

Selektiv deblockierbare Diamino- D-Galactose-Scaffolds für die kombinatorische Synthese potentieller RNA-Liganden

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

Maciej Madaliński
geboren in Łódź

Mainz, April 2007

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit
von Januar 2003 bis April 2007
am Institut für Organische Chemie
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. Horst Kunz angefertigt

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	v
1 EINLEITUNG	1
1.1 Wirkstofffindung in der pharmazeutischen Industrie	1
1.2 Kombinatorische Chemie – neues Prinzip im Wirkstoffdesign.....	2
1.3 Organische Chemie an fester Phase.....	7
1.4 Kohlenhydrate als Template	9
1.5 HIV	13
1.5.1 Der HIV-Replikationszyklus	15
1.5.2 TAR/Tat-Wechselwirkung.....	16
1.5.3 Rev/RRE-Wechselwirkung.....	18
1.6 RNA	21
1.6.1 Struktur der RNA.....	21
1.6.2 RNA-Liganden-Wechselwirkungen	22
1.6.2.1 Nichtkovalente Bindung an RNA	22
1.6.2.2 Protein-RNA-Komplexen	23
1.6.2.3 RNA-Komplexe mit niedermolekularen Verbindungen.....	24
1.6.2.4 Aminoglycosid-Antibiotika	26
1.6.2.5 Kombinatorische Bibliotheken von RNA-Liganden	27
2 KONZEPTION UND ZIELSETZUNG	30
3 ALLGEMEINER TEIL	34
3.1 Das 6-Allyloxycarbonylamino-2-azido-galactose-Scaffold	34
3.1.1 Retrosynthetische Betrachtung	34
3.1.2 Durchführung der Synthese	35
3.2 Das 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffold	42
3.2.1 Retrosynthetische Betrachtung	42
3.2.2 Durchführung der Synthese	43
3.2.3 Synthese von Hex-1-enitol-Derivaten	50
3.3 Kombinatorischer Einsatz des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose- Scaffolds	53
3.3.1 Überprüfung des Schutzgruppenmusters	55
3.3.2 Abspaltung vom Polymer	58

3.3.3 Reaktionen an der 2-Position des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds.....	59
3.3.4 Reaktionen an der 3-Position des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds.....	63
3.3.4.1 Synthesen von Carbamaten in der 3-Position	63
3.3.4.2 Acylierungsreaktionen in der 3-Position.....	66
3.3.5 Reaktionen an der 4-Position des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds.....	69
3.3.5.1 Synthesen von Carbamaten in der 4-Position	70
3.3.5.2 Acylierungsreaktionen in der 4-Position.....	71
3.3.6 Reaktionen an der 6-Position des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds.....	73
3.3.7 Zweifache Funktionalisierung des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds.....	77
3.3.7.1 Funktionalisierung der 3- und 6-Position.....	78
3.3.7.2 Funktionalisierung der 2- und 6-Position.....	80
3.3.8 Synthese von Oligopeptiden.....	81
3.4 Das 2-Allyloxycarbonylamino-4-azido-galactose-Scaffold.....	84
3.4.1 Retrosynthetische Betrachtung.....	84
3.4.2 Durchführung der Synthese.....	85
3.5 Modellreaktionen zur Anbindung und Abspaltung des orthogonal stabilen Galactose-Scaffolds über die 6-Position	87
3.5.1 Verankerung über die 6-Position.....	88
3.5.2 Reduktive Aminierung des 6-Aldehyd-Derivates	91
3.5.3 Kombinatorischer Einsatz des Scaffolds 4.....	94
4 BIOLOGISCHE TESTS.....	97
4.1 Der Cytotoxizitäts-Test-Hintergrund	97
4.2 Ergebnisse	99
4.2.1 Resultate für 2- <i>N</i> -acylierte Derivate	99
4.2.2 Resultate für 3- <i>O</i> -carbamoylierte- und 3- <i>O</i> -acylierte Derivate	100
4.2.3 Resultate für 4- <i>O</i> -carbamoylierte Derivate	102
4.2.4 Resultate für 6- <i>N</i> -acylierte Derivate	103
4.2.5 Derivate aus dem Einsatz des Scaffolds 4.....	105

5 ZUSAMMENFASSUNG	108
6 EXPERIMENTELLER TEIL	115
6.1 Allgemeines und Messgeräte	115
6.2. Allgemeine Vorschriften.....	121
6.3 Synthesen zum Kapitel 3.1.2	129
6.4 Synthesen zum Kapitel 3.2.2	144
6.5 Synthesen zum Kapitel 3.2.3	155
6.6 Synthesen zum Kapitel 3.3	157
6.7 Synthesen zum Kapitel 3.3.3	159
6.8 Synthesen zum Kapitel 3.3.4.1	170
6.9 Synthesen zum Kapitel 3.3.4.2	179
6.10 Synthesen zum Kapitel 3.3.5.1	183
6.11 Synthesen zum Kapitel 3.3.5.2	187
6.12 Synthesen zum Kapitel 3.3.6	190
6.13 Synthesen zum Kapitel 3.3.7	200
6.14 Synthesen zum Kapitel 3.3.7.1	202
6.15 Synthesen zum Kapitel 3.3.7.2	208
6.16 Synthesen zum Kapitel 3.3.8	210
6.17 Synthesen zum Kapitel 3.4.2	216
6.18 Synthesen zum Kapitel 3.5.1	219
6.19 Synthesen zum Kapitel 3.5.2	227
6.20 Synthesen zum Kapitel 3.5.3	227
7 SPEKTRENANHANG	233
8 LITERATUR.....	265

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

α	Spezifischer Drehwert
Abb.	Abbildung
absol.	absolutiert
Ac	Acetyl
AcOH	Essigsäure
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
Ala	L-Alanin
All	Allyl
Aloc	Allyloxycarbonyl
AMP	Adenosinmonophosphat
AMPS	Aminomethylpolystyrol
Arg	L-Arginin
ATP	Adenosintriphosphat
Äquiv.	Äquivalent (e)
Ar	Aromaten
arom.	aromatisch
AS	Aminosäure
Ausb.	Ausbeute
BB	Breitband (entkoppeltes ¹³ C-Spektrum)
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Bz	Benzoyl
<i>c</i>	Konzentration
CAN	Cerammoniumnitrat
ClAc	Chloracetyl
COSY	Correlation Spectroscopy
δ	Chemische Verschiebung
d	Dublett
d _b	breites Dublett
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DBF	Dibenzofulven
DC	Dünnschichtchromatogramm
DCE	1,2-Dichlorethan
DCC	<i>N,N</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett vom Dublett
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
DEAD	Diethylazodicarboxylat
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DIC	<i>N,N</i> -Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMS	Dimethylsulfid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Deoxyribonucleic acid, Desoxyrybionukleinsäure

dt	Dublett vom Triplett
DTBP	2,6-Di- <i>tert</i> -butylpyridin
DTBMP	2,6-Di- <i>tert</i> -butyl-3-methylpyridin
DVB	Divinylbenzol
EE	1-Ethoxyethyl
EDT	1,2-Ethandithiol
ELS	Evaporative Light Scattering
engl.	Englisch
ESI-MS	Electrospray Ionisation Mass Spectroscopy
Et	Ethyl
et al.	et alii
Et ₂ O	Diethylether
EtOAc	Essigsäureethylester, Ethylacetat
FD	Field Desorption
Fmoc	9- <i>H</i> -Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl
gag	Group-specific Antigen protein
Gal	D-Galactose
gef.	gefunden
gem.	geminal
ges.	gesättigt
Glc	D-Glucose
Gln	L-Glutamin
Glu	L-Glutaminsäure
Gly	L-Glycin
h	Stunde(n)
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumhexafluorophosphat
HBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumhexafluorophosphat
His	L-Histidin
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HOAt	7-Aza-1-hydroxybenzotriazol
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRMAS	High Resolution Magic Angle Spinning
Hz	Hertz
i. Hochvak.	im Hochvakuum
i. Vak.	im Vakuum
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
<i>J</i>	Kopplungskonstante
kat.	Katalytisch
KHMDS	Kaliumbis(trimethylsilyl)amid
konz.	konzentriert
Leu	L-Leucin
Lev	Levulinoyl
Lit.	Literatur(wert)
LTR	Long Terminal Repeat
Lys	L-Lysin
m	Multiplett
<i>m</i>	meta
M	Molar
m _c	zentriertes Multiplett
min	Minuten
Me	Methyl

MeOH	Methanol
mRNA	messenger-RNA
MS	Molekularsieb
Ms	Methansulfonyl
NaHMDS	Natriumbis(trimethylsilyl)amid
NES	Nuclear Export Signal
NLS	Nuclear Localisation Signal
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidin-2-on, 1-Methyl-2-pyrrolidon
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
<i>o</i>	ortho
OD	Optical Density
OAc	Acetat
OTf	Trifluormethansulfonat, Triflat
<i>p</i>	para
PE	Petrolether
PG	Protecting Group
Ph	Phenyl
Pht	Phthalimid
Pmb	<i>p</i> -Methoxybenzyl
Pmc	2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl
Pol	Polymerase
ppm	Parts per million
Pr	Propyl
PS	Polystyrol
q	Quartett
quant.	quantitative
R	Rest
Ran	Ras-related nuclear
Ran GDP	Ran-Guanosindiphosphatase
Ran GTP	Ran-Guanosintriphosphatase
Raumtemp.	Raumtemperatur
R_f	Retentionsfaktor
RNA	Ribonucleic acid, Ribonukleinsäure
RNAP	RNA polymerase
RP	Reversed Phase
RRE	Rev Responsive Element
rRNA	ribosomal RNA
R_t	Retentionszeit
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
s_b	breites Singulett
Schmp.	Schmelzpunkt
t	Triplett
TAR	Trans-aktivating response element
TAT	Trans-aktivating regulatory protein
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBAHDF	Tetrabutylammonium-hydrogen-difluorid
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
TBS	<i>tert</i> -Butyl-dimethylsilyl
TBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumtetrafluoroborat
<i>tert</i>	tertiär
Tentagel®	Polyethylenglycol-Polystyrol-Copolymer
TES	Triethylsilan
Tf	Trifluormethansulfonyl

TFA	Trifluoressigsäure
Tf ₂ O	Trifluormethansulfonsäureanhydrid
TfOH	Trifluormethansulfonsäure
THF	Tetrahydrofuran
TIPS	Triisopropylsilan
TMS	Trimethylsilan
tRNA	transfer Ribonucleic Acid
Trt	Trityl
4-TsOH	4-Toluolsulfonsäure
u.a.	und andere
UV	Ultraviolett
vgl.	vergleiche
vic.	vicinal
WHO	World Health Organisation
XPO	Exportin
Zers.	Zersetzung

1 EINLEITUNG

1.1 Wirkstofffindung in der pharmazeutischen Industrie

Der Weg von einer im Labor synthetisierten Substanz zu einem auf dem Markt eingeführten Wirkstoff ist lang und hat sich mittlerweile zu einem komplexen Vorgang entwickelt, der vielfältige, ineinander greifende Aktivitäten von Chemikern, Biologen und Medizinern erfordert. Die Entwicklung neuer natürlicher oder synthetischer Arzneistoffen und Diagnostika ist die herausfordernde Aufgabe forschender Pharmaunternehmen. Die Anforderungen an moderne Wirkstoffe sind sehr hoch: Sie sollen geringe Toxizität und geringe Nebenwirkungen aber hohe Bioverfügbarkeit vorweisen. Zudem dürfen sie weder mutagen noch teratogen wirken. Die Patentierbarkeit und Dauer eines Patentschutzes spielen dabei auch eine essentielle Rolle.

Bis vor wenigen Jahren fand die Ermittlung von pharmakologischen Eigenschaften von Substanzen nahezu ausschließlich in langwierigen Zellkultur- und Tieruntersuchungen statt. In der letzten Zeit konnte jedoch die biologische Prüfung der Wirkstoffkandidaten entscheidend beschleunigt werden. Die Molekularbiologie ermöglicht zum Beispiel ein besseres Verständnis der biologischen Erkennungsphänomene auf molekularer Ebene. Die Testverfahren benutzen in der Regel kleinste Mengen isolierten oder hergestellter Proteine, deren Wechselwirkungen mit der zugesetzten chemischen Verbindung automatisch ausgewertet und protokolliert werden (*High Throughput Screening – HTS*). Einige Unternehmen sind derzeit in der Lage 1 bis 3 Millionen Leitstrukturen (*lead structures*) pro Woche zu untersuchen. Am Ende dieser Prüfung bleiben ca. 100 bis 300 Treffer, sog. *hits* übrig, von denen sich aber nur 1-2 Substanzen für den weiteren Forschungsprozess eignen. Der Prozess der Wirkstoffsuche umfasst also sowohl die Untersuchung eines Wirkstoffkandidaten (*drug screening*) als auch die gezielte Veränderung seiner Struktur (*drug design*), um seine Wirksamkeit zu erhöhen, seine Nebenwirkungen zu senken oder seine Verteilungseigenschaften im Organismus zu verbessern. Aufgrund rasanter Entwicklungen in der Robotertechnik der *Assay-Technologie* ist die biologische Prüfung also kein limitierender Faktor bei der Suche nach potentiellen *lead compounds* mehr. Vielmehr droht die Synthese einer größeren Anzahl neuer Verbindungen zum begrenzenden Faktor zu werden. Ein Ausweg aus

dieser Situation stellt die kombinatorische Chemie dar, die sich inzwischen zu einem wichtigen Teilgebiet der Chemie entwickelt hat.¹

1.2 Kombinatorische Chemie – neues Prinzip im Wirkstoffdesign

Unter kombinatorischer Chemie versteht man das Prinzip, gleichzeitig und mit hoher Geschwindigkeit große Mengen unterschiedlicher chemischer Verbindungen herzustellen. Das Vorbild der kombinatorischen Chemie kann in den evolutionären Prozessen des Lebens gesehen werden, bei denen aus einer beschränkten Anzahl von Aminosäuren bzw. Nucleotiden eine fast unbegrenzte Anzahl von Produkten gebildet werden kann. Allein durch Kombination der 20 natürlich vorkommenden Aminosäuren sind $20^6 = 64$ Millionen verschiedene Hexapeptide herstellbar. Die Idee der Synthese und Testung von Peptidmischungen, wurde erstmals 1982 von *Furka* formuliert.² Seit diesem Zeitpunkt wurde der Einsatz der kombinatorischen Chemie auf verschiedene Gebiete ausgedehnt. Die Sammlung der verschiedenen Molekülstrukturen wird als kombinatorische Bibliothek bezeichnet, und sie betrifft heute nicht mehr nur Mischungen von Substanzen aus einer Eintopfreaktion, sondern auch alle Verbindungen, die im Rahmen einer parallelen Synthese von Einzelverbindungen hergestellt werden. Für die Herstellung der kombinatorischen Bibliothek kann sowohl die konventionelle Synthese in Lösung als auch die heterogene Synthese an einem polymeren Träger angewendet werden. Da sich die 1963 von *Merrifield*³ eingeführte Festphasensynthese von Peptiden bezüglich der Reinigungsschritte vorteilhaft erwiesen hat, hat sie auch erheblich zur Entwicklung der kombinatorischen Chemie beigetragen. „...it seems quite clear that the gold mine is awaiting the organic chemist who would look to solid support for controlling and directing his synthetic reactions” schrieb *Merrieffield* 1969.⁴ Nach von ihm entworfenen Synthesestrategie wird die *tert*-Butyloxycarbonyl geschützte Aminosäure an chlormethylfunktionalisiertes Polystyrolharz gebunden. Nach der selektiven Abspaltung der Boc-Schutzgruppe kann die nächste Boc-Aminosäure mit Hilfe geeigneter Kupplungsreagenzien eingeführt werden. Die Synthese wird so lange fortgesetzt bis die gewünschte Länge des

¹ D. Fischer, J. Breitenbach (Hrsg.), „*Die Pharmaindustrie*“, 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Elsevier GmbH, München, **2007**.

² A. Furka, noteriell beglaubigtes Dokument Nr.: 36237/1982, Budapest, **1982**.

³ R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.

⁴ R. B. Merrifield, *Advances in Enzymology* **1969**, 32, 221-296.

Oligopeptids erreicht worden ist. Anschließend wird das Produkt durch die Zugabe entsprechender Spaltungsreagenzien vom Harz abgespalten. Diese Spaltung führt ebenfalls zur Abspaltung der Seitenkettenfunktionen an Oligopeptiden (Abb. 1.1).

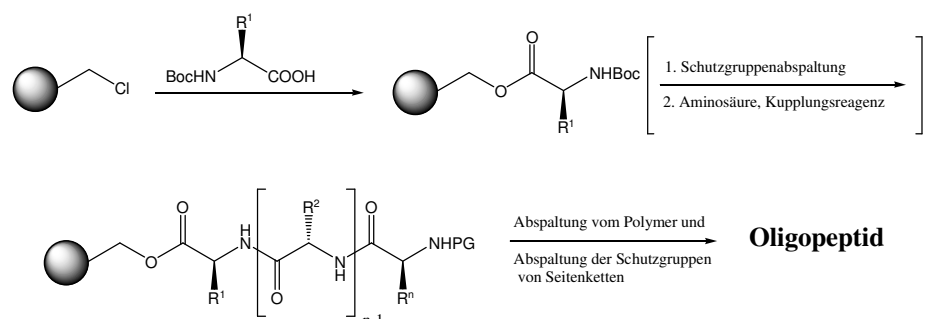


Abb. 1.1: Oligopeptidsynthese nach *Merrifield*

Dank dieser Vorgehensweise lassen sich die in den Reaktionsschritten anfallenden Nebenprodukte, die nicht am Harz gebunden sind, sowie die Reagenzien nach der Umsetzung durch einfaches Waschen entfernen. Im Jahr 1984 stellte *Geysen* einen sogenannten Multipin-Apparat vor, mit dessen Hilfe an den Polyethylenstäbchen kleine Mengen (ca. 300 nmol) von Oligopeptiden synthetisiert wurden.^{5,6} Eine größere Menge an Oligopeptiden kann nach dem von *Houghten* veröffentlichten *teabag*-Verfahren hergestellt werden. Hier werden in für das Solvens durchlässigen Polypropylen-Netzen verschiedene polymergebundene Aminosäurebausteine vorgelegt. Für die folgende Reaktion wird aufgeteilt, neu gruppiert und die Prozedur wiederholt, so dass jeder Beutel nur eine definierte Komponente enthält.⁷ Da die harzgebundenen Substrate leicht handhabbar sind, wird dies wiederum bei dem von *Furka* eingeführten *Split-and-mix*-Verfahren genutzt.⁸ In diesem Fall werden durch Mischen der Polymerkügelchen für gemeinsame Operationen und Verteilen für Diversifizierungen Mischungen erzeugt. Durch das ständige Wiederholen dieser Zyklen können alle gewünschten Kombinationen erhalten werden. So befindet sich auf jedem Kügelchen am Ende der Reaktionsfolge nur ein Produkt (Abb. 1.2).

⁵ H. M. Geysen, R. H. Meloen, S. J. Barteling, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, 81, 3998-4002.
⁶ H. M. Geysen, S. J. Barteling, R. H. Meloen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, 82, 178-182.
⁷ R. A. Houghten, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, 82, 5131-5135.
⁸ A. Furka, F. Sebetyen, M. Asgedom, G. Dibo, *Int. J. Pept. Protein. Res.* **1991**, 37, 487-493.

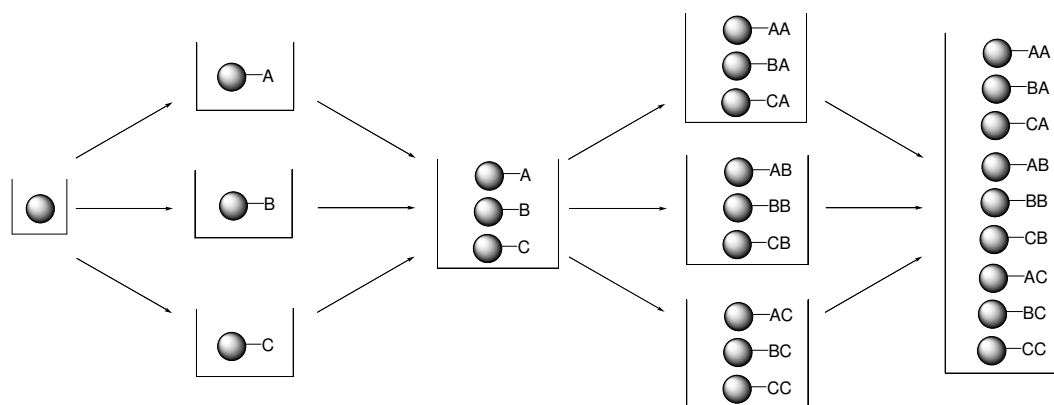


Abb. 1.2: Das *Split-and-mix*-Verfahren nach *Furka*

Unter der Voraussetzung, dass die gleiche Aufteilung und jeweils der vollständige Umsatz immer stattfinden, werden alle Verbindungen gleichmäßig in der Substanzbibliothek verteilt. Diese und andere Vorteile gegenüber der Synthese von Mischungen in Lösung sind in Tabelle 1.1 zusammengestellt.

	Festphasenchemie	Chemie in Lösung
Vorteile	• Hoher Überschuss an Reagenzien, die leicht abgetrennt werden können • Einfache, vollständige Automatisierung von Reaktionssequenzen • <i>Split</i>-Synthese ist möglich • Pseudoverdünnung am Trägermaterial kann Nebenreaktionen verhindern	• Prinzipiell sind alle organische Reaktionen durchführbar • Kein Anpassen der Reaktionsbedingungen notwendig • Beliebige Produktmengen herstellbar • Alle funktionelle Gruppen stehen für Modifikationen zur Verfügung • Analytische Überwachung der Reaktion
Nachteile	• Hoher Entwicklungsaufwand • Zusätzliche Reaktionsschritte zum Knüpfen an und Lösen vom Polymer • Träger und Linker limitieren die Zahl der möglichen Reaktionen • Beschränkte Möglichkeit zur analytischen Überwachung der Reaktion • Unerwünschte Effekte bei den heterogenen Reaktionsbedingungen • Unlösliche Katalysatoren/Reagenzien können nicht eingesetzt werden	• Reaktanden ohne zusätzlichen Aufwand bei der Aufarbeitung nur begrenzt im Überschuss einsetzbar • Automatisierung schwierig • Reinigungsschritt notwendig • langsam

Tabelle. 1.1: Vorteile und Nachteile der Chemie an fester Phase und in Lösung

Prinzipiell spielt es keine Rolle, ob eine Bibliothek in Lösung oder an der festen Phase hergestellt wird. Auch wenn die Mehrheit der bislang publizierten Substanzbibliotheken am polymeren Träger erzeugt wurde, findet man in der Literatur Beispiele für die Synthese in Lösung.⁹ Die Vereinfachung der Reinigungsschritte von in Lösung hergestellten Mischungen wird mittels der flüssig/flüssig- oder flüssig/fest-Extraktionen erreicht.¹⁰ Die neuesten Entwicklungen in der erfolgreichen Anpassung verschiedener Reaktionen an die Besonderheiten einer Festphasensynthese verstärkten die Tendenz, kombinatorische Chemie an polymeren Trägern durchzuführen. Solche Synthesen sind natürlich nur dann sinnvoll, wenn die Analyse der entstandenen Mischungen und die Prüfungen auf eine biologische Wirkung durchführbar sind. Die Automatisierung der Analytik von Produkten, die im Rahmen einer Parallelsynthese gewonnen werden, stellt kein Problem dar. Für die synthetisierten Mischungen musste man die neuen Dekonvolution-Techniken entwickeln, die inzwischen ein wesentlicher Bestandteil des analytischen Vorgangs geworden sind.^{11,12} Die dynamische kombinatorische Chemie (*dynamic combinatorial chemistry*) wurde 1994 von *Lehn* vorgestellt. Sie hat sich seit diesem Zeitpunkt als eine moderne Methode zur Synthese und Erkennung von kleinen Molekülen etabliert, die mit hoher Affinität an ausgewählten Targets binden können.¹³⁻
¹⁶ In diesem Verfahren wird ein Target, z. B. ein Enzym, mit einem Satz der potentiellen Liganden behandelt. Die selektive Anbindung der entsprechenden Liganden an den Rezeptor führt zur Abnahme von deren Konzentration in der Lösung und je selektiver diese Bindung ist, desto mehr wird von der ausgewählten Spezies auf Kosten der anderen gebildet. Eine andere neue Methode zur effektiven Herstellung von Wirkstoffen ist das 2001 von *Sharpless* begründete und beschriebene *Click-chemistry*-Konzept, in dem der biologische Rezeptor (Enzym u. a.) direkt in der Bildung des gewünschten Produktes die Rolle eines Katalysators spielt.¹⁷

⁹ F. Balkenhohl, C. v. Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2436-2488.

¹⁰ S. Cheng, D. D. Comer, J. P. Williams, P. L. Myers, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2567-2573.

¹¹ R. Dagani, *Chemical & Engineering News* **2000**, *78*, 66-68.

¹² S. Borman, *Chemical & Engineering News* **1999**, *77*, 33-48.

¹³ J. M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2455-2463.

¹⁴ A. Ganesan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2820-2831.

¹⁵ O. Ramstrom, J. M. Lehn, *Nature Reviews, Drug Discovery* **2002**, *1*, 26-36.

¹⁶ I. Huc, J. M. Lehn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 2106-2110.

¹⁷ H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.

Eine bedeutende Leistung, die mit dieser Methode erreicht worden ist, ist die Identifizierung eines Enzymhemmstoffes. Dieser Hemmstoff ist in der Lage mittels einer nicht kovalenten Wechselwirkung die Acetylcholinesterase (AChE) zu hemmen. Für die Synthese benutzte Sharpless eine einfache 1,3-dipolare Cycloaddition in Wasser, in der aus verschiedenen Azid- und Acetylderivaten eine Reihe von Triazolen gebildet wurden (Abb. 1.3).^{18,19}

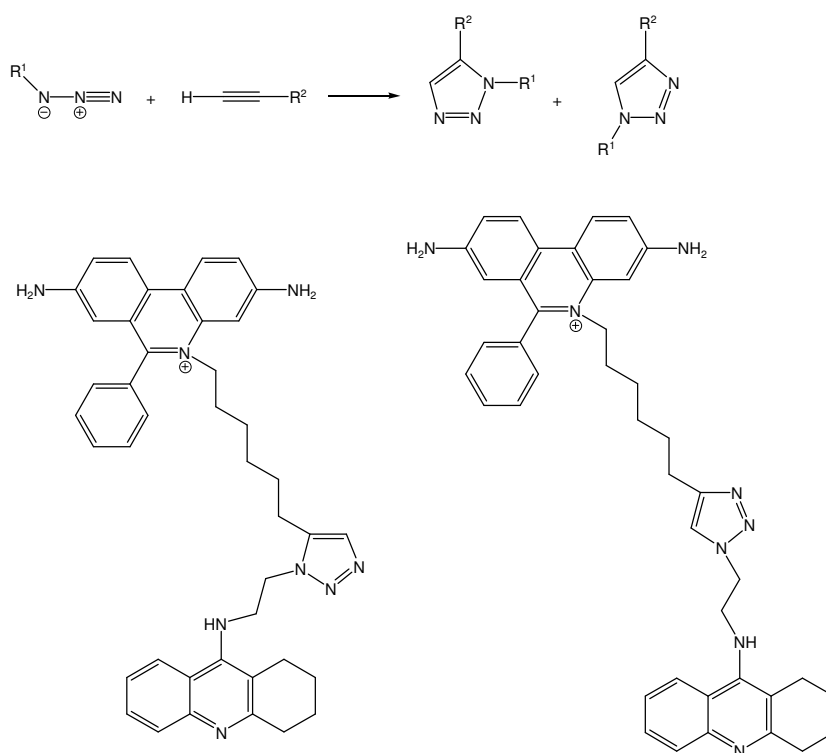


Abb. 1.3: Die von Sharpless synthetisierte potentielle AChE-Hemmer

Des Weiteren kann man sich zur Identifizierung aktiver Strukturen andere direkte oder indirekte Methoden zu Nutze machen. Die beste Möglichkeit stellt die Farbreaktion dar, z. B. durch Bindung fluoreszenzmarkierter löslicher Rezeptorproteine oder Reaktionen unter Bildung eines unlöslichen Farbstoffs.^{20,21} Eine synthetisch sehr aufwendige aber elegante Methode ist das Anbringen von Reportermolekülen, sog. *tags*, die leicht analysierbar und identifizierbar sind. Diese müssen vor jeder der Mischoperationen in der *Split-and-mix*-Methode aufgebracht werden. Als *tags* werden überwiegend

¹⁸ W. G. Lewis, L. G. Green, F. Gryszpan, Z. Radic, P. R. Carlier, P. Taylor, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1053-1057.

¹⁹ A. M. Rouhi, *Chemical & Engineering News* **2004**, 82, 63-65.

²⁰ A. Berkessel, D. Herault, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 99-102.

²¹ A. Berkessel, R. Riedel, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 215-219.

Aminosäuren²² und Nucleotide²³ verwendet. Wegen der fehlenden Toleranz von Peptiden und/oder Nucleotiden gegenüber manchen Reaktionsbedingungen, benutzt man die von *Still* entwickelten halogenierten Arylolether. Diese werden in einer durch Rhodium-katalysierten Carben-Insertion an den polymeren Träger gebunden (Abb. 1.4).²⁴⁻²⁶

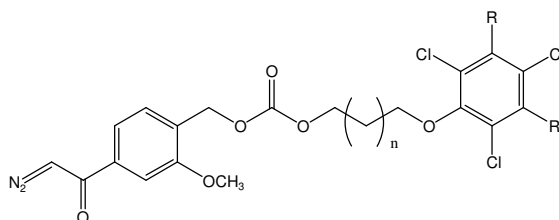


Abb. 1.4: Halogenierte Arylether zur chemischen Codierung nach *Still*

Bedingung dabei ist, dass die *tags* weder während der kombinatorischen Synthese verändert werden, noch dass sie den ganzen Prozess der Überprüfung (*screenings*) beeinflussen.

Neben diesen indirekten Methoden der Strukturanalysen an polymergebundenen Verbindungen kann man die klassischen analytischen Methoden, wie IR- und NMR-Spektroskopie anwenden. Eine von zwei Voraussetzungen muss jedoch erfüllt sein: Entweder arbeitet man mit hohen Beladungsdichten, oder man hat größere Harzmengen zur Verfügung.

1.3 Organische Chemie an fester Phase

Die ersten Arbeiten von *Merrifield*, in der polymere Träger für die Synthese der Peptide genutzt wurden, sind zum Wegweiser für die Entwicklung der Festphasensynthese und der kombinatorischen Chemie geworden. Inzwischen ist, dank etlicher Optimierungsversuche zur Knüpfung peptidischer Bindungen, die Bildung von Amidinen eine der bedeutendsten Reaktionen auf dem Gebiet der organischen Festphasenchemie (*Solid Phase Organic Chemistry*, SPOC). Ein Grund hierfür ist die Verfügbarkeit

²² J. M. Kerr, S. C. Banville, R. N. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2529-2531.

²³ S. Brenner, R. A. Lerner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 5381-5383.

²⁴ H. P. Nestler, P. A. Bartlett, W. C. Still, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 4723-4724.

²⁵ M. H. J. Ohlmeyer, R. N. Swanson, L. W. Dillard, J. C. Reader, G. Asouline, R. Kobayshi, M. Wigler, W. C. Still, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 10922-10926.

²⁶ A. Borchardt, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 373-374.

strukturell diverser käuflicher Bausteine. Da sich jedoch die wirksamen Peptide oder Oligonukleotide aus pharmakologischer Sicht häufig nicht als Therapeutika eignen, dienen sie oft nur als Leitstrukturen bei der Synthese niedermolekularer Verbindungen. Mittlerweile ist das Syntheserepertoire für SOPC auf eine Vielzahl wichtiger organischer Reaktionen erweitert worden. Hierzu zählen neben den erwähnten Amidbildungen auch metallkatalysierte Kupplungsreaktionen, aromatische Substitutionen, Aldol-, *Claisen*- und *Knoevenagel*-Kondensationen, Cycloadditionen, Glycosylierungsreaktionen, nucleophile Substitutionen, Olefinierungen, Oxidationen, sowie viele Heterocyclen-Synthesen²⁷ (Abb. 1.5).²⁷⁻³¹

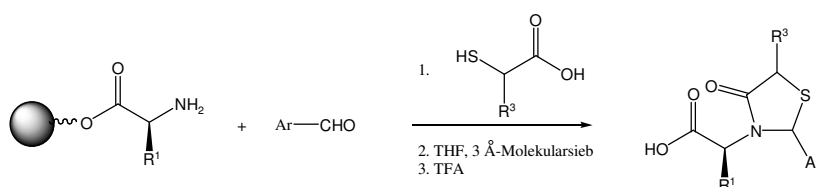


Abb. 1.5: Synthese der 4-Thiazolidinone durch Drei-Komponenten-Kondensation eines festgebundenen Amins mit Aldehyd und Sulfanylcarsäuren²⁷

Für die Festphasensynthesen ist die Wahl sowohl eines geeigneten Trägermaterials als auch eines Ankers von großer Bedeutung. Ein Anker, auch *Linker* genannt, ist eine meist bifunktionelle Verbindung, die auf einer Seite die Anbindung ans Harz ermöglicht und auf der anderen Seite mit der Ausgangsverbindung reversibel verbunden werden kann. Dabei muss jedoch beachtet werden, dass die Anbindung der Bausteine an den Träger während des gesamten Synthesevorgangs stabil sein, nach der Reaktion jedoch ohne Zerstörung des Produkts lösbar sein muss. Im Fall des polymeren Trägers ist die Solvenskompatibilität ein wichtiger Punkt. Die aus der Peptidchemie bekannten Polymere können für nahezu alle organischen Synthesen eingesetzt werden. Das sehr häufig verwendete Polystyrol, dessen Quell-Eigenschaften in Wasser oder Methanol

²⁷ C. P. Holmes, J. P. Chinin, G. C. Look, E. M. Gordon, Gallop, M. A., *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 7328-7333.

²⁸ P. H. H. Hermkens, H. C. J. Ottenheijm, D. C. Rees, *Tetrahedron* **1996**, 52, 4527-4554.

²⁹ S. E. Booth, C. M. Dreef-Tromp, P. H. H. Hermkens, J. A. P. A. de Man, H. C. J. Ottenheijm, in G. Jung, *"Combinatorial Chemistry - Synthesis, Analysis, Screening"*, Wiley-VCH, Weinheim, New York, **1999**, Kap. 2.

³⁰ A. Nefzi, J. M. Ostresh, R. A. Houghten, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 449-472.³¹ R. W. Armstrong, A. P. Comps, P. A. Tempst, S. D. Brown, Keating, T. A., *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 123-131.

³¹ R. W. Armstrong, A. P. Comps, P. A. Tempst, S. D. Brown, Keating, T. A., *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 123-131.

sehr gering sind, lässt sich beispielweise durch das Tentagel[®]-Harz ersetzen. Für dieses Polymer ist das Spektrum an verwendbaren Lösungsmitteln deutlich breiter.

Die organischen Synthesen an fester Phase lassen sich prinzipiell in drei Gruppen einteilen: die linearen Synthesen zum Aufbau von Oligomeren, die Synthesen an präformierten Templatmolekülen (Scaffolds) und die Aufbausynthesen. Die kombinatorische Synthese mittels eines Scaffolds setzt voraus, dass ausschließlich dessen Seitenketten schrittweise im Verlauf des Synthesevorgangs diversifiziert werden. Es muss darauf hingewiesen werden, dass sich während einer Synthese mehrere Strategien häufig überlagern können.

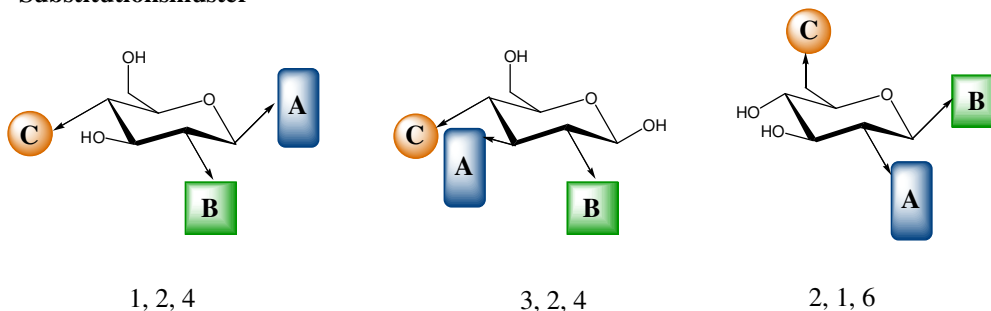
1.4 Kohlenhydrate als Template

Die Monosacharide bieten dank ihrer hohen Dichte an funktionellen Gruppen und einer großen Anzahl von Stereozentren eine hervorragende Basis für Peptidmimetika. Die auf der Monosacharid-Ebene konzipierten Template besitzen jeweils fünf chirale Positionen, die beliebig variiert werden können. Zum Beispiel drei potentielle pharmakophore Gruppen (Substituenten: A, B und C), die an Glucose positioniert werden können, liefern 60 verschiedene Derivate, bei denen die Orientierung der jeweiligen Gruppe unterschiedlich ist. Die Veränderung eines stereogenen Zentrums erhöht die Zahl der Verbindungen um weitere 36. Die Abbildung 1.6 und die Tabelle 1.2 stellen die Verhältnisse zwischen Anzahl von Scaffolds und der Substituentenzahl und/oder Zahl der variierten Chiralitätszentren dar.³²

³²

G. T. Le, G. Abbenante, B. Becker, M. Grathwohl, J. Halliday, G. Tometzki, J. Zeugg, W. Meutermans, *Drug Discovery Today* **2003**, 8, 701-709.

Substitutionsmuster



Scaffold

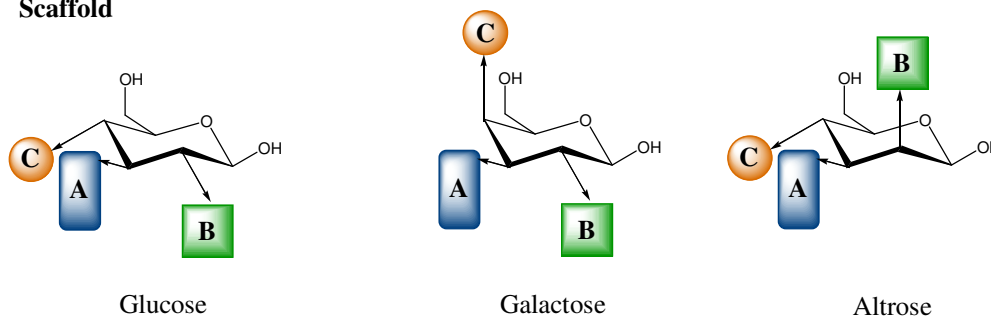


Abb. 1.6: Strukturelle Diversität für drei verschiedene Substituenten A, B, und C von Pyranosescaffolds

	AB ^a	ABC ^a	AAB ^a	ABCD ^a
Ein Scaffold z.B. α -D-Glc	20	60	30	120
Zwei Scaffolds ^b	28	96	48	216
32 Scaffolds ^c	80	480	240	1920

^a AB: zwei verschiedene Substituenten; ABC: drei verschiedene Substituenten; AAB: drei Substituenten, davon zwei gleiche; ABCD: vier verschiedene Substituenten

^b zusätzlich ein Chiralitätszentrum wird variiert

^c maximale Variation von Chiralitätszentren

Tabelle. 1.2: Die Verhältnisse zwischen Anzahl von Scaffolds und der Substituentenzahl und/oder Zahl der variierten Chiralitätszentren

Dieses hohe Diversifikationspotenzial führte dazu, dass sich die Saccharide als interessante Grundstrukturen für Peptidomimetika und anderen Wirkstoffen etabliert haben.³³⁻³⁵ Diese synthetische Strategie wurde bereits 1993 von *Hirschmann* und *Nicolaou* vorgestellt, bei der sie ausgehend von *Molecular modeling*-Studien das auf

³³ M. J. Sofia, D. J. Silva, *Curr. Opin. Drug Disc. Dev.* **1999**, 2, 365-376.

³⁴ F. Peri, L. Cipolla, E. Forni, F. Nicotra, *Monats. Chem.* **2002**, 113, 369.

³⁵ S. A. W. Gruner, E. Locardi, E. Lohof, H. Kessler, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 491-514.

D-Glucose basierende Mimetikum^{36,37} des Peptidhormons Somatostatin synthetisiert haben. Weitere Beispiele für die auf Kohlenhydraten basierenden Mimetika stammen von Nicolaou³⁸ und Moitessier^{39,40}, die verschiedene RGD-Mimetika (Arg-Gly-Asp) herstellten. Ebenfalls nutzte Kessler Studien zur Untersuchung eines bioaktiven Pentapeptids, cyclo-RGDFV (cyclo-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val) (Abb. 1.7). Sein Zuckeraminosäurederivat wurde als β -turn-Mimetikum auf das Inhibierungsverhalten der Bindung von Vitronectin an isolierte $\alpha_v\beta_3$ -Rezeptoren sowie der Bindung von Fibrinogen an isolierte $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Rezeptoren untersucht. Damit konnte gezeigt werden, dass Peptide, welche die RGD-Sequenz besitzen, vielversprechende Verbindungen für die Tumorbehandlung sind.

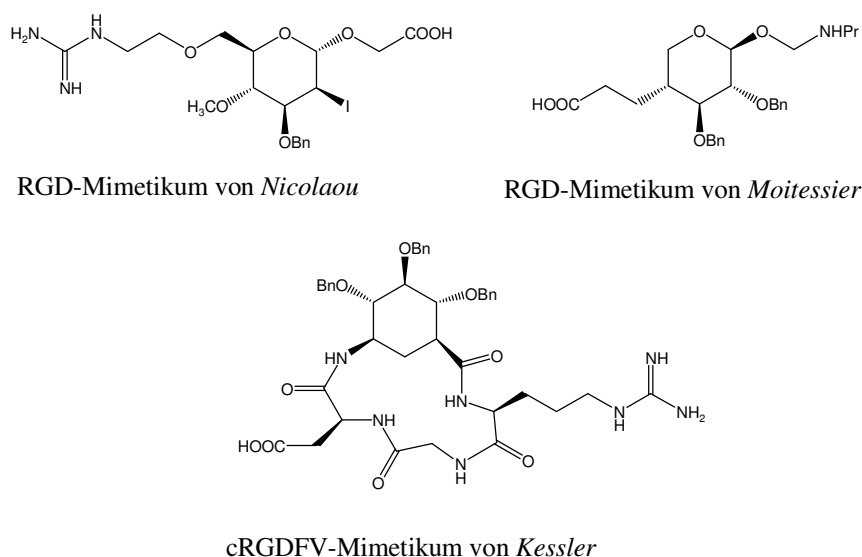


Abb. 1.7: RGD- und cRGDFV-Mimetika

In unserer Arbeitsgruppe wurden im Rahmen eines 1994 gestarteten Forschungsprojektes orthogonal geschützte Kohlenhydrate hergestellt, um sie für die kombinatorische Festphasensynthese potentieller Peptidomimetika einzusetzen.

- ³⁶ R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoor, W. C. Shakespeare, P. A. Sprengeler, P. Hamley, A. B. Smith III, T. Reisine, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12550-12568.
- ³⁷ R. Hirschmann, J. Hynes, M. A. Cichy-Knight, R. I. D. van Rijn, P. A. Sprengeler, P. Grant Spoor, W. C. Shakespeare, S. Pietranico-Cole, J. Barbosa, J. Liu, W. Yao, S. Rohrer, A. B. Smith, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1382-1391.
- ³⁸ K. C. Nicolaou, J. I. Trujillo, K. Chibale, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 8751-8778.
- ³⁹ N. Moitessier, H. Minoux, B. Maigret, F. Chretien, Y. Chapleur, *Lett. Pept. Sci.* **1998**, *5*, 75-78.
- ⁴⁰ N. Moitessier, S. Dufour, F. Chretien, J. P. Thiery, B. Maigret, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 511-523.

Die Kohlenhydrate wurden als pentavalente chirale Gerüste sowohl über die anomere Position als auch über die 3-Position an den polymeren Träger gebunden (Abb. 1.8).⁴¹⁻⁴⁷

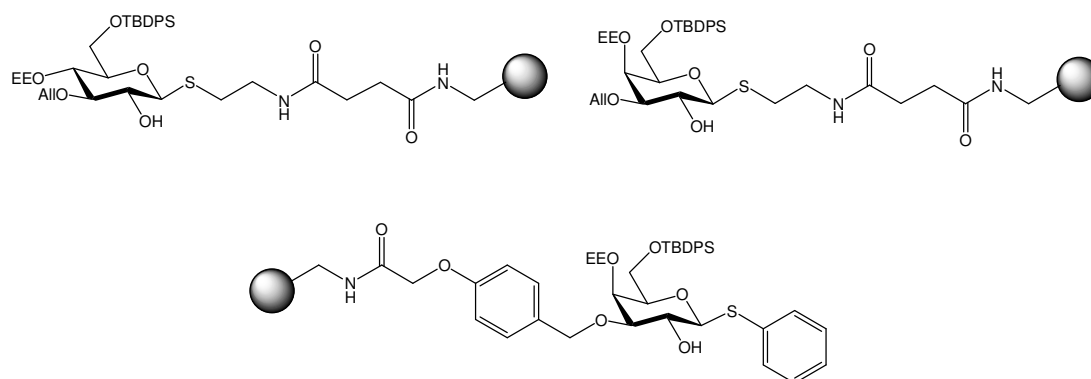


Abb. 1.8: Orthogonal stabil geschützte Monosaccharidtemplate für die kombinatorische Festphasensynthese

Im Jahre 1998 beschrieb *Wong* einen für die kombinatorische Synthese in flüssiger Phase geeigneten, orthogonal geschützten Galactosebaustein⁴⁸ (Abb. 1.9), mit dessen Hilfe insgesamt 45 Tri-, Tetra-, bzw. Pentasaccharide synthetisiert wurden.

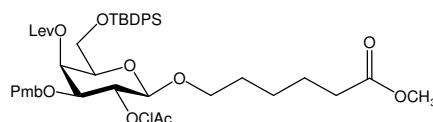


Abb. 1.9: Orthogonal geschützter Monosaccharidbaustein von *Wong*

⁴¹ T. Wunberg, C. Kallus, T. Opatz, S. Henke, W. Schmidt, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2620-2622.

⁴² C. Kallus, T. Opatz, T. Wunberg, W. Schmidt, S. Henke, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7783-7786.

⁴³ T. Wunberg, *Dissertation* **1997**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

⁴⁴ C. Kallus, *Dissertation* **1998**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

⁴⁵ T. Opatz, *Dissertation* **2000**, Johannes Gutenberg Universität Mainz.

⁴⁶ T. Maidhof, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

⁴⁷ T. Opatz, C. Kallus, T. Wunberg, W. Schmidt, S. Henke, H. Kunz, *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 2089-2110.

⁴⁸ C. H. Wong, X. S. Ye, Zhang, Z., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7137-7138.

Des Weiteren setzte *Sofia* mit Erfolg orthogonal geschützte 2-Amino- bzw. 3-Aminoglucuronsäurederivate in Festphasensynthesen ein und erhielt eine Bibliothek mit 48 Aminoglycosidverbindungen.⁴⁹ Unsere Gruppe stellte ebenfalls mehrere 2,6-Diaminoglucose-Scaffolds her, die erfolgreich für die Synthese potentieller RNA-Liganden eingesetzt wurden (Abb. 1.10).⁵⁰⁻⁵²

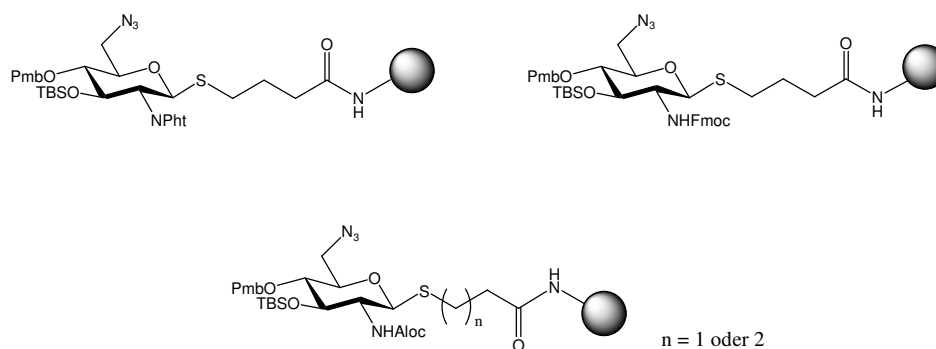


Abb. 1.10: Orthogonal stabil geschützte 2,6-Diaminoglucose-Scaffolds

1.5 HIV

Das menschliche Immunschwächevirus (*human immunodeficiency virus*, HIV) wurde fast zeitgleich 1983 von *Montagnier*⁵³ und *Gallo*⁵⁴ entdeckt, obwohl die ersten Berichte über das von HIV ausgelöste Immunschwächesyndrom (*Acquired Immune Deficiency Syndrom*, AIDS) erst aus dem Jahr 1981 stammten. Heutzutage unterscheidet man zwischen HIV-1 (Abb. 1.11) und HIV-2, wobei HIV-1 seinen Ursprung in einem Stamm des *simian immunodeficiency virus* (SIVcpz) hat, das in Schimpansen *Pan troglodytes* zu finden ist, und hauptsächlich für die globale Ausbreitung von AIDS

⁴⁹ M. J. Sofia, R. Hunter, T. Y. Chan, A. Vaughan, R. Dulina, H. Wang, D. Gange, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 2802-2803.

⁵⁰ U. Hüniger, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

⁵¹ U. Hüniger, J. Ohnsmann, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 1104-1107.

⁵² J. Ohnsmann, *Dissertation* **2006**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

⁵³ F. Barresinoussi, J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyere, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axlerblin, F. Vezinetbrun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, L. Montagnier, *Science* **1983**, 868-871.

⁵⁴ H. J. Alter, J. W. Eichberg, H. Masur, W. C. Saxinger, A. M. Macher, H. C. Lane, A. S. Fauci, R. Gallo, *Science* **1984**, 226, 549-552.

verantwortlich ist.⁵⁵ HIV-2 wurde 1986 entdeckt und stammt von der Mangabenart *Cercocebus atys*.^{56,57} Dieser Virustyp ist in Westafrika endemisch und breitet sich inzwischen auch in Indien aus.

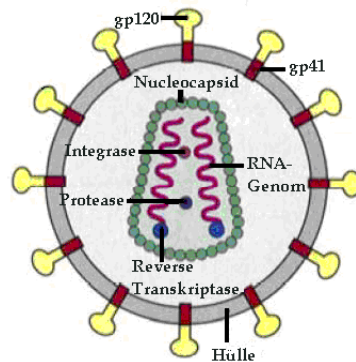


Abb. 1.11: Das Virion des menschlichen Immunschwächevirus (HIV-1)⁵⁸

Eine HIV-Infektion verursacht nicht unmittelbar AIDS. Charakteristisch für die durch dieses Virus verursachte Krankheit ist eine Anfälligkeit für Infektionen mit opportunistischen Pathogenen sowie das Auftreten einer aggressiven Form des Kaposi-Sarkoms⁵⁹ oder von B-Zell-Lymphomen.⁶⁰⁻⁶² Hinzu kommt eine starke Abnahme der Anzahl an CD4-T-Zellen.

Nach Angaben der UNAIDS (AIDS-Bekämpfungsprogramm der Vereinten Nationen) und der WHO (*World Health Organisation*) haben sich bis Ende des Jahres 2006 etwa 40 Millionen Menschen weltweit mit dem HI-Virus infiziert, davon 4.3 Millionen im letzten Jahr. Die WHO geht davon aus, dass 2006 fast 3 Millionen Menschen an AIDS gestorben sind.⁶³

-
- ⁵⁵ F. Gao, E. Bailes, D. L. Robertson, Y. Chen, C. M. Rodenburg, S. F. Michael, L. B. Cummins, L. O. Arthur, M. Peeters, G. M. Sharp, B. H. Hahn, *Nature* **1999**, 397, 436-441.
- ⁵⁶ F. Clavel, D. Geutard, F. Brun-Vezinet, S. Charmet, M. A. Rey, M. O. Santos-Ferreira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, *Science* **1986**, 233, 343-346.
- ⁵⁷ V. M. Hirsch, R. A. Olmsted, M. Murphey-Corb, R. H. Purcell, P. R. Johnson, *Nature* **1989**, 339, 389-392.
- ⁵⁸ C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, *"Immunologie"*, 5 Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2002**, 484-499.
- ⁵⁹ D. Aboulafia, *Oncology* **1998**, 12, 1068-1077.
- ⁶⁰ O. Martinez-Maza, E. C. Breen, *Curr. Opin. Oncol.* **2002**, 14, 528-532.
- ⁶¹ J. Hamilton, M. McBride, P. Kettle, *Ulster Med. J.* **2002**, 71, 72-75.
- ⁶² D. C. Douek, J. M. Brenchley, M. R. Betts, D. R. Ambrozak, B. J. Hell, Y. Okamoto, J. P. Cazazza, J. Koruppu, K. Kunstmann, S. Wolinsky, Z. Grossmann, M. Dybul, A. Oxenius, D. A. Price, M. Connors, R. A. Koup, *Nature* **2002**, 417, 95-98.
- ⁶³ UNAIDS/WHO, *AIDS EPIDEMIC UPDATE* **2006**.

1.5.1 Der HIV-Replikationszyklus

HIV gehört zur Retrovirengruppe der Lentiviren (*lat.*: lentus = langsam). Diese Bezeichnung bezieht sich auf das allmähliche Voranschreiten der Erkrankung, welche durch diese Viren verursacht wird. Die Lentiviren können eine Inkubationszeit – Dauer vom Zeitpunkt der Infektion bis zum Anzeichen der Krankheit – von mehreren Jahren haben.

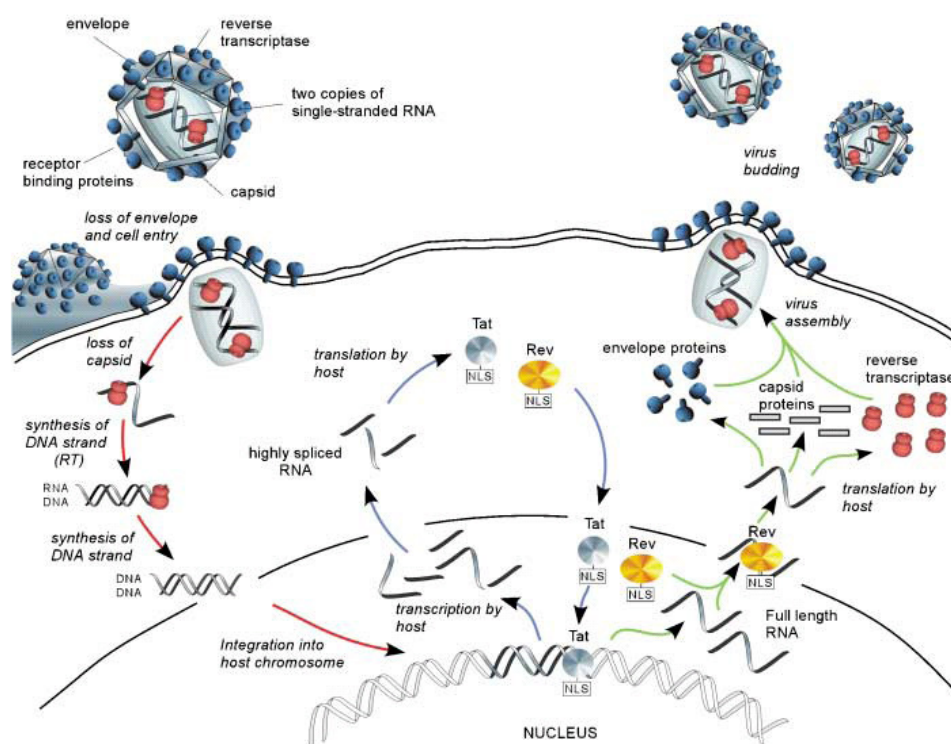


Abb. 1.12: Replikationszyklus des HI-Virus-1⁶⁴

Bei der Infizierung kommt es zum Eindringen des HI-Virus in die gesunden Zellen mithilfe eines Komplexes aus zwei nichtkovalent verbundenen Glykoproteinen in der Virushülle (gp120 und gp41). Das Glykoprotein gp120 bindet hochaffin an das Zelloberflächenmolekül CD4 und anschließend an den Corezeptor in der Membran der Wirtszelle. Daraufhin verursacht gp41 die Fusion der Virushülle mit der Plasmamembran der Zelle, so dass das virale Genom des Virus sowie die assoziierte Virusproteine in die Zelle eindringen können. Die virale, genomische RNA wird zunächst durch das virale Enzym Reverse Transkriptase (RT) in eine doppelsträngige

⁶⁴

Y. Tor, *ChemBioChem* **2003**, 4, 998-1007.

komplementäre DNA (cDNA) umgewandelt, und diese wird dann durch die Integrase des Virus in das Genom der Wirtszelle eingebaut (Provirus). In aktivierten CD4-T-Zellen leitet die Transkription des Provirus die Virusreplikation ein. Das Transkript wird auf verschiedene Weise in mRNAs (*messenger RNA*) für virale Proteine gespleißt. Die ungespleißten mRNAs dienen weiter als Genom und die gespleißten ermöglichen die Translation der frühen *tat*- und *rev*-Gene zum Tat (*trans-activator*) und dem Rev-Protein. Tat ist ein starker Transkriptionsregulator, der als Elongationsfaktor wirkt und die Transkription der viralen RNA ermöglicht, während Rev den Transport einfach gespleißter und ungespleißter Virus-RNA durch die Kernporen in das Cytoplasma einleitet. Die ungespleißten Transkripte sind für die Translation von *gag* und *pol* notwendig und werden unter anderem als RNA-Genome mit den Proteinen zu neuen Viruspartikeln zusammengebaut (Abb. 1.12).⁶⁴

1.5.2 TAR/Tat-Wechselwirkung

Das virale Transkriptions-Transaktivatorprotein spielt neben verschiedenen zellulären Faktoren bei der Einleitung der Transkription der viralen RNA eine Schlüsselrolle. Es bindet im Gegensatz zu den meisten Transkriptionsaktivatoren nicht an eine DNA-, sondern an eine RNA-Sequenz in der LTR-Region (*Long Terminal Repeat*) des Virus, die man als Transkriptionsaktivierungsregion (*Trans-activating response element*, TAR) bezeichnet. So wird die Transkriptionsrate des Virusgenoms stark erhöht und die RNA-Polymerase II (RNAP II) aktiviert. Das TAR-Element, das sich am 5'-Ende aller HIV-mRNAs befindet, besteht aus 59 Nucleotiden und faltet sich in eine Haarnadelschleife (*stem loop*) mit einer Ausbuchtung (*UCU-bulge*).⁶⁵ Das Tat-Protein besteht aus 86 Aminosäuren und kann in zwei funktionelle Domänen unterteilt werden. Das basische, argininreiche Motiv (RKKRRQRRR), welches die Bindung an die RNA vermittelt und das N-terminale Motiv, das als Aktivierungsdomäne bezeichnet wird (Abb.1.13).⁶⁶⁻⁶⁹

⁶⁴ Y. Tor, *ChemBioChem* **2003**, 4, 998-1007.

⁶⁵ H. Y. Mei, M. Cui, A. Heldsinger, S. M. Lemrov, J. A. Loo, K. A. Sannes-Lowery, L. Sharmenn, A. W. Czarnik, *Biochemistry* **1998**, 37, 14204-14212.

⁶⁶ M. J. Selby, B. M. Peterlin, *Cell* **1990**, 62, 769-776.

⁶⁷ H. Y. Mei, A. A. Galan, N. S. Halim, D. P. Mack, D. W. Moreland, K. B. Sanders, H. T. Troung, A. W. Czarnik, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, 5, 2755-2760.

⁶⁸ T. M. Rana, K. T. Jeang, *Arch. Biochem. Biophys.* **1999**, 365, 175-185.

⁶⁹ B. Wöhrle, *RetroVirus* **2003**, *Bulletin* 2, 4-6.

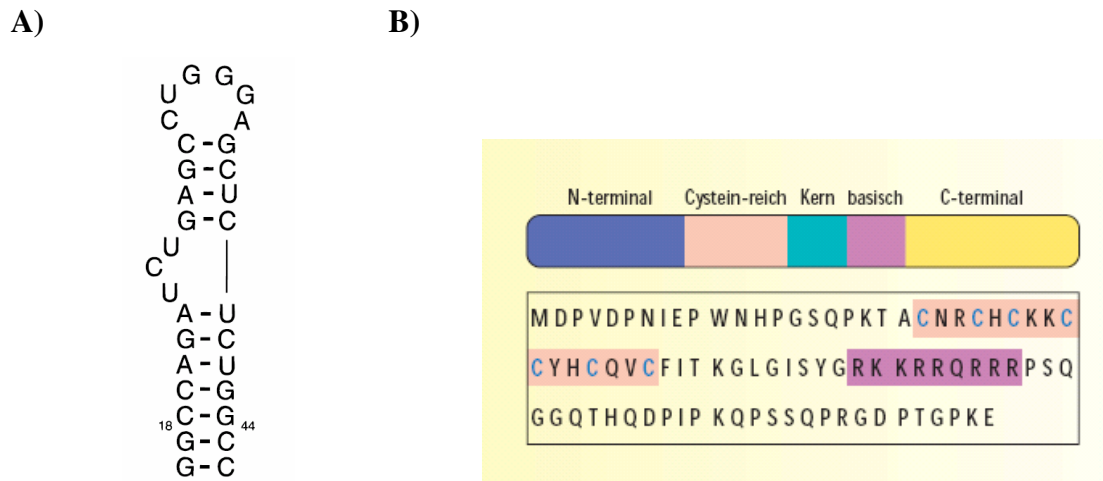


Abb. 1.13: A) Die sekundäre Struktur der TAR-RNA B) Die schematische Darstellung des Tat-Proteins⁶⁹

Nach der Bindung von Tat an die UCU-Ausbuchtung von TAR kommt es zur Komplexbildung mit Cyclin T (CycT1) und der Kinase CDK9. CycT1 und CDK9 werden zusammen als ein Transkriptionselongationsfaktor (pTEFb) bezeichnet. Dieser ist notwendig für die Produktion langer mRNA-Transkripte. Es kommt zur Hyperphosphorylierung der C-terminalen Domäne von RNAP II durch die CDK9-Untereinheit von pTEFb und Cyclin T bildet eine von Zink abhängige Interaktion mit HIV-Tat (Abb.1.14).^{70,71}

⁶⁹ B. Wöhr, *RetroVirus* **2003**, *Bulletin* 2, 4-6.

⁷⁰ M. E. Garber, P. Wei, V. N. KewalRamani, T. P. Mayall, C. H. Herrmann, A. P. Rice, D. R. Littman, K. A. Jones, *Genes & Dev.* **1998**, *12*, 3512-3527.

⁷¹ M. Garber, T. P. Mayall, E. M. Suess, J. Meisenhelder, N. E. Thompson, K. A. Jones, *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 6958-6969.

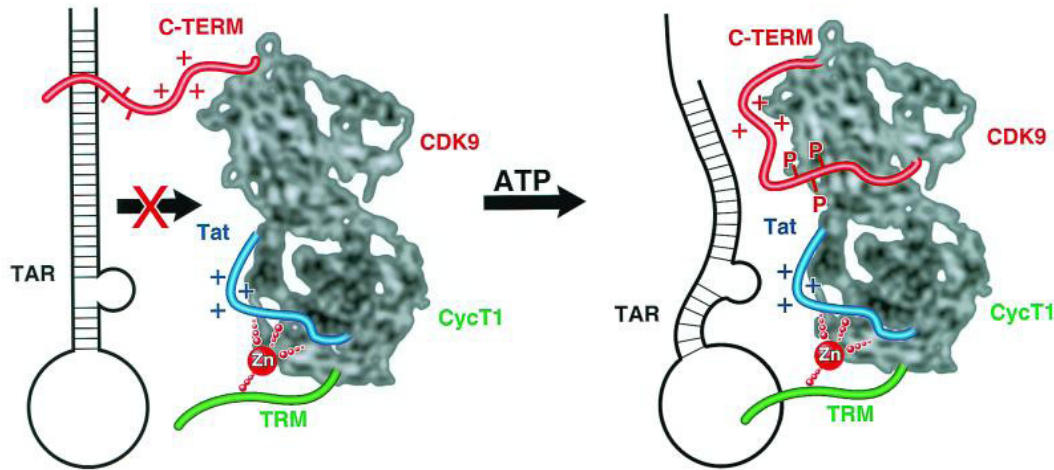


Abb. 1.14: Schematische Darstellung der Bindung von p-TEFb an die TAR-RNA über Interaktion mit HIV-1 Tat. Das Tat/TAR Erkennungsmotiv von CycT1 (TRM, grün) bildet eine Zink abhängige Interaktion mit HIV-1 Tat aus und ist an der direkten Bindung der RNA über ihre zentrale Schleife beteiligt. TRM besitzt Arginine und hydrophobe Aminosäuren, was diese Erkennung wahrscheinlich ermöglicht. Die Tat Aktivierungsdomäne (blau) interagiert mit CycT1 über die intermolekulare Zink-Brücke und ebenso über Reste des TRM. Tat bindet die TAR RNA über ihre 5' „bulge“. Im unphosphorylierten Zustand ist keine Bindung von CDK9 an die TAR RNA nachweisbar. Im autophosphorylierten Zustand dagegen ermöglichen Konformationsänderungen die Bildung eines hochaffinen Komplexes.

1.5.3 Rev/RRE-Wechselwirkung

Eukaryotische Zellen verfügen über Mechanismen, die den Export von unvollständig gespleißten mRNA-Transkripten aus dem Zellkern verhindern. Dies könnte für ein Retrovirus ein Problem darstellen, das den Export von ungespleißten, einfach und mehrfach gespleißten mRNA-Spezies benötigt, um den vollständigen Satz der viralen Proteine zu exprimieren. Das virale Rev-Protein löst dieses Problem (Abb. 1.15).

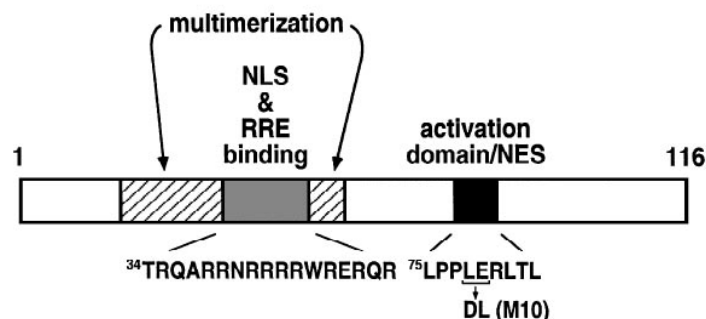


Abb. 1.15: Schematische Darstellung von Domänenstrukturen des Rev Proteins⁷²

Dieses ca. 116 Aminosäuren große Protein wird durch zwei Exons kodiert, die im Bereich des Env-Gens lokalisiert sind und durch Spleißprozesse zusammengeführt werden. Das Rev-Protein wird zweifach phosphoryliert.⁷³ Diese Phosphorylierung hat zwar *in vitro* keine Auswirkung auf die Funktion von Rev,⁷⁴ jedoch wird vermutet, dass auf diese Weise konformelle Umlagerungsprozesse eingeleitet werden und die stärkere RNA-Bindung vermittelt wird. Das Rev-Protein kann in zwei funktionelle Domänen unterteilt werden. Die N-terminale Domäne enthält Sequenzmotive, die wichtig für die nukleare Lokalisation (NLS)^{75,76}, Multimerisierung^{77,78} und RNA-Bindung^{79,80} sind. Eine zweite wichtige Domäne ist im C-terminalen Bereich von Rev lokalisiert und umfasst eine Leucin reiche Sequenz, in der sich das nucleäre Exportsignal (*nuclear export signal*, NES) befindet (Abb. 1.14).^{78,81,82} Wie schon erwähnt, vermittelt Rev-Protein durch die Bindung an das *Rev-Responsive-Element* den Transport der gespleißten und einfach gespleißten viralen mRNA (Abb. 1.16).

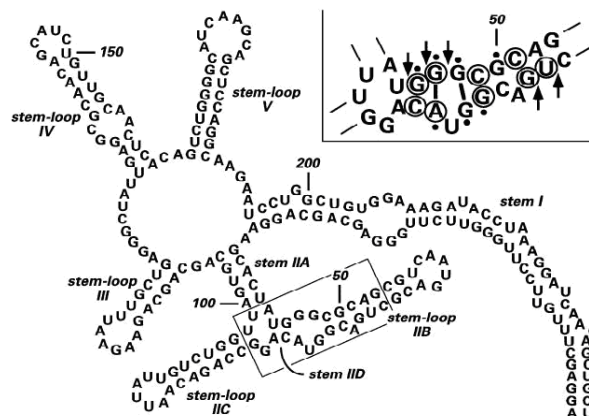


Abb. 1.16: Schematische Darstellung der Domänenstruktur des *Rev-Responsive-Elements*⁷²

- ⁷² V. W. Pollard, M. H. Malim, *Annu. Rev. Microbiol.* **1998**, 52, 491-532.
⁷³ J. Sodroski, W. C. Goh, C. Rosen, A. Dayton, E. Terwilliger, W. Haseltine, *Nature* **1986**, 321, 412-417.
⁷⁴ A. W. Cochrane, E. Golub, D. Volsky, S. Ruben, C. A. Rosen, *J. Virol.* **1989**, 63, 4438-4440.
⁷⁵ E. Bohnlein, J. Berger, J. Hauber, *J. Virol.* **1991**, 65, 7051-7055.
⁷⁶ M. Hammerschmid, D. Palmeri, M. Ruhl, H. Jaksche, I. Weichselbraun, E. Bohnlein, M. H. Malim, J. Hauber, *J. Virol.* **1994**, 68, 7329-7335.
⁷⁷ H. S. Olsen, A. W. Cochrane, P. J. Dillon, C. M. Nalin, C. A. Rosen, *Genes & Dev.* **1990**, 4, 1357-1364.
⁷⁸ M. L. Zapp, T. J. Hope, T. G. Parslow, M. R. Green, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, 88, 7734-7738.
⁷⁹ T. J. Daly, K. S. Cook, G. S. Grey, T. E. Maione, J. R. Rusche, *Nature* **1989**, 342, 816-819.
⁸⁰ M. H. Malim, L. S. Tiley, D. F. McCarn, J. R. Rusche, J. Hauber, B. R. Cullen, *Cell* **1990**, 60, 675-683.
⁸¹ A. M. Szilvay, K. A. Brokstad, R. Kopperud, G. Haukenes, K. H. Kalland, *J. Virol.* **1995**, 69, 3315-3323.
⁸² M. H. Malim, B. R. Cullen, *Cell* **1991**, 65, 241-248.

Das RR-Element besteht aus ca. 200 Basen, die im Env-Gen von HIV-1 lokalisiert sind.⁸³ Die für die Bindung bedeutende Region ist der Bereich des *stem loop* IIB, der durch eine Reihe nicht gepaarter Nucleotide gebildet wird, die den ansonsten doppelsträngigen Bereich formen. Nach einer Bindung und Oligomerisierung des Rev-Proteins an das RR-Element kommt es zur kooperativen Bindung des zellulären Proteins Exportin 1 (XPO) und der Ran-Guanosintriphosphatase (Ran GTP). Dieser Rev-RRE-Komplex wird anschließend durch die Kernporen ins Cytoplasma transportiert. Dort wird Ran GTP durch das Ran GTP-Aktivierende Protein (Ran GAP) zu Ran GDP hydrolysiert, wobei nach dem Lösen des Proteinkomplexes die ungespleißte mRNA vom Rev-Protein freigesetzt wird. Der Exportweg kann durch Leptomycin, einem Streptomyces-Metaboliten, unterbunden werden (Abb. 1.17).⁸⁴

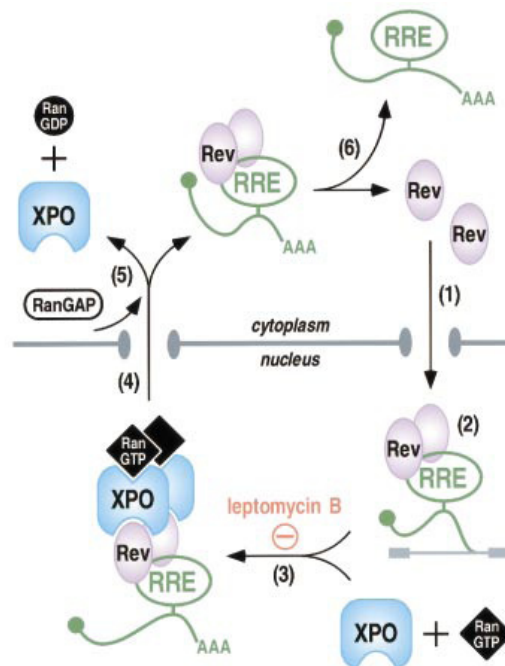


Abb. 1.17: Schematische Darstellung der Transportaktivierung durch Rev-RRE-Interaktion^{72,85}

⁷² V. W. Pollard, M. H. Malim, *Annu. Rev. Microbiol.* **1998**, 52, 491-532.

⁸³ L. Solomin, B. K. Felber, G. N. Pavlakis, *J. Virol.* **1990**, 64, 6010-6017.

⁸⁴ M. Fakuda, S. Asano, T. Nakamura, M. Adachi, M. Yoshida, M. Yanagida, E. Nishida, *Nature* **1997**, 390, 308-311.

⁸⁵ M. Emerman, M. H. Malim, *Science* **1998**, 280, 1880-1884.

1.6 RNA

Seit einigen Jahren weckten RNA-Moleküle immer mehr Interesse und Beachtung bei der Suche nach neuen Wirkstoffen. RNA-Moleküle spielen nämlich eine zentrale Rolle bei vielen Schritten der Genreplikation und Expression. Die große Zahl an bekannten RNA-Strukturen rechtfertigt den Begriff einer „RNA-Welt“.⁸⁶ Eigenschaften wie die Abwesenheit von RNA-Reparaturmechanismen in der Zelle, die Diversität der dreidimensionalen Strukturen und deren Zugänglichkeit in Ribonucleoprotein-Komplexen, entpuppen sich in vielen aktuellen Untersuchungen als wichtige Faktoren für die Entwicklung von Therapeutika.

1.6.1 Struktur der RNA

Obwohl die DNA und RNA enge chemische Verwandtschaft aufweisen, beobachtet man im Fall der RNA deutlich größere Strukturvarianz. Diese ist z. B. durch die Ausbildung der unterschiedlichen Tertiärstrukturen bedingt, die eher mit der Vielfältigkeit von Proteinen und deren Tertiärstrukturen vergleichbar ist.⁸⁷ Die DNA liegt im Allgemein nur in Form einer Doppelhelix vor. Des Weiteren ist die Tertiärstruktur der RNA für die RNA-Liganden-Wechselwirkungen und für die biologische Funktion von großer Bedeutung.

RNA kommt in der Natur entweder als Doppelhelix mit α -Struktur oder globulär in kurzen doppelhelicalen Domänen vor, die über kurze Einzelstränge verbunden sind. Die Doppelhelix zeichnet sich durch *Watson-Crick*-Basenpaare und die Einzelstränge durch weite und flache kleine Furchen (*minor groove*) sowie enge und tiefe große Furchen (*major groove*) aus. Diese einzelsträngigen Strukturelemente bilden definierte Formen wie Schleifen (*loops*), Haarnadel-Schleifen (*hairpin loops*), Ausbuchtungen (*stems*), Pseudoknoten (*pseudoknots*) und Verzweigungen. Die großen Furchen sind für die meisten Liganden nur sehr schwer zugänglich.⁸⁸⁻⁹⁰ Die Tertiärstruktur wurde erst aus

⁸⁶ H. Rauchfuß, "Chemische Evolution und der Ursprung des Lebens", Springer Berlin Heidelberg, **2005**, 177-218.

⁸⁷ C. S. Chow, F. M. Bogdan, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1489-1513.

⁸⁸ K. M. Weeks, D. M. Crothers, *Science* **1993**, 261, 1574-1577.

⁸⁹ C. J. Alden, S. H. Kim, *J. Mol. Biol.* **1979**, 132, 411-434.

⁹⁰ W. Saenger, in "Principles of Nucleic Acid Structure", Springer Verlag, New York, **1984**.

Kristallstrukturen und NMR-Untersuchungen ersichtlich.⁹¹⁻⁹⁴ Die tertiären Wechselwirkungen erforschte *Kim* anhand der Kristallstruktur von tRNA.⁹⁵ Dazu gehören Wechselwirkungen wie Wasserstoff-Brücken zwischen Basen (nicht *Watson-Crick*), zwischen Basen und dem Zucker-Phosphat-Rückgrat oder Interkalationen und Interaktionen zwischen unterschiedlichen Resten des Rückgrats (Abb. 1.18).

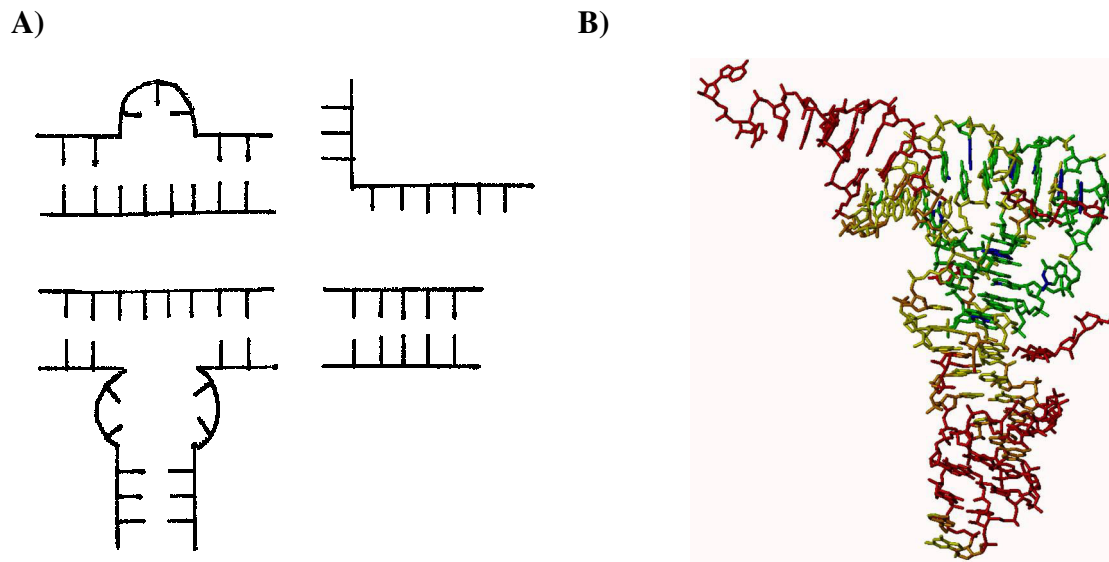


Abb. 1.18: A) Häufig auftretenden RNA-Sekundärstrukurelemente B) Beispiel einer Tertiärstruktur:
tRNA

1.6.2 RNA-Liganden-Wechselwirkungen

1.6.2.1 Nichtkovalente Bindung an RNA

Die nichtkovalente Bindung von Proteinen oder niedermolekularen Verbindungen an RNA kann über drei mögliche Interaktionen erfolgen, die allerdings nicht immer voneinander abzugrenzen sind:

- Die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen negativ geladenen Phosphatgruppen des Zucker-Phosphat-Rückgrats und positiv geladenen Gruppen der Liganden

⁹¹ G. J. Quigley, A. Rich, *Science* **1976**, 194, 796-806.

⁹² D. J. Patel, L. Shapiro, D. Haro, *Q. Rev. Biophys.* **1987**, 20, 35-112.

⁹³ E. Westhof, P. Dumas, D. Moras, *J. Mol. Biol.* **1985**, 184, 119-145.

⁹⁴ D. J. Patel, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, 9, 74-87.

⁹⁵ S. H. Kim, J. L. Sussman, F. L. Suddath, G. J. Quigley, A. McPherson, A. H. J. Wang, N. C. Seeman, A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1974**, 71, 4970-4974.

- Die Bindung in die Furchen über die Bildung von H-Brücken und *van der Waals*-Wechselwirkungen.
- Die Interkalationen bzw. Stapelwechselwirkungen von Basenpaaren, aromatischen Seitenketten der Aminosäuren oder π -Kationen-Wechselwirkungen.

1.6.2.2 Protein-RNA-Komplexen

Die meisten Funktionen der RNA werden durch Bildung von Protein-RNA-Komplexen reguliert. An den intermolekularen Wechselwirkungen sind in diesen Komplexen vor allem die Proteinseitenketten beteiligt.⁹⁶ Die Proteinseitenketten fungieren hauptsächlich als H-Brücken-Donoren, die mit negativ geladenen Phosphatgruppen wechselwirken. An etwa 20% der intermolekularen Wechselwirkungen in Protein-RNA-Komplexen sind 2'-OH-Gruppen der RNA beteiligt, ungefähr genauso oft als H-Brücken-Donor wie als H-Brücken-Akzeptor. Die an RNA bindenden Moleküle sind häufig basische Aminosäuren, wie Arginin und Lysin. Aminosäuren mit sauren Seitenketten nehmen an der Erkennung von RNA eher selten teil. Andere stark ausgeprägte Wechselwirkungen sind die Stapelwechselwirkungen, bei denen die enge Verzahnung von Basen der RNA und Aminosäuren des Proteins auftreten kann.⁹⁴ Zusätzlich sind die *Watson-Crick*-Seiten der RNA-Basen wichtige Kontaktstellen für H-Brücken. Als Akzeptoren dienen die Positionen 6 und 7 der Purinbasen und die 4-Position der Pyrimidinbasen.

Außerdem werden wichtigen Rollen dem Wasser und den Metallionen bei den Wechselwirkungen zugeschrieben, weil diese feste Bestandteile der dreidimensionalen Struktur der RNA-Molekülen sind.⁹⁷ Während die direkte Beteiligung von Metallionen an der Funktion von RNA beschränkt sein mag, eröffnet die Rolle von Kationen bei der Stabilisierung der dreidimensionalen Struktur von RNA-Molekülen eine allgemeine Möglichkeit, um Metallionen in Bindungstaschen durch die positiv geladenen Gruppen gezielt auszutauschen. Wassermoleküle können an der H-Brücken-Bildung in

⁹⁴ D. J. Patel, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, 9, 74-87.

⁹⁶ K. Nadassy, S. J. Wodak, J. Janin, *Biochemistry* **1999**, 38, 1999-2017.

⁹⁷ D. E. Draper, V. K. Misra, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, 5, 927-930.

Komplexen niedermolekularer Verbindungen mit der RNA beteiligt sein, wie z. B. im Falle RNA-Aptamer-Tobramycin-Komplexes gezeigt wurde (Abb. 1.19).^{98,99}

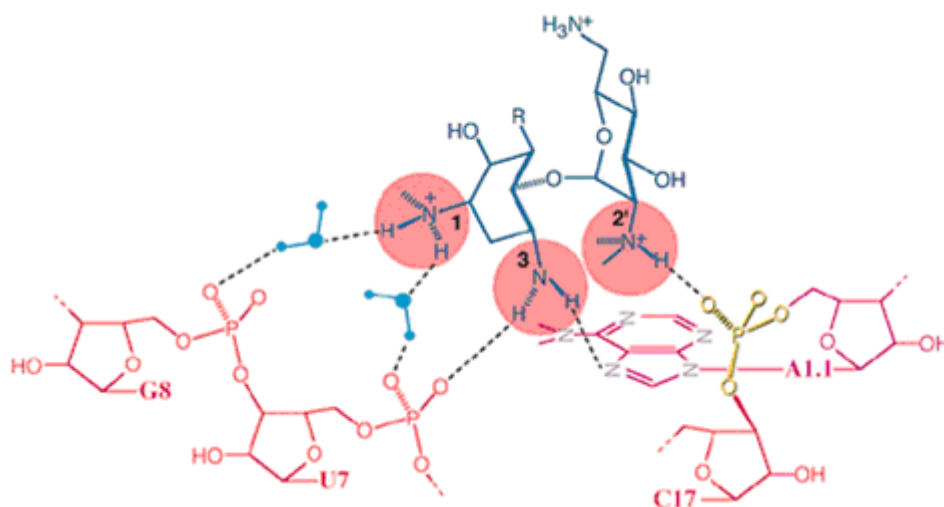


Abb. 1.19: Vorgeschlagene wasservermittelte Wechselwirkung zwischen einer Hydroxylgruppe des Liganden und dem N7-Atom eines Adenins der RNA in der dreidimensionalen Struktur eines Komplexes aus Tobramycin und Aptamer-RNA in Lösung^{98,99}

1.6.2.3 RNA-Komplexe mit niedermolekularen Verbindungen

Heutzutage konzentriert sich die Entwicklung von Leistrukturen für Therapeutika nach wie vor auf niedermolekulare synthetische Verbindungen und Naturstoffe. Eine Vielfalt an Verbindungen, die verschiedenen Verbindungsklassen angehören und an verschiedenen Stellen des TAR-Elements der RNA binden können, sind in Abbildung 1.20 dargestellt.

⁹⁸

L. Jiang, D. J. Patel, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, 5, 769-774.

⁹⁹

T. Hermann, E. Westhof, *J. Mol. Biol.* **1998**, 276, 903-912.

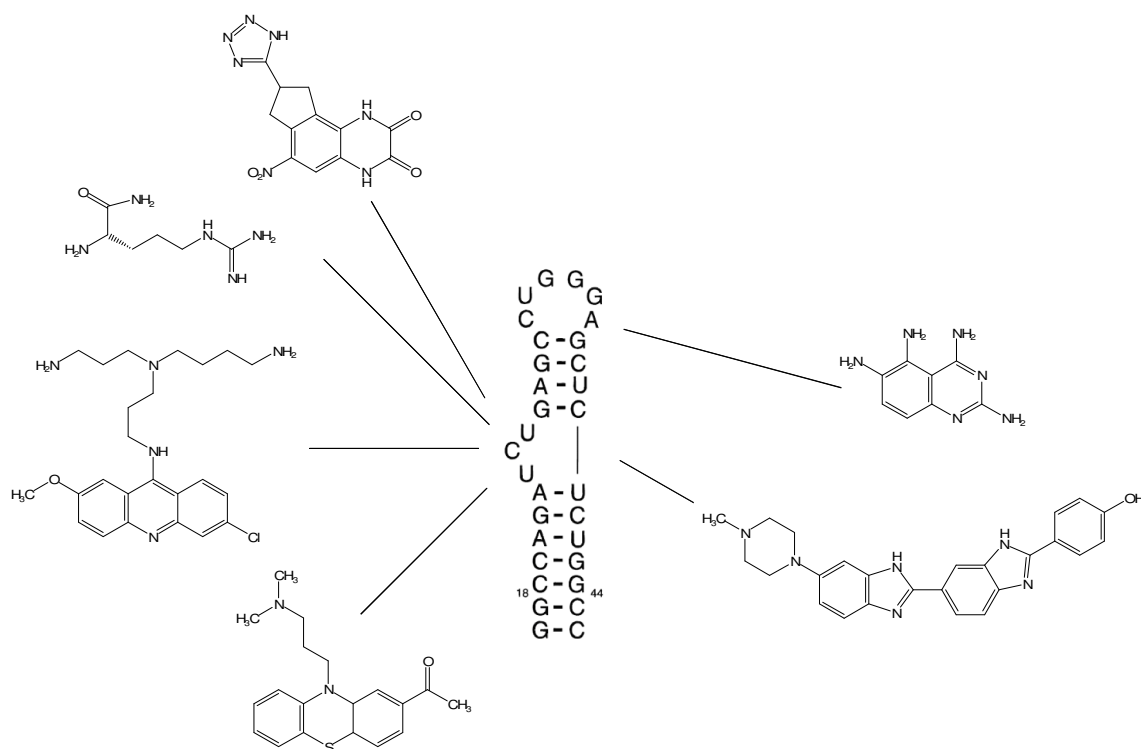


Abb. 1.20: Auswahl einiger niedermolekularer Verbindungen sowie die Stellen derer Wechselwirkungen mit TAR-Element der RNA¹⁰⁰⁻¹⁰⁷

Der Einsatz der kombinatorischen Chemie an der festen Phase ermöglicht die Evaluierung von Bibliotheken potentieller RNA-Liganden. So wurde z. B. 2003 über eine Benzimidazol-Bibliothek berichtet, für deren Synthese *Molecular-modelling-Studien* der Ausgangspunkt waren (Abb. 1.21).¹⁰⁸

- ¹⁰⁰ R. Nifosi, C. M. Reyes, P. A. Kollman, *Nucleic Acids Res.* **2000**, 28, 4944-4955.
- ¹⁰¹ A. Krebs, V. Ludwig, O. Boden, M. W. Göbel, *ChemBioChem* **2003**, 4, 972-978.
- ¹⁰² J. D. Puglisi, R. Tan, B. J. Calnan, A. D. Frankel, J. R. Williamson, *Science* **1992**, 257, 76-80.
- ¹⁰³ C. Bailly, P. Colson, C. Houssier, F. Hamy, *Nucleic Acids Res.* **1996**, 24, 1460-1464.
- ¹⁰⁴ H. Y. Mei, D. P. Mack, A. A. Galan, N. S. Halim, A. Heldsinger, J. A. Loo, D. W. Moreland, K. A. Sannes-Lowery, L. Sharmenn, H. N. Troung, A. W. Czarnik, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5, 1173-1184.
- ¹⁰⁵ F. Hamy, V. Brondani, A. Flörsheimer, W. Stark, M. J. J. Blommers, T. Klimakait, *Biochemistry* **1998**, 37, 5086-5095.
- ¹⁰⁶ C. Mischiati, K. T. Jeang, G. Feriotto, L. Breda, M. Borgatti, N. Bianchi, Gambari, R., *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2001**, 11, 209-217.
- ¹⁰⁷ Z. Du, K. E. Lind, T. J. James, *Chem. Biol.* **2002**, 9, 707-712.
- ¹⁰⁸ D. Vourloumis, M. Takahashi, K. B. Simonsen, B. K. Ayida, S. Barluenga, G. C. Winters, T. Hermann, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2807-2811.

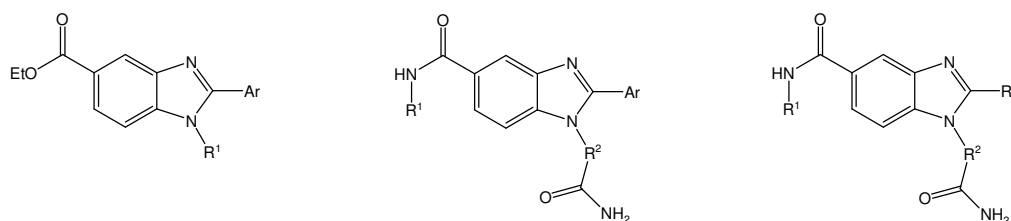


Abb. 1.21: Die Grundstrukturen der hergestellten Benzimidazol-Bibliothek¹⁰⁸

Die erhaltenen Derivate werden momentan in biologischen Tests gegen verschiedene bakterielle und virale RNA-Targets geprüft.

1.6.2.4 Aminoglycosid-Antibiotika

Die Aminoglycoside bilden eine wichtige und einheitliche Antibiotika-Klasse, hinsichtlich der antibakteriellen Aktivität aber auch der unerwünschten Wirkungen. Sie werden seit mehr als 60 Jahren in der klinischen Anwendung genutzt. Sie wurden aus *Streptomyces*- und *Micromonospora*-Arten isoliert.¹⁰⁹ Limitierend für ihren Einsatz sind Nephrotoxizität, Ototoxizität und schlechte Absorption bei oraler Verabreichung. Bei sorgfältiger Indikationsstellung und Beachtung der genannten Risikofaktoren ist die Therapie mit Aminoglycosiden trotz toxischer Risiken jedoch akzeptabel und in einigen Fällen unersetzbar. Der größte Teil von Aminoglycosid-Antibiotika enthält Aminosucker, die mit dem 2-Desoxystreptamin-Gerüst verbunden sind (Abb. 1.22).¹¹⁰

¹⁰⁸ D. Vourloumis, M. Takahashi, K. B. Simonsen, B. K. Ayida, S. Barluenga, G. C. Winters, T. Hermann, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2807-2811.

¹⁰⁹ T. R. Zembower, G. A. Noskin, M. J. Postelnick, C. Nguyen, L. R. Peterson, *Int. J. Antimicrob. Agents* **1998**, 10, 95-105.

¹¹⁰ B. Francois, R. J. M. Russell, J. B. Murray, F. Aboul-ela, B. Masquida, Q. Vicens, E. Westhof, *Nucleic Acids Res.* **2005**, 33, 5677-5690.

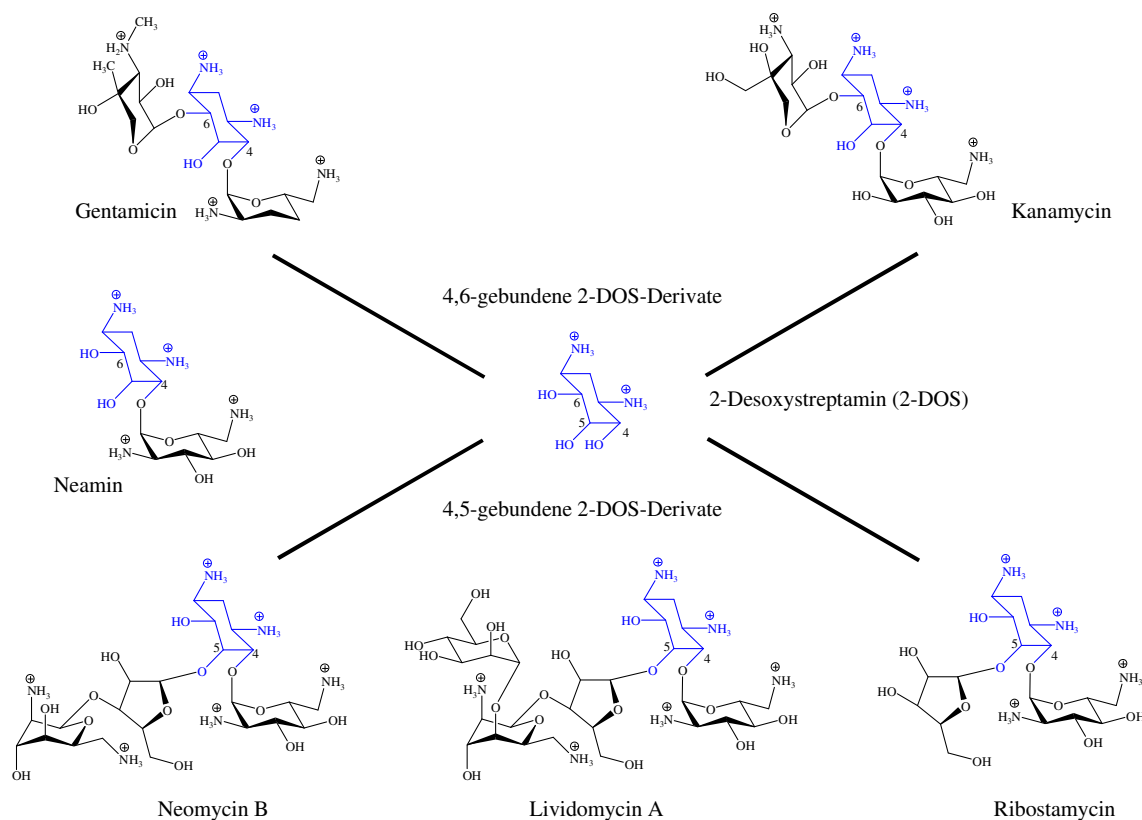


Abb. 1.22: Strukturen einiger Aminoglycoside¹¹⁰

Die stereochemische Vielfalt der Substitutionsstellen für Amino- und Hydroxylgruppen in Aminoglycosiden und deren beschränkte konformativer Flexibilität bieten vielseitige Möglichkeiten, um potentielle RNA-Liganden so zu entwerfen, dass eine spezifische Erkennung von RNA-Strukturen erwartet werden kann. Einige Aminoglycoside zeigten bereits, dass sie die Funktionen nicht nur der prokaryotischen RNA sondern auch der viralen RNA beeinträchtigen können. Dies wirkt ermutigend für die weitere Suche nach neuen, in der Natur vorkommenden Aminoglycosiden und davon abgeleiteten synthetischen Derivaten. Hierzu bietet die kombinatorische Synthese wieder eine Möglichkeit, um ein breites Spektrum an potentiellen RNA-Liganden herzustellen.

1.6.2.5 Kombinatorische Bibliotheken von RNA-Liganden

Da die Struktur von Neomycin B häufig als Modell für die RNA-Liganden-Wechselwirkung dient und die ersten ausführlichen Ergebnisse hinsichtlich dieser

¹¹⁰

B. Francois, R. J. M. Russell, J. B. Murray, F. Aboul-ela, B. Masquida, Q. Vicens, E. Westhof, *Nucleic Acids Res.* **2005**, 33, 5677-5690.

Interaktionen bekannt waren, beschrieb *Wong* die kombinatorische Parallelsynthese von Disacchariden, die aus einer Teilstruktur des Neomycin B, der Neamin-Einheit, synthetisiert wurden. Der Aldehyd wurde in einer *Ugi*-Reaktion mit einem Glycinester, zwei verschiedenen Isonitrilen und 13 verschiedenen Aminosäuren umgesetzt. Die erhaltenen Produkte wurden ohne vorherige Reinigung Tests unterzogen, um zu prüfen, ob sie die Rev/RRE-Wechselwirkung hemmen (Abb.1.23).¹¹¹

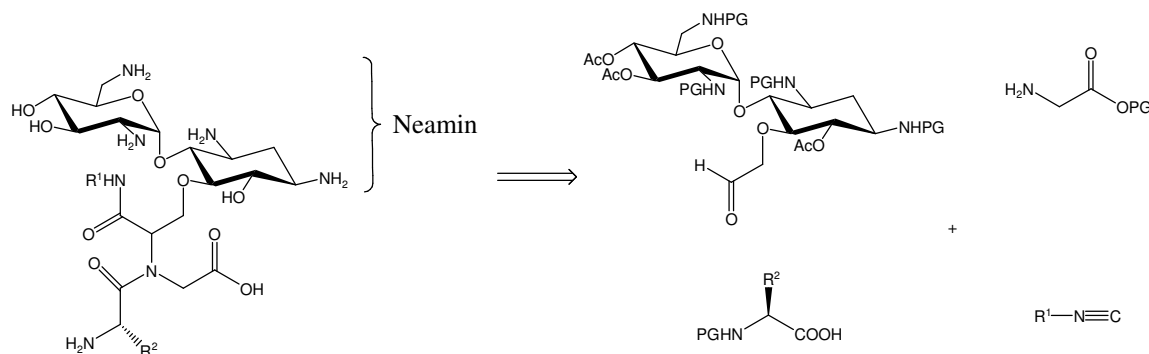


Abb. 1.23: Neomycin B-Mimetika nach *Wong*¹¹¹

Aus diesen Prüfungen ging hervor, dass vier Verbindungen bei einer Konzentration von 200 μ L solche Wechselwirkung fast vollständig inhibieren können.

Ein weiterer Ansatz, der Diaminomonosaccharid-Baustein zur Synthese von potenziellen RNA-Liganden verwandte, wurde zwei Jahre später beschrieben. In diesem wurde ein Allylglucosid an zwei Positionen durch kombinatorische Variation mit vier verschiedenen Aminosäuren zu entsprechenden Amiden umgesetzt und die erhaltenen Derivate auf ihr Bindungspotenzial an RNA-Molekülen getestet (Abb. 1.24).¹¹²

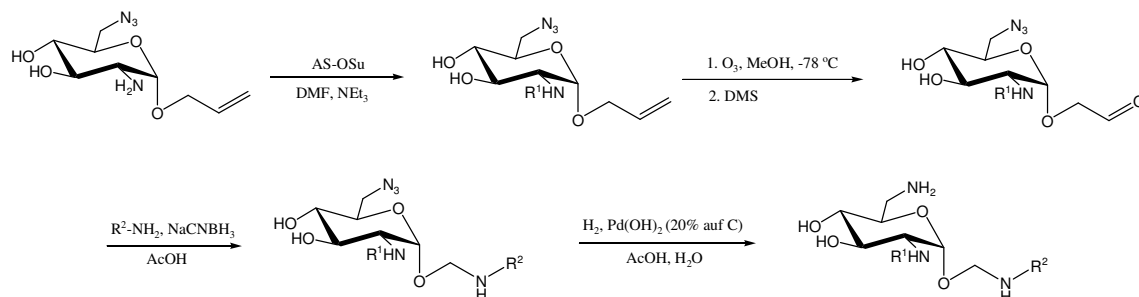


Abb. 1.24: Synthese einer Bibliothek von 2,6-Diaminoglucose-Derivate

¹¹¹ W. C. Park, M. Auer, H. Jaschke, C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10150-10155.

¹¹² C. H. Wong, M. Hendrix, D. D. Manning, C. Rosenbohm, W. A. Greenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8319-8327.

Für die Untersuchung dieser Ligand-RNA-Wechselwirkungen wurde 16S rRNA von *E. Coli* (Wild-Typ und drei Mutanten der A-Domäne) gewählt.

2 KONZEPTION UND ZIELSETZUNG

Die Vielfalt an in der Natur vorkommenden Amino- und Desoxyzuckern sowie Aminoglycosiden und die Erkenntnis, dass diese in vielen biologischen Prozessen eine Schlüsselrolle spielen, machen diese Substanzklasse zu einem attraktiven Ziel bei der Suche nach neuen potentiellen Medikamenten. Während der Therapie des Humanen Immunschwäche Virus (HIV) kann der pharmakologische Angriff auf verschiedenen Etappen von dessen Lebenszyklus erfolgen. Das Aminoglycosid-Antibiotikum Neomycin B beispielweise bindet an die HIV-RNA Erkennungselemente, wie RRE¹¹³⁻¹¹⁶ und TAR^{67,117}, und hemmt die Bildung von HIV-Rev und HIV-Tat-Protein-Komplexen, die für die weitere Aktivierung der viralen RNA notwendig sind (Abb. 2.1).

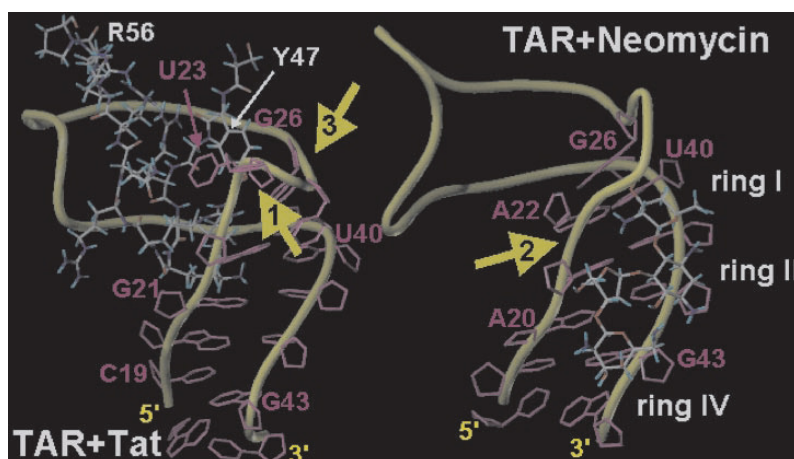
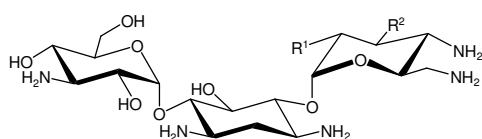


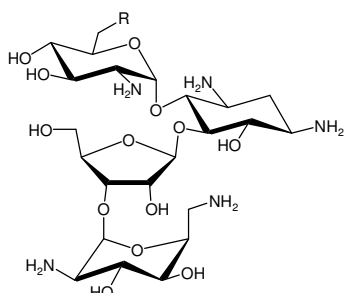
Abb. 2.1: Vergleich der TAT/Tar- und TAR/Neomycin B - Wechselwirkung.¹¹⁸ Die gelbe Schleife stellt das Phosphat-Rückgrat der RNA schematisch dar. Die Stäbchen werden für die Basen- und die Ribosestrukturformel in der Bindungsstelle des Tat-Proteins bzw. des Neomycin B verwendet. Gelber Pfeil 1: In Gegenwart von Tat zeigt das Phosphat-Rückgrat bei U23 in Richtung der großen Furche; in Gegenwart von Neomycin B zeigt dieser Teil des Rückgrats in Richtung der kleinen Furche und bildet die Bindungstasche für dieses Antibiotikum. Gelber Pfeil 2: In Gegenwart von Neomycin B wird das Gerüst unter der Ausbuchtung in Richtung der großen Furche gebogen. Die Lage der Basen G21 und A22 wird verändert und das Volumen der Bindungstasche für das Tat-Protein in der großen Furche wird kleiner gemacht. Gelber Pfeil 3: In Gegenwart des Tat-Proteins wird die obere Ausbuchtung bei U25 in Richtung der kleinen Furche gebogen, währenddessen eine Bindungsstelle für die Tyr 47 gebildet wird. In Gegenwart des Neomycin B wird die obere Ausbuchtung in Richtung der großen Furche verschoben und die Stelle der Bindung von Tyr 47 besetzt.

⁶⁷ H. Y. Mei, A. A. Galan, N. S. Halim, D. P. Mack, D. W. Moreland, K. B. Sanders, H. T. Troung, A. W. Czarnik, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, 5, 2755-2760.
¹¹³ G. Werstuck, M. L. Zapp, M. R. Green, *Chem. Biol.* **1996**, 3, 129-137.
¹¹⁴ M. L. Zapp, S. Stern, M. R. Green, *Cell* **1993**, 74, 969-978.
¹¹⁵ J. T. H. Tok, L. J. Dunn, R. C. Des Jean, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 1127-1131.
¹¹⁶ Y. Wang, K. Hamasaki, R. R. Rando, *Biochemistry* **1997**, 36, 768-779.
¹¹⁷ T. Hermann, E. Westhof, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 1250-1261.

Der Einfluss der Amino-Funktionen des Aminoglycosids, die unter physiologischen Bedingungen durch Protonierung positiv geladen sind und dadurch an einen negativ geladenen Teil der RNA-Tasche binden können, ist offensichtlich. Der Wechsel von einer Amino-Gruppe in Neomycin B gegen eine Hydroxyl-Gruppe in Paromomycin hebt bereits die inhibierende Wirkung in *self splicing* und Rev-RRE-Assays auf.¹¹⁴ Ähnliches Verhalten wurde auch für Kanamycin A und Kanamycin B beobachtet. Auch die Hydroxyl-Gruppen spielen eine wichtige Rolle. So ist z.B. Kanamycin B zwanzigmal weniger aktiv als sein 3-Desoxyderivat – Tobramycin (Abb. 2.2).



Aminoglycosid	R ¹	R ²	<i>self-splicing</i>	Rev-RRE
Kanamycin A	OH	OH	> 2000	> 1000
Kanamycin B	NH ₂	OH	10	100
Tobramycin	NH ₂	H	0.5	10



Aminoglycosid	R	<i>self-splicing</i>	Rev-RRE
Paromomycin	OH	100	> 100
Neomycin B	NH ₂	0.5	1

Abb. 2.2: Repräsentative Beispiele von Aminoglycosid-Antibiotika und ihre Struktur-Aktivität Beziehung. Die Inhibition von *I intron self splicing* wird als IC₅₀ und von Rev-RRE als IC₉₀ in μmol angegeben¹¹⁴

Neben den elektrostatischen Wechselwirkungen hat die räumliche Anordnung der einzelnen Funktionalitäten am 2-Desoxystreptamin-Gerüst eine große Bedeutung. Da erste vielversprechende Ergebnisse bei der Suche nach weiteren potentiellen RNA-Liganden unter dem Einsatz des Schutzgruppenkonzeptes für ein Diaminoglucose-Scaffold erhalten wurden,⁵⁰⁻⁵² war die Synthese von neuen Diaminomonosaccharid-Templaten von großem präparativen und pharmakologischen Interesse (Abb. 2.3).

⁵⁰ U. Hüniger, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

⁵¹ U. Hüniger, J. Ohnsmann, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1104-1107.

⁵² J. Ohnsmann, *Dissertation* **2006**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

¹¹⁴ M. L. Zapp, S. Stern, M. R. Green, *Cell* **1993**, *74*, 969-978.

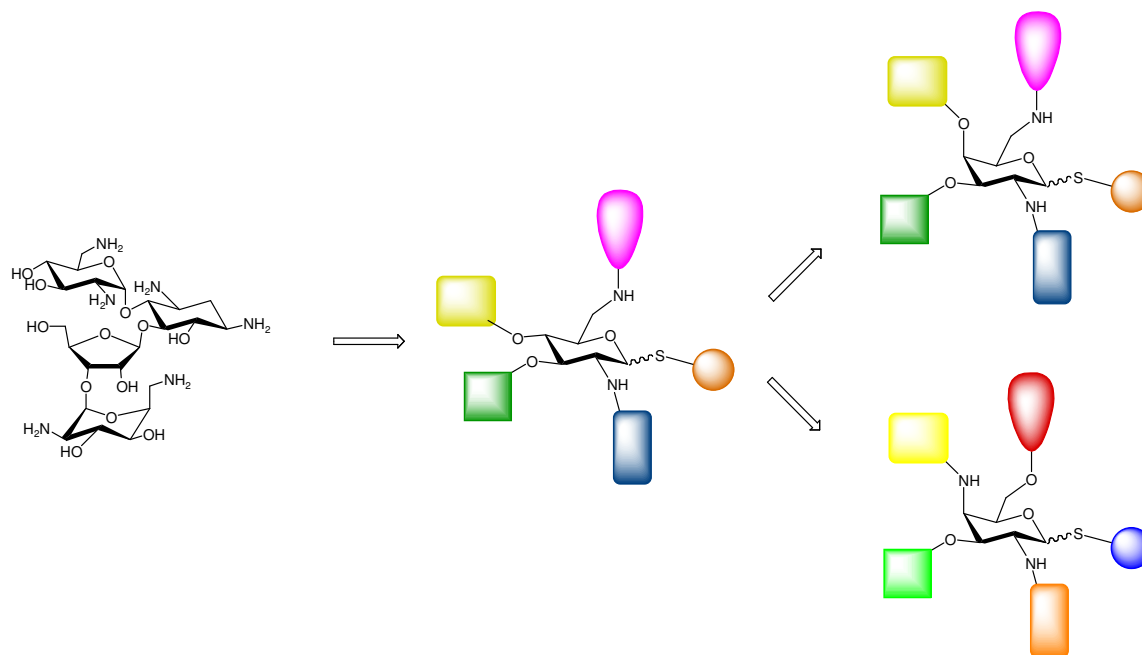


Abb. 2.3: Schematische Darstellung: von Neomycin B zu 2,6-Diaminogalactose- und 2,4-Diaminogalactose-Liganden

In dieser Arbeit soll die Synthese von neuen Diaminogalactose-Scaffolds durchgeführt werden (Abb. 2.4). Nach Prüfung der Orthogonalität der Schutzgruppen soll durch einen kombinatorischen Ansatz eine Substanzbibliothek hergestellt und im Rahmen des Sonderforschungsbereichs 579 (RNA-Liganden-Wechselwirkungen) auf ihre biologische Wirkung untersucht werden.

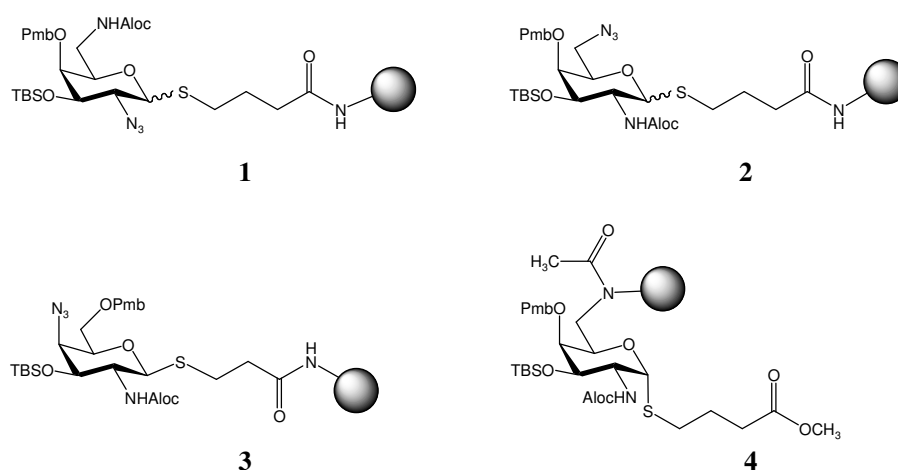


Abb. 2.4: Diaminegalactose-Scaffolds für die Festphasensynthesen

Die Synthese der Scaffolds, baut auf den Erkenntnissen von *Hünger* und *Ohnsmann* über Diaminoglucose-Template auf, die sie im Rahmen ihrer Doktorarbeiten erhalten haben.⁵⁰⁻⁵²

⁵⁰ U. Hünger, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

⁵¹ U. Hünger, J. Ohnsmann, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1104-1107.

⁵² J. Ohnsmann, *Dissertation* **2006**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

3 ALLGEMEINER TEIL

3.1 Das 6-Allyloxycarbonylamino-2-azido-galactose-Scaffold

3.1.1 Retrosynthetische Betrachtung

Im Gegensatz zu der Synthesestrategie für das Diaminoglucose-Scaffold, für welches D-Glucosaminhydrochlorid als Ausgangsmaterial zur Verfügung steht, in dem die erste Aminogruppe schon vorhanden ist und direkt geschützt werden kann, muss für die Synthese des gewünschten Diaminogalactose-Templates ein alternativer Weg überlegt werden. Zwar ist das D-Galactosaminhydrochlorid ebenfalls kommerziell erhältlich, jedoch wird auf seinen Einsatz wegen des sehr hohen Preises bei Ansätzen im 100 g - Maßstab verzichtet.

Ausgehend von D-Galactose wird die Azidogruppe in 2-Position eingeführt. Diese maskiert die erste Aminogruppe. Anschließend wird das Monosacharid in einer Glycosylierungsreaktion mit einem für die Festphasenreaktionen geeignetem Anker ausgestattet. Als nächstes wird über die 4- und 6-OH-Gruppen das *p*-Methoxybenzylidenacetal gebildet und die freie 3-OH-Gruppe als Silylether geschützt. Die regioselektive Acetalöffnungsreaktion sollte die freie 6-OH Funktion liefern und der bei der Oxidation des primären Alkohols gebildete Aldehyd in einer reduktiven Aminierung das primäre Amin geben. Im nächsten Schritt wird die 6-NH₂-Gruppe unter basischen Bedingungen mit Chlorameisensäureallylester umgesetzt. Da sich die Alloc-Schutzgruppe bereits bei der Herstellung der Glucosematrix bewährt hat, soll sie in der 6-Position orthogonale Stabilität gegenüber anderen Schutzgruppen auch für dieses Scaffold aufweisen (Abb. 3.1).

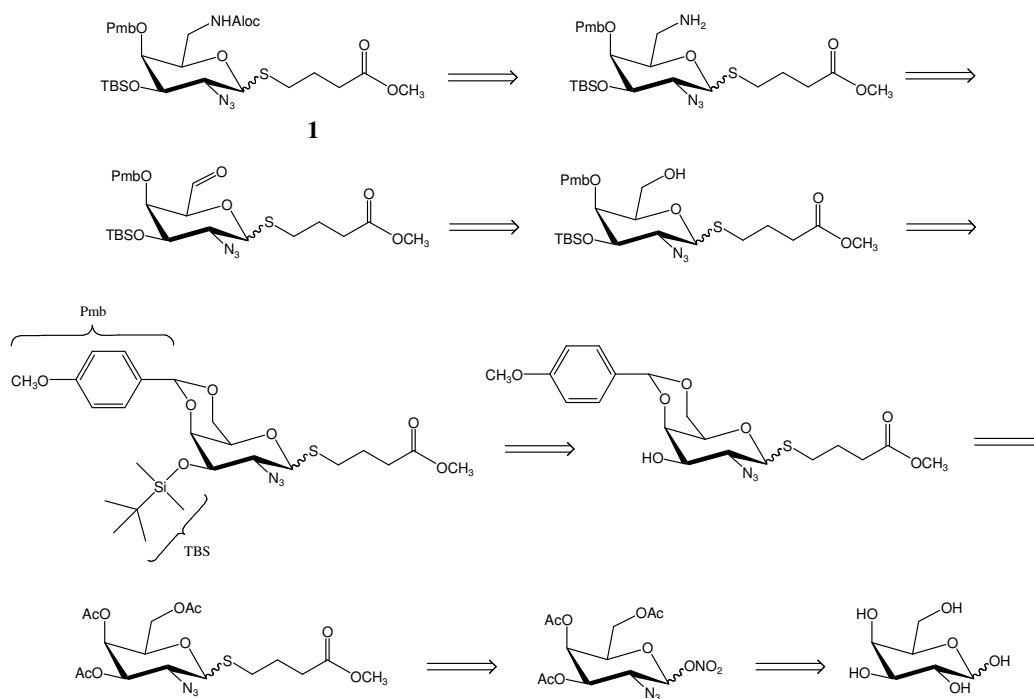
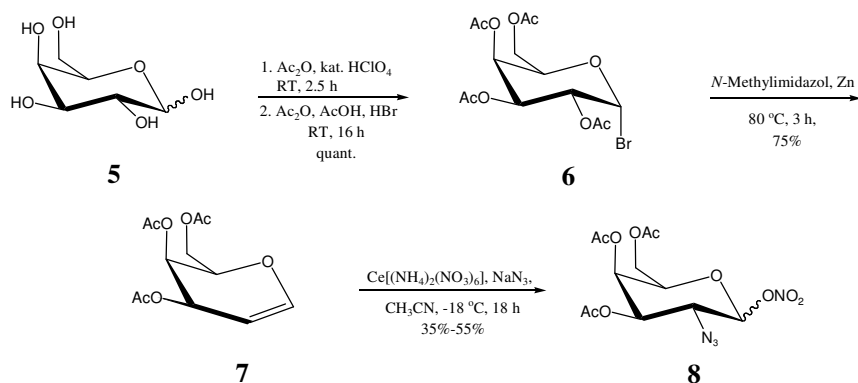


Abb. 3.1: Die retrosynthetische Betrachtung für das Templat 1

3.1.2 Durchführung der Synthese

Die Synthese des Azidogalactosederivates **8**, ausgehend von Galactose **5**, ist literaturbekannt und wird in vier Stufen durchgeführt (Abb.3.2).^{119,120}

Abb. 3.2: Die Synthese des Azidonitrates **8**

Zuerst werden die freien Hydroxylgruppen unter Verwendung von Acetanhydrid und katalytischen Mengen Perchlorsäure acetyliert. Anschließend erfolgt die Zugabe der

119

B. Liebe, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 629-631.

120

S. Keil, *Dissertation* **2000**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

33%iger HBr-Lösung, die zum Galactosylbromid **6** führt. Das Bromid wird nach Lemieux¹²¹ in basischem Milieu mit Zink quantitativ zum Galactal **7** reduziert. Bei dieser Reaktionssequenz ist die mäßige Ausbeute von 35-55% des letzten Schrittes, der Azidonitratisierung, für die Gesamtausbeute ein limitierender Faktor. Das Azidonitrat **8** kann weiter in das instabile Galactosylbromid **9** überführt werden, das aufgrund seiner Labilität direkt in der Glycosylierungsreaktion umgesetzt werden soll. Da dieses Bromid in der 2-Position einen Substituenten trägt, der keinen Nachbargruppeneffekt ausübt, sollte man ein Gemisch von zwei Anomeren erhalten. Das in der Literatur beschriebene Verfahren zur Gewinnung von Thioglycosiden aus Bromiden,¹²² liefert für das eingesetzte Ankersystem, 4-Mercaptobuttersäuremethylester **10** kein erwartetes Produkt, so dass ein anderer Weg für die Ankereinführung eingeschlagen werden muss (Abb. 3.3).

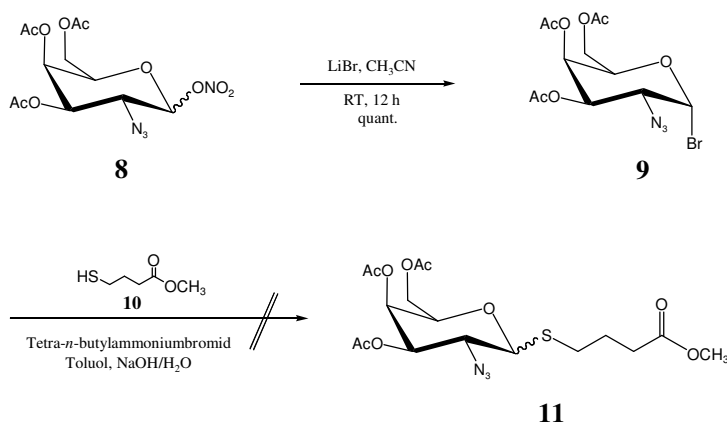


Abb. 3.3: Der Versuch zur Darstellung des Thioglycosids **11**

Eine Möglichkeit stellt die Synthese über ein Azidogalactosetrichloracetimidat dar. Die von Schmidt beschriebene Anwendung des Trichloracetimidat-Verfahrens für 2-Azidogalactose-Derivate ist eine interessante Alternative zu den zahlreichen Varianten der klassischen Koenigs-Knorr-Methoden.¹²³⁻¹²⁵ Will man an anomerer Position des Azidonitrates ein Trichloracetimidat einführen, muss man das Nitrat zunächst hydrolysieren. Dies kann unter Verwendung von Natriumnitrit in wässrigem

¹²¹ R. U. Lemieux, R. M. Ratcliffe, *Can. J. Chem.* **1979**, 57, 1244-1251.

¹²² J. Bogusiak, W. Szeja, *Pol. J. Chem.* **1985**, 58, 293-298.

¹²³ G. Wulff, G. Röhle, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1974**, 13, 157-170.

¹²⁴ G. Grundler, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1984, 1826-1847.

¹²⁵ H. Paulsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1982**, 21, 155-173.

Dioxan bei 80 °C,^{124,126} Thiophenol und *N,N*-Diisopropylamin in Acetonitril¹²⁷ oder mit Hydrazinacetat in *N,N*-Dimethylformamid¹²⁸ bewerkstelligt werden. Für die selektive Hydrolyse an 1-Position wird in dieser Arbeit das dritte Reagenz gewählt. Das entstandene Halbacetal **12** wird mit Trichloracetonitril umgesetzt. Je nach Wahl der verwendeten Base soll die Reaktion zu verschiedenen Isomerengemischen führen. Mit Natriumhydrid erhält man nur α -Imidat, während man bei der Reaktion mit Kaliumcarbonat als Katalysator ein Imidatgemisch ($\alpha:\beta = 1:4$) isoliert.

Für die eigenen Synthesen wird die schwächere Base Kaliumcarbonat bevorzugt, weil das im Überschuss gebildete β -Anomer in der nächste Stufe schnell und selektiver mit 4-Mercaptobuttersäuremethylester⁴⁴ **10** und Bortrifluorid-Diethylether-Komplex zu einem höheren Überschuss am gewünschten Thioglycosid **11** ($\alpha:\beta = 3:1$) reagiert. Eine so hohe Selektivität kann für das in einer Reaktion mit NaH hochselektiv gebildete α -Trichloracetimidat nicht erreicht werden (Abb. 3.4).

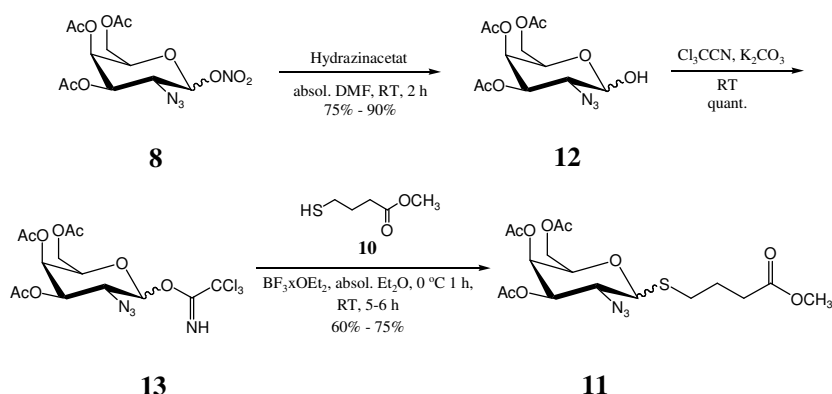


Abb. 3.4: Die Synthese des Thioglycosids **11**

Die Einführung der weiteren Schutzgruppen erfolgt nach häufig angewendeten Methoden.⁵⁰⁻⁵² Wie schon bei dem vergleichbaren Glucosederivat⁴⁴ werden die Acetylgruppen nach Zemplén¹²⁹ abgespalten. Das so erhaltene Derivat **14** wird durch säurekatalysierte Umacetalisierung mit *p*-Methoxybenzylidenacetal¹³⁰ in

44

C. Kallus, *Dissertation* **1998**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

50

U. Hüniger, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

51

U. Hüniger, J. Ohnsmann, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 1104-1107.

124

G. Grundler, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1984, 1826-1847.

126

J. Honeyman, J. W. W. Morgan, *J. Chem. Soc.* **1955**, 3660-3674.

127

F. Gauffeny, A. Marra, L. K. Shi Shun, P. Sinaÿ, C. Tabeur, *Carbohydr. Res.* **1991**, 219, 237-240.

128

T. Toyokuni, S. Cai, B. Dean, *Synthesis* **1992**, 12, 1236.

129

G. Zemplén, A. Kunz, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1923**, 56, 1705-1710.

130

H. G. Flitscher, *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, 2, 307-308.

das gewünschte Produkt überführt. Die beiden Anomere **15** und **16** können durch flash-säulenchromatographische Reinigung getrennt und in hohen Ausbeuten isoliert werden (Abb. 3.5).

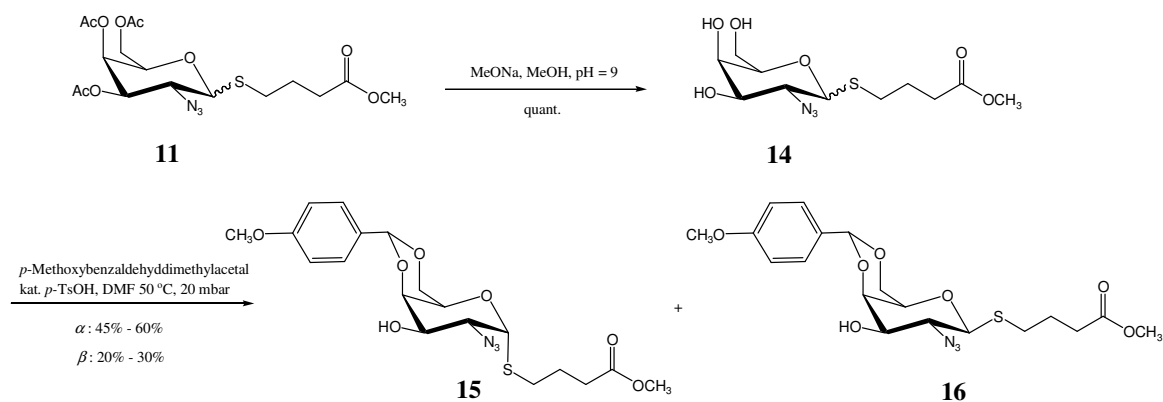


Abb. 3.5: Die Synthese der *p*-methoxybenzylidengeschützten Thioglycoside **15** und **16**

Die isolierten Isomere werden in parallel durchgeführten Synthesen zur Einführung des *tert*-Butyldimethylsilyl ethers eingesetzt.¹³¹ Man erhält die silylgeschützten Produkte **17** und **18** ausgehend von **15** und **16** durch Reaktion mit Trifluormethansulfonsäure-*tert*-butyldimethylsilylester und Pyridin in *N,N*-Dimethylformamid. Bereits nach wenigen Minuten ist der Umsatz vollständig und die beiden Produkte können in 99%iger erhalten werden (Abb. 3.6).

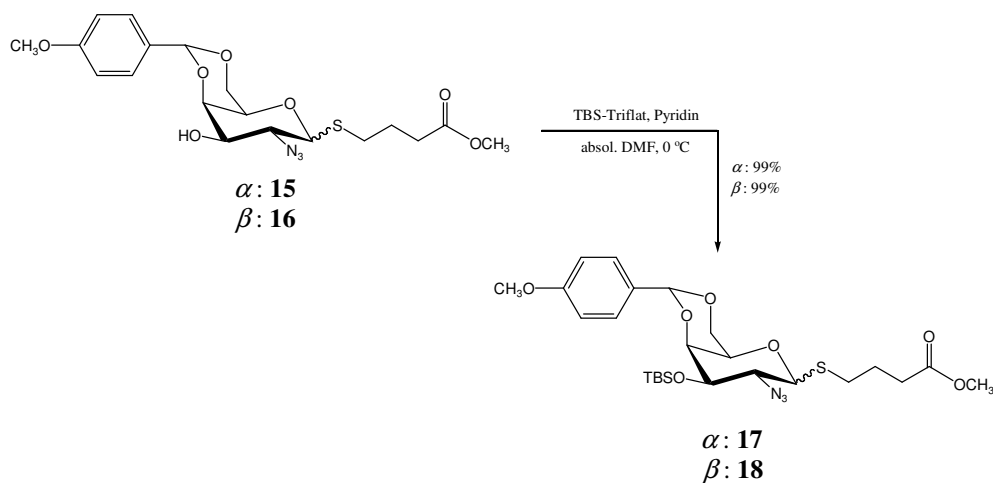


Abb. 3.6: Einführung des TBS-Ethers in die 3-Position

Die weitere Synthese des Scaffolds **1** wird lediglich mit dem α -Anomer **17** durchgeführt. Um die Aldehydfunktion in der 6-Position zu erhalten, die für die reduktive Aminierung nötig ist, wird das Acetal unter reduktiven Bedingungen mit Natriumcyanoborhydrid und Trimethylsilylchlorid regioselektiv geöffnet.^{132,133} Die sterisch anspruchsvolle Lewis-Säure steuert die Reaktion in Richtung des höher substituierten *p*-Methoxybenzylethers **19**. Dabei bildet sich entgegen den Literaturangaben¹³² zu 10-20% auch der unerwünschte 6-*O*-*p*-Methoxybenzylether **20**. Dies wurde schon von Kallus et. al. beobachtet⁴⁴ und steht nicht in Einklang mit Literaturangaben. Man trennt das gewünschte Produkt **19** (ca. 60%) von seinem Nebenprodukt **20** (ca. 20%) durch Säulenchromatographie. Die Reproduzierbarkeit dieser Reaktion erweist sich als schwierig, was vermutlich vor allem auf die schwankende Qualität des stark hygroskopischen Natriumcyanoborhydrids zurückzuführen ist (Abb. 3.7).

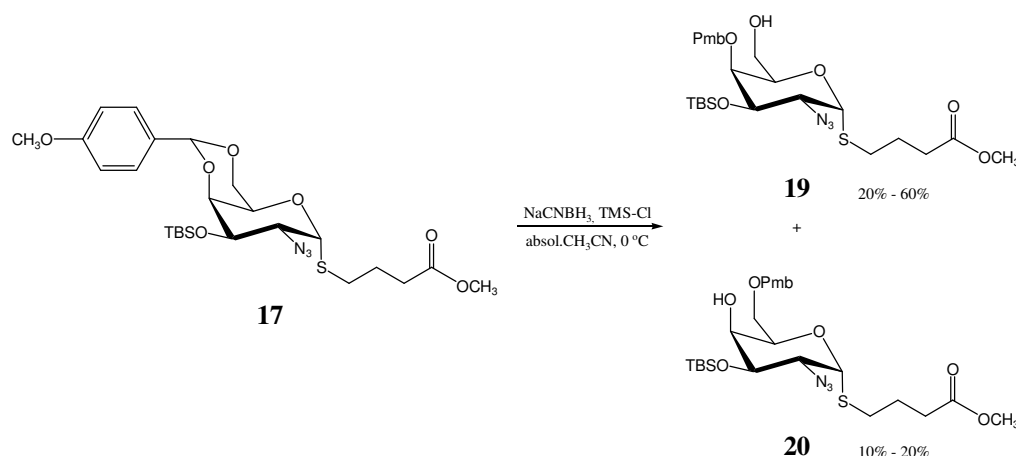


Abb. 3.7: Regioselective Acetalöffnung

Nach der selektiven Öffnung ist die primäre Alkohol-Gruppe in 6-Position für die Oxidation zugänglich. Unter den vielen milden Oxidationsmöglichkeiten stellt die Swern-Methode¹³⁴ gegenüber toxischen und umweltbelastenden Chromreagenzien wie Pyridiniumchlorochromat (PCC) und Pyridiniumdichromat (PDC) eine wertvolle Alternative dar. Die Synthese des Aldehyds **21** verläuft auf diesem Weg mit sehr hoher Ausbeute (Abb. 3.8).

44

C. Kallus, *Dissertation* **1998**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

132

B. Samuelsson, R. Johansson, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 201-202.

133

B. Becker, J. Thiem, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, 5, 2339-2350.

134

K. Omura, D. Swern, *Tetrahedron* **1978**, 34, 1651-1660.

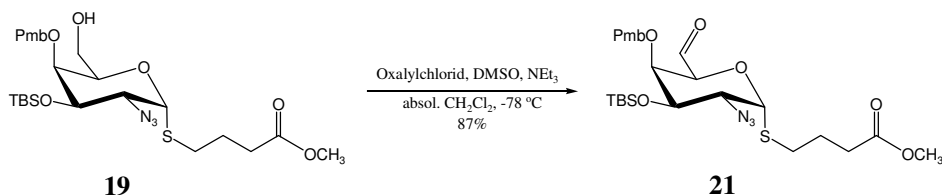


Abb. 3.8: Swern-Oxidation

Es gibt zwei allgemein verwendete Methoden der reduktiven Aminierung, die sich in der Art des Reduktionsmittels unterscheiden. Zum einen kann die Hydrierung unter Katalyse durch Platin, Palladium oder Nickel mit Wasserstoff durchgeführt werden,¹³⁵ zum anderen können reduzierende Reagenzien, wie Natriumcyanoborhydrid¹³⁶ oder Natriumtriacetoxyborhydrid¹³⁷ eingesetzt werden. In dieser Arbeit wird für die Synthese des Amins das weniger toxische Triacetoxyderivat des Borhydrides gewählt. Nach der erfolgreichen Aldehydbildung werden verschiedene Testreaktionen durchgeführt. Die ersten Umsetzungen werden mit primären Aminen, wie Benzylamin und *p*-Methoxybenzylamin in absol. Acetonitril realisiert. Die gewünschten Produkte **22** und **23** werden nach säulenchromatographischer Reinigung in mäßigen bis guten Ausbeuten erhalten (Abb. 3.9).

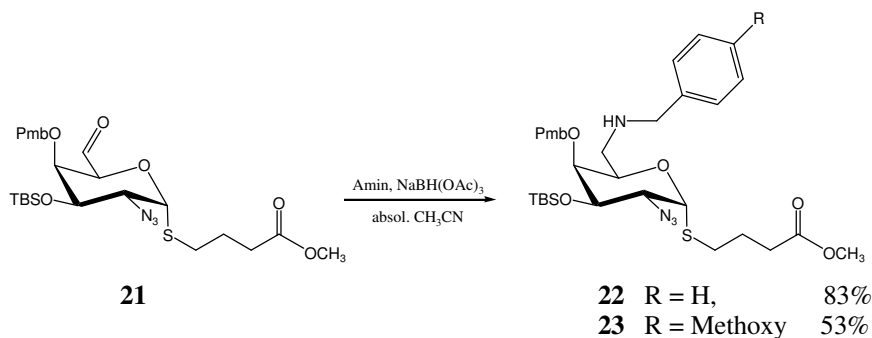


Abb. 3.9: Testreaktionen für die reduktive Aminierung

Danach soll untersucht werden, ob es möglich ist, eine primäre Aminofunktion in die 6-Position des Monosaccharids einzubauen. Die dabei am häufigsten beobachtete Nebenreaktion ist die Bildung von dialkylierten Produkten. Der Einsatz von

¹³⁵ W. S. Emerson, *Org. React.* **1948**, 4, 174-255.

¹³⁶ R. O. Hutchins, M. Hutchins, "Reduction of C=N to CHNH by Metal Hydrides", in N. B. Trost and Fleming I., "Comprehensive Organic Synthesis", Pergamon Press, New York, **1991**.

¹³⁷ A. F. Abdel-Magid, K. G. Carson, B. D. Harris, C. A. Maryanoff, R. D. Shah, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 3849-3862.

Ammoniumacetat in großen Überschuß soll diese Tendenz unterdrücken. Dazu wird zunächst der Aldehyd **21** in absol. Acetonitril gelöst und bei Raumtemperatur mit Ammoniumacetat versetzt. Die Zugabe von Natriumtriacetoxyborhydrid erfolgt danach unter Kühlung im Eisbad. Die dünnschichtchromatographische Kontrolle zeigt nach wenigen Minuten einen vollständigen Umsatz. Die massenspektrometrische Untersuchung und die NMR-Analyse weisen jedoch auf die Verbindung **24** hin (Abb. 3.10). Alternativ wird versucht, durch Einsatz von Natriumcyanoborhydrid,¹³⁸ und/oder anderen Lösungsmitteln die Dialkylierung zu verhindern. In allen Fällen wird als Hauptprodukt Verbindung **24** nachgewiesen. Dieses Ergebnis stimmt mit den Erfahrungen der Gruppe von Wittmann auf dem Gebiet der reduktiven Aminierung von Zuckern überein.¹³⁹

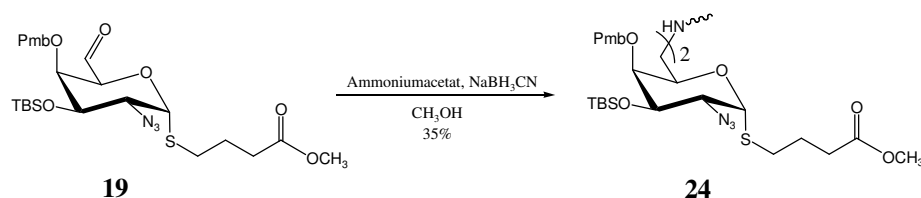


Abb. 3.10: Reduktive Aminierung mit Ammoniumacetat

Da auf diesem Weg das Ziel, die Synthese des vielversprechenden Scaffolds **1**, nicht erreicht werden kann, wird in der Folge angestrebt, die Herstellung der Galactosematrix genau an das Vorbild des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-glucose-Derivates anzulehnen (Abb. 3.11).

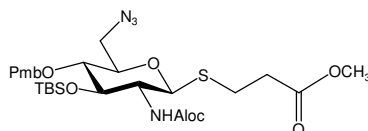


Abb. 3.11: 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-glucose-Derivat nach Hüniger und Ohnsmann⁵⁰⁻⁵²

⁵⁰ U. Hüniger, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

⁵¹ U. Hüniger, J. Ohnsmann, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1104-1107.

⁵² J. Ohnsmann, *Dissertation* **2006**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

¹³⁸ Z. Ma, R. F. Clark, A. Brazzale, S. Wang, M. J. Rupp, L. Li, G. Griesgraber, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4137-4156.

¹³⁹ nicht veröffentlichte Ergebnisse SFB 579 Kolloquium.

3.2 Das 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffold

3.2.1 Retrosynthetische Betrachtung

Für die Herstellung des zweiten Scaffolds soll eine andere Strategie gewählt werden. Die Modifizierung der Synthese soll nach der Einführung des Silylethers und direkt vor der Acetalöffnungsreaktion stattfinden. Nach der im vorherigen Kapitel beschriebenen Reaktion mit TBS-Triflat soll das Azid **17** und **18** reduziert werden. Die Vielzahl der literaturbekannten Methoden zur Azidreduktion verspricht einen Erfolg für diesen Ansatz. Das in der 2-Position erhaltene Amin soll problemlos durch Behandlung mit Chlorameisensäureallylester geschützt und das Acetal soll nach neu erarbeiteten Verfahren regioselektiv geöffnet werden. Der letzte Schritt für die Bildung der 6-Azidogalactose **2** soll analog zu der bei der Synthese von 6-Azidoglucose beschriebenen Methode durchgeführt werden (Abb. 3.12).⁵²

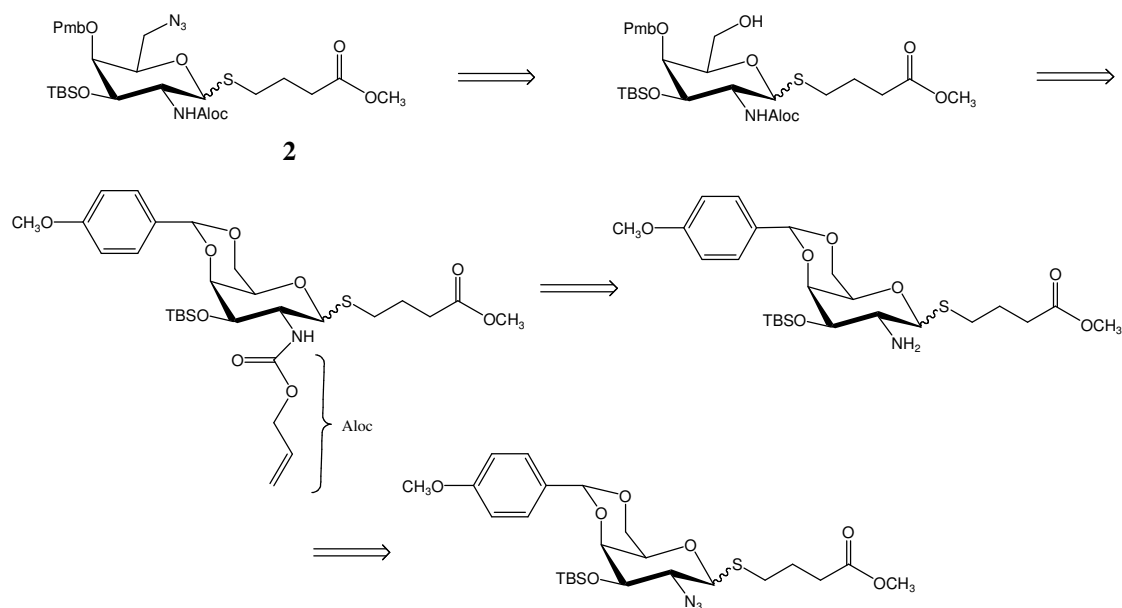


Abb. 3.12: Die retrosynthetische Betrachtung für das Templat **2**

3.2.2 Durchführung der Synthese

Obwohl für sämtliche Reaktionen an der festen Phase nur eines der Anomeren des Scaffolds verwendet werden soll, werden beide Anomere vollständig durch Reaktionen in Lösung aufgebaut. Zudem erhält man die Möglichkeit zwei verschiedene Scaffolds an die feste Phase zu binden. Man hat in diesem Fall zwar die doppelte Arbeit, erhält aber im Gegenzug dadurch mehr Substanzen, mit denen Testreaktionen durchgeführt werden können.

Die Azidreduktion kann auf verschiedenem Wege bewerkstelligt werden. Bei Verwendung von 1,3-Propandithiol als Reduktionsmittel – die Methode, die sich bei der Synthese von Monosacchariden und Oligosacchariden vielfach bewährt hat – bekommt man das gewünschte Produkt **25** und **26** erst nach mehreren Tagen und mit mäßigen Ausbeuten.¹⁴⁰ Auch die für das Glucose-Scaffold erfolgreiche *Staudinger*-Reduktion des Azids in 6-Position^{52,141,142} liefert kein zufriedenstellendes Resultat. Einen Durchbruch erzielt man erst mit dem *Bartra*-Verfahren.^{143,144} Unter Verwendung von *in situ* gebildeten $:\text{Sn}(\text{SPh})_3^-$ Spezies zur Reduktion erhält man mit hohen Reinheiten und Ausbeuten das freie Amin **25** oder **26**, das ohne weitere Reinigung direkt mit Chlorameisensäureallylester erfolgreich umgesetzt werden kann. Der von *Bartra* vorgeschlagene Mechanismus für die Reduktion des Azides ist in Abbildung 3.13 dargestellt.^{143,144}

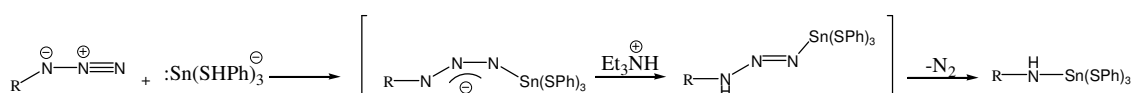


Abb. 3.13: Mechanismus der Azidreduktion

Die nach zwei Stufen isolierten Aloc-geschützten Derivate **27** und **28** werden mit bis zu 90% Ausbeute erhalten (Abb 3.14). Erwähnenswert ist, dass die Azidreduktion des β -Anomers **18** deutlich länger dauert als des α -Anomers **17**.

⁵² J. Ohnsmann, *Dissertation* **2006**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

¹⁴⁰ K. Oertel, *Dissertation* **1999**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

¹⁴¹ H. Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635-646.

¹⁴² H. Imamura, N. Ohtake, A. Shimizu, H. Sato, Y. Sugimoto, S. Sakuraba, R. Nagano, M. Nakano, S. Abe, C. Suzuki-Sato, I. Nishimura, H. Kojima, Y. Tsuchija, K. Yamada, T. Hashizume, H. Morishima, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 1969-1982.

¹⁴³ M. Bartra, F. Urpi, J. Vilarrasa, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 5941-5944.

¹⁴⁴ M. Bartra, P. Romea, F. Urpi, J. Vilarrasa, *Tetrahedron* **1990**, 46, 587-594.

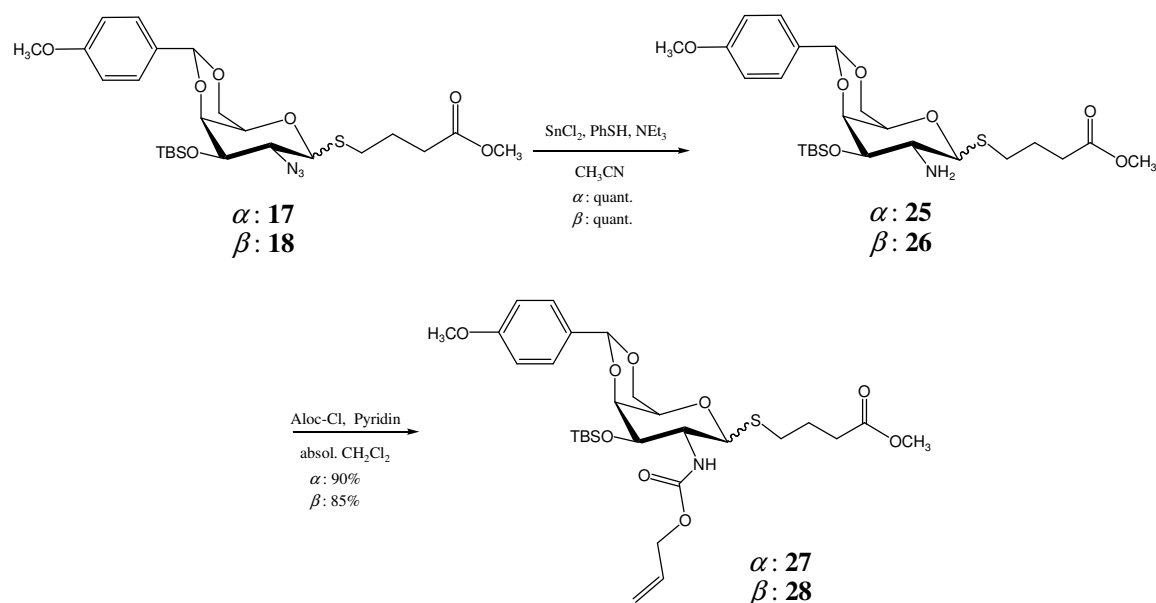


Abb. 3.14: Azidreduktion und Aloc-Einführung für die Derivate 17 und 18

Auf der Basis der in Kapitel 3.1.2 beschriebenen Ergebnisse soll die Acetalöffnung mit Natriumcyanoborhydrid und Chlortrimethylsilan folgen. Die Versuche zu dieser Reaktion zeigen ein ähnliches Reproduzierbarkeitsproblem wie für die Verbindung 17. So muss zur Herstellung der Produkte 29 und 30 ein abgewandeltes Verfahren angewendet werden. Sobald dünnschichtchromatographisch der Beginn der einsetzenden Zersetzung des Produktes detektiert wird, muß die Reaktion durch Gießen auf eine stark gerührte, kalte gesättigte NaHCO_3 -Lsg. abgebrochen werden. Zurückgewonnenes Edukt kann erneut zur Reaktion gebracht werden. Die Ausbeute und die Regioselektivität sind jedoch mäßig und in den meisten Fällen schwer reproduzierbar. Zudem entsteht bei längeren Reaktionszeiten oft ein komplexes Produktgemisch. Die Problematik dieser Reaktion soll durch eine alternative Methode umgangen werden. Eine Möglichkeit bietet der Einsatz anderer stark voluminöser Lewis-Säuren - wie Dichlorphenylboran – zusammen mit Triethylsilan als Hydrid-Überträger.¹⁴⁵ In Test-Ansätzen mit geringen Mengen erzielt man gute und vielversprechende Resultate. Bei der Optimierung des Molekularsiebes wird festgestellt, dass man höhere Ausbeuten mit kugelförmigem Molekularsieb (4 Å) anstelle von pulverförmigen Molekularsieb erreichen kann. Man erhält die 4-*O*-*p*-Methoxybenzylether 29 und 30 bis zu 80% Ausbeute als einzige Regioisomere.

¹⁴⁵

M. Sakagami, H. Hamana, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 5547-5551.

Leider erweist sich die Übertragung auf größere Ansätze als schwierig. Die Versuche hierzu zeigen, dass die maximale Menge der in die Reaktion einsetzbaren Ausgangsverbindung bei ca. 1.5 g liegt. Da die eingesetzten Mengen des alternativen Benzylidenacetals in von Groh et al. durchgeführten Versuchen¹⁴⁶ keine Rolle spielten, sind die Probleme bei dieser Funktionalisierung auf höhere Säureempfindlichkeit und Reaktivität der *p*-Methoxybenzylidenderivate **27** und **28** zurückzuführen. Diese Reaktion lässt sich für beide Anomere problemlos durchführen, und man erhält nach säulenchromatographischer Reinigung die Produkte **29** und **30** in 81%iger bzw. 72%iger Ausbeute (Abb. 3.15).

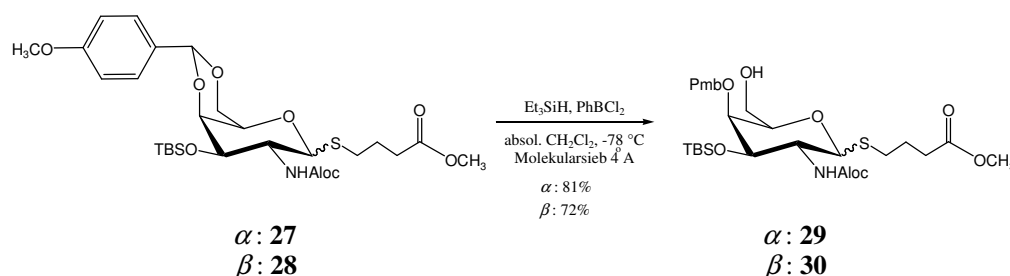


Abb. 3.15: Regioselective Acetalöffnung

Als nächstes soll die freie primäre Hydroxylgruppe in eine Azidfunktion überführt werden. Bei der Synthese des Diaminoglucose-Scaffolds⁵² war das Problem der zuverlässigen Einführung der letzten orthogonalen Schutzgruppe in die 6-Position nicht vollständig gelöst worden. Es wird daher zunächst geprüft, ob die von Ohnsmann zeitgleich untersuchten Reaktionsbedingungen auch für dieses Scaffold geeignet sind. Es wäre durchaus denkbar, dass bereits die geringen Abwandlungen in der Struktur des Gerüst-Moleküls eine positive Auswirkung auf die Einführbarkeit der Azidogruppe haben könnten.

Zuerst wird das α -Anomer **29** näher untersucht und sowohl Substitutionsreaktionen vom Typ S_N2 als auch eine Reaktion unter Mitsunobu-Bedingungen¹⁴⁷ geprüft. Die zweistufige Reaktion unter Einsatz der Mesyl-Gruppe als Abgangsgruppe und Natriumazid liefert kein gewünschtes Produkt. Zwar wird das Mesylat nach 30 Minuten

⁵² J. Ohnsmann, *Dissertation* **2006**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
¹⁴⁵ M. Sakagami, H. Hamana, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5547-5551.
¹⁴⁶ K. Groh, *laufende Dissertation* Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
¹⁴⁷ M. Wada, O. Mitsunobu, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 1279-1282.

gebildet, die Substitution findet jedoch nicht statt. Auch die Durchführung der Reaktion unter Erwärmen auf 80 °C scheitert. Da in unserer Arbeitsgruppe ein Mikrowellen-Gerät zur Verfügung steht, bei dem sich durch Bestrahlung die Energie direkt und effizient auf die Moleküle übertragen lässt, werden Mikrowellen-Versuche zur Azideinführung unter Verwendung dieses Gerätes unternommen. Diese Methode zum Erhitzen von Lösungen und Beschleunigen chemischer Reaktionen durch Mikrowellenenergie ist in den letzteren Jahren populär geworden.¹⁴⁸ Die ersten Experimente in kleinem Maßstab, im 8 mL Gefäß und 4 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid als Lösungsmittel, liefern die Azidoverbindung mit mäßigen Ausbeuten. Es werden folgende Parameter eingestellt: $T_{\text{max}} = 100\text{ °C}$, $p_{\text{max}} = 5\text{ bar}$, $P_{\text{max}} = 100\text{ W}$, $t = 10\text{ bis }15\text{ Minuten}$, Rühren und kontinuierende Luftkühlung. Neben dem gewünschten Produkt **31** kann man Zersetzungsprodukte nachweisen, deren Struktur aufgrund zu geringer Menge nicht aufgeklärt werden kann. Die Zugabe des Tetra-*n*-butylammoniumhydrogensulfats als Phasentransferkatalysator¹⁴⁹ verbesserte dieses Ergebnis nicht (Abb. 3.16).

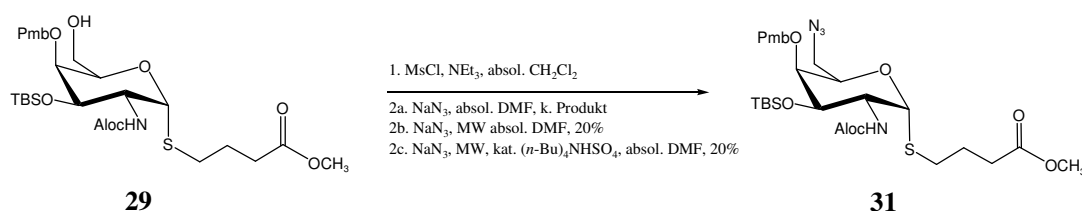


Abb. 3.16: Azideinführung über eine S_N2 -Reaktion

Nach der *Mitsunobu*-Reaktion erhält man das 6-azidofunktionalisierte α -Monosaccharid **31** in wechselnden Ausbeuten abhängig von der gewählten Azidquelle. Zuerst wird die explosive Stickstoffwasserstoffsäure eingesetzt.¹⁵⁰ Die Säure wird frisch hergestellt und als 1 M Toluol-Lösung ins Reaktionsgemisch bei 0 °C zugetropft. Die dünnschichtchromatographische Kontrolle zeigt vollständigen Umsatz. Beim Arbeiten mit Säureaziden, wie Benzazid (**32**)¹⁵¹⁻¹⁵⁴ und Nicotinoylazid (**33**)¹⁵⁵ wird das Edukt

¹⁴⁸ C. O. Kappe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 6250-6284.

¹⁴⁹ R. Hirschmann, L. Abrous, P. A. Jokiel, S. R. Friedrich, J. Hynes, A. B. Smith, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 280-302.

¹⁵⁰ C. H. Wong, V. Bodmer-Narkevitch, O. Plettenburg, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 4559-4564.

¹⁵¹ H. Kunz, P. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 1982, 1245-1260.

¹⁵² G. K. Surya-Prakash, P. S. Iyer, M. Arvanagh, G. A. Olah, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 3358-3359.

¹⁵³ H. Kunz, P. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20, 2123-2124.

¹⁵⁴ P. Schmidt, *Dissertation* **1981**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

¹⁵⁵ G. Papeo, H. Posterl, P. Vianello, M. Varasi, *Synthesis* **2004**, 17, 2886-2892.

ebenfalls vollständig in das 6-Azid überführt. Das Abtrennen von Nebenprodukten, die aus Diisopropylazodicarboxylat und Triphenylphosphin während der Reaktion entstehen, bereitet in allen Fällen Probleme, wobei die besten Resultate bei der Verwendung des Nicotinoylazids erhalten werden. In Abbildung 3.17 und Tabelle 3.1 sind die Ergebnisse zusammengefasst.

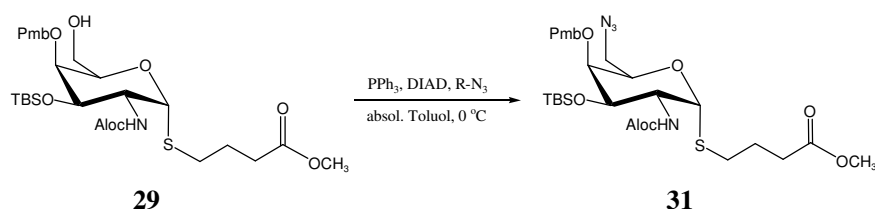


Abb. 3.17: Azideinführung unter *Mitsunobu*-Bedingungen

32 33	R	Ausb. [%]
	H	40
	Benzoyl	52
	Nicotinoyl	71

Tabelle 3.1: Ergebnisse zu Azideinführung unter *Mitsunobu*-Bedingungen

Damit kann die Synthese des orthogonal geschützten Scaffolds **2** abgeschlossen werden. Um es an die feste Phase anbinden zu können, muss der Methylester selektiv verseift werden. Man löst dazu das Monosaccharid **31** in einem Tetrahydrofuran/Wasser-Gemisch und gibt Lithiumhydroxid als Base hinzu (Abb. 3.18). Die Reaktion verläuft quantitativ und die isolierte Carbonsäure **34** kann ohne weitere Reinigung zur Reaktion an der festen Phase gebracht werden.

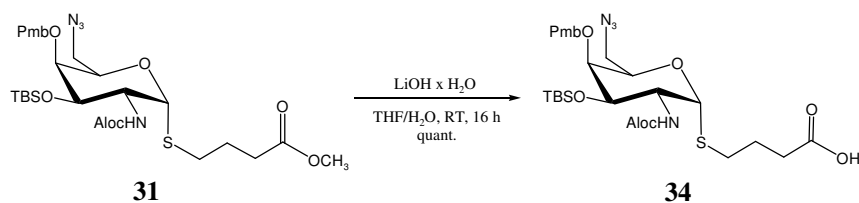


Abb. 3.18: Die Esterverseifung mit Lithiumhydroxid

Die Versuche zu Azideinführung werden parallel für das β -Anomer **30** durchgeführt. Durch die Wahl der bereits genannten Umsetzungsmethoden lässt sich das Azid sowohl in einer S_N2 - als auch in einer *Mitsunobu*-Reaktion einführen. Wenn man Stickstoffwasserstoffsäure, Benzazid oder Nikotinoylazid einsetzt, kann man das 6-Azido-Derivat **35** in bis zu 80%iger Ausbeuten isolieren. Bei der dünnschichtchromatographischen Kontrolle beobachtet man vollständigen Umsatz, jedoch zwei Produkte. Nach der Säulenchromatographie wird eine Fraktion als das gewünschte Produkt identifiziert. Die genaue Analyse der zweiten Fraktion war aufgrund zu geringer Menge nicht möglich. Die Verbindung **35** liegt in der Lösung als Rotamerengemisch (1:1) vor (Abb. 3.19). Zu ^1H - und ^{13}C -NMR Spektren beobachtet man die Verdopplung der einzelnen Signale.

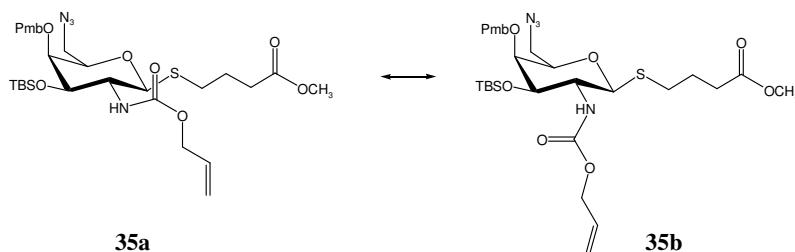


Abb. 3.19: Postuliertes Rotamerengemisch

Diese Verhaltenweise kann für das α -Anomer **31** nicht nachgewiesen werden, dafür aber bei der Synthese der analogen Glucosematrix, die als β -Anomer mit 4-Mercaptobuttersäure als Anker versehen wurde.⁵⁰ Wenn man die nucleophile Substitution unter Mikrowellenbestrahlung ($T_{\text{max}} = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$, $p_{\text{max}} = 5\text{ bar}$, $P_{\text{max}} = 100\text{ W}$, $t = 10\text{ bis }15\text{ Minuten}$, Rühren und kontinuierende Luftkühlung) durchführt, beobachtet man überraschenderweise ein neues Phänomen. Dabei wird das gewünschte Produkt **35** nur als Nebenprodukt gebildet. Die massenspektrometrische Untersuchung deutet darauf hin, dass hauptsächlich ein Produkt entsteht, bei dem ein Wassermolekül abgespalten wird. Zuerst wird vermutet, dass es sich um das Monosaccharid **36** (Abb. 3.20) handelt, das eine exocyclische Doppelbindung trägt.

⁵⁰

U. Hüniger, *Dissertation 2002*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

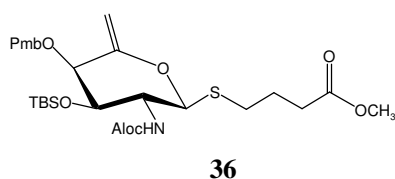


Abb. 3.20: Das vermutete Eliminierungsprodukt

Verbindungen von diesem Typ sind literaturbekannt und bereits 1928 von *Helferich* beschrieben worden.^{156,157} Diese 6-Desoxy-hex-5-enopyranoside sind wichtige Intermediate in der Chemie von Kohlenhydraten (Abb. 3.21).¹⁵⁸ Man setzt sie bei der Synthese von Carbocyclen ein, die über *Ferrier* bzw. andere Umlagerungen entstehen können.¹⁵⁹⁻¹⁶¹

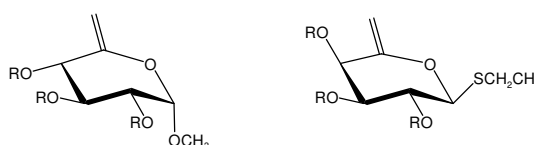


Abb. 3.21: 6-Desoxyhex-5-enopyranoside^{158,162}

Durch magnetische Kernresonanzspektroskopie zur Strukturaufklärung, wie ¹H-¹H-COSY, DEPT, HSQC und HMBC, kann die Bildung des Produktes **36** ausgeschlossen werden. Als Hauptreaktion wird eine bereits in der Literatur beschriebene Verschiebung der Thiogruppe erkannt^{163,164}, bei der die thioglycosidische Funktion in die 6-Position wandert, unter gleichzeitiger Abspaltung des Mesylats und Bildung des Galacto-hex-1-enitolderivates **37** (Abb. 3.22).

¹⁵⁶ B. Helferich, E. Himmen, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1928**, 61, 1825-1835.

¹⁵⁷ B. Helferich, E. Himmen, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, 62, 2136-2141.

¹⁵⁸ P. M. Enright, K. M. O'Boyle, P. V. Murphy, *Org. Lett.* **2000**, 2, 3929-3932.

¹⁵⁹ R. J. Ferrier, S. Middleton, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 2779-2831.

¹⁶⁰ P. Dalko, P. Sinaÿ, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 773-777.

¹⁶¹ M. Sollogoub, J. M. Mallet, P. Sinaÿ, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 362-364.

¹⁶² V. S. Borodkin, M. A. J. Ferguson, Nikolaev, A. V., *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 857-862.

¹⁶³ I. Lundt, *Acta Chem. Scand.* **1981**, B35, 637-642.

¹⁶⁴ E. V. E. Roberts, J. C. P. Schwarz, C. A. McNab, *Carbohydr. Res.* **1968**, 7, 311-319.

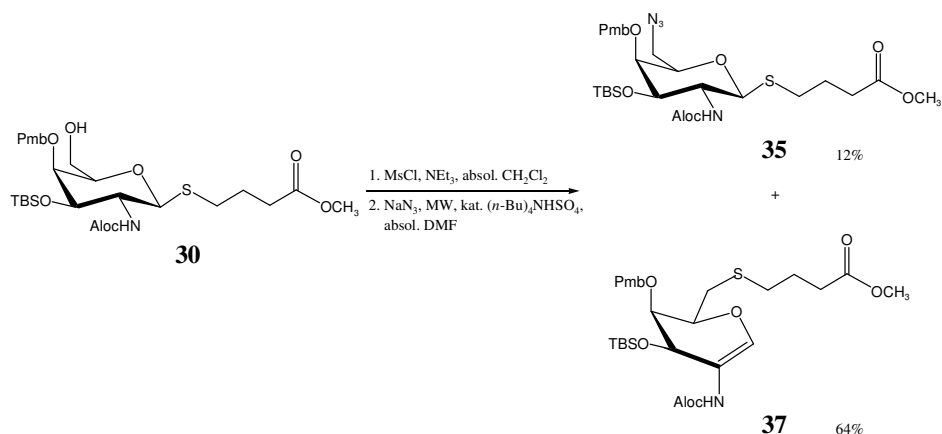


Abb. 3.22: Die mikrowellenunterstützte S_N2 -Reaktion

Die genaueren Untersuchungen zu dieser Reaktion werden im nächsten Kapitel ausgeführt.

Die Synthese der β -Form des Scaffolds **2** wird damit abgeschlossen. Da dieses Monosaccharid im Vergleich zur α -Form nur in geringer Menge synthetisiert werden kann, ausgehend von D-Galactose (**5**), erfolgt die Anbindung an die feste Phase und die damit verbundene Funktionalisierungen nur mit dem α -Anomer **34** der Galactosetemplat **2**.

3.2.3 Synthese von Hex-1-enitol-Derivaten

Die Bildung von 1,2-ungesättigten Monosacchariden und deren allylische Umlagerung sind zum ersten Mal von *Fischer* 1914 beschrieben worden.¹⁶⁵ Seine modifizierte Methode wurde bereits in Kapitel 3.1.2 bei der Synthese des Galactals dargestellt. In meisten Fällen führt diese Eliminierungsreaktion jedoch zu Produkten, die in der 2-Position keinen Substituenten tragen. *Maurer* und *Mahn* berichteten 1927 über einen neuen 1,2-ungesättigten Anhydrosucker, der eine 2-*O*-Acetyl-Gruppe trägt.¹⁶⁶ Unabhängig von den Reaktionsbedingungen diente zur Gewinnung von Verbindungen dieser Klasse als Ausgangsverbindung immer ein Halogenid.^{167,168} Die genauere Untersuchung einer Reaktion von 2-Acetamido-2-desoxy-D-mannose mit Essigsäureisopropylester in Gegenwart von *p*-Toluensulfonsäure zeigte, dass in einem

¹⁶⁵ E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1914**, 47, 196-210.

¹⁶⁶ K. Maurer, H. Mahn, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1927**, 60, 1316-1320.

¹⁶⁷ H. Paulsen, J. Thiem, *Chem. Ber.* **1973**, 106, 132-142.

¹⁶⁸ R. H. Shah, O. P. Bahl, *Carbohydr. Res.* **1979**, 74, 105-116.

Produktgemisch unter anderem ein 2-*N*-Acetylacetamido-hex-1-enitol-Derivat nachgewiesen werden konnte.¹⁶⁹ Weitere Experimente beweisen, dass ein direkter Zugang zu der monoacetylierten ungesättigten 2-*N*-Verbindungen aus Halogeniden¹⁷⁰ bzw. aus intermediär gebildeten Glycosylselenoxiden¹⁷¹ ebenfalls möglich ist (Abb. 3.23).

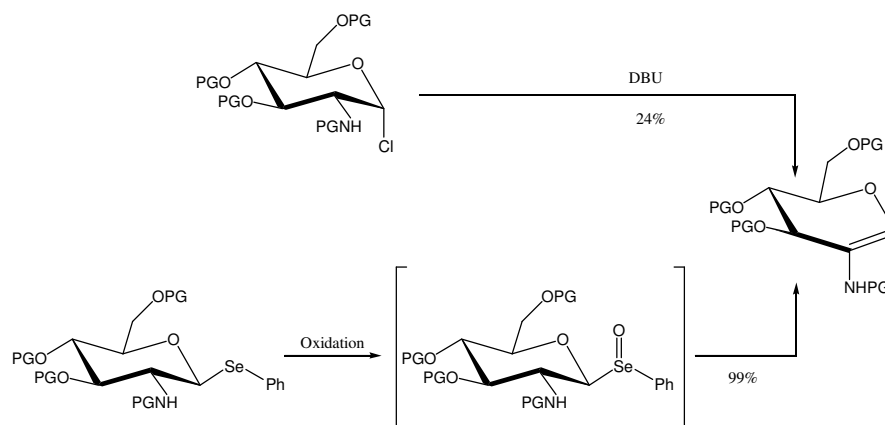


Abb. 3.23: Syntheschema für *N*-geschützte-Glucos-hex-1-enitol-Derivate

In diesem Teil der Arbeit werden nun die ersten Experimente zur mikrowellenunterstützten Synthese von Galacto- bzw. Gluco-hex-1-enitol-Derivaten vorgestellt. Es muss zunächst geprüft werden, ob das im Kapitel 3.2.3 beschriebene Ergebnis auch für einfachere Derivate zu finden ist. Für die Tests wird die Verbindung **38** gewählt,⁴⁶ bei der zunächst der TBDPS-Ether¹⁷² mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) gespalten wird (Abb. 3.24).^{173,174}

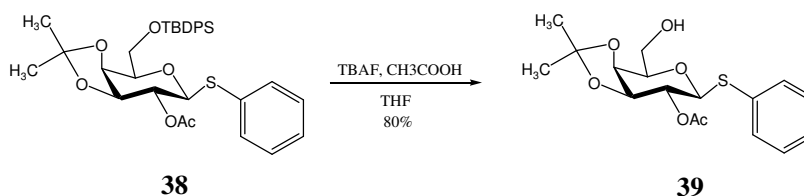


Abb. 3.24: Synthese des in der 6-Position deblockierten Galactosebausteins **39**

- ⁴⁶ T. Maidhof, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
¹⁶⁹ N. Pravdic, H. G. Fletscher, Jr., *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 1806-1810.
¹⁷⁰ N. Pravdic, I. Franjic-Mihalic, B. Danilov, *Carbohydr. Res.* **1975**, 45, 302-306.
¹⁷¹ D. J. Chambers, G. R. Evans, A. J. Fairbanks, *Tetrahedron* **2004**, 60, 8411-8419.
¹⁷² S. Hannesian, P. Levalle, *Can. J. Chem.* **1975**, 53, 2975-2977.
¹⁷³ E. J. Corey, A. Venkateswarly, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 6190-6191.
¹⁷⁴ L. Lalonde, T. H. Chan, *Synthesis* **1985**, 817-845.

Anschließend wird die freie 6-OH Funktion mit Methansulfonsäurechlorid und Triethylamin in absol. Dichlormethan versetzt. Das Mesylat bildet sich quantitativ und kann problemlos weiter umgesetzt werden. Zur Kontrolle werden gleichzeitig drei verschiedene Ansätze durchgeführt. Für einen werden genau die Reaktionsbedingungen übernommen, die bei der Synthese des Produktes **35** angewandt wurden. Bei dem zweiten wird auf die Zugabe von Natriumazid verzichtet und bei dem letzten wird nur das Rohmesylat in absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Alle drei Proben werden in das Mikrowellengerät gestellt und 10 Minuten unter kontinuierlicher Luftkühlung bestrahlt. Die maximale eingestellte Leistung beträgt 100 W, die maximale Temperatur 100 °C und der Druck $p_{\max} = 5$ bar. Während der Reaktion färben sich die Lösungen tief braun. In allen Fällen wird ein vollständiger Umsatz verzeichnet. Nach der Aufarbeitung werden jeweils zwei Fraktionen isoliert, die analysiert werden. Alle drei Reaktionen liefern das gewünschte Produkt **40** neben der demesylierten Verbindung **39**. Für die S_N2 -Reaktion mit NaN_3 kann man keine 6-Azidogalactose nachweisen (Abb. 3.25). Die erhaltenen Ergebnisse sind der Tabelle 3.2 zu entnehmen.

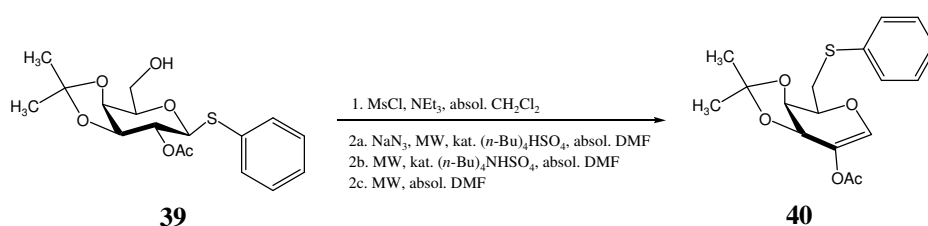


Abb. 3.25: Die mikrowellenunterstützte Synthese des Galacto-hex-1-enitols **40**

	Ausb. 40 [%]	Ausb. 39 [%]
2a	12	15
2b	16	9
2c	23	19

Tabelle 3.2: Ergebnisse zur mikrowellenunterstützten Synthese des Galacto-hex-1-enitols **40**

Um die Methode auf andere Zuckerderivate übertragen zu können, sollen zusätzliche Experimente gemacht werden. Aus Zeitgründen wurden lediglich Versuche mit dem Glucosegerüst **41** (Abb. 3.26) vorgenommen. Es zeigte sich jedoch, dass nach der erfolgreichen Mesyleinführung weder das Gluco-hex-1-enitol **42** noch das Edukt **41**

isoliert werden konnten. Es muss dabei berücksichtigt werden, dass es sich zwar um die gleiche wandernde Thiophenylgruppe handelt, die 2-Position aber mit einem Benzylether geschützt ist, der nicht nachbargruppenaktiv ist. Dieser ist jedoch wahrscheinlich die Voraussetzung für die erfolgreiche Reaktion.

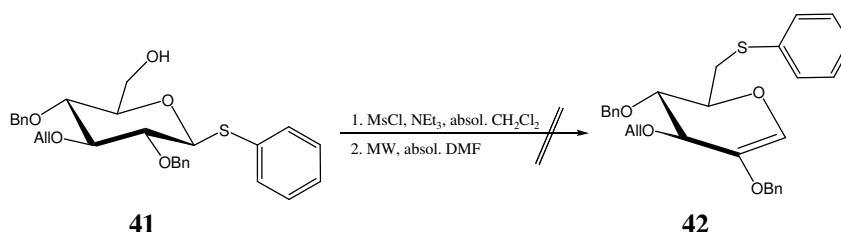


Abb. 3.26: Versuch zur mikrowellenunterstützten Synthese des Gluco-hex-1-enitols **42**

3.3 Kombinatorischer Einsatz des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds

Mit der Esterverseifung (Abb. 3.18) wird die Synthese des Scaffolds **2** mit Erfolg abgeschlossen. Jetzt kann die freie Carbonsäure in einer Amidkupplungsreaktion für die Anbindung an den polymeren Träger angebunden werden. Es stehen dabei zwei potentielle aminofunktionalisierte Harze zur Verfügung, die mit dem gleichen Linker - dem *Rink*-Amid Linker¹⁷⁵ - ausgestattet sind (Abb. 3.27).

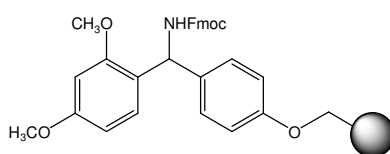


Abb. 3.27: Festphasengebundener *Rink*-Amid Linker

Zum einen kann Tentagel[®]-NH₂, ein Polymer mit dem Polystyrol-Rückgrat, auf das Polyethylenglycol-Ketten aufgepfropft sind,¹⁷⁶ und zum anderen das *Merrifield*-Harz verwendet werden. Vorteilhaft für die Arbeit mit Tentagel[®] ist ein erweitertes Spektrum an Lösungsmitteln, das verwendet werden kann. Mit diesem Polymer können

¹⁷⁵ H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 3787-3790.

¹⁷⁶ E. Bayer, W. Rapp, in W. Voelter, E. Bayer, Y. V. Ochinnikov and V. T. Ivanov, "*Chemistry of Peptides and Proteins*", Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York, **1986**, 3. Auflage.

Reaktionen auch in Methanol oder sogar Wasser durchgeführt werden, während für Polystyrol nur aprotische Lösungsmittel (z. B. Toluol, Dichlormethan, Dioxan, Tetrahydrofuran oder *N,N*-Dimethylformamid) verwendbar sind. Auch die Zugänglichkeit der angebundenen Moleküle für die Reagenzien wird aufgrund der Aminofunktionalisierung am Ende dieser Polyethylenglycol-Ketten erhöht. Von Nachteil ist dagegen die niedrige Funktionalisierungsdichte des Tentagel[®]-Harz (von 0.2 bis 0.5 mmol/g), verglichen mit der für das Aminomethylpolystyrol-Harz (AMPS-Harz, bis zu 1.6 mmol/g). Außerdem erschwert die Klebrigkeit der beladenen Kügelchen des Tentagels[®] das Arbeiten mit kleinen Mengen. Ein anderer Grund, dem AMPS-Träger den Vorzug zu geben, ist mit einer anderen physikalischen Eigenschaft des Tentagels[®] verbunden. Es ist hygroskopisch und das Befreien von anhaftendem Wasser hat sich in den von *Kallus* durchgeführten Experimenten als schwierig erwiesen.⁴⁴ Dies hat negative Auswirkungen auf die Reaktionen, die unter absolut wasserfreien Bedingungen durchgeführt werden müssen. Hierzu zählt unter anderem die palladiumkatalysierte Aloc-Abspaltung.

Bevor die Verknüpfungsreaktion bewerkstelligt werden kann, muss die Fmoc-Schutzgruppe des *Rink* Amid-Linkers im basischen Milieu (Piperidin, Morpholin) abgespalten werden.^{177,178} Für die Kupplung wird folgender Satz von Kupplungsreagenzien verwendet: HBTU,¹⁷⁹ HOBt,¹⁸⁰ und *N,N*-Diisopropylethylamin (Hünigs Base, DIPEA) (Abb. 3.28).

⁴⁴ C. Kallus, *Dissertation* **1998**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

¹⁷⁷ Notes Synthesis, in *NovaBiochem Katalog*, **2005**.

¹⁷⁸ L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 5748-5749.

¹⁷⁹ V. Dourtoglou, J.-C. Ziegler, B. Gross, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 19, 1269-1272.

¹⁸⁰ W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788-798.

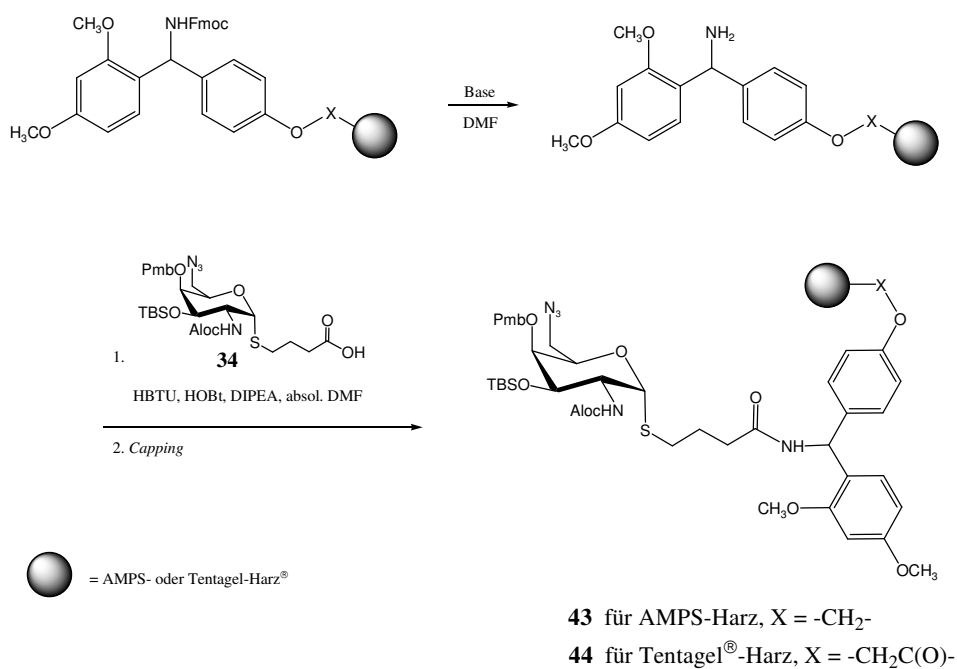


Abb. 3.28: Anbindung des orthogonal geschützten Galactose-Derivates **34** an die polymeren Träger

Die freien nicht umgesetzten Aminogruppen des Polymers werden im nächsten Schritt blockiert (sog. *Capping*). Man erreicht dies durch Schütteln der polymeren Träger in einem Gemisch aus Acetanhydrid und Pyridin in Dichlormethan. Die in Abbildungen 3.28 gezeigten Funktionalisierungen sowie *Capping*-Schritte werden sowohl für das Tentagel®- als auch AMPS-Polymer durchgeführt. Die Anbindung wird jeweils mittels *Kaiser*-Tests¹⁷⁷ kontrolliert. Eine Elementaranalyse des Schwefelgehalts gibt Aufschluß über die tatsächliche Beladung des polymeren Trägers. Auch die Bestimmung der UV-Absorption des Fmoc-Piperidin-Adduktes aus der Spaltung der Fmoc-Schutzgruppe gibt Auskunft über die Kupplungsausbeute. Es werden jeweils die Mittelwerte für beide Methoden angegeben. Danach erreicht man Beladungsdichten von 0.67 mmol/g für *Rink*-AMPS- **43** und 0.19 mmol/g für *Rink*-Tentagel®- Harz **44**, was Kupplungsausbeuten von 82% und 95% entspricht.

3.3.1 Überprüfung des Schutzgruppenmusters

Die literaturbekannten Abspaltungsbedingungen für die Schutzgruppen des aufgebauten Scaffolds **43** und **44** sollen im Folgenden überprüft werden. Hilfreiche Werkzeuge für die Kontrolle der Spaltungsreaktionen stellen die HRMAS-NMR- und

¹⁷⁷

Notes Synthesis, in NovaBiochem Katalog, **2005**.

die IR-Spektroskopie dar. Die Silyl- und *p*-Methoxybenzylether sowie die Allyloxycarbonyl-Schutzgruppe lassen sich leicht im HRMAS-NMR-Spektrum erkennen (Abb. 3.29) und die Anwesenheit der Azidogruppe ist mit dem Auftreten der Azidbande im IR-Spektrum belegbar (Abb. 3.30).

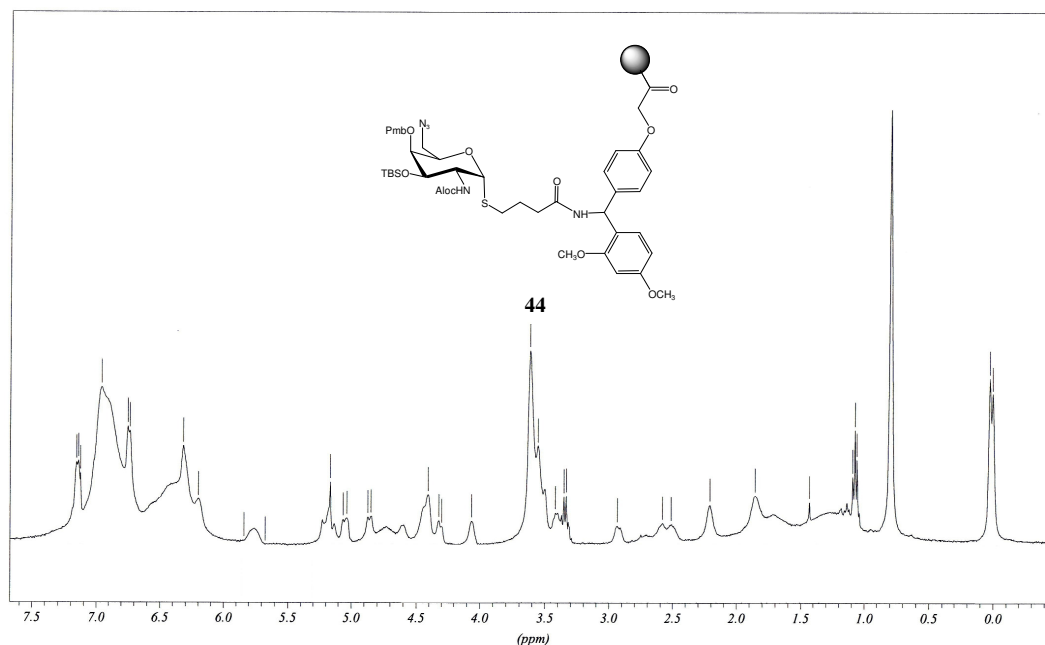


Abb. 3.29: HRMAS-NMR Spektrum des polymergebundenen Kohlenhydrat-Templats **44**

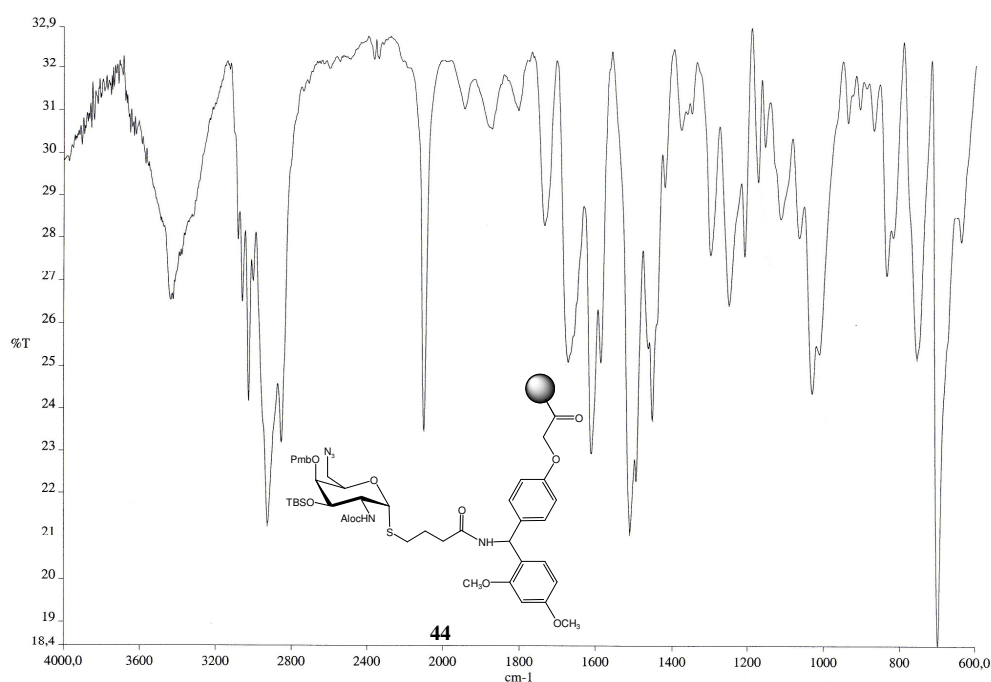


Abb. 3.30: FT-IR Sepktrum des polymergebundenen Kohlenhydrat-Templats **44** (Pressling mit KBr)

Die Versuche zur Spaltung der Aloc-Schutzgruppe, die auf Ergebnissen bei der analogen Diaminoglucose-Matrix zurückgegreifen,⁵² zeigen, dass man die besten Resultate ebenfalls mit Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) als Katalysator erzielen kann.^{45,181} Als Lösungsmittel wird Dioxan gewählt und *p*-Toluensulfonsäure als Abfang-Nucleophil eingesetzt. Positiver *Kaiser*-Test und Abwesenheit der charakteristischen Signale der Aloc-Gruppe in ¹H-HRMAS-NMR Spektrum zeigen die Vollständigkeit der Reaktion. Die 3-TBS- und 4-Pmb-Ether werden unter bereits in unserer Arbeitsgruppe entwickelten Bedingungen abgespalten und können damit für weitere Umsetzungen zur Verfügung stehen. Der Silylether wird mit TBAF erfolgreich abgespalten und die oxidative Spaltung des *p*-Methoxybenzylethers gelingt mit DDQ (2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon) in Dichlormethan und 10% Wasser.⁵⁰ Die Beeinträchtigung des Polymer-Rückgrats im Fall des AMPS Harzes bei dieser Reaktion steht in Einklang mit Beobachtungen aus früheren Arbeiten.⁵² Aus diesem Grund wird die Funktionalisierung der 4-Position überwiegend mit dem Tentagel®-Träger bewerkstelligt. Als letztes muss nun untersucht werden, ob die 6-Azido-Funktion sich selektiv in eine Aminogruppe überführen lässt. Obwohl die Kombination der Reduktion mit einer Peptidkupplung in einem Schritt für die Glucose-Matrix erfolgreich durchgeführt werden kann, scheitert sie in diesem Fall.^{50,182} Für die Azid-Reduktion wird die zweistufige *Staudinger*-Methode gewählt.^{141,183} Das Azid wird zuerst mit Tri-*n*-butylphosphin versetzt und ein Phosphinimin wird gebildet, welches mit einem Gemisch aus Tetrahydrofuran, Wasser und Triethylamin hydrolysiert wird (Abb. 3.31).

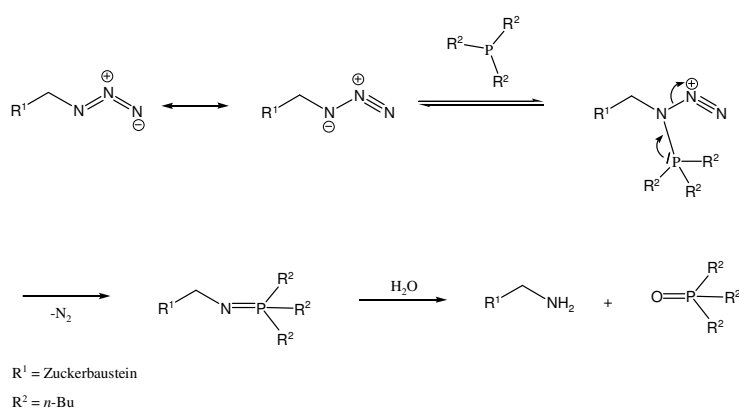


Abb. 3.31: Mechanismus der *Staudinger*-Reduktion

- ⁴⁵ T. Opatz, *Dissertation* **2000**, Johannes Gutenberg Universität-Mainz.
⁵⁰ U. Hüniger, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
⁵² J. Ohnsmann, *Dissertation* **2006**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
¹⁴¹ H. Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635-646.
¹⁸¹ M. Honda, H. Morita, I. Nagakura, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 8932-8936.
¹⁸² J. P. Malkinson, R. A. Falconer, I. Toth, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5249-5252.
¹⁸³ E. J. Corey, B. Samuelsson, F. A. Luzzio, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 3682-3683.

Es lässt sich aus einer Reihe von Testreduktionen in verschiedenen Lösungsmitteln (THF, Acetonitril, Dichlormethan, Dioxan) und darauffolgender Amidkupplung an Fmoc-Glycin erkennen, dass die besten Ausbeuten und Reinheiten mit Tetrahydrofuran als Lösungsmittel erhalten werden.

Mit all diesen Versuchen kann gezeigt werden, dass das gewählte Schutzgruppenkonzept die Voraussetzung der Orthogonalität erfüllt und die selektive Deblockierung der einzelnen Schutzgruppen in beliebiger Reihenfolge möglich ist (Abb. 3.32).

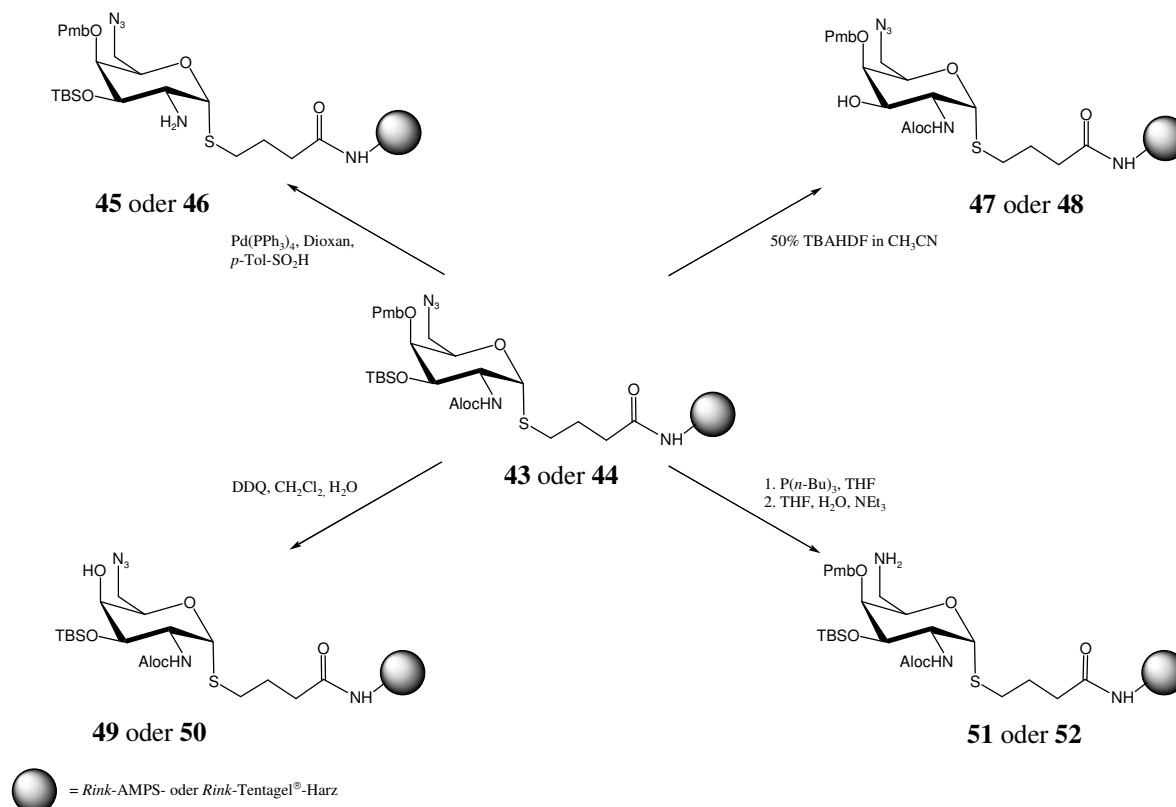


Abb.3.32: Überprüfung des Schutzgruppenmusters

3.3.2 Abspaltung vom Polymer

Für jede Reaktion an der festen Phase kommt nach allen Umsetzungen ein wichtiger letzter Schritt, der über Erfolg bzw. Misserfolg der ganzen Arbeit entscheidet. Es ist die Abspaltung der derivatisierten Bausteine vom polymeren Träger. Die Wahl des *Rink*-Amid-Linkers, der sich unter sauren Bedingungen spalten lässt, führt zu einem Säureamid, das mit dem geplanten Funktionalisierungsmuster für potentielle RNA-Liganden übereinstimmt. Des Weiteren muss überlegt werden, welches Abfangreagenz

eingesetzt werden soll, um die entstandenen Spaltprodukte abzufangen und wie man sie vom erhaltenen gewünschten Produkt einfach abtrennen kann. Zuerst wird der Vorzug dem Mercaptomethylpolystyrol gegeben, da es sich im Aufbau von kleinen Bibliotheken mit Diaminoglucose-Scaffold bewährt hat. Für die meisten Synthesen werden jedoch parallel Versuche gemacht, bei denen bis zu zwei andere Scavengers getestet werden. Es handelt sich um Dimethylsulfid⁴⁶ und Triisopropylsilan,^{184,185} die jeweils zu der frisch vorbereiteten Spatlösung zugegeben werden. Anschließend werden die Lösungen vollständig bis zur Trockene eingeeengt. Die Einzelheiten über den weiteren Verlauf der Isolierung sind bei den Synthesen der jeweiligen Derivate angegeben. Die abgespaltenen Produkte werden auf ihre Reinheit mittels analytischer HPLC geprüft und anschließend gereinigt. Die speziellen Optimierungen der Reinigung werden ebenfalls an anderer Stelle dieser Arbeit besprochen.

3.3.3 Reaktionen an der 2-Position des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds

Bei dem Aufbau der Bibliothek von potentiellen RNA-Liganden wird zuerst die 2-Position funktionalisiert. Die Spaltung der Allyloxycarbonyl-Schutzgruppe erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift 1 (s. Kapitel 6.2) für 1.30 g des an *Rink*-AMPS-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **43**. Sobald beim *Kaiser*-Test die blaue Färbung der Polymerkügelchen aufgetreten ist, wird die Reaktion abgebrochen und das mit Kohlenhydrat funktionalisierte Harz in 11 Portionen je 100 mg aufgeteilt. In 11 mit Polyethylenfritten verschlossenen Spritzen werden die Peptidkupplungen unter Aktivierung durch TBTU, HOBt und *N,N*-Diisopropylethylamin mit folgenden Aminosäuren und Säurederivaten durchgeführt: Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Leu-OH, Phenyllessigsäure, *p*-Boc-Aminophenyllessigsäure, Fmoc-Glu(O*t*Bu)-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH und *N*-Boc-3-Indolpropionsäure (Abb. 3.33).

⁴⁶ T. Maidhof, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

¹⁸⁴ A. Mehta, R. Jaouhari, T. J. Benson, K. T. Douglas, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 5441-5444.

¹⁸⁵ D. A. Pearson, M. Blanchette, M. L. Baker, C. A. Guindon, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 2739-2742.

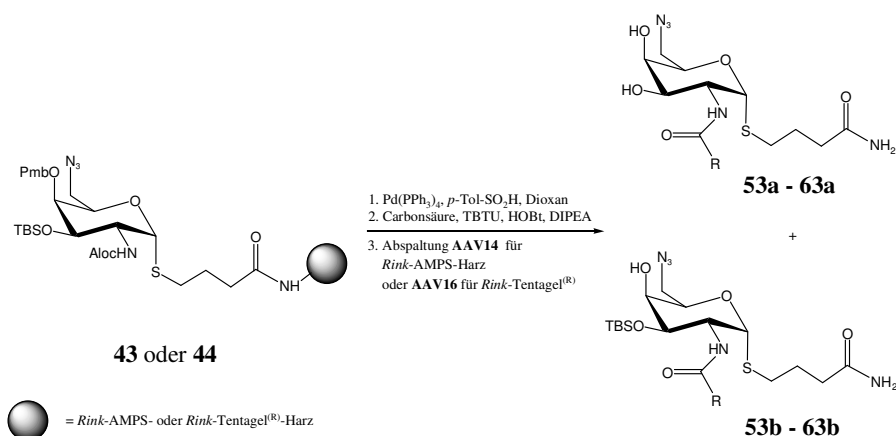


Abb. 3.33: Funktionalisierung der 2-Position des an *Rink*-AMPS- **43** oder *Rink*-Tentagel[®]-Harz **44** gebundenen Galactose-Scaffolds

Nach der Kupplungsreaktion spaltet man die Produkte mit einer frisch hergestellten 50%igen TFA-Lösung in Dichlormethan und Mercaptomethylpolystyrol als Abfangsnucleophil (Allgemeine Arbeitsvorschrift 14, AAV14) von der festen Phase ab. Nach dem vollständigen Befreien vom Lösungsmittel wird das Rohprodukt erneut in Dichlormethan aufgenommen und die Reste an TFA durch Filtration dieser Lösung über festes Natriumhydrogencarbonat entfernt. Während der Reaktion wird der Silylether nur teilweise abgespalten. Die Erhöhung der TFA-Konzentration auf bis zu 95% führt lediglich zur Verringerung der Reinheit oder sogar zur Zersetzung der abgespaltenen Produkte. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 3.3 aufgeführt.

	Carbonsäure	Rohausbeute	HPLC-Reinheit des Rohproduktes*	Ausbeute nach semipräparativer HPLC
53a	Fmoc-Gly-OH	60%	-	-
53b			40%	12%
54a	Fmoc-Leu-OH	82%	-	-
54b			33%	-
55a	Phenylelessigsäure	68%	-	-
55b			20%	20%
56a	<i>p</i> -Boc-Aminophenylelessigsäure	52%	-	-
56b			-	-
57a	Fmoc-Glu(OtBu)-OH	51%	-	-
57b			36%	10%
58a	Fmoc-Arg(Pmc)-OH	64%	-	-
58b			-	-
59a	Fmoc-His(Trt)-OH	56%	-	-
59b			36%	4%
60a	Fmoc-Gln(Trt)-OH	74%	-	-
60b			10%	8%
61a	Fmoc-Lys(Boc)-OH	51%**	-	-
61b			-	-
62a	Fmoc-Trp(Boc)-OH	35%**	-	-
62b			-	-
63a	<i>N</i> -Boc-3-Indolpropionsäure	35%**	-	-
63b			-	-

* UV-Detektion bei 220 nm

** In Rohprodukten wird das nicht umgesetzte Amin nachgewiesen

Tabelle 3.3: Versuche zur Funktionalisierung der 2-Position des an *Rink*-AMPS-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **43** mit verschiedenen Carbonsäuren

Das gewünschte Produkt kann im Rohprodukt, neben seinem silylierten Analogon, nur im Falle der Kupplung mit Fmoc-Leu-OH gefunden werden. Seine Isolierung scheitert jedoch. In allen anderen Fällen wird nur das silylierte Derivat nachgewiesen und isoliert. In den Reaktionen von Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH wird auch das nicht umgesetzte Amin identifiziert. Die Durchführung der Amidbildung in *N*-Methyl-2-pyrrolidinon liefert ebenfalls keine besseren Resultate. Alle Produkte werden mittels analytischer HPLC untersucht, wobei die HPLC-Chromatogramme jeweils das gleiche Muster von Signalen zeigen, jedoch keine den gewünschten Produkten zugeordnet

werden können. Es handelt sich hierbei wahrscheinlich um Zersetzungsprodukte des *Rink*-Amid-Linkers, die durch den eingesetzten Scavenger nicht abgefangen werden. Gleichzeitig erschwert die geringe Löslichkeit der Produkte die Reinigungsschritte mittels semipräparativer HPLC. Aus diesem Grund wird parallel ein Experiment durchgeführt, bei dem *Rink*-Tentagel® **44** als polymerer Träger und Dimethylsulfid als Abfangsnucleophil benutzt werden (Abb. 3.33). Das Repertoire von eingesetzten Aminosäuren ist zwar kleiner als zuvor, aber es kann gezeigt werden, dass diese Änderung sich als vorteilhaft erweist. Bei der Aufarbeitung nach der Abspaltung wird auf das Filtrieren über NaHCO₃ verzichtet und das Rohprodukt mit kaltem Diethylether versetzt (Allgemeine Arbeitsvorschrift 16, AAV16). Die erhaltenen Ergebnisse aus diesem Parallelversuch sind in Tabelle 3.4 dargestellt.

	Carbonsäure	Rohausbeute	HPLC-Reinheit des Rohproduktes *	Ausbeute nach semipräparativer HPLC
56a	<i>p</i> -Boc-Aminobenzoesäure	>100%	-	-
56b			-	-
58a	Fmoc-Arg(Pmc)-OH	>100%		-
58b			-	-
59a	Fmoc-His(Trt)-OH	>100%	24%	31%
59b			35%	7%
60a	Fmoc-Gln(Trt)-OH	>100%	25%	7%
60b			33%	-
61a	Fmoc-Lys(Boc)-OH	>100%	46%	-
61b			47%	-

* UV-Detektion bei 220 nm

Tabelle 3.4: Funktionalisierung der 2-Position des an *Rink*-Tentagel®-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44** mit verschiedenen Carbonsäuren

Über diese Syntheseroute können die gewünschten Produkte für alle fünf Carbonsäuren massenspektrometrisch nachgewiesen werden. Eine plausible Erklärung, warum diesmal sowohl silylierte als auch desilylierte Produkte detektiert werden können, kann nicht gefunden werden. Die Versuche zur Silylsplaltung mit der Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid-Lösung vor der Abspaltung vom polymeren

Träger führen zur Zersetzung des Produktes. Aus diesem Grund wird das Entstehen eines Produktgemisches, das sich in der analytischen HPLC einfach trennen lässt, in Kauf genommen. Der Grund für das Scheitern der Isolierung ist wiederum die geringe Löslichkeit. Um z.B. 20 mg des Rohprodukts in maximal 500 μ L der für die semipräparative Reinigung notwendigen Lösungsmittel-Menge zu lösen, muss man meistens ein Gemisch von Methanol/Isopropanol oder sogar Dimethylsulfoxid zugeben. Das wiederum hat einen großen Einfluss auf die Übertragung von Daten aus der analytischen auf die semipräparative HPLC und führt zu Verlusten an Substanz.

Obwohl die Nucleophilie des Dimethylsulfids zu gering ist um die Silylspaltprodukte abzufangen, lässt sich erkennen, dass man dieses Reagenz hier durchaus als geeigneter Scavenger für die Spaltprodukte des *p*-Methoxybenzylethers einsetzen kann. Die Verwendung von Trialkylsilan in dieser Funktion wird bei der Funktionalisierung der 3-Position in dem Kapitel für die Acylierungsreaktionen besprochen.

3.3.4 Reaktionen an der 3-Position des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds

Für die Funktionalisierungen in der 3-Position werden zwei Reaktionstypen angewendet. Zunächst werden Reaktionen mit Isocyanaten untersucht und darauffolgend einige Beispiele für Acylierungsreaktionen genannt. Um dies bewerkstelligen zu können, wird der *tert*-Butyldimethylsilylether selektiv abgespalten und damit die 3-OH Funktion des Monosaccharids für den Aufbau einer Bibliothek freigegeben.

3.3.4.1 Synthesen von Carbamaten in der 3-Position

In den ersten Versuchen werden fünf Isocyanate mit dem an *Rink*-Tentagel[®]-Harz gebundenen Kohlenhydrat **44** zur Reaktion gebracht. Nach der erfolgreichen Abspaltung der Schutzgruppe mit 50%iger TBAHDF-Lösung in Acetonitril folgt die

mit 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin katalysierte Carbamoylierung nach *Steglich*.^{45,186,187} Es werden eingesetzt: 4-Fluorphenylisocyanat, 4-Cyanophenylisocyanat, *tert*-Butylisocyanat, Allylisocyanat und Ethylisocyanatoacetat. Die Abspaltung der Produkte vom polymeren Träger mit 50%iger TFA Lösung in Dichlormethan unter Zusatz von Mercaptomethylpolystyrol liefert die gewünschten Produkte mit hoher Ausbeute und hoher Reinheit im Falle der Verbindungen **64** und **65** (Abb. 3.34, Tab. 3.5). Erwartungsgemäß ist die HPLC-Analyse für die drei letzten Beispiele aufgrund zu niedrigerer Absorption der erhaltenen Derivate nicht möglich.

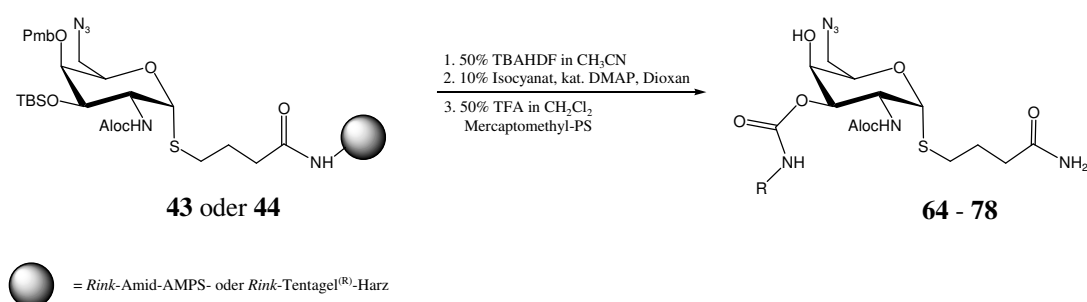


Abb. 3.34: Funktionalisierung der 3-Position des an *Rink*-AMPS- **43** oder *Rink*-Tentagel[®]-Harz **44** gebundenen Galactose-Scaffolds

	Isocyanat	Rohausbeute	HPLC-Reinheit des Rohproduktes*	Ausbeute nach semipräparativer HPLC
64	4-Fluorphenyl	>100%	52%	45%
65	4-Cyanophenyl	81%	38%	19%
66	<i>tert</i> -Butyl**	96%	-	-
67	Allyl**	>100%	-	-
68	Ethylisocyanatoacetat**	>100%	-	-

* UV-Detektion bei 210-220 nm

** HPLC-Chromatogramme wegen der zu niedrigen Absorption bei der verwendeten Wellenlänge des UV-Lichtes nicht auswertbar

Tabelle 3.5: Funktionalisierung der 3-Position des an *Rink*-Tentagel[®]-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44** mit verschiedenen Isocyanaten

⁴⁵ T. Opatz, *Dissertation* **2000**, Johannes Gutenberg Universität-Mainz.
¹⁸⁶ W. Steglich, G. Höfle, *Angew. Chem.* **1969**, *81*, 1001.
¹⁸⁷ B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 556-557.

Die Erweiterung der bestehenden Substanzbibliothek wird unter Verwendung von *Rink*-AMPS-Harz **43** durchgeführt. Für die in Abbildung 3.34 gezeigte Carbamatbildung werden folgende Isocyanate gewählt: 4-Chlorphenylisocyanat, 3,4-Dichlorphenylisocyanat, 3,4-Difluorphenylisocyanat, 4-Methyl-3-nitrophenylisocyanat, 4-Nitrophenylisocyanat, 3-Fluorphenylisocyanat, 2-Nitrophenylisocyanat, Ethyl-4-isocyanatobenzoat, 3-Acetylphenylisocyanat und 4-Ethoxyphenylisocyanat. Die Zusammenstellung der erhaltenen Ergebnisse ist Tabelle 3.6 zu entnehmen.

	Isocyanat	Rohausbeute	HPLC-Reinheit des Rohproduktes*	Ausbeute nach semipräparativer HPLC
69	4-Chlorphenyl	85%	46%	25%
70	3,4-Dichlorphenyl	82%	67%	-
71	2,4-Difluorphenyl	>100%	42%	32%
72	4-Methyl-3-nitrophenyl	34%	13%	2%
73	4-Nitrophenyl	31%	-	-
74	3-Fluorphenyl	79%	36%	25%
75	2-Nitrophenyl	93%	86%	41%
76	Ethyl-4-isocyanatobenzoat	60%	32%	32%
77	3-Acetylphenyl	63%	50%	14%
78	4-Ethoxyphenyl	98%	33%	26%

* UV-Detektion bei 210-220 nm

Tabelle 3.6: Funktionalisierung der 3-Position des an *Rink*-AMPS-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **43** mit verschiedenen Isocyanaten

Nach der Deblockierung, Reaktion mit der jeweiligen Isocyanat und Abspaltung vom Polymer zeigt die HPLC- und massenspektrometrische Analyse der Produkte gelungene Umsetzungen an. Nur die Verbindung **73** kann im Rohprodukt nicht nachgewiesen werden. Im Falle des 4-Ethoxyphenylcarbamats kommt es zusätzlich zur Bildung des Allophanatderivates **79** (Abb. 3.35), das mit 15%iger Ausbeute isoliert werden kann.

Das Entstehen der Produkte von diesem Typ steht im Einklang mit in der Literatur beschriebenen Beobachtungen.^{45,52}

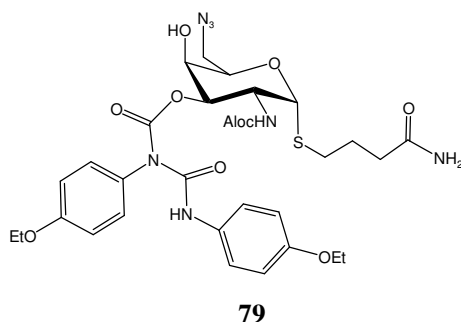


Abb. 3.35: Isoliertes Allophanatderivat **79**

Da bei diesen Funktionalisierungen das Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger seine Rolle gut erfüllt hat, werden keine zusätzlichen Tests gemacht.

3.3.4.2 Acylierungsreaktionen in der 3-Position

Während die erhaltenen Ergebnisse zur Carbamatbildung unter Verwendung des festphasengebundenen Scavengers gut bis sehr gut sind, spielt der Einsatz des geeigneten Abfangreagenzes bei der Einführung von Aminosäuren in der 2-Position eine große Rolle. Aus diesem Grund wird zunächst nach geeigneten Bedingungen für die Abspaltungsreaktionen gesucht und für die Tests die einfache Aminosäure, Fmoc-geschütztes Glycin, gewählt. In einer Parallelsynthese in fünf mit Polyethylen verschlossenen Spritzen werden jeweils 100 mg des mit Kohlenhydrat beladenen *Rink-Tentagel*[®]-Harzes **44** eingewogen und mit einer 50%igen Lösung von Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid in Acetonitril versetzt. In einem weiteren Schritt wird die freie 3-OH-Funktion nach dem *Steglich*-Verfahren (Aktivierung mit *N,N*-Diisopropylcarbodiimid, Katalyse mit 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin) mit Fmoc-Gly-OH zur Reaktion gebracht und anschließend das Produkt **80** unter verschiedenen Spaltungsbedingungen abgespalten (Abb. 3.36, Tab. 3.7).

⁴⁵

T. Opatz, *Dissertation* **2000**, Johannes Gutenberg Universität-Mainz.

⁵²

J. Ohnsmann, *Dissertation* **2006**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

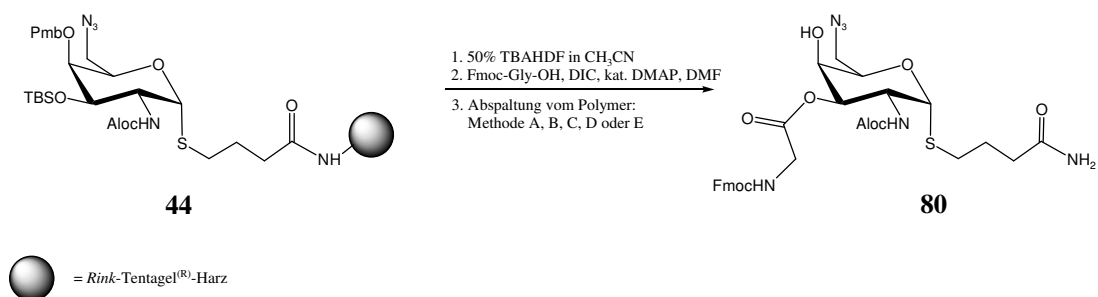


Abb. 3.36: Versuche zur Abspaltung der 3-OH-acylierten Produkte des an *Rink-Tentagel*[®]-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44**

	Bedingungen	Rohausbeute	HPLC-Reinheit des Rohproduktes *	Ausbeute nach semipräparativer HPLC
Methode A	90% TFA, 5% Thioanisol, 3% EDT, 2% Anisol	87%	58%	15%
Methode B	50% TFA, 5% EDT in CH ₂ Cl ₂	89%	45%	9%
Methode C	50%, TFA, 5% DMS in CH ₂ Cl ₂	96%	79%	16%
Methode D	50% TFA, Mercaptomethyl-PS in CH ₂ Cl ₂	55%	89%	3%
Methode E	50% TFA, 5% Phenol, 5% H ₂ O, 2% TIPS in CH ₂ Cl ₂	82%	76%	7%

* UV-Detektion bei 210-220 nm

Tabelle 3.7: Versuche zur Abspaltung der 3-OH-acylierten Produkten des an *Rink-Tentagel*[®]-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44**

Wie die Experimente zeigen sind die Ausbeuten an isoliertem Rohprodukt **80** für alle Methoden mit Ausnahme der Methode D vergleichbar. Das in der Peptidsynthese als Kationenfänger etablierte Trialkylsilan¹⁸⁵ liefert gute Ergebnisse, wobei aber auf den Zusatz von Phenol verzichtet werden muss, da das Ausfällen des Produktes mit kaltem

¹⁸⁵

D. A. Pearson, M. Blanchette, M. L. Baker, C. A. Guindon, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 2739-2742.

Diethylether sich als problematisch erweist. Die höchste Reinheit wird nach Methode D erhalten, jedoch ist die Menge an isoliertem Produkt gering. Einen alternativen Weg stellt die Methode C dar, auf deren Vor- und Nachteile im vorherigen Kapitel bereits hingewiesen wurde. Die Anwendung des Dimethylsulfids hat sich bereits bei der Funktionalisierung der 2-Position mit Carbonsäuren bewährt, weshalb diese Abspaltungsmethode auch nach Umsetzungen der 3-Position angewendet wird. Es werden dafür folgende Carbonsäuren unter oben genannten *Steglich*-Bedingungen eingesetzt: Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH und *p*-Boc-Aminobenzoesäure (Abb. 3.37).

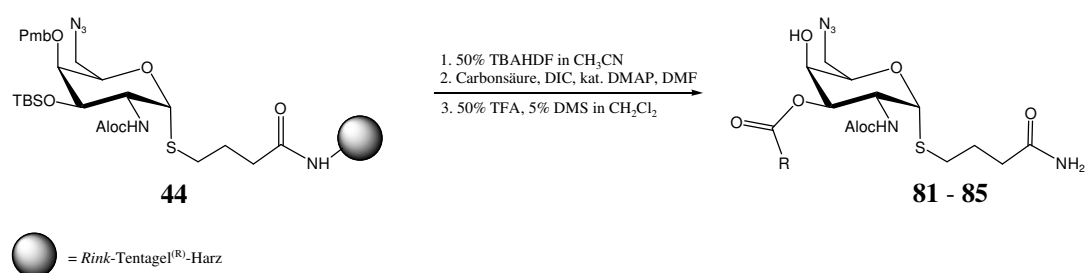


Abb. 3.37: Funktionalisierung der 3-Position des an *Rink-Tentagel*[®]-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44** mit verschiedenen Carbonsäuren

Die Ergebnisse dieses Parallelexperiments sind in Tabelle 3.8 dargestellt. Obwohl die Einführung des Glycins sich als wenig problematisch erweist, kann man die gewünschten Produkte lediglich für die Glutamin- **82** und Histidinderivate **83** isolieren. Bei der Reaktion mit Fmoc-His(Trt)-OH tritt zusätzlich die Racemisierung auf. Zwei weitere Aminosäuren liefern zwar Produkte, deren Anwesenheit massenspektrometrisch nachgewiesen werden können, weitere Reinigungsschritte mittels semipräparativer HPLC aber aufgrund zu geringer Löslichkeit unmöglich sind. Der mit *p*-Aminobenzoesäure acylierte Baustein **85** kann im Rohprodukt nicht detektiert werden.

	Carbonsäure	Rohausbeute	HPLC-Reinheit des Rohproduktes*	Ausbeute nach semipräparativer HPLC
81	Fmoc-Arg(Pmc)-OH	51%	-	-
82	Fmoc-Gln(Trt)-OH	46%	43%	6%
83	Fmoc-His(Trt)-OH	50%	60% (24%)**	13% (3%)**
84	Fmoc-Lys(Boc)-OH	51%	-	-
85	<i>p</i> -Boc-Amino-benzoesäure	-	-	-

* UV-Detektion bei 210-220 nm

** Epimerisierungsprodukt

Tabelle 3.8: Funktionalisierung der 3-Position des an *Rink*-Tentagel®-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44** mit verschiedenen Carbonsäuren

Zusammenfassend liefert die Veresterungsreaktion weniger zufriedenstellende Resultate als die Carbamatbildung. Vermutlich ist die große und hydrophobe Fmoc-Schutzgruppe ein Grund dafür, dass die Reinigung der Produkte besonders erschwert ist. Für das Lösen des Rohproduktes, um es semipräparativ zu reinigen, benötigt man immer ein Gemisch aus verschiedenen Lösungsmitteln, deren Verhältnis je nach Derivat variiert. Doch auch das führt nicht immer zu einem akzeptablen Ergebnis. Man erhält meistens eine gelartige Substanz, die sich weder in polaren noch unpolaren Lösungsmitteln lösen lässt. Die geringe Menge an abgespaltener Substanz ist ein zusätzlicher einschränkender Faktor, was die Durchführung weiterer Versuche angeht.

3.3.5 Reaktionen an der 4-Position des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds

Die möglichen Reaktionen, die an dieser Position durchgeführt werden können, wurden bereits bei der Funktionalisierung der 3-OH Funktion besprochen und werden nach dem gleichen Muster auch in diesem Kapitel bewerkstelligt. Es handelt sich sowohl um Carbamatbildungen als auch Acylierungsreaktionen. Auf die selektive Abspaltung der Schutzgruppe und der damit verbundenen Problematik wurde ebenfalls an anderer Stelle dieser Arbeit hingewiesen.

3.3.5.1 Synthesen von Carbamaten in der 4-Position

Diese Syntheseroute setzt voraus, dass der *p*-Methoxybenzylether sich selektiv abspalten lässt und die dann freie axiale Hydroxylfunktion in verschiedenen Reaktionen umgesetzt werden kann. Bekannt ist aber, dass die Reaktivität der OH-Gruppe an dieser Position im Monosaccharid am geringsten ist und sich die Funktionalisierung daher als problematisch erweisen kann. Es stellt sich heraus, dass es schon bei Behandlung mit DDQ zur Zersetzung des *Rink*-AMPS-Harzes **43** kommt. Bei einer Verkürzung der Reaktionszeit kann man das gewünschte Produkt isolieren, aber die Ausbeute bleibt gering, wie sich bei einer Testreaktion mit 4-Chlorphenylisocyanat an *Rink*-Aminopolystyrol-Harz zeigte. Weitere Derivatisierungsreaktionen werden an *Rink*-Tentagel®-Polymer **44** mit folgenden Isocyanaten durchgeführt: 4-Fluorphenylisocyanat, 4-Cyanophenylisocyanat, *tert*-Butylisocyanat, Allylisocyanat, Ethylisocyanatoacetat (Abb. 3.38).

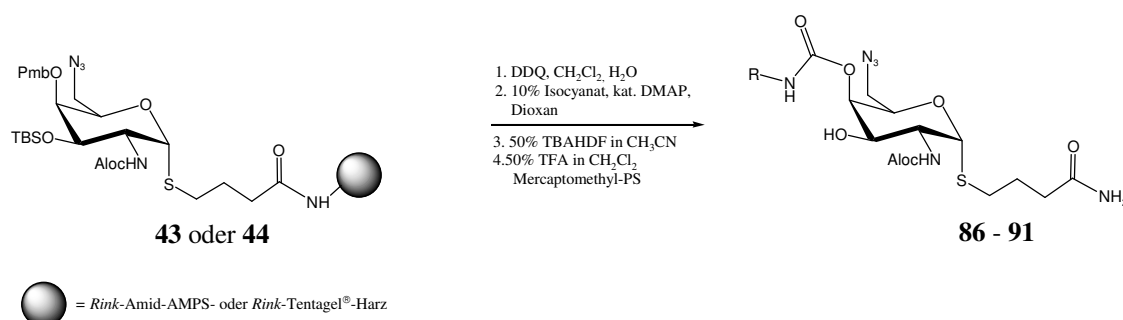


Abb.3.38: Funktionalisierung der 4-Position des *Rink*-AMPS- **43** oder an *Rink*-Tentagel®-Harz **44** gebundenen Galactose-Scaffolds mit verschiedenen Isocyanaten

Bevor die Abspaltung des Produktes vom Polymer mit 50%iger Trifluoressigsäure und Mercaptomethylpolystyrol durchgeführt wird, wird die Silylschutzgruppe mit TBAHDF entfernt. Hier erfolgt diese Umsetzung weniger problematisch und die gewünschten Produkte lassen sich erfolgreich isolieren (Tab.3.9).

	Isocyanat	Rohausbeute	HPLC-Reinheit des Rohproduktes [*]	Ausbeute nach semipräparativer HPLC
86	4-Fluorphenyl	58%	91%	24%
87	4-Cyanophenyl	78%	85%	14%
88	<i>tert</i> -Butyl ^{**}	36%	-	-
89	Allyl ^{**}	56%	-	-
90	Ethylisocyanatoacetat ^{**}	59%	-	-
91	4-Chlorphenyl ^{***}	37%	33%	10%

^{*} UV-Detektion bei 210-220 nm

^{**} HPLC-Chromatogramme wegen der zu niedrigen Absorption bei der verwendeten Wellenlänge des UV-Lichtes nicht auswertbar

^{***} Reaktion an *Rink*-AMPS-Harz

Tabelle 3.9: Funktionalisierung der 4-Position des an *Rink*-Tentagel[®]- **44** oder *Rink*-AMPS-Harz **43** gebundenen Galactose-Scaffolds mit verschiedenen Isocyanaten

Die untersuchte Carbamoylierung der 4-Position erweist sich also wegen des Angriffs auf den Anker bei der Oxidation der Pmb-Gruppe weniger als eine Möglichkeit zum Aufbau einer Bibliothek potentieller RNA-Liganden. Durch Verwendung des Tentagels[®] lässt sich das Problem der Zersetzung während der oxidativen Spaltung des Esters nur teilweise umgehen.

3.3.5.2 Acylierungsreaktionen in der 4-Position

Die Untersuchungen zur Carbamatbildung deuten darauf hin, dass für die Acylierungsreaktionen nur das Tentagel[®]-Harz angewendet werden kann. Es wird wiederum ein paralleles Experiment mit fünf verschiedenen Aminosäuren durchgeführt, die nach *Steglich*-Bedingungen versetzt werden (Abb. 3.39). Zu diesem Zweck werden Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH und *p*-Boc-Aminobenzoesäure mit jeweils 100 mg des mit Kohlenhydrat beladenen Polymers **44** zur Reaktion gebracht. Anschließend werden die Produkte unter Verwendung einer 50%igen TFA-Lösung in Dichlormethan, der 5% Dimethylsulfid zugesetzt werden, abgespalten. Auf die zusätzliche Spaltung des Silylethers wird verzichtet, da dieser zusätzliche Schritt nur zu Zersetzungsprodukten führt.

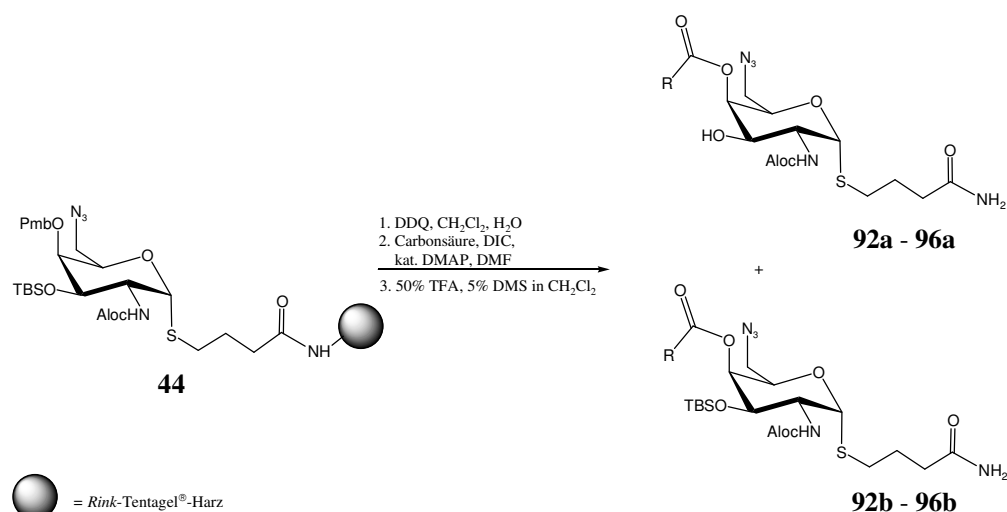


Abb. 3.39: Funktionalisierung der 4-Position des an *Rink-Tentagel*®-Harz **44** gebundenen Galactose-Scaffolds mit verschiedenen Carbonsäuren

Die erhaltenen Ergebnisse werden in Tabelle 3.10 dargestellt.

	Carbonsäure	Rohausbeute
92ab	Fmoc-Arg(Pmc)-OH	38%
93ab	Fmoc-His(Trt)-OH	29%
94a	Fmoc-Gln(Trt)-OH	-
95ab	Fmoc-Lys(Boc)-OH	59%
96a	<i>p</i> -Boc-Aminobenzoesäure	-

Tabelle 3.10: Funktionalisierung der 4-Position des an *Rink-Tentagel*®-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44** mit verschiedenen Carbonsäuren

Die Umsetzung mit Aminosäuren erweist sich als problematisch und die gewünschten Produkte können nur für drei Derivate nachgewiesen werden. Die massenspektrometrische Analyse zeigt ein Produktgemisch, das sowohl den silylierten als auch desilylierten Baustein enthält. Die Reinigung mittels semipräparativer HPLC ist aufgrund geringer Löslichkeit nicht möglich. Somit können weitere Untersuchungen nicht unternommen werden.

3.3.6 Reaktionen an der 6-Position des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds

Nach den Synthesen von Substanzbibliotheken durch Funktionalisierungen in 2-, 3- und 4-Position des Galactose-Scaffolds soll im nächsten Schritt die Amidbildung an der 6-NH₂-Funktion durchgeführt werden. Die dafür notwendige Azidreduktion wird in einer zweistufigen Reaktion erfolgreich bewerkstelligt. Die *Staudinger*-Bedingungen liefern das gewünschte primäre Amin, dessen Bildung mittels *Kaiser*-Test überprüft werden kann. Die freie Aminogruppe wird anschließend unter Verwendung von bewährten Kupplungsreagenzien, wie TBTU, HOBT und *N,N*-Diisopropylethylamin acyliert. Zunächst wird die Möglichkeit der Amidbildung und Abspaltung vom polymeren Träger mit *Rink*-AMPS-Harz **43** geprüft. Dazu wird in 8 mit Polyethylenfritten verschlossenen Spritzen jeweils 100 mg des mit Galactose-Baustein beladenen Polymers eingewogen. Nach einer allgemeinen Arbeitsvorschrift (siehe Kapitel 6.2) wird dann das Azid reduziert und danach der Aktivester der jeweiligen Carbonsäure in die Spritze eingezogen. Es werden eingesetzt: Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH und Phenylelessigsäure. Nach 16 h Schütteln ist der Umsatz, laut *Kaiser*-Test, vollständig (Abb. 3.40).

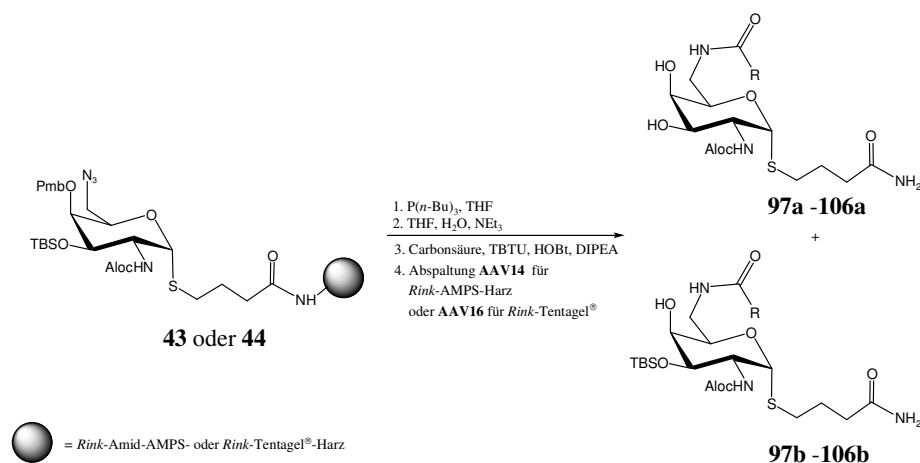


Abb. 3.40: Funktionalisierung der 6-Position des an *Rink*-AMPS- **43** oder *Rink*-Tentagel®-Harz **44** gebundenen Galactose-Scaffolds

In dieser Versuchsreihe wird für die Abspaltung vom polymeren Träger die allgemeine Arbeitsvorschrift AAV14 angewendet, bei der 50%ige Trifluoressigsäure in Dichlormethan und der festphasengebundene Scavenger, Mercaptomethylpolystyrol,

eingesetzt werden. Anschließend wird Trifluoressigsäure vollständig entfernt und das Rohprodukt in Dichlormethan aufgenommen. Die Lösung wird über festes NaHCO_3 filtriert und das Lösungsmittel vollständig entfernt. Die isolierten Produkte werden einer analytischen HPLC- und massenspektrometrischen Analyse unterzogen (Tab. 3.11).

	Carbonsäure	Rohausbeute	HPLC-Reinheit des Rohproduktes*	Ausbeute nach semipräparativer HPLC
97a	Fmoc-Gly-OH	82%	-	-
97b			59%	16%
98a	Fmoc-His(Trt)-OH	45%	-	-
98b			-	-
99a	Fmoc-Leu-OH	50%	-	-
99b			38%	4%
100a	Fmoc-Arg(Pmc)-OH	37%	-	-
100b			-	-
101a	Fmoc-Gln(Trt)-OH	48%	-	-
101b			-	-
102a	Fmoc-Glu(OtBu)-OH	32%	-	-
102b			-	-
103a	Fmoc-Lys(Boc)-OH	25%	-	-
103b			-	-
104a	Phenylelessigsäure	35%	-	-
104b			35%	5%

* UV-Detektion bei 220 nm

Tabelle 3.11: Versuche zur Funktionalisierung der 6-Position des an *Rink*-AMPS-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **43** mit verschiedenen Carbonsäuren

Die Synthesen des an *Rink*-AMPS-Harz gebundenen Scaffolds **43** verlaufen mit wenig zufriedenstellenden Resultaten und man kann lediglich die silylierten Derivate **97b**, **99b** und **104b** isolieren. Die anderen Aminosäuren können zwar erfolgreich umgesetzt werden jedoch nicht gereinigt und isoliert werden. Dass die Amidbildung für diese Aminosäuren stattfindet, wird durch das negative Ergebnis des *Kaiser*-Tests bestätigt.

Auch die Massenspektren der Rohprodukte deuten darauf hin. Die Löslichkeitsprobleme, die bei dem erneuten Aufnehmen in Dichloromethan während der Aufarbeitung auftreten, führen zusätzlich zu Substanzverlusten. Der Grund, warum diese Umsetzungen in diesem Fall nicht mit den gewünschten Ausbeuten verlaufen, ist wahrscheinlich in der Abspaltungsmethode und der darauffolgenden Behandlung der Probe zu sehen. Die Versuche zur Entfernung des Silylethers mit TBAHDF scheitern ebenfalls, so dass die Entstehung von zwei Produkten hingenommen werden muss. Die Anwesenheit der Fmoc-Schutzgruppe, die vermutlich für die Schwierigkeiten mit verantwortlich ist, ist jedoch für die UV-Detektion der Produkte von großer Bedeutung und die Einführung anderer UV-aktiver Funktionen würde das Orthogonalität-Konzept zunichte machen. Aus diesem Grund wird ein Parallelexperiment mit Aminosäuren durchgeführt, bei dem diese mit dem an *Rink*-Tentagel[®]-Harz gebundenen Kohlenhydrat **44** zur Reaktion gebracht werden (Abb. 3.40). Während der Reaktion werden wiederum die Vollständigkeit der Azidreduktion und die Bildung der Amidbindung nach dem *Kaiser*-Test kontrolliert. Es wird eine allgemeine Arbeitsvorschrift AAV16 (siehe Kapitel 6.2) benutzt, bei der die Spaltlösung im Vakuum eingeeengt wird. Anschließend wird zum Rohprodukt kalter Diethylether zugegeben und die Probe für 10-15 min bei 0 °C im Eisbad gehalten. Der überschüssige Ether wird entfernt und der ausgefallene Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Diese Vorgehensweise hat sich schon bei der Amidbildung in der 2-Position als vorteilhaft erwiesen. Die eingesetzten Aminosäuren und die Zusammenstellung der erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 3.12 dargestellt.

	Carbonsäure	Rohausbeute	HPLC-Reinheit des Rohproduktes*	Ausbeute nach semipräparativer HPLC
98a	Fmoc-His(Trt)-OH	84%	37%	12%
98b			54%	16%
100a	Fmoc-Arg(Pmc)-OH	96%	-	-
100b			-	-
101a	Fmoc-Gln(Trt)-OH	>100%	21%	6%
101b			79%	11%
103a	Fmoc-Lys(Boc)-OH	>100%	-	-
103b			-	-
105a	4-Boc-aminobenzoessäure	>100%	-	-
105b			22%	-
106a	1-Phenyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-carbonsäure	>100%	30%	19%
106b			58%	8%

* UV-Detektion bei 220 nm

Tabelle 3.12: Versuche zur Funktionalisierung der 6-Position des an *Rink*-Tentagel®-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44** mit verschiedenen Carbonsäuren

Wie aus der Tabelle hervorgeht, liefern die Umsetzungen diesmal bessere Resultate. In allen Fällen können die gewünschten Produkte und die silylierte Derivate nachgewiesen werden, deren Trennung mittels semipräparativer HPLC mit Ausnahme der Verbindung **100ab**, **103ab** und **105ab** möglich ist (Abb. 3.41). Hier scheitert die Isolierung abermals an der zu geringer Löslichkeit.

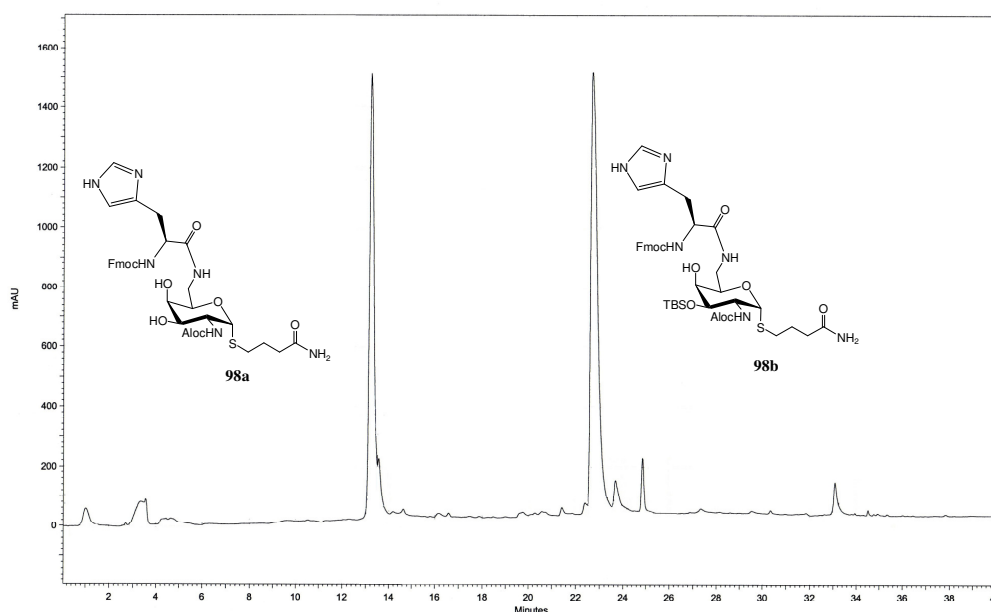


Abb. 3.41: HPLC-Chromatogram des Rohproduktes **98**

3.3.7 Zweifache Funktionalisierung des 2-Allyloxycarbonylamino-6-azido-galactose-Scaffolds

Da die Funktionalisierungen des an *Rink*-Tentagel[®]-Harz gebundenen Scaffolds **44** für einige Aminosäuren erfolgreich abgeschlossen werden konnte, muss nun untersucht werden, ob sich die einzelnen Funktionen auch nebeneinander funktionalisieren lassen. Zunächst werden dafür die 2- und die 6-Position kombinatorisch variiert.

Es ist literaturbekannt,¹⁸⁸ dass die mit Guanidin substituierten Kohlenhydrate eine hemmende Aktivität in der HIV-Replikation zeigen. Aus diesem Grund wird der Versuch zum Aufbau von difunktionalisierten Bausteinen zum einen mit *N,N'*-Di-boc-*N''*-triflylguanidin **108** das aus *N,N'*-Di-boc-guanidin **107** erhalten wird (Abb. 3.42), und zum anderen mit einem Satz an Fmoc-geschützten Aminosäuren durchgeführt.

¹⁸⁸

T. J. Baker, N. W. Luedtke, Y. Tor, Goodman, M., *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 9054-9058.

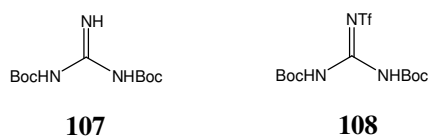


Abb. 3.42: Guanidin-Bausteine

3.3.7.1 Funktionalisierung der 3- und 6-Position

Bei der Synthese der zweifach funktionalisierten Bausteinen werden die gleichen Reaktionsbedingungen zur Spaltung der Schutzgruppen gewählt, die auch bei den vorhergehenden Experimenten angewendet wurde. Hierfür wird zuerst die Azidogruppe nach *Staudinger* reduziert und das freie Amin mit der Verbindung **108** zur Reaktion gebracht. Anschließend wird die freie 3-OH Gruppe erzeugt, indem der TBS-Ether mit 50%iger Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid-Lösung in Acetonitril abgespalten wird. Die *Steglich*-Acylierungsreaktion mit Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH bzw. Fmoc-Gln(Trt)-OH und darauffolgende Abspaltung mit 50%iger TFA unter Dimethylsulfid-Zusatz führen zu den entsprechenden Derivaten (Abb. 3.43).

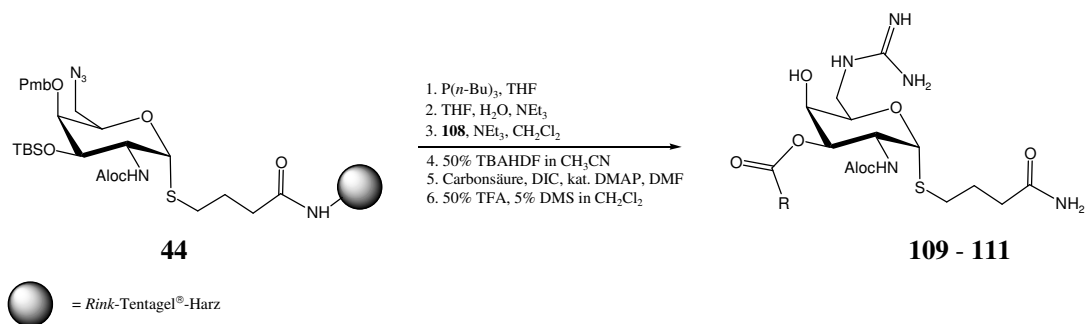


Abb. 3.43: Versuche zur Funktionalisierung der 3- und 6-Position des an Rink-Tentagel[®]-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44**

In allen isolierten Substanzen kann das gewünschte Produkt massenspektrometrisch nachgewiesen werden (Tab. 3.13).

	Carbonsäure	Rohausbeute
109	Fmoc-Gly-OH	>100%
110	Fmoc-His(Trt)-OH	>100%
111	Fmoc-Gln(Trt)-OH	>100%

Tabelle 3.13: Versuche zur zweifachen Funktionalisierung der 3- und 6-Position des an *Rink-Tentagel*[®]-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44**

Die HPLC-Chromatogramme zeigen jedoch, dass es sich um mehr als eine Substanz handelt. Aufgrund von Schwierigkeiten bei Isolierung, Reinigung und Analyse wird ein weiteres Experiment durchgeführt, in dem statt der Veresterungs- die Carbamoylierungsreaktion in der 3-Position gewählt wird (Abb. 3.44).

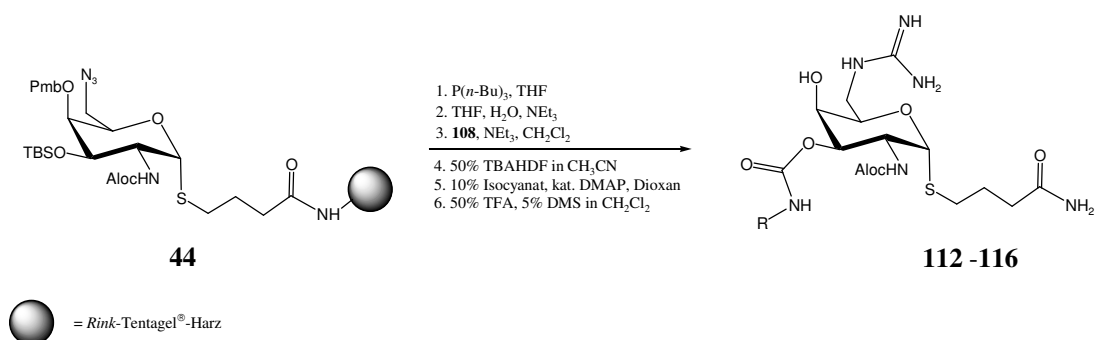


Abb. 3.44: Versuche zur Funktionalisierung der 3- und 6-Position des an *Rink-Tentagel*[®]-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44**

Die Prozedur wird für die ersten drei Schritte - wie zuvor beschrieben – wiederholt, und für die Carbamatbildung werden diejenigen Isocyanate eingesetzt, die bei den monofunktionalisierten Bausteinen die besten Ergebnissen lieferten: 2,4-Difluorphenylisocyanat, 3-Fluorphenylisocyanat, 2-Nitrophenylisocyanat, 4-Methyl-3-nitrophenylisocyanat und 3-Acetylphenylisocyanat. Die Spaltung unter sauren Bedingungen liefert die gewünschten Produkte für alle Derivate, die nach Ausfällen mit kaltem Diethylether in Form von gelben bis farblosen amorphen Feststoffen isoliert werden (Tab. 3.14).

	Isocyanat	Rohausbeute
112	2,4-Difluorphenylisocyanat	>100%
113	3-Fluorphenylisocyanat	>100%
114	2-Nitrophenylisocyanat	>100%
115	4-Methyl-3-nitrophenylisocyanat	>100%
116	3-Acetylphenylisocyanat	>100%

Tabelle 3.14: Versuche zur Funktionalisierung der 3- und 6-Position des an *Rink*-Tentagel[®]-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44**

Die Bestimmung deren Reinheiten mittels analytischer HPLC ist unmöglich, da diese Produkte in fast allen gängigen Lösungsmitteln eine Suspension bilden.

Neben den Verbindungen **112**, **114**, **115** und **116** werden zusätzlich ihre Allophanatderivate massenspektrometrisch detektiert (Abb. 3.45).

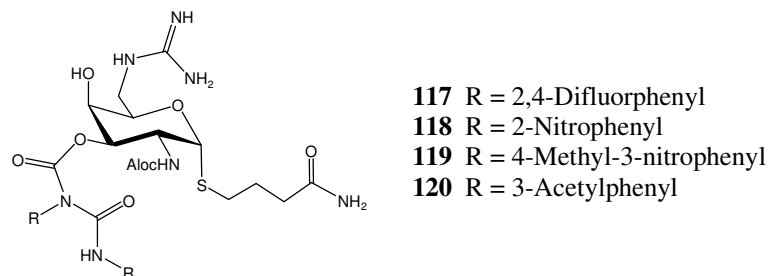


Abb. 3.45: Die gebildeten Allophanate bei den Versuchen zur Funktionalisierung der 3- und 6-Position des an *Rink*-Tentagel[®]-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44**

3.3.7.2 Funktionalisierung der 2- und 6-Position

In dieser Syntheseroute wird die Reihenfolge so gewählt, dass die Aloc-Gruppe zuerst nach bekannten Verfahren abgespalten wird und anschließend das di-Boc-geschützte Guanidin unter basischen Bedingungen eingebaut wird. Im nächsten Schritt wird die Azidofunktion nach *Staudinger* reduziert und das freie Amin jeweils mit Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH und Fmoc-Gln(Trt)-OH acyliert. Die Abspaltung vom polymeren

Träger erfolgt mit 50%iger Trifluoressigsäure unter Zusatz von 5% Dimethylsulfid in Dichlormethan (Abb. 3.46).

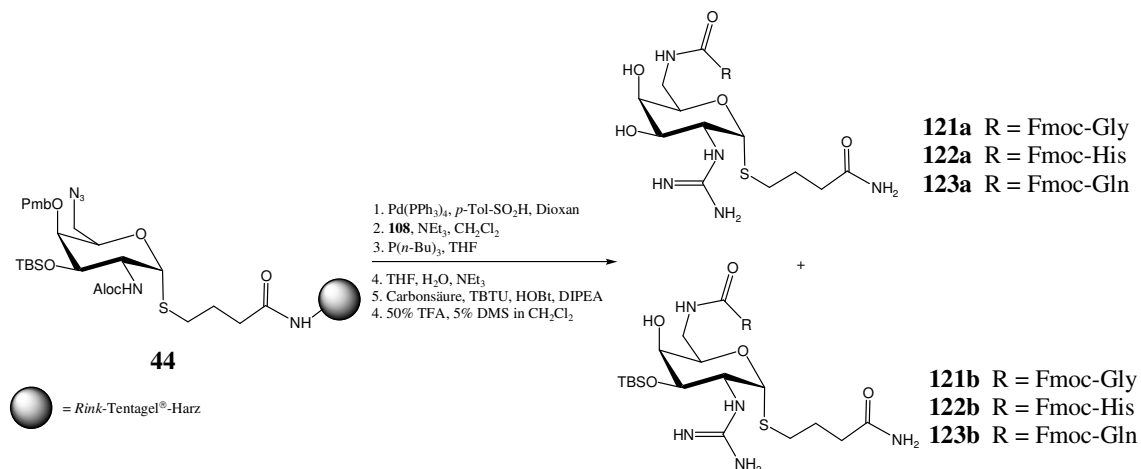


Abb. 3.46: Versuche zur Funktionalisierung der 2- und 6-Position des an *Rink-Tentagel*®-Harz gebundenen Galactose-Scaffolds **44**

Diese Reaktion verläuft lediglich für das Glycin-Derivat erfolgreich, wobei nur die silylierte Verbindung **121b** im Rohprodukt nachgewiesen werden kann. Die Anwesenheit der unpolaren Fmoc-Schutzgruppe auf einer Seite des Moleküls und der polaren Guanidin-Gruppe auf der anderen setzt die Löslichkeit herab. Es kann keine Verbindung aus dieser Parallelsynthese isoliert werden.

3.3.8 Synthese von Oligopeptiden

Die bis zu diesem Zeitpunkt verwendeten und eingebauten Aminosäuren waren immer mit der Fmoc-Schutzgruppe ausgestattet, damit das Fmoc-Protokoll zur Elongation von Peptidsequenzen als Möglichkeit für den Aufbau von potentiellen RNA-Liganden genutzt werden kann. Da die Reaktionen von einigen Aminosäuren mit dem an *Rink-Tentagel*®-Harz gebundenen Kohlenhydrat **44** erfolgreich durchgeführt werden können, wird versucht, die Bildung von Oligopeptiden in der 2-, 3- oder 6-Position zu bewerkstelligen. Die Synthese der jeweiligen Derivate beginnt mit der Spaltung der entsprechenden Schutzgruppe. Im nächsten Schritt wird das Fmoc-Glycin eingebaut, die Fmoc-Schutzgruppe mit 20%iger Piperidin-Lösung in *N,N*-Dimethylformamid entfernt und anschließend mit Fmoc-His(Trt)-OH gekuppelt. Die Spaltung vom polymeren Träger unter sauren Bedingungen unter Zusatz von Triisopropylsilan liefert die gewünschten Verbindungen (Abb. 3.47).

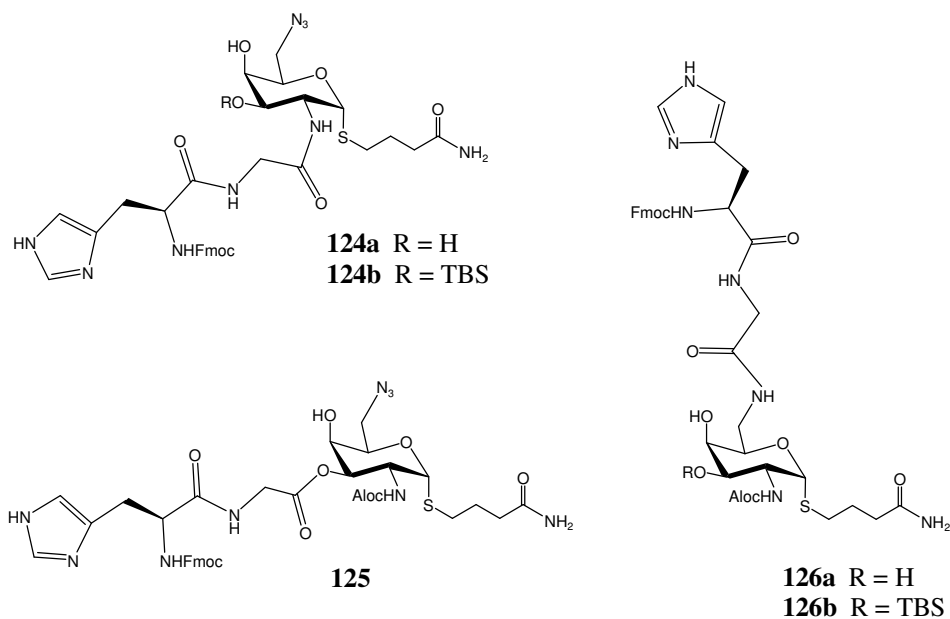


Abb. 3.47: Die synthetisierten Oligopeptide **124-126**

Die erhaltenen Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Bildung von Oligopeptiden eine geeignete Vorgehensweise für die Synthese der potentiellen RNA-Liganden sein kann. Die Ausbeuten und Reinheiten der isolierten Substanzen sind in Tabelle 3.15 zusammengefasst.

	Rohausbeute	HPLC-Reinheit des Rohproduktes [*]	Ausbeute nach semipräparativer HPLC
124a	>100%	53%	9%
124b		4%	8%
125	>100%	70%	40%
126a	>100%	34%	20%
126b		63%	13%

^{*}UV-Detektion bei 220 nm

Tabelle 3.15: Ergebnisse zur Synthese der Oligopeptiden **124-126**

Überraschenderweise sind die Reinheiten und Ausbeuten deutlich besser als für die Reaktionen, bei denen nur ein Aminosäurederivat eingeführt wurde. Die Reinigung von

diesen Verbindungen erweist sich ebenfalls als etwas leichter, da die Löslichkeit, die in vorherigen Experimenten Probleme bereiteten, besser ist. Bemerkenswert ist das Verhältnis zwischen silyliertem und desilyliertem Produkt des jeweiligen Derivates. Eine Erklärung kann dafür jedoch nicht gefunden werden.

Um zu überprüfen, ob sich die Schwierigkeiten bei der Aufarbeitung noch weiter verringern lassen, wird eine weitere Syntheseroute in Angriff genommen, bei der das benzyloxycarbonylgeschützte Glycin als letzte Aminosäure gekuppelt wird (Abb. 3.48). Die chemische Prozedur stimmt mit der vorhergehenden überein, und die Derivatisierung wird mit basischen Vertretern der α -Aminosäuren durchgeführt: Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH und Fmoc-Arg(Pmc)-OH. Der Testansatz erfolgt für die Z-Gly-Gly-Sequenz.

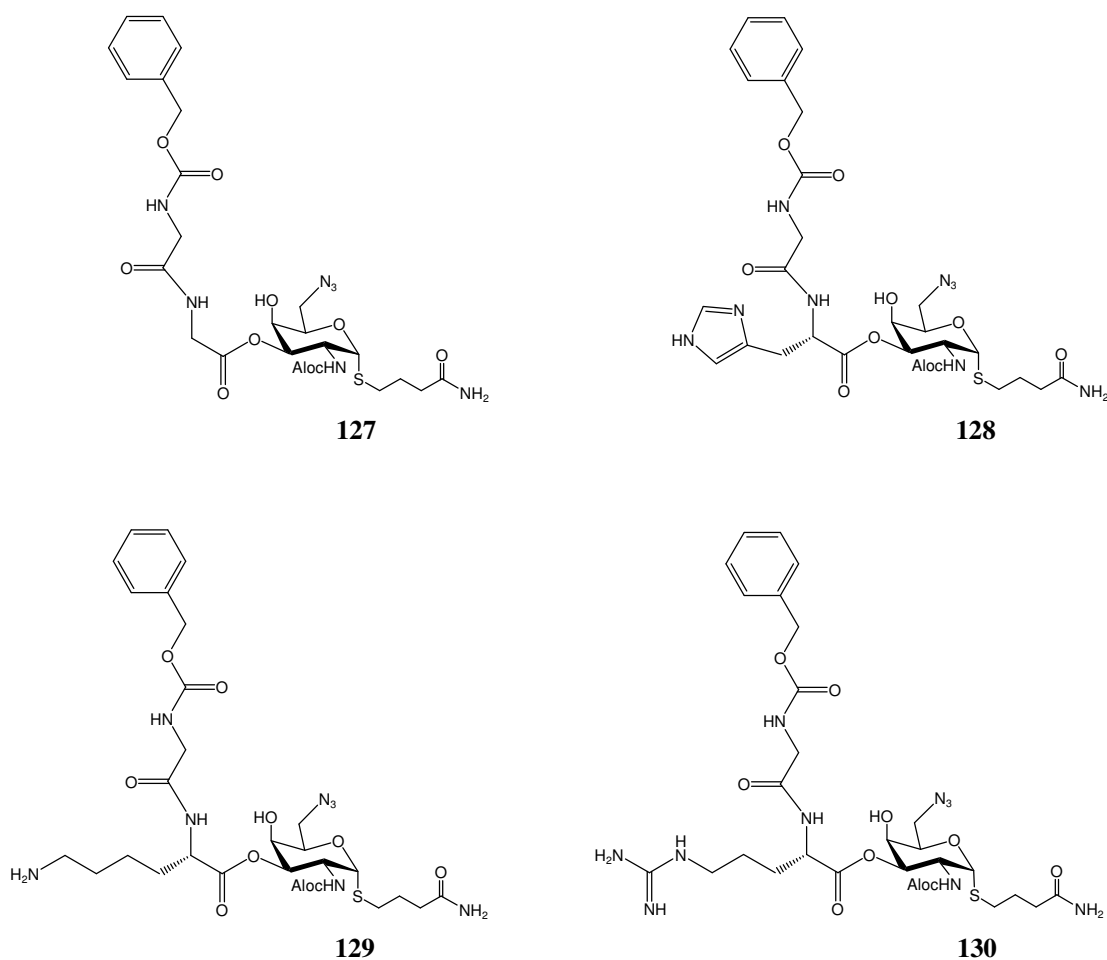


Abb. 3.48: Die erweiterte Bibliothek der synthetisierten Oligopeptiden

Die säurekatalysierte Abspaltung vom polymeren Träger liefert die gewünschten Produkte quantitativ, deren Bildung durch massenspektrometrische Untersuchungen bestätigt werden kann. Die HPLC-Chromatogramme zeigen, dass neben den gewünschten Produkten auch andere Verbindungen entstehen. Erstaunlicherweise gelingt es nicht, das einfache Derivat **127** zu isolieren. Die Isolierung gelingt lediglich für die Verbindung **128**, die mit 13%iger Ausbeute erhalten werden kann. Obwohl die vorherigen Experimente vielversprechend verliefen, kann ein Grund für das Scheitern in diesen Fällen bisher nicht gefunden werden.

3.4 Das 2-Allyloxycarbonylamino-4-azido-galactose-Scaffold

3.4.1 Retrosynthetische Betrachtung

Eine oft eingesetzte Methode zur Einführung der Azido-Funktion in den Ring des Monosaccharids ist die klassische S_N2 -Reaktion. Während dieser Reaktion kommt es zu einer Umkehrung der Konfiguration der angegriffenen Position. Damit sollte es möglich sein, aus dem in unserer Arbeitsgruppe entwickelten Glucose-Scaffold⁵⁰⁻⁵² das entsprechende Galactosederivat **3** zu synthetisieren. Es kommen zwei Methoden in Frage: Zum einen die Anwendung der *Mitsunobu*-Reaktion und zum anderen die schon im Kapitel 3.2.2 untersuchte klassische Substitutionsreaktion, bei der als nucleophiler Partner Natriumazid gewählt wird (Abb. 3.49).

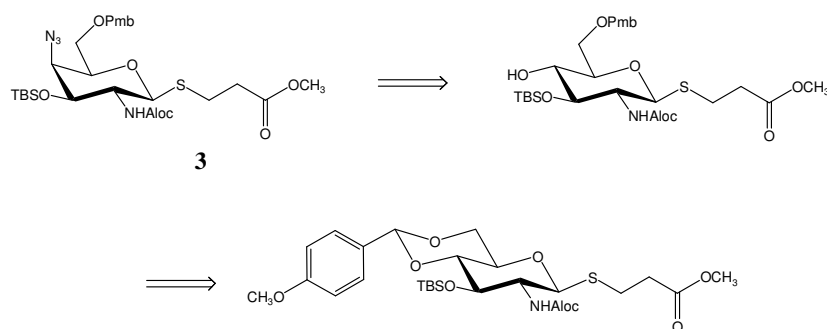


Abb. 3.49: Die retrosynthetische Betrachtung für das Templat **3**

⁵⁰ U. Hüniger, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

⁵¹ U. Hüniger, J. Ohnsmann, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1104-1107.

⁵² J. Ohnsmann, *Dissertation* **2006**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

3.4.2 Durchführung der Synthese

Die erste vielversprechende Galactosematrix, die die Azidofunktion in der 4-Position trägt, wurde bereits von *Hünger*⁵⁰ beschrieben. Dieses Produkt, das in der anomeren Position anstelle des hier verwendeten Ankers eine Allylgruppe und in der 2-Position statt der Aloc- eine Phthalimid-Schutzgruppe trägt, wurde nur mit mäßiger Ausbeute erhalten. Mit dem zur Verfügung gestellten Acetal **131** kann man den 4-*O*-*p*-Methoxybenzylether **132** mit Hilfe des Boran-Trimethylamin-Komplexes und Aluminiumtrichlorid¹⁸⁹ erfolgreich herstellen. Zuerst wird $\text{BH}_3 \times \text{N}(\text{CH}_3)_3$ zu der in absol. THF gelösten Verbindung **131** gegeben und danach AlCl_3 zugefügt. Nach 20 Minuten ist der Umsatz vollständig und das gewünschte Produkt **132** kann mit 72%iger Ausbeute isoliert werden. Der Mechanismus für diese Reaktion ist in Abbildung 3.50 gezeigt.¹⁹⁰

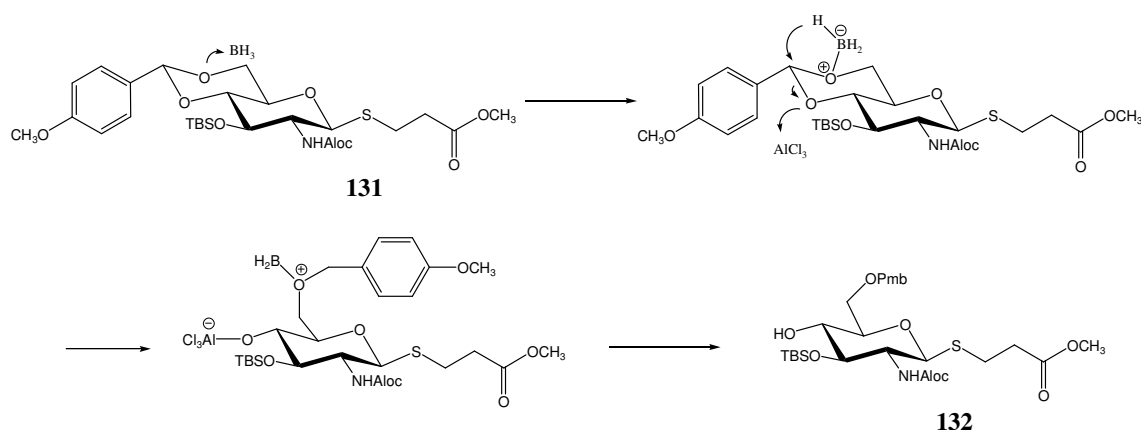


Abb. 3.50: Der Mechanismus der regioselektiven Acetalöffnung

Analog zur Synthese der Verbindung **31** wird die Umsetzung mit den bewährten Reagenzien, wie Nicotinoylazid, DIAD und Triphenylphosphin überprüft - Methode A - (Methode 2a, Abb. 3.17, Kapitel 3.2.2). Leider verhindert der hohe sterische Anspruch der in der 3-Position liegenden TBS-Schutzgruppe in diesem Fall die Bildung des gewünschten Produktes. Die alternative zweistufige Substitutionsreaktion - Methode B-, bei der die freie Hydroxylfunktion zuerst in unterschiedliche Abgangsgruppen überführt

⁵⁰ U. Hünger, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

¹⁸⁹ C. W. T. Chang, J. Wang, J. Li, H. N. Chen, H. Chang, C. T. Tanifum, H. H. Liu, P. G. Czyryca, *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 6271-6285.

¹⁹⁰ U. Ellervik, R. Johnsson, K. Mani, F. Cheng, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 3444 -3451.

und anschließend mit Natriumazid umgesetzt wird¹⁹¹⁻¹⁹³, scheitert schon in der ersten Stufe (Abb. 3.51).

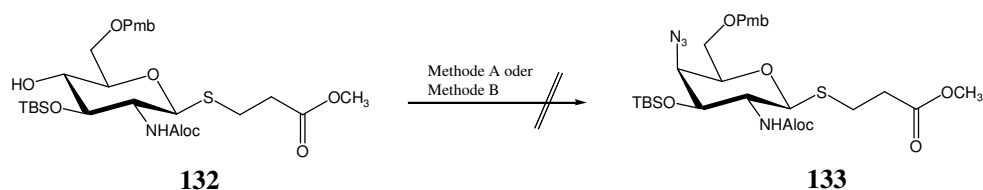


Abb. 3.51: Versuche zu Epimerisierung mit gleichzeitiger Azideinführung

Die Experimente zur Azideinführung über die S_N2 -Reaktion sind in der Tabelle 3.16 zusammengefasst.

	Reagenzien	Bedingungen	Beobachtungen
Methode A	Nicotinoylazid, DIAD, PPh ₃ , Toluol	RT	kein Umsatz
	Nicotinoylazid, DIAD, PPh ₃ , Toluol	50 °C, 24 h	kein Umsatz
	Nicotinoylazid, DIAD, PPh ₃ , Toluol	50 °C, 4 Tage	Zersetzung
Methode B	1. Ms-Cl, NEt ₃ , CH ₂ Cl ₂ 2. NaN ₃ , DMF	0 °C → RT	kein Umsatz
	1. Ms-Cl, Pyridin, CH ₂ Cl ₂ 2. NaN ₃ , DMF	0 °C → RT	kein Umsatz
	1. Ms-Cl, Pyridin+DMAP, CH ₂ Cl ₂ 2. NaN ₃ , DMF	0 °C → RT	kein Umsatz
	1. Ms-Cl, DTBMP, CH ₂ Cl ₂ 2. NaN ₃ , DMF	0 °C → RT	kein Umsatz
	1. Tf ₂ O, Pyridin, CH ₂ Cl ₂ 2. NaN ₃ , DMF	-78 °C → RT	Zersetzung
	1. Tf ₂ O, Pyridin, DCE 2. NaN ₃ , DMF	-20 °C → RT	kein Umsatz
	1. Tf ₂ O, DTBMP, CH ₂ Cl ₂ 2. NaN ₃ , DMF	-78 °C → RT	Zersetzung
	1. Tf ₂ O, DTBMP, CH ₂ Cl ₂ 2. NaN ₃ , DMF	0 °C → RT	Zersetzung

Tabelle 3.16: Ergebnisse zu Versuche der Azideinführung

¹⁹¹ Z. Guo, J. Xue, J. Wu, *Org. Lett.* **2004**, 6, 1365-1368.

¹⁹² V. R. Bouvet, R. N. Ben, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 3619 -3622.

¹⁹³ J. Fuentes, D. Olano, C. Gasch, M. A. Pradera, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 2471-2482.

Um auszuschließen, dass die freie 4-Hydroxylgruppe grundsätzlich gegenüber anderen Reaktionspartnern zu wenig reaktiv ist, werden zusätzliche Versuche unternommen. Unter Einsatz eines Acetanhydrid/Pyridin-Gemisches wird die Bildung des acetylierten Produktes erst nach sieben Tagen abgeschlossen. Erstaunlicherweise verläuft die Oxidationsreaktion der Verbindung **132** glatt und problemlos. Die *Swern*-Oxidation zeigt sich hier wieder als eine milde und zuverlässige Reaktion und das gewünschte Produkt **134** lässt sich nach einer Säulenchromatographie mit 61%iger Ausbeute isolieren (Abb. 3.52). Die Entstehung dieses interessanten Derivates wird unter anderem durch ^{13}C -NMR-Spektroskopie bewiesen, die ein Keton-Carbonylsignal bei 200.7 ppm erkennen lässt.

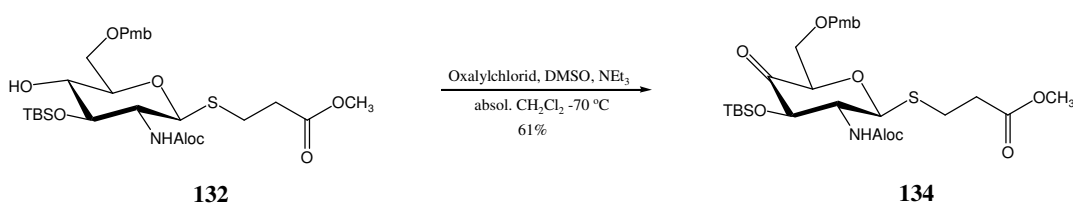


Abb. 3.52: *Swern* Oxidation von Verbindung **132**

Diese 4-Ketoverbindung stellt ein sehr wichtiges Zwischenprodukt für weitere Modifizierungsmöglichkeiten dar. In einer Reaktion mit Hydroxylamin und Pyridin sollte sie ein Oximderivat geben, das anschließend nach der selektiven Reduktion ein 3-Amino funktionalisiertes Monosaccharid liefern sollte.¹⁹⁴ Innerhalb des Zeitrahmens dieser Arbeit konnten diese Versuche nicht mehr durchgeführt werden.

3.5 Modellreaktionen zur Anbindung und Abspaltung des orthogonal stabilen Galactose-Scaffolds über die 6-Position

In allen bisher ausgeführten Beispielen findet die Anbindung des Scaffolds über die anomere Position statt, was zur Folge hat, dass keine Möglichkeit zur gezielten Festphasen-Oligosaccharidsynthese möglich ist. In unserer Arbeitsgruppe wurden bereits Experimente zur Einführung des Ankers in die 6-Position durchgeführt. Zur Verankerung über diese primäre Hydroxylgruppe wurden bisher folgende Methoden

¹⁹⁴ T. Norberg, U. Westerlind, P. Hagback, B. Tidbäck, L. Wiik, O. Blixt, N. Razi, *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 221-233.

untersucht: eine Veretherung nach *Mitsunobu*- und eine *Wittig*-Reaktion.^{44,46} Da der Aldehyd **21** (Kapitel 3.1.2, Abb. 3.8) problemlos hergestellt werden kann, kommt zusätzlich noch die in dieser Arbeit erfolgreiche reduktive Aminierung der Verbindung **135** in Betracht, deren Durchführung im darauffolgenden Kapitel beschrieben wird. Anschließend soll die Anbindung an den polymeren Träger entweder durch Kupplung der Aminogruppe des entsprechenden Ankers an ein carboxysäurefunktionalisiertes Polymer oder durch direkte reduktive Aminierung des Aldehyds mit Amino-Tentagel[®]-Harz erfolgen.

3.5.1 Verankerung über die 6-Position

Für die Synthese des Aldehyds **135** wird nochmals das *Swern*-Protokoll gewählt. Leider bleiben alle diesbezüglichen Versuche erfolglos, wobei eine plausible Erklärung dafür nicht gefunden werden konnte. Daher soll untersucht werden, ob die *Dess-Martin*-Methode besser geeignet ist. Hierbei wird tatsächlich das gewünschte Produkt in hoher Ausbeute erhalten und in Testreaktionen mit einfachen Aminen und monogeschützten Diaminen umgesetzt (Abb. 3.53).

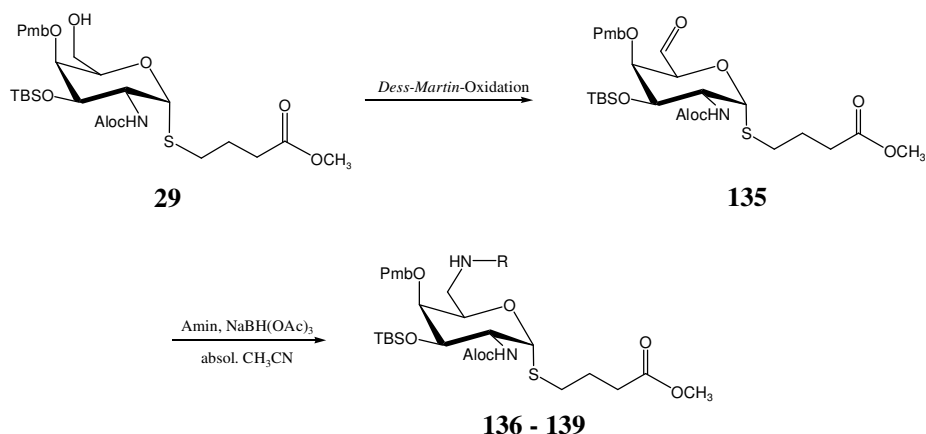


Abb. 3.53: *Dess-Martin*-Oxidation und Testreaktionen zur reduktiven Aminierung

Die Reaktionsbedingungen der reduktiven Aminierung lassen sich aus den in Kapitel 3.1.2 beschriebenen Versuchen erfolgreich übertragen, und die gewünschten Produkte

⁴⁴

C. Kallus, *Dissertation* **1998**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

⁴⁶

T. Maidhof, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

können in hohen Ausbeuten und hohen Reinheiten erhalten werden, so dass auf die säulenchromatographische Reinigung verzichtet werden kann (Tab. 3.46).

	Amin	Rohausbeute
136	Morpholin	98%
137	Benzylamin	93%
138	1,10-Diamino- <i>N</i> - <i>tert</i> -butyloxycarbonyldecanamin	99%
139	1,12-Diamino- <i>N</i> - <i>tert</i> -butyloxycarbonyldodecanamin	99%

Tabelle 3.17: Testreaktionen zur reduktiven Aminierung

Da die eingeführten langkettigen Amine mit der säurelabilen *tert*-Butyloxycarbonylgruppe geschützt sind, könnte es zum Verlust der orthogonalen Stabilität kommen. Versuche zur selektiven Abspaltung werden jedoch aus Zeitgründen nicht durchgeführt. Da diese Schutzgruppe sich bereits unter leicht sauren Reaktionsbedingungen abspalten lässt, sollte es möglich sein, die Methode so zu optimieren, dass dabei die Silyl- und *p*-Methoxybenzylether stabil bleiben. Alternative Wege wären die Synthese mit Fmoc-monogeschützten Diaminen, was hier jedoch nicht untersucht wurde, oder die Einführung einer Azidogruppe am Ende der Alkylkette. Vorteilhaft für die letztere Syntheseroute ist die potentielle Anbindungsmöglichkeit dieser Galactosematrix entweder über die 6-Position oder traditionell über die anomere Position (Abb. 3.54).

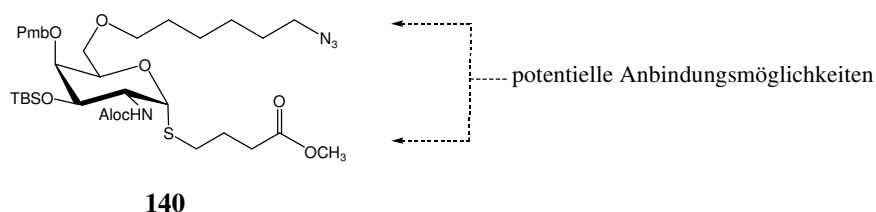


Abb. 3.54: Potentielle Anbindungsmöglichkeiten des neuen Galactose-Scaffolds

In diesem Fall wird zur Synthese dieses Derivates nicht der Aldehyd **135**, sondern der freie primäre Alkohol **29** (Kapitel 3.2.2) verwendet, der nach Umsetzen mit frisch hergestelltem Triflat **141** und Natriumhydrid das gewünschte Produkt **140**

in 36%iger Ausbeute liefert.³⁶ Durch entsprechende Modifikation der Reaktionsbedingungen^{37,195} oder Verwendung alternativer Basen, wie KHMDS, NaHMDS sollte es möglich sein, die Reaktion zu optimieren. Das erste Experiment zur Reduktion der Azido-Funktion verläuft mit mäßiger Ausbeute, zeigt jedoch, dass der Weg über den in der 6-Position verankerbaren Galactose-Baustein durchaus möglich ist. Da die säulenchromatographische Reinigung des Produktes **142** sich als schwierig erweist, wird das freie Amin mit einer Schutzgruppe ausgestattet (Abb. 3.55).

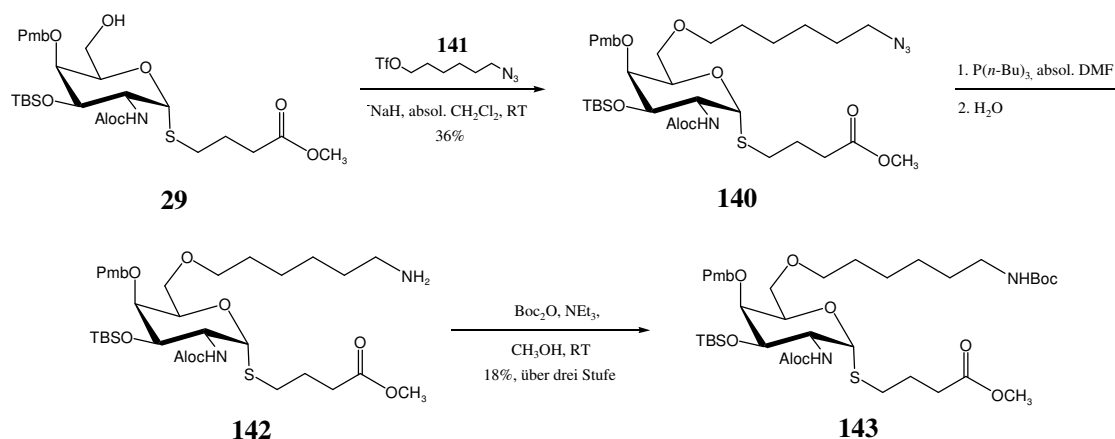


Abb. 3.55: Synthese der Verbindung **143**

Diese Verbindung ist auch aus anderem Grund von großem Interesse. Sie stellt nämlich ein potientes Scaffold für die Festphasensynthesen der in der Einleitung genannten Somatostatinantagonisten dar (Abb. 3.56).

³⁶ R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoors, W. C. Shakespeare, P. A. Sprengeler, P. Hamley, A. B. Smith III, T. Reisine, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12550-12568.

³⁷ R. Hirschmann, J. Hynes, M. A. Cichy-Knight, R. I. D. van Rijn, P. A. Sprengeler, P. Grant Spoors, W. C. Shakespeare, S. Pietranico-Cole, J. Barbosa, J. Liu, W. Yao, S. Rohrer, A. B. Smith, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1382-1391.

¹⁹⁵ S. G. Gouin, P. V. Murphy, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8527-8532.

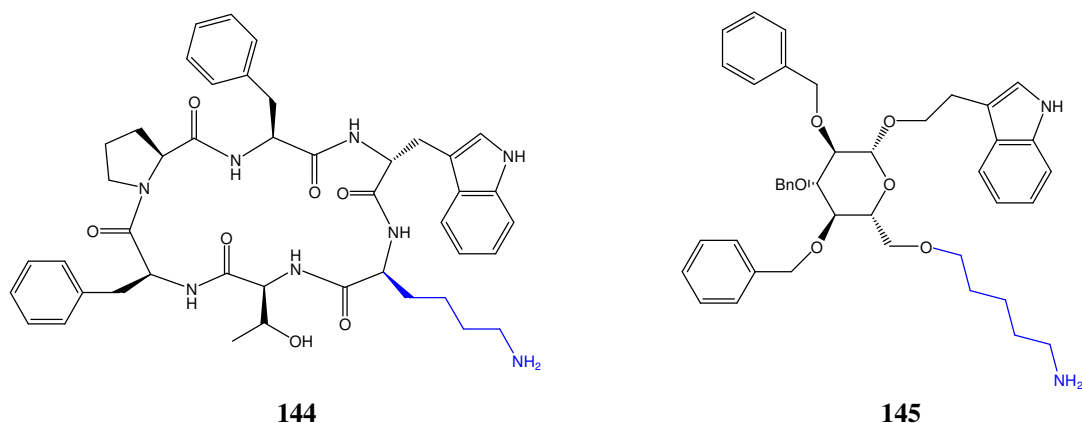


Abb. 3.56: Struktur des cyclischen Hexapeptides – Somatostatinantagonists¹⁹⁶ **144** und des auf der Basis von β -D-Galactose synthetisierten Mimetikums³⁶ **145**

3.5.2 Reduktive Aminierung des 6-Aldehyd-Derivates

Die Anbindung des Scaffolds an die feste Phase kann ohne zusätzliche Verankerung direkt am polymeren Träger erfolgen. Die ersten reduktiven Aminierungen, die das *Borch*-Verfahren (NaCNBH_3) an polymeren Träger nutzten,¹⁹⁷ sind von *Coy* 1987 mit Erfolg durchgeführt worden^{198,199} und seit dieser Zeit immer populärer geworden. Da im Rahmen dieser Arbeit die ausgeführten Synthesen vor allem mit dem *Rink*-Amid-Linker funktionalisierten Tentagel®-Harz gemacht wurden, werden die folgenden Experimente ebenfalls mit ihm durchgeführt (Abb. 3.57).

- ³⁶ R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy, P. G. Spoors, W. C. Shakespeare, P. A. Sprengeler, P. Hamley, A. B. Smith III, T. Reisine, K. Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12550-12568.
- ¹⁹⁶ D. F. Veber, R. M. Freidinger, D. Perlow, W. J. Palevda Jr, F. W. Holly, R. G. Strachan, R. F. Nutt, B. H. Arison, C. Homnick, W. C. Randall, M. S. Glitzer, R. Saperstein, R. Hirschmann, *Nature* **1981**, *292*, 55-58.
- ¹⁹⁷ R. F. Borch, M. D. Bernstein, H. D. Durst, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2897-2904.
- ¹⁹⁸ Y. Sasaki, W. A. Murphy, M. L. Heiman, V. A. Lance, D. H. Coy, *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1162-1166.
- ¹⁹⁹ Y. Sasaki, D. H. Coy, *Peptides* **1987**, *8*, 119-121.

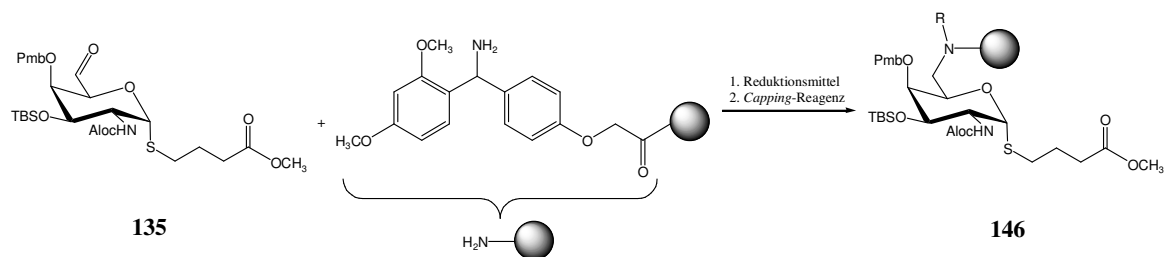


Abb. 3.57: Anbindung des Verbindung **135** an die feste Phase über reduktive Aminierung

Zuerst wird der Aldehyd **135** unter den für die Reaktionen in Lösung beschriebenen Bedingungen umgesetzt (Kapitel 3.5.1, Abb.3.53). Sowohl die Elementaranalyse an Schwefelgehalt als auch das ^1H -NMR-Spektrum des abgespaltenen Produktes zeigten keinen Umsatz. Nach einem Lösungsmittel-Wechseln von Acetonitril auf Tetrahydrofuran bzw. 1,2-Dichlorethan (DCE) als Lösungsmitteln beobachtet man eine Anbindung, die laut Elementaranalyse mit 49% bzw. 48%iger Ausbeute verläuft (Weg A, Abb. 3.58). Da die erhaltenen Produkte **147** keine UV-aktiven Gruppen tragen und die Reinheitsbestimmung mittels analytischer HPLC unmöglich ist, werden die Carbamoylierungsreaktionen direkt nach der Anbindung durchgeführt oder als Cappingreagenz das Benzoylchlorid eingesetzt (Weg B, Abb. 3.58). Damit kann die UV-Aktivität der abgespaltenen Produkte erhöht werden.

Die Resultate der Optimierungsreaktionen zu reduktiver Aminierung und Abspaltung vom polymeren Träger sind in Tabelle 3.18 zusammengestellt.

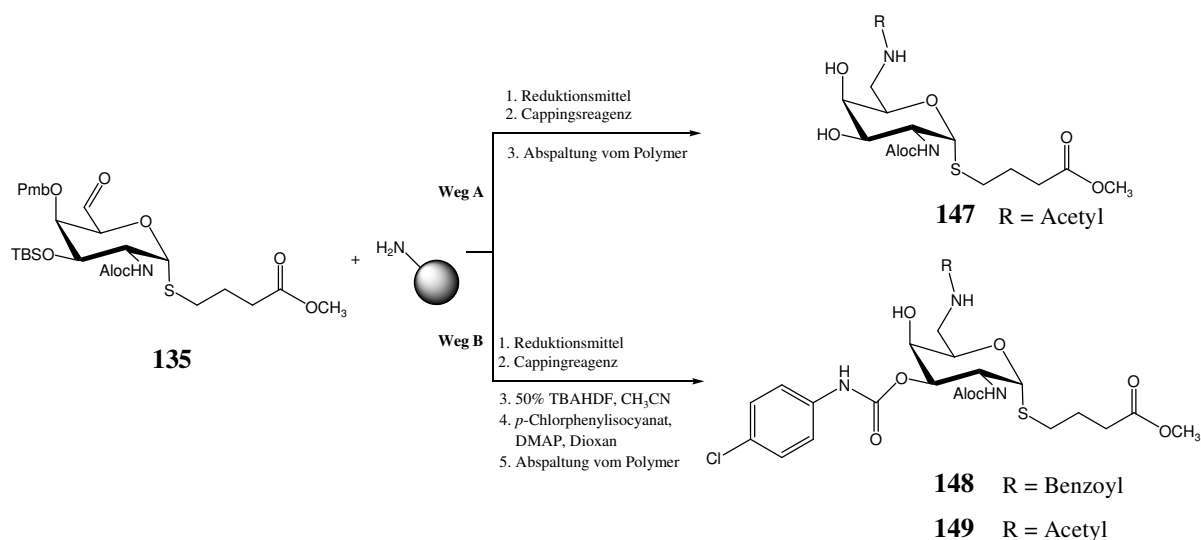


Abb. 3.58: Versuche zur Anbindung, Funktionalisierung und Abspaltung

	Reduktionsmittel	Lösungsmittel	Capping-Reagenz	Abspaltung	Ausbeute [%]
Weg A	NaBH(OAc) ₃	CH ₃ CN	Ac ₂ O	50% TFA, Mercaptomethyl-PS	k. Produkt
	NaCNBH ₃	THF/H ₂ O	Ac ₂ O	50% TFA, Mercaptomethyl-PS	35*
	NaCNBH ₃	DCE	Ac ₂ O	50% TFA, Mercaptomethyl-PS	38*
	NaBH(OAc) ₃	THF/H ₂ O	Ac ₂ O	50% TFA, Mercaptomethyl-PS	49*
	NaBH(OAc) ₃	DCE	Ac ₂ O	50% TFA, Mercaptomethyl-PS	48*
Weg B	NaBH(OAc) ₃	THF/H ₂ O	Ac ₂ O	50% TFA, Mercaptomethyl-PS	k. Produkt
	NaBH(OAc) ₃	THF/H ₂ O	Ac ₂ O	2% TFA, 2% TES, 2% H ₂ O	k. Produkt
	NaBH(OAc) ₃	THF/H ₂ O	Bz-Cl	50% TFA, Mercaptomethyl-PS	k. Produkt
	NaBH(OAc) ₃	CH ₂ Cl ₂ ²⁰⁰	Ac ₂ O	2% TFA, Mercaptomethyl-PS	19**
	NaCNBH ₃	THF/H ₂ O/AcOH	Ac ₂ O	2% TFA, 2% TES, 2% H ₂ O	k. Produkt
	NaCNBH ₃	THF/H ₂ O/AcOH	Ac ₂ O	2% TFA, Mercaptomethyl-PS	72* (26**)
	NaCNBH ₃	THF/H ₂ O/AcOH	Ac ₂ O	50% TFA, 5% Thioanisol, 3% EDT, 2% Anisol	72* (23**)
	NaCNBH ₃	THF/H ₂ O/AcOH	Ac ₂ O	50% TFA, 5% EDT	72* (17**)
	NaCNBH ₃	THF/H ₂ O/AcOH	Ac ₂ O	50% TFA, 5% DMS	72* (32**)

* Die Ausbeuteberechnung erfolgte mittels der Elementaranalyse

** Die Ausbeuten der nach semipräparativer Reinigung isolierten Produkte

Tabelle 3.18: Versuche zur reduktiven Aminierung an der festen Phase

Die besten Ergebnisse werden mit Natriumcyanoborhydrid in einem THF/H₂O/AcOH Gemisch erhalten.²⁰¹ Durch die Zugabe vom Dimethylsulfid zur Spatlösung kann man das Produkt **149** in hoher Reinheit und guter Ausbeute isolieren (32% über 5 Stufen). Da sich Dimethylsulfid in diesen Versuche als geeignetes Abfangsnucleophil gezeigt hat, werden die weiteren Funktionalisierungen mit diesem neuen Scaffold unter oben genannten Bedingungen durchgeführt.

²⁰⁰

G. Hummel, L. Jobron, O. Hindsgaaul, *J. Carbohydr. Chem.* **2003**, 22, 781-800.

²⁰¹

E. G. Brown, J. M. Nuss, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8457-8460.

3.5.3 Kombinatorischer Einsatz des Scaffolds 4

Nachdem die Anbindung des Aldehyds an den polymeren Träger erfolgreich abgeschlossen wird und die erste Funktionalisierung der 3- Position das gewünschte Produkt mit hoher Ausbeute liefert, werden die anderen Positionen des Scaffolds **4** (Abb. 3.59) unter den in Kapitel 3.3 genannten Bedingungen derivatisiert.

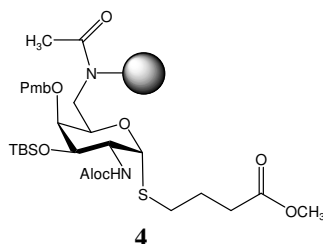


Abb. 3.59: Orthogonal geschützte Scaffold **4**

Dazu wird die Aloc-Schutzgruppe abgespalten und die Amidbindung gebildet. Als Aminosäure wird Fmoc-geschütztes Glycin gewählt, und das gewünschte Produkt **150a** kann in 48%iger Ausbeute nach drei Stufen isoliert werden. Als Nebenprodukt wird das silylierte Derivat **150b** erhalten (Abb. 3.60).

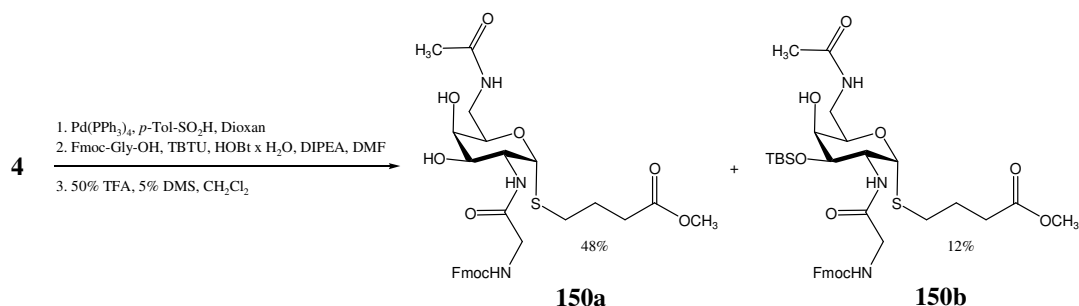


Abb. 3.60: Funktionalisierung der 2-Position

Bevor die Carbamatbildung in der 3-Position erfolgt, wird der Silylether problemlos unter dem Einsatz der TBAHDF-Lösung abgespalten. Die freie Hydroxylgruppe wird nach allgemeiner Arbeitsvorschrift AAV 8 (Kapitel 6.2) mit dem 4-Chlorphenylisocyanat umgesetzt und im Rohprodukt können das gewünschte Produkt **149** und das Allophanat **151** nachgewiesen werden. Die semipräparative HPLC liefert beide Verbindungen in 35%iger bzw. 12%iger Ausbeute (Abb. 3.61).

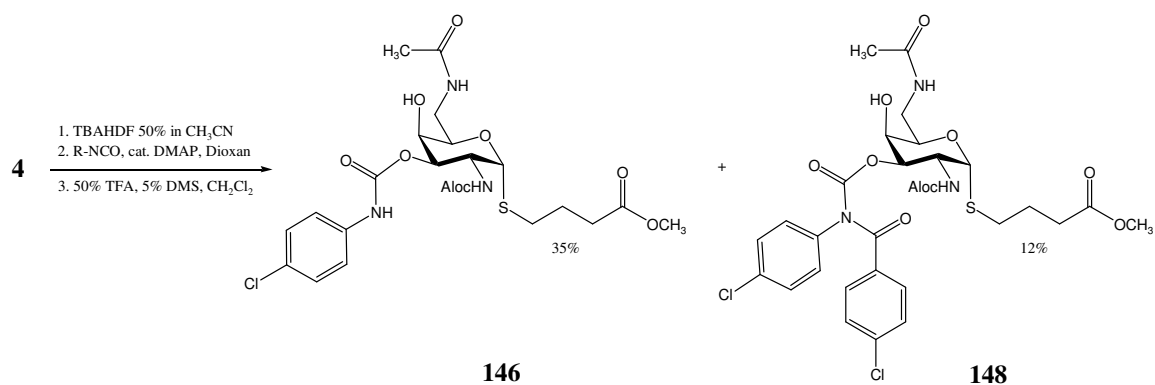


Abb. 3.61: Funktionalisierung der 3-Position

In einem Parallelexperiment zur Funktionalisierung der axialen 4-OH Funktion wird zunächst der *p*-Methoxybenzylether oxidativ entfernt und anschließend 4-Chlorphenylisocyanat unter basischen Bedingungen zugegeben. Nach der Abspaltung vom Harz kann die Verbindung **149a** isoliert werden. Als Nebenreaktion wird wieder die Bildung des nicht desilylierten Produktes **149b**. Die Reinigung mittels semipräparativer HPLC liefert Produkte **149a** und **149b**. Die Ausbeuten sind in Abbildung 3.62 angegeben.

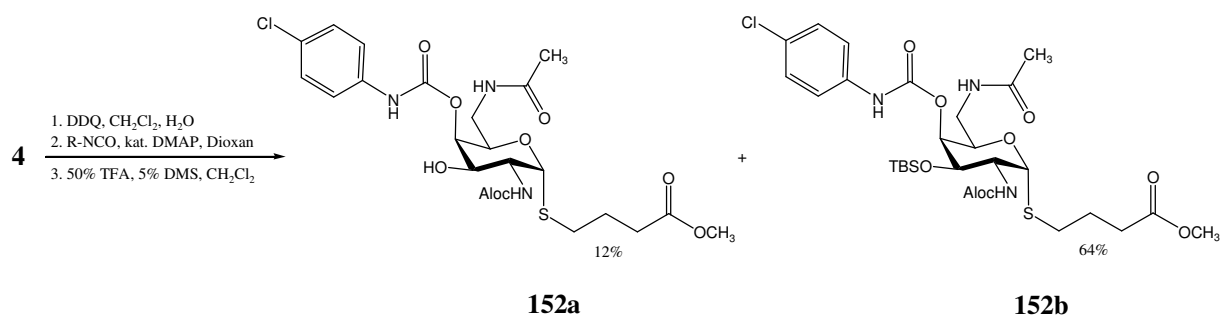


Abb. 3.62: Funktionalisierung der 4-Position

Das Entstehen von jeweiligen Allophanatderivaten **153a** und **153b** kann ebenfalls massenspektrometrisch nachgewiesen werden (Abb. 3.63).

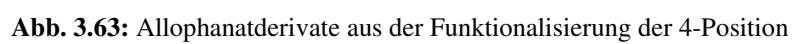


Abb. 3.63: Allophanatderivate aus der Funktionalisierung der 4-Position

4 BIOLOGISCHE TESTS

Die biologische Aktivität der hergestellten Substanzen wird im Rahmen des Forschungsbereichs 579 für RNA-Liganden-Wechselwirkungen von Michaela Stoll im Georg Speyer-Haus in Frankfurt am Main geprüft.

Zunächst werden Cytotoxizität-Tests durchgeführt und darauffolgend soll die antivirale Aktivität gegen HIV-1 nur für diese Substanzen bestimmt werden, die auf die Zellen nicht toxisch wirken bzw. keinen oder geringen Effekt auf ihre Vitalität haben. Bis zur Fertigstellung dieser Arbeit wurden lediglich die Substanzen auf ihre Toxizität geprüft.

4.1 Der Cytotoxizitäts-Test-Hintergrund

Bei dem hier verwendeten Test macht man sich die Anwesenheit des ATP in vitalen Zellen zu Nutze. Jede Beeinflussung oder Zerstörung der Zelle hat eine Abnahme des ATP-Konzentration zur Folge. Diese ATP-Konzentration wird mit Hilfe einer Biolumineszenz-Messung bestimmt. Dabei bewirkt das Enzym Luciferase die ATP-abhängige oxidative Decarboxylierung von Luciferin zu Oxyluciferin unter gleichzeitiger Lichtemission bei einer Wellenlänge von 565 nm. Die für eine katalytische Reaktion der Luciferase benötigte Substanz, das Substrat Luciferin, ist im AMR-Plus-Reagenz des Test-Kits der Firma *Cambrex* (East Rutherford, USA) enthalten. Das ATP wird durch eine Zell-Lyse mit dem Lysis-Reagenz des gleichen Kits aus den Zellen gewonnen. Die Lichtemission kann mit Hilfe eines Luminometers gemessen werden. Je höher die Werte der Luciferase-Aktivität liegen, das heißt, je stärker die Lichtemission ist, um so mehr ATP liegt vor. Je niedriger die Werte sind, desto schädlicher sind die zugegebenen Substanzen für die Zellen.

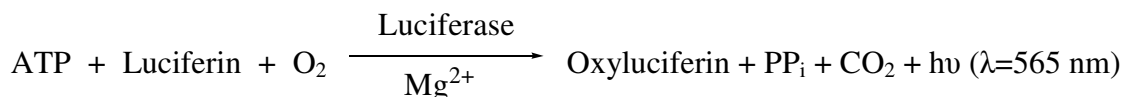


Abb. 4.1: Schematische Darstellung der Reaktion in der Zelle

Die Zellen, hier HeLA P4-Zellen, werden mit einer Dichte von $1,5 \times 10^4$ Zellen pro *Well* in einer 96-*Well*-Platte verteilt und über Nacht im Brutschrank bei 37 °C inkubiert. Am nächsten Tag wird das Medium von den Zellen abgezogen und die Substanzen in

unterschiedlichen Konzentrationen (Substanz + Medium) auf die Zelle gegeben. Es werden 7 verschiedene Konzentrationen eingestellt: 0 μM , 10 μM , 50 μM , 100 μM , 200 μM , 500 μM und 1 mM. Die Inkubation dauert 1-2 Tage im Brutschrank bei 37 °C. Anschließend wird das Medium abgezogen und die Zellen werden dreimal vorsichtig mit Medium gewaschen. Für die Lyse der Zellen werden 50 μL Zell-Lyse-Reagenz pro *Well* auf die Zellen gegeben und 10 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die lysierten Zellen (50 μL) werden in eine weiße 96 *Well*-Platte pipettiert (falls nicht die speziellen Platten des Kits verwendet wurden). Dabei müssen Luftblasen unbedingt vermieden werden, da sie die spätere Messung negativ beeinträchtigen. Für die abschließende Reaktion werden 100 μL AMR-Plus-Reagenz pro *Well* dazugegeben und 2 min bei Raumtemperatur inkubiert. Abschließend erfolgt die Messung der Luciferase-Aktivität am Lumistar-Galaxy-Luminometer der Firma *BMG LABTECH* (Offenburg, Deutschland).²⁰²

Es wird angenommen, dass eine Substanz als leicht toxisch gilt, wenn die Luciferase-Aktivität unter 65% sinkt. Liegt diese Aktivität unter 50% gilt die Substanz als toxisch.

202Vorgehensweise nach M. Stoll, *Georg Speyer-Haus*, Frankfurt am Main (Deutschland).

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Resultate für 2-*N*-acylierte Derivate

Auf ihre toxischen Eigenschaften werden zunächst Derivate geprüft, deren Synthesen in Kapitel 3.3.3 und Kapitel 3.3.8 beschrieben sind. Es handelt sich um die Verbindungen, die sowohl einfache α -Aminosäuren als auch Oligopeptide in der 2-Position tragen (Abb. 4.2).

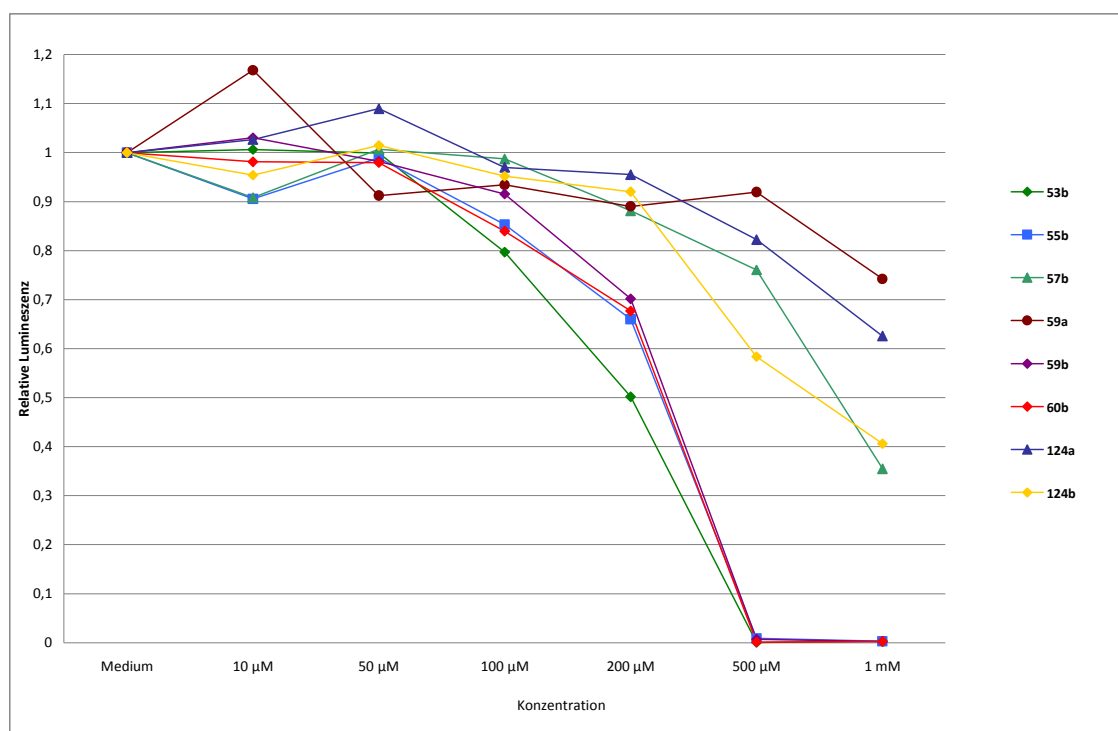
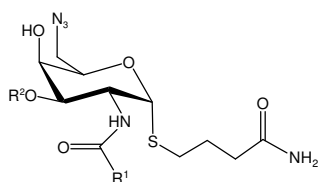


Abb. 4.2: Zelltoxizitäts-Tests für die 2-*N*-acylierte Derivate

Wie in Abbildung 4.2 zu sehen ist, ist der Konzentrationsbereich, bei dem diese Substanzen keine bzw. geringe Zelltoxizität zeigen breit und liegt zwischen 10 μ L und 200 μ L. Die Hemmversuche können für alle Derivate durchgeführt werden, wenn man die Konzentration von 100 μ M nicht überschreitet. Man beobachtet eine starke Abnahme der Lebensvitalität für die folgende Substrate **53b**, **55b**, **59b** und **60** ab einer Konzentration 200 μ M. Die Zusammenfassung der erhaltenen Ergebnisse wird in Abbildung 4.3 dargestellt.



	R ¹	R ²	Toxizität
53b	Fmoc-Gly	TBS	+
55b	Phenyl	TBS	+
57b	Fmoc-Glu	TBS	-/+
59a	Fmoc-His	H	-
59b	Fmoc-His	TBS	+
60b	Fmoc-Gln	TBS	+
124a	Fmoc-His-Gly	H	-
124b	Fmoc-His-Gly	TBS	-/+

Abb. 4.3: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests: -: keine Wirkung; +/-: schwache Wirkung; +starke Wirkung im ganzen Konzentrationsbereich für 2-*N*-acylierte Derivate

4.2.2 Resultate für 3-*O*-carbamoylierte- und 3-*O*-acylierte Derivate

Die in den Kapiteln 3.3.4.1 und 3.3.4.2 beschriebenen kombinatorischen Synthesen liefern nach der HPLC Reinigung insgesamt 16 Verbindungen, deren biologische Aktivität geprüft werden kann.

Zunächst wird die Toxizität-Untersuchung für solche Derivate durchgeführt, welche die Carbamatgruppierung in der 3-Position tragen. Die Abbildung 4.4 und Abbildung 4.5 fassen die Ergebnisse zusammen.

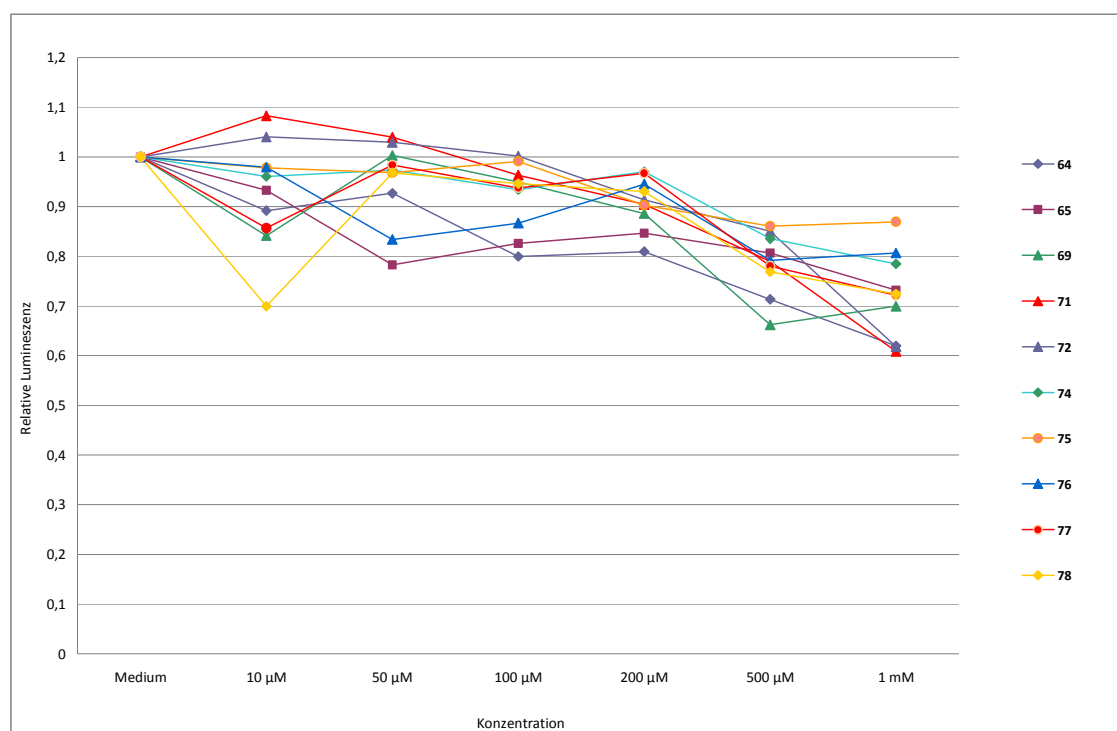
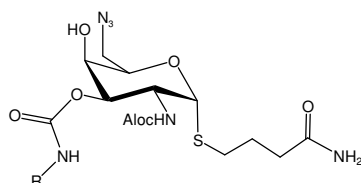


Abb. 4.4: Zelltoxizitäts-Tests für 3-*O*-carbamoylierte Derivate



	R	Toxizität
64	4-Fluorphenyl	-
65	4-Cyanophenyl	-
69	4-Chlorphenyl	-
71	2,4-Difluorphenyl	-
72	4-Methyl-3-nitrophenyl	-
74	3-Fluorphenyl	-
75	2-Nitrophenyl	-
76	Ethyl-4-isocyanatobenzoat	-
77	3-Acetylphenyl	-
78	4-Ethoxyphenyl	-

Abb. 4.5: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests: -: keine Wirkung; -/+: schwache Wirkung; +starke Wirkung im ganzen Konzentrationsbereich für 3-*O*-carbamoylierte Derivate

Der Toxizitätstest ergibt, dass alle Substanzen im Bereich 10 μ M bis 1 mM nicht toxisch sind. Lediglich bei den Substanzen **64**, **69**, **71** und **72** ist der Wert bei 1 mM grenzwertig. Dementsprechend können alle Mitglieder dieser Substanzbibliothek auf die Tat/TAR-Wechselwirkung getestet werden.

Des Weiteren werden fünf Produkte untersucht, die mit α -Aminosäuren funktionalisiert sind. Unter den getesteten Substanzen befinden sich sowohl Bausteine mit einer Aminosäure als auch Kohlenhydrat-Peptid-Konjugate. Die Zusammenfassung der Ergebnisse zeigen die Abbildungen 4.6 und 4.7.

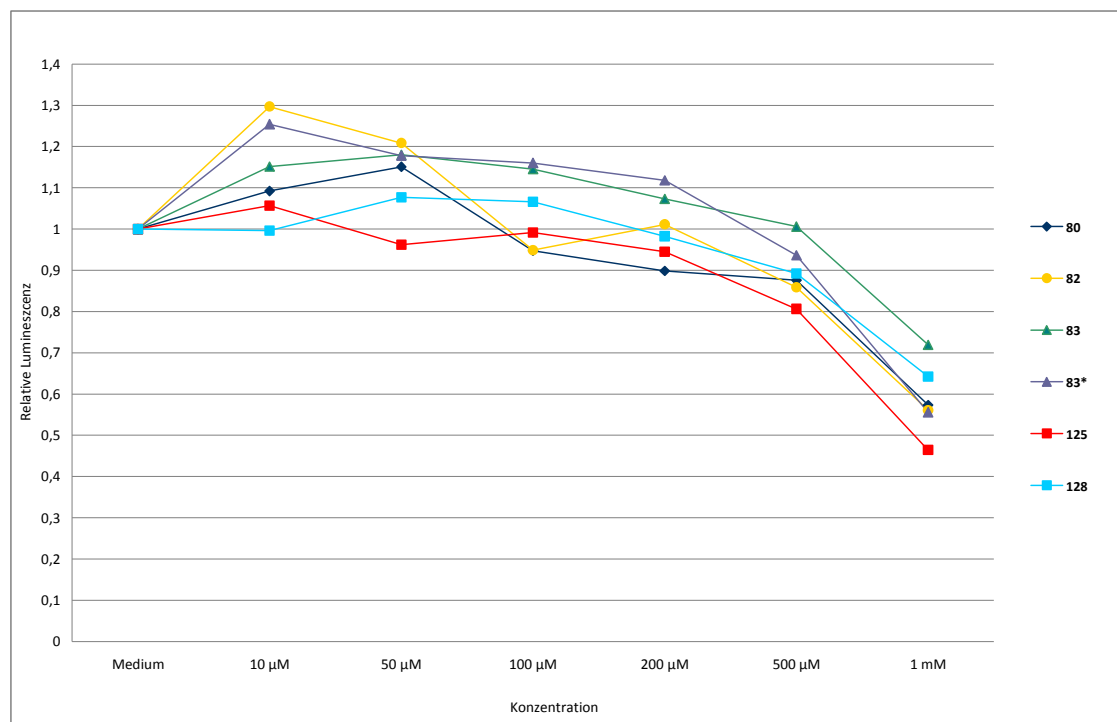
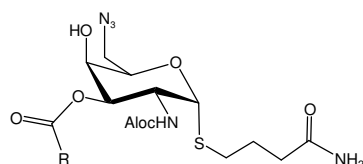


Abb. 4.6: Zelltoxizitäts-Tests für 3-O-acylierte Derivate



	R	Toxizität
80	Fmoc-Gly	-
82	Fmoc-Gln	-
83	Fmoc-His	-
83*	Fmoc-His	-
125	Fmoc-His-Gly	-
128	Z-His-Gly	-

*Epimerisierungsprodukt

Abb. 4.7: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests: -: keine Wirkung; -/+ : schwache Wirkung; +starke Wirkung im ganzen Konzentrationsbereich für 3-O-acylierte Derivate

Wie auch schon zuvor für die beschriebenen Zellassays sind diese Ergebnisse sehr gut und die synthetisierten Substanzen zeigen keine bzw. geringe Toxizität. Eine stärkere Abnahme der Lumineszenz wird erst bei einer Konzentration von 1 mM beobachtet. Damit können diese Derivate für die Hemmversuche eingesetzt werden können.

4.2.3 Resultate für 4-O-carbamoylierte Derivate

Die in Kapitel 3.3.5.1 beschriebenen Carbamate werden ebenfalls dem Toxizitäts-Test unterzogen (Abb. 4.8 und Abb. 4.9).

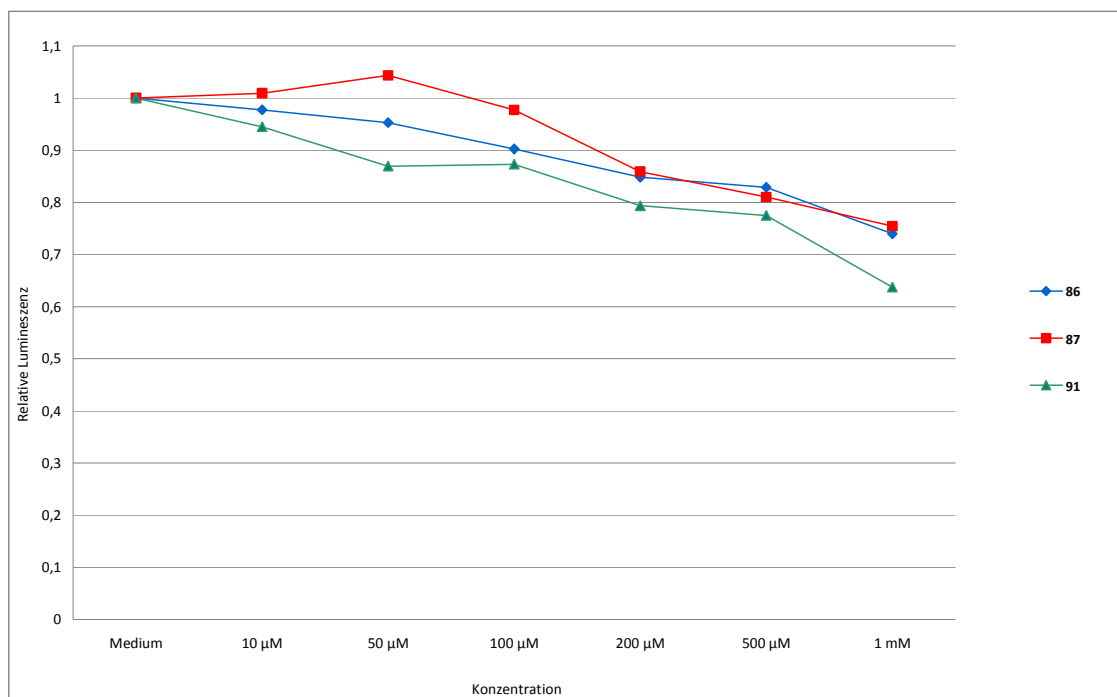
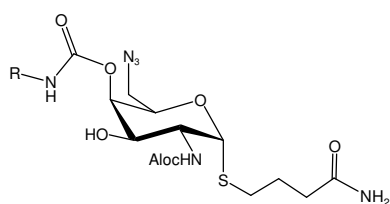


Abb. 4.8: Zelltoxizitäts-Tests für 4-*O*-carbamoylierte Derivate



	R	Toxizität
86	4-Fluorphenyl	-
87	4-Cyanophenyl	-
91	4-Chlorphenyl	-

Abb. 4.9: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests: -: keine Wirkung; -/+: schwache Wirkung; +starke Wirkung im ganzen Konzentrationsbereich für 4-*O*-carbamoylierte Derivate

Für Verbindungen **86**, **87** und **91** wird mit der steigenden Konzentration immer schwächere Lumineszenz gemessen und der Konzentrationsbereich, bei dem die hemmende Wirkung dieser Substanzen geprüft werden kann, ist sehr breit und liegt zwischen 10 µM bis 1 mM.

4.2.4 Resultate für 6-*N*-acylierte Derivate

Die in der 6-Position funktionalisierte Amid-Derivate, deren Synthese in Kapitel 3.3.6 und 3.3.8 beschrieben werden, werden ebenfalls auf ihre cytotoxischen Eigenschaften

getestet. Der Einfluß der einzelnen Verbindungen auf die Lebensaktivität der untersuchten Zelllinien wird in der Abbildung 4.10 gezeigt.

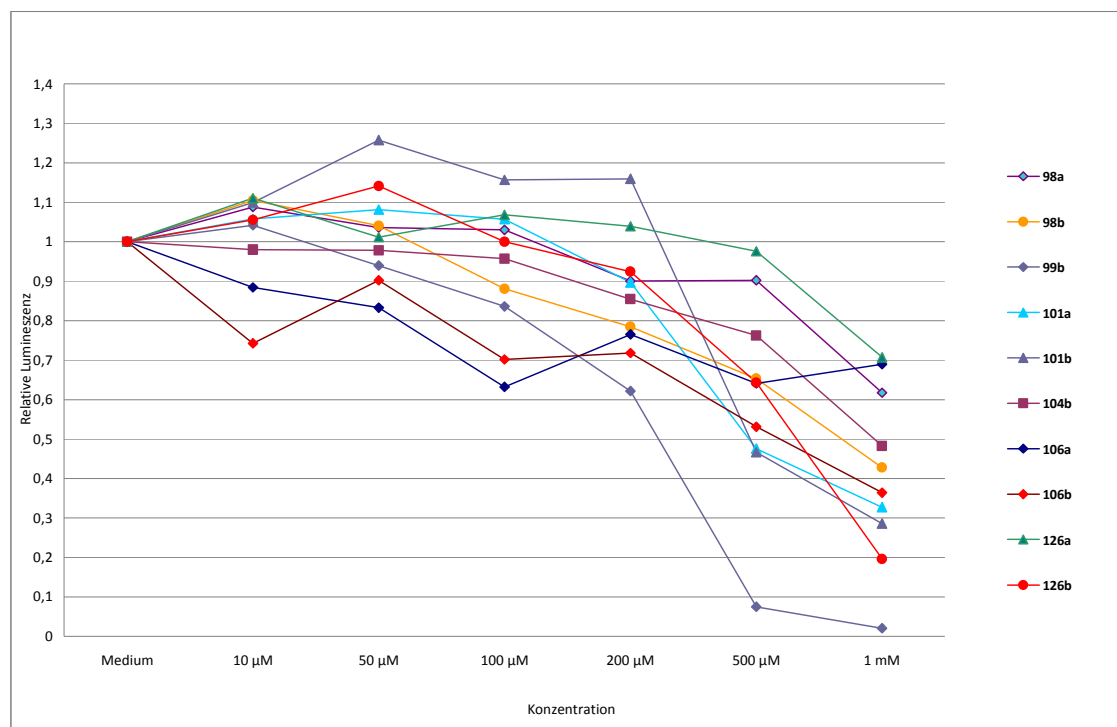
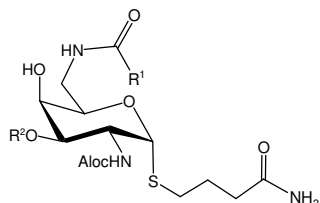


Abb. 4.10: Zelltoxizitäts-Tests Zelltoxizitäts-Tests für 6-*N*-acylierte Derivate

Lediglich drei Derivate **98a**, **106a** und **126a** können in ganzem Konzentrationsbereich zukünftig auf die Tat/TAR-Wechselwirkung getestet werden. Für andere Substanzen verursacht die höchste Konzentration, $c = 1 \text{ mM}$, vermehrtes Absterben der Zellen. Diese negative Wirkung wird besonders stark für die Verbindung **99b** beobachtet. Die Konzentrationsgrenzwerte, bei denen die Hemmversuche durchgeführt werden können, liegen bei max 200 µM . Die Ergebnisse aus dieser Testreihe werden in Abbildung 4.11 zusammengefasst.



	R ¹	R ²	Toxizität
98a	Fmoc-His	H	+
98b	Fmoc-His	TBS	-/+
99b	Fmoc-Leu	TBS	-
101a	Fmoc-Gln	H	-/+
101b	Fmoc-Gln	TBS	-/+
104b	Phenylacetyl	TBS	-/+
106a	1-Phenyl-1 <i>H</i> - 1,2,3-triazol-4-carbonyl	H	+
106b	1-Phenyl-1 <i>H</i> - 1,2,3-triazol-4-carbonyl	TBS	-/+
126a	Fmoc-His-Gly	H	+
126b	Fmoc-His-Gly	TBS	-/+

Abb. 4.11: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests: -: keine Wirkung; -/+: schwache Wirkung; +starke Wirkung im ganzen Konzentrationsbereich für 6-*N*-acylierte Derivate

4.2.5 Derivate aus dem Einsatz des Scaffolds 4

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der cytotoxischen Tests für die Verbindungen dargestellt, die mit Hilfe des Scaffolds 4 synthetisiert wurden. Die Substanzenbibliothek besteht aus 5 Mitgliedern und umfasst Produkte, die in einer Carbamat- bzw. Amidbildung entstanden sind. Die biologische Aktivität und ihre Konzentrationsabhängigkeit sind in Abbildungen 4.12 und 4.13 gezeigt.

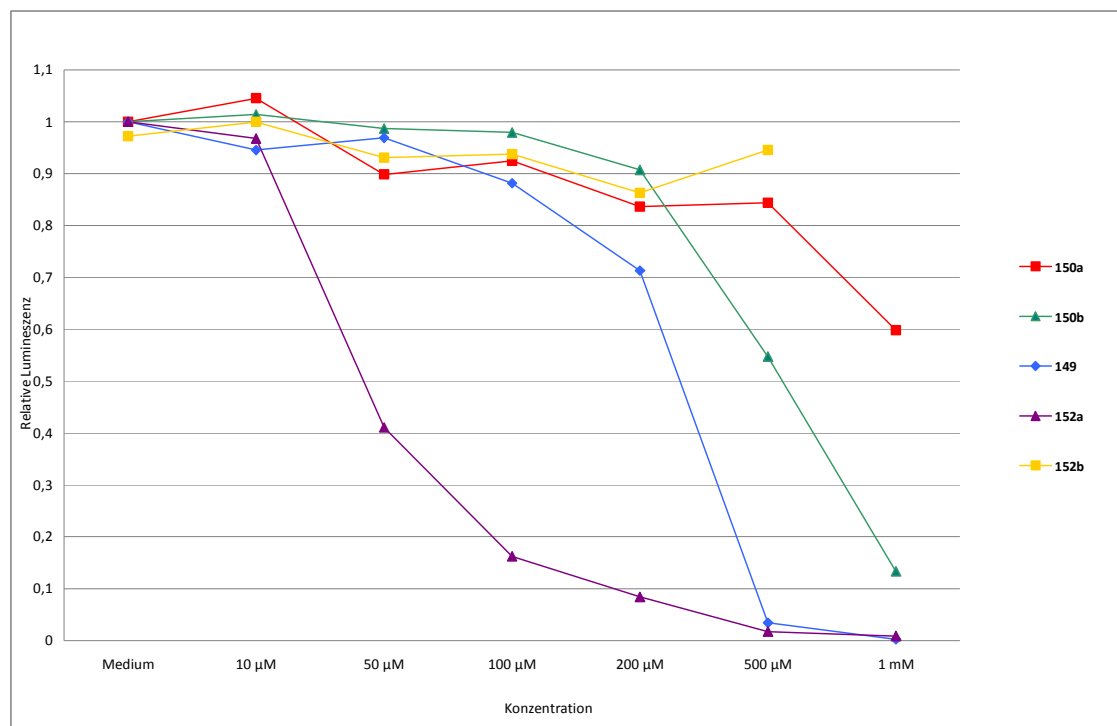
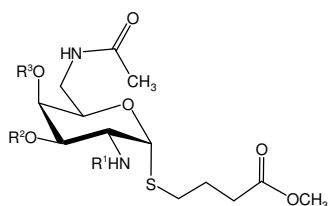


Abb. 4.12: Zelltoxizitäts-Tests der Substanzen aus dem kombinatorischen Einsatz des Scaffolds 4



	R ¹	R ²	R ³	Toxizität
150a	Fmoc-Gly	H	H	+
150b	Fmoc-Gly	TBS	H	-/+
149	Aloc	4-Chlorphenyl-carbamoyl	H	-/+
152a	Aloc	H	4-Chlorphenyl-carbamoyl	-
152b	Aloc	TBS	4-Chlorphenyl-carbamoyl	+

Abb. 4.13: Zusammenfassung der Ergebnisse des Zelltoxizitäts-Tests: -: keine Wirkung; -/+: schwache Wirkung; +starke Wirkung im ganzen Konzentrationsbereich für Derivate aus dem kombinatorischen Einsatz des Scaffolds 4

Die Derivate **150a** und **152b** zeigen keine Toxizität, jedoch liegt die Lumineszenz für die Verbindung **150a** gerade über ihren 65%igen Grenzwert. Bei der Substanz **152a** ist schon bei einer Konzentration von ca. 25 μM eine starke Cytotoxizität zu beobachten,

während die Verbindungen **149** und **150b** erst bei 200 μM eine deutliche Limineszenzsenkung zeigen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Aufklärung der Schlüsselrolle der RNA in zahlreichen biologischen Prozessen, die sich aus ihren selektiven Wechselwirkungen mit anderem RNA-Molekülen, Proteinen, Peptiden bzw. Antibiotika ergibt, ist für die Wirkstoffforschung von großer Bedeutung. Die Aminoglycoside und Antibiotika, die durch eine Hemmung der Proteinbiosynthese schon seit längerem bekannt sind, dienen als Leitstrukturen für die Synthese von weiteren Wirkstoffen. Ein wichtiger Vertreter ist das Neomycin B. Seine Struktur wurde in dieser Arbeit für die Entwicklung des Diaminogalactose-Templates genutzt. Sowohl die Synthese des neuen Diaminogalactose-Scaffolds als auch sein Einsatz in der kombinatorischen Chemie wurden aufbauend auf den bisherigen Resultaten der Arbeitsgruppe ausgearbeitet. Dabei sollte erstmals das Muster der Schutzgruppen variiert und eine Reihe von vier verschiedenen Bausteinen hergestellt werden, die in Abbildung 5.1 dargestellt sind.

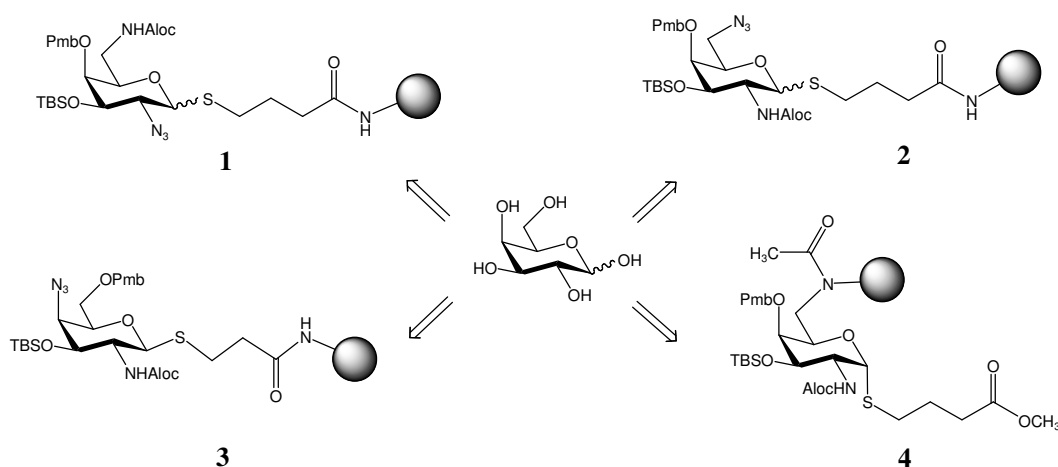


Abb. 5.1: Diaminogalactose-Scaffolds für die Festphasensynthesen

Zur Synthese der jeweiligen Derivate ging man von D-Galactose aus, die über das Galactal und eine Azidonitratisierung in fünf Stufen zum Trichloracetimidat **13** umgesetzt wurde. Anschließend wurde der Thioanker in der anomeren Position eingebaut, wobei die Einführung des 4,6-*O*-*p*-Methoxybenzylidenacetals in hoher Ausbeute gelang und die Trennung von beiden Anomeren ermöglichte. Erst nach der erfolgreichen *tert*-Butyldimethylsilylether-Bildung in 3-Position wurde die Differenzierung der Syntheseroute vorgenommen (Abb. 5.2). Im Fall des Bausteins **1** wurde nur das α -Anomer untersucht.

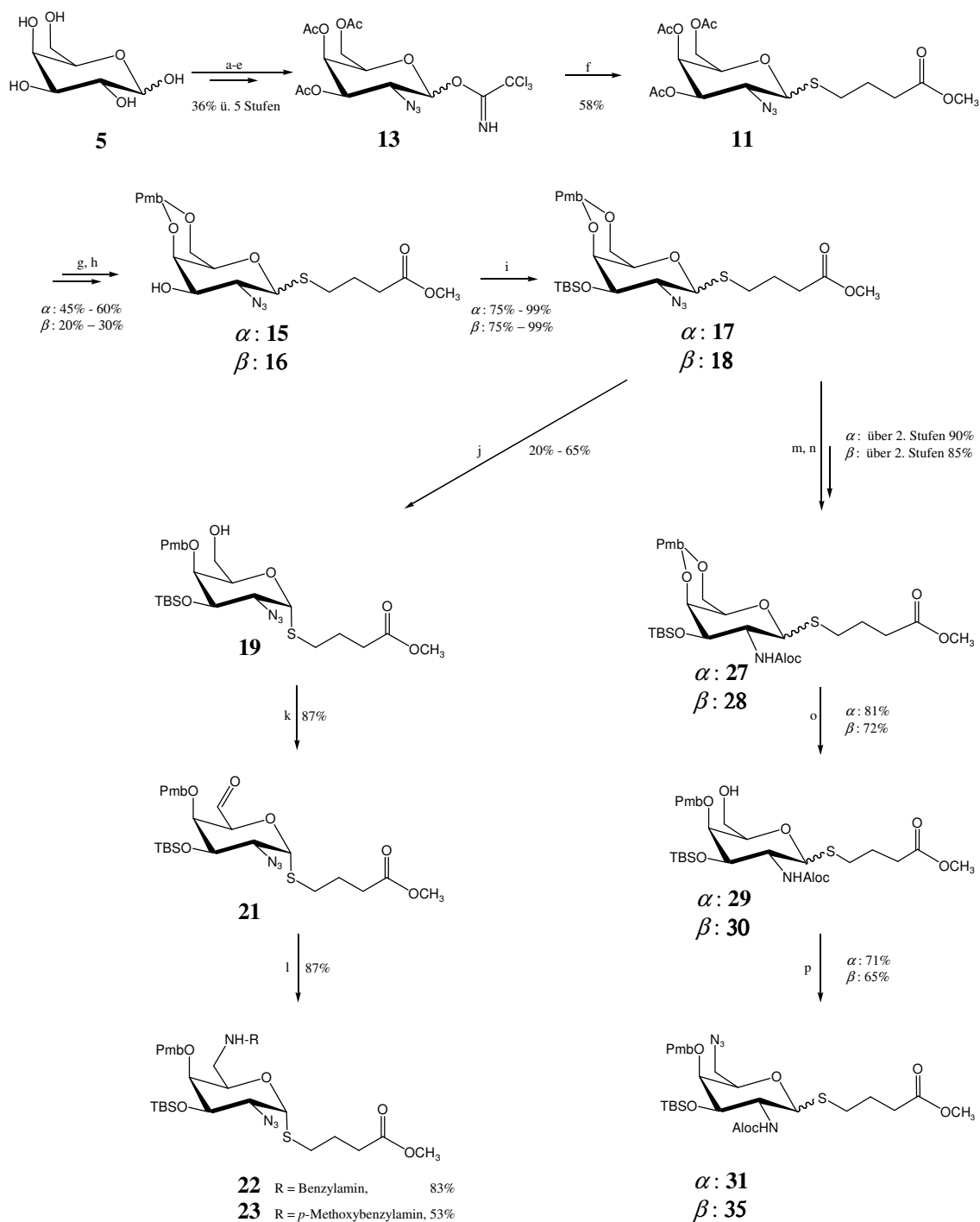


Abb. 5.2: Syntheschema für Verbindungen **22**, **23**, **31** und **35**: a) Ac_2O , kat. HClO_4 , dann Ac_2O , AcOH , HBr b) *N*-Methylimidazol, Zn c) $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$, NaN_3 d) Hydrazinacetat e) Cl_3CCN , K_2CO_3 f) γ -Mercaptobuttersäuremethylester, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ g) MeONa , MeOH h) Anisaldehyddimethylacetal i) TBS-Triflat, Pyridin j) NaCNBH_3 , TMS-Cl k) Oxalylchlorid, DMSO , NEt_3 l) Benzylamin, *p*-Methoxybenzylamin bzw. Ammoniumacetat, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ m) SnCl_2 , PhSH , NEt_3 n) Aloc-Cl , Pyridin o) Et_3SiH , PhBCl_2 p) Nicotinoylazid, $\text{P}(\text{Ph})_3$, DIAD

Für die Synthese der α -Form des Scaffolds **1** wurde das Acetal **17** regioselektiv geöffnet und die freie primäre Hydroxylfunktion in einer *Swern*-Oxidation in den Aldehyd **21** überführt. Anschließend sollte eine reduktive Aminierung den Aufbau einer zweiten Aminofunktion in dem Monosaccharid-Baustein ermöglichen. Diese Umsetzung gelang nicht. Es konnten lediglich die sekundären Amine in hohen Ausbeuten erhalten werden. Diese Strategie, bei der das Galactosetemplat mit 2-Azido- und 6-Amino-Gruppen ausgestattet werden sollte, wurde daraufhin geändert.

In einem Parallelexperiment wurde die Azido-Funktion der Verbindung **17** oder **18** unter milden *Bartra*-Bedingungen reduziert und direkt mit Chlorameisensäureallylester acyliert. Die Acetalöffnung und die darauffolgende *Mitsunobu*-Reaktion liefern Zielverbindung **31** mit orthogonal stabilen Schutzgruppen. Bevor das Scaffold **31** an den polymeren Träger angebunden wurde, wurde der Methylester mit Lithiumhydroxid in einem THF/Wasser-Gemisch nahezu quantitativ abgespaltet. Für die Anbindung wurden *Rink*-AMPS- und *Rink*-Tentagel[®]-Harz ausgesucht, deren verschiedene physikalische Eigenschaften und Beladungsunterschiede ausgenutzt werden sollten. Die Überprüfung des Schutzgruppenkonzeptes zeigte, dass sich jede Schutzgruppe selektiv entfernen lässt. Die kleinen Substanzbibliotheken der potenziellen RNA-Liganden wurden unter anderem mit Hilfe des Peptidkupplungsprotokolls für die 2- bzw. 6-Position hergestellt, nachdem die entsprechenden Aloc- bzw. Azid-Funktionen in die jeweils freien Amine überführt worden waren. Die Funktionalisierungen der 3- und 4-Position wurden nach Deblockierung durch Acylierungs- und Carbamoylierungsreaktion bewerkstelligt (Abb. 5.3).

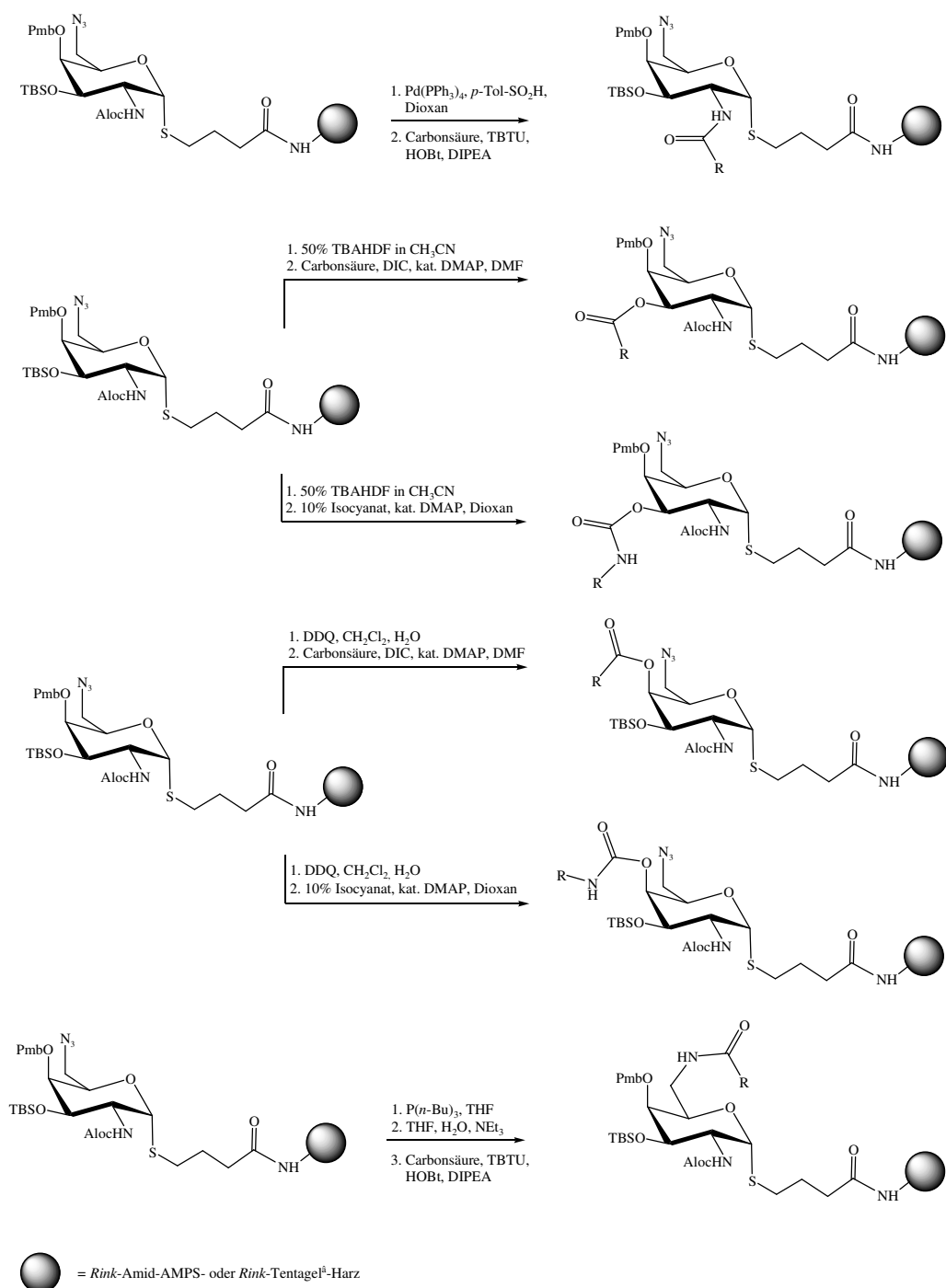


Abb. 5.3: Synthesen an der festen Phase

Die Kohlenhydrat-Peptid-Konjugate wurden in mäßigen bis hohen Ausbeuten und hoher Reinheit hergestellt. Die mehrfachen Funktionalisierungen gelangen ebenfalls, aber die Reinigung der mit Guanidin-Gruppen versehenen Produkte erwies sich als schwierig.

Bei den mikrowellenunterstützten Synthesen stellte sich heraus, dass das β -Thioglycosid in das Galacto-hex-1-enitol-Derivat **37** umgewandelt wurde. Es konnte in weiterem Experiment bewiesen werden, dass es sich hierbei nicht nur um einen Einzelfall handelt, sondern dass auch die einfache Galactose-Verbindung zur gleichen Reaktion gebracht werden konnte (Abb. 5.4).

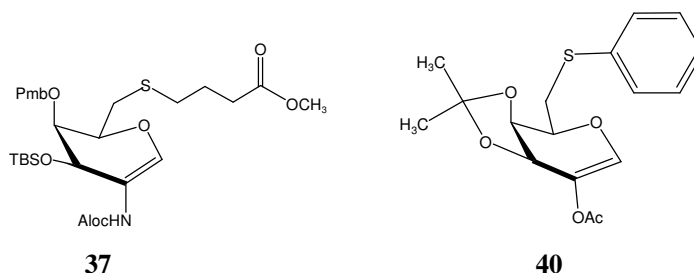


Abb. 5.4: Synthetisierte neue Galacto-hex-1-enitol-Derivate

Im nächsten Abschnitt dieser Doktorarbeit wurde die Regioselektivität bei der Acetalöffnungsreaktion für die Synthese des neuen Scaffolds **3** genutzt. Die zur Verfügung gestellte Diaminoglucosebaustein **131** wurde mit Boran-Trimethylamin-Komplex und Aluminiumtrichlorid zur Reaktion gebracht, wobei das gewünschte Regioisomer **132** in 64%iger Ausbeute erhalten wurde. Eine Substitutionsreaktion konnte an dieser Position leider nicht erreicht werden (Abb. 5.5).

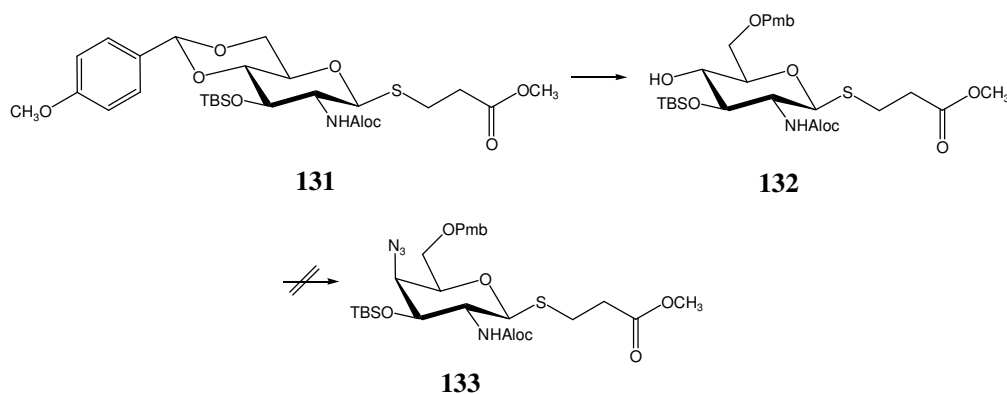


Abb. 5.5: Schema zur Synthese der Verbindung **133**

In Rahmen dieser Arbeit sollte die Anbindung an das Harz auch über eine nicht-anomere Position des Monosaccharids vorgenommen werden. Eine Substitutionsreaktion lieferte einen Baustein, der sich sowohl über die Anomere als auch 6-Position anbinden lässt (Abb. 5.6).

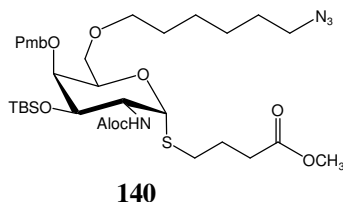


Abb. 5.6: Neuer Templatvorläufer **140**

Alternativ wurde ein Konzept ausgearbeitet, dass sich auf vielversprechende Ergebnisse aus den Versuchen zur reduktiven Aminierung gründete. Dank dieser Reaktion war es möglich, das Diaminogalactose-Scaffold direkt mit dem polymeren Träger zu verbinden (Abb. 5.7).

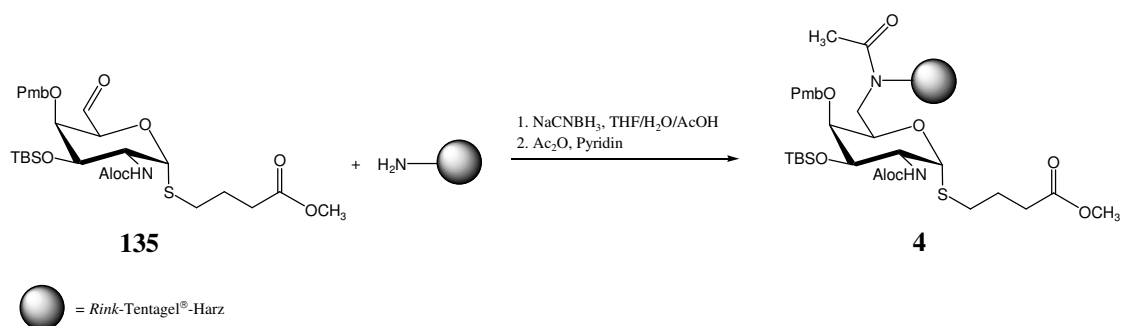


Abb. 5.7: Syntheschema des neuen Diaminogalactose-Scaffolds **4**

Die ersten Funktionalisierungen dieses neuen Templats verliefen ebenfalls problemlos. Deblockierungen der Schutzgruppen unter den vorher ausgeführten Bedingungen und die kombinatorische Festphasensynthesen von potenziellen RNA-Liganden belegen die Tauglichkeit dieses Konzeptes in ersten Versuchen. Die ersten Verbindungen sind in der Abbildung 5.8 dargestellt.

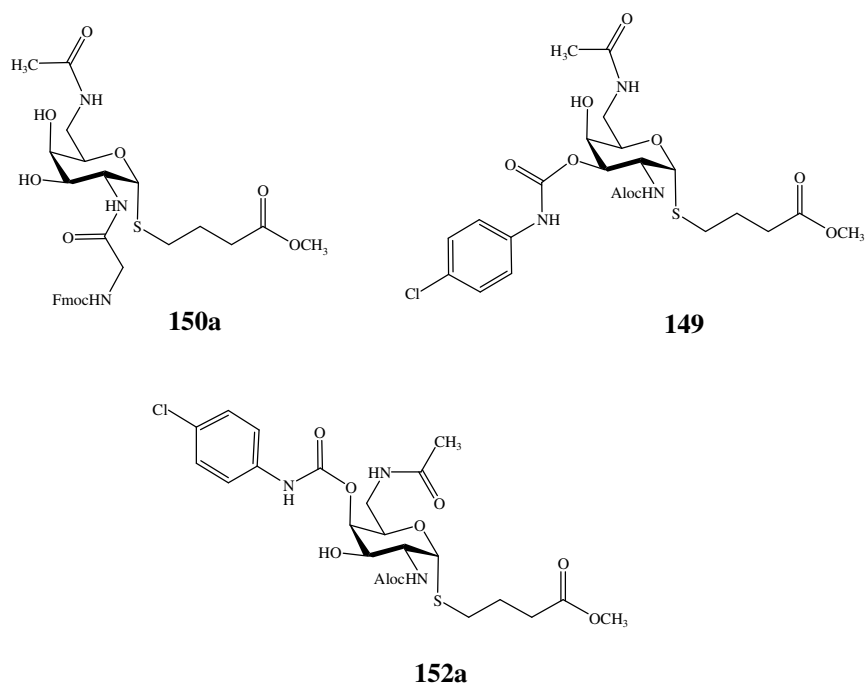


Abb. 5.8: Kombinatorischer Einsatz des Scaffolds **4**

Insgesamt wurde mit den Scaffolds **2** und **4** eine Bibliothek von mehr als 65 Verbindungen hergestellt. 42 Produkte, die mittels HPLC-Reinigung erfolgreich gereinigt werden konnten, wurden anschließend in Zellassays auf ihre cytotoxische Eigenschaften geprüft. Für einzelne Verbindungen konnte man die optimalen Konzentrationen bestimmen, bei denen die zukünftigen Tests für die Tat/TAR-Wechselwirkung ohne störende cytotoxische Effekte durchgeführt werden können.

Die gewonnen Erkenntnisse bezüglich der geringen Löslichkeit der abgespalteten nProdukte zeigen die Notwendigkeit weiterführender Untersuchungen, hauptsächlich was die Aufarbeitungsmethoden betrifft.

6 EXPERIMENTELLER TEIL

6.1 Allgemeines und Messgeräte

Soweit es nicht anders vermerkt wurde, wurden alle Reaktionen bei Raumtemperatur unter Rühren durchgeführt. Alle Lösungsmittel wurden in der Qualität *pro analysi* (p.a.) bezogen und vor Gebrauch nach literaturbekannten Verfahren absolutiert.²⁰³ Absolutes DMF (Septenflasche, über Molsieb) wurde von der Firma *Fluka* bezogen, deuterierte Lösungsmittel für die NMR-Spektroskopie wurden von der Firma *Deutero GmbH* bezogen. Die mit „i. Vak.“ oder „i. Hochvak.“ bezeichneten Destillationen wurden – sofern anders nicht angegeben – bei 40 °C durchgeführt.

Chromatographische Methoden:

Die Reaktionskontrolle erfolgte mittels Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelfertigplatten des Typs 60 F₂₅₄ der Firma *Merck* (Darmstadt, Deutschland). Die Detektion erfolgte durch UV-Licht der Wellenlänge 254 nm und mittels folgender Färbereagenzien (die Entwicklung erfolgte jeweils durch Wärmeeinwirkung):

- Methoxyphenol-Reagenz (1:1 Mischung aus 0.2%iger ethanolischer Methoxyphenol-Lösung und 2 N ethanolischer Schwefelsäure).
- Seebach-Reagenz (1.0 g Cer(IV)sulfat-Tetrahydrat und 2.5 g Molybdätophosphorsäure in einer Mischung aus 94 mL Wasser und 6 mL konzentrierter Schwefelsäure).
- Ninhydrin-Reagenz (1.5 g Ninhydrin in einer Mischung aus 15 mL Essigsäure und 500 mL Methanol).
- Permanganat-Reagenz (1.0 g Kaliumpermanganat und 5 g Natriumcarbonat in 250 mL Wasser).

Flash-Säulenchromatographie wurde an Kieselgel einer Korngröße von 0.032-1.063 mm der Firma *ICN Biomedicals* (Irvine, USA; Eschwege, Deutschland) durchgeführt. Die verwendeten Eluenten wurden so gewählt, dass der R_f-Wert des Produktes zwischen

²⁰³

H. G. O. Becker, W. Berger, G. Domschke, E. Fanghanel, J. Faust, M. Fischer, F. Gentz, K. Gewald, R. Gluch, R. Mayer, K. Müller, D. Pavel, H. Schmidt, K. Schollberg, K. Schwetlick, E. Seiler, G. Zeppenfeld, "*Organikum. Organisch-Chemisches Grundpraktikum*", Johann Ambrosius Barth Verlagsgesellschaft, Leipzig, **1993**.

0.1 und 0.3 lag. Die Zusammensetzung der Laufmittelgemische ist stets in Volumenverhältnissen angegeben.

Analytische HPLC

Für die analytische RP-HPLC wurde eine *Knauer* Maxi Star K1000-Gradienten-Pumpe (Berlin, Deutschland), ein *Knauer* Vierkanal-Entgaser sowie ein *Knauer* Diodenarraydetektor DAD 2062 (Wellenlängengebiet 200-600 nm) verwendet. Als Eluenten dienen Acetonitril/Wasser-Gemische, denen falls vermerkt 0.1 % TFA zugesetzt wurden. Es wurde bei einer Flussrate von 1 mL/min gearbeitet. Die Lösungsmittel wurden vor Gebrauch ca. 1 h im Ultraschallbad entgast. Das HPLC-Wasser wurde einer Millipore-Q-Umkehrosmoseanlage der Firma *Millipore* (Billerica, USA) entnommen. Acetonitril wurde in HPLC-Qualität von der Firma *Fisher Scientific* (Hampton, USA; Schwerte, Deutschland) erworben. Die folgende Säule wurde verwendet: Säule A: Luna C18(2) (5 μ m, 250 x 4.40 mm) Firma *Phenomenex* (Torrance, USA; Aschaffenburg, Deutschland).

Gradient A:

Zeit [min]	0	10	12	15	17	40
H ₂ O [%]	70	70	50	30	0	0
CH ₃ CN [%]	30	30	50	70	100	100

Gradient B:

Zeit [min]	0	30	40
H ₂ O [%]	70	0	0
CH ₃ CN [%]	30	100	100

Gradient C:

Zeit [min]	0	30	40
H ₂ O [%]	90	0	0
CH ₃ CN [%]	10	100	100

Gradient D:

Zeit [min]	0	30	40
H ₂ O [%]	50	0	0
CH ₃ CN [%]	50	100	100

Semipräparative HPLC

Die semipräparative HPLC wurde mit zwei *Knauer* Wellchrom MiniStar K500-Gradientenpumpen (jeweils mit 50 mL-Edelstahlpumpenkopf) und einem variablen Wellenlängendetektor der Firma *Knauer* durchgeführt. Die Flussraten betrugen 10 mL/min und als Eluenten wurden ebenfalls Acetonitril/Wasser-Gemische verwendet. Die folgende Trennsäule wurde verwendet: Säule B: Luna C18(2) (10 µm, 250x21 mm) Firma *Phenomenex* (Torrance, USA; Aschaffenburg, Deutschland). Als Eluenten dienten Acetonitril/Wasser-Gemische, denen, falls vermerkt, 0.1 % TFA zugesetzt wurden. Die Lösungsmittel wurden vor Gebrauch ca. 1 h im Ultraschallbad entgast. Das HPLC-Wasser wurde einer Millipore-Q-Umkehrosioseanlage der Firma *Millipore*, (Billerica, USA), entnommen, Acetonitril wurde in HPLC-Qualität von der Firma *Fisher Scientific* (Hampton, USA; Schwerte, Deutschland) erworben.

Gradient E:

Zeit [min]	0	20	24	30	34	54
H ₂ O [%]	70	70	50	30	0	0
CH ₃ CN [%]	30	30	50	70	100	100

Gradient F:

Zeit [min]	0	60	75
H ₂ O	70	0	0
CH ₃ CN	30	100	100

Gradient G:

Zeit [min]	0	90	115
H ₂ O [%]	70	0	0
CH ₃ CN [%]	30	100	100

Drehwerte:

Spezifische Drehwerte wurden mit einem *Perkin-Elmer* Polarimeter 241 (Wellesley, USA) bei den Wellenlängen 578 nm und 546 nm (Quecksilberdampflampe) mit einer 10 cm langen Polarimeterzelle gemessen und auf die Natrium D-Linie ($\lambda = 589$ nm) extrapoliert. Lösungsmittel, Konzentrationen und Temperaturen sind bei den jeweiligen Werten angegeben. Die Einheit des spezifischen Drehwertes ($\text{deg} \cdot \text{mL} / \text{g} \cdot \text{dm}$) sowie die Konzentration ($\text{g} / 100 \text{ mL}$) sind nicht vermerkt.

Schmelzpunkte:

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

NMR-Spektroskopie:

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

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 sowie für 2-D-Spektroskopie-Methoden

Bruker ARX-400: 400 MHz - ^1H -NMR

Die angegebenen Werte für die chemischen Verschiebungen beziehen sich auf das Signal des deuterierten Lösungsmittels bei relativer Kalibrierung zu Tetramethylsilan als Standard ($\delta = 0$ ppm). Als Referenz diente das Signal des Lösungsmittels (CDCl_3 : $\delta_{\text{H}} = 7.26$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 77.16$ ppm; $\text{DMSO}-d_6$: $\delta_{\text{H}} = 2.50$ ppm, $\delta_{\text{C}} = 39.52$ ppm). Die durchgeführten NMR-Experimente und die verwendeten Lösungsmittel sind bei

einzelnen Verbindungen angegeben. Für die Multiplizitäten wurden folgende Abkürzungen genutzt: s, Singulett; s_b, breites Singulett; d, Dublett; dd, Dublett vom Dublett; t, Triplett; q, Quartett; m, Multiplett; m_c, zentriertes Multiplett.

Massenspektrometrie:

FD-Massenspektren wurden mit einem *Finnigan*-MAT 95-Sepktrometer der Firma *ThermoElectron* (Boston, USA) am Institut für die Organische Chemie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz gemessen.

ESI-Massenspektren wurden an folgenden Geräten aufgenommen:

Gerät 1: Navigator 1 ESI-Massenspektrometer der Firma *ThermoQuest* (Boston, USA), bei der Verwendung von Acetonitril als Lösungsmittel, einer Probekonzentration von 0.1 mg/mL, einer Cone Voltage von 70 V (oder 35 V) und einem N₂-Strom von 300 l/h.

Gerät 2: Micromass-Q-TOF-Ultima-3-Spektrometer der Firma *Waters* (Milford, USA), ausgestattet mit einem Lockspray-Interface, bei der Verwendung von Acetonitril als Lösungsmittel, einer Probekonzentration von 0.1 mg/mL, einer Cone Voltage von 70-80 V und einer Flussrate von 5 µL/min.

IR-Spektroskopie:

Die IR-Spektren wurden an einem FT-IR-Spektrometer 1760X (He-Ne-Laser, 633 nm) der Firma *Perkin-Elmer* aufgenommen.

Festphasensynthesen:

Für die Synthesen an der festen Phase wurden TentaGel[®]- Harze der Firma *Rapp Polymere* (Tübingen, Deutschland) und AMPS-Harze der Firma *Novabiochem* (Läufelfingen, Schweiz) benutzt. Die für die Peptidkupplungen eingesetzten Aminosäurebausteine sowie die Kupplungsreagenzien lieferte ebenfalls Firma *Novabiochem*. Die Festphasenreaktionen wurden zum größten Teil in Injektionsspritzen (5 mL) verwirklicht. Die Auslauföffnungen der Spritzen ließen sich mit dafür vorgesehenen Stopfen verschließen. Der restliche Teil der Reaktionen an der festen Phase wurde in einem dem Merrifield-Festphasenreaktor nachgebildeten Reaktionsgefäß durchgeführt. Die Reaktions-Reaktoren wurden mit einem

Rotationsschüttler KS 125 Basic der Firma *IKA* (Staufen, Deutschland) geschüttelt. Es wurden zwei Methoden für die Beladungsbestimmung verwendet.

Die *photometrische Beladungsbestimmung* wurde durch eine UV-Absorption des Fluorenylmethyl-Piperidin-Adduktes durchgeführt. Dafür wurden 20 mg einer Harzprobe mit 18.07 g einer Mischung aus DMF und Piperidin (1:1) 45 min geschüttelt. Von dem Überstand wurde 1 mL entnommen und mit der DMF/Piperidin-Mischung auf 10 mL verdünnt. Danach wurde die Lösung UV-Spektroskopisch bei einer Wellenlänge von 278 nm untersucht. Es wurde ein Series-200-UV/VIS-Detektor der Firma *PerkinElmer* (Wellesley, USA) eingesetzt. Die Beladung berechnet sich nach:

$$[c(\text{mmol/g}) = (\text{OD}\{\text{optische Dichte}\} \times 10^4) / 10417 \{\text{Extinktionskoeffizient}\}]$$

Als zweite Methode, die den Aufschluss über die Beladung des Polymers gegeben hat, wurde eine Elementaranalyse bezüglich des Schwefelgehalts durchgeführt.

Die Vollständigkeit von Azidreduktion und Acylierungsreaktionen wurde durch Prüfung auf primäre Amine mittels *Kaiser*-Tests geprüft. Hierzu wurden wenige Harzkugeln in einem Eppendorf-Cup mit je einem Tropfen der drei Reagenzlösungen (Lösung A, Lösung B und Lösung C) versetzt und die Probe ca. 3-4 Minuten mit Heißluftpistole erhitzt. Sind die freien Aminogruppen vorhanden, so beobachtet man eine Blaufärbung der Harzkugeln und/oder der Lösung. Die für den *Kaiser*-Test verwendeten Reagenzlösungen sind:

Lösung A (1 g Ninhydrin in 20 mL Ethanol)

Lösung B (80 g Phenol in 20 mL Ethanol)

Lösung C (50 µL 0.01M wässriger Lösung von Kaliumcyanid in 25 mL Pyridin)

Mikrowellenunterstützte Synthesen:

Mikrowellenunterstützte Synthesen wurden in einem Discover- Gerät der Firma *CEM* (Matthews, USA; Kamp-Lintfort, Deutschland), das mit einer Mono-Mode-Mikrowellenkammer ausgestattet wurde, durchgeführt. Die Temperaturkontrolle erfolgte durch einen Infrarotsensor. Der Druck wurde mittels einer Piezo-Druckzelle indirekt detektiert.

Elementaranalysen:

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

6.2. Allgemeine Vorschriften

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung der Allyloxycarbonyl (Aloc)-Schützgruppe AAV1

In einem trockenen Festphasen-Reaktor werden 1.5 g (0.345 mmol, 1 Äquiv.) des mit Kohlenhydrat beladenen *Rink*-Tentagels® **44** und 270.2 mg (1.73 mmol, 5 Äquiv.) *p*-Toluolsulfinsäure eingewogen. Der Reaktor wird vorsichtig i. Vak. evakuiert und anschließend mit Argon beflutet. Dieser Vorgang wird noch einmal wiederholt. Es werden 20 mL frisch destilliertes und entgastes absol. Dioxan unter Argon zugegeben. Nach Zusatz von 79.7 mg (0.069 mmol, 20 mol-%) Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) flutet man abermals mit Argon und verschließt das Gefäß mit einem Septum. Der Reaktor wird mit Alufolie lichtdicht verpackt und 16 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird die überschüssige Reagenzlösung entfernt und das Harz mehrmals gewaschen: 5 x Dioxan, 3 x DMF, 5 x Dichlormethan, 3 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Dichlormethan und Diethylether, anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Harz i. Hochvak. mehrere Stunden.

Die gleiche allgemeine Arbeitsvorschrift wird benutzt für 1.3 g (0.7 mmol, 1 Äquiv.) des mit Kohlenhydrat beladenen *Rink*-AMPS-Harzes **43**. Es werden entsprechend 0.718 g (4.58 mmol, 5 Äquiv.) *p*-Toluolsulfinsäure und 0.213 g (0.184 mmol, 20 mol-%) Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) eingesetzt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung des *tert*-Butyldimethylsilylethers (TBS) AAV2

In jeder 5 mL-Filterspritze werden je 100 mg des mit Kohlenhydrat beladenen Polymers in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid eine Stunde vorgequollen. Das Lösungsmittel wird entfernt und das Polymer mit 2.5 mL einer 50%igen Acetonitril Lösung des

Tetrabutylammoniumhydrogendifluorids versetzt. Die Suspension wird 4 h geschüttelt. Die überschüssige Reagenzlösung wird entfernt und das Polymer sorgfältig in der folgenden Reihenfolge gewaschen: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid/Methanol abwechselnd, 2 x Methanol/Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol/Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung des *p*-Methoxybenzylethers (Pmb) AAV3

In einer 5 mL-Filterspritze werden jeweils 100 mg (max. 0.023 mmol) des mit Kohlenhydrat beladenen *Rink*-Tentagels® **44** in 2.5 mL Dichlormethan suspendiert und 30 bis 60 min geschüttelt. Das überschüssige Lösungsmittel wird entfernt und 2.5 mL einer Lösung von 52.2 mg (0.23 mmol, 10 Äquiv.) 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ) in einer Mischung aus Dichlormethan und 10 Vol-% Wasser 1 h geschüttelt. Das Polymer wird sorgfältig mit Dichlormethan gewaschen und der ganze Vorgang noch einmal wiederholt. Man wäscht das Harz sorgfältig in der folgenden Reihenfolge: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung des *p*-Methoxybenzylethers (Pmb) AAV4

In einer 5 mL-Filterspritze werden jeweils 100 mg (max. 0.070 mmol) des mit Kohlenhydrat beladenen *Rink*-AMPS-Harzes **43** in 2.5 mL Dichlormethan suspendiert und 30 bis 60 min geschüttelt. Das überschüssige Lösungsmittel wird entfernt. Das Harz wird in 2.5 mL einer Lösung von 158.9 mg (0.70 mmol, 10 Äquiv.) 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-1,4-benzochinon (DDQ) in einer Mischung aus Dichlormethan und 10 Vol-% Wasser 1 h geschüttelt. Das Polymer wird sorgfältig mit Dichlormethan gewaschen und der ganze Vorgang wird noch einmal durchgeführt. Man wäscht das Harz sorgfältig in der folgenden Reihenfolge: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x

Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Reduktion der 6-Azido-Gruppe nach Staudinger AAV5

In einer 5 mL-Filterspritze quellt man jeweils 100 mg (max. 0.023 mmol) des mit Kohlenhydrat beladenen Tentagels[®] **44** in 2.5 mL absol. Tetrahydrofuran 1 h vor. Das überschüssige Lösungsmittel wird entfernt. Das Harz wird mit 2.5 mL einer absol. Tetrahydrofuran-Lösung von 0.115 mL (0.46 mmol, 20 Äquiv.) Tri-*n*-butylphosphin für 2 h geschüttelt. Das Polymer wird sorgfältig mit Tetrahydrofuran gewaschen und mit einer Mischung aus 2 mL Tetrahydrofuran, 1 mL Wasser und 1 mL Triethylamin für 2 h geschüttelt. Man wiederholt diesen Hydrolysevorgang noch einmal und wäscht das Harz sorgfältig in der folgenden Reihenfolge: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 3 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Harz i. Hochvak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Reduktion der 6-Azido-Gruppe nach Staudinger AAV6

In einer 5 mL Filterspritze quellt man jeweils 100 mg (max. 0.070 mmol) des mit Kohlenhydrat beladenen *Rink*-AMPS-Harzes **43** in 2.5 mL absol. Tetrahydrofuran 1 h vor. Das überschüssige Lösungsmittel wird entfernt. Das Harz wird mit 2.5 mL einer Lösung von 0.349 mL (1.4 mmol, 0.283 g, 20 Äquiv.) Tri-*n*-butylphosphin in absol. Tetrahydrofuran 2 h geschüttelt. Das Polymer wird sorgfältig mit Tetrahydrofuran gewaschen und mit einer Mischung aus 2 mL Tetrahydrofuran, 1 mL Wasser und 1 mL Triethylamin für 2 h geschüttelt. Man wiederholt diesen Hydrolysevorgang und wäscht das Harz sorgfältig in der folgenden Reihenfolge: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 3 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Harz i. Hochvak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Acylierung nach *Steglich* AAV7

In einer 5 mL-Filterspritze werden jeweils 100 mg (max 0.023 mmol) mit Kohlenhydrat beladenes *Rink*-Tentagel® **44** in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid suspendiert und 30-60 min geschüttelt. Das überschüssige *N,N*-Dimethylformamid wird entfernt. In einem Kolben werden 0.23 mmol (10 Äquiv.) der zu veresternden Carbonsäure, 47.4 µL (37.9 mg, 13 Äquiv.) *N,N*-Diisopropylcarbodiimid und 2.6 mg (0.21 mmol, 0.9 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin in 2 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid (Reihenfolge der Zugabe: Carbonsäure, Carbodiimid, DMAP) nacheinander gelöst, 1-2-min geschüttelt und mit dem Polymer vereinigt. Man schüttelt 16 h. Nach dem Entfernen der Reaktionslösung wäscht man sorgfältig: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Carbamoylierung mit Isocyanaten AAV8

Ein nach AAV2, AAV3 oder AAV4 behandeltes Polymer wird 2.5 mL absol. Dioxan in einer Filterspritze mit einem Volumen von 5 mL suspendiert und die Suspension für 30-60 min geschüttelt. Das überschüssige Lösungsmittel wird entfernt und das Harz mit 2 mL einer 1%igen *N*-Dimethylaminpyridin-Dioxan-Lösung versetzt. Man schüttelt 5 min, entfernt die Reagenzlösung, und es werden 1.5 mL 10%iger Lösung des entsprechenden Isocyanats in Dioxan in die Spritze eingezogen. Nach 16 h wird die Reaktionslösung entfernt und das Polymer sorgfältig gewaschen: 5 x Dioxan, 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. In einigen Fällen ist es notwendig den Waschvorgang mehrmals durchzuführen, um die Reste des schwerlöslichen Eduktes zu eluieren. Man trocknet das Polymer i. Hochvak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Amidbildung in der 2- oder/und 6-Position AAV9

Ein nach AAV1 oder AAV5 behandeltes Polymer wird in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid in einer Filterspritze mit einem Volumen von 5 mL suspendiert und die Suspension für 30-60 min geschüttelt. Das überschüssige Lösungsmittel wird entfernt. In einem Kolben werden 0.23 mmol (10 Äquiv.) der jeweiligen Carbonsäure, 73.8 mg (0.23 mmol, 10 Äquiv.) TBTU (*O*-(Benzotriazol-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumtetrafluoroborat), 35.2 mg (0.23 mmol, 10 Äquiv.) HOBt x H₂O (1-Hydroxybenzotriazol Monohydrat) und 78.7 µL (59.4 mg, 0.46 mmol, 20 Äquiv.) *N,N*-Diisopropylethylamin in 2.5 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid nacheinander gelöst, für 1-2 min geschüttelt und mit dem Polymer vereinigt. Man schüttelt 16 h und entfernt die überschüssige Reagenzlösung. Anschließend wird das Harz sorgfältig gewaschen: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Amidbildung in der 2- oder/und 6-Position AAV10

Ein nach AAV1 oder AAV6 behandeltes *Rink*-AMPS-Polymer **43** (max. 0.07 mmol) wird in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid in einer Filterspritze mit einem Volumen von 5 mL suspendiert und die Suspension wird 30-60 min geschüttelt. Das überschüssige Lösungsmittel wird entfernt. In einem Kolben werden 0.35 mmol (5.0 Äquiv.) der jeweiligen Carbonsäure, 112.0 mg (0.35 mmol, 5.0 Äquiv.) TBTU, 54 mg (0.35 mmol, 5.7 Äquiv.) HOBt x H₂O und 0.115 mL (90 mg, 0.70 mmol, 10.0 Äquiv.) *N,N*-Diisopropylethylamin in 2.5 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid nacheinander gelöst, 1-2 min geschüttelt und mit dem Polymer vereinigt. Man schüttelt 16 h und entfernt die Reagenzlösung. Anschließend wird das Harz sorgfältig gewaschen: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer im Hochvakuum.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung der 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc)-Schutzgruppe AAV11

Um die Fmoc-Schutzgruppe der Aminosäure am funktionalisierten Polymer (siehe AAV7 und AAV99) abzuspalten, wird das Polymer in 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid in einer 5 mL Filterspritze suspendiert und 30 bis 60 min geschüttelt. Das überschüssige Lösungsmittel wird entfernt und das Harz wird mit 2.5 mL einer 20%iger Piperidin Lösung in *N,N*-Dimethylformamid versetzt. Man schüttelt 20 min und entfernt die Reagenzlösung. Anschließend wäscht man sorgfältig: 2 x *N,N*-Dimethylformamid, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und 2 x Diethylether und trocknet i. Vak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Peptidkupplung an der festen Phase AAV12

In eine nach AAV11 funktionalisierte Polymer enthaltende 5 mL-Filterspritze werden 2.5 mL *N,N*-Dimethylformamid eingezogen und diese Suspension für 30-60 min geschüttelt. Das überschüssige Lösungsmittel wird entfernt. In einem Kolben werden 0.23 mmol (10 Äquiv.) der jeweiligen Carbonsäure, 73.8 mg (0.23 mmol, 10 Äquiv.) TBTU, 35.2 mg (0.23 mmol, 10 Äquiv.) HOBt x H₂O und 78.7 µL (59.4 mg, 0.46 mmol, 20 Äquiv.) *N,N*-Diisopropylethylamin in 2.5 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid nacheinander gelöst, 1-2 min geschüttelt und mit dem Polymer vereinigt. Man schüttelt 16 h und entfernt die überschüssige Reagenzlösung. Anschließend wäscht man sorgfältig: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer im Hochvak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Funktionalisierung mit *N,N'*-Di-Boc-*N'*-trifluormethansulfonylguanidin AAV13

In eine nach AAV1 oder AAV5 behandelte Polymer enthaltende 5 mL-Filterspritze werden 2.5 mL Dichlormethan eingezogen und die Suspension wird 30-60 min geschüttelt. Das überschüssige Lösungsmittel wird entfernt. In einem Kolben werden 45 mg (0.115 mmol, 5 Äquiv.) des *N,N'*-Di-Boc-*N'*-triflylguanidins **108**, 14.8 µL (11.6 mg, 0.115 mmol, 5 Äquiv.) Triethylamin in 2.5 mL absol. Dichlormethan nacheinander

gelöst und die Lösung mit dem Polymer vereinigt. Man schüttelt 16 h und entfernt die überschüssige Reagenzlösung. Anschließend wird das Harz sorgfältig gewaschen: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung der 2,6-Diaminogalactose-Derivate vom Polymer AAV14

Das am Harz gebundene Kohlenhydrat, das nach AAV7, AAV8, AAV9 oder AAV10 funktionalisiert wurde, wird mit 20 mg Mercaptomethylpolystyrol (Beladung: 4.00 mmol/g) in der 5 mL-Filterspritzen versetzt. In die Spritzen werden ca. 2.5 mL absol. Dichlormethan eingezogen und 30-60 min geschüttelt. Das Dichlormethan wird entfernt und das Polymer mit 2.5 mL frisch vorbereiteter 50%iger Trifluoressigsäure in absol. Dichlormethan versetzt. Man schüttelt 30 min, entfernt vorsichtig die Spaltlösung, wäscht das Harz mit der Spaltlösung nach und wiederholt den Vorgang ein weiteres Mal mit einer neuen Portion der Spaltlösung. Nach 30 min Schütteln wird die Spaltlösung vorsichtig entfernt. Man vereinigt die Filtrate sowie die Waschlösungen. Die Lösung wird i. Vak. bis zur Trockene eingengt. Um die Reste der Trifluoressigsäure zu entfernen, wird der Rückstand in 2 mL Dichlormethan aufgenommen und über festes NaHCO_3 filtriert. Man benutzt dafür die mit einer Polyethylenfritte verschlossene 5 mL-Spritze, die mit ca. 2 mL NaHCO_3 befüllt und anschließend mit einer weiteren Polyethylenfritte verschlossen wird. Man wäscht nach. Das Lösungsmittel wird vollständig i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird i. Hochvak. getrocknet.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung der 2,6-Diaminogalactose-Derivaten vom Polymer AAV15

Das nach AAV7, AAV9, AAV10, AAV12 oder AAV13 funktionalisierte und am Harz gebundene Kohlenhydrat wird in ca. 2.5 mL absol. Dichlormethan in einer 5 mL Filterspritze suspendiert und 30-60 min geschüttelt. Das überschüssige Dichlormethan wird entfernt und das Polymer wird mit 2.5 mL frisch vorbereiteter Spaltlösung (50% Trifluoressigsäure, 5% Triisopropylsilan) in absol. Dichlormethan versetzt. Man schüttelt 30 min, entfernt vorsichtig die Spaltlösung, wäscht das Harz mit der

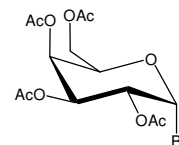
Spaltilösung nach und versetzt ein weiteres Mal mit einer neuen Portion der Spaltilösung. Nach 30 min Schütteln wird die Spaltilösung vorsichtig entfernt. Man vereinigt die Filtrate sowie die Waschlösungen. Die Lösung wird i. Vak. bis zur Trockene eingeeugt. Um die Reste von Triisopropylsilan und Trifluoressigsäure zu entfernen, kdestiliert man zweimal mit Toluol und trocknet i. Hochvak. Anschließend gibt man 1-1.5 mL auf -20 °C gekühlten Diethylether zum Rückstand hinzu und stellt die Kolben 5 min in ein Eisbad. In den meisten Fällen fällt ein hell gelber amorpher Feststoff aus. Überschüssiger Diethylether wird vorsichtig mit einer Pasteurpipette entfernt und der Rückstand mit kaltem Diethylether (2 x je max. 0.5 mL) nachgewaschen. Das Rohprodukt wird i. Hochvak. getrocknet.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Abspaltung der 2,6-Diaminogalactose-Derivate vom Polymer AAV16

Das nach AAV7, AAV9, AAV10, AAV12 oder AAV13 funktionalisierte und am Harz gebundene Kohlenhydrat wird in ca. 2.5 mL absol. Dichlormethan in einer 5 mL-Filterspritze suspendiert und für 30-60 min geschüttelt. Das Dichlormethan wird entfernt und das Polymer mit 2.5 mL frisch vorbereiteter Spaltilösung (50% Trifluoressigsäure, 5% Dimethylsulfid) in absol. Dichlormethan versetzt. Man schüttelt 30 min, entfernt vorsichtig die Spaltilösung, wäscht das Harz mit der Spaltilösung nach und versetzt ein weiteres Mal mit einer neuen Portion der Spaltilösung. Nach 30 min Schütteln wird die Spaltilösung vorsichtig entfernt. Man vereinigt die Filtrate mit den Waschlösungen. Die Lösung wird i. Vak. bis zur Trockene eingeeugt. Um die Reste von Dimethylsulfid und Trifluoressigsäure zu entfernen, kdestiliert man zweimal mit Toluol. Der Rückstand wird i. Hochvak. getrocknet. Anschließend gibt man 1-1.5 mL auf -20 °C gekühlten Diethylether zum Rückstand hinzu und stellt den Kolben 5 min in ein Eisbad. Es fällt ein hell gelber amorpher Feststoff aus. Überschüssiger Diethylether wird vorsichtig mit einer Pasteurpipette entfernt und der Rückstand mit kaltem Diethylether (2 x je max. 0.5 mL) nachgewaschen. Das Rohprodukt wird i. Hochvak. getrocknet.

6.3 Synthesen zum Kapitel 3.1.2

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactopyranosylbromid (**6**)^{204,205}

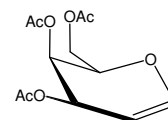


In einem 2 L Dreihalskolben mit werden ca. 0.5 g D-Galactose in 300 mL Acetanhydrid suspendiert und mit ca. 2 mL 70%iger Perchlorsäure versetzt. Anschließend werden zur Lösung die 74.5 g (0.416 mol) D-Galactose portionsweise zugegeben, so dass die Temperatur 25 °C -30 °C nicht überschreitet. Das Reaktionsgemisch wird 2.5 h bei Raumtemp. gerührt. Danach werden zur gelben Reaktionslösung 330 mL einer 33%igen HBr-Lösung in Eisessig über 1.5 h bei Raumtemperatur zugetropft. Anschließend lässt man 16 h rühren, bevor man das Reaktionsgemisch mit 700 mL Dichlormethan verdünnt und vorsichtig mit 200-300 mL Eiswasser hydrolysiert. Nach Trennung der Phasen wurde die organische Phase mit 200 mL Eiswasser und fünfmal mit jeweils 200 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Das Rohprodukt kann direkt weiter umgesetzt werden.

Ausb. (Rohprodukt): 166 g (quant.); gelbes zähes Öl; R_f = 0.68 (Dichlormethan:EtOAc = 10:1).

C₁₄H₁₉BrO₉ (411.20)

3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-galactal (**7**)¹²¹



Eine Suspension von 280 g (4.310 mol) von aktiviertem Zink²⁰⁶ in ca. 550 mL Essigsäureethylester und 33.2 g (32 mL, 0.404 mol) 1-Methylimidazols wird unter starkem Rühren zum Sieden erhitzt. Zum Gemisch wird innerhalb von 1.5 h eine Lösung von 166 g (0.404 mol) 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactopyranosylbromid (**6**) in 450 mL Essigsäureethylester zugetropft und 3 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend lässt man das Reaktionsgemisch auf Raumtemp. abkühlen. Das Zink wird über Celite (*Hyflo*) abfiltriert und das Filtrat zweimal mit

¹²¹ R. U. Lemieux, R. M. Ratcliffe, *Can. J. Chem.* **1979**, 57, 1244-1251.

²⁰⁴ M. L. Wolfrom, A. Thompson, *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, 2, 211-215.

²⁰⁵ J. Broddefalk, U. Nilsson, J. Kihlberg, *J. Carbohydr. Chem.* **1994**, 13(1), 129-132.

²⁰⁶ Der Zinkstaub wird ca. 5 Minuten in 1 M HCl-Lsg. suspendiert abfiltriert, mit wenig Wasser und anschließend Essigester gewaschen.

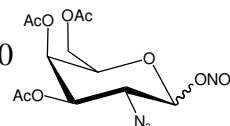
jeweils 200 mL 2 N HCl-Lösung und einmal mit 300 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das erhaltene gelbe Öl wird durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

Ausb.: 81.91 g (0.301 mol, 74.5%); gelbes zähes Öl; R_f = 0.14 (Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

C₁₂H₁₆O₇ (272.25)

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α,β -D-galactopyranosylnitrat (8)¹²¹

19.21 g (0.070 mol) 3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-galactal (**7**) werden in 150 mL absol. Acetonitril gelöst und langsam zu einer auf -20 °C gekühlten Suspension von 115.7 g (0.211 mmol) Cer(IV)ammoniumnitrat und 6.9 g (0.106 mmol) Natriumazid in 350 mL absol. Acetonitril unter Argonatmosphäre über eine Kanüle zugetropft. Anschließend läßt man 18 h bei -18 °C rühren. Nach dieser Zeit wird die nun orange-farbene Suspension mit 500 mL eisgekühltem Diethylether und langsam mit 500 mL Eis versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und dreimal mit jeweils 500 mL Eiswasser gewaschen. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO₄ und dem Entfernen des Lösungsmittels wird das erhaltene gelbe Öl durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

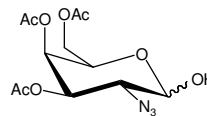


Ausb.: 9.95 g (0.026 mol, 37.1% [35% - 55%]); farbloser amorpher Feststoff; R_f = 0.14 (Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

C₁₂H₁₆N₄O₁₀ (376.28)

¹²¹

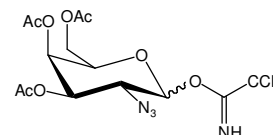
R. U. Lemieux, R. M. Ratcliffe, *Can. J. Chem.* **1979**, 57, 1244-1251.

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α,β -D-galactose (12)¹²⁸

Zur Lösung von 63.11 g (0.168 mol) 3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α,β -D-galactopyranosyl nitrat (**8**) in 400 mL abs. DMF wird unter Argonatmosphäre portionsweise 16.65 g (0.181 mol) Hydrazinacetat bei Raumtemperatur zugegeben. Das Gemisch wird 2 h bei Raumtemp. weiter gerührt (dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle, Laufmittel: Cyclohexan: Essigester, 1:1, $R_f = 0.42$). Nach vollständigem Umsatz wird die organische Phase auf 300 mL wässrige gesättigte NaCl-Lösung gegossen und die wässrige Phase dreimal mit jeweils 400 mL Essigester extrahiert. Anschließend werden die vereinigten organischen Phasen dreimal mit jeweils 300 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

Ausb.: 44.0 g (0.133 mol, 79.2% [75% - 90%]); farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.14$ (Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

$C_{12}H_{17}N_3O_8$ (376.28)

***O*-(2-Azido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α,β -D-galactopyranosyl)-trichloracetimidat (13)**¹²⁴

Eine Lösung von 44.0 g (0.133 mol) 3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α,β -D-galactose (**12**) und 106 mL (153.1 g, 1.06 mol)

Trichloracetonitril in 600 mL abs. Dichlormethan wird mit 69.93 g (0.506 mol) getrocknetem wasserfreiem Kaliumcarbonat bei Raumtemp. versetzt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle, Laufmittel: Cyclohexan: Essigester = 1:1, $R_f = 0.66$) wird über eine mit Celite belegte Glasfritte filtriert. Das Lösungsmittel wird im Vak. entfernt und das Rohprodukt mittels 1H -NMR auf das Anomerenverhältnis untersucht ($\alpha:\beta$ -Gemisch = 14:86). Laut NMR-Untersuchung kann das Rohprodukt ohne weitere Reinigung eingesetzt werden.

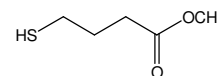
α,β -Gemisch Ausb.: 63 g, (0.132 mol, 99.0% [80% - 99 %]); farbloser amorpher Feststoff; $R_f = 0.17$ (Cyclohexan: EtOAc, 3:1).

¹²⁴G. Grundler, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1984, 1826-1847.¹²⁸T. Toyokuni, S. Cai, B. Dean, *Synthesis* **1992**, 12, 1236.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.79 (s, 1H, NH); 6.50 (d, $^3J_{1,2}$ = 3.7 Hz, 0.14H, H1 α); 5.69 (d, $^3J_{1,2}$ = 8.5 Hz, 0.86H, H1 β); 5.54 (d, $^3J_{3,4}$ = 2.2 Hz, 0.14H, H4 α); 5.39 (d, $^3J_{3,4}$ = 2.1 Hz, 0.86H, H4 β); 5.37 (dd, $^3J_{3,4}$ = 3.7 Hz, 0.14H, H3 α); 4.90 (dd, $^3J_{2,3}$ = 8.5 Hz, $^3J_{3,4}$ = 3.7 Hz, 0.86H, H3 β); 4.41 (t, $^3J_{5,6}$ = 6.6 Hz, 0.14H, H5 α); 4.17-3.90 (m, 5H, H2 α , H2 β , H5 β , H6 α u. H6 β); 2.18, 2.16, 2.07, 2.03, 2.00 (s, 9H, CH₃).

C₁₄H₁₇Cl₃N₄O₈ (475.67)

γ -Mercaptobuttersäuremethylester (10)⁴⁴



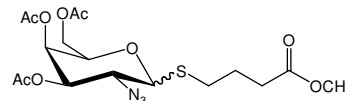
Eine Lösung von 50.0 g (0.49 mol) γ -Thiobutyrolacton in 500 mL absol. Methanol wird mit 20 mol% Natriummethanolat versetzt und 6 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend lässt man den Ansatz abkühlen, bevor man mit 2 N HCl ansäuert und 400 mL Wasser und 800 mL Diethylether zufügt. Die organische Phase wird abgetrennt und zweimal mit jeweils 200 mL Wasser gewaschen. Anschließend wird die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt über eine Vakuumdestillation.

Ausb.: 53.0 g (0.39 mol, 79.6% [70% - 80%]); farblose Flüssigkeit; Sdp._{14-16 mmbar} = 76-77 °C, Lit.⁴⁴ Sdp._{5.5-6 mmbar} = 62-64 °C; n_{20}^D = 1.4646, Lit.⁴⁴ n_{20}^D = 1.4628.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.62 (s, 3H, COOCH₃); 2.45 (q, $^3J \approx 7.2$ Hz, 2H, CH₂SH); 2.40 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 2H, CH₂COOCH₃); 1.87 (p, $^3J \approx 7.2$ Hz, 2H, CH₂CH₂SH); 1.30 (t, $^3J \approx 8.2$ Hz, 1H, SH).

C₅H₁₀O₂S (134.20)

S-(2-Azido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α,β -D-galactopyranosyl)-4-mercaptobuttersäuremethylester (11)



Eine Mischung aus 19.7 g (0.041 mol) *O*-(2-Azido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α,β -D-galactopyranosyl)trichloracetimidat (**13**) und 10 g aktiviertem Molekularsieb 4 Å wird in 750 mL absol. Diethylether eine Stunde unter Argonatmosphäre vorgerührt. Man kühlt auf 0 °C ab, gibt 10.9 g (0.081 mol) γ -Mercaptobuttersäuremethylester zu, tropft langsam 26.4 mL (29.8 g, 0.21 mol) Bortrifluorid-Diethylether in 30 mL absol. Diethylether hinzu und lässt eine Stunde bei dieser Temperatur rühren. Dann wird das Eisbad entfernt und man lässt die Reaktionslösung innerhalb von einer Stunde auf Raumtemp. kommen. Um eine Reaktionskontrolle durchführen zu können, muss man eine Probe aus dem Reaktionsgemisch entnehmen und sie mit gesättigter NaHCO₃-Lösung neutralisieren (starkes Schäumen). Nach fünf bis sechs Stunden ist der Umsatz vollständig. Das Molekularsieb wird über eine mit Celite belegte Glasfritte filtriert und die etherische Lösung mit 700 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung unter Eisbadkühlung versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und dreimal mit jeweils 500 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung extrahiert. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO₄ wird die etherische Phase eingengt und das Rohprodukt mittels ¹H-NMR auf das Anomerenverhältnis untersucht ($\alpha:\beta$ -Gemisch = 3:1).

α,β -Gemisch Ausb.: 11.0 g (0.024 mol, 58.5% [60% - 75%]); farbloser amorpher Feststoff; R_f = 0.12 (Cyclohexan: EtOAc = 3:1).

¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃): δ [ppm] = 5.44 (d, ³*J*_{1,2} = 5.5 Hz, 0.75H, H1 α); 5.39 (d, ³*J*_{3,4} = 2.5 Hz, 0.75H, H4 α); 5.34 (d, ³*J*_{3,4} = 2.6 Hz, 0.25H, H4 β); 5.07 (dd, ³*J*_{2,3} = 11.0 Hz, ³*J*_{3,4} = 3.3 Hz, 0.75H, H3 α); 4.84 (dd, ³*J*_{2,3} = 10.3 Hz, ³*J*_{3,4} = 3.3 Hz, 0.25H, H3 β); 4.52 (t, ³*J*_{5,6} = 6.2 Hz, 0.75H, H5 α); 4.35 (d, ³*J*_{1,2} = 10.2 Hz, 0.25H, H1 β); 4.20 (dd, ³*J*_{1,2} = 5.5 Hz, ³*J*_{2,3} = 11.0 Hz, 0.75H, H2 α); 4.11-4.01 (m, 2H, H6 $\alpha\beta$); 3.85 (t, ³*J*_{5,6} = 7.0 Hz, 0.25H, H5 β); 3.64 (s, 3.25H, 0.25H β , COOCH₃); 2.87-2.49 (m, 2H, SCH₂CH₂); 2.45-2.39 (m, 2H, CH₂COOCH₃); 2.11 (s, 3H, CH₃); 2.01, 2.00 (s, 6H, CH₃); 2.00-1.88 (m, 2H, SCH₂CH₂).

¹³C-NMR (100.6 MHz, HMQC, CDCl₃): δ [ppm] = 173.3, 170.4, 170.1, 170.0 (C=O); 85.0 (C1 β); 83.5 (C1 α); 74.4 (C5 β); 73.0 (C3 β); 70.2 (C3 α); 67.5 (C4 α); 67.1 (C5 α); 66.6 (C4 β); 61.6 (C6); 60.5 (C2 β); 57.8 (C2 α); 51.6 (COOCH₃); 32.7 (CH₂COOCH₃).

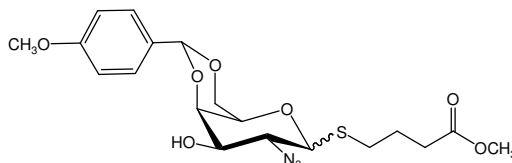
α); 32.5 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$, β); 30.4 (SCH_2CH_2 , β); 29.7 (SCH_2CH_2 , α); 25.1 (SCH_2CH_2 , β); 24.6 (SCH_2CH_2 , α); 20.7 ($3\times\text{CH}_3$, OAc).

FD-MS, positiv $m/z = 447.7$ (100 %, $[\text{M}]^+$, ber.: 447.1).

FT-IR ν_{max} [cm^{-1}]: 2113 (N_3).

$\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_9\text{S}$ (447.46)

***S*-(2-Azido-2-desoxy-4,6-*O*-*p*-methoxybenzyliden- α,β -D-galactopyranosyl)-4-mercaptoputtersäuremethylester (15)/(16)**



Eine Lösung von 9.69 g (21.6 mmol) *S*-(2-Azido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α,β -D-galactopyranosyl)-4-mercaptoputtersäuremethylester (**11**) in 300 mL absol. Methanol wird langsam unter Rühren mit Natriummethanolatlösung ($\text{pH} \approx 9$) unter Argonatmosphäre versetzt. Die Zugabe der Natriummethanolatlösung wird so lange vorgenommen, bis ein pH-Wert von 9.0 im Reaktionsgemisch erreicht ist. Nachdem der Umsatz vollständig ist, neutralisiert man mit saurem Ionenaustauscherharz Amberlite® IR120, filtriert und wäscht mit Methanol nach. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der verbleibende Rückstand wird in 250 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid aufgenommen. Diese Lösung wird mit der katalytischen Menge von *p*-Toluolsulfonsäure Monohydrat und 5.5 mL (5.90 g, 32.4 mmol) *p*-Anisaldehyd-dimethylacetal versetzt, anschließend eine Stunde bei 50 °C und 20-30 mbar am Rotationsverdampfer durchmischt. Zum Reaktionsgemisch werden 2 mL Triethylamin zugegeben, das Lösungsmittel vollständig i. Vak. entfernt und der Rückstand wird Flashchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Cyclohexan: EtOAc 4:1).

α -Anomer, 15: Ausb.: 5.24 g (11.9 mmol, 55.1% [45% - 60%]); hell gelber amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = 172.1$ ($C = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.15$ (Cyclohexan: EtOAc = 4:1); $R_f = 0.53$ (Cyclohexan: EtOAc = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, CDCl_3): δ [ppm] = 7.42 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.90 (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.54 (s, 1H, CH, Acetal); 5.45 (d, $^3J_{1,2} = 5.28$ Hz, 1H, H1); 4.22 (m_c, 1H, H_{6a}); 4.25 (s_b, 1H, H4) 4.10 (t, $^3J_{1,2} = 5.28$ Hz 1H, H2); 4.10 (m_c, 1H, H_{6b}); 4.08 (s_b, 1H, H5); 3.96-3.89 (m, 1H, H3); 3.81 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.67 (s, 3H, COOCH_3); 2.64 (m_c, 2H, SCH_2CH_2); 2.55 (s_b, 1H, 3-OH), 2.43 (t, $^3J = 7.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 2.00-1.92 (m, 2H, SCH_2CH_2).

^{13}C -NMR (100.6 MHz, HMQC, CDCl_3): δ [ppm] = 173.4 (C=O); 160.5 (C_{para} -Pmb); 129.8 (C_{ipso} -Pmb) 127.7 (C_{meta} -Pmb); 113.8 (C_{ortho} -Pmb); 101.4 (CH-Pmb); 84.3 (C1); 75.2 (C4); 69.6 (C3); 69.3 (C6); 63.3 (C5); 61.3 (C2); 55.4 (OCH_3 -Pmb); 51.8 (COOCH_3); 32.9 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 30.3 (SCH_2CH_2); 24.8 (SCH_2CH_2).

FD-MS, positiv $[m/z] = 439.6$ (100 %, $[\text{M}]^+$, ber.: 439.2).

FT-IR (KBr) ν_{max} [cm^{-1}]: 2100 (N_3).

$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}$ (439.48)

β -Anomer, 16: Ausb.: 2.58 g (5.9 mmol, 27.3% [18% - 30%]); hell gelber amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -23.6$ ($c = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.05$ (Cyclohexan: EtOAc = 4:1); $R_f = 0.20$ (Cyclohexan: EtOAc = 1:1).

^1H -NMR (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, CDCl_3): δ [ppm]: 7.35 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.91 (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.50 (s, 1H, CH, Acetal); 4.31 (dd, $^2J = 12.5$ Hz, $^3J = 1.4$ Hz, 1H, H_{6a}); 4.28 (d, $^3J_{1,2} = 9.8$ Hz, 1H, H1); 4.21-4.19 (m, 1H, H4); 4.00 (dd, $^2J = 12.7$ Hz, $^3J = 1.8$ Hz, 1H, H_{6b}); 3.81 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.67 (s, 3H, COOCH_3); 3.66-3.61 (m, 2H, H2, H3); 3.47-3.45 (m, 1H, H5); 2.82 (m, 3H, SCH_2CH_2 , 3-OH); 2.50 (t, $^3J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 2.08-1.95 (m, 2H, SCH_2CH_2).

^{13}C -NMR (100.6 MHz, HMQC, CDCl_3), δ [ppm]: 173.6 (C=O); 160.5 (C_{para} -Pmb); 130.0 (C_{ipso} -Pmb) 127.8 (C_{meta} -Pmb); 113.8 (C_{ortho} -Pmb); 101.5 (CH-Pmb); 83.7 (C1); 74.7 (C4); 73.4 (C3); 70.0 (C5); 69.3 (C6); 63.5 (C2); 55.4 (OCH_3 -Pmb); 51.8 (COOCH_3); 32.7 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 29.3 (SCH_2CH_2); 25.2 (SCH_2CH_2).

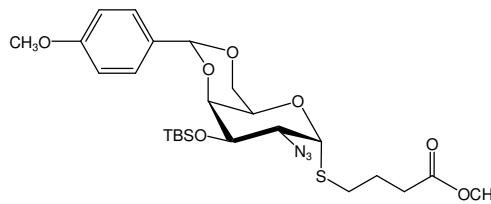
FD-MS, positiv $m/z = 439.6$ (100 %, $[\text{M}]^+$, ber.: 439.2).

FT-IR ν_{max} [cm^{-1}]: 2113 (N_3).

$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}$ (439.48)

S-(2-Azido-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4,6-*O*-*p*-methoxybenzyliden- α -D-galactopyranosyl)-4-mercaptoputtersäuremethylester (17)

5.06 g (11.5 mmol) des Acetals **15** werden in 100 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung werden tropfenweise nacheinander 9.36 mL (9.08 g, 115.0 mmol) Pyridin und 3.96 mL (4.56 g, 17.2 mmol) Trifluormethansulfonsäure-*tert*-butyldimethylsilylester zugegeben. Nach 20 min Rühren beobachtet man einen vollständigen Umsatz (dünnschichtchromatographische Kontrolle (R_f = 0.73, Cyclohexan: EtOAc 1:1). Die Reaktionslösung wird unter starkem Rühren in 60 mL eisgekühlter ges. NaHCO₃-Lösung gegossen, bevor man 100 mL Wasser und 100 mL Dichlormethan zugibt. Die organische Phase wird abgetrennt und mit 80 mL ges. NaHCO₃-Lösung und 80 mL Wasser gewaschen. Anschließend wird die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird vollständig i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Produktes erfolgt mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel (Dichlormethan: EtOAc = 20:1).



Ausb.: 6.22 g (11.2 mmol, 97.4% [75% - 99%]); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = 144.5$ ($c = 1.0$, CHCl₃); $R_f = 0.68$ (Dichlormethan: EtOAc = 20:1); $R_f = 0.73$ (Cyclohexan: EtOAc = 1:1).

¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃), δ [ppm]: 7.44 (d, ³ J = 9.0 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.89 (d, ³ J = 9.0 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.51 (s, 1H, CH, Acetal); 5.46 (d, ³ $J_{1,2} = 5.09$ Hz, 1H, H1); 4.26-4.20 (m, 2H, H2, H_{6a}); 4.08 (m_c, 1H, H4); 4.07 (dd, ² J = 12.5 Hz, ³ J = 1.6 Hz, 1H, H_{6b}); 4.00 (s_b, 1H, H5); 3.94 (dd, ³ $J_{2,3} = 10.2$ Hz, ³ $J_{3,4} = 3.5$ Hz, 1H, H3); 3.80 (s, 3H, OCH₃-Pmb); 3.67 (s, 3H, COOCH₃); 2.64 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 2.43 (t, ³ J = 7.2 Hz, 2H, CH₂COOCH₃); 1.96 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 0.92 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.17 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.13 (s, 3H, CH₃, TBS).

¹³C-NMR (100.6 MHz, HMQC, CDCl₃), δ [ppm]: 173.4 (C=O); 160.1 (C_{para}-Pmb); 130.0 (C_{ipso}-Pmb); 127.4 (C_{meta}-Pmb); 113.6 (C_{ortho}-Pmb); 100.8 (CH-Pmb); 84.6 (C1); 76.4 (C4); 70.9 (C3); 69.4 (C6); 63.6 (C5); 61.1 (C2); 55.4 (OCH₃-Pmb); 51.8 (COOCH₃); 32.9 (CH₂COOCH₃); 30.3 (SCH₂CH₂); 25.8 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 24.9 (SCH₂CH₂); 18.2 (C^{tert-Bu}, TBS); -4.4 (CH₃, TBS); -4.6 (CH₃, TBS).

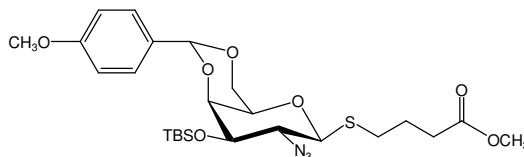
FD-MS, positiv $m/z = 553.2$ (5 %, $[M]^+$, ber.: 553.2); 497.0 (100 %, $[M\text{-}tert\text{-Bu+H}]^+$, ber.: 497.0); 420.9 (6 %, $[M\text{-SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_3\text{+H}]^+$, ber.: 420.2).

FT-IR (KBr) ν_{max} [cm^{-1}]: 2100 (N_3).

$\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_7\text{SSi}$ (553.74)

***S*-(2-Azido-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4,6-*O*-*p*-methoxybenzyliden- β -D-galactopyranosyl)-4-mercaptobuttersäuremethylester (18)**

2.40 g (5.46 mmol) des Acetals **16** werden in 60 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst



und auf 0 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung werden tropfenweise nacheinander 4.60 mL (4.46 g, 56.4 mmol) Pyridin und 1.95 mL (2.24 g, 8.46 mmol) Trifluormethansulfonsäure-*tert*-butyldimethylsilylester zugegeben. Nach 15 min Rühren beobachtet man einen vollständigen Umsatz (dünnschichtchromatographische Kontrolle ($R_f = 0.73$, Cyclohexan: EtOAc 1:1)). Die Reaktionslösung wird unter starkem Rühren in 60 mL stark eisgekühlter ges. NaHCO_3 -Lösung gegossen, und es werden 100 mL Wasser und 80 mL Dichlormethan zugegeben. Die organische Phase wird abgetrennt und mit 80 mL ges. NaHCO_3 -Lösung und 80 mL Wasser gewaschen. Anschließend wird über MgSO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird vollständig i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Produktes erfolgt mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel (Dichlormethan: EtOAc = 20:1).

Ausb.: 2.60 g (4.70 mmol, 86.1% [75% - 99%]); farbloser amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{20} = -18.2$ ($c = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.73$ (Dichlormethan: EtOAc = 20:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, (^1H - ^1H -COSY, CDCl_3), δ [ppm]: 7.42 (d, $^3J = 9.0$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.89 (d, $^3J = 9.0$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.46 (s, 1H, CH, Acetal); 4.29 (dd, $^2J = 12.5$ Hz, $^3J = 1.6$ Hz, 1H, H_{6a}); 4.24 (d, $^3J_{1,2} = 9.8$ Hz, 1H, H_1); 4.02-4.00 (m, 1H, H_4); 3.97 (dd, $^2J = 12.5$ Hz, $^3J = 1.6$ Hz, 1H, H_{6b}); 3.80 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.74 (t, $^3J_{1,2} = 9.6$ Hz, 1H, H_2); 3.65 (s, 3H, COOCH_3); 3.62 (dd, $^3J_{2,3} = 9.3$ Hz, $^3J_{3,4} = 3.5$ Hz, 1H, H_3); 3.39-3.37 (m, 1H, H_5); 2.85 (m_c , 1H, $\text{SCH}_{2a}\text{CH}_2$); 2.71 (m_c , 1H, $\text{SCH}_{2b}\text{CH}_2$); 2.47 (t, $^3J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 2.07-1.91 (m, 2H, SCH_2CH_2); 0.92 (s, 9H, $\text{CH}_3^{tert\text{-Bu}}$, TBS); 0.16 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.12 (s, 3H, CH_3 , TBS).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, HMQC, DEPT; CDCl_3), δ [ppm]: 173.6 (C=O); 160.4 (C_{para} -Pmb); 130.5 (C_{ipso} -Pmb) 127.5 (C_{meta} -Pmb); 113.6 (C_{ortho} -Pmb); 101.0 (CH-Pmb); 83.8

(C1); 76.0 (C4); 74.6 (C3); 70.1 (C5); 69.4 (C6); 63.2 (C2); 55.4 (OCH₃-Pmb); 51.7 (COOCH₃); 32.8 (CH₂COOCH₃); 29.0 (SCH₂CH₂); 25.8 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); (25.3 (SCH₂CH₂), 18.2 (C^{tert-Bu}, TBS); -4.5 (CH₃, TBS); -4.6 (CH₃, TBS).

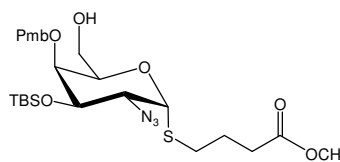
FD-MS, positiv m/z = 554.2 (65 %, [M+H]⁺, ber.: 554.3); 497.2 (100 %, [M-*tert*-Bu+H]⁺, ber.: 497.0).

FT-IR $\nu_{\max}$ [cm⁻¹]: 2112 (N₃).

C₂₅H₃₉N₃O₇SSi (553.74)

***S*-(2-Azido-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- α -D-galactopyranosyl)-4-mercaptobuttersäuremethylester (19)**

2.49 g (4.50 mmol) *S*-(2-Azido-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4,6-*O*-*p*-methoxybenzyliden- α -D-



galactopyranosyl)-4-mercaptobuttersäure-methylester (**17**) werden in 120 mL absol. Acetonitril gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend werden nacheinander 5.66 g (90 mmol) Natriumcyanoborhydrid und 1.15 mL (0.978 g, 9 mmol) Trimethylsilylchlorid (TMS-Cl) im Argongegenstrom zugegeben. Nach 30 min Rühren wird die Kühlung entfernt und das Reaktionsgemisch bei Raumtemp. gerührt. Zur Vervollständigung der Reaktion werden nach 12 h fünf Äquivalente von Natriumcyanoborhydrid und sechs Äquivalente von TMS-Cl innerhalb von einer Stunde zugegeben. Nach 48 h beobachtet man einen vollständigen Umsatz (dünnsichtschromatographische Kontrolle (R_{f1} = 0.90, R_{f2} = 0.45, CH₂Cl₂: EtOAc = 6:1)). Die Reaktionslösung wird auf eine gekühlte, stark gerührte Mischung aus gesättigter Kaliumcarbonat- und gesättigter NaHCO₃-Lösung (75 mL + 75 mL) gegossen. Es werden 100 mL Dichlormethan zugegeben und die organische Phase wird getrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 100 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit je 200 mL ges. NaHCO₃-Lösung, 200 mL 1 N HCl und 200 mL Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO₄ und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. erhält man ein schwach gelbes Öl, das mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt wird (R_{f1} = 0.45, R_{f2} = 0.12, Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

Ausb.: 1.60 g, (2.9 mmol, 64.4% [20% - 65%]); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20}$ = 117.0 (c = 1.0, CHCl₃); R_f = 0.12 (Cyclohexan: EtOAc = 4:1); R_f = 0.40 (CH₂Cl₂: EtOAc = 6:1).

¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃), δ [ppm]: 7.28 (d, ³*J* = 8.6 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.88 (d, ³*J* = 8.6 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.46 (d, ³*J*_{1,2} = 5.5 Hz, 1H, H1); 4.95 (d, ²*J* = 11.0 Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.50 (d, ²*J* = 11.0 Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.23 (dd, ³*J*_{2,3} = 10.2 Hz, ³*J*_{1,2} = 3.5 Hz, 1H, H2); 4.10 (t, ³*J*_{5,6} = 5.5 Hz, 1H, H5); 3.88 (dd, ³*J*_{2,3} = 10.2 Hz, ³*J*_{3,4} = 2.7 Hz, 1H, H3); 3.80 (s, 3H, OCH₃-Pmb); 3.76 (dd, ²*J* = 11.7 Hz, ³*J* = 6.6 Hz, 1H, H_{6a}); 3.72-3.70 (m, 1H, H4); 3.65 (s, 3H, COOCH₃); 3.52 (dd, ²*J* = 11.7 Hz, ³*J* = 5.1 Hz, 1H, H_{6b}); 2.65 (m_c, 1H, SCH_{2a}CH₂); 2.54 (m_c, 1H, SCH_{2b}CH₂); 2.43 (t, ³*J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂COOCH₃); 1.93 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 0.98 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.22 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.20 (s, 3H, CH₃, TBS).

¹³C-NMR (100.6 MHz, HMQC, CDCl₃), δ [ppm]: 173.7 (C=O, Ester); 159.6 (C_{para}-Pmb); 130.4 (C_{ipso}-Pmb); 129.9 (C_{meta}-Pmb); 114.1 (C_{ortho}-Pmb); 83.7 (C1); 77.4 (C4); 75.0 (CH₂-Pmb); 72.8 (C3); 71.8 (C5); 62.6 (CH₂-Ph, Pmb); 62.3 (C2); 55.4 (OCH₃-Pmb); 51.9 (COOCH₃); 32.9 (CH₂COOCH₃); 29.7 (SCH₂CH₂); 26.1 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 24.8 (SCH₂CH₂); 18.2 (C^{tert-Bu}, TBS); -4.1 (CH₃, TBS); -4.8 (CH₃, TBS).

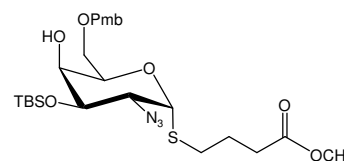
FD-MS, positiv *m/z* = 557.0 (100%, [M+H]⁺, ber.: 556.2).

FT-IR (KBr) $\nu_{\max}$ [cm⁻¹]: 2110 (N₃).

C₂₅H₄₁N₃O₇SSi (555.76)

Als Nebenprodukt wird isoliert:

S-(2-Azido-2-desoxy-3-O-tert-butyltrimethylsilyl-6-O-p-methoxybenzyl- α -D-galactopyranosyl)-4-mercaptoputtersäuremethylester (20)



Ausb.: 0.38 g, (0.68 mmol, 15.1% [10% - 20%]); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20}$ = 118.0 (c = 1.0, CHCl₃); R_f = 0.45 (Cyclohexan: EtOAc = 4:1); R_f = 0.96 (CH₂Cl₂: EtOAc = 6:1).

¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃), δ [ppm]: 7.24 (d, ³*J* = 8.6 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.86 (d, ³*J* = 8.6 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.42 (d, ³*J*_{1,2} = 5.5 Hz, 1H, H1); 4.5 (d, ³*J* = 7.0 Hz, 2H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.28 (t, ³*J*_{5,6} = 5.5 Hz, 1H, H5); 4.04 (dd, ³*J*_{2,3} = 9.8 Hz, ³*J*_{1,2} = 5.5 Hz, 1H, H2); 3.82 (m_c, 1H, H4); 3.80 (m_c, 1H, H3); 3.79 (s, 3H, OCH₃-Pmb); 3.74-3.66 (m, 2H, 6H); 3.65 (s, 3H, COOCH₃); 2.66 (m_c, 1H, SCH_{2a}CH₂); 2.57 (m_c, 1H, SCH_{2b}CH₂); 2.40 (dt, ³*J* = 7.5 Hz, ³*J* = 2.7 Hz, 2H, CH₂COOCH₃); 2.60 (m_c, 2H,

SCH₂CH₂); 1.93 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 0.92 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.18 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.13 (s, 3H, CH₃, TBS).

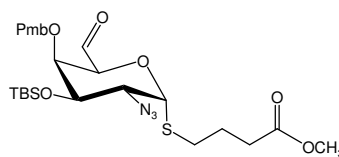
FD-MS, positiv m/z = 556.0 (100%, [M+H]⁺, ber.: 556.2).

FT-IR (KBr) $\nu_{\max}$ [cm⁻¹]: 2110 (N₃).

C₂₅H₄₁N₃O₇SSi (555.76)

***S*-(2-Azido-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- β -D-galactodialdopyranosyl)-4-mercaptobuttersäuremethylester (21)**

Ein 250 mL- Zweihalskolben mit Magnetrührer, Septum und Hahnaufsatz wird auf ca. 10 mbar evakuiert und mit einer Heissluftpistole ausgeheizt. Nach Abkühlen füllt man mit Argon, evakuiert und begast ein zweites Mal. Unter Schutzgas werden anschließend mit einer Injektionspritze 0.22 mL (0.32 g, 2.53 mmol) Oxalylchlorid zu 50 mL absol. Dichlormethan gegeben. Man kühlt auf -78 °C ab und gibt nach einigen Minuten unter Rühren 0.40 g (0.36 mL, 5.06 mmol) Dimethylsulfoxid zu. Nach fünf min werden innerhalb von 10 min tropfenweise 1.28 g (2.3 mmol) des Monosaccharids **19** in 50 mL absol. Dichlormethan zugesetzt. Nach weiteren 15 min versetzt man die Reaktionslösung mit 1.48 mL (1.16 g, 11.5 mmol) Triethylamin, rührt fünf min und lässt langsam auf Raumtemp. erwärmen. Nach ca. 15 min ist der Umsatz vollständig (R_f = 0.82, Cyclohexan: EtOAc = 1:1). Zur Reaktionslösung werden 100 mL Wasser zugegeben. Die Phasen werden getrennt. Die wässrige Phase wird mit 50 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden nacheinander mit jeweils 120 mL ges. NaCl-Lösung., 120 mL 1 N HCl-Lösung, 120 mL Wasser und anschließend mit 120 mL ges. NaHCO₃-Lösung. gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Trockenmittels wird die organische Phase i. Vak. eingengt und das Rohprodukt mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (R_f = 0.45, Cyclohexan: EtOAc = 6:1).



Ausb.: 1.13 g, (2.0 mmol, 87.0%); farbloses Öl; R_f = 0.14 (Cyclohexan: EtOAc = 6:1).

¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃), δ [ppm]: 9.56 (s, 1H, CHO), 7.20 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.85 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.48 (d, ³ $J_{1,2}$ = 4.4 Hz, 1H, H1); 4.95 (d, ² J = 10.6 Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.43 (d, ² J = 10.6 Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.23 (dd, ³ $J_{2,3}$ = 10.2 Hz, ³ $J_{1,2}$ = 3.5 Hz, 1H, H2); 4.40 (m_c, 1H, H4); 4.11 (m_c, 1H, H5);

3.91 (dd, $^3J_{2,3} = 8.9$ Hz, $^3J_{3,4} = 2.3$ Hz, 1H, H₃); 3.80 (s, 3H, OCH₃-Pmb); 3.76 (dd, $^2J = 11.7$ Hz, $^3J = 6.6$ Hz, 1H, H_{6a}); 3.65 (s, 3H, COOCH₃); 2.72 (m_c, 1H, SCH_{2a}CH₂); 2.65 (m_c, 1H, SCH_{2b}CH₂); 2.44 (t, $^3J = 7.0$ Hz, 2H, CH₂COOCH₃); 1.97 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 0.94 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.19 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.17 (s, 3H, CH₃, TBS).

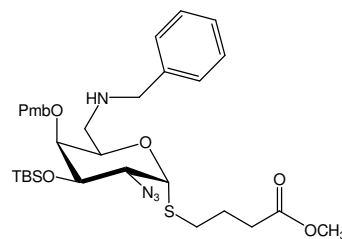
¹³C-NMR (100.6 MHz, HMQC, CDCl₃), δ [ppm]: 199.7 (C=O, CHO); 173.4 (C=O, Ester); 159.6 (C_{para}-Pmb); 129.7 (C_{ipso}-Pmb, C_{meta}-Pmb); 113.9 (C_{ortho}-Pmb); 82.9 (C1); 77.2 (C2); 76.5 (C4); 74.8 (CH₂-Pmb); 71.6 (C3); 62.4 (C5); 55.4 (OCH₃-Pmb); 51.8 (COOCH₃); 32.8 (CH₂COOCH₃); 30.4 (SCH₂CH₂); 25.9 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 24.8 (SCH₂CH₂); 18.2 (C^{tert-Bu}, TBS); -4.2 (CH₃, TBS); -5.0 (CH₃, TBS).

FD-MS, positiv $m/z = 554.0$ (100 %, [M+H]⁺, ber.: 554.2); 496.8 (74 %, [M-*tert*-Bu+H]⁺, ber.: 497.2).

FT-IR (KBr) $\nu_{\max}$ [cm⁻¹]: 2100 (N₃).

C₂₅H₃₉N₃O₇SSi (553.74)

S-(2-Azido-2-desoxy-6-*N*-benzylamin-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- α -D-galactopyranosyl)-4-mercaptoputtersäuremethylester (22)



268 mg (0.48 mmol) des Monosaccharids **21** und 51 μ L (50 mg, 0.48 mmol) Benzylamin werden in 10 mL absol.

Acetonitril bei Raumtemp. zusammengegeben. Zum Gemisch werden 305 mg (1.44 mmol) Natriumtriacetoxyborhydrid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird weiter bei Raumtemp. gerührt. Nach 15 min ist der Umsatz vollständig (dünnschichtchromatographische Kontrolle ($R_f = 0.14$, Cyclohexan: EtOAc = 1:1)). Die Reaktionslösung wird auf 30 mL ges. NaHCO₃ Lösung gegossen. Die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 30 mL Essigsäureethylester extrahiert. Nach dem Trocknen über MgSO₄ wird das Lösungsmittel im Vak. entfernt und das Rohprodukt mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt ($R_f = 0.45$, Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

Ausb.: 256 mg, (0.4 mmol, 82.6%); gelbes Öl; $[\alpha]_D^{20} = 112.0$ (c = 1.0, CHCl₃); $R_f = 0.12$ (Cyclohexan: EtOAc = 4:1). Der R_f -Wert für das Produkt hat sich nach der Aufarbeitung geändert ($R_f = 0.48$, Cyclohexan: EtOAc = 1:1).

¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃), δ [ppm]: 7.34-7.21 (m, 7H, Ph, Pmb); 6.85(d, ³*J* = 8.6 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.41 (d, ³*J*_{1,2} = 5.4 Hz, 1H, H₁); 4.92 (d, ²*J* = 11 Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.46 (d, ²*J* = 11.0 Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.23 (dd, ³*J*_{2,3} = 10.2 Hz, ³*J*_{1,2} = 5.4 Hz, 1H, H₂); 4.17 (dd, ³*J*_{5,6} = 7.8 Hz, ³*J*_{4,5} = 5.1 Hz, 1H, H₅); 3.87(dd, ³*J*_{2,3} = 10.2 Hz, ³*J*_{1,2} = 2.6 Hz, 1H, H₃); 3.79 (s, 3H, OCH₃-Pmb); 3.72 (s_b, 2H, CH₂-Ph); 3.63 (s, 4H, COOCH₃, H₄); 2.89 (dd, ²*J* = 12.3 Hz, ³*J* = 7.9 Hz, 1H, H_{6a}); 2.60 (m_c, 3H, SCH₂CH₂, H_{6b}); 2.41 (t, ³*J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂COOCH₃); 1.91 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 0.98 (s, 9H, CH₃^{tert}-Bu, TBS); 0.22 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.19 (s, 3H, CH₃, TBS).

¹³C-NMR (100.6 MHz, HMQC, CDCl₃), δ [ppm]: 173.3 (C=O, Ester); 159.3 (C_{para}-Pmb); 140.1 (C_{ipso}-Ph); 130.6, 129.8, 128.9, 128.5, 128.2, 127.1 (4xC-Pmb, 5xC-Ph); 113.9 (C_{ortho}-Pmb); 83.8 (C₁); 77.8 (C₄); 75.0 (CH₂-Pmb); 73.0 (C₃); 70.8 (C₅); 62.4 (C₂); 55.4 (OCH₃-Pmb); 53.9 (CH₂-Ph); 51.7 (COOCH₃); 49.3 (C₆); 32.9 (CH₂COOCH₃); 29.7 (SCH₂CH₂); 26.1 (CH₃^{tert}-Bu, TBS); 24.7 (SCH₂CH₂); 18.2 (C^{tert}-Bu, TBS); -4.1 (CH₃, TBS); -4.8 (CH₃, TBS).

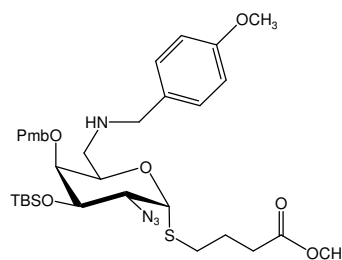
FD-MS, positiv *m/z* = 646.3 (100 %, [M+H]⁺, ber.: 645.3).

FT-IR (KBr) $\nu_{\max}$ [cm⁻¹]: 2110 (N₃).

C₃₂H₄₈N₄O₆SSi (644.90)

***S*-(2-Azido-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl-6-*N*-*p*-methoxybenzylamin-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-4-mercaptoputtersäuremethylester (23)**

211 mg (0.38 mmol) des Aldehyds **21** und 55 μ L 0 (52 mg, 0.38 mmol) *p*-Methoxybenzylamin werden in 10 mL absol. Acetonitril bei Raumtemperatur



zusammengegeben. Zum Gemisch werden 242 mg (1.14 mmol) Natriumtriacetoxyborhydrid hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemp. gerührt. Nach 10 min ist der Umsatz vollständig (*R_f* = 0.06, Cyclohexan: EtOAc = 1:1). Die Reaktionslösung wird auf 30 mL ges. Natriumbicarbonat-Lösung gegossen. Die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 30 mL Essigsäureethylester extrahiert. Nach dem Trocknen über MgSO₄ wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel aufgereinigt (*R_f* = 0.20, Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

Ausb.: 145 mg, (0.2 mmol, 52.6%); gelbes Öl; $R_f = 0.20$ (Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ [ppm]: 7.22 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 2H, Pmb o. Pmb-Amin); 7.18 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, Pmb o. Pmb-Amin); 6.85 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, Pmb o. Pmb-Amin); 6.84 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, Pmb o. Pmb-Amin); (5.40 (d, $^3J_{1,2} = 5.5$ Hz, 1H, H1); 4.92 (d, $^2J = 11$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Alkyl-a}}$ Pmb); 4.45 (d, $^2J = 11.0$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Alkyl-a}}$ Pmb); 4.21 (dd, $^3J_{2,3} = 10.2$ Hz, $^3J_{1,2} = 5.5$ Hz, 1H, H2); 4.17 (mc, 1H, H5); 3.86 (dd, $^3J_{2,3} = 10.2$ Hz, $^3J_{1,2} = 2.6$ Hz, 1H, H3); 3.79 (s, 6H, OCH_3 -Pmb u. OCH_3 -Pmb-Amin); 3.66 (sb, 2H, CH_2 -Pmb-Amin); 3.64 (s, 4H, COOCH_3 , H4); 2.87 (dd, $^2J = 12.3$ Hz, $^3J = 7.6$ Hz, 1H, H_{6a}); 2.58 (mc, 3H, SCH_2CH_2 , H_{6b}); 2.41 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 1.90 (mc, 2H, SCH_2CH_2); 0.98 (s, 9H, $\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 0.21 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.18 (s, 3H, CH_3 , TBS).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, HMQC, CDCl_3), δ [ppm]: 173.5 (C=O, Ester); 159.4, 158.8 (C_{para} -Pmb, C_{para} -Pmb-Amin); 132.1, 130.7, 129.8, 129.4 ($4x\text{C}$ -Pmb, $5x\text{C}$ -Pmb-Amin); 113.9 (C_{ortho} -Pmb); 83.7 (C1); 77.9 (C4); 75.1 (CH_2 -Pmb); 73.0 (C3); 70.8 (C5); 62.4 (C2); 55.4 (OCH_3 -Pmb); 53.3 (CH_2 -Pmb-Amin); 51.7 (COOCH_3); 49.1 (C6); 32.9 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 29.7 (SCH_2CH_2); 26.1 ($\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 24.7 (SCH_2CH_2); 18.2 ($\text{C}^{\text{tert-Bu}}$, TBS); -4.1 (CH_3 , TBS); -4.8 (CH_3 , TBS).

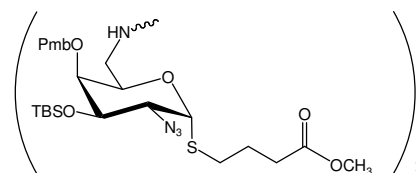
FD-MS, positiv $m/z = 676.1$ (100 %, $[\text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 675.3).

FT-IR (KBr) ν_{max} [cm^{-1}]: 2110 (N_3).

$\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_7\text{SSi}$ (674.92)

Bis-6-[S-(2-Azido-2-desoxy-3-O-tert-butyldimethylsilyl-4-O-p-methoxybenzyl-6-N-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-4-mercaptoputtersäuremethylester] (24)

Zur 10 mL methanolischen Lösung von 0.13 g (1.7 mmol) Ammoniumacetat wird bei 0 °C 94 mg (0.17 mmol) von **21** zugegeben. Man gibt 0.021 g (0.34



mmol) Natriumcyanoborhydrid zu und erwärmt die Reaktionslösung auf Raumtemperatur. Man rührt 16 h und setzt nacheinander 10 mL Essigsäureethylester und 20 mL gesättigte NaHCO_3 -Lösung hinzu. Die wässrige Phase wird abgetrennt und zweimal mit jeweils 10 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 30 mL ges. NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und

das Lösungsmittel vollständig im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt.

Ausb.: 36 mg, (0.06 mmol, 35%); gelbes Öl; $[\alpha]_D^{20} = 155.8$ ($c = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.13$ (Cyclohexan: EtOAc = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, CDCl_3), δ [ppm]: 7.26 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 4H, H_{Aryl} 2xPmb); 6.87 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 4H, H_{Aryl} 2xPmb); 5.36 (d, $^3J_{1,2} = 5.4$ Hz, 2H, 2xH1); 4.93 (d, $^2J = 10.8$ Hz, 2H, $\text{H}_{\text{Alkyl-a}}$ 2xPmb); 4.44 (d, $^2J = 10.8$ Hz, 2H, $\text{H}_{\text{Alkyl-a}}$ 2xPmb); 4.20 (dd, $^3J_{2,3} = 10.2$ Hz, $^3J_{1,2} = 5.4$ Hz, 2H, 2xH2); 4.10 (sb, 2H, 2xH5); 3.85 (dd, $^3J_{2,3} = 10.2$ Hz, $^3J_{3,4} = 2.6$ Hz, 2H, 2xH3); 3.79 (s, 6H, 2xOCH₃-Pmb); 3.64 (s, 6H, 2xCOOCH₃); 3.56 (mc, 1H, H4); 2.92 (mc, 2H, 2xH_{6a}); 2.57 (mc, 2H, 2xSCH_{2a}CH₂); 2.49 (mc, 2H, 2xSCH_{2b}CH₂); 2.39 (mc, 6H, 2xH_{6b}, 2xCH₂COOCH₃); 1.86 (mc, 4H, 2xSCH₂CH₂); 0.98 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.22 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.29 (s, 3H, CH₃, TBS).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, HMQC, CDCl_3), δ [ppm]: 173.5 (C=O, Ester); 159.5 (C_{para}-Pmb); 130.6 (C_{ipso}-Pmb); 129.8 (C_{meta}-Pmb); 113.9 (C_{ortho}-Pmb); 83.7 (C1); 78.1 (sb, C4); 75.2 (CH₂-Ph, Pmb); 73.0 (sb, C3); 70.1 (sb, C4); 62.3 (C2); 55.4 (OCH₃-Pmb); 51.8 (COOCH₃); 49.5 (sb, C6); 32.9 (CH₂COOCH₃); 29.5 (SCH₂CH₂); 26.1 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 24.6 (SCH₂CH₂); 18.2 (C^{tert-Bu}, TBS); -4.1 (CH₃, TBS); -4.8 (CH₃, TBS).

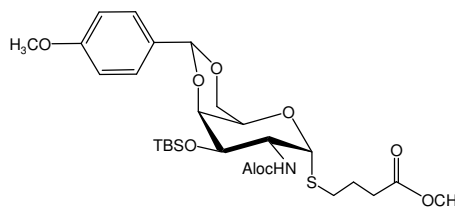
ESI-MS (Gerät 1), positiv $m/z = 1114.6$ (100 %, $[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1114.48).

$\text{C}_{50}\text{H}_{81}\text{N}_7\text{O}_{12}\text{S}_2\text{Si}_2$ (1092.52)

6.4 Synthesen zum Kapitel 3.2.2

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4,6-*O*-*p*-methoxybenzyliden- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (27)**

Zu einer gelben Lösung von 3.18 g (16.8 mmol) wasserfreiem Zinn(II)-chlorid, 6.86 mL (7.40 g, 67.2 mmol) Thiophenol und 6.52 mL (5.10 g, 50.4



mmol) Triethylamin in 100 mL absol. Acetonitril wird eine Lösung von 6.22 g (11.2 mmol) **17** in 100 mL absol. Acetonitril (mit Hilfe einer Injektionsspritze) bei Raumtemperatur zugegeben. Bei der Zugabe erwärmt sich das Reaktionsgemisch leicht. Nach vollständigem Reaktionsumsatz ($R_f = 0.25$, Cyclohexan: EtOAc 1:1) wird die

orangefarbene Reaktionslösung mit 150 mL 1 N wässriger NaOH Lösung. versetzt. Zum Gemisch werden 150-200 mL Dichlormethan zugegeben und es wird so lange gerührt bis die Lösung farblos wird. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 100 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird dreimal mit Toluol kodestilliert. Das Rohprodukt wird i. Vak. getrocknet und ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Das Rohprodukt wird in 100 mL absol. Dichlormethan gelöst und die Lösung wird auf 0 °C gekühlt. Zur Lösung werden 9.13 mL (8.86 g, 112 mmol) Pyridin zugegeben und anschließend werden 2.38 mL (2.70 g, 22.4 mmol) Chlorameisensäureallylester zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird langsam erwärmt und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wird mit 100 mL Dichlormethan verdünnt und dreimal mit je 150 mL. ges. NaHCO_3 -Lösung. extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird mittels Flasch-Säulenchromatographie gereinigt (R_f = 0.15, Cyclohexan: EtOAc 4:1).

Ausb.: 5.05 g (8.2 mmol, 73.2% [70% - 90%]; über zwei Stufen); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20} = 123.5$ (c = 1.0, CHCl_3); R_f = 0.15 (Cyclohexan: EtOAc = 4:1); R_f = 0.57 (Cyclohexan: EtOAc = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, CDCl_3), δ [ppm]: 7.45 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, $\text{H}_{\text{Aryl Pmb}}$); 6.87 (d, 3J = 9.0 Hz, 2H, $\text{H}_{\text{Aryl Pmb}}$); 5.90 (m_c , 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc); 5.56 (d, $^3J_{1,2} = 4.70$ Hz, 1H, H1); 5.50 (s, 1H, CH, Acetal); 5.30 (d, 3J = 16.2, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (trans)); 5.19 (d, 3J = 10.6, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (cis)); 4.73 (d, 3J = 8.2, 1H, NH-C2); 4.61-4.48 (m, 3H, H2, $-\text{CH}_2-$, Aloc); 4.23 (dd, 2J = 12.5 Hz, 3J = 1.6 Hz, 1H, H_{6a}); 4.11-4.06 (m, 2H, H4, H_{6b}); 4.01 (s_b , 1H, H5); 3.80 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.78 (m_c , 1H, H3); 3.67 (s, 3H, COOCH_3); 2.67 (m_c , 2H, SCH_2CH_2); 2.42 (dt, 3J = 7.0 Hz, 2J = 2.3 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 1.95 (m_c , 2H, SCH_2CH_2); 0.85 (s, 9H, $\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 0.05 (s, 6H, $2\times\text{CH}_3$, TBS).

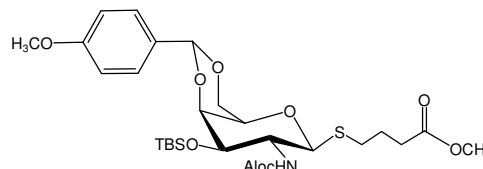
$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, HMQC, CDCl_3), δ [ppm]: 173.4 (C=O, Ester); 160.5 ($\text{C}_{\text{para-Pmb}}$); 155.8 (C=O, Aloc); 132.9 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$, Aloc); 130.4 ($\text{C}_{\text{ipso-Pmb}}$); 127.7 ($\text{C}_{\text{meta-Pmb}}$); 117.8 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$, Aloc); 113.7 ($\text{C}_{\text{ortho-Pmb}}$); 100.9 (CH-Pmb); 86.8 (C1); 76.3 (C4); 70.1 (C3); 69.6 (C6); 65.8 (CH_2 , Aloc); 63.8 (C5); 55.6 (OCH_3 -Pmb); 51.8 (COOCH_3); 51.6 (C2); 32.9 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 31.2 (SCH_2CH_2); 25.7 ($\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 25.1 (SCH_2CH_2); 18.2 ($\text{C}^{\text{tert-Bu}}$, TBS); -4.1 (CH_3 , TBS); -4.5 (CH_3 , TBS).

FD-MS, positiv $m/z = 612.2$ (100 %, $[M+H]^+$, ber.: 612.3); 555.1 (62 %, $[M\text{-}tert\text{-}Bu+H]^+$, ber.: 555.7).

$C_{29}H_{45}NO_9SSi$ (611.82)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-O-tert-butyldimethylsilyl-4,6-O-p-methoxybenzyliden-β-D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (28)

Die Reaktion wird analog der für das α-Anomer durchgeführt. Man setzt 2.60 g (4.70 mmol) des Monosaccharids **18**, 1.34 g (7.05 mmol)



wasserfreies Zinn(II)-chlorid, 2.88 mL (3.11 g, 28.2 mmol) Thiophenol und 2.74 mL (2.14 g, 21.2 mmol) Triethylamin in der ersten Stufe um. Für die Aloc-Einführung benutzt man 3.84 mL (3.72 g, 9.4 mmol) Pyridin und 1.0 mL (1.13 g, 9.4 mmol) Chlorameisensäureallylester.

Ausb.: 2.48 g (4.1 mmol, 87.2% [75% - 90%]); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20} = 1.1$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$); $R_f = 0.07$ (Cyclohexan: EtOAc = 4:1); $R_f = 0.54$ (Cyclohexan: EtOAc = 1:1).

1H -NMR (400 MHz, 1H - 1H -COSY, $CDCl_3$), δ [ppm]: 7.41 (d, $^3J = 9.0$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.87 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.89 (m_c, 1H, $CH_2=CH$ -, Aloc); 5.45 (s, 1H, CH , Acetal); 5.30 (dd, $^3J = 17.2$, $^2J = 1.2$ Hz, 1H, $CH_2=CH$ -, Aloc, (trans)); 5.19 (dd, $^3J = 10.6$, $^2J = 1.2$ Hz, 1H, $CH_2=CH$ -, Aloc, (cis)); 4.94 (m_c, 2H, H1, NH -C2); 4.52 (d, $^3J = 5.1$ Hz, 2H, $-CH_2$ -, Aloc); 4.29 (dd, $^2J = 12.5$ Hz, $^3J = 1.6$ Hz, 1H, H_{6a}); 4.21 (m_c, 1H, H_3); 4.05 (d, $^3J_{3,4} = 3.5$ Hz, 1H, H_4); 3.97 (dd, $^2J = 12.5$ Hz, $^3J = 1.6$ Hz, 1H, H_{6b}); 3.80 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.64 (s, 3H, $COOCH_3$); 3.60 (m_c, 1H, H_2); 3.45 (s_b, 1H, H_5); 2.83 (m_c, 1H, $SCH_{2a}CH_2$); 2.66 (m_c, 1H, $SCH_{2b}CH_2$); 2.43 (dt, $^3J = 7.0$ Hz, $^2J = 2.0$ Hz, 2H, CH_2COOCH_3); 1.95 (m_c, 2H, SCH_2CH_2); 0.86 (s, 9H, $CH_3^{tert-Bu}$, TBS); 0.06 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.04 (s, 3H, CH_3 , TBS).

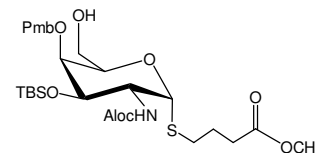
^{13}C -NMR (100.6 MHz, HMQC, $CDCl_3$), δ [ppm]: 173.8 (C=O, Ester); 160.0 (C_{para} -Pmb); 155.5 (C=O, Aloc); 132.8 ($-CH=CH_2$, Aloc); 130.7 (C_{ipso} -Pmb); 127.6 (C_{meta} -Pmb); 117.9 ($-CH=CH_2$, Aloc); 113.6 (C_{ortho} -Pmb); 100.9 (CH-Pmb); 82.9 (C1); 76.6 (C4); 71.3 (C3); 70.1 (C5); 69.5 (C6); 65.7 (CH_2 , Aloc); 55.4 (OCH_3 -Pmb); 53.8 (C2); 51.7 ($COOCH_3$); 32.8 (CH_2COOCH_3); 28.8 (SCH_2CH_2); 25.7 ($CH_3^{tert-Bu}$, TBS); 25.1 (SCH_2CH_2); 18.2 ($C^{tert-Bu}$, TBS); -4.5 (CH_3 , TBS); -4.6 (CH_3 , TBS).

FD-MS, positiv $m/z = 612.2$ (100 %, $[M+H]^+$, ber.: 612.3); 555.1 (62 %, $[M\text{-}tert\text{-}Bu+H]^+$, ber.: 555.7).

$C_{29}H_{45}NO_9Si$ (611.82)

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (29)

Zu bei ca. 140 °C im Vakuum frisch getrocknetem Molekularsieb 4Å (Kügelchen) werden 1.03 g (1.68 mmol)



Acetal **27** in 65 mL absol. Dichlormethan zugegeben. Das Gemisch wird 1 h bei Raumtemperatur vorgerührt. Anschließend wird die Lösung auf -78 °C gekühlt und tropfenweise mit 0.81 mL (0.586 g, 5.04 mmol) Triethylsilan und 0.74 mL (0.907 g, 5.71 mmol) Dichlorphenylboran langsam nacheinander versetzt. Nach 5-10 min ist der Umsatz vollständig (Cyclohexan: EtOAc, 1:1 $R_f = 0.45$). Die Reaktion wird durch Zugabe von 2 mL Triethylamin und 2 mL Methanol abgebrochen und das Reaktionsgemisch wird fünf min bei -78 °C gerührt. Anschließend werden 30 mL Dichlormethan zugegeben. Das Molekularsieb wird abfiltriert und sorgfältig mit Dichlormethan nachgewaschen. Die organische Phase wird dreimal mit jeweils 100 mL ges. $NaHCO_3$ -Lösung. und einmal mit 100 mL 1 N HCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird 30 min mit 100 mL 1 N Zitronensäure-Lösung. gerührt. Nach Trocknen über $MgSO_4$ wird das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Es bleibt ein schwach gelbes Öl zurück, das flash-säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt wird (Cyclohexan: EtOAc, 1:1 $R_f = 0.45$).

Ausb.: 840 mg, (1.36 mmol, 81% [30% - 90%]); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20} = 82.9$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$); $R_f = 0.10$ (Cyclohexan: EtOAc = 3:1).

1H -NMR (400 MHz, 1H - 1H -COSY, $CDCl_3$), δ [ppm]: 7.30 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.88 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.91 (m_c, 1H, $CH_2=CH$ -, Aloc); 5.38 (d, $^3J_{1,2} = 4.7$ Hz, 1H, H1); 5.32 (d, $^3J = 16.7$, 1H, $CH_2=CH$ -, Aloc, (trans)); 5.22 (dd, $^3J = 10.6$ Hz, $^2J = 1.3$ Hz, 1H, $CH_2=CH$ -, Aloc, (cis)); 4.96 (d, $^2J = 11.1$ Hz, 1H, $H_{Alkyl-a}$ Pmb); (4.70 (d, $^3J = 9.6$, 1H, $NH-C2$); 4.61-4.54 (m, 3H, H2, $-CH_2-$, Aloc); 4.49 (d, $^2J = 11.1$ Hz, 1H, $H_{Alkyl-b}$ Pmb); 4.11 (t, $^3J = 5.3$, 1H, H5); 3.80 (s, 4H, H_{6a} , OCH_3 -Pmb); 3.73 (m_c, 2H, H4,); 3.66 (s, 3H, $COOCH_3$); 3.55 (dd, $^2J = 11.6$ Hz, $^3J = 4.5$ Hz, 1H,

H_{6b}); 2.66 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 2.42 (m_c, 2H, CH₂COOCH₃); 1.94 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 0.92 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.15 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.12 (s, 3H, CH₃, TBS).

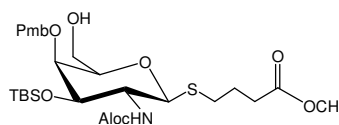
¹³C-NMR (100.6 MHz, HMQC, CDCl₃), δ [ppm]: 173.7 (C=O, Ester); 159.5 (C_{para}-Pmb); 155.7 (C=O, Aloc); 132.9 (-CH=CH₂, Aloc); 130.5 (C_{ipso}-Pmb); 127.8 (C_{meta}-Pmb); 118.0 (-CH=CH₂, Aloc); 114.0 (C_{ortho}-Pmb); 86.3 (s_b, C1); 77.0 (C3); 74.5 (CH₂-Pmb); 72.5 (C5); 72.2 (C4); 65.7 (CH₂, Aloc); 62.5 (C6); 55.4 (OCH₃-Pmb); 52.1 (C2); 51.8 (COOCH₃); 32.9 (CH₂COOCH₃); 31.1 (SCH₂CH₂); 25.8 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 25.1 (SCH₂CH₂); 18.1 (C^{tert-Bu}, TBS); -3.9 (CH₃, TBS); -4.8 (CH₃, TBS).

FD-MS, positiv m/z = 613.5 (100 %, [M]⁺, ber.: 613.3)

C₂₉H₄₇NO₉SSi (613.84)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl-β-D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (30)**

Zu bei ca. 140 °C im Vakuum frisch getrocknetem Molekularsieb 4Å (Pulver) werden 3.55 (5.8 mmol)



Acetal **28** in 120 mL absol. Dichlormethan zugegeben. Das Gemisch wird 1 h bei Raumtemperatur vorgerührt. Anschließend wird die Lösung auf -78 °C gekühlt und tropfenweise mit 2.81 mL (2.02 g, 17.4 mmol) Triethylsilan und 2.20 mL (2.68 g, 16.9 mmol) Dichlorphenylboran langsam nacheinander versetzt. Nach 5-10 min ist der Umsatz vollständig (dünnschichtschromatographische Kontrolle (Cyclohexan: EtOAc, 1:1 R_f = 0.33)). Die Reaktion wird durch Zugabe von 4 mL Triethylamin und 4 mL Methanol abgebrochen und das Reaktionsgemisch fünf min bei -78 °C gerührt. Zur kalten Lösung werden weitere 125 mL Dichlormethan zugegeben. Das Molekularsieb wird abgetrennt. Es wird gründlich mit Dichlormethan nachgewaschen. Die organische Phase wird dreimal mit jeweils 200 mL ges. NaHCO₃-Lösung. und einmal mit 200 mL 1 N HCl-Lösung gewaschen. Anschließend wird die organische Phase 30 min mit 150 mL 1 N Zitronensäure-Lösung. gerührt. Nach dem Trocknen über MgSO₄ wird das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Es bleibt ein schwach gelbes Öl zurück, das flash-säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt wird (Dichlormethan: EtOAc, 6:1 R_f = 0.1).

Ausb.: 2.55 g, (4.2 mmol, 72.4%); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20}$ = -3.2 (c = 1.0, CHCl₃); R_f = 0.10 (Cyclohexan: EtOAc = 3:1).

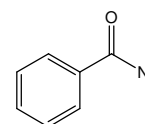
¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃), δ [ppm]: 7.26 (d, ³*J* = 8.6 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.86 (d, ³*J* = 8.7 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.90 (m_c, 1H, CH₂=CH-, Aloc); 5.30 (dd, ³*J* = 17.2, ²*J* = 1.3 Hz, 1H, CH₂=CH-, Aloc, (trans)); 5.19 (dd, ³*J* = 10.4, ²*J* = 1.2 Hz, 1H, CH₂=CH-, Aloc, (cis)); 4.94 (m_c, 2H, H1, NH-C2); 4.80 (d, ²*J* = 11.3 Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.54 (m_c, 3H, H2, -CH₂-, Aloc); 4.48 (d, ²*J* = 11.1 Hz, 1H, H_{Alkyl-b} Pmb); 4.00-3.90 (m, 1H, H3); 3.79 (s, 4H, H_{6a}, OCH₃-Pmb); 3.76 (m_c, 1H, H2); 3.63 (s, 4H, H4, COOCH₃); 3.50 (m_c, 1H, H5); 3.41 (m_c, 1H, H_{6b}); 2.73 (m_c, 1H, SCH_{2a}CH₂); 2.66 (m_c, 1H, SCH_{2b}CH₂); 2.47 (m_c, 1H, SCH₂CH_{2a}); 2.38 (m_c, 1H, SCH₂CH_{2b}); 2.24 (s_b, 1H, 6-OH); 1.91 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 0.92 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.15 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.09 (s, 3H, CH₃, TBS).

¹³C-NMR (100.6 MHz, CDCl₃), δ [ppm]: 174.2 (C=O, Ester); 159.4 (C_{para}-Pmb); 155.6 (C=O, Aloc); 132.9 (-CH=CH₂, Aloc); 130.7 (C_{ipso}-Pmb); 129.8 (C_{meta}-Pmb); 117.9 (-CH=CH₂, Aloc); 113.9 (C_{ortho}-Pmb); 84.2 (s_b, C1); 79.3 (C4); 77.4 (C3); 76.4 (C5); 74.5 (CH₂-Pmb); 65.7 (CH₂, Aloc); 62.7 (C6); 55.4 (OCH₃-Pmb); 54.4 (C2); 51.8 (COOCH₃); 32.9 (CH₂COOCH₃); 29.9 (SCH₂CH₂); 25.9 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 25.2 (SCH₂CH₂); 18.1 (C^{tert-Bu}, TBS); -3.8 (CH₃, TBS); -5.0 (CH₃, TBS).

ESI-MS (Gerät 1), positiv *m/z* = 639.1 (100 %, [M]⁺, ber.: 636.3)

C₂₉H₄₇NO₉SSi (613.84)

Benzazid (32)¹⁵²



Zum Gemisch von 2.30 mL (2.81 mL, 0.02 mol) Benzoesäurechlorid und 2.67 mL (2.30 g, 0.02 mol) Trimethylsilylazid in absol. Dichlormethan wird bei 0 °C unter Argonatmosphäre eine katalytische Menge von wasserfreiem Zink(II)iodid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird über 3.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Reaktionslösung auf 100 mL Eiswasser gegossen und die wässrige Phase wird zweimal mit jeweils 100 mL Dichlormethan extrahiert. Man wäscht die vereinigten organischen Phasen mit 5%igen Natriumthiosulfat-Lsg, trocknet über MgSO₄ und rotiert das Lösungsmittel im Vakuum vollständig ab. Es bleibt ein gelbes Öl zurück. Zum Öl werden wenige mL Aceton zugesetzt und man kühlt die Mischung im flüssigen Stickstoff ab. Die ausgefallenen Kristalle werden zügig

abfiltriert. Man wiederholt diesen Vorgang, bis keine weiteren Kristalle in Aceton mehr ausfallen.

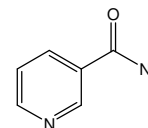
Ausb.: 2.64 g, (0.018 mmol, 90%); hell gelbe Kristalle; Schmp.: 25-27 °C; Lit.¹⁵²: 25-27 °C.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), δ [ppm]: 8.03 (m_c, 2H, Ph_{ortho}); 7.62 (m_c, 2H, Ph_{meta}); 7.46 (t, ³J = 7.5 Hz, 1H, Ph_{para}).

FT-IR (KBr) ν_{max} [cm⁻¹]: 2134 (N₃); 1688 (C=O).

C₇H₅N₃O (147.13)

Nicotinoylazid (33)¹⁵⁵



Zu 60 mL konzentrierter HCl- Lösung unter Kühlung mit Eisbad werden 50 g (0.36 mmol) Nicotinoylhydrazid portionsweise zugegeben. Die Temperatur der Reaktionslösung soll 10 °C nicht überschreiten. Anschließend werden 50.2 g (0.72 mmol) Natriumnitrit, gelöst in 80.1 mL Wasser, bei 0-5 °C zugetropft. Nach der beendeten Zugabe rührt man weitere 30 min und das grünliche Öl wird abgetrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit jeweils 150 mL Diethylether extrahiert und die organischen Extrakte mit dem Öl vereinigt. Die organische Phase wird mit ges. Natriumbicarbonat-Lsg. so lange gewaschen bis eine pH-Wert von 7 erreicht wird. Zum Schluss trennt man die organische Phase ab, trocknet sie über MgSO₄ und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Es bleiben schwach orange-braune Kristalle.

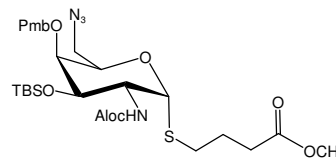
Ausb.: 40 g, (0.27 mol, 75%) leicht bräunliche Kristalle; Schmp.: 47 °C; Lit.¹⁵⁵: 46-48 °C.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), δ [ppm]: = 9.18 (s_b, 1H, H2); 8.80 (dd, ³J₅₋₆ = 4.7 Hz, ²J = 1.4 Hz, 1H, H6); 8.25 (m_c, 1H, H4); 7.39 (dd, ³J₄₋₅ = 7.8 Hz, ³J₅₋₆ = 4.9 Hz, 1H, H5).

FT-IR (KBr) ν_{max} [cm⁻¹]: 2142 (N₃); 1687 (C=O).

C₆H₄N₄O (148.12)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-6-O-azido-6-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-4-O-p-methoxybenzyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (31)



770 mg (1.25 mmol) des Monosaccharids **29** werden in 60 mL absol. Toluol gelöst und bei Raumtemperatur nacheinander mit 1.31 g (5.0 mmol) Triphenylphosphin, 0.99 mL (1.01 g, 5.0 mmol) Diisopropylazodicarboxylat und 0.74 g (5.0 mmol) Nikotinoylazid (**33**) versetzt. Nach 2 h ist der Umsatz vollständig (Cyclohexan: EtOAc, 1:1 R_f = 0.58). Zum Reaktionsgemisch werden 20 mL Methanol zugegeben und das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Zum gelben Rückstand werden ca. 20 mL Diethylether zugegeben und die Lösung wird kurz im Wasserbad bei 40 °C erwärmt. Beim Abkühlen fällt Triphenylphosphin als weißer Feststoff aus. Dies wird abfiltriert und die Mutterlauge wird in Vakuum eingeeengt. Nach Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel mit Cyclohexan: EtOAc = 4:1, R_f = 0.14 erhält man ein farbloses Öl.

Ausb.: 499 mg, (0.8 mmol, 62.4% [50% - 80%]); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20}$ = 82.9 (c = 1.0, CHCl₃); R_f = 0.10 (Cyclohexan: EtOAc = 3:1).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃), δ [ppm]: 7.28 (d, 3J = 8.9 Hz, 2H, Pmb); 6.88 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, Pmb); 5.91 (m_c, 1H, CH₂=CH-, Aloc); 5.31 (m_c, 2H, H1, CH₂=CH-, Aloc, (trans)); 5.21 (dd, 3J = 10.4 Hz, 2J = 1.4 Hz, 1H, CH₂=CH-, Aloc, (cis)); 4.98 (d, 2J = 11.0 Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.68 (d, 3J = 9.6 Hz, 1H, NH-C2); 4.61-4.53 (m, 3H, H2, -CH₂-, Aloc); 4.43 (d, 2J = 11.1 Hz, 1H, H_{Alkyl-b} Pmb); 4.20-4.16 (m, 1H, H5); 3.80 (s, 3H, OCH₃-Pmb); 3.74 (m_c, 1H, H3); 3.66 (s, 3H, COOCH₃); 3.62 (m_c, 1H, H4); 3.55 (dd, 3J = 12.7 Hz, 2J = 8.1 Hz, 1H, H_{6a}); 3.05 (dd, 3J = 12.7 Hz, 2J = 4.5 Hz, 1H, H_{6b}); 2.67 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 2.43 (t, 3J = 7.3 Hz, 2H, CH₂COOCH₃); 1.95 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 0.91 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.14 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.12 (s, 3H, CH₃, TBS).

¹³C-NMR (75.5 MHz, CDCl₃), δ [ppm]: 173.4 (C=O, Ester); 159.6 (C_{para}-Pmb); 155.6 (C=O, Aloc); 132.9 (-CH=CH₂, Aloc); 130.5 (C_{ipso}-Pmb); 129.9 (C_{meta}-Pmb); 118.0 (-CH=CH₂, Aloc); 113.9 (C_{ortho}-Pmb); 86.2 (s_b, C1); 77.4 (C4); 74.6 (CH₂-Pmb); 72.2 (C3); 71.4 (C5); 65.9 (CH₂, Aloc); 55.4 (OCH₃-Pmb); 51.8 (C2, COOCH₃); 51.3 (C6); 32.8 (CH₂COOCH₃); 31.0 (SCH₂CH₂); 25.8 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 25.0 (SCH₂CH₂); 18.0 (C^{tert-Bu}, TBS); -3.9 (CH₃, TBS); -4.9 (CH₃, TBS).

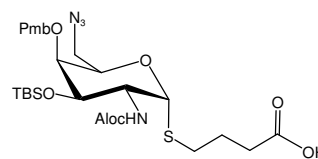
FD-MS, positiv $m/z = 638.2$ (100 %, $[M]^+$, ber.: 638.3)

FT-IR (KBr) $\nu_{\max}$ [cm^{-1}]: 2102 (N_3).

$\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_8\text{SSi}$ (638.85)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-6-O-azido-6-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-4-O-p-methoxybenzyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäure (34)

2.10 g (3.3 mmol) des Monosaccharids **31** werden in 40 mL Tetrahydrofuran gelöst. Es werden 4 mL Wasser zugefügt und anschließend werden 0.554 g (13.2 mmol) Lithiumhydroxids (Monohydrat) zugegeben. Man lässt das Reaktionsgemisch 16 h bei Raumtemperatur rühren und neutralisiert mit saurem Ionenaustauscher-Harz *Amberlyst IR 120*. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und Lösungsmittel vollständig i. Vak. abgezogen. Das restliche Wasser wird durch Lyophilisieren entfernt. Das Rohprodukt kann ohne weitere Reinigung zur Reaktionen an der festen Phase eingesetzt werden.

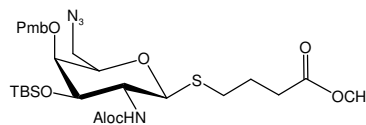


Ausb.: 1.96 g, (3.1 mmol, 93.9% [90% - 99%]); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20} = 93.6$ ($c = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.10$ (Cyclohexan: EtOAc = 3:1).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ [ppm]: 7.26 (m, 2H, Pmb); 6.86 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, Pmb); 5.89 (m_c , 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc); 5.30 (m_c , 2H, H1, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (trans)); 5.20 (dd, $^3J = 10.4$ Hz, $^2J = 1.3$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (cis)); 4.96 (d, $^2J = 10.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Alkyl-a}}$ Pmb); 4.68 (d, $^3J = 9.6$ Hz, 1H, NH-C2); 4.60-4.51 (m, 3H, H2, $-\text{CH}_2-$, Aloc); 4.54 (d, $^2J = 10.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Alkyl-b}}$ Pmb); 4.20-4.16 (m, 1H, H5); 3.79 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.72 (m_c , 1H, H3); 3.61 (m_c , 1H, H4); 3.53 (dd, $^3J = 12.8$ Hz, $^2J = 8.0$ Hz, 1H, H_{6a}); 3.05 (dd, $^3J = 12.7$ Hz, $^2J = 4.6$ Hz, 1H, H_{6b}); 2.77-2.58 (m, 2H, SCH_2CH_2); 2.46 (t, $^3J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 1.94 (m_c , 2H, SCH_2CH_2); 0.89 (s, 9H, $\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 0.13 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.10 (s, 3H, CH_3 , TBS).

$\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_8\text{SSi}$ (624.82)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-6-O-azido-6-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-4-O-p-methoxybenzyl- β -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (35)



2.40 g (3.9 mmol) des Monosaccharids **30** werden in 50 mL absol. Dichlormethan gelöst und mit 5.05 mL (3.95 g, 39 mmol) Triethylamin versetzt. Die Lösung wird auf 0 °C gekühlt, und 0.45 mL (0.67 g, 5.85 mmol) Methansulfonsäurechlorid werden zugetropft. Man erwärmt das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur. Nach 2 h ist der Umsatz vollständig (Cyclohexan: EtOAc, 1:1 R_f = 0.41). Die Reaktionslösung wird in 50 mL einer eisgekühlten wässrigen NaHCO_3 -Lösung gegossen. Die Phasen werden zügig getrennt. Die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es bleibt ein hell gelbes Öl zurück, das ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt wird. Das Rohprodukt wird in 40 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und mit 1.01 g (15.6 mmol) Natriumazid und einer katalytischen Menge des Tetrabutylammoniumhydrogensulfats versetzt. Die Reaktionslösung wird 10 min unter Luftkühlung in der Mikrowelle gerührt (Temperatur: 100 °C; Druck_{max}: 2 bar; Leistung: 100 Watt). Die braune Lösung wird in 100 mL ges. NaHCO_3 -Lösung gegossen. Es werden 100 mL Dichlormethan zugefügt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 100 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden noch einmal mit NaHCO_3 -Lösung gewaschen, bevor man sie über MgSO_4 trocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts, erfolgt durch Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan: EtOAc, 4:1 R_f = 0.16). Die Verdoppelung von einigen Signalen ist mit dem Auftreten von zwei Rotameren: Rotamer **35a** und Rotamer **35b** verbunden.

Ausb.: 300 mg, (0.47 mmol, 12.0%); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20}$ = -23.1 (c = 1.0, CHCl_3); R_f = 0.41 (Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, $\text{DMSO-}d_6$), δ [ppm]: 7.25 (d, 3J = 8.6 Hz, 1H, H_{35a} , Pmb); 7.25 (d, 3J = 8.7 Hz, 1H, H_{35b} , Pmb); 7.12 (d, 3J = 9.8 Hz, 0.5H, H_{35a} , NH-C2); 6.90 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, H_{35a} , H_{35b} , Pmb); 5.88 (m_c, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc); 5.29 (dd, 3J = 17.2 Hz, 2J = 1.8 Hz, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (trans)); 5.17 (dd, 3J = 10.5 Hz, 2J = 1.7 Hz, 0.5H, H_{35a} , $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (cis)); 5.16 (dd, 3J = 10.5 Hz, 2J = 1.7 Hz, 0.5H, H_{35b} , $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (cis)); 4.84 (d, 2J = 10.6 Hz, 0.5H, H_{35a} -Alkyl-a Pmb); 4.80 (d, 2J = 10.7

Hz, 0.5H, $H_{y\text{-Alkyl-a}}$ Pmb); 4.55 (d, $^3J = 9.3$ Hz, 0.5H, H_{35a1}); 4.47-4.39 (m, 3.5H, 0.5H, H_{35a1} , $H_{\text{Alkyl-b}}$, $-\text{CH}_2-$, Aloc); 3.74 (s, 5H, H3, H4, OCH_3 -Pmb); 3.68-3.60 (m, 2H, H3, H5); 3.58 (s, 1.5H, H_{35a} , COOCH_3); 3.57 (s, 1.5H, H_{35b} , COOCH_3); 2.70-2.60 (m, 1H, $\text{SCH}_{2a}\text{CH}_2$); 2.59-2.50 (m, 1H, $\text{SCH}_{2b}\text{CH}_2$); 2.50 (m_c , 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 2.41-2.30 (m, 2H, SCH_2CH_2); 0.85, 0.84 (2s, 9H, $\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 0.13, 0.12 (2s, 3H, CH_3 , TBS); 0.08, 0.07 (2s, 3H, CH_3 , TBS).

^{13}C -NMR (100.6 MHz, HSQC, $\text{DMSO}-d_6$), δ [ppm]: 173.4 (C=O, Ester); 159.2 (C_{para} -Pmb); 156.2 (C=O, Aloc); 134.1, 134.0 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$, Aloc); 131.2, 131.1 (C_{ipso} -Pmb); 129.8, 129.7 (C_{ortho} -Pmb); 117.5, 117.3 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$, Aloc); 114.1 (C_{meta} -Pmb); 88.9 (s, C1); 77.6, 77.4, 76.5 (C3, C4, C5), 74.8 (CH_2 -Pmb); 64.9, 64.7 (CH_2 , Aloc); 55.5 (OCH_3 -Pmb); 54.0 (C2); 51.8, 51.7 COOCH_3); 32.6 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 32.1, 31.5, 28.9 (C6, SCH_2CH_2); 26.1 ($\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 25.0, 24.9 (SCH_2CH_2); 18.1 ($\text{C}^{\text{tert-Bu}}$, TBS); -3.8, -4.6, -4.7 (2 x CH_3 , TBS).

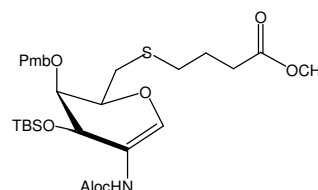
FD-MS, positiv $m/z = 639.6$ (100 %, $[\text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 639.3).

FT-IR (KBr) ν_{max} [cm^{-1}]: 2115 (N_3).

$\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_8\text{SSi}$ (638.85)

Als Hauptprodukt wird isoliert:

4-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-1,5-anhydro-4-*O*-*p*-methoxybenzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-thio-6-desoxy-D-galacto-hex-1-enopyranosyl]-mercaptobuttersäuremethylester (37)



Ausb.: 1.48 g, (2.5 mmol, 64.0%); hell gelbes Öl; $[\alpha]_D^{20} = -5.2$ ($c = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.29$ (Cyclohexan: EtOAc = 4:1).

^1H -NMR (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, TOCSY, $\text{DMSO}-d_6$), δ [ppm]: 8.05 (s, 1H, $\text{NH}-\text{C}_2$); 7.26 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, Pmb); 6.90 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, Pmb); 6.33 (s, 1H, H1); 5.87 (1H, $\text{CH}_2=\text{CH}-$, Aloc); 5.28 (d, $^3J = 17.2$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}-$, Aloc, (trans)); 5.16 (d, $^3J = 10.4$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}-$, Aloc, (cis)); 4.67 (d, $^2J = 11.2$ Hz, 1H, $H_{\text{Alkyl-a}}$ Pmb); 4.57 (m_c , 1H, H3); 4.51 (d, $^2J = 11.2$ Hz, 1H, $H_{\text{Alkyl-b}}$ Pmb); 4.45 (d, $^3J = 5.3$ Hz, 2H, -

CH_2 -, Aloc); 4.18 (m_c, 1H, H₅); 3.81 (m_c, 1H, H₄); 3.73 (s, 3H, OCH₃-Pmb); 3.57 (s, 3H, COOCH₃); 2.98 (m_c, 1H, H_{6a}); 2.67 (dd, $^2J = 14.4$ Hz, $^3J = 3.3$ Hz, 1H, H_{6b}); 2.53-2.48 (m, 2H, SCH₂CH₂); 2.38 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 2H, CH₂COOCH₃); 1.75 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 0.83 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.04 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.02 (s, 3H, CH₃, TBS).

¹³C-NMR (100.6 MHz, DEPT, HSQC, HMBC, DMSO-*d*₆), δ [ppm]: 173.3 (C=O, Ester); 159.3 (C_{para}-Pmb); 155.6 (C=O, Aloc); 139.3 (s_b, C1); 134.0 (-CH=CH₂, Aloc); 130.6 (C_{ipso}-Pmb); 129.9 (C_{meta}-Pmb); 117.6 (-CH=CH₂, Aloc); 114.6 (C2); 114.1 (C_{ortho}-Pmb); 75.6 (C5); 74.8 (C4); 72.4 (CH₂-Pmb); 65.4 (C3); 64.8 (CH₂, Aloc); 55.5 (OCH₃-Pmb); 51.7 (COOCH₃); 32.6 (CH₂COOCH₃); 31.3 (SCH₂CH₂); 30.6 (C6); 26.2 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 24.8 (SCH₂CH₂); 18.4 (C^{tert-Bu}, TBS); -4.2 (CH₃, TBS); -4.7 (CH₃, TBS).

FD-MS, positiv $m/z = 596.5$ (100 %, [M]⁺, ber.: 596.3).

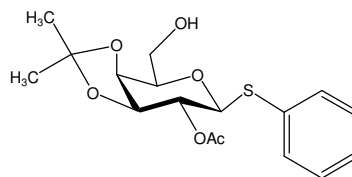
ESI-MS (Gerät 1), positiv $m/z = 634.0$ (5%, [M+K]⁺, ber.: 634.2), 618.0 (100%, [M+Na]⁺, ber.: 618.2).

C₂₉H₄₅NO₈Si (595.82)

6.5 Synthesen zum Kapitel 3.2.3

Phenyl-2-*O*-acetyl-3,4-*O*-isopropyliden-1-thio- β -D-galactopyranosid (39)

1.0 g (1.69 mmol) des Phenyl-2-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-1-thio- β -D-galactopyranosids (38)⁴⁶ werden in 10 mL frisch



destillierten Tetrahydrofuran gelöst und nacheinander mit 0.12 mL Eisessig und 2.54 mL (2.54 mmol) einer 1M Lösung aus Tetrabutylammoniumfluorid-Monohydrat in THF bei 0 °C versetzt. Man erwärmt das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur und nach 16 h wird der Ansatz mit 5 mL Methanol verdünnt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der gelbe Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Cyclohexan: EtOAc, 1:1 R_f = 0.17).

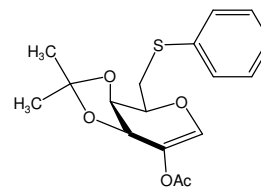
Ausb.: 483 mg, (97 μmol , 23.0%); gelbes Öl; $[\alpha]_D^{20} = 19$ ($c = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.17$ (Cyclohexan: EtOAc = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ [ppm]: 7.43-7.38 (m, 2H, S-Ph_{ortho}); 7.33-7.25 (m, 2H, S-Ph_{meta}); 7.24-7.19 (m, 1H, S-Ph_{para}); 5.05 (dd, $^3J = 9.8$ Hz, $^3J = 6.7$ Hz, 1H, H₂); 4.64 (d, $^3J = 9.8$ Hz, 1H, H₁); 4.25-4.15 (m, 2H, H₃, H₄); 3.96 (dd, $^2J = 10.4$ Hz, $^3J = 6.4$ Hz, 1H, H_{6a}); 3.90-3.85 (m, 1H, H₅); 3.77 (dd, $^2J = 10.4$ Hz, $^3J = 6.4$ Hz, 1H, H_{6b}); 2.13 (s, 3H, CH_3); 1.50 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$); 1.31 (s, 3H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$).

$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{NO}_6\text{S}$ (354.42)

2-Acetyl-1,5-anhydro-3,4-*O*-isopropyliden-6-phenylthio-D-galacto-hex-1-enitol (40)

149 mg (0.42 mmol) des Phenyl-2-*O*-acetyl-3,4-*O*-isopropyliden-1-thio- β -D-galactopyranosids (**39**) werden in 5 mL absol. Dichlormethan gelöst und mit 0.543 mL (0.425 g, 4.2 mmol) Triethylamin versetzt. Die Lösung wird auf 0 °C gekühlt, und 48.5 μL (71.8 mg, 0.63 mmol) Methansulfonsäurechlorid werden zugegeben. Man erwärmt das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur. Nach einer Stunde ist der Umsatz vollständig (Cyclohexan: EtOAc, 1:1 $R_f = 0.54$). Die Reaktionslösung wird in 5 mL einer eisgekühlten wässrigen NaHCO_3 -Lösung gegossen. Die Phasen werden zügig getrennt und die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Es bleibt ein hellgelbes Öl zurück, das ohne Reinigung weiter umgesetzt wird. Das Rohprodukt wird in 2-3 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid gelöst und die Reaktionslösung fünf min unter Luftkühlung in der Mikrowelle gerührt (Temperatur: 100 °C; Druck_{max}: 5 bar; Leistung: 100 Watt). Die braune Lösung wird in 10 mL ges. NaHCO_3 -Lösung gegossen. Es werden 15 mL Dichlormethan zugegeben und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 15-20 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden noch einmal mit NaHCO_3 -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan: EtOAc, 3:1 $R_f = 0.17$).



Ausb.: 32.6 mg, (97 μmol , 23.0%); gelbes Öl; $R_f = 0.80$ (Cyclohexan: EtOAc = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, TOCSY, CDCl_3), δ [ppm]: 7.42-7.37 (m, 2H, S-Ph_{ortho}); 7.33-7.27 (m, 2H, S-Ph_{meta}); 7.24-7.18 (m, 1H, S-Ph_{para}); 6.50 (s, H₁), 4.84 (d,

$^3J = 6.6$ Hz, 1H, H3); 4.51 (dd, $^3J = 6.6$ Hz, $^3J = 1.3$ Hz, 1H, H4); 4.01 (m_c, 1H, H5); 3.33 (m_c, 2H, H6); 2.16 (s, 3H, CH₃); 1.47 (s, 3H, C(CH₃)₂); 1.31 (s, 3H, C(CH₃)₂).

^{13}C -NMR (100.6 MHz, DEPT, HSQC, HMBC, CDCl₃), δ [ppm]: 170.0 (C=O, Ac); 138.2 (C1); 135.1 (C_{ipso}, S-Ph); 132.2 (C2); 129.7 (C_{ortho}, S-Ph); 129.7 (C_{meta}, S-Ph); 126.8 (C_{para}, S-Ph); 111.3 (C(CH₃)₂); 74.7 (C5); 73.6 (C4); 69.5 (C3); 64.8 (CH₂, Aloc); 34.3 (C6); 27.8 (C(CH₃)₂); 26.7 (C(CH₃)₂); 20.9 (CH₃).

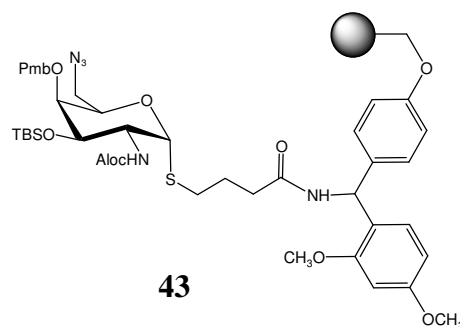
FD-MS, positiv $m/z = 336.8$ (100 %, [M]⁺, ber.: 336.1).

C₁₇H₂₀NO₅S (336.40)

6.6 Synthesen zum Kapitel 3.3

Anbindung ans Harz *Rink*-AMPS-Harz

In einem Festphasenreaktor werden 2.63 g (1.84 mmol, 1 Äquiv.) *Rink*-AMPS (1% Divinylbenzol, Partikelgrösse 100-200 mesh, Beladung: 0.70 mmol/g) als Polymer in 30 mL *N,N*-



Dimethylformamid 1 h vorgequollen. Anschließend wird das Harz gründlich mit *N,N*-Dimethylformamid nachgewaschen und mit 40 mL 50%iger Morpholin-Lösung in *N,N*-Dimethylformamid für 30 min geschüttelt. Man wäscht das Polymer nach und wiederholt den Vorgang noch einmal. Dann wird sorgfältig mit *N,N*-Dimethylformamid gewaschen und das Harz i. Hochvak. getrocknet.

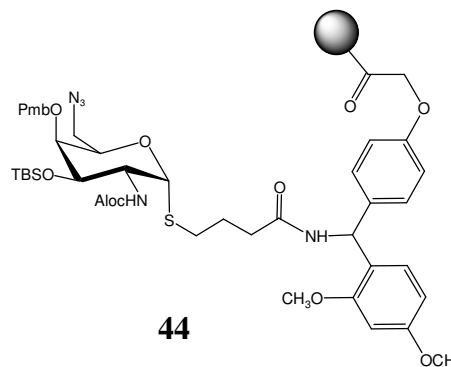
1.149 g (1.84 mmol, 1 Äquiv.) des Kohlenhydrats **34** werden in 40 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid aufgenommen und nacheinander mit 0.698 g (1.84 mmol, 1.0 Äquiv.) HBTU, 0.282 g (1.84 mmol, 1.0 Äquiv.) HOBt·H₂O und 3.04 mL (2.38 mL, 18.4 mmol, 10.0 Äquiv.) *N,N*-Diisopropylamin (DIPEA) versetzt. Die Lösung wird 3-5 min gerührt und unter Argonatmosphäre zum Harz (*Rink*-NH₂-AMPS) gegeben. Man schüttelt 17 h bei Raumtemperatur und filtriert das Harz ab. Das Waschen des Harzes erfolgt durch das mehrmalige Schütteln mit: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Harz i. Hochvak. Eine Elementaranalyse auf Schwefelgehalt gibt

Aufschluss über die Beladung des Polymers. Man erreicht eine Beladung von 0.60 bis 0.67 mmol/g.

FT-IR (KBr) $\nu_{\max}$ [cm^{-1}]: 2100 (N_3).

Anbindung ans Harz *Rink-Tentagel*[®]-S-RAM

In einem Festphasenreaktor werden 6.391 g (1.47 mmol, 1.0 Äquiv.) *Rink-Tentagel*[®]-S-RAM (Beladung: 0.23 mmol/g) in 80 mL *N,N*-Dimethylformamid 1 h vorgequollen.



Anschließend wird das Harz gründlich mit *N,N*-

Dimethylformamid nachgewaschen, bevor man es mit 50 mL 20%iger Piperdin-Lösung in *N,N*-Dimethylformamid 20 min schüttelt. Dann wird sorgfältig mit *N,N*-Dimethylformamid gewaschen und das Harz i. Hochvak. getrocknet.

0.916 g (1.47 mmol, 1.0 Äquiv.) des Kohlenhydrats **34** werden in 80 mL absol. *N,N*-Dimethylformamid aufgenommen und nacheinander mit 472.0 mg (1.47 mmol, 1.0 Äquiv.) HBTU, 225.1 mg (1.47 mmol, 1.0 Äquiv.) HOBt $\times$ H₂O und 2.43 mL (1.90 g, 14.7 mmol, 10.0 Äquiv.) *N,N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) versetzt. Die Lösung wird ca. 3 min gerührt und unter Argonatmosphäre zum Harz (*Rink-Tentagel*[®]-S-NH₂) zugegeben. Man schüttelt über 22 h bei Raumtemperatur und filtriert das Harz ab. Das Waschen des Harzes erfolgt durch das mehrmalige Schütteln mit: 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Harz i. Hochvak. Eine Elementaranalyse des Schwefelgehalts gibt Aufschluss über die Beladung des Polymers. Man erreicht eine Beladung von 0.16 bis 0.19 mmol/g.

FT-IR (KBr) $\nu_{\max}$ [cm^{-1}]: 2100 (N_3).

Capping

Das beladene Harz wird in Dichlormethan gequollen mit einer Mischung von Pyridin und Essigsäureanhydrid (2:1, v:v) versetzt. Man schüttelt 45 min bei Raumtemperatur. Anschließend wird das Polymer mit unterschiedlicher Lösungsmittel in der folgenden Reihenfolge gewaschen: 5 x Dichlormethan, 3 x Methanol und Dichlormethan

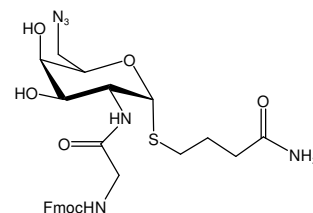
abwechselnd, 5 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Harz i. Hochvak. mehrere Stunden.

6.7 Synthesen zum Kapitel 3.3.3

Parallelsynthese mit Aminosäuren am *Rink*- AMPS-Harz

In 8 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden jeweils 100 mg des Polymers **43** (Beladung 0.63 mmol/g) eingewogen. Das am Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV1 zur Abspaltung der Allyloxycarbonyl (Aloc)-Schutzgruppe in Acetonitril mit *p*-Toluolsulfinsäure und Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) als Katalysator in Dioxan versetzt. Im Anschluß setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV10 zur Amidbildung in der 2-Position mit Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Leu-OH, Phenylelessigsäure, *p*-Boc-Aminophenylelessigsäure, Fmoc-Glu(*Ot*Bu)-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH und *N*-Boc-3-Indolpropionsäure um. Das Polymer wird anschließend sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV14 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

***S*-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (53a)**



Das gewünschte Produkt kann nicht nachgewiesen werden.

Man isoliert nur das silylierte Nebenprodukt *S*-[2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**53b**).

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.6 mg (60.4 %); brauner amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 25.72$ min (40%), bei $\lambda = 220$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient F, $R_t = 31.45$ min. Das Produkt ist schwer löslich, so daß die Reinigung mittels semi-präparativer HPLC erschwert wird. Man erhält 5.3 mg des silylierten Produktes **53b**, Ausbeute 12.0% nach semi-präparativer HPLC (bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

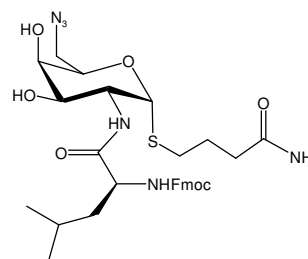
ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv $m/z = 1435.7$ (13%, $[3\text{-TBSO}, 2\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 1435.6), 1419.7 (87%, $[3\text{-TBSO}, 2\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1419.6), 721.3 (100%, $[3\text{-TBSO}, \text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 721.3).

$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}$ (584.21)

$\text{C}_{33}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_7\text{SSi}$ (698.90)

***S*-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**54a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 39.2 mg (82.4%); brauner amorpher Feststoff. Das Produkt ist schwer löslich. Eine Reinigung mittels semi-präparativer HPLC ist nicht gelungen. Im Rohprodukt können sowohl gewünschtes



Produkt **54a** als auch silyliertes Produkt *S*-[2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-azido-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**54b**) nachgewiesen werden.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 27.85$ min (33%), bei $\lambda = 220$ nm.

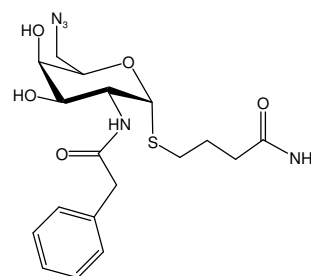
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 793.11$ (10%, $[3\text{-TBSO}, \text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 793.32), 777.18 (100%, $[3\text{-TBSO}, \text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 777.34), 663.21 (25%, $[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 663.26).

$\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}$ (640.27)

$\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{N}_6\text{O}_7\text{SSi}$ (755.01)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(phenylacetyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (55a**)**

Das gewünschte Produkt **55a** kann im Rohprodukt nicht nachgewiesen werden. Man isoliert das silylierte Produkt *S*-[2-*N*-(phenylacetyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**55b**).



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 24.6 mg (68.3%); brauner amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 24.32$ min (20%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient F, $R_t = 26.27$ min. Man erhält 7.1 mg des silylierten Produktes **55b**, Ausbeute 19.7% nach semi-präparativer HPLC (bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (aus HPLC MS, Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 560.30$ (80%, [3-TBSO, $M+Na$] $^+$, ber.: 560.23), 538.30 (100%, [3-TBSO, $M+H$] $^+$, ber.: 538.25), 419.24 (70%, [3-TBSO, M] $^+$, ber.: 419.20).

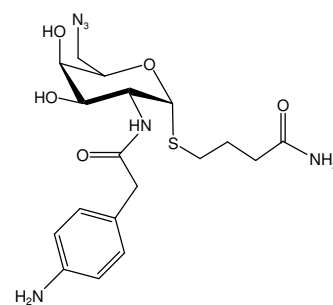
FT-IR $\nu_{\max}$ [cm^{-1}]: 2102 (N_3).

$C_{18}H_{25}N_5O_5S$ (423.49)

$C_{24}H_{39}N_5O_5SSi$ (537.75)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(4-aminophenylacetyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (56a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 18.2 mg (52.3%); brauner amorpher Feststoff. Es kann das silylierte Produkt *S*-[2-(*N*-(4-aminophenylacetyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-



mercaptoputtersäure amid (**56b**) nachgewiesen werden, dessen Isolierung gelang jedoch nicht.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 591.06$ (80%, [3-TBSO, $M+K$] $^+$, ber.: 591.22), 575.12 (85%, [3-TBSO, $M+Na$] $^+$, ber.: 575.24), 442.12 (70%, [3-TBSO, 2- NH_2 , $M-(p-NH_2-PhCH_2CO)$] $^+$, ber.: 442.19).

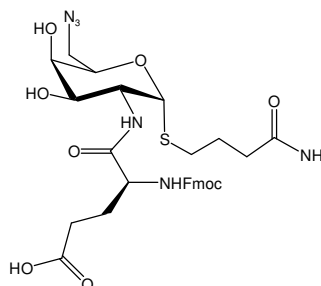
$C_{18}H_{26}N_6O_5S$ (438.50)

C₂₄H₄₀N₆O₅SSi

(552.76)

***S*-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutamyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**57a**)**

Das gewünschte Produkt **57a** kann im Rohprodukt nicht nachgewiesen werden. Man isoliert das silylierte Produkt *S*-[2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutamyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**57b**).



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 24.9 mg (51.3%); brauner amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, R_t = 22.72 min (36%), bei λ = 220 nm; semi-präparative HPLC: Gradient F, R_t = 30.10 min. Man erhält 4.8 mg des Produktes **57b**, Ausbeute 9.9% nach semi-präparativer HPLC (bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); hell gelber amorpher Feststoff.

ESI-MS (aus HPLC MS, Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 809.26 (100%, [3-TBSO, M+K]⁺, ber.: 809.28), 793.31 (40%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 793.30).

C₃₀H₃₆N₆O₉S (656.71)C₃₆H₅₀N₆O₉SSi (770.97)

***S*-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**58a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 31.5 mg (64.2%);

hell brauner amorpher Feststoff. Im Rohprodukt konnte

das silylierte Produkt *S*-[2-(*N*-9-

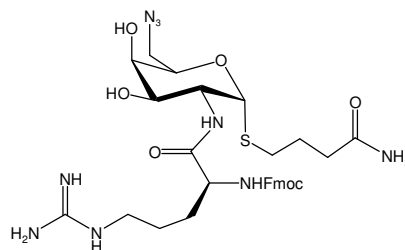
fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)-amino-2-desoxy-6-

azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-

mercaptoputtersäureamid (**58b**) nachgewiesen werden, dessen Isolierung gelang jedoch

nicht. Die Amidbildung wird auch in *N*-Methyl-2-pyrrolidinon als Lösungsmittel

durchgeführt. Die Ergebnisse stimmen mit den obengenannten überein.



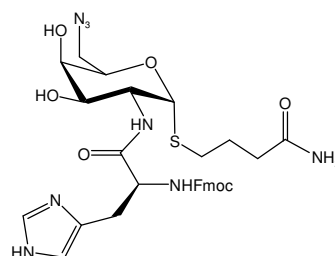
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 820.36$ (10%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 820.28), 798.41 (100%, [3-TBSO, M+H]⁺, ber.: 798.38), 442.12 (70%, [3-TBSO, 2-NH₂, M-(*p*-NH₂-PhCH₂CO)]⁺, ber.: 442.19).

C₃₁H₄₁N₉O₇S (683.78)

C₃₇H₅₅N₉O₇SSi (798.04)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (59a)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 28.1 mg (55.9%); brauner amorpher Feststoff. Im Rohprodukt kann S-[2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-azido-6-desoxy- α -D-



galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**59b**) als Hauptprodukt nachgewiesen werden. Das HPLC-Chromatogramm zeigt zusätzlich zwei stark absorbierende Substanzen, die nicht charakterisiert werden können.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 22.72$ min (36%), bei $\lambda = 220$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient F, $R_t = 31.18$ min. Man erhält 1.8 mg des Produktes **59b**, Ausbeute 3.7% nach semi-präparativer HPLC (bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

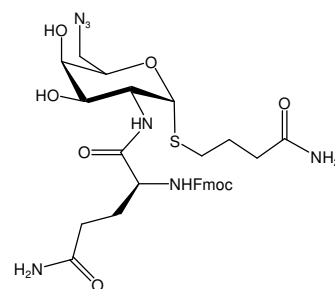
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 801.30$ (8%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 801.32), 779.34 (100%, [3-TBSO, M+H]⁺, ber.: 779.34).

C₃₁H₃₆N₈O₇S (664.73)

C₃₇H₅₀N₈O₇SSi (778.99)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (60a)

Das gewünschte Produkt kann im Rohprodukt nicht nachgewiesen werden. Man isoliert nur das silylierte Produkt S-[2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-



galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**60b**). Das HPLC-Chromatogramm zeigt zwei stark absorbierende Substanzen, die nicht charakterisiert werden können.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 36.0 mg (74.3%); brauner amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 21.43$ min (10%), bei $\lambda = 220$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 28.37$ min. Ausbeute: 4.0 mg (8.2% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); hell gelber amorpher Feststoff.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 808.27$ (20%, $[3\text{-TBSO}, M+K]^+$, ber.: 808.29), 792.32 (100%, $[3\text{-TBSO}, M+Na]^+$, ber.: 792.32).

$C_{30}H_{37}N_7O_8S$ (655.72)

$C_{36}H_{51}N_7O_8SSi$ (769.98)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (61a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 16.9 mg (34.8%);

braunes Öl. Im Rohprodukt können das silylierte Produkt

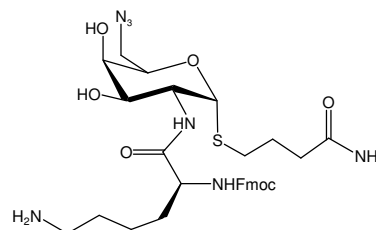
S-[2-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-tert-butyltrimethylsilyl- α -D-

galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**61b**) und das nicht umgesetzte Amin nachgewiesen werden. Die Isolierung dieser Substanzen war jedoch nicht möglich.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 792.40$ (21%, $[3\text{-TBSO}, M+Na]^+$, ber.: 792.36), 770.41 (100%, $[3\text{-TBSO}, M+H]^+$, ber.: 770.37), 763.36 (6%, $[3\text{-TBSO}, M-N_2+Ca]^{2+}$, ber.: 763.36), 420.23 (35%, $[3\text{-TBSO}, 2\text{-NH}_2, M-(Fmoc\text{-Lys})+H]^+$, ber.: 420.21).

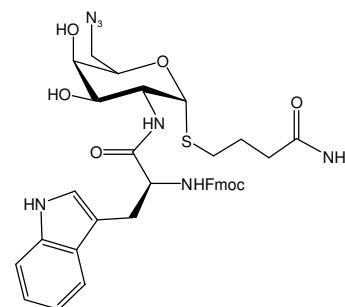
$C_{31}H_{41}N_7O_7S$ (655.76)

$C_{37}H_{55}N_7O_7SSi$ (770.03)



S-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-tryptophyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (62a)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 44.3 mg (34.8%); hell braunes Öl. Im Rohprodukt können das silylierte Produkt S-[2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-tryptophyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**62b**) und das



nicht umgesetzte Amin nachgewiesen werden. Die Isolierung dieser Substanzen gelang nicht.

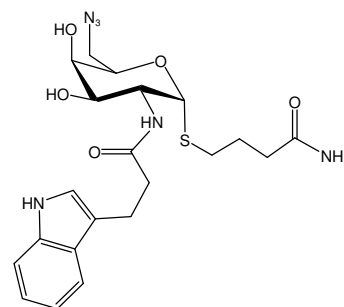
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 866.36$ (2%, [3-TBSO, M+K]⁺, ber.: 866.31), 850.38 (100%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 850.34), 825.38 (6%, [3-TBSO, M-N₂+N]⁺, ber.: 824.35), 420.23 (35%, [3-TBSO, 2-NH₂, M-(Fmoc-Trp)+H]⁺, ber.: 420.21).

C₃₆H₃₉N₇O₇S (713.80)

C₄₂H₅₃N₇O₇SSi (828.06)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(*N*-(3-indolpropionyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (63a)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.3 mg (34.8%); braunes Öl. Das gewünschte Produkt kann im Rohprodukt nicht nachgewiesen werden.



ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 834.47$ (100%), 733.36 (81%), 619.27 (23%), 528.26 (4%).

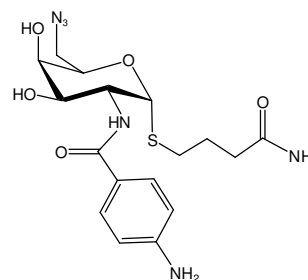
C₂₁H₂₈N₆O₅S (476.55)

Parallelsynthese mit Aminosäuren am *Rink-Tentagel*[®]-Polymer

In 5 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden je 100 mg des Polymers **44** (Beladung 0.19 mmol/g) eingewogen. Das am Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV1 zur Abspaltung der Allyloxycarbonyl (Aloc)-Schutzgruppe in Acetonitril mit *p*-Toluolsulfonsäure und Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) als Katalysator in Dioxan versetzt. Direkt danach setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV9 zur Amidbildung in der 2-Position mit *p*-Boc-Aminobenzoesäure, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH und Fmoc-Lys(Boc)-OH um. Das Polymer wird anschließend sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Dimethylsulfid als Scavenger.

S-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(4-aminobenzoyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**56a**)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 19.9 mg (>100%); gelbes Öl. Es kann nur das silylierte Produkt *S*-[2-(*N*-(4-aminobenzoyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**56b**) nachgewiesen werden, dessen Isolierung jedoch nicht gelang.



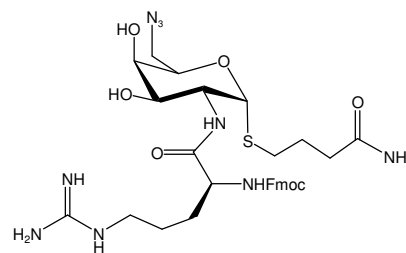
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 577.39$ (5%, [3-TBSO, $M+K$]⁺, ber.: 577.20), 561.12 (5%, [3-TBSO, $M+Na$]⁺, ber.: 561.23), 420.12 (10%, [3-TBSO, 2-NH₂, $M-(p-NH_2-PhCO)$]⁺, ber.: 420.21), 306.10 (8%, 3-OH, 2-NH₂, $M-(p-NH_2-PhCO)$]⁺, ber.: 306.12).

$C_{17}H_{24}N_6O_5S$ (424.15)

$C_{23}H_{38}N_6O_5SSi$ (538.24)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (58a)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 23.9 mg (>100%); hell gelber amorpher Feststoff. Im Rohprodukt können sowohl das gewünschte Produkt **58a** als auch das silylierte Produkt S-[2-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)-



amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**58b**) nachgewiesen werden. Keines von diesen konnte jedoch isoliert werden. Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere stark absorbierende Substanzen, die aufgrund geringer Löslichkeit des Rohproduktes nicht analysiert und identifiziert werden können.

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 10.68 min (12%), 12.36 min (17%), 16.33 min (29%), 19.73 min (7%); bei λ = 220 nm.

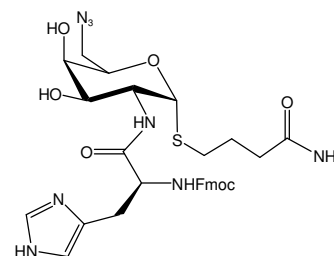
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 798.59 (30%, [3-TBSO, M+H]⁺, ber.: 798.38), 684.52 (20%, [M+H]⁺, ber.: 684.29), 576.50 (15%, [3-TBSO, M-Fmoc+H]⁺, ber.: 576.31), 420.20 (5%, [3-TBSO, 2-NH₂, M-Fmoc-Arg]⁺, ber.: 420.21), 195.04 (100%), 179.05 (65%, [DBF+H]⁺, ber.: 179.09).

C₃₁H₄₁N₉O₇S (683.78)

C₃₇H₅₅N₉O₇SSi (798.04)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (59a)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 19.8 mg (>100%); gelbes Öl. Im Rohprodukt können sowohl das gewünschte Produkt **59a** als auch das silylierte Produkt S-[2-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**59b**) nachgewiesen werden.



ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 779.54 (15%, [3-TBSO, M+H]⁺, ber.: 779.34), 665.43 (15%, [M+H]⁺, ber.: 665.25), 557.41 (5%, [3-TBSO, M-Fmoc+H]⁺,

ber.: 557.27), 420.23 (10%, [3-TBSO, 2-NH₂, M-Fmoc-His+H]⁺, ber.: 420.21), 179.05 (5%, [DBF+H]⁺, ber.: 179.09), 121.03 (100%).

Gewünschtes Produkt **59a**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 10.62 min (24%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, R_t = 20.32 min. Ausbeute: 3.9 mg des Produktes (30.9% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv m/z = 687.49 (5%, [M+Na]⁺, ber.: 687.23), 665.49 (100%, [M+H]⁺, ber.: 665.25), 179.05 (5%, [DBF+H]⁺, ber.: 179.09).

C₃₁H₃₆N₈O₇S (664.73)

Nebenprodukt **59b**:

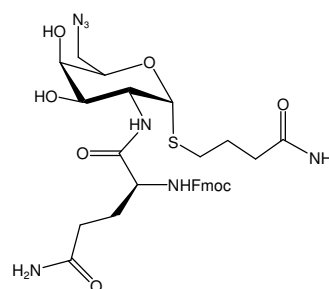
HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 17.08 min (35%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, R_t = 50.73 min. Ausbeute: 1.0 mg des Produktes (6.8% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv m/z = 779.57 (100%, [M+Na]⁺, ber.: 779.34), 557.47 (5%, [3-TBSO, M-Fmoc+H]⁺, ber.: 557.27).

C₃₇H₅₀N₈O₇SSi (778.99)

***S*-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminy)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**60a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 21.6 mg (>100%); gelber amorpher Feststoff. Im Rohprodukt können sowohl das gewünschte Produkt **60a** als auch das silylierte Produkt *S*-[2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminy)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**60b**) nachgewiesen werden.



ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 808.47 (8%, [3-TBSO, M+K]⁺, ber.: 808.29), 792.54 (10%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 792.32), 694.41 (5%, [M+K]⁺, ber.: 694.21), 678.44 (10%, [M+Na]⁺, ber.: 678.23), 548.38 (20%, [3-TBSO, M-Fmoc+H]⁺,

ber.: 548.27), 434.22 (10%, $[M-Fmoc+H]^+$, ber.: 434.18), 243.12 (100%), 195.04 (65%), 179.05 (95%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere stark absorbierende Substanzen. Man isoliert nur das gewünschte Produkt **60a**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 11.37 min (25%, **60a**), 21.12 min (33%, **60b**); 24.47 min (26%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient G (Zusatz von DMSO), R_t = 18.67 min. Ausbeute: 1.0 mg des Produktes **60a** (6.8% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); hell gelber amorpher Feststoff. Die Ausbeuteverluste sind auf die Zugabe von DMSO zurückzuführen.

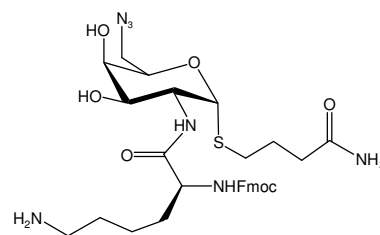
ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv m/z = 678.48 (8%, $[M+Na]^+$, ber.: 678.23), 472.32 (15%, $[M-Fmoc+K]^+$, ber.: 472.14), 456.31 (40%, $[M-Fmoc+Na]^+$, ber.: 456.16), 434.26 (100%, $[M-Fmoc+H]^+$, ber.: 434.18), 195.05 (35%), 179.05 (60%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

$C_{30}H_{37}N_7O_8S$ (655.72)

$C_{36}H_{51}N_7O_8SSi$ (769.98)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (61a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 27.7 mg (>100%); gelbes Öl. Im Rohprodukt können sowohl das gewünschte Produkt **61a** als auch das silylierte Produkt S-[2-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**61b**) nachgewiesen werden.



ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 770.55 (5%, $[3-TBSO, M+H]^+$, ber.: 770.37), 656.44 (5%, $[M+H]^+$, ber.: 656.29), 548.42 (<5%, $[3-TBSO, M-Fmoc+H]^+$, ber.: 548.31), 434.26 (10%, $[M-Fmoc+H]^+$, ber.: 434.22), 179.05 (100%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 9.95 (46%, **61a**), 12.45 min (7%), 16.60 min (47%, **61b**), bei λ = 214 nm. Die Trennung der beiden Produkte kann aufgrund geringer Löslichkeit nicht durchgeführt werden.

$C_{31}H_{41}N_7O_7S$ (655.76)

$C_{37}H_{55}N_7O_7SSi$ (770.03)

6.8 Synthesen zum Kapitel 3.3.4.1

Parallelsynthese am *Rink*-Tentagel-S-NH₂[®]-Harz

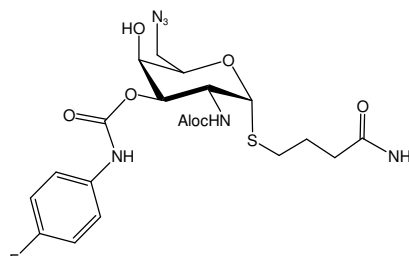
In fünf mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden jeweils 100 mg des Polymers **44** (Beladung: 0.15 mmol/g) eingewogen. Das Harz in den Spritzen wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV2 zur Spaltung des *tert*-Butyldimethylsilyl ethers mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid-Lösung in Acetonitril derivatisiert. Im Anschluß setzt man das Polymer entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV8 für Carbamoylierung mit 4-Fluorphenylisocyanat, 4-Cyanophenylisocyanat, *tert*-Butylisocyanat, Allylisocyanat und Ethylisocyanatoacetat um. Das Polymer wird anschließend sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV14 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-fluorphenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**64**)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 9.5 mg (>100%); gelber amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, R_t = 16.92 min (52%), bei λ = 215 nm, 16.92 min (15%), bei λ = 254 nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, R_t = 31.02 min.

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 3.5 mg (44.9%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.



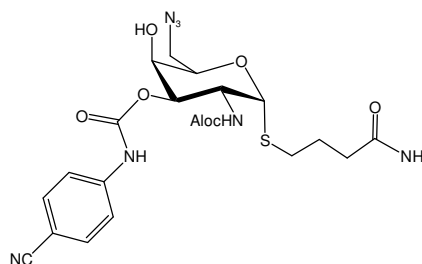
ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 565.3$ (7 %, $[M+K]^+$, ber.: 565.1), 549.3 (100 %, $[M+Na]^+$, ber.: 549.2), 527.3 (18 %, $[M+H]^+$, ber.: 527.2).

$C_{21}H_{27}FN_6O_7S$ (526.54)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(4-cyanophenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (65)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 6.5 mg (81.2%); gelbes Öl.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 17.60$ min (90%), bei $\lambda = 254$ nm; (38%), bei 211 nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 30.00$ min.



Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.5 mg (18.8%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

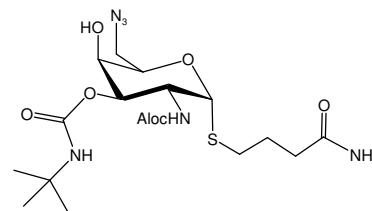
ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 572.3$ (7 %, $[M+K]^+$, ber.: 572.1), 556.3 (100 %, $[M+Na]^+$, ber.: 556.2), 534.3 (25 %, $[M+H]^+$, ber.: 534.2).

$C_{22}H_{27}N_7O_7S$ (533.56)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(tert-butylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (66)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 7.1 mg (96.0%); gelbes Öl.

HPLC: Die UV-Absorption ist zu schwach; so dass das Produkt nicht mittels HPLC gereinigt werden kann.

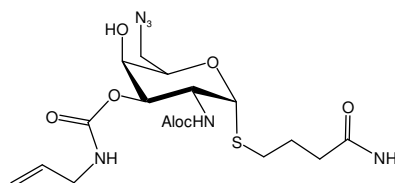


ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 527.3$ (15 %, $[M+K]^+$, ber.: 527.2), 511.3 (80 %, $[M+Na]^+$, ber.: 511.2).

$C_{19}H_{32}N_6O_7S$ (488.56)

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(allylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (67)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 9.5 mg (>100%);
gelbes Öl.



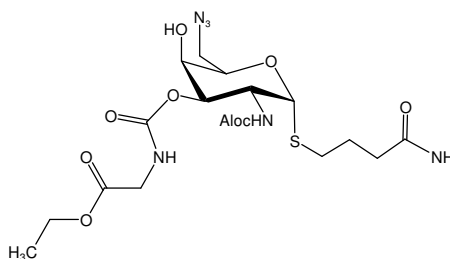
HPLC: Die UV-Absorption ist zu schwach; so dass das Produkt nicht mittels HPLC gereinigt werden kann.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 511.2$ (10 %, $[M+K]^+$, ber.: 511.1), 495.3 (55 %, $[M+Na]^+$, ber.: 495.2), 473.3 (20 %, $[M+H]^+$, ber.: 473.2).

$C_{18}H_{28}N_6O_7S$ (472.52)

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(ethoxycarbonylmethylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (68)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 8.9 mg (>100%); gelbes Öl.



HPLC: Die UV-Absorption ist zu schwach.

Das gewünschte Produkt konnte massenspektrometrisch nicht nachgewiesen werden.

$C_{19}H_{30}N_6O_9S$ (518.54)

Parallelsynthese am *Rink*-AMPS-Harz

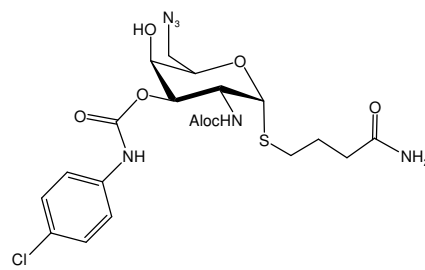
In 10 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden je 100 mg des Polymers **43** (Beladung 0.67 mmol/g) eingewogen. Das am Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV2 zur Abspaltung des *tert*-Butyldimethylsilylethers mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid-Lösung in Acetonitril versetzt. Im Anschluß setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV8 für Carbamoylierung das Polymer mit 4-Chlorphenylisocyanat, 3,4-Dichlorphenylisocyanat, 2,4-Difluorphenylisocyanat, 4-Methyl-3-nitrophenylisocyanat, 4-Nitrophenylisocyanat, 3-Fluorphenylisocyanat, 2-Nitrophenylisocyanat, Ethyl-4-isocyanatobenzoat, 3-Acetylphenylisocyanat und 4-

Ethoxyphenylisocyanat um. Das Polymer wird anschließend sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV11 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-chlorphenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (69)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 31.0 mg (85.2%); farbloser amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 18.28$ min (46%), bei $\lambda = 220$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 32.57$ min.



Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 9.2 mg (25.3%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ [ppm]: 7.20 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2H, H_{Aryl} , Carbamat); 7.11 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2H, H_{Aryl} , Carbamat); 5.67 (m_c , 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc); 5.60 (d, $^3J = 9.3$ Hz, 1H, NH-C2); 5.31 (d, $^3J = 5.4$ Hz, 1H, H1); 5.08 (dd, $^3J = 17.3$ Hz, $^3J = 1.3$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (trans)); 4.96 (dd, $^3J = 10.6$ Hz, $^3J = 1.0$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (cis)); 4.69 (dd, $^3J = 11.6$ Hz, $^3J = 2.9$ Hz, 1H, H3); 4.43 (m_c , 1H, H2); 4.37 (m_c , 2H, CH_2 -, Aloc); 4.22 (m_c , 1H, H5); 3.89 (m_c , 1H, H4); 3.53 (dd, $^2J = 12.8$ Hz, $^3J = 8.2$ Hz, 1H, H_{6a}); 3.22 (m_c , 1H, H_{6b}); 2.58 (m_c , 2H, SCH_2CH_2); 2.21 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 1.84 (m_c , 2H, SCH_2CH_2).

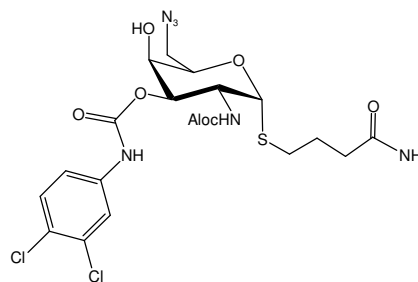
ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv $m/z = 1651.5$ (2%, $[\text{3M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1651.4), 1107.4 (100%, $[\text{2M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1107.3), 581.1 (24%, $[\text{M}+\text{K}]^+$, ber.: 581.1), 565.2 (98%, $[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 565.1).

$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{ClN}_6\text{O}_7\text{S}$ (542.99)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(3,4-dichlorphenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (70)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 31.8 mg (82.2%); farbloser amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 18.68$ min (67%), bei $\lambda = 220$ nm. Das Produkt konnte nicht isoliert werden.



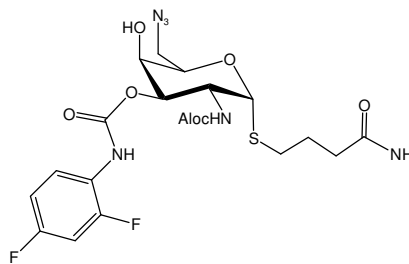
ESI-MS (Gerät 2), positiv $m/z = 1177.2$ (45%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1107.2), 599.1 (100%, $[M+Na]^+$, ber.: 599.1).

$C_{21}H_{26}Cl_2N_6O_7S$ (577.44)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(2,4-difluorphenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (71)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 47.0 mg (128.8%); braunes Öl.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 17.70$ min (42%), bei $\lambda = 220$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 30.77$ min.



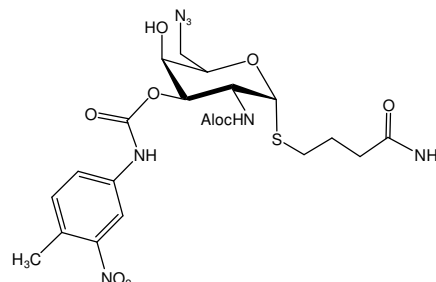
Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 11.6 mg (31.8%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv $m/z = 1111.3$ (100%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1111.3), 567.1 (40%, $[M+Na]^+$, ber.: 567.1), 545.2 (5%, $[M+H]^+$, ber.: 545.2).

$C_{21}H_{26}F_2N_6O_7S$ (544.53)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(4-methyl-3-nitrophenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (72)

Die Konzentration des 4-Methyl-3-nitrophenylisocyanats wird auf 5% reduziert. Dieser Reaktant wird als eine Suspension in absol. Dioxan eingesetzt.



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 13.0 mg (34.2%); braunes Öl.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 19.18$ min (13%), bei $\lambda = 220$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 31.87$ min.

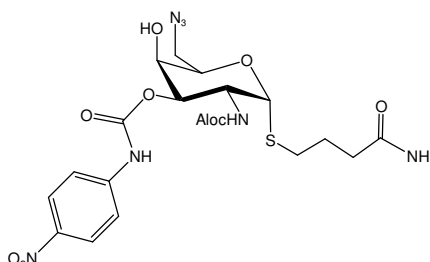
Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 0.8 mg (2.1%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv $m/z = 606.2$ (19%, $[M+K]^+$, ber.: 606.1), 590.2 (100%, $[M+Na]^+$, ber.: 590.2), 568.2 (5%, $[M+H]^+$, ber.: 568.2).

$C_{22}H_{29}N_7O_9S$ (567.57)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(4-nitrophenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (73)

Die Konzentration des 4-Nitrophenylisocyanats wird auf 5% reduziert. Dieser Reaktant wird als eine Suspension in absol. Dioxan eingesetzt.



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 11.6 mg (31.3%); hell gelber amorpher Feststoff.

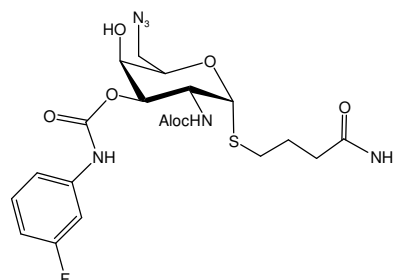
Das gewünschte Produkt konnte nicht mittels massenspektrometrischer Analyse nachgewiesen werden.

$C_{21}H_{27}N_7O_9S$ (553.55)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(3-fluorophenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (74)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 28.0 mg (79.3%); hell gelber amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, R_t = 18.58 min (36%), bei λ = 220 nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, R_t = 31.87 min.



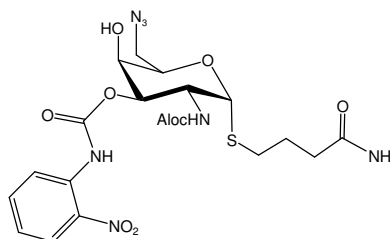
Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 8.8 mg (24.9%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv m/z = 1075.4 (89%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1075.3), 1053.4 (100%, $[2M+H]^+$, ber.: 1053.3), 549.2 (64%, $[M+Na]^+$, ber.: 549.2), 527.2 (8%, $[M+H]^+$, ber.: 527.2).

$C_{21}H_{27}FN_6O_7S$ (526.54)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(2-nitrophenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (75)

Die Konzentration des 2-Nitrophenylisocyanats wird auf 5% reduziert. Dieser Reaktant wird als Suspension in absol. Dioxan eingesetzt.



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 34.6 mg (93.3%); hell gelber amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, R_t = 18.67 min (86%), bei λ = 220 nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, R_t = 31.68 min.

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 15.3 mg (41.2%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$), δ [ppm]: 8.27 (d, 3J = 8.6 Hz, 1H, H_{Aryl} , Carbamat); 8.08 (d, 3J = 8.6 Hz, 1H, H_{Aryl} , Carbamat); 7.76 (m_c, 1H, H_{Aryl} , Carbamat); 7.09 (m_c, 1H, H_{Aryl} , Carbamat); 5.72 (m_c, 1H, $CH_2=CH-$, Aloc); 5.49 (d, 3J = 9.5 Hz, 1H, $NH-C2$); 5.38 (d, 3J = 5.3 Hz, 1H, H1); 5.13 (d, 3J = 17.3 Hz, 1H, $CH_2=CH-$, Aloc, (trans)); 5.00 (d, 3J = 10.4 Hz, 1H, $CH_2=CH-$, Aloc, (cis)); 4.79 (dd, 3J = 11.5 Hz, 3J = 2.9 Hz, 1H,

H3); 4.52 (m_c, 1H, H2); 4.43 (m_c, 2H, -CH₂-, Aloc); 4.27 (m_c, 1H, H5); 3.98 (m_c, 1H, H4); 3.59 (dd, ²*J* = 12.5 Hz, ³*J* = 1.6 Hz, 1H, H_{6a}); 3.27 (dd, ²*J* = 12.9 Hz, ³*J* = 4.4 Hz, 1H, H_{6b}); 2.62 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 2.26 (t, ³*J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂COOCH₃); 1.89 (m_c, 2H, SCH₂CH₂).

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv *m/z* = 1129.4 (44%, [2M+Na]⁺, ber.: 1129.3), 1107.4 (11%, [2M+H]⁺, ber.: 1107.3), 576.2 (100%, [M+Na]⁺, ber.: 576.2), 554.2 (19%, [M+H]⁺, ber.: 554.2).

C₂₁H₂₇N₇O₉S (553.55)

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-ethoxycarbonylphenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (76)

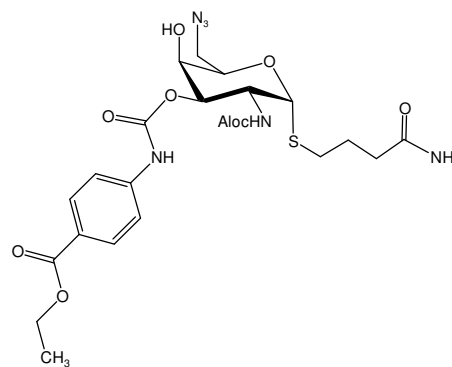
Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 23.4 mg (60.2%); gelber amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, *R_t* = 17.70 min (32%), bei λ = 220 nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, *R_t* = 31.42 min.

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 7.5 mg (32.1%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv *m/z* = 1183.4 (100%, [2M+Na]⁺, ber.: 1183.4), 1161.4 (30%, [2M+H]⁺, ber.: 1161.4), 603.2 (92%, [M+Na]⁺, ber.: 603.2), 581.2 (2%, [M+H]⁺, ber.: 581.2).

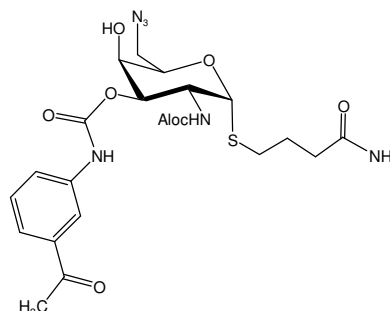
C₂₄H₃₂N₆O₉S (580.61)



S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(3-acetylphenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (77)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 23.3 mg (63.1%);
gelber amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, R_t = 16.63 min (50%), bei λ = 220 nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, R_t = 28.67 min.



Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 5.4 mg (13.9%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

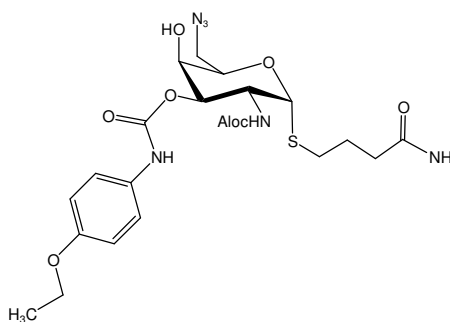
ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv m/z = 1673.6 (4%, $[3M+Na]^+$, ber.: 1673.5), 1123.4 (100%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1123.4), 1101.4 (16%, $[2M+H]^+$, ber.: 1101.4), 589.2 (28%, $[M+K]^+$, ber.: 589.2), 573.2 (73%, $[M+Na]^+$, ber.: 573.2), 551.2 (2%, $[M+H]^+$, ber.: 551.2).

$C_{23}H_{30}N_6O_8S$ (550.58)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(4-ethoxyphenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (78)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 36.1 mg (98.0%); gelber amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, R_t = 17.55 min (33%), bei λ = 220 nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, R_t = 31.45 min.



Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 9.8 mg (26.5%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv m/z = 1144.4 (7%, $[2M+K]^+$, ber.: 1144.4), 1127.4 (78%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1183.4), 1105.4 (100%, $[2M+H]^+$, ber.: 1105.4), 575.2 (62%, $[M+Na]^+$, ber.: 575.2), 553.2 (2%, $[M+H]^+$, ber.: 553.2).

$C_{23}H_{32}N_6O_8S$ (552.60)

Neben dem gewünschten Produkt wird auch das zweifach carbamoylierte Produkt, 3-Allophanat: *S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(di-(4-ethoxyphenyl)-allophanat)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**79**), isoliert:

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 19.07$ min (31%), bei $\lambda = 220$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 35.28$ min.

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 7.4 mg (15.4%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 738.4$ (15%, $[M+Na]^+$, ber.: 738.2), $C_{32}H_{41}N_7O_{10}S$ (715.77)

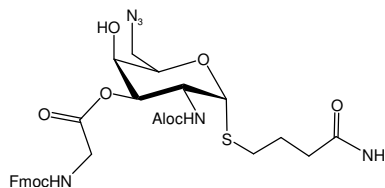
6.9 Synthesen zum Kapitel 3.3.4.2

Parallelsynthese mit Aminosäuren am *Rink-Tentagel*[®]-Polymer

In 5 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden je 100 mg des Polymers **44** (Beladung 0.19 mmol/g) eingewogen. Das am Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV2 zur Abspaltung des *tert*-Butyldimethylesters mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid versetzt. Im Anschluß setzt man das Polymer entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV7 zur Esterbildung in der 3-Position mit Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH und *p*-Boc-Aminobenzoesäure um. Das Polymer wird anschließend sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Dimethylsulfid als Scavenger.

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (80)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 17.2 mg (>100%); farbloser amorpher Feststoff.



HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 18.67 min (89%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, R_t = 31.00 min.

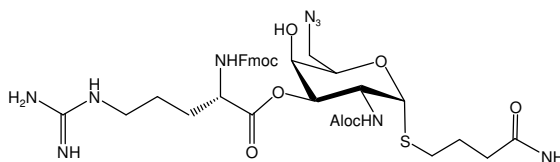
Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 2.1 mg (16.5%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv m/z = 691.42 (35%, $[M+Na]^+$, ber.: 691.22), 642.77 (5%, $[M]^+$, ber.: 642.24), 412.24 (75%, 3-OH, $[M+Na]^+$, ber.: 412.13); 179.11 (100%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

$C_{31}H_{36}N_6O_9S$ (668.72)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (81)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 7.4 mg (50.8%); farbloser amorpher Feststoff.



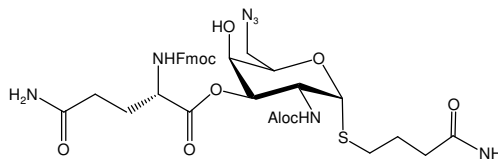
Das Produkt kann im Rohprodukt nachgewiesen werden, wobei die Isolierung gelang nicht.

ES- MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv m/z = 768.38 (100%, $[M+H]^+$, ber.: 768.31).

$C_{35}H_{46}N_9O_9S$ (768.86)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminy)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (82)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 6.5 mg (46.2%); farbloser amorpher Feststoff.

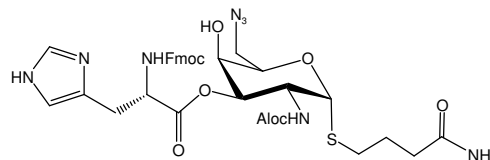


HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 15.92$ min (43%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 25.77$ min.

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 0.8 mg (5.7%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv $m/z = 1501.58$ (64%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1501.52), 778.27 (3%, $[M+K]^+$, ber.: 778.23), 762.28 (100%, $[M+Na]^+$, ber.: 762.25).
 $C_{22}H_{27}N_7O_7S$ (533.56)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (83**)**



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 7.1 mg (49.9%); farbloser amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 17.27$ min (60%, **83**), $R_t = 18.30$ min (24%, **83**^{*}), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient A, $R_t = 29.00$ min, **83**, $R_t = 31.13$ min, **83**^{*}.

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC:

Epimer **83**: 1.8 mg (12.6%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv $m/z = 1519.59$ (39%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1519.52), 1497.61 (6%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1497.54), 787.27 (3%, $[M+K]^+$, ber.: 787.23), 771.29 (100%, $[M+Na]^+$, ber.: 771.29), 749.31 (16%, $[M+H]^+$, ber.: 749.27).

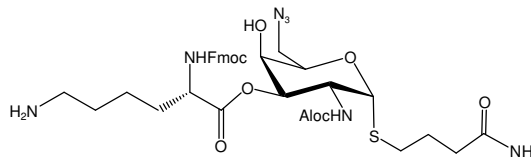
Epimer **83**^{*}: 0.4 mg (2.8%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv $m/z = 1519.60$ (10%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1519.52), 787.28 (6%, $[M+K]^+$, ber.: 787.23), 771.29 (61%, $[M+Na]^+$, ber.: 771.29), 749.31 (100%, $[M+H]^+$, ber.: 749.27), 412.15 (3%, $[M-Fmoc-His, -3-TBSO, +Na]^+$, ber.: 412.13).

$C_{35}H_{40}N_8O_9S$ (748.81)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (84)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 5 mg (50.8%); farbloser amorpher Feststoff.



Das Produkt kann im Rohprodukt nachgewiesen werden. Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere stark absorbierende Substanzen, die aufgrund geringer Löslichkeit des Rohproduktes nicht analysiert und identifiziert werden können. Eine Isolierung gelang nicht.

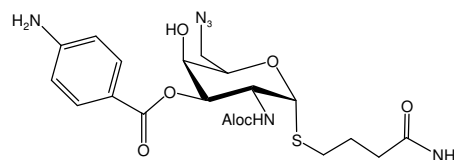
HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 9.40 min (6%), 11.80 min (2%), 15.05 min (20%), 16.98 min (31%); 18.08 min (12%), 21.70 min (7%), bei λ = 214 nm.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv m/z = 1479.69 (1%, $[2M+H]^+$, ber.: 1479.61), 740.37 (62%, $[M+H]^+$, ber.: 740.31), 518.29 (27%, $[M-Fmoc+H]^+$, ber.: 518.24), 479.19 (100%).

$C_{35}H_{45}N_7O_9S$ (739.84)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(4-aminobenzoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (85)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 14.0 mg (>100%); gelber amorpher Feststoff.



Das Produkt kann im Rohprodukt nicht nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv m/z = 801.32 (100%), 412.16 (30%, $[M-(4-NH_2-PhCO)+Na]^+$, ber.: 412.13).

$C_{21}H_{28}N_6O_7S$ (508.55)

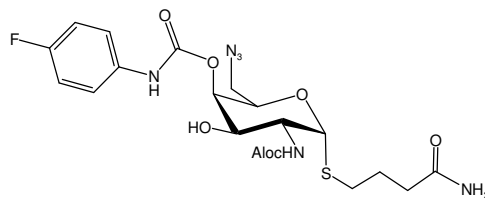
6.10 Synthesen zum Kapitel 3.3.5.1

Parallelsynthese am *Rink*-Tentagel-S-NH₂[®]-Harz

In fünf mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden jeweils 100 mg des Polymers **44** (Beladung 0.15 mmol/g) eingewogen. Das am Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV3 zur Spaltung des *p*-Methoxybenzylethers umgesetzt. Direkt danach setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV8 für Carbamoylierung das Polymer mit 4-Fluorphenylisocyanat, 4-Cyanophenylisocyanat, *tert*-Butylisocyanat, Allylisocyanat, Ethylisocyanatoacetat um. Das Polymer wird sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Anschließend wird die *tert*-Butyldimethylsilylether-Schutzgruppe nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV2 mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid-Lösung in Acetonitril entfernt. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV14 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(4-fluorphenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**86**)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 4.6 mg (58.2%); farbloser amorpher Feststoff.



HPLC: analytische HPLC: Gradient A,

R_t = 18.25 min (91%), bei λ = 221 nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, R_t = 31.07 min.

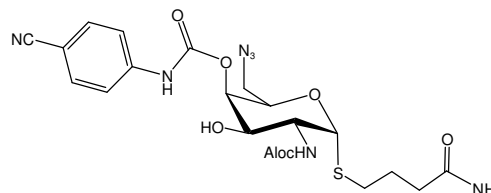
Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.9 mg (24.1%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv m/z = 565.3 (5 %, $[M+K]^+$, ber.: 565.1), 549.3 (100 %, $[M+Na]^+$, ber.: 549.2), 527.3 (20 %, $[M+H]^+$, ber.: 527.2).

$C_{21}H_{27}FN_6O_7S$ (526.54)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(4-cyanophenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (87)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 6.2 mg (77.5%); farbloser amorpher Feststoff.



HPLC: analytische HPLC: Gradient A,

$R_t = 17.60$ min (95%), bei $\lambda = 254$ nm; (85%), bei 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 30.00$ min

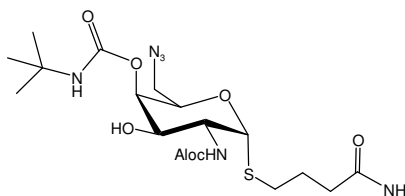
Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 1.1 mg (13.8%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 572.3$ (5 %, $[M+K]^+$, ber.: 572.1), 556.3 (100 %, $[M+Na]^+$, ber.: 556.2), 534.3 (10 %, $[M+H]^+$, ber.: 534.2).

$C_{22}H_{27}N_7O_7S$ (533.56)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(*tert*-butylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (88)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 2.6 mg (35.5%); gelber amorpher Feststoff.



HPLC: Die UV-Absorption ist zu schwach, so daß das Produkt mittels HPLC nicht gereinigt werden kann.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 527.3$ (15 %, $[M+K]^+$, ber.: 527.2), 511.3 (80 %, $[M+Na]^+$, ber.: 511.2).

$C_{19}H_{32}N_6O_7S$ (488.56)

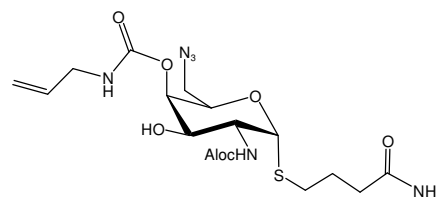
S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-O-(allylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (89)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 4.0 mg (56.3%); farbloser amorpher Feststoff.

HPLC: Die UV-Absorption ist zu schwach; das Produkt wird mittels HPLC nicht gereinigt.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 511.2$ (10 %, $[M+K]^+$, ber.: 511.1), 495.3 (55%, $[M+Na]^+$, ber.: 495.2), 473.3 (20 %, $[M+H]^+$, ber.: 473.2).

$C_{18}H_{28}N_6O_7S$ (472.52)



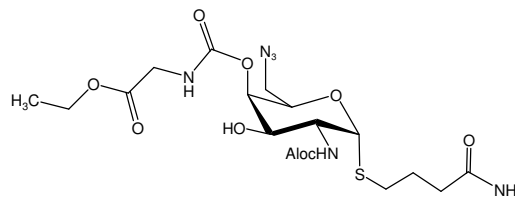
S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-O-(ethoxycarbonylmethylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (90)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 4.6 mg (59.0%); gelber amorpher Feststoff.

HPLC: Die UV-Absorption ist zu schwach; das Produkt wird mittels HPLC nicht gereinigt.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 557.3$ (10 %, $[M+K]^+$, ber.: 557.1), 541.3 (100%, $[M+Na]^+$, ber.: 541.2), 519.2 (15 %, $[M+H]^+$, ber.: 519.2).

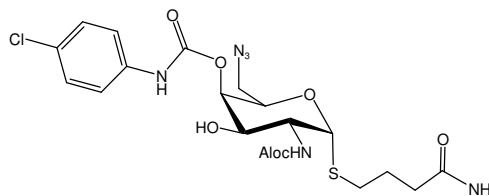
$C_{19}H_{30}N_6O_9S$ (518.54)



Parallelsynthese am *Rink*-AMPS-Harz

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(4-chlorphenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**91**)**

In eine mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritze werden 100 mg des Polymers **43** (Beladung 0.67 mmol/g) eingewogen. Das am



Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV3 zur Spaltung des *p*-Methoxybenzylethers umgesetzt. Im Anschluß setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV8 für Carbamoylierung das Polymer mit 4-Chlorphenylisocyanat um. Das Polymer wird sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Anschließend wird die *tert*-Butyldimethylsilylether-Schutzgruppe nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV2 mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid-Lösung in Acetonitril entfernt. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV14 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 13.3 mg (36.5%); hell brauner amorpher Feststoff.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 18.07$ min (33%), bei $\lambda = 220$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 32.57$ min.

Ausbeute nach semi-präparativer HPLC: 3.8 mg (10.4%, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv $m/z = 1629.4$ (4%, $[3M+H]^+$, ber.: 1629.4), 1107.4 (7%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1107.3), 1085.4 (100%, $[2M+H]^+$, ber.: 1185.4), 565.2 (10%, $[M+Na]^+$, ber.: 565.2), 543.2 (16%, $[M+H]^+$, ber.: 543.1).

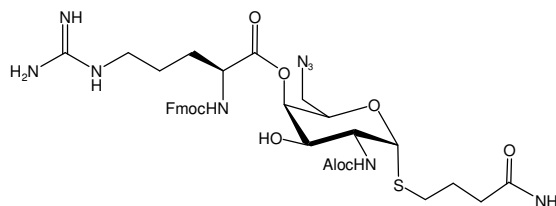
$C_{21}H_{27}ClN_6O_7S$ (542.99)

6.11 Synthesen zum Kapitel 3.3.5.2

Parallelsynthese am *Rink*-Tentagel[®]-Polymer

In 5 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden je 100 mg des Polymers **44** (Beladung 0.19 mmol/g) eingewogen. Das am Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV3 zur Abspaltung des *p*-Methoxybenzylethers mit DDQ versetzt. Im Anschluß setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV7 zur Esterbildung in der 3-Position das Polymer mit Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH und *p*-Boc-Aminobenzoesäure um. Das Polymer wird anschließend sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Dimethylsulfid als Scavenger.

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**92a**)



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC:

6.4 mg (38.2%); braungelber amorpher

Feststoff. Im Rohprodukt kann neben dem gewünschten Produkt **92a** auch das silylierte Produkt *S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**92b**) auch nachgewiesen werden.

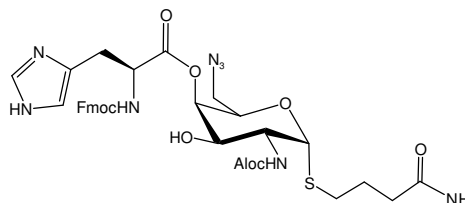
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 882.52 (5%, [3-TBSO, M+H]⁺, ber.: 882.40), 768.40 (10%, [M+H]⁺, ber.: 768.31), 526.24 (100%, [3-TBSO, M-Fmoc-Arg+Na]⁺, ber.: 526.21), 412.15 (45%, [M-Fmoc-Arg+Na]⁺, ber.: 412.13).

Eine weitere Analyse kann aufgrund der geringen Produktmenge und geringer Löslichkeit nicht durchgeführt werden.

$C_{35}H_{45}N_9O_9S$ (767.85)

$C_{41}H_{59}N_9O_9SSi$ (882.39)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**93a**)**



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 4.8 mg (29.3%); braungelber amorpher Feststoff.

Im Rohprodukt kann neben dem gewünschten Produkt **93a** auch das silylierte Produkt *S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**93b**) nachgewiesen werden.

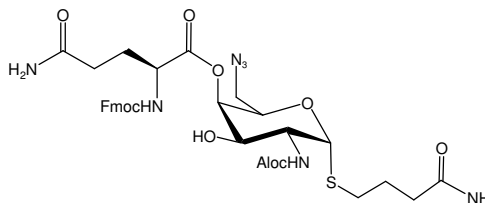
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 863.42 (15%, [3-TBSO, $M+H$] $^+$, ber.: 863.36), 749.26 (15%, [$M+H$] $^+$, ber.: 749.26), 526.22 (90%, [3-TBSO, M -Fmoc-His+Na] $^+$, ber.: 526.21), 504.30 (10%, [3-TBSO, M -Fmoc-His+H] $^+$, ber.: 504.23), 412.13 (100%, [M -Fmoc-His+Na] $^+$, ber.: 412.13).

Eine weitere Analyse kann aufgrund der geringen Produktmenge und geringer Löslichkeit nicht durchgeführt werden.

$C_{35}H_{40}N_8O_9S$ (748.81)

$C_{41}H_{54}N_8O_9SSi$ (863.07)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**94a**)**



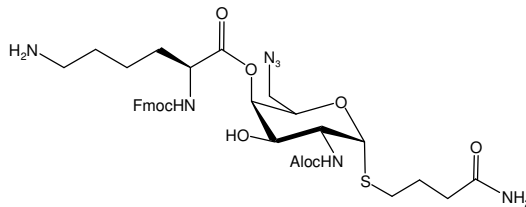
Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 4.4 mg (27.0%); braungelber amorpher Feststoff.

Das gewünschte Produkt kann nicht nachgewiesen werden.

$C_{34}H_{41}N_7O_{10}S$ (739.80)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**95a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 9.6 mg (59.2%); gelber amorpher Feststoff.



Im Rohprodukt kann neben dem gewünschten

Produkt **95a** auch das silylierte Produkt *S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**95b**) nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 854.44 (25%, [3-TBSO, M+H]⁺, ber.: 854.39), 740.34 (20%, [M+H]⁺, ber.: 740.31), 632.26 (8%, [3-TBSO, M-Fmoc+H]⁺, ber.: 632.33), 526.24 (20%, [3-TBSO, M-Fmoc-Lys+Na]⁺, ber.: 526.21), 412.13 (100%, [M-Fmoc-Lys+Na]⁺, ber.: 412.13).

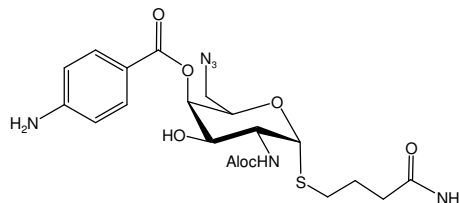
Eine weitere Analyse kann aufgrund der geringen Produktmenge und geringer Löslichkeit nicht durchgeführt werden.

C₃₅H₄₅N₇O₉S (739.84)

C₄₁H₅₉N₇O₉SSi (854.10)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-4-*O*-(4-aminobenzoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**96a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 3.3 mg (27.0%); gelber amorpher Feststoff.



Das gewünschte Produkt kann nicht nachgewiesen werden.

C₂₁H₂₈N₆O₇S (508.55)

6.12 Synthesen zum Kapitel 3.3.6

Parallelsynthese mit Aminosäuren für *Rink*- AMPS-Harz

In 8 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden je 100 mg des Polymers **43** (Beladung 0.63 mmol/g) eingewogen. Das am Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV6 zur Reduktion der Azido-Gruppe nach *Staudinger* verarbeitet. Im Anschluß setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Amidbildung in der 2-Position AAV10 das Polymer mit Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(*Ot*Bu)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH und Phenylelessigsäure um. Das Polymer wird anschließend sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV14 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit Mercaptomethylpolystyrol als Scavenger.

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**97a**)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 24.8 mg (82.4%);

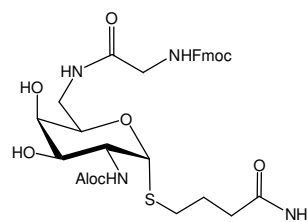
brauner amorpher Feststoff. Im Rohprodukt können sowohl
gewünschtes Produkt **97a** als auch Nebenprodukt *S*-[2-*N*-

(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-
amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-
mercaptobuttersäureamid (**97b**) nachgewiesen werden.

Man isoliert nur das silylierte Produkt **97b**.

HPLC: analytische HPLC: Gradient A, R_t = 23.50 min (59%), bei λ = 220 nm.

Ausbeute: 7.1 mg (16.1% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); hell gelber amorpher Feststoff.



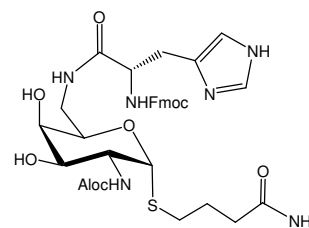
ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 779.09$ (100%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 779.31), 557.18 (10%, [3-TBSO, M-Fmoc+Na]⁺, ber.: 557.24).

C₃₁H₃₈N₄O₉S (642.72)

C₃₇H₅₂N₄O₉SSi (756.98)

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (98a)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 23.8 mg (45.2%); roter amorpher Feststoff. Das gewünschte Produkt **98a** kann im Rohprodukt nicht gefunden werden. Es wird nur das silylierte Produkt S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**98b**) nachgewiesen, dessen Isolierung jedoch nicht gelang. Das HPLC-Chromatogramm zeigt zwei stark absorbierende Substanzen, die nicht charakterisiert werden können.



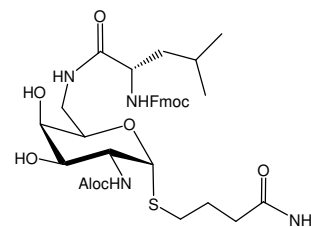
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 859.46$ (8%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 859.35), 837.47 (10%, [3-TBSO, M+H]⁺, ber.: 837.37), 542.30 (52%), 519 (100%).

C₃₅H₄₂N₆O₉S (722.81)

C₄₁H₅₆N₆O₉SSi (837.07)

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (99a)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 25.0 mg (48.9%, [40%-50%]); rotbrauner amorpher Feststoff. Das gewünschte Produkt kann im Rohprodukt nicht gefunden werden. Es wird nur das silylierte Produkt S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-leucyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**99b**) nachgewiesen.



HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 25.15$ min (38%), bei $\lambda = 220$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 40.32$ min. Ausbeute: 1.8 mg (3.5% nach semi-

präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff. Aufgrund der geringen Löslichkeit bereitet die semi-präparative Reinigung Probleme.

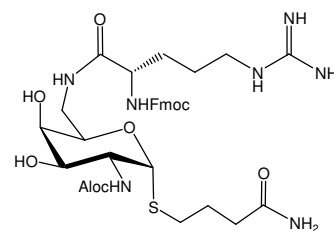
ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv $m/z = 1647.90$ (4%, $[3\text{-TBSO}, 2\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 1647.76), 835.44 (100%, $[3\text{-TBSO}, \text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 835.37).

$\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ (698.83)

$\text{C}_{41}\text{H}_{60}\text{N}_4\text{O}_9\text{SSi}$ (813.09)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäure-
-amid (**100a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 19.7 mg (36.5%); dunkelroter amorpher Feststoff. Das gewünschte Produkt



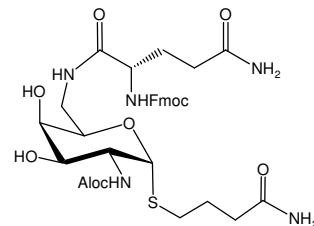
100a kann im Rohprodukt nicht gefunden werden. Es wird nur das silylierte Produkt *S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-arginyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**100b**) nachgewiesen, dessen Isolierung aber mißlang. Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere absorbierende Substanzen, die nicht charakterisiert werden können.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 856.48$ (7%, $[3\text{-TBSO}, \text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 856.41), 837.47 (10%, $[3\text{-TBSO}, \text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 837.37), 576.37 (100%), 542.28 (61%), 519.22 (84%).

$\text{C}_{35}\text{H}_{47}\text{N}_7\text{O}_9\text{S}$ (741.85)

$\text{C}_{41}\text{H}_{61}\text{N}_7\text{O}_9\text{SSi}$ (856.12)

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl)-L-glutaminy]-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (101a)



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 25.3 mg (48.5%); dunkelroter amorpher Feststoff. Das gewünschte Produkt

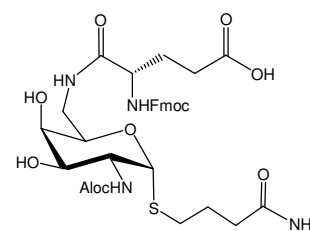
101a kann im Rohprodukt nicht gefunden werden. Es wird nur das silylierte Produkt S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl)-L-glutaminy]-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**101b**) nachgewiesen, dessen Isolierung jedoch nicht gelang. Das HPLC-Chromatogramm zeigt zwei stark absorbierende Substanzen, die nicht charakterisiert werden können.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 866.41$ (18%, [3-TBSO, M+K]⁺, ber.: 866.32), 850.42 (100%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 850.35), 576.38 (6%), 542.28 (12%), 519.22 (21%).

C₃₄H₄₃N₅O₁₀S (713.80)

C₄₀H₅₇N₅O₁₀SSi (828.06)

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl)-L-glutamyl]-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (102a)



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 16.6 mg (31.8%); dunkelroter amorpher Feststoff. Das gewünschte Produkt

102a kann im Rohprodukt nicht gefunden werden. Es wird nur das silylierte Produkt S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl)-L-glutamyl]-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**102b**) nachgewiesen, dessen Isolierung jedoch nicht gelang. Das HPLC-Chromatogramm zeigt absorbierende Substanzen, die nicht charakterisiert werden können.

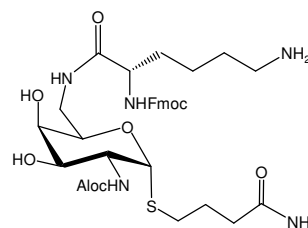
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 867.39$ (18%, [3-TBSO, M+K]⁺, ber.: 867.31), 851.41 (100%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 851.33), 576.38 (6%), 542.28 (13%), 519.22 (22%).

C₃₄H₄₂N₄O₁₁S (714.78)

C₄₀H₅₆N₄O₁₁SSi (829.04)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**103a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 13.0 mg (24.9%); brauner amorpher Feststoff. Das gewünschte Produkt **103a** kann im Rohprodukt nicht gefunden werden. Es wird nur das silylierte Produkt *S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**103b**) nachgewiesen, dessen Isolierung jedoch nicht gelang. Das HPLC-Chromatogramm zeigt absorbierende Substanzen, die nicht charakterisiert werden können.



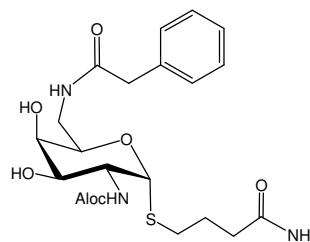
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 850.29$ (20%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 850.39), 828.24 (100%, [3-TBSO, M+H]⁺, ber.: 828.40), 577.19 (50%), 510.82 (75%).

C₃₅H₄₇N₅O₉S (713.84)

C₄₁H₆₁N₅O₉SSi (828.10)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(phenylacetyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**104a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 13.0 mg (34.6%); brauner amorpher Feststoff. Das gewünschte Produkt **104a** kann im Rohprodukt nicht gefunden werden. Es wird nur das silylierte Produkt *S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(phenylacetyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**104b**) nachgewiesen.



HPLC: analytische HPLC: Gradient A, $R_t = 25.98$ min (35%), bei $\lambda = 220$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient E, $R_t = 24.93$ min. Ausbeute: 1.9 mg (5.1% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv $m/z = 618.17$ (100%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 618.17), 596.13 (<5%, [3-TBSO, M+H]⁺, ber.: 596.28).

$C_{22}H_{31}N_3O_7S$ (481.19)

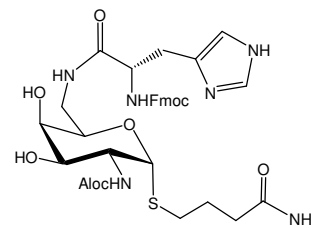
$C_{28}H_{45}N_3O_7SSi$ (595.82)

Parallelsynthese am *Rink-Tentagel*[®]-Polymer

In 5 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden je 100 mg des Polymers **44** (Beladung 0.19 mmol/g) eingewogen. Das am Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV5 zur Reduktion der Azido-Gruppe nach *Staudinger* verarbeitet. Im Anschluß setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV9 zur Amidbildung in der 2-Position das Polymer mit Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Pmc)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH und *p*-Boc-Aminobenzoesäure um. Das Polymer wird anschließend sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Dimethylsulfid als Scavenger.

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**98a**)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 13.4 mg (84.3%); gelber amorpher Feststoff. Das HPLC-Chromatogramm zeigt zwei stark absorbierende Substanzen, die auf das gewünschte



Produkt **98a** als auch das silylierte Produkt S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**98b**) hinweisen.

Aufgrund der geringen Löslichkeit des Produktes ist die Reinigung mittels semi-präparativer HPLC erschwert.

Gewünschtes Produkt **98a**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 13.22$ min (37%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G (Zugabe von DMSO, CH_3OH und CH_3CN), $R_t = 13.28$ min.

Ausbeute: 1.6 mg (11.6% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 745.32$ (15%, $[\text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 745.26), 723.36 (20%, $[\text{M}-\text{H}]^+$, ber.: 723.28), 604.35 (50%), 179.05 (100%, $[\text{DBF}+\text{H}]^+$, ber.: 179.09).

$\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{N}_6\text{O}_9\text{S}$ (722.81)

Nebenprodukt **98b**:

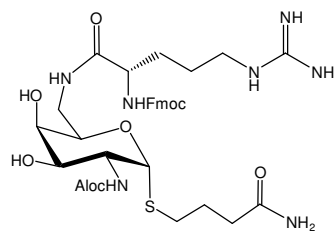
HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 22.67$ min (54%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G (Zugabe von DMSO, CH_3OH und CH_3CN), $R_t = 28.65$ min.

Ausbeute: 2.5 mg (15.7% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 856.46$ (5%, $[\text{3-TBSO}, [\text{M}+\text{Ca}]^{2+}$, ber.: 856.34), 742.36 (65%, 3-OH, $[\text{M}+\text{Ca}]^{2+}$, ber.: 742.25), 604.35 (40%), 179.04 (100%, $[\text{DBF}+\text{H}]^+$, ber.: 179.09).

$\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{N}_6\text{O}_9\text{SSi}$ (837.07)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl)-L-arginyl]-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (100a)



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 15.6 mg (96%); gelber amorpher Feststoff.

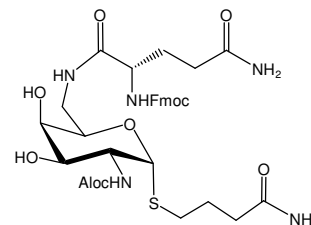
Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere stark absorbierende Substanzen.

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 7.53$ min (44%), 15.00 min (14%), 17.17 min (42%), bei $\lambda = 214$ nm. Aufgrund geringer Löslichkeit kann das gewünschte Produkt nicht isoliert werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 764.32$ (5%, $[M+Na]^+$, ber.: 764.31), 742.34 (10%, $[M+H]^+$, ber.: 742.32), 500.12 (5%, $[6-NH_2, M-Fmoc-Arg+Na]^+$, ber.: 500.22), 179.03 (100%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

$C_{35}H_{47}N_7O_9S$ (741.85)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminy)]-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (101a)



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 16.2 mg (>100%); farbloser amorpher Feststoff. Im Rohprodukt kann sowohl das gewünschte Produkt **101a** als auch das silylierte Produkt S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-N-(N-9-fluorenylmethoxy-carbonyl-L-glutaminy)]-amino-6-desoxy-3-O-tert-butyldimethylsilyl- α -D-galacto-pyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**101b**) nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 850.37$ (15%, $[3-TBSO, M+Na]^+$, ber.: 850.35), 752.20 (5%, $[M+K]^+$, ber.: 752.24), 736.30 (15%, $[M+Na]^+$, ber.: 736.26), 714.42 (<5%, $[M+H]^+$, ber.: 714.28), 628.34 (18%, $[3-TBSO, M-Fmoc+Na]^+$, ber.: 628.28), 514.24 (12%, $[M-Fmoc+Na]^+$, ber.: 514.19), 500.20 (10%, $[3-TBSO, 6-NH_2, M-Fmoc-Gln+Na]^+$, ber.: 500.22), 386.19 (12%, $[6-NH_2, M-Fmoc-Gln+H]^+$, ber.: 386.14), 179.03 (100%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

Aufgrund der geringen Löslichkeit wird nur die Hälfte des erhaltenen Rohprodukts der Analyse unterzogen.

Gewünschtes Produkt **101a**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 12.90$ min (21%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G (Zugabe von DMSO, CH_3OH und CH_3CN), $R_t = 19.08$ min. Ausbeute: 0.9 mg (6.6% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz,); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 736.43$ (10%, $[M+Na]^+$, ber.: 736.26), 697.86 (20%, $[M-NH_2]^+$, ber.: 697.25), 641.74 (50%), 401.38 (85%), 360.41 (100%).

$C_{34}H_{43}N_5O_{10}S$ (713.80)

Nebenprodukt **101b**:

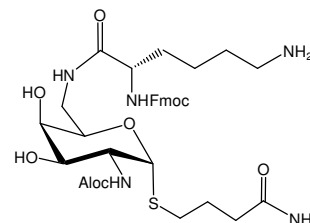
HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 21.72$ min (79%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, $R_t = 46.70$ min. Ausbeute: 1.7 mg (10.8% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 850.49$ (45%, $[3-TBSO, M+Na]^+$, ber.: 850.35), 828.58 (5%, $[M+H]^+$, ber.: 828.37), 628.41 (80%, $[3-TBSO, M-Fmoc+Na]^+$, ber.: 628.28), 606.48 (90%, $[3-TBSO, M-Fmoc+H]^+$, ber.: 606.30), 469.41 (95%), 179.07 (100%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

$C_{40}H_{57}N_5O_{10}SSi$ (828.06)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-lysyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (103a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 11.7 mg (74.4%); farbloser amorpher Feststoff. Im Rohprodukt kann sowohl das gewünschte Produkt **103a** als auch das silylierte Produkt



S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-N-(N-9-fluorenylmethoxy-carbonyl-L-lysyl)-amino-6-desoxy-3-O-tert-butyl dimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**103b**) nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 828.47$ (20%, $[3-TBSO, M+H]^+$, ber.: 828.40), 736.33 (5%, $[M+Na]^+$, ber.: 736.30), 714.43 (100%, $[M+H]^+$, ber.: 714.32), 606.43 (10%, $[3-TBSO, M-Fmoc+H]^+$, ber.: 606.34), 478.36 (10%, $[3-TBSO, 6-NH_2, M-Fmoc-Lys+H]^+$, ber.: 478.24), 179.03 (20%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

Aufgrund geringer Löslichkeit kann die weitere Analyse nicht durchgeführt werden.

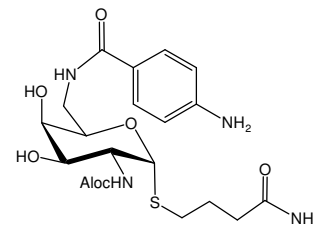
$C_{35}H_{47}N_5O_9S$ (713.84)

$C_{41}H_{61}N_5O_9SSi$ (828.10)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(4-aminobenzoyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**105a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 14.2 mg (>100%);
gelber amorpher Feststoff.

Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere stark absorbierende Substanzen.



HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 4.97 min (59%), 6.13 min (4%), 13.03 min (4%), 17.45 min (22%, **105b**); 22.27 min (3%), 23.07 min (3%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient G (Zugabe von DMSO, CH₃OH und CH₃CN), R_t = 22.33 min.

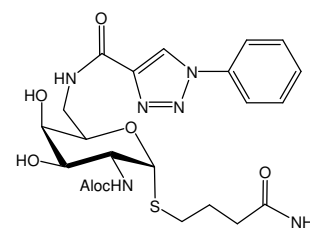
Das reine Produkt kann durch HPLC nicht isoliert werden. ESI-MS-Daten für die mit Hilfe semi-präparativer HPLC isolierte Fraktion:

ESI-MS (Gerät 1), positiv m/z = 619.34 (5%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 619.26), 521.18 (15%, [M+K]⁺, ber.: 521.15), 505.23 (100%, [M+H]⁺, ber.: 505.17), 483.19 (<5%, [M+H]⁺, ber.: 483.19).

C₂₁H₃₀N₄O₇S (482.55)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-*N*-(1-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**106a**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 14.4 mg (>100%);
farbloses Öl.



Das HPLC-Chromatogramm zeigt zwei stark absorbierende Substanzen, die auf das gewünschte Produkt **106a** und das silylierte Produkt *S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl 6-*N*-(1-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**106b**) hinweisen.

Im Rohprodukt können beide Produkte nachgewiesen werden. Aufgrund geringer Löslichkeit des Produktes wird die Reinigung mittels semi-präparativer HPLC erschwert.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 687.46$ (30%, [3-TBSO, [M+K]⁺, ber.: 687.24), 573.37 (20%, [M+K]⁺, ber.: 573.15), 557.33 (35%, [M+Na]⁺, ber.: 557.18), 510.53 (90%), 227.09 (100%).

Gewünschtes Produkt **106a**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 10.78$ min (30%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G (Zugabe von DMSO, CH₃OH und CH₃CN), $R_t = 11.65$ min.

Ausbeute: 1.9 mg (18.7% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 557.37$ (100%, [M+Na]⁺, ber.: 557.18), 406.25 (45%).

C₂₃H₃₀N₆O₇S (534.59)

Nebenprodukt **106b**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 20.62$ min (58%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G (Zugabe von DMSO, CH₃OH und CH₃CN), $R_t = 44.4$ min.

Ausbeute: 1.0 mg (8.1% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

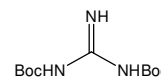
ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 671.51$ (100%, [3-TBSO, [M+Na]⁺, ber.: 671.27), 406.25 (40%).

C₂₉H₄₄N₆O₇SSi (648.85)

6.13 Synthesen zum Kapitel 3.3.7

N,N'-Di-(*tert*-butoxycarbonyl)guanidin (**107**)²⁰⁷

Zu einem Gemisch aus 10 g (0.105 mol) Guanidinhydrochlorid und 16.8 g (0.420 mol) Natriumhydroxid in 100 mL Wasser werden 200 mL Dioxan zugegeben. Unter Kühlung bei 0 °C werden 50.04 g (0.231 mol) Di-*tert*-butylcarbonat auf einmal zugegeben. Man lässt die Reaktionslösung innerhalb von 2 h



²⁰⁷

K. Feichtinger, H. L. Sings, T. J. Baker, K. Matthews, Goodman, M., *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8432-8439.

auf Raumtemperatur kommen und rührt weitere 20 h. Anschließend wird das Reaktionsgemisch auf 1/3 des Volumens eingeeengt mit 100 mL Wasser verdünnt. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 200 mL Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden nacheinander mit 400 mL 10%iger Zitronensäure-Lösung, 400 mL Wasser und 400 mL ges. NaCl-Lsg. Anschliessend wird die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abfiltriert und das Lösungsmittel vollständig i. Vak. entfernt. Es bleibt ein hellgelbes Öl zurück, das nach kürzerer Zeit kristallisiert. Das Produkt wird zusätzlich mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt ($R_f = 0.1$, 100% Dichlormethan, anschließend Dichlormethan:MeOH = 97:3).

Ausb.: 17.89 g, (0.688 mol, 65.5%, Lit. 59%); farblose Kristalle; Schmp.: 144-145 °C; Lit.: 144-145 °C.

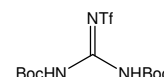
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ [ppm]: 10.42 (sb, 1H, C=NH); 8.45 (sb, 2H, NH, Carbat), 1.40 (s, 18H, 9xCH₃).

FD-MS, positiv $m/z = 260.3$ (100 %, [M+H]⁺, ber.: 260.2).

C₁₁H₂₁N₃O₄S (259.30)

***N,N'*-Di-Boc-*N'*-trifluormethansulfonylguanidin (108)²⁰⁷**

Eine Lösung von 2.26 g (8.7 mmol) *N,N'*-Di-(*tert*-butoxycarbonyl)guanidin (**107**) und 1.18 mL (0.92 g, 9.1 mmol) Triethylamin in 100 mL absol. Dichlormethan wird auf -78 °C gekühlt und anschließend mit 1.51 mL (2.57 g, 9.1 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid langsam versetzt. Die Temperatur des Reaktionsgemisches soll nicht – 65 °C überschreiten. Nach beendeter Zugabe lässt man die Reaktion innerhalb von 3 h auf Raumtemperatur kommen. Der Umsatz ist komplett (dünnschichtchromatographische Kontrolle; $R_f = 0.53$, Dichlormethan). Die dunkel braune Reaktionslösung wird auf 100 mL stark gerührte und im Eisbad gekühlte ges. NaHCO₃-Lsg gegossen. Die Phasen werden abgetrennt, und die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Trockenmittel wird abfiltriert und das Lösungsmittel i. Vak. vollständig abdestilliert. Das erhaltene Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt ($R_f = 0.53$, Dichlormethan).



²⁰⁷

K. Feichtinger, H. L. Sings, T. J. Baker, K. Matthews, Goodman, M., *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 8432-8439.

Ausb.: 2.68 g, (6.8 mmol, 78.2%, Lit. 88%); dunkel gelbe Kristalle; Schmp.: 112-114 °C; Lit.: 114-115 °C.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ [ppm]: 11.05 (s_b, 2H, NH, Carbamat); 1.45 (s, 18H, 9xCH₃).

FD-MS, positiv m/z = 391.8 (100 %, [M]⁺, ber.: 391.1).

C₁₂H₂₀F₃N₃O₆S (391.36)

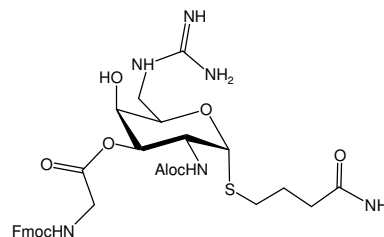
6.14 Synthesen zum Kapitel 3.3.7.1

Parallelsynthese A am *Rink*-Tentagel[®]-Polymer

In 3 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden je 100 mg des Polymers **44** (Beladung 0.19 mmol/g) eingewogen. Das am Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV5 zur Reduktion der Azido-Gruppe nach *Staudinger* verarbeitet. Im Anschluß setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV13 zur Einführung der Di-Boc-geschützten Guanidin-Funktion das Polymer mit *N,N*-Di-Boc-*N*`-triflylguanidin (**108**) um. Das Polymer wird sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer 30 min i. Hochvak. Anschließend wird das Harz nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV2 zur Abspaltung des *tert*-Butyldimethylesters mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid versetzt. Die freie Hydroxyfunktion in der 3-Position wird nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV7 mit Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH oder Fmoc-Gln(Trt)-OH nach *Steglich* verestert. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Dimethylsulfid als Scavenger.

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-O-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-6-guanidino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (109)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 14.5 mg (>100%); gelbes Öl.



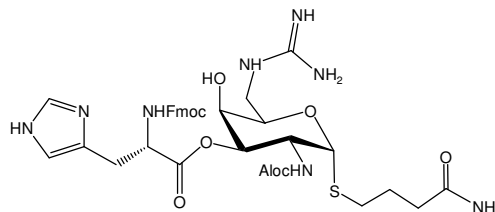
Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere Substanzen.

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 11.98 min (5%), 12.40 min (26%), 13.72 min (13%), 15.43 min (3%), 16.33 min (3%), 17.40 min (6%), 19.38 min (6%), 20.33 min (5%), 20.92 min (29%), bei λ = 214 nm. Die Reinigung mittels semi-präparativer HPLC liefert das gewünschte Produkt nicht.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 685.50 (100%, $[M+H]^+$, ber.: 685.27), 643.38 (8%, $[6-NH_2, M+H]^+$, ber.: 643.24), 406.22 (20%, $[M-Fmoc-Gly+H]^+$, ber.: 406.18), 179.05 (80%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

$C_{32}H_{40}N_6O_9S$ (684.76)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-O-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-6-guanidino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (110)



Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 22.6 mg

(>100%); gelbgrünlisches Öl. Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere Substanzen.

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 9.85 min (27%), 10.18 min (4%), 11.12 min (13%), 13.05 min (16%), 16.18 min (5%), 17.40 min (6%), 22.35 min (6%), 24.65 min (25%), bei λ = 214 nm. Die semi-präparative Reinigung mittels HPLC liefert das gewünschte Produkt nicht.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 765.47 (20%, $[M+H]^+$, ber.: 765.30), 723.44 (<5%, $[6-NH_2, M+H]^+$, ber.: 723.28), 543.37 (<5%, $[M-Fmoc+H]^+$, ber.: 543.23), 406.22 (20%, $[M-Fmoc-His+H]^+$, ber.: 406.18), 179.05 (100%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

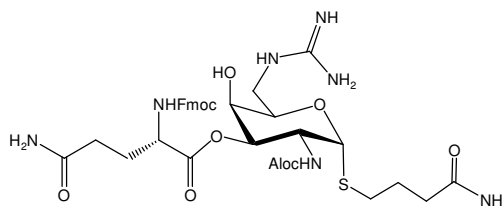
$C_{36}H_{44}N_8O_9S$ (764.85)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-O-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminyl)-6-guanidino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (111)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC:

18.9 mg (>100%); farbloser amorpher

Feststoff. Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere Substanzen.



HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 12.67 min (42%), 13.65 min (10%), 14.13 min (12%), 15.68 min (3%), 16.63 min (5%), 18.02 min (7%), 25.02 min (20%), bei λ = 214 nm. Die semi-präparative Reinigung mittels HPLC liefert das gewünschte Produkt nicht.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 756.44 (30%, $[M+H]^+$, ber.: 756.30), 736.37 (<5%, $[6-NH_2, M+H]^+$, ber.: 736.26), 543.30 (<5%, $[M-Fmoc+H]^+$, ber.: 543.23), 406.23 (60%, $[M-Fmoc-Gln+H]^+$, ber.: 406.18), 179.05 (40%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09), 162.09 (100%).

$C_{35}H_{45}N_7O_{10}S$ (755.84)

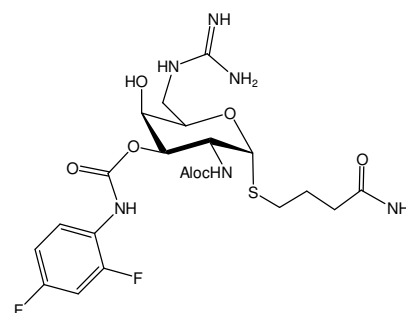
Parallelsynthese B am *Rink*-Tentagel[®]-Polymer

In 5 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden je 100 mg des Polymers **44** (Beladung 0.19 mmol/g) eingewogen. Das am Harz gebundene Kohlenhydrat wird zuerst nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV5 zur Reduktion der Azido-Gruppe nach *Staudinger* versetzt. Im Anschluß setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV13 zur Einführung der Di-Boc-geschützten Guanidin-Funktion das Polymer mit *N,N'*-Di-Boc-*N'*-triflylguanidin (**108**) um. Das Polymer wird sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer 30 min i. Hochvak. Anschließend wird das Harz nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV2 zur Abspaltung des *tert*-Butyldimethylesters mit Tetrabutylammoniumhydrogendifluorid versetzt. Direkt danach wird die freie Hydroxyfunktion in der 3-Position nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV8 zur Carbamoylierung mit 2,4-

Difluorphenylisocyanat, 3-Fluorphenylisocyanat, 2-Nitrophenylisocyanat, 4-Methyl-3-nitrophenylisocyanat und 3-Acetylphenylisocyanat versetzt. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Dimethylsulfid als Scavenger.

S-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-(2,4-difluorphenylcarbamoyl))-6-guanidino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (112**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 22.3 mg (>100%); farbloser amorpher Feststoff. Im Rohprodukt kann sowohl das gewünschte Produkt **112** als auch das 3-Allophanatderivat: *S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-(di-(2,4-difluorphenyl)-allophanat)-6-guanidino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**117**) nachgewiesen werden.



ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 716.33 (15%, [3-Allophanat, $M+H$]⁺, ber.: 716.21), 673.37 (<5%, 3-Allophanat, 6-NH₂, M]⁺, ber.: 673.18), 561.36 (85%, [$M+H$]⁺, ber.: 561.19), 541.27 (5%, 6-NH₂, [$M+Na$]⁺, ber.: 541.15), 428.20 (55%, 3-OH, [$M+Na$]⁺, ber.: 428.18), 158.95 (100%).

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 14.35 min (16%), 15.50 min (32%), 15.87 min (9%), 18.48 min (19%), 20.18 min (12%), 21.67 min (11%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, R_t = 31.42 min, 41.18 min., (**112**), 50.17 min. Ausbeute: 1.7 mg (16.0% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser Feststoff.

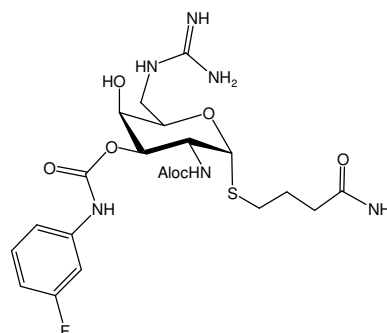
ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv m/z = 561.40 (35%, [$M+H$]⁺, ber.: 561.19), 541.32 (25%, 6-NH₂, [$M+Na$]⁺, ber.: 541.15), 386.22 (50%, 3-OH, 6-NH₂, [$M+Na$]⁺, ber.: 386.16), 121.06 (100%).

C₂₂H₃₀F₂N₆O₇S (560.57)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-O-(3-fluorphenylcarbamoyl)]-6-guanidino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (113)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 17.8 mg (>100%); gelber amorpher Feststoff. Im Rohprodukt kann das gewünschte Produkt nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 565.35 (10%, $[M+Na]^+$, ber.: 565.19), 5543.31 (100%, $[M+H]^+$, ber.: 543.20), 523.20 (<5%, $[M+Na]^+$, ber.: 523.23).



HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 14.36 min (5%), 15.28 min (6%), 16.28 min (60%), 16.88 min (9%), 17.97 min (4%), 20.23 min (6%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, R_t = 27.60 min, 32.65 min, 33.32 min. Das Produkt kann nach der Reinigung nicht nachgewiesen werden. ESI-MS-Daten für die mittels semi-präparativer HPLC isolierte Fraktion:

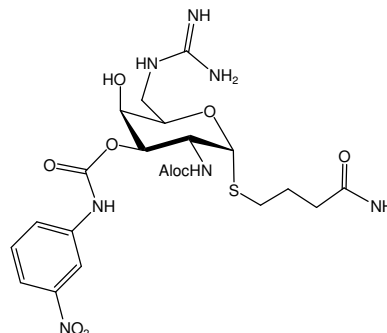
ESI-MS (Gerät 1), positiv m/z = 533.43 (70%), 396.37 (25%), 263.42 (40%), 121.05 (100%).

$C_{22}H_{31}FN_6O_7S$ (542.20)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-guanidino-6-desoxy 3-O-(3-nitrophenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (114)

Die Konzentration des 3-Nitrophenylisocyanats wird auf 5% reduziert. Dieser Reaktant wird als Suspension in absol. Dioxan eingesetzt.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 22.8 mg (>100%); gelbes Öl. Im Rohprodukt kann sowohl das gewünschte Produkt **114** als auch das 3-Allophanatderivat:



S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-O-(di-(3-nitrophenyl)-allophanat)-6-guanidino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid nachgewiesen (**118**) werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 734.31 (15%, [3-Allophanat, $M+H$] $^+$, ber.: 734.22), 691.41 (<5%, 3-Allophanat, 6-NH₂, $M-1$] $^+$, ber.: 692.20), 570.38 (100%,

$[M+H]^+$, ber.: 570.20), 541.27 (5%, 6-NH₂, $[M+Na]^+$, ber.: 541.15), 428.20 (75%, 3-OH, $[M+Na]^+$, ber.: 428.18), 406.24 (5%, 3-OH, $[M+Na]^+$, ber.: 406.18), 183.04 (95%).

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 14.05 min (15%), 14.52 min (14%), 15.85 min (24%), 16.38 min (25%), 17.88 min (13%), 28.08 min (5%), bei λ = 214 nm.

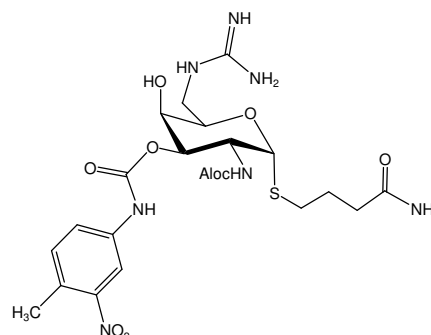
Die semi-präparative Reinigung liefert das gewünschte Produkt nicht.

C₂₂H₃₁N₇O₉S (569.59)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-guanidino-6-desoxy 3-O-(4-methyl-3-nitrophenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (115)

Die Konzentration des 4-Methyl-3-nitrophenylisocyanats wird auf 5% reduziert. Dieser Reaktant wird als eine Suspension in absol. Dioxan eingesetzt.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 18.5 mg (>100%); gelber amorpher Feststoff. Im Rohprodukt kann sowohl das gewünschte Produkt **115**, das S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-O-(di-(4-methyl-3-nitrophenyl)-allophanat)-6-guanidino-6-desoxy- α -D-galacto-pyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**119**) und das 3-OH freie Baustein nachgewiesen werden. Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere Substanzen, die nicht isoliert und charakterisiert werden können.

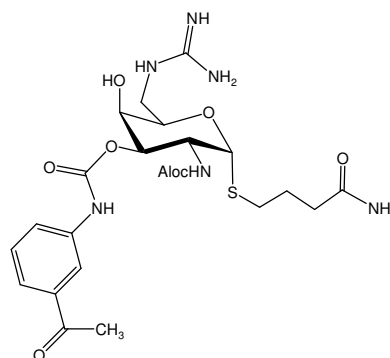


ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 584.40 (75%, $[M+H]^+$, ber.: 584.21), 564.30 (10%, 6-NH₂, $[M+Na]^+$, ber.: 5564.18), 406.23 (100%, 3-OH, $[M+Na]^+$, ber.: 406.18).

C₂₃H₃₃N₇O₉S (583.61)

S-[3-O-(3-Acetylphenylcarbamoyl)-2-N-(allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-guanidino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (116**)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 20.7 mg (>100%); gelber amorpher Feststoff. Im Rohprodukt kann sowohl das gewünschte Produkt **116** als auch das 3-Allophanatderivat: S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-O-(di-(3-acetylphenyl)-allophanat)-6-guanidino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**120**) nachgewiesen werden.



ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 685.48 (<5%, [3-Allophanat, 6-NH₂, M+H]⁺, ber.: 685.24), 567.41 (100%, 3-Allophanat, 6-NH₂, M+H]⁺, ber.: 567.22), 406.21 (<5%, 3-OH, [M+H]⁺, ber.: 406.18), 121.04 (80%).

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 14.15 min (75%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, R_t = 24.97 min. Das Produkt kann nach der Reinigung nicht nachgewiesen werden. ESI-MS-Daten für die mittels semi-präparativer HPLC isolierte Fraktion:

ESI-MS (Gerät 1), positiv m/z = 557.54 (100%), 543.35 (25%), 263.43 (35%), 121.06 (30%).

C₂₄H₃₄N₆O₈S (566.22)

6.15 Synthesen zum Kapitel 3.3.7.2

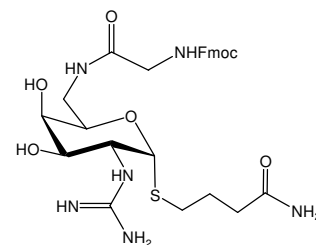
Parallelsynthese am *Rink*-Tentagel[®]-Polymer

In 3 mit Polyethylenfritten verschlossene 5 mL-Spritzen werden jeweils 100 mg des nach AAV1 behandelten Polymers **44** (Beladung 0.19 mmol/g) eingewogen. Die freie Amino-Gruppe wird entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV13 zur Einführung der Di-Boc-geschützten Guanidin-Funktion mit *N,N'*-Di-Boc-*N'*-triflylguanidin (**108**) derivatisiert. Das Polymer wird sorgfältig gewaschen: 3 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Dichlormethan abwechselnd, 2 x Dichlormethan, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 1 x Dioxan, 2 x Dichlormethan und Diethylether und anschließend zweimal mit Diethylether. Man

trocknet das Polymer 30 min i. Hochvak. Anschließend wird das am Harz gebundene Kohlenhydrat nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV5 zur Reduktion der Azido-Gruppe nach *Staudinger* versetzt. Im Anschluß setzt man entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV9 zur Amidbildung in der 6-Position das Polymer mit Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH oder Fmoc-Gln(Trt)-OH um. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Dimethylsulfid als Scavenger.

S-[6-N-(N-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-amino-6-desoxy-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (121a)

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 18.6 mg (>100%), gelbes Öl. Das gewünschte Produkt kann im Rohprodukt nicht gefunden werden. Es wird nur S-[6-N-(N-9-



fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-amino-6-desoxy-2-guanidino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**121b**) nachgewiesen, dessen Isolierung jedoch nicht gelang. Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere Substanzen, die nicht charakterisiert werden können.

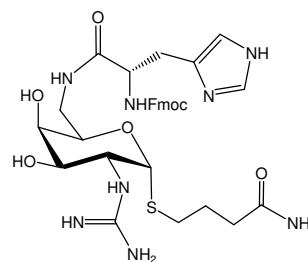
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 673.50 (5%, [3-TBSO, 2-NH₂, M+H]⁺, ber.: 673.31), 597.38 (<5%, [2-NH₂, M+K]⁺, ber.: 597.18), 179.05 (40%, [DBF+H]⁺, ber.: 179.09).

C₂₈H₃₆N₆O₇S (600.69)

C₃₄H₅₀N₆O₇SSi (714.95)

***S*-[6-*N*-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl)-amino-6-desoxy-2-guanidino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (122a)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 22.6 mg (>100%); hell gelbes Öl. Das gewünschte Produkt kann in Rohprodukt nicht gefunden werden. Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere Substanzen, die nicht charakterisiert wurden.

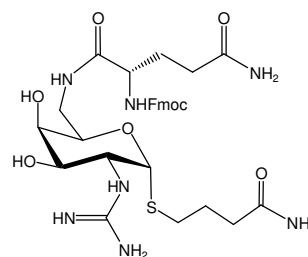


ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 673.50 (5%, [3-TBSO, 2-NH₂, M+H]⁺, ber.: 673.31), 597.38 (<5%, [2-NH₂, M+K]⁺, ber.: 597.18), 179.05 (40%, [DBF+H]⁺, ber.: 179.09).

C₃₂H₄₀N₈O₇S (680.77)

***S*-[6-*N*-(*N*-9-Fluorenylmethoxycarbonyl-L-glutaminyl)-amino-6-desoxy-2-guanidino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (123a)**

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 22.6 mg (>100%); hell gelbes Öl. Das gewünschte Produkt kann in Rohprodukt nicht gefunden werden. Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere Substanzen, die nicht charakterisiert wurden.



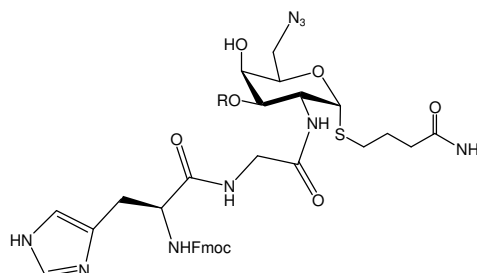
ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv m/z = 744.44 (<5%), 282.29 (5%), 243.04 (10%), 121.03 (100%).

C₃₇H₅₅N₇O₈SSi (785.03)

6.16 Synthesen zum Kapitel 3.3.8

***S*-[6-Azido-6-desoxy-2-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl-L-glycyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (124a)**

Die Synthese des Produktes wird entsprechend der Allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV 12 zur Peptidkupplung an der festen Phase mit Fmoc-Gly-OH und Fmoc-His(Trt)-OH nacheinander



durchgeführt.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 24.9 mg (>100%); farbloser amorpher Feststoff. Während der Reaktion erhält man sowohl das gewünschte Produkt **124a** als auch das silylierte Produkt *S*-[6-Azido-6-desoxy-2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl-L-glycyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (**124b**).

Gewünschtes Produkt **124a**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 13.52$ min (53%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, $R_t = 16.92$ min. Ausbeute: 1.2 mg (8.8% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 722.45$ (100%, $[M+H]^+$, ber.: 722.27), 695.49 (<5%, 6-NH₂, $[M+H]^+$, ber.: 695.27), 434.26 (40%), 263.42 (85%).

$C_{33}H_{39}N_9O_8S$ (721.78)

Nebenprodukt **124b**:

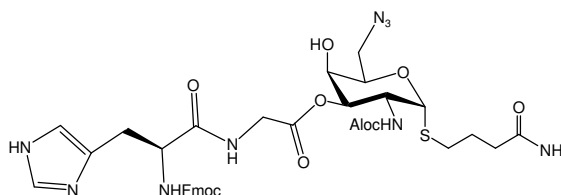
HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 20.45$ min (4%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, $R_t = 16.92$ min. Ausbeute: 1.2 mg (7.6% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 836.52$ (100%, $[3-TBSO, M+H]^+$, ber.: 836.36), 810.37 (<5%, $[M+H]^+$, ber.: 810.60), 637.38 (15%, $[M-Fmoc+Na+1]^+$, ber.: 636.27), 584.44 (25%), 263.42 (50%), 179.07 (20%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

$C_{39}H_{53}N_9O_8SSi$ (835.35)

***S*-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-*O*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl-L-glycyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (125)**

Die Synthese des Produktes wird entsprechend der Allgemeinen



Arbeitsvorschrift AAV12 zur Peptidkupplung an der festen Phase mit Fmoc-Gly-OH und Fmoc-His(Trt)-OH nacheinander durchgeführt.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 26.6 mg (>100%); farbloser amorpher Feststoff. Das HPLC-Chromatogramm zeigt zusätzliche Signale. Die entsprechenden Nebenprodukte konnte man aufgrund der geringen Mengen nicht analysieren.

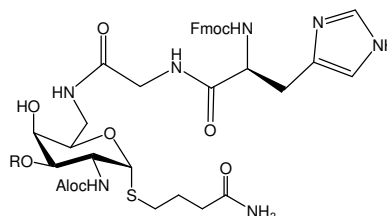
Gewünschtes Produkt **125**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 12.10 min (5%), 14.97 min (70%, **125**), 17.10 min. (17%), 20.23 min. (5%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, (Zugabe von CH₃OH), R_t = 19.15 min. Ausbeute: 6.1 mg (39.9% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 2), positiv m/z = 828.33 (100%, [M+Na]⁺, ber.: 828.28), 806.36 (24%, [M+H]⁺, ber.: 806.29), 412.16 (14%, [3-OH, M+Na]⁺, ber.: 412.13).

C₃₇H₄₃N₉O₁₀S (805.86)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl-L-glycyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (126a)



Die Synthese des Produktes wird entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV12 zur

Peptidkupplung an der festen Phase mit Fmoc-Gly-OH und Fmoc-His-OH nacheinander durchgeführt. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV15 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Triisopropylsilan als Scavenger.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 18.8 mg (>100%); farbloser amorpher Feststoff.

Während der Reaktion erhält man sowohl das gewünschte Produkt **126a** als auch das silylierte Produkt S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-O-tert-butyldimethylsilyl-6-N-(N-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-histidyl-L-glycyl)-amino-6-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (**126b**).

Gewünschtes Produkt **126a**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 12.42 min (34%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, (Zugabe von CH₃OH), R_t = 19.15 min. Ausbeute: 2.9 mg (19.6% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 916.59$ (5%, [3-TBSO, M+H]⁺, ber.: 916.37), 894.67 (100%, [M+H]⁺, ber.: 894.39), 672.59 (<5%, [3-TBSO, M-Fmoc+H]⁺, ber.: 672.32), 543.36 (60%), 466.94 (40%), 179.07 (10%, [DBF+H]⁺, ber.: 179.09).

$C_{37}H_{45}N_7O_{10}S$ (779.86)

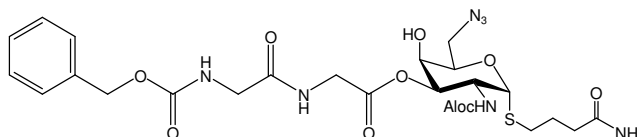
Nebenprodukt **126b**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 20.47$ min (63%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, $R_t = 46.62$ min. Ausbeute: 2.2 mg (12.9% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 916.59$ (5%, [3-TBSO, M+Na]⁺, ber.: 916.37), 894.67 (100%, [M+H]⁺, ber.: 894.39), 672.59 (<5%, [3-TBSO, M-Fmoc+H]⁺, ber.: 672.32), 543.36 (60%), 466.94 (40%), 179.07 (10%, [DBF+H]⁺, ber.: 179.09).

$C_{43}H_{59}N_7O_{10}SSi$ (893.38)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(N-benzyloxycarbonyl-L-glycyl-L-glycyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (127)



Die Synthese des Produktes wird

entsprechend der Allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV12 zur Peptidkupplung an der festen Phase mit Fmoc-Gly-OH und Z-Gly-OH nacheinander durchgeführt. Die Abspaltung vom Polymer erfolgt nach der modifizierten Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan, 5% Wasser und mit 5% Triisopropylsilan als Scavenger.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 13.7 mg (>100%); farbloser amorpher Feststoff. Das HPLC-Chromatogramm zeigt zusätzliche Signale. Die entsprechenden Nebenprodukte konnte man aufgrund zu geringer Mengen nicht analysieren.

Gewünschtes Produkt **127**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 10.67$ min (7%), 11.08 min (67%, **127**), 12.80 min. (4%), 13.40 min. (21%), bei $\lambda = 214$ nm.

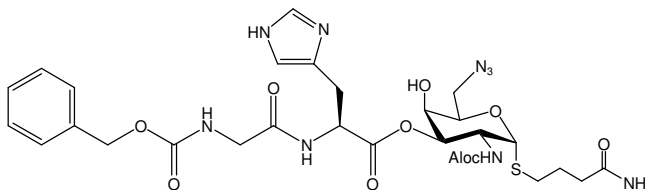
Nach der semi-präparativen HPLC Reinigung kann kein gewünschtes Produkt nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 660.30$ (20%, $[M+Na]^+$, ber.: 660.30), 91.08 (100%, $[PhCH_2]^+$, ber.: 91.05).

$C_{26}H_{35}N_7O_{10}S$ (637.66)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-6-azido-6-desoxy-3-O-(N-benzyloxycarbonyl-L-glycyl-L-histidyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäureamid (128**)**

Die Synthese des Produktes wird entsprechend der Allgemeinen



Arbeitsvorschrift AAV12 zur Peptidkupplung an der festen Phase mit Fmoc-His-OH und Z-Gly-OH nacheinander durchgeführt. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV15 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Triisopropylsilan als Scavenger.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 14.1 mg (>100%); farbloser amorpher Feststoff. Im Rohprodukt kann das gewünschte Produkt nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 1435.56$ (4%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1435.52), 740.26 (31%, $[M+Na]^+$, ber.: 740.24), 718.26 (100%, $[M+H]^+$, ber.: 718.26), 412.14 (5%, $[3-OH, M+Na]^+$, ber.: 412.13).

Das HPLC-Chromatogramm zeigt zusätzliche Signale. Die entsprechenden Nebenprodukte können wegen zu geringer Mengen und geringer Löslichkeit nicht analysiert werden.

Gewünschtes Produkt **128**:

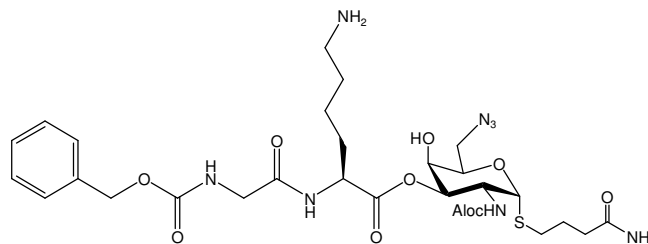
HPLC: analytische HPLC: Gradient C, $R_t = 11.32$ min (30%, **128**), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, (Zugabe von CH_3OH), $R_t = 20.63$ min. Ausbeute: 1.8 mg (13.2% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 756.17$ (20%, $[M+K]^+$, ber.: 756.22), 740.20 (100%, $[M+Na]^+$, ber.: 740.24), 412.14 (5%, $[3-OH, M+Na]^+$, ber.: 412.13).

$C_{30}H_{39}N_9O_{10}S$ (717.75)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-N-(N-benzyloxycarbonyl-L-glycyl-L-lysyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (129)

Die Synthese des Produktes wird entsprechend der Allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV12 zur Peptidkupplung an der festen Phase



mit Fmoc-Lys(Boc)-OH und Z-Gly-OH durchgeführt. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV15 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Triisopropylsilan als Scavenger.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 17.0 mg (>100%); farbloser amorpher Feststoff. Im Rohprodukt kann das gewünschte Produkt nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 1417.59$ (1%, $[2M+Na]^+$, ber.: 1417.59), 731.28 (16%, $[M+Na]^+$, ber.: 731.28), 709.27 (100%, $[M+H]^+$, ber.: 709.30), 412.13 (<5%, $[3-OH, M+Na]^+$, ber.: 412.13).

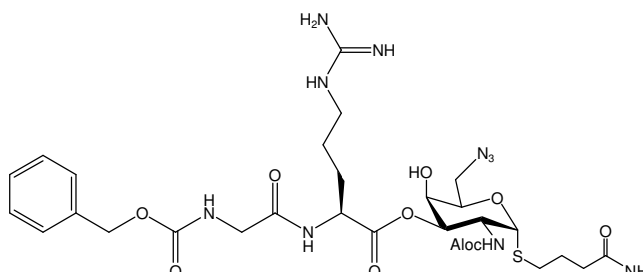
Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere Signale. Das Produkt konnte nicht isoliert werden.

HPLC: analytische HPLC: Gradient C, $R_t = 8.63$ min (7%), 11.37 min (36%), 11.68 (21%), 19.33 min. (19%), 25.77 min. (4%), 28.35 min (8%), bei $\lambda = 214$ nm.

$C_{30}H_{44}N_8O_{10}S$ (708.78)

S-[6-Azido-6-desoxy-2-N-(N-benzyloxycarbonyl-L-glycyl-L-arginyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäureamid (130)

Die Synthese des Produktes wird entsprechend der Allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV12 zur Peptidkupplung an der festen Phase



mit Fmoc-Arg(Pmc)-OH und Z-Gly-OH durchgeführt. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV15 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Triisopropylsilan als Scavenger.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 14.8 mg (>100%); farbloser amorpher Feststoff. Im Rohprodukt kann das gewünschte Produkt nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 2), positiv $m/z = 737.30$ (100%, $[M+H]^+$, ber.: 737.30), 412.14 (<5%, $[3-OH, M+Na]^+$, ber.: 412.13).

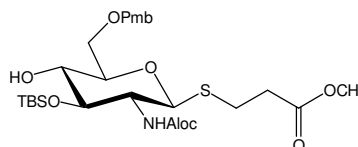
Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere Signale. Das Produkt konnte nicht isoliert werden.

HPLC: analytische HPLC: Gradient C, $R_t = 8.50$ min (6%), 10.47 min (5%), 11.60 min. (10%), 11.90 min. (18%), 18.85 (4%), 19.32 (49%), 25.75 (6%), bei $\lambda = 214$ nm.
 $C_{30}H_{44}N_{10}O_{10}S$ (736.80)

6.17 Synthesen zum Kapitel 3.4.2

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-*O*-*p*-methoxybenzyliden- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäuremethylester (**132**)

4.14 g (6.9 mmol) des 3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4,6-*O*-*p*-methoxy-



benzyliden- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäuremethylesters (**131**)⁵² werden in 150 mL absol. Tetrahydrofuran gelöst und 10 min über Molekülsieb 4 Å (Kugeln, 100-200 Mesh) vorgerührt. Anschließend werden 3.02 g (41.4 mmol) Boran-Trimethylamin-Komplex zugegeben, bevor man 5.52 g (41.4 mmol) Aluminiumtrichlorid bei Raumtemperatur zusetzt wird. Nach 20 min ist der Umsatz vollständig (dünnschichtchromatographische Kontrolle (Cyclohexan: EtOAc, 1:1 $R_f = 0.57$)). Das Molekülsieb wird abfiltriert. Zur Lösung werden 100 mL Essigsäureethylester zugegeben. Die organische Phase wird nacheinander mit 150 mL ges. $NaHCO_3$ -Lösung und 150 mL $NaCl$ -Lösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen werden dreimal mit jeweils 100 mL Essigsäureethylester extrahiert. Man vereinigt die organischen Phasen, trocknet über $MgSO_4$ und entfernt das Lösungsmittel vollständig i. Vak. Das gelbe Öl wird mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Cyclohexan: EtOAc, 3:1 $R_f = 0.16$).

52

J. Ohnsmann, *Dissertation* 2006, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

Ausb.: 2.66 g, (4.4 mmol, 63.8% [60% - 80%]); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20} = -25.0$ ($c = 1.0$, CHCl_3); $R_f = 0.10$ (Cyclohexan: EtOAc = 3:1).

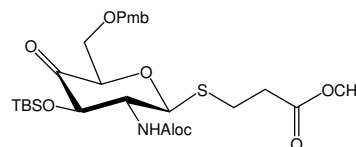
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, CDCl_3), δ [ppm]: 7.26 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.88 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.89 (m_c, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc); 5.30 (dd, $^3J = 17.2$, $^2J = 1.2$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (trans)); 5.20 (dd, $^3J = 10.4$, $^2J = 1.1$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (cis)); 4.75 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 1H, NH-C2); 4.67 (d, $^3J = 10.2$ Hz, 1H, H1); 4.57-4.51 (m, 3H, $\text{H}_{\text{Alkyl-a}}$ Pmb; $-\text{CH}_2-$, Aloc); 4.47 (d, $^2J = 11.6$ Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Alkyl-b}}$ Pmb); 3.69 (m_c, 3H, H3, H6); 3.80 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.66 (s, 3H, COOCH_3); 3.50 (m_c, 1H, H5); 3.45 (m_c, 1H, H4); 3.36 (m_c, 1H, H2); 2.95 (m_c, 1H, SCH_{2a}); 2.88 (m_c, 2H, SCH_{2b}); 0.86 (s, 9H, $\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 0.10 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.06 (s, 3H, CH_3 , TBS).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, HMQC, CDCl_3), δ [ppm]: 172.6 (C=O, Ester); 159.5 (C_{para} -Pmb); 155.6 (C=O, Aloc); 132.8 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$, Aloc); 129.9 (C_{ipso} -Pmb); 129.6 (C_{meta} -Pmb); 118.0 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$, Aloc); 114.0 (C_{ortho} -Pmb); 84.7 (C1); 77.4 (C4); 76.6 (C3); 73.7 (C5); 73.5 (CH_2 -Pmb); 65.8 (CH_2 , Aloc); 70.0 (C6); 57.3 (C2); 55.4 (OCH_3 -Pmb); 51.9 (COOCH_3); 35.4 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 25.9 ($\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 25.4 (SCH_2); 18.3 ($\text{C}^{\text{tert-Bu}}$, TBS); -4.0 (CH_3 , TBS); -4.7 (CH_3 , TBS).

FD-MS, positiv $m/z = 599.3$ (100 %, $[\text{M}]^+$, ber.: 599.3); 542.3 (62 %, $[\text{M-tert-Bu+H}]^+$, ber.: 542.2).

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

3-[2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-keto-6-*O*-*p*-methoxybenzyliden- β -D-glucopyranosylmercapto]-propionsäuremethylester (134)



Ein 100 mL- Zweihalskolben mit Magnetührer, Septum

und Hahnaufsatz wird auf ca. 10 mbar evakuiert und mit einer Heissluftpistole ausgeheizt. Nach dem Abkühlen füllt man mit Argon, evakuiert und begast ein zweites Mal. Unter Schutzgas werden anschließend mit einer Injektionspritze 35 mg (0.024 mL, 0.275 mmol) Oxalylchlorid zu 15 mL absol. Dichlormethan gegeben. Man kühlt auf -78°C ab und gibt nach einigen Minuten unter Rühren 43 mg (0.039 mL, 0.55 mmol) Dimethylsulfoxid zu. Nach 5 min werden tropfenweise innerhalb von 10 min 150 mg (0.25 mmol) des Monosaccharids **132** in 15 mL absol. Dichlormethan zugesetzt.

Anschließend versetzt man die Lösung nach weiteren 15 min mit 0.126 mg (0.16 mL, 1.25 mmol) Triethylamin, rührt 5 min und lässt langsam auf Raumtemperatur erwärmen. Nach ca. 1 h ist der Umsatz vollständig ($R_f = 0.60$, Cyclohexan: EtOAc = 1:1). Zur Reaktionslösung werden 20 mL Wasser zugegeben. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit 20 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden nacheinander mit jeweils 35 mL ges. NaCl-Lösung, 35 mL 1 N HCl-Lösung, 35 mL Wasser und mit 35 mL ges. NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Trockenmittels wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt ($R_f = 0.45$, Cyclohexan: EtOAc = 6:1).

Ausb.: 91 mg, (0.152 mmol, 60.8%); farbloses Öl; $[\alpha]_D^{20} = 18.1$ ($c = 1.0$, CHCl₃); $R_f = 0.14$ (Cyclohexan: EtOAc = 3:1).

¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃), δ [ppm]: 7.26 (d, ³ $J = 8.7$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.87 (d, ³ $J = 8.7$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.89 (m_c, 1H, CH₂=CH-, Aloc); 5.40 (d, ³ $J = 10.2$ Hz, 1H, H1); 5.31 (dd, ³ $J = 17.2$, ² $J = 1.4$ Hz, 1H, CH₂=CH-, Aloc, (trans)); 5.22 (dd, ³ $J = 10.4$, ² $J = 1.3$ Hz, 1H, CH₂=CH-, Aloc, (cis)); 5.20 (m_c, 1H, NH-C2); 4.73 (d, ³ $J = 9.8$ Hz, 1H, H3); 4.55 (m_c, -CH₂-, Aloc); 4.53 (d, ² $J = 11.7$ Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.47 (d, ² $J = 11.6$ Hz, 1H, H_{Alkyl-b} Pmb); 4.17 (m_c, 1H, H5); 3.93 (dd, ³ $J = 11.0$ Hz, ² $J = 3.5$ Hz, 1H, H_{6a}); 3.80 (s, 3H, OCH₃-Pmb); 3.67 (s, 3H, COOCH₃); 3.63 (dd, ³ $J = 11.0$ Hz, ² $J = 7.0$ Hz, 1H, H_{6a}); 3.41 (m_c, 1H, H2); 3.00 (m_c, 1H, SCH₂CH_{2a}); 2.93 (m_c, 1H, SCH₂CH_{2b}); 2.75-2.66 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 0.89 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.1 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.01 (s, 3H, CH₃, TBS).

¹³C-NMR (100.6 MHz, HMQC, CDCl₃), δ [ppm]: 200.7 (C=O, Keton, C4); 172.5 (C=O, Ester); 159.4 (C_{para}-Pmb); 155.3 (C=O, Aloc); 132.9 (-CH=CH₂, Aloc); 130.1 (C_{ipso}-Pmb); 129.8 (C_{meta}-Pmb); 118.2 (-CH=CH₂, Aloc); 113.9 (C_{ortho}-Pmb); 83.6 (C1); 80.7 (C5); 76.4 (C3); 73.4 (CH₂-Pmb); 67.7 (C6); 66.0 (CH₂, Aloc); 61.8 (C2); 55.4 (OCH₃-Pmb); 54.4 (C2); 52.0 (COOCH₃); 35.4 (CH₂COOCH₃); 29.9 (SCH₂); 25.9 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 18.5 (C^{tert-Bu}, TBS); -4.4 (CH₃, TBS); -5.5 (CH₃, TBS).

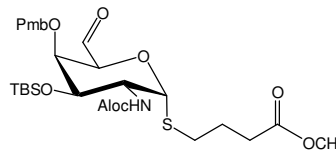
FT-IR (KBr) $\nu_{\max}$ [cm⁻¹]: 1738 (C=O, Ester); 1697 (C=O, Keton).

ESI-MS (Gerät 1), positiv $m/z = 620.3$ (80 %, [M+Na]⁺, ber.: 620.2); 636.2 (10 %, [M+K]⁺, ber.: 636.2).

C₂₈H₄₃NO₉SSi (597.79)

6.18 Synthesen zum Kapitel 3.5.1

S-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-O-tert-butyltrimethylsilyl-4-O-p-methoxybenzyl- α -D-galactodialdopyranosyl)-4-mercaptobuttersäuremethylester (135)



In einem Einhalskolben werden unter Argonatmosphäre

1.56 g (2.55 mmol.) des Monosaccharids **29** in 80 mL absol. Dichlormethan gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu der farblosen Mischung tropft man nun 6.45 mL einer 15%igen Lösung von *Dess-Martin*-Periodinan in Dichlormethan (8.64 g, 3.06 mmol) und entfernt nach 5 Minuten unter Rühren das Eisbad. Man lässt die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur kommen. Nach 1.5 h ist der Umsatz vollständig (Cyclohexan/EtOAc = 1:1, R_f = 0.63). Man versetzt mit dem gleichen Volumen an Natriumhydrogencarbonatlösung und extrahiert dreimal mit Dichlormethan. Die leicht gelbliche organische Phase wird über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak entfernt. Das zurückbleibende feste, braun-grünliche Rohprodukt wird durch Flashchromatographie an Kieselgel gereinigt (Cyclohexan: EtOAc = 2:1, R_f = 0.51).

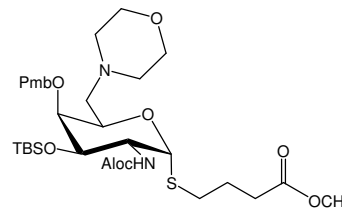
Ausb.: 1.24 mg, (2.02 mmol, 79.4%); leicht gelber amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23}$ = 92.1 (c = 1.0, $CHCl_3$); R_f = 0.63 (Cyclohexan: EtOAc = 1:1; R_f = 0.51 (Cyclohexan: EtOAc = 2:1).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$), δ [ppm] = 9.66 (bs, 1H, CHO); 7.23 (d, 3J = 8.40 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.86 (d, 3J = 8.60 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.97-5.87 (m, 1H, $CH_2=CH$ -, Aloc); 5.45-5.43 (m, 1H, H1); 5.32 (d, 3J = 16.0 Hz, 1H, $CH_2=CH$ -, Aloc, (trans)); 5.22 (d, 3J = 9.4 Hz, 1H, $CH_2=CH$ -, Aloc, (cis)); 4.97 (bs, 1H, $H_{Alkyl-a}$ Pmb); 4.60-4.56 (m, 3H, m, 3H, H2, $-CH_2$ -, Aloc); 4.43 (d, 2J = 11.1 Hz, 1H, $H_{Alkyl-b}$ Pmb); 4.04 (s, 1H, H5); 3.80 (s, 4H, H3, OCH_3 -Pmb); 3.66 (s, 4H, H4, $COOCH_3$); 2.77-2.69 (m, 2H, SCH_2CH_2); 2.44 (t, 3J = 7.2 Hz, 2H, 2H, CH_2COOCH_3); 2.00 (m_c, 2H, 2H, SCH_2CH_2); 0.89 (s, 9H, $CH_3^{tert-Bu}$, TBS); 0.13 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.12 (s, 3H, CH_3 , TBS).

$C_{29}H_{45}NO_9SSi$ (611.82)

***S*-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-(*N*-morpholino)-6-desoxy-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- α -D-galactopyranosyl)-4-mercaptoputtersäuremethylester (136)**

99 mg (0.162 mmol) des Aldehyds **135** werden unter Argonatmosphäre in 20 mL absol. 1,2-Dichlorethan gelöst und 0.015 mL (14.7 mg, 0.167 mmol) Morpholin zugetropft.



Unter Rühren gibt man portionsweise 48.5 mg (0.229 mmol)

festes Natriumtriacetoxymborhydrid zu und lässt eine Stunde bei Raumtemperatur rühren. Nach 45 min ist der Umsatz komplett (Cyclohexan:Essigsäureethylester = 2:1, R_f = 0.02). Anschließend versetzt man mit dem gleichen Volumen an gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Extrakte über $MgSO_4$ getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak., und es bleibt ein hellgelber amorpher Feststoff zurück. Auf eine säulenchromatographische Reinigung wird verzichtet.

Ausb.: 112.0 mg, (0.159 mmol, 98.5%); hellgelber amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23} = 97.0$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$); $R_f = 0.02$ (Cyclohexan: EtOAc = 2:1).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$), δ [ppm] = 7.27 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.86 (d, $^3J = 8.60$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.97-5.86 (m, 1H, $CH_2=CH-$, Aloc); 5.32-5.29 (m, 2H, H1, $CH_2=CH-$, Aloc, (trans)); 5.20 (d, $^3J = 10.4$ Hz, , $CH_2=CH-$, Aloc, (cis)); 4.97 (d, $^2J = 10.9$ Hz, 1H, $H_{Alkyl-a}$ Pmb); 4.59-4.53 (m, 3H, H2, $-CH_2-$, Aloc); 4.46 (d, $^2J = 11.1$ Hz, 1H, $H_{Alkyl-b}$ Pmb); 4.21-4.17 (m, 1H, H5); 3.80 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.71-3.61 (m, 9H, H3, H4, CH_2OCH_2 , $COOCH_3$); 2.73-2.54 (m, 3H, H6_a, SCH_2CH_2); 2.49-2.31 (m, 7H, H6_b, CH_2NCH_2 , CH_2COOCH_3); 1.92 (m_c, 2H, 2H, SCH_2CH_2); 0.91 (s, 9H, $CH_3^{tert-Bu}$, TBS); 0.14 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.11 (s, 3H, CH_3 , TBS).

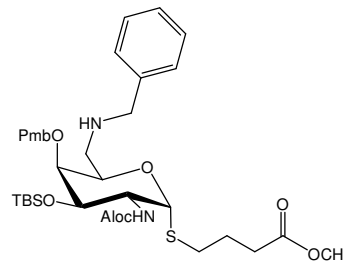
^{13}C -NMR (100.6 MHz, HSQC, $CDCl_3$), δ [ppm]: 173.2 (C=O, Ester); 159.2 (C_{para} -Pmb); 155.5 (C=O, Aloc); 132.9 ($-CH=CH_2$, Aloc); 130.9 (C_{ipso} -Pmb); 129.5 (C_{meta} -Pmb); 117.6 ($-CH=CH_2$, Aloc); 113.7 (C_{ortho} -Pmb); 86.5 (s_b, C1); 77.7 (C4); 74.7 (CH_2 -Pmb); 72.5 (C3); 69.2 (C5); 69.1 (CH_2OCH_2); 66.0 (CH_2 , Aloc); 58.9 (C6); 55.3 (OCH_3 -Pmb); 53.6 (CH_2NCH_2); 51.6 (C2); 51.5 ($COOCH_3$); 32.6 (CH_2COOCH_3); 31.1 (SCH_2CH_2); 25.7 ($CH_3^{tert-Bu}$, TBS); 24.8 (SCH_2CH_2); 17.9 ($C^{tert-Bu}$, TBS); -4.0 (CH_3 , TBS); -5.0 (CH_3 , TBS).

ESI-MS (Gerät 2), positiv $m/z = 683.31$ (100 %, $[M+H]^+$, ber.: 683.34).

$C_{33}H_{54}N_2O_9SSi$ (682.94)

***S*-(2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-6-benzylamino-6-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-4-*O*-*p*-methoxybenzyl- α -D-galactopyranosyl)-4-mercaptobuttersäuremethylester (137)**

99 mg (0.162 mmol) des Aldehyds **135** werden unter Argonatmosphäre in 15 mL absol. 1,2-Dichlorethan gelöst und 0.018 mL (17.6 mg, 0.164 mmol) Benzylamin zugetropft. Unter Rühren gibt man portionsweise 48.50 mg (0.229 mmol) festes Natriumtriaceoxyborhydrid zu und lässt eine Stunde bei Raumtemperatur rühren. Nach 45 min ist der Umsatz vollständig (Cyclohexan:EtOAc = 2:1, $R_f = 0.04$). Man versetzt mit dem gleichen Volumen an gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert, und die vereinigten organischen Extrakte werden über $MgSO_4$ getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und erhält ein hellgelber amorpher Feststoff. Auf eine säulenchromatographische Reinigung wird verzichtet.



Ausb.: 102.8 mg, (0.151 mmol, 93.0%); hellgelber amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23} = 88.4$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$); $R_f = 0.04$ (Cyclohexan: EtOAc = 2:1).

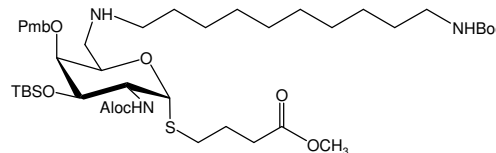
1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$), δ [ppm] = 7.36-7.30 (m, 7H, H_{Aryl} Pmb, Ph); 6.86 (d, $^3J = 8.60$ Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.97-5.87 (m, 1H, $CH_2=CH-$, Aloc); 5.34-5.29 (m, 2H, H1, $CH_2=CH-$, Aloc, (trans)); 5.20 (d, $^3J = 10.4$ Hz, , $CH_2=CH-$, Aloc, (cis)); 4.97 (d, $^2J = 10.9$ Hz, 1H, $H_{Alkyl-a}$ Pmb); 4.59-4.50 (m, 3H, m, 3H, H2, $-CH_2-$, Aloc); 4.46 (d, $^2J = 11.1$ Hz, 1H, $H_{Alkyl-b}$ Pmb); 4.19-4.16 (m, 1H, H5); 3.79 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.74-3.61 (m, 7H, H3, H4, CH_2 -Ph, $COOCH_3$); 2.94-2.87 (m, 1H, $SCH_{2a}CH_2$); 2.73-2.55 (m, 2H, H6_{ab}, SCH_2CH_2); 2.39 (t, $^3J = 7.2$ Hz, 2H, 2H, CH_2COOCH_3); 2.00 (m_c, 2H, 2H, SCH_2CH_2); 0.92 (s, 9H, $CH_3^{tert-Bu}$, TBS); 0.15 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.12 (s, 3H, CH_3 , TBS).

ESI-MS (Gerät 2), positiv $m/z = 703.2$ (100 %, $[M+H]^+$, ber.: 703.34).

$C_{36}H_{54}N_2O_8SSi$ (702.97)

S-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-6-(10'-N-tert-butyloxycarbonyldecyl)-6-amino-6-desoxy-4-O-p-methoxybenzyl- α -D-galactopyranosyl)-4-mercaptobuttersäuremethylester (138)

92.2 mg (0.151 mmol) des Monosaccharids **135** werden unter Argonatmosphäre zusammen mit 41.5 mg (0.152 mmol) 10-N-(tert-butyloxycarbonyl)-decylamin^{208,209} in ca. 20 mL absol. 1,2-Dichlorethan gelöst. Portionsweise gibt man 44.7 mg (0.211 mmol) festes Natriumtriacetoxyborhydrid zu und lässt eine Stunde bei Raumtemperatur rühren. Nach 30 min ist der Umsatz vollständig (Cyclohexan:EtOAc = 2:1, R_f = 0.01). Anschließend versetzt man mit dem gleichen Volumen an gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und trennt die organische Phase. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Extrakte werden über $MgSO_4$ getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und es bleibt ein hellgelber amorpher Feststoff zurück. Auf eine säulenchromatographische Reinigung wird verzichtet.



Ausb.: 130.1 mg, (0.131 mmol, 99.4%); hellgelber amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23}$ = 65.5 (c = 1.0, $CHCl_3$); R_f = 0.01 (Cyclohexan: EtOAc = 2:1).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$), δ [ppm] = 7.28-7.22 (m, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.86 (d, 3J = 8.5 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.99-5.84 (m, 1H, $CH_2=CH-$, Aloc); 5.34-5.26 (m, 2H, H_1 , $CH_2=CH-$, Aloc, (trans)); 5.20 (d, 3J = 10.3 Hz, $CH_2=CH-$, Aloc, (cis)); 4.95 (d, 2J = 11.4 Hz, 1H, $H_{Alkyl-a}$ Pmb); 4.61-4.46 (m, 3H, H_2 , $-CH_2-$, Aloc); 4.48 (d, 2J = 11.4 Hz, 1H, $H_{Alkyl-a}$ Pmb); 4.17-4.12 (m, 1H, H_5); 3.79 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.73-3.63 (m, 5H, H_3 , H_4 , $COOCH_3$); 3.11-3.07 (m, 2H, CH_2NHBoc); 2.90-2.81 (m, 1H, H_{6a}); 2.74-2.38 (m, 7H, H_{6b} , $NHCH_2(CH_2)_9NHBoc$, SCH_2CH_2 , CH_2COOCH_3); 1.95-1.88 (m, 2H, 2H, SCH_2CH_2); 1.43 (s, 11H, CH_2CH_2NHBoc , $CH_3^{tert-Bu}$, Boc); 1.24 (m_c , 14H, $NH_2CH_2(CH_2)_9CH_2CH_2NHBoc$); 0.91 (s, 9H, $CH_3^{tert-Bu}$, TBS); 0.14 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.11 (s, 3H, CH_3 , TBS).

^{13}C -NMR (100.6 MHz, HSQC, $CDCl_3$), δ [ppm]: 173.2 (C=O, Ester); 159.3 (C_{para} -Pmb); 156.0, 155.5 (2 x C=O, Aloc, Boc); 132.8 ($-CH=CH_2$, Aloc); 130.7 (C_{ipso} -Pmb); 129.7 (C_{meta} -Pmb); 117.5 ($-CH=CH_2$, Aloc); 113.9 (C_{ortho} -Pmb); 86.7 (s_b , C1); 77.1 (C4); 75.0 (CH_2 -Pmb); 72.6 (C3); 71.0 (C5); 65.8 (CH_2 , Aloc); 55.3 (OCH_3 -Pmb); 51.9

208

D. Muller, I. Zeltser, G. Bitan, C. Gilon, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 411-416.

209

J. -F. Pons, J. -L. Fauchere, F. Lamaty, A. Molla, R. Lazaro, *Europ. J. Chem.* **1998**, 853-859.

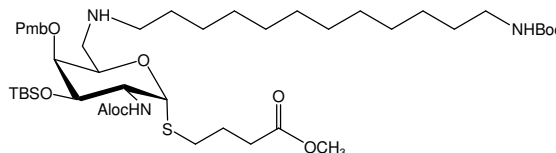
(C2); 51.6 (COOCH₃); 50.7 (CH₂NH); 40.6(CH₂NHBoc); 32.4 (CH₂COOCH₃); 31.1 (SCH₂CH₂); 25.8 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 25.0 (SCH₂CH₂); 30.3, 30.0, 28.1, 27.7, 26.5 (8 x CH₂); 28.4 (C^{tert-Bu}, Boc); 18.0 (C^{tert-Bu}, TBS); -4.0 (CH₃, TBS); -5.0 (CH₃, TBS).

FD-MS, positiv m/z = 868.5 (100 %, [M]⁺, ber.: 868.52)

C₄₄H₇₇N₃O₁₀SSi (868.25)

S-(2-N-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-O-tert-butyltrimethylsilyl-6-(12'-N-tert-butyloxycarbonyldodecyl)-6-amino-6-desoxy-4-O-p-methoxybenzyl-α-D-galactopyranosyl)-4-mercaptoputtersäuremethylester (139)

80.3 mg (0.131 mmol) des Aldehyds **135** werden unter Argonatmosphäre zusammen mit 39.9 mg (0.133 mmol) 12-N-(tert-butyloxycarbonyl)-dodecylamin^{208,209} in ca. 20 mL absol. 1,2-Dichlorethan gelöst. Portionsweise gibt man 39.0 mg (0.184 mmol) festes Natriumtriacetoxymethoxyborhydrid zu und lässt eine Stunde bei Raumtemperatur rühren. Nach 30 min ist der Umsatz komplett (Cyclohexan:EtOAc = 2:1, R_f = 0.02). Anschließend versetzt man mit dem gleichen Volumen an gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und trennt die organische Phase. Die wässrige Phase wird dreimal mit je 20 mL Dichlormethan gewaschen und die vereinigten organischen Extrakte über MgSO₄ getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel i. Vak., und es bleibt ein hellgelber amorpher Feststoff zurück. Auf eine säulenchromatographische Reinigung wird verzichtet.



Ausb.: 117.5 mg, (0.131 mmol, 99.9%); hellgelber amorpher Feststoff; $[\alpha]_D^{23}$ = 60.9 (c = 1.0, CHCl₃); R_f = 0.02 (Cyclohexan:EtOAc = 2:1).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), δ [ppm] = 7.28-7.22 (m, 2H, H_{Aryl} Pmb); 6.86 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, H_{Aryl} Pmb); 5.99-5.84 (m, 1H, CH₂=CH-, Aloc); 5.37-5.27 (m, 2H, H1, CH₂=CH-, Aloc, (trans)); 5.20 (d, ³J = 10.6 Hz, CH₂=CH-, Aloc, (cis)); 4.95 (d, ²J = 11.0 Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.61-4.45 (m, 4H, H2, H_{Alkyl-b} Pmb, -CH₂-, Aloc); 4.17-4.12 (m, 1H, H5); 3.79 (s, 3H, OCH₃-Pmb); 3.73-3.63 (m, 5H, H3, H4, COOCH₃); 3.11-3.07 (m, 2H, CH₂NHBoc); 2.87 (m_c, 1H, H6_a); 2.66 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 2.60 (m_c, 1H, H6_b); 2.51 (m_c, 2H, NHCH₂(CH₂)₁₁NHBoc); 2.42 (t, ³J = 7.3 Hz, CH₂COOCH₃); 1.93 (m_c,

²⁰⁸

D. Muller, I. Zeltser, G. Bitan, C. Gilon, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 411-416.

²⁰⁹

J. -F. Pons, J. -L. Fauchere, F. Lamaty, A. Molla, R. Lazaro, *Europ. J. Chem.* **1998**, 853-859.

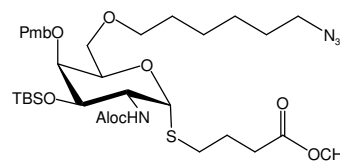
2H, 2H, SCH₂CH₂); 1.43 (s, 11H, CH₂CH₂NHBoc, CH₃^{tert-Bu}, Boc); 1.24 (m_c, 18H, NH₂CH₂(CH₂)₉CH₂CH₂NHBoc); 0.91 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.14 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.11 (s, 3H, CH₃, TBS).

¹³C-NMR (100.6 MHz, HSQC, CDCl₃), δ [ppm]: 173.3 (C=O, Ester); 159.2 (C_{para}-Pmb); 156.0, 155.5 (2 x C=O, Aloc, Boc); 132.8 (-CH=CH₂, Aloc); 130.7 (C_{ipso}-Pmb); 129.8 (C_{meta}-Pmb); 117.8 (-CH=CH₂, Aloc); 113.7 (C_{ortho}-Pmb); 86.5 (s_b, C1); 77.3 (C4); 74.6 (CH₂-Pmb); 72.5 (C3); 70.9 (C5); 65.8 (CH₂, Aloc); 55.4 (OCH₃-Pmb); 51.9 (C2); 51.6 (COOCH₃); 50.5 (CH₂NH); 40.6(CH₂NHBoc); 32.5 (CH₂COOCH₃); 31.1 (SCH₂CH₂); 25.8 (CH₃^{tert-Bu}, TBS); 25.0 (SCH₂CH₂); 30.1, 29.6, 28.0, 27.5, 26.7 (10 x CH₂); 28.2 (C^{tert-Bu}, Boc); 17.9 (C^{tert-Bu}, TBS); -4.0 (CH₃, TBS); -5.0 (CH₃, TBS).

FD-MS, positiv m/z = 896.5 (100 %, [M]⁺, ber.: 896.55).

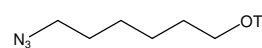
C₄₆H₈₁N₃O₁₀SSi (896.30)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-6-O-(6'-azidoheptyl)-3-O-tert-butylidimethylsilyl-4-O-p-methoxybenzyl-α-D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäuremethylester (140)



Synthese Trifluormethanesulfonsäure-6-azido-hexyl-esters (141)

Zu einer 35 mL absol. Dichlormethan Lösung bestehend aus 0.102 g (0.71 mmol) 6-Azido-1-hexanol³⁶ und 0.146 g (0.71 mmol) 2,6-Di-tert-butylmethylpyridin werden 0.118 mL (0.200 g, 0.71 mmol) des Trifluormethansulfonsäureanhydrids bei Raumtemperatur zugetropft. Nach 15 min wird die Reaktionslösung auf 50 mL wässriger ges. NaHCO₃-Lösung gegossen, die Phasen werden getrennt und die organische Phase mit 50 mL ges. NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wird die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel vollständig i. Vak. entfernt. Das Rohtriflat wird direkt in der darauffolgenden Reaktion eingesetzt.



0.287 g (0.47 mmol) des Monosaccharids **29** und das wie im vorhergehenden Paragraph beschrieben frisch hergestellte Rohtriflat **141** werden in 20 mL absol. Dichlormethan gelöst und mit 11 mg (0.47 mmol) Natriumhydrid bei Raumtemperatur versetzt. Nach 16 h wird ein weiteres Äquivalent des Triflats (0.71 mmol) synthetisiert und zum

Reaktionsgemisch zugegeben. Nach einer Stunde wird die Reaktionslösung auf 20 mL wässrige ges. NaHCO₃-Lösung gegossen, die Phasen werden getrennt und die organische Phase wird mit 20 mL ges. Ammoniumchlorid-Lösung gewaschen. Die wässrigen Phasen werden mit jeweils 20 mL Dichlormethan extrahiert. Anschließend werden die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel vollständig i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Cyclohexan: EtOAc, 1:1 R_f = 0.64).

Ausb.: 127 mg, (0.17 mmol, 36%); hell gelbes Öl; $[\alpha]_D^{20} = 86.8$ (c = 1.0, CHCl₃).

¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃), δ [ppm]: = 7.28 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, Pmb); 6.86 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, Pmb); 5.91 (m_c, 1H, CH₂=CH-, Aloc); 5.31 (m_c, 2H, H1, CH₂=CH-, Aloc, (trans)); 5.20 (d, ³J = 10.4 Hz, 1H, CH₂=CH-, Aloc, (cis)); 4.95 (d, ²J = 10.9 Hz, 1H, H_{Alkyl-a} Pmb); 4.67 (d, ³J = 9.4 Hz, 1H, NH-C2); 4.56 (m_c, 3H, H2, -CH₂-, Aloc); 4.44 (d, ²J = 10.9 Hz, 1H, H_{Alkyl-b} Pmb); 4.21 (t, ³J = 6.2 Hz, 1H, H5); 3.79 (s, 3H, OCH₃-Pmb); 3.71 (m_c, 2H, H3, H4); 3.66 (s, 3H, COOCH₃); 3.47 (m_c, 2H, OCH₂CH₂); 3.39 (m_c, 1H, H_{6a}); 3.33 (m_c, 1H, H_{6b}); 3.25 (m, 2H, CH₂CH₂N₃); 2.64 (m, 2H, SCH₂CH₂); 2.45-2.38 (m, 2H, CH₂COOCH₃); 1.97-1.88 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 1.65-1.50 (m, 4H, 2 x CH₂, Hexyl); 1.40-1.32 (m, 4H, 2 x CH₂, Hexyl); 0.90 (s, 9H, CH₃^{tert-Bu}, TBS); 0.14 (s, 3H, CH₃, TBS); 0.11 (s, 3H, CH₃, TBS).

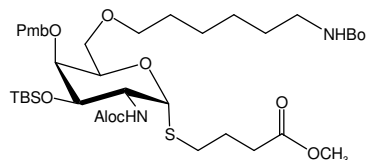
FD-MS, positiv $m/z = 739.2$ (100 %, [M+H]⁺, ber.: 739.38).

FT-IR (KBr) $\nu_{\max}$ [cm⁻¹]: 2932, 2858 (CH₂CH₂); 2096 (N₃).

C₃₅H₅₈N₄O₉SSi (739.01)

S-[2-N-(Allyloxycarbonyl)-2-amino-2-desoxy-3-O-tert-butylidimethylsilyl-6-O-(6'-N-tert-butyloxycarbonylamino-hexyl)-4-O-p-methoxybenzyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptoputtersäuremethylester (143)

127 mg (0.17 mmol) des Monosacharids **140** werden in 3 mL absol. N, N-Dimethylformamid gelöst und mit 0.13 mL 0.103 g (0.103 g, 0.51 mmol) Tri-*n*-butylphosphin bei



Raumtemperatur versetzt. Nach 10 min ist der Umsatz vollständig. Zum Gemisch werden 1 mL Wasser und 1 mL Triethylamin zugegeben. Anschließend wird das Lösungsmittel vollständig i. Vak entfernt. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung umgehend umgesetzt. Man löst das Rohprodukt in 10 mL Methanol, gibt 24

μL (19 mg, 0.19 mmol) Triethylamin und 41 mg (0.19 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat bei Raumtemperatur hinzu. Das Reaktionsgemisch wird 17 h gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel vollständig i. Vak entfernt und das Produkt mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Cyclohexan:EtOAc, 3:1 R_f = 0.10).

Ausb.: 28 mg, (0.03 mmol, 17.6%); hell gelbes Öl; $[\alpha]_D^{20}$ = 75.3 (c = 1.0, CHCl_3);

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, CDCl_3), δ [ppm]: = 7.28 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, Pmb); 6.86 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, Pmb); 5.91 (m_c , 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc); 5.30 (m_c , 2H, H1, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (trans)); 5.20 (d, 3J = 10.4 Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH-}$, Aloc, (cis)); 4.94 (d, 2J = 10.9 Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Alkyl-a}}$ Pmb); 4.67 (d, 3J = 9.4 Hz, 1H, NH-C2); 4.56 (m_c , 4H, H2, - CH_2- , Aloc, NH-Carbamat); 4.44 (d, 2J = 10.9 Hz, 1H, $\text{H}_{\text{Alkyl-b}}$ Pmb); 4.20 (t, 3J = 6.2 Hz, 1H, H5); 3.80 (s, 3H, OCH_3 -Pmb); 3.74 (m_c , 2H, H3, H4); 3.66 (s, 3H, COOCH_3); 3.46 (m_c , 2H, OCH_2CH_2); 3.37 (m_c , 1H, H_{6a}); 3.31 (m_c , 1H, H_{6b}); 3.12-3.05 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$); 2.72-2.56 (m, 2H, SCH_2CH_2); 2.42 (t, 3J = 7.3 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 1.96-1.88 (m_c , 2H, SCH_2CH_2); 1.51 (m_c , 2H, CH_2 , Hexyl); 1.43 (s, 11H, CH_2 , Hexyl, $\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, Boc); 1.31 (m_c , 4H, 2 x CH_2 , Hexyl); 0.90 (s, 9H, $\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 0.14 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.11 (s, 3H, CH_3 , TBS).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, HSQC, CDCl_3), δ [ppm]: 173.5 (C=O, Ester); 159.6 (C_{para} -Pmb); 156.1, 155.6 (2 x C=O, Aloc, Boc); 132.9 (- $\text{CH}=\text{CH}_2$, Aloc); 131.0 (C_{ipso} -Pmb); 129.6 (C_{meta} -Pmb); 117.9 (- $\text{CH}=\text{CH}_2$, Aloc); 113.8 (C_{ortho} -Pmb); 86.2 (s_b , C1); 76.8 (C4); 74.7 (CH_2 -Pmb); 72.0 (C3); 71.5 (C6); 70.7 (C5); 69.1 (OCH_2CH_2); 65.7 (CH_2 , Aloc); 55.4 (OCH_3 -Pmb); 52.0 (C2); 51.8 (COOCH_3); 40.6 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$); 32.7 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 30.8 (SCH_2CH_2); 30.4, 29.7 (2 x CH_2 , Hexyl); 28.4 ($\text{C}^{\text{tert-Bu}}$, Boc); 25.8 ($\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 26.7; 25.6 (2 x CH_2 , Hexyl); 25.0 (SCH_2CH_2); 18.1 ($\text{C}^{\text{tert-Bu}}$, TBS); -3.9 (CH_3 , TBS); -4.9 (CH_3 , TBS).

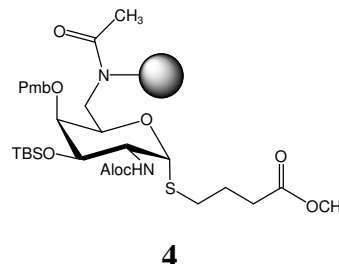
FD-MS, positiv m/z = 812.2 (100 %, $[\text{M}]^+$, ber.: 812.2).

FT-IR (KBr) ν_{max} [cm^{-1}]: 2956, 2858 (CH_2CH_2).

$\text{C}_{40}\text{H}_{68}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{SSi}$ (813.13)

6.19 Synthesen zum Kapitel 3.5.2

In einem Festphasenreaktor werden 0.565 g (0.13 mmol, 1.0 Äquiv.) *Rink-Tentagel*[®]-S-RAM (Beladung: 0.23 mmol/g) in 10 mL *N,N*-Dimethylformamid 1 h vorgequollen. Anschließend wird das Harz gründlich mit *N,N*-Dimethylformamid nachgewaschen und mit 15 mL



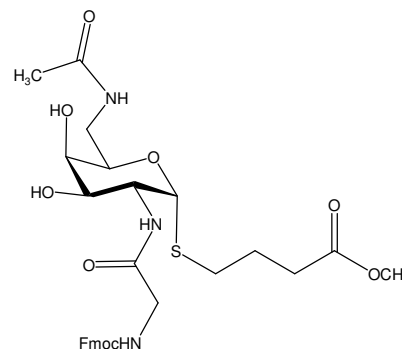
20%iger Piperidin-Lösung in *N,N*-Dimethylformamid 20 min geschüttelt. Es wird sorgfältig mit *N,N*-Dimethylformamid gewaschen und das Harz i. Hochvak. getrocknet.

Das Polymer und 100 mg (0.16 mmol, 1.2 Äquiv.) des Kohlenhydrats **135** werden in 10 mL frisch dest. Tetrahydrofuran suspendiert und 5 min geschüttelt. Es wird eine Lösung aus 2 mL Tetrahydrofuran, 0.25 mL Essigsäure und 0.25 mL Wasser zugegeben und weitere 5 min geschüttelt. Anschließend gibt man 8.17 mg (0.13 mmol, 1 Äquiv.) Natriumcyanoborhydrid in 0.26 mL Tetrahydrofuran hinzu. Das Gemisch wird unter Argon 16 h geschüttelt. Anschließend wäscht man sorgfältig: 3 x Tetrahydrofuran, 5 x *N,N*-Dimethylformamid, 3 x *N,N*-Dimethylformamid und Methanol abwechselnd, 2 x Methanol und Dichlormethan abwechselnd, 5 x Methanol und Diethylether und anschließend einmal mit Diethylether. Man trocknet das Polymer i. Hochvak. Eine Elementaranalyse des Schwefelgehalts gibt Aufschluss über die Beladung des Polymers. Man erreicht eine Beladung von 0.16 mmol pro Gramm des Harzes. Die freien Aminogruppen des nicht umgesetzten Polymers und die sekundäre Aminogruppen werden nach allgemeiner Arbeitsvorschrift für Capping acyliert.

6.20 Synthesen zum Kapitel 3.5.3

S-[6-*N*-(Acetyl)-amino-6-desoxy-2-*N*-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-amino-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (150a)

Die Synthese des Produktes wird entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV10 zur Peptidkupplung an der festen Phase mit Fmoc-Gly-OH durchgeführt. Die



Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der modifizierten Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Dimethylsulfid als Scavenger. Auf das Ausfällen mit Diethylether wird verzichtet. Das Lösungsmittel wird vollständig entfernt, das Rohprodukt wird mit 2-3 mL Wasser versetzt und lyophilisiert.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 16.6 mg (>100%); gelber amorpher Feststoff.

Im HPLC-Chromatogramm können zwei Hauptprodukte detektiert werden, die auf das gewünschte Produkt **150a** und das silylierte Produkt *S*-[6-*N*-(Acetyl)-amino-6-desoxy-2-(*N*-9-fluorenylmethoxycarbonyl-L-glycyl)-amino-2-desoxy-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (**150b**) hinweisen.

Gewünschtes Produkt **150a**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 13.53$ min (18%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, $R_t = 24.63$ min. Ausbeute: 4.7 mg (47.7% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 638.39$ (20%, $[M+Na]^+$, ber.: 638.21), 432.29 (15%), 179.09 (100%, $[DBF+H]^+$, ber.: 179.09).

$C_{30}H_{37}N_3O_9S$ (615.69)

Nebenprodukt **150b**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 22.83$ min (57%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, $R_t = 51.63$ min. Man erhält 1.4 mg des Produktes, Ausbeute 12.0% nach semi-präparativer HPLC (bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

1H -NMR (400 MHz, 1H - 1H -COSY, DMSO- d_6), δ [ppm]: 7.93 (t, $^3J = 5.9$ Hz, 1H, 6-NH); 7.51 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 2H, Fmoc-4, Fmoc-5); 7.71 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 2H, Fmoc-1, Fmoc-8); 7.54 (t, $^3J = 6.0$ Hz, 1H, Gly-NH); 7.42 (m_c, 1H, 2-NH); 7.41 (t, $^3J = 6.0$ Hz, 2H, Fmoc-3, Fmoc-6); 7.32 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 2H, Fmoc-2, Fmoc-7); 5.20 (d, $^3J = 5.1$ Hz, 1H, H1); 4.64 (d, $^3J = 4.88$ Hz, 1H, 4-OH); 4.43 (m_c, 1H, H2); 4.38 (m_c, 3H, Fmoc-CH₂, Fmoc-CH); 3.93 (m_c, 1H, H5); 3.65 (m_c, 2H, H3, H4); 3.55 (s, 3H, COOCH₃); 3.58-3.49 (m, 2H, α CH₂, Gly); 3.30 (m_c, 1H, H_{6a}); 3.16 (m_c, 1H, H_{6b}); 2.48 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 2.36 (m_c, 2H, CH₂COOCH₃); 1.78 (s, 3H, CH₃); 1.73 (m_c, 2H, SCH₂CH₂).

^{13}C -NMR (100.6 MHz, HSQC, CDCl₃), δ [ppm]: 127.3 (Fmoc-3, Fmoc-6); 126.8 (Fmoc-2, Fmoc-7); 125.0 (Fmoc-1, Fmoc-8); 119.7 (Fmoc-4, Fmoc-5); 83.2 (C1); 70.4 (C5); 70.0, 68.1 (C5, C4); 65.5 (Fmoc-CH₂); 51.2 (COOCH₃); 46.3 (Fmoc-CH); 42.9

(Gly- α); 38.8 (C6); 31.9 ($\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 28.8 (SCH_2CH_2); 25.6 ($\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 24.3 (SCH_2CH_2); -4.9 (CH_3 , TBS); -5.1 (CH_3 , TBS).

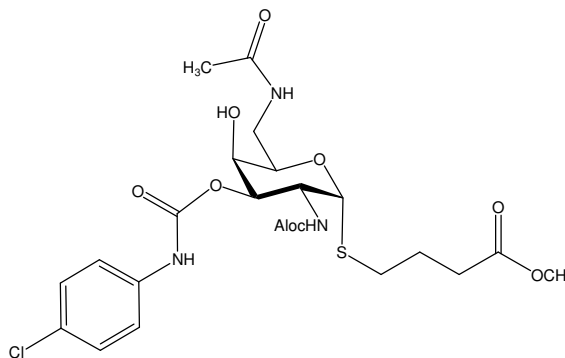
Daten ausschließlich aus der HSQC.

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 752.55$ (30%, $[\text{3-TBSO}, \text{M}+\text{Na}]^+$, ber.: 752.30), 596.53 (20%), 374.45 (<5%, $[\text{3-TBSO}, \text{6-NH}_2, \text{M-Fmoc}+\text{Na}]^+$, ber.: 374.14), 179.09 (100%, $[\text{DBF}+\text{H}]^+$, ber.: 179.09).

$\text{C}_{36}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_9\text{SSi}$ (729.96)

S-[6-N-(Acetyl)-amino-6-desoxy-2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-3-O-(4-chlorphenylcarbamoyl)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (149)

Die Synthese des Produktes wird entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV8 zur Carbamoylierung mit Isocyanaten an der festen Phase mit 4-Chlorphenylisocyanat durchgeführt. Die Abspaltung vom polymeren



Träger erfolgt nach der modifizierten Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Dimethylsulfid als Scavenger. Auf das Ausfällen mit Diethylether wird verzichtet. Das Lösungsmittel wird vollständig entfernt, das Rohprodukt wird mit 2-3 mL Wasser versetzt und lyophilisiert.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 17.8 mg (>100%); gelber amorpher Feststoff.

Im Rohprodukt kann sowohl das gewünschte Produkt **149** als auch das 3-Allophanatderivat: S-[6-N-(Acetyl)-amino-6-desoxy-2-N-(Allyloxycarbonyl)-amino-3-O-(di-(4-chlorphenyl)-allophanat)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (**151**) nachgewiesen werden.

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 726.27$ (15%, $[\text{3-Allophanat}, \text{M}]^+$, ber.: 726.15), 596.36 (50%), 574.35 (10%, $[\text{M}+\text{H}]^+$, ber.: 574.16), 183.06 (100%).

Gewünschtes Produkt **149**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 15.62$ min (35%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, $R_t = 27.05$ min. Ausbeute: 4.3 mg (46.8% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃), δ [ppm]: 7.70 (s_b, 1H, NH, Carbamat-3); 7.33 (d, ³*J* = 8.8 Hz, 2H, H_{Aryl}, Carbamat); 7.25 (d, ³*J* = 8.9 Hz, 2H, H_{Aryl}, Carbamat); 6.30 (m_c, 1H, 6-NH); 5.81 (m_c, 1H, CH₂=CH-, Aloc); 5.43 (d, ³*J* = 5.2 Hz, 1H, H1); 5.21 (dd, ³*J* = 17.2 Hz, ²*J* = 1.3 Hz, 1H, CH₂=CH-, Aloc, (trans)); 5.16 (d, ³*J* = 9.4 Hz, 1H, NH, Carbamat-2); 5.10 (dd, ³*J* = 10.5 Hz, ²*J* = 0.8 Hz, 1H, CH₂=CH-, Aloc, (cis)); 4.90 (dd, ³*J* = 11.5 Hz, ³*J* = 3.1 Hz, 1H, H3); 4.96 (m_c, 1H, H2); 4.51 (m_c, 2H, -CH₂-, Aloc); 4.18 (t, ³*J* = 6.90 Hz, 1H, H5); 4.13 (m_c, 1H, H4); 3.82 (m_c, 1H, H_{6a}); 3.68 (s, 3H, COOCH₃); 3.25 (m_c, 1H, H_{6b}); 2.68 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 2.44 (m_c, 2H, CH₂COOCH₃); 1.99 (s, 3H, CH₃); 1.95 (m_c, 2H, SCH₂CH₂).

¹³C-NMR (100.6 MHz, HSQC, CDCl₃), δ [ppm]: 173.7 (C=O, Ester); 171.80 (C=O, Ac); 160.0 (C_{Aryl}, Carbamat); 153.0 (C=O, Aloc); 132.4 (-CH=CH₂, Aloc); 129.0 (C_{Aryl}, Carbamat); 119.9 (C_{Aryl}, Carbamat); 117.8 (-CH=CH₂, Aloc); 86.2 (s, C1); 71.5 (C3); 69.8 (C5); 66.8 (C4); 65.9 (CH₂, Aloc); 51.8 (COOCH₃); 49.4 (C2); 39.5 (C6); 32.7 (CH₂COOCH₃); 30.8 (SCH₂CH₂); 25.12 (SCH₂CH₂); 23.1 (CH₃).

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv *m/z* = 596.42 (80%, [M+Na]⁺, ber.: 596.14), 574.45 (30%, [M+H]⁺, ber.: 574.16), 440.34 (50%, [3-OH, M+Ca]²⁺, ber.: 440.34), 251.16 (100%).

C₂₄H₃₂ClN₃O₉S (574.04)

Nebenprodukt **151**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, R_t = 25.40 min (35%), bei λ = 214 nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, R_t = 43.83 min. Ausbeute: 1.4 mg (12.0% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

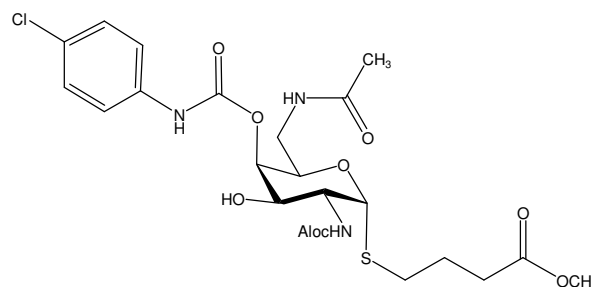
¹H-NMR (400 MHz, ¹H-¹H-COSY, CDCl₃+ DMSO-*d*₆), δ [ppm]: 9.02 (s_b, 1H, NH, Allophanat-3); 7.49 (d, ³*J* = 9.0 Hz, 2H, H_{Aryl}, Allophanat); 7.44 (d, ³*J* = 8.7 Hz, 2H, H_{Aryl}, Allophanat); 7.26 (m_c, 3H, 6-NH, H_{Aryl}, Allophanat); 7.16 (d, ³*J* = 8.8 Hz, 2H, H_{Aryl}, Allophanat); 5.32 (m_c, 1H, CH₂=CH-, Aloc); 5.39 (d, ³*J* = 5.3 Hz, 1H, H1); 5.2 (dd, ³*J* = 17.3, ²*J* = 0.7 Hz, 1H, CH₂=CH-, Aloc, (trans)); 5.07 (d, ³*J* = 10.2 Hz, 1H, NH, Carbamat-2); 5.00 (d, ³*J* = 9.5 Hz, 1H, CH₂=CH-, Aloc, (cis)); 4.85 (dd, ³*J* = 11.5 Hz, ³*J* = 3.0 Hz, 1H, H3); 4.64 (m_c, 1H, H2); 4.59 (m_c, 2H, -CH₂-, Aloc); 4.48 (m_c, 1H, H5); 3.99 (m_c, 1H, H4); 3.93 (m_c, 1H, H_{6a}); 3.64 (s, 3H, COOCH₃); 3.27 (m_c, 1H, H_{6b}); 2.63 (m_c, 2H, SCH₂CH₂); 2.45 (s, 3H, CH₃); 2.35 (t, ³*J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂COOCH₃); 1.89 (m_c, 2H, SCH₂CH₂).

ESI-MS (isoliertes Produkt, Gerät 1), positiv $m/z = 596.42$ (80%, $[M+Na]^+$, ber.: 596.14), 574.45 (30%, $[M+H]^+$, ber.: 574.16), 440.34 (50%, $[3-OH, M+Ca]^{2+}$, ber.: 440.34), 251.16 (100%).

$C_{31}H_{36}Cl_2N_4O_{10}S$ (727.61)

S-[6-*N*-(Acetyl)-amino-6-desoxy-2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-4-*O*-(4-chlorphenylcarbamoyle)- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (152a)

Die Synthese des Produktes wird entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift AAV8 zur Carbamoylierung mit Isocyanaten an der



festen Phase mit 4-Chlorphenylisocyanat durchgeführt. Die Abspaltung vom polymeren Träger erfolgt nach der modifizierten Arbeitsvorschrift AAV16 mit 50%iger Trifluoressigsäure in Dichlormethan mit 5% Dimethylsulfid als Scavenger. Auf das Ausfällen mit Diethylether wird verzichtet. Das Lösungsmittel wird vollständig entfernt, das Rohprodukt wird mit 2-3 mL Wasser versetzt und lyophilisiert.

Ausbeute vor semi-präparativer HPLC: 16.6 mg (>100%); gelber amorpher Feststoff.

Im Rohprodukt können vier Produkte nachgewiesen werden, sowohl das gewünschte Produkt **152a** und das silylierte Produkt S-[6-*N*-(Acetyl)-amino-6-desoxy-2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-4-*O*-(4-chlorphenylcarbamoyle)-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (**152b**) als auch die 4-Allophanatderivate: S-[6-*N*-(Acetyl)-amino-6-desoxy-2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-4-*O*-(di-(4-chlorphenyl)-allophanat- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (**153a**) und S-[6-*N*-(Acetyl)-amino-6-desoxy-2-*N*-(Allyloxycarbonyl)-amino-2-desoxy-4-*O*-(di-(4-chlorphenyl)-allophanat-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- α -D-galactopyranosyl]-4-mercaptobuttersäuremethylester (**153b**).

ESI-MS (Rohprodukt, Gerät 1), positiv $m/z = 840.79$ (<5%, [4-Allophanat, 3-TBSO, M] $^+$, ber.: 840.24), 749.25 (<5%, [4-Allophanat, $[M+Na]^+$, ber.: 749.14), 710.42 (45%, 3-TBSO, $[M+Na]^+$, ber.: 710.23), 688.48 (<5%, 3-TBSO, $[M+H]^+$, ber.: 688.25), 596.39 (<5%, $[M+Na]^+$, ber.: 596.14).

Das HPLC-Chromatogramm zeigt mehrere Signale. Es gelingt zwei Produkte zu isolieren. Gewünschtes Produkt **152a**:

HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 16.25$ min (6%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, $R_t = 25.08$ min. Ausbeute: 1.1 mg (12.0% nach semi-präparativer HPLC, bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, CDCl_3), δ [ppm]: 7.34 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2H, H_{Aryl} , Carbamat); 7.27 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2H, H_{Aryl} , Carbamat); 6.36 (m_c, 1H, 6-NH); 5.90 (m_c, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$ -, Aloc); 5.37 (d, $^3J = 5.2$ Hz, 1H, H1); 5.31 (dd, $^3J = 17.2$ Hz, $^2J = 1.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$ -, Aloc, (trans)); 5.22 (dd, $^3J = 10.5$ Hz, $^2J = 1.3$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$ -, Aloc, (cis)); 5.20 (m_c, 1H, H4); 5.09 (m_c, 1H, H3); 4.57 (m_c, 2H, $-\text{CH}_2$ -, Aloc); 4.33 (m_c, 1H, H2); 4.31 (t, $^3J = 7.1$ Hz, 1H, H5); 3.68 (s, 3H, COOCH_3); 3.62 (m_c, 1H, H_{6a}); 3.16 (m_c, 1H, H_{6b}); 2.67 (m_c, 2H, SCH_2CH_2); 2.44 (m_c, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 1.98 (s, 3H, CH_3); 1.95 (m_c, 2H, SCH_2CH_2).

FD-MS, positiv $m/z = 573.6$ (100 %, $[\text{M}]^+$, ber.: 573.15), 421.5 (10%, $[\text{3-OH, M+H}]^+$, ber.: 421.2).



Nebenprodukt **152b**:

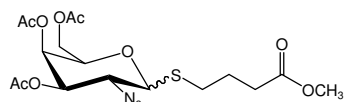
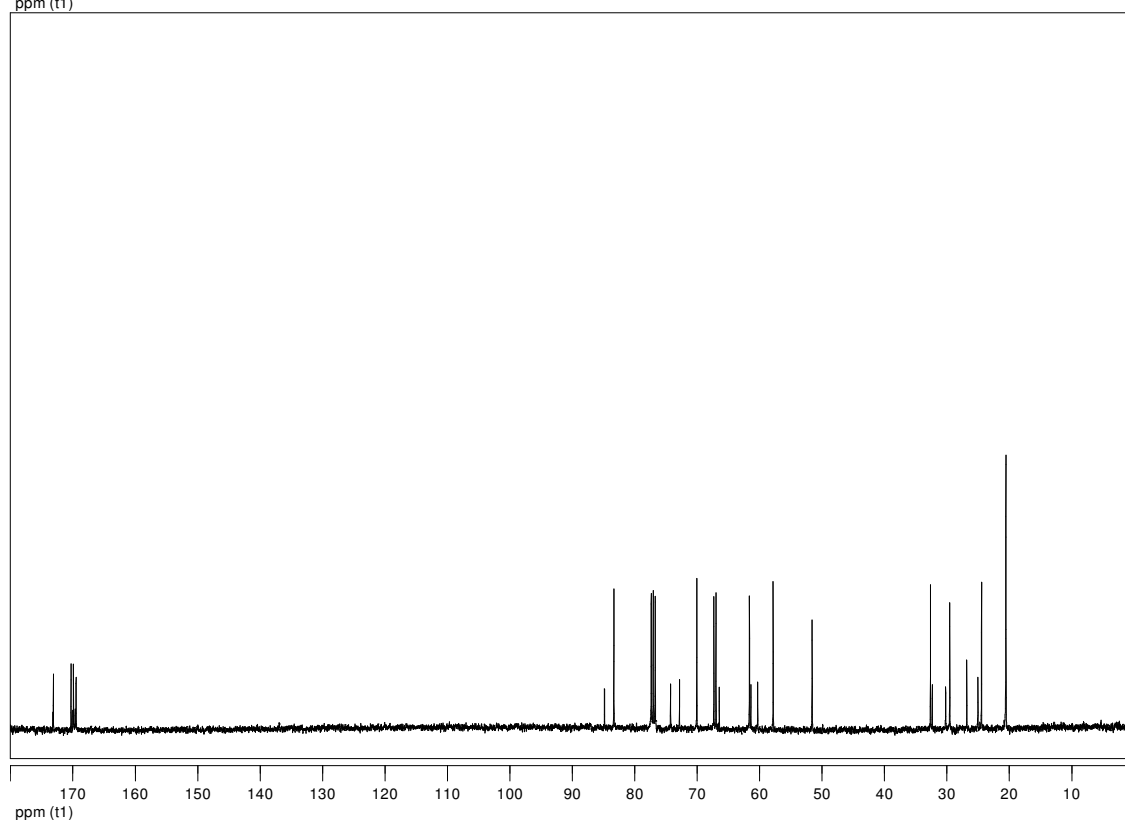
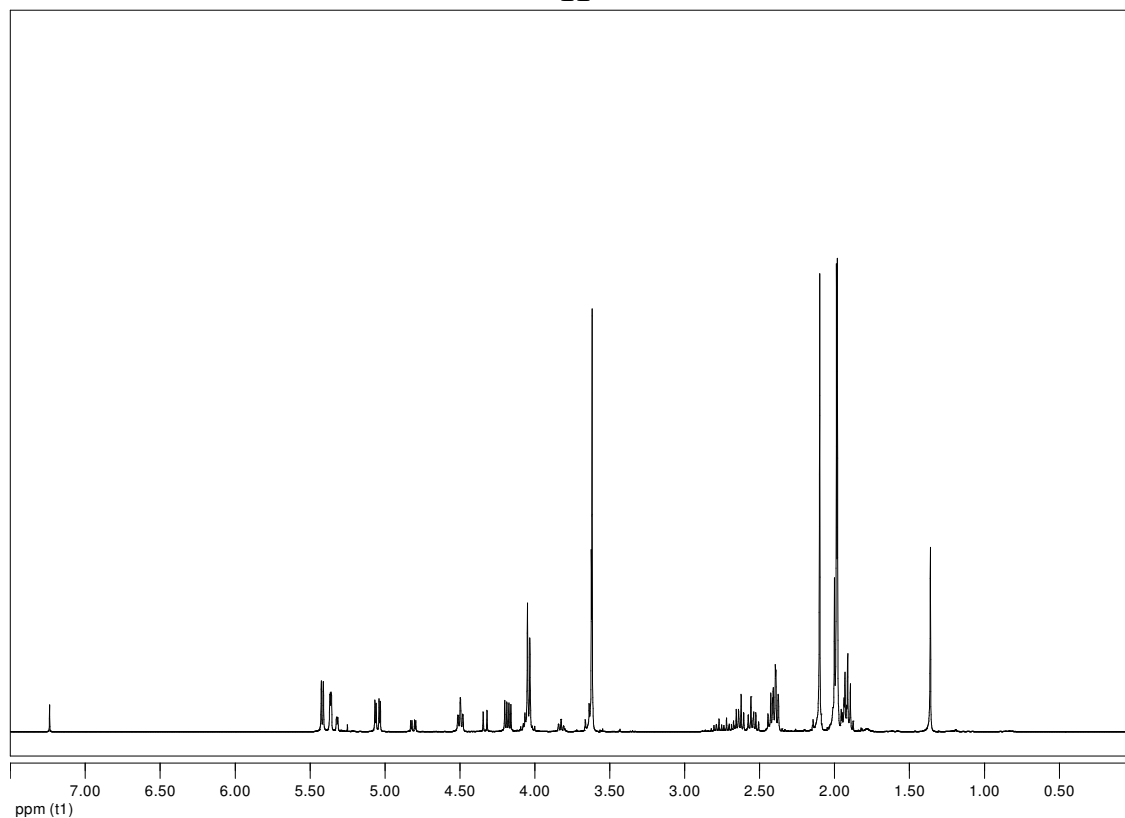
HPLC: analytische HPLC: Gradient B, $R_t = 28.83$ min (54%), bei $\lambda = 214$ nm; semi-präparative HPLC: Gradient G, $R_t = 41.90$ min. Man erhält 7.1 mg des Produktes, Ausbeute 64.5% nach semi-präparativer HPLC (bezogen auf Kohlenhydrat am Harz); farbloser amorpher Feststoff.

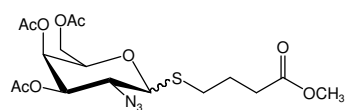
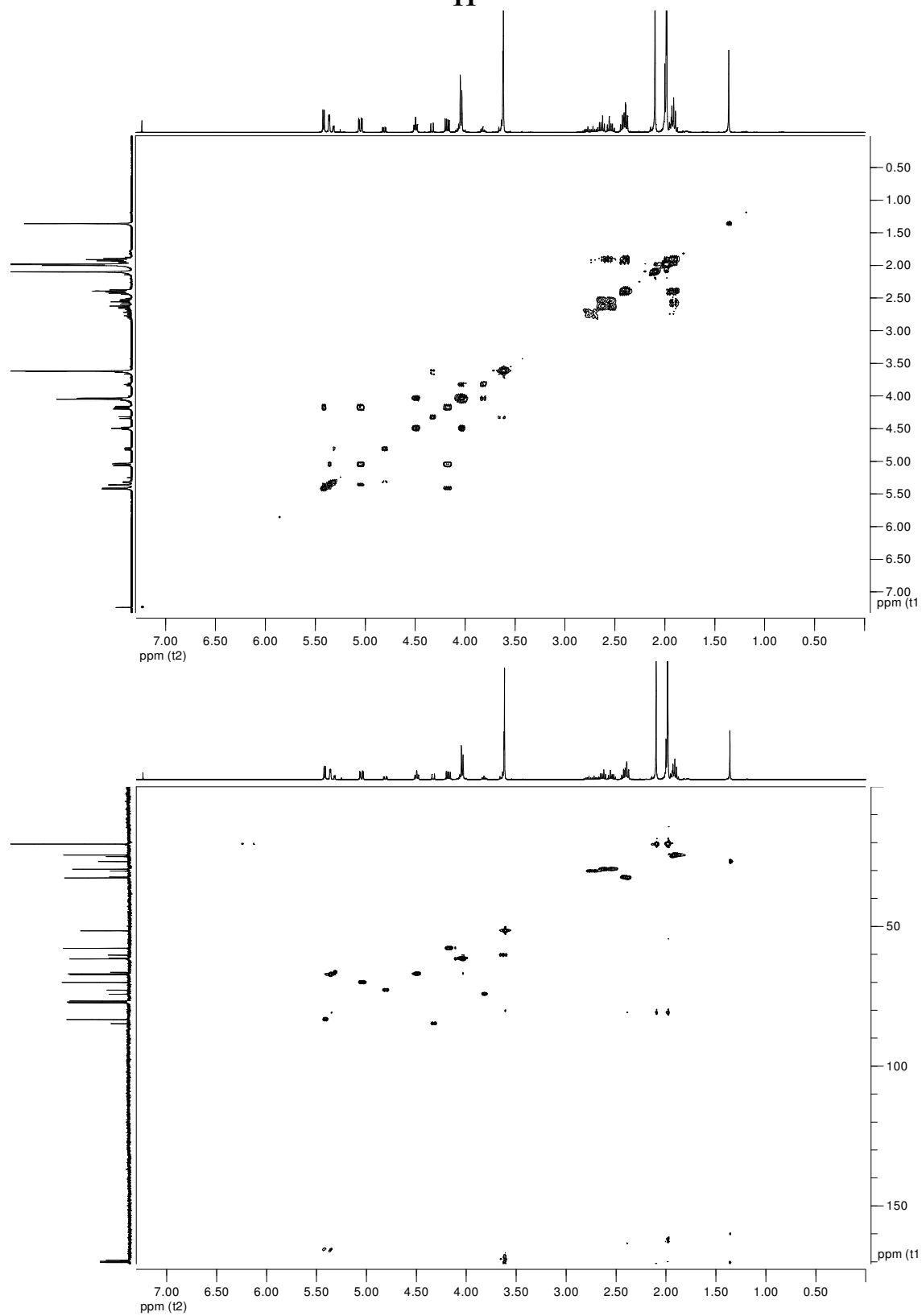
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, ^1H - ^1H -COSY, CDCl_3), δ [ppm]: 7.64 (s_b, 1H, NH, Carbamat-4); 7.34 (d, $^3J = 8.8$ Hz, 2H, H_{Aryl} , Carbamat); 7.2 (d, $^3J = 9.0$ Hz, 2H, H_{Aryl} , Carbamat); 6.34 (m_c, 1H, 6-NH); 5.89 (m_c, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$ -, Aloc); 5.29 (m_c, 2H, H1, $\text{CH}_2=\text{CH}$ -, Aloc, (trans)); 5.21 (dd, $^3J = 10.4$ Hz, $^2J = 1.3$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=\text{CH}$ -, Aloc, (cis)); 5.02 (m_c, 1H, H4); 4.72 (d, $^3J = 1.3$ Hz, 1H, H3); 4.54 (m_c, 2H, $-\text{CH}_2$ -, Aloc); 4.39 (m_c, 1H, H2); 4.31 (t, $^3J = 7.1$ Hz, 1H, H5); 3.67 (s, 4H, H_{6a} , COOCH_3); 3.16 (m_c, 1H, H_{6a}); 2.68 (t, $^3J = 7.1$ Hz, 2H, SCH_2CH_2); 2.44 (m_c, 2H, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 1.98 (s, 3H, CH_3); 1.94 (m_c, 2H, SCH_2CH_2); 0.75 (s, 9H, $\text{CH}_3^{\text{tert-Bu}}$, TBS); 0.04 (s, 3H, CH_3 , TBS); 0.02 (s, 3H, CH_3 , TBS).

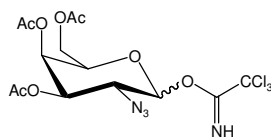
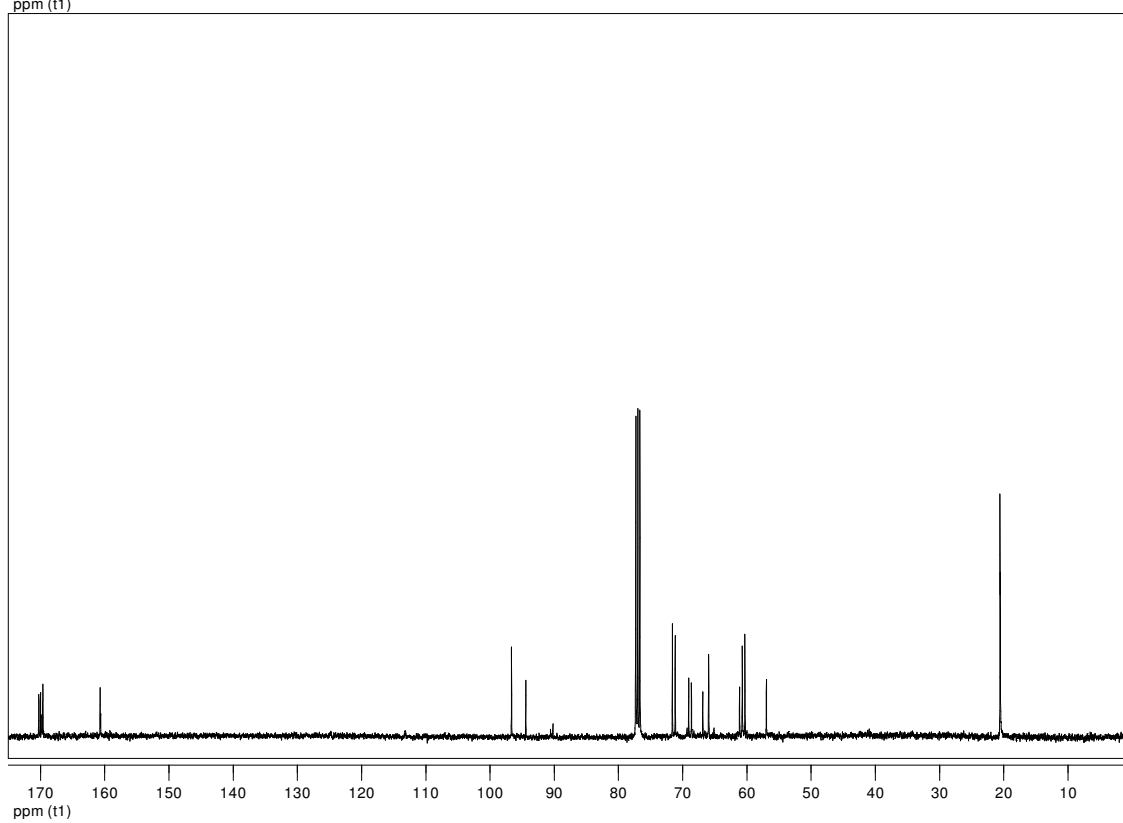
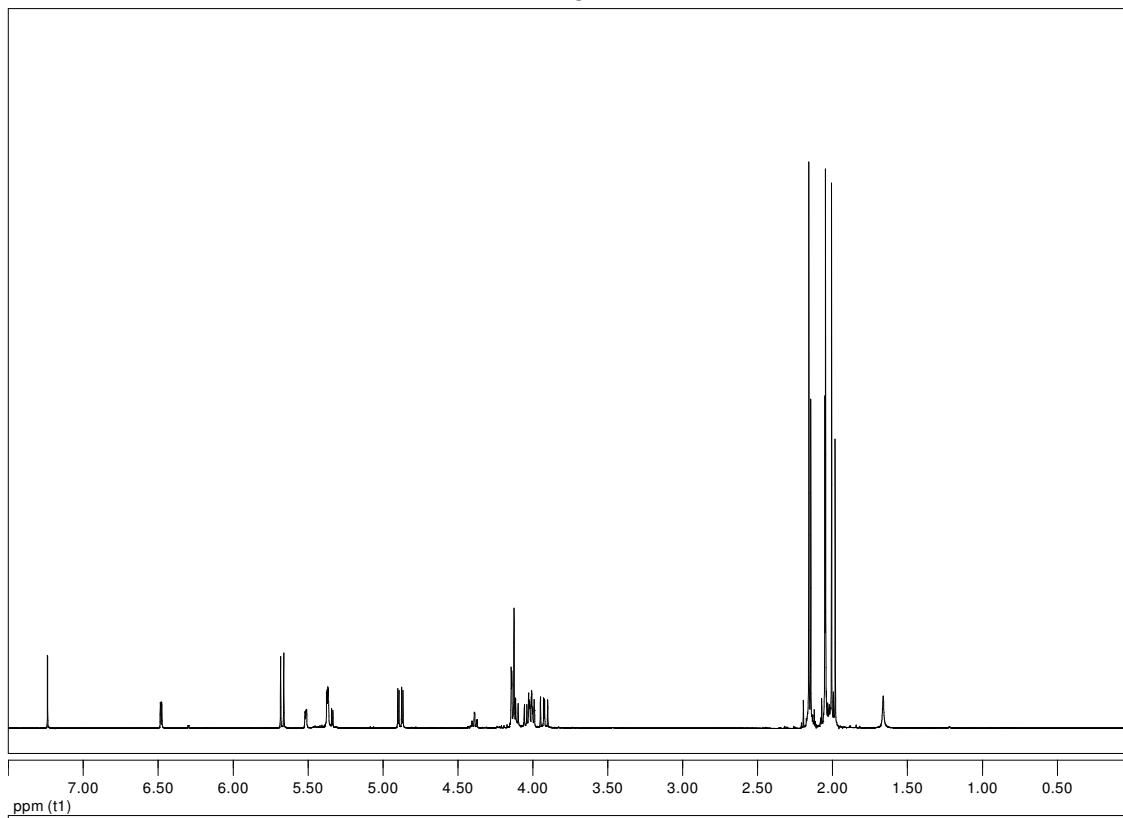
FD-MS, positiv $m/z = 961.1$ (15%), 688.8 (100 %, $[\text{M+H}]^+$, ber.: 688.2), 153.4 (90%).

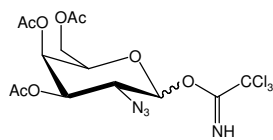
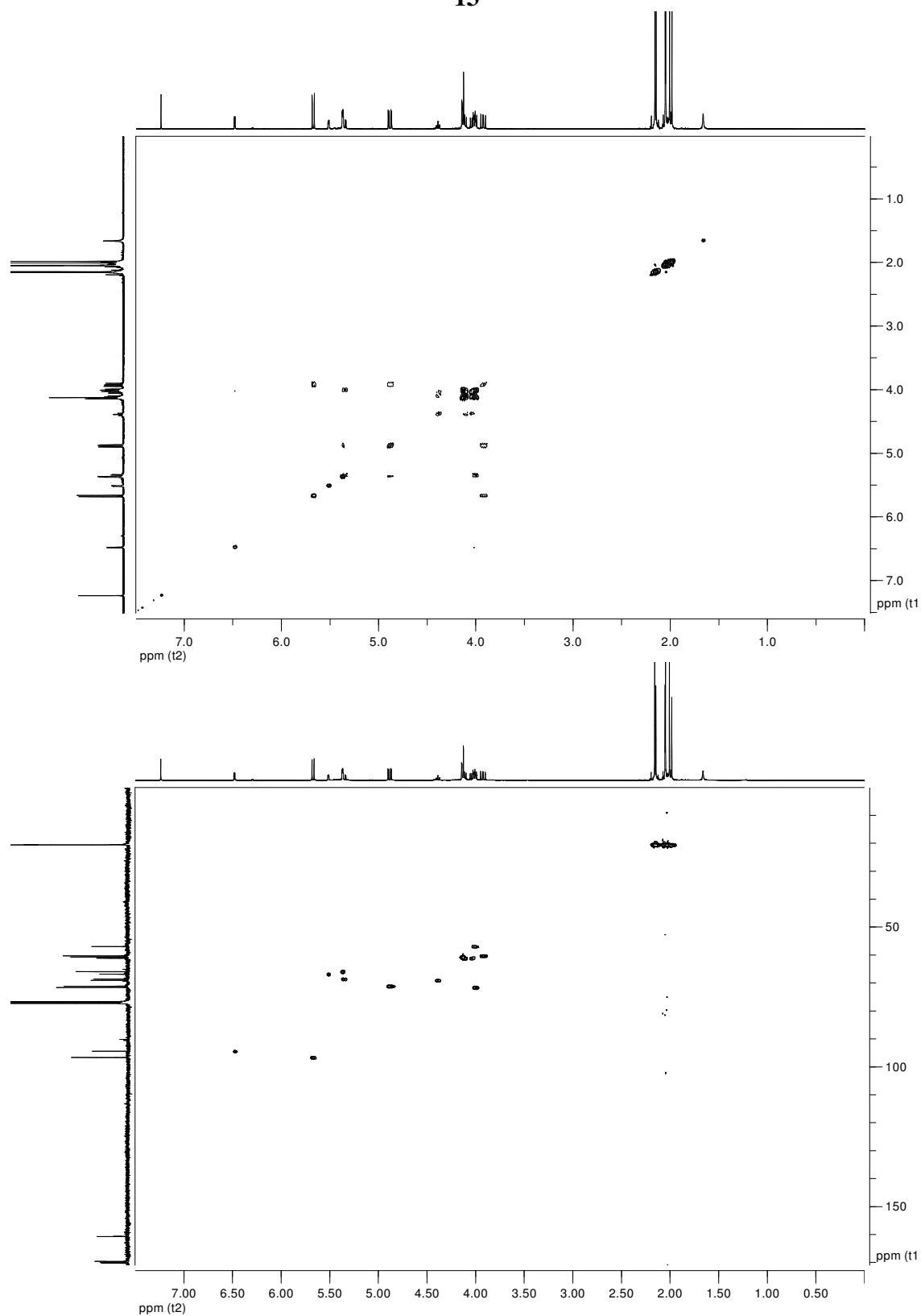


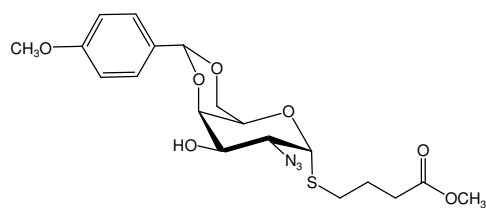
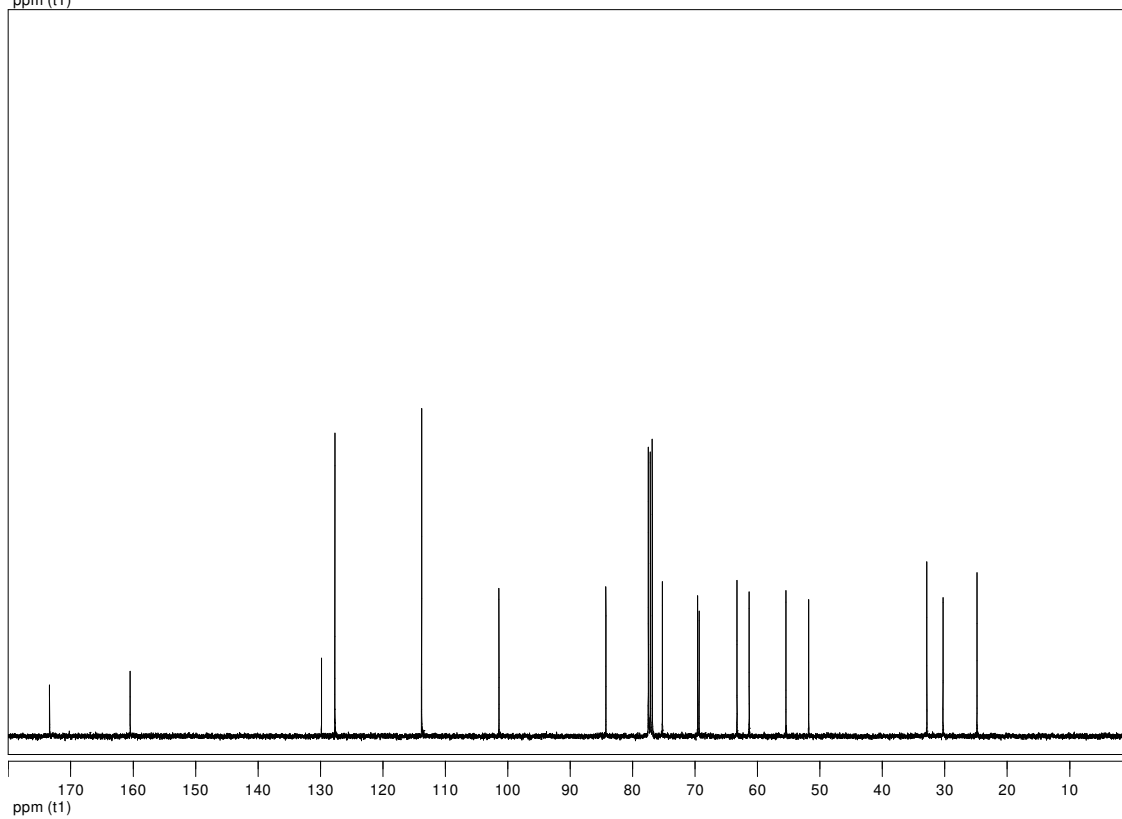
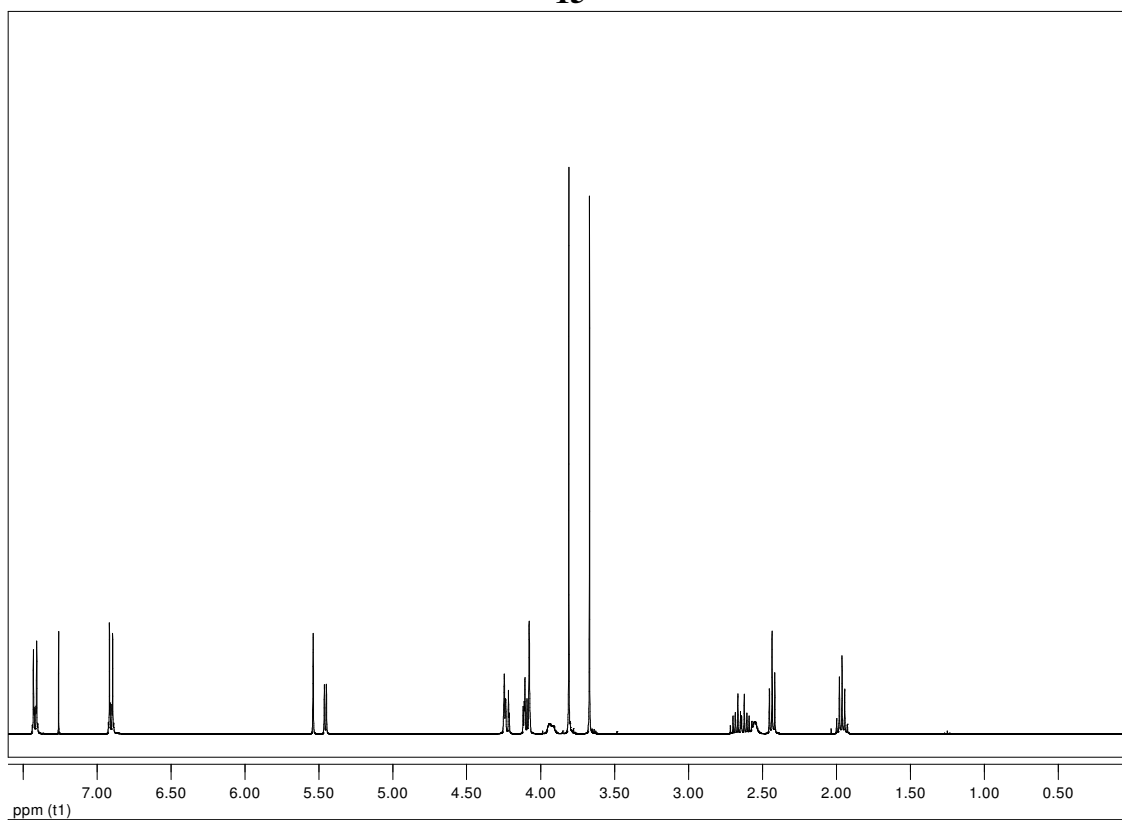
7 SPEKTRENANHANG

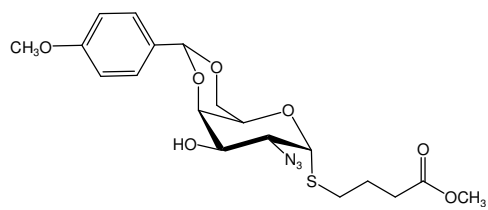
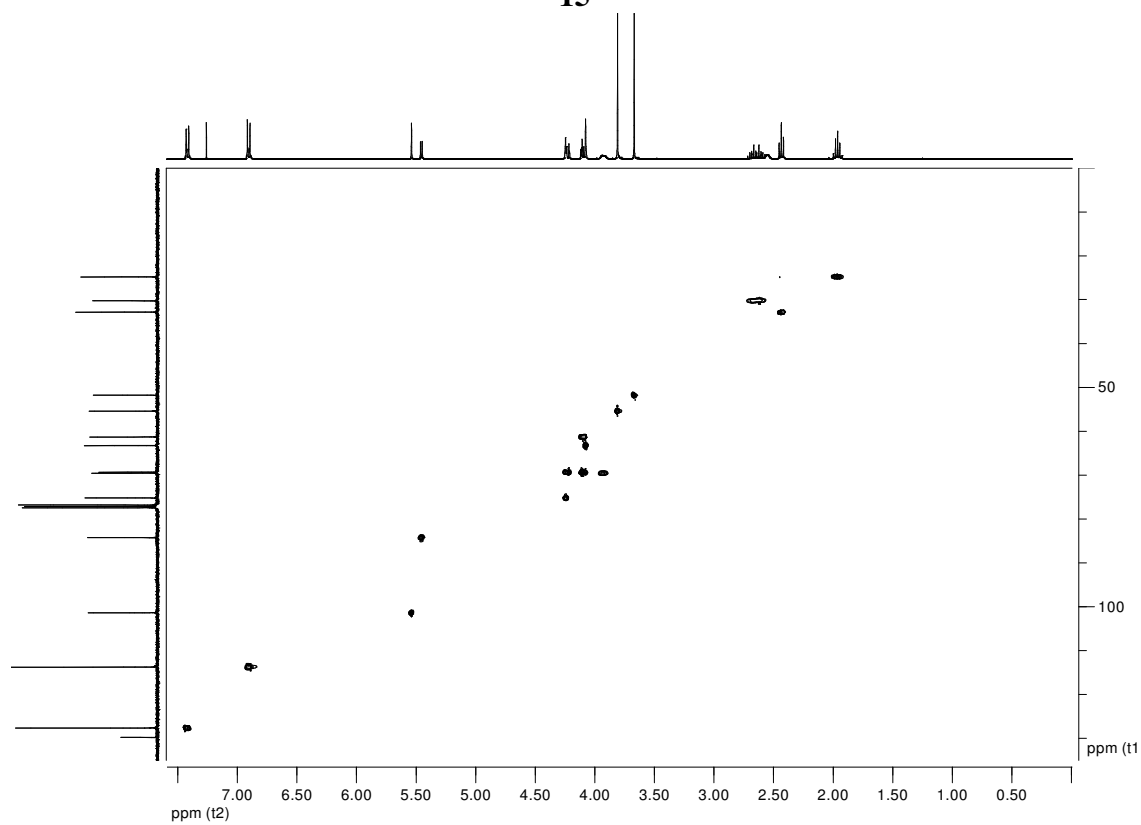
**11**

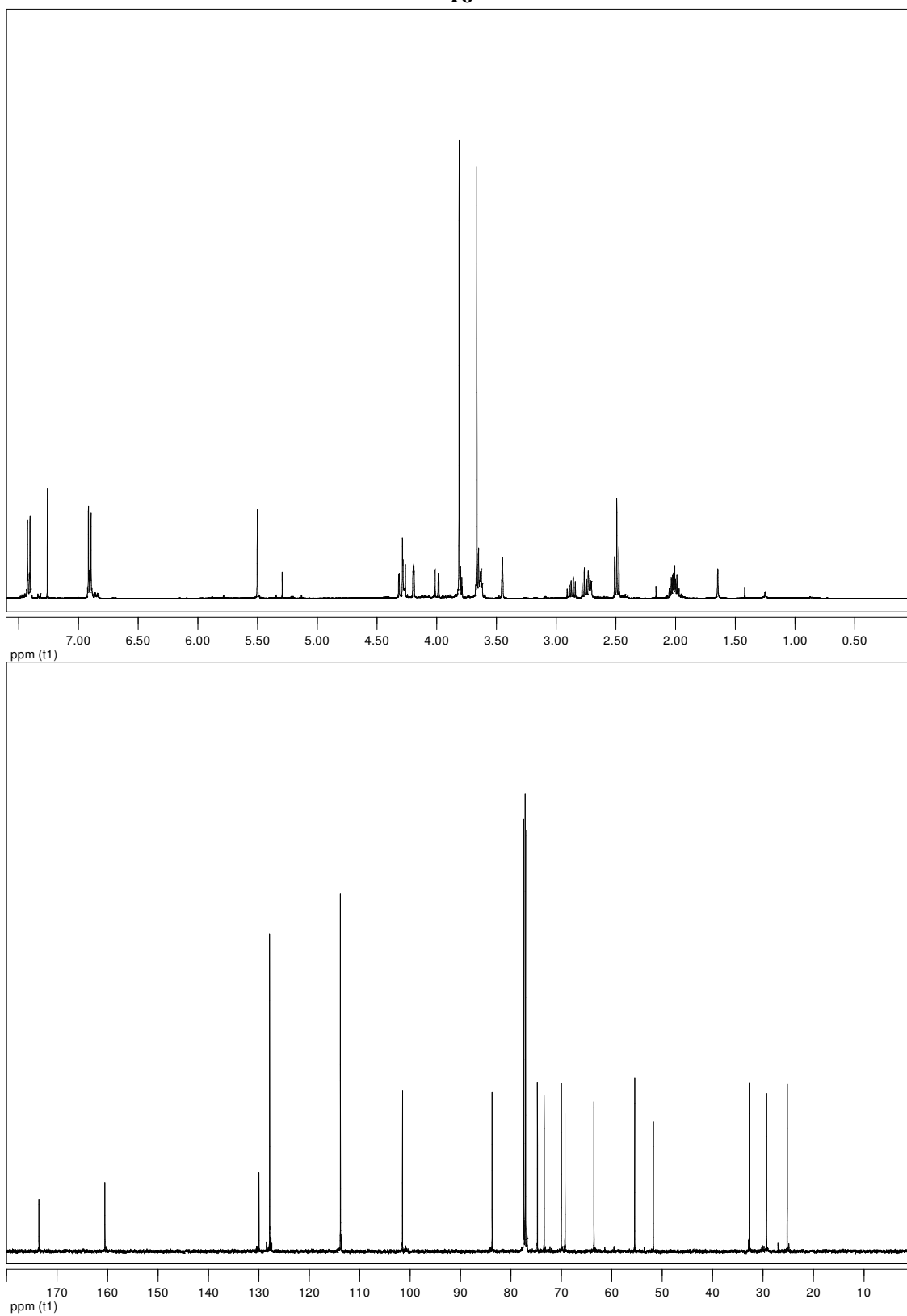
**11**

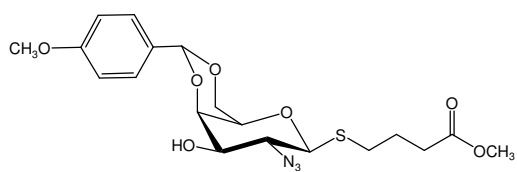
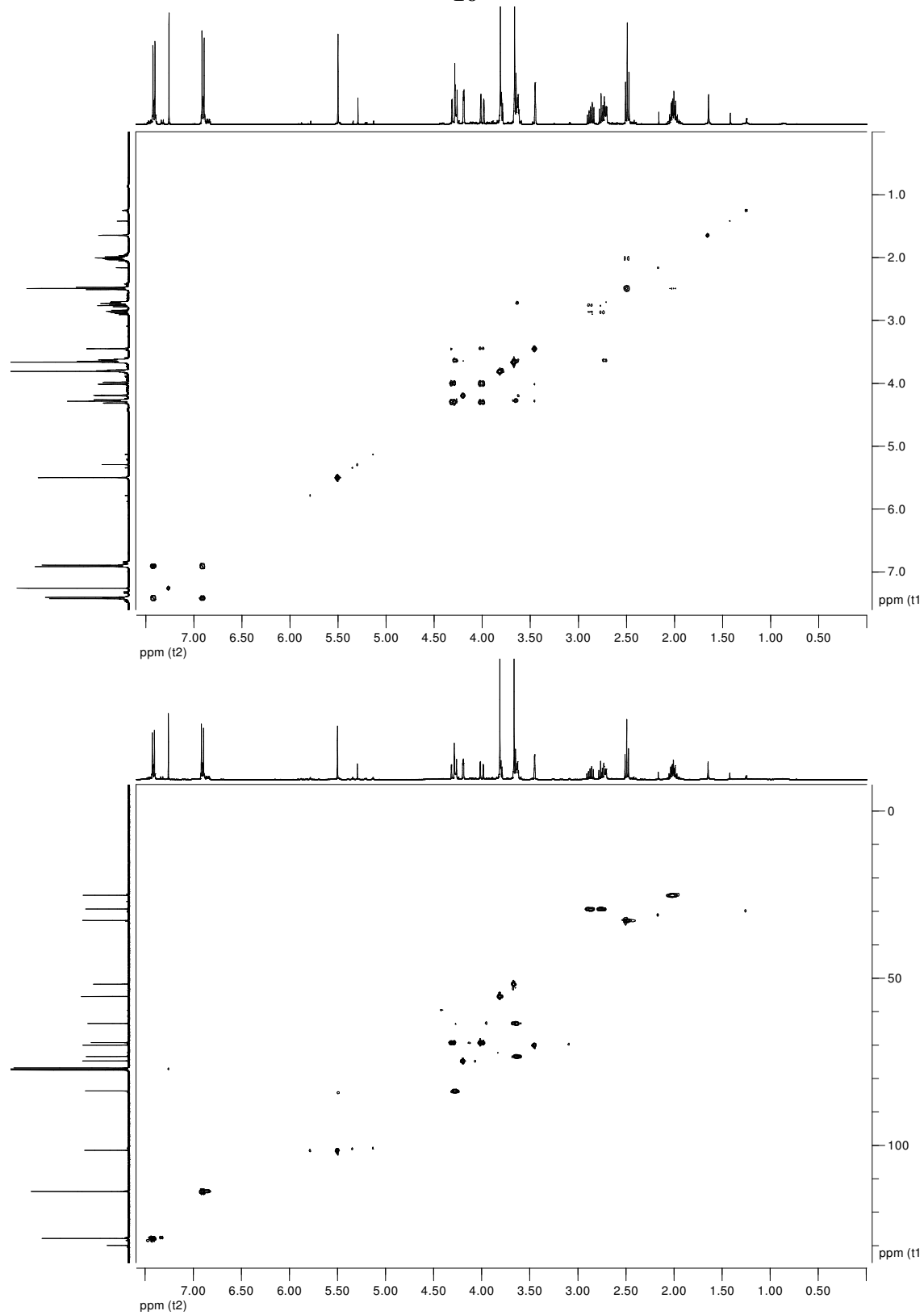
**13**

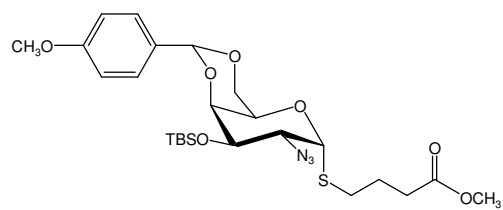
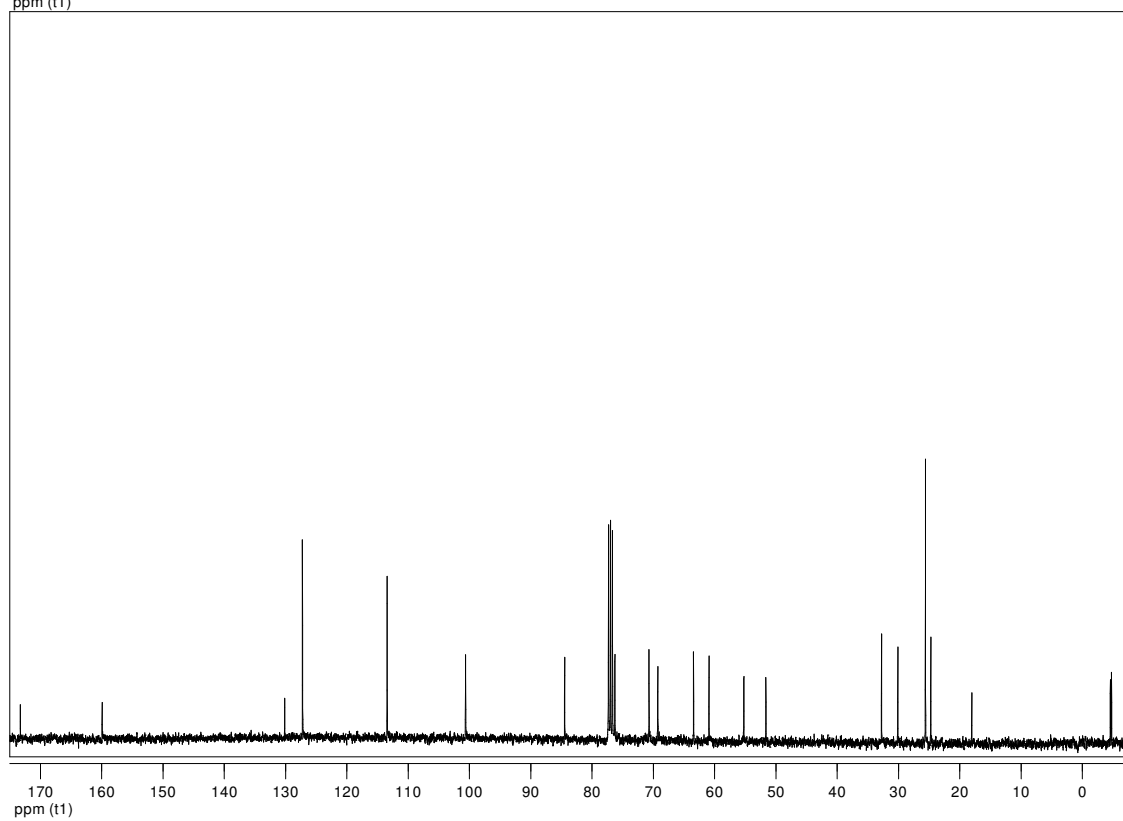
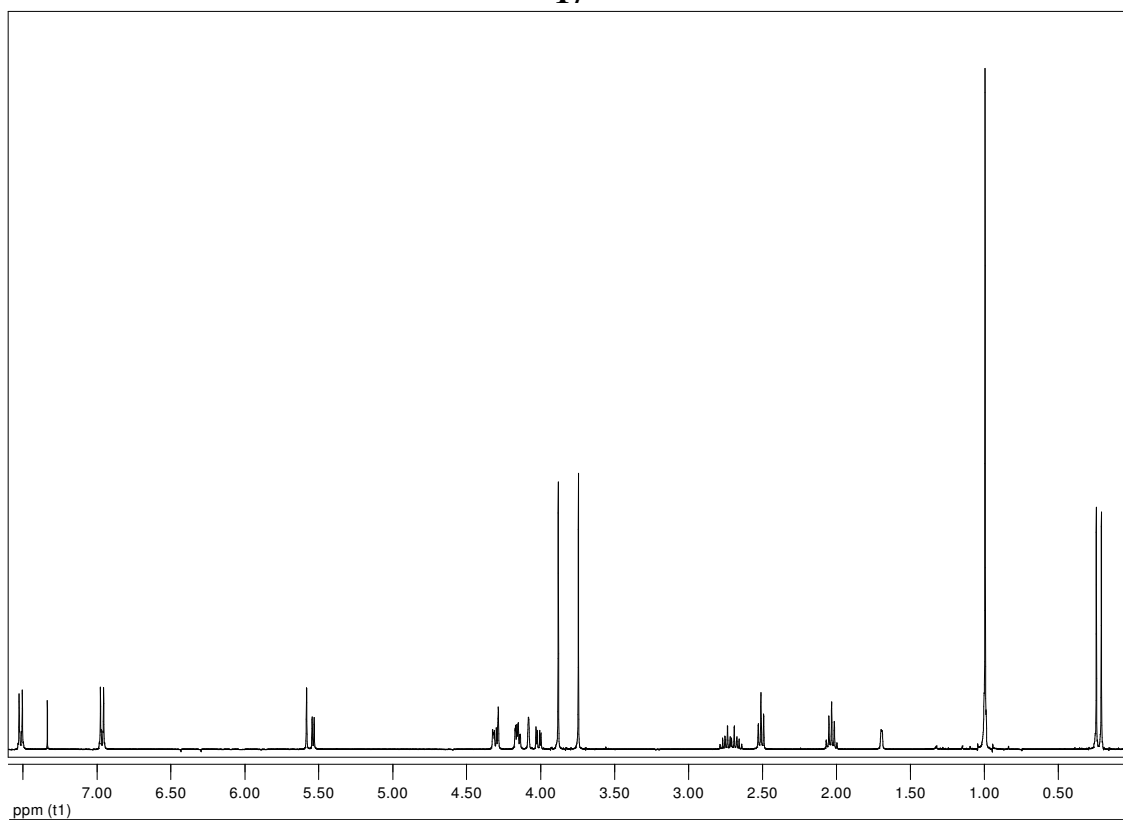
**13**

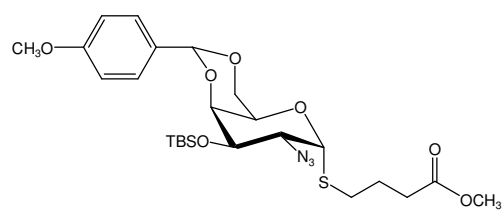
**15**

**15**

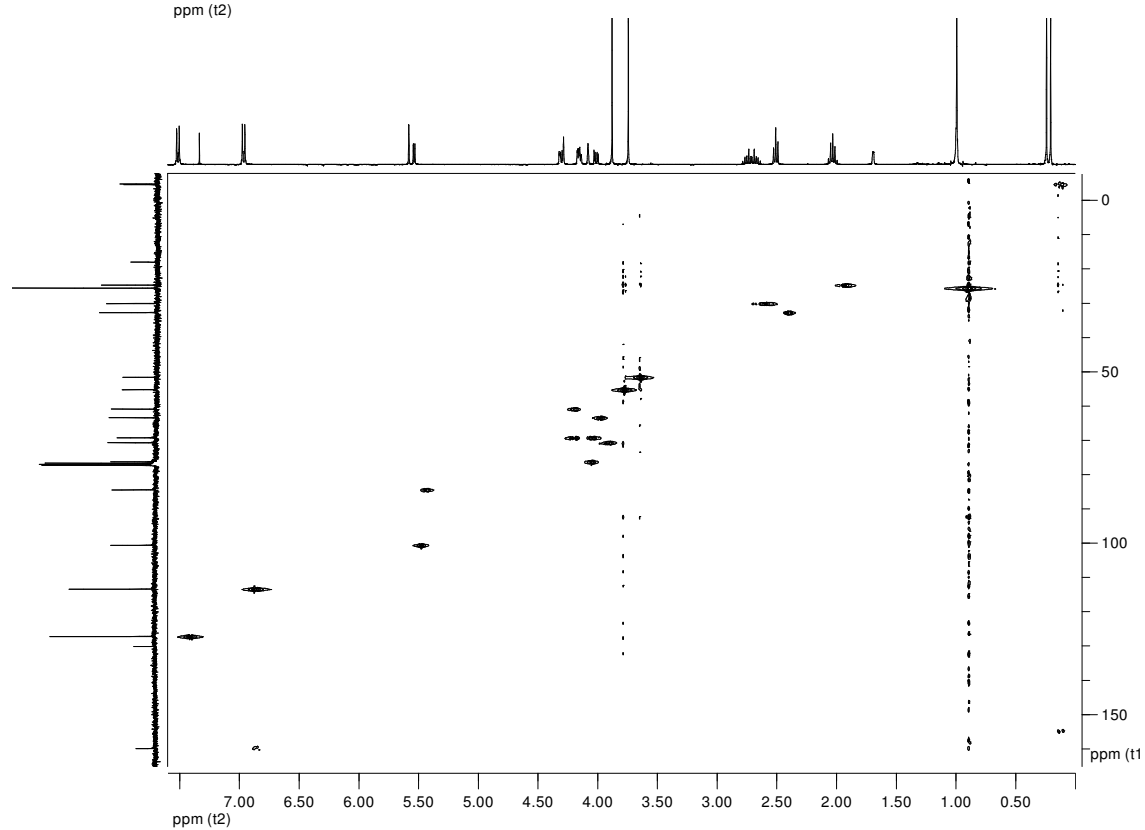
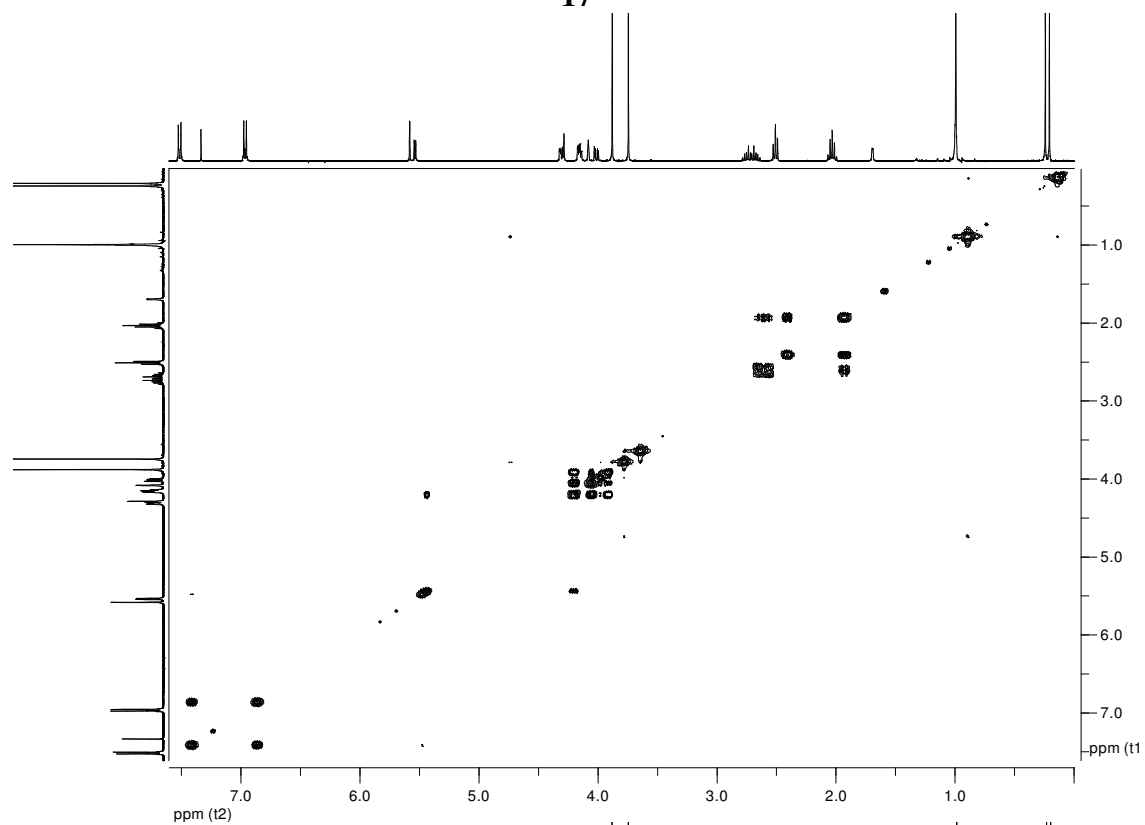


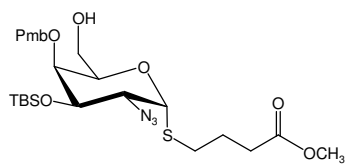
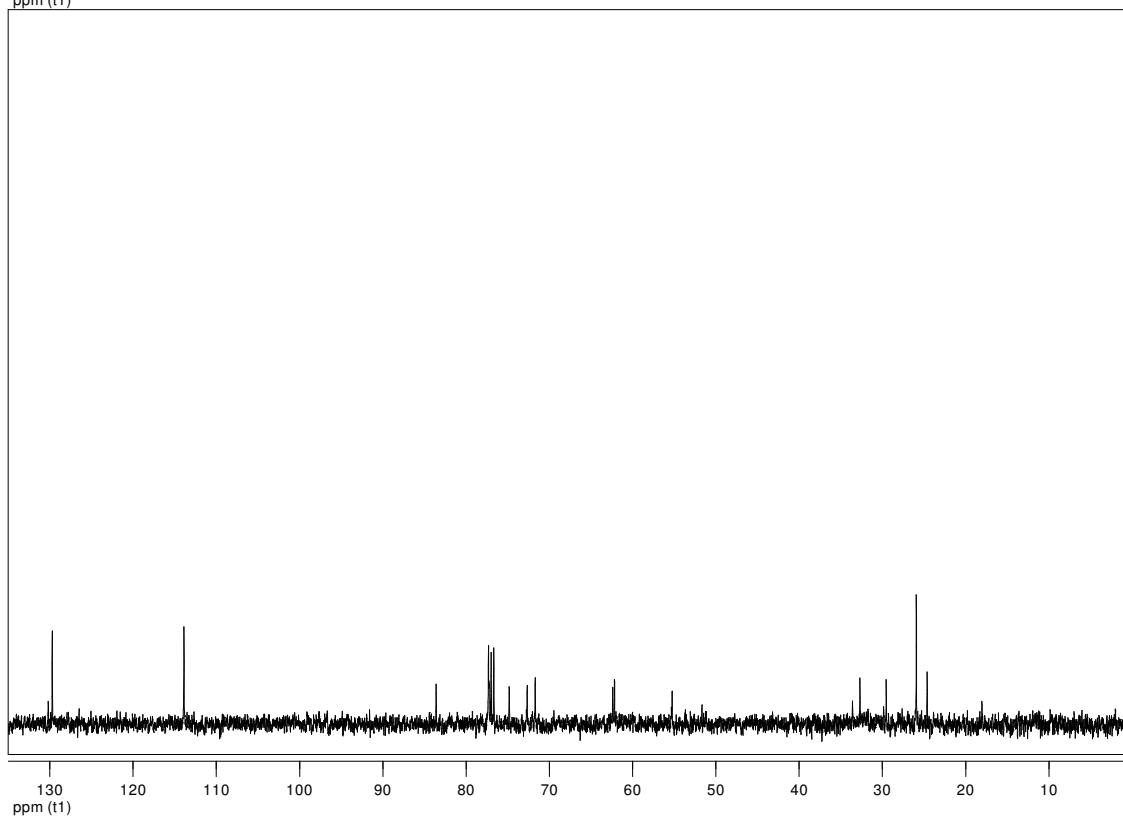
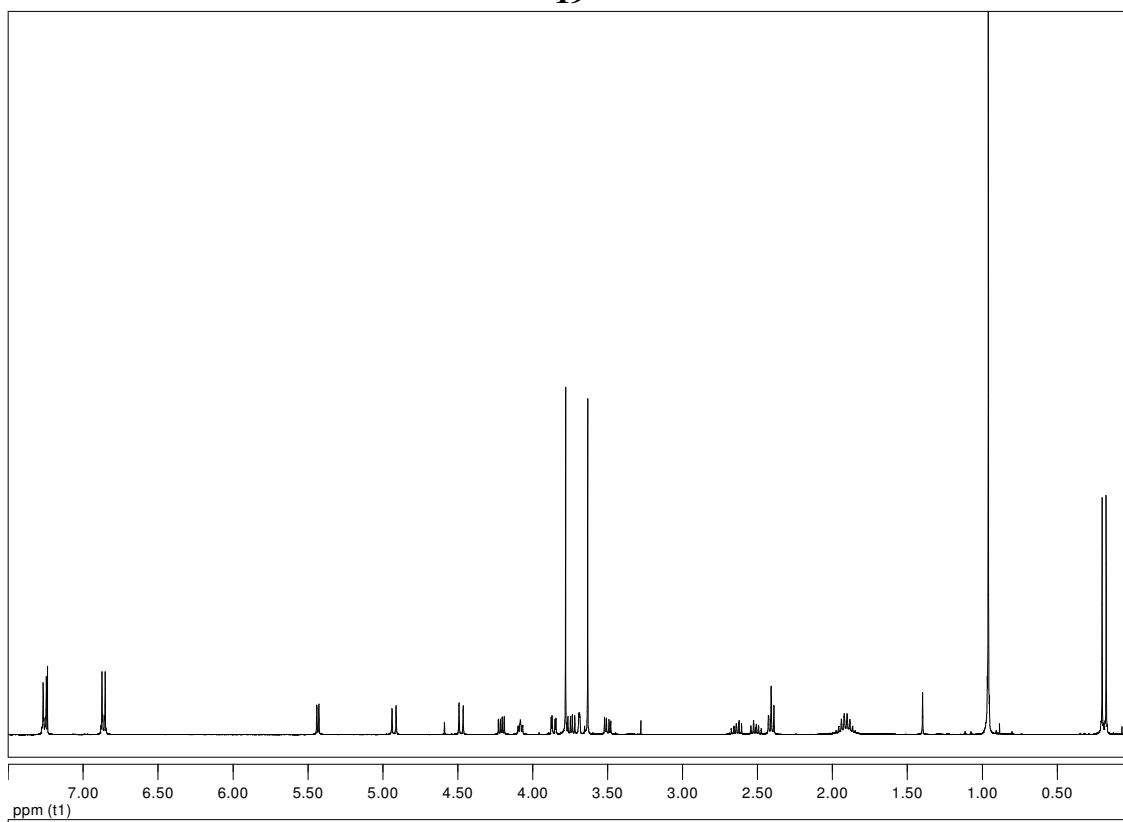
**16**

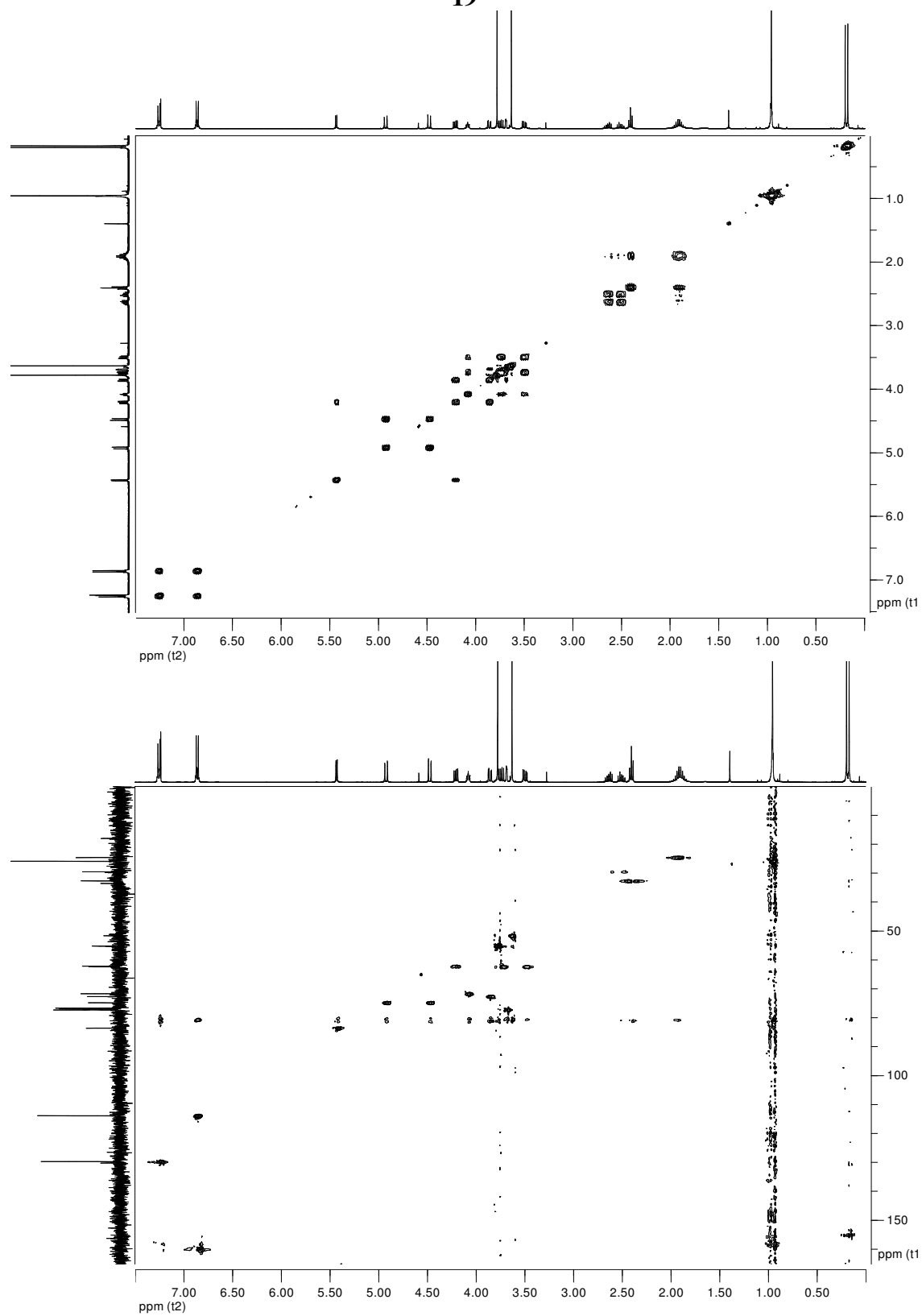
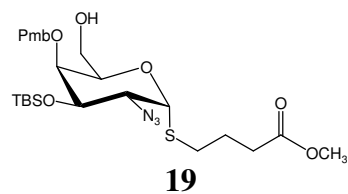
**17**

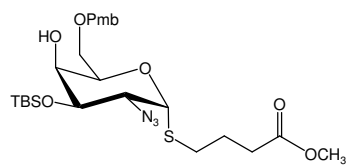
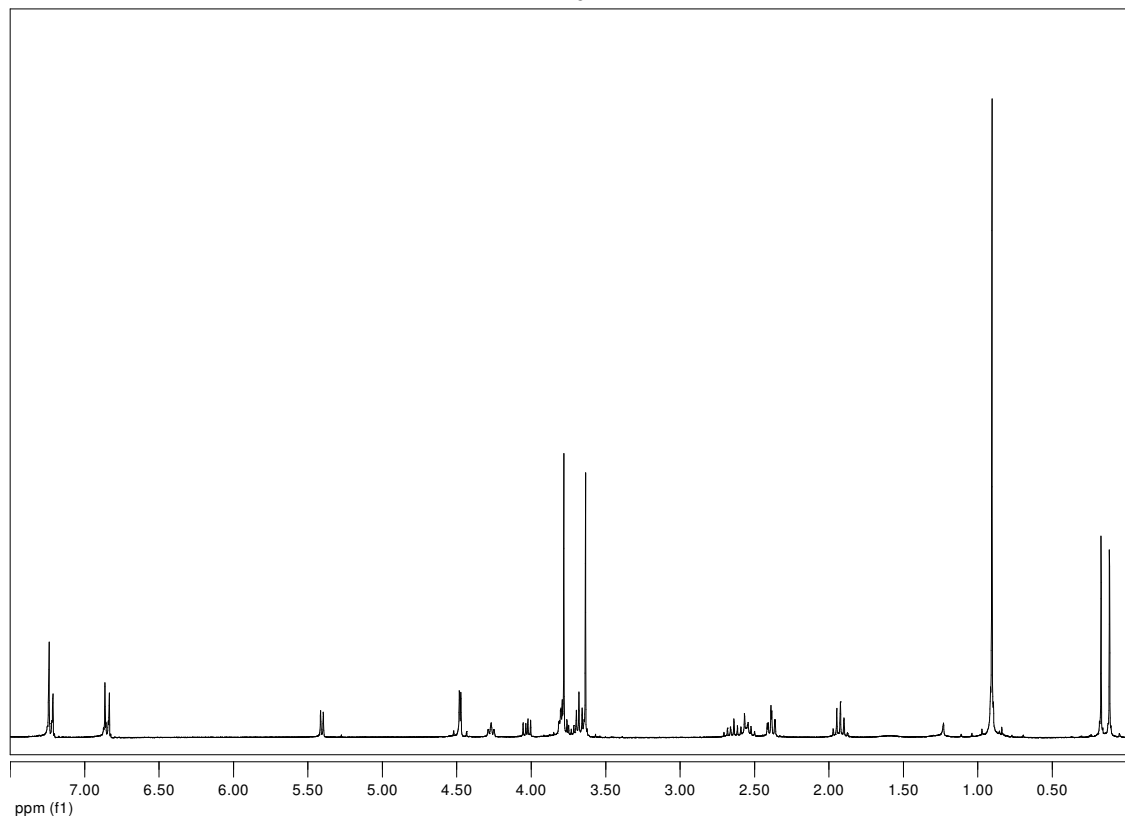


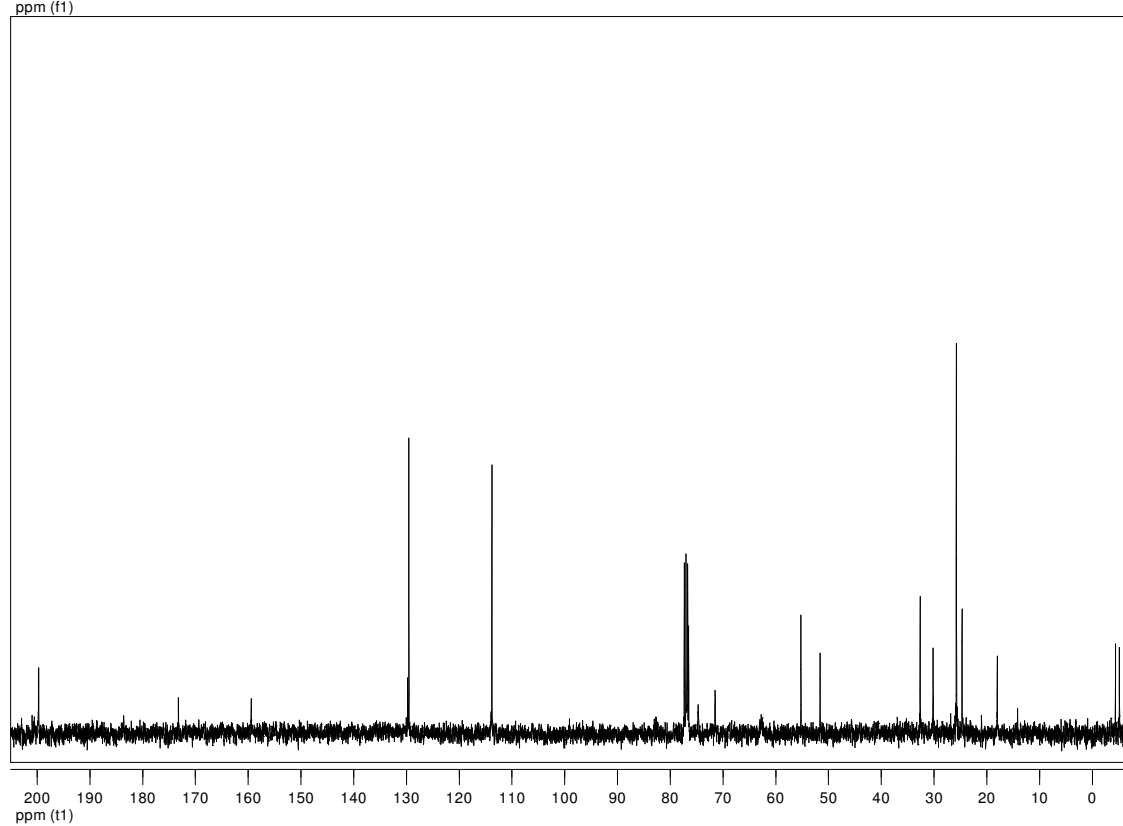
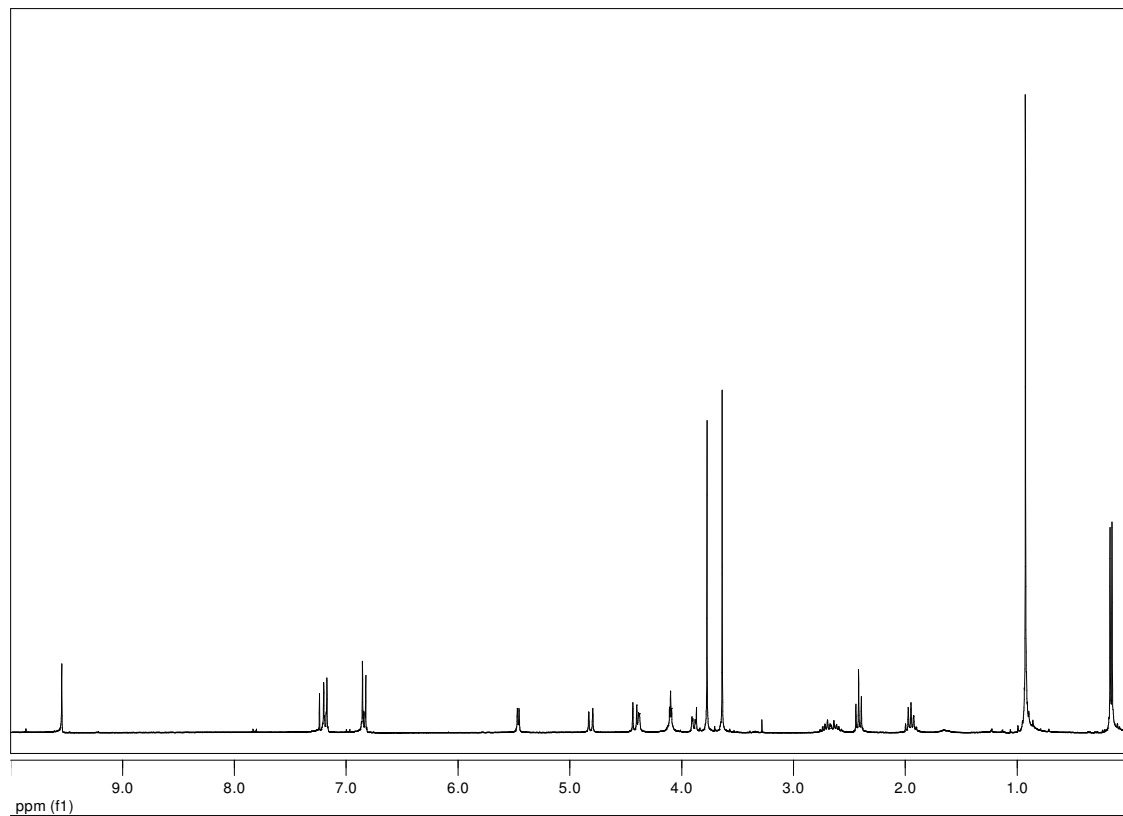
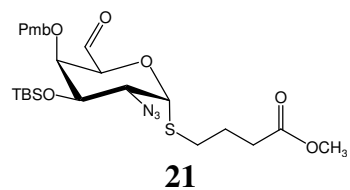
17

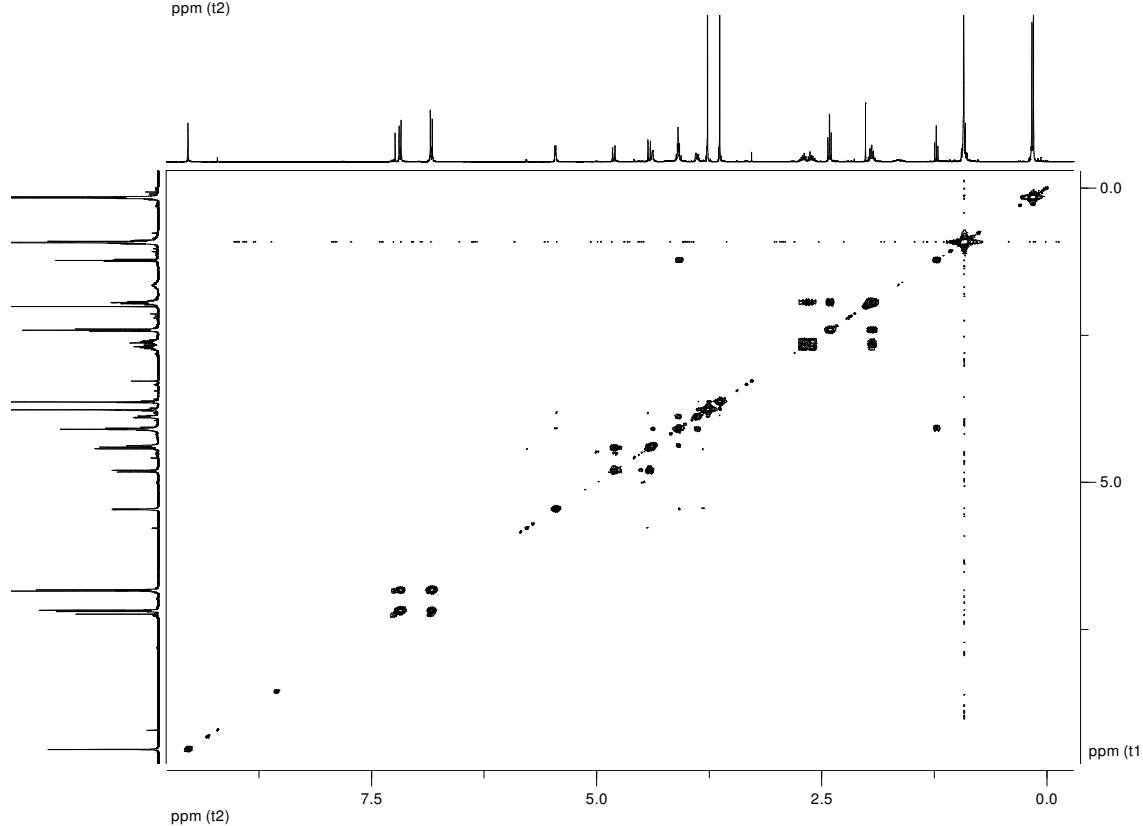
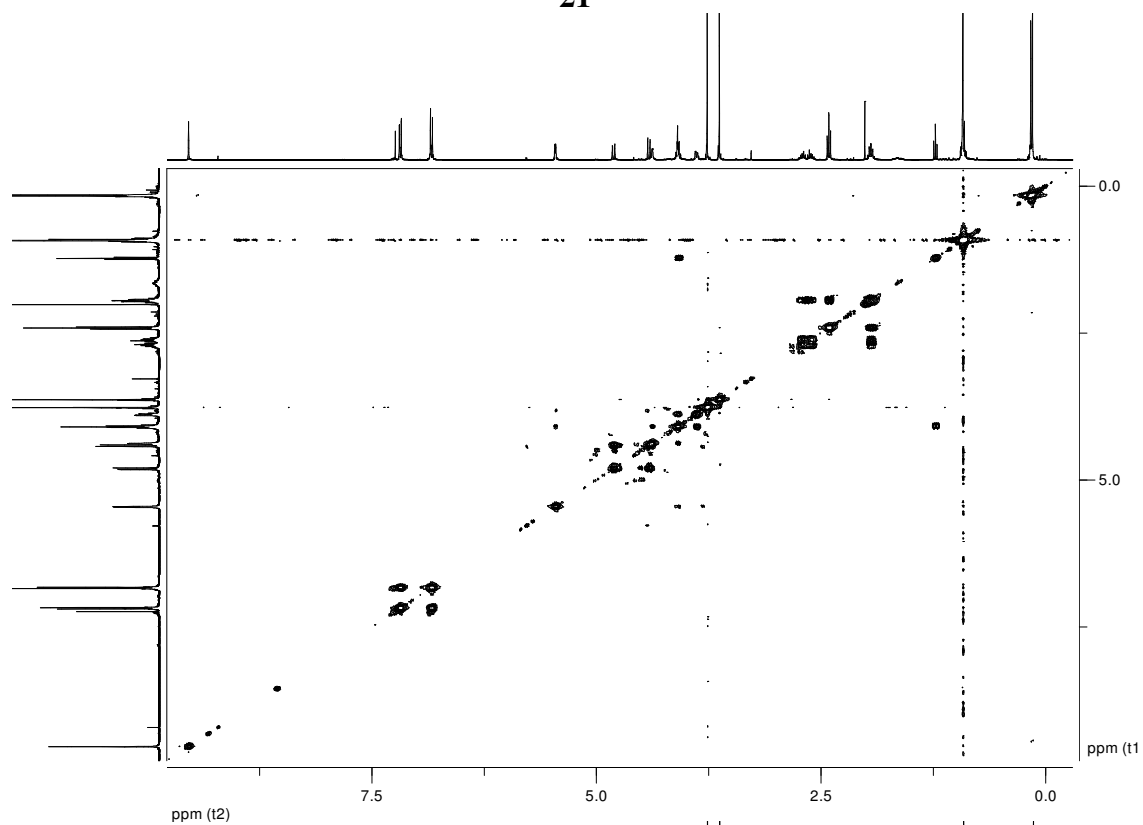
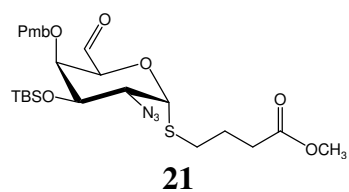


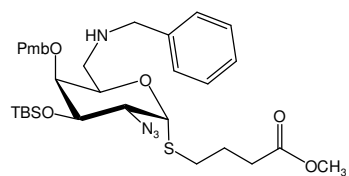
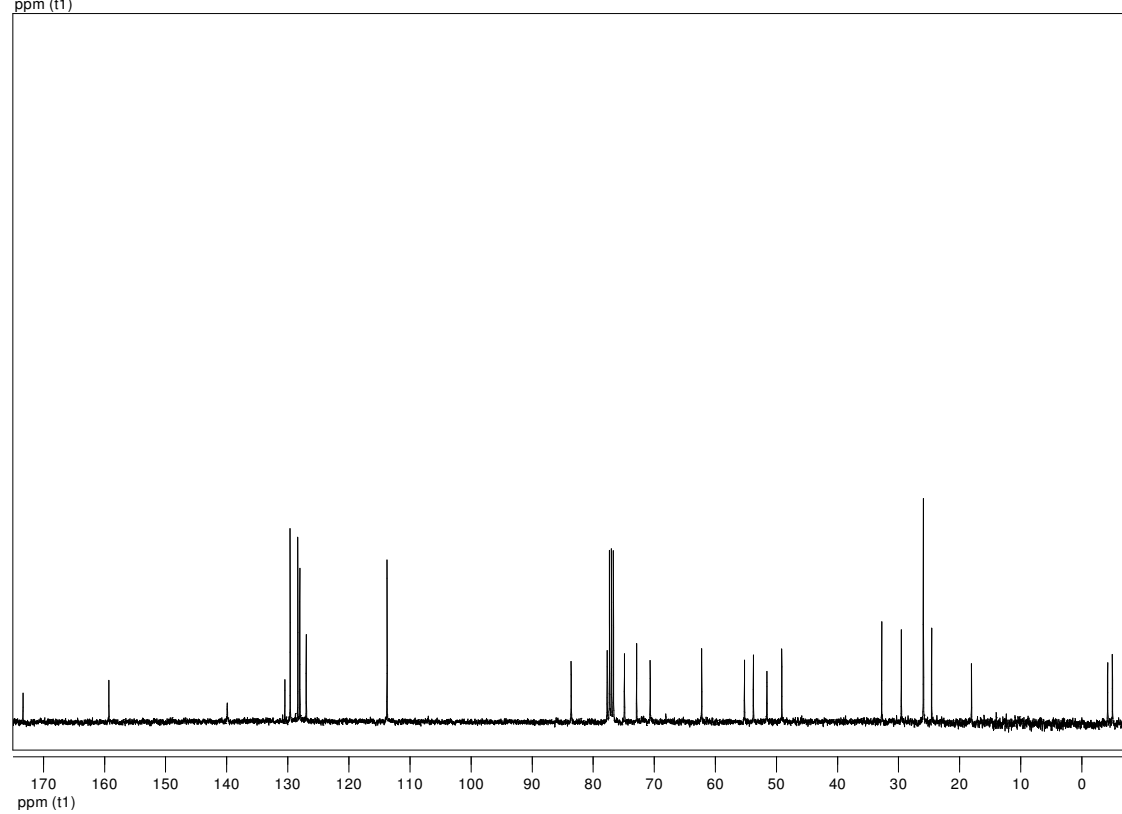
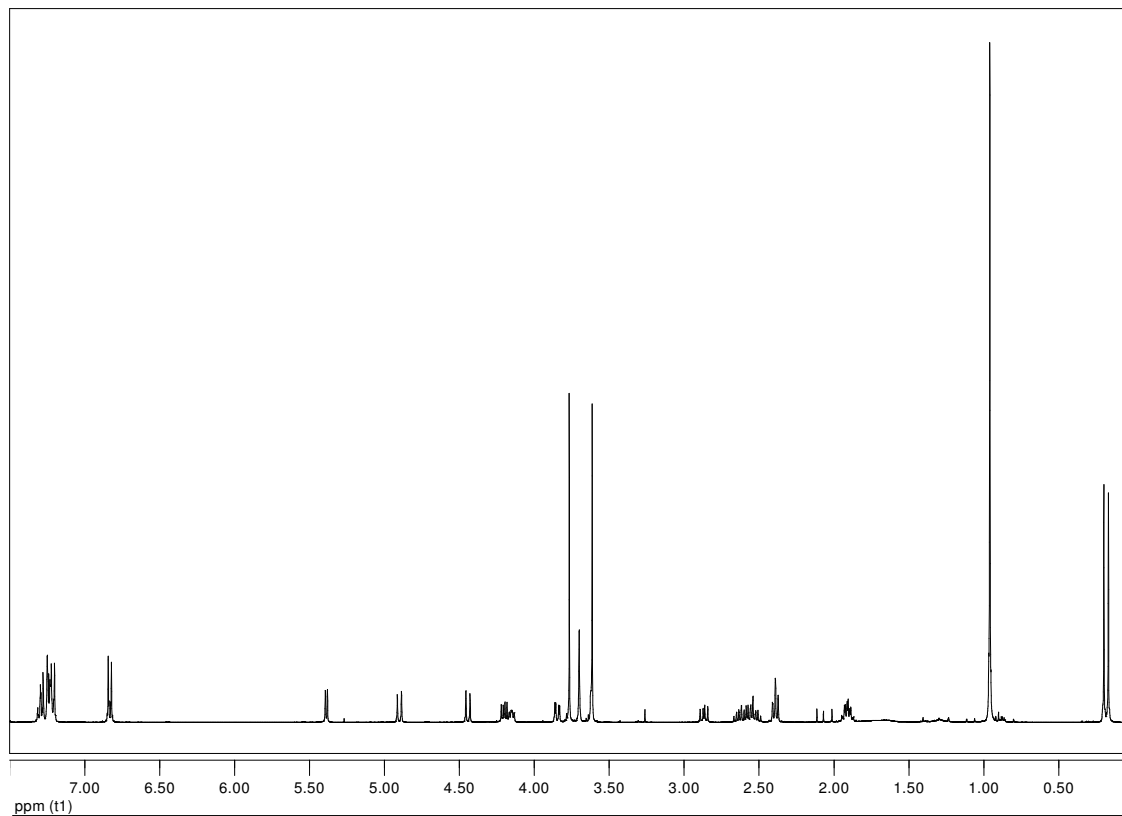
**19**

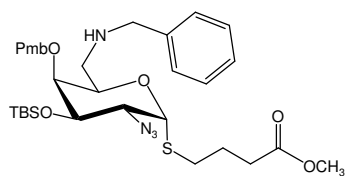


**20**

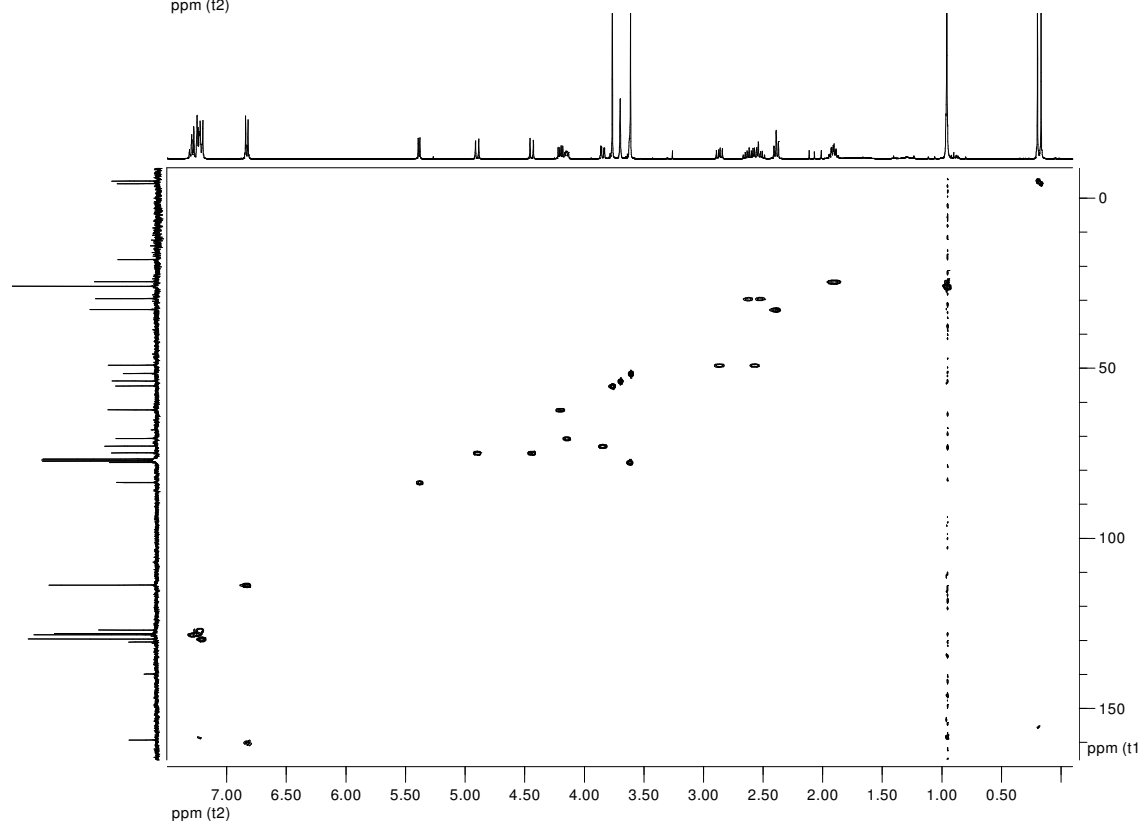
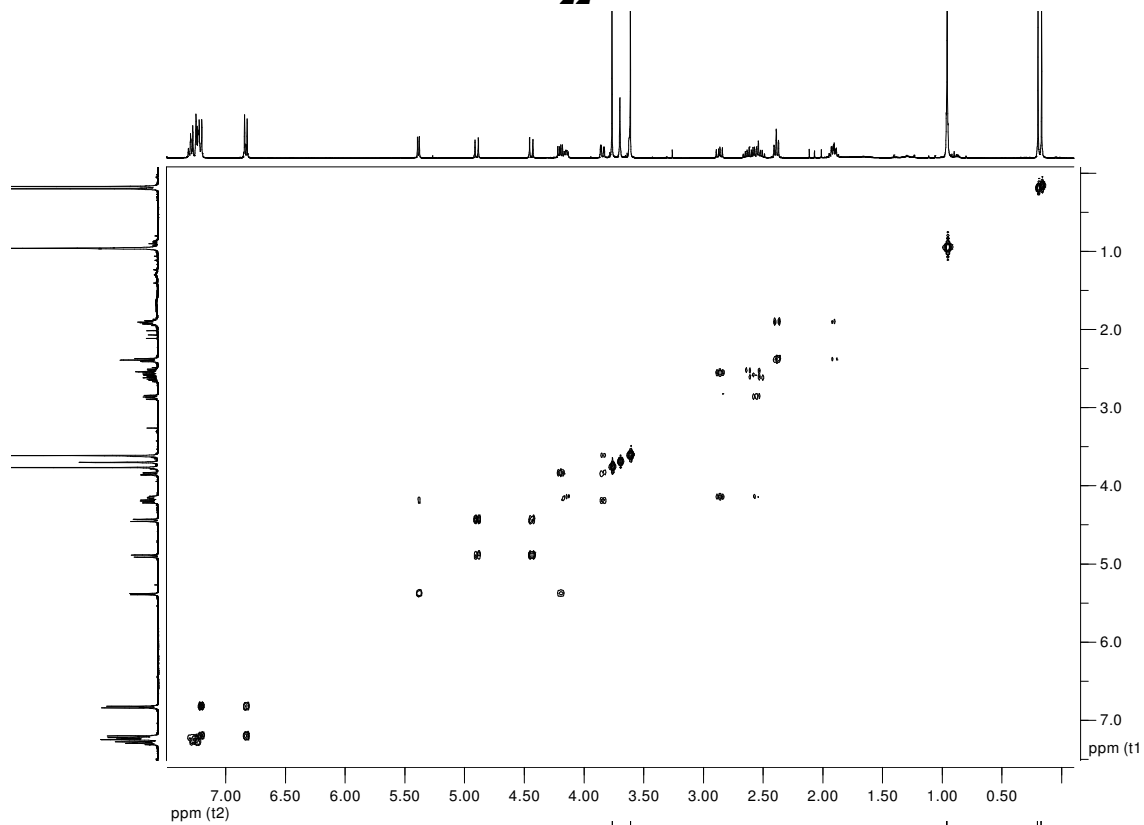


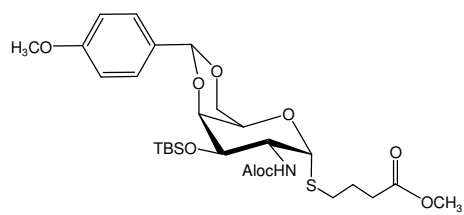


**22**

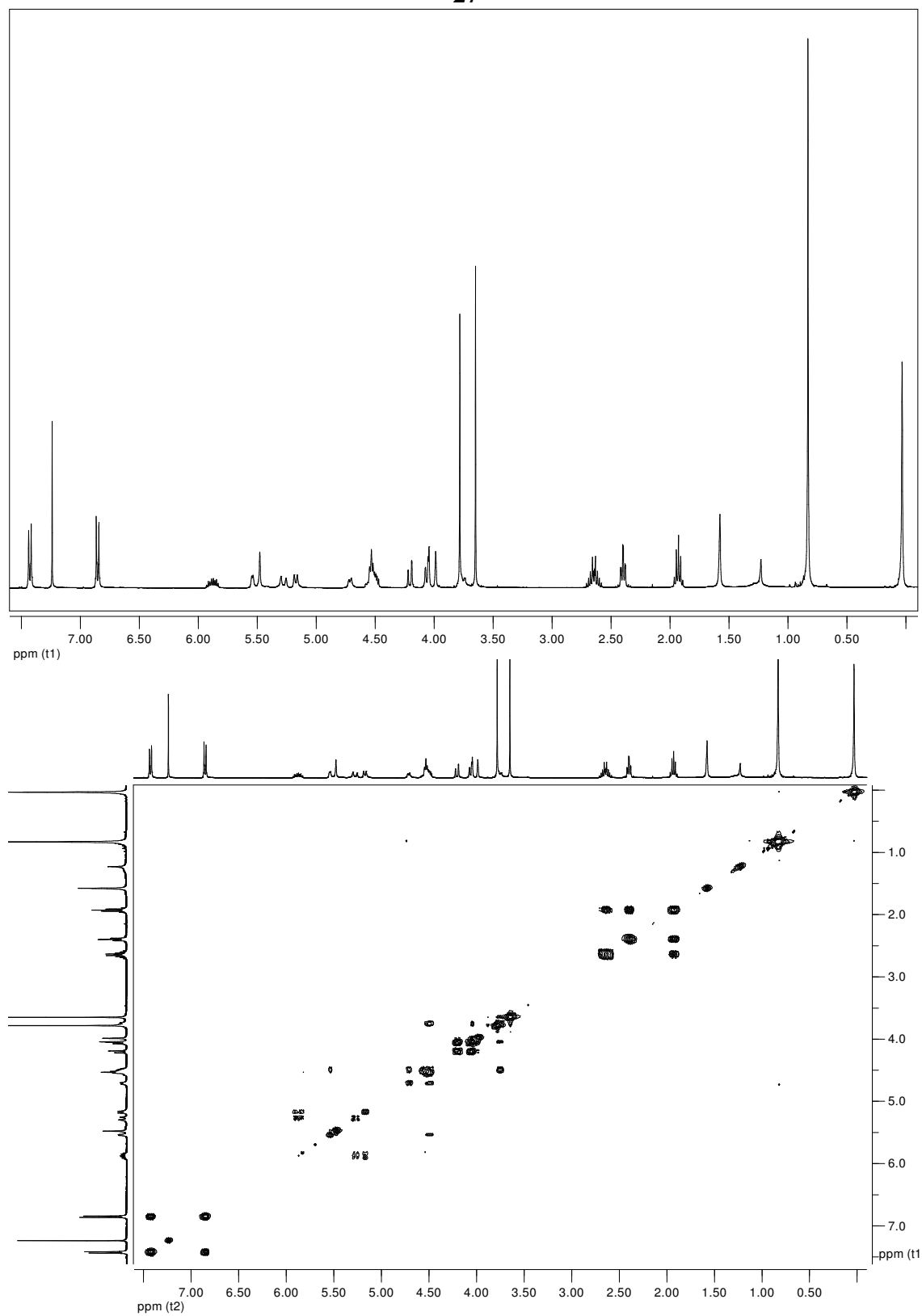


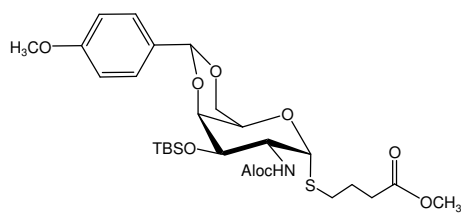
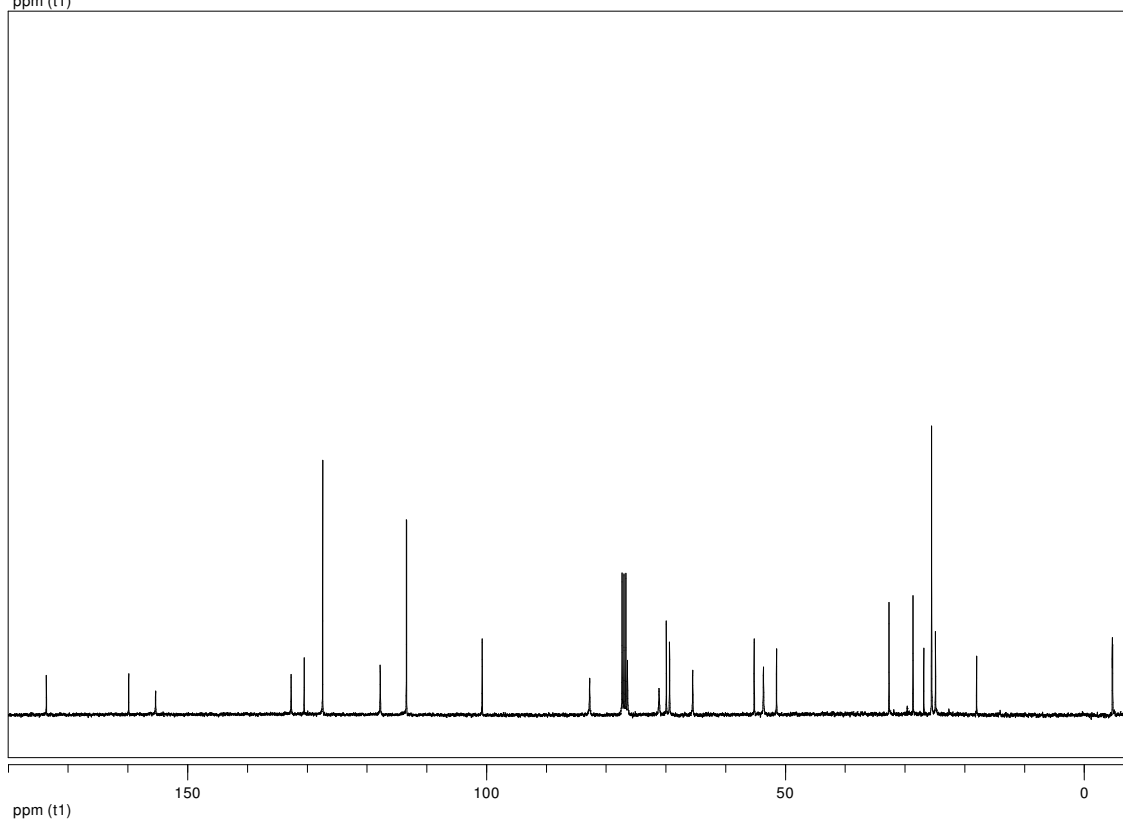
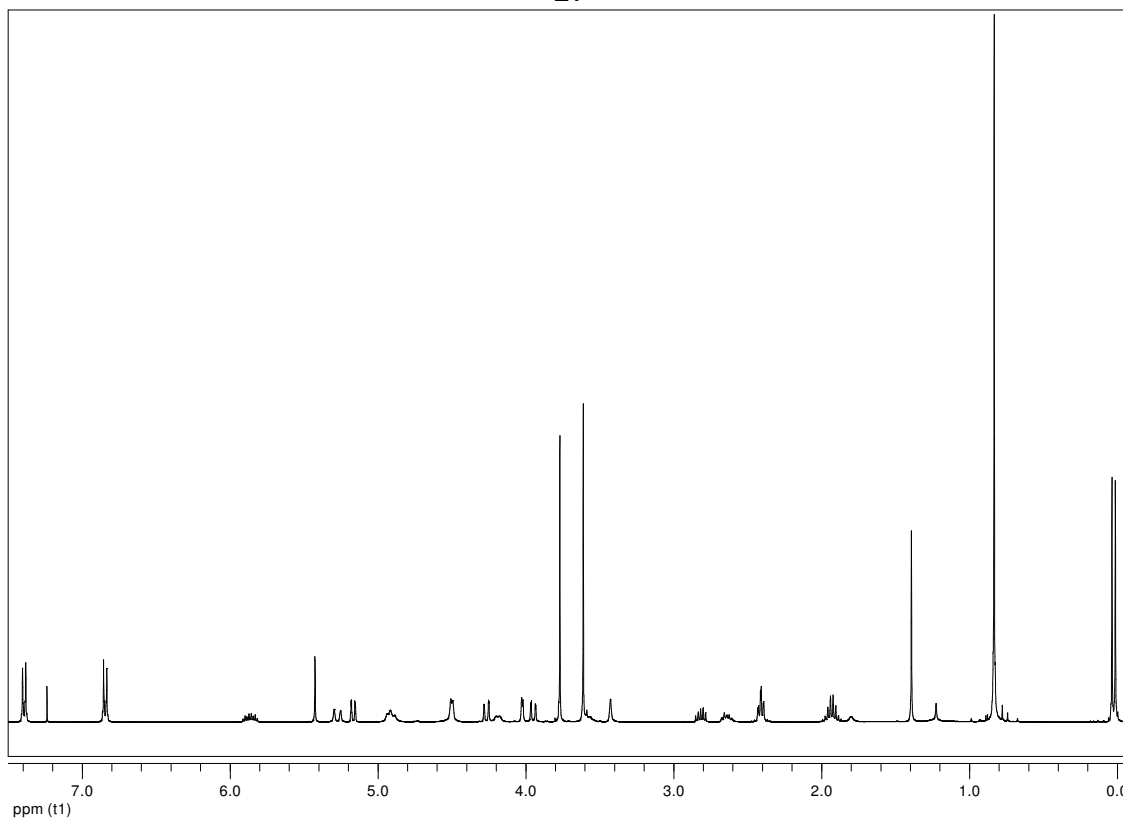
22

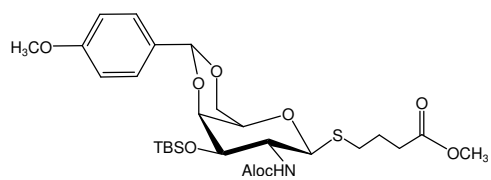




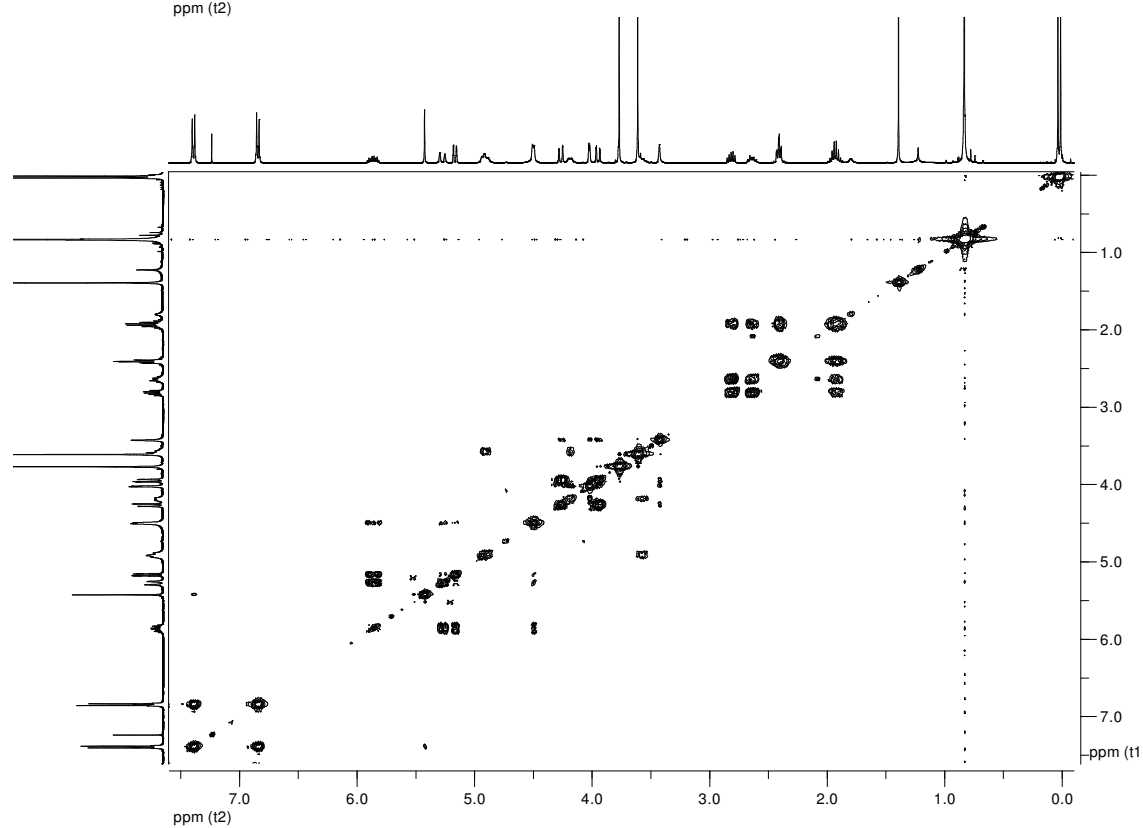
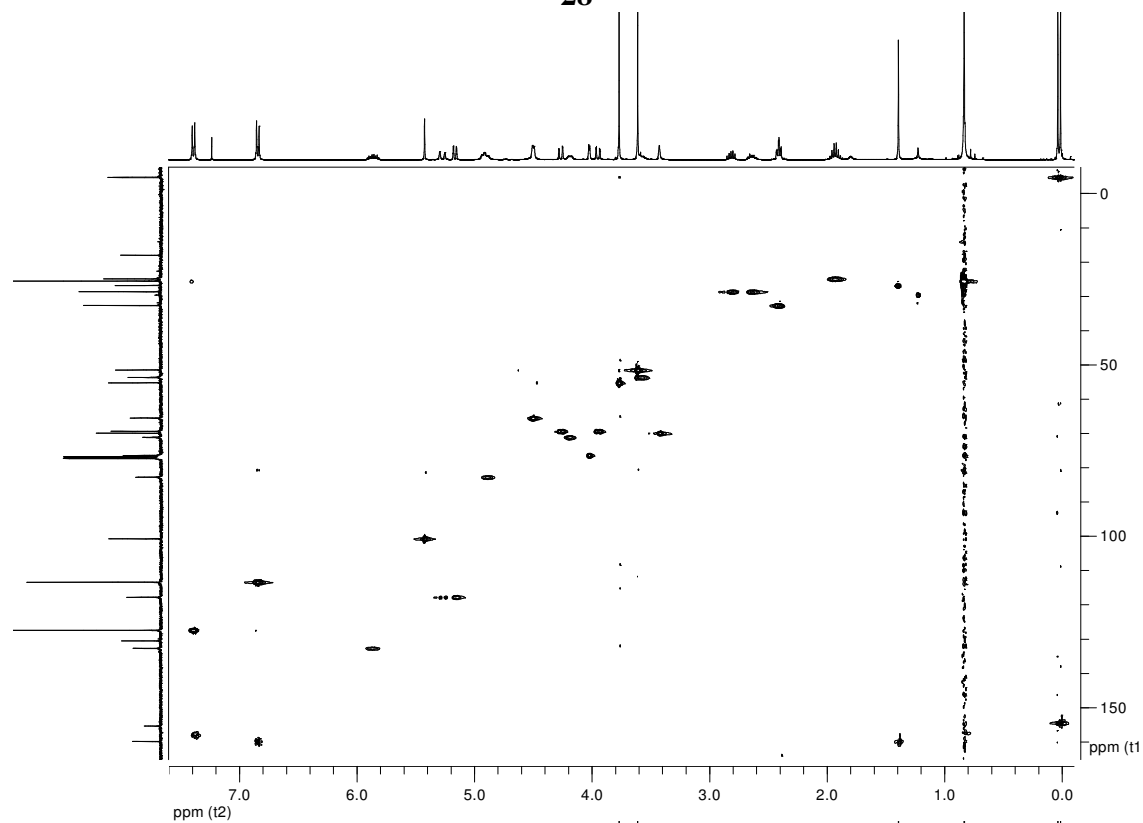
27

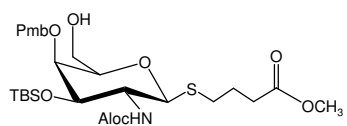


**27**

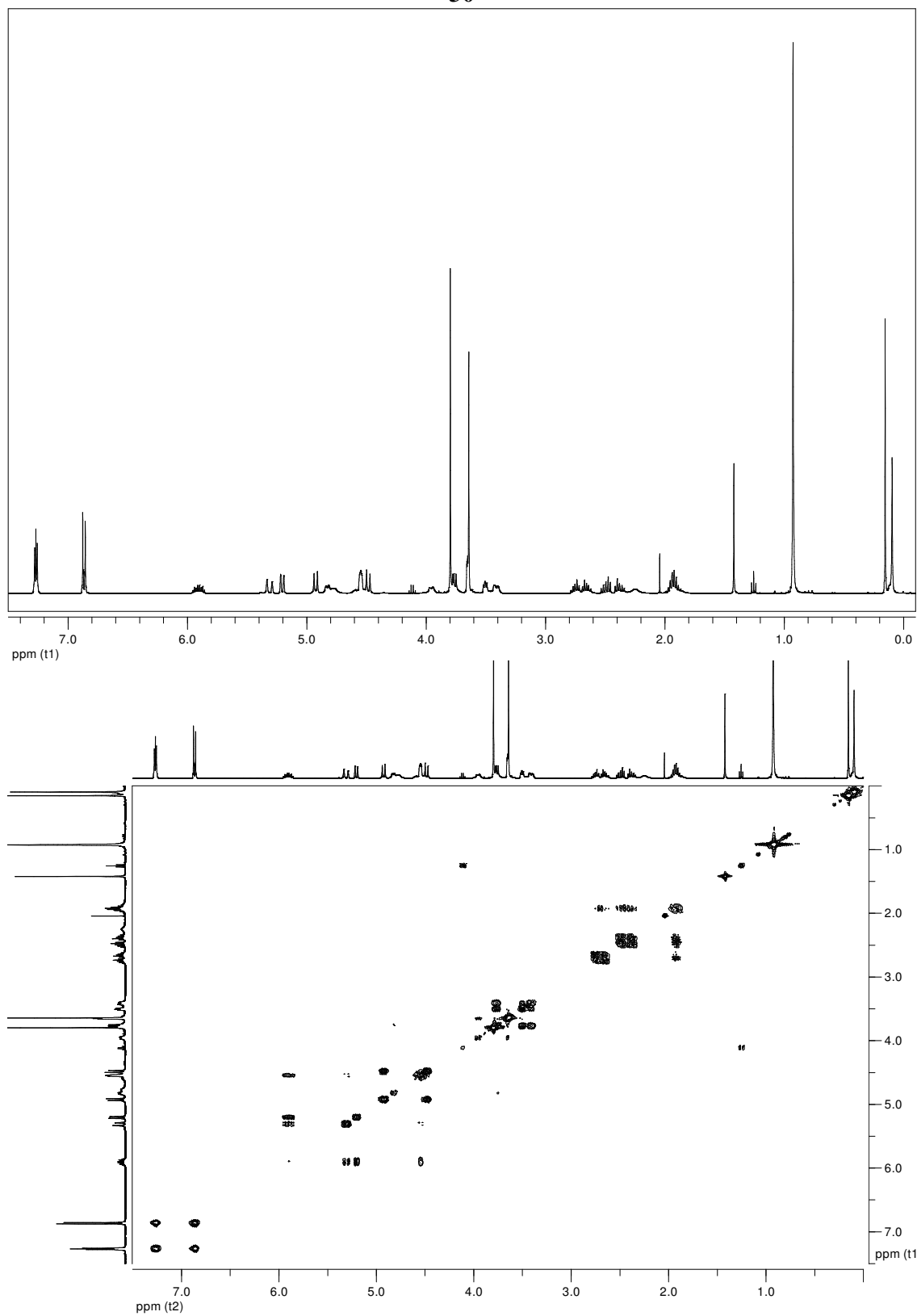


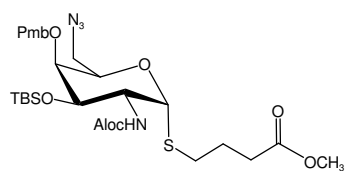
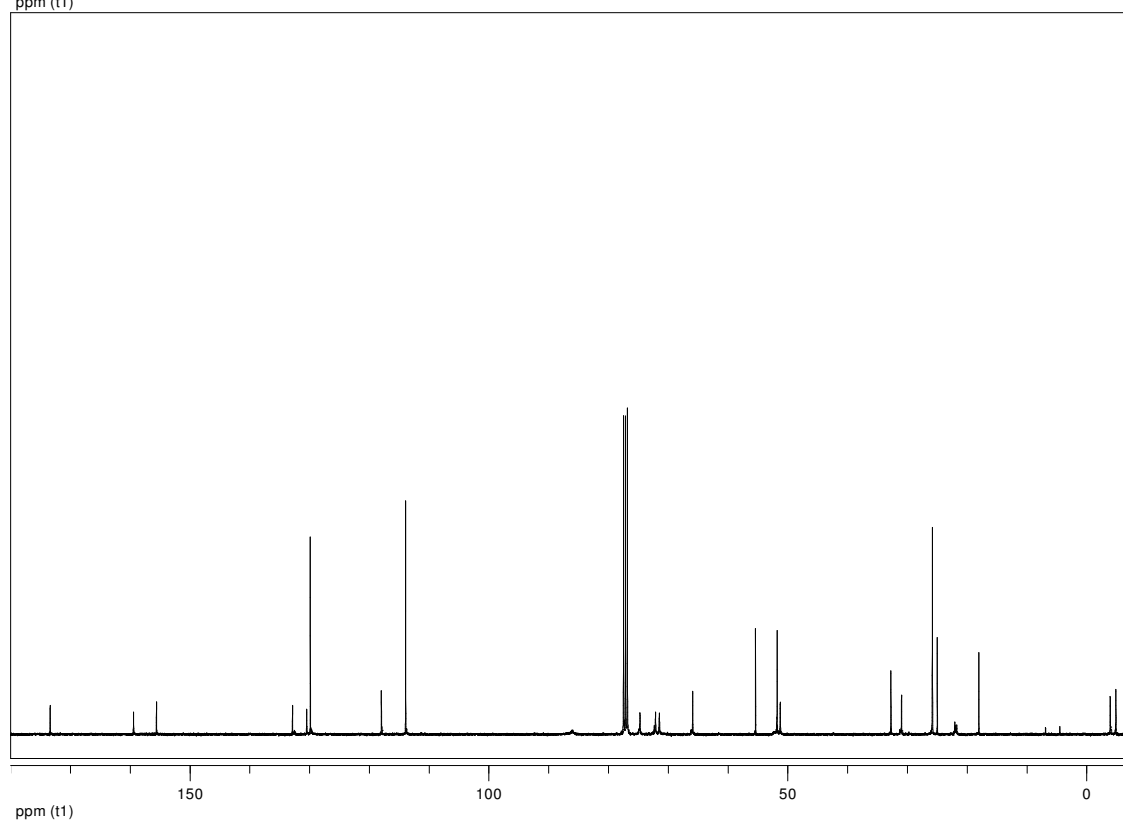
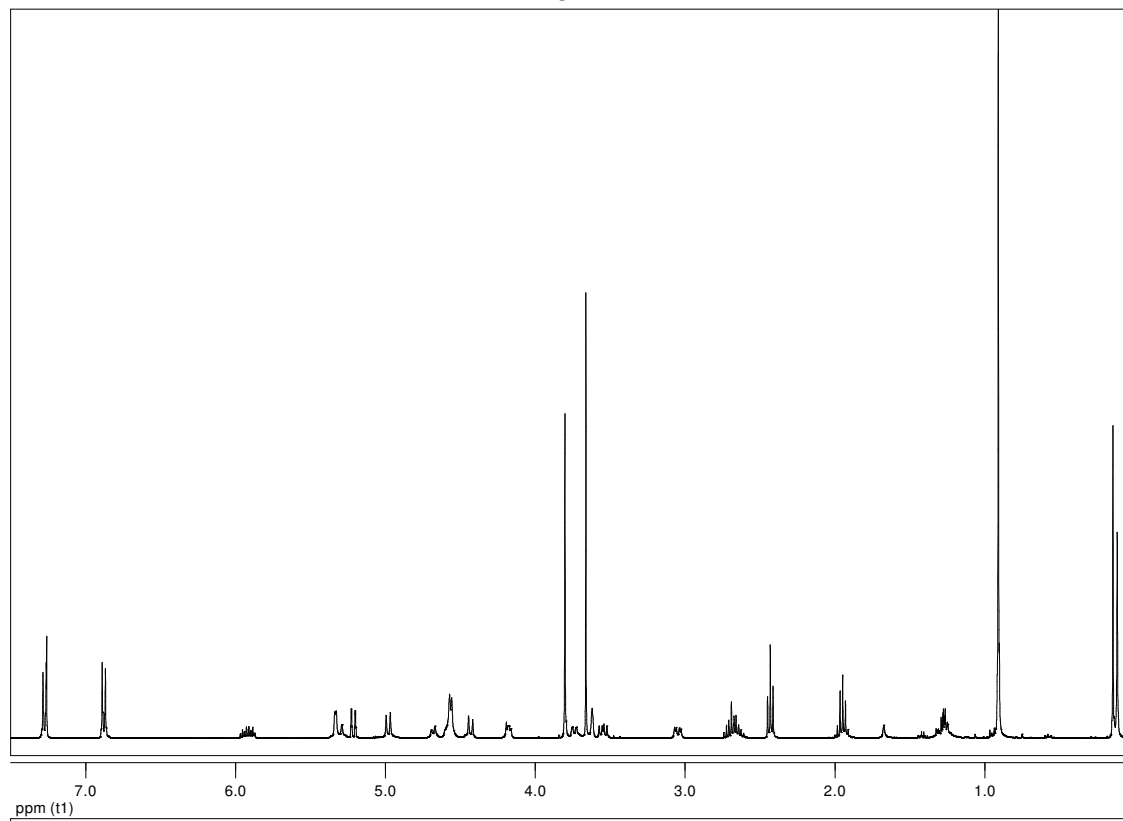
28

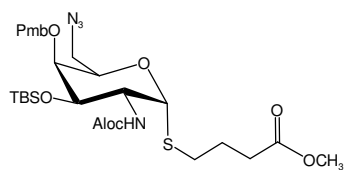
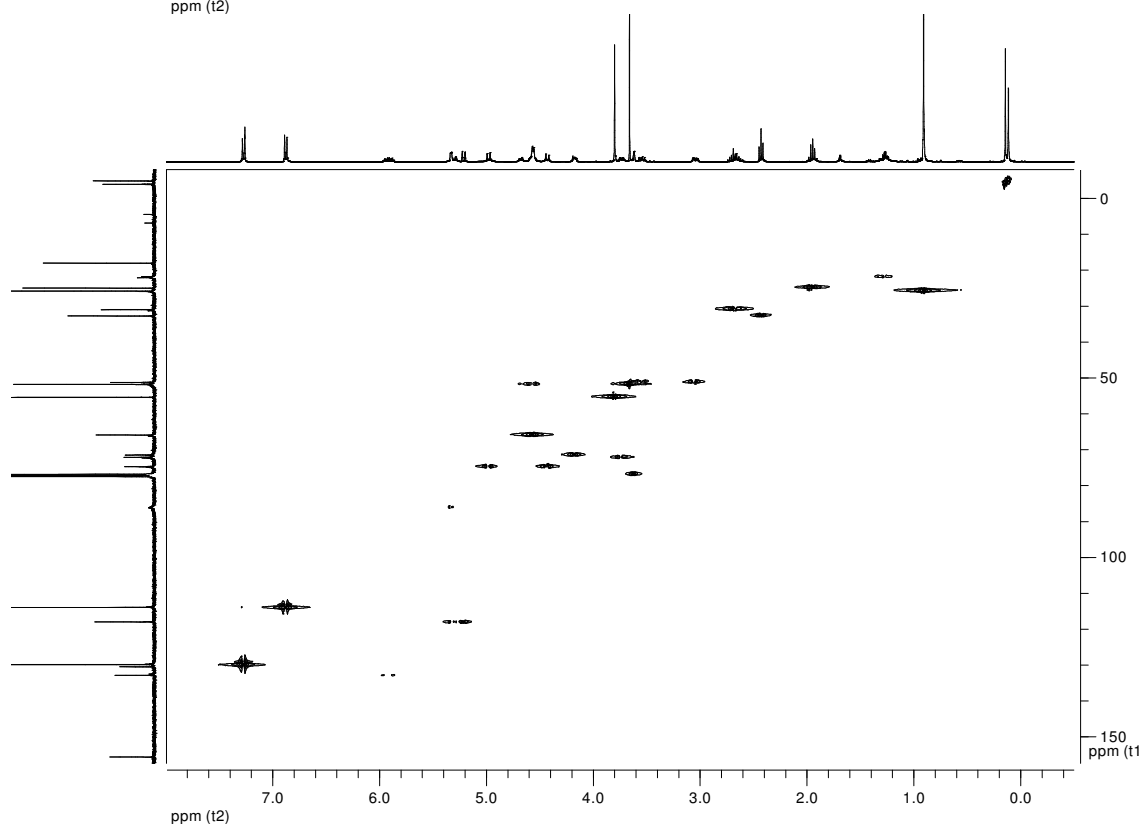
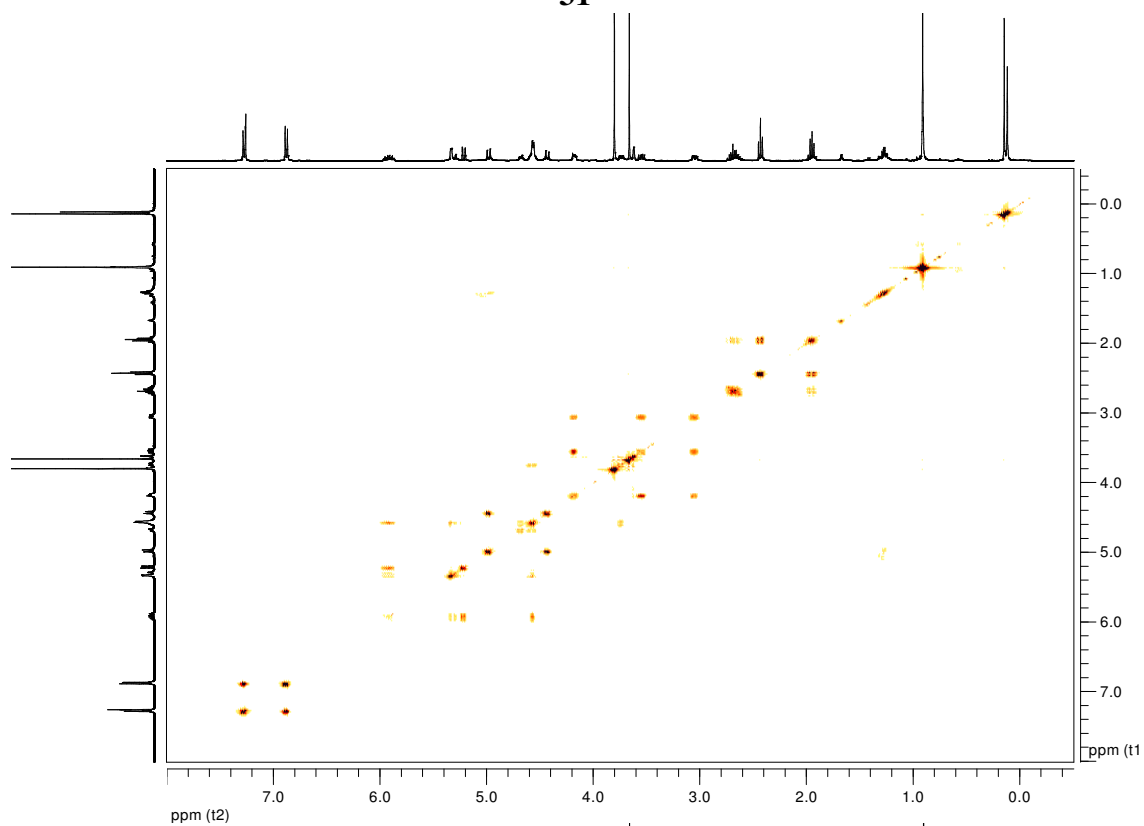


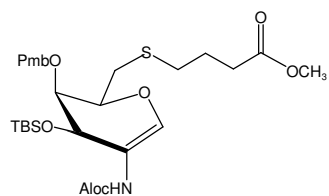


30

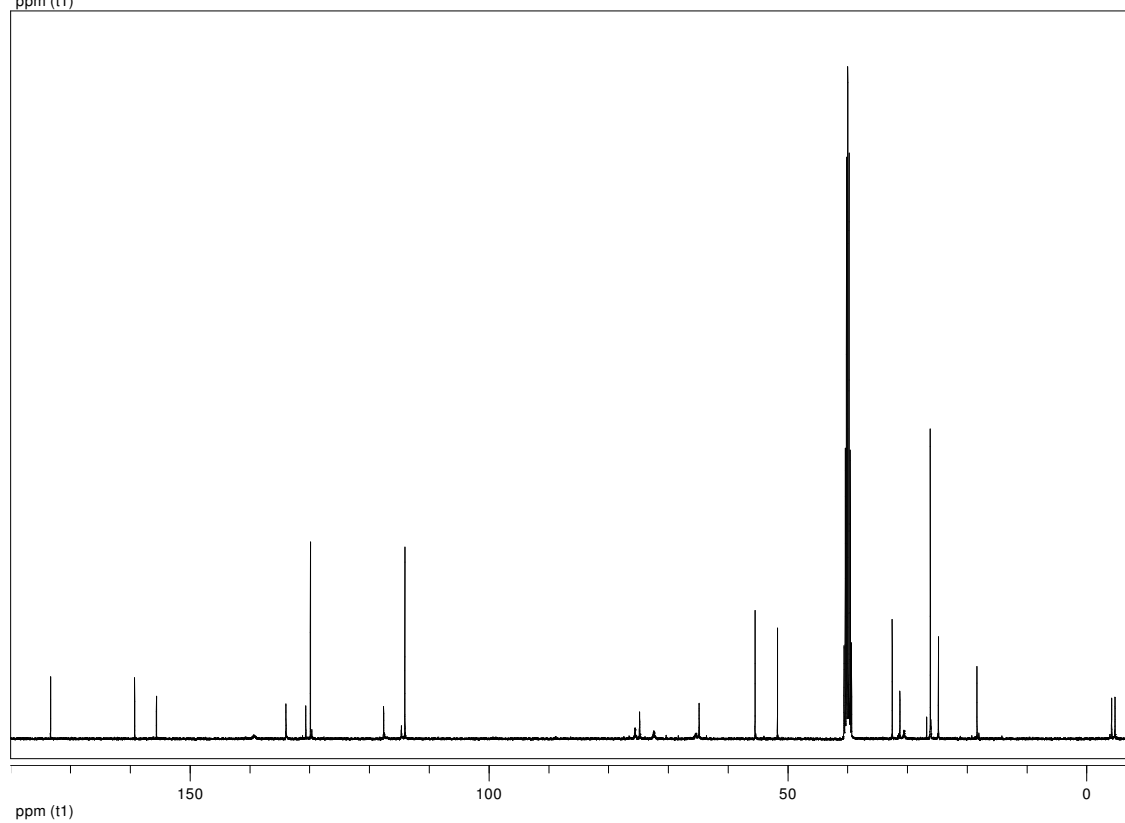
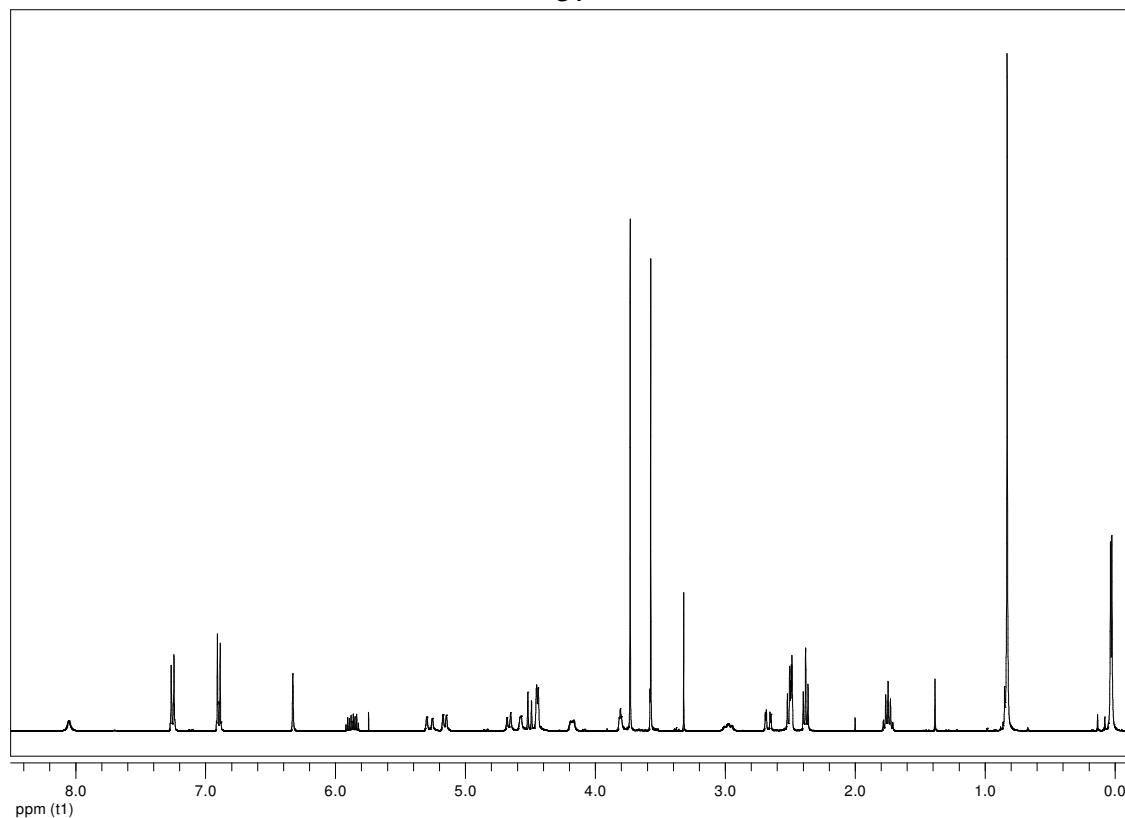


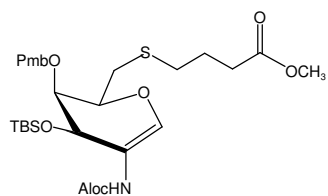
**31**

**31**

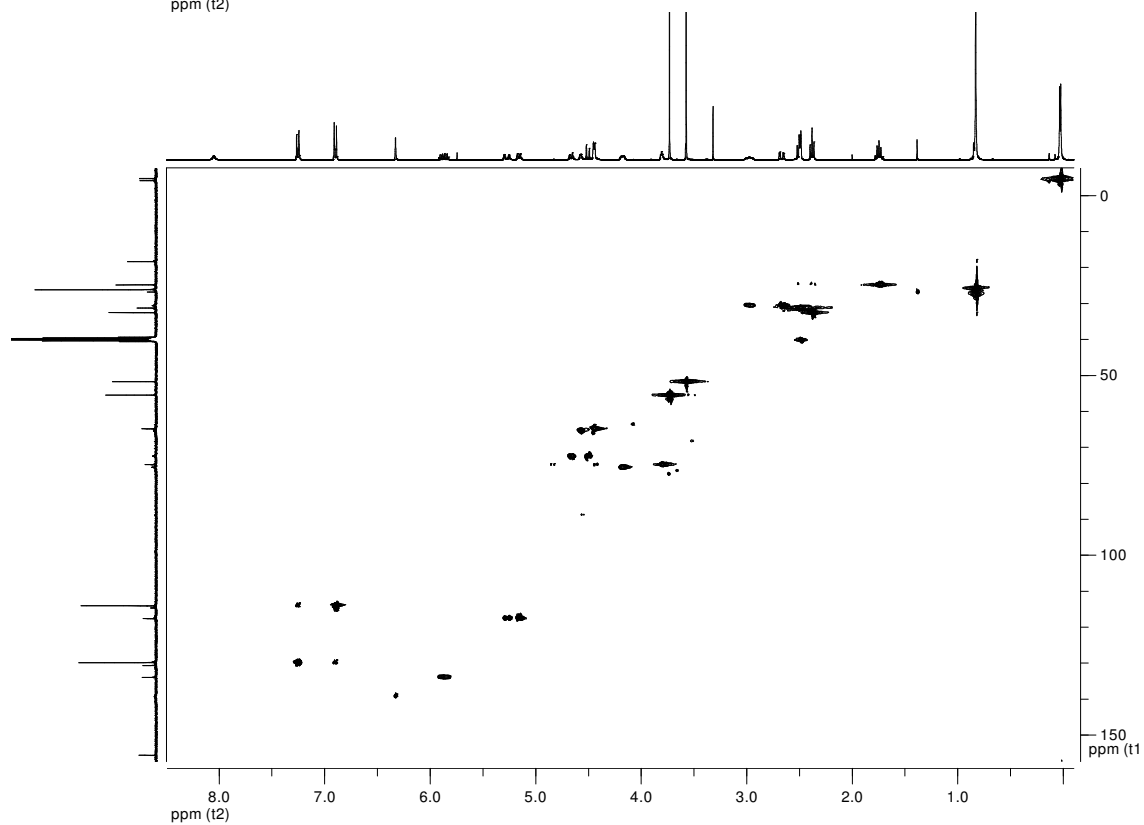
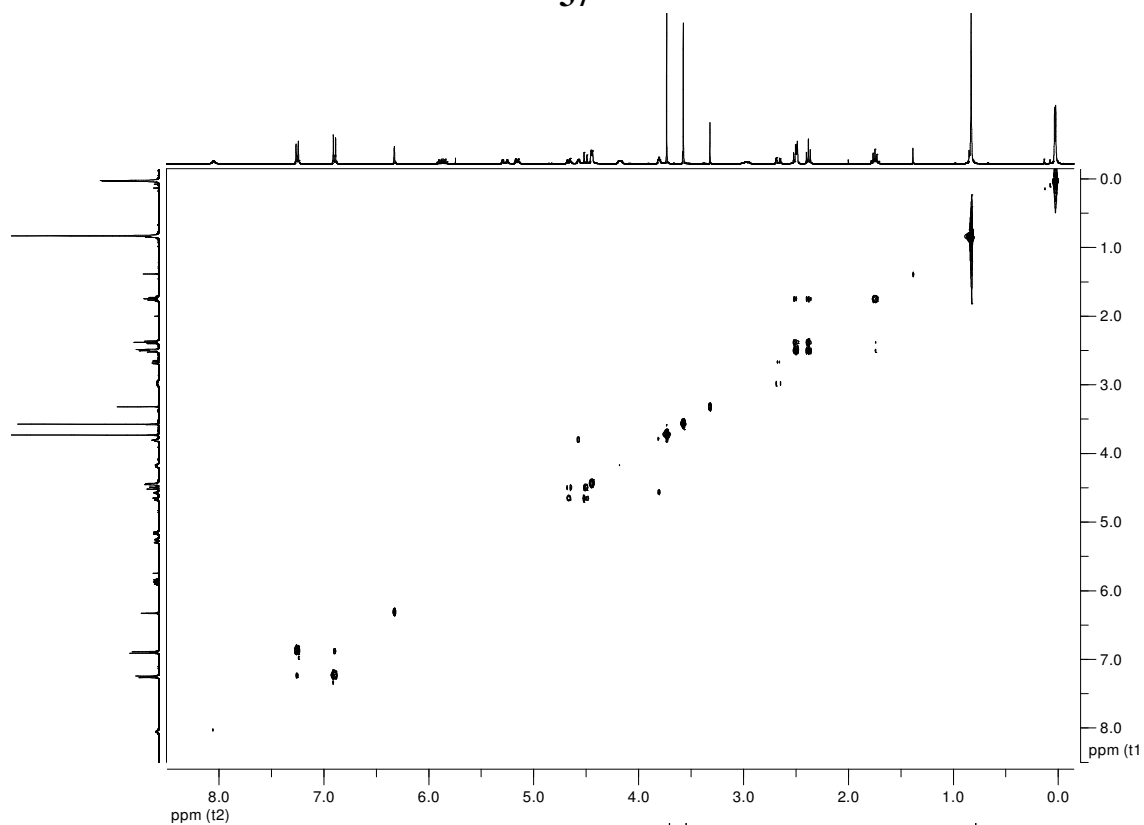


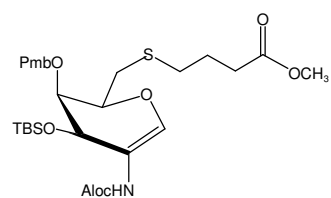
37



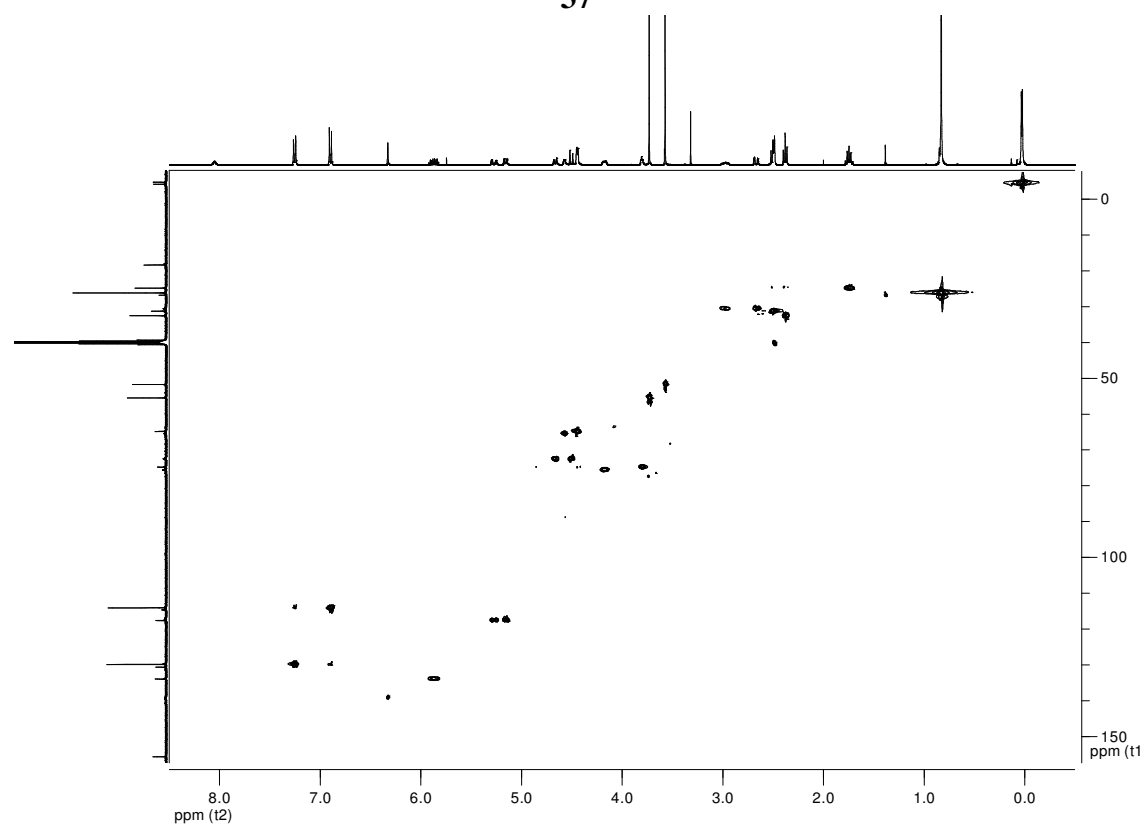


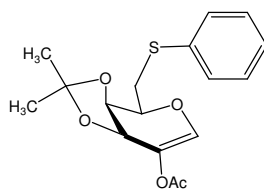
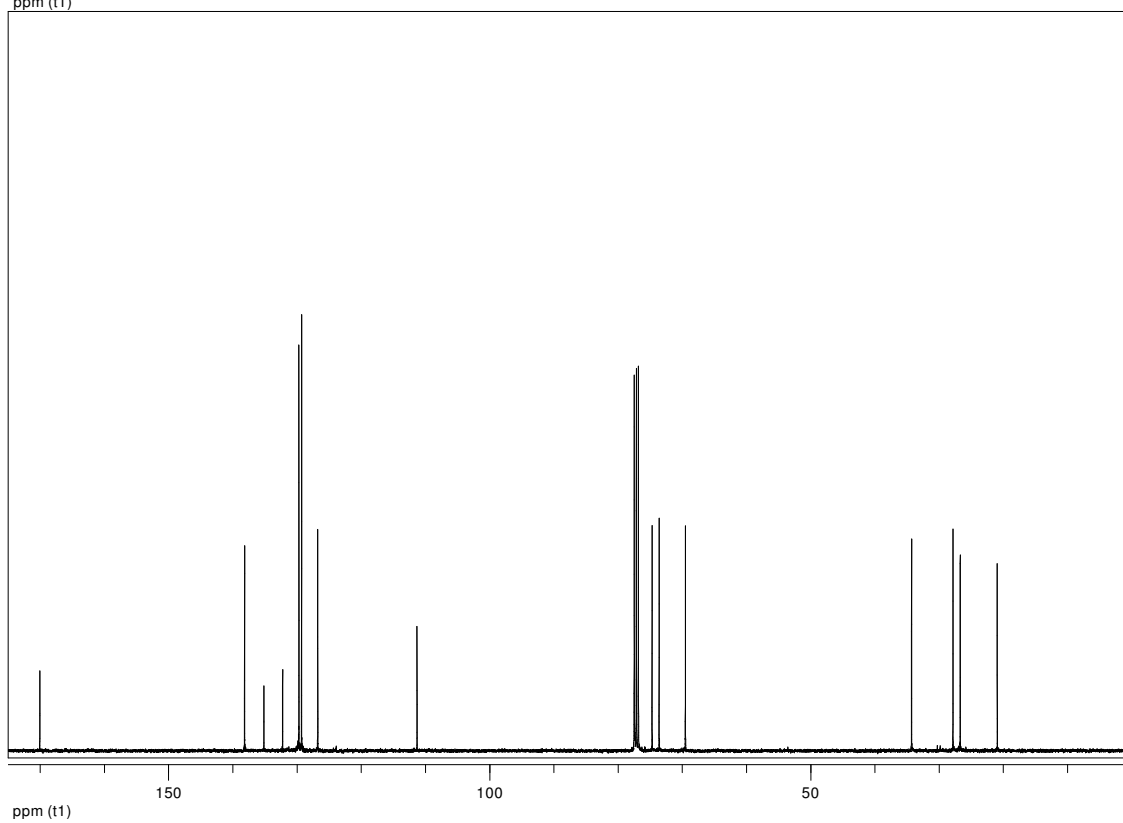
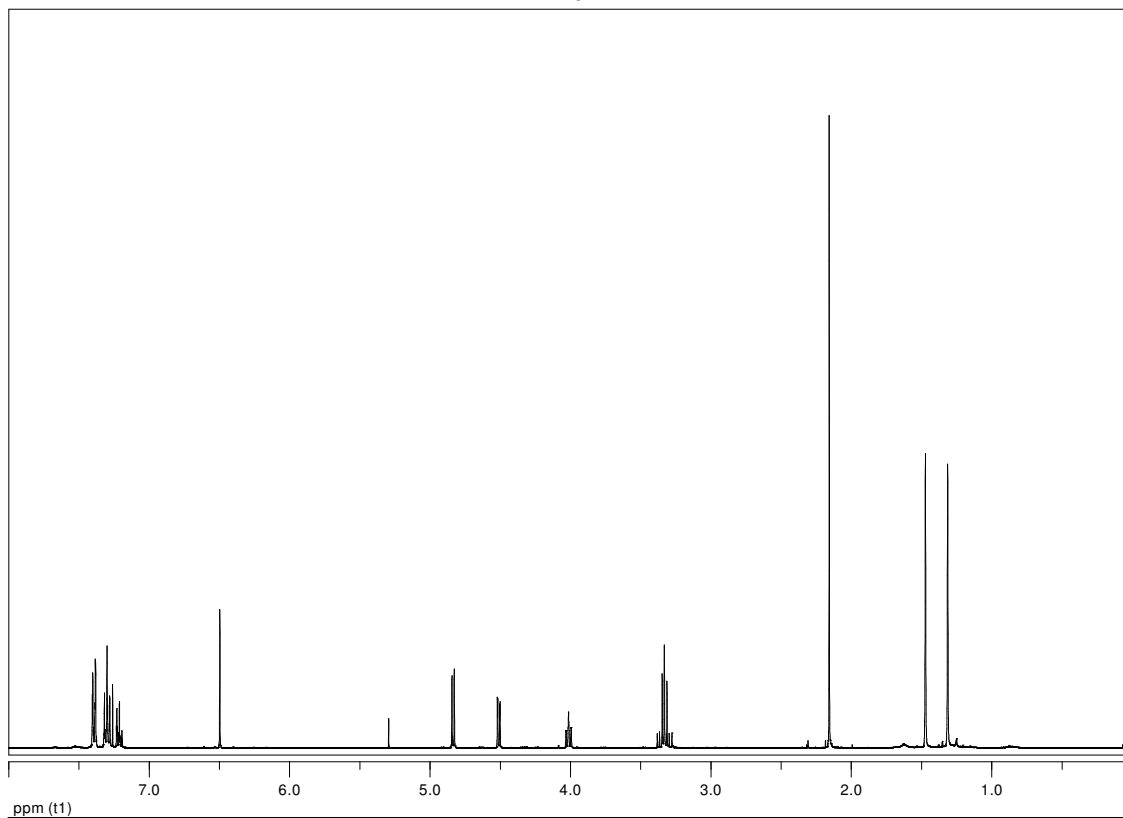
37

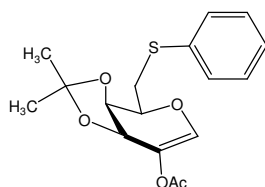
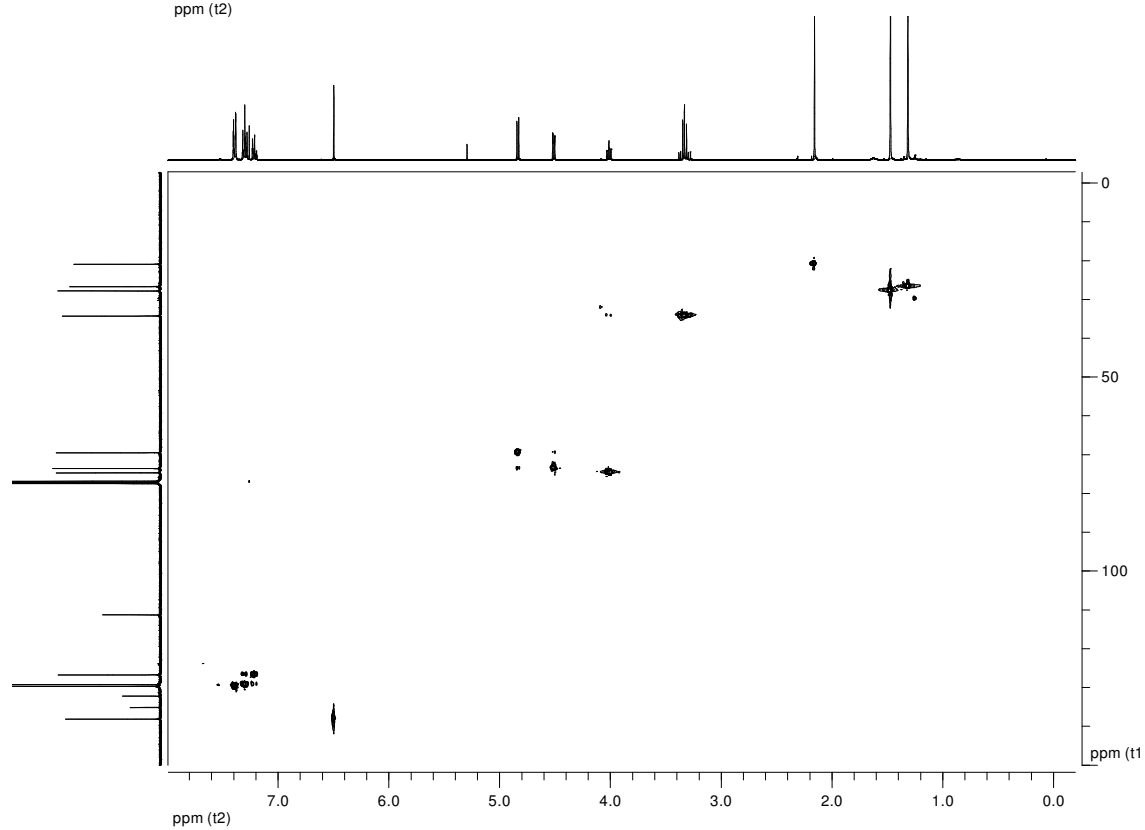
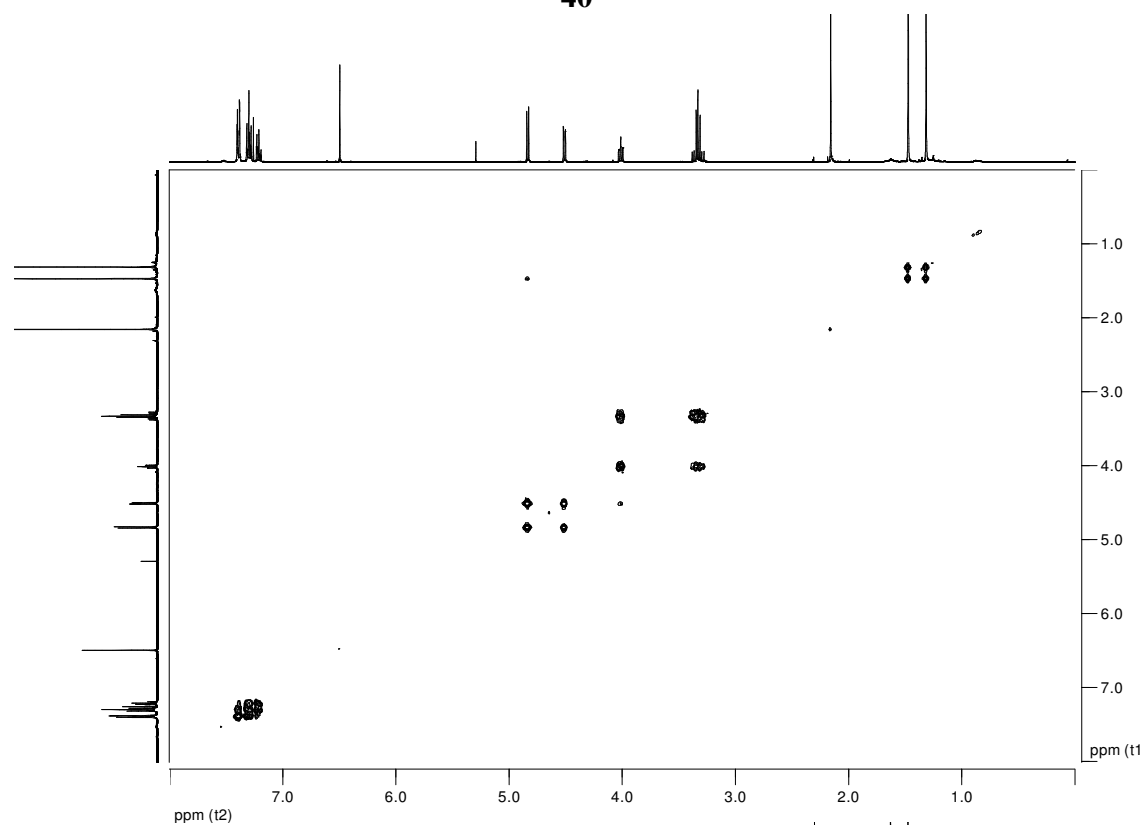


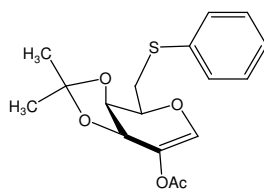
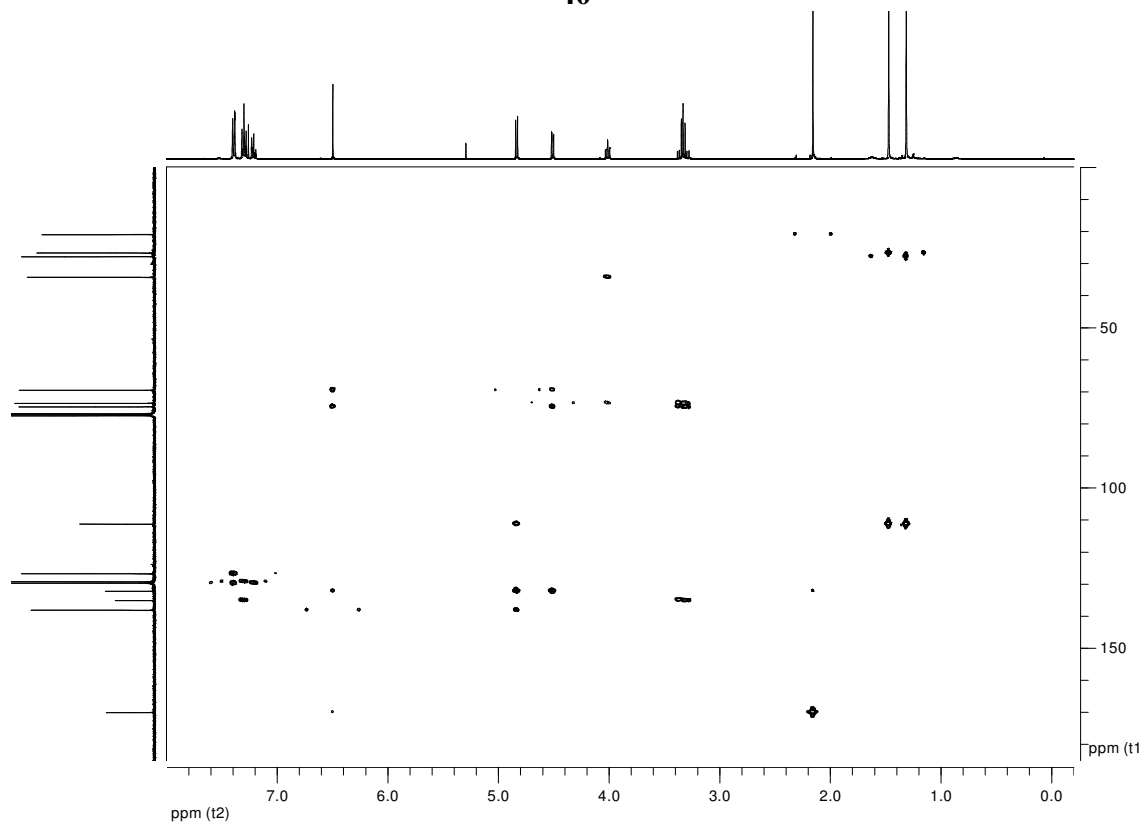


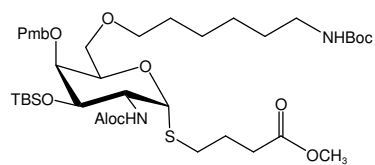
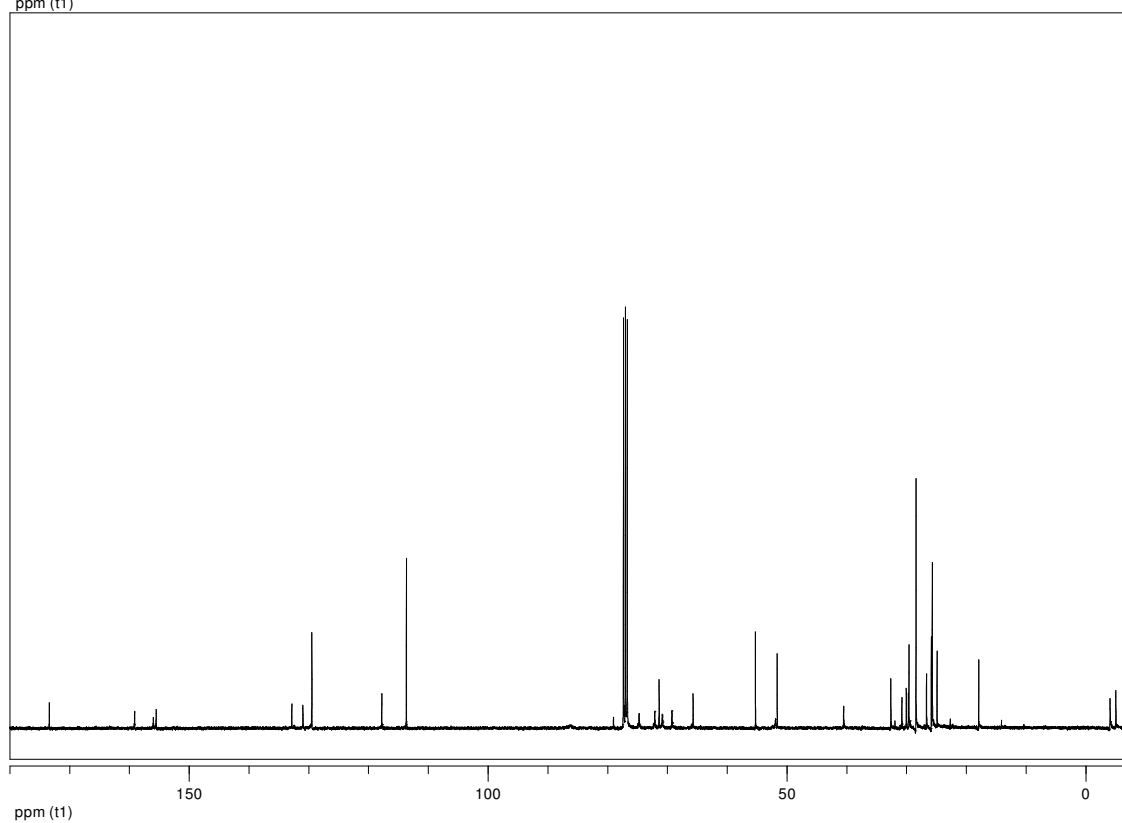
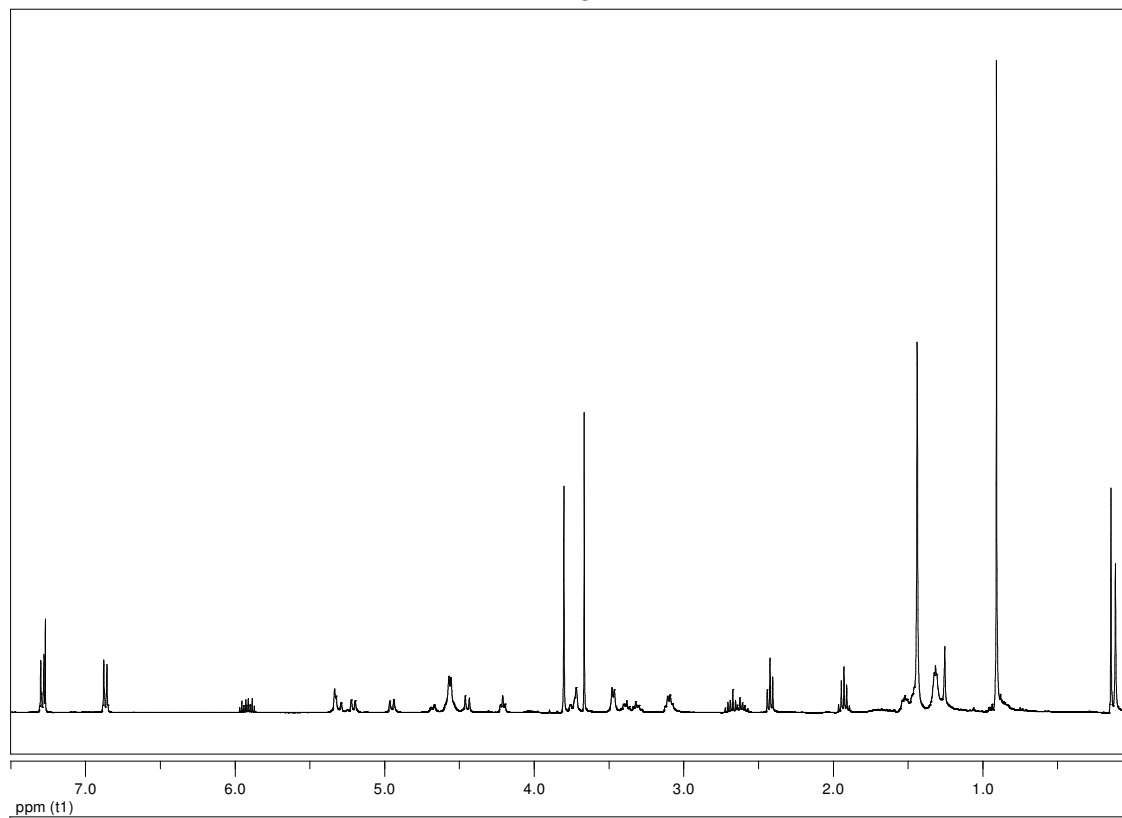
37

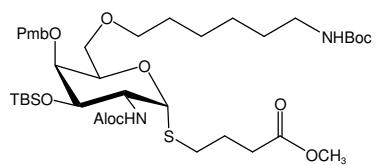


**40**

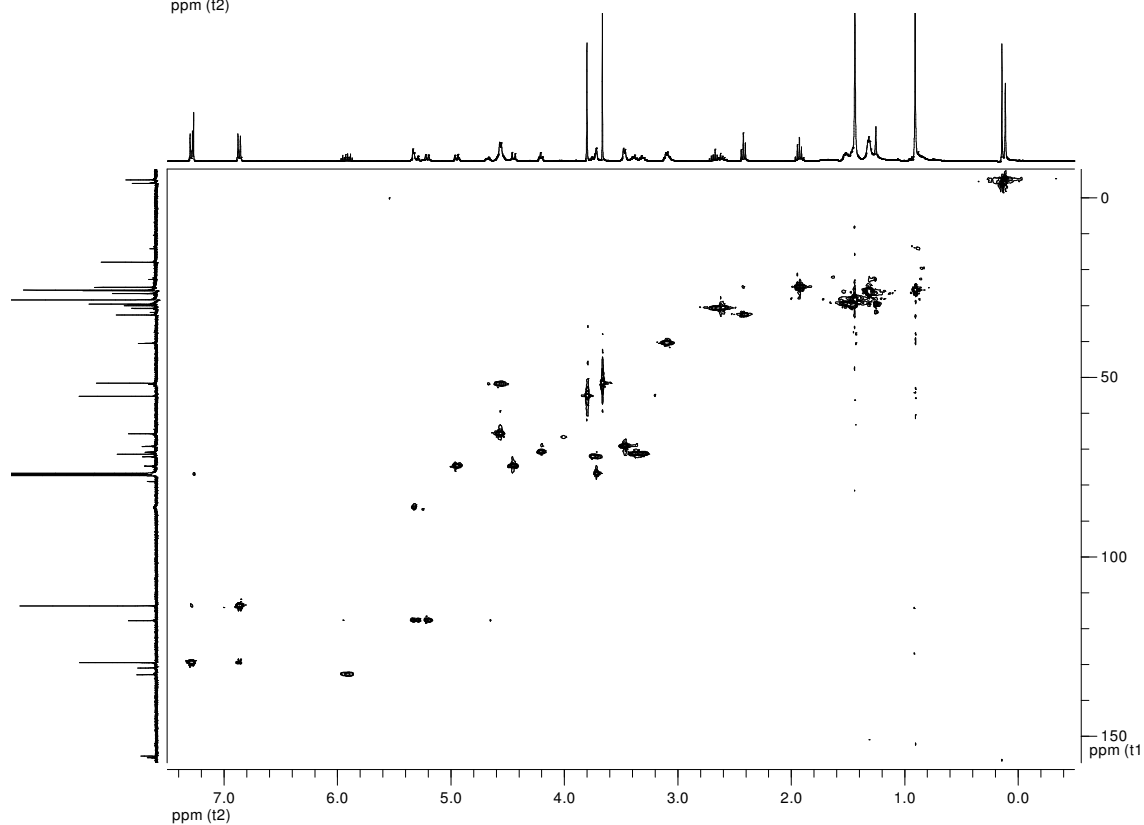
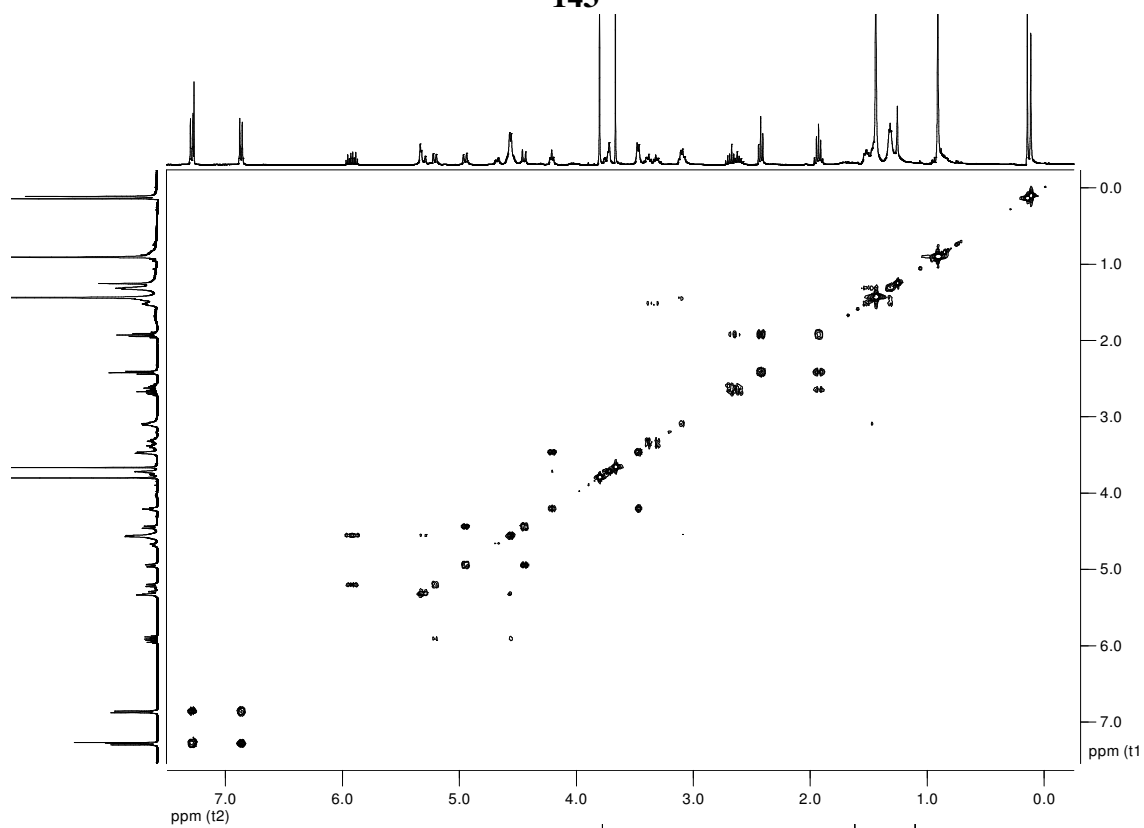
**40**

**40**

**143**



143



8 LITERATUR

- 1 D. Fischer, J. Breitenbach (Hrsg.), "Die Pharmaindustrie", 2. Auflage, Spektrum Akademischer
Verlag, Elsevier GmbH, München, **2007**.
- 2 A. Furka, noteriell beglaubigtes Dokument Nr.: 36237/1982, Budapest, **1982**.
- 3 R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
- 4 R. B. Merrifield, *Advances in Enzymology* **1969**, 32, 221-296.
- 5 H. M. Geysen, R. H. Meloen, S. J. Barteling, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, 81, 3998-4002.
- 6 H. M. Geysen, S. J. Barteling, R. H. Meloen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, 82, 178-182.
- 7 R. A. Houghten, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, 82, 5131-5135.
- 8 A. Furka, F. Sebetyen, M. Asgedom, G. Dibo, *Int. J. Pept. Protein. Res.* **1991**, 37, 487-493.
- 9 F. Balkenhohl, C. v. Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2436-
2488.
- 10 S. Cheng, D. D. Comer, J. P. Williams, P. L. Myers, D. L. Boger, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118,
2567-2573.
- 11 R. Dagani, *Chemical & Engineering News* **2000**, 78, 66-68.
- 12 S. Borman, *Chemical & Engineering News* **1999**, 77, 33-48.
- 13 J. M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 2455-2463.
- 14 A. Ganesan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2820-2831.
- 15 O. Ramstrom, J. M. Lehn, *Nature Reviews, Drug Discovery* **2002**, 1, 26-36.
- 16 I. Huc, J. M. Lehn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 2106-2110.
- 17 H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2004-2021.
- 18 W. G. Lewis, L. G. Green, F. Gryszpan, Z. Radic, P. R. Carlier, P. Taylor, M. G. Finn, K. B.
Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1053-1057.
- 19 A. M. Rouhi, *Chemical & Engineering News* **2004**, 82, 63-65.
- 20 A. Berkessel, D. Herault, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 99-102.
- 21 A. Berkessel, R. Riedel, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 2, 215-219.
- 22 J. M. Kerr, S. C. Banville, R. N. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2529-2531.
- 23 S. Brenner, R. A. Lerner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, 89, 5381-5383.
- 24 H. P. Nestler, P. A. Bartlett, W. C. Still, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 4723-4724.
- 25 M. H. J. Ohlmeyer, R. N. Swanson, L. W. Dillard, J. C. Reader, G. Asouline, R. Kobayshi, M.
Wigler, W. C. Still, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 10922-10926.
- 26 A. Borchardt, W. C. Still, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 373-374.
- 27 C. P. Holmes, J. P. Chinin, G. C. Look, E. M. Gordon, Gallop, M. A., *J. Org. Chem.* **1995**, 60,
7328-7333.
- 28 P. H. H. Hermkens, H. C. J. Ottenheijm, D. C. Rees, *Tetrahedron* **1996**, 52, 4527-4554.
- 29 S. E. Booth, C. M. Dreef-Tromp, P. H. H. Hermkens, J. A. P. A. de Man, H. C. J. Ottenheijm, in
G. Jung, "Combinatorial Chemistry - Synthesis, Analysis, Screening", Wiley-VCH, Weinheim,
New York, **1999**, Kap. 2.
- 30 A. Nefzi, J. M. Ostresh, R. A. Houghten, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 449-472.
- 31 R. W. Armstrong, A. P. Comps, P. A. Tempst, S. D. Brown, Keating, T. A., *Acc. Chem. Res.*
1996, 29, 123-131.
- 32 G. T. Le, G. Abbenante, B. Becker, M. Grathwohl, J. Halliday, G. Tometzki, J. Zeugg, W.
Meutermans, *Drug Discovery Today* **2003**, 8, 701-709.
- 33 M. J. Sofia, D. J. Silva, *Curr. Opin. Drug Disc. Dev.* **1999**, 2, 365-376.
- 34 F. Peri, L. Cipolla, E. Forni, F. Nicotra, *Monats. Chem.* **2002**, 113, 369.
- 35 S. A. W. Gruner, E. Locardi, E. Lohof, H. Kessler, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 491-514.
- 36 R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, E. M. Leahy, J. Salvino, B. Arison, M. A. Cichy,
P. G. Spoor, W. C. Shakespeare, P. A. Sprengeler, P. Hamley, A. B. Smith III, T. Reisine, K.
Raynor, L. Maechler, C. Donaldson, W. Vale, R. M. Freidinger, M. R. Cascieri, C. D. Strader, *J.*
Am. Chem. Soc. **1993**, 115, 12550-12568.

- 37 R. Hirschmann, J. Hynes, M. A. Cichy-Knight, R. I. D. van Rijn, P. A. Sprengeler, P. Grant
Spoors, W. C. Shakespeare, S. Pietranico-Cole, J. Barbosa, J. Liu, W. Yao, S. Rohrer, A. B.
Smith, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1382-1391.
- 38 K. C. Nicolaou, J. I. Trujillo, K. Chibale, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 8751-8778.
- 39 N. Moitessier, H. Minoux, B. Maigret, F. Chretien, Y. Chapleur, *Lett. Pept. Sci.* **1998**, *5*, 75-78.
- 40 N. Moitessier, S. Dufour, F. Chretien, J. P. Thiery, B. Maigret, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*,
511-523.
- 41 T. Wunberg, C. Kallus, T. Opatz, S. Henke, W. Schmidt, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1998**, *110*,
2620-2622.
- 42 C. Kallus, T. Opatz, T. Wunberg, W. Schmidt, S. Henke, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*,
7783-7786.
- 43 T. Wunberg, *Dissertation* **1997**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- 44 C. Kallus, *Dissertation* **1998**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- 45 T. Opatz, *Dissertation* **2000**, Johannes Gutenberg Universität-Mainz.
- 46 T. Maidhof, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- 47 T. Opatz, C. Kallus, T. Wunberg, W. Schmidt, S. Henke, H. Kunz, *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*,
2089-2110.
- 48 C. H. Wong, X. S. Ye, Zhang, Z., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7137-7138.
- 49 M. J. Sofia, R. Hunter, T. Y. Chan, A. Vaughan, R. Dulina, H. Wang, D. Gange, *J. Org. Chem.*
1998, *63*, 2802-2803.
- 50 U. Hüniger, *Dissertation* **2002**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- 51 U. Hüniger, J. Ohnsmann, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1104-1107.
- 52 J. Ohnsmann, *Dissertation* **2006**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- 53 F. Barresinoussi, J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyere, S. Chamaret, J. Gruest, C. Daugey,
C. Axlerblin, F. Vezinetbrun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, L. Montagnier, *Science* **1983**, 868-
871.
- 54 H. J. Alter, J. W. Eichberg, H. Masur, W. C. Saxinger, A. M. Macher, H. C. Lane, A. S. Fauci,
R. Gallo, *Science* **1984**, *226*, 549-552.
- 55 F. Gao, E. Bailes, D. L. Robertson, Y. Chen, C. M. Rodenburg, S. F. Michael, L. B. Cummins,
L. O. Arthur, M. Peeters, G. M. Sharp, B. H. Hahn, *Nature* **1999**, *397*, 436-441.
- 56 F. Clavel, D. Geutard, F. Brun-Vezinet, S. Charmet, M. A. Rey, M. O. Santos-Ferreira, A. G.
Laurent, C. Daugey, C. Katlama, C. Rouzioux, *Science* **1986**, *233*, 343-346.
- 57 V. M. Hirsch, R. A. Olmsted, M. Murphey-Corb, R. H. Purcell, P. R. Johnson, *Nature* **1989**,
339, 389-392.
- 58 C. A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik, "Immunologie", 5 Auflage, Spektrum
Akademischer Verlag, Heidelberg, **2002**, 484-499.
- 59 D. Aboulafia, *Oncology* **1998**, *12*, 1068-1077.
- 60 O. Martinez-Maza, E. C. Breen, *Curr. Opin. Oncol.* **2002**, *14*, 528-532.
- 61 J. Hamilton, M. McBride, P. Kettle, *Ulster Med. J.* **2002**, *71*, 72-75.
- 62 D. C. Douek, J. M. Brenchley, M. R. Betts, D. R. Ambrozak, B. J. Hell, Y. Okamoto, J. P.
Cazazza, J. Koruppu, K. Kunstmann, S. Wolinsky, Z. Grossmann, M. Dybul, A. Oxenius, D. A.
Price, M. Connors, R. A. Koup, *Nature* **2002**, *417*, 95-98.
- 63 UNAIDS/WHO, *AIDS EPIDEMIC UPDATE* **2006**.
- 64 Y. Tor, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 998-1007.
- 65 H. Y. Mei, M. Cui, A. Heldsinger, S. M. Lemrov, J. A. Loo, K. A. Sannes-Lowery, L.
Sharmenn, A. W. Czarnik, *Biochemistry* **1998**, *37*, 14204-14212.
- 66 M. J. Selby, B. M. Peterlin, *Cell* **1990**, *62*, 769-776.
- 67 H. Y. Mei, A. A. Galan, N. S. Halim, D. P. Mack, D. W. Moreland, K. B. Sanders, H. T. Troung,
A. W. Czarnik, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2755-2760.
- 68 T. M. Rana, K. T. Jeang, *Arch. Biochem. Biophys.* **1999**, *365*, 175-185.
- 69 B. Wöhrl, *RetroVirus* **2003**, *Bulletin* *2*, 4-6.
- 70 M. E. Garber, P. Wei, V. N. KewalRamani, T. P. Mayall, C. H. Herrmann, A. P. Rice, D. R.
Littman, K. A. Jones, *Genes & Dev.* **1998**, *12*, 3512-3527.

- 71 M. Garber, T. P. Mayall, E. M. Suess, J. Meisenhelder, N. E. Thompson, K. A. Jones, *Mol. Cell. Biol.* **2000**, 20, 6958-6969.
- 72 V. W. Pollard, M. H. Malim, *Annu. Rev. Microbiol.* **1998**, 52, 491-532.
- 73 J. Sodroski, W. C. Goh, C. Rosen, A. Dayton, E. Terwilliger, W. Haseltine, *Nature* **1986**, 321, 412-417.
- 74 A. W. Cochrane, E. Golub, D. Volsky, S. Ruben, C. A. Rosen, *J. Virol.* **1989**, 63, 4438-4440.
- 75 E. Bohnlein, J. Berger, J. Hauber, *J. Virol.* **1991**, 65, 7051-7055.
- 76 M. Hammerschmid, D. Palmeri, M. Ruhl, H. Jaksche, I. Weichselbraun, E. Bohnlein, M. H. Malim, J. Hauber, *J. Virol.* **1994**, 68, 7329-7335.
- 77 H. S. Olsen, A. W. Cochrane, P. J. Dillon, C. M. Nalin, C. A. Rosen, *Genes & Dev.* **1990**, 4, 1357-1364.
- 78 M. L. Zapp, T. J. Hope, T. G. Parslow, M. R. Green, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, 88, 7734-7738.
- 79 T. J. Daly, K. S. Cook, G. S. Grey, T. E. Maione, J. R. Rusche, *Nature* **1989**, 342, 816-819.
- 80 M. H. Malim, L. S. Tiley, D. F. McCarn, J. R. Rusche, J. Hauber, B. R. Cullen, *Cell* **1990**, 60, 675-683.
- 81 A. M. Szilvay, K. A. Brokstad, R. Kopperud, G. Haukenes, K. H. Kalland, *J. Virol.* **1995**, 69, 3315-3323.
- 82 M. H. Malim, B. R. Cullen, *Cell* **1991**, 65, 241-248.
- 83 L. Solomin, B. K. Felber, G. N. Pavlakis, *J. Virol.* **1990**, 64, 6010-6017.
- 84 M. Fakuda, S. Asano, T. Nakamura, M. Adachi, M. Yoshida, M. Yanagida, E. Nishida, *Nature* **1997**, 390, 308-311.
- 85 M. Emerman, M. H. Malim, *Science* **1998**, 280, 1880-1884.
- 86 H. Rauchfuß, *"Chemische Evolution und der Ursprung des Lebens"*, Springer Berlin Heidelberg, **2005**, 177-218.
- 87 C. S. Chow, F. M. Bogdan, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1489-1513.
- 88 K. M. Weeks, D. M. Crothers, *Science* **1993**, 261, 1574-1577.
- 89 C. J. Alden, S. H. Kim, *J. Mol. Biol.* **1979**, 132, 411-434.
- 90 W. Saenger, in *"Principles of Nucleic Acid Structure"*, Springer Verlag, New York, **1984**.
- 91 G. J. Quigley, A. Rich, *Science* **1976**, 194, 796-806.
- 92 D. J. Patel, L. Shapiro, D. Haro, *Q. Rev. Biophys.* **1987**, 20, 35-112.
- 93 E. Westhof, P. Dumas, D. Moras, *J. Mol. Biol.* **1985**, 184, 119-145.
- 94 D. J. Patel, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1999**, 9, 74-87.
- 95 S. H. Kim, J. L. Sussman, F. L. Suddath, G. J. Quigley, A. McPherson, A. H. J. Wang, N. C. Seeman, A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1974**, 71, 4970-4974.
- 96 K. Nadassy, S. J. Wodak, J. Janin, *Biochemistry* **1999**, 38, 1999-2017.
- 97 D. E. Draper, V. K. Misra, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, 5, 927-930.
- 98 L. Jiang, D. J. Patel, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, 5, 769-774.
- 99 T. Hermann, E. Westhof, *J. Mol. Biol.* **1998**, 276, 903-912.
- 100 R. Nifosi, C. M. Reyes, P. A. Kollman, *Nucleic Acids Res.* **2000**, 28, 4944-4955.
- 101 A. Krebs, V. Ludwig, O. Boden, M. W. Göbel, *ChemBioChem* **2003**, 4, 972-978.
- 102 J. D. Puglisi, R. Tan, B. J. Calnan, A. D. Frankel, J. R. Williamson, *Science* **1992**, 257, 76-80.
- 103 C. Bailly, P. Colson, C. Houssier, F. Hamy, *Nucleic Acids Res.* **1996**, 24, 1460-1464.
- 104 H. Y. Mei, D. P. Mack, A. A. Galan, N. S. Halim, A. Heldsinger, J. A. Loo, D. W. Moreland, K. A. Sannes-Lowery, L. Sharmenn, H. N. Troung, A. W. Czarnik, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5, 1173-1184.
- 105 F. Hamy, V. Brondani, A. Flörsheimer, W. Stark, M. J. J. Blommers, T. Klimakait, *Biochemistry* **1998**, 37, 5086-5095.
- 106 C. Mischiati, K. T. Jeang, G. Feriotto, L. Breda, M. Borgatti, N. Bianchi, Gambari, R., *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* **2001**, 11, 209-217.
- 107 Z. Du, K. E. Lind, T. J. James, *Chem. Biol.* **2002**, 9, 707-712.
- 108 D. Vourloumis, M. Takahashi, K. B. Simonsen, B. K. Ayida, S. Barluenga, G. C. Winters, T. Hermann, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 2807-2811.

- 109 T. R. Zembower, G. A. Noskin, M. J. Postelnick, C. Nguyen, L. R. Peterson, *Int. J. Antimicrob. Agents* **1998**, *10*, 95-105.
- 110 B. Francois, R. J. M. Russell, J. B. Murray, F. Aboul-ela, B. Masquida, Q. Vicens, E. Westhof, *Nucleic Acids Res.* **2005**, *33*, 5677-5690.
- 111 W. C. Park, M. Auer, H. Jaschke, C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10150-10155.
- 112 C. H. Wong, M. Hendrix, D. D. Manning, C. Rosenbohm, W. A. Greenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8319-8327.
- 113 G. Werstuck, M. L. Zapp, M. R. Green, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 129-137.
- 114 M. L. Zapp, S. Stern, M. R. Green, *Cell* **1993**, *74*, 969-978.
- 115 J. T. H. Tok, L. J. Dunn, R. C. Des Jean, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1127-1131.
- 116 Y. Wang, K. Hamasaki, R. R. Rando, *Biochemistry* **1997**, *36*, 768-779.
- 117 T. Hermann, E. Westhof, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1250-1261.
- 118 C. Faber, H. Sticht, K. Schweimer, P. Rösch, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 20660-20666.
- 119 B. Liebe, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 629-631.
- 120 S. Keil, *Dissertation* **2000**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- 121 R. U. Lemieux, R. M. Ratcliffe, *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 1244-1251.
- 122 J. Bogusiak, W. Szeja, *Pol. J. Chem.* **1985**, *58*, 293-298.
- 123 G. Wulff, G. Röhle, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1974**, *13*, 157-170.
- 124 G. Grundler, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, *1984*, 1826-1847.
- 125 H. Paulsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1982**, *21*, 155-173.
- 126 J. Honeyman, J. W. W. Morgan, *J. Chem. Soc.* **1955**, 3660-3674.
- 127 F. Gauffeny, A. Marra, L. K. Shi Shun, P. Sinaÿ, C. Tabeur, *Carbohydr. Res.* **1991**, *219*, 237-240.
- 128 T. Toyokuni, S. Cai, B. Dean, *Synthesis* **1992**, *12*, 1236.
- 129 G. Zemplén, A. Kunz, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1923**, *56*, 1705-1710.
- 130 H. G. Fletscher, *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, *2*, 307-308.
- 131 P. G. Gassmann, L. M. Haberman, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 5010-5013.
- 132 B. Samuelsson, R. Johansson, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 201-202.
- 133 B. Becker, J. Thiem, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 2339-2350.
- 134 K. Omura, D. Swern, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1651-1660.
- 135 W. S. Emerson, *Org. React.* **1948**, *4*, 174-255.
- 136 R. O. Hutchins, M. Hutchins, "Reduction of C=N to CHNH by Metal Hydrides", in N. B. Trost and Fleming I., "Comprehensive Organic Synthesis", Pergamon Press, New York, **1991**.
- 137 A. F. Abdel-Magid, K. G. Carson, B. D. Harris, C. A. Maryanoff, R. D. Shah, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3849-3862.
- 138 Z. Ma, R. F. Clark, A. Brazzale, S. Wang, M. J. Rupp, L. Li, G. Griesgraber, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4137-4156.
- 139 nicht veröffentlichte Ergebnisse SFB 579 Kolloquium.
- 140 K. Oertel, *Dissertation* **1999**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- 141 H. Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635-646.
- 142 H. Imamura, N. Ohtake, A. Shimizu, H. Sato, Y. Sugimoto, S. Sakuraba, R. Nagano, M. Nakano, S. Abe, C. Suzuki-Sato, I. Nishimura, H. Kojima, Y. Tsuchija, K. Yamada, T. Hashizume, H. Morishima, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 1969-1982.
- 143 M. Bartra, F. Urpi, J. Vilarrasa, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 5941-5944.
- 144 M. Bartra, P. Romea, F. Urpi, J. Vilarrasa, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 587-594.
- 145 M. Sakagami, H. Hamana, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5547-5551.
- 146 K. Groh, *laufende Dissertation* Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- 147 M. Wada, O. Mitsunobu, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 1279-1282.
- 148 C. O. Kappe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250-6284.
- 149 R. Hirschmann, L. Abrous, P. A. Jokiel, S. R. Friedrich, J. Hynes, A. B. Smith, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 280-302.
- 150 C. H. Wong, V. Bodmer-Narkevitch, O. Plettenburg, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4559-4564.

- 151 H. Kunz, P. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1982**, 1982, 1245-1260.
152 G. K. Surya-Prakash, P. S. Iyer, M. Arvanagh, G. A. Olah, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 3358-3359.
153 H. Kunz, P. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20, 2123-2124.
154 P. Schmidt, *Dissertation* **1981**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
155 G. Papeo, H. Poster, P. Vianello, M. Varasi, *Synthesis* **2004**, 17, 2886-2892.
156 B. Helferich, E. Himmen, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1928**, 61, 1825-1835.
157 B. Helferich, E. Himmen, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, 62, 2136-2141.
158 P. M. Enright, K. M. O'Boyle, P. V. Murphy, *Org. Lett.* **2000**, 2, 3929-3932.
159 R. J. Ferrier, S. Middleton, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 2779-2831.
160 P. Dalko, P. Sinaý, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 773-777.
161 M. Sollogoub, J. M. Mallet, P. Sinaý, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 362-364.
162 V. S. Borodkin, M. A. J. Ferguson, Nikolaev, A. V., *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 857-862.
163 I. Lundt, *Acta Chem. Scand.* **1981**, B35, 637-642.
164 E. V. E. Roberts, J. C. P. Schwarz, C. A. McNab, *Carbohydr. Res.* **1968**, 7, 311-319.
165 E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1914**, 47, 196-210.
166 K. Maurer, H. Mahn, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1927**, 60, 1316-1320.
167 H. Paulsen, J. Thiem, *Chem. Ber.* **1973**, 106, 132-142.
168 R. H. Shah, O. P. Bahl, *Carbohydr. Res.* **1979**, 74, 105-116.
169 N. Pravdic, H. G. Fletscher, Jr., *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 1806-1810.
170 N. Pravdic, I. Franjic-Mihalic, B. Danilov, *Carbohydr. Res.* **1975**, 45, 302-306.
171 D. J. Chambers, G. R. Evans, A. J. Fairbanks, *Tetrahedron* **2004**, 60, 8411-8419.
172 S. Hannesian, P. Levalle, *Can. J. Chem.* **1975**, 53, 2975-2977.
173 E. J. Corey, A. Venkateswarly, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 6190-6191.
174 L. Lalonde, T. H. Chan, *Synthesis* **1985**, 817-845.
175 H. Rink, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 3787-3790.
176 E. Bayer, W. Rapp, in W. Voelter, E. Bayer, Y. V. Ochinnikov and V. T. Ivanov, "Chemistry of Peptides and Proteins", Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York, **1986**, 3. Auflage.
177 Notes Synthesis, in NovaBiochem Katalog, **2005**.
178 L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 5748-5749.
179 V. Dourtoglou, J.-C. Ziegler, B. Gross, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 19, 1269-1272.
180 W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788-798.
181 M. Honda, H. Morita, I. Nagakura, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 8932-8936.
182 J. P. Malkinson, R. A. Falconer, I. Toth, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5249-5252.
183 E. J. Corey, B. Samuelsson, F. A. Luzzio, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 3682-3683.
184 A. Mehta, R. Jaouhari, T. J. Benson, K. T. Douglas, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 5441-5444.
185 D. A. Pearson, M. Blanchette, M. L. Baker, C. A. Guindon, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 2739-2742.
186 W. Steglich, G. Höfle, *Angew. Chem.* **1969**, 81, 1001.
187 B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem.* **1978**, 90, 556-557.
188 T. J. Baker, N. W. Luedtke, Y. Tor, Goodman, M., *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 9054-9058.
189 C. W. T. Chang, J. Wang, J. Li, H. N. Chen, H. Chang, C. T. Tanifum, H. H. Liu, P. G. Czyryca, *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 6271-6285.
190 U. Ellervik, R. Johnsson, K. Mani, F. Cheng, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 3444 -3451.
191 Z. Guo, J. Xue, J. Wu, *Org. Lett.* **2004**, 6, 1365-1368.
192 V. R. Bouvet, R. N. Ben, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 3619 -3622.
193 J. Fuentes, D. Olano, C. Gasch, M. A. Pradera, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, 11, 2471-2482.
194 T. Norberg, U. Westerlind, P. Hagback, B. Tidbäck, L. Wiik, O. Blixt, N. Razi, *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 221-233.
195 S. G. Gouin, P. V. Murphy, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 8527-8532.
196 D. F. Veber, R. M. Freidinger, D. Perlow, W. J. Palevda Jr, F. W. Holly, R. G. Strachan, R. F. Nutt, B. H. Arison, C. Homnick, W. C. Randall, M. S. Glitzer, R. Saperstein, R. Hirschmann, *Nature* **1981**, 292, 55-58.

- 197 R. F. Borch, M. D. Bernstein, H. D. Durst, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 2897-2904.
- 198 Y. Sasaki, W. A. Murphy, M. L. Heiman, V. A. Lance, D. H. Coy, *J. Med. Chem.* **1987**, 30,
1162-1166.
- 199 Y. Sasaki, D. H. Coy, *Peptides* **1987**, 8, 119-121.
- 200 G. Hummel, L. Jobron, O. Hindsgaard, *J. Carbohydr. Chem.* **2003**, 22, 781-800.
- 201 E. G. Brown, J. M. Nuss, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8457-8460.
- 202 Vorgehensweise nach M. Stoll, *Georg Speyer-Haus*, Frankfurt am Main (Deutschland).
- 203 H. G. O. Becker, W. Berger, G. Domschke, E. Fanghanel, J. Faust, M. Fischer, F. Gentz, K.
Gewald, R. Gluch, R. Mayer, K. Muller, D. Pavel, H. Schmidt, K. Schollberg, K. Schwetlick, E.
Seiler, G. Zeppenfeld, "*Organikum. Organisch-Chemisches Grundpraktikum*", Johann
Ambrosius Barth Verlagsgesellschaft, Leipzig, **1993**.
- 204 M. L. Wolfrom, A. Thompson, *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, 2, 211-215.
- 205 J. Broddefalk, U. Nilsson, J. Kihlberg, *J. Carbohydr. Chem.* **1994**, 13(1), 129-132.
- 206 Der Zinkstaub wird ca. 5 Minuten in 1 M HCl-Lsg. suspendiert abfiltriert, mit wenig Wasser und
anschließend Essigester gewaschen.
- 207 K. Feichtinger, H. L. Sings, T. J. Baker, K. Matthews, Goodman, M., *J. Org. Chem.* **1998**, 63,
8432-8439.
- 208 D. Muller, I. Zeltser, G. Bitan, C. Gilon, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 411-416.
- 209 J. -F. Pons, J. -L. Fauchere, F. Lamaty, A. Molla, R. Lazaro, *Europ. J. Chem.* **1998**, 853-859.