Synthese und Untersuchung von Glycopeptid- und Nucleosiddiphosphat-Saccharid-Mimetika

DISSERTATION

Zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereiches Chemie der Universität Hamburg

vorgelegt von

Andreas Schäfer aus Hamburg

Hamburg 1999

- 1. Gutachter: Prof. Dr. J. Thiem
- 2. Gutachter: Prof. Dr. H. Paulsen

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 18.06.1999

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1996 bis Februar 1999 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. J. Thiem am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

Herrn Professor Joachim Thiem möchte ich sowohl für die freundliche Aufnahme in seinem Arbeitskreis als auch die wertvolle und großzügige Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit danken.

Meinen Eltern und meiner Schwester

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
	1.1 Aufbau und Biosynthese der Glycoproteine	3
	1.2 Biologische Funktionen von Glycoproteinen	6
	1.3 Glycomimetika	9
	1.4 Glycopeptidfestphasensynthese	18
	1.5 Zielsetzung	21
2	Synthese neuartiger N-Glycopeptidmimetika	22
	2.1 N-Glycopeptidmimetika der V3-Loop des gp120 aus dem HIV	22
	2.2 Synthese des modifizierten N-Glycosylaminosäurebausteins	24
	2.3 Festphasensynthese der <i>N</i> -Glycopeptidmimetika	27
3	Synthese neuartiger O-Glycopeptidmimetika	31
	3.1 Synthese modifizierter <i>O</i> -Glycosylaminosäurebausteine	32
	3.1.1 Syntheseversuche durch S_N -Reaktion unter basischen Bedingungen	35
	3.1.2 Sequentieller Aminosäureaufbau am Galactitol-Ringsystem	41
	3.1.3 Synthese durch säurekatalysierte Ringöffnung von aktivierten Aziridinen	42
	3.1.4 Synthese weiterer O-Glycosylaminosäurebausteine	49
	3.2 Festphasensynthese der <i>O</i> -Glycopeptidmimetika	52
	3.3 Untersuchungen zur Galactosidase-Inhibitionswirkung der modifizierten O-	
	Glycosylaminosäurebausteine	56
4	Synthese neuer Mimetika als potentielle Transferase-Inhibitoren	60
	4.1 Synthese von UDP-Donor-Mimetika	60
	4.2 Synthese von UDP-Gal, UDP-GlcNAc und UDP-GalNAc-Mimetika	62
5	Zusammenfassung	73
5	Summary	76
6	Experimenteller Teil	78
	6.1 Synthese der Glycopeptide	140
7	Literatur	149

Abkürzungen

Ac	Acetyl
AIBN	Azoisobutyronitril
Bn	Benzyl
Boc	t-Butyloxycarbonyl
BuLi	Butyllithium
COSY	Correlated Spectroscopy
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
Dhbt-OH	3,4-Dihydro-3-hydroxy-4-oxo-1,2,3-benzotriazin
DIPEA	Ethyldiisopropylamin
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
ESI	Electron Spray Ionisation
FAB	Fast-Atom-Bombardment
Fmoc	9-Fluorenylmethyloxycarbonyl
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LiNaph	Lithiumnaphthalid
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation
MCPBA	Metachlorperbenzoesäure
Ms	Methylsulfonat
PE	Petrolether
Pfp	Pentafluorophenyl
Ру	Pyridin
TFA	Trifluoressigsäure
TBDMS	t-Butyldimethylsilyl
TBDPS	t-Butyldiphenylsilyl
Tf	Trifluormethansulfonat
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
Trt	Triphenylmethyl
Ts	4-Toluolsulfonyl
UDP	Uridin-5'-diphosphat
Z	Benzyloxycarbonyl

Aminosäuren

Ala	А	Alanin
Arg	R	Arginin
Asn	Ν	Asparagin
Asp	D	Asparaginsäure
Gln	Q	Glutamin
Glu	E	Glutaminsäure
Gly	G	Glycin
His	Н	Histidin
Ile	Ι	Isoleucin
Leu	L	Leucin
Lys	К	Lysin
Met	M	Methionin
Met Phe	M F	Methionin Phenylalanin
Met Phe Pro	M F P	Methionin Phenylalanin Prolin
Met Phe Pro Ser	M F P S	Methionin Phenylalanin Prolin Serin
Met Phe Pro Ser Thr	M F P S T	Methionin Phenylalanin Prolin Serin Threonin
Met Phe Pro Ser Thr Tyr	M F P S T W	Methionin Phenylalanin Prolin Serin Threonin Tyrosin

1 Einleitung

Kohlenhydrate gehören neben den Lipiden, Proteinen und Nucleinsäuren zu den vier großen Naturstoffklassen, die von fundamentaler Bedeutung für nahezu alle lebenden Organismen sind. Während vor allem im zweiten Teil dieses Jahrhunderts große Anstrengungen zur Erforschung der biologischen Funktionen und Strukturen der Proteine und Nucleinsäuren unternommen wurden, die wesentlich zur Entwicklung der modernen Molekularbiologie beigetragen haben, wurde den Kohlenhydraten zunächst vergleichsweise wenig Aufmerksamkeit zuteil. Zum einen waren die "klassischen" Funktionen der Kohlenhydrate als Gerüst- und Stützsubstanzen sowie als Energiespeicher und die Metabolismen schon zu Anfang des Jahrhunderts weitestgehend verstanden. Zum anderen wurden Untersuchungen der komplexen Oligosaccharidstrukturen *in vivo*, erst durch die Entwicklung moderner analytischer und synthetischer Techniken ermöglicht.



Abb. 1 Schematische Darstellung einer Zellmembran. Die der extrazellulären Seite zugerichteten Oligosaccharide von Glycoproteinen **A** und Glycolipiden **B** bilden die Glycocalix.

Die Entdeckung, daß nahezu alle Zellen Oligosaccharidstrukturen in Form von Glycoproteinen und Glycolipiden an ihre Oberfläche präsentieren ^[1] und die Beobachtung, daß diese Glycokonjugate charakteristische Modifikationen in Tumorzellen erfahren,^[2,3] erweckte das Interesse zur Erforschung der biologischen Bedeutung von Kohlenhydraten und kann als Geburtsstunde der modernen Glycobiologie und Glycochemie angesehen werden.^[4] Umfangreiche Untersuchungen haben seither eine kaum zu überblickende Strukturvielfalt der Kohlenhydrate in Glycokonjugaten aufgezeigt, die ein umfassendes Verständnis der spezifischen Funktionen schwierig gestaltet. Es konnte nachgewiesen werden, daß Kohlenhydrate neben rein strukturellen Funktionen wie der Induktion und Stabilisierung von Proteinkonformationen, als Informationsträger rezeptiv und antigen wirken können.^[5] Die Modulation der Funktionen von Proteinen, sowie hormonelle Wirkungen freier Oligosaccharide auf biologische Systeme, sind ebenfalls beobachtet worden.^[5] Die Beteiligung an zahlreichen Krankheiten wie AIDS, Krebs, Autoimmunkrankheiten und mikrobakteriellen Infektionen wird diskutiert.^[6] Die Erkenntnis, daß sich Glycosylierungsmuster bei verschiedenen Krankheitsbildern in signifikanter Weise ändern können, eröffnet die Möglichkeit durch Manipulation und Modifikation von Kohlenhydratstrukturen eine Veränderungen der Eigenschaften von biologisch relevanten Glykokonjugaten herbeizuführen, um therapeutisch vorteilhafte Effekte zu erzielen.^[7] Darüber hinaus kann durch diesen Ansatz das Verständnis für die komplexen biologischen Funktionen von Kohlenhydraten vertieft werden.

1.1 Aufbau und Biosynthese der Glycoproteine

Die glycosidische Verknüpfung zwischen Aminosäuren und Saccharidbausteinen ist in der Natur in einer Vielzahl von Verbindungen realisiert. Sie werden gemeinhin zur Gruppe der Glycoproteine zusammengefaßt. Hierbei wird die Verknüpfung durch kovalent-glycosidische Bindungen zwischen dem anomeren Zentrum des Saccharidteils und funktionalisierten Seitenketten von Aminosäuren hergestellt. Die Art der glycosidischen Verknüpfung dient der weiteren Klassifizierung der Glycoproteine: man unterscheidet zwischen *O*-, *N*- und *S*-Glycoproteinen.

O-Glycoproteine sind durch eine *O*-glycosidische Verknüpfung zwischen dem Saccharidteil und einer Hydroxylaminosäure gekennzeichnet. L-Serin und L-Threonin sind die weitaus am häufigsten vorkommenden *O*-glycosylierten Hydroxylaminosäuren. Sie treten vor allem in den als Core A und Core B bezeichneten Grundstrukturen auf, in denen sie α-glycosidisch an 2-Acetamido-2-desoxy-D-galactopyranose (GalNAc), bzw. β-glycosidisch an D-Xylose gebunden vorliegen. In der Core A Struktur ist GalNAc β-glycosidisch mit einer weiteren Galactoseeinheit substituiert, die Xylose der Core B Struktur ist ihrerseits mit einem Galactosedimer β-glycosidisch verknüpft. Core-Strukturen die sich durch Variation des Substitutionsmusters der GalNAc- bzw. Xylose-Einheit auszeichen treten ebenfalls, insbesondere in den Glycoproteinen des Mucin Typs, auf. ^[8] Diese Grundstrukturen sind ihrerseits in der Regel mit weiteren Saccharidstrukturen substituiert.

$$D-Gal \xrightarrow{\beta(1,3)} D-GalNAc \xrightarrow{\alpha(1,0)} Thr/Ser \quad Core A$$

$$D-Gal \xrightarrow{\beta(1,3)} D-Gal \xrightarrow{\beta(1,4)} D-Xyl \xrightarrow{\beta(1,0)} Ser \quad Core B$$

$$D-Man \xrightarrow{\alpha(1,6)} D-Man \xrightarrow{\beta(1,4)} D-GlcNAc \xrightarrow{\beta(1,4)} D-GlcNAc \xrightarrow{\beta(1,N)} Asn \quad Core C$$

$$D-Man \checkmark \alpha(1,3)$$

Abb. 2 Core-Strukturen der O- und N-Glycoproteine

Darüber hinaus sind in den letzten Jahren eine Vielzahl weiterer Core-Strukturen aufgefunden worden, in denen *O*-glycosidische Verknüpfungen zwischen Serin, Threonin und weiteren Kohlenhydraten auftreten.

So wurden Verknüpfungen zu 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (GlcNAc) ^[9], L-Fucose ^[10], D-Galactose ^[11], D-Glucose ^[8] und D-Mannose ^[12] beobachtet. *O*-Glycosidische Bindungen an andere Aminosäuren, wie 5-Hydroxylysin ^[13] und 4-Hydroxyprolin ^[11] treten sehr viel seltener auf. Ein Charakteristikum der *O*-Glycoproteine, das eine Strukturbestimmung erschwert, ist deren Mikroheterogenität, die zusätzlich zu dem Variantenreichtum der Oligosaccharidstrukturen durch weitere Substituenten wie Sulfatgruppen noch erhöht wird.

Die *N*-Glycoproteine zeichnen sich im Gegensatz zu den *O*-Glycoproteinen durch eine sehr viel geringere Strukturdiversität aus. So wird die Verknüpfung zwischen Protein- und Saccharidteil ausschließlich durch eine β -glycosidische Bindung zwischen 2-Acetamido-2-desoxy-Dglucopyranose (GlcNAc) und der Amidgruppe von L-Asparaginsäure realisiert. *N*-Glycoproteine liegen in der Regel in einer als Core C bezeichneten Struktur vor, in der die GlcNAc-Asparaginsäure-Einheit mit einer weiteren GlcNAc-Einheit β 1,4-glycosidisch verknüpft ist, an die ein Mannosetrisaccharid β 1,4-glycosidisch geknüpft ist. An diese Core-Struktur sind weitere Saccharidstrukturen gebunden, die entsprechend des Substitutionsmusters als "oligomannosidischer"-, "komplexer"- und "hybridischer"-Typ bezeichnet werden.^[14] *S*-glycosidisch verknüpfte Glycoproteine spielen in der Natur hingegen nur eine untergeordnete Rolle.

Die Biosynthese der Glycoproteine ist ein hoch komplexer Vorgang, der unter Beteiligung einer großen Anzahl von spezifischen Enzymen, den Glycosyl-Transferasen und Glycosidasen, abläuft. Die Regioselektivität der Glycosylierung und die Konstitution der Oligosaccharideinheiten ist hierbei das Ergebnis einer sensitiven Regulierung, die nur zum Teil verstanden ist. Die Synthese der Kernstrukturen der *O*-Glycoproteine findet im Lumen des Golgi-Apparats statt. Die sequentiell, posttranslational ablaufende Biogenese wird hauptsächlich durch die Spezifität, Aktivität und Verfügbarkeit der beteiligten Glycosyl-Transferasen diktiert.^[15] Die Transferasen katalysieren hierbei den Aufbau nur einer speziellen glycosidischen Bindung zwischen spezifischen Kohlenhydrateinheiten. Als Donoren dienen den Transferasen Nucleosiddiphosphat-aktivierte Zucker (NuDP-Zucker), die auf den Akzeptor übertragen werden:

NuDP—Zucker + HO-Akzeptor — Zucker—O-Akzeptor + NuDP



Abb. 3 Schema der Biosynthese von *O*-glycosidischen Glycoproteinen, am Beispiel der Core A Struktur.

Als Initialschritt wird durch eine UDP-GalNAc:Polypeptid-*N*-Acetylgalactosaminyl-Transferase eine GalNAc-Einheit auf Serin oder Threoninseitenketten des Proteins, bevorzugt in einen mit Prolinresten besetzten Kettenabschnitt, übertragen. Im Anschluß überträgt eine Gal-Transferase eine Galactose-Einheit auf die 3-Hydroxy-Gruppe der GalNAc-Einheit. Weitere Transferasen verlängern die Core Struktur um zusätzliche Saccharideinheiten, bis die vollständige Glycosidstruktur aufgebaut ist.

Die Biogenese der *N*-Glycoproteine hingegen verläuft zweistufig, wobei die beiden Prozeßschritte nicht nur zeitlich sondern auch räumlich getrennt verlaufen. Im ersten Schritt wird im rauhen endoplasmatischen Reticulum (ER) cotranslational im Dolicholphosphat-Cyclus ein Carrier-Lipid gebundener Oligosaccharidvorläufer, bestehend aus neun Mannose- und drei Glucose-Einheiten, unter Beteiligung zahlreicher Glycosyl-Transferasen synthetisiert. Nach Komplettierung wird das Oligosaccharid auf der Lumenseite des endoplasmatischen Retikulums durch eine Oligosaccharyl-Transferase auf die wachsende Polypeptidkette übertragen. Hierbei findet die Übertragung ausschließlich auf Asparaginreste statt, die Teil einer Asn-X-Ser/Thr Signalsequenz sind und sich in geeigneter räumlicher Konstellation befinden. In einem als *"trimming"* bezeichneten Zwischenschritt werden durch spezifische Glycosidasen drei Glucose- und eine Mannoseeinheit des *N*-glycosidisch gebundenen Oligosaccharids abgespalten und das Glycoprotein anschließend durch die ER-Membran zum Golgi-Apparat transportiert. Im zweiten Schritt, dem *"processing"*, wird in den Kompartimenten des Golgi-Apparats durch Glycosidasen und Glycosyl-Transferasen das komplette Oligosaccharid aufgebaut.^[16]



Abb. 4 Schema des ersten Schritts der Biosynthese von *N*-Glycoproteinen. Eine UDP-GlcNAc: Dolicholphosphat GlcNAc-1-Phospho-Transferase katalysiert den Transfer von GlcNAc-Phosphat auf das ER-membrangebundene Dolicholphosphat. Schrittweise wird das Oligosaccharid weiter aufgebaut und abschließend durch eine Oligosacharyl-Transferase auf das wachsende Polypeptid übertragen.

1.2 Biologische Funktionen von Glycoproteinen

Die komplexen Oligosaccharid-Strukturen der *O*- und *N*-Glycoproteine und das aufwendige System der an der Biosynthese beteiligten Glycosyl-Transferasen und Glycosidasen, lassen allgemein darauf schließen, daß Glycoproteine eine Vielzahl von biologischen Funktionen erfüllen. Jedoch konnten diese bis heute nur bei einer kleinen Anzahl von Glycoproteinen eindeutig zugeordnet werden. Wie bereits erwähnt, sind Glycoproteine Teil der eukaryontischen Zellmembranen, der Saccharidanteil bildet hier die Glycocalix. Darüber hinaus finden sie sich in verschiedenen Schleimsekreten und Körperflüssigkeiten. So sind nahezu sämtliche menschliche Plasmaproteine glycosyliert. Strukturproteine des Tiergewebes, wie das Kollagen, Elastin und Fibronektin sind ebenfalls teilweise glycosyliert, der konkrete Nutzen für den Organismus ist hierbei jedoch noch nicht abschließend geklärt.

Durch ihre ausgeprägten hydrophilen Eigenschaften besitzen Kohlenhydrate die Fähigkeit, die Löslichkeit von Proteinen und Lipiden in wäßriger Umgebung zu erhöhen. Oligosaccharidstrukturen auf der Oberfläche von Zellmembranen erhöhen somit durch ihre Ausrichtung zur extrazellulären Seite die Stabilität der Membranen und der Gewebestruktur. Die große räumliche Ausdehnung der Saccharidstrukturen gewährleistet zusätzlich einen Schutz vor proteolytischem Abbau oder Erkennung spezifischer Oberflächenproteine durch Antikörper. Die Glycosylierung von Proteinen ist ein wesentlicher Faktor für die Induktion der korrekten Faltung von Polypeptiden und Proteinen, übt somit einen modulierenden Effekt auf die Proteinfunktionen aus und ist entscheidend für das protein-targeting.^[5] So können nach Glycosylierung im ER nur korrekt gefaltete Proteine die ER-Membran durchdringen und ihren endgültigen Bestimmungsort erreichen. Daß Kohlenhydrate neben strukturellen, stabilisierenden und Schutzfunktionen auch als Informationsträger dienen und an Prozessen der biologischen Erkennung beteiligt sind, konnte durch Untersuchungen von Ashwell und Morell gezeigt werden. Durch die Beobachtung, daß Sialoglycoproteine des Blutplasmas nach enzymatischer Desialylierung mit Neuraminidase eine deutlich herabgesetzte Halbwertzeit im Plasma besitzen, ^[17] konnten sie spezielle Rezeptorproteine, die Lectine, identifizieren, die Oligosaccharidstrukturen spezifisch erkennen und binden. So bindet der auf der Plasmamembran von Leberzellen lokalisierte Asialoglycoproteinrezeptor desialylierte Glycoproteine und initiiert somit ihre Entfernung aus dem Blutkreislauf.^[6]

Lectin-Kohlenhydrat Wechselwirkungen bilden die molekularbiologische Grundlage für zahlreiche weitere normale und pathologische Erkennungsprozesse. Eine in diesem Zusammenhang, vor allem in den letzten Jahren in den Mittelpunkt des Interesses gerückte Funktion von Glycoproteinen, ist die Rolle der Kohlenhydrat-Einheiten bei Zelladhäsionsvorgängen.^[18] So bindet der *Influenza-Virus* über viruseigene Lectine, die *Hämagglutinine*, an terminale Sialinsäureeinheiten von Membranglycoproteinen und ermöglicht so die Invasion der Wirtszellen.^[19] Eine große Anzahl von Bakterien besitzt ebenfalls die Fähigkeit Oberflächen-Lectine zu produzieren. Gut untersuchte Bespiele hierfür sind die Mannose-spezifischen Lectine von *Escherichia coli* und *Salmonella typhimurium*, die eine Bindung der Bakterien an Epithelzellen und Leukocyten ermöglichen.^[20]

Das Immunsystem von Säugern verwendet Lectine, wie die Mannose-bindenden Abwehrproteine im Serum, die mannosehaltige Oberflächenoligosaccharide von Mikroorganismen erkennen und somit die Abwehr der Eindringlinge einleiten.

Es gibt zahlreiche Hinweise, die belegen, daß die Organisation der Zell- und Matrixstruktur in mehrzelligen Organismen durch saccharidgestützte Erkennungsprozesse gesteuert wird.^[21] Die an diesen Prozessen beteiligten, als Zelladhäsionsproteine klassifizierten Proteine Integrin, Laminin und das bereits erwähnte Fibronektin, sind z. T. hochglycosyliert und vermitteln die Verankerung von Zellen untereinander sowie an der Matrix.^[22] Die Beteiligung von Laminin bei der Adhäsion von Tumorzellen, ein Vorgang, der deren Durchtritt durch die Basalmembranen der Blutgefäße und anschließende Metastasenbildung ermöglicht, wird diskutiert.^[23] Eine besondere, viel beachtete Gruppe von Lectinen, sind die an Zell-Zell-Erkennungsprozessen zwischen verschiedenen Zellen beteiligten Selectine.^[24] Die auf der Oberfläche von Endothel- und Plateletzellen sowie Lymphocyten exprimierten E-,^[25] P- ^[26] und L-Selectine [27,28] vermitteln beispielsweise die Anbindung von Leukocyten an beschädigte Gefäße, ein Prozeß, der bei der Bekämpfung von Entzündungsherden von großer Bedeutung ist. Hierbei wird die an der Oberfläche der Leukocytenmembran präsentierte Tetrasaccharid-Determinante Sialyl Lewis^x erkannt.^[29-31] Die sich schnell durch die Blutgefäße bewegenden Leukocyten werden so zunächst abgebremst ("rolling") und schließlich am Ort der Entzündung gebunden. [32]

Ferner wirken Glycoproteine modulierend auf die Blutgerinnungskaskade ^[33] und erfüllen wichtige Erkennungsfunktionen bei der Speziesspezifität des Befruchtungsvorgangs.^[34] Abschließend seien die genetisch streng regulierten Kohlenhydratdeterminaten der Erythrocytenmembran erwähnt, die entsprechend ihrer Struktur spezifische antigene Wirkungen hervorrufen und zur Klassifikation der menschlichen Erythrocyten in das AB0-Blutgruppensystem dienen.

1.3 Glycomimetika

Wie im vorhergehenden Kapitel diskutiert, spielen Kohlenhydrate eine bedeutende Rolle für eine Vielzahl biologischer Prozesse. Insbesondere die Kohlenhydrat-vermittelten Erkennungsfunktionen sind in diesem Zusammenhang zu erwähnen. Obwohl sich aus diesen Erkenntnissen heraus zahlreiche Möglichkeiten zur therapeutischen Intervention in pathogene Prozesse ergeben, ist die Entwicklung von Pharmazeutika auf Kohlenhydratbasis deutlich langsamer verlaufen als zunächst erwartet wurde. Hierfür sind mehrere Faktoren verantwortlich zu machen: zum einen bereitet die Analytik der außerordentlich komplexen Oligosaccharidstrukturen, die durch die Mikroheterogenität der Glycostrukturen *in vivo* zusätzlich erschwert wird, große Probleme. Die chemische Synthese komplexer Kohlenhydrate ist aufgrund der Polyfunktionalität der Systeme in der Regel diffizil. Es existieren keine automatisierten Synthesemethoden oder universelle Verknüpfungsbedingungen. Darüber hinaus besitzen Kohlenhydrate prinzipiell ungünstige pharmakologische Eigenschaften: ihre Affinität zu Proteinrezeptoren ist in der Regel gering.^[35] Bei oraler Einnahme sind sie inaktiv und besitzen, aufgrund ihrer Labilität gegenüber enzymatischem Abbau durch Glycosidasen, nur begrenzte *in vivo* Halbwertzeiten

Der Entwicklung von Glycomimetika, die die Funktionen natürlicher Glycostrukturen imitieren, ohne die erwähnten inhärenten Nachteile zu besitzen, kommt daher in den letzten Jahren ein stetig wachsendes Interesse zu.^[36] Es werden verschiedene Anforderungen an Mimetika gestellt, durch die sie sich, je nach Einsatzgebiet gegenüber den natürlichen Strukturen auszeichnen sollten:

- Verbesserte biologische Aktivität; in der Regel durch Erhöhung der Affinität zu Proteinen bzw. Proteinrezeptoren.
- Erhöhte in vivo Stabilität, v.a. gegenüber Metabolisierung durch enzymatischen Abbau.
- Vereinfachte Struktur, um eine verbesserte synthetische Zugänglichkeit zu ermöglichen.
- Verbesserte pharmakologische Eigenschaften, z.B. zur Gewährleistung einer verbesserten Verfügbarkeit am Wirkort oder um eine Vereinfachung der Darreichungsform zu erzielen.

Geeignete Mimetika eröffnen somit neue Ansätze für eine erfolgreiche und gezielte Bekämpfung bisher nur unzureichend therapierbarer Krankheiten. Darüber hinaus können sie durch Modulation oder Inhibition spezifischer biologischer Vorgänge dazu beitragen, die oftmals unverstandenen molekularen Grundlagen vieler Oligosaccharid-vermittelter Prozesse, aufzuklären.

Die Struktur des Mimetikums ist von entscheidener Bedeutung für seine Funktion. Zwischen der als Vorbild dienenden Verbindung und dem entsprechendem Mimetikum muß hierbei nicht notwendigerweise eine große strukturelle Ähnlichkeit bestehen, entscheidend ist vielmehr eine enge Funktionsverwandtschaft.^[37] Als bevorzugter Ansatz hat sich bisher das rationale Design von Mimetika bewährt. Ausgehend von einer natürlichen Vorbildstruktur werden durch gezielte Modifikationen und Vereinfachungen neue Strukturen erhalten und durch geeignete Assays auf ihre biologische Wirkung untersucht. Die so erhaltenen Ergebnisse können dann bei einer weiteren Strukturoptimierung berücksichtigt werden. Als Alternative haben sich auch bei der Entwicklung von Glycomimetika kombinatorische Ansätze als sinnvoll erwiesen. Vor allem in Fällen, in denen die Kohlenhydrat-Rezeptor-Wechselwirkungen unklar sind und ein rationales Design folglich schwierig, konnten biologisch aktive Glycomimetika durch Entwicklung von Substanzbibliotheken erhalten werden.^[38]

Glycomimetika lassen sich, entsprechend ihres Funktionskonzepts in zwei Gruppen unterteilen,^[39] obwohl eine strenge Zuordnung nicht immer möglich ist:

- Mimetika, die *Lectin-* bzw. *Selectin-*spezifische Oligosaccharidepitope imitieren und somit eine direkte Intervention von biologischen Prozessen, durch kompetitive Bindung an spezifische Rezeptoren ermöglichen.
- Mimetika, die durch Modulation bzw. Inhibition von Enzymen, die an der Biosynthese von Oligosaccharidstrukturen beteiligt sind, eine Intervention in biologische Prozesse ermöglichen.

Eines der derzeit wohl am intensivsten bearbeiteten Gebiete der Glycomimetika-Forschung ist die Synthese und Untersuchung von *E-*, *P- und L-Selectin*-bindenden Verbindungen auf Kohlenhydratbasis. Die natürliche Oligosacchariddeterminante, die von diesen Membranproteinen erkannt wird, ist das bereits erwähnte *Sialyl Lewis^X*-Tetrasaccharid (1).



Abb. 5 Struktur von Sialyl Lewis^x, IC₅₀ [mmol]: 0.8 (E-Selectin)

Nachdem die Synthese von 1 durch mehrere Gruppen erfolgreich abgeschlossen wurde, konnten zahlreiche therapeutische Einsatzmöglichkeiten für Selectin-bindende Strukturen aufgezeigt werden, wie beispielsweise die Behandlung von Entzündungskrankheiten oder die Unterdrückung der Abstoßungsreaktion bei Organtransplantationen. Somit wandten sich eine Vielzahl von Gruppen der Synthese einer nahezu unüberschaubaren Zahl von sLe^x-Mimetika zu, an der beispielhaft die Schritte einer erfolgreichen Mimetikaentwicklung dargestellt werden können. Ein gezieltes Design wurde durch die Untersuchungen von Hasegawa^[40], Gaeta ^[41] und Kunz ^[42] ermöglicht: Rezeptor-Ligand-Komplex Untersuchungen ergaben durch systematische H-Substitution der Funktionalitäten von 1 ein genaues Bild der für eine hohe Bindungsaffinität entscheidenen Gruppen. So erkennen E- und L-Selectin alle drei OH-Gruppen der Fucose, die 2- und 6-OH Gruppe der Galactoseeinheit, sowie die Carboxylgruppe der Neuraminsäureeinheit. Für P-Selectin ergibt sich ein vergleichbares Bild, mit der Ausnahme, daß die 2- und 4-OH Funktionen der Fucose offensichtlich nicht an der Bindung beteiligt sind. Folgerichtig wurden vereinfachte Strukturen entwickelt, die eine vergleichbare Anordnung der an der Rezeptorbindung beteiligten Funktionalitäten aufweisen. So zeichnen sich 2, 3 und 4 durch eine Substitution der synthetisch nicht einfach zu handhabenden und teuren Neuraminsäure durch anionische Gruppen aus, wobei 2 und 3 höhere biologische Aktivitäten aufweisen als sLe^x (1) selbst. Weitere strukturelle Vereinfachungen, wie die Substitution der GlcNAc-Einheit in 5, bis hin zu der mit einem anionischen Peptid substituierten Fucose 6 führen zu synthetisch gut zugänglichen Verbindungen, die sich durch hohe *E-Selectin* Affinitäten auszeichen. Kunz, Kretzmschar et al. ^[43] verfolgen, neben anderen Gruppen, ^[44] erfolgreich den Ansatz, durch Synthese multivalenter sLe^x-Oligomere, Mimetika mit hohen Rezeptoraffinitäten unter Ausnutzung des "cluster-Effekts" [45,46] zu entwickeln.



Abb. 6 sLe^x-Mimetika, IC₅₀ [mmol], (E-*Selectin*): 2: 0.33, 3: 0.1, 4: inaktiv, 5: 0.5, 6: 0.05

Das Konzept der Multivalenz kommt auch in den von Kieburg und Lindhorst^[47] sowie Stoddart et al. entwickelten Glycodendrimeren zur Anwendung.

Ein sich ebenfalls rasant entwickelndes Gebiet der Glycomimetika-Forschung stellt aufgrund des großen therapeutischen Potentials von Glycopeptiden die Synthese von Glycopeptidmimetika dar.^[48-51] So konnte gezeigt werden, daß die Glycosylierung von peptidischen Wirkstoffen signifikante Verbesserungen in Bezug auf die Aktivität, Stabilität und Metabolisierung bewirken kann.^[52,53] Einem breiten therapeutischen Einsatz von glycopeptidischen Wirkstoffen steht jedoch u.a. der schnelle chemische und enzymatische Abbau der *N*- und *O*glycosidischen Bindungen *in vivo* entgegen. Das von Bertozzi et al.^[54] synthetisierte β -Gal-*O*-Serin-Mimetikum **7** zeichnet sich durch eine hydrolysestabile β -*C*-glycosidische Bindung aus und konnte erfolgreich mittels Festphasensynthese in das Modellpeptid **8** integriert werden, das einer Deglycosylierung *in vivo* gegenüber inert ist.



Abb. 7 *C*-glycosidisches β -Gal-O-Ser- (7) und Glycopeptid-Mimetikum (8)

Die Synthese der modifizierten *C*-glycosidischen β -GlcNAc-*N*-Asn Bausteine **9** ^[55] und **10** wurde von Kessler et al. publiziert. Das Mimetikum **9** ist durch eine invertierte Amidbindung gekennzeichnet, während **10** ein dem natürlichen Baustein isosteres Analogon mit einfacher CH₂-Kette darstellt. **9** wurde ebenfalls als *Building Block* zur Synthese eines cyclischen Glycopeptids eingesetzt. Die Synthese weiterer Homologer von **9** mit verschiedenen Linkerlängen erlaubte eine systematische Untersuchung der konformativen Änderung des Peptids in Abhängigkeit von der Glycosylierung.



Abb. 8 C-Glycosidische β -GlcNAc-N-Asn Mimetika 9 und 10

Zur Mimetisierung glycosidischer Bindungen zwischen Saccharideinheiten sind ebenfalls eine Vielzahl innovativer Arbeiten erschienen. So sind zahlreiche Synthesen vorgestellt worden, die isostere *C*-glycosidische Oligosaccharide zum Ziel haben. Die von Kishi et al. vorgestellte Synthese des *C*-glycosidischen Trisaccharid-Mimetikums **11** der peripheren Region einer Typ I Blutgruppendeterminante, gehört sicher zu den bisher aufwendigsten Arbeiten auf diesem Gebiet.^[56,57]



Abb. 9 *C*-glycosidisches β -Fuc- β -Gal- β -Glc Trisaccharidmimetikum (**11**) nach Kishi et al.

Ein davon abweichendes Konzept wurde bei der Synthese des Tetrasaccharidmimetikums **12** verfolgt. Im Gegensatz zu den synthetisch anspruchsvollen *C*-glycosidischen Verknüpfungen wurden hier Peptidbindungen als Verknüpfung zwischen den Saccharideinheiten gewählt.^[58]

Die gut zugänglichen Monomereinheiten können unter den etablierten Standardbedingungen der Peptidchemie bestechend einfach gekuppelt werden. Dieser Ansatz bietet die Möglichkeit zur Festphasen-gestützten effizienten Synthese großer Einheiten, die Hybride von Peptiden und Sacchariden sind.



Abb. 10 Tetrameres Saccharid-Peptid Hybridmimetikum (12)

Ein intensiv untersuchtes Glycomimetikum, das eine Inhibition der an der Oligosaccharid-Biogenese beteiligten Enzyme bewirkt, ist das aus *Streptomyces*-Stämmen isolierte Tunicamycin (**13**).^[59] Tunicamycin-Antibiotika hemmen effektiv den ersten Schritt des Dolichol-Cyclus der *N*-Glycoproteinbiosynthese durch Inhibition der bereits erwähnten UDPGlcNAc:Dolicholphosphat GlcNAc-1-Phospho-Transferase, die die Übertragung von GlcNAc-1-Phosphat auf Dolichylmonophosphat katalysiert (Abb. 4).^[60]



Abb. 11 Tunicamycin-Antibiotika unterscheiden sich durch die Länge der hydrophoben N-Acyl-Reste

13 bindet kompetitiv im aktiven Zentrum des Enzyms, imitiert durch den hydrophilen Kohlenhydratteil den Donor UDP-GlcNAc und durch den hydrophoben *N*-Acyl-Rest den Dolichylphosphat-Akzeptor. Auf der Blockierung sowohl der Donor- als auch der Akzeptorbindungsstelle des Enzyms, also der "Multivalenz" von 13, beruht auch hier die hohe Affinität ($K_i = 7 \cdot 10^{-9}$ mmol).

Tunicamycin (13) erwies sich als sehr wertvoll bei der Aufklärung der Einzelschritte der *N*-Glycoprotein-Biosynthese, die großen Fortschritte auf diesem Gebiet liegen im wesentlichen hier begründet. Auf diesem Konzept aufbauend sind weiterhin eine Vielzahl von Enzyminhibitoren entwickelt worden.

Die kompetitive Inhibition der Fucose-Transfer Reaktion, ein entscheidener Schritt der Biosynthese von *Sialyl-Lewis^x*, haben die FucT-Donor-Mimetika **14** und **15** zum Ziel.^[61] Ausgehend vom natürlichen Substrat GDP-Fuc ist die Fucose-Einheit in **14** durch einen stabilen Carbocyclus ersetzt. Der Guanosindiphosphat-Rest ist somit als Phosphatester verknüpft im Gegensatz zur Acetalbrücke des natürlichen Substrats. Der ungesättigte Carbocyclus von **15**, liegt nicht in einer Sessel- sondern eher in einer Boot-Konformation vor.



Abb. 12 Schematische Darstellung des Übergangszustandes des enzymatisch katalysierten Glycosyltransfers: Akzeptor und Donor sind simultan im aktiven Zentrum der Transferase gebunden, die Übertragung des Donors erfolgt über einen lonen-Paar-Mechanismus. Die zu übertragende Zucker-Einheit ist positiv geladen und nimmt eine abgeflachte Konformation an. Annäherung des Akzeptors und Entfernung des Nucleotids erfolgen konzertiert.

Für dieses, der GDP-Fucose-Konformation im Übergangszustand der Transfer-Reaktion nachempfundene Mimetikum, ist daher eine höhere Affinität zum aktiven Zentrum der Transferase zu erwarten. Endgültige kinetische Daten der Inhibitionsreaktion sind jedoch nicht publiziert worden. Auch für die *C*-glycosidischen GDP-Fuc-Analoga **16-18** sind keine Inhibitionskonstanten bekannt.^[62] **16** zeichnet sich durch eine hydrolysestabile isostere Phosphonatbrücke zwischen Fucose und Nucleotid aus. In den Mimetika **17** und **18** sind die Phosphatbrücken gegenüber dem natürlichen Substrat verlängert, um die sterischen Verhältnisse bei Spaltung des glycosidisch gebundenen Nucleosiddiphosphats im aktiven Zentrum des Enzyms besser zu imitieren.

Einen analogen Ansatz verfolgten R.R. Schmidt et al. mit der Synthese des Galactosyl-Transferase-Inhibitors **19**,^[63] auf Basis des natürlichen Donors UDP-Gal. **19** zeichnet sich durch eine planare *C*-glycosidische Galactal-Einheit aus, die auch hier die Konformation des Galactose-Donors im Übergangszustand wiederspiegeln soll.



Abb. 13 GDP-Fuc Mimetika 14-18 als potentielle FucT-Donor-Inhibitoren

Darüber hinaus ist die glycosidische Phosphatbindung durch eine isostere hydrolysestabile Phosphonatgruppe ersetzt. **19** zeigt allerdings keine höheren Affinitäten zum Enzym als der natürliche Donor.



Abb. 14 Kompetitiver Inhibitor 19 der GalT aus Rindermilch

Ebenfalls von R. R. Schmidt et al. sind systematische Studien zur Entwicklung von Inhibitoren der $\alpha(2-6)$ -Sialyltransferase durchgeführt worden.^[64,65] Durch Berücksichtigung der sterischen Verhältnisse des natürlichen Donors Cytidinmonophosphat *N*-Acetylneuraminsäure im Übergangszustand und Imitation der Carboxylatgruppe der Sialinsäureeinheit durch eine Phosphonatgruppe, konnte das Donor-Mimetikum **20** als hochwirksamer Inhibitor erhalten werden ($K_i = 350$ nMol). **20** zeigt somit eine 130mal höhere Affinität zum Enzym als der natürliche Donor CMP-Neu5Ac. Der Ersatz der Phosphatbrücke zwischen Zucker und Nucleosid von **20** durch eine hydrolysestabilere zum natürlichen Substrat isostere Phosphonatbrücke, führte interessanterweise auch hier zu Inhibitoren mit nur mäßigen Aktivitäten.



Abb. 15 Kompetitiver Inhibitor 20 der Sialyltransferase aus Rattenleber

Abschließend sei die bedeutende Gruppe der Glycosidase-Inhibitoren erwähnt. Der Synthese und Entwicklung dieser Glycomimetika, die eine Hemmung der enzymatisch katalysierten Glycosidspaltung bewirken, wurde in den letzten Jahren viel Aufmerksamkeit zuteil. Aufgrund der immensen biologischen Bedeutung der Glycosidasen, z.B. im bereits erwähnten posttranslatorischen *trimming* der *N*-Glycoproteine, ergeben sich somit zahlreiche therapeutische Anwendungsmöglichkeiten. So konnten wirksame Anitbiotika, Fungizide, Insektizide sowie Anti-Diabetis- und Anti-Virus Mittel auf Basis von Glycosidase-Inhibitoren entwickelt werden. Insbesondere Azazucker ^[66] und Carbazucker ^[67] erwiesen sich hierbei als geeignete Glycomimetika, die sich durch hohe biologische Aktivitäten auszeichnen. Exemplarisch seien der α - und β -Glucosidase-Inhibitor 1-Desoxynojirimycin **21** und der hochselektive Influenza-Sialidase Inhibitor **22**,^[68,69] der eine Virus-Infektion wirksam unterbindet, vorgestellt.



Abb. 16 1-Desoxynojirimycin 21 und der Influenza-Sialidase Inhibitor 22

1 Einleitung 18

1.4 Glycopeptidfestphasensynthese

Der schrittweise chemische Aufbau von Peptiden an fester Phase gilt heute als das Standardverfahren der Wahl zur universellen und effizienten Synthese auch komplexer glycopeptidischer Strukturen. Trotz der zahlreichen Verfahrensoptimierungen, die diese Methode erfahren hat, erfolgt die Synthese im wesentlichen auch heute noch nach dem von Merrifield ^[70] erstmals beschriebenen Prinzip. Eine entscheidene Erweiterung des Verfahrens konnte durch die Verwendung von glycosylierten Aminosäurebausteinen sog. "*Building Blocks"* erreicht werden, da somit ein eleganter Zugang zu glycosylierten Peptiden geschaffen werden konnte.^[71,72] Methoden zum enzymatischen Aufbau von Glycopeptiden ^[73] bzw. zur nachträglichen enzymatischen ^[74] oder chemischen ^[75] Glycosylierung von Peptiden konnten sich hingegen bisher nicht durchsetzen.

Die Anbindung der ersten Aminosäure erfolgt nicht direkt am als Träger dienenden Polymer, sondern an einem Linker, der eine Abspaltung des fertigen Glycopeptids unter definierten Bedingungen ermöglicht. Die Synthese erfolgt dann durch kontinuierliche Wiederholung fester Synthesezyklen. Da die wachsende Peptidkette fortwährend an der festen Phase gebunden vorliegt, kann die nach jedem Kupplungsschritt erfolgende Reinigung schnell und ohne Ausbeuteverluste erfolgen. Darüber hinaus ist die gute Automatisierbarkeit des Verfahrens zu erwähnen. Zunächst wird von der terminalen Aminosäure, die über ihre α-Carboxylgruppe an das am Harz verankerte Peptid gebunden ist, die α-Amino-Schutzgruppe entfernt, dann entsprechend der zu synthetisierenden Sequenz die nächste Aminosäure über die aktivierte α -Carboxylgruppe gekuppelt. Es ist zu beachten, daß alle an der Reaktion nicht beteiligten Funktionalitäten während des gesamten Synthesevorgangs blockiert vorliegen müssen. Dies gilt sowohl für die Hydroxyfunktionen der Saccharide als auch für die Seitenkettenfunktionen der eingesetzten Aminosäuren. Daher kommt der Auswahl eines geeigneten orthogonalen Schutzgruppensatzes größte Bedeutung zu.^[76] Zur Blockierung der α-Aminofunktionen der eingesetzten Building Blocks hat sich die Verwendung der Fluorenylmethoxycarbonyl-Schutzgruppe (Fmoc) allgemein durchgesetzt.^[77] Diese Urethanschutzgruppe zeichnet sich durch eine gute Abspaltbarkeit unter milden basischen Bedingungen aus. Die Seitenkettenfunktionalitäten werden hingegen in der Regel mit säurelabilen Schutzgruppen blockiert, die eine hohe Basenstabilität aufweisen, um eine vollständig stabile Blockierung während der Synthesezyklen zu gewährleisten.

Die Bedingungen zur abschließenden Abspaltung des fertigen Glycopeptids können durch die Wahl des Linkers variiert werden. Im Rahmen dieser Arbeit erfolgt die Spaltung vom polymeren Träger unter stark aciden Bedingungen, durch Verwendung von Trifluoressigsäure. Hierbei kommt es auch zur Abspaltung sämtlicher Seitenkettenschutzgruppen und man erhält das freie, vollständig entschützte Glycopeptid. Einen Sonderfall stellen die Saccharidschutzgruppen dar: säurelabile Gruppen wie Benzyliden-, Isopropyliden- oder Silylschutzgruppen werden unter den sauren Bedingungen der Abspaltung des Glycopeptides vom Harz ebenfalls abgespalten. Säurestabilere Schutzgruppen wie Acetate müssen hingegen in einem zusätzlichen Schritt, vor oder nach Abspaltung des Glycopeptides vom Polymer abgespalten werden.



H₂N-AA_{x+2}-AA_{x+1}-AA_x-AA_b-AA_a-COOH

Abb. 17 Schematische Darstellung der Glycopeptidfestphasensynthese: Die Anknüpfung des Glycosylaminosäurebausteins erfolgt durch TBTU-Aktivierung, unter basischen Reaktionsbedingungen. Anschließende Deblockierung mit 20 % Piperidin führt zum entschützten Aminoterminus. Erneute Kupplung mit einem als Pfp-Aktivester aktivierten Aminosäurebaustein führt zur weiteren Kettenverlängerung. Hierbei kann durch Dhbt-OH-Zugabe der Fortschritt der Reaktion überprüft werden. Alternativ können Building Blocks mit freier α-Carboxygruppe unter Verwendung von Kupplungsreagentien (HATU, TBTU, DCC) eingesetzt werden. Abschliessende Fmoc-Entschützung und Abspaltung des Glycopeptides vom Polymer mit 95 % TFA führen zum freien entschützten Glycopeptid.

Zur Aktivierung der α -Carboxylgruppen stehen zahlreiche Methoden zur Auswahl. Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene Kupplungsmethoden angewendet. Für die in einem vollautomatischen Peptidsynthesizer durchgeführten Synthesen der *N*-Glycopeptidmimetika wurden Fmoc-Aminosäurebausteine mit freier α -Carboxylgruppe verwendet. Die Aktivierung erfolgte *in situ* durch Behandlung mit dem hochreaktiven Peptidkupplungsreagenz HATU (**23**).^[78] Eine Verwendung von HATU (23) ermöglicht nahezu quantitative Peptidkupplungen innerhalb eines Zeitraums von 3 bis 10 Minuten ohne Epimerisierung des α -C-Atoms.

Die Glycopeptidsynthesen der *O*-Glycopeptidmimetika wurden hingegen manuell durchgeführt. Es wurden hierzu die als OPfp- bzw. ODhbt-Aktivester aktivierten Fmoc-Aminosäuren eingesetzt, die sich durch ihre gute Handhabbarkeit auszeichnen.^[79] Die Kupplung der Glycosylaminosäurebausteine erfolgte in allen Fällen manuell über *in situ* Aktivierung mit dem Kupplungsreagenz TBTU (**24**).^[80] Hierfür ist es ebenfalls erforderlich, daß neben der freien α -Carboxylgruppe, die durch das Kupplungsreagenz aktiviert wird, die α -Aminofunktion Fmoc-geschützt vorliegt.



Abb. 18 Reagentien für die Peptidkupplung zur Aktivierung von Carboxylgruppen: O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HATU, 23) und 2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumtetrafluoroborat (TBTU, 24)

1.5 Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Synthese und Untersuchung neuartiger Glycopeptid-Mimetika und Saccharid-Nucleosiddiphosphat-Mimetika.

Die zu synthetisierenden *N*- und *O*-Glycopeptidmimetika sollen sich primär durch eine modifizierte glycosidische Bindung zwischen Peptid- und Saccharidteil auszeichnen. Eine maximale Stabilität gegenüber enzymatischer und chemischer Hydrolyse steht hierbei im Vordergrund, um verlängerte *in vivo* Halbwertzeiten der potentiell biologisch aktiven Verbindungen zu gewährleisten. Hierfür sind zunächst modifizierte *N*- und *O*-Glycosylamino-säurebausteine zu synthetisieren, diese mit geeignetem Schutzgruppenmuster auszustatten und als *Building Blocks* in der Glycopeptidfestphasensynthese zu verwenden. Darüber hinaus soll die biologische Aktivität der Glycosylaminosäurebausteine nach Entschützung untersucht werden.

Die Synthese von potentiellen Glycosyl-Transferase-Inhibitoren auf Basis der natürlichen Saccharid-Nucleosiddiphosphat-Donoren bildet den zweiten Teil der Arbeit. Hierfür sollen Donormimetika der Galactosyl-, 2-Desoxy-2-acetamido-glucosyl- und 2-Desoxy-2-acetamido-galactosyl-Transferase mit modifizierten Verbrückungen zwischen Glycosid- und Nucleosiddiphosphateinheiten hergestellt werden, die einen enzymatischen Abbau unterbinden. Dabei soll insbesondere die Eignung *C*-glycosidischer Verbrückungen untersucht werden.

2. Synthese neuartiger N-Glycopeptidmimetika

2.1 N-Glycopeptidmimetika der V3-Loop des gp120 aus dem HIV

Wie bereits dargestellt sind rezeptive Funktionen von Glycoproteinen bei zahlreichen Zelladhäsionsprozessen von großer Bedeutung. So wird auch die Anbindung des Human Immunodeficiency Virus (HIV), dem Erreger des Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), an die als Wirtszellen dienenden T4-Lymphocyten und Macrophagen durch zwei viruseigene Glycoproteine, das gp120 und gp41, vermittelt.^[81-83] Das transmembranständige gp41 ist über eine Disulfidbrücke mit dem Oberflächenglycoprotein gp120 verbunden. Im Initialschritt der Infektion kommt es zu einer adhäsiven Wechselwirkung zwischen dem gp120 und dem CD4 Plasmamembranrezeptor der Wirtszelle. Anschließend bindet die V3-Loop-Region des gp120 an die ebenfalls auf der Wirtszellenoberfläche lokalisierten Corezeptoren CXCR4 bzw. CCR5,^[84] es folgt die gp41-vermittelte Membranfusion und abschließende Internalisierung des Virus.



Abb. 19 Schema der HIV-Anbindung an T4-Lymphocyten bzw. Macrophagen. Der Kontakt zwischen der V3-Loop und den Corezeptoren erfolgt nach Bindung des CD4-Rezeptors an die V4- und V5-Loop Region des gp120.

Es wird angenommen, daß die V3-Loop-Corezeptor Bindung durch einen hochkonservierten Bereich innerhalb der hypervariablen V3-Region vermittelt wird. Dieser Bereich ist durch die Peptidsequenz Gly-Pro-Gly-Arg-Ala-Phe (GPGRAF) gekennzeichnet. Das GPGRAF-Motiv und der *N*-seitige benachbarte Abschnitt des Proteins wird von Antikörpern erkannt und wird daher als prinzipiell neutralisierende Domäne (PND) bezeichnet. Allerdings kann trotz dieses Antikörperkontakts die Infektion offenbar nicht längerfristig verhindert werden. Innerhalb des V3-Loops befindet sich weiterhin eine hochkonservierte *N*-Typ Glycosylierungsstelle, die mit einem Komplex-Typ Oligosaccharid besetzt ist. Nehete et al. konnten zeigen, daß synthetische Peptide auf Basis der konservierten Region des V3-Loops die Infektiösität des HIV *in vitro* um bis zu 97 % verringern.^[85] Der Wirkungsmechanismus beruht hierbei vermutlich auf einer kompetitiven Inhibition, durch Blockierung der V3-Bindungsstellen der Wirtszellen. Die Adhäsion an den CD4 Rezeptor scheint hingegen nicht beeinträchtigt zu werden. Meyer et al. haben kürzlich den Einfluß der Glycosylierung auf V3-Loop Peptide in Bezug auf Struktur und inhibitorische Wirkung untersucht.^[86] Es wurden hierzu Peptide mit GPGRAF-Motiv und variierender *N*-Glycosylierung der konservierten Glycosylierung auf die 3D-Struktur des Peptids nachgewiesen werden. Im T-Zell-Proliferations-Assay konnte ein stimulierender Einfluß auf das T-Zell-Wachstum beobachtet werden. Untersuchungsergebnisse bezüglich der virusneutralisierenden Eigenschaften liegen noch nicht vor.

Die bereits erwähnte begrenzte *in vivo* Stabilität von Glycopeptiden läßt die Synthese von *N*-Glycopeptidmimetika der V3-Loop aufgrund der potentiellen antiviralen Eigenschaften als attraktive synthetische Herausforderung erscheinen. Es gilt daher, das GPGRAF-Motiv enthaltene Glycopeptide zu synthetisieren, die eine modifizierte Verknüpfung zwischen Peptid und Zuckereinheit an der konservierten *N*-Glycosylierungsstelle aufweisen. Die so erhaltenen *N*-Glycosylierung auszeichen. Hierbei wird durch Glycosyl-Asparaginasen die natürliche β -*N*-glycosidische Bindung zwischen β -GlcNAc-Asn (**25**), unter Bildung von Asparaginsäure, Ammoniak und des freien Zuckers gespalten.^[87] Das Enzym spaltet zwischen der γ -Carbonylgruppe der Aminosäure und dem verbrückenden Stickstoff, unter Bildung des Glycosylamins **26**, das sich unter den Reaktionsbedingungen spontan zu Ammoniak und GlcNAc (**27**) umsetzt.



Abb. 20 Enzymatische Spaltung von β -GlcNAcAsn durch Asparaginase aus Hühnereiweiß.

Der modifizierte GlcNAc-Asn-Baustein **28** sollte hingegen gegenüber einem proteolytischen Abbau durch Enzyme resistent sein. Im Gegensatz zur anomeren Verknüpfung zwischen Asparagin und GlcNAc des natürlichen Glycosylaminosäurebaustein **25** zeichnet sich **28** durch eine amidische Bindung der Aminosäure an die 2-Position des Ringsystems aus. Darüber hinaus weist die 1-Position keine acetalische Struktur mehr auf, vielmehr handelt es sich bei diesem 1-Desoxyzucker um einen cyclischen Ether.



Abb. 21 N^{γ}-[1,5-Anhydro-2-desoxyglucitol-2]-L-asparagin (**28**) als β -GlcNAc-Asn (**25**) Mimetikum. 1,5-Anhydrozucker liegen, analog zu den entsprechenden Pyranosen, trotz des nicht vorhandenen anomeren Effekts, in der ${}^{4}C_{1}(D)$ -Konformation vor.

Die Synthese der Glycopeptidmimetika soll Festphasen-gestützt nach dem "Building Block"-Verfahren erfolgen. Der Baustein **28** muß dafür nach Synthese mit geeignetem Schutzgruppenmuster ausgestattet werden.

2.2 Synthese des modifizierten N-Glycosylaminosäurebausteins

Als direkter Zugang zu **28** ergibt sich die Kupplung eines selektiv geschützten Asparaginsäure-Derivats **29** an die Aminogruppe eines 2-Amino-1,5-anhydro-2-desoxy-glucitol-Derivats **30**. Zur Knüpfung der amidischen Bindung zwischen Aminosäure **29** und Zucker **30** kann somit auf die zahlreichen etablierten Methoden der Peptidchemie zurückgegriffen werden.



Abb. 22 Retrosynthese des N-Glycosylaminosäurebausteins 28

Eine effiziente Möglichkeit zur Synthese von 1,5-Anhydro-2-amino-2-desoxy-alditolen stellt die radikalische Dehalogenierung von anomeren Chloriden durch Trialkylzinnhydride dar.^[88] Diese allgemein anwendbare Methode ist durch hohe Ausbeuten, kurze Reaktionszeiten und gute Verfügbarkeit der Edukte gekennzeichnet. Ausgehend von 2-Acetamido-2-desoxy-3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-D-glucopyranosylchlorid **31** konnte so durch Umsetzung mit Tributylzinnhydrid der 1,5-Anhydrozucker **32** in 84 % Ausbeute erhalten werden. Versuche zur Spaltung der Acetamidogruppe von **32** neben den Acetatschutzgruppen mittels des Wagner-Meerwein Reagenzes schlugen fehl und ergaben komplexe Produktgemische.^[89] Da der selektiv an der Aminogruppe entschütze Anhydrozucker **33**, der eine einfache Anknüpfung der Aminosäure ermöglicht, nicht erhalten werden konnte, wurde **32** durch saure Hydrolyse zum vollständig entschützen Hydrochlorid **34** umgesetzt.



Abb. 23 Synthese des vollständig entschützen 1,5-Anydro-glucitol-Derivats 34

Zur anschließenden Knüpfung der Peptidbindung stehen mehrere Methoden zur Aktivierung der γ-Carbonsäuregruppe zur Verfügung: ^[90]

- 1. Aktivester, z.B. Pentafluorophenylester (OPfp) oder Dihydroxybenzoesäureester (ODhbt).
- 2. Kupplungsreagentien, z.B. Dicyclohexylcarbodiimid (DCC), 1-Ethoxycarbonyl-2ethoxy-1,2-dihydrochinolin (EEDQ) oder 2-Chlor-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin (CDMT).
- 3. Anhydridbildung, z.B. durch Umsetzung mit Säurechloriden bzw. Anhydriden.

Bei der Auswahl der Kupplungsbedingungen ist der entscheidende Faktor, daß eine selektive Kupplung an die Aminogruppe des ungeschützten 1,5-Anhydro-Zuckers **34** erfolgen soll, da

somit zahlreiche Syntheseschritte zum Aufbau eines differenzierten Schutzgruppenmusters an **34** entfallen. Aufgrund der geringen Löslichkeit ungeschützter Zucker in nichtwäßrigen Systemen ergeben sich somit Vorgaben bezüglich der Wahl des Lösungsmittels. Eine schnelle effiziente Kupplung kann nur bei Verwendung eines hochpolaren wäßrigen Reaktionsmediums erwartet werden. Aufgrund der Hydrolyselabilität der Aktivester und der Inkompatibilität einer Großzahl der zur Verfügung stehenden Kupplungsreagenzien mit wäßrigen Reaktionsmilieus, bzw. der nur geringen Differenzierung zwischen Hydroxy- und Aminogruppen, erscheint eine Aktivierung der Asparaginsäure durch Bildung eines gemischten Anhydrids als attraktive Möglichkeit.^[90] Hierbei hat sich die Verwendung von Chlorameisensäureestern bewährt.^[91] Der als Benzylcarbamat und α -Benzylester geschützte Asparaginsäurebaustein **35** konnte durch Umsetzung mit Isobutylchlorformiat zum gemischten Anhydrid **36** umgesetzt werden, das in wäßriger Umgebung eine genügend hohe Stabilität aufweist, um eine Reaktion mit dem freien Zucker **34** zum Kupplungsprodukt **37** zu ermöglichen.



Abb. 24 Reaktionsschema der Synthese des Glycosylaminosäurebausteins(38) unter Verwendung eines gemischten Anhydrids zur Aktivierung

Der nucleophile Angriff der Aminogruppe von **34** an das Anhydrid **36** findet hierbei selektiv an der Carbonylgruppe der Aminosäure statt. Ein Angriff auf die benachbarte Carbonylgruppe unter Bildung eines Urethans, konnte nicht beobachtet werden. Die freien Elektronenpaare am Sauerstoff der Isobutoxygruppe und der sterische Anspruch der verzweigten Alkylkette sind hierfür verantwortlich zu machen. Um eine vereinfachte Isolierung zu ermöglichen, wurden
die freien Hydroxygruppen von 37 nach der Kupplung acetyliert. Der vollständig geschützte Glycosylaminosäurebaustein 38 konnte somit in 75 % Ausbeute ausgehend von 34 erhalten werden.

2.3 Festphasensynthese der N-Glycopeptidmimetika

Um den vollständig geschützten *N*-Glycosylaminosäurebaustein **38** in die Glycopeptidsynthese einbringen zu können, muß, wie erläutert, neben der freien Carboxyfunktion, die Aminogruppe durch Fmoc-Schützung blockiert werden. Hierfür wurde **38** zunächst hydrogenolytisch unter Pd/C-Katalyse an der Aminosäureeinheit quantitativ zu **39** entschützt. Zur Fmoc-Blockierung wurde mit Fmoc-Succinimidylcarbonat zum *Building Block* **40** umgesetzt.^[92] Aufgrund der hohen Reaktivität des eingesetzten Fmoc-Succinimidylcarbonats konnte **40** bereits nach einer Reaktionszeit von 30 Minuten in 86 % Ausbeute erhalten werden.



Abb. 25 Synthese des N^α-Fmoc-geschützten Building Blocks 40

Die den zu synthetisierenden Glycopeptidmimetika zugrundeliegende Peptidsequenz entspricht einer am Tropeninstitut Hamburg in der Gruppe von Dr. M. Schreiber sequenzierten Patientensequenz. Diese enthält das bereits erwähnte GPGRAF-Motiv sowie am Asn-2 die hochkonservierte *N*-Glycosylierungsstelle. An dieser Position soll die natürliche β -GlcNAc-Asn Verknüpfung durch Einbau des Building Blocks **40** ersetzt werden und somit das *N*- Glycopeptidmimetikum **42** erhalten werden. Zur Untersuchung der generellen Eignung des *Building Blocks* **40** für die Glycopeptidsynthese soll zunächst das glycosylierte Tetrapeptid **41** hergestellt werden.



Abb. 26 Glycopeptidmimetika 41 und 42, Asn-2 zeichnet sich durch die beschriebene modifizierte Glycosylierung aus

Die Glycopeptidsynthese erfolgt an einem Peptidsynthesizer Modell "Pioneer" der Firma Perseptive Biosystems in "continuous-flow" Technik. Das Harz wird hierbei in eine Säule gefüllt und mit den Reagenz- und Waschlösungen durchspült. Da dieses Verfahren besonders druckstabile polymere Träger erfordert, kommt ein Polyoxyethylenacrylamid-Copolymer (PEGA) [71] zum Einsatz, das mit Rink-Linker [93] derivatisiert ist. Dieser säurelabile Linker ergibt am C-terminalen Ende des Glycopeptids ein Amid. Es werden N^{α} -Fmoc geschützte Aminosäurebausteine mit freiem C-Terminus eingesetzt, die Aktivierung erfolgt mit HATU. Zur Fmoc-Enschützung wird 20 % Piperidinlösung in DMF eingesetzt. Die Kupplung des Building Blocks 40 erfolgt manuell außerhalb des Synthesizers durch TBTU-Aktivierung. Hierfür wird das Harz aus der Säule entfernt und in einer Glasfritte mit der Reaktionslösung versetzt. Anschließend wird die Peptidsynthese am Synthesizer fortgesetzt. Die Abspaltung des Glycopeptids erfolgt durch 95 % Trifluoressigsäure. Das glycosylierte acetylierte Tetrapeptid 43 kann nach HPLC-Reinigung in 21 % Ausbeute erhalten werden. Die anschließende Entfernung der Acetylschutzgruppen der Glucitoleinheit erfolgt unter Zemplén Bedingungen ^[94] bei pH 9. Das deacetylierte Glycopeptid **41** konnte nach erneuter HPLC-Reinigung in 60 % Ausbeute isoliert werden (13 % bezogen auf die Harzbelegung). Da somit die generelle Eignung von 40 zur Glycopeptidsynthese nachgewiesen werden konnte, wurde zur Synthese des N-Glycopeptidmimetikums 42 nach einem analogen Protokoll verfahren. Das acetylierte Produkt 44 wurde in 23 % Ausbeute erhalten, nach Deacetylierung konnte dann 42 in 55 % Ausbeute isoliert werden (12 % bezogen auf die Harzbelegung).



Abb. 27 Deacetylierung der Glycopeptidmimetika 43 und 44

Mittels ¹H¹H-TOCSY und ¹H¹H-NOESY-Experimenten konnte eine vollständige NMR-Charakterisierung aller Protonen des *N*-Glycopeptidmimetikums **42** erhalten werden. Insbesondere konnte durch die NOE-Kontakte zwischen dem Asn-2- δ -NH zum H-3 der Glucitoleinheit und zu einem Asn-2- β -CH-Proton die modifizierte Glycosylierung des Peptids nachgewiesen werden.



Abb. 28 Ausschnitt aus dem ¹H¹H-NOESY Spektrum des *N*-Glycopeptidmimetikums **42**. Man erkennt die Kreuzkorrelation zwischen dem Asn-2- δ -NH und dem H-3 des Glucitols bzw. dem Asn-2- β -CH.





Abb. 29 Maldi-TOF Spektrum von 42 (M = 1941), CCA-Matrix, positive mode

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß der neuartige Glycosylaminosäurebaustein **40** eine gute Eignung für die Glycopeptidfestphasensynthese zeigt.^[95] Da die nur mäßigen Gesamtausbeuten von 13 % für **41** und 12 % für das *N*-Glycopeptidmimetikum **42** nicht optimiert sind, können höhere Ausbeuten bei verbesserter Reaktionsführung erwartet werden. In Untersuchungen zur Wirkung des V3-Loop Glycopeptidmimetikums **42** auf die T-Zell-Proliferation konnten keine inhibitorischen oder stimulierenden Effekte beobachtet werden. Ergebnisse bezüglich der virusneutralisierenden Eigenschaften von **42** liegen noch nicht vor.

3 Synthese neuartiger O-Glycopeptidmimetika

O-Glycosylierte Peptide und Proteine ebenso wie N-Glycopeptide besitzen in vivo nur eine begrenzte Lebensdauer. Die in Organismen allgegenwärtigen Glycosidasen, Enzyme, die glycosidische Bindungen spalten, sind für den Abbau dieser Glycostrukturen verantwortlich. ^[96] Hierbei kommt es zu einer Hydrolyse der glycosidischen Bindung unter Bildung der freien Saccharide. Darüber hinaus zeigt die O-glycosidische Bindung zu Serin und Threonin schon unter milden basischen Reaktionsbedingungen eine hohe Neigung zur Spaltung durch β-Eliminierung.^[97] O-Glycopeptidmimetika sollen sich durch eine im Vergleich mit den natürlichen Vorbildstrukturen erhöhte chemische und enzymatische Stabilität auszeichnen. Daher muß vorrangig die labile O-glycosidische Bindung zwischen Peptid- und Saccharidteil geeignet imitiert werden. So weisen daher die bereits in der Einleitung vorgestellten Glycopeptidmimetika 7 und 8 anstelle der O-glycosidischen eine C-glycosidische Verknüpfung zwischen Zucker und Peptid auf. C-Glycoside leiten sich formal von den entsprechenden O-Glycosiden durch den Austausch des verbrückenden Sauerstoffs der glycosidischen Bindung durch eine Methylengruppe ab. Sie zeigen eine große strukturelle Ähnlichkeit zu den entsprechenden O-glycosidisch verknüpften Strukturen, weisen aber im Gegensatz zu diesen eine außerordentlich hohe Hydrolysestabilität auf. [98]

Es sollen im Rahmen dieses Projektes hydrolysestabile O-Glycosylaminosäurebausteine entwickelt und untersucht werden, die eine modifizierte Verknüpfung zwischen dem Saccharidteil und Serin bzw. Threonin aufweisen. Dabei soll zunächst abweichend vom gängigen Konzept einer Stabilitätserhöhung durch Etablierung *C*-glycosidischer Verknüpfungen eine neuartige Verknüpfungmethodik zwischen Zucker und Aminosäuren gewählt werden. Ausgehend von den dargestellten natürlichen Bausteinen, die α -glycosidische Verknüpfungen zu GalNAc (**45**, **46**)^[4] und Galactose (**49**, **50**), bzw. β -glycosidische Verknüpfungen zu Galactose (**47**, **48**)^[99] besitzen, weisen die davon abgeleiteten zu synthetisierenden Glycosylaminosäurebausteine **51** und **52** eine Etherbrücke zwischen den OH-Funktionen der Seitenketten von Serin bzw. Threonin und der 2-Position des Saccharidteils auf.



Abb. 31 Natürliche *O*-Glycosylaminosäurebausteine **45-50** und modifizierte Bausteine **51** und **52**.

Der Saccharidteil, ein *galacto*-konfigurierter 1-Desoxy-Zucker, weist darüber hinaus keine Acetalfunktion mehr auf. In Analogie zum bereits vorgestellten *N*-Glycosylaminosäurebaustein **28** liegt auch hier eine cyclische Etherstruktur vor. Die Bausteine **51** und **52** sollten sich somit durch eine wesentlich erhöhte Resistenz gegenüber einem chemischen oder enzymatischem Abbau auszeichnen. Der Saccharidteil präsentiert dabei aber weiterhin den Großteil des Galactose-Epitops der natürlichen Glycosylaminosäurebausteine, mithin kann somit eine minimale Beeinträchtigung von rezeptiven Funktionen erwartet werden. Die von der 1-Position an die 2-Position verschobene nicht-glycosidische Bindung zwischen Saccharid und Aminosäure, wird bei Einbau der Bausteine in ein Peptid Auswirkungen auf die Nahordnung um die Glycosylierungsstelle zeigen. Man kann aber annehmen, daß die generelle Peptid-stabilisierende Funktion des Glycanteils hierdurch nicht beeinträchtigt wird.

3.1 Synthese modifizierter O-Glycosylaminosäurebausteine

Der Schlüsselschritt zur Synthese der modifizierten Glycosylaminosäurebausteine **51** und **52** stellt die Einführung der Etherbrücke zwischen Aminosäure und Saccharid dar. Die organische Chemie stellt zahlreiche Methoden zur Synthese von Dialkylethern zur Verfügung.^[100] Aufgrund der hohen Funktionsdiversität und -dichte von Kohlenhydraten bzw. Aminosäuren sowie ihrer nur eingeschränkten Stabilität erweisen sich jedoch nur eine geringe

Anzahl von Verknüpfungsmethoden als prinzipiell für die Synthese der Bausteine **51** und **52** geeignet.

Die Synthese nach Williamson kann wohl als die bekannteste und naheliegendste Methode zur Darstellung von Ethern betrachtet werden.^[100] Hierbei wird die Etherbindung durch nucleophilen Angriff eines Alkoxids an ein Alkylhalogenid gebildet. Eine gebräuchliche Variante dieser klassischen Methode stellt die Verwendung von Alkylsulfonaten anstelle von Alkylhalogeniden dar. Eine Übertragung dieser Methode auf die Anforderungen der Synthese der Bausteine 51 und 52 zeigt Abb. 32. So sollte der unter I dargestellte nucleophile Angriff eines Alkoholats am 1,5-Anhydro-galactitol (53) auf ein als Sulfonat aktiviertes Aminosäurederivat zum etherverknüpften Baustein 51 bzw. 52 führen. Als problematisch ist hierbei die bereits erwähnte v.a. unter basischen Bedingungen ausgeprägte Neigung von Serin und Threonin zur β-Eliminierung zu bewerten.^[97] Eine Aktivierung der Seitenketten-Hydroxylfunktion dürfte diese Tendenz evtl. noch verstärken. Darüber hinaus kommt es unter den S_N 2-Bedingungen des nucleophilen Angriffs zu einer Inversion am asymetrischen β -C-Atom von Threonin: man erhält somit einen nicht natürlich konfigurierten Threoninbaustein. Eine Alternative stellt der in II dargestellte Angriff eines Alkoholats in der Seitenkette der Aminosäure auf die aktivierte 2-Position eines 1,5-Anhydro-talitols (54) dar. Hierbei könnten durch einen nucleophilen Angriff der Aminosäurekomponente an den Zucker 54, unter Konfigurationsumkehr an C-2, die Glycosylaminosäurebausteine 51 bzw. 52 gebildet werden. Man umgeht somit das Konfigurationsproblem am β -C des Threonins, sowie die inherente Instabilität der in der Seitenkette aktivierten Aminosäurederivate. Allerdings sind nucleophile Substitutionen an der 2-Position von Pyranosen aufgrund der ungünstigen geometrischen Verhältnisse im Übergangszustand bekanntermaßen schwierig. [101,102]



Abb. 32 Synthese der Bausteine (51, 52) durch S_N 2-Reaktion unter Williamson-Bedingungen

Alternativ zu einer Sulfonat-Aktivierung der Hydroxylfunktion des Zuckers könnte eine nucleophile Ringöffnung eines 2,3-Epoxids am Saccharid (**III**) ebenfalls zu den gewünschten Kupplungsprodukten führen. Allerdings führt nur eine hypothetische trans-diäquatoriale Ringöffnung mit Angriff an der 2-Position zu *galacto*-konfigurierten Produkten des erwünschten Substitutionsmusters. Die ungünstige Konformation des Übergangszustandes im Falle der diäquatorialen Öffnung bedingt, daß in der Regel überwiegend die Bildung der hier unerwünschten trans-diaxialen Produkte beobachtet wird.^[103] Die Epoxid-Ringöffnung kann daher nicht als Reaktion der Wahl zur Synthese der *O*-Glycosylaminosäurebausteine **51** und **52** angesehen werden.



Abb. 33 Nucleophile Ringöffnung eines Epoxids (**III**). Bei konformativ nicht festgelegten Systemen entstehen in der Regel komplexe Produktgemische. Gezeigt ist jeweils nur der Angriff an einer Ringposition.

Die bisher vorgestellten Konzepte zur Knüpfung der Etherbindung zwischen Aminosäure und Zucker beruhen auf wohlbekannten nucleophilen Substitutionsreaktionen. Eine elegante Alternative stellt die von Olah et al. weiterentwickelte reduktive Kupplung (**IV**) von Carbonylverbindungen unter Bildung von asymmetrischen Alkylethern dar, ^[104] eine Methode die u.a. auch von Nicolaou et al. im Rahmen der Brevetoxin B Synthese ^[105] angewendet wurde. Hierbei wird zunächst unter stark Lewis-sauren und reduktiven Bedingungen ein Silylketal gebildet, das abschließend durch Triethylsilan zum gewünschten Ether reduziert wird. Im Rahmen erster orientierender Versuche, durch Umsetzung eines entsprechenden 2-Keto-Zuckers (**55**) mit Serin-Derivaten konnten jedoch keine Ether-verbrückten Kupplungsprodukte erhalten werden.



Abb. 34 Erfolglose Vorversuche zur Etherbildung durch reduktive Alkylierung (**IV**) nach Olah.

Als problematisch erwies sich hierbei die Wahl eines geeigneten Schutzgruppenmusters für die Zucker bzw. Aminosäurekomponente. Vor allem das sehr stark nucleophile Reagenz Trimethylsilyliodid war inkompatibel mit einem Großteil der etablierten Schutzgruppen, so daß keine weiteren Kupplungsversuche unter Anwendung dieser Reaktion unternommen wurden.

3.1.1 Syntheseversuche durch S_N-Reaktion unter basischen Bedingungen

Trotz der erläuterten Probleme stellte sich die Synthese der *O*-Glycosylaminosäurebausteine durch nucleophile Substitution unter basischen Williamson-Bedingungen zunächst als die attraktivste Möglichkeit dar. Hierfür waren zunächst ein geschützes 1,5-Anhydro-galactitolsowie talitol-Derivat und ein aktivierter Serin- bzw. Threoninbaustein zu synthetisieren.

Die Aktivierung der Aminosäurederivate sollte wie erwähnt durch Überführung der Seitenkettenhydroxyfunktionen in Sulfonsäureester erreicht werden. Hierfür wurde der Z-Ser(OH)-OBn geschützte Baustein **56** durch Mesylierung bzw. Tosylierung unter acylierenden Bedingungen zu den entsprechenden Mesyl- bzw. Tosyl-Derivaten **57** und **58** umgesetzt. Allerdings machte sich bereits bei einer Reaktionstemperatur von 0°C die als Folgereaktion verlaufende β -Eliminierung von **57** und **58** zum Anhydroalaninderivat **59** störend bemerkbar. Eine analog durchgeführte Tosylierung von **56** bei Raumtemperatur ergab sogar ausschließlich das Eliminierungsprodukt **59**.



Abb. 35 Synthese der aktivierten Serinderivate 57 und 58. Als Nebenprodukt entsteht das Eliminierungsprodukt 59.

Zur Synthese des geschützten 1,5-Anhydro-Galactitols wurde zunächst ausgehend vom Bromid **60** das vollständig actylierte 1,5-Anhydrogalactitol **61** durch radikalische Dehalogenierung mit Bu₃SnH erhalten.^[106] Deacetylierung unter Standardbedingungen führte zum entschützten Galactitol **62**. Um eine selektive Kupplung der aktivierten Aminosäurebausteine an der 2-Hydroxy-Position des Zuckers **62** zu erreichen, ist es erforderlich, durch den Aufbau eines Schutzgruppenmusters die 3-, 4- und 6-Hydroxy-Gruppen zu blockieren. Ferner muß der Schutzgruppensatz unter den basischen Bedingungen der Etherbildung stabil sein. Nach erfolgreicher Kupplungsreaktion muß darüber hinaus eine selektive Entfernung der Schutzgruppen des *N*- und *C*-Terminus der Aminosäure durchführbar sein, um das für die anschliessende Glycopeptidsynthese erforderliche Fmoc-COOH-Muster etablieren zu können. Da die Z-Schutzgruppe und der Benzylester der Amino- bzw. Carboxylgruppe der Serinbausteine **57** und **58** hydrogenolytisch entfernt werden können, bieten sich zur Blockierung des Saccharidteils säurelabile Schutzgruppen an. Daher wurde durch Umsetzung mit *t*-Butyldiphenylsilylchlorid die primäre 6-OH Position selektiv zum 6-*O*-Silylether **63** blockiert und anschließend die 3- und 4-Positionen durch Isopropyliden-Schützung maskiert. Der Saccharidbaustein **64** besitzt somit ein orthogonales Schutzgruppenmuster, das die genannten Anforderungen bezüglich Selektivität und Stabilität erfüllt.



Abb. 36 Synthese des selektiv geschützten Galactitol-Bausteins 64.

Die Synthese des aktivierten 1,5-Anhydrotalitol-Bausteins gelang durch eine dreistufige Reaktionssequenz ausgehend vom Galactitol **64**. Durch Swern-Oxidation ^[107] mit Oxalylchlorid konnte die 1,5-Anhydro-tagatose **65** in 87 % Ausbeute erhalten werden. Anschliessende Reduktion der Ketogruppe ergab stereoselektiv ausschließlich das Talitol-Derivat **66**. Der Angriff des Hydrid-Ions erfolgt hierbei von der sterisch weniger gehinderten Unterseite des Moleküls unter Bildung einer axialen Hydroxygruppe. Dies kann auch durch die Kopplungskonstanten im ¹H-NMR-Spektrum nachgewiesen werden. Die ³J-Kopplungen zwischen H-2 und H-1a bzw. H-1e betragen 2.0 Hz bzw. 4.1 Hz, in guter Übereinstimmung mit den erwarteten Werten für äquatorial-axial bzw. äquatorial-äquatorial-Kopplungen. Dagegen beträgt die axial-axial Kopplung zwischen H-2 und H-1a im *galacto*-konfigurierten Produkt **64** 10.5 Hz. Die H-2-H-3-Kopplungen unterscheiden sich mit 5.0 Hz für das *talo*-konfigurierte **66** bzw. 7.0 Hz für **64** nicht signifikant. **66** wurde anschließend durch Tosylierung unter Standardbedingungen quantitativ zum aktivierten Talitol-Derivat **67** umgesetzt.



Abb. 37 Synthese des aktivierten Talitol-Derivats **67** unter Konfigurationsumkehr an C-2 durch eine Oxidations-Reduktions-Sequenz.

Die nachfolgend durchgeführten Versuche, die Aminosäurebausteine **57** bzw. **58** unter Williamson-Bedingungen mit dem geschützten Galactitol-Derivat **64** zu verknüpfen verliefen erfolglos. Die in Abb. 38 unter **I** dargestellte Variante, mittels des Systems NaH / DMF das Kupplungsprodukt **68** zu erhalten, führte ausschließlich zur Bildung des Eliminierungsproduktes **59**. Zahlreiche Versuche, unter Veränderung der Reaktionstemperatur sowie der Konzentrationen der eingesetzten Edukte, führten ebenfalls ausschließlich zur Zersetzung der Aminosäurekomponenten **57** bzw. **58**. Auch unter den Bedingungen der Phasentransferkatalyse (**II**) konnte keine erfolgreiche Umsetzung beobachtet werden. Variation des Lösungsmittels, der Basenkonzentration sowie des PTC-Katalysators ergaben durchgängig negative Ergebnisse. Der Einsatz von milden Basen wie Cäsiumcarbonat (**III**) führte ebenfalls nicht zum gewünschten Produkt. Sogar unter diesen schwach alkalischen Bedingungen, wurde in merklichem Ausmaß eine Zersetzung der Aminosäurederivate **57** und **58** zum Anhydroalaninderivat **59** beobachtet.



Abb. 38 Erfolglose Versuche zur Synthese des Bausteins 68

Ebenfalls ohne Erfolg verblieb der Versuch der Kupplung des Aminosäurebausteins **56** an das aktivierte Talitol-Derivat **67**. Zwar war nun keine schnelle Zersetzung des Aminosäurebausteins **57** nach Zugabe von NaH mehr zu beobachten, das erwünschte Kupplungsprodukts **68** konnte jedoch trotzdem nicht erhalten werden. Über die genaue Ursache für das Ausbleiben der Reaktion kann nur spekuliert werden. In erster Linie ist hier die bekannte stereo-elektronische Hinderung zu nennen, die nucleophile Substitutionen an der 2-Position von Pyranosen stark beeinträchtigt.



Abb. 39 Versuch zur Kupplung von 56 an das Talitol-Derivat 67

Aufgrund der dargestellten Resultate sollte nun die Synthese modifizierter Aminosäurederivate mit erhöhter Stabilität in basischen Systemen erreicht werden. Die Neigung von Serinund Threonin-Derivaten zur β -Eliminierung beruht ganz wesentlich auf der CH-Acidität des α -H-Wasserstoffs und der vicinalen Stellung zur Seitenkettenfunktion. Die homologen Aminoalkohole sollten hingegen eine weitaus geringere Tendenz zur Eliminierung zeigen, da in diesem Fall kein elektronenziehender und resonanzstabilisierender Substituent am Molekül mehr gebunden ist. Nach erfolgter Kupplung könnten diese dann durch Oxidation wieder in die entsprechenden Aminosäuren übergeführt werden. Es wurde daher ausgehend von dem am Carboxyterminus ungeschützten Serin 69 durch eine Reduktion der Carboxylgruppe zum Aminoalkohol 70 umgesetzt.^[108] Hierbei wurde durch Zugabe von Chlorameisensäureethylester zunächst das gemischte Anhydrid gebildet und anschließend mit Natriumborhydrid zum Alkohol reduziert. Anschließende Tosylierung führte zum aktivierten Aminoalkohol 71, der zur Kupplung mit dem Galactitol 64 eingesetzt werden kann. Eine Kupplung an 71 würde zwar nach anschließender Oxidation zur Aminosäure nicht zur natürlichen s-Konfiguriation am α -C des Serins führen, sondern zum R-Enantiomer, zur Evaluation der Kupplungsfähigkeit von 71 ist dies jedoch zunächst ohne Bedeutung. Alternativ wurde 70 an der Hydroxygruppe silvliert und anschließend durch hydrogenolytische Spaltung in den Aminoalkohol 72 übergeführt. 72 kann dann mit dem aktivierten Talitol-Derivat 67 zur Reaktion gebracht werden.



Abb. 40 Synthese der Aminoalkohole 71 bzw. 73

Die anschließend durchgeführten Kupplungsversuche der Aminoalkohole **71** und **73** an die Saccharide **64** bzw. **67** ergaben jedoch ebenfalls nicht die erwünschten Produkte **74** und **75**. Die Aminoalkohole **71** und **73** erwiesen sich zwar unter den Reaktionsbedingungen wie erwartet als stabil, jedoch konnten ausschließlich die eingesetzten Edukte reisoliert werden.

Prinzipiell scheint die Nucleophilie der angreifenden Alkoholate, bzw. die Aktivierung mittels Sulfonaten nicht ausreichend, um die gewünschte Verknüpfungsreaktion zu erhalten. Darüber hinaus könnten stereo-elektronische Gründe, auch bedingt durch die z.T. sehr raumfüllenden Schutzgruppen, eine erfolgreiche Kupplung vereiteln. Letztendlich kann die Möglichkeit, durch Modifikation der Schutzgruppenmuster, der Reaktionsbedingungen bzw. der Aktivierung der Hydroxylgruppen die erwünschte Kupplung zu erzielen nicht ausgeschlossen werden, allerdings wurde aufgrund der zahlreichen zu variierenden Reaktionsparameter im Rahmen dieser Arbeit keine weiteren Versuche in diese Richtung unternommen.



Abb. 41 Erfolglose Kupplungsversuche zwischen den Aminoalkoholen 71 und 73 an das Galactitol 64 bzw. das Talitol 67

3.1.2 Sequentieller Aminosäureaufbau am Galactitol-Ringsystem

Neben dem Ansatz, durch direkte Kupplung eines Aminosäure- sowie Zuckerbausteins den Aufbau der Glycosylaminoaddukte zu erreichen, bietet sich alternativ die Möglichkeit eines vollständigen Aufbaus der Aminosäure am Zucker. So konnten Gurjar et al. ^[109] auf Basis des *C*-glycosidisch verknüpften Allylbausteins **76** durch sequentiellen Aufbau über das Diol **77** das Glycosylaminosäuremimetikum **78** erhalten. In analoger Reaktionsführung könnte das durch Allylierung gut zugängliche Galactitol-Derivat **79** ebenso zum Serin-Glycosylaminosäurebaustein **80** umgesetzt werden. Allerdings konnte in dem beschriebenen Syntheseweg das Diol **77** trotz zahlreicher Versuche nur als Diastereomerengemisch erhalten werden. Darüber hinaus umfaßt die komplette Sequenz zahlreiche weitere Einzelschritte, mit z. T. nur unbefriedigenden Produktausbeuten. Weiterhin wäre ein entsprechender Threonin-Baustein auf diesem Weg nicht zugänglich. Unter Berücksichtigung des Syntheseaufwands und der genannten Einschränkungen erscheint diese Option daher eher unattraktiv.





3.1.3 Synthese durch säurekatalysierte Ringöffnung von aktivierten Aziridinen

Aufgrund der resultierenden hohen Ringspannung wird die Chemie der Aziridine ganz wesentlich durch ringöffnende Reaktionen bestimmt.^[110] Besonders chirale Aziridine sind somit außerordentlich attraktive Synthesebausteine, die den Zugang zu einer Vielzahl von enantiomerenreinen Verbindungen eröffnen.^[111] Okawa und Nakajima haben in zahlreichen Arbeiten gezeigt, daß aktivierte Aziridin-2-carboxylate durch regioselektiven Angriff von Nucleophilen unter Ringöffnung stereoselektiv zu zahlreichen seitenkettenfunktionalisierten Serin- und Threonin-Derivaten sowie weiteren ungewöhnlichen Aminosäuren umgesetzt werden können.^[112-114] So können durch nucleophilen Angriff von Carbonsäuren auf den β -Kohlenstoff des Aziridins **81**, Serin- und Threonin-3-*O*-Ester (**82**) erhalten werden.^[115] Durch Umsetzung mit metallorganischen Verbindungen wie Grignardverbindungen bzw. Cupraten ergibt sich ein Zugang zu kettenverlängerten 3-Desoxy-Derivaten (**83**).^[116]



Abb. 43 Nucleophile Ringöffnung von aktivierten Aziridin-2-carboxylaten. Aktivierte Aziridine besitzen einen nicht-basischen Ring-Stickstoff, der mit einer elektronenziehenden Gruppe (EG) substituiert ist, die eine negative Ladung durch Konjugation stabilisieren kann. Die Reaktion läuft i.d.R. unter vollständiger Inversion nach einem S_N2-artigen Mechanismus ab. Bei monosubstituierten Aziridinen wird aus sterischen Gründen überwiegend am Methylenkohlenstoff, von der weniger gehinderten Seite angegriffen. Aziridine, die sterisch wenig anspruchsvolle nicht komplexierende Substituenten an der 3-Position tragen, zeigen Ringöffnungen analoger Regio- und Stereoselektivität. Sulfonate bewirken im Vergleich zu Acyl- und Alkoxycarbonylgruppen die stärkste Aktivierung des Ringes, bereiten jedoch Probleme bei der anschließenden Entschützung. Standardmäßig werden daher Alkoxycarbonylgruppen zur Aktivierung eingesetzt.

Durch nucleophilen Angriff von Alkoholen^[117] und Thiolen^[118] bietet sich hingegen die Möglichkeit unter Lewis-Säure-Katalyse Serin- und Threonin 3-O-Alkylether (**84**) bzw. die entsprechenden Thioanaloga (**85**) zu erhalten.

Die letztgenannten Reaktionswege könnten somit durch nucleophilen Angriff der 2-Hydroxy-Position des Galactitols **64** auf ein geeignet substituiertes Aziridin-2-carboxylat den Zugang zu den Ether-verbrückten Glycosylaminosäurebausteinen **51** und **52** ermöglichen.



Abb. 44 Möglicher Zugang zu Ether-verbrückten Glycosylaminosäurebausteinen durch Aziridin-Ringöffnungsreaktion durch das Galactitol **64**.

Hierbei ist insbesondere die Regiokontrolle der nucleophilen Aziridinringöffnung von entscheidener Bedeutung. Ein nucleophiler Angriff an der 2-Position führt zu β-Aminosäurederivaten, während nur der Angriff an der 3-Position des Ringes 81 zu den hier erwünschten α -Aminosäurederivaten 51 und 52 führt. Es zeigt sich, daß der Angriff einer großen Anzahl von Nucleophilen wie Aminen, Alkoholen, Carbonsäuren, Thiolen und Indolen, unter vollständiger Regioselektivität ausschließlich an der C-3 Position von Aziridin-2-carboxylaten wie 81 stattfindet.^[119] Ringöffnungen mit Wittig- und Organometall-Reagenzien führen hingegen oftmals zu Produktgemischen, resultierend aus einem Angriff sowohl an der 2- als auch an der 3-Position des Aziridins.^[116] Nur sehr wenige Beispiele für einen ausschließlichen Angriff an der C-2 Position sind bekannt.^[111] Nach Dodd et al. kann die beschriebene C-3 Regioselektivität des nucleophilen Angriffs an Aziridin-2-carboxylaten mit Hilfe der Störungstheorie und des HSAB-Modells veranschaulicht werden.^[120] Die Reaktion erfolgt durch Wechselwirkung des HOMOs (highest occupied molecular orbital) vom Nucleophil mit dem LUMO (lowest unoccupied molecular orbital) des Aziridins. Entscheidend für die Reaktivität sowie die Regioselektivität sind in diesem Zusammenhang die Verteilung der Atomladungen sowie die LUMO-Koeffizienten. Da die Reaktivität von harten Nucleophilen wie z.B. von Alkoholen eher ladungskontrolliert ist, erlaubt die Berechnung der Atomladungsverteilungen eine Aussage über die Regioselektivität der Ringöffnung.

Man erkennt, daß in der die Geometrie des Übergangszustands wiederspiegelnden *N*-protonierten Spezies **87a**, die C-3-Position eine höhere Ladung (+ 0.13) aufweist als die C-2-Position (+ 0.06), somit also ein Angriff bevorzugt an C-3 stattfinden sollte, wie es auch stets beobachtet wird. Da, wie in Tabelle 1 gezeigt die Protonierung des Ringstickstoffs darüber hinaus die LUMO-Koeffizienten der C-2 und C-3-Zentren gegenüber dem Grundzustand stark erhöht, findet der nucleophile Angriff ausschließlich an den Ringkohlenstoffen statt. Ferner erkennt man, daß *N*-Protonierung eine deutliche Absenkung der LUMO-Energie bewirkt und somit die Reaktivitätssteigerung von Aziridinen nach Protonierung durch Lewis-Säuren erklärt.



Abb. 45 Aktivierung des *N*-Acyl-aziridin-2-carboxylats **86** duch eine Lewis-Säure zur reaktiven Spezies **87**. Die Lewis-Säure wird hierbei vereinfacht als angelagertes Proton betrachtet. **87a** zeigt die energetisch günstigste Konformation und die entsprechenden Atomladungsverteilungen der Kohlenstoffatome.

	LUMO-		LUMO-Koeffizienten		
	Energie (eV)	C-1	C-2	C-3	C-1'
86 (Grundzustand)	0.52	0.079	0.03	0.01	0.41
87 (N-Protonierung)	- 5.06	0.006	0.23	0.13	0.23

Tab. 1 Gezeigt sind die LUMO-Energien und -Koeffizienten des *N*-acyl-Aziridin-2-carboxylats **86** im Grundzustand sowie der durch Protonierung aktivierten Spezies **87**.

Die in der Literatur erwähnten Lewis-Säure-katalysierten Ringöffnungen durch die nur eine geringe Nucleophilie aufweisende Hydroxyfunktion von Alkoholen beschränken sich auf einfache Hydroxyverbindungen wie Methanol, Ethanol und längerkettige Homologe, die gleichzeitig Substrat und Lösungsmittel für die Reaktion sind. Die durch Ho et al. beschriebene Aziridinöffnung von **88** mittels des Ethylenglykol-verlängerten Serinderivats **89** zum Etherverbrückten Serindimer **90** ist eines der wenigen Literaturbeispiele, in der höherfunktionalisierte Alkohole hierfür erfolgreich eingesetzt werden konnten. ^[121] Beispiele, in denen sekundäre komplexe Alkohole wie das Galactitol **64** zum Einsatz kommen, sind bisher hingegen nicht beschrieben worden. Es kann erwartet werden, daß Aziridinöffnungen durch den sekundären Alkohol **64** aufgrund der sterischen Hinderung durch den Zuckerring nur erschwert möglich sind.



Abb. 46 Synthese des Serindimers 90. Der Alkohol 89 wird hier in nur geringem Überschuß eingesetzt.

Die Synthese der erforderlichen chiralen Aziridin-2-carboxylate ist in sehr guten Ausbeuten, ausgehend vom L-Serin- bzw. L-Threonin-benzylester (**91**, **92**) möglich. Umsetzung mit Chlortriphenylmethan führte zu den *N*-tritylierten Derivaten **93** bzw. **94**. Der anschließende Ringschluß zu den desaktivierten Aziridinen **95** und **96** konnte durch Mesylierung und intramolekularen nucleophilen Angriff der Aminogruppe erreicht werden. Hierbei kommt es im Falle des Threoninderivats **94** zu einer Konfigurationsumkehr an C-3, da die Aziridin-bildung stereoselektiv unter Inversion verläuft. Die Überführung in die aktivierten *N*-Benzyloxycarbonyl-substituierten Aziridine **97** und **98** erfolgte anschließend durch Tritylspaltung mit Trifluoressigsäure und Blockierung der Aminofunktion mit Benzylchlorformiat unter Standardbedingungen.



Abb. 47 Synthesesequenz zu den Aziridinen **95** und **96**, die ersten jeweils angegebenen Ausbeuten beziehen sich auf die Serin-Derivate, die zweiten auf die Threoninderivate.

Zur Kupplung der aktivierten Aziridine **97** und **98** an das Galactitol **64** erweist sich eine Aktivierung des Aziridins mittels $BF_3 \cdot Et_2O$ in Chloroform als das optimale Reaktionssystem. Der Galactitol-Serin-Baustein **68** konnte unter diesen Reaktionsbedingungen in 54 %, der homologe Threonin-Baustein **99** in 44 % Ausbeute isoliert werden. Die Aziridin-Ringöffnung verläuft unter vollständiger Regioselektivität: es werden ausschließlich die erwünschten, durch nucleophilen Angriff an die 3-Position des Aziridins gebildeten Kupplungsprodukte erhalten. Die Kupplungsdauer beträgt bis zu 48 Stunden und bewegt sich damit deutlich oberhalb der für diesen Reaktionstyp in der Literatur beschriebenen Reaktionszeiten. Das im Überschuß eingesetzte Galactitol **64** zeigt somit die erwartete Reaktionsträgheit, verursacht durch die geringe Nucleophilie der sterisch gehinderten sekundären 2-Hydroxy-Position.



Abb. 48 Synthese der etherverbrückten 1,5-Anhydro-galactitol-Serin- bzw. -Threonin-Bausteine **68** und **99** durch nucleophile Ringöffnung aktivierter Aziridine. Im Falle des 3-Methyl-substituierten Aziridins **98** kommt es zur erneuten Inversion an C-3. Im Kupplungsprodukt **99** besitzt das Threonin somit wieder die ursprüngliche Konfiguration an dieser Position.

Optimale Ausbeuten konnten erzielt werden, wenn die Aziridine **97** bzw. **98** sowie das Galactitol **64** unter Schutzgasatmosphäre vorgelegt und mit einer Menge getrocknetem Chloroform versetzt wurde, die gerade die Rührfähigkeit des zähen, öligen Gemisches gewährleistet. Anschließend wurde mehrmals über den Reaktionszeitraum verteilt eine verdünnte BF₃·Et₂O-Lösung in Chloroform als Katalysator zugegeben. Gegen Ende der Umsetzung ließ sich dünnschichtchromatographisch kein Aziridin mehr nachweisen, neben dem Kupplungsprodukt verblieb eine Restmenge des nicht umgesetzten Galactitols **64**. Erneute Aziridin-Zugabe sowie Erhöhung der Reaktionstemperatur bewirkten jedoch keine weitere sichtbare Umsetzung von **64**, so daß die Reaktion abgebrochen werden konnte. Eine Abspaltung der säurelabilen Schutzgruppen des Zuckers **64** konnte zu keinem Zeitpunkt beobachtet werden. Umfangreiche Optimierungsversuche, unter Variation des Lösungsmittels sowie der Lewis-Säure, ergaben keine Ausbeuteverbesserungen, sonden führten in der Regel zu einem völligen Ausbleiben der Kupplungsreaktion.

Das ¹H-NMR-Spektrum des Galactitol-Threonin Bausteins **99** erlaubt eine vollständige Zuordnung aller Protonen zu den entsprechenden Signalen. Die Signale der Ringprotonen des Galactitol-Systems sowie des H- α , H- β bzw. NH-Protons des Threonins liegen im erwarteten Bereich zwischen 2.9 und 5.5 ppm. Die korrekte Konstitution der Threoninkette von **99**, bedingt durch die regioselektive Aziridinöffnung, kann im ¹H¹H-COSY zweifelsfrei nachgewiesen werden (Abb. 49): An den Crosspeaks im Spektrum erkennt man die Kopplung des γ -CH₃-Thr Dubletts mit dem H- β -Thr-Proton, das darüber hinaus nur mit dem H- α -Thr koppelt. Das H- α -Thr-Proton koppelt weiterhin mit dem NH-Thr-Proton. Es handelt sich also eindeutig um eine, durch Angriff an die 3-Position des Aziridinrings gebildete, α -Aminosäure. Das Maldi-TOF-Spektrum zeigt das erwartete (M+H)⁺-Signal bei m / z = 768.



Abb. 49 ${}^{1}H^{1}H$ -COSY des Galactitol-Threonin-Bausteins **99**. Man erkennt durch Analyse der Crosspeaks die α -Aminosäurekonstitution der Threoninkomponente.

3.1.4 Synthese weiterer O-Glycosylaminosäurebausteine

Da das neuartige Konzept zur Synthese modifizierter Glycosylaminosäurebausteine mittels säurekatalysierter Aziridin-Ringöffnung im Falle des Galactitols **64** sehr erfolgreich eingesetzt werden konnte, sollte an weiteren Systemen die generelle Anwendbarkeit dieses Verfahrens untersucht werden. Daher war es von Interesse die am anomeren Zentrum mit einer Hydroxymethylengruppe *C*-glycosidisch verlängerten Galactosederivate **100** und **103** nach den erprobten Reaktionsbedingungen zu den Glycosylaminosäurebausteinen **101** und **102** bzw. **104** und **105** umzusetzen. Gegenüber den bereits vorgestellten natürlichen *O*-glycosidisch verknüpften Strukturen (**47-50**) zeichnen sie sich durch eine nicht hydrolysierbare *C*-glycosidische Bindung, sowie eine stabile Etherbrücke zwischen dem Saccharid und der Aminosäure aus. Sie weisen somit gewissermaßen eine "verlängerte" glycosidische Bindung auf.



Abb. 50 Untersuchungen zur generellen Anwendbarkeit der säurekatalysierten Aziridin-Ringöffnung zur Synthese modifizierter Glycosylaminosäurebausteine durch die Synthese der neuartigen Bausteine **101**, **102** sowie **104** und **105**.

Der zur Synthese der α -konfigurierten Bausteine **101** und **102** benötigte neue *C*-glycosidische Baustein **100** konnte in wenigen Stufen ausgehend von 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- β -Dgalactopyranose **106** erhalten werden. Durch Umsetzung von **106** mit Propargyl-trimethylsilan unter Lewis-Säure-Katalyse konnte zunächst zum α -konfigurierten *C*-glycosidischen Allen **107** umgesetzt werden Hierbei greift nach Aktivierung der anomeren Austrittsgruppe durch die Lewis-Säure der nucleophile Kohlenstoff der Silylverbindung unter Bildung der *C*glycosidischen Bindung am elektrophilen anomeren Zentrum an. Die nahezu ausschließliche Bildung des α -konfigurierten Produktes läßt sich nach Deslongchamps durch eine Kombination aus sterischen und elektronischen Faktoren erklären.^[122] Allerdings zeigen Berichte, wonach durch Variation des Lösungsmittels, der Lewis-Säure oder der anomeren Austrittsgruppe ebenfalls β -konfigurierte *C*-Glycoside auf diesem Weg erhalten werden können, daß ein komplexes Wechselspiel mehrerer Einflußfaktoren über die Konfiguration der Produkte entscheidet. Die α -Konfiguration des Allens **107** kann NMR-spektroskopisch eindeutig nachgewiesen werden. Im ¹H-NMR-Spektrum beträgt die ³J-Kopplung zwischen H-1 und H-2 4.1 Hz, in guter Übereinstimmung mit den erwarteten Werten für eine 1,2äquatorial-axiale Kopplung α -konfigurierter Glycoside.



Abb. 51 Synthese der Glycosylaminosäurebausteine 101 und 102

Ozonolytische Spaltung des Allens führte zu dem instabilen Aldehyd **108**, der durch Reduktion mit Natriumborhydrid sofort zum gewünschten *C*-glycosidischen Galactosederivat **100** umgesetzt wurde. Die anschließende säurekatalysierte Kupplung mit den aktivierten Aziridinen **97** und **98** führte glatt zu den Glycosylaminosäurebausteinen **101** und **102**. Die Ausbeuten dieses Kupplungsschrittes liegen mit 52 % bzw. 55 % allerdings in vergleichbarer Größenordnung wie für die Kupplung mit dem 1,5-Anhydro-galactitolderivat **64**. Dies überrascht insofern, als daß man aufgrund der geringeren sterischen Hinderung der primären Hydroxygruppe von **101** eine erhöhte Reaktivität und somit verbesserte Ausbeuten erwarten würde. Die zur Synthese der β -konfigurierten Bausteine **104** und **105** benötigte β -*C*-glycosidische Hydroxymethlyen-galactose **103** kann ausgehend von der literaturbekannten *C*-glycosidischen Carbonsäure^[123] **109** erhalten werden. Hierfür wurde zunächst durch Methylierung mit Methyliodid der Ester **110** synthetisiert. Anschließende Versuche der Reduktion des Esters mit dem "milden" Reagenz Natriumborhydrid zum Alkohol **103** scheiterten jedoch. Die zunächst bei Raumtemperatur durchgeführten Reduktionsversuche führten neben der erwünschten Reduktion des Esters zu einer parallelen Abspaltung der Acetylschutzgruppen der Galactoseeinheit. Bei analog durchgeführten Experimenten unter verminderter Reaktionstemperatur konnte zwar keine Abspaltung der Schutzgruppen mehr beobachtet werden, jedoch erwies sich der Methylester nun ebenfalls als inert. Es wurde daher nach Aktivierung der Carboxylgruppe mit Carbonyldiimidazol und Zugabe von Thiophenol zum Thioester **111** umgesetzt, der durch Natriumborhydrid schon bei -5 °C innerhalb von 60 Minuten zum gewünschten *C*-glycosidischen Alkohol **103** reduziert werden konnte.



Abb. 52 Versuche zur Synthese der β -konfigurierten Glycosylaminosäurebausteine **104** bzw. **105**.

Anschließende Versuche den Alkohol **103** unter den erprobten Standardbedingungen der säurekatalysierten Aziridinkupplung in die β -Glycosylaminosäurebausteine **104** und **105** zu überführen schlugen hingegen fehl. Auch Variation der Reaktionstemperatur, der Konzentrationsverhältnisse der eingesetzten Edukte sowie der verwendeten Lewis-Säure führten nicht zu den Kupplungsprodukten **104** und **105**. Dies ist überraschend, da die Umsetzungen sowohl mit der vermeintlich sterisch gehinderteren sekundären Hydroxyfunktion des Galactitols **64** als auch mit dem α -konfigurierten Alkohol **100** problemlos möglich sind. Eine schlüssige Erklärung für das Ausbleiben der Kupplungsreaktion bei Verwendung des β -konfigurierten Alkohols **103** kann letzlich nicht gegeben werden. Denkbar wäre, daß das Saccharidsystem eine ungünstige Konformation einnimmt, jedoch zeigen die Kopplungskonstanten der Ringprotonen im ¹H-NMR-Spektrum, daß **103** in der für Pyranosen normalen ⁴C₁-Konformation vorliegt. Darüber hinaus ist eine Komplexierung der 1-Hydroxygruppe durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen, beispielsweise mit dem Ringsauerstoff des Pyranosesystems, in Betracht zu ziehen. Eine effektive Verfügbarkeit des Alkohols zur nucleophilen Substitution könnte dadurch verhindert werden.

Die durchgeführten Experimente belegen, daß die säurekatalysierte nucleophile Ringöffnung von aktivierten Aziridinen prinzipiell eine geeignete Methode darstellt, um neuartige Glycosylaminosäurebausteine zu synthetisieren. Sowohl primäre als auch sekundäre Hydroxygruppen können so mit Serin- und Threonineinheiten funktionalisiert werden. Darüber hinaus weist die Reaktion eine hohe Kompatibilität zu einer Vielzahl der in der Saccharidchemie verwendeten Schutzgruppen auf: Acetale, Ester, Silylether und Carbamate können ohne Probleme zum Einsatz kommen. Eine generelle Anwendbarkeit der Reaktion ist unter den bisher ausgearbeiteten Reaktionsbedingungen allerdings noch nicht gegeben.

3.2 Festphasensynthese der O-Glycopeptidmimetika

Um die Eignung der modifizierten *O*-Glycosylaminosäurebausteine **68** und **99** sowie **101** und **102** zur Glycopeptidfestphasensynthese zu untersuchen, sollen diese als *Building Blocks* zur Synthese von Modellglycopeptiden eingesetzt werden. Um das hierfür erforderliche Fmoc-COOH-Schutzgruppenmuster an den Aminosäureeinheiten zu etablieren, müssen zunächst eine Reihe von Schutzgruppenumwandlungen durchgeführt werden. Die über die 2-OH-Position verknüpften Glycosylaminosäurebausteine **68** und **99** wurden hierfür hydrogeno-lytisch an Pd/C am Carboxy- sowie Aminoterminus zu **112** und **113** entschützt und

anschließend durch Umsetzung mit Fmoc-Succinimidylcarbonat zu den Fmoc-geschützten Derivaten 114 und 115 umgesetzt.



Abb. 53 Synthese der Building Blocks 114 und 115

In analoger Weise erfolgte die Umsetzung der Glycosylaminosäurebausteine **101** und **102**. Zunächst wurde die Z-Schutzgruppe sowie der Benzylester hydrogenolytisch an Pd /C zu **116** und **117** abgespalten, anschließend wurde die freie Aminogruppe durch Umsetzung mit Fmoc-Succinimidylcarbonat durch Fmoc-Schützung blockiert. **118** und **119** können somit als *Building Blocks* für die Glycopepeptidfestphasensynthese eingesetzt werden.



Abb. 54 Synthese der Building Blocks 118 und 119

Die Glycopeptidsynthese erfolgte in klassischer Reaktionsführung, mit einem in einer Glasfritte ruhenden Polymer, nach der von Merrifield eingeführten "batch"-Methode.^[70] Als Polymer kam das Wang-Harz B1250 der Firma Bachem zum Einsatz, als Linker diente die bereits am Harz befestigte 4-Alkoxybenzylalkohol-Gruppe.^[124] Dieser säurelabile Linker führt nach saurer Abspaltung zur freien Carbonsäure am C-terminalen Ende des freien Glycopeptids. Zur Synthese wurden Fmoc-OPfp- bzw. Fmoc-ODhbt-Aminosäurebausteine eingesetzt. Durch Verwendung des Farbindikators 3,4-Dihydro-3-hydro-3-hydroxy-4-oxo-1,2,3-benzotriazin (Dhbt-OH) konnte die Vollständigkeit der Kupplungsreaktion erkannt werden. Die Anknüpfung der ersten Aminosäure erfolgte durch Aktivierung mit 1-Mesitylen-2-sulfonyl-3nitro-1*H*-1,2,3-benzotriazol (MSNT).^[125] Die Kupplung der Building Blocks erfolgte durch TBTU-Aktivierung.^[80] Die Fmoc-Entschützungen wurden jeweils mit 20 % Piperidin-Lösung in DMF durchgeführt. Die Abspaltung der Glycopeptide vom Harz erfolgte durch Behandlung mit 95 % TFA. Die TBDPS- sowie Isopropylidenschutzgruppe der Building-Blocks 114 und 115 wurden hierbei ebenfalls vollständig entfernt. Die Acetylschutzgruppen der Building Blocks 118 und 119 wurden vor Abspaltung des Glycopeptids durch Behandlung mit Hydrazinhydrat entfernt. Die Glycopeptidmimetika 120 und 121 konnten nach HPLC-Reinigung in 48 % bzw. 43 % Ausbeute erhalten werden. Eine Identifizierung der Verbindungen erfolgte durch ¹H-NMR-Charakterisierung unter Verwendung von ¹H¹H-TOCSY und ¹H¹H-COSY-Spektren. Darüber hinaus zeigen die zur massenspektroskopischen Identifizierung aufgenommenen MALDI-Tof-Spektren von 120 und 121 jeweils die

erwarteten $(M+H)^+$ -Signale bei m / z = 1403. Die Glycopeptidmimetika **122** sowie **123** wurden nach Abspaltung vom Harz nicht weiter aufgereinigt. Die Identifizierung erfolgte ausschließlich massenspektroskopisch durch Aufnahme von MALDI-Tof-Spektren. Diese zeigen wie erwartet intensive $(M+H)^+$ -Signale bei m / z = 1432.



Abb. 55 Synthetisierte Modell-Glycopeptidmimetika **120-123**. Die zugrundeliegenden Peptidsequenzen stammen aus dem humanen epithelen Mucin MUC1. Die natürlichen Glycopeptide sind an der Ser-2 bzw. Thr-5 Glycosylierungsstelle mit GalNAc als Brückenkopf-Saccharid glycosyliert.

Die Glycosylaminosäurebausteine **114** und **115** zeigen somit eine sehr gute Eignung zur Verwendung als *Building Blocks* für die Synthese von Glycopeptidmimetika wie **120** bzw. **121**. Die erzielten Ausbeuten liegen in einem für die Glycopeptidfestphasensynthese üblichen Bereich. Die Eignung der Bausteine **118** und **119** kann noch nicht abschließend beurteilt werden, da keine vollständige Aufarbeitung der Verbindungen **122** bzw. **123** erfolgte.

3.3 Untersuchungen zur Galactosidase-Inhibitionswirkung der modifizierten *O*-Glycosylaminosäurebausteine

Glycosidasen gehören zu einer in Organismen ubiquitär verbreiteten Klasse von Enzymen, die vielfältige biologische Funktionen erfüllen. Sie katalysieren die Hydrolyse von glycosidischen Bindungen in Oligosacchariden und Glycokonjugaten. So erfüllen Glycosidasen essentielle Aufgaben im Rahmen des Stärkeabbaus oder dem bereits erwähnten *Trimming*-Prozeß der *N*-Glycoproteinbiosynthese. Darüber hinaus sind sie von zentraler Bedeutung für zahlreiche pathologische Prozesse wie Virusinfektionen, Tumorwachstum und Metastasierung. Es ist daher verständlich, daß die Entwicklung und Erforschung von Glycosidase-Inhibitoren, die eine gezielte Beeinflußung der Enzymfunktionen ermöglichen, von großem Interesse ist.^[66,126] Auf diese Weise können einerseits Rückschlüsse auf die molekulare Wirkung von Glycostrukturen gewonnen werden, andererseits ergeben sich somit neue Ansätze zur therapeutischen Intervention. So zeigt das bereits erwähnte 1-Desoxynojirimycin (**21**) in Zellkulturen antivirale Eigenschaften gegenüber HIV-Viren.^[127] Der α -Glucosidase-Inhibitor Acarbose wird erfolgreich zur Behandlung von Diabetes eingesetzt.^[66]

Man unterscheidet in Abhängigkeit von ihrer Wirkungsweise zwischen Endo- und Exoglycosidasen: während Endoglycosidasen die Fähigkeit besitzen, Polysaccharide im Inneren zu spalten, können Exoglycosidasen nur am nichtreduzierenden Ende angreifen. Glycosidasen sind in der Regel, zumindest bezüglich des Glycanteils, sehr spezifisch. Vor allem hinsichtlich der anomeren Konfiguration kann die Spezifität als nahezu absolut bezeichnet werden. Man kann annehmen, daß die enzymatische Glycosidhydrolyse bei allen Glycosidasen nach einem ähnlichen Mechanismus verläuft, der der säurekatalysierten Spaltung von Glycosiden analog ist.^[96] Das Substrat wird im ersten Schritt im aktiven Zentrum des Enzyms gebunden (Abb. 56, I), unter Deformation des Pyranoseringes kommt es dann zur Bildung eines sp²-hybridisierten Oxycarbeniumions (II), das durch eine Carboxylatgruppe im aktiven Zentrum des Enzyms stabilisiert wird (III). Anschließend kommt es zum Angriff eines Wassermoleküls (IV) und zur abschließenden Freisetzung des abgespaltenen Saccharids (V). Die inhibitorische Wirkung kompetitiver Glycosidase-Inhibitoren beruht auf der starken Wechselwirkung zwischen Inhibitor und dem aktiven Zentrum, die in der Struktur des Inhibitors begründet ist. Er ähnelt in diesem Bezug dem natürlichen Substrat ist jedoch einer Glycosidhydrolyse und anschließender Freisetzung nicht zugänglich und blockiert somit das Enzym.



Abb. 56 Mechanismus der enzymatischen Glycosid-Spaltung

Die natürlichen α - bzw. β -konfigurierten Galactose-Serin- und Galactose-Threonin-Bausteine sind Substrate der entsprechenden Galactosidasen und werden durch diese, wie bereits erwähnt, hydrolysiert. Da die synthetisierten Glycosylaminosäuremimetika **112**, **113** und **116**, **117** eine strukturelle Ähnlichkeit zu den natürlichen Bausteinen aufweisen und aufgrund der modifizierten Bindung zwischen Aminosäure und Saccharid enzymatisch nicht gespalten werden können, sind sie als potentielle Galactosidase-Inhibitoren geeignet.

Zur Untersuchung der inhibitorischen Eigenschaften, müssen die Bausteine 112, 113 und 116, 117 zunächst vollständig entschützt werden. 112 und 113 konnten durch Behandlung mit Trifluoressigsäure in die freien Glycosylaminosäure-Bausteine 124 und 125 übergeführt werden. Eine Entfernung der Acetylschutzgruppen von 116 und 117 gelang durch Behandlung unter Zémplen-Bedingungen zu 126 und 127. ^[94] Neben der NMR-spektroskopischen Identifizierung können die Bausteine 124-127 massenspektroskopisch durch ESI-Spektroskopie identifiziert werden.



Abb. 57 Entschützung der Glycosylaminosäurebausteine

Die Bausteine **124** und **125** wurden aufgrund der unbestimmten Konfiguration der anomeren Zentren auf ihre inhibitorische Wirkung sowohl gegenüber einer α - als auch einer β -Galactosidase untersucht. Die α -*C*-glycosidischen Bausteine **126** und **127** wurden hingegen ausschließlich auf ihre Wirkung gegenüber einer α -Galactosidase untersucht. Für die Inhibitionsexperimente wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl. Chem. Lars Kröger (Universität Hamburg) α -Galactosidase aus *Aspergillus niger* ^[128] und β -Galactosidase aus *E. coli* ^[129] verwendet und die Spaltung der α - bzw. β -pNP-Galactoside herangezogen. Hierbei zeigte sich, daß die über die 2-Position verknüpften Glycosylaminosäurebausteine **124** und **125** keine Inhibition sowohl der α - als auch der β -pNP-Galactosidspaltung zeigen. Hingegen zeigen die α -C-glycosidisch verknüpften Bausteine **126** und **127** eine deutliche kompetitive Inhibition der eingesetzten α -Galactosidase. Dabei ergibt sich für **126** eine Inhibitions-konstante von K_i = 0.4 · 10⁻³ Mol und für **127** K_i = 0.3 · 10⁻³ Mol.

Die K_i-Werte von **126** und **127** sind gut zwei Größenordnungen schlechter als der K_i-Wert des sehr potenten Inhibitors 1-Desoxynojirimycin (**21**) (K_i = $1.8 \cdot 10^{-5}$ Mol).^[130] Da die Bausteine **126** und **127** keinerlei Strukturoptimierung bezüglich ihrer inhibitorischen Eigenschaften erfahren haben, könnten sie somit als Leitstrukturen für eine Klasse neuartiger α -Glycosidase-Inhibitoren in Betracht gezogen werden.

Hingegen sind die Bausteine **124** und **125** keine Substrate der verwendeten Enzyme. Die strukturellen Unterschiede zwischen den natürlichen *O*-Glycosylaminosäurebausteinen und **124** und **125** verhindern offensichtlich eine Erkennung durch die Galactosidasen.



Abb. 58 Lineweaver-Burk-Plot: Doppelt-reziproke Auftragung der Reaktionsgeschwindigkeit gegen die Substratkonzentration der Hydrolyse-Reaktion von pNP- α -D-Galactopyranosid durch α -Galactosidase aus *Aspergillus niger*. Der gemeinsame Schnittpunkt der Kurvenschar deutet auf kompetitive Hemmung hin. A: Substratkonzentration 50 µmol, B: Substratkonzentration 10 µmol. Sämtliche Inhibitionsexperimente sind in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl. Chem. Lars Kröger (Universität Hamburg) durchgeführt worden.

4 Synthese neuer Mimetika als potentielle Transferase-Inhibitoren

4.1 Synthese von UDP-Donor-Mimetika

Die Glycosyltransferasen des Leloir-Weges sind die Schlüsselenzyme der Synthese von Polysacchariden und Glycokonjugaten *in vivo*. Sie zeichnen sich durch eine hohe Spezifität sowohl in Bezug auf das Substrat als auch die zu knüpfende Bindung aus. Glycosyltransferasen übertragen aktivierte Monosaccharide in Form von Nucleosiddiphosphat-Derivaten regioselektiv auf eine freie Hydroxygruppe des Akzeptors. Der Mechanismus der enzymatischen Transglycosylierung ist nur unvollständig verstanden, neuere Erkenntnisse deuten aber darauf hin, daß die an der Reaktion beteiligten Substrate Übergangszustände durchlaufen, die vergleichbar sind mit denen der Glycosidase-Reaktion, die im vorhergehenden Kapitel beschrieben worden ist.^[133]

Mit Ausnahme der Galactosyltransferase besitzen alle bekannten Transferasen ausschließlich ein Substrat. Die Galactosyl-, *N*-Acetylglucosaminyl- und *N*-Acetylgalactosaminyltransferasen verwenden die Uridindiphosphat aktivierten Monosaccharide UDP-Gal (**128**), UDP-GlcNAc (**129**) und UDP-GalNAc (**130**) zur Übertragung. Es werden jedoch leichte chemische Modifikationen, sowohl im Akzeptor als auch in den dargestellten Donoren akzeptiert, eine Tatsache die Glycosyltransferasen auch zu vielseitigen Werkzeugen in der präperativen Synthese macht.^[134,135]



Abb. 59 Die natürlichen Donorsubstrate 128 – 130 der Galactosyl-, *N*-Acetylglucosaminyl- und *N*-Acetylglactosaminyltransferasen.

Galactosyl- und *N*-Acetylgalactosaminyl-Transferasen sind an der Biosynthese von *O*-Glycoproteinen beteiligt, einem komplexen Vorgang der nur zum Teil verstanden ist.^[136] Darüber hinaus katalysieren Galactosyl- und *N*-Acetylglucosaminyl-Transferasen die Biosynthese zahlreicher Rezeptoren an Zelloberflächen, die von großer Bedeutung für normale und pathologische Erkennungsprozesse sind.^[5] Es sei in diesem Zusammenhang an die bereits erwähnte tetrasaccharidische Sialyl-Lewis^x-Determinante (**1**) erinnert.^[32] Ferner spielen *N*-Acetylglucosaminyl-Transferasen eine zentrale Rolle in der Biosynthese von *N*-Glycoproteinen und sind an der kürzlich von Hart et al. beschriebenen dynamischen *O*-GlcNAcylier-ung von spezifischen Proteinen beteiligt.^[9,16]

Die Modulation oder Inhibition dieser Transfer-Reaktionen bietet eine herausragende Möglichkeit zur gezielten Beeinflußung der Biosynthese und Funktion von Glycostrukturen. Glycosyl-Transferase-Inhibitoren können somit zu einem tieferen Verständnis der Struktur-Wirkungs-Beziehung von Glycostrukturen auf molekularer Basis beitragen. Es sollen daher, ausgehend von den natürlichen UDP-Donoren (**128** - **130**) Donor-Mimetika synthetisiert werden, die Inhibitoren der entsprechenden Transferasen sind. Ein von verschiedenen Gruppen verfolgter Ansatz zur Synthese von Transferase-Inhibitoren auf Basis der Donor Substrate, ist durch die Substitution des anomeren Phosphoester-Sauerstoffs (**131**) durch eine Methylengruppe (**132**) gekennzeichnet. ^[137,138]



Abb. 60 Mimetisierung der glycosidischen Phosphoester Bindung durch ein isosteres Phosphonat.

Die so erhaltenen isosteren *C*-glycosidischen Phosphonate zeichen sich jedoch in der Regel nur durch geringe Inhibitionswirkungen aus. Engel et al. ^[139] führen dies auf die generellen Unterschiede zwischen Phosphaten und Phosponaten in Bezug auf Ladung und Form unter physiologischen Bedingungen zurück. Weiterhin sind die Bindungen von Grundzustandsanaloga zum aktiven Zentrum eines Enzyms bekanntermaßen eher schwach. Hingegen binden Übergangszustandsanaloga deutlich stärker an das Enzym und zeigen daher in der Regel höhere Inhbitionsraten.^[140] Die in diesem Projekt synthetisierten neuartigen Donor-Mimetika 133 - 135 sind durch *C*-glycosidische Hydroxymethylen-Brücken gekennzeichnet und weisen daher ausschließlich Phosphoester-Bindungen zwischen dem Saccharid und Nucleotid auf. Die glycosidische Phosphoester Bindung ist durch eine *C*-glycosidische Bindung ersetzt, die resistent gegenüber einer enzymatischen Hydrolyse ist. Ferner sind die Abstände zwischen den anomeren Zentren der Zucker und den Nucleotiden im Vergleich zu den natürlichen Donoren vergrößert. Da im aktiven Zentrum des Enzyms vor Übertragung des Saccharids eine Abspaltung des UDP-Rests erfolgt, kann somit eine weitgehende Ähnlichkeit der Mimetika 133 - 135 zur Konfiguation der natürlichen Substrate im Übergangszustand angenommen werden und sollten daher hohe Transferase-Affinitäten entwickeln.



Abb. 61 UDP-Donor Mimetika 133 – 135.

4.2 Synthese von UDP-Gal, UDP-GIcNAc und UDP-GalNAc-Mimetika

Die Strategie zu einer konvergenten Synthese der UDP-Donor-Mimetika sieht vor, die Pyrophosphatbindung im finalen Schritt einzuführen. Es erscheint zum einen sinnvoll die labilste Bindung des Systems **136** zu einem möglichst späten Zeitpunkt zu knüpfen; ferner führt die retrosynthetische Spaltung an dieser Position zu den zwei synthetisch gut zugänglichen Vorstufen **137** und **138**. Nucleotidmonophosphate wie das benötigte UMP-Derivat **137** sind in bereits aktivierter Form kommerziell erhältlich und können unter etablierten Standardbedingungen umgesetzt werden.^[141] Das Schlüsselintermediat **138**, ein mit einer Hydroxymethylengruppe α -*C*-glycosidisch verlängertes Saccharidderivat, das an der 1-OH-Position eine
Phosphatgruppe trägt, kann durch Phosphorylierung aus dem homologen Alkohol **139** erhalten werden. Die Einführung der *C*-glycosidischen Hydroxymethylengruppe in **139** soll ausgehend von einer geeignet aktivierten saccharidischen Vorstufe **140** durch stereoselektive C-C-Verknüpfung erfolgen.



Abb. 62 Retrosynthetische Analyse des Modell-UDP-Donor Mimetikums 136.

Zur Synthese des UDP-Gal-Mimetikums **133** konnte ausgehend vom Tetra-*O*-benzylgeschützten α -Methyl-galactopyranosid **141** durch Umsetzung mit Propargyl-trimethylsilan, in Analogie zur Synthese des Tetra-*O*-acetyl geschützten 1-Allens **107**, die stereoselektive C-C Verknüpfung realisiert werden.^[142] Das anomere α -Allen **142** wurde anschließend durch Ozonolyse oxidativ zum Aldehyd **143** gespalten, der sogleich durch Behandlung mit NaBH₄ reduktiv zum Alkohol **144** umgesetzt wurde.^[143,144] Allerdings gelang die Synthese von **144** nur mit einer unbefriedigenden Ausbeute von 34 %, wohingegen der analoge acetylgeschütze Zucker **101** in 62 % Ausbeute erhalten wurde. Da lt. dünnschichtchromatographischer Reaktionsverfolgung eine weitgehend vollständige Umsetzung zum Alkohol **144** erfolgte, bleibt die genaue Ursache für den Ausbeuteverlust letztendlich unklar. Anschließende Phosphorylierung mit Diphenylchlorophosphat in Pyridin führte zum Diphenyl-Phosphat **145**, ^[145] das durch eine zweistufige hydrogenolytische Spaltung zum vollständig entschützten hydroskopischen Phosphat **146** deblockiert wurde.^[146] Die Hydrogenolyse von **145** erwies sich allerdings als nicht unproblematisch: zunächst wurde durch Pd/C-Katalyse eine

Abspaltung der Benzylschutzgruppen am Ringsystem herbeigeführt. Bei der anschließend durchgeführten Abspaltung der am Phosphat gebundenen Phenylreste an Platindioxid wurde als Nebenreaktion die Bildung von Cyclohexylestern beobachtet. ^[147] Diese aus einer Reduktion der aromatischen Ringsysteme resultierenden Nebenprodukte konnten auf dieser Stufe nicht abgetrennt werden und verblieben daher zunächst im Produkt. Durch Integration der Protonen-Signale der gesättigten Cyclohexylringe im ¹H-NMR konnte die Reinheit des ungeschützten Phosphats 146 auf etwa 90 % abgeschätzt werden. Die Synthese des UDP-Gal-Mimetikums 133 konnte durch Kupplung von 146 mit Uridin-5'-monophosphomorpholidat in einer Ausbeute von 48 % vervollständigt werden. Die Umsetzung erfolgte nach einem von Wong et al. ausgearbeiteten Verfahren,^[148] das eine verbesserte Variante der von Moffat und Khorana entwickelten Phosphomorpholidat-Kupplung darstellt.^[141] Die Reinigung des Produktes erfolgte durch Gelpermeationschromatographie an Bio-Gel P2 mit 0.25 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung als Eluent. Das UDP-Gal-Derivat 133 wird somit als Ammoniumsalz in kristalliner Form erhalten. Die als Verunreinigungen im Edukt befindlichen Cyclohexylester sowie alle weiteren Reaktionsnebenprodukte können vollständig abgetrennt werden.



Abb. 63 Synthese des UDP-Gal Mimetikums 133

Die NMR-Charakterisierung von **133** führt mit Hilfe von ¹H¹H-COSY und ¹H¹³C-HMQC-Spektren zu einer nahezu vollständigen Zuordnung sämtlicher Protonen sowie Kohlenstoffatomen. Im ³¹P-NMR-Spektrum erkennt man zwei Phosphorsignale die jeweils eine große geminale Kopplung von ²J = 20 Hz aufweisen. Eine massenspektroskopische Identifizierung von **133** erfolgt durch MALDI-Tof Spektroskopie: das im *negative mode* aufgenommene Spektrum zeigt das erwartete (M – NH₄⁺)⁻-Signal bei m / z = 579.



Abb. 64 ¹H-NMR Spektrum des UDP-Gal Mimetikums 133



Abb. 65 MALDI-Tof Spektrum von 133, [M-NH4⁺]⁻ = 579, DHB-Matrix, negative mode

Die Synthese der entsprechenden UDP-GlcNAc (**134**) bzw. UDP-GalNAc (**135**) Mimetika erfolgte hingegen durch ein modifiziertes Syntheseprotokoll. Nach Nicotra et al. ist die im Rahmen dieser Arbeit bisher mehrfach erfolgreich angewendete Methode zur direkten Einführung von *C*-glycosidischen Verknüpfungen durch Lewis-Säure katalysierte Addition von Alkyl-Silanen an aktivierte Kohlenhydrat-Derivate ^[149] inkompatibel mit Systemen, die Amino- oder Acetamido-Substitutenten tragen.^[150] Während in den letzten Jahren zahlreiche neuartige Zugänge zu *C*-Glycosiden entwickelt worden sind die Alkoxy- bzw. Hydroxy-Substituenten tragen, stehen zur stereoselektiven Darstellung der analogen Acetamido-substituierten Verbindungen nur wenige Synthesewege zur Verfügung, die sich durch eine generelle Anwendbarkeit auszeichnen.^[98,151] Kürzlich wurde von Kessler et al. eine neuartige Methode zur stereoselektiven Synthese von 2-Acetamido-2-desoxy-*C*-galactosiden und –glucosiden durch elektrophile Kupplung an Glycosyl-Dianionen beschrieben.^[55,152,153] Ausgehend von einem 2-Acetamido-2-desoxy-α-glycopyranosylchlorid **147** wird durch Zugabe von Butyllithium zunächst die Acetamidogruppe deprotoniert unter Bildung des anionischen Chlorids **148**. Die gebildete 2-Lithiumacetamid-Gruppe verhindert die Zersetzung des Zuckers zum Glycal durch Eliminierung während der folgenden Metallierungsreaktion und zeigt darüber hinaus keinerlei Nachbargruppeneffekt. Durch reduktive Lithiierung ^[154] mit Lithiumnaphthalid kommt es anschließend in einem zweistufigen Halogen-Metallaustauschprozeß zu einer Umpolung des anomeren Zentrums unter Bildung des Dianions **150**. Hierbei wird durch einen *single electon transfer* ein anomeres Radikal **149** gebildet, das durch Reduktion in die α -Dilithium-Spezies **150** übergeführt wird. Lithioglycoside wie **150** erweisen sich bei Temperaturen unter –78 °C als konfigurationsstabil.^[155] Die Umsetzung mit Carbonylverbindungen führt schließlich unter Retention der anomeren Konfiguration zu *C*-glycosidischen Alkoholen (**151**).^[156]



Abb. 66 Stereoselektive Synthese von $1-C-\alpha-2$ -Acetamido-2-desoxy-Glycosiden durch reduktive Lithiierung nach Kessler et al.

In Anlehnung an dieses Konzept wurde ausgehend von den benzylierten, am anomeren Zentrum unblockierten GlcNAc und GalNAc-Derivaten **152** und **153** durch Umsetzung mit Thionylchlorid die labilen Chloride **154** und **155** erhalten, die sofort zur beschriebenen *C*-Glycosidsynthese nach Kessler et al. eingesetzt wurden. Der zunächst verfolgte Ansatz durch Umsetzung mit dem elektrophilen Paraformaldehyd das 1-*C*- α -Hydroxymethylen-GlcNAc-Derivat **161** durch direkte Synthese zu erzeugen schlug fehl. Es konnte hierbei ausschließlich das durch Protonierung entstandene 1,5-Anhydroglucitol-Derivat **156** erhalten werden. In einer alternativen Reaktionssequenz wurden daher die Chloride **154** und **155** nach Di-Lithiierung mit BuLi und Lithium-Naphthalid durch Einleitung von trockenem Kohlendioxid zu den *C*-glycosidischen α -Carbonsäuren **157** und **158** umgesetzt. Die *a*-Konfiguration von **157** kann im ¹H-NMR Spektrum durch die 5.8 Hz äquatorial-axial Kopplung zwischen H-2 und H-3 eindeutig nachgewiesen werden. Methylierung unter Standardbedingungen führte zu den Methylestern **159** und **160** die anschließend mit NaBH₄ reduktiv zu den Alkoholen **161** und **162** umgesetzt werden konnten.



Abb. 67 Synthese der 1-C-a-Hydroxymethylen-Zucker 161 und 162

Die weitere Darstellung des UDP-GlcNAc-Mimetikum **134** erfolgte ausgehend vom Alkohol **161** in Analogie zu dem für das UDP-Gal-Mimetikum **133** beschriebenen Syntheseweg. Phosphorylierung mit Diphenylchlorophosphat führte zum geschützten Phosphat **163**, das durch hydrogenolytische Spaltung zum vollständig entschützten Phosphozucker **164** umgesetzt wurde. Auch hier kann erneut die als Nebenreaktion ablaufende Bildung von Cyclohexylestern beobachtet werden. Die abschließende Kupplung mit UDP-Morpholidat führte in einer zufriedenstellenden Ausbeute von 53 % zum modifizierten UDP-GlcNAc-Donor **134** in Form des kristallinen Ammoniumsalzes.



Abb. 68 Synthese des UDP-GalNAc-Mimetikums 134

Sämtlichen Protonen und Kohlenstoffatomen können die entsprechende Signale im ¹H-NMR bzw. ¹³C-NMR-Spektrum zugeordnet werden. Eine massenspektroskopische Identifizierung von **134** erfolgt durch MALDI-Tof-Spektroskopie. Das im *negative mode* aufgenommene Spektrum zeigt das erwartete $[M-NH_4^+]^-$ -Signal bei m / z = 620.



Abb. 69 ¹³C-NMR Spektrum des UDP-GlcNAc-Mimetikums 134.

Zur Synthese des UDP-GalNAc-Mimetikums **135** wurde zunächst analog verfahren. Durch Phosphorylierung der *C*-glycosidischen Hydroxymethylengruppe von **162** mit Diphenylchlorophosphat wurde der Diphenylester **165** erhalten. Jedoch konnte durch die anschließende zweistufige hydrogenolytische Spaltung keine vollständige Entschützung von **165** zum freien Phosphozucker **169** herbeigeführt werden. Wie durch ¹H-NMR-Spektrospkopie eindeutig nachgewiesen werden kann, wurde ausschließlich der Monophenylester **166** gebildet. Trotz weiterer Zugaben von "frischem" PtO₂-Katalysator, Druckhydrierung im Autoklaven bei 50 bar und 60 °C sowie einer verlängerten Reaktionszeit von 4 Tagen, erwies sich die zweite Phenylestergruppe als inert und konnte nicht entfernt werden. Es wurde daher entschieden, den Alkohol **162** mit Dibenzyl-*N*,*N*-diisopropylphosphoamidit in das Phosphit **167** zu überführen, das anschließend ohne weitere Isolierung oxidativ mit *m*-Chlorperbenzoesäure zum Dibenzyl-geschützten Phosphat **168** in 71 % Ausbeute umgesetzt werden konnte. Die folgende hydrogenolytische Spaltung sämtlicher Benzylschutzgruppen an Pd/C zum freien Zucker **169** verlief problemlos. Da die unter PtO₂-Katalyse beobachtete Bildung von Cyclohexylestern bei Hydrierungen an Pd-Katalysatoren nicht auftritt und nur ein geringer synthetischer Mehraufwand zur Darstellung von Dibenzyl-geschützten Phosphaten erforderlich ist, erweist sich diese Variante gegenüber der Phosphorylierung mit Diphenylchlorophosphat als deutlich überlegen und sollte, wenn eine hydrogenolytische Entfernung der Phosphatschutzgruppen geplant ist, den Vorzug erhalten. Durch anschließende Kupplung mit UMP-Morpholidat und Gelpermeationschromatographie an Biogel P-2 konnte das UDP-Gal-Mimetikum **135** in 53 % Ausbeute als kristallines Ammoniumsalz erhalten werden.



Abb. 70 Synthese des UDP-GalNAc-Mimetikums 135

Die NMR-spektroskopische Identifizierung des UDP-Mimetikums **135** wurde durch Koaleszenz und die daraus resultierende Signalverbreiterung insbesondere der Signale im ¹H-NMR Spektrum erschwert.^[157] Trotz Spektrenaufnahme bei 253 K, 323 K sowie 353 K konnte keine Signalauflösung im ¹H-NMR-Spektrum erzielt werden, die eine vollständige Zuordnung der Protonen zu den entsprechenden Signalen erlaubt. Im ³¹P-Spektrum konnten bei Raumtemperatur ebenfalls keine hinreichend aufgelösten Signale erhalten werden. Jedoch ergab eine Spektrenaufnahme bei 253 K das für die zwei Phosphoratome von **135** erwartete Dublett-Signalmuster mit einer Geminalkopplung von ²J = 20 Hz.



Abb. 71 Darstellung der Koaleszenz im 31 P-NMR Spektrum von **135** in einem Temperaturbereich von 323 K – 253 K. Man erkennt deutlich, daß mit sinkender Meß-Temperatur die Signalbreite abnimmt.

Weiterhin kann **135** massenspektroskopisch anhand des MALDI-Tof Spektrums identifiziert werden. Das im *negative mode* aufgenommene Spektrum zeigt das erwartete $[M-NH_4^+]^-$ -Signal bei m / z = 620.



Abb. 72 MALDI-Tof Spektrum von 135, [M-NH4⁺]⁻ = 620, DHB-Matrix, *negative mode*

Biologische Untersuchungen, die eine Bestimmung der Inhibitionswirkung der synthetisierten UDP-Gal-, UDP-GlcNAc- und UDP-GalNAc-Mimetika **133–135** auf die entsprechenden Glycosyl-Transferasen zum Ziel haben, sind im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr durchgeführt worden.

5 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden synthetische Zugänge zu neuartigen *N*- und *O*-Glycopeptid-Mimetika und Saccharid-Nucleosiddiphosphat-Mimetika erarbeitet. Die synthetisierten Mimetika zeichnen sich gegenüber den natürlichen Vorbildstrukturen primär durch modifizierte Verknüpfungen zwischen Saccharid und Aglycon aus, die eine erhöhte *in vivo*-Stabilität gewährleisten.

Die Synthese der *N*- und *O*-Glycopeptidmimetika erfolgte Festphasen-gestützt nach dem *Building-Block*-Verfahren. Hierfür wurden zunächst modifizierte *N*- und *O*-Glycosylaminosäurebausteine synthetisiert. Ausgehend von der natürlichen β -*N*-glycosidischen Verknüpfung zwischen L-Asparagin und 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose zeichnet sich der synthetisierte modifizierte *N*-Glycosylaminosäurebaustein durch eine amidische Verknüpfung zwischen der 2-Aminofunktion von 1,5-Anhydro-2-amino-2-desoxy-glucitol und der δ -Carboxygruppe von L-Asparaginsäure aus. Die Verknüpfung der Aminosäure mit dem freien Anhydrozucker, der ausgehend von *N*-Acetyl-2-amino-glucopyranosylchlorid durch radikalische Dehalogenierung mit Bu₃SnH und Entschützung erhalten wurde, konnte durch Aktivierung der Carboxyfunktion der Aminosäure als gemischtes Anhydrid erreicht werden. Anschließender Schutzgruppenwechsel am Aminosäureteil zum freien *C*-Terminus und Fmoc-geschützten *N*-Terminus führte zu dem für die Festphasensynthese geeigneten *Building-Block*. Dieser wurde erfolgreich zur Synthese von modifizierten Glycopeptidstrukturen des V3-Loops des gp120 aus dem HIV eingesetzt, die hinsichtlich ihrer Virus-neutralisierenden Eigenschaften untersucht werden sollen.

Die synthetisierten modifizierten *O*-Glycosylaminosäurebausteine sind durch Etherbrücken zwischen den Seitenkettenhydroxyfunktionen von L-Serin und L-Threonin und der 2-Hydroxy-Funktion von 1,5-Anhydro-galactitol sowie der 1-Hydroxyfunktion des *C*-glycosidischen Zuckers 2,6-Anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitol gekennzeichnet. Die Synthese des 2,6-Anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitols erfolgte ausgehend von Galactosepentaacetat durch Umsetzung mit Propargyltrimethylsilan und anschließender ozonolytischer Spaltung. Untersuchungen hinsichtlich der optimalen Kupplungsmethode zwischen Aminosäuren und Saccharidderivaten zeigten, daß ausschließlich durch säurekatalysierte nucleophile Ringöffnung von chiralen aktivierten Aziridinen die gewünschten Produkte erhalten werden konnten. Die erfolgreiche Anwendung dieser Reaktion zur Verknüpfung von komplexen Saccharidderivaten mit Aminosäurebausteinen wurde bisher nicht beschrieben und stellt eine vorteilhafte neuartige Variante zur Funktionalisierung von Sacchariden dar. Die hierfür erforderlichen aktivierten Aziridine konnten aus entsprechenden L-Serin und L-Threonin-Derivaten erhalten werden. In Anlehnung an die Synthese des *N*-Glycosylaminosäurebausteins wurde anschließend ein Schutzgruppenwechsel am Aminosäureteil zu den für die Festphasensynthese geeigneten *Building-Blocks* durchgeführt, die erfolgreich zur Synthese von Modell-*O*-Glycopeptidmimetika eingesetzt werden konnten.

Weiterhin wurden durch vollständige Entfernung aller Schutzgruppen die freien *O*-Glycosylaminosäurebausteine hergestellt, die hinsichtlich ihrer inhibitorischen Wirkung auf Galactosidasen untersucht wurden. Hierbei zeigte sich, daß die mit dem 2,6-Anhydro-D-glycero-Lgluco-heptitol *C*- α -verknüpften Bausteine eine deutliche Inhibition der α -Galactosidase aus *Aspergillus niger* bewirken. Hingegen sind die über die 2-Hydroxy-Funktion des 1,5-Anhydro-galactitol Ether-verbrückten Bausteine weder Inhibitoren der untersuchten α - noch β -Galactosidasen.

Zum enzymatischen Transfer von Galactose, N-Acetylglucosamin und N-Acetylgalactosamin werden von den entsprechenden Glycosyltransferasen die Uridindiphosphat-Donoren UDP-Gal, UDP-GlcNAc und UDP-GalNAc als Substrate verwendet. Durch die Inhibition dieser Transfer-Reaktionen ergibt sich die Möglichkeit, ein tieferes Verständnis für die Struktur-Wirkungsbeziehung von Glycostrukturen zu erhalten. Es wurden daher ausgehend von den natürlichen Substraten Saccharid-Nucleosiddiphosphat-Mimetika synthetisiert, die im Gegensatz zum anomeren Sauerstoff der natürlichen Donoren durch eine verlängerte *C*glycosidische Verknüpfung zwischen Zucker und dem Nucleosidteil gekennzeichnet sind. Sie zeigen eine weitgehende Ähnlichkeit zur Konfiguration der natürlichen Substrate im Übergangszustand und sind somit interessante potentielle Transferase-Inhibitoren.

Die zur Synthese des UDP-Gal-Mimetikums erforderliche, durch eine Hydroxymethylengruppe α -*C*-glycosidisch verlängerte Galactose konnte durch Umsetzung des benzylgeschützten *a*-Methylgalactosids mit Propargyltrimethylsilan und anschließender Ozonolyse erhalten werden. Die Synthese der homologen GlcNAc- und GalNAc-Derivate gelang ausgehend von den benzylgeschützten anomeren Chloriden durch reduktive Lithiierung mit Lithiumnaphthalid und anschließender Umsetzung mit Kohlendioxid. Methylierung der somit erhaltenen *C*-glycosidischen Heptonsäuren und anschließende Reduktion führte zu den gewünschten, mit einer Hydroxymethylengruppe α -*C*-glycosidisch verlängerten GlcNAc- und GalNAc-Derivaten. Durch Phosphorylierung, Entschützung und Kupplung mit UMP-Morpholidat wurden abschließend die UDP-Gal-, UDP-GlcNAc- und UDP-GalNAc-Mimetika erhalten.

5 Summary

In the present work, new synthetic pathways are described which give access to novel *N*- and *O*-glycopeptide and saccharide nucleoside diphosphate mimetics. The synthesized mimetics are characterized by modified linkages between the sugar and the aglycon, in contrast to the labile glycosidic bonds of the natural derivatives, to ensure higher *in vivo* stabilities.

For the synthesis of the *N*- and *O*-glycopeptide mimetics the *building block* procedure using solid phase support was applied. Initially modified *N*- and *O*-glycosylamino acid units were synthesized. In contrast to the natural β -*N*-glycosidic linkage between L-asparagine and 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose, the modified *N*-glycosylamino acid unit has an amide linkage between the 2-amino function of 1,5-anhydro-2-amino-2-deoxy-glucitol and the δ -carboxy group of L-aspartic acid. The glucitol was obtained from the appropriate anomeric chloride by radical dehalogenation using Bu₃SnH and subsequent deprotection. For the coupling the amino acid was activated as mixed anhydride and attached to the glucitol. By subsequent protection group exchange the complete *building block* suitable for solid phase synthesis with Fmoc-protected *N*-terminus was obtained. It was successfully used for the synthesis of several *N*-glycopeptide mimetics, which correspond to V3-loop glycopeptides of gp120 from HIV, which are currently subject to biological tests.

The novel *O*-glycosylamino acid units are characterized by ether linkages between the side chain hydroxy groups of L-serine and L-threonine and the 2-hydroxy function of 1,5-anhydro-galactitol and 2,6-anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitol, respectively. This compound was obtained by conversion of galactosepentaacetate with propargyltrimethylsilane and subsequent ozonolytic cleavage. The ether linkage between the sugar moieties and the amino acids could be established by acid-catalyzed nucleophilic ring opening of chiral aziridines. The successful application of this reaction for the coupling of saccharide derivatives and amino acid units has not yet been described and represents a novel and interesting method for the functionalization of saccharides. The required chiral aziridines were synthesized from the appropriate L-serine and L-threonine derivatives. The subsequent exchange of protecting groups was performed in analogy to the synthesis of the *N*-glycosylamino acid *building block* to give the desired *O*-glycosylamino acid derivatives which were successfully used for the solid phase synthesis of model *O*-glycopeptide mimetics.

Furthermore, the O-glycosylamino acid units were completely deprotected and evaluated for their potential as inhibitors of galactosidases. It could be shown that the compounds with 2,6-anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitol moities, C- α -linked to serine and threonine demonstrate a distinct inhibition of α -galactosidase from *Aspergillus niger*. However, the 1,5-anhydro-galacticol derivatives did not show inhibition of some α - and β -galactosidases used.

For the enzymatic transfer of galactose, *N*-acetylglucosamine and *N*-acetylgalactosamine, the appropriate glycosyl transferases use UDP-Gal, UDP-GlcNAc and UP-GalcNAc as donor substrates. The modulation or inhibition of this transfer reaction provides an excellent opportunity to obtain a more complete understanding of the structure-function correlation of oligosaccharides on a molecular basis. For this reason the anomeric hydroxy groups of Gal, GlcNAc and GalNAc were substituted by a hydroxymethylene group to give the homologous *C*-glycosidic UDP-sugars after phosphorylation and UMP-coupling. The distances between the anomeric centers and the nucleotides are somewhat increased. Because UDP is cleaved in the enzymes active site, this strucural geometry is expected to reflect the transition state configuration more closely. Therefore, these mimetics may be considered to be suitable transferase inhibitors.

For the synthesis of the UDP-Gal-mimetic, a 1-*C*- α -hydroxymethylene substituted galactose derivate had to be synthesized first. This was performed by conversion of the benzyl protected methyl α -galactoside with propargyltrimethylsilane and ozonolysis. The synthesis of the homologous GlcNAc and GalNAc derivatives started from the perbenzylated anomeric chlorides and conversion into their dilithium intermediates by reductive lithiation using lithium naphthalenide. These were transformed into the *C*- α -heptonic acids by treatment with carbon dioxide. Subsequent methylation led to the methylesters, which were reductively converted to the 1-*C*- α -hydroxymethylene-GlcNAc and -GalNAc derivatives. The synthesis of UDP-Gal-, UDP-GlcNAc- and UDP-GalNAc-mimetics was accomplished by phosphorylation, deprotection and coupling with UMP-morpholidate.

6 Experimenteller Teil

Allgemeine Methoden

Dünnschichtchromatographie:

Alle Reaktionen werden dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel-Fertigfolie (Kieselgel 60 GF 245, Merck) verfolgt. Die Detektion erfolgt mittels UV-Licht und / oder durch Besprühen mit 20% ethanolischer Schwefelsäure und anschließender Wärmebehandlung. Aminosäuren werden mit 0.2% ethanolischer Ninhydrinlösung und anschließender Wärmebehandlung detektiert.

Säulenchromatographie:

Säulenchromatographische Trennungen erfolgen, wenn nicht anders vermerkt, nach dem Flashverfahren an Kieselgel 60 (230-400 mesh, Korngröße 40-63 μ m, Merck), Flußrate ca. 4 cm Säulenhöhe / min. MPLC Trennungen werden an Kieselgel Silitech (12-26 mesh, Korngröße 60 Å, ICN) bei 2-4 bar durchgeführt. HPLC Trennungen werden mit einer Niederdruckgradientenpumpe L-6250 und einem Diodenarray-Detektor L-3000 mit DAD-Manager-Software LiChrograph V4.0 Software (Merck /Hitachi) an einer Lichrospher RP-18 Säule (250 x 4, 10 μ m, 10 ml / min) oder Lichrosorb RP-18 Säule (259 x 25, 10 μ m, 10 ml / min) mit Eluent A (0.1 % TFA in Wasser) und Eluent B (0.1 % TFA in Acetonitril) durchgeführt. Gelpermeationschromatographie wird an Biogel P-2 durchgeführt, die Detektion erfolgt mit einem Differentialrefraktometer (Knauer).

NMR-Spektroskopie:

Sämtliche ¹H-NMR und ¹³C-NMR Spektren sowie die 2D-Korrelationsexperimente werden an einem Bruker AMX 400 oder DRX 500 bei 300 K aufgenommen, falls nicht anders vermerkt. Als interner Standard für die ¹H-NMR Spektroskopie bei Messungen in organischen Lösungsmitteln dient Tetramethylsilan ($\delta = 0.00$ ppm). Bei Messungen in D₂O und H₂O/D₂O dient Aceton ($\delta = 2.22$ ppm) als Standard. Eine vollständige Zuordnung der Signale erfolgt falls erforderlich mit ¹H-¹H-COSY-, TOCSY-, ¹H-¹³C-NMR-HMQC- und HMBC-Experimenten. Die Konnektivitäten der Kohlenstoffatome werden durch DEPT-Experimente ermittelt. Bei der Zuordnung der Methylenprotonen werden jeweils die Protonen mit höherer chemischer Verschiebung mit einem "'" gekennzeichnet. Ist eine eindeutige Zuordnung von axialen bzw. äquatorialen Protonen möglich werden diese mit "ax" bzw. "eq" gekennzeichnet. Zur Kennzeichnung der Multiplizitäten der Signale werden folgende Abkürzungen verwendet: s: Singulett, bs: breites Singulett, d: Dublett, dd: doppelte Dublett, dd: Dublett eines doppelten Dubletts, ddt: Dublett eines doppelten Tripletts, dt: doppeltes Triplett, dq: doppeltes Quartett, t: Triplett, m: Multiplett, vt: virtuelles Triplett.

Massenspektroskopie:

FAB-Massenspektren werden an einem VG-70-250 S (VG-Microtech) aufgenommen, als Matrix dient 3-Nitrobenzylalkohol. MALDI-TOF-Massenspektren werden an einem Biflex III (Bruker) im *positive* oder *negative reflector mode* aufgenommen. Als Matrix wird DHB oder CCA eingesetzt. ESI-Massenspektren werden an einem HP-Series 1100 MSD (Hewlett Packard) im *positive mode* bei den angegebenen Fragmentorspannungen aufgenommen.

Festphasensynthesen:

DMF (Perseptive Biosystems) wird im Dunkeln bei 8°C gelagert und vor Benutzung mit Dhbt-OH auf Aminfreiheit untersucht. Die automatisierten Synthesen werden mit einem Peptidsynthesizer Pioneer (Perseptive Biosystems) an PEGA-Harz, derivatisiert mit Rink-Linker, nach dem *"continuous-flow"* Verfahren durchgeführt. Manuelle Peptidsynthesen werden an Wang-Harz B1250 durchgeführt. Die Kupplung der Fmoc-Aminosäurederivate erfolgt über in situ Aktivierung mit HATU oder TBTU, Kupplung der Fmoc-Aminosäure-OPfp-Ester erfolgt über ODhbt-Aktivester. Die Indikation des Fortschreitens der Reaktion erfolgt hierbei über Farbveränderung des Harzes, hervorgerufen durch Ionenpaare von Dhbt-OH mit freien Aminogruppen am Harz.

Die Elementaranalysen werden in der Mikroanalytischen Abteilung des Instituts für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt. Schmelzpunkte werden mit einem Olympus BH-Polarisationsmikroskop (Heiztisch Mettler FP 82) ermittelt und sind unkorrigiert. Die Bestimmung der Drehwerte wird mit einem Polarimeter 241 oder 243 (Perkin-Elmer) mit 100 mm langen Küvetten bei 25°C durchgeführt. Druckhydrierungen werden in einem Bergmann-Hochdruckautoklav des Typs HR 100 durchgeführt.

Die Trocknung der Lösungsmittel erfolgt nach den gängigen Labormethoden. THF, für Reaktionen unter Schlenktechnik, wird über Na/K-Legierung getrocknet.

Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV1: Lewis-Säure katalysierte Ringöffnung von aktivierten 1-Carboxyaziridinderivaten durch *O*-Nucleophile

Eine Lösung von 1 Äquivalent der OH-freien Verbindung und 0.66-0.75 Äquivalenten des entsprechenden aktivierten Aziridinderivats in trockenem Chloroform wird unter vermindertem Druck aufgeschäumt und 30 Minuten im Vakuum getrocknet. Das Gemisch wird anschließend unter Argonschutzgas in einem minimalen Volumen trockenem Chloroform aufgenommen und mit katalytischen Mengen einer frisch hergestellten 10% BF₃·Et₂O-Lösung (in trockenem Chloroform) versetzt. Während der tropfenweisen Zugabe des Katalysators kommt es zur Bildung einer beständigen Gelbfärbung der Lösung. Der Ansatz wird 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dann erneut mit einer katalytischen Menge des Katalysators versetzt und weitere 16 Stunden gerührt. Sollte die Umsetzung noch nicht vollständig verlaufen sein, wird abermals Katalysator zugegeben und weitere 16 Stunden gerührt. Zur Aufarbeitung wird der Ansatz durch Zugabe von Dichlormethan verdünnt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gequencht. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem angegebenen Laufmittelgemisch gereinigt.

AAV2: Pd/C-katalysierte hydrogenolytische Spaltung von Benzylethern, Benzylestern und Benzylcarbamaten unter Normaldruck

Eine Lösung des Benzylethers, -esters oder des -carbamats in trockenem Methanol wird mit 10 Massenprozenten Pd/C-Katalysator per abzuspaltender Gruppe versetzt und bei Raumtemperatur und Normaldruck unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Zur Aufarbeitung wird über einen Membranfilter filtriert und der Ansatz unter vermindertem Druck zur Trockne eingeengt. **AAV3**: Einführung der *N*-Fmoc-Schutzgruppe mittels N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonyl-oxy)-succinimid an primäre Amine

Eine Lösung von 1 Äquivalent des Amins in ges. NaHCO₃-Lösung (falls das Edukt nicht vollständig löslich in ges. NaHCO₃-Lösung ist, erfolgt tropfenweise Zugabe von DMF bis eine klare Lösung entsteht) wird in einem mit Eis gefülltem Ultraschallbad auf 0°C abgekühlt. Unter starkem Rühren wird dann eine Lösung von 1 Äquvalent N-(9H-Fluoren-9ylmethoxycarbonyloxy)-succinimid in einem minimalen Volumen DMF zügig zugegeben. Es kommt zur Bildung eines voluminösen weißen Niederschlags. Der Ansatz wird aus dem Ultraschallbad entfernt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, oder bis durch DC-Verfolgung kein Edukt mehr nachweisbar ist. Zur Aufarbeitung wird der Ansatz mit wenig Wasser verdünnt und je einmal mit Diethylether und Ethylacetet extrahiert. Die wäßrige Lösung wird anschließend auf 0°C abgekühlt und durch tropfenweise Zugabe von 5M HCl auf pH = 5 gebracht. Das hierbei ausfallende farblose Produkt wird durch Extraktion mit Ethylacetat (5 x) isoliert und die vereinigten organischen Extrakte über Magnesiumsulfat getrocknet. Durch Filtration und Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wird das farblose Produkt erhalten.

AAV4: Darstellung von 1 molarer Lithiumnaphthalid-Lösung in Tetrahydrofuran

40.6 mg (5.85 mmol) Lithiumgranulat und 852.2 mg (6.65 mmol) Naphthalin werden mit 6 ml trockenem THF unter Argonschutzgas versetzt und bei Raumtemperatur 2 Stunden im Ultraschallbad gerührt. Bereits nach wenigen Sekunden tritt eine intensive Grünfärbung der Lösung auf. Das Reagenz wird als ca. 1 molare Lösung eingesetzt. Sämtliche hiermit beschriebenen Reaktionen werden in Standard-Schlenktechnik unter Verwendung von Argon als Inertgas durchgeführt.

AAV5: Manuelle Glycopeptid-Festphasensynthese an Wang Harz B1250

Sämtliche Peptidkupplungen werden mit drei Äquivalenten des zu kuppelnden Aminosäurederivats, bezogen auf die Belegung des Harzes, durchgeführt. Im Falle der Glycosylaminosäurebausteine wird mit einem Überschuß von 1.5 Äquivalenten gearbeitet. Zur Anknüpfung der ersten Aminosäure als Carbonsäureester an den p-Hydroxybenzylalkohol-Linker wird das Wang-Harz B 1250 (Belegung: 950 μ mol / g) in einer D-4 Glasfritte vorgelegt, durch Behandlung mit Dichlormethan (5 x 2 Minuten) zur Quellung gebracht und anschließend

trockengesaugt. Zur Kupplung wird das entsprechende Aminosäure-Fmoc-Derivat in Dichlormethan aufgenommen, mit MSNT (3 Äquivalente) sowie Methylimidazol (2.25 Äquivalente) versetzt und das Harz zwei Stunden mit der Reaktionslösung behandelt. Anschließend wird abgesaugt und die Reaktion wiederholt. Nach Waschen mit Dichlormethan und DMF (jeweils 10 x 2 Minuten) wird zur Abspaltung der Fmoc-Gruppe Piperidin (20 % in DMF, 2 x 10 Minuten) zugegeben und erneut mit DMF (10 x 2 Minuten) gewaschen. Zur Kupplung der folgenden Aminosäuren werden die entsprechenden Fmoc-OPfp-Derivate unter Zusatz von Dhbt-OH (3 Äquivalente), in DMF gelöst, eingesetzt. Serin und Threonin werden in Form der Fmoc-ODhbt-Derivate eingesetzt, hierbei entfällt der Zusatz von Dhbt-OH. Die Kupplungen werden nach Entfärbung des Harzes, frühestens jedoch nach drei Stunden, beendet. Bei beständiger Verfärbung über eine Reaktionszeit von 22 Stunden hinaus wird die Kupplung abgebrochen und wiederholt. Nach Waschen und Fmoc-Abspaltung (wie oben beschrieben) wird die nächste Aminosäure entsprechend der Sequenz gekuppelt. Die Kupplung der Glycosylaminosäurebausteine erfolgt unter Zusatz von TBTU (1.5 Äquivalente) und N-Ethyldiisopropylamin (1.5 Äquivalente). Nach Kupplung und Fmoc-Entschützung der letzten Aminosäure wird mit DMF und Methanol gewaschen und falls erforderlich die O-Acetylschutzgruppen des Saccharidteils nach AAV6 abgespalten. Anschließend wird das Harz im Vakuum getrocknet. Die Abspaltung der Glycopeptide vom Harz erfolgt durch Behandlung (2 x 1 Stunde) mit wäßriger TFA (95 %) und anschließendem Waschen mit TFA (5 x 2 Minuten). Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum eingeengt (Badtemperatur < 35°C), mit Toluol sowie Toluol / Methanol (3:1) codestilliert (jeweils 3 x) und im Vakuum getrocknet. Reinigung der Glycopeptide erfolgt durch RP-HPLC.

AAV6: O-Deacetylierung von Glycopeptiden mit Hydrazinhydrat

Das mit Methanol DMF-frei gewaschene Harz wird durch Behandlung mit Methanol (5 x 2 Minuten) zur Quellung gebracht und trockengesaugt. Zur Deacetylierung wird drei Stunden mit einer methanolischen Hydrazinhydrat Lösung (0.13 ml Hydrazinhydrat, 1 ml Methanol) behandelt. Die Lösung wird abgesaugt und die Abspaltung wiederholt. Anschließend wird trockengesaugt und mit Methanol und Diethylether (5 x 2 Minuten) gewaschen.

AAV7: Automatische Glycopeptid-Festphasensysnthese an PEGA-Rink Harz

Sämtliche Peptidkupplungen werden mit vier Äquivalenten des zu kuppelnden Aminosäurederivats, bezogen auf die Belegung des Harzes, durchgeführt. Im Falle der Glycosylaminosäurebausteine wird mit äquimolaren Mengen, manuell außerhalb des Synthesizers mit TBTU-Aktivierung (analog AAV 5) gekuppelt. PEGA-Rink Harz (Belegung 180 μ mol / g) wird in eine im Volumen variable, mit Teflonstopfen verstellbare Glassäule übergeführt, die an den Peptidsynthesizer angeschlossen wird. Die in Gläschen eingewogenen Fmoc-Aminosäure-Derivate werden dann in den Autosampler eingesetzt und das Standardsyntheseprotokoll des Peptidsynthesizers verwendet. Nach Beendigung des Syntheseprogramms wird das Harz aus der Glassäule entnommen mit DMF und Methanol (jeweils 5 x 2 Minuten) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Abspaltung der Glycopeptide vom Harz erfolgt durch Behandlung (2 x 1 Stunde) mit wäßriger TFA (95 %) und anschließendem Waschen mit TFA (5 x 2 Minuten). Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum eingeengt (Badtemperatur < 35°C), mit Toluol sowie Toluol / Methanol (3:1) codestilliert (jeweils 3 x) und im Vakuum getrocknet.

2-Amino-1,5-anhydro-2-desoxyglucitol hydrochlorid (34).

Eine Suspension von 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxy-glucitol (**32**)^[88] (2.50 g, 7.55 mmol) in 20 ml 2.5 N Salzsäure wird 2 Stunden unter Rückfluß gerührt. Die klare Lösung wird anschließend im Vakuum eingeengt und der ölige Rückstand in einer minimalen Menge Ethanol aufgenommen. Anschließend wird tropfenweise Diethylether zugegeben, bis es zur vollständigen Fällung des Produkts kommt. Das Rohprodukt wird abfiltriert in Propanol / Ethanol (1:1) umkristallisiert, erneut filtriert und im Vakuum getrocknet.

34 (C₆H₁₄NO₄Cl): 199.63

Ausbeute: 1.02 g, 68% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 199°C (Zersetzung) $[\alpha]^{25}{}_{D} = +17.8$ (c 1, H₂O) Ber.: C: 36.17 H: 7.09 N: 7.03 Gef.: C: 36.22 H: 7.07 N: 7.02



¹**H NMR** (400 MHz, D₂O) δ = 3.15 (ddd, 1H, H-2), 3.23-3.32 (m, 2H, H-4, H-5), 3.41 (dd, 1H, H-1a), 3.50 (dd, 1H, H-3), 3.58 (dd, 1H, H-6), 3.75 (dd, 1H, H-6'), 4.05 (dd, 1H, H-1e) ppm.

 ${}^{3}J_{1a,1e} = 11.2, \; {}^{3}J_{1a,2} = 11.2, \; {}^{3}J_{1e,2} = 5.1 \text{ Hz}, \; {}^{3}J_{2,3} = 10.2, \; {}^{3}J_{3,4} = 8.1 \text{ Hz}, \; {}^{3}J_{5,6} = 5.6, \; {}^{2}J_{6,6^{\circ}} = 12.2 \text{ Hz}.$

¹³**C NMR** (100.62 MHz, D₂O) δ = 51.87 (1C, C-5), 61.10 (1C, C-6), 66.44 (1C, C-1), 70.23 (1C, C-4), 74.56 (1C, C-3), 80.98 (1C, C-2) ppm.

N^{α} -Benzyloxycarbonyl- N^{γ} -[3,4,6-tri-O-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxy-glucitol-2]-L-asparaginbenzylester (37)

N-Methylmorpholin (570 µl, 5.14 mmol) wird in eine auf -10 °C gekühlte Lösung von N^{α} -Benzyloxycarbonyl-L-asparaginbenzylester (**35**) (1.93 g, 5.41 mmol) in trockenem THF (30 ml) zugegeben. Isobutylchloroformat (740 µl, 5.68 mmol) wird langsam zugetropft und es wird weitere 30 Minuten bei -10 °C gerührt. Zu einer Suspension von 2-Amino-1,5-anhydro-2-desoxy-glucitol hydrochlorid (**34**) (972 mg, 4.87 mmol) in THF (15 ml) und Triethylamin

(0.68 ml, 4.87 mmol) wird tropfenweise Wasser (2 ml) zugegeben, bis eine klare Lösung entsteht. Diese wird langsam, unter starkem Rühren, zu der auf -10 °C gekühlten Lösung des Asparaginsäuremonoesters (**35**) gegeben. Die Mischung wird 10 Minuten bei -10 °C gerührt, auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 2 Stunden gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wird der ölige Rückstand in 25 ml trockenem Pyridin aufgenommen und mit 8 ml (84.6 mmol) Essigsäureanhydrid versetzt. Die Lösung wird 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, dann wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, zweimal mit Toluol codestilliert und das Rohprodukt mittels MPLC an Kieselgel (Petrolether 50-70 / Ethylacetat) gereinigt.

37 $C_{31}H_{36}N_2O_{12}$ (628.63) Ausbeute: 2.3 g, 75% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 157°C (Zersetzung) $[\alpha]^{25}{}_D = +38.2$ (c 1, CH₂Cl₂) Ber.: C: 59.21 H: 5.78 N: 4.46 Gef.: C: 59.52 H: 5.73 N: 4.43



FAB (positive mode, 3-Nitrobenzylalkohol): $629 (M + H)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.91$, 1.96, 2.01, (3 x s, 9H; 3 x CH₃), 2.57 (dd,1H, H-β-H), 2.76 (dd, 1H, H-β'-Asn), 2.95 (dd, 1H, H-1a), 3.42 (ddd, 1H, H-5), 3.95 (dd, 1H, H-1e), 4.01 (m, 1H, H-2), 4.02-4.18 (m, 2H, H-6, H-6'), 4.52 (ddd, 1H, H-α-Asn), 4.82 (dd, 1H, H-3), 4.95 (dd, 1H, H-4), 5.03 (s, 2H, CH₂-Bn), 5.10 (s, 2H, CH₂-Bn), 5.75 (d, 1H, NH-2), 5.88 (d, 1H, N<u>H</u>-Asn), 7.23-7.31 (m, 10H, Ar) ppm.

 ${}^{3}J_{1a,1e} = 11.2 \text{ Hz}, \ {}^{3}J_{1a,2} = 11.2, \ {}^{3}J_{1e,2} = 5.6, \ {}^{3}J_{NH-2,2} = 7.6 \text{ Hz}; \ {}^{3}J_{2,3} = 10.7, \ {}^{3}J_{3,4} = 10.2 \text{ Hz}, \ {}^{3}J_{4,5} = 9.7, \ {}^{3}J_{5,6} = 2.5, \ {}^{3}J_{5,6^{\circ}} = 5.1 \text{ Hz}, \ {}^{3}J_{H-\alpha-Asn-,H-\beta-Asn} = 4.6, \ {}^{3}J_{H-\alpha-Asn, H-\beta^{\circ}-Asn} = 5.1, \ {}^{2}J_{H-\beta-Asn, H-\beta^{\circ}-Asn} = 15.8, \ {}^{3}J_{H-\alpha-Asn, NH-Asn} = 8.1 \text{ Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 19.58, 19.65, 19.72 (3 x 1C, 3 x <u>C</u>H₃), 36.88 (1C, C-β-Asn), 49.44 (1C, C-2), 49.83 (1C, C-α-Asn), 61.32 (1C, C-6), 66.08 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 66.47 (CH₂-Bn), 66.90 (1C, C-1), 67.10 (1C, C-4), 73.02 (1C, C-3), 75.51 (1C, C-5), 127.06, 127.19, 127.42, 127.52, 127.60, 134.31, 135.13 (12C, Ar), 168.27 (1C, <u>C</u>O-Z), 168.84 (1C, <u>C</u>O), 169.0 (<u>C</u>ONH), 169.53 (<u>C</u>OOH) 169.84, 171.21 (2C, <u>C</u>O) ppm.

N^γ-[3,4,6-Tri-O-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxy-glucitol-2]-L-asparagin (39)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV2:

500 mg (0.8 mmol) N^{α} -Benzyloxycarbonyl- N^{γ} -[3,4,6-tri-O-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxy-glucitol-2]-L-asparaginbenzylester (**38**), 25 ml trockenes Methanol, 50 mg Pd/C (10%), 8 Stunden rühren.

39 $C_{16}H_{24}N_2O_{10}$ (404.37) Ausbeute: 323.5 mg, 100% d. Th. farbloser Schaum, Smp.: 115°C $[\alpha]^{25}{}_D = +14.3$ (c 1, H₂O) Ber.: C: 47.52 H: 5.98 N: 6.93 Gef.: C: 47.48 H: 5.95 N: 6.85



FAB (positive mode, 3-Nitrobenzylalkohol): $405.2 (M + H)^+$.

¹**H NMR** (400 MHz, D₂O): δ = 2.10, 2.12, 2.14 (3 x s, 9H; 3 x C<u>H</u>₃), 2.94 (d, 2H, C<u>H</u>₂-β-Asn), 3.53 (dd, 1H, H-1a), 3.92 (ddd, 1H, H-5), 4.04 (dd, 1H, H-1e), 4.21 (dd, 1H, H-6), 4.28 (ddd, 1H, H-2), 4.30 (t, 1H, H-α-Asn), 4.37 (dd, H-6⁴), 5.05 (dd, 1H, H-3), 5.22 (dd, 1H, H-4) ppm.

 ${}^{3}J_{1a,1e} = 11.7 \text{ Hz}, \ {}^{3}J_{1a,2} = 11.2, \ {}^{3}J_{1e,2} = 5.6, \ {}^{3}J_{2,3} = 9.2, \ {}^{3}J_{3,4} = 9.7, \text{ Hz}, \ {}^{3}J_{4,5} = 10.2, \ {}^{3}J_{5,6} = 4.1, \ {}^{3}J_{5,6^{\circ}} = 2.0 \text{ Hz}, \ {}^{3}J_{6,6^{\circ}} = 12.7, \ {}^{3}J_{H-\alpha-Asn-,H-\beta-Asn} = 5.6 \text{ Hz}.$

¹³**C NMR** (100.62 MHz, D₂O): δ = 20.45, 20.47, 20.52 (3 x 1C, 3 x <u>C</u>H₃), 35.36 (1C,C-β-Asn), 49.36 (1C, C-2), 51.56 (1C, C-α-Asn), 62.64 (1C, C-6), 67.29 (1C, C-1), 69.22 (1C, C-4), 74.57 (1C, C-3), 75.89 (1C, C-5), 172.25 (1C, <u>C</u>O), 173.29 (1C, <u>C</u>ONH), 173.83, 174.08 (2C, 2 x <u>C</u>O) ppm.

 N^{α} -(9'-Fluorenylmethoxycarbonyl)- N^{γ} -[3,4,6-tri-O-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxy-glucitol-2]-L-asparagin (40)

Die Umsetzung erfolt gemäß AAV3:

380 mg (0.97 mmol) N^{γ}-[3,4,6-tri-O-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxyglucitol-2]-L-asparagin (**39**), 5 ml ges. NaHCO₃-Lösung, 327 mg (0.97 mmol) N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxy-carbonyloxy)-succinimid in 4 ml DMF, Reaktionszeit: 30 min.

40 $C_{31}H_{34}N_2O_{12}$ (626.61) Ausbeute: 520 mg, 86% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 218 °C $[\alpha]_D^{20} = +8.6$ (c 1, DMSO) Ber.: C: 59.42 H: 5.47 N: 4.47 Gef.: C: 59.17 H: 5.51 N: 4.44

FAB (positive mode, 3-Nitrobenzylalkohol): $627.2 (M + H)^+$.

¹**H** NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 1.90, 1.96, 1.99 (3 × s, 9H, 3 × CH₃), 2.39 (dd, 1H, H-β-Asn), 2.55 (dd, 1H, H-β'-Asn), 3.23 (dd, 1H, H-1a), 3.67 (ddd, 1H, H-5), 3.73 (dd, 1H, H-1e), 3.97-4.00 (m, 1H, H-α-Asn), 4.00 (dd, 1H, H-6), 4.09 (dd, 1H, H-6'), 4.18-4.31 (m, 4H, H-2, Fmoc-CH₂, Fmoc-CH), 4.78 (dd, 1H, H-3), 4.97 (dd, 1H, H-4), 7.29-7.93 (m, 8H, Ar) ppm. ³J_{1a,1e} = 11.2, ³J_{1a,2} = 11.2, ³J_{1e,2} = 5.6, ³J_{2,3} = 9.2, ³J_{3,4} = 9.7, Hz, ³J_{4,5} = 10.5, ³J_{5,6} = 2.2, ³J_{5,6'} = 5.1 Hz, ³J_{6,6'} = 12.2, ³J_{H-α-Asn-H-β-Asn} = 8.1, ³J_{H-α-Asn-H-β'-Asn} = 5.6, ²J_{H-β-Asn-H-β'-Asn} = 15.2 Hz.

¹³**C NMR** (100.62 MHz, DMSO-d₆) δ = 21.22, 21.33 (3 × 1C, 3 × CH₃), 36.71 (1C, C-β-Asn), 47.40 (1C, <u>C</u>H-Fmoc), 49.46 (1C, C-2), 51.25 (1C, C-α-Asn), 63.01 (1C, C-6), 66.58 (1C, <u>C</u>H₂-Fmoc), 67.84 (1C, C-1), 69.67 (1C, C-4), 74.35 (1C, C-3), 76.16 (1C, C-5), 120.96, 126.41, 127.99, 128.57, 141.53, 144.52, 144.59 (12C, Ar), 156.64 (Fmoc-<u>C</u>O), 163.42 (1C, <u>C</u>ONH), 170.37, 170.92, 171.12 (3 × 1C, 3 × <u>C</u>O), 173.54 (1C, <u>C</u>OOH) ppm.

1,5-Anhydro-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-galactitol (61)

20 g (48.64 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-galactopyranosylbromid (**60**) werden unter Argonschutzgas in 200 ml trockenem Toluol aufgenommen und mit einer katalytischen Menge AIBN versetzt. Nach Zugabe von 14ml (82.6 ml, 1.7eq) Tributylzinnhydrid wird die Lösung 4 Stunden unter Rückfluß gerührt. Zur Aufarbeitung wird die Reaktionslösung unter vermindertem Druck eingeengt, das verbleibende ölige Gemisch in Acetonitril aufgenommen und dreimal mit Petrolether (50-70) gewaschen. Die Acetonitrilphase wird unter vermindertem

OAc

Druck eingeengt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt: a.) Petrolether, bis Zinnorganyle vollständig eluiert b.) Toluol/Ethylacetat (10:1).

61 C₁₄H₂₀O₉ (332.30) Ausbeute: 15.75 g, 97% d. Th. farbloser Feststoff Fp.: 102 °C [Lit.: 104 °C]^[106] [α]_D²⁰= +48.5 (c 1, CHCl₃) [Lit.: +49.1, (c 1, CHCl₃)]^[106]

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.94$, 1.98, 1.99, 2.08 (4 x 3H, 4 x s, 4 x OAc), 3.22 (dd, 1H, H-1a), 3.75 (ddd, 1H, H-5), 4.02 (d, 2H, C<u>H</u>₂-6), 4.12 (dd, 1H, H-1e), 4.96 (dd, 1H, H-3), 5.15 (ddd, 1H, H-2), 5.37 (dd, 1H, H-4) ppm. ²J_{1a,1e}=10.5, ³J_{1a,2}=10.5, ³J_{1e,2}=5.6, ³J_{2,3}=10.5, ³J_{3,4}=3.6, ³J_{4,5}=1, ³J_{5,6}=6.6, ³J_{5,6'}=6.6 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 19.50, 19.60, 19.64, 19.68 (4C, 4 x <u>C</u>H₃), 62.00 (1C, C-6), 66.42 (1C, C-2), 67.15 (C-1), 67.78 (1C, C-4) 71.54 (1C, C-3), 74.93 (1C, C-5), 169.96, 170.15, 170.20, 170.47 (4C, 4 x <u>C</u>O) ppm.

1,5-Anhydro-galactitol (62)

4.8 g (12.24 mmol) 1,5-Anhydro-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-galactitol (**61**) werden in 125 ml trockenem Methanol aufgenommen, mit 5 ml 1 molarer Natriummethanolatlösung versetzt und 1.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird die Lösung mit Ionenaustauscher Amberlite IR120 (H⁺-Form) neutralisiert und eine Stunde gerührt. Nach Abfiltration des Ionenaustauschers wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

```
62 C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> (164.15)

Ausbeute: 1.48 g, 74% d. Th.

farbloser Feststoff

Fp.: 108 °C [Lit.: 112 °C]<sup>[158]</sup>

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>= 74.0 (c 1, CHCl<sub>3</sub>) [Lit.: 78.9, (c 1, CHCl<sub>3</sub>)]<sup>[158]</sup>
```

¹**H-NMR** (400 MHz, D₂O): δ = 3.03 (1H, dd, H-1a), 3.31-3.35 (m, 2H, H-3, H-5), 3.59 (dd, 1H, H-6), 3.65 (1H, dd H-6'), 3.73 (ddd, 1H, H-2), 3.80 (dd, 1H, H-4), 3.86 (1H, dd, H-1e) ppm.

 ${}^{2}J_{1a,1e^{4}} = 10.7$, ${}^{3}J_{1e,2} = 10.5$, ${}^{3}J_{1a,2} = 10.5$, ${}^{3}J_{2,3} = 5.6$, ${}^{3}J_{3,4} = 3.5$, ${}^{3}J_{4,5} = 1.0$, ${}^{3}J_{5,6} = 5.1$, ${}^{3}J_{6,6^{4}} = 11.5$ Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, D₂O): δ = 61.93 (1C, C-6), 67.42 (1C, C-2), 69.85 (1C, C-4), 70.15 (1C, C-1), 75.55 (1C, C-3), 80.17 (1C, C-5) ppm.

1,5-Anhydro-6-O-tert-butyldiphenylsilyl-galactitol (63)

7.27 g (44.29 mmol) 1,5-Anhydro-galactitol (**62**) werden in 80ml Pyridin gelöst, mit 16.7 ml (62.0mmol) *t*-Butyldiphenylchlorsilan sowie 250 mg Dimethylaminopyridin versetzt und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt (3 x Codestillation mit Toluol), der ölige Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und zweimal mit Wasser und anschließend mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die wäßrigen Phasen werden einmal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Extrakte über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Filtration und Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wird das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70/ Ethylacetat 1:2) gereinigt.

63 $C_{22}H_{30}O_5Si$ (402.56) Ausbeute: 14.44 g, 81% d. Th. farbloses Öl $[\alpha]_D^{20} = +48.5$ (c 1, CH₂Cl₂) Ber.: C: 65.64 H: 7.51 Gef.: C: 65.13 H: 7.36



Maldi-TOF (DHB, positive mode): $425 (M + Na)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.96$ (s, 9H, *t*-Bu), 2.99 (vt=dd, 1H, H-1a), 3.30 (vt = dd, 1H, H-5), 3.34 (dd, 1H, H-3), 3.74 (dd, 1H, H-6), 3.78 (dd, 1H, H-6'), 3.82 (ddd, 1H, H-2), 3.88 (dd, 1H, H.-1e), 4.00 (d, 1H, H-4), 7.27-7.34 (m, 6H, Ar), 7.56-7.61 (m, 4H, Ar) ppm.

 ${}^{2}J_{1a,1e} = 10.7, \, {}^{3}J_{1a,2} = 10.7, \, {}^{3}J_{1e,2} = 5.5, \, {}^{3}J_{2,3} = 9.3, \, {}^{3}J_{3,4} = 3.6, \, {}^{3}J_{5,6} = 5.1, \, {}^{3}J_{5,6^{\circ}} = 6.0, \, {}^{3}J_{6,6^{\circ}} = 10.6$ Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 18.13 (1C, <u>C</u>(CH₃)₃), 25.74 (3C, *t*-Bu), 62.47 (1C, C-6), 66.82 (1C, C-2), 68.74 (1C, C-4), 68.85 (1C, C-1), 74.68 (1C, C-3), 80.08 (1C, C-5), 126.78, 126.79, 128.57, 128.86, 131. 83, 131.97, 133,79, 134.52, 134.59 (12C, Ar) ppm.

1,5-Anhydro-6-O-tert-butyldiphenylsilyl-3,4-O-isopropyliden-galactitol (64)

Eine Lösung von 13.10 g (32.54 mmol) 1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-galactitol (**63**) in 100ml Aceton wird mit 20ml (163.2 mmo) 2,2-Dimethoxypropan sowie katalytischen Mengen Toluolsulfonsäure versetzt und eine Stunde unter Rückfluß gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abgezogen und das ölige Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70/ Ethylacetat 3:1) gereinigt.

64 $C_{25}H_{34}O_5Si$ (442.62) Ausbeute: 11.18 g, 78% d. Th. farbloser Sirup $[\alpha]_D^{20}$ = +26.1 (c 1, CH₂Cl₂) Ber.: C: 67.84 H: 7.75 Gef.: C: 67.13 H: 7.43



Maldi-TOF (DHB, positive mode): $465 (M + Na)^+$, $481 (M + K)^+$

¹**H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.97$ (s, 9H, *t*-Bu), 1.28 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 1.42 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 2.83 (bs, 1H, O<u>H</u>), 3.01 (dd, 1H, H-1a), 3.68-3.72 (m, 2H, H-2, H-5), 3.77-3.85 (m, 3H, H-1e, C<u>H</u>₂-6), 3.90 (dd, 1H, H-3), 4.25 (dd, 1H, H-4), 7.26-7.33 (m, 6H, Ar), 7.59-7.64 (m, 4H, Ar) ppm.

 ${}^{2}J_{1a,1e} = 10.5, \, {}^{3}J_{1a,2} = 10.5, \, {}^{3}J_{2,3} = 7.0, \, {}^{3}J_{3,4} = 5.68, \, {}^{3}J_{4,5} = 2.3 \text{ Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 18.34 (1C, <u>C</u>(CH₃)₃, 25.20 (1C, <u>C</u>H₃), 25.74 (3C, *t*-Bu), 27.22 (1C, <u>C</u>H₃), 61.73 (1C, C-6), 67.04 (1C, C-1), 68.77 (1C, C-2), 72.09 (1C, C-4), 75.48

(1C, C-5), 78.36 (1C, C-3), 108.61 (1C, <u>C</u>(CH₃)₂), 126.57, 126.65, 126.82, 128.63, 128.66, 132.35, 132.44, 134.52, 134.60 (12C, Ar) ppm.

1,5-Anhydro-6-O-tert-butyldiphenylsilyl-3,4-O-isopropyliden-tagatopyranose (65)

Unter Argonschutzgas werden 0.12 ml (1.3 mmol) Oxalylchlorid in 2 ml trockenem Dichlormethan vorgelegt und auf -65° C abgekühlt. Unter ständigem Rühren werden sodann 0.21 ml (3.0 mmol) trockenes Dimethylsulfoxid so zugetropft, daß die Temperatur der Lösung unter -60° C verbleibt. Anschließend werden 500 mg (1.12 mmol) 1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-galactitol (**64**) gelöst in 2 ml trockenem Dichlormethan über einen Zeitraum von 5 Minuten zugetropft und der Ansatz weitere 30 Minuten gerührt. Es werden 0.72 ml (5.16 mmol) Triethylamin zugegeben und die Lösung 1.5 Stunden bei -65° C gerührt. Zur Aufarbeitung wird der Ansatz auf Raumtemperatur erwärmt und mit 5 ml Wasser versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wäßrige Phase einmal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt säulenchromatographisch (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 4:1) an Kieselgel.

65 $C_{25}H_{32}O_5Si$ (440.61) Ausbeute: 431 mg, 87 % d. Th. farbloser Sirup $[\alpha]_D^{20} = +34.6$ (c 1, CH₂Cl₂) Ber.: C: 68.15 H: 7.32 Gef.: C: 67.54 H: 7.03



¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.99$ (s, 9H, *t*-Bu), 1.30 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 1.35 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.76 (ddd, 1H, H-5), 3.83-3.89 (m, 3H, C<u>H</u>₂-6, H-1), 4.19 (d, 1H, H-1'), 4.28 (d, H-3), 4.59 (dd, 1H, H-4), 7.27-7.36 (m, 10H, Ar) ppm. ²J_{1,1'} = 15.9, ³J_{3,4} = 6.23, ³J_{4,5} = 1.7, ³J_{5,6} = 5.7, ³J_{5,6'} = 7.6 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 18.20$ (1C, <u>C</u>(CH₃)₃), 24.77 (1C, <u>C</u>H₃), 25.54 (3C, *t*-Bu), 29.87 (1C, <u>C</u>H₃), 62.97 (1C, C-6), 73.75 (1C, C-1), 76.35 (1C, C-4), 76.73 (1C, C-3),

77.51 (1C, C-5), 110.39 (1C, <u>C</u>(CH₃)₂), 126.65, 126.70, 128.58, 128.75, 132.19, 132.26, 133.78, 134.25, 134.53, 134.59 (12C, Ar), 203.43 (1C, C-2) ppm.

1,5-Anhydro-6-O-tert-butyldiphenylsilyl-3,4-O-isopropyliden-talitol (66)

Eine Lösung von 8.0 g (18.17 mmol) 1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyltagatopyranose (**65**) in 80 ml Tetrahydrofuran / Ethanol wird auf 0°C abgekühlt und mit 1.72 g (45.4 mmol) NaBH₄ versetzt. Der Ansatz wird 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bis lt. DC kein Edukt mehr nachweisbar ist. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand mit ges. Ammoniumchloridlösung und Dichlormethan versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Die Lösung wird filtriert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das ölige Rohprodukt an Kieselgel (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 2:1) gereinigt.

66 C₂₅H₃₄O₅Si (442.62) Ausbeute: 8.03 g, quantitativ farbloser Sirup $[\alpha]_D^{20} = 63.2$ (c 1, CH₂Cl₂) Ber.: C: 67.84 H: 7.75 Gef.: C: 67.08 H: 7.34



Maldi-TOF (DHB, positive mode): $465 (M + Na)^+$, $481 (M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.98$ (s, 9H, *t*-Bu), 1.32 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 1.51 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 2.31 (d, 1H, O<u>H</u>), 3.36 (dd, 1H, H-1a), 3.66-3.70 (m, 2H, H-2, H-5), 3.79 (dd, 1H, H-6), 3.86 (dd, 1H, H-6^{\circ}), 3.88 (dd, 1H, H-1e), 4.15 (dd, 1H, H-3), 4.29 (dd, 1H, H-4), 7.26-7.96 (m, 6H, Ar), 7.59-7.64 (m, 4H, Ar) ppm.

 ${}^{2}J_{1a,1e} = 11.9, \ {}^{3}J_{1a,2} = 2.0, \ {}^{3}J_{1e,2} = 4.1, \ {}^{3}J_{2,O\underline{H}} = 7.9, \ {}^{3}J_{2,3} = 5.0, \ {}^{3}J_{3,4} = 6.2, \ {}^{3}J_{4,5} = 2.4, \ {}^{3}J_{5,6} = 5.9, \ {}^{3}J_{5,6^{\circ}} = 7.9, \ {}^{2}J_{6,6^{\circ}} = 9.8 \text{ Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 18.21 (1C, <u>C</u>(CH₃)₃), 24.23 (1C, CH₃), 24.92 (1C, CH₃), 25.75 (3C, *t*-Bu), 61.76 (1C, C-6), 63.78 (1C, C-2), 67.18 (1C, C-1), 70.64 (1C, C-4), 71.66 (1C, C-5), 74.63 (1C, C-5), 108.47 (1C, <u>C</u>(CH₃)₂), 126.58, 126.66, 128.65, 128.67, 132.37, 132.45, 134.54, 134.61 (12C, Ar) ppm.

1,5-Anhydro-6-O-tert-butyldiphenylsilyl-3,4-O-isopropyliden-2-O-tosyl-talitol (67)

1.5 g (3.39 mmol) 1,5-Anhydro-6-*O-tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-talitol (**66**) werden in 20 ml trockenem Pyridin aufgenommen und die Lösung mit 678 mg (3.56 mmol) Toluolsulfonylchlorid sowie einer katalytischen Menge DMAP versetzt. Der Ansatz wird 36 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen und zweimal mit Toluol coestilliert. Das ölige Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 3:1) gereinigt.

67 $C_{32}H_{40}O_7SSi (596.81)$ Ausbeute: 2.02 g, quantitativ farbloser Sirup $[\alpha]_D^{20} = 48.3 (c 1, CH_2Cl_2)$ Ber.: C: 64.40 H: 6.76 Gef.: C: 63.98 H: 6.15



Maldi-TOF (DHB, positive mode): 597 $(M + H)^+$, 620 $(M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.96$ (s, 9H, *t*-Bu), 1.25 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 1.42 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 2.37 (s, 3H, C<u>H</u>₃-Ts), 3.38 (dd, 1H, H-1a), 3.57 (ddd, 1H, H-5), 3.71 (dd, 1H, H-6), 3.81 (dd, 1H, H-6⁺), 3.84 (dd, 1H, H-1e), 4.24-4.25 (m, 2H, H3, H-4), 4.52 (ddd, 1H, H-2), 7.25-7.37 (m, 8H, Ar), 7.57-7.62 (m, 4H, Ar), 7.72-7.75 (m, 2H, Ar) ppm. ²J_{1a,1e} = 12.0, ³J_{1a,2} = 3.5, ³J_{1e,2} = 5.5, ³J_{2,3} = 5.0, ³J_{4,5} = 1.8, ³J_{5,6} = 6.0, ³J_{5,6⁺} = 7.4, ²J_{6,6⁺} = 9.9 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 18.20 (1C, <u>C</u>(CH₃)₃), 20.65 (1C, <u>C</u>H₃-Ts), 24.39 (1C, <u>C</u>H₃), 24.80 (1C, <u>C</u>H₃), 25.54 (1C, *t*-Bu), 61.61 (1C, C-1), 63.76 (1C, C-6), 70.01 (1C, C-3/C-4), 70.91 (1C, C-3/C-4), 72.12 (1C, C-2), 74.11 (1C, C-5), 109.55 (1C, <u>C</u>(CH₃)₃), 109.55, 126.57, 126.64, 126.69, 127.01, 127.34, 128.65, 128.78, 132.33, 132.41, 132.81, 133.77, 134.53, 134.60, 143.87 (18C, Ar) ppm.

N^{α} -Benzyloxycarbonyl-3-O-[1,5-anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-O-isopropyliden-galactitol-2]-L-serinbenzylester (68)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV1:

a) 850 mg (1.92 mmol) 1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-O-isopropyliden-galactitol (64), 448 mg (1.44 mmol, 0.75 Äquivalente) Benzyl (2s)-1-Benzyloxycarbonylaziridin-2-carboxylat (97) in 2 ml trockenem Chloroform, 5 Tropfen BF₃·Et₂O-Lösung, 16 Stunden rühren,

b) 3 Tropfen BF₃·Et₂O-Lösung, 16 Stunden rühren.

Säulenchromatographische Reinigung: PE (50-70) / Ethylacetat 6:1.



Maldi-TOF (DHB, positive mode): 754 $(M + H)^+$, 776 $(M + Na)^+$, 793 $(M + K)^+$

¹**H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.98$ (s, 9H, *t*-Bu), 1.24 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 1.38 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 2.85 (dd, 1H, H-1a), 3.33 (ddd, 1H, H-2), 3.55 (ddd, 1H, H-5), 3.60 (dd, 1H, H-3), 3.69 (dd, 1H, H-β-Ser), 3.75, 3.76 (2 x dd, 2 x 1H, C<u>H</u>₂-6), 3.78 (dd, 1H, H-1e), 4.11 (dd, 1H, H-4), 4.17 (dd, 1H, H'-β-Ser), 4.47 (ddd, 1H, H-α-Ser), 5.02-5.24 (m, 4H 2x C<u>H</u>₂-Bn), 5.54 (d, 1H, N<u>H</u>), 7.22-7.35 (m, 16H, H-Ar), 7.59-7.63 (m, 4H, H-Ar) ppm. ²J_{1a,1e} = 11.4, ³J_{1a,2} = 10.4, ³J_{1e,2} = 5.7, ³J_{2,3} = 1.9, ³J_{3,4} = 6.3, ³J_{4,5} = 2.1, ³J_{5,6} = 6.0, ³J_{5,6'} = 7.8, ²J_{6,6'} = 9.8, ³J_{NH,H-α-Ser} = 8.8, ³J_{H-α-Ser,H-β-Ser} = 3.1, ³J_{H-α-Ser,H'-β-Ser} = 3.0, ³J_{H-β-Ser,H'-β-Ser} = 9.7 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ =18.20 (1C, <u>C</u>(CH₃)₃), 25.15 (1C, <u>C</u>H₃), 25.73 (3C, *t*-Bu), 27.07 (1C, <u>C</u>H₃), 53.61 (1C, C-α-Ser), 61.68 (1C, C-6), 65.24 (1C, C-1), 66.08, 66.19 (2 x 1C,2 x <u>C</u>H₂-Bn), 69.03 (1C, C-β-Ser), 71.97 (1C, C-4), 75.26 (1C, C-5), 76.06 (C-2), 76.88 (1C, C-3), 108.35 (1C, <u>C</u>(CH₃)₂), 126.57, 126.66, 127.11, 127.19, 127.38, 127.46, 127.51, 128.64, 128.68, 134.52, 134.59 (24C, Ar), 154.98 (1C, <u>C</u>ONH), 169.07 (1C, <u>C</u>O) ppm.

N-t-Butyloxycarbony1-1-*O*-benzyl-3-*O*-tosyl-L-serinol (71)

340 mg (1.22 mol) *N-t*-Butyloxycarbonyl-*O*-benzyl-L-serinol (**70**) werden in 5 ml trockenem Pyridin gelöst und auf 0°C abgekühlt. Es werden 349 mg (1.83 mmol) Toluolsulfonylchlorid zugegeben und der Ansatz 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und zweimal mit Toluol codestilliert. Der Rückstand wird in Ethylacetat aufgenommen und mit ges. NH₄Cl-Lösung und Wasser gewaschen. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Roprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether (50-70) / Ethylacetat 4:1) gereinigt.

71 $C_{22}H_{29}NO_6S$ (435.54) Ausbeute: 205 mg, 39 % d. Th. farbloses Öl

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.33$ (s, 9H, *t*-Bu), 2.36 (s, 1H, C<u>H</u>₃), 3.35-3.48 (m, 2H, 2 x C<u>H</u>), 3.86-4.05 (m, 3H, 3 x C<u>H</u>), 4.33 (s, 2H, C<u>H</u>₂-Bn), 4.73 (bs, 1H, N<u>H</u>), 7.05-7.28 (m, 7H, Ar), 7.64-7.66 (m, 2H, Ar) ppm.

N-t-Butyloxycarbony1-1-*O*-benzyl-3-*O*-*t*-butyldimethylsilyl-L-serinol (72)

Eine Lösung von 2.44 g (8.76 mmol) *N-t*-Butyloxycarbonyl-*O*-benzyl-L-serinol (**70**) in 20 ml trockenem Dichlormethan wird unter Argonschutzgas auf -10° C abgekühlt und mit 2.15 ml (18.4 mmol) 2,6 Lutidin versetzt. Es werden 1.87 ml (10.5 mmol) *t*-Butyldimethylsilyltri-fluormethansulfonat zugegeben und auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 2 Stunden wird die Lösung mit ges. NH₄Cl-Lösung versetzt, die organische Phase abgetrennt, über Magnesium-sulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

72 C₂₁H₃₇NO₄Si (395.61) Ausbeute: 3.33 g, 96 % d. Th. farbloses Öl $[\alpha]_D^{20} = +74.3$ (c 1, CH₂Cl₂)



¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.00$ (6H, Si(C<u>H</u>₃)₂), 0.83 (s, 9H, Si-*t*-Bu), 1.39 (s, 9H, *t*-Bu), 3.42-3.79 (m, 5H, 2 x C<u>H</u>₂, C<u>H</u>), 4.47 (s, 2H, C<u>H</u>₂-Bn), 4.94 (bs, 1H, N<u>H</u>), 7.21-7.26 (m, 7H, Ar) ppm.

N-t-Butyloxycarbony1-benzyl-1-*O-t*-butyldimethylsilyl-L-serinol (73)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV2:

1.14 g (2.88 mmol) *N-t*-Butyloxycarbony1-1-*O*-benzyl-3-*O-t*-butyldimethylsilyl-L-serinol
(72), 50 ml Methanol, 120 mg Pd/C (10 %), Reaktionszeit: 24 Stunden.

73 $C_{24}H_{31}NO_4Si$ (305.48) Ausbeute: 752 mg, 87 % d. Th. farbloses Öl $[\alpha]_D^{20} = +56.4$ (c 1, CH₂Cl₂)

HO OTBDMS NHBoc

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = \delta = 0.00$ (6H, Si(C<u>H</u>₃)₂), 0.82 (s, 9H, Si-*t*-Bu), 1.38 (s, 9H, *t*-Bu), 2.70 (bs, 1H, O<u>H</u>), 3.55-3.77 (m, 5H, 2 x C<u>H</u>₂, C<u>H</u>), 5.10 (bs, 1H, N<u>H</u>) ppm.

(2S) Benzyl-1-trityl-aziridin-2-carboxylat (95)

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von 20.3g (42.3 mmol) N-Trityl-L-serinbenzylester (**93**) in 150 ml trockenem Tetrahydrofuran wird unter Argonschutzgas 12.9 ml (92 mmol) Triethylamin zugegeben. Unter starkem Rühren wird tropfenweise 3.3 ml (42.7 mmol) Mesylchlorid über einen Zeitraum von 10 Minuten zugesetzt und der Ansatz 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die Reaktionslösung 48 Stunden bei 60 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der feste Rückstand in 200 ml Ethylacetat aufgenommen und zweimal mit 50 ml einer 10% Citronensäurelösung gewaschen. Die organische Phase wird dreimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das feste Rohprodukt wird aus Methanol umkristallisiert **95** $C_{29}H_{25}NO_2$ (419.52) Ausbeute: 15.33g, 86% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 112°C, [Lit.: 107°C]^[112] $[\alpha]_D^{20} = -92.3 c = 1$, THF [Lit.: -95.5 (c 1, THF)]^[112]



¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.34$ (dd, 1H, H-3), 1.86 (dd, 1H, H-3'), 2.20 (dd, 1H, H-2), 5.12 (d, 1H, C<u>H</u>_{2a}-Bn), 5.17 (d, 1H, C<u>H</u>_{2b}-Bn), 7.12-7.42 (m, 20H, Ar) ppm. ³J_{2,3} = 1.5, ³J_{2,3'} = 2.5, ²J_{3,3'} = 6.1, ²J_{CH2-Bn} = 12.2 Hz

Benzyl (2S,3S)-3-Methyl-1-tritylaziridin-2-carboxylat (96)

Die Umsetzung erfolgt analog der Synthese von 95:

15.8 g (35.0 mmol) N-Trityl-L-threoninbenzylester (94), 100 ml trockenem Tetrahydro-furan, 10.6 ml (76.5 mmol) Triethylamin, 2.8 ml (35.2 mmol) Mesylchlorid.Umkristallisation aus Methanol.

96 C₃₀H₂₇NO₂ (433.54) Ausbeute: 9.5g, 63% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 97°C $[\alpha]_D^{20} = -74.5$ (c 1, CHCl₃)

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.28 (d, 3H, CH₃), 1.55 (dq, 1H, H-3), 1.86 (d, 1H, H-2), 5.05 (d, 1H, C<u>H</u>_{2a}-Bn), 5.19 (d, 1H, C<u>H</u>_{2b}-Bn), 7.13-7.42 (m, 20H, Ar) ppm. ³J_{2,3} = 6.6 , ³J_{3,CH3} = 5.6 Hz, ²J_{CH2-Bn} = 12.2 Hz.

(2S)-Benzyl-1-benzyloxycarbonylaziridin-2-carboxylat (97)

Zu einer auf -15°C gekühlten Lösung von 11.33 g (27.0 mmol) (2*S*)-Benzyl-1-tritylaziridin-2carboxylat (**95**) in 90 ml Chloroform und 20 ml trockenem Methanol wird unter Argonschutzgasatmosphäre 46 ml Trifluoressigsäure unter Rühren zugegeben. Der Ansatz wird zwei Stunden unter Kühlung gerührt, anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der feste Rückstand wird erneut in 90 ml Chloroform aufgenommen und auf 0°C gekühlt. Unter Rühren werden 9.58 ml (68.6 mmol) Triethylamin und 10.5 ml (31.3 mmol) Benzylchlorformiat (50% in Toluol) zugegeben und der Ansatz 14 Stunden bei 0°C gerührt. Zur Aufarbeitung wird die Reaktionslösung mit 60 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wäßrige Phase wird zweimal mit Chloroform extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeengt. Das ölige Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50 / 70, Ethylacetat 6:1) gereinigt.

97 $C_{18}H_{17}NO_4$ (311.34) Ausbeute: 6.25g, 74% d. Th. farbloses Öl $[\alpha]_D^{20} = -18.6$ (c 1, CH₂Cl₂) [Lit.: -20.0 (c 0.9, MeOH)]^[114]

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 2.39$ (dd, 1H, H-3), 2.53 (dd, 1H, H-3'), 3.05 (dd, 1H, H-2), 4.97-5.07 (m, 4H, 2 x C<u>H</u>₂-Bn), 7.25-7.28 (m, 10H, Ar) ppm. ³J_{2,3} = 1.0, ³J_{2,3'} = 3.1, ²J_{3,3'} = 5.1 Hz

(2S,3S)-Benzyl-1-benzyloxycarbonyl-3-methylaziridin-2-carboxylat (98)

Die Umsetzung erfolgt analog der Synthese von 97:

11.5 g (26.5 mmol) (2*S*,3*S*)-Benzyl-3-methyl-1-tritylaziridin-2-carboxylat (96), 100 ml Chloroform, 25 ml trockenes Methanol, 50 ml Trifluoressigsäure
Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel (Petrolether 50 / 70, Ethylacetat 6:1).

98 C₁₉H₁₉NO₄ (325.36) Ausbeute: 6.4g, 74% d. Th. farbloses Öl $[\alpha]_D^{20} = -67.1 (c 1, MeOH) [Lit.: -66.2 (c 1, MeOH)]^{[114]}$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.24 (d, 3H, CH₃), 2.74 (dq, 1H, H-3), 3.14 (dd, 1H, H-2), 5.03 (d, 1H, C<u>H_{2a}-Bn</u>), 5.06 (d, 1H, C<u>H_{2b}-Bn</u>), 5.13 (s, 2H, CH₂-Bn⁴), 7.26-7.29 (m, 10H, Ar) ppm.

 ${}^{3}J_{2,3}=6.6$, ${}^{3}J_{3,CH3}=5.6$ Hz, ${}^{2}J_{CH2\text{-}Bn}=12.2$ Hz.
N^{α} -Benzyloxycarbonyl-3-O-[1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-O-isopropyliden-galactitol-2]-L-threoninbenzylester (99)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV1:

- a) 1.5g (3.39 mmol) 1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-O-isopropyliden-galactitol (64), 735 mg (2.26 mmol, 0.66 Äquivalente) Benzyl (2s, 3s)-1-benzyloxycarbonyl-3-methylaziridin-2-carboxylat (98) in 2 ml trockenem Chloroform, 5 Tropfen BF₃·Et₂O-Lösung, 16 Stunden rühren,
- b) 3 Tropfen BF₃·Et₂O-Lösung, 16 Stunden rühren,

5 Tropfen BF₃·Et₂O-Lösung, 16 Stunden rühren.

Säulenchromatographische Reinigung: PE (50-70) / Ethylacetat 8:1.



Maldi-TOF (DHB, positive mode): 768 $(M + H)^+$, 790 $(M + Na)^+$, 806 $(M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.98$ (s, 9H, *t*-Bu), 1.11 (d, 3H, CH₃-Thr), 1.22 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 1.38 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 2.76 (dd, 1H, H-1a), 3.39 (dd, 1H, H-3), 3.41 (dd, 1H, H-2), 3.49 (ddd, 1H, H-5), 3.66 (dd, 1H, H-1e), 3.72, 3.74 (2 x dd, 2H, C<u>H</u>₂-6), 4.03 (dd, 1H, H-4), 4.31 (dd, 1H, H- α -Thr), 4.43 (dd, 1H, H- β -Thr), 5.05-5.24 (m, 4H, 2 x C<u>H</u>₂-Bn), 5.44 (d, 1H, N<u>H</u>), 7.21-7.37 (m, 6H, Ar), 7.59-7.64 (m, 4H, Ar) ppm.

 ${}^{2}J_{1a,1e} = 11.7, \ {}^{3}J_{1a,2} = 9.7, \ {}^{3}J_{1e,2} = 5.1, \ {}^{3}J_{2,3} = 6.6, \ {}^{3}J_{3,4} = 5.1, \ {}^{3}J_{4,5} = 1.5, \ {}^{3}J_{5,6} = 6.1, \ {}^{3}J_{5,6^{\circ}} = 7.9, \ {}^{2}J_{6,6^{\circ}} = 9.7, \ {}^{3}J_{N\underline{H},H-\alpha-Thr} = 9.7, \ {}^{3}J_{H-\alpha-Thr,H-\beta-Thr} = 2.5, \ {}^{3}J_{H-\beta-Thr,CH3-Thr} = 6.1 \ Hz.$

¹³C-NMR (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 15.12$ (1C, <u>C</u>H₃-Thr), 18.21(1C, <u>C</u>(CH₃)₃) 25.20 (1C, <u>C</u>H₃), 25.73 (3C, *t*-Bu), 27.08 (1C, <u>C</u>H₃), 58.04 (1C, C-α-Thr), 61.63 (1C, C-6), 66.12 (1C, C-1), 66.16 (2C, 2 x <u>C</u>H₂-Bn), 71.95 (1C, C-4), 72.36 (1C, C-β-Thr), 72.54 (1C, C-3), 75.27 (1C, C-5), 77.15 (1C, C-2), 108.25 (1C, <u>C</u>(CH₃)₂), 126.57, 126.67, 127.09, 127.17, 127.43,

127.50, 127.52, 127.80, 128.65, 128.69, 132.34, 134.52, 134.60, 155.77 (24C, Ar), 155.77 (1C, <u>C</u>ONH), 169.57 (1C, <u>C</u>OOH) ppm.

2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol (100)

Eine Lösung von 2.8 g (7.56 mmol) 1-C-Allenyl-1,5-anhydro-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1desoxy-galactose (107) in 100 ml trockenem Dichlormethan gelöst wird auf -65°C abgekühlt. Es wird für 30 Minuten Ozon eingeleitet (2-3 Blasen pro Sekunde) bis die Lösung tiefblau gefärbt ist. Anschließend wird Stickstoff bis zur Entfärbung der Lösung eingeleitet und langsam auf Raumtemperatur erwärmt. 0.55 ml (8 mmol) Dimethylsulfid werden zur Zersetzung von gebildetem H₂O₂ zugegeben und der Ansatz über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das aldehydische Rohprodukt 108 ohne weitere Reinigung umgesetzt. Hierzu wird der Aldehyd 108 in 50 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und mit 0.42 ml (7.68 mmol) Essigsäure und 0.3 g (7.9 mmol) Natriumborhydrid versetzt. Der Ansatz wird 14 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bis lt. DC die Umsetzung vollständig ist. Zur Aufarbeitung wird gesättigte Ammoniumchloridlösung zugegeben und gerührt bis das überschüssige Natriumborhydrid vollständig hydrolisiert ist. Der Ansatz wird unter vermindertem Druck eingeengt, und der wäßrig-ölige Rückstand viermal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden über Magnesiumsulfat getrocknet, nach Filtration wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 1:1).

100 C₁₅H₂₂O₁₀ (362.33) 1.7 g (4.6 mmol), 62 % d. Th. klares Öl $[\alpha]^{20}{}_{D} = + 31.3$ (c 0.5, CH₂Cl₂) Ber.: C: 49.72 H: 6.12 Gef.: C: 49.10 H: 6.25



MALDI-TOF (DHB, positive mode): $385 (M + Na)^+$, $401 (M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 2.00, 2.01, 2.03, 2.05$ (4 x s, 12H, 3x C<u>H</u>₃), 3.60 (dd, 1H, H-1), 3.77 (dd, 1H, H-1'), 4.03 (dd, 1H, H-7), 4.19-4.24 (m, 2H, H-2, H-6), 4.35 (dd, 1H, H-7'), 5.20 (dd, 1H, H-3), 5.24 (dd, 1H, H-4), 5.38 (dd, 1H, H-5) ppm. ²J_{1, 1'} = 11.7, ³J_{1,2} = 7.6, ³J_{2,3} = 4.1, ³J_{3,4} = 8.1, ³J_{4,5} = 3.1, ³J_{5,6} = 3.6, ³J_{6,7} = 4.1, ³J_{6,7'} = 8.1, ²J_{7,7'} = 11.7 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 19.66$, 19.73, 19.75, 19.78 (4 x 1C, 4 x C<u>H</u>₃), 58.91 (1C, C-1), 59.97 (1C, C-7), 65.96 (1C, C-5), 66.89, 67.06 (2C, C3, C4), 69.38, 70.19 (2C, C-2, C-6), 168.68, 168.89, 169.14 169.80 (4 x 1C, 4 x <u>C</u>O) ppm.

N-Benzyloxycarbonyl-3'-*O*-[2,6-anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-D-glycero-L-glucoheptitol-1-yl]-L-serinbenzylester (101)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV1:

- a) 800 mg (2.21 mmol) 2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol (100), 460 mg (1.48 mmol, 0.66 Äquivalente) Benzyl (2s)-1-benzyloxycarbonylaziridin-2-carboxylat (97) in 2 ml trockenem Chloroform, 5 Tropfen BF₃·Et₂O-Lösung, 16 Stunden rühren,
- b) 3 Tropfen BF₃·Et₂O-Lösung, 16 Stunden rühren.

Säulenchromatographische Reinigung: PE 50-70 / Ethylacetat 2:1.

101 $C_{33}H_{39}NO_{14}$ (673.67) 797 mg (1.16 mmol), 52 % d. Th. gelbes Öl $[\alpha]^{20}{}_{D} = + 39.5$ (c 1.0, CH₂Cl₂) Ber.: C: 58.84 H: 5.84 N: 2.08 Gef.: C: 58.79 H: 5.88 N: 2.01



MALDI-TOF (DHB, positive mode): 696 $(M + Na)^+$, 712 $(M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.93$, 1.94, 1.97, 2.04 (4 x s, 12H, 4 x CH₃), 3.51 (dd, 1H, H-1), 3.65 (dd, 1H, H-β-Ser) 3.92 (dd, 1H, H-β'-Ser) 3.93 (dd, 1H, H-7), 4.20-4.13 (m, 2H, H-2, H-7'), 4.24 (ddd, 1H, H-6), 4.46 (ddd, 1H, H-α-Ser), 5.06 (d, 2H, CH₂-Bn), 5.15-5.25 (m, 4H, CH₂-Bn, H-3, H-4), 5.30 (dd, 1H, H-5), 5.83 (d, 1H, N<u>H</u>) ppm.

 ${}^{2}J_{1,1^{\circ}} = 10.8, {}^{3}J_{1,2} = 4.3, {}^{3}J_{1^{\circ},2} = 5.5, {}^{3}J_{4,5} = 3.1, {}^{3}J_{5,6} = 3.1, {}^{3}J_{6,7} = 5.3, {}^{3}J_{6,7^{\circ}} = 6.4, {}^{2}J_{7,7^{\circ}} = 9.3, {}^{3}J_{H-\alpha-Ser,NH} = 8.5, {}^{3}J_{H-\alpha-Ser,H-\beta-Ser} = 6.6, {}^{3}J_{H-\alpha-Ser,H-\beta-Ser} = 3.3, {}^{2}J_{H-\beta-Ser,H-\beta-Ser} = 9.8 \text{ Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 19.66, 19.68, 19.71, 19.72 (4 x 1C, 4 x <u>C</u>H₃), 53.45 (Cα-Ser), 60.36 (1C, C-7), 66.03 (<u>C</u>H₂-Bn), 66.40 (1C, C-5), 66.42 (<u>C</u>H₂-Bn), 66.56, 67.13 (2C, C-3, C-4), 68.50 (1C, C-1), 69.15, 69.68 (2C, C-2, C-6), 70.29 (1C, C-β-Ser), 127.01, 127.13, 127.18, 127.43,127.46, 127.59, 134.32, 127.59 (12C, Ar), 156.45 (1C, <u>C</u>ONH), 168.63, 168.86, 168.90, 168.98, 171.23 (5 x 1C, 4 x <u>C</u>O, <u>C</u>OOH) ppm.

N-Benzyloxycarbonyl-3'-*O*-[2,6-anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl]-L-threoninbenzylester (102)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV1:

- a) 800 mg (2.21 mmol) 2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol (100), 474 mg (1.46 mmol, 0.66 Äquivalente) (2s,3s)Benzyl-1-benzyloxycarbonyl-3-methylaziridin-2-carboxylat (98) in 2 ml trockenem Chloroform, 5 Tropfen BF₃·Et₂O-Lösung, 16 Stunden rühren,
- b) 3 Tropfen BF₃·Et₂O-Lösung, 16 Stunden rühren.

Säulenchromatographische Reinigung: PE 50-70 / Ethylacetat 2:1.





MALDI-TOF (DHB, positive mode): 688 $(M + H)^+$, 710 $(M + Na)^+$, 726 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.15$ (d, 3H, C<u>H</u>₃-Thr), 1.93, 1.95, 1.97, 2.03 (4 x s, 12H, 4 x C<u>H</u>₃), 3.35 (dd, 1H, H-1), 3.45 (dd, 1H, H-1'), 3.93 (dd, 1H, H-7), 4.02 (dd, 1H, H-β-Thr), 4.04 - 4 .11 (m, 2H, H-2, H-6), 4.17 (dd, 1H, H-7'), 4.32 (dd, 1H, H-α-Thr), 5.03 - 5.19 (m, 5H, H-3, 2 x C<u>H</u>₂-Bn), 5.27 - 5.31 (m, 2H, H-4, H-5), 5.68 (d, 1H, N<u>H</u>), 7.30-7.23 (m, 10H, Ar) ppm.

 ${}^{2}J_{1,1^{\circ}} = 10.2, \ {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \ {}^{3}J_{1^{\circ},2} = 3.6, \ {}^{3}J_{6,7} = 4.6, \ {}^{3}J_{6,7^{\circ}} = 7.6, \ {}^{2}J_{7,7^{\circ}} = 11.2, \ {}^{3}J_{H-\alpha-Thr,H-\beta-Thr} = 2.0, \ {}^{3}J_{H-\alpha-Thr,NH} = 9.7, \ {}^{3}J_{H-\beta-Thr,CH3-Thr} = 6.1 \ Hz.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 16.06 (1C, <u>C</u>H₃-Thr), 19.66, 19.71 (4 x 1C, 4 x CH₃), 57.28 (1C, C-α-Thr), 60.26 (1C, C-7), 66.06 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 66.26 (2C, C-1, <u>C</u>H₂-Bn), 66.61 (1C, C-3), 66.40 (2C, C-4, C-5), 69.40 (1C, C-β-Thr), 69.66, 74.63 (2C, C-2, C-6), 126.89, 127.06, 127.38, 127.46, 127.54, 127.63, 127.29, 134.29, 135.32 (12C, Ar), 155.83 (1C, <u>C</u>ONH), 168.63, 168.87, 168.98, 169.66, 170.50 (5 x 1C, 4 x <u>C</u>O, <u>C</u>OOH) ppm.

2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gulo-heptitol (103)

Eine Lösung von 1.49 g (3.1 mmol) 2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-D-glycero-L-guloheptonsäure-thiocresolester (**111**) in 40 ml trockenem Ethanol wird auf -5 °C gekühlt und mit 293 mg (7.75 mmol) Natriumborhydrid versetzt. Die Lösung wird eine Stunde gerührt, bis lt. DC kein Edukt mehr nachweisbar ist. Zur Aufarbeitung wird der Ansatz mit gesättigter Ammoniumchloridlösung versetzt und gerührt bis das überschüssige Natriumborhydrid vollständig hydrolysiert ist. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der ölig-kristalline Rückstand in Ethylacetat / Wasser aufgenommen. Die wäßrige Phase wird dreimal mit Ethylacetat extrahiert, die organischen Phasen vereinigt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das ölige Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 1:1) gereinigt.

103 $C_{15}H_{22}O_{10}$ (362.31) 794 mg (2.19 mmol), 71 % d. Th. klares Öl $[\alpha]^{20}{}_{D} = +26.0$ (c 0.5, CH₂Cl₂) Ber.: C: 49.72 H: 6.12 Gef.: C: 49.14 H: 6.32



MALDI-TOF (DHB, positive mode): $385 (M + Na)^+$, $401 (M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.98$, 1.99, 2.06, 2.08 (4 x s, 12H, 4 x C<u>H</u>₃), 3.47 (ddd, 1H, H-2), 3.71 (dd, 1H, H-3), 3.83 (ddd, 1H, H-6), 4.03 (dd, 1H, H-7), 4.05 (dd, 1H, H-7'), 4.28 (dd, 1H, H-1), 4.41 (dd, 1H, H-1'), 4.85 (dd, 1H, H-4), 5.35 (dd, 1H, H-5) ppm. ²J_{1,1'} = 12.2, ³J_{1,2} = 2.0, ³J_{1',2} = 5.1, ³J_{2,3} = 10.2, ³J_{3,4} = 9.7, ³J_{4,5} = 3.1, ³J_{5,6} = 1.0, ³J_{6,7} = 11.2, ³J_{6,7'} = 12.2, ²J_{7,7'} = 14.2 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 19.62, 19.70, 19.77, 19.88 (4 x 1C, C<u>H</u>₃), 60.68 (1C, C-7), 62.50 (1C, C-1), 64.48 (C-3), 66.65 (1C, C-5), 73.33 (1C, C-6), 73.36 (1C, C-4), 77.47 (1C, C-2), 169.14, 169.47, 169.61, 170.73 (4 x 1C, 4 x <u>C</u>O) ppm.

1-C-Allenyl-2,6-anhydro-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-desoxy-α-D-galactopyranose (107)

7.5 g (19.21 mmol) Penta-*O*-acetylgalactose (**106**) werden unter Argon-Schutzgas in 60 ml trockenem Acetonitril gelöst und auf -20°C gekühlt. Zu dieser Lösung werden 5 ml (33.54 mmol) Propargyltrimethylsilan über einen Zeitraum von 5 Minuten zugetropft. Anschließend werden 3 ml (23.88 mmol) BF_3 ·Et₂O hinzugegeben. Der Ansatz wird 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bis lt. DC die Umsetzung vollständig ist. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, wobei die Temperatur des Ansatzes unter 40°C gehalten wird. Der ölige Rückstand wird in Ethylacetat aufgenommen und die organische Phase mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach Trocknung über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt unter vermindertem 50-70 / Ethylacetat 3:1).

107 $C_{17}H_{22}O_9$ (370.35) 3.4g (9.22 mmol), 48 % d. Th. gelbes Öl $[\alpha]^{20}{}_D = + 12.0 (c 1, CH_2Cl_2)$ Ber.: C: 55.13 H: 5.99 Gef.: C: 55.02 H: 5.91



MALDI-TOF (DHB, positive mode): $371 (M+H)^+$, $393 (M + Na)^+$, $409 (M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.94, 1.98, 1.99, 2.08 (4 x s, 12H, 4 x C<u>H</u>₃), 4.00 (dd, 1H, H-6), 4.05 (dd, 1H, H-6'), 4.18 (ddd, 1H, H-5), 4.86 (m, 3H, H-4, H-3'a, H-3'b), 5.18 (dd, 1H, H-2), 5.20 (dd, 1H, H-1), 5.28 (dd, 1H, H-3), 5.36 (dd, 1H, H-1') ppm. ³J_{1,1} = 1.5, ³J_{1,2} = 4.1, ³J_{2,3} = 10.7, ³J_{3,4} = 5.6, ³J_{5,6} = 6.6, ³J_{5,6'} = 6.1 Hz

¹³C-NMR (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 19.65$, 19.67, 19.71, 19.75 (4 x 1C, 4 x C<u>H</u>₃), 60.92 (1C, C-6), 66.76 (1C, C-3), 67.12 (2C, C-1, C-2), 67.34 (1C, C-5), 69.85 (1C, C-4), 76.63 (1C, C-3'), 83.49 (1C, C-1'), 168.85, 169.09, 169.23, 169.47 (4 x 1C, 4 x CO), 208.33 (1C, C-2') ppm.

2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gulo-heptonsäuremethylester (110)

Eine Lösung von 100 mg (0.265 mmol) 2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-D-glycero-L-guloheptonsäure (**109**)^[123] in 3 ml trockenem DMF wird mit 348 mg (1.07 mmol) Cäsiumcarbonat und 0.1 ml (1.79 mmol) Methyliodid versetzt. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt bis lt. DC kein Edukt mehr nachweisbar ist. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in Ethylacetat/Wasser 1:1 aufgenommen und nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

110 $C_{16}H_{22}O_{11}$ (390.34) 96.8 mg (0.25 mmol), 94 % d. Th. gelber Feststoff, Smp.: 150 °C $[\alpha]^{20}{}_{D} = + 8.2$ (c 0.5, CH₂Cl₂) Ber.: C: 49.23 H: 5.68 Gef.: C: 49.09 H: 5.79



MALDI-TOF (DHB, positive mode): $413 (M + Na)^+$, $429 (M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.93$, 1.97, 1.98, 2.10 (4 x s, 12H, 4 x C<u>H</u>₃), 3.69 (s, 3H, COOC<u>H</u>₃), 3.88 (ddd, 1H, H-6), 3.93 (d, 1H, H-2), 4.07 (m, 2H, H-7, H-7⁺), 5.03 (dd, 1H, H-4), 5.30 (dd, 1H, H-3), 5.38 (dd, 1H, H-5) ppm. ³J_{2,3} = 9.7, ³J_{3,4} = 10.2, ³J_{4,5} = 3.6, ³J_{5,6} = 1.0 Hz. ¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 19.58$, 19.61, 19.64, 19.68 (4 x 1C, <u>C</u>H₃), 51.86 (1C, COO<u>C</u>H₃), 60.52 (1C, C-7), 65.59 (1C, C-3), 66.05 (1C, C-5), 70.33 (1C, C-4), 73.56 (1C, C-6), 75.80 (1C, C-2), 166.40, 166.78, 167.89, 168.95, 169.38 (5 x 1C, 4 x <u>C</u>O, <u>C</u>OOH) ppm.

2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gulo-heptonsäure-thiocresolester (111)

Eine Lösung von 2.0 g (5.3 mmol) 2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-D-glycero-L-guloheptonsäure (**109**) in 30 ml trockenem DMF wird unter Argon-Schutzgasatmosphäre auf 0°C gekühlt und mit 1.0 g (6.26 mmol) Carbonyldiimidazol versetzt. Es wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und 2 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend werden 1.86 g (14.9 mmol) 4-Thiocresol hinzugegeben und für eine weitere Stunde gerührt, bis lt. DC kein Edukt mehr nachweisbar ist. Zur Aufarbeitung wird der Ansatz mit 150 ml Ethylacetat verdünnt und die organische Phase je einmal mit gesättigter NaCl-Lösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung anschließend dreimal mit Wasser gewaschen. Die wäßrigen Phasen werden vereinigt und einmal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das ölige Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 2:1) gereinigt.

111 C₂₂H₂₆O₁₀S (482.50)
1.98 g (4.10 mmol), 78 % d. Th. gelbes Öl



MALDI-TOF (DHB, positive mode): $505 (M + Na)^+$, $521 (M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.94$, 1.95, 1.98, 2.02 (4 x s, 12H, 4 x C<u>H</u>₃), 2.30 (s, 3H, Ph-C<u>H</u>₃), 3.96 (ddd, 1H, H-6), 4.01 (d, 1H, H-2), 4.16 (dd, 1H, H-7), 4.18 (dd, 1H, H-7'), 5.03 (dd, 1H, H-4), 5.42 (dd, 1H, H-3), 5.43 (dd, 1H, H-5), 7.15-7.21 (m, 4H, Ar) ppm. ³J_{2,3} = 10.2, ³J_{3,4} = 10.2, ³J_{4,5} = 3.1, ³J_{5,6} = 1.0, ³J_{6,7a} = 11.2, ³J_{6,7b} = 11.7, ²J_{7a,7b} = 9.9 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 19.58$, 19.59, 19.67, 19.70 (4 x 1C, 4 x C<u>H</u>₃), 20.35 (1C, Ph-<u>C</u>H₃), 60.42 (1C, C-7), 65.44, 66.03 (2C, C-3, C-5), 70.40 (1C, C-4), 73.61 (1C, C-6), 80.61 (C-2), 129.18, 133.75, 138.97, 138.97 (6C, Ar), 168.52, 169.04, 169.41 (5 x 1C, 4 x <u>CO, COOH</u>) ppm.

3-*O*-[1,5-Anhydro-6-O*-tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-galactitol-2]-*L*-serin (112)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV2:

325 mg (0.43 mmol) *N*-Benzyloxycarbonyl-3-*O*-[1,5-anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-galactitol-2]-*L*-serinbenzylester (**68**), 20 ml trockenes Methanol, 70 mg Pd/C (10%), 48 Stunden rühren



Maldi-TOF (DHB, positive mode): 530 $(M + H)^+$, 552 $(M + Na)^+$, 568 $(M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 1.01$ (s, 9H, *t*-Bu), 1.30 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 1.45 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.11 (dd, 1H, H-1a), 3.33 (dd, 1H, H-α-Ser), 3.83 (ddd, 1H, H-2), 3.73, (dd, 1H, H-6) 3.78 (dd, 1H, H-6⁴), 3.83-3.88 (m, 3H, H-5, C<u>H</u>₂-β-Ser), 3.90 (dd, 1H, H-1e), 4.13 (dd, 1H, H-3), 4.31 (dd, 1H, H-4), 7.45-7.50 (m, 6H, H-Ar), 7.66-7.69 (m, 4H, H-Ar) ppm. ²J_{1a,1e} = 11.2, ³J_{1a,2} = 10.2, ³J_{1e,2} = 5.6, ³J_{2,3} = 6.6, ³J_{3,4} = 5.6, ³J_{4,5} = 2.0, ³J_{5,6} = 6.6, ³J_{5,6⁴} = 6.6, ²J_{6,6⁴} = 10.2, ³J_{H-α-Ser,H⁴-β-Ser} = 4.6 Hz.}

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, DMSO-d₆): δ =19.14 (1C, <u>C</u>(CH₃)₃), 26.41 (1C, <u>C</u>H₃), 26.90 (3C, *t*-Bu), 28.28 (1C, <u>C</u>H₃), 54.80 (1C, C-α-Ser), 63.35 (1C, C-6), 65.80 (1C, C-1), 69.55 (1C, C-β-Ser), 73.15 (1C, C-4), 75.73 (1C, C-5), 76.43 (C-2), 77.49 (1C, C-3), 108.84 (1C, <u>C</u>(CH₃)₂), 128.21, 128.26, 130.25, 135.43, 135.46, (12C, Ar), 164.0 (1C, <u>C</u>OOH) ppm.

3-*O*-[1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-galactitol-2]-*L*-threonin (113)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV2:

720 mg (0.94 mmol) *N*-Benzyloxycarbonyl-3-*O*-[1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-galactitol-2]-*L*-threoninbenzylester (**99**), 30 ml trockenes Methanol, 150 mg Pd/C (10%), 48 Stunden rühren

113 $C_{29}H_{41}NO_7Si (543.73)$ Ausbeute: 481 mg, 95% d. Th. farbloser Sirup $[\alpha]_D^{20} = -0.7 (c 0.5, MeOH)$



Maldi-TOF (DHB, positive mode): 544 $(M + H)^+$, 566 $(M + Na)^+$, 582 $(M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 0.94$ (s, 9H, *t*-Bu), 1.24 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 1.25 (d, 3H, CH₃-Thr), 1.41 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.07 (dd, 1H, H-1a), 3.38 (vt=dd, 1H, H-β-Thr), 3.58 (ddd, 1H, H-2), 3.67-3.76 (m, 3H, H-5, C<u>H</u>₂-6), 3.80 (dd, 1H, H-1e), 4.07 (dd, 1H, H-3), 4.26 (dd, 1H, H-4), 4.35 (dd, 1H, H-α-Thr), 7.27-7.37 (m, 6H, Ar), 7.56-7.63 (m, 4H, Ar) ppm. ²J_{1a,1e} = 11.3, ³J_{1a,2} = 9.8, ³J_{1e,2} = 5.4, ³J_{2,3} = 6.4, ³J_{3,4} = 5.9, ³J_{4,5} = 1.5, ³J_{N<u>H</u>,H-α-Thr} = 6.2, ³J_{H-α-Thr}, Thr.H-β-Thr = 4.6, ³J_{H-β-Thr}, CH₃-Thr = 5.0 Hz.}

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, MeOH-d₄): δ = 15.43 (1C, <u>C</u>H₃-Thr), 18.45 (1C, <u>C</u>(CH₃)₃), 25.18 (1C, <u>C</u>H₃), 26.11 (3C, *t*-Bu), 27.16 (1C, <u>C</u>H₃), 59.86 (1C, C-β-Thr), 63.21 (1C, C-6), 66.56 (1C, C-1), 72.04 (C-α-Thr), 73.53 (1C, C-4), 74.12 (1C, C-2), 76.51 (1C, C-5), 77.90 (1C, C-3), 127.63, 127.68, 129.80, 135.57, 135.61 (12 C, Ar), 190.05 (1C, <u>C</u>OOH) ppm.

N^{α} -Fluorenylmethoxycarbonyl-3-O-[1,5-anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-O-isopropyliden-galactitol-2]-L-serin (114)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV3:

144 mg (0.27 mmol) 3-*O*-[1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropylidengalactitol-2]-*L*-serin (**112**), 3 ml ges. NaHCO₃-Lösung, 92 mg (0.27 mmol) N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)-succinimid in 1ml DMF. Reaktionszeit: 30 min.

113 C₄₃H₄₉NO₉Si (751.94) Ausbeute: 201 mg, 99% d. Th. farbloses Öl $[\alpha]_D^{20} = +19.7$ (c 1.0, MeOH)



Maldi-TOF (DHB, positive mode): 774 $(M + Na)^+$, 791 $(M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.97$ (s, 9H, *t*-Bu), 1.26 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 1.43 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 2.96 (dd, 1H, H-1a), 3.42 (ddd, 1H, H-2), 3.64 (ddd, 1H, H-5), 3.68-3.79 (m, 4H, C<u>H</u>₂-6, C<u>H</u>₂-β-Ser), 3.84 (dd, 1H, H-1e), 3.92 (dd, 1H, H-3), 4.13 (vt, 1H, Fmoc-CH), 4.22 (dd, 1H, H-4), 4.32 (m, 2H, Fmoc-C<u>H</u>₂), 4.45 (m, 1H, C<u>H</u>-α-Ser), 5.68 (d, 1H, NH), 7.15-7.34 (m, 8H, Ar), 7.5-7.68 (m, 6H; Ar) ppm.

 ${}^{2}J_{1a,1e} = 11.0, \ {}^{3}J_{1a,2} = 10.7, \ {}^{3}J_{1e,2} = 5.9, \ {}^{3}J_{2,3} = 6.9, \ {}^{3}J_{3,4} = 5.6, \ {}^{3}J_{4,5} = 1.9, \ {}^{3}J_{5,6} = 6.4, \ {}^{3}J_{5,6^{\circ}} = 7.8, \ {}^{3}J_{N\underline{H},H-\alpha-Ser} = 8.3 \text{ Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 18.20$ (1C, <u>C</u>(CH₃)₃), 25.12 (1C, <u>C</u>H₃) 25.74 (3C, *t*-Bu), 27.10 (1C, <u>C</u>H₃), 46.10 (1C, Fmoc-<u>C</u>H), 54.58 (1C, C-α-Ser), 61.72 (1C, C-6), 65.13 (1C, C-1), 66.20 (1C, CH₂-Fmoc), 69.03 (1C, C-β-Ser), 75.44 (1C, C-4), 76.23 (1C, C-2), 76.60 (1C, C-5), 76.88 (1C, C-3), 108.58 (1C, <u>C</u>(CH₃)₂), 123.73, 124.08, 126.06, 126.55, 126.66, 126.71, 128.65, 128.68, 132.38. 134.51, 134.59, 140.27, 142.65, 143.31, 155.20 (1C, <u>C</u>ONH), 170.31 (1C, <u>C</u>OOH) ppm.

N^{α} -Fluorenylmethoxycarbonyl-3-*O*-[1,5-anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-galactitol-2]-*L*-threonin (115)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV3:

304 mg (0.56 mmol) 3-*O*-[1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-galactitol-2]-*L*-threonin (**113**), 6 ml ges. NaHCO₃-Lösung, 2 ml DMF, 189 mg (0.56

mmol) N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)-succinimid in 2ml DMF. Reaktionszeit: 45 min.

115 $C_{44}H_{51}NO_9Si$ (765.97) Ausbeute: 356 mg, 83% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 75 °C $[\alpha]_D^{20} = +22.9$ (c 1, MeOH) Ber.: C: 68.99 H: 6.72 N: 1.83 Gef.: C: 68.16 H: 6.83 N: 1.80



Maldi-TOF (DHB, positive mode): 788 $(M + Na)^+$, 804 $(M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 0.98$ (s, 9H, *t*-Bu), 1.12 (d, 3H, CH₃-Thr), 1.29 (s, 3H, CH₃), 1.50 (s, 3H, CH₃), 2.98 (dd, 1H, H-1a) , 3.59 (ddd, 1H, H-2), 3.66 (ddd, 1H, H-5), 3.77 (dd, 1H, H-1e), 3.78-3.80 (m, CH₂-6), 3.93 (dd, 1H, H-3), 4.15 (t, 1H, CH-Fmoc), 3.98 (dd, 1H, H-β-Thr), 4.27 (dd, 1H, H-4), 4.35 (d, 2H, CH₂-Fmoc), 4.42 (dd, 1H, H-α-Thr), 5.58 (d, 1H, NH) 7.22-7.37 (m, 10H, Ar), 7.52-7.70 (m, 8H, Ar) ppm. ²J_{1a,1e} = 11.0, ³J_{1a,2} = 8.3, ³J_{1e,2} = 5.9, ³J_{2,3} = 7.2, ³J_{3,4} = 5.3, ³J_{4,5} = 2.0, ³J_{5,6} = 6.0, ³J_{5,6} = 5.4,

 ${}^{3}J_{N\underline{H},H-\alpha-Thr} = 8.1 \text{ Hz}, {}^{3}J_{H-\alpha-Thr,H-\beta-Thr} = 3.5, {}^{3}J_{H-\beta-Thr,CH3-Thr} = 6.2 \text{ Hz}.$

¹³C-NMR (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 15.12$ (1C, <u>C</u>H₃-Thr), 18.19 (1C, <u>C</u>(CH₃)₃), 25.18 (1C, <u>C</u>H₃), 25.73 (3C, *t*-Bu), 27.10 (1C, <u>C</u>H₃), 46.14 (1C, <u>C</u>H-Fmoc), 56.58 (1C, C-α-Thr), 61.58 (1C, C-6), 65.68 (1C, C-1), 66.17 (1C, CH₂-Fmoc), 72.27 (1C, C-4), 73.21 (1C, C-β-Thr), 74.41 (1C, C-2), 75.55 (1C, C-5), 76.75 (1C, C-3), 108.75 (1C, <u>C</u>(CH₃)₂), 118.99, 124.08, 126.06, 126.60, 126.68, 126.73, 128.67, 134.51, 134.59, 140.28 (24C, Ar), 155.61 (1C, <u>C</u>ONH), 172.50 (1C, <u>C</u>OOH) ppm.

3'-O-[2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl]-L-serin (116)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV2:

473 mg (0.72 mmol) *N*-Benzyloxycarbonyl-3'-*O*-[2,6-anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl]-L-serinbenzylester (**101**), 25 ml trockenes Methanol, 96 mg Pd/C (10%), 12 Stunden rühren.

116 $C_{18}H_{27}NO_{12}$ (449.41) Ausbeute: 290 mg, 89% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 111 °C $[\alpha]_D^{20} = + 28.7$ (c 0.5, MeOH) Ber.: C: 48.11 H: 6.06 N: 3.12 Gef.: C: 47.64 H: 6.02 N: 3.17



Maldi-TOF (DHB, positive mode): 450 $(M + H)^+$, 472 $(M + Na)^+$, 488 $(M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 1.93$, 1.95, 2.00, 2.01 (4 x s, 4 x CH₃), 3.59 (dd, 1H, H-1), 3.63 (dd, 1H, H-α-Ser), 3.72 (dd, 1H, H-β-Ser), 3.75 (dd, 1H, H-1'), 3.84 (dd, 1H, H-β'-Ser), 4.03 (d, 1H, H-7), 4.21-4.30 (m, 3H, H-2, H-6, H-7'), 5.17 (dd, 1H, H-3), 5.26 (dd, 1H, H-4), 5.31 (dd, 1H, H-5) ppm.

 ${}^{2}J_{1,1^{\circ}} = 11.2, \ {}^{3}J_{1,2} = 4.1, \ {}^{3}J_{1^{\circ},2} = 3.5, \ {}^{3}J_{2,3} = 5.3, \ {}^{3}J_{3,4} = 8.8, \ {}^{3}J_{4,5} = 3.0, \ {}^{2}J_{7,7^{\circ}} = 8.0, \ {}^{3}J_{N\underline{H},H-\alpha-Ser} = 7.5 \text{ Hz}, \ {}^{3}J_{H-\alpha-Ser,H-\beta-Ser} = 3.5, \ {}^{3}J_{H-\beta-Ser, H-\beta-Ser} = 10.5 \text{ Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, MeOH-d₄): δ = 20.93, 21.01, 21.04, 21.11 (4 x 1C, 4 x <u>CH</u>₃), 54.65 (1C, C-α-Ser), 62.69 (1C, C-7), 69.28 (1C, C-5), 69.31 (1C, C-3), 69.77 (1C, C-1), 69.81 (1C, C-4), 71.49 (1C, C-β-Ser), 71.74 (1C, C-6), 72.47 (1C, C-2), 157.89 (1C, <u>C</u>OOH), 171.84, 171.99, 172.17, 172.85 (4 x 1C, 4 x <u>C</u>O), ppm.

3'-O-[2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl]-L-threonin (117)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV2:

360 mg (0.54 mmol) *N*-Benzyloxycarbonyl-3'-*O*-[2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl]-L-threoninbenzylester (**102**), 25 ml trockenes Methanol, 72 mg Pd/C (10%), 12 Stunden rühren.

117 $C_{19}H_{29}NO_{12}$ (463.43) Ausbeute: 238 mg, 95% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 120 °C $[\alpha]_D^{20} = +37.0$ (c 1.0, MeOH)



Ber.: C: 49.24 H: 6.31 N: 3.02 Gef.: C: 48.98 H: 6.08 N: 2.93

Maldi-TOF (DHB, positive mode): 464 $(M + H)^+$, 486 $(M + Na)^+$, 502 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 1.23$ (d, 3H, CH₃-Thr), 1.93, 1.95, 2.00, 2.01 (4 x s, 4 x CH₃), 3.33 (d, 1H, H-α-Thr), 3.65 (dd, 1H, H-1), 3.70 (dd, 1H, H-1'), 3.94 (dd, 1H, H-β-Thr), 4.04 (dd, 1H, H-7), 4.2-4.25 (m, 3H, H-2, H-6, H-7'), 5.14 (dd, 1H, H-3), 5.26 (dd, 1H, H-4), 5.28 (dd, 1H, H-5) ppm. ²J_{1,1'} = 10.7, ³J_{1,2} = 4.5, ³J_{1',2} = 6.7, ³J_{2,3} = 5.2, ³J_{3,4} = 8.4, ³J_{4,5} = 3.5, ³J_{5,6} = 2.5, ³J_{6,7} = 6.1, ²J_{7,7'} = 8.5, ³J_{H-α-Thr,H-B-Thr} = 4.6, ³J_{H-β-Thr,CH3-Thr} = 6.1 Hz.}

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, MeOH-d₄): δ = 18.31 (1C, <u>C</u>H₃-Thr) 20.94, 21.06, 21.08, 21.12 (4 x 1C, 4 x <u>C</u>H₃), 61.12 (1C, C-α-Thr), 62.71 (1C, C-7), 68.25 (1C, C-1), 69.27 (1C, C-5), 69.37 (1C, C-1), 69.76 (1C, C-4), 71.86 (1C, C-2), 72.41 (1C, C-6), 76.35 (1C, C-β-Thr), 152.03 (1C, <u>C</u>OOH), 171.89, 172.04, 172.14, 172.85 (4 x 1C, 4 x <u>C</u>O) ppm.

 N^{α} -Fluorenylmethoxycarbonyl 3'-*O*-[2,6-anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-D-glycero-L-ido-heptitol-1-yl]-L-serin (118)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV3:

144.8 mg (0.32 mmol) 3'-*O*-[2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-D-glycero-L-idoheptitol-1-yl]-L-serin (**116**), 4 ml ges. NaHCO₃-Lösung, 1 ml DMF, 108.7 mg (0.32 mmol) N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)-succinimid in 1.5 ml DMF. Reaktionszeit: 45 min.

118 $C_{33}H_{37}NO_{14}$ (671.65) Ausbeute: 210 mg, 97% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 81 °C $[\alpha]_D^{20} = +19.9$ (c 1, MeOH) Ber.: C: 59.01 H: 5.55 N: 2.09 Gef.: C: 59.07 H: 5.85 N: 1.87



Maldi-TOF (DHB, positive mode): 450 $(M + H)^+$, 472 $(M + Na)^+$, 488 $(M + K)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 1.91$, 1.93, 2.01, 2.05 (4 x s, 4 x CH₃), 3.68-3.72 (m, 2H, C<u>H</u>₂-1), 3.74 (dd, 1H, H-β-Ser), 3.83 (dd, 1H, H-β'-Ser), 3.97 (dd, 1H, H-7), 4.17-4.29 (m, 5H, H-2, H-7', Fmoc-CH, Fmoc-C<u>H</u>_{2a}, H-α-Ser), 4.29-4.36 (m, 2H, H-6, Fmoc-C<u>H</u>_{2b}), 5.21 (dd, 1H, H-3), 5.35 (dd, 1H, H-5), 5.39 (dd, 1H, H-4), 7.25-7.36 (m, 4H, Ar), 7.63-7.75 (m, 4H, Ar) ppm.

 ${}^{3}J_{2,3} = 9.14, \ {}^{3}J_{4,5} = 3.6, \ {}^{3}J_{5,6} = 3.0, \ {}^{3}J_{6,7} = 5.7, \ {}^{2}J_{7,7^{\circ}} = 11.4, \ {}^{3}J_{H\text{-Ser-}\alpha,H\text{-Ser-}\beta} = 4.0, \ {}^{3}J_{H\text{-Ser-}\alpha,H\text{-Ser-}\alpha,H\text{-Ser-}\beta} = 5.8, \ {}^{2}J_{H\text{-Ser-}\beta,H\text{-Ser-}\beta^{\circ}} = 10.3 \text{ Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 20.71$, 20.56 (2 x 2C, CH₃), 49.32 (1C, Fmoc-<u>C</u>H), 62.61 (1C, C-7), 68.90 (1C, C-3), 69.12 (1C, C-5), 69.91 (C-4), 70.35 (1C, C-1), 71.65 (1C, C-6), 72.27, 72.30 (2 x 1C, C-2/C-α-Ser), 72.80 (1C, C-β-Ser), 121.00, 126.35, 128.24, 128.86, 143.58, 145.1 (12C, Ar), 159.67 (1C, Fmoc-<u>C</u>O), 171.70, 171.80, 172.36 (5C, 4x <u>C</u>O, <u>C</u>OOH) ppm.

N^{α} -Fluorenylmethoxycarbonyl-3'-O-[2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl]-L-threonin (119)

Die Umsetzung erfolgt gemäß AAV3:

110 mg (0.24 mmol) 3'-*O*-[2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-acetyl-D-glycero-L-glucoheptitol-1-yl]-L-threonin (**117**), 3 ml ges. NaHCO₃-Lösung, 0.5 ml DMF, 81 mg (0.24 mmol) N-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)-succinimid in 1ml DMF. Reaktionszeit: 45 min.

119 $C_{34}H_{39}NO_{14}$ (685.68) Ausbeute: 95 mg, 58% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 89 °C $[\alpha]_D^{20} = + 36.2$ (c 1, MeOH) Ber.: C: 59.56 H: 5.73 N: 2.04 Gef.: C: 60.01 H: 5.89 N: 2.08



Maldi-TOF (DHB, positive mode): 686 $(M + H)^+$, 708 $(M + Na)^+$, 724 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 1.16 (d, 3H, CH₃-Thr), 1.99, 2.01, 2.08, 2.11 (4 x s, 4 x CH₃), 3.66 (dd, 1H, H-1), 3.80 (dd, 1H, H-1'), 3.96-4.08 (m, 2H, H-β-Thr, C<u>H</u>-Fmoc), 4.13-

4.17 (m, 2H, H- α -Thr, C<u>H_{2a}-Fmoc</u>), 4.21-4.30 (m, 4H, C<u>H₂-7, H-2, CH_{2b}-Fmoc</u>), 4.35 (ddd, 1H, H-6), 5.11 (dd, 1H, H-3), 5.31 (dd, 1H, H-5), 5.35 (dd, 1H, H-4), 7.25 (d, 1H, N<u>H</u>), 7.33-7.46 (m, 4H, Ar), 7.77-7.93 (m, 4H, Ar) ppm. ²L₁ = 11.0 ³L₂ = 4.2 ³L₂ = 6.7 ³L₂ = 5.7 ³L₂ = 9.3 ³L₂ = 3.4 ³L₂ = 2.5 ³L₂ = 5.5 ³L₂

$$\label{eq:J11} \begin{split} ^2J_{1,1'} &= 11.0, \ ^3J_{1,2} = 4.2, \ ^3J_{1',2} = 6.7, \ ^3J_{2,3} = 5.7, \ ^3J_{3,4} = 9.3, \ ^3J_{4,5} = 3.4, \ ^3J_{5,6} = 2.5, \ ^3J_{6,7} = 5.5, \ ^3J_{6,7'} = 7.8, \ ^3J_{N\underline{H},H-\alpha-Thr} = 8.6 \ Hz, \ ^3J_{H-\beta-Thr,CH3-Thr} = 6.1 \ Hz. \end{split}$$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, MeOH-d₄): $\delta = 16.62$ (1C, <u>C</u>H₃-Thr) 20.77, 20.86, 20.89 (4 x 1C, 4 x <u>C</u>H₃), 46.96 (1C, <u>C</u>H-Fmoc), 58.70 (1C, C-α-Thr), 61.37 (1C, <u>C</u>H₂-Fmoc), 65.42 (1C, C-1), 66.36 (1C, C-2), 67.38 (1C, C-3), 67.74 (1C, C-5), 67.92 (1C, C-4), 69.30 (1C, C-7), 73.40 (1C, C-6), 75.04 (1C, C-β-Thr), 120.46, 125.76, 127.43, 128.03, 128.06, 140.70, 141.05 (12C, Ar), 158.45 (1C, <u>C</u>O), 169.67, 170.20, 170.24, 170.36 (4 x 1C, 4 x <u>C</u>O) ppm.

3'-O-[1,5-Anhydrogalactitol-2]-L-serin trifluoracetat (124)

150 mg (0.28 mmol) 3-*O*-[1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-galactitol-2]-*L*-serin (**112**) werden in 1 ml 95% Trifluoressigsäure aufgenommen und der Ansatz eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt, bis lt. DC kein Edukt mehr nachweisbar ist. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in Wasser aufgenommen und die Lösung erneut unter vermindertem Druck eingeengt.

124 C₁₁H₁₈F₃NO₉ (365.26) Ausbeute: 86 % d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 87 °C $[α]_D^{20} = + 17.4$ (c 1, H₂O)



ESI-MS (20 V, positive mode): $252 (M+H)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 3.03$ (dd, 1H, H-1a), 3.38 (ddd, 1H, H-5), 3.44-3.58 (m, 4H, H-2, H-3, C<u>H</u>₂-6), 3.77 (dd, 1H, H-4), 3.90-4.03 (3H, H-1⁺, C<u>H</u>₂-β-Ser), 4.05 (dd, 1H, H-α-Ser) ppm.

 ${}^{2}J_{1a,1e} = 11.3, \ {}^{3}J_{1a,2} = 10.2, \ {}^{3}J_{3,4} = 3.0, \ {}^{3}J_{4,5} = 1.1, \ {}^{3}J_{5,6} = 4.5, \ {}^{3}J_{5,6'} = 7.6, \ {}^{3}J_{H-\alpha-Ser,H-\beta-Ser} = 3.7, \ {}^{3}J_{H-\alpha-Ser,H-\beta'-Ser} = 4.8 \text{ Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 54.03 (1C, C-α-Ser), 61.68 (1C, C-6), 67.23 (1C, C-1), 68.06 (1C, C-β-Ser), 69.49 (1C, C-4), 73.53 (1C, C-2), 76.18 (1C, C-3), 79.70 (1C, C-5), ppm.

3'-O-[1,5-Anhydrogalactitol-2]-L-threonin trifluoracetat (125)

110 mg (0.2 mmol) 3-*O*-[1,5-Anhydro-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-*O*-isopropyliden-galactitol-2]-*L*-threonin (**113**) werden in 1 ml 95% Trifluoressigsäure aufgenommen und der Ansatz eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt, bis lt. DC kein Edukt mehr nachweisbar ist. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt der Rückstand in Wasser aufgenommen und die Lösung erneut unter vermindertem Druck eingeengt.

125 $C_{12}H_{20}F_{3}NO_{9}$ (379.28) Ausbeute: 66 mg, 87% d. Th. farbloser Feststoff, Smp.: 96 °C $[\alpha]_{D}^{20} = +18.6$, (c 1, H₂O)



ESI-MS (10 V, positive mode): $266 (M + H)^+$

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.16$ (d, 1H, C<u>H</u>₃-Thr), 3.02 (dd, 1H, H-1a), 3.36 (ddd, 1H, H-5), 3.49 (dd, 1H, H-3), 3.52-3.53 (m, 2H, C<u>H</u>₂-6), 3.75 (d, 1H, H-α-Thr), 3.76 (dd, 1H, H-4), 3.90 (dd, 1H, H-1e), 4.17 (dq, 1H, H-β-Thr) ppm. ²J_{1a,1e} = 11.2, ³J_{1a,2} = 10.2, ³J_{1e,2} = 5.4, ³J_{2,3} = 9.7, ³J_{3,4} = 3.3, ³J_{4,5} = 1.2, ³J_{5,6} = 4.5, ³J_{5,6'} = 7.6

 ${}^{3}J_{H-\alpha-Thr,H-\beta-Thr} = 4.6, {}^{3}J_{H-\beta-Thr,CH3-Thr} = 6.5 \text{ Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 18.10 (1C, <u>C</u>H₃-Thr), 58.86 (1C, C-α-Thr), 61.67 (1C, C-6), 68.20 (1C, C-1), 69.47 (1C, C-4), 73.97 (1C, C-2/C-3), 74.47 (1C, C-β-Thr), 75.18 (1C, C-2/C-3), 79.60 (1C, C-5), 171.57 (1C, <u>C</u>O) ppm.

3'-O-[2,6-Anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl]-L-serin (126)

93.1 mg (0.21 mmol) 3'-O-[2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol-1yl]-L-serin (**116**) werden in 8 ml trockenem Methanol gelöst und mit 1M Natriummethanolatlösung in Methanol versetzt bis pH = 9.5. Der Ansatz wird 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bis lt. DC die Umsetzung vollständig erfolgt ist. Zur Aufarbeitung wird mit Amberlite IR120 (H⁺-Form) bis zum neutralen pH versetzt und filtriert. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.



ESI-MS (10 V, positive mode): $282 (M + H)^+$.

¹**H-NMR** (500 MHz, D₂O): δ = 3.54 (dd, 1H, H-7), 3.58 (dd, 1H, H-7⁺), 3.58-3.64 (m, 2H, H-1, 1H aus H-4/H-5/H-6), 3.74-3.83 (m, 6H, H-3, H-Ser-α, CH₂-Ser-β, 2H aus H-4/H-5/H-6), 3.87 (dd, 1H, H-1⁺), 4.10 (ddd, 1H, H-2) ppm. ²J_{1,1⁺} = 10.2, ³J_{1⁺,2} = 6.2, ³J_{2,3} = 3.5, ³J_{6,7} = 4.4, ³J_{6,7⁺} = 7.7, ²J_{7,7⁺} = 11.8 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, MeOH-d₄): δ = 54.98 (1C, C-α-Ser), 61.35 (1C, C-7), 66.95 (1C, C-Ser-β), 67.89, 69.09, 69.19 (1C, C-1), 70.39, 73.58, 74.03 (1C, C-2) ppm.

3'-O-[2,6-Anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl]-L-threonin (127)

95.3 mg (0.21 mmol) 3'-O-[2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-acetyl-D-glycero-L-gluco-heptitol-1yl]-L-threonin (**117**) werden in 8 ml trockenem Methanol gelöst und mit 1M Natriummethanolatlösung in Methanol versetzt bis pH = 9.5. Der Ansatz wird 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bis lt. DC die Umsetzung vollständig erfolgt ist. Zur Aufarbeitung wird mit Amberlite IR120 (H⁺-Form) bis zum neutralen pH versetzt und filtriert. Anschliessend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.



ESI-MS (20 V, positive mode): 296 $(M + H)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, D₂O): $\delta = 1.18$ (d, 1H, CH₃-Thr), 3.52 (d, 1H, H-Thr-α), 3.54-3.70 (m, 5H, C<u>H</u>₂-1, H-4, C<u>H</u>₂-7), 3.74 (ddd, 1H, H-6), 3.82 (dd, 1H, H-5), 3.86 (dd, 1H, H-3), 3.93 (dd, 1H, H-Thr-β), 4.06 (ddd, 1H, H-2) ppm.

 ${}^{3}J_{1,2} = 3.9, \, {}^{3}J_{1,2} = 8.9, \, {}^{3}J_{2,3} = 6.2, \, {}^{3}J_{3,4} = 9.7, \, {}^{3}J_{4,5} = 3.4, \, {}^{3}J_{5,6} = 1.8, \, {}^{3}J_{6,7} = 4.6, \, {}^{3}J_{6,7'} = 6.5, \, {}^{3}J_{H-\alpha-1} = 4.6, \, {}^{3}J_{H-\beta-Thr,CH3-Thr} = 6.5 \text{ Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, D₂O): δ = 16.71 (1C, CH₃-Thr), 55.50 (1C, C-α-Thr), 61.27 (1C, C-7), 64.89 (1C, C-1), 67.92 (1C, C-3), 69.04 (1C, C-5), 70.42 (1C, C-4), 73.28 (1C, C-6), 74.71, 74.74 (2 x 1C, C-2, C-β-Thr) ppm.

Ammonium (2,6-anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl) (uridin-5'-yl) diphosphat (133)

80 mg (0.29 mmol) (2,6-Anhydro-D-glycero-L-ido-heptitol-1-yl) phosphat (**146**) werden in 4 ml Wasser gelöst, mit 12 ml Pyridin und 128 μl (0.293 mmol) Tri-*N*-octylamin versetzt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wird dreimal mit je 1.5 ml trockenem Pyridin codestilliert Es werden dann 367 mg (0.465 mmol) Uridin-5'monophosphomorpholidat hinzugegeben und erneut dreimal mit je 1.5 ml trockenem Pyridin codestilliert. Der Ansatz wird zwei Stunden im Vakuum getrocknet und anschließend mit 65 mg (0.92 mmol) 1*H*-Tetrazol sowie 1.5 ml trockenem Pyridin versetzt. Die trübe Lösung wird zwei Tage bei Raumtemperatur gerührt, bis lt. DC kein Edukt mehr nachweisbar ist. Zur Aufarbeitung wird die Reaktionslösung mit 2 ml Wasser verdünnt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonatlösung aufgenommen und mit Diethylether extrahiert. Zum Entfernen des Lösungsmittels wird die wäßrige Phase unter vermindertem Druck eingeengt, der feste Rückstand in Wasser aufgenommen und das Lösungsmittel erneut im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird gelchromatographisch an Bio-Gel P2 (0.25 M Ammoniumhydrogencarbonat) gereinigt.



MALDI-TOF (DHB, negative mode): 579 (M - NH_4^+)⁻.

¹**H-NMR** (500 MHz, D₂O): $\delta = 3.53$ (dd, 1H, H-7), 3.61 (dd, 1H, H-7⁺), 3.72 (dd, 1H, H-4), 3.84-3.87 (m, 1H, H-5, H-6), 3.88 (dd, 1H, H-3), 4.02 (dd, 1H, H-5-Rib), 4.04 (dd, 1H, H-1), 4.08-4.06 (m, 1H, H-5⁺-Rib), 4.10 (ddd, 1H, H-2), 4.12-4.14 (m, 2H, H-4-Rib, H-1⁺), 4.19-4.22 (m, 2H, H-2-Rib, H-3-Rib), 5.80 (d, 1H, H-1-Rib), 5.82 (d, 1H, H-5-U), 7.80 (d, 1H, H-6-U) ppm.

 ${}^{2}J_{1,1'} = 9.1, {}^{3}J_{1,2} = 5.7, {}^{3}J_{2,3} = 5.6, {}^{3}J_{3,4} = 9.8, {}^{3}J_{4,5} = 3.4, {}^{3}J_{6,7} = 7.5, {}^{3}J_{6,7'} = 4.4, {}^{2}J_{7,7'} = 11.8, {}^{3}J_{1-1}$ Rib,2-Rib = 4.1, ${}^{3}J_{4-Rib,5-Rib} = 5.5, {}^{2}J_{5-Rib,5'-Rib} = 8.3, {}^{3}J_{5-U,6-U} = 8.1$ Hz.

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): δ = 61.15 (1C, C-7), 62.60 (d, 1C, C-1), 65.25 (d, 1C, C-5-Rib), 67.95 (1C, C-3), 69.00 (1C, C-5), 70.37 (1C, C-2-Rib / C-3-Rib), 73.61 (1C, C-6), 73.72 (1C, C-4), 74.15 (1C, C-2-Rib / C-3-Rib), 74.50 (1C, C-2), 83.63 (d, 1C, C-4-Rib), 88.68 (1C, C-1-Rib), 103.01 (1C, C-6-U), 142.01 (1C, C-5-U), 152.15 (1C, C-4-U), 166.63 (1C, C-2-U) ppm. ${}^{2}J_{C-1,P} = 5.0, {}^{2}J_{C-5-Rib,P'} = 5.1, {}^{3}J_{C-4-Rib,P'} = 9.2$ Hz.

³¹**P-NMR** (80 MHz, D₂O): -10.54 (d, 1P), -10.92 (d, 1P) ppm. ${}^{2}J_{P,P} = 20.0 \text{ Hz}$

Ammonium (3-acetamido-2,6-anhydro-3-desoxy-D-glycero-D-ido-heptitol-1-yl) (uridin-5'-yl) diphosphat (134)

Die Umsetzung erfolgt analog der Synthese von 133:

- a.) 100 mg (0.32 mmol) (3-Acetamido-2,6-anhydro-3-desoxy-D-glycero-D-ido-heptitol-1-yl)
 phosphat (164), 10 ml Pyridin, 128 μl (0.293 mmol) Tri-*N*-octylamin.
- b.) 371 mg (0.51 mmol) Uridin-5'-monophosphomorpholidat, 71 mg (1.01 mmol) 1*H*-Tetrazol, 2 ml trockenes Pyridin.

Reaktionszeit: drei Tage, gelchromatographische Reinigung an Bio-Gel P2 (0.25 M Ammoniumhydrogencarbonatlösung.





MALDI-TOF (DHB, negative mode): $620 (M - NH_4^+)^-$.

¹**H-NMR** (500 MHz, D₂O): $\delta = 1.89$ (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.29 (dd, 1H, H-5), 3.59 (dd, 1H, H-7), 3.76 (dd, 1H, H-7⁺), 3.80 (ddd, 1H, H-6), 3.90 (dd, 1H, H-4), 3.95 (dd, 1H, H-3), 4.03-4.09 (m, 3H, H-1, H-2, H-5⁺-Rib), 4.12 (dd, 1H, H-5-Rib), 4.15-4.19 (m, 2H, H-1, H-4-Rib), 4.23-4.26 (m, 2H, H-2-Rib, H-3-Rib), 5.85 (d, 1H, H-1-Rib), 5.86 (d, 1H, H-5-U), 7.83 (d, 1H, H-6-U) ppm.

 ${}^{3}J_{2,3} = 6.0, \, {}^{3}J_{3,4} = 10.6, \, {}^{3}J_{4,5} = 8.2, \, {}^{3}J_{5,6} = 9.9, \, {}^{3}J_{6,7} = 5.2, \, {}^{3}J_{6,7'} = 2.3, \, {}^{2}J_{7,7'} = 12.3, \, {}^{3}J_{1-Rib,2-Rib} = 4.1, \, {}^{3}J_{4-Rib,5-Rib} = 4.5, \, {}^{3}J_{5-Rib,5'-Rib} = 11.8, \, {}^{3}J_{5-U,6-U} = 8.2 \text{ Hz}$

¹³**C-NMR** (125 MHz, D₂O): δ = 22.32 (1C, <u>C</u>H₃), 52.73 (1C, C-3), 61.47 (1C, C-7), 65.12 (d, 1C, C-5-Rib), 65.30 (d, 1C, C-1), 70.05 (1C, C-2-Rib/C-3-Rib), 71.03 (1C, C-5), 72.91 (d, 1C, C-2), 71.73 (1C, C-4), 74.15 (1C, C-2-Rib/C-3-Rib), 75.42 (1C, C-6), 79.40 (d, 1C, C-4-Rib), 88.76 (1C, C-1-Rib), 103.02 (1C, C-6-U), 141.99 (1C, C-5-U), 152.20 (1C, C-4-U), 166.61 (1C, C-2-U), 175.19 (1C, <u>C</u>ONH) ppm. ²J_{C-1} $_{P} = 5.1$, ³J_{C-2} $_{P} = 9.2$, ²J_{C-5-Rib} $_{P} = 6.1$, ³J_{C-4-Rib} $_{P} = 8.1$ Hz

³¹**P-NMR** (80 MHz, D₂O): -10.84 (d, 1P), -11.24 (d, 1P) ppm. ²J_{P,P} = 20.9 Hz

Ammonium (3-acetamido-2,6-anhydro-3-desoxy-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl) (uridin-5'-yl) diphosphat (135)

Die Umsetzung erfolgt analog der Synthese von 133:

- a.) 90 mg (0.29 mmol) (3-Acetamido-2,6-anhydro-3-desoxy-D-glycero-D-gluco-heptitol-1-yl) phosphat (168), 10 ml Pyridin, 105 μl (0.29 mmol) Tri-*N*-octylamin aufgenommen
- b.) 314 mg (0.42 mmol) Uridin-5'-monophosphomorpholidat, 63 mg (0.90 mmol) 1*H*-Tetrazol, 2.5 ml

Reaktionszeit: drei Tage, gelchromatographische Reinigung an Bio-Gel P2 (0.25 M Ammoniumhydrogencarbonatlösung).



MALDI-TOF (DHB, negative mode): $620 (M - NH_4^+)^-$.

¹**H-NMR** (500 MHz, D₂O): δ = 1.89 (2, 3H, CH₃), 3.46-3.58 (m, 2H, CH₂-7), 3.82 (m, 1H, H-5), 3.95-4.20 (m, 11H), 5.79-5.82 (m, 2H, H-1-Rib, H-5-U), 7.79 (d, 1H, H-6-U) ppm. ³J = 7.9_{5-U,6-U} Hz

¹³**C-NMR** (125 MHz, D₂O): $\delta = 22.35$ (1C, <u>C</u>H₃), 48.89 (1C, C-3), 61.89 (1C, C-7), 65.34 (d, 1C, C-5-Rib), 65.37 (d, 1C, C-1), 70.05 (1C, C-2-Rib/C-3-Rib), 71.03 (1C, C-5), 72.91 (d, 1C, C-2), 71.73 (1C, C-4), 74.15 (1C, C-2-Rib/C-3-Rib), 75.42 (1C, C-6), 79.40 (d, 1C, C-4-Rib), 88.75 (1C, C-1-Rib), 102.98 (1C, C-6-U), 141.98 (1C, C-5-U), 152.20 (1C, C-4-U), 166.61 (1C, C-2-U), 175.19 (1C, <u>C</u>ONH) ppm.

 $^{2}J_{C\text{-}1,P} = 5.1, \ ^{3}J_{C\text{-}2,P} = 9.2, \ ^{2}J_{C\text{-}5\text{-}Rib,P^{\text{+}}} = 6.1, \ ^{3}J_{C\text{-}4\text{-}Rib,P^{\text{+}}} = 8.1 \ Hz$

³¹**P-NMR** (202 MHz, D₂O-MeOH 2:1, 253 K): -8.73 (d, 1P), -8.99 (d, 1P) ppm. ²J_{P,P} = 20 Hz

1-C-Allenyl-2,6-anhydro-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-1-desoxy-α-D-galactopyranose (142)^[159]

Eine Lösung von 2.5 g (4.5 mmol) Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-α-D-galactopyranosid (**141**) in 30 ml trockenem Acetonitril wird unter Argon-Schutzgas auf 4°C gekühlt. Zu dieser Lösung werden 2.5 ml (16.77 mmol) Propargyltrimethylsilan zugetropft und anschließend 0.8 ml (4.43 mmol) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat hinzugegeben. Der Ansatz wird 24 Stunden bei 4°C gerührt bis lt. DC die Umsetzung vollständig ist. Zur Aufarbeitung wird der Ansatz mit gesättigter Ammoniumchloridlösung versetzt und die organische Phase mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Petrolether 50-70 / Ethylacetat 4:1).

142 $C_{37}H_{38}O_5$ (562.70) Ausbeute: 2.0 g, 79 % d. Th. gelbes Öl



¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 3.49$ (dd, 1H, H-6), 3.54 (dd, 1H, H-6'), 3.64 (dd, 1H, H-3), 3.90-3.94 (m, 2H, H-4, H-5), 4.05 (dd, 1H, H-2), 4.65 (dd, 1H, H-1), 4.73 (dd, 1H, H-3'a), 4.33-4.82 (m, 8H, 4 x C<u>H</u>₂-Bn), 4.74 (dd, 1H, H-3'b), 5.34 (ddd, 1H, H-1'), 7.18-7.26 (m, 20H, Ar) ppm.

 ${}^{3}J_{1\ 2}=4.1,\ {}^{3}J_{2,3}=9.2,\ {}^{3}J_{3,4}=2.5,\ {}^{3}J_{5,6^{\circ}}=6.6,\ {}^{3}J_{5,6^{\circ}}=6.1,\ {}^{2}J_{6,6^{\circ}}=9.7,\ {}^{3}J_{1,1^{\prime}}=5.1,\ {}^{4}J_{1^{\prime},3^{\prime}a}=6.6,\ {}^{4}J_{1^{\prime},3^{\prime}b}=6.6,\ {}^{2}J_{3^{\prime}a,3^{\prime}b}=8.7\ \mathrm{Hz}.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 67.48$ (1C, C-6), 70.70 (1C, C-1), 70.79 (1C, C-5), 71.89, 72.10, 72.33, 73.33 (4 x 1C, 4 x <u>C</u>H₂-Bn), 73.85 (1C, C-4), 75.53 (1C, C-2), 75.74 (C-3'), 77.90 (1C, C-3), 85.08 (1C, C-1'), 126.42, 126.47, 126.57, 126.62, 126.77, 127.21, 127.33, 127.38, 137.15, 137.59, 137.67 (24C, Ar), 207.92 (C-2') ppm.

2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-benzyl-D-glycero-L-gluco-heptitol (144)

Eine Lösung von 2.0 g (3.55 mmol) 1-C-Allenyl-2,6-anhydro-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-1desoxy-galactose (142) wird in 80 ml trockenem Dichlormethan gelöst und auf -65°C abgekühlt. Es wird für zwei Stunden Ozon eingeleitet (2-3 Blasen pro Sekunde) bis die Lösung eine tiefblaue Färbung angenommen hat. Dann wird Stickstoff bis zur Entfärbung der Lösung eingeleitet und auf Raumtemperatur erwärmt. 2 ml (27.4 mmol) Dimethylsulfid werden zugegeben und der Ansatz über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt **143** ohne weitere Reinigung umgesetzt. Hierzu wird eine auf 0°C gekühlte Lösung des Aldehyds **143** in 40 ml trockenem Ethanol mit 0.3 g (7.9 mmol) Natriumborhydrid versetzt. Es wird 20 Minuten bei 0°C und anschließend vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bis lt. DC die Umsetzung vollständig ist. Zur Aufarbeitung wird gesättigte Ammoniumchloridlösung zugegeben und gerührt bis das überschüssige Natriumborhydrid vollständig hydrolysiert ist. Der Ansatz wird unter vermindertem Druck eingeengt, der wäßrig-ölige Rückstand viermal mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Filtration wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 4:1).

144 $C_{35}H_{38}O_6$ (554.68) Ausbeute: 671.8 mg, 34% d. Th. gelbes Öl $[\alpha]^{20}{}_D = + 30.0$ (c 1.0, CH₂Cl₂) Ber.: C: 75.79 H: 6.91 Gef.: C: 75.58 H: 6.84



MALDI-TOF (DHB, positive mode): 577 $(M + Na)^+$, 593 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 3.54$ (dd, 1H, H-1), 3.61 (dd, 1H, H-7), 3.68 (dd, 1H, H-4), 3.75 (dd, 1H, H-7'), 3.77-3.81 (m, 2H, H-1', H-3), 3.92 (dd, 1H, H-5), 3.97-4.03 (m, 2H, H-2, H-6), 4.36-4.65 (m, 8H, 4 x CH₂-Bn), 7.16-7.27 (m, 20H, Ar) ppm. ²J_{1,1'} = 10.2, ³J_{1,2} = 4.5, ³J_{3,4} = 7.1, ³J_{4,5} = 3.1, ³J_{5,6} = 4.1, ³J_{6,7} = 4.6, ²J_{6,7'} = 8.1, ²J_{7,7'} = 11.7 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 59.78 (1C, C-7), 66.39 (1C, C-1), 70.30, 72.10 (2C, C-2, C-6), 71.98, 72.13, 72.27, 72.31 (4 x 1C, 4 x <u>C</u>H₂-Bn), 73.00 (1C, C-5), 74.98 (1C, C-3), 75.55 (1C, C-4), 126.50, 126.64, 126.70, 126.75, 126.81, 126.89, 126.97, 127.00, 127.10, 127.33, 127.37, 127.48, 136.80, 137.15, 137.26, 137.31 (24C, Ar) ppm.

(2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-O-benzyl-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl) di-Ophenylphosphat (145)

Eine Lösung von 252 mg (0.45 mmol) 2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-benzyl-D-glycero-L-gluco-heptitol (**144**) wird unter Argonschutzgas in 3 ml trockenem Pyridin gelöst. Es werden 0.2 ml (1.0 mmol) Diphenylchlorophosphat und eine Spatelspitze DMAP zu der Reaktions-lösung gegeben und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und dreimal mit Toluol codestilliert. Das ölige Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether 50-70 / Ethylacetat 4:1) gereinigt.

145 $C_{47}H_{47}O_9P$ (786.85) Ausbeute: 273 mg, 77 % d. Th. klares Öl $[\alpha]^{20}{}_D = +16.3$ (c 1.0, CH₂Cl₂) Ber.: C: 71.74 H: 6.02 Gef.: C: 71.28 H: 5.98



MALDI-TOF (DHB, positive mode): 809 $(M + Na)^+$, 823 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 3.59$ (dd, 1H, H-7), 3.60 (dd, 1H, H-4), 3.70 (dd, 1H, H-7'), 3.80 (dd, 1H, H-3), 3.93 (dd, 1H, H-5), 4.09 (ddd, 1H, H-6), 4.17 (ddd, 1H, H-2), 4.31 (dd, 1H, H-1), 4.60 (m, 9H, 4 x C<u>H</u>₂-Bn, H-1'), 7.25-7.06 (m, 30H, Ar) ppm. ³J_{2,3} = 4.1, ³J_{3,4} = 6.6, ³J_{4,5} = 3.6, ³J_{5,6} = 3.1, ³J_{6,7} = 4.6, ³J_{6,7'} = 7.1, ²J_{7,7'} = 10.2 Hz.

¹³C-NMR (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 65.09 (d, 1C, C-1), 65.78 (1C, C-7), 68.91 (1C, C-2), 71.83, 72.12, 72.18, 72,45 (4 x 1C, <u>C</u>H₂-Bn), 72.26 (1C, C-6), 72.75 (1C, C-5), 74.02 (1C, C-3), 75.49 (1C, C-4), 119.05, 119.10, 119.14, 124.31, 126.44, 126.60, 126.75, 126.81, 126.93, 127.30, 127.36, 127.41, 128.73, 128.76, 137.23, 137.30 (36 C, Ar) ppm. ²J_{C-1,P} = 6.1 Hz.

³¹**P-NMR** (80 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.0$ ppm.

(2,6-Anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitol-1yl) phosphat (146)

Eine Lösung von 263 mg (0.334 mmol) (2,6-Anhydro-3,4,5,7-tetra-*O*-benzyl-D-glycero-Lido-heptitol-1-yl) di-*O*-phenylphosphat (**145**) in 25 ml trockenem Methanol wird mit 100 mg Pd/C (10%) versetzt und 72 Stunden bei 45°C unter Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck gerührt. Der Katalysator wird über einen Membranfilter abgetrennt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene ölige Phosphatester wird erneut in 15 ml trockenem Methanol aufgenommen und mit 50 mg Platindioxid versetzt. Anschließend wird 72 Stunden bei RT unter Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck gerührt. Zur Aufarbeitung wird der Katalysator über einen Membranfilter abgetrennt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

146 C₇H₁₅O₉P (274.16) Ausbeute: 82 mg, 100 % d. Th. farbloser Feststoff (hygroskopisch) $[α]^{20}_{D} = +30.8$ (c 0.5, H₂O)



MALDI-TOF (DHB, positive mode): 297 $(M + Na)^+$, 313 (M + K).

¹**H-NMR** (400 MHz, D₂O): $\delta = 3.53$ (dd, 1H, H-7), 3.60 (dd, 1H, H-7'), 3.69 (dd, 1H, H-4), 3.81-3.83 (m, 2H, H-5, H-6), 3.88 (dd, 1H, H-3), 3.93 (dd, 1H, H-1), 4.05-4.09 (m, 2H, H-1', H-2) ppm. ²J_{1,1'} = 8.6, ³J_{1,2} = 6.1, ³J_{2,3} = 5.6, ³J_{3,4} = 9.7, ³J_{4,5} = 3.6, ³J_{6,7} = 4.1, ³J_{6,7'} = 7.6, ²J_{7,7'} = 11.7 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, D₂O): δ = 61.23 (1C, C-7), 61.79 (d, 1C, C-1), 67.86 (1C, C-3), 69.03 (1C, C-5), 70.34 (1C, C-4), 73.51 (1C, C-6), 74.59 (1C, C-2) ppm. ²J_{C-1,P} = 5.1 Hz.

³¹**P-NMR** (80 MHz, D_2O): $\delta = 0.96$ ppm

2-Acetamido-3,4,6-tri-O-benzyl-2-desoxy-D-galactopyranose (153)

9.5 g (19.98 mmol) 2-Azido-3,4,6-tri-O-benzyl-2-desoxygalactose ^[160] werden in 200 ml trokkenem Methanol aufgenommen, mit 1 g Pd/C (10%) versetzt und bei Raumtemperatur und Normaldruck unter Wasserstoffatmosphäre 12 Stunden gerührt. Der Katalysator wird über einen Membranfilter abgezogen und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in 100 ml Essigsäureanhydrid gelöst und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird mit 100 ml Wasser und 100 ml Aceton versetzt, so daß eine klare Lösung entsteht. Durch Zugabe von 400 ml Wasser wird das Produkt dann zur Fällung gebracht. Der Zucker wird durch Filtration abgetrennt und aus Methanol umkristallisiert.

153 $C_{29}H_{33}NO_6$ (491.58) Ausbeute: 7.1 g, 72 % d. Th. weißer Feststoff, Smp.: 183 °C [Lit.: 189-190 °C]^[153] $[\alpha]^{20}{}_D = +65.4$ (c 0.5, CHCl₃) [Lit.: +72.0 (c 0.5, CHCl₃)]^[153]



MALDI-TOF (DHB, positive mode): 514 $(M + Na)^+$, 530 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 1.86$ (s, 1H, CH₃), 3.49 (dd, 1H, H-6), 3.56-3.60 (m, 2H, H-6⁺, O<u>H</u>), 3.80 (dd, 1H, H-3), 4.03 (d, 1H, H-4), 4.11 (dd, 1H, H-5), 4.26 (ddd, 1H, H-2), 4.45-4.62 (m, 4H, 2 x CH₂-Bn), 4.74, 4.78 (2 x d, 2 x 1H, CH₂-Bn), 4.71 (dd, 1H, H-1), 7.27-7.40 (m, 15H, Ar) 7.57 (d, 1H, N<u>H</u>) ppm. ³J_{1,2} = 4.0, ³J_{1,OH} = 4.5, ³J_{2,NH} = 9.2, ³J_{2,3} = 11.2, ³J_{3,4} = 3.1, ³J_{4,5} = 3.1, ³J_{5,6} = 6.1, ³J_{5,6⁺} = 6.1, ²J_{6,6⁺} = 9.7 Hz.

¹³C-NMR (100.62 MHz, DMSO-d₆): δ = 23.08 (1C, C<u>H</u>₃), 49.64 (1C, C-2), 68.80 (1C, C-5), 69.56 (1C, C-6), 71.70 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 72.70 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 74.27 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 74.35 (1C, C-4), 76.75 (1C, C-5), 91.60 (C-1), 127.71, 127.86, 127.96, 128.12, 128.46, 128.53, 128.60, 138.54, 139.212, 139.26 (15C, Ar), 169.60 (1C, CONH) ppm.

2-Acetamido-2,5-anhydro-3,4,6-tri-O-benzyl-2-desoxy-D-glucitol (156)

500.6 mg (1.02 mmol) 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-desoxy-α-D-glucopyranose (**152**)^[55] werden unter Argonschutzgas in 2 ml trockenem Toluol, 2 ml trockenem Chloroform und 4 ml frisch destilliertem Thionylchlorid gelöst und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand zweimal mit Toluol codestilliert und anschließend 30 Minuten im Vakuum getrocknet. Das Chlorid **154** wird in 80 ml trockenem Tetrahydrofuran aufgenommen, die Lösung auf ca. -95°C abgekühlt und

tropfenweise mit 0.85 ml (1.30 mmol) 1.6 M Butyllithium in Hexan versetzt. Es werden zügig 3 ml (2.34 mmol) 1 molare frisch hergestellte Lithiumnaphthalidlösung sowie 200 mg (2.22 mmol) Paraformaldehyd zugegeben. Der Ansatz wird 30 Minuten bei unter -78°C gerührt, anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von gesättigter Ammoniumchloridlösung abgebrochen. Der Ansatz wird auf Raumtemperatur erwärmt und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und nach Einengen säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 1:2) gereinigt.

157 C₂₉H₃₃NO₅ (475.58)

Ausbeute: 230 mg, 47 % d. Th. weißer Feststoff, Smp.: 162 °C $[a]^{20}_{D} = +30.0$ (c 1.66, Aceton)



MALDI-TOF (DHB, positive mode): 476 $(M + H)^+$, 498 $(M + Na)^+$, 514 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.66$ (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.01 (dd, 1H, H-1a), 3.36-3.43 (m, 2 x 1H, H-3, H-5), 3.56 (vt=dd, 1H, H-4), 3.63 (m, 2H, H-6, H-6'), 3.84 (m, 1H, H-2), 4.05 (dd, 1H, H-1e), 4.51 (m, 2 x 2H, 2 x C<u>H</u>₂-Bn), 4.74, 2H, C<u>H</u>₂-Bn), 4.92 (d, 1H, N<u>H</u>), 7.14-7.33 (m, 15H, Ar) ppm.

 ${}^{2}J_{1a,1e} = 11.2, \ {}^{3}J_{1a,2} = 9.2, \ {}^{3}J_{1e,e} = 4.8, \ {}^{3}J_{NH,2} = 7.1, \ {}^{3}J_{3,4} = 8.14, \ {}^{3}J_{4,5} = 8.14 \ ppm$

¹³C-NMR (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 22.27$ (1C, <u>C</u>H₃), 49.27 (1C, C-2), 67.6 (1C, C-6), 72.53 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 72.87 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 73.62 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 77.09 (1C, C3/C5), 79.96 (1C, C3/C5), 126.69, 126.90, 127.01, 127.19, 127.39, 127.49, 127.74 (15C, Ar), 169.10 (1C, <u>C</u>O) ppm.

3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-D-ido-heptonsäure (157)

5.0 g (10.2 mmol) 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-desoxy-α-D-glucopyranose (**152**)^[55] werden unter Argonschutzgas in 30 ml trockenem Toluol, 30 ml trockenem Chloroform und 60 ml frisch destilliertem Thionylchlorid gelöst und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand zweimal mit Toluol

codestilliert und anschließend 30 Minuten im Vakuum getrocknet. Das Chlorid **154** wird in 80 ml trockenem Tetrahydrofuran aufgenommen, die Lösung auf ca. -95°C abgekühlt und tropfenweise mit 8 ml (12.8 mmol) 1.6 M Butyllithium in Hexan versetzt. Es werden zügig 24 ml (24 mmol) 1 M frisch hergestellte Lithiumnaphthalidlösung in Tetrahydrofuran zugegeben. Anschließend wird über eine Kapillare für eine Stunde trockenes Kohlendioxid in den Ansatz eingeleitet, wobei durch weitere Kühlung dafür Sorge getragen wird, daß die Temperatur nicht über -78°C steigt. Zur Aufarbeitung wird die Reaktion durch langsame Zugabe von 30 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung abgebrochen und der Ansatz langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Der Ansatz wird mit 50 ml Ethylacetat versetzt und die organische Phase, die den Hauptteil des Produktes enthält abgetrennt. Die wäßrige Phase wird mit 5 M Salzsäure auf pH = 5 eingestellt und zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und nach Einengen säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 1:2, dann 1:3, bis aromatische Nebenprodukte vollständig eluiert sind, dann Ethylacetat / Methanol / Essigsäure 45 : 5 : 3, Ethylacetat / Methanol / Essigsäure 2 : 2 : 1)

157 $C_{30}H_{33}NO_7$ (519.59) Ausbeute: 3.48 g, 66 % d. Th. gelber Schaum $[\alpha]^{20}{}_D = +28.3$ (c 1.02, Aceton) DC: CH₂Cl₂ / MeOH / TFA 3 : 1 : 0.05 R_f = 0.41 Ber.: C: 69.35 H: 6.40 N: 2.70 Gef.: C: 69.33 H: 6.48 N: 2.68



MALDI-TOF (DHB, positive mode): $542 (M + Na)^+$, $558 (M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 1.79$ (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.38 (vt = dd, 1H, H-5), 3.50 (d, 1H, H-7), 3.53 (d, 1H, H-7), 3.78 (dd, 1H, H-4), 3.88 (ddd, 1H, H-6), 3.97 (ddd, 1H, H-3), 4.20 (d, 1H, H-2), 4.38 (m, 3H, C<u>H</u>₂-Bn), 4.56 (d, 2H, C<u>H</u>₂-Bn), 4.67 (d, 1H, C<u>H</u>₂-Bn), 7.08-7.24 (15H, Ar), 7.80 (d, 1H, N<u>H</u>) ppm.

 ${}^{3}J_{2,3}=5.8,\ {}^{3}J_{NH,3}=8.7,\ {}^{3}J_{3,4}=9.7,\ {}^{3}J_{4,5}=7.6,\ {}^{3}J_{5,6}=8.7,\ {}^{3}J_{6,7}=2.9,\ {}^{3}J_{6,7^{\circ}}=5.3,\ {}^{2}J_{7,7^{\circ}}=11.2\ Hz.$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, DMSO-d₆): δ = 22.91 (1C, C<u>H</u>₃), 50.59 (1C, C-3), 68.94 (1C, C-7), 72.57 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 72.74 (1C, C-2), 73.83 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 74.00 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 74.92 (1C,

C-6), 77.85 (1C, C-5), 79.12 (1C, C-4), 127.81, 127.94, 128.00, 128.06, 128.56, 128.63, 138.50, 138.56, 138.97 (15C, Ar), 169.94, 171.35 (2 x 1C, <u>C</u>ONH, <u>C</u>OOH) ppm.

3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-L-gluco-heptonsäure (158)

Die Umsetzung erfolgt analog der Synthese von 157:

- a.) 2.24 g (4.6 mmol) 2-Acetamido-3,4,6-tri-O-benzyl-2-desoxy-D-galactopyranose (153), 15 ml trockenes Toluol, 15 ml trockenes Chloroform, 30 ml frisch destilliertes Thionyl-chlorid
- b.) 35 ml trockenes Tetrahydrofuran, 3.6 ml (5.7 mmol) 1.6 M Butyllithium in Hexan, 11 ml (10.8 mmol) 1 M Lithiumnaphthalidlösung, Einleitung von trockenem Kohlendioxid.

Säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel gereinigt. (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 1:2, dann 1:3, bis aromatische Nebenprodukte vollständig eluiert sind, dann Ethylacetat / Methanol / Essigsäure 45 : 5 : 3, Ethylacetat / Methanol / Essigsäure 2 : 2 : 1)

158 $C_{30}H_{33}NO_7$ (519.59) Ausbeute: 1.24 g, 53 % d. Th. gelber Schaum $[\alpha]^{20}{}_D = + 12.5$ (c 0.5, CHCl₃) DC: CH₂Cl₂ / MeOH / TFA 3 : 1 : 0.05 R_f = 0.40 Ber.: C: 69.35 H: 6.40 N: 2.70 Gef.: C: 68.89 H: 6.31 N: 2.58



MALDI-TOF (DHB, positive mode): 520 $(M + H)^+$, 542 $(M + Na)^+$, 558 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 1.85$ (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.60 (dd, 1H, H-7), 3.73 (m, 1H, H-7'), 3.91 (dd, 1H, H-4), 4.07 (vt = dd, 1H, H-5), 4.30 (ddd, 1H, H-6), 4.41-4.59 (m, 8H, H-2, H-3, 3 x C<u>H</u>₂-Bn), 7.19-7.39 (15H, Ar), 8.07 (d, 1H, N<u>H</u>) ppm. ³J_{3,NH} = 7.6, ³J_{3,4} = 7.6, ³J_{4,5} = 3.1, ³J_{5,6} = 3.1, ³J_{6,7} = 4.5, ²J_{7,7'} = 10.6 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, DMSO-d₆): δ = 22.88 (1C, C<u>H</u>₃), 47.88 (1C, C-3), 67.61 (1C, C-7), 71.74 (1C, C-2), 72.41 (2 x 1C, 2 x <u>C</u>H₂-Bn), 73.18 (1C, C-5), 74.08, 74.16 (2 x 1C, <u>C</u>H₂-Bn,

C-6), 76.03 (1C, C-4), 127.76, 127.84, 128.01, 128.47, 128.54, 128.56, 128.59, 138.67, 138.84, 138.86 (15C, Ar), 169.94, 171.32 (2 x 1C, <u>C</u>ONH, <u>C</u>OOH) ppm.

3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-D-ido-heptonsäuremethylester (159)

Eine Lösung von 3.45 g (6.64 mmol) 3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-D-ido-heptonsäure (**157**) in 40 ml Dimethylformamid wird mit 2.6 g Cäsiumcarbonat versetzt. Die Suspension wird mit 0.5 ml (8.0 mmol) Iodmethan versetzt und 14 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser und Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wird abgetrennt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Anschließend wird die organische Phase abgetrennt, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

159 C₃₁H₃₅NO₇ (533.62) Ausbeute 3.0 g, 85 % d. Th. beiger Feststoff, Smp.: 120 °C $[\alpha]^{20}{}_{\rm D} = +41.4$ (c 0.37, Aceton) Ber.: C: 69.78 H: 6.61 N: 2.62 Gef.: C: 69.35 H: 6.40 N: 2.70



MALDI-TOF (DHB, positive mode) = 534 $(M + H)^+$, 556 $(M + Na)^+$, 572 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.71$ (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.58 (vt = dd, 1H, H-6), 3.65 (s, 3H, COOC<u>H</u>₃), 3.67-3.73 (m, 3H, H-4, H-7, H-7⁺), 4.08 (dd, 1H, H-5), 4.42-4.52 (m, 6H, H-2, H-3, 2 x C<u>H</u>₂-Bn), 4.54 (d, 1H, C<u>H</u>₂-Bn), 4.60 (d, 1H, C<u>H</u>₂-Bn), 6.34 (d, 1H, N<u>H</u>), 7.14-7.29 (m, 15H, Ar) ppm.

 ${}^{3}J_{4,5} = 5.6$, ${}^{3}J_{5,6} = 9.7$, ${}^{3}J_{6,7} = 4.6$, ${}^{3}J_{NH,3} = 9.2$ Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 22.22$ (1C, C<u>H</u>₃), 46.98 (1C, C-3) 51.28 (1C, COO-<u>C</u>H₃), 66.44 (1C, C-7), 69.01 (1C, C-2), 71.77, 72.02, 72.25 (3 x 1C, 3 x <u>C</u>H₂-Bn), 73.19 (1C, C-6), 74.48, 74.66 (2 x 1C, C-4, C-5), 126.71, 126.82, 126.97, 127.15, 127.38, 127.50, 127.53, 136.33, 136.55, 136.91 (15C, Ar), 168.73, 169.34 (2 x 1C, <u>C</u>ONH, <u>C</u>OOCH₃) ppm.

3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-L-gluco-heptonsäuremethylester (160)

Die Umsetzung erfolgt analog der Synthese von 159:

1.0 g (1.93 mmol) 3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-L-gluco-heptonsäure (**158**), 35 ml Dimethylformamid, 760 mg (2.4 mmol) Cäsiumcarbonat, 0.15 ml (2.4 mmol) Iodmethan.

160 C₃₁H₃₅NO₇ (533.62) Ausbeute: 0.98 g, 97 % d. Th. beiger Feststoff, Smp.: 132-134 °C $[\alpha]^{20}{}_{D} = +10.4$ (c 0.2, CH₂Cl₂) Ber.: C: 69.78 H: 6.61 N: 2.62 Gef.: C: 69.52 H: 6.45 N: 2.60



MALDI-TOF (DHB, positive mode) = 534 $(M + H)^+$, 556 $(M + Na)^+$, 572 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.81 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.63-3.69 (m, 4H, CH₃, H-6), 3.75-3.83 (m, 3H, H-4, H-7, H-7⁺), 4.02-4.07 (m, 1H, H-5), 4.39-4.66 (m, 6H, H-2, H-3, 3 x C<u>H</u>₂-Bn), 6.68 (d, 1H, N<u>H</u>), 7.19-7.28 (m, 15H, Ar) ppm. ³J_{NH,3} = 7.6 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, DMSO-d₆, 363 K): δ = 23.27 (1C, C<u>H</u>₃), 48.68 (1C, C-3) 52.35 (1C, COO-<u>C</u>H₃), 68.65 (1C, C-7), 72.26 (1C, C-2), 72.56, 73.20, 73.83 (3 x 1C, 3 x <u>C</u>H₂-Bn), 74.21 (1C, C-6), 74.97 (1C, C-5), 77.10 (1C, C-4), 128.19, 128.26, 128.33, 128,39, 128.95, 128.99, 129.24, 139.36, 139.48, 139.52 (15C, Ar), 170.43, 170.82 (2 x 1C, <u>C</u>ONH, <u>C</u>OOCH₃) ppm.

3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-O-benzyl-3-desoxy-1-hydroxy-D-glycero-D-idoheptitol (161)

Unter Argonschutzgas werden 3.0 g (5.62 mmol) 3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-Obenzyl-3-desoxy-D-glycero-D-ido-heptonsäuremethylester (157) in einem 2.5 : 1 Gemisch von trockenem Ethanol und trockenem THF gelöst und die Lösung auf 0°C abgekühlt. Es werden 638 mg (10.87 mmol) Natriumborhydrid zugegeben und der Ansatz 30 Minuten bei dieser Temperatur gerührt, dann weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur bis lt. DC kein Edukt mehr nachweisbar ist. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit gekühlter gesättigter Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Das Produkt wird durch dreimalige Behandlung mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknung, Filtration wird die Lösung im Vakuum eingeengt und das ölige Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 1:1) gereinigt.

161 C₃₀H₃₅NO₆ (505.61) Ausbeute: 1.82 g, 64 % d. Th. BnO beiger Feststoff, Smp.: 89-91 °C $[\alpha]^{20}_{D} = +20.1$ (c 1.22, Aceton)

Ber.: C: 71.27 H: 6.98 N: 2.77 Gef.: C: 71.34 H: 7.01 N: 2.74

MALDI-TOF (DHB, positive mode) = 488 (M - H₂O)⁺, 506 (M + H)⁺, 528 (M + Na)⁺.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.82 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.25 (dd, 1H, H-1), 3.52 (dd, 1H, H-1⁺), 3.56 (d, 1H, H-4), 3.64 (d, 1H, H-5), 3.66 (dd, 1H, H-7), 3.78 (dd, 1H, H-7⁴), 3.96 (dd, 1H, H-2), 4.15-4.22 (m, 2 x 1H, H-3, H-6), 4.37 (dd, 2H, CH₂-Bn), 4.44 (dd, 2H, CH₂-Bn), 4.56 (dd, 2H, CH₂-Bn), 7.13-7.30 (m, 15H, Ar) ppm. ${}^{2}J_{1,1} = 11.7, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{1,2} = 9.1, \, {}^{3}J_{2,3} = 8.7, \, {}^{3}J_{3,NH} = 8.7, \, {}^{3}J_{4,5} = 3.0, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.1, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.6, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{1,2} = 9.1, \, {}^{3}J_{2,3} = 8.7, \, {}^{3}J_{3,NH} = 8.7, \, {}^{3}J_{4,5} = 3.0, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.1, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.6, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{2,3} = 8.7, \, {}^{3}J_{3,NH} = 8.7, \, {}^{3}J_{4,5} = 3.0, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.1, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.6, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{2,3} = 8.7, \, {}^{3}J_{3,NH} = 8.7, \, {}^{3}J_{4,5} = 3.0, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.1, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.6, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{2,3} = 8.7, \, {}^{3}J_{3,NH} = 8.7, \, {}^{3}J_{4,5} = 3.0, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.6, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{2,3} = 8.7, \, {}^{3}J_{3,NH} = 8.7, \, {}^{3}J_{4,5} = 3.0, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.1, \, {}^{3}J_{6,7} = 7.6, \, {}^{3}J_{1,2} = 6.1, \, {}^{3}J_{1,2}$

 2 J_{7.7} = 10.2 Hz.



¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 22.08$ (1C, C<u>H</u>₃), 44.54 (1C, C-3) 59.83 (1C, C-1), 66.43 (1C, C-7), 66.66 (1C, C-2), 70.87 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 70.92 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 72.20 (1C, C-4), 72.33 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 72.36 (1C, C-5), 73.56 (1C, C-6), 126.49, 126.68, 126.75, 126.85, 126.99, 127.29, 127.53, 127.67, 136.01, 136.18, 136.99 (15C, Ar), 170.50 (1C, <u>C</u>ONH) ppm.

3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-1-hydroxy-D-glycero-L-glucoheptitol (162)

Unter Argonschutzgas werden 1.2 g (2.25 mmol) 3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*benzyl-3-desoxy-D-glycero-L-gluco-heptonsäuremethylester (**160**) in 25 ml eines 2.5 : 1 Gemisches aus trockenem Ethanol und trockenem THF gelöst und die Lösung auf 0°C abgekühlt. Es werden 255 mg (6.75 mmol) Natriumborhydrid zugegeben und der Ansatz 30 Minuten bei dieser Temperatur gerührt, dann weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur. Anschließend werden erneut 125 mg (3.3 mmol) NaBH₄ zugegeben und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt bis lt. DC die Umsetzung vollständig ist. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit gekühlter gesättigter Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Das Produkt wird durch dreimalige Behandlung mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknung, Filtration wird die Lösung im Vakuum eingeengt und das ölige Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 1:1) gereinigt.

162 C₃₀H₃₅NO₆ (505.61) Ausbeute: 808 mg, 71 % d. Th. beiger Feststoff, Smp.: 139 °C $[α]^{20}_{D} = +31.6$ (c 1, CH₂Cl₂)



Ber.: C: 71.27 H: 6.98 N: 2.77 Gef.: C: 70.98 H: 6.91 N: 2.72

MALDI-TOF (DHB, positive mode) = 506 $(M + H)^+$, 528 $(M + Na)^+$, 544 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.90$ (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.49-3.56 (m, 2H, C<u>H</u>₂-1), 3.65-3.70 (m, 2H, H-5, H-7), 3.86 (dd, 1H, H-4), 4.02 (ddd, 1H, H-2), 4.08 (dd, 1H, H-7'), 4.14 (ddd, 1H, H-3), 4.24 (ddd, 1H, H-6), 4.37-4.64 (m, 6H, 3 x C<u>H</u>₂-Bn), 7.16-7.24 (m, 15H, Ar) ppm. ³J_{2,3} = 4.5, ³J_{3,NH} = 7.8, ³J_{3,4} = 4.5, ³J_{4,5} = 3.0, ³J_{5,6} = 2.8, ³J_{6,7} = 6.0, ³J_{6,7'} = 9.0, ²J_{7,7'} = 11.7 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): $\delta = 22.33$ (1C, C<u>H</u>₃), 48.96 (1C, C-3) 61.18 (1C, C-1), 64.61 (1C, C-7), 65.57 (1C, C-2), 70.20 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 71.60 (1C, C-5), 71.68 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 72.28 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 73.04 (1C, C-4), 74.04 (1C, C-6), 126.53, 126.59, 126.62, 126.68, 126.82, 126.88, 127.32, 127.41, 136.68, 137.13, 137.22 (15C, Ar), 169.57 (1C, <u>C</u>ONH) ppm.

(3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-D-ido-heptitol-1-yl) di-*O*-phenylphosphat (163)

240 mg (0.48 mmol) 3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-D-idoheptitol (**161**) werden in 2.5 ml trockenem Pyridin gelöst und der Ansatz auf -15°C gekühlt. Unter Argonschutzgas werden dann 0.12 ml (0.6 mmol) Diphenylchlorophosphat zugegeben und über Nacht bei -15°C gerührt. Anschließend wird der Ansatz nach Zugabe katalytischer Mengen DMAP für 2 h bei 40°C gerührt, bis lt. DC die Umsetzung vollständig ist. Zur Aufarbeitung wird die Reaktionslösung mit 10 ml Toluol versetzt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reste von Pyridin wurden durch eine erneute Zugabe von Toluol und Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck azeotrop entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch (Laufmittel: Petrolether / Ethylacetat 1:2) an Kieselgel.

163 $C_{42}H_{44}NO_9P$ (737.78) Ausbeute: 303 mg, 86 % d. Th. gelbes Öl $[\alpha]^{20}{}_D = -0.8$ (c 0.2, CH₂Cl₂) Ber.: C: 68.38 H: 6.01 N: 1.90 Gef.: C: 68.98 H: 5.81 N: 1.91



MALDI-TOF (DHB, positive mode) = $738 (M + H)^+$, $760 (M + Na)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.71$ (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.57-3.60 (m, 2H, H-2/H-4/H-5), 3.60

(dd, 1H, H-7), 3.68 (dd, 1H, H-7'), 4.11-4.25 (m, 5H, H-1, H-1', H-6, H-2/H-4/H-5), 4.34-4.41 (m, 4H, 2 x C<u>H</u>₂-Bn), 4.50 (dd, 2H, C<u>H</u>₂-Bn), 6.58 (d, 1H, N<u>H</u>), 7.04-7.26 (m, 25H, Ar) ppm.

 ${}^{3}J_{NH,3} = 9.7, \, {}^{3}J_{6,7} = 6.6, \, {}^{3}J_{6,7^{\circ}} = 7.4, \, {}^{2}J_{7,7^{\circ}} = 9.7 \text{ Hz}$

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 22.13 (1C, <u>C</u>H₃), 44.99 (1C, C-3), 68.31 (d, 1C, C-1), 70.98, 71.18, 72.30 (3 x 1C, 3 x <u>C</u>H₂-Bn), 66.94, 72.04, 73.23, 73.99 (4 x 1C, C-2, C-4, C-5, C-6), 119.07, 119.12, 119.30, 123.36, 124.31, 126.57, 126.59, 126.66, 126.76, 126.94, 127.12, 127.38, 127.51, 127.56, 128.36, 128.72, 136.23, 136.33 (30C, Ar), 169.12 (1C, <u>C</u>ONH) ppm. ${}^{2}J_{C-1,P} = 4.1$ Hz

(3-Acetamido-2,6-anhydro-3-desoxy-D-glycero-D-ido-heptitol-1-yl) phosphat (164)

293 mg (0.40 mmol) (3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-Dido-heptitol-1-yl) di-*O*-phenylphosphat (**163**) werden in 25 ml trockenem Methanol aufgenommen und mit 100 mg Pd/C (10%) versetzt. Die Lösung wird 72 Stunden unter Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck gerührt. Anschließend wird der Katalysator über einen Membranfilter abgetrennt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene ölige Phosphatester wird in 5 ml trockenem Methanol gelöst und mit 60 mg (0.26 mmol) Platindioxid versetzt. Es wird 12 Stunden bei 40°C unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Zur Aufarbeitung wird der Katalysator erneut über einen Membranfilter abgetrennt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

164 C₉H₁₈NO₉P (315.21) Ausbeute: 111 mg, 93 % d. Th. weißer Feststoff (hygroskopisch) $[α]^{20}_{D} = +29.0$ (c 0.5, H₂O)



¹**H-NMR** (400 MHz, D₂O): δ = 1.88 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.27 (dd, 1H, H-5), 3.59 (dd, 1H, H-7), 3.59 (dd, 1H, H-7), 3.68 (dd, 1H, H-7'), 3.75 (dd, 1H, H-4), 3.87-3.91 (m, 2H, H-5, H-6), 3.95 (dd, 1H, H-3), 4.00 (dd, 1H, H-1), 4.10-4.16 (m, 2H, H-1', H-2) ppm. ⁻²J_{1,1'} = 8.3, ${}^{3}J_{1,2} = 5.8$, ${}^{3}J_{2,3} = 5.7$, ${}^{3}J_{3,4} = 9.7$, ${}^{3}J_{4,5} = 3.5$, ${}^{3}J_{6,7} = 4.3$, ${}^{3}J_{6,7'} = 8.0$, ${}^{2}J_{7,H7'} = 12.1$ Hz.
¹³**C-NMR** (100.62 MHz, D₂O): $\delta = 24.82$ (1C, <u>C</u>H₃), 55,25 (1C, C-3), 63.95 (1C, C-7), 66.29 (d, 1C, C-1), 73.50 (1C, C-5), 74.19 (1C, C-4), 75.60 (1C, C-2), 77.66 (1C, C-6), 170.32 (1C, <u>C</u>ONH) ppm. ²J_{C-1,P} = 5.1 [Hz]

³¹**P-NMR** (80 MHz, D₂O): 0.57 ppm.

(3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl) di-*O*-phenylphosphat (165)

300 mg (0.59 mmol) 3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-Lgluco-heptitol (**162**) werden in 3 ml trockenem Pyridin gelöst und der Ansatz auf -15°C gekühlt. Unter Argonschutzgas werden dann 0.16 ml (0.75 mmol) Diphenylchlorophosphat sowie katalytische Mengen DMAP zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wird anschließend mit 10 ml Toluol versetzt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Reste von Pyridin werden durch eine erneute Zugabe von Toluol und Abziehen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck azeotrop entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether / Ethylacetat 1:2).

165 C₄₂H₄₄NO₉P (737.78) Ausbeute: 310 mg, 71 % d. Th. farbloses Öl $[α]^{20}_{D} = +22.4$ (c 1, CH₂Cl₂)



MALDI-TOF (DHB, positive mode) = 760 $(M + Na)^+$, 776 $(M + K)^+$.

¹**H-NMR** (400 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.69$ (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.57-3.60 (m, 2H, H-2/H-4/H-5), 3.63 (dd, 1H, H-7), 3.75 (dd, 1H, H-7'), 4.10-4.30 (m, 5H, H-1, H-1', H-6, H-2/H-4/H-5), 4.40-4.47 (m, 4H, 2 x C<u>H</u>₂-Bn), 4.53 (dd, 2H, C<u>H</u>₂-Bn), 6.62 (d, 1H, N<u>H</u>), 7.06-7.43 (m, 25H, Ar) ppm.

 ${}^{3}J_{NH,3} = 9.3, {}^{3}J_{6,7} = 6.6, {}^{3}J_{6,7} = 7.1, {}^{2}J_{7,7} = 9.2 \text{ Hz}$

(3-Acetamido-2,6-anhydro-3-desoxy-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl) mono-*O*-phenyl-phosphat (166)

290 mg (0.39 mmol) (3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-Lido-heptitol-1-yl) di-*O*-phenylphosphat (**165**) werden in 25 ml trockenem Methanol aufgenommen und mit 100 mg Pd/C (10%) versetzt. Die Lösung wird 48 Stunden unter Wasserstoffatmosphäre bei 50 bar gerührt. Der Katalysator wird über einem Membranfilter abgetrennt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene ölige Phosphatester wird erneut in 25 ml trockenem Methanol gelöst und mit 100 mg Platindioxid versetzt. Anschließend wird 48 Stunden bei 40°C unter Wasserstoffatmosphäre bei 50 bar gerührt. Zur Aufarbeitung wird der Katalysator über einen Membranfilter abgetrennt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

166 $C_{15}H_{22}NO_9P$ (391.31) Ausbeute: 145 mg, 95 % d. Th. weißer Feststoff



¹**H-NMR** (400 MHz, D₂O): δ = 1.97 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.62 (dd, 1H, H-7), 3.74 (dd, 1H, H-7⁺), 3.87 (dd, 1H, H-5), 3.93-3.99 (m, 2H, H-1, H-4), 4.07 (ddd, 1H, H-6), 4.16 (ddd, 1H, H-2), 4.27 (dd, 1H, H-1) ppm. ²J_{1,1⁺} = 10.2, ³J_{1,2} = 3.2, ³J₁₊₂ = 6.7, ³J_{2,3} = 6.0, ³J_{3,4} = 9.9, ³J_{4,5} = 3.5, ³J_{5,6} = 2.0, ³J_{6,7} = 5.0, ³J_{6,7} = $6.9, {}^{2}J_{7,7^{+}} = 11.5$ Hz.

(3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl) di-*O*-benzylphosphat (168)

166.7 mg (2.38 mmol) 1*H*-Tetrazol werden unter Argonschutzgas in 1.5 ml trockenem Dichlormethan aufgenommen. Die Suspension wird mit 0.39 ml (1.19 mmol) Dibenzyl-*N*,*N*diisopropylphosphoramidit versetzt und der Ansatz 15 Minuten gerührt. 240 mg (0.48 mmol) 3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-1-hydroxy-D-glycero-L-gluco-heptitol (**162**) in 1.5 ml trockenem Dichlormethan werden zügig zugegeben und die Reaktionslösung vier Stunden bei Raumtemperatur gerührt, bis die Umsetzung lt. DC vollständig ist. Die das Phosphit **167** enthaltenen Lösung wird dann auf 0°C abgekühlt und mit 330 mg (1.37 mmol) 3-Chlorperbenzoesäure (70%) versetzt. Es wird 45 Minuten bei 0°C gerührt, dann das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt (Badtemperatur < 40° C). Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel (Petrolether 50-70 / Ethylacetat 1:1, dann Petrolether 50-70 / Ethylacetat 1:2) gereinigt.

168 C₄₄H₄₈NO₉P (765.84) Ausbeute: 265 mg, 74 % d. Th. farbloses Öl $[\alpha]^{20}{}_{D} = +4.6 (c 1, CH_2Cl_2)$ Ber.: C: 69.01 H: 6.32 N: 1.83 Gef.: C: 68.83 H: 6.42 N: 1.78



MALDI-TOF (DHB, positive mode) = $766 (M + H)^+$, $788 (M + Na)^+$.

¹**H-NMR** (500 MHz, CDCl₃): δ = 1.82 (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.62 (dd, 1H, H-7), 3.67 (dd, 1H, H-5), 3.74 (dd, 1H, H-4), 3.86-3.92 (m, 2H, H-1, H-7'), 4.04 (dd, 1H, H-1'), 4.13 (ddd, 1H, H-6), 4.18 (ddd, 1H, H-2), 4.26 (m, 1H, H-3), 4.36-4.60 (m, 6H, 3 x C<u>H</u>₂-Bn), 4.88-4.96 (m, 4H, 2 x C<u>H</u>₂-Bn-PO₄), 5.95 (d, 1H, N<u>H</u>), 7.15-7.23 (m, 25H, Ar) ppm. ²J_{1,1'} = 11.8, ³J_{1',2} = 7.2, ³J_{2,3} = 5.7, ³J_{3,N<u>H</u>} = 8.3, ³J_{3,4} = 3.0, ³J_{4,5} = 5.5, ³J_{5,6} = 2.8, ³J_{6,7} = 3.5, ²J_{7,7'} = 11.4 Hz.

¹³C-NMR (100.62 MHz, CDCl₃): δ = 22.14 (1C, <u>C</u>H₃), 47.66 (1C, C-3), 66.17 (d, 1C, C-1), 68.53, 68.61 (2C, 2 x <u>C</u>H₂-Bn-PO₄), 68.66 (1C, C-7), 70.89 (1C, <u>C</u>H₂-Bn), 71.42 (1C, C-5), 71.56, 72.22 (2 x 1C, 2 x <u>C</u>H₂-Bn), 73.76 (1C, C-4), 74.07, 74.10 (2 x 1C, C-2, C-6) 126.64, 126.67, 126.79, 126.91, 126.99, 127.36, 127.38, 127.56, 127.61, 127.67, 134.68, 136.74, 137.06, 137.19 (30C, Ar), 169.25 (1C, <u>C</u>ONH) ppm. $^{2}J_{C-1,P} = 6.1$ Hz

³¹**P-NMR** (80 MHz, D₂O): - 0.04 ppm.

(3-Acetamido-2,6-anhydro-3-desoxy-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl) phosphat (169)

250 mg (0.33 mmol) (3-Acetamido-2,6-anhydro-4,5,7-tri-*O*-benzyl-3-desoxy-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl) di-*O*-benzylphosphat (**168**) werden in 25 ml trockenem Methanol aufge-

nommen und mit 125 mg Pd/C (10%) versetzt. Die Lösung 10 Stunden unter Wasserstoffatmosphäre bei 50 bar gerührt. Anschließend wird der Katalysator über einen Membranfilter abgetrennt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

169 C₉H₁₈NO₉P (315.21) Ausbeute: 95 mg, 91 % d. Th. weißer Feststoff $[\alpha]^{20}{}_{D} = +31.8 (c 1, H_2O)$



¹**H-NMR** (400 MHz, D₂O): $\delta = 1.92$ (s, 3H, C<u>H</u>₃), 3.57 (dd, 1H, H-7), 3.62 (dd, 1H, H-7⁺), 3.87 (dd, 1H, H-5), 3.91-3.96 (m, 3H, H-1,H-4, H-6), 4.07 (dd, 1H, H-1), 4.11 (ddd, 1H, H-2), 4.18 (dd, 1H, H-3) ppm. ⁻²J_{1,1⁺} = 11.8, ³J_{1⁺,2} = 5.8, ³J_{2,3} = 6.5, ³J_{3,4} = 10.9, ³J_{4,5} = 3.3, ³J_{5,6} = 1.5, ³J_{6,7} = 4.4, ³J_{6,7⁺} = 7.8, ²J_{7,7⁺} = 11.8 Hz.

¹³**C-NMR** (100.62 MHz, D₂O): δ = 22.31 (1C, <u>C</u>H₃), 48.98 (1C, C-3), 61.80 (1C, C-7), 63.81 (d, 1C, C-1), 68.30 (1C, C-4/C-6), 68.63 (1C, C-5), 72.93 (d, 1C, C-2), 74.20 (1C, C-4/C-6), 162.52 (1C, <u>C</u>ONH) ppm. ²J_{C-1 P} = 5.1, ³J_{C-2 P} = 10.2 Hz.

³¹**P-NMR** (80 MHz, D₂O): 1.02 ppm.

Bestimmung der Inhibitoreigenschaften von 3'-*O*-[2,6-Anhydro-D-glycero-L-glucoheptitol-1-yl]-L-serin (126) und 3'-*O*-[2,6-Anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitol-1-yl]-Lthreonin (127)

Die Geschwindigkeit der Hydrolyse von p-Nitrophenyl- α -D-galactopyranosid, katalysiert durch α -Galactosidase aus *Aspergillus niger*, wird bei zwei Konzentrationen(10 µmol/l, 50 µmol/l) der Inhibitoren **126** und **127** gemessen. Jede dieser Messungen wird mit fünf verschiedenen Konzentrationen (0.3 mmol/l, 0.6 mmol/l, 1.0 mmol/l, 1.6 mmol/l, 3.3 mmol/l) des p-Nitrophenyl- α -D-galactopyranosids in einem 0.05 M McIlvain-Puffer (pH = 5) durchgeführt. Dazu werden 0.3 ml der Substrat/Inhibitorlösung mit 0.9 mU des Enzyms versetzt und die Lösung bei 25 °C thermostatiert. Nach jeweils einer Stunde wird die Reaktion durch Zugabe von 1 ml Glycin-Puffer (pH = 10) abgebrochen und die Absorption bei 420 nm im UV-Spektrometer vermessen. Die Absorption ist der Konzentration an Nitrophenol proportional, damit ist d[c]/dt ein Ausdruck für die Geschwindigkeit der Hydrolyse. Die so erhaltenen Werte werden in einem doppelt-reziproken Lineweaver-Burk-Diagramm aufgetragen.

6.1 Synthese der Glycopeptide

N^{α} -Acetyl-L-threonyl- N^{γ} -[1,5-anhydro-2-desoxy-D-glucitol-2]-L-asparagyl-L-aspartyl-L-threonylamid (41)

Zur Deacetylierung wird das Glycopeptid **43** in 1 ml trockenem Methanol gelöst, mit Natriummethanolatlösung (1%) auf pH = 9 eingestellt und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit Essigsäure neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt (Badtemperatur < 35°C). Die Reinigung erfolgt durch RP-HPLC [Eluent A / Eluent B, 100:0 \rightarrow 85:15 (5 Minuten) \rightarrow 60:40 (10 Minuten) \rightarrow 45:55 (5 Minuten)].

$41 C_{24} H_{40} N_6 O_{14} (636.26)$

Ausbeute: 4 mg, 60 % d. Th, 13 % bezogen auf Belegung des Harzes.

MALDI-TOF (positive mode, CCA): 637 $(M + H)^+$, 658 $(M + Na)^+$.

δ (J)	Ha1	Ηβ1	Ηβ2	Hy1a	Ac	H-1a	H-1e	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'
Thr-1	4.26	4.14		1.15	2.05								
	(4.6)	(6.4)											
Asn-2	4.73	2.84	2.71			3.12	3.80	3.73	3.43	3.32	3.25	3.61	3.78
	(6.1)	(15.5)				(10.4)	(5.1)	(9.4)	(9.0)	(9.5)	(5.6)	(12.3)	
	(6.2)					(10.7)					(2.2)		
Asp-3	4.79	2.94	2.84										
	(5.3)	(16.5)											
	(7.6)												
Thr-4	4.26	4.26	1.16										
	(6.1)	(6.1)											
\$:	(T	· TT_)											

Tabelle 2: ¹H-NMR-Daten Glycopeptid **41** (500 MHz, D_2O , pD = 3.5)

 δ in ppm, (J in Hz)

 N^{α} -Acetyl-L-seryl- N^{γ} -[1,5-anhydro-2-desoxy-glucitol-2]-L-asparagyl-L-asparagyl-Lthreonyl-L-arginyl-L-lysyl-L-seryl-L-isoleucyl-L-histidyl-L-isoleucyl-L-glycyl-L-prolyl-Lglycyl-L-arginyl-L-alanyl-L-phenylalanylamide (42)

Zur Deacetylierung wird das Glycopeptid **44** in 1 ml trockenem Methanol gelöst, mit Natriummethanolatlösung (1%) auf pH = 9 eingestellt und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit Essigsäure neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt (Badtemperatur < 35°C). Die Reinigung erfolgt durch RP-HPLC [Eluent A / Eluent B, 100:0 \rightarrow 85:15 (5 Minuten) \rightarrow 75:25 (40 Minuten) \rightarrow 60:40 (5 Minuten)]. 42 $C_{83}H_{136}N_{28}O_{26}$ (1941.02)

Ausbeute: 11.7 mg, 55 % d. Th., 12 % bez. auf Belegung des Harzes

MALDI-TOF (positive mode, CCA): $1942 (M + H)^+$.

¹**H-NMR** (500 MHz, H_2O/D_2O 9:1, pH = 3.5)

Saccharidprotonen: δ = 3.20 (dd, 1H, H-1a), 3.32 (ddd, 1H, H-5), 3.38 (dd, 1H, H-6), 3.38 (dd, 1H, H-4), 3.50 (dd, 1H, H-3), 3.80 (ddd, 1H, H-2), 3.86 (dd, 1H, H-6), 3.87 (dd, 1H, H-1e) ppm ²J_{1a,1e} = 11.0, ³J_{1a,2} = 10.8, ³J_{1e,2} = 5.4, ³J_{2,3} = 10.1, ³J_{3,4} = 8.7, ³J_{4,5} = 9.7, ³J_{5,6} = 2.2, ³J_{5,6} = 5.8,

 N^{α} -Acetyl-L-threonyl- N^{γ} -[3,4,6-tri-O-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxy-D-glucitol-2]-L-

asparagyl-L-aspartyl-L-threonylamid (43)

PEGA-Rink Harz (277.8 mg, 50 μ mol) und die der Sequenz entsprechenden Fmoc-Aminosäuren werden nach AAV 7 behandelt. Die HPLC-Reinigung erfolgt durch RP-HPLC [Eluent A / Eluent B, 100:0 \rightarrow 50:50 (10 Minuten)].

43 C₃₀H₄₆N₆O₁₇ (763.08) Ausbeute: 8 mg, 21 % d. Th.

 $^{3}J_{6.6^{\circ}} = 12.3$ Hz.

FAB (positive mode, 3-Nitrobenzylalkohol): 763 $(M + H)^+$, 785 $(M + Na)^+$,

δ(J)	Ha1	Ηβ1	Ηβ2	Hy1a	Ac	H-1a	H-1e	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'
Thr-1	4.24	4.12		1.14	2.04								
	(4.6)	(6.4)											
Asn-2	4.69	2.63	2.77		2.01	3.41	3.92	4.02	5.12	4.96	3.82	4.02	4.29
	(7.1)	(15.5)			2.04	(11.5)	(5.5)	(10.4)	(9.2)	(9.9)	(2.0)	(13.0)	
	(6.2)				2.06	(11.4)					(4.6)		
Asp-3	4.77	2.92	2.83										
	(7.3)	(17.1)											
	(5.6)												
Thr-4	4.25	4.25		1.18									
	(5.1)	(6.4)											
δ in pp	m, (J i	n Hz)											

Tabelle 3: ¹H-NMR-Daten Glycopeptid **43** (500 MHz, D_2O , pD = 3.5)

 N^{α} -Acetyl-L-seryl- N^{γ} -[3,4,6-tri-O-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxy-glucitol-2]-L-asparagyl-L-asparagyl-L-asparagyl-L-isoleucyl-L-isoleucyl-L-isoleucyl-L-glycyl-L-glycyl-L-glycyl-L-arginyl-L-alanyl-L-phenylalanylamide (44)

PEGA-Rink Harz (277.8 mg, 50 μ mol) und die der Sequenz entsprechenden Fmoc-Aminosäuren werden nach AAV 7 behandelt. Die HPLC-Reinigung erfolgt durch RP-HPLC [Eluent A / Eluent B, 100:0 \rightarrow 80:20 (5 Minuten) \rightarrow 70:30 (30 Minuten) \rightarrow 50:50 (5 Minuten)].

44 C₈₉H₁₄₂N₂₈O₂₉ (2067.05) Ausbeute: 22.8 mg, 23 % d. Th.

MALDI-TOF (positive mode, CCA): 2068 $(M + H)^+$.

¹**H-NMR** (500 MHz, D₂O, pD = 3.5): δ = 0.83 (dd, 3H, J_{γ'a,δ} = 7.6 Hz, J_{γ'b,δ} = 7.9 Hz, Ile-δ-H₃), 0.83 (dd, 3H, $J_{\gamma,a,\delta} = 7.4$, $J_{\gamma,b,\delta} = 7.6$ Hz, Ile- δ -CH₃), 0.85 (d, 3H, $J_{\beta,\gamma} = 6.9$ Hz, Ile- γ -CH₃), 0.90 (d, 3H, $J_{\beta,\gamma} = 6.9$ Hz, Ile- γ -CH₃), 1.13 (m, 1H, $J_{\gamma'a,\gamma'b} = 20.3$ Hz, $J_{\gamma'b,\delta}$ 7.9 = Hz, Ile- γ'_b -H), 1.15 (m, 1H, $J_{\gamma^{*}a,\gamma^{*}b} = 20.3$ Hz, $J_{\gamma^{*}b,\delta} = 7.6$ Hz, Ile- γ^{*}_{b} -H), 1.22 (d, 3H, $J_{\beta,\gamma} = 6.4$ Hz, Thr- γ -H), 1.28 (d, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 7.1$ Hz, Ala- β -H), 1.38 (m, 1H, $J_{\gamma'a,\gamma'b} = 20.3$ Hz, $J_{\gamma'a,\delta} = 7.6$ Hz, Ile- $\gamma'a$ -H), 1.44 (m, 1H, $J_{\gamma'a,\gamma'b} = 20.3$ Hz, $J_{\gamma'a,\delta} = 7.4$ Hz, Ile- $\gamma'a$ -H), 1.57 (ddt, 2H, $J_{\beta,\gamma} = 8.6$ Hz, $J_{\beta',\gamma} = 5.7$ Hz, $J_{\gamma,\delta} = 6.9$ Hz, Arg- γ -CH₂), 1.57 (m, 2H, $J_{\gamma,\delta} = 8.5$ Hz, Lys- γ -CH₂), 1.64 (ddt, 2H, $J_{\beta,\gamma} = 9.1$ Hz, $J_{\beta'\gamma} = 6.0$ Hz, $J_{\gamma,\delta} = 6.9$ Hz, Arg- γ -H₂), 1.68 (ddt, 2H, $J_{\gamma,\delta} = 8.5$ Hz, $J_{\delta,\epsilon} = 7.6$ Hz, $J_{\delta,\epsilon'} = 8.1$ Hz, Lys-δ-H₂), 1.75 (m, 1H, $J_{\beta,\gamma}$ = 8.6 Hz, Arg-β-H), 1.79 (m, 1H, Lys-β-H), 1.81 (m, 1H, $J_{\alpha,\beta}$ = 7.4 Hz, $J_{\beta,\gamma} = 6.9$ Hz, Ile- β -H), 1.81 (m, 1H, $J_{\beta,\gamma} = 9.1$ Hz, Arg- β -H), 1.82 (m, 1H, $J_{\beta,\gamma} = 5.7$ Hz, Arg- β '-H), 1.84 (m, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 7.9$ Hz, $J_{\beta,\gamma} = 6.9$ Hz, Ile- β -H), 1.85 (m, 1H, $J_{\beta',\gamma} = 6.0$ Hz, Arg- β '-H), 1.86 (m, 1H, Lys- β '-H), 1.99 (ddt, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 6.4$ Hz, $J_{\beta,\beta'} = 11.9$ Hz, $J_{\beta,\gamma} = 6.9$ Hz, Pro-β-H), 2.04 (dddt, 2H, $J_{\beta,\gamma} = 6.9$ Hz, $J_{\beta',\gamma} = 7.2$ Hz, $J_{\gamma,\delta} = 6.4$ Hz, $J_{\gamma,\delta'} = 9.4$ Hz, Pro-γ-CH₂), 2.05 (s, 3H, Ac-CH₃), 2.07 (s, 3H, Ac-CH₃), 2.08 (s, 3H, Ac-CH₃), 2.10 (s, 3H, Ac-CH₃), 2.28 (ddt, 1H, $J_{\alpha,\beta'} = 9.2$ Hz, $J_{\beta,\beta'} = 11.9$ Hz, $J_{\beta',\gamma} = 7.2$ Hz, Pro- β' -H), 2.68 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 7.1$ Hz, $J_{\beta,\beta'} = 15.6 \text{ Hz}, \text{ Asn-}\beta\text{-H}), 2.76 \text{ (dd, 1H, } J_{\alpha,\beta} = 7.6 \text{ Hz}, J_{\beta,\beta'} = 16.0 \text{ Hz}, \text{ Asn-}\beta\text{-H}), 2.80 \text{ (dd, 1H, } J_{\alpha,\beta} = 7.6 \text{ Hz}, J_{\beta,\beta'} = 16.0 \text{ Hz}, \text{ Asn-}\beta\text{-H}), 2.80 \text{ (dd, 1H, } J_{\alpha,\beta} = 7.6 \text{ Hz}, J_{\beta,\beta'} = 16.0 \text{ Hz}, \text{ Asn-}\beta\text{-H}), 2.80 \text{ (dd, 1H, } J_{\alpha,\beta} = 7.6 \text{ Hz}, J_{\beta,\beta'} = 16.0 \text{ Hz}, \text{ Asn-}\beta\text{-H}), 2.80 \text{ (dd, 1H, } J_{\alpha,\beta} = 7.6 \text{ Hz}, J_{\beta,\beta'} = 16.0 \text{ Hz}, J_$ $J_{\alpha,\beta'} = 6.4 \text{ Hz}, J_{\beta,\beta'} = 15.6 \text{ Hz}, \text{ Asn-}\beta'-\text{H}), 2.86 \text{ (dd, 1H, } J_{\alpha,\beta'} = 6.0 \text{ Hz}, J_{\beta,\beta'} = 16.0 \text{ Hz}, \text{ Asn-}\beta'-\text{Hz}, J_{\beta,\beta'} = 16.0 \text{ Hz}, \text{ Asn-}\beta'-\text{Hz}, J_{\beta,\beta'} = 16.0 \text{ Hz}, J_{\beta,$ H), 2.99 (dd, 2H, $J_{\gamma,\delta} = 7.6$ Hz, $J_{\gamma',\delta} = 8.1$ Hz, Lys- ϵ -H₂), 3.02 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 8.5$ Hz, $J_{\beta,\beta'} = 8.5$ 14.2 Hz, Phe- β -H), 3.10 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 7.8$ Hz, $J_{\beta,\beta'} = 15.8$ Hz, His- β -H), 3.15 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta} =$ 6.0 Hz, $J_{\beta,\beta'} = 14.2$ Hz, Phe- β' -H), 3.16 (t, 2H, $J_{\gamma,\delta} = 6.9$ Hz, Arg- δ -CH₂), 3.20 (t, 2H, $J_{\gamma,\delta} =$ 6.9 Hz, Arg- δ -CH₂), 3.22 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta'} = 7.1$ Hz, $J_{\beta,\beta'} = 15.8$ Hz, His- β '-H), 3.47 (dd, 1H, $J_{1a,1e} = 11.4 \text{ Hz}, J_{1a,2} = 11.4 \text{ Hz}, \text{H-1a}), 3.62 \text{ (dt, 1H, } J_{\gamma,\delta} = 6.4 \text{ Hz}, J_{\delta,\delta'} = 13.5 \text{ Hz}, \text{Pro-}\delta-\text{H}),$ 3.70 (dt, 1H, $J_{\gamma,\delta^{\circ}} = 9.4$ Hz, $J_{\delta,\delta^{\circ}} = 13.5$ Hz, Pro- δ° -H), 3.82 (t, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 5.0$ Hz, Ser- β -CH₂), 3.83 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 5.3$ Hz, $J_{\beta,\beta'} = 11.7$ Hz, Ser- β -H), 3.85 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta'} = 5.3$ Hz, $J_{\beta,\beta'} = 11.7$ Hz, Ser- β '-H), 3.87 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, $J_{5,6} = 1.9$ Hz, $J_{5,6'} = 6.0$ Hz, H-5), 3.93 (s, 2H, Gly- α -H₂), 3.98 (dd, 1H, J_{1a,1e} = 11.4 Hz, J_{1e,2} = 7.0 Hz, H-1e), 4.05 (d, 1H, J_{α,α'} = 16.4 Hz, Gly- α -H), 4.14 (d, 1H, $J_{\alpha,\alpha'}$ = 16.4 Hz, Gly- α' -H), 4.17 (ddd, 1H, $J_{1a,2}$ = 11.4 Hz, $J_{1e,2}$ = 7.0 Hz, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, H-2), 4.18 (d, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 7.4$ Hz, Ile- α -H), 4.19 (dd, 1H, $J_{5,6} = 1.9$ Hz, $J_{6,6'} = 1.9$ Hz, $J_{$ 13.0 Hz, H-6), 4.22 (d, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 7.9$ Hz, Ile- α -H), 4.26 (m, 2H, $J_{\alpha,\beta} = 6.4$ Hz, Thr- α -H, Thrβ-H), 4.26 (d, 1H, $J_{\alpha,\beta}$ = 7.1 Hz, Ala-α-H), 4.28 (m, 1H, Lys-α-H), 4.32 (dd, 1H, $J_{5,6'}$ = 6.0 Hz, $J_{6,6'} = 13.0$ Hz, H-6'), 4.32 (m, 1H, Arg- α -H), 4.34 (m, 1H, Arg- α -H), 4.40 (t, 1H, $J_{\alpha,\beta} =$ 5.3 Hz, Ser- α -H), 4.46 (t, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 5.0$ Hz, Ser- α -H), 4.47 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 6.4$ Hz, $J_{\alpha,\beta'} = 9.2$ Hz, Pro- α -H), 4.54 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 8.5$ Hz, $J_{\alpha,\beta'} = 6.0$ Hz, Phe- α -H), 4.72 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 7.1$ Hz, $J_{\alpha,\beta'} = 6.4$ Hz, Asn- α -H), 4.75 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 7.8$ Hz, $J_{\alpha,\beta'} = 7.1$ Hz, His- α -H), 4.76 (dd, 1H, $J_{\alpha,\beta} = 7.6$ Hz, $J_{\alpha,\beta'} = 6.0$ Hz, Asn- α -H), 4.99 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9.4$ Hz, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4), 5.17 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, $J_{3,4} = 9.4$ Hz, H-3), 7.2-7.4 (m, 5H, Phe-Ar), 7.26 (d, 1H, $J_{2,4}$ 1.4 Hz, His-4-H), 8.60 (d, 1H, J_{2,4} 1.4 Hz, His-2-H) ppm.

H-L-threonyl-3-*O*-[1,5-anhydrogalactitol-2]-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-Lthreonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonin (120)

Wang Harz B1250 (84.16 mg, 80 μ mol) und die der Sequenz entsprechenden Fmoc-O-Pfp-Aminosäuren werden nach **AAV 5** behandelt. Die HPLC-Reinigung erfolgt durch RP-HPLC [Eluent A / Eluent B, 100:0 \rightarrow 90:10 (5 Minuten) \rightarrow 85:15 (5 Minuten) \rightarrow 75:25 (5 Minuten)].

120 (C₅₇H₉₄N₁₆O₂₅): 1402.66

MALDI-TOF (positive mode, CCA): $1403 (M + H)^+$.

¹**H-NMR** (500 MHz, H_2O/D_2O 9:1, pH = 3.5): siehe Tabelle 5

H-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-3-*O*-[1,5-anhydrogalactitol-2]-Lthreonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonin (121)

Wang Harz B1250 (84.16 mg, 80 μ mol) und die der Sequenz entsprechenden Fmoc-O-Pfp-Aminosäuren werden nach **AAV 5** behandelt. Die HPLC-Reinigung erfolgt durch RP-HPLC [Eluent A / Eluent B, 100:0 \rightarrow 90:10 (5 Minuten) \rightarrow 80:20 (10 Minuten) \rightarrow 70:25 (5 Minuten)].

121 ($C_{57}H_{94}N_{16}O_{25}$): 1402.66

MALDI-TOF (positive mode, CCA): $1403 (M + H)^+$.

¹**H-NMR** (500 MHz, H_2O/D_2O 9:1, pH = 3.5): siehe Tabelle 6

H-L-threonyl-3-*O*-[2,6-anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitol-1]-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonin (122)

Wang Harz B1250 (84.16 mg, 80 μ mol) und die der Sequenz entsprechenden Fmoc-O-Pfp-Aminosäuren werden nach **AAV 5** behandelt. Die Deacetylierung des Saccharidbausteins erfolgt nach **AAV6**. Die HPLC-Reinigung erfolgt durch RP-HPLC [Eluent A / Eluent B, 100:0 \rightarrow 90:10 (5 Minuten) \rightarrow 85:15 (5 Minuten) \rightarrow 75:25 (5 Minuten)].

122 (C₅₈H₉₆N₁₆O₂₆): 1433.49

MALDI-TOF (positive mode, CCA): $1434 (M + H)^+$.

H-L-threonyl-L-seryl-L-alanyl-L-prolyl-L-aspartyl-3-*O*-[2,6-anhydro-D-glycero-L-glucoheptitol-1]-L-threonyl-L-arginyl-L-prolyl-L-alanyl-L-prolyl-L-glycyl-L-seryl-L-threonin (123)

Wang Harz B1250 (84.16 mg, 80 µmol) und die der Sequenz entsprechenden Fmoc-O-Pfp-Aminosäuren werden nach **AAV 5** behandelt. Die Deacetylierung des Saccharidbausteins erfolgt nach **AAV6**. Die HPLC-Reinigung erfolgt durch RP-HPLC [Eluent A / Eluent B, $100:0 \rightarrow 90:10 (5 \text{ Minuten}) \rightarrow 85:15 (5 \text{ Minuten}) \rightarrow 75:25 (5 \text{ Minuten})].$

123 (C₅₈H₉₆N₁₆O₂₆): 1433.49

MALDI-TOF (positive mode, CCA): $1434 (M + H)^+$.

	NH	Ηα1	Ηα2	Ηβ1	Ηβ2	Hy1a	Hy1b	Ηγ2	Ηδ1	Ηδ2	Hɛ1	Ηε2	Ac/NH	Ar
Ser-1	8.302 (6.3)	4.392 (5.7) (5.3)		3.847 (11.9)	3.804								2.044	
Asn-2	8.544 (7.8)	4.731 (5.4) (7.6)		2.850 (15.9)	2.741								8.160 (8.5)	
Asn-3	8.364 (7.3)	4.740 (6.0) (7.5)		2.842 (15.9)	2.746								7.493	
Thr-4	8.109 (7.5)	4.278 (4.5)		4.234 (6.4)		1.188								
Arg-5	8.265 (7.3)	4.310 (6.3) (8.5)		1.843 (7.5)	1.755	1.612 (6.6)		1.612 (6.9)	3.173 (6.0)	3.173			7.136	
Lys-6	8.250 (7.8)	4.303 (6.2) (8.0)		1.806 (15.9)	1.719	1.411 (8.6)		1.411 (5.8)	1.654 (7.4)	1.654 (7.4)	2.967	2.967		
Ser-7	8.252 (7.3)	4.431 (5.0) (5.3)		3.822 (11.5)	3.780									
Ile-8	8.055 (7.7)	4.153 (7.5)		1.796 (7.1)		1.314 (19.8) (7.3)	1.106 (7.5)	0.815	0.798					
His-9	8.559 (7.6)	4.718 (6.4) (8.9)		3.192 (15.3)	3.098									
Ile-10	8.210 (7.9)	4.191 (8.2)		1.793 (7.0) (6.7)		1.416 (20.2) (7.3)	1.127 (7.8)	0.871	0.808					
Gly-11	8.300 (5.9) (5.5)	4.114 (17.3)	4.033											
Pro-12		4.350 (8.5) (4.6)		2.252 (13.5) 87.7)	1.961 (7.0)	2.000 (6.6)		2.000 (7.2)	3.645 (10.0)	3.594				
Gly-13	8.469 (5.9)	3.910	3.910											
Arg-14	8.089 (6.7)	4.259 (6.4) (8.1)		1.750 (5.7)	1.663 (3.6)	1.532 (6.1)		1.532 (6.1)	3.131	3.131			7.106	
Ala-15	8.262 (6.6)	4.240 (7.2)		1.258									7.463 7.041	
Phe-16	8.075 (7.3)	4.533 (6.0) (8.6)		3.123 (13.9)	2.990									7.36- 7.22

 Tabelle 4: ¹H-NMR-Daten Aminosäureprotonen des Glycopeptids 42

	NH	$H_{\alpha 1}$	$H_{\alpha 2}$	$H_{\beta 1}$	$H_{\beta 2}$	$H_{\gamma l}$	$H_{\gamma 2}$	$H_{\delta 1}$	$H_{\delta 2}$	NH	H-1a	H-1e	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'
Thr-1		3.91 (6.6)		4.17 (6.6)		1.28												
Ser-2	8.77 (6.6)	4.52 (4.5) (6.9)		3.81 (11.5)	3.79						3.13 (10.9) (11.0)	4.09 (5.0)	3.64	3.64	3.92	3.51 (4.3) (7.6)	3.92 (11.4)	3.67
Ala-3	8.39 (7.0)	4.60 (7.1)		1.39														
Pro-4	8.39 (6.0)	4.39*		2.31*	2.31*	2.04*	2.04*	3.83*	3.67									
Asp-5	8.55 (7.3)			2.94 (17.1)	2.86													
Thr-6	8.28 (8.62)	4.47 (3.2)		4.38 (6.5)		1.16												
Arg-7	8.23 (7.3)	4.67		1.86	1.72	1.67	1.62	3.23	3.23	7.13								
Pro-8		4.37		2.23	2.23	2.04*	2.04*	3.83*	3.65									
Ala-9	8.44 (5.7)	4.65 (7.1)		1.39														
Pro-10		4.38		2.31*	2.31*	2.04*	2.04*	3.83*	3.66									
Gly-11	8.37 (5.9) (6.0)	3.95 (17.0)	3.91															
Ser-12	8.25 (7.2)	4.64 (5.9) (4.8)		3.87 (11.8)	3.85													
Thr-13	8.01 (7.9)	4.29 (4.2)		4.17 (6.6)		1.14												

 Tabelle 5: ¹H-NMR-Daten Aminosäureprotonen des Glycopeptids 120

* die Signale liegen nicht dispergiert vor

	NH	$H_{\alpha 1}$	$H_{\alpha 2}$	$H_{\beta 1}$	$H_{\beta 2}$	$H_{\gamma l}$	$H_{\gamma 2}$	$H_{\delta 1}$	$H_{\delta 2}$	NH	H-1a	H-1e	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'
Thr-1		3.76 (6.2) (6.3)		4.0 (6.4)		1.14												
Ser-2	8.62 (7.0)	4.35 (4.8) (6.5)		3.70 (11.6)	3.64													
Ala-3	8.26 (5.7)	4.40 (7.0)		1.18*														
Pro-4		4.23*		2.11*	1.75*	1.84*	1.84*		3.62*	3.47*								
Asp-5	8.37 (7.3)	4.6 (6.6) (6.9)		2.76 (17.1)														
Thr-6	8.03 (8.7)	4.22*		4.33*		1.01					2.99 (10.8) (10.8)	3.90 (5.5)	3.78 (11.0)	3.55 (34.2)	3.45 (3.3)	3.35*	3.52*	3.78*
Arg-7	8.16 (7.0)	4.60*		1.66*	1.57*	1.50*	1.50*		3.03*	3.03*								
Pro-8		4.23*		2.08*	1.68*	1.82	1.82*		3.62*	3.42								
Ala-9	8.26 (5.6)	4.43 (7.0)		1.18*														
Pro-10		4.23*		2.11*	1.75*	1.84*	1.84*		3.62*	3.47*								
Gly-11	8.35 (6.0) (6.1)	3.85 (17.3) (5.3)	3.77															
Ser-12	7.97 (7.2)	4.38*		3.74*	3.74													
Thr-13	7.93 (7.5)	3.89*		4.33*		0.93												

 Tabelle 6: ¹H-NMR-Daten Aminosäureprotonen des Glycopeptids 121

* die Signale liegen nicht dispergiert vor

7 Literatur

- (1) Sharon, N.; Lis, H. Spektrum der Wissenschaft 1993, 3, 66-74.
- (2) Burger, M. M.; Goldberg, A. R. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1969, 62, 994-1001.
- (3) Inbar, M.; Sachs, L. *Nature* **1969**, *223*, 710-712.
- (4) Montreuil, J. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 1980, 37, 157-223.
- (5) Varki, A. *Glycobiology* **1993**, *3*, 97-130.
- (6) Sharon, N.; Lis, H. *Science* **1989**, *246*, 227-234.
- (7) Dwek, R. A. Chem. Rev. **1996**, 96, 683-720.
- (8) Hase, S.; Nishimura, N.; Kawabata, S.; Iwanaga, S.; Ikenaka, T. J. Biol. Chem. 1990, 265, 872-883.
- Hart, G. W.; Kreppel, L. K.; Comer, F. I.; Arnold, C. S.; Snow, D. M.; Ye, Z.; Cheng, X.; DellaManna, D.; Caine, D. S.; Earles, B. J.; Akimoto, Y.; Hayes, R. N. C. u. B. K. *Glycobiology* **1996**, *6*, 711-716.
- (10) Hallgren, P.; Lundblad, A.; Svensson, J. J. Biol. Chem. 1975, 250, 5312-5323.
- (11) Lamport, D. T. A.; Miller, D. H. Plant Physiol. 1971, 48, 454-467.
- (12) Tanner, W.; Lehle, A. Biochim. Biophys. Acta 1987, 906, 81-96.
- (13) Spiro, R. G. J. Biol. Chem. 1967, 242, 4813-4821.
- Berger, E. G.; Buddecke, E.; Kamerling, J. P.; Kobata, A.; Paulson, J. C.;Vliegenthart, J. F. G. *Experimenta* **1982**, *38*, 1129-1139.
- (15) Lehmann, J. Kohlenhydrate; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, New York, 1996.
- (16) Schachter, H.; Brockhausen, I. In *Glycoconjugates*; H. J. Allen, E. C. K., Ed.; Marcel Dekker: New York, 1992, p 163-332.
- (17) Ashwell, G.; Harford, J. J. Ann. Rev. Biochem. 1982, 51, 531-554.
- (18) Feizi, T. Curr. Opin. Struct. Biol. 1992, 1, 766-770.
- Weis, W.; Brown, J. H.; Cusack, S.; Paulson, J. C.; Skehel, J. J.; Wiley, D. C. *Nature* 1988, *333*, 426-431.
- (20) Sharon, N.; Lis, H. Trends Biochem. Sci. 1987, 12, 488-491.
- (21) Barondes, S. H. Science 1984, 223, 1259-1264.
- (22) Yoshida, M.; Matsui, T.; Fuse, G.; Ouchi, S. FEBS Lett. 1993, 318, 305-309.
- (23) Liotta, L. A.; Rao, C. N.; Wewer, U. M. Ann. Rev. Biochem. 1986, 55, 1037-1057.
- (24) Lasky, L. A. Science 1992, 258, 964-969.
- (25) Bevilacqua, M. P.; Stengelin, S.; M. A. Gimbrone, J.; Seed, B. Science 1989, 243, 1160-1165.
- (26) Johnston, G. I.; Cook, R. G.; McEver, R. P. Cell 1989, 56, 1045-1048.

- (27) Siegelman, M. H.; Rijn, M. v. d.; Weissman, I. L. Science 1989, 243, 1165-1172.
- (28) Lasky, L. A.; Singer, M. S.; Yednock, T. A.; Dowbenko, D.; Fennie, C.; Rodriguez, H.; Nguyen, T.; Stachel, S.; Rosen, S. D. *Cell* **1989**, *56*, 1045-1052.
- (29) Philips, M. L.; Nudelmann, E.; Gaeta, F. C. A.; Perez, M.; Singhal, A. K.; Hakomori, S.-I.; Paulson, J. C. *Science* 1990, *250*, 1130-1132.
- Polley, M. J. M.; Philips, M. L.; Wayner, E.; Nudelmann, E.; Singhal, A. K.;
 Hakomori, S.-I.; Paulson, J. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991, 88, 6224-6229.
- (31) Hemmerich, S.; Bertozzi, C. R.; Leffler, H.; Rosen, S. D. *Biochemistry* **1994**, *33*, 4820-4829.
- (32) Patel, T. P.; Goelz, S. E.; Lobb, R. R.; Parekh, R. B. *Biochemistry* 1994, *33*, 14815-14824.
- (33) Björk, I.; Lindahl, U. Mol. Cell Biochem. 1982, 48, 161-168.
- (34) Wassarman, P. M. In *Carbohydrate Recognition in Cellular Function*; Bock, D., Harnett, J. S., Eds.; Wiley & Sons: Chichester, 1989, Kap. 8.
- (35) Toone, E. J. Curr. Opin. Struct. Biol. 1994, 4, 719-728.
- (36) Chapleur, Y. Carbohydrate Mimics; Wiley-VCH: Weinheim, 1998.
- (37) Nicotra, F. In *Carbohydrate Mimics*; Chapleur, Y., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 1998, S. 67-83.
- Martens, C. L.; Cwirla, S. E.; Lee, R. Y. W.; Whitehorn, E.; Chen, E. Y. F.; Bakker, A.; Martin, E. L.; Wagstrom, C.; Goplain, P.; Smith, C. W.; Tate, E.; Koller, K. H.; Schatz, P. J.; Dower, W. J.; Barett, R. W. J. Biol. Chem. 1995, 270, 129-131.
- (39) Sears, P.; Wong, C. H. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1998, 1161-1170.
- (40) Brandley, B. K.; Kiso, M.; Abbas, S.; Nikrad, P.; Srivasatava, O.; Foxall, C.; Oda, Y.; Hasegawa, A. *Glycobiology* 1993, *3*, 633-636.
- (41) Ramphal, J. Y.; Zheng, Z. L.; Perez, C.; Walker, L. E.; DeFrees, S. A.; Gaeta, F. C. J. *Med. Chem.* 1994, *37*, 3459-3463.
- (42) Stahl, W.; Sprengard, U.; Kretzschmar, G.; Kunz, H. Angew. Chem. 1994, 106, 2186-2188; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1994, 33, 2096-2098.
- (43) Sprengard, U.; Kretzschmar, G.; Bartnik, E.; Hüls, C.; Kunz, H. Angew. Chem. 1995, 107, 1104-1107; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1995, 34, 990-993.
- (44) Simanek, E. E.; McGarvey, G. J.; Jablonowski, J. A.; Wong, C. H. *Chem. Rev.* 1998, 98, 833-862.
- (45) Lee, Y. C. Carbohydr. Res. 1978, 67, 509-514.

- (46) Connolly, D. T.; Townsend, R. R.; Kawaguchi, K.; Bell, W. R.; Lee, Y. C. J. Biol. Chem. 1982, 257, 939-945.
- (47) Kieburg, C.; Lindhorst, T. K. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1996, 108, 2083-2086;
 Angew.Chem. Int. Ed. Engl. 1996, 35, 1935-1936.
- (48) Dondoni, A.; Marra, A.; Massi, A. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 2827-2832.
- (49) Dondoni, A.; Marra, A.; Massi, A. J. Org. Chem. 1999, 64, 933-944.
- (50) Debenham, S. D.; Debenham, J. S.; Burk, M. J.; Toone, E. J. J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 9897-9898.
- (51) Lay, L.; Meldal, M.; Nicotra, F.; Panza, L.; Russo, G. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1997, 1469-1470.
- (52) Fisher, J. F.; Harrison, A. W.; Bundy, G. L.; Wilkinson, K. F.; Bush, B. D.; Ruwart, M. J. *J. Med. Chem.* 1991, *34*, 3140-3143.
- (53) Bundy, G. L.; Pals, D. T.; Lawson, J. A.; Couch, S. J.; Lipton, M. F.; Mauragis, M. A.
 J. Med. Chem. 1990, *33*, 2276-2283.
- (54) Bertozzi, C. R.; Hoeprich Jr., P. D.; Bednarski, M. D. J. Org. Chem. 1992, 57, 6092-6094.
- (55) Hoffmann, M.; Burkhart, F.; Hessler, G.; Kessler, H. *Helv. Chim. Acta* 1996, 79, 1519-1532.
- (56) Haneda, T.; Goekjian, P. G.; Kim, S. H.; Kishi, Y. J. Org. Chem. 1992, 57, 490-498.
- (57) Kishi, Y. Pure & Appl. Chem. 1993, 65, 771-778.
- (58) Wessel, H. P.; Mitchell, C.; Lobato, C. M.; Schmid, G. Angew. Chem. 1995, 107, 2920-2921; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1995, 34, 990-993.
- (59) Takatsuki, A.; Arima, K.; Tamura, G. J. Antibiot. 1971, 24, 215-223.
- (60) Thacz, J. S.; Lampen, J. O. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1975, 65, 248-257.
- (61) Cai, S.; Stroud, M. R.; Hakomori, S.; Toyokuni, T. J. Org. Chem. 1992, 57, 6693-6696.
- (62) Luengo, J. I.; Gleason, J. G. Tetrahedron Lett. 1992, 33, 6911-6914.
- (63) Schmidt, R. R.; Frische, K. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1993, 1993, 1747-1750.
- (64) Amann, F.; Schaub, C.; Müller, B.; Schmidt, R. R. Chem. Eur. J. 1998, 4, 1106-1115.
- (65) Schaub, C.; Müller, B.; Schmidt, R. R. *Glycoconjugate J.* 1998, 15, 345-354.
- (66) Stütz, A. E. Iminosugars as Glycosidase Inhibitors; Wiley-VCH: Weinheim, 1999.
- (67) Ogawa, S. In *Carbohydrate Mimics*; Chapleur, Y., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 1998, S. 87-104.

- (68) Itzstein, M. v.; Wu, W.-Y.; Kok, G. B.; Pegg, M. S.; Dyason, J. C.; Jin, B.; Phan, T. V.; Smythe, M. L.; White, H. F.; Oliver, S. W.; Colman, P. M.; Varghese, J. N.; Ryan, D. M.; Woods, J. M.; Bethell, R. C.; Hotham, V. J.; Cameron, J. M.; Penn, C. R. *Nature* 1993, *363*, 418-423.
- (69) Unverzagt, C. Angew. Chem. 1993, 105, 1762-1764; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1993, 32, 1691-1693.
- (70) Merrifield, R. B. J. Am. Chem. Soc. 1963, 85, 2149-2154.
- Peters, S.; Meldal, M.; Bock, K. In *Modern Methods in Carbohydrate Chemistry*;
 Khan, S. H., O'Neill, R. A., Eds.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, 1996,
 S. 352-377.
- (72) Klich, G.; Paulsen, H.; Meyer, B.; Meldal, M.; Bock, K. *Carbohydr. Res.* 1997, 299, 33-48.
- (73) Kullmann, J. Enzymatic Peptide Synthesis; CRC Press: Boca Raton, 1987.
- (74) Witte, K.; Sears, P.; Martin, R.; Wong, C.-H. J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 2114-2118.
- (75) Schleyer, A.; Meldal, M.; Manat, R.; Paulsen, H.; Bock, K. Angew. Chem. 1997, 109, 2064-2067; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1995, 36, 1976-1978.
- (76) Kocienski, P. J. *Protecting Groups*; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1994.
- (77) Carpino, L. A.; Han, G. Y. J. Org. Chem. 1972, 37, 3404-3413.
- (78) Carpino, L. A. J. Am. Chem. Soc. 1993, 115, 4397-4398.
- (79) Christensen, M. K.; Meldal, M.; Bock, K. J. Chem. Soc., Perkin Trans. I 1993, 153-160.
- (80) Knorr, R.; Trzeciak, A.; Bannwarth, W.; Gilessen, D. *Tetrahedron Lett.* 1989, 30, 1927-1930.
- (81) Nara, P. L.; Garrity, R. R.; Goudsmith, J. FASEB J. 1991, 5, 2437-2455.
- (82) Brady, R. L.; Barclay, A. N. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 1996, 205, 1-18.
- (83) Kwong, P. D.; Wyatt, W.; Robinson, R.; Sweet, R. W.; Sodroski, J.; Hendrickson, W.
 A. *Nature* 1998, *393*, 648-656.
- (84) Alkhatib, G.; Combadiere, C.; Broder, C. C.; Feng, Y.; Kennedy, P. E.; Murphy, P.
 M.; Berger, E. A. *Science* 1996, 272, 1955-1958.
- (85) Nehete, P. N.; Arlinghaus, R. B.; Sastry, K. J. J. Virol. 1993, 67, 6841-6846.
- (86) Meyer, S. Doktorarbeit, Universität Hamburg 1999.
- (87) Tarentino, A. L.; Maley, F. In *Methods in Enzymology*; Ginsburg, V., Ed.; Academic Press: New York und London, 1972; Vol. 28, S. 782-786.

- (88) Bamford, M. J.; Pichel, J. C.; Husman, W.; Patel, B.; Storer, R.; Weir, N. G. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 1995, 1181-1187.
- (89) Hanessian, S. Tetrahedron Lett. 1967, 16, 1549-1552.
- (90) Bodanszky, M. Principles of Peptide Synthesis; Springer-Verlag: Heidelberg, 1993.
- (91) Chen, F. M. F.; Benoiton, N. L. Can. J. Chem 1986, 65, 619-625.
- (92) Paquet, A. Can. J. Chem. 1982, 60, 976-978.
- (93) Rink, H. Tetrahedron Lett. 1987, 28, 3787-3788.
- (94) Zemplén, G.; Pacsu, E. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 1929, 63, 1613-1618.
- (95) Schäfer, A.; Klich, G.; Schreiber, M.; Paulsen, H.; Thiem, J. *Carbohydr. Res.* 1998, 313, 107-116.
- (96) Blake, C. C. F.; Johnson, L. N.; Mair, G. A.; North, A. T. C.; Phillips, D. C.; Sharma, V. R. *Proc. R. Soc. London, B.* 1967, *167*, 378-385.
- (97) Marshall, R. D.; Neuberger, A. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 1970, 25, 407-478.
- (98) Levy, D. E.; Tang, C. The Chemistry of C-Glycosides; Pergamon: Oxford, 1995.
- (99) Lamport, D. T. A.; Katona, L.; Roerig, D. Biochem. J 1973, 258, 11594-11598.
- (100) March, J. Advanced Organic Chemistry; 4th ed.; John Wiley & Sons: New York, 1992.
- (101) Milikovic, M.; Gligorijevic, M.; Glisin, D. J. Org. Chem. 1974, 39, 3223-3226.
- (102) Kapiesiuk, W.; Banaszek, A.; Zamojski, A. Carbohydr. Res. 1989, 186, 156-162.
- (103) Collins, P.; Ferrier, R. Monosaccharides; John Wiley & Sons: Chichester, 1995.
- (104) Sassaman, M. B.; Kotian, K. D.; Prakash, G. K. S.; Olah, G. A. J. Org. Chem. 1987, 52, 4314-4319.
- (105) Nicolaou, K. C.; Hwang, C.-K.; Nugiel, D. A. J. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 4136-4137.
- (106) Kocienski, P.; Pant, C. Carbohydr. Res. 1982, 110, 330-332.
- (107) Khuddus; Swern J. Am. Chem. Soc. 1973, 95, 8393-8402.
- (108) Krokotos, G. Synthesis 1990, 299-301.
- (109) Gurjar, M. K.; Mainkar, A. S.; Syamala, M. *Tetrahedron Asymmetry* **1993**, *4*, 2343-2346.
- (110) Ghosez, L. Tetrahedron 1989, 45, 2875-2886.
- (111) Tanner, D. Angew. Chem. **1994**, 106, 625-646; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. **1994**, 33, 599-619.
- (112) Nakajima, K.; Takai, F.; Tanaka, T.; Okawa, K. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1978, 51, 1577-1578.

- (113) Okawa, K.; Nakajima, K. *Biopolymers* **1981**, *20*, 1811-1821.
- (114) Nakajima, K.; Oda, H.; Okawa, K. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1983, 56, 520-522.
- (115) Tanaka, T.; Nakajima, K.; Maeda, T.; Nakamura, A.; Hayashi, N.; Okawa, K. Bull.
 Chem. Soc. Jpn. **1979**, *52*, 3579-3581.
- (116) Baldwin, J. E.; Adlington, R. M.; O'Neil, I. A.; Schofield, C.; Spivey, A. C.; Sweeney, J. B. J. Chem. Soc. Chem Commun. 1989, 1852-1854.
- (117) Larsson, U.; Carlson, R. Acta Chem. Scand. 1994, 48, 511-516.
- (118) Legters, J.; Willems, J. G. H.; Thijs, L.; Zwanenburg, B. Recl. Trav. Chim. Pays-Bas 1992, 111, 59-68.
- (119) Dauban, P.; Dubois, L.; Dau, M. E. T. H.; Dodd, R. J. Org. Chem. 1995, 60, 2035-2043.
- (120) Dubois, L.; Mehta, A.; Tourette, E.; Dodd, R. H. J. Org. Chem 1994, 59, 434-441.
- (121) Ho, M.; Wang, W.; Douvlos, M.; Pham, T.; Klock, T. *Tetrahedron Lett.* 1991, *32*, 1283-1286.
- (122) Deslongchamps, P. Stereoelectronic Effects in Organic Chemistry; Pergamon Press: New York, 1983.
- (123) BeMiller, J. N.; Yadav, M. P. Carbohydr. Res. 1990, 200, 111-126.
- (124) Wang, S. S. J. Am. Chem. Soc. 1973, 95, 1328-1335.
- (125) Blankemeyer-Menge, B.; Nimtz, M.; Frank, R. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1701-1704.
- (126) Truscheit, E.; Frommer, W.; Junge, B.; Müller, L.; Schmidt, D. D.; Wingender, W.
 Angew. Chem. 1981, 93, 738-755; *Angew.Chem. Int. Ed. Engl.* 1995, 20, 744-759.
- (127) Fleet, G. W. J.; Karpas, A.; Dewek, R. A.; Fellows, L. E.; Tyms, A. S.; Petursson, S.; Namgoong, S. K.; Ramsden, N. G.; Smith, P. W.; Son, J. C.; Wilson, F.; Witty, D. R.; Jacob, G. S.; Rademacher, T. W. *FEBS Lett.* **1988**, *237*, 128-132.
- (128) Bahl, O. P.; Agrawal, K. M. L. J. Biol. Chem. 1969, 244, 2970-2978.
- (129) Huber, E. E.; Gaunt, M. T. Arch. Biochem. Biophys. 1983, 220, 263-271.
- (130) Dale, M. P. *Biochemistry* **1985**, *24*, 3530-3539.
- (131) Leloir, L. F. Science 1971, 172, 1299-1303.
- (132) Kornfeld, S.; Kornfeld, R. Ann. Rev. Biochem. 1985, 54, 631-664.
- (133) Sinnott, M. L. Chem. Rev. 1990, 90, 1171-1202.
- (134) Wong, C.-H.; Halcomb, R. L.; Ichikawa, Y.; Kajimoto, T. Angew. Chem. 1995, 107, 453-474; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1995, 34, 412-432.

- (135) Wong, C.-H.; Halcomb, R. L.; Ichikawa, Y.; Kajimoto, T. Angew. Chem. 1995, 107, 569-593; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1995, 34, 521-546.
- (136) Marth, J. D. *Glycobiology* **1996**, *6*, 701-705.
- (137) Casero, F.; Cipolla, L.; Lay, L.; Nicotra, F.; Panza, L.; Russo, G. J. Org. Chem. 1996, 61, 3428-3432.
- (138) Vaghefi, M. M.; Bernacki, R. J.; Hennen, W. J.; Robins, R. K. J. Med. Chem. 1987, 30, 1383-1391.
- (139) Engel, R. Chem. Rev. 1976, 77, 349-367.
- (140) Schramm, V. L. Ann. Rev. Biochem. 1998, 67, 693-720.
- (141) Moffat, J. G.; Khorana, H. G. J. Am. Chem. Soc. 1961, 83, 649-658.
- (142) Bertozzi, C. R.; Bednarski, M. D. Tetrahedron Lett. 1992, 33, 3109-3112.
- (143) Brooks, G.; Edwards, P. D.; Hatto, J. D. I.; Smale, T. C.; Southgate, R. *Tetrahedron* ° 1995, *51*, 7999-8014.
- (144) Brown, H. C.; Krishnamurthy, S. Tetrahedron 1979, 35, 567-607.
- (145) Mlynarski, J.; Banaszek, A. Carbohydr. Res. 1996, 295, 69-75.
- (146) Tanner, M. E.; Vaganay, S.; Heijenoort, J. v.; Blanot, D. J. Org. Chem. **1996**, 61, 1756-1760.
- (147) Shuikin, E. Russ. Chem. Rev. 1960, 29, 309-320.
- (148) Wittmann, V.; Wong, C.-H. J. Org. Chem. 1997, 62, 2144-2147.
- (149) Heras, F. G. d. l.; Fernández-Resa, P. J. Chem. Soc., Perkin Trans. I 1982, 903-907.
- (150) Carcano, M.; Nicotra, F.; Panza, L.; Russo, G. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1989, 297-298.
- (151) Beau, J.-M.; Gallagher, T. In *Glycoscience, Synthesis of Substrate Analogs and Mimetics*; Driguez, H., Thiem, J., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, 1997; Vol. 187, S. 1-54.
- (152) Hoffmann, M.; Kessler, H. Tetrahedron Lett. 1994, 35, 6067-6070.
- (153) Burkhardt, F.; Kessler, H. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 255-256.
- (154) Lancelin, J.-M.; Morin-Allory, L.; Sinay, P.-M. J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1984, 355-356.
- (155) Lesimple, P.; Breau, J. M.; Sinay, P. Carbohydr. Res. 1987, 171, 289.
- (156) Wittmann, V.; Kessler, H. Angew. Chem. 1993, 105, 1138-1140.
- (157) Friebolin, H. *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*; VCH-Verlag: Weinheim, 1992.
- (158) Kondo, Y. Carbohydr. Res. 1983, 141, 324-327.

- (159) Kobertz, W. R.; Bertozzi, C. R.; Bednarski, M. D. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 737-740.
- (160) Grundler, G.; Schmidt, R. R. Liebigs Ann. Chem. 1984, 1826-1847.

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mir bei der Entstehung dieser Arbeit hilfreich zur Seite standen:

Katharina, für ihre Geduld und ihr Verständnis, das sie auch in schwierigen Phasen dieser Arbeit für mich aufbrachte.

Meine Eltern, auf deren Unterstützung ich mich stets verlassen konnte.

Markus Stark, der mit mir alle Höhen und Tiefen des wissenschaftlichen und nicht-wissenschaftlichen Alltags im Labor 222 durchlebte und der mir ein wahrer Freund wurde.

Dirk Henkensmeier und Thomas Kühnemund, die im Rahmen ihrer Schwerpunktarbeiten an wesentlichen Teilen dieser Arbeit engagiert mitgearbeitet haben.

Oliver Bolender, Burkhardt Müller, Christian Sund und Swantje Thiering für die vielen tiefsinnigen Gespräche vor, während und nach dem täglichen Mittagstisch.

Dem gesamten Arbeitskreis Thiem für die freundliche Aufnahme und gute Zusammenarbeit, insbesondere Michael Ludewig, der zumindest theoretisch für jedes Problem eine Lösung parat hatte sowie Lars Kröger, für die Durchführung der Inhibitionsexperimente und Anfertigung zahlreicher MALDI-Tof-Spektren.

Gunther Klich und dem gesamten Arbeitskreis Paulsen, für die Kooperation und außergewöhnliche Hilfsbereitschaft sowie die geduldige Einführung in die Festphasensynthese.

Dr. Volker Sinnwell für die Aufnahme von NMR-Spektren und seine stets vorhandene Diskussionsbereitschaft bezüglich NMR-spektroskopischer Probleme sowie Inge Schult, für die freundliche und schnelle Anfertigung hervorragender weiterer NMR-Spektren.