iod in 2.0 ml Tetrahydrofuran versetzt. Die Kühlung wird entfernt und die Reaktionsmischung 4½ d bei Raumtemp. gerührt. Anschließend werden 5 ml Wasser sowie 15 ml Ethylacetat zugegeben. Man kühlt den Ansatz auf 0 °C ab und gibt so lange festes Natriumhydrogensulfit hinzu, bis die Iodfärbung verschwunden ist. Das Zweiphasengemisch wird mit weiteren 15 ml Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wird abgetrennt und nacheinander mit 10 ml einer 1 M Natriumhydrogensulfit-Lösung, 10 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 10 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Man extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen zweimal mit je 10 ml Ethylacetat, trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat und entfernt die Lösungsmittel im Vakuum. Das resultierende Rohprodukt wird durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}$ Hex/EtOAc, 3:2) gereinigt, wobei neben dem

gewünschten Produkt 51 mg (0.040 mmol, 25 %) des entsprechenden *n*-Propylglycosids **57** isoliert werden.

Ausbeute: 113 mg (0.091 mmol, 58 %).

Analytische Daten des *n*-Propylglycosids **57**:

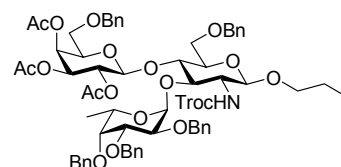
leicht bräunlicher amorpher Feststoff; $R_f = 0.48$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:2).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): [δ/ppm] = 7.36-7.19 (m, 23H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.14-7.12 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.36-5.35 (m, 2H, NH-GlcN {5.35}, H4-Gal {5.35, d, $^3J_{\text{H4,H3}} = 3.5$ Hz}), 5.15 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.5$ Hz, H1-Fuc), 4.99-4.92 (m, 2H, H2-Gal {4.97, dd, $^3J_{\text{H2,H1}} = 8.2$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.2$ Hz}, CH_2 {4.93, d, $^2J = 11.7$ Hz}), 4.80-4.74 (m, 5H, H1-GlcN {4.78}, H3-Gal {4.76}, CH_2), 4.71-4.65 (m, 3H, CH_2 {4.69, 4.67, 4.66, 3 x d, $^2J = 10.6$ Hz, $^2J = 12.2$ Hz, $^2J = 11.8$ Hz}), 4.62-4.52 (m, 4H, CH_2 {4.61, 4.60, 2 x d, $^2J = 11.3$ Hz, $^2J = 11.7$ Hz}, H1-Gal {4.57, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.2$ Hz}, H5-Fuc {4.54}), 4.41 (d, 2H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.24 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, CH_2), 4.14 (t*, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} \approx ^3J_{\text{H3,H4}} \approx 8.6$ Hz, H3-GlcN), 4.07 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.9$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.2$ Hz, H2-Fuc), 3.95-3.87 (m, 2H, H4-GlcN {3.93, t*, $^3J_{\text{H4,H3}} \approx ^3J_{\text{H4,H5}} \approx 8.6$ Hz}, H3-Fuc {3.88, dd, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.2$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.7$ Hz}), 3.79-3.69 (m, 3H, H6a-GlcN {3.77, dd, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 3.1$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 11.3$ Hz}, $\text{CH}_2\text{aCH}_2\text{CH}_3$ {3.74}, H6b-GlcN {3.71, dd, $^3J_{\text{H6b,H5}} = 2.4$ Hz, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = 11.3$ Hz}), 3.55 (db, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 1.6$ Hz, H4-Fuc), 3.53-3.44 (m, 2H, H6a-Gal {3.51, dd, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 5.5$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 8.2$ Hz}, H5-Gal {3.46}), 3.37-3.28 (m, 3H, H5-GlcN {3.34}, $\text{CH}_2\text{bCH}_2\text{CH}_3$ {3.33}, H6b-Gal {3.30, t*, $^3J_{\text{H6b,H5}} \approx ^3J_{\text{H6b,H6a}} \approx 8.2$ Hz}), 3.16 (mc, 1H, H2-GlcN), 1.95, 1.93, 1.76 (3 x s, 9H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1.58-1.49 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.16 (d, 3H, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.2$ Hz, H6a,b,c-Fuc), 0.85 (t, 3H, $^3J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HMQC] (CDCl_3): [δ/ppm] = 169.94, 169.74, 168.84 (C=O-Ac), 153.56 (C=O-Troc), 138.74, 138.62, 138.36, 137.69, 137.37 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 128.55, 128.43, 128.40, 128.32, 128.20, 128.09, 128.05, 127.87, 127.79, 127.67, 127.58, 127.52, 127.08 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 99.61 (C1-GlcN , C1-Gal), 97.47 (C1-Fuc), 95.35 (CCl_3), 80.08 (C3-Fuc), 77.33 (C4-Fuc), 76.70 (C2-Fuc), 74.83 (C5-GlcN), 74.39 (C4-GlcN), 74.21 (CH_2), 73.97 (C3-GlcN), 73.77, 73.50, 73.22, 72.97 (CH_2), 71.49 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 71.31 (C5-Gal), 71.02 (C3-Gal), 69.08 (C2-Gal), 67.76 (C6-GlcN), 67.25 (C4-Gal), 66.51 (C6-Gal), 66.28 (C5-Fuc), 58.79 (C2-GlcN), 22.69 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 20.67, 20.57 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$), 16.72 (C6-Fuc), 10.36 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1302.4 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1302.4), 1318.4 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 1318.4).

$\text{C}_{65}\text{H}_{76}\text{Cl}_3\text{NO}_{19}$ (1281.7)



Variante B:

Eine Lösung von 0.15 g (0.18 mmol, 0.07 Äquiv.) 1,5-Cyclooctadien-bis(methyldiphenylphosphin)iridium(I)-hexafluorophosphat in 220 ml absol. Tetrahydrofuran wird durch sechsmaliges Evakuieren mit Hilfe einer Membranpumpe und Fluten mit Argon gründlich entgast. Anschließend evakuiert man erneut und flutet mit Wasserstoff. Die zunächst tiefrote Lösung wird unter einer Wasserstoffatmosphäre 10 min bei Raumtemp. gerührt, bis sie eine leicht gelbliche Färbung angenommen hat. Man entgast die Katalysator-Lösung ein weiteres Mal gründlich, überführt sie dann unter einer Argonatmosphäre in einen zweiten Kolben, welcher 3.10 g (2.42 mmol) β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**54**) enthält, und rührt die Mischung 1 h bei Raumtemperatur. Der Reaktionsfortschritt lässt sich dabei dünnschichtchromatographisch unter Verwendung von Kieselgelplatten mit einer Konzentrierungszone verfolgen (R_f (Edukt) = 0.46 (°Hex/EtOAc, 3:2), R_f (Produkt) = 0.48 (°Hex/EtOAc, 3:2)). Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und nimmt den Rückstand in 150 ml Dichlormethan auf. Die Lösung wird nacheinander mit 30 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 30 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 30 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Man entfernt i. Vak. das Lösungsmittel, trocknet den Rückstand i. Hochvak. und nimmt ihn dann in 40 ml Tetrahydrofuran auf. Die Lösung wird auf 0 °C abgekühlt und mit 0.75 g (8.93 mmol, 3.7 Äquiv.) Natriumhydrogencarbonat in 25 ml Wasser sowie mit 1.49 g (5.87 mmol, 2.4 Äquiv.) Iod in 40 ml Tetrahydrofuran versetzt. Nach dem Entfernen der Kühlung rührt man die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 3 h. Anschließend werden 50 ml Wasser sowie 150 ml Ethylacetat zugegeben. Der Ansatz wird erneut auf 0 °C abgekühlt und so lange mit festem Natriumhydrogensulfit versetzt, bis die Iodfärbung verschwunden ist. Man verdünnt das Zweiphasengemisch mit weiteren 75 ml Ethylacetat, trennt die organische Phase ab und wäscht sie nacheinander mit 50 ml einer 1 M Natriumhydrogensulfit-Lösung, 50 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 50 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung. Die vereinigten wässrigen Phasen werden zweimal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. von den Lösungsmitteln befreit. Das Rohprodukt wird durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 3:2) gereinigt und das resultierende Reinprodukt ohne vollständige Charakterisierung direkt zum entsprechenden Silylglycosid **53** umgesetzt.

Ausbeute: 2.50 g (2.02 mmol, 83 %); farbloser amorpher Feststoff; R_f = 0.34 bzw. 0.24 (°Hex/EtOAc, 1:1), R_f = 0.20 bzw. 0.16 (°Hex/EtOAc, 3:2).

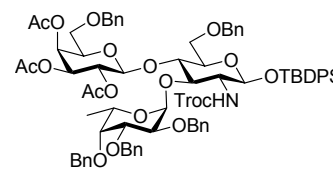
ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1260.4$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1260.3),
 1276.3 ($[M+K]^+$, ber.: 1276.3).

$C_{62}H_{70}Cl_3NO_{19}$ (1239.6)

***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-trichloroethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**53**)**

(β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)

Man löst 753 mg (0.607 mmol) α,β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OH (**56**) und eine Spatelspitze



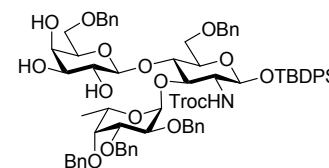
4-Dimethylaminopyridin in 40 ml absol. Dichlormethan und tropft nacheinander 0.30 ml (235 mg, 1.815 mmol, 3.0 Äquiv.) *N*-Ethyl-diisopropylamin sowie 0.47 ml (498 mg, 1.813 mmol, 3.0 Äquiv.) *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid zu. Die Reaktionsmischung wird 5 d unter Rückfluss gerührt, wobei nach 4 h, nach 1 d und nach 2 d jeweils weitere 0.30 ml (235 mg, 1.815 mmol, 3.0 Äquiv.) *N*-Ethyl-diisopropylamin sowie 0.16 ml (170 mg, 0.617 mmol, 1.0 Äquiv.) *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid zur Vervollständigung der Umsetzung zugetropft werden. Anschließend neutralisiert man die Lösung durch tropfenweise Zugabe von Essigsäure unter ständiger Kontrolle des pH-Werts, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt das Rohprodukt durch Flash-chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}$ Hex/EtOAc, 5:1), wobei neben dem gewünschten Produkt 86 mg (0.069 mmol, 11 %) der eingesetzten Verbindung **56** isoliert werden.

Ausbeute: 702 mg (0.475 mmol, 78 %); $R_f = 0.65$ ($^{\circ}$ Hex/EtOAc, 1:1).

Sämtliche analytischen Daten der Verbindung **53** sind bereits auf den Seiten 189 und 190 aufgeführt.

***tert*-Butyldiphenylsilyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-4-*O*-(6-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**58**)**

(β -3-(α -Bn₃Fuc)-4-(β -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)



In 250 ml Methanol werden 4.68 g (3.17 mmol) β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α -Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**53**) gelöst und tropfenweise mit einer frisch hergestellten methanolischen Natriummethanolat-Lösung so lange versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5

erreicht ist. Die Reaktionsmischung wird 2 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst® 15 neutralisiert. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Man reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 1:1).

Ausbeute: 3.62 g (2.68 mmol, 85 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -44$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.54$ (°Hex/EtOAc, 1:3), $R_f = 0.22$ (°Hex/EtOAc, 1:1), $R_f = 0.41$ (Tol/EtOH, 6:1).

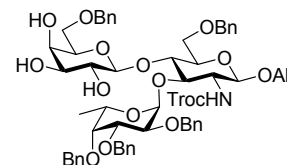
ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1372.5$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1372.4).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1372.4354$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1372.4366).

C ₇₂ H ₈₂ Cl ₃ NO ₁₆ Si (1351.9)	ber.: C 63.97	H 6.11	N 1.04
	gef.: C 63.95	H 5.92	N 1.16

Allyl-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-4-O-(6-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)-β-D-glucopyranosid (59)

(β-3-(α-Bn₃Fuc)-4-(β-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OAll)



Eine Lösung von 1.09 g (0.85 mmol) β-4-(β-6-Bn-Ac₃Gal)-3-(α-Bn₃Fuc)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**54**) in 50 ml Methanol wird unter Rühren so lange tropfenweise mit einer frisch hergestellten methanolischen Natriummethanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5 erreicht ist. Man rührt die Mischung 5 h bei Raumtemp. und neutralisiert sie anschließend durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst® 15. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand reinigt man durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 1:1).

Ausbeute: 0.87 g (0.75 mmol, 89 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{22} = -45$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.14$ (°Hex/EtOAc, 1:1), $R_f = 0.43$ (Tol/EtOH, 5:1).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 1174.6$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1174.4).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1174.3523$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1174.3501).

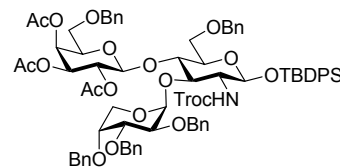
C ₅₉ H ₆₈ Cl ₃ NO ₁₆ (1153.5)	ber.: C 61.43	H 5.94	N 1.21
	gef.: C 61.37	H 5.93	N 1.29

5.4.2 Die Synthesen der arabinosylierten Bausteine

tert-Butyldiphenylsilyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (**60**)

(β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(β -Bn₃Ara)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)

Eine Lösung von 3.97 g (3.66 mmol) β -3-(β -Bn₃Ara)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**51**) und 4.50 g (8.32 mmol, 2.3 Äquiv.)



α -6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**31**) in 180 ml absol. Dichlor-

methan wird mit etwa 7 g Molekularsieb (4 Å) 30 min bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre gerührt. Man kühlt das Gemisch auf $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ ab und tropft eine vorgekühlte Mischung aus 0.08 ml (0.92 g, 0.41 mmol, 0.05 Äquiv. bezogen auf **31**) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat und 10 ml absol. Dichlormethan langsam zu. Der Ansatz wird unter einer Argonatmosphäre bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 2 h gerührt, dann lässt man ihn langsam auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmen und rührt ihn bei einer Temperatur von $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ weitere 90 h, wobei sowohl nach 18 h als auch nach 20 h jeweils noch einmal 0.05 Äquiv. (bezogen auf **31**) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat in 10 ml absol. Dichlormethan zugetropft werden. Anschließend wird die Reaktionsmischung bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durch tropfenweise Zugabe einer Lösung von *N*-Ethyldiisopropylamin in Dichlormethan unter ständiger Kontrolle des pH-Werts neutralisiert. Das Molekularsieb wird abfiltriert und zweimal mit je 50 ml Dichlormethan gewaschen. Man wäscht das Filtrat nacheinander mit 50 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 50 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung, extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen dreimal mit je 25 ml Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 10:3) gereinigt.

Ausbeute: 1.28 g (0.87 mmol, 24 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{30} = -43$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.40$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1), $R_f = 0.26$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 10:3).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.70\text{--}7.68$ (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.61-7.59 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.44-7.16 (m, 31H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.36 (d, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 3.1$ Hz, H4-Gal), 5.33 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H2}} = 7.2$ Hz, NH-GlcN), 5.21 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.3$ Hz, H1-Ara), 4.96 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 8.0$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.3$ Hz, H2-Gal), 4.91-4.82 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$ {4.89, d, $^2J = 11.3$ Hz}, H1-GlcN {4.87, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 9.0$ Hz}, H3-Gal {4.83, dd, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.3$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 3.3$ Hz}), 4.75-4.65 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$, $\text{CH}_{2\text{a-Troc}}$ {4.69}, H1-Gal {4.66, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.0$ Hz}), 4.59, 4.53 (2 x d, 2H, $^2J = 11.5$ Hz, $^2J = 12.1$ Hz,

CH₂-Bn), 4.47 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH_{2b}-Troc), 4.42 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH₂-Bn), 4.29-4.23 (m, 3H, CH₂-Bn {4.28, d, ²J = 10.4 Hz}, H5a-Ara {4.27}, CH₂-Bn {4.25, d, ²J = 11.7 Hz}), 4.09 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 3.3 Hz, ³J_{H2,H3} = 9.9 Hz, H2-Ara), 4.05-3.96 (m, 2H, H3-GlcN {4.00}, H4-GlcN {3.98}), 3.92 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 9.9 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.0 Hz, H3-Ara), 3.71 (s_b, 1H, H4-Ara), 3.66-3.56 (m, 3H, H5b-Ara {3.64}, H5-Gal {3.60}, H6a-GlcN {3.58}), 3.46 (m_c, 1H, H6a-Gal), 3.32-3.28 (m, 3H, H2-GlcN {3.32}, H6b-GlcN {3.30}, H6b-Gal {3.30}), 2.98 (m_c, 1H, H5-GlcN), 1.94, 1.89, 1.71 (3 x s, 9H, CH₃-Ac), 1.04 (s, 9H, CH₃-^tBu).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl₃): [δ/ppm] = 169.98, 169.77, 169.03 (C=O-Ac), 153.51 (C=O-Troc), 138.74, 138.60, 138.47, 137.95, 137.45 (C_{ipso}-Ph), 135.89, 135.78 (C_{o,m,p}-Ph), 133.45, 132.83 (C_{ipso}-Ph), 129.76, 129.58, 128.50, 128.43, 128.37, 128.35, 128.08, 127.84, 127.79, 127.77, 127.61, 127.52, 127.49, 127.27, 127.25 (C_{o,m,p}-Ph), 99.16 (C1-Gal), 97.96 (C1-Ara), 95.27 (CCl₃), 94.79 (C1-GlcN), 77.90 (C3-Ara), 77.21 (C2-Ara), 74.95 (C3-GlcN), 74.76 (C5-GlcN), 74.54 (CH₂-Troc), 74.33 (C4-Ara), 73.96 (CH₂-Bn), 73.63 (C4-GlcN), 73.57, 73.30, 72.48 (CH₂-Bn), 71.53 (C5-Gal), 71.14 (C3-Gal, CH₂-Bn), 69.34 (C2-Gal), 67.45, 67.38 (C4-Gal, C6-GlcN), 66.70 (C6-Gal), 61.11 (C2-GlcN), 60.27 (C5-Ara), 26.76 (CH₃-^tBu), 20.67, 20.61 (CH₃-Ac).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1484.6 ([M+Na]⁺, ber.: 1484.4),

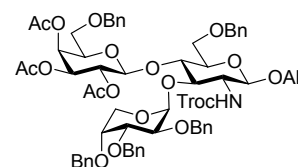
1500.6 ([M+K]⁺, ber.: 1500.4).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 1484.4576 ([M+Na]⁺, ber.: 1484.4527).

C₇₇H₈₆Cl₃NO₁₉Si (1463.9)

Allyl-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-β-D-arabinopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (61)

(β-4-(β-6-Bn-Ac₃Gal)-3-(β-Bn₃Ara)-6-Bn-GlcNTroc-OAll)



Eine Mischung aus 4.75 g (5.35 mmol) β-3-(β-Bn₃Ara)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**52**), 5.79 g (10.71 mmol, 2.0 Äquiv.) α-6-Bn-Ac₃Gal-OC(NH)CCl₃ (**31**) und etwa 3 g Molekularsieb (4 Å) in 200 ml absol. Dichlormethan wird 1 h bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre gerührt. Der Ansatz wird auf –35 °C abgekühlt und innerhalb von 10 min tropfenweise mit einer vorgekühlten Mischung aus 0.10 ml (0.12 g, 0.52 mmol, 0.05 Äquiv. bezogen auf **31**) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat und 5 ml absol. Dichlormethan versetzt. Bei –30 °C rührt man die Reaktionsmischung unter einer Argonatmosphäre 90 min, dann neutralisiert man sie bei dieser Temperatur durch tropfenweise

Zugabe einer Lösung von *N*-Ethyldiisopropylamin in Dichlormethan unter ständiger Kontrolle des pH-Werts. Man filtriert das Molekularsieb ab und wäscht es sechsmal mit je 75 ml Dichlormethan. Das Filtrat wird zweimal mit je 75 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 75 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 75 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. reinigt man den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 3:1).

Ausbeute: 6.12 g (4.84 mmol, 90 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{25} = -59$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.29$ (^cHex/EtOAc, 2:1), $R_f = 0.16$ (^cHex/EtOAc, 3:1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.40-7.16$ (m, 25H, H_{Ar}-Ph), 5.84 (m_c, 1H, CH-All), 5.58 (s_b, 1H, NH-GlcN), 5.37 (d, 1H, ³J_{H4,H3} = 3.1 Hz, H4-Gal), 5.27-5.21 (m, 2H, =CH₂-All^{trans} {5.24, ddd, ⁴J = 1.6 Hz, ²J = 3.1 Hz, ³J_{trans} = 17.2 Hz}, H1-Ara {5.23, d, ³J_{H1,H2} = 3.9 Hz}), 5.14 (ddd, 1H, ⁴J = 1.4 Hz, ²J = 3.0 Hz, ³J_{cis} = 10.4 Hz, =CH₂-All^{cis}), 5.03 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 8.0 Hz, ³J_{H2,H3} = 10.4 Hz, H2-Gal), 4.86-4.82 (m, 2H, CH₂-Bn {4.84, d, ²J = 11.3 Hz}, H3-Gal {4.83, dd, ³J_{H3,H2} = 10.3 Hz, ³J_{H3,H4} = 3.5 Hz}), 4.78-4.55 (m, 10H, H1-GlcN {4.77}, CH_{2a}-Troc {4.76, d, ²J = 12.1 Hz}, CH₂-Bn {4.72, 4.68, 2 x d, ²J = 10.9 Hz, ²J = 11.6 Hz}, CH_{2b}-Troc {4.66, d, ²J = 12.7 Hz}, CH₂-Bn {4.61, d, ²J = 12.7 Hz}, H1-Gal {4.59, d, ³J_{H1,H2} = 8.6 Hz}, CH₂-Bn {4.56, d, ²J = 11.7 Hz}), 4.44, 4.44 (2 x d, 2H, 2 x ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.31-4.25 (m, 2H, CH₂-Bn {4.28, d, ²J = 12.3 Hz}, CH_{2a}-All {4.28}), 4.18 (d_b, 1H, ²J_{H5a,H5b} = 11.9 Hz, H5a-Ara), 4.12 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} ≈ ³J_{H3,H4} ≈ 8.0 Hz, H3-GlcN), 4.07 (dd, 1H, ³J_{H2,H1} = 3.5 Hz, ²J_{H2,H3} = 9.7 Hz, H2-Ara), 3.79-3.70 (m, 2H, CH_{2b}-All {4.01}, H4-GlcN {3.71, t*, ³J_{H4,H3} ≈ ³J_{H4,H5} ≈ 8.0 Hz}), 3.88 (dd, 1H, ³J_{H3,H2} = 9.7 Hz, ²J_{H3,H4} = 3.0 Hz, H3-Ara), 3.79-3.70 (m, 3H, H6a-GlcN {3.77, dd, ³J_{H6a,H5} = 3.5 Hz, ²J_{H6a,H6b} = 10.9 Hz}, H6b-GlcN {3.73}, H4-Ara {3.71}), 3.66 (dd, 1H, ³J_{H5b,H4} = 2.3 Hz, ²J_{H5b,H5a} = 12.4 Hz, H5b-Ara), 3.57-3.48 (m, 2H, H5-Gal {3.55}, H6a-Gal {3.51}), 3.45 (m_c, 1H, H5-GlcN), 3.35-3.31 (m, 2H, H2-GlcN {3.35}, H6b-Gal {3.33, t*, ³J_{H6b,H5} ≈ ³J_{H6b,H6a} ≈ 8.3 Hz}), 1.99, 1.96, 1.77 (3 x s, 9H, CH₃-Ac).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 169.96, 169.82, 169.20$ (C=O-Ac), 153.77 (C=O-Troc), 138.63, 138.44, 138.41, 137.74, 137.41 (C_{ipso}-Ph), 133.85 (CH-All), 128.52, 128.45, 128.40, 128.34, 128.05, 128.00, 127.84, 127.80, 127.70, 127.57, 127.54, 127.49, 127.32 (C_{o,m,p}-Ph), 117.36 (=CH₂-All), 99.38 (C1-Gal), 98.95 (C1-GlcN), 97.95 (C1-Ara), 95.50 (CCl₃), 77.76 (C3-Ara), 76.75 (C2-Ara), 74.79 (C5-GlcN), 74.57 (C3-GlcN), 74.36 (CH₂-Troc), 74.03, 73.98 (C4-Ara, CH₂-Bn), 73.92 (C4-GlcN), 73.47, 73.28, 72.43 (CH₂-Bn), 71.58 (C5-Gal), 71.12 (CH₂-Bn), 70.98 (C3-Gal), 69.98 (CH₂-All),

69.34 (C2-Gal), 68.15 (C6-GlcN), 67.28 (C4-Gal), 66.69 (C6-Gal), 60.44 (C5-Ara), 57.49 (C2-GlcN), 20.78, 20.57, 20.38 (CH₃-Ac).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1286.4$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1286.4).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1286.3689$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1286.3662).

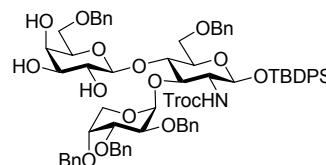
C₆₄H₇₂Cl₃NO₁₉ (1265.6)

ber.: C 60.74 H 5.73 N 1.11

gef.: C 60.26 H 5.75 N 1.02

***tert*-Butyldiphenylsilyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-
4-*O*-(6-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-6-*O*-benzyl-
2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-
 β -D-glucopyranosid (**62**)**

(β -3-(β -Bn₃Ara)-4-(β -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS)



Man löst 1.13 g (0.77 mmol) β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(β -Bn₃Ara)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**60**) in 100 ml Methanol und gibt so lange tropfenweise eine frisch hergestellte methanolische Natriummethanolat-Lösung hinzu, bis ein pH-Wert von 8.5 erreicht ist. Die Reaktionsmischung wird 2 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst® 15 neutralisiert. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Man reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 3:2).

Ausbeute: 0.42 g (0.31 mmol, 41 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{32} = -53$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.10$ (°Hex/EtOAc, 3:2), $R_f = 0.38$ (Tol/EtOH, 7:1).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1358.6$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1358.4),

1374.6 ($[M+K]^+$, ber.: 1374.4).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1358.4246$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1358.4210).

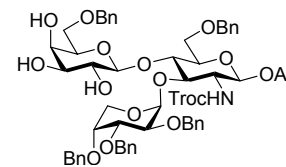
C₇₁H₈₀Cl₃NO₁₆Si (1337.8)

ber.: C 63.74 H 6.03 N 1.05

gef.: C 63.68 H 5.95 N 0.93

Allyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-4-*O*-(6-*O*-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- β -D-glucopyranosid (63)

(β -3-(β -Bn₃Ara)-4-(β -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OAll)



Eine Lösung von 6.00 g (4.77 mmol) β -4-(β -6-Bn-Ac₃Gal)-3-(β -Bn₃Ara)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**61**) in 250 ml Methanol wird unter Rühren so lange tropfenweise mit einer frisch hergestellten methanolischen Natriummethanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 8.5 erreicht ist. Man rührt die Mischung 2 h bei Raumtemp. und neutralisiert sie anschließend durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst® 15. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand reinigt man durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 3:4).

Ausbeute: 4.30 g (3.77 mmol, 80 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{25} = -56$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.28$ (°Hex/EtOAc, 1:2), $R_f = 0.19$ (°Hex/EtOAc, 3:4).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1160.3$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1160.3),

1176.3 ($[M+K]^+$, ber.: 1176.3).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1160.3389$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1160.3345).

C₅₈H₆₆Cl₃NO₁₆ (1139.5)

ber.: C 61.13 H 5.84 N 1.23

gef.: C 61.04 H 5.77 N 1.25

5.5 Die Synthesen der Tetrasaccharide und Tetrasaccharid-Mimetika

Die Herstellung der Methylsulphenylbromid-Lösung^[291]

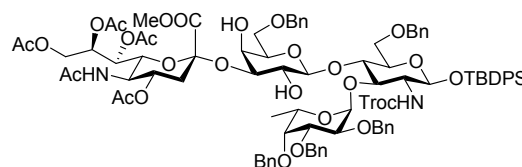
(1.6 M in absol. 1,2-Dichlorethan)

Zur Herstellung der für die Sialylierungsreaktionen benötigten Methylsulphenylbromid-Lösung wird eine Mischung aus 0.71 ml (0.75 g, 8.01 mmol) Dimethyldisulfid und 10 ml absol. 1,2-Dichlorethan unter einer Argonatmosphäre mit 0.41 ml (1.28 g, 7.98 mmol) Brom versetzt und unter Lichtausschluss bei Raumtemp. 23 h gerührt.

5.5.1 Die Synthese des Sialyl-Lewis^x-Bausteins

***tert*-Butyldiphenylsilyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-4-*O*-{6-*O*-benzyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- α -D-galactonon-2-ulopyranosyl)onat]- β -D-galactopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (68)**

(β -Ac₄Bn₅(Fuc)SLe^xNTrocCOOMe-OTBDPS)



In einer Mischung aus 130 ml absol. Acetonitril und 70 ml absol. Dichlormethan werden 5.00 g (3.70 mmol) β -3-(α -Bn₃Fuc)-4-(β -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**58**) und 6.62 g (Xan: 9.56 mmol, 2.6 Äquiv.) des Gemischs aus α -Ac₄Neu5AcCOOMe-Xan (**36**) und seinem Eliminierungsprodukt **37** mit etwa 5 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 45 min bei Raumtemp. gerührt. Unter Lichtausschluss fügt man eine Lösung von 2.38 g (9.26 mmol, 1.0 Äquiv. bezogen auf **36**) trockenem Silbertrifluormethansulfonat in 10 ml absol. Acetonitril hinzu und rührt die Mischung erneut 45 min bei Raumtemperatur. Anschließend wird sie auf –50 °C abgekühlt, und es werden 5.80 ml (9.28 mmol, 1.0 Äquiv. bezogen auf **36**) einer vorgekühlten 1.6 M Methylsulfonylbromid-Lösung in absol. 1,2-Dichlorethan (vgl. Seite 201) innerhalb von 45 min zugetropft. Man rührt den Ansatz 1 h bei –50 °C und weitere 16 h bei –25 °C, bevor man ihn durch Zugabe von 3 ml *N*-Ethyl-diisopropylamin neutralisiert. Die Reaktionsmischung wird auf Raumtemp. erwärmt, mit 50 ml Dichlormethan verdünnt und über eine dünne Schicht Hyflo[®] filtriert. Man wäscht sechsmal mit je 50 ml Dichlormethan nach und befreit das Filtrat i. Vak. von den Lösungsmitteln. Der Rückstand wird durch zweimalige Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 50:1 bzw. ^cHex/EtOAc, 2:5) gereinigt. Dabei können die Nebenprodukte allerdings nicht vollständig abgetrennt werden, jedoch spielt dies für die weitere Umsetzung keine Rolle. Für analytische Zwecke kann durch präparative RP-HPLC reines Produkt erhalten werden (*R*_t = 67–73 min, Säule: Luna-3, Gradient: Präp-2).

Ausbeute: 10.53 g (noch mit Nebenprodukten verunreinigt); farbloser amorpher Feststoff.

Analytische Daten des Reinprodukts:

$[\alpha]_D^{22} = -36$ (*c* = 1.00, CHCl₃); *R*_f = 0.21 (^cHex/EtOAc, 1:3), *R*_f = 0.16 (^cHex/EtOAc, 2:5), *R*_f = 0.07 (CH₂Cl₂/MeOH, 50:1); *R*_t = 24 min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-2).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): [δ /ppm] = 7.67–7.66 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.57–7.55 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.40–7.16 (m, 31H, H_{Ar}-Ph), 5.46 (d, 1H, ³*J*_{NH,H2} = 7.8 Hz,

NH-GlcN), 5.40 (m_c, 1H, H8-Sia), 5.29 (dd, 1H, $^3J_{H7,H6} = 1.6$ Hz, $^3J_{H7,H8} = 8.6$ Hz, H7-Sia), 5.24-5.21 (m, 2H, NH-Sia {5.23}, H1-Fuc {5.23, d, $^3J_{H1,H2} = 3.2$ Hz}), 4.96-4.88 (m, 2H, H4-Sia {4.92}, CH₂-Bn {4.90, d, $^2J = 11.7$ Hz}), 4.85-4.80 (m, 2H, CH₂-Bn {4.84, 4.82, 2 x d, $^2J = 11.0$ Hz, $^2J = 10.9$ Hz}), 4.71-4.63 (m, 4H, CH₂-Bn {4.69, 4.66, 2 x d, 2 x $^2J = 12.1$ Hz}, CH_{2a}-Troc {4.66, d, $^2J = 12.1$ Hz}, H1-GlcN {4.64}), 4.57 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 7.4$ Hz, H1-Gal), 4.54-4.33 (m, 7H, CH₂-Bn {4.53, d, $^2J = 11.7$ Hz}, H5-Fuc {4.49}, CH_{2b}-Troc {4.45, d, $^2J = 11.8$ Hz}, CH₂-Bn {4.42, 4.40, 4.34, 3 x d, $^2J = 11.7$ Hz, $^2J = 12.5$ Hz, $^2J = 12.1$ Hz}), 4.19 (dd, 1H, $^3J_{H9a,H8} = 2.4$ Hz, $^2J_{H9a,H9b} = 12.5$ Hz, H9a-Sia), 4.13-3.89 (m, 7H, H4-GlcN {4.10, t^{*}, $^3J_{H4,H3} \approx ^3J_{H4,H5} \approx 9.4$ Hz}, H6-Sia {4.08}, H2-Fuc {4.03, dd, $^3J_{H2,H1} = 3.5$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.2$ Hz}, H9b-Sia {4.00}, H5-Sia {3.98}, H3-Fuc {3.98}, H3-GlcN {3.95}), 3.90 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 9.4$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.1$ Hz, H3-Gal), 3.74-3.66 (m, 7H, COOCH₃ {3.74}, H6a-GlcN {3.74}, H4-Gal {3.70}, H6a-Gal {3.69}, H4-Fuc {3.65}), 3.58 (dd, 1H, $^3J_{H6b,H5} = 5.1$ Hz, $^2J_{H6b,H6a} = 9.4$ Hz, H6b-Gal), 3.54-3.48 (m, 2H, H2-Gal {3.51}, H5-Gal {3.49}), 3.42 (m_c, 1H, H2-GlcN), 3.29 (m_c, 1H, H6b-GlcN), 3.03 (m_c, 1H, H5-GlcN), 2.66 (dd, 1H, $^2J_{H3\ddot{a}q,H3ax} = 12.9$ Hz, $^3J_{H3\ddot{a}q,H4} = 4.3$ Hz, H3_{äq}-Sia), 2.09-2.02 (m, 10H, CH₃-Ac {2.09, 2.06, 2 x s}, H3_{ax}-Sia {2.05}, CH₃-Ac {2.02, s}), 1.91, 1.87 (2 x s, 6H, CH₃-Ac), 1.08 (d, 3H, $^3J_{H6abc,H5} = 6.2$ Hz, H6a,b,c-Fuc), 1.01 (s, 9H, CH₃-^tBu).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HMQC, HMBC] (CDCl₃): [δ/ppm] = 170.83, 170.44, 170.21, 169.87, 169.62 (C=O-Ac), 168.07 (C1-Sia), 153.62 (C=O-Troc), 138.91, 138.86, 138.66, 138.30, 137.98 (C_{ipso}-Ph), 135.80, 135.72 (C_{o,m,p}-Ph), 133.58, 132.86 (C_{ipso}-Ph), 129.62, 129.41, 128.40, 128.32, 128.28, 128.15, 128.05, 127.74, 127.58, 127.32, 127.18, 127.05 (C_{o,m,p}-Ph), 100.87 (C1-Gal), 97.84 (C2-Sia), 97.66 (C1-Fuc), 95.50 (C1-GlcN), 95.21 (CCl₃), 79.65 (C3-Fuc), 78.18 (C4-Fuc), 77.32 (C2-Fuc, C3-Gal), 75.47 (C3-GlcN), 74.94 (CH₂-Bn), 74.73 (C5-GlcN), 74.62 (CH₂-Troc), 73.80 (CH₂-Bn), 73.38 (C4-GlcN), 73.16, 72.81 (CH₂-Bn), 72.63 (C6-Sia, CH₂-Bn), 72.16 (C5-Gal), 69.92 (C2-Gal), 68.55 (C4-Sia), 68.05 (C6-Gal, C8-Sia), 67.69 (C6-GlcN), 67.46 (C4-Gal), 66.84 (C7-Sia), 66.63 (C5-Fuc), 62.09 (C9-Sia), 60.56 (C2-GlcN), 53.02 (COOCH₃), 49.47 (C5-Sia), 37.37 (C3-Sia), 26.74 (CH₃-^tBu), 23.12, 21.08, 20.77, 20.66, 20.57 (CH₃-Ac), 16.73 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1845.7 ([M+Na]⁺, ber.: 1845.6),

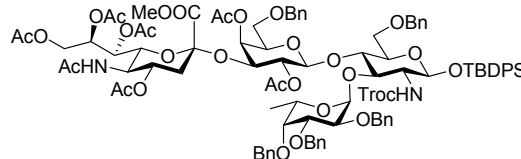
1861.6 ([M+K]⁺, ber.: 1861.6).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 1845.5898 ([M+Na]⁺, ber.: 1845.5899).

C₉₂H₁₀₉Cl₃N₂O₂₈Si (1825.3)

***tert*-Butyldiphenylsilyl-4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-*D*-glycero- α -*D*-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- β -*D*-galactopyranosyl}-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -*L*-fucopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonyl-amino)- β -*D*-glucopyranosid (69)**

(β -Ac₆Bn₅(Fuc)SLe^xNTrocCOOMe-OTBDPS)



Man löst 10.53 g (max. 3.70 mmol) noch Verunreinigungen enthaltendes β -Ac₄Bn₅(Fuc)SLe^xNTrocCOOMe-OTBDPS (**68**) in 100 ml Pyridin und gibt 50 ml Essigsäureanhydrid sowie 0.40 g (3.27 mmol, 0.9 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin hinzu. Die Reaktionsmischung wird 22 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend von Pyridin und überschüssigem Essigsäureanhydrid i. Hochvak. befreit. Der Rückstand wird viermal mit je 50 ml Toluol kodestilliert und das gewünschte Produkt durch zweimalige Flash-chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 50:1 bzw. °Hex/EtOAc, 2:3) von Nebenprodukten abgetrennt. Für analytische Zwecke kann eine weitere Reinigung durch präparative RP-HPLC erfolgen (*R_t* = 51-54 min, Säule: Luna-2, Gradient: Präp-3).

Ausbeute: 4.95 g (2.59 mmol, 70 % bezogen auf **58**); farbloser amorpher Feststoff.

Analytische Daten des Reinprodukts:

$[\alpha]_D^{30} = -30$ (*c* = 1.00, CHCl₃); *R_f* = 0.36 (°Hex/EtOAc, 1:5), *R_f* = 0.28 (°Hex/EtOAc, 1:3), *R_f* = 0.10 (°Hex/EtOAc, 2:3), *R_f* = 0.09 (CH₂Cl₂/MeOH, 50:1); *R_t* = 26 min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-2).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): [δ /ppm] = 7.70-7.68 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.61-7.59 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.43-7.19 (m, 31H, H_{Ar}-Ph), 5.54 (m_c, 1H, H8-Sia), 5.38 (dd, 1H, ³*J*_{H7,H6} = 2.7 Hz, ³*J*_{H7,H8} = 9.4 Hz, H7-Sia), 5.24 (d, 1H, ³*J*_{H1,H2} = 3.5 Hz, H1-Fuc), 5.17 (d, 1H, ³*J*_{NH,H2} = 8.0 Hz, NH-GlcN), 5.09-5.06 (m, 2H, NH-Sia {5.07}, H4-Gal {5.06, d, ³*J*_{H4,H3} = 3.1 Hz}), 4.97-4.83 (m, 6H, CH₂-Bn {4.96, d, ²*J* = 11.9 Hz}, H4-Sia {4.92}, H1-GlcN {4.86}, H2-Gal {4.85}, H1-Gal {4.84}, CH₂-Bn {4.84, d, ²*J* = 11.7 Hz}), 4.79 (d, 1H, ²*J* = 11.5 Hz, CH₂-Bn), 4.74-4.68 (m, 2H, CH₂-Bn {4.72, 4.69, 2 x d, ²*J* = 11.9 Hz, ²*J* = 12.1 Hz}), 4.65-4.51 (m, 5H, CH₂-Bn {4.64, d, ²*J* = 11.9 Hz}, H5-Fuc {4.62}, H3-Gal {4.56}, CH_{2a}-Troc {4.56, d, ²*J* = 12.1 Hz}, CH_{2b}-Troc {4.52, d, ²*J* = 11.9 Hz}), 4.46-4.34 (m, 3H, CH₂-Bn {4.44, 4.40, 4.36, 3 x d, ²*J* = 12.1 Hz, ²*J* = 11.9 Hz, ²*J* = 12.3 Hz}), 4.26 (d, 1H, ²*J* = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.20 (dd, 1H, ³*J*_{H9a,H8} = 2.6 Hz, ²*J*_{H9a,H9b} = 12.4 Hz, H9a-Sia), 4.11-3.99 (m, 5H, H2-Fuc {4.10, dd, ³*J*_{H2,H1} = 3.7 Hz, ³*J*_{H2,H3} = 10.2 Hz}, H3-GlcN {4.03}, H4-GlcN {4.03}, H5-Sia {4.03}, H9b-Sia {4.02}), 3.95 (dd, 1H, ³*J*_{H3,H2} = 10.2 Hz, ³*J*_{H3,H4} = 2.5 Hz, H3-Fuc), 3.84 (s, 3H, COOCH₃), 3.76 (m_c, 1H,

H5-Gal), 3.68 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 3.0$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 11.2$ Hz, H6a-GlcN), 3.60-3.57 (m, 2H, H4-Fuc {3.60}, H6-Sia {3.58, dd, $^3J_{\text{H6,H5}} = 10.8$ Hz, $^2J_{\text{H6,H7}} = 2.6$ Hz}), 3.48 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 5.5$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 9.6$ Hz, H6a-Gal), 3.44-3.36 (m, 2H, H6b-GlcN {3.43}, H2-GlcN {3.39}), 3.30 (t*, 1H, $^3J_{\text{H6b,H5}} \approx ^2J_{\text{H6b,H6a}} \approx 9.0$ Hz, H6b-Gal), 3.04 (mc, 1H, H5-GlcN), 2.54 (dd, 1H, $^2J_{\text{H3äq,H3ax}} = 12.6$ Hz, $^3J_{\text{H3äq,H4}} = 4.6$ Hz, H3äq-Sia), 2.10, 2.09, 2.06, 2.01, 1.94, 1.86, 1.79 (7 x s, 21H, CH₃-Ac), 1.69 (t*, 1H, $^2J_{\text{H3ax,H3äq}} \approx ^3J_{\text{H3ax,H4}} \approx 12.5$ Hz, H3ax-Sia), 1.20 (d, 3H, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.4$ Hz, H6a,b,c-Fuc), 1.04 (s, 9H, CH₃-^tBu).

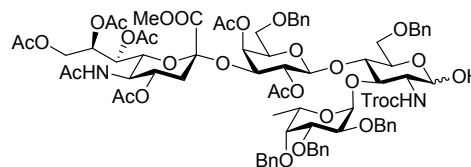
100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl₃): [δ/ppm] = 170.86, 170.50, 170.34, 169.87, 169.72, 169.47, 169.07 (C=O-Ac), 167.73 (C1-Sia), 153.40 (C=O-Troc), 139.01, 138.73, 138.63, 138.57, 137.82 (C_{ipso}-Ph), 135.86, 135.75 (C_{o,m,p}-Ph), 133.46, 132.85 (C_{ipso}-Ph), 129.70, 129.52, 128.39, 128.32, 128.29, 128.27, 128.16, 128.06, 128.04, 127.67, 127.55, 127.49, 127.44, 127.33, 127.25, 127.06, 126.93 (C_{o,m,p}-Ph), 99.32 (C1-Gal), 97.04 (C1-Fuc), 96.83 (C2-Sia), 95.11 (CCl₃), 94.73 (C1-GlcN), 79.83 (C3-Fuc), 77.82 (C4-Fuc), 77.20 (C2-Fuc), 75.11 (C5-GlcN), 74.69 (CH₂-Troc), 74.25 (CH₂-Bn), 73.97, 73.74 (C3-GlcN, C4-GlcN), 73.40, 73.11, 72.99, 72.80 (CH₂-Bn), 71.89 (C6-Sia), 71.84 (C3-Gal), 71.19 (C5-Gal), 70.40 (C2-Gal), 69.42 (C4-Sia), 67.88 (C4-Gal), 67.74 (C6-GlcN), 67.38 (C8-Sia), 67.17 (C6-Gal), 66.84 (C7-Sia), 66.25 (C5-Fuc), 62.01 (C9-Sia), 61.20 (C2-GlcN), 53.11 (COOCH₃), 49.06 (C5-Sia), 37.52 (C3-Sia), 26.76 (CH₃-^tBu), 23.16, 21.31, 20.83, 20.75, 20.74, 20.66, 20.60 (CH₃-Ac), 16.75 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1929.7 ([M+Na]⁺, ber.: 1929.6).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 1929.6090 ([M+Na]⁺, ber.: 1929.6111).

C₉₆H₁₁₃Cl₃N₂O₃₀Si (1909.4)

4-O-{2,4-Di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- β -D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- α,β -D-glucopyranose (70)
(α,β -Ac₆Bn₅(Fuc)SLe^xNTrocCOOMe-OH)



Zu einer Lösung von 1.31 g (0.69 mmol) β -Ac₆Bn₅(Fuc)SLe^xNTrocCOOMe-OTBDPS (**69**) in 50 ml Tetrahydrofuran werden bei 0 °C gleichzeitig 10 ml (1.00 mmol, 1.5 Äquiv.) einer 0.1 M Lösung von Tetra-*n*-butylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran und 1.12 ml (2.06 mmol, 3.0 Äquiv.) einer Mischung aus 1.18 ml Essigsäure und 10 ml Tetrahydrofuran innerhalb von 15 min zugetropft. Man rührt den Ansatz bei 0 °C 30 min und bei Raumtemp. weitere 40 h. Anschließend gibt man 70 ml Dichlormethan hinzu und

wäscht die Lösung nacheinander mit 25 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 25 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung. Die vereinigten wässrigen Phasen werden dreimal mit je 25 ml Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:4) gereinigt, wobei zusätzlich zu dem gewünschten Produkt 0.07 g (0.04 mmol, 5 %) des eingesetzten Silylglycosids **69** erhalten werden.

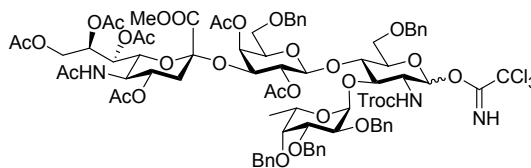
Ausbeute: 0.79 g (0.47 mmol, 69 %); farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.21$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:9), $R_f = 0.17$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:5), $R_f = 0.13$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:4).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1691.5$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1691.5).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1691.4962$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1691.4933).

$\text{C}_{80}\text{H}_{95}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O}_{30}$ (1671.0)

4-O-{2,4-Di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- β -D-galactopyranosyl}-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl- α -L-fucopyranosyl)-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxy-carbonylamino)- α,β -D-glucopyranosyl-trichloracetimidat (71)



(α,β - $\text{Ac}_6\text{Bn}_5(\text{Fuc})\text{SLe}^x\text{NTrocCOOMe-OC(NH)CCl}_3$)

Methode A:

Man kühlt eine Lösung von 75 mg (0.045 mmol) α,β - $\text{Ac}_6\text{Bn}_5(\text{Fuc})\text{SLe}^x\text{NTrocCOOMe-OH}$ (**70**) in 5 ml absol. Dichlormethan auf 0 °C ab und versetzt sie unter einer Argonatmosphäre mit 1 ml (0.222 mmol, 5.0 Äquiv.) einer Lösung von 320 mg Trichloracetonitril in 10 ml absol. Dichlormethan. Anschließend werden im Argongegenstrom 19 mg (0.137 mmol, 3.1 Äquiv.) Kaliumcarbonat zugegeben, und die Reaktionsmischung wird 1 h bei 0 °C sowie 23 h bei Raumtemp. gerührt. Man verdünnt den Ansatz mit Dichlormethan, filtriert ihn und wäscht mehrmals mit Dichlormethan nach. Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel sowie von überschüssigem Trichloracetonitril befreit und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:4 mit 0.1 % NEt_3) gereinigt, wobei neben dem gewünschten Produkt 46 mg (0.028 mmol, 61 %) der eingesetzten Verbindung **70** isoliert werden.

Ausbeute: 21 mg (0.012 mmol, 26 %).

Methode B:

Eine Lösung von 505 mg (0.302 mmol) α,β -Ac₆Bn₅(Fuc)SLe^xNTrocCOOMe-OH (**70**) in 10 ml absol. Dichlormethan wird mit etwa 250 mg Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 15 min bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt die Mischung auf 0 °C ab und versetzt sie mit einer Lösung von 239 mg (1.655 mmol, 5.5 Äquiv.) Trichloracetonitril in 1 ml absol. Dichlormethan. Anschließend werden 0.5 ml (0.030 mmol, 0.1 Äquiv.) einer Mischung aus 0.09 ml 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en und 10 ml absol. Dichlormethan langsam zugetropft. Man lässt den Ansatz auf Raumtemp. erwärmen und rührt ihn unter einer Argonatmosphäre 5 h, wobei nach 2½ h weitere 0.25 ml (0.015 mmol, 0.05 Äquiv.) der Lösung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en in Dichlormethan zur Vervollständigung der Umsetzung zugetropft werden. Das Reaktionsgemisch wird mit 20 ml Dichlormethan verdünnt. Das Molekularsieb wird abfiltriert und mehrmals mit Dichlormethan gewaschen. Man befreit das Filtrat i. Vak. vom Lösungsmittel sowie von überschüssigem Trichloracetonitril und reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 1:4 mit 0.1 % NEt₃), wobei man neben dem gewünschten Produkt 85 mg (0.051 mmol, 17 %) der eingesetzten Verbindung **70** erhält.

Ausbeute: 276 mg (0.152 mmol, 50 %).

farbloser amorpher Feststoff; R_f = 0.30 (°Hex/EtOAc, 1:9).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z]$ = 1834.5 ($[M+Na]^+$, ber.: 1834.4).

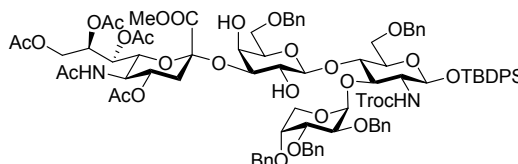
HR-ESI-MS (positiv): $[m/z]$ = 1834.3993 ($[M+Na]^+$, ber.: 1834.4029).

C₈₂H₉₅Cl₆N₃O₃₀ (1815.4)

5.5.2 Die Synthese des Arabino-Sialyl-Lewis^x-Bausteins

tert-Butyldiphenylsilyl-3-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-β-D-arabinopyranosyl)-4-O-{6-O-benzyl-3-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero-α-D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]-β-D-galactopyranosyl}-6-O-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)-β-D-glucopyranosid (72**)**

(β-Ac₄Bn₅(Ara)SLe^xNTrocCOOMe-OTBDPS)



Eine Lösung von 372 mg (0.278 mmol) β-3-(β-Bn₃Ara)-4-(β-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OTBDPS (**62**) und 484 mg (Xan: 0.699 mmol, 2.5 Äquiv.) des Gemischs aus α-Ac₄Neu5AcCOOMe-Xan (**36**) und seinem Eliminierungsprodukt **37** in einer Mischung

aus 20 ml absol. Acetonitril und 11 ml absol. Dichlormethan wird mit etwa 400 mg Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt den Ansatz auf $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ab und gibt unter Lichtausschluss eine Lösung von 179 mg (697 mmol, 1.0 Äquiv. bezogen auf **36**) trockenem Silbertrifluormethansulfonat in 2 ml absol. Acetonitril hinzu. Die Reaktionsmischung wird weitere 45 min bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, bevor 0.44 ml (0.704 mmol, 1.0 Äquiv. bezogen auf **36**) einer vorgekühlten 1.6 M Methylsulfenylbromid-Lösung in absol. 1,2-Dichlorethan (vgl. Seite 201) innerhalb von 5 min zugetropft werden. Man rührt den Ansatz 2 h bei $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ und weitere 17 h bei $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Anschließend neutralisiert man ihn durch Zugabe von 0.25 ml *N*-Ethyl-diisopropylamin. Die Reaktionsmischung wird auf Raumtemp. erwärmt, mit Dichlormethan verdünnt und über eine dünne Schicht Hyflo[®] filtriert. Man wäscht mehrmals mit Dichlormethan nach und befreit das Filtrat i. Vak. von den Lösungsmitteln. Der Rückstand wird durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 50:1) gereinigt, wobei die Nebenprodukte allerdings nicht vollständig abgetrennt werden können. Durch RP-HPLC ist eine Isolierung des reinen Produkts ebenfalls nicht möglich, jedoch ist dies für die folgende Umsetzung auch nicht erforderlich.

Ausbeute: 412 mg (noch mit Nebenprodukten verunreinigt); farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.28$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:3), $R_f = 0.08$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 50:1); $R_t = 23$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-2).

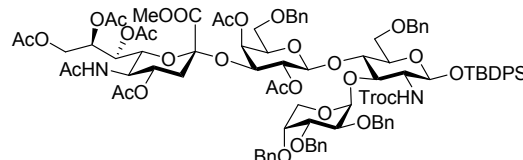
ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1831.8$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1831.6),
1847.7 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 1847.5).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1831.5690$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1831.5743).

$\text{C}_{91}\text{H}_{107}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O}_{28}\text{Si}$ (1811.3)

***tert*-Butyldiphenylsilyl-4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-*D*-glycero- α -*D*-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- β -*D*-galactopyranosyl}-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -*D*-arabinopyranosyl)-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonyl-amino)- β -*D*-glucopyranosid (73)**

(β - $\text{Ac}_6\text{Bn}_5(\text{Ara})\text{SLe}^x\text{NTrocCOOMe-OTBDPS}$)



In 20 ml Pyridin werden 405 mg (max. 0.224 mmol) noch Verunreinigungen enthaltendes β - $\text{Ac}_4\text{Bn}_5(\text{Ara})\text{SLe}^x\text{NTrocCOOMe-OTBDPS}$ (**72**) gelöst und mit 10 ml Essigsäureanhydrid sowie 30 mg (0.246 mmol, 1.1 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Man rührt den Ansatz 38 h bei Raumtemp. und entfernt anschließend Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid im Hochvakuum. Der Rückstand wird mehrmals mit Toluol

kodestilliert und durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 50:1) gereinigt. Da sich flashchromatographisch das gewünschte Produkt nicht vollständig von den Nebenprodukten abtrennen lässt, wird eine präparative RP-HPLC zur weiteren Reinigung angeschlossen ($R_t = 72\text{--}77$ min, Säule: Luna-3, Gradient: Präp-2).

Ausbeute: 134 mg (0.071 mmol, 25 % bezogen auf **62**); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -44$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.31$ (°Hex/EtOAc, 1:3), $R_f = 0.10$ (CH₂Cl₂/MeOH, 50:1); $R_t = 24$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-2).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): [δ/ppm] = 7.69-7.67 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.60-7.58 (m, 2H, H_{Ar}-Ph), 7.44-7.20 (m, 31H, H_{Ar}-Ph), 5.54 (m_c, 1H, H8-Sia), 5.38 (dd, 1H, ³ $J_{H7,H6} = 2.7$ Hz, ³ $J_{H7,H8} = 9.3$ Hz, H7-Sia), 5.33 (d, 1H, ³ $J_{NH,H2} = 7.6$ Hz, NH-GlcN), 5.23 (d, 1H, ³ $J_{H1,H2} = 3.5$ Hz, H1-Ara), 5.04 (d, 1H, ³ $J_{NH,H5} = 10.4$ Hz, NH-Sia), 5.01 (d, 1H, ³ $J_{H4,H3} = 3.3$ Hz, H4-Gal), 4.93-4.81 (m, 5H, H4-Sia {4.90}, CH₂-Bn {4.88, d, ² $J = 11.7$ Hz}, H1-GlcN {4.85}, H2-Gal {4.85}, H1-Gal {4.83, d, ³ $J_{H1,H2} = 8.0$ Hz}), 4.74-4.63 (m, 5H, CH₂-Bn {4.73, 4.70, 2 x d, ² $J = 11.7$ Hz, ² $J = 11.2$ Hz}, CH_{2a}-Troc {4.68, d, ² $J = 11.9$ Hz}, CH₂-Bn {4.65, d, ² $J = 12.7$ Hz}), 4.57 (d, 1H, ² $J = 11.7$ Hz, CH₂-Bn), 4.52 (dd, 1H, ³ $J_{H3,H2} = 9.3$ Hz, ³ $J_{H3,H4} = 3.3$ Hz, H3-Gal), 4.46 (d, 2H, ² $J = 11.9$ Hz, CH₂-Bn, CH_{2b}-Troc), 4.41-4.35 (m, 2H, CH₂-Bn {4.39, 4.36, 2 x d, ² $J = 12.1$ Hz, ² $J = 12.5$ Hz}), 4.29 (d, 1H, ² $J_{H5a,H5b} = 12.5$ Hz, H5a-Ara), 4.26-4.20 (m, 2H, CH₂-Bn {4.24, d, ² $J = 11.7$ Hz}, H9a-Sia {4.22, dd, ³ $J_{H9a,H8} = 2.6$ Hz, ² $J_{H9a,H9b} = 12.4$ Hz}), 4.09 (dd, 1H, ³ $J_{H2,H1} = 3.5$ Hz, ³ $J_{H2,H3} = 10.1$ Hz, H2-Ara), 4.05-3.99 (m, 4H, H5-Sia {4.03}, H4-GlcN {4.02}, H9b-Sia {4.02}, H3-GlcN {4.00}), 3.92 (dd, 1H, ³ $J_{H3,H2} = 9.9$ Hz, ³ $J_{H3,H4} = 3.0$ Hz, H3-Ara), 3.83 (s, 3H, COOCH₃), 3.76-3.57 (m, 5H, H5-Gal {3.74}, H4-Ara {3.71}, H5b-Ara {3.67}, H6a-GlcN {3.63}, H6-Sia {3.59, dd, ³ $J_{H6,H5} = 10.7$ Hz, ³ $J_{H6,H7} = 2.7$ Hz}), 3.43-3.40 (m, 2H, H6b-GlcN {3.42}, H6a-Gal {3.42}), 3.32 (m_c, 1H, H2-GlcN), 3.25 (t*, 1H, ³ $J_{H6b,H5} \approx$ ² $J_{H6b,H6a} \approx 8.7$ Hz, H6b-Gal), 3.05 (m_c, 1H, H5-GlcN), 2.54 (dd, 1H, ² $J_{H3\ddot{a}q,H3ax} = 12.6$ Hz, ³ $J_{H3\ddot{a}q,H4} = 4.6$ Hz, H3_{äq}-Sia), 2.10, 2.09, 2.06, 2.01, 1.94, 1.86 (6 x s, 18H, CH₃-Ac), 1.73-1.67 (m, 4H, H3_{ax}-Sia {1.70, t*, ² $J_{H3ax,H3\ddot{a}q} \approx$ ³ $J_{H3ax,H4} \approx 12.4$ Hz}, CH₃-Ac {1.70, s}), 1.03 (s, 9H, CH₃-^tBu).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl₃): [δ/ppm] = 170.90, 170.54, 170.40, 169.95, 169.81, 169.52, 169.33 (C=O-Ac), 167.76 (C1-Sia), 153.53 (C=O-Troc), 138.87, 138.64, 138.54, 137.89 (C_{ipso}-Ph), 135.90, 135.79 (C_{o,m,p}-Ph), 133.48, 132.92 (C_{ipso}-Ph), 129.70, 129.53, 128.46, 128.30, 128.28, 128.09, 127.76, 127.56, 127.49, 127.44, 127.39, 127.26, 127.21, 127.11 (C_{o,m,p}-Ph), 98.99 (C1-Gal), 97.90 (C1-Ara), 96.83 (C2-Sia), 95.29 (CCl₃), 94.73 (C1-GlcN), 77.91 (C3-Ara), 77.21 (C2-Ara), 75.12 (C3-GlcN), 74.96 (C5-GlcN), 74.53 (C4-Ara, CH₂-Troc), 73.87 (CH₂-Bn), 73.24 (C4-GlcN), 73.01, 72.81, 72.49 (CH₂-Bn), 71.93 (C6-Sia), 71.87 (C3-Gal), 71.26 (C5-Gal), 71.01 (CH₂-Bn), 70.61

(C2-Gal), 69.39 (C4-Sia), 67.85 (C6-GlcN, C4-Gal), 67.42 (C8-Sia), 67.25 (C6-Gal), 66.89 (C7-Sia), 62.08 (C9-Sia), 61.03 (C2-GlcN), 60.20 (C5-Ara), 53.14 (COOCH₃), 49.11 (C5-Sia), 37.48 (C3-Sia), 26.77 (CH₃-^tBu), 23.18, 21.35, 20.93, 20.78, 20.63, 20.46 (CH₃-Ac).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1915.6$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1915.6).

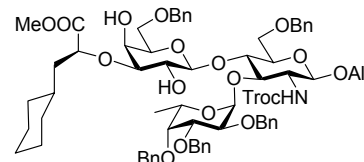
HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1915.5983$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1915.5954).

C₉₆H₁₁₁Cl₃N₂O₃₀Si (1895.3)

5.5.3 Die Synthese des Sialyl-Lewis^x-Mimetikums

Allyl-4-O-{6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-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-glucopyranosid (75)

(β-Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe-OAll)



Eine Mischung aus 8.02 g (6.95 mmol) β-3-(α-Bn₃Fuc)-4-(β-6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**59**) und 2.60 g (10.45 mmol, 1.5 Äquiv.) Di-*n*-butylzinnoxid in 600 ml Methanol wird 17 h unter Rückfluss gerührt. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und trocknet den Rückstand i. Hochvak. 4 h. Unter einer Argonatmosphäre löst man ihn in 450 ml absol. 1,2-Dimethoxyethan, fügt zunächst 3.17 g (20.87 mmol, 3.0 Äquiv.) wasserfreies Cäsiumfluorid im Argongegenstrom hinzu und tropft dann eine Lösung von 6.64 g (20.86 mmol, 3.0 Äquiv.) (*R*)-2-Trifluormethansulfonyloxy-3-cyclohexylpropansäuremethylester (**42**) in 50 ml absol. 1,2-Dimethoxyethan innerhalb von 30 min zu. Der Ansatz wird unter einer Argonatmosphäre 16 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend in zwei Portionen aufgeteilt, welche jeweils mit 300 ml Wasser und 100 ml Dichlormethan versetzt werden. Die organische Phase wird jeweils abgetrennt, die wässrige Phase wird viermal mit je 100 ml Dichlormethan extrahiert, und die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen der Lösungsmittel i. Vak. reinigt man das Rohprodukt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 4:1).

Ausbeute: 6.55 g (4.96 mmol, 71 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{25} = -34$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.73$ (°Hex/EtOAc, 1:1), $R_f = 0.14$ (°Hex/EtOAc, 4:1); $R_t = 34$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-3).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): [δ/ppm] = 7.39-7.22 (m, 25H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.84 (m_{c} , 1H, CH-All), 5.63 (s_{b} , 1H, NH-GlcN), 5.22 (ddd, 1H, $^4J = 1.6$ Hz, $^2J = 3.3$ Hz, $^3J_{\text{trans}} = 17.2$ Hz, $=\text{CH}_2\text{-All}^{\text{trans}}$), 5.17 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.5$ Hz, H1-Fuc), 5.14 (dd $_{\text{b}}$, 1H, $^4J = 1.6$ Hz, $^3J_{\text{cis}} = 10.4$ Hz, $=\text{CH}_2\text{-All}^{\text{cis}}$), 4.95, 4.85 (2 x d, 2H, $^2J = 11.4$ Hz, $^2J = 11.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.81-4.58 (m, 8H, H1-GlcN {4.78}, $\text{CH}_{2\text{a}}\text{-Troc}$ {4.74, d, $^2J = 12.1$ Hz}, $\text{CH}_{2\text{b}}\text{-Troc}$ {4.63, d, $^2J = 12.1$ Hz}, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.54 (d, 1H, $^2J = 12.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.48-4.44 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-Bn}$ {4.48}, H1-Gal {4.47}, H5-Fuc {4.45}), 4.31-4.26 (m, 2H, $\text{CH}_{2\text{a}}\text{-All}$ {4.29}, CH-COOMe {4.29}), 4.21 (t^* , 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} \approx ^3J_{\text{H3,H4}} \approx 9.4$ Hz, H3-GlcN), 4.08-3.94 (m, 5H, H2-Fuc {4.07, dd, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.5$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.1$ Hz}, H4-GlcN {4.03}, $\text{CH}_{2\text{b}}\text{-All}$ {4.01}, H3-Fuc {3.98, dd, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.1$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.6$ Hz}, H6a-GlcN {3.95, dd, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 3.5$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 10.8$ Hz}), 3.88 (d, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 2.8$ Hz, H4-Gal), 3.81-3.75 (m, 5H, H6b-GlcN {3.80}, H6a-Gal {3.80}, COOCH_3 {3.75}), 3.72-3.67 (m, 3H, H4-Fuc {3.71}, H2-Gal {3.71}, H6b-Gal {3.69}), 3.53 (m_{c} , 1H, H5-GlcN), 3.46 (t^* , 1H, $^3J_{\text{H5,H6a}} \approx ^3J_{\text{H5,H6b}} \approx 6.5$ Hz, H5-Gal), 3.23 (m_{c} , 1H, H2-GlcN), 3.15 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 9.2$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 3.3$ Hz, H3-Gal), 1.83 (m_{c} , 1H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 1.74-1.54 (m, 7H, $\text{CH}_{2\text{a}}\text{CHCOOMe}$ {1.70}, $\text{CH}_{2\text{b}}\text{CHCOOMe}$ {1.60}, CH-Cyclo {1.59}, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 1.27-1.13 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$, H6a,b,c-Fuc {1.14, d, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.4$ Hz}), 0.99-0.85 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl_3): [δ/ppm] = 175.35 (COOMe), 153.68 (C=O-Troc), 138.78, 138.10, 138.07 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 133.86 (CH-All), 128.49, 128.37, 128.35, 128.31, 128.13, 127.81, 127.63, 127.61, 127.58, 127.48, 127.44, 127.28 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 117.45 ($=\text{CH}_2\text{-All}$), 100.71 (C1-Gal), 99.11 (C1-GlcN), 97.35 (C1-Fuc), 95.49 (CCl_3), 82.58 (C3-Gal), 79.55 (C3-Fuc), 77.94 (C4-Fuc), 76.86 (CHCOOMe), 76.51 (C2-Fuc), 75.38 (C3-GlcN), 75.02 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 74.65 (C5-GlcN), 74.29 ($\text{CH}_2\text{-Troc}$), 74.20 (C4-GlcN), 74.06, 73.32 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 72.75 (C5-Gal), 72.62 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 71.58 (C2-Gal), 70.18 ($\text{CH}_2\text{-All}$), 68.58 (C6-GlcN), 68.51 (C6-Gal), 66.97 (C5-Fuc), 66.31 (C4-Gal), 58.31 (C2-GlcN), 52.18 (COOCH_3), 40.96 ($\text{CH}_2\text{CHCOOMe}$), 33.86 ($\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 33.59 (CH-Cyclo), 32.09, 26.41, 26.19, 26.01 ($\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 16.78 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1342.5 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1342.5).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 1342.4642 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1342.4652).

$\text{C}_{69}\text{H}_{84}\text{Cl}_3\text{NO}_{18}$ (1321.8)

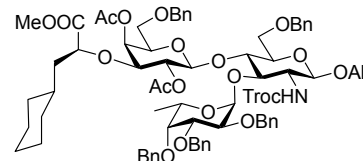
ber.: C 62.70 H 6.41 N 1.06

gef.: C 62.63 H 6.38 N 1.01

Allyl-4-O-{2,4-di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-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-glucopyranosid (76)

(β-Ac₂Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe-OAll)



Eine Lösung von 7.00 g (5.30 mmol) β-Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe-OAll (**75**) in 180 ml Pyridin wird mit 90 ml Essigsäureanhydrid sowie 0.58 g (4.75 mmol, 0.9 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin versetzt und 20 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend werden Pyridin und überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt. Der Rückstand wird dreimal mit je 60 ml Toluol sowie einmal mit 60 ml Dichlormethan kodestilliert und durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 4:1) gereinigt.

Ausbeute: 6.54 g (4.65 mmol, 88 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -31$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.48$ (^cHex/EtOAc, 2:1), $R_f = 0.15$ (^cHex/EtOAc, 4:1); $R_t = 35$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-3).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.38-7.22$ (m, 25H, H_{Ar}-Ph), 5.84 (m_c, 1H, CH-All), 5.53-5.48 (m, 2H, H₄-Gal {5.52, d, ³J_{H₄,H₃} = 3.5 Hz}, NH-GlcN {5.49, db, ³J_{NH,H₂} = 7.0 Hz}), 5.24 (ddd, 1H, ⁴J = 1.5 Hz, ²J = 3.2 Hz, ³J_{trans} = 17.3 Hz, =CH₂-All^{trans}), 5.19 (d, 1H, ³J_{H₁,H₂} = 3.1 Hz, H₁-Fuc), 5.16 (ddb, 1H, ⁴J = 1.6 Hz, ³J_{cis} = 8.2 Hz, =CH₂-All^{cis}), 5.02 (dd, 1H, ³J_{H₂,H₁} = 8.3 Hz, ³J_{H₂,H₃} = 9.9 Hz, H₂-Gal), 4.95 (d, 1H, ²J = 11.7 Hz, CH₂-Bn), 4.83 (d, 1H, ³J_{H₁,H₂} = 6.2 Hz, H₁-GlcN), 4.79-4.61 (m, 8H, CH_{2a}-Troc {4.72}, CH_{2b}-Troc {4.64, d, ²J = 11.9 Hz}, CH₂-Bn), 4.46-4.41 (m, 4H, H₅-Fuc {4.46}, H₁-Gal {4.43}, CH₂-Bn {4.43, 4.42, 2 x d, ²J = 11.9 Hz, ²J = 12.1 Hz}), 4.37 (d, 1H, ²J = 11.9 Hz, CH₂-Bn), 4.27 (ddb, 1H, ³J = 5.1 Hz, ²J = 12.9 Hz, CH_{2a}-All), 4.14 (t*, 1H, ³J_{H₃,H₂} ≈ ³J_{H₃,H₄} ≈ 8.2 Hz, H₃-GlcN), 4.09 (dd, 1H, ³J_{H₂,H₁} = 3.7 Hz, ³J_{H₂,H₃} = 10.2 Hz, H₂-Fuc), 4.04-3.99 (m, 2H, CHCOOMe {4.01}, CH_{2b}-All {4.02}), 3.96-3.89 (m, 2H, H₄-GlcN {3.94, t*, ³J_{H₄,H₃} ≈ ³J_{H₄,H₅} ≈ 8.0 Hz}, H₃-Fuc {3.90, dd, ³J_{H₃,H₂} = 10.2 Hz, ³J_{H₃,H₄} = 2.4 Hz}), 3.81-3.73 (m, 5H, H_{6a}-GlcN {3.79, dd, ³J_{H_{6a},H₅} = 3.3 Hz, ²J_{H_{6a},H_{6b}} = 11.0 Hz}, H_{6b}-GlcN {3.75, dd, ³J_{H_{6b},H₅} = 2.5 Hz, ²J_{H_{6b},H_{6a}} = 11.4 Hz}, COOCH₃ {3.75}), 3.57 (sb, 1H, H₄-Fuc), 3.54-3.30 (m, 6H, H_{6a}-Gal {3.52}, H₅-Gal {3.47}, H₅-GlcN {3.43}, H_{6b}-Gal {3.40}, H₂-GlcN {3.34}, H₃-Gal {3.32, dd, ³J_{H₃,H₂} = 9.9 Hz, ³J_{H₃,H₄} = 3.5 Hz}), 2.02, 1.90 (2 x s, 6H, CH₃-Ac), 1.73-1.63 (m, 5H, CH₂-Cyclo), 1.57-1.45 (m, 2H, CH₂CHCOOMe), 1.30 (m_c, 1H, CH-Cyclo), 1.24-1.11 (m, 6H, CH₂-Cyclo, H_{6a,b,c}-Fuc {1.18, d, ³J_{H_{6abc},H₅} = 6.2 Hz}), 0.92-0.82 (m, 2H, CH₂-Cyclo).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 172.73$ (COOMe), 169.65, 168.65 (C=O-Ac), 153.68 (C=O-Troc), 138.86, 138.67, 138.46, 137.88, 137.72 (C_{ipso}-Ph),

133.88 (CH-All), 128.46, 128.41, 128.39, 128.36, 128.30, 128.18, 128.12, 128.04, 127.94, 127.89, 127.70, 127.60, 127.55, 127.45, 127.08 ($C_{o,m,p}$ -Ph), 117.39 (=CH₂-All), 99.80 (C1-Gal), 98.83 (C1-GlcN), 97.23 (C1-Fuc), 95.47 (CCl₃), 79.90 (C3-Fuc), 77.79 (CHCOOMe), 77.52 (C4-Fuc), 77.32 (C3-Gal), 76.69 (C2-Fuc), 74.89 (C5-GlcN), 74.43 (CH₂-Troc), 74.35 (CH₂-Bn), 74.03 (C4-GlcN), 73.79 (C3-GlcN), 73.56, 73.41, 72.94 (CH₂-Bn), 72.44 (C5-Gal), 71.75 (C2-Gal), 69.99 (CH₂-All), 68.46 (C4-Gal), 68.15 (C6-GlcN), 67.85 (C6-Gal), 66.52 (C5-Fuc), 57.60 (C2-GlcN), 51.92 (COOCH₃), 40.46 (CH₂CHCOOMe), 33.55, 33.49 (CH-Cyclo, CH₂-Cyclo), 33.04, 26.30, 26.05, 25.99 (CH₂-Cyclo), 20.94, 20.74 (CH₃-Ac), 16.63 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1426.5$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1426.5).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1426.4862$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1426.4863).

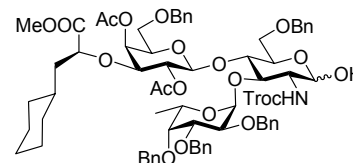
C₇₃H₈₈Cl₃NO₂₀ (1405.8)

ber.: C 62.37 H 6.31 N 1.00

gef.: C 62.30 H 6.29 N 1.14

4-O-{2,4-Di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-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)-α,β-D-glucopyranose (77)

(α,β-Ac₂Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe-OH)



Eine Lösung von 0.24 g (0.28 mmol, 0.08 Äquiv.) 1,5-Cyclooctadien-bis(methyldiphenylphosphin)iridium(I)-hexafluorophosphat in 300 ml absol. Tetrahydrofuran wird durch achtmaliges Evakuieren mit Hilfe einer Membranpumpe und Fluten mit Argon gründlich entgast. Anschließend evakuiert man erneut und flutet mit Wasserstoff. Die zunächst tiefrote Lösung wird unter einer Wasserstoffatmosphäre 15 min bei Raumtemp. gerührt, bis sie eine leicht gelbliche Färbung angenommen hat. Man entgast die Katalysator-Lösung ein weiteres Mal gründlich, überführt sie dann unter einer Argonatmosphäre in einen zweiten Kolben, der 5.00 g (3.56 mmol) β-Ac₂Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe-OAll (**76**) enthält, und rührt die Mischung 4 h bei Raumtemperatur. Der Reaktionsfortschritt lässt sich dabei dünnschichtchromatographisch unter Verwendung von Kieselgelplatten mit einer Konzentrierungszone verfolgen (R_f (Edukt(**76**)) = 0.28 (^oHex/EtOAc, 5:2), R_f (Produkt) = 0.31 (^oHex/EtOAc, 5:2)). Tetrahydrofuran wird i. Vak. entfernt und der Rückstand in 250 ml Dichlormethan aufgenommen. Man wäscht die Lösung nacheinander mit 50 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 50 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung, extrahiert die vereinigten wässrigen Phasen dreimal mit je 50 ml Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Das

Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird i. Hochvak. getrocknet und anschließend in 60 ml Tetrahydrofuran aufgenommen. Man kühlt die Lösung auf 0 °C ab und gibt 1.14 g (13.57 mmol, 3.8 Äquiv.) Natriumhydrogencarbonat in 40 ml Wasser sowie 2.26 g (8.90 mmol, 2.5 Äquiv.) Iod in 40 ml Tetrahydrofuran hinzu. Die Kühlung wird entfernt und die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 1 h gerührt. Man verdünnt das Zweiphasengemisch durch Zugabe von 60 ml Wasser und 180 ml Ethylacetat, kühlt den Ansatz erneut auf 0 °C ab und versetzt ihn so lange mit festem Natriumhydrogensulfit, bis die Iodfärbung verschwunden ist. Weitere 90 ml Ethylacetat werden zugegeben. Die organische Phase wird abgetrennt und nacheinander mit 60 ml einer 1 M Natriumhydrogensulfit-Lösung, 60 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 60 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden dreimal mit je 60 ml Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Man reinigt das Rohprodukt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 2:1) und setzt das resultierende Reinprodukt ohne vollständige Charakterisierung direkt zum entsprechenden Trichloracetimidat **78** um.

Ausbeute: 4.16 g (3.05 mmol, 86 %); farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.23$ bzw. 0.14 (°Hex/EtOAc, 3:2), $R_f = 0.16$ bzw. 0.13 (°Hex/EtOAc, 2:1).

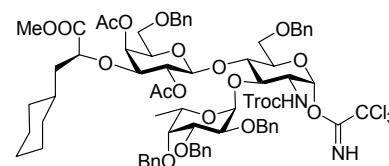
ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1386.5$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1386.5).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1386.4559$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1386.4550).

$C_{70}H_{84}Cl_3NO_{20}$ (1365.8)

4-O-{2,4-Di-O-acetyl-6-O-benzyl-3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-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)- α -D-glucopyranosyl-trichloracetimidat (78**)**

$(\alpha\text{-Ac}_2\text{Bn}_5(\text{Fuc})\text{CycloLe}^x\text{NTrocCOOMe-OC(NH)CCl}_3)$



In 100 ml absol. Dichlormethan löst man unter einer Argonatmosphäre 4.14 g (3.03 mmol) $\alpha,\beta\text{-Ac}_2\text{Bn}_5(\text{Fuc})\text{CycloLe}^x\text{NTrocCOOMe-OH}$ (**77**) und fügt 3.00 ml (4.32 g, 29.92 mmol, 9.9 Äquiv.) Trichloracetonitril hinzu. Anschließend werden 1.05 ml (0.34 mmol, 0.1 Äquiv.) einer Mischung aus 0.50 ml 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en und 10 ml absol. Dichlormethan innerhalb von 5 min zugetropft. Unter einer Argonatmosphäre rührt man die Lösung bei Raumtemp. 4 h, wobei nach 2½ h weitere 0.53 ml (0.17 mmol, 0.06 Äquiv.) der Mischung aus 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en und Dichlormethan tropfenweise zugegeben werden. Man entfernt das Lösungsmittel sowie überschüssiges

Trichloracetonitril i. Vak. und reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:1 mit 0.3 % NEt_3). Dabei werden neben dem gewünschten Produkt, welches ausschließlich in Form des α -Anomers erhalten wird, 0.66 g (0.48 mmol, 16 %) der eingesetzten Verbindung **77** isoliert.

Ausbeute: 2.73 g (1.81 mmol, 60 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = +9$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.85$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:9), $R_f = 0.69$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:1), $R_f = 0.50$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:2), $R_f = 0.17$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:1).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 8.65$ (s, 1H, =NH), 7.38-7.22 (m, 25H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 6.59-6.56 (m, 2H, NH-GlcN {6.58}, H1-GlcN {6.56}), 5.50 (d, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 3.3$ Hz, H4-Gal), 5.25 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.3$ Hz, H1-Fuc), 4.98 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 8.4$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 9.7$ Hz, H2-Gal), 4.93-4.71 (m, 7H, $\text{CH}_{2\text{a-Troc}}$ {4.91, d, $^2J = 12.3$ Hz}, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.66, 4.60 (2 x d, 2H, $^2J = 11.5$ Hz, $^2J = 11.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.46-4.37 (m, 4H, H1-Gal {4.40, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.4$ Hz}, $\text{CH}_{2\text{b-Troc}}$ {4.38}, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.25 (q, 1H, $^3J_{\text{H5,H6abc}} = 6.4$ Hz, H5-Fuc), 4.16-4.03 (m, 4H, H2-GlcN {4.10}, H3-GlcN {4.10}, H4-GlcN {4.10}, H2-Fuc {4.08}), 4.00-3.96 (m, 2H, CHCOOMe {3.98}, H3-Fuc {3.98}), 3.84 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 2.3$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 11.3$ Hz, H6a-GlcN), 3.78-3.74 (m, 4H, COOCH_3 {3.78}, H5-GlcN {3.75}), 3.68 (db, 1H, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = 9.8$ Hz, H6b-GlcN), 3.59 (db, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 1.7$ Hz, H4-Fuc), 3.53-3.46 (m, 2H, H6a-Gal {3.51}, H5-Gal {3.48}), 3.42 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6b,H5}} = 5.7$ Hz, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = 8.0$ Hz, H6b-Gal), 3.25 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 9.9$ Hz, $^2J_{\text{H3,H4}} = 3.5$ Hz, H3-Gal), 1.95, 1.93 (2 x s, 6H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1.68-1.62 (m, 5H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 1.52-1.48 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CHCOOMe}$), 1.31-1.11 (m, 7H, CH-Cyclo {1.30}, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$, H6a,b,c-Fuc {1.14, d, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.2$ Hz}), 0.91-0.82 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 172.74$ (COOMe), 169.84, 168.39 (C=O-Ac), 160.69 (C=NH), 154.35 (C=O-Troc), 138.75, 138.65, 137.88, 137.56 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 128.54, 128.39, 128.36, 128.34, 128.24, 128.13, 128.03, 127.69, 127.64, 127.60, 127.48, 127.44, 127.11 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 99.72 (C1-Gal), 98.81 (C1-Fuc), 95.36 (C(O)CCl_3), 94.48 (C1-GlcN), 90.98 (C(NH)CCl_3), 79.56 (C3-Fuc), 77.83 (CHCOOMe), 77.74 (C4-Fuc), 77.52 (C3-Gal), 76.86 (C2-Fuc), 74.54 (C3-GlcN , $\text{CH}_2\text{-Troc}$), 73.76, 73.64 (C4-GlcN , C5-GlcN , $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 73.36, 73.17, 73.10 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 72.85 (C5-Gal), 71.98 (C2-Gal), 68.44 (C4-Gal), 67.92 (C6-Gal), 67.28 (C6-GlcN), 67.23 (C5-Fuc), 55.30 (C2-GlcN), 51.93 (COOCH_3), 40.48 ($\text{CH}_2\text{CHCOOMe}$), 33.55, 33.49 (CH-Cyclo , $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 33.07, 26.30, 26.06, 25.98 ($\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 20.90, 20.78 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$), 16.61 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1529.4$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1529.4).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1529.3689$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1529.3646).

$\text{C}_{72}\text{H}_{84}\text{Cl}_6\text{N}_2\text{O}_{20}$ (1510.2)

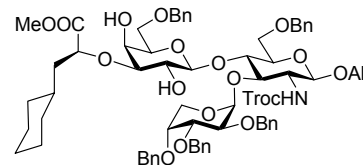
ber.: C 57.26 H 5.61 N 1.85

gef.: C 57.17 H 5.61 N 1.72

5.5.4 Die Synthese des Arabino-Sialyl-Lewis^x-Mimetikums

Allyl-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -D-arabinopyranosyl)-4-*O*-(6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-(2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino)- β -D-glucopyranosid (79)

(β -Bn₅(Ara)CycloLe^xNTrocCOOMe-OAll)



Man rührt eine Mischung aus 3.00 g (2.63 mmol) β -3-(β -Bn₃Ara)-4-(β -6-Bn-Gal)-6-Bn-GlcNTroc-OAll (**63**) und 0.98 g (3.94 mmol, 1.5 Äquiv.) Di-*n*-butylzinnoxid in 230 ml Methanol 17 h unter Rückfluss. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand 4 h i. Hochvak. getrocknet. Unter einer Argonatmosphäre löst man ihn in 170 ml absol. 1,2-Dimethoxyethan, fügt zunächst 1.20 g (7.90 mmol, 3.0 Äquiv.) wasserfreies Cäsiumfluorid im Argongegenstrom hinzu und tropft dann eine Lösung von 2.51 g (7.89 mmol, 3.0 Äquiv.) Cyclo-(*R*)-milchsäuremethylester-OTf (**42**) in 20 ml absol. 1,2-Dimethoxyethan innerhalb von 30 min zu. Der Ansatz wird unter einer Argonatmosphäre 16 h bei Raumtemp. gerührt und anschließend mit 300 ml Wasser und 100 ml Dichlormethan versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase viermal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen der Lösungsmittel i. Vak. reinigt man das Rohprodukt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 2:1), wobei man neben dem gewünschten Produkt 0.11 g (0.10 mmol, 4 %) des eingesetzten Trisaccharids **63** isoliert.

Ausbeute: 2.37 g (1.81 mmol, 69 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -46$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.72$ (^cHex/EtOAc, 1:2), $R_f = 0.28$ (^cHex/EtOAc, 2:1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): [δ/ppm] = 7.41-7.23 (m, 25H, H_A-Ph), 5.83 (m_c, 1H, CH-All), 5.67 (s_b, 1H, NH-GlcN), 5.25-5.20 (m, 2H, =CH₂-All^{trans} {5.22, ddd, ⁴J = 1.7 Hz, ²J = 3.3 Hz, ³J_{trans} = 17.2 Hz}, H1-Ara {5.21, d, ³J_{H1,H2} = 3.5 Hz}), 5.14 (ddd, 1H, ⁴J = 1.3 Hz, ²J = 2.8 Hz, ³J_{cis} = 10.5 Hz, =CH₂-All^{cis}), 4.90 (d, 1H, ²J = 11.1 Hz, CH₂-Bn), 4.80 (d, 1H, ²J = 12.1 Hz, CH_{2a}-Troc), 4.73-4.63 (m, 5H, H1-GlcN {4.73}, CH₂-Bn {4.70, 4.68, 4.66, 4.64, 4 x d, ²J = 11.2 Hz, ²J = 12.1 Hz, ²J = 10.4 Hz, ²J = 12.3 Hz}), 4.61-4.52 (m, 4H, CH₂-Bn {4.60, d, ²J = 11.0 Hz}, CH_{2b}-Troc {4.57, d, ²J = 11.5 Hz}, CH₂-Bn {4.53, d, ²J = 12.1 Hz}), 4.48-4.45 (m, 3H, H1-Gal {4.47, d, ³J_{H1,H2} = 7.8 Hz}, CH₂-Bn), 4.31-4.23 (m, 3H, CH_{2a}-All {4.29, tdd, ⁴J = 1.5 Hz, ³J = 5.2 Hz, ²J = 13.0 Hz}, CH-COOMe {4.25}, H5a-Ara {4.24}), 4.15 (t*, 1H, ³J_{H3,H2} ≈ ³J_{H3,H4} ≈ 9.2 Hz, H3-GlcN), 4.08-3.98 (m, 3H, H4-GlcN {4.06, t*,

$^3J_{H4,H3} \approx ^3J_{H4,H5} \approx 9.2$ Hz}, H2-Ara {4.05, dd, $^3J_{H2,H1} = 3.6$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 9.5$ Hz}, CH_{2b}-All {4.01, tdd, $^4J = 1.4$ Hz, $^3J = 6.2$ Hz, $^2J = 12.9$ Hz}, 3.95-3.91 (m, 2H, H3-Ara {3.94}, H6a-GlcN {3.93}), 3.86-3.84 (m, 2H, H4-Gal {3.86}, H4-Ara {3.84}), 3.79 (dd, 1H, $^3J_{H6b,H5} = 1.8$ Hz, $^2J_{H6b,H6a} = 11.5$ Hz, H6b-GlcN), 3.75-3.71 (m, 5H, COOCH₃ {3.75}, H2-Gal {3.74}, H6a-Gal {3.73}), 3.67-3.63 (m, 2H, H5b-Ara {3.66}, H6b-Gal {3.66}), 3.52 (m_c, 1H, H5-GlcN), 3.45 (t*, 1H, $^3J_{H5,H6a} \approx ^3J_{H5,H6b} \approx 6.2$ Hz, H5-Gal), 3.26 (m_c, 1H, H2-GlcN), 3.13 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 9.3$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.2$ Hz, H3-Gal), 1.84 (m_c, 1H, CH₂-Cyclo), 1.73-1.55 (m, 7H, CH₂CHCOOMe, CH-Cyclo {1.61}, CH₂-Cyclo), 1.30-1.11 (m, 3H, CH₂-Cyclo), 1.00-0.86 (m, 2H, CH₂-Cyclo).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl₃): [δ/ppm] = 175.40 (COOMe), 153.80 (C=O-Troc), 138.66, 138.42, 138.24, 138.05, 138.02 (C_{ipso}-Ph), 133.86 (CH-All), 128.47, 128.36, 128.30, 128.27, 128.25, 127.82, 127.78, 127.62, 127.60, 127.57, 127.47, 127.41 (C_{o,m,p}-Ph), 117.34 (=CH₂-All), 100.78 (C1-Gal), 99.25 (C1-GlcN), 98.21 (C1-Ara), 95.52 (CCl₃), 82.87 (C3-Gal), 77.64 (C3-Ara), 77.00 (CHCOOMe), 76.68 (C2-Ara), 75.96 (C3-GlcN), 74.69 (C5-GlcN), 74.30 (CH₂-Bn), 74.23 (CH₂-Troc), 73.81 (C4-Ara), 73.65 (C4-GlcN), 73.33 (CH₂-Bn), 72.81 (C5-Gal), 71.84, 71.52 (CH₂-Bn), 71.44 (C2-Gal), 70.10 (CH₂-All), 68.56 (C6-GlcN, C6-Gal), 66.30 (C4-Gal), 60.91 (C5-Ara), 58.21 (C2-GlcN), 52.19 (COOCH₃), 40.99 (CH₂CHCOOMe), 33.85 (CH₂-Cyclo), 33.48 (CH-Cyclo), 32.10, 26.41, 26.20, 26.00 (CH₂-Cyclo).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1328.4 ([M+Na]⁺, ber.: 1328.4).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 1328.4435 ([M+Na]⁺, ber.: 1328.4495).

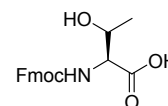
C₆₈H₈₂Cl₃NO₁₈ (1307.7) ber.: C 62.45 H 6.32 N 1.07

gef.: C 62.45 H 6.23 N 0.97

5.6 Die Synthesen der Galactose-Threonin-Konjugate

N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-threonin (**81**)^[303]

(Fmoc-Thr-OH)



In einer Mischung aus 225 ml Aceton und 225 ml Wasser werden 10.0 g (83.9 mmol) L-Threonin (**80**) und 7.0 g (83.3 mmol, 1.0 Äquiv.) Natriumhydrogencarbonat suspendiert und unter Rühren portionsweise mit insgesamt 28.1 g (83.3 mmol, 1.0 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethylsuccinimidylcarbonat versetzt. Man rührt den Ansatz 24 h bei Raumtemp. und säuert ihn anschließend mit konz. Salzsäure auf einen pH-Wert von 2.0 an. Das Aceton wird i. Vak. entfernt und das Produkt mit 450 ml Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird nacheinander mit 225 ml 1 M Salzsäure und 225 ml Wasser gewaschen, mit

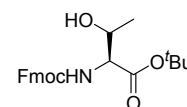
Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Man trocknet das Rohprodukt i. Hochvak. und setzt es ohne Reinigung und Charakterisierung in die nachfolgende Reaktion ein.

Ausbeute: 27.9 g (81.7 mmol, 98 %), Lit.:^[303] 95 %; leicht gelblicher amorpher Feststoff; $R_f = 0.67$ (EtOAc/AcOH, 10:1).

$C_{19}H_{19}NO_5$ (341.4)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-L-threonin-*tert*-butylester (82)**^[305, 306]

(Fmoc-Thr-O^tBu)



Unter Lichtausschluss und einer Argonatmosphäre werden 54.2 g (262.5 mmol) *N,N*-Dicyclohexylcarbodiimid, 25.3 g (341.7 mmol) *tert*-Butanol und 0.6 g (5.9 mmol) wasserfreies Kupfer(I)-chlorid 5 d bei Raumtemp. gerührt. Anschließend verdünnt man die Mischung mit 100 ml absol. Dichlormethan und tropft innerhalb von 90 min eine Lösung von 27.8 g (81.4 mmol) Fmoc-Thr-OH (**81**) in 100 ml absol. Dichlormethan zu, wobei gelegentliche Kühlung in einem Wasserbad erforderlich ist, um die bei der Reaktion entwickelte Wärme abzuführen. Der Ansatz wird weitere 3 h bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre gerührt. Dann filtriert man den ausgefallenen Harnstoff ab und wäscht diesen mehrmals mit eiskaltem Dichlormethan. Das Filtrat wird i. Vak. eingengt, so dass weiterer Harnstoff durch Filtration abgetrennt werden kann. Man wäscht die Lösung dreimal mit je 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung, trocknet sie mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird in wenig Ethylacetat gelöst und einige Stunden bei -25 °C aufbewahrt, wobei weiterer Harnstoff ausfällt, den man durch Filtration abtrennt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das Rohprodukt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: PE/EtOAc, 2:1) sowie anschließende Umkristallisation aus Diethylether/Petrolether gereinigt.

Ausbeute: 22.6 g (56.9 mmol, 68 % bezogen auf L-Threonin), Lit.:^[305, 306] 77 % bezogen auf **81**; farbloser kristalliner Feststoff; Schmp.: $74\text{--}75\text{ °C}$, Lit.:^[305] $72\text{--}74\text{ °C}$; $[\alpha]_D^{22} = -10$ ($c = 1.00$, $CHCl_3$), Lit.:^[305] $[\alpha]_D^{22} = -10$ ($c = 1.05$, $CHCl_3$); $R_f = 0.44$ (PE/EtOAc, 2:1), $R_f = 0.12$ (CH_2Cl_2 /EtOAc, 10:1).

200 MHz-¹H-NMR ($CDCl_3$): $[\delta/ppm] = 7.74$ (d, 2H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H5,H6} = 6.8$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.59 (d, 2H, $^3J_{H1,H2} = ^3J_{H8,H7} = 7.3$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.42–7.25 (m, 4H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc), 5.59 (d, 1H, $^3J_{NH,Thr\alpha} = 8.8$ Hz, NH-Thr), 4.39

(d, 2H, $^3J = 6.8$ Hz, CH₂-Fmoc), 4.29-4.18 (m, 3H, H9-Fmoc, Thr^α, Thr^β), 2.11 (sb, 1H, OH), 1.47 (s, 9H, CH₃-^{*t*}Bu), 1.22 (d, 3H, $^3J_{\text{Thr}\gamma, \text{Thr}\beta} = 5.9$ Hz, Thr^γ).

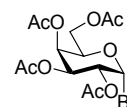
50.3 MHz-¹³C-NMR [BB] (CDCl₃): [δ/ppm] = 170.18 (C=O-Thr), 156.70 (C=O-Fmoc), 143.84, 143.72 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.25 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.65 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.03 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.07 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.93 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 82.57 (C(CH₃)₃), 68.24 (Thr^β), 67.14 (CH₂-Fmoc), 59.56 (Thr^α), 47.14 (C9-Fmoc), 27.97 (CH₃-^{*t*}Bu), 19.88 (Thr^γ).

FD-MS (positiv): [m/z] = 397.6 ([M]⁺, ber.: 397.2).

C₂₃H₂₇NO₅ (397.5)

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactopyranosyl-bromid (**83**)^[307]

(α -Ac₄Gal-Br)



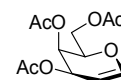
Eine Suspension von 0.5 g (3 mmol) D-Galactose (**25**) in 450 ml Essigsäureanhydrid wird mit 1.6 ml 60%iger Perchlorsäure versetzt. Anschließend gibt man portionsweise weitere 49.5 g (275 mmol) D-Galactose hinzu, wobei die Reaktionstemperatur durch gelegentliche Kühlung in einem Eisbad auf etwa 25 °C bis 30 °C gehalten wird. Nach beendeter Zugabe wird die Lösung 3 d bei Raumtemp. gerührt. Man tropft 225 ml einer 33%igen Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig innerhalb von 75 min zu und rührt den Ansatz weitere 15 h bei Raumtemperatur. Nach dem Verdünnen mit 450 ml Chloroform hydrolysiert man vorsichtig mit 300 ml Eiswasser und neutralisiert die Mischung durch Zugabe von festem Natriumhydrogencarbonat. Die organische Phase wird fünfmal mit je 150 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 150 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Das resultierende Rohprodukt wird nach Trocknung i. Hochvak. ohne Reinigung und Charakterisierung umgehend der nachfolgenden Reduktion zum entsprechenden Galactal **84** unterworfen.

Rohausbeute: 107.7 g (max. 262 mmol, 94 %); gelb-braunes Öl; $R_f = 0.40$ (PE/EtOAc, 1:1).

C₁₄H₁₉BrO₉ (411.2)

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-galactal (**84**)^[307, 308]

(Ac₃Galactal)



In 1000 ml Ethylacetat suspendiert man 190.0 g (2.91 mol, 11.1 Äquiv.) Zink, welches zuvor durch Aufschlänmen in 2 M Salzsäure aktiviert, mit Wasser gewaschen und mit

Diethylether getrocknet wurde. Die Suspension wird mit 21.0 ml (21.6 g, 0.26 mol, 1.0 Äquiv.) 1-Methylimidazol versetzt und zum Sieden erhitzt, bevor man eine Lösung von 107.7 g (max. 0.26 mol) rohem α -Ac₄Gal-Br (**83**) in 330 ml Ethylacetat unter kräftigem Rühren innerhalb von 3 h zutropft. Man erhitzt die Reaktionsmischung weitere 75 min zum Sieden, filtriert sie nach dem Abkühlen über Hyflo[®] und wäscht mehrmals mit Ethylacetat nach. Das Filtrat wird einmal mit 275 ml 2 M Salzsäure und zweimal mit je 350 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Den Rückstand reinigt man durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: PE/EtOAc, 2:1).

Ausbeute: 44.3 g (0.16 mol, 59 % bezogen auf D-Galactose), Lit.:^[307] 96 % Rohprodukt bezogen auf D-Galactose; farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{22} = -18$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.:^[360] $[\alpha]_D^{23} = -17$ ($c = 1.10$, CHCl₃), Lit.:^[361] $[\alpha]_D^{23} = -12$ ($c = 2$, CHCl₃); $R_f = 0.38$ (PE/EtOAc, 2:1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 6.41$ (dd, 1H, ³J_{H1,H2} = 6.3 Hz, ⁴J_{H1,H3} = 1.6 Hz, H1), 5.51 (m_c, 1H, H3), 5.38 (t^{*}d, 1H, ⁴J_{H4,H2} $\approx$ ³J_{H4,H5} $\approx$ 1.6 Hz, ³J_{H4,H3} = 4.7 Hz, H4), 4.68 (ddd, 1H, ³J_{H2,H1} = 6.3 Hz, ³J_{H2,H3} = 2.5 Hz, ⁴J_{H2,H4} = 1.6 Hz, H2), 4.28 (m_c, 1H, H5), 4.24-4.14 (m, 2H, H6a, H6b), 2.08, 2.04, 1.98 (3 x s, 9H, CH₃-Ac).

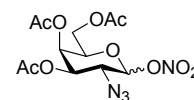
100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HMQC] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 170.48$, 170.21, 170.07 (C=O-Ac), 145.34 (C1), 98.76 (C2), 72.71 (C5), 63.81 (C3), 63.65 (C4), 61.85 (C6), 20.74, 20.67, 20.58 (CH₃-Ac).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 235.1$ ([M-AcOH+Na]⁺, ber.: 235.1),
295.2 ([M+Na]⁺, ber.: 295.1).

C₁₂H₁₆O₇ (272.3)

3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α,β -D-galactopyranosyl-nitrat (**85**)^[310]

(α,β -Ac₃GalN₃-ONO₂)



In eine Lösung von 11.7 g (43.0 mmol) Ac₃Galactal (**84**) in 200 ml absol. Acetonitril werden bei –25 °C unter Rühren 75.4 g (137.6 mmol, 3.2 Äquiv.) trockenes Cer(IV)-ammoniumnitrat und 4.5 g (69.1 mmol, 1.6 Äquiv.) trockenes Natriumazid im Argongegenstrom eingetragen. Die Reaktionsmischung wird 15 h bei –25 °C unter einer Argonatmosphäre gerührt, anschließend mit 250 ml eiskaltem Diethylether verdünnt und unter Eiskühlung mit 250 ml Eiswasser versetzt. Man trennt die Phasen, wäscht die organische dreimal mit je 200 ml Wasser, trocknet sie mit Magnesiumsulfat und entfernt

die Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird durch zügig durchgeführte Flash-chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: PE/EtOAc, 2:1) gereinigt, wobei das Produkt als Anomerengemisch erhalten wird ($\alpha:\beta = 1:1$, mittels NMR-Spektroskopie bestimmt).

Ausbeute: 9.2 g (24.4 mmol, 57 %), Lit.:^[310] etwa 69 % des Rohprodukts (NMR-spektroskopisch abgeschätzt); leicht gelblicher amorpher Feststoff; $R_f = 0.52$ (PE/EtOAc, 2:1).

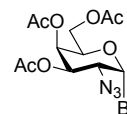
200 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): [δ/ppm] = 6.32 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 3.9$ Hz, H1-GalN ^{α}), 5.55 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 8.8$ Hz, H1-GalN ^{β}), 5.48 (d, 1H, $^3J_{H4,H3} = 2.0$ Hz, H4-GalN ^{α}), 5.37 (d, 1H, $^3J_{H4,H3} = 2.9$ Hz, H4-GalN ^{β}), 5.25 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 5.1$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 2.0$ Hz, H3-GalN ^{α}), 4.93 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.3$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 2.9$ Hz, H3-GalN ^{β}), 4.34 (t, 1H, $^3J_{H5,H6ab} = 6.6$ Hz, H5-GalN ^{α}), 4.17-4.02 (m, 6H, H2-GalN ^{α} , H5-GalN ^{β} , H6a-GalN ^{α} , H6b-GalN ^{α} , H6a-GalN ^{β} , H6b-GalN ^{β}), 3.80 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 8.8$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.3$ Hz, H2-GalN ^{β}), 2.15, 2.05, 2.05, 2.02, 2.01 (5 x s, 18H, CH₃-Ac).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 399.3 ([M+Na]⁺, ber.: 399.1).

C₁₂H₁₆N₄O₁₀ (376.3)

3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl-bromid (86)^[310]

(α -Ac₃GalN₃-Br)



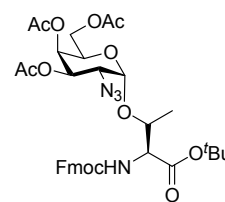
Unter kräftigem Rühren suspendiert man 13.33 g (153.5 mmol, 7.5 Äquiv.) trockenes Lithiumbromid in 120 ml absol. Acetonitril, gibt unter einer Argonatmosphäre eine Lösung von 7.66 g (20.4 mmol) α,β -Ac₃GalN₃-ONO₂ (**85**) in 40 ml absol. Acetonitril hinzu und rührt die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 15 h. Anschließend wird sie mit 230 ml Dichlormethan verdünnt. Überschüssiges Lithiumbromid wird abfiltriert und mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wird zweimal mit je 150 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. von den Lösungsmitteln befreit. Nach Trocknung i. Hochvak. setzt man das Rohprodukt ohne Reinigung und Charakterisierung umgehend in die nachfolgende Glycosylierungsreaktion ein.

Rohausbeute: 7.46 g (max. 18.9 mmol, 93 %), Lit.:^[310] 60 % nach Chromatographie; gelb-braunes Öl; $R_f = 0.51$ (PE/EtOAc, 2:1).

C₁₂H₁₆BrN₃O₇ (394.2)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (**87**)^[217]**

(Fmoc-Thr(α -Ac₃GalN₃)-O^tBu)



Eine Lösung von 8.09 g (20.35 mmol) Fmoc-Thr-O^tBu (**82**) in einer Mischung aus 70 ml absol. Dichlormethan und 60 ml absol. Toluol wird mit etwa 20 g gepulvertem Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Abkühlen der Mischung auf 0 °C gibt man 5.63 g (20.42 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **86**) trockenes Silbercarbonat im Argongegenstrom sowie eine Lösung von etwa 0.80 g (3.86 mmol, 0.2 Äquiv. bezogen auf **86**) wasserfreiem Silberperchlorat* in etwa 20 ml absol. Toluol zu. Der Ansatz wird 30 min bei 0 °C unter Lichtausschluss und einer Argonatmosphäre gerührt, bevor eine Lösung von 7.46 g (max. 18.93 mmol) rohem α -Ac₃GalN₃-Br (**86**) in einer Mischung aus 150 ml absol. Dichlormethan und 150 ml absol. Toluol innerhalb von 30 min zugetropft wird. Man lässt die Reaktionsmischung auf Raumtemp. erwärmen und rührt sie 42 h, wobei man nach 2 h weitere 6.00 g (21.76 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf **86**) Silbercarbonat und etwa 0.80 g (3.86 mmol, 0.2 Äquiv. bezogen auf **86**) Silberperchlorat zur Vervollständigung der Umsetzung hinzufügt. Anschließend werden 150 ml Dichlormethan zugegeben. Das Molekularsieb wird über Hyflo[®] abfiltriert und mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wird zweimal mit je 200 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zweimal mit je 150 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Man entfernt die Lösungsmittel i. Vak. und reinigt den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/EtOAc, 10:1).

Ausbeute: 6.71 g (9.44 mmol, 46 % bezogen auf **85**), Lit.:^[217] 47 %; farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{22} = +77$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.:^[217] $[\alpha]_D^{22} = +80$ ($c = 0.99$, CHCl₃); $R_f = 0.26$ (CH₂Cl₂/EtOAc, 10:1), $R_f = 0.61$ (Tol/EtOH, 5:1).

200 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.75$ (d, 2H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H5,H6} = 7.3$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.61 (d, 2H, $^3J_{H1,H2} = ^3J_{H8,H7} = 7.3$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.42-7.29 (m, 4H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc), 5.63 (d, 1H, $^3J_{NH,Thr\alpha} = 9.3$ Hz, NH-Thr), 5.45 (d, 1H, $^3J_{H4,H3} = 2.9$ Hz, H4-GalN), 5.32 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 11.2$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 2.9$ Hz, H3-GalN), 5.09 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 3.4$ Hz, H1-GalN), 4.44-4.26 (m, 6H, H5-GalN, H6a-GalN, H6b-GalN, H9-Fmoc, Thr ^{α} , Thr ^{β}), 4.12-4.06 (m, 2H, CH₂-Fmoc), 3.62 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 3.4$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 11.2$ Hz, H2-GalN), 2.13, 2.06, 2.03 (3 x s, 9H, CH₃-Ac), 1.48 (s, 9H, CH₃-^tBu), 1.34 (d, 3H, $^3J_{Thr\gamma,Thr\beta} = 6.8$ Hz, Thr ^{γ}).

* Das in käuflich zu erwerbendem Silberperchlorat enthaltene Hydratwasser wird durch sechsmaliges Kodestillieren mit jeweils etwa 30 ml absol. Toluol entfernt.

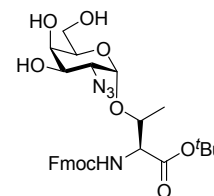
50.3 MHz- ^{13}C -NMR [BB] (CDCl_3): [δ/ppm] = 170.28, 169.93, 169.78, 169.15 (C=O-Ac, C=O-Thr), 156.78 (C=O-Fmoc), 143.84 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.23 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.65 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.05 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.24 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.91 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 99.15 (C1-GalN), 82.84 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 68.00, 67.47, 67.03 (C3-GalN, C4-GalN, C5-GalN, Thr $^\beta$, CH $_2$ -Fmoc), 61.73 (C6-GalN), 59.17 (Thr $^\alpha$), 57.67 (C2-GalN), 47.09 (C9-Fmoc), 27.93 (CH $_3$ - ^tBu), 20.57 (CH $_3$ -Ac), 18.88 (Thr $^\gamma$).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 314.2 ($[\text{Ac}_3\text{GalN}_3]^+$, ber.: 314.1), 677.4 ($[\text{M}-^t\text{Bu}+\text{H}+\text{Na}]^+$, ber.: 677.2), 733.4 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 733.3).

$\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_{12}$ (710.7)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (88)**^[219]

(Fmoc-Thr(α -GalN $_3$)-O ^tBu)



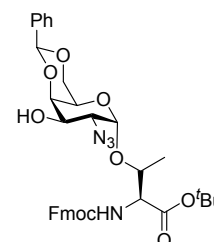
Man versetzt eine Lösung von 4.78 g (6.73 mmol) Fmoc-Thr(α -Ac $_3$ GalN $_3$)-O ^tBu (**87**) in 175 ml Methanol tropfenweise mit einer frisch hergestellten methanolischen Natriummethanolat-Lösung unter ständiger Kontrolle des pH-Werts, bis ein pH-Wert von 8.0 bis 8.5 erreicht ist. Die Reaktionsmischung wird 4 d bei Raumtemp. gerührt, wobei der pH-Wert regelmäßig durch Zugabe von weiterer methanolischer Natriummethanolat-Lösung nachreguliert werden muss. Anschließend wird die Lösung durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst[®] 15 neutralisiert. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und mehrmals mit Methanol gewaschen, und das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Nach dem Trocknen des Rohprodukts i. Hochvak. setzt man es ohne Reinigung und Charakterisierung weiter um.

Rohausbeute: 3.60 g (max. 6.16 mmol, 92 %); leicht gelblicher amorpher Feststoff; R_f = 0.23 (Tol/EtOH, 5:1).

$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_9$ (584.6)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-azido-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (89)**^[219]

(Fmoc-Thr(α -4,6-Bzn-GalN $_3$)-O ^tBu)



Eine Mischung aus 3.56 g (max. 6.09 mmol) rohem Fmoc-Thr(α -GalN $_3$)-O ^tBu (**88**) und 2.49 g (16.36 mmol, 2.7 Äquiv.) Benz-

aldehyddimethylacetal in 200 ml Acetonitril wird mit 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat so lange versetzt, bis ein pH-Wert von 3.5 erreicht ist. Man rührt den Ansatz 2 d bei Raumtemp. und neutralisiert ihn dann durch tropfenweise Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin unter ständiger Kontrolle des pH-Werts. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 3:1) gereinigt.

Ausbeute: 3.04 g (4.52 mmol, 67 % bezogen auf **87**), Lit.:^[219] 49 % bezogen auf **87**; farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{22} = +107$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.:^[219] $[\alpha]_D^{23} = +104$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.26$ (PE/EtOAc, 2:1), $R_f = 0.13$ (^cHex/EtOAc, 3:1), $R_f = 0.55$ (Tol/EtOH, 5:1).

200 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.75$ (d, 2H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H5,H6} = 7.3$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.62 (d, 2H, $^3J_{H1,H2} = ^3J_{H8,H7} = 7.3$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.51-7.26 (m, 9H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc, H_{Ar}-Ph), 5.74 (d, 1H, $^3J_{NH,Thr\alpha} = 9.8$ Hz, NH-Thr), 5.57 (s, 1H, CH-Bzn), 5.09 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 3.4$ Hz, H1-GalN), 4.48-4.05 (m, 9H, H3-GalN, H4-GalN, H6a-GalN, H6b-GalN, H9-Fmoc, CH₂-Fmoc, Thr^α, Thr^β), 3.79 (s, 1H, H5-GalN), 3.56 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 3.4$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.7$ Hz, H2-GalN), 1.49 (s, 9H, CH₃-^tBu), 1.29 (d, 3H, $^3J_{Thr\gamma,Thr\beta} = 6.4$ Hz, Thr^γ).

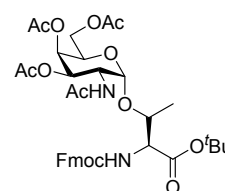
50.3 MHz-¹³C-NMR [BB] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 169.19$ (C=O-Thr), 156.79 (C=O-Fmoc), 143.90, 143.77 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.25 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 137.18 (C_{ipso}-Bzn), 129.34, 128.29, 127.67, 127.06, 127.03 (C2-Fmoc, C3-Fmoc, C6-Fmoc, C7-Fmoc, C_{o,m,p}-Ph), 126.14 (C_{o,m,p}-Ph), 125.20 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.93 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 101.21 (CH-Bzn), 99.39 (C1-GalN), 82.79 (C(CH₃)₃), 75.88, 75.37 (C3-GalN, C4-GalN, Thr^β), 69.12 (C6-GalN), 67.25 (CH₂-Fmoc), 63.21 (C5-GalN), 61.01 (C2-GalN), 59.22 (Thr^α), 47.13 (C9-Fmoc), 27.94 (CH₃-^tBu), 19.17 (Thr^γ).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 276.3$ ([4,6-Bzn-GalN₃]⁺, ber.: 276.1), 342.2 ([Fmoc-Thr-O^tBu]-^tBu+2H]⁺, ber.: 342.1), 639.3 ([M-^tBu+H+Na]⁺, ber.: 639.2), 695.5 ([M+Na]⁺, ber.: 695.3).

C₃₆H₄₀N₄O₉ (672.7)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (**90**)**
(Fmoc-Thr(α -Ac₃GalNAc)-O^tBu)

In einer Mischung aus 80 ml Essigsäure, 160 ml Essigsäureanhydrid und 240 ml Tetrahydrofuran werden 9.20 g (12.9 mmol) Fmoc-



Thr(α -Ac₃GalN₃)-O^tBu (**87**) gelöst und mit 8.90 g (136.1 mmol, 10.5 Äquiv.) Zink versetzt, welches zuvor durch Aufschlämmen in 300 ml einer 2%igen Kupfer(II)-sulfat-Lösung aktiviert, mit Wasser gewaschen und mit Diethylether getrocknet wurde. Man rührt die Suspension bei Raumtemp. 2 h, anschließend gibt man 300 ml Tetrahydrofuran hinzu, filtriert das Zink über Hyflo[®] ab und wäscht mehrmals mit Tetrahydrofuran nach. Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit, Essigsäure sowie Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt, und der Rückstand wird dreimal mit je 50 ml Toluol kodestilliert. Man nimmt das resultierende Rohprodukt in 150 ml Dichlormethan auf und wäscht die Lösung dreimal mit je 75 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zweimal mit je 75 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand reinigt man durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 3:4).

Ausbeute: 7.21 g (9.92 mmol, 77 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{32} = +62$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.:^[217] $[\alpha]_D^{22} = +63$ ($c = 1.03$, CHCl₃); $R_f = 0.54$ (^cHex/EtOAc, 1:4), $R_f = 0.21$ (^cHex/EtOAc, 3:4).

300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.76$ (d, 2H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H5,H6} = 7.4$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.62 (d, 2H, $^3J_{H1,H2} = ^3J_{H8,H7} = 7.4$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.41-7.29 (m, 4H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc), 6.00 (d, 1H, $^3J_{NH,H2} = 9.6$ Hz, NH-GalN), 5.57 (d, 1H, $^3J_{NH,Thr\alpha} = 9.2$ Hz, NH-Thr), 5.36 (sb, 1H, H4-GalN), 5.07 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 11.4$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 2.9$ Hz, H3-GalN), 4.86 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 3.3$ Hz, H1-GalN), 4.59 (dt*, 1H, $^3J_{H2,H1} = 3.3$ Hz, $^3J_{H2,H3} \approx ^3J_{H2,NH} \approx 11.0$ Hz, H2-GalN), 4.50-4.38 (m, 2H, CH₂-Fmoc), 4.27-4.02 (m, 6H, H5-GalN, H6a-GalN, H6b-GalN, H9-Fmoc, Thr ^{α} , Thr ^{β}), 2.14, 2.02, 1.98 (3 x s, 12H, CH₃-Ac), 1.44 (s, 9H, CH₃-^tBu), 1.30 (d, 3H, $^3J_{Thr\gamma,Thr\beta} = 6.2$ Hz, Thr ^{γ}).

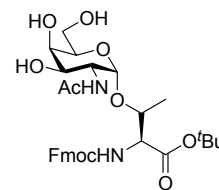
75.5 MHz-¹³C-NMR [BB, DEPT] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 170.87, 170.32, 170.28, 169.95$ (C=O-Ac, C=O-Thr), 156.44 (C=O-Fmoc), 143.71 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.30 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.76 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.08 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 125.08, 125.02 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.01, 119.98 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 99.91 (C1-GalN), 83.20 (C(CH₃)₃), 76.99 (Thr ^{β}), 68.67, 67.38, 67.34 (C3-GalN, C4-GalN, C5-GalN), 67.27 (CH₂-Fmoc), 62.08 (C6-GalN), 58.89 (Thr ^{α}), 47.32, 47.17 (C2-GalN, C9-Fmoc), 28.06 (CH₃-^tBu), 23.17, 20.70, 20.60 (CH₃-Ac), 18.52 (Thr ^{γ}).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 749.5$ ($[M+Na]^+$, ber.: 749.3).

C₃₇H₄₆N₂O₁₃ (726.8)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (91)^[217]**

(Fmoc-Thr(α -GalNAc)-O^tBu)



Eine Lösung von 5.90 g (8.12 mmol) Fmoc-Thr(α -Ac₃GalNAc)-O^tBu (**90**) in 250 ml Methanol wird unter ständiger Kontrolle des pH-Werts tropfenweise mit einer frisch hergestellten methanolischen Natriummethanolat-Lösung versetzt, bis ein pH-Wert von 8.0 bis 8.5 erreicht ist, und 2 d bei Raumtemp. gerührt. Dabei muss der pH-Wert regelmäßig durch Zugabe von weiterer methanolischer Natriummethanolat-Lösung nachreguliert werden. Anschließend neutralisiert man die Reaktionsmischung durch Zugabe von saurem Ionenaustauscher Amberlyst® 15, filtriert den Ionenaustauscher ab, wäscht ihn mehrmals mit Methanol und befreit das Filtrat i. Vak. vom Lösungsmittel. Nach Trocknung i. Hochvak. wird das Rohprodukt ohne Reinigung und vollständige Charakterisierung weiter umgesetzt.

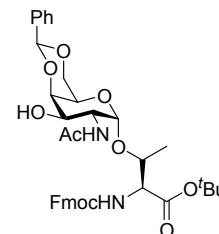
Rohausbeute: 4.65 g (max. 7.74 mmol, 95 %), Lit.:^[217] 75 % nach Chromatographie; leicht gelblicher amorpher Feststoff; R_f = 0.20 (Tol/EtOH, 5:1).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 623.2$ ($[M+Na]^+$, ber.: 623.3).

C₃₁H₄₀N₂O₁₀ (600.7)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-(2-acetamido-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonin-*tert*-butylester (92)^[219]**

(Fmoc-Thr(α -4,6-Bzn-GalNAc)-O^tBu)



Man löst 4.65 g (max. 7.74 mmol) rohes Fmoc-Thr(α -GalNAc)-O^tBu (**91**) in 250 ml Acetonitril, fügt 3.14 ml (3.17 g, 20.84 mmol, 2.7 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal hinzu und versetzt die Mischung so lange mit 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat, bis ein pH-Wert von 3.5 erreicht ist. Der Ansatz wird 3 d bei Raumtemp. gerührt und anschließend durch tropfenweise Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin unter ständiger Kontrolle des pH-Werts neutralisiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. reinigt man den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 2:5).

Ausbeute: 4.62 g (6.71 mmol, 83 % bezogen auf **90**), Lit.:^[219] 63 % bezogen auf **90**; farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{32} = +68$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.:^[219] $[\alpha]_D^{23} = +72$ ($c = 1.00$, CHCl₃); R_f = 0.27 (^cHex/EtOAc, 2:5), R_f = 0.15 (^cHex/EtOAc, 2:3), R_f = 0.53 (Tol/EtOH, 5:1).

300 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): [δ/ppm] = 7.76 (d, 2H, $^3J_{\text{H4,H3}} = ^3J_{\text{H5,H6}} = 7.4$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.61 (d, 2H, $^3J_{\text{H1,H2}} = ^3J_{\text{H8,H7}} = 7.4$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.52-7.49 (m, 2H, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.42-7.29 (m, 7H, H2-Fmoc, H7-Fmoc, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 6.50 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H2}} = 8.1$ Hz, NH-GalN), 5.55-5.49 (m, 2H, CH-Bzn {5.55, s}, NH-Thr {5.51, d, $^3J_{\text{NH,Thr}\alpha} = 9.2$ Hz}), 4.94 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 2.9$ Hz, H1-GalN), 4.51-4.43 (m, 3H, H2-GalN, CH_2 -Fmoc), 4.26-4.03 (m, 6H, H5-GalN, H6a-GalN, H6b-GalN, H9-Fmoc, Thr^α , Thr^β), 3.85 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.7$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 2.9$ Hz, H3-GalN), 3.69 (s, 1H, H4-GalN), 2.08 (s, 3H, CH_3 -Ac), 1.45 (s, 9H, CH_3 - ^tBu), 1.27 (d, 3H, $^3J_{\text{Thr}\gamma,\text{Thr}\beta} = 6.2$ Hz, Thr^γ).

75.5 MHz- ^{13}C -NMR [BB, DEPT] (CDCl_3): [δ/ppm] = 172.72, 170.74 (C=O-Ac, C=O-Thr), 156.44 (C=O-Fmoc), 143.74, 143.66 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.33, 141.30 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 137.48 ($\text{C}_{\text{ipso-Bzn}}$), 129.09, 128.19 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 127.79, 127.76 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.07 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 126.32 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 125.02 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.03, 120.00 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 101.16 (CH-Bzn), 100.36 (C1-GalN), 83.37 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 76.67 (Thr^β), 75.47 (C3-GalN), 69.56 (C4-GalN), 69.15 (CH_2 -Fmoc), 67.19 (C6-GalN), 63.64 (C5-GalN), 58.91 (Thr^α), 50.51 (C2-GalN), 47.18 (C9-Fmoc), 28.06 (CH_3 - ^tBu), 22.95 (CH_3 -Ac), 18.99 (Thr^γ).

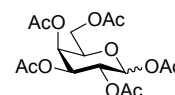
ESI-MS (Gerät 1, positiv): [m/z] = 711.4 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 711.3).

$\text{C}_{38}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_{10}$ (688.8)

5.7 Die Synthesen des Disaccharid-Threonin-Konjugats

1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- α,β -D-galactopyranose (93)

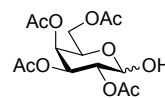
(α,β -Ac₄Gal-OAc)



Eine Suspension von 17.3 g (96.0 mmol) D-Galactose (**25**) in 360 ml Pyridin wird tropfenweise mit 180 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 17 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend werden Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt. Der Rückstand wird mehrmals mit Toluol kdestilliert und durch Flash-chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 4:3) gereinigt. Dabei wird das Produkt als Anomerengemisch erhalten.

Ausbeute: 37.4 g (95.8 mmol, quant.); farbloses zähes Öl; $R_f = 0.59$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 4:3), $R_f = 0.60$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1).

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ (390.3)

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α,β -D-galactopyranose (94)^[239] $(\alpha,\beta\text{-Ac}_4\text{Gal-OH})$ Methode A:

Man erwärmt eine Lösung von 17.70 g (45.3 mmol) $\alpha,\beta\text{-Ac}_4\text{Gal-OAc}$ (**93**) in 120 ml *N,N*-Dimethylformamid auf 50 °C und versetzt sie unter einer Argonatmosphäre mit 5.00 g (54.3 mmol, 1.2 Äquiv.) Hydrazinacetat. Die Reaktionsmischung wird 2½ h bei 50 °C gerührt und dann vom Lösungsmittel i. Hochvak. befreit. Der Rückstand wird dreimal mit je 30 ml Toluol kodestilliert und in 300 ml Ethylacetat aufgenommen. Man wäscht die Lösung zweimal mit je 100 ml Wasser, einmal mit 100 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und ein weiteres Mal mit 100 ml Wasser. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Den Rückstand reinigt man durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 3:1), und das resultierende Reinprodukt setzt man ohne Charakterisierung direkt in die nachfolgende Reaktion zum entsprechenden Trichloracetimidat **95** ein.

Ausbeute: 9.84 g (28.3 mmol, 62 %).

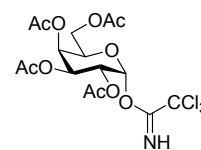
Methode B.^[239]

Eine Lösung von 1.68 ml (1.50 g, 24.9 mmol, 1.9 Äquiv.) Ethylendiamin in 25 ml Tetrahydrofuran wird langsam mit 1.65 ml (1.72 g, 28.6 mmol, 1.1 Äquiv. bezogen auf Ethylendiamin) Essigsäure versetzt, wobei sich ein farbloser Niederschlag abscheidet. Zu dieser Mischung tropft man eine Lösung von 5.10 g (13.1 mmol) $\alpha,\beta\text{-Ac}_4\text{Gal-OAc}$ (**93**) in 15 ml Tetrahydrofuran zu und rührt den Ansatz 19 h bei Raumtemperatur. Anschließend filtriert man den Feststoff ab und verdünnt das Filtrat mit 20 ml Wasser und 40 ml Dichlormethan. Die organische Phase wird abgetrennt, nacheinander mit 30 ml 2 M Salzsäure, 30 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 20 ml Wasser gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen der Lösungsmittel i. Vak. reinigt man den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: °Hex/EtOAc, 3:1) und setzt das resultierende Reinprodukt ohne vollständige Charakterisierung direkt in die nachfolgende Reaktion zum entsprechenden Trichloracetimidat **95** ein.

Ausbeute: 2.39 g (6.9 mmol, 53 %), Lit.:^[239] etwa 95-100 % (abgeschätzt durch DC).

farbloser amorpher Feststoff; R_f = 0.42 bzw. 0.36 (°Hex/EtOAc, 2:1).

$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ (348.3)

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactopyranosyl-trichloracetimidat (95) $(\alpha\text{-Ac}_4\text{Gal-OC(NH)CCl}_3)$ 

In 50 ml absol. Dichlormethan werden 2.30 g (6.60 mmol) α,β -Ac₄Gal-OH (**94**) gelöst und unter einer Argonatmosphäre mit 2.71 ml (3.90 g, 27.0 mmol, 4.1 Äquiv.) Trichloracetonitril und 5 Tropfen 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en versetzt. Man rührt die Reaktionsmischung 11 h bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre und entfernt dann das Lösungsmittel sowie überschüssiges Trichloracetonitril im Vakuum. Das Rohprodukt wird durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 2:1) gereinigt, wobei ausschließlich das reine α -Anomer erhalten wird.

Ausbeute: 2.90 g (5.89 mmol, 89 %, 55 % bezogen auf D-Galactose); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{30} = +109$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.:^[362] $[\alpha]_D^{20-22} = +116$; $R_f = 0.27$ (^cHex/EtOAc, 2:1).

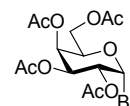
300 MHz-¹H-NMR (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 8.64$ (s, 1H, NH), 6.57 (d, 1H, ³ $J_{H1,H2} = 2.9$ Hz, H1-Gal'), 5.53 (sb, 1H, H4-Gal'), 5.40 (dd, 1H, ³ $J_{H2,H1} = 2.9$ Hz, ³ $J_{H2,H3} = 11.0$ Hz, H2-Gal'), 5.33 (dd, 1H, ³ $J_{H3,H2} = 11.0$ Hz, ³ $J_{H3,H4} = 3.3$ Hz, H3-Gal'), 4.41 (t*, 1H, ³ $J_{H5,H6a} \approx {}^3J_{H5,H6b} \approx 6.6$ Hz, H5-Gal'), 4.14 (dd, 1H, ³ $J_{H6a,H5} = 6.6$ Hz, ² $J_{H6a,H6b} = 11.2$ Hz, H6a-Gal'), 4.05 (dd, 1H, ³ $J_{H6b,H5} = 6.6$ Hz, ² $J_{H6b,H6a} = 11.2$ Hz, H6b-Gal'), 2.14, 2.00, 1.99, 1.99 (4 x s, 12H, CH₃-Ac).

75.5 MHz-¹³C-NMR [BB] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 170.26, 170.07, 170.04, 169.93$ (C=O-Ac), 160.93 (C=NH), 93.52 (C1-Gal'), 68.97, 67.49, 67.35, 66.89 (C2-Gal', C3-Gal', C4-Gal', C5-Gal'), 61.23 (C6-Gal'), 20.63, 20.60, 20.57, 20.51 (CH₃-Ac).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 514.2$ ([M+Na]⁺, ber.: 514.0),

555.2 ([M+CH₃CN+Na]⁺, ber.: 555.0).

C₁₆H₂₀Cl₃NO₁₀ (492.7)

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactopyranosyl-bromid (83)^[319, 320] $(\alpha\text{-Ac}_4\text{Gal-Br})$ 

Eine Lösung von 17.2 g (44.1 mmol) α,β -Ac₄Gal-OAc (**93**) in 30 ml Dichlormethan wird auf 0 °C abgekühlt und bei dieser Temperatur innerhalb von 1 h tropfenweise mit 55 ml einer 33%igen Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig versetzt. Man lässt den Ansatz auf Raumtemp. erwärmen und rührt ihn 48 h. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit 80 ml Dichlormethan verdünnt und auf 150 ml Eiswasser gegossen. Man trennt die Phasen, wäscht die organische zweimal mit je 60 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zweimal mit je 60 ml einer ges. Natriumthiosulfat-Lösung und trocknet sie mit

Magnesiumsulfat. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 4:1) gereinigt.

Ausbeute: 12.7 g (30.9 mmol, 70 %, 70 % bezogen auf D-Galactose), Lit.:^[320] 84 % (leicht verunreinigt); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{30} = +208$ ($c = 1.00$, CHCl_3), Lit.:^[363] $[\alpha]_D^{25} = +210$ ($c = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.34$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 3:1).

300 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 6.67$ (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 4.1$ Hz, H1-Gal'), 5.49 (d, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 2.2$ Hz, H4-Gal'), 5.37 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.7$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 3.3$ Hz, H3-Gal'), 5.02 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 4.1$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.7$ Hz, H2-Gal'), 4.46 (t*, 1H, $^3J_{\text{H5,H6a}} \approx ^3J_{\text{H5,H6b}} \approx 6.6$ Hz, H5-Gal'), 4.16 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 6.6$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 11.6$ Hz, H6a-Gal'), 4.08 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6b,H5}} = 7.0$ Hz, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = 11.4$ Hz, H6b-Gal'), 2.12, 2.08, 2.03, 1.98 (4 x s, 12H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$).

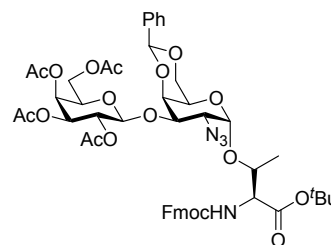
75.5 MHz- ^{13}C -NMR [BB] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 170.28, 170.02, 169.86, 169.71$ (C=O-Ac), 88.10 (C1-Gal'), 71.02, 67.95, 67.73, 66.95 (C2-Gal', C3-Gal', C4-Gal', C5-Gal'), 60.80 (C6-Gal'), 20.70, 20.60, 20.54, 20.51 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 331.0$ ($[\text{M-Br}]^+$, ber.: 331.1).

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{BrO}_9$ (411.2)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-2-azido-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonin-*tert*-butylester (96)**

(Fmoc-Thr[α -3-(β -Ac₄Gal)-4,6-Bzn-GalN₃]-O^tBu)



Variante A:

Eine Mischung aus 527 mg (0.783 mmol) Fmoc-Thr(α -4,6-Bzn-GalN₃)-O^tBu (**89**), 785 mg (1.593 mmol, 2.0 Äquiv.) α -Ac₄Gal-OC(NH)CCl₃ (**95**) und etwa 1 g Molekularsieb (3 Å) in 65 ml absol. 1,2-Dichlorethan wird 1 h bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre gerührt. Anschließend kühlt man den Ansatz auf -18 °C ab und gibt 0.014 ml (17 mg, 0.077 mmol, 0.05 Äquiv. bezogen auf **95**) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat hinzu. Die Reaktionsmischung wird 45 min bei einer Temperatur von -15 °C bis -20 °C gerührt, bei -15 °C dann mit Dichlormethan verdünnt und durch tropfenweise Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin unter ständiger Kontrolle des pH-Werts neutralisiert. Man filtriert das Molekularsieb ab, wäscht es mehrmals mit Dichlormethan und befreit das Filtrat i. Vak. von den Lösungsmitteln. Der Rückstand wird durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1) gereinigt, wobei

neben dem gewünschten Produkt 396 mg (0.395 mmol, 50 %) des entsprechenden Orthoesters **97** isoliert werden.

Ausbeute: 188 mg (0.187 mmol, 24 %).

Analytische Daten des Orthoesters **97**:

farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{22} = +117$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.40$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:1), $R_f = 0.15$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1).

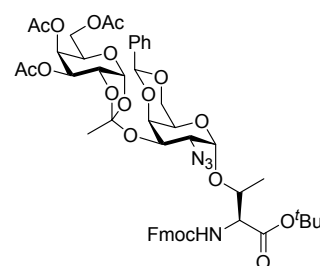
400 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.75$ (d, 2H, $^3J_{\text{H4,H3}} = ^3J_{\text{H5,H6}} = 7.4$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.61 (dd, 2H, $^4J_{\text{H1,H3}} = ^4J_{\text{H8,H6}} = 2.4$ Hz, $^3J_{\text{H1,H2}} = ^3J_{\text{H8,H7}} = 7.4$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.51 (d, 2H, $^3J = 7.4$ Hz, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.38-7.28 (m, 7H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.80 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 4.7$ Hz, H1-Gal'), 5.76 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,Thr}\alpha} = 9.4$ Hz, NH-Thr), 5.57 (s, 1H, CH-Bzn), 5.39 (dd, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 3.5$ Hz, $^3J_{\text{H4,H5}} = 2.1$ Hz, H4-Gal'), 5.10 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.5$ Hz, H1-GalN), 5.04 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 7.0$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 3.5$ Hz, H3-Gal'), 4.46-4.03 (m, 13H, H9-Fmoc, CH_2 -Fmoc, Thr $^{\alpha}$, Thr $^{\beta}$, H3-GalN {4.17, dd, $^3J_{\text{H3,H2}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{H3,H4}} = 3.5$ Hz}, H4-GalN, H6a-GalN, H6b-GalN, H2-Gal', H5-Gal', H6a-Gal', H6b-Gal'), 3.77 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.5$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 11.0$ Hz, H2-GalN), 3.74 (s, 1H, H5-GalN), 2.03, 2.03, 2.01 (3 x s, 9H, CH_3 -Ac), 1.82 (s, 3H, CH_3 -Orthoester), 1.48 (s, 9H, CH_3 - t Bu), 1.30 (d, 3H, $^3J_{\text{Thr}\gamma, \text{Thr}\beta} = 6.2$ Hz, Thr $^{\gamma}$).

50.3 MHz- ^{13}C -NMR [BB] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 170.36$, 169.99, 169.74, 169.19 (C=O-Ac, C=O-Thr), 156.73 (C=O-Fmoc), 143.88, 143.72 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.25 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 137.50 ($\text{C}_{\text{ipso-Bzn}}$), 129.04, 128.18, 127.68, 127.05, 127.00 (C2-Fmoc, C3-Fmoc, C6-Fmoc, C7-Fmoc, $\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 126.10 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 125.16 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.95 ($\text{C}_{\text{q-Orthoester}}$), 119.94 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.84 (CH-Bzn), 98.90 (C1-GalN), 97.84 (C1-Gal'), 82.78 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 75.77, 75.12 (C4-GalN, Thr $^{\beta}$), 73.07, 70.98 (C3-Gal', C5-Gal'), 69.39 (C3-GalN), 69.07 (C6-GalN, C2-Gal'), 67.22 (CH_2 -Fmoc), 65.63 (C4-Gal'), 63.05 (C5-GalN), 61.28 (C6-Gal'), 59.21 (Thr $^{\alpha}$), 58.50 (C2-GalN), 47.14 (C9-Fmoc), 27.93 (CH_3 - t Bu), 22.95 (CH_3 -Orthoester), 20.65, 20.39 (CH_3 -Ac), 19.05 (Thr $^{\gamma}$).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 331.2$ ($[\text{Ac}_4\text{Gal}]^+$,

ber.: 331.1), 1025.5 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1025.4).

$\text{C}_{50}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_{18}$ (1003.0)



Variante B:

In 65 ml absol. 1,2-Dichlorethan werden 548 mg (0.815 mmol) Fmoc-Thr(α -4,6-Bzn-GalN $_3$)-O t Bu (**89**) und 805 mg (1.634 mmol, 2.0 Äquiv.) α -Ac $_4$ Gal-OC(NH)CCl $_3$ (**95**) zusammen mit etwa 1 g Molekularsieb (3 Å) unter einer Argonatmosphäre 1 h bei

Raumtemp. gerührt. Man kühlt die Mischung auf $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ab, versetzt sie mit 0.015 ml (18 mg, 0.083 mmol, 0.05 Äquiv. bezogen auf **95**) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat und rührt sie 45 min bei einer Temperatur von $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Anschließend lässt man den Ansatz auf Raumtemp. erwärmen, verdünnt ihn mit Dichlormethan und neutralisiert ihn durch tropfenweise Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin unter ständiger Kontrolle des pH-Werts. Das Molekularsieb wird abfiltriert und mehrmals mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wird i. Vak. von den Lösungsmitteln befreit. Den Rückstand reinigt man durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1).

Ausbeute: 481 mg (0.480 mmol, 59 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{22} = +74$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.33$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:1), $R_f = 0.10$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:1).

200 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.76$ (d, 2H, $^3J_{\text{H4,H3}} = ^3J_{\text{H5,H6}} = 7.8\text{ Hz}$, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.62 (d, 2H, $^3J_{\text{H1,H2}} = ^3J_{\text{H8,H7}} = 6.8\text{ Hz}$, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.54-7.26 (m, 9H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.74 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,Thr}\alpha} = 9.3\text{ Hz}$, NH-Thr), 5.54 (s, 1H, CH-Bzn), 5.39 (d, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 3.4\text{ Hz}$, H4-Gal'), 5.30 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 7.8\text{ Hz}$, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.2\text{ Hz}$, H2-Gal'), 5.11 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.4\text{ Hz}$, H1-GalN), 5.02 (dd, 1H, $^3J_{\text{H3,H2}} = 10.2\text{ Hz}$, $^3J_{\text{H3,H4}} = 3.4\text{ Hz}$, H3-Gal'), 4.79 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 7.8\text{ Hz}$, H1-Gal'), 4.49-4.02 (m, 11H, CH_2 -Fmoc, H9-Fmoc, Thr^α , Thr^β , H3-GalN, H4-GalN, H6a-GalN, H6b-GalN, H6a-Gal', H6b-Gal'), 3.93 (t^* , 1H, $^3J_{\text{H5,H6a}} \approx ^3J_{\text{H5,H6b}} \approx 6.3\text{ Hz}$, H5-Gal'), 3.78 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.4\text{ Hz}$, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.7\text{ Hz}$, H2-GalN), 3.72 (s, 1H, H5-GalN), 2.15, 2.02, 2.02, 1.97 (4 x s, 12H, CH_3 -Ac), 1.48 (s, 9H, CH_3 - t^{Bu}), 1.31 (d, 3H, $^3J_{\text{Thr}\gamma,\text{Thr}\beta} = 6.3\text{ Hz}$, Thr^γ).

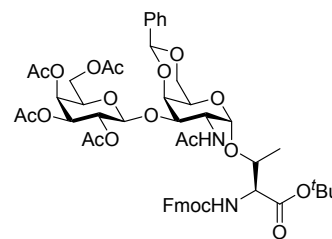
50.3 MHz- ^{13}C -NMR [BB] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 170.25$, 170.21, 170.09, 169.37, 169.15 (C=O-Ac, C=O-Thr), 156.79 (C=O-Fmoc), 143.90, 143.71 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.28 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 137.52 ($\text{C}_{\text{ipso-Bzn}}$), 128.90, 128.13, 127.73, 127.06, 127.00 (C2-Fmoc, C3-Fmoc, C6-Fmoc, C7-Fmoc, $\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 126.07 ($\text{C}_{o,m,p}\text{-Ph}$), 125.20, 125.12 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 119.99 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 102.47 (C1-Gal'), 100.63 (CH-Bzn), 99.57 (C1-GalN), 82.87 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 75.84, 75.69 (C3-GalN, C4-GalN, Thr^β), 71.02, 70.89 (C3-Gal', C5-Gal'), 69.05 (C6-GalN), 68.65 (C2-Gal'), 67.27 (CH_2 -Fmoc), 66.93 (C4-Gal'), 63.48 (C5-GalN), 61.34 (C6-Gal'), 59.19 (Thr^α), 59.00 (C2-GalN), 47.16 (C9-Fmoc), 27.96 (CH_3 - t^{Bu}), 20.67, 20.51 (CH_3 -Ac), 19.29 (Thr^γ).

ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 331.2$ ($[\text{Ac}_4\text{Gal}]^+$, ber.: 331.1), 606.3 ($[\text{3-(}\beta\text{-Ac}_4\text{Gal)-4,6-Bzn-GalN}_3]^+$, ber.: 606.2), 1025.5 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1025.4).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1025.3652$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1025.3644).

$\text{C}_{50}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_{18}$ (1003.0)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[2-acetamido-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-4,6-*O*-benzyliden-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonin-*tert*-butylester (**98**)**^[219]
(Fmoc-Thr[α -3-(β -Ac₄Gal)-4,6-Bzn-GalNAc]-O^tBu)



Durch Galactosylierung von Fmoc-Thr(α -4,6-Bzn-GalNAc)-O^tBu (**92**):^[219]

In einer Mischung aus 40 ml absol. Dichlormethan und 60 ml absol. Nitromethan werden 3.90 g (5.66 mmol) Fmoc-Thr(α -4,6-Bzn-GalNAc)-O^tBu (**92**) mit etwa 6 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 1 h bei Raumtemp. gerührt. Man gibt 4.40 g (17.42 mmol, 1.0 Äquiv. bezogen auf **83**) Quecksilber(II)-cyanid im Argongegenstrom hinzu und rührt den Ansatz weitere 30 min bei Raumtemperatur. Anschließend wird eine Lösung von 7.16 g (17.41 mmol, 3.1 Äquiv.) α -Ac₄Gal-Br (**83**) in einer Mischung aus 10 ml absol. Dichlormethan und 15 ml absol. Nitromethan langsam zugetropft und der Ansatz unter einer Argonatmosphäre 18 h bei Raumtemp. gerührt. Man verdünnt die Reaktionsmischung mit 25 ml Dichlormethan, filtriert sie über Hyflo[®] und wäscht mehrmals mit Dichlormethan nach. Das Filtrat wird zweimal mit je 25 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 25 ml einer ges. Natriumiodid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und i. Vak. von den Lösungsmitteln befreit. Das resultierende Rohprodukt reinigt man durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^cHex/EtOAc, 1:1).

Ausbeute: 4.11 mg (4.03 mmol, 71 %), Lit.:^[219] 63 %.

Durch Reduktion von Fmoc-Thr[α -3-(β -Ac₄Gal)-4,6-Bzn-GalN₃]-O^tBu (**96**):

Eine Lösung von 2.09 g (2.08 mmol) Fmoc-Thr[α -3-(β -Ac₄Gal)-4,6-Bzn-GalN₃]-O^tBu (**96**) in einer Mischung aus 15 ml Essigsäure, 30 ml Essigsäureanhydrid und 45 ml Tetrahydrofuran wird mit 1.50 g (22.94 mmol, 11.0 Äquiv.) Zink versetzt, welches zuvor durch Aufschlämmen in 50 ml einer 2%igen Kupfer(II)-sulfat-Lösung aktiviert, mit Wasser gewaschen und mit Diethylether getrocknet wurde. Man rührt die Suspension bei Raumtemp. 1 h, anschließend gibt man 80 ml Tetrahydrofuran hinzu, filtriert das Zink über Hyflo[®] ab und wäscht mehrmals mit Tetrahydrofuran nach. Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit, Essigsäure sowie Essigsäureanhydrid werden i. Hochvak. entfernt, und der Rückstand wird dreimal mit je 20 ml Toluol kodestilliert. Man nimmt das resultierende Rohprodukt in 50 ml Dichlormethan auf und wäscht die Lösung dreimal mit je 25 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zweimal mit je 25 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung. Nach dem Trocknen der organischen Phase mit Magnesiumsulfat

und dem Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. reinigt man den Rückstand durch Flash-chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:1).

Ausbeute: 1.41 g (1.39 mmol, 66 %).

farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{32} = +66$ ($c = 1.00$, CHCl_3), Lit.:^[219] $[\alpha]_D^{23} = +63$ ($c = 1.01$, CHCl_3); $R_f = 0.20$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 2:3), $R_f = 0.10$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:1).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.79$ (d, 2H, $^3J_{\text{H4,H3}} = ^3J_{\text{H5,H6}} = 7.4$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.64 (d, 2H, $^3J = 7.2$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.56-7.54 (m, 2H, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 7.45-7.32 (m, 7H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.94 (sb, 1H, NH-GalN), 5.62 (sb, 1H, NH-Thr), 5.57 (s, 1H, CH-Bzn), 5.40 (d, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 2.5$ Hz, H4-Gal'), 5.21 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 7.8$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.3$ Hz, H2-Gal'), 5.00-4.96 (m, 2H, H3-Gal' {5.00}, H1-GalN {4.96}), 4.76 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 7.0$ Hz, H1-Gal'), 4.70 (dt*, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.7$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} \approx ^3J_{\text{H2,NH}} \approx 10.6$ Hz, H2-GalN), 4.58-4.48 (m, 2H, CH_2 -Fmoc), 4.29-4.19 (m, 6H, H4-GalN {4.29}, H9-Fmoc {4.27}, Thr $^{\alpha}$ {4.24}, H6a-GalN {4.23}, H6a-Gal' {4.23}, Thr $^{\beta}$ {4.22}), 4.15-4.05 (m, 2H, H6b-Gal' {4.13, dd, $^3J_{\text{H6b,H5}} = 6.6$ Hz, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = 9.6$ Hz}, H6b-GalN {4.07}), 3.94-3.91 (m, 2H, H3-GalN {3.92}, H5-Gal' {3.92}), 3.70 (s, 1H, H5-GalN), 2.16, 2.05, 2.04, 2.01, 1.98 (5 x s, 15H, CH_3 -Ac), 1.46 (s, 9H, CH_3 - ^tBu), 1.28 (d, 3H, $^3J_{\text{Thr}^{\gamma},\text{Thr}^{\beta}} = 5.9$ Hz, Thr $^{\gamma}$).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 170.45$, 170.29, 170.16, 169.85, 169.46 (C=O-Ac, C=O-Thr), 156.52 (C=O-Fmoc), 143.67 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.34 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 137.53 ($\text{C}_{\text{ipso-Bzn}}$), 129.73, 128.98, 128.81, 128.18, 128.12, 127.80, 127.07, 126.19 (C2-Fmoc, C3-Fmoc, C6-Fmoc, C7-Fmoc, $\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 126.02 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$), 124.93 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.07 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 101.20 (C1-Gal'), 100.67 (CH-Bzn), 100.27 (C1-GalN), 83.17 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 76.11 (Thr $^{\beta}$), 75.53 (C4-GalN), 74.10 (C3-GalN), 70.87 (C3-Gal', C5-Gal'), 69.10 (C6-GalN), 68.70 (C2-Gal'), 67.00, 66.93 (C4-Gal', CH_2 -Fmoc), 63.68 (C5-GalN), 61.34 (C6-Gal'), 59.05 (Thr $^{\alpha}$), 47.97 (C2-GalN), 47.23 (C9-Fmoc), 28.07 (CH_3 - ^tBu), 23.28, 20.77, 20.70, 20.55, 20.49 (CH_3 -Ac), 18.97 (Thr $^{\gamma}$).

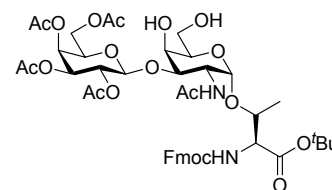
ESI-MS (Gerät 1, positiv): $[m/z] = 622.1$ ($[\text{3-(}\beta\text{-Ac}_4\text{Gal)-4,6-Bzn-GalNAc}]^+$, ber.: 622.2), 1041.1 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1041.4), 1057.0 ($[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 1057.4).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1041.3873$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1041.3845).

$\text{C}_{52}\text{H}_{62}\text{N}_2\text{O}_{19}$ (1019.1)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[2-acetamido-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl)- β -D-galactopyranosyl)-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonin-*tert*-butylester (99)**

(Fmoc-Thr[α -3-(β -Ac₄Gal)-GalNAc]-O^tBu)



Eine Lösung von 2.61 g (2.56 mmol) Fmoc-Thr[α -3-(β -Ac₄Gal)-4,6-Bzn-GalNAc]-O^tBu (**98**) in 80 ml 80%iger Essigsäure wird 1 h bei 80 °C gerührt. Anschließend lässt man die Reaktionsmischung auf Raumtemp. abkühlen, verdünnt sie mit 80 ml Toluol und entfernt Essigsäure sowie Toluol im Hochvakuum. Der Rückstand wird fünfmal mit je 80 ml Toluol kodestilliert und durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: EtOAc) gereinigt.

Ausbeute: 1.92 g (2.06 mmol, 81 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{27} = +52$ ($c = 1.00$, CHCl₃), Lit.:^[218] $[\alpha]_D^{23} = +44$ ($c = 1.00$, CH₂Cl₂); $R_f = 0.21$ (EtOAc), $R_f = 0.14$ (°Hex/EtOAc, 1:9), $R_f = 0.08$ (°Hex/EtOAc, 1:4); $R_t = 12$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-4).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.75$ (d, 2H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H5,H6} = 7.4$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.59 (d, 2H, $^3J_{H1,H2} = ^3J_{H8,H7} = 6.6$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.39 (t*, 2H, $^3J_{H3,H2} = ^3J_{H6,H7} \approx ^3J_{H3,H4} = ^3J_{H6,H5} \approx 7.4$ Hz, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.29 (t*, 2H, $^3J_{H2,H1} = ^3J_{H7,H8} \approx ^3J_{H2,H3} = ^3J_{H7,H6} \approx 7.0$ Hz, H2-Fmoc, H7-Fmoc), 5.95 (d, 1H, $^3J_{NH,H2} = 9.4$ Hz, NH-GalN), 5.50 (d, 1H, $^3J_{NH,Thr\alpha} = 9.4$ Hz, NH-Thr), 5.34 (d, 1H, $^3J_{H4,H3} = 3.1$ Hz, H4-Gal'), 5.16 (t*, 1H, $^3J_{H2,H1} \approx ^3J_{H2,H3} \approx 9.8$ Hz, H2-Gal'), 4.94 (db, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.2$ Hz, H3-Gal'), 4.81 (sb, 1H, H1-GalN), 4.59-4.44 (m, 4H, H1-Gal' {4.58}, H2-GalN {4.52}, CH₂-Fmoc {4.49}), 4.24-4.01 (m, 6H, H9-Fmoc {4.22}, Thr ^{α} {4.18}, Thr ^{β} {4.12}, H6a-Gal' {4.12}, H4-GalN {4.08}, H6b-Gal' {4.06}), 3.91-3.76 (m, 4H, H6a-GalN {3.88}, H5-Gal' {3.88}, H5-GalN {3.81}, H6b-GalN {3.77}), 3.67 (db, 1H, $^3J_{H3,H2} = 9.8$ Hz, H3-GalN), 2.13, 2.05, 2.00, 1.97, 1.95 (5 x s, 15H, CH₃-Ac), 1.42 (s, 9H, CH₃-^tBu), 1.25 (d, 3H, $^3J_{Thr\gamma,Thr\beta} = 6.3$ Hz, Thr ^{γ}).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HMQC] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 170.37, 170.20, 170.13, 169.88, 169.52$ (C=O-Ac, C=O-Thr), 156.34 (C=O-Fmoc), 143.68 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.30 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.81 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.05 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 124.86 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.03 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 101.55 (C1-Gal'), 100.00 (C1-GalN), 83.18 (C(CH₃)₃), 77.80 (C3-GalN), 76.19 (Thr ^{β}), 70.77 (C5-Gal'), 70.61 (C3-Gal'), 69.85 (C5-GalN), 69.46 (C4-GalN), 68.47 (C2-Gal'), 66.85 (C4-Gal'), 66.77 (CH₂-Fmoc), 62.69 (C6-GalN), 61.21 (C6-Gal'), 58.99 (Thr ^{α}), 47.48 (C2-GalN), 47.21 (C9-Fmoc), 28.02 (CH₃-^tBu), 23.26, 20.67, 20.59, 20.56, 20.50 (CH₃-Ac), 18.68 (Thr ^{γ}).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 953.5$ ($[M+Na]^+$, ber.: 953.4).

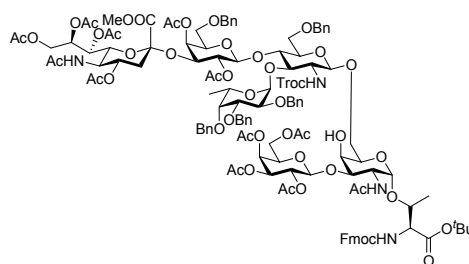
HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 953.3519$ ($[M+Na]^+$, ber.: 953.3532).

$C_{45}H_{58}N_2O_{19}$ (930.9)

5.8 Die Synthesen des Hexasaccharid-Threonin-Konjugats und seines Mimetikums

5.8.1 Die Synthese des Sialyl-Lewis^x enthaltenden Glycosylaminosäure-Bausteins

N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[2-acetamido-6-*O*-(4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy- α -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- β -D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-{2,2,2-trichlorethoxycarbonylamino}- β -D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonin-*tert*-butylester (100)



(Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₆Bn₅(Fuc)SLe^xNTrocCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-GalNAc]-O^tBu)

Eine Lösung von 1.984 g (1.093 mmol) α,β -Ac₆Bn₅(Fuc)SLe^xNTrocCOOMe-OC(NH)CCl₃ (**71**) und 1.221 g (1.312 mmol, 1.2 Äquiv.) Fmoc-Thr[α -3-(β -Ac₄Gal)-GalNAc]-O^tBu (**99**) in 100 ml absol. Dichlormethan wird mit etwa 2 g Molekularsieb (4 Å) unter einer Argonatmosphäre 30 min bei Raumtemp. gerührt. Man kühlt das Gemisch auf –40 °C ab und tropft 1 ml (0.054 mmol, 0.05 Äquiv. bezogen auf **71**) einer vorgekühlten Mischung aus 0.21 ml Trimethylsilyltrifluormethansulfonat und 20 ml absol. Dichlormethan innerhalb von 5 min zu. Der Ansatz wird auf –30 °C erwärmt und bei dieser Temperatur 4 h gerührt, wobei nach 3 h weitere 0.5 ml (0.027 mmol, 0.025 Äquiv. bezogen auf **71**) der Mischung aus Trimethylsilyltrifluormethansulfonat und Dichlormethan zur Vervollständigung der Umsetzung zugetropft werden. Anschließend wird die Reaktionsmischung bei –30 °C durch tropfenweise Zugabe einer Lösung von *N*-Ethyl-diisopropylamin in Dichlormethan unter ständiger Kontrolle des pH-Werts neutralisiert. Das Molekularsieb wird abfiltriert und fünfmal mit je 60 ml Dichlormethan gewaschen. Man wäscht das Filtrat nacheinander mit 60 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 60 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung, extrahiert die vereinigten wässrigen

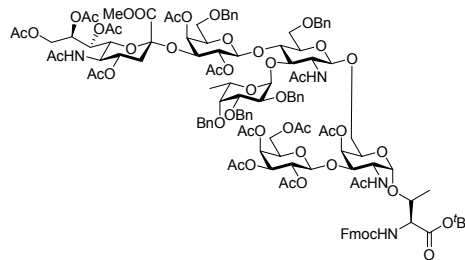
Phasen dreimal mit je 60 ml Dichlormethan und trocknet die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:7) gereinigt, wobei neben dem gewünschten Produkt 0.148 g (0.082 mmol, 7 %) des eingesetzten Glycosyldonors **71** sowie 1.670 g (0.646 mmol, 59 %) der in der 4-Position des Galactosamins glycosylierten Verbindung **101** erhalten werden.

Ausbeute: 0.663 g (0.257 mmol, 23 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{26} = -4$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.12$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:9), $R_f = 0.06$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:7); $R_t = 38$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-4).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY, TOCSY, NOESY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.78$ (d, 2H, $^3J_{\text{H4,H3}} = ^3J_{\text{H5,H6}} = 7.2$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.64 (d, 2H, $^3J_{\text{H1,H2}} = ^3J_{\text{H8,H7}} = 6.8$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.42-7.21 (m, 29H, H2-Fmoc, H3-Fmoc, H6-Fmoc, H7-Fmoc, H_{Ar}-Ph), 5.59-5.53 (m, 3H, H8-Sia {5.56}, NH-Thr {5.56}, NH-GlcN {5.53}), 5.40-5.36 (m, 2H, H7-Sia {5.38, dd, $^3J_{\text{H7,H6}} = 2.7$ Hz, $^3J_{\text{H7,H8}} = 9.4$ Hz}, H4-Gal' {5.36}), 5.23-5.17 (m, 4H, NH-Sia {5.22}, NH-GalN {5.20}, H1-Fuc {5.19}, H2-Gal' {5.19, dd, $^3J_{\text{H2,H1}} = 8.1$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.5$ Hz}), 5.06 (d, 1H, $^3J_{\text{H4,H3}} = 3.5$ Hz, H4-Gal), 4.98-4.86 (m, 4H, H3-Gal' {4.96}, CH₂-Bn {4.94, d, $^2J = 11.7$ Hz}, H2-Gal {4.93}, H4-Sia {4.93}), 4.82-4.46 (m, 18H, H1-GlcN {4.81, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.0$ Hz}, H1-Gal {4.81, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 8.0$ Hz}, H1-GalN {4.72}, H1-Gal' {4.60}, H3-Gal {4.57}, CH₂-Fmoc {4.52}, H2-GalN {4.51}, H5-Fuc {4.48}, CH₂-Bn), 4.40 (d, 1H, $^2J = 11.9$ Hz, CH₂-Bn), 4.32-4.24 (m, 3H, CH₂-Bn {4.28, d, $^2J = 11.8$ Hz}, H9-Fmoc {4.28}, H9a-Sia {4.25}), 4.20-3.99 (m, 9H, H3-GlcN {4.18}, Thr ^{α} {4.17}, H6a-Gal' {4.11}, Thr ^{β} {4.10}, H2-Fuc {4.09}, H6b-Gal' {4.07}, H5-Sia {4.03}, H4-GlcN {4.01}, H9b-Sia {4.01}), 3.97-3.81 (m, 10H, H6a-GalN {3.96}, H4-GalN {3.93}, H3-Fuc {3.90}, H5-Gal' {3.90}, H5-GalN {3.88}, COOCH₃ {3.84, s}, H6a-GlcN {3.81}, H6b-GlcN {3.81}), 3.75 (m_c, 1H, H5-Gal), 3.67-3.55 (m, 5H, H6b-GalN {3.66}, H3-GalN {3.65}, H6-Sia {3.60}, H4-Fuc {3.59}, H5-GlcN {3.55}), 3.48 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 5.3$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 9.4$ Hz, H6a-Gal), 3.33-3.24 (m, 2H, H6b-Gal {3.31, t^{*}, $^3J_{\text{H6b,H5}} \approx ^2J_{\text{H6b,H6a}} \approx 9.4$ Hz}, H2-GlcN {3.27}), 2.55 (dd, 1H, $^2J_{\text{H3äq,H3ax}} = 12.6$ Hz, $^3J_{\text{H3äq,H4}} = 4.6$ Hz, H3_{äq}-Sia), 2.20, 2.14, 2.08, 2.07, 2.05, 2.05, 2.03, 2.01, 1.98, 1.97, 1.86, 1.83 (11 x s, 36H, CH₃-Ac), 1.70 (t^{*}, 1H, $^2J_{\text{H3ax,H3äq}} \approx ^3J_{\text{H3ax,H4}} \approx 12.4$ Hz, H3_{ax}-Sia), 1.47 (s, 9H, CH₃-^{*t*}Bu), 1.20 (d, 6H, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = ^3J_{\text{Thr}\gamma,\text{Thr}\beta} = 6.3$ Hz, H6a,b,c-Fuc, Thr ^{γ}).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 171.16$, 170.86, 170.45, 170.31, 170.25, 170.14, 170.07, 170.04, 169.75, 169.57, 169.47 (C=O-Ac, C=O-Thr), 167.75 (C1-Sia), 156.47 (C=O-Fmoc), 153.48 (C=O-Troc), 143.69, 143.67 (C1a-Fmoc,

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-*D*-glycero- α -*D*-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- β -*D*-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -*L*-fucopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-galactopyranosyl)-4-*O*-acetyl-2-desoxy- α -*D*-galactopyranosyl]-*L*-threonin-*tert*-butylester (102)**



(Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₆Bn₅(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-O^tBu)

Abspaltung der Troc-Gruppe: In 35 ml Essigsäure werden 0.374 g (0.145 mmol) Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₆Bn₅(Fuc)SLe^xNTrocCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-GalNAc]-O^tBu (**100**) gelöst und mit etwa 1.5 g Zink versetzt, welches zuvor durch Aufschlämmen in 2 M Salzsäure aktiviert, mit Wasser sowie mit Methanol gewaschen und mit Diethylether getrocknet wurde. Man rührt die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 19 h, filtriert sie anschließend über Hyflo[®] und wäscht gründlich mit Essigsäure nach. Das Filtrat wird i. Hochvak. vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand dreimal mit Toluol kodestilliert.

Analytische Daten des Rohprodukts: R_f = 15 min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-4).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1226.5$ ($[M+2Na]^{2+}$, ber.: 1226.5),

2430.0 ($[M+Na]^+$, ber.: 2429.9).

C₁₂₂H₁₅₀N₄O₄₆ (2408.5)

Acetylierung: Zu einer Lösung des Rohprodukts in 60 ml Pyridin gibt man 20 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt die Mischung bei Raumtemp. 40 h. Anschließend werden Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt, und der Rückstand wird viermal mit Toluol kodestilliert. Man versetzt ihn mit 20 ml Essigsäure, um Reste von Pyridin in das entsprechende Salz zu überführen. Die überschüssige Essigsäure wird i. Hochvak. abdestilliert und der Rückstand erneut dreimal mit Toluol kodestilliert, bevor man ihn in 100 ml Dichlormethan aufnimmt. Diese Lösung wird viermal mit je 50 ml Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden viermal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Man destilliert das Lösungsmittel i. Vak. ab, unterzieht den Rückstand zur Entfernung letzter Pyridinreste einer Gefriertrocknung und reinigt das resultierende Rohprodukt schließlich durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 20:1).

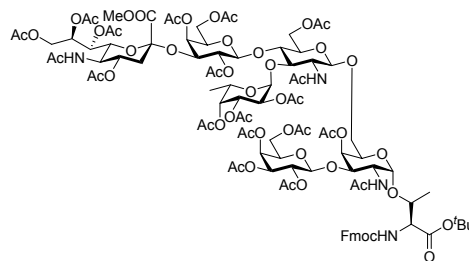
Ausbeute: 0.223 g (0.089 mmol, 62 % bezogen auf **100**); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23} = -18$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.20$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 20:1); $R_t = 30$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-4).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1268.5$ ($[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$, ber.: 1268.5),
2513.9 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 2514.0).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 2513.9585$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 2513.9630).

$\text{C}_{126}\text{H}_{154}\text{N}_4\text{O}_{48}$ (2492.6)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-fucopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- β -D-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-4-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonin-*tert*-butylester (**103**)**



(Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₁₁(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-O^tBu)

Debenzylierung: Eine Mischung aus 5.0 ml Essigsäure und 0.3 ml Wasser wird durch mehrmaliges Evakuieren im Wasserstrahlvakuum und Fluten mit Argon gründlich entgast. Man gibt eine größere Spatelspitze Palladium(II)-hydroxid (15-20 %) auf Aktivkohle hinzu, entgast die Mischung erneut gründlich und setzt sie schließlich einer Wasserstoffatmosphäre aus. In einem zweiten Kolben löst man 533 mg (0.214 mmol) Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₆Bn₅(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-O^tBu (**102**) in 50 ml Methanol, entgast auch diese Lösung gründlich und überführt sie unter Sauerstoffausschluss in den Kolben, der den Katalysator enthält. Unter einer Wasserstoffatmosphäre wird der Ansatz 3 d bei Raumtemp. gerührt, bevor die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre ausgetauscht und die Mischung über eine Kartusche filtriert wird, welche mit 500 mg eines C18-Säulenmaterials gefüllt ist.* Man spült die kleine Säule mehrmals mit reinem Methanol bzw. mit einem Gemisch aus Methanol und Wasser (V:V = 1:1) und befreit das Filtrat i. Vak. sowie i. Hochvak. von den Lösungsmitteln. Der Rückstand wird einige Male mit Toluol kodestilliert und ohne Reinigung direkt weiter umgesetzt.

* Die mit 500 mg eines C18-Säulenmaterials mit einer Porengröße von 54 Å gefüllten Kartuschen wurden von der Firma *International Sorbent Technology*, Hengoed (UK) bezogen.

Analytische Daten des Rohprodukts: R_f (RP-DC) = 0.49 (CH₃CN/H₂O, 14:9 mit wenigen Tropfen AcOH).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z]$ = 1819.8 ($[M+H]^+$, ber.: 1819.7),
1841.8 ($[M+Na]^+$, ber.: 1841.7).

C₇₆H₁₁₄N₄O₄₆ (1819.7)

Wiederanknüpfung der Fmoc-Gruppe: Das Rohprodukt der Debenzylierung wird zusammen mit 80 mg (0.237 mmol, 1.1 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat in 25 ml Dichlormethan gelöst und so lange mit *N*-Ethyldiisopropylamin versetzt, bis ein pH-Wert von 9.0 bis 9.5 erreicht ist. Man rührt die Reaktionsmischung 6 h bei Raumtemp. und entfernt dann das Lösungsmittel im Vakuum. Ohne Reinigung wird das Rohprodukt in die nachfolgende Acetylierung eingesetzt.

Analytische Daten des Rohprodukts: R_f (RP-DC) = 0.21 (CH₃CN/H₂O, 14:9 mit wenigen Tropfen AcOH); R_t = 20 min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-4).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z]$ = 2063.8 ($[M+Na]^+$, ber.: 2063.7),
2170.9 ($[M+DIPEA+H]^+$, ber.: 2170.9).

C₉₁H₁₂₄N₄O₄₈ (2042.0)

Acetylierung: Man löst das Rohprodukt in 20 ml Pyridin, fügt 10 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 3 d. Anschließend werden Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt. Der Rückstand wird mehrmals mit Toluol kodestilliert und schließlich durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 50:3) gereinigt, wobei man neben dem gewünschten Produkt 108 mg (0.052 mmol, 24 % bezogen auf **102**) der an der Aminofunktion des Threonins acetylierten Verbindung **104** isoliert.

Ausbeute: 165 mg (0.073 mmol, 34 % bezogen auf **102**); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23} = -16$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.54$ (CH₂Cl₂/MeOH, 25:2), $R_f = 0.19$ (CH₂Cl₂/MeOH, 50:3); $R_t = 16$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-4), $R_t = 35$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY, TOCSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm]$ = 7.78 (d, 2H, ³J_{H4,H3} = ³J_{H5,H6} = 7.6 Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.62 (d, 2H, ³J_{H1,H2} = ³J_{H8,H7} = 7.2 Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.41 (t*, 2H, ³J_{H3,H2} ≈ ³J_{H3,H4} ≈ ³J_{H6,H5} ≈ ³J_{H6,H7} ≈ 7.4 Hz, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.33 (t*, 2H, ³J_{H2,H1} ≈ ³J_{H2,H3} ≈ ³J_{H7,H6} ≈ ³J_{H7,H8} ≈ 7.4 Hz, H2-Fmoc, H7-Fmoc), 6.02 (d, 1H, ³J_{NH,H2} = 9.6 Hz, NH-GalN), 5.85 (sb, 1H, NH-GlcN), 5.69 (d, 1H, ³J_{NH,Thrα} = 8.6 Hz, NH-Thr), 5.50 (mc, 1H, H8-Sia), 5.44 (dd, 1H, ³J_{H7,H6} = 2.7 Hz, ³J_{H7,H8} = 9.7 Hz, H7-Sia), 5.36-5.34 (m, 2H, H1-Fuc {5.36, d, ³J_{H1,H2} = 3.9 Hz}, H4-Gal'

{5.34, d, $^3J_{H4,H3} = 3.1$ Hz}), 5.31 (d, 1H, $^3J_{H4,H3} = 2.4$ Hz, H4-Fuc), 5.25 (sb, 1H, H4-GalN), 5.20 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.9$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.2$ Hz, H3-Fuc), 5.12 (d, 1H, $^3J_{NH,H5} = 10.2$ Hz, NH-Sia), 5.06 (dd, 1H, $^3J_{H2,H1} = 7.7$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.5$ Hz, H2-Gal'), 5.00-4.84 (m, 6H, H2-Fuc {4.98}, H4-Gal {4.94}, H5-Fuc {4.93}, H3-Gal' {4.92}, H2-Gal {4.89}, H4-Sia {4.87}), 4.80 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 2.9$ Hz, H1-GalN), 4.70 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 8.0$ Hz, H1-Gal), 4.63 (d, 1H, $^2J_{H6a,H6b} = 11.1$ Hz, H6a-GlcN), 4.56-4.43 (m, 6H, H1-GlcN {4.55}, H1-Gal' {4.55}, H3-Gal {4.53}, CH_{2a}-Fmoc {4.53}, H2-GalN {4.48}, CH_{2b}-Fmoc {4.45}), 4.36 (dd, 1H, $^3J_{H6a,H5} = 6.7$ Hz, $^2J_{H6a,H6b} = 11.5$ Hz, H6a-Gal), 4.29-3.99 (m, 12H, H9a-Sia {4.28}, H9-Fmoc {4.25}, H6b-Gal {4.21}, Thr^α {4.19}, Thr^β {4.15}, H6a-Gal' {4.15}, H6b-Gal' {4.12}, H6b-GlcN {4.07}, H9b-Sia {4.07}, H3-GlcN {4.03}, H5-Sia {4.03}, H5-GalN {4.02}), 3.90-3.74 (m, 9H, H4-GlcN {3.87}, COOCH₃ {3.85, s}, H5-Gal {3.84}, H5-Gal' {3.84}, H3-GalN {3.78}, H6a-GalN {3.75}, H2-GlcN {3.72}), 3.62 (dd, 1H, $^3J_{H6,H5} = 10.7$ Hz, $^3J_{H6,H7} = 2.7$ Hz, H6-Sia), 3.51 (mc, 1H, H5-GlcN), 3.43 (mc, 1H, H6b-GalN), 2.57 (dd, 1H, $^2J_{H3\text{äq},H3\text{ax}} = 12.6$ Hz, $^3J_{H3\text{äq},H4} = 4.6$ Hz, H3_{äq}-Sia), 2.20, 2.14, 2.11, 2.09, 2.07, 2.06, 2.05, 2.04, 2.00, 1.99, 1.96, 1.95, 1.94, 1.84 (14 x s, 57H, CH₃-Ac), 1.67 (t*, 1H, $^2J_{H3\text{ax},H3\text{äq}} \approx ^3J_{H3\text{ax},H4} \approx 12.4$ Hz, H3_{ax}-Sia), 1.45 (s, 9H, CH₃-^tBu), 1.27 (d, 3H, $^3J_{\text{Thr}\gamma,\text{Thr}\beta} = 5.9$ Hz, Thr^γ), 1.16 (d, 3H, $^3J_{H6\text{abc},H5} = 6.2$ Hz, H6a,b,c-Fuc).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl₃): [δ/ppm] = 171.11, 170.78, 170.71, 170.63, 170.44, 170.39, 170.36, 170.30, 170.14, 170.01, 169.97, 169.65, 169.39, 169.31 (C=O-Ac, C=O-Thr), 167.81 (C1-Sia), 156.45 (C=O-Fmoc), 143.69, 143.65 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.28, 141.25 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.77 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.11, 127.08 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 124.88 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.01 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.67 (C1-GlcN, C1-Gal'), 99.84 (C1-Gal), 99.25 (C1-GalN), 96.72 (C2-Sia), 95.22 (C1-Fuc), 83.08 (C(CH₃)₃), 75.60 (Thr^β), 74.26 (C4-GlcN), 73.23 (C3-GlcN), 73.01 (C5-GlcN), 72.95 (C3-GalN), 71.84 (C6-Sia), 71.43 (C4-Fuc), 71.22 (C3-Gal), 70.85 (C5-Gal, C5-Gal'), 70.65 (C3-Gal'), 69.77 (C2-Gal), 69.37 (C4-Sia), 69.15 (C4-GalN), 68.88 (C5-GalN), 68.59 (C2-Gal'), 68.19 (C2-Fuc), 67.87 (C3-Fuc), 67.79 (C6-GalN), 67.57 (C8-Sia), 67.25 (C4-Gal), 66.87 (CH₂-Fmoc), 66.73 (C4-Gal'), 66.41 (C7-Sia), 64.16 (C5-Fuc), 61.97 (C6-GlcN), 61.58 (C9-Sia), 61.36 (C6-Gal), 60.96 (C6-Gal'), 58.92 (Thr^α), 55.50 (C2-GlcN), 53.16 (COOCH₃), 48.99 (C5-Sia), 48.51 (C2-GalN), 47.14 (C9-Fmoc), 37.34 (C3-Sia), 28.01 (CH₃-^tBu), 23.40, 23.30, 23.16, 21.44, 20.97, 20.76, 20.73, 20.68, 20.65, 20.57, 20.52 (CH₃-Ac), 18.58 (Thr^γ), 15.80 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1148.5 ([M+2Na]²⁺, ber.: 1148.4),

2273.9 ([M+Na]⁺, ber.: 2273.8).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 2273.7839$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2273.7811).

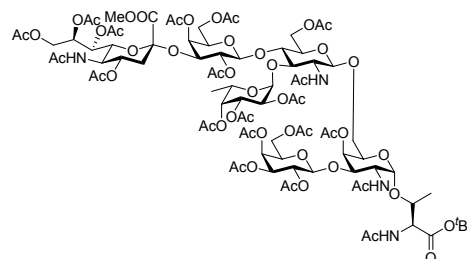
$C_{101}H_{134}N_4O_{53}$ (2252.1)

Analytische Daten der an der Aminofunktion des Threonins acetylierten Verbindung **104**:
 $R_f = 0.28$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 25:2), $R_f = 0.18$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 50:3); $[\alpha]_D^{23} = -15$ ($c = 1.00$, $CHCl_3$).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 2093.8$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2093.7).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 2093.7205$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2093.7236).

$C_{88}H_{126}N_4O_{52}$ (2071.9)



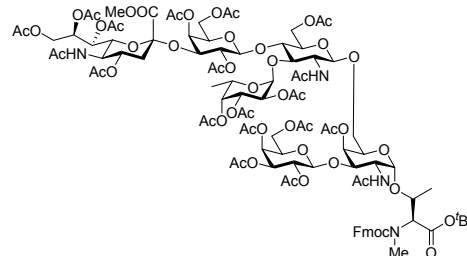
Wird zur Debenzylierung des Hexasaccharid-Threonin-Konjugats **102** eine Lösung der Substanz in einer Mischung aus Methanol, Essigsäure und Wasser in dem oben angegebenen Volumenverhältnis vorgelegt, diese dann gründlich entgast, unter einer Argonatmosphäre mit dem Katalysator versetzt, abermals gründlich entgast und zuletzt einer Wasserstoffatmosphäre ausgesetzt, so kommt es neben der Bildung des gewünschten Produkts zu einer Methylierung der freien Aminofunktion des Threonins. Diese kann mitunter auch bei der oben beschriebenen Vorgehensweise beobachtet werden. Die weitere Umsetzung des Produktgemischs liefert schließlich ein flashchromatographisch nicht zu trennendes Gemisch aus dem angestrebten Produkt **103** und der entsprechenden methylierten Verbindung **105** in einem Verhältnis von etwa 1.2:1.0 (mittels analytischer RP-HPLC bei einer Wellenlänge von 214 nm bestimmt).

Analytische Daten der an der Aminofunktion des Threonins methylierten Verbindung **105**:
 $R_t = 36$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-1).

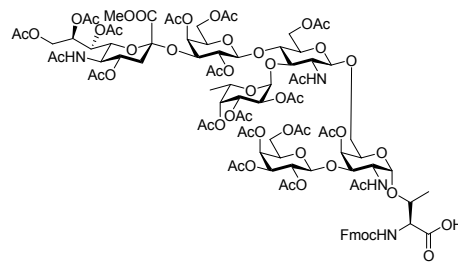
ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 2287.9$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2287.8).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 2287.8015$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2287.7968).

$C_{102}H_{136}N_4O_{53}$ (2266.2)



***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-fucopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- α -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- β -D-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-4-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonin (106)**



(Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₁₂(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-OH)

Eine Lösung von 161 mg (0.071 mmol) Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₁₁(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-*O*^tBu (**103**) in einer Mischung aus 4.0 ml Dichlormethan und 2.0 ml Trifluoressigsäure wird mit 0.029 ml (21 mg, 0.180 mmol, 2.5 Äquiv.) Triethylsilan versetzt und 6 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend verdünnt man den Ansatz mit 10 ml Toluol und entfernt die Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird mehrmals mit Toluol kodestilliert und das resultierende Rohprodukt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 10:1) gereinigt.

Ausbeute: 123 mg (0.056 mmol, 78 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{22} = -11$ ($c = 1.00$, CH₂Cl₂); $R_f = 0.55$ (CH₂Cl₂/MeOH, 50:7), $R_f = 0.10$ (CH₂Cl₂/MeOH, 10:1); $R_t = 11$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-6).

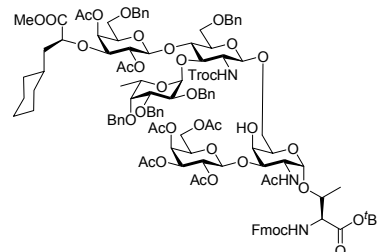
ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1120.4$ ($[M+2Na]^{2+}$, ber.: 1120.4), 1128.4 ($[M+Na+K]^{2+}$, ber.: 1128.3), 2217.8 ($[M+Na]^+$, ber.: 2217.7), 2233.8 ($[M+K]^+$, ber.: 2233.7).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 2217.7087$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2217.7185).

C₉₇H₁₂₆N₄O₅₃ (2196.0)

5.8.2 Die Synthese des das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum enthaltenden Glycosylaminosäure-Bausteins

N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[2-acetamido-6-*O*-(4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-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}-α-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-2-desoxy-α-D-galactopyranosyl]-*L*-threonin-*tert*-butylester (**107**)



(Fmoc-Thr[α-6-(β-Ac₂Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe)-3-(β-Ac₄Gal)-GalNAc]-O^tBu)

Eine Mischung aus 2.44 g (1.62 mmol) α-Ac₂Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe-OC(NH)CCl₃ (**78**), 1.80 g (1.93 mmol, 1.2 Äquiv.) Fmoc-Thr[α-3-(β-Ac₄Gal)-GalNAc]-O^tBu (**99**) und etwa 3 g Molekularsieb (4 Å) in 120 ml absol. Dichlormethan wird 30 min bei Raumtemp. unter einer Argonatmosphäre gerührt. Der Ansatz wird auf –40 °C abgekühlt und innerhalb von 5 min tropfenweise mit 1 ml (0.08 mmol, 0.05 Äquiv. bezogen auf **78**) einer vorgekühlten Mischung aus 0.31 ml Trimethylsilyltrifluormethansulfonat und 20 ml absol. Dichlormethan versetzt. Man lässt ihn auf –30 °C erwärmen und rührt ihn bei dieser Temperatur unter einer Argonatmosphäre 4 h, wobei nach 2 h weitere 0.5 ml (0.04 mmol, 0.025 Äquiv. bezogen auf **78**) der Mischung aus Trimethylsilyltrifluormethansulfonat und Dichlormethan zur Vervollständigung der Reaktion zugetropft werden. Anschließend wird die Reaktionsmischung bei –30 °C durch tropfenweise Zugabe einer Lösung von *N*-Ethyl-diisopropylamin in Dichlormethan unter ständiger Kontrolle des pH-Werts neutralisiert. Man filtriert das Molekularsieb ab und wäscht es fünfmal mit je 75 ml Dichlormethan. Das Filtrat wird nacheinander mit 75 ml einer ges. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 75 ml einer ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden dreimal mit je 75 ml Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. reinigt man den Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: ^oHex/EtOAc, 1:1 → 1:3), wobei neben dem gewünschten Produkt 1.20 g (0.53 mmol, 33 %) der in der 4-Position des Galactosamins glycosylierten Verbindung **108** erhalten werden.

Ausbeute: 2.03 g (0.89 mmol, 55 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -2$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.58$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:9), $R_f = 0.40$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:3), $R_f = 0.04$ ($^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$, 1:1); $R_t = 44$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-5).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY, TOCSY, NOESY] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 7.79$ (d, 2H, $^3J_{\text{H4,H3}} = ^3J_{\text{H5,H6}} = 7.4$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.65 (d, 2H, $^3J_{\text{H1,H2}} = ^3J_{\text{H8,H7}} = 6.6$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.43-7.40 (m, 2H, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.36-7.22 (m, 27H, H2-Fmoc, H7-Fmoc, $\text{H}_{\text{Ar-Ph}}$), 5.55-5.48 (m, 3H, NH-Thr {5.55}, H4-Gal {5.51, d, $^3J_{\text{H4,H3}} = 3.3$ Hz}, NH-GlcN {5.48}), 5.38 (sb, 1H, H4-Gal'), 5.20 (dd, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} = 7.8$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.5$ Hz, H2-Gal'), 5.15 (sb, 1H, H1-Fuc), 5.01-4.93 (m, 3H, H2-Gal {4.99}, H3-Gal' {4.98}, $\text{CH}_2\text{-Bn}$ {4.90, d, $^2J = 11.9$ Hz}), 4.86 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 7.4$ Hz, H1-GlcN), 4.80-4.29 (m, 19H, $\text{CH}_{2\text{a-Troc}}$ {4.77}, H1-GalN {4.72}, H1-Gal' {4.62}, $\text{CH}_{2\text{b-Troc}}$ {4.58}, $\text{CH}_2\text{-Fmoc}$ {4.55}, H2-GalN {4.52}, H5-Fuc {4.47}, H1-Gal {4.39}, H9-Fmoc {4.29}, $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 4.18-4.07 (m, 6H, Thr $^{\alpha}$ {4.17}, H3-GlcN {4.16}, H6a-Gal' {4.13}, Thr $^{\beta}$ {4.10}, H6b-Gal' {4.09}, H2-Fuc {4.09, dd, $^3J_{\text{H2,H1}} = 3.7$ Hz, $^3J_{\text{H2,H3}} = 10.2$ Hz}), 4.01-3.88 (m, 7H, H6a-GalN {3.96}, H4-GalN {3.94}, H4-GlcN {3.92}, CHCOOMe {3.91}, H5-Gal' {3.91}, H3-Fuc {3.89}, H5-GalN {3.88}), 3.80-3.67 (m, 7H, H6a-GlcN {3.76}, COOCH_3 {3.75, s}, H6b-GlcN {3.71}, H3-GalN {3.67}, H6b-GalN {3.67}), 3.56 (sb, 1H, H4-Fuc), 3.50 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6a,H5}} = 5.3$ Hz, $^2J_{\text{H6a,H6b}} = 8.6$ Hz, H6a-Gal), 3.45-3.43 (m, 2H, H5-Gal {3.45}, H5-GlcN {3.43}), 3.38 (dd, 1H, $^3J_{\text{H6b,H5}} = 6.4$ Hz, $^2J_{\text{H6b,H6a}} = 8.6$ Hz, H6b-Gal), 3.28 (mc, 1H, H3-Gal), 3.20 (q*, 1H, $^3J_{\text{H2,H1}} \approx ^3J_{\text{H2,H3}} \approx ^3J_{\text{H2,NH}} \approx 7.8$ Hz, H2-GlcN), 2.14, 2.09, 2.05, 2.00, 1.99, 1.88 (6 x s, 21H, $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 1.68-1.62 (m, 5H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$), 1.53-1.47 (m, 11H, $\text{CH}_2\text{CHCOOMe}$, $\text{CH}_3\text{-}^i\text{Bu}$ {1.47, s}), 1.32-1.11 (m, 10H, CH-Cyclo {1.29}, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$, H6a,b,c-Fuc {1.19, d, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.4$ Hz}, Thr $^{\gamma}$ {1.19, d, $^3J_{\text{Thr}^{\gamma},\text{Thr}^{\beta}} = 6.4$ Hz}), 0.91-0.82 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Cyclo}$).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC, HMBC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 172.71$ (COOMe), 171.15, 170.38, 170.34, 170.22, 170.13, 169.62, 169.51, 168.63 (C=O-Ac , C=O-Thr), 156.45 (C=O-Fmoc), 153.46 (C=O-Troc), 143.68 (C1a-Fmoc , C8a-Fmoc), 141.29 (C4a-Fmoc , C5a-Fmoc), 138.72, 138.58, 138.45, 137.67, 137.62 ($\text{C}_{\text{ipso-Ph}}$), 128.56, 128.50, 128.45, 128.38, 128.35, 128.28, 128.17, 127.98, 127.82, 127.68, 127.56, 127.52, 127.47, 127.13, 127.04 ($\text{C}_{\text{o,m,p-Ph}}$, C2-Fmoc , C3-Fmoc , C6-Fmoc , C7-Fmoc), 124.91 (C1-Fmoc , C8-Fmoc), 120.06 (C4-Fmoc , C5-Fmoc), 101.48 (C1-Gal'), 100.11 (C1-GalN), 99.67 (C1-GlcN , C1-Gal), 97.25 (C1-Fuc), 95.55 (CCl_3), 83.14 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 79.97 (C3-Fuc), 77.76 (CHCOOMe , C3-GalN), 77.21 (C4-Fuc , C3-Gal), 76.69 (C2-Fuc , Thr $^{\beta}$), 74.85 (C5-GlcN), 74.31 ($\text{CH}_2\text{-Troc}$), 73.88 (C3-GlcN , C4-GlcN , $\text{CH}_2\text{-Bn}$), 73.56, 73.37, 72.84 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 72.32 (C5-Gal), 71.60 (C2-Gal), 70.70 (C3-Gal' , C5-Gal'), 69.56, 69.43 (C5-GalN , C6-GalN), 68.83 (C4-GalN), 68.43 (C4-Gal , C2-Gal'), 67.99 (C6-GlcN), 67.79 (C6-Gal),

66.88 (CH₂-Fmoc), 66.77 (C4-Gal'), 66.47 (C5-Fuc), 61.08 (C6-Gal'), 59.19 (Thr^α), 58.18 (C2-GlcN), 51.91 (COOCH₃), 47.67 (C2-GalN), 47.22 (C9-Fmoc), 40.43 (CH₂CHCOOMe), 33.51, 33.45 (CH-Cyclo, CH₂-Cyclo), 33.02 (CH₂-Cyclo), 28.09 (CH₃-^tBu), 26.26, 26.02, 25.96 (CH₂-Cyclo), 23.09, 21.02, 20.92, 20.72, 20.63, 20.52, 20.44 (CH₃-Ac), 18.58 (Thr^γ), 16.59 (C6-Fuc).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1161.0$ ($[M+2Na]^{2+}$, ber.: 1160.9),
2298.9 ($[M+Na]^+$, ber.: 2298.8).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 2298.8118$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2298.8078).

C₁₁₅H₁₄₀Cl₃N₃O₃₈ (2278.7)

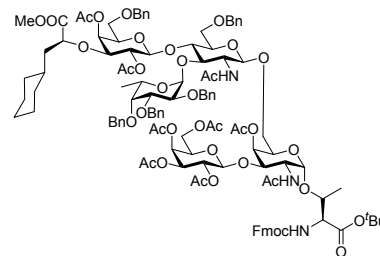
Analytische Daten der in der 4-Position des Galactosamins glycosylierten Verbindung **108**: farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = +6$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.80$ (°Hex/EtOAc, 1:9), $R_f = 0.72$ (°Hex/EtOAc, 1:3), $R_f = 0.15$ (°Hex/EtOAc, 1:1); $R_t = 47$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-5).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 2298.9$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2298.8).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 2298.8091$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2298.8078).

C₁₁₅H₁₄₀Cl₃N₃O₃₈ (2278.7)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-4-*O*-{2,4-di-*O*-acetyl-6-*O*-benzyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]-β-D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-benzyl-α-L-fucopyranosyl}-6-*O*-benzyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-4-*O*-acetyl-2-desoxy-α-D-galactopyranosyl]-L-threonin-*tert*-butylester (**109**)**



(Fmoc-Thr[α-6-(β-Ac₆Bn₅(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β-Ac₄Gal)-AcGalNAc]-O^tBu)

Abspaltung der Troc-Gruppe: Eine Lösung von 0.918 g (0.403 mmol) Fmoc-Thr[α-6-(β-Ac₂Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe)-3-(β-Ac₄Gal)-GalNAc]-O^tBu (**107**) in 70 ml Essigsäure wird mit etwa 4 g Zink versetzt, welches zuvor durch Aufschlännen in 2 M Salzsäure aktiviert, mit Wasser sowie mit Methanol gewaschen und mit Diethylether getrocknet wurde. Man rührt die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 21 h, filtriert sie anschließend über Hyflo[®] und wäscht gründlich mit Essigsäure nach. Das Filtrat wird i. Hochvak. vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand dreimal mit Toluol kodestilliert.

Analytische Daten des Rohprodukts: $R_t = 8$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-5).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1074.0$ ($[M+2Na]^{2+}$, ber.: 1073.9), 2103.0 ($[M+H]^+$, ber.: 2102.9), 2124.9 ($[M+Na]^+$, ber.: 2124.9), 2140.9 ($[M+K]^+$, ber.: 2140.9).

$C_{112}H_{139}N_3O_{36}$ (2103.3)

Acetylierung: Das Rohprodukt der Troc-Abspaltung löst man in 120 ml Pyridin, gibt 40 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt die Mischung bei Raumtemp. 19 h. Anschließend werden Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt, und der Rückstand wird viermal mit Toluol kodestilliert. Man versetzt ihn mit 40 ml Essigsäure, um Reste von Pyridin in das entsprechende Salz zu überführen. Die überschüssige Essigsäure wird i. Hochvak. abdestilliert und der Rückstand erneut dreimal mit Toluol kodestilliert, bevor er in 200 ml Dichlormethan aufgenommen wird. Diese Lösung wäscht man viermal mit je 50 ml Wasser, die vereinigten wässrigen Phasen extrahiert man viermal mit je 50 ml Dichlormethan, und die vereinigten organischen Phasen trocknet man mit Magnesiumsulfat. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abdestilliert, der Rückstand zur Entfernung letzter Pyridinreste einer Gefriertrocknung unterzogen und das resultierende Rohprodukt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $CH_2Cl_2/MeOH$, 25:1) gereinigt.

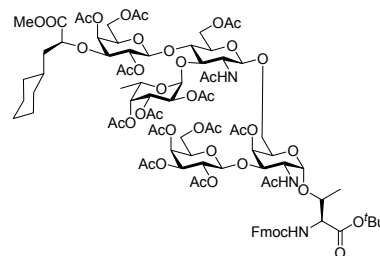
Ausbeute: 0.785 g (0.359 mmol, 89 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23} = -18$ ($c = 1.00$, $CHCl_3$); $R_f = 0.14$ ($^{\circ}Hex/EtOAc$, 1:3), $R_f = 0.14$ ($CH_2Cl_2/MeOH$, 25:1); $R_t = 38$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-5).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1116.0$ ($[M+2Na]^{2+}$, ber.: 1116.0),
2208.9 ($[M+Na]^+$, ber.: 2208.9).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 2208.9290$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2208.9247).

$C_{116}H_{143}N_3O_{38}$ (2187.4)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-fucopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-4-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonin-*tert*-butylester (110)**



(Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₇(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-O^tBu)

Debenzylierung: Man entgast eine Mischung aus 5.0 ml Essigsäure und 0.3 ml Wasser gründlich durch mehrmaliges Evakuieren im Wasserstrahlvakuum und Fluten mit Argon

und gibt dann eine größere Spatelspitze Palladium(II)-hydroxid (15-20 %) auf Aktivkohle hinzu. Die Mischung wird erneut entgast und schließlich einer Wasserstoffatmosphäre ausgesetzt. In einem zweiten Kolben löst man 785 mg (0.359 mmol) Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₆Bn₅(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-O^tBu (**109**) in 50 ml Methanol, entgast auch diese Lösung gründlich und überführt sie unter Sauerstoffausschluss in den Kolben, der den Katalysator enthält. Unter einer Wasserstoffatmosphäre wird der Ansatz 3 d bei Raumtemp. gerührt, bevor die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre ausgetauscht und die Mischung über eine Kartusche filtriert wird, welche mit 500 mg eines C18-Säulenmaterials gefüllt ist.* Man spült die kleine Säule mehrmals mit reinem Methanol bzw. mit einem Gemisch aus Methanol und Wasser (V:V = 1:1) und befreit das Filtrat i. Vak. sowie i. Hochvak. von den Lösungsmitteln. Der Rückstand wird einige Male mit Toluol kodestilliert und ohne Reinigung direkt weiter umgesetzt.

Analytische Daten des Rohprodukts: R_f (RP-DC) = 0.70 (CH₃CN/H₂O, 7:4 mit wenigen Tropfen AcOH).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1514.6$ ($[M+H]^+$, ber.: 1514.6),
1536.6 ($[M+Na]^+$, ber.: 1536.6).

C₆₆H₁₀₃N₃O₃₆ (1514.5)

Wiederanknüpfung der Fmoc-Gruppe: Zu einer Lösung des Rohprodukts der Debenzylierung und 133 mg (0.394 mmol, 1.1 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidylcarbonat in 35 ml Dichlormethan wird so lange tropfenweise *N*-Ethyldiisopropylamin zugegeben, bis ein pH-Wert von 9.0 bis 9.5 erreicht ist. Man rührt die Reaktionsmischung 6 h bei Raumtemp. und entfernt dann das Lösungsmittel im Vakuum. Ohne Reinigung wird das Rohprodukt in die nachfolgende Acetylierung eingesetzt.

Analytische Daten des Rohprodukts: R_f (RP-DC) = 0.40 (CH₃CN/H₂O, 7:4 mit wenigen Tropfen AcOH), R_f (RP-DC) = 0.24 (CH₃CN/H₂O, 7:5 mit wenigen Tropfen AcOH); R_t = 32 min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-1).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1865.9$ ($[M+DIPEA+H]^+$, ber.: 1865.9).

C₈₁H₁₁₃N₃O₃₈ (1736.8)

Acetylierung: Man versetzt eine Lösung des Rohprodukts in 20 ml Pyridin mit 10 ml Essigsäureanhydrid und rührt die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 3 d. Anschließend werden Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt. Der

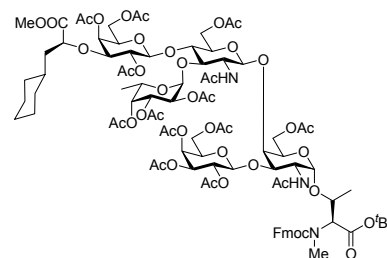
* Die mit 500 mg eines C18-Säulenmaterials mit einer Porengröße von 54 Å gefüllten Kartuschen wurden von der Firma *International Sorbent Technology*, Hengoed (UK) bezogen.

Rückstand wird mehrmals mit Toluol kodestilliert und schließlich durch Flash-chromatographie an Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 100:3) gereinigt.

Ausbeute: 678 mg (0.348 mmol, 97 % bezogen auf **109**); leicht gelblicher amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{24} = -15$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.25$ (CH₂Cl₂/MeOH, 20:1), $R_f = 0.20$ (CH₂Cl₂/MeOH, 100:3); $R_t = 40$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-1).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY, TOCSY] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 7.78$ (d, 2H, $^3J_{H4,H3} = ^3J_{H5,H6} = 7.6$ Hz, H4-Fmoc, H5-Fmoc), 7.64 (d, 2H, $^3J_{H1,H2} = ^3J_{H8,H7} = 6.8$ Hz, H1-Fmoc, H8-Fmoc), 7.42 (t*, 2H, $^3J_{H3,H2} \approx ^3J_{H3,H4} \approx ^3J_{H6,H5} \approx ^3J_{H6,H7} \approx 7.5$ Hz, H3-Fmoc, H6-Fmoc), 7.33 (t*, 2H, $^3J_{H2,H1} \approx ^3J_{H2,H3} \approx ^3J_{H7,H6} \approx ^3J_{H7,H8} \approx 7.3$ Hz, H2-Fmoc, H7-Fmoc), 6.17 (sb, 1H, NH-GalN), 5.98 (db, 1H, $^3J_{NH,H2} = 8.6$ Hz, NH-GlcN), 5.88 (sb, 1H, NH-Thr), 5.56 (d, 1H, $^3J_{H4,H3} = 3.2$ Hz, H4-Gal), 5.37-5.35 (m, 2H, H1-Fuc {5.37, d, $^3J_{H1,H2} = 3.9$ Hz}, H4-Gal' {5.35, d, $^3J_{H4,H3} = 3.3$ Hz}), 5.32 (d, 1H, $^3J_{H4,H3} = 2.7$ Hz, H4-Fuc), 5.25 (sb, 1H, H4-GalN), 5.19 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.8$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.1$ Hz, H3-Fuc), 5.09-4.98 (m, 3H, H2-Gal' {5.06}, H2-Gal {5.05}, H2-Fuc {5.00, dd, $^3J_{H2,H1} = 3.7$ Hz, $^3J_{H2,H3} = 10.5$ Hz}), 4.95 (dd, 1H, $^3J_{H3,H2} = 10.5$ Hz, $^3J_{H3,H4} = 3.3$ Hz, H3-Gal'), 4.80 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 2.7$ Hz, H1-GalN), 4.72 (mc, 1H, H5-Fuc), 4.61 (d, 1H, $^3J_{H1,H2} = 7.6$ Hz, H1-Gal'), 4.56-4.41 (m, 5H, H1-GlcN {4.55}, CH_{2a}-Fmoc {4.51}, H6a-GlcN {4.50}, H2-GalN {4.49}, CH_{2b}-Fmoc {4.44}), 4.35 (dd, 1H, $^3J_{H6a,H5} = 7.1$ Hz, $^2J_{H6a,H6b} = 11.6$ Hz, H6a-Gal), 4.28-4.04 (m, 10H, H1-Gal {4.27, d, $^3J_{H1,H2} = 6.4$ Hz}, H9-Fmoc {4.25}, H6b-Gal {4.24}, Thr^α {4.20}, Thr^β {4.20}, H6b-GlcN {4.18}, H6a-Gal' {4.16}, H6b-Gal' {4.10}, CHCOOMe {4.07}, H5-GalN {4.05}), 3.98 (t*, 1H, $^3J_{H3,H2} \approx ^3J_{H3,H4} \approx 7.8$ Hz, H3-GlcN), 3.91-3.83 (m, 3H, H5-Gal' {3.87}, H2-GlcN {3.85}, H3-GalN {3.85}), 3.77-3.70 (m, 6H, H5-Gal {3.75}, H4-GlcN {3.74}, COOCH₃ {3.73, s}, H6a-GalN {3.72}), 3.58-3.54 (m, 2H, H3-Gal {3.57}, H5-GlcN {3.55}), 3.46 (dd, 1H, $^3J_{H6b,H5} = 7.8$ Hz, $^2J_{H6b,H6a} = 11.3$ Hz, H6b-GalN), 2.15, 2.12, 2.11, 2.09, 2.06, 2.04, 2.01, 2.00, 1.97, 1.95 (10 x s, 42H, CH₃-Ac), 1.68-1.59 (m, 5H, CH₂-Cyclo), 1.55-1.42 (m, 11H, CH₂CHCOOMe, CH₃-^tBu {1.46, s}), 1.31-1.28 (m, 4H, CH-Cyclo {1.29}, Thr^γ {1.29, d, $^3J_{Thr\gamma, Thr\beta} = 6.0$ Hz}), 1.21-1.09 (m, 6H, H6a,b,c-Fuc {1.19, d, $^3J_{H6abc,H5} = 6.2$ Hz}, CH₂-Cyclo), 0.90-0.81 (m, 2H, CH₂-Cyclo).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC, HMBBC] (CDCl₃): $[\delta/ppm] = 172.64$ (COOMe), 171.15, 170.99, 170.70, 170.67, 170.53, 170.42, 170.35, 170.19, 170.10, 170.06, 169.98, 169.73, 169.66, 169.11, 169.04 (C=O-Ac, C=O-Thr), 156.52 (C=O-Fmoc), 143.74, 143.66 (C1a-Fmoc, C8a-Fmoc), 141.26, 141.25 (C4a-Fmoc, C5a-Fmoc), 127.78 (C3-Fmoc, C6-Fmoc), 127.13, 127.10 (C2-Fmoc, C7-Fmoc), 124.98 (C1-Fmoc, C8-Fmoc), 120.01 (C4-Fmoc, C5-Fmoc), 100.74 (C1-Gal'), 100.48 (C1-GlcN), 100.39 (C1-Gal), 99.30 (C1-GalN), 94.88 (C1-Fuc), 82.96 (C(CH₃)₃), 77.85 (CHCOOMe), 77.08 (C3-Gal),

$$\text{C}_{91}\text{H}_{123}\text{N}_3\text{O}_{43} \text{ (1946.9)}$$


(Fmoc-(Me)Thr[α -4-(β -Ac₇(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-O^tBu)

Abspaltung der Troc-Gruppe: Eine Lösung von 0.500 g (0.219 mmol) Fmoc-Thr[α -4-(β -Ac₂Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-GalNAc]-O^tBu (**108**) in 50 ml Essigsäure wird mit etwa 2 g Zink versetzt, welches zuvor durch Aufschlännen in 2 M Salzsäure aktiviert, mit Wasser sowie mit Methanol gewaschen und mit Diethylether getrocknet wurde. Man rührt die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 18 h, filtriert sie anschließend über Hyflo[®] und wäscht gründlich mit Essigsäure nach. Das Filtrat wird i. Hochvak. vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand dreimal mit Toluol kodestilliert.

Analytische Daten des Rohprodukts: $R_f = 9$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-5).

$$\text{C}_{112}\text{H}_{139}\text{N}_3\text{O}_{36} \text{ (2103.3)}$$

Acetylierung: Das Rohprodukt der Troc-Abspaltung löst man in 60 ml Pyridin, gibt 20 ml Essigsäureanhydrid hinzu und rührt die Mischung bei Raumtemp. 4 d. Anschließend werden Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt, und der

Rückstand wird viermal mit Toluol kodestilliert. Man versetzt ihn mit 20 ml Essigsäure, um Reste von Pyridin in das entsprechende Salz zu überführen. Die überschüssige Essigsäure wird i. Hochvak. abdestilliert und der Rückstand erneut dreimal mit Toluol kodestilliert, bevor er in 100 ml Dichlormethan aufgenommen wird. Diese Lösung wäscht man viermal mit je 25 ml Wasser, die vereinigten wässrigen Phasen extrahiert man viermal mit je 25 ml Dichlormethan, und die vereinigten organischen Phasen trocknet man mit Magnesiumsulfat. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abdestilliert und der Rückstand zur Entfernung letzter Pyridinreste einer Gefriertrocknung unterzogen.

Rohausbeute: 0.476 g (max. 0.218 mmol, max. 99 % bezogen auf **108**); $R_t = 40$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-5).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 2208.9$ ($[M+Na]^+$, ber.: 2208.9).

$C_{116}H_{143}N_3O_{38}$ (2187.4)

Debenzylierung: Man entgast eine Lösung von 430 mg (max. 0.197 mmol) des Rohprodukts der Acetylierung in einer Mischung aus 45 ml Methanol, 4.5 ml Essigsäure und 0.3 ml Wasser durch mehrmaliges Evakuieren im Wasserstrahlvakuum und Fluten mit Argon gründlich und versetzt sie mit einer größeren Spatelspitze Palladium(II)-hydroxid (15-20 %) auf Aktivkohle. Die Mischung wird erneut gründlich entgast und dann 6 d einer Wasserstoffatmosphäre ausgesetzt, wobei nach 2 d eine weitere Spatelspitze des Katalysators hinzugefügt wird. Anschließend tauscht man die Wasserstoffatmosphäre gegen eine Argonatmosphäre aus und filtriert die Mischung über eine Kartusche, welche mit 500 mg eines C18-Säulenmaterials gefüllt ist.* Die kleine Säule wird mehrmals mit reinem Methanol bzw. mit einem Gemisch aus Methanol und Wasser (V:V = 1:1) gespült und das Filtrat i. Vak. sowie i. Hochvak. von den Lösungsmitteln befreit. Der Rückstand wird einige Male mit Toluol kodestilliert und ohne Reinigung direkt weiter umgesetzt.

Analytische Daten des Rohprodukts: R_f (RP-DC) = 0.54 (CH_3CN/H_2O , 7:4 mit wenigen Tropfen AcOH).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1528.9$ ($[M(\text{mit Me})+H]^+$, ber.: 1528.7).

$C_{67}H_{105}N_3O_{36}$ (1528.5)

Wiederanknüpfung der Fmoc-Gruppe: Zu einer Lösung des Rohprodukts der Debenzylierung und 105 mg (0.311 mmol, 1.6 Äquiv.) Fluoren-9-ylmethyl-succinimidyl-carbonat in 25 ml Dichlormethan wird so lange tropfenweise *N*-Ethyl-diisopropylamin zugegeben, bis ein pH-Wert von 9.0 bis 9.5 erreicht ist. Man rührt die Reaktionsmischung

* Die mit 500 mg eines C18-Säulenmaterials mit einer Porengröße von 54 Å gefüllten Kartuschen wurden von der Firma *International Sorbent Technology*, Hengoed (UK) bezogen.

5 h bei Raumtemp. und entfernt dann das Lösungsmittel im Vakuum. Ohne Reinigung wird das Rohprodukt in die nachfolgende Acetylierung eingesetzt.

Analytische Daten des Rohprodukts: R_f (RP-DC) = 0.08 ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 7:4 mit wenigen Tropfen AcOH).

$\text{C}_{82}\text{H}_{115}\text{N}_3\text{O}_{38}$ (1750.8)

Acetylierung: Man versetzt eine Lösung des Rohprodukts in 10 ml Pyridin mit 5 ml Essigsäureanhydrid und rührt die Reaktionsmischung bei Raumtemp. 3 d. Anschließend werden Pyridin sowie überschüssiges Essigsäureanhydrid i. Hochvak. entfernt. Der Rückstand wird mehrmals mit Toluol kodestilliert und schließlich durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 25:1) gereinigt.

Ausbeute: 102 mg (0.052 mmol, 26 % bezogen auf **108**); leicht gelblicher amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23} = -11$ ($c = 1.00$, CHCl_3); $R_f = 0.31$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 50:3), $R_f = 0.23$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 25:1).

Charakteristische NMR-Signale:

400 MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 3.05, 2.91$ (2 x s, 3H, N- CH_3).

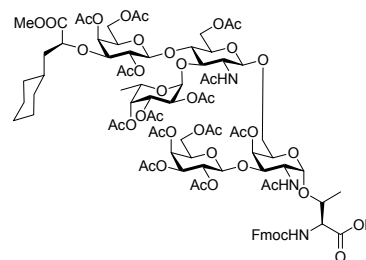
100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HMBC] (CDCl_3): $[\delta/\text{ppm}] = 157.14, 156.98$ (C=O-Fmoc)

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1982.9$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1982.8).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1982.7595$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1982.7585).

$\text{C}_{92}\text{H}_{125}\text{N}_3\text{O}_{43}$ (1961.0)

***N*-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl)-*O*-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl}-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-fucopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-4-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonin (**112**)**



(Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₇(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-OH)

Eine Lösung von 217 mg (0.111 mmol) Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₇(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-O^tBu (**110**) in einer Mischung aus 6.0 ml Dichlormethan und 3.0 ml Trifluoressigsäure wird mit 0.045 ml (32 mg, 0.275 mmol, 2.5 Äquiv.) Triethylsilan versetzt und 5 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend verdünnt man den Ansatz mit 30 ml Toluol und entfernt die Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird mehrmals

mit Toluol kodestilliert und das resultierende Rohprodukt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 50:3) gereinigt.

Ausbeute: 202 mg (0.107 mmol, 96 %); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23} = -6$ ($c = 1.00$, CHCl₃); $R_f = 0.23$ (CH₂Cl₂/MeOH, 25:3), $R_f = 0.12$ (CH₂Cl₂/MeOH, 50:3); $R_t = 23$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-6).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 968.0$ ($[M+2Na]^{2+}$, ber.: 967.8), 1912.9 ($[M+Na]^+$, ber.: 1912.7), 1928.9 ($[M+K]^+$, ber.: 1928.7).

HR-ESI-MS (positiv): $[m/z] = 1912.6771$ ($[M+Na]^+$, ber.: 1912.6802).

C₈₇H₁₁₅N₃O₄₃ (1890.8)

5.9 Die Synthesen der (Glyco-)Peptide mit einer Partialsequenz aus dem PSGL-1

Das allgemeine Protokoll der automatisierten (Glyco-)Peptid-Festphasensynthese

Die (Glyco-)Peptid-Festphasensynthesen werden an einem ABI-433A-Peptidsynthesizer der Firma *Applied Biosystems* nach der Fmoc-Strategie durchgeführt.

Als polymeren Träger verwendet man ein Polystyrol-Harz der Firma *Rapp Polymere*, welches über einen 2-Chlortritylanker (2-CT)^[338] mit der C-terminalen Startamino­säure L-Prolin versehen ist (ungefähre Beladung laut Herstellerangabe: 0.77 mmol/g). Sämtliche vorhandenen funktionellen Gruppen in den Seitenketten der zum Einsatz kommenden kommerziell erhältlichen *N*-Fmoc-Aminosäuren sind durch *tert*-Butylreste geschützt, d. h. als *tert*-Butylether im Falle von L-Threonin und L-Tyrosin bzw. als *tert*-Butylester im Falle von L-Glutaminsäure und L-Asparaginsäure.

Für alle anzuknüpfenden Aminosäuren wird der gleiche dreistufige Synthesesyklus durchlaufen. Mit Ausnahme des ersten beginnt jeder Zyklus mit der Entfernung der *N*-terminalen Fmoc-Gruppe durch mindestens dreimalige Behandlung (von je 2.5 min) des funktionalisierten Harzes mit einer 20%igen Lösung von Piperidin in *N*-Methylpyrrolidin-2-on (Da das käufliche Harz die Startamino­säure L-Prolin in ungeschützter Form trägt, entfällt in diesem Fall der Deblockierungsschritt.). Nach jedem Abspaltungsvorgang wird durch Messung der UV-Absorption der entsprechenden Lösung bei einer Wellenlänge von $\lambda = 301$ nm der Gehalt an gebildetem Dibenzofulven-Piperidin-Addukt ermittelt. Weicht der Wert der gemessenen UV-Absorption um mehr als 10 % vom vorangegangenen ab, wird der Prozess zur Abspaltung automatisch erneut ausgeführt, allerdings höchstens fünf weitere Male. Anschließend erfolgt der Kupplungsschritt. Dazu

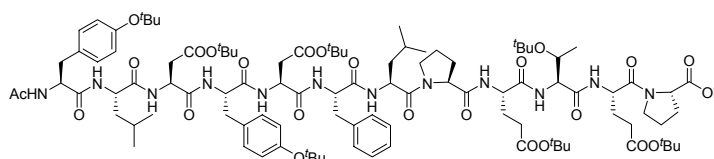
wird eine Lösung von 10 Äquivalenten der jeweiligen Fmoc-geschützten Aminosäure, 10 Äquivalenten HBTU, 10 Äquivalenten HOBt und 20 Äquivalenten *N*-Ethyldiisopropylamin in *N,N*-Dimethylformamid in den Reaktor überführt und 15 min dort belassen. Bei problematischen Kupplungen wird zur Steigerung des Umsatzes die Behandlung mit obiger Lösung auf analoge Weise wiederholt (Doppelkupplung). Zur Anknüpfung der Glycosylaminosäure-Bausteine werden die reaktiveren Kupplungsreagenzien HATU und HOAt anstelle von HBTU und HOBt verwendet. *N*-Ethyldiisopropylamin wird durch *N*-Methylmorpholin und *N,N*-Dimethylformamid durch *N*-Methylpyrrolidin-2-on ersetzt. Außerdem erhöht man die Reaktionszeit auf 8 h. Die eingesetzten Mengen sowie die genauen Reaktionsbedingungen sind bei der Beschreibung der einzelnen Synthesen angegeben. Der Peptidkupplung folgt schließlich die Acetylierung eventuell nicht umgesetzter Aminogruppen durch Behandlung mit einer Lösung von Essigsäureanhydrid (0.5 M), *N*-Ethyldiisopropylamin (0.125 M) und HOBt (0.015 M) in *N*-Methylpyrrolidin-2-on über 5 min.

Nach erfolgreichem Aufbau der gesamten Aminosäuresequenz durch entsprechende Wiederholung der verschiedenen Schritte wird erneut die *N*-terminale Fmoc-Gruppe entfernt und die freie Aminofunktion acetyliert. Eine effiziente Durchmischung der Reagenzien im Synthesereaktor während der einzelnen Reaktionsstufen wird durch starkes Schütteln (Vortex) erreicht. Nach jedem Teilschritt wird das polymergebundene Peptid durch Filtration und gründliches Waschen mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on von den Reagenzien befreit. Am Ende der (Glyco-)Peptid-Festphasensynthese wird ein zusätzlicher Waschschriff mit Dichlormethan angeschlossen und das Harz in einem Stickstoffstrom getrocknet.

5.9.1 Die Synthese des unglycosylierten Dodecapeptids

(*N*-Acetyl-*O*-*tert*-butyl-L-tyrosyl)-L-leucyl-(*O*⁴-*tert*-butyl-L-aspartyl)-(*O*-*tert*-butyl-L-tyrosyl)-(*O*⁴-*tert*-butyl-L-aspartyl)-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-prolyl-(*O*⁵-*tert*-butyl-L-glutamyl)-(*O*-*tert*-butyl-L-threonyl)-(*O*⁵-*tert*-butyl-L-glutamyl)-L-prolin (**114**)

(Ac-Tyr(^tBu)-Leu-Asp(O^tBu)-Tyr(^tBu)-Asp(O^tBu)-Phe-Leu-Pro-Glu(O^tBu)-Thr(^tBu)-Glu(O^tBu)-Pro-OH)



Ausgehend von 130 mg (0.10 mmol der Startaminosäure) des mit Fmoc-Pro-(2-CT) versehenen Polystyrol-Harzes **113** (Beladung: 0.77 mmol/g) wird das Peptid nach dem

allgemeinen Protokoll der automatisierten Festphasensynthese (vgl. Seite 254) aufgebaut. Dabei wird für die drei dem L-Threoninrest direkt folgenden Aminosäuren – L-Glutaminsäure, L-Prolin und L-Leucin – jeweils eine Doppelkupplung vorgenommen.

Zur Abspaltung des Peptids vom polymeren Träger wird das Harz in einen Festphasenreaktor nach *Merrifield* überführt und 2 h in einer Mischung aus 2 ml Essigsäure, 2 ml Trifluorethanol und 16 ml Dichlormethan geschüttelt. Man filtriert das Harz ab und wäscht es zweimal mit jeweils weiteren 5 ml der genannten Mischung. Die vereinigten Filtrate werden mit Toluol versetzt und i. Vak. bzw. i. Hochvak. von Reagenzien und Lösungsmitteln befreit, wobei zur Vermeidung einer erhöhten Säurekonzentration während des Einengens mehrfach Toluol zugegeben wird. Man wiederholt den Abspaltungsvorgang auf analoge Weise zweimal und erhält dadurch jeweils weiteres Produkt. Ohne Reinigung und Charakterisierung wird das Peptid direkt vollständig deblockiert.

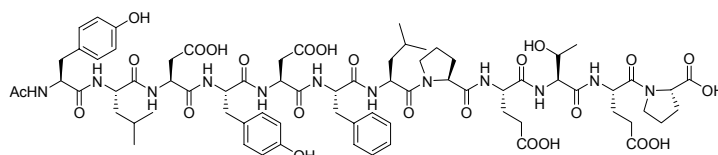
Analytische Daten des Rohprodukts:

$R_t = 42$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-7).

$C_{101}H_{154}N_{12}O_{25}$ (1936.4)

(N-Acetyl-L-tyrosyl)-L-leucyl-L-aspartyl-L-tyrosyl-L-aspartyl-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-prolyl-L-glutamyl-L-threonyl-L-glutamyl-L-prolin (115)

(Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr-Glu-Pro-OH)



Eine Lösung des rohen Peptids Ac-Tyr(^tBu)-Leu-Asp(O^tBu)-Tyr(^tBu)-Asp(O^tBu)-Phe-Leu-Pro-Glu(O^tBu)-Thr(^tBu)-Glu(O^tBu)-Pro-OH (**114**) in einer Mischung aus 10.0 ml Trifluoressigsäure, 10.0 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan wird 2 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend versetzt man sie mit Toluol und entfernt i. Vak. bzw. i. Hochvak. Reagenzien und Lösungsmittel, wobei man durch mehrfache Zugabe von weiterem Toluol während des Einengens eine erhöhte Säurekonzentration vermeidet. Der Rückstand wird durch präparative RP-HPLC gereinigt ($R_t = 31$ -33 min, Säule: Luna-3, Gradient: Präp-4).

Ausbeute: 154 mg (0.10 mmol, 100 % bezogen auf die Startamino­säure am Harz); farbloses Lyophilisat; $[\alpha]_D^{23} = -35$ ($c = 1.00$, DMSO); $R_t = 17$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-7).

400 MHz-¹H-NMR [¹H-¹H-COSY] (DMSO-*d*₆): $[\delta/ppm] = 8.21$ -8.19 (m, 2H, NH-Asp₁ {8.20}, NH-Leu₁ {8.20}), 8.15-8.11 (m, 2H, NH-Asp₂ {8.14}, NH-Glu₁ {8.12}), 7.98 (d,

2H, $^3J_{\text{NH,Leu}2\alpha} = ^3J_{\text{NH,Tyr}1\alpha} = 8.2$ Hz, NH-Leu₂, NH-Tyr₁), 7.92 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,Glu}2\alpha} = 7.6$ Hz, NH-Glu₂), 7.71-7.66 (m, 2H, NH-Tyr₂ {7.70, d, $^3J_{\text{NH,Tyr}2\alpha} = 7.8$ Hz}, NH-Phe {7.67, d, $^3J_{\text{NH,Phe}\alpha} = 8.0$ Hz}), 7.58 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,Thr}\alpha} = 8.2$ Hz, NH-Thr), 7.21-7.13 (m, 5H, H_{Ar}-Phe), 7.01, 6.96 (2 x d, 4H, $^3J = 8.4$ Hz, $^3J = 8.6$ Hz, H_{Ar-2,6}-Tyr₁, H_{Ar-2,6}-Tyr₂), 6.62-6.59 (m, 4H, H_{Ar-3,5}-Tyr₁, H_{Ar-3,5}-Tyr₂), 4.56-4.47 (m, 5H, Glu₂^α {4.54}, Phe^α {4.52}, Leu₁^α {4.51}, Asp₁^α {4.50}, Asp₂^α {4.50}), 4.42-4.31 (m, 3H, Tyr₁^α {4.40}, Pro₁^α {4.37}, Tyr₂^α {4.34}), 4.30-4.25 (m, 2H, Leu₂^α {4.28}, Glu₁^α {4.26}), 4.21 (dd, 1H, $^3J_{\text{Pro}2\alpha,\text{Pro}2\beta\alpha} = 4.6$ Hz, $^3J_{\text{Pro}2\alpha,\text{Pro}2\beta\beta} = 8.7$ Hz, Pro₂^α), 4.16 (dd, 1H, $^3J_{\text{Thr}\alpha,\text{NH}} = 8.3$ Hz, $^3J_{\text{Thr}\alpha,\text{Thr}\beta} = 4.1$ Hz, Thr^α), 3.94 (dq, 1H, $^3J_{\text{Thr}\beta,\text{Thr}\alpha} = 4.1$ Hz, $^3J_{\text{Thr}\beta,\text{Thr}\gamma} = 6.3$ Hz, Thr^β), 3.67-3.54, 3.44 (m, m_c, 4H, Pro₁^{δ_a}, Pro₁^{δ_b}, Pro₂^{δ_a}, Pro₂^{δ_b}), 2.97 (dd, 1H, $^3J_{\text{Phe}\beta\alpha,\text{Phe}\alpha} = 3.9$ Hz, $^2J_{\text{Phe}\beta\alpha,\text{Phe}\beta\beta} = 13.7$ Hz, Phe^{β_a}), 2.88-2.76 (m, 3H, Tyr₁^{β_a} {2.86}, Tyr₂^{β_a} {2.83}, Phe^{β_b} {2.79}), 2.68-2.52 (m, 4H, Asp₁^{β_a} {2.64}, Asp₂^{β_a} {2.64}, Tyr₂^{β_b} {2.62}, Tyr₁^{β_b} {2.56}), 2.45-2.38 (m, 2H, Asp₁^{β_b}, Asp₂^{β_b} {2.43, 2.40}), 2.32-2.22 (m, 4H, Glu₁^{γ_a}, Glu₁^{γ_b}, Glu₂^{γ_a}, Glu₂^{γ_b}), 2.13 (m_c, 1H, Pro₂^{β_a}), 2.02-1.66 (m, 14H, Pro₁^{β_a} {1.99}, Glu₁^{β_a} {1.91}, Glu₂^{β_a} {1.89}, Pro₁^{γ_a} {1.88}, Pro₂^{γ_a} {1.88}, Pro₁^{β_b} {1.81}, Pro₂^{β_b} {1.81}, Pro₁^{γ_b} {1.79}, Pro₂^{γ_b} {1.79}, Glu₁^{β_b} {1.74}, CH₃-Ac {1.73}, Glu₂^{β_b} {1.68}), 1.64-1.50 (m, 2H, Leu₁^γ, Leu₂^γ), 1.49-1.37 (m, 4H, Leu₁^{β_a} {1.45}, Leu₁^{β_b} {1.45}, Leu₂^{β_a} {1.42}, Leu₂^{β_b} {1.42}), 1.00 (d, 3H, $^3J_{\text{Thr}\gamma,\text{Thr}\beta} = 6.4$ Hz, Thr^γ), 0.88-0.81 (m, 12H, Leu₁^{δ_{abc}}, Leu₂^{δ_{abc}}).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC] (DMSO-*d*₆): [δ /ppm] = 174.34, 174.33 (Glu₁^δ, Glu₂^δ), 173.39 (COOH-Pro), 172.27, 172.03 (Asp₁^γ, Asp₂^γ), 171.89, 171.80, 171.76, 171.33, 171.11, 170.55, 170.36, 170.30, 170.18, 169.93, 169.70, 169.48 (C=O), 155.93, 155.89 (C_{Ar-4}-Tyr₁, C_{Ar-4}-Tyr₂), 137.45 (C_{Ar-1}-Phe), 130.30, 130.25 (C_{Ar-2,6}-Tyr₁, C_{Ar-2,6}-Tyr₂), 129.50 (C_{Ar-2,6/3,5}-Phe), 128.32 (C_{Ar-1}-Tyr₁/C_{Ar-1}-Tyr₂), 128.16 (C_{Ar-2,6/3,5}-Phe), 127.75 (C_{Ar-1}-Tyr₁/C_{Ar-1}-Tyr₂), 126.41 (C_{Ar-4}-Phe), 115.06, 115.00 (C_{Ar-3,5}-Tyr₁, C_{Ar-3,5}-Tyr₂), 66.84 (Thr^β), 59.31 (Pro₁^α), 58.68 (Pro₂^α), 58.07 (Thr^α), 54.47 (Tyr₁^α), 54.25 (Tyr₂^α), 53.45 (Phe^α), 52.20 (Glu₁^α), 51.02 (Leu₂^α), 49.80, 49.74, 48.82 (Asp₁^α, Asp₂^α, Glu₂^α, Leu₁^α), 46.95, 46.67 (Pro₁^δ, Pro₂^δ), 40.97 (Leu₂^β), 40.52 (Leu₁^β), 37.70 (Phe^β), 36.83, 36.70 (Tyr₁^β, Tyr₂^β), 36.11, 36.06 (Asp₁^β, Asp₂^β), 30.36, 29.48 (Glu₁^γ, Glu₂^γ), 29.17, 28.80 (Pro₁^β, Pro₂^β), 27.33, 26.77 (Glu₁^β, Glu₂^β), 24.75, 24.65 (Pro₁^γ, Pro₂^γ), 24.25, 24.13 (Leu₁^γ, Leu₂^γ), 23.35, 23.30 (Leu₁^δ, Leu₂^δ), 22.68 (CH₃-Ac), 21.88, 21.72 (Leu₁^δ, Leu₂^δ), 19.92 (Thr^γ).

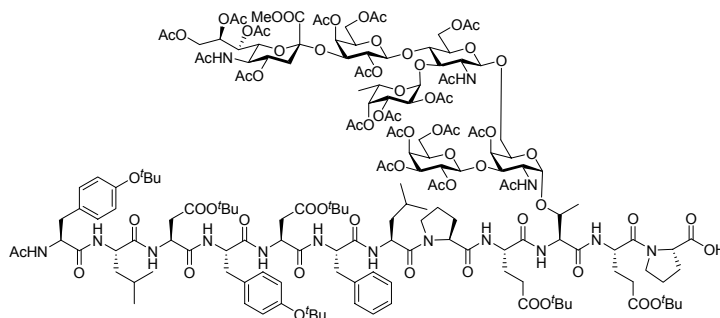
ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1543.7 ([M+H]⁺, ber.: 1543.7), 1565.7 ([M+Na]⁺, ber.: 1565.7), 1581.7 ([M+K]⁺, ber.: 1581.6).

HR-ESI-MS (positiv): [m/z] = 1565.6666 ([M+Na]⁺, ber.: 1565.6664).

C₇₃H₉₈N₁₂O₂₅ (1543.6)

5.9.2 Die Synthese des Sialyl-Lewis^x enthaltenden Glycododecapeptids

(*N*-Acetyl-*O*-*tert*-butyl-L-tyrosyl)-L-leucyl-(*O*⁴-*tert*-butyl-L-aspartyl)-(*O*-*tert*-butyl-L-tyrosyl)-(*O*⁴-*tert*-butyl-L-aspartyl)-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-prolyl-(*O*⁵-*tert*-butyl-L-glutamyl)-(O-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-fucopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- α -D-galacto-non-2-ulopyranosyl)onat]- β -D-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-4-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonyl)-(O⁵-*tert*-butyl-L-glutamyl)-L-prolin (116)



(Ac-Tyr(^tBu)-Leu-Asp(O^tBu)-Tyr(^tBu)-Asp(O^tBu)-Phe-Leu-Pro-Glu(O^tBu)-Thr[α -6-(β -Ac₁₂(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-Glu(O^tBu)-Pro-OH)

Ausgehend von 130 mg (0.10 mmol der Startamino­säure) des mit Fmoc-Pro-(2-CT) versehenen Polystyrol-Harzes **113** (Beladung: 0.77 mmol/g) wird das Glycopeptid nach dem allgemeinen Protokoll der automatisierten Festphasensynthese (vgl. Seite 254) aufgebaut. Dabei wird zur Anbindung des Glycosylaminosäure-Bausteins **106** die automatisierte Synthese nach der Fmoc-Abspaltung von der an die Startamino­säure geknüpften L-Glutaminsäureeinheit unterbrochen. Eine Lösung von 175 mg (0.08 mmol) Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₁₂(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-OH (**106**), 34 mg (0.09 mmol) HATU, 12 mg (0.09 mmol) HOAt und 0.019 ml (17 mg, 0.17 mmol) *N*-Methylmorpholin in 2 ml *N*-Methylpyrrolidin-2-on wird in den Reaktor überführt und dieser 8 h geschüttelt. Anschließend wird das polymergebundene Glycopeptid durch Filtration von überschüssigen Reagenzien abgetrennt und mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen. Mit dem nachfolgenden Acetylierungsschritt nimmt man die automatisierte Synthese nach dem allgemeinen Protokoll wieder auf und knüpft die übrigen neun Aminosäuren an. Für die drei dem Glycosylaminosäure-Baustein direkt folgenden Aminosäuren – L-Glutaminsäure, L-Prolin und L-Leucin – wird dabei jeweils eine Doppelkupplung vorgenommen.

Zur Abspaltung des Glycopeptids vom polymeren Träger wird das Harz in einen Festphasenreaktor nach *Merrifield* überführt und 2 h in einer Mischung aus 2 ml Essig-

säure, 2 ml Trifluorethanol und 16 ml Dichlormethan geschüttelt. Man filtriert das Harz ab und wäscht es zweimal mit jeweils weiteren 5 ml der genannten Mischung. Die vereinigten Filtrate werden mit Toluol versetzt und i. Vak. bzw. i. Hochvak. von Reagenzien und Lösungsmitteln befreit, wobei zur Vermeidung einer erhöhten Säurekonzentration während des Einengens mehrfach Toluol zugegeben wird. Man wiederholt den Abspaltungsvorgang auf analoge Weise dreimal und erhält dadurch jeweils weiteres Produkt. Anschließend wird das Harz erneut 2 h geschüttelt, dieses Mal in einer Mischung aus 10.0 ml Trifluoressigsäure, 10.0 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan. Dadurch lässt sich allerdings kein Produkt mehr gewinnen. Ohne Reinigung und vollständige Charakterisierung wird das Glycopeptid direkt weiter umgesetzt.

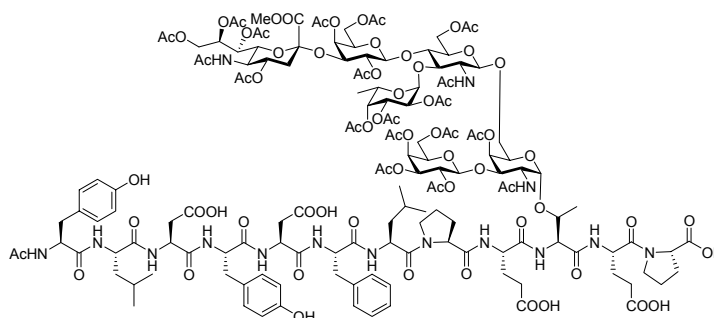
Analytische Daten des Rohprodukts:

$R_t = 39$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-8), $R_t = 37$ min (Säule: Jupiter-1, Gradient: Ana-7).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1889.8$ ($[M+1+2Na]^{2+}$, ber.: 1889.8),
 3756.6 ($[M+1+Na]^+$, ber.: 3756.6).

$C_{175}H_{253}N_{15}O_{73}$ (3734.9)

(*N*-Acetyl-L-tyrosyl)-L-leucyl-L-aspartyl-L-tyrosyl-L-aspartyl-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-prolyl-L-glutamyl-(*O*-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-fucopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-di-desoxy-D-glycero- α -D-galactono-2-ulopyranosyl)onat]- β -D-galactopyranosyl}-6-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-4-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonyl)-L-glutamyl-L-prolin (119)



(Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr[α -6-(β -Ac₁₂(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-Glu-Pro-OH)

Eine Lösung des rohen Glycopeptids Ac-Tyr(^tBu)-Leu-Asp(O^tBu)-Tyr(^tBu)-Asp(O^tBu)-Phe-Leu-Pro-Glu(O^tBu)-Thr[α -6-(β -Ac₁₂(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-Glu(O^tBu)-Pro-OH (**116**) in einer Mischung aus 10.0 ml Trifluoressigsäure, 10.0 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan wird 2 h bei Raumtemp.

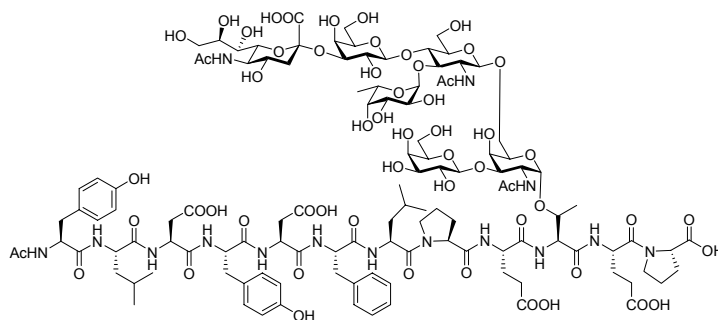
gerührt. Anschließend versetzt man sie mit Toluol und entfernt i. Vak. bzw. i. Hochvak. Reagenzien und Lösungsmittel, wobei man durch mehrfache Zugabe von weiterem Toluol während des Einengens eine erhöhte Säurekonzentration vermeidet. Der Rückstand wird – in zwei Portionen aufgeteilt – durch präparative RP-HPLC gereinigt ($R_t = 22$ – 26 min, Säule: Luna-2, Gradient: Präp-5). Dabei werden neben der Hauptfraktion (63 mg), die eine Retentionszeit von 22–26 min aufweist, weitere Fraktionen mit Retentionszeiten von 20–22 min bzw. 26–28 min gewonnen (insgesamt 45 mg). Diese enthalten, der massenspektrometrischen Untersuchung zufolge, vermutlich noch eine größere Menge an dem gewünschten Produkt **119**.

Ausbeute: 63–108 mg (0.02–0.03 mmol, 23–40 % bezogen auf den Glycosylaminosäure-Baustein **106**); farbloses Lyophilisat; $[\alpha]_D^{23} = -28$ ($c = 1.00$, CH_3CN); $R_t = 22$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-7), $R_t = 16$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-9).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1732.8$ ($[\text{M}+1+3\text{Na}-\text{H}]^{2+}$, ber.: 1732.6), 1743.8 ($[\text{M}+1+4\text{Na}-2\text{H}]^{2+}$, ber.: 1743.6), 1754.8 ($[\text{M}+1+5\text{Na}-3\text{H}]^{2+}$, ber.: 1754.6).

$\text{C}_{151}\text{H}_{205}\text{N}_{15}\text{O}_{73}$ (3398.3)

(*N*-Acetyl-L-tyrosyl)-L-leucyl-L-aspartyl-L-tyrosyl-L-aspartyl-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-prolyl-L-glutamyl-(*O*-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-4-*O*-{3-*O*-[5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-non-2-ulopyranosylonsäure]- β -D-galactopyranosyl]-2-desoxy-3-*O*-{ α -L-fucopyranosyl}- β -D-glucopyranosyl)-2-desoxy-3-*O*-



(β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosyl]-L-threonyl)-L-glutamyl-L-prolin (**120**)
(Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr[α -6-(β -(Fuc)SLe^x)-3-(β -Gal)-GalNAc]-Glu-Pro-OH)

Man versetzt eine Lösung von 61 mg (18.0 μmol) Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr[α -6-(β -Ac₁₂(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-Glu-Pro-OH (**119**) in 15 ml Methanol unter Rühren so lange mit Natriummethanolat, bis ein pH-Wert von 8.5 bis 9.0 erreicht ist. Die Reaktionsmischung wird 18 h bei Raumtemp. gerührt, anschließend mit einer Lösung von Essigsäure in Methanol neutralisiert und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand nimmt man in 15 ml Wasser auf. Diese Lösung wird durch Zugabe

von 1 M Natronlauge auf einen pH-Wert von 10.0 bis 10.5 gebracht und ebenfalls 18 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend neutralisiert man sie mit einer Lösung von Essigsäure in Wasser und entfernt das Lösungsmittel mittels Gefriertrocknung. Das Rohprodukt wird durch präparative RP-HPLC gereinigt ($R_t = 25-27$ min, Säule: Jupiter-2, Gradient: Präp-4).

Ausbeute: 31 mg (11.4 μ mol, 64 %); farbloses Lyophilisat; $[\alpha]_D^{23} = -23$ ($c = 0.96$, DMSO); $R_t = 13$ min (Säule: Jupiter-1, Gradient: Ana-7).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY, TOCSY] (DMSO- d_6): $[\delta/\text{ppm}] = 8.32$ (db, 1H, $^3J_{\text{NH,Glu1}\alpha} = 6.0$ Hz, NH-Glu₁), 8.23-8.19 (m, 2H, NH-Leu₁ {8.22, d, $^3J_{\text{NH,Leu1}\alpha} = 8.4$ Hz}, NH-Asp₁ {8.20, d, $^3J_{\text{NH,Asp1}\alpha} = 7.8$ Hz}), 8.14 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,Asp2}\alpha} = 7.4$ Hz, NH-Asp₂), 8.07 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,Glu2}\alpha} = 7.4$ Hz, NH-Glu₂), 8.03-7.93 (m, 4H, NH-GlcN {8.02, d, $^3J_{\text{NH,H2}} = 8.8$ Hz}, NH-Tyr₁ {7.98, d, $^3J_{\text{NH,Tyr1}\alpha} = 8.2$ Hz}, NH-Leu₂ {7.98, d, $^3J_{\text{NH,Leu2}\alpha} = 8.2$ Hz}, NH-Sia {7.94, d, $^3J_{\text{NH,H5}} = 7.6$ Hz}), 7.85 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,Thr}\alpha} = 8.2$ Hz, NH-Thr), 7.70-7.64 (m, 2H, NH-Tyr₂ {7.69, d, $^3J_{\text{NH,Tyr2}\alpha} = 7.6$ Hz}, NH-Phe {7.65, d, $^3J_{\text{NH,Phe}\alpha} = 7.2$ Hz}), 7.21-7.13 (m, 5H, H_{Ar}-Phe), 7.01, 6.96 (2 x d, 4H, $^3J = 8.6$ Hz, $^3J = 8.4$ Hz, H_{Ar-2,6}-Tyr₁, H_{Ar-2,6}-Tyr₂), 6.84 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H2}} = 8.4$ Hz, NH-GalN), 6.62-6.59 (m, 4H, H_{Ar-3,5}-Tyr₁, H_{Ar-3,5}-Tyr₂), 4.80 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 2.9$ Hz, H1-Fuc), 4.71-4.65 (m, 2H, H1-GalN {4.70, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.3$ Hz}, H5-Fuc {4.67}), 4.52-3.17 (m, Phe $^\alpha$ {4.52}, Leu₁ $^\alpha$ {4.51}, Asp₁ $^\alpha$ {4.51}, Asp₂ $^\alpha$ {4.49}, Glu₂ $^\alpha$ {4.48}, Glu₁ $^\alpha$ {4.47}, Pro₁ $^\alpha$ {4.42}, Thr $^\alpha$ {4.40}, Tyr₁ $^\alpha$ {4.39}, H1-GlcN {4.36}, Tyr₂ $^\alpha$ {4.34}, H1-Gal {4.33}, Leu₂ $^\alpha$ {4.27}, H1-Gal' {4.19}, Pro₂ $^\alpha$ {4.14}, H2-GalN {4.08}, Thr $^\beta$ {4.05}, H6a-GalN {3.85}, H4-GalN {3.80}, H3-Gal {3.76}, H2-GlcN {3.68}, Pro₁ $^\delta$ _a, Pro₁ $^\delta$ _b, Pro₂ $^\delta$ _a, Pro₂ $^\delta$ _b {3.63-3.53, 3.45}, H9a-Sia {3.60}, H3-GlcN {3.58}, H4-Sia {3.58}, H3-Gal' {3.58}, H5-Sia {3.57}, H3-GalN {3.56}, H3-Fuc {3.51}, H6b-GalN {3.45}, H4-Fuc {3.43}, H6-Sia {3.43}, H9b-Sia {3.40}, H2-Fuc {3.37}, H2-Gal {3.33}, H2-Gal' {3.28}), 2.96 (ddb, 1H, $^3J_{\text{Phe}\beta\text{a},\text{Phe}\alpha} = 4.3$ Hz, $^2J_{\text{Phe}\beta\text{a},\text{Phe}\beta\text{b}} = 14.4$ Hz, Phe $^\beta$ _a), 2.88-2.76 (m, 3H, Tyr₁ $^\beta$ _a {2.86}, Tyr₂ $^\beta$ _a {2.83}, Phe $^\beta$ _b {2.79}), 2.68-2.55 (m, 4H, Asp₁ $^\beta$ _a {2.65}, Asp₂ $^\beta$ _a {2.64}, Tyr₂ $^\beta$ _b {2.62}, Tyr₁ $^\beta$ _b {2.58}), 2.51-2.13 (m, 8H, H3_{aq}-Sia {2.49, überlagert durch das DMSO-Signal}, Asp₂ $^\beta$ _b {2.44}, Asp₁ $^\beta$ _b {2.41}, Glu₁ $^\gamma$ _a {2.35}, Glu₁ $^\gamma$ _b {2.35}, Glu₂ $^\gamma$ _a {2.31}, Glu₂ $^\gamma$ _b {2.31}, Pro₂ $^\beta$ _a {2.16}), 2.00-1.39 (m, 30H, Pro₁ $^\beta$ _a {1.99}, Pro₁ $^\gamma$ _a {1.90}, Pro₂ $^\gamma$ _a {1.90}, Glu₂ $^\beta$ _a {1.89}, Glu₁ $^\beta$ _a {1.87}, CH₃-Ac {1.85, 1.82}, Pro₁ $^\beta$ _b {1.82}, CH₃-Ac {1.81}, Pro₁ $^\gamma$ _b {1.80}, Pro₂ $^\gamma$ _b {1.80}, Pro₂ $^\beta$ _b {1.79}, CH₃-Ac {1.73}, Glu₂ $^\beta$ _b {1.73}, H3_{ax}-Sia {1.71}, Glu₁ $^\beta$ _b {1.67}, Leu₁ $^\gamma$ {1.60}, Leu₂ $^\gamma$ {1.52}, Leu₁ $^\beta$ _a {1.44}, Leu₁ $^\beta$ _b {1.44}, Leu₂ $^\beta$ _a {1.41}, Leu₂ $^\beta$ _b {1.41}), 1.07 (d, 3H, $^3J_{\text{Thr}\gamma,\text{Thr}\beta} = 5.6$ Hz, Thr $^\gamma$), 0.97 (d, 3H, $^3J_{\text{H6abc},\text{H5}} = 6.2$ Hz, H6a,b,c-Fuc), 0.88-0.81 (m, 12H, Leu₁ $^\delta$ _{abc}, Leu₂ $^\delta$ _{abc}).

100.6 MHz- ^{13}C -NMR [BB, HSQC] (DMSO- d_6): [δ/ppm] = 174.47, 174.23 (Glu_1^δ , Glu_2^δ), 173.52 (COOH-Pro), 172.30, 172.05 (Asp_1^γ , Asp_2^γ), 171.91, 171.82, 171.79, 171.68, 171.12, 170.80, 170.57, 170.46, 170.40, 170.29, 170.21, 169.78, 169.54 (C=O , C1-Sia), 155.95, 155.90 ($\text{C}_{\text{Ar-4-Tyr}_1}$, $\text{C}_{\text{Ar-4-Tyr}_2}$), 137.44 ($\text{C}_{\text{Ar-1-Phe}}$), 130.32, 130.28 ($\text{C}_{\text{Ar-2,6-Tyr}_1}$, $\text{C}_{\text{Ar-2,6-Tyr}_2}$), 129.54 ($\text{C}_{\text{Ar-2,6/3,5-Phe}}$), 128.33 ($\text{C}_{\text{Ar-1-Tyr}_1/\text{C}_{\text{Ar-1-Tyr}_2}$), 128.18 ($\text{C}_{\text{Ar-2,6/3,5-Phe}}$), 127.77 ($\text{C}_{\text{Ar-1-Tyr}_1/\text{C}_{\text{Ar-1-Tyr}_2}$), 126.45 ($\text{C}_{\text{Ar-4-Phe}}$), 115.08, 115.02 ($\text{C}_{\text{Ar-3,5-Tyr}_1}$, $\text{C}_{\text{Ar-3,5-Tyr}_2}$), 104.79 (C1-Gal'), 102.52 (C1-Gal), 100.92 (C1-GlcN), 99.06 (C1-Fuc), 98.98 (C1-GalN), 98.61 (C2-Sia), 78.08 (C3-GalN), 76.49 (C3-Gal), 76.14, 76.00 (Thr^β), 75.86 (C3-GlcN), 75.62 (C2-Gal), 74.83, 73.98 (C6-Sia), 73.03, 71.86 (C4-Fuc), 71.20, 70.98 (C2-Gal'), 69.66 (C3-Fuc), 69.57, 69.38 (C6-GalN), 68.51 (C2-Fuc , C4-GalN , C3-Gal'), 67.16, 66.72 (C4-Sia), 65.94 (C5-Fuc), 63.36 (C9-Sia), 60.89, 59.90, 59.42 (C6-GlcN , C6-Gal , C6-Gal'), 59.25 (Pro_1^α), 58.56 (Pro_2^α), 56.09 (Thr^α), 55.21 (C2-GlcN), 54.50 (Tyr_1^α), 54.25 (Tyr_2^α), 53.45 (Phe^α), 52.22 (C5-Sia), 51.78 ($\text{Glu}_1^\alpha/\text{Glu}_2^\alpha$), 51.05 (Leu_2^α), 49.85, 49.77, 48.79 (Asp_1^α , Asp_2^α , Leu_1^α , $\text{Glu}_1^\alpha/\text{Glu}_2^\alpha$), 47.95 (C2-GalN), 47.02, 46.48 (Pro_1^δ , Pro_2^δ), 46.26, 40.99 (Leu_2^β), 40.52 (Leu_1^β), 40.04 (C3-Sia , überlagert durch das DMSO-Signal), 37.75 (Phe^β), 36.84, 36.73 (Tyr_1^β , Tyr_2^β), 36.17, 36.06 (Asp_1^β , Asp_2^β), 30.31 (Glu_2^γ), 29.67 (Glu_1^γ), 29.15 (Pro_1^β), 28.62 (Pro_2^β), 28.30 (Glu_2^β), 26.31 (Glu_1^β), 24.79, 24.57 (Pro_1^γ , Pro_2^γ), 24.27, 24.17 (Leu_1^γ , Leu_2^γ), 23.36, 23.28 (Leu_1^δ , Leu_2^δ , $\text{CH}_3\text{-Ac}$), 22.96, 22.69 ($\text{CH}_3\text{-Ac}$), 22.01, 21.73 (Leu_1^δ , Leu_2^δ), 18.80 (Thr^γ), 16.64 (C6-Fuc).

Anhand der aufgenommenen Spektren konnten die Signale für die verbleibenden Protonen und Kohlenstoffatome nicht eindeutig zugewiesen werden.

ESI-MS (Gerät 2, positiv, direkt aus dem Ansatz entnommene Probe): [m/z] = 1444.6 ($[\text{M}+1+8\text{Na}-6\text{H}]^{2+}$, ber.: 1444.5).

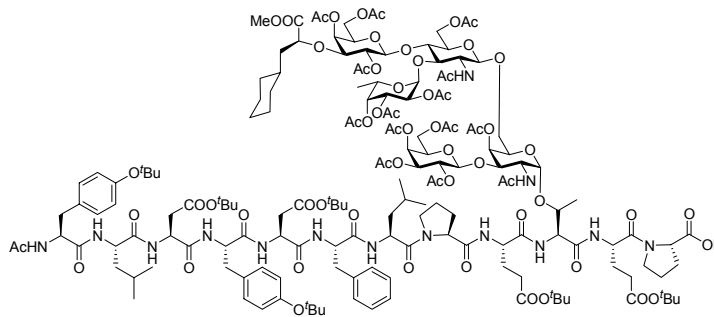
ESI-MS (Gerät 2, positiv, + 0.1 % TFA, Reinprodukt): [m/z] = 657.3 ($[\text{SLe}^x\text{-Fuc}+\text{H}]^+$, ber.: 657.2), 803.4 ($[\text{SLe}^x]^+$, ber.: 803.3), 1356.7 ($[\text{M}+1+2\text{H}]^{2+}$, ber.: 1356.6), 1808.6 ($[\text{2M}+2+3\text{H}]^{3+}$, ber.: 1808.4), 1909.0 ($[\text{M-SLe}^x+2\text{H}]^+$, ber.: 1908.8).

HR-ESI-MS (positiv, + 0.1 % TFA): [m/z] = 1356.5509 ($[\text{M}+1+2\text{H}]^{2+}$, ber.: 1356.5550).

$\text{C}_{118}\text{H}_{171}\text{N}_{15}\text{O}_{57}$ (2711.7)

5.9.3 Die Synthese des das Sialyl-Lewis^x-Mimetikum enthaltenden Glycododecapeptids

(*N*-Acetyl-*O*-*tert*-butyl-L-tyrosyl)-L-leucyl-(*O*⁴-*tert*-butyl-L-aspartyl)-(*O*-*tert*-butyl-L-tyrosyl)-(*O*⁴-*tert*-butyl-L-aspartyl)-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-prolyl-(*O*⁵-*tert*-butyl-L-glutamyl)-(*O*-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-fucopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl]-6-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-4-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonyl)-(*O*⁵-*tert*-butyl-L-glutamyl)-L-prolin (121)



(Ac-Tyr(^tBu)-Leu-Asp(^tBu)-Tyr(^tBu)-Asp(^tBu)-Phe-Leu-Pro-Glu(^tBu)-Thr[α -6-(β -Ac₇(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-Glu(^tBu)-Pro-OH)

Ausgehend von 130 mg (0.10 mmol der Startamino­säure) des mit Fmoc-Pro-(2-CT) versehenen Polystyrol-Harzes **113** (Beladung: 0.77 mmol/g) wird das Glycopeptid nach dem allgemeinen Protokoll der automatisierten Festphasensynthese (vgl. Seite 254) aufgebaut. Dabei wird zur Anbindung des Glycosylaminosäure-Bausteins **112** die automatisierte Synthese nach der Fmoc-Abspaltung von der an die Startamino­säure geknüpften L-Glutaminsäureeinheit unterbrochen. Eine Lösung von 208 mg (0.11 mmol) Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₇(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-OH (**112**), 46 mg (0.12 mmol) HATU, 16 mg (0.12 mmol) HOAt und 0.026 ml (24 mg, 0.24 mmol) *N*-Methylmorpholin in 2 ml *N*-Methylpyrrolidin-2-on wird in den Reaktor überführt und dieser 8 h geschüttelt. Anschließend wird das polymergebundene Glycopeptid durch Filtration von überschüssigen Reagenzien abgetrennt und mit *N*-Methylpyrrolidin-2-on gewaschen. Mit dem nachfolgenden Acetylierungsschritt nimmt man die automatisierte Synthese nach dem allgemeinen Protokoll wieder auf und knüpft die übrigen neun Aminosäuren an. Für die drei dem Glycosylaminosäure-Baustein direkt folgenden Aminosäuren – L-Glutaminsäure, L-Prolin und L-Leucin – wird dabei jeweils eine Doppelkupplung vorgenommen.

Zur Abspaltung des Glycopeptids vom polymeren Träger wird das Harz in einen Festphasenreaktor nach *Merrifield* überführt und 2 h in einer Mischung aus 2 ml Essig-

säure, 2 ml Trifluorethanol und 16 ml Dichlormethan geschüttelt. Man filtriert das Harz ab und wäscht es zweimal mit jeweils weiteren 5 ml der genannten Mischung. Die vereinigten Filtrate werden mit Toluol versetzt und i. Vak. bzw. i. Hochvak. von Reagenzien und Lösungsmitteln befreit, wobei zur Vermeidung einer erhöhten Säurekonzentration während des Einengens mehrfach Toluol zugegeben wird. Man wiederholt den Abspaltungsvorgang auf analoge Weise dreimal und erhält dadurch jeweils weiteres Produkt. Anschließend wird das Harz erneut 2 h geschüttelt, dieses Mal in einer Mischung aus 10.0 ml Trifluoressigsäure, 10.0 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan. Dadurch lässt sich noch einmal Produkt gewinnen, welches allerdings bereits von den *tert*-Butylgruppen befreit ist. Ohne Reinigung und vollständige Charakterisierung wird das Glycopeptid direkt weiter umgesetzt.

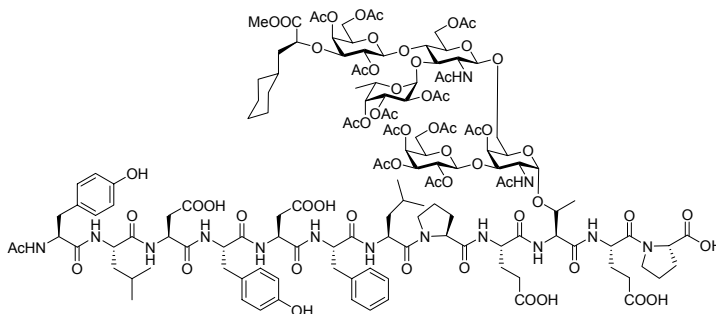
Analytische Daten des Rohprodukts:

$R_t = 49$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-10), $R_t = 54$ min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-9).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z] = 1737.4$ ($[M+1+2Na]^{2+}$, ber.: 1737.3).

$C_{165}H_{242}N_{14}O_{63}$ (3429.7)

(*N*-Acetyl-L-tyrosyl)-L-leucyl-L-aspartyl-L-tyrosyl-L-aspartyl-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-prolyl-L-glutamyl-(*O*-[2-acetamido-6-*O*-(2-acetamido-3-*O*-{2,3,4-tri-*O*-acetyl- α -L-fucopyranosyl}-4-*O*-{2,4,6-tri-*O*-acetyl-3-*O*-[(1*S*)-2-cyclohexyl-1-methoxycarbonyl-ethyl]- β -D-galactopyranosyl]-6-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-4-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-L-threonyl)-L-glutamyl-L-prolin (123)



(Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr[α -6-(β -Ac₇(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-Glu-Pro-OH)

Eine Lösung des rohen Glycopeptids Ac-Tyr(^tBu)-Leu-Asp(O^tBu)-Tyr(^tBu)-Asp(O^tBu)-Phe-Leu-Pro-Glu(O^tBu)-Thr[α -6-(β -Ac₇(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-Glu(O^tBu)-Pro-OH (**121**) in einer Mischung aus 10.0 ml Trifluoressigsäure, 10.0 ml Dichlormethan, 0.5 ml Wasser und 0.5 ml Triisopropylsilan wird 2 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend versetzt man sie mit Toluol und entfernt i. Vak. bzw.

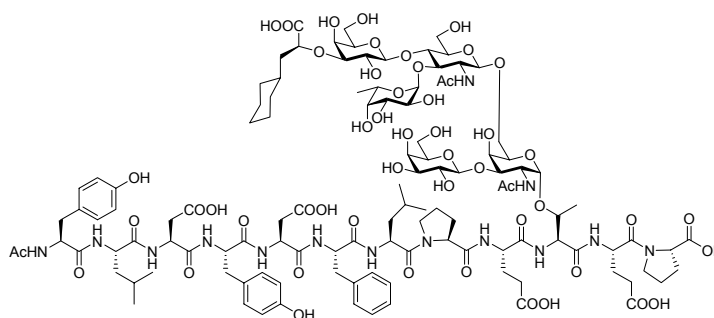
i. Hochvak. Reagenzien und Lösungsmittel, wobei man durch mehrfache Zugabe von weiterem Toluol während des Einengens eine erhöhte Säurekonzentration vermeidet. Der Rückstand wird – in zwei Portionen aufgeteilt – durch präparative RP-HPLC gereinigt (R_t = 40-42 min, Säule: Luna-2, Gradient: Präp-5).

Ausbeute: 74 mg (0.02 mmol, 24 % bezogen auf die Startamino­säure am Harz); farbloses Lyophilisat; R_t = 22 min (Säule: Luna-1, Gradient: Ana-9).

ESI-MS (Gerät 2, positiv): $[m/z]$ = 1547.2 ($[M+1+2H]^{2+}$, ber.: 1547.1), 1558.2 ($[M+1+H+Na]^{2+}$, ber.: 1558.1), 1569.2 ($[M+1+2Na]^{2+}$, ber.: 1569.1), 1577.2 ($[M+1+Na+K]^{2+}$, ber.: 1577.1), 1585.2 ($[M+1+2K]^{2+}$, ber.: 1585.1), 3115.3 ($[M+1+Na]^+$, ber.: 3115.2).

$C_{141}H_{194}N_{14}O_{63}$ (3093.1)

(N-Acetyl-L-tyrosyl)-L-leucyl-L-aspartyl-L-tyrosyl-L-aspartyl-L-phenylalanyl-L-leucyl-L-prolyl-L-glutamyl-(O-[2-acetamido-6-O-(2-acetamido-4-O-{3-O-[(1S)-2-cyclohexyl-1-carboxy-ethyl]-β-D-galactopyranosyl}-2-desoxy-3-O-{α-L-fucopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-2-desoxy-3-O-(β-D-galactopyranosyl)-α-D-galactopyranosyl]-L-threonyl)-L-glutamyl-L-prolin (124)



(Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr[α-6-(β-(Fuc)CycloLe^x)-3-(β-Gal)-GalNAc]-Glu-Pro-OH)

Man versetzt eine Lösung von 58 mg (18.8 μmol) Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr[α-6-(β-Ac₇(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β-Ac₄Gal)-AcGalNAc]-Glu-Pro-OH (**123**) in 15 ml Methanol unter Rühren so lange mit Natriummethanolat, bis ein pH-Wert von 8.5 bis 9.0 erreicht ist. Die Reaktionsmischung wird 18 h bei Raumtemp. gerührt, anschließend mit einer Lösung von Essigsäure in Methanol neutralisiert und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand nimmt man in 15 ml Wasser auf. Diese Lösung wird durch Zugabe von 1 M Natronlauge auf einen pH-Wert von 10.0 bis 10.5 gebracht und ebenfalls 18 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend neutralisiert man sie mit einer Lösung von Essigsäure in Wasser und entfernt das Lösungsmittel mittels Gefriertrocknung. Da sich mittels Massenspektrometrie, NMR-Spektroskopie sowie analytischer RP-HPLC nachweisen lässt, dass die O-Deacetylierung zu diesem Zeitpunkt noch nicht vollständig abgelaufen ist, wird das

Rohprodukt erneut mit Natronlauge bei einem pH-Wert von 10.0 bis 10.5 umgesetzt. Nach 18 h sind schließlich sämtliche Schutzgruppen entfernt. Die Reaktionsmischung wird aufgearbeitet, wie bereits beschrieben, und das resultierende Rohprodukt – in zwei Portionen aufgeteilt – durch präparative RP-HPLC gereinigt ($R_t = 31$ –32 min, Säule: Jupiter-2, Gradient: Präp-4).

Ausbeute: 45 mg (17.5 μ mol, 93 %); farbloses Lyophilisat; $[\alpha]_D^{23} = -28$ ($c = 0.86$, DMSO); $R_t = 16$ min (Säule: Jupiter-1, Gradient: Ana-7).

400 MHz- ^1H -NMR [^1H - ^1H -COSY, TOCSY] (DMSO- d_6): $[\delta/\text{ppm}] = 8.32$ (db, 1H, $^3J_{\text{NH,Glu1}\alpha} = 6.3$ Hz, NH-Glu₁), 8.23–8.19 (m, 2H, NH-Leu₁ {8.22, d, $^3J_{\text{NH,Leu1}\alpha} = 8.2$ Hz}, NH-Asp₁ {8.20, d, $^3J_{\text{NH,Asp1}\alpha} = 8.0$ Hz}), 8.14 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,Asp2}\alpha} = 7.2$ Hz, NH-Asp₂), 8.08 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,Glu2}\alpha} = 7.2$ Hz, NH-Glu₂), 8.01–7.97 (m, 3H, NH-GlcN {8.00}, NH-Tyr₁ {7.98, d, $^3J_{\text{NH,Tyr1}\alpha} = 8.0$ Hz}, NH-Leu₂ {7.98, d, $^3J_{\text{NH,Leu2}\alpha} = 8.0$ Hz}), 7.86 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,Thr}\alpha} = 7.8$ Hz, NH-Thr), 7.71–7.64 (m, 2H, NH-Tyr₂ {7.70, d, $^3J_{\text{NH,Tyr2}\alpha} = 7.6$ Hz}, NH-Phe {7.65, d, $^3J_{\text{NH,Phe}\alpha} = 7.8$ Hz}), 7.21–7.11 (m, 5H, H_{Ar}-Phe), 7.01, 6.96 (2 x d, 4H, 2 x $^3J = 8.4$ Hz, H_{Ar-2,6}-Tyr₁, H_{Ar-2,6}-Tyr₂), 6.84 (d, 1H, $^3J_{\text{NH,H2}} = 8.4$ Hz, NH-GalN), 6.62–6.59 (m, 4H, H_{Ar-3,5}-Tyr₁, H_{Ar-3,5}-Tyr₂), 4.80 (d, 1H, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.2$ Hz, H1-Fuc), 4.71–4.63 (m, 2H, H1-GalN {4.70, d, $^3J_{\text{H1,H2}} = 3.3$ Hz}, H5-Fuc {4.65}), 4.52–3.12 (m, Phe $^\alpha$ {4.52}, Leu $^\alpha$ {4.51}, Asp $^\alpha$ {4.51}, Asp $^\alpha$ {4.49}, Glu $^\alpha$ {4.48}, Glu $^\alpha$ {4.47}, Pro $^\alpha$ {4.42}, Thr $^\alpha$ {4.41}, Tyr $^\alpha$ {4.39}, H1-GlcN {4.37}, Tyr $^\alpha$ {4.34}, CHCOOH {4.32}, H1-Gal {4.28}, Leu $^\alpha$ {4.28}, H1-Gal' {4.19}, Pro $^\alpha$ {4.14}, H2-GalN {4.08}, Thr $^\beta$ {4.05}, H6a-GalN {3.85}, H4-GalN {3.80}, H4-Gal {3.78}, H2-GlcN {3.66}, Pro $^\delta_a$, Pro $^\delta_b$, Pro $^\delta_a$, Pro $^\delta_b$ {3.63–3.54, 3.46}, H3-GlcN {3.58}, H3-Gal' {3.58}, H3-GalN {3.56}, H3-Fuc {3.52}, H4-Fuc {3.45}, H6b-GalN {3.45}, H2-Gal {3.42}, H2-Fuc {3.37}, H2-Gal' {3.30}, H3-Gal {3.13}), 2.96 (dd_b, 1H, $^3J_{\text{Phe}\beta_a,\text{Phe}\alpha} = 4.3$ Hz, $^2J_{\text{Phe}\beta_a,\text{Phe}\beta_b} = 14.1$ Hz, Phe $^\beta_a$), 2.88–2.76 (m, 3H, Tyr $^\beta_a$ {2.86}, Tyr $^\beta_a$ {2.83}, Phe $^\beta_b$ {2.79}), 2.68–2.55 (m, 4H, Asp $^\beta_a$ {2.65}, Asp $^\beta_a$ {2.64}, Tyr $^\beta_b$ {2.62}, Tyr $^\beta_b$ {2.58}), 2.47–2.13 (m, 7H, Asp $^\beta_b$ {2.44}, Asp $^\beta_b$ {2.41}, Glu $^\gamma_a$ {2.35}, Glu $^\gamma_b$ {2.35}, Glu $^\gamma_a$ {2.31}, Glu $^\gamma_b$ {2.31}, Pro $^\beta_a$ {2.16}), 2.00–1.39 (m, 34H, Pro $^\beta_a$ {1.99}, Pro $^\gamma_a$ {1.90}, Pro $^\gamma_a$ {1.90}, Glu $^\beta_a$ {1.89}, Glu $^\beta_a$ {1.88}, CH₂-Cyclo {1.85}, Pro $^\beta_b$ {1.82}, CH₃-Ac {1.82, 1.81}, Pro $^\gamma_b$ {1.81}, Pro $^\gamma_b$ {1.81}, Pro $^\beta_b$ {1.79}, Glu $^\beta_b$ {1.74}, CH₃-Ac {1.73}, Glu $^\beta_b$ {1.67}, CH-Cyclo {1.63}, CH₂-Cyclo {1.62}, Leu $^\gamma$ {1.61}, Leu $^\gamma$ {1.53}, CH_{2a}CHCOOH {1.52}, Leu $^\beta_a$ {1.44}, Leu $^\beta_b$ {1.44}, Leu $^\beta_a$ {1.42}, Leu $^\beta_b$ {1.42}, CH_{2b}CHCOOH {1.42}), 1.23–1.06 (m, 6H, CH₂-Cyclo, Thr $^\gamma$ {1.07, d, $^3J_{\text{Thr}\gamma,\text{Thr}\beta} = 5.9$ Hz}),

0.98 (d, 3H, $^3J_{\text{H6abc,H5}} = 6.1$ Hz, H6a,b,c-Fuc), 0.90-0.78 (m, 14H, CH₂-Cyclo {0.89, 0.81}, Leu₁^δ_{abc}, Leu₂^δ_{abc}).

100.6 MHz-¹³C-NMR [BB, HSQC] (DMSO-*d*₆): [δ /ppm] = 176.57 (CH₂COOH), 174.47, 174.23 (Glu₁^δ, Glu₂^δ), 173.53 (COOH-Pro), 172.30, 172.05 (Asp₁^γ, Asp₂^γ), 171.91, 171.83, 171.79, 171.69, 171.13, 170.81, 170.58, 170.41, 170.29, 170.22, 169.79, 169.54 (C=O), 155.96, 155.91 (C_{Ar-4}-Tyr₁, C_{Ar-4}-Tyr₂), 137.45 (C_{Ar-1}-Phe), 130.32, 130.28 (C_{Ar-2,6}-Tyr₁, C_{Ar-2,6}-Tyr₂), 129.55 (C_{Ar-2,6/3,5}-Phe), 128.34 (C_{Ar-1}-Tyr₁/C_{Ar-1}-Tyr₂), 128.18 (C_{Ar-2,6/3,5}-Phe), 127.77 (C_{Ar-1}-Tyr₁/C_{Ar-1}-Tyr₂), 126.44 (C_{Ar-4}-Phe), 115.08, 115.02 (C_{Ar-3,5}-Tyr₁, C_{Ar-3,5}-Tyr₂), 104.79 (C1-Gal'), 102.19 (C1-Gal), 100.95 (C1-GlcN), 99.15 (C1-Fuc), 98.99 (C1-GalN), 82.14 (C3-Gal), 78.07 (C3-GalN), 76.14 (CHCOOH), 76.02 (Thr^β), 75.94 (C3-GlcN), 75.63, 74.36, 73.70, 73.03, 71.78 (C4-Fuc), 70.98 (C2-Gal'), 70.86 (C2-Gal), 69.60 (C3-Fuc), 69.44 (C6-GalN), 68.47 (C2-Fuc, C4-GalN, C3-Gal'), 66.03 (C5-Fuc), 65.60 (C4-Gal), 60.90, 59.76, 59.50 (C6-GlcN, C6-Gal, C6-Gal'), 59.23 (Pro₁^α), 58.56 (Pro₂^α), 56.09 (Thr^α), 55.26 (C2-GlcN), 54.50 (Tyr₁^α), 54.27 (Tyr₂^α), 53.44 (Phe^α), 51.77 (Glu₁^α/Glu₂^α), 51.05 (Leu₂^α), 49.77, 48.79 (Asp₁^α, Asp₂^α, Leu₁^α, Glu₁^α/Glu₂^α), 47.94 (C2-GalN), 47.03, 46.48 (Pro₁^δ, Pro₂^δ), 40.98, 40.92 (CH₂CHCOOH, Leu₂^β), 40.52 (Leu₁^β), 37.75 (Phe^β), 36.82, 36.73 (Tyr₁^β, Tyr₂^β), 36.15, 36.07 (Asp₁^β, Asp₂^β), 33.67 (CH₂-Cyclo), 33.06 (CH-Cyclo), 31.94 (CH₂-Cyclo), 30.32 (Glu₂^γ), 29.67 (Glu₁^γ), 29.14 (Pro₁^β), 28.63 (Pro₂^β), 28.32 (Glu₂^β), 26.36 (Glu₁^β), 26.30, 26.09, 25.87 (CH₂-Cyclo), 24.79, 24.57 (Pro₁^γ, Pro₂^γ), 24.28, 24.16 (Leu₁^γ, Leu₂^γ), 23.37, 23.28 (Leu₁^δ, Leu₂^δ, CH₃-Ac), 22.70 (CH₃-Ac), 22.01, 21.73 (Leu₁^δ, Leu₂^δ), 18.81 (Thr^γ), 16.62 (C6-Fuc).

Anhand der aufgenommenen Spektren konnten die Signale für die verbleibenden Protonen und Kohlenstoffatome nicht eindeutig zugewiesen werden.

ESI-MS (Gerät 2, positiv): [m/z] = 1310.0 ([M+1+2Na]²⁺, ber.: 1310.0), 1318.0 ([M+1+Na+K]²⁺, ber.: 1318.0), 1326.0 ([M+1+2K]²⁺, ber.: 1326.0), 1337.0 ([M+1+Na+2K-H]²⁺, ber.: 1337.0).

ESI-MS (Gerät 2, positiv, + 0.1 % TFA): [m/z] = 520.3 ([CycloLe^x-Fuc+H]⁺, ber.: 520.2), 666.4 ([CycloLe^x]⁺, ber.: 666.3), 1288.2 ([M+1+2H]²⁺, ber.: 1288.1), 1909.0 ([M-CycloLe^x+2H]⁺, ber.: 1908.8).

HR-ESI-MS (positiv, + 0.1 % TFA): [m/z] = 1288.0548 ([M+1+2H]²⁺, ber.: 1288.0570).

C₁₁₆H₁₆₈N₁₄O₅₁ (2574.6)

6 Literaturverzeichnis

- [1] N. Sharon, H. Lis, *Spektrum der Wissenschaft* **1993**, 3, 66.
- [2] C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *Immunologie*, 5. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, **2002**.
- [3] T. A. Springer, *Nature* **1990**, 346, 425.
- [4] S. M. Albelda, C. W. Smith, P. A. Ward, *FASEB J.* **1994**, 8, 504.
- [5] T. F. Tedder, D. A. Steeber, A. Chen, P. Engel, *FASEB J.* **1995**, 9, 866.
- [6] D. Vestweber, J. E. Blanks, *Physiol. Rev.* **1999**, 79, 181.
- [7] F. M. Unger, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2001**, 57, 207.
- [8] M. Stewart, M. Thiel, N. Hogg, *Curr. Opin. Cell Biol.* **1995**, 7, 690.
- [9] C. L. Holness, D. L. Simmons, *J. Cell Sci.* **1994**, 107, 2065.
- [10] A. Weller, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 15176.
- [11] M. P. Bevilacqua, J. S. Pober, M. E. Wheeler, R. S. Cotran, M. A. Gimbrone Jr., *J. Clin. Invest.* **1985**, 76, 2003.
- [12] R. Hattori, K. K. Hamilton, R. D. Fugate, R. P. McEver, P. J. Sims, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 7768.
- [13] J.-G. Geng, M. P. Bevilacqua, K. L. Moore, T. M. McIntyre, S. M. Prescott, J. M. Kim, G. A. Bliss, G. A. Zimmerman, R. P. McEver, *Nature* **1990**, 343, 757.
- [14] J. S. Pober, M. P. Bevilacqua, D. L. Mendrick, L. A. Lapierre, W. Fiers, M. A. Gimbrone Jr., *J. Immunol.* **1986**, 136, 1680.
- [15] Y. Imai, M. S. Singer, C. Fennie, L. A. Lasky, S. D. Rosen, *J. Cell Biol.* **1991**, 113, 1213.
- [16] L. A. Lasky, M. S. Singer, D. Dowbenko, Y. Imai, W. J. Henzel, C. Grimley, C. Fennie, N. Gillet, S. R. Watson, S. D. Rosen, *Cell* **1992**, 69, 927.
- [17] Y. Imai, L. A. Lasky, S. D. Rosen, *Nature* **1993**, 361, 555.
- [18] J. B. Lowe, *Immunol. Rev.* **2002**, 186, 19.
- [19] R. D. Cummings, *Braz. J. Med. Biol. Res.* **1999**, 32, 519.
- [20] K. L. Moore, K. D. Patel, R. E. Bruehl, L. Fugang, D. A. Johnson, H. S. Lichenstein, R. D. Cummings, D. F. Bainton, R. P. McEver, *J. Cell Biol.* **1995**, 128, 661.
- [21] R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Clin. Invest.* **1997**, 100, 485.
- [22] A. Levinovitz, J. Mühlhoff, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1993**, 121, 449.
- [23] M. Lenter, A. Levinovitz, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1994**, 125, 471.
- [24] R. P. McEver, K. L. Moore, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 11025.
- [25] R. P. McEver, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2002**, 14, 581.
- [26] B. Walcheck, K. L. Moore, R. P. McEver, T. K. Kishimoto, *J. Clin. Invest.* **1996**, 98, 1081.
- [27] D. A. Guyer, K. L. Moore, E. B. Lynam, C. M. G. Schammel, S. Rogelj, R. P. McEver, L. A. Sklar, *Blood* **1996**, 88, 2415.
- [28] O. Spertini, A.-S. Cordey, N. Monai, L. Giuffrè, M. Schapira, *J. Cell Biol.* **1996**, 135, 523.
- [29] M. A. Jutila, S. Kurk, *J. Immunol.* **1996**, 156, 289.

- [30] R. Alon, R. C. Fuhlbrigge, E. B. Finger, T. A. Springer, *J. Cell Biol.* **1996**, *135*, 849.
- [31] R. F. Bargatze, S. Kurk, E. C. Butcher, M. A. Jutila, *J. Exp. Med.* **1994**, *180*, 1785.
- [32] M. B. Lawrence, T. A. Springer, *Cell* **1991**, *65*, 859.
- [33] U. H. von Andrian, J. D. Chambers, L. M. McEvoy, R. F. Bargatze, K.-E. Arfors, E. C. Butcher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 7538.
- [34] A. van de Stolpe, P. T. van der Saag, *J. Mol. Med.* **2004**, *74*, 13.
- [35] C. G. Gahmberg, P. Nortamo, C. Kantor, M. Autero, P. Kotovuori, L. Hemiö, R. Salcedo, M. Patarroyo, *Cell Differentiation and Development* **1990**, *32*, 239.
- [36] C. G. Gahmberg, *Curr. Opin. Cell Biol.* **1997**, *9*, 643.
- [37] M. Berg, S. P. James, *Blood* **1990**, *76*, 2381.
- [38] J. Kahn, R. H. Ingraham, F. Shirley, G. I. Migaki, T. K. Kishimoto, *J. Cell Biol.* **1994**, *125*, 461.
- [39] M. Doré, R. J. Korthuis, D. N. Granger, M. L. Entman, C. W. Smith, *Blood* **1993**, *82*, 1308.
- [40] K. Ley, D. C. Bullard, M. L. Arbonés, R. Bosse, D. Vestweber, T. F. Tedder, A. L. Beaudet, *J. Exp. Med.* **1995**, *181*, 669.
- [41] T. N. Mayadas, R. C. Johnson, H. Rayburn, R. O. Hynes, D. D. Wagner, *Cell* **1993**, *74*, 541.
- [42] M. A. Labow, C. R. Norton, J. M. Rumberger, K. M. Lombard-Gillooly, D. J. Shuster, J. Hubbard, R. Bertko, P. A. Knaack, R. W. Terry, M. L. Harbison, F. Kontgen, C. L. Stewart, K. W. McIntyre, P. C. Will, D. K. Burns, B. A. Wolitzky, *Immunity* **1994**, *1*, 709.
- [43] M. L. Arbonés, D. C. Ord, K. Ley, H. Ratech, C. Maynard-Curry, G. Otten, D. J. Capon, T. F. Tedder, *Immunity* **1994**, *1*, 247.
- [44] R. Hallmann, M. A. Jutila, C. W. Smith, D. C. Anderson, T. K. Kishimoto, E. C. Butcher, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *174*, 236.
- [45] P. S. Frenette, T. N. Mayadas, H. Rayburn, R. O. Hynes, D. Wagner, *Cell* **1996**, *84*, 563.
- [46] D. C. Bullard, E. J. Kunkel, H. Kubo, M. J. Hicks, I. Lorenzo, N. A. Doyle, C. M. Doerschuk, K. Ley, A. L. Beaudet, *J. Exp. Med.* **1996**, *183*, 2329.
- [47] M. Bevilacqua, E. Butcher, B. Furie, B. Furie, M. Gallatin, M. Gimbrone, J. Harlan, K. Kishimoto, L. Lasky, R. McEver, J. Paulson, S. Rosen, B. Seed, M. Siegelman, T. Springer, L. Stoolman, T. Tedder, A. Varki, D. Wagner, I. Weissman, G. Zimmerman, *Cell* **1991**, *67*, 233.
- [48] G. S. Kansas, *Blood* **1996**, *88*, 3259.
- [49] C. Ehrhardt, C. Kneuer, U. Bakowsky, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, *56*, 527.
- [50] K. Drickamer, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 9557.
- [51] H. Lis, N. Sharon, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637.
- [52] C. L. Berman, E. L. Yeo, J. D. Wencel-Drake, B. C. Furie, M. H. Ginsberg, B. Furie, *J. Clin. Invest.* **1986**, *78*, 130.
- [53] R. P. McEver, M. N. Martin, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 9799.

- [54] S.-C. Hsu-Lin, C. L. Berman, B. C. Furie, D. August, B. Furie, *J. Biol. Chem.* **1984**, 259, 9121.
- [55] P. E. Stenberg, R. P. McEver, M. A. Shuman, Y. V. Jacques, D. F. Bainton, *J. Cell Biol.* **1985**, 101, 880.
- [56] G. I. Johnston, R. G. Cook, R. P. McEver, *Cell* **1989**, 56, 1033.
- [57] R. P. McEver, J. H. Beckstead, K. L. Moore, L. Marshall-Carlson, D. F. Bainton, *J. Clin. Invest.* **1989**, 84, 92.
- [58] R. Bonfanti, B. C. Furie, B. Furie, D. D. Wagner, *Blood* **1989**, 73, 1109.
- [59] M. P. Bevilacqua, J. S. Pober, D. L. Mendrick, R. S. Cotran, M. A. Gimbrone Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, 84, 9238.
- [60] M. P. Bevilacqua, S. Stengelin, M. A. Gimbrone Jr., B. Seed, *Science* **1989**, 243, 1160.
- [61] W. M. Gallatin, I. L. Weissman, E. C. Butcher, *Nature* **1983**, 304, 30.
- [62] D. M. Lewinsohn, R. F. Bargatze, E. C. Butcher, *J. Immunol.* **1987**, 138, 4313.
- [63] J. S. Geoffroy, S. D. Rosen, *J. Cell Biol.* **1989**, 109, 2463.
- [64] T. F. Tedder, A. C. Penta, H. B. Levine, A. S. Freedman, *J. Immunol.* **1990**, 144, 532.
- [65] E. C. Butcher, L. J. Picker, *Science* **1996**, 272, 60.
- [66] M. L. Phillips, E. Nudelman, F. C. Gaeta, M. Perez, A. K. Singhal, S. Hakomori, J. C. Paulson, *Science* **1990**, 250, 1130.
- [67] G. Walz, A. Aruffo, W. Kolanus, M. Bevilacqua, B. Seed, *Science* **1990**, 250, 1132.
- [68] M. J. Polley, M. L. Phillips, E. Wayner, E. Nudelman, A. K. Singhal, S.-I. Hakomori, J. C. Paulson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, 88, 6224.
- [69] D. Tyrrell, P. James, N. Rao, C. Foxall, S. Abbas, F. Dasgupta, M. Nashed, A. Hasegawa, M. Kiso, D. Asa, J. Kidd, B. K. Brandley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, 88, 10372.
- [70] C. Foxall, S. R. Watson, D. Dowbenko, C. Fennie, L. A. Lasky, M. Kiso, A. Hasegawa, D. Asa, B. K. Brandley, *J. Cell Biol.* **1992**, 117, 895.
- [71] E. L. Berg, M. K. Robinson, O. Mansson, E. C. Butcher, J. L. Magnani, *J. Biol. Chem.* **1991**, 266, 14869.
- [72] Y. Ichikawa, Y.-C. Lin, D. P. Dumas, G.-J. Shen, E. Garcia-Junceda, M. A. Williams, R. Bayer, C. Ketcham, L. E. Walker, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 9283.
- [73] G. E. Ball, R. A. O'Neill, J. E. Schultz, J. B. Lowe, B. W. Weston, J. O. Nagy, E. G. Brown, C. J. Hobbs, M. D. Bednarski, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 5449.
- [74] S. A. DeFrees, F. C. A. Gaeta, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 7549.
- [75] A. Etzioni, M. Frydman, S. Pollack, I. Avidor, M. L. Phillips, J. C. Paulson, R. Gershoni-Baruch, *N. Engl. J. Med.* **1992**, 327, 1789.
- [76] U. H. von Andrian, E. M. Berger, L. Ramezani, J. D. Chambers, H. D. Ochs, J. M. Harlan, J. C. Paulson, A. Etzioni, K.-E. Arfors, *J. Clin. Invest.* **1993**, 91, 2893.
- [77] M. L. Phillips, B. R. Schwartz, A. Etzioni, R. Bayer, H. D. Ochs, J. C. Paulson, J. M. Harlan, *J. Clin. Invest.* **1995**, 96, 2898.

- [78] T. Marquardt, K. Lühn, G. Srikrishna, H. H. Freeze, E. Harms, D. Vestweber, *Blood* **1999**, *94*, 3976.
- [79] K. Lühn, T. Marquardt, E. Harms, D. Vestweber, *Blood* **2001**, *97*, 330.
- [80] M. Fukuda, N. Hiraoka, J.-C. Yeh, *J. Cell Biol.* **1999**, *147*, 467.
- [81] K. L. Moore, N. L. Stults, S. Diaz, D. F. Smith, R. D. Cummings, A. Varki, R. P. McEver, *J. Cell Biol.* **1992**, *118*, 445.
- [82] D. Sako, X.-J. Chang, K. M. Barone, G. Vachino, H. M. White, G. Shaw, G. M. Veldmann, K. M. Bean, T. J. Ahern, B. Furie, D. A. Cumming, G. R. Larsen, *Cell* **1993**, *75*, 1179.
- [83] K. L. Moore, S. F. Eaton, D. E. Lyons, H. S. Lichenstein, R. D. Cummings, R. P. McEver, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 23318.
- [84] K. E. Norgard, K. L. Moore, S. Diaz, N. L. Stults, S. Ushiyama, R. P. McEver, R. D. Cummings, A. Varki, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 12764.
- [85] F. Li, H. P. Erickson, J. A. James, K. L. Moore, R. D. Cummings, R. P. McEver, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 6342.
- [86] K. R. Snapp, H. Ding, K. Atkins, R. Warnke, F. W. Luscinskas, G. S. Kansas, *Blood* **1998**, *91*, 154.
- [87] D. Sako, K. M. Comess, K. M. Barone, R. T. Camphausen, D. A. Cumming, G. D. Shaw, *Cell* **1995**, *83*, 323.
- [88] T. Pouyani, B. Seed, *Cell* **1995**, *83*, 333.
- [89] V. Ramachandran, M. U. Nollert, H. Qiu, W.-J. Liu, R. D. Cummings, C. Zhu, R. P. McEver, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 13771.
- [90] W.-j. Liu, V. Ramachandran, J. Kang, T. K. Kishimoto, R. D. Cummings, R. P. McEver, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 7078.
- [91] F. Li, P. P. Wilkins, S. Crawley, J. Weinstein, R. D. Cummings, R. P. McEver, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 3255.
- [92] P. P. Wilkins, K. L. Moore, R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 22677.
- [93] R. Kumar, R. T. Camphausen, F. X. Sullivan, D. A. Cumming, *Blood* **1996**, *88*, 3872.
- [94] L. G. Ellies, S. Tsuboi, B. Petryniak, J. B. Lowe, M. Fukuda, J. D. Marth, *Immunity* **1998**, *9*, 881.
- [95] M. Sperandio, A. Thatte, D. Foy, L. G. Ellies, J. D. Marth, K. Ley, *Blood* **2001**, *97*, 3812.
- [96] P. Malý, A. D. Thall, B. Petryniak, C. E. Rogers, P. L. Smith, R. M. Marks, R. J. Kelly, K. M. Gersten, G. Cheng, T. L. Saunders, S. A. Camper, R. T. Camphausen, F. X. Sullivan, Y. Isogai, O. Hindsgaul, U. H. von Andrian, J. B. Lowe, *Cell* **1996**, *86*, 643.
- [97] A. Leppänen, P. Mehta, Y.-B. Ouyang, T. Ju, J. Helin, K. L. Moore, I. van Die, W. M. Canfield, R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 24838.
- [98] A. Leppänen, S. P. White, J. Helin, R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 39569.
- [99] A. Leppänen, L. Penttilä, O. Renkonen, R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 39749.

- [100] P. P. Wilkins, R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 18732.
- [101] B. K. Brandley, M. Kiso, S. Abbas, P. Nikrad, O. Srivasatava, C. Foxall, Y. Oda, A. Hasegawa, *Glycobiology* **1993**, *3*, 633.
- [102] W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretzschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2186.
- [103] R. Banteli, B. Ernst, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 459.
- [104] J. Y. Ramphal, Z.-L. Zheng, C. Perez, L. E. Walker, S. A. DeFrees, F. C. A. Gaeta, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3459.
- [105] M. J. Bamford, M. Bird, P. M. Gore, D. S. Holmes, R. Priest, J. C. Prodger, V. Saez, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 239.
- [106] G. Thoma, J. L. Magnani, J. T. Patton, B. Ernst, W. Jahnke, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1995.
- [107] M. Yoshida, A. Uchimura, M. Kiso, A. Hasegawa, *Glycoconjugate J.* **1993**, *10*, 3.
- [108] G. Kuznik, B. Hörsch, G. Kretzschmar, C. Unverzagt, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 577.
- [109] W. S. Somers, J. Tang, G. D. Shaw, R. T. Camphausen, *Cell* **2000**, *103*, 467.
- [110] D. Asa, L. Raycroft, L. Ma, P. A. Aeed, P. S. Kaytes, Å. P. Elhammer, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 11662.
- [111] L. Xia, M. Sperandio, T. Yago, J. M. McDaniel, R. D. Cummings, S. Pearson-White, K. Ley, R. P. McEver, *J. Clin. Invest.* **2002**, *109*, 939.
- [112] L. Tu, A. Chen, M. D. Delahunty, K. L. Moore, S. R. Watson, R. P. McEver, T. F. Tedder, *J. Immunol.* **1996**, *157*, 3995.
- [113] A. Leppänen, T. Yago, V. I. Otto, R. P. McEver, R. D. Cummings, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 26391.
- [114] S. Hemmerich, H. Leffler, S. D. Rosen, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 12035.
- [115] C. Galustian, A. M. Lawson, S. Komba, H. Ishida, M. Kiso, T. Feizi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, *240*, 748.
- [116] C. Mitsuoka, M. Sawada-Kasugai, K. Ando-Furui, M. Izawa, H. Nakanishi, S. Nakamura, H. Ishida, M. Kiso, R. Kannagi, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 11225.
- [117] M. P. Bernimoulin, X.-L. Zeng, C. Abbal, S. Giraud, M. Martinez, O. Michielin, M. Schapira, O. Spertini, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 37.
- [118] D. J. Goetz, D. M. Greif, H. Ding, R. T. Camphausen, S. Howes, K. M. Comess, K. R. Snapp, G. S. Kansas, F. W. Luscinskas, *J. Cell Biol.* **1997**, *137*, 509.
- [119] A. Kanamori, N. Kojima, K. Uchimura, T. Muramatsu, T. Tamatani, M. C. Berndt, G. S. Kansas, R. Kannagi, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 32578.
- [120] R. W. McMurray, *Semin. Arthritis Rheum.* **1996**, *25*, 215.
- [121] J. P. Turunen, T. Paavonen, M.-L. Majuri, S. Tiisala, P. Mattila, A. Mennander, C. G. Gahmberg, P. Häyry, T. Tamatani, M. Miyasaka, R. Renkonen, *Eur. J. Immunol.* **1994**, *24*, 1130.
- [122] A. Seekamp, G. O. Till, M. S. Mulligan, J. C. Paulson, D. C. Anderson, M. Miyasaka, P. A. Ward, *Am. J. Pathol.* **1994**, *144*, 592.

- [123] J. E. Jordan, Z.-Q. Zhao, J. Vinten-Johansen, *Cardiovasc. Res.* **1999**, *43*, 860.
- [124] M. Takada, K. C. Nadeau, G. D. Shaw, K. A. Marquette, N. L. Tilney, *J. Clin. Invest.* **1997**, *99*, 2682.
- [125] M. Merten, P. Thiagarajan, *Circulation* **2000**, *102*, 1931.
- [126] M. Merten, P. Thiagarajan, *Z. Kardiolog.* **2004**, *93*, 855.
- [127] Z. M. Dong, S. M. Chapman, A. A. Brown, P. S. Frenette, R. O. Hynes, D. D. Wagner, *J. Clin. Invest.* **1998**, *102*, 145.
- [128] S. Blankenberg, S. Barbaux, L. Tiret, *Atherosclerosis* **2003**, *170*, 191.
- [129] T. J. M. Molenaar, J. Twisk, S. A. M. de Haas, N. Peterse, B. J. C. P. Vogelaar, S. H. van Leeuwen, I. N. Michon, T. J. C. van Berkel, J. Kuiper, E. A. L. Biessen, *Biochem. Pharmacol.* **2003**, *66*, 859.
- [130] G. A. Turner, J. B. Catterall, *Biochem. Soc. Trans.* **1996**, *25*, 234.
- [131] R. Kannagi, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 577.
- [132] R. P. McEver, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 585.
- [133] R. Renkonen, P. Mattila, M.-L. Majuri, J. Rabinä, S. Toppila, J. Renkonen, L. Hirvas, J. Niittymäki, J. P. Turunen, O. Renkonen, T. Paavonen, *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 593.
- [134] J. Renkonen, T. Paavonen, R. Renkonen, *Int. J. Cancer* **1997**, *74*, 296.
- [135] T. Krause, G. A. Turner, *Clin. Exp. Metastasis* **1999**, *17*, 183.
- [136] L. Borsig, *News Physiol. Sci.* **2004**, *19*, 16.
- [137] A. Yamaguchi, K. Ding, M. Maehara, T. Goi, G. Nakagawara, *Oncology* **1998**, *55*, 357.
- [138] K. Shimodaira, J. Nakayama, N. Nakamura, O. Hasebe, T. Katsuyama, M. Fukuda, *Cancer Res.* **1997**, *57*, 5201.
- [139] M. D. Burdick, A. Harris, C. J. Reid, T. Iwamura, M. A. Hollingsworth, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 24198.
- [140] C. Hanski, M. L. Hanski, T. Zimmer, D. Ogorek, P. Devine, E. O. Riecken, *Cancer Res.* **1995**, *55*, 928.
- [141] C. A. St. Hill, K. M. Bullard, B. Walcheck, *Cancer Lett.* **2005**, *217*, 105.
- [142] S. Nakamori, M. Kameyama, S. Imaoka, H. Furukawa, O. Ishikawa, Y. Sasaki, Y. Izumi, T. Irimura, *Dis. Colon Rectum* **1997**, *40*, 420.
- [143] Y. J. Kim, L. Borsig, H.-L. Han, N. M. Varki, A. Varki, *Am. J. Pathol.* **1999**, *155*, 461.
- [144] Y. J. Kim, L. Borsig, N. M. Varki, A. Varki, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 9325.
- [145] A. Giannis, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 188.
- [146] A. Kumar, M. P. Villani, U. K. Patel, J. C. Keith Jr., R. G. Schaub, *Circulation* **1999**, *99*, 1363.
- [147] T. S. Dulkanchainun, J. A. Goss, D. K. Imagawa, G. D. Shaw, D. M. Anselmo, F. Kaldas, T. Wang, D. Zhao, A. A. Busutti, H. Kato, N. G. B. Murray, J. W. Kupiec-Weglinski, R. W. Busuttil, *Ann. Surgery* **1998**, *227*, 832.
- [148] K. T. Han, S. R. Sharar, M. L. Phillips, J. M. Harlan, R. K. Winn, *J. Immunol.* **1995**, *155*, 4011.

- [149] M. Buerke, A. S. Weyrich, Z. Zheng, F. C. A. Gaeta, M. J. Forrest, A. M. Lefer, *J. Clin. Invest.* **1994**, *93*, 1140.
- [150] T. Murohara, J. Margiotta, L. M. Phillips, J. C. Paulson, S. DeFrees, S. Zalipsky, L. S. S. Guo, A. M. Lefer, *Cardiovasc. Res.* **1995**, *30*, 965.
- [151] S. J. Tojo, S.-i. Yokota, H. Koike, J. Schultz, Y. Hamazume, E. Misugi, K. Yamada, M. Hayashi, J. C. Paulson, S. Morooka, *Glycobiology* **1996**, *6*, 463.
- [152] R. Hayward, B. Campbell, Y. K. Shin, R. Scalia, A. M. Lefer, *Cardiovasc. Res.* **1999**, *41*, 65.
- [153] M. Nguyen, F. R. Eilber, S. DeFrees, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, *228*, 716.
- [154] M. S. Mulligan, M. J. Polley, R. J. Bayer, M. F. Nunn, J. C. Paulson, P. A. Ward, *J. Clin. Invest.* **1992**, *90*, 1600.
- [155] M. S. Mulligan, J. C. Paulson, S. DeFrees, Z.-L. Zheng, J. B. Lowe, P. A. Ward, *Nature* **1993**, *364*, 149.
- [156] M. S. Mulligan, J. B. Lowe, R. D. Larsen, J. Paulson, Z.-l. Zheng, S. DeFrees, K. Maemura, M. Fukuda, P. A. Ward, *J. Exp. Med.* **1993**, *178*, 623.
- [157] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, in *Biochemie*, 5. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg, Berlin, **2003**, S. 335.
- [158] F.-G. Hanisch, S. Müller, H. Hassan, H. Clausen, N. Zachara, A. A. Gooley, H. Paulsen, K. Alving, J. Peter-Katalinic, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 9946.
- [159] E. P. Bennett, H. Hassan, U. Mandel, E. Mirgorodskaya, P. Roepstorff, J. Burchell, J. Taylor-Papadimitriou, M. A. Hollingsworth, G. Merckx, A. G. van Kessel, H. Eiberg, R. Steffensen, H. Clausen, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 30472.
- [160] P. Roussel, G. Lamblin, in *Glycoproteins and Disease* (Hrsg.: J. Montreuil, J. F. G. Vliegthart, H. Schachter), Elsevier Science B. V., Amsterdam, **1996**, S. 351.
- [161] M. Fukuda, *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1573*, 394.
- [162] J. Mitoma, B. Petryniak, N. Hiraoka, J.-C. Yeh, J. B. Lowe, M. Fukuda, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 9953.
- [163] C. Whitehouse, J. Burchell, S. Gschmeissner, I. Brockhausen, K. O. Lloyd, J. Taylor-Papadimitriou, *J. Cell Biol.* **1997**, *137*, 1229.
- [164] D. Skrincosky, R. Kain, A. El-Battari, M. Exner, D. Kerjaschki, M. Fukuda, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 22695.
- [165] F. Piller, V. Piller, R. I. Fox, M. Fukuda, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 15146.
- [166] J. J. Priatel, D. Chui, N. Hiraoka, C. J. T. Simmons, K. B. Richardson, D. M. Page, M. Fukuda, N. M. Varki, J. D. Marth, *Immunity* **2000**, *12*, 273.
- [167] A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1991**, *209*, C1.
- [168] U. Sprengard, G. Kretzschmar, E. Bartnik, C. Hüls, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1104.
- [169] K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, N. J. Bockovich, C.-H. Wong, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 870.

- [170] S. J. Danishefsky, J. Gervay, J. M. Peterson, F. E. McDonald, K. Koseki, D. A. Griffith, T. Oriyama, S. P. Marsden, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1940.
- [171] G. Kretzschmar, W. Stahl, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6341.
- [172] G. J. McGarvey, C.-H. Wong, *Liebigs Ann.* **1997**, 1059.
- [173] P. V. Nikrad, M. A. Kashem, K. B. Wlasichuk, G. Alton, A. P. Venot, *Carbohydr. Res.* **1993**, *250*, 145.
- [174] S. Sato, Y. Ito, T. Ogawa, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 5267.
- [175] R. Bommer, W. Kinzy, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 425.
- [176] G. Hummel, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1173.
- [177] M. Iida, A. Endo, S. Fujita, M. Numata, Y. Matsuzaki, M. Sugimoto, S. Nunomura, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1995**, *270*, C15.
- [178] S. Numomura, M. Iida, M. Numata, M. Sugimoto, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1994**, *263*, C1.
- [179] K. M. Koeller, C.-H. Wong, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1243.
- [180] B.-G. Huang, R. K. Jain, R. D. Locke, J. L. Alderfer, W. A. Tabaczynski, K. L. Matta, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 6279.
- [181] J. Xia, J. L. Alderfer, T. Srikrishnan, E. V. Chandrasekaran, K. L. Matta, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3673.
- [182] R. Oehrlein, O. Hindsgaul, M. M. Palcic, *Carbohydr. Res.* **1993**, *244*, 149.
- [183] S. Zeng, R. Gutiérrez Gallego, A. Dinter, M. Malissard, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegthart, E. G. Berger, *Glycoconjugate J.* **1999**, *16*, 487.
- [184] K. M. Koeller, M. E. B. Smith, R.-F. Huang, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4241.
- [185] K. M. Koeller, M. E. B. Smith, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 742.
- [186] K.-T. Huang, B.-C. Wu, C.-C. Lin, S.-C. Luo, C. Chen, C.-H. Wong, C.-C. Lin, *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 2151.
- [187] J. Taylor-Papadimitriou, J. Burchell, D. W. Miles, M. Dalziel, *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, *1455*, 301.
- [188] S. von Mensdorff-Pouilly, F. G. M. Snijdwint, A. A. Verstraeten, R. H. M. Verheijen, P. Kenemans, *Int. J. Biol. Markers* **2000**, *15*, 343.
- [189] F.-G. Hanisch, S. Müller, *Glycobiology* **2000**, *10*, 439.
- [190] R. Gutiérrez Gallego, G. Dudziak, U. Kragl, C. Wandrey, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegthart, *Biochimie* **2003**, *85*, 275.
- [191] C.-T. Yuen, A. M. Lawson, W. Chai, M. Larkin, M. S. Stoll, A. C. Stuart, F. X. Sullivan, T. J. Ahern, T. Feizi, *Biochemistry* **1992**, *31*, 9126.
- [192] P. J. Green, T. Tamatani, T. Watanabe, M. Miyasaka, A. Hasegawa, M. Kiso, C.-T. Yuen, M. S. Stoll, T. Feizi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, *188*, 244.
- [193] H. Ohmoto, K. Nakamura, T. Inoue, N. Kondo, Y. Inoue, K. Yoshino, H. Kondo, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1339.

- [194] Y. Wada, T. Saito, N. Matsuda, H. Ohmoto, K. Yoshino, M. Ohashi, H. Kondo, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 2055.
- [195] H. C. Kolb, B. Ernst, *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 1571.
- [196] G. Thoma, W. Kinzy, C. Bruns, J. T. Patton, J. L. Magnani, R. Banteli, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 4909.
- [197] R. Banteli, P. Herold, C. Bruns, J. T. Patton, J. L. Magnani, G. Thoma, *Helv. Chim. Acta* **2000**, 83, 2893.
- [198] G. Thoma, F. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta* **2003**, 86, 855.
- [199] M. Rösch, H. Herzner, W. Dippold, M. Wild, D. Vestweber, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 3954.
- [200] E. E. Simanek, G. J. McGarvey, J. A. Jablonowski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 833.
- [201] N. Kaila, B. E. Thomas IV, *Med. Res. Rev.* **2002**, 22, 566.
- [202] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3. Aufl., John Wiley & Sons, Inc., New York, **1999**.
- [203] G. Zemplén, A. Kunz, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1923**, 56, 1705.
- [204] H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 1763.
- [205] S. Hanessian, P. Lavalley, *Can. J. Chem.* **1975**, 53, 2975.
- [206] G. van Look, *Silylating Agents*, Fluka Chemie AG, Buchs, **1988**.
- [207] T. D. Nelson, R. D. Crouch, *Synthesis* **1996**, 1031.
- [208] J. Cunningham, R. Gigg, C. D. Warren, *Tetrahedron Lett.* **1964**, 1191.
- [209] F. Guibé, *Tetrahedron* **1997**, 53, 13509.
- [210] J. Banoub, P. Boullanger, D. Lafont, *Chem. Rev.* **1992**, 92, 1167.
- [211] T. B. Windholz, D. B. R. Johnston, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 2555.
- [212] P. Boullanger, M. Jouineau, B. Bouammali, D. Lafont, G. Descotes, *Carbohydr. Res.* **1990**, 202, 151.
- [213] U. Ellervik, G. Magnusson, *Carbohydr. Res.* **1996**, 280, 251.
- [214] M. Schultz, H. Kunz, *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, 4, 1205.
- [215] R. U. Lemieux, T. Takeda, B. Y. Chung, *A.C.S. Symp. Ser.* **1976**, 39, 90.
- [216] D. R. Bundle, S. Josephson, *Can. J. Chem.* **1979**, 57, 662.
- [217] B. Liebe, H. Kunz, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 1473.
- [218] C. Brocke, *Dissertation* **2003**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [219] N. Bézay, *Dissertation* **2000**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [220] W. Dullenkopf, J. C. Castro-Palomino, L. Manzoni, R. R. Schmidt, *Carbohydr. Res.* **1996**, 296, 135.
- [221] G. Excoffier, D. Gagnaire, J.-P. Utile, *Carbohydr. Res.* **1975**, 39, 368.
- [222] S. K. Chaudhary, O. Hernandez, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 99.
- [223] M. Takatani, T. Nakama, K. Kubo, S. Manabe, Y. Nakahara, Y. Ito, Y. Nakahara, *Glycoconjugate J.* **2000**, 17, 361.
- [224] U. Ellervik, G. Magnusson, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 1627.

- [225] M. E. Evans, *Carbohydr. Res.* **1972**, *21*, 473.
- [226] W. Klotz, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 683.
- [227] A. Lubineau, S. Escher, J. Alais, D. Bonnaffé, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4087.
- [228] M. Bergmann, L. Zervas, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1931**, *64*, 975.
- [229] H. Lönn, *Carbohydr. Res.* **1985**, *139*, 105.
- [230] M. Rösch, *Dissertation* **1999**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [231] X.-T. Chen, B. Zhou, S. K. Bhattacharya, C. E. Gutteridge, T. R. R. Pettus, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 835.
- [232] S. S. Allavudeen, B. Kuberan, D. Loganathan, *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 965.
- [233] C. Filser, *Dissertation* **2005**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [234] W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretzschmar, D. W. Schmidt, H. Kunz, *J. prakt. Chem.* **1995**, *337*, 441.
- [235] O. T. Schmidt, in *Methods in Carbohydrate Chemistry, Vol. II* (Hrsg.: R. L. Whistler, M. L. Wolfrom, J. N. BeMiller), Academic Press Inc., New York, London, **1963**, S. 318.
- [236] X. Pannecoucke, G. Schmitt, B. Luu, *Tetrahedron* **1994**, *50*, 6569.
- [237] G. Höfle, W. Steglich, H. Vorbrüggen, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 602.
- [238] H. Herzner, J. Eberling, M. Schultz, J. Zimmer, H. Kunz, *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, *17*, 759.
- [239] J. Zhang, P. Kováč, *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 461.
- [240] E. Eichler, H. J. Jennings, M. Gilbert, D. M. Whitfield, *Carbohydr. Res.* **1999**, *319*, 1.
- [241] R. Kuhn, P. Lutz, D. L. MacDonald, *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 611.
- [242] A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1989**, *190*, 317.
- [243] J. Xue, Y. Pan, Z. Guo, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1599.
- [244] A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1989**, *187*, 35.
- [245] F. Degerbeck, B. Fransson, L. Grehn, U. Ragnarsson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1993**, 11.
- [246] G. Bitan, C. Gilon, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 10513.
- [247] D. B. Damon, D. J. Hoover, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6439.
- [248] R. W. Feenstra, E. H. M. Stokkingreef, R. J. F. Nivard, H. C. J. Ottenheim, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 5583.
- [249] R. V. Hoffman, J. Tao, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 7119.
- [250] W. Bröder, *Dissertation* **1992**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [251] H. Herzner, *Dissertation* **2001**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [252] F. Guibé, Y. Saint M'Leux, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3591.
- [253] H. Kunz, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 49.
- [254] H. J. Vermeer, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegthart, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 539.
- [255] M. Kloosterman, J. H. van Boom, P. Chatelard, P. Boullanger, G. Descotes, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 5045.
- [256] R. U. Lemieux, K. B. Hendriks, R. V. Stick, K. James, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4056.

- [257] S. Sato, M. Mori, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1986**, *155*, C6.
- [258] M. P. DeNinno, J. B. Etienne, K. C. Duplantier, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 669.
- [259] M. Sakagami, H. Hamana, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5547.
- [260] P. J. Garegg, H. Hultberg, S. Wallin, *Carbohydr. Res.* **1982**, *108*, 97.
- [261] S. S. Bhattacharjee, P. A. J. Gorin, *Can. J. Chem.* **1969**, *47*, 1195.
- [262] W. Bröder, H. Kunz, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 1.
- [263] R. R. Schmidt, J. Michel, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 763.
- [264] R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213.
- [265] R. R. Schmidt, *Pure Appl. Chem.* **1989**, *61*, 1257.
- [266] R. R. Schmidt, W. Kinzy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21.
- [267] U. Sprengard, *Dissertation* **1996**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [268] T. J. Prosser, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1701.
- [269] R. Boss, R. Scheffold, *Angew. Chem.* **1976**, *88*, 578.
- [270] M. A. Nashed, L. Anderson, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1982**, 1274.
- [271] R. Gigg, C. D. Warren, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1968**, 1903.
- [272] T. Ogawa, S. Nakabayashi, *Carbohydr. Res.* **1981**, *93*, C1.
- [273] M. Honda, H. Morita, I. Nagakura, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8932.
- [274] T. Opatz, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 10185.
- [275] D. Baudry, M. Ephritikhine, H. Felkin, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 694.
- [276] J. J. Oltvoort, C. A. A. van Boeckel, J. H. de Koning, J. H. van Boom, *Synthesis* **1981**, 305.
- [277] S. J. Hecker, M. L. Minich, K. Lackey, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4904.
- [278] M. Imoto, H. Yoshimura, N. Sakaguchi, S. Kusumoto, T. Shiba, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1545.
- [279] E. J. Corey, J. W. Suggs, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 3224.
- [280] T. Nishiguchi, K. Tachi, *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 237.
- [281] S. Dziadek, H. Kunz, *Synlett* **2003**, 1623.
- [282] C. Brocke, H. Kunz, *Synlett* **2003**, 2052.
- [283] S. Dziadek, C. Brocke, H. Kunz, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 4150.
- [284] K. Okamoto, T. Goto, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 5835.
- [285] G.-J. Boons, A. V. Demchenko, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4539.
- [286] W. Birberg, H. Lönn, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7453.
- [287] A. J. Ratcliffe, B. Fraser-Reid, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 747.
- [288] R. R. Schmidt, M. Behrendt, A. Toepfer, *Synlett* **1990**, 694-696.
- [289] I. Braccini, C. Derouet, J. Esnault, C. Hervé du Penhoat, J.-M. Mallet, V. Michon, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1993**, *246*, 23.
- [290] A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1990**, *195*, 303.
- [291] F. Dasgupta, P. J. Garegg, *Carbohydr. Res.* **1988**, *177*, c13.
- [292] H. Hori, T. Nakajima, Y. Nishida, H. Ohruï, H. Meguro, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 6317.
- [293] U. Dabrowski, H. Friebolin, R. Brossmer, M. Supp, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 4637.

- [294] D. J. M. van der Vleugel, W. A. R. van Heeswijk, J. F. G. Vliegthart, *Carbohydr. Res.* **1982**, 102, 121.
- [295] H. Paulsen, H. Tietz, *Carbohydr. Res.* **1984**, 125, 47.
- [296] K. Okamoto, H. Kondo, T. Goto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, 60, 637.
- [297] O. Knöll, *Dissertation* **2004**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [298] S. Pawlenko, in *Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Vol. XIII/5* (Hrsg.: O. Bayer, E. Müller), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1980**, S. 14.
- [299] D. Wagner, J. P. H. Verheyden, J. G. Moffatt, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 24.
- [300] S. David, S. Hanessian, *Tetrahedron* **1985**, 41, 643.
- [301] M. A. Nashed, L. Anderson, *Tetrahedron Lett.* **1976**, 3503.
- [302] R. Bänteli, B. Ernst, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 4059.
- [303] A. Paquet, *Can. J. Chem.* **1982**, 60, 976.
- [304] E. Vowinkel, *Chem. Ber.* **1967**, 100, 16.
- [305] G. Braum, *Dissertation* **1991**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [306] B. Liebe, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 629.
- [307] A. P. Kozikowski, J. Lee, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 863.
- [308] J. Broddefalk, U. Nilsson, J. Kihlberg, *J. Carbohydr. Chem.* **1994**, 13, 129.
- [309] R. U. Lemieux, R. M. Ratcliffe, *Deutsche Patentanmeldung* **1978**, AZ: P 2816340.8.
- [310] R. U. Lemieux, R. M. Ratcliffe, *Can. J. Chem.* **1979**, 57, 1244.
- [311] H. Paulsen, J.-P. Hölck, *Carbohydr. Res.* **1982**, 109, 89.
- [312] H. Paulsen, J.-P. Hölck, *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 1121.
- [313] E. Meinjohanns, M. Meldal, A. Schleyer, H. Paulsen, K. Bock, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1996**, 985.
- [314] K. Frische, M. Meldal, O. Werdelin, S. Mouritsen, T. Jensen, L. Galli-Stampino, K. Bock, *J. Pept. Sci.* **1996**, 2, 212.
- [315] B. Helferich, K.-F. Wedemeyer, *Liebigs Ann. Chem.* **1949**, 563, 139.
- [316] B. Helferich, K. Weis, *Chem. Ber.* **1956**, 89, 314.
- [317] W. Koenigs, E. Knorr, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, 34, 957.
- [318] R. R. Schmidt, J. Michel, *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 821.
- [319] E. Fischer, H. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1910**, 43, 2521.
- [320] H. Ohle, W. Marecek, W. Bourjau, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, 62, 833.
- [321] P. Kováč, R. B. Taylor, *Carbohydr. Res.* **1987**, 167, 153.
- [322] A. Huber, *Dissertation* **1994**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [323] J. Banoub, D. R. Bundle, *Can. J. Chem.* **1979**, 57, 2091.
- [324] T. Reipen, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [325] K. von dem Bruch, *Dissertation* **1993**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [326] K. Peilstöcker, *Dissertation* **1999**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [327] B. Liebe, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 8777.
- [328] W. M. Pearlman, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 1663.
- [329] L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 5748.

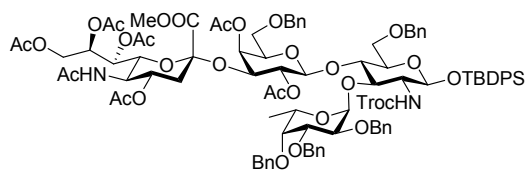
- [330] E. Atherton, C. Bury, R. C. Sheppard, B. J. Williams, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 3041.
- [331] A. Mehta, R. Jaouhari, T. J. Benson, K. T. Douglas, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 5441.
- [332] R. S. Coleman, J. A. Shah, *Synthesis* **1999**, 1399.
- [333] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149.
- [334] F. C. McKay, N. F. Albertson, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 4686.
- [335] G. W. Anderson, A. C. McGregor, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 6180.
- [336] P. Schultheiß-Reimann, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1983**, 95, 64.
- [337] B. Ferrari, A. A. Pavia, *Tetrahedron* **1985**, 41, 1939.
- [338] K. Barlos, D. Gatos, J. Kallitsis, G. Papaphotiu, P. Sotiriu, Y. Wenqing, W. Schäfer, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 3943.
- [339] M. Rothe, J. Mazánek, *Liebigs Ann. Chem.* **1974**, 439.
- [340] E. Bayer, W. Rapp, in *Chemistry of Peptides and Proteins* (Hrsg.: W. Voelter, E. Bayer, Y. A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov), Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York, **1986**, S. 3.
- [341] E. Bayer, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 117.
- [342] V. Dourtoglou, J.-C. Ziegler, B. Gross, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 19, 1269.
- [343] V. Dourtoglou, B. Gross, *Synthesis* **1984**, 572.
- [344] L. A. Carpino, A. El-Faham, C. A. Minor, F. Albericio, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 201.
- [345] L. A. Carpino, H. Imazumi, A. El-Faham, F. J. Ferrer, C. Zhang, Y. Lee, B. M. Foxman, P. Henklein, C. Hanay, C. Mügge, H. Wenschuh, J. Klose, M. Beyermann, M. Bienert, *Angew. Chem.* **2002**, 114, 457.
- [346] W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788.
- [347] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4397.
- [348] J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 1067.
- [349] M. Bodanszky, J. Martinez, *Synthesis* **1981**, 333.
- [350] A. R. Battersby, J. C. Robinson, *J. Chem. Soc.* **1955**, 259.
- [351] E. Nicolás, E. Pedroso, E. Giralt, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 497.
- [352] S. Capasso, L. Mazzarella, F. Sica, A. Zagari, S. Salvadori, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 919.
- [353] Y. Yang, W. V. Sweeney, K. Schneider, S. Thörnqvist, B. T. Chait, J. P. Tam, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 9689.
- [354] J. L. Lauer, C. G. Fields, G. B. Fields, *Lett. Pept. Sci.* **1994**, 1, 197.
- [355] D. A. Pearson, M. Blanchette, M. L. Baker, C. A. Guindon, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 2739.
- [356] A. Kuhn, *Dissertation* **2005**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [357] International Union of Pure and Applied Chemistry, International Union of Biochemistry, *Pure Appl. Chem.* **1984**, 56, 595.
- [358] P. V. Murphy, R. E. Hubbard, D. T. Manallack, R. E. Wills, J. G. Montana, R. J. K. Taylor, *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6, 2421.
- [359] G. Hummel, R. R. Schmidt, *Pol. J. Chem.* **1999**, 73, 941.

- [360] B. K. Shull, Z. Wu, M. Koreeda, *J. Carbohydr. Chem.* **1996**, *15*, 955.
- [361] P. A. Levene, R. S. Tipson, *J. Biol. Chem.* **1931**, *93*, 631.
- [362] P.-H. Amvam-Zollo, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1986**, *150*, 199.
- [363] Z. Zhang, G. Magnusson, *Carbohydr. Res.* **1996**, *295*, 41.

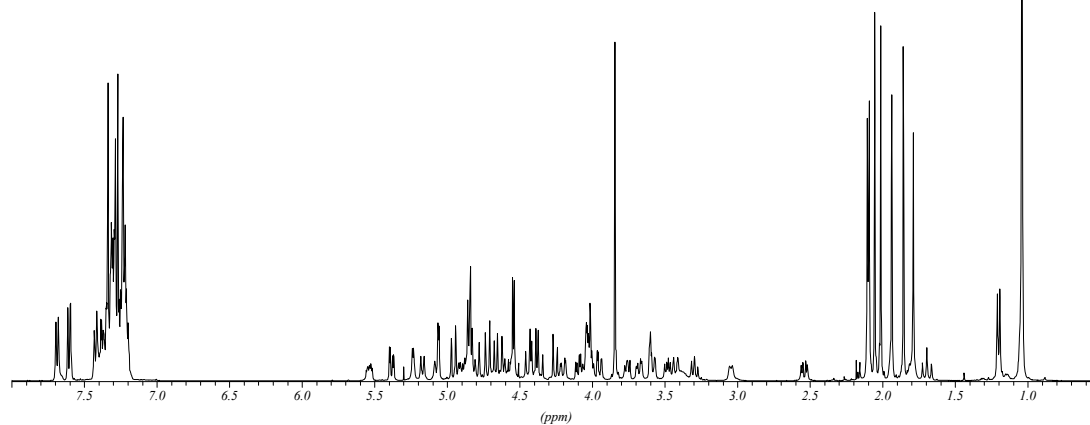
7 Spektrenanhang

β -Ac ₆ Bn ₅ (Fuc)SLe ^x NTrocCOOMe-OTBDPS (69)	284
β -Ac ₆ Bn ₅ (Ara)SLe ^x NTrocCOOMe-OTBDPS (73)	286
β -Bn ₅ (Fuc)CycloLe ^x NTrocCOOMe-OAll (75)	288
β -Bn ₅ (Ara)CycloLe ^x NTrocCOOMe-OAll (79)	290
Fmoc-Thr[α -3-(β -Ac ₄ Gal)-GalNAc]-O'Bu (99)	292
Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac ₆ Bn ₅ (Fuc)SLe ^x NTrocCOOMe)-3-(β -Ac ₄ Gal)-GalNAc]-O'Bu (100)	294
Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac ₁₁ (Fuc)SLe ^x COOMe)-3-(β -Ac ₄ Gal)-AcGalNAc]-O'Bu (103)	298
Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac ₂ Bn ₅ (Fuc)CycloLe ^x NTrocCOOMe)-3-(β -Ac ₄ Gal)-GalNAc]-O'Bu (107)	301
Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac ₇ (Fuc)CycloLe ^x COOMe)-3-(β -Ac ₄ Gal)-AcGalNAc]-O'Bu (110)	305
Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr-Glu-Pro-OH (115)	308
Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr[α -6-(β -(Fuc)SLe ^x)-3-(β -Gal)-GalNAc]- Glu-Pro-OH (120)	310
Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr[α -6-(β -(Fuc)CycloLe ^x)-3-(β -Gal)-GalNAc]- Glu-Pro-OH (124)	313

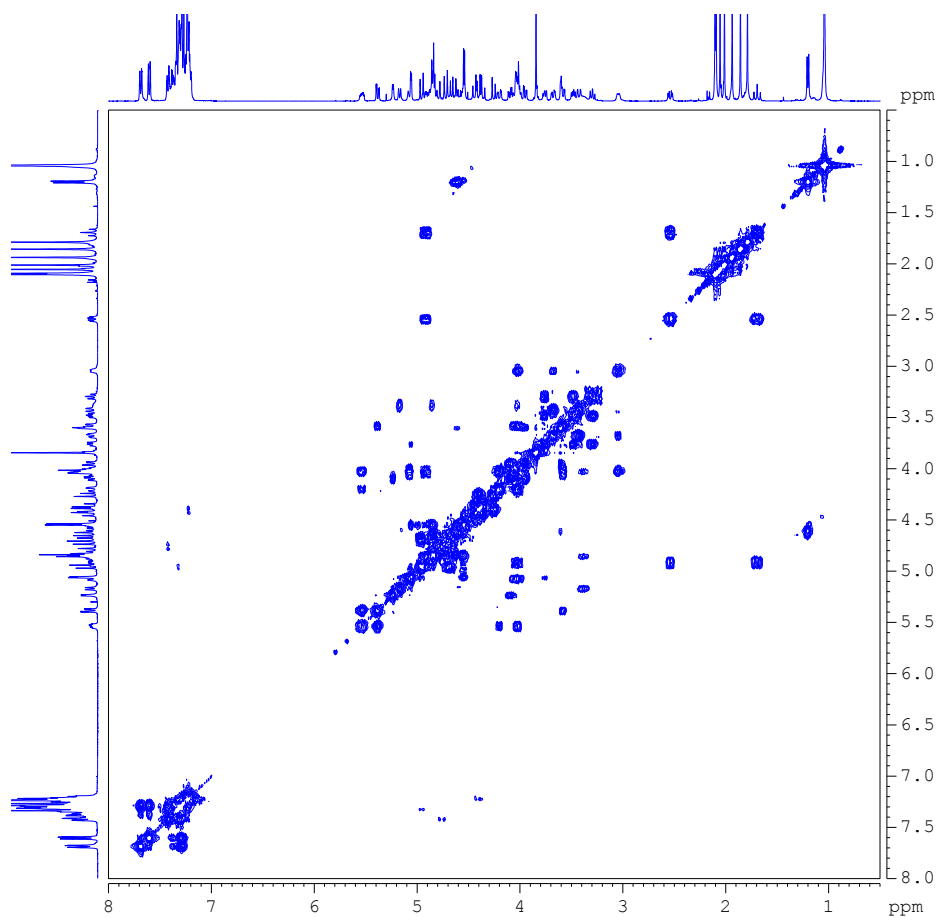
β -Ac₆Bn₅(Fuc)SLe^xNTrocCOOMe-OTBDPS (69)



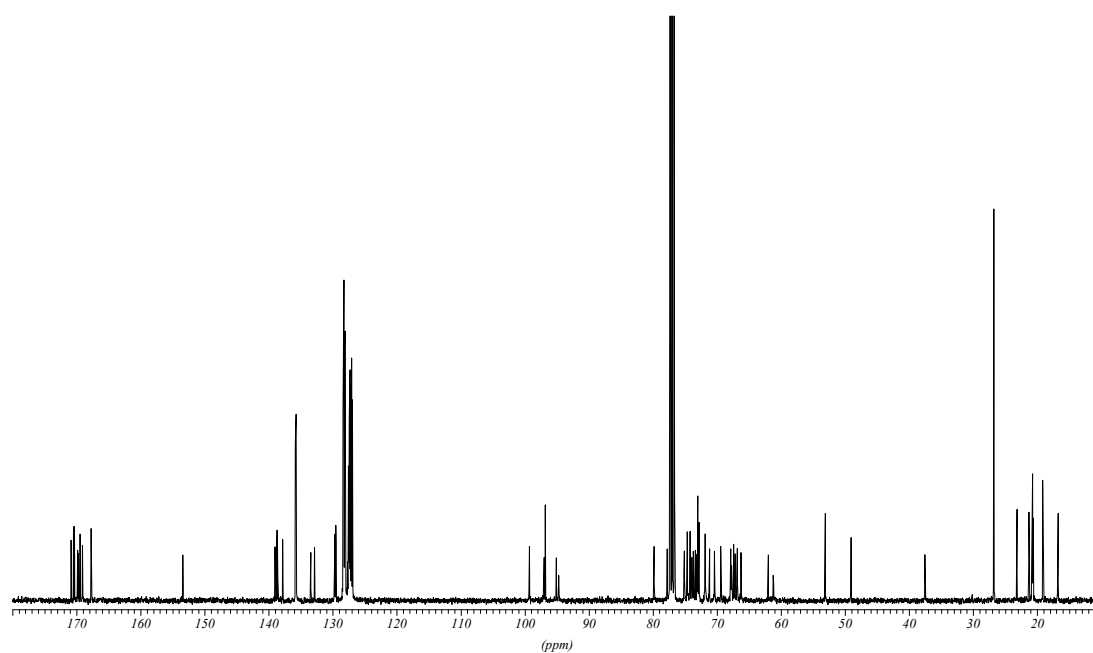
^1H (400 MHz, CDCl_3):



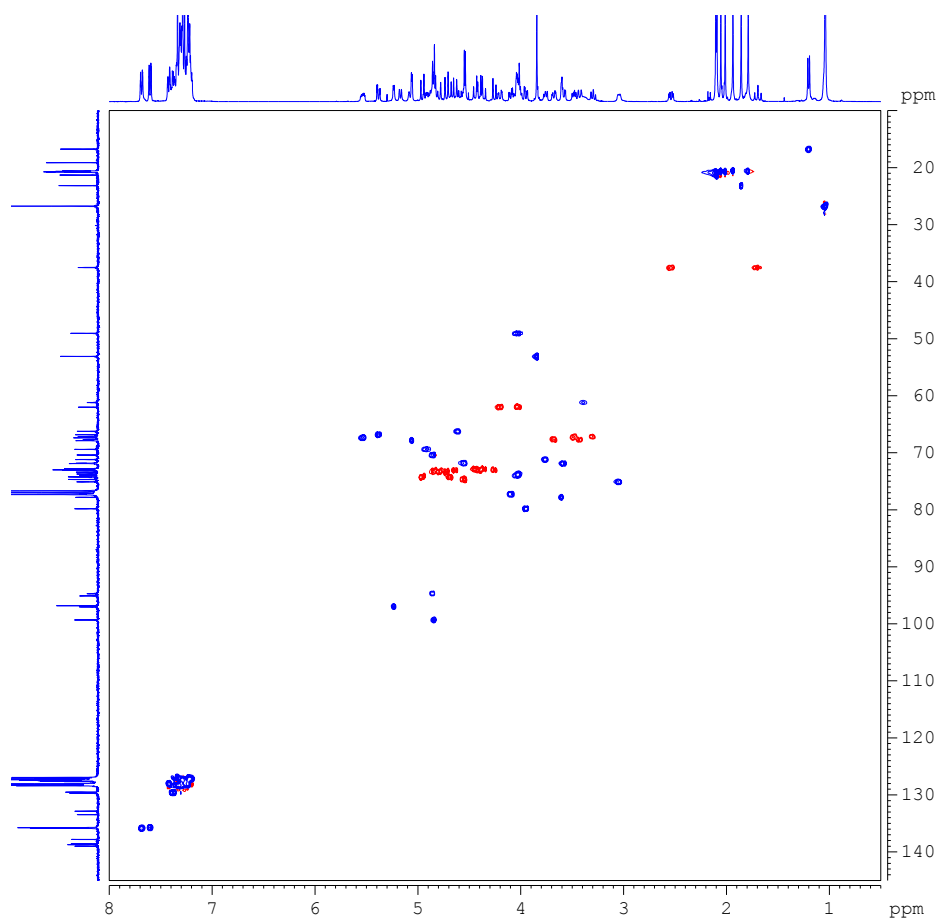
^1H - ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3):



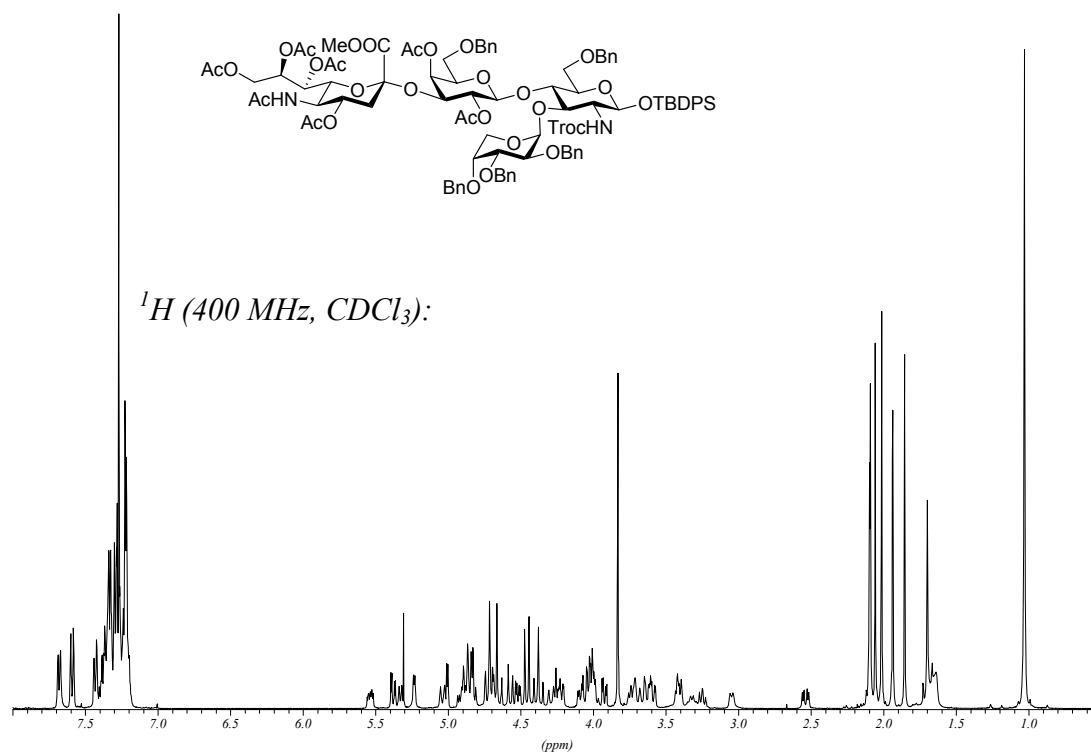
^{13}C -BB (100.6 MHz, CDCl_3):



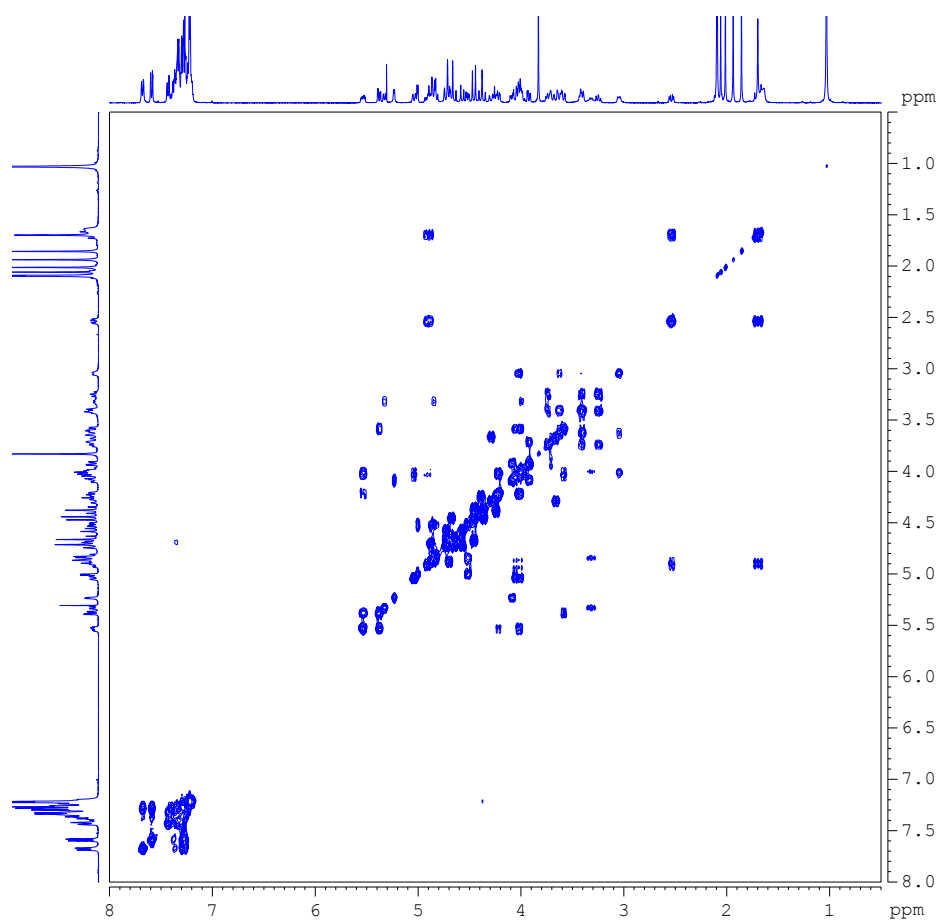
HSQC (100.6 MHz, CDCl_3):



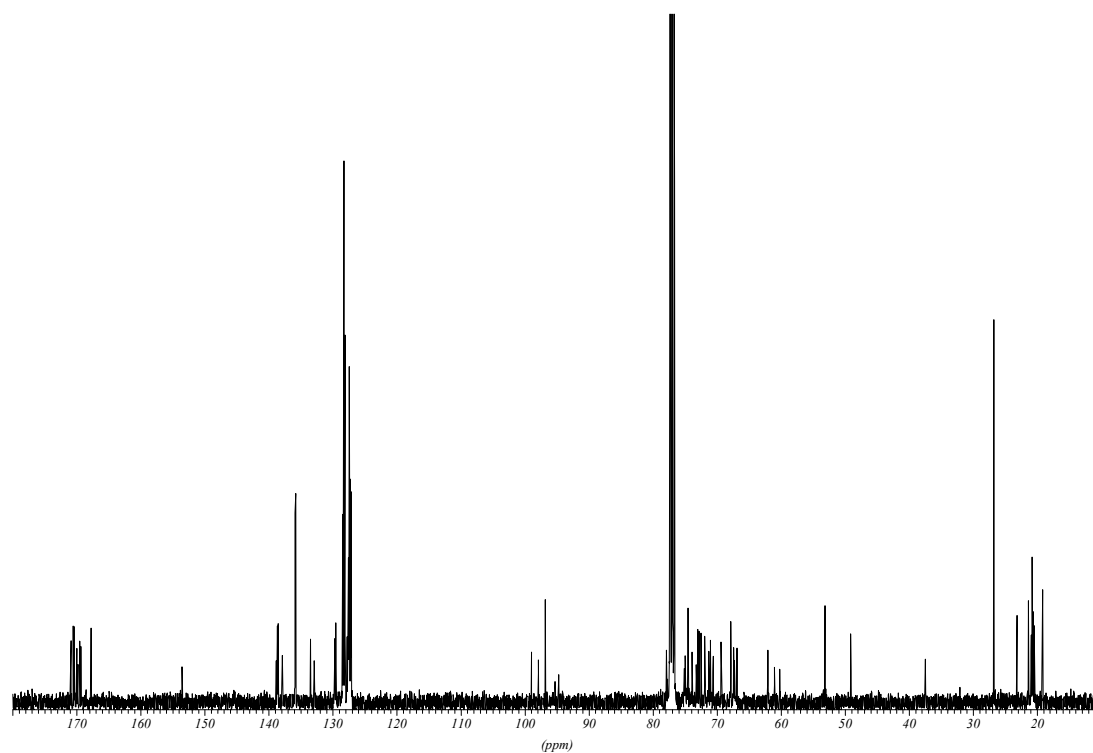
β -Ac₆Bn₅(Ara)SLe^xNTrocCOOMe-OTBDPS (73)



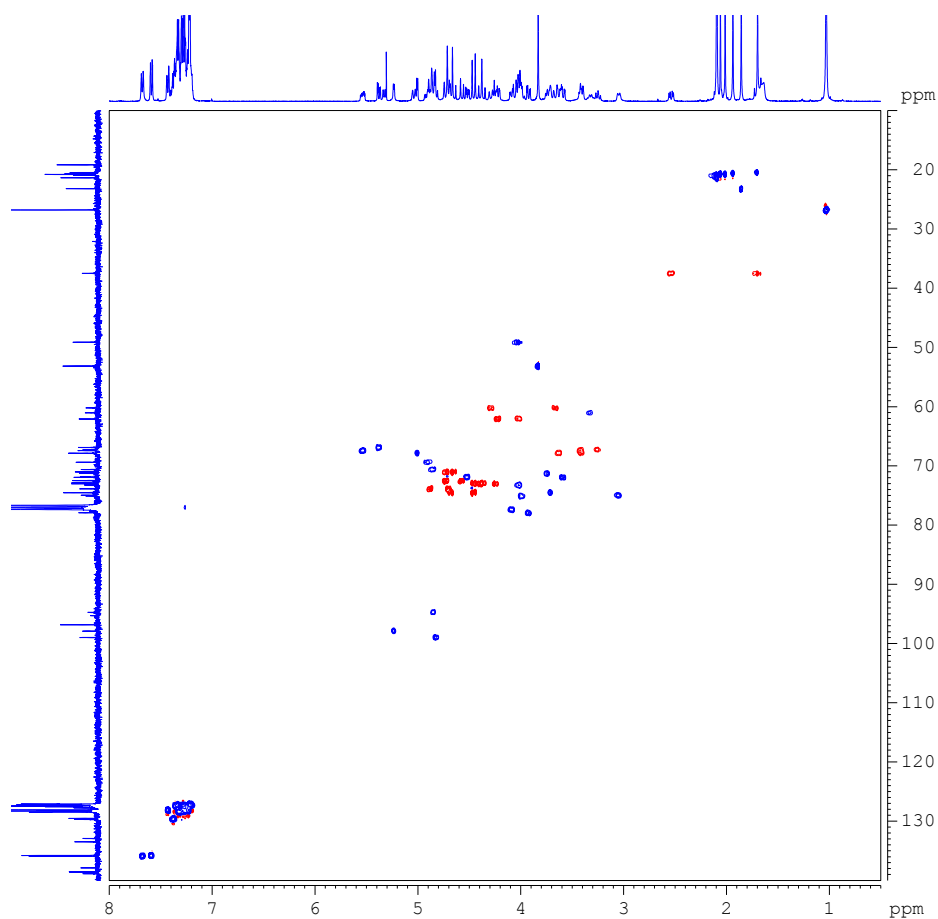
^1H - ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3):

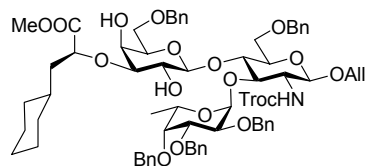


^{13}C -BB (100.6 MHz, CDCl_3):

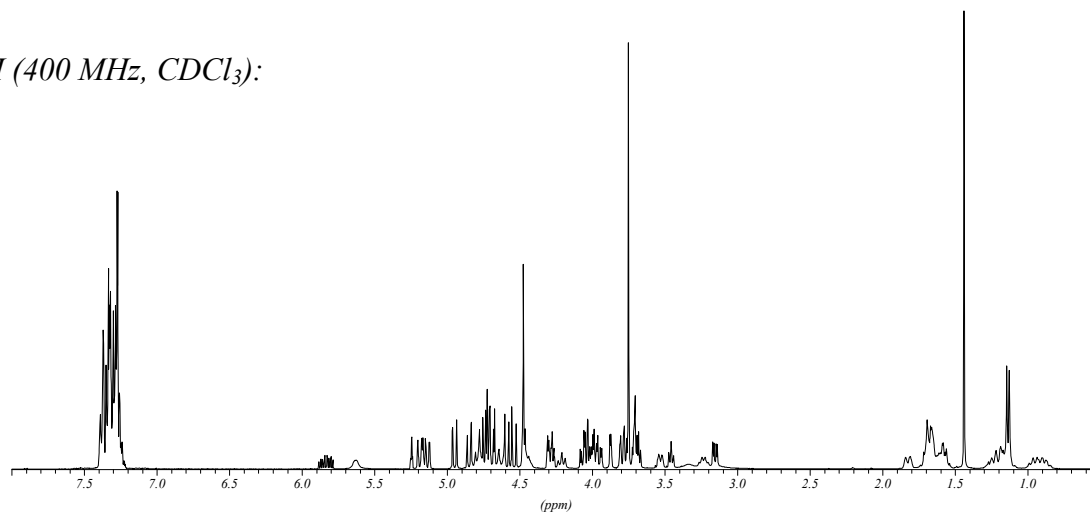


HSQC (100.6 MHz, CDCl_3):

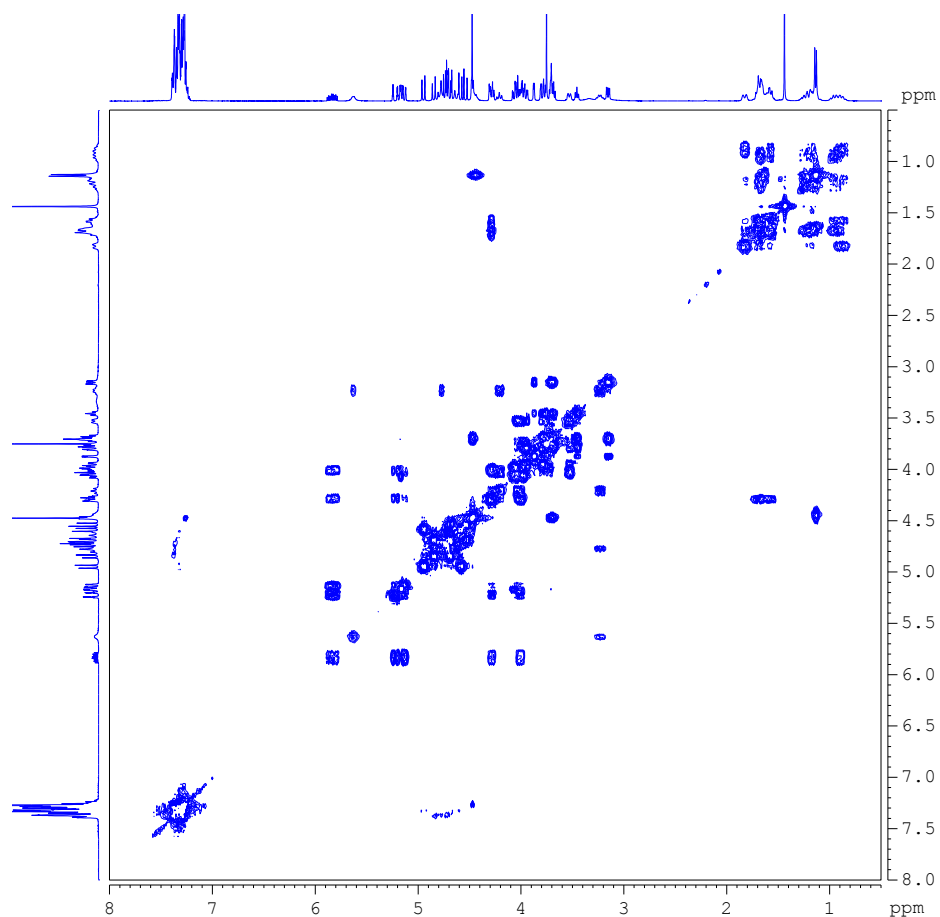


β -Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe-OAll (75)

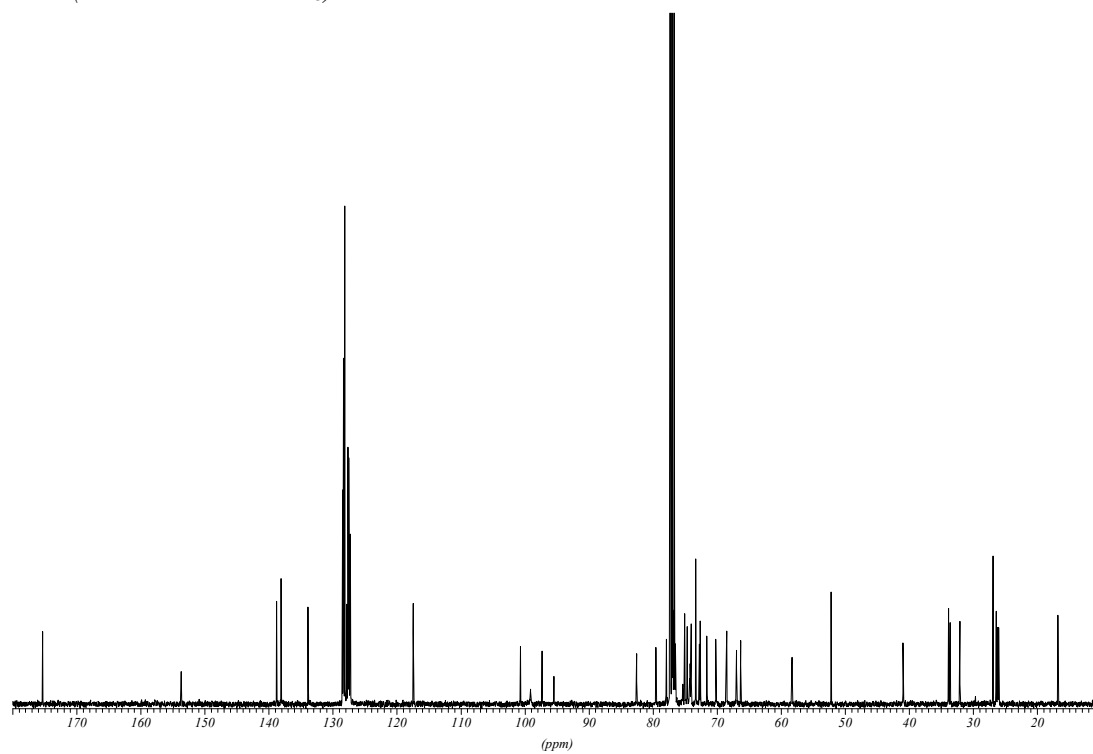
^1H (400 MHz, CDCl_3):



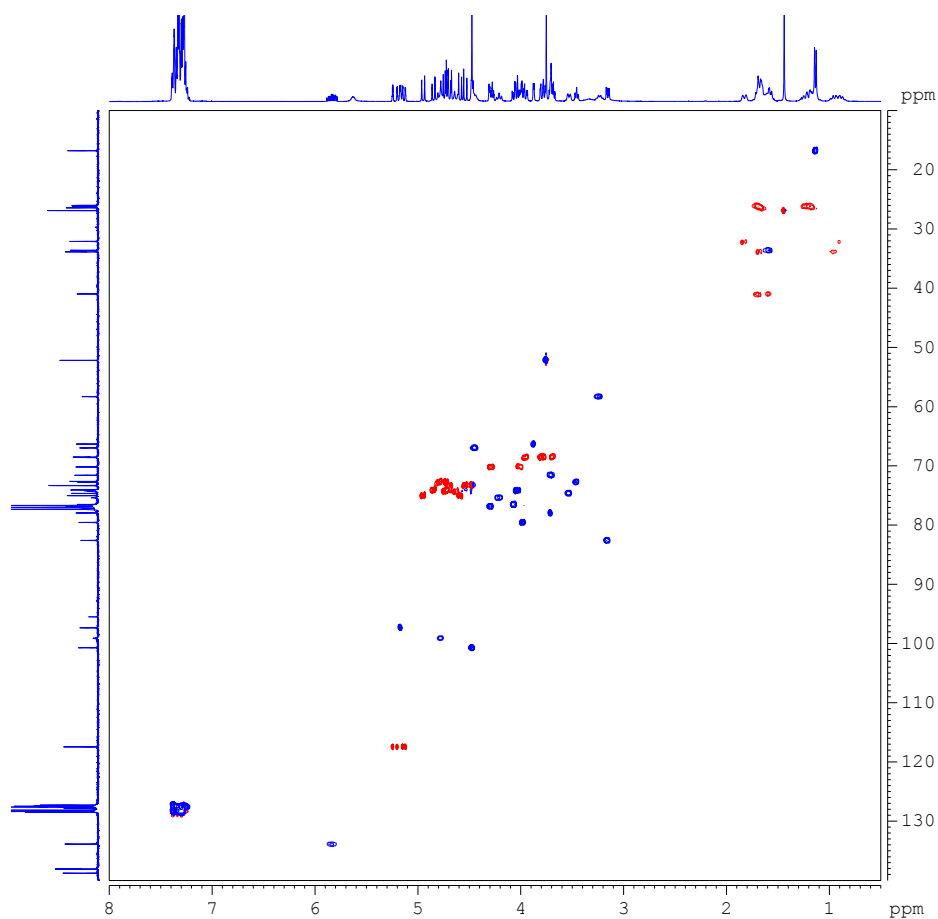
^1H - ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3):



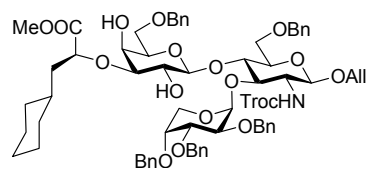
^{13}C -BB (100.6 MHz, CDCl_3):



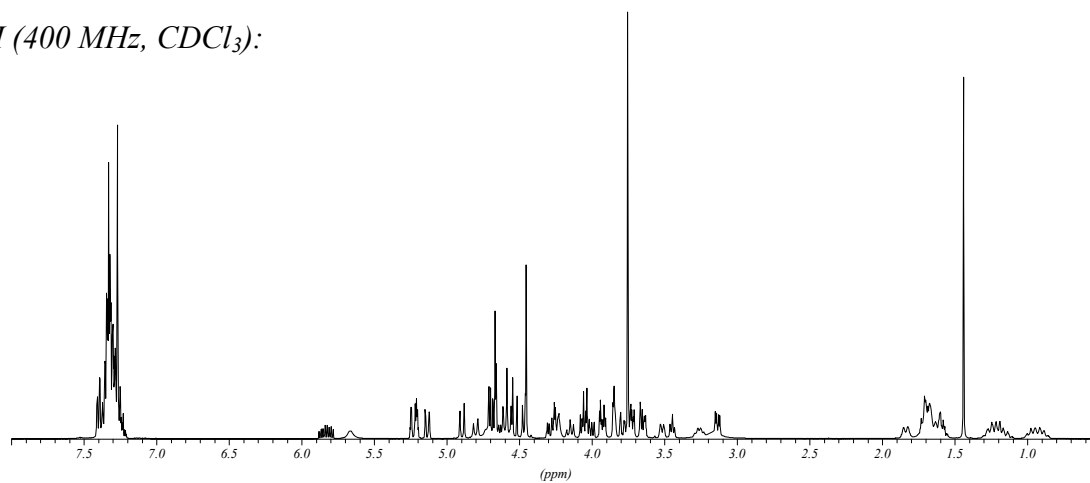
HSQC (100.6 MHz, CDCl_3):



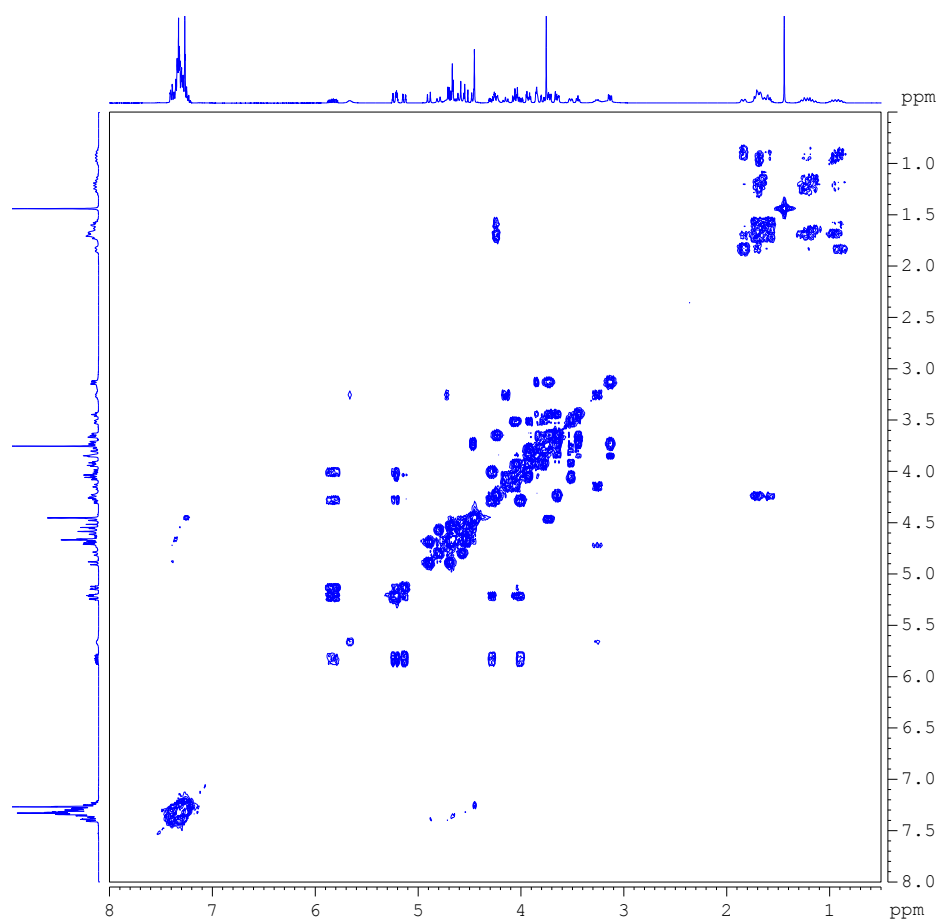
β -Bn₅(Ara)CycloLe^xNTrocCOOMe-OAll (79)



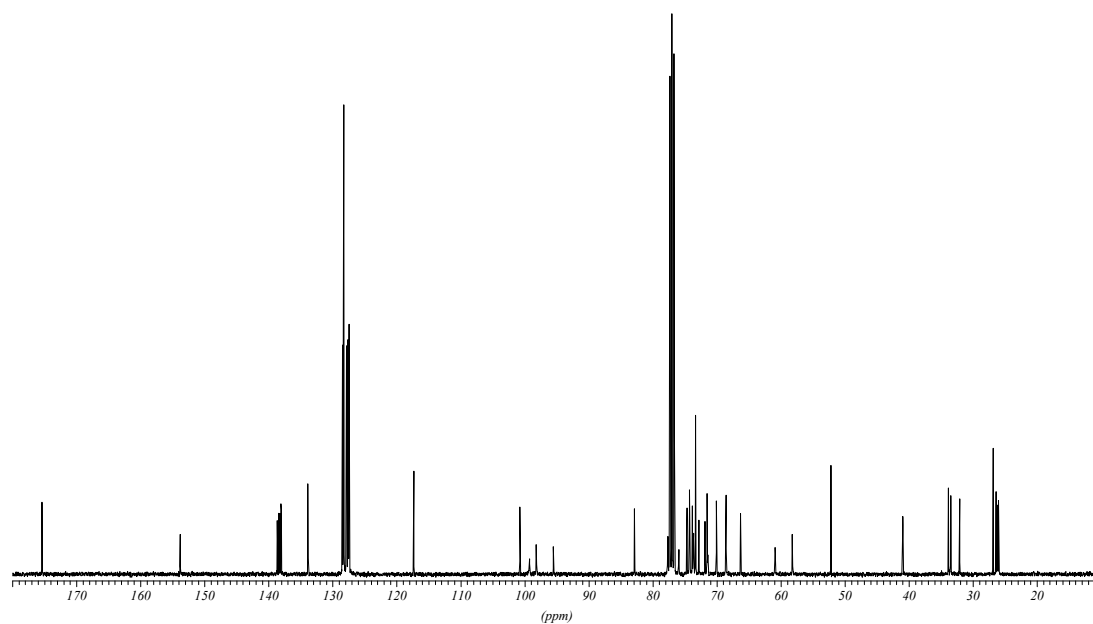
^1H (400 MHz, CDCl_3):



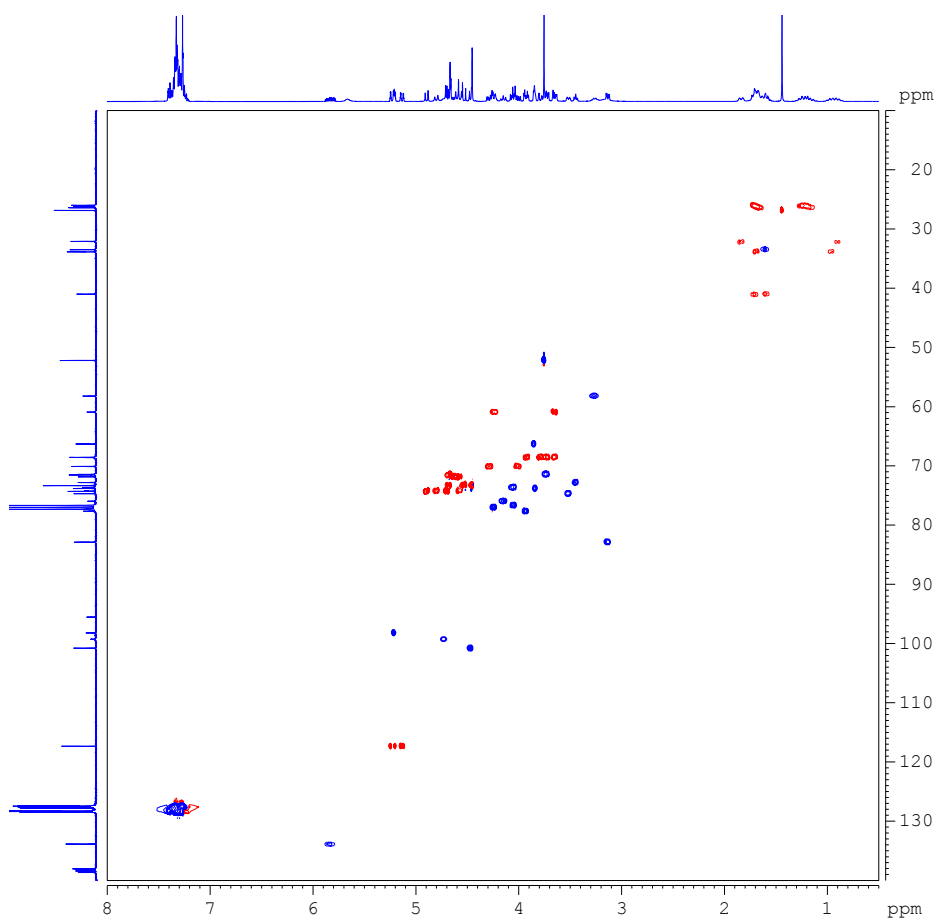
^1H - ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3):

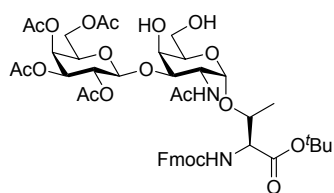


^{13}C -BB (100.6 MHz, CDCl_3):

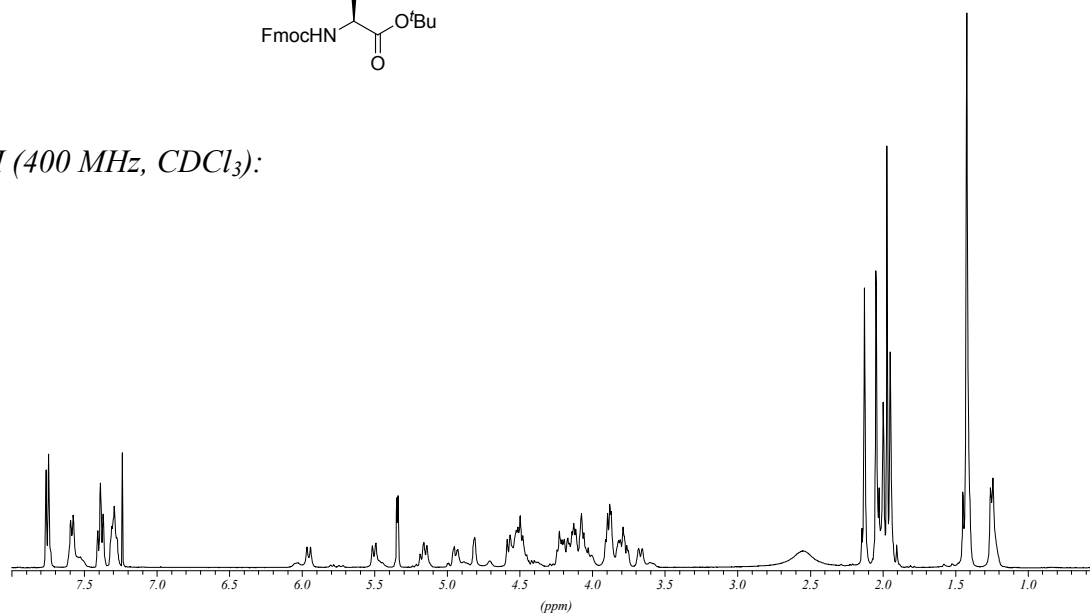


HSQC (100.6 MHz, CDCl_3):

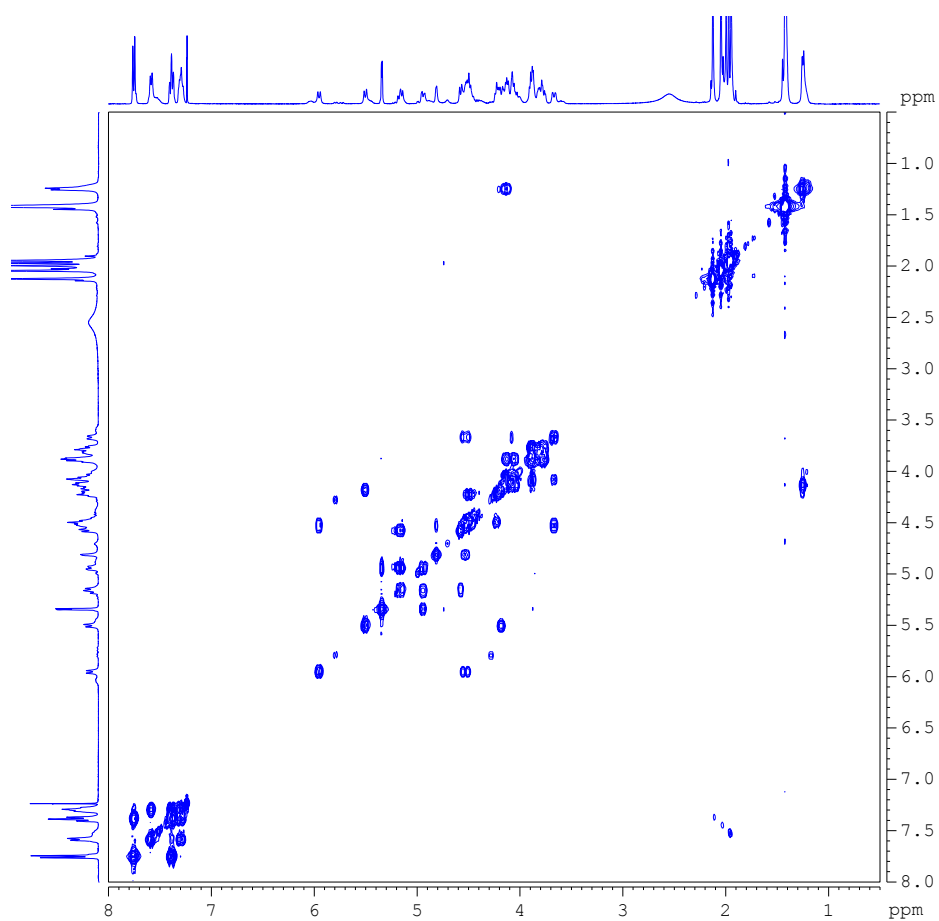


Fmoc-Thr[α -3-(β -Ac₄Gal)-GalNAc]-O^tBu (99)

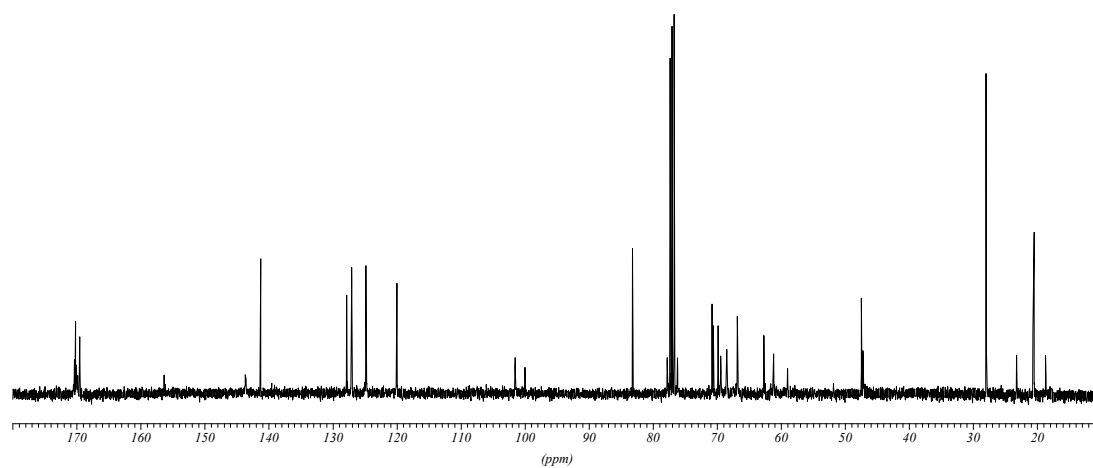
^1H (400 MHz, CDCl_3):



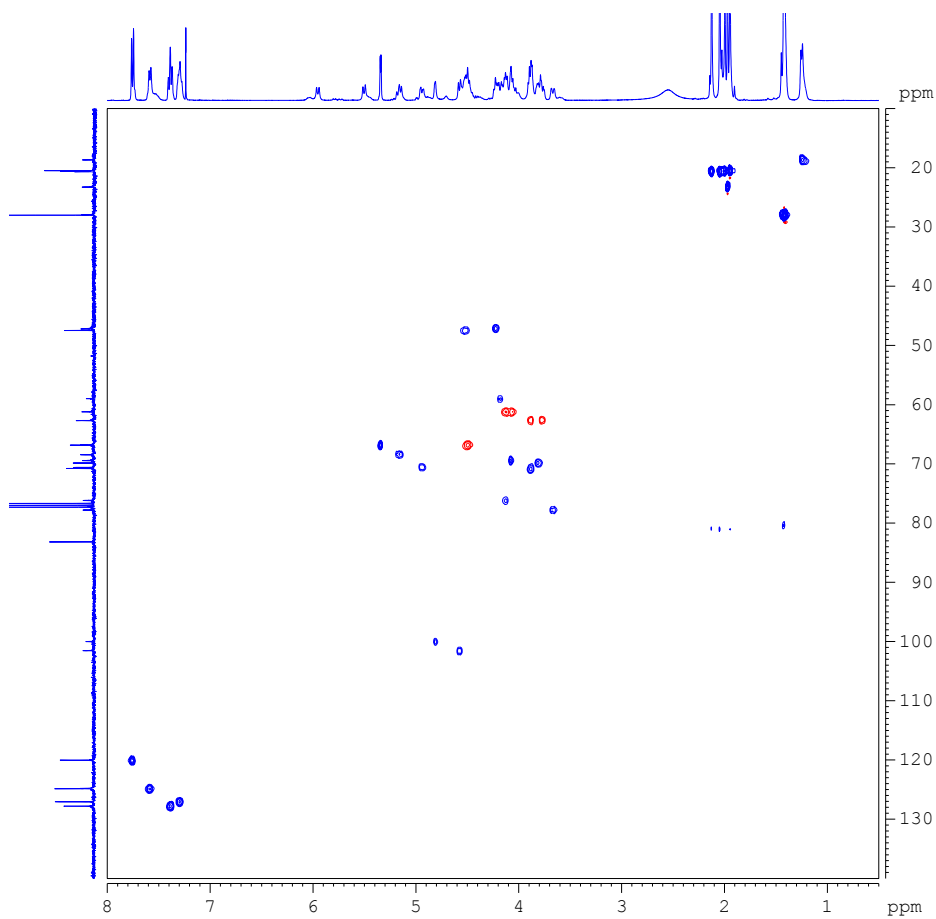
^1H - ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3):



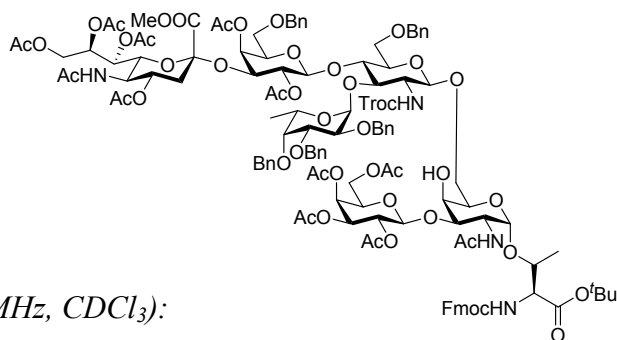
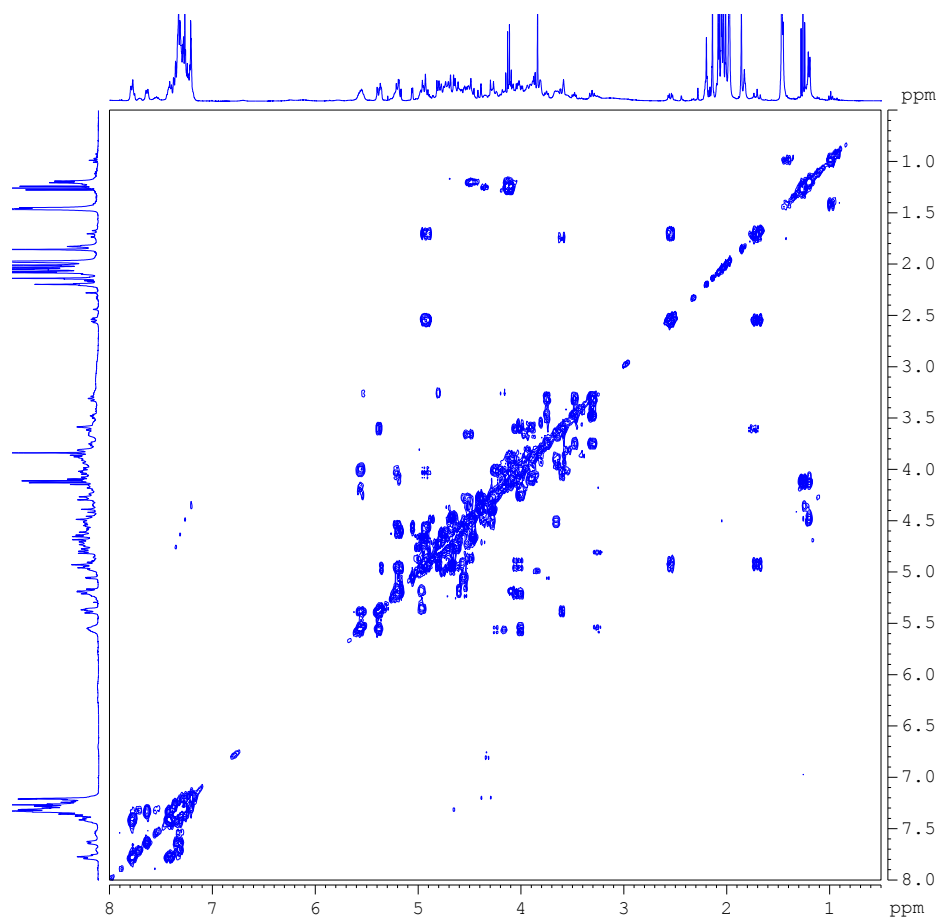
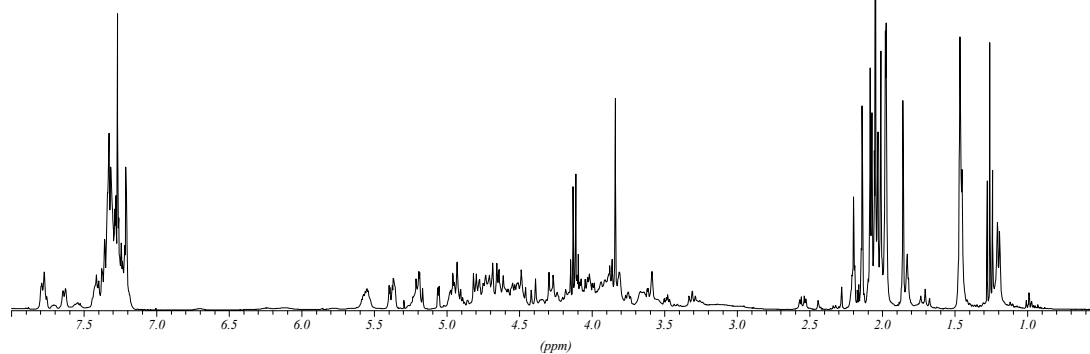
^{13}C -BB (100.6 MHz, CDCl_3):



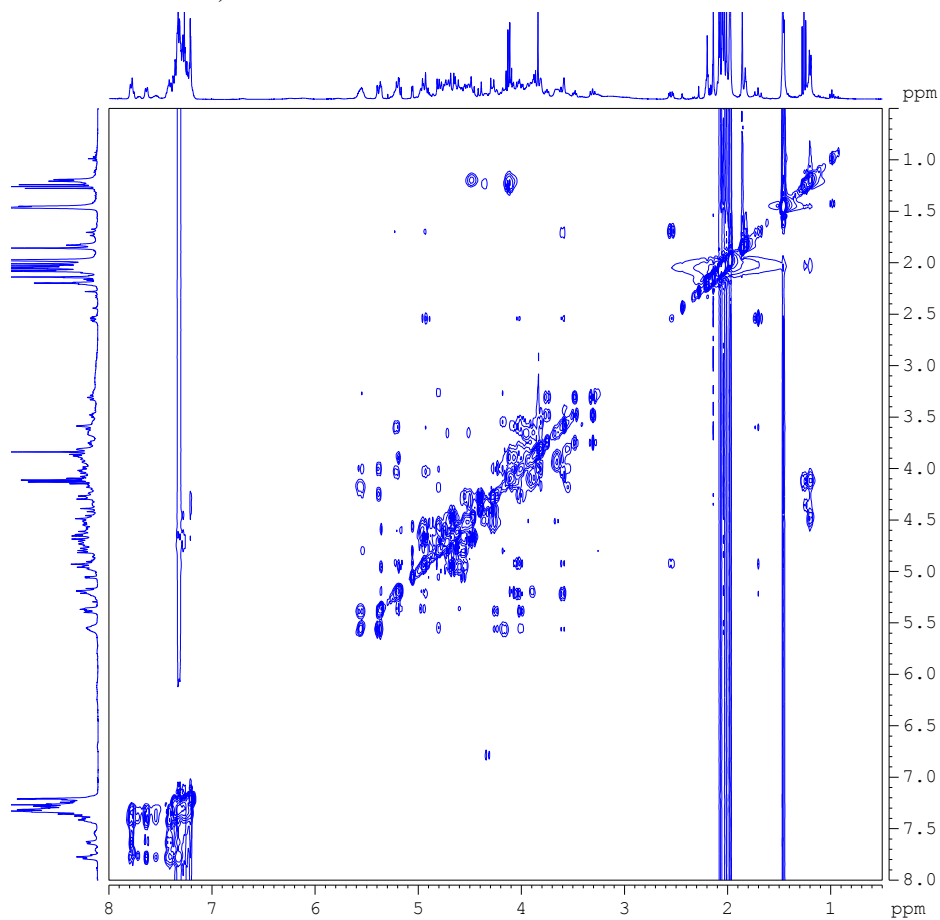
HMQC (100.6 MHz, CDCl_3):



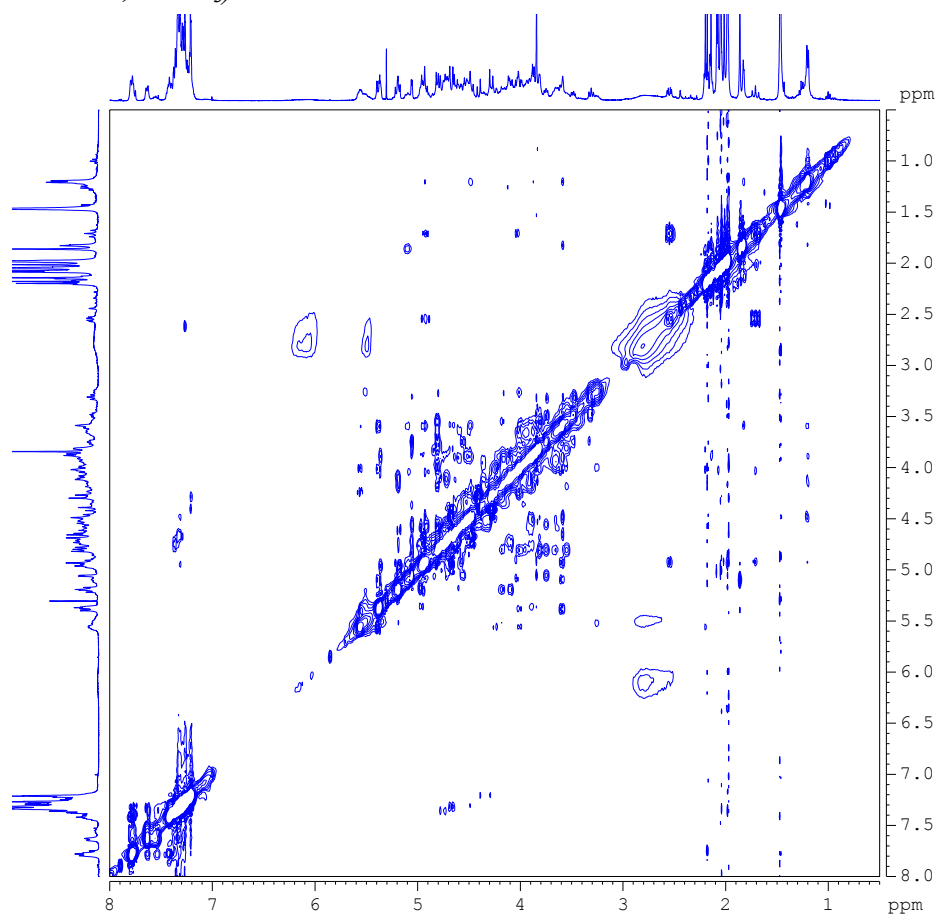
(100)

CCOC(=O)C(Fmoc)N

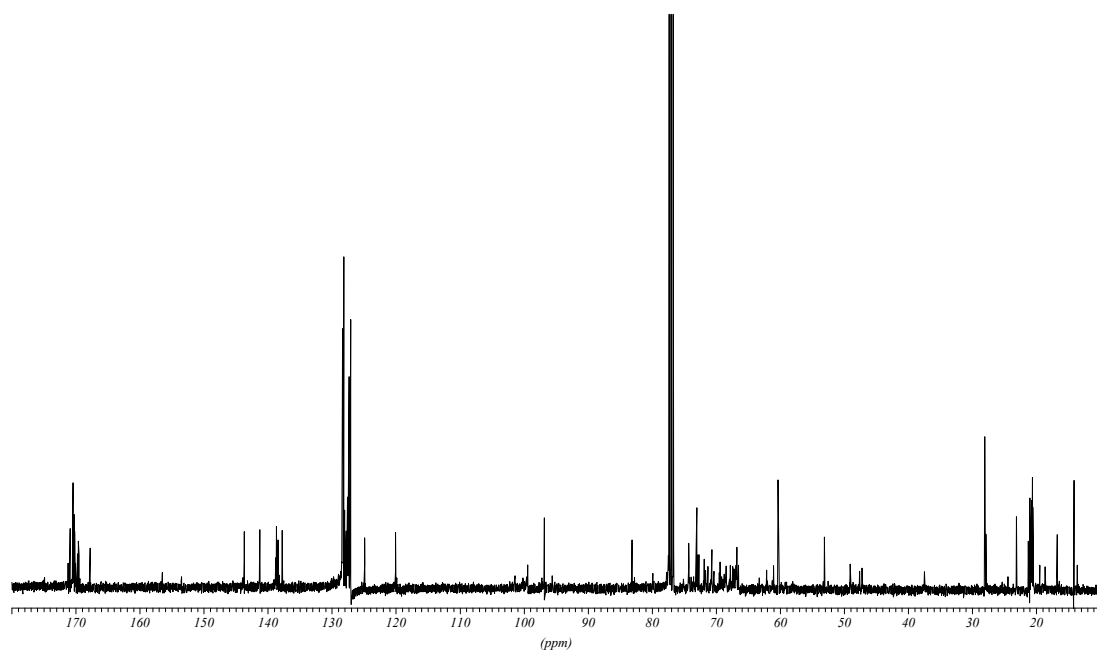
TOCSY (400 MHz, CDCl₃):



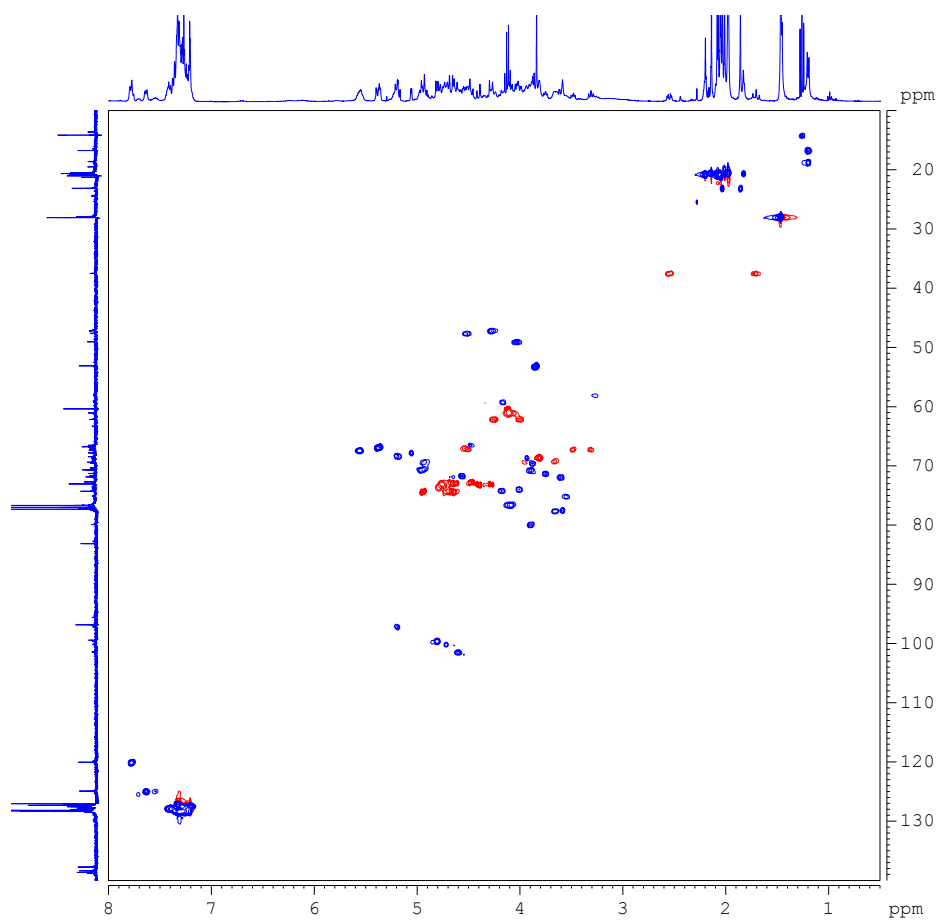
NOESY (400 MHz, CDCl₃):



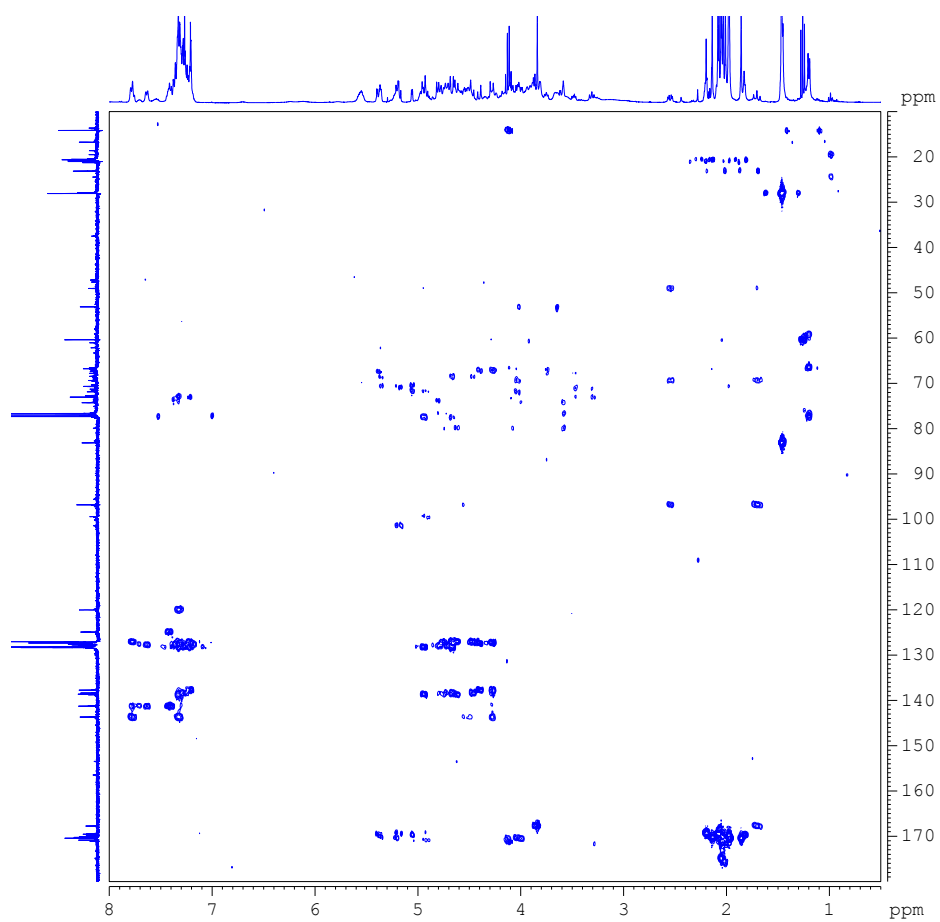
^{13}C -BB (100.6 MHz, CDCl_3):

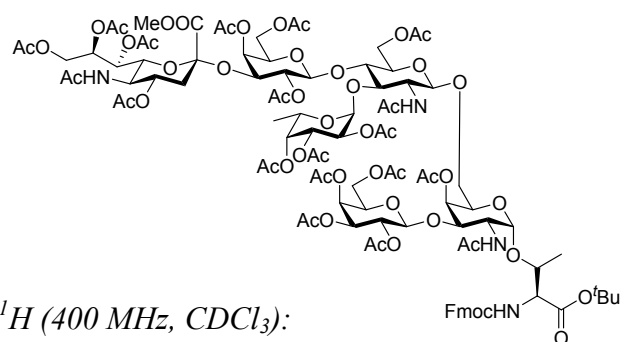
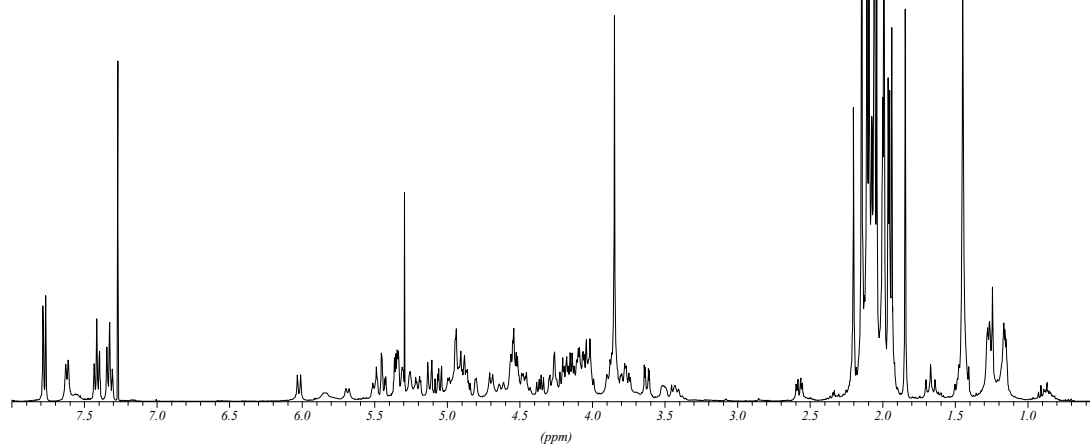
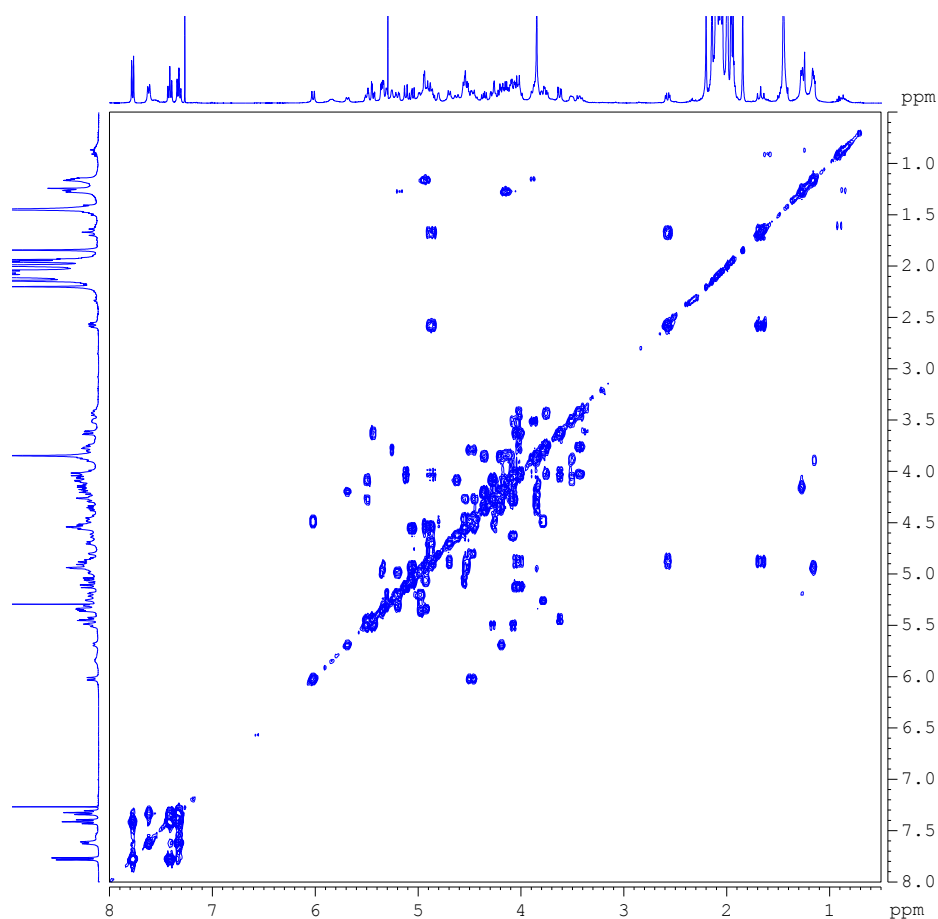


HSQC (100.6 MHz, CDCl_3):

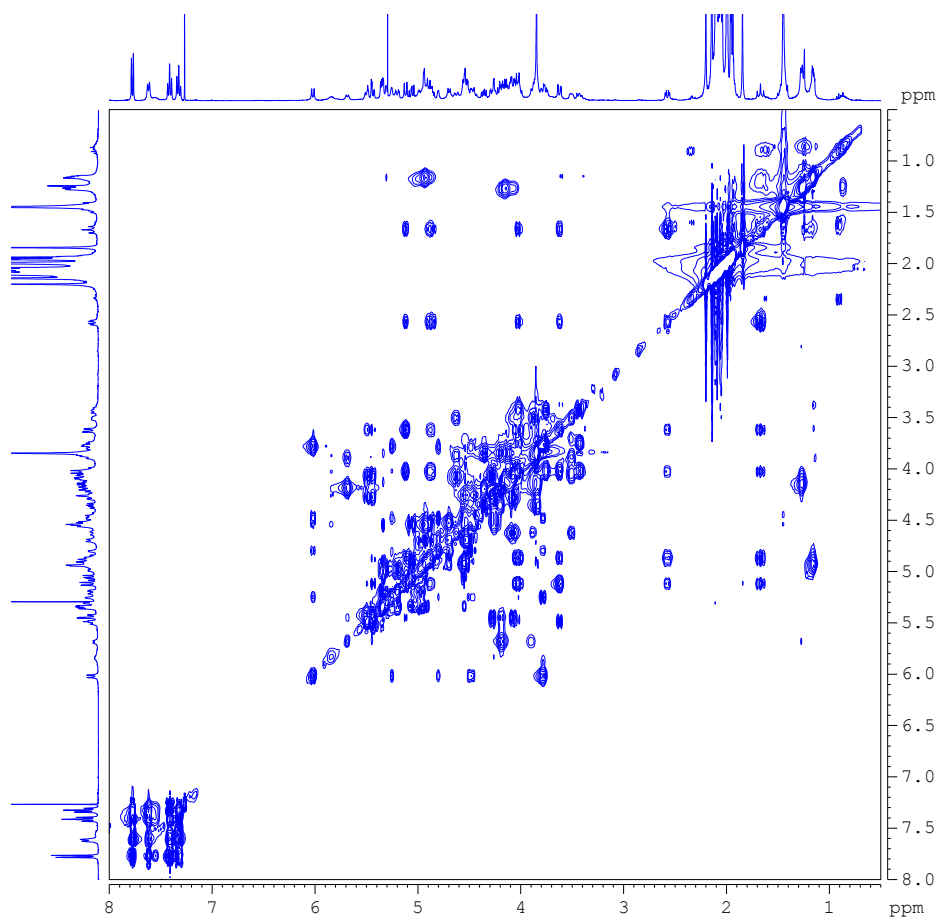


HMBC (100.6 MHz, CDCl₃):

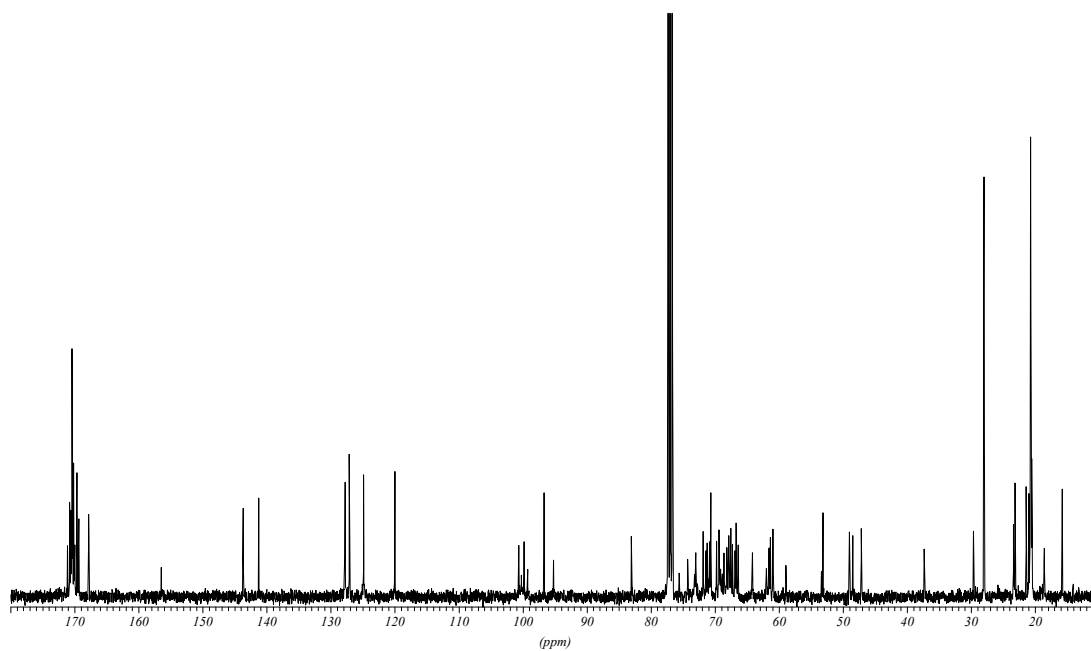


Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₁₁(Fuc)SLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-O^tBu (103)

¹H (400 MHz, CDCl₃):

¹H-¹H-COSY (400 MHz, CDCl₃):


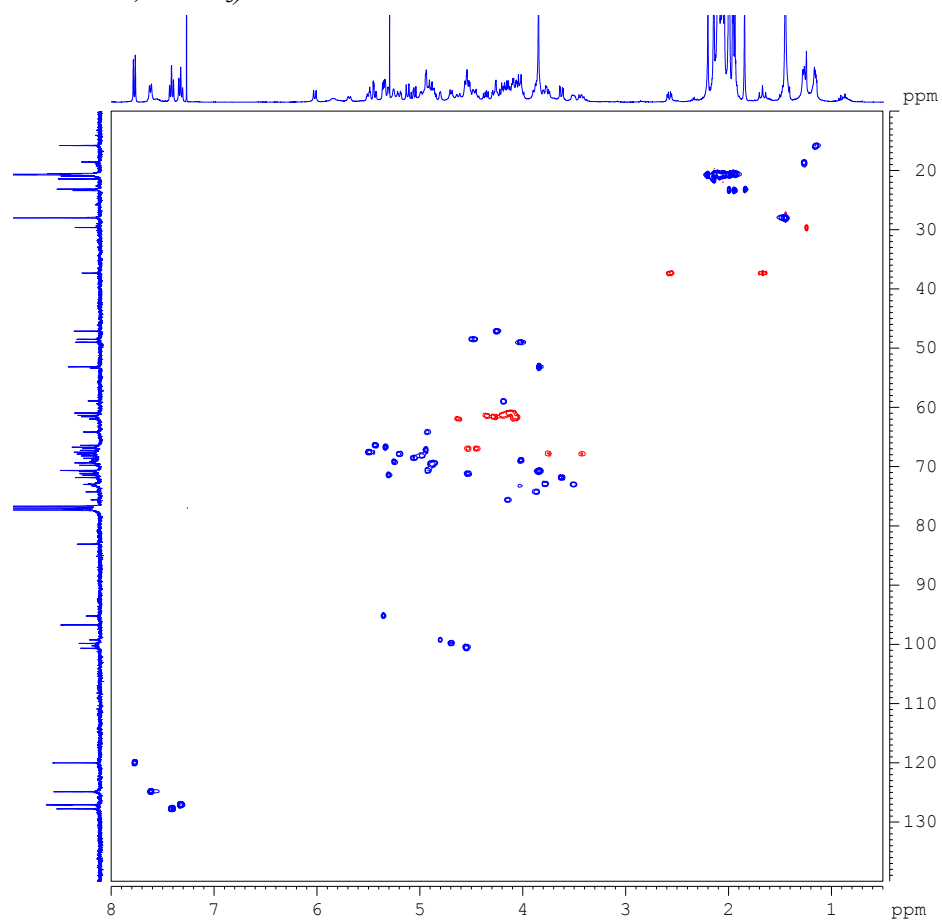
TOCSY (400 MHz, CDCl_3):



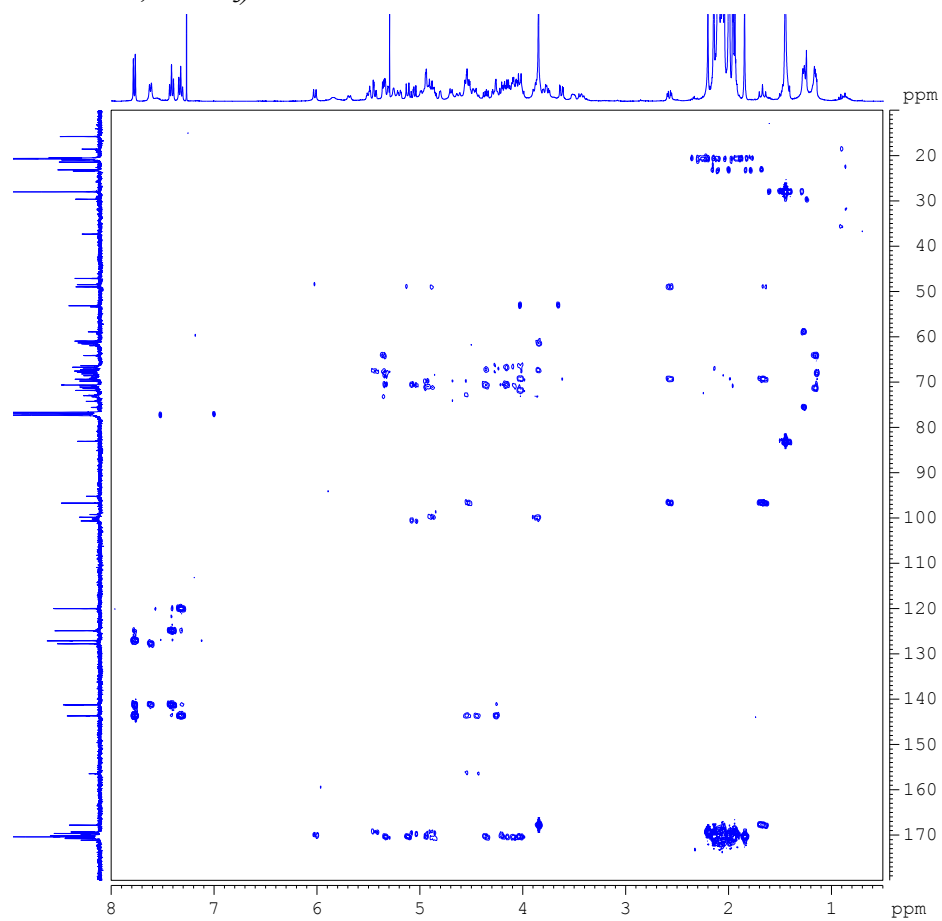
^{13}C -BB (100.6 MHz, CDCl_3):



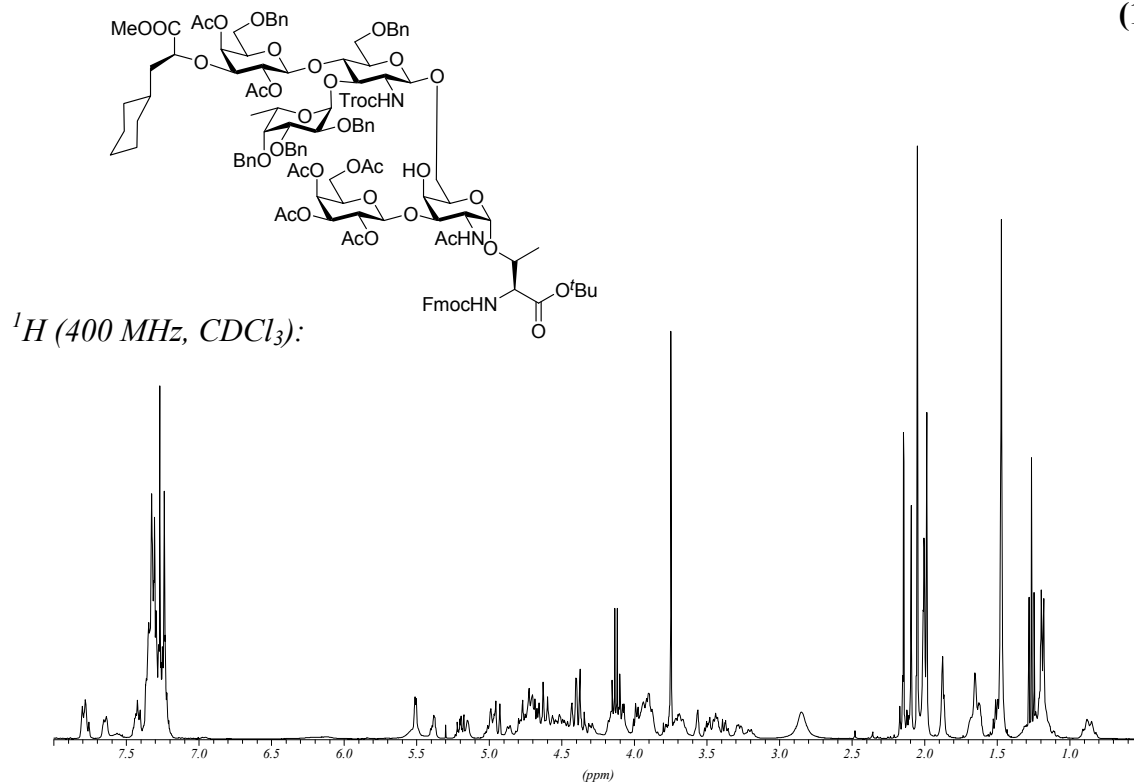
HSQC (100.6 MHz, CDCl₃):



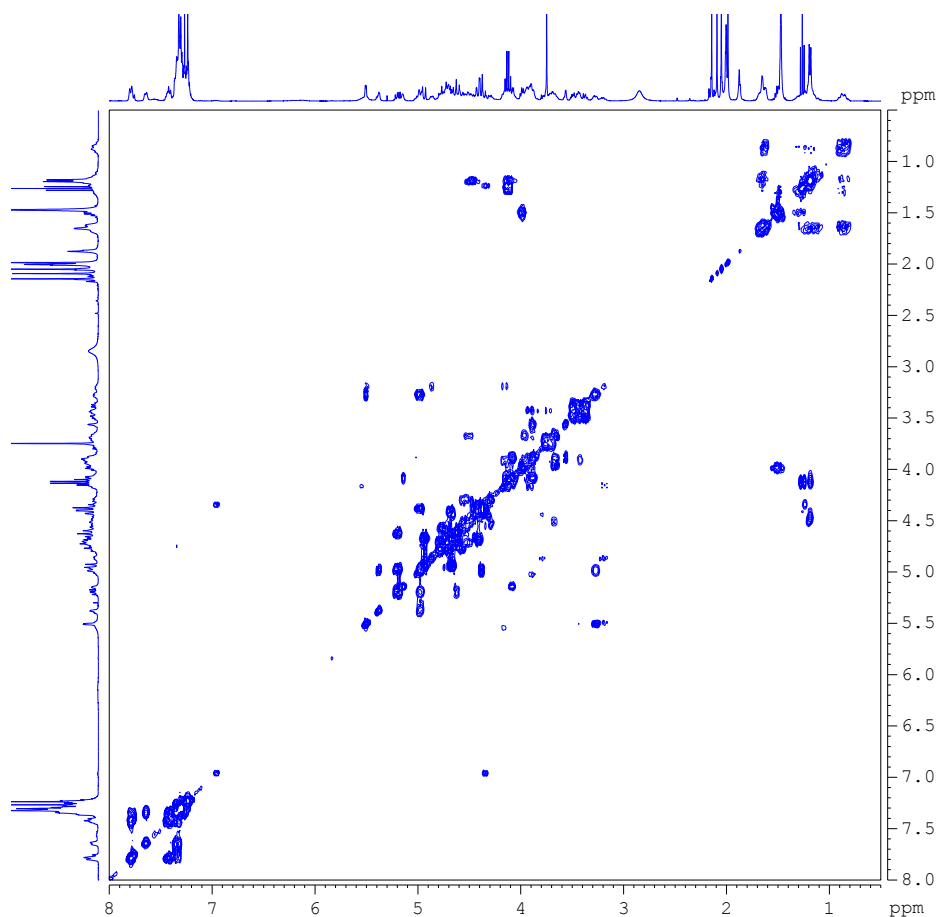
HMBC (100.6 MHz, CDCl₃):



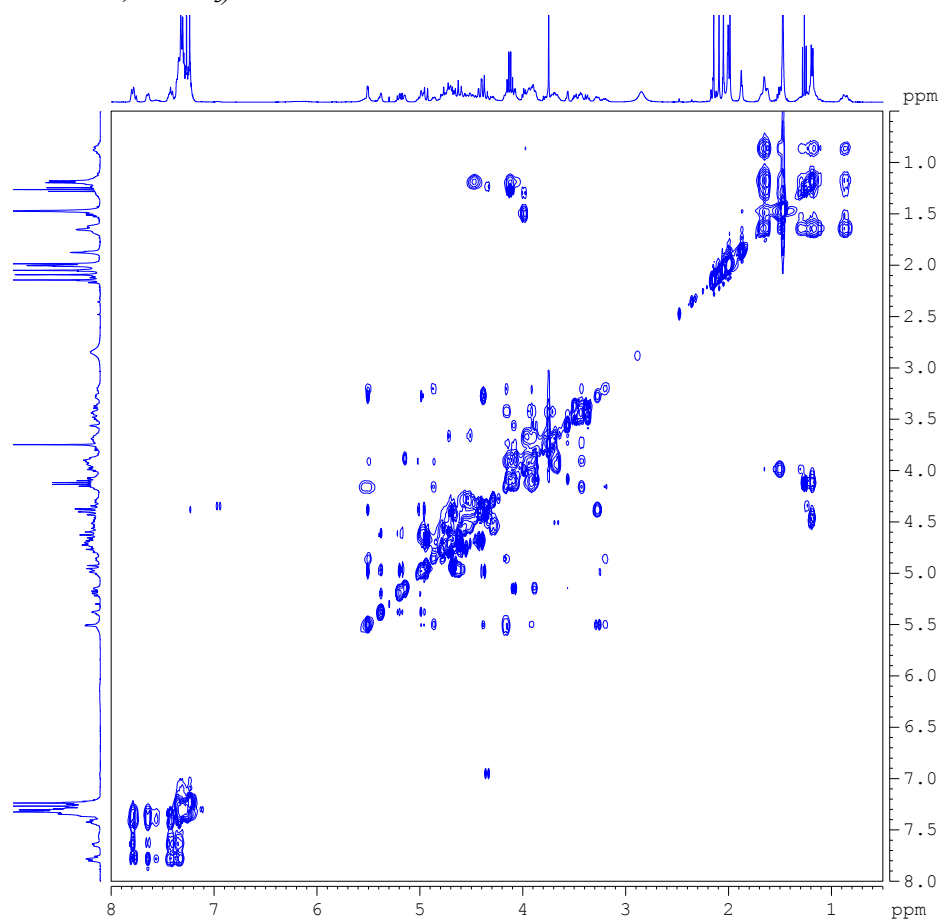
Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₂Bn₅(Fuc)CycloLe^xNTrocCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-GalNAc]-O^tBu
(107)



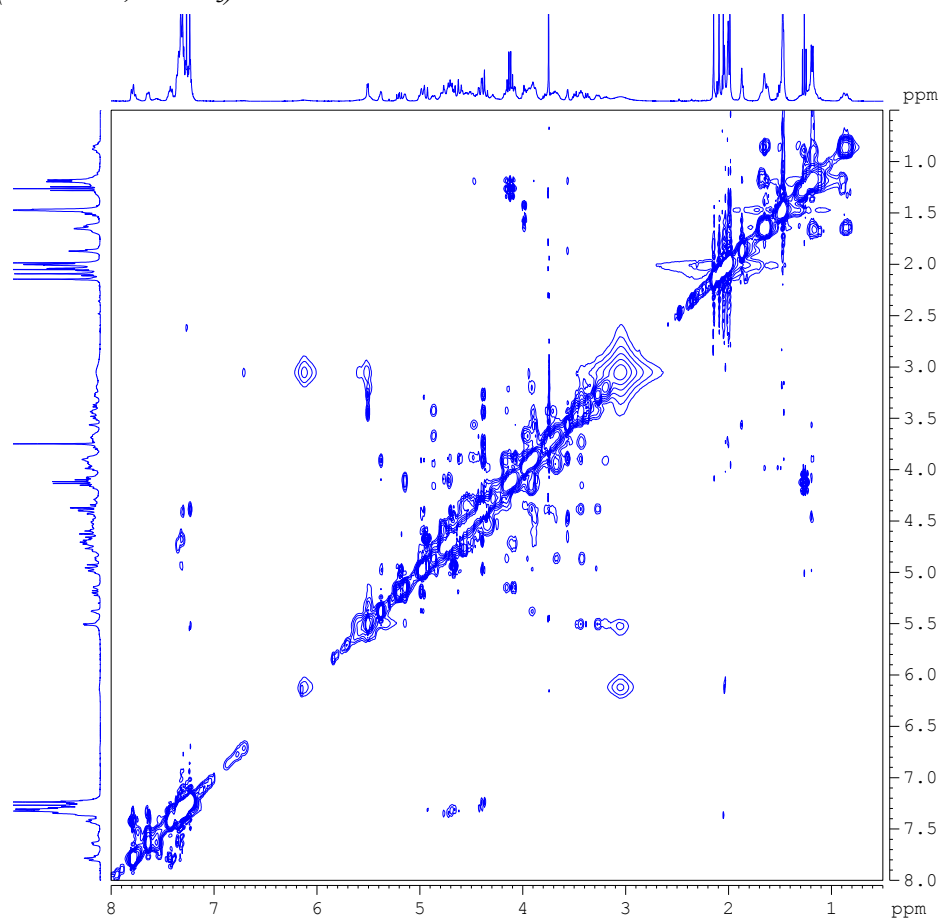
¹H-¹H-COSY (400 MHz, CDCl₃):



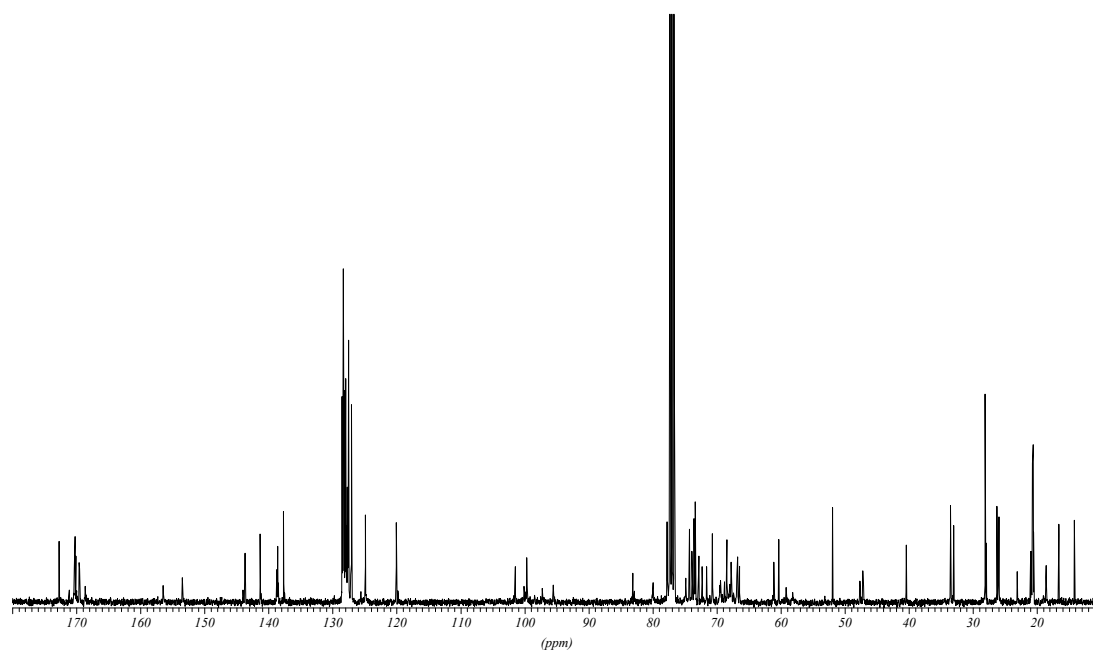
TOCSY (400 MHz, CDCl_3):



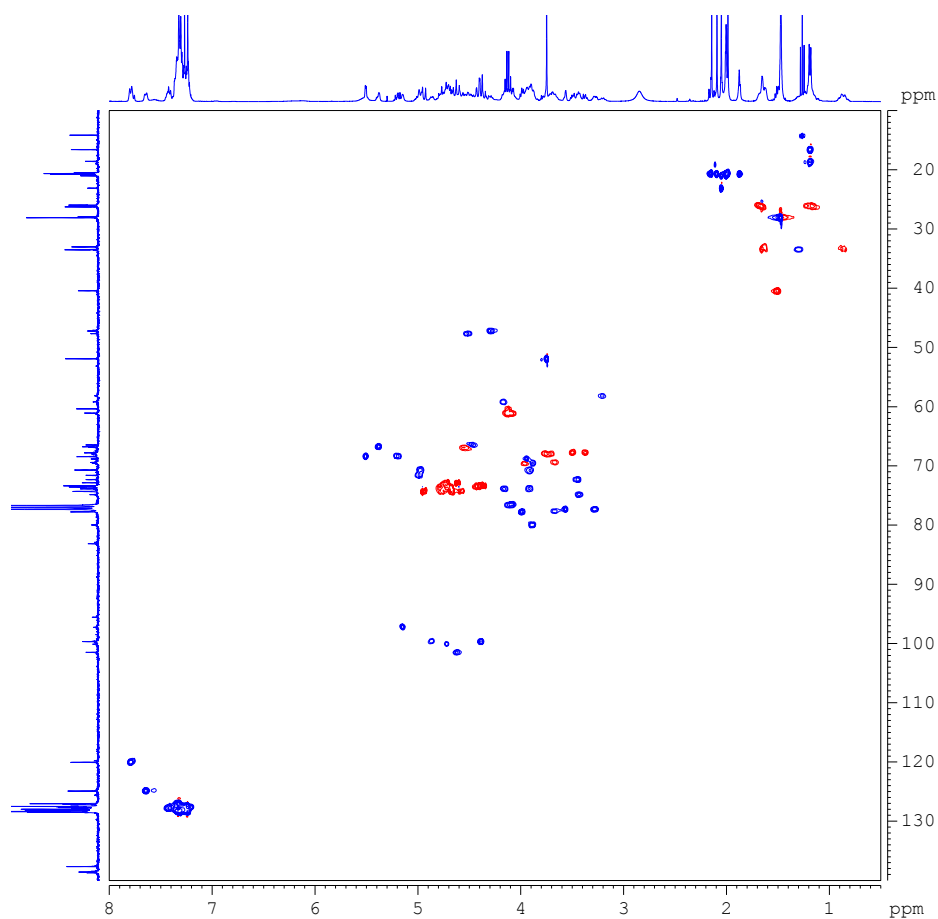
NOESY (400 MHz, CDCl_3):



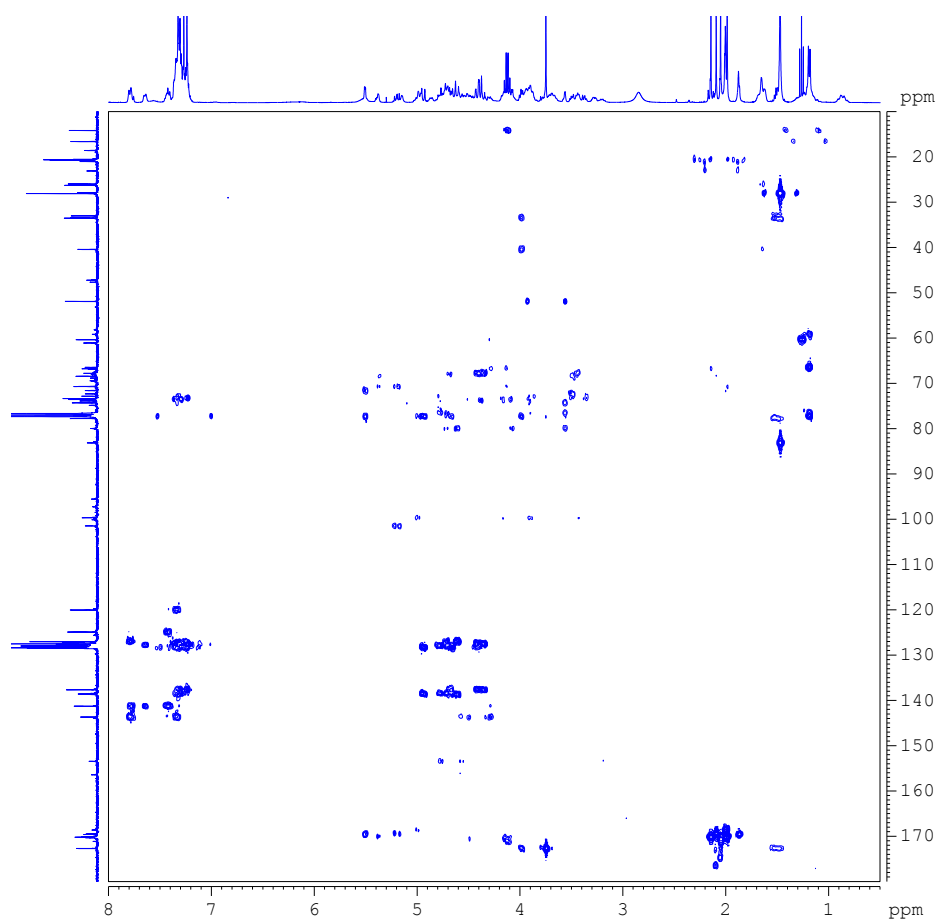
^{13}C -BB (100.6 MHz, CDCl_3):

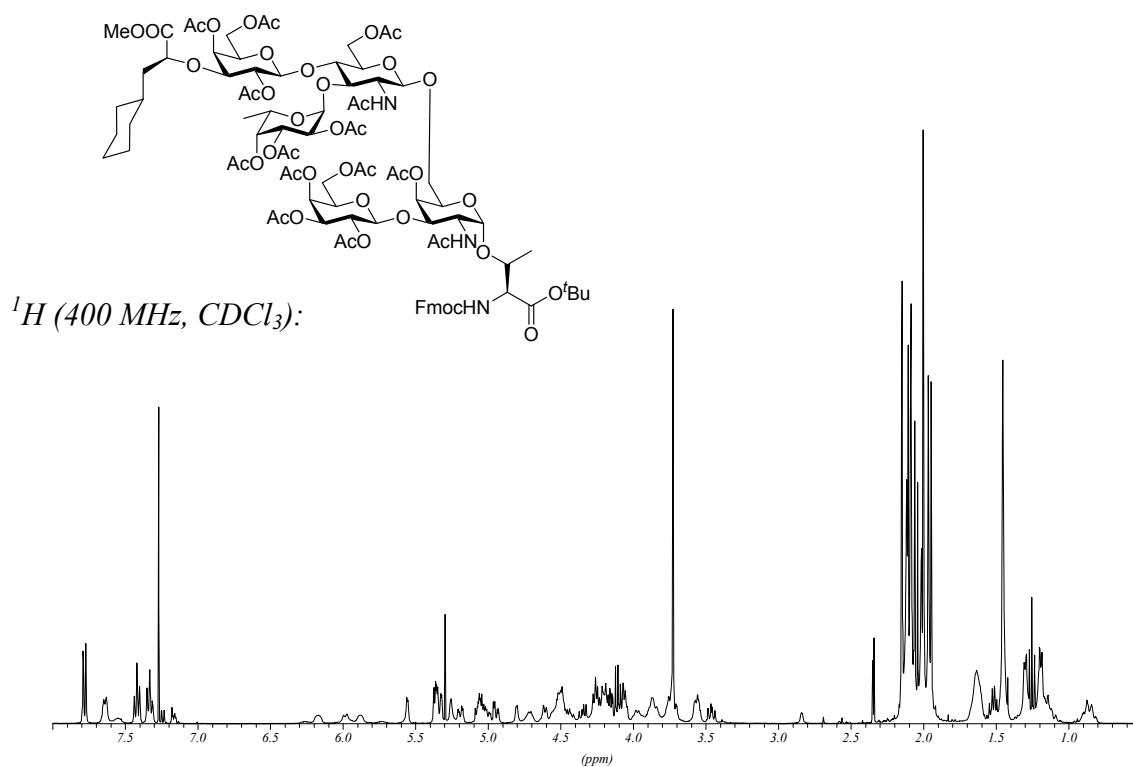


HSQC (100.6 MHz, CDCl_3):

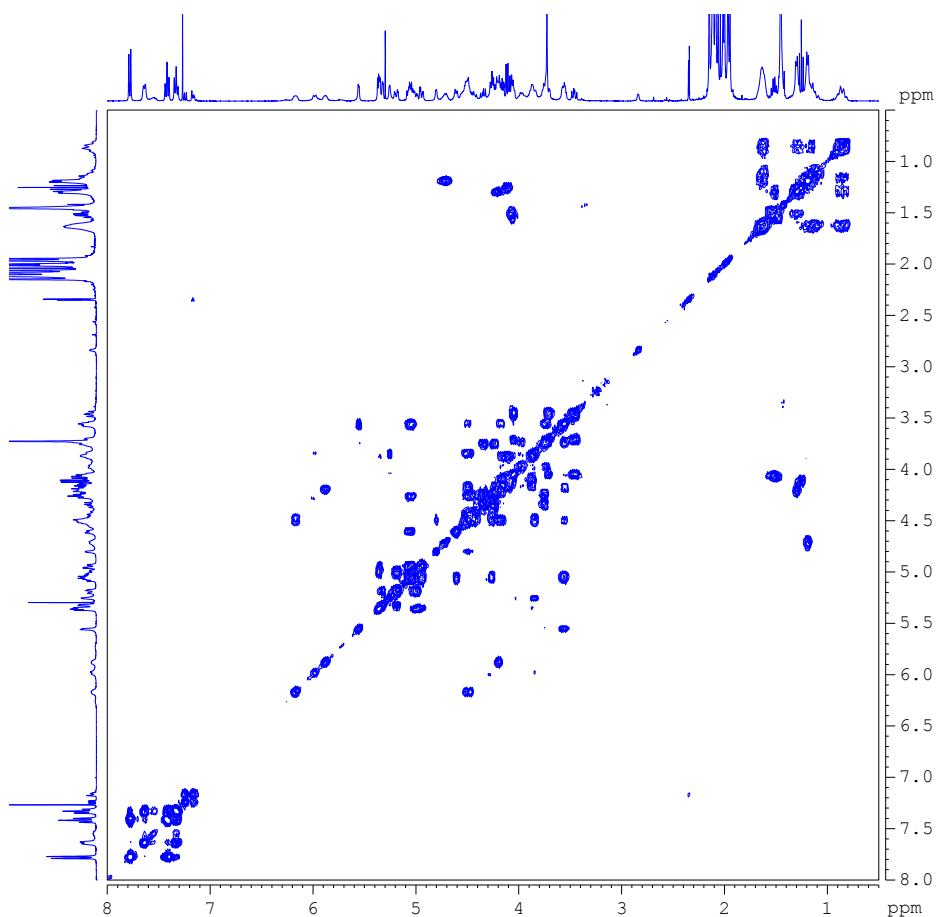


HMBC (100.6 MHz, CDCl_3):

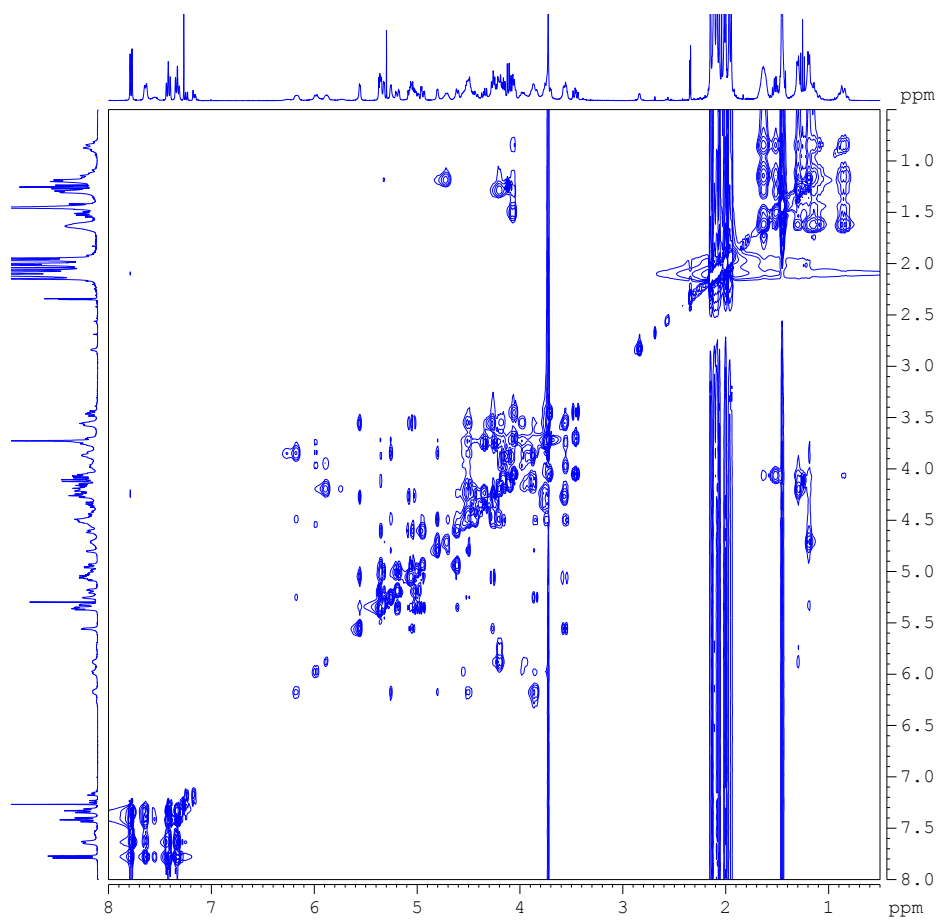


Fmoc-Thr[α -6-(β -Ac₇(Fuc)CycloLe^xCOOMe)-3-(β -Ac₄Gal)-AcGalNAc]-O^tBu (110)

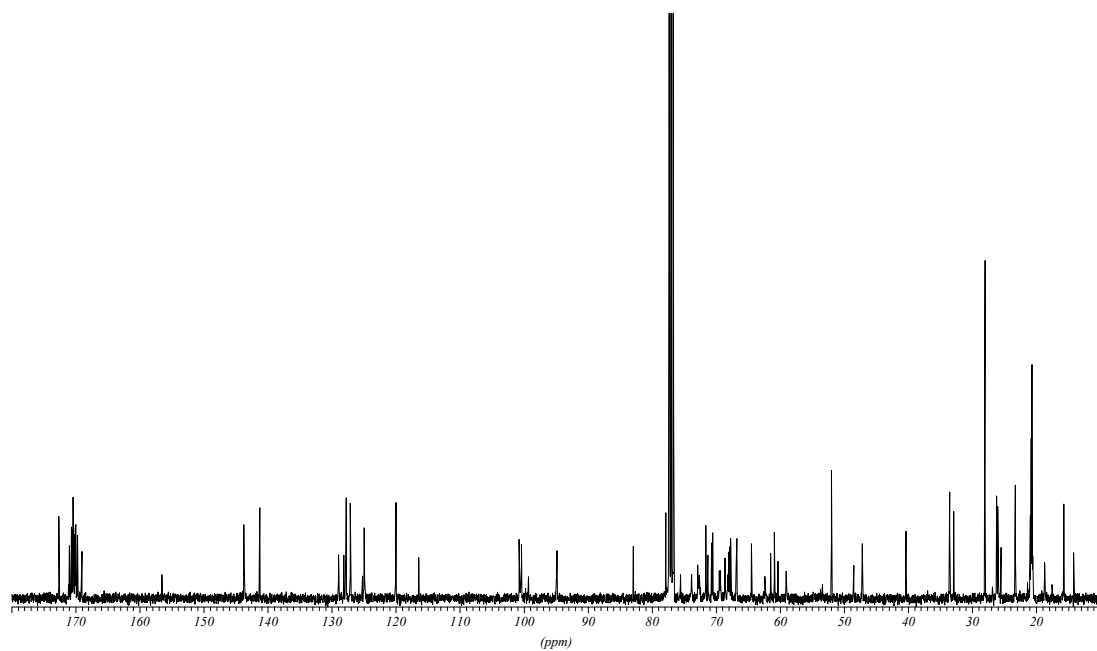
¹H-¹H-COSY (400 MHz, CDCl₃):



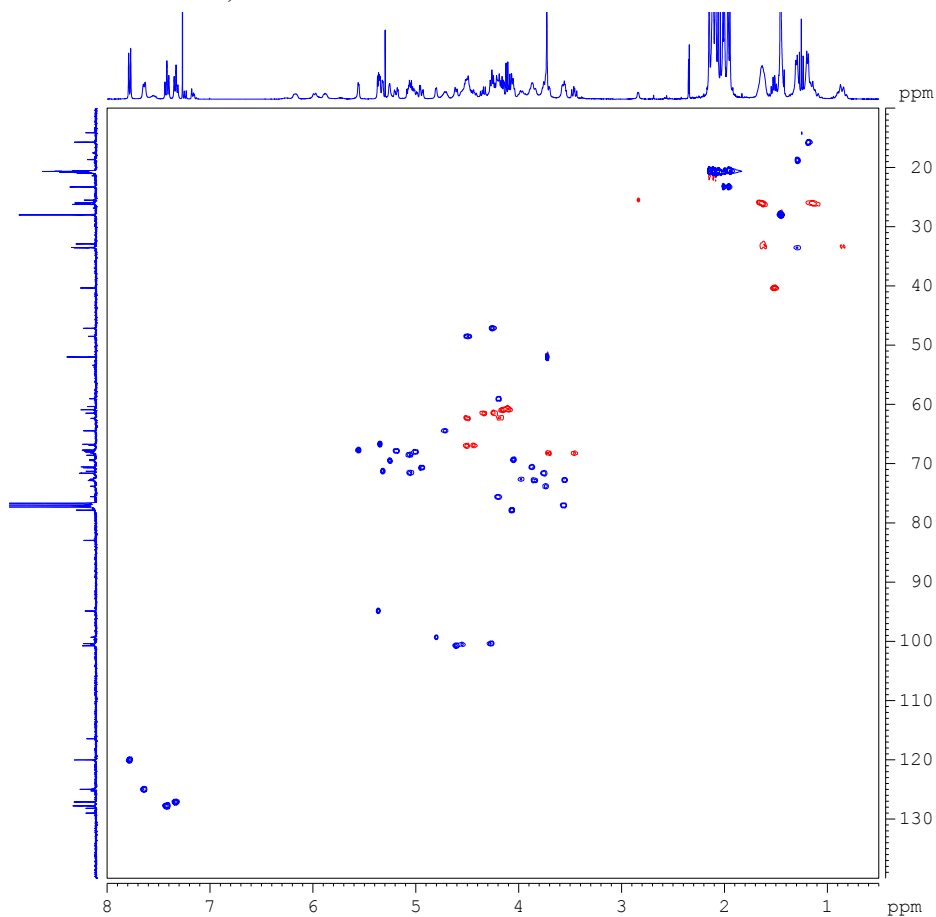
TOCSY (400 MHz, CDCl_3):



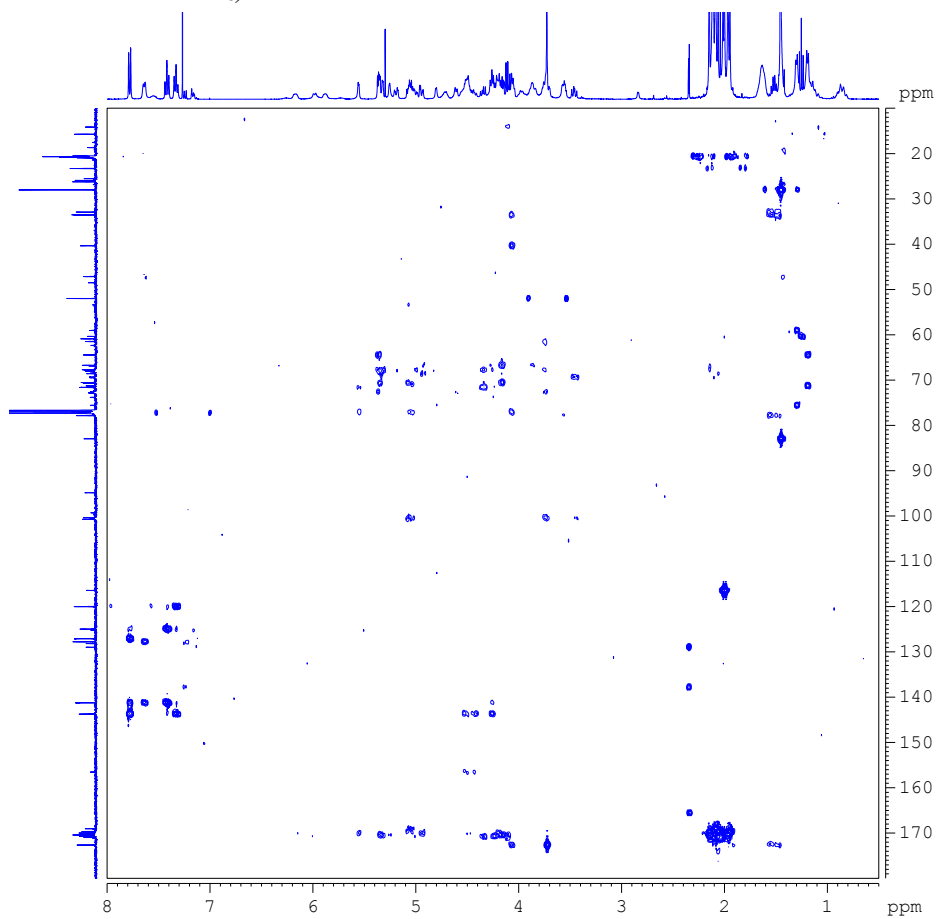
^{13}C -BB (100.6 MHz, CDCl_3):

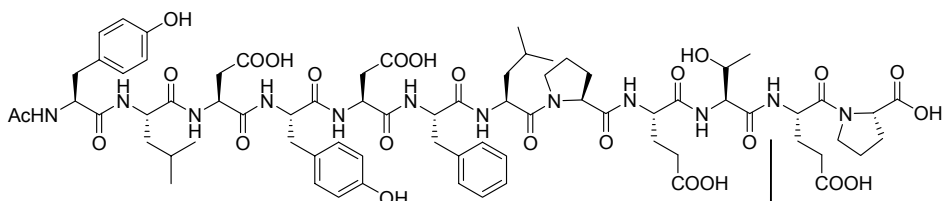


HSQC (100.6 MHz, CDCl₃):

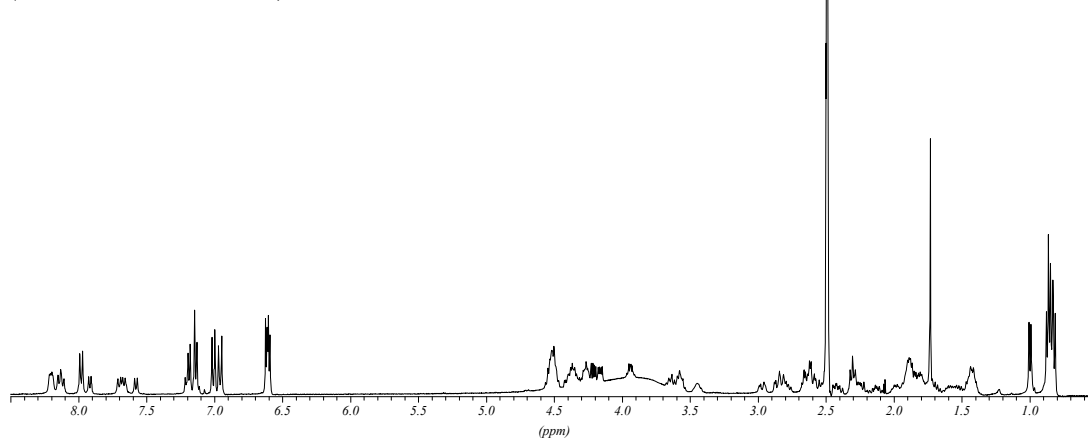


HMBC (100.6 MHz, CDCl₃):

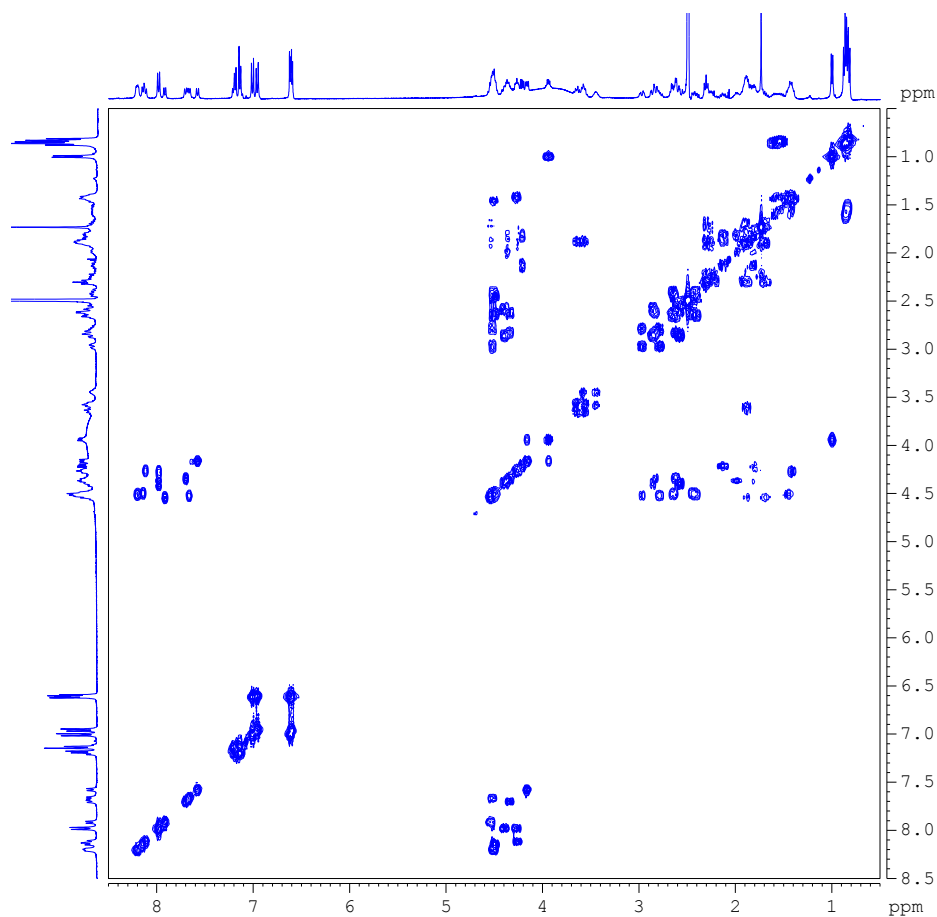


Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-Thr-Glu-Pro-OH (115)

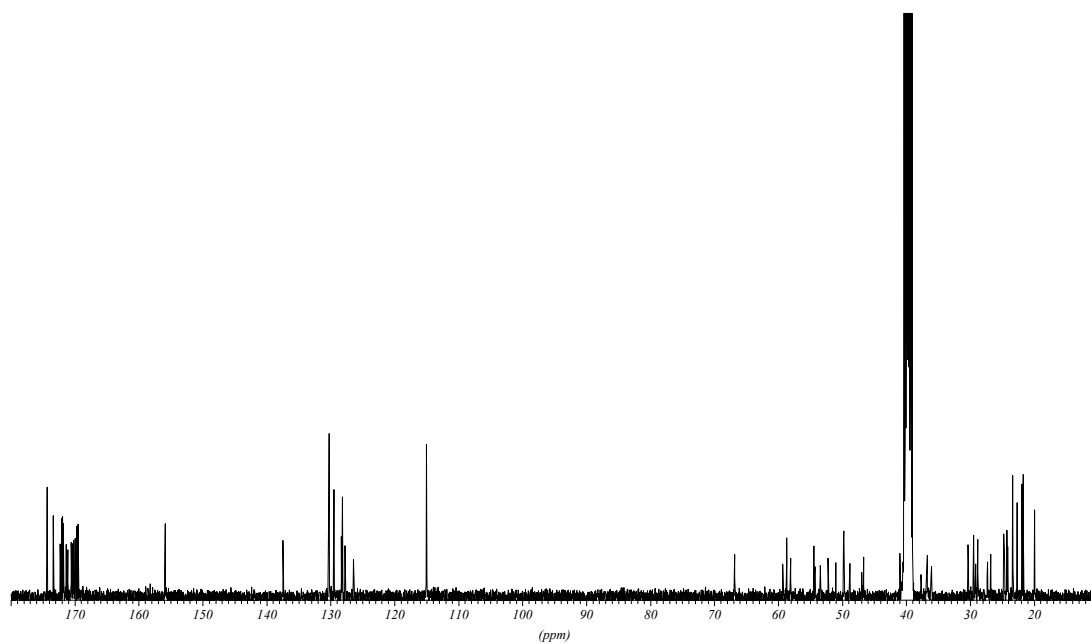
^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$):



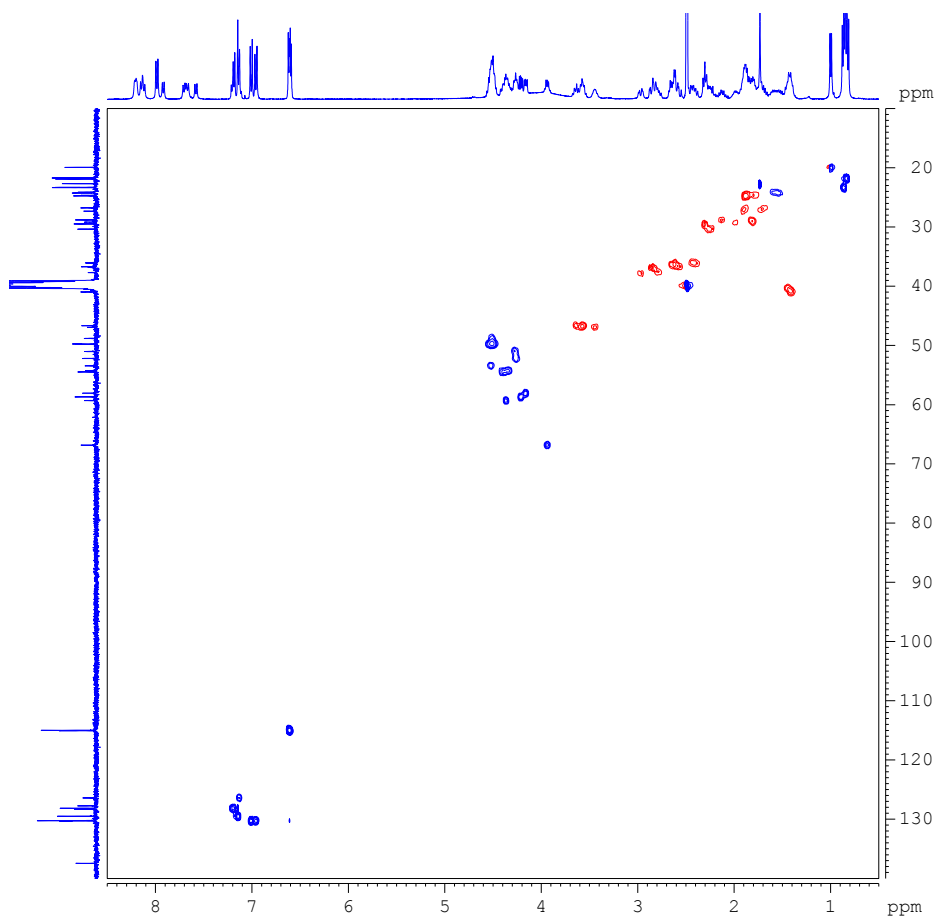
$^1\text{H}-^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$):

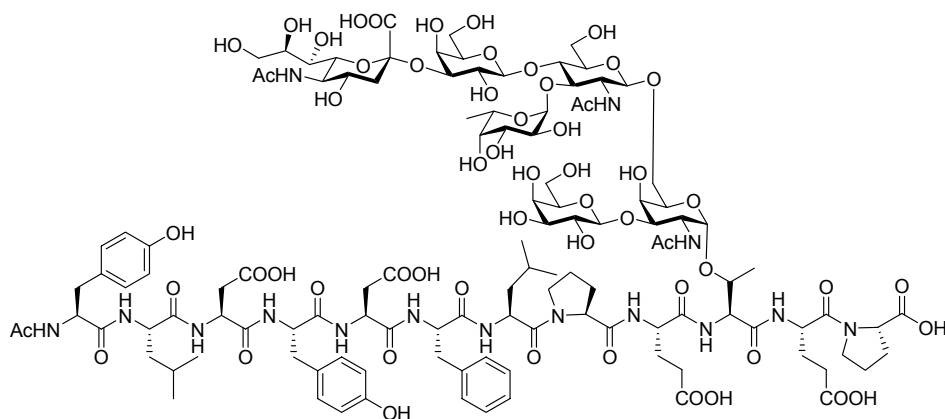


^{13}C -BB (100.6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$):

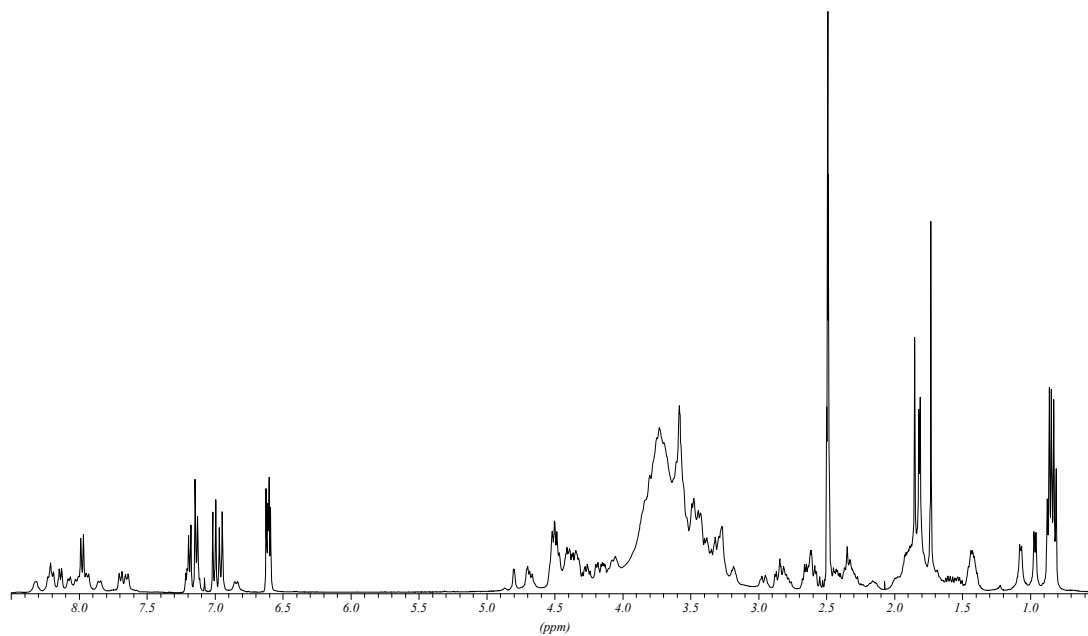


HSQC (100.6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$):

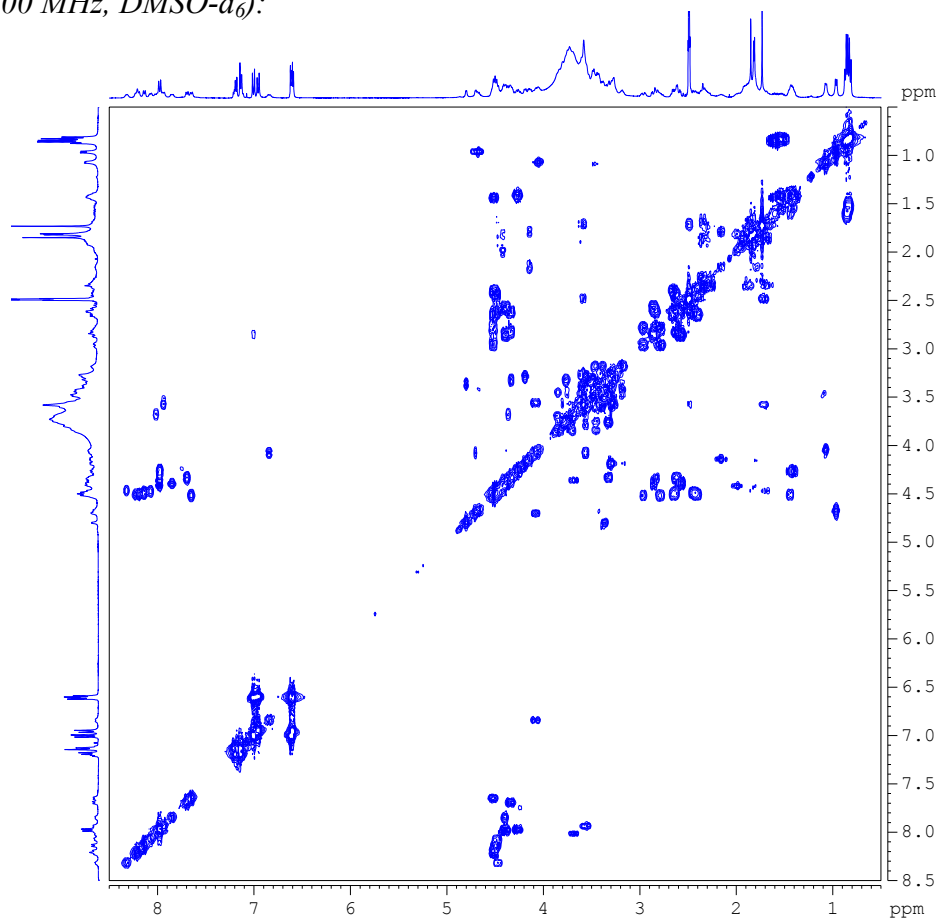


Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-**Thr[α -6-(β -(Fuc)SLe^x)-3-(β -Gal)-GalNAc]-Glu-Pro-OH (120)**

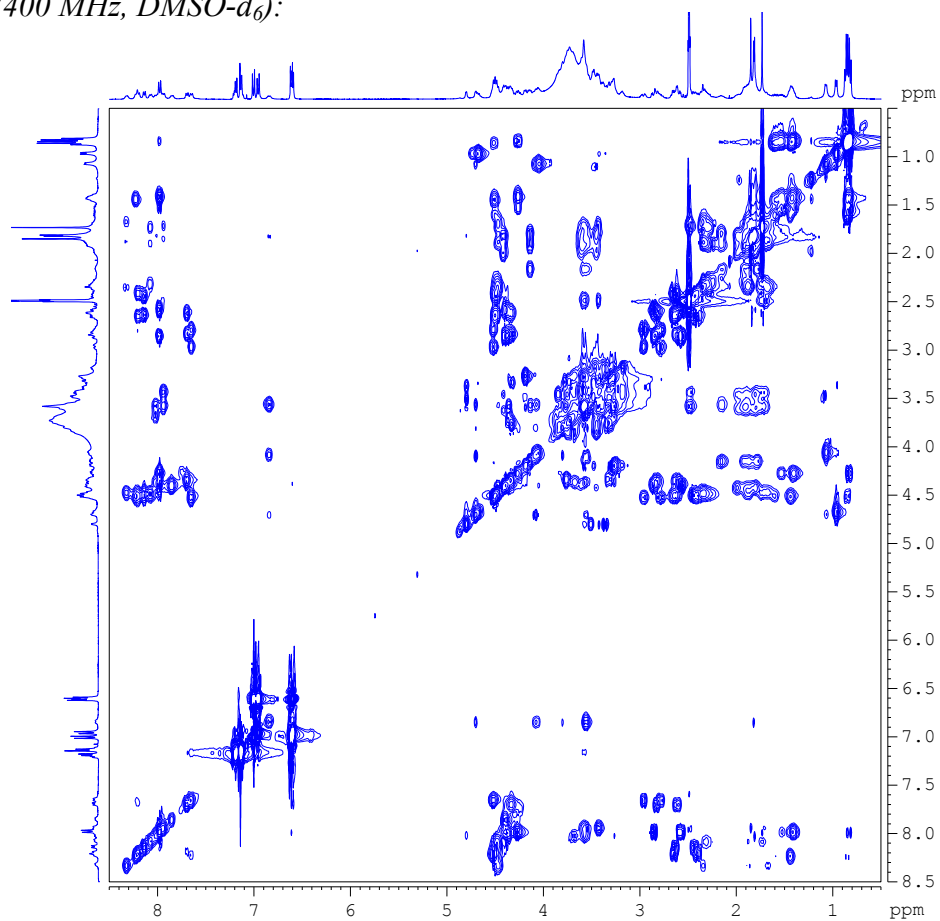
¹H (400 MHz, DMSO-d₆):



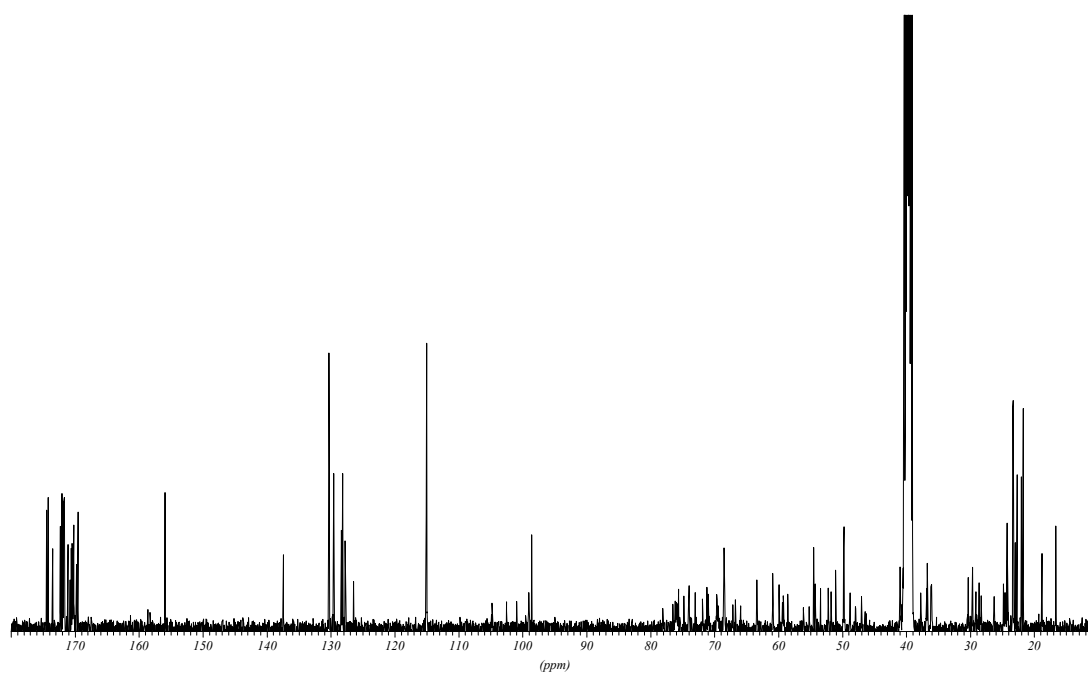
COSY (400 MHz, DMSO- d_6):



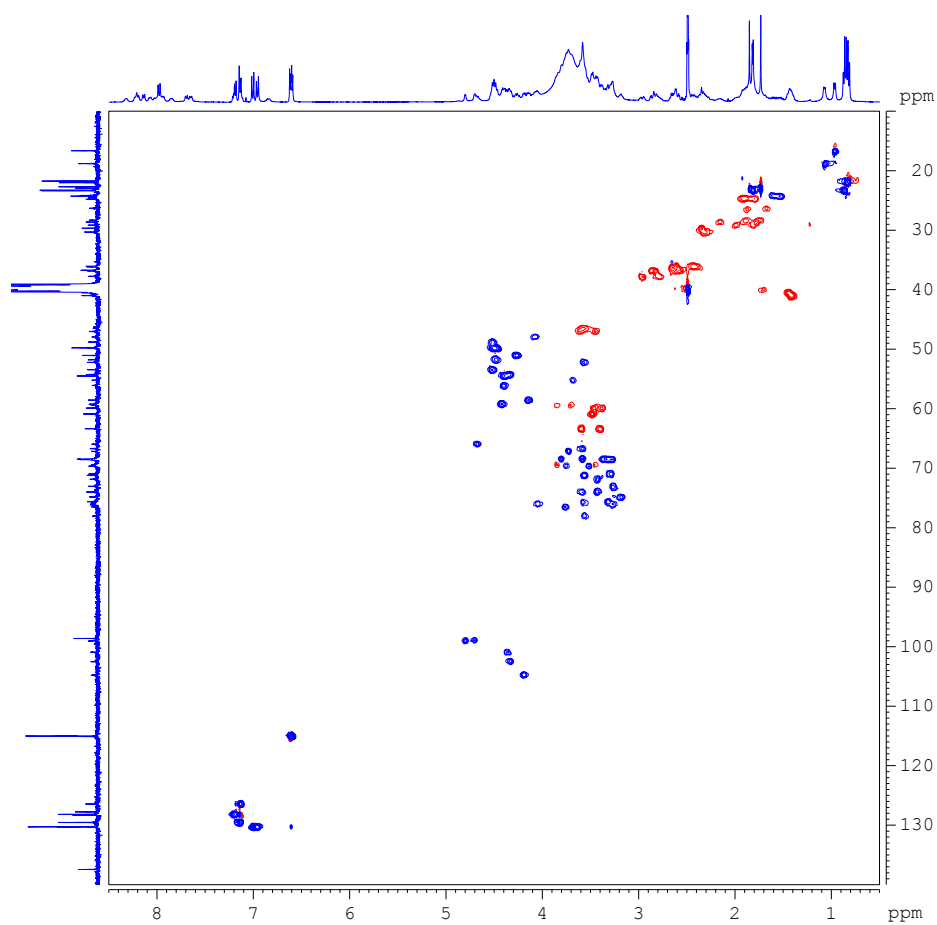
TOCSY (400 MHz, DMSO- d_6):



^{13}C -BB (100.6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$):

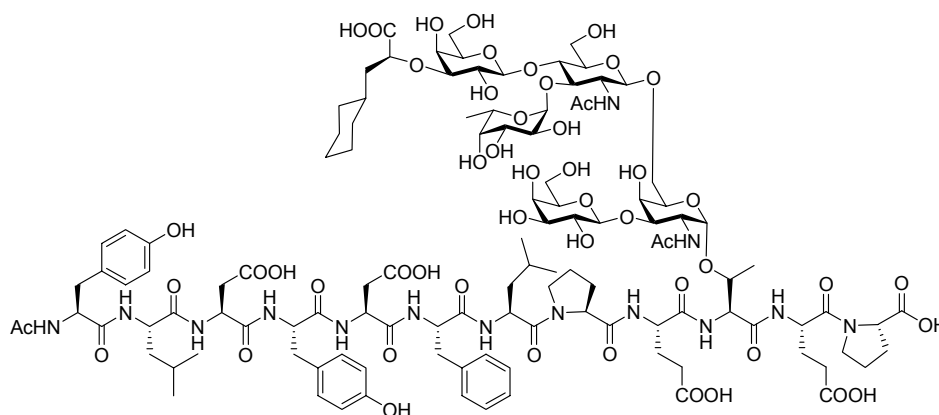


HSQC (100.6 MHz, $\text{DMSO}-d_6$):

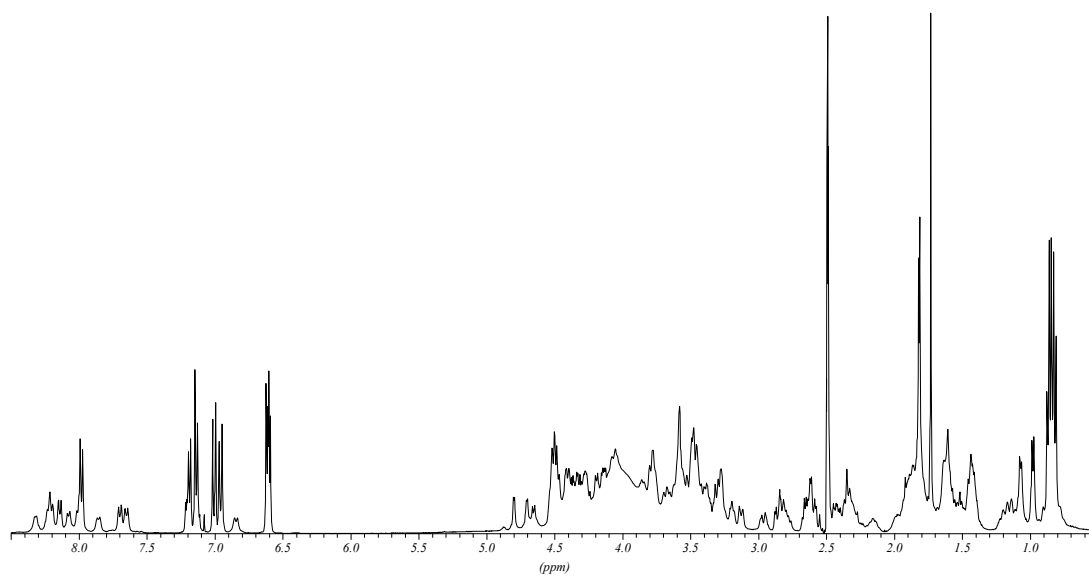


Ac-Tyr-Leu-Asp-Tyr-Asp-Phe-Leu-Pro-Glu-

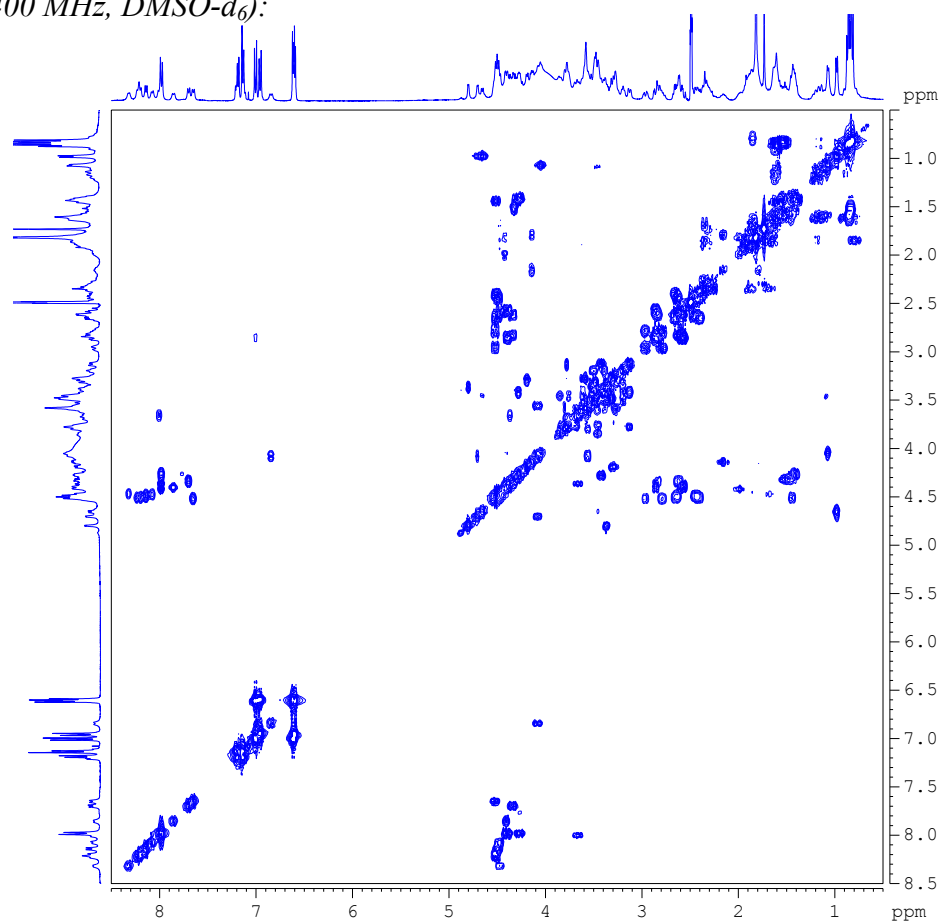
Thr[α -6-(β -(Fuc)CycloLe^x)-3-(β -Gal)-GalNAc]-Glu-Pro-OH (124)



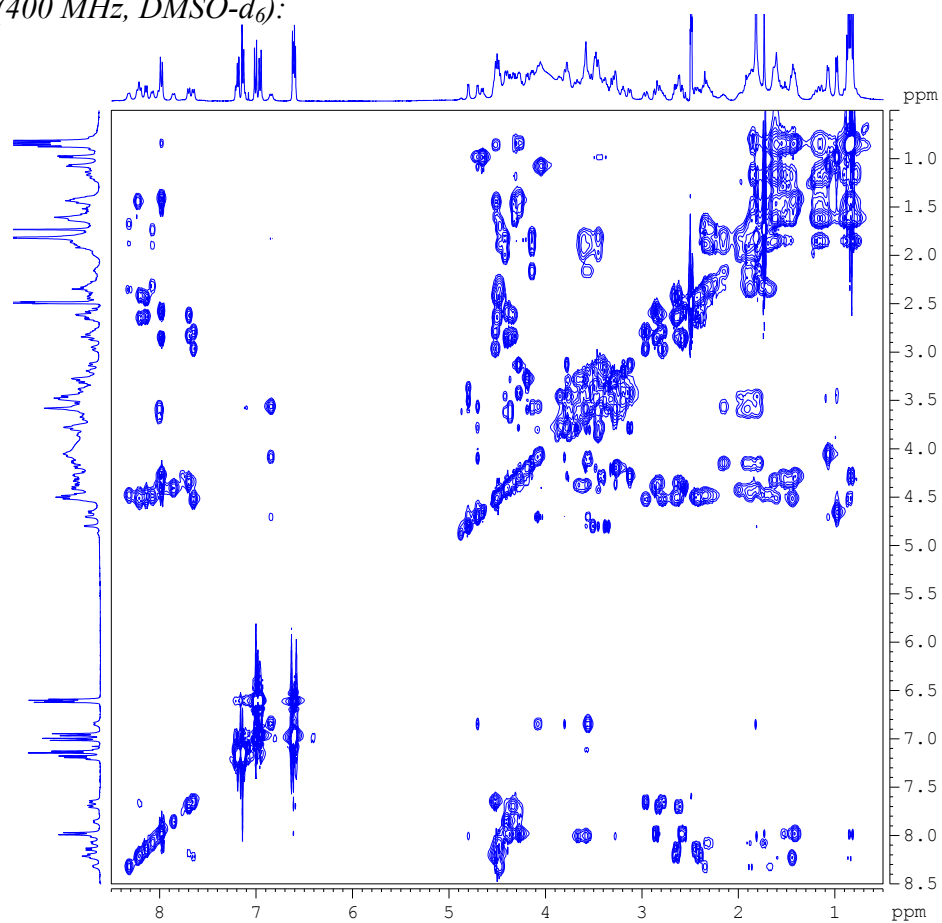
^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$):



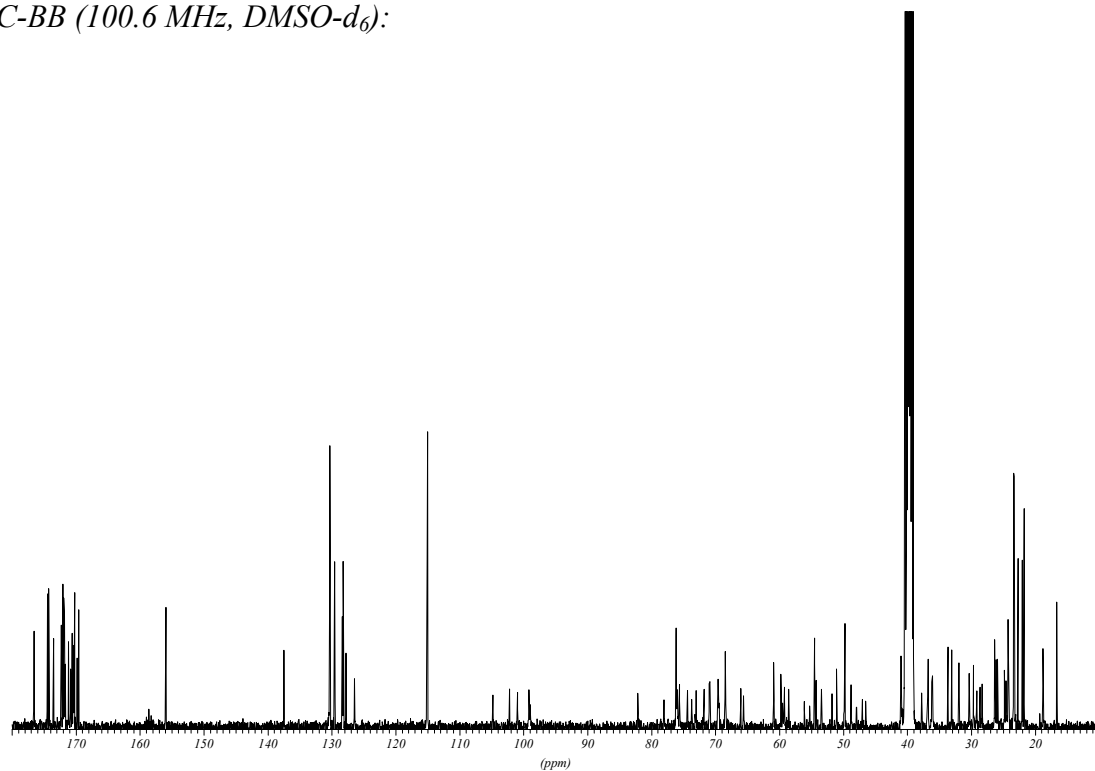
COSY (400 MHz, DMSO- d_6):



TOCSY (400 MHz, DMSO- d_6):



^{13}C -BB (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$):



HSQC (100.6 MHz, $\text{DMSO-}d_6$):

