

Synthese Kohlenhydrat-zentrierter Glycocluster und Dendrimere

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Michael Dubber
aus Hamburg

Hamburg 2001

1: Gutachter: Prof. Dr. J. Thiem

2. Gutachter: Prof. Dr. Th. K. Lindhorst

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 30. 08. 2001

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Oktober 1996 bis März 2000 im Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg, sowie anschließend in der Zeit bis Juni 2001 im Institut für Organische Chemie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel durchgeführt.

Frau Prof. Dr. Th. K. Lindhorst danke ich für die gute Zusammenarbeit und die interessante Themenstellung.

Herrn Prof. Dr. J. Thiem danke ich für seine wohlwollende Unterstützung.

Inhaltsübersicht

Einleitung

Glycobiologie; Dendrimerchemie; Zusammenfassung der Diplomarbeit; Aufgabenstellung

Seite 1

Kohlenhydrat-zentrierte Dendrimere

Auf dem Weg zu neuen Transfektionsreagenzien

Glucose-zentrierter PAMAM-Dendrimere; Di- und Trisaccharid-zentrierte PAMAM-Dendrimere

Seite 18

Octopus-Glycoside als Kernmoleküle für die Darstellung

Kohlenhydrat-zentrierter Glycocluster

Inhibitoren der Adhäsion von *Escherichia coli* an Mannan

Glucose-, Trehalose-, Melibiose- und Raffinose-zentrierte Glycocluster, Pentaerythrit-zentrierte Glycocluster als

Inhibitoren der über Typ-1-Fimbrien vermittelten Adhäsion von *E. coli* an Mannan; ELISA

Seite 40

Funktionalisierte Kohlenhydrat-zentrierte Cluster

Glycocluster für Immunbindungsassays

Funktionalisierte Glucose-zentrierte Glycocluster; Biotinylierte Glycocluster; Fluoreszenz-markierte

Glycocluster; mit Azulen, Fettsäuren, Steroiden oder Phospholiden konjugierte Glucose-zentrierte Glycocluster

Seite 66

Konvergente Glycocluster-Synthesen

Alternative Synthesewege zu Glycoclustern

Synthese von Glycocluster über Thioharnstoffverbrückungen, reduktive Aminierung, Peptid- und Oximkupplung

Seite 98

Zusammenfassung

Deutschsprachige Zusammenfassung und "english language summary"

Seite 116

Experimenteller Teil

Allgemeine Arbeitsvorschriften; MALDI-TOF-Probenpräparation; Arbeitssicherheits-relevante Informationen;

Biologische und Chemische Versuchsbeschreibungen

Seite 120

Anhang

Literaturreferenzen; Abkürzungs- und Trivialnamenverzeichnis; Danksagungen

Seite 199

Das Numerierungsschema:

Eine Verbindung
aus Kapitel 3

Die laufende Nummer
im Kapitel 3 ist 1.

3.01 β

Die Verbindung besitzt einen penta-
funktionalisierten, β -konfigurierten Glucose-
Kern. Der analogen Verbindung mit penta-
funktionalisierten, α -konfigurierten Glucose-
Kern ist kein α -Buchstabe nachgestellt.

Einleitung

Die vorliegende Dissertation beschäftigt sich mit der Synthese von Glycokonjugaten und Dendrimeren mit Hinblick auf deren Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin und Molekularbiologie. In einer kurzen, allgemein gehaltenen Einleitung werden die zugrundeliegenden Forschungsbereiche, Dendrimerchemie und Glycobiologie, kurz beschrieben und die Arbeiten der vorangegangenen Diplomarbeit zum selben Thema zusammengefasst. Anschließend verzweigt sich die Arbeit in spezielle Gebiete, wobei den jeweiligen Arbeitsgebieten eine kurze spezielle Einleitung und eine eigene Kapitelgliederung vorangestellt sind.

Dendrimere

Regelmäßig hyperverzweigte, monodisperse Makromoleküle¹

Dendrimere sind regelmäßig hyperverzweigte, monodisperse Makromoleküle, die nach zwei unterschiedlichen Aufbauprinzipien hergestellt werden können. Von einer divergenten Synthese spricht man, wenn an ein Kernmolekül durch sich wiederholende Reaktionsschritte immer neue Moleküle addiert werden, wobei sich die Zahl der reaktiven Endgruppen mit jedem Schritt verdoppelt oder verdreifacht. Ein Beispiel für diese divergente Synthesemethode stellt die Synthese von Polypropylenimin-Dendrimeren von Meijer dar, die auf Vögtles Beispiel von 1978 aufbaut.² In der Synthese der Polypropylenimin-Dendrimere bestehen die iterativen Schritte aus der Addition der jeweils endständigen Amingruppen an Acrylnitril und der anschließenden Reduktion der Nitrilgruppen (Abb. 1.1).

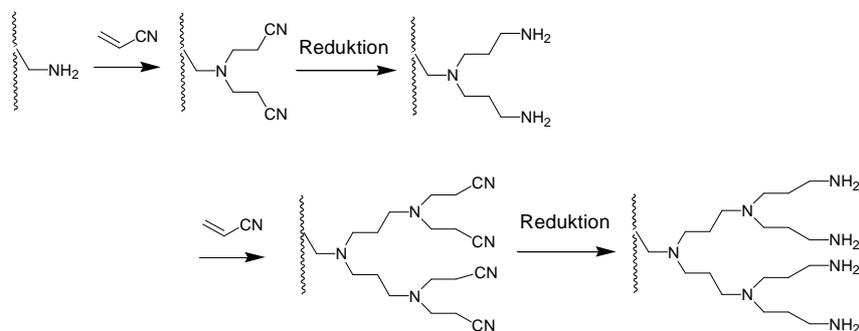


Abb. 1.1: Divergentes Aufbauschema für Polypropylenimin-Dendrimere (Meijer).

Die andere Synthesemethode wurde von Fréchet entwickelt und baut die Dendrimere konvergent aus sogenannten Dendrons auf.³ Ein neueres Beispiel für dieses Syntheseprinzip ist die hier gezeigte Synthese von Polybenzylesterdendrimeren (Abb. 1.2).⁴

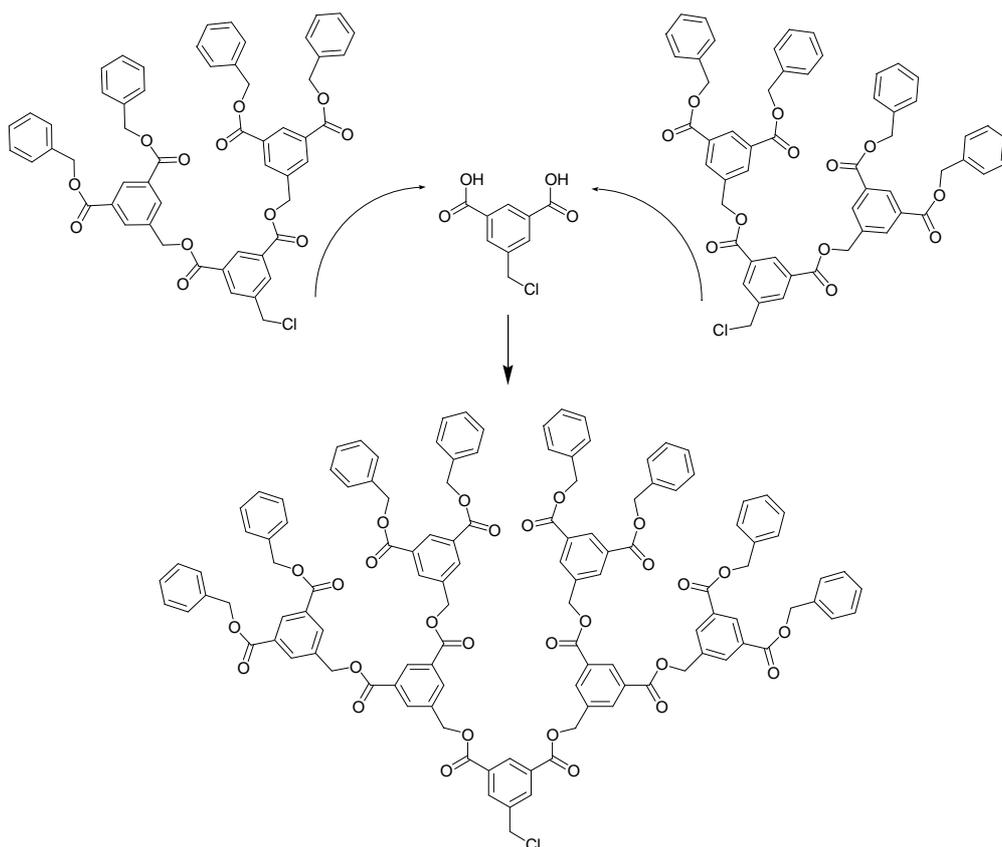


Abb. 1.2: Konvergentes Aufbauschema für Polybenzylesterdendrimeren (Fréchet)

Während die Arbeiten, welche sich mit den physikalischen Eigenschaften von Dendrimeren beschäftigen, eher schwierig zu beschreiben sind, läßt sich wesentlich allgemeinverständlicher über das Anwendungsprofil von Dendrimeren berichten.⁵ Einen der neuesten Anwendungstypen repräsentieren "light-harvesting" Dendrimere, die wie große Antennen Lichtenergie sammeln und hin zu einem reaktiven Zentrum bündeln, wie etwa das in Abb. 1.3 dargestellte Polybenzyletherdendrimer von Fréchet.⁶

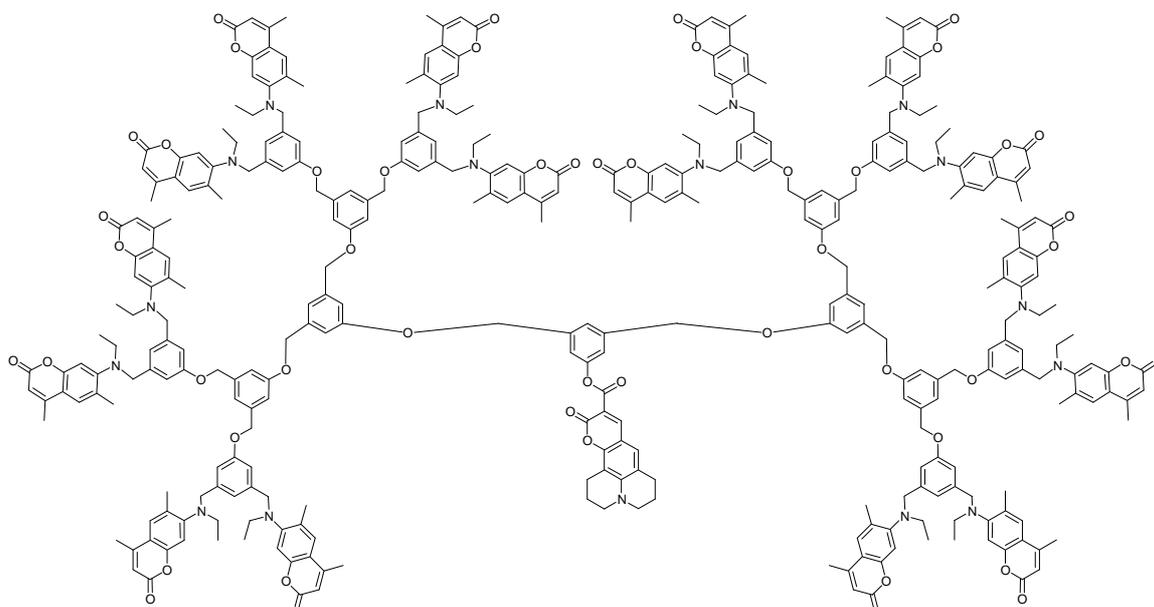


Abb. 1.3: Ein Licht sammelndes Dendrimer (Fréchet)

Naheliegender und deswegen auch älter ist die "Host-Guest"-Chemie der Dendrimere. In vielen Beispielen konnten Moleküle, etwa Farbstoffe oder auch Sauerstoffmoleküle, in Dendrimere eingeschlossen und unter definierten Bedingungen wieder frei gesetzt werden.⁷ Zu dieser "Host-Guest"-Chemie gehören auch viele Anwendungen im Rahmen der Reaktionskatalyse, wo maßgeschneiderte Dendrimere geeignete Hohlräume für Reaktionen schaffen könnten. Wie Arbeiten von DeTTY, Reetz sowie Arya und Manzer zeigen, ist es auch sinnvoll, Dendrimere als Matrix für homogene oder heterogene Katalysatoren zu benutzen, die aufgrund ihrer Größe nach den Reaktionen zurückgewinnbar und wiederverwertbar sind.⁸ Die Möglichkeit der Dendrimere, mit einem Molekül definierter Größe viele gleichartige Funktionalitäten zu bündeln, wird auch dazu benutzt, Kontrastmittel für die Angiographie herzustellen. An Lysin-Dendrimere gebundene Gadoliniumkomplexe verbleiben länger in den Blutbahnen als einfache Gadoliniumkomplexe und ermöglichen es so, Blutbahnen und damit auch Tumore und innere Verletzungen besser sichtbar zu machen.⁹ Dendrimere können auch als Gerüste für antiadhesiv wirksame multivalente Glycomimetika, sogenannte Glycodendrimere,¹⁰ eingesetzt werden. Neben dem in Abb. 1.4 gezeigten, über Thioharnstoffbrücken mit GlcNAc ummantelten Glycodendrimere von Lindhorst gibt es viele weitere derartige Arbeiten u. a. von Roy, sowie Stoddart und Meijer.¹¹

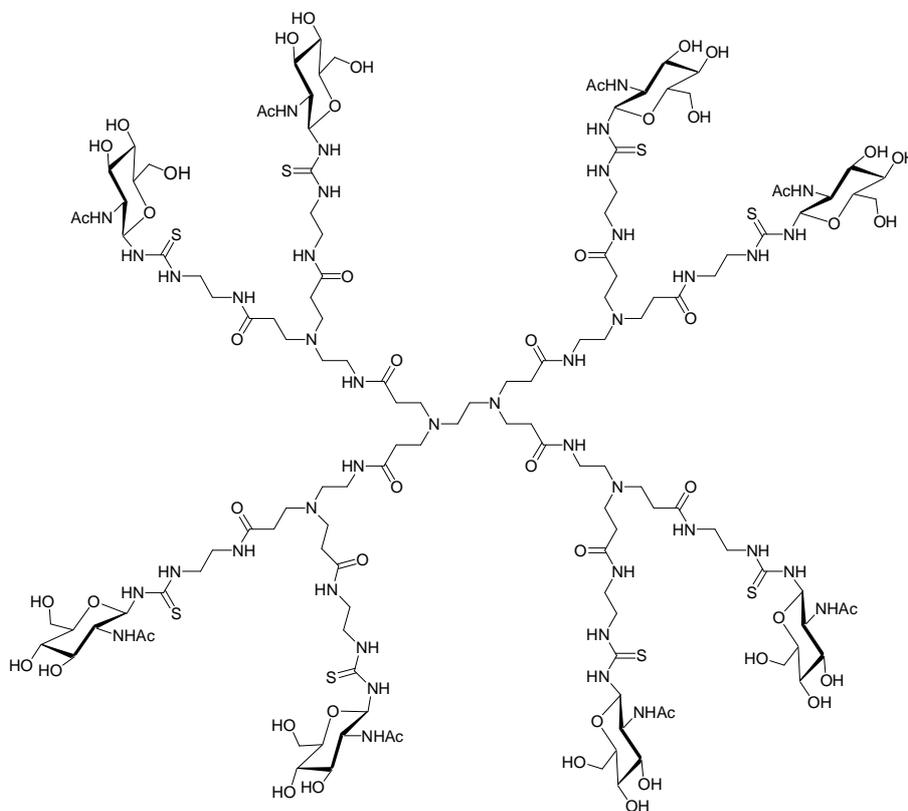


Abb. 1.4: Ein Glycodendrimere mit PAMAM Gerüst (Lindhorst)

Aus der Sicht der Kohlenhydratchemie von geringerem Interesse sind die Anwendungen von Dendrimern im Bereich der physikalischen Chemie, wo sie u. a. zur Veränderung und Beschichtung von Goldoberflächen eingesetzt werden.¹² Kohlenhydratchemiker versuchten sich daran, durch neue Dendrons, AB₂-Bausteine oder alternative Endgruppen neue Anwendungsbereiche und Eigenschaftsprofile für Dendrimere zu erschließen. Durch den Einbau chiraler Kohlenhydrat-basierender Elemente besteht u. a. die Aussicht auf chirale, enantioselektiv wirksame hyperverzweigte Moleküle.¹³ Stoddart präsentierte "carbohydrate containing dendrimers"¹⁴ und Dendrimere mit Trisacchariden als AB₂-Bausteinen.¹⁵ Von Lindhorst stammt nachfolgendes konvergent synthetisiertes Dendrimer mit Kohlenhydrat-abgeleiteten AB₂-Bausteinen (Abb. 1.5).¹⁶

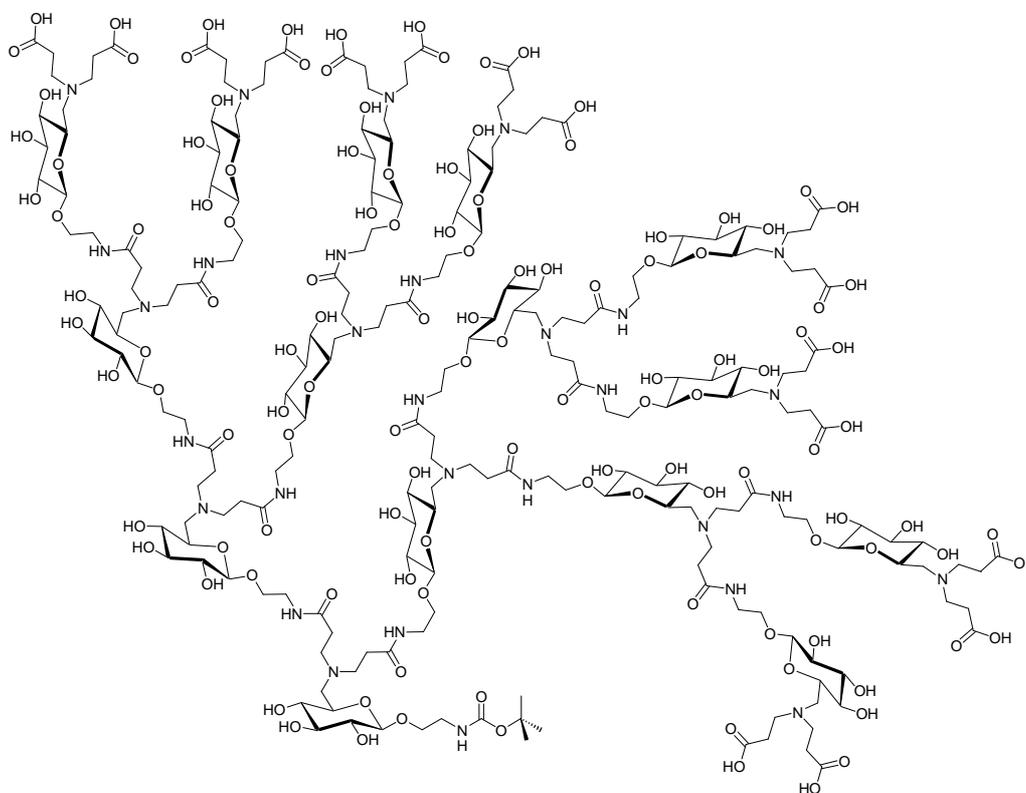


Abb. 1.5: Ein Dendrimer, welches aus Kohlenhydrat AB₂-Bausteinen aufgebaut wurde (Lindhorst)

Dendrimere mit Kohlenhydraten als Initiator-kern für divergente Dendrimersynthesen, sind Gegenstand dieser Dissertation.

Glycobiologie

Kohlenhydrate als Informationsträger und Regulatoren in biologischen Prozessen¹⁷

Die Glycobiologie beschäftigt sich mit der Funktion von Kohlenhydraten als Informationsträgern und Regulatoren in biologischen Prozessen, wie immunologischen Erkennungsreaktionen, Zell-Zell-Wechselwirkungen, viralen Infektionen oder bakterieller Kolonisation.

Kohlenhydrate haben ein größeres Potential zur strukturellen Vielfalt als die Nucleoside, welche die DNA und RNA aufbauen, oder die Aminosäuren, welche die Peptide und Proteine aufbauen, weil sie nicht bi-, sondern oligofunktionell sind.¹⁸ Die verschiedenen stereogenen Zentren in Monosacchariden können unterschiedlich konfiguriert und die gebundenen funktionellen Gruppen, meistens Hydroxyl- oder Acetamidogruppen, entsprechend unterschiedlich positioniert sein. Wenn Monosaccharide zu Oligosacchariden

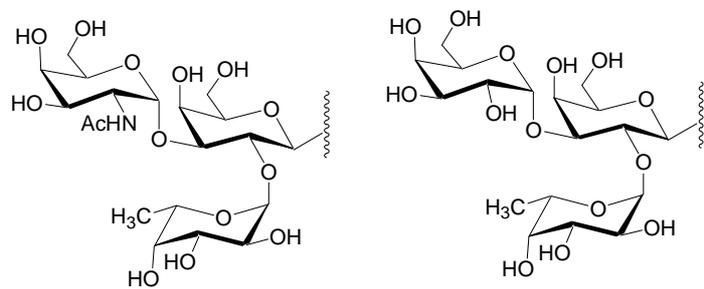


Abb. 1.6: Blutgruppenantigene A und B

verknüpft werden, kann dieses über α - oder β -glycosidische Verknüpfungen zu allen verfügbaren Hydroxylgruppen des Monosaccharides, welches als Bindungspartner dient, geschehen. Die hierbei entstehenden Oligosaccharide sind in der Natur wiederum auf unterschiedliche Art und Weise an verschiedene Proteine oder Lipide gebunden, und die so gebildeten Glycokonjugate sind wiederum auf unterschiedliche Art und Weise in Zellmembranen eingebaut oder kommen in löslicher Form vor. Jede eukaryontische Zelle bildet durch die auf der periplasmatischen Seite präsentierten Oligosaccharide von Glycokonjugaten eine Glycocalix aus, die für den Zelltyp und eine bestimmte Spezies charakteristisch und für die Kommunikation wichtig ist. Die menschlichen Erythrocyten werden mit Hilfe der oligosaccharidischen Blutgruppenderminanten A und B in die Blutgruppen A, B, AB und 0 unterschieden (Abb. 1.6). Menschen mit der Blutgruppe A besitzen Antikörper, die Erythrocyten der Blutgruppe B an Hand ihres Kohlenhydrat-Codes (Glycocodes, Blutgruppenantigen B) identifizieren und zur Verdauung durch Lymphozyten (Opsonisation) freigeben.

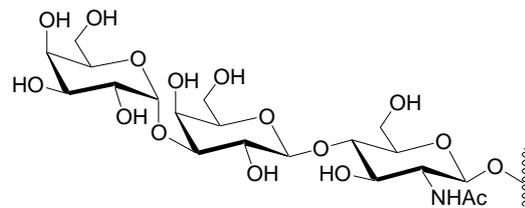


Abb. 1.7: α -Gal-Epitope

Die Transplantation von tierischen Gewebe auf den Menschen (Xenotransplantation) wird

normalerweise durch eine Immunreaktion verhindert, die durch IgG- und IgM-Antikörper ausgelöst wird, welche gegen die auf allen tierischen Zellen exprimierten α -Gal-Epitope gerichtet sind (Abb. 1.7). Glycobiologen konnten hier einerseits durch eine Inhibierung der Antikörper¹⁹ und andererseits durch eine Entfernung der α -Gal-Epitope mit Galactosidasen²⁰ Abstoßungsreaktionen entgegenwirken.

Kohlenhydrate wie Galactose können auch als Reiz- bzw. Signalstoffe wirken, und z. B. *E. coli* Bakterien dazu anregen sich gezielt in eine Richtung zu bewegen, womit man eine sogenannte chemotaktische Antwort von *E. coli* auf einen Konzentrationsgradienten erhält. Wenn die Galactose in großen Fluoreszenz-markierten Aggregaten vielfach präsentiert wird (Abb. 1.8), kann dieser Effekt bereits mit sehr geringen Galactose-Konzentrationen erreicht und sichtbar gemacht werden, was evtl. auf eine durch das Glycokonjugat herbeigeführte Clusterung von Rezeptoren auf der Zelloberfläche zurückzuführen ist.²¹

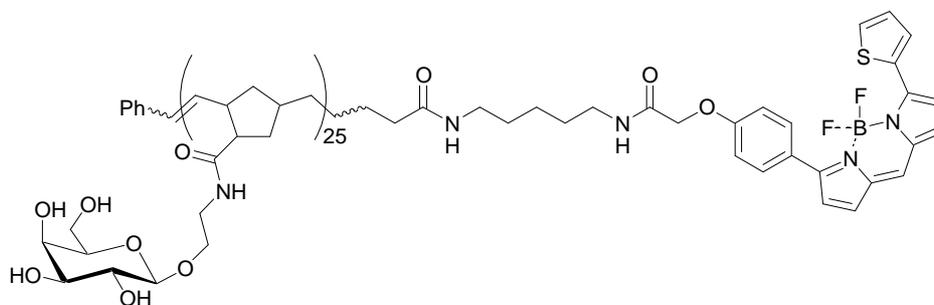


Abb. 1.8: Mit geclusterten Galactose-Resten erhält man bereits mit sehr geringeren Konzentrationen chemotaktische Antworten von *E. coli* (Kiessling)

Für die Kommunikation zwischen Zellen, z. B. zwischen Lymphozyten und den Zellen des Epithelgewebes der Blutbahnen, verfügen die Zellen über Kohlenhydrat-erkennende Proteine, sogenannte Lektine,²² welche über hydrophile und hydrophobe Wechselwirkungen Kohlenhydrate mehr oder weniger spezifisch erkennen können. Ein besonders gut untersuchtes Beispiel hierfür ist die Leukozytenrekrutierung, die ausgelöst durch eine Gewebsverletzung oder bakterielle Endotoxine mit der Ausschüttung von Signalmolekülen, sogenannten Cytokinen (z.B. Interleukin I) und dem Tumornekrosefaktor (TNF), beginnt, welche die Expression spezieller Lektine, E-Selektin auf den Epithelzellen und P-Selektin auf den Blutplättchen, bewirken. Durch die Wechselwirkung der E- und P-Selektine mit Kohlenhydratstrukturen auf den Lymphozyten, sowie umgekehrt von L-Selektinen auf Lymphozyten mit Kohlenhydratstrukturen auf dem Epithelgewebe kommt es zur Verlangsamung, zum "Rolling" der Leukozyten auf dem Epithelgewebe und nach dem Ausrollen der Leukozyten, gesteuert von Protein-Protein-Wechselwirkungen, zur Einwanderung der Leukozyten in das verletzte bzw. infizierte Gewebe (Abb. 1.9).

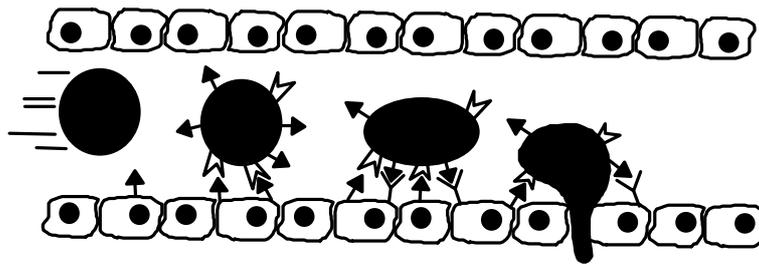


Abb. 1.9: Leukozytenrekretion, Rolling von Leukozyten in entzündeten Blutgefäßen.²³

Treten derartige, eigentlich normale Entzündungen chronisch auf, so kann sich dieses in Krankheitsbildern wie Arthritis oder Asthma bemerkbar machen, die durch die Inhibierung der Kohlenhydrat-Selektin Wechselwirkungen gemildert werden könnten.²⁴ Alle Selektine sind Lektine vom sogenannten C-Typ, deren Kohlenhydrat-erkennenden Domänen (CRD) stark an das Oligosaccharid Sialyl-Lewis-X (sLe^x) binden (Abb. 1.10). Um eine Inhibition der Kohlenhydrat-Selektin-Wechselwirkungen zu erreichen, sind im Bereich der Zuckerchemie zwei unterschiedliche Wege

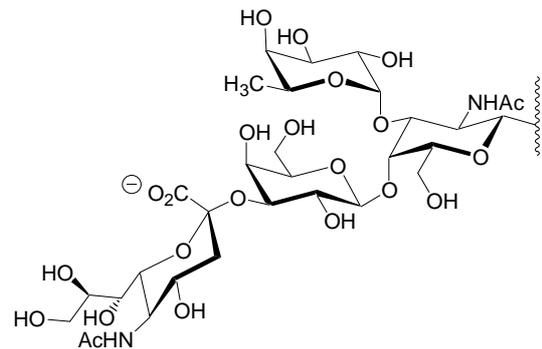


Abb. 1.10: Sialyl-Lewis-X (sLe^x)
 $\text{Neu5Ac}\alpha\text{2}\rightarrow\text{3Gal}\beta\text{1}\rightarrow\text{4}(\text{Fuc}\alpha\text{1}\rightarrow\text{3})\text{GlcNAc}\beta$

besprochen worden. Viele Gruppen haben versucht, Sialyl-Lewis-X-Mimetika mit höherer Aktivität zu entwickeln, wobei u. a. gefunden wurde, daß die Neuraminsäure einfach durch eine Carboxy- oder Sulfatgruppe ersetzt werden kann.²⁵ Alternativ dazu wurden von Kiessling Oligomere von Sialyl-Lewis-X-Mimetika dargestellt, die eine wesentlich höhere Fähigkeit zur Inhibition besitzen als ihre monomeren Vorläufer.

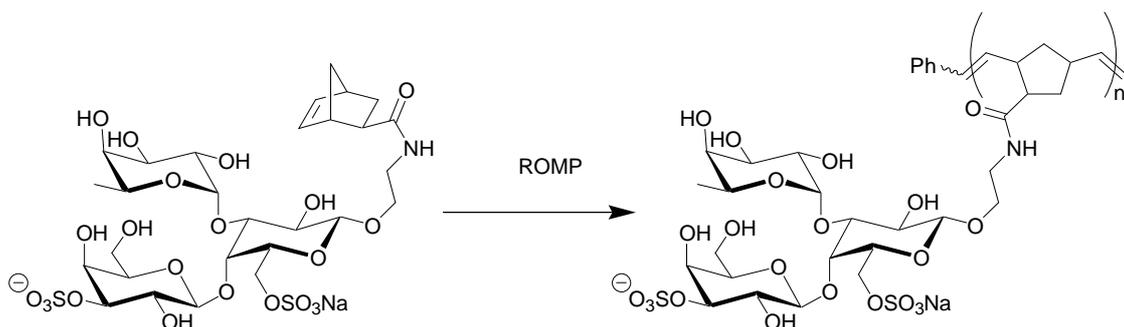


Abb. 1.11: Oligomere von Sialyl-Lewis-X-Mimetika über Ringöffnende Metathese Polymerisation (Kiessling)

Wie in Abb. 1.11 gezeigt, wurden durch die Clusterung eines Sialyl-Lewis-X-Mimetikums, ein Oligomer erhalten, welches die Bindung von L-Selektin an das Glycoprotein GlyCAM-1 in dynamischen Assays effektiv inhibieren kann, während das Monomer keinerlei Inhibitionswirkung zeigt.²⁶ Dieses Phänomen ist ein Beispiel für den 1978 von Y. C. Lee erstmals im Zusammenhang mit dem Asialoglycoprotein beschriebenen "Clustereffekt". Mit

dem Begriff Clustereffekt wird die Beobachtung verbunden, daß sich durch die gleichzeitige Ausbildung mehrerer Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkungen, die jede für sich genommen nur schwache Bindungen ergeben, eine exponentielle Steigerung der Gesamtbindungsstärke (Avidität) erzielen läßt. Die Natur nutzt diesen Clustereffekt in vielfältiger Art und Weise und präsentiert Kohlenhydrat-erkennende Domänen (CRD) normalerweise polyvalent. Diese polyvalente Präsentation von Kohlenhydrat-erkennenden Domänen kann sowohl durch die Clusterung derartiger Domänen auf einem Protein, als auch durch eine Clusterung von Proteinen in einer Membran erfolgen.²⁷

Die von der Natur als Lektinliganden multivalent präsentierten Kohlenhydratepitope sind nicht nur schwer zugänglich, sondern auch in sich heterogen. Die Strukturen der Kohlenhydrate sind im Gegensatz zu Proteinen nicht direkt im Erbmateriale codiert. Sie sind das Ergebnis des Zusammenwirkens vieler Enzyme, wobei gelegentlich Fehler auftreten, so daß natürliche Kohlenhydrat-Liganden mikroheterogene Familien sogenannter "glycoforms" bilden.²⁸ Die Beeinflussung der Zusammensetzung der, in der Glycocalix präsentierten, Oligosaccharide gelingt durch enzymatische Eingriffe oder mit Hilfe synthetischer Substrate für den Biosyntheseprozess (Abb. 1.12).²⁹

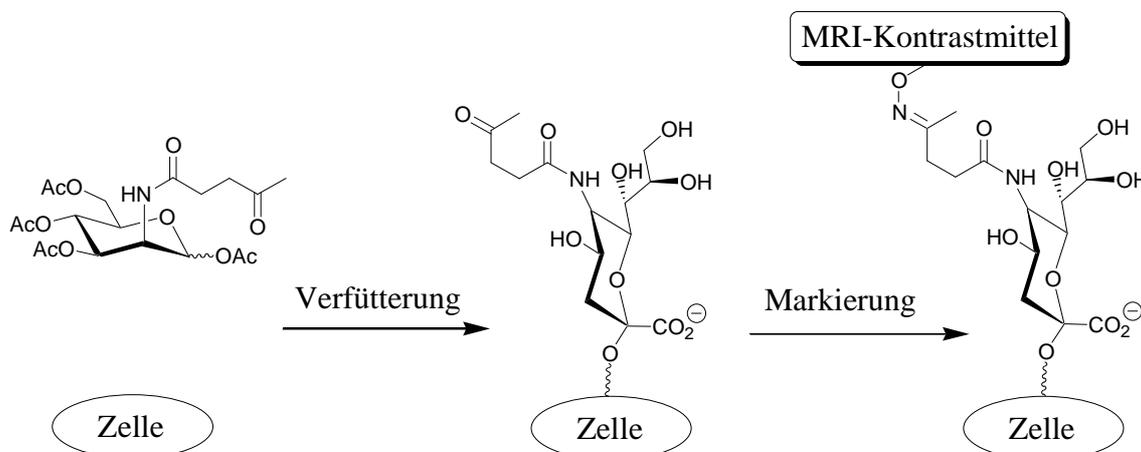


Abb. 1.12: *N*-Acetyl-mannosamin (ManNAc) dient menschlichen Zellen als Ausgangsprodukt für die Synthese von Sialinsäure. Wenn die *N*-Acetyl-Gruppe von ManNAc z. B. durch eine Levulinoylgruppe ersetzt wird, erhält man nach dessen Verfüterung mit Levulinoylgruppen markierte Glycoproteine auf den Zelloberflächen. Die Levulinoylgruppen können z. B. dazu genutzt werden, Krebszellen, welche ein besonders starkes Wachstum aufweisen, selektiv mit MRI-Kontrastmitteln zu markieren. Mit einer ähnlichen Methode können GalNAc und GlcNAc in Glycoproteinen durch markierte Derivate ersetzt werden (Bertozi).³⁰

Da menschliche Organe jeweils spezifische Kohlenhydratstrukturen und Lektine besitzen, versuchen verschiedene Forschergruppen die Lektine bestimmter Organe, wie z. B. der Leber, direkt anzusteuern und so ein spezifisches "drug targeting" zu erreichen.³¹ Für den Einsatz multivalenter Kohlenhydratstrukturen in Arzneien oder zur Strukturaufklärung und Kristallisation von Lektinen sind *in vitro* synthetisierte Glycokonjugate mit definierter Struktur gefordert. Darüber hinaus ist ein großes Anwendungsgebiet für synthetische

Glycokonjugate die Abwehr mikrobieller Infektionen. Der erste Schritt einer viralen Infektion ist genau wie der erste Schritt zur bakteriellen Kolonisation eines Gewebes die Adhäsion der Mikrobe, die durch Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen vermittelt sein kann.³² Multivalente Glycokonjugate können als Antiadhesiva wirken und den Andockvorgang von Viren, Bakterien und bakteriellen Toxinen an Epithelgewebe inhibieren.³³ Kürzlich ist es zwei Gruppen gelungen, bakterielle Toxine von *Escherichia coli* abzufangen und die Glycokonjugat-Toxin-Komplexe zu kristallisieren.

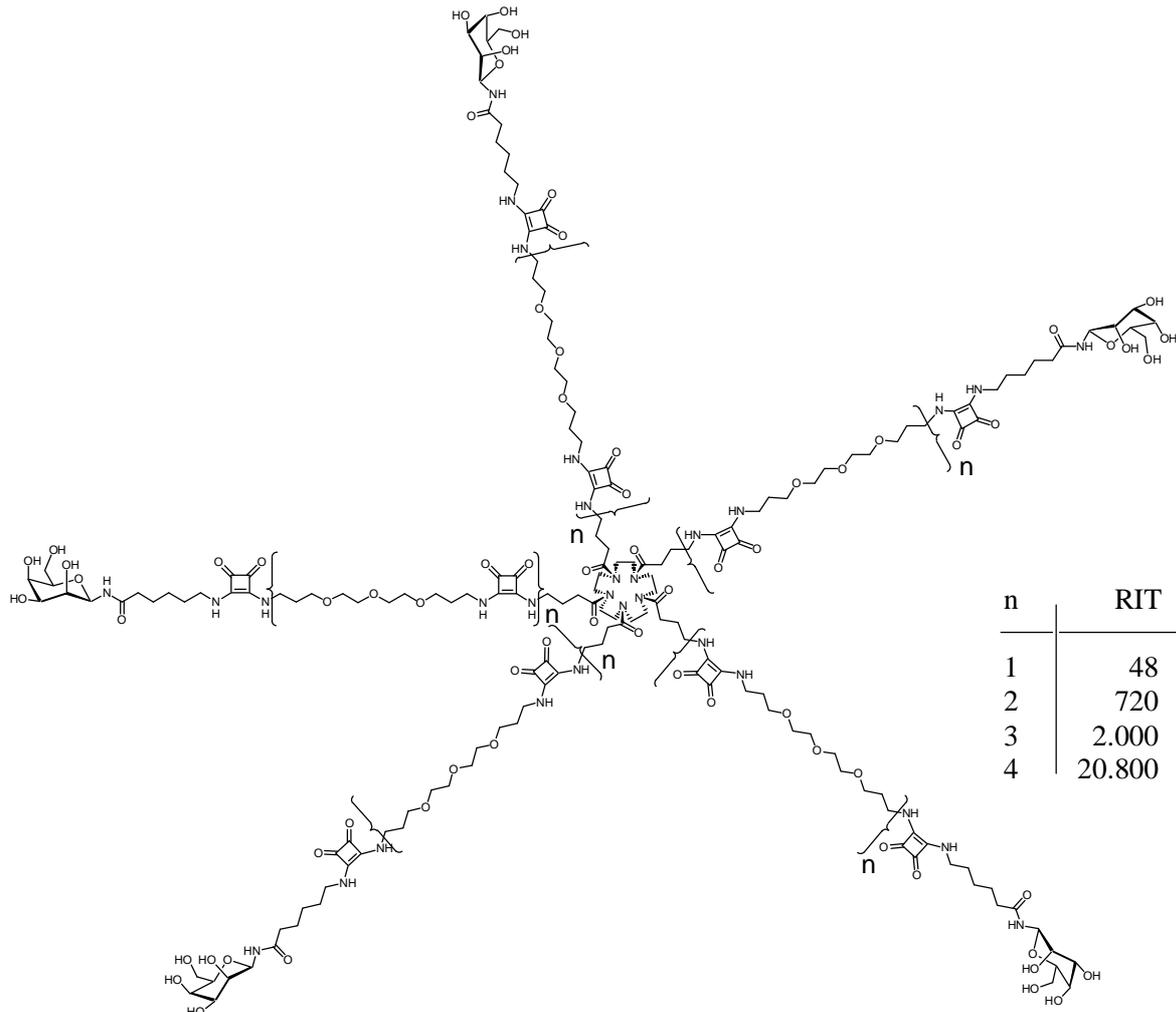


Abb. 1.13: Glycocluster zur Inhibition des Hitze-labilen Enterotoxin von *E. coli* (Fan)

Unter den Toxinen der fünf verschiedenen *E. coli*-Bakterienklassen, die Darminfektionen auslösen können, sind das Hitze-labile Enterotoxin (LT) und das Shiga-ähnliche Toxin, auch Vero-Cytotoxin genannt (Stx bzw. Vt) aus glycobiologischer Sicht von besonderem Interesse. Das von enterohämorrhagische *E. coli* produzierte Shiga-ähnliche Toxin besteht aus einem A-Teil, welcher ein toxisch wirkendes, die rRNA angreifendes Enzym trägt und einem pentameren B-Teil, welcher über fünf Lektine an Zellen andockt und die Phagozytose des Toxins ermöglicht. Das LT-Toxin besitzt eine ähnliche Struktur, verändert jedoch direkt ein

Enzym und wird von enterotoxischen *E. coli* hergestellt. Fan ist es gelungen mit einem pentavalenten Glyocluster über die Optimierung der Länge der Bindungsarme des Glyoclusters das LT-Enterotoxin von *E. coli* effektiv zu inhibieren (Abb. 1.13).³⁴ Bundle konnte das Shiga-ähnliche Toxin AB₅ von *E. coli* mit einem bezüglich der Bindungslängen und der präsentierten Oligosaccharid-Liganden optimierten Glyoclusters mit relativen Inhibitionswerten von bis zu 10.000.000 im Vergleich zu den nicht geclusterten Oligosaccharid-Liganden inhibieren und den Komplex kristallisieren (Abb. 1.14).³⁵

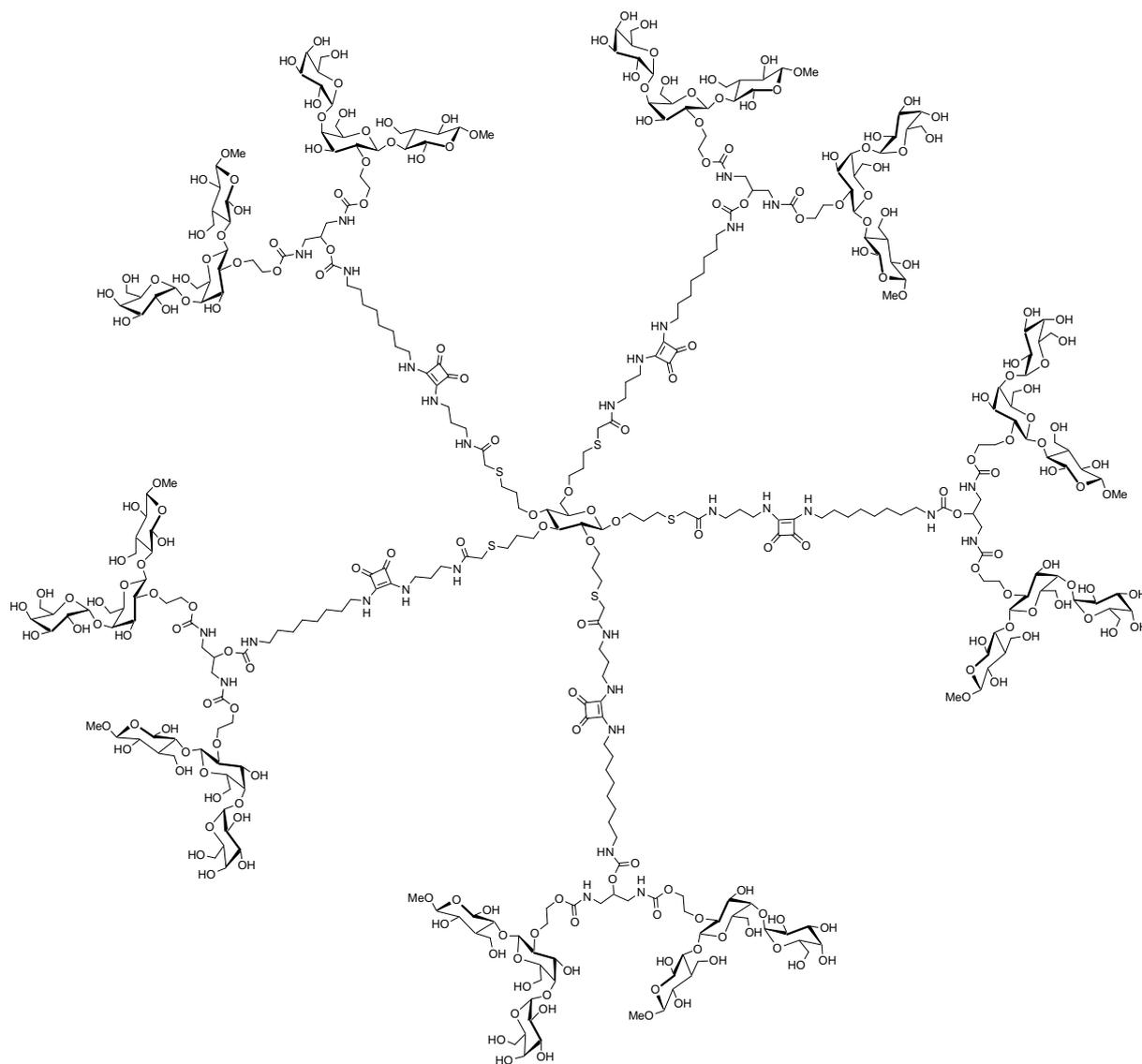


Abb. 1.14: Glyocluster zur Inhibition des Shiga-ähnlichen Toxins von *E. coli* (Bundle)

Ein besonders gut untersuchtes Beispiel für virale Infektionen ist die Grippeinfektion mit dem Influenzavirus, welcher über Hunderte, zu Trimeren angeordneten, sialinsäurespezifische Lektinen (Hämagglutinin) menschliche Epithelgewebe erkennt und in einem zweiten Schritt mit einer Neuramidase diese Sialinsäuren entfernt, um anschließend das Gewebe zu infizieren.

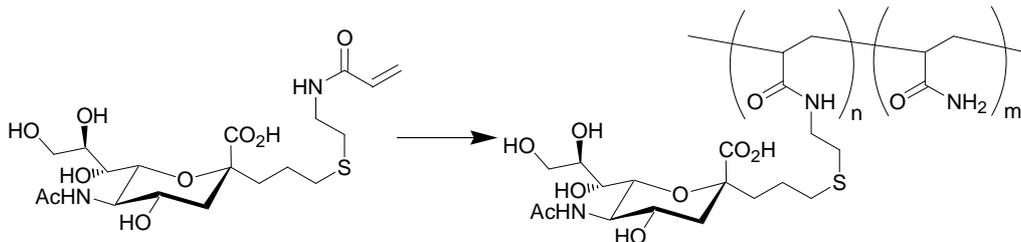


Abb. 1.15: Lineares Polymer von Sialinsäure zur Inhibition des Influenza Hemagglutinins (Whitesides)

Um die Adhäsion des Influenzavirus mit multivalenten Sialinsäurekonjugaten zu inhibieren, wurden z. B. Sialinsäurederivate des Acrylamids mit Acrylamid zu linearen Polymeren copolymerisiert, wobei die Avidität des Monomers zum Influenza-Hämagglutinin um den Faktor 50.000 gesteigert werden konnte (Abb. 1.15).³⁶ Von Roy wurden PAMAM-Dendrimere mit Sialinsäuren ummantelt. Ein 32mer-Glycodendrimer erwies sich dabei valenzkorrigiert als elfmal aktiver als das in Abb. 1.16 gezeigte 8mer.³⁷

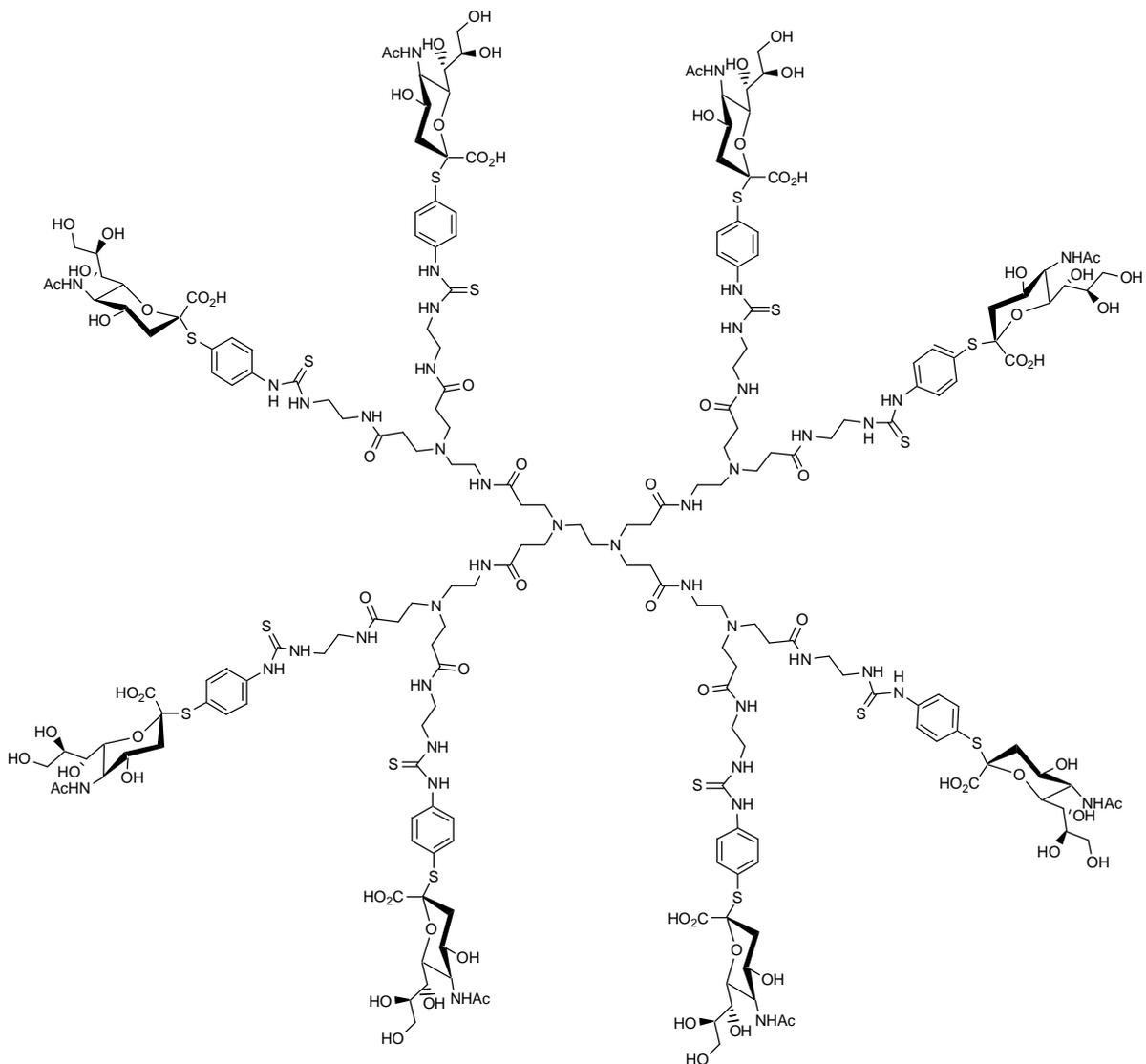


Abb. 1.16: Sialinsäure-ummanteltes Glycodendrimer zur Inhibition des Influenza-Hämagglutinins (Roy)

Zur Bekämpfung der Influenza-Infektion war jedoch der Versuch erfolgreicher, mit einem Glycomimetikum³⁸ die Neuramidase des Influenza-Virus zu inhibieren. Hierzu wurde von M. von Itzstein das in Abb. 1.17 gezeigte Sialinsäure-Derivat an Hand von Kristallstrukturen der Influenza-Neuramidase entwickelt.³⁹

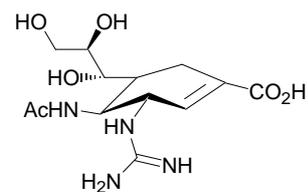


Abb. 1.17

Die Kohlenhydrat-abhängige Adhäsion von Bakterien an Epithelgewebe erfolgt mit Hilfe von Lektinen, die auf langen fadenförmigen Proteinanhängseln, den Fimbrien, angeordnet sind. Im Falle von *E. coli* handelt es sich bei diesen Fimbrien um 0.5 bis 2 μm lange, haarähnliche Gebilde mit einem Durchmesser von 7 nm, an deren Spitze, sowie entlang deren Längsseite Mannose- (Typ-1-Fimbrien) bzw. Galactose- (Gal(α 1 \rightarrow 4)Gal, P-Fimbrien) spezifische Lektine angeordnet sind.⁴⁰ Beide Fimbrien-Typen sind zu 98 % aus dem Protein FimA aufgebaut und unterscheiden sich nur bezgl. des Proteinteils, welches jeweils die Kohlenhydrat-erkennende Domäne enthält. Das Lektin der Typ-1-Fimbrien wird als FimH bezeichnet und enthält gemäß einer kürzlich veröffentlichten Röntgenstruktur nur eine Kohlenhydrat-erkennende Domäne (CRD).⁴¹ Da Antibiotika schneller Resistenzen erzeugen als Antiadhesiva, könnte der Einsatz von Kohlenhydraten als Antiadhesiva einen neuen, effektiven Weg eröffnen, bakterielle Infektionen zu bekämpfen. Antiadhesiva blockieren die Lektine der Bakterien, verhindern ihre Adhäsion an humanes Epithelgewebe, stören die bakterielle Zell-Zell-Kommunikation und setzen die bakterielle Vermehrungsrate herab.

Eindrucksvoll sind Beispiele, welche die Wirkung von Glycokonjugaten für das bloße Auge sichtbar machen. Von Charych wurden Glycokonjugate mit einem Polythiophengerüst vorgestellt, welche bei der Bindung an die Typ-1-Fimbrien von *E. coli* eine Farbänderung aufweisen, die um so stärker ausfällt, je stärker das Glycokonjugat an *E. coli* bindet, bzw. je mehr Mannosereste gleichzeitig an Lektine gebunden sind (Abb. 1.18).⁴²

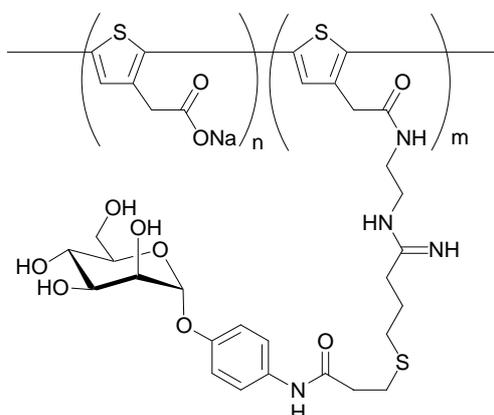


Abb. 1.18: Lineares Glycokonjugat mit Polythiophengerüst (Charych)

Das erfolgreichste Beispiel für die Inhibierung von Bakterien stammt von der Natur. In der Muttermilch sind Oligosaccharide enthalten, welche die Adhäsion von *Helicobacter pylori* an die Le^b-Epitope im Magen-Darmtrakt von Säuglingen inhibieren. Dieses ist notwendig, da die Säurekonzentration im Magen von Säuglingen noch zu niedrig ist, um *H. pylori* zu zersetzen.⁴³

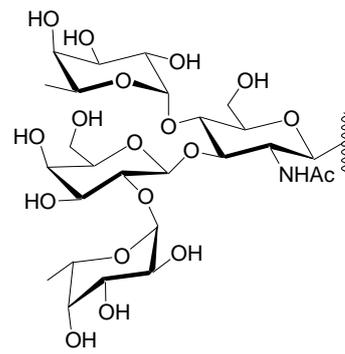


Abb. 1.19: Lewis^b-Epitop (Le^b)

Die Diplomarbeit

Eine kurze Zusammenfassung

Der vorliegenden Dissertation liegt die Diplomarbeit zum selben Thema zugrunde.⁴⁴ Das Ziel der Diplomarbeit war es, optimale Bedingungen für die Perallylierung von Glucose zu finden und anschließend die vielfältigen Reaktions-

möglichkeiten der Allylfunktionen zu untersuchen, um Glucose als Kernmolekül für die Synthese Kohlenhydrat-zentrierter Dendrimere und Glycocluster nutzen zu können. Das Hauptproblem bestand darin, einerseits alle Allylgruppen gleichzeitig einheitlich umzusetzen und andererseits inter- und intramolekulare Reaktionen der verschiedenen Arme der Zielstrukturen zu vermeiden. Im Verlauf der Diplomarbeit konnten optimale Bedingungen für die

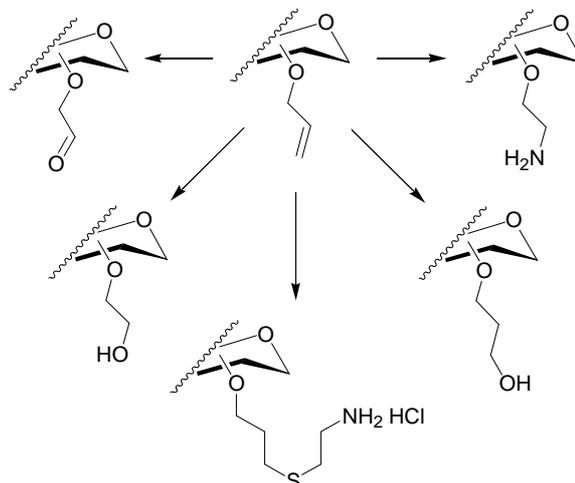


Abb. 1.20: Wege zu Octopus-Glycosiden: Funktionalisierungsmöglichkeiten der Allylgruppe

Ozonisierung perallylierter Glucose **1.03**, sowie für die Addition von Cysteamin-Hydrochlorid an perallylierte Glucose gefunden werden. Das durch Photoaddition von Cysteamin-Hydrochlorid erhaltene Pentaamin **1.04** wurde zusammen mit Christoffer Kieburg zum Glucose-zentrierten Thioharnstoffcluster **1.06** umgesetzt (Abb. 1.21).⁴⁵ Die Arbeiten zur reduktiven Aminierung von **1.03** sowie zur Hydroborierung von **1.03** wurden im Rahmen dieser Dissertation abgeschlossen und bereits veröffentlicht.⁴⁶ Die so synthetisierten Glucose-zentrierten Initiatorkerne wurden als Octopus-Glycoside bezeichnet.

Alle in der Diplomarbeit beschriebenen Reaktionen waren sowohl mit dem anomenreinen α -Anomer **1.03** als auch mit dem anomenreinen β -Anomer der perallylierten Glucose, sowie mit dem α - und β -Anomer von Allyl-4,6-*O*-benzyliden-D-glucopyranosid durchgeführt worden. Diese Vorgehensweise wurde während der Dissertation längere Zeit beibehalten, so daß im Experimentellen Teil häufig die entsprechenden NMR-Daten, der parallel anomenrein synthetisierten β -Anomere zusammen mit den jeweiligen α -Anomeren aufgeführt sind, ohne daß im Textteil explizit auf die Syntheseroute der β -Schiene eingegangen wird.

Kapitel 1: Einleitung

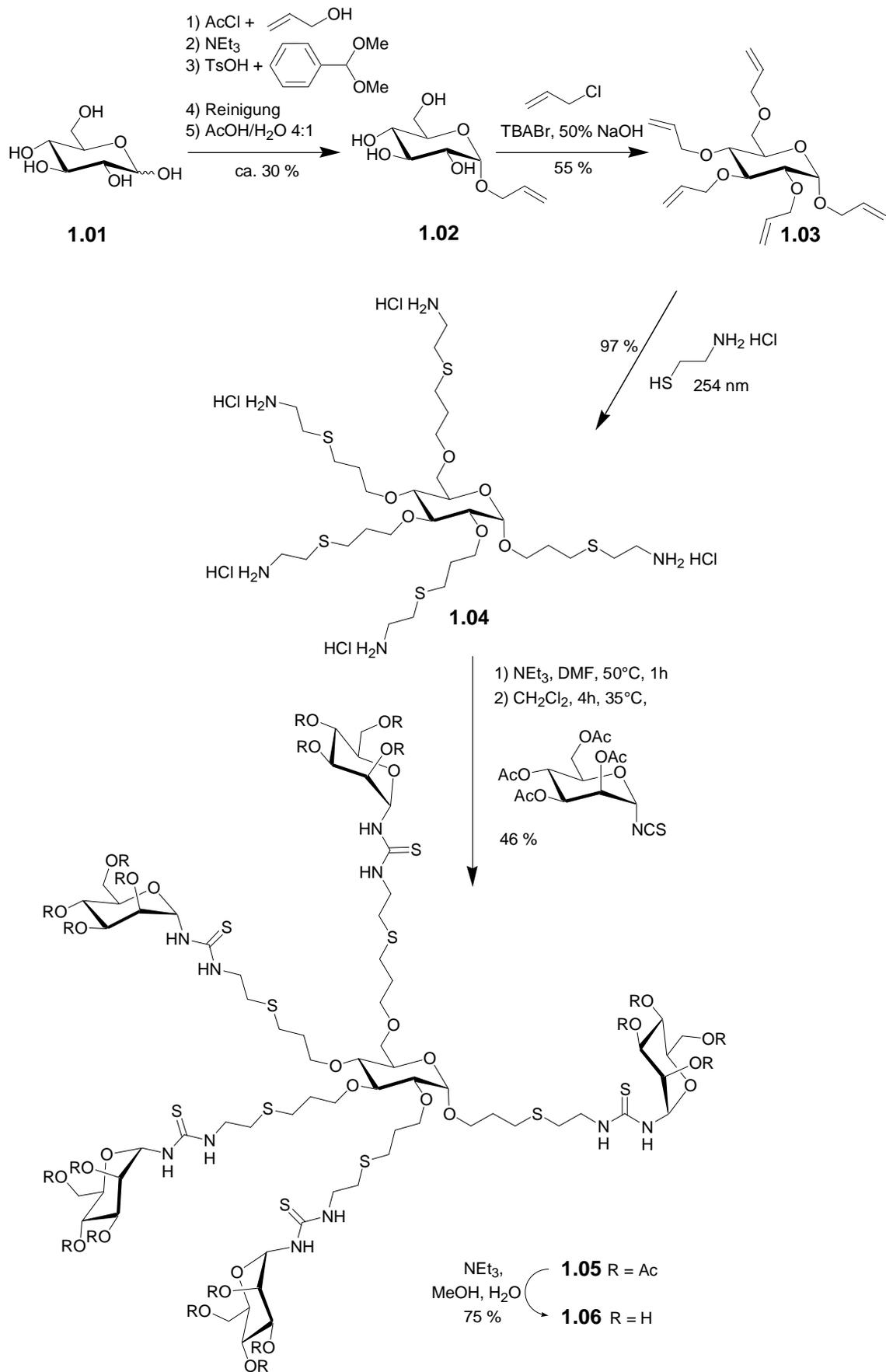


Abb. 1.21: Synthese eines Glucose-zentrierten Thioharnstoff-Glycoclusters (Diplomarbeit)

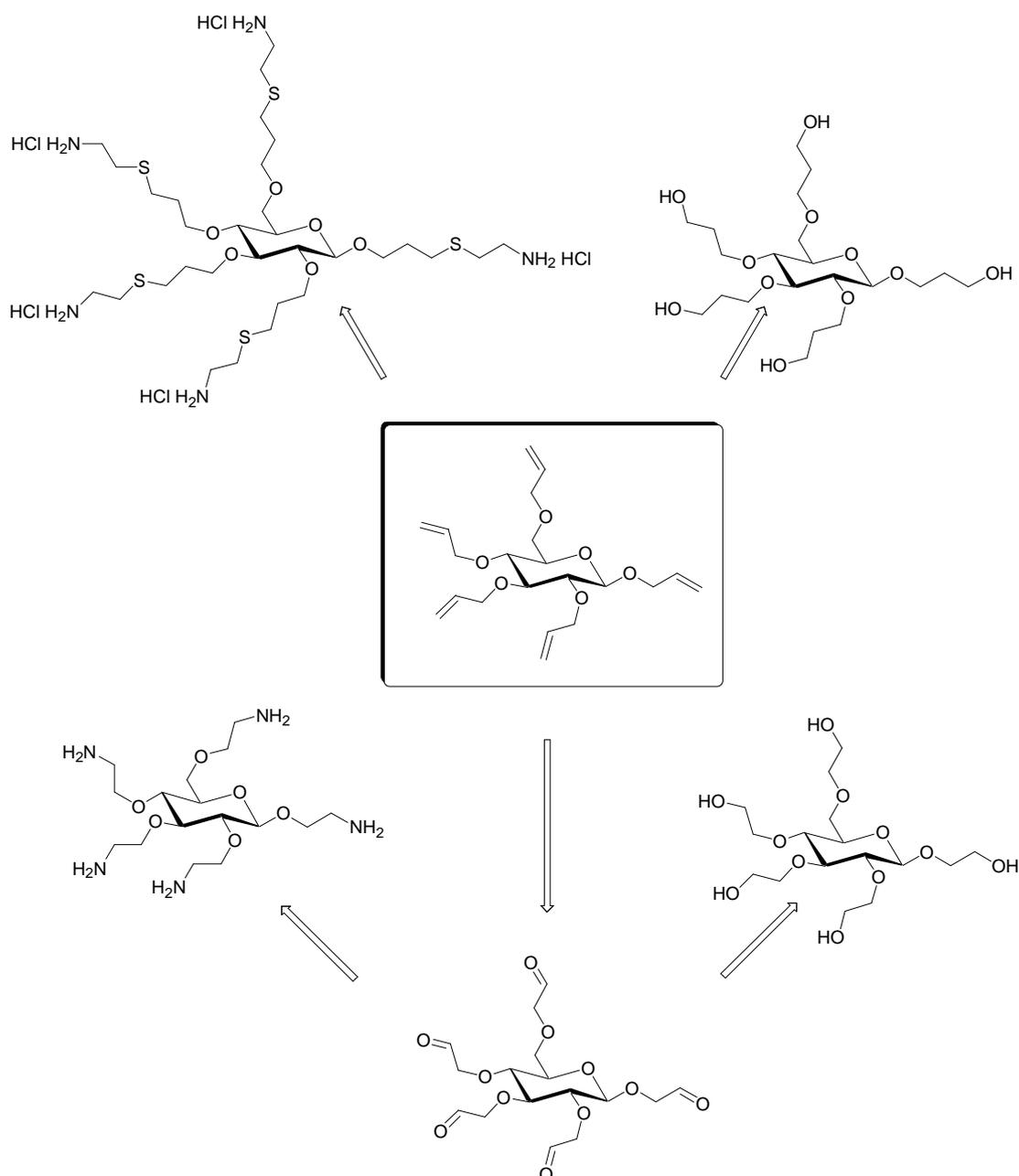


Abb. 1.22: Synthetisierte Glucose-zentrierte Initiatorkerne (Octopus-Glycoside) ausgehend von Allyl-2,3,4,6-tetra-*O*-allyl-β-D-glucopyranosid für die Synthese von Glycoclustern und Dendrimeren (Diplomarbeit und Doktorarbeit)

Die Idee der Verwendung Kohlenhydrat-zentrierter Glycocluster wurde im Verlauf dieser Dissertation auch von verschiedenen anderen Gruppen beschrieben, darunter Kunz⁴⁷ und Wong⁴⁸, die Kohlenhydrate als Matrix für den Aufbau von Oligosaccharid-Bibliotheken vorsahen, und weiter von Bundle³⁵ für den Aufbau von Glycoclustern. Santoyo-González,⁴⁹ Stoddart⁵⁰ und Nishimura⁵¹ verwendeten Cyclodextrine als Kernmoleküle für Glycocluster. García-Junceda benutzte 2-Aminoethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-(2-aminoethyl)-β-D-glucopyranosid als Matrix für enzymatische Disaccharidsynthesen.⁵²

Aufgabenstellung

Thema dieser Dissertation ist die Synthese Kohlenhydrat-zentrierter Dendrimere und Glycocluster, wobei möglichst alle Hydroxylgruppen der Zucker ausgenutzt werden sollen. Daneben sollen funktionalisierbare Dendrimere und Glycocluster hergestellt werden. Zur Evaluierung der Reaktionsbedingungen sollen auch Modellsysteme, wie Pentaerythritderivate in die Synthesestrategien einbezogen werden.

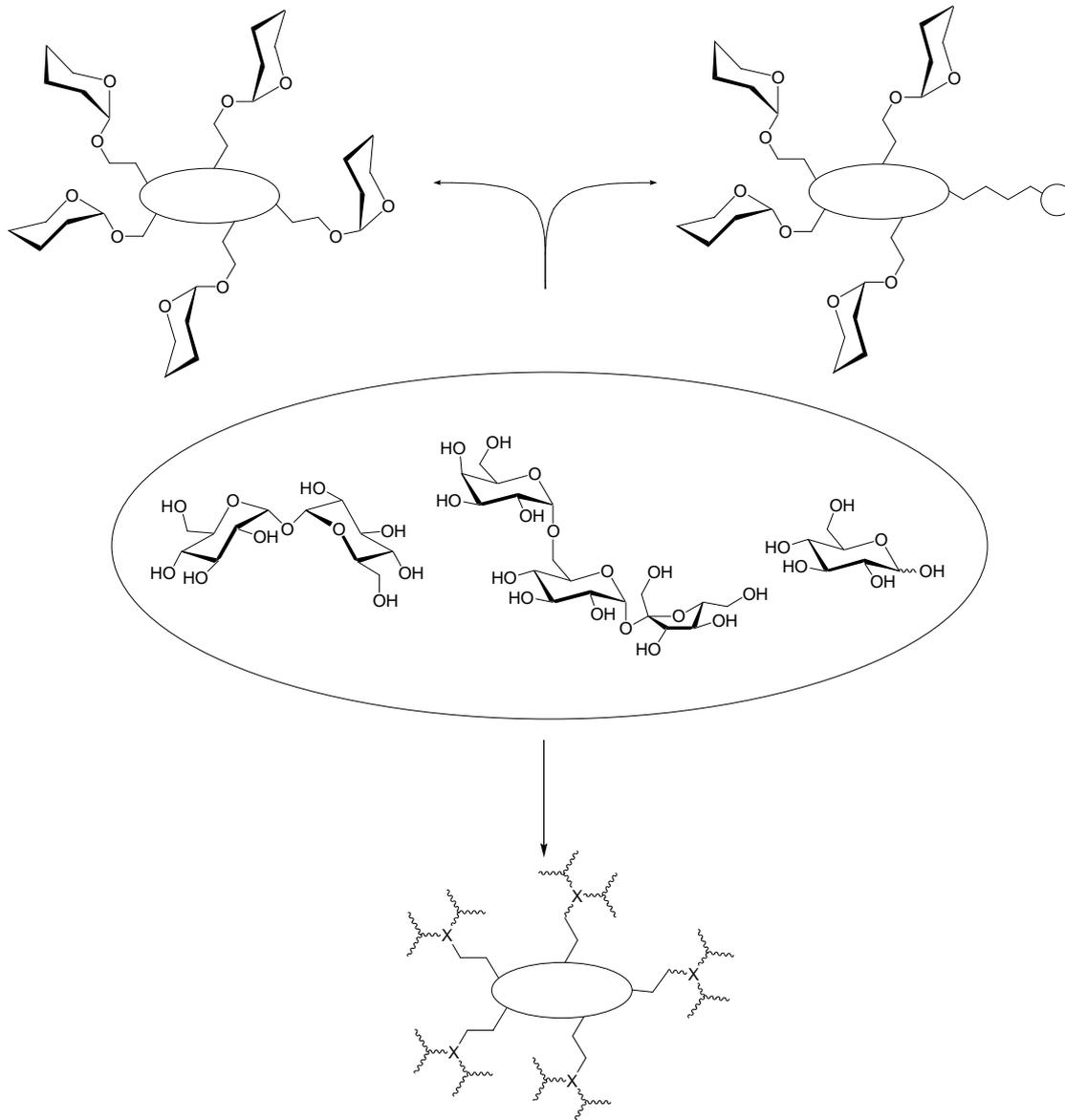


Abb. 1.23: Die Aufgabenstellung: Die Eignung von Mono-, Di- und Trisacchariden, wie Glucose, Trehalose und Raffinose, für den Einsatz als Initiatorkerne für den Aufbau Kohlenhydrat-zentrierter Glycocluster (oben) und Kohlenhydrat-zentrierter Dendrimere (unten) soll untersucht werden. Hierbei sollen sowohl Glycocluster und Dendrimere unter Ausnutzung aller Hydroxylgruppen (oben links) als auch mit aktiven Gruppen, wie Biotin (○), funktionalisierte Glycocluster synthetisiert werden (oben rechts).

Die Arbeiten zur Synthese Kohlenhydrat-zentrierter Glycocluster wurden im Rahmen eines BMBF-Projektes im Themenschwerpunkt "Glycobiotechnologie" durchgeführt.

Synthese chiraler Kohlenhydrat-zentrierter PAMAM-Dendrimere

Auf dem Weg zu neuen Transfektionsreagenzien

Moderne Dendrimerchemie wird von der Erwartung auf neuartige Materialeigenschaften und günstige Bioapplikationen der neuen Verbindungen angeregt.⁵³ Eine der wesentlichen Entdeckungen in der noch jungen Chemie der Dendrimere war, daß PAMAM-Dendrimere als Transfektionsreagenzien benutzt werden können, um DNA-Material unbeschädigt durch Zellmembranen in den Zellkern eukaryontischer Zellen zu transportieren, um dort defekte DNA zu ersetzen oder mit neuer DNA neue Eigenschaften oder Verbindungen zu exprimieren.⁵⁴

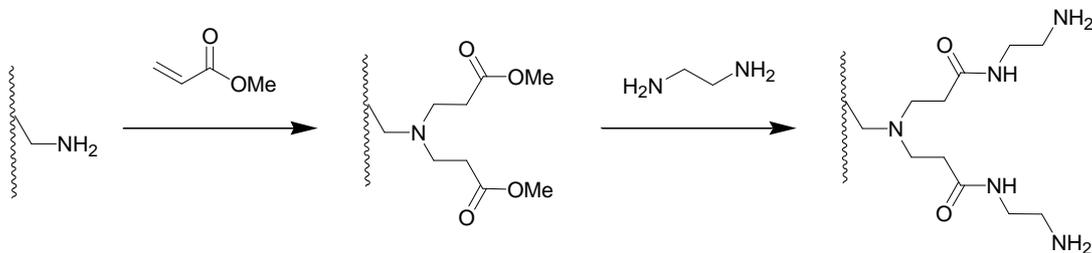


Abb. 2.1: Aufbauschema für PAMAM-Dendrimere

Die divergente Synthese der PAMAM-Dendrimere waren 1985 von Tomalia entwickelt worden.⁵⁵ Ihre iterativen Schritte bestehen aus der erschöpfenden Addition eines Polyamin-Kernmoleküls an Methylacrylat und der anschließenden Umsetzung mit Ethylendiamin zu einem neuen Polyamin-Kernmolekül (Abb. 2.1).⁵⁶

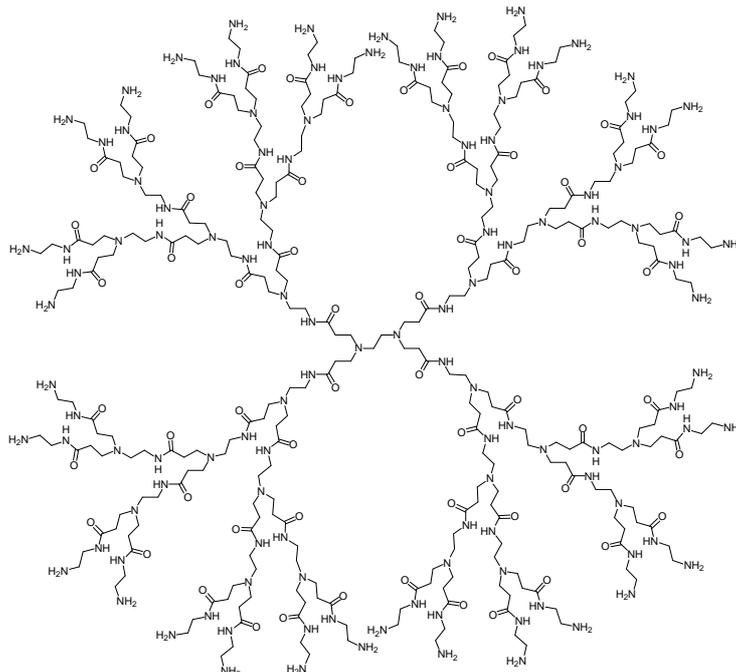


Abb. 2.2: Ein PAMAM-Dendrimer der 4. Generation.

PAMAM-Dendrimere, auch Starburst[®]-Dendrimere genannt, können erst ab einem Molekulargewicht von 10.000 Dalton zur Transfektion genutzt werden, d. h. das hier gezeigte PAMAM-Dendrimer der 4. Generation (Abb. 2.2) müßte noch um 3 Generationen erweitert werden, um einsetzbar zu sein. Überraschenderweise sind dann jedoch strukturperfekte Dendrimere, die durch eine spezielle thermische Behandlung zu stark "beschädigten" Dendrimeren mit einer Molmasse von 3.500 Dalton degradiert wurden, wirkungsvollere Transfektionsreagenzien.⁵⁴

Mit dem Einsatz als Transfektionsreagenzien werden die Host-Guest-Eigenschaften von PAMAM-Dendrimeren, welche durch ihre Gestalt, das Kernmolekül, das Aufbauprinzip und die Endgruppen stark beeinflußt werden können,⁵⁷ erstmals kommerziell genutzt.

Im Rahmen dieser Arbeit, soll festgestellt werden, in wie weit sich Kohlenhydrate als Kernmoleküle für den Aufbau chiraler Dendrimere vom PAMAM-Typ eignen. Dabei entstehen Kohlenhydrat-zentrierte Poly(amidoamin)-Dendrimere mit inhärenter Chiralität,⁵⁸ neuer Kernmultiplizität und einem Eigenschaftsprofil, das sich von klassischen, bereits kommerziell als Transfektionsreagenzien eingesetzten, Starburst[®]-Dendrimeren unterscheiden sollte.

Dieses neue Konzept der Kombination eines Kohlenhydrat-Kerns mit einer „PAMAM-Schale“ läßt sich synthetisch in zwei Abschnitte unterteilen. Das erste Problem ist die vollständige Aminofunktionalisierung eines Saccharides, wobei die erste PAMAM-Generation möglichst nahe am Zuckerkern aufgebaut werden soll, um den chiralen Verdünnungseffekt⁵⁹ zu minimieren. Die zweite Frage ist, ob sich die sonst gut ablaufende Synthesesequenz zu PAMAM-Dendrimeren auch auf einen Kohlenhydrat-Core anwenden läßt.

Kapitelgliederung

Glucose-zentrierte PAMAM-Dendrimere

FAB-MS und ¹H-¹³C-HMBC zur Charakterisierung von Dendrimeren Seite 20

Di- und Trisaccharid-zentrierte PAMAM-Dendrimere

MALDI-TOF zur Charakterisierung von Dendrimeren Seite 29

Glucose-zentrierte PAMAM-Dendrimere

Für die Synthese eines zur Synthese von PAMAM-Dendrimeren geeigneten vollständig aminofunktionalisierten Glucose-zentrierten Kernmoleküls, wurde eine Synthesesequenz aus Perallylierung, Ozonisierung und reduktiver Aminierung untersucht.

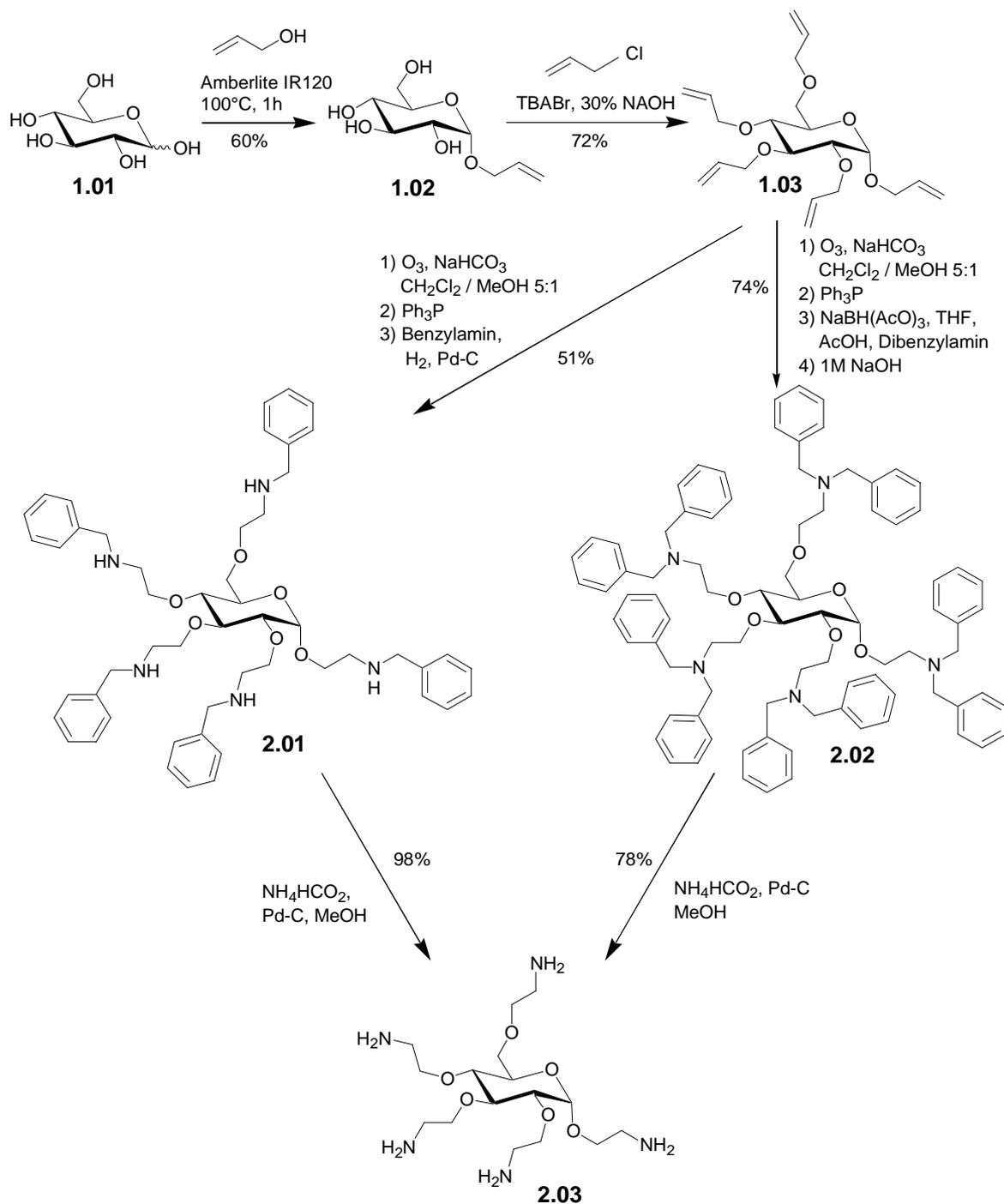


Abb. 2.3: Synthese des Glucose-zentrierten Pentaamins **2.03**.

Um möglichst hohe Drehwerte zu erhalten, wurden die anomererenreinen α -Glucopyranoside als vorrangige Ausgangsverbindungen verwendet. Die Synthese des anomererenreinen α -

Allylglucopyranosids gelang, über eine Fischer-Glycosylierung und anschließende mehrfache Umkristallisation des chromatographisch gereinigten Anomerengemisches aus Essigester. Das reine α -Glucosid weist einen Drehwert von $+152^\circ$ auf.

Bei der Perallylierung von **1.02** unter den Bedingungen einer Phasentransferkatalyse nach Nouguier und Mchich erhält man nach der Aufarbeitung ein nahezu einheitliches Produkt, weil unter diesen Reaktionsbedingungen die Allylierungsgeschwindigkeit mit dem Allylierungsgrad zunimmt, und zwei-, drei- oder vierfach-allylierte Derivate schnell vollständig allyliert werden.⁶⁰ Die nachfolgenden Ozonisierung des Allyl-2,3,4,6-tetra-O-

allyl- α -D-glucopyranosids (**1.03**) führt nur zu einem einheitlichen Produkt, wenn sie in einem mit einem Moläquivalent Natriumhydrogencarbonat pro Allylgruppe gepufferten Dichlormethan-Methanol-Gemisch durchgeführt wird, wobei die Carbonylgruppen überwiegend als Halbacetale entstehen (Abb. 2.4).⁶¹ Diese nahezu als Pentahalbacetal vorliegende Zwischenstufe konnte bereits im Rahmen der Diplomarbeit isoliert und NMR-spektroskopisch in D_2O als Pentahydrat charakterisiert werden. Für die weitere Synthese wird die Pentacarbonylverbindung ohne Reinigung einer reduktiven Aminierung unterworfen.

Der Einsatz von Ammoniak für die reduktive Aminierung schloß sich aus, weil dabei Nebenprodukte mit sekundären und tertiären Aminfunktionalitäten entstehen können. Auch die Verwendung von Benzylamin führte nicht zu einheitlichen Produkten, weil dabei cyclische Amine durch intramolekulare Reaktionen als schwer abtrennbare Nebenprodukte gebildet wurden (Abb. 2.5). Zahlreiche Optimierungsansätze führten zum Ergebnis, daß das Produkt **2.01** um so einheitlicher wurde, je tiefer die Reaktionstemperatur gewählt wird, und daß eine Reduktion mit Natriumtriacetoxyborhydrid⁶² und anschließender alkalische Aufarbeitung vorteilhaft ist. Für die Reinigung der benzylgeschützten Verbindungen wurde eine Sephadex LH-20 Gelpermeationssäule mit einem Dichlormethan-Methanol-Gemisch (1:1) als Laufmittel

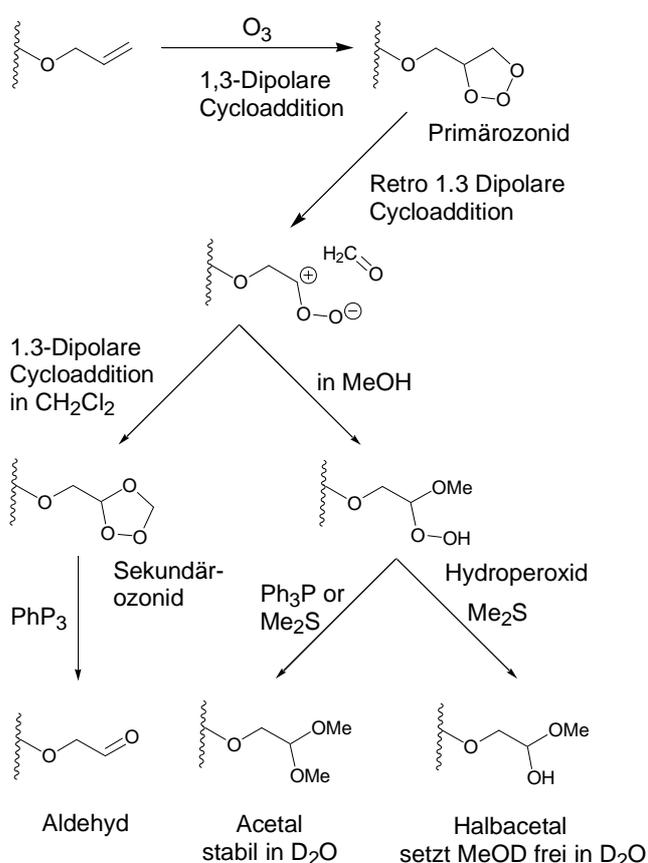


Abb. 2.4 Mechanismus der Ozonolyse der Allylgruppe

verwendet. Dabei erhöht das Dichlormethan die Löslichkeit für die benzylierten Verbindungen und setzt die Adsorption der aromatischen Ringe am Sephadex Gelmaterial herab. Das Methanol setzt die Dichte des Lösungsmittelgemisches herab, so daß das Gelmaterial auch in offenen Chromatographiesäulen nicht aufschwimmt. Insbesondere in reinem Methanol würde der gelchromatographische Reinigungseffekt, Trennung nach Molekülgröße oder besser dem Volumen in Lösung, der dazu führt das große Moleküle zuerst eluiert werden, durch einen adsorptionschromatographischen Effekt überlagert werden, nachdem Moleküle um so später eluiert werden, je mehr aromatische Gruppen sie enthalten. Da das strukturperfekte, vollständig mit Benzylamin umgesetzte Molekül einerseits das größte Molekül ist und andererseits auch die meisten Benzylgruppen besitzt, wirken beide Reinigungseffekte einander entgegen. Im Dichlormethan-Methanol-Gemisch wirken außerdem noch zusätzlich verteilungschromatographische Effekte, welche schwierig zu beschreiben sind, jedoch nicht stören.

Da trotz aller Bemühungen ein kleiner Rest praktisch nicht abtrennbarer Defektstrukturen im Produkt verblieb, wurde Dibenzylamin statt Benzylamin unter den optimierten Bedingungen probiert. Die Befürchtung, daß hierbei eine instabile Enolzwischenstufe durchlaufen würde, bewahrheitet sich nicht, offenbar erfolgt die Reduktion bereits einen Schritt vorher auf der Stufe des Iminium Ions. Der optimale Weg führt somit über die Umsetzung des Pentacarbonyls mit Dibenzylamin als Aminkomponente und Natriumtriacetoxyborhydrid als Reduktionsmittel in essigsauerm THF bei -10°C , wobei die benzylgeschützte, vollständig aminofunktionalisierte Glucose **2.02** mit 74 % Ausbeute entsteht. Weitere 15 % entfallen auf zwei Nebenprodukte, welche bei der Reinigung an Sephadex LH-20 früher als **2.02** eluiert werden und daher vermutlich eine höhere Molekularmasse besitzen, aber nicht charakterisiert werden konnten.

Die Debenzylierung von **2.01** und **2.02** zu den Pentaamin **2.03** erfolgte durch heterogene, katalytische Transfer-Hydrogenolyse⁶³ mit Ammoniumformiat als Wasserstoffquelle am Pd-Katalysator (10 % auf Aktivkohle) in Methanol.⁶⁴ Die Dibenzylamin-Verbindungen lösen

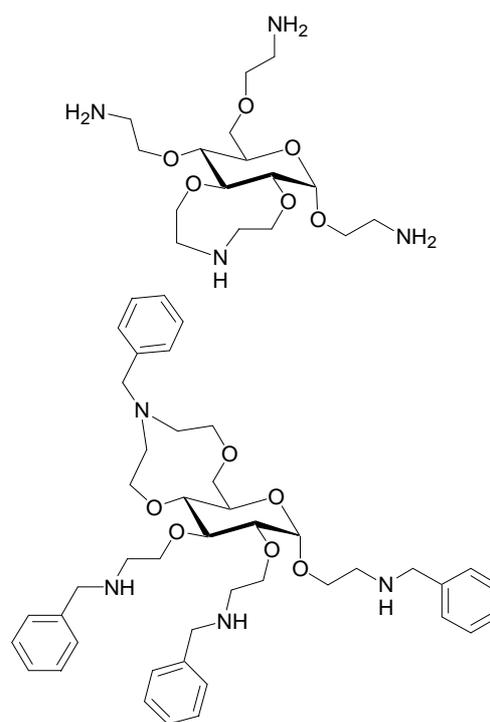


Abb. 2.5: Nebenreaktionen bei der reduktiven Aminierung

sich erst beim Erwärmen in Methanol und sind deutlich reaktionsträger als die mit Benzylamin erhaltenen Derivate. Da eine zu lange Reaktionszeit zur vollständigen Zersetzung des Produktes führen kann, die optimale Reaktionszeit aber u. a. von der Aktivität der Katalysatorcharge abhängt, können die angegebenen Konzentrationen und Reaktionszeiten nur allgemeine Orientierungswerte sein. Auf diesem Wege konnte das Pentaamin **2.03** stereochemisch einheitlich, ausgehend von dem Allylglucopyranosid **1.02** in 41 %-iger Gesamtausbeute hergestellt werden. Das Pentaamin **2.03** stellt einen vielfach derivatisierbaren Kohlenhydrat-Core dar.

Das Saccharid-zentrierte Polyamin sollte dann zum Dendrimer expandiert werden. Das Reaktionsduett für den Aufbau von PAMAM-Dendrimern, bestehend aus der erschöpfenden Michael-analogen Addition der Aminfunktionen an Methylacrylat, gefolgt von der Aminolyse der peripheren Ester mit Ethylendiamin zum erneut Amin-terminierten Molekül mit der verdoppelten Anzahl von Funktionalitäten, ließ sich mit **2.03** problemlos durchführen.

Durch die Addition des Pentaamins **2.03** an Methylacrylat konnte das 0.5-Generationen Hybrid-Dendrimer **2.04** dargestellt werden (Abb. 2.7).

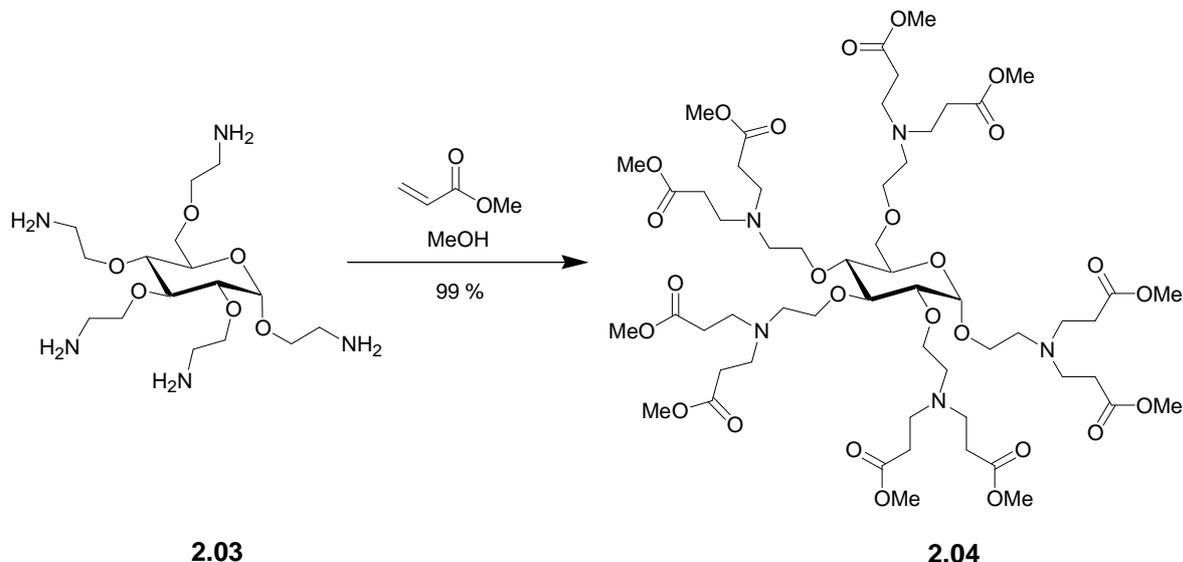


Abb. 2.7: Synthese eines Glucose-zentrierten PAMAM-Dendrimers der 0.5 ten Generation

Der Strukturbeweis für **2.04** läßt sich eindeutig an Hand des ^1H - ^{13}C -HMBC-Spektrums führen, das mit den ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren auf den Achsen in Abbildung 2.8 abgebildet ist. Im ^1H - ^{13}C -HMBC können nur Kopplungen über zwei bis drei Bindungen beobachtet werden (siehe Kasten 2.1). In Ausnahmefällen kann es passieren, daß direkte $^1J_{\text{C,H}}$ Kopplungen nicht vollständig unterdrückt werden, so ist in Abbildung 2.8 die $^1J_{\text{H-1,C-1}}$ Kopplung noch deutlich zu erkennen. Im ^1H -NMR sind H-1, H-2 und H-4 des Zuckers als scharfe Multipletts zu erkennen. Sie erscheinen nur im Falle reiner Verbindungen ohne Strukturdefekte als scharfe NMR-Peaks. Das ^{13}C -NMR weist eine für Glucosederivate

typische C1-C3-C2-C4-Peakfolge auf, wobei C-5 und C-6 durch die deutlich voneinander unterscheidbaren Kohlenstoffe der ersten Methylengruppen der PAMAM-Äste überlagert sind.

Im ^1H - ^{13}C -HMBC-Spektrum ist es möglich, sich ausgehend vom Zucker durch die Äste des PAMAMs zu bewegen. So kann man ausgehend vom H-1 den mit dem anomeren Zentrum verknüpften Ast durchwandern. Ausgehend von dem anomeren Proton des Kohlenhydrat-Kerns bei 4.98 ppm findet man über einen Cross-Peak bei 68.5 ppm, das Kohlenstoffatom der ersten Methylengruppe des mit dem anomeren Zentrum verknüpften Astes und kann von dort aus schrittweise diesen PAMAM-Ast durchwandern (Abb. 2.8). Analog können im Prinzip die anderen Äste identifiziert werden. Je weiter die Kerne vom Kohlenhydrat-Core entfernt sind, desto enger liegen die entsprechenden Peaks der fünf analogen Äste beieinander.

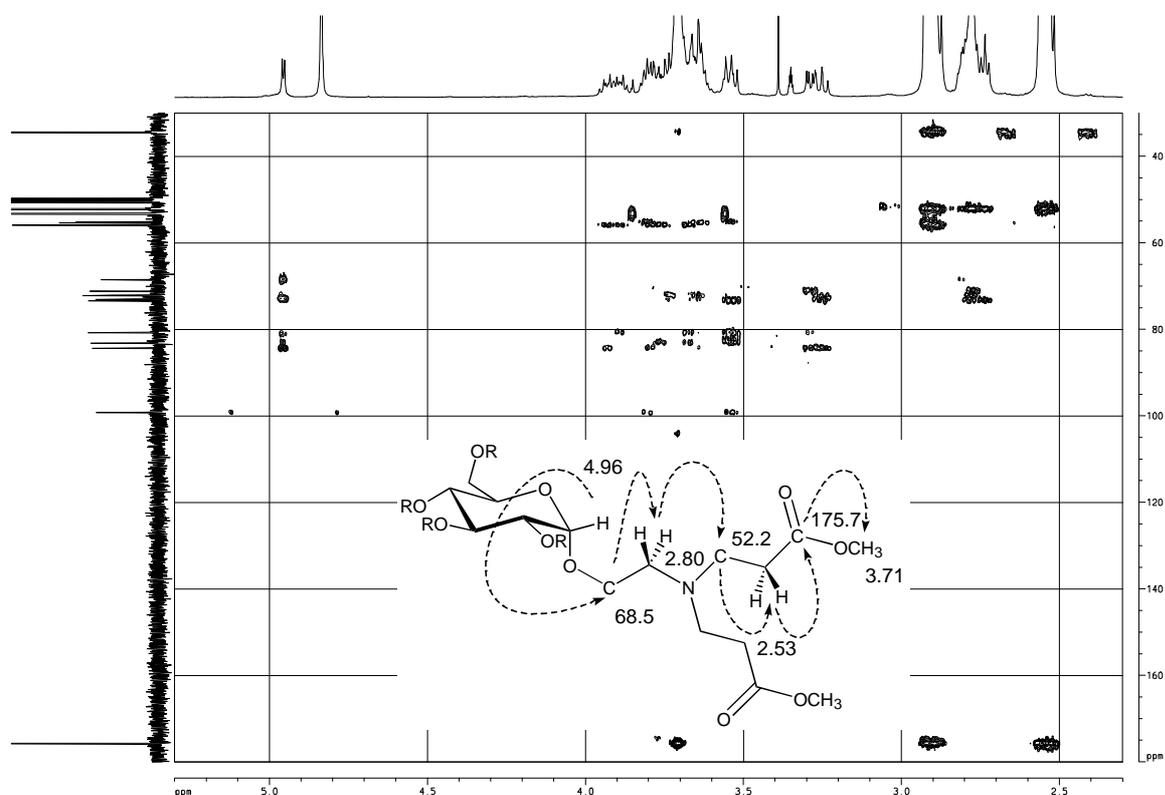


Abb. 2.8: ^1H - ^{13}C HMBC des Glucose-zentrierten PAMAM-Dendrimers der 0.5 ten Generation **2.04**

Durch die Aminolyse der Estergruppen in **2.04** mit Ethylendiamin wurde das 1.0-Generationen Hybrid-Dendrimer **2.05** dargestellt (Abb. 2.9), welches wie **2.03** hygroskopisch ist. Die erneute Addition an Methylacrylat liefert schließlich das 1.5 Generationen Hybrid-Dendrimer **2.06** mit einer Molmasse von 3258 g/mol, die durch MALDI-TOF bestätigt wurde.

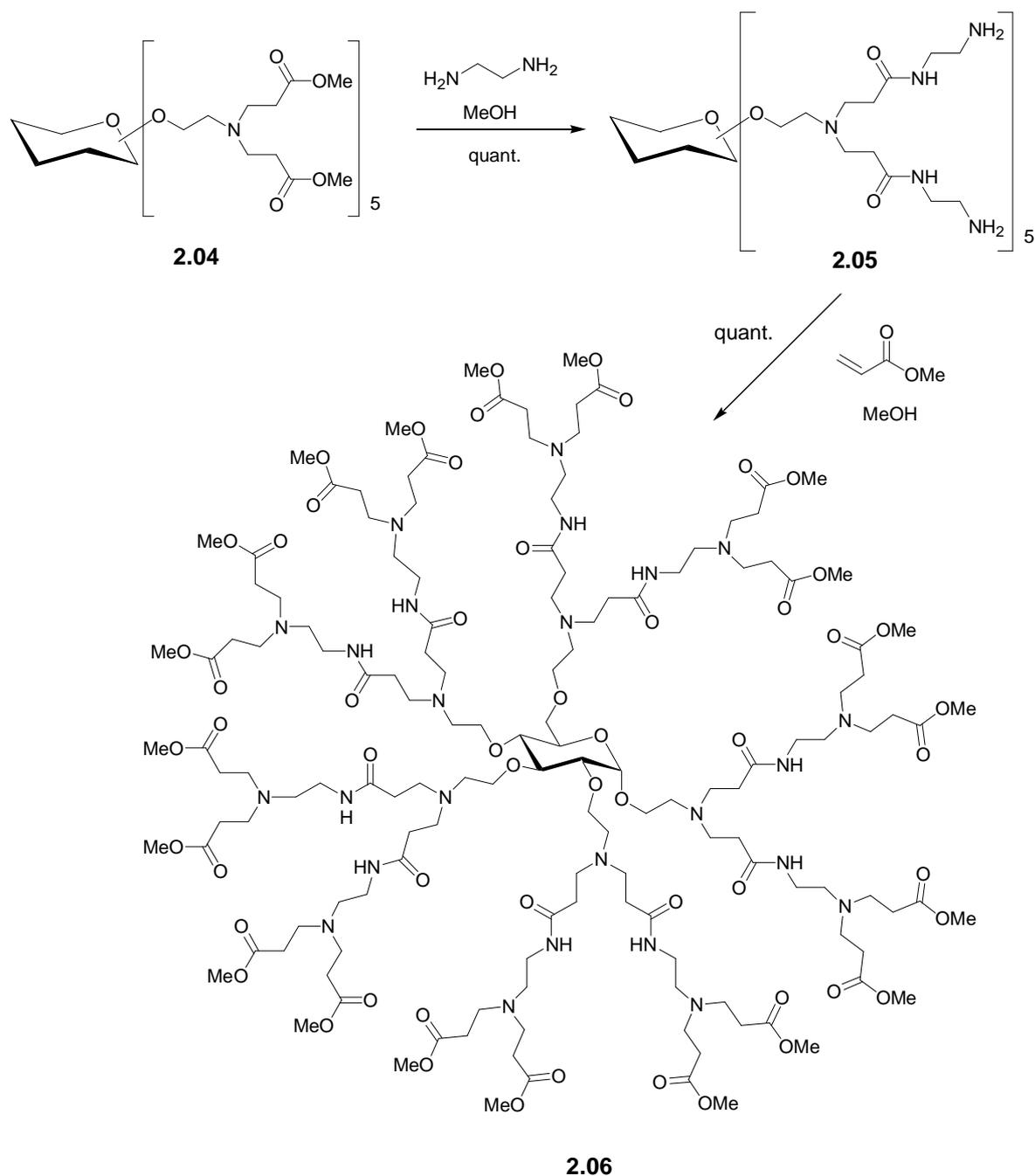


Abb. 2.9: Synthese des Glucose-zentrierten PAMAM-Dendrimers der 1.5 ten Generation

Die Elementaranalyse liefert gute Ergebnisse, wobei für das 1.5-Generationen Dendrimer **2.06** mit der Summenformel $\text{C}_{146}\text{H}_{257}\text{N}_{25}\text{O}_{56}$ ein C/N-Verhältnis von 4.98 gefunden (berechnet 5.01) wird. Einen weiteren Beleg für die Reinheit der Verbindungen stellt die Anomerenregion im ^1H -NMR-Spektrum dar, wo bei 4.95 ppm (α -Anomer) bzw. 4.35 ppm (β -Anomer) das anomere H-1 des Kohlenhydrat-Kerns als scharfes Dublett als einziger Peak detektiert wird (Abb. 2.12). Bei längerer Lagerung bei Licht und RT wird aus dem 0.5 Generationen Dendrimer nach einer Retro-Michael-Reaktion Methylacrylat abgespalten, und

es tauchen neben den Peaks für Methylacrylat fünf neue Dubletts in der Anomerereion auf, da die Retro-Michael-Reaktion an fünf verschiedenen Ästen erfolgen kann (Abb. 2.11).

Für die hier dargestellten Dendrimere **2.04** bis **2.06** sind spezifische Drehwerte zu beobachten, die mit steigender Generationenzahl abnehmen, während die molaren Drehwerte größenordnungsmäßig gleich bleiben. So ermöglichen der hohe Drehwert des Initiator-kernes **2.02** und seine hohe Multiplizität die Darstellung intrinsisch asymmetrischer Dendrimere mit beachtlicher Chiralität und gleichzeitig hohen Molekularmassen.

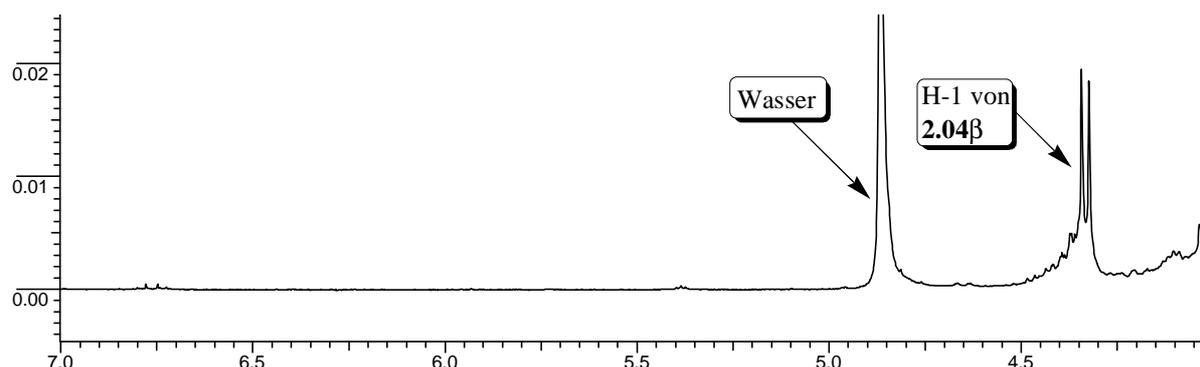


Abb. 2.10: Ein Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$) des β -Anomers von **2.04** (**2.04b**) kurz nach der ersten erfolgreichen Synthese eines Glucose-zentrierten PAMAM-Dendrimers im Januar 1997.

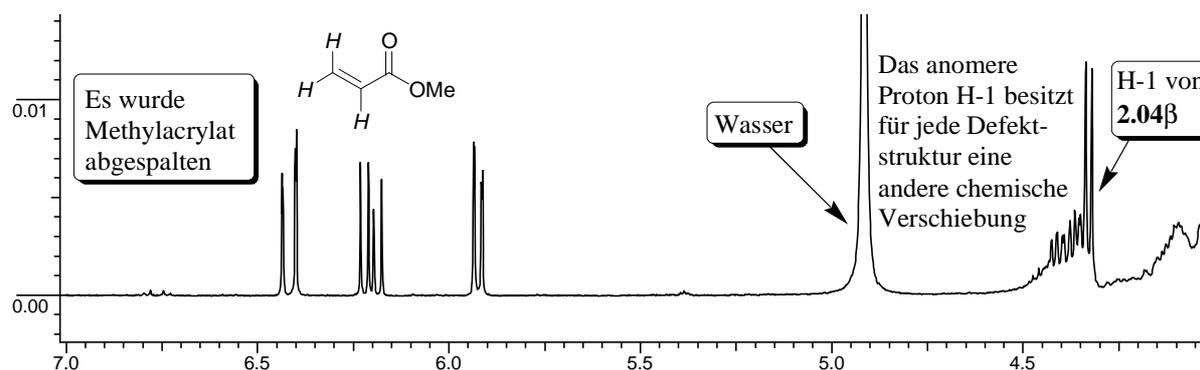


Abb. 2.11: Ein Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$) von **2.04b** nach etwa einmonatiger Lagerung bei Raumtemperatur im Sonnenlicht. Die Abspaltung von Methylacrylat (5.8-6.3 ppm) führt zu einem Verbindungsgemisch, mit Verbindungen deren anomere Protonen jeweils geringfügig andere chemische Verschiebungen des anomeren Protons aufweisen (4.2-4.4 ppm).

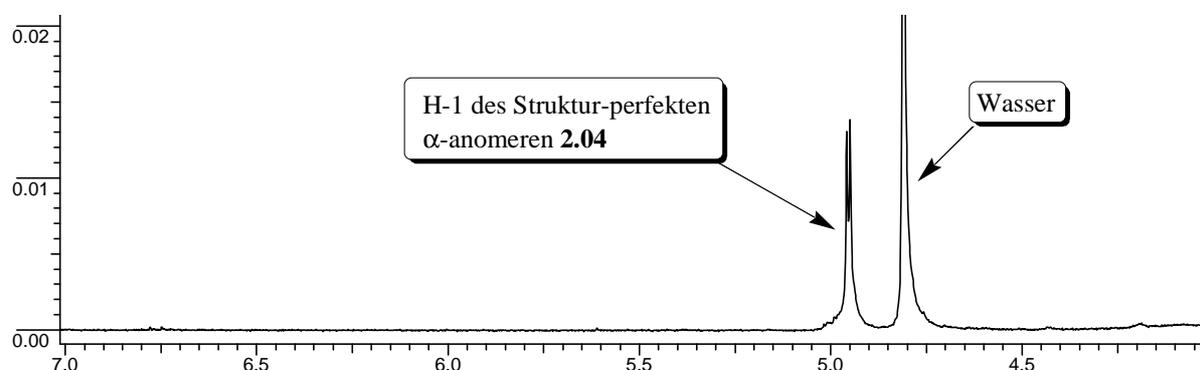


Abb. 2.12: Die ausgereifte α -Version der Synthese: Ein Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$) des 0.5 Generationen Dendrimers **2.04**, dargestellt nach der optimierten Synthesefolge.

Es läßt sich zusammenfassend feststellen, daß eine Synthesesequenz optimiert wurde, welche prinzipiell poly-Allyl-modifizierte Zuckerderivate in sehr guter Ausbeute in die entsprechenden Aminoethyl-modifizierten Derivate wie **2.03** zu überführen vermag. Das Reaktionsschema zum Aufbau von PAMAM-Generationen ist mit Verbindungen wie **2.03** kompatibel und konnte ebenfalls erfolgreich auf das β -Allylglucopyranosid zur Synthese des Dendrimers **2.05b** angewendet werden. Im experimentellen Teil wird den Nummern der Verbindungen mit einen β -konfigurierten Glucose-Core zur Unterscheidung von den Verbindungen mit einem α -konfigurierten Glucose-Core ein β hinzugefügt. So ist das 1.0 Generationen Dendrimer **2.05b** (Abb. 2.13) das β -Anomer des Dendrimers **2.05**.

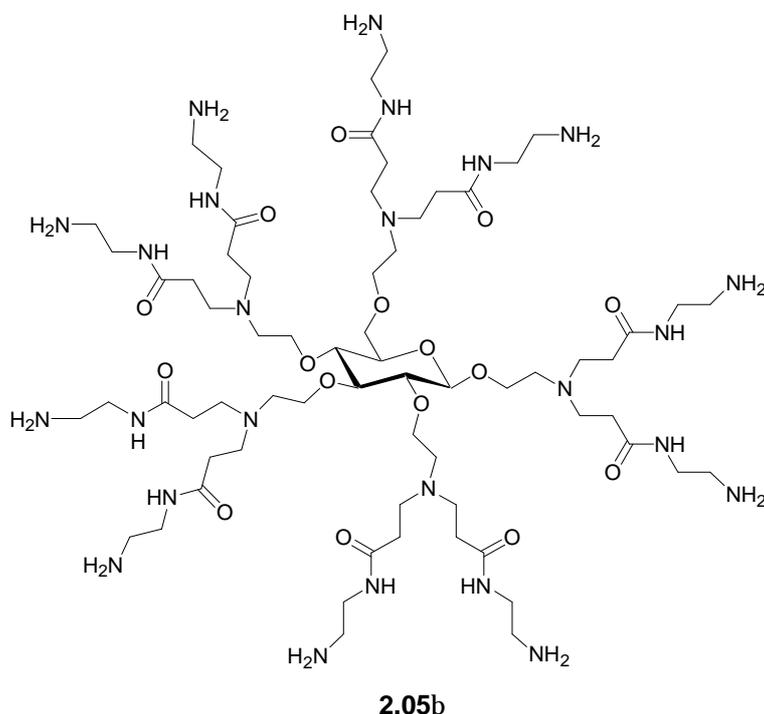
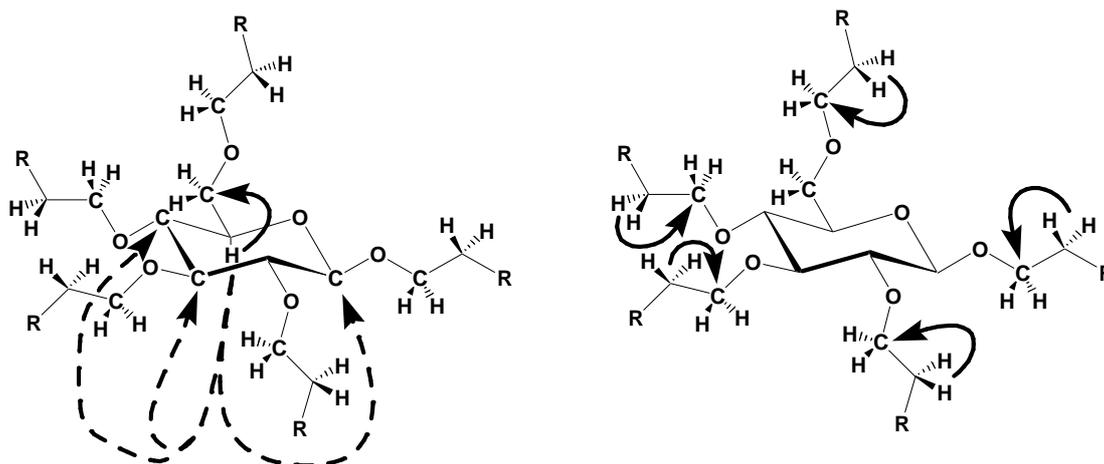


Abb. 2.13: Auch die β -konfigurierten, Glucose-zentrierten PAMAM-Dendrimere, wie z. B. **2.05b**, wurden synthetisiert.

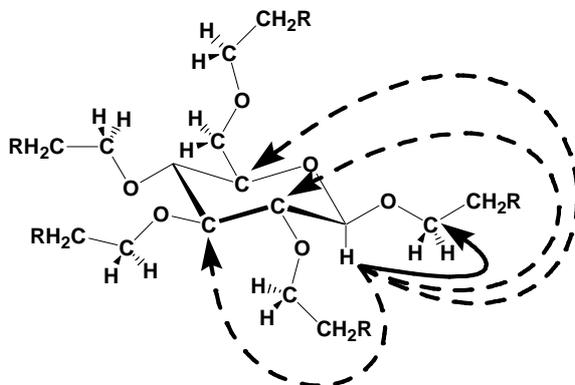
Kasten 2.1:

 ^1H - ^{13}C -HMBC-Auswertestrategien für Glucose-zentrierte Verbindungen:

Im ^1H - ^{13}C -HMBC-Spektrum können nur Kopplungen über zwei bis drei Bindungen beobachtet werden, allerdings müssen diese Kopplungen nicht in jedem Fall sichtbar sein. Hieraus ergeben sich Strategien, etwa für die Suche nach C-6. So kann C-6 einerseits im ^1H - ^{13}C -HMBC eine Kopplung nach H-5 aufweisen (Abb. 2.14 links), andererseits darf es keine Kopplungen zu den β -H Atomen der Ketten zeigen (Abb. 2.14 rechts).

Abb. 2.14: Suche nach C-6 am Beispiel von Verbindung **2.04b**

Häufig beobachtet man im DEPT fünf Methylengruppen bei 70-68 ppm und eine etwas abgesetzte Methylengruppe bei z.B. 66 ppm. Hier könnte man dazu neigen, die Gruppe bei 66 ppm als C-6 zu identifizieren, jedoch liegt im Falle Glucose-zentrierter Verbindungen, meistens die erste Methylengruppe des Armes am anomeren Zentrum bei niedrigeren Feld als C-6. Dieses wird in den meisten Fällen durch eine Kopplung von H-1 mit dem Kohlenstoffatom der ersten Methylengruppe des Armes am anomeren Zentrum in den ^1H - ^{13}C -HMBC-NMR-Spektren bewiesen (Abb. 2.15).

Abb. 2.15: Im Falle Glucose-zentrierter Verbindungen liegt meistens die Methylengruppe des Armes am anomeren Zentrum bei niedrigeren Feld als C-6, was über ^1H - ^{13}C -HMBC Kopplungen gezeigt werden kann.

Di- und Trisaccharid-zentrierte Dendrimere

Die erfolgreiche Synthese Glucose-zentrierter PAMAM-Dendrimere legte die Vermutung nahe, diese Ergebnisse könnten auf die Synthese Di- und Trisaccharid-zentrierter Dendrimere übertragen werden. Anders als in den Arbeiten von Stoddart, der Disaccharide als AB₂ Bausteine für den Aufbau Oligosaccharid-zentrierter Dendrimere benutzt hat (Abb 2.16),¹⁵ sollen hier alle Hydroxyl-Gruppen der Kohlenhydrate ausgenutzt werden und wiederum PAMAM-Dendrimere für den Einsatz als Transfektionsreagenzien synthetisiert werden.

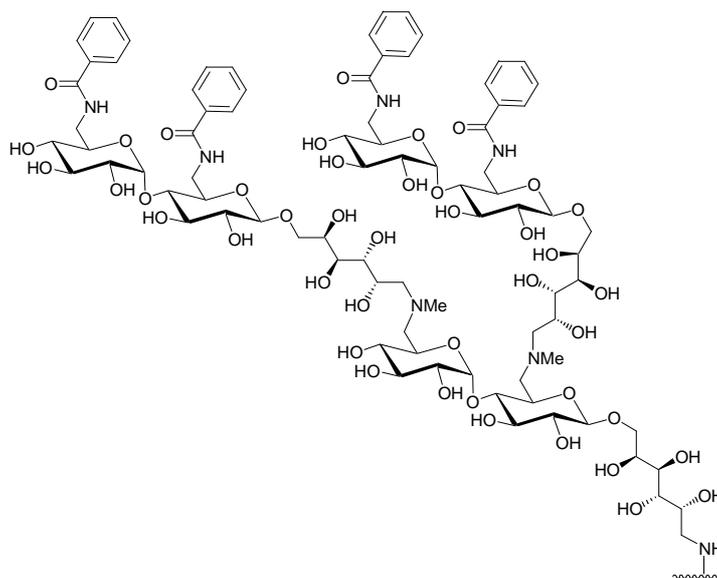


Abb. 2.16: Oligosaccharid-zentriertes Dendrimer (Stoddart).

Zu Anfang wurde versucht, die für die vollständige Aminofunktionalisierung von Glucose entwickelte Reaktionssequenz bestehend aus Perallylierung, Ozonisierung, reduktiver Aminierung mit Dibenzylamin und Debenzylierung auf Raffinose anzuwenden. Wegen der hohen Polarität der Raffinose konnte die Perallylierung nicht mehr unter Phasentransferbedingungen durchgeführt werden, es wurde daher Natriumhydrid mit Allylbromid in DMF zur Perallylierung verwendet. Die perallylierte Raffinose **2.08** konnte nach dem für die perallylierte Glucose optimierten Protokoll ozonisiert und reduktiv aminiert werden. Anschließend konnte die so synthetisierte Verbindung **2.09** jedoch nicht mehr debenzyliert werden. Keine einzige der 22 *N*-Benzylgruppen von **2.09** konnte unter den in der Literatur beschriebenen Debenzylierungsmethoden abgespalten werden, wobei z.B. Natrium in flüssigen Ammoniak oder auch Ammoniumformiat mit Palladium auf Aktivkohle in reinen Methanol, sowie in Methanol mit unpolareneren organischen Kosolventien ausprobiert wurden.

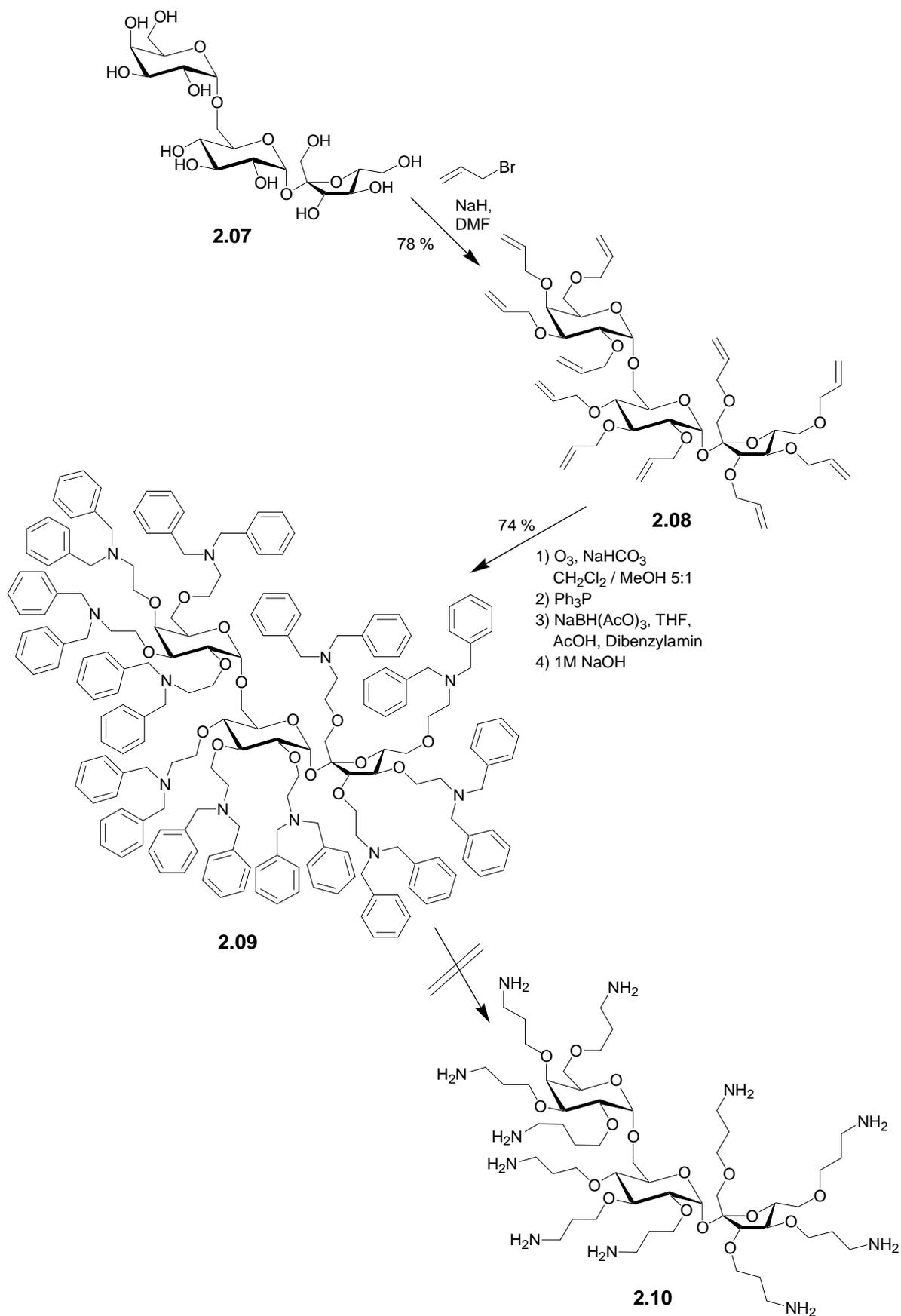


Abb. 2.17: Die Raffinose-zentrierte Verbindung **2.09** konnte nicht entschützt werden.

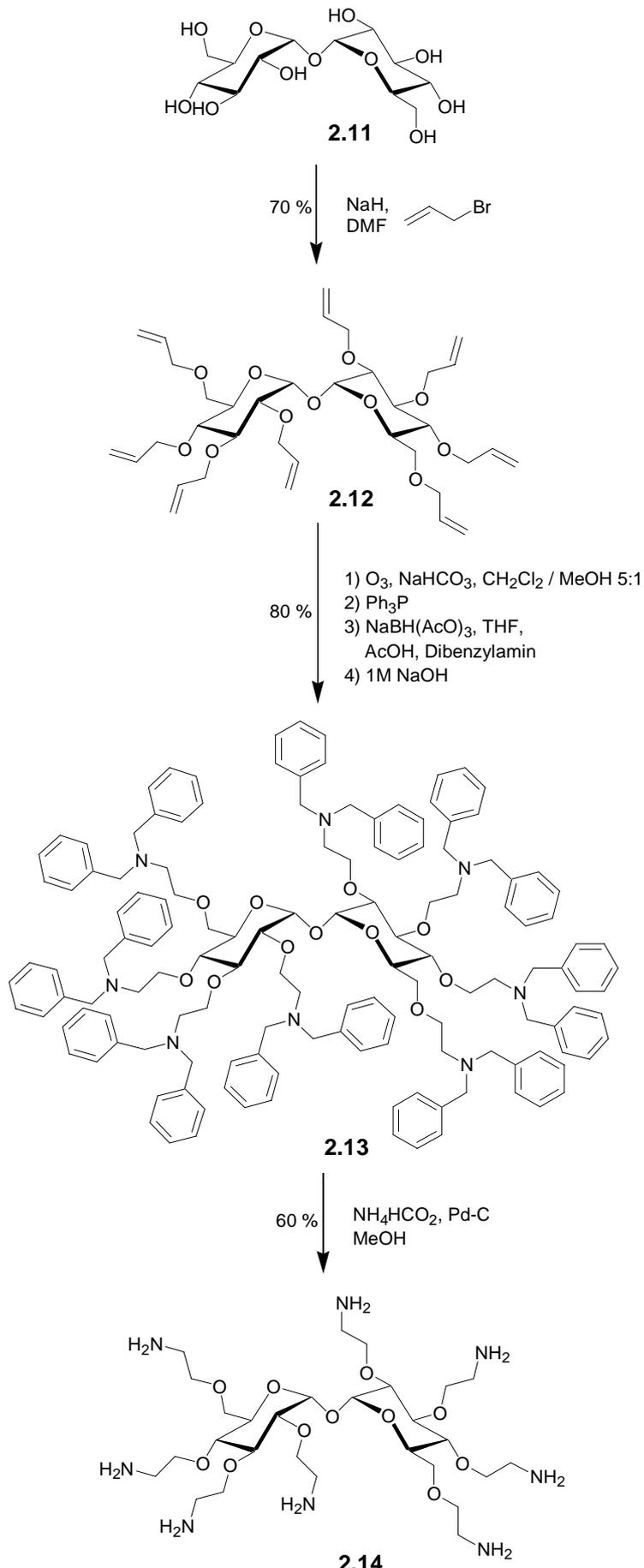


Abb. 2.18: Synthese des Trehalose-zentrierte Oktaamins **2.14**.

Daher wurden alle Versuche zur Synthese des vollständig aminofunktionalisierten Raffinose-zentrierten Bausteins **2.10** aufgegeben, um in der verbleibenden Zeit die Eignung von Trehalose als Initiator-kern für den Aufbau von Dendrimeren zu untersuchen.

Die Trehalose konnte wie Raffinose einfach mit Natriumhydrid und Allylbromid in DMF perallyliert, und die perallylierte Trehalose **2.12** ohne Probleme ozonisiert und reaktiv aminiert werden (Abb. 2.18). Jedoch erwies sich die Debenzylierung der per-*N*-benzylierten Verbindung **2.13** mit Ammoniumformiat und Palladium auf Aktivkohle in Methanol als ungewöhnlich problematisch, da es in diesem Fall erheblich schwieriger ist den Punkt zwischen vollständiger Debenzylierung und Zersetzung zu finden, als im Fall der analogen Glucose-zentrierten Verbindung **2.02**. Zahlreiche Versuche endeten mit der vollständigen Zersetzung von **2.14**. Um so enttäuschender war es, als sich zeigte, daß zwar das Oktaamin **2.14** so synthetisiert werden konnte, eine erschöpfende Addition von **2.14** an Methylacrylat aber nicht möglich war. Statt der notwendigen 16-fachen Addition an Methylacrylat erfolgte nur eine ca. 12-fache Addition, d. h. das Trehalose-zentrierte 0.5 Generationen PAMAM-Dendrimer **2.15** kann auf diesem Weg nur mit starken Strukturdefekten hergestellt werden kann (Abb. 2.19).

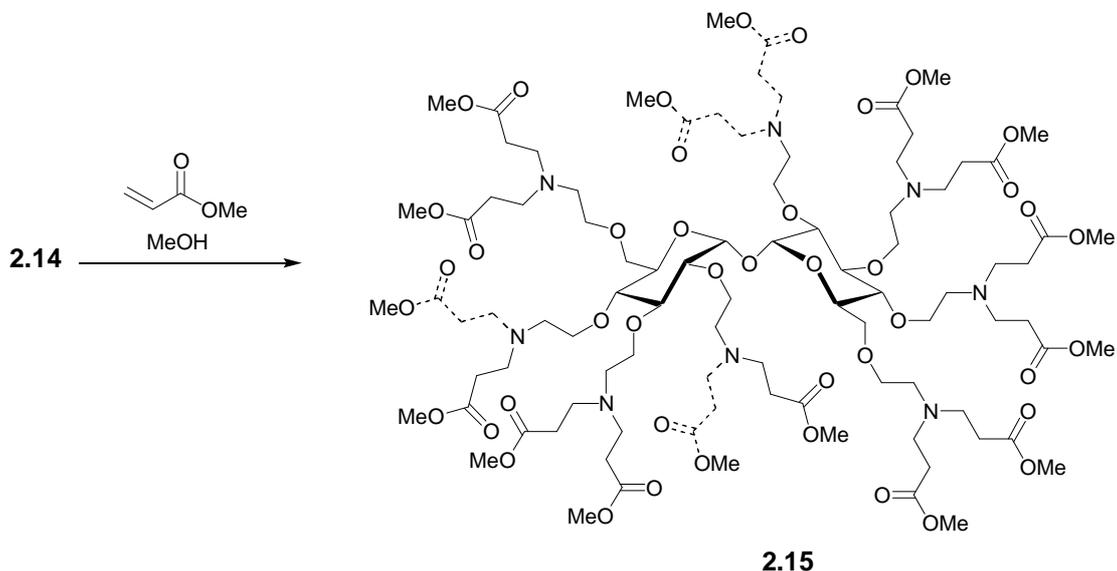


Abb. 2.19: Das Trehalose-zentrierte Oktaamin **2.14** konnte nicht erschöpfend an Methylacrylat addiert werden. Vier willkürlich gewählte Methylacrylat-Liganden sind gestrichelt gezeichnet, um das Problem und die angestrebte Zielstruktur darzustellen.

Da auch der Versuch **2.14** mit *p*-Isothiocyanatophenyl- α -D-mannopyranosid in Wasser zum Thioharnstoffcluster umzusetzen⁶⁵ nur zu einem strukturdefekten Cluster führte, liegt die Vermutung nahe, daß sterische Probleme für die Strukturdefekte in **2.15** verantwortlich sind.

Kasten 2.2

Einfluß von MALDI-TOF-Präparationstechniken

Die einfachste Methode, ein divergent synthetisiertes dendritisches Molekül auf seine Strukturperfektheit zu überprüfen, ist die MALDI-TOF-Massenspektroskopie. Die Aussagekraft von MALDI-TOF-Spektren hängt wesentlich davon ab, wie die Probe präpariert wurde. Besonders bei *N*-Benzyl-Verbindungen, wie z.B. **2.16** werden mit vielen Präparationstechniken falsche Ergebnisse erhalten. Die Melibiose-zentrierte Verbindung **2.16** sollte nach Molecular-Modelling-Berechnungen eine sterisch weniger gehinderte Alternative zur Trehalose-zentrierten Verbindung **2.14** liefern. Sie ergibt genau wie **2.13** saubere FAB-MS- und ESI-MS-Spektren, jedoch werden mit fast allen Präparationstechniken, unabhängig von der Laserintensität im linearen- und im Reflektor-Modus MALDI-TOF-Spektren erzeugt, die nur mit einem statistischen Verlust einzelner Benzylgruppen erklärbar sind.

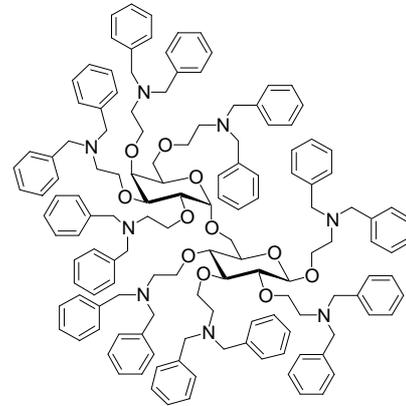


Abb.2.20 : Verbindung **2.16**

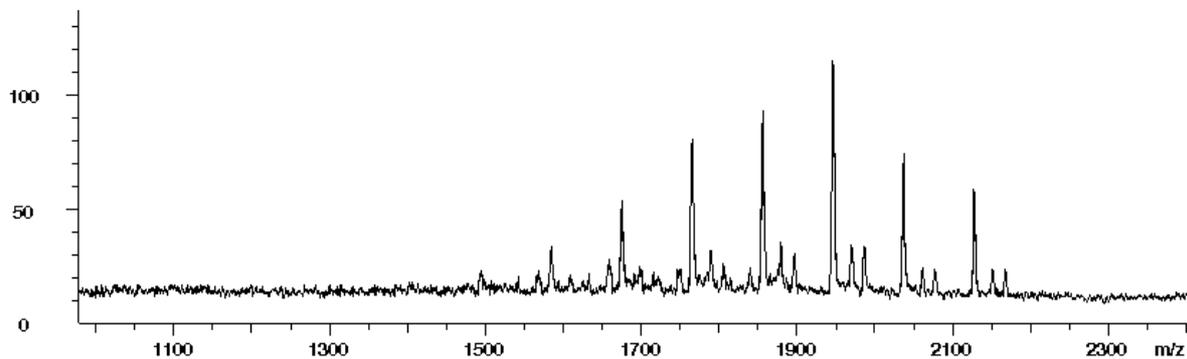


Abb. 2.21: Ein MALDI-TOF-Spektrum von **2.16** mit DHB als Matrix. Obwohl die Verbindung saubere ESI- und FAB-MS-Spektren liefert, zeigt das MALDI-Spektrum ein Verbindungsgemisch, welches nur durch eine statistische Abspaltung einzelner Benzylgruppen erklärbar ist.

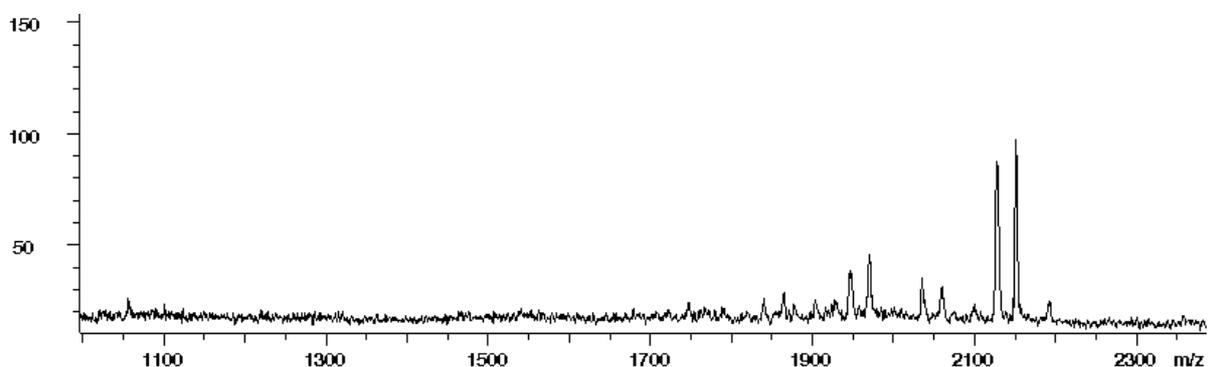


Abb. 2.22: Ein MALDI-TOF-Spektrum von **2.16** mit nor-Harmane⁶⁶ als Matrix.

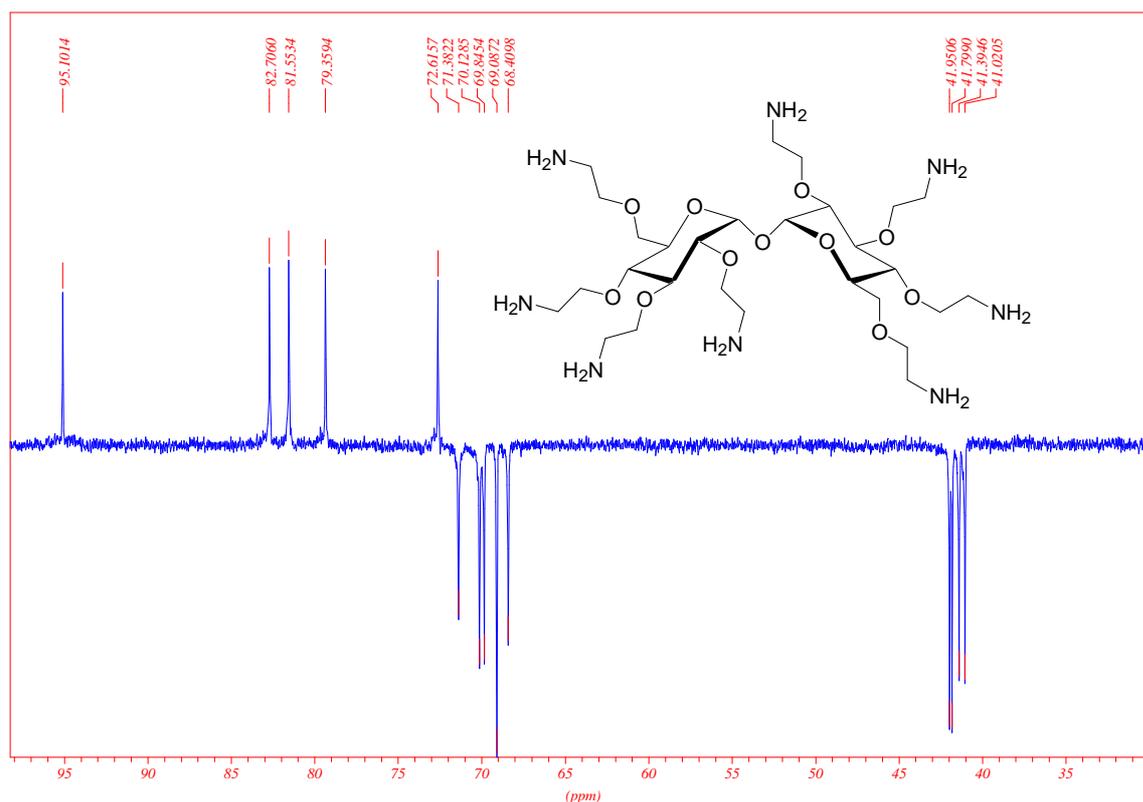


Abb. 2.23: ^{13}C -DEPT-NMR von **2.14**. Im ^{13}C -DEPT-NMR-Spektrum der vollständig aminofunktionalisierten Trehalose besitzen beide anomeren Kohlenstoffatome dieselbe chemische Verschiebung, da sie durch eine Symmetrieoperation ineinander übergeführt werden können.

Wenn jedoch die vollständige Addition von **2.14** an Methylacrylat aufgrund sterischer Probleme mißlungen sein sollte, müßten strukturelle Änderungen im Molekül, welche diese sterischen Probleme mindern, eine vollständige Addition an Methylacrylat ermöglichen. Zur Lösung dieses Problems gibt es zwei Möglichkeiten, einerseits könnte das Kernmolekül vergrößert werden und andererseits könnten die Bindungsarme des Moleküls verlängert werden. Da ein Ersatz der Trehalose durch Melibiose keine Besserung erbrachte, wurde versucht weitere Methoden zur vollständigen Aminofunktionalisierung von Trehalose zu untersuchen (Abb. 2.24). Trehalose ist ein nicht-reduzierender Zucker, und theoretisch kann eine Vielzahl bekannter Verfahren zur Aminofunktionalisierung ohne die Umwege und Probleme, die sich normalerweise aus der Existenz eines ungeschützten anomeren Zentrums ergeben, auf Trehalose angewendet werden. So sollte es möglich sein die peralliierte Trehalose **2.12** in ein Oktabromid zu überführen, welches über die Gabriel-Methode in ein Oktaamin übergeführt werden könnte (Methode C). Weiterhin sollte Trehalose an Acrylnitril addierbar sein, womit ein zum Oktaamin reduzierbares Oktanitril herstellbar sein sollte (Methode D); und schließlich sollte Trehalose mit geschützten ω -Bromalkylaminen zu einem geschützten Oktaamin umsetzbar sein (Methode E).

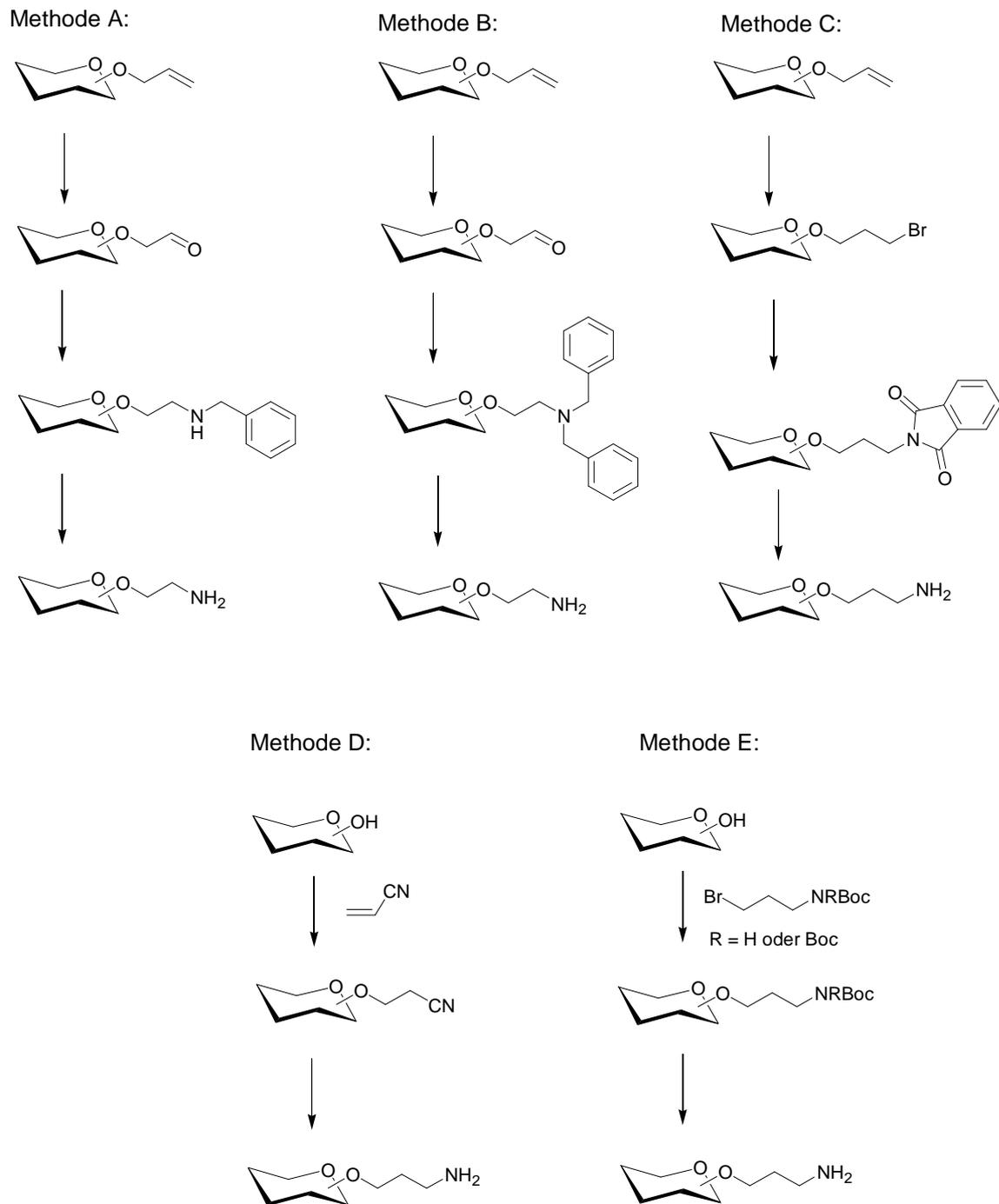


Abb. 2.24: Evaluierte Methoden zur Synthese vollständig aminofunktionalisierter Zucker.

Der Versuch nach der Methode D (Abb. 2.24) durch Addition von Trehalose und Acrylnitril und anschließender Reduktion der Nitrilgruppen ein Oktaamin herzustellen, war nicht erfolgreich. Zwar konnte Trehalose nach einer Analogvorschrift von Newkome⁶⁷ an Acrylnitril addiert werden, aber obwohl zahlreiche Reduktionsmittel, wie z.B. $\text{LiAlH}(\text{OMe})_3$, Rh auf Al_2O_3 , oder LiAlH_4 ausprobiert wurden,⁶⁸ konnte keine einheitliche Reduktion der acht Nitrilgruppen zu acht Aminogruppen erreicht werden.

Für die einheitliche Umsetzung von Trehalose mit einfach oder zweifach Boc-geschützten 3-Brompropylamin (Methode E, Abb. 2.24) konnten keine geeigneten Reaktionsbedingungen gefunden werden. Bei dieser Methode erfolgt offenbar die nukleophile Substitution durch die primären Hydroxylgruppen der Trehalose noch relativ einfach, während die sekundären Hydroxylgruppen sterisch zu stark gehindert sind, um schnell genug zu reagieren. Daher wird die Eliminierung von HBr zur Hauptreaktion, wobei sich Boc-geschützte Allylamine bilden.

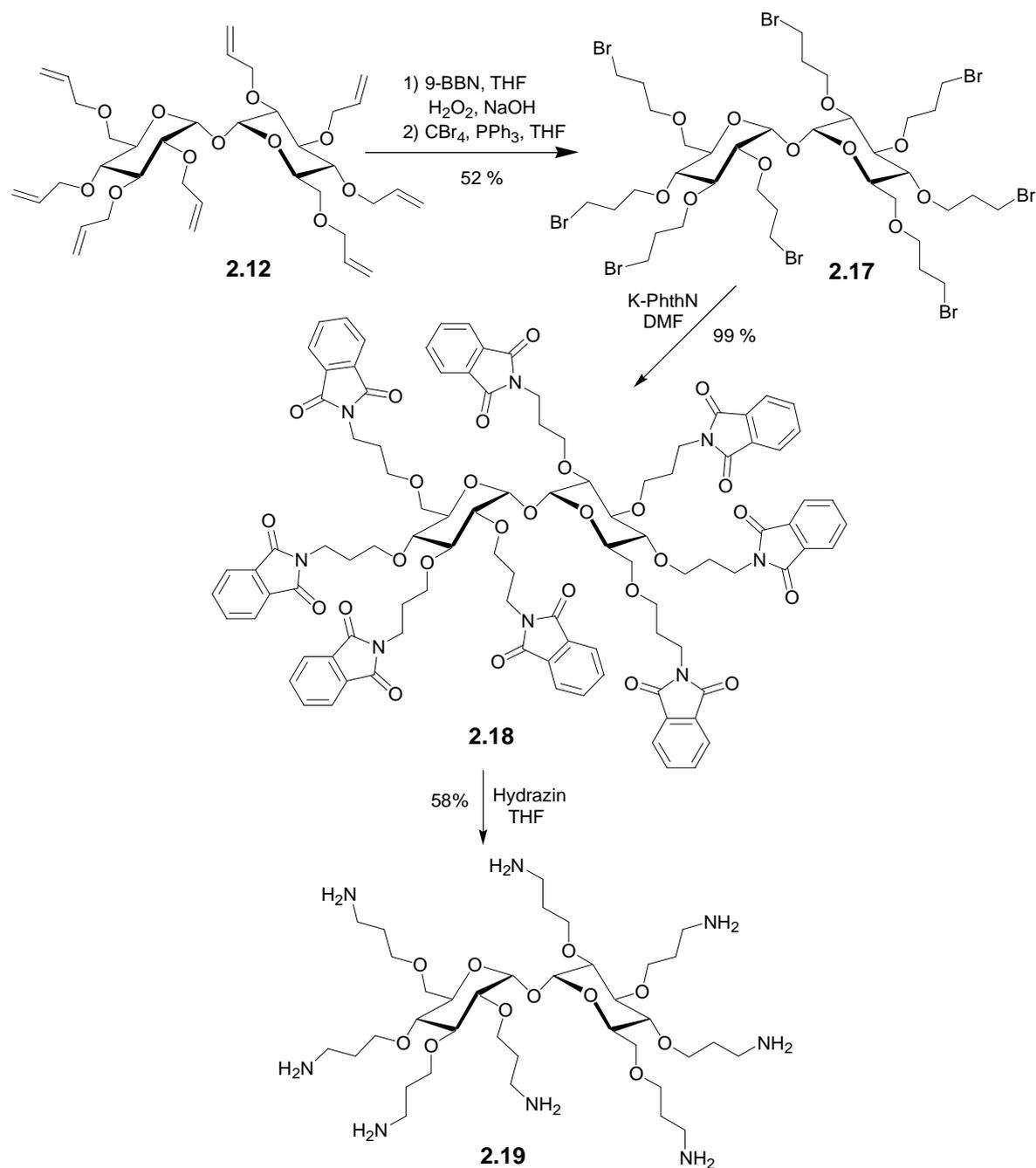


Abb. 2.25: Synthese des Trehalose-zentrierten Oktaamins **2.19**.

Ein weiterer Weg, ausgehend von perallylierten Zuckern zu Kohlenhydrat-zentrierten Oligoaminen zu gelangen, besteht darin, nach Hydroborierung die Appel-Reaktion⁶⁹ zu

nutzen. So wurde **2.12** nach den in Kapitel 3 beschriebenen optimierten Bedingungen hydroboriert und dann mit CBr_4 und PPh_3 in das Bromid **2.17** überführt, welches über die Gabriel-Synthese⁷⁰ in das vollständig aminofunktionalisierte **2.19** umgesetzt werden kann. Bereits der erste Versuch mit der Appel-Reaktion zeigte, daß sie problemlos auf Polyalkohole angewendet werden kann. Die erhaltene Ausbeute von 63 % konnte jedoch weder durch eine Verlängerung der Reaktionszeit noch durch eine Erhöhung des Reagenzienüberschusses gesteigert werden. Es wurde aber nicht versucht, die Ausbeute durch eine Variation des molaren Verhältnisses der Reagenzien zueinander zu optimieren.

Das Oktabromid **2.17** konnte mit Kaliumphthalimid zum Oktaphthalimid **2.18** umgesetzt werden. Das Oktaphthalimid wurde mit Hydrazin in THF zum Trehalose-zentrierten Oktaamin **2.19** entschützt und mit Methanol an Sephadex LH-20 aufgereinigt. Das Oktaamin **2.19** mit Propylamin-Ästen kann somit in fünf Schritten mit Gesamtausbeute von über 20 % einfach hergestellt werden (Abb. 2.25).

Das Oktaamin **2.19** besitzt längere Arme als **2.14**, ist sterisch weniger gehindert und sollte leichter erschöpfend an Methylacrylat addiert werden können (Abb. 2.26). In den MALDI-TOF-Spektren, die zur Reaktionsverfolgung angefertigt wurden, konnte dann auch nach der für diesen Schritt der PAMAM-Synthese üblichen Reaktionszeit von 2 Tagen erstmals ein strukturperfektes Trehalose-zentriertes PAMAM-Dendrimer der 0.5-ten Generation beobachtet werden (Abb. 2.26, 2.27). Zunächst lag noch ein Produktgemisch vor, welches hauptsächlich aus strukturdefekten Produkten bestand, innerhalb den nächsten 5 Tage konnte jedoch die langsame quantitative Bildung eines strukturperfekten Produktes mit Hilfe der MALDI-TOF-MS beobachtet werden (Abb. 2.27-2.29).

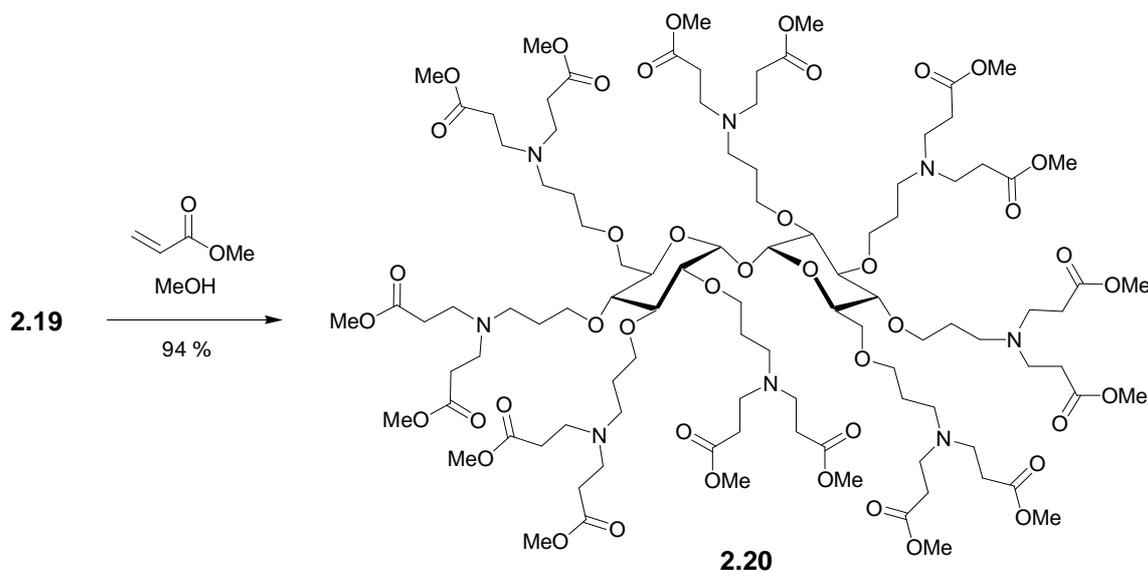


Abb. 2.26: Synthese des Trehalose-zentrierten PAMAM-Dendrimers der 0.5-ten Generation **2.20**.

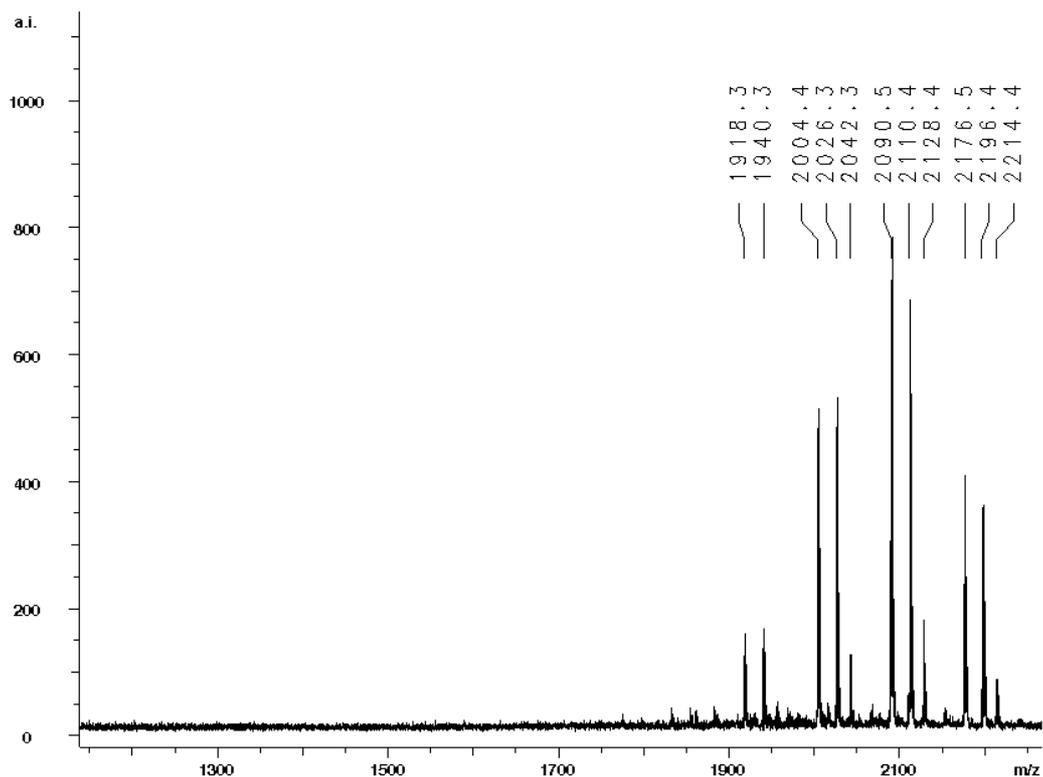


Abb. 2.27: Synthese von **2.20** durch Addition von **2.19** an Methylacrylat. Die Addition von **2.19** an Methylacrylat ist sterisch gehindert. Nach der für diesen Schritt der PAMAM-Synthese typischen Reaktionszeit von 2 Tagen, sind noch defekte Strukturen zu erkennen, denen ein bis drei der sechzehn Liganden fehlen.

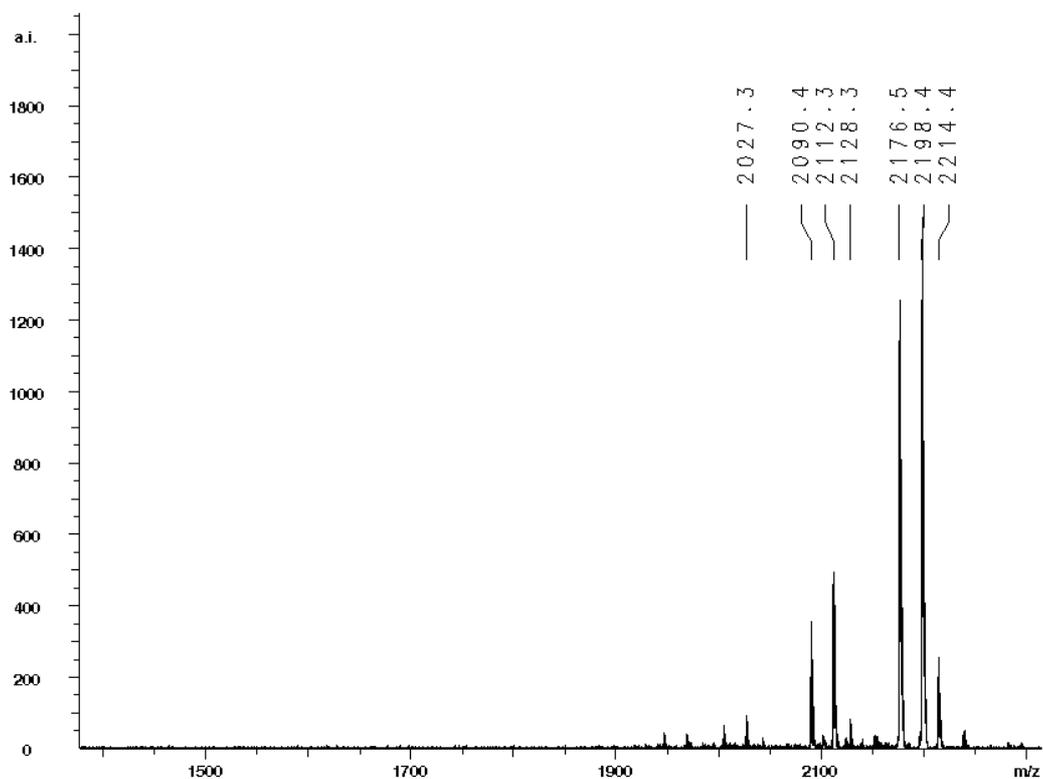


Abb. 2.28: Synthese von **2.20** durch Addition von **2.19** an Methylacrylat. Nach 5 Tagen ist das strukturperfekte PAMAM-Dendrimer **2.20** ($m/z = 2176.2$ $[M+H]^+$, 2198.2 $[M+Na]^+$, 2214.1 $[M+K]^+$) das Hauptprodukt.

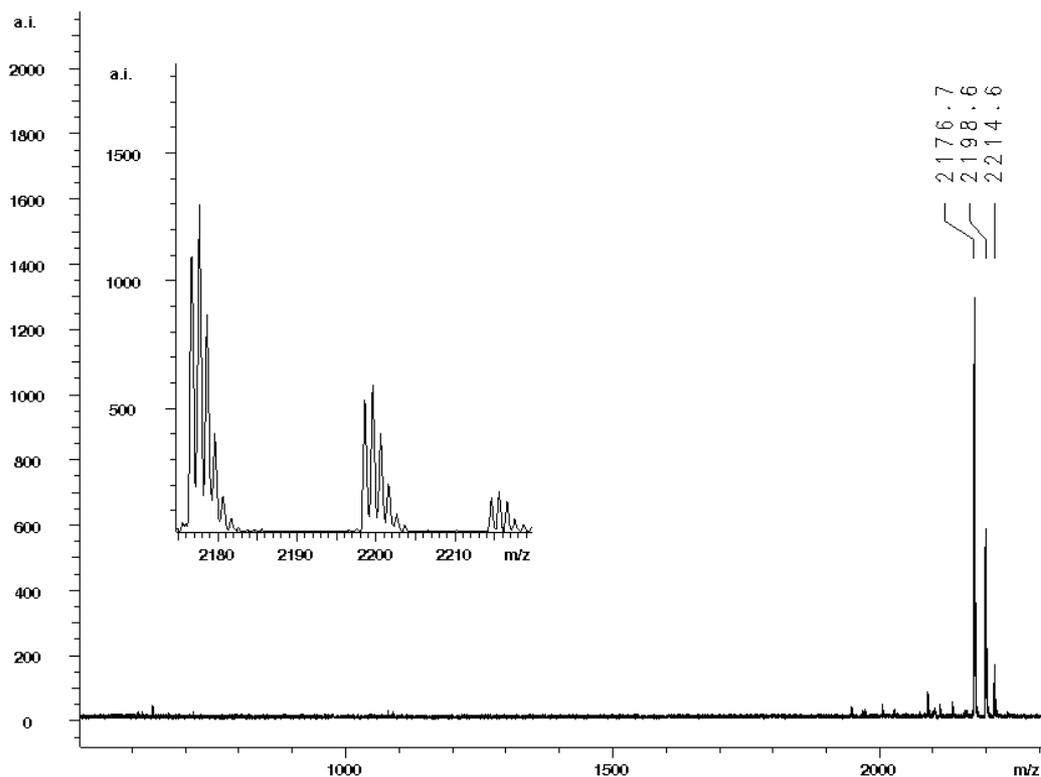


Abb. 2.29: Nach 7 Tagen ist die Addition von **2.19** an Methylacrylat quantitativ abgelaufen und das Trehalose-zentrierte PAMAM-Dendrimer der 0.5-ten Generation (**2.20**) ist strukturperfekt. Es sind nur noch die $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$ und $[M+K]^+$ Peaks von **2.20** zu erkennen.

Im Rahmen dieser Dissertation konnten somit Glucose- und Trehalose-zentrierte Kernmoleküle für den Aufbau von PAMAM-Dendrimern synthetisiert werden. Für den Einsatz als Transfektionsreagenzien werden für die Dendrimere Molekülmassen von über 10.000 Dalton angestrebt, und die Glucose- und Trehalose-zentrierten PAMAM-Dendrimere müssen dafür zu bis zur 4-ten bzw. 3-ten Generation aufgebaut werden, bevor sie biologischen Test zugeführt werden können.

Octopus-Glycoside als Kernmoleküle für die Darstellung Kohlenhydrat-zentrierter Glycocluster

Inhibitoren der Adhäsion von *Escherichia coli* an Mannan

Escherichia coli sind 2-6 µm lange, teils bewegliche, teils unbewegliche, Gram-negative, stäbchenförmige Enterobakterien (Darmbakterien), die im Verdauungstrakt der Säugetiere allgegenwärtig sind. Ein kleiner Teil der über 700 Serotypen von *E. coli* ist pathogen und kann Harnwegsinfektionen, Darmerkrankungen sowie Hirnhautentzündung (Meningitis) bei Neugeborenen auslösen. Voraussetzung für die Kolonisation von Epithelgeweben mit *E.coli* ist deren Adhäsion an Epithelzellen, die mit Hilfe von P- und Typ-1-Fimbrien erfolgt. Wie molekularbiologische Arbeiten zeigen, hängt die Pathogenität uropathogener *E. coli*-Stämme stark von der Anwesenheit von Typ-1-Fimbrien ab.⁷¹ Hultgreen konnte die Adhäsion von *E. coli* über Typ-1-Fimbrien an Epithelzellen der Blase elektronenmikroskopisch festhalten und beobachtete wie *E. coli* trotz sofortiger Abstoßung (Exfoliation) infizierter Zellen durch die Blase in tiefere Gewebsschichten eindringen konnte.⁷² Biologen haben auf diesen Befund mit der Entwicklung eines Impfstoffes reagiert, welcher das menschliche Immunsystem zur Produktion von Antikörpern gegen das Lektin FimH von *E.coli* anregt.⁷³ Von Kohlenhydratchemikern sind zahlreiche Versuche gemacht worden, um die durch Typ-1-Fimbrien vermittelte Adhäsion von *E. coli* mit Zuckern bzw. Glycokonjugaten zu inhibieren.⁷⁴ Mit einem Methylmannosid-präsentierenden Triclustern konnte Lindhorst die Adhäsion von *E. coli* an Meerschweinchenerythrocyten bereits mit einer 10 µM Lösung zu 50 % inhibieren, während eine 3500 µM Lösung von Methylmannosid notwendig war, um den gleichen Effekt zu erzielen.⁷⁵ Durch Clusterung mehrerer Zucker können sich mehrere der für sich genommen schwachen Protein-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen ausbilden, wodurch sich in der Summe eine starke Bindung ergeben kann (Clustereffekt),⁷⁶ so daß bereits geringe Konzentrationen eines Glycoclusters zur Kontrolle von bakterieller Adhäsion ausreichen können. Für den Einsatz am Menschen muß ein derartiger Glycocluster toxikologisch unbedenklich sein. Nach einem Wirkzeitraum von mehreren Tagen sollte der Glycocluster biologisch vollständig und rückstandlos abgebaut werden. Um diesen Anforderungen zu genügen, sollen nur Etherverknüpfungen bzw. O-glycosidische Bindungen verwendet werden, um ausgehend von dem Monosaccharid Glucose, den Disacchariden Melibiose und Trehalose sowie dem Trisaccharid Raffinose Mannose-präsentierende Cluster aufzubauen.

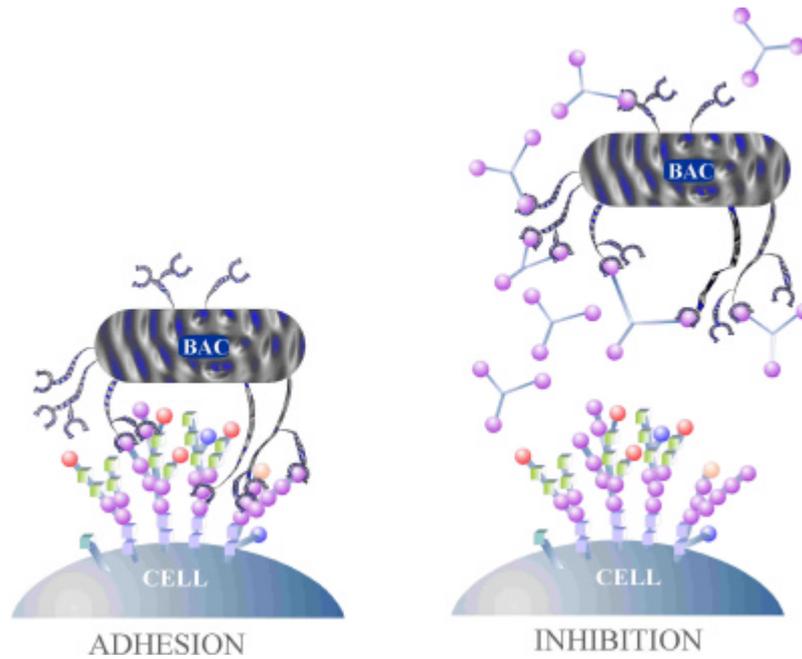


Abb. 3.1: Glycocluster können die Adhäsion von Bakterien an Zellen verhindern (Th. K. Lindhorst 1996).

Kapitelgliederung

Glucose-zentrierte Glycocluster

Glycocluster mit variablen Bindungslängen

Seite 42

Oligosaccharid-zentrierte Glycocluster

Trehalose-, Melibiose- und Raffinose-zentrierte Glycocluster

Seite 50

Synthese *O*-glycosidischer Tri- und Tetra- Mannosecluster

Pentaerythrit als Kernmolekül

Seite 59

Sandwich-ELISAs mit Tri- und Tetra-Mannoseclustern

Inhibition der Adhäsion von *E. coli* an Mannan

Seite 63

Glucose-zentrierte Glycocluster

Glycocluster mit variablen Bindungslängen

Zuerst wurde Glucose über eine Perallylierungs-Hydroborierungssequenz in ein Octopus-Glycosid überführt, welche als Matrix für eine vollständige Glycosylierung dienen soll. Die perallylierte Glucose **1.03** wurde, wie im Kapitel über die Synthese Glucose-zentrierter PAMAM-Dendrimere beschrieben, unter Phasentransferkatalyse aus Allyl- α -D-glucopyranosid hergestellt. Um bei der Hydroborierung eine quantitative Anti-Markownikoff-Addition an alle Allylgruppen zu erhalten, wurde 1h mit 9-BBN in THF unter Rückfluß gekocht. Das Hydroborierungsreagenz 9-BBN besitzt eine im Vergleich zu normalen Boranen wesentlich höhere, praktisch quantitative Anti-Markownikoff Selektivität und ist zudem so stabil, daß es bei $+78^{\circ}\text{C}$ eingesetzt werden kann.⁷⁷ Der Pentaalkohol **3.01** ist so unpolar, daß er sogar in Dichlormethan löslich ist. Andererseits ist der Pentaalkohol aber deutlich polarer als das 1,5-Octandiol, welches bei der oxidativen Aufarbeitung mit $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaOH}$ aus 9-BBN entsteht, so daß **3.01** leicht an Kieselgel gereinigt werden kann.

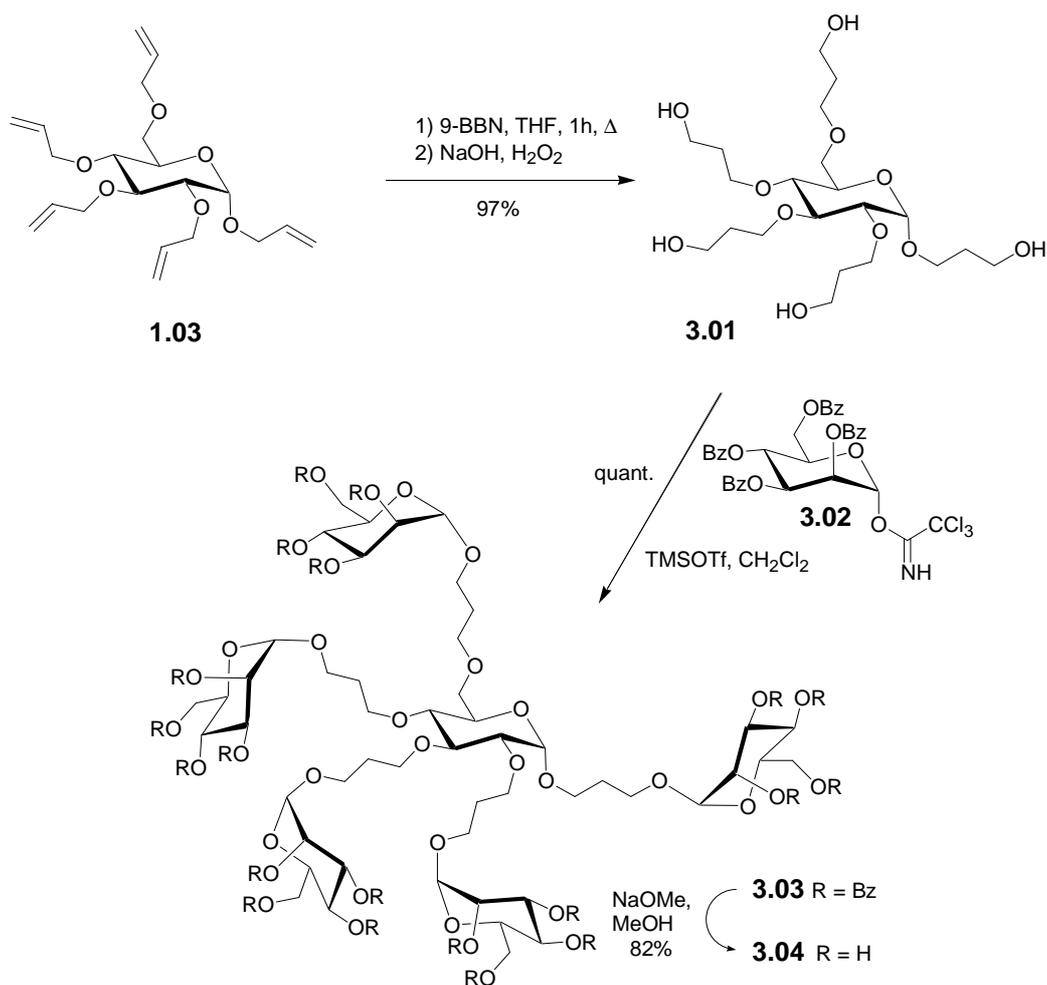


Abb. 3.2: Synthese Glucose-zentrierter Glycocluster

Für den Glycosylierungsschritt, galt es eine Methode zu finden, mit der ein sterisch überfrachteter Polyalkohol ohne Nebenreaktionen am Polyalkohol-Core (den Glycosylakzeptor) glycosyliert werden kann. Dabei wurde ein hoher Glycosyldonor-Überschuß antizipiert. Die bekannten Glycosylierungsverfahren setzen verschiedene Zuckerderivate wie Acetate, Glycosylbromide, Glycale, Thioglycoside, Sulfoxide oder Trichloracetimidate als Glycosyldonoren ein (Abb. 3.3).⁷⁸

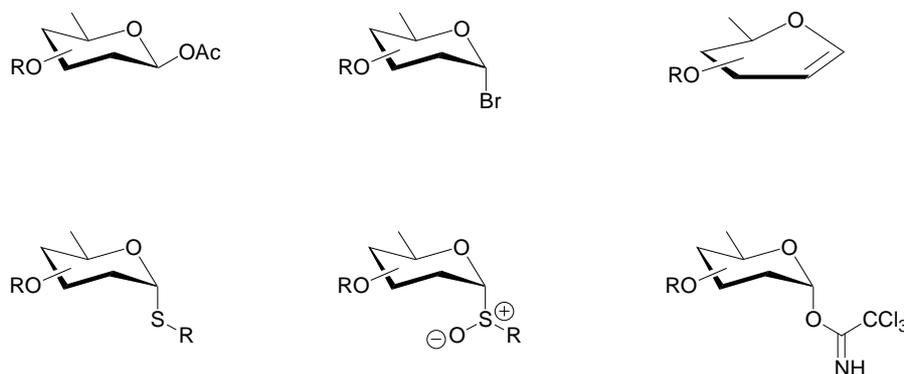


Abb. 3.3: Häufig verwendete Glycosyldonoren

Bei der Glycosylierung mit Glycosylacetaten beobachtet man bei einer zu langen Reaktionszeit eine Zersetzung der Produkte und meist nur relativ niedrige Ausbeuten. Über die Glycal-Methode hat Danishefsky viele anspruchsvolle Oligosaccharide synthetisiert, hierbei wurde jeweils ein Glycal regioselektiv epoxidiert und anschließend regioselektiv geöffnet.⁷⁹ Da der Grad der Regioselektivität im Glycosylierungsschritt von der Wahl der Schutzgruppen abhängt, erscheint die Danishefsky-Methode hier als eher ungeeignet. Daß aber einfache Tricluster nach der Glycalthode synthetisiert werden können zeigte Patch 1997.⁸⁰ Die weitverbreitete Methode der Glycosylierung mit Thioglycosiden⁸¹ wurde hier nur einmal, allerdings ohne Erfolg ausprobiert und dann zu Gunsten der Imidat-Methode fallen gelassen. Die neuere Methode über Glycosylsulfoxide nach Kahne⁸² wurde im Rahmen dieser Dissertation nicht ausprobiert.

Verschiedene Glycosylierungsversuche nach der Imidat-Methode⁸³ mit Benzyl-, Acetyl- und Benzoyl-geschützten Mannosyltrichloracetimidaten am Glucose-zentrierten Pentaalkohol **3.01** zeigten, daß mit dem Benzoyl-geschützten Imidat **3.02** eine vollständige Glycosylierung in Dichlormethan erzielt und der hierbei entstehende Benzoyl-geschützte Pentacluster **3.03** einfach an Kieselgel von Nebenprodukten befreit werden kann (Abb. 3.2). Da die Glycosylierung eines Armes an dem relativ kleinen Core-Molekül **3.01** die Glycosylierungsgeschwindigkeit der anderen Arme nicht beschleunigt, sondern im Gegenteil jeden nachfolgenden Glycosylierungsschritt ungünstig beeinflusst, ist die letzte d.h. hier die fünfte Glycosylierung, der am stärksten sterisch gehinderte und langsamste Schritt. Die

Glycosylierungsreaktion ist mit einer fünfstufigen Synthese zu vergleichen, bei der wegen der Empfindlichkeit der Zucker keine drastischen Reaktionsbedingungen zur Erzielung einer hohen Ausbeute anwendbar sind. Da Imidate unter den Lewis-sauren Reaktionsbedingungen nur für eine begrenzte Zeit stabil sind, kann auch durch eine Verlängerung der Reaktionszeit über 12h hinaus kein vollständiger Umsatz erzwungen werden. Jedoch wurde durch die Erhöhung der Konzentration in der Reaktionslösung der Umsatz verbessert. Für den Glucose-zentrierten Cluster **3.03** verläuft die Glycosylierung um so erfolgreicher, je konzentrierter die Reaktionslösung ist. Optimal ist eine gesättigte Lösung des Imidates mit 10 mg/ml Pentaalkohol, wobei zusätzlich ein großer Überschuß des Imidates einen vollständigen Umsatz bezüglich des Cores bewirkt.

Der Glucose-zentrierte Cluster **3.03** konnte bei Raumtemperatur in CDCl_3 NMR-spektroskopisch vollständig charakterisiert werden, wobei sich der Einfluß des chiralen Kerns auf die fünf Mannosereste in unterschiedlichen Verschiebungen für die einzelnen Ringprotonen und Ringkohlenstoffe der einzelnen Mannosereste bemerkbar macht (Abb. 3.4 und Abb. 3.5).

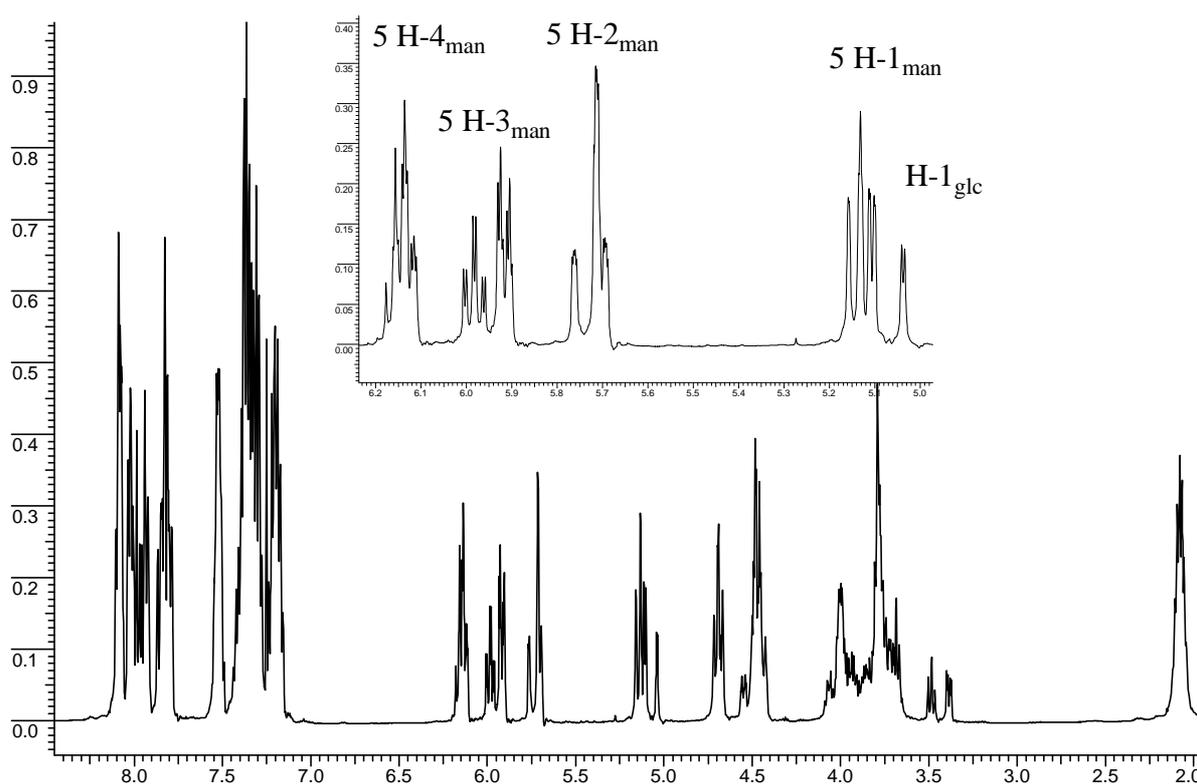


Abb. 3.4: ^1H -NMR-Spektrum des Glucose-zentrierten Glycoclusters **3.03**. Die Protonen der fünf Mannoseliganden unterliegen dem chiralen Einfluß des Glucose-Kerns und besitzen unterschiedliche chemische Verschiebungen.

Die Entschützung zum Pentacluster **3.04** erfolgte über Nacht mit Natriummethanolat in Methanol, die Neutralisation mit Amberlite IR 120 und die Abtrennung des Benzoessäuremethylesters an Sephadex LH-20. Bei dem entschützten Cluster **3.04** besitzen

vier der fünf H-1-Protonen Mannoseliganden die gleiche Verschiebung, was auf die größere Beweglichkeit der polaren Verbindung in Methanol zurückzuführen sein dürfte.

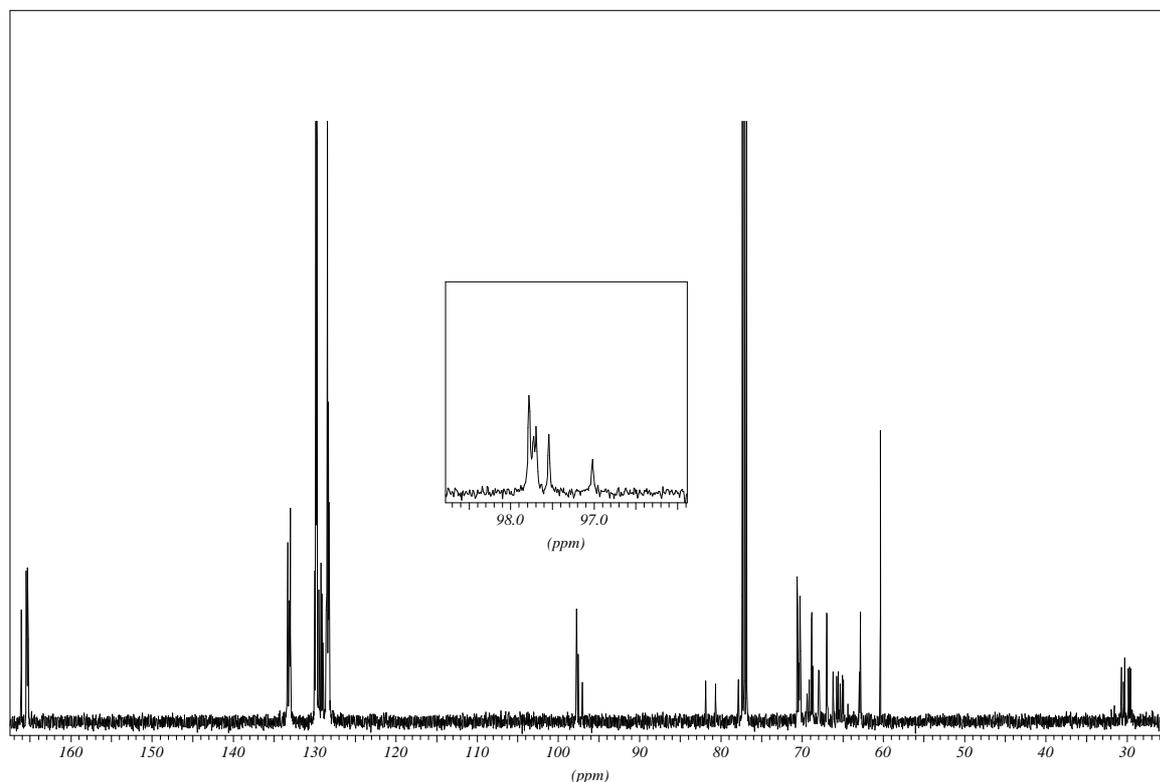


Abb. 3.5: ^{13}C -NMR-Spektrum des Glucose-zentrierten Glycoclusters **3.03**. Die fünf anomeren Kohlenstoffatome der fünf Mannoseliganden unterliegen dem chiralen Einfluß des Glucose-Kerns und besitzen unterschiedliche chemische Verschiebungen.

Das für die Synthese von **3.03** notwendige benzylierte Imidat **3.02** wurde analog Literaturvorschriften hergestellt, jedoch wurden für die letzten beiden Schritte wesentliche Verbesserungen erreicht.

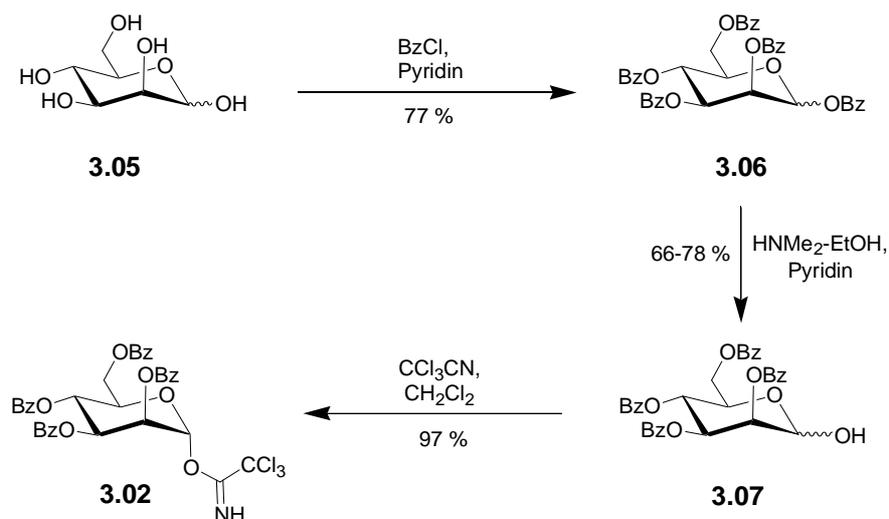


Abb. 3.6: Synthese des benzylierten Imidates **3.02**

Nach der Perbenzylierung unter Standardbedingungen⁸⁴ erfolgt die anomere Debenzylierung. Während die anomere Deacetylierung mit vielen Reagenzien einfach

durchzuführen ist, sind insbesondere für die anomere Debenzoylierung von Mannose, vielfach mehrtägige Reaktionszeiten oft in Verbindung mit geringen Ausbeuten beschrieben.⁸⁵ Daher wurde die Debenzoylierung mit dem aus toxikologischer und arbeitstechnischer Sicht attraktiveren Reagenz Dimethylamin⁸⁶ durch Variation der Temperatur, des Lösungsmittels, der Konzentrationen und der Verfahrensweise optimiert, wobei ein Weg gefunden wurde, **3.07** in 3 Stunden mit bis zu 78 % Ausbeute herzustellen. Hierfür wird das Mannoseperbenzoat (**3.06**) vollständig in Pyridin gelöst und 1.5 Stunden mit 5.6 M ethanolischer Dimethylaminlösung gerührt. Zur Aufarbeitung wird die Reaktion mit Toluol gestoppt, dreimal mit kaltgesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und an Kieselgel gereinigt (Abb. 3.6). Dimethylamin in Ethanol kann auch als Reagenz zur anomeren Debenzoylierung oder Deacetylierung anderen Zucker, wie z.B. Glucose und Galactose verwendet werden, wobei dann THF das geeignetere Lösungsmittel ist und sich die Reaktivitätsreihenfolge $\text{Ac}_5\text{Glc} = \text{Ac}_5\text{Man} < \text{Ac}_5\text{Gal} \ll \text{Bz}_5\text{Glc} < (\text{Bz}_5\text{Man}) \ll \text{Bz}_5\text{Gal}$ ergibt.

Im letzten Schritt, der Imidatbildung mit Trichloracetonitril, konnte die Ausbeute durch eine einfache Verlängerung der Reaktionszeit von 3 auf 12 Stunden von 75 %⁸⁷ auf 97 % gesteigert werden (Abb. 3.6).

Optimale Glycocluster-Lektin-Wechselwirkungen können sich nur ergeben, wenn die Spacer, welche die biologisch aktiven Zucker an das Kernmolekül binden, eine dafür geeignete Länge besitzen. Neuere Beispiele hierfür sind die Arbeiten von Kretzschmar, der Sialyl-Lewis X zur Inhibition von E- und P-Selektinen über Spacer variabler Länge geclustert hat,⁸⁸ und Schuber, der Leberzellen mit Galactoseclustern variabler Spacerlänge ansteuerte.⁸⁹

Im vorliegenden Fall können zwei verschiedene Wege beschrrieben werden, um Glycocluster einer bestimmten Spacerlänge aufzubauen. Zum einen können unterschiedlich lange ω -Bromalkanole oder ω -Bromalkylglycoside an einen Glucose-Kern oder Polyalkohol wie **3.01** gebunden werden und zum anderen kann die perallylierte Glucose durch die Anwendung zweier unterschiedlicher Kettenverlängerungsverfahren in Polyalkohol-Kernmoleküle mit bestimmter Spacerlänge übergeführt werden, welche anschließend glycosyliert würden.

Für das zuletzt genannte Verfahren bietet sich neben der Perallylierungs-Hydroborierungs-Sequenz eine Perallylierungs-, Ozonisierungs-, Reduktions-Sequenz als alternativer Verlängerungsschritt an. Durch die Kombination beider Sequenzen kann die Kettenlänge des Polyalkohol-Kernmoleküls beliebig eingestellt werden. Ein Kernmolekül vom $(\text{Glc})[(\text{CH}_2)_6\text{OH}]_5$ -Typ wie **3.10** kann man z.B. herstellen (Abb. 3.7), wenn man beide Sequenzen jeweils einmal auf Glucose anwendet. Die pentaallylierte Glucose **1.03** kann nach

der Ozonisierung einfach mit NaBH_4 zum Pentaalkohol **3.08** reduziert werden. Bei Verwendung von Natriumborhydrid auf Aluminiumoxid vereinfacht sich die Aufarbeitung, da kein überschüssiges Natriumborhydrid zerstört werden muß und das Reagenz einfach über Kieselgel abfiltriert werden kann. Durch die Perallylierung von **3.08** mit Natriumhydrid und anschließender Hydroborierung mit 9-BBN konnte der Pentaalkohol **3.10** mit 6-Hydroxy-3-oxa-hexyl-Armen synthetisiert werden (Abb. 3.7).

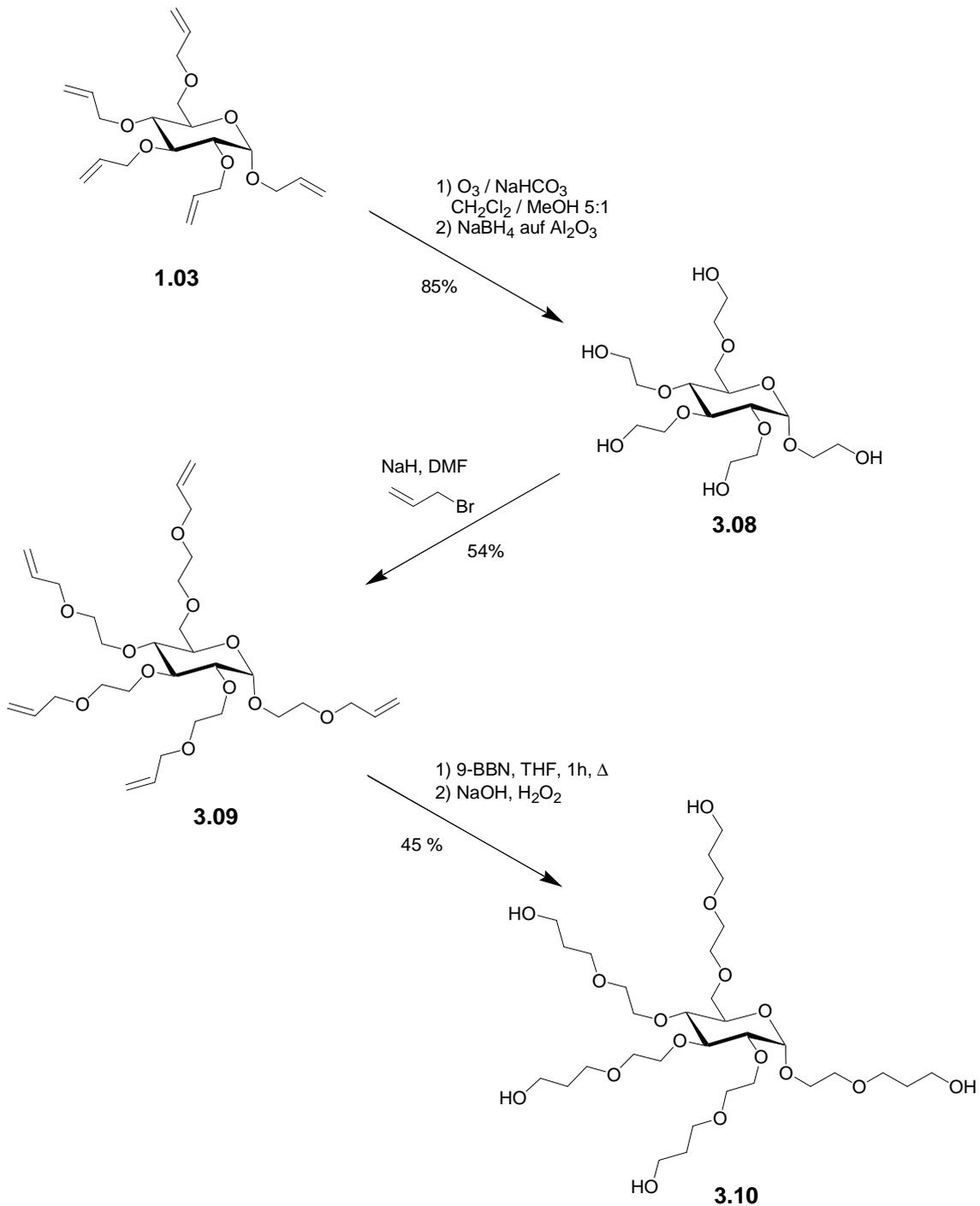


Abb. 3.7: Synthesekonzept für Glycocluster mit variabler Spacerlänge.

Durch die Glycosylierung von **3.10** mit dem benzylierten Mannosyltrichloracetimidat **3.02** in Dichlormethan konnte der Cluster **3.11** synthetisiert werden (Abb. 3.8). Offensichtlich bedingt durch die Polyetherketten, kommt es bei den Verbindungen **3.09**, **3.10** und **3.11** zu großen Ausbeuteverlusten bei der Reinigung an Kieselgel.

Während in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des benzylierten, Glucose-zentrierten Glycoclusters **3.03** mit Propyl-Armen noch ein deutlicher Einfluß des Glucose-Kernmoleküls auf die chemischen Verschiebungen der Protonen der Mannoseliganden feststellbar war (Abb. 3.4), ist in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren des benzylierten Glycoclusters mit 3-Oxa-hexyl-Armen kein chiraler Einfluß des Glucose-Kernmoleküls auf die anomeren Protonen der Mannoseliganden mehr feststellbar (Abb. 3.9).

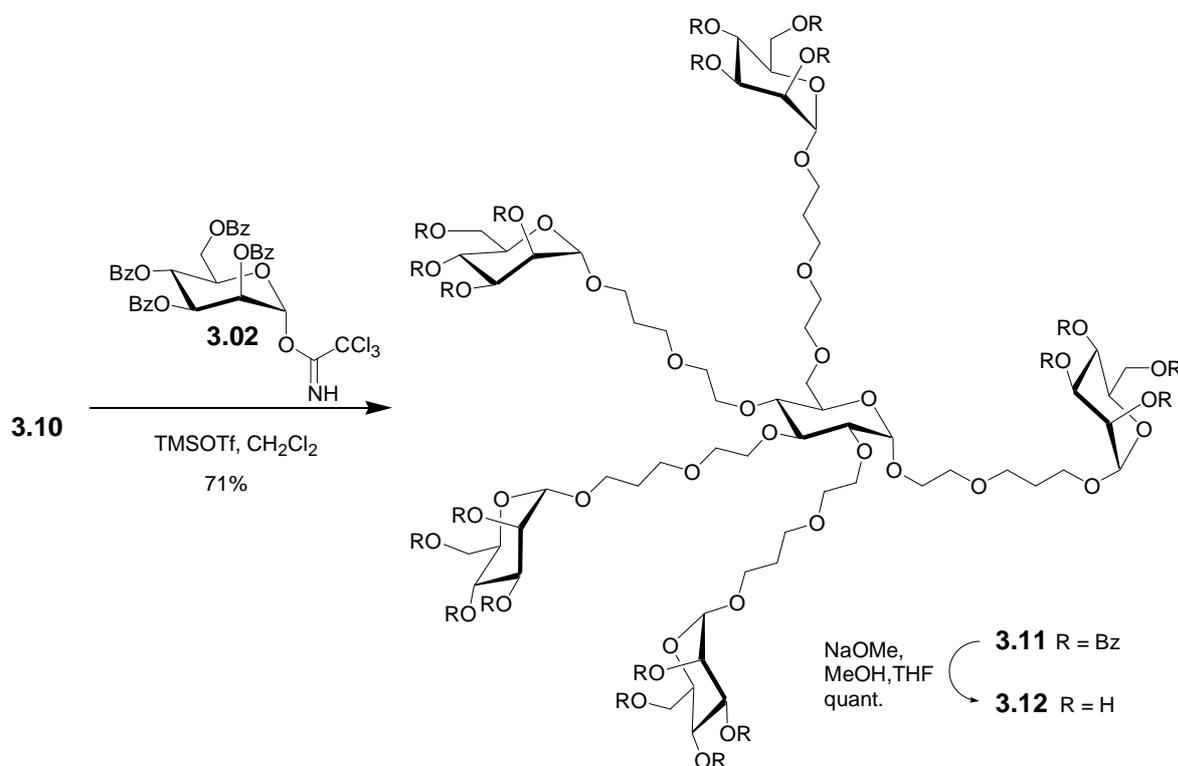


Abb. 3.8: Synthese des Glycocluster **3.12** mit 3-Oxa-hexyl-Armen.

Der benzylierte Cluster **3.11** konnte nach dem für die Entschützung Di- und Trisaccharid-zentrierter Glycocluster optimieren zweistufigen Protokoll, bestehend aus einem Entschützungsschritt mit methanolischen Natriummethanolat in THF und der anschließenden vollständigen Entschützung mit Natriummethanolat in reinem Methanol, quantitativ entschützt werden. Der entschützte Glucose-zentrierte Glycocluster **3.12** weist keinerlei Struktur-Defekte auf (Abb. 3.10).

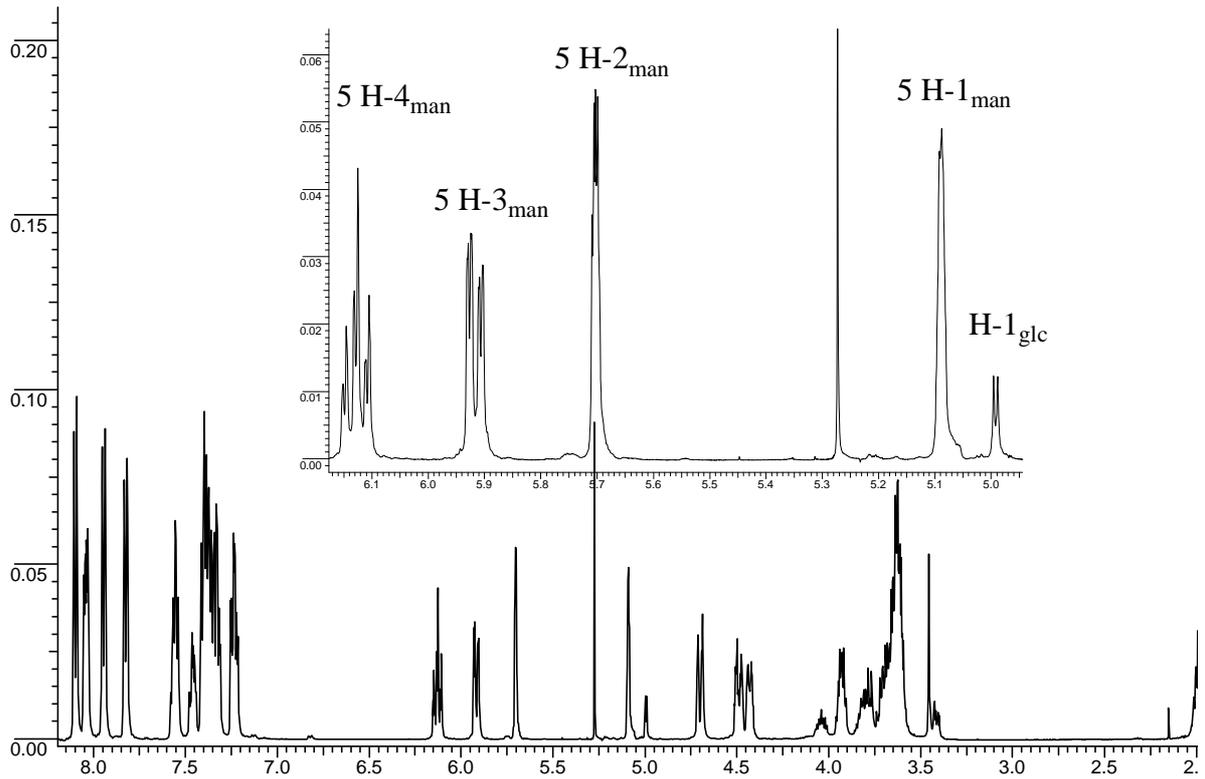


Abb. 3.9: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des benzoylierten Glycoclusters **3.11**.

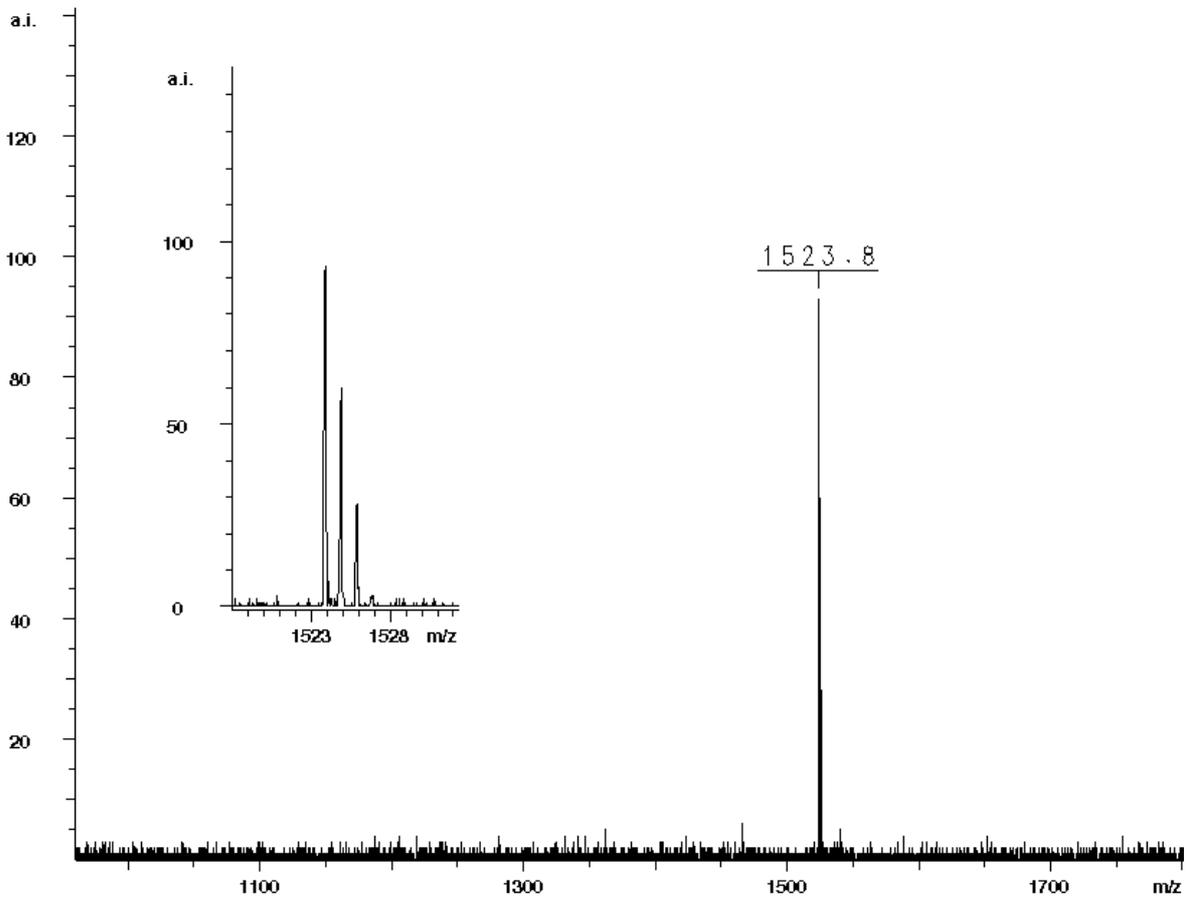


Abb. 3.10: MALDI-TOF-Massenspektrum des Glycoclusters **3.12**.

Oligosaccharid-zentrierte Glyocluster

Trehalose-, Melibiose- und Raffinose-zentrierte Glyocluster

Genau wie bei den Kohlenhydrat-zentrierten Dendrimern sollte auch bei den Kohlenhydrat-zentrierten Glyoclustern, die Synthese Trehalose- und Raffinose-zentrierter Cluster untersucht werden, wobei wiederum keine anderen Heteroatome als Sauerstoff für die Verknüpfung der Zuckerepitope mit dem Core-Molekül verwendet werden sollten.

Bei der Anwendung der Perallylierungs-Hydroborierungs-Sequenz auf Trehalose und Raffinose (Abb. 3.11 und 3.12) mußte wie bei den Dendrimersynthesen berichtet, wegen der hohen Polarität der Zucker die Phasentransfer-katalysierte Perallylierung durch eine Reaktion mit Natriumhydrid/Allylbromid ersetzt werden. Die Hydroborierung der perallylierten Trehalose und Raffinose zu **3.13** bzw. **3.16** verläuft genauso, wie bei der perallylierten Glucose. Der Oktaalkohol **3.13** und der Undecaalkohol **3.16** sind jedoch viel polarer als **3.01** und können nur unter sehr großem Ausbeuteverlust mit Magnesiumsulfat getrocknet werden. Sie wurden daher mit Methanol an Sephadex LH-20 entwässert und vom Oktandiol, dem Nebenprodukt der Hydroborierung, befreit.

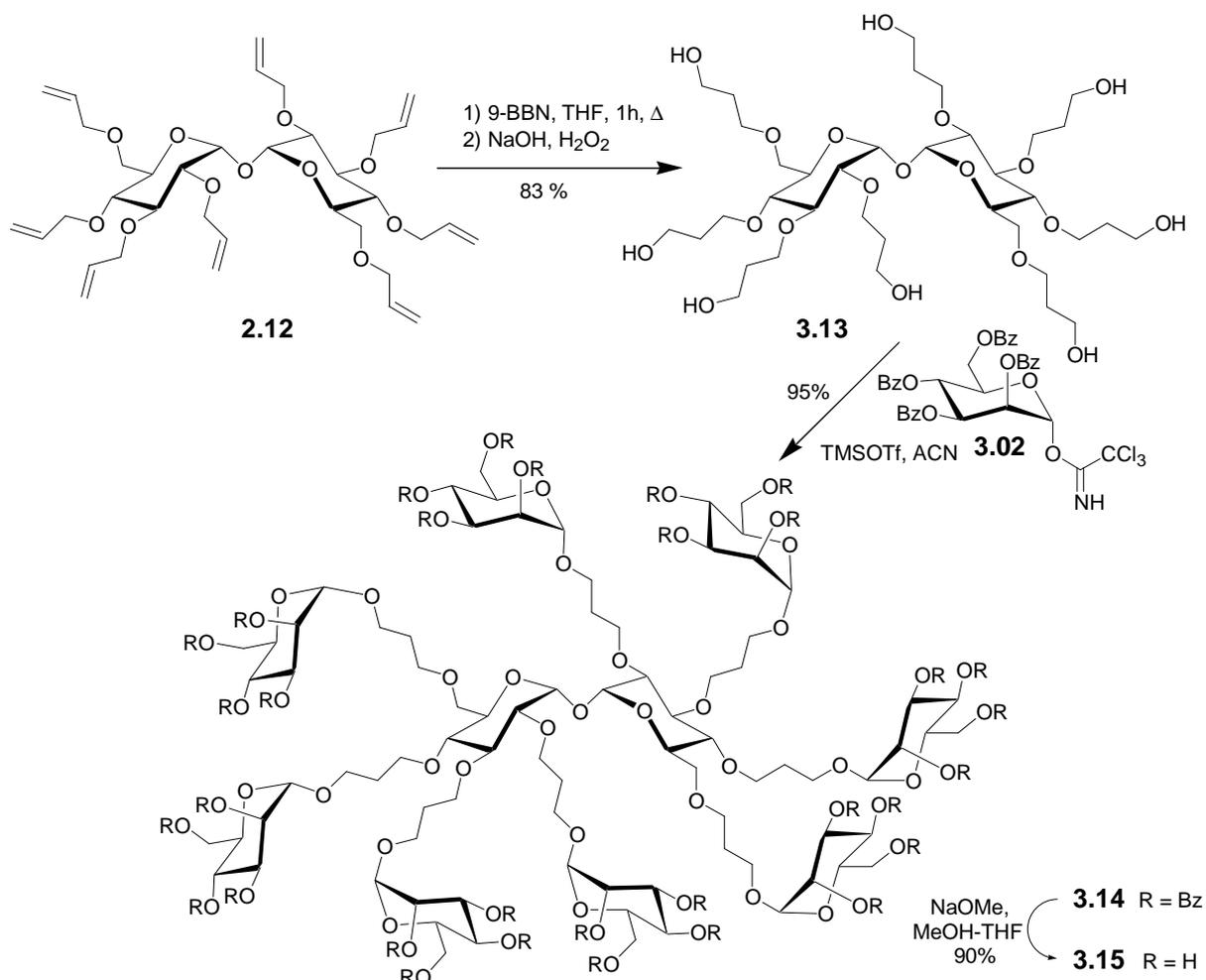


Abb. 3.11: Synthese Trehalose-zentrierter Glyocluster

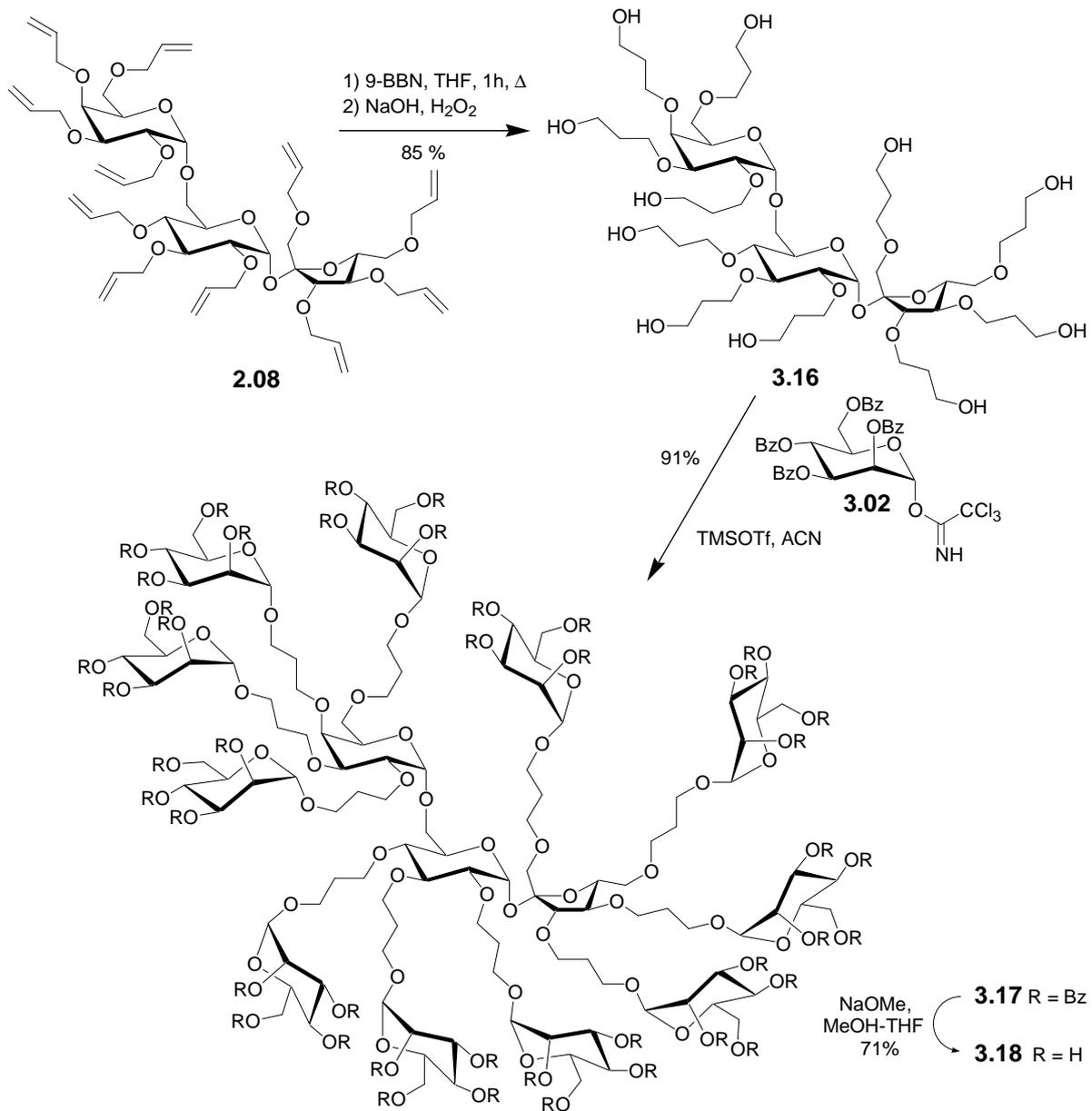


Abb. 3.12: Synthese Raffinose-zentrierter Glycocluster

Die Mannosylierung der Okta- und Undecaalkohole **3.13** und **3.16** erwies sich als schwierig, weil diese Alkohole zu polar waren, um wie **3.01** in Dichlormethan umgesetzt werden zu können. Es mußten daher neue Reaktionsbedingungen für die vollständige Glycosylierung dieser polareren Alkohole gefunden werden, wobei alle denkbaren Probleme der Glycosylierung, die Orthoesterbildung, der Bruch der interglycosidischen Bindungen und die inkomplette Glycosylierung der 8 bzw. 11 Alkoholarme beobachtet wurden (Abb. 3.13). Glücklicherweise wurde die häufig als Nebenreaktion beobachtete Wanderung von Benzoatgruppen zum Glycosylakzeptor hier nicht beobachtet,⁹⁰ trotzdem waren 25 Glycosylierungsexperimente notwendig, um die Reaktionsbedingungen zu optimieren.

Nach dem sich **3.13** und **3.16** als in Dichlormethan unlöslich erwiesen hatten wurde ihre Glycosylierung mit benzylierten Glycosylimidaten in Acetonitril probiert. Hierbei wurde nur eine unvollständige Glycosylierung erreicht, jedoch waren diese teilweise glycosylierten Produkte nun in Dichlormethan löslich, was einen zweiten Glycosylierungsschritt der teilweise glycosylierten Produkte in Dichlormethan ermöglichte. Bei der Variation der Lewis-Säurekonzentration und des Ligandenüberschusses zeigte sich, daß eine im Vergleich zu der Glycosylierung von **3.03** oder den weiter unten beschriebenen Glycosylierungen von Pentaerythrit-Derivaten ca. fünfzigmal höhere Lewis-Säurekonzentrationen, sowie ein größerer Imidatüberschuß notwendig waren, um ein nahezu einheitliches, vollständig glycosyliertes Produkt zu erhalten. Eine weitere Erhöhung der Säurekonzentration erwies sich, genau wie ein dritter Glycosylierungsschritt zur Vervollständigung der Funktionalisierung, als ungünstig. Zur Reinigung der Glycocluster wurde eine absichtlich grob-geschnittene Vorreinigung mit Methanol-Dichlormethan 1:1 an Sephadex LH-20 durchgeführt, gefolgt von einer Reinigung an Kieselgel mit einem einfachen Lösungsmittelgradienten. Da **3.14** und **3.17** unter diesen Bedingungen die unpolarsten Verbindungen auf der Kieselgelsäule sind, können die Cluster am Schluß mit einem relativ stark polaren Lösungsmittelgemisch quantitativ von der Säule gewaschen werden.

Es war damit gelungen, mit einer zweistufigen Glycosylierung, zuerst in Acetonitril und nach erfolgter Reinigung in einen zweiten Glycosylierungsschritt in Dichlormethan relativ strukturperfekte Verbindungen vom Typ **3.14** und **3.17** herzustellen. Jedoch war der Grad an Perfektion ganz offensichtlich von weiteren Parametern abhängig, denn verschiedene Wiederholungsversuche lieferten unterschiedliche Ergebnisse und bei der Entschützung zeigte sich besonders in den MALDI-TOF-Spektren, daß die in 2 Stufen hergestellten Glycocluster einen variablen Anteil von Orthoestern aufwiesen, welche zusammen mit den Benzoatgruppen während der Entschützung abgespalten wurden. Interessanterweise deuten erste biologische Tests zur Inhibition von *E. coli* an Mannan mit diesen, doch relativ stark strukturdefekten Verbindungen vom Typ **3.15** und **3.18** eine gute biologische Aktivität an, die denen der strukturperfekten Cluster **3.15** und **3.18** nicht nachstehen.

Während der bereits relativ unpolare Cluster **3.04** noch nach Zemplén mit Natriummethanolat in Methanol entschützt werden kann, müssen **3.14** und **3.17** zuerst in THF gelöst und mit methanolischer Natriummethanolat 1h gerührt werden, bevor nach dem Abziehen des Lösungsmittels über Nacht in reinem Methanol mit zusätzlichem Natriummethanolat eine vollständige Entschützung erreicht werden kann. Zum Neutralisieren der Entschützungreaktion wird stark saures Amberlite IR-120 von Fluka eingesetzt, welches die säurelabilen

Orthoestergruppen vollständig spaltet. Der Orthoesteranteil läßt sich somit aus den MALDI-TOF-Spektren durch den Vergleich des Glycosylierungsgrades des ungeschützten und des entschützten Clusters ablesen.

Um reproduzierbar strukturperfekte Cluster zu erhalten, wurde versucht, den ersten Glycosylierungsschritt, die Vorglycosylierung in Acetonitril, durch Verringerung der verwendeten Lösungsmittelmenge zu optimieren. Überraschenderweise ergab sich hierdurch eine starke Verringerung des Glycosylierungsgrades. Mit 45 mg **3.13** in 10 ml Acetonitril wurden nur durchschnittlich 2.5 der 8 Arme von **3.13** glycosyliert, obwohl für die Glycosylierung von **3.01** in Dichlormethan eine Konzentration von 10 mg Core/ml Lösungsmittel für optimal befunden worden war.

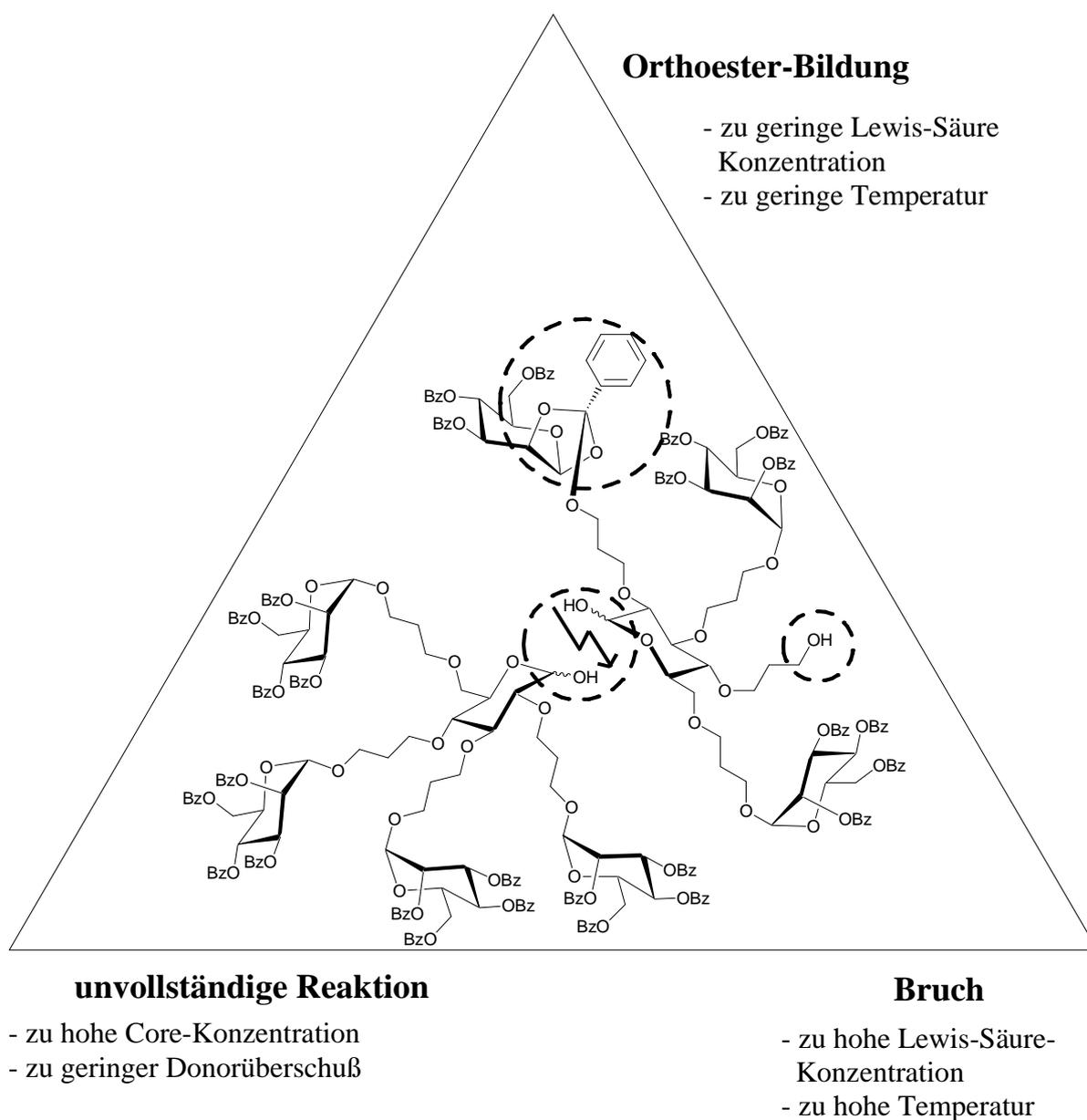


Abb. 3.13: Die Einflußfaktoren für die Oligo-Mannosylierung mit Imidaten in Acetonitril

Konsequenterweise wurde die Glycosylierung anschließend in immer verdünnterer Acetonitril-Lösung durchgeführt, und dabei zeigte sich, daß bereits mit einem Glycosylierungsschritt in stark verdünntem Acetonitril mit <0.1 mg **3.13** oder **3.16** pro ml Acetonitril eine vollständige Umsetzung aller 8 bzw. 11 Arme möglich ist. Die in dieser nun wieder einstufigen Glycosylierung synthetisierten Glycocluster wiesen einen sehr stark schwankenden Anteil von Orthoestern auf, die sich auch in einem zweiten Glycosylierungsschritt in Dichlormethan nicht umlagern ließen.

Es wurden daher alle möglichen Reaktionsparameter erneut überprüft, wobei dem Ansatz regelmäßig Reaktionsproben entnommen wurden, von denen ein Teil grob an Kieselgel gereinigt und entschützt wurde. An Hand der Massenspektren der geschützten und der entschützten Proben wurde dann der Orthoesteranteil in den Clustern als Funktion der Zeit bestimmt. Aus den hierbei gewonnenen Daten ergibt sich, daß eine Verlängerung der Reaktionszeit zu keiner Verringerung bzw. Umlagerung des Orthoesteranteils führt, und daß eine Erhöhung der bereits hohen Lewis-Säurekonzentration ebenfalls zu keiner Verringerung bzw. Umlagerung des Orthoesteranteils führt. Genauso führte eine stärkere Verdünnung zu keiner Verringerung des Orthoesteranteils. Jedoch wurde der letzte und entscheidende Reaktionsparameter gefunden als die Reaktionstemperatur verändert wurde. Eine Erhöhung der Temperatur bewirkt eine deutliche Verringerung des Orthoesteranteils. Falls die Reaktionstemperatur jedoch zu hoch gewählt wird, kommt es genau wie bei einer zu hohen Lewis-Säurekonzentration, zum Bruch der interglycosidischen Bindungen (Abb. 3.15).

Die Reaktionsverfolgung der Glycosylierungsreaktionen konnte nur mit Hilfe der MALDI-TOF-Spektroskopie durchgeführt werden, da die Protonen und Kohlenstoffe der Kernmoleküle wie $H-1_{Glc}$ und $C-1_{Glc}$ einer sehr großen Zahl anderer Protonen und Kohlenstoffe der Liganden gegenüberstehen und entweder überlagert werden oder sogar in strukturperfekten Clustern schwer detektierbar sind (Summenformel von **3.17**: $C_{425}H_{384}O_{126}$). Die ^{13}C -NMR Spektren der Cluster wurden mit bis zu 200.000 Scans, d. h. 5 Tagen Meßzeit am Bruker DRX 500 NMR-Spektrometer aufgenommen.

Um Reaktionsproben ohne Aufreinigung am MALDI-TOF-Gerät mit reproduzierbaren, nahezu quantitativ auswertbaren Ergebnissen vermessen zu können, wurden verschiedene Matrices und MALDI-TOF Präparations-techniken untersucht. Nor-Harmane⁶⁶ erwies sich als optimal geeignet für diese Zwecke. Die geschützten Cluster wurden in THF, oder wenn störende Matrix-Adukte beobachtet wurden, auch in Aceton unter Zusatz von Natriumiodid nach den pre-mix Verfahren präpariert. Eine Bestimmung des Orthoesteranteils ist theoretisch auch über die

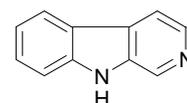


Abb. 3.14: nor-Harmane

Messung des optischen Drehwertes möglich, da die geschützten Cluster mit Orthoesterbindungsanteilen deutlich negativere Drehwerte besitzen als strukturperfekte Cluster, jedoch wäre hierfür eine zeitintensive vollständige Aufreinigung der Reaktionsproben notwendig und eine quantitative Aussage nicht möglich gewesen.

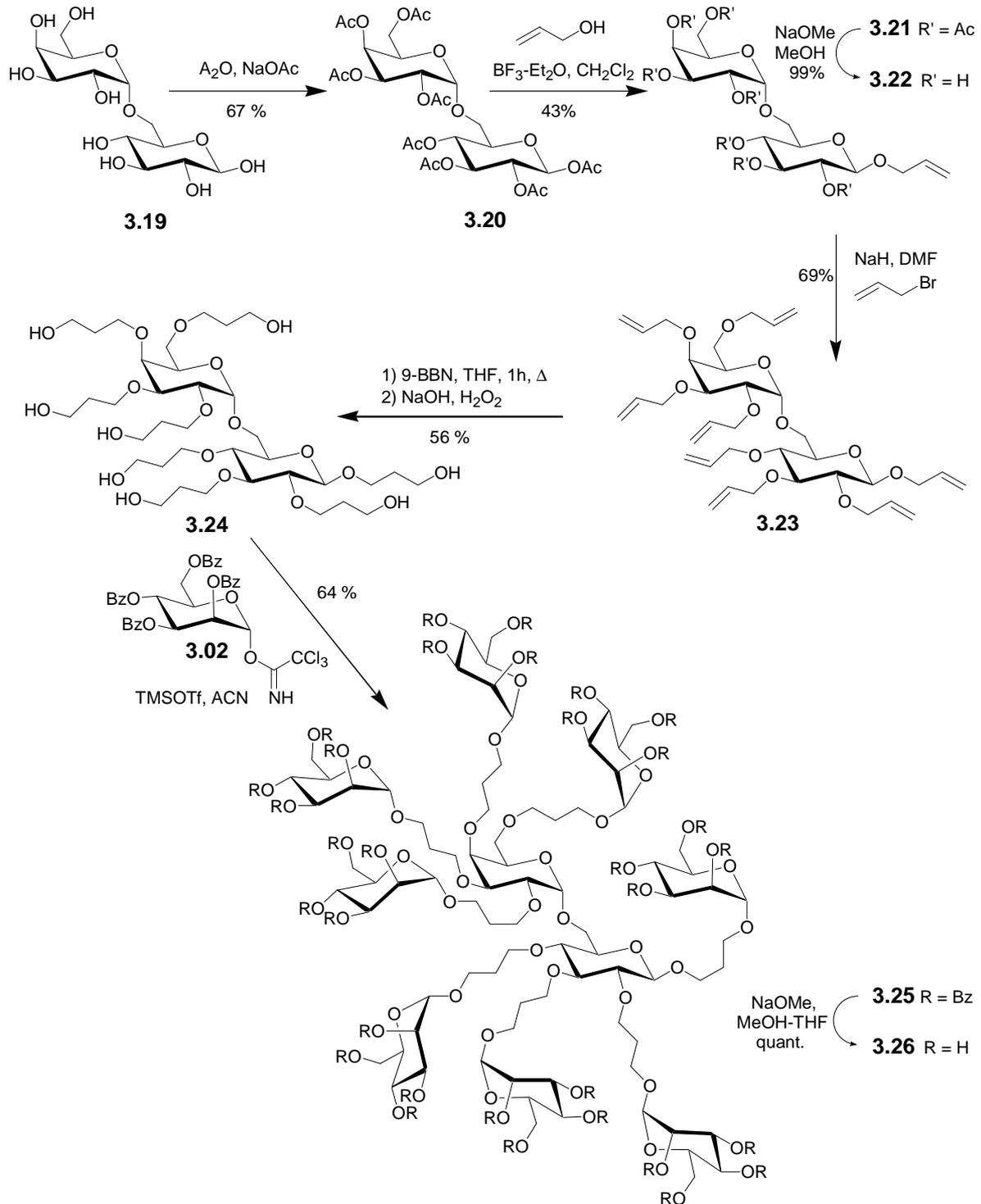


Abb. 3.15: Synthese des Melibiose-zentrierten Glycoclusters

Das Syntheseprotokoll zur Synthese Kohlenhydrat-zentrierter Cluster konnte auch erfolgreich auf perallylierte Melibiose **3.23** angewendet werden (Abb. 3.15), welche ursprünglich in der

Absicht synthetisiert wurde, einen gegenüber Trehalose sterisch weniger gehinderteres Disaccharid-Core-Molekül zur Verfügung zu haben.

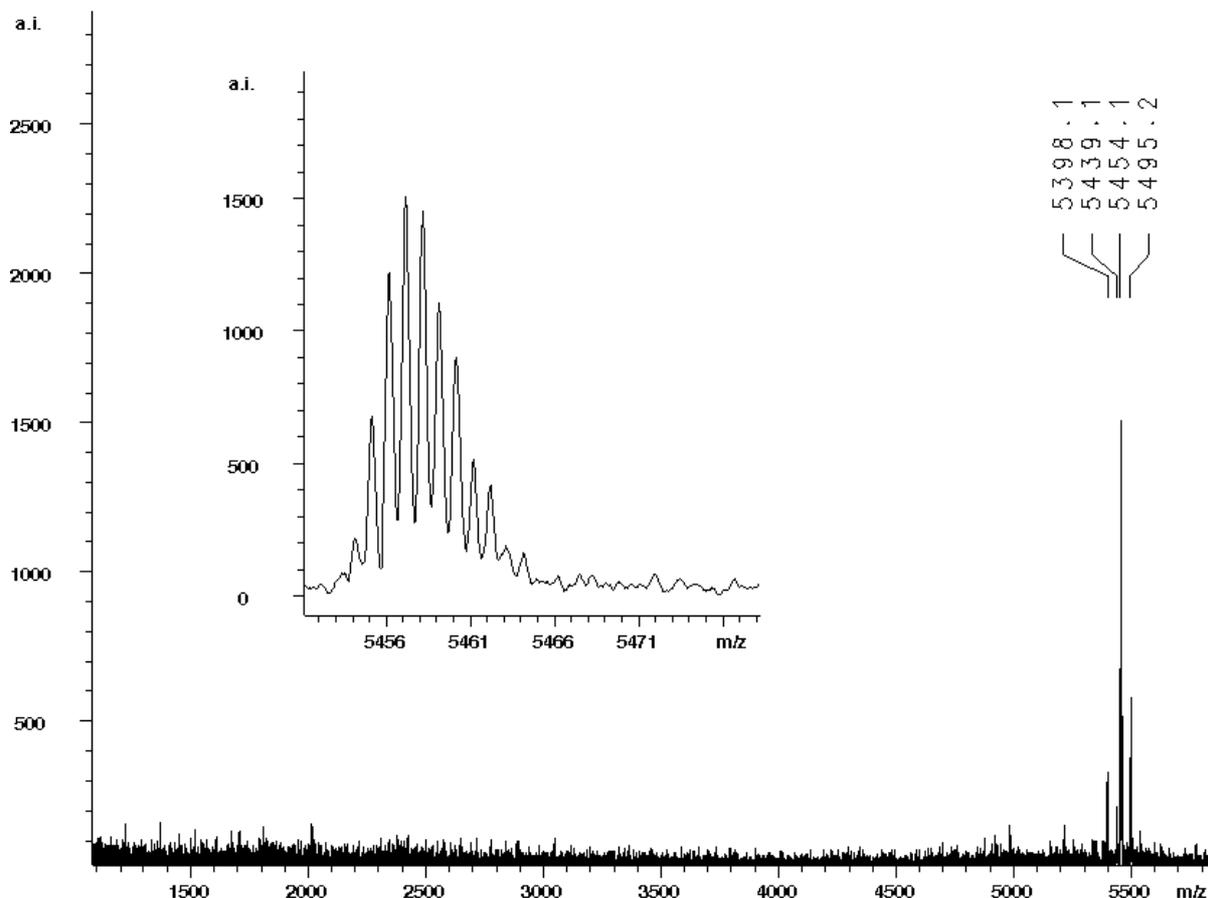


Abb. 3.16: MALDI-TOF-Spektrum von **3.25** mit nor-Harmane als Matrix.

Die MALDI-TOF-Massenspektren der benzylierten Glycocluster **3.15** und **3.25** werden trotz der hohen Molmasse dieser Cluster noch vollständig isotopenaufgelöst (Abb. 3.16). Für die Aufnahme der NMR-Spektren der Oligosaccharid-zentrierten Glycocluster waren jeweils relativ lange Meßzeiten notwendig. So wurde das ^{13}C -DEPT-NMR-Spektrum des entschützten Melibiose-zentrierten Clusters **3.26** in Abbildung 3.18 mit 200.000 Scans aufgenommen.

Die unterschiedlichen interglycosidischen Bindungen in dem Trehalose-zentrierten Glycocluster **3.14** (Abb. 3.11), dem Raffinose-zentrierten Glycocluster **3.17** (Abb. 3.12) und dem Melibiose-zentrierten Glycocluster **3.25** (Abb. 3.15) erweisen sich als unterschiedlich stark temperaturempfindlich. Die Fructose-Glucose $\alpha(1\rightarrow1)$ -Bindung in dem Raffinose-zentrierten Glycocluster **3.17** scheint die instabilste interglycosidische Bindung zu sein, während die $\alpha(1\rightarrow6)$ -Bindungen in dem Melibiose-zentrierten Glycocluster **3.25** bzw. zwischen der Galactose und der Glucoseeinheit im Raffinose-zentrierten Cluster **3.17** die stabilsten der untersuchten interglycosidischen Bindungen sind. Die unterschiedliche

Stabilität der interglycosidischen Bindungen führte bei einem Versuch der Synthese von **3.17** bei +80°C zu der ausschließlichen Bildung einer "strukturdefekten", um m/z 59 leichteren Variante **3.27** des Melibiose-zentrierten Glycoclusters **3.25** mit einem fehlenden Spacer in der 1-Position (Abb. 3.17).

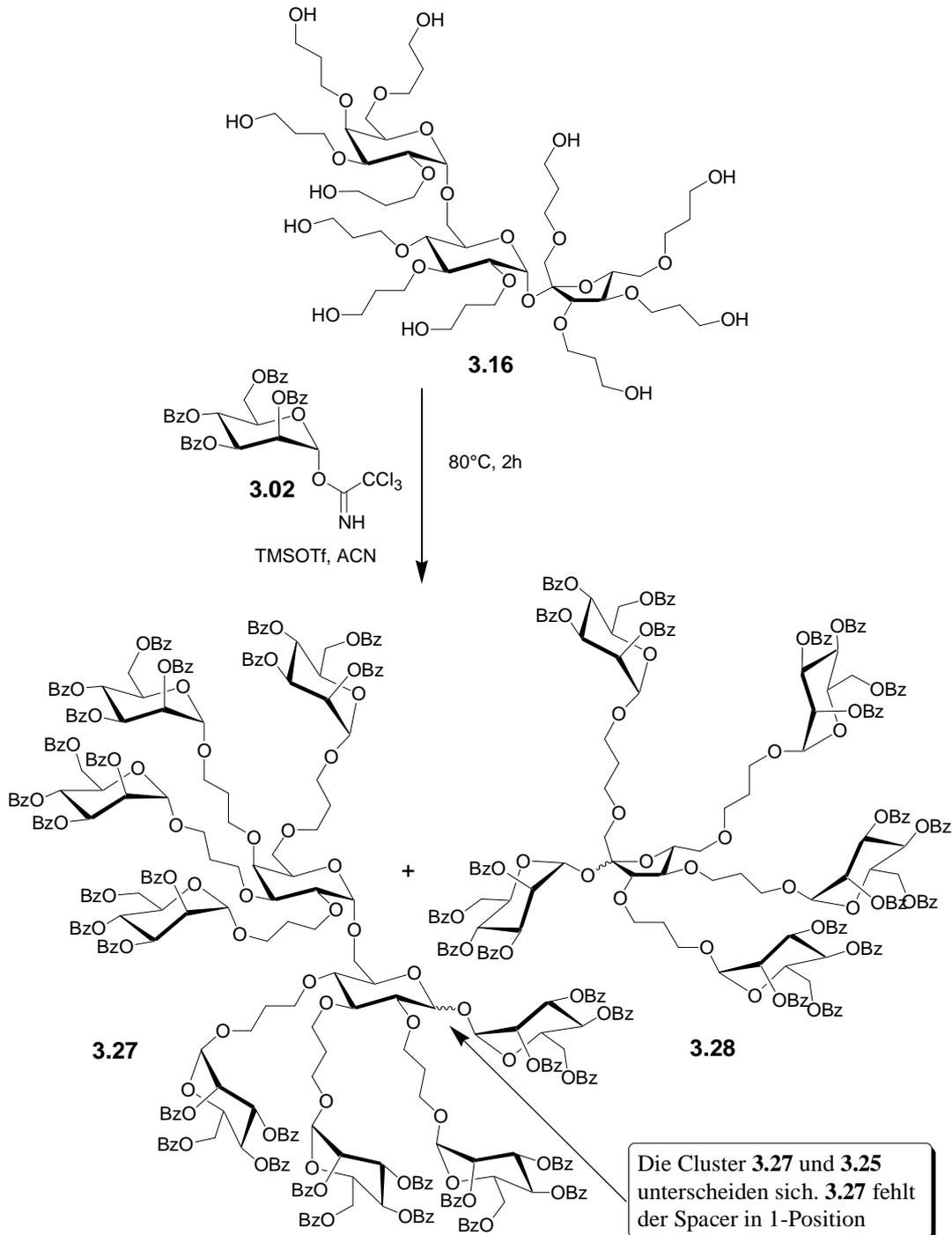


Abb. 3.17: Die interglycosidischen Bindung des Raffinose-zentrierten Clusters bricht bei 80°C.

Bei Glycosylierungen in Acetonitril muß immer überprüft werden, ob tatsächlich das gewünschte Anomer dargestellt wurde, weil Nitrile die intermediär gebildeten Pyranosylkationen so koordinieren können, daß selektiv ein bestimmtes Anomer gebildet

wird. R. R. Schmidt et al. haben diesen Nitrileffekt dazu benutzt, bei tiefen Temperaturen selektiv β -Mannoside herzustellen.⁹¹ Bei den hier verwendeten hohen Temperaturen ist keine Bildung von β -Mannosiden zu erwarten, trotzdem wurde dies NMR-spektroskopisch überprüft. Die äquatoriale Orientierung von H-2 in Mannose, bzw. die axiale Orientierung der OH-Gruppe in 2-Position führen dazu, daß die $^3J(\text{H-1}, \text{H-2})$ -Kopplung für α -Mannoside und β -Mannoside im $^1\text{H-NMR}$ nahezu identisch sind, so daß die Kopplungskonstante des anomeren Protons nicht zur Unterscheidung der Anomeren benutzt werden kann. Die anomere Konfiguration kann jedoch mittels der $J(\text{C-1}, \text{H-1})$ -Kopplung im gated-decoupled $^{13}\text{C-NMR}$ ermittelt werden. Im Falle der Verbindung **3.26** liegt sie bei 168 Hz, was einen Beweis für die α -Konfiguration der Mannoseliganden **3.26** darstellt. Für α -konfigurierte Mannoside wurden in der Literatur $J(\text{C-1}, \text{H-1})$ -Kopplung von 164-168 Hz gemessen, während β -Mannoside $J(\text{C-1}, \text{H-1})$ -Kopplungen von 152-155 Hz aufwiesen.⁹²

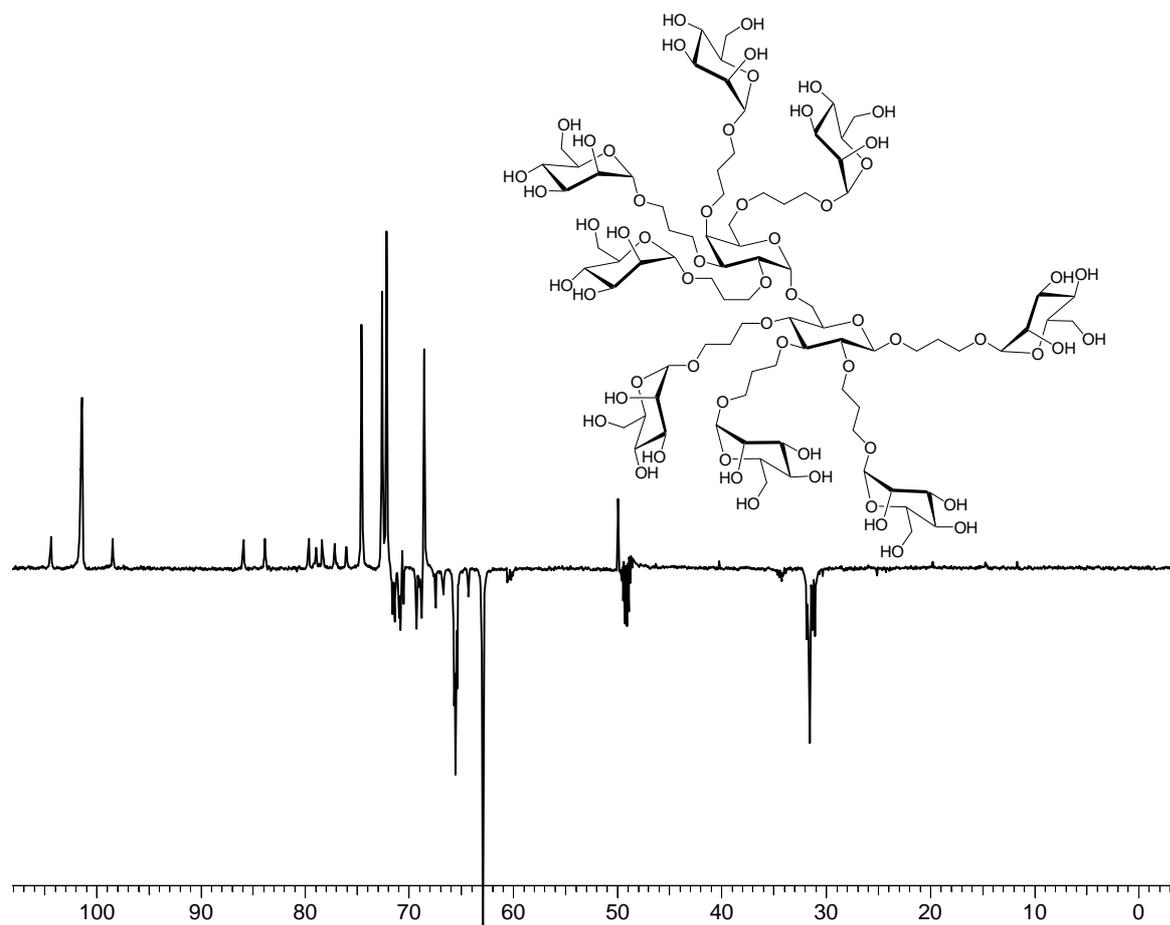


Abb. 3.18: $^{13}\text{C-DEPT-NMR}$ -Spektrum des Melibiose-zentrierten Clusters **3.26**

Synthese *O*-glycosidischer Tri- und Tetra-Mannosecluster

Pentaerythrit als Kernmolekül

Für den Aufbau von Tri- und Tetraclustern ist es naheliegend Pentaerythritderivate als Kernmolekül zu verwenden. Pentaerythrit ist bereits mehrfach für den Aufbau von Glycoclustern benutzt worden, welche z.B. als Nahrungsmittelzusatz,⁹³ als Hapten zur Entwicklung von Anti-Tumorimpfstoffen⁹⁴ oder auch als Inhibitoren für Bakterien oder Enzyme wirken sollten.⁹⁵

Für die Synthese des Pentaerythritclusters **3.29** (Abb. 3.19) sind zwei Wege denkbar. Einerseits könnte wie in den vorangegangenen Abschnitten mit einer Perallylierungs-Hydroborierungs-Sequenz der Tetraalkohol **3.30** als Kernmolekül hergestellt und dann glycosyliert werden. Andererseits könnte ein Hydroxypropylglycosid mit dem Tetrabromid des Pentaerythrits umgesetzt werden.

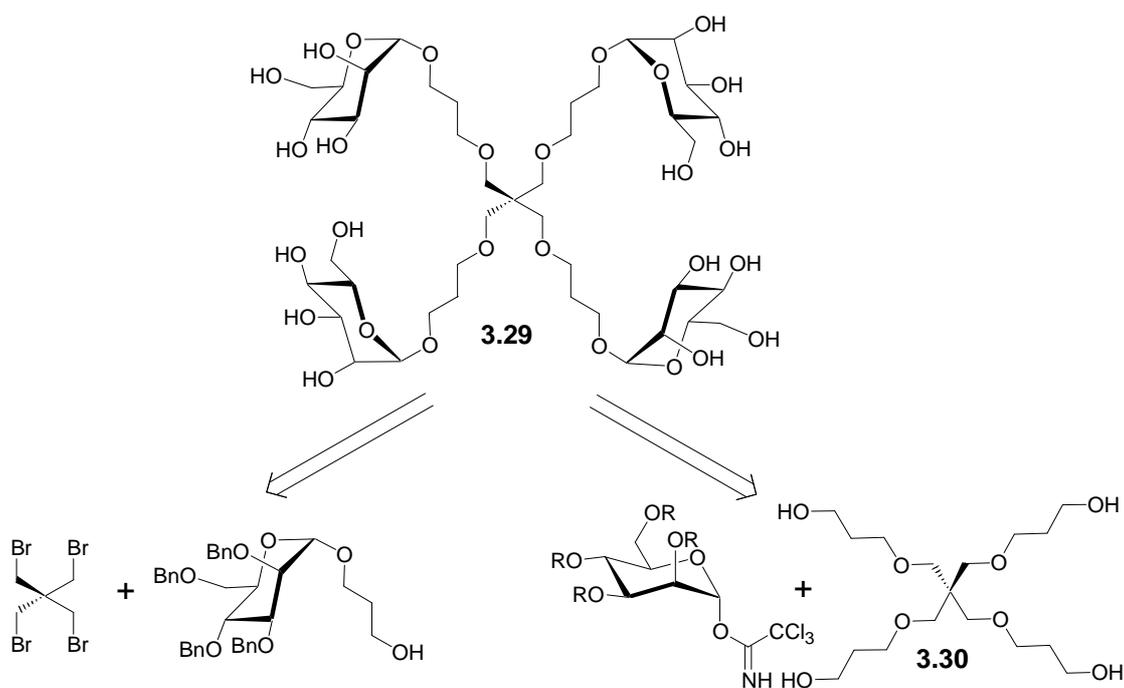


Abb. 3.19: Retrosynthetische Zerlegung des Pentaerythrit-zentrierten Clusters **3.29**.

Wie in der Habilitationsarbeit von Thisbe K. Lindhorst beschrieben, kann der Pentaerythrit-zentrierte Cluster **3.29** ausgehend vom Tetrabromid des Pentaerythrits unter drastischen Bedingungen mit 30 Stunden Rückfluß und einem achtfachen Überschuß des Alkohols mit einer Ausbeute von 62 % synthetisiert werden.⁹⁶ In dieser Habilitationsarbeit wurde auch versucht **3.29** über die Glycosylierung des Tetraalkohols mit acetylierten Mannosylimidat zu erhalten, wobei jedoch sowohl mit TMSOTf als auch mit BF_3 -Etherat als Katalysator lediglich Tetraorthoester in guter Ausbeute isoliert werden konnten, die sich nicht zu einem

O-glycosidisch verknüpften Tetracluster umlagern ließen. Die Orthoesterbildung ist sowohl durch die hohe sterische Hinderung als auch durch die hohe Stabilität des Acyloxoniumions für Zucker mit manno-Konfiguration begünstigt.⁹⁷ Acetylierte Orthoester sind im ¹H-NMR einfach an der Hochfeldverschiebung von H-2 (ca. 4.6 ppm) und H-5 (ca. 3.7 ppm) sowie der Orthoacetyl-CH₃-Gruppe (1.78 ppm) erkennbar. Hier soll nun versucht werden das zur Synthese Glucose-zentrierter Glycocluster wie **3.04** und **3.12** entwickelte Glycosylierungsprotokoll zur Lösung dieses Orthoesterproblems einzusetzen.

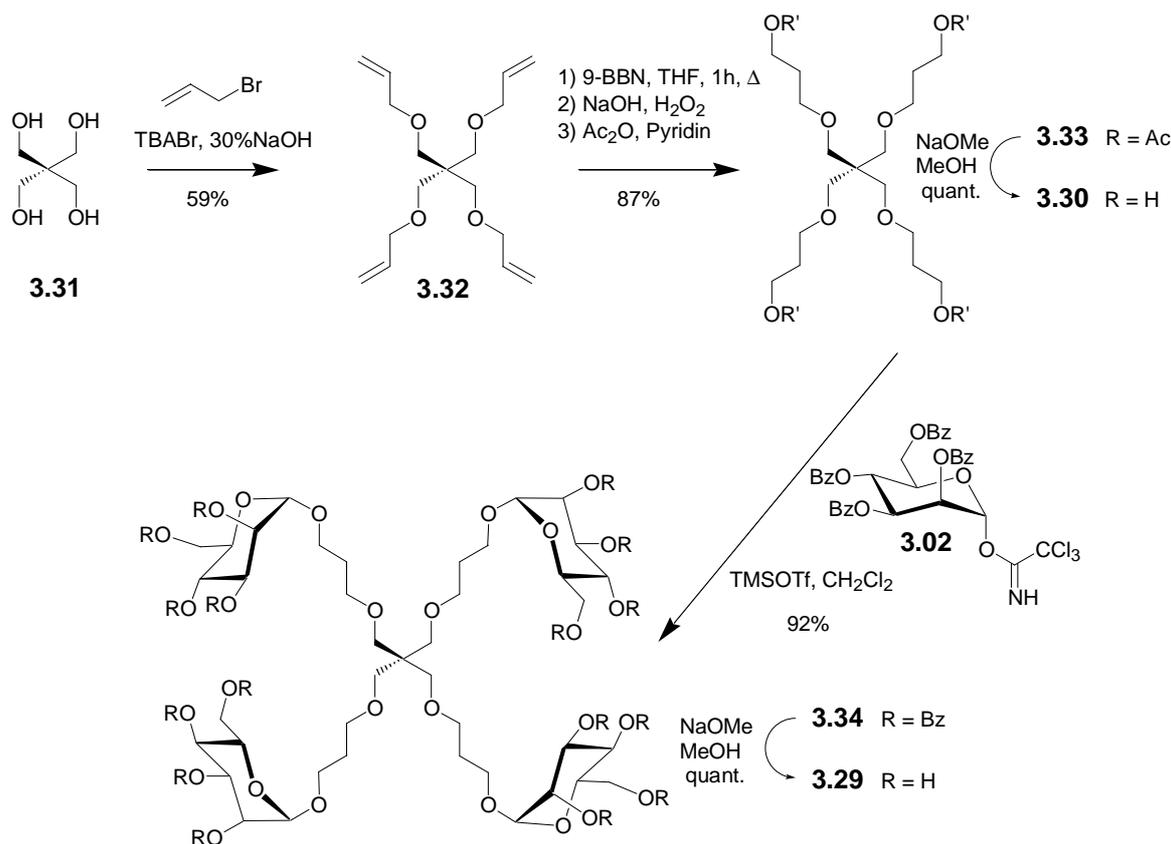


Abb. 3.20: Synthese des Pentaerythrit-zentrierten Clusters **3.29**.

Bei der Anwendung der in den vorhergehenden Abschnitten entwickelten Perallylierung, Hydroborierungssequenz auf Pentaerythrit (**3.31**) konnte die Perallylierung mittels Phasentransferkatalyse genau wie bei **1.03** durchgeführt werden,⁶⁰ jedoch war der nach der sich anschließenden Hydroborierung vorliegende Tetraalkohol **3.30** nicht so einfach säulenchromatographisch zu reinigen wie der entsprechende Glucose-zentrierte Alkohol **3.01**. Wie in vielen anderen literaturbekannten Fällen,⁹⁸ stellt auch hier die Abtrennung des aus 9-BBN entstehenden Octandiols ein Problem dar. Statt auf das Disiamylboran als Hydroborierungsreagenz auszuweichen, wurde einfach ein Acetylierungs-Deacetylierungs-Umweg beschrillen und statt **3.30** das acetylierte **3.33** säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Abb. 3.20). Bei der anschließenden Glycosylierung mit benzyliertem

Mannosyltrichloracetimidat in Dichlormethan unter den für **3.03** optimierten Bedingungen zeigte sich ein starker Einfluß der Lewissäurekonzentration auf das Ergebnis der Glycosylierung. Mit 0.5 Promille TMSOTf in der Reaktionslösung bildet sich wieder ein Tetraorthoester, mit 5 Promille TMSOTf in der Reaktionslösung bildet sich jedoch der strukturperfekte Tetracluster **3.34**. Dieser ließ sich dann genau wie **3.03** einfach unter Zemplén-Bedingungen mit anschließender Reinigung mit Methanol an Sephadex LH-20 entschützen.

In etwa zeitgleich wurde **3.29** auf einem ähnlichen Weg von einer englischen Gruppe hergestellt.⁹⁹ Die hier vorgestellten Synthesen sind etwas später als die Ergebnisse dieser Gruppe zusammen mit biologischen Tests veröffentlicht worden.¹⁰⁰

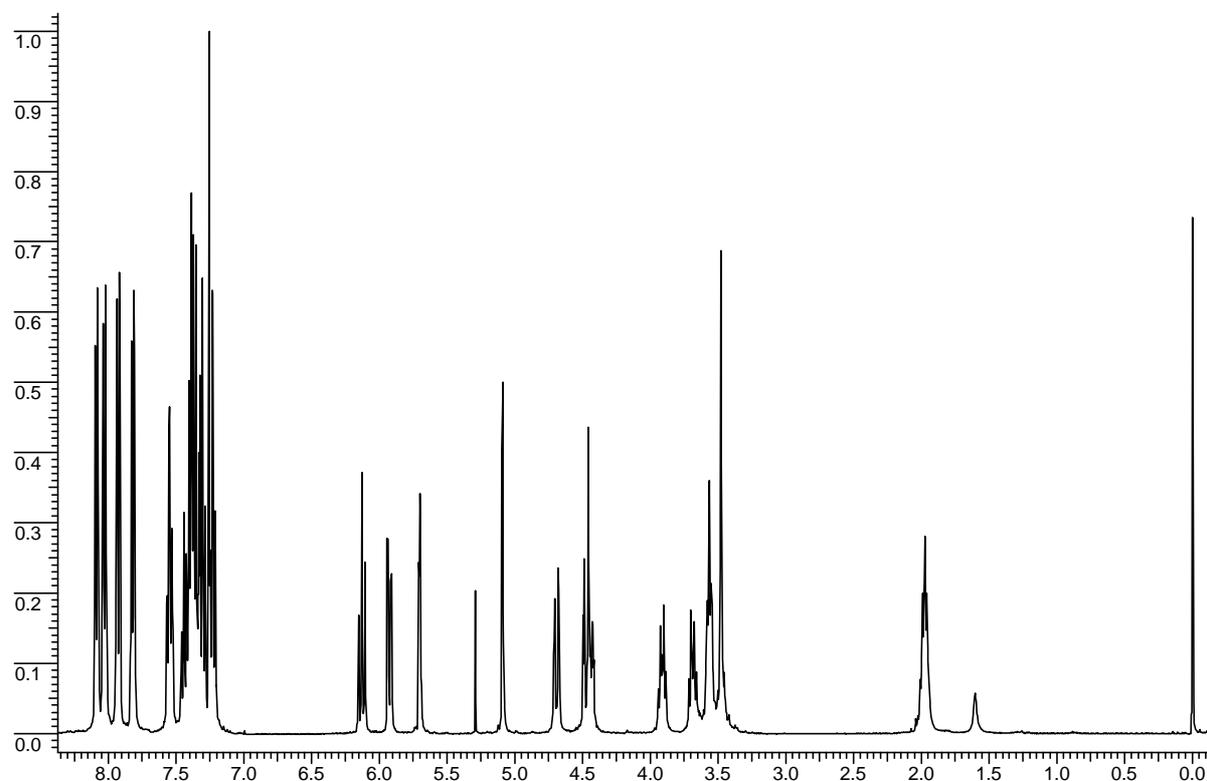


Abb. 3.21: $^1\text{H-NMR}$ Spektrums des benzylierten Pentaerythrit-zentrierten Clusters **3.34**.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **3.34** zeigt ein Peakmuster für die Benzoatgruppen, welches den Spektren einfacher Benzoat-geschützter Monosaccharide entspricht, genau wie man es für einen Cluster mit symmetrischem Core erwartet (Abb. 3.21).

Mit **3.35** (Abb. 3.22) steht ein Trialkohol zu Verfügung, der einem Pentaerythrit mit einer fehlenden Hydroxygruppe entspricht und daher nicht so stark sterisch gehindert ist, wie das Pentaerythrit. Das bereits von Thisbe Lindhorst über eine Perallylierungs-Hydroborierungs-Acetylierungs-Deacetylierungs-sequenz aufgebaute Core-Molekül **3.37** konnte nach demselben Verfahren wie **3.30** glycosyliert und zum Tricluster **3.38** umgesetzt werden, welcher wiederum nach Zemplén zu **3.39** entschützt wurde (Abb. 3.22).

Da für die Glycosylierungen von **3.30** und **3.37** große Imidatüberschüsse eingesetzt wurden ohne eine Optimierung dieser Überschüsse vorzunehmen, ist nicht eindeutig zu sagen, welcher der anfangs genannten Synthesewege der bessere Weg ist. Jedoch können mit den benzylierten Imidaten die Orthoesterprobleme umgangen und die beiden Cluster **3.29** und **3.39** einfach in der für biologische Tests notwendigen Menge hergestellt werden.

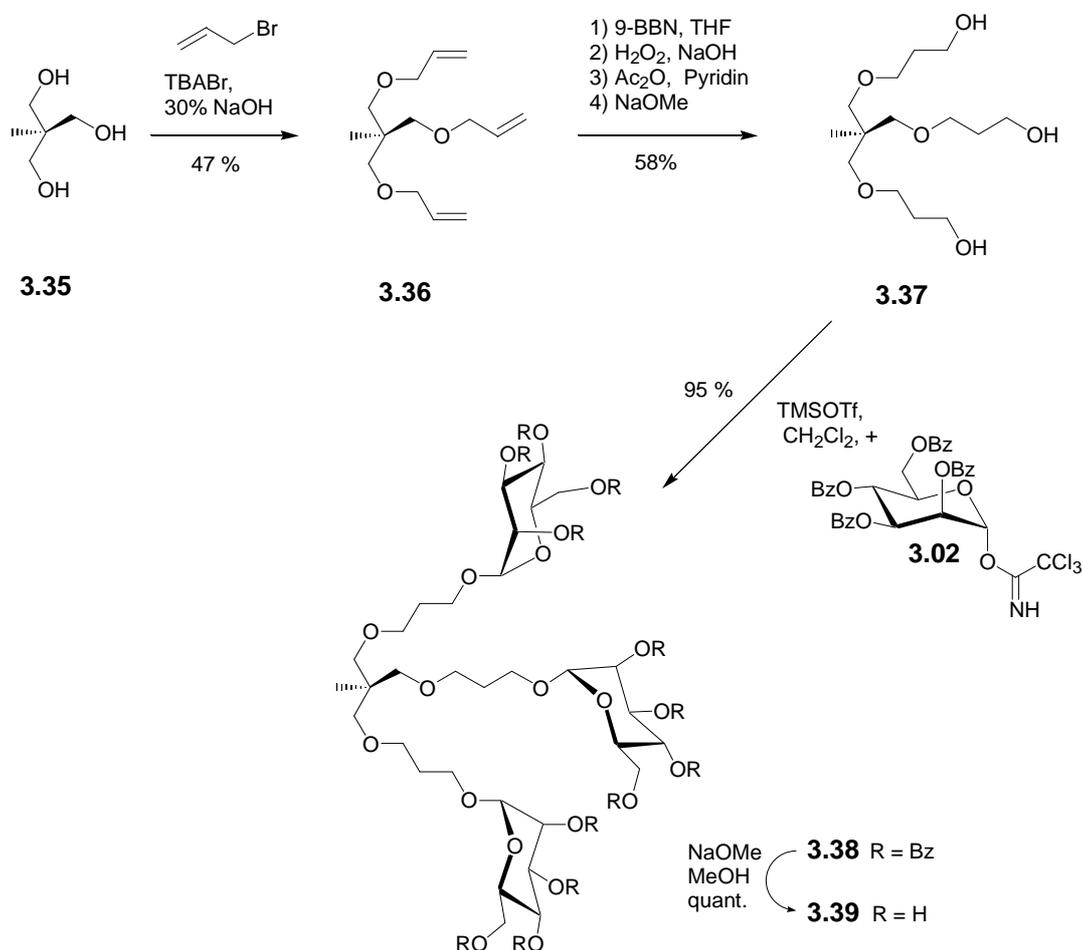


Abb. 3.22: Synthese des Triclusters **3.39**.

Sandwich-ELISAs mit Tri- und Tetra-Mannoseclustern

Inhibition der Adhäsion von *E. coli* an Mannan

Der Begriff ELISA (Enzym Linked Immuno Sorbend Assay) faßt eine Vielzahl unterschiedlicher Tests zusammen, in denen ein farbentwickelndes Enzym mit Hilfe immunologischer Techniken an eine zu bestimmende Substanz gebunden wird. Über die Farbintensität, welche das farbentwickelnde Enzym (z. B. eine Phosphatase) mit einem geeigneten Substrat (z. B. *p*-Nitrophenylphosphat) in einem bestimmten Zeitraum entwickelt, kann anschließend eine quantitative Bestimmung der so markierten Substanz erfolgen.

Krallmann-Wenzel und Ehlers vom Forschungszentrum Borstel (Schleswig-Holstein) optimierten einen kompetitiven Sandwich-ELISA, der dazu geeignet ist, zu bestimmen, wie gut Mannosecluster die Adhäsion von *E. coli*-Bakterien an Mannan inhibieren. Dieser ELISA wurde auf alle in der vorliegenden Arbeit synthetisierten Glycocluster angewendet, jedoch sind die Standardabweichungen der eigenhändig gemessenen IC₅₀-Werte für die Kohlenhydrat-zentrierten Cluster zum Zeitpunkt der Abgabe dieser Dissertationsschrift noch zu hoch, um als verlässlich zu gelten. Es werden daher nur die von Krallmann-Wenzel gemessenen Testergebnisse für die Cluster **3.29** und **3.39** vorgestellt und diskutiert.

Im ELISA wird die Konzentration an *E. coli*-Bakterien nach dem Sandwich-ELISA-Prinzip mit Hilfe von zwei Antikörpern (AK) bestimmt. Hierbei bindet ein anti-FimA-Antikörper vom Hasen an den Hauptbestandteil der *E. coli*-Fimbrien, und ein Peroxidase-konjugierter anti-Hase-Antikörper der Ziege bindet wiederum an den anti-FimA-Antikörper. Die Peroxidase oxidiert eine definierte Menge ABTS zu einem grünen ABTS-Radikal.¹⁰¹ Da die Antikörperüberschüsse jeweils vorher gewaschen wurden, ist die dadurch erreichte Farbintensität der adhärenen *E. coli*-Konzentration proportional.

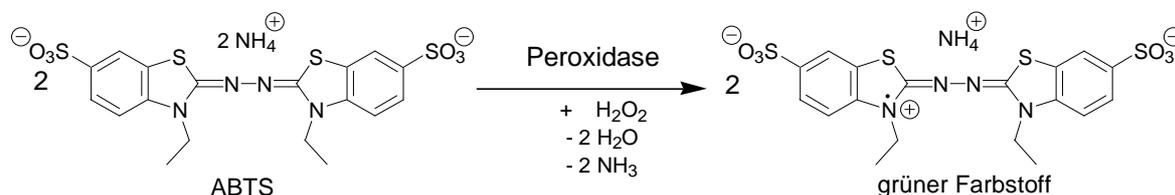


Abb. 3.23: Die ABTS-Farbreaktion

Im ELISA-Test werden zuerst *E. coli*-Bakterien zusammen mit dem Cluster, der die Adhäsion der Bakterien verhindern soll, über Mannan inkubiert. Je besser der Cluster die Adhäsion von *E. coli* an Mannan inhibiert, desto weniger Bakterien aus der Lösung adhären an Mannan, desto mehr Bakterien werden gewaschen und desto geringer ist die Farbintensität, welche die anschließend in mehreren Schritten immunologisch angeknüpfte Peroxidase mit dem Substrat ABTS produziert.

ELISA (Krallmann-Wenzel, für *E. coli*)

(Mikrotiterplatte mit Mannan beschichten)

- 1) mit Glycocluster und *E. coli* inkubieren
(inhibierte *E. coli* wegwaschen)
- 2) mit Antikörper 1 (AK 1) gegen FimA inkubieren
(nicht gebundenen Antikörper wegwaschen)
- 3) mit Enzym-konjugierten AK 2 inkubieren
(nicht gebundenen Antikörper wegwaschen)
- 4) Substrat zugeben und gebundene Mikrobe über eine Farbreaktion quantifizieren

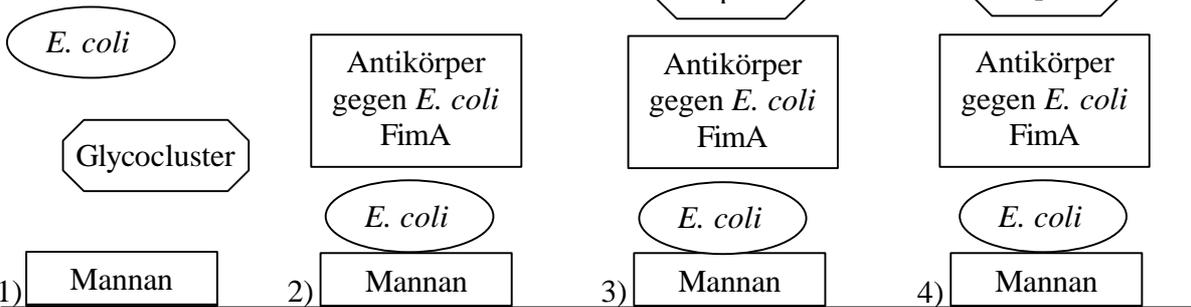


Abb. 3.24: Eine schematische Darstellung des kompetitiven Sandwich-ELISA nach Krallmann-Wenzel und Ehlers zur Inhibition der Adhäsion von *E. coli* an Mannan

Für die Tests wurde der genetisch modifizierte *E. coli*-Stamm HB101 benutzt, der mit dem Plasmid pPK14 transfiziert wurde. Dies führt zu Bakterien, die Typ-1-Fimbrien als einzige Pili exprimieren und folglich für die hier angestrebten Untersuchungen zur Mannose-spezifischen bakteriellen Adhäsion ideal geeignet ist.

	α -D-Methylmannosid	3.29 (tetravalent)	3.39 (trivalent)
IC ₅₀ [μ M] (Assay 1)	3000	12.5	12.5
IC ₅₀ [μ M] (Assay 2)	3500	15	12.5
IC ₅₀ [μ M] (Assay 3)	4000	11	24
IC ₅₀ [μ M] (Assay 4)	2500	12	16
durchschnittlicher IC ₅₀ [μ M]	3250	12.63	16.25
Standardabweichung	645.5	5.4	1.7
RIC ₅₀	1	257	200
valenzkorrigierter RIC ₅₀	1	64	67

Tabelle 3.1: Die Ergebnisse der ELISA-Versuche für die Glycocluster **3.29** und **3.39** verglichen mit Methylmannosid

Die Cluster **3.29** bzw. **3.39** inhibieren die Adhäsion von *E. coli* an Mannan 257 bzw. 200 mal besser als α -Methylmannosid. Valenzkorrigiert liegen die RIC₅₀-Werte der Glycocluster **3.29** und **3.39** nur geringfügig über den Werten für Methylmannosid, daher kann davon ausgegangen werden, daß der Glycocluster nicht mehrere Kohlenhydrat-erkennende Domänen (CRDs) überbrücken kann und es zu keinem Clustereffekt hinsichtlich der inhibitorischen Potenz von **3.29** und **3.39** kommt. Angesichts der relativ kleinen Größe der untersuchten Cluster ist es wahrscheinlich, daß ein Teil der jeweiligen Verbindung lediglich in einer Kohlenhydratbindungstasche gebunden wird, ohne daß es zur gleichzeitigen Wechselwirkung mit mehreren CRDs auf den Fimbrien kommt. Die im Vergleich zu Methylmannosid geringfügig höhere inhibitorischen Potenz von **3.29** und **3.39** kann man sich an Hand der u. a. von Kiessling¹⁰² vorgeschlagenen Modelle (Abb. 3.25) verdeutlichen. Wenn ein Glycocluster mit seinen Mannoseresten nicht mehrere Kohlenhydrat-erkennende Domänen erreichen kann, so kann er trotzdem bessere Bindungseigenschaften als Methylmannosid besitzen, wenn er eine zusätzliche lipophile Interaktion eingehen kann, oder einfach nur, weil er die lokale Mannosekonzentration an der Kohlenhydrat-erkennenden Domäne erhöht.

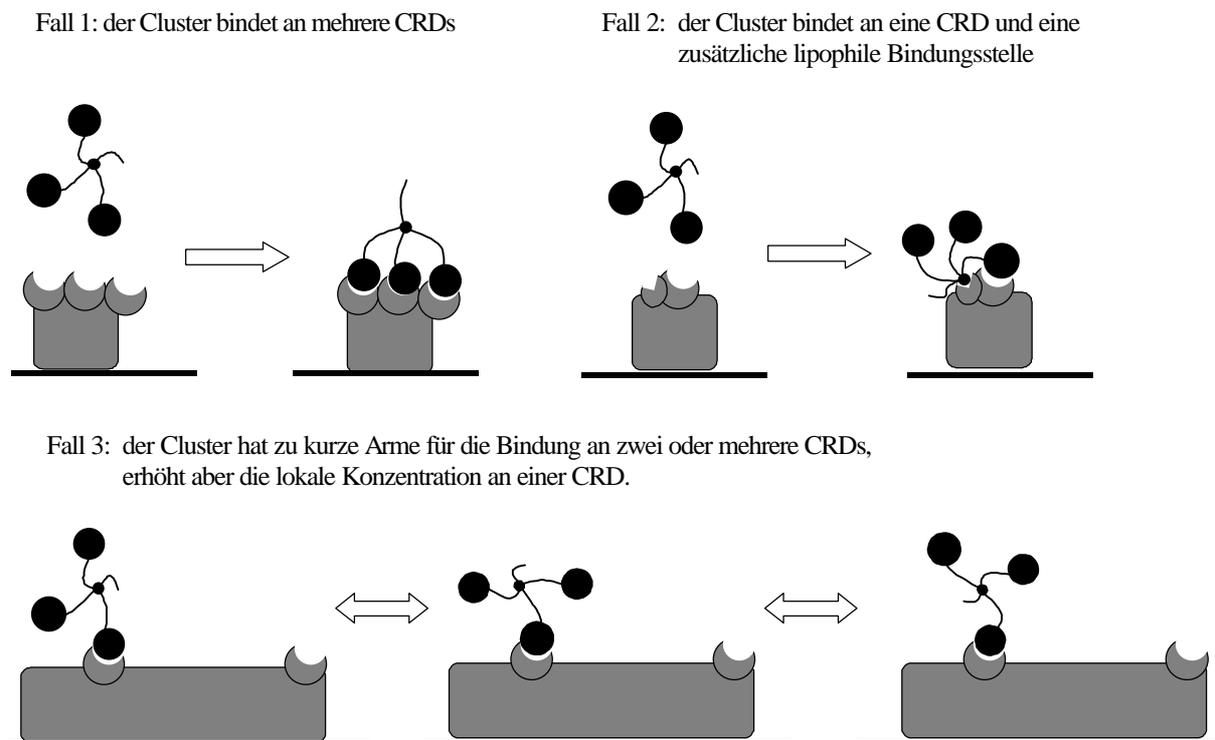


Abb. 3.25: Wenn ein Glycocluster mit seinen Mannoseresten nicht mehrere Kohlenhydrat-erkennende Domänen (CRDs) erreichen kann (Fall 1), so kann er trotzdem bessere Bindungseigenschaften als Methylmannosid besitzen, wenn er eine zusätzliche lipophile Bindung eingehen kann (Fall 2), oder einfach nur weil er die lokale Mannosekonzentration an der CRD erhöht (Fall 3).

Funktionalisierte Kohlenhydrat-zentrierte Glycocluster

Glycocluster für Immunbindungsassays

Die als biologische Informationsträger dienenden Kohlenhydratstrukturen liegen in der Natur als Glycokonjugate mit Lipiden oder Proteinen vor. Oft eignen sich Glycolipide oder andere Kombinationen von Kohlenhydraten mit unpolaren Resten besser zur Inhibition der Adhäsion von Viren und Bakterien als nicht-konjugierte Kohlenhydrate, da sie verschiedenartige Bindungsdomänen gleichzeitig ansprechen können, wobei gleichzeitig Kohlenhydrat-spezifische und unpolare Wechselwirkungen ausgenutzt werden.¹⁰³ So kann der HIV-1-Virus (AIDS-Virus) mit dem Galactosylsphingolipid (Abb. 4.1) sowie dessen einfacheren und Wasser-löslicheren Mimetika inhibiert werden.¹⁰⁴

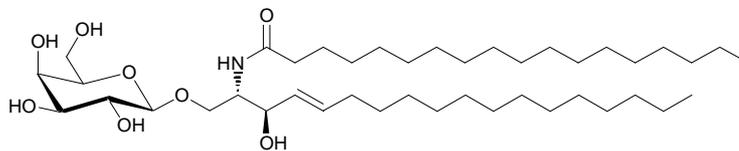


Abb. 4.1 Sphingolipid der Galactose

Sialinsäuredendrimere, die einen, mit Hilfe der kombinatorischen Chemie optimierten Anteil, unpolarer Reste präsentieren, sind wirkungsvollere Inhibitoren der Influenza-Adhäsion als reine Sialinsäuredendrimere.¹⁰⁵

Die Bindung von Kohlenhydraten an Biotin-, Fluoreszenz- und photolabile Marker eröffnet vielfältige Anwendungsmöglichkeiten in Immunbindungsassays.¹⁰⁶ Von Lee wurden kürzlich Photoaffinitätssensoren vorgestellt, welche aus einem Oligosaccharid, einem photoreaktiven Linker und dem Antigen Digoxin bestehen (Abb. 4.2). Wenn dieser Sensor im Dunkeln mit Lektinen umgesetzt wird, bindet der Oligosaccharid-Teil an das Lektin und sobald nach einer bestimmten Inkubationszeit mit UV-Licht bestrahlt wird, bildet der photoreaktive Linker eine stabile Bindung zu Aminosäuren des Lektins aus. Das Lektin ist somit nach der Bestrahlung über eine stabile kovalente Bindung mit dem Digoxin-Antigen markiert und kann mit Hilfe von anti-Digoxin-Antikörpern z.B. affinitätschromatographisch isoliert, gereinigt, identifiziert und quantifiziert werden.¹⁰⁷

Durch die Verknüpfung von Kohlenhydraten mit Immunogenen können spezifische Antikörper erzeugt werden, wodurch bei der Präsentation geeigneter Kohlenhydrat-Liganden Impfstoffe zugänglich sind.¹⁰⁸ Funktionalisierte Glycocluster können mit Farbstoffen markiert werden, um Bindungsvorgänge einfacher qualitativ und quantitativ beschreiben zu können. Auch der Einsatz funktionalisierter Glycocluster in der Affinitäts-Chromatographie bietet viele Möglichkeiten.¹⁰⁹

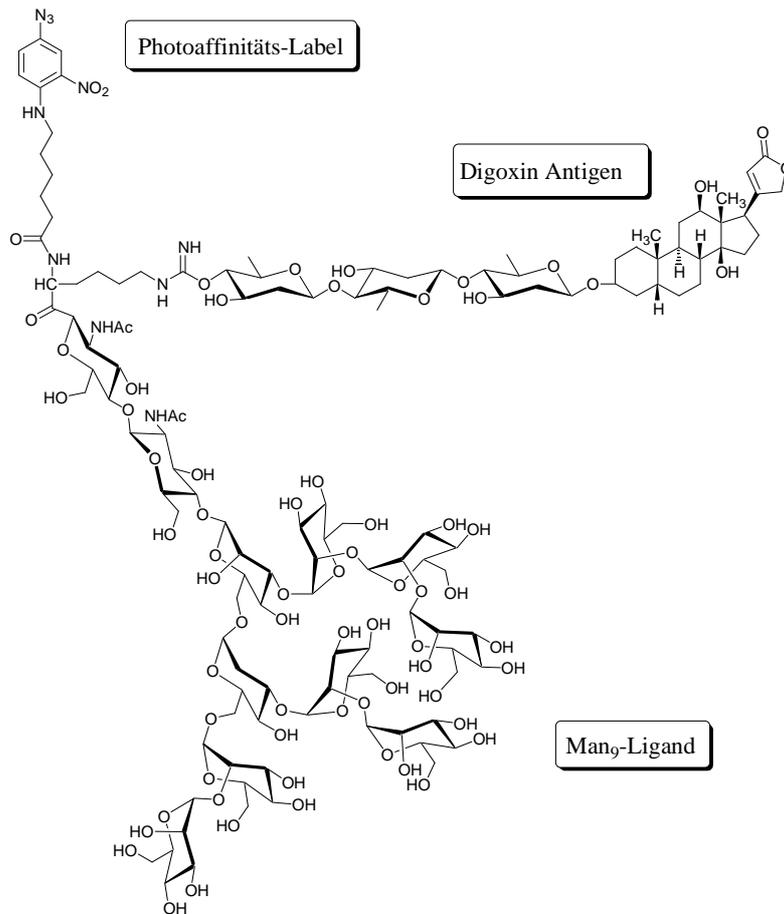


Abb. 4.2: Photoaffinitätssensor "glycoprobe" (Y. C. Lee)

Kapitelgliederung

Synthese funktionalisierter Glycocluster

Synthese funktionalisierter Glucose-zentrierter Glycocluster

Seite 68

Biotinylierte Kohlenhydrat-zentrierte Glycocluster

Glycocluster für Immunbindungsassays

Seite 81

Fluoreszierende Kohlenhydrat-zentrierte Glycocluster

Visualisierung und Quantifizierung von Inhibition

Seite 85

Lipophil funktionalisierte Glycocluster

Micellen, Liposomen, hydrophobe Wechselwirkungen

Seite 91

Synthese funktionalisierter Glycocluster

Synthese funktionalisierter Glucose-zentrierter Glycocluster

Für die Synthese eines funktionalisierten Glycoclusters wurden zwei Wege beschrieben. Zuerst wurde eine lineare Synthese ausgehend von Glucose durchgeführt und danach wurde versucht, einen Weg zur Synthese funktionalisierter Glycocluster über die Spaltung des Trehalose-zentrierten Clusters **3.14** zu finden (Abb. 4.3).



Abb. 4.3: Schematische Darstellung der Synthesewege zur Synthese funktionalisierter Glycocluster.

Für die von Glucose ausgehende Synthese konnte auf eine aufwendige Schutzgruppenchemie verzichtet werden. Unter Verwendung des langen Spacers Bromhexanol und der Durchführung der Reaktionen unter milden Bedingungen konnte der funktionalisierbare Cluster **4.10** ausgehend von Glucosepentaacetat **4.01** in acht Schritten synthetisiert werden (Abb. 4.4).

Literaturbekannt ist die Verwendung von Hexylamin-Spacern mit Azido-Schutzgruppen,¹¹⁰ Benzoxycarbonyl (Z oder Cbz)-Schutzgruppen,¹¹¹ oder Trichloracetyl-Schutzgruppen,¹¹² wobei die so funktionalisierten Kohlenhydrate z.B. über Peptidbindungen mit der Carboxygruppe der Asparaginsäure an Peptide gebunden und so zu multivalenten Glycomimetika umgesetzt werden konnten. Alle drei genannten Schutzgruppen würden jedoch vermutlich mindestens eine der hier geplanten Reaktionen nicht überstehen. So könnte die Cbz- bzw. Z-

Schutzgruppe bei den hohen verwendeten TMSOTf-Konzentrationen abgespalten werden, die Trichloracetyl-Schutzgruppe würde die basische Allylierung nicht überstehen.

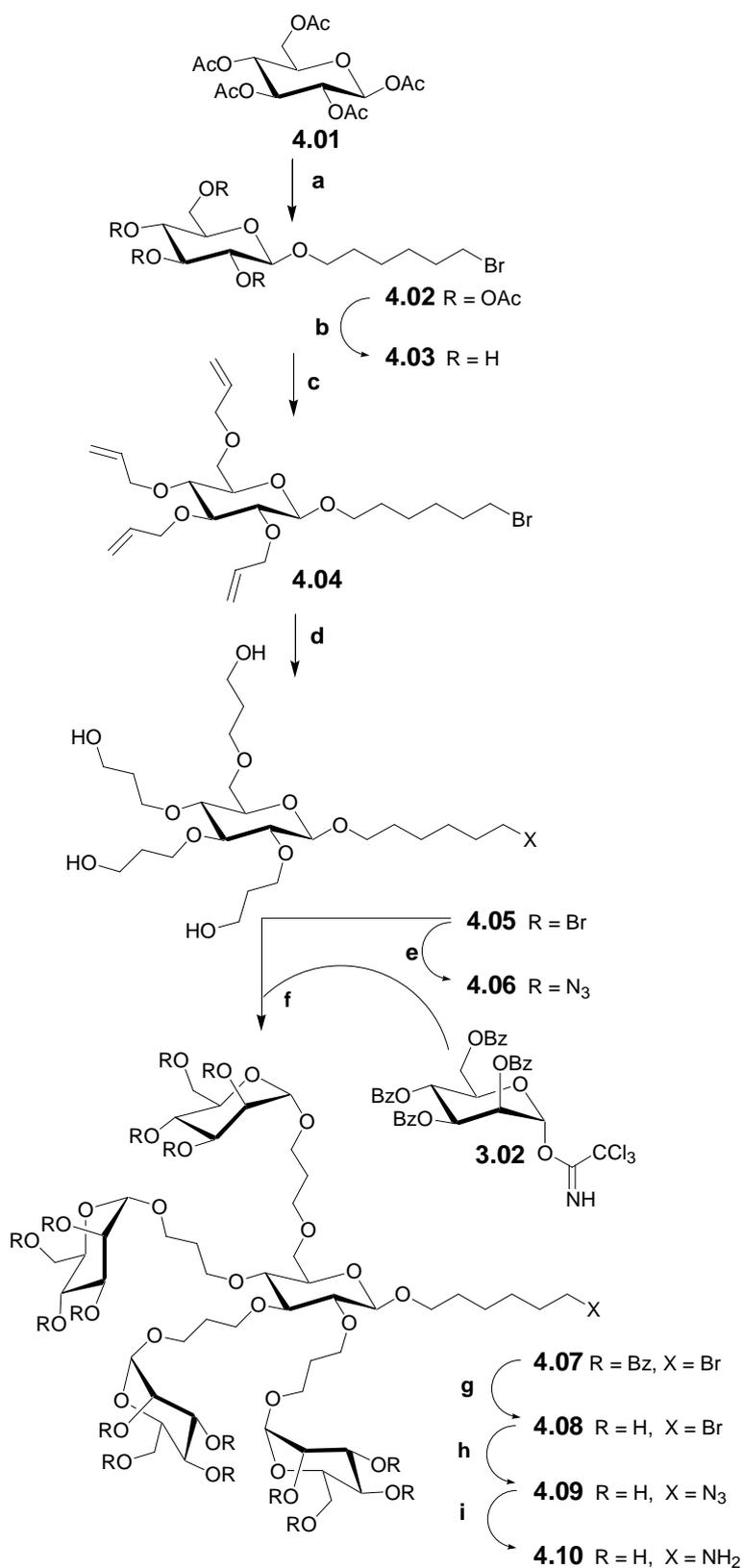


Abb. 4.4: (a) BF₃·Et₂O, 6-Bromhexanol, CH₂Cl₂, 36 %. (b) NaOMe, MeOH, quant. (c) Allylbromid, NaOH, TBABr, rt, 42 %. (d) 9-BBN, THF, 54 %. (e) NaN₃, DMF, quant. (f) TMSOTf, CH₂Cl₂, 95 %. (g) NaOMe, MeOH-THF, 94 %. (h) NaN₃, DMF, 97 %. (i) H₂, Pt-C, 96 %.

Im ersten Schritt wurde Glucosepentaacetat mit Bromhexanol unter BF_3 -Etherat-Katalyse umgesetzt,¹¹³ um nach der Deacetylierung unter Zemplén Bedingungen das ungeschützte Bromhexylglycosid **4.03** zu erhalten. Im nächsten Schritt wurde **4.03** unter Phasentransferbedingungen, wie sie schon zur Synthese der perallylierten Glucose **1.03** eingesetzt wurden, perallyliert. Da in diesem Fall nur das Allylbromid, nicht aber das primäre Bromid am Aglycon (Tether) reagieren sollte, mußten die Reaktionstemperatur und die Reaktionszeit auf 20°C bzw. 3.5 Stunden herabgesetzt werden, womit dann für **4.04** allerdings nur noch eine Ausbeute von 42 % im Vergleich zu 72 % bei der perallylierten Glucose **1.03** erreicht werden konnte. Auch bei der nachfolgenden Hydroborierung mußte die Reaktionstemperatur von $+78^\circ\text{C}$, die bei der Hydroborierung der perallylierten Glucose **1.03** und der perallylierten Trehalose **2.12** hohe Ausbeuten gewährleistet hatte, auf $+20^\circ\text{C}$ erniedrigt werden, um Nebenreaktionen zu minimieren. Während der oxidativen Aufarbeitung zum Tetraalkohol **4.05** ist zu beachten, daß mit $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}_2$ eine der möglichen Eliminierungsreaktionen von 9-BBN-Br schneller ablaufen wird als die Oxidation zum Alkohol (Abb. 4.5).¹¹⁴

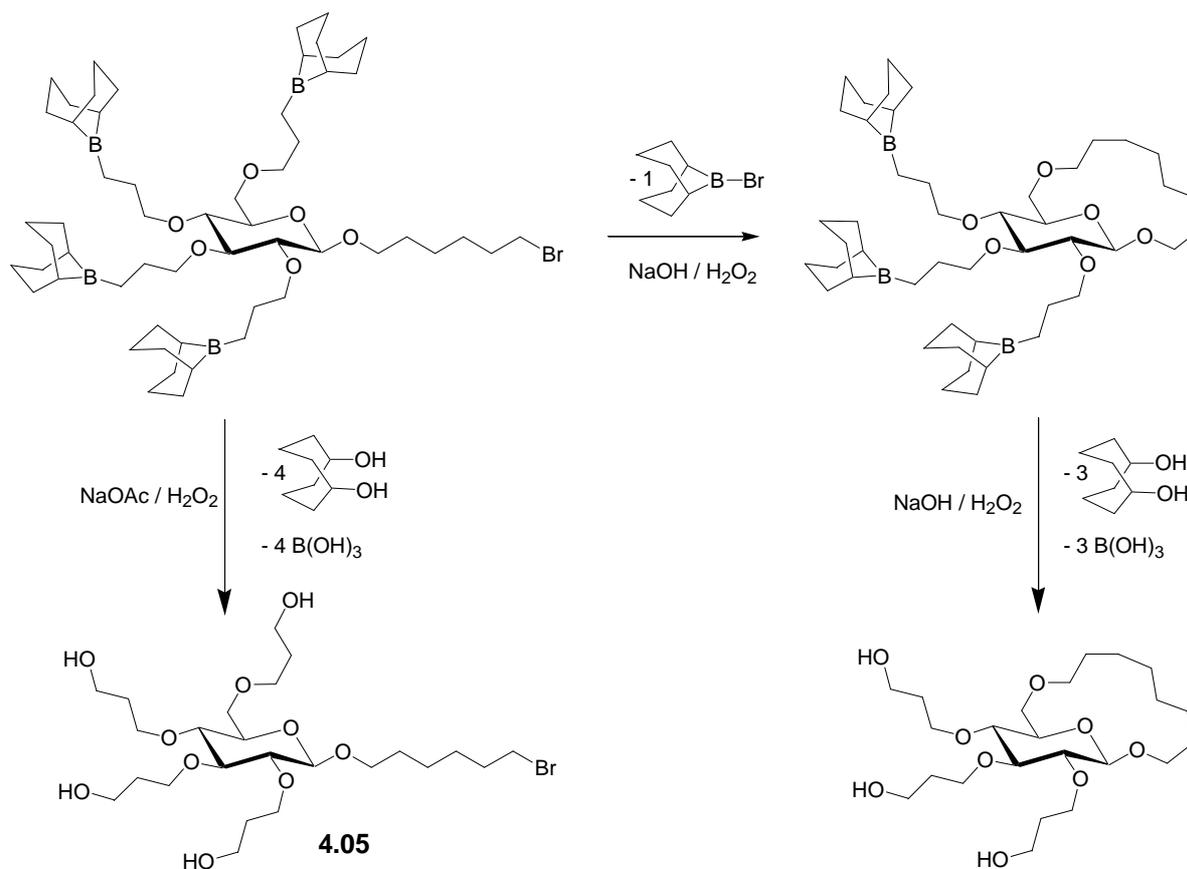


Abb. 4.5: Nebenreaktionen bei der Hydroborierung

Diese Nebenreaktion kann weitestgehend unterdrückt werden, wenn statt der 3 M Natronlauge eine 3 M Natriumacetatlösung verwendet wird und diese langsam, zeitgleich mit der 30 %-igen Wasserstoffperoxidlösung zum Ansatz getropft wird.

Der Tetraalkohol **4.05** wurde mit NaN_3 in DMF in das Azid **4.06** überführt, um für verschiedene Glycosylierungsreaktionen ein Kernmolekül zu erhalten, welches mit einer als Azidgruppe maskierten Aminogruppe funktionalisiert ist. Für die Glycosylierung von **4.06** wurden zuerst die für die Synthese des Glucose-zentrierten Glycoclusters **3.03** optimierten Glycosylierungsbedingungen probiert. Überraschenderweise ergaben sich aus der Anwesenheit der Azidgruppe, der β -Konfiguration des anomeren Zentrums und der Größe des Spacers zusätzliche Probleme. Genauso wie bei der Synthese von **3.03** behindert jede Glycosylierung eines Armes sterisch die Glycosylierung der anderen Arme des Azid-funktionalisierten Tetraalkohols **4.06**. Daher ist der letzte Glycosylierungsschritt der langsamste und sterisch am stärksten gehinderte Glycosylierungsschritt. Der Spacer erweist sich dabei als so voluminös, daß die Orthoesterbildung ähnlich wie bei der Glycosylierung des Pentaerythrit-zentrierten Kernmoleküls **3.34** auch in Dichlormethan als Lösungsmittel stark favorisiert ist. Da benzylierte Glycosylimidate, die keine Orthoester bilden können, hier wegen der Empfindlichkeit des Zucker-Cores nicht eingesetzt werden können, war es ein glückliches Ergebnis, daß eine Umlagerung der Orthoester möglich war. Allerdings bewirkt die hierfür notwendige hohe Lewissäurekonzentration nach mehreren Stunden eine Anomerisierung der β -glycosidischen Bindung zum Spacer und überraschenderweise auch eine, nicht näher untersuchte Nebenreaktion der Azidgruppe, obwohl die Azidgruppe normalerweise unter den Bedingungen der Glycosylierung mit Imidaten inert ist. Diverse Versuche, eine geeignete Reaktionszeit und Säurekonzentration zu finden, bei der eine vollständige Umlagerung aller Orthoester abgeschlossen ist, die Azidgruppe und β -Verknüpfung aber noch intakt sind, waren nicht erfolgreich. Da die Azidgruppe offenbar eher als das anomere Zentrum angegriffen wird, wurde versucht, entsprechende Reaktionsbedingungen für den Bromhexyl-funktionalisierten Tetraalkohol **4.05** zu finden. Die primäre Bromidfunktion von **4.05** erwies sich als hinreichend inert, so daß es nur galt eine Reaktionszeit zu finden, bei der eine vollständige Umlagerung aller Orthoester abgeschlossen und die β -Verknüpfung noch intakt ist. Bei einer Reaktionszeit von 6 Stunden, mit 0.02 % TMSOTf in Dichlormethan gelang es, den mit einem primären Bromid funktionalisierten Cluster **4.07** in nahezu quantitativer Ausbeute zu synthetisieren. Die vollständige Umsetzung aller Arme wird wieder durch einen großen Überschuß an benzyliertem Mannosylimidat erreicht. Bei einer testweisen Reduzierung des Donor-Überschusses um 50 % zeigte sich

keine Veränderung der NMR-Spektren, jedoch wurde ein sehr kleiner Defekt-Peak mit nur 3 Mannoseliganden im MALDI-TOF-Spektrum sichtbar.

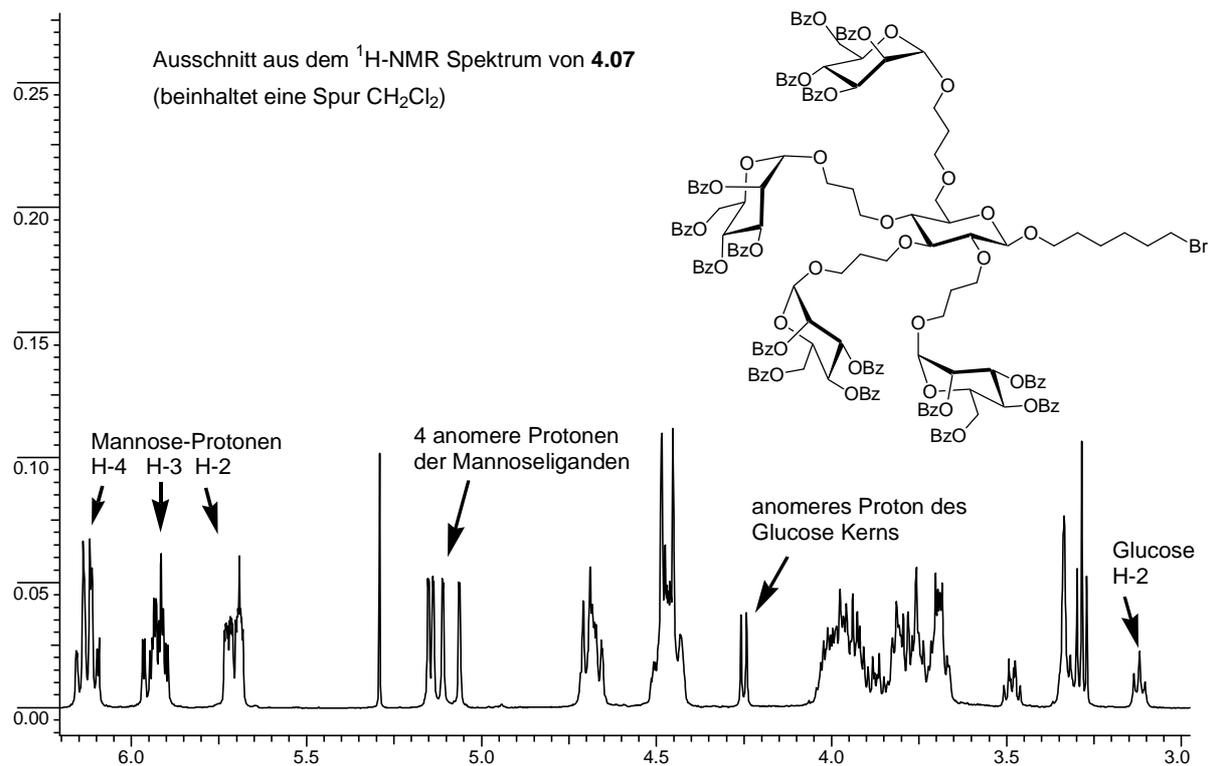


Abb. 4.6: Ausschnitt des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums des funktionalisierbaren benzylierten Glycoclusters **4.07**.

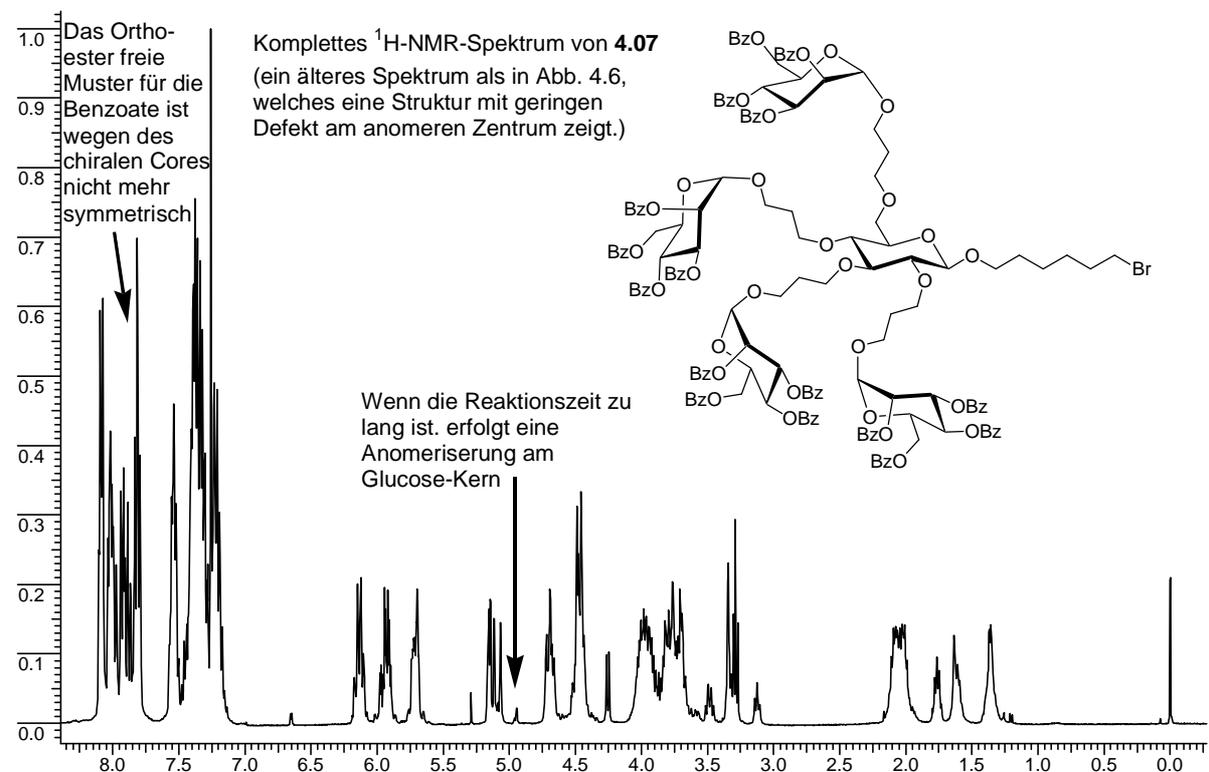


Abb. 4.7: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des funktionalisierbaren benzylierten Glycoclusters **4.07**.

Es wurden keine weiteren Versuche zu Optimierung des notwendigen Imidat-Überschusses gemacht, da das Imidat in großen Mengen verfügbar war. Schließlich kann jede Optimierung

nur relativ zur Genauigkeit einer Analysemethodik gesehen werden. Ein nach NMR-Spektroskopie reiner Glycocluster würde einen kleineren Glycosylimidatüberschuß erfordern, als ein Glycocluster der auch nach MALDI-TOF-Massenspektroskopie als rein angesehen werden kann.

Der mit einem primären Bromid funktionalisierte Glycocluster **4.07** konnte nach der für den Trehalose-zentrierten Glycocluster **3.15** optimierten Methode entschützt werden, d.h. in 2 Schritten unter Zemplén-Bedingungen zuerst in THF/Methanol, dann in Methanol, wobei der entstehende Benzoessäuremethylester wiederum an Sephadex LH-20 abgetrennt wurde. Nach der Umsetzung von **4.08** mit NaN_3 in DMF zum Azid **4.09** wurde erfolgreich mit Wasserstoff an Pd-C zum aminofunktionalisierten Cluster **4.10** reduziert, während Versuche einer Reduktion mit Ammoniumformiat und Pd-C bei Raumtemperatur zur Zersetzung führten.

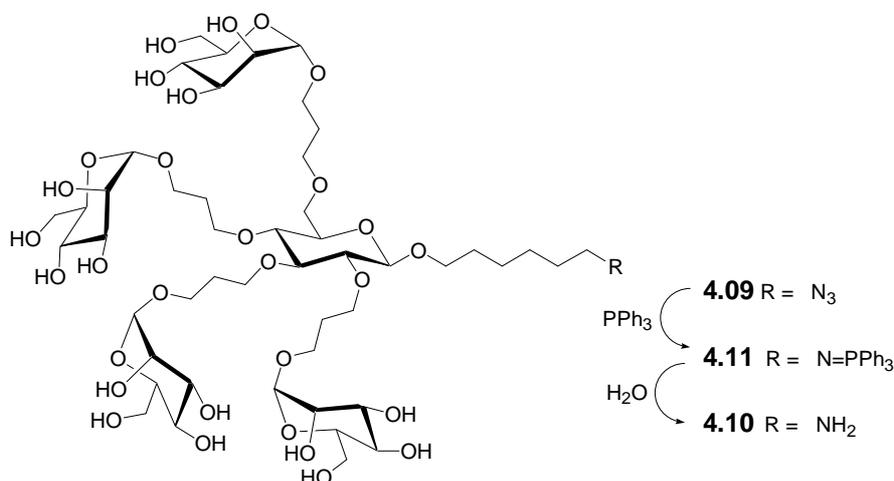


Abb. 4.8: Die Staudingerreaktion zur Reduktion von **4.09** ist nicht praktikabel, da das Phosphinimin **4.11** zwar schnell gebildet wird, die Hydrolyse von **4.11** aber extrem langsam verläuft.

Bei einer fehlerhaft durchgeführten Hydrierung zeigte sich, daß eine unzureichende Wasserstoffzufuhr zur Bildung von Spuren eines Dimers von **4.10** mit sekundärer Aminofunktion führt. Als Alternative zur katalytischen Hydrierung wurde die Staudinger-Reduktion¹¹⁵ des Azids **4.09** probiert (Abb. 4.8). Bei einem ersten Versuch, bei dem die Reaktion ohne Schutzgas in einem Wasser/THF-Gemisch durchgeführt wurde, konnte in den MALDI-TOF-Massenspektren nach 2 Tagen eine vollständige Umsetzung zum Phosphinimin **4.11** beobachtet werden, welches jedoch nur sehr langsam zum Amin **4.10** hydrolysierte. Die Reaktion wurde deshalb mehrere Wochen weiter gerührt. Dabei setzte sich das Phosphinimin bevorzugt zum Harnstoffderivat **4.12** um (Abb. 4.9). Diese Reaktion ist bereits 1921 von Hans Staudinger beschrieben worden und mit der Reaktion von zwei Phosphinimininen mit CO_2 zu einem Carbodiimid, welches sofort zum Harnstoffderivat hydrolysiert wird, erklärt worden. Obwohl sich der interessante Glycocluster **4.12** nach dieser Methode mit einer Ausbeute etwa 50 % herstellen läßt, würde man im Bedarfsfall

praktischerweise zur Synthese von **4.12** den schnelleren Weg über die Kupplung von **4.10** mit Di-succinimidyl-carbonat (DSC)¹¹⁶ beschreiten, wobei man vermutlich auch eine höhere Ausbeute erhalten würde.

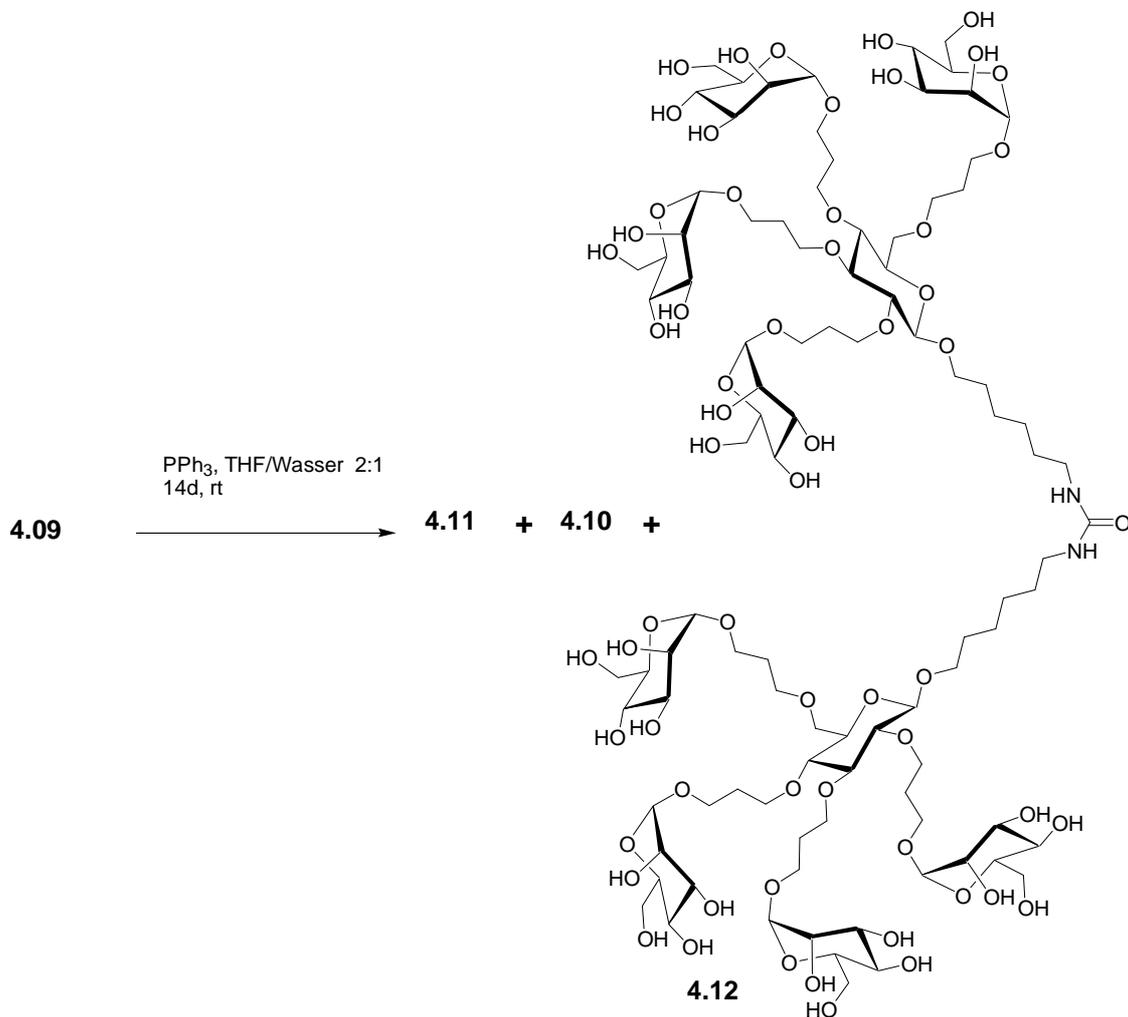


Abb. 4.9: Die Reduktion des Azido-funktionalisierten Glycoclusters **4.09** unter Staudinger-Bedingungen liefert **4.12** als Hauptprodukt.

Um eine schnellere Hydrolyse des Phosphinimins zu erreichen, wurden mehrere Testreaktionen mit 6-Azidohexyl- β -D-glucopyranosid durchgeführt, wobei sich Dichlormethan/Methanol-Gemische als besonders vorteilhafte Lösungsmittel erwiesen. Aber auch in diesem Lösungsmittelgemisch konnte danach mit dem Phosphinimin **4.11**, weder durch Säure-, noch durch Basenzusatz, oder durch Temperaturerhöhung eine hinreichend schnelle Hydrolyse erreicht werden. Interessanterweise konnte auch umgekehrt mit 6-Azidohexyl- β -D-glucopyranosid unter den Synthesebedingungen, die zur Bildung von **4.12** geführt hatten, keine Harnstoffbildung beobachtet werden. Da keine Reaktionsbedingungen zur quantitativen Reduktion der Azid-Funktion in **4.09** gefunden werden konnten, wurde für die weiteren Synthesen wieder die katalytische Hydrierung mit Wasserstoff an Pd-C verwendet, um den aminofunktionalisierten Cluster **4.10** herzustellen. Zuvor sollte jedoch

noch die zweite Methode zur Synthese von **4.10**, die Methode zur Synthese von **4.10** über eine Spaltung des Trehalose-zentrierten, Benzoyl-geschützten Glycoclusters **3.14**, evaluiert werden (Abb. 4.3).

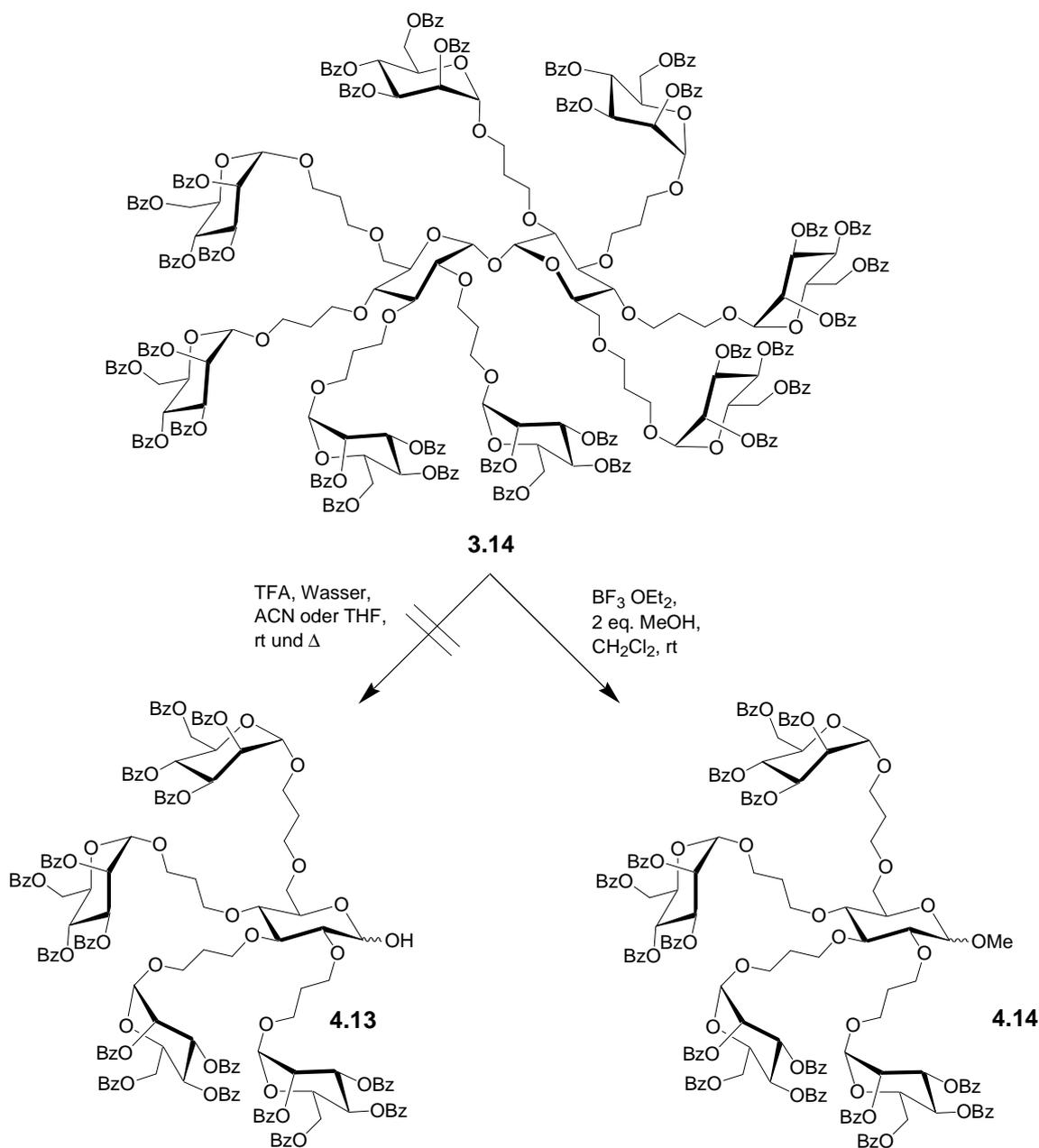


Abb. 4.10: Versuche zur Synthese funktionalisierter Cluster über die Spaltung des Trehalose-Cores in **3.14**. Die Reaktionen wurden nur mit Hilfe des MALDI-TOF-Massenspektrometers verfolgt und nicht aufgearbeitet.

Aufgrund von Literaturdaten¹¹⁷ sowie der Probleme mit der Spaltung der interglycosidischen Bindung während der Synthese des benzoylierten, Trehalose-zentrierten Glycoclusters **3.14**, lag die Annahme nahe, daß eine kontrollierte Spaltung von **3.14** zu **4.13** einfach machbar sein sollte (Abb. 4.10). Es zeigte sich jedoch, daß **3.14** gegenüber allen beschriebenen Spaltmethoden, die auf der Verwendung von wäßriger TFA und organischen Kosolventien wie THF oder Acetonitril beruhen, auch bei erhöhter Temperatur inert ist.

Um doch noch eine Spaltung des Trehalose-zentrierten Glycoclusters **3.14** zu erreichen, wurden Varianten ausprobiert, die den Glycosylierungsmethoden ähnlicher sind, wo die Spaltung als unerwünschte Nebenreaktion aufgetreten war. Eine Umsetzung von **3.14** mit BF_3 -Etherat und einer Spur Wasser in Dichlormethan führte zur schnellen vollständigen Zersetzung von **3.14**. Als jedoch in einer testweisen, nur über MALDI-TOF-Massenspektroskopie verfolgten Umsetzung Methanol statt Wasser verwendet wurde, konnte das Methylglycosid **4.14** als Hauptprodukt erhalten werden (Abb. 4.10). Um einen funktionalisierbaren Glycocluster zu erhalten, wurde dann versucht **3.14** mit Bromhexanol zu spalten (Abb. 4.11).

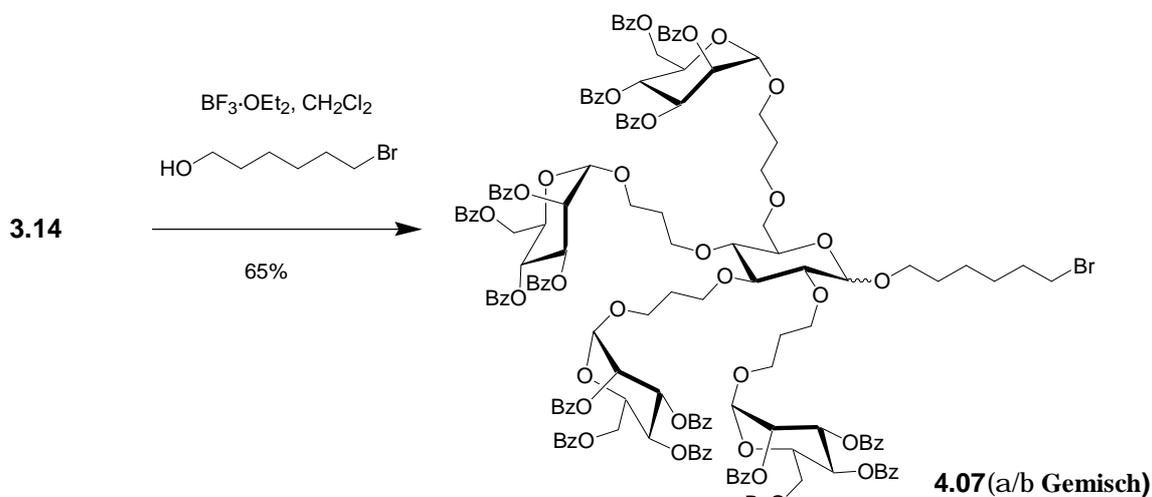


Abb. 4.11: Synthese funktionalisierter Cluster über die Spaltung des Trehalose-Cores in **3.14**

Bei der Umsetzung des Trehalose-zentrierten Glycoclusters **3.14** mit Bromhexanol und BF_3 -Etherat in Dichlormethan zeigte sich, daß die interglycosidische Bindung in **3.14** einfach unter Bildung des funktionalisierbaren Glycoclusters **4.07** selektiv gespalten werden kann. Jedoch erfordert die Reaktion extreme Bedingungen. Sie sollte mit hochreinen, über Molsieb-geliefertem Dichlormethan und unter extremen Feuchtigkeitsausschluß, wie er für metallorganische Reaktionen üblich ist, durchgeführt werden, denn andernfalls beobachtet man sofort eine Spaltung aller glycosidischen Bindungen und damit eine vollständigen Zersetzung.

Die Reaktionskontrolle der Spaltungsreaktion ist nur mit Hilfe der MALDI-TOF-Massenspektroskopie möglich. Um die Spaltung der Trehalose mit Hilfe des MALDI-TOF-Massenspektrometers verfolgen zu können, wurde in einem Testansatz jeweils nach 45, 75 und 120 Minuten ein Drittel des Ansatzes aufgearbeitet, und mit dem im Kapitel 2 optimierten Protokoll für die MALDI-TOF-Messung präpariert (Abb. 4.12). Hierbei wurde deutlich, daß die Spaltung der interglycosidischen Bindung zwar mit einer hohen Selektivität erfolgt, aber auch, daß trotzdem ein signifikanter Anteil von Mannoseliganden während der

Reaktion abgespalten wird. Bei einem Teil der Testansätze wurde auch die Bildung des Spaltungsproduktes **4.13** (Abb. 4.10; $C_{154}H_{140}O_{46}$ mit 2726.7 g/mol; mittlere $m/z = 2749.8$ $[M+Na]^+$) beobachtet. Mechanistisch gesehen ist es wahrscheinlich, daß bei jeder Spaltung eines Trehalose-zentrierten Glycoclusters **3.14** (Abb. 3.9 und 4.10), jeweils ein Molekül **4.13** (Abb. 4.10) und ein Molekül **4.07** als α/β Gemisch gebildet werden, wobei **4.13** dann offenbar unter den Reaktionsbedingungen nicht stabil ist und schnell zersetzt wird.

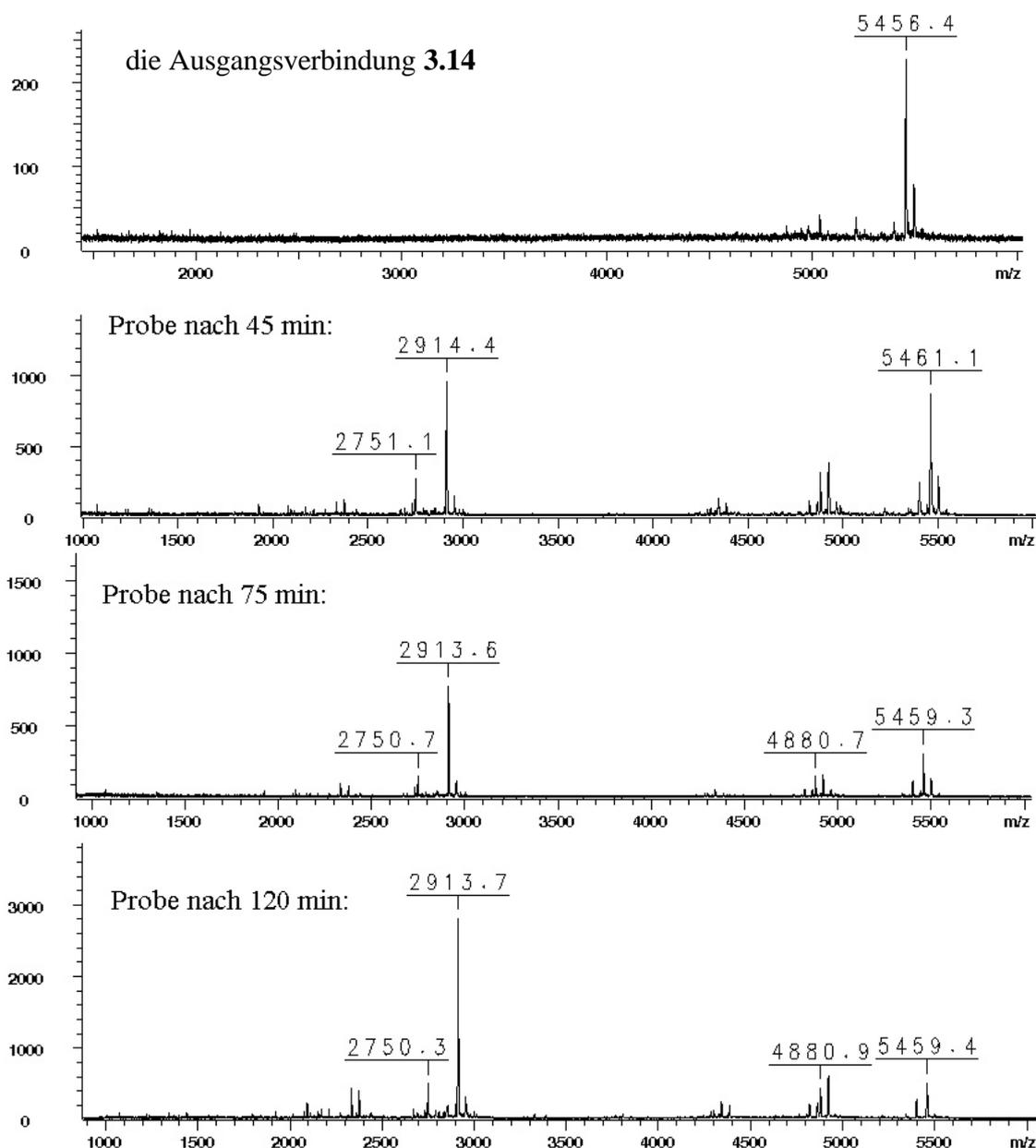


Abb. 4.12: Um die Spaltung des Trehalose-zentrierten Glycoclusters **3.14** mit Hilfe des MALDI-TOF-Massenspektrometers verfolgen zu können, wurde jeweils nach 45, 75 und 120 Minuten ein Drittel des Ansatzes aufgearbeitet, und mit dem im Kapitel 2 optimierten Protokoll für die MALDI-TOF-Messung präpariert. (Matrix: nor-Harmane; Lösungsmittel: Aceton; Dopingmittel: NaI; Präparationstechnik: pre-mix; Die Spektren sind nicht isotopenaufgelöst und nur grob kalibriert. Es werden mittlere Molekülmassen der Natrium-Addukte angezeigt.)

Bromhexanol ist zwar zur Spaltung geeignet, jedoch sind **4.07** und **3.14** per Dünnschichtchromatographie nicht unterscheidbar und ihr Molekulargewicht ist für eine Trennung auf Sephadex LH-20 zu groß. Es mußte daher für diese Verbindungen ein neues Reinigungsprotokoll entwickelt werden.

Chromatographische Trennungen an Sephadex-Materialien erfolgen in erster Linie nach dem Größen-Ausschluß-Prinzip. Das Dextran-Material aus dem Sephadex-Gele bestehen quillt in unterschiedlichen Lösungsmitteln unterschiedlich stark und bildet dabei Hohlräume unterschiedlicher Größe aus. So bildet z. B. das hydroxypropylierte Dextran-Gel Sephadex LH-20 in Dichlormethan/Methanol 1:1 Hohlräume aus, deren Größe in etwa dem hydrodynamischen Volumen von Verbindungen der Molmasse von ca. 500 bis ca. 2500 g/mol entspricht. Daher kann vereinfacht gesagt werden, daß Moleküle mit einer Molmasse kleiner ca. 500 g/mol in alle Hohlräume wandern und gemeinsam als letztes eluiert werden. Dies geschieht mit einem Flüssigkeitsvolumen, welches in etwa dem Gesamtflüssigkeitsvolumen der Gel-Säule entspricht. Während Moleküle mit einer Molmasse größer ca. 2500 g/mol in die Hohlräume nicht eindringen können und daher gemeinsam als erstes mit einem Flüssigkeits-

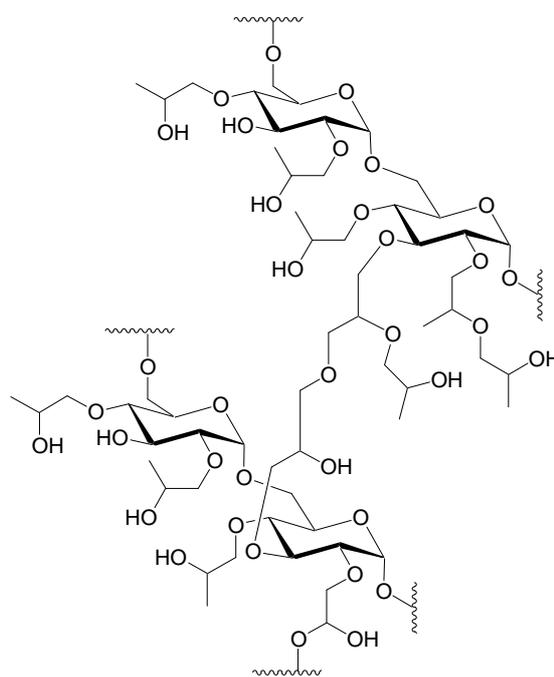


Abb. 4.13: Struktur von Sephadex LH-20

volumen eluiert werden, welches dem Gesamtflüssigkeitsvolumen vermindert um das Flüssigkeitsvolumen in den Hohlräumen des Gels entspricht. Moleküle mit einer Molmasse zwischen ca. 500 und 2500 g/mol können nur in einen Teil der Hohlräume eindringen und werden nach Größe getrennt eluiert.

Der Hersteller Pharmacia stellt zwei hydroxypropylierte Dextran-Gele, Sephadex LH-20 und Sephadex LH-60, zur Verfügung, die sich für den Einsatz mit organischen Lösungsmitteln wie Dichlormethan eignen. Während 1 g Sephadex LH-20 in Dichlormethan auf ein Volumen von 3.6-3.9 ml anquillt, quillt 1 g Sephadex LH-60 in dem gleichem Lösungsmittel auf ein Volumen von 11.0-11.3 ml und soll Moleküle der ungefähren Molmasse von 5000 bis 20000 g/mol trennen. Dieses bedeutet, daß Moleküle im Bereich von 2500 bis 5000 g/mol bei einer Anwendung der Sephadex LH-Materialien gemäß Herstellerangaben nicht aufgetrennt werden

können, was wiederum der Grund dafür war, in Kapitel 3 Glycocluster wie **3.14** mit einem sehr großen Überschuß an Mannosylimidat herzustellen.

Bei Verwendung von Aceton als Elutionsmittel mit Sephadex LH-60 quillt 1 g des Materials nur auf ein Volumen von 5.5-5.8 ml an, und die Hohlräume im Material sind entsprechend kleiner. Insbesondere in Zusammenhang mit Sephadex LH-20¹¹⁸ wird aber berichtet, daß Sephadex-Materialien mit Lösungsmittel wie Aceton oder Essigester nicht mehr nach den Größen-Ausschluß-Prinzip, sondern nach den Prinzipien der Adsorbtionschromatographie trennen. Um so überraschender war es, als mit Sephadex LH-60 und Aceton als Elutionsmittel eine Trennung der Glycocluster **4.07** (2890 g/mol) und **3.14** (5435 g/mol) erreicht werden konnte, die hinreichend gut war, um die Reinigung der Produkte der Trehalose-Spaltungsreaktion zu erlauben.

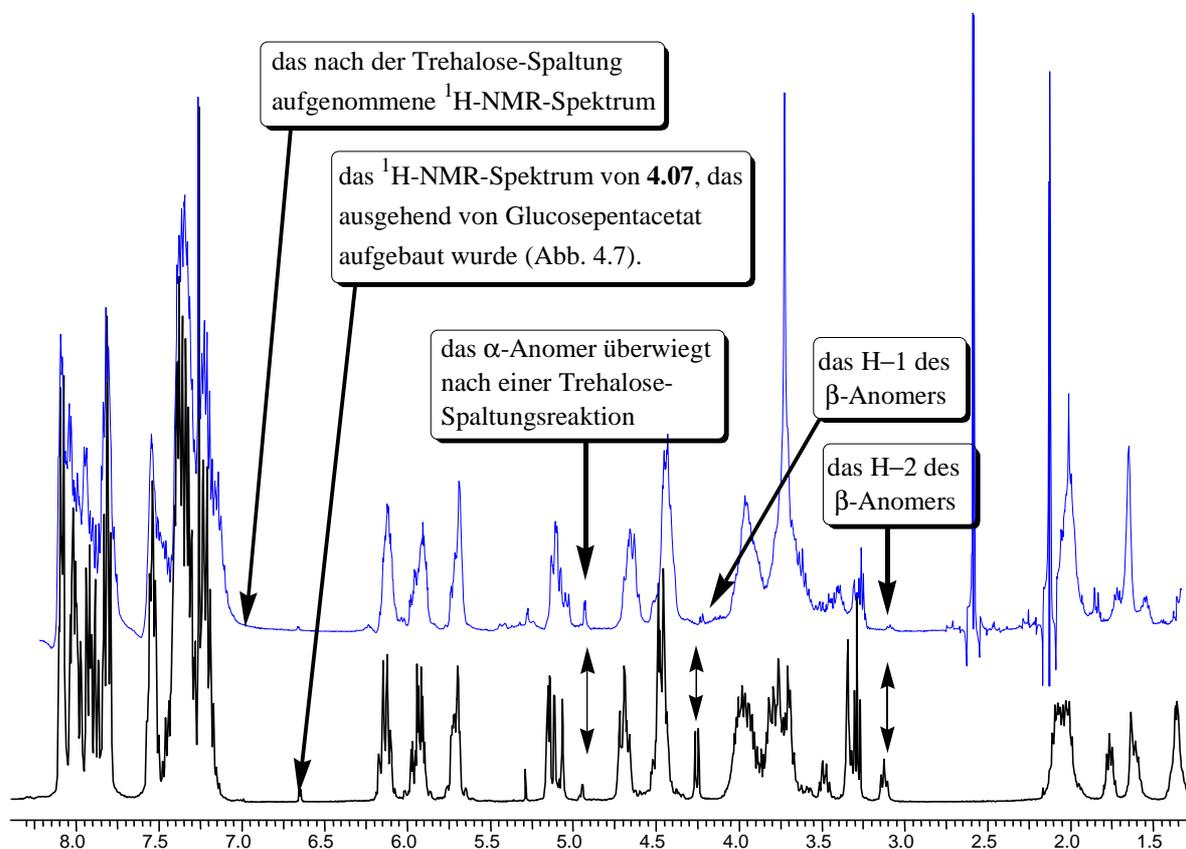


Abb. 4.14: Die Qualität des ¹H-NMR-Spektrums des über die Spaltung der interglycosidischen Bindung des Trehalose-zentrierten Glycoclusters **3.14** hergestellten Glycoclusters **4.07** (a/b Gemisch) ist relativ gering, verglichen mit dem ¹H-NMR-Spektrum des Glycoclusters **4.07**, der ausgehend von Glucosepentaacetat hergestellt wurde. Es wurde ein Vergleichspektrum mit leichten Anomerisierungsfehler von **4.07** gewählt, um die anomeren Protonen, α und β einwandfrei identifizieren zu können. Nach einer Trehalose-Spaltung erhält man ein Produkt mit einem über 50 %-igen Anteil des α-Anomers.

Nach einer Umsetzung von 54 mg des Trehalose-zentrierten Glycoclusters **3.14** in 10 ml trockenem Dichlormethan mit 0.05 ml 6-Bromhexanol und 0.5 ml BF₃·OEt₂ konnten mit Hilfe des neuen Aufarbeitungsprotokolls 18.5 mg **4.07** (a/b Gemisch) isoliert werden (Ausbeute 65 %). Das ¹H-NMR-Spektrum und das MALDI-TOF-Spektrum zeigen deutliche

Strukturdefekte des über die Trehalose-Spaltung hergestellten funktionalisierbaren Glycoclusters und einen Anteil des α -Anomers von über 50 % (Abb. 4.14).

Wenn man beide Synthesewege zur Synthese des Bromhexyl-funktionalisierten, Trehalose-zentrierten Glycoclusters **4.07** vergleicht, so wird schnell deutlich, daß der Syntheseweg über die Spaltung des Trehalose-zentrierten Glycoclusters **3.14** zwar weniger Reaktionsstufen umfaßt, aber dennoch mehr Reinigungsschritte und Arbeitszeit erfordert als der direkte Weg zum Aufbau von **4.07** ausgehend von dem 6-Bromhexylglycosid **4.03**. Außerdem liefert der Syntheseweg über die Trehalose-Spaltung ein Produkt mit einer deutlich niedrigeren Reinheit, so daß für die weiteren Synthesen nur der anomenreine, Struktur-perfekte, amino-funktionalisierte Glycocluster **4.10** verwendet wird, welcher ausgehend von dem 6-Bromhexylglycosid **4.03** hergestellt wurde.

Die hier optimierten Bedingungen zur Spaltung interglycosidischer Bindungen in Glycoclustern könnten sich jedoch bei der Synthese aminofunktionalisierter, Disaccharid-zentrierter Glycocluster wie z. B. **4.15** als nützlich erweisen (Abb. 4.15). Denn der Syntheseweg ausgehend von 6-Bromhexyl-glycosid **4.03** sollte sich, wegen der zu erwartenden höheren Polarität der Zwischenprodukte, nicht auf Bromhexyl-glycoside von Disacchariden übertragen lassen.

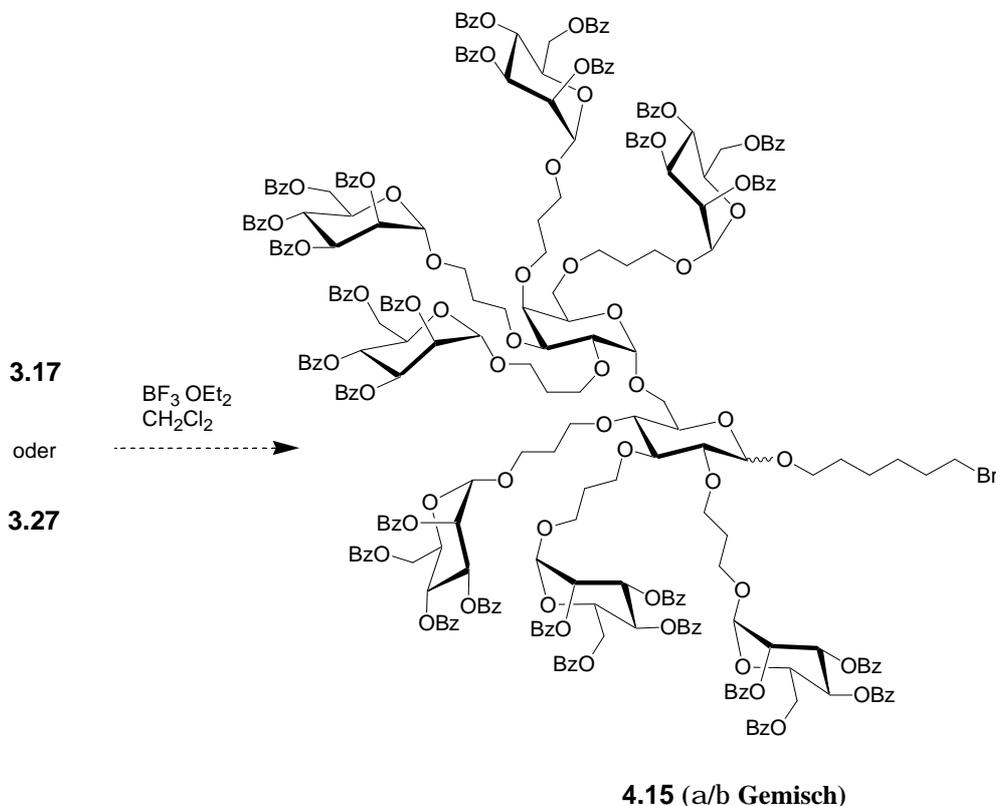


Abb. 4.15: Für die Synthese eines Melibiose-zentrierten, funktionalisierbaren Glycoclusters sollte sich der Weg über eine Spaltung des Raffinose-zentrierten Glycoclusters **3.17** (oder des Struktur-defekten Melibiose-zentrierten Glycoclusters **3.27**) besser eignen, als der direkte Weg ausgehend von einem Melibiosid.

Biotinylierte Kohlenhydrat-zentrierte Glycocluster

Glycocluster für Immunbindungsassays

Die starke Wechselwirkung von Biotin mit dem Peptid Avidin und dem tetravalenten Peptid Streptavidin wird in der Immunochemie als eine Art Universalkupplung genutzt. Die Biotinylierung von Glycokonjugaten eröffnet u. a. vielfältige Möglichkeiten bei deren Einsatz in ELISAs, die auf einfache Art und Weise die Bestimmung der biologische Aktivität von Glycokonjugaten ermöglichen. Ein Beispiel hierfür ist der ELISA von Gervay-Hague zur Bestimmung der inhibitorischen Potenz von GalCer-Mimetika gegenüber Gp120 des HIV-1-Virus (Abb. 4.16 und 4.17).¹¹⁹

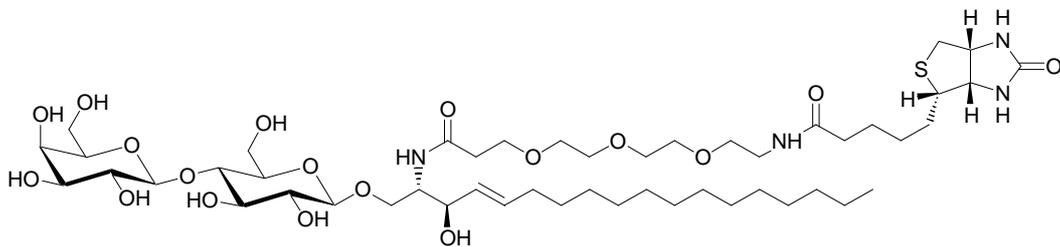


Abb. 4.16: Biotinyliertes wasserlösliches GalCer-Mimetikum (Gervay-Hague).

Gervay-Hague verankerte biotinylierte Glycolipide auf einer mit Avidin beschichteten Mikrotiterplatte und bestimmte den Anteil der Viren, die während einer bestimmten Inkubationszeit an das Glycolipid gebunden hatten, mit Hilfe einer Farbreaktion, welche durch eine an das Virus gebundene Peroxidase katalysiert wurde.

ELISA (Gervay-Hague, mit dem HIV-1-Virus)

- 1) Mikrotiterplatte mit Avidin beschichten
- 2) Glycolipid mit Biotin an Avidin binden
(nicht gebundenen Cluster wegwaschen)
- 3) mit Enzym-konjugierten Virus inkubieren
(nicht gebundenen Virus wegwaschen)
- 4) Substrat zugeben und gebundenen Virus über eine Farbreaktion quantifizieren

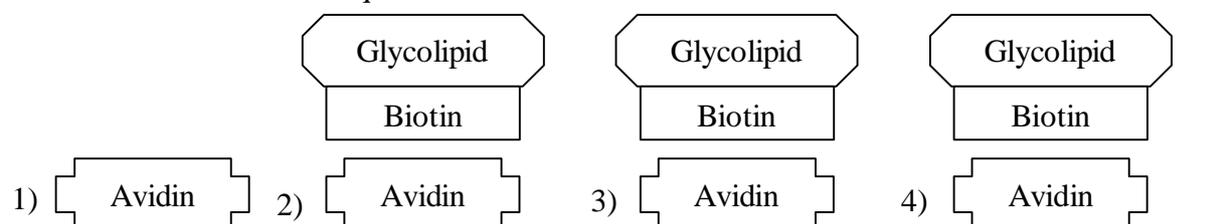


Abb. 4.17: Eine schematische Darstellung des ELISAs nach (Gervay-Hague).

Ein weiteres Beispiel stammt von Whitesides, der Influenza-Viren auf, mit Fentuin beschichteten, Mikrotiterplatten immobilisierte und mit Polymeren, die durch Kopolymerisation von Sialinsäurederivaten des Acrylamids, Biotinderivaten des Acrylamids

und Acrylamid hergestellt worden waren, inkubierte. Nach den Wegwaschen von nicht gebundenen Polymer, wurde der gebundene Anteil des Polymers mit einer Streptavidin-konjugierten Phosphatase gekuppelt, welche *p*-Nitrophenylphosphat zu gelben *p*-Nitrophenol umsetzte (Abb. 4.18).³⁶

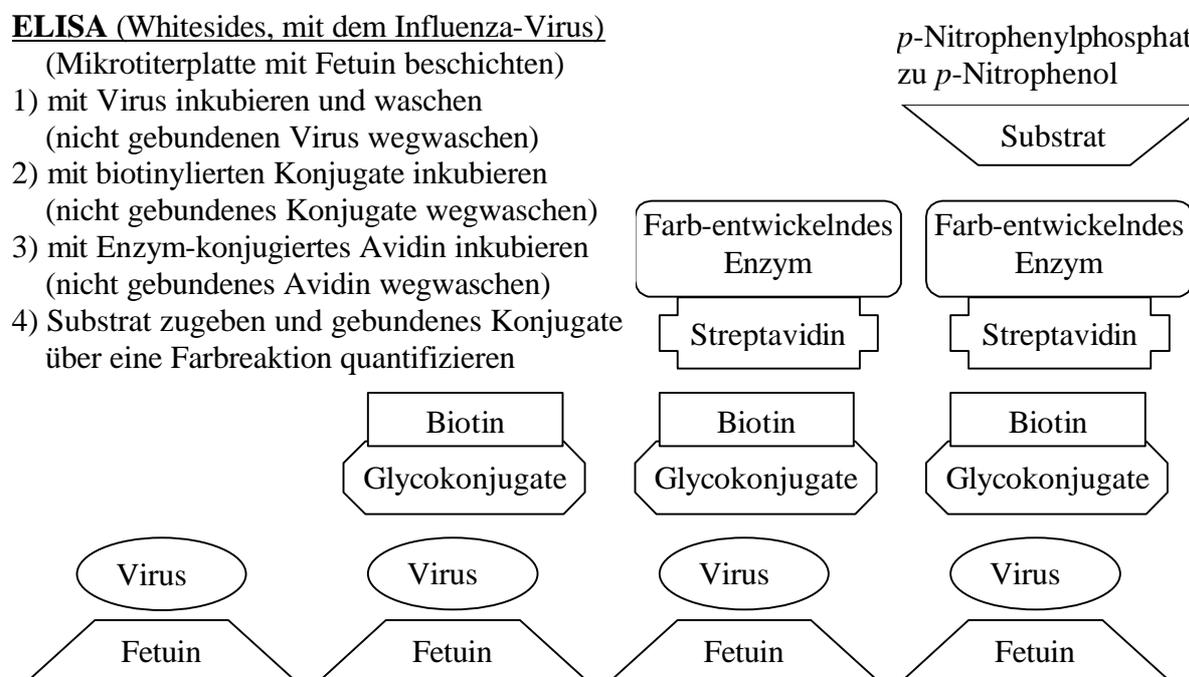


Abb. 4.18: Eine schematische Darstellung des ELISA nach Whitesides

Der Whitesides ELISA setzt ein direkt mit Streptavidin konjugiertes Enzym ein und ist somit auch ein Beispiel für die LAB (Labeled Avidin Biotin)-Technik. Sowohl für die LAB- als auch für die ABC-(Avidin-Biotin-Complex)-Technik sind viele Komplexe kommerziell erhältlich und es kann eine Vielzahl von Konjugaten zusammengesetzt werden. Von Bednarski wurden Glycokonjugate aus Avidin oder Streptavidin mit biotinylierten, C-glycosidisch gebundenen Mannose-Resten zur Inhibition der Type-1-Fimbrien von *E. coli* verwendet,¹²⁰ genauso sollte das tetravalente Streptavidin in Verbindung mit biotinylierten **4.10** auch als Core für einen Hexadecacluster benutzt werden können (Abb. 4.19).

Für die Verknüpfung von Verbindungen mit einer freien Aminogruppe wie dem aminofunktionalisierten Glycocluster **4.10** mit Biotin sind zahlreiche aktivierte Biotinverbindungen käuflich erwerbbar oder einfach herzustellen. Für die Synthese des biotinylierten Clusters **4.16** wurden zwei dieser Reagenzien ausprobiert. Mit dem über eine Sulfosuccinimidylgruppe aktivierten Biotinaktivester wurde **4.10** unter extrem milden Bedingungen in Wasser biotinyliert (Abb. 4.20, Methode A) und mit dem billigeren Succinimidylester ohne Sulfogruppe wurde **4.10** in Methanol biotinyliert (Abb. 4.20, Methode B).

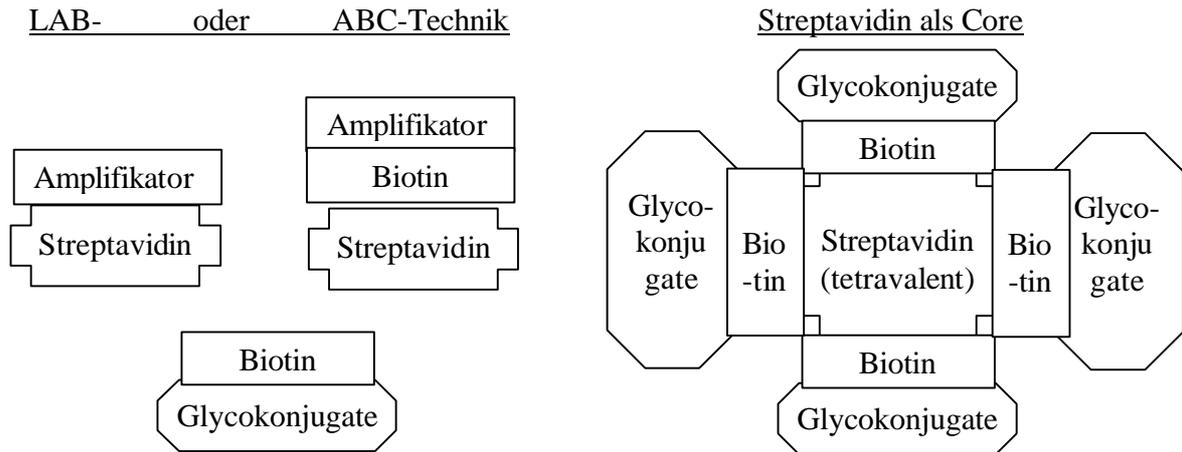


Abb. 4.19: LAB und ABC Technik, Streptavidin als Core

Für die Aufarbeitung einer Kupplungsreaktion in Methanol werden zwei Arbeitstage weniger benötigt, weil eine Trennung mit Methanol an Sephadex LH-20 schneller erfolgen kann als eine Aufreinigung mit Wasser an Biogel P2 und zudem keine Gefriertrocknung notwendig ist. Außerdem kann der nicht sulfonierte Aktivester einfach aus Biotin mit Di-succinimidylcarbonat (DSC) hergestellt werden.¹²¹

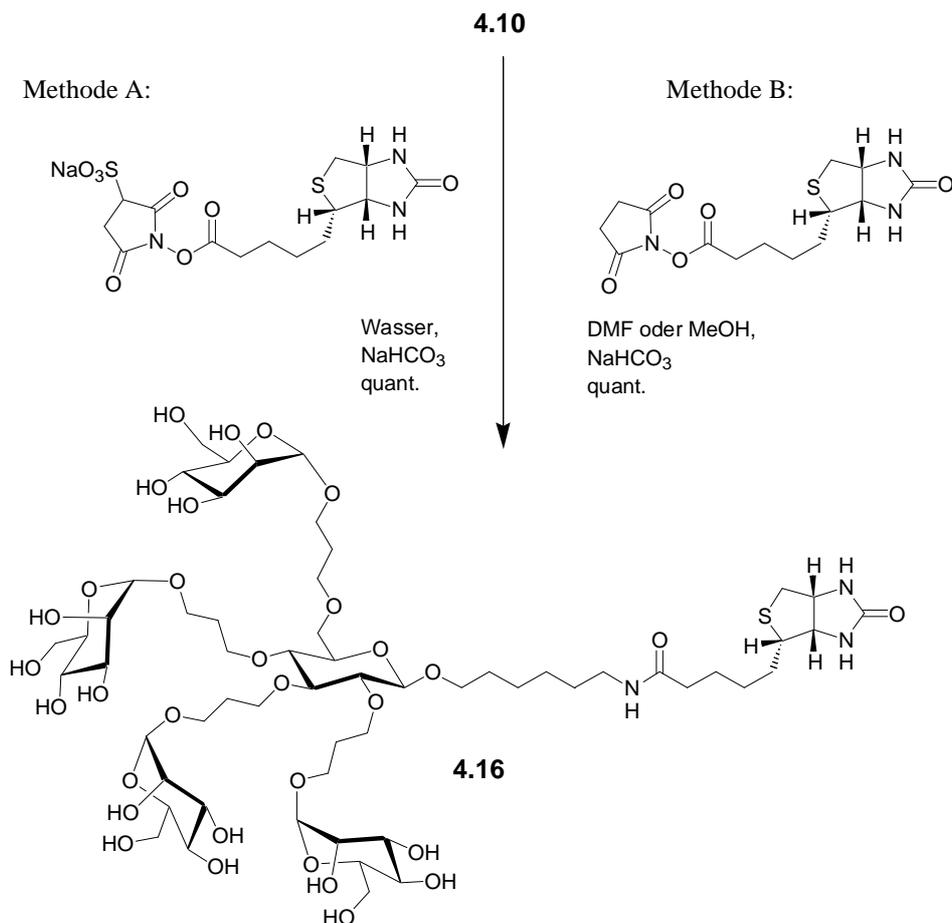


Abb. 4.20: Synthese des biotinylierten Glycoclusters **4.16**.

Fluoreszierende Kohlenhydrat-zentrierte Glycocluster

Visualisierung und Quantifizierung von Inhibition

Eine der Methoden biologische Vorgänge sichtbar zu machen und zu quantifizieren, besteht in der Anwendung von Fluoreszenzmarkern.¹²³ Kiessling hat z. B. die Bindungsenergie für die Bindung von mit Fluorescein funktionalisierten C-Glycosiden an das Lektin Convanavalin A über die Messung der Fluoreszenz-Anisotropie bestimmt, welche mit der Bindung an das Lektin abnimmt, da größere Aggregate bei sonst gleichen Bedingungen langsamer rotieren als kleine Aggregate (Abb. 4.22).¹²⁴

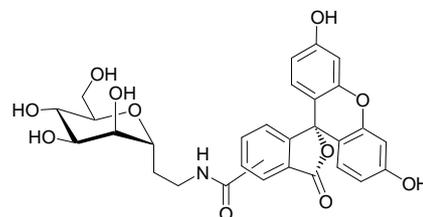


Abb. 4.22: Fluoreszenz-markiertes C-Glycosid (Kiessling)

Furneaux hat Akzeptoren für Sialyltransferasen mit Fluorescein markiert, um in Aktivitätsassays die Donorkonzentration über den Cytosinmonophosphat (CMP)-Rest zu messen und die Akzeptorkonzentration, sowie die Identität und Konzentration aller Produkte über den Fluorescein-Rest erfassen zu können (Abb. 4.23).¹²⁵

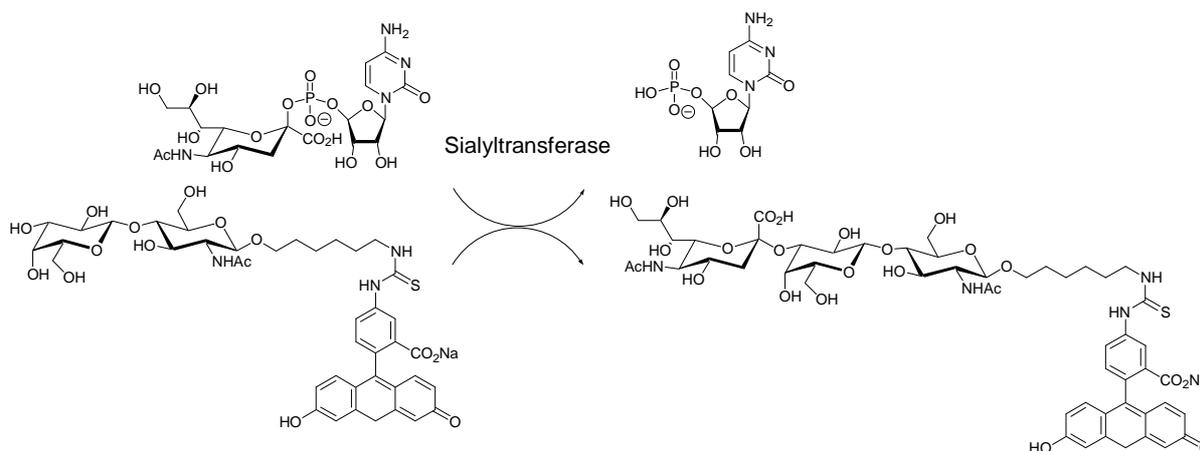


Abb. 4.23: Ein Assay zur Bestimmung der Aktivität von Sialyltransferasen, bei dem alle Komponenten mit Hilfe einer HPLC mit Dioden-Array-Detektor quantitativ verfolgt werden können (Furneaux).

Von Roy wurde ein Tris(aminoethyl)amin-Cluster mit Fluorescein funktionalisiert (Abb. 4.24),¹²⁶ und Corradini benutzte Dansyl-funktionalisierte Cyclodextrine als Sensoren für Kupferionen und kleine Moleküle.¹²⁷ Fluoreszenz-markierte Glycokongulate eignen sich aber auch zur einfachen Markierung und

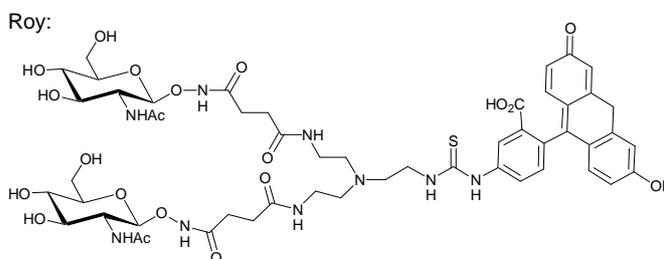


Abb. 4.24: Ein Fluoreszenz-markierter Glycocluster (Roy)

Beobachtung bestimmter Bakterien oder Zellen mit entsprechenden Rezeptoren. So kann z. B. die Bindung von Glycoclustern an L-Selektine der Lymphozyten mit Hilfe Fluorescein-

markierter Glyocluster sichtbar gemacht werden.¹²⁸ Der bekannteste Fluoreszenzmarker ist Fluorescein, aber auch viele andere Fluoreszenzmarker wie Rhodamin¹²⁹ oder Dansylderivate¹³⁰ sind wiederum als aktivierte Kupplungskomponenten in Form von Aktivestern, oder Isothiocyanaten vielfach verwendet worden und meistens kommerziell verfügbar.

Auch in dieser Arbeit wurde zuerst Fluorescein als Fluoreszenzmarker ausprobiert und versucht **4.10** mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC) zu koppeln (Abb. 4.25).

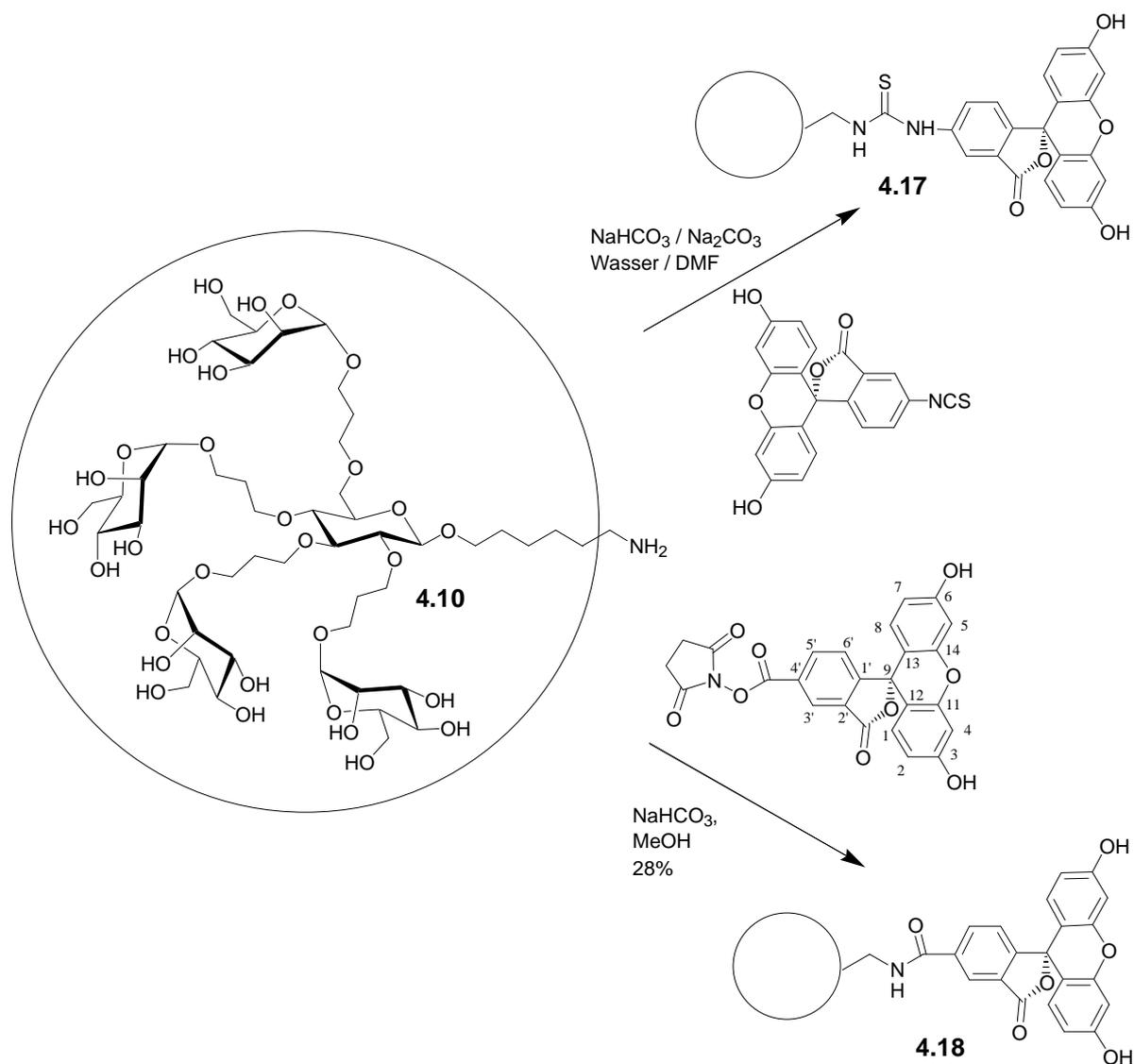


Abb. 4.25: Synthese der Fluorescein-markierten Glyocluster **4.17** und **4.18**

Das Aufziehen von Xanthenfarbstoffen auf Celite ermöglicht häufig eine einfache Fluoreszenzmarkierung in Wasser.¹³¹ Bei der Umsetzung von **4.10** mit Fluoresceinisothiocyanat auf Celite wurden jedoch nur Zersetzungsprodukte isoliert. Erst nach Zusatz von DMF und einem $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ -Puffergemisch sowie extremen Lichtausschluß konnte in den MALDI-TOF-Massenspektren eine quasi quantitative Reaktion zu dem Fluorescein-markierten Glyocluster **4.17** beobachtet werden. Während der

Aufarbeitung erfolgte dann jedoch eine weitgehende Zersetzung von **4.17** und es konnte nur eine kleine, salzhaltige Fraktion des Produktes isoliert werden, von der dann aber noch ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum aufgenommen werden konnte.

Um nicht gleichzeitig eine neue Kupplungsmethode und die Kupplung mit einem empfindlichen Fluoreszenzfarbstoff optimieren zu müssen, wurden daraufhin die Kupplung von **4.10** mit dem Succinimidylester des Fluoresceins untersucht. Wie die Reaktionskontrolle mit Hilfe des MALDI-TOF-Massenspektrometers zeigte, kann der funktionalisierbare Glycocluster **4.10** einfach mit dem Succinimidylester des Fluoresceins in NaHCO_3 gepufferten Methanol zum Fluorescein-markierten Glycocluster **4.18** umgesetzt werden (Abb. 4.26).

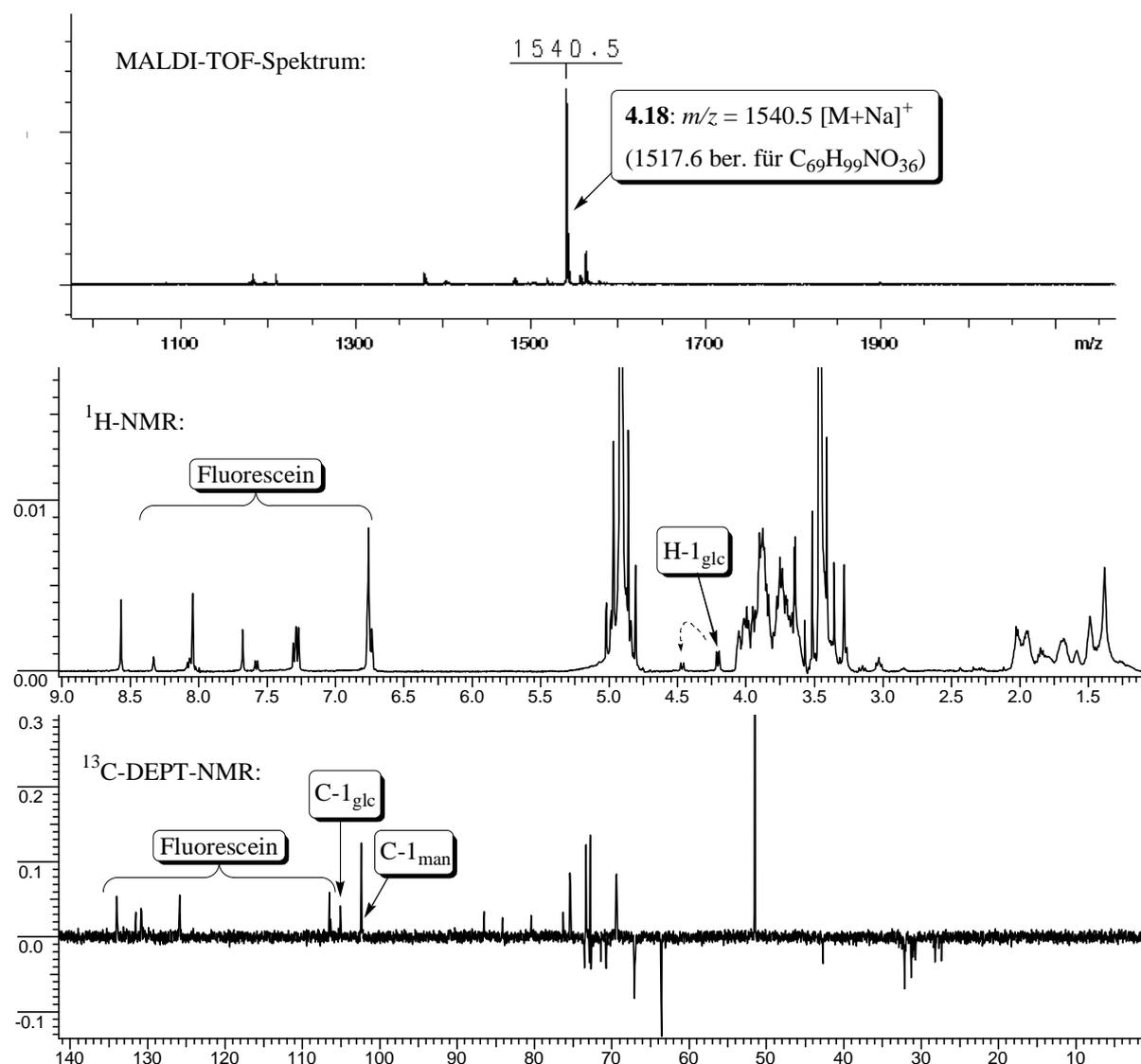


Abb. 4.26: Die MALDI-TOF-, $^1\text{H-NMR}$ - und $^{13}\text{C-DEPT-NMR}$ -Spektren des Fluorescein-markierten Glycoclusters **4.18**.

Bei der NMR-spektroskopischen Untersuchung zeigt sich jedoch ein ungewöhnliches Problem. Das anomere Proton $H-1_{\text{glc}}$ des Glucose-Kerns von **4.18** spaltete sich auf, wobei die Intensität der Protonen des Fluorescein-Teils abnimmt (Abb. 4.26).

Als ein möglicher Grund könnte die Eigenschaft der Xanthenfarbstoffe, in einem pH-abhängigen Gleichgewicht vorzuliegen, diskutiert werden. Ihre Säurefunktion kann je nach pH protoniert oder deprotoniert sein, in unpolaren Lösungsmitteln liegen sie bevorzugt als Lacton vor, und oberhalb pH 9 dominiert das Dianion, während der Farbstoff im stark Sauren als Kation vorliegt (Abb. 4.27). Jedoch zeigen alle anderen Verbindungen in diesem Kapitel, daß der Hexyl-Spacer den Kohlenhydrat-Teil der Verbindung **4.18** vollständig von jedem Einfluß des Fluorescein-Teils abschirmen sollte.

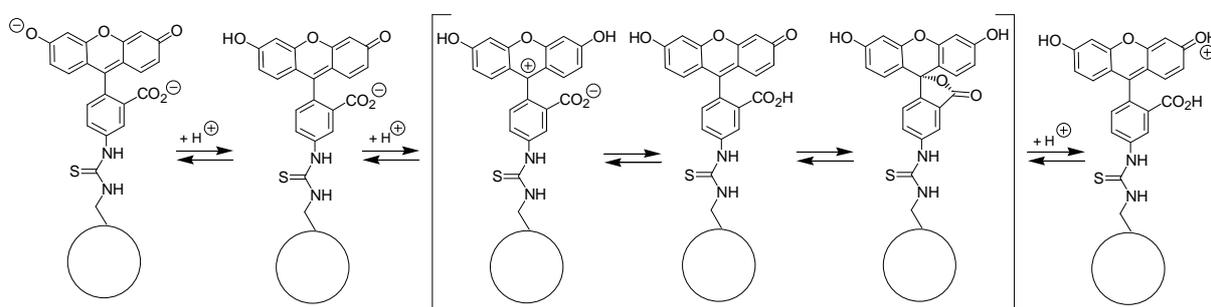


Abb. 4.27: Fluorescein-markierte Moleküle liegen in einem pH-abhängigen Gleichgewicht vor. In organischen Lösungsmitteln überwiegt das farblose Lacton. Häufig wird der zwitterionischen Struktur eine gelb-orange und der quinoide Struktur eine rote Farbe zugeordnet, so daß angenommen werden kann, daß der Fluorescein-Teil in **4.17** und **4.18** bevorzugt in der zwitterionischen Struktur vorliegt. Es konnte jedoch kein Strukturbeweis geführt werden, da das hierfür notwendige Breitband-entkoppelte ^{13}C -NMR-Spektrum nicht aufgenommen werden konnte. Das C-9 des Fluoresceins liegt für die zwitterionischen Struktur bei 165-170 ppm, für die quinoide Strukturen bei 160 ppm und für das Lacton bei 80-85 ppm.¹³²

Alternativ könnte angenommen werden, daß die Carboxygruppe des Fluoresceins ähnlich wie in Hydrolasen eine Spaltung der glycosidischen Bindung unterstützt, aber in den MALDI-TOF-Massenspektren von **4.18** sind auch ein Jahr nach der Synthese keine Strukturdefekte erkennbar. In der Literatur wird lediglich gelegentlich über Qualitätsprobleme mit dem Fluorescein berichtet. Statt jedoch umfangreiche Untersuchungen über die Qualität des Fluoresceins anzustellen, oder etwa einfachere Zucker wie 6-Aminohexyl- β -D-glucopyranosid zu kuppeln, oder zu acetylieren, um die nicht fluoreszierenden und daher nicht lichtempfindlichen acetylierten Derivate zu untersuchen, wurde mit dem Dansyl-Kupplungsreagenz **4.19** ein Fluoreszenz-Marker einer anderen Farbstoffklasse verwendet.

Mit dem Dansyl-Kupplungsreagenz Dansylaminophenylisothiocyanat (**4.19**) konnte **4.10** in DMF ohne Probleme zum Dansyl-markierten Cluster **4.20** umgesetzt werden, der wegen seines aromatischen Restes als zweite Fraktion von der Sephadex LH-20 Säule eluiert wird und im NMR-Röhrchen über Tage stabil ist. Da das Sephadex LH-20 Gel in DMF und Methanol nahezu gleich stark quillt (auf 4.0-4.4 ml bzw. 3.9-4.3 ml pro Gramm) können

kleine Ansätze in DMF direkt auf Sephadex LH-20 Säulen aufgetragen werden, wenn die Elution mit Methanol erfolgen soll.

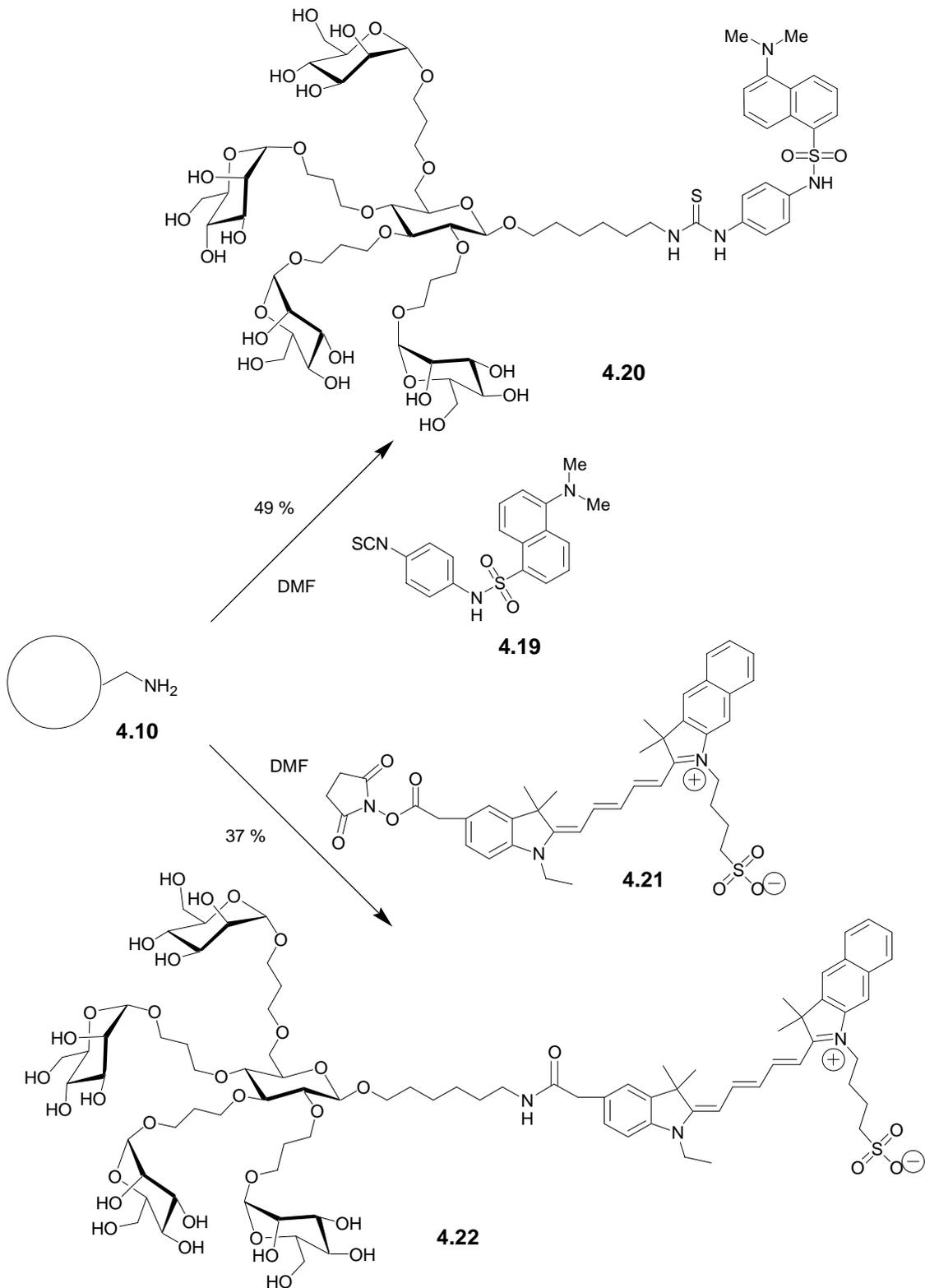


Abb. 4.28: Synthese des Dansyl-markierter fluoreszierender Glycoclusters **4.20** und des Indocarbocyanine-markierten Glycoclusters **4.22**.

Die Dansyl-Gruppe fluoresziert bei ca. 360 nm und kann daher einfach mit der entsprechenden UV-Lampe dünn-schichtchromatographisch identifiziert werden. Da das zur

Verfügung stehende MALDI-TOF Gerät aber nur über einen UV-Laser verfügt, kann andererseits kein MALDI-TOF-Spektrum aufgenommen werden, ohne daß während des Ionisierungsprozesses vielfältige photochemische Reaktionen ablaufen, welche das Spektrum unbrauchbar machen.

Im Zusammenhang mit kompetitiven Inhibitionsassays wäre es besonders interessant, unterschiedliche Glycocluster mit spezifischen Fluoreszenzmarkern auszustatten. Die Farbstoffklasse der Indocarbocyanine¹³³ würde sich hierfür besonders gut eignen, da dessen Vertreter nicht überlappende Adsorptionsbereiche besitzen, welche bei relativ hohen Wellenlängen absorbieren und fluoreszieren, wo relativ wenig Störungen auftreten. So adsorbiert (emittiert) einfaches Indocarbocyanin bei 550 nm (570 nm), während das Indodicarbocyanin, dessen Chromophor eine Vinylgruppe mehr besitzt, bei 650 nm (670 nm) adsorbiert (emittiert), so daß beide Fluoreszenzmarker einfach mit entsprechenden Filtervorsätzen separat beobachtet werden können. Der aminofunktionalisierte Glycocluster **4.10** wurde zu diesem Zwecke mit einem Aktivester eines Indodicarbocyanins **4.21**¹³⁴ gekuppelt, wobei **4.22** erhalten wurde (Abb. 4.28).

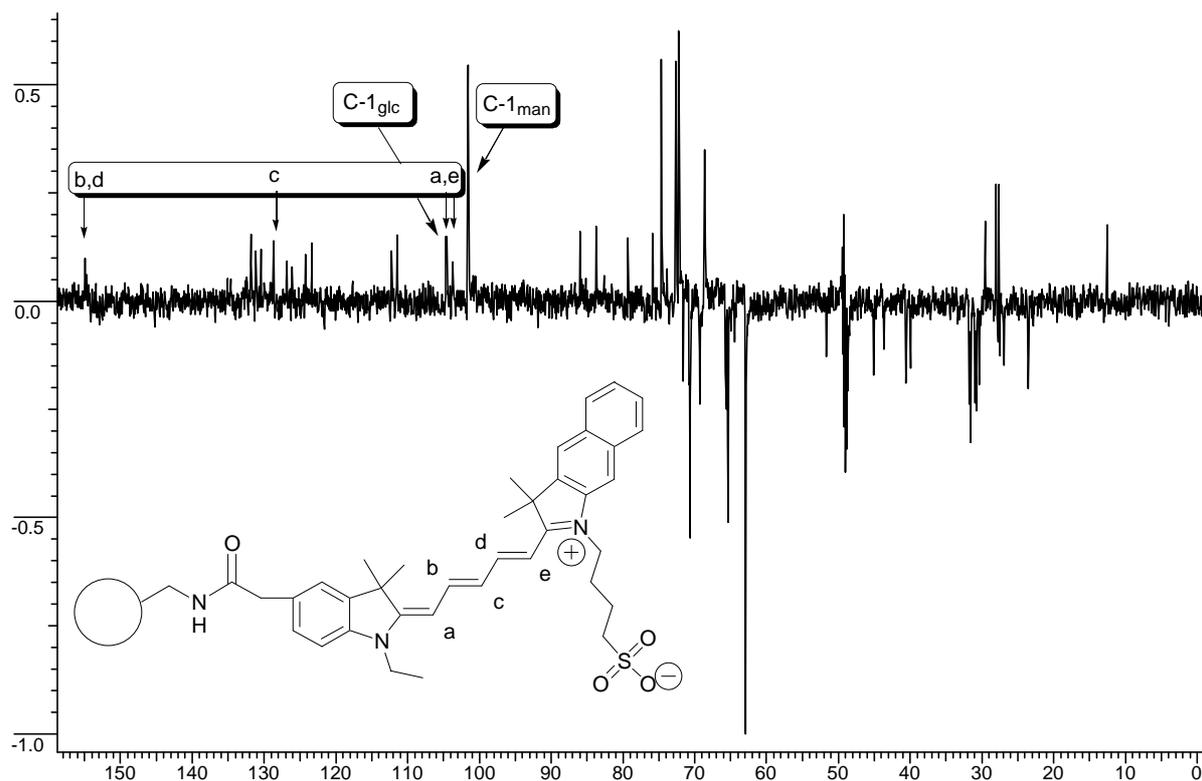


Abb. 4.29: ¹³C-DEPT-NMR-Spektrum des mit dem Fluoreszenz-Marker Indodicarbocyanin markierten Glycoclusters **4.22**

Lipophil funktionalisierte Glycocluster

Micellen, Liposomen, hydrophobe Wechselwirkungen

Häufig beruht die Adhäsion von Bakterien und Viren an Zellen des Epithelgewebes nicht nur auf einem Typ von Bindung, sondern auf einer Kombination von z. B. hydrophobe Wechselwirkungen mit Kohlenhydrat-Protein Wechselwirkungen. So konnte Wong mit einem linearen Polymer eines Konjugates aus Sialinsäure und Sphingosin das Influenza Hämagglutinin effektiv inhibieren (Abb. 4.30).¹³⁵

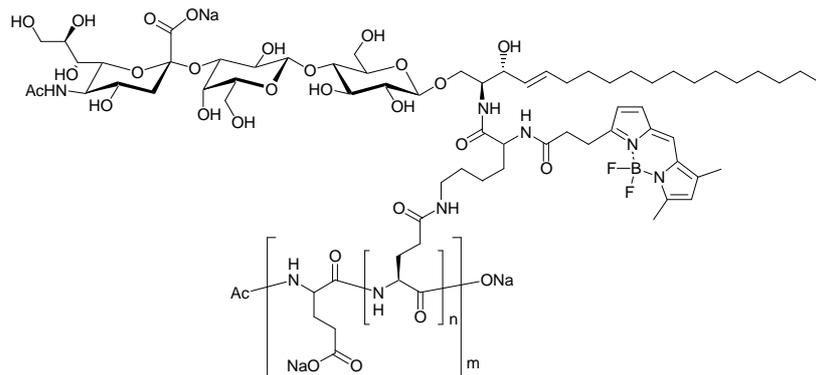


Abb. 4.30: Ein Polymer fluoreszierender Konjugate aus Sialinsäure und Sphingosin (Wong).

Lipophil funktionalisierte Kohlenhydrate können Micellen und Liposomen bilden, die sowohl als selbstorganisierende Glycocluster als auch zum Transport von Antibiotika d. h. als spezifisches "drug delivery"-System benutzt werden können.¹³⁶ Es wurden z.B. lipophil funktionalisierte Sialyl-LewisX-Oligosaccharide von DeFrees und Zalipsky in Liposomen integriert und mit Erfolg in Inhibitionsassays eingesetzt.¹³⁷ Von Aoyama wurden Micellen aus Calix[4]resorcarene-zentrierten Glycoclustern mit lipophilen Resten benutzt, um kleine Moleküle selektiv an Leberzellen zu übergeben.¹³⁸

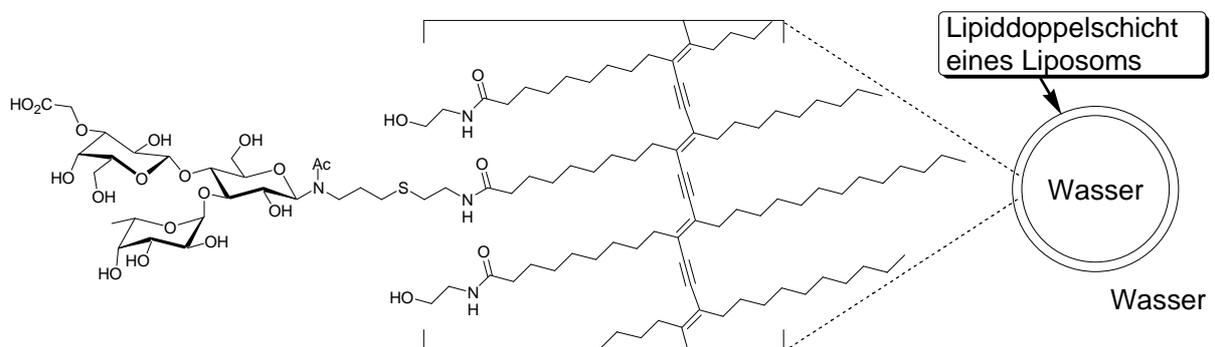


Abb. 4.31: Stabile Liposomen die Kohlenhydrat-Epitope präsentieren und mit einer Farbänderung auf deren Adhäsion an Lektine reagieren. Ein Lackmus-Test für bestimmte Viren oder Bakterien (Charych und Nagy).

Charych und Nagy haben stabile Kohlenhydrat-präsentierende Polyacetylenliposomen, hergestellt (Abb. 4.31), indem sie mit Hilfe von UV-Licht geeignete Glycolipide mit Lipiden kopolymerisiert haben.¹³⁹ Besonders interessant sind diese Polyacetylenliposomen deshalb, weil sie nicht nur als Inhibitoren z. B. für Influenza-Hämagglutinin oder Typ-1-Fimbrien von *E. coli* geeignet sind, sondern auch noch im Falle einer erfolgreichen Inhibition eine Farbänderung aufweisen, die sie zu chemischen Sensoren¹⁴⁰ machen, deren Spezifität für eine bestimmte Bakterienart durch ihre Kohlenhydratepitope bestimmt wird.

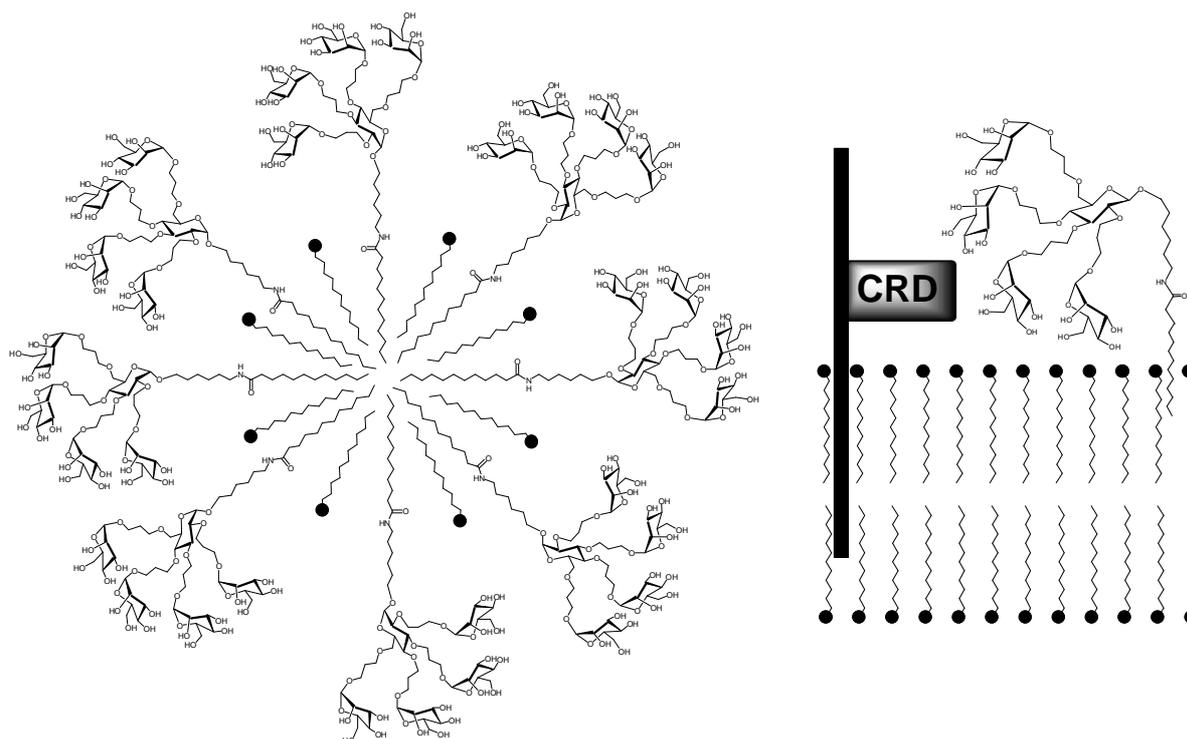


Abb. 4.32: Glyocluster mit lipophilen Resten wie **4.23** könnten in Micellen integriert oder in Membranen verankert werden. Auch eine Wechselwirkung mit den Kohlenhydrat-erkennenden Domänen benachbarter lipophiler Domänen oder Regionen ist möglich.

Liposomen können auch dazu benutzt werden Antibiotika in mit Parasiten wie *Leishmaniasis* infizierte Makrophagen zu transportieren. Da Makrophagen Mannose-spezifische-Lektine besitzen, konnten hierbei mit Mannose präsentierenden Liposomen erheblich bessere Ergebnisse erzielt werden, als mit einfachen Liposomen.¹⁴¹ Auch der funktionalisierbare Kohlenhydrat-zentrierte Glyocluster **4.10** soll exemplarisch mit der Dodecansäure zum Glycolipid **4.23** umgesetzt werden (Abb. 4.33), um einen Glyocluster zu bekommen, der Micellen bilden kann und sich mit seinen aliphatischen Rest auf Zelloberflächen oder in den Zellmembranen verankern lassen könnte (Abb. 4.32).

In verschiedenen Untersuchungen hat sich gezeigt, daß Steroide wie Cholesterol nicht nur einfach in Liposomen integriert werden können, sondern auch eine wichtige, allerdings noch weitgehend unerforschte Rolle bei viralen Infektionsprozessen spielen.¹⁴² Als Steroide mit

freier Säurefunktion kommen Cholansäure und alle anderen Derivate der Cholsäure als Kupplungskomponenten für **4.10** in Betracht, wovon hier nur exemplarisch Cholsäure mit **4.10** zum Trihydroxy-Cholanyl-Cluster **4.24** umgesetzt wurde.

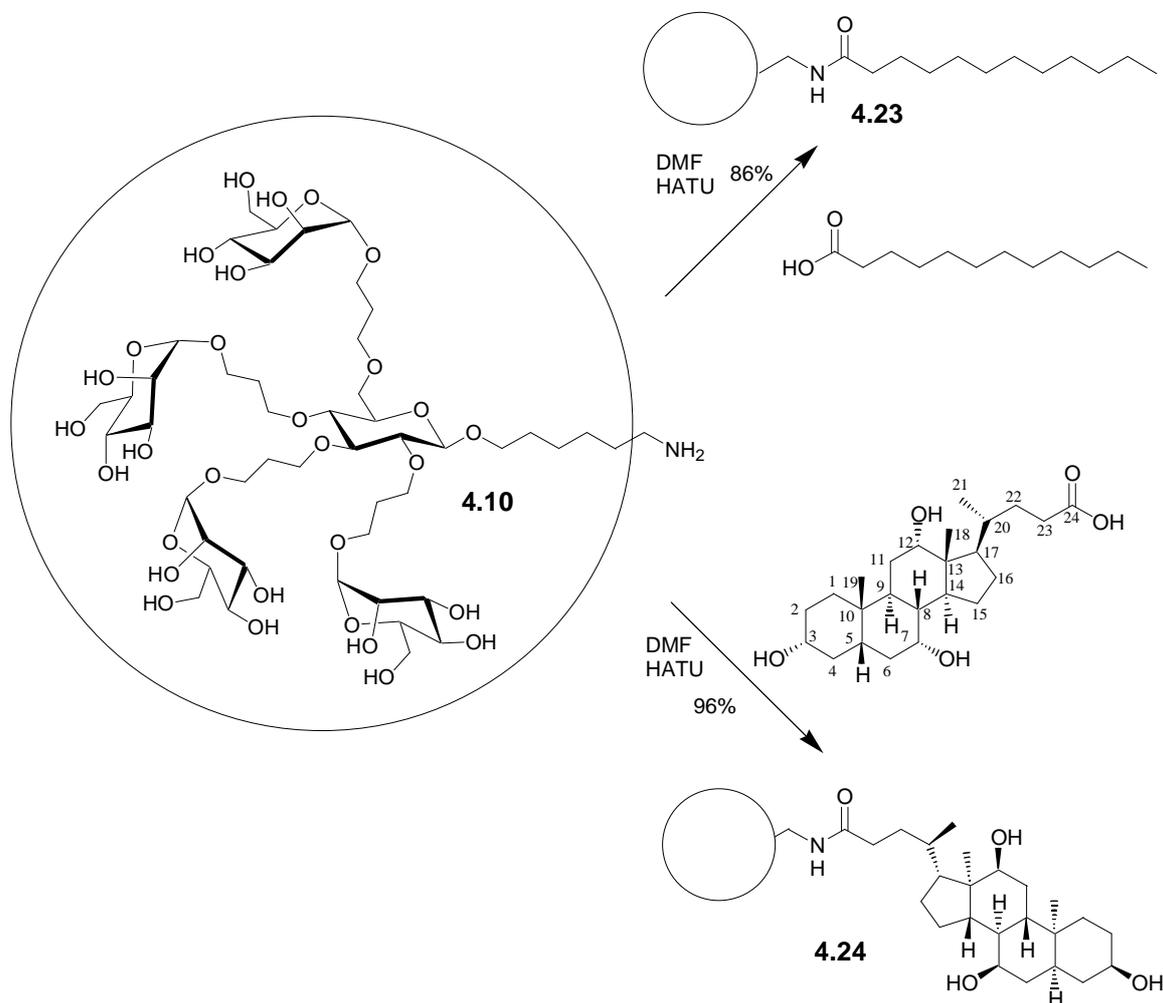


Abb. 4.33: Synthese Fettsäure- und Cholsäure-konjugierter Glycocluster **4.23** und **4.24**.

Als Kupplungsreagenz zur Herstellung der Amidbindung zwischen der Aminogruppe von **4.10** und der freien Säurefunktion von Dodecansäure wurde HATU¹⁴³ verwendet. HATU hat in den letzten Jahren viele andere Kupplungsreagenzien für Peptidbindungen verdrängt und wurde auch bereits erfolgreich für die Kupplung ungeschützter Cluster mit Carbonsäuren verwendet.¹⁴⁴ Im Jahr 1994 hat Carpino die Struktur für das von ihm 1993 vorgestellte HATU selber korrigiert.¹⁴⁵ Danach besitzt HATU keine Uronium-Struktur, sondern eine Guanidinium-Struktur (Abb. 4.34), der Name HATU wurde jedoch beibehalten.

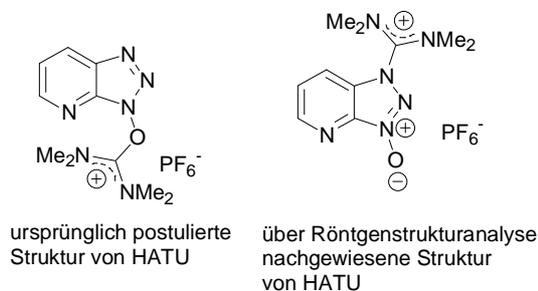
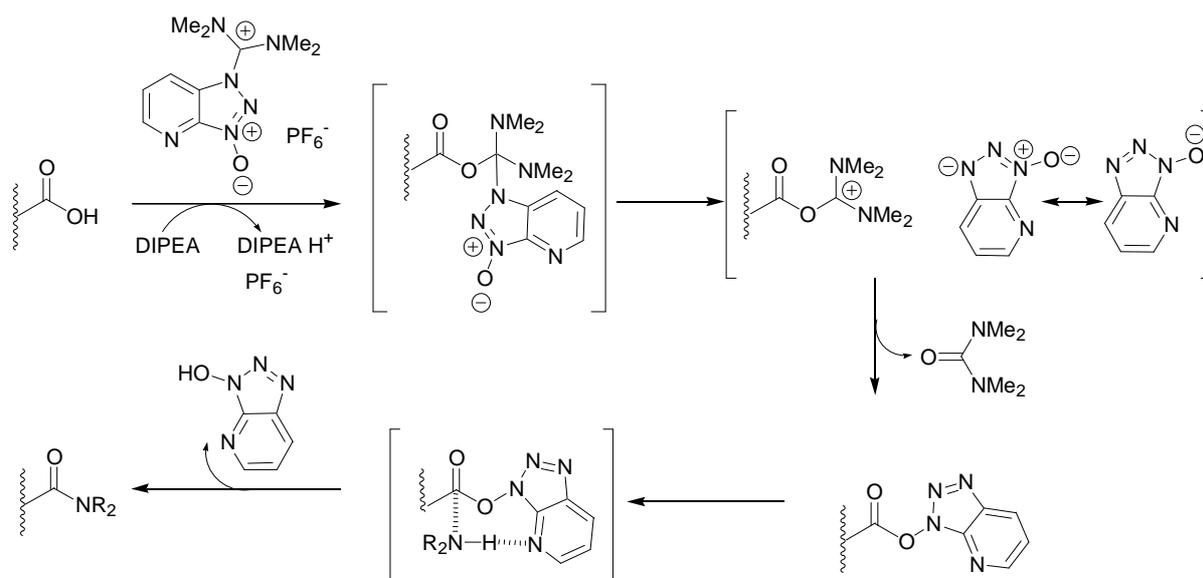


Abb. 4.34: Die Struktur von HATU


 Abb. 4.35: Mechanismus der Peptidkupplung mit HATU.¹⁴⁶

Viele Lektine, wie z. B. Typ-1-Fimbrien oder Concanavalin A, besitzen nahe den Kohlenhydrat-erkennenden Domänen hydrophobe Regionen mit aromatischen Aminosäuren.²² Über zusätzliche Wechselwirkungen mit diesen hydrophoben Regionen sowie dem Fimbrienschaft binden Mannoside mit aromatischen Resten, wie z. B. *p*-Nitrophenylmannosid oder, besonders stark, 4-Methyl-umbelliferyl-mannosid, wesentlich stärker an die Typ-1 Fimbrien von *E. coli* oder *K. pneumoniae* als einfaches Methylmannosid oder sogar viele geclusterte Mannoside (Abb. 4.36).¹⁴⁷

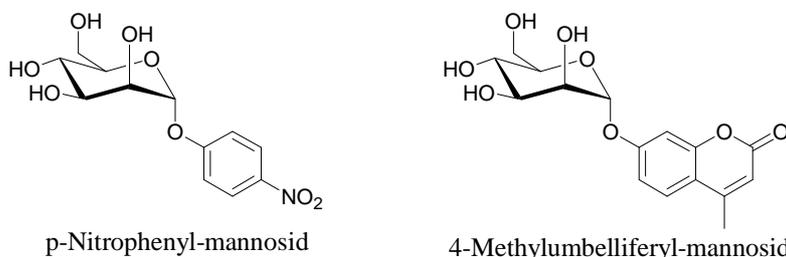
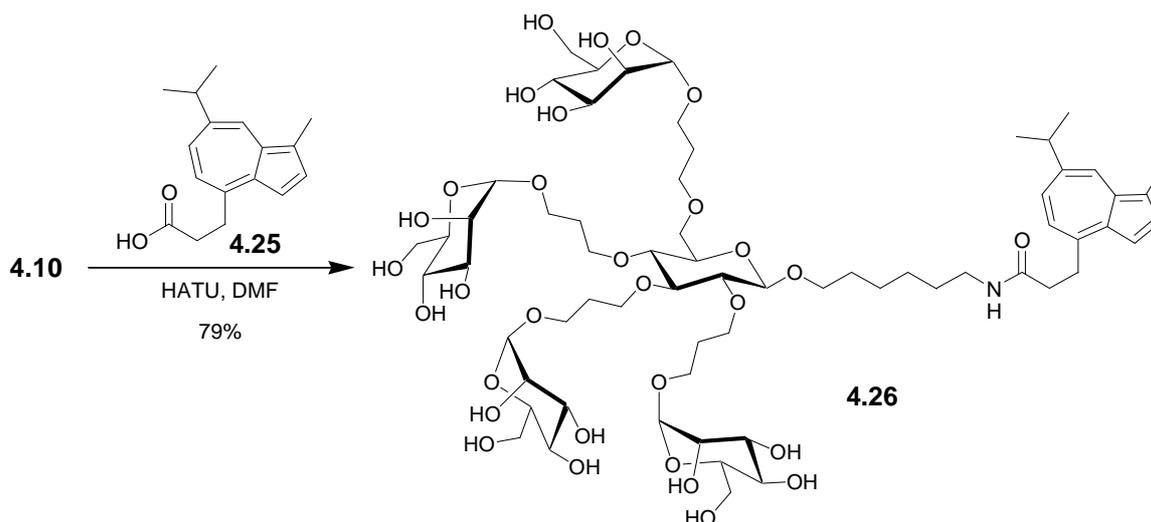


Abb. 4.36: Zwei Mannoside mit aromatischen Aglycon

Es ist daher auch sinnvoll, aromatische Reste zur Steigerung der Affinität zu Lektinen an Glycocluster zu koppeln. Ein Aromat der geeignet ist, hier zu einer weiteren Aufklärung beizutragen und gleichzeitig ungiftig ist, sowie hautpflegend und sogar entzündungshemmend wirkt, ist das Guajazulen. Durch Kupplung des Guajazulenderivates¹⁴⁸ **4.25** mit **4.10** konnte mit der HATU-Methode so der Glycocluster **4.25** synthetisiert werden, der antiphlogistische (entzündungshemmende), antiallergische und regenerative Wirkungen haben könnte (Abb. 4.37).


 Abb. 4.37: Guajazulen-konjugierter Glycocluster **4.26**.

Durch den Hexyl-Spacer werden der Kohlenhydrat- und der Guajazulen-Teil von **4.26** räumlich soweit voneinander getrennt, daß beide Teile keinen Einfluß auf die chemischen Verschiebungen des jeweils anderen Teils mehr haben. Die chemischen Verschiebungen des Kohlenhydrat-Teils von **4.24** stimmen daher nahezu exakt mit denen von **4.10** oder auch **4.26** überein, wenn beide Spektren in den gleichen Lösungsmittel gemessen werden. Das Gleiche gilt für den Kohlenhydrat- und den Steroid-Teil des Cholsäure-konjugierter Glycoclusters **4.24**. Die chemischen Verschiebungen des Steroid-Teils von **4.24** stimmen gut mit den Ergebnissen der umfangreichen NMR-spektroskopischen Untersuchungen von Blunt und Stothers überein.¹⁴⁹

Die hier aufgebauten Glycocluster enthalten nur Bindungsarten und Strukturelemente, die bereits in den menschlichen Zellen vorkommen. Es wäre daher auch interessant den Glycocluster **4.10** mit Phospholipiden, wie sie in natürlichen Zellmembranen vorkommen zu koppeln. Konjugate von **4.10** und Phospholipiden (umgangssprachlich: Lecithine) könnten auch sehr gut die tetra-antennären Glycolipide vom "high-mannose"-Typ mimikrieren.

Zur Kupplung von mit Fettsäure veresterten Phosphatidylethanolaminen mit 2-Oxo-ethyl sialyl- α (2-8)-sialosid wurde von Yoshida die reduktive Aminierung benutzt, wobei jedoch Gemische von monoantennären GD₃-Gangliosid-Mimetika und diantennären GQ_{1b}-Gangliosid-Mimetika entstanden.¹⁵⁰ Daher wurde hier die einfach zu handhabende Verknüpfungsmethode zur Kupplung von Aminen mit Hilfe von Quadratsäurediethylester gewählt, welche 1991 von Tietze¹⁵¹ vorgestellt wurde. Da die eine Estergruppe des Quadratsäurediethylesters bereits im neutralen Milieu, die zweite Estergruppe jedoch erst bei höheren pH-Werten mit Aminen reagiert, können zwei unterschiedliche Amine A und B mit

Quadratsäurediethylester gekuppelt werden, ohne daß ein Produktgemisch AA, BB, AB gebildet wird (Abb. 4.38).

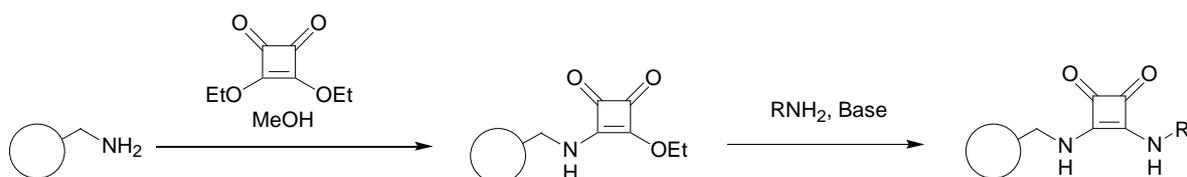


Abb. 4.38: Quadratsäure-Kupplung von Aminen (Tietze).

Mit Hilfe der Quadratsäurediethylester-Verknüpfungsmethode konnte **4.10** mit dem Phosphatidylethanolamin **4.27** gekuppelt werden (Abb. 4.39).

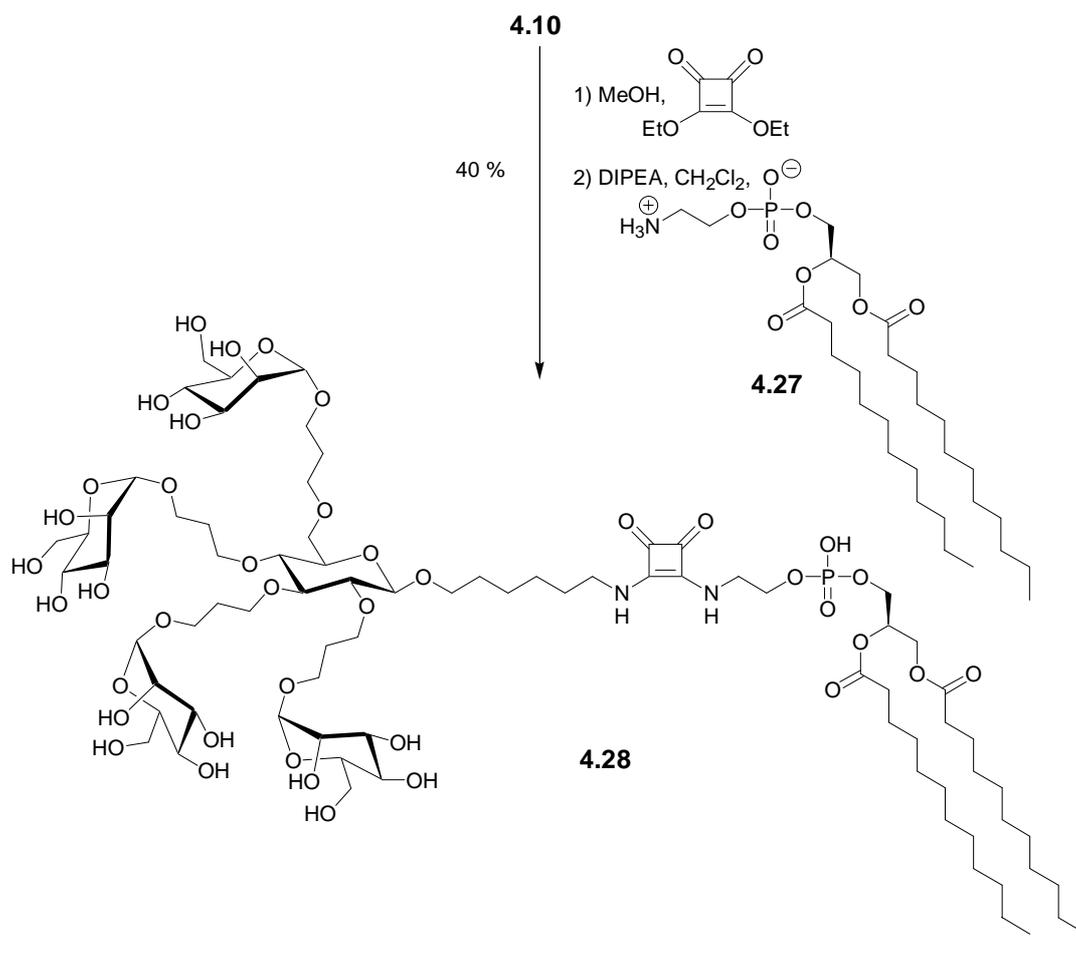


Abb. 4.39: Synthese des Glycosphingolipidmimetikas **4.28**.

Da das Phosphatidylethanolamin **4.27** nicht in Methanol löslich ist, wurde es in einem Dichlormethan/Methanol-Gemisch gelöst und dann eingesetzt. Als einzige aller in dieser Arbeit massenspektroskopisch untersuchten Verbindungen konnte das Phospholipid **4.28** nur im Negativ-Modus des MALDI-TOF-Massenspektrometers vermessen werden (Abb. 4.40).

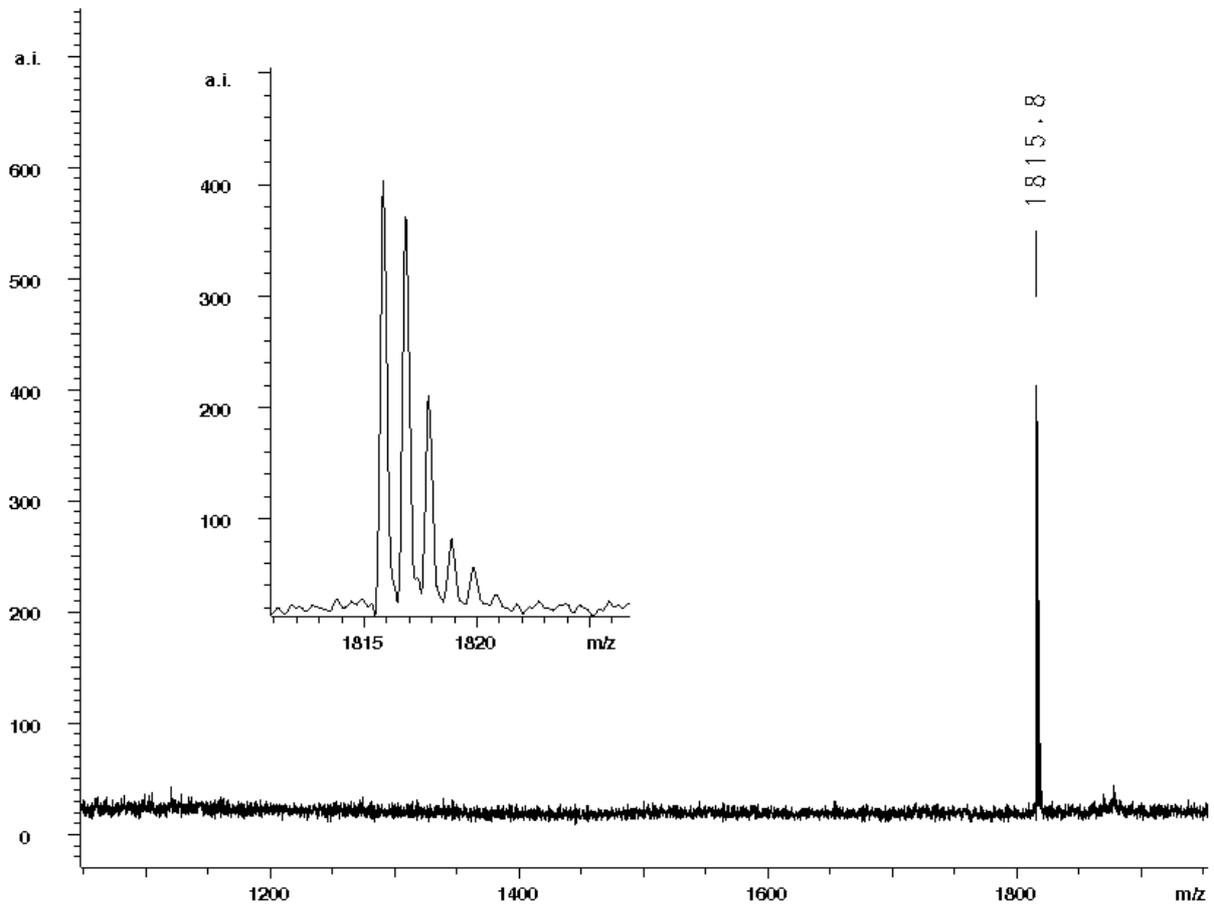


Abb. 4.40: Das MALDI-TOF-Massenspektrum des Glycolipid-Mimetikums **4.28** wurde im Negativ-Modus des MALDI-TOF-Massenspektrometers aufgenommen (Matrix: DHB).

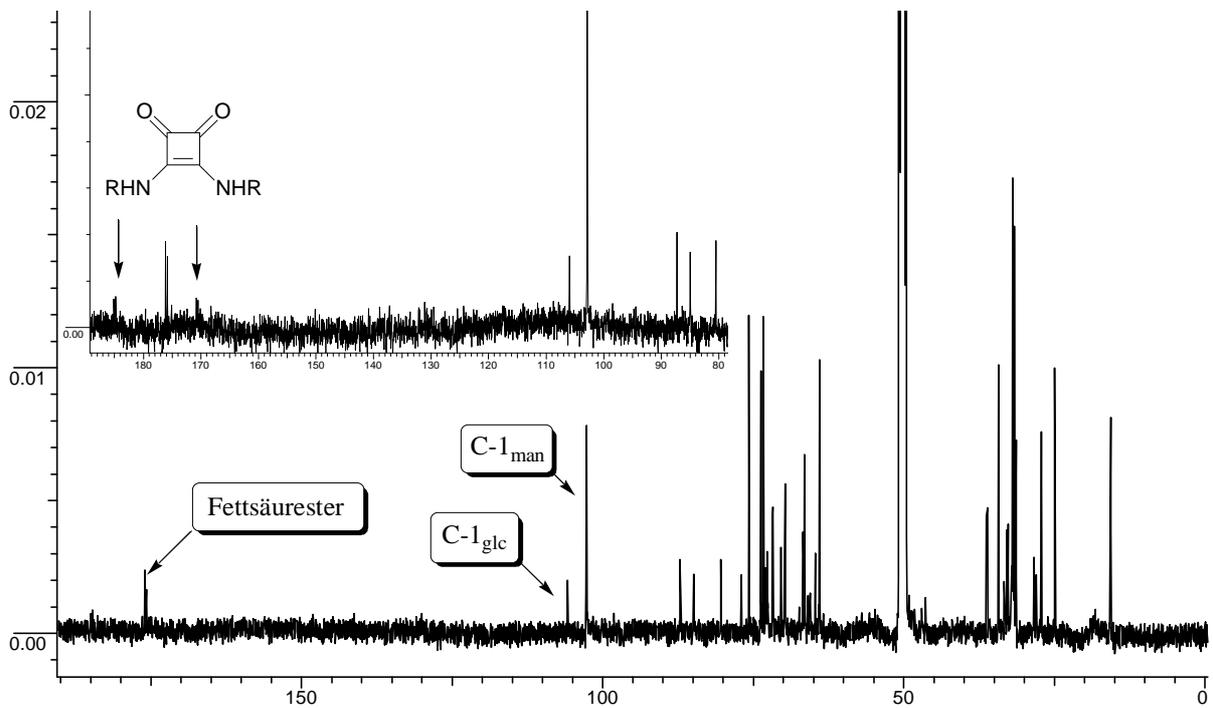


Abb. 4.41: ^{13}C - BB-NMR-Spektrum von **4.28**. Der Ausschnitt zeigt ein ^{13}C - BB-NMR-Spektrum von **4.28** bei dem die Relaxationszeit auf 1.5 s verdreifacht wurde.

Konvergente Glycocluster-Synthesen

Alternative Synthesewege zu Glycoclustern

Für Glycosylierungsreaktionen gibt es im Gegensatz zur Peptidkupplungsreaktion noch keine allgemein anwendbaren Verfahren. Vorschriften, welche erfolgreich zur Glycosylierung von Mannosederivaten verwendet wurden, können für Galactosederivate weitgehend ungeeignet sein. Im Vergleich zur Synthese komplexer Oligosaccharide sind Glycoside einfacher Alkohole noch relativ einfach zu synthetisieren. Viele in der Literatur beschriebenen Glycocluster- oder „allgemeiner, Glycokonjugatsynthesen kuppeln Zucker daher über leichter zu knüpfende Bindungen, wie z. B. Thioharnstoffbrücken, an Kernmoleküle. Wenn *O*- oder *C*-Glycoside verwendet werden sollen, wird vielfach ein einfaches *O*- bzw. *C*-Glycosid hergestellt, welches dann über eine leichter zu knüpfende Bindungen an die Kernmoleküle gebunden wird.

So benutzten Roy und Bencomo *O*-Mannoside mit unterschiedlich langen Spacern die über Thioharnstoff- und Harnstoffverknüpfungen an di- und trivalente Kernmoleküle gebunden wurden.¹⁵²

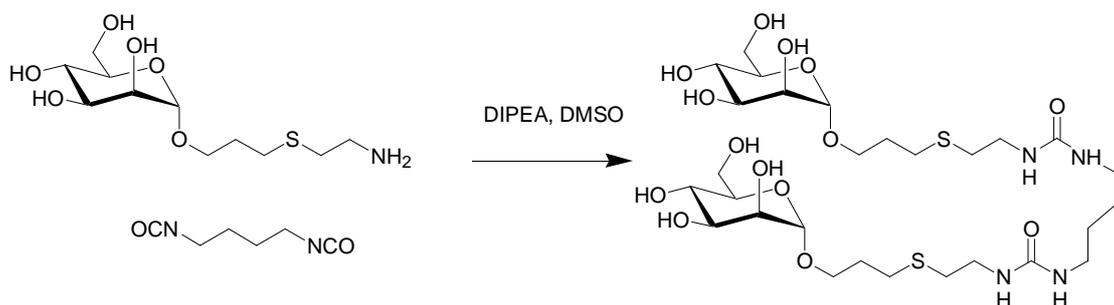


Abb. 5.1: Eine Clustersynthese über Harnstoffbrücken (Roy).

Grandjean und Melnyk kuppelten *O*-Mannoside mit Ethylthiol-Spacern über Sulfidbrücken,¹⁵³ und Wießler benutzte die Diels-Alder-Reaktion zur Synthese von Hexaclustern.¹⁵⁴

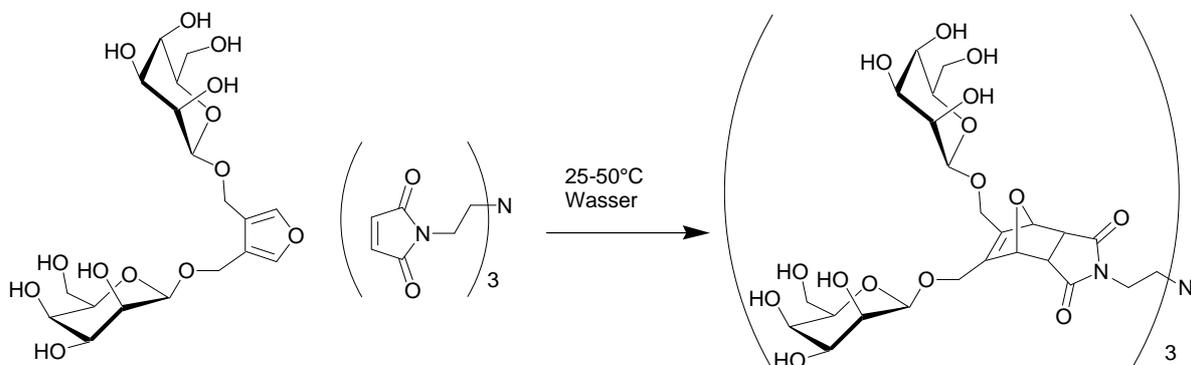


Abb. 5.2: Eine Glycoclustersynthese per Diels-Alder-Reaktion (Wießler).

Im Rahmen der Diplomarbeit wurden 1996 mit eben diesen Ziel zahlreiche funktionalisierte Mannoside synthetisiert.

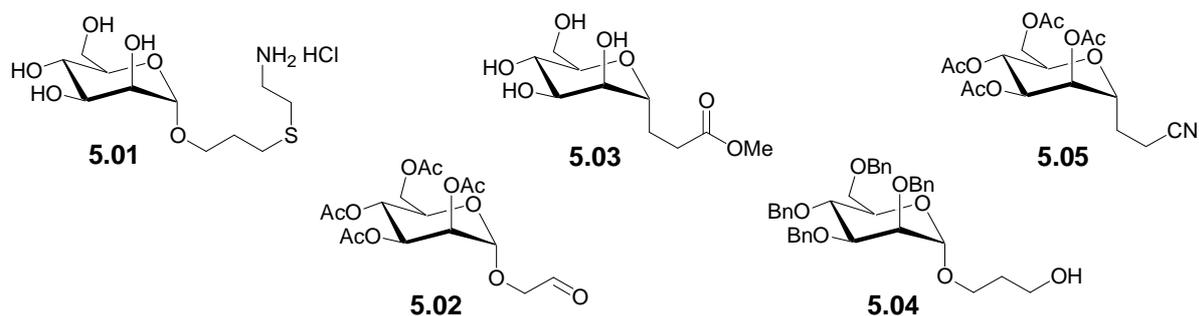


Abb. 5.3: Aktivierte funktionalisierte Mannoside, die in der Diplomarbeit hergestellt wurden.

Hier sollen nun einige Ergebnisse zur Kupplung aktivierter funktionalisierter Mannoside vorgestellt werden.

Kapitelgliederung

Glycocluster über Peptidverknüpfung

C-Glycosidische Glycocluster

Seite 100

Glycocluster über reduktive Aminierung

Tris-(aminoethyl)-amin als Kernmolekül

Seite 103

Glycocluster über Thioharnstoffkupplung

Kohlenhydrat-zentrierte Thioharnstoffcluster

Seite 106

Clusterung dendritischer Äste

Glycocluster mit Quadratsäurediethylester als Kupplungsreagenz

Seite 109

Glycocluster über Oxim-Kupplungen

Seite 112

Glyocluster über Peptidverknüpfung

C-Glycosidische Glyocluster

Bereits 1992 zeigte Bednarski, daß einfache C-Glycoside die Adhäsion von *E. coli* an Hefezellen effektiver inhibieren als Methylmannosid.¹²⁰ Auch C-glycosidische Sialinsäuren sind erfolgreich zur Blockierung des Influenza-Hämagglutinins eingesetzt worden¹⁵⁵ und in Assays zur Inhibition der Adhäsion von *E. coli* an Mannan werden mit C-Glycosiden wie **5.03** (Abb. 5.3) vergleichbare Inhibitionswerte wie für das Methyl- α -D-mannopyranosid erreicht.¹⁵⁶ Durch radikalische Addition von Acrylnitril an 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosylbromid (**5.06**) mit Tributylzinnhydrid nach Giese¹⁵⁷ war in der Diplomarbeit das Nitril **5.05** dargestellt worden (Abb. 5.4) und entsprechend durch Addition von Methylacrylat der Methylester **5.03** (Abb. 5.5). Beide C-Glycoside sollten über Peptidbindungen einfach an geeignet funktionalisierte Core-Moleküle geknüpft werden können.

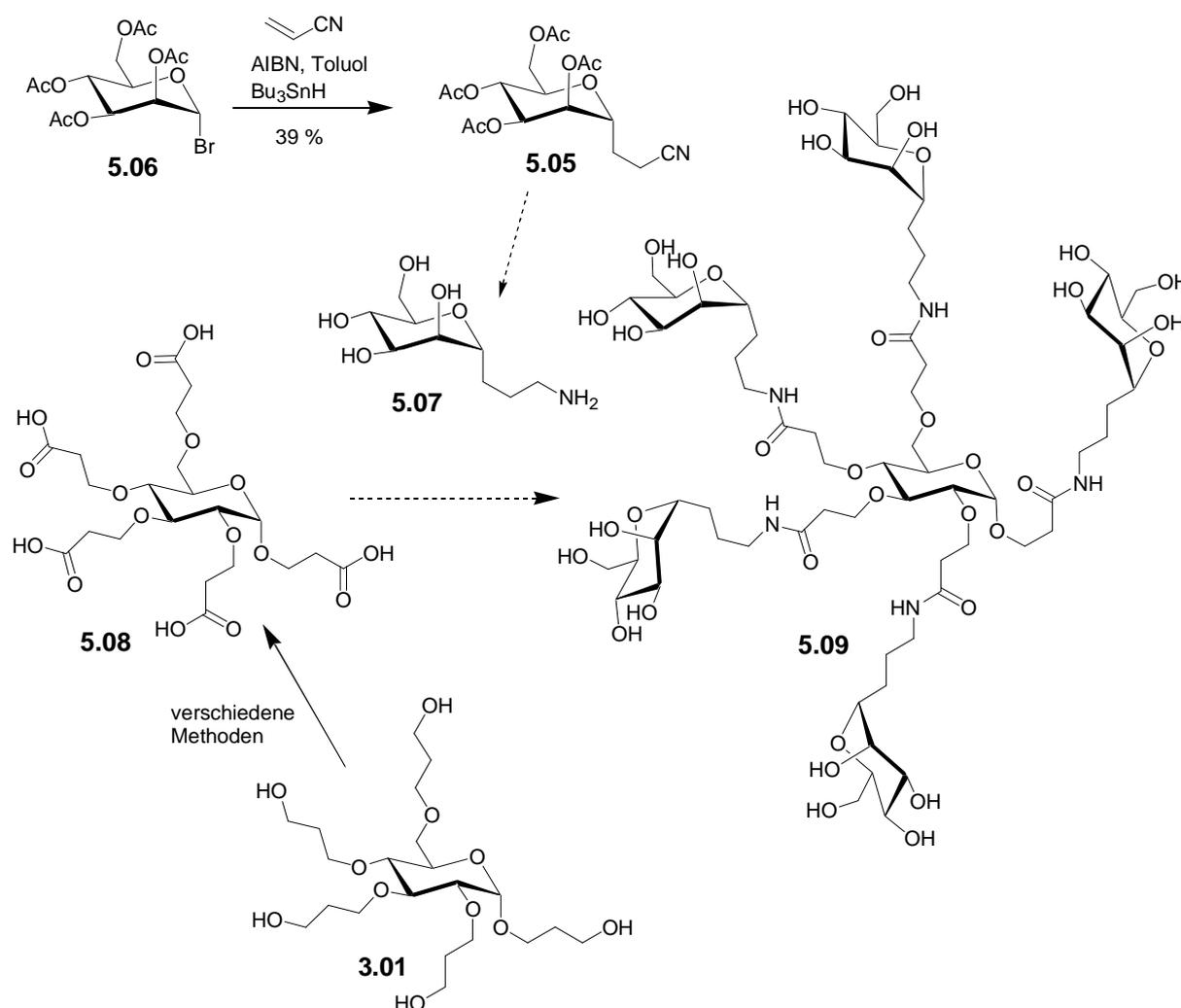


Abb. 5.4: Versuche zur Synthese eines C-Glycosid-Clusters mit einer Pentasäure als Core.

Die Synthese des mit Carboxygruppen ausgestatteten Glucose-zentrierten Kernmoleküls **5.08** erwies sich jedoch als unüberwindbare Hürde auf den Weg zur Synthese des Glycoclusters **5.09**. Zwar war **5.08** über eine TEMPO-Oxidation¹⁵⁸ zugänglich, es konnte aber nicht aufgereinigt werden, ohne daß Carboxy-Arme der Glucose durch Retro-Michael-Reaktionen verloren gingen. Auch Versuche, **5.08** über eine Jones-Oxidation¹⁵⁹ herzustellen führten zur Zersetzung bevor das stark polare Produkt aufgereinigt werden konnte.

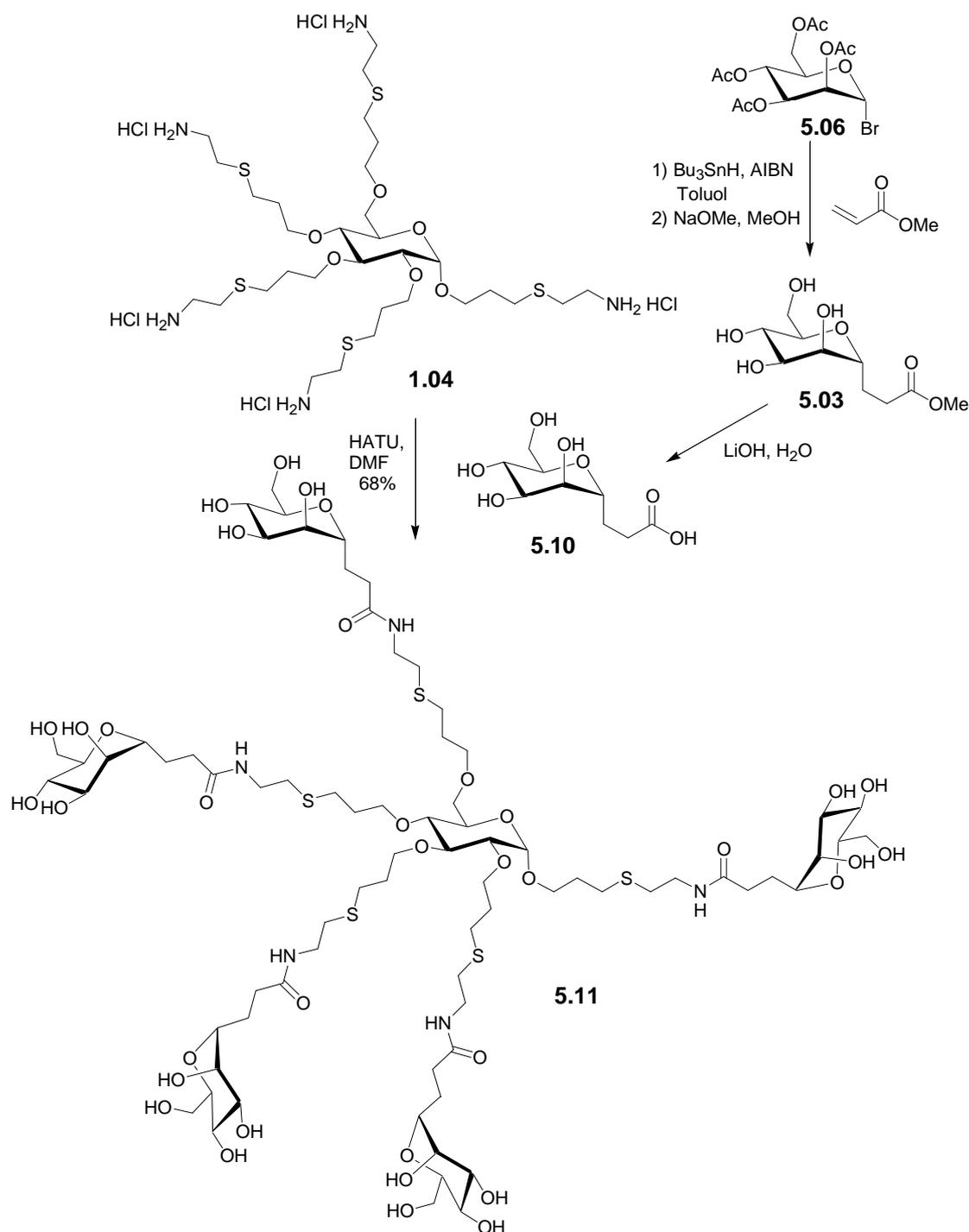


Abb. 5.5: Synthese des C-Glycosid-Clusters **5.11** mit dem Pentaamin **1.04** als Core.

Gemäß verschiedenen Untersuchungen sollte das Peptidkupplungsreagenz HATU in einer Reaktion möglichst schnell mit einer Säure reagieren, um nicht zersetzt zu werden,¹⁶⁰ d. h. es sollte vorteilhaft sein, wenn die Säure sterisch weniger behindert ist als das Amin. Es wurde daher versucht, das in der Diplomarbeit über die Addition von Cysteamin-Hydrochlorid an perallylierte Glucose **1.03** hergestellte Pentaamin **1.04** mit der Säure, die nach der Verseifung des C-Glycosides **5.03** erhalten wird, umzusetzen (Abb. 5.5). Hierfür wurde das Amin-Hydrochlorid **1.04** einen Tag mit DIPEA in DMF gerührt um das freie Amin zu erhalten und **5.03** wurde mit LiOH in die freie Säure überführt.¹⁶¹ Anschließend wurde das Pentaamin mit Hilfe von HATU in 68 % Ausbeute mit der Säure gekuppelt, wobei der Glyocluster **5.11** erhalten wurde.

Im Gegensatz zum *O*-glycosidisch verknüpften Glucose-zentrierten Glyocluster **3.04** (Abb. 3.2) mit Propyl-Spacern ist hier kein Einfluß des chiralen Glucose-Kerns auf die chemischen Verschiebungen der Mannoseliganen im ¹³C-NMR detektierbar. In den Armen des Octopus-Core-Glycosides erlischt der chirale Einfluß der Glucose hinter der Sulfidbrücke. Der chirale Einfluß des Glucose-Kerns reicht damit auch in diesem Beispiel in etwa genauso weit, wie im Falle des *O*-glycosidisch verknüpften Glucose-zentrierten Glyocluster **3.12** (Abb. 3.8) mit 3-Oxa-hexyl-Spacern.

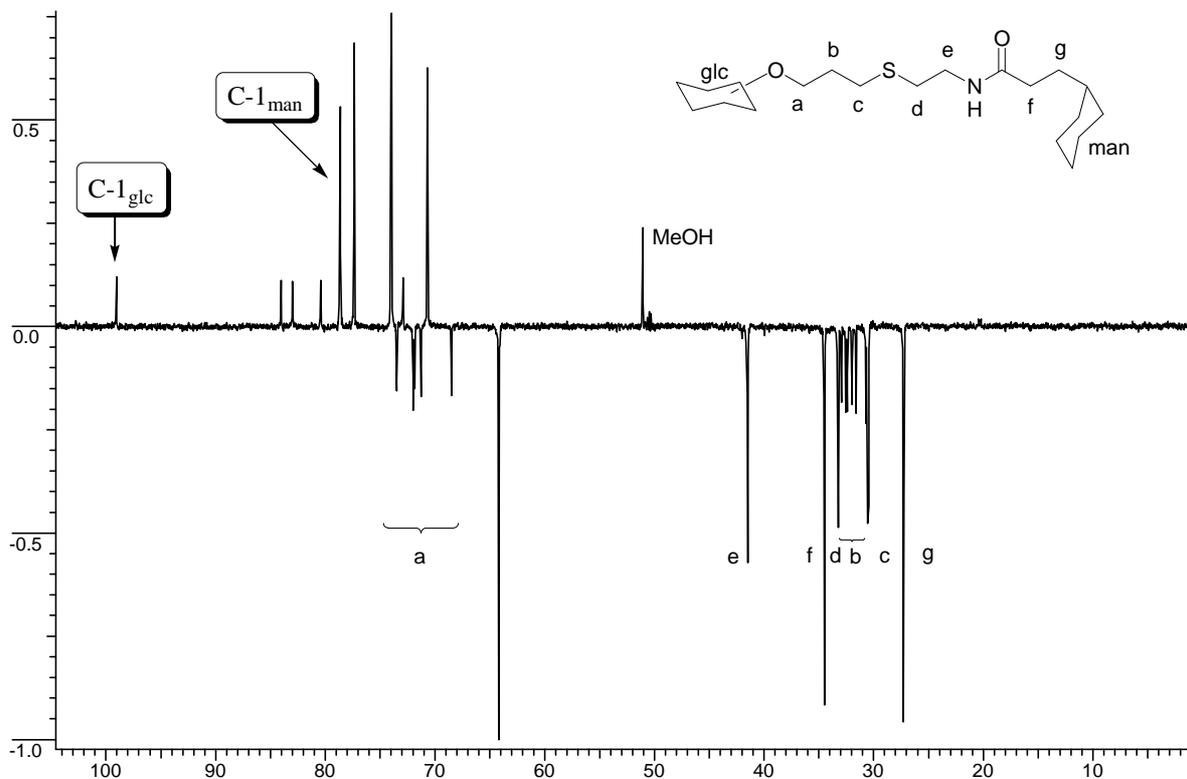


Abb. 5.6: ¹³C-DEPT-NMR-Spektrum des C-Glycosid-Clusters **5.11**.

Glycocluster über reduktive Aminierung

Tris-(aminoethyl)-amin als Kernmolekül

Im Verlauf der Diplomarbeit war die Ozonisierung von α -D-Allylmannosid **5.12** detailliert untersucht worden. Je nach Reaktionsbedingungen konnte eine Voll- oder Halbacetalgruppe oder eine Aldehydgruppe im Produkt erhalten werden.

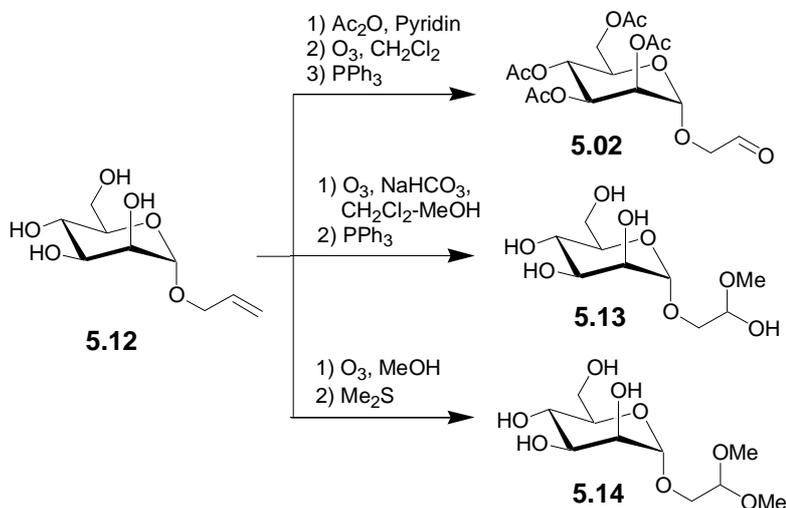


Abb. 5.6: Die Ozonisierung von Allylmannosid liefert je nach den gewählten Bedingungen ein Aldehyd, Halbacetal oder Vollacetal

Am Beispiel des käuflichen Triamin-Kernmoleküls Tris(2-

aminoethyl)amin (**5.16**) soll hier untersucht werden, ob diese ozonisierten Allylmannosiden mit Hilfe der reduktiven Aminierungsreaktion einfach zu Clustern umgesetzt werden können. Bei einem ersten Versuch das Halbacetal **5.13** mit Tris(2-aminoethyl)amin mit H_2 / Pd-C in Methanol zum Tricluster **5.18** umzusetzen, wurde bereits im Rahmen der Diplomarbeit ein inhomogenes, wasserlösliches, polymerartiges Gel isoliert. Um eine vollständige Umsetzung in Lösung zu erhalten, wurde das acetylierte ozonisierte Allylmannosid **5.02** unter verschiedenen Bedingungen mit dem Triamin **5.16** umgesetzt. Mit einem sechsfachen Überschuß des Aldehyds bezogen auf den Triamin-Core und Natriumtriaceoxyborhydrid in 1,2-Dichlorethan ließ sich gemäß MALDI-TOF-Reaktionskontrolle der Tricluster **5.17** sehr sauber herstellen. Der Überschuß an **5.02** ist notwendig, da ein großer Anteil von **5.02** zum Alkohol **5.15** reduziert wird, bevor er mit dem Amin **5.16** reagieren kann. Zur Reinigung von **5.17** standen Reverse-Phase-HPLC mit Wasser/Acetonitril als Elutionsmittel und Sephadex LH-20-Gelchromatographie mit Methanol bzw. einem Methanol/Dichlor-

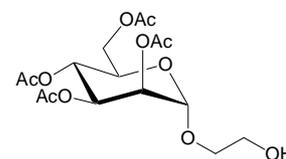


Abb. 5.7: **5.15**

methan-Gemisch als Elutionsmittel zur Verfügung. Da die spezifische Masse von Sephadex LH-20 kleiner ist als die von Dichlormethan, kann in den verwendeten selbstgebauten GPC-Säulen kein reines Dichlormethan als Laufmittel verwendet werden. In aminhaltiger methanolischer Lösung erfolgt aber eine Deacetylierung und dementsprechend wurde bei dem Versuch der Abtrennung des als Nebenprodukt entstandenen **5.15** eine Art autokatalytische

teilweise Deacetylierung beobachtet. Da sich der Tricluster jedoch während der Entschützung unter Zemplén-Bedingungen ebenfalls zu zersetzen beginnt, erübrigte sich der Einsatz eines geschlossenen GPC-Trennsystems, welches ohne Methanol als Kosolvenz auskommt.

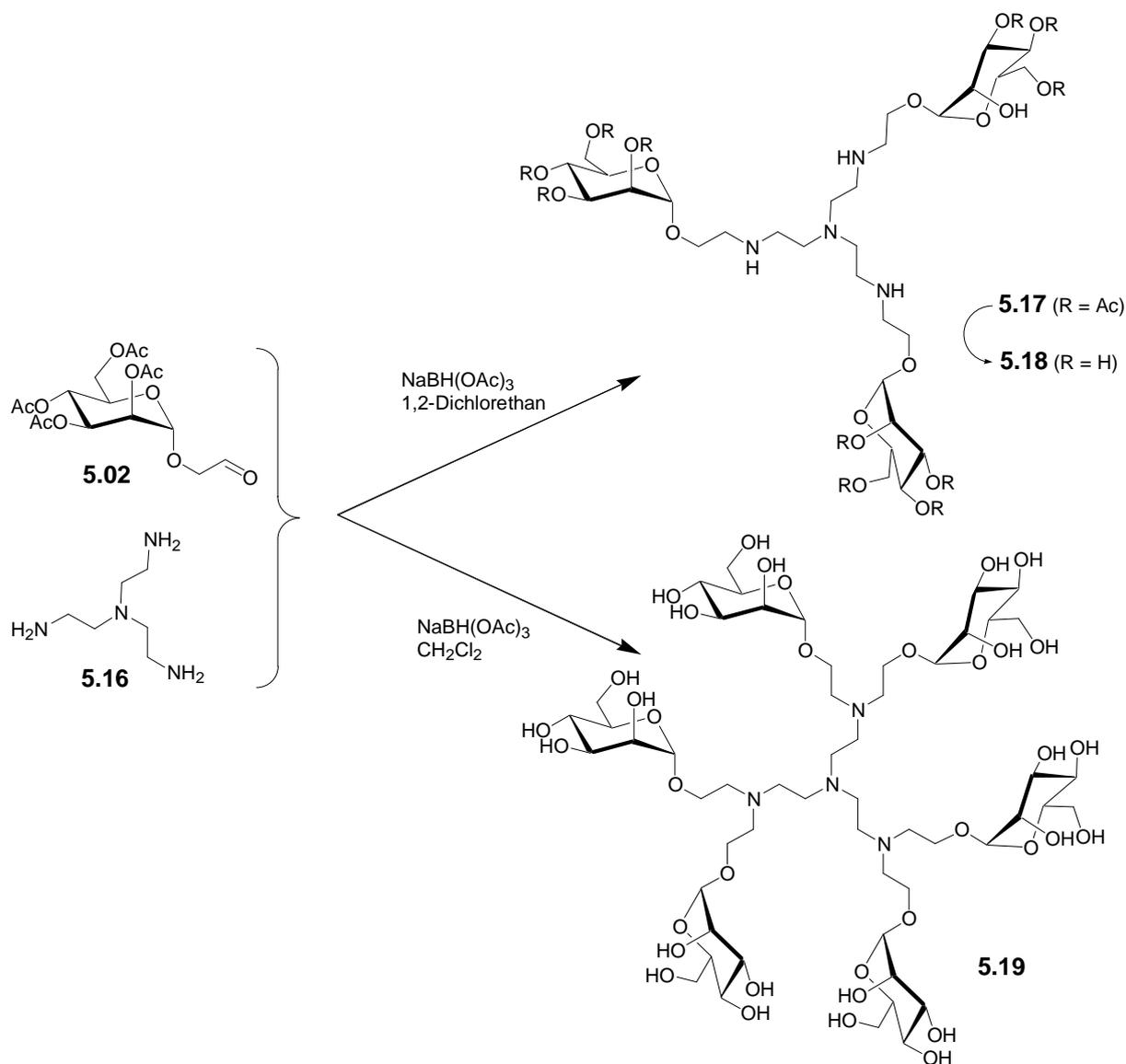


Abb. 5.8: Glycocluster über reduktive Aminierung

Um all diesen Problemen aus dem Weg zu gehen, wurde versucht Tris(2-aminoethyl)amin mit einem großen Überschuß **5.02** zum Hexacluster **5.19** umzusetzen. Wider Erwarten konnte Natriumtriacetoxyborhydrid, das eigentlich selektiv sekundäre Amine liefern sollte,⁶² zur Synthese dieses Hexaclusters benutzt werden. Während mit diesem Reagenz die Synthese des Triclusters in wenigen Stunden abgeschlossen ist, bedurfte es 5 Tage und der mehrfachen Zugabe des Reagenzes und von **5.02**, um den Hexacluster zu synthetisieren. Sobald in den MALDI-TOF-Massenspektren die Spur eines Heptaclusters, der auf der Bildung eines quartären Amins beruht, detektiert wurde, wurde die Reaktion durch Austausch des Lösungsmittels gegen Methanol gestoppt. Der Ansatz wird mit 2 Äquivalenten

Natriummethanolat, bezogen auf die eingesetzte Menge $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$, versetzt und schrittweise, zuerst in Methanol dann in Wasser, entschützt und mit Wasser Sephadex G15 gereinigt, um **5.19** in 52 % Ausbeute zu isolieren.

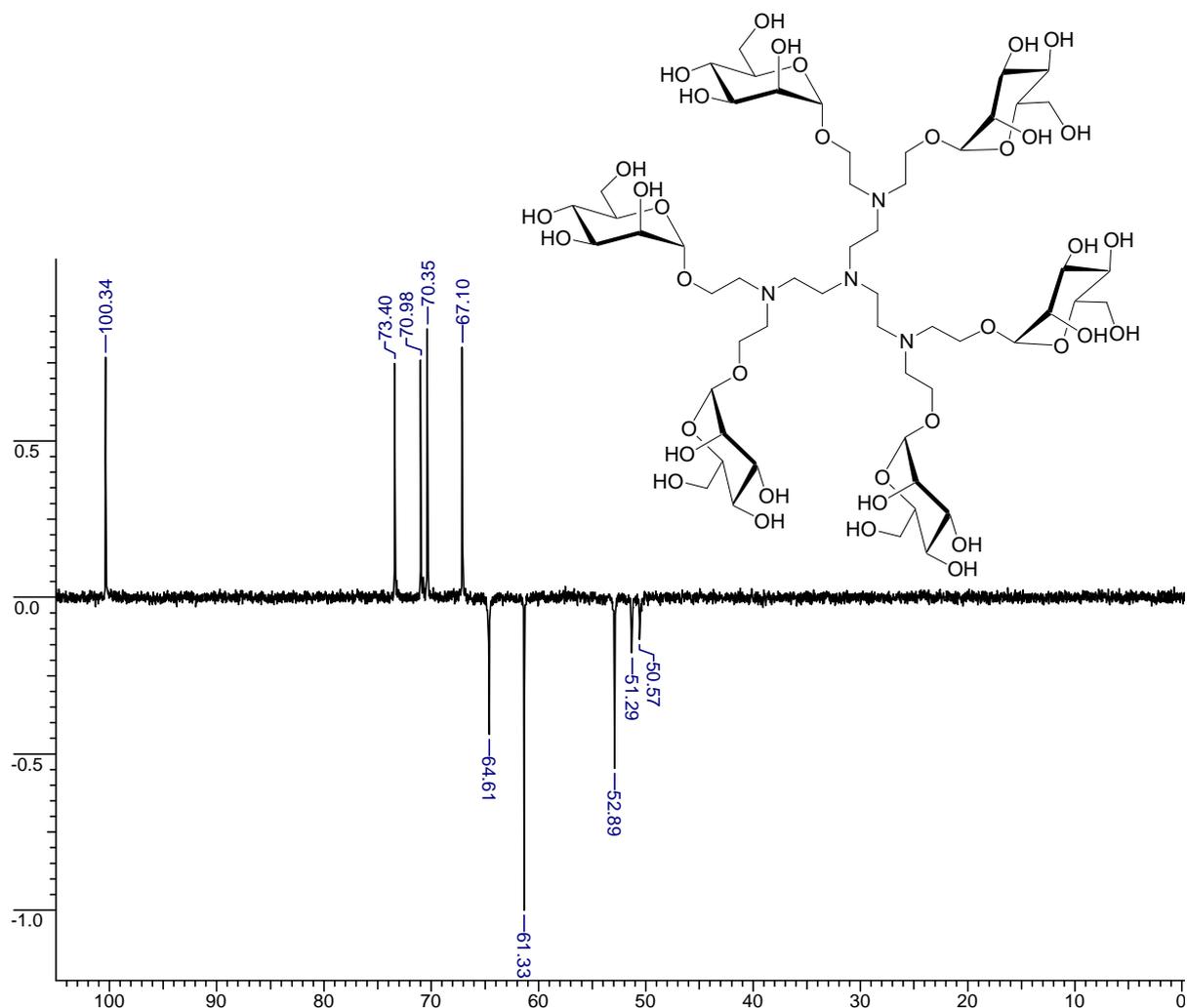


Abb. 5.9: ^{13}C -DEPT-NMR-Spektrum von **5.19**

Da nur die Synthese des auf Tris(2-aminoethyl)amin aufbauenden Hexaclusters **5.19** erfolgreich war, nicht aber die des Triclusters **5.18**, erscheint es unwahrscheinlich, daß diese Ergebnisse auf die sterisch anspruchsvolleren Kohlenhydrat-zentrierten Polyamin-Kernmoleküle, wie sie z. B. im Rahmen der Synthese Kohlenhydrat-zentrierter PAMAM-Dendrimere hergestellt wurden, übertragbar sind. Es gibt jedoch viele käufliche Di- und Triamine, sowie viele einfache Synthesen zu möglichen Di- und Triamine Kernen,¹⁶² so daß dieses Syntheseprotokoll zur Synthese einer Vielfalt nicht Zucker-zentrierter Cluster nützlich sein sollte.

Glycocluster über Thioharnstoffkupplung

Kohlenhydrat-zentrierte Thioharnstoffcluster

Die Synthese Thioharnstoff-verbrückter Glycocluster wurde im Arbeitskreis Lindhorst perfektioniert und zu der Synthese einer Vielzahl von Glycoclustern und Glycodendrimeren benutzt (Abb. 5.10).^{11a, 74e, 74f, 122, 163}

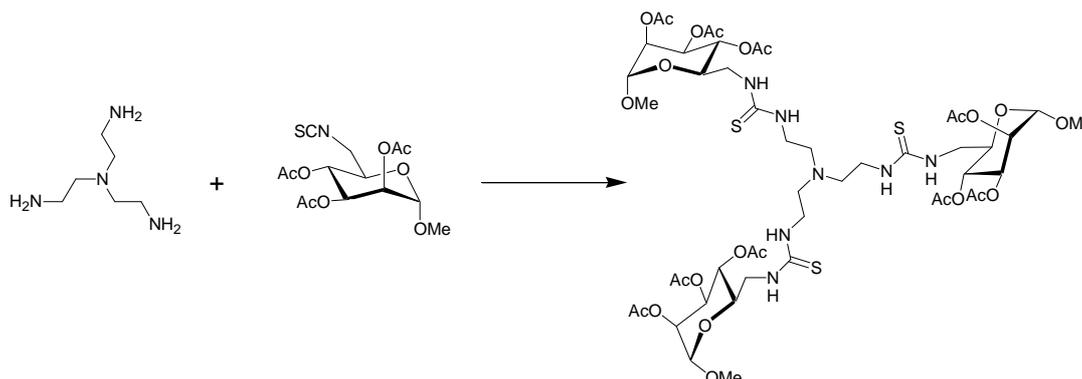


Abb. 5.10: Beispiel einer Synthese eines Thioharnstoff-verbrückten Glycoclusters (Lindhorst).¹²²

In Kapitel 2 sind zur Synthese von Kohlenhydrat-zentrierten PAMAM-Dendrimeren mit den Verbindungen **2.03**, **2.03b**, **2.14** und **2.19** mehrere vollständig aminofunktionalisierte Zucker mit Glucose und Trehalose als Kernmolekül hergestellt worden, die sich zur Ummantelung mit Mannosylisothiocyanat eignen sollten.

Das Glucose-zentrierte Pentamin **2.03** konnte problemlos in siedenden Dichlormethan mit dem, nach der Schmelzmethode¹⁶⁴ aus 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosylbromid (**5.06**) hergestellten, Tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosylisothiocyanat (**5.20**) zum Thioharnstoff-verbrückten Glycocluster **5.21** umgesetzt werden (Abb. 5.12).

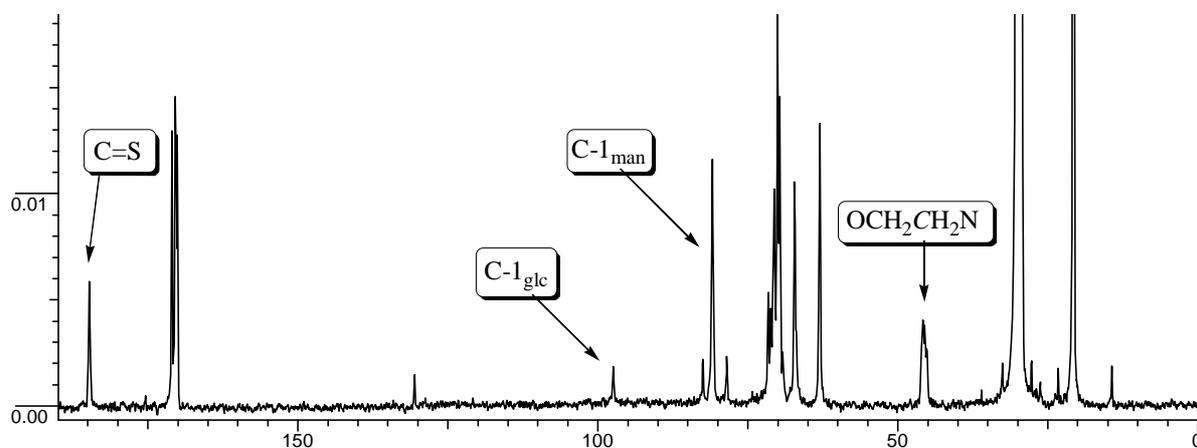


Abb. 5.11: Ein ^{13}C -NMR Spektrum des Glycoclusters **5.21**. Die NMR-Spektren der acetylierten Thioharnstoff-verbrückten Glycocluster werden nur vollständig aufgelöst, wenn D_6 -Aceton als NMR-Lösungsmittel verwendet wird.

Die Qualität der NMR-Spektren der acetylierten Thioharnstoff-verbrückten Glycocluster hängt sehr stark davon ab, welches NMR-Lösungsmittel verwendet wird. Während mit CDCl_3 als Lösungsmittel nur eine schlechte Auflösung der NMR-Peaks erreicht werden kann, werden mit D_6 -Aceton als NMR-Lösungsmittel alle ^{13}C -Peaks aufgelöst (Abb. 5.11).¹⁶⁵

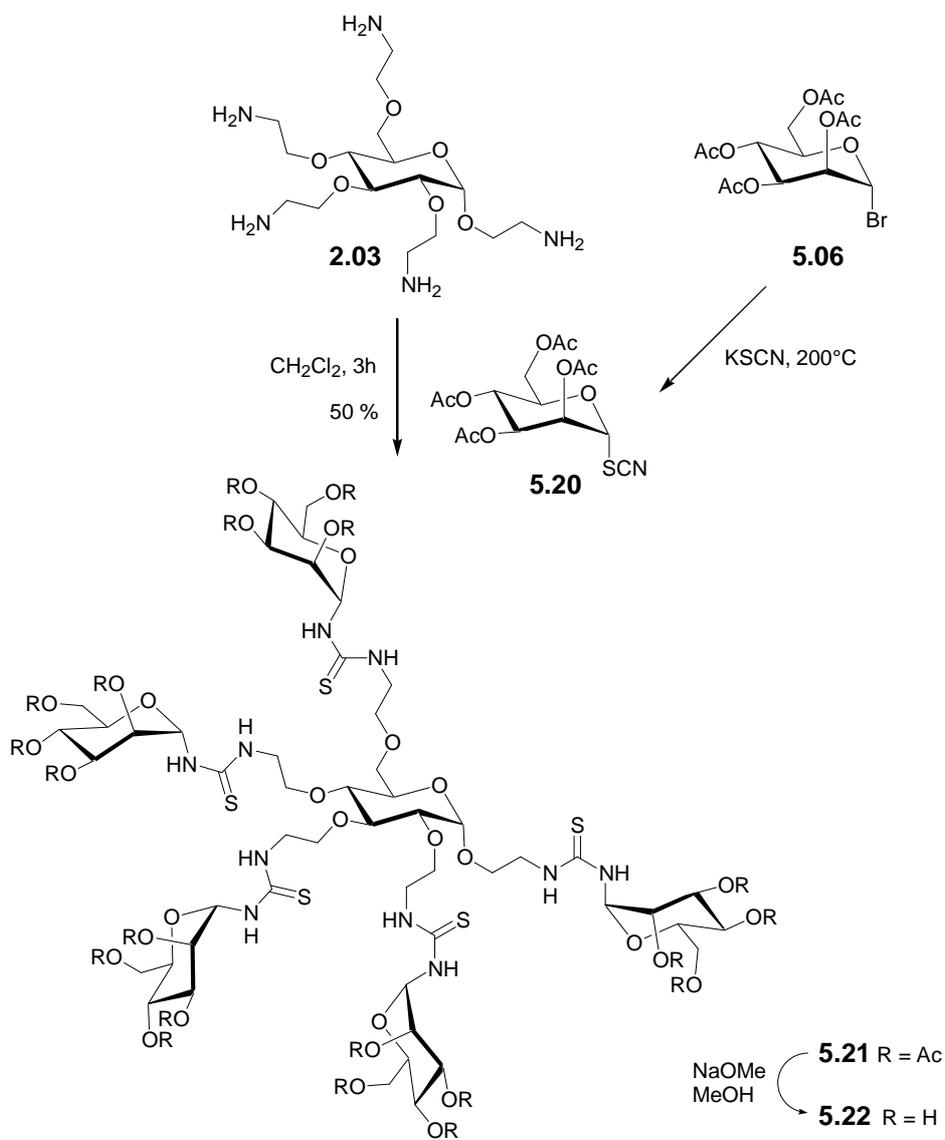


Abb. 5.12: Synthese des Thioharnstoff-verbrückten Glycoclusters **5.22**.

Der acetylierte Thioharnstoffcluster **5.21** wurde nach Zemplén zum entschützten Derivat **5.22** umgesetzt. In dem MALDI-TOF-Massenspektrum von **5.21** konnte mit DHB als Matrix neben dem $[\text{M}+\text{Na}]^+$ -quasi-Molekülpeak ein $[\text{M}-\text{S}]^+$ -Peak beobachtet werden, der in dem MALDI-TOF-Spektrum des entschützten Clusters **5.22** nicht mehr vorhanden war.

Das wie **2.03** über eine Sequenz aus Perallylierung, Ozonisierung und reduktiver Aminierung hergestellte Trehalose-zentrierte Oktaamin **2.14** ist in Dichlormethan unlöslich und alle Versuche mit Hilfe von DMF als Kosolvenz oder mit entschützten Isothiocyanaten in Wasser

einen strukturperfekten Trehalose-zentrierten, Thioharnstoff-verbrückten Glycocluster mit **2.14** als dem Kernmolekül zu synthetisieren schlugen fehl.

Dahingegen konnte das über eine Sequenz aus Perallylierung, Hydroborierung, Appel-Reaktion und Gabrielsynthese hergestellte Oktaamin **2.19** problemlos zum Thioharnstoffcluster **5.23** umgesetzt werden (Abb. 5.24). Die mit 41 % relativ niedrige Ausbeute im Kupplungsschritt ist dabei offenbar auf Verluste, während der Reinigung an Kieselgel zurückzuführen.

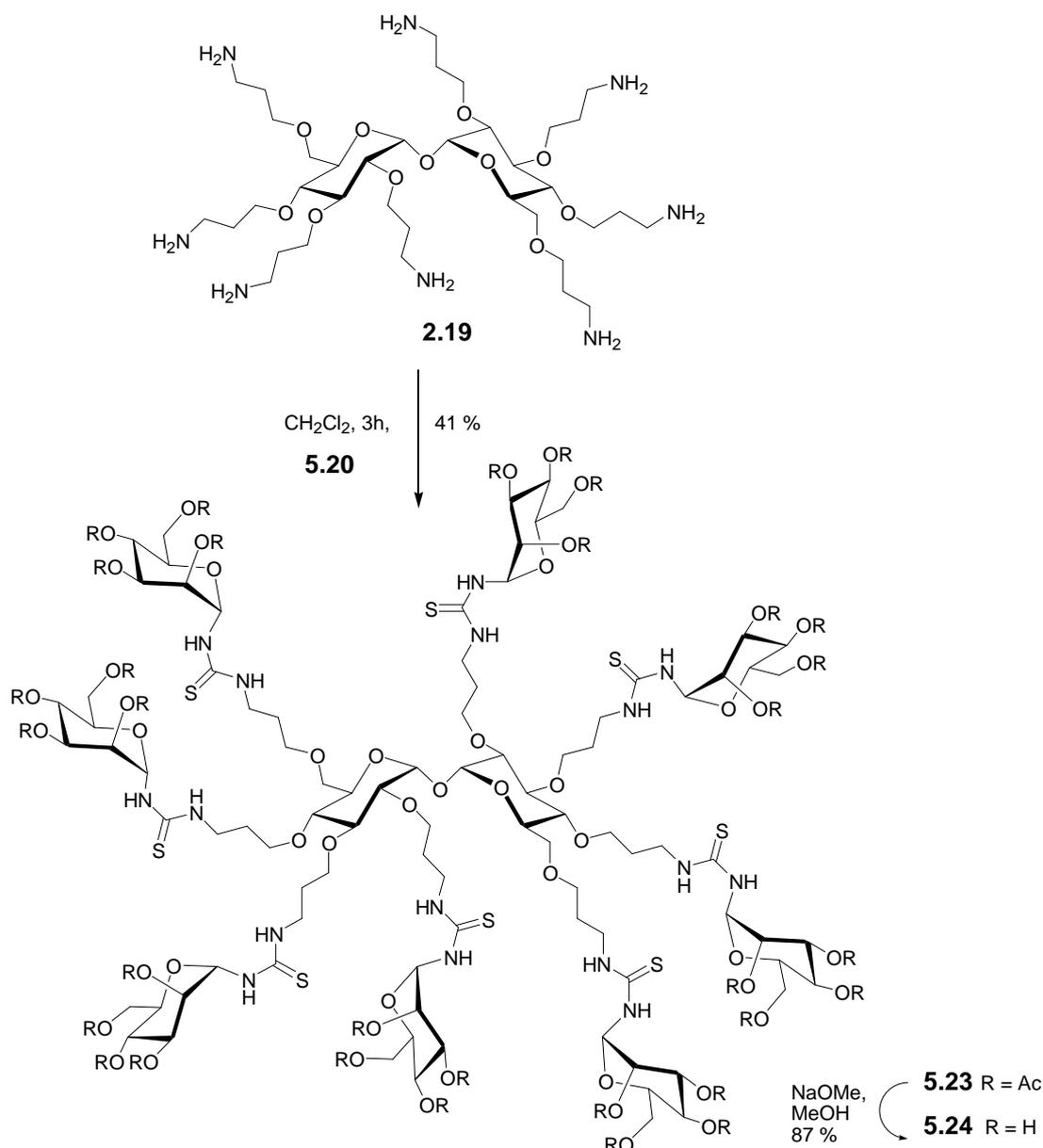


Abb. 5.13: Synthese des Trehalose-zentrierten, Thioharnstoff-verbrückten Glycoclusters **5.24**.

Die Entschützung des acetylierten Trehalose-zentrierten, Thioharnstoff-verbrückten Glycoclusters **5.23** erwies sich als besonders einfach, da der vollständig entschützte Glycocluster **5.24** in Methanol unlöslich ist, als amorpher, weißer Feststoff ausfällt und einfach abfiltriert werden kann.

Clusterung dendritischer Äste

Glycocluster mit Quadratsäurediethylester als Kupplungsreagenz

Durch die Verknüpfung Amino-funktionalisierter Glycocluster können einfach größere Glycokongugate aufgebaut werden, die auch als Dendrimere betrachtet werden können. So hat z. B. Stoddart Mannosyltricluster auf vielfältige Art und Weise verwendet, um verschiedene größere Dendrimere für Inhibitions-Assays herzustellen (Abb. 5.14).¹⁶⁶

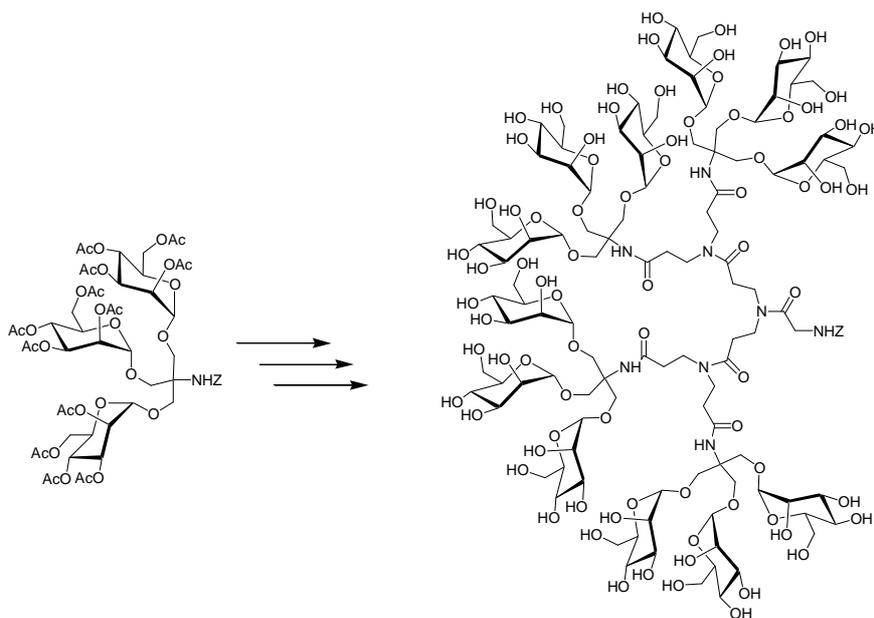


Abb. 5.14: Konvergente Synthese Mannose-enhaltender Dendrimere (Stoddart).

In Kapitel 4 wurde mit Verbindung **4.10** ein Amino-funktionalisierter Glycocluster hergestellt der sich einfach zu größeren Aggregaten verknüpfen lassen sollte. Besonders geeignet für den Aufbau derartiger Moleküle sind Peptidverknüpfungen, wie sie auch von Stoddart verwendet wurden, sowie Kupplungen mit Hilfe von Quadratsäurediethylester nach der von Tietze entwickelten Methode.^{151, 34, 35} Da die Methode der Kupplung mit Hilfe von Quadratsäurediethylester bereits erfolgreich für die Synthese des Phospholipids **4.28** angewendet werden konnte und mit Tris-(2-aminoethyl)-amin (**5.16**) ein einfaches symmetrisches Amino-funktionalisiertes Core-Molekül zur Verfügung stand, wurde diese Methode auch zur Clusterung zur von **4.10** benutzt (Abb. 5.15).

Die vollständige NMR-Charakterisierung von **5.25** war mit den zur Verfügung stehenden Methoden jedoch nicht möglich. Genau wie früher¹⁶³ für peptidisch-verknüpfte Glycocluster mit einem Titriplex I Core-Molekül beschrieben, war auch hier die gesamte Kernregion des Glycoclusters **5.25** in den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren nicht detektierbar (Abb. 5.16).

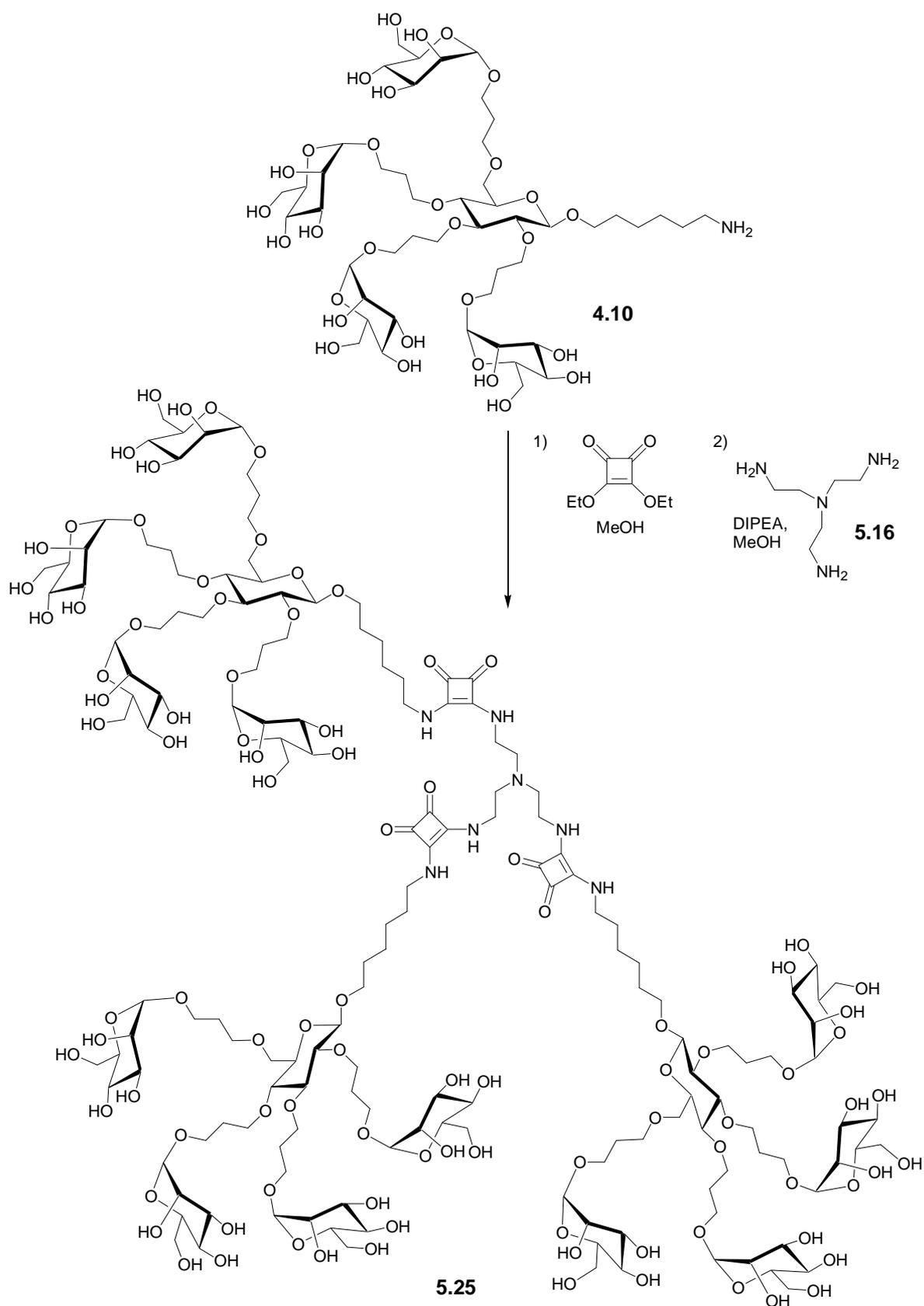


Abb. 5.15: Konvergente Synthese des Dodecaclusters **5.25**.

Da eine Hochtemperatur-NMR-Messung aus technischen Gründen nicht möglich war, wurde versucht den einfachen Glucose-Tricluster **5.26** zu synthetisieren (Abb. 5.17), dessen Struktur mit dem Gerüst des Dodecaclusters **5.25** übereinstimmt. Wenn es möglich gewesen wäre, die

Cluster **5.25** und **5.26** in demselben NMR-Lösungsmittel zu vermessen, hätte man auf indirektem Weg die genauen Verschiebungen der Kohlenstoffe der Kernregion des Clusters **5.25** bestimmen können.

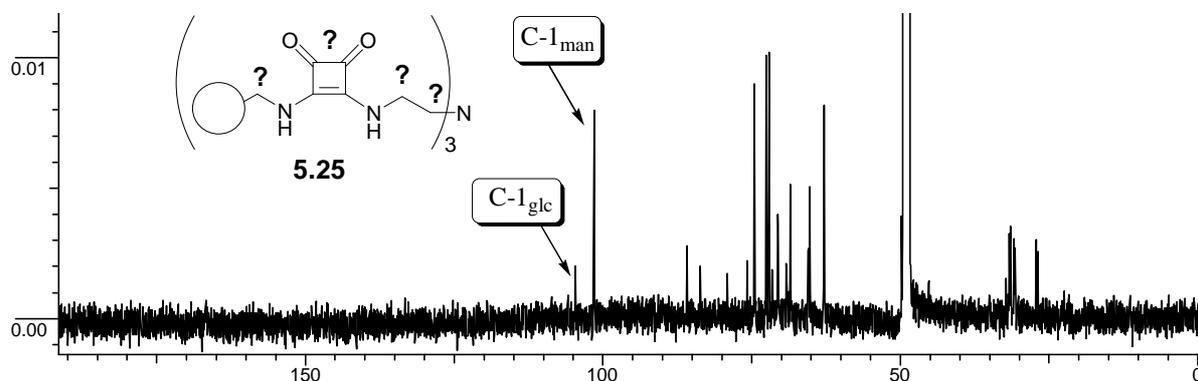


Abb. 5.16: Ein ^{13}C -NMR-Spektrum des Dodecaclusters **5.25** in D_4 -Methanol. Die Kohlenstoffatome der Kern-Region des Glycoclusters sind nicht detektierbar.

Bereits während der Synthese des Glucose-ummantelten Triclusters **5.26**, wurden dessen ungewöhnliche Löslichkeitseigenschaften deutlich als der strukturperfekte Cluster **5.26** aus der methanolischen Reaktionslösung präzipitierte. Bei dem Versuch ein NMR-Spektrum von **5.26** in D_2O aufzunehmen, konnte der Cluster zwar kurzfristig vollständig gelöst werden, fiel danach aber nach kurzer Zeit wieder vollständig aus. Letztendlich konnte dann mit einem Lösungsmittelgemisch aus D_4 -MeOH, CD_2Cl_2 und CDCl_3 doch noch NMR-Spektren erhalten werden, in denen die gesamte Kernregion sichtbar war.

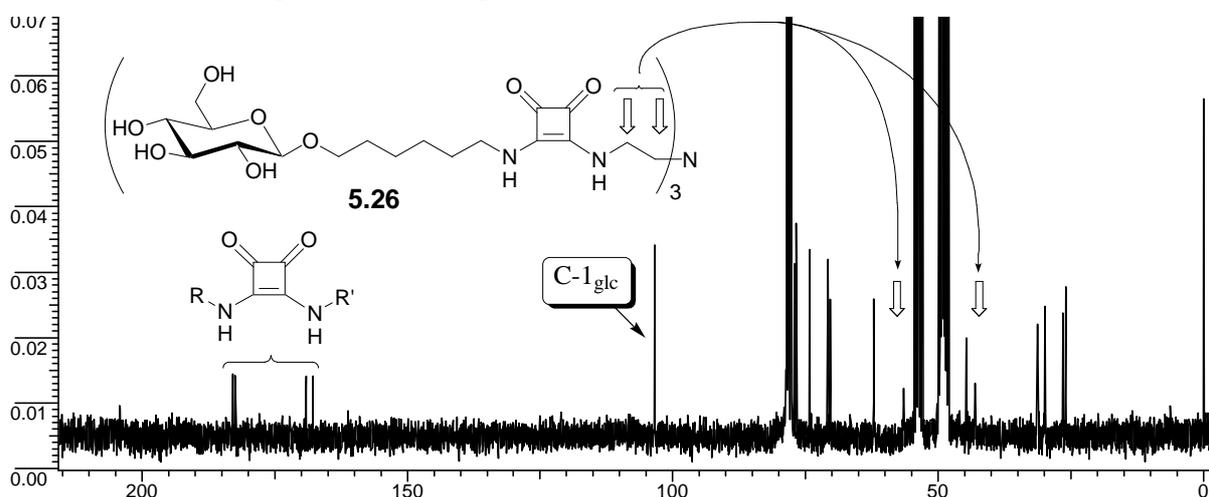


Abb. 5.17: Ein ^{13}C -NMR-Spektrum des Glucose-ummantelten Triclusters **5.26**.

Die beobachteten Löslichkeitsprobleme machen deutlich, daß die Kernregion einen starken hydrophoben Charakter hat. Es ist daher anzunehmen, daß der Dodecacluster **5.25** sich in den wässriger Lösung, wie sie in biologischen Assays verwendet werden, nicht zu voller Größe entfalten wird, und evtl. auch wieder Löslichkeitsprobleme auftreten.

Glycocluster über Oxim-Kupplungen

Die Reaktion von Aldehyden und Ketonen mit Aminoxy-funktionalisierten Verbindungen unter Bildung von *O*-Alkyl-oximen stellt eine der am einfachsten zu beherrschenden Reaktionen der Organischen Chemie dar. Die *O*-Alkyl-oxim-Gruppe kann als biologisch und medizinisch unbedenklich eingestuft werden und wird auch in Arzneimitteln wie Roxithomycin und Azetreonam verwendet.¹⁶⁷ Kupplungen mit Hilfe von Oxim-Bindungen haben breite Anwendung gefunden, z.B. wurden sie zum Aufbau von Glycopeptidmimetika verwendet (Abb. 5.18).¹⁶⁸

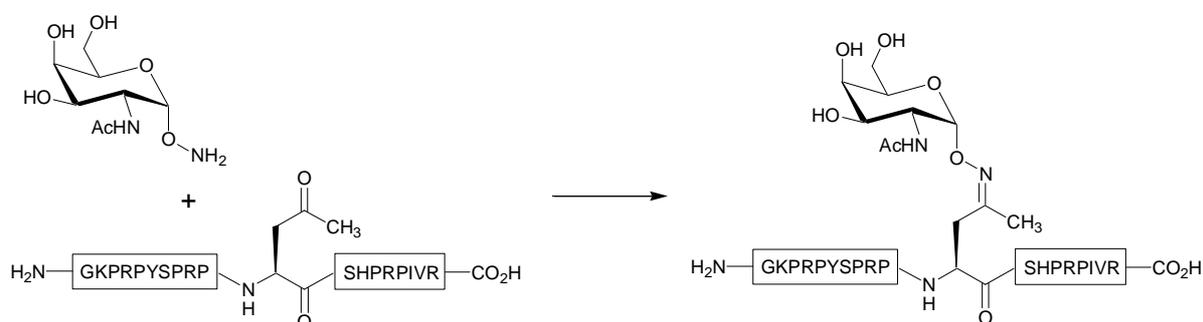
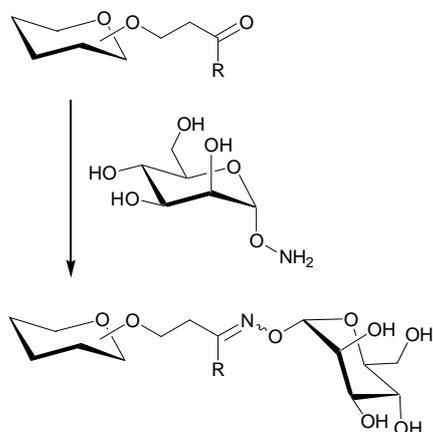


Abb. 5.18: Synthese eines Glycopeptidmimetikas mit Hilfe von Oxim-Bindungen (Bertozzi).

Für den Aufbau Kohlenhydrat-zentrierter Glycocluster über Oxim-Verknüpfungen gibt es zwei mögliche Wege. Einerseits könnte ein mit Carbonylgruppen ausgestattetes Core-Molekül verwendet werden, wobei dann mit Aminoxy-Gruppen funktionalisierte Liganden synthetisiert werden müssten; andererseits könnte das Core-Molekül mit Aminoxy-Gruppen ausgestattet werden, wobei dann Carbonyl-funktionalisierte Liganden synthetisiert werden müssten (Abb. 5.19).

Variante A: Core-Molekül mit Carbonylgruppen



Variante B: Core-Molekül mit Aminoxy-Gruppen

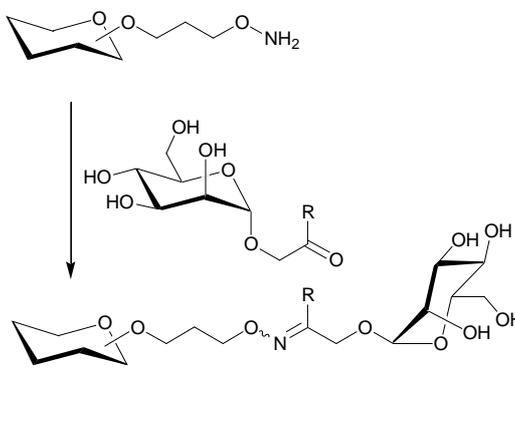
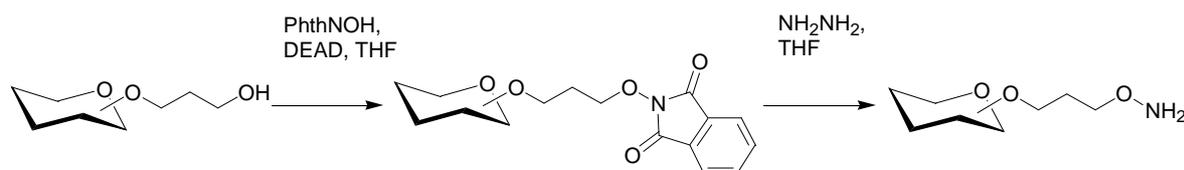


Abb. 5.19: Kohlenhydrat-zentrierte Glycocluster mit Oxim-Bindungen können sowohl ausgehend von einem Core-Molekül mit Carbonylgruppen (Variante A) als auch von einem Core-Molekül mit Aminoxy-Gruppen (Variante B) aufgebaut werden (R = H oder Me).

Da sich im Rahmen der Diplomarbeit und während der Synthese Kohlenhydrat-zentrierter PAMAM-Dendrimere gezeigt hatte, daß mit Aldehyd-Gruppen ausgestattete Core-Moleküle nicht lagerfähig sind, wohingegen einfache, mit Carbonylgruppen ausgestattete Mannoside wie **5.02** und **5.13** (Abb. 5.6) problemlos herstellbar waren, wurde zuerst versucht, Core-Moleküle mit Aminoxy-Gruppen auszustatten (Variante B, Abb. 5.19).

Für die Synthese eines Aminoxy-funktionalisierten Core-Moleküles bietet sich eine Sequenz aus Perallylierung, Hydroborierung, Mitsunobu-Reaktion mit *N*-Hydroxy-phthalimid und anschließender Hydrazinolyse an. Auf den ersten Blick liegt es nahe, bei der Mitsunobu-Reaktion¹⁶⁹ die Bildung von Dioxytriphenylphosphoranen zu erwarten, wie sie von Itzstein für Diole beschrieben hat.¹⁷⁰ Das *N*-Hydroxy-phthalimid reagiert jedoch als schwache Säure ähnlich schnell wie einfache Carbonsäuren, so daß selektiv ein *N*-Alkoxy-phthalimid-Derivat gebildet wird (Abb. 5.20).¹⁷¹

Allgemeines Reaktionsschema:



Mechanismus der Mitsunobu-Reaktion:

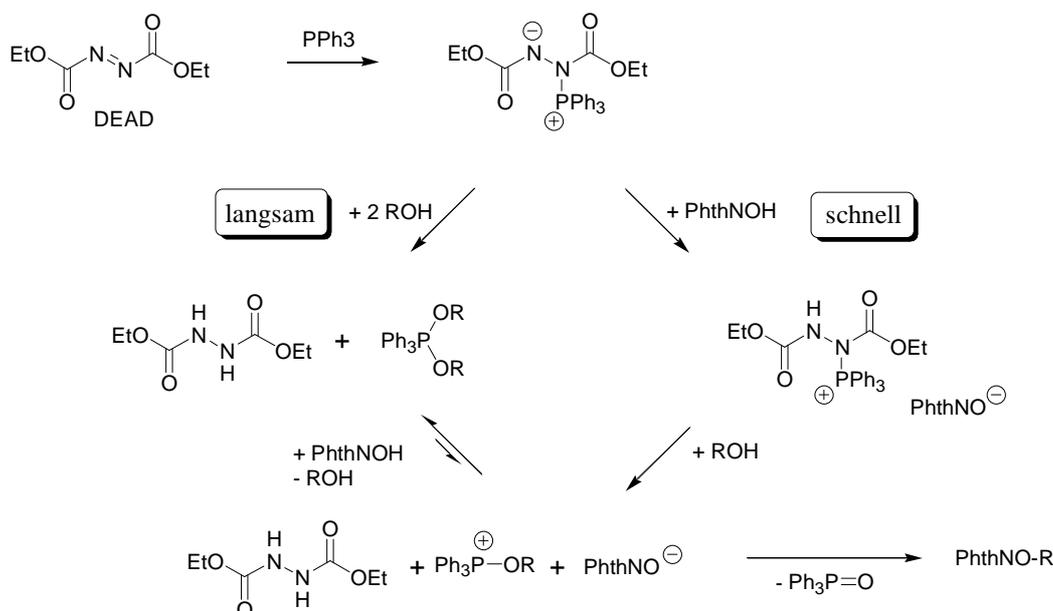
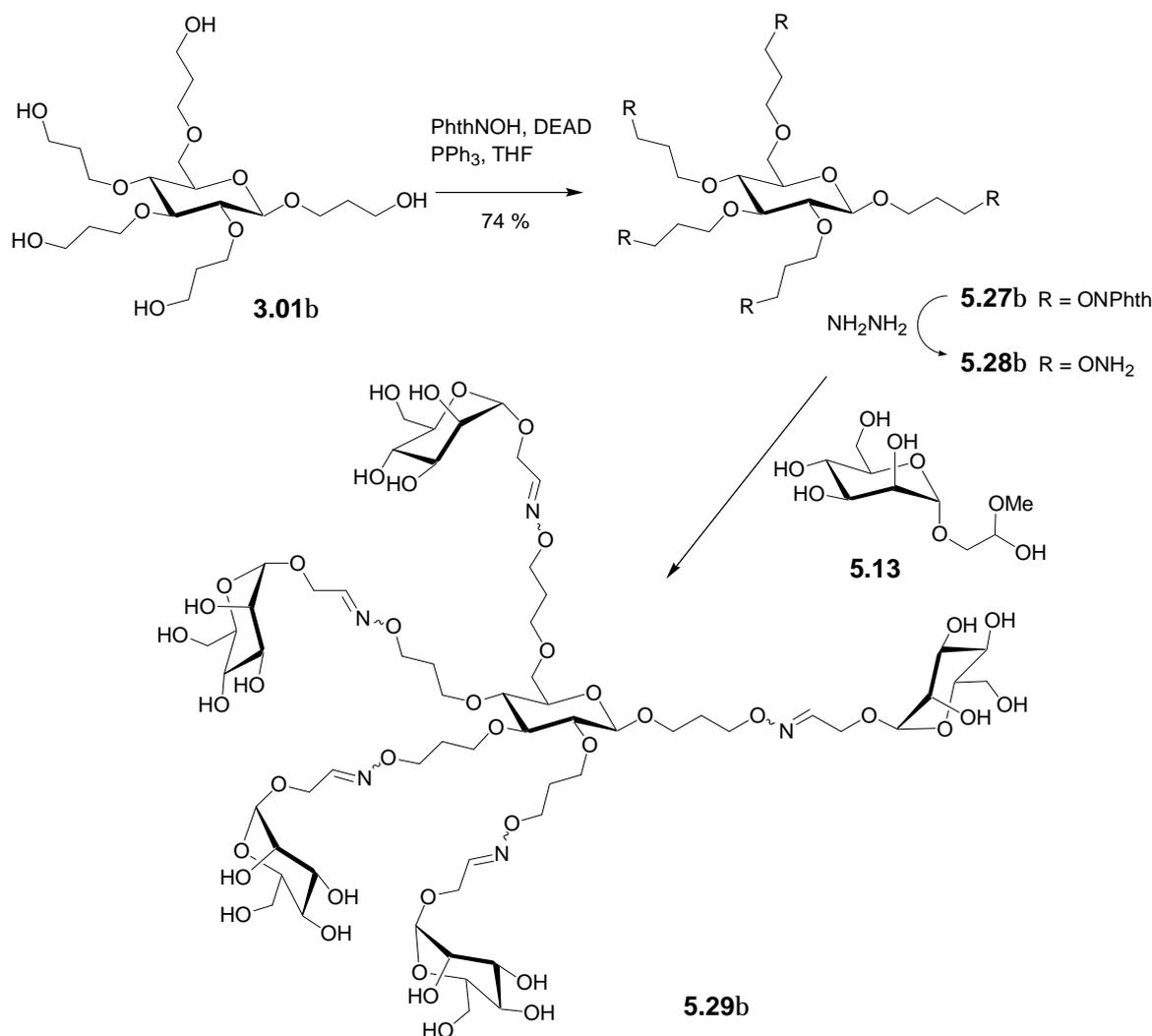
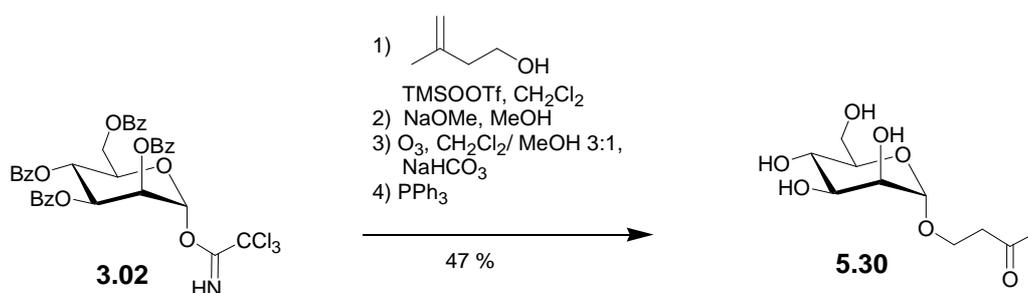


Abb. 5.20: Das allgemeine Reaktionsschema für Core-Moleküle mit Aminoxy-Gruppen: Polyalkohol-Core-Moleküle werden über eine Mitsunobu-Reaktion mit *N*-Hydroxy-Phthalimid umgesetzt und mit Hydrazin entschützt. Das *N*-Hydroxy-phthalimid reagiert als schwache Säure schnell mit dem DEAD-PPh₃-Addukt, weshalb eine Reaktion der Alkoholgruppen der Polyalkohol-Core-Moleküle mit dem DEAD-PPh₃-Addukt unwahrscheinlich ist.


 Abb. 5.21: Synthese des Glycoclusters **5.29b** über Aldoxim-Bindungen .

Über die Sequenz von Mitsunobu-Reaktion mit *N*-Hydroxy-phthalimid und anschließender Hydrazinolyse konnte der Glucose-zentrierte Pentalkohol **3.01b** in den Aminoxy-Core-Molekül **5.28b** überführt werden, der mit dem Aldehyd **5.13** schnell und quantitativ zu dem Glycocluster **5.29b** umgesetzt werden konnte (Abb. 5.21). Da sich der über Aldoxim-Bindungen verknüpfte Cluster **5.29b** als äußerst instabil erwies, wurde ausgehend von **3.02** das Keton-funktionalisierte Mannosid **5.30** hergestellt (Abb. 5.22).


 Abb. 5.22: Synthese des Keton-funktionalisierten Mannosides **5.30**.

Das mit längeren Armen ausgestattete Aminoxy-Core-Molekül **5.34** konnte mit dem Ketonfunktionalisierten Mannosid **5.30** zu einem stabilen über Ketoxim-Bindungen verknüpften Glycocluster umgesetzt werden.

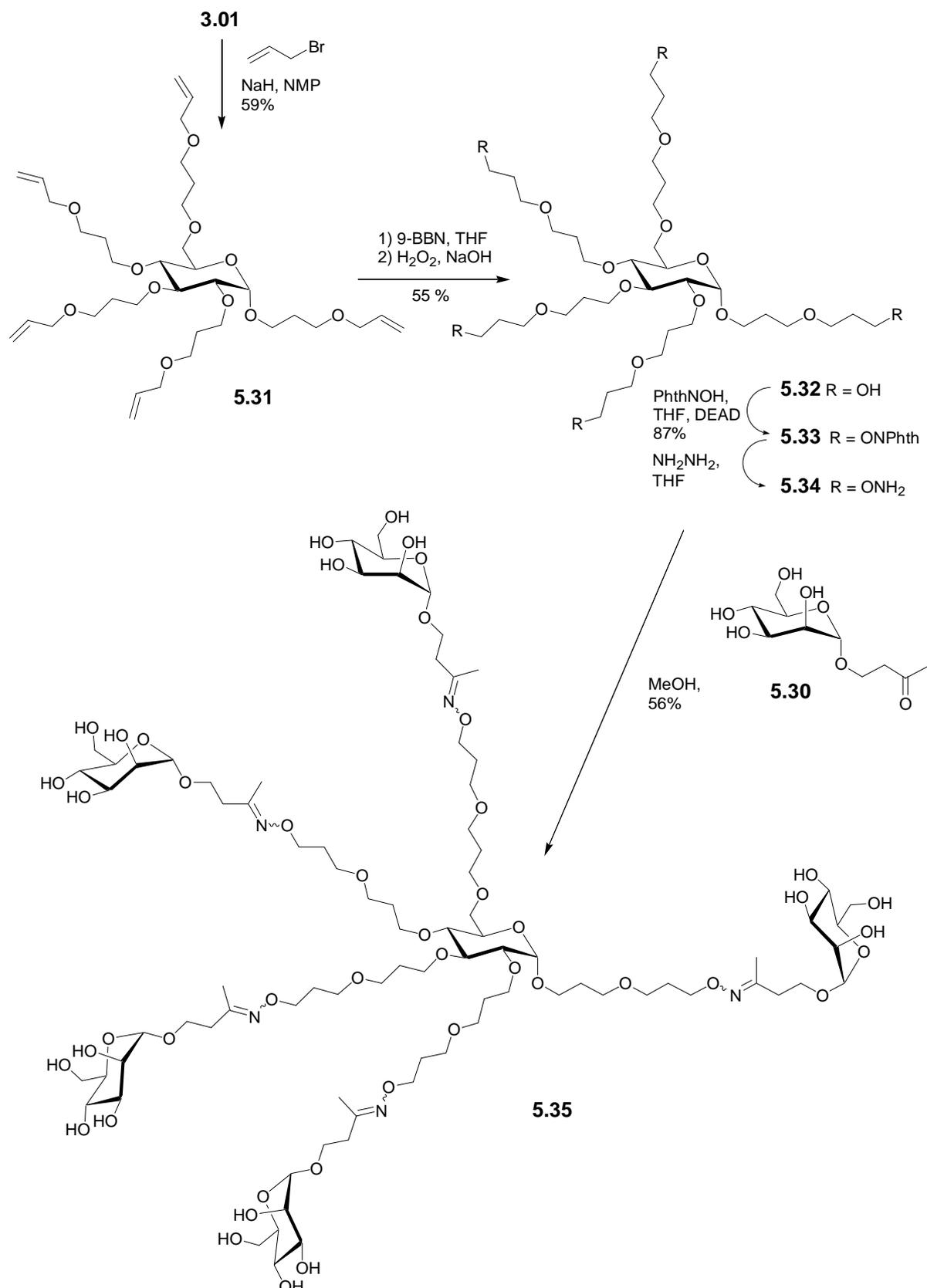


Abb. 5.23: Synthese des über Ketoxim-Bindungen verknüpften Glycoclusters **5.35**.

Zusammenfassung

Dissertation Michael Dubber, Universität Hamburg 2001

Thema dieser Dissertation war die Synthese Kohlenhydrat-zentrierter Dendrimere und Glycocluster. Mit den Glucose- und Trehalose-zentrierten PAMAM-Dendrimern **2.06** und **2.20**, konnten erstmals Dendrimere mit einem Kohlenhydrat-Kern hergestellt werden, welche eine besonders hohe Kernmultiplizität besitzen und daher andere Eigenschaften in biologischen Applikationen, wie Transfektions-Experimenten, besitzen sollten als die bisher bekannten Dendrimere. Um die dendritischen Äste möglichst nahe am Zucker zu plazieren und alle Hydroxylgruppen der Zucker auszunutzen, wurden verschiedene Methoden zur Synthese vollständig amino-funktionalisierter Kohlenhydratderivate evaluiert, wobei sich eine Sequenz aus Perallylierung, Hydroborierung, Appel-Reaktion und Gabrielsynthese als optimal erwies. Im Falle der Glucose-zentrierten Verbindung konnte über eine Perallylierung und Ozonisierung mit anschließender reduktiver Aminierung eine noch dichtere Gruppierung der Aminogruppen um den Kohlenhydrat-Kern erreicht werden.

Glycocluster sind multivalente Glycomimetika, die potentiell Kohlenhydrat-Lektin-Interaktionen inhibieren können und damit u. a. dazu geeignet sein können, die bakterielle Kolonisation humaner Gewebe zu verhindern. Die angestrebten hohen Inhibitionswerte werden erreicht, wenn der Glycocluster gleichzeitig Bindungen zu mehreren Kohlenhydrat-erkennenden Domänen eingehen kann, die ihrerseits meistens geclustert vorkommen, weil die Natur eben dieses Prinzip, der gleichzeitigen Ausbildung vieler schwacher Kohlenhydrat-Protein Bindungen zur Erlangung einer starken Bindung (Clustereffekt), in Zell-Zell-Kommunikationsprozessen nutzt. Über die *O*-Glycosylierung von über Perallylierungs-Hydroborierungs-Sequenzen hergestellten Octopus-Glycosiden mit Hydroxypropyl-Armen konnten Glucose-, Trehalose-, Melibiose- und Raffinose-zentrierte, Mannose-ummantelte Glycocluster synthetisiert werden. Für jeden einzelnen der Kohlenhydrat-zentrierten Glycocluster mußten optimale Glycosylierungsbedingungen gefunden werden. Während die Glucose-zentrierten Octopus-Glycoside mit benzylierten Imidaten in Dichlormethan bei einer sehr hohen Imidatkonzentration erschöpfend glycosyliert werden konnten (**3.04** und **3.12**), mußten die Oligosaccharid-zentrierten Glycocluster **3.15**, **3.18** und **3.26** in Acetonitril bei einer sehr niedrigen Imidatkonzentration und leicht erhöhter Temperatur glycosyliert werden. Die Verwendung von Mannose als Ligand und der Aufbau aus bio-kompatiblen Fragmenten ermöglichte einerseits den sofortigen Einsatz in Assays zur Inhibition der Adhäsion von *E. coli* an Mannan und soll andererseits den Einsatz gegen die Kolonisation humaner Gewebe mit uropathogenen *E. coli* ermöglichen.

Ein Grundmotiv der Chemie dieser Dissertation war die erschöpfende Umsetzung sterisch gehinderter polyfunktioneller Moleküle, wobei die Umsetzung der letzten Funktionalität jeweils die schwierigste war. An den Bruker Biflex III MALDI-TOF-Massenspektrometern, die zur Verfügung standen, konnten Protokolle entwickelt werden, mit denen sowohl die Anzahl der umgesetzten Funktionalitäten, als auch das Ausmaß an unerwünschten Nebenreaktionen, wie der Orthoesterbildung, ermittelt werden konnte.

Für eine Vielzahl von Immunbindungsassays werden funktionalisierbare Glycocluster benötigt, welche mit Biotin oder Fluoreszenzmarkern verknüpft werden können. Zu diesem Zwecke wurde ein Mannose-ummantelter Glucose-zentrierter Glycocluster mit einer freien Amino-Funktionalität synthetisiert, mit dem zahlreiche biologisch aktive Gruppen gekuppelt werden können. Neben dem biotinylierten Glycocluster **4.16** und verschiedenen fluoreszierenden Glycoclustern (**4.18**, **4.20** und **4.21**) wurden Glycolipidmimetika synthetisiert, die neben Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen zusätzliche hydrophobe Wechselwirkungen zu Kohlenhydrat-bindenden Proteinen (Lektinen) ausbilden können (**4.23**, **4.24**, **4.26** und **4.28**).

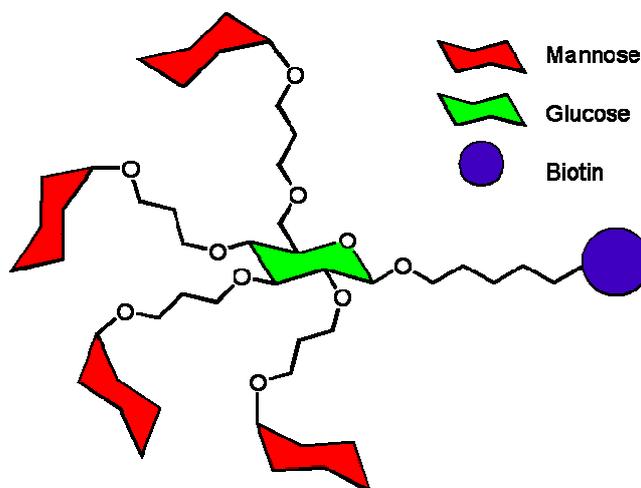


Abb. 6.1: Schematische Zeichnung des biotinylierten Glycoclusters **4.16**.

Nachdem zahlreiche Dendrimere und Glycocluster mit Hilfe schwer steuerbarer Reaktionen, welche zudem mit komplexen Nebenreaktionen konkurrieren, wie *O*-Glycosylierungen und reduktiver Aminierung, synthetisiert worden waren, wurden auch noch einfacher kontrollierbare Reaktionen wie Peptid-, Thioharnstoff- und Oxim-Kupplungen für den Aufbau Kohlenhydrat-zentrierter Glycocluster evaluiert. Die dabei synthetisierten Glucose-zentrierten Glycocluster **5.11**, **5.22** und **5.35** genügen zwar wahrscheinlich nicht allen toxikologischen Anforderungen, sind dafür aber einfach strukturell variierbar.

Um die Fülle der hier erarbeiteten Ergebnisse besser überblicken zu können, ist eine besonders übersichtliche Gliederung gewählt worden, die es erlaubt in einzelnen Kapitel unabhängig von der Lektüre anderer "einzusteigen". So mag ein zeitlich übersichtlich gehaltener Einblick in die Arbeitsgebiete dieser Dissertation auch jenseits des kurzen Abrisses in dieser Zusammenfassung gelingen.

Summary

Doctoral Thesis of Michael Dubber, University of Hamburg, 2001

Subject of this thesis was the synthesis of carbohydrate-centered dendrimers and glycoclusters. With the synthesis of the glucose and trehalose-centered PAMAM dendrimers **2.06** and **2.20**, dendrimers with a carbohydrate core were synthesised for the first time. These dendrimers are characterised by unusually high core multiplicities and should therefore have different properties in biological applications, e.g. transfection experiments, than dendrimers known to date. Several methodologies were evaluated to exploit each and every hydroxyl group, and to arrange the dendritic branches as tightly as possible around the carbohydrates. A sequence of perallylation, hydroboration, Appel reaction and Gabriel synthesis has proved to be optimal. In the case of the glucose-centered dendrimer, an even tighter arrangement of amino groups was achieved by a sequence of perallylation, ozonisation and subsequent reductive amination.

Glycoclusters are multivalent glycomimetics, which may be able to inhibit carbohydrate-lectin interactions and may therefore be used for prevention of bacterial colonisation of human epithelial tissues. The desired high inhibition values can be achieved, if the glycocluster binds to several carbohydrate recognition domains simultaneously. In Nature, these carbohydrate recognition domains are usually clustered, because Nature herself exploits this very phenomenon in cell-cell communication processes – the simultaneous formation of several weak carbohydrate-protein bonds results in one strong interaction (cluster glycoside effect). Glucose-, trehalose-, melibiose- and raffinose-centered glycoclusters coated with mannose were synthesised by *O*-glycosylation of octopus glycosides with hydroxypropyl branches, which were synthesised by a perallylation and hydroboration sequence. It was necessary to optimise the glycosylation conditions individually for each carbohydrate-centered glycocluster. For example, the glucose-centered octopus glycosides were perglycosylated by treatment with a solution of dichloromethane with very high imidate concentration (**3.04** and **3.12**), whereas the oligosaccharide-centered octopus glycosides **3.15**, **3.18** and **3.26** were perglycosylated by treatment with solutions of very low imidate concentration, but with slightly elevated temperatures. The application of mannose as ligand and because only biocompatible fragments were used for the construction of these glycoclusters, it was possible to employ them immediately in assays to determine their efficacy in inhibition of Type 1 fimbriae-mediated adhesion of *E. coli* to mannan. In addition,

these properties should enable the usage of these glycoclusters in prevention of the colonisation of human tissues by uropathogenic *E. coli*.

One of the main targets of the chemistry presented here was the complete reaction of sterically hindered polyfunctional molecules, whereby the reaction of the last functionality always proved to be the most difficult. The available Bruker Biflex III MALDI-TOF mass spectrometers made it possible to determine the number of functionalities reacted and the extent of undesired side-reactions such as orthoester formation.

Functionalised glycoclusters which can be labelled with biotin or with a fluorescence marker are needed for a number of immunoassays. To this end, a mannose-coated, glucose-centered glycocluster with a free amino group was synthesised, which can be coupled to a range of biologically active groups. In addition to the biotinylated glycocluster **4.16** and several fluorescent glycoclusters (**4.18**, **4.20** and **4.21**), glycolipid mimetics were synthesised (**4.23**, **4.24**, **4.26** and **4.28**), which take advantage of both carbohydrate-protein interactions and additional hydrophobic interactions with carbohydrate binding proteins (lectins).

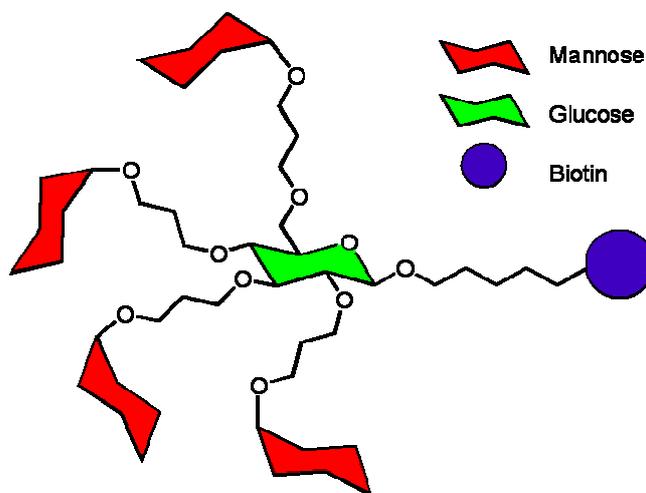


Abb. 6.2: Schematic drawing of the biotinylated glycocluster **4.16**

After numerous dendrimers and glycoclusters had been synthesised using reactions which are difficult to control and which have complex side-reactions (such as *O*-glycosylation and reductive amination), several easily controllable reactions such as peptide, thiourea and oxim couplings were employed for the synthesis of carbohydrate-centered glycoclusters. The glucose-centered glycoclusters **5.11**, **5.22** and **5.35** were synthesised in this manner. These glycoclusters can easily be tailored, but probably will not fulfill all toxicological requirements.

A user-friendly structure for this thesis has been chosen, which should allow the reader to read the chapter most relevant for him or her independent of the others. Thus it should be possible to win an insight into the various subjects of this thesis in short amount of time.

Experimenteller Teil

Allgemeine Methoden	Seite 120
Allgemeine Arbeitsvorschriften	Seite 121
MALDI-TOF-Massenspektroskopie	Seite 126
Biologischer Teil (Sandwich-ELISA für Typ-1-Fimbrien)	Seite 130
Arbeitssicherheits-relevante Informationen	Seite 132
Experimentelle Daten zum	
Kapitel 2 (Kohlenhydrat-zentrierte PAMAM-Dendrimere)	Seite 134
Kapitel 3 (Kohlenhydrat-zentrierte Glycocluster)	Seite 149
Kapitel 4 (Funktionalisierte Kohlenhydrat-zentrierte Glycocluster)	Seite 171
Kapitel 5 (Konvergente Glycocluster Synthesen)	Seite 189

Allgemeine Methoden: Alle Reaktionen wurden dünn-schichtchromatographisch auf Kieselgelfolie 60 F₂₅₄ (Merck) verfolgt. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht, durch Besprühen mit 10 %-iger ethanolischer Schwefelsäure, der teilweise α -Naphthol zugesetzt wurde, und anschließender Wärmebehandlung. Für Amine erfolgte die Detektion mit einer Lösung von 5 g (NH₄)₆Mo₇O₂₄×4 H₂O, 2 g Ce(HSO₄)₄ in 20 ml konz. Schwefelsäure und 80 ml Wasser mit anschließender Wärmebehandlung (Blaufärbung). In Einzelfällen erfolgte die Detektion auch durch Besprühen mit einer 10 %-ige Lösung von KMnO₄ in Aceton oder einer schwefelsauren (4 %) und essigsäuren (1 %) Lösung von *p*-Anisaldehyd (3 %) in Ethanol mit anschließender Wärmebehandlung. Chromatographische Trennungen erfolgten nach der Flash-Technik auf Kieselgel 60 (Merck, 0.04-0.063 mm, 230-400 mesh) oder wurden als Gelpermeationschromatographie an Sephadex LH-20 mit Methanol, Aceton oder Dichlormethan/Methanol 1:1 als Elutionsmittel, an Sephadex LH-60 mit Aceton als Elutionsmittel, an Sephadex G-15 mit Wasser als Elutionsmittel, sowie an Biogel P2 mit Wasser (15 mM NH₄HCO₃) als Elutionsmittel durchgeführt. Schmelzpunkte wurden auf einem Leitz-Heiztischmikroskop bestimmt und sind unkorrigiert. Die Messung der Drehwerte erfolgte bei Raumtemperatur auf einem Perkin-Elmer-Polarimeter 243 oder 341 (Natrium D-Linie, 589 nm, Küvettenlänge 1 dm).

Die Messung der NMR-Spektren erfolgte an einem Bruker DRX-500 (125.76 MHz bei ¹³C) und einem AMX-400 (100.62 MHz bei ¹³C) an der Universität Hamburg bzw. an einem Bruker DRX-500 (125.77 MHz bei ¹³C) und einem Bruker AR-300 (75.47 MHz bei ¹³C) an

der Universität Kiel. In CDCl_3 wurde TMS als interner Standard genutzt. Die ^{13}C -Daten sind einstellig hinter dem Komma angegeben und sind gerundet. In D_2O und D_4 -Methanol wurde auf die charakteristischen Lösungsmittelsignale von D_4 -Methanol (3.35 ppm für ^1H und 50.2 ppm für ^{13}C -Spektren) geeicht. Zur genauen Zuordnung der Signale wurden, falls erforderlich, ^1H - ^1H -COSY- oder ^1H - ^{13}C -Korrelations-Experimente durchgeführt. FAB-Spektren wurden auf einem VG Analytical 70-250S-Massenspektrometer aufgenommen. Die Elementaranalysen wurden in der analytischen Abteilung des Instituts für Organische Chemie der Universität Hamburg angefertigt. Für einige Stoffklassen wie vollständig Amino- oder *N*-Benzyl-funktionalisierte Zucker und entschützte Cluster mit sechzehn oder mehr freien OH-Gruppen konnten keine korrekten Elementaranalysen erhalten werden. In diesen Fällen wurde die Reinheit mit ESI- und MALDI-TOF-MS überprüft.

Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV 1: Perallylierung nicht-reduzierender Zucker und Glycoside

Zucker mit mehr als 5 freien OH-Gruppen werden mit NaH und Allylbromid in DMF perallyliert, während Glycoside mit weniger als 5 freien OH-Gruppen sehr gut unter Phasentransferbedingungen perallyliert werden können.

a) PTC-Methode: Zur Perallylierung unter Phasentransfer-Katalyse wird der Zucker in einer klaren 30 %-igen Natronlauge, die 30 Äquivalente NaOH pro OH-Gruppe enthält, gelöst. Wenn sich der pulverisierte Polyalkohol nicht löst, wird etwas Toluol zugefügt. Nach der Zugabe von 1-2 Gewichtsäquivalenten Tetabutylammoniumbromid (TBABr) werden bei 20-30°C 1.2 bis 1.5 Äquivalente Allylchlorid oder Benzylchlorid pro freier OH-Gruppe zugetropft. Nachdem der Ansatz 6-18h bei 20-35°C heftigst gerührt wurde, werden 100 ml Toluol zugesetzt. Die wässrige Phase und die TBABr-Phase werden abgetrennt, und die organische Phase wird ca. fünfmal mit Wasser gewaschen. Wenn die organische Phase neutral ist, wird sie getrocknet, eingeeengt und falls notwendig an Kieselgel gereinigt. Empfindliche Zucker werden nur für 6h bei 20°C perallyliert, während stabilere Zucker mit höheren Ausbeuten über 18h bei 35°C umgesetzt werden.

b) NaH-Methode: Zur Perallylierung mit NaH wird der Zucker in trockenem DMF oder NMP suspendiert und mit 1.2 Äquivalenten NaH pro OH-Gruppe versetzt. Nach dem Abklingen der Wasserstoffentwicklung werden 1.2 Äquivalenten Allylbromid pro OH-Gruppe zugetropft und anschließend wird die Lösung über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung

wird unter Eiskühlung mit Eiswasser hydrolysiert, mit 100 ml Toluol versetzt, zweimal mit Natriumchloridlösung und zweimal mit Wasser gewaschen, mit MgSO_4 getrocknet, eingeeengt und an Kieselgel gereinigt.

AAV 2: Hydroborierung perallylierter Verbindungen

Die perallylierte Verbindung wird in trockenem THF gelöst und mit 2 Äquivalenten 9-BBN (0.5 M in THF) pro Allylgruppe 1h unter Rückfluß gekocht. Empfindliche Zucker werden nur 1.5h bei 20°C hydroboriert. Der Hydridüberschuß wird bei 0°C durch die Zugabe von Wasser zerstört, danach wird ein halbes Volumenäquivalent (bezogen auf die 9-BBN-Lösung) wäßrige 3M NaOH-Lösung und anschließend tropfenweise ein halbes Volumenäquivalent 30 %-ige Wasserstoffperoxidlösung zugegeben. Bei Basen-empfindlichen Zuckern erfolgt die oxidative Aufarbeitung durch die langsame zeitgleiche Zugabe von je einem halben Volumenäquivalent 3M Natriumacetatlösung und 30 %-iger Wasserstoffperoxidlösung. Die Lösung wird über Nacht gerührt, mit K_2CO_3 vollständig gesättigt und die Phasen separiert. Die wäßrige Phase wird dreimal mit THF gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden entsprechend der Molekularmasse und dem Adsorptionsverhalten des Produktes aufgearbeitet. Verbindungen mit bis zu 5 Hydroxypropylgruppen können problemlos mit Dichlormethan-Methanol-Gemischen an Kieselgel gereinigt werden, während mit größeren Verbindungen zuerst eine Entwässerung mit trockenem Methanol an Sephadex LH-20 erfolgt.

AAV 3: Ozonisierung von Polyallylverbindungen

Polyallylverbindungen, für welche die Gefahr einer Polymerisierung besteht, werden mit 1.5 Äquivalenten Natriumhydrogencarbonat pro Doppelbindung in einem Gemisch aus Dichlormethan und Methanol im Ethanol/Trockeneis-Kältebad bei -78°C ozonisiert. Nach Blaufärbung des Ansatzes wird mit Hilfe eines Stickstoffstroms entfärbt und mit 1.2 Moläquivalenten Triphenylphosphin bei -78°C zum Aldehyd bzw. Halbactal oder mit 1.2 Moläquivalenten NaBH_4 auf Al_2O_3 zum Alkohol reduziert. Das Lösungsmittelgemisch wird so gewählt, daß das Reaktionsgemisch nach einem negativen Peroxidtest¹⁷² ohne einzuengen mit einem geringen Lösungsmittelgradienten an Merck-Kieselgel 60 gereinigt werden kann. Einfache geschützte Allylverbindungen können einfach in ungepufferten Dichlormethan ozonisiert werden. Bei Ozonolysen in Methanol-haltigen Lösungsmitteln kann auch mit Dimethylsulfid zu Aldehyden reduziert werden.

AAV 4: Reduktive Aminierung von Polyhalbacetalen

Das Polyhalbacetal wird mit Methanol in den Reaktionskolben übergeführt, im Stickstoffstrom eingeeengt, in THF gelöst und bei -10°C mit 1.2 Moläquivalenten Dibenzylamin, 1.5 Moläquivalenten Eisessig und 2-3 Moläquivalenten Natriumtriacetoxymborhydrid pro Carbonylgruppe versetzt. Anschließend wird ca. 3h bei -10°C gerührt. Nach dem Zusatz von 100 ml Dichlormethan wird zweimal mit einem Überschuß 1M wäßriger Natronlauge gewaschen, mit Wasser klargewaschen, mit MgSO₄ getrocknet und eingeeengt. Abschließend wird das Rohprodukt an Sephadex LH-20 (trockene Laufmittel: Dichlormethan : Methanol 1:1) gereinigt.

AAV 5: N-Debenzylierung

Zur Abspaltung einer N-Benzylgruppe nach dem Verfahren der katalytischen Transfer Hydrogenolyse wird das Benzylamin in trockenem Methanol gelöst und unter Stickstoff mit einem halben Gewichtsäquivalent Pd/C und 25 Mol-Äquivalenten Ammoniumformiat pro Benzylgruppe versetzt. (Die Anzahl der benötigten Mol-Äquivalente hängt stark von der Katalysatoraktivität ab.) Der Ansatz wird 2h unter Rückfluß erhitzt. Wenn die Reaktion dann noch nicht abgeschlossen ist (DC Kontrolle mit Isopropanol/Wasser/25 % Ammoniaklösung 70:30:1) werden nochmals etwa 25 Mol-Äquivalenten Ammoniumformiat pro Benzylgruppe und etwas Methanol zugesetzt. Zur Aufarbeitung wird der Ansatz mit Methanol verdünnt, über Filterpapier/Celite/Filterpapier filtriert, eingeeengt und im Ölpumpenvakuum von restlichen Ammoniumformiat (¹H-NMR: 8.6 ppm, ¹³C-NMR: 171.3 ppm) befreit.

AAV 6: PAMAM-Synthese

Eine PAMAM Synthese besteht aus zwei iterativen Schritten, falls Kernmoleküle mit endständigen Aminogruppen verwendet werden, beginnt die Synthese mit der Addition des Polyamins an Methylacrylat.

a) Michael-Addition an Methylacrylat: Das Polyamin wird in trockenem Methanol gelöst. Zum Entgasen, wird mindestens 30min Argon oder Stickstoff bei rt durch die Lösung geleitet. Danach werden 2.4 bis 3.6 Moläquivalente Methylacrylat pro Aminofunktionalität zugegeben und der Ansatz wird 3d unter Lichtausschluß bei rt gerührt. Anschließend wird eingeeengt, einmal mit trockenem Methanol kodestilliert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

b) Aminolyse mit Ethylendiamin: Ein großer Überschuß destilliertes Ethylendiamin (75 Moläquivalente Ethylendiamin pro Estergruppe für die erste Generation und 150 für die zweite, 300 für die dritte, 600 Moläquivalente pro Estergruppe für die vierte Generation usw.) der mit 10 Vol-% trockenem Methanol versetzt wurde, wird bei 5°C mindestens 30min entgast. Gleichzeitig wird eine höchstens 10 %-ige Lösung des Polyesters in trockenem Methanol ebenfalls mindestens 30 Minuten entgast. Die Lösung des Polyester wird zu der Lösung des Ethylendiamins gegeben und anschließend wird der Ansatz 4-5d unter Lichtausschluß bei 5°C verwahrt und gelegentlich umgeschwenkt. Zur Aufarbeitung wird nach Zusatz von Toluol eingengt, drei- bis fünfmal in Methanol aufgenommen und mit Toluol kodestilliert, erneut mit Methanol aufgenommen und wieder eingengt sowie im Ölpumpenvakuum getrocknet.

AAV 7: Anomere Deacylierung

Der perbenzoylierte oder peracetylierte Zucker wird in THF (für Mannoseperbenzoat in Pyridin) vollständig gelöst und mit einer 5.6 M ethanolischen Dimethylaminlösung (Fluka) unter ständiger DC-Kontrolle gerührt bis die Reaktion abgeschlossen ist (z.B. werden 5-20 g Mannoseperbenzoat in 50-200 ml Pyridin mit 50 ml 5.6 M HNMe₂ in Ethanol, 1.5h gerührt). Zur Aufarbeitung wird nach dem Zusatz von 100 ml Toluol, viermal mit kaltgesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet, eingengt und sofort an Kieselgel gereinigt.

AAV 8: Glycosylierung nach der Imidat-Methode

a) in Dichlormethan: Der Polyalkohol wird mit 10 Äquivalenten Imidat pro OH-Gruppe in trockenem Dichlormethan gelöst, eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wird unter Argon in sehr wenig trockenem Dichlormethan gelöst (1ml CH₂Cl₂/g Imidat), mit 0.1-0.5 ml 5 %-ige Lösung von TMSOTf in Dichlormethan versetzt und 6-12h gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit trockenem Dichlormethan verdünnt, mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert, filtriert, eingengt und an Kieselgel und gegebenenfalls Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt.

b) in Acetonitril: Der Polyalkohol wird mit 10 Äquivalenten Imidat pro OH-Gruppe unter Argon in trockenem Acetonitril (100ml Acetonitril/g Imidat) gelöst und auf 40-65°C Ölbadtemperatur erwärmt. Nach der Zugabe von 0.05 ml TMSOTf wird 0.05-1h bei 40-65°C gerührt, danach wird 1h bei rt weiter gerührt. Nach der Zugabe von weiteren Imidat (1-2

Äquivalenten pro OH-Gruppe) wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit NaHCO_3 neutralisiert, filtriert, eingengt und an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt, wobei hinter dem positiv detektierten Elutionsvolumen nocheinmal das gleiche Elutionsvolumen zusätzlich mitgesammelt wurde. Anschließend wird an Kieselgel und erneut an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt.

AAV 9: Deacetylierung / Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen

Die acetylierte oder benzoylierte Verbindung wird in Methanol gelöst, mit 1 ml 0.1 M Natriummethanolatlösung in Methanol versetzt und über Nacht gerührt. Anschließend wird mit Amberlite IR 120 neutralisiert, filtriert und eingengt. Debenzoylierte Verbindungen werden mit Methanol an Sephadex LH-20 von dem Benzoessäuremethylester getrennt. Wenn die benzoylierte Verbindung nicht, oder nur schlecht in Methanol löslich ist, wird sie zuerst in THF gelöst und 1h mit 1 ml 0.1 M Natriummethanolatlösung gerührt bis eine Trübung oder ein Niederschlag sichtbar ist, bevor eingengt und die obige Prozedur angewendet wird.

AAV 10: Amidverknüpfung mit HATU

Die Säure, das Amin, (0.9 Äquivalente wenn sich die Aminogruppe am Core befindet, sonst 1.1 Äquivalente) und 2-3 Äquivalente DIPEA werden unter Argon in trockenem DMF gelöst und unter Eiskühlung mit HATU versetzt. Es wird 2h unter Eiskühlung und 6-12h bei Raumtemperatur gerührt, bis die Reaktion abgeschlossen ist. Zur Aufarbeitung wird mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

MALDI-TOF-Massenspektroskopie

(Matrix-assisted Laser Desorption Ionisation-Time of Flight-MS)

Da sowohl in Hamburg als auch in Kiel "Bruker Biflex III"-MALDI-TOF-Massenspektrometer zur eigenhändigen Messung zur Verfügung standen und diese Geräte vielfach die einzige Möglichkeit zur Reaktionsverfolgung darstellten und quasi als "DC-Kammer-Ersatz" dienten, wird hier ein kurzer Einblick in die MALDI-TOF-Massenspektroskopie gegeben.

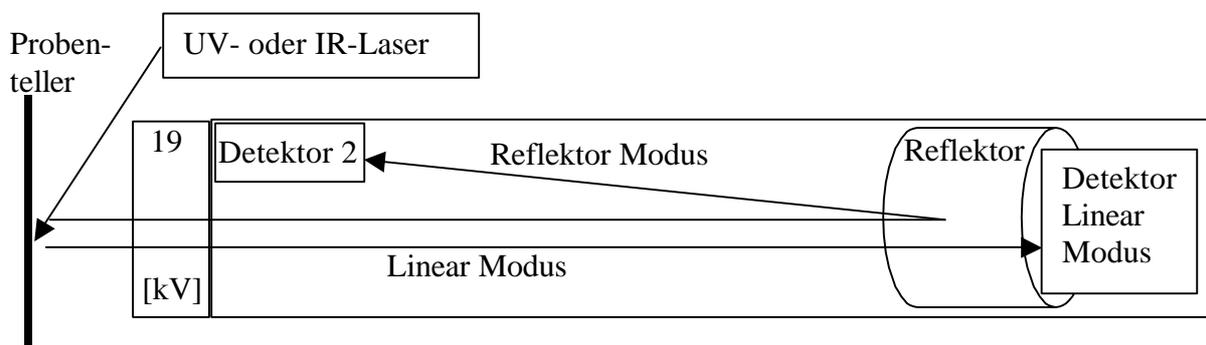


Abb. 7.1: Schematische Zeichnung eines MALDI-TOF-Massenspektrometers.

Zur Bestimmung der Molekülmasse und Reinheit einer Probensubstanz mit Hilfe eines MALDI-TOF-Massenspektrometers wird die Probensubstanz zuerst mit einer Matrix kokristallisiert. Die so präparierte Probe wird in das Massenspektrometer eingefahren und im Hochvakuum mit einem Laser beschossen, dessen Energie von der Matrix absorbiert und auf die Probenmoleküle übertragen wird, wobei es zu einer Verdampfung von Matrix und Probenmolekülen kommt. Neutrale Moleküle werden während dieses Prozesses durch die Anlagerung von einfach geladenen Ionen, wie z. B. H^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ oder auch Cl^- , in sogenannte "Quasi-Molekülonen", wie z. B. $[M+H]^+$, überführt. Die einfach geladenen Ionen werden anschließend mit Hilfe eines elektrischen Feldes mit einer kinetischen Energie von 19 kV in ein Feld-freies, evakuiertes Rohr geschossen. In diesem "TOF"-Rohr besitzen alle Moleküle eine konstante Fluggeschwindigkeit, die um so größer ist, je kleiner ihre Masse ist.

$$e \times U = 1 \times 19 [kV] = \frac{1}{2} m v^2 \quad \Rightarrow \quad v = \sqrt{\frac{2 \times 19 [kV]}{m}} \quad \begin{array}{l} v = \text{Fluggeschwindigkeit} \\ m = \text{Molekülmasse} \end{array}$$

Wenn das MALDI-TOF-Massenspektrometer im "linearen Modus" betrieben wird, mißt ein Detektor am Ende des TOF-Rohres die Flugzeit (Time of Flight) der Ionen, welche von dem vorher kalibrierten Gerät in die dazugehörigen Massen umgerechnet wird.

Den besonderen Vorteil eines TOF-Gerätes kann man sich mit Hilfe eines Gedankenexperiments verdeutlichen: Wenn ein Molekül-Ion mit einer Masse von $m/z = 1900$ während des Verdampfungsprozesses im MALDI-Teil mit einer so großen thermischen Energie ausgestattet worden ist, daß es im TOF-Rohr ein Neutalmolekül der Masse $m/z = 1200$ abspaltet, so behalten gemäß den Gesetzen der klassischen Physik beide Teilchen ihre Fluggeschwindigkeit bei und das Ion verliert 12 [kV] seiner kinetischen Energie. Das heißt, das fragmentierte Ion erreicht den Detektor zur selben Zeit, wie ein unfragmentiertes Ion. Eine evt. stattfindende Fragmentierung der Ionen im TOF-Rohr eines linearen MALDI-TOF-Gerätes ist somit für die messende Person nicht sichtbar. (Quantenmechanisch betrachtet ergibt sich aus der Fragmentierung eines Molekül eine Verbreiterung des Molekülpeaks.)

Durch den Einbau eines Reflektors (20 [kV]) am Ende des TOF-Rohres und eines zweiten Detektors nahe dem Probeneintrittspunkt kann die Flugstrecke des Rohres zweifach genutzt werden. Die Ionen mit der Energie 19 [kV] werden zum Anfang des Rohres zurückgeschossen und dort von einem zweiten Detektor detektiert, wobei sich aufgrund der verlängerten Flugbahn und der speziellen Architektur des Reflektors ein Gewinn an Schärfe und Auflösung ergibt. Im Reflektor-Modus werden Ionen, die zwischen dem Probeneintritt in das TOF-Rohr und dem Reflektor fragmentiert sind, nicht detektiert, daher sind Substanzen die kurz nach dem Eintritt in das TOF-Rohr vollständig fragmentieren nur im Linear- nicht aber im Reflektor-Modus sichtbar. Bei MALDI-TOF-Geräten die mit einer Post-Source-Decay-(PSD)-Einheit ausgestattet sind, kann die Energie des Reflektor schrittweise herabgesetzt werden. Wobei auch eine Reflektor-Spannung erreicht wird, bei welcher das Ion der Masse m/z 700 mit der kinetischen Energie 7 [kV] aus dem obigen Gedankenexperiment genauso reflektiert wird, als ob es die kinetischen Energie 19 [kV] besäße. Wenn nun die Energie des Lasers schrittweise so stark erhöht wird, das z. B. ein Peptid am Schluß vollständig vor dem Reflektor fragmentiert, so kann Abschnitt für Abschnitt ein Spektrum aufgenommen werden, welches die Bestimmung der Aminosäuresequenz des Peptides zuläßt. Obwohl mit der PSD-Einheit eine vollständige Strukturanalyse einfacher Peptide möglich ist und bereits Strukturen von Glycolipiden¹⁷³ und Oligosacchariden¹⁷⁴ mit Hilfe von PSD-Spektren aufgeklärt wurden, werden zur Strukturaufklärung von Glycoproteinen und Glycoproteinen meistens andere massenspektroskopische Methoden gewählt, die mehr Strukturinformationen liefern können.¹⁷⁵

Fragmentationen können in einem MALDI-TOF-Massenspektrum nur beobachtet werden, wenn bereits im komplexen Prozeß der Verdampfung und Ionisierung¹⁷⁶ Probenmoleküle fragmentieren. Als Ursachen für eine Fragmentierung während dieses Prozesses können eine

falschen Probenpräparation, eine zu hohen Laserenergie oder die Anwesenheit bestimmter funktioneller Gruppen in Betracht kommen. Wenn wie im Falle der Bruker-Biflex-III-Geräte UV-Laser verwendet werden, neigen Azide zur Abspaltung von Stickstoff und Dansyl-Reste sowie DNA-Fragmente¹⁷⁷ durchlaufen komplexe Reaktionen.

Die Probenpräparation kann entweder nach dem Sandwich- (Schicht-)Verfahren oder der "dried-droplet"-(pre-mix)-Methode erfolgen.¹⁷⁸ Ungeschützte Zucker werden meistens mit der Matrix 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) nach dem Schichtverfahren präpariert, wobei man zuerst einen Tropfen einer DHB-Lösung auf dem Probensteller (Target) kristallisieren läßt und anschließend einen Tropfen der Probenlösung auf die DHB-Kristallschicht aufträgt und kristallisieren läßt. Die "dried-droplet"-Methode sieht eine Mischung der Matrix und Probenlösung in einem Flüssigkeitstropfen auf dem Target vor.

Bei der Wahl der Matrix kann man sich an dessen Hydrophilie orientieren, insbesondere bei der pre-mix-Methode ist es von Vorteil, wenn die Probensubstanz und die Matrix chemisch einander ähnlich sind.

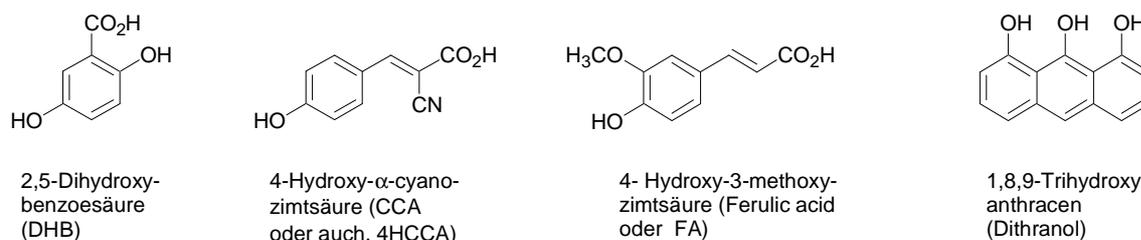


Abb. 7.2: Vier von über zwanzig üblichen Matrices zur Probenpräparation für mit UV-Lasern ausgestattete MALDI-TOF-Massenspektrometer. Die Hydrophilie der dargestellten Matrices nimmt von links nach rechts ab.

Durch die Optimierung der Parameter: Matrix, Konzentrationen und Präparationstechnik lassen sich die Qualität, Reproduzierbarkeit und Peakintensität der Massenspektren stark optimieren.¹⁷⁹ So konnte z. B. Meldal das MALDI-TOF nach dem Zusatz von CsI als "Dopingmittel" zur Auswertung von normaler DCs kleiner Moleküle benutzen,¹⁸⁰ und für PSD-Messungen, wo mit hoher Laserenergie mehrere Stunden an einer Probenpräparation gearbeitet wird, erhält man eine besonders dicke Kristallschicht, wenn die Matrixlösung und die Probenlösung in einen kleinen Wassertropfen injiziert werden.¹⁸¹ Im Rahmen dieser Arbeit erwies sich eine pre-mix-Präparation mit Aceton oder THF als Lösungsmittel, NaI als "Dopingmittel" und nor-Harmane⁶⁷ als Matrix insbesondere für benzylierte Cluster als optimal, wobei die Proben- und die Matrixlösung bereits vor dem Auftragen auf den Probensteller gut durchmischt (Vortex) werden mußten (pre-mix-Methode), um gute Resultate zu erzielen.

Die MALDI-TOF Messungen erfolgten, wenn nicht anders angegeben, im positiven Reflektor-Modus, wobei wasserlösliche Proben im Schichtverfahren mit DHB in

Wasser/Acetonitril 2:1 mit 0.1 % TFA (10 mg DHB/ml) als Matrix präpariert wurden, und unpolare Substanzen mit nor-Harmane (10 mg/ml) in THF oder Aceton, dem gegebenenfalls NaI zugesetzt wurde, im pre-mix-Verfahren präpariert wurden. In einigen Fällen wurde eine gesättigte Lösung von CCA in Aceton als Matrix verwendet, wobei nach den Schichtverfahren präpariert wurde.

Zum Kalibrieren wurden CCA ($[2M+H]^+$ $m/z = 379.09$); Angiotensin II ($[M+H]^+$ $m/z = 1046.54$), Bombesin ($[M+H]^+$ $m/z = 1619.82$) und Insulin (Bovine) ($[M+H]^+$ $m/z = 5734.56$) verwendet.

Beispiele für Anwendungen der MALDI-TOF-Massenspektroskopie aus dem Theoretischen Teil dieser Dissertation:	Seite
1. <i>N</i> -Benzylierte Verbindungen wie 2.16 spalten statistisch Benzylgruppen ab, wenn sie mit ungeeigneten Matrices präpariert werden.	33
2. Das MALDI-TOF-Gerät ermöglicht die Reaktionskontrolle bei der Synthese des Trehalose-zentrierten PAMAM-Dendrimers 2.20	38-39
3. Mit Hilfe des MALDI-TOF-Gerätes kann während einer Glycosylierungsreaktion der Anteil der Orthoesterbildung verfolgt werden.	52-54
4. Die MALDI-TOF-Spektren sind auch bei Massen von über 5000 m/z noch Isotopen-aufgelöst, wie das Beispiel 3.25 zeigt (Abb. 3.16).	56
5. Die Spaltung des Trehalose-zentrierten Glycocluster 3.14 kann nur mit Hilfe des MALDI-TOF-Gerätes verfolgt werden.	76-77
6. Das einfach negativ-geladene Phospholipid 4.28 wurde im Negativ-Modus des MALDI-TOF-Massenspektrometers vermessen (Abb. 4.40).	97

Zu Beginn der Dissertation wurden die MALDI-TOF-Massenspektren an einem Finnigan-MALDI-TOF-Massenspektrometer des Hans-Knöll-Institutes in Jena gemessen. Die entsprechend gekennzeichneten Meßwerte sind im Linearen Modus aufgenommen und nicht isotopenaufgelöst.

Biologischer Teil

Sandwich-ELISA für Typ-1-Fimbrien

Materialien: Die F-shaped Mikrotiterplatten stammen von Sarsted (mit Deckel Nr. 82.1581-001), die Magermilch stammte von Glücksklee (niedrigstes Hintergrundrauschen), das Tween 20 stammte von Roth, das ABTS stammte von Sigma und das Thimerosal stammte von Merck. Das Mannan von *Saccharomyces cerevisiae* wurde über Sigma bezogen und der Peroxidase-konjugierte Anti-Hase-Ziegen-Antikörper (IgG, H+L) wurde von Dianova bezogen. Der polyklonale anti-FimA-Antikörper wurde freundlicherweise von der Abteilung für molekulare Infektionsbiologie des Forschungszentrums Borstel zur Verfügung gestellt. Es wurde ein rekombinanter *E. coli* Stamm mit Typ-1-Fimbrien, *E. coli* HB 101 (pPK14) benutzt.^{182, 75e}

Verwendete (Puffer-) Lösungen:

- PBS-Puffer:** 8 g Natriumchlorid, 0.2 g Kaliumchlorid, 1.44 g Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat und 0.2 g Kaliumdihydrogenphosphat werden in 1 L destillierten, deionisierten Wasser gelöst (pH = 7.2; 150 mM).
- PBSE Puffer:** PBS Puffer mit 0.01 % (v/g) Thimerosal
- PBSET Puffer:** PBSE Puffer mit + 0.05 % Tween 20
- Substrat-Puffer:** eine wäßrige 0.1 M Natriumcitrat-Dihydrat Lösung wird mit Zitronensäure (3-Carboxy-3-hydroxy-pentandisäure) auf einem pH von 4.5 eingestellt.
- ABTS-Lösung:** eine ABTS-Tablette (10 mg) wird mit Hilfe eines Ultraschallbades in 10 ml destillierten, devonisierten Wasser gelöst und kurz vor der Verwendung mit 250 µl 0.1 %-iger Wasserstoffperoxidlösung versetzt.
- Mannan-Lösung:** 1 bis 2 mg Mannan pro ml Carbonatpuffer pH 9.2
- Bakterien-Lösung:** Bakterien ernten und in PBS lösen 10 mg / ml, einmal waschen (d.h. zentrifugieren, Überstand abpipettieren, in PBS lösen, vortexen) und 1:20 in PBS verdünnen
- Inhibitor-Lösung:** 2.5 mmol Cluster/ 1L destilliertes, deionisiertes Wasser
- Standard-Lösung:** Methylmannosid 1mol/L destilliertes, deionisiertes Wasser, *p*-Nitrophenylmannosid 10mmol/L (Methanol/Wasser 2:1), dabei wird das *p*-Nitrophenylmannosid zuerst vollständig in Methanol gelöst.

Die 96 Wells der Mikrotiterplatten wurde mit Mannan beschichtet, indem sie über Nacht mit 100 µl/well einer Mannanlösung inkubiert (37°C) wurden. Vor dem Start des Tests wird zum Blockieren unbesetzter Plätze in den Wells einmal mit PBSE gewaschen, mit 150 µl/well 5 %-iger (v/g) Magermilchlösung in PBSE 30 Minuten inkubiert und einmal mit 150 µl/well PBSE gewaschen.

ELISA-Protokoll:

- 50 µl/well PBSE in alle Wells
- 50 µl/well verschiedene Inhibitoren (2B bis 2H) und reihen-/serienweise 1:2 verdünnen (2→8). Als Standards werden Methylmannosid oder *p*-Nitrophenylmannosid verwendet.
- 50 µl/well Bakterienlösung (2B bis 8H)
- 1h inkubieren (37°C)
- viermal mit 150 µl/well PBSE waschen
- 50 µl/well anti-FimA-Antikörper (1:2000) gelöst in 2 % Magermilchlösung in PBSE (2B bis 8H) sowie 1B und 1D zur Negativkontrolle
- 0.5h inkubieren (37°C)
- zweimal mit 150 µl/well PBSET waschen
- 50 µl/well Peroxidase-konjugierter Antikörper (1:4000) gelöst in 2 % Magermilchlösung in PBSE (2B bis 8H) sowie 1C und 1D zur Negativkontrolle
- 0.5h inkubieren (37°C)
- dreimal mit 150 µl/well PBSET waschen
- einmal mit 150 µl/well PBSE waschen
- 50 µl/well ABTS-Lösung
- 0.5-1h inkubieren (37°C)

Die Farbreaktion wird mit 50 µl/well 2 %-iger wässriger Oxalsäurelösung gestoppt und mit dem ELISA-Reader ausgewertet. Die dabei erhaltenden Optischen Dichten (OD) werden in % Inhibition umgerechnet. Unter Berücksichtigung aller Verdünnungen wird aus einem % *Inhibition*/log(Konzentration)-Diagramm die Konzentration ermittelt bei der eine 50 %-ige Inhibition erreicht wird, der IC₅₀-Wert.

$$\% \text{ Inhibition} = 100 \times \left[\frac{OD(\text{ohne Inhibition}) - OD(\text{mit Inhibition})}{OD(\text{mit Inhibition})} \right]$$

Arbeitssicherheits-relevante Informationen

die R- und S-Sätze, sowie Gefahrensymbole für die verwendeten Chemikalien

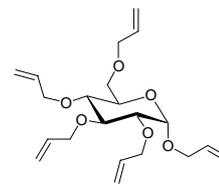
Verbindung	R-Sätze	S-Sätze	Gefahrensymbol
ABTS	25-36/37/38	36/37/29	T
Aceton	11	9-16-23-33	F
Acetonitril	11-23/24/25	16-27-45	F, T
Allylalkohol	11-23/24/25- 36/37/38-50	36/37/39-38-45-61	T, N
Allylbromid	11-23/24/25- 36/37/38	16-26-36/37/39-45	F, T
Allylchlorid	11-26-40-50	16-29-33-45-61	F, T, N
Ammoniumformiat	36/37/38	26-36	Xi
Benzoylchlorid	34	26-45	C
9-BBN	11-15-36/37/38	16-26-33-43.1	F, Xi
Bortrifluorid-Etherat	15-34-48/23	26-36/37/39-45	F, T
1-Bromhexanol	36/37/38	26-36	Xi
DBU	22-34	26-36/37-39-45	C
Dichlormethan	40	23.2-24/25-36/37	Xn
Dimethylamin-Lösung	12-20/22-34	3-16-26-29- 36/37/39-45	F+, C
DMF	20/21-36-61	53-45	T
Ethylacetat	11	16-23.2-29-33	F
Ethylendiamin	10-21/22-34-42/43	23-26-36/37/39-45	C
Hydrazin-Hydrat	45-23/24/25.1-34- 43	53.1-45	T
Isopropanol	11	7-16	F
Methanol	11-23/25	7-16-24-45	T, F
Methylacrylat	11-20/21/22- 36/37/38-43	9-25-26-33-36/37- 43	F, Xn
Natrium	14/15-34	5.3-8-43.7-45	F, C
Natriumazid	28-32	28.1-45	T+
Natriumborhydrid	15-34	26-36/37/39-43.12- 45	F, C
Natriumhydrid	15	7/8-24/25-43.12	F
Natriumhydroxid	35	26-37/39-45	C

Experimenteller Teil

Natriumtriacetoxyborhydrid	15	7/8-43.1	F
Pyridin	11-20/21/22	26-28.1	Xn, F
TBABr	22-36/37/38	26-36	Xn
Tetrabromkohlenstoff	20/21/22	28	Xn
THF	11-19-36/37	16-29-33	F, Xi
TMSOTf	10-14-34-37	26-36/37/39-45	C
Thimerosal	26/27/28-33	13-28-36-45	T
Toluol	11-20	16-25-29-33	Xn, F
Trichloracetonitril	23/24/25	45	T
Triethylamin	11-20/21/22-35	3-16-26-29- 36/37/39-45	F, C
Triphenylphosphin	22-43-48/20/22- 50/53	26-36/37/39-61	Xn, N
Wasserstoffperoxid 30 %	34	3-28-36/39-45	C

Allyl-2, 3, 4, 6-tetra-O-allyl- α -D-glucopyranosid (1.03) :

Nach AAV 1a für die Perallylierung unter Phasentransferkatalyse werden 2.08 g (9.4 mmol) **1.02** bei 30°C in 140 ml 33 %-iger wässriger Natriumhydroxidlösung gelöst. Nach der Zugabe von 3.03 g TBABr werden über 1 h 4.6 ml (56.5 mmol, 6 eq.) Allylchlorid zugetropft. Der Ansatz wird 12 h heftigst gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit 100 ml Toluol versetzt, mit Wasser neutral gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Toluol/Essigester 10:1), um **1.03** als farblosen Sirup zu isolieren.



Ausbeute: 2.57 g (6.75 mmol; 72 %)

$[a]_D^{19} = 105.3^\circ$ ($c = 1.04$, CHCl₃);

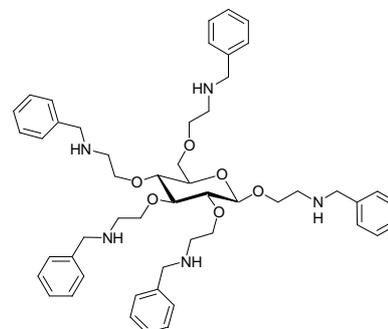
Anal. Ber. für C₂₁H₃₂O₆ (380.48): C, 66.28; H 8.48. Gef.: C, 66.09; H, 8.48;

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5.85-6.02 (m, 5H, 5 OCH₂CHCH₂), 5.23-5.34 (m, 5H, 5 OCH₂CHCHH), 5.12-5.22 (m, 5H, 5 OCH₂CHCHH), 4.93 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.37, 4.32, 4.25 (je m, je 1H, 3 OCHHCHCH₂), 4.20-4.02 (m, 6H, 6 OCHHCHCH₂), 3.99 (m, 1H, OCHHCHCH₂), 3.74 (dd \approx t, 1H, $J = 9.7$ Hz, H-3), 3.71 (m, 1H, H-5), 3.65 (dd, 1H, $J_{5,6} = 3.6$ Hz, $J_{6,6'} = 10.2$ Hz, H-6), 3.61 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 2.6$ Hz, H-6'), 3.43 (dd \approx t, 1H, $J = 9.7$ Hz, H-4), 3.40 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-2) ppm;

¹³C-NMR (100.67 MHz, CDCl₃): δ 135.0, 134.6, 134.5, 134.2, 133.4 (OCH₂CHCH₂), 117.5, 116.9, 116.7, 116.3, 115.9 (OCH₂CHCH₂), 95.3 (C-1), 81.1 (C-3), 79.0 (C-2), 77.0 (C-4), 73.8, 73.4, 72.0, 71.8 (OCH₂CHCH₂), 69.7 (C-5), 68.1 (C-6), 67.6 ((C-1_{glc})OCH₂CHCH₂) ppm.

(2-Benzylamino-ethyl)-2,3,4,6-tetra-O-(2-benzylamino-ethyl)- β -D-glucopyranosid (2.01b) :

Nach AAV 3 zur Ozonisierung von Doppelbindungen werden 240 mg (0.63 mmol) **1.03b** mit 590 mg (7.0 mmol) Natriumhydrogencarbonat in Dichlormethan/Methanol 5:1 bei -78°C zum Hydroperoxid umgesetzt, das mit 0.99 g (3.8 mmol) Triphenylphosphin bei -78°C reduziert und an Merck Kieselgel 60 gereinigt wird. Der resultierende Sirup wird unter Stickstoff in 20 ml Methanol gelöst, mit 220 mg Pt-C und 0.41 ml (3.7 mmol) Benzylamin versetzt und 3 d unter 1 atm Wasserstoff gerührt. Zur Aufarbeitung



wird über Celite filtriert, eingengt und an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Methanol) gereinigt, um **2.01b** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 270 mg (0.32 mmol; 51 %)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7.32-7.19 (m, 25H, 25 arom. H), 4.24 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.6$ Hz, H-1), 3.92-3.52 (m, 22H, H-6, H-6', 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 5 $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 3.32-3.20 (m, 3H, H-3, H-4, H-5), 3.09 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.2$ Hz, H-2), 2.82-2.63 (m, 10H, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.51-2.39 (s, 5H, 5 NH) ppm; $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$: δ 3.28 (H-3) ppm; $^1\text{H-}^{13}\text{C HMBC}$: δ 3.63 (H-6), 3.60 (H-6') ppm; $^1\text{H-}^{13}\text{C HMQC}$: δ 3.26 (H-5), 3.24 (H-4) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.83 MHz, CDCl_3): δ 139.8-139.8, 139.7 (5 arom. C), 128.3-126.9 (25 arom. C), 103.2 (C-1), 84.4 (C-3), 81.9 (C-2), 78.1 (C-4), 74.4 (C-5), 72.5, 72.0, 71.7, 70.6, 69.1 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 69.6 (C-6), 53.7, 53.7, 53.6, 53.5, 53.4 (5 $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 49.2, 49.1, 48.8, 48.5, 48.3 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$) ppm.

Datensatz zum α -Anomer (**2.01**) :

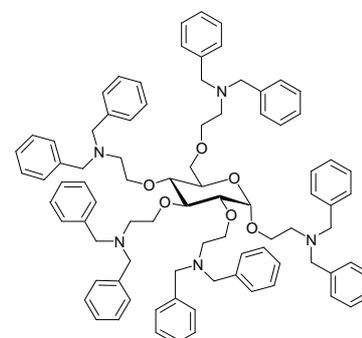
FAB-MS: $m/z = 846.2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (845.51 ber. für $\text{C}_{51}\text{H}_{67}\text{N}_5\text{O}_6$);

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.26-7.08 (m, 25H, 25 arom. H), 4.83 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 3.86-3.37 (m, 24H, H-3, H-5, H-6, H-6', 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 5 $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 3.25-3.17 (m, 2H, H-4, H-2), 2.79-2.55 (m, 10H, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.36-2.00 (bs, 5H, 5 NH) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.62 MHz, CDCl_3): δ 140.6, 140.5, 140.4, 140.2, 140.0 (5 arom. C), 128.8-128.5, 127.5-127.4 (25 arom. C), 97.1 (C-1), 81.7 (C-3), 80.9 (C-2), 78.4 (C-4), 70.7 (C-5), 72.7, 72.6, 71.3, 70.2, 70.1 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 67.9 (C-6), 54.3, 54.2, 54.1, 54.0, 54.0 (5 $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 49.7 (2x), 49.1, 49.0, 48.6 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$) ppm.

2-(Dibenzylamino)ethyl-2,3,4,6-tetra-O-[2-(dibenzylamino)ethyl]- α -D-glucopyranosid (**2.02**) :

Nach AAV 3 zur Ozonisierung von Doppelbindungen werden 340 mg (0.89 mmol) **1.03** mit 560 mg (6.7 mmol) Natriumhydrogencarbonat in Dichlormethan/Methanol 6:1 im Ethanol/Trockeneis-Kältebad bei -78°C zum Hydroperoxid



umgesetzt, das mit 1.35 g (5.1 mmol) Triphenylphosphin bei -78°C reduziert und an Merck Kieselgel 60 gereinigt wird. Nach AAV 4 für die reduktive Aminierung wird das Pentaacetal mit Methanol in den Reaktionskolben übergeführt, im Stickstoffstrom eingengt und in 20 ml

THF wieder aufgenommen. Bei -10°C werden 1.0 ml (5.2 mmol) destilliertes Dibenzylamin, 0.39 ml (6.8 mmol) Eisessig und danach 2.3 g (10.8 mmol) Natriumtriacetoxyborhydrid zugegeben. Der Ansatz wird 3 h bei -10°C gerührt, wobei es zu keiner beobachtbaren Wasserstoffentwicklung kommt. Zur Aufarbeitung wird nach dem Zusatz von 100 ml Dichlormethan dreimal mit je 100 ml 1M wäßriger Natronlauge und danach fünfmal mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, eingeengt und an Sephadex LH-20 (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt, um **2.02** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 854 mg (0.66 mmol; 74 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{27} = +35.2^{\circ}$ (c 1.175, CDCl_3);

FAB-MS: $m/z = 1297.2$ $[\text{M}+1]^+$ (1295.74 ber. für $\text{C}_{86}\text{H}_{97}\text{N}_5\text{O}_6$)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7.34-7.13 (m, 50H, arom. H), 4.72 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 3.85 (m, 1H, OCHHCH_2N), 3.75 (m, 1H, OCHHCH_2N), 3.71-3.36 (m, 32H, H-3, H-5, H-6, H-6', 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 10 $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 3.13 (dd \approx t, 1H, $J_{3,4}$ und $J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4), 3.10 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.2$ Hz, H-2), 2.71-2.46 (m, 10H, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$) ppm; $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$: δ 3.50 (H-5), 3.43 (H-3) ppm; $^1\text{H-}^{13}\text{C HMBC}$: δ 3.46 (H-6), 3.40 (H-6') ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.83 MHz, CDCl_3): δ 139.0, 128.1, 128.0, 127.6, 127.5, 126.2, 126.1 (60 arom C.), 96.2 (C-1), 81.3 (C-3), 80.1 (C-2), 77.5 (C-4), 69.7 (C-5), 71.0, 70.9, 69.7, 69.2, 65.6 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 69.0 (C-6), 58.3, 58.3, 58.1, 58.1, 57.9 (5 $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 52.6 (3x), 52.1, 51.7 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$) ppm.

(2-Amino-ethyl)-2,3,4,6-tetra-O-(2-amino-ethyl)- α -D-glucopyranosid (2.03) :

Nach AAV 5 für die *N*-Debenzylierung werden 187 mg (0.144 mmol)

2.02 unter Stickstoff in 50 ml trockenem Methanol gelöst. Nach dem

Zusatz von 240 mg Pd/C und 2.5 g Ammoniumformiat wird 2 h unter Rückfluß erhitzt.

Anschließend werden weitere 2.1 g Ammoniumformiat zugegeben und es wird nochmals 1 h

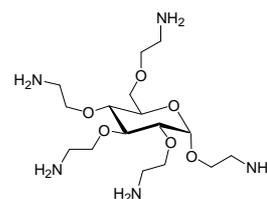
unter Rückfluß erhitzt. Wenn die Reaktion abgeschlossen ist (DC Kontrolle mit

Isopropanol/Wasser/25 %-ige Ammoniaklösung 70:30:1), wird über Celite filtriert, eingeengt

und im Ölpumpenvakuum getrocknet, um **2.03** als hygroskopischen, farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 49 mg (0.124 mmol; 86 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{28} = +76.8^{\circ}$ (c 0.6, MeOH);



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 5.02 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 3.93-3.51 (m, 14H, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, H-3, H-5, H-6, H-6'), 3.46-3.36 (m, 2H, H-2, H-4), 2.96-2.79 (m, 10H, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$) ppm; $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ HMQC: δ 3.74 (H-5), 3.70 (H-3) ppm; $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ HMBC: δ 3.77 (H-6), 3.70 (H-6') ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.83 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 99.2 (C-1), 83.9 (C-3), 83.0 (C-2), 80.7 (C-4), 76.1, 76.0, 74.7, 74.0, 71.9, 71.8 (C-6, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 73.1 (C-5), 43.9, 43.9, 43.5, 43.2, 43.2 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$) ppm; $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ HMBC: δ 71.9 oder 71.8 (C-6).

Datensatz zum b-Anomer (2.03b) :

Nach AAV 5 für die *N*-Debenzylierung werden 137 mg (0.16 mmol) **2.01b** mit 70 mg Pd-C (10 %) über 2 h 0.5 g (7.9 mmol) Ammoniumformiat in 6 ml Methanol und weitere 3 h mit 0.7 g (11.1 mmol) Ammoniumformiat mit zusätzlichen 10 ml Methanol unter Rückfluß gekocht, über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, filtriert und eingengt, um **2.03b** als farblosen Sirup zu isolieren.

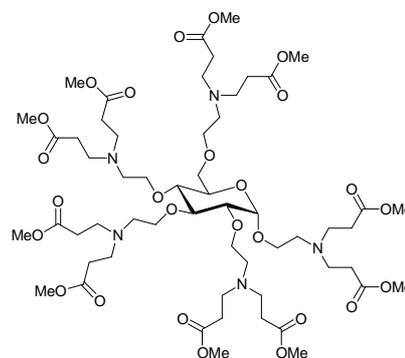
Ausbeute: 63 mg (0.16 mmol; quant.)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 4.43 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, H-1), 3.98-3.59 (m, 12H, 10 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, H-6, H-6'), 3.51-3.40 (m, 3H, H-3, H-4, H-5), 3.18 (dd \approx t, 1H, $J = 8.2$ Hz, H-2), 3.00-2.82 (m, 10H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.83 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 103.5 (C-1), 84.6 (C-3), 82.5 (C-2), 78.3 (C-4), 74.7 (C-5), 73.4, 73.0, 72.7, 71.6, 70.8, 69.6 (C-6, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 41.4, 41.4, 41.1, 41.1, 40.8 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$) ppm;

10-Kaskade : α -D-Glucopyranose[5] : (1-aza-propyliden) : propionsäuremethylester (2.04) :

Nach AAV 6a zur PAMAM-Synthese durch Michael-Addition des Polyamins an Methylacrylat werden 43 mg (0.109 mmol) **2.03** in 10 ml trockenem Methanol gelöst, welches dann 40 min entgast wird. Nach dem Zusatz von 0.2 ml (2.2 mmol) Methylacrylat wird 3 d unter Lichtausschluß



bei rt gerührt. Zur Aufarbeitung wird eingengt, einmal mit trockenem Methanol kodestilliert und im Ölpumpenvakuum getrocknet, um **2.04** als gelblichen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 118 mg (0.108 mmol; 99 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{27} = +34.6^{\circ}$ (*c* 0.96, MeOH);

FAB-MS: $m/z = 1256.8$ $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ (1255.6 ber. für $\text{C}_{56}\text{H}_{97}\text{N}_5\text{O}_{26}$);

^1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.96 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 3.97-3.86 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.84-3.61 (m, 40H, H-5, H-6, H-6', 10 CO_2CH_3 , 7 OCHHCH_2N), 3.58-3.51 (m, 2H, H-3, OCHHCH_2N), 3.29 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, H-2), 3.25 (dd \approx t, 1H, $J = 9.5$ Hz, H-4), 2.95-2.85 (m, 20H, 10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 2.83-2.70 (m, 10H, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.58-2.49 (m, 20H, 10 $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$) ppm; ^1H - ^{13}C HMQC: δ 3.72 (H-5), 3.54 (H-3) ppm; ^1H - ^{13}C HMBC : δ 3.73 (H-6), 3.65 (H-6') ppm;

^{13}C -NMR (125.83 MHz, D_4 -MeOH): δ 175.8-175.7 (10 CO_2Me), 99.2 (C-1), 84.4 (C-3), 83.1 (C-2), 80.7 (C-4), 73.0 (C-5), 73.4, 73.3, 72.2, 72.1, 71.1, 68.5 (C-6, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 55.9 (2x), 55.8, 55.3, 55.1 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 53.3 (10 CO_2CH_3), 52.3-52.2 (10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 34.6-34.4 (10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$) ppm; ^1H - ^{13}C HMBC: δ 72.2 oder 72.1 (C-6) ppm.

Datensatz zum b-Anomer (2.04b) :

Analog zur Synthese des α -Anomers werden 31 mg (0.078 mmol) **2.03b** eingesetzt, um **2.04b** als gelblichen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 98 mg (0.078 mmol; quant.)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -2.7^{\circ}$ (*c* 0.65, MeOH);

FAB-MS: $m/z = 1273.7$ $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ (1255.64 ber. für $\text{C}_{56}\text{H}_{97}\text{N}_5\text{O}_{26}$);

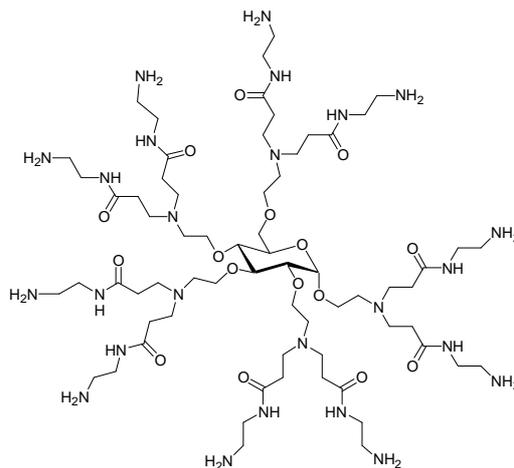
^1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.33 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, H-1), 4.04-3.60 (m, 42H, H-6, H-6', 10 CO_2CH_3 , 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.33-3.22 (m, 3H, H-5, H-3, H-4), 3.04 (dd, 1H, $J_{2,3} = 8.6$ Hz, H-2), 2.97-2.86 (m, 20H, 10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 2.84-2.72 (m, 10H, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.60-2.50 (m, 20H, 10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$) ppm; ^1H - ^{13}C HMBC: δ 3.72 (H-6), 3.64 (H-6') ppm; ^1H - ^{13}C HMQC: δ 3.35 (H-5), 3.27 (H-3), 3.25 (H-4) ppm;

^{13}C -NMR (125.83 MHz, D_4 -MeOH): δ 175.8-175.7 (10 CO_2Me), 105.8 (C-1), 87.3 (C-3), 85.1 (C-2), 80.6 (C-4), 77.0 (C-5), 73.7, 73.2, 72.1, 72.0, 69.9 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 72.8 (C-6), 55.9 (2x), 55.7, 55.5, 55.3 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 53.3 (10 CO_2CH_3), 52.2, 52.1 (10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 34.4-34.3, 34.3, 34.2 (10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$) ppm.

10-Kaskade : α -D-Glucopyranose[5] : (1-azapropyliden) : 3-aza-4-oxo-hexa-1-amin (2.05)

:

Nach AAV 6b zum zweiten Schritt der PAMAM-Synthese, der Aminolyse mit Ethylendiamin, werden 144 mg (0.094 mmol) **2.04** in 4 ml trockenen Methanol 30 Minuten entgast. Diese Lösung wird bei 0°C zu einem entgasten Gemisch von 3.8 ml (56.6 mmol; 60 eq. je Estergruppe) Ethylendiamin und 0.5 ml trockenem Methanol gegeben. Anschließend wird der Ansatz 5 d unter Lichtausschluß bei 5°C verwahrt. Zur Aufarbeitung wird nach Zusatz von Toluol eingengt, viermal in Methanol aufgenommen und mit Toluol kodestilliert, einmal mit Methanol aufgenommen und wieder eingengt sowie im Ölpumpenvakuum getrocknet, um **2.05** als gelblichen Sirup zu isolieren.



Ausbeute: 144 mg (0.094 mmol; quant.)

$[a]_D^{25} = + 39.5^\circ$ (c 0.25, MeOH);

FAB-MS: $m/z = 1537.7$ $[M+H]^+$ (1536.1 ber. für $C_{66}H_{137}N_{25}O_{16}$);

1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.99 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.2$ Hz, H-1), 3.98-3.88 (m, 2H, 2 $OCHHCH_2N$), 3.86-3.56 (m, 11H, H-5, H-6, H-6', 8 $OCHHCH_2N$), 3.52 (dd \approx t, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-3), 3.33-3.26 (m, 21H, H-2, 10 $CONCH_2CH_2N$), 3.25 (dd \approx t, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-4), 2.95-2.84 (m, 20H, 10 NCH_2CH_2CON), 2.84-2.72 (m, 30H, 5 OCH_2CH_2N , 10 $NCH_2CH_2NH_2$), 2.49-2.35 (m, 20H, 10 NCH_2CH_2CON) ppm; 1H - ^{13}C HMQC: δ 3.29 (H-2) ppm;

^{13}C -NMR (125.77 MHz, D_4 -MeOH): δ 176.5-176.3 (10 CON), 98.2 (C-1), 83.4 (C-3), 82.2 (C-2), 79.8 (C-4), 72.8 (C-5), 72.0, 71.3, 71.2, 71.2, 69.9, 67.1 (C-6, 5 OCH_2CH_2N), 54.6, 54.5, 54.4, 54.2, 53.7 (5 OCH_2CH_2N), 51.8, 51.6, 51.5, 51.4 (2x) (10 NCH_2CH_2CON), 43.2 (10 $CONCH_2CH_2N$), 42.3 (10 $CONCH_2CH_2NH_2$), 35.0, 35.0, 35.0, 34.8, 34.8 (10 NCH_2CH_2CON) ppm.

Datensatz zum b-Anomer (2.05b) :

FAB-MS: $m/z = 1538.5$ $[M+H]^+$ (1536.07 ber. für $C_{66}H_{137}N_{25}O_{16}$);

1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.36 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.4$ Hz, H-1), 4.02-3.62 (m, 12H, H-6, H-6', 5 OCH_2CH_2N), 3.39 (m, 1H, H-5), 3.36-3.27 (m, 21H, H-3, 10 $CONCH_2CH_2N$), 3.25 (dd \approx t, 1H, $J = 8.5$ Hz, H-4), 3.04 (dd \approx t, 1H, $J = 8.5$ Hz, H-2), 2.95-2.84 (m, 20H, 10

$\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 2.84-2.72 (m, 30H, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 10 $\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 2.49-2.35 (m, 20H, 10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$) ppm; ^1H - ^{13}C HMQC: δ 3.39 (H-5), 3.31 (H-3) ppm; ^{13}C -NMR (125.77 MHz, D_4 -MeOH): δ 176.6-176.3 (10 CON), 106.1 (C-1), 87.3 (C-3), 85.2 (C-2), 80.7 (C-4), 76.9 (C-5), 73.3, 72.9, 72.6, 72.2, 71.9, 70.3 (C-6, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 55.6, 55.5, 55.3 (2x), 55.1 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 52.7 (5x), 52.5, 52.4 (4x) (10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 44.0 ($\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 43.2 (10 $\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 35.9, 35.7 (10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$) ppm.

**20-Kaskade : α -D-Glucopyranose
[5] : (1-aza-propyliden) : (1,3-diaza-
-4-oxo-heptyliden) : propion-
säuremethylester (2.06) :**

Nach AAV 6a zur PAMAM-Synthese durch Michael-Addition des Polyamins an Methylacrylat werden 108 mg (0.070 mmol) **2.05** in 10 ml trockenem Methanol gelöst, welches dann 40 Minuten entgast wird. Nach dem Zusatz von 0.35 ml (3.9 mmol) Methylacrylat

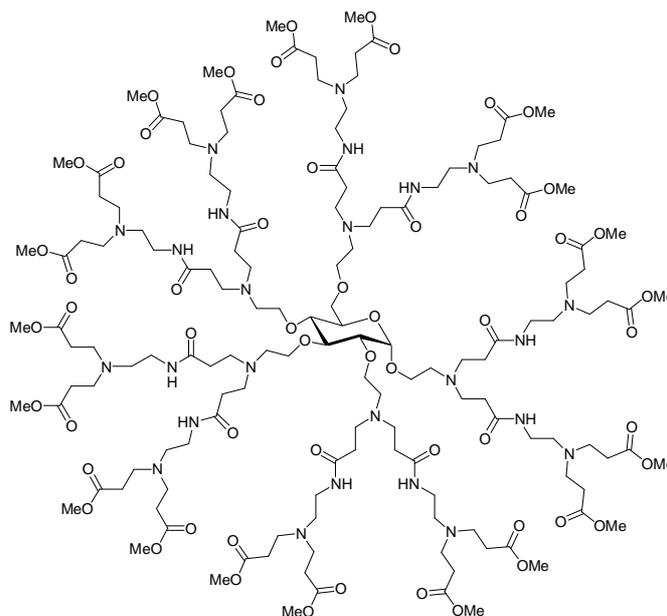
wird 3 d unter Lichtausschluß bei rt gerührt. Zur Aufarbeitung wird eingengt, einmal mit trockenem Methanol kodestilliert und im Ölpumpenvakuum getrocknet, um **2.06** als gelblichen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 225 mg (0.069 mmol; 98.5 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +13.1^\circ$ ($c = 0.375$, MeOH);

MALDI-TOF (Finnigan): mittlere $m/z = 3261.0$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (3258.7 ber. für $\text{C}_{146}\text{H}_{257}\text{N}_{25}\text{O}_{56}$);

^1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 5.02 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.2$ Hz, H-1), 4.03-3.93 (m, 2H, 2 OCHHCH_2N), 3.88-3.59 (m, 71 H, H-5, H-6, H-6', 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 20 OCH_3), 3.54 (dd \approx t, 1H, H-3), 3.34-3.27 (m, 21H, H-2, 10 $\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.26 (dd \approx t, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-4), 3.0-2.89 (m, 20H, 10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 2.89-2.76 (dd \approx t, 50H, $J = 6.6$ Hz, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 20 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 2.64-2.57 (dd \approx t, 20H, $J = 6.3$ Hz, 10 $\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.54-2.49 (dd \approx t, 40H, $J = 6.6$ Hz, 20 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 2.49-2.41 (dd \approx t, 20H, 10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$) ppm; ^1H - ^{13}C HMQC: δ 3.32 (H-2) ppm;



^{13}C -NMR (125.77 MHz, D_4 -MeOH): δ 175.9 (20 CO_2Me), 175.7-175.5 (10 CON), 99.2 (C-1), 84.5 (C-3), 83.2 (C-2), 80.9 (C-4), 73.1 (C-5), 73.0, 72.9, 72.5, 71.8, 70.7, 68.3 (C-6, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 55.7, 55.6, 55.5, 55.0 (11x), 54.7 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 10 $\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 53.4 (20 CO_2CH_3), 52.7, 52.6, 52.6, 52.5 (2x) (10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 51.7 (20 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 39.7 (10 $\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 35.8-35.5 (10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 34.8 (20 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$) ppm.

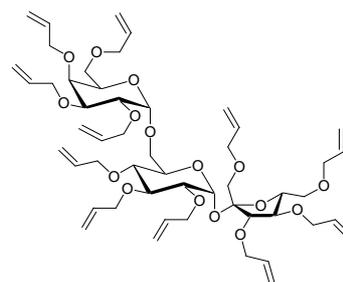
Datensatz zum b-Anomer (2.06b) :

^1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.36 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.6$ Hz, H-1), 4.10-3.58 (m, 72 H, H-6, H-6', 10 OCHHCH_2N , 20 OCH_3), 3.41 (m, 1H, H-5), 3.34-3.27 (m, 21H+MeOH, H-3, 10 $\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.24 (dd \approx t, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-4), 3.05 (dd \approx t, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-2), 2.99-2.88 (m, 20H, 10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 2.87-2.75 (dd \approx t, 50H, $J = 6.6$ Hz, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 20 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 2.64-2.56 (dd \approx t, 20H, $J = 6.1$ Hz, 10 $\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.55-2.48 (dd \approx t, 40H, $J = 6.6$ Hz, 20 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 2.48-2.39 (dd \approx t, 20H, $J = 6.1$ Hz, 10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$) ppm; ^1H - ^{13}C HMQC: δ 3.41 (H-5), 3.31 (H-3) ppm;

^{13}C -NMR (125.77 MHz, D_4 -MeOH): δ 175.9 (20 CO_2Me), 175.7-175.6 (10 CON), 105.9 (C-1), 87.4 (C-3), 85.1 (C-2), 80.8 (C-4), 77.0 (C-5), 73.4, 72.9, 72.5, 71.8, 71.7, 69.9 (C-6, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 55.6, 55.5, 55.4, 55.1, 55.0 (11x) (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 10 $\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 53.4 (20 CO_2CH_3), 52.6, 52.5, 52.5, 52.4 (2x) (10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 51.7 (20 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 39.7 (10 $\text{CONCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 35.8-35.5 (10 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 34.8 (20 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$) ppm.

Undeca-O-allyl-D-raffinose (2.08) :

Nach AAV 1b für die Perallylierung mit Hilfe von Natriumhydrid in DMF werden 3.0 g (5.0 mmol) **2.07** in trockenem DMF suspendiert und mit 3.5 g (88 mmol) NaH (60%-ige Suspension in Paraffinöl) versetzt. Nach der Zugabe von 6.1 ml (72.1 mmol) Allylbromid wird über Nacht gerührt.



Zur Aufarbeitung wird unter Eiskühlung mit Eiswasser hydrolysiert, mit 100 ml Toluol versetzt, zweimal mit Natriumchloridlösung und zweimal mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wird an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester 8:1 \rightarrow 7:1) gereinigt, um **2.08** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 3.7 g (3.9 mmol; 78 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 81.4^\circ$ ($c = 0.915$, CH_2Cl_2);

MALDI-TOF: $m/z = 967.94 [M+Na]^+$ (944.51 ber. für $C_{51}H_{76}O_{16}$);

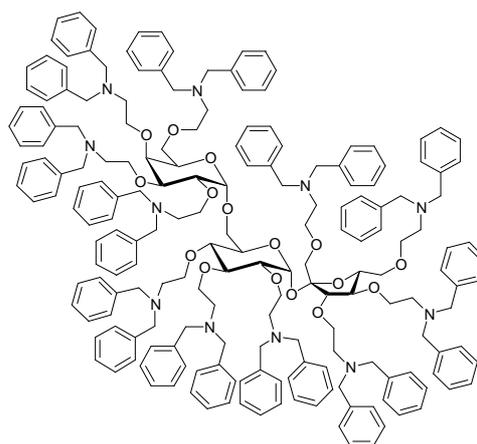
Anal. Ber. für $C_{51}H_{76}O_{16}$ (945.14): C, 64.81; H 8.10. Gef.: C, 64.65; H, 8.11.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6.02-5.82 (m, 11H, 11 OCH_2CHCH_2), 5.51 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 3.6$ Hz, H-1_{glc}), 5.34-5.20 (m, 11H, 11 OCH_2CHCHH), 5.20-5.07 (m, 11H, 11 OCH_2CHCHH), 5.06 (d, 1H, $J_{1,2gal} = 3.6$ Hz, H-1_{gal}), 4.40-4.29 (m, 3H, 3 $OCHHCHCH_2$), 4.26-3.89 (m, 24H, H-3_{frc}, H-4_{frc}, H-5_{frc}, H-5_{gal}, H-5_{glc}, 19 $OCHHCHCH_2$), 3.84 (dd, 1H, $J_{5,6glc} = 3.0$ Hz, $J_{6,6'glc} = 12.2$ Hz, H-6_{glc}), 3.83 (dd \approx bs, 1H, H-4_{gal}), 3.80 (dd, 1H, $J_{2,3gal} = 10.2$ Hz, H-2_{gal}), 3.70 (dd, 1H, $J_{3,4gal} = 3.1$ Hz, H-3_{gal}), 3.68-3.57 (m, 6H, H-1_{frc}, H-6_{frc}, H-6'_{frc}, H-3_{glc}, H-6_{glc}, H-6_{gal}), 3.54 (dd \approx t, 1H, $J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4_{glc}), 3.49 (dd, 1H, $J_{6',5gal} = 5.6$ Hz, $J_{6,6'gal} = 9.2$ Hz, H-6'_{gal}), 3.43 (d, 1H, $J_{1,1'frc} = 11.2$ Hz, H-1'_{frc}), 3.26 (dd, 1H, $J_{2,3glc} = 9.2$ Hz, H-2_{glc}) ppm; 1H - ^{13}C -HMQC: $\delta = 4.24$ (H-3_{frc}), 4.01 (H-4_{frc}), 3.97 (H-5_{frc}) ppm; 1H - ^{13}C -HMBC: δ 3.92 (H-5_{gal}) ppm; 1H - 1H COSY: δ 3.94 (H-5_{glc}) ppm;

^{13}C -NMR (100.67 MHz, $CDCl_3$): δ 136.1, 135.9, 135.8, 135.8, 135.7, 135.5, 135.2, 135.2, 135.1, 135.0, 135.0 (11 OCH_2CHCH_2), 117.4, 117.3, 117.3 (2x), 117.3, 117.2, 116.8, 116.7, 116.6 (2x), 116.4 (11 OCH_2CHCH_2), 104.8 (C-1_{frc}), 98.6 (C-1_{gal}), 90.3 (C-1_{glc}), 83.8 (C-3_{frc}), 82.4 (C-4_{frc}), 81.7 (C-3_{glc}), 79.9, 79.8 (C-2_{glc}, C-5_{frc}), 78.2 (C-3_{gal}), 77.6 (C-4_{glc}), 76.8 (C-2_{gal}), 75.2 (C-4_{gal}), 74.4 (2x), 74.1, 72.9, 72.7, 72.6, 72.1 (2x), 71.9, 71.9, 71.8, 71.6 (C-6_{frc}, 11 OCH_2CHCH_2), 71.5 (C-5_{glc}), 69.5 (C-5_{gal}), 69.1 (C-6_{gal}), 66.4 (C-6_{glc}) ppm.

Undeca-O-[2-(dibenzylamino)ethyl]-D-raffinose (2.09) :

Nach AAV 3 zur Ozonisierung von Doppelbindungen werden 510 mg (0.54 mmol) **2.08** mit 1.3 mg (15.5 mmol) Natriumhydrogencarbonat in Dichlormethan /Methanol 5:1 bei $-78^\circ C$ zum Hydroperoxid umgesetzt, das mit 2.3 g (8.8 mmol) Triphenylphosphin reduziert und an Kieselgel (Laufmittel



Dichlormethan/Methanol 5:1 \rightarrow 4:1) gereinigt wird. Nach AAV 4 für die reduktive Aminierung wird das Undecahalbacetal in 20 ml THF gelöst. Bei $-10^\circ C$ werden 1.6 ml (8.4 mmol) destilliertes Dibenzylamin, 0.6 ml (10.5 mmol) Eisessig und danach 2.7 g (12.7 mmol) Natriumtriacetoxyborhydrid zugegeben. Der Ansatz wird 4 h bei $-10^\circ C$ gerührt. Zur Aufarbeitung wird nach dem Zusatz von 100 ml Dichlormethan dreimal mit je 100 ml 1M wässriger Natronlauge und danach fünfmal mit Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet,

eingengt und an Sephadex LH-20 (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt, um **2.09** als farblosen Sirup zu isolieren.

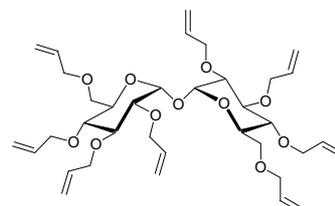
Ausbeute: 1.195 g (0.40 mmol; 74 %)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7.36-7.04 (m, 110H, arom. H), 5.12 (d, 1H, $J_{1,2\text{glc}} = 3.6$ Hz, H-1_{glc}), 4.97 (d, 1H, $J_{1,2\text{gal}} = 3.6$ Hz, H-1_{gal}), 4.03 (d, 1H, $J_{1,1\text{frc}} = 7.1$ Hz, H-1_{frc}), 3.87-3.25 (m, 82H, H-3_{glc}, H-4_{glc}, H-5_{glc}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, H-3_{frc}, H-4_{frc}, H-5_{frc}, H-6_{frc}, H-6'_{frc}, H-2_{gal}, H-3_{gal}, H-4_{gal}, H-5_{gal}, H-6_{gal}, H-6'_{gal}, 11 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 22 $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 3.11 (d, 1H, H-1'_{frc}), 2.88 (dd, 1H, $J_{2,3\text{glc}} = 9.2$ Hz, H-2_{glc}), 2.68-2.39 (m, 22H, 11 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$) ppm; $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$: δ 3.37 (H-3_{glc}), 3.55 (H-2_{gal}) ppm; $^1\text{H-}^{13}\text{C-HMQC}$: δ 3.74 (H-6_{glc}), 3.53 (H-4_{glc}), 3.46 (H-4_{gal}), 3.39 (H-6'_{glc}), 3.38 (H-3_{gal}) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.83 MHz, CDCl_3): δ 139.9-139.5 (22 arom. C), 128.8-126.7 (110 arom. C), 104.2 (C-2_{frc}), 97.8 (C-1_{gal}), 89.8 (C-1_{glc}), 83.6, 83.6, (C-3_{frc}, C-2_{gal}), 82.2 (C-3_{glc}), 80.8 (C-2_{glc}), 79.5, 77.6 (C-4_{frc}, C-5_{frc}), 78.8 (C-3_{gal}), 77.0 (C-4_{glc}), 75.2 (C-4_{gal}), 71.2 (C-5_{glc}), 68.9 (C-5_{gal}), 72.8, 71.9 (2x), 71.8, 71.3, 70.3, 70.2, 70.0, 69.7, 69.6, 69.6 (2x), 69.3, 69.3 (C-6_{gal}, C-1_{frc}, C-6_{frc}, 11 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 65.2 (C-6_{glc}), 58.9-58.4 (22 $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 53.5, 53.4, 53.3, 53.2, 53.1 (2x), 53.0, 52.9, 52.8, 52.7, 52.5 (11 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$) ppm; $^1\text{H-}^{13}\text{C-HMQC}$: δ 71.8 oder 71.9 (C-1_{frc}) ppm.

2,3,4,6,2',3',4',6'-Okta-O-allyl-D-trehalose (2.12) :

Nach AAV 1b für die Perallylierung mit Hilfe von Natriumhydrid in DMF werden 3.11 g (9.1 mmol) **2.11** in trockenem DMF suspendiert und mit 3.8 g (95 mmol) NaH (60%-ige Suspension



in Paraffinöl) versetzt. Nach der Zugabe von 8 ml (95 mmol) Allylbromid wird über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wird unter Eiskühlung mit Eiswasser hydrolysiert, mit 100 ml Toluol versetzt, zweimal mit Natriumchloridlösung und zweimal mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wird an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester 7:1) gereinigt, um **2.12** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 4.22 g (6.4 mmol; 70 %)

$[\alpha]_D^{19} = +134.8^\circ$ ($c = 1.27$, CH_2Cl_2);

FAB-MS: $m/z = 663.9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (662.37 ber. für $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_{11}$);

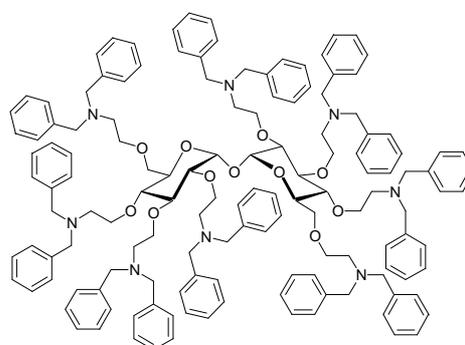
Anal. Ber. für $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{O}_{11}$ (662.81): C, 65.24; H 8.21. Gef.: C, 65.23; H, 8.18;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 6.03-5.77 (m, 8H, 8 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.34-5.20 (m, 8H, 8 OCH_2CHCHH), 5.20-5.07 (m, 10H, 8 OCH_2CHCHH , 2 H-1), 4.36, 4.32, 4.25 (je m, je 2H, 6 OCHHCHCH_2), 4.16-4.01 (10H, m, 2 H-5, 8 OCHHCHCH_2), 3.96 (m, 2H, 2 OCHHCHCH_2), 3.70 (dd \approx t, 2H, $J = 9.2$ Hz, 2 H-3), 3.62 (dd, 2H, $J_{5,6} = 3.6$ Hz, $J_{6,6'} = 10.7$ Hz, 2 H-6), 3.54 (dd, 2H, $J_{5,6'} = 2.1$ Hz, 2 H-6'), 3.45 (dd \approx t, 2H, $J = 9.2$ Hz, 2 H-4), 3.37 (dd, 2H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, $J_{2,3} = 9.2$ Hz, 2 H-2) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ 135.9, 135.5, 135.2, 135.0 (8 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 117.5, 117.1, 117.1, 116.6 (8 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 94.6 (2 C-1), 81.6 (2 C-3), 79.6 (2 C-2), 77.7 (2 C-4), 74.6, 74.3, 72.9, 72.2 (8 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 70.8 (2 C-5), 68.8 (2 C-6) ppm.

2,3,4,6,2',3',4',6'-Okta-O-[2-(dibenzylamino)ethyl]-D-trehalose (2.13) :

Nach AAV 3 zur Ozonisierung von Doppelbindungen werden 430 mg (0.65 mmol) **2.12** mit 970 mg (11.5 mmol) Natriumhydrogencarbonat in Dichlormethan/Methanol 6:1 im Ethanol/Trockeneis-Kältebad bei -78°C zum Hydroperoxid umgesetzt, das mit 1.67 g (6.4 mmol) Triphenylphosphin reduziert und an Merck Kieselgel 60 (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 6:1 \rightarrow 5:1) gereinigt wird.



Nach AAV 4 für die reduktive Aminierung wird das Oktaacetal mit Methanol in den Reaktionskolben übergeführt, im Stickstoffstrom eingeeengt und in 20 ml THF wieder aufgenommen. Bei -10°C werden 1.3 ml (6.8 mmol) destilliertes Dibenzylamin, 0.45 ml (7.9 mmol) Eisessig und danach 2.1 g (9.9 mmol) Natriumtriacetoxyborhydrid zugegeben. Der Ansatz wird 4 h bei -10°C gerührt, wobei es zu keiner beobachtbaren Wasserstoffentwicklung kommt. Zur Aufarbeitung wird nach dem Zusatz von 100 ml Dichlormethan dreimal mit je 100 ml 1M wässriger Natronlauge und danach fünfmal mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, eingeeengt und an Sephadex LH-20 (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt, um **2.13** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 1.10 g (0.52 mmol; 80 %)

FAB-MS: $m/z = 2128.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (2127.21 ber. für $\text{C}_{140}\text{H}_{158}\text{N}_8\text{O}_{11}$);

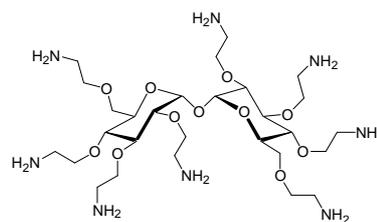
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ 7.36-7.08 (m, 80H, arom. H), 4.92 (d, 2H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 3.83-3.32 (m, 54H, 2 H-3, 2 H-6, 2 H-5, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 16 $\text{NCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 3.23 (m, 2H, 2 H-6'), 3.18 (dd \approx t, 2H, $J = 9.2$ Hz, 2 H-4), 3.06 (dd, 2H, $J_{2,3} = 9.2$ Hz, 2 H-2), 2.71-2.44 (m, 16H, 8

OCH₂CH₂N) ppm; ¹H-¹³C-HSQC: δ 3.85 (H-6), 3.42 (H-3) ppm; ¹H-¹H-COSY: δ 3.71 (H-5) ppm;

¹³C-NMR (125.83 MHz, CDCl₃): δ 139.7-139.5 (16 arom. C), 128.7-126.7 (80 arom. C), 93.1 (2 C-1), 81.7 (2 C-3), 80.4 (2 C-2), 77.9 (2 C-4), 70.6 (2 C-5), 71.7, 71.3, 70.4, 69.9 (8 OCH₂CH₂N), 69.2 (2 C-6), 58.9, 58.8, 58.6, 58.5 (16 NCH₂C₆H₅), 53.4, 53.3, 53.2, 52.7 (8 OCH₂CH₂N) ppm.

2,3,4,6,2',3',4',6'-Okta-O-(2-amino-ethyl)-D-trehalose (2.14) :

Nach AAV 5 für die *N*-Debenzylierung werden 2 g (0.94 mmol) **2.13** unter Stickstoff in 100 ml trockenem Methanol gelöst. Nach dem Zusatz von 2 g Pd/C und 25 g Ammoniumformiat wird 2 h unter Rückfluß erhitzt. Anschließend werden weitere 1 g Pd/C und 55 g Ammoniumformiat zugegeben und es wird nochmals 1 h unter Rückfluß erhitzt. Dann werden weitere 1 g Pd/C und 30 g Ammoniumformiat zugegeben und es wird nochmals 1 h unter Rückfluß erhitzt. Wenn die Reaktion abgeschlossen ist (DC Kontrolle mit Isopropanol/Wasser/25 %-ige Ammoniaklösung 70:30:1), wird über Celite filtriert, eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet, um **2.14** als farblosen Sirup zu isolieren.



Ausbeute: 382 mg (0.56 mmol; 60 %)

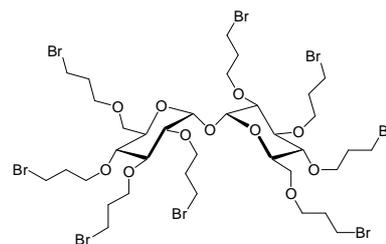
MALDI-TOF: $m/z = 709.3 [M+Na]^+$ (686.5 ber. für C₂₈H₆₂N₈O₁₁);

¹H-NMR (400 MHz, D₄-MeOH): δ 5.38 (bs, 2H, 2 H-1), 4.21-4.12, 4.04-3.82 (je m, 6H, 18H, 16 OCHHCH₂NH₂, 2 H-3, 2 H-5, 2 H-6, 2 H-6'), 3.69-3.58 (m, 4H, 2 H-2, 2 H-4), 3.34-3.17 (m, 16H, 8 OCH₂CH₂NH₂) ppm; ¹H-¹³C-HSQC: δ 4.01 (H-5), 3.90 (H-3), 3.65 (H-2), 3.63 (H-4);

¹³C-NMR (100.67 MHz, D₄-MeOH): δ 95.8 (2 C-1), 83.4 (2 C-3), 82.3 (2 C-2), 80.1 (2 C-4), 73.3 (2 C-5), 72.1, 70.8, 70.5, 69.8, 69.1 (2 C-6, 8 OCH₂CH₂NH₂), 42.6, 42.5, 42.1, 41.7 (8 OCH₂CH₂NH₂) ppm.

2,3,4,6,2',3',4',6'-Okta-O-(3-brompropyl)-D-trehalose**(2.17) :**

Es werden 349 mg (0.43 mmol) **3.13** und 1.36 g (5.2 mmol) Triphenylphospin in 50 ml THF gelöst und nach der Zugabe von 1.72 g (5.2 mmol) CBr_4 unter Lichtauschluß über Nacht



gerührt. Zur Aufarbeitung wird filtriert, eingengt und an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester 9:1) gereinigt, um **2.17** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 359 mg (0.27 mmol; 63 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +57.6^\circ$ ($c = 0.63$, CH_2Cl_2);

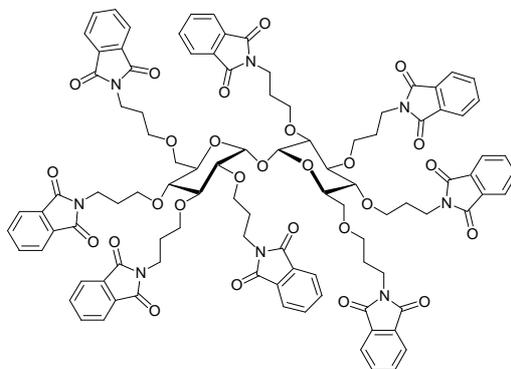
MALDI-TOF: $m/z = 1325.5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (1301.78 ber. für $\text{C}_{36}\text{H}_{62}\text{Br}_8\text{O}_{11}$);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 5.13 (d, 2H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, 2 H-1), 4.01-3.80, 3.75-3.45 (je m, 8H, 32H, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$, 2 H-3, 2 H-5, 2 H-6, 2 H-6'), 3.34 (dd \approx t, 2H, $J = 9.9$ Hz, 2 H-4), 3.29 (dd, 2H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, 2 H-2), 2.28-2.00 (m, 16H, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): δ 92.9 (2 C-1), 81.2 (2 C-3), 80.1 (2 C-2), 77.5 (2 C-4), 70.6 (2 C-5), 70.6, 69.9, 69.2, 68.8, 68.7 (2 C-6, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 33.7, 33.3, 33.1, 32.7, 30.7, 30.7, 30.6, 30.2 (8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$) ppm.

2,3,4,6,2',3',4',6'-Okta-O-(3-phthalimido-propyl)-D-trehalose (2.18) :

Es werden 146 mg (0.111 mmol) **2.17** und 315 mg (1.70 mmol) Kaliumphthalimid in 40 ml DMF gelöst und 5 d bei 25-30°C gerührt. Zur Aufarbeitung wird eingengt und an Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Cyclohexan 2:1) gereinigt, um **2.18** als farblosen Sirup zu isolieren.



Ausbeute: 203 mg (0.110 mmol; 99 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +45.7^\circ$ ($c = 0.43$, CH_2Cl_2);

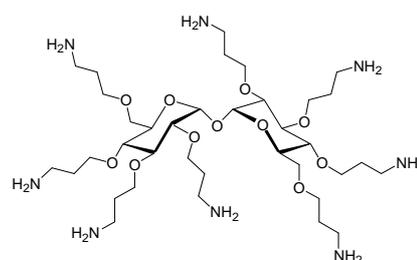
MALDI-TOF: $m/z = 1861.9$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (1838.6 ber. für $\text{C}_{100}\text{H}_{94}\text{N}_8\text{O}_{27}$);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7.79, 7.76, 7.71, 7.70, 7.68, 7.63, 7.61, 7.55 (je dd, je 4H, $J = 2.9$ und 5.5 Hz, 32 arom. H), 5.00 (d, 2H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, 2 H-1), 4.01 (m, 2H, 2 OCHH), 3.88-3.44 (m, 38H, 14 OCHH , 8 CH_2NPhth , 2 H-3, 2 H-5, 2 H-6, 2 H-6'), 3.16 (dd \approx t, 2H, $J = 9.5$ Hz, 2 H-4), 3.11 (dd, 2H, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, 2 H-2), 2.02-1.86 (m, 16H, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm;

^{13}C -NMR (75.47 MHz, CDCl_3): δ 168.3, 168.2, 168.1, 168.1 (16 CO), 133.8-133.5, 132.4-132.1, 123.1-123.0 (48 arom. C), 92.8 (2 C-1), 81.5 (2 C-3), 80.5 (2 C-2), 77.9 (2 C-4), 70.5 (2 C-5), 71.0, 70.3, 69.6, 69.2, 68.3 (2 C-6, 8 OCH_2), 35.9, 35.7, 35.5, 35.3 (8 CH_2NPhth), 29.7, 29.6, 29.5, 28.8 (8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NPhth}$) ppm.

2,3,4,6,2',3',4',6'-Okta-O-(3-aminopropyl)-D-trehalose (2.19) :

Es werden 107 mg (0.058 mmol) **2.18** in 30 ml THF gelöst und über Nacht mit 2 ml Hydrazin-Hydrat gerührt. Der Niederschlag wird abfiltriert und mit viel THF gewaschen.



Das Filtrat wird mit 10 ml Methanol versetzt, damit das THF am Rotationsverdampfer entfernt werden kann, ohne zur Trockene eingengt zu werden. Anschließend wird das fast reine Rohprodukt mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **2.19** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 27 mg (0.034 mmol; 58 %)

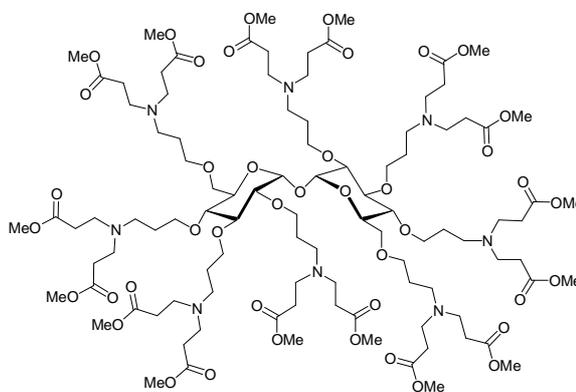
MALDI-TOF: $m/z = 799.7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (798.6 ber. für $\text{C}_{36}\text{H}_{78}\text{N}_8\text{O}_{11}$);

^1H -NMR (300 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 5.20 (bs, 2H, 2 H-1), 3.95-3.54 (m, 24H, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, 2 H-3, 2 H-5, 2 H-6, 2 H-6'), 3.34-3.23 (m, 4H, 2 H-2, 2 H-4), 2.88-2.74 (m, 16H, 8 CH_2NH_2), 1.88-1.72 (m, 16H, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$) ppm;

^{13}C -NMR (75.47 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 94.5 (2 C-1), 83.8 (2 C-3), 82.7 (2 C-2), 80.7 (2 C-4), 73.4 (2 C-5), 73.8, 73.5, 72.1, 72.0, 71.5 (2 C-6, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$), 41.4-41.3, 41.1 (8 CH_2NH_2), 35.1-35.0, 34.2 (8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$) ppm.

16-Kaskade : α -D-Trehalose[8] : (1-azabutyliden) : propionsäuremethylester (2.20) :

Nach AAV 6a zum ersten Schritt der PAMAM-Synthese durch Michael-Addition des Polyamins an Methylacrylat werden 27 mg (0.034 mmol) **2.19** in 10 ml trockenem



Methanol gelöst, welches dann 40 Minuten entgast wird. Nach dem Zusatz von 0.3 ml (3.3 mmol) Methylacrylat wird 7 d unter Lichtausschluß bei rt gerührt. Zur Aufarbeitung wird

eingengt, einmal mit trockenem Methanol kodestilliert, im Ölpumpenvakuum getrocknet und mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **2.20** als farblosen Sirup zu isolieren.

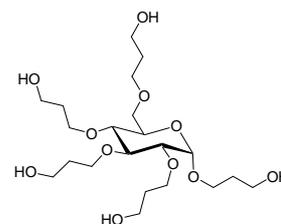
Ausbeute: 69 mg (0.032 mmol; 94 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 39.3^{\circ}$ ($c = 0.15$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 2176.5$ $[M+H]^+$ (2175.2 ber. für $C_{100}H_{174}N_8O_{43}$);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 5.21 (d, 2H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, 2 H-1), 3.97-3.48 (m, 72H, 2 H-3, 2 H-5, 2 H-6, 2 H-6', 16 CO_2CH_3 , 16 $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.32 (dd, 2H, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, 2 H-2), 3.27 (dd \approx t, 2H, $J = 9.4$ Hz, 2 H-4), 2.85-2.75 (m, 32H, 16 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 2.65-2.47 (m, 48H, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 16 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 1.84-1.70 (m, 16H, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, D_4 -MeOH): δ 175.7 (16 CO_2Me), 95.08 (2 C-1), 84.0 (2 C-3), 82.8 (2 C-2), 80.7 (2 C-4), 74.0, 73.6, 72.0, 71.7 71.5 (8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 2 C-6), 73.5 (2 C-5), 53.4-53.3 (16 CO_2CH_3), 53.2, 53.1, 53.0 52.8 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 51.6 (2x), 51.5, 51.4 (16 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 34.5 (2x), 34.3, 34.1 (8 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 30.5, 30.2, 30.2, 29.5 (8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$) ppm.

(3-Hydroxypropyl)-2,3,4,6-tetra-O-(3-hydroxypropyl)- α -D-glucopyranosid (3.01) :


Nach AAV 2 zur Hydroborierung von Doppelbindungen werden 300 mg (0.79 mmol) **1.03** in 8 ml trockenem THF gelöst, mit 16 ml (8 mmol) 9-BBN versetzt, und 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach der Zerstörung des Hydridüberschusses mit etwas Wasser erfolgt die Oxidation bei 0°C durch die Zugabe von 8 ml 3M wäßriger NaOH und tropfenweiser Zugabe von 8 ml einer 30 %-igen Wasserstoffperoxidlösung. Nachdem über Nacht gerührt wurde, wird die wäßrige Phase mit K₂CO₃ gesättigt, separiert und zweimal mit je 40 ml THF gewaschen. Die gesammelten organischen Phasen werden eingeeengt, über MgSO₄ getrocknet und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 4.5:1), um **3.01** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 360 mg (0.765 mmol; 97 %)

$[a]_D^{20} = + 87.7^\circ$ ($c = 1.08$, CDCl₃);

FAB-MS: $m/z = 493.5$ [M+Na]⁺ (470.3 ber. für C₂₁H₄₂O₁₁);

¹H-NMR (500 MHz, D₄-MeOH): δ 4.96 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 3.94-3.82 (m, 4H, 4 (glc)OCHH), 3.78-3.55 (m, 19H, 6 (glc)OCHH, 5 CH₂OH, H-5, H-6, H-6'), 3.54 (dd \approx t, 1H, $J_{3,4} = 9.7$ Hz, H-3), 3.29 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-2), 3.26 (dd \approx t, 1H, $J_{4,5} = 9.7$ Hz, H-4), 1.91-1.79 (m, 10H, 5 OCH₂CH₂CH₂OH) ppm; ¹H-¹H-COSY: δ 3.66 (H-5) ppm;

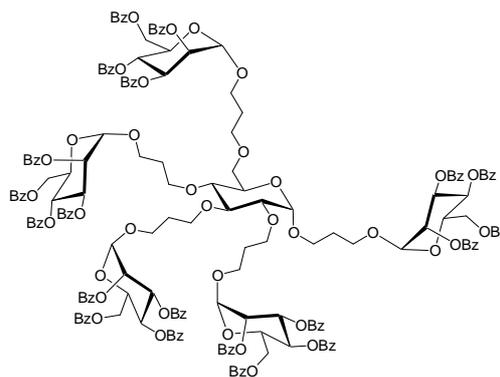
¹³C-NMR (125.77 MHz, D₄-MeOH): δ 99.1 (C-1), 84.1 (C-3), 83.0 (C-2), 80.6 (C-4), 72.9 (C-5), 72.6, 72.1, 71.9, 70.7, 70.2, 67.4 (5 (glc)OCH₂, C-6), 61.6, 61.4, 61.4, 61.4, 61.2 (5 CH₂OH), 35.7, 35.5, 35.2, 34.8, 34.5 (5 OCH₂CH₂CH₂OH) ppm; ¹H-¹³C-HMBC: δ 72.6 oder 72.1 (C-6) ppm.

Datensatz zum b-Anomer 3.01b:

¹H-NMR (300 MHz, D₄-MeOH): δ 4.32 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, H-1), 4.05-3.82 (m, 5H, 5 (glc)OCHH), 3.78-3.59 (m, 17H, 5 (glc)OCHH, 5 CH₂OH, H-6, H-6'), 3.40-3.21 (m, 3H+MeOH, H-5, H-3, H-4), 3.03 (dd, 1H, $J_{2,3} = 8.9$ Hz, H-2), 1.92-1.77 (m, 10H, 5 OCH₂CH₂CH₂OH) ppm;

¹³C-NMR (100.62 MHz, D₄-MeOH): δ 105.8 (C-1), 87.1 (C-3), 84.8 (C-2), 80.5 (C-4), 77.0 (C-5), 72.7, 72.1, 71.9, 71.8, 70.6, 68.8 (5 (glc)OCH₂, C-6), 61.5, 61.4, 61.3, 61.2, 61.0 (5 CH₂OH), 35.7, 35.5 (2x), 35.0, 34.8 (5 OCH₂CH₂CH₂OH) ppm.

3-O-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)propyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)propyl]- α -D-glucopyranosid (3.03) :



Nach AAV 8a für die Glycosylierung nach der Imidatmethode werden 22 mg (0.047 mmol) **3.01** und 1.59 g (2.14 mmol) **3.02** unter Stickstoff in 4 ml trockenem Dichlormethan gelöst, mit 0.2 ml einer 5 %-igen TMSOTf-Lösung in Dichlormethan versetzt und über Nacht gerührt. Nachdem mit NaHCO₃ neutralisiert wurde, wird an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Petrolether/Essigester 2:1→1:1), um **3.03** als amorphen weißen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 157 mg (0.047 mmol; quant.)

$[\alpha]_D^{20} = -21.9^\circ$ ($c = 1.89$, CH₂Cl₂);

MALDI-TOF: $m/z = 3383.46$ [M+Na]⁺ (3361.06 ber. für C₁₉₁H₁₇₂O₅₆);

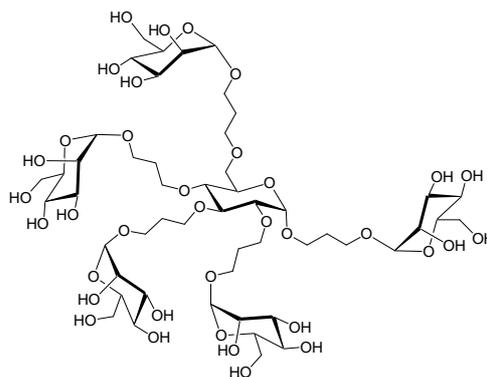
Anal. Ber. für C₁₉₁H₁₇₂O₅₆ (3363.38): C, 68.21; H 5.15. Gef.: C, 68.12; H, 5.25;

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.11-7.91 (m, 30H, arom. H), 7.87-7.77 (m, 10H, arom. H), 7.56-7.48 (m, 10H, arom. H), 7.42-7.14 (m, 50H, arom. H), 6.17, 6.15, 6.14, 6.14, 6.14 (je dd \approx t, 5H, $J = 10.2$ Hz, 5 H-4_{man}), 6.11, 5.98, 5.91, 5.91, 5.91 (je dd, 5H, $J_{2,3man} = 3.6$ Hz, $J_{3,4man} = 9.2$ Hz, 5 H-3_{man}), 5.77, 5.72, 5.72, 5.72, 5.70 (je dd, 5H, $J_{1,2man} = 1.5$ Hz, 5 H-2_{man}), 5.17, 5.14, 5.14, 5.12, 5.11 (d, 5H, 5 H-1_{man}), 5.05 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 3.6$ Hz, H-1_{glc}), 4.74-4.66 (m, 5H, 5 H-6_{man}), 4.56 (m, 1H, H-5_{man}), 4.53-4.41 (m, 9H, 5 H-6'_{man}, 4 H-5_{man}), 4.08-3.62 (m, 24H, H-5_{glc}, 2 H-6_{glc}, 5 (glc)OCH₂CH₂CH₂O, 5 (glc)OCH₂CH₂CH₂O, H-3_{glc}), 3.50 (dd \approx t, 1H, $J = 9.7$ Hz, H-4_{glc}), 3.40 (dd, 1H, $J_{2,3glc} = 9.2$ Hz, H-2_{glc}), 2.15-2.04 (m, 10H, 5 OCH₂CH₂CH₂O) ppm; ¹H-¹H-COSY: δ 3.70 (H-3) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ 166.2-165.2 (20 CO₂Ph), 133.4-128.2 (100 arom. C), 97.8 (2x), 97.7, 97.7, 97.5 (5 C-1_{man}), 97.0 (C-1_{glc}), 81.9 (C-3_{glc}), 80.6 (C-2_{glc}), 77.8 (C-4_{glc}), 70.6, 70.6, 70.5, 70.5 (5 C-2_{man}), 70.5 (CH, C-5_{glc}), 70.4, 70.3, 70.3, 70.2, 70.2 (5 C-3_{man}), 70.2 ((C-3_{glc})OCH₂), 69.4 (C-6_{glc}), 69.1, 67.9, 67.9 (3 (glc)OCH₂), 68.9, 68.9, 68.8, 68.8, 68.7 (5 C-5_{man}), 67.0, 67.0, 66.9, 66.9, 66.8 (5 C-4_{man}), 66.2, 65.7, 65.5, 65.3, 65.0, 64.9 (5 (C-1_{man})OCH₂, (C-1_{glc})OCH₂), 62.9, 62.8, 62.8, 62.8, 62.8 (5 C-6_{man}), 30.7, 30.4, 30.3, 29.8, 29.7 (5 OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

3-O-(α -D-Mannopyranosyloxy)propyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy)propyl]- α -D-glucopyranosid (3.04**) :**

Nach AAV 9 für die Deacetylierung/ Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 329 mg (0.098 mmol) **3.03** innerhalb von 2 d debenzolysiert. Das Rohprodukt wird mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **3.04** als farblosen amorphen Feststoff zu isolieren.



Ausbeute: 102 mg (0.080 mmol; 82 %)

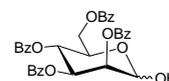
$[\alpha]_D^{20} = +13.5^\circ$ ($c = 1.85$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 1303.78$ $[M+Na]^+$ (1280.54 ber. für $C_{51}H_{92}O_{36}$);

1H -NMR (400 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.95 (d, 1H, $J_{1,2_{glc}} = 3.6$ Hz, H-1_{glc}), 4.82, 4.81 (3x), 4.80 (je d \approx s, 5H, 5 H-1_{man}), 3.97-3.51 (m, 54H, H-3_{glc}, H-5_{glc}, 2 H-6_{glc}, 5 H-2_{man}, 5 H-3_{man}, 5 H-4_{man}, 5 H-5_{man}, 10 H-6_{man}, 5 $OCH_2CH_2CH_2O$), 3.33-3.26 (m, 2H, H-2_{glc}, H-4_{glc}), 2.00-1.83 (m, 10H, 5 $OCH_2CH_2CH_2O$) ppm; 1H - 1H -COSY: δ 3.56 (H-3_{glc}), 3.65 (H-5_{glc}) ppm; 1H - ^{13}C -HMQC: δ 3.88 (H-6_{man}), 3.85 (H-2_{man}), 3.77 (H-6'_{man}), 3.74 (H-3_{man}), 3.67 (H-4_{man}), 3.56 (H-5_{man}) ppm;

^{13}C -NMR (125.8 MHz, D_4 -MeOH): δ 102.8 (5 C-1_{man}), 99.2 (C-1_{glc}), 84.2 (C-3_{glc}), 83.0 (C-2_{glc}), 80.5 (C-4_{glc}), 75.8-75.7 (5 C-5_{man}), 73.8 (5 C-3_{man}), 73.3 (5 C-2_{man}), 72.9 (C-5_{glc}), 72.7, 72.0, 71.8, 70.4, 70.1 (C-6_{glc}, 4 (glc) OCH_2), 69.8, 69.8, 69.8, 69.7, 69.7 (5 C-4_{man}), 67.1 ((C-1_{glc}) OCH_2), 66.7, 66.6, 66.6, 66.5, 66.4 (5 (man) OCH_2), 64.1 (5 C-6_{man}), 32.9, 32.7, 32.5, 32.1, 31.8 (5 $OCH_2CH_2CH_2O$) ppm; 1H - ^{13}C -HMBC: δ 72.0 oder 71.8 (C-6_{glc}) ppm.

Tetra-O-2,3,4,6-benzoyl-mannopyranose (3.07**) :**



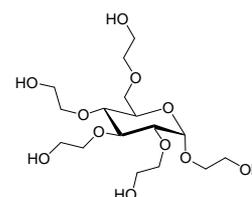
Nach AAV 7 für die anomere Deacylierung werden 20.44 g (29.2 mmol) Pentabenzoyl-D-mannopyranose vollständig in 200 ml Pyridin gelöst. Nach der Zugabe von 40 ml 5.6M ethanolischer Dimethylaminlösung wird unter regelmäßiger DC Kontrolle (Laufmittel: Toluol/Essigester 5:1) 1.5 h gerührt. Nach der Zugabe von 100 ml Toluol, wird dreimal mit gesättigter wässriger Natriumchloridlösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet, eingeeengt und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Toluol/Essigester 5:1), um **3.07** als weißen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 11.06 g (19.4 mmol; 66 %)*

Anal. Ber. für C₃₄H₂₈O₁₀ (596.59): C, 68.45; H 4.73. Gef.: C, 68.60; H, 4.73;

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.06, 7.97, 7.90, 7.78 (m≈dd, je 2H, arom. H), 7.55-7.17 (m, 12H, arom. H), 6.12 (dd≈t, 1H, *J*_{4,3} und *J*_{4,5} = 10.2 Hz, H-4), 5.95 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 3.1 Hz, H-3), 5.69 (dd, 1H, *J*_{1,2} = 2.0 Hz, H-2), 5.47 (d, 1H, H-1), 4.71 (dd, 1H, *J*_{5,6} = 2.5 Hz, *J*_{6,6'} = 12.2 Hz, H-6), 4.62 (m, 1H, H-5), 4.39 (dd, 1H, *J*_{5,6'} = 3.6 Hz, H-6')

(2-Hydroxyethyl)-2,3,4,6-tetra-O-(2-hydroxyethyl)-α-D-glucopyranosid (3.08) :



Nach AAV 3 zur Ozonisierung mit anschließender Reduktion zum Alkohol werden 210 mg (0.55 mmol) **1.03** und 570 mg (6.8 mmol)

Natriumhydrogencarbonat in 60 ml Dichlormethan/Methanol 5:1 gelöst. Nachdem bis zur Blaufärbung Ozon bei -78°C durch die Lösung geleitet wurde, wird die Lösung im Stickstoffstrom entfärbt und über Nacht mit 1.18 g (2.95 mmol) NaBH₄ auf Al₂O₃ gerührt. Wenn die Reduktion abgeschlossen ist, wird das Produkt an Kieselgel gereinigt (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 5:1 → 4:1), um **3.08** als gelblichen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 190 mg (0.47 mmol; 85 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +90.2^\circ$ (*c* = 0.95, MeOH);

MALDI-TOF: *m/z* = 423.2 [M+Na]⁺ (400.19 ber. für C₁₆H₃₂O₁₁);

¹H-NMR (500 MHz, D₄-MeOH): δ 5.03 (d, 1H, *J*_{1,2} = 3.6 Hz, H-1), 3.98-3.88 (m, 3H, 3 OCHHCH₂OH), 3.83-3.56 (m, 21H, 7 OCHHCH₂OH, 5 OCH₂CH₂OH, H-6, H-5, H-3, H-6'), 3.42 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 9.7 Hz, H-2), 3.41 (dd≈t, 1H, *J* = 9.7 Hz, H-4) ppm; ¹H-¹³C-HMQC: δ 3.77 (H-5), 3.725 (H-3); ¹H-¹³C-HMBC: δ 3.795 (H-6), 3.72 (H-6');

¹³C-NMR (100.62 MHz, D₄-MeOH): δ 99.4 (C-1), 84.0 (C-3), 83.2 (C-2), 80.6 (C-4), 76.9, 76.5, 75.2, 74.9 (4 OCH₂CH₂OH), 73.0 (C-5), 72.0, 71.8 (C-6, OCH₂CH₂OH), 63.9, 63.9, 63.6, 63.4, 63.3 (5 OCH₂CH₂OH) ppm.

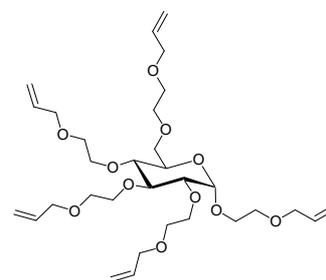
* Literaturvorschriften^{35, 36} geben Literatursausbeute mit bis zu 60 % an. Nach der angegebenen Vorschrift konnte **3.07** im 5 g Maßstab mit bis zu 78 % Ausbeute hergestellt werden.

Datensatz zum b-Anomer 3.08b:

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 4.41 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, H-1), 4.02-3.88 (m, 5H, 5 OCHHCH₂OH), 3.83-3.56 (m, 17H, 5 OCHHCH₂OH, 5 OCH₂CH₂OH, H-6, H-6'), 3.47-3.37 (m, 3H, H-5, H-3, H-4), 3.16 (dd \approx t, 1H, $J = 8.2$ Hz, H-2) ppm; $^1\text{H-}^{13}\text{C-HMQC}$: δ 3.79 (H-6), 3.77 (H-6') ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.62 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 106.0 (C-1), 86.9 (C-3), 84.7 (C-2), 80.5 (C-4), 77.1 (C-5), 77.1, 76.5, 76.3, 75.2, 74.0 (5 OCH₂CH₂OH), 71.9 (C-6), 64.0, 63.9, 63.7, 63.5, 63.4 (5 OCH₂CH₂OH) ppm.

[2-(Allyloxy)ethyl]-2,3,4,6-tetra-O-[2-(allyloxy)ethyl]- α -D-glucopyranosid (3.09) :



Nach AAV 1b für die Perallylierung mit Hilfe von Natriumhydrid in DMF werden 165 mg (0.41 mmol) **3.08** in trockenem DMF suspendiert und mit 200 mg (5.0 mmol) NaH (60%-ige Suspension in Paraffinöl) versetzt. Nach der Zugabe von 0.35 ml (4.1 mmol) Allylbromid wird über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wird unter Eiskühlung mit Eiswasser hydrolysiert, mit 100 ml Toluol versetzt, die organische Phase zweimal mit Natriumchloridlösung und zweimal mit Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wird an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester 1:1) gereinigt, um **3.09** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 134 mg (0.22 mmol; 54 %)

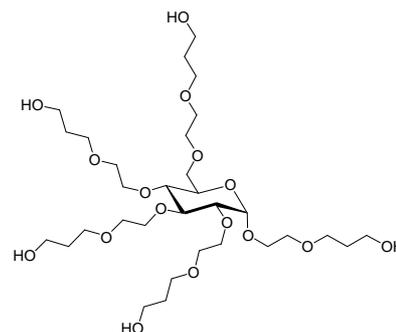
$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +71.3^\circ$ ($c = 0.38$, CH_2Cl_2);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 5.97-5.81 (m, 5H, 5 OCH₂CHCH₂), 5.31-5.21 (m, 5H, 5 OCH₂CHCHH), 5.19-5.12 (m, 5H, 5 OCH₂CHCHH), 4.99 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.10-3.86, 3.83-3.49 (je m, 13H und 21H, H-3, H-5, H-6, H-6', 5 OCH₂CH₂O, 5 OCH₂CH₂O, 5 OCH₂CHCH₂), 3.40 (dd \approx t, 1H, $J = 9.5$ Hz, H-4), 3.38 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (75.47 MHz, CDCl_3): δ 134.9, 134.9, 134.8 (2x), 134.7 (5 OCH₂CHCH₂), 116.9, 116.8 (2x), 116.7, 116.6 (5 OCH₂CHCH₂), 97.1 (C-1), 82.0 (C-3), 80.9 (C-2), 77.9 (C-4), 70.1 (C-5), 72.3, 72.2, 72.1, 72.1 (2x), 72.0, 72.0, 70.8, 70.6, 69.8, 69.7, 69.6 (2x), 69.4, 69.1, 66.8 (C-6, 5 OCH₂CH₂O, 5 OCH₂CH₂O, 5 OCH₂CHCH₂) ppm.

(6-Hydroxy-3-oxa-hexyl)-2,3,4,6-tetra-O-(6-hydroxy-3-oxa-hexyl)- α -D-glucopyranosid (3.10) :

Nach AAV 2 zur Hydroborierung von Doppelbindungen werden 136 mg (0.23 mmol) **3.09** in 15 ml trockenem THF gelöst, mit 5 ml (2.5 mmol) 9-BBN versetzt, und 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach der Zerstörung des Hydridüberschusses mit etwas Eiswasser erfolgt die Oxidation bei 0°C durch die Zugabe von 2.5 ml 3M wässriger NaOH und tropfenweiser Zugabe von 2.5 ml einer 30 %-igen Wasserstoffperoxidlösung. Nachdem über Nacht gerührt wurde, wird die wässrige Phase mit K₂CO₃ gesättigt, separiert und zweimal mit je 40 ml THF gewaschen. Die gesammelten organischen Phasen werden eingeeengt, über MgSO₄ getrocknet und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 6:1→5:1), um **3.10** als farblosen Sirup zu isolieren.



Ausbeute: 72 mg (0.10 mmol; 45 %)

$[\alpha]_D^{20} = +53.7^\circ$ ($c = 0.66$, MeOH);

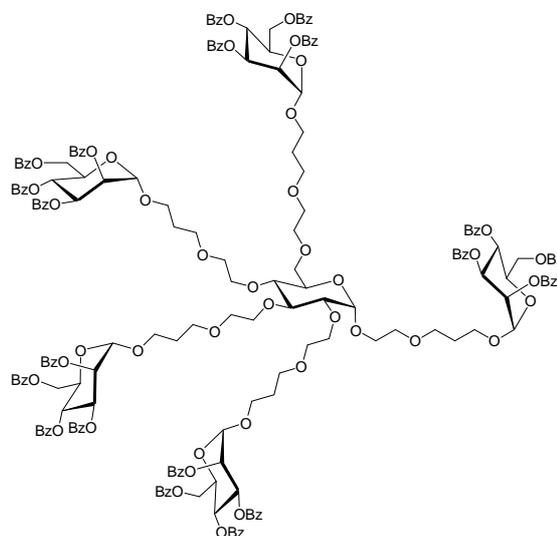
MALDI-TOF: $m/z = 713.6$ $[M+Na]^+$ (690.4 ber. für C₃₁H₆₂O₁₆);

¹H-NMR (300 MHz, D₄-MeOH): δ 5.01 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, H-1), 4.09-3.58 (m, 44H, H-3, H-5, H-6, H-6', 5 OCH₂CH₂O, 5 OCH₂CH₂CH₂OH), 3.40 (d, 1H, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2), 3.35 (m, 1H+MeOH, H-4), 1.88-1.76 (m, 10H, 5 OCH₂CH₂CH₂OH) ppm;

¹³C-NMR (75.47 MHz, D₄-MeOH): δ 99.4 (C-1), 84.5 (C-3), 83.2 (C-2), 80.4 (C-4), 72.7 (C-5), 74.6, 74.4, 73.1, 73.0, 72.9, 72.8, 72.7, 72.4, 72.2, 72.0, 69.3 (C-6, 5 OCH₂CH₂O), 70.3 (5 OCH₂CH₂CH₂OH), 61.3 (5 OCH₂CH₂CH₂OH), 34.9 (5 OCH₂CH₂CH₂OH) ppm.

[6-O-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-3-oxa-hexyl]-2,3,4,6-tetra-O-[6-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)-3-oxa-hexyl]- α -D-glucopyranosid (3.11) :

Nach AAV 8a für die Glycosylierung nach der Imidatmethode werden 45 mg (0.065 mmol) **3.10** und 2.30 g (3.1 mmol) **3.02** unter Stickstoff in 4 ml trockenem Dichlormethan gelöst, mit 0.2



ml einer 5 %-igen TMSOTf-Lösung in Dichlormethan versetzt und über Nacht gerührt. Nachdem mit NaHCO₃ neutralisiert wurde, wird an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester 3:2→1:1), um **3.11** als amorphen farblosen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 164 mg (0.046 mmol; 71 %)

$[\alpha]_D^{20} = -35.4^\circ$ ($c = 0.11$, CH₂Cl₂);

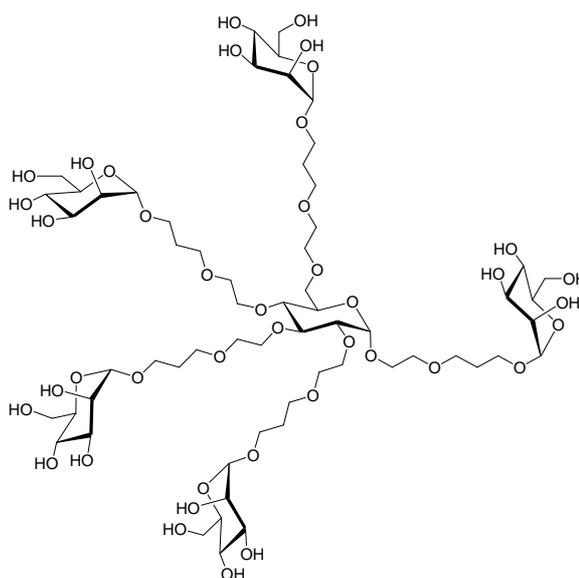
MALDI-TOF: $m/z = 3604.6$ [M+Na]⁺ (3581.2 ber. für C₂₀₁H₁₉₂O₆₁);

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.12-8.08, 8.06-8.02, 7.97-7.93, 7.85-7.81, 7.59-7.53, 7.44-7.48, 7.43-7.30, 7.26-7.20 (je m, 10H, 10H, 10H, 10H, 10H, 5H, 35H, 10H, arom. H), 6.17-6.10 (m, 5H, 5 H-4_{man}), 5.91 (dd, 5H, $J_{2,3man} = 3.3$ Hz, $J_{3,4man} = 10.3$ Hz, 5 H-3_{man}), 5.70 (dd, 5H, $J_{1,2man} = 1.6$ Hz, 5 H-2_{man}), 5.10-5.08 (m, 5H, 5 H-1_{man}), 4.99 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 3.5$ Hz, H-1_{glc}), 4.72-4.68 (m, 5H, 5 H-6_{man}), 4.51-4.46 (m, 5H, 5 H-6'_{man}), 4.45-4.40 (m, 5H, 5 H-5_{man}), 4.08-4.00, 3.96-3.89, 3.86-3.75, 3.74-3.58 (je m, 2H, 6H, 6H, 30H, 44H, H-3_{glc}, H-5_{glc}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 OCH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂O), 3.39-3.43 (m, 2H, H-4_{glc}, H-2_{glc}), 2.03-1.94 (m, 10H, 5 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, CDCl₃): δ 166.1-165.4 (20 CO₂Ph), 133.4-128.3 (100 arom. C), 97.7 (5 C-1_{man}), 97.2 (C-1_{glc}), 82.1 (C-3_{glc}), 80.9 (C-2_{glc}), 78.1 (C-4_{glc}), 72.4, 72.2, 70.8-70.6, 70.1, 69.9, 69.7, 67.7, 66.8 (5 OCH₂CH₂O, C-6_{glc}) 70.6 (5 C-2_{man}), 70.3 (C-5_{glc}), 70.2 (5 C-3_{man}), 68.8 (5 C-5_{man}), 67.0 (5 C-4_{man}), 65.7-65.6 (5 (C-1_{man})OCH₂), 62.9 (5 C-6_{man}), 29.8-29.7 (5 OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

[6-O-(α -D-mannopyranosyloxy)-3-oxa-hexyl]-2,3,4,6-tetra-O-[6-O-(α -D-mannopyranosyloxy)-3-oxa-hexyl]- α -D-glucopyranosid (3.12**) :**

Nach AAV 9 für die Deacetylierung/Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 137 mg (0.038 mmol) **3.11** in 20 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 10 ml 0.02M Natriummethanolatlösung (hergestellt aus 23 mg Natrium und 50 ml Methanol) versetzt und 0.5 h gerührt, anschließend wird eingengt, mit 50 ml Methanol aufgelöst und mit 10 ml 0.02M Natriummethanolatlösung über Nacht



gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit Amberlite IR 120 neutralisiert, filtriert, eingengt und mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **3.12** als farblosen amorphen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 57 mg (0.038 mmol; quant.)

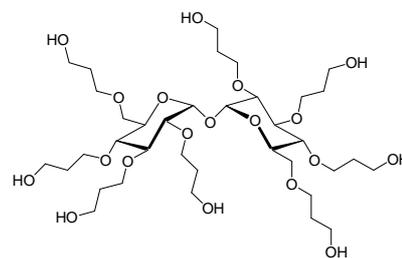
$[a]_D^{20} = +72.8^\circ$ ($c = 0.53$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 1523.8$ $[M+Na]^+$ (1500.7 ber. für $C_{61}H_{112}O_{41}$);

1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 5.02 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 3.7$ Hz, H-1_{glc}), 4.81-4.79 (m, 5H, 5 H-1_{man}), 4.07-3.98, 3.94-3.53 (je m, 2H, 72H, H-3_{glc}, H-5_{glc}, 2 H-6_{glc}, 5 H-2_{man}, 5 H-3_{man}, 5 H-4_{man}, 5 H-5_{man}, 10 H-6_{man}, 5 $OCH_2CH_2OCH_2CH_2CH_2O$), 3.42 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-2_{glc}), 3.35 (dd \approx t, 1H+MeOH, $J = 9.4$ Hz, H-4_{glc}), 1.95-1.87 (m, 10H, 5 $OCH_2CH_2CH_2O$) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, D_4 -MeOH): δ 102.7 (5 C-1_{man}), 99.4 (C-1_{glc}), 84.5 (C-3_{glc}), 83.2 (C-2_{glc}), 80.4 (C-4_{glc}), 75.7 (5 C-5_{man}), 74.6, 74.4 ((C-3_{glc})OCH₂, (C-4_{glc})OCH₂), 73.8 (5 C-3_{man}), 73.4 (5 C-2_{man}), 73.1, 72.9 (2x), 72.8, 72.7, 72.4, 72.2, 72.1 (C-6_{glc}, 2 (glc)OCH₂, 5 (glc)OCH₂CH₂), 72.8 (C-5_{glc}), 70.2 ((man) OCH₂CH₂CH₂O), 69.8 (5 C-4_{man}), 69.4 ((C-1_{glc})OCH₂), 66.6 (5 (man)OCH₂), 64.1 (5 C-6_{man}), 32.1 (5 $OCH_2CH_2CH_2O$) ppm.

2,3,4,6,2',3',4',6'-Okta-O-(3-hydroxypropyl)-D-trehalose (3.13) :



Nach AAV 2 zur Hydroborierung von Doppelbindungen werden 370 mg (0.56 mmol) **2.12** in 20 ml trockenem THF

gelöst, mit 20 ml (10 mmol) 9-BBN versetzt, und 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach der Zerstörung des Hydridüberschusses mit etwas Wasser erfolgt die Oxidation bei 0°C durch die Zugabe von 10 ml 3M wäßriger NaOH und tropfenweiser Zugabe von 10 ml einer 30 %-igen Wasserstoffperoxidlösung. Nachdem über Nacht gerührt wurde, wird die wäßrige Phase mit K_2CO_3 gesättigt, separiert und dreimal mit je 40 ml THF extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden eingengt und zuerst mit Methanol an Sephadex LH-20 und dann mit Dichlormethan/Methanol 3:1 an Kieselgel gereinigt, um **3.13** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 372 mg (0.46 mmol; 83 %)

$[a]_D^{19} = +70.1^\circ$ ($c = 2.19$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 829.38$ $[M+Na]^+$ (806.45 ber. für $C_{36}H_{70}O_{19}$);

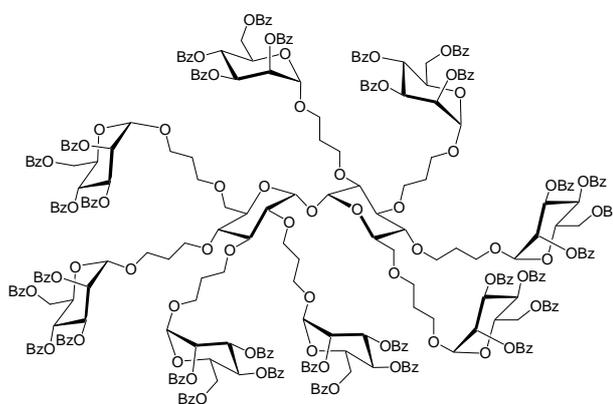
Anal. Ber. für $C_{36}H_{70}O_{19} \times 2 H_2O$ (842.97): C, 51.29; H 8.85. Gef.: C, 51.69; H, 8.80;

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 5.20 (d, 2H, $J_{1,2} = 3.1$ Hz, 2 H-1), 3.98-3.84, 3.79-3.58 (m, 8H und 32H, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, 2 H-5, 2 H-6, 2 H-6', 2 H-3), 3.35-3.28 (m, 4H, 2 H-2, 2 H-4), 1.92-1.77 (m, 16H, 8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) ppm; $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$: δ 3.95 (H-5), 3.64 (H-3) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.67 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 94.9 (2 C-1), 83.8 (2 C-3), 82.7 (2 C-2), 80.5 (2 C-4), 73.3 (2 C-5), 72.6, 72.0, 71.9, 70.7, 70.5 (8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, 2 C-6), 61.5, 61.3, 61.2, 61.2 (8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 35.7, 35.5, 35.4, 34.8 (8 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) ppm; $^1\text{H-}^{13}\text{C-HMBC}$: δ 72.0 oder 71.9 (C-6) ppm.

Okta-O-[3-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-a-D-mannopyranosyloxy)propyl]-a-D-trehalose (3.14) :

Nach AAV 8b für die Glycosylierung nach der Imidatmethode werden 50 mg (0.062 mmol) **3.13** und 5 g (6.7 mmol) **3.02** unter Argon bei 65°C Ölbadtemperatur in 400 ml



trockenem Acetonitril gelöst, mit 0.05 ml TMSOTf versetzt und 1 h gerührt. Nach der Zugabe von 1.2 g (1.6 mmol) **3.02** wird bei rt über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit NaHCO_3 neutralisiert, filtriert, eingengt, nacheinander an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1), an Kieselgel (Laufmittel: Hexan/Essigester 45:55) und erneut an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt, um **3.14** als amorphen weißen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 318 mg (0.059 mmol; 95 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -20.3^\circ$ ($c = 0.64$, CH_2Cl_2);

MALDI-TOF: $m/z = 5454.33$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (5431.71 ber. für $\text{C}_{308}\text{H}_{278}\text{O}_{91}$);

Anal. Ber. für $\text{C}_{308}\text{H}_{278}\text{O}_{91}$ (5435.54): C, 68.08; H 5.16. Gef.: C, 67.77; H, 5.06;

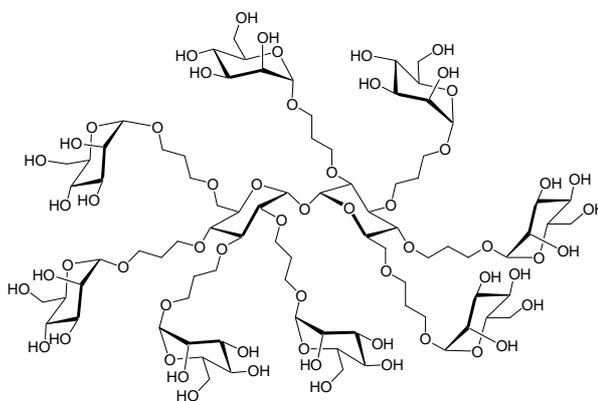
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{D}_6\text{-DMSO}$, 403 K): δ 8.02-7.92, 7.87-7.82, 7.72-7.65, 7.64-7.56, 7.52-7.20 (je m, 32 H, 16 H, 16 H, 16 H und 80 H, arom. H), 6.03-5.95 (m, 8H, 8 H-4_{man}), 5.88, 5.85, 5.85, 5.84 (je dd, je 2H, $J_{2,3\text{man}} = 3.0$ Hz, $J_{3,4\text{man}} = 9.9$ Hz, 8 H-3_{man}), 5.71, 5.68, 5.68, 5.65 (je dd, je 2H, $J_{1,2\text{man}} = 1.7$ Hz, 8 H-2_{man}), 5.24 (d, 2H, $J_{1,2\text{glc}} = 3.6$ Hz, 2 H-1_{glc}), 5.23, 5.18, 5.16, 5.13 (je d, je 2H, 8 H-1_{man}), 4.67-4.47 (m, 24H, 8 H-5_{man}, 8 H-6_{man}, 8 H-6'_{man}), 4.05-3.64 (m, 40H, 2 H-3_{glc}, 2 H-5_{glc}, 2 H-6_{glc}, 2 H-6'_{glc}, 8 (glc) OCH_2 , 8 (man) OCH_2), 3.40

(dd \approx t, 2H, $J = 9.1$ Hz, 2 H-4_{glc}), 3.39 (dd, 2H, $J_{2,3\text{glc}} = 9.1$ Hz, 2 H-2_{glc}), 2.11-1.95 (m, 16H, 8 CH₂CH₂CH₂) ppm;

¹³C-NMR (125.77 MHz, CDCl₃): δ 167.5-166.5 (32 CO₂Ph), 134.5-129.5 (160 arom. C), 99.3, 99.0, 89.9, 89.9 (8 C-1_{man}), 95.1 (2 C-1_{glc}), 83.0 (2 C-3_{glc}), 81.7 (2 C-2_{glc}), 79.1 (2 C-4_{glc}), 72.3 (2 C-5_{glc}), 72.0, 71.9, 71.9, 71.8 (8 C-2_{man}), 71.7, 71.6, 71.5, 71.5 (8 C-3_{man}), 70.2, 70.1, 70.1, 70.0 (8 C-5_{man}), 70.7, 70.5, 69.6, 69.3 (8 (glc)OCH₂, 2 C-6_{glc}^{*}), 68.3 (3x), 68.1 (8 C-4_{man}), 67.5, 67.2, 66.6 (2x) (8 (man)OCH₂), 64.2, 64.2, 64.1 (2x) (8 C-6_{man}), 32.0, 31.8, 31.7, 31.3 (8 OCH₂CH₂CH₂O) ppm. *Eine CH₂-Gruppe ist von C-3_{man} überlagert.

Oкта-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy)-propyl]- α -D-trehalose (3.15) :

Nach AAV 9 für die Deacetylierung / Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 110 mg (0.020 mmol) **3.14** in 50 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 25 ml Methanol und 1 ml 1M Natrium-



methanolatlösung versetzt und 4 h gerührt. Nachdem das Tetrahydrofuran am Rotationsverdampfer entfernt wurde, werden 75 ml Methanol zugegeben, und es wird über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit Amberlite IR 120 neutralisiert, filtriert, eingengt und mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **3.15** als farblosen amorphen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 38 g (0.018 mmol; 90 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +72.9^\circ$ ($c = 0.17$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 2125.89$ [M+Na]⁺ (2102.87 ber. für C₈₄H₁₅₀O₅₉);

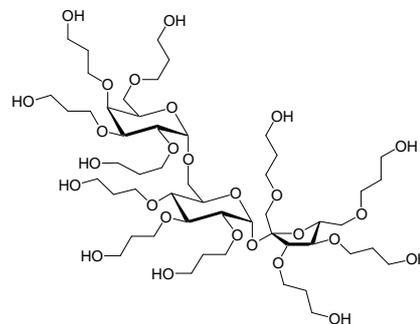
¹H-NMR (400 MHz, D₄-MeOH): δ 5.22 (d, 2H, $J_{1,2\text{glc}} = 3.5$ Hz, 2 H-1_{glc}), 4.82 (6x), 4.79 (2x) (je d \approx s, 8H, 8 H-1_{man}), 4.04-3.49 (m, 88H, 16 (man)OCHH, 16 (glc)OCHH, 2 H-3_{glc}, 2 H-5_{glc}, 2 H-6_{glc}, 2-H-6'_{glc}, 8 H-2_{man}, 8 H-3_{man}, 8 H-4_{man}, 8 H-5_{man}, 8 H-6_{man}, 8 H-6'_{man}), 3.37-3.29 (m, 4H + MeOH, 2 H-2_{glc}, 2 H-4_{glc}), 2.00-1.77 (m, 16H, 8 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

¹³C-NMR (100.62 MHz, D₄-MeOH, DEPT): δ 102.8, 102.7 (3x) (8 C-1_{man}), 95.1 (2 C-1_{glc}), 84.0 (2 C-3_{glc}), 82.7 (2 C-2_{glc}), 80.5 (2 C-4_{glc}), 75.9-75.8 (8 C-5_{man}), 73.8 (8 C-3_{man}), 73.4, 73.3 (8 C-2_{man}), 72.7, 71.8, 71.7, 70.6, 70.5 (2 C-6_{glc}, 8 (glc)OCH₂), 69.8 (3x), 69.7 (8 C-

4_{man}), 67.0, 66.7, 66.5, 66.4 (8 (C-1_{man})OCH₂), 64.1 (8 C-6_{man}), 33.0, 32.7, 32.6, 32.1 (8 OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

Undeca-O-(3-hydroxypropyl)-D-raffinose (3.16) :

Nach AAV 2 zur Hydroborierung von Doppelbindungen werden 535 mg (0.57 mmol) **2.08** in 20 ml trockenem THF gelöst, mit 26 ml (13 mmol) 9-BBN versetzt und 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach der Zerstörung des Hydridüberschusses mit etwas Wasser erfolgt die Oxidation bei 0°C durch die Zugabe von 13 ml 3M wäßriger NaOH und tropfenweiser Zugabe von 13 ml einer 30 %-igen Wasserstoffperoxidlösung. Nachdem über Nacht gerührt wurde, wird die wäßrige Phase mit K₂CO₃ gesättigt, separiert und dreimal mit je 40 ml THF extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden eingengt und zuerst mit Methanol an Sephadex LH-20 und dann mit Dichlormethan/Methanol 3:1 an Kieselgel gereinigt, um **3.16** als farblosen Sirup zu isolieren.



Ausbeute: 538 mg (0.47 mmol; 85 %)

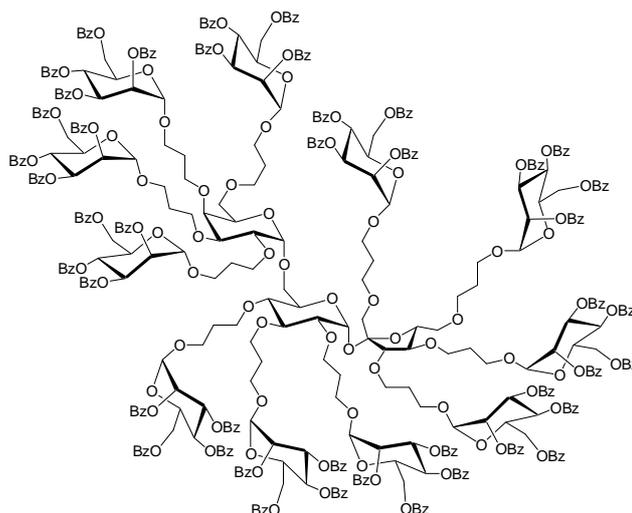
$[\alpha]_D^{20} = +66.1^\circ$ (c 0.36, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 1165.87$ [M+Na]⁺ (1142.63 ber. für C₅₁H₉₈O₂₇);

Anal. Ber. für C₅₁H₉₈O₂₇ × 2 H₂O (1179.35): C, 51.94; H 8.72. Gef.: C, 51.99; H, 8.64;

¹H-NMR (500 MHz, D₄-MeOH): δ 5.63 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 3.6$ Hz, H-1_{glc}), 5.18 (d_{≈s}, 1H, H-1_{gal}), 4.15 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, H-3_{frc}), 4.05-3.47 (m, 61H, H-3_{glc}, H-4_{glc}, H-5_{glc}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, H-1_{frc}, H-1'_{frc}, H-4_{frc}, H-5_{frc}, H-6_{frc}, H-6'_{frc}, H-2_{gal}, H-3_{gal}, H-4_{gal}, H-5_{gal}, H-6_{gal}, H-6'_{gal}, 11 OCH₂CH₂CH₂OH, 11 OCH₂CH₂CH₂OH), 3.26 (dd, 1H, $J_{2,3glc} = 9.1$ Hz, H-2_{glc}), 1.92-1.77 (m, 22H, 11 OCH₂CH₂CH₂OH) ppm; ¹H-¹H-COSY: δ 3.57 (H-3_{glc}), 3.68 (H-2_{gal}); ¹H-¹³H-HSQC: δ 3.51 (H-4_{glc}), 3.99 (H-5_{glc}), 3.90 (H-6_{glc}), 3.77 (H-6'_{glc}), 3.69 (H-1_{frc}), 3.49 (H-1'_{frc}), 4.02 (H-4_{frc}), 3.89 (H-5_{frc}), 3.71 (H-6_{frc}), 3.71 (H-6'_{frc}), 3.70 (H-3_{gal}), 3.86 (H-4_{gal}), 3.97 (H-5_{gal}); ¹³C-NMR (100.67 MHz, D₄-MeOH): δ 106.7 (C-2_{frc}), 99.9 (C-1_{gal}), 92.0 (C-1_{glc}), 86.5 (C-3_{frc}), 84.4 (C-4_{frc}), 84.1 (C-3_{glc}), 82.9 (C-2_{glc}), 81.9 (C-5_{frc}), 80.8 (C-3_{gal}), 79.9 (C-4_{glc}), 79.3 (C-2_{gal}), 78.0 (C-4_{gal}), 74.4 (C-1_{frc}), 74.1 (C-6_{frc}), 73.8 (C-5_{glc}), 71.6 (C-5_{gal}), 72.7, 72.5, 71.8 (2x), 70.8, 70.6, 70.5 (2x), 70.1, 70.0, 69.9 (2x) (C-6_{gal}, 11 OCH₂CH₂CH₂OH), 67.8 (C-6_{glc}), 61.6, 61.6, 61.6, 61.5, 61.4, 61.3, 61.2 (3x), 61.2, 61.0 (11 OCH₂CH₂CH₂OH), 35.7, 35.5, 35.3 (3x), 35.2, 35.2 (2x), 34.9 (3x) (11 OCH₂CH₂CH₂OH) ppm.

Undeca-O-[3-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyloxy)propyl]-D-raffinose (3.17**) :**



Nach AAV 8b für die Glycosylierung nach der Imidatmethode werden 39 mg (0.034 mmol) **3.16** und 5 g (6.7 mmol) **3.02** unter Argon bei 60°C Ölbadtemperatur in 400 ml trockenem Acetonitril gelöst, mit 0.05 ml TMSOTf versetzt, 10 min bei 60°C und weitere 2 h bei rt gerührt. Nach der Zugabe von 2 g (2.7 mmol) **3.02** wird über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit NaHCO₃ neutralisiert, filtriert, eingengt, nacheinander an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1), an Kieselgel (Hexan/Essigester 4:6) und erneut an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt, um **3.17** als amorphen weißen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 231 mg (0.031 mmol; 91 %)

$[a]_D^{20} = -30.0^\circ$ ($c = 0.17$, CH₂Cl₂);

MALDI-TOF: $m/z = 7525.7$ [M+Na]⁺ (7502.36 ber. für C₄₂₅H₃₈₄O₁₂₆);

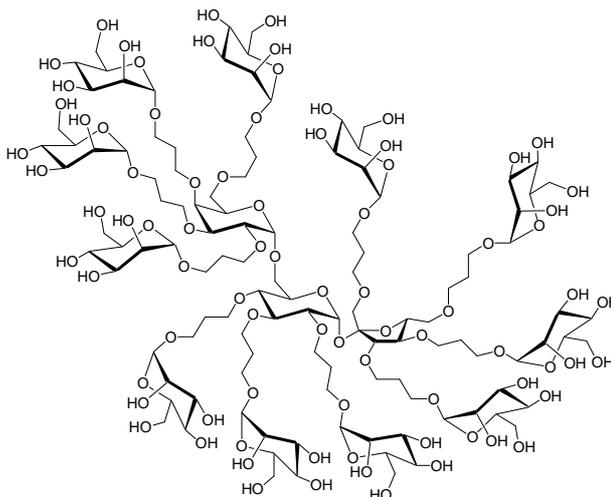
Anal. Ber. für C₄₂₅H₃₈₄O₁₂₆ (7507.52): C, 67.99; H 5.16. Gef.: C, 64.19; H, 5.00; N, 1.36;

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.12-7.70 (m, 88H, arom. H), 7.55-7.00 (m, 132H, arom. H), 6.25-6.05 (m, 11 H, 11 H-4_{man}), 5.98-5.86 (m, 11 H, 11 H-3_{man}), 5.78-5.60 (m, 12 H, 11 H-2_{man}, H-1_{glc}), 5.23-4.92 (m, 12H, H-1_{gal}, 11 H-1_{man}), 4.80-4.56, 4.53-4.30 (je m, 11H und 22H, 11 H-5_{man}, 11 H-6_{man}, 11 H-6'_{man}), 4.16-3.26 (m, 63H, H-3_{frc}, H-3_{glc}, H-4_{glc}, H-5_{glc}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, H-1_{frc}, H-1'_{frc}, H-4_{frc}, H-5_{frc}, H-6_{frc}, H-6'_{frc}, H-2_{gal}, H-3_{gal}, H-4_{gal}, H-5_{gal}, H-6_{gal}, H-6'_{gal}, 11 (C-1_{man})OCH₂, 11 (gal, glc, frc)OCH₂, H-2_{glc}), 2.24-1.90 (22H, m, 11 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

¹³C-NMR (125.77 MHz, CDCl₃): δ 165.9-165.1 (44 CO₂Ph), 133.2-128.2 (220 arom. C), 104.5 (C-2_{frc}), 97.9-97.5 (C-1_{gal}, 11 C-1_{man}), 90.3 (C-1_{glc}), 83.8, 83.3, 82.2, 80.8, 79.6, 78.5, 77.2, 75.7, 75.5 (C-3_{frc}, C-4_{frc}, C-3_{glc}, C-2_{glc}, C-5_{frc}, C-3_{gal}, C-4_{glc}, C-2_{gal}, C-4_{gal}), 73.4-71.5 (C-1_{frc}, C-6_{frc}, C-5_{glc}), 70.5-70.1 (11 C-2_{man}, 11 C-3_{man}, C-5_{gal}), 68.7 (11 C-5_{man}), 70.0, 69.2, 69.1, 68.4-67.3 (11 (gal, glc, frc)OCH₂, C-6_{gal}), 66.7 (11 C-4_{man}), 66.0-65.4 (C-6_{glc}, 11 (C-1_{man})OCH₂), 62.6 (11 C-6_{man}), 30.6-29.7 (11 OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

Undeca-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy)-propyl]-D-raffinose (3.18) :

Nach AAV 9 für die Deacetylierung/Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 231 mg (0.031 mmol) **3.17** in 50 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 25 ml Methanol und 1 ml 1M Natriummethanolatlösung versetzt und 4 h gerührt. Nachdem das Tetrahydrofuran am



Rotationsverdampfer entfernt wurde, werden 75 ml Methanol zugegeben, und es wird über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit Amberlite IR 120 neutralisiert, filtriert, eingengt und mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **3.18** als farblosen amorphen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 64 mg (0.022 mmol; 71 %)

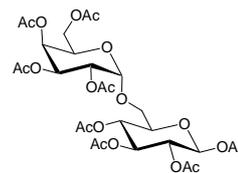
$[\alpha]_D^{19} = +71.5^\circ$ ($c = 0.13$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 2948.6$ $[M+Na]^+$ (2925.2 ber. für $C_{117}H_{208}O_{82}$);

1H -NMR (400 MHz, D_4 -MeOH): δ 5.62 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 3.5$ Hz H-1_{glc}), 5.17 (s, 1H, H-1_{gal}), 4.86-4.79 (m, 11H, 11 H-1_{man}), 4.15 (d, 1H, H-3_{frc}), 4.07-3.47, 3.40-3.22 (125H und 3H+MeOH, m, H-3_{glc}, H-5_{glc}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, H-1_{frc}, H-1'_{frc}, H-4_{frc}, H-5_{frc}, H-6_{frc}, H-6'_{frc}, H-2_{gal}, H-3_{gal}, H-4_{gal}, H-5_{gal}, H-6_{gal}, H-6'_{gal}, 11 (C-1_{man})OCH₂, 11 (gal, glc, frc)OCH₂, 11 H-4_{man}, 11 H-3_{man}, 11 H-2_{man}, 11 H-5_{man}, 11 H-6_{man}, 11 H-6'_{man}, H-2_{glc}, H-4_{glc}), 2.02-1.83 (22H, m, 11 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

^{13}C -NMR (100.67 MHz, D_4 -MeOH, DEPT): δ 101.9 (11 C-1_{man}), 99.3 (C-1_{gal}), 91.3 (C-1_{glc}), 85.6 (C-3_{frc}), 83.5 (C-4_{frc}, C-3_{glc}), 82.1 (C-2_{glc}), 81.0 (C-5_{frc}), 80.1 (C-3_{gal}), 79.1 (C-4_{glc}), 78.8 (C-2_{gal}), 77.4 (C-4_{gal}), 74.9 (11 C-5_{man}) 73.3 (C-1_{frc}, C-6_{frc}), 73.0 (C-5_{glc}, 11 C-3_{man}), 77.5 (11 C-2_{man}), 71.7 (2x), 71.1 (2x), 69.7 (5x), 69.1 (3x) (C-6_{gal}, 11 (gal, glc, frc)OCH₂), 70.9 (C-5_{gal}), 68.9 (11 C-4_{man}), 66.0 (6x), 65.8 (6x) (C-6_{glc}, 11 (C-1_{man})OCH₂), 63.2 (11 C-6_{man}), 32.0-31.2 (11 OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranose (3.20) :

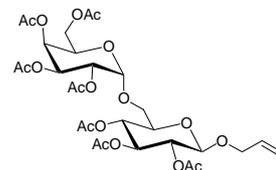


Zu einer siedenden Suspension von 8 g (980 μ mol) Natriumacetat in 100 ml Essigsäureanhydrid werden portionsweise 15g (43.8 μ mol) Melibiose gegeben. Anschließend wird kurz aufgeköcht und nach einer kurzen Abkühlphase auf 500 ml Eis gegossen. Nach dem Auftauen des Eises wird zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden mit Wasser, kaltgesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und wieder mit Wasser gewaschen. Anschließend wird über $MgSO_4$ getrocknet, eingengt, mit Ethanol kodestilliert und aus 100 ml Ethanol umkristallisiert, um **3.20** als weißen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 19.9 g (29.4 μ mol; 67 %)

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 5.68 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 8.1$ Hz, H-1_{glc}), 5.45 (dd \approx d, 1H, $J = 3.1$ Hz, H-4_{gal}), 5.35 (dd, 1H, $J_{2,3gal} = 11.2$ Hz, $J_{3,4gal} = 3.6$ Hz, H-3_{gal}), 5.25 (dd \approx t, 1H, $J = 9.7$ Hz, H-3_{glc}), 5.18-5.12 (m, 2H, H-1_{gal}, H-4_{glc}), 5.10 (dd, 1H, $J_{1,2gal} = 3.6$ Hz, H-2_{gal}), 5.07 (dd \approx t, 1H, $J = 9.7$ Hz, H-2_{glc}), 4.20 (dd \approx t, 1H, $J = 6.1$ Hz, H-5_{gal}), 4.12-4.02 (m, 2H, H-6_{gal}, H-6'_{gal}), 3.80 (m, 1H, H-5_{glc}), 3.73 (dd, 1H, $J_{5,6glc} = 4.6$ Hz, $J_{6,6'glc} = 11.7$ Hz, H-6_{glc}), 3.64 (dd, 1H, $J_{5,6'glc} = 2.6$ Hz, H-6'_{glc}), 2.14, 2.13, 2.11, 2.06, 2.05, 2.04, 2.02, 1.99 (s, je 3H, 8 OAc) ppm;

Allyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosid (3.21) :



Zu einer Lösung von 6 g (8.84 μ mol) **3.20** in 50 ml Dichlormethan werden 3 ml (5 eq) Allylkohol und 20 ml BF_3 -Etherat gegeben. Nachdem 1 h unter Lichtausschluß gerührt wurde, wird mit kaltgesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und danach mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über $MgSO_4$ getrocknet, eingengt und an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigester 55:45) gereinigt, um **3.21** als weißen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 2.57 g (3.80 μ mol; 43 %)

$[a]_D^{20} = +83.3^\circ$ ($c = 0.48$, CH_2Cl_2);

Anal. Ber. für $C_{29}H_{40}O_{18}$ (676.22): C, 51.48; H 5.96. Gef.: C, 51.38; H, 6.10;

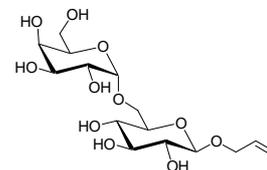
1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 5.85 (m, 1H, OCH_2CHCH_2), 5.45 (dd \approx d, 1H, $J = 2.6$ Hz, H-4_{gal}), 5.35 (dd, 1H, $J_{3,4gal} = 3.1$ Hz, $J_{2,3gal} = 11.2$ Hz, H-3_{gal}), 5.29 (m, 1H, OCH_2CHCH_2), 5.25-5.18 (m, 2H, H-3_{glc}, OCH_2CHCH_2), 5.17 (d, 1H, $J_{1,2gal} = 3.6$ Hz, H-1_{gal}), 5.12 (dd, 1H,

H-2_{gal}), 5.06 (dd≈t, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-4_{glc}), 4.98 (dd, 1H, $J_{1,2glc} = 7.6$ Hz, $J_{2,3glc} = 9.7$ Hz, H-2_{glc}), 4.56 (d, 1H, H-1_{glc}), 4.31 (m, 1H, OCHHCHCH₂), 4.26 (dd≈t, 1H, $J = 6.6$ Hz, H-5_{gal}), 4.15-4.03 (m, 3H, H-6_{gal}, H-6'_{gal}, OCHHCHCH₂), 3.76 (dd, 1H, $J_{5,6glc} = 5.6$ Hz, $J_{6,6'glc} = 11.2$ Hz, H-6_{glc}), 3.67 (m, 1H, H-5_{glc}), 3.57 (dd, 1H, $J_{5,6'glc} = 2.6$ Hz, H-6'_{glc}), 2.14, 2.12, 2.05 (2x), 2.04, 2.01, 1.99 (je s, je 3H, 7 OAc) ppm;

¹³C-NMR (100.67 MHz, CDCl₃): δ 170.9, 170.7, 170.7, 170.6, 170.3, 169.7 (2x) (7 OAc), 133.8 (OCH₂CHCH₂), 117.6 (OCH₂CHCH₂), 99.8 (C-1_{glc}), 96.8 (C-1_{gal}), 73.3 (C-3_{glc}), 73.1 (C-5_{glc}), 71.7 (C-2_{glc}), 70.2 (OCH₂CHCH₂), 69.4 (C-4_{glc}), 68.5, 68.4 (C-2_{gal}, C-4_{gal}), 67.8 (C-3_{gal}), 66.9 (C-5_{gal}), 66.8 (C-6_{glc}), 62.0 (C-6_{gal}), 21.2, 21.1, 21.0 (3x), 21.0 (2x) (7 OAc) ppm.

Allyl-6-(α-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (3.22) :

Nach AAV 7 für die Deacetylierung/ Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 2.315 mg (3.42 mmol) **3.21** entschützt, um **3.22** als weißen amorphen Feststoff zu isolieren.



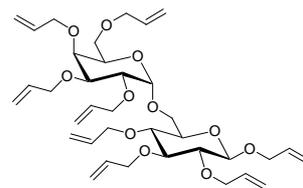
Ausbeute: 1.301 g (3.40 mmol; 99 %)

$[α]_D^{20} = + 61.8^\circ$ ($c = 0.89$, MeOH);

¹H-NMR (500 MHz, D₄-MeOH): δ 6.01 (m, 1H, OCH₂CHCH₂), 5.39 (m, 1H, OCH₂CHCHH), 5.21 (m, 1H, OCH₂CHCHH), 4.91 (d≈s, 1H, H-1_{gal}), 4.39 (m, 1H, OCHHCHCH₂), 4.38 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 7.9$ Hz, H-1_{glc}), 4.20 (m, 1H, OCHHCHCH₂), 4.02 (dd, 1H, $J_{5,6glc} = 4.4$ Hz, $J_{6,6'glc} = 10.7$ Hz, H-6_{glc}), 3.97-3.91, 3.81-3.78 (je m, je 2H, H-2_{gal}, H-3_{gal}, H-4_{gal}, H-5_{gal}), 3.78-3.72 (m, 3H, H-6'_{glc}, H-6_{gal}, H-6'_{gal}), 3.51 (m, 1H, H-5_{glc}), 3.45 (dd≈t, 1H, $J = 9.1$ Hz, H-4_{glc}), 3.40 (dd≈t, 1H, $J = 8.8$ Hz, H-3_{glc}), 3.26 (dd≈t, 1H, $J = 8.5$ Hz, H-2_{glc}) ppm;

¹³C-NMR (100.67 MHz, D₄-MeOH): δ 136.0 (OCH₂CHCH₂), 118.0 (OCH₂CHCH₂), 104.1 (C-1_{glc}), 100.5 (C-1_{gal}), 78.5 (C-3_{glc}), 76.7 (C-5_{glc}), 75.5 (C-2_{glc}), 72.1 (C-4_{glc}), 71.8 (OCH₂CHCH₂), 72.7, 71.8, 71.5, 70.9 (C-2_{gal}, C-3_{gal}, C-4_{gal}, C-5_{gal}), 67.6 (C-6_{glc}), 63.1 (C-6_{gal}) ppm.

Allyl-2,3,4-tri-O-allyl-6-(2,3,4,6-tetra-O-allyl- α -D-galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosid (3.23) :



Nach AAV 1b für die Perallylierung mit Hilfe von Natriumhydrid in DMF werden 1.18 g (3.1 mmol) **3.22** in trockenem DMF suspendiert und mit 2.5 g (63 mmol) NaH (60%-ige Suspension in Paraffinöl) versetzt. Nach 1 h werden 3.1 ml (37 mmol) Allylbromid zugegeben. Es wird 16 h gerührt. Zur Aufarbeitung wird unter Eiskühlung mit Eiswasser hydrolysiert, mit 100 ml Toluol versetzt, zweimal mit Natriumchloridlösung und zweimal mit Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wird an Kieselgel (Laufmittel: Toluol/Essigester 7:1) gereinigt, um **3.23** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 1.42 g (2.14 mmol; 69 %)

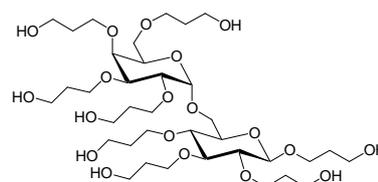
$[\alpha]_D^{20} = +48.0^\circ$ ($c = 3.42$, CH_2Cl_2);

Anal. Ber. für $C_{36}H_{54}O_{11}$ (662.81): C, 65.24; H 8.21. Gef.: C, 65.30; H, 8.27;

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 6.01-5.84 (m 8H, 8 OCH_2CHCH_2), 5.33-5.20 (m, 8H, 8 OCH_2CHCHH), 5.20-5.11 (m, 8H, 8 OCH_2CHCHH), 5.05 (d, 1H, $J_{1,2gal} = 3.6$ Hz, H-1_{gal}), 4.41-3.94 (m, 18H, H-1_{glc}, H-5_{gal}, 8 OCH_2CHCH_2), 3.85-3.74 (m, 4H, H-6_{glc}, H-6'_{gal}, H-2_{gal}, H-4_{gal}), 3.71 (dd, 1H, $J_{2,3gal} = 10.2$ Hz, $J_{3,4gal} = 2.5$ Hz, H-3_{gal}), 3.59 (dd, 1H, $J_{6,5gal} = 7.6$ Hz, $J_{6,6'gal} = 9.2$ Hz, H-6_{gal}), 3.52 (dd, 1H, $J_{6',5gal} = 6.1$ Hz, H-6'_{gal}), 3.40 (m, 1H, H-5_{glc}), 3.38-3.30 (m, 2H, H-3_{glc}, H-4_{glc}), 3.19 (dd \approx t, 1H, $J = 8.7$ Hz, H-2_{glc}) ppm;

^{13}C -NMR (100.67 MHz, $CDCl_3$): δ 135.9, 135.7, 135.7, 135.6, 135.5, 135.3, 135.0, 134.6 (8 OCH_2CHCH_2), 117.4, 117.2, 117.2, 117.1, 117.1, 117.0, 116.8, 116.6 (8 OCH_2CHCH_2), 102.7 (C-1_{glc}), 98.2 (C-1_{gal}), 84.6 (C-3_{glc}), 82.1 (C-2_{glc}), 78.2 (C-3_{gal}), 78.1 (C-4_{glc}), 76.7 (C-2_{gal}), 75.3 (C-4_{gal}), 75.0 (C-5_{glc}), 74.7, 74.4, 74.1, 74.0, 72.6, 72.2, 72.1, 70.2 (OCH_2CHCH_2), 69.3 (C-5_{gal}), 69.0 (C-6_{gal}), 66.9 (C-6_{glc}) ppm.

3-Hydroxypropyl 2,3,4-tetra-O-(3-hydroxypropyl)-6-[2,3,4,6-tetra-O-(3-hydroxypropyl)- α -D-galactopyranosyl]- β -D-glucopyranosid (3.24) :



Nach AAV 2 zur Hydroborierung von Doppelbindungen werden 240 mg (0.362 mmol) **3.23** in 20 ml trockenem THF gelöst, mit 12 ml (6 mmol) 9-BBN versetzt, und 1 h bei 60°C erhitzt. Nach der Zerstörung des Hydridüberschusses mit etwas Wasser erfolgt die Oxidation bei 0°C durch die Zugabe von 6 ml 3M wässriger NaOH

und tropfenweiser Zugabe von 6 ml einer 30 %-igen Wasserstoffperoxidlösung. Nachdem über Nacht gerührt wurde, wird die wäßrige Phase mit K_2CO_3 gesättigt, separiert und dreimal mit je 40 ml THF extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden eingengt und zuerst mit Methanol an Sephadex LH-20 und dann mit Dichlormethan/Methanol 3:1 an Kieselgel gereinigt, um **3.24** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 162 mg (0.201 mmol; 56 %)

$[a]_D^{20} = + 53.1^\circ$ (c 0.52, MeOH);

MALDI-TOF(nH): $m/z = 828.59$ $[M+Na]^+$ (806.45 ber. für $C_{36}H_{70}O_{19}$);

Anal. Ber. für $C_{36}H_{70}O_{19} \cdot H_2O$ (824.96): C, 52.41; H 8.80. Gef.: C, 52.37; H, 8.66;

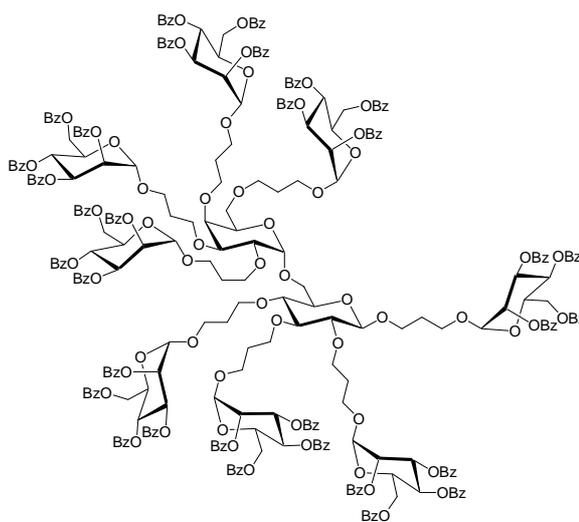
1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 5.14 (d \approx s, 1H, H-1_{gal}), 4.31 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 7.6$ Hz, H-1_{glc}), 4.01 (ddd \approx t, 1H, $J = 6.6$ Hz, H-5_{gal}), 3.99-3.60 (m, 38H, 8 $OCH_2CH_2CH_2OH$, 8 $OCH_2CH_2CH_2OH$, H-2_{gal}, H-3_{gal}, H-4_{gal}, H-6_{gal}), 3.58 (dd, 1H, $J_{5,6'gal} = 6.6$ Hz, $J_{6,6'gal} = 9.2$ Hz, H-6'_{gal}), 3.42-3.26 (m, 3H+MeOH, H-3_{glc}, H-4_{glc}, H-5_{glc}), 3.05 (dd \approx t, 1H, $J = 8.1$ Hz, H-2_{glc}), 1.92-1.77 (m, 16H, 8 $OCH_2CH_2CH_2OH$) ppm;

^{13}C -NMR (100.67 MHz, D_4 -MeOH): δ 105.7 (C-1_{glc}), 99.7 (C-1_{gal}), 87.2 (C-3_{glc}), 84.9 (C-2_{glc}), 80.9, 80.5, 79.3, 78.1 (C-2_{gal}, C-3_{gal}, C-4_{gal}, C-4_{glc}), 77.0 (C-5_{glc}), 72.7, 72.7, 72.1, 72.0, 72.0 (2x), 70.5, 70.1, 70.0, 68.8, 68.3 (8 $OCH_2CH_2CH_2OH$, C-6_{glc}, C-6_{gal}), 71.6 (C-5_{gal}), 61.6, 61.6, 61.5, 61.5, 61.4, 61.3, 61.2, 61.1 (8 $OCH_2CH_2CH_2OH$), 35.7, 35.5, 35.3, 35.2, 35.2, 35.1, 35.0 (8 $OCH_2CH_2CH_2OH$) ppm.

Okta-O-[3-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-a-D-mannopyranosyloxy)propyl]-b-D-melibiose (3.25) :

Nach AAV 8b für die Glycosylierung nach der Imidatmethode werden 34 mg (0.042 mmol) **3.24** und 5 g (6.7 mmol) **3.02** unter Argon bei 75°C Ölbadtemperatur in 400 ml trockenem Acetonitril gelöst, mit 0.05 ml TMSOTf versetzt und 2 h gerührt. Nach der Zugabe von

1.2 g (1.6 mmol) **3.02** wird bei rt über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit $NaHCO_3$ neutralisiert, filtriert, eingengt und nacheinander an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1), an Kieselgel (Laufmittel: Hexan/Essigester 45:55) und erneut



an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt, um **3.25** als amorphen weißen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 145 mg (0.027 mmol; 64 %)

$[a]_D^{26} = -36.0^\circ$ ($c = 0.3$, CH_2Cl_2);

MALDI-TOF: $m/z = 5454.1$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (5431.71 ber. für $\text{C}_{308}\text{H}_{278}\text{O}_{91}$);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_6 -DMSO, 353 K): δ 7.98-7.87, 7.84-7.79, 7.66-7.55, 7.48-7.18 (je m, 32 H, 16 H, 32H und 80H, arom. H), 6.01-5.93 (m, 8 H, 8 H-4_{man}), 5.83-5.75 (m, 8 H, 8 H-3_{man}), 5.66-5.60 (m, 8H, 8 H-2_{man}), 5.18-5.10 (m, 9H, H-1_{gal}, 8 H-1_{man}), 4.64-4.55, 4.53-4.43 (je m, 8H und 16H, 8 H-5_{man}, 8 H-6_{man}, 8 H-6'_{man}), 4.37 (d, 1H, $J_{1,2\text{glc}} = 7.6$ Hz, H-1_{glc}), 4.00-3.32 (m, 44H, H-3_{glc}, H-4_{glc}, H-5_{glc}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, H-2_{gal}, H-3_{gal}, H-4_{gal}, H-5_{gal}, H-6_{gal}, H-6'_{gal}, 8 (glc, gal)OCH₂, 8 (man)OCH₂, H-2_{glc}), 2.05-1.85 (m, 16H, 8 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

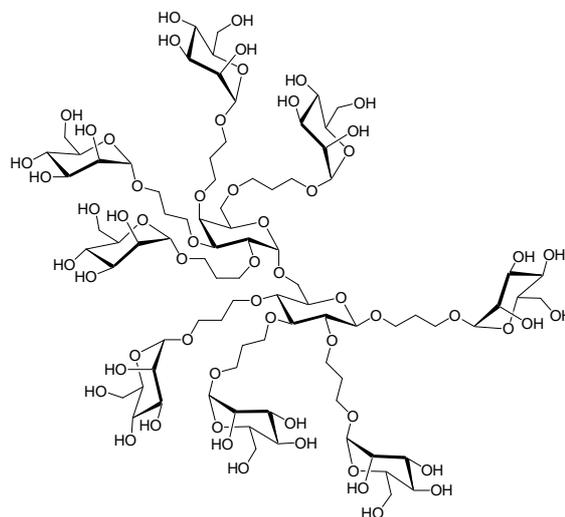
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.77 MHz, CDCl_3): δ 166.0-165.1 (32 CO₂Ph), 133.3-128.2 (160 arom. C), 103.5 (C-1_{glc}), 97.8-97.5 (C-1_{gal}, 8 C-1_{man}), 84.9 (C-3_{glc}), 82.6 (C-2_{glc}), 78.5, 78.2, 77.1, 75.9 (C-2_{gal}, C-3_{gal}, C-4_{gal}, C-4_{glc}), 75.0 (C-5_{glc}), 70.6-70.4 (8 C-2_{man}), 70.3-70.1 (8 C-3_{man}), 69.1 (C-5_{gal}), 68.9-68.6 (8 C-5_{man}), 66.9-66.8 (8 C-4_{man}), 70.0 (2x), 69.6, 69.5, 69.4, 68.2, 67.8 (2x), 66.2-65.7 (C-6_{glc}, C-6_{gal}, 8 (man)OCH₂, 4 (glc)OCH₂, 4 (gal)OCH₂), 62.7 (8 C-6_{man}), 30.6-29.7 (11 OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

Oкта-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy)

propyl]- β -D-melibiose (**3.26**) :

Nach AAV 9 für die Deacetylierung / Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 81 mg (15 mmol) **3.25** in 30 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 10 ml 0.2M NatriummethanolatLösung versetzt und 1 h gerührt. Nachdem das Tetrahydrofuran am Rotationsverdampfer entfernt wurde, werden 50 ml Methanol und 10 ml 0.2M NatriummethanolatLösung zugegeben, und es wird über Nacht gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit Amberlite IR 120 neutralisiert, filtriert, eingengt und mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **3.26** als farblosen amorphen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 32 mg (15 mmol; quant.)



$[\alpha]_D^{19} = +66.0^\circ$ ($c = 0.59$, MeOH);

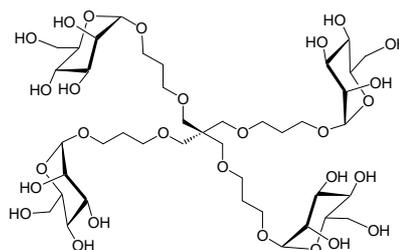
MALDI-TOF: $m/z = 2126.1$ $[M+Na]^+$ (2102.9 ber. für $C_{84}H_{150}O_{59}$);

1H -NMR (300 MHz, D_4 -MeOH): δ 5.14 (d \approx s, 1H, H-1_{gal}), 4.85-4.78 (m, 8H, 8 H-1_{man}), 4.31 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 7.3$ Hz, H-1_{glc}), 4.06-3.51 (m, 86H, H-5_{gal}, 8 (man)OCH₂, 8 (gal, glc)OCH₂, H-2_{gal}, H-3_{gal}, H-4_{gal}, H-6_{gal}, H-6'_{gal}, 8 H-4_{man}, 8 H-3_{man}, 8 H-2_{man}, 8 H-5_{man}, 8 H-6_{man}, 8 H-6'_{man}), 3.46-3.25 (m, 3H+MeOH, H-3_{glc}, H-4_{glc}, H-5_{glc}), 3.03 (dd \approx t, 1H, $J = 8.7$ Hz, H-2_{glc}), 2.03-1.80 (m, 16H, 8 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

^{13}C -NMR (100.67 MHz, D_4 -MeOH): δ 104.9 (C-1_{glc}), 102.1-101.9 (8 C-1_{man}), 98.9 (C-1_{gal}), 86.3 (C-3_{glc}), 84.2 (C-2_{glc}), 80.0, 79.3, 78.8, 77.5 (C-2_{gal}, C-3_{gal}, C-4_{gal}, C-4_{glc}), 76.4 (C-5_{glc}), 74.9 (8 C-5_{man}), 72.9 (8 C-3_{man}), 72.5 (8 C-2_{man}), 71.0 (C-5_{gal}), 71.9, 71.7, 71.3, 71.2, 70.9, 69.6, 69.1, 67.8, 67.0, 64.6 (C-6_{glc}, C-6_{gal}, 8 (glc)OCH₂), 68.9 (8 C-4_{man}), 66.0-65.7 (8 (man)OCH₂), 63.2 (8 C-6_{man}), 32.0, 31.8 (5x), 31.4, 31.2 (8 OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

Tetra-[5-(α -D-mannopyranosyloxy)-2-oxa-pentyl]-methan (3.29) :

Nach AAV 9 für die Deacetylierung / Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 94 mg (0.035 mmol) **3.34** innerhalb von 14 d debenzoyliert (Neutralisation: Amberlite



IR120). Das Rohprodukt wird mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt (2. Fraktion), um **3.29** als farblosen amorphen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 38 mg (0.037 mmol; quant.)

$[\alpha]_D^{20} = +60.2^\circ$ ($c = 1.4$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 1139.36$ $[M+Na]^+$ (1016.45 ber. für $C_{41}H_{76}O_{28}$);

1H -NMR (400 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.79 (d, 1H, $J_{1,2} = 1.2$ Hz, 4 H-1), 3.87 (dd, 4H, $J_{5,6} = 2.2$ Hz, $J_{6,6'} = 12.2$ Hz, 4 H-6), 3.85 (dd, 4H, $J_{2,3} = 3.6$ Hz, 4 H-2), 3.84 (m, 4H, 4 (man)OCHH), 3.77 (dd, 4H, $J_{5,6'} = 5.1$ Hz, 4 H-6'), 3.74 (dd, 4H, $J_{3,4} = 9.2$ Hz, 4 H-3), 3.67 (dd \approx t, 4H, $J = 9.2$ Hz, 4 H-4), 3.59-3.50 (m, 16H, 4 H-5, 4 (man)OCHH, C(CH₂OCH₂R)₄), 3.42 (m, 8H, C(CH₂OR)₄), 1.88 (m_c, 8H, 4 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

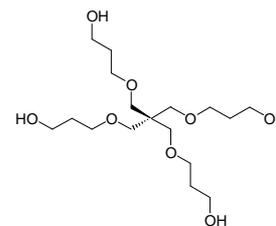
^{13}C -NMR (100.67 MHz, D_4 -MeOH): δ 102.8 (4 C-1), 75.3 (4 C-5), 73.8 (4 C-3), 73.4 (4 C-2), 72.0 (C(CH₂OR)₄), 70.4 (C(CH₂OCH₂R)₄), 69.7 (4 C-4), 66.7 ((man)OCH₂), 64.0 (4 C-6), 47.8 (R₄C), 32.0 (4 OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

Tetra(3-hydroxypropyl)pentaerythrit(3.30) :

Nach AAV 9 für die Deacetylierung / Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 430 mg (0.68 mmol) **3.33** über Nacht deacetyliert, um **3.30** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 290 mg (0.69 mmol; quant.)

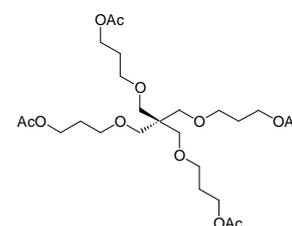
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 3.74 (t, 8H, $J = 5.6$ Hz, 4 CH_2OH), 3.58 (t, 8H, $J = 5.6$ Hz, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.40 (s, 4H, 4 OH), 3.39 (s, 8H, $\text{C}(\text{CH}_2\text{OR})_4$), 1.79 (m, 8H, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm.

**Tetra-(3-acetoxypentyl)-pentaerythrit (3.33) :**

Nach AAV 2 zur Hydroborierung von Doppelbindungen werden 240 mg (0.8 mmol) perallyliertes Pentaerythrit **3.32** in 50 ml trockenem THF gelöst, mit 14 ml (7 mmol) 9-BBN versetzt, und 1 h unter Rückfluß erhitzt. Nach der Zerstörung des Hydridüberschusses mit etwas Wasser erfolgt unter Eiskühlung die Oxidation bei 0°C durch die Zugabe von 7 ml 3M wäßriger NaOH und tropfenweiser Zugabe von 7 ml einer 30 %-igen Wasserstoffperoxidlösung. Nachdem über Nacht gerührt wurde, wird die wäßrige Phase mit K_2CO_3 gesättigt, die organische Phase wird separiert und die wäßrige Phase wird zweimal mit je 40 ml THF extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und eingeengt. Das Rohprodukt wird sofort mit 6 ml (63 mmol) Essigsäureanhydrid in 6 ml Pyridin direkt acetyliert. Sobald die Reaktion abgeschlossen ist (DC-Kontrolle mit Petrolether/Essigester 3:2, KMnO_4 -Sprühreagenz), wird mit Toluol kodestilliert und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Petrolether/Essigester 3:2), um **3.33** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 378 mg (0.7 mmol; 87 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 4.13 (t, 8H, $J = 6.6$ Hz, 4 AcOCH_2), 3.45 (t, 8H, $J = 6.1$ Hz, 4 $\text{AcOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.35 (s, 8H, $\text{C}(\text{CH}_2\text{OR})_4$), 2.05 (s, 12H, 4 OAc), 1.86 (m, 8H, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm.



Tetra-[5-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl)- α -D-mannopyranosyloxy]-2-oxa-pentyl]-methan (3.34) :

Nach AAV 8a für die Glycosylierung nach der Imidatmethode werden 14 mg (0.038 mmol) **3.30** und 0.91 g (1.2 mmol) **3.02** unter Stickstoff in 8 ml trockenem

Dichlormethan gelöst, mit 0.5 ml 5 %-igen TMSOTf-Lösung in Dichlormethan versetzt und über Nacht gerührt. Nachdem mit NaHCO₃ neutralisiert wurde, wird an Kieselgel (auftragen in CH₂Cl₂, Laufmittel: PE/EE 2:1→1:2) und an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt, um **3.34** als amorphes, weißes Feststoff zu isolieren.

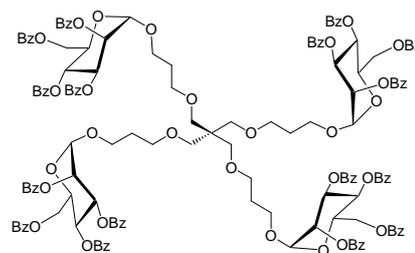
Ausbeute: 95 mg (0.035 mmol; 92 %)

$$[\alpha]_D^{21} = -47.2 \quad (c = 0.63, \text{CH}_2\text{Cl}_2)$$

MALDI-TOF: $m/z = 2703.83$ [M+Na]⁺ (2680.87 ber. für C₁₅₃H₁₄₀O₄₄);

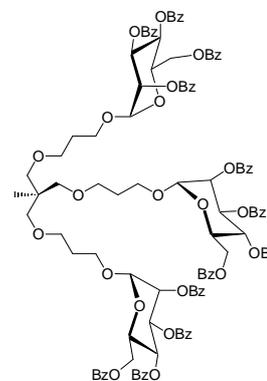
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.09, 8.03, 7.93, 7.82 (je m, je 8H, 32 *o*-arom. H), 7.55 (m, 8H, 8 arom. H), 7.47-7.19, (m, 40H, 40 arom. H), 6.13 (dd \approx t, 4H, $J = 9.7$ Hz, 4 H-4), 5.92 (dd, 4H, $J_{2,3} = 3.6$ Hz, $J_{3,4} = 10.2$ Hz, 4 H-3), 5.70 (dd, 4H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, 4 H-2), 5.09 (d, 4H, 4 H-1), 4.69 (dd, 4H, $J_{5,6} = 1.5$ Hz, $J_{6,6'} = 11.2$ Hz, 4 H-6), 4.47 (dd, 4H, $J_{5,6'} = 4.1$ Hz, 4 H-6'), 4.44 (m, 4H, 4 H-5), 3.91 (m, 4H, 4 (man)OCHH), 3.69 (m_c, 4H, (man)OCHH), 3.56 (8H, m_c, C(CH₂OCH₂R)₄), 3.48 (8H, bs, C(CH₂OR)₄), 1.98 (8H, m_c, 4 OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

¹³C-NMR (100.67 MHz, CDCl₃): δ 166.5, 165.9, 165.8, 165.7 (16 CO₂Ph), 133.8-128.7 (80x) (80 arom. C), 98.2 (4 C-1), 71.0 (4 C-2), 70.6 (4 C-3), 70.4 (C(CH₂OR)₄), 69.2 (4 C-5), 68.4 (C(CH₂OCH₂R)₄), 67.4 (4 C-4), 66.3 (4 (man)OCH₂), 63.3 (4 C-6), 46.0 (R₄C), 30.2 (4 OCH₂CH₂CH₂O) ppm.


1,1,1-Tri-[5-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl)- α -D-mannopyranosyloxy]-2-oxa-pentyl]-ethan (3.38) :

Nach AAV 8a für die Glycosylierung nach der Imidatmethode werden 58 mg (0.20 mmol) **3.37** und 4.45 g (6.0 mmol) **3.02** unter Stickstoff in 6 ml trockenem Dichlormethan gelöst, mit 0.1 ml einer 5 %-igen TMSOTf-Lösung in Dichlormethan versetzt und über Nacht gerührt.

Nachdem mit 5 g NaHCO₃ neutralisiert wurde, wird an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigester 2:1 → 1:1) und an Sephadex LH-20 gereinigt (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1), um **3.38** als amorphes, weißes Feststoff zu isolieren.



Ausbeute: 389 mg (0.19 mmol; 95 %)

$[a]_D^{24} = -41.9$ ($c = 0.97$, CH_2Cl_2);

MALDI-TOF: $m/z = 2051.70$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (2028.68 ber. für $\text{C}_{116}\text{H}_{108}\text{O}_{33}$);

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.10, 8.04, 7.94, 7.83 (je m, je 6H, *o*-arom. H), 7.60-7.22 (m, 36H, arom. H), 6.13 (dd \approx t, 3H, $J = 10.2$ Hz, 3 H-4), 5.92 (dd, 3H, $J_{2,3} = 3.6$ Hz, $J_{3,4} = 10.2$ Hz, 3 H-3), 5.70 (dd, 3H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, 3 H-2), 5.09 (d, 3H, 3 H-1), 4.70 (dd, 3H, $J_{5,6} = 2.0$ Hz, $J_{6,6'} = 12.2$ Hz, 3 H-6), 4.48 (dd, 3H, $J_{5,6'} = 4.1$ Hz, 3 H-6), 4.44 (m, 3H, 3 H-5), 3.92, 3.68 (m_c, je 3H, 6 (man)OCHH), 3.55 (t, 6H, $J = 6.1$ Hz, 3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$), 3.33 (s, 6H, $(\text{ROCH}_2)_3\text{CCH}_3$), 1.96 (m_c, 6H, 3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 0.97 (s, 3H, CH_3) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ 166.5, 165.9 (12 CO_2Ph), 133.8-128.7 (60 arom. C), 98.1 (3 C-1), 74.1 ($(\text{ROCH}_2)_3\text{CCH}_3$), 71.0 (3 C-2), 70.6 (3 C-3), 69.2 (3 C-5), 68.3 (3 (man) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 67.4 (3 C-4), 66.2 (3 (man) OCH_2), 63.3 (3 C-6), 41.4 (CCH_3), 30.1 (3 (man) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 17.9 (CH_3) ppm.

1,1,1-Tri-[5-(α -D-mannopyranosyloxy)-2-oxa-pentyl]-ethan

(3.39) :

Nach AAV 9 für die Deacetylierung / Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 333 mg (0.164 mmol) **3.38** innerhalb von 2 d debenzoyliert (Neutralisation: Dowex 50WX8). Das Rohprodukt wird mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **3.39** als farblosen amorphen Feststoff zu isolieren.

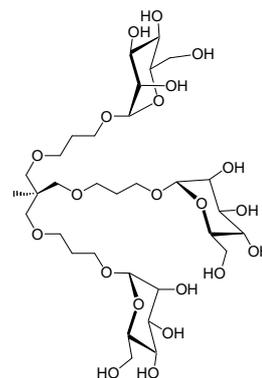
Ausbeute: 128 mg (0.164 mmol; quant.)

$[a]_D^{23} = +36.1$ ($c = 2.24$, MeOH);

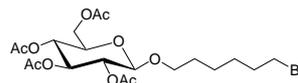
MALDI-TOF: $m/z = 803.43$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (780.36 ber. für $\text{C}_{32}\text{H}_{60}\text{O}_{21}$);

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 4.80 (d \approx s, 3H, 3 H-1), 3.89-3.65 (m, 18H, 3 H-3, 3 H-2, 3 H-4, 3 H-6, 3 H-6', 3 (man)OCHH), 3.59-3.50 (m, 12H, 3 H-5, 3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$, 3 (man)OCHH), 3.31 (bs, 6H, $(\text{ROCH}_2)_3\text{CCH}_3$), 1.87 (6H, m_c, 3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 0.96 (3H, s, CH_3) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 102.7 (3 C-1), 75.7 ($(\text{ROCH}_2)_3\text{CCH}_3$), 75.6 (3 C-5), 73.8 (3 C-3), 73.3 (3 C-2), 70.3 (3 (man) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 69.7 (3 C-4), 66.7 (3 (man) OCH_2), 63.9 (3 C-6), 43.1 (CCH_3), 32.0 (3 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 19.2 (CH_3) ppm.



6-Bromhexyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid



(4.02) :

Es werden 8 g (20.5 mmol) **4.01** mit 3 ml (21.9 mmol) 1-Bromhexanol und 10 ml (81 mmol) Bortrifluorid-Etherat 1 h unter Lichtausschluß bei Raumtemperatur in 20 ml trockenem Dichlormethan gerührt. Anschließend wird der Ansatz vorsichtig mit kaltgesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert, dreimal mit Wasser gewaschen, getrocknet, eingengt, an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Petrolether/Essigester 3:2) und aus Diethylether umkristallisiert, um **4.02** als weißen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 3.8 g (7.4 mmol; 36 %)

$[\alpha]_D^{24} = -20.2$ ($c = 1.24$, CH_2Cl_2);

Schmelzpunkt: 103.1°C

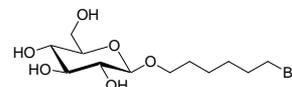
Anal. Ber. für $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{BrO}_{10}$ (511.36): C, 46.98; H, 6.11; Br, 15.63.

Gef.: C, 46.91; H, 6.11; Br, 15.48.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 5.39 (dd \approx t, 1H, $J_{3,4}$ und $J_{2,3} = 9.2$ Hz, H-3), 5.27 (dd \approx t, 1H, $J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4), 5.17 (dd, 1H, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, H-2), 4.68 (d, 1H, H-1), 4.45 (dd, 1H, $J_{6,6'} = 12.2$ Hz und $J_{5,6} = 4.6$ Hz, H-6), 4.32 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 2.0$ Hz, H-6'), 4.06 (m, 1H, (C-1)OCHH), 3.87 (m, 1H, H-5), 3.67 (m, 1H, (C-1)OCHH), 3.58 (t, 2H, $J = 6.6$ Hz, CH_2Br), 2.27, 2.23, 2.21, 2.19 (je s, je 3H, 4 OAc), 2.03 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 1.77 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.62 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 1.62 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.62 MHz, CDCl_3): δ 171.1, 170.7, 169.8, 169.7 (4 OAc), 101.2 (C-1), 73.3 (C-3), 72.2 (C-5), 71.8 (C-2), 70.3 ((C-1_{glc})OCH₂), 68.9 (C-4), 62.4 (C-6), 34.2 (CH_2Br), 33.0 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 29.6 ((C-1_{glc})OCH₂CH₂), 28.2 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 25.4 ((C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂), 21.2, 21.1, 21.0 (2x) (4 OAc) ppm.

6-Bromhexyl- β -D-glucopyranosid (4.03) :



Nach AAV 7 für die Deacetylierung / Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 1.323 g (2.6 mmol) **4.02** über Nacht deacetyliert, um **4.03** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 0.905 g (2.6 mmol; quant.)

$[\alpha]_D^{25} = -15.4$ ($c = 0.95$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 364.86$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (342.07 ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{BrO}_6$);

Anal. Ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{BrO}_6$ (343.21): C, 41.99; H, 6.75; Br, 23.28.

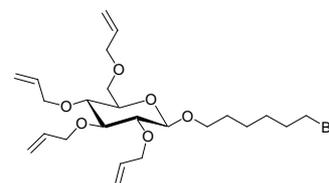
Gef.: C, 41.79; H, 6.84; Br, 23.25.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 4.29 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.9\text{Hz}$, H-1), 3.95 (m, 1H, (C-1)OCHH), 3.90 (dd, 1H, $J_{5,6} = 4.7$ und $J_{6,6'} = 12.0$ Hz, H-6), 3.70 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 1.9\text{Hz}$, H-6'), 3.60 (m, 1H, (C-1)OCHH), 3.49 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz, CH_2Br), 3.39 (dd \approx t, 1H, $J_{2,3}$ und $J_{3,4} = 8.5\text{Hz}$, H-3), 3.32 (dd \approx t, 1H, $J_{4,5} = 8.5\text{Hz}$, H-4), 3.29 (m, 1H, H-5), 3.21 (dd \approx t, 1H, H-2), 1.90 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 1.68 (m, 2H, (C-1)OCH $_2$ CH $_2$), 1.63-1.41 (m, 4H, (C-1)OCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$, CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Br) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.62 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 100.6 (C-1), 79.3 (C-3), 79.1 (C-5), 76.3 (C-2), 72.9 (C-4), 71.9 ((C-1 $_{\text{glc}}$)OCH $_2$), 64.0 (C-6), 35.5 (CH $_2$ Br), 35.2 (CH $_2$ CH $_2$ Br), 31.8 ((C-1 $_{\text{glc}}$)OCH $_2$ CH $_2$), 30.2 (CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Br), 27.4 ((C-1 $_{\text{glc}}$)OCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$) ppm.

6-Bromhexyl-2,3,4,6-tetra-O-allyl-b-D-glucopyranosid

(4.04) :



Nach AAV 1a für die Perallylierung unter Phasentransferkatalyse

werden 1.27 g (3.7 mmol) **4.03** in 5 ml Wasser gelöst. Nach Zugabe von 60 ml 33 % wäßriger Natriumhydroxidlösung (40 g NaOH, 60 ml Wasser) und 2.03 g TBABr werden bei rt über 1 h 3 ml (35.5 mmol) Allylbromid zugetropft. Der Ansatz wird 2.5 h heftigst gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit 100 ml Toluol versetzt und mit Wasser neutral gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet, eingeeengt und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Toluol/Essigester 9:1), um **4.04** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 780 mg (1.55 mmol; 42 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -4.6$ ($c = 1.74$, CH_2Cl_2);

MALDI-TOF: $m/z = 524.89$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 540.81 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (502.19 ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{BrO}_6$);

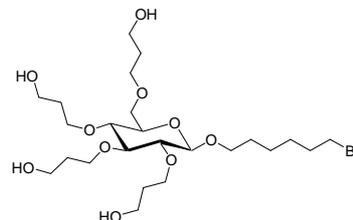
Anal. Ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{BrO}_6$ (503.47): C, 57.25; H, 7.81; Br, 15.87.

Gef.: C, 57.46; H, 7.85; Br, 15.90;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 6.06-5.90 (dddd \approx m, 4H, OCH $_2$ CHCH $_2$), 5.35-5.26 (ddd \approx m, 4H, OCH $_2$ CHCHH), 5.24-5.17 (ddd \approx m, 1H, OCH $_2$ CHCHH), 4.42-4.26 (dddd \approx m, 4H, 4 OCHHCHCH $_2$), 4.29 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.6$ Hz, H-1), 4.24-4.03 (dddd \approx m, 4H, 4 OCHHCHCH $_2$), 3.95 (m, 1H, (C-1)OCHH), 3.75 (dd, 1H, $J_{5,6} = 1.5$ und $J_{6,6'} = 11.2$ Hz, H-6), 3.65 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 2.5$ Hz, H-6'), 3.52 (m, 1H, (C-1)OCHH), 3.45 (t, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH_2Br), 3.43-3.34 (m, 3H, H-5, H-3, H-4), 3.23 (dd \approx t, 1H, $J = 8.6$ Hz, H-2), 1.90 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 1.66 (m, 2H, (C-1)OCH $_2$ CH $_2$), 1.54-1.39 (m, 4H, OCH $_2$ CH $_2$ CH $_2$, CH $_2$ CH $_2$ CH $_2$ Br) ppm;

^{13}C -NMR (100.62 MHz, CDCl_3): δ 136.0, 135.8, 135.5, 135.4 (4 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 117.6, 117.6, 117.4, 117.3 (4 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 104.1 (C-1), 84.8 (C-3), 82.3 (C-2), 78.3 (C-4), 75.5 (C-5), 75.1, 74.5, 74.3, 73.1, 70.4, 69.7 (C-6, 5 (glc) OCH_2), 34.4 (CH_2Br), 33.4 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 30.1 ((C-1_{glc}) OCH_2CH_2), 28.6 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 25.9 ((C-1_{glc}) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$) ppm.

6-Bromhexyl-2,3,4,6-tetra-O-(3-hydroxypropyl)-b-D-glucopyranosid (4.05) :



Nach AAV 2 zur Hydroborierung von Doppelbindungen werden 780 mg (1.55 mmol) **4.04** in 30 ml trockenem THF gelöst, mit 28 ml (14 mmol) 9-BBN versetzt und 1.5 h bei rt gerührt. Nach der Zerstörung des Hydridüberschusses mit etwas Eiswasser erfolgt die Oxidation bei 0°C durch die gleichzeitige tropfenweise Zugabe von 14 ml 3M wässriger Natriumacetatlösung und 14 ml einer 30 %-igen Wasserstoffperoxidlösung. Nachdem über Nacht gerührt wurde, wird die wässrige Phase mit K_2CO_3 gesättigt, separiert und zweimal mit je 40 ml THF extrahiert. Die gesammelten organischen Phasen werden eingengt und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Essigester/Methanol 9:1), um **4.05** als farblosen Sirup zu isolieren, der nach 1 d in einen amorphen weißen Feststoff überzugehen beginnt.

Ausbeute: 480 mg (0.83 mmol; 54 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{28} = -10.2$ ($c = 0.96$, CH_2Cl_2);

MALDI-TOF: $m/z = 597.28$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 613.23 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (502.19 ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{47}\text{BrO}_{10}$);

Anal. Ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{47}\text{BrO}_{10}$ (575.53): C, 50.09; H, 8.23; Br, 13.88.

Gef.: C, 49.95; H, 8.39; Br, 13.75.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 4.35 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.6$ Hz, H-1), 4.14 (m, 1H, $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 4.08-3.97 (m, 4H, (C-1) OCHH , 3 $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.95-3.75 (m, 14H, H-6, H-6', 4 $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, 4 CH_2OH), 3.60 (m, 1H, (C-1) OCHH), 3.53 (t, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH_2Br), 3.43-3.34 (m, 3H, H-3, H-4, H-5), 3.21 (dd \approx t, 1H, $J = 8.1$ Hz, H-2), 2.88 (s, 4H, OH), 2.03-1.88 (m, 10H, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 1.75 (m, 2H, (C-1) OCH_2CH_2), 1.58 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 1.51 (m, 2H, (C-1) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, CDCl_3): δ 103.7 (C-1), 84.6 (C-3), 82.3 (C-2), 78.9 (C-4), 74.9 (C-5), 71.8, 71.7, 71.0, 70.6 (4 (glc) OCH_2), 70.2, 70.1 (C-6, (C-1_{glc}) OCH_2), 61.5, 61.4, 61.0, 60.6 (4 CH_2OH), 34.2 (CH_2Br), 33.3, 33.2, 33.0, 32.9, 32.4 (4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 29.8 (OCH_2CH_2), 28.2 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 25.6 ((C-1_{glc}) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$) ppm.

6-Azidohexyl-2,3,4,6-tetra-O-(3-hydroxypropyl)-b-D-glucopyranosid (4.06) :

Es werden 141 mg (0.25 mmol) **4.05** in 40 ml DMF gelöst und mit 62 mg (0.95 mmol) Natriumazid und 48 mg (0.15 mmol) TBABr versetzt. Es wird 1 h bei 60°C gerührt, im Ölpumpenvakuum eingengt und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Essigester/Methanol 9:1), um **4.06** als farblosen Sirup zu isolieren.

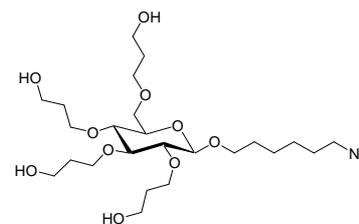
Ausbeute: 134 mg (0.25 mmol; quant.);

$[\alpha]_D^{20} = -15.2$ ($c = 0.76$, CH_2Cl_2);

MALDI-TOF: $m/z = 560.07$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 576.01 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (537.33 ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_{10}$);

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 4.22 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, H-1), 4.01 (m, 1H, $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.95-3.85 (m, 4H, (C-1) OCHH , 3 $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.83-3.62 (m, 14H, H-6, H-6', 4 $\text{OCHHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, 4 CH_2OH), 3.47 (m, 1H, (C-1) OCHH), 3.30 -3.20 (m, 5H, CH_2N_3 , H-3, H-4, H-5), 3.08 (dd \approx t, 1H, $J_{2,3} = 8.1$ Hz, H-2), 2.88 (s, 4H, OH), 1.91-1.75 (m, 8H, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 1.67-1.55 (m, 4H, (C-1) OCH_2CH_2 , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 1.45-1.35 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$) ppm;

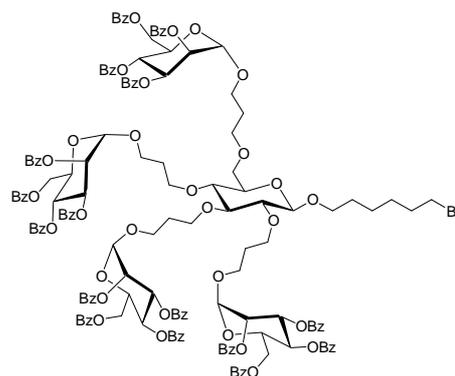
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ 103.3 (C-1), 84.2 (C-3), 82.0 (C-2), 78.5 (C-4), 74.6 (C-5), 71.4, 71.3, 70.6, 70.2, 69.8, 69.7 (C-6, 5 (glc) OCH_2), 61.1, 61.0, 60.6, 60.2 (CH_2OH), 51.4 (CH_2N_3), 32.9, 32.8, 32.5, 32.0 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 29.5, 28.8 ((C-1 $_{\text{glc}}$) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$), 26.5, 25.6 ((C-1 $_{\text{glc}}$) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$) ppm.



6-Bromohexyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-a-D-mannopyranosyloxy)propyl]-b-D-glucopyranosid (4.07) :

Nach AAV 8a für die Glycosylierung nach der Imidatmethode werden 55 mg (0.096 mmol) **4.05** und 2.8 g (3.8 mmol) **3.02** unter Argon in 3 ml trockenem

Dichlormethan gelöst, mit 0.1 ml einer 5 %-igen TMSOTf-Lösung in Dichlormethan versetzt und 6 h gerührt. Nachdem mit NaHCO_3 neutralisiert wurde, wird an Kieselgel (Laufmittel: Petrolether/Essigester 3:2 \rightarrow 2:3 oder Cyclohexan/Essigester 3:1 \rightarrow 3:2) und anschließend an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt, um **4.07** als amorphen weißen Feststoff zu isolieren.



Ausbeute: 262 mg (0.091 mmol; 95 %)

$[a]_D^{20} = -45.9$ ($c = 0.23$, CH_2Cl_2);

Anal. Ber. für $\text{C}_{160}\text{H}_{151}\text{BrO}_{46}$ (2889.79): C, 66.50; H, 5.27; Br, 2.77.

Gef.: C, 66.48; H, 5.22; Br, 2.80;

MALDI-TOF: $m/z = 2909.19$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (2886.87 ber. für $\text{C}_{160}\text{H}_{151}\text{BrO}_{46}$);

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.10-8.06, 8.04-7.97, 7.94-7.86, 7.83-7.78 (je m, je 8H, 32 o-arom. H), 7.57-7.50 (m, 8H, arom. H), 7.48-7.16 (m, 40H + CDCl_3 , arom. H), 6.18-6.09 (4H, m, H-4_{man}), 5.98-5.89 (m, 4H, H-3_{man}), 5.73, 5.72, 5.70, 5.69 (je dd, 4H, $J_{1,2\text{man}} = 1.6$ Hz, $J_{2,3\text{man}} = 3.1$ Hz, H-2_{man}), 5.15, 5.13, 5.11, 5.06 (je d, 4H, H-1_{man}), 4.73-4.64 (m, 4H, H-6_{man}), 4.52-4.41 (m, 8H, H-5_{man}, H-6'_{man}), 4.25 (d, 1H, $J_{1,2\text{glc}} = 7.6$ Hz, H-1_{glc}), 4.05-3.65 (m, 19H, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, (C-1_{glc})OCHH), 3.49 (m, 1H, (C-1_{glc})OCHH), 3.37-3.31 (m, 3H, H-3_{glc}, H-4_{glc}, H-5_{glc}), 3.28 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz, CH_2Br), 3.12 (dd \approx t, 1H, $J = 8.2$ Hz, H-2_{glc}), 2.12-1.96 (m, 8H, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.80-1.73 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 1.64-1.56 (m, 2H, (C-1_{glc}) OCH_2CH_2), 1.42-1.30 (m, 4H, (C-1_{glc}) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$) ppm;

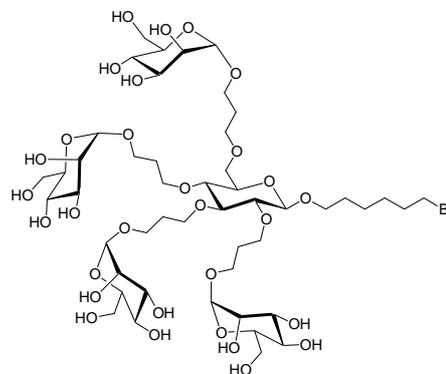
$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, CDCl_3): δ 166.1, 165.5-165.2 (16 COOR), 133.3-133.0, 129.9-128.2 (80 arom C), 103.4 (C-1_{glc}), 97.7 (3x), 97.6 (4 C-1_{man}), 84.9 (C-3_{glc}), 82.4 (C-2_{glc}), 78.1, 74.8 (C-4_{glc}, C-5_{glc}), 70.5 (2x), 70.5 (2x) (4 C-2_{man}), 70.3, 70.2, 70.2 (2x) (4 C-3_{man}), 70.2, 69.8, 69.7, 69.5, 69.1, 68.0, 66.1, 66.0, 65.4 (2x) (4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, (C-1_{glc}) OCH_2 , C-6_{glc}), 68.8 (3x), 68.7 (4 C-5_{man}), 66.9, 66.9 (2x), 66.9 (4 C-4_{man}), 62.8 (4 C-6_{man}), 33.9 (CH_2Br), 32.7 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 30.6, 30.4 (2x), 29.7 (4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 29.5 ((C-1_{glc}) OCH_2CH_2), 27.9 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 25.2 ((C-1_{glc}) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$) ppm.

6-Bromohexyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy)-propyl]- β -D-glucopyranosid (4.08)

:

Nach AAV 9 für die Deacetylierung/ Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 418 mg (0.145 mmol) **4.07** in 20 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 10 ml 0.02M NatriummethanolatLösung (hergestellt aus 23 mg

Natrium und 50 ml Methanol) versetzt und 0.5 h gerührt, anschließend wird eingeeengt, mit 50 ml Methanol aufgelöst und mit 10 ml 0.02M NatriummethanolatLösung über Nacht gerührt.



Zur Aufarbeitung wird mit Amberlite IR 120 neutralisiert, filtriert, eingengt und mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **4.08** als farblosen amorphen Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 167 mg (0.136 mmol; 94 %)

$[a]_D^{20} = + 47.1$ ($c = 1.9$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 1245.24$ $[M+Na]^+$ (1222.45 ber. für $C_{48}H_{87}BrO_{30}$);

1H -NMR (400 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.81, 4.80, 4.80, 4.79 (je d, 4H, $J_{1,2man} = 1.6$ Hz, 4 H-1_{man}), 4.30 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 7.6$ Hz, H-1_{glc}), 3.96-3.82 (m, 17H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.79-3.54 (m, 27H, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.50 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz, CH_2Br), 3.34 (m, 1H+MeOH, H-5_{glc}), 3.31-3.26 (m, 2H, H-3_{glc}, H-4_{glc}), 3.03 (dd \approx t, 1H, $J = 8.3$ Hz, H-2_{glc}), 1.98-1.85 (m, 10H, 4 $OCH_2CH_2CH_2O$, CH_2CH_2Br), 1.67 (m, 2H, (C-1_{glc}) OCH_2CH_2), 1.58-1.43 (m, 4H, (C-1_{glc}) $OCH_2CH_2CH_2$, $CH_2CH_2CH_2Br$) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, D_4 -MeOH): δ 105.9 (C-1_{glc}), 102.8 (4 C-1_{man}), 87.2 (C-3_{glc}), 84.5 (C-2_{glc}), 80.5 (C-4_{glc}), 77.0 (C-5_{glc}), 75.8 (3x), 75.7 (4 C-5_{man}), 73.8 (4 C-3_{man}), 73.4 (4 C-2_{man}), 72.8, 71.8 (4x), 70.5 (4 (glc)OCH₂, (C-1_{glc})OCH₂, C-6_{glc}), 69.8 (2x), 69.7 (2x) (4 C-4_{man}), 66.9, 66.8, 66.5 (2x) (4 (man)OCH₂), 64.1 (4 C-6_{man}), 35.7 (CH_2Br), 35.1 (CH_2CH_2Br), 32.9, 32.8, 32.7, 32.1 (4 $OCH_2CH_2CH_2O$), 31.8 ((C-1_{glc}) OCH_2CH_2), 30.1 ($CH_2CH_2CH_2Br$), 27.6 ((C-1_{glc}) $OCH_2CH_2CH_2$) ppm.

6-Azidohexyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy)-propyl]- β -D-glucopyranosid (**4.09**)

:

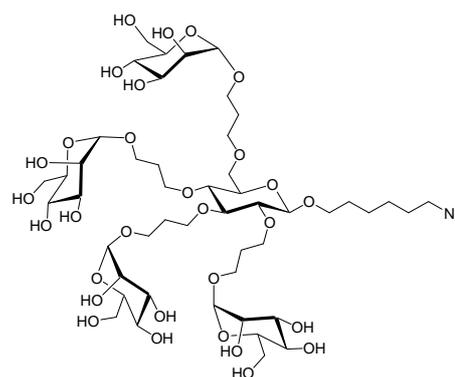
Es werden 172 mg (0.141 mmol) **4.08** in 20 ml DMF gelöst und mit 56 mg (0.86 mmol) Natriumazid 1 h bei 50° gerührt. Anschließend wird eingengt und an Sephadex LH-20 gereinigt, um **4.09** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 163 mg (0.137 mmol; 97 %)

$[a]_D^{20} = + 40.1$ ($c = 1.7$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 1208.33$ $[M+Na]^+$ (1185.54 ber. für $C_{48}H_{87}N_3O_{30}$);

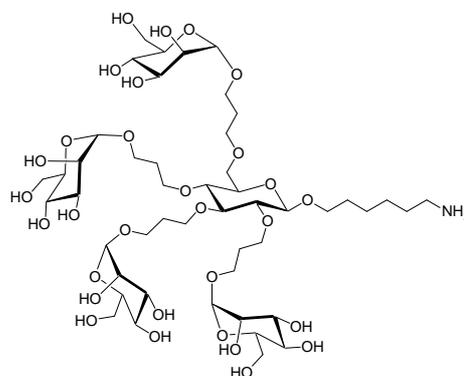
1H -NMR (400 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.82-4.78 (m, 4H, 4 H-1_{man}), 4.30 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 7.6$ Hz, H-1_{glc}), 3.97-3.82 (m, 17H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.79-3.54



(27H, m, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.36-3.32 (3H + MeOH, m, H-5_{glc}, CH₂N₃), 3.30-3.26 (2H, m, H-3_{glc}, H-4_{glc}), 3.03 (1H, dd≈t, *J* = 8.3 Hz, H-2_{glc}), 1.98-1.85 (8H, m, 4 OCH₂CH₂CH₂O), 1.71-1.61 (4H, m, (C-1_{glc})OCH₂CH₂, CH₂CH₂N₃), 1.53-1.42 (4H, m, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂, CH₂CH₂CH₂N₃) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, D₄-MeOH): δ 105.9 (C-1_{glc}), 102.8 (3x), 102.7 (4 C-1_{man}), 87.2 (C-3_{glc}), 84.9 (C-2_{glc}), 80.5 (C-4_{glc}), 77.0 (C-5_{glc}), 75.8 (3x), 75.7 (4 C-5_{man}), 73.8 (4 C-3_{man}), 73.4 (4 C-2_{man}), 72.8, 71.9, 71.8 (3x), 70.5 (4 (glc)OCH₂, (C-1_{glc})OCH₂, C-6_{glc}), 69.8 (2x), 69.8, 69.7 (4 C-4_{man}), 66.9, 66.8, 66.5 (2x) (4 (man)OCH₂), 64.1 (4 C-6_{man}), 53.6 (CH₂N₃), 32.9, 32.8, 32.7, 32.1, 31.9, 31.1 (4 OCH₂CH₂CH₂O, (C-1_{glc})OCH₂CH₂, CH₂CH₂N₃), 28.7, 28.0 (CH₂CH₂CH₂N₃, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂) ppm.

6-Aminohexyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(α-D-mannopyranosyloxy)-propyl]-β-D-glucopyranosid (4.10) :



Es werden 159 mg (0.134 mmol) **4.09** in 20 ml Methanol gelöst, mit 30 mg Pd-C 2 h unter 1 bar Wasserstoffatmosphäre reduziert. Zur Aufarbeitung

wird über Sephadex LH-20 filtriert, um **4.10** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 149 mg (0.128 mmol; 96 %)

$[α]_D^{20} = + 55.1$ (*c* = 1.04, MeOH);

MALDI-TOF: *m/z* = 1182.32 [M+Na]⁺ (1159.55 ber. für C₄₈H₈₉NO₃₀);

¹H-NMR (400 MHz, D₄-MeOH): δ 4.82-4.78 (m, 4H, 4 H-1_{man}), 4.30 (d, 1H, *J*_{1,2_{glc}} = 7.6 Hz, H-1_{glc}), 3.97-3.82 (m, 17H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.79-3.53 (m, 27H, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.40-3.33 (m, 1H + MeOH, H-5_{glc}), 3.30-3.25 (m, 2H, H-3_{glc}, H-4_{glc}), 3.03 (dd≈t, 1H, *J* = 7.8 Hz, H-2_{glc}), 2.74 (t, 2H, *J* = 7.1 Hz, CH₂NH₂), 1.98-1.85 (m, 8H, 4 OCH₂CH₂CH₂O), 1.71-1.63 (m, 2H, (C-1_{glc})OCH₂CH₂), 1.62-1.52 (m, 2H, CH₂CH₂NH₂), 1.51-1.39 (m, 4H, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, D₄-MeOH): δ 105.8 (C-1_{glc}), 102.8 (4 C-1_{man}), 87.2 (C-3_{glc}), 84.9 (C-2_{glc}), 80.5 (C-4_{glc}), 77.0 (C-5_{glc}), 75.8 (4 C-5_{man}), 73.8 (4 C-3_{man}), 73.4 (4 C-2_{man}), 72.8, 71.9, 71.9, 71.8 (2x), 70.5 (4 (glc)OCH₂, (C-1_{glc})OCH₂, C-6_{glc}), 69.8, 69.8, 69.8, 69.7 (4

C-4_{man}), 66.9, 66.8, 66.6 (2x) (4 (man)OCH₂), 64.1 (4 C-6_{man}), 43.3 (CH₂NH₂), 33.9 (CH₂CH₂NH₂), 32.9, 32.7, 32.7, 32.1, 31.9 (4 OCH₂CH₂CH₂O, (C-1_{glc})OCH₂CH₂), 28.8, 28.2 (CH₂CH₂CH₂NH₂, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂) ppm.

Bis-*N,N'*-{2,3,4,6-tetra-*O*-[3-(α -D-mannopyranosyl-oxy) propyl]- β -D-glucopyranosyl-hexyl}-harnstoff (4.12) :

Es werden 32 mg (0.028 mmol) **4.09** und 11 mg (0.042 mmol) Triphenylphosphin in 6 ml THF gelöst. Nach Zusatz von 2 ml Wasser wird 14 d gerührt. Zur Aufarbeitung wird eingeeignet und mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um 13 mg (0.12 mmol, 43 %) **4.12** als farblosen Sirup zu isolieren.

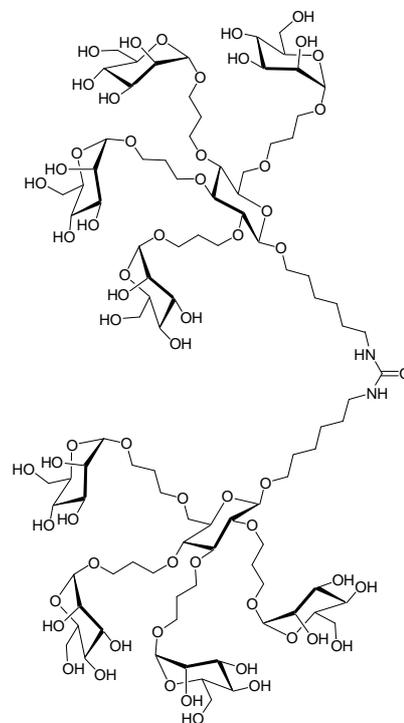
Ausbeute: 16 mg (0.0068 mmol; 49 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 53.8$ ($c = 0.20$, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 2368.3$ $[M+Na]^+$ (2345.07 ber. für C₉₇H₁₇₆N₂O₆₁);

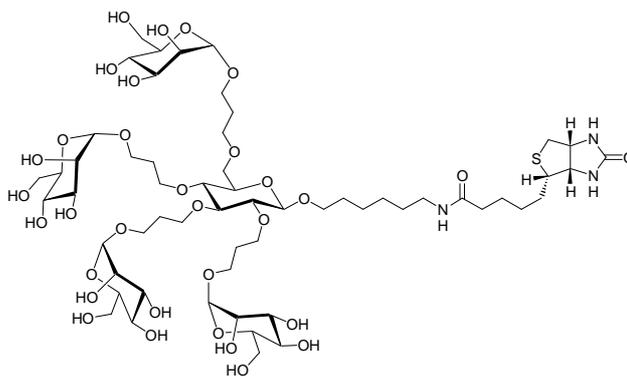
¹H-NMR (500 MHz, D₄-MeOH): δ 4.81, 4.80, 4.79, 4.78 (je d, je 2H, $J_{1,2\text{man}} = 1.6$ Hz, 8 H-1_{man}), 4.31 (d, 2H, $J_{1,2\text{glc}} = 7.6$ Hz, 2 H-1_{glc}), 3.98-3.82 (m, 34H, 8 H-2_{man}, 8 H-6_{man}, 10 (glc)OCHH, 8 (man)OCHH), 3.79-3.53 (m, 54H, 8 H-3_{man}, 8 H-4_{man}, 8 H-5_{man}, 8 H-6'_{man}, 2 H-6_{glc}, 2 H-6'_{glc}, 10 (glc)OCHH, 8 (man)OCHH), 3.40-3.33 (m, 2H+MeOH, 2 H-5_{glc}), 3.30-3.25 (m, 4H, 2 H-3_{glc}, 2 H-4_{glc}), 3.14 (t, 4H, $J = 7.0$ Hz, 2 CH₂NH), 3.02 (dd \approx t, 1H, $J = 8.2$ Hz, 2 H-2_{glc}), 1.98-1.84 (m, 16H, 8 OCH₂CH₂CH₂O), 1.70-1.63 (m, 4H, 2 (C-1_{glc})OCH₂CH₂), 1.57-1.38 (m, 12H, 2 (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, D₄-MeOH, DEPT): δ 105.9 (2 C-1_{glc}), 102.8 (8 C-1_{man}), 87.2 (2 C-3_{glc}), 84.9 (2 C-2_{glc}), 80.5 (2 C-4_{glc}), 77.0 (2 C-5_{glc}), 75.8 (8 C-5_{man}), 73.8 (8 C-3_{man}), 73.4 (8 C-2_{man}), 72.8, 72.0, 71.9, 71.8 (2x), 70.5 (10 (glc)OCH₂, 2 C-6_{glc}), 69.8 (3x), 69.7 (8 C-4_{man}), 66.9, 66.8, 66.6 (2x) (8 (man)OCH₂), 63.1 (8 C-6_{man}), 42.2 (2 CH₂NH), 32.9, 32.5 (2x), 32.5, 32.1, 32.0 (8 OCH₂CH₂CH₂O, 2 (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH), 28.9, 28.2 (2 (C-1_{glc})CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH) ppm.



(6-D-Biotinamido-hexyl)-2,3,4,6-tetra-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy)propyl]- β -D-glucopyranosid (4.16**) :**

Methode A: Es werden 26 mg (0.022 mmol) **4.10** und 10 mg (0.023 mmol) Sulfosuccinimidylbiotin in 8 ml wässriger NaHCO₃-Lösung (0.02M) gelöst. Die



Lösung wird 5 h bei rt gerührt, auf eine Biogel-P2-Säule gegossen und mit Wasser eluiert, um **4.16** als weißes Lyophilisat zu isolieren.

Ausbeute: 31 mg (0.022 mmol; quant.)

Methode B: Es werden 33 mg (0.028 mmol) **4.10** und 12 mg (0.034 mmol) Succinimidylbiotin in 10 ml MeOH mit 12 mg (0.14 mmol) NaHCO₃ 12 h bei rt gerührt. Zur Aufarbeitung wird auf eine Sephadex LH-20 Säule gegossen und mit Methanol eluiert, eingengt, in Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet, um **4.16** als weißes Lyophilisat zu isolieren.

Ausbeute: 39 mg (0.028 mmol; quant.)

$$[\alpha]_D^{24} = + 33.3 (c = 0.24, \text{H}_2\text{O});$$

MALDI-TOF: $m/z = 1408.69 [M+\text{Na}]^+$ (1385.62 ber. für C₅₈H₁₀₃N₃O₃₂S);

¹H NMR (500 MHz, D₂O): δ 4.78 (s, 4H, 4 H-1_{man}), 4.53 (dd, 1H, SCH₂CH), 4.36-4.32 (m, 2H, H-1_{glc}, SCHRCH), 3.89-3.64 (m, 28H, H-6_{glc}, 4 H-2_{man}, 4 H-3_{man}, 4 H-6_{man}, 4 H-6'_{man}, 4 (man)OCHH, 7 (glc)OCHH), 3.61-3.47 (m, 16H, H-6'_{glc}, 4 H-5_{man}, 4 H-4_{man}, 4 (man)OCHH, 3 (glc)OCHH), 3.41 (m, 1H, H-5_{glc}), 3.32 (dd \approx t, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-3_{glc}), 3.28-3.22 (m, 2H, H-4_{glc}, CH₂SCHR), 3.10 (m, 2H, CH₂NHCO), 3.03 (dd \approx t, 1H, $J = 9.0$ Hz, H-2_{glc}), 2.92 (dd, 1H, $J = 5.1$ Hz und 13.2 Hz, SCHHCH), 2.71 (d, 1H, $J = 13.2$ Hz, SCHHCH), 2.18 (t, 2H, $J = 7.2$ Hz, NHCOCH₂), 1.94-1.81 (m, 8H, 4 OCH₂CH₂CH₂O), 1.70-1.49 (m, 6H, (C-1_{glc})OCH₂CH₂, NHCOCH₂CH₂CH₂CH₂), 1.45 (m, 2H, CH₂CH₂NHCO), 1.37-1.25 (m, 6H, NHCOCH₂CH₂CH₂CH₂, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂) ppm;

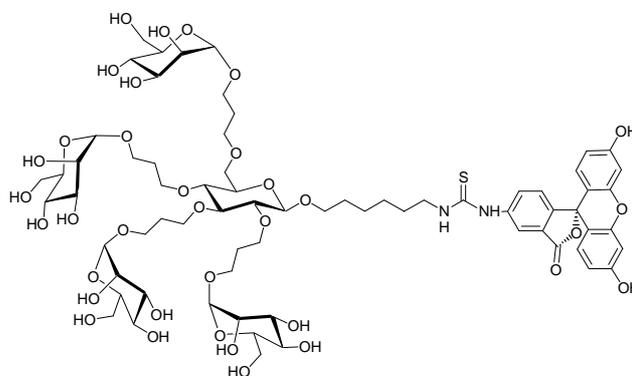
¹H NMR (500 MHz, D₄-MeOH): δ 4.81, 4.81, 4.80, 4.79 (je d, 4H, $J = 1.3$ Hz, 4 H-1_{man}), 4.54 (dd, 1H, $J = 7.7$ und 4.6 Hz, SCH₂CH), 4.35 (dd, 1H, $J = 7.9$ und 4.4 Hz, SCHRCH), 4.30 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, H-1_{glc}), 3.99-3.83, 3.78-3.52 (m, 44H, H-6_{glc}, 4 H-2_{man}, 4 H-3_{man}, 4 H-6_{man}, 4 H-6'_{man}, 4 (man)OCH₂, 5 (glc)OCH₂, H-6'_{glc}, 4 H-5_{man}, 4 H-4_{man}), 3.37-3.32 (m, 6H+MeOH, H-5_{glc}), 3.31-3.18 (m, 5H, H-3_{glc}, H-4_{glc}, CH₂SCHR, CH₂NHCO), 3.03 (dd \approx t, 1H, $J = 7.9$ Hz, H-2_{glc}), 2.97 (dd, 1H, $J = 12.8$ und 5.0 Hz, SCH₂CH), 2.75 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz, SCH₂CH), 2.25 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz, NHCOCH₂), 1.98-1.85 (m, 8H, 4 OCH₂CH₂CH₂O), 1.82-1.60 (6H, m,

(C-1_{glc})OCH₂CH₂, NHCOCH₂CH₂CH₂CH₂), 1.55 (2H, m, CH₂CH₂NHCO), 1.51-1.38 (6H, m, NHCOCH₂CH₂CH₂CH₂, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂) ppm;

¹³C NMR (125.76 MHz, D₂O): δ 179.1 (CH₂CONHCH₂), 167.9 (NHCONH), 105.0 (C-1_{glc}), 102.4 (4 C-1_{man}), 86.4 (C-3_{glc}), 84.2 (C-2_{glc}), 80.5 (C-4_{glc}), 76.3 (C-5_{glc}), 75.3 (4 C-5_{man}), 73.7, 73.3, 73.0, 72.8, 71.4, 70.8 (4 (glc)OCH₂, (C-1_{glc})OCH₂, C-6_{glc}), 73.2 (4 C-3_{man}), 72.7 (4 C-2_{man}), 69.3 (4 C-4_{man}), 67.0 (2x), 69.9 (2x) (4 (man)OCH₂), 64.7 (SCHRCH), 63.5 (4 C-6_{man}), 62.8 (SCH₂CH), 58.0 (SCHRCH), 42.3 (SCH₂CH), 41.8 (CH₂NHCO), 38.1 (NHCOCH₂), 32.1, 32.0, 31.7, 31.3, 31.3, 31.0, 30.5, 30.3 (4 OCH₂CH₂CH₂O, CH₂CH₂NHCO, NHCOCH₂CH₂CH₂CH₂) 28.4, 27.9, 27.6 ((C-1_{glc}) OCH₂CH₂CH₂CH₂) ppm.

**6-(Fluoresceinyl-thioureido)-hexyl-
2,3,4,6-tetra-O-[3-(α-D-manno-
pyranosyloxy) propyl]-β-D-gluco-
pyranosid (4.17) :**

Es werden 37 mg (0.032 mmol) **4.10** in einer Lösung von 100 mg Na₂CO₃ und 100 mg NaHCO₃ in 2 ml Wasser gelöst, mit 2



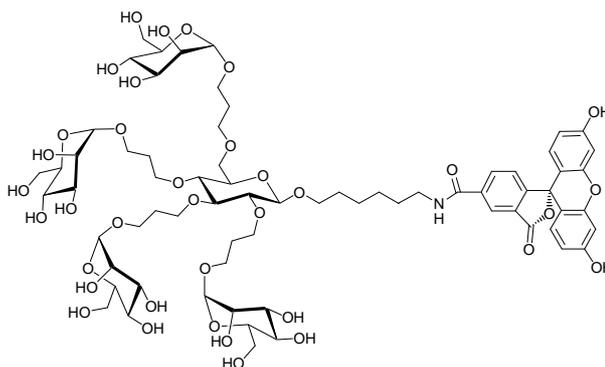
ml DMF und 145 mg 10 % Fluoresceinisothiocyanat (FITC) auf Celite versetzt und 1 d gerührt. Anschließend wird zentrifugiert und mit Wasser an Sephadex G-15 im Dunkeln gereinigt, um **4.17** als salzhaltiges, instabiles und lichtempfindliches gelbes Lyophilisat zu isolieren.

Ausbeute: 79 mg

MALDI-TOF: $m/z = 1549.20 [M+H]^+$, $1571.35 [M+Na]^+$, $1587.27 [M+K]^+$ (1548.58 ber. für C₆₉H₁₀₀N₂O₃₅S);

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ 7.72-7.48 (m, 3H, arom. H), 7.29 (m, 2H, arom. H), 6.69 (m, 4H, arom. H), 4.94-4.70 (m, 4H+D₂O, 4 H-1_{man}), 4.07 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 7.6$ Hz, H-1_{glc}), 3.99-3.35 (m, 50H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 5 (glc)OCH₂, 4 (man)OCH₂, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, H-5_{glc}, H-3_{glc}, H-4_{glc}, H-2_{glc}, CH₂NHCS), 1.95-1.78 (m, 8H, 4 OCH₂CH₂CH₂O), 1.74-1.60 (m, 4H, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH), 1.54-1.38 (m, 4H, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH) ppm.

N-[5(6)-Carboxyfluoresceinyl]-6-aminohexyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy) propyl]- β -D-glucopyranosid (4.18) :



Es werden 41 mg (0.035 mmol) **4.10**, 18 mg (0.038 mmol) 5(6)-Carboxy-fluorescein-*N*-succinimidylester und 20 mg (0.24 mmol)

Natriumhydrogencarbonat 12 h in 8 ml Methanol im Dunkeln gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt und eingengt, um **4.18** als 2. Fraktion als lichtempfindlichen, instabilen, gelb-roten Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 15 mg (0.010 mmol; 28 %)

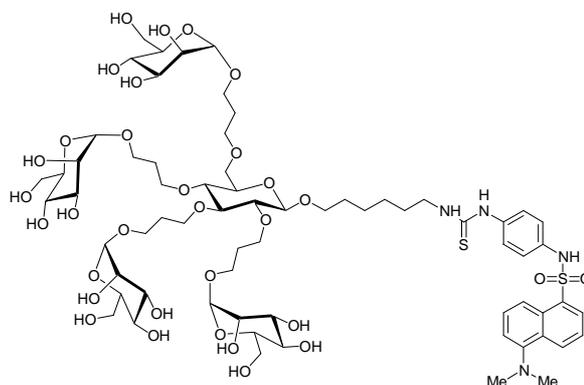
MALDI-TOF-MS (Postiv-Modus): $m/z = 1540.3 [M+Na]^+$ (1517.6 ber. für $C_{69}H_{99}NO_{36}$);

MALDI-TOF-MS (Negativ-Modus): $m/z = 1516.3 [M]^-$ (1517.6 ber. für $C_{69}H_{99}NO_{36}$);

1H -NMR (400 MHz, D_2O): δ 8.58-7.68 (m, 3H, 3 arom. H), 7.64-7.25 (m, 2H, 2 arom. H), 6.76 (m, 4H, 4 arom. H), 5.00-4.76 (m, 4H+ D_2O , 4 H-1_{man}), 4.21 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 8.1$ Hz, H-1_{glc}), 4.09-3.24 (m, 49H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 5 (glc)OCH₂, 4 (man)OCH₂, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, H-5_{glc}, H-3_{glc}, H-4_{glc}, CH₂NH), 3.03 (dd \approx t, 1H, $J = 8.6$ Hz, H-2_{glc}), 2.08-1.34 (m, 16H, 4 OCH₂CH₂CH₂O, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH) ppm;

^{13}C -NMR (100.61 MHz, D_2O , DEPT): δ 134.0, 131.6, 130.9, 125.9 (C_{Fluoresceinyl}), 106.5 (C₄, Fluoresceinyl, C₅, Fluoresceinyl), 105.1 (C-1_{glc}), 102.4 (4 C-1_{man}), 86.6 (C-3_{glc}), 84.2 (C-2_{glc}), 80.4 (C-4_{glc}), 76.3 (C-5_{glc}), 75.4 (4 C-5_{man}), 73.3 (4 C-3_{man}), 72.8 (4 C-2_{man}), 73.6, 72.9, 72.7, 71.5, 70.8 (2x) (5 (glc)OCH₂, C-6_{glc}), 69.5-69.4 (4 C-4_{man}), 67.1 (4 (man)OCH₂), 63.6 (4 C-6_{man}), 42.7 (CH₂NH), 32.5-30.7 (4 OCH₂CH₂CH₂O, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH), 28.1, 27.4 ((C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH) ppm.

6-[4-([5-(dimethylamino)-1-naphthyl]sulfonyl)amino]phenyl thioharnstoff]-hexyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy) propyl]- β -D-glucopyranosid (4.20) :



Es werden 23.7 mg (0.020 mmol) **4.10** mit 12 mg (0.031 mmol) der Dansylkupplungs-

komponente 4-(5-Dimethylamino-naphthalin-1-sulfonylamino)-phenylisothiocyanat (4-

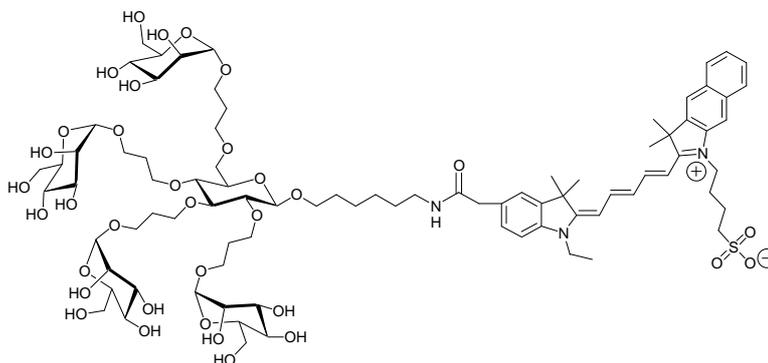
Dansylamino-phenylisothiocyanat) für 36 h in 6 ml DMF gerührt und anschließend mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **4.20** als gelbroten Sirup (3. Fraktion $R_{f(\text{MeOH})} = 0.45$, Detektion UV 366 nm) zu isolieren.

Ausbeute: 15 mg (0.0097 mmol; 49 %)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 8.55, 8.25 (je m, je 1H, $\text{SO}_2\text{CCHCHCH}$), 8.45 (m, 1H, $\text{NMe}_2\text{CCHCHCH}$), 7.65 (dd, 1H, $J = 7.7$ Hz, $J = 8.8$ Hz, $\text{NMe}_2\text{CCHCHCH}$), 7.55 (dd, 1H, $J = 7.3$ Hz, $J = 8.5$ Hz, $\text{SO}_2\text{CCHCHCH}$), 7.30 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz, $\text{NMe}_2\text{CCHCHCH}$), 7.14, 7.03 (je m, je 2H, 2 NHCCHCH), 4.81, 4.80, 4.80, 4.78 (je d, 4H, $J_{1,2\text{man}} = 1.5$ Hz, 4 H-1_{man}), 4.30 (d, 1H, $J_{1,2\text{glc}} = 7.8$ Hz, H-1_{glc}), 3.98-3.82 (m, 17H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.79-3.52 (m, 29H, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH, CH_2NHCS), 3.36-3.32 (m, 1H+MeOH, H-5_{glc}), 3.31-3.25 (m, 2H, H-3_{glc}, H-4_{glc}), 3.02 (m, 1H, H-2_{glc}), 2.90 (m, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.97-1.85 (m, 8H, 4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.69-1.32 (m, 8H, $(\text{C-1}_{\text{glc}})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.76 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$, DEPT): δ 132.8, 132.6 ($\text{SO}_2\text{CCHCHCH}$), 130.5 ($\text{NMe}_2\text{CCHCHCH}$), 127.8 (2 NHCCH), 125.4 ($\text{SO}_2\text{CCHCHCH}$), 123.1 (2 NHCCH), 121.5 ($\text{NMe}_2\text{CCHCHCH}$), 117.7 ($\text{NMe}_2\text{CCHCHCH}$), 105.9 (C-1_{glc}), 102.8 (4 C-1_{man}), 87.2 (C-3_{glc}), 84.9 (C-2_{glc}), 80.4 (C-4_{glc}), 77.0 (C-5_{glc}), 75.8 (4 C-5_{man}), 73.8 (4 C-3_{man}), 73.4 (4 C-2_{man}), 72.8, 72.0-71.8, 70.4 (5 (glc)OCH₂, C-6_{glc}), 69.8 (3x), 69.7 (4 C-4_{man}), 66.8, 66.7, 66.5 (2x) (4 (man)OCH₂), 64.1 (4 C-6_{man}), 47.0 (2 NCH_3 , CH_2N), 32.9, 32.7 (2x), 32.1, 31.9, 31.2 (4 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, (C-1_{glc}) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 28.8, 28.1 ((C-1_{glc}) $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$) ppm.

***N*-(2-(4,5-Benzo-1'-ethyl-3,3,3'-tetramethyl-1-(4-sulfo-butyl)-indodicarbocyaninyl)-ethanoyl)-6-hexyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy)-propyl]- β -D-glucopyranosid (**4.22**) :**



Es werden 9.0 mg (0.0078 mmol) **4.10** mit 6.0 mg (0.0083 mmol) des Indodicarbocyanin-Aktivesters **4.21** für 12 h mit 12 mg NaHCO_3 in 6 ml DMF gerührt und anschließend mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **4.22** als amorphen, blauen Feststoff zu isolieren.

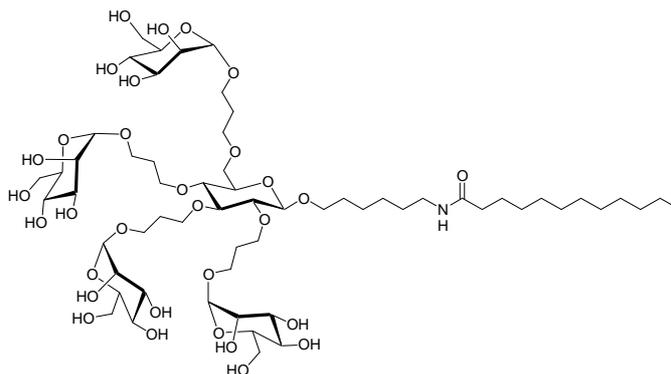
Ausbeute: 5.1 mg (0.0029 mmol; 37 %)

MALDI-TOF: $m/z = 1791.1$ $[M+Na]^+$ (1767.8 ber. für $C_{85}H_{129}N_3O_{34}S$);

1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 8.38 (t, 1H, $J = 13.2$ Hz, C=CHCH=CHCH=CHC), 8.28 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, arom. H), 8.26 (t, 1H, $J = 13.0$ Hz, C=CHCH=CHCH=CHC), 8.06 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz arom. H), 8.04 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, arom. H), 7.71-7.65 (m, 2H, arom. H), 7.53 (t, 1H, $J = 7.1$ Hz, arom. H), 7.47 (s, 1H, arom. H), 7.38 (dd, 1H, $J = 1.4$ Hz, $J = 8.3$ Hz, arom. H), 7.27 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, arom. H), 6.72 (t, 1H, 12.2 Hz, C=CHCH=CHCH=CHC), 6.46 (d, 1H, $J = 13.9$ Hz, C=CHCH=CHCH=CHC), 6.32 (d, 1H, $J = 13.6$ Hz, C=CHCH=CHCH=CHC), 4.82-4.77 (m, 4H, 4 H-1_{man}), 4.33 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂CH₂SO₃), 4.28 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 7.6$ Hz, H-1_{glc}), 4.17 (m, 2H, NCH₂CH₃), 3.98-3.81 (m, 17H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.80-3.50 (m, 29H, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH, CH₂CONH), 3.36-3.32 (m, 1H+MeOH, H-5_{glc}), 3.31-3.21 (m, 4H, H-3_{glc}, H-4_{glc}, CH₂NHCO), 3.02 (m, 1H, H-2_{glc}), 2.96 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, CH₂SO₃), 2.14-2.00 (m, 10H, NCH₂CH₂CH₂CH₂SO₃, N(CH₃)₂), 1.97-1.85 (m, 8H, 4 OCH₂CH₂CH₂O), 1.78 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.68-1.37 (m, 11H, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂, NCH₂CH₃) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, D_4 -MeOH, DEPT): δ 156.1, 156.0 (C=CHCH=CHCH=CHC), 133.0, 132.3, 131.7, 129.9, 127.3, 125.4, 124.6 (arom. C), 128.1 (C=CHCH=CHCH=CHC), 113.5, 112.7 (2 C-7_{Indolring}), 105.9 (C-1_{glc}), 105.7, 104.9 (C=CHCH=CHCH=CHC), 102.8 (4 C-1_{man}), 87.2 (C-3_{glc}), 84.9 (C-2_{glc}), 80.5 (C-4_{glc}), 77.1 (C-5_{glc}), 75.8 (4 C-5_{man}), 73.8 (4 C-3_{man}), 73.4 (4 C-2_{man}), 72.8, 72.0-71.8 (4x), 70.5 (5 (glc)OCH₂, C-6_{glc}), 69.8 (3x), 69.7 (4 C-4_{man}), 66.9, 66.8, 66.6 (2x) (4 (man)OCH₂), 64.1 (4 C-6_{man}), 52.9 (CH₂SO₃), 46.2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂SO₃), 44.8 (NHCOCH₂), 41.8 (CH₂NHCO), 41.1 (NCH₂CH₃), 32.9, 32.8, 32.7, 32.1, 32.0, 31.6 ((C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH, 4 OCH₂CH₂CH₂O), 29.2, 28.8 (2 N(CH₃)₂), 28.9, 28.1 ((C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂), 28.7 (NCH₂CH₂), 24.7 (CH₂CH₂SO₃), 13.8 (NCH₂CH₃) ppm; ^{13}C -NMR (BB): δ 173.6-175.3 (NHCO, 2 C-2_{Indolring}) ppm; 1H - ^{13}C -HMBC: δ 51.5 und 53.5 (2 C-3_{Indolring}) ppm.

**N-Dodecanoyl-6-aminohexyl-
2,3,4,6-tetra-O-[3-(α -D-manno-
pyranosyloxy) propyl]- β -D-gluco-
pyranosid (4.23) :**



Nach AAV 10 zur Amidverknüpfung mit HATU werden 27 mg (0.023 mmol) **4.10**, 6.1 mg (0.03 mmol)

Dodecansäure und 0.02 ml (0.12 mmol) DIPEA unter Argon in 5 ml trockenem DMF gelöst und bei 0°C mit 11.6 mg (0.03 mmol) HATU versetzt. Es wird 2 h bei 0°C und weitere 6 h bei rt gerührt. Zur Aufarbeitung wird der Ansatz mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **4.23** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 29 mg (0.022 mmol; 96 %)

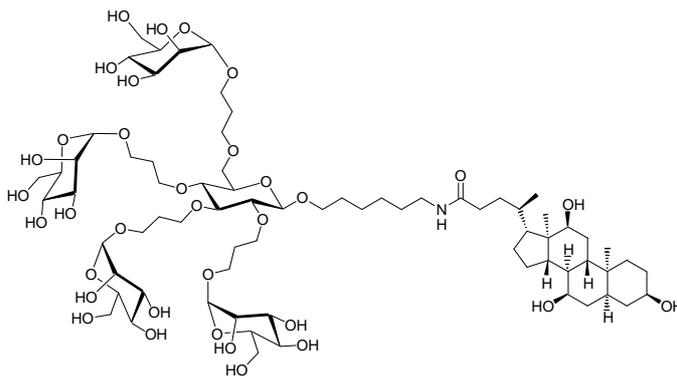
$[\alpha]_D^{20} = +42.9$ (*c* 0.17, MeOH);

MALDI-TOF: $m/z = 1364.7$ $[M+Na]^+$ (1341.71 ber. für $C_{60}H_{111}NO_{31}$);

1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.81, 4.80, 4.80, 4.78 (je d, 4H, $J_{1,2man} = 1.5$ Hz, 4 H-1_{man}), 4.30 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 7.7$ Hz, H-1_{glc}), 3.98-3.82 (m, 17H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.79-3.52 (m, 27H, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.36-3.32 (m, 1H+MeOH, H-5_{glc}), 3.31-3.25 (m, 2H, H-3_{glc}, H-4_{glc}), 3.20 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, CH_2NHCO), 3.02 (dd \approx t, 1H, $J_{2,3glc} = 8.8$ Hz, H-2_{glc}), 2.21 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, $NHCOCH_2$), 1.97-1.86 (m, 8H, 4 $OCH_2CH_2CH_2O$), 1.71-1.30 (m, 26H, (C-1_{glc})- $OCH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NH$, 18 H_{aliphat. Kette}) 0.94 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz, CH_3) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, D_4 -MeOH): δ 177.5 (NHCO), 105.9 (C-1_{glc}), 102.8 (4 C-1_{man}), 87.2 (C-3_{glc}), 84.9 (C-2_{glc}), 80.4 (C-4_{glc}), 77.0 (C-5_{glc}), 75.8 (4 C-5_{man}), 73.8 (4 C-3_{man}), 73.4 (4 C-2_{man}), 72.8, 72.0-71.8, 70.4 (5 (glc)OCH₂, C-6_{glc}), 69.8 (3x), 69.7 (4 C-4_{man}), 66.8, 66.7, 66.5 (2x) (4 (man)OCH₂), 64.1 (4 C-6_{man}), 41.6, 38.3, 34.2 ($CH_2CH_2CONHCH_2$), 32.9, 32.7 (2x), 32.1-31.5 (9x) (4 $OCH_2CH_2CH_2O$, (C-1_{glc}) $OCH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NH$, 6 C_{aliphat. Kette}), 29.0, 28.3, 28.1 ((C-1_{glc}) $OCH_2CH_2CH_2CH_2$, C_{aliphat. Kette}), 25.0 (C_{aliphat. Kette}), 15.7 (CH_3) ppm.

N-(3a,7a,12a,Trihydroxy-5b-cholan-24-oyl)-6-aminohexyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy) propyl]- β -D-glucopyranosid (4.24) :



Nach AAV 10 zur Amidverknüpfung mit HATU werden 34 mg (0.029 mmol) **4.10**, 13.2 mg (0.032 mmol)

Cholsäure und 0.02 ml (0.12 mmol) DIPEA unter Argon in 3 ml trockenem DMF gelöst und bei 0°C mit 13 mg (0.034 mmol) HATU versetzt. Es wird 2 h bei 0°C und weitere 6 h bei rt gerührt. Zur Aufarbeitung wird der Ansatz mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **4.24** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 39 mg (0.025 mmol; 86 %)

$[a]_D^{20} = + 43.3$ (c 0.27, MeOH);

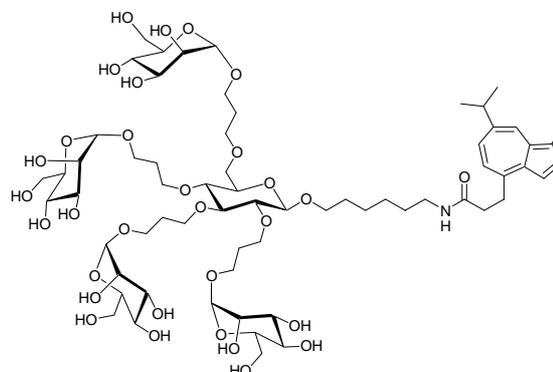
MALDI-TOF: $m/z = 1572.8$ $[M+Na]^+$ (1549.8 ber. für $C_{72}H_{127}NO_{34}$);

1H -NMR (500 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.81, 4.81, 4.80, 4.78 (je d, 4H, $J_{1,2man} = 1.3$ Hz, 4 H-1_{man}), 4.30 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 7.7$ Hz, H-1_{glc}), 3.97-3.82 (m, 19H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH, H-7_{cholan}, H-12_{cholan}), 3.79-3.53 (m, 27H, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.42-3.28 (m, 2H + MeOH, H-5_{glc}, H-3_{cholan}), 3.30-3.25 (m, 2H, H-3_{glc}, H-4_{glc}), 3.20 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz Hz, CH_2NHCO), 3.03 (dd \approx t, 1H, $J = 8.2$ Hz, H-2_{glc}), 2.34-2.06 (m, 4H, $NHCOCH_2$, $NHCOCH_2$, H-4_{cholan}, H-9_{cholan}), 2.02-1.74 (m, 15H, 4 $OCH_2CH_2CH_2O$, H-6_{cholan}, H-14_{cholan}, H-16_{cholan}, H-1_{cholan}, H-15_{cholan}, H-17_{cholan}, H-22_{cholan}), 1.71-1.28 (m, 19H, (C-1_{glc}) $OCH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NH$, H-2_{cholan}, H-4'_{cholan}, H-6'_{cholan}, H-8_{cholan}, H-11_{cholan}, H-11'_{cholan}, H-2'_{cholan}, H-5_{cholan}, H-16'_{cholan}, H-20_{cholan}, H-22'_{cholan}), 1.12 (m, 1H, H-15'_{cholan}), 1.06-0.95 (m, 4H, H-1'_{cholan}, 3 H-21_{cholan}), 0.95 (s, 3H, 3 H-19_{cholan}), 0.71 (s, 3H, 3 H-18_{cholan}) ppm;

^{13}C -NMR (125.76 MHz, D_4 -MeOH): δ 178.0 (NHCO), 105.9 (C-1_{glc}), 102.8 (4 C-1_{man}), 87.2 (C-3_{glc}), 84.9 (C-2_{glc}), 80.4 (C-4_{glc}), 77.0 (C-5_{glc}), 75.8 (4 C-5_{man}), 75.3 (C-12_{cholan}), 74.1 (C-3_{cholan}), 73.8 (4 C-3_{man}), 73.4 (4 C-2_{man}), 72.8, 72.0-71.8 (4x), 70.5 (4 (glc)OCH₂, (C-1_{glc})OCH₂, C-6_{glc}), 70.2 (C-7_{cholan}), 69.8 (3x), 69.7 (4 C-4_{man}), 66.9, 66.8, 66.6 (2x) (4 (man)OCH₂), 64.1 (4 C-6_{man}), 49.2 (C-17_{cholan}), 48.7 (C-13_{cholan}), 44.4 (C-5_{cholan}), 44.2 (C-14_{cholan}), 42.2 (C-8_{cholan}), 41.6 (CH_2NHCO , C-4_{cholan}), 38.1 (C-20_{cholan}) 37.7 (C-1_{cholan}), 37.1 (C-6_{cholan}, C-10_{cholan}) 35.4 (C-23_{cholan}), 34.7 (C-22_{cholan}), 32.4 (C-2_{cholan}), 30.8 (C-11_{cholan}), 32.9,

32.7, 32.7, 32.1, 31.9, 31.7 ((C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH, 4 OCH₂CH₂CH₂O), 30.0 (C-16_{cholan}), 29.0 (C-9_{cholan}), 29.0, 28.2 ((C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂), 25.5 (C-15_{cholan}), 24.4 (C-19_{cholan}), 18.9 (C-21_{cholan}), 14.3 (C-18_{cholan}) ppm.

N-[3-(7-Isopropyl-1-methyl-azulen-4-yl)propanoyl]-6-aminohexyl-2,3,4,6-tetra-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy) propyl]- β -D-glucopyranosid (4.26) :



Nach AAV 10 zur Amidverknüpfung mit HATU werden 29 mg (0.025 mmol) **4.10**, 7.5 mg (0.029 mmol) Azulenderivat **4.25** und 0.015 ml (0.09

mmol) DIPEA unter Argon in 5 ml trockenem DMF gelöst und bei 0°C mit 11.8 mg (0.03 mmol) HATU versetzt. Es wird 2 h bei 0°C und weitere 6 h bei rt gerührt. Zur Aufarbeitung wird der Ansatz mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **4.26** als blauen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 32 mg (0.023 mmol; 79 %)

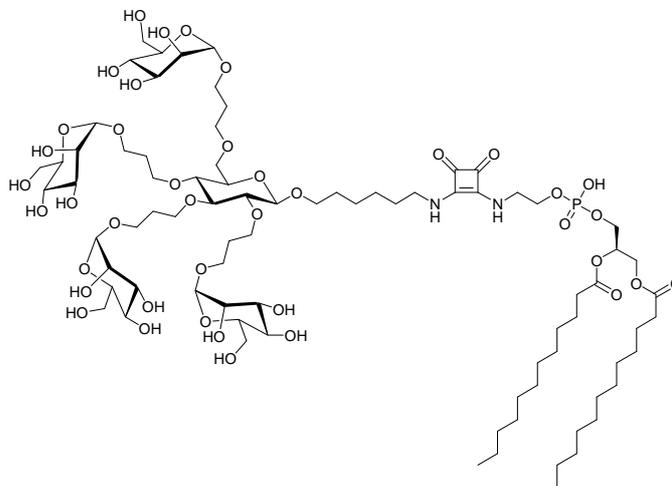
MALDI-TOF: $m/z = 1420.7$ [M+Na]⁺ (1397.68 ber. für C₆₅H₁₀₇NO₃₁);

¹H-NMR (500 MHz, D₄-MeOH): δ 8.22 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz, (Me₂C)CCHCR₂), 7.66 (d, 1H, $J = 3.5$ Hz, C(CMe)CHCH), 7.50 (dd, 1H, $J = 1.8$ und 10.8 Hz, (Me₂C)CCHCH), 7.37 (d, 1H, $J = 3.7$ Hz, C(CMe)CHCH), 7.10 (d, 1H, $J = 10.8$ Hz, (Me₂C)CCHCH), 4.81, 4.80, 4.80, 4.78 (je d, 4H, $J_{1,2man} = 1.7$ Hz, 4 H-1_{man}), 4.27 (d, 1H, $J_{1,2glc} = 7.9$ Hz, H-1_{glc}), 3.97-3.82 (m, 17H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH), 3.79-3.45 (m, 29H, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 (glc)OCHH, 4 (man)OCHH, CH₂CH₂CONH), 3.32-3.21 (m, 3H, H-5_{glc}, H-3_{glc}, H-4_{glc}), 3.14 (m, 3H, CH₂NHCO, CHMe₂), 3.00 (dd \approx t, 1H, $J_{2,3glc} = 8.9$ Hz, H-2_{glc}), 2.72-2.65 (m, 5H, CH₂CONH, CCH₃), 1.97-1.82 (m, 8H, 4 OCH₂CH₂CH₂O), 1.70-1.23 (m, 14H, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH, 2 CH(CH₃)₂) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, D₄-MeOH): δ 176.3 (NHCO), 149.2 (CCH₂CH₂CON), 142.4 (Me₂CHC), 139.5, 139.0 (R₂CCR₂), 139.0 (C(CMe)CH), 137.3 ((Me₂C)CCHCH), 135.1 ((Me₂C)CCHCR₂), 127.6 (CMe), 126.6 ((Me₂C)CCHCH), 114.6 (CHCHCMe), 105.9 (C-1_{glc}), 102.8 (4 C-1_{man}), 87.1 (C-3_{glc}), 84.9 (C-2_{glc}), 80.4 (C-4_{glc}), 77.0 (C-5_{glc}), 75.8 (4 C-5_{man}), 73.8 (4 C-3_{man}), 73.4 (4 C-2_{man}), 72.8, 72.0-71.8 (4x), 70.4 (5 (glc)OCH₂, C-6_{glc}), 69.8 (3x), 69.7 (4 C-4_{man}), 66.8, 66.7, 66.5 (2x) (4 (man)OCH₂), 64.1 (4 C-6_{man}), 41.6 (CONHCH₂), 40.6 (CH(CH₃)₂), 39.9 (CH₂CONH), 36.4 (CH₂CH₂CONH), 32.9, 32.7, 32.7, 32.1, 31.9 (4

OCH₂CH₂CH₂O, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH), 31.4 (CH₂CH₂NH), 28.8, 28.1 ((C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH), 26.4 (CH(CH₃)₂), 14.2 (CCH₃) ppm.

3-[(2,3,4,6-Tetra-O-[3-(α -D-mannopyranosyloxy)-propyl]- β -D-glucopyranosyl-hexylamin]-3-[1,2-didodecanoyl-sn-glycero-3-phospho-ethanolamin]-3-cyclobuten-1,2-dion (4.28) :



Es werden 12.5 mg (0.0105 mmol) **4.10** mit 0.0017 ml (0.016 mmol) Quadratsäurediethylester 12 h in 8 ml Methanol

gerührt. Anschließend werden eine Lösung von 9 mg (0.0155 mmol) 1,2-Di-dodecanoyl-sn-glycero-3-phospho-ethanolamin **4.27** in 8 ml Dichlormethan/Methanol 4:1 und 0.3 ml DIPEA zugegeben. Nachdem 1 d gerührt wurde, wird an Sephadex LH-20 (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 1:1) gereinigt, um **4.28** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 7.7 mg (0.0042 mmol; 40 %)

$[\alpha]_D^{20} = + 33.5$ (c 0.06, MeOH);

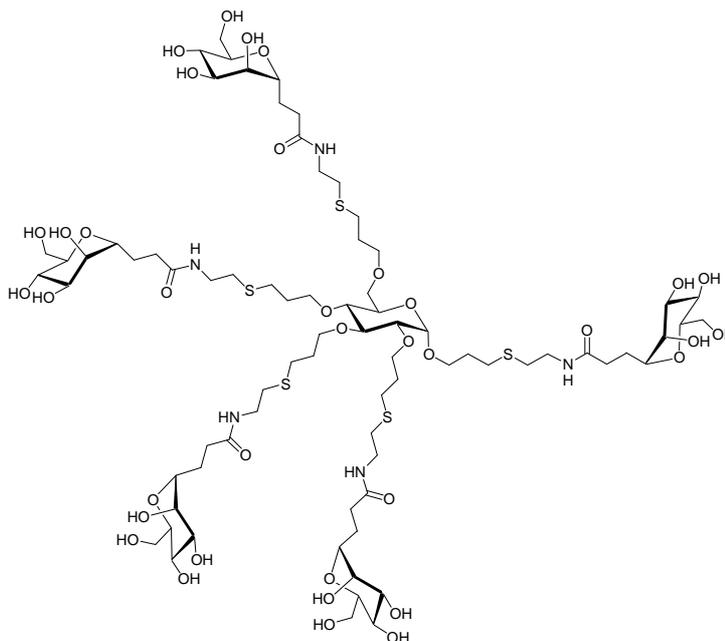
MALDI-TOF (Negativ-Modus): $m/z = 1815.8$ [M]⁻ (1815.9 ber. für C₈₁H₁₄₄N₂O₄₀P);

¹H-NMR (500 MHz, D₄-MeOH): δ 5.25 (m, 1H, POCH₂CH(OCOR)CH₂(OCOR)), 4.81, 4.80, 4.79, 4.78 (je d, je 1H, $J_{1,2man} = 1.6$ Hz, 4 H-1_{man}), 4.47 (dd, 1H, $J = 3.5$ Hz und 12.0 Hz, CHH(OCOR)), 4.30 (d, H, $J_{1,2glc} = 7.3$ Hz, H-1_{glc}), 4.21 (dd, 1H, $J = 12.0$ Hz und 6.6 Hz, CHH(OCOR)), 4.06-3.55 (m, 52H, 4 H-2_{man}, 4 H-6_{man}, 10 (glc)OCHH, 8 (man)OCHH, 4 H-3_{man}, 4 H-4_{man}, 4 H-5_{man}, 4 H-6'_{man}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, NCH₂CH₂OP(O₂)CH₂, CH₂NH), 3.30-3.33 (m, 3H, H-5_{glc}, H-3_{glc}, H-4_{glc}), 3.03 (dd \approx t, 1H, $J = 8.2$ Hz, H-2_{glc}), 2.26 (m, 4H, 2 CH₂CO₂), 1.98-1.84 (m, 16H, 8 OCH₂CH₂CH₂O), 1.70-1.45 (m, 12H, (2 CH₂CH₂CO₂, C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂NH), 1.38-1.28 (m \approx s, 32H, H_{aliphat. Ketten}), 0.95 (t, 6H, $J = 6.9$ Hz, CH₃) ppm;

¹³C-NMR (125.76 MHz, D₄-MeOH): δ 185.1, 184.8, 170.7, 170.4 (4 C_{Quadratsäure}), 176.1, 175.8 (2 NHCO_{Fettsäuren}), 105.9 (C-1_{glc}), 102.8 (4 C-1_{man}), 87.2 (C-3_{glc}), 85.0 (C-2_{glc}), 80.5 (C-4_{glc}), 77.1 (C-5_{glc}), 75.8 (4 C-5_{man}), 73.8 (4 C-3_{man}), 73.4 (4 C-2_{man}), 73.1 (d, $J_{P,C} = 8.3$ Hz, POCH₂CH(OCOR)CH₂(OCOR)), 72.8, 72.0-71.8 (4x), 70.5 (5 (glc)OCH₂, C-6_{glc}), 69.8 (3x),

69.7 (4 C-4_{man}), 66.9, 66.8, 66.6 (2x) (4 (man)OCH₂), 67.5, 66.0 (CH₂OP(O₂)OCH₂), 64.8 (POCH₂CH(OCOR)CH₂(OCOR)), 64.1 (4 C-6_{man}), 48.2, 46.5 (2 NHCH₂), 36.3, 36.1 (2 CH₂CH₂CO₂), 34.3 (CH₂CH₂CO₂), 32.9, 32.8, 32.7, 32.1, 32.0-31.4 (14x) (4 OCH₂CH₂CH₂O, (C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂, 12 C_{aliphatic. Kette}), 28.4, 28.1 ((C-1_{glc})OCH₂CH₂CH₂CH₂), 27.2 (2x), 25.0 (2x) (4 C_{aliphatic. Kette}), 15.7 (2 CH₃) ppm.

10-(α -D-Mannopyranosyl)-8-oxo-4-thia-7-aza-decyl-2,3,4,6-tetra-O-[10-(α -D-mannopyranosyl)-8-oxo-4-thia-7-aza-decyl]- α -D-glucopyranosid (5.11) :



Es werden 54 mg (0.057 mmol) 3-(2-Aminoethylthio)-propyl-2,3,4,6-tetra-O-3-(2-aminoethylthio)-propyl- α -D-glucopyranosid (**1.04**) in 4 ml trockenen DMF gelöst und mit 0.1 ml (0.58 mmol) DIPEA 1 d

gerührt. Währenddessen werden 110 mg (0.44 mmol) **5.03** in 6 ml MeOH gelöst und nach Zugabe von 4 ml Wasser bei 0°C mit 102 mg (2.4 mmol) LiOH·H₂O versetzt. Sobald die Verseifung von **5.03** abgeschlossen ist, wird nach Zugabe von 20 ml Wasser bei 0°C mit 2M Salzsäure neutralisiert und gefriergetrocknet. Die gefriergetrocknete Säure wird in 4 ml DMF gelöst zum Reaktionsansatz gegeben. Nach der Zugabe von 167 mg (0.44 mmol) HATU und 0.15 ml (0.88 mmol) DIPEA wird 36 h gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit Methanol an Sephadex LH20 gereinigt, um **5.11** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 82 mg (0.039 mmol; 68 %)

$[\alpha]_D^{20} = +22.0$ ($c = 1.42$, MeOH);

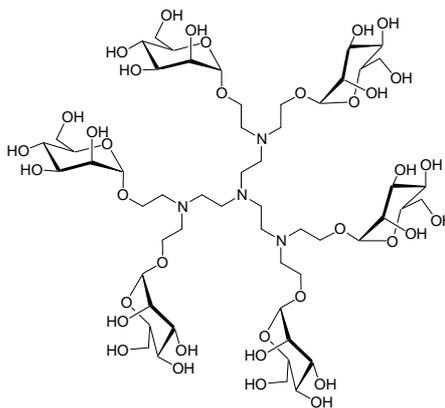
MALDI-TOF : $m/z = 1879.4$ [$M+Na$]⁺ (1855.8 ber. für C₇₆H₁₃₇N₅O₃₆S₅);

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): δ 4.95 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1_{glc}), 3.93-3.48 (m, 49H, 5 (glc)OCH₂, H-3_{glc}, H-5_{glc}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 H-1_{man}, 5 H-2_{man}, 5 H-3_{man}, 5 H-4_{man}, 5 H-5_{man}, 5 H-6_{man}, 5 H-6'_{man}), 3.43-3.35 (m, 10H+MeOH, SCH₂CH₂N), 3.31-3.25 (m, 2H, H-2_{glc}, H-4_{glc}), 2.75-2.64 (m, 20H, 5 (glc)OCH₂CH₂CH₂SCH₂), 2.45-2.29 (m, 10H, 5 (man)CH₂CH₂), 2.13-2.01 (m, 5H, 5 (man)CHH), 2.00-1.80 (m, 15H, 5 (man)CHH, 5 (glc)OCH₂CH₂) ppm;

¹³C-NMR (125.77 MHz, D₂O): δ 99.1 (C-1_{glc}), 84.0 (C-3_{glc}), 83.0 (C-2_{glc}), 80.4 (C-4_{glc}), 78.7 (5 C-1_{man}), 77.4 (5 C-5_{man}), 74.0, 74.0 (5 C-2_{man}, 5 C-3_{man}), 72.9 (C-5_{glc}), 73.5, 72.0 (2x), 71.9, 71.3, 68.5 (C-6_{glc}, (glc)OCH₂), 70.7 (5 C-4_{man}), 64.2 (5 C-6_{man}), 41.5 (5 SCH₂CH₂N), 34.5 (5 (man)CH₂CH₂), 33.3-33.2 (5 SCH₂CH₂N), 32.9, 32.5, 32.4, 32.0, 31.6 (5 (glc)OCH₂CH₂), 30.7, 30.6-30.5 (5 (glc)OCH₂CH₂CH₂S), 27.3 (5 (man)CH₂) ppm.

Tris-[*N,N*-di-(2-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-ethyl)-2-aminoethyl]-amin (5.19) :

Es werden 0.021 ml (0.14 mmol) Tris(2-aminoethyl)amin und 360 mg (0.92 mmol) **5.02** 3 h in 20 ml Dichlormethan gerührt. Nach Zusatz von 196 mg (0.93 mmol) Natriumtriacetoxyborhydrid wird 5 d gerührt. Am zweiten und dritten Tag werden jeweils im Abstand von 3 h weitere 176 mg (0.45 mmol) **5.02** und 96 mg (0.45 mmol) Natriumtriacetoxyborhydrid zugegeben. Zur Aufarbeitung wird eingeeignet, über Nacht in 50 ml Methanol mit 10 ml NatriummethanolatLösung (hergestellt mit 80 mg Natrium auf 10 ml Methanol) gerührt, eingeeignet, in 5 ml Wasser aufgenommen über Nacht gerührt und an Sephadex G15 gereinigt, um **5.19** als farbloses Lyophilisat zu isolieren.



Ausbeute: 101 mg (0.073 mmol; 52 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +55.3$ ($c = 0.42$, H_2O);

Anal. Ber. für $\text{C}_{54}\text{H}_{102}\text{N}_4\text{O}_{36} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1509.52): C, 42.97; H, 7.75; N, 3.71.

Gef.: C, 42.94; H, 7.52; N, 3.42;

MALDI-TOF: $m/z = 1383.25$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (1382.63 ber. für $\text{C}_{54}\text{H}_{102}\text{N}_4\text{O}_{36}$);

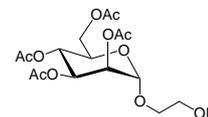
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): δ 4.73 (d, 6H, $J_{1,2} = 1.0$ Hz, 6 H-1), 3.82-3.73 (m, 18H, 6 H-2, 6 H-6, 6 NCH_2CHHO), 3.66-3.44 (m, 30H, 6 H-3, 6 H-4, 6 H-5, 6 H-6', 6 NCH_2CHHO), 2.96-2.88 (bs, 12H, 6 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.88-2.76 (bs, 12H, 3 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$, 3 $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$) ppm;

$^1\text{H-}^{13}\text{C-COSY}$: 3.81 (H-2), 3.77 (H-6), 3.64 (H-3), 3.59 (H-6'), 3.50 (H-4), 3.47 (H-5) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (100.62 MHz, D_2O): δ 100.3 (6 C-1), 73.4 (6 C-5), 71.0 (6 C-3), 70.4 (6 C-2), 67.1 (6 C-4), 64.6 (6 $\text{ManOCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 61.3 (6 C-6), 53.0 (6 $\text{manOCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 51.3, 50.6 (3 $(\text{NCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$) ppm.

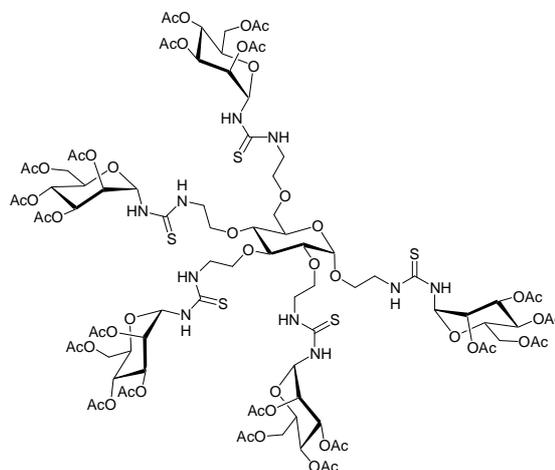
NMR Daten für das Nebenprodukt **5.15**:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): δ 5.35 (dd, 1H, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, $J_{3,4} = 9.7$ Hz, H-3), 5.31-5.25 (m, 2H, H-2, H-4), 4.88 (d, 1H, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1), 4.27 (dd, 1H, $J_{5,6} = 5.6$ Hz, $J_{6,6'} = 12.2$ Hz, H-6), 4.13 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 2.6$ Hz, H-6'), 4.07 (ddd, 1H, H-5), 3.83-3.73 (m, 3H, OCHHCH_2OH), 3.67 (m, 1H, OCHHCH_2OH), 2.18, 2.11, 2.05, 2.00 (je s, je 3H, 4 OAc) ppm;



^{13}C -NMR (100.62 MHz, D_2O): δ 170.7, 170.1, 170.0, 169.8 (4 OAc), 98.0 (C-1), 70.8 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 69.9, 69.4, 69.1, 66.5 (C-2, C-3, C-4, C-5) 62.9, 62.0 (C-6, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) 21.2, 21.1 (3x) (4 OAc) ppm.

**2-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosylthioureido)ethyl-2,3,4,6-tetra-O-
[-2-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosylthioureido)ethyl]- α -D-glucopyranosid (5.21) :**



Es werden 18 mg (0.046 mmol) **2.03** in 7 ml Dichlormethan gelöst und über 1 h langsam zu einer siedenden Lösung von 330 mg (0.85 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosylisothiocyanat in 70 ml Dichlormethan getropft. Es wird 4 h unter Rückfluß gerührt, eingeengt und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Essigester; Detektion: UV), um **5.21** als amorphes gelbliches Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 54 mg (0.023 mmol; 50 %)

MALDI-TOF : $m/z = 2341.4 [\text{M}+\text{H}]^+$, $2363.4 [\text{M}+\text{Na}]^+$ (2340.7 ber. für $\text{C}_{91}\text{H}_{132}\text{N}_{10}\text{O}_{51}\text{S}_5$);

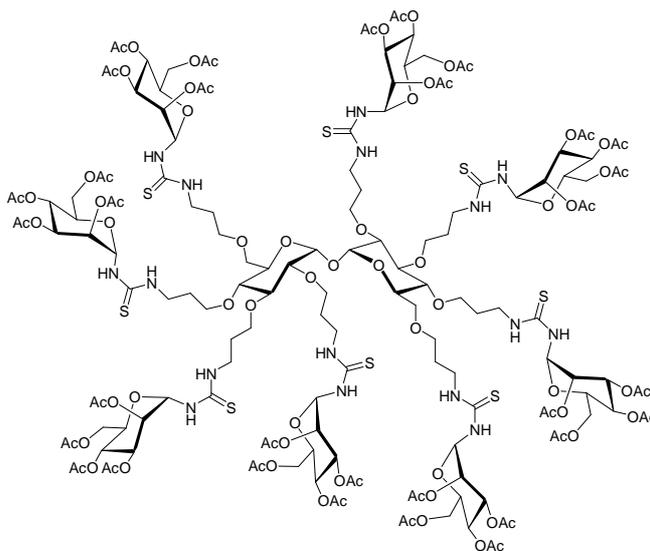
$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +45.7^\circ$ ($c = 1.7$, Aceton);

^1H -NMR (500 MHz, D_6 -Aceton): δ 8.30-8.00 (bs, 5H, 5 NH), 7.60-7.25 (bs, 5H, 5 NH), 6.10-5.90 (bs, 5H, 5 H-1_{man}), 5.44-5.32, 5.32-5.20 (je m, 10H und 5H, 5 H-2_{man} , 5 H-3_{man} , 5 H-4_{man}), 5.02 (bs, 1H, H-1_{glc}), 4.40-3.50 (m, 39H, H-3_{glc} , H-5_{glc} , H-6_{glc} , $\text{H-6}'_{\text{glc}}$, 5 H-5_{man} , 5 H-6_{man} , 5 $\text{H-6}'_{\text{man}}$, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.40-3.27 (m, 2H, H-2_{glc} , H-4_{glc}), 2.17-1.98 (60 H, m, 20 OAc) ppm;

^{13}C -NMR (125.77 MHz, D_6 -Aceton): δ 184.7 (C=S), 171.0, 170.4, 170.3, 170.0 (20 OAc), 97.3 (C-1 $_{\text{glc}}$), 82.4 (C-3 $_{\text{glc}}$), 80.9-80.7 (5 C-1 $_{\text{man}}$, C-2 $_{\text{glc}}$), 78.4 (C-4 $_{\text{glc}}$), 71.5-69.1, 67.2-66.8 (5 C-2 $_{\text{man}}$, 5 C-3 $_{\text{man}}$, 5 C-4 $_{\text{man}}$, 5 C-5 $_{\text{man}}$, C-5 $_{\text{glc}}$, C-6 $_{\text{glc}}$, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 63.0 (5 C-6 $_{\text{man}}$), 46.0, 45.8, 45.7, 45.5, 45.2 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 20.8, 20.8, 20.7, 20.6 (20 OAc) ppm.

Okta-O-[3-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosylthioureido)-propyl]- α -D-trehalose (5.23) :

Es werden 35 mg (0.044 mmol) **2.19** in 10 ml Dichlormethan gelöst und über 1 h langsam zu einer siedenden Lösung von 260 mg (0.668 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosylisothiocyanat in 80 ml Dichlormethan getropft. Es wird 4 h unter Rückfluß gerührt, eingeeengt



und an Kieselgel (Laufmittel: Essigester; Detektion: UV), sowie mit Methanol an Sephadex LH-20 gereinigt, um **5.23** als amorphes farbloses Feststoff zu isolieren.

Ausbeute: 72 mg (0.018 mmol; 41 %)

$[\alpha]_D^{20} = +60.0^\circ$ ($c = 0.26$, Aceton);

MALDI-TOF (CCA, Positiver-Linearer-Modus, nicht isotopenaufgelöst):

mittlere $m/z = 3939.3$ $[M+Na]^+$ (3914.1 ber. für $C_{156}H_{230}N_{16}O_{83}S_8$);

1H -NMR (300 MHz, D_6 -Aceton): δ 8.45-8.05 (bs, 8H, 8 NH), 7.70-7.30 (bs, 8H, 8 NH), 6.20-5.90 (bs, 8H, 8 H-1_{man}), 5.48-5.31, 5.30-5.13 (je m, 16H und 10H, 8 H-2_{man}, 8 H-3_{man}, 8 H-4_{man}, 2 H-1_{glc}), 4.38-4.22, 4.18-3.48 (je m, 8H und 56H, 2 H-3_{glc}, 2 H-5_{glc}, 2 H-6_{glc}, 2 H-6'_{glc}, 8 H-5_{man}, 8 H-6_{man}, 8 H-6'_{man}, 8 OCH₂CH₂CH₂N), 3.38-3.23 (m, 4H, 2 H-2_{glc}, 2 H-4_{glc}), 2.09-2.02 (96 H, m, 32 OAc), 1.96-1.87 (m, 16H, OCH₂CH₂CH₂N) ppm;

^{13}C -NMR (75.47 MHz, D_6 -Aceton): δ 183.7 (8 C=S), 170.1, 159.6, 169.3 (32 OAc), 92.6 (2 C-1_{glc}), 81.4 (2 C-3_{glc}), 80.1 (2 C-2_{glc}) 79.9 (8 C-1_{man}), 78.0 (2 C-4_{glc}), 71.4, 70.0, 69.6, 68.7, 68.4 (2 C-6_{glc}, 8 OCH₂CH₂CH₂N), 70.8 (2 C-5_{glc}), 69.8, 69.3, 68.7-68.4, 66.4 (8 C-2_{man}, 8 C-3_{man}, 8 C-4_{man}, 8 C-5_{man}), 62.2 (8 C-6_{man}), 42.1 (8 OCH₂CH₂CH₂N), 29.7-28.2 (8 OCH₂CH₂CH₂N, Aceton), 20.0 (32 OAc) ppm;

^{13}C -NMR (75.47 MHz, D_6 -Aceton, gated decoupled): $J_{C-1,H-1} = 165$ Hz.

Okta-O-[3-(α -D-mannopyranosyl-thiureido)-propyl]- α -D-trehalose
(5.22) :

Nach AAV 9 für die Deacetylierung/Debenzoylierung unter Zemplén-Bedingungen werden 30 mg (0.077 mmol)

5.21 über Nacht in 20 ml Methanol mit 1 ml 0.1 M methanolischer NaOMe Lösung bei 4°C gerührt, wobei der entschützte Glycocluster **5.22** ausfällt. Der Cluster

wird abfiltriert und mit wenig Methanol nachgewaschen, um **5.22** als amorphen weißen Feststoff zu isolieren.

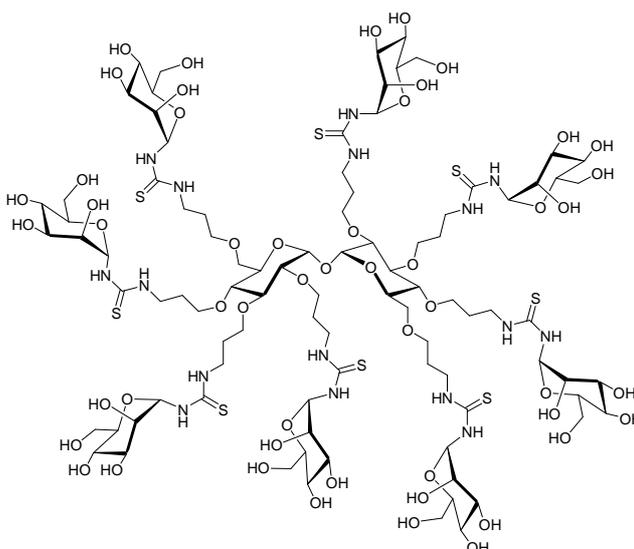
Ausbeute: 17.2 mg (0.0067 mmol; 87 %)

$[\alpha]_D^{20} = +105.4^\circ$ ($c = 0.20$, H₂O);

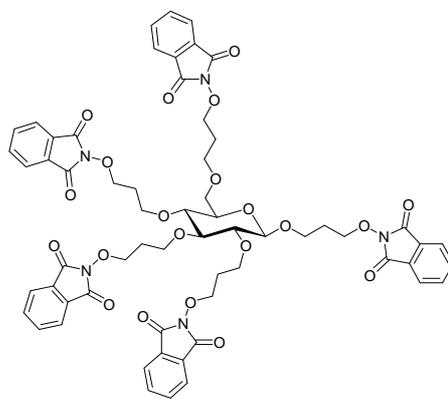
MALDI-TOF (DHB): mittlere $m/z = 2591.7$ $[M+Na]^+$ (2568.9 ber. für C₉₂H₁₆₆N₁₆O₅₁S₈);

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): δ 5.29 (d, 1H, $J_{1,2} = 2.8$ Hz, 2 H-1_{glc}), 4.03-3.97, 3.92-3.31 (je m, 8H, 92H, 8 H-1_{man}, 8 H-2_{man}, 8 H-3_{man}, 8 H-4_{man}, 8 H-5_{man}, 8 H-6_{man}, 8 H-6'_{man}, 2 H-2_{glc}, 2 H-3_{glc}, 2 H-4_{glc}, 2 H-5_{glc}, 2 H-6_{glc}, 2 H-6'_{glc}, 8 OCH₂CH₂CH₂N), 1.98-1.78 (m, 16H, OCH₂CH₂CH₂N) ppm;

¹³C-NMR (75.47 MHz, D₂O): δ 184.9 (8 C=S), 95.2 (2 C-1_{glc}), 86.0 (8 C-1_{man}), 84.3 (2 C-3_{glc}), 82.9 (2 C-2_{glc}) 81.4 (2 C-4_{glc}), 77.2 (8 C-5_{man}), 75.1, 73.0, 72.5-75.6 (2 C-6_{glc}, 8 OCH₂CH₂CH₂N), 74.1 (8 C-3_{man}), 74.0 (2 C-5_{glc}), 73.2 (8 C-2_{man}), 70.5 (8 C-4_{man}), 64.5 (8 C-6_{man}), 46.4-45.9 (8 OCH₂CH₂CH₂N), 32.9-32.1 (8 OCH₂CH₂CH₂N) ppm.


(4-Phthalimido-4-oxa-butyl) -2,3,4,6-tetra-O-(4-phthalimido-4-oxa-butyl)- α -D-glucopyranosid
(5.27b) :

Es werden 185 mg (0.393 mmol) **3.01b**, 1.19 g (4.54 mmol) Triphenylphoshin und 675 mg (4.14 mmol) *N*-Hydroxy-Phthalimid in 40 ml trockenen THF gelöst und mit 0.74 ml (4.76 mmol) DEAD versetzt. Die Lösung wird über Nacht gerührt. Anschließend wird eingeeignet, sowie an Kieselgel (Laufmittel:



Essigester/Cyclohexan 3:1) und mit Aceton an Sephadex LH-20 gereinigt, um **5.27b** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 346 mg (0.289 mmol; 74 %)

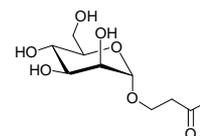
$[a]_D^{20} = -2.0^\circ$ ($c = 0.70$, Aceton);

MALDI-TOF: $m/z = 1218.4$ $[M+Na]^+$ (1195.4 ber. für $C_{61}H_{57}N_5O_{21}$);

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7.82-7.67 (m, 20H, arom. H), 4.40-4.25 (m, 11H, H-1, 5 PhthNOCH₂), 4.24-3.65 (m, 12H, H-6, H-6', 5 (glc)OCH₂), 3.38-3.22 (m, 3H, H-5, H-3, H-4), 3.10 (dd \approx t, 1H, $J = 8.0$ Hz, H-2), 2.12-1.98 (m, 10H, OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

^{13}C -NMR (75.47 MHz, $CDCl_3$): δ 163.6 (CO), 134.3, 128.9, 123.4 (arom. C), 103.4 (C-1), 84.6 (C-3), 82.2 (C-2), 78.0 (C-4), 75.9 (2x), 75.8, 75.7, 75.6 (5 PhthNOCH₂), 74.7 (C-5), 69.9, 69.5, 68.8 (2x), 67.7, 66.0 (C-6, 5 (glc)OCH₂), 29.4, 29.3, 29.2, 28.8 (2x) (5 (glc)OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

(3-Oxo-butyl)- α -D-mannopyranosid (**5.30**) :



Es werden 5.45 g (7.36 mmol) **3.02** in 6 ml trockenen Dichlormethan gelöst und mit 0.70 ml (6.93 mmol) 3-Methyl-3-buten-1-ol und 0.15 ml einer 5 %-igen TMSOTf-Lösung in Dichlormethan versetzt und 10 h gerührt. Nachdem mit $NaHCO_3$ neutralisiert wurde, wird an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester 4:1). Anschließend wird das benzoyleierte Mannosid in trockenen Methanol gelöst und über Nacht mit 5 ml 0.02M Natriummethanolatlösung gerührt. Zur Aufarbeitung wird mit Amberlite IR 120 neutralisiert, filtriert, eingengt und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Essigester/Methanol 9:1).

Das entschützte Mannosid wird mit 1 g (11.9 mmol) Natriumhydrogencarbonat in 80 ml Dichlormethan/Methanol 3:1 bei $-78^\circ C$ ozonisiert. Zur Aufarbeitung wird mit 2.0 g (7.6 mmol) Triphenylphosphin über Nacht gerührt und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 7:1 \rightarrow 5:1), um **5.30** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 855 mg (3.42 mmol; 47 %)

$[a]_D^{20} = +57.3^\circ$ ($c = 0.73$, MeOH);

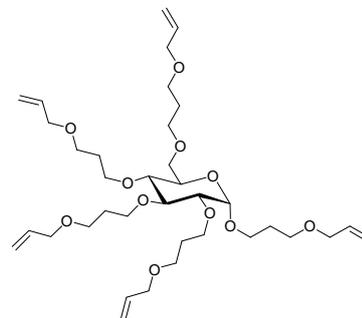
MALDI-TOF: $m/z = 273.1$ $[M+Na]^+$ (250.1 ber. für $C_{10}H_{18}O_7$);

1H -NMR (300 MHz, D_4 -MeOH): δ 4.80 (d, 1H, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, H-1), 3.98-4.05 (dt, 1H, $J = 10.2$ und 6.0 Hz, OCHHCH₂), 3.88 (dd, 1H, $J_{6,6'} = 11.8$ Hz, $J_{5,6} = 2.3$ Hz, H-6), 3.52-3.82 (m, 6H, H-2, H-3; H-4, H-5, H-6', OCHHCH₂), 2.80 (t, 2H, $J = 6$ Hz, OCH₂CH₂), 2.22 (s, 3H, CH₃) ppm;

^{13}C -NMR (75.47 MHz, D_4 -MeOH): δ 211.0 (CO), 102.9 (C-1), 75.8, 73.7, 73.2 69.6 (C-2, C-3, C-4, C-5), 64.9, 64.0 (C-6, OCH_2CH_2), 45.2 (OCH_2CH_2), 31.5 (CH_3) ppm.

(Hept-4-oxa-6-enyl)-2,3,4,6-tetra-O-(hept-4-oxa-6-enyl)- α -D-glucopyranosid (5.31) :

Es werden 471 mg (1.0 mmol) **3.01** in 50 ml trockenem NMP suspendiert und mit 300 mg (7.5 mmol) NaH (60%-ige Suspension in Paraffinöl) versetzt. Nach der Zugabe von 0.6 ml (7.1 mmol) Allylbromid wird über Nacht gerührt. Anschließend werden erneut 0.2 ml (2.4 mmol) Allylbromid und 150 mg (3.8 mmol) NaH (60%-ige Suspension in Paraffinöl) zugegen, und es wird 4d bei rt gerührt. Zur Aufarbeitung wird eingengt. Das Rohprodukt wird an Kieselgel (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester 2:1) gereinigt, um **5.31** als farblosen Sirup zu isolieren.



Ausbeute: 398 mg (0.59 mmol; 59 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +57.2^\circ$ ($c = 1.04$, CH_2Cl_2);

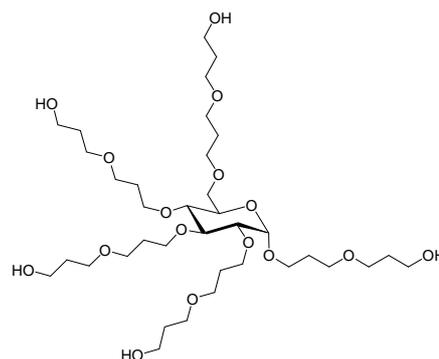
MALDI-TOF: $m/z = 693.4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (670.4 ber. für $\text{C}_{36}\text{H}_{62}\text{O}_{11}$);

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 5.90 (m, 5H, 5 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 5.25 (m, 5H, 5 OCH_2CHCHH), 5.15 (m, 5H, 5 OCH_2CHCHH), 4.88 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.4$ Hz, H-1), 4.01-3.45 (m, 34H, H-3, H-5, H-6, H-6', 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$, 5 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 3.29 (dd \approx t, 1H, $J = 9.5$ Hz, H-4), 3.26 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2), 1.78-1.98 (m, 10H, 5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm;

^{13}C -NMR (75.47 MHz, CDCl_3): δ 135.0-134.9 (5 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 116.6-116.5 (5 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 96.7 (C-1), 81.5 (C-3), 80.6 (C-2), 77.7 (C-4), 71.8-71.7 (5 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$), 70.1 (C-5), 70.2, 69.5, 69.3, 68.4, 67.9, 67.5, 67.2, 67.2, 67.0, 66.9, 64.7 (5 $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2\text{O}$, C-6), 30.9, 30.7, 30.4, 30.0, 29.7 (5 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$) ppm.

7-(Hydroxy-4-oxa-heptyl)-2,3,4,6-tetra-O-(7-hydroxy-4-oxa-heptyl)- α -D-glucopyranosid (5.32) :

Nach AAV 2 zur Hydroborierung von Doppelbindungen werden 427 mg (0.64 mmol) **5.31** in 25 ml trockenem THF gelöst, mit 14 ml (7.0 mmol) 9-BBN versetzt, und 1.5 h unter Rückfluß erhitzt. Nach der Zerstörung des



Hydridüberschußes mit etwas Eiswasser erfolgt die Oxidation bei 0°C durch die Zugabe von 7 ml 3M wäßriger NaOH und tropfenweiser Zugabe von 7 ml einer 30 %-igen Wasserstoffperoxidlösung. Nachdem über Nacht gerührt wurde, wird die wäßrige Phase mit K₂CO₃ gesättigt, separiert und zweimal mit je 40 ml THF gewaschen. Die gesammelten organischen Phasen werden eingengt, über MgSO₄ getrocknet und an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol 7:1→6:1), um **5.32** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 267 mg (0.35 mmol; 55 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 50.2^{\circ}$ ($c = 0.41$, CH₂Cl₂);

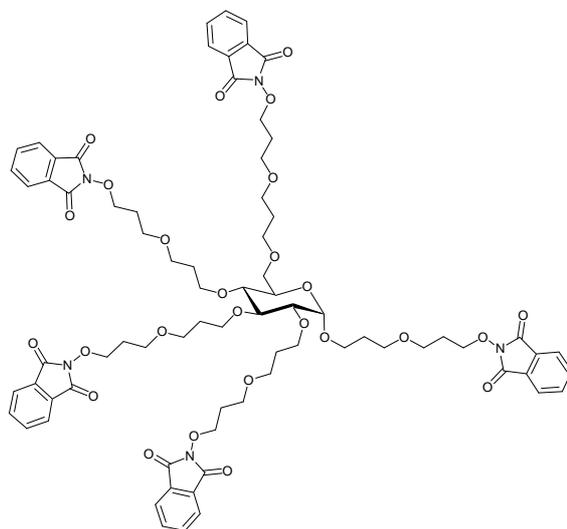
MALDI-TOF: $m/z = 783.6$ [M+Na]⁺ (760.5 ber. für C₃₆H₇₂O₁₆);

¹H-NMR (300 MHz, D₄-MeOH): δ 4.92 (s, 1H+H₂O, H-1), 3.95-3.48 (m, 44H, H-3, H-5, H-6, H-6', 5 OCH₂CH₂CH₂OCH₂CH₂CH₂OH), 3.31-3.22 (m, 2H, H-2, H-4), 1.98-1.76 (m, 20H, OCH₂CH₂CH₂O) ppm;

¹³C-NMR (75.47 MHz, D₄-MeOH): δ 99.0 (C-1), 84.1 (C-3), 83.0 (C-2), 80.4 (C-4), 72.9 (C-5), 72.6, 72.0, 71.8, 70.6, 70.3, 70.1-70.0, 69.9, 69.8, 66.9 (C-6, 5 (glc)OCH₂CH₂CH₂OCH₂), 61.2 (5 OCH₂CH₂CH₂OH), 34.9 (5 OCH₂CH₂CH₂OH), 33.1, 32.9, 32.7, 32.3, 32.0 (5 (glc)OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

8-Phthalimido-4,8-dioxa-oktyl-2,3,4,6-tetra-O-(8-phthalimido-4,8-dioxa-oktyl)-a-D-glucopyranosid (5.33) :

Es werden 266 mg (0.350 mmol) **5.32**, 1.07 g (4.08 mmol) Triphenylphoshin und 598 mg (3.67 mmol) *N*-Hydroxy-Phthalimid in 40 ml trockenen THF gelöst und mit 0.63 ml (4.05 mmol) DEAD versetzt. Die Lösung wird über Nacht gerührt. Anschließend wird eingengt, sowie an Kieselgel (Laufmittel:



Essigester/Cyclohexan 4:1) und mit Aceton an Sephadex LH-20 gereinigt, um **5.33** als farblosen Sirup zu isolieren.

Ausbeute: 452 mg (0.304 mmol; 87 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 21.9^{\circ}$ ($c = 1.28$, Aceton);

MALDI-TOF: $m/z = 1508.6$ [M+Na]⁺ (1485.6 ber. für C₇₆H₈₇N₅O₂₆);

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{D}_6\text{-Aceton}$): δ 7.88-7.75 (m, 20H, arom. H), 4.88 (d, 1H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.33-4.25 (m, 10H, 5 PhthNOCH₂), 3.44-3.88 (m, 34H, H-3, H-5, H-6, H-6', 5 (glc)OCH₂CH₂CH₂OCH₂), 3.21-3.13 (m, 2H, H-2, H-3), 2.02-1.94 (m, 10H, PhthNOCH₂CH₂CH₂O), 1.88-1.75 (m, 10H, (glc)OCH₂CH₂CH₂O) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.78 MHz, $\text{D}_6\text{-Aceton}$): δ 164.1 (CO), 135.4, 130.0, 123.9 (30 arom. C), 97.3 (C-1), 82.5 (C-3), 81.6 (C-2), 78.9 (C-4), 76.2-76.1 (5 PhthNOCH₂), 71.3 (C-5), 70.7, 70.4, 70.2, 68.8, 68.8, 68.5, 68.4, 68.4, 68.2, 68.0 (C-6, 4 (glc)OCH₂CH₂CH₂O, 5 (PhthNO)OCH₂CH₂CH₂O), 67.5-67.4 (5 PhthNOCH₂), 65.2 ((C-1_{glc})OCH₂), 31.7, 31.5, 31.4, 31.0, 30.6 (5 (glc)OCH₂CH₂CH₂O), 30.6-29.4 (5 PhthNOCH₂CH₂CH₂O, Aceton) ppm.

3-[3-([3-a-D-mannopyranosyloxy-1-methylpropyliden]amino)oxy]propoxy]propyl-2,3,4,6-tetra-O-{3-[3-([3-a-D-mannopyranosyloxy-1-methylpropyliden]amino)oxy]propoxy]propyl}-a-D-glucopyranosid (5.35) :

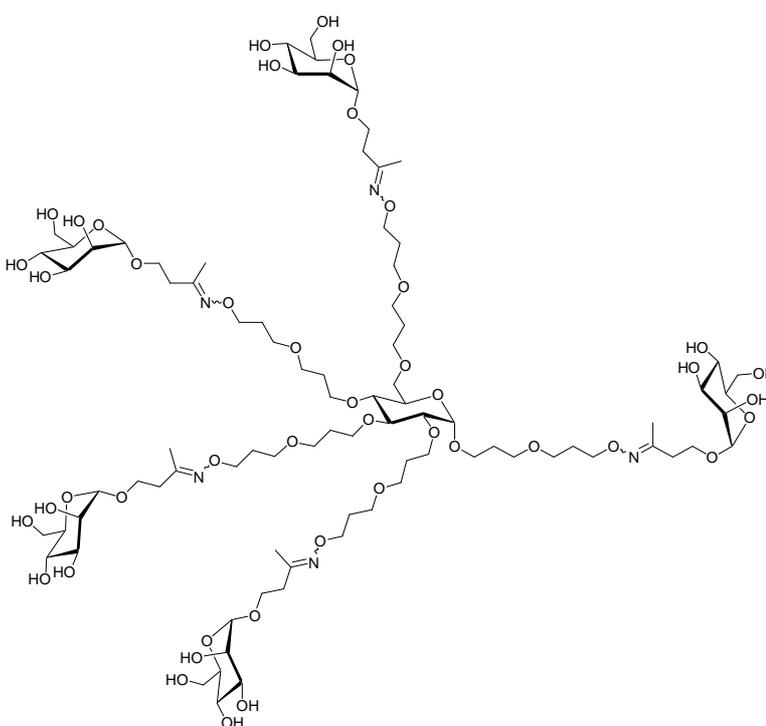
Es werden 148 mg (0.100 mmol) **5.33** in 40 ml trockenem THF gelöst und mit 0.1 ml (2.1 mmol) Hydrazinhydrat versetzt.

Die Lösung wird 1h gerührt, filtriert, eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wird in 8 ml Methanol gelöst und nach Zusatz von 150 mg (0.60 mmol) **5.30** 1h gerührt. Nach der Reinigung mit Methanol an Sephadex LH-20 wird **5.35** als farbloser Sirup isoliert.

Ausbeute: 112 mg (0.56 mmol; 56 %)

MALDI-TOF: $m/z = 2019.3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (1996.0 ber. für $\text{C}_{86}\text{H}_{157}\text{N}_5\text{O}_{46}$);

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{D}_4\text{-MeOH}$): δ 5.00-4.85 (s, 1H+D₂O, H-1_{glc}), 4.82-4.79 (s, 5H, H-1_{man}), 4.20-4.06 (m, 10H, CH₂CH₂ON=C), 4.00-3.48 (m, 74H, H-3_{glc}, H-5_{glc}, H-6_{glc}, H-6'_{glc}, 5 (glc)OCH₂CH₂CH₂OCH₂, 5 (man)OCH₂, 5 H-1_{man}, 5 H-2_{man}, 5 H-3_{man}, 5 H-4_{man}, 5 H-5_{man}, 5



H-6_{man}, 5 H-6'_{man}), 3.32-3.22 (m, 2H, H-2_{glc}, H-4_{glc}), 2.80-2.42 (m, 10H, 5 N=C(CH₃)CH₂CH₂O(man)), 2.05-1.80 (m, 35H, 10 OCH₂CH₂CH₂O, 5 CH₃) ppm;

¹³C-NMR (75.47 MHz, D₄-MeOH): δ 158.8-158.2 (5 C=N), 102.6-102.5 (5 C-1_{man}), 99.0 (C-1_{glc}), 84.1 (C-3_{glc}), 83.0 (C-2_{glc}), 80.4 (C-4_{glc}), 75.9 (5 C-5_{man}), 73.8-73.7 (5 C-3_{man}), 73.3 (5 C-2_{man}), 72.8 (C-5_{glc}), 72.5 (5 CH₂CH₂ON=C), 69.9-69.7 (5 OCH₂CH₂CH₂OCH₂), 71.9, 71.8, 70.6, 70.3, 70.0 (C-6_{glc}, 4 (glc)OCH₂), 69.6-69.5 (5 C-4_{man}), 67.0 ((C-1_{glc})OCH₂), 66.6 und 65.9 (5 (man)OCH₂*), 64.0 (5 C-6_{man}), 37.8 und 31.7 (5 E/Z 5N=C(CH₃)CH₂*, 5 OCH₂CH₂CH₂ON=C), 33.1, 32.9, 32.7, 32.2, 31.9 (5 (glc)OCH₂CH₂CH₂O), 22.0 und 15.8 (5 E/Z N=C(CH₃)CH₂*) ppm.

* die Verbindung liegt als Isomerengemisch vor. Die N=C(CH₃)CH₂ Kohlenstoffe der E- und Z-Isomere liegen bei 37.8 und 31.7 ppm, die Methylgruppen der E- und Z-Isomere bei 22.0 und 15.8 ppm.

Anhang

Literaturreferenzen, Abkürzungs- und Trivialnamenverzeichnis, Informationsressourcen im World Wide Web und die Danksagung

Literaturverzeichnis	Seite 199
Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Trivialnamen	Seite 209
Informationsressourcen im World Wide Web	Seite 211
Publikationen und präsentierte Poster	Seite 212
Danksagungen	Seite 214

Literaturverzeichnis

- 1) a) A. W. Bosman, H. M. Janssen, E. W. Meijer, *Chem. Rev.* **1999**, 1665-1688; b) G. R. Newkome, C. N. Moorefield, F. Vögtle, *Dendritic Molecules, Concepts Syntheses Perspectives*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, **1996**.
- 2) E. Buhleier, W. Wehner, F. Vögtle, *Synthesis* **1978**, 155-158.
- 3) C. J. Hawker, J. M. J. Fréchet, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 1010–1013.
- 4) A. W. Freeman, J. M. J. Fréchet, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 685-688.
- 5) S. Hecht, J. M. J. Fréchet, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 76-94, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 74-91.
- 6) A. Adronov, S. L. Gilat, J. M. J. Fréchet, K. Ohta, F. V. R. Neuwahl, G. R. Fleming, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1175-1185.
- 7) a) M. W. P. L. Baars, E. W. Meijer, *Top. Curr. Chem.* **2000**, *210*, 131-182; b) M. W. P. L. Baars, R. Kleppinger, M. H. J. Koch, S.-L. Yeu, E. W. Meijer, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1341-1344; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1285-1288.
- 8) a) M. T. Reetz, D. Giebel, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2614-2617; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2498-2501; b) H. Alper, P. Arya, S. C. Bourque, G. R. Jefferson, L. E. Manzer, *Can. J. Chem.* **2000**, *78*, 919-924; c) P. Arya, N. V. Rao, J. Singkhonrat, H. Alper, S. C. Bourque, L. E. Manzer, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1881-1885; d) C. Francavilla, F. V. Bright, M. Detty, *Org. Lett.* **1999**, 1043-1046.
- 9) W. Krause, N. Hackmann-Schlichter, F. K. Maier, R. Müller, *Top. Curr. Chem.* **2000**, *210*, 1261-108.
- 10) Th. K. Lindhorst, *Nachr. Chem. Techn. Lab.* **1996**, *44*, 1073–1079; R. Roy, *Carbohydr. Eur.* **1999**, *27*, 34-41.

- 11) a) Th. K. Lindhorst, Ch. Kieburg, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2083-2086; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1953-1956; b) D. Pagé, R. Roy, *Bioconjugate Chem.* **1997**, *8*, 714-723; c) D. Zanini, R. Roy *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2088-2095; d) P. R. Ashton, S. E. Boyd, C. L. Brown, S. A. Nepogodiev, E. W. Meijer, H. W. I. Peerlings, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 974-984.
- 12) K. M. A. Rahman, C. J. Durning, N. J. Turro, D. A. Tomalia, *Langmuir*, **2000**, *16*, 10154-10160.
- 13) H. W. I. Peerlings, E. W. Meijer, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1563-1570.
- 14) N. Jayaraman, S. A. Nepogodiev, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 1193-1199.
- 15) W. B. Turnbull, A. R. Pease, J. F. Stoddart, *ChemBioChem* **2000**, *1*, 70-74.
- 16) K. Sadalapure, Th. K. Lindhorst, *Angew. Chem.* **2000**, *122*, 2066-2069; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2010-2013.
- 17) a) Th. K. Lindhorst, *Chemie in unserer Zeit* **2000**, *34*, 38-52; b) K. J. Yarema, C. R. Bertozzi, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 49-61; c) B. G. Davis, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 3215-3237; d) R. A. Dwek, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683-720; e) C. R. Bertozzi, L. L. Kiessling, *Science* **2001**, *291*, 2357-2364.
- 18) R. A. Laine in H.-J. Gabius, S. Gabius (Eds), *Glycosciences, Status and Perspectives*, Chapman & Hall, Weinheim **1997**, 1-14.
- 19) U. Galli, K. L. Matta, *Transplantation* **1996**, 256-262.
- 20) N. Osman, I. F. C. McKenzie, K. Ostenried, Y. A. Ioannou, R. J. Desnick, M. S. Sandrin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1997**, *94*, 14677-14682.
- 21) J. E. Gestwicki, L. E. Strong, L. L. Kiessling, *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 583-591.
- 22) H. Lis, N. Sharon, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637-674.
- 23) aus Th. K. Lindhorst, "Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry" Wiley-VCH Verlag, Weinheim 2000, S. 185.
- 24) L. A. Lasky, *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 113-139.
- 25) E. E. Simanek, G. J. McGarvey, J. A. Jablonski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833-862.
- 26) W. J. Sanders, E. J. Gordon, O. Dwir, P. J. Beck, R. Alon, L. L. Kiessling *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 5271-5278.
- 27) Y. C. Lee, R. T. Lee, *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321-327.
- 28) T. W. Rademacher, R. B. Parekh, R. A. Dwek, *Annu. Rev. Biochem.* **1988**, *57*, 785-838.
- 29) a) L. K. Mahal, K. J. Yarema, C. R. Bertozzi, *Science* **1997**, *276*, 1125-1128; b) S. Tsuboi, Y. Isogal, N. Hada, J. K. King, O. Hinsgaul, M. Fukuda, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 27213-27216; c) L. K. Mahal, C. R. Bertozzi, *Chem. Biol.* **1997**, *4*, 415-422.
- 30) a) G. A. Lemieux, K. J. Yarema, C. L. Jacobs, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4278-4279; b) H. C. Hang, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1242-1243.

- 31) H.-G. Lerchen, J. Baumgarten, N. Piel, V. Kolb-Bachofen, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3884-3888; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3680-3683.
- 32) K. A. Karlsson, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1995**, *5*, 622-635.
- 33) I. S. Choi, N. Bowden, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908- 2953; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754-2794.
- 34) E. Fan, Z. Zhang, W. E. Minke, Z. Hou, C. L. M. J. Verlinde, W. G. J. Hol, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2663-2664.
- 35) P. I. Kitov, J. M. Sadowska, G. Mulvey, G. D. Armstrong, H. Ling, N. S. Pannu, R. J. Read, D. R. Bundle, *Nature* **2000**, *403*, 669-672.
- 36) G. B. Sigal, M. Mammen, G. Dahmann, G. M. Whitesides, *J. Am. Soc. Chem.* **1996**, *118*, 3789-3800.
- 37) a) D. Zanini, R. Roy *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3486-3491; b) J. D. Reuter, A. Myc, M. M. Hayes, Z. Gan, R. Roy, D. Qin, R. Yin, L. T. Piehler, R. Esfand, D. A. Tomalia, J. R. Baker Jr., *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 271-278.
- 38) P. Sears, C.-H. Wong, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2446-2471; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2300-2324.
- 39) M. von Itzstein, W. Y. Wu, G. B. Kok, M. S. Pegg, J. C. Dyason, B. Jin, T. Van Phan, M. L. Smythe, H. F. White, S. W. Oliver, *Nature* **1993**, *363*, 418-423.
- 40) a) S. J. Hultgren, C. H. Jones, S. Normark, S. in *Escherichia coli and Salmonella* (Neidhardt, F. C., Ed.) ASM Press **1996**, 2730-2756; b) P. Klemm, K. A. Krogfelt in *Fimbriae* (Klemm, P., Ed.) CRC Press Inc. **1994**, 9-26; c) G. E. Soto, S. J. Hultgren, *J. Bacteriol.* **1999**, *181*, 1059-1071; d) M. A. Mulvey, Y. S. LopezBoado, C. L. Wilson, R. Roth, W. C. Parks, J. Heuser, S. J. Hultgren, *Science* **1998**, *282*, 1494-1497.
- 41) D. Choudhury, A. Thompson, V. Stojanoff, S. Langermann, J. Pinkner, S. J. Hultgren, S. D. Knight, *Science* **1999**, *285*, 1061-1066.
- 42) M.-G. Baek, R. C. Stevens, D. H. Charych, *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 777-788.
- 43) P. G. Falk, L. Bry, J. Holgerson, J. I. Gordon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 1515-1519.
- 44) Michael Dubber, "Synthese oligovalenter Initiatorkerne für den Aufbau von Glycodendrimeren", Diplomarbeit, Universität Hamburg **1996**.
- 45) Ch. Kieburg, M. Dubber, Th. K. Lindhorst, *Synlett* **1997**, 1447-1449.
- 46) M. Dubber, Th. K. Lindhorst, *Carbohydr. Res.* **1998**, *310*, 35-41.
- 47) T. Wunberg, C. Kallus, T. Opatz, S. Henke, W. Schmidt, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2620-2622; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2503-2505.
- 48) C.-H. Wong, X.-S. Ye, Z. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7137-7138.
- 49) a) J. J. García-López, F. Santoyo-González, A. Vargas-Berenguel, J. J. Giménez-Martínez, *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 1775-1784; b) J. J. García-López, F. Hernández-Mateo, J. Isac-García, J. M. Kim, R. Roy, F. Santoyo-González, A. Vargas-Berenguel, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 522-531; c) R. Roy, F. Hernández-Mateo, F. Santoyo-González, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8743-8746.

- 50) D. A. Fulton, J. F. Stoddart, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1113-1116.
- 51) T. Furuike, S. Aiba, S.-I. Nishimura, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9909-9915.
- 52) R. de Santiago, A. Fernández-Mayoralas, E. García-Junceda, *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic* **2000**, *11*, 71-79.
- 53) a) F. Vögtle, M. Fischer, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 934-955; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 884-905; b) M. Liu, J. M. J. Fréchet, *Pharmaceutical Science and Technology Today* **1999**, *2*, 393-401.
- 54) M. X. Tang, C. T. Redemann, F. C. Szoka, *Bioconjugate Chem.* **1996**, *7*, 703-714.
- 55) D. A. Tomalia, H. Baker, J. R. Dewald, *Polym. J.* **1985**, *17*, 117-132.
- 56) A. D. Meltzer, D. A. Tirrell, A. A. Jones, P. T. Inglefield, D. M. Hedstrand, D. A. Tomalia, *Macromolecules* **1992**, *25*, 4541-4548.
- 57) a) R. Esfand, A. E. Beezer, J. C. Mitchell, L. J. Twyman, *Pharmaceutical Sciences* **1996**, *2*, 157-159; b) D. M. Watkins, Y. Sayed-Sweet, J. W. Klimash, N. J. Turro, D. A. Tomalia, *Langmuir* **1997**, *13*, 3136-3141; c) C. Kojima, K. Kono, K. Maruyama, T. Takagishi, *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 910-917; d) M. H. Kleinman, J. H. Flory, D. A. Tomalia, N. J. Turro, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 11472-11479.
- 58) O. Katzenelson, H. Zabrodsky Hel-Or, D. Avnir, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 174-181.
- 59) a) D. Seebach, J.M. Lapierre, K. Skobridis, G. Greiveldinger, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 457-458; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 440-442; b) D. Seebach, J.M. Lapierre, G. Greiveldinger, K. Skobridis, *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 1673-1688.
- 60) R. M. Nougier, M. Mchich, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 3296-3298.
- 61) S. L. Schreiber, R. E. Claus, J. Reagan, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 3867-3870.
- 62) A. F. Abdel-Magid, K. G. Carson, B. D. Harris, C. A. Maryanoff, R. D. Shah, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3849-3862.
- 63) R. A. W. Johnstone, A. H. Wilby, *Chem. Rev.* **1985**, *85*, 129-170.
- 64) a) S. Ram, L. D. Spicer, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 515-516; b) S. Ram, L. D. Spicer, *Synth. Commun.* **1987**, *17*, 415-418; c) C. F. Purchase II, O. P. Goel, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 457-459.
- 65) Ch. Kieburg, Th. K. Lindhorst, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 3885-3888.
- 66) H. Nonami, K. Tanaka, Y. Fukuyama, R. Erra-Balsells, *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1998**, *12*, 285-296.
- 67) G. R. Newkome, X. Lin, J. K. Young, *Synlett* **1992**, 53-54.
- 68) a) J. Málek, M. Cerný, *Synthesis*, **1972**, 217-234; b) H. C. Brown, P. M. Weisman, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5614-5620; c) Andreas Rathjens, Dissertation Universität Hamburg **1996**.
- 69) R. Appel, *Angew. Chem.* **1975**, *87*, 863-874; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, *14*, 801-811.
- 70) M. S. Gabson, R. W. Bradshaw, *Angew. Chem.* **1968**, *80*, 986-996; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1968**, *7*, 919-929.

- 71) H. Connell, W. Agace, P. Klemm, M. Schembri, S. Mårild, C. Svanborg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, *93*, 9827-9832.
- 72) M. A. Mulvey, Y. S. Lopez-Boado, C. L. Wilson, R. Roth, W. C. Parks, J. Heuser, S. J. Hultgreen, *Science* **1998**, *282*, 1494-1497.
- 73) a) S. Langermann, S. R. Palaszynski, M. Barnhart, G. Auguste, J. S. Pinkner, J. Burlein, P. Barren, S. Koenig, S. Leath, C. H. Jones, S. J. Hultgreen, *Science* **1997**, *276*, 607-611; b) S. Langermann, R. Möllby, J. E. Burlein, S. R. Palaszynski, C. G. Auguste, A. DeFusco, R. Strouse, M. A. Schenerman, S. J. Hultgreen, J. S. Pinkner, J. Winberg, L. Guldevall, M. Söderhäll, K. Ishikawa, S. Normark, S. Koenig, *The Journal of Infectious Diseases* **2000**, *181*, 774-778.
- 74) a) N. Firon, I. Ofek, N. Sharon, *Carbohydr. Res.* **1983**, *120*, 235-249; b) N. Firon, I. Ofek, N. Sharon, *Infect. Immun.* **1984**, *43*, 1088-1090; c) N. Firon, S. Ashkenazi, D. Mirlleman, I. Ofek, N. Sharon, *Infect. Immun.* **1987**, *55*, 472-476; d) N. Sharon, *FEBS Lett.* **1987**, *217*, 145-157; e) Th. K. Lindhorst, C. Kieburg, U. Krallmann-Wenzel, *Glycoconjugate J.* **1998**, *15*, 605-613; f) B. König, T. Fricke, A. Waßmann, U. Krallmann-Wenzel, Th. K. Lindhorst, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2307-2310.
- 75) S. Kötter, U. Krallmann-Wenzel, S. Ehlers, Th. K. Lindhorst *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 2193-2200.
- 76) S. Borman, *Chem. Eng. News* **2000**, *October 9*, 48-53.
- 77) E. F. Knights, C. G. Scoutern, H. C. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 7765-7770.
- 78) a) H. Paulsen, *Angew Chem.* **1982**, *94*, 184-201; *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 155-172; b) G. J. Boons, *Contemp. Org. Synth.* **1996**, *3*, 173-200; c) B. G. Davis, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 2137-2160.
- 79) S. Danishefsky, M. T. Bilodeau, *Angew Chem.* **1996**, *108*, 1482-1522; *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1380-1420.
- 80) R. J. Patch, H. Chen, C. R. Pandit, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1543-1546.
- 81) P. J. Garegg, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1997**, *52*, 179-205.
- 82) a) L. Yan, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 9239-9248; b) J. Gildersleeve, R. A. Pascal Jr., D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5961-5969.
- 83) R.R. Schmidt, W. Kinzy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21-123.
- 84) C. Roberts, R. Madsen, B. Fraser-Reid, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1546.
- 85) J. Fiandor, M. T. García-López, G. G. de las Heras, P. P. Méndez-Castrillón, *Synthesis* **1985**, 1121-1123.
- 86) A. V. Nikolaev, I. A. Ivanova, V. N. Shibaev, N. K. Kochetkov, *Carbohydr. Res.* **1990**, *204*, 65-78.
- 87) F. Bien, T. Ziegler, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1998**, *9*, 781-790.
- 88) G. Kretzschmar, U. Sprengard, H. Kunz, E. Bartnik, W. Schmidt, A. Toepfer, B. Hörsch, M. Krausse, D. Seiffge, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 13015-13030.
- 89) A. Kichler, F. Schubert, *Glycoconjugate J.* **1995**, *12*, 275-281.

- 90) T. Nukada, A. Berces, D. M. Whitfield, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9030-9045.
- 91) R. R. Schmidt, M. Behrendt, A. Toepfer, *Synlett* **1990**, 694-696.
- 92) I. Tvaroska, F. R. Taravel, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1995**, *51*, 15-61.
- 93) S. Hanessian, C. Hoornaert, *Carbohydr. Res.* **1985**, *137*, C14-C16.
- 94) S. Hanessian, D. Qiu, H. Prabhanjan, G. V. Reddy, B. Lou, *Can. J. Chem.* **1996**, *74*, 1738-1747.
- 95) a) H. C. Hansen, S. Haatja, J. Finne, G. Magnusson, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6974-6979; b) S. Hanessian, H. Prabhanjan, *Synlett*, **1994**, 868-870; c) J. Lehmann, M Scheuring, *Carbohydr. Res.* **1995**, *276*, 57-74; d) J. Lehmann, U. P. Weitzel, *Carbohydr. Res.* **1996**, *294*, 65-94; e) S. Jegge, J. Lehmann, *Carbohydr. Res.* **1984**, *133*, 247-254.
- 96) Th. K. Lindhorst, Habilitationsarbeit, Universität Hamburg 1998.
- 97) G. Wulff, G. Röhle, *Angew. Chem.* **1974**, *86*, 173-187; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1974**, *13*, 157-171.
- 98) F. Moulines, D. Astruc, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1394-1396; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1347-1349.
- 99) P. Langer, S. J. Ince, S. V. Ley, *Perkin Trans. I* **1998**, *23*, 3913-3916.
- 100) Th. K. Lindhorst, M. Dubber, U. Krallmann-Wenzel, S. Ehlers, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2027-2034.
- 101) B. Eulerling, M. Schmidt, U. Pinkernell, U. Karst, B. Krebs, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2102-2104; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 1973-1974.
- 102) L. L. Kiessling, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 696-703.
- 103) C. A. Lingwood, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 695-700.
- 104) a) J. Fantini, D. Hammache, O. Delézay, N. Yahi, C. André-Barrès, I. Rico-Lattes, A. Lattes, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 7245-7252; b) C. R. Bertozzi, D. G. Cook, W. R. Kobertz, F. Gonzalez-Scarano, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10639-10641.
- 105) S.-K. Choi, M. Mammen, G. M. Whitesides, *J. Am. Soc. Chem.* **1997**, *119*, 4103-4111.
- 106) Bovin, N. V. *Glycoconj. J.* **1998**, *15*, 431-446.
- 107) G. Lauc, R. T. Lee, J. Dunic, Y. C. Lee, *Glycobiology*, **2000**, *10*, 357-364.
- 108) a) V. Pozsgay, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 5983-5999; b) S. J. Danishefsky, J. R. Allen, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 882-911; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 836-863.
- 109) E. R. Wijsman, D. Filippov, A. R. P. M. Valentijn, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1996**, *115*, 397-399.
- 110) W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 2186-2188; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2096-2098.
- 111) J. Vernon, S. Roseman, Y. C. Lee, *Carbohydr. Res.* **1980**, *82*, 59-69.
- 112) P. H. Weigel, M. Naoi, S. Roseman, Y. C. Lee, *Carbohydr. Res.* **1979**, *70*, 83-91.

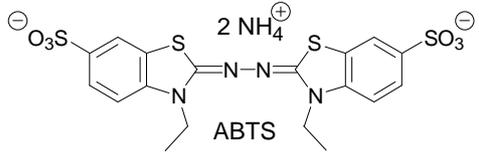
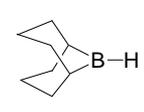
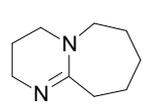
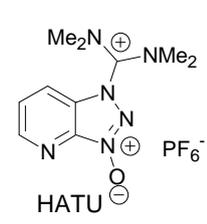
- 113) T. Takano, F. Nakatsubo, K. Murakami, *Carbohydr. Res.* **1990**, *203*; 341-342.
- 114) H. C. Brown, J. C. Chen, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3978-3988.
- 115) a) H. Staudinger, E. Hauser, *Helv. Chim. Acta* **1921**, *4*, 861-886; b) E. F. V. Scriven, K. Turnbull, *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 297-368; c) Y. G. Gololobov, L. F. Kasukhin, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 1353-1406; d) E. Saxon, C. R. Bertozzi, *Science* **2000**, *287* (5460), 2007-2010; e) B. L. Nilsson, L. L. Kiessling, R. T. Raines, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 1939-1941; f) P. Boullanger, V. Maunier, D. Lafont, *Carbohydr. Res.* **2000**, *324*, 97-106.
- 116) K. Takeda, Y. Akagi, A. Saiki, T. Tsukahara, H. Ogura, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4569-4572.
- 117) C. J. Biermann, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1988**, *46*, 251-272; G. Gray, persönliche Mitteilung.
- 118) a) H. Henke, "Präparative Gelchromatographie an Sephadex LH-20", Alpha Druck GmbH, Goldbach **1994**; b) "Sephadex LH-20 chromatography in organic solvents", Pharmacia Fine Chemicals AB, August **1978**.
- 119) K. D. McReynolds, M. J. Hadd, J. Gervay-Hague, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 1021-1031.
- 120) a) C. R. Bertozzi, M. Bednarski, *Carbohydr. Res.* **1992**, *223*, 243-253; b) C. R. Bertozzi, M. D. Bednarski, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5543-5546.
- 121) H. Ogura, T. Kobayashi, K. Shimizu, K. Kawabe, K. Takeda, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4569-4572.
- 122) Sven Kötter, Dissertation Universität Hamburg **2000**.
- 123) W. Rettig, B. Strehmel, S. Schrader, H. Seifert, "Applied Fluorescence in Chemistry, Biology and Medicine", Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 1999.
- 124) R. V. Weatherman, L. L. Kiessling, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 534-538.
- 125) G. Limberg, G. C. Slim, C. A. Compston, P. Stangier, M. M. Palcic, R. H. Furneaux, *Liebigs Ann. Chem.* **1996**, 1773-1784.
- 126) S. Cao, F. D. Tropper, R. Roy, *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 6679-6686.
- 127) R. Corradini, A. Dossena, G. Galaverna, R. Marchelli, A. Panagia, G. Sartor, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6283-6289.
- 128) E. J. Gordon, J. E. Gestwicki, L. E. Strong, L. L. Kiessling, *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 9-16.
- 129) J. Y. Zhao, N. J. Dovichi, O. Hingsaul, S. Gosselin, M. M. Palcic, *Glycobiology* **1994**, *4*, 239-242.
- 130) S.-K. Choi, S. Lee, G. M. Whitesides, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8739-8745.
- 131) H. Rinderknecht, *Experientia* **1960**, *16*, 430-431.
- 132) a) U. Anthoni, C. Christophersen, P. H. Nielsen, A. Püschl, K. Schaumburg, *Structural Chemistry*, **1995**, *6*, 161-165; b) "Handbook of Fluorescent Probes and Research Products", Molecular Probes Inc., Eugene (Oregon) **2000**; c) Iris Kräuter, Dissertation

- Universität Karlsruhe (TH) **1999**; d) N. O. Mchedlov-Petrossyan, V. I. Kukhtik, *Dyes and Pigments* **1994**, *24*, 11-35.
- 133) a) A. Mishra, R. K. Behera, P. K. Behera, B. K. Mishra, G. B. Behera, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1973-2011; b) Hans-Hermann Johannes, Dissertation Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig, **2000**; c) Ulfert Meyer-Beeck, Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2000**.
- 134) A. J. G. Mank, H. T. C. van der Laan, H. Lingeman, C. Gooljer, U. A. Th. Brinkman, N. H. Veithorst, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1742-1748.
- 135) H. Kamitakahara, T. Suzuki, N. Nishigori, Y. Suzuki, O. Kanie, C.-H. Wong, *Angew. Chem.* **1998**, *37*, 1607-1611; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1524-1528.
- 136) a) G. Banerjee, G. Nandi, S. B. Mahato, A. Pakrashi, M. K. Basu, *J. Antimicrob. Chemother.* **1996**, *38*, 145-150; b) S. Kohno, K. Tomono, S. Maesaki, *Acta Medica Nagasakiensia* **1998**, *43*, 12-18; c) D. Long, J. F. Berson, D. G. Cook, R. W. Doms, *J. Virol.* **1994**, *269*, 24349-24353.
- 137) S. A. DeFrees, L. Phillips, L. Guo, S. Zalipsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6101-6104.
- 138) a) O. Hayashida, M. Kato, K. Akagi, Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11597-11598; b) K. Fujimoto, T. Miyata, Y. Aoyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3558-3559.
- 139) a) D. H. Charych, Q. Cheng, A. Reichert, G. Kuziemko, M. Stroh, J. O. Nagy, W. Spevak, R. C. Stevens, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 113; b) W. Spevak, C. Foxall, D. H. Charych, F. Dasgupta, J. O. Nagy, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1018-1020; c) W. Spevak, C. Foxall, D. H. Charych, F. Dasgupta, J. O. Nagy, *J. Med. Chem.* **1996**, *118*, 6101-6104; d) Z. Ma, J. Li, M. Liu, J. Cao, Z. Zou, J. Tu, L. Jiang, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12678-12679; e) Z. Ma, J. Li, L. Jiang, J. Cao, P. Boullanger, *Langmuir* **2000**, *16*, 7801-7804; f) R. E. Bruehl, F. Dasgupta, T. R. Katsumoto, J. H. Tan, C. R. Bertozzi, W. Spevak, D. J. Ahn, S. D. Rosen, J. O. Nagy, *Biochemistry* **2001**, *40*, 5964-5974.
- 140) D. T. McQuade, A. E. Pullen, T. M. Swager, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2537-2574.
- 141) L. Kole, K. Sarkar, S.B. Mahato, P.K. Das, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1994**, *200*, 351-358.
- 142) J. L. Nieva, R. Bron, J. Corver, J. Wilschut, *EMBO J.* **1994**, *13*, 2797-2808.
- 143) L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.
- 144) A. Patel, Th. K. Lindhorst, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2674-2680.
- 145) I. Abdelmoty, F. Albericio, L. A. Carpino, B. M. Foxman, S. A. Kates, *Lett. in Peptide Science* **1994**, *1*, 57-67.
- 146) a) L. A. Carpino, H. Imazumi, B. M. Foxman, M. J. Vela, P. Henklein, A. El-Faham, J. Klose, M. Bienert, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 2253-2256; b) Christiane Hanay, Dissertation Humboldt-Universität zu Berlin, **1998**.
- 147) B. Madison, I. Ofek, S. Clegg, S. N. Abraham, *Infection and Immunity* **1994**, *62*, 843-848.
- 148) Ingo Aumüller, Dissertation Universität Kiel (in Arbeit).

- 149) J. W. Blunt, J. B. Stothers, *Organic Magnetic Resonance*, **1977**, 9, 439-464.
- 150) T. Miura, M. Aonuma, T. Kajimoto, Y. Ida, M. Kawase, Y. Kawase, Y. Yoshida, *Synlett* **1997**, 650-652.
- 151) L. F. Tietze, M. Arlt, M. Beller, K.-H. Glüsenkamp, E. Jähde, M. F. Rajewsky, *Chem. Ber.* **1991**, 124, 1215-1221.
- 152) R. Roy, D. Pagé, S. F. Perez, V. V. Bencomo, *Glycoconjugate J.* **1998**, 15, 251-263.
- 153) a) C. Grandjean, C. Rommens, H. Gras-Masse, O. Melnyk, *Angew Chem.* **2000**, 112, 1110-1114; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 1068-1072; b) C. Grandjean, H. Gras-Masse, O. Melnyk, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 230-239.
- 154) M. Wießler, C. Kliem, P. Lorenz, K. Klokow, H. Braun, *20th International Carbohydrate Symposium*, Hamburg 2000, Poster B-372.
- 155) a) J. Nagy, P. Wang, J. Gilbert, M. Schaefer, T. Hill, M. Callstrom, M. Bednarski, *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 4501-4502; b) M. A. Sparks, K. W. Williams, G. M. Whitesides, *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 778-783.
- 156) Th. K. Lindhorst, M. Dubber, U. Krallmann-Wenzel, S. Ehlers, nicht veröffentlichte Ergebnisse.
- 157) B. Giese, J. Dupuis, M. Leising, M. Nix, H. J. Lindner, *Carbohydr. Res.* **1987**, 171, 329-341.
- 158) a) N. J. Davis, S. L. Flitsch, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 1181-1184; b) A. E. J. de Nooy, A. C. Besemer, H. van Bekkum, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1994**, 113, 165-166.
- 159) a) P. Kovac, *Carbohydr. Res.* **1973**, 31, 323-330; b) K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones, B.C.L. Weedon, *J. Chem. Soc.* **1946**, 148, 39-45.
- 160) F. Albericio, J. M. Bofill, A. El-Faham, S. A. Kates, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 9678-9683.
- 161) Ch. Kieburg, K. Sadalapure, Th. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2035-2040.
- 162) K. S. Feldman, K. M. Masters, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 8945-8947.
- 163) Christoffer Kieburg, Dissertation Universität Hamburg **1997**.
- 164) Th. K. Lindhorst, C. Kieburg, *Synthesis*, **1995**, 1228-1230.
- 165) Mark Walter, Diplomarbeit Universität Hamburg **2000**.
- 166) P. R. Ashton, E. F. Hounsell, N. Jayaraman, T. M. Nilsen, N. Spencer, J. F. Stoddart, M. Young, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 3429-3437.
- 167) I. C. Choong, J. A. Ellman, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 6528-6529.
- 168) a) L. A. Marcaurelle, C. R. Bertozzi, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 1384-1390; b) E. C. Rodriguez, L. A. Marcaurelle, C. R. Bertozzi, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 7134-7135.
- 169) O. Mitsunobu, *Synthesis* **1981**, 1-28.
- 170) a) M. von Itzstein, I. D. Jenkins, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, 437-445; b) M. von Itzstein, I. D. Jenkins, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, 2057-2060.

- 171) a) E. Grochowski, J. Jurczak, *Synthesis* **1976**, 682-684; b) B. K. Shull, T. Sakai, J. B. Nichols, M. Koreeda, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8294-8303.
- 172) W. Huber, E. Fröhlke, *Chromatographia* **1972**, *5*, 256-257.
- 173) T. Yamagaki, Y. Mitsuishi, H. Nakanishi, *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1998**, *12*, 307-311.
- 174) S. Sun, B. Schilling, L. Tarantino, M. V. Tullius, B. W. Gibson, R. S. Munson Jr., *J. Bacteriol.* **2000**, *182*, 2292-2298.
- 175) A. Dell, H. R. Morris, *Science* **2001**, *291*, 2351-2356.
- 176) R. Zenobi, R. Knochenmuss, *Mass. Spectrom. Rev.* **1998**, *17*, 337-338.
- 177) E. Nordhoff, F. Kirpehas, P. Roepstorff, *Mass. Spectrom. Rev.* **1996**, *15*, 67-137.
- 178) M. W. Nielen, *Mass. Spectrom. Rev.* **1999**, *18*, 309-344.
- 179) J. Wang, P. Sporns, N. H. Low, *J. Agric. Food. Chem.* **1999**, *47*, 1549-1557.
- 180) P. M. St. Hilaire, L. Cipolla, U. Tedebark, M. Meldal, *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1998**, *12*, 1475-1484.
- 181) Einweisung Dr. Vladimir Havlicek, Academy of Sciences, Prag.
- 182) P. Klemm, B. J. Jørgensen, I. van Die, H. de Ree, H. Bergmans, *Mol. Gen. Genet.* **1985**, *199*, 410-414.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Trivialnamen

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift	
ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure) Diammoniumsalz	
ACN	Acetonitril	
9-BBN	9-Borabicyclo[3.3.1]nonan	
Bn, Bz, Ph	Benzyl, Benzoyl, Phenyl	
Boc	tert-Butyloxycarbonyl	
Cbz, Z	Benzyloxycarbonyl	
CCA	α -Cyano-4-hydroxymizsäure	
CRD	Kohlenhydrat erkennende Domäne	
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en	
DC	Dünnschichtchromatographie	
DEAD	Diethylazodicarboxylat	
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure	
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropyl-ethylamin	
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	
EE	Essigsäureethylester	
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay	
eq	Äquivalente	
Et, EtOH	Ethyl, Ethanol	
ESI(-MS)	Elektrospray(-Massenspektrum)	
FAB	Fast Atom Bombardment	
frc	Fructose	
HATU	<i>N</i> -[(Dimethylamino)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]pyridin-1-ylmethyl]- <i>N</i> -methylmethanaminiumhexafluorophosphat- <i>N</i> -oxid	
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence, inverse ^1H - ^{13}C -NMR-Korrelationspektroskopie bei der nur Kopplungen über 2 bis 3 Bindungen sichtbar sind	
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence, inverse ^1H - ^{13}C -NMR-Korrelationspektroskopie	
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	

<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
gal	Galactose
glc	Glucose
GlcNAc	<i>N</i> -Acetyl-glucosamin
GPC	Gelpermeationschromatographie
IC ₅₀	Inhibitionstiter, bei dem eine 50 %-ige Inhibition erreicht wird
MALDI-TOF	Matrix-assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight
Man	Mannose
Me, MeOH	Methyl, Methanol
nH	nor-Harmane
NMP	1-Methyl-2-pyrrolidon
NMR-Spektrum	Kernspinresonanzspektrum
PBS-Puffer	Phosphate Buffer Saline (Pufferlösung für ELISA Tests)
PhthN	Phthalimidyl
PSD (FAST)	Post-Source-Decay
PTC	Phasentransferkatalyse
RIT	relativer Inhibitionstiter, bezogen auf eine Vergleichssubstanz
rt	Raumtemperatur
s, min, h, d	Sekunden, Minuten, Stunden, Tage
Thimerosal	Natrium 2-((ethylmercurio)-thio)-benzoat
TBABr	Tetrabutylammoniumbromid
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
TMSOTf	Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester
UV	Ultraviolett



Informationsressourcen im World Wide Web

Trotz der Kurzlebigkeit vieler Links im Internet sollen hier einige Verweise in das World Wide Web (WWW) gegeben werden:

- die vorliegende Arbeit im pdf-Format findet man unter
<http://www.chemie.uni-hamburg.de/bibliothek/diss2001.html>
- den Arbeitskreis Lindhorst findet man unter
<http://scholle.oc.uni-kiel.de/lind/lindhome.htm>
- die beste Suchmaschine findet man unter
<http://www.google.com>
- zur Literatur-Recherchen wurden u. a. genutzt
<http://www.chemweb.com>
<http://www.bmn.com>
http://pubs.acs.org/journals/aoc/aoc_search.html
<http://www.rsc.org/is/journals/current/ejs.htm>
http://www.wiley-vch.de/contents/basic_key_list.html
wobei einige Suchroutinen nur aus dem Computernetzwerk der Universität Hamburg, nicht aber aus dem Kieler Universitätsnetz zugänglich sind.
- Möglichkeiten zur Chemikalien-Substruktur-Suche findet man unter
<http://www.sigma-aldrich.com> und
<http://www.acros.be>
- interessante Chemie-Portale zum WWW sind u.a.
<http://www.liv.ac.uk/Chemistry/Links/links.html> und
<http://www.chemie.de/>

Publikationen

die aus der vorliegenden Arbeit bis zum Zeitpunkt der Drucklegung hervorgegangen sind

- C. Kieburg, M. Dubber, Th. K. Lindhorst, *Synlett* **1997**, 1447-1449.
- M. Dubber, Th. K. Lindhorst, *Carbohydr. Res.* **1998**, 310, 35-41.
- M. Dubber, Th. K. Lindhorst, *Chem. Commun.* **1998**, 1265-1266.
- Th. K. Lindhorst, M. Dubber, U. Krallmann-Wenzel, S. Ehlers, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2027-2034.
- M. Dubber, Th. K. Lindhorst, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5275-5281.
- M. Dubber, Th. K. Lindhorst, *Synthesis* **2001**, 327-330.

Präsentierte Poster

auf internationalen, öffentlichen Konferenzen

- Eurocarb IX, Utrecht 1997, Poster A155.
- RSC Carbohydrate Group Spring Meeting, Birmingham UK 1998, Poster 42.
- 7th Belgian Organic Synthesis Symposium, Louvain-la-Neuve 1998, Poster A-043.
- 19th ICS San Diego 1998, Poster BP 162.
- 218th ACS National Meeting New Orleans August 1999, Poster CARB 57.
- Analysis of Carbohydrates, Stockholm September 1999.
- 1st International Dendrimer Symposium, Oktober 1999 Frankfurt, Poster 19.
- 219th ACS National Meeting San Francisco March 2000, Poster ORG 109.
- 20th ICS Hamburg 2000, Poster B-136.

Lebenslauf

21.02.65 Michael Dubber, geboren in Hamburg

Schulbildung

1971-1977 Schule Zollenspieker
1977-1981 Schule Kirchwerder-Bei der Kirche
1981-1985 Luise-Gymnasium Bergedorf
19.6.1985 Abitur

Akademische Ausbildung

Oktober 1985 bis Dezember 1995 Studium der Chemie an der Universität Hamburg
Dezember 1989 Vordiplom
Dezember 1995 Diplom
Februar 1996 bis September 1996 Diplomarbeit am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. J. Thiem unter Betreuung von Prof. Dr. Th. K. Lindhorst, Titel: „*Synthese oligovalenter Initiatorkerne für den Aufbau von Glycodendrimeren*“
Oktober 1996 Beginn der Doktorarbeit im Arbeitskreis von Prof. Dr. J. Thiem unter Betreuung von Prof. Dr. Th. K. Lindhorst

Beruflicher Werdegang

Januar 1997 - Dezember 1997 wissenschaftlicher Mitarbeiter im Sonderforschungsbereich 470 an der Universität Hamburg
Januar 1998 - März 2000 wissenschaftlicher Mitarbeiter im BMBF-Projekt Glycobiotechnologie an der Universität Hamburg
April 2000 - Oktober 2000 wissenschaftlicher Mitarbeiter im BMBF-Projekt Glycobiotechnologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Danksagungen

mein besonderer Dank gilt:

- Prof. Dr. Thisbe K. Lindhorst
- meiner stets hoch motivierten und fröhlichen, selbständig arbeitenden CTA Claudia Heuer
- den Analytischen Abteilungen in Hamburg und Kiel: Dr. Volker Sinnwell und Inge Schult (NMR Abteilung Uni. Hamburg), Dr. Wolff, Dirk Meier, Holger Franzen (NMR Abteilung Uni. Kiel), Frau Meiners (FAB Uni. Hamburg) und Frau Albers (Elementaranalyse Uni. Hamburg)
- Ulrike Krallmann-Wenzel (Forschungszentrum-Borstel) für ELISA Messungen und für das ELISA-Training
- den Gründungsmitgliedern des AK Lindhorst Christoffer Kieburg und Sven Kötter
- Angela Scheppokat für Englisch Korrekturen
- Lars Kröger, Erika Paul, Vladimir Havlicek, Elmar Schneider, Sven Kötter und "Nico" Nagorny für Hilfestellungen im Zusammenhang mit den MALDI-TOF-Geräten
- Ingo Aumüller, Nico Nagorny und Niels Röckendorf für das Korrekturlesen dieser Arbeit
- Anu, Ingo und Kashi mit denen ich hoffentlich noch gemeinsame Veröffentlichungen haben werde
- allen "Neumitarbeitern" des AK Lindhorst in Kiel (Christoph, Edda, Elvira, Florian, Heike, Ingo, Maja, Mark, Marko, Mike, Niels, Oliver und Sonja)
- und allen Mitarbeitern des AK Thiem in Hamburg (Andreas, Angela, Barbara, Christian, Daniel, allen Dirk's, Erzsébet, Gundel, Gunnar, Hayley, Ira, Karin, Kirsten, Laurent, Lars, Lisa, Markus, Martina, Michael, Matthias, Niko, Ralf, Raul, René, Saskia, Swantje, Synke, Ulrike und Ulja)
- und natürlich allen Mitarbeitern des TVP in Hamburg und Kiel, die mir Literatur aus aller Welt besorgt, mich mit den modernsten Rotationsverdampfern versorgt, mir auf Wunsch das Labor neu gestrichen und allerlei Handwerksarbeiten erledigt haben.