

# **Darstellung Kohlenhydrat-funktionalisierter Goldoberflächen und –nanopartikel:**

**Ein neuartiger modularer Ansatz für die Anwendung von  
2D- und 3D-Glyco-SAMs in Wechselwirkungsstudien**

## **Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades  
am Fachbereich Chemie  
der Fakultät für Mathematik, Informatik  
und Naturwissenschaften  
der Universität Hamburg

vorgelegt von

**Sebastian Kopitzki**

aus Hamburg

Hamburg 2012

1. Gutachter: Prof. Dr. Joachim Thiem
2. Gutachter: Prof. Dr. Chris Meier

Tag der Disputation: 11.01.2013

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juni 2006 bis Februar 2010 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Joachim Thiem am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. J. Thiem möchte ich besonders für den wissenschaftlichen Freiraum bei der Gestaltung der Arbeit und für die interessante Aufgabenstellung danken. Er hat stets mit freundlicher Betreuung und regem Interesse den Verlauf dieser Arbeit begleitet und darüber hinaus einen Besuch am Centre of Carbohydrate Recognition and Signalling der Universität Kopenhagen ermöglicht. Bei Herrn Prof. Dr. Knud J. Jensen, Kopenhagen, möchte ich mich für die Kooperation bei der Synthese der Goldnanopartikel und die Gastfreundschaft während des Forschungsaufenthaltes bedanken.

für

Dagrun

und

meine Eltern

„...The circle within which the individual  
research worker, especially as an experimenter,  
can distinguish himself is continually shrinking in size.

Consequently the progress of science is not so much  
determined by brilliant achievements of individual workers,  
but rather by the planned collaboration of many observers...”

**EMIL FISCHER**

(aus “Syntheses in the Purine and Sugar Group”, *Nobel Lecture*, 12. Dezember 1902)

## Abkürzungsverzeichnis

AFM	Atomic Force Microscope (engl.), Rasterkraftmikroskop
AIBN	Azo-bis-(isobutyronitril)
<i>äq</i>	äquatorial
AuNP	Goldnanopartikel
<i>ax</i>	axial
BSA	Bovine Serum Albumin (engl.), Rinderalbumin
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CCI	Carbohydrate Carbohydrate Interaction (engl.), Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkung,
CD-Antigen	Clusters of Differentiation (engl.), „Unterscheidungsgruppen“; Gruppe immunphänotypischer Oberflächenmerkmale von Zellen
CHO	Chinese Hamster Ovary (engl.), Ovarien des chinesischen Hamsters
CMP	Cytidinmonophosphat
ConA	Concanavalin A
CPI	Carbohydrate Protein Interaction (engl.), Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkung
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
DC-SIGN	Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin (engl.), auch CD209
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMTST	Dimethyl(methylthio)sulfoniumtriflat
DPS	Diphenylsulfid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EE	Essigester, Ethylacetat
Gg3-Gangliosid	GalNAc $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)Glc
G <sub>M3</sub> -Gangliosid	Neu5Ac $\alpha$ (2 $\rightarrow$ 3)Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)GlcNAc
GNP	Glyconanopartikel
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
GSL	Glycoshingolipid
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
IDCP	Iodoniumdicollidinperchlorat
Le <sup>a</sup>	Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 3)[Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4)]GlcNAc
Le <sup>x</sup>	Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc
Le <sup>x-<math>\beta</math>-Fuc</sup>	Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Fuc $\beta$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc
Le <sup>x-D<math>\rightarrow</math>L</sup>	L-Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[D-Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc

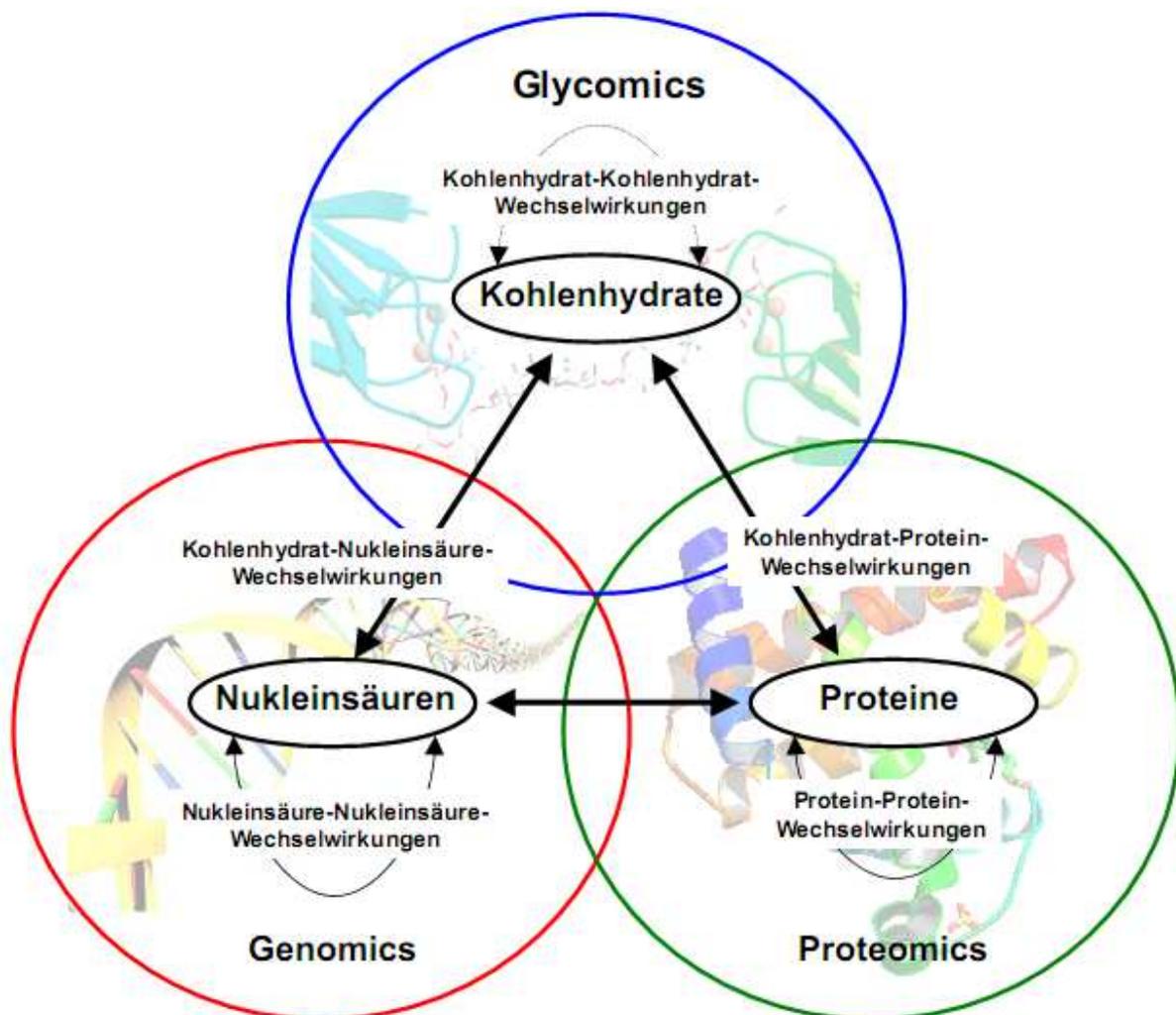
Le <sup>x-Glc</sup>	Glcβ(1→4)[Fucα(1→3)]GlcNAc
Le <sup>x-L-Gal</sup>	L-Galβ(1→4)[Fucα(1→3)]GlcNAc
Le <sup>x-Rham</sup>	Galβ(1→4)[Rhamα(1→3)]GlcNAc
Le <sup>y</sup>	Fucα(1→2)Galβ(1→4)[Fucα(1→3)]GlcNAc
M6P	Mannose-6-Phosphate
MALDI	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (engl.), Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation
MeOTf	Methyltrifluormethansulfonat
MolS	Molekularsieb
MRI	Magnetic Resonance Imaging (engl.), Magnetresonanztomographie
NIS	<i>N</i> -Iodosuccinimid
PE	Petrolether
PPI	Protein Protein Interaction (engl.), Protein-Protein-Wechselwirkung
PS-Ph <sub>3</sub> P	Polymer-gebundenes Triphenylphosphin
pTSA	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
RCA <sub>120</sub>	<i>ricinus communis</i> Agglutinin
RT	Raumtemperatur
SAM	Self-Assembled Monolayer (engl.), selbst angeordnete Monolage
SPR	Surface Plasmon Resonance (engl.), Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert.</i> -Butyldimethylsilyl-
TBDPS	<i>tert.</i> -Butyldiphenylsilyl-
TDCI	1,1'-Thiocarbonyldiimidazol
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TES	Triethylsilyl-
TFA	Trifluoressigsäure
TfOH	Trifluormethansulfonsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMSOTf	Trimethylsilyltrifluormethansulfonat
TOF	Time Of Flight (engl.), Flugzeitmassenspektrometer
TosCl	<i>para</i> -Toluolsulfonsäurechlorid
UDP	Uridindiphosphat
WGA	Wheat Germ Agglutinin (engl.), Weizenkeimagglutinin

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>2</b>
1.1	KOHLLENHYDRAT-BASIERTE ERKENNUNGSPROZESSE.....	3
1.1.1	<i>Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen</i> .....	5
1.1.2	<i>Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen</i> .....	7
1.2	„CHEMICAL TOOLS“ – CHEMISCHE WERKZEUGE FÜR DIE GLYCOBIOLOGIEFORSCHUNG.....	13
1.2.1	<i>Chemische Methoden zur in vivo-Markierung von Glycokonjugaten</i> .....	14
1.2.2	<i>Kohlenhydrat-funktionalisierte Oberflächen: Microarrays, Nanopartikel und Sensoroberflächen</i> .....	16
<b>2.</b>	<b>ZIELSETZUNG</b> .....	<b>18</b>
<b>3.</b>	<b>SYNTHESEN</b> .....	<b>21</b>
3.1	SYNTHESE VON MANNOSE-6-THIOPHOSPHATEN ALS AFFINITÄTSCHROMATOGRAPHIE-LIGANDEN .....	22
3.2	SYNTHESE BENZALDEHYD-FUNKTIONALISIERTER MONOSACCHARIDE .....	32
3.3	SYNTHESE BENZALDEHYD-FUNKTIONALISIERTER DISACCHARIDE.....	46
3.4	SYNTHESE BENZALDEHYD-FUNKTIONALISIERTER LE <sup>x</sup> -ANALOGA.....	51
3.5	SYNTHESE KOHLLENHYDRAT-FUNTIONALISIERTER GOLDNANOPARTIKEL.....	86
<b>4.</b>	<b>OBERFLÄCHENPLASMONENRESONANZ-EXPERIMENTE</b> .....	<b>109</b>
4.1	SPR-UNTERSUCHUNGEN ZU KOHLLENHYDRAT-PROTEIN-WECHSELWIRKUNGEN.....	109
4.2	SPR-UNTERSUCHUNGEN ZU KOHLLENHYDRAT-KOHLLENHYDRAT-WECHSELWIRKUNGEN.....	152
<b>5.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>174</b>
<b>6.</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>176</b>
<b>7.</b>	<b>EXPERIMENTELLER TEIL</b> .....	<b>178</b>
7.1	ALLGEMEINE ARBEITSMETHODEN.....	178
7.2	SYNTHESE UND CHARAKTERISIERUNG DER CITRAT-STABILISIERTEN GOLD-NANOPARTIKEL (AUNP).....	181
7.3	SYNTHESE UND CHARAKTERISIERUNG DER GLYCO-AUNPS.....	186
7.4	SPR-MESSUNGEN.....	191
7.5	ALLGEMEINE ARBEITSVORSCHRIFTEN.....	195
7.6	SPEZIELLE ARBEITSSVORSCHRIFTEN .....	197
<b>8.</b>	<b>LITERATUR</b> .....	<b>296</b>
<b>9.</b>	<b>ANHANG I: BENZALDEHYD-FUNKTIONALISIERTE MONO- UND DISACCHARIDE</b> .....	<b>315</b>
<b>10.</b>	<b>ANHANG II: BENZALDEHYD-FUNKTIONALISIERTE LE<sup>x</sup>-TRISACCHARID-ANALOGA</b> .	<b>316</b>
<b>11.</b>	<b>ANHANG III: GLYCONANOPARTIKEL (GNP)</b> .....	<b>317</b>
<b>12.</b>	<b>ANHANG IV: GLYCO-SAMS</b> .....	<b>319</b>

## 1. Einleitung

Die moderne Chemie und Biologie haben die traditionellen Grenzen ihres Faches sowohl methodisch als auch inhaltlich überschritten. Dies führt nicht nur zur gegenseitigen Öffnung, sondern auch zu einer engeren Kooperation mit anderen naturwissenschaftlichen Grundlagen- und Anwendungsfächern wie der Physik, der Informatik oder der Medizin. Diese Verzahnung erfordert eine Neuorientierung bzw. Umstrukturierung der klassischen Naturwissenschaften. Durch die Einrichtung neuer Studiengänge in „*Life Science*“ (z. B. Molecular Life Science an der Universität Hamburg) und durch andere Denkanstöße wird diesem Umstand Rechnung getragen.<sup>[1]</sup>



**Abb. 1.** Schematische Darstellung der Wechselwirkungen der häufigsten Biopolymere bzw. -oligomere (Kohlenhydrate, Nucleinsäuren und Proteine) mit- und untereinander.

„*Life Science*“ als Entwicklung der herkömmlichen Naturwissenschaften lässt sich in die Gebiete *Glycomics*, *Genomics* und *Proteomics* unterteilen (Abb. 1). In Analogie zur Genomik versteht man unter Glycomik die Erforschung aller Glycan-Strukturen eines Zelltyps oder

## 1. Einleitung

Organismus und deren Funktion sowie die Entwicklung neuartiger biochemischer, technologischer, chemischer und physikalischer Methoden. Diese Methoden ermöglichen eine systematische Untersuchung des „Glycomes“.<sup>[2]</sup>

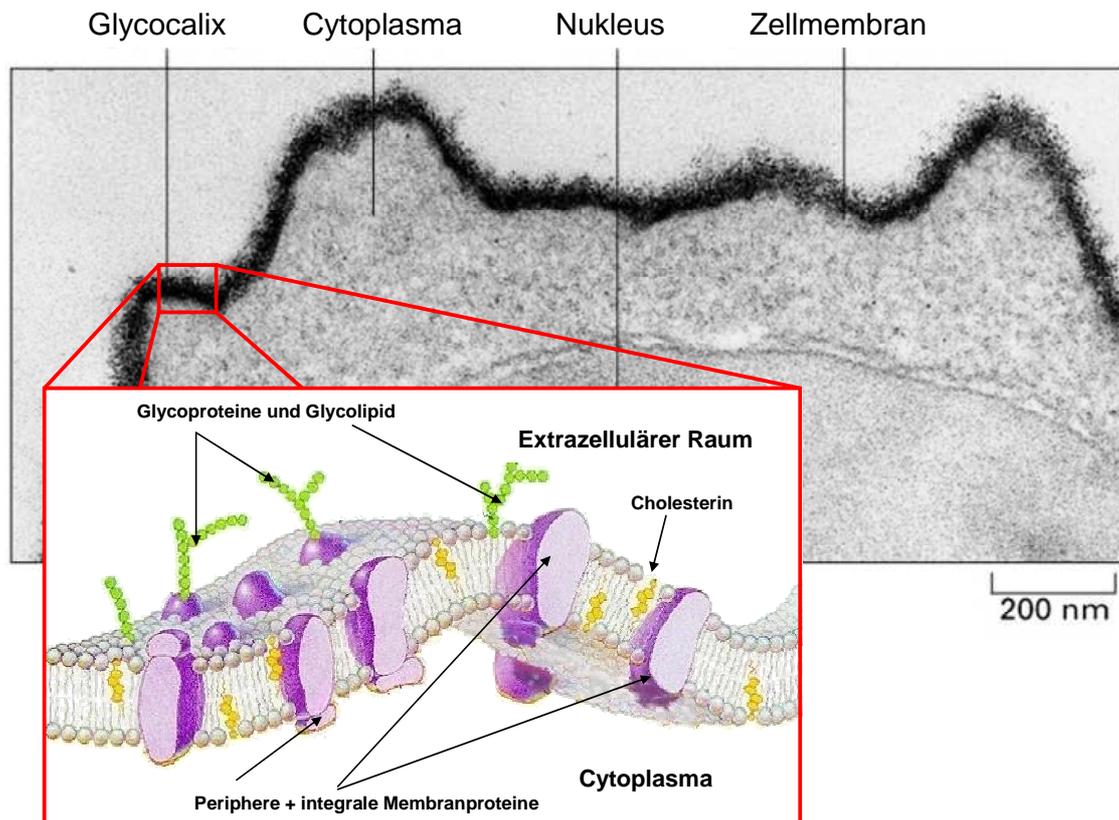
In der ersten Hälfte des letzten Jahrhunderts war man zunächst der Auffassung, dass Kohlenhydrate hauptsächlich als Energiequelle und -speicher fungieren, sowie als Intermediate im Metabolismus auftreten. Diese These wird dadurch gestützt, dass jährlich etwa  $2 \cdot 10^{11}$  t D-Glucose durch Photosynthese gebildet werden, wovon nur etwa 5% Eingang in andere primäre und sekundäre Metaboliten finden.<sup>[3]</sup> Erst in den letzten Jahrzehnten gewann die Rolle der Kohlenhydrate als Träger biologischer Informationen zunehmend an Bedeutung. Die Entwicklung immer leistungsfähigerer chromatographischer und spektroskopischer Methoden einerseits, und die Verbesserung der Oligosaccharidanalytik sowie -synthese andererseits, ermöglichten die Entdeckung und Untersuchung der Funktion komplexer Kohlenhydratstrukturen im Organismus. Heute kennt man eine Vielzahl an Kohlenhydrat-basierten Erkennungsprozessen.<sup>[4]</sup>

### 1.1 Kohlenhydrat-basierte Erkennungsprozesse

Als Glycocalix bezeichnet man die äußere, kohlenhydrathaltige Schicht der Zellmembran eukaryotischer Zellen, die jedoch bei Pflanzen nicht vorkommt (Abb.2). Darüber hinaus ist sie auch teilweise bei prokaryotischen Zellen, also Bakterien (Gram-positive wie -negative), an der Außenseite der Zellwand zu finden. Sie besteht aus Polysacchariden, die über Proteine (Glycoproteine, Proteoglycane; zusammen: 90%) oder Lipide (Glycolipide, 10%) mit der Zellmembran verankert sind.<sup>[5]</sup> Der Name Glycocalix wurde im Jahr 1963 von Bennett *et al.* vorgeschlagen und bedeutet soviel wie „süße Schale“ (*glyco*, griechisch: süß, und „*calyx*“ ist in der antiken Archäologie die Bezeichnung für eine spezielle Trinkschale).<sup>[6]</sup> Sie ist ausschließlich in den extrazellulären Raum gerichtet und trägt damit entscheidend zur Asymmetrie der Zellmembran bei. Ihre Dicke kann bis zu 100 nm betragen.<sup>[7]</sup> Man unterscheidet drei Arten von Glycoproteinen: *N*- und *O*-Glycoproteine sowie GPI-Anker. In vielen Glycoproteinen treten *O*- und *N*-Glycosylierungen nebeneinander auf. Der Aufbau der Kohlenhydrateinheiten findet entweder im rauen, endoplasmatischen Retikulum oder im Golgi-Apparat statt, wobei die Synthese von *N*- und *O*-Glycoproteinen post-translatorisch erfolgt.<sup>[8]</sup> In *N*-Glycoproteinen ist der Kohlenhydratanteil über die Amidseitengruppe von

## 1. Einleitung

L-Asparagin der Peptidkette verknüpft. Der erste Baustein ist dabei in der Regel *N*-Acetyl-D-glucosamin.<sup>[9]</sup> Die Peptidsequenz ist dabei immer Asp-X-Ser/Thr, wobei X nie die Aminosäure Prolin ist.<sup>[10]</sup> Die *O*-Glycosylierung ist komplexer als die *N*-Glycosylierung. Sie erfolgt an einer Hydroxylaminosäure. In den meisten Fällen sind *N*-Acetyl-D-galactosamin  $\alpha$ -*O*-glycosidisch bei Glycoproteinen oder D-Xylose  $\beta$ -*O*-glycosidisch bei Proteoglycanen an L-Serin oder L-Threonin gebunden.<sup>[11]</sup> In Glycosylphosphatidylinositol-(GPI)-Ankern ist der zentrale Kohlenhydratbaustein ein Tetrasaccharid der Struktur  $\text{Man}\alpha(1-2)\text{Man}\alpha(1-6)\text{Man}\alpha(1-4)\text{GlcN}$ , wobei das D-Glucosamin in nicht acetylierter Form vorliegt. Das reduzierende Ende des Kohlenhydratkerns ist über eine phosphorylierte *myo*-Inosit-Gruppe an ein Lipid gebunden, durch das das Molekül in der Membran verankert ist. Das nichtreduzierende Ende ist über eine Phosphoethanolamin-Brücke mit dem C-Terminus des Proteins verbunden.<sup>[12]</sup>



**Abb. 2.** Die Zellmembran mit Glycocalix.

Die molekularen Wechselwirkungen dieser Glykokonjugate spielen eine wichtige Rolle in vielfältigen zellulären Prozessen, z. B. bei bakteriellen und viruellen Infektionen, bei der Metastasierung verschiedener Karzinome, der Modulation und Aktivierung des

## 1. Einleitung

Immunsystems, der Gewebedifferenzierung und -entwicklung und bei vielen anderen Erkennungsereignissen.<sup>[13-15]</sup> Derartige Kohlenhydrat-assoziierte, zelluläre Erkennungsprozesse können in Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen (CPI, *carbohydrate protein interaction*), speziell Interaktionen zwischen Kohlenhydraten und Lektinen,<sup>[16]</sup> und Selektinen,<sup>[17]</sup> und Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen<sup>[18]</sup> (CCI, *carbohydrate carbohydrate interaction*) unterteilt werden. Beide Interaktionen sind typischerweise schwach ( $K_D$ -Werte im millimolaren oder hohen mikromolaren Bereich) verglichen mit Antigen-Antikörperbindungen ( $\sim 10^{-8}$  bis  $10^{-12}$  M).<sup>[19-21]</sup>

### 1.1.1 Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen

In der Regel versteht man unter Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen eine Interaktion zwischen Oligosaccharid-Epitopen und Rezeptoren, aus der ein biologischer Effekt resultiert. Doch grundsätzlich sollte man zu den Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen auch die enzymatische Transformation von Zuckern zählen. Denn oft führen maligne Umwandlungen in Zellen zu einer Überexpression von Glycosyltransferasen, so dass sich das gesamte Glycosylierungsmuster einer Zelle ändert. Deshalb gelten bestimmte Oligosaccharide als Tumormarker. So konnte ein Zusammenhang in der Expression der sogenannten Lewis(Le)-Antigene A, X und Y ( $Le^a$ :  $Gal\beta(1\rightarrow3)[Fuc\alpha(1\rightarrow4)]GlcNAc$ ;  $Le^x$ :  $Gal\beta(1\rightarrow4)[Fuc\alpha(1\rightarrow3)]GlcNAc$ ;  $Le^y$ :  $Fuc\alpha(1\rightarrow2)Gal\beta(1\rightarrow4)[Fuc\alpha(1\rightarrow3)]GlcNAc$ ) in gesundem Gewebe und Adenocarcinomen bzw. Mesotheliomen festgestellt werden.  $Le^y$  wird in Adenocarcinomen und  $Le^x$  in Mesotheliomen überexprimiert, während in gesundem Gewebe die Lewis-Determinanten A, X und Y gleich verteilt sind.<sup>[22]</sup> Auch ein Gendefekt kann dazu führen, dass bestimmte Gene fehlerhaft translatiert werden. Die resultierenden Enzyme bzw. Rezeptoren weisen eine verringerte oder keine Aktivität mehr auf. Dieses ist beispielhaft bei lysosomalen Stoffwechselkrankheiten wie der Mukopolidose II und III der Fall. Für die Bildung von Mannose-6-phosphat-Markern, die eine entscheidende Rolle beim Transport von lysosomalen Enzymen spielen, ist das Enzym GlcNAc-1-Phosphotransferase unerlässlich. Mutationen in dessen Gen resultieren in diesen Krankheitsbildern.<sup>[23]</sup> Die Tabelle 1 gibt weitere Beispiele für Kohlenhydrat-basierte Erkennungsprozesse und deren biologischen Konsequenzen.

## 1. Einleitung

**Tabelle 1.** Ausgewählte Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen und ihre biologischen Effekte.

Oligosaccharidsequenz	Protein/Rezeptor	Biologische Auswirkung
G <sub>M1</sub> -Gangliosid (Galβ(1→3)GalNAcβ(1→4) [Neu5Acα(2→3)]Galβ(1→4)Glcβ- Ceramid	Cholera-Toxin, <i>Vibrio cholerae</i> B subunit	Durch die Bindung wird die <i>cAMP</i> -Cyclase aktiviert, was zu Diarrhöe führt <sup>[24, 25]</sup>
Neu5Acα(2→3)Galβ(1→4)Glc	<i>Trypanosoma cruzi</i> Transsialidase	Parasit nutzt Gast-Sialinsäure zum Transfer auf eigene Zellepitope, Blockierung von Antigenität und Komplementaktivierung <sup>[26-28]</sup>
Sialyl-Le <sup>x</sup> Neu5Acα(2→3)Galβ(1→4) [Fucα(1→3)]GlcNAc	E-Selektin	Primäre Adhäsion von Granulocysten, Monocysten und verschiedenen Lymphocysten an akut und chronisch entzündete Endothelien <sup>[29-32]</sup>
Sequenz aus Heparin: GlcNAc(6S)α(1→4)GlcAβ(1→4) GlcNS(3S)α(1→4) IdoA(2S)α(1→4) GlcNS(6S)	Antithrombin	Antikoagulation von Blutplättchen <sup>[33-36]</sup>
<i>N</i> -Glycosylierung von HIV-gp120	Humanes CD4	Zellmembranen von Virus und humanen Lymphocysten verschmelzen <sup>[37-39]</sup>

Eines der berühmtesten Beispiele für Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen mit großer pharmakologischer Bedeutung ist sicherlich die Heparin-Antithrombin-Wechselwirkung. Heparin inhibiert die Blutgerinnung und findet seit 1937 klinische Anwendung zur Verhinderung von venösen Thrombosen.<sup>[40, 41]</sup> Seine Wirkung entfaltet es durch die Bindung an Antithrombin III. Es konnte gezeigt werden, dass die Pentasaccharidsequenz GlcNAc(6S)α(1→4)GlcAβ(1→4)GlcNS(3S)α(1→4)IdoA(2S)α(1→4)GlcNS(6S) essentiell für die Inhibierung ist. Darüber hinaus wirkt das Pentasaccharid katalytisch.<sup>[42]</sup> Damit Antithrombin III in die Blutgerinnungskaskade eingreifen kann, muss es den Faktor Xa inhibierend binden. Diese Protein-Protein-Wechselwirkung kommt aber nur zu Stande, wenn in einem ersten Schritt die Heparinsequenz bindet. Dadurch kommt es zur Konformationsänderung im Antithrombin, was zur Freilegung der Faktor Xa-Bindungsstelle führt. Nach der Bindung des Faktors wird das Heparin wieder freigesetzt und ein weiterer Zyklus kann initiiert werden.<sup>[43]</sup>

## 1. Einleitung

### 1.1.2 Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen

Mindestens ebenso wichtig erscheinen die Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen. Es gibt inzwischen zahlreiche Beispiele, die ihre essentielle Rolle in der Zellbiologie belegen.<sup>[44]</sup> Dennoch gibt es zurzeit nur wenig Information über die grundlegenden Mechanismen und die strukturellen Voraussetzungen, die für das Zustandekommen solcher Interaktionen verantwortlich sind. Der Grund dafür dürfte zum einen sein, dass CCI schwächer sind als CPI und ihre Untersuchungen deshalb sehr sensibler Methoden bedürfen, und zum anderen, dass sie synergetisch mit Protein-Protein-Wechselwirkungen (*protein-protein interaction*, PPI) wirken, und deshalb die biologischen Auswirkungen in einem komplexeren Zusammenhang analysiert und interpretiert werden müssen.<sup>[45]</sup> Vor der Entwicklung des heutigen Konzepts von Zellerkennungsprozessen basierend auf CCIs, war lange die temperaturabhängige Gelbildung von Agarose bekannt.<sup>[46]</sup> Auch sie entspricht grundsätzlich einer CCI. Bereits vor mehr als 30 Jahren wurde die Selbstanordnung von Pflanzenpolysacchariden besonders von D. A. Rees und Kollegen durch Änderung der optischen Rotation und durch <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie untersucht.<sup>[47]</sup> Wenig später erfolgte die Untersuchung von Interaktionen zwischen Chondroitinsulfat einerseits und Hyaluronsäure andererseits.<sup>[48]</sup> Trotz dieser frühen Studien zu Wechselwirkungen zwischen Polysacchariden blieb ihre biologische Bedeutung unklar. Im Folgenden entwickelte sich aufbauend auf den frühen Resultaten von Hakomori *et al.* das heute anerkannte Konzept von CCIs.<sup>[49]</sup> Zellerkennungsprozesse durch CCI sind in der Glycobiologie einzigartig, da sie 1) eine hohe Variabilität abhängig vom Grad der Clusterung haben, 2) ihre Kinetik/Dynamik schneller ist als die von PPIs, insbesondere beobachtet bei Integrinen, Cadherinen und verschiedenen Zelladhäsionsmolekülen (*cell adhesion molecules*, CAMs), und sie 3) synergistische Effekte mit PPIs aufweisen. Besonders hervorzuheben ist, dass im Gegensatz zu allen anderen Wechselwirkungen nicht nur attraktive, sondern auch spezielle repulsive Interaktionen festzustellen sind. Deshalb sind CCIs auch nicht alternativ bzw. ergänzend zu PPIs oder CPIs, sondern sie bilden den initialen Schritt zu einem komplexen Mechanismus, der CCI, CPI und PPI umfasst. Inzwischen existieren zahlreiche Beispiele für Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen, von denen ausgewählte Beispiele in der Tabelle 2 zusammengefasst sind. Dabei wird zwischen *trans*- und *cis*-Wechselwirkungen unterschieden. Unter *trans*-Wechselwirkungen versteht man Interaktionen zwischen benachbarten Zellmembranen, also die CCI zwischen zwei verschiedenen Zellen/Membranen. *Cis*-CCI findet innerhalb einer Zellmembran bzw. innerhalb eines Glycopathes statt. Des Weiteren unterscheidet man

## 1. Einleitung

zwischen *homotyp*- und *heterotyp*-Interaktionen. Homotyp-Interaktionen finden zwischen zwei identischen Kohlenhydratstrukturen statt (z.B. Le<sup>x</sup>-Le<sup>x</sup>-CCI, s. Tab.2) und heterotyp-Interaktionen zwischen zwei verschiedenen (z.B. G<sub>M3</sub>-Gg3-CCI, s. Tab.2).

**Tabelle 2.** Ausgewählte Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen und ihre biologischen Effekte.

Kohlenhydrat I	Kohlenhydrat II	Biologische Auswirkung
g200 (200 kD Glycan aus dem marinem Schwamm <i>microciona prolifera</i> )	g200 (200 kD Glycan aus dem marinem Schwamm <i>microciona prolifera</i> )	<i>trans</i> -CCI (homotyp): Spezies spezifische Zellaggregation <sup>[50]</sup>
Le <sup>x</sup> Galβ(1→4) [Fucα(1→3)]GlcNAc	Le <sup>x</sup> Galβ(1→4) [Fucα(1→3)]GlcNAc	<i>trans</i> -CCI (homotyp): Basis der ersten Zelladhäsion in Mausembryonen <sup>[51]</sup>
G <sub>M3</sub> -Gangliosid Neu5Acα(2→3)Galβ(1→4) GlcNAc	Gg3-Gangliosid GalNAcβ(1→4)Galβ (1→4)Glc	<i>trans</i> -CCI (heterotyp): Aggregation von Melanoma-Zell und Endothelzellen. Mausmodell für Metastasierung <sup>[52]</sup>
G <sub>D3</sub> /G <sub>T1b</sub> -Gangliosid Neu5Acα(2→8)Neu5Acα(2→3) Galβ(1→4)GlcNAc; Neu5Acα(2→3)Galβ (1→4)GalNAc(1→4) [Neu5Acα(2→8)Neu5Acα(2→3)] Galβ(1→4)GlcNAc	<i>N</i> -Glycan auf Integrin α <sub>5</sub> β <sub>1</sub>	<i>cis</i> -CCI (heterotyp): Inhibierung von Integrin-Bindung zu Fibronectin; Beeinflussung von Keratinocyten im Wundheilungsprozess <sup>[53]</sup>

Eines der prominentesten Beispiele für CCIs ist die attraktive Wechselwirkung, die zwischen Le<sup>x</sup>-Antigenen zu beobachten ist. Die Lewis-Typ CCIs gehören zu den am frühesten entdeckten und damit am intensivsten untersuchten Wechselwirkungen. Beginnend mit der Entdeckung sogenannter *stage-specific mouse embryonic antigens* (engl. Stufen(Entwicklungs)-spezifische Mausembryonen-Antigen, *SSEA*) im Jahr 1978, begann eine intensive Untersuchung dieser Moleküle.<sup>[54]</sup> Es zeigte sich, dass es sich bei diesen Molekülen um α1-3-Fucosyl-*N*-acetyl-lactosamin (Le<sup>x</sup>) handelte.<sup>[55]</sup> Das Le<sup>x</sup>-Antigen wird sowohl in F9-Teratocarcinomzellen als auch in Morula-Stage-Mausembryonen (s. u.) stark überexprimiert, weshalb F9-Teratocarcinomzellen auch als Modell für die biochemische Untersuchung der Embryonenentwicklung diente.<sup>[56, 57]</sup> Es konnte gezeigt werden, dass F9-Zellen stark verbundene Zellverbände binden. Negativkontrollen mit F9-Zelllinien, bei denen

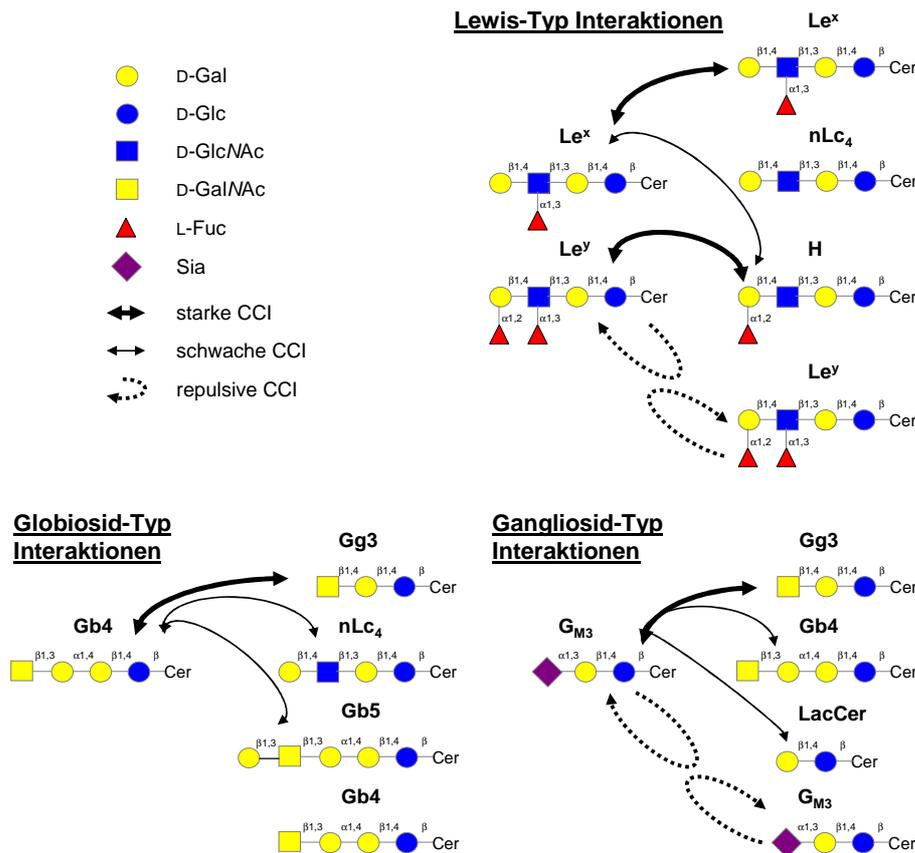
## 1. Einleitung

die Le<sup>x</sup>-Expression unterdrückt wurde, zeigte keine Verbandsbildung. Trivalentes Le<sup>x</sup> inhibitiert die Selbstaggregation von F9-Zellen und die Embryonalzellenverdichtung, worunter man einen Prozess versteht, bei dem die Embryonalzellen in einem frühen Entwicklungsstadium, d.h. solange noch keine Differenzierung zu Gewebetypen stattgefunden hat, sehr eng miteinander verbunden sind. Ebenfalls ist trivalentes Le<sup>x</sup> in der Lage, bereits verdichtete Zellverbände wieder zu lockern. Die Inhibition zeigte sich dosis- und zeitabhängig. Trivalentes Le<sup>a</sup> hingegen war nicht in der Lage, diese Prozesse zu inhibieren. Der Aggregationsprozess war Calciumionen-abhängig und wurde durch die Zugabe von EDTA unterbunden bzw. rückgängig gemacht.<sup>[58]</sup> Man ging zunächst davon aus, dass die Grundlage dieses Prozesses CPI war. Deshalb wurden aus den F9-Zellextrakten die Hauptproteine isoliert und fraktioniert. Es konnte aber kein Protein gefunden werden, das Le<sup>x</sup>-Bindungseigenschaften aufwies. In den Nicht-Protein-Fractionen aus diesen Zellextrakten wurden anschließend Le<sup>x</sup>-bindende Substanzen gefunden, diese Affinität war auch nach mehrfachem Verdau mit „Pronase“, einer Art multiplen Protease, vorhanden.<sup>[59]</sup> Das war ein erstes Anzeichen dafür, dass es sich bei den Le<sup>x</sup>-bindenden Verbindungen um ein Kohlenhydrat oder eine Nukleinsäure handeln musste. Letztendlich wurden durch [<sup>3</sup>H]-GlcNH<sub>2</sub>-Markierung der F9-Zellen die Le<sup>x</sup>-bindenden Verbindungen als Le<sup>x</sup>-GSL (Le<sup>x</sup>-Glycoshingo*lipid*) bzw. Poly-LacNAc mit einem hohen Anteil an Le<sup>x</sup>, früher auch als „Embryoglycan“ beschrieben, indentifiziert.<sup>[60]</sup> Der entscheidene Beweis wurde schließlich durch spezifische, Calciumionen-abhängige Interaktion zwischen Le<sup>x</sup>-enthaltenden Liposomen und Le<sup>x</sup>-GSL beschichteten Glasplättchen erbracht. Dieses Ergebnis wurde durch Gleichgewichtsdialyse und die Aggregation von Le<sup>x</sup>- beschichteten Mikropartikeln bestätigt.<sup>[52]</sup> Später wurden diese Resultate zum einen von Penadés *et al.* durch AFM- und Oberflächenplasmonenresonanz-Spektroskopie<sup>[19, 61]</sup> und zum anderen von Sinay *et al.* durch Kristallographie am Le<sup>x</sup>-Trisaccharid untermauert.<sup>[62]</sup>

In der Familie der Lewis-Antigene konnten weitere Interaktionen festgestellt werden. Einen strukturellen Überblick u.a. darüber liefert die Abbildung 3. Diese Lewis-Typ Interaktionen stehen dabei in biologischem Zusammenhang mit der Embryogenese. Aus der befruchteten Eizelle entsteht ca. vier Tage nach der Befruchtung die sogenannte Morula, ein 8- bis 32-zelliger Verband (*morula stage*, vgl. oben), der wie bereits erwähnt durch Le<sup>x</sup>-Le<sup>x</sup>-CCI zusammengehalten wird. Diesem Stadium folgt die Blastozyst-Phase mit der Entwicklung des Embryoblast und dem Trophoblast, der späteren Plazenta. Nach ca. sechs Tagen nistet sich der Blastozyst in die Gebärmutterschleimhaut, dem Uterusepithel, ein.<sup>[63]</sup> In diesem Zusammenhang spielen Lewis-Typ Wechselwirkungen ebenfalls eine signifikante Rolle.

## 1. Einleitung

Mausblastozysten exprimieren eine große Menge  $Le^y$  an ihrer Oberfläche, dem Trophoblast, wohin gegen die innere Zellmasse überwiegend  $Le^x$  exprimiert.<sup>[64]</sup> Ebenso wurde mit Fluoreszenz-markierten anti- $Le^y$ -Antikörpern die Existenz dieses Antigens sowohl im Uterusepithel als auch im Uterussekret nachgewiesen. Die Anwesenheit des  $Le^y$ -Antigens war sowohl im befruchteten als auch im unbefruchteten Zustand der Maus nachweisbar. Die Behandlung des Mausuterus mit dem anti- $Le^y$ -Antikörper verhindert die Einnistung des Embryos und somit eine Schwangerschaft im Mausmodell.<sup>[65]</sup>



**Abb. 3.** Verschiedene Kohlenhydratstrukturen zeigen innerhalb struktureller Familien unterschiedliche Spezifitäten.<sup>[45]</sup>

In einem Liposom-Bindungsassay konnten darüber hinaus zwei weitere Sachverhalte, welche für die Einnistung des Embryos in die Gebärmutterschleimhaut wichtig sind, dargestellt werden. Zum einem zeigte sich die  $Le^y$ - $Le^y$ -Wechselwirkung als repulsiv und zum anderen ist die Interaktion zwischen  $Le^y$  und dem H-Antigen stark anziehend. Zunächst erscheinen diese Resultate widersprüchlich, da die repulsive  $Le^y$ - $Le^y$ -Interaktion theoretisch eine Schwangerschaft verhindert, aber Hakomori *et al.* postulieren in dieser Studie, dass es während der Einnistungsphase zu einer Veränderung des Glycosylierungsmusters kommen

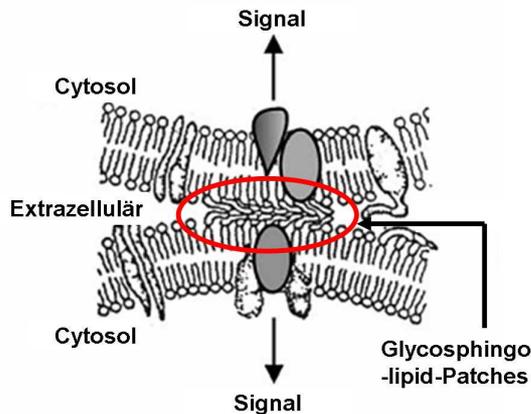
## 1. Einleitung

muss, da die Biosynthesen des H- und des Le<sup>y</sup>-Antigens im engen Zusammenhang stehen. Es konnte jedoch nicht geklärt werden, ob eine  $\alpha$ -1,3-Fucosyltransferase, die das H-Antigen in Le<sup>y</sup> umwandelt, runterreguliert ist oder eine entsprechende Glycosidase überexprimiert wird. In einer früheren Arbeit von Lundblad *et al.* konnte mit Antikörperbindungsassays gezeigt werden, dass sich die Zusammensetzung der Lewis-Typ-Antigene im Uterus einer befruchteten Maus während des Einnistungsprozesses ändert.<sup>[66]</sup> Zwar erhöhte sich der Gehalt an Le<sup>y</sup> in den ersten drei Tagen einer Schwangerschaft im Mausuterusepithel, was theoretisch zur Embryoabstoßung führen würde, aber kurz vor der Einnistung begann eine signifikante Umverteilung der Kohlenhydratepitope. Am fünften Tag der Schwangerschaft entstanden Inseln (patches) in der Gebärmutter Schleimhaut, in denen verstärkt das H-Antigen exprimiert wurde. Ebenso wurde ein verringerter H-Antigen-Gehalt im Uterussekret festgestellt. Aus diesen Resultaten wurde schließlich folgendes Postulat über die Rolle von CCIs in der Embryogenese aufgestellt: Nach der Befruchtung der Eizelle und damit bei Beginn der Zellteilung produzieren die ersten Embryonalzellen vermehrt Le<sup>x</sup> an ihrer Oberfläche, was einen festen Zellverband zur Folge hat, der von Le<sup>x</sup>-Le<sup>x</sup> CCI zusammengehalten wird. Mit Beginn der Zelldifferenzierung ändert sich auch das Glycosylierungsmuster. Während die innere Zellmasse weiterhin zum Zusammenhalt Le<sup>x</sup> exprimiert, wird in Vorbereitung auf eine bevorstehende Einnistung in den Uterus mit der Le<sup>y</sup> Produktion auf der Embryonenoberfläche begonnen. Gleichzeitig entstehen in der Gebärmutter Schleimhaut Patches, die einen sehr hohen Gehalt am H-Antigen haben. Die starke CCI zwischen Le<sup>y</sup> und dem H-Antigen stellt den initialen Kontakt zur Einbettung des jungen Embryos in die Gebärmutter dar. Sollte aus unbekanntem Gründen eine Entstehung der H-Antigen-Inseln nicht vorkommen, verhindert die stark repulsive Le<sup>y</sup>-Le<sup>y</sup>-CCI diese Einnistung. Die Folge ist eine Abstoßung des Embryos. Es kommt also nicht zur Schwangerschaft.

In diesem Beispiel findet man die nach heutigem Kenntnisstand häufigsten Arten von CCIs, und es erläutert anschaulich die biologischen Konsequenzen von *homo-trans* CCI (attraktive Le<sup>x</sup>-Le<sup>x</sup>-CCI, repulsive Le<sup>y</sup>-Le<sup>y</sup>-CCI) und *hetero-trans* CCI (attraktive Le<sup>y</sup>-H-Antigen-CCI). Darüber hinaus konnten innerhalb bestimmter Kohlenhydrat-Klassen, wie den Globosiden und den Gangliosiden, weitere Beispiele für CCIs gefunden und charakterisiert werden. Diese sind auszugsweise in Abbildung 3 dargestellt.

## 1. Einleitung

Basierend auf diesen ersten strukturellen Grundlagen über CCI's und auf der Kenntnis von *cis*-CCI, sowie den ersten Erkenntnissen zu ihrer Wirkung bzw. Funktion in biologischen Systemen, wurde das Konzept der CCI-abhängigen Glycosynapse entwickelt (Abb. 4).<sup>[67]</sup> Dabei lagern sich GSLs innerhalb einer Zellmembran zu sogenannten Mikrodomänen, oftmals in Kooperation mit Transmembrannglycoproteinen, zusammen. Ihre Existenz wurde



durch Rasterelektronenmikroskopie an Gefrierbruchfragmenten von natürlichen Zellmembranen nachgewiesen.<sup>[68]</sup> Der Beweis für die spontane GSL-Patchbildung wurde an Cholesterol-freien Liposomen erbracht.<sup>[69]</sup> Die Zusammenlagerung mit benachbarten Membranen moduliert bzw. inhibiert die Interaktion von Transmembranproteinen und damit die Signaltransduktion in das Zellinnere (Cytosol). Ein Beispiel dafür ist das System,

**Abb. 4.** Konzept der Glycosynapse.

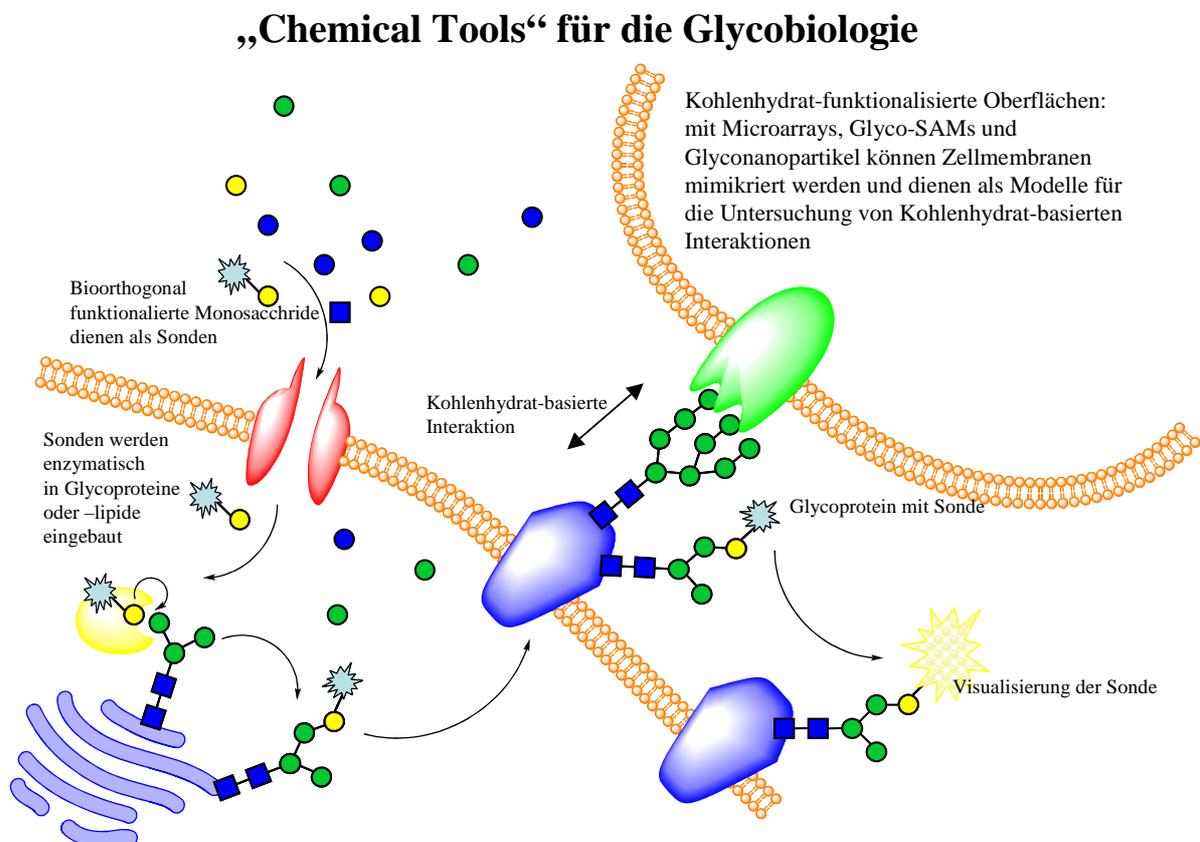
das aus GM3-Gangliosiden, den Tetraspaninproteinen CD9/CD82 und ITR (Integrinrezeptor) gebildet wird, an das eine bislang unbekannte Kinaseaktivität gekoppelt ist. Dieses System stellt eine Typ-3 Glycosynapse dar und zeigt die Komplexität von *cis*-CCI's.<sup>[70]</sup> Sowohl ITR als auch CD82 sind hochrangig *N*-glycosyliert und konnten in CMDs (carbohydrate microdomains) lokalisiert werden. Diese Glycosynapse kontrolliert die Motilität und die Inversivität von Tumorzellen und spielt deshalb eine wichtige Rolle bei der Metastasierung. Aus klinischen Studien war bekannt, dass CD82 einen Einfluss auf die Metastasierung von Prostatakrebs hat. Eine unterregulierte Expression von CD82 führt vermehrt zur Metastasenbildung.<sup>[71, 72]</sup> Der intakte Komplex verhindert einen zu starken Kontakt des Integrins zur extrazellulären Matrix und inhibiert die Kinaseaktivität. Die Untersuchung zum Einfluss der Glycosylierung innerhalb dieses Komplexes wurde an sogenannten IdID14-Zellen durchgeführt. Dabei handelt es sich um UDP-Gal-4-Epimerase defiziente CHO-Zellen (*Chinese Hamster Ovary*), die nicht mehr in der Lage sind *N*-Glycane zu synthetisieren. Durch Transfektion mit dem CD82-Gen haben diese Zellen ein erhöhtes Vorkommen dieser Typ-3 Glycosynapse. Der Vergleich mit normalen CHO-Zellen zeigte, dass sowohl eine erhöhte CD82-Konzentration als auch die verringerte bzw. nicht vorhandene *N*-Glycosylierung den Komplex stärken, während nicht nur eine endogene sondern auch eine exogene GM3-Zufuhr diesen schwächt.<sup>[73-75]</sup> Die Schlussfolgerung ist, dass eine Überexpression von GM3 die Motilität von Tumorzellen erhöht und darüber hinaus ein

## 1. Einleitung

„malignes“ Phosphorylierung-Signal verursacht. Eine fehlerhafte Expression der *N*-Glycane hingegen führt verstärkt zu einem positiveren Verlauf der Krebserkrankung, da die Motilität der Tumorzellen eingeschränkt ist.

### 1.2 „Chemical Tools“ – chemische Werkzeuge für die Glycobiologieforschung

Um einen tieferen Einblick in die Funktion von Glycanen zu erlangen, bedarf es einer Vielzahl neuartiger Methoden und Techniken, mit deren Hilfe die Diversität und Sensivität der Kohlenhydrat-basierten Wechselungen, insbesondere der CCIs, intensiver untersucht werden können. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, einen konzeptionellen Beitrag zur Entwicklung geeigneter Plattformen für die Erforschung des Glycoms zu leisten. Ein wesentlicher Teil dabei ist Kohlenhydrat-Funtionalisierung von Goldoberflächen, die später als SPR-Sensoren eingesetzt werden können, und von Goldnanopartikeln.



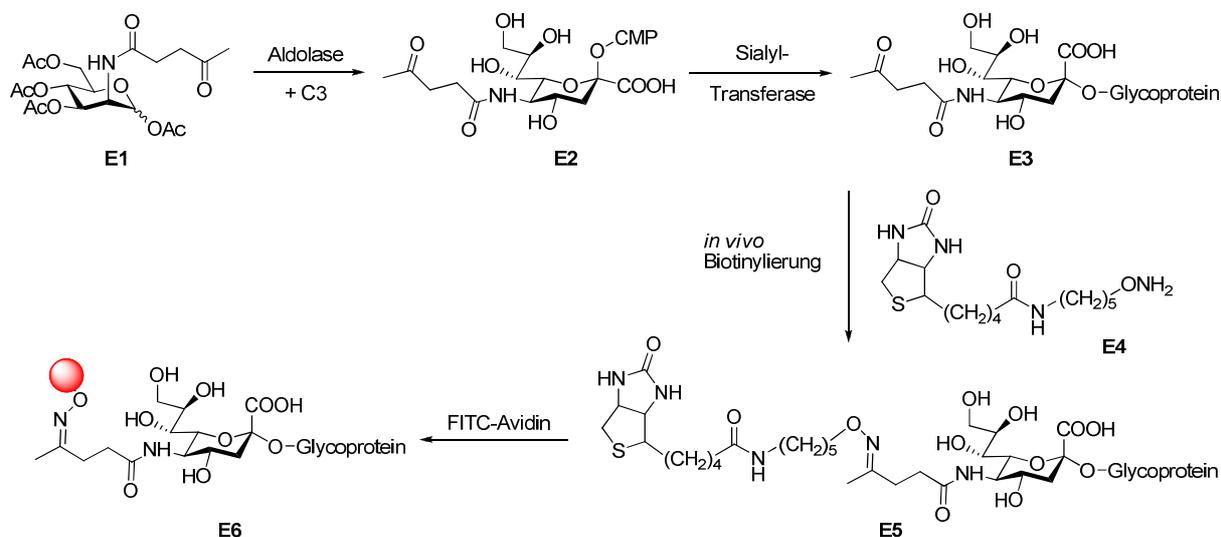
**Abb. 5.** Schematische Darstellung von Chemical Tools zur Erforschung des Glycoms.

## 1. Einleitung

In diesem Abschnitt der Einleitung soll in Kürze ein allgemeiner Überblick über leistungsfähige Konzepte und Methoden, sogenannte „Chemical Tools“, gegeben werden (Abb. 5). Es existieren viele Methoden zur Erforschung des Glycoms, von denen hier die chemischen *in vivo*-Markierung von Glycokonjugaten, Enzyminhibitoren und die Darstellung von Kohlenhydrat-funktionalisierten Oberflächen hervorgehoben werden sollen.<sup>[76]</sup>

### 1.2.1 Chemische Methoden zur *in vivo*-Markierung von Glycokonjugaten

Um die begrenzten Möglichkeiten der Genetik und Biochemie zu überwinden, haben Bertozzi *et al.*<sup>[77]</sup> beruhend auf den Arbeiten von W. Reutter *et al.*<sup>[78]</sup> eine Glycan- *in vivo*-Markierungsmethode entwickelt, mit der die Expression von bestimmten Glycanen in differenten Geweben und der Verbleib bestimmter Metabolite untersucht werden können. Dabei wird das Zielkohlenhydrat oder ein Metabolit derart modifiziert, das er zum einen über eine hohe Bioverfügbarkeit und zum anderen über eine sogenannte bioorthogonale *Chemical Handle* verfügt, d. h. eine Funktionalität, die biologisch nicht vorkommt, aber auch nicht cytotoxisch ist, und an die nachfolgend durch chemische Reaktionen Reporter-moleküle angeheftet werden können. Diese sogenannte chemische Sonde wird dann in den zu untersuchenden Organismus gebracht. Dort erfolgt der Einbau über enzymatische Transformation in zellspezifische Glycanstrukturen. Nach einer gewissen Zeit kann abschließend die Visualisierung der Sonde mit dem Reporter-molekül, das z. B. eine Fluoreszenzmarkierung trägt, erfolgen.



**Schema 1.** *In vivo*-Markierung von sialylierten Glycokonjugaten nach Bertozzi *et al.*<sup>[77]</sup>

## 1. Einleitung

Das erste Beispiel dieser Methodik wurde von Bertozzi *et al.* erbracht (Scheme 1). Es konnte gezeigt werden, dass *N*-Levulinoyl-tetra-*O*-acetyl-mannosamin (**E1**) über die Sialinsäurebiosynthese in levulinolyliertes Sialyl-CMP **E2** transformiert und anschließend durch Sialyltransferasen in ein modifiziertes Sialylglykokonjugat **E3** eingebaut wird. Durch Oximbildung mit einem biotinyliertem Aminoxy-Derivat **E4** wurde das levulinoylierte Sialylglykokonjugat **E3** *in vivo* markiert. Abschließend konnte das Biotin-Sialylkonjugat **E5** mit FITC-(Fluoresceinisothiocyanat)-Avidin als fluoreszierender Komplex **E6** detektiert werden.<sup>[77]</sup> Im Grunde handelte es sich dabei um eine Weiterentwicklung des Konzepts von Reutter *et al.*, die den Einbau von *N*-Propanoyl-neuraminsäure in humane Glycoproteine durch die Verwendung eines *N*-Propanoyl-mannosaminderivates untersucht hatten.<sup>[78]</sup> Es hatte sich gezeigt, dass Azido-Kohlenhydratderivate besser für die Biosynthese von Glycanen verfügbar waren als Levulinsäurederivate.<sup>[79]</sup> Die Detektion erfolgte über Phosphin-Staudinger-Ligation.<sup>[80]</sup> Diese Phosphine waren jedoch Hydrolyse-empfindlich, weshalb von Wong *et al.* für die Detektierung die Cu-I-katalysierte Huisgen-Reaktion (Click-Chemie) auf Azido- und Alkin-Fucosederivate angewendet wurde.<sup>[81]</sup> Kürzlich wurde der Nachteil der Cytotoxizität der Kupfersalze durch die Verwendung von cyclischen, gespannten Alkine überwunden, was die Detektierung im lebenden Organismus erlaubt.<sup>[82]</sup>

Genauso wichtig ist die Analyse der agierenden Enzyme (Glycosidasen, Glycosyltransferasen). Dabei unterscheidet man Aktivitäts- und Affinitäts-basierte Methoden. Bei der Aktivitäts-basierten Methode werden Substrate eingesetzt, bei denen das Mechanismus-basierende Inhibierungsmotiv mit einem Nukleophil in der aktiven Bindungstasche reagiert. Der Inhibitor wird dadurch kovalent gebunden. Die Detektierung bzw. Reingigung erfolgt schließlich über ein Reportermotiv. Dieses Reportermotiv ist entweder ein Fluoreszenzfarbstoff und/oder Biotin zur Affinitätsreinigung.<sup>[83]</sup> Ein Beispiel für diese Art des „Enzym-Fischens“ ist die Verwendung des Neuraminsäure-*ortho*-fluormethylphenylglycosids.<sup>[84]</sup> Durch die Hydrolyse dieses Glycosids durch die Hydrolase entsteht nach einer 1,4-Eliminierungsreaktion ein hochreaktives *o*-Quinolinmethid. Dieser elektrophile Michael-Akzeptor reagiert sofort mit einem Nukleophil in der Bindungsstelle. An das Enzym ist nun das Reporter-Aglycon kovalent gebunden. Ein weiteres Beispiel für die Aktivitäts-basierte Methode ist die Verwendung von 6-Azido-2,6-dideoxy-2-fluor- $\beta$ -galactosylfluorid.<sup>[85]</sup> Hier sorgt die 2-Fluorsubstitution für einen so starken Elektronenzug, dass das Substrat nicht mehr aus der Bindungstasche freigelassen wird. Das Reportermotiv in Form der Azidogruppe, die im Saccharid mitgeliefert wird, kann anschließend durch „Click-Chemie“ visualisiert werden. Die Affinitäts-basierten Methoden werden vorwiegend für

## 1. Einleitung

Lectine etc. verwendet, die keine enzymatische Aktivität besitzen. Auf Grund der relativ schwachen Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen werden oft multivalente Systeme benutzt, um eine gute Bindung zu gewährleisten. Als multivalente *carrier* dienen neben Nanopartikeln<sup>[86]</sup> vor allem dendrimere Strukturen auf Polypeptidbasis.<sup>[87, 88]</sup> So konnten zum Beispiel Galectine, die in verschiedene biologische Prozessen involviert sind, mit einem trivalenten Lactosederivat, in dem die Lactosemotive über ein verzweigtes Peptid mit einem Fluoreszenzfarbstoff und einem Benzophenonanker verknüpft waren, aus einer komplexen Gewebemixtur isoliert und anschliessend analysiert werden.<sup>[89]</sup>

### 1.2.2 Kohlenhydrat-funktionalisierte Oberflächen: Microarrays, Nanopartikel und Sensoroberflächen

Nanopartikel eignen sich hervorragend als Träger für die multivalente Präsentation von Kohlenhydraten. Die ersten synthetisierten Glyconanopartikel waren aus Gold oder Silber.<sup>[86]</sup> Glyco-Goldnanopartikel finden heute breite Anwendung in medizinisch-biologischen Studien. So wurden sogenannte Gold-*manno*-Glyconanopartikel zur Inhibition der HIV-gp120-Bindung zu DC-SIGN eingesetzt.<sup>[90]</sup> Es wurden multifunktionale Glyco-Goldnanopartikel als Plattform für potenzielle Antikrebsimpfstoffe entwickelt.<sup>[91]</sup> Neben Goldnanopartikeln, die im Rahmen der eigenen Synthesen noch explizit beschrieben werden, sind bis heute diverse andere Kohlenhydrat-funktioanlisierte, nanostrukturierte Systeme bekannt. So wurden Core-Shell-FeAu-Nanopartikel<sup>[92, 93]</sup> mit Kohlenhydrathülle als MRI-Kontrastmittel eingesetzt. Amino-funktionalisierte nano-kolloidale Eisenoxid-Dextran-Strukturen, auf die das sLe<sup>X</sup>-Tetrasaccharid aufgetragen wurde, konnten erfolgreich zur MRI-Detektierung von cerebralen MS-Läsionen eingesetzt werden.<sup>[94]</sup> Fluoreszierende „quantum dots“ aus CdS können zur Visualisierung von bestimmten Kohlenhydratrezeptoren in „lebenden“ Zellassays verwendet werden.<sup>[95]</sup> Es konnten ebenso biologisch-anorganische Materialien, wie Calciumphosphat-(Hydroxyapatit)-Nanostrukturen, mit Kohlenhydraten dekoriert werden.<sup>[96]</sup> Kohlenhydrat-funktionalisierte Goldoberflächen wurden auch als AFM- oder SPR-Sensoren eingesetzt. Solche Oberflächen können in Kombination mit MALDI-TOF-Experimenten zur Detektierung von Glycosidase- oder Glycosyltransferase-Aktivität sowie zum „Lectin-Fischen“ verwendet werden.<sup>[97]</sup>

Zum „*high throughout screening*“ eignen sich Kohlenhydrat-Mikroarrays, in denen eine große Anzahl von Liganden über unterschiedliche Linkersysteme auf Glasplättchen fixiert

## 1. Einleitung

und durch Fluoreszenz analysiert werden.<sup>[98]</sup> Für diese Technik werden geringste Mengen an Kohlenhydrat-Material benötigt. Durch enzymatische Elongation konnten in sogenannten „nanodroplets“ insgesamt 72 verschiedene *N*-Glycane in einem Arrays hergestellt werden. Die Galactosylierung, Sialysierung und Fucosylierung konnte on-chip durch enzymatische Umsetzungen realisiert werden. Der Erfolg wurde durch einen Lectinassay nachgewiesen.<sup>[99]</sup>

## 2. Zielsetzung

Wie in der Einleitung dargestellt wurde, ist das Wissen über Kohlenhydrat-basierte Erkennungsprozesse trotz zahlreicher Arbeiten auf diesem Gebiet, besonders zu Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen, noch sehr unvollständig. Der Grund hierfür dürfte zum einen in der immensen Vielfalt der natürlich vorkommenden Oligosaccharide, deren Analyse, Strukturaufklärung und chemischen Synthese liegen und zum anderen in der Entwicklung geeigneter Plattformen zur Untersuchung der verschiedenen Wechselwirkungen. Mit dem hier erarbeiteten Konzept soll in erster Linie ein Beitrag zum besseren Verständnis über Mechanismen in Kohlenhydrat-Kohlenhydrat(Protein)-Wechselwirkungen sowie über Struktur-Wirkungsbeziehungen geleistet werden. Dabei soll den folgenden Fragestellungen, die sich aus dem aktuellen Kenntnisstand herleiten, nachgegangen werden:

- Ist eine gewisse Selbst-Affinität bereits zwischen einfachen Kohlenhydraten wie Glucose oder Galactose nachweisbar?
- Ist ein Trend in der Kohlenhydrat-Selbsterkennung zwischen homogenen bzw. heterogenen Paaren (Glucose-Glucose bzw. Glucose-Mannose) erkennbar?
- Wenn ja, welche Schlüsse lassen sich ziehen?
- Welchen Einfluss auf die Affinität haben einzelne Hydroxygruppen bei bekannten homogenen Paaren, wie der Le<sup>X</sup>-Le<sup>X</sup>-Erkennung?
- Welchen Einfluss hat die Kohlenhydratdichte sowie die Präsentation auf die Wechselwirkung?

Im folgenden wird kurz dargestellt, auf welche Weise die Beantwortung der Fragestellung konzeptionell angegangen werden soll.

Für die Untersuchung von Kohlenhydrat-basierten Wechselwirkungen eignet sich besonders die Oberflächenplasmonresonanz, da Bindungsereignisse direkt visualisiert bzw. analysiert werden können. Deshalb sollten Kohlenhydratstrukturen an SPR-Sensoroberflächen gebunden werden. Über selbstanordnenden Monoschichten (SAM, **self assembled monolayer**) kann die Oberfläche individuell funktionalisiert werden. In diesem Fall sollen die Sensorchips folgende Eigenschaften besitzen:

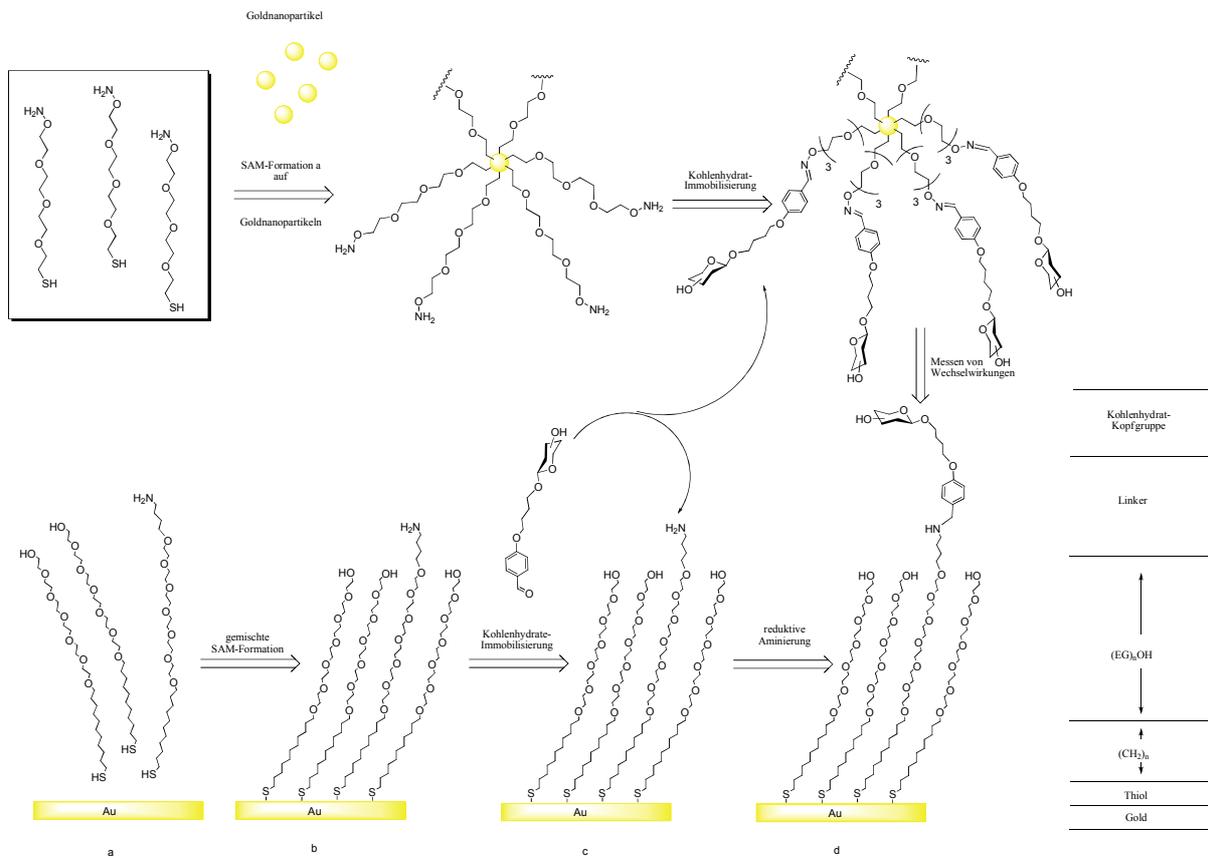
Sie sollten biorepulsiv sein, d.h. unspezifische Wechselwirkung zwischen Protein oder Kohlenhydrat und der Oberfläche sollten unterdrückt werden.

Die Kohlenhydrat-Funktionalisierung sollte nach der SAM-Bildung stattfinden, damit eine Cluster-Bildung, die zu so genannten Carbohydrate-Microdomains führen, unterbunden wird.

## 2. Zielsetzung

Dazu benötigt man Verdünnungs- und Verknüpfungs-Spacer sowie funktionalisierte Kohlenhydrat-Derivate.

Über dieses Zweistufen-Konzept lässt sich auch die Kohlenhydratdichte auf den SAM steuern, indem für die SAM-Bildung verschiedene Verdünnungen der unterschiedlichen Spacer verwendet werden. Das Glyco-SAM-Konzept soll auch auf die Synthese von Kohlenhydrat-funktionalisierten Nanopartikeln angewendet werden. Mit dieser multivalenten Präsentation der Glycostrukturen lassen sich im SPR-Experiment Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen in definierter Weise untersuchen.



**Abb. 6.** Schematische Darstellung des Konzepts, mit dem Glyco-SAMs zur Untersuchung von Kohlenhydrat-Kohlenhydrat(Protein)-Wechselwirkungen genutzt werden sollen.

Aus der chemischen Vielfalt der Immobilisierungsmöglichkeiten für die Glycostrukturen wurde die reduktive Aminierung bzw. die Oxim-Bildung als Mittel zur Fixierung auf den Sensorchips bzw. den Nanopartikeln gewählt. Sowohl die Oberflächen der SPR-Chips als auch die der Goldnanopartikel sollten Amino- bzw. Hydroxylamino-funktionalisiert werden, damit Aldehyd-funktionalisierte Kohlenhydrate über Imin- bzw. Oxim-Bildung verankert werden können.

## 2. Zielsetzung

Das bringt folgende Vorteile mit sich:

- Die Einführung einer Aminofunktion in die Spacer-Moleküle ist verhältnismäßig einfach.
- In weiterführenden Untersuchungen könnten aus natürlichen Quellen isolierte Oligosacchride direkt über ihr reduktives Ende immobilisiert werden.
- Die Bildung der Schiff'schen Base ist reversibel, so dass die Glycoderivate wieder freigesetzt werden könnten, wenn auf die reduktive Aminierung im Immobilisationsschritt verzichtet wird. Damit wäre der SPR-Chip wiederbelegbar, was für eine kommerzielle Nutzung des Glyco-SAM-Konzeptes von Interesse ist.

Die Kohlenhydrat-Derivate sollen über einen Benzaldehyd-Linker auf der SPR-Oberfläche und den Nanopartikeln immobilisiert werden. Die Linkereinheit soll möglichst spät in der Synthese an die Glycostrukturen angebracht werden. Die Kopplungschemie sollte orthogonal zu den Schutzgruppen und anderen Funktionalitäten im Molekül sein. Diese Eigenschaften erfüllt die Olefin-Metathese.

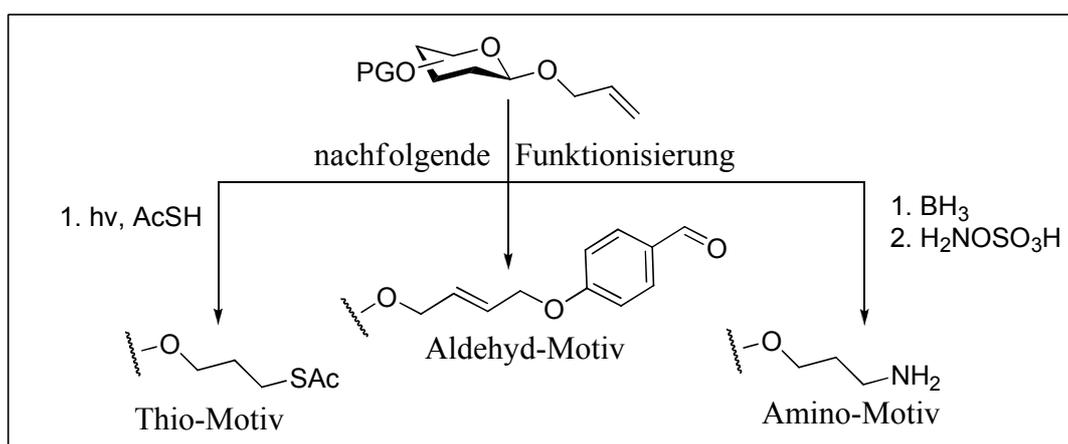
## 3. Synthesen

Die Diskussion der durchgeführten Synthesen ist in fünf Abschnitte unterteilt und konzentriert sich auf die Funktionalisierung von Kohlenhydrat-Strukturen zum Einsatz als Bausteine in der Darstellung von „chemical tools“ für die Erforschung der Glycowissenschaften. Zunächst wird, losgelöst von der grundlegenden Problemstellung, die Synthese von Mannose-6-thiophosphaten behandelt. Diese Amino-funktionalisierten Mannose-Derivate sollen als Affinitätschromatographie-Liganden dienen, und gebunden an Agarose bei der Reinigung von einer bislang unbekanntem Phosphatase eingesetzt werden, die bei der Rekrutierung und Freisetzung lysosomaler Enzyme im Lysosom eine entscheidende Rolle spielt. Fehlerhafte Rekrutierung dieser Enzyme bzw. Entfernung spezifischer Marker auf diesen Enzymen führen häufig zu fatalen Krankheitsbildern, besonders bei Kindern (siehe Abschnitt 3.1).

Die folgenden Teile widmen sich der Synthese von Benzaldehyd-funktionalisierten Kohlenhydraten. Zunächst wurde im zweiten Teil der Synthesen das Konzept der Metathese zur Kohlenhydrat-Funktionalisierung an einfachen Monosacchariden entwickelt, mechanistische Grundlagen diskutiert und Vergleiche mit bekannten Synthesen geschlossen. Die konzeptionelle Evaluierung auf vielfältige Anwendbarkeit erfolgte in der Erprobung an verschiedenen Disacchariden und wird im dritten Teil diskutiert. Der vierte Teil der Synthese konzentriert sich auf die Darstellung komplexer Strukturen, insgesamt sieben verschiedene  $Le^x$ -Analoge, die zum größten Teil in der Konstitution gleich sind, sich aber in der Konfiguration der Hydroxygruppen sowohl des Galactose- als auch des Fucose-Bausteins unterscheiden. In diesem Zusammenhang wurden verschiedene Glycosylierungsmethoden angewendet und die Resultate wurden mit literaturbekannten Synthesen verglichen und diskutiert. Hier ist auch ein mechanistischer Überblick über vorher durchgeführte und in diesem Abschnitt verwendete Glycosylierungen zu finden. Dabei ist die anomere Allylgruppe von zentraler Bedeutung (Abb. 7). Sie ist das Verknüpfungsmotiv des hier verfolgten Konzepts, ist aber nicht orthogonal zu diversen Aktivierungsmethoden in der Glycosiddarstellung. In diesem vierten Teil wurde versucht, eine Lösung zur Vermeidung dieses Nachteils zu finden. Obwohl andere Verknüpfungsmotive vorteilhafter für die Glycosidsynthese sind, bietet die Allylfunktion jedoch enorme Funktionalisierungsmöglichkeiten. Zum einen kann sie als temporäre Schutzgruppe für anomere Hydroxygruppen dienen, zum anderen lässt sie sich orthogonal zu vielen gängigen

### 3. Synthesen

Schutzgruppen in der Kohlenhydratchemie und zu Kohlenhydraten per se in verschiedene Gruppen transformieren. Um nur einige Beispiele zu nennen, lassen sich durch radikalische Addition von Thioverbindungen Thiolen darstellen<sup>[100]</sup> und Amine sind durch Hydroborierung mit anschließender Aminierung leicht zugänglich.<sup>[101]</sup> Des Weiteren ist eine Ozonolyse zum Aldehyd realisierbar,<sup>[102]</sup> genauso wie eine Rutheniumtrichlorid-katalysierte Oxidation zur Carbonsäure.<sup>[103]</sup>



**Abb. 7.** Die Allylgruppe als Precursor für eine diverse Funktionalisierung. Ausgewählte Beispiele.

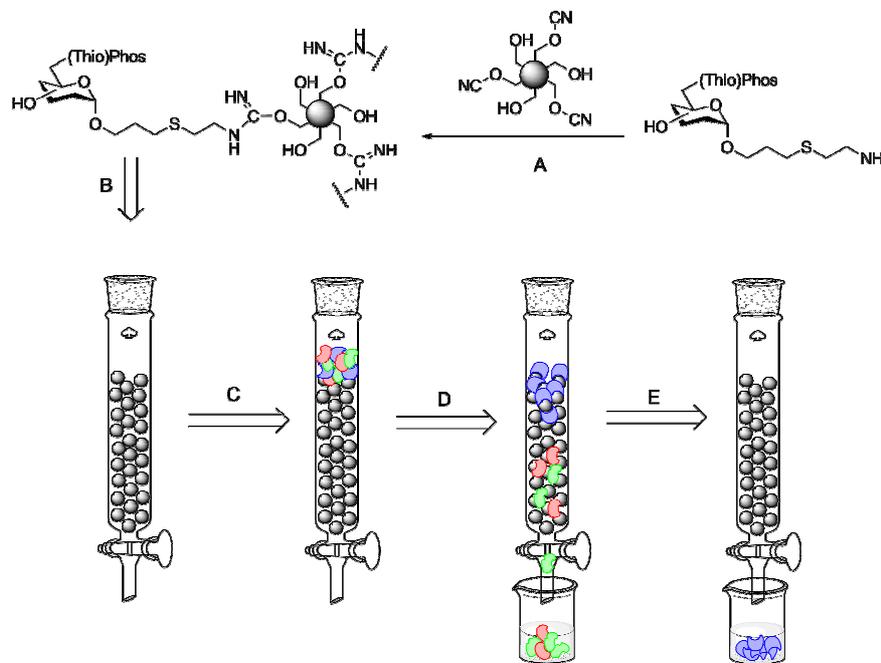
Abschließend beschäftigt sich der fünfte Teil mit der Synthese von Nanopartikeln, deren Funktionalisierung durch SAM-Bildung und die Anheftung der erwähnten Kohlenhydratstrukturen. Die Charakterisierung dieser Glyconanopartikel wird ebenfalls besprochen. Neben der Größenbestimmung und der Verifizierung einer erfolgreichen Kopplung nimmt dabei die Ermittlung der Kohlenhydratdichte auf den Nanopartikeln eine entscheidende Rolle ein, da sie für das Verständnis der SPR-Resultate wichtig ist. Diese Messungen und die Diskussion der Ergebnisse erfolgt dann in einem gesonderten Abschnitt.

#### 3.1 Synthese von Mannose-6-thiophosphaten als Affinitätschromatographie-Liganden

Die Affinitätschromatographie ist die Methode der Wahl bei der Reinigung von Coenzymen, Antikörpern, Lectinen und anderen selektiv-bindenden Biomakromolekülen. Die Methodik zur Präparation von Kohlenhydrat-enthaltenden Adsorbentien ist lange bekannt und wurde bereits 1981 in einem Übersichtsartikel beschrieben.<sup>[104]</sup> Die am häufigsten vorkommenden Materialien sind dabei Agarose<sup>[105]</sup> oder Cellulose sowie Polyacrylamid-Harze und poröse Glasperlen.<sup>[106, 107]</sup> Teil dieser vorliegenden Arbeit war die Synthese von Affinitätsliganden

### 3. Synthesen

zur Reinigung unbekannter lysosomaler Mannose-6-phosphat-Hydrolasen. Dabei war die Idee, dass Thiophosphat-Derivate des Mannose-6-phosphats inhibitorisch die gesuchten Hydrolasen binden und so ihre Affinitätschromatographische Reinigung ermöglichen (Abb. 8). Dazu sollten die 6-Thiophosphate, die einen Aminolinker tragen, an CNBr-aktivierte Sepharose oder Agarose gekoppelt werden (A). Dieses Affinitätschromatographiematerial wird anschließend in einen konventionellen Säulenkörper gefüllt (B). Das lysierte Zellmaterial, das die unbekannte Phosphatase enthält, wird auf die Säule gegeben (C). Durch verschiedene Puffer werden die nicht-bindenden Proteine von der Säule gespült (D). Die gesuchte Mannose-6-phosphatase sollte dabei auf der Säule verbleiben und abschließend durch einen geeigneten Puffer eluiert werden. Das so gereinigte Protein kann nun charakterisiert und seine biologische Rolle untersucht werden.



**Abb. 8.** Konzeptionelle Darstellung des Prinzips zur affinitätschromatographischen Reinigung einer unbekanntenen Mannose-6-phosphatase.

Lysosomen sind saure Membran-umgebene Zellorganellen, die eine wichtige Rolle beim Abbau von Biomakromolekülen, wie Kohlenhydraten, Proteinen, Nucleinsäuren usw. spielen.<sup>[108]</sup> In den Lysosomen befinden sich mehr als 50 verschiedene lösliche, saure Hydrolasen (z. B. Glycosidasen, Proteasen, Lipasen, Nucleasen, Phosphatasen und Sulfatasen) und über 120 lysosomale Membranproteine.<sup>[109]</sup> Die Biogenese von Lysosomen benötigt einen kontinuierlichen Nachschub von frisch synthetisierten Komponenten. Viele dieser lysosomalen Proteine werden über einen Mannose-6-Phosphatrezeptor-Pfad nach der

### 3. Synthesen

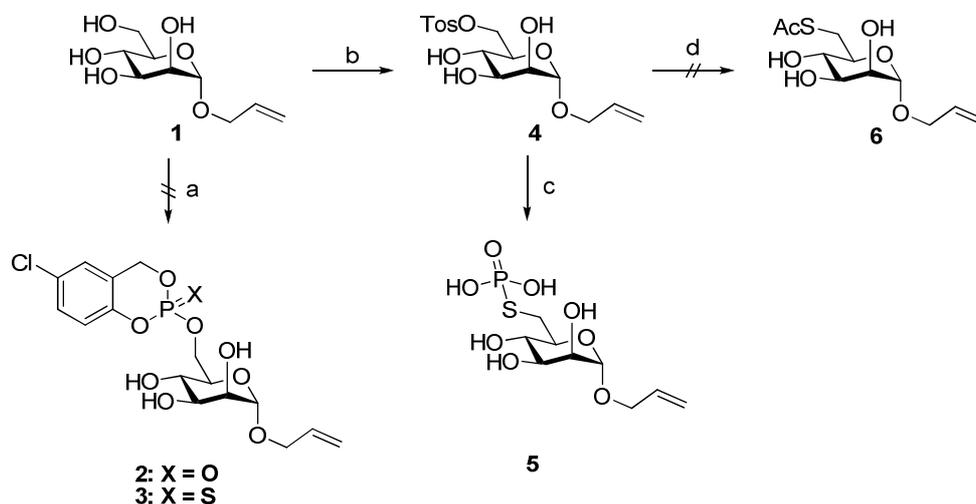
Translation in das Lysosom transportiert. Dazu werden die lysosomalen Hydrolasen mit einem terminalen Mannose-6-phosphat-Rest (M6P) versehen. Durch Bindung an den M6P-Rezeptor werden die Proteine in das Lysosom dirigiert. Wegen des niedrigen pH-Wertes im Lysosom dissoziiert dieser Komplex, und der Rezeptor wird recycelt. Genetische Fehler in der Biosynthese, sowohl des Mannose-6-phosphate-Erkennungsmarkers, als auch des M6P-Rezeptors, können zu schwerwiegenden lysosomalen Speichererkrankungen führen. So resultieren Mutationen im Gen der GlcNAc-1-Phosphotransferase, einem Schlüsselenzym in der Mannose-6-Phosphat-Biosynthese, in den Krankheiten des Mucopolysaccharidose-Typs II (MLII) und III (MLIII).<sup>[23]</sup> Während der M6P-Rezeptor nach der Dissoziation wieder verwendet wird, ist der Verbleib des M6P-Restes an den lysosomalen Proteinen nicht abschließend geklärt. Auch ist das Wissen über die agierenden Hydrolasen/Phosphatasen sehr beschränkt. Es gibt Indizien, die eine Rolle der sauren Phosphatasen ACP2 (*acidic phosphatase*) und ACP5 in der Entfernung des M6P-Markers vermuten ließen.<sup>[110]</sup> Die hier synthetisierten Mannose-6-thiophosphatderivate sollten als Affinitätschromatographieliganden eingesetzt werden, um eine unbekannte Phosphatase zu reinigen. Dadurch erhoffte man sich, Hinweise auf den Verbleib des M6P-Markers zu erhalten.

Die Syntheseplanung sah einen stufenweisen Aufbau der Amino-funktionalisierten Mannose-6-(thio)phosphate **18** (6-*O*-Thiophosphat), **19** (6-*O*-Phosphat, Referenzverbindung) und **20** (6-*S*-Thiophosphat) vor. Nach Installierung der (Thio)-Phosphatgruppen sollte die Amino-Funktionalisierung durch radikalische Addition von Cystamin-hydrochlorid an ein allylisches Aglycon erfolgen. Dieser Ansatz wurde bereits erfolgreich von Thiem *et al.* mit einem Sialinsäurederivat durchgeführt, das anschließend als Affinitätsligand in der Reinigung einer Neuraminidase eingesetzt wurde.<sup>[111]</sup>

Eine heutzutage weitverbreitete Synthese der Phosphate von Kohlenhydraten, einschließlich Nucleotiden, ist die Umsetzung von selektiv-geschützten Derivaten (Kohlenhydrate oder Nucleoside) mit Dibenzylphosphorchloridat<sup>[112-114]</sup> oder Bisbenzyloxy-*N,N*-diisopropylaminophosphin (Phosphoramidit-Methode).<sup>[115-117]</sup> Beide Reagenzien bedürfen zur Entschützung eine Hydrogenolyse mit Wasserstoff an Palladium/Aktivkohle. Schwefelhaltige Verbindungen vergiften den Katalysator, weshalb dieser Ansatz für das hier verfolgte Ziel nicht in Frage kam. In frühen Arbeiten wurden 5'-*O*-Phosphate von Nucleosiden durch Kondensation von Phosphorsäuremonoestern und einem Nucleosid mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) hergestellt.<sup>[118]</sup> Die Verwendung eines Thioanalogons führte aber fast ausschließlich zum Dicyclohexylthioharnstoff.<sup>[119]</sup> Zur Synthese von Thiophosphaten wurde von Eckstein *et al.* ein Triimidazol-phosphinsulfid in Analogie zum

### 3. Synthesen

Triimidazolyl-phosphinoxid benutzt.<sup>[120, 121]</sup> Dieses Reagenz ist nicht kommerziell erhältlich und muss aus Thiophosphorylchlorid und Imidazol hergestellt werden.<sup>[122]</sup> Die Hydrolyse der Imidazolylverbindung zum freien Phosphat erfolgt unter stark sauren, wässrigen Bedingungen bei hohen Temperaturen, was die Gefahr der Hydrolyse des Glycosids in sich trägt.



**Schema 2.** Versuche zur Darstellung von Mannose-6-thiophosphaten. Reagenzien und Bedingungen: a) für **2**: 5-Chlor-*cyclo*Saligenylchlorphosphat in THF, DMF/Pyridin 1/1, - 40 °C, 60 min, für **3**: 5-Chlor-*cyclo*Saligenylchlorphosphorsulfid in THF, DMF/Pyridin 1/1, - 40 °C, 60 min; b) Pyridin, TosCl, 0 °C → RT, 24 h, 58%; c) Na<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>S \* 3H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O (pH 10.3), RT, 48 h; d) KSAc, DMF, 60 °C, 12h.

Um die Syntheseroute so kurz und einfach wie möglich zu gestalten, wurden zunächst zwei Ansätze verfolgt. Zum Einen sollte versucht werden, mit Hilfe des *cyclo*Sal-Konzepts von Meier *et al.* eine selektive Phosphorylierung der primären Hydroxygruppe des ungeschützten Allyl-mannosids **1** zu realisieren.<sup>[123-125]</sup> Die nachfolgende alkalische Verseifung des Salicylester könnte zwei der gesuchten Intermediate (6-*O*-Phosphat und 6-*O*-Thiophosphat) in nur zwei Stufen freisetzen. Zum Anderen sollte eine direkte nukleophile Substitution des 6-Tosylats des Allyl-mannosids mit Natriumthiophosphat in einer zweistufigen Synthesesequenz zum dritten gewünschten Intermediat (6-*S*-Thiophosphat) umgesetzt werden.

Jedoch war die Umsetzung des Allyl-mannosids **1**, das durch Fischer-Glycosylierung in Allylalkohol erhalten wurde, bei - 40 °C in einem 1:1-Gemisch aus DMF und Pyridin sowohl mit 5-Chlor-*cyclo*Saligenylchlorphosphat als auch mit 5-Chlor-*cyclo*Saligenylchlorphosphorsulfid nicht erfolgreich (Schema 2). Die phosphorylierten Verbindungen **2** und **3** konnten nicht isoliert werden.

### 3. Synthesen

Knight *et al.* berichteten über eine Synthese von Glucose-6-thiophosphat durch nukleophile Substitution von 6-*O*-Tosyl-glucose mit Natriumthiophosphat in einer wässrigen Lösung bei pH 10.3.<sup>[126]</sup> Wong *et al.* konnten erfolgreich die 6-*O*-Tosylgruppe eines Mannosederivats durch ein Azid substituieren.<sup>[127]</sup> Daher wurden hier versucht, diese Bedingungen zu übertragen. Dazu wurde Allyl-mannosid **1** unter Standardbedingungen in das Tosylat **4** überführt. Dieses Tosylat **4** wurde dann mit Natriumthiophosphat in einer wässrigen Lösung behandelt, die mit 1 M Natriumhydroxydlösung auf pH 10.3 eingestellt wurde. Die DC-Analyse zeigte die vollständige Umsetzung des Edukts **4** an, aber neben dem Produktpot war auch ein erheblicher Anteil an Allyl-mannosid ausmachbar. Die <sup>31</sup>P-NMR-Analyse des Rohprodukts zeigte, dass die Verbindung **5** mit dem Phosphat **12** verunreinigt war (Abb. 9).

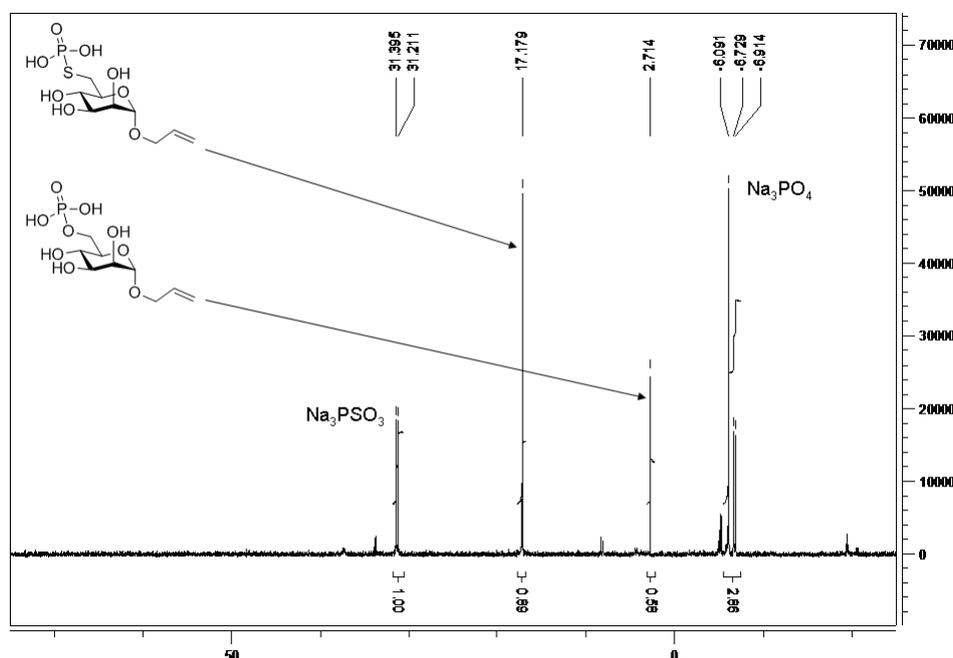


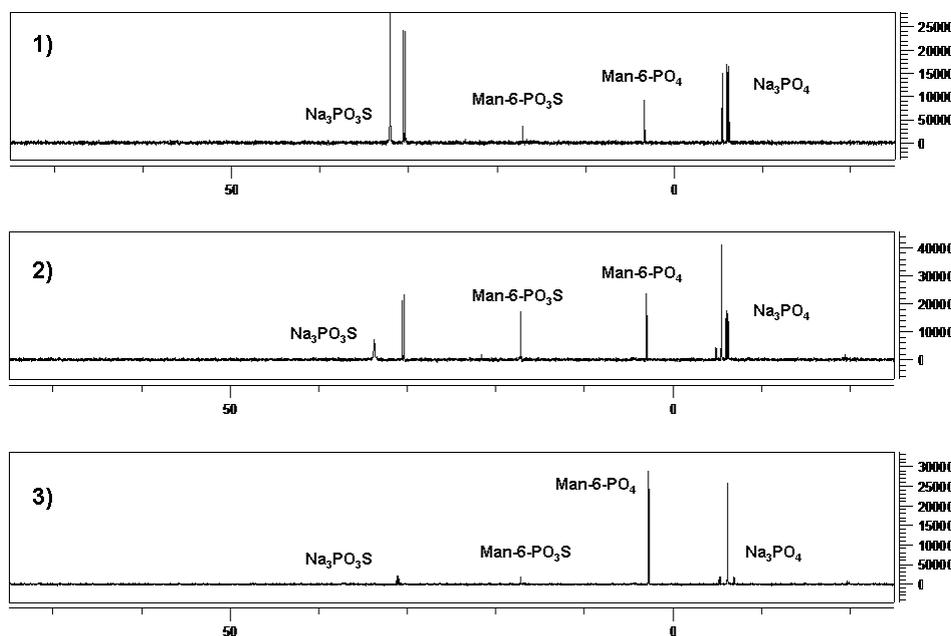
Abb. 9. <sup>31</sup>P-Rohprodukt-NMR des Versuchs zur Synthese der Verbindung **5**.

Dem Spektrum war zu entnehmen, dass unter den hier gewählten Bedingungen ein erheblicher Anteil an Natriumphosphat entstanden sein musste, das mit dem Tosylat **4** zum Nebenprodukt **12** reagierte. Die Zuordnung der Signale erfolgte durch Aufnahme von Referenzspektren des Natriumthiophosphats und des Natriumphosphats, sowie durch Vergleich mit Literaturdaten. Nachdem das Phosphatgemisch **5/12** durch Kieselgel- und Biogel-Chromatographie gereinigt wurde, zeigte sich bei der erneuten NMR-Analyse, dass die Verbindung **5** immer noch mit dem Phosphat **12** verunreinigt war. Das Gemisch war chromatographisch nicht auftrennbar.

### 3. Synthesen

Weil neben der Nichttrennbarkeit der Verbindungen **5** und **12** die Gesamtausbeute mit 57% für das Gemisch verbesserungsbedürftig war, wurden verschiedene Lösungsmittelsysteme auf den Verlauf dieser nukleophilen Substitutionsreaktion und die Vermeidung der Hydrolyse des Thiophosphat-Salzes zum Phosphat-Salz untersucht. Das erste Experiment wurde mit Natriumthiophosphat in DMF bei 60 °C durchgeführt. Durch die erhöhte Temperatur sollte die Nukleophilie des Thiophosphats verbessert werden. Die Analyse der Umsetzung erfolgte durch  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektroskopie (Abb. 10, 1). In diesem Ansatz wurde ein geringer Umsatz festgestellt (Verhältnis Na-Salz zu Man-6-phosphat). Zudem konnte eine größere Menge an Verbindung **12** als an Thiophosphat **5** ermittelt werden. Visuell ließ sich die schlechte Löslichkeit des Thiophosphatsalzes durch Trübung der Lösung beobachten. Deshalb wurden wässrige Lösungen von DMF (Abb. 10, 2) und DMSO (Abb. 10, 3) untersucht. Es konnte zwar in beiden Fällen eine Verbesserung des Umsatzes festgestellt werden, jedoch wurde jeweils das unerwünschte Man-6-OPO<sub>3</sub> **12** als Hauptprodukt gebildet.

Auch konnte eine nukleophile Substitution des Tosylats **4** mit Kaliumthioacetat zur 6-Thioacetyl-Verbindung **6** nicht verwirklicht werden, welche als Precursor zu einer modifizierten Synthese der Verbindung **5** diente (Schema 2).

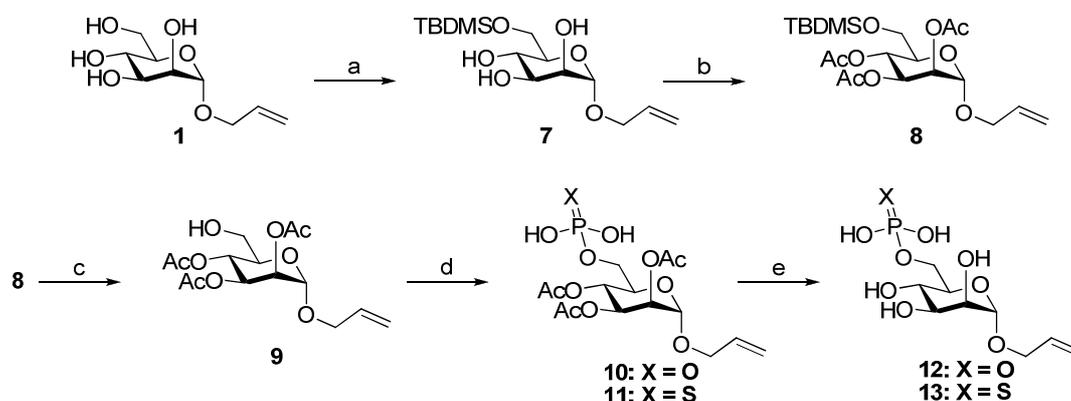


**Abb. 10.**  $^{31}\text{P}$ -Rohprodukt-NMR zu Versuchen zur Synthese der Verbindung **5**: 1) **4**,  $\text{Na}_3\text{PO}_3\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , DMF, 60 °C, 24 h; 2) **4**,  $\text{Na}_3\text{PO}_3\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , DMF/  $\text{H}_2\text{O}$ , 60 °C, 24 h; 3) **4**,  $\text{Na}_3\text{PO}_3\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , DMSO/ $\text{H}_2\text{O}$ , 60 °C, 24 h.

Weil sowohl die Verwendung von *cyclo*Saligenyl-Phosphorylierungsreagenzien, als auch die direkte nukleophile Substitution mit Natriumthiophosphat nicht die gewünschten Resulte

### 3. Synthesen

brachten, musste ein längerer Syntheseweg über selektiv-geschützte Intermediate besprochen werden. Pinto *et al.* konnten selektiv geschütztes Allyl-mannosid mit Phosphorylchlorid  $\text{POCl}_3$  in 6-Position phosphorylieren, entschützen, mit Cystamin-hydrochlorid in das entsprechende 3-(2-Aminoethylthio)propyl-mannosid überführen und zur affinitätschromatographischen Reinigung des M6P-Rezeptors an ein Polymerharz binden.<sup>[128]</sup> Dieser Ansatz wurde in dieser Arbeit mit einem veränderten Schutzgruppenansatz auf die analogen Derivate **9** und **16** mit dem entsprechenden Thiophosphorylchlorid  $\text{PSCl}_3$  und Phosphorylchlorid  $\text{POCl}_3$  angewendet. Die 6-OH-freie Verbindung **9** wurde durch eine Synthesesequenz aus selektiver Schützung der 6-OH-Gruppe mit *tert.*-Butyldimethylsilylchlorid, Acetylierung der verbliebenen Hydroxygruppen und anschließender Desilylierung mit einer Ausbeute von über 60% erhalten (Schema 3).

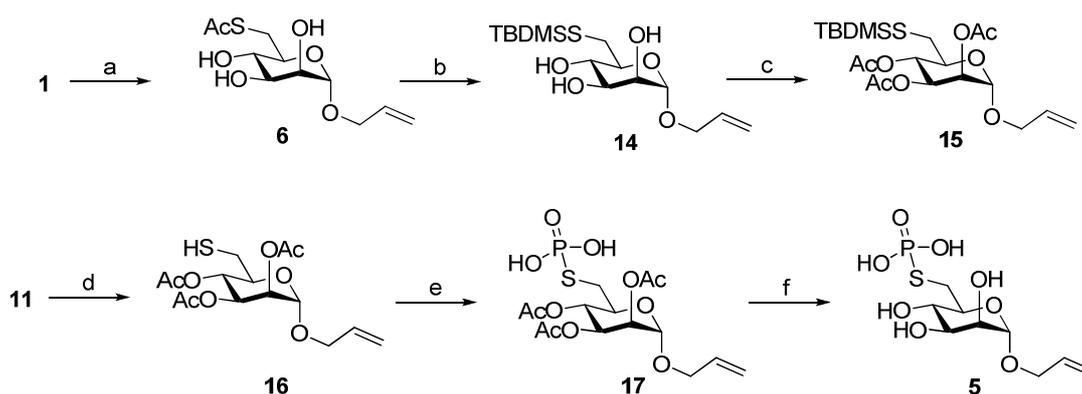


**Schema 3.** Synthese von Allyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-phosphat **12** und 6-Thiophosphat **13**. Reagenzien und Bedingungen: a) TBDMSCl, Pyridin, 0 °C  $\rightarrow$  RT, über Nacht, 76%; b)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Pyridin, RT, über Nacht, 96%; c) TBAF, AcOH, RT, über Nacht, 82%; d) 1.  $\text{POCl}_3$  für **5** oder  $\text{PSCl}_3$  für **6**, *N*-Ethylmorpholin, DCM, RT, über Nacht, 2.  $\text{H}_2\text{O}$ , 40 °C, 1 h, **10**:67%, **11**: 72%; e)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeOH, RT, 3-5 h, **12**: 95%, **13**: 98%.

In Analogie zur Arbeit von Pinto *et al.* wurde anschließend die Phosphorylierung mit  $\text{POCl}_3$  und *N*-Ethylmorpholin als HCl-Fänger in DCM bei Raumtemperatur durchgeführt. Der intermediäre Chlorphosphatester wurde mit Wasser bei 40 °C für eine Stunde zum Phosphat **10** hydrolysiert. Dabei betrug die Ausbeute 67%. Die gleiche Umsetzung des Alkohols **9** mit  $\text{PSCl}_3$  brachte nach Hydrolyse das Thiophosphat **11** mit einer verbesserten Ausbeute von 72%. Um eine Verseifung des Phosphorsäureesters zu verhindern, wurden die Acetylgruppen unter sehr milden Bedingungen mit  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in Methanol entfernt (Schema 3). So konnten die entschützten Verbindungen **12** und **13** mit sehr guten Ausbeuten von 95% bzw. 98% erhalten werden.

### 3. Synthesen

Für die Synthese der 6-S-Thiophosphatverbindung musste zunächst die 6-Hydroxygruppe in ein Thiol umgeformt werden. Da die nukleophile Substitution des 6-O-Tosylats **4** mit Kaliumthioacetat nicht gelang, wurde in einer Mitsunobu-Reaktion die Thioacetatgruppe selektiv in das Allylmannosid **1** mit Thioessigsäure, DIAD und Triphenylphosphin in 48% Ausbeute eingeführt. Nach Zemplén-Deacetylierung wurde das Thiol selektiv mit 67% Ausbeute als *tert.*-Butyldimethylsilylthioether geschützt. Nach Acetylierung der verbliebenen Hydroxygruppen und selektiver Desilylierung konnte das 6-SH-freie Mannosederivat **16** mit 82% Ausbeute über zwei Stufen erhalten werden (Schema 4). Wie bereits bei der Synthese von Verbindung **10** erfolgreich erprobt, konnte die Phosphorylierung des Thiols **16** mit POCl<sub>3</sub> in guter Ausbeute von 70% nach Hydrolyse des intermediären Chlorphosphatesters zum 6-S-Thiophosphat **17** umgesetzt werden. Die Entfernung der Acetatgruppen mit Kaliumcarbonat in Methanol lieferte anschließend den Precursor **5** für die nachfolgende radikalische Addition des Cystamin-hydrochlorids nahezu quantitativ.



**Schema 4.** Synthese von Allyl-6-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-phosphat **5**. Reagenzien und Bedingungen: a) AcSH, DIAD, PPh<sub>3</sub>, THF, 0 °C → RT, 3h, 48%; b) 1. NaOMe, MeOH, RT, über Nacht; 2. TBDMSCl, Pyridin, 0 °C → RT, über Nacht, 67%; c) Ac<sub>2</sub>O, Pyridin, RT., über Nacht, 97%; d) TBAF, AcOH, RT, über Nacht, 85%; e) 1. POCl<sub>3</sub>, *N*-Ethylmorpholin, DCM, RT, über Nacht, 2. H<sub>2</sub>O, 40 °C, 1 h, 70%; f) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH, RT, 3-5 h, 95%.

Die <sup>31</sup>P-NMR-Analyse der Intermediate **5**, **12** und **13** zeigte, dass die Phosphatgruppen nach der Deacetylierung intakt und einheitlich waren (Abb. 11). Die Signale hatten die charakteristischen chemischen Verschiebungen, die den jeweiligen Phosphaten exakt zugeordnet werden konnten. So hatte der Phosphor des 6-O-Phosphates **12** eine Verschiebung von 0.7 ppm, was in Übereinstimmung mit Literaturwerten war. Für das 6-O-Thiophosphat **13** und das 6-S-Thiophosphat **5** wurden ebenfalls in guter Übereinstimmung mit der Literatur Werte von 17.1 ppm (für **13**) und 47.5 ppm (für **5**) gefunden.

### 3. Synthesen

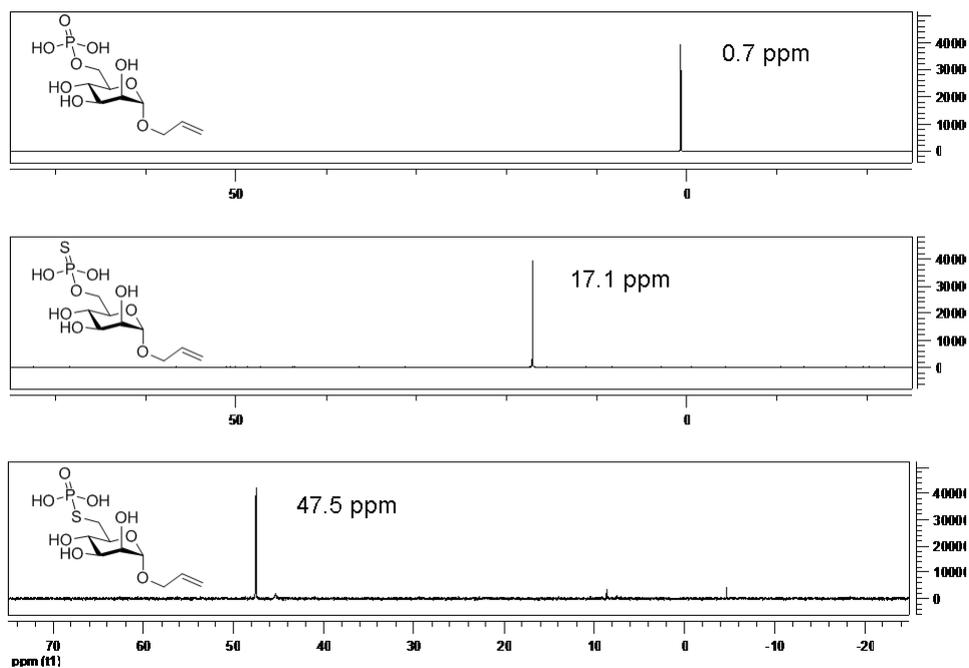
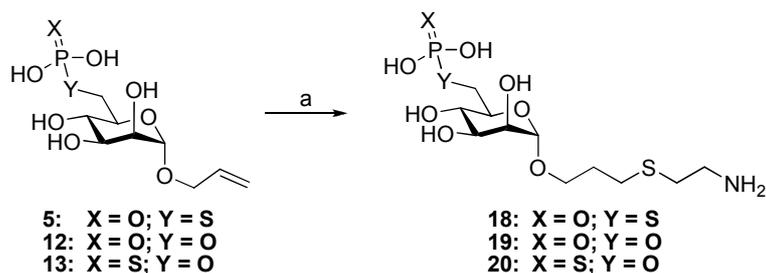


Abb. 11.  $^{31}\text{P}$ -NMR Verbindungen **12**, **13** und **5**.

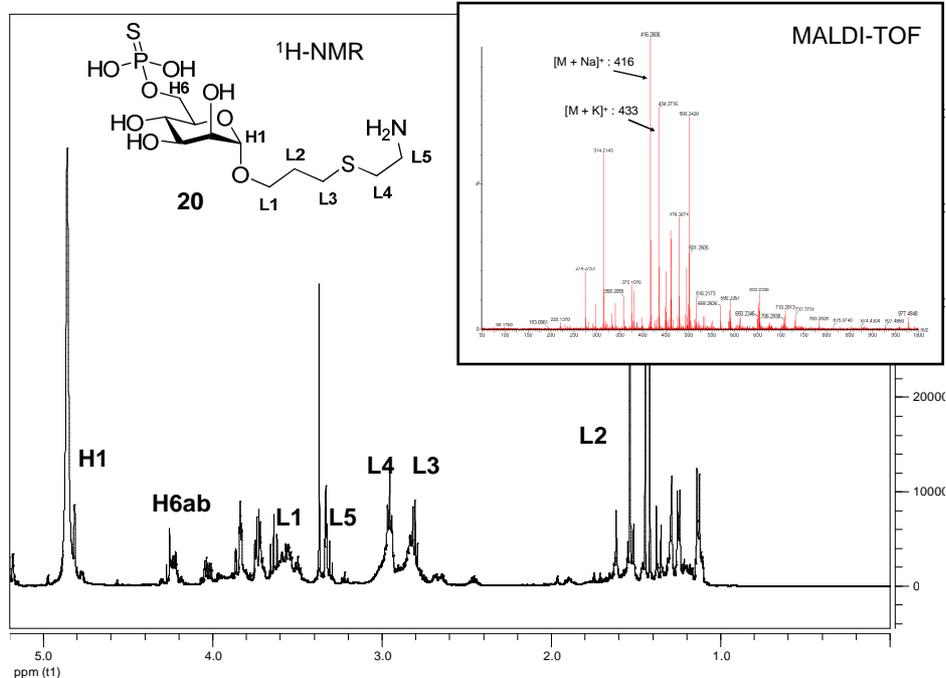


**Schema 5.** Synthese der 3-(2-Aminoethylthio)-propyl- $\alpha$ -D-mannosid-6-phosphate **18**, **19** und **17**. Reagenzien und Bedingungen: a) Cystamin-hydrochlorid, hv, RT, 3h, **18**: 72%, **19**: 75%, **20**: 69%.

Abschließend erfolgte die Amino-Funktionalisierung durch radikalische Addition von Cystamin-hydrochlorid an die allylische Doppelbindung. Dazu wurde jeweils die Verbindungen **5**, **12** und **13** mit 20 Äquivalenten Cystamin-hydrochlorid in wässriger Lösung für drei Stunden mit UV-Licht bestrahlt (Schema 5).<sup>[129]</sup> Nach Biogel-Chromatographie konnte die 3-(2-Aminoethylthio)propyl-mannoside **18**, **19** und **20** jedoch nur mit Verunreinigungen von Cystamin-hydrochlorid und dem Startmaterial erhalten werden. Die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren zeigten die charakteristischen Signale für den Linker (L1 bis L5) und die exocyclischen  $\text{CH}_2\text{-OH}$ -Protonen, die wegen der (Thio)phosphatgruppe stark Tieffeldverschoben waren (beispielhaft für **20**, Abb. 12). Mit MALDI-TOF-Experimenten konnten weitere Nachweise für die Bildung des gewünschten Produktes erbracht werden. So zeigt das kleine Fenster in der Abb. 12 das Natriumaddukt ( $\text{M} + \text{Na}^+$ ) mit  $m/z = 416$  ( $\text{M} = 393.0681$ ).

### 3. Synthesen

Die Ausbeuten dieser Reaktionen zu den Verbindungen **18**, **19** und **20** wurden aus dem Verhältnis der Integrale von H-2<sub>allyl</sub> zu H-2<sub>Linker</sub> bestimmt, da diese Signale separiert lagen und deshalb gut integrierbar waren.

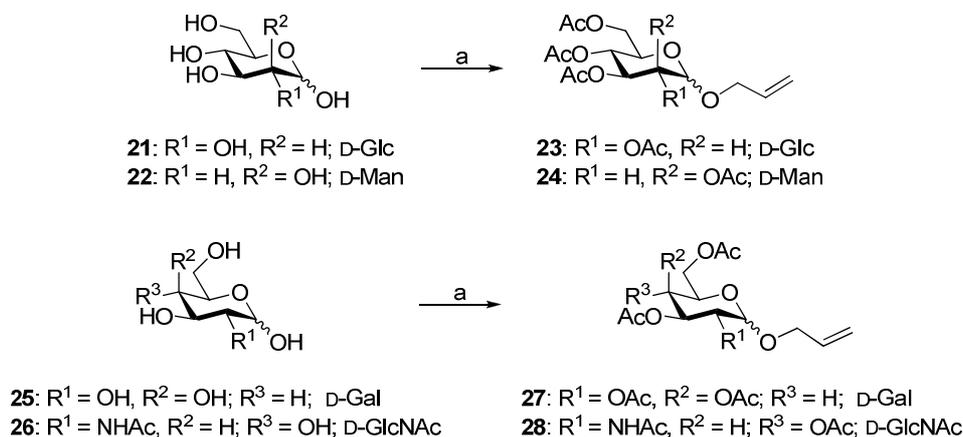


**Abb. 12.** <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Verbindung **20** mit MALDI-TOF-Spektrum (kleines Fenster).

Trotz der Verunreinigungen sollten die Verbindungen als Affinitätschromatographie-Ligand getestet werden, da keine negativen Beeinflussungen zu erwarten waren. Das Allylglycosid wäre nicht immobilisierbar, und von Cystamin-hydrochlorid waren keine negativen Bindungseigenschaften oder Interaktionen zu erwarten. Dennoch sollte bei einer Wiederholung der Synthese über eine Verbesserung der Reinigungsprozeduren nachgedacht werden. Eine frühe Einführung der Aminofunktion als geschützte Gruppe könnte die problematische Trennung von sehr polaren Substanzgemischen, wie sie hier entstanden waren, vermeiden. Die finale Entschützung brächte leicht trennbare Verbindungen.

### 3.2 Synthese Benzaldehyd-funktionalisierter Monosaccharide

In dieser Arbeit wurde ein modulares Konzept verfolgt, das die Benzaldehyd-Funktionalisierung der Kohlenhydratstrukturen durch Kreuzmetathese beinhaltet. Diese Benzaldehydderivate werden schließlich auf Amino- bzw. Aminoxo-terminierten SPR-Sensoroberflächen und Goldnanopartikeln angeheftet. Dazu wurde in allen in dieser Arbeit synthetisierten Kohlenhydratverbindungen eine terminale Doppelbindung im Aglycon benötigt. Als besonders vorteilhaft erwies sich dabei die Einführung der Allylfunktion in die anomere Position der Kohlenhydratderivate. Bei den einfachen, häufig vorkommenden und deshalb günstigen Zuckern wie D-Glucose, D-Mannose, D-Galactose und *N*-Acetyl-D-glucosamin wurde die einfache Fischer-Glycosylierung realisiert.<sup>[130]</sup> Dazu wurden jeweils D-Glucose **21**, D-Mannose **22**, D-Galactose **25** und *N*-Acetyl-D-glucosamin **26** in Allylalkohol suspendiert und unter Schwefelsäure-Katalyse bei 80 °C zur Reaktion gebracht (Schema 6). Da die Fischer-Glycosylierung stereospezifisch ist, wurden die Allylglycoside als anomere Gemische erhalten. Eine grundsätzliche, mechanistische Diskussion von Glycosylierungsreaktionen befindet sich in Abschnitt 3.4, in dem die Synthesen der Trisaccharide besprochen werden.



**Schema 6.** Synthese der peracetylierten Allyl-monosaccharidglycoside. Reagenzien und Bedingungen: a) 1. Allylalkohol, konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 80 °C, 3–4 h; 2. Ac<sub>2</sub>O, Pyridin, RT, 16–18 h; Ausbeute über 2 Stufen: **23**α: 36%; **23**β: 25%; **24**α: 34%; **24**β: 21%; **27**α: 41%; **27**β: 21%; **28**α: 34%; **28**β: 15%.

Die ungeschützten Allylglycoside wurden anschließend ohne weitere Reinigung als Anomerengemisch unter basischen Bedingungen mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Als

### 3. Synthesen

Acetate war eine säulenchromatographische Trennung der Anomeren möglich. So konnten in einem Schritt sehr einfach die gewünschten peracetylierten Allylglycoside der einfachen Zucker **23 $\alpha\beta$** , **24 $\alpha\beta$** , **27 $\alpha\beta$**  und **28 $\alpha\beta$**  in ausreichender Ausbeute erhalten werden. Diese wurden später für die Kreuzmetathese eingesetzt.

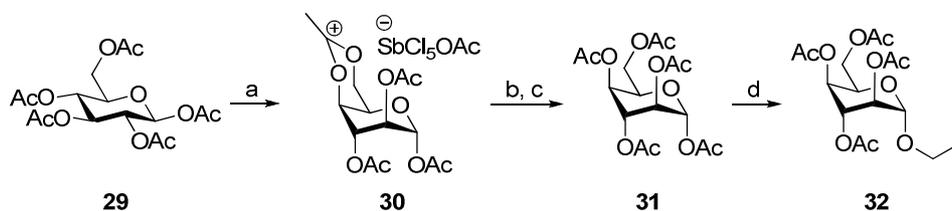
Etwas aufwendiger war die Synthese der Allylglycoside der seltenen Zucker D-Idose und D-Talose. Zwar ist bisher über die biologische Bedeutung sowohl von D-Idose als auch D-Talose nur wenig bekannt, aber für die systematische Untersuchung zu Mechanismen in der CCI sind sie interessant, da sie eine *ax-ax-ax* oder *trans-trans* (für Idose) bzw. eine *ax-eq-ax* oder *cis-cis* (für Talose) Konfiguration der Hydroxygruppen OH-2, OH-3 und OH-4 aufweisen. Besonders die *ax-eq-ax* Konfiguration in der D-Talose begünstigt die Komplexierung von Calcium-Ionen und könnte eine CCI unterstützen.<sup>[131]</sup> Darüber hinaus weist die D-Idose (bzw. L-Idose / L-Iduronsäure) eine besonders hohe konformative Flexibilität auf, was eine für CCI benötigte Orientierung der Hydroxygruppen ermöglichen könnte.<sup>[132-134]</sup>

Auf Grund der Bedeutung von L-Idose / L-Iduronsäure in der Synthese von Heparin und dessen Analoga sind zahlreiche Synthesen von L-Idose bzw. L-Iduronsäure literaturbekannt. Da es sich bei L-Idose um das C5-Epimer der D-Glucose handelt, starten alle Synthesen von kostengünstigen Derivaten der D-Glucose. Allen gemein ist aber, dass sie syntheseintensiv sind und eine aufwendige Schutzgruppenstrategie beinhalten. So erreichten z. B. Jaquinet *et al.* die C5-Epimerisierung durch selektive Hydroborierung des Exoglycals eines Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid-Derivats.<sup>[135]</sup> S. Ikegami *et al.* haben die Epimerisierung an einem selektiv geschützten und durch Benzylhydroxyamin geöffnetem D-Gluconolacton durch Mitsunobu-Reaktion durchgeführt.<sup>[136]</sup> Eine bereits früh entwickelte und heute oft benutzte, teilweise modifizierte Methode geht von Diisopropyliden-glucose aus.<sup>[137-140]</sup> Nach Benzylierung der 3-OH-Gruppe, sowie anschließender Abspaltung des 5,6-Acetonids, werden die freien Hydroxygruppen mesyliert und die primäre OH-Gruppen in das Acetat überführt. Nun erfolgt die Epimerisierung durch eine intramolekulare Substitutionsreaktion, wobei die 5,6-Anhydroverbindung unter Inversion der C5-Konfiguration gebildet wird. Diese Synthesen sind nur bedingt auf die Synthese von D-Idose anwendbar, da man von der sehr teuren L-Glucose ausgehen müsste. Zwar sind Synthesen von L-Glucose aus D-Glucose beschrieben, aber diese sind ebenfalls sehr aufwendig und waren deshalb nicht praktikabel.<sup>[141, 142]</sup>

Die Lösung zur Vermeidung einer aufwendigen, stufenreichen Synthese konnte eine von Paulsen *et al.* gefundene und fast vergessene Acetoxoniumlagerung sein.<sup>[143]</sup> Paulsen *et al.* hatten beobachtet, dass bei der Behandlung von Penta-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose (**29**) mit Antimonpentachlorid nach kurzer Zeit ein in trockenem Dichlormethan unlösliches Salz

### 3. Synthesen

entstand. Dieses Salz konnte als 4,6-*O*-Acetoxonium-1,2,3-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranosyl-acetoxopentachloroantimonat (**30**) identifiziert werden. Dieser Befund wurde zur Synthese des Allylidopyranosids genutzt (Schema 7).



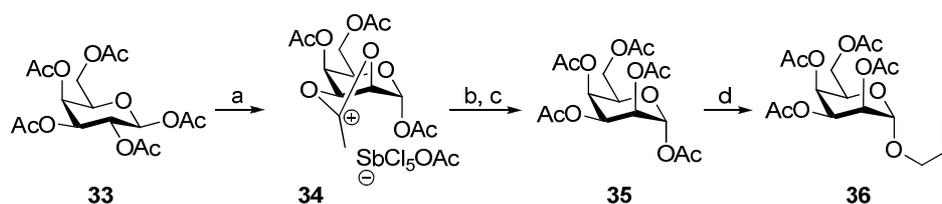
**Schema 7.** Synthese von Allyl- $\alpha$ -D-idopyranosid **32**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a)  $\text{SbCl}_5$ , DCM,  $-10\text{ }^\circ\text{C}$ , 1h, 51%; b)  $\text{NaOAc}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , RT, 20 min; c)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Pyridin, RT, 16 h, über 2 Stufen 80%; d) I:  $\text{BnNH}_2$ , DCM, RT, 25h; II:  $\text{CCl}_3\text{CN}$ , DBU, DCM, RT, 1 h; III: Allylalkohol,  $4\text{ \AA}$  MoLS,  $\text{TMSOTf}$ , DCM, 4 h, über 3 Stufen 48%.

Ließ man das Pentaacetat **29** mit Antimonpentachlorid bei  $-10\text{ }^\circ\text{C}$  reagieren, so bildete sich nach wenigen Minuten ein weißer Niederschlag. Dieser Niederschlag konnte nach einer Stunde Reaktionszeit abfiltriert und als Verbindung **30** identifiziert werden (Schema 6). Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine Umlagerungsreaktion, bei der es vermutlich im ersten Schritt zur Anlagerung der Lewis-Säure  $\text{SbCl}_5$  an den Carbonylsauerstoff der anomeren Acetatgruppe kommt. Dieser Schritt ist analog zu Lewis-Säure aktivierten Glycosylierungen bei anomeren Acetaten zu verstehen. Da aber ein alkoholischer Akzeptor fehlt, erfolgt ein nukleophiler Angriff der 2-*O*-Acetatgruppe auf das anomere Kohlenstoffatom. Es entsteht ein Antimonacetylpentachloridacetoxonium-Ion, welches wegen fehlender Nukleophile nur von der 3-*O*-Acetylgruppe unter Inversion der C-2-Konfiguration angegriffen werden kann. Erneut entsteht ein Antimonacetylpentachloridacetoxonium-Ion, jetzt aber zwischen der 2- und 3-Hydroxygruppe. Dieses Mannose-2,3-acetoxonium-Ion durchläuft die inversive Umlagerungskaskade über ein Altrose-3,4-acetoxonium-Ion, bis das Ido-4,6-acetoxonium-Salz **30** aus der Lösung ausfällt. Der jeweilige Angriff der Acetylgruppe auf das Acetoxonium-Ion kann nur aus der trans-Konfiguration erfolgen, weshalb die  $\alpha$ -Penta-*O*-acetyl-glucofuranose nicht reagiert. Dass es sich bei dieser Reaktion um eine Gleichgewichtsreaktion handelte, die durch das Ausfallen des Salzes auf die Produktseite gezogen wurde, konnte durch NMR-Studien von Paulsen sowie Waschke gezeigt werden, in denen bei unterschiedlichen Temperaturen und Lösungsmitteln verschiedene Verhältnisse zwischen den möglichen Acetoxonium-Ionen festgestellt werden konnten.<sup>[143, 144]</sup>

### 3. Synthesen

Nach Hydrolyse des Salzes **30** und anschließender Acetylierung der freien Hydroxygruppen, konnte die  $\alpha$ -Penta-*O*-acetyl-idopyranose (**31**) mit 80% Ausbeute erhalten werden. Nach selektiver Entschützung des anomeren Acetates mit Benzylamin wurde das Trichloracetimidat mit DBU und Trichloracetonitril hergestellt. Die Glycosylierung von Allylalkohol mit dem Idopyranosyltrichloracetimidat brachte dann das Allyl-idopyranosid **32** mit einer Ausbeute von 48% über drei Stufen (Schema 7).

In weiterführenden Arbeiten konnten Paulsen *et al.* zeigen, dass sowohl  $\beta$ -Acetochlorglucose als auch  $\beta$ -Acetochlorgalactose ebenfalls diese Umlagerungsreaktion mit  $\text{SbCl}_5$  eingingen. Aus  $\beta$ -Acetochlorgalactose entstand dabei unter geeigneten Bedingungen das Talose-2,3-acetoxonium-Salz.<sup>[145]</sup> Zunächst wurde deshalb Penta-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactose **33** mit Aluminiumtrichlorid in die  $\beta$ -Acetochlorgalactose überführt.<sup>[146]</sup> Die so erhaltene  $\beta$ -Acetochlorgalactose wurde dann mit  $\text{SbCl}_5$  in  $\text{CCl}_4$  bei 50 °C behandelt. Nach kurzer Zeit fiel das Salz **34** aus. Das Rohprodukt konnte mit 54% Ausbeute über 2 Stufen erhalten werden. Im Salz **34** stehen die Hydroxylgruppen an C-3 und C-4 in cis-Stellung, so dass eine trans-Öffnung des Dioxolanylium-Ringes unter Nachbargruppenbeteiligung der Acetoxygruppe am C-4 hier nicht möglich ist. Jeder weitere Umlagerungsschritt ist damit blockiert. Das Salz **34** stand mit dem Galactose-1,2-acetoxonium-Salz im Gleichgewicht. Dieses Gleichgewicht war bei niedrigen Reaktionstemperaturen fast ausschließlich in Richtung Galactosederivat verschoben, weshalb hohe Temperaturen angewendet werden mussten. Nach Hydrolyse und Nachacetylierung konnte die  $\alpha$ -Penta-*O*-acetyl-talopyranose (**35**) neben dem Galactosederivat in 20% Ausbeute isoliert werden (Schema 8).



**Schema 8.** Synthese von Allyl- $\alpha$ -D-talopyranosid **36**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) I:  $\text{AlCl}_3$ , DCM, RT, 2 h; II:  $\text{SbCl}_5$ ,  $\text{CCl}_4$ , 50 °C, 15 min, über 2 Stufen 54%; b)  $\text{NaOAc}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , RT, 20 min; c)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Pyridin, RT, 16 h, über 2 Stufen 20%; d) I:  $\text{BnNH}_2$ , DCM, RT, 25h; II:  $\text{CCl}_3\text{CN}$ , DBU, DCM, RT, 1 h; III: Allylalkohol, 4 Å MolS, TMSOTf, DCM, 4 h, über 3 Stufen 45%.

### 3. Synthesen

Nach einer Synthesesequenz aus Entschützung der anomeren Acetatgruppe, Trichloracetimidat-Derivatisierung und abschliessender Glycosylierung konnte über drei Stufen das Allyl-talopyranosid **36** mit einer Gesamtausbeute von 45% hergestellt werden (Schema 8).

Mit diesen Allylmonosacchariden wurde die Benzaldehyd-Funktionalisierung als Bindungsmotiv für die Glyco-SAM-Bildung angegangen. Diese Funktionalisierung sollte durch Olefin-Metathese erfolgen. Die Metathese-Reaktionen, Kreuz-, Ringschluss- und Ringöffnungspolymerisation-Metathese, gehören heute zu den wichtigsten C-C-Verknüpfungsreaktionen, deren Entdeckung und Entwicklung im Jahr 2005 mit dem Nobelpreis für Y. Chauvin, R. H. Grubbs, und R. R. Schrock geehrt wurde.<sup>[147-149]</sup> Die Metathese ist eine durch Übergangsmetalle katalysierte Gleichgewichtsreaktion, bei der zwischen zwei Kohlenstoff-Doppelbindungen Alkyliden-Gruppen übertragen bzw. ausgetauscht werden.<sup>[150-152]</sup> Für diese Reaktion gilt heute der sogenannte Chauvin-Mechanismus als gesichert.<sup>[153]</sup> Die Metathese ist eine Folge von Cycloadditions- und Cycloreversionsschritten zwischen einem Metall-Carben-Komplex und einem Olefin (Abb. 13). Sie konnte mit dem Ruthenium-Katalysator **K1**, dem sogenannten Grubbs-Katalysator der ersten Generation, sehr genau untersucht werden. Zunächst kommt es zur Dissoziation eines Phosphinliganden aus dem Metallkomplex **K2**.<sup>[154]</sup> Unter Anlagerung des Substrats **O1** an den Komplex **K3** wird ein  $\pi$ -Komplex **K4** gebildet, in dem sich der Ligand **O1** vermutlich *cis* zum Carben befindet. Wahrscheinlich findet die Dissoziation vor der Bildung des  $\pi$ -Komplexes statt.<sup>[155, 156]</sup> Aus diesem  $\pi$ -Komplex findet die [2+2]-Cycloaddition unter Bildung eines Metalla-Cyclobutanrings **K5** statt. Im Cycloreversionsschritt kommt es zur Bildung des neuen, Produkt-nahen  $\pi$ -Komplexes **K6**. Durch Freisetzung des Olefins **O2** wird der Startkomplex **K3** zurückerhalten, wodurch ein neuer Katalysezyklus initiiert werden kann. Diese Details wurden zunächst aus kinetischen Untersuchungen abgeleitet. Es konnte jedoch bereits ein  $\pi$ -Komplex eines Metathese-Katalysators isoliert werden.<sup>[157]</sup>

### 3. Synthesen

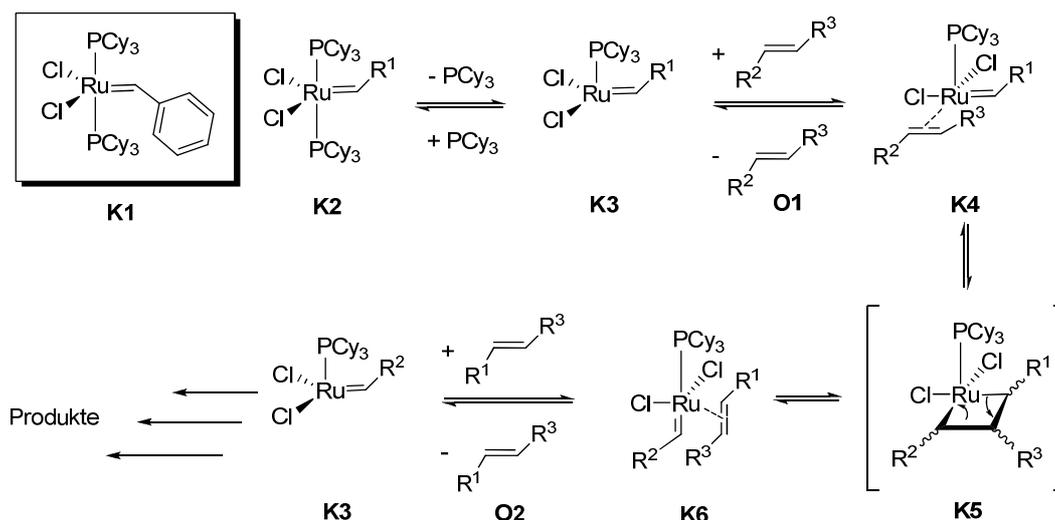


Abb. 13. Mechanismus der Olefinmetathese.

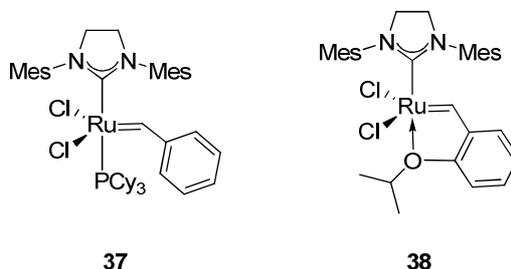
Anfänglich, in den frühen 1960er Jahren, waren die Katalysatoren relativ einfache, heterogene Systeme auf Wolfram- oder Molybdän-Basis, z.B. WO<sub>3</sub> auf SiO<sub>2</sub>. Sie wurden ausschließlich in der Petro- und Kunststoff-chemischen Industrie verwendet. Wenig später wurde von Calderon *et al.* für die *Goodyear Tire & Rubber Company* ein homogener Wolframhexachlorid-Katalysator entwickelt, der Ethyl-dimethylaluminium als Cokatalysator benötigte.<sup>[158]</sup> Calderon *et al.* waren es auch, die den Begriff Olefin-Metathese prägten. Den Einzug in die klassische organische Chemie fand die Olefinmetathese durch die Entwicklung der sehr empfindlichen „Schrock-Carbene“.<sup>[159, 160]</sup> Die meisten heutzutage verwendeten Metathesekatalysatoren sind Ruthenium-basierte Katalysatoren. Die Reaktivität gegenüber Doppelbindungen und damit die relative Toleranz gegenüber anderen funktionellen Gruppen nimmt in der Reihe Titan<Wolfram<Molybdän<Ruthenium zu.<sup>[150]</sup> Zu diesen Ruthenium-Katalysatoren gehört auch der erstmals von Grubbs vorgestellte Ruthenium-Carben-Komplex **K1**.<sup>[161]</sup> Die Katalysatoren auf Rutheniumbasis sind verhältnismäßig wenig luft- und feuchtigkeitsempfindlich und können im Gegensatz zu den Molybdänkatalysatoren unter Stickstoff als Schutzgas verwendet werden.

Der Austausch eines Tricyclohexylphosphinliganden durch ein heterocyclisches Carben führte schließlich zum Grubbs-Katalysator der „zweiten Generation“ (**37** in Schema 8).<sup>[162, 163]</sup> Er zeichnet sich durch eine höhere Aktivität, Stabilität und Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen aus. Eine weitere Stabilisierung des Katalysators im festen Zustand wird nach Hoveyda durch die Einführung eines Oxo-Liganden erreicht (**38** in Schema 8).<sup>[164, 165]</sup> Der *ortho*-Isopropoxybenzyliden-Ligand am Ruthenium dissoziiert, ähnlich wie der Phosphinligand im Katalysator **K1**, zu Beginn der katalytischen Aktivität vom Ruthenium.

### 3. Synthesen

Nachdem das Substrat verbraucht ist, wird das *ortho*-Isopropoxystyrol vom Ruthenium wieder „eingefangen“. Dadurch ist dieser Rutheniumkomplex **38** wiederverwendbar und kann theoretisch sogar säulenchromatographisch gereinigt werden.<sup>[165]</sup> Inzwischen wurde auch schon von asymmetrischen Metathese-Reaktionen unter Verwendung von chiralen Katalysatoren berichtet.<sup>[166-168]</sup>

Insgesamt ist die Zahl der Veröffentlichungen zu Metathesereaktionen in der Kohlenhydratchemie, im Gegensatz zur übrigen organische Chemie, eher gering. Einen ersten Überblick zu den bereits durchgeführten Umsetzungen bieten Übersichtsartikel von Roy<sup>[169]</sup> und Jørgensen.<sup>[170]</sup> Die Hauptziele der Anwendungen der Metathese in der Kohlenhydratchemie waren zunächst auf methodische Untersuchungen zur Homodimerisierung von Allyl-*O*- und Allyl-*C*-glycosiden beschränkt.<sup>[171-174]</sup> Später kamen auch Funktionalisierungen von Allyl-*O*- und Allyl-*C*-glycosiden und anderen olefinischen Kohlenhydratderivaten durch die Kreuzmetathese hinzu.<sup>[175-177]</sup> Schließlich wurde begonnen, die Metathese zur Synthese biologisch relevanter Kohlenhydratderivate zu nutzen. So wurden multivalente Glyco-Cluster aufgebaut.<sup>[178]</sup> Durch Ringschlußmetathese von Kohlenhydratderivaten konnten carbocyclische Derivate synthetisiert werden.<sup>[179]</sup>



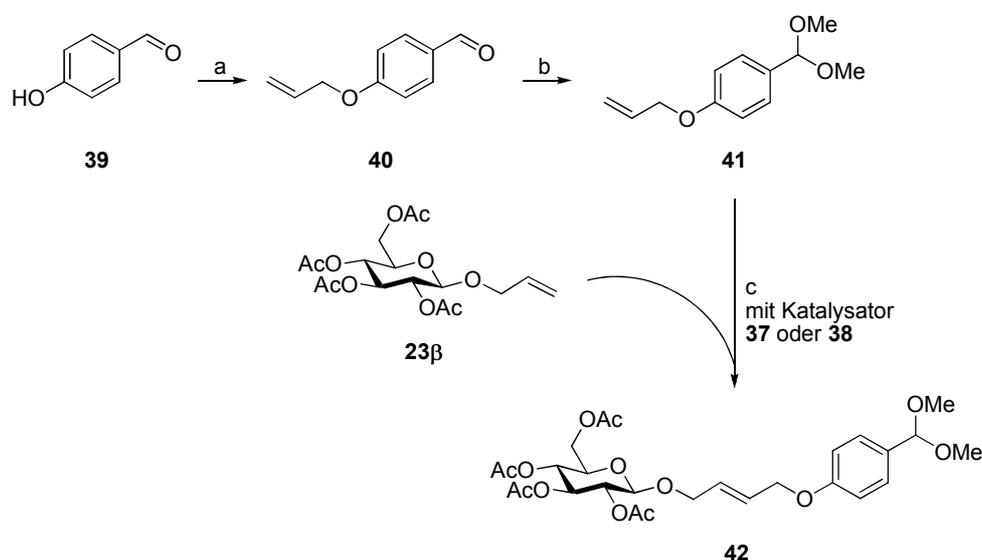
**Schema 9.** Metathesekatalysatoren: Grubbs-2. Generation **37** und Hoveyda-2. Generation **38**.

In dieser Arbeit wurde die Kreuzmetathese zur Benzaldehyd-Derivatisierung von Allyl-*O*-glycosiden eingesetzt. Dieses Ziel hätte auch durch Glycosylierung verfolgt werden können, doch bieten Allyl-glycoside eine Vielzahl von anderen Derivatisierungsmethoden, was ihre potenzielle Verwendbarkeit erhöht.<sup>[180]</sup>

Erste Versuche zur Metathese wurden mit dem  $\beta$ -Allyl-glucopyranosid **23 $\beta$**  und dem Dimethylacetal-geschützten *p*-Allyloxy-benzaldehyd **41** durchgeführt (Schema 10). Die Verbindung **41** wurde dazu zunächst synthetisiert, indem *p*-Hydroxybenzaldehyd (**39**) mit Allylbromid und  $K_2CO_3$  in Aceton bei Rückfluss verethert wurde.<sup>[181]</sup> Anschließend wurde die Aldehydfunktion mit Trimethyl-*ortho*-formiat als Dimethylacetal geschützt.<sup>[182]</sup> Beide Transformationen lieferten mit 94% und 98% hervorragende Ausbeuten. Diese Reaktionen

### 3. Synthesen

und die Isolierung der Produkte waren einfach durchzuführen, was eine Herstellung des Kupplungspartners **41** im Multigramm-Maßstab erlaubte.



**Schema 10.** Synthese des Benzaldehyd-funktionalisierten Glucoderivats **42**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Allylbromid,  $K_2CO_3$ , Aceton, Rückfluss, 17 h, 94%; b) pTSA, Trimethyl-orthoformiat, RT, 6h, 98%.; c) für Reaktionsbedingungen, siehe Tabelle 3.

Diese großen Mengen der günstigen Verbindungen **41** waren auch erforderlich, da sie durch die Reaktionsführung der Metathese benötigt wurden. Die Komponente **41** sollte in großem Überschuss von bis zu zehn Äquivalenten eingesetzt werden, um eine Homodimerisierung des Allylglycosids zu verhindern.

Um eine möglichst hohe Ausbeute des Kreuzmetatheseprodukts zu erzielen, sollten die Bedingungen für die Metathese mit den Allylglycosiden und dem Benzaldehydderivat **41** optimiert werden. Dazu wurden das Allylglucosid **23β** und die Verbindung **41** unter verschiedenen Bedingungen mit den Katalysatoren **37** oder **38** (jeweils 10 mol%) zur Reaktion gebracht (Tabelle 3). In keinem Fall konnte eine Homodimerisierung des Allylglycosids als ungewünschtes Nebenprodukt beobachtet werden. Bei gleicher Reaktionszeit von drei Stunden konnte mit Katalysator **38** die Ausbeute an Produkt **42** von 36% auf 55 % durch eine Temperatur Erhöhung von 25 °C auf 40 °C gesteigert werden (Tabelle 3, 1 + 2). Dieses Ergebnis zeigte, das eine höhere Temperatur nötig war, um das entstandene Ethen aus der Reaktionslösung auszutreiben. Nur so konnte eine Rückreaktion zu den Edukten verhindert werden. Die DC-Analyse des Ansatzes 2 zeigte jedoch eine nicht vollständige Umsetzung des Allylglycosids, weshalb die Reaktionszeit auf sechs Stunden verdoppelt wurde (Tabelle 3, 3). Es konnte eine erhebliche Steigerung des Umsatzes erzielt werden.

### 3. Synthesen

Nach Reinigung konnte 92% Ausbeute erlangt werden. Da im Dünnschichtchromatogramm immer noch Startmaterial, wenn auch nur sehr wenig, erkennbar war, wurde die Reaktionszeit abermals verdoppelt (Tabelle 3, 4). Die Ausbeute konnte jedoch nicht verbessert werden. Sowohl bei Ansatz 4 als auch bei Ansatz 3 wurde eine schwarz-gräuliche Färbung der ehemals grünen Lösung festgestellt, was auf die Zersetzung des Katalysators hindeutete. Es wurde vermutet, dass deshalb keine Verbesserung des Umsatzes erzielt wurde. Das Reaktionsoptimum lag offensichtlich zwischen drei und sechs Stunden Reaktionszeit. Durch den Austausch des Katalysators **38** gegen **37** konnte nur 54% Ausbeute des Produktes erhalten werden (Tabelle 3, 5). Der Katalysator **37** erschien unter diesen Bedingungen weniger stabil bzw. tolerant gegenüber den hoch-funktionalisierten Kohlenhydratderivaten zu sein. Durch <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie konnte in allen Fällen für die neugebildete Doppelbindung ausschließlich (*E*)-Konfiguration nachgewiesen werden.

**Tabelle 3.** Optimierung der Reaktionsbedingungen für die Kreuzmetathese zur Synthese der Benzaldehydefunktionalisierten Glycoderivate.<sup>[a]</sup>

	Katalysator <sup>[b]</sup>	Temperatur	Zeit	Ausbeute <sup>[c]</sup>
1	<b>38</b>	25 °C	3 h	36%
2	<b>38</b>	40 °C	3 h	55%
3	<b>38</b>	40 °C	6 h	92%
4	<b>38</b>	40 °C	12 h	89%
5	<b>37</b>	40 °C	6 h	54%

[a] Die Reaktionen wurden in entgastem, trockenem Dichlormethan mit den Verbindungen **23β** und **41** (5 Äq.) durchgeführt; [b] 10 mol%; [c] nur (*E*)-Konfiguration wurde durch <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie beobachtet.

In den folgenden Kreuzmetathesereaktionen zur Funktionalisierung sollten deshalb die optimalen Bedingungen des Ansatzes 3 (Tabelle 3) angewendet werden.<sup>[180]</sup> Dazu wurden zunächst jeweils die Allylmonosaccharidglycoside **23α** (*α-gluco*), **24** (*α-manno*), **27** (*β-galacto*), **28** (*β-NAc-gluco*), **32** (*α-ido*) und **36** (*α-talo*) mit dem Katalysator **38** und dem Kreuzmetathesepartner **41** bei 40 °C für sechs Stunden zur Reaktion gebracht. Die Ergebnisse der Kreuzmetathesereaktionen sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Abgesehen von der Synthese der Idoseverbindung **47** (66%) konnten durchweg gute bis sehr gute Ausbeuten von 75% bis 87% erhalten werden. Diese Ausbeuten waren etwas geringer als für das *β*-Glucosederivat **42**.

### 3. Synthesen

**Tabelle 4.** Darstellung Benzaldehyd-funktionalisierter Monosaccharide durch Metathese.<sup>[a]</sup>

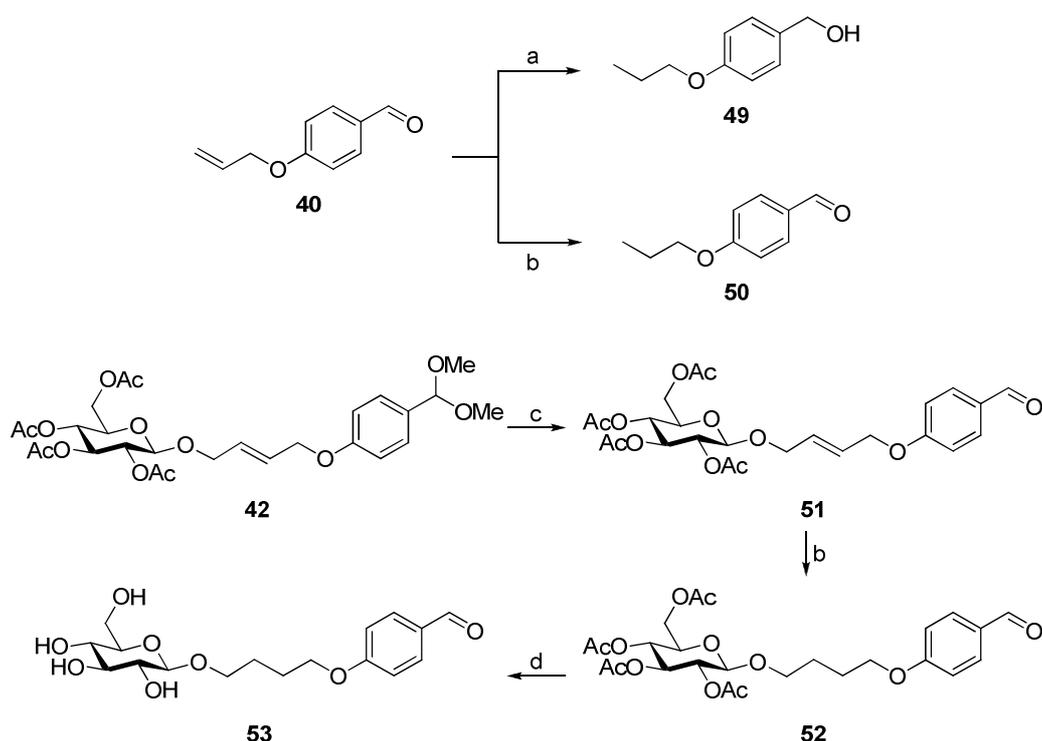
	Edukt	Produkt	Ausbeute <sup>[b]</sup>
1	<b>23-<math>\alpha</math></b>	 <b>43</b>	76%
2	<b>24</b>	 <b>44</b>	87%
3	<b>27</b>	 <b>45</b>	75%
4	<b>28</b>	 <b>46</b>	81%
5	<b>32</b>	 <b>47</b>	66%
6	<b>36</b>	 <b>48</b>	82%

[a] Die Reaktionen wurden in entgastem, trockenem Dichlormethan mit dem Katalysator **38** (10 mol%) und der Verbindung **41** (5 Äq.) bei 40 °C für drei Stunden durchgeführt; [b] nur (*E*)-Konfiguration wurde durch <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie beobachtet.

Verglich man die Ausbeuten für die  $\alpha$ -Mannoverbindung **44** (87%) und der  $\alpha$ -Taloverbindung **48** (82%), die beide 1,2-*trans*-konfiguriert sind, mit der  $\alpha$ -Glucosoverbindung **43** (76%), die 1,2-*cis*-konfiguriert ist, konnte man zu dem Schluss kommen, dass es im 1,2-*cis*-Fall im Katalysekomplex zu einer sogenannten *mismatched* Situation kam (Tabelle 4, 2 + 6 vs. 1). So könnte die geringere Ausbeute erklärt werden. Im Fall der  $\alpha$ -Idoseverbindung **47** brachte wohl die all-axiale Anordnung der Hydroxygruppen besondere sterische Effekte mit sich, die die Ausbeute für die Kreuzmetathese negativ beeinflussten. Generell konnte jedoch festgestellt werden, dass die Kreuzmetathese eine hervorragende Methode zur Funktionalisierung von Allylglycosiden ist. Im Allgemeinen konnten so die Benzaldehyd-

### 3. Synthesen

verknüpften Glycoderivate nach dem Baukastenprinzip in guten bis sehr guten Ausbeuten hergestellt werden. Es konnte das Risiko der Entschützung des Dimethylacetals in der Verbindung **41**, die mit (Lewis)-Säure katalysierten Glycosylierungsreaktionen verbunden wären, vermieden werden. Im nächsten Schritt sollte die Doppelbindung der C4-Linkereinheit hydriert und die temporären Schutzgruppen (Dimethylacetal und Acetate) entfernt werden. Eine Alkyl-C4-Einheit sollte in den CPI- und CCI-Untersuchungen eine größere Flexibilität gegenüber der Alken-C4-Kette aufweisen, was die Interaktion begünstigen sollte.

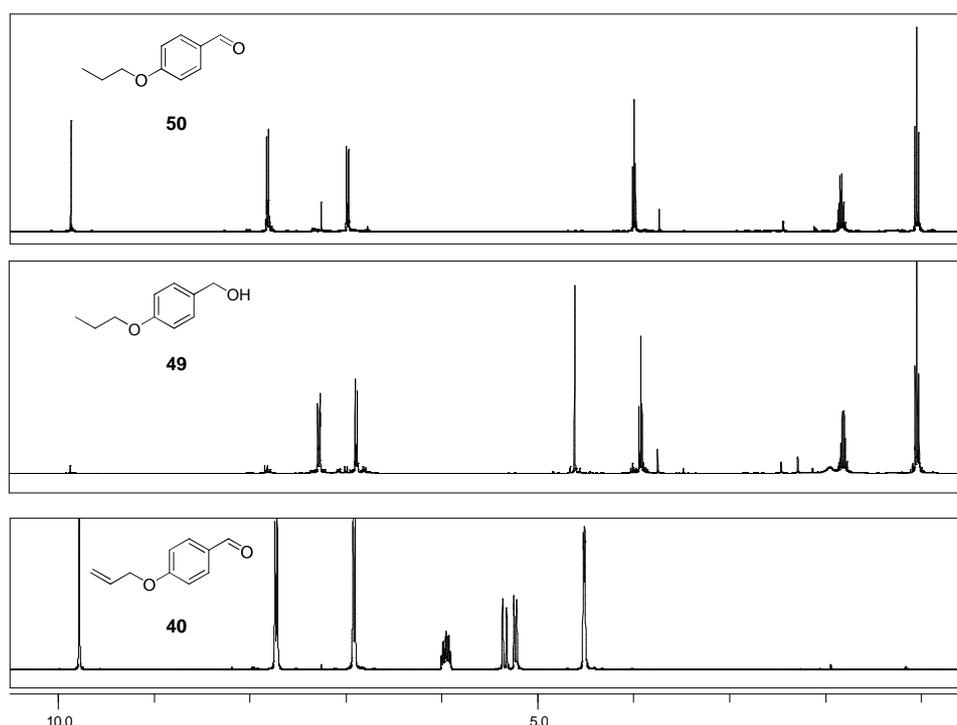


**Schema 11.** Versuche zur selektiven Hydrierung und Erprobung der Entschützung/Hydrierung am Metatheseprodukt **42**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a)  $\text{H}_2/\text{Pd}$ , aq. MeOH, RT, 12h, quant.; b)  $\text{H}_2/\text{Pd}$ , PhSPh, EtOAc, RT, 12h, quant; c) TFA/ $\text{H}_2\text{O}$ /THF (0.1/9.9/90 v/v), RT, 6 h, quant.; d) NaOMe, MeOH, RT, 6h, über 3 Stufen 89%.

Die Palladium/Aktivkohle-(Pd/C)-katalysierte Hydrierung mit Wasserstoff ist die wohl in der organischen Chemie am häufigsten angewendete Methode zur Transformation einer Doppelbindungen in eine aliphatische Kette. Diese Methode wird aber auch zur Entschützung von Benzylethern (Hydrogenolyse), und im industriellen Maßstab zur Synthese von Benzylalkohol aus Benzaldehyd eingesetzt.<sup>[183, 184]</sup> Um diese ungewünschte Nebenreaktion bei den dargestellten Benzaldehyd-funktionalisierten Glycoderivaten zu verhindern, muss die Katalysatoraktivität des Pd/C mit einem geeigneten Mittel gebremst werden. Sogenannte Vergiftungsmittel sind in diesem Zusammenhang Stickstoff-enthaltende Basen wie

### 3. Synthesen

Ammoniak, Pyridin oder 2,2'-Dipyridyl.<sup>[185]</sup> Mit diesen Basen ist jedoch Chemoselektivität schwierig zu kontrollieren und bedarf einer aufwendigen Optimierung der Reaktionsbedingungen. Besser eignen sich Schwefelverbindungen wie Thiophen, Butylmercaptan<sup>[186]</sup> oder Platinsulfid.<sup>[187]</sup> Mori *et al.* konnten zeigen, dass Diphenylsulfid ein geeignetes Katalysatorgift ist, um eine chemoselektive Hydrierung einer Doppelbindung in Anwesenheit einer Benzaldehyd-Funktion durchzuführen.<sup>[188]</sup> Diese Bedingungen wurden hier zunächst am *p*-Allyloxybenzaldehyd **40** getestet und mit den Standard-Hydrierbedingungen verglichen (Schema 11).



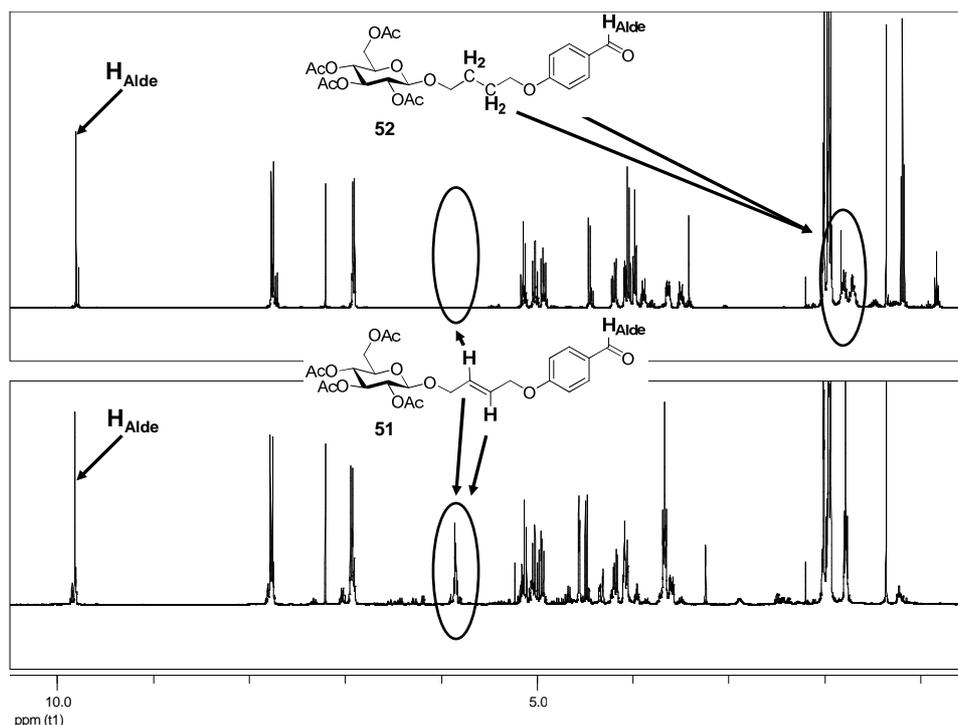
**Abb. 14.** <sup>1</sup>H-NMR-Spektren zur Analyse der chemoselektiven Hydrierung. Verbindung **40** vor Hydrierung (unten); Produkt **49** durch Standard-Hydrierung (Mitte); Produkt **50** durch chemoselektive Hydrierung mit Pd/C + Katalysatorgift Ph<sub>2</sub>S (oben).

Mit normalem Pd/C-Katalysator in Methanol konnte zwar die Doppelbindung zum Propylrest hydriert werden, jedoch war auch eine Reduktion der Aldehyd-Funktion zum Alkohol zu beobachten (Schema 10). Die Signale des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums konnten eindeutig der Verbindung **49** zugeordnet werden (Abb. 14, Mitte). Die typischen Signale der Allylgruppe zwischen 6 und 5 ppm waren verschwunden, was die Hydrierung der Doppelbindung bestätigte. Aber zugleich war das Aldehydsignal bei etwa 10 ppm nicht mehr im Spektrum zu erkennen. Das zusätzliche Signal bei ca. 4.8 ppm war eindeutig der Bn-CH<sub>2</sub>-OH-Gruppe zuzuordnen. Wurde die Hydrierung der Verbindung **40** in absolutem Ethylacetat mit dem

### 3. Synthesen

Zusatz von 0.01 mol% Diphenylsulfid durchgeführt, konnte nur die Hydrierung der Doppelbindung zur Verbindung **50** festgestellt werden. Das  $^1\text{H-NMR}$  zeigte das typische Aldehydsignal (9.8 ppm), wohingegen die allylischen Signale nicht mehr zu detektieren waren. Es konnte darüber hinaus auch keine  $\text{Bn-CH}_2\text{-OH}$ -Gruppe wie bei Verbindung **49** nachgewiesen werden (Abb. 14, oben). Damit konnte gezeigt werden, dass unter Vergiftung des Katalysators mit Diphenylsulfid in trockenem Ethylacetat eine chemoselektive Hydrierung der Doppelbindung in Anwesenheit der Benzaldehydgruppen zu realisieren war. Diese Methodik wurde schließlich auf die Anwendbarkeit auf die Metatheseprodukte geprüft. Darüber hinaus sollte an der Verbindung **42** exemplarisch gezeigt werden, dass die gesamte Entschützungsprozedur ohne chromatographische Reinigung der Zwischenstufen vollzogen werden konnte. Dieses Vorgehen war wichtig, denn jede Chromatographie verringert *per se* die Ausbeute. So konnte auch Zeit eingespart werden, die für die Reinigung benötigt würde. Dazu wurde das Dimethylacetal der Verbindung **42** unter Standardbedingungen quantitativ zum Benzaldehyd-Motiv hydrolysiert (Schema 11). Die Abbildung 15 (unten) zeigt das Rohprodukt- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Hydrolyseprodukts **51** mit den charakteristischen Signalen der Aldehydgruppe (ca. 9.8 ppm) und der Buten-Doppelbindung (ca. 5.8 ppm). Anschließend wurde dieser Aldehyd **51** mit dem Katalysatorsystem  $\text{Pd/C/Ph}_2\text{S}$  hydriert. Ebenfalls quantitativ wurde nun der Aldehyd **52** erhalten, in dem sich ausschließlich die Butenyleinheit hydriert zeigte. Wie dem Rohprodukt- $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zu entnehmen war, blieb das Aldehyd-Signal unangetastet. Nur das Signal der Butenyleinheit (5.8 ppm) wurde in das Signal einer Butyleinheit (ca. 1.8 ppm) transformiert (Abb. 15, oben). Abschließend wurden die Acetate unter Zemplén-Bedingungen mit einer katalytischen Menge Natriummethanolat in Methanol entfernt. Nach finaler Reinigung durch Chromatographie an Kieselgel mit dem Eluentensystem  $\text{DCM/MeOH}$  konnte das Benzaldehyd-funktionalisierte Glycoderivat **53**, das nun fertig für die Immobilisierung war, mit einer Ausbeute von 89% erhalten werden. Dieses Beispiel zeigte eindrucksvoll die Einfachheit der Methode zur Bereitstellung der Zielverbindungen nach der Metathese-Funktionalisierung mit dem Benzaldehyd-Linker. Diese Methodik sollte allgemeingültig auf die in dieser Arbeit angestrebten Zielverbindungen anwendbar sein.

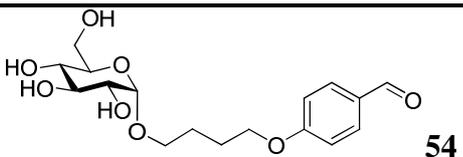
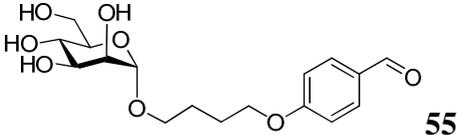
### 3. Synthesen



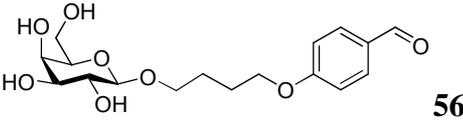
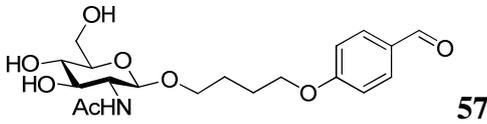
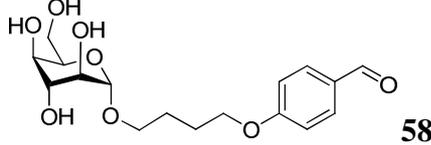
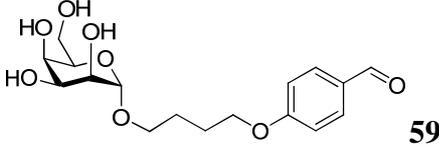
**Abb. 15.**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren zur Analyse der chemoselektiven Hydrierung von Verbindung **51** vor (unten) und nach Hydrierung (oben, Verbindung **52**).

Diese Prozedur wurde auf die Monosaccharidderivate **43** - **48** angewendet. Nach den Hydrolysen der Dimethylacetale wurden die Doppelbindungen zu den Butyllinkern hydriert. Abschließend fanden die Entschützen der Hydroxygruppen statt. Es konnten die Benzaldehyd-verknüpften Monosaccharide **54** - **59** über jeweils drei Stufen mit sehr guten bis hervorragenden Ausbeuten von 79% bis 92% erhalten werden (Tabelle 5). Diese Ergebnisse bestätigten die universelle Anwendbarkeit dieses Konzepts.

**Tabelle 5.** Entschützung der Aldehyd-funktionalisierten Monosaccharide.<sup>[a]</sup>

	Edukt	Produkt	Ausbeute <sup>[b]</sup>
1	<b>43</b>	 <b>54</b>	91%
2	<b>44</b>	 <b>55</b>	92%

### 3. Synthesen

3	45		89%
4	46		80%
5	47		84%
6	48		79%

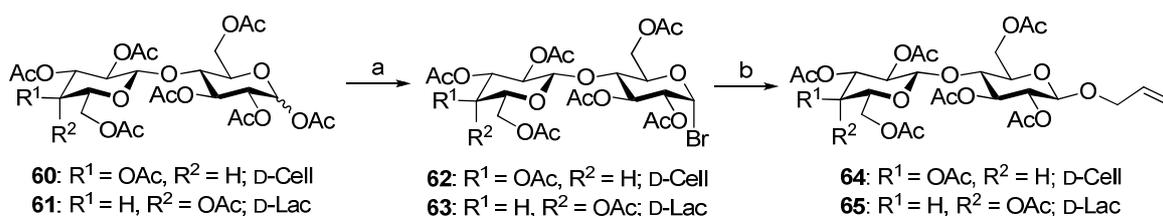
[a] Reagenzien und Reaktionsbedingungen: 1) THF, TFA, H<sub>2</sub>O, RT, 1 h; 2) Pd/C, H<sub>2</sub>, DPS, EtOAc, RT, 24-48 h; 3) NaOMe, MeOH, RT, 24 h; [b] Ausbeute über 3 Stufen.

### 3.3 Synthese Benzaldehyd-funktionalisierter Disaccharide

Das Konzept der Benzaldehyd-Funktionalisierung durch Olefin-Kreuzmetathese wurde auf Grund der sehr guten Resultate von Abschnitt 3.2 auf die Synthese von derivatisierten Disacchariden ausgedehnt. Zunächst wurden die geschützten Allylglycoside von Cellobiose, Lactose, Maltose und *N*-Acetyl-lactosamin synthetisiert.<sup>[180]</sup>

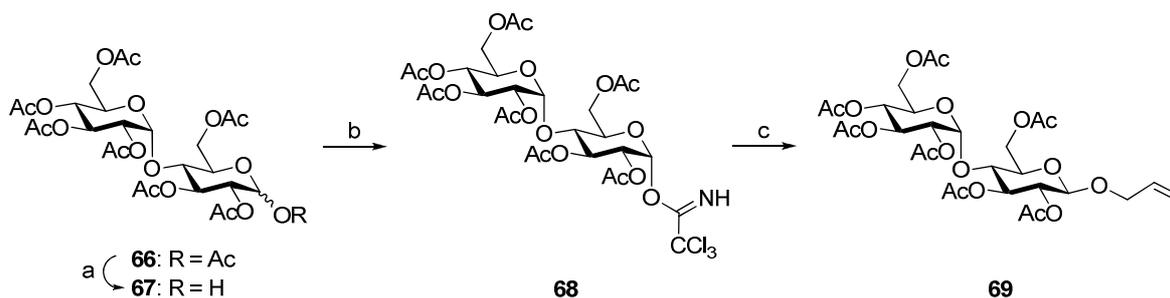
Dabei konnte das peracetylierte Allylcellobiosid **64** und Allyllactosid **65** durch Koenigs-Knorr-Glycosylierung von Allylalkohol mit dem Cellobiosylbromid **62** bzw. Lactosylbromid **63** unter Silbercarbonat-Aktivierung mit 75% bzw. 71% Ausbeute erhalten werden.<sup>[189]</sup> Das Cellobiosylbromid **62** bzw. Lactosylbromid **63** konnte zuvor aus den Peracetaten **60** und **61** durch Reaktion mit Bromwasserstoff in Eisessig bei 0 °C hergestellt werden, wobei Essigsäureanhydrid als Lösungsmittel diente.<sup>[190]</sup> Die Glycosyldonoren **62** und **63** wurden dabei mit Ausbeuten von 85% bzw. 92% erhalten (Schema 12).

### 3. Synthesen



**Schema 12.** Synthese der Allyldisaccharidglycoside **64** und **65**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Ac<sub>2</sub>O, AcOH, HBr, 0 °C, 4h, **62**: 85%; **63**: 92%; b) Allylalkohol, Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DCM, RT, 12 h, **64**: 75%; **65**: 71%.

Das Allylmaltosid **69** wurde durch Schmidt-Glycosylierung mit dem Trichloracetimidat **68** hergestellt (Schema 13). Dazu wurde zunächst die anomere Acetatgruppe der Octa-*O*-acetylmaltose **66** mit Benzylamin in THF entfernt. Nach Chromatographie konnte die 1-OH-freie Verbindung **67** mit 72% Ausbeute erhalten werden. Durch Reaktion der Verbindung **67** mit Trichloracetonitril und DBU wurde das Maltosyltrichloracetimidat **68** synthetisiert.<sup>[191]</sup> Aus dieser Verbindung **68** gewann man das Allylglycosid **69** durch Behandlung mit Allylalkohol und einer katalytischen Menge Trimethylsilyltriflat nach zwei Stunden mit einer Ausbeute von 83%.

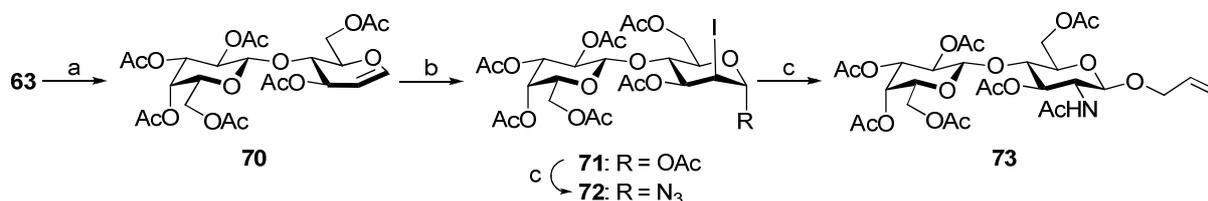


**Schema 13.** Synthese von  $\beta$ -Allylmaltosid **69**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Benzylamin, THF, RT, 16 h, 72%; b) Trichloracetonitril, DBU, DCM, RT, 1 h, 76%; c) Allylalkohol, TSMOTf, 0 °C, 2h, 83%.

Grundsätzlich könnte entweder die Koenigs-Knorr- oder die Schmidt-Glycosylierung auf ein entsprechendes Lactosaminderivat angewendet werden. Lactosamin ist jedoch ein relativ teures Ausgangsmaterial, weshalb in dieser Arbeit eine Methode von Lafont *et al.* zur Synthese des Allyllactosaminids **73** angewendet wurde.<sup>[192]</sup> Es sind auch elegante chemoenzymatische Synthesen beschrieben, die jedoch nur synthetisch sinnvoll im unteren Milligrammbereich erschienen.<sup>[193]</sup> Die Methode von Lafont *et al.* beinhaltete die Sequenz aus Iodoacetoxylierung an einen Glycal, Azidaustausch und abschließender Staudinger-Reaktion mit intramolekularer Umlagerung. Hierzu wurde das Lactal **70** nach einer Methode von Somsak mit Zink und 1-Methylimidazol in 87 % Ausbeute synthetisiert (Schema 14). Dabei wird das Glycosylbromid **63** mit Hilfe von Zink reduktiv eliminiert. Allerdings ist der genaue

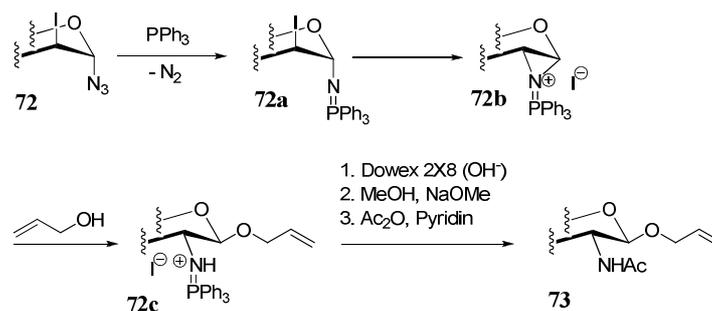
### 3. Synthesen

Mechanismus noch nicht aufgeklärt. Es könnte auch eine Organozink-Verbindung als Intermediat entstehen.



**Schema 14** Synthese von peracetyliertem Allyl-*N*-acetyl-lactosaminsid **73**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) 1-Methylimidazol, Zn, Ethylacetat, Rückfluss, 3h, 87%; b) Cu(OAc)<sub>2</sub>, I<sub>2</sub>, AcOH, 80 °C, 6h, 96%; c) TMSN<sub>3</sub>, TMSOTf, Dichlormethan, RT, 16h, 94%; d) Allylalkohol, PPh<sub>3</sub>, Dichlormethan, 0 °C nach RT, 4h; e) DOWEX (OH<sup>-</sup>), EtOH, Säulenfiltration; f) NaOMe, MeOH, RT, 12h; g) Ac<sub>2</sub>O, Py., 12h, 82% über 3 Stufen.

In einer Iodoacetoxylierung wurde dann das Hexa-*O*-acetyl-lactal (**70**) mit Iod und Kupferacetat umgesetzt. Das intermediär gebildete Iodonium wurde dabei so von dem Acetanion angegriffen, dass stereoselektiv das mannosidische *trans*-Produkt **71** entstand. Es wurde eine Ausbeute von 96 % erreicht. Aus dem Iodoacetat **71** wurde unter Einsatz von Trimethylsilylazid und Trimethylsilyltriflat in 94 % Ausbeute das Azid **72** erzeugt. Als nächstes erfolgte die Bildung des β-glycosidischen *N*-Acetyl-lactosamins. In Gegenwart eines Alkohols, hier Allylalkohol, führte eine Staudinger-Reaktion an der anomeren Azidgruppe zum Iminophosphoran **72a**, das sich unter Eliminierung von Iodid an C-2 zu einem Aziridiniumion **72b** umlagerte (Schema 15). Dieses Intermediat reagierte sofort mit dem in der Lösung vorhandenen Alkohol zum β-Produkt **72c**. Anschließend wurde das Iodid-Anion mittels Ionentauscher durch Hydroxid ersetzt. Wegen partieller Deacetylierung unter diesen Bedingungen, wurde das Rohprodukt mit Natriummethanolat in Methanol vollständig entschützt. Das Rohprodukt dieser Reaktion wurde dann unter Standardbedingungen zur Verbindung **73** reacetyliert (Schema 14).



**Schema 15.** Mechanismus der Allylglycosylierung aus dem Azid **72**.

### 3. Synthesen

Nachdem nun die Allyldisaccharidglycoside bereitstanden, wurden die Benzaldehyd-Funktionalisierungen durch Kreuzmetathese durchgeführt. Dazu wurden jeweils die Dissaccharidglycoside **64** (Cellobiose), **65** (Lactose), **69** (Maltose) und **73** (Lactosamin) mit nun 8 Äquivalenten des Kreuzmetathesepartners **41** und dem Katalysator **38** zur Reaktion gebracht (Tabelle 6).

**Tabelle 6.** Darstellung Benzaldehyd-funktionalisierter Disaccharide durch Metathese.<sup>[a]</sup>

	Edukt	Produkt	Ausbeute <sup>[b]</sup>
1	<b>64</b>		46%
2	<b>65</b>		52%
3	<b>69</b>		76%
4	<b>73</b>		12%

[a] Die Reaktionen wurden in entgastem, trockenem Dichlormethan mit dem Katalysator **38** (10 mol%) und der Verbindung **41** (8 Äq.) bei 40 °C für drei Stunden durchgeführt; [b] nur (*E*)-Konfiguration wurde durch <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie beobachtet.

Die hier erzielten Ausbeuten waren mit 46% und 52% für das Cellobiose- **74** und das Lactosederivat **75** erheblich geringer als für die Monosaccharide. Vom Lactosaminderivat **77** konnten sogar nur 12% isoliert werden. Nur für die Maltoseverbindung **76** ließ sich eine gute Ausbeute von 76% erhalten. Der Grund hierfür könnte in der höheren Zahl an Funktionalität gelegen haben, die die Stabilität bzw. die Aktivität des Katalysators negativ beeinflussen konnte. Ein weiterer Grund hätte die Erhöhung der Äquivalente des Kopplungspartners **41** sein können. Bei erhöhter Homodimerisierungsrate der Verbindung **41** und gleichbleibender

### 3. Synthesen

Wechselzahl (*turn over number*), also der maximalen Umwandlungen pro Katalysatormolekül, müsste zwangsläufig die Ausbeute des gewünschten Kreuzmetatheseproduktes abnehmen. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Verwendung von 9-10 Äquivalenten in den Kreuzmetathesereaktionen zu den Benzaldehyd-funktionalisierten Le<sup>x</sup>-Analoga zu guten Ausbeuten zwischen 74% und 87% führen konnte (Tabelle 11, Abschnitt 3.4). Deshalb war wahrscheinlicher, dass die Charge des verwendeten Katalysators wegen nicht näher bestimmbarer Faktoren nicht die erforderliche Qualität aufweisen konnte, was die Ausbeute unerwartet verschlechterte. Auf eine Wiederholung der Versuche zur Prüfung dieser Vermutung wurde wegen des Zeitaufwandes verzichtet. Die erhaltenen Substanzmengen waren ausreichend, um mit der Entschützung fortzufahren.

**Tabelle 7.** Entschützung der Aldehyd-funktionalisierten Disaccharide<sup>[a]</sup>

	Edukt	Produkt	Ausbeute <sup>[b]</sup>
1	<b>74</b>	 <b>78</b>	80%
2	<b>75</b>	 <b>79</b>	82%
3	<b>76</b>	 <b>80</b>	77%
4	<b>77</b>	 <b>81</b>	79%

[a] Reagenzien und Reaktionsbedingungen: 1) THF, TFA, H<sub>2</sub>O, RT, 1 h; 2) Pd/C, H<sub>2</sub>, DPS, EtOAc, RT, 24-48 h; 3) NaOMe, MeOH, RT, 24 h; [b] Ausbeute über 3 Stufen.

Die vier Aldehyd-funktionalisierten Dissaccharide **74** – **77** wurden nun der Entschützung- und Hydriersequenz unterzogen. Durch Behandlung mit Trifluoressigsäure in wässrigem THF konnten die Dimethylacetale entfernt werden. Nach Hydrierung der Linker-Doppelbindung

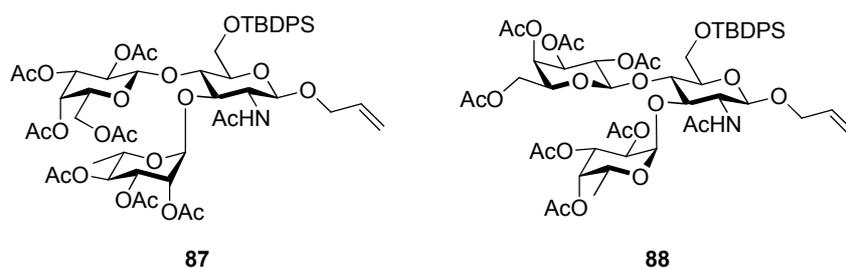
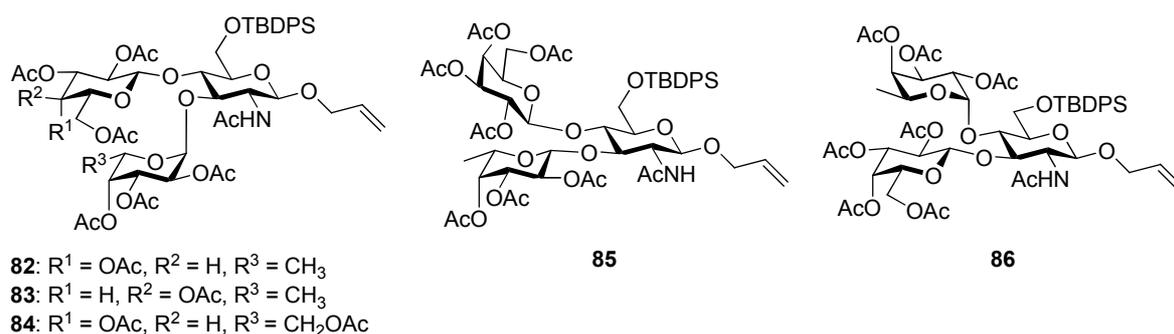
### 3. Synthesen

mit Wasserstoff an Palladium/Aktivkohle wurden die Zieldisaccharide **78** – **81** durch Zemplen-Deacetylierung erhalten. Die finale chromatographische Reinigung brachte die Benzaldehyd-verknüpften Zieldisaccharide **78** – **81** mit hervorragenden Ausbeuten von 77% – 82% über drei Stufen hervor (Tabelle 7).

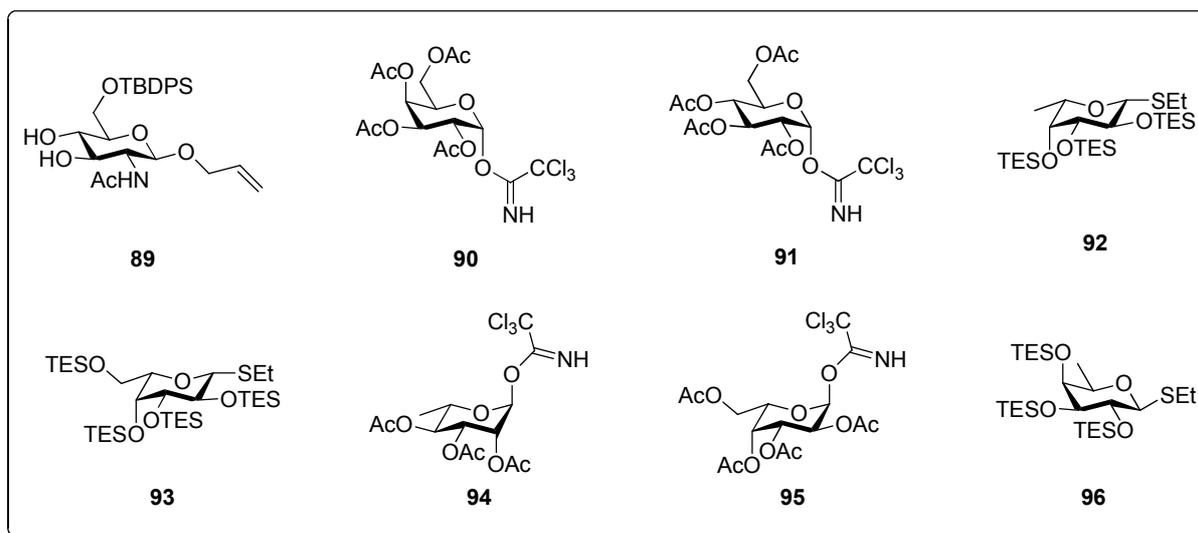
#### 3.4 Synthese Benzaldehyd-funktionalisierter Le<sup>x</sup>-Analoga

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, ist die homotyp-Le<sup>x</sup>-CCI zwar bereits früher intensiv untersucht wurden, dennoch fehlt bis heute eine systematische Studie über den Einfluss bestimmter Hydroxygruppen auf die Ca<sup>2+</sup>-Kationen abhängige Selbsterkennung dieses Trisaccharides. Theoretische Berechnungen durch *molecular modelling*, Analyse der Kristallstruktur sowie die NMR-Studien geben Indizien dafür, welche Hydroxygruppen besonders an der Wechselwirkung beteiligt sind und welche nur eine untergeordnete Rolle spielen. Eine ausführliche Diskussion dieser Befunde wird im Zusammenhang mit den eigenen Ergebnissen zur Le<sup>x</sup>-CCI, die durch SPR-Untersuchungen erhalten wurden, im Abschnitt 4.2 vorgenommen. Die Auswahl der synthetisierten Le<sup>x</sup>-Analoga basierte auf diesen theoretischen Arbeiten und ist in Schema 16 in Form der geschützten Derivate **82-88** dargestellt, wie sie aus der Synthesesequenz erhalten und in der Metathese-Reaktion eingesetzt wurden. Der Ansatz zur Synthese sollte auf einem modularen Baukastenprinzip basieren, das den sequentiellen Aufbau der erwünschten Trisaccharide erlaubt. Dabei sollte der Akzeptor **89** regio- und stereoselektiv jeweils mit den Donoren **90** bis **96** glycosyliert werden. Das bietet den Vorteil, dass Zwischenstufen und Nebenprodukte, insbesondere die Disaccharide **116** und **117** (Tabelle 8), für verschiedene Zielverbindungen als Edukte eingesetzt werden können. Theoretisch wären mit diesem Ansatz, der eine gewisse Kombinatorik impliziert, weit mehr Trisaccharidstrukturen zugänglich. Es wurde jedoch wegen des enormen Arbeitsaufwandes darauf verzichtet alle möglichen Nebenprodukte in den Syntheseplan zu integrieren. Aus dem inzwischen sehr großen Pool an Glycosyldonoren für chemische Glycosylierungen wurden für die Synthese der Le<sup>x</sup>-Analoga die Trichloracetimidate und Thioethylglycoside als Precursor gewählt, weil sie einfach herzustellen und zu aktivieren sind. Ebenso kann ihre Aktivierung orthogonal zum allylischen Aglycon des Akzeptors **89** erfolgen. In Schema 18 sind die grundsätzlichen mechanistischen Aspekte von chemischen Glycosylierungsreaktionen sowie die verschiedenen Aktivierungsmethoden dargestellt.

### 3. Synthesen



Bausteine für die Trisaccharidsynthese

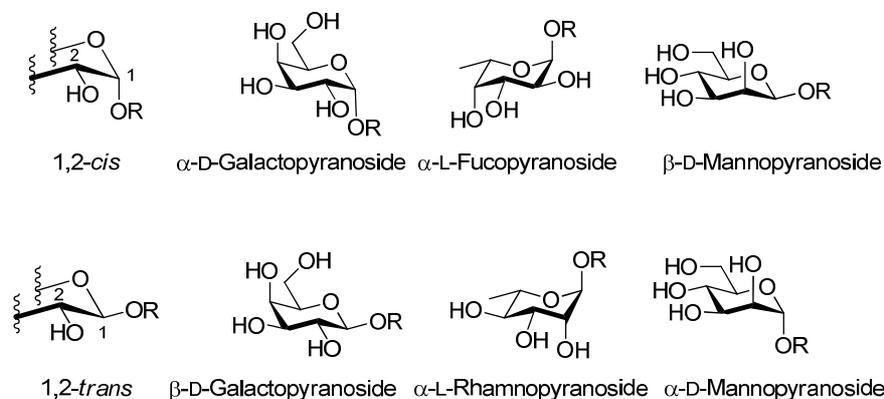


**Schema 16.** Übersicht über die synthetisierten geschützten Le<sup>x</sup>-Analoga, die in den Metathese-Reaktionen eingesetzt wurden. Die Bausteine **89** bis **96** wurden dabei in einem modularen Ansatz verwendet.

Generell werden zwei Typen von *O*-glycosidischen Bindungen unterschieden. Man spricht unter stereochemischen Gesichtspunkten meist von 1,2-*cis*- oder von 1,2-*trans*-Glycosiden. Ihre stereospezifische Darstellung ist teilweise heute immer noch eine große Herausforderung. Beispiele für in der Natur häufig vorkommende 1,2-*cis*-Verknüpfungen sind  $\alpha$ -Glycoside von D-Galactose in Gangliosiden,<sup>[194]</sup> L-Fucose in Fucanen (Antikoagulans)

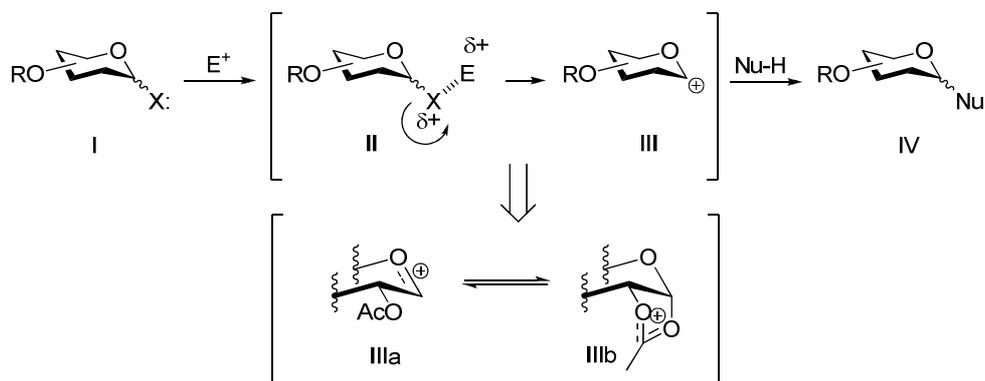
### 3. Synthesen

aus marinen Algen<sup>[195]</sup> oder  $\beta$ -Glycoside von D-Mannose in *N*-Glycoproteinen.<sup>[196]</sup> Die 1,2-*trans*-Verknüpfungen sind bei  $\beta$ -Glycosiden von D-Glucose in Cellulose<sup>[197]</sup> oder in  $\alpha$ -Glycosiden von L-Rhamnose in Antigenen des *Bacillus anthracis*<sup>[198]</sup> zu finden (Schema 17).



**Schema 17.** Häufige Beispiele für *O*-glycosidische Bindungen.

Als weitläufig anerkannter Mechanismus der Glycosylierungsreaktion ist das Konzept gebräuchlich, dass eine gute exocyclische Abgangsgruppe X: am anomeren Zentrum durch einen elektrophilen Aktivator  $E^+$  aktiviert wird (I in Schema 18). Dieser koordiniert an ein freies Elektronenpaar der Abgangsgruppen X:, positiviert X: (positive Teilladung  $\delta^+$ ), wodurch die Bindung zum anomeren Zentrum geschwächt wird (II). Schließlich kommt es zum Bindungsbruch, so dass ein Carboxonium-Ion entsteht (III). Durch den Ringsauerstoff wird dieses als Oxocarbenium-Ion stabilisiert (IIIa). Das Oxocarbenium-Ion wird anschließend von einem Nukleophil Nu-H angegriffen, und das neue Glycosid wird gebildet (IV).<sup>[199]</sup>



1. X: = OH;  $E^+ = H^+$ ,  $R_2S^+-X$ ,  $R_3P^+-X$  (Hemiacetal-Aktivierung)
2. X: = F, Cl, Br, I;  $E^+ = M^+$  (halophil),  $R_2S^+-X$ ,  $R_3P^+-X$  (Halogenid-Aktivierung)
3. X: = OC(=NH)CCl<sub>3</sub>, OC(=NPh)CF<sub>3</sub>;  $E^+ = TSMOTf$ ,  $BF_3 \cdot Et_2O$  (Imidat-Aktivierung)
4. X: = S-Alkyl/Aryl;  $E^+ = Br^+$ ,  $I^+$ ,  $R_2S^+-X$ ,  $RS^+$  (Thioglycosid-Aktivierung)
5. X: = O-P(=O)(O-R)<sub>2</sub>;  $E^+ = TSMOTf$  (Phosphat/Phosphit-Aktivierung)

**Schema 18.** Mechanistische Aspekte der chemischen Glycosylierung.

### 3. Synthesen

Da die Reaktionspartner in Glycosylierungen meist ein sekundäres, resonanzstabilisiertes Carboxoniumion und ein schwaches Nukleophil (Zuckerakzeptor) sind, verlaufen diese vorwiegend nach einem unimolekularen  $S_N1$ -Mechanismus. Die Stereochemie der glycosidischen Bindungen wird dabei prägend von der OH-Schutzgruppe in Position 2 beeinflusst. Ist die Schutzgruppe eine Acylgruppe wie z.B. *O*-Acetyl, *O*-Benzoyl oder *N*-Phthalimido, wird bevorzugt die 1,2-*trans* Bindung gebildet (Schema 18), weil das Carbenium-Ion III nicht nur als Oxocarbenium-Ion IIIa sondern auch als Acyloxonium-Ion IIIb stabilisiert wird. Ein Beweis für das Auftreten des Acyloxonium-Ions ist der gezielte Abfang durch Orthoesterbildung. Auf diese Weise wird ein 1,2-*cis*-Angriff des Nukleophils verhindert, so dass es nur zur Ausbildung der 1,2-*trans*-Bindung kommen kann. Man spricht in diesem Fall von einer so genannten Nachbargruppenbeteiligung oder –effekt.<sup>[200-202]</sup> Fehlt dieser Nachbargruppeneffekt, wie z.B. bei *O*-Benzyl, 2-Azido – als Vorstufe für 2-*N*-Acetamido-Verbindungen – oder *O*-Silyl, kann zwar der  $sp^2$ -hybridisierte anomere Kohlenstoff von der *cis*-( $\alpha$ , für *gluco*-Serie) oder *trans*-( $\beta$ )-Seite gleichermaßen angegriffen werden, doch wird auf Grund des Anomereffekts in den meisten Fällen das thermodynamisch bevorzugte  $\alpha$ -Produkt gebildet.<sup>[203]</sup> Vielfach kommt es jedoch zu einer Verteilung zwischen 1,2-*trans* und 1,2-*cis* mit einer stereoselektiven Präferenz für ein Anomer. Dieses Verhältnis hängt im Einzelfall von verschiedenen Faktoren ab, wie Temperatur, Schutzgruppen, Konformation, Lösungsmittel, Promoter, Abgangsgruppe und sterischer Hinderung.<sup>[204, 205]</sup>

Deshalb wurde über die Jahrzehnte eine große Anzahl von Methoden entwickelt, mit denen die unterschiedlichsten Abgangsgruppen aktiviert werden können. Das erste Beispiel für die Aktivierung von Hemiacetalen (1. in Schema 18) durch Protonensäuren als Promotor wurde von Emil Fischer bereits 1893 geliefert.<sup>[130]</sup> Weitere Beispiele für Hemiacetal-Aktivierung ist die Verwendung von Phosphor-Elektrophilen in Anwesenheit von Dialkylazodicarboxylaten in Analogie zur Mitsunobu-Reaktion<sup>[206-208]</sup> oder die Verwendung von Schwefel-Elektrophilen.<sup>[209, 210]</sup> Eine der ersten Glycosylierungen des letzten Typs wurde von Leroux und Perlin mit Trifluoromethansulfonsäureanhydrid und Tetrabutylammoniumbromid durchgeführt.<sup>[211]</sup> Letztendlich handelt sich bei der Synthese von Perlin doch um eine Substitution eines Glycosylhalogenids (2. in Schema 18), da das entstehende anomere Triflat in das thermodynamisch stabilere  $\alpha$ -Glycosylbromid überführt wird, welches anschließend nukleophil substituiert wird. Dieses Prinzip der Glycosylhalogenid-Aktivierung mit Silbersalzen wurde bereits acht Jahre nach Fischers Pionierarbeit von Koenigs und Knorr eingeführt.<sup>[189]</sup> Weiterentwicklungen wurden von Zemplén und Helferich durch die

### 3. Synthesen

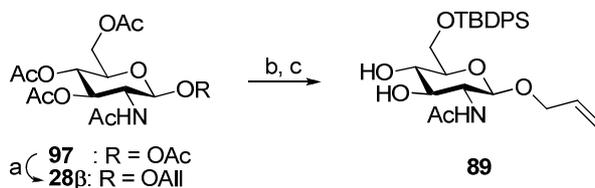
Einführung von Quecksilbersalzen als Aktivatoren gemacht.<sup>[212, 213]</sup> Die Glycosylierungsreaktionen mit Glycosylhalogeniden als Donoren waren Jahrzehnte lang die klassischen Methoden zur Herstellung komplexer Strukturen. Neuere Ansätze erlauben auch den Einsatz von den weitaus stabileren Glycosylfluoriden. Hierzu wurde auch ein Beitrag aus dem Labor Thiem geleistet, in dem Fluoride mit Tetrafluortitan aktiviert wurden.<sup>[214]</sup> Erst in den 1970ern und frühen 1980ern wurden zwei neue Klassen von Glycosyldonoren entwickelt: zum einen die Acetimidate / Trichloracetimidate, entwickelt von P. Sinaÿ und R. R. Schmidt, bzw. später die *N*-Phenyl-trifluoracetimidate, die sich jeweils mit TSMOTf oder BF<sub>3</sub>\*Etherat aktivieren lassen (3. in Schema 18),<sup>[215, 216]</sup> und zum anderen die Thioglycoside von Ferrier, Garegg und anderen intensiv bearbeitet (4. in Schema 18).<sup>[217-219]</sup> Eine weitere wichtige Methode stellt die Aktivierung von Phosphaten und Phosphiten dar (5. in Schema 18).<sup>[220]</sup> Die wohl größte Auswahl an Promotoren wurde für die Thioglycosid-Aktivierung entwickelt. Alleine 45 verschiedene Systeme sind für Thiomethyl-, Thioethyl- und Thiophenylglycoside beschrieben.<sup>[221]</sup>

Für die Synthese von Le<sup>x</sup>-Trisacchariden und deren Analoga wurden so gut wie jede Donorgruppe und Aktivierung eingesetzt. Sinaÿ *et al.* benutzten 1979 Hg(II)-bromid um Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactosylbromid mit einem selektivgeschützten *N*-Acetyl-D-glucosamin-derivat in Position 4 zu kondensieren. Anschließend wurde nach 3-*O*-Entschützung unter gleicher Promotion Tri-*O*-benzyl-L-fucosylbromid eingeführt.<sup>[222]</sup> R. R. Schmidt *et al.* glycosylierten zunächst Position 3 eines 4,6-*O*-Benzyliden-*N*-acetyl-D-glucosamin-Derivats mit einem Fucosyl-trichloracetimidat. Nach selektiver Ringöffnung wurde die 4-Position mit einem Galactosyl-trichloracetimidat glycosyliert.<sup>[223]</sup> Dekany *et al.* setzten auf eine reine Thioglycosid-Aktivierungsstrategie mit DMTST (Dimethyl(methylthio)sulfoniumtriflat) als Promotor, wobei erst die Fucose und dann die Galactose in das *N*-Acetyl-glucosamin eingeführt wurde.<sup>[224]</sup> Darüber hinaus sind diverse Mischformen (Glycosylbromid + Thioglycosid / Thioglycosid + Trichloracetimidat)<sup>[62, 225]</sup> sowie chemoenzymatische Ansätze in der Literatur beschrieben.<sup>[226]</sup>

In dieser Arbeit wurde ebenfalls ein Ansatz gewählt, bei dem sowohl Trichloracetimidate als auch Thioglycoside unter verschiedenen Aktivierungsmethoden in einer konvergenten 1+1+1-Synthese verwendet wurden. Die 1,2-*trans*-glycosidischen Bindungen in den Trisacchariden **82-88** sollten dabei mit 2-*O*-Acetyl-trichloracetimidaten **90**, **91**, **94** und **95** selektiv unter Nachgruppenbeteiligung aufgebaut werden, wohingegen die 1,2-*cis*-glycosidischen Bindungen mit den Thioglycosiden **92**, **93** und **96**, realisiert werden, denen eine Nachgruppeneffekt-aktive Schutzgruppe in Position 2 fehlt.(Schema 16).

### 3. Synthesen

Zunächst wurde der Akzeptor **89** synthetisiert (Schema 19) und anschließend die benötigten Donoren. Dazu wurde das  $\beta$ -Peracetat **97** mit Allylalkohol unter Bortrifluorid-Etherat-Katalyse in das  $\beta$ -Allylglycosid überführt. Die Verbindung **28 $\beta$**  konnte in 78% Ausbeute isoliert werden. Auf Grund der *N*-Acetylgruppe in Position 2 mit ihrem  $\beta$ -dirigierenden Nachbargruppen-Effekts verlief diese Umsetzung stereoselektiv. Die oftmals beobachtete, ungewünschte Nebenreaktion bei Lewis-säure katalysierten Glycosylierungen von 2-*N*-Acyl-Pyranosen zum stabilen Oxazolin wurde hier nicht gefunden. Grund hierfür war wohl der große Überschuss und damit die immer hinreichend hohe Konzentration an Akzeptor. Unter Zemplén-Bedingungen wurde schließlich das Allylglycosid **28 $\beta$**  *O*-deacetyliert. Das erhaltene Rohprodukt wurde regioselektiv mit der sterisch anspruchsvollen *tert.*-Butyldiphenylsilylgruppe gestützt. Die Silylveretherung der Hydroxygruppe läuft über einen basenkatalysierten, nukleophilen Substitutionsmechanismus.<sup>[227]</sup> Zunächst wird die Hydroxygruppe deprotoniert und DMAP an die Silylschutzgruppe angelagert, wobei Triflat als Abgangsgruppe das Molekül verlässt. Das gebildete Alkoholat greift das Siliciumatom nukleophil an und DMAP wird zurückgewonnen. Ausgehend von peracetyliertem Allylglycosid **97** konnte so der Akzeptor **89** über zwei Stufen mit einer Ausbeute von 80% erhalten werden. Dies ist in guter Übereinstimmung mit der Synthese von R. Roy *et al.*, die diesen Akzeptor ebenfalls für die Synthese von Le<sup>x</sup>-Derivaten eingesetzt haben.<sup>[228]</sup>

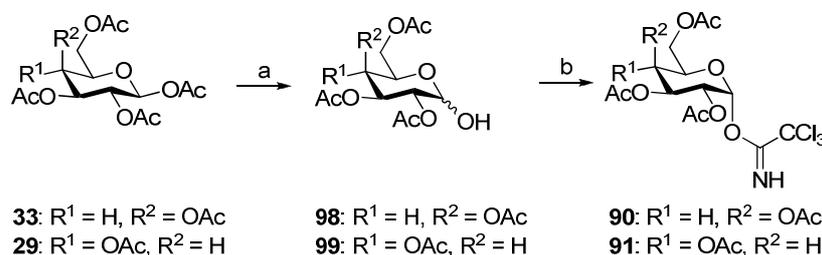


**Schema 19.** Synthese des Akzeptors **89**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Allylalkohol,  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , DCM, 0 °C, 4 h, 78%; b) NaOMe, MeOH, RT, 13 h; c) TBDPSCI, Py., kat. DMAP, 18 h, über 2 Stufen 80% .

Der *galacto*- und der *gluco*-Donor **90** und **91** wurden auf dem klassischen Weg der Trichloracetimidat-Synthese erhalten und sind ausführlich in der Literatur beschrieben (Schema 20).<sup>[229-233]</sup> Zur selektiven Entfernung des anomeren Acetats wurde auf den Einsatz von Benzylamin in THF anstelle von Hydrazin-Acetat, das toxisch und karzinogen ist, zurückgegriffen.<sup>[234]</sup> Diese Methode liefert zwar, verglichen mit der Hydrazin-Methode, etwas geringere Ausbeuten, ihre Handhabung ist aber deutlich sicherer. So konnten nach 16 Stunden Reaktionszeit die 1-OH-freien Verbindungen **98** (60%) und **99** (93%) in guten Ausbeuten erhalten werden. Durch Reaktion dieser Verbindungen mit Trichloracetonitril in DCM unter

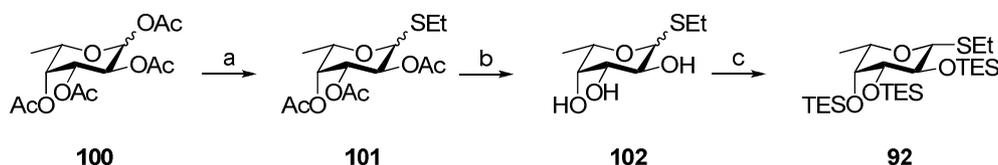
### 3. Synthesen

Katalyse mit DBU wurden die Donoren **90** und **91** in zwei Stufen sauber mit Ausbeuten von 66% bzw. 87% isoliert.



**Schema 20.** Synthese der Glycosyldonoren **90** und **91**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Benzylamin, THF, RT, 16 h, **98**: 60%, **99**: 93%, ; b) Trichloroacetimid, DBU, DCM, 0°C, 2h **90**: 66%, **91**: 87%.

Um den Thioethyl-L-fucose-Donor **92** zu erhalten, wurde zunächst die kommerziell erhältliche L-Fucose peracetyliert und anschließend unter BF<sub>3</sub>-Etherat-Katalyse mit Ethanthiol in das Thioethylfucosid 101 überführt, wobei ein β/α-Anomerengemisch von 7:1 bei 72% Gesamtausbeute erhalten wurde (Schema 20). Dabei handelt es sich um die Standardmethode zur Synthese von einfachen Thioglycosiden, sie ist vielfach beschrieben und in Handbüchern zu finden.<sup>[205]</sup>

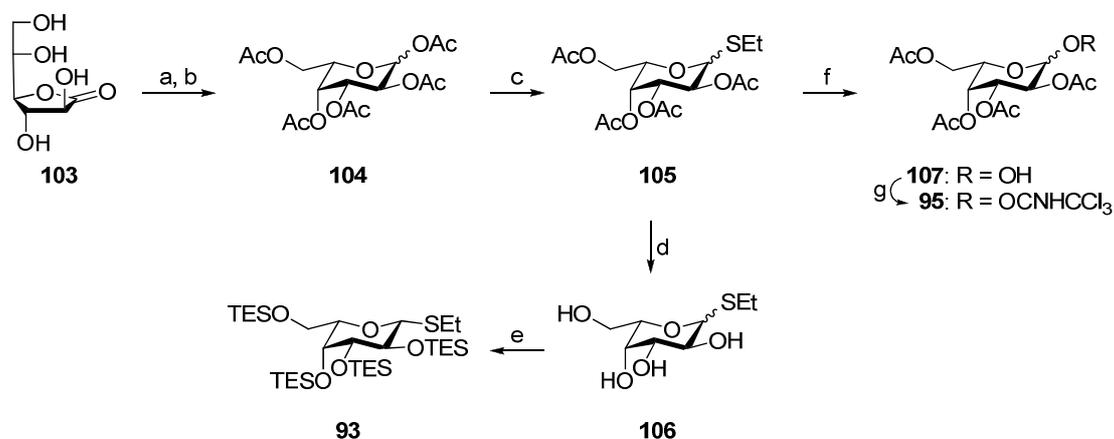


**Schema 21.** Synthese des L-Fucose-Donors **92**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Ethanthiol, BF<sub>3</sub>\*Et<sub>2</sub>O, DCM, 0 °C → RT, 20h, 72%; b) NaOMe, MeOH, RT, 13 h, 96%; c) TESCl, Py., kat. DMAP, 18 h, 84% .

Die Nachgruppen-aktive 2-O-Acetat-Gruppe musste für die Synthese der 1,2-*cis*-glycosidischen Bindung der Fucose in den Le<sup>x</sup>-Derivaten ausgetauscht werden. Oft wird dazu die Benzylgruppe verwendet.<sup>[235-237]</sup> Die perbenzylierten Thioglycoside zeigten auch eine höhere Reaktivität im Vergleich zu Acylderivaten.<sup>[238, 239]</sup> Jedoch ist diese Schutzgruppe auf Grund der zur Entschützung benötigten Hydrogenolyse nicht mit der Allylgruppe als Ankermotiv kompatibel. Kosma *et al.* beschrieben die Synthese von Le<sup>x</sup>-Trisacchrid-Analoga mit allylischem Aglycon, wie hier angestrebt, allerdings benutzten sie dabei das Thioethyl-3,4-O-isopropyliden-2-O-4-methoxybenzyl-β-L-fucopyranosid.<sup>[240]</sup> Dieser Donor ist deutlich

### 3. Synthesen

aufwendiger darzustellen als ein nur mit einer Schutzgruppe geschütztes Glycosid.<sup>[241]</sup> Eine Lösung könnte der Gebrauch einer Silylschutzgruppe sein. Penades *et al.* hatten sich bei ihrer Le<sup>x</sup>- und Le<sup>y</sup>-Synthese einen pertrimethylsilylierten Fucose-Donor zunutze gemacht.<sup>[242]</sup> Diese Schutzgruppe erschien aber für die angestrebten Glycosylierungsbedingungen nicht stabil genug. Nach dem Literaturvergleich verschiedener Silyl-Schutzgruppen wurde die Triethylsilyl-(TES)-Schutzgruppe gewählt. Sie ist leicht essigsauer in wässrigem THF zu entfernen und ist ebenso einfach durch das Silylchlorid in Pyridin einzuführen. Sie ist nicht so sterisch anspruchsvoll wie die Triisopropyl- oder die tert-Butyldimethylsilylschutzgruppe, was zu dem Problem einer partiellen „Unterschätzung“ führen kann. Unter wasserfreien Bedingungen ist sie hinreichend stabil gegenüber Elektrophilen, Lewis-Säuren und „Soft Acids“, wie Ag<sup>+</sup>, Hg<sup>2+</sup>- und Cu<sup>2+</sup>-Ionen.<sup>[243]</sup> Deshalb lieferte eine Zemplén-Entschützung, ausgehend vom Peracetat **101**, die OH-freie Verbindung **102** nahezu quantitativ, welche anschließend in Pyridin unter DMAP-Katalyse mit TESCl zum Zieldonor **92** mit 84% Ausbeute umgesetzt wurde (Schema 21).<sup>[244]</sup> Mechanistisch entspricht diese Umsetzung der zu Verbindung **89** (Schema 19).



**Schema 22.** Synthese der L-Galactose-Donoren **93** und **95**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) NaBH<sub>4</sub>, H<sup>+</sup>, MeOH/H<sub>2</sub>O, 0 °C → RT, 2h; b) Ac<sub>2</sub>O, Py., 16h, RT, über 2 Stufen 68%; c) Ethanthiol, BF<sub>3</sub>\*Et<sub>2</sub>O, DCM, 0 °C → RT, 20h, 75%; d) NaOMe, MeOH, RT, 13 h, quant.; e) TESCl, Py., kat. DMAP, 18 h, 79%; f) NIS, TfOH, THF/H<sub>2</sub>O, 0 °C → RT, 2h; g) Trichloroacetonitril, DBU, DCM, 0°C, 2h, über 2 Stufen 71%.

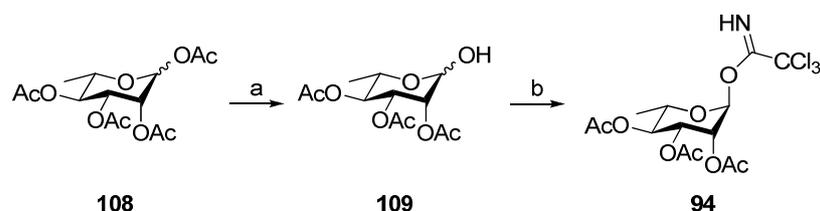
Die Synthese zum persilylierten L-Galactosedonor **93** sollte analog zur Synthese vom L-Fucose-Donor verlaufen (Schema 22). Die L-Galactose als Precursor ist zwar kommerziell erhältlich, aber im Vergleich zu L-Fucose sehr teuer (1 g L-Galactose = € 913,- im Vgl. zu 1g L-Fucose = € 28,-; Sigma-Aldrich, Juni 2010). Deshab wurde die L-Galactose synthetisch hergestellt. Es sind Synthesen von L-Galactose aus D-Galactose beschrieben.<sup>[245]</sup> Dabei

### 3. Synthesen

handelt sich aber um komplexe vielstufige Synthesen, die eher von akademischem Interesse sind als präparativ sinnvoll. Weitaus lukrativer erschien die partielle Reduktion von L-Galactono-1,4-lacton, wie sie bereits von Binch *et al.* für die Synthese von GDP-L-Galactose benutzt worden ist.<sup>[246]</sup> L-Galactono-1,4-lacton ist günstig, da es ein industrielles Nebenprodukt ist, das bei der Rübenzuckerherstellung im Tonnenmaßstab anfällt.<sup>[247]</sup> Es kann in einer dreistufigen Synthese in Vitamin C überführt werden und ist deshalb von kommerziellem Interesse.<sup>[248]</sup> Die Reduktion von L-Galactono-1,4-lacton zu L-Galactose kann zum einen mit Natriumamalgam<sup>[249]</sup> und zum anderen mit Natriumborhydrid<sup>[250]</sup> bei pH 3-5 (Amberlite IR 120) durchgeführt werden. Hier wurde die Natriumborhydrid-Methode aus Sicherheitsgründen benutzt, obwohl es zu einer Überreduktion zum Galactitol kommen kann. Dazu wurde L-Galactono-1,4-lacton in einem Gemisch aus Methanol und Wasser mit Natriumborhydrid bei 0 °C so versetzt, dass der zuvor eingestellte pH-Wert immer zwischen 3 und 5 pendelte. Nach vollständiger Reaktion wurde die entstandene Borsäure entfernt und das Rohprodukt unter Standardbedingungen acetyliert. So konnte über zwei Stufen mit einer Ausbeute von 68% peracetylierte L-Galactose **104** erhalten werden (Schema 21). Das Anomerenverhältnis betrug  $\alpha : \beta$  1:1.5. Das Vorliegen des L-Enantiomers der Galactose konnte durch den Vergleich der optischen Drehwerte für die anomerenreinen Trichloracetimidaten **90** und **95** mit den Literaturwerten bestätigt werden. Für das D-Enantiomer **90** wurde ein Drehwert von + 116 ° (Lit.-Wert  $[\alpha]_D^{20} = + 115.0^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ))<sup>[229]</sup> ermittelt, wohingegen für das L-Enantiomer **95** der Wert – 113.6 ° betrug. Dieser Vorläufer **104** wurde, wie bereits bei L-Fucose durchgeführt, in das Thioethylglycosid **105** überführt, welches das Ausgangsmaterial für die Donoren **93** und **95** bildete (Schema 21). Auch hier konnte ein Anomeregemisch von 1:7 ( $\alpha$  zu  $\beta$ ) beobachtet werden. Die Synthese des Silyl-geschützten Thioethyl donors **93** wurde analog zu der oben besprochenen Synthese zu Donor **92** durchgeführt. Die Zemplén-Deacetylierung lieferte die Verbindung **106** quantitativ. Diese wurde dann wiederum mit TESCl in guter Ausbeute von 79% zum Zieldonor **93** silyliert. Für die Synthese des Trichloracetimidats **95** musste zunächst das Thioglycosid hydrolysiert werden. Das wurde mit NIS und Trifluormethansulfonsäure in wässrigem THF bei 0 °C vollzogen. Nach zwei Stunden Reaktionszeit wurde die vollständige Umsetzung des Eduktes detektiert, und nach Aufarbeitung wurde das Rohprodukt direkt der folgenden Synthese zugeführt. So konnte nach Behandlung mit Trichloracetonitril und einer katalytischen Menge DBU der Donor **95** über zwei Stufen mit einer sehr guten Ausbeute von 71% erhalten werden.

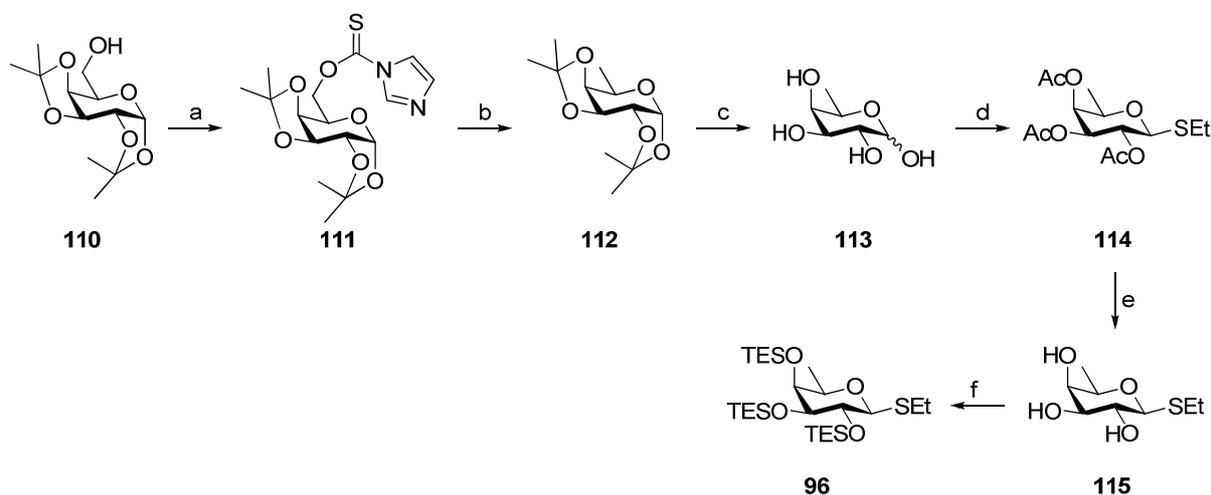
### 3. Synthesen

Zur Darstellung des Rhamnosyltrichloracetimidats **94** konnte wieder auf die bereits bewährte Synthesesequenz aus selektiver Deacetylierung der anomeren Acetatgruppe mit Benzylamin und anschließender Umsetzung mit Triacetonitril und DBU zurückgegriffen werden. Auch hier konnten gute Ausbeuten von 78% bzw. 85% erzielt werden (Schema 23), die sogar besser als in den literaturbeschriebenen Synthesen ausfielen.<sup>[251]</sup>



**Schema 23.** Synthese des Rhamnopyranosyldonors **94**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) Benzylamin, THF, RT, 16 h, 78%; (b) Trichloroacetonitril, DBU, DCM, 0°C, 2h 85%.

Da D-Fucose etwa viermal so teuer (1g = € 98,-; Sigma-Aldrich, Juni 2010) ist wie L-Fucose, wurde auch dieser Zucker aus günstigen Vorläufern hergestellt. Dazu wurde das Diisopropyliden-Derivat **110**, das leicht aus D-Galactose in Aceton mit einer katalytischen Menge Schwefelsäure zu synthetisieren ist, in die 6-O-Thiocarbonylimidazolyl-Verbindung **111** überführt (Schema 24).



**Schema 24.** Synthese des D-Fucose-Donors **96**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) TDCI, THF, RT, 40h, 60%; b)  $\text{Bu}_3\text{SnH}$ , Toluol, Rückfluss, 15 h, ~30%; c) 0.2 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 60 °C, 12h; d) I.  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Py. RT, 12h; II: Ethanthiol,  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , DCM, 0 °C → RT, 20h, über 3 Stufen 49%; e) NaOMe, MeOH, RT, 13 h, quant.; f) TESCl, Py., kat. DMAP, 18 h, 86%.

### 3. Synthesen

Barton und McCombie zeigten, dass sich solche Thiocarbonylverbindungen mit Tributylzinnhydrid radikalisch desoxygenieren lassen.<sup>[252]</sup> Dazu eignen sich vor allem Xanthogenyl-,<sup>[253]</sup> Phenoxythiocarbonyl-<sup>[254]</sup> oder Thiocarbonylimidazolverbindungen.<sup>[255]</sup> Bei der Desoxygenierung von Kohlenhydraten haben sich sowohl das Phenoxythiocarbonyl- als auch das Thiocarbonylimidazolderivat als geeignet herausgestellt.<sup>[256, 257]</sup> Mit 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol (TCDI) in THF wurde deshalb die Verbindung **111** mit moderater Ausbeute hergestellt. Die folgende Desoxygenierung mit Bu<sub>3</sub>SnH in Toluol unter Rückfluss lieferte die D-Fucoseverbindung **112** in Ausbeute von etwa 30%, da das gewünschte Produkt **112** nicht vollständig gereinigt werden konnte. Das Spektrum zeigte eindeutig die Signale der H-5, H-1 und H-6 Protonen des gewünschten Produkts. Das Verhältnis zwischen Produkt und Verunreinigung betrug etwa 4:1. Die Verunreinigung konnte nicht identifiziert werden. Ein weiterer Grund für den mäßigen Erfolg dieser Transformation liegt wohl auch in dem Umstand, dass im Verlauf der Reaktion ein Radikal am Zuckerkohlenstoff entsteht. Diese Radikale sind bei sekundären Ring-C-Atomen stabiler als beim primären exocyclischen C-6, was im letzten Fall zu einer signifikanten Rückreaktion führen kann. Dennoch konnte mit einer ausreichenden Menge Material der Synthesepfad fortgeführt werden. Die Entschützung der Isopropylidenverbindung erfolgte mit 0.2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bei 60 °C über 12 Stunden. Das Rohprodukt **113** wurde ohne weitere Aufarbeitung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin acetyliert und in das Thioethylglycosid **114** überführt. Über drei Stufen konnte so das Intermediat **114** mit 49% Gesamtausbeute isoliert werden. Nach der quantitativen Zemplén-Deacetylierung wurde das Thioglycosid **115**, wie bereits mehrfach zuvor durchgeführt, mit TESCl in Pyridin geschützt (Schema 24). Damit war die Synthese aller Donoren sowie des Startakzeptors abgeschlossen.

Mit diesen Monosaccharidbausteinen **89** – **96** wurden nun die Trisaccharidsynthesen angegangen. Zunächst wurden die Disaccharide **116** – **122** synthetisiert (Tabelle 8). Für die Synthese des *N*-Acetyllactosamin-Motivs in Le<sup>x</sup>-Trisacchariden sind verschiedene Ansätze beschrieben.<sup>[258-260]</sup> Dabei zeigte sich, dass die sekundäre Hydroxygruppe am C-4 einer Hexopyranose in <sup>4</sup>C<sub>1</sub>-Konformation besonders unreaktiv ist, wenn die restlichen Hydroxygruppen acylgeschützt sind. Eine verbesserte Reaktivität zeigten Benzyl-geschützte Derivate.<sup>[261]</sup> Ein anderer Ansatz zur Verbesserung der Reaktivität der 4-OH-Gruppe wurde durch den Einsatz von Vorläuferstufen verwirklicht, die nicht in <sup>4</sup>C<sub>1</sub>-Konformation vorliegen. Zum einen kam bei Sinay *et al.* als <sup>1</sup>C<sub>4</sub>-Konformer die 2-Acetamido-1,6-anhydro-2-desoxy-β-D-glucopyranose zum Einsatz,<sup>[262]</sup> und zum anderen wurde von Paulsen *et al.* ein acyclisches *N*-Acetyl-glucosamin-Derivat benutzt.<sup>[263]</sup> Diese Synthesewege erfordern aber einen enormen

### 3. Synthesen

Aufwand an Umschützungsprozeduren. Um diesen Nachteil zu umgehen, wurde das Konzept der „leicht geschützten“ Akzeptoren vorgestellt, womit gemeint ist, dass der Akzeptor nicht vollständig geschützt ist, sondern mindestens zwei freie Hydroxygruppen aufweist: von diesen konkurrierenden Hydroxygruppen wird eine Gruppe bevorzugt glycosyliert. Dieses Konzept wurde u.a. von den Gruppen Ogawa<sup>[264]</sup>, Sinay<sup>[265]</sup> und Matta<sup>[266]</sup> an 6-*O*-Pivaloyl- oder 6-*O*-Benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-glucose-Derivaten erfolgreich getestet, wobei das ungewünschte  $\beta(1\rightarrow3)$ -verknüpfte Nebenprodukt nur zu 8% bis 25% beobachtet werden konnte. Roy *et al.* haben schließlich einen 6-*O*-*tert.*-Butyldiphenylsilyl-glucosamin-Akzeptor, in dem die 3- und 4-Hydroxygruppen ungeschützt waren, mit einem perbenzoylierter Thiophenylgalactosid-Donor in 74% Ausbeute regioselektiv in Position 4 glycosyliert, ohne das ungewünschte Nebenprodukt beobachten zu können. In einer weiteren Arbeit zu dieser regioselektiven Glycosylierung hatten Roy *et al.* Allyl-2-acetamido-6-*O*-*tert.*-butyldiphenylsilyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactosyltrichloracetimidat unter  $\text{BF}_3$ -Etherat-Katalyse regioselektiv mit 68% Ausbeute (1 $\rightarrow$ 4)-glycosyliert.<sup>[228]</sup> Die Nebenprodukte, die in geringem Umfang zu erwarten waren, wurden hier nicht beschrieben. Diese Bedingungen und der gleiche Donor wie Akzeptor wurden in dieser Arbeit auch zur Darstellung des Lactosamin-Intermediats verwendet. Bei der Umsetzung des Donors **90** mit dem Akzeptor **89** und einem Äquivalent des Promoters  $\text{BF}_3$ -Etherat in DCM bei -45 °C wurde nach einer Stunde Reaktionszeit eine Produktverteilung zwischen dem (1 $\rightarrow$ 4)-verknüpften und dem (1 $\rightarrow$ 3)-verknüpften Disaccharid sowie dem Trisaccharid gefunden (Tabelle 8, 1). Nach Chromatographie wurde das gewünschte Disaccharid **116** mit 43% Ausbeute neben dem (1 $\rightarrow$ 3)-verknüpften Nebenprodukt **117** (23%) und dem Trisaccharid **118** (16%) erhalten. Dieses Verhältnis bzw. diese Ausbeute unterscheidet sich erheblich von jenen Befunden, die von Roy *et al.* beschrieben wurden, wobei ein rationeller Grund für diese Abweichung nicht zu erkennen ist. Andererseits beschrieben Davis *et al.* eine Synthese eines vergleichbaren Disaccharids, in der sie ein 6-*O*-*tert.*-Butyldimethylsilyl-derivat des Akzeptors **89** mit dem Donor **90** unter den gleichen Bedingungen zum (1 $\rightarrow$ 4)-Disaccharid umgesetzt hatten.<sup>[94]</sup> In dieser Arbeit wurde das gleiche Resultat wie hier erhalten (43% (1 $\rightarrow$ 4)-Disaccharid), jedoch sind mögliche Nebenprodukte nicht beschrieben bzw. diskutiert wurden. Da das (1 $\rightarrow$ 3)-Disaccharid **117** als Ausgangsmaterial für die Synthese des Le<sup>a</sup>-Derivats **86** dienen sollte, war das Ergebnis als positiv zu bewerten, da in einer Synthesestufe zwei wichtige Zwischenprodukte in vernünftigen Mengen isoliert werden konnten. Im Hinblick auf die Darstellung der Disaccharide **119** und **121** bzw. den Nebenprodukten **120** und **122**, von denen keine Trisaccharide dargestellt

### 3. Synthesen

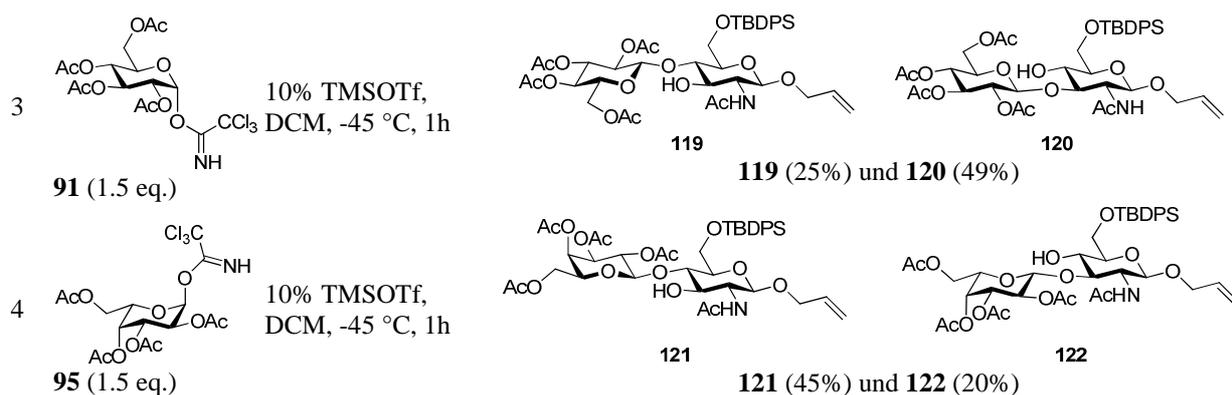
werden sollten, war es erforderlich, die Ausbeute an (1→4)-Disaccharid zu verbessern. Deshalb wurde der Promotor geändert. Die Glycosylierung von **89** mit 1.5 Äquivalenten des Trichloracetimidats **90**, das bei -45 °C mit einer katalytischen Menge TMSOTf (10%) aktiviert wurde, brachte keine Verbesserung der Gesamtglycosylierung (Promotor BF<sub>3</sub>\*Et<sub>2</sub>O (1): 43% + 23% + 16% = 82 % zu Promotor TMSOTf (2): 56% + 19% + 7% = 82 %), aber die Regioselektivität konnte von 1.8 [43% (1→4) / 23% (1→3)] auf 2.9 [56% (1→4) / 16% (1→3)] erhöht werden (Tabelle 8, 2). Diese verbesserten Bedingungen wurden schließlich auf die Synthese der Disaccharide **119** und **121** übertragen. Erstaunlicherweise gab es bei der Verwendung des *gluco*-Donors **91** eine inverse Selektivität. Bei der Umsetzung von Donor **91** mit dem Akzeptor **89** unter TMSOTf-Katalyse wurde das (1→3)-Disaccharid **120** als Hauptprodukt (49%) erhalten, wohingegen das (1→4)-Disaccharid nur mit 25% Ausbeute isoliert werden konnte (Tabelle 8, 3). Das Trisaccharid konnte nicht isoliert bzw. nachgewiesen werden. Die Glycosylierung vom Diol-Akzeptor **89** mit dem L-Galactosedonor **95** verlief wieder mit der gewünschten Regioselektivität, so dass das Disaccharide **121** mit 45% Ausbeute neben der Verbindung **122** (20%) isoliert werden konnte (Tabelle 8.4). Auch hier konnte kein Trisaccharid isoliert werden.

**Tabelle 8.** Synthese der Disaccharid-Intermediate.



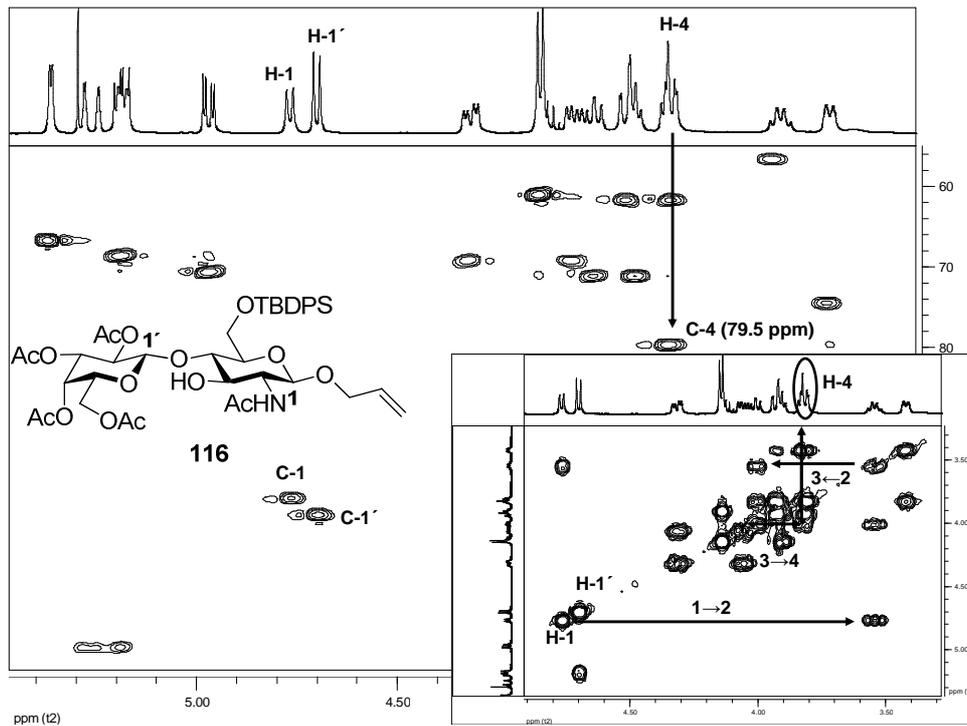
Donor	Aktivierung	Produkt (Ausbeute in %)
<p>1</p> <p><b>90</b> (1.5 eq.)</p>	<p>1 eq. BF<sub>3</sub>*Et<sub>2</sub>O, DCM, -45 °C, 1h</p>	<p><b>116</b></p> <p><b>117</b></p> <p><b>118</b></p>
<p>2</p> <p><b>90</b> (1.5 eq.)</p>	<p>10% TMSOTf, DCM, -45 °C, 1h</p>	<p>für 1: <b>116</b> (43%), <b>117</b> (23%), <b>118</b> (16%) für 2: <b>116</b> (56%), <b>117</b> (19%), <b>118</b> (7%)</p>

### 3. Synthesen



Über solche Phänomene bezüglich der Regioselektivität von Glycosylierung mit Donoren in unterschiedlicher Konfiguration ist wenig bekannt, weshalb eine Interpretation schwierig ist. Hier sind zwei Beispiele von Matwiejuk *et al.* zur Basen-induzierten Glycosylierung von ungeschützten bzw. partiell geschützten Akzeptoren zu nennen, wobei die Verwendung von Glycosyldonoren in unterschiedlicher Konfiguration ein anderes Glycosylierungsprofil ergibt.<sup>[267, 268]</sup> Darüber hinaus sind in der Literatur einige Beispiele für unterschiedliche Regioselektivitäten bezüglich der Glycosylierung verschiedener Akzeptoren genannt, wie z. B. bei enantiomeren D- und L-Chiroinositol-Diolen<sup>[269]</sup> oder 2,3-cis-Diolen (Mannoseakzeptor)<sup>[270]</sup> mit unterschiedlichen Schutzgruppen, oder der Glycosylierung eines 4,6-Diols,<sup>[271]</sup> wenn Donoren mit verschiedenen Schutzgruppen verwendet werden.<sup>[272]</sup> Die moderate Ausbeute für das (1→4)-Disaccharid **119** war schließlich ausreichend um den Syntheseweg bis zum Ende zu beschreiten. Bei Anwendung gleicher Bedingungen konnte mit dem L-galacto-Donor **95** wiederum das (1→4)-Disaccharid **121** regioselektiv erhalten werden (Tabelle 8.4). In allen Fällen verliefen die Glycosylierungen auf Grund der Acetyl-Nachgruppenbeteiligung in den Donoren stereospezifisch wie an Hand der H-1',H-2'-Kopplungskonstanten ( $^3J_{1',2'} \approx 8.0$  Hz) bestätigt werden konnte.

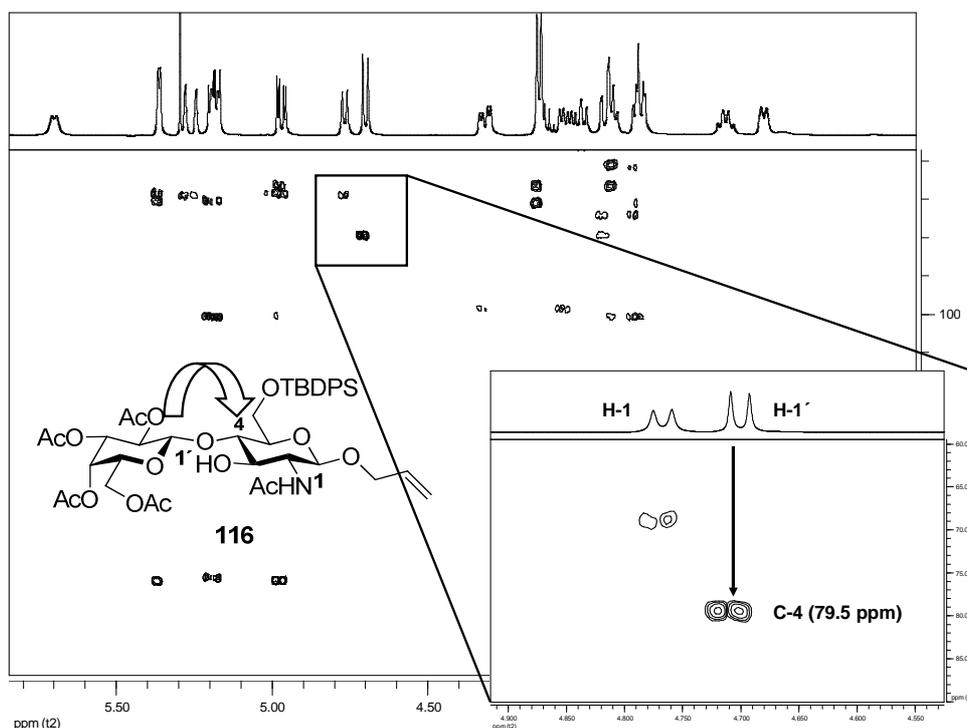
### 3. Synthesen



**Abb. 16.** 2D-NMR-Spektren des (1→4)-Disaccharids **116**. Im Großbereich ist ein Ausschnitt aus dem HSQC-Spektrum zu sehen, der kleine Ausschnitt zeigt das COSY-Spektrum.

Der Beweis für die regio- und stereospezifischen Verknüpfungen in den hergestellten Disacchariden **116** bis **122** wurde durch normale und C,H-gekoppelte HSQC-NMR-Experimente, sowie  $^1\text{H}$ -, H,H-COSY- und HMBC-NMR-Experimente erbracht.<sup>[273, 274]</sup> Diese Beweisführung soll am Beispiel des  $\beta(1\rightarrow4)$ -Disaccharids **116** und des  $\beta(1\rightarrow3)$ -Disaccharids **117** detailliert erklärt werden. Zunächst erfolgte die Zuordnung des H-4-Signals mit Hilfe des H,H-COSY-Spektrums (Abb.16). Das anomere Proton des *N*-Acetyl-glucosamins zeigt einen *cross peak* (1→2) mit dem charakteristischen H-2-Proton, das auf Grund der *N*-Acyl-Funktion stark Hochfeld-verschoben ist und eine Kopplung auf das ebenfalls charakteristische C-2-Atom (ca. 55 ppm) zeigt. Die Argumentationskette wird fortgeführt und ist der Abbildung 16 graphisch zu entnehmen: H-2 koppelt mit H-3 (2→3) und H-3 koppelt mit H-4 (3→4). Mit dem HSQC-Spektrum war nun die Zuordnung des C-4-Signals möglich, und die chemische Verschiebung konnte mit 79.5 ppm bestimmt werden.

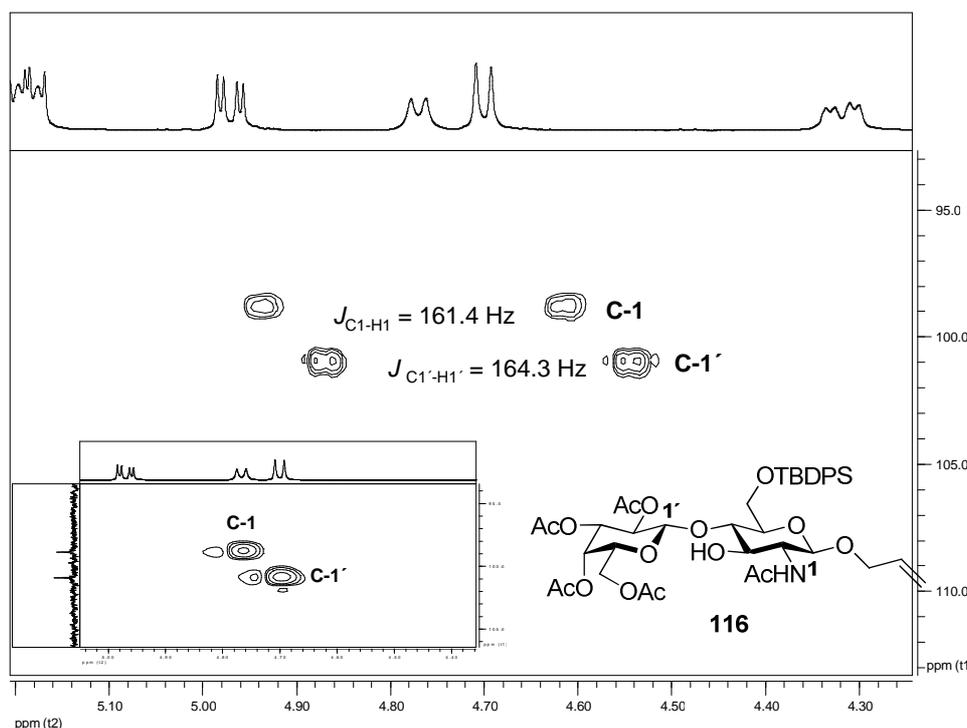
### 3. Synthesen



**Abb. 17.** HMBC-NMR-Spektrum des (1→4)-Disaccharids **116** mit Vergrößerung der (H-1'→C-4)-Kopplungsregion (kleines Fenster).

Die relativ starke Tieffeldverschiebung des C-4-Signals (C-4: 79.5 ppm zu z. B. C-3: 71.3 ppm) ist ein erstes Indiz für eine (1→4)-glycosidische Bindung, da an Glycosylierungsstellen oftmals stärkere Tieffeldverschiebungen (>75 ppm) als bei freien oder acylgeschützten Hydroxyl-Kohlenstoffatomen beobachtet werden. Dieses Verhalten der chemischen Verschiebung ist bereits bei den zuvor synthetisierten peracetylierten Allyl-disacchridglycosiden **64**, **65** und **73**, die alle eine  $\beta(1\rightarrow4)$ -glycosidische Bindung aufweisen (vgl. NMR-Daten im experimentellen Teil: C-4 (**64**): 76.4; C-4 (**65**): 76.2; C-4 (**73**): 75.3), zu finden. Die Auswertung des HMBC-Spektrums brachte dann den endgültigen Beweis für das Vorliegen eines Gal $\beta(1\rightarrow4)$ GlcNAc-Derivats (Abb. 17). Mit HMBC-Experimenten werden C-H-Kopplungen sichtbar gemacht, die mehr als zwei Bindungen entfernt sind und auch über Heteroatome wie den glycosidischen Sauerstoff hinweg wirken. Wie in Abbildung 17 erkennbar ist, koppelt das Galactose-H-1'-Proton auf das C-4-Atom (79.5 ppm) des *N*-Acetyl-Glucosamin-Ringes. Damit war die Struktur des Disaccharids **116** eindeutig verifiziert.

### 3. Synthesen

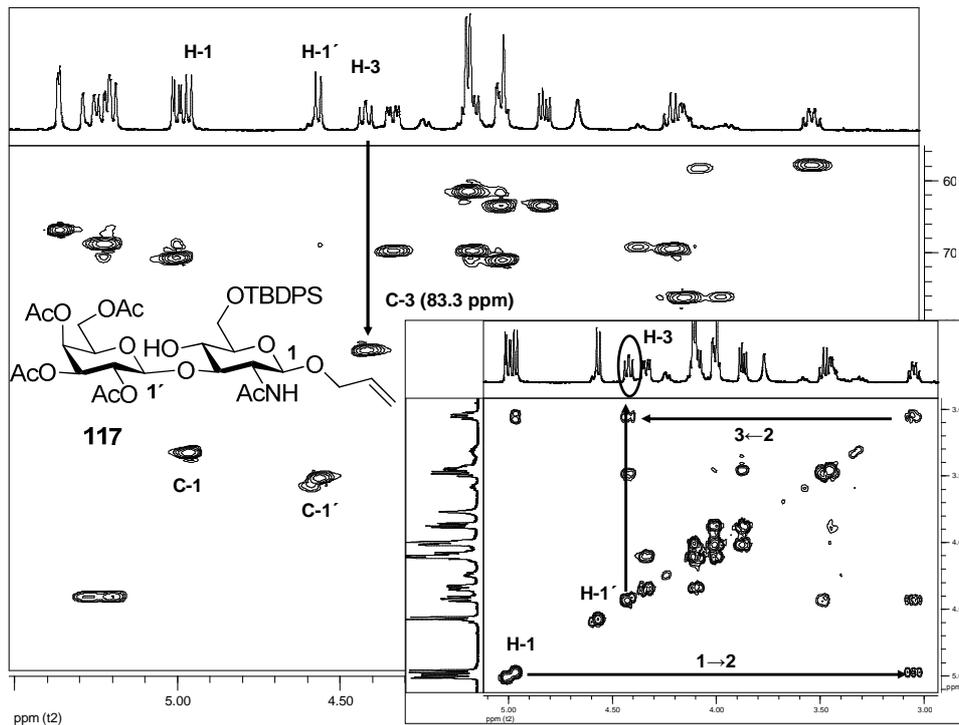


**Abb. 18.** Ausschnitt aus dem C,H-gekoppelten HSQC-NMR-Spektrum (anomere Kopplungsregion) des (1→4)-Disaccharids **116** mit Abbildung der gleichen Region im normalen HSQC-NMR-Spektrum (kleines Fenster).

Mit Hilfe des C,H-gekoppelten HSQC-NMR-Spektrums, aus dem die  $^1J_{C,H}$ -Kopplungskonstante bestimmt werden kann, und durch Ermittlung der  $^3J_{H1'-H2'}$ -Kopplungskonstanten ließ sich die Konfiguration der neugeknüpften glycosidischen Bindung ermitteln. Auf Grund der Karplus-Beziehung ist  $^3J_{H1-H2}$  für eine  $\beta$ -Verknüpfung ( $^3J_{H1-H2} \approx 8 \text{ Hz}$ ) größer als die eines  $\alpha$ -Glycosids ( $^3J_{H1-H2} \approx 3 \text{ Hz}$ ), wenn die Hydroxygruppe am C2 äquatorial steht (*gluco*-, *galacto*- oder *fuco*-Konfiguration). Für axial stehende 2-OH-Gruppen (*manno*- oder *rhamno*-Konfiguration) gilt das nicht, hier sind in beiden Fällen die Kopplungen ungefähr gleich ( $^3J_{H1-H2} \approx 3 \text{ Hz}$ ).<sup>[275]</sup> In solchen Fällen kann die Stereochemie am anomeren Zentrum durch Bestimmung der  $^1J_{C,H}$ -Kopplungskonstante bestimmt werden. Bock *et al.* konnten zeigen, dass die  $^1J_{C,H}$ -Kopplungskonstante einer  $\alpha$ -glycosidischen Bindung größer ist als die einer  $\beta$ -glycosidischen. Die Größenordnungen sind dabei  $^1J_{C,H} (\alpha) \approx 170 \text{ Hz}$  und  $^1J_{C,H} (\beta) \approx 160 \text{ Hz}$ .<sup>[276]</sup> Dieses Verfahren zur Determinierung der Stereochemie wird häufig bei der Charakterisierung von größeren Oligosacchariden angewandt, wenn sich anomere Signale überlagern.<sup>[277]</sup> Die  $^3J_{H1-H2}$ -Kopplungskonstanten für das Disaccharid **116** waren  $^3J_{H1-H2} = 7.9 \text{ Hz}$  und  $^3J_{H1'-H2'} = 8.1 \text{ Hz}$ , was für das Vorliegen von zwei  $\beta$ -glycosidischen Bindungen spricht. Bestätigt wurde dies durch das C,H-gekoppelte HSQC-NMR-Spektrum, in dem die  $^1J_{C,H}$ -Kopplungskonstanten zu 161.4 Hz (C-1) und 164.3 Hz (C-

### 3. Synthesen

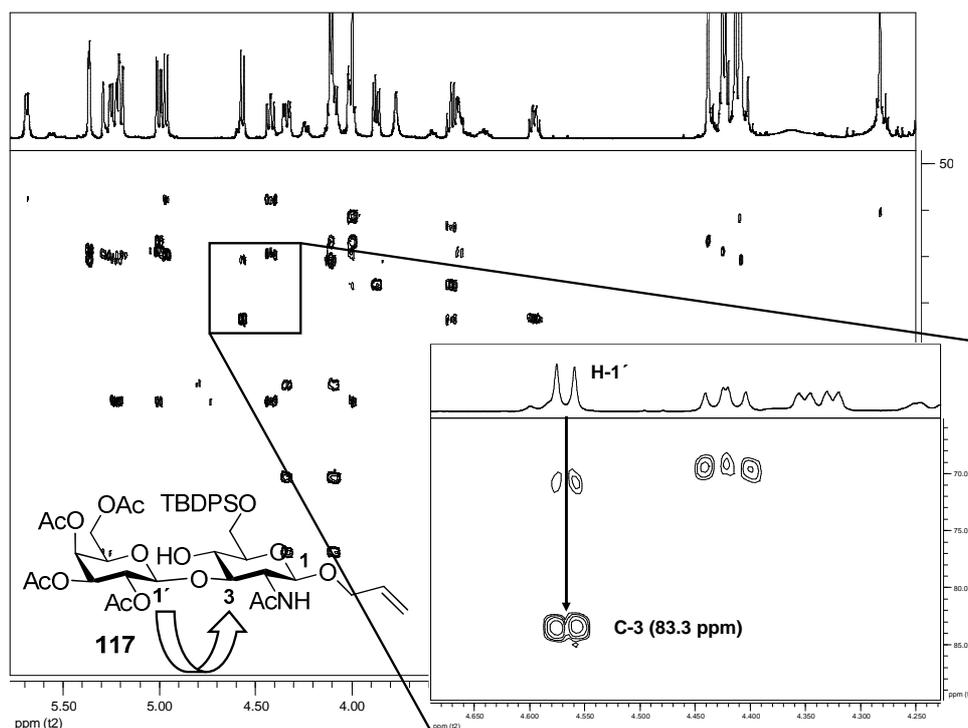
1') bestimmt wurden (Abb 18).



**Abb. 19.** 2D-NMR-Spektren des (1→4)-Disaccharids **117**. Im Großbereich ist ein Ausschnitt aus dem HSQC-Spektrum zu sehen und der kleine Ausschnitt zeigt das COSY-Spektrum.

Zur Absicherung des Ergebnisses wurde diese NMR-Analyse zur Bestimmung der Konfiguration ebenfalls für das  $\beta$ (1→3)-Regioisomer **117** durchgeführt. Zunächst wurde die Zuordnung der  $^1\text{H}$ -Signale anhand des COSY-Spektrums (1→2 und 2→3) vorgenommen und mit dieser Information das C-3-Signal im HSQC-Spektrum ermittelt (Abb. 19). Auch hier ist eine starke Tieffeldverschiebung des C-3-Signals (83.3 ppm) zu beobachten. Im Gegensatz dazu ist nun die Lage des C-4-Signals (69.3 ppm) Hochfeld-verschoben. Dieses Indiz für das Vorliegen der (1→3)-glycosidischen Bindung konnte mit dem HMBC-Spektrum bestätigt werden (Abb. 20). Es ist eindeutig die Kopplung des H-1'-Protones über den Sauerstoff der glycosidischen Bindung auf das C-3-Kohlenstoffatom sichtbar.

### 3. Synthesen



**Abb. 20.** HMBC-NMR-Spektrum des (1→4)-Disaccharids **117** mit Vergrößerung der (H-1'→C-4)-Kopplungsregion (kleines Fenster).

Die NMR-Daten zur Festlegung der Stereochemie am anomeren Zentrum der Galactose im Disaccharid **117** lieferten den Beweis für die  $\beta$ -Verknüpfung. Die  $^3J_{\text{H1}'\text{-H2}'}$  und die  $^1J_{\text{C,H}}$  Kopplungskonstanten betragen 8.1 Hz bzw. 164.3 Hz. Auf diese Weise wurden schließlich auch die Strukturen des  $\text{Le}^{\text{x-Glc}}$ -Disaccharids<sup>‡</sup> **119** und des  $\text{Le}^{\text{x-D}\rightarrow\text{L}}$ -Disaccharids\* **121** eindeutig charakterisiert. Eine Zusammenfassung ausgewählter NMR-Daten ist in der Tabelle 10 (Seite 82) zu finden.

Mit den Disacchariden **116** (für  $\text{Le}^{\text{x}}$ ,  $\text{Le}^{\text{x-}\beta\text{-Fuc}}$ ,  $\text{Le}^{\text{x-L-Gal}}$  und  $\text{Le}^{\text{x-Rham}}$ )<sup>⊙</sup> **117** (für  $\text{Le}^{\text{a}}$ ), **119** (für  $\text{Le}^{\text{x-Glc}}$ ) und **121** (für  $\text{Le}^{\text{x-D}\rightarrow\text{L}}$ ) in der Hand wurde die Synthese der Trisaccharide angegangen. Dieser Schritt stellte die Schlüsselreaktion in der Synthesesequenz zu  $\text{Le}^{\text{x}}$ -Analoga dar, weil ein neuartiger synthetischer Ansatz durch die Verwendung von persilylierten Thioethyl-Donoren etabliert werden musste. Der Einsatz von standardmäßig benutzten perbenzylierten Glycosyltrichloracetimidaten<sup>[223]</sup> oder -bromiden<sup>[222]</sup> schied aus, weil eine Entschützung durch Hydrierung nicht mit der Allylgruppe kompatibel war. Kosma *et al.* und Nifantev *et al.*,

<sup>‡</sup> Änderungen gegenüber natürlichem  $\text{Le}^{\text{x}}$ -Trisaccharid in  $\text{Le}^{\text{x-Glc}}$ : D-Galactose ist durch D-Glucose ausgetauscht;

\*  $\text{Le}^{\text{x-D}\rightarrow\text{L}}$ : D-Galactose durch L-Galactose und L-Fucose durch D-Fucose ersetzt;

⊙  $\text{Le}^{\text{x-}\beta\text{-Fuc}}$ : L-Fucose  $\beta$ -glycosidisch anstatt  $\alpha$ -glycosidisch gebunden;  $\text{Le}^{\text{x-L-Gal}}$ : L-Fucose durch L-Galactose ersetzt;  $\text{Le}^{\text{x-Rham}}$ : L-Fucose durch L-Rhamnose ersetzt. Die Strukturen der  $\text{Le}^{\text{x}}$ -Analoga sind in Tabelle 12, S. 85 dargestellt.

### 3. Synthesen

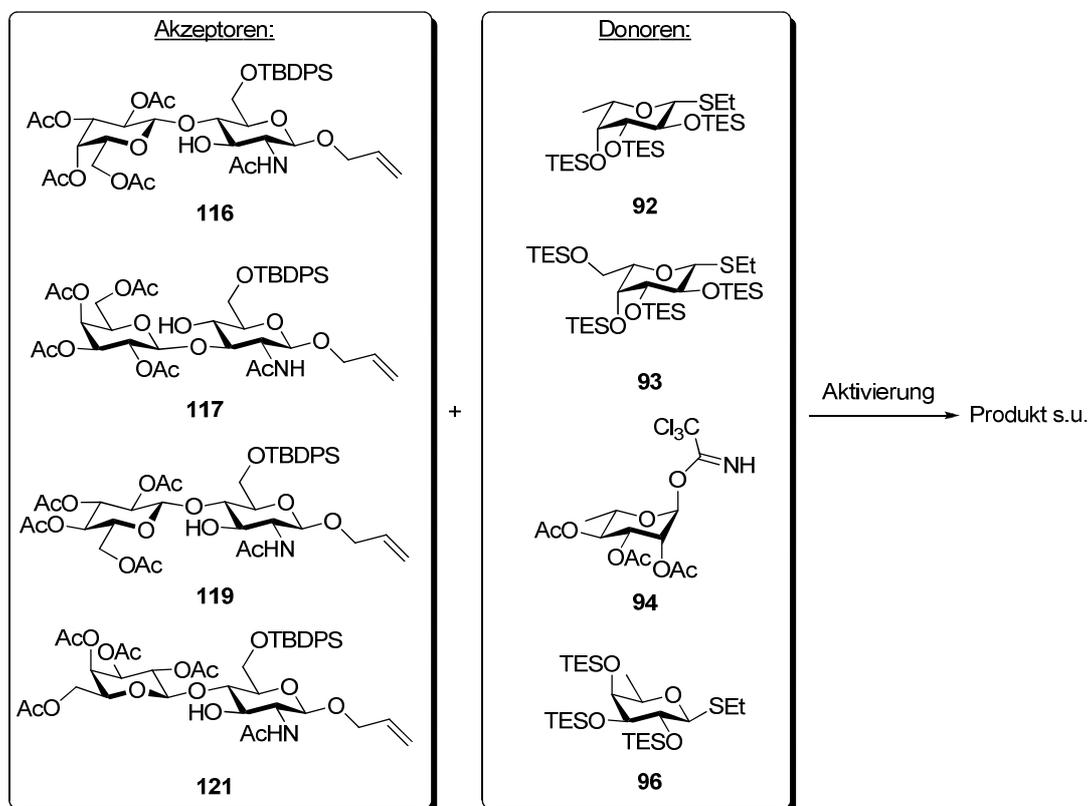
die jeweils ebenfalls ein Allylglycosid in Synthesesequenz zu glycosylieren und anschließend orthogonal zu entschützen hatten, setzten beide jeweils ein perbenzooyliertes Fucosylbromid ein.<sup>[240, 278]</sup> Sie erhielten damit auf Grund der Nachgruppenbeteiligung ein  $\alpha/\beta$ -Anomerengemisch von etwa 1 : 1 mit geringer  $\beta$ -Selektivität, die das ungewünschte Nebenprodukt lieferte. Grundsätzlich werden für die Aktivierung von Thioglycosiden Elektrophile wie NIS benutzt, die zu Nebenreaktionen mit der allylischen Doppelbindung führen können. Deshalb wurde in dieser Arbeit versucht, die Thioethylgruppe als temporäre Schutzgruppe für die Synthese eines persilylierten Trichloracetimidat-Donors zu nutzen. Der Versuch der Hydrolyse des Thioethylderivats mit NIS und TfOH in wässrigem THF scheiterte. Die Synthese eines TES-geschützten Trichloracetimidat-Donors über ein Benzyl-Glycosid ist zwar möglich, jedoch ist diese Synthese für den hier verfolgten Zweck zu komplex.<sup>[279]</sup> Um das Thioethylglycosid als Donor universell einsetzen zu können, wurden fünf verschiedene Aktivierungsmethoden für die  $Le^x$ -Synthese mit dem Fucosedonor **92** und dem Lactosamin-Akzeptor **116** untersucht und zusammen mit allen Trisaccharid-Synthesen zu den  $Le^x$ -Analoga **82** – **88** aufgelistet (Tabelle 9, 1-5).

Kunz *et al.* beschrieben die Synthese von Sialyl- $Le^x$  mit einem Thioethylfucosylglycosid, das mit Kupfer-(II)-bromid und Tetrabutylammoniumbromid aktiviert wurde.<sup>[225]</sup> Bei der Aktivierung wird das Thioglycosid vom thiophilen Kupfer angegriffen und durch das Bromid-Ion substituiert.<sup>[280]</sup> Das Glycosylbromid ist nun der eigentliche Donor, das durch Tetrabutylammoniumbromid nach Lemieux *in situ* anomerisiert wird und so die Stereoselektivität der Glycosylierung verbessern soll.<sup>[281]</sup> Die Anwendung dieser Bedingungen lieferte annähernd ein 1:1-Anomerengemisch mit leichter Präferenz für das nicht gewünschte  $\beta$ -Produkt in guter Ausbeute von 68% (Tabelle 9, 1). Das Anomerenverhältnis konnte aber erst bestimmt werden, nachdem das Produktgemisch aus Verbindung **82**<sup>TES</sup> und **85**<sup>TES</sup> umgeschützt wurde.

Die Abtrennung des nicht umgesetzten Donors **92** und Akzeptors **116** vom Trisaccharid, in dem der Fucosylrest TES-geschützt war, konnte durch Standard-Säulenchromatographie realisiert werden, aber eine Anomerentrennung sowie eine Bestimmung des  $\alpha/\beta$ -Verhältnisses durch NMR-Spektroskopie war nicht möglich. Erst nach einer Umschätzung der TES-geschützten Hydroxygruppen der Fucose zu Acetaten konnte per NMR-Analyse das  $\alpha/\beta$ -Verhältnis bestimmt werden. Des Weiteren war es nach der Umschätzung möglich, die Verbindungen **82** und **85** zu trennen.

### 3. Synthesen

**Tabelle 9.** Synthese der Le<sup>x</sup>-Trisaccharid-Analoga. In allen Reaktionen wurden 1.5 Äquivalente der Donoren eingesetzt. Nach der Glycosylierung wurden die TES-Gruppen durch Acetylgruppen zur besseren Charakterisierung ausgetauscht. Bedingungen: a) 1. THF /H<sub>2</sub>O, Essigsäure; 2. Ac<sub>2</sub>O, Pyridin.



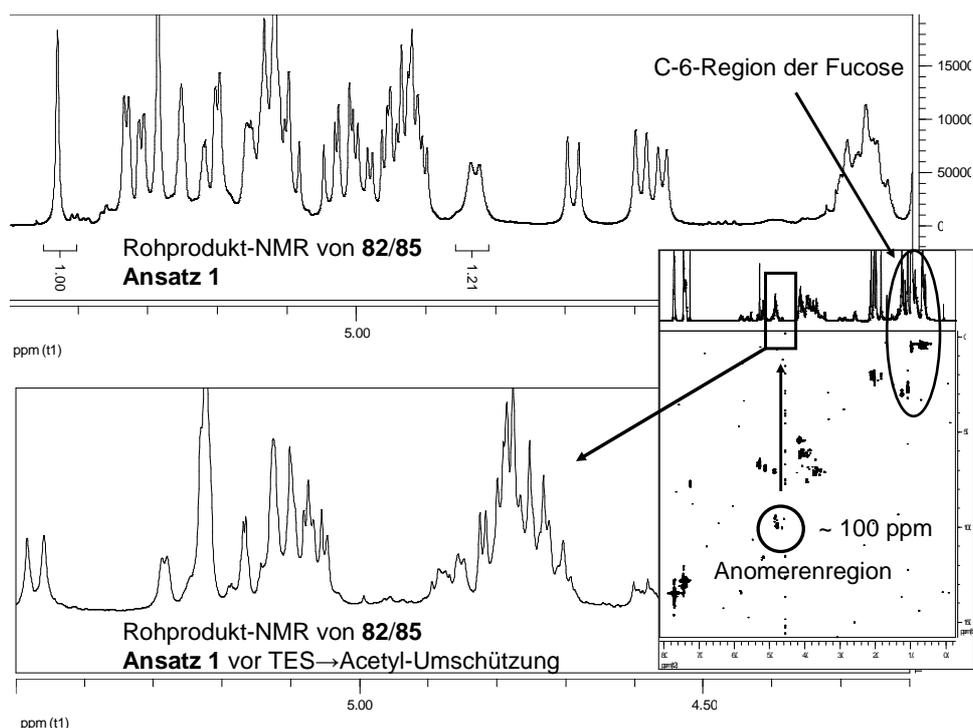
	Akzeptor	Donor	Aktivierung	Produkt (Ausbeute in %, α,β-Anomerenverhältnis)
1	116	92	CuBr <sub>2</sub> , <i>n</i> Bu <sub>4</sub> NBr, DMF, rt, 24h	<p>a) <math>\begin{matrix} \mathbf{82}^{\text{TES}}: R = \text{TES} \\ \mathbf{82}: R = \text{Ac} \end{matrix}</math>      a) <math>\begin{matrix} \mathbf{85}^{\text{TES}}: R = \text{TES} \\ \mathbf{85}: R = \text{Ac} \end{matrix}</math></p> <p>für 1: <b>82/85</b> (68%, 1 : 1.1)  für 2: <b>82/85</b> (-)  für 3: <b>82/85</b> (39%, 4.3 : 1)  für 4: <b>82/85</b> (67%, 8.3 : 1)  für 5: <b>82/85</b> (21%, 5.6 : 1)</p>
2	116	92	NIS, TfOH, -20 °C, DCM, 1h	
3	116	92	DMTST, DCM, rt, 1h	
4	116	92	Me <sub>2</sub> S <sub>2</sub> -Tf <sub>2</sub> O, DCM, -40 °C, 1h	
5	116	92	MeOTf, DCM, -40 °C, 1h	
6	119	92	Me <sub>2</sub> S <sub>2</sub> -Tf <sub>2</sub> O, DCM, -40 °C, 1h	<p>a) <math>\begin{matrix} \mathbf{83}^{\text{TES}}: R = \text{TES} \\ \mathbf{83}: R = \text{Ac} \end{matrix}</math>      <b>83</b> (63%, 9.5 : 1)</p>

### 3. Synthesen

7	116	93	Me <sub>2</sub> S <sub>2</sub> -Tf <sub>2</sub> O, DCM, -40 °C, 1h		a) $\begin{cases} \mathbf{84}^{\text{TES}}, \text{R} = \text{TES} \\ \mathbf{84}, \text{R} = \text{Ac} \end{cases}$	<b>84</b> (53%, 8.7 : 1)
8	117	92	Me <sub>2</sub> S <sub>2</sub> -Tf <sub>2</sub> O, DCM, -40 °C, 1h		a) $\begin{cases} \mathbf{86}^{\text{TES}}, \text{R} = \text{TES} \\ \mathbf{86}, \text{R} = \text{Ac} \end{cases}$	<b>86</b> (59%, 7.8 : 1)
9	116	94	TMSOTf, DCM, -40 °C, 1h		<b>87</b>	<b>87</b> (42%, nur $\alpha$ )
10	121	96	Me <sub>2</sub> S <sub>2</sub> -Tf <sub>2</sub> O, DCM, -40 °C, 1h		a) $\begin{cases} \mathbf{88}^{\text{TES}}, \text{R} = \text{TES} \\ \mathbf{88}, \text{R} = \text{Ac} \end{cases}$	<b>88</b> (59%, 6.9 : 1)

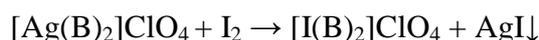
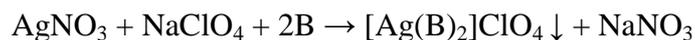
Die Abbildung 21 zeigt das NMR-Spektrum des Gemisches  $\mathbf{82}^{\text{TES}}/\mathbf{85}^{\text{TES}}$  vor der Umschätzung und danach. In der TES geschützten Verbindung fielen die Signale der anomeren Protonen alle zusammen, wie in dem HSQC-Spektrum und <sup>1</sup>H-Spektrum (unten Abb. 21) zu erkennen ist. Das H-6-Signal der Fucose konnte ebenso nicht für die Analyse herangezogen werden, da es komplett von den Signalen der TES-Schutzgruppe überlagert wurde. Nach dem das nicht trennbare Gemisch  $\mathbf{82}^{\text{TES}}/\mathbf{85}^{\text{TES}}$  in wässrigem THF mit einer katalytischen Menge Essigsäure für drei Stunden gerührt wurde<sup>[282]</sup> und anschließend mit Acetanhydrid und Pyridin in ein Gemisch der Verbindungen **82** bzw. **85** überführt wurde, war neben einer Anomerentrennung auch die NMR-Analyse des  $\alpha/\beta$ -Verhältnisses möglich. Dies ist in Abbildung 21 (oben) im Rohprodukt-NMR-Spektrum nach Acetylierung zu sehen. Das H-1'-Signal bzw. H-1-Signal der  $\alpha$ -Verbindung **82** (ca. 5.45 ppm/Integral 1.00, H-1'- $\alpha$ -Fuc) und der  $\beta$ -Verbindung **85** (ca. 4.85 ppm/Integral 1.21, H-1- $\beta$ -Fuc) waren deutlich voneinander separiert und überlagerten nicht mit anderen Signalen, was die Bestimmung des  $\alpha/\beta$ -Verhältnisses der Glycosylierungsreaktion ermöglichte. Im Folgenden wurde wenn nötig nach allen Glycosylierungen mit TES-geschützten Donoren eine Umschätzung durchgeführt und anschließend das Anomerenverhältnis der acetylierten Verbindungen ermittelt.

### 3. Synthesen



**Abb. 21.** Ausschnitt aus den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der Glycosylierung von **116** mit **92** (Ansatz 1, Tabelle 9) vor (unten) und nach (oben) Umschützung.

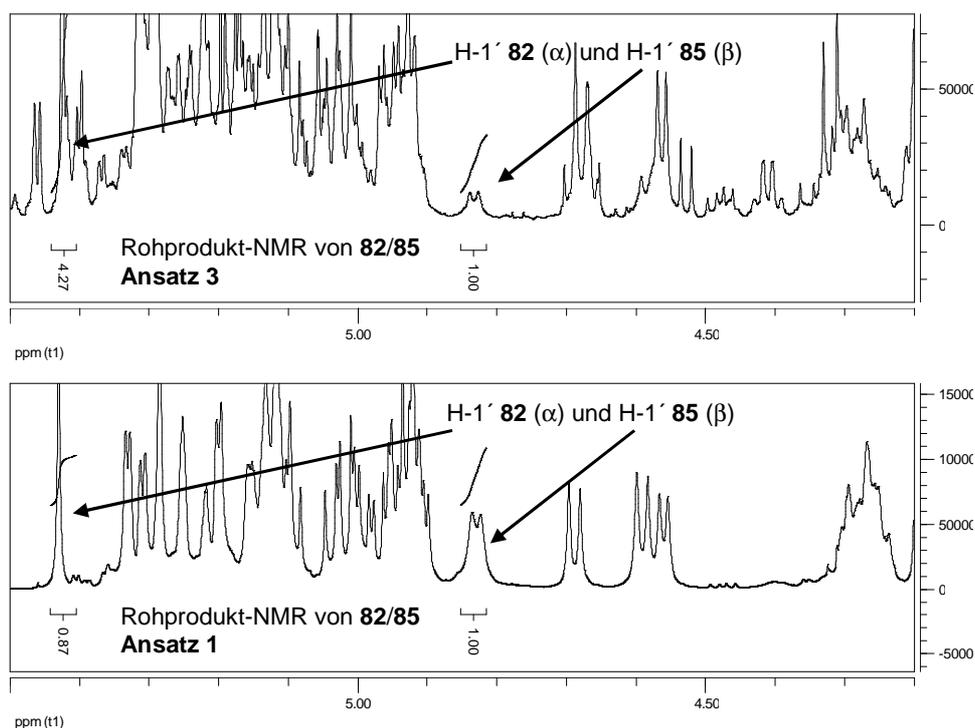
Weil die Aktivierung des Thioethylglycosids **92** mit  $\text{CuBr}_2$  keine Stereoselektivität zeigte, wurden andere Aktivierungsmethoden gesucht, die zu einer Verbesserung führen könnten. Unterschiedliche Promotoren führen zu unterschiedlichen Übergangszuständen am C1-Kohlenstoffatom und damit zu unterschiedlichen Reaktionsmechanismen ( $\text{sp}^3 \rightarrow \text{S}_{\text{N}}2$  gegen  $\text{sp}^2 \rightarrow \text{S}_{\text{N}}1$ ). Bei Nicht-Nachbarbeteiligung hat dieser Effekt einen erheblichen Anteil an der Verteilung zwischen  $\alpha$  und  $\beta$ .<sup>[283, 284]</sup> Es war zwar bekannt, dass Thioglycoside nach Lemieux in Anwesenheit einer Allylgruppe mit IDCP (*I*odonium*d*icollidin*p*erchlorat) aktiviert werden könnten, aber zunächst erschien diese Variante nicht praktikabel.<sup>[285-287]</sup> Das IDCP ist schlecht lagerfähig und deshalb nicht kommerziell erhältlich. Es muss aufwendig nach folgender Reaktionsgleichung aus relativ teuren Ausgangsmaterialien hergestellt werden (B = Base = *sym*-Collidin):



Aus diesem Grund wurden zunächst Standardmethoden untersucht, die jedoch auch die Gefahr einer elektrophilen Nebenreaktion mit der Allylgruppe mit sich bringen. Dazu zählten die Aktivierung mit NIS und Trifluormethansulfonsäure,<sup>[288]</sup> mit DMTST,<sup>[289, 290]</sup> mit Methyltriflat<sup>[291]</sup> sowie mit Dimethyldisulfid und Trifluormethansulfonsäureanhydrid.<sup>[292]</sup>

### 3. Synthesen

Üblicherweise werden in Glycosylierungen der Donor und der Akzeptor im Lösungsmittel gemischt, auf Reaktionstemperatur gebracht, und anschließend erfolgt die Zugabe des Promotors/Aktivators. Um die Gefahr der Nebenreaktion zu minimieren, wurden in dieser Arbeit die Reaktionsbedingungen so gewählt, dass zunächst der Donor **92** mit den verschiedenen Promotoren unter wasserfreien Bedingungen im äquimolaren Verhältnis gelöst wurden. Man ließ dem Donor **92** jeweils 30 Minuten Zeit, um die aktive Spezies zu bilden und erst dann wurde der Akzeptor im gelösten Zustand hinzugegeben. Die Resultate für dieses Vorgehen bei unterschiedlicher Aktivierung sind in der Tabelle 9 (2-5) wiedergegeben.



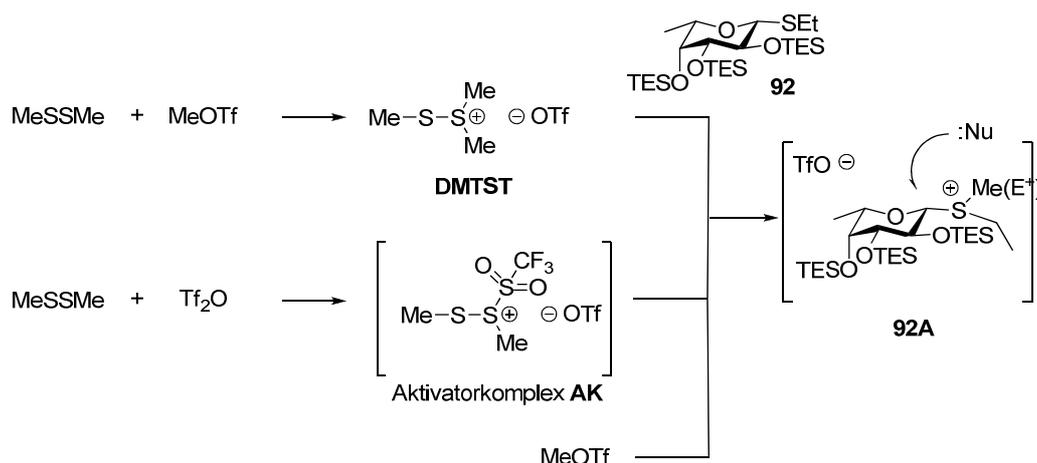
**Abb. 22.** Beispielhafte Auswahl von NMR-Spektren anhand derer das  $\alpha/\beta$ -Verhältnis der Glycosylierungsreaktionen bestimmt wurden

Nach jeweils einer Stunde Reaktionszeit wurden die Reaktionen abgebrochen, und das Rohgemisch wurde zur Entfernung der TES-Schutzgruppen in wässrigem, essigsauerm THF gelöst. Nach drei Stunden wurde neutralisiert, über Nacht acetyliert und schlussendlich das Gemisch der Trisaccharide **82/85** vom verbleibendem Donor **92** und Akzeptor **116** abgetrennt. Das Anomerenverhältnis wurde dann durch <sup>1</sup>H-NMR-Experimente ermittelt. Exemplarisch sind in Abbildung 22 Ausschnitte der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Ansätze 1 und 3 dargestellt. Als Bemessungsgrundlage dienten die Integrale der charakteristischen Signale der anomeren Protonen der  $\alpha$ -Fucose und das anomere Proton des *N*-Acetylglucosamins, an das die Fucose  $\beta$ -glycosidisch gebunden war. Das  $\alpha$ -Fuc-H-1'-Signal erschien bei ca. 5.45 ppm, wohingegen

### 3. Synthesen

das  $\beta$ -Fuc-H-1-Signal bei ca. 4.85 ppm zu erkennen war. Die Daten hierzu sind für die Ansätze 2 bis 5 in der Tabelle 9 (2-5) zu finden.

Eine Aktivierung des Thioethylglycosids mit NIS/TfOH war nicht erfolgreich. Es konnte kein Produkt isoliert werden (Tabelle 9, 2). Bei den Ansätzen 3-5, in denen Promotoren auf Methyltriflat- und Dimethyldisulfid-Basis verwendet wurden, war die Glycosylierung erfolgreich. Das DMTST wurde vor der Reaktion frisch aus Dimethyldisulfid und Methyltriflat hergestellt und als Salz erhalten.<sup>[293]</sup> Mit diesem Promotorsystem konnte die Stereoselektivität deutlich gegenüber Ansatz 1 verbessert werden. Die Ausbeute war jedoch mit 39% sehr moderat (Tabelle 9, 3). Die Gründe hierfür waren wohl hauptsächlich darin zu suchen, dass zum einen Nebenreaktionen mit der Allylgruppe<sup>[294]</sup> auftreten konnten, und zum anderen üblicherweise ein 4-5facher Überschuss des DMTST eingesetzt wird (hier äquimolar).<sup>[289]</sup> Die Verwendung von Methyltriflat verbessert die Stereoselektivität, brachte aber keine Verbesserung der Ausbeute. Im Gegenteil wurde sogar nur eine Umsetzung zum Trisaccharid von 21% beobachtet (Tabelle 9, 5).



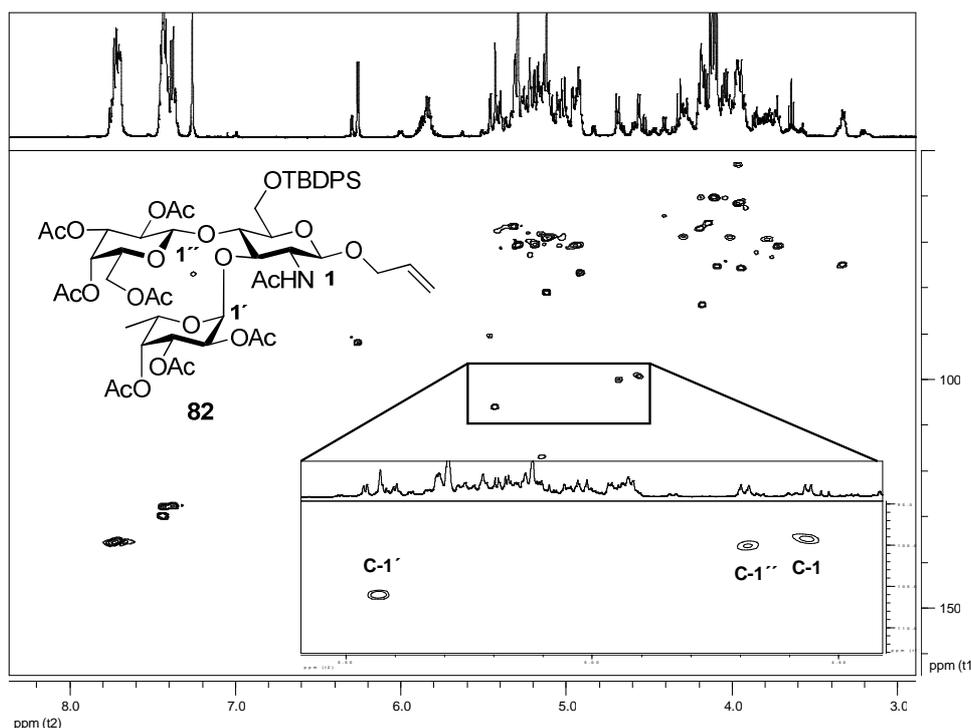
**Schema 25.** Mechanistische Betrachtung verschiedener Promotorsysteme.

Methyltriflat *S*-methyliert auch in der Anwesenheit von Akzeptor-Hydroxygruppen bevorzugt Thioglycoside, um ein Glycosylsulfonium-Ion **92A** zu bilden (Schema 24).<sup>[291, 295]</sup> In einigen Fällen ist dennoch *O*-Methylierung gefunden worden. Auch in der hier durchgeführten Reaktion konnte ein methylierter Akzeptor **116<sup>Me</sup>** durch MALDI-TOF (**116**:  $m/z = 852.3$   $[M+Na^+]$   $\rightarrow$  **116<sup>Me</sup>**:  $m/z = 866.3$   $[M+Na^+]$ ) des Rohgemisches nachgewiesen werden. Der methylierte Akzeptor war nicht mehr glycosylierbar, weshalb die geringe Ausbeute erhalten wurde. Sowohl die beste Ausbeute für das Trisaccharid, als auch die beste Stereoselektivität brachte die Glycosylierung mit dem Promotorsystem aus Dimethyldisulfid und Trifluormethansulfonsäureanhydrid (Tabelle 9, 4). Mit einer Ausbeute von 67% für die

### 3. Synthesen

Trisaccharide und einem  $\alpha/\beta$ -Verhältnis von 8.3 zu 1 brachte die Glycosylierung ein vergleichbar gutes Ergebnis, wie für andere Promotorsysteme bereits beschrieben war. Kunz *et al.* erhielten 65-75% Ausbeute mit  $\text{CuBr}_2$  und TBAB, Kosma *et al.* konnten mit IDCP ein 3-4-Diol selektiv mit 49 % in 3-Position fucosylieren. Vergleicht man die ähnlichen Aktivierungsmethoden mit DMTST und Dimethyldisulfid/Methyltriflat unter mechanistischen Gesichtspunkten, wird der Vorteil von Dimethyldisulfid/Methyltriflat deutlich (Schema 24). Beide Promotoren liefern ein Sulfonium-Ion **92A**, das nukleophil am anomeren Kohlenstoffatom in einem  $\text{S}_{\text{N}}2$ -artigen Übergangszustand angegriffen wird. Dieser Angriff erfolgt von der 1,2-*cis*-Seite unter Ausbildung der  $\alpha$ -glycosidischen Bindung, weil der Komplex sowohl mit DMTST als auch mit Dimethyldisulfid/Methyltriflat die Unterseite des Thioethylglycosids **92A** abschirmt. Der Aktivierungskomplex **AK** aus Dimethyldisulfid und Methyltriflat bringt eine größere Aktivität gegenüber dem DMTST, weil die Elektrophilie des Sulfonium-Ions **AK** durch den Elektronenzug der Triflyl-Gruppe erhöht ist. Im DMTST ist die Stabilität des Sulfonium-Ions durch die Elektronendonormethylgruppen erhöht, weshalb in Glycosylierungen grundsätzlich ein 4-5 facher Überschuss eingesetzt werden muss. Wegen dieser Überlegungen und des guten Glycosylierungsergebnisses mit Dimethyldisulfid/Methyltriflat wurden diese Bedingungen auch auf die Synthese der Trisaccharide **83**, **84**, **86** und **88** angewendet. Das  $\text{Le}^{\text{a}}$ -Derivat **86** konnte mit 59% ( $\alpha/\beta = 7.8:1$ ) Ausbeute erhalten werden, und die  $\text{Le}^{\text{x}}$ -Analoge **83** ( $\text{Le}^{\text{x-Glc}}$ ), **84** ( $\text{Le}^{\text{x-L-Gal}}$ ) und **88** ( $\text{Le}^{\text{x-D}\rightarrow\text{L}}$ ) wurden mit 63% ( $\alpha/\beta = 9.5:1$ ), 53% ( $\alpha/\beta = 8.7:1$ ) bzw. 59% ( $\alpha/\beta = 6.9:1$ ) Ausbeute gewonnen (Tabelle 9, 6-8, 10). Damit waren die unnatürlichen  $\text{Le}^{\text{x}}$ -Analoge durch die Verwendung persilylierter Thioethylglycoside unter Dimethyldisulfid/Methyltriflat-Promotion mit sehr guter Stereoselektivität und Ausbeute zugänglich. Das Trisaccharid **87** ( $\text{Le}^{\text{x-Rham}}$ ) wurde durch Schmidt-Glycosylierung am Akzeptor **116** mit dem Trichloracetimidat **94** in 42% Ausbeute erhalten (Tabelle 9, 9). Auf Grund der 2-*O*-Acetylgruppe wurde ausschließlich die  $\alpha$ -Verbindung isoliert. Die Konfiguration der glycosidischen Bindung in allen Trisacchariden wurde mit C,H-gekoppelten HSQC-NMR-Experimenten bestimmt. Die charakterischen Daten sind zusammen mit denen der Disaccharide in Tabelle 10 (Seite 82) aufgelistet.

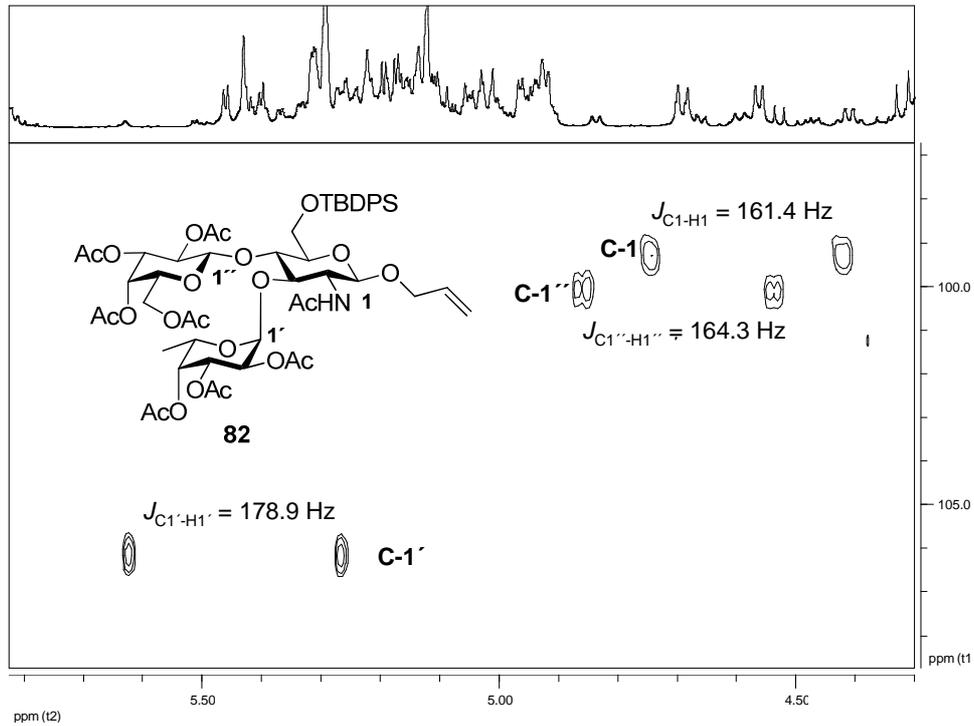
### 3. Synthesen



**Abb. 23.** HSQC-NMR-Spektrum der Verbindung **82** mit Vergrößerung der anomeren  $^{13}\text{C}$ -Signalregion.

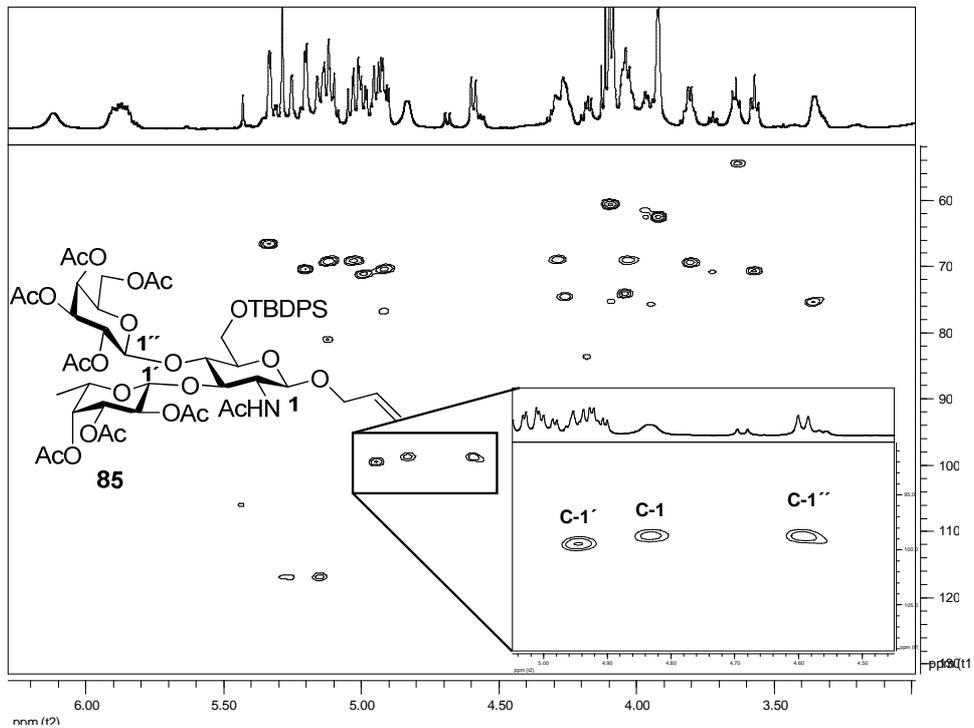
Wie bereits dargestellt, sind die C,H-Kopplungskonstanten für  $^1J_{\text{C,H}}(\alpha) \approx 170$  Hz und für  $^1J_{\text{C,H}}(\beta) \approx 160$  Hz. Diese sind charakteristisch und beweisen das Verliegen der  $\alpha$ - oder  $\beta$ -glycosidischen Bindung. Im Folgenden werden diese Zuordnungen exemplarisch für die Verbindungen  $\text{Le}^{\text{x-}\alpha\text{-Fuc}}$  **82**,  $\text{Le}^{\text{x-}\beta\text{-Fuc}}$  **85**,  $\text{Le}^{\text{x-}\alpha\text{-L-Gal}}$  **84** und  $\text{Le}^{\text{x-}\alpha\text{-Rham}}$  **87** vorgestellt und miteinander verglichen. Die Abbildung 23 zeigt das entkoppelte HSQC-Spektrum der Verbindung **82**, mit dem die Signale den Kohlenstoffatomen C-1, C-1' und C-1'' zugeordnet wurden. Anhand dieser Zuordnung wurden im C,H-gekoppelten HSQC-NMR-Spektrum die Kopplungskonstanten ermittelt (Abb. 23).

### 3. Synthesen



**Abb. 24** C,H-gekoppeltes HSQC-NMR-Spektrum der Verbindung **82** (anomere  $^{13}\text{C}$ -Signalregion).

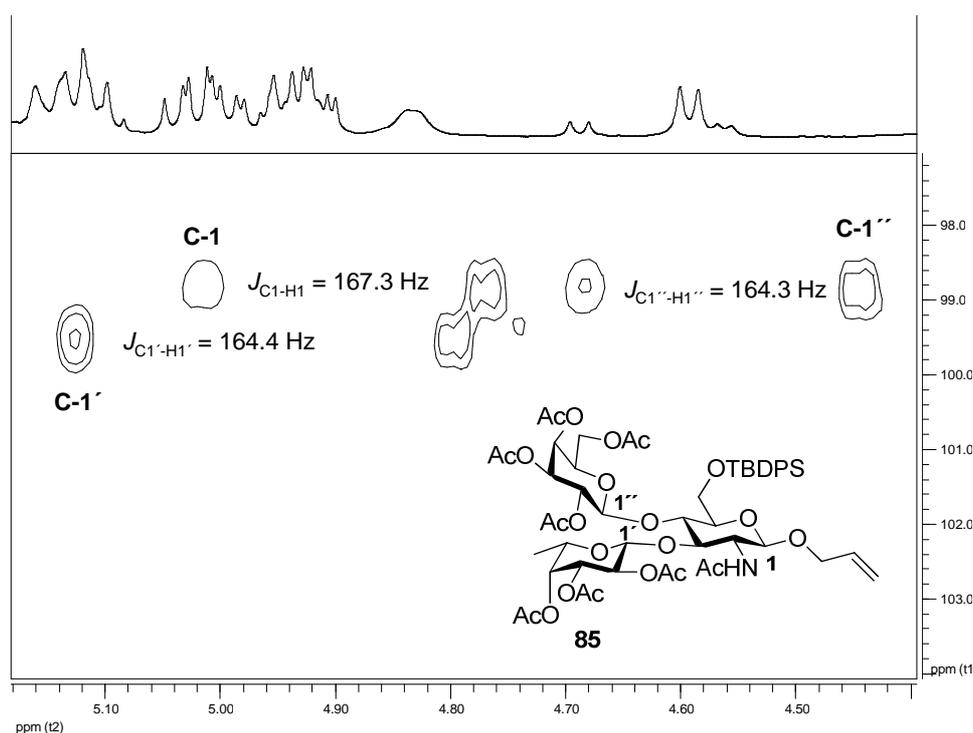
Das *N*-Acetylglucosamin ist  $\beta$ -glycosidisch ( $^1J_{\text{C1},\text{H1}} = 161.4 \text{ Hz}$ ) mit dem Allylalkohol verbunden, ebenso die Galactose an die 4-OH-Gruppen des *N*-Acetylglucosamins ( $^1J_{\text{C1}'',\text{H1}''} = 164.3 \text{ Hz}$ ). Die Kopplungskonstante von  $^1J_{\text{C1}',\text{H1}'} = 178.9 \text{ Hz}$  ist der Beleg für die  $\alpha$ -fucosidische Bindung.



**Abb. 25.** HSQC-NMR-Spektrum der Verbindung **85** mit Vergrößerung der anomeren  $^{13}\text{C}$ -Signalregion.

### 3. Synthesen

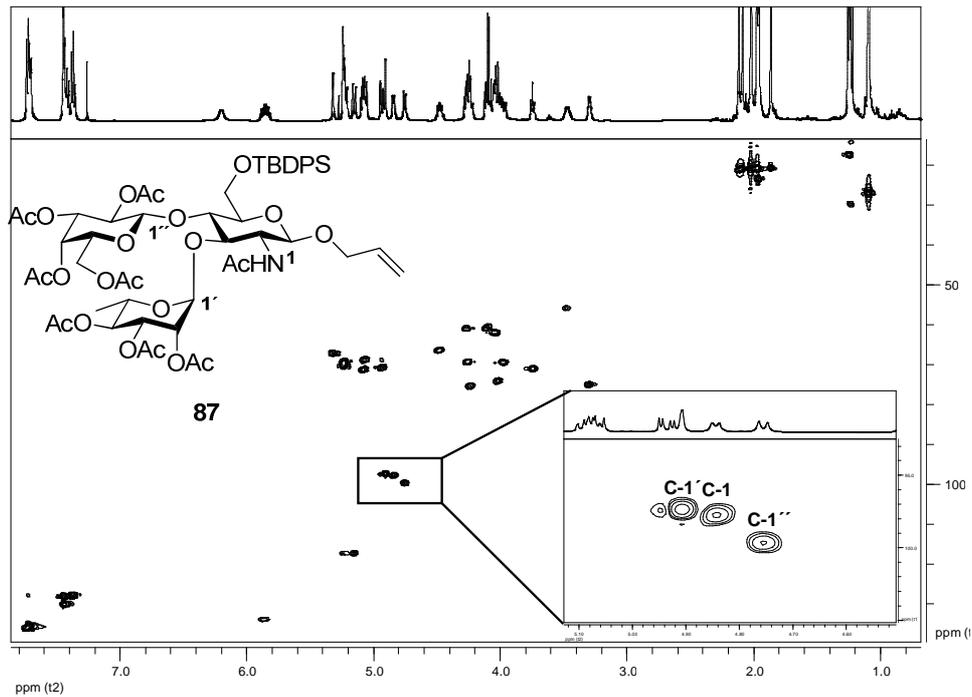
Im Gegensatz dazu zeigt die  $\beta$ -Fucosylverbindung  $\text{Le}^{\text{x-}\beta\text{-Fuc}}$  **85** ein deutlich unterschiedliches HSQC-NMR-Spektrum (Abb. 25). Die  $^{13}\text{C}$ -Verschiebungen für die anomeren Kohlenstoffe liegen bei ca. 99 ppm. Für die  $\alpha$ -Fucosylverbindung konnte eine  $^{13}\text{C}$ -Verschiebung von  $\sim 105$  ppm festgestellt werden. Dieses erste Indiz für das Vorliegen der  $\beta$ -Fucosylverbindung konnte mit den C,H-Kopplungskonstanten verifiziert werden (Abbildung 26). Alle Kopplungskonstanten liegen mit ca. 165 Hz im Bereich der  $\beta$ -glycosidischen Bindungen ( $^1J_{\text{C}1,\text{H}1} = 167.3$  Hz,  $^1J_{\text{C}1',\text{H}1'} = 164.4$  Hz,  $^1J_{\text{C}1'',\text{H}1''} = 164.3$  Hz). Damit konnte eindeutig die Stereoisomerie der Verbindungen  $\text{Le}^{\text{x-}\alpha\text{-Fuc}}$  **82** und  $\text{Le}^{\text{x-}\beta\text{-Fuc}}$  **85** bewiesen werden.



**Abb. 26.** C,H-gekoppeltes HSQC-NMR-Spektrum der Verbindung **85** (anomere  $^{13}\text{C}$ -Signalregion).

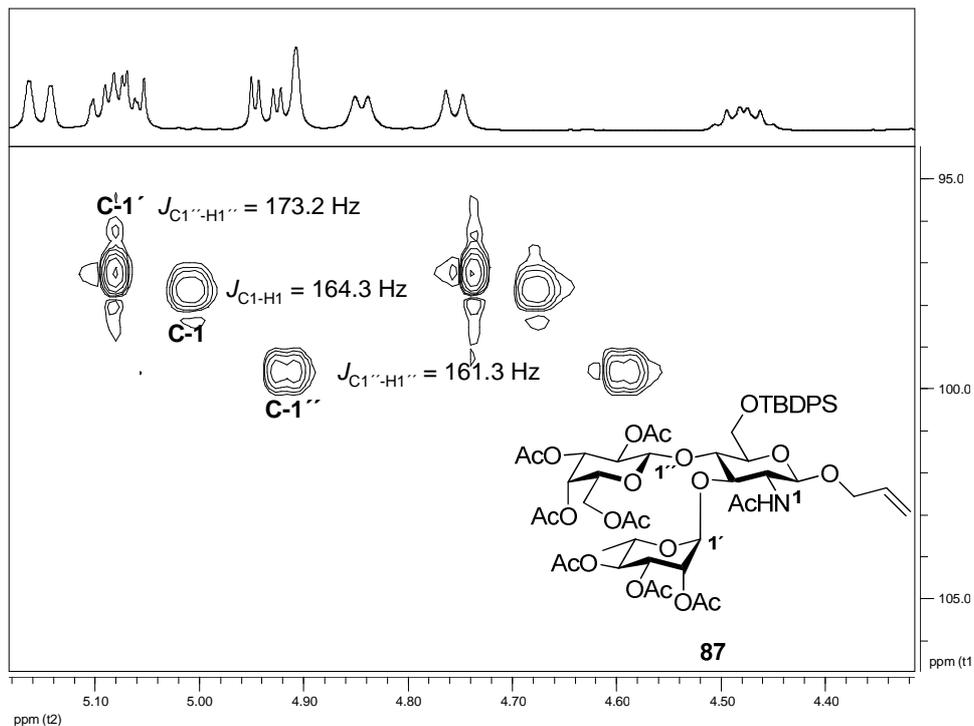
Interessant ist das HSQC-NMR-Spektrum der  $\alpha$ -Rhamnosylverbindung  $\text{Le}^{\text{x-}\alpha\text{-Rham}}$  **87** (Abb. 27). Hier zeigt das Signal für das  $\alpha$ -Rhamnosyl-C1-Kohlenstoffatom mit ca. 97 ppm die geringste Tieffeldverschiebung aller anomerer Kohlenstoffatome, was ungewöhnlich ist für  $\alpha$ -glycosidische Verknüpfungen. Die Konfiguration der Rhamnosylbindung lässt sich auch mit Hilfe der 1,2-Protonenkopplungskonstanten nicht bestimmen, da die Karplus-Beziehung für Rhamnose- wie Mannose-Konfiguration ähnliche Kopplungskonstanten für die  $\alpha$ - und die  $\beta$ -Verknüpfungen vorhersagt ( $^3J_{1,2}(\alpha) \approx ^3J_{1,2}(\beta) \approx 3$  Hz). Für die Verbindung  $\text{Le}^{\text{x-}\alpha\text{-Rham}}$  **87** konnte also nur die Analyse des C,H-gekoppelten HSQC-NMR-Experiments die Konfiguration am anomeren Zentrum klären.

### 3. Synthesen



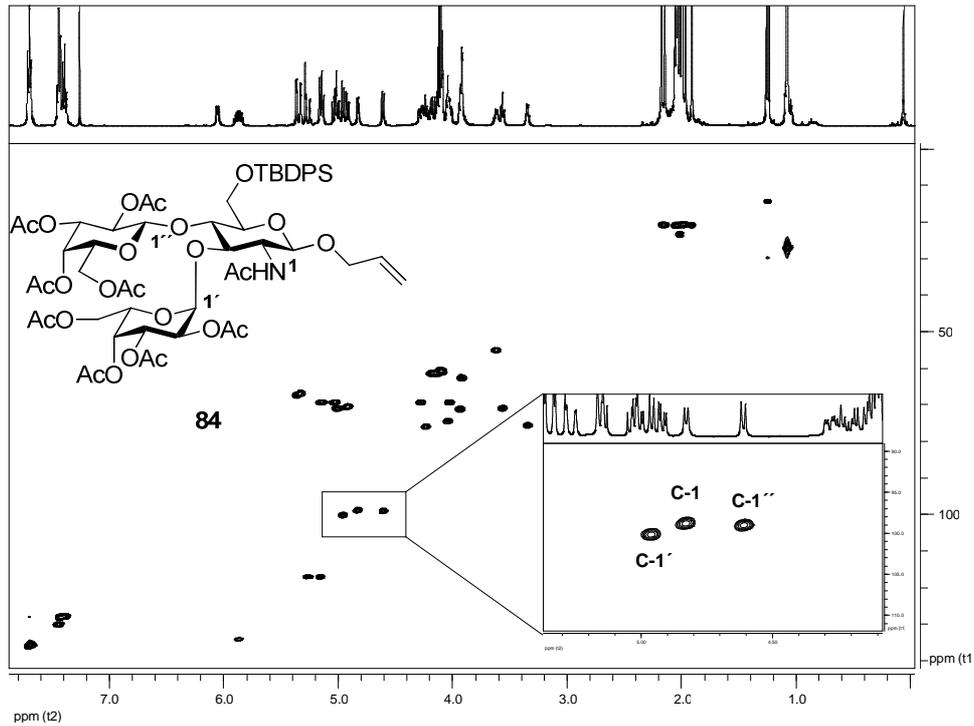
**Abb. 27.** HSQC-NMR-Spektrum der Verbindung **87** mit Vergrößerung der anomeren  $^{13}\text{C}$ -Signalregion.

Die  $\beta$ -glycosidische Verknüpfung der Galactose und des *N*-Acetylglucosamins zeigen jeweils eine typische  $\beta$ -Kopplungskonstante von ca. 160 Hz ( $^1J_{\text{C}1,\text{H}1} = 164.3$  Hz und  $^1J_{\text{C}1'',\text{H}1''} = 161.3$  Hz). Mit  $^1J_{\text{C}1',\text{H}1'} = 173.2$  Hz zeigt die Kopplungskonstante für die Rhamnosyl-Verknüpfung den typischen Wert ( $\sim 170$  Hz) der  $\alpha$ -glycosidischen Bindungen (Abb. 28).



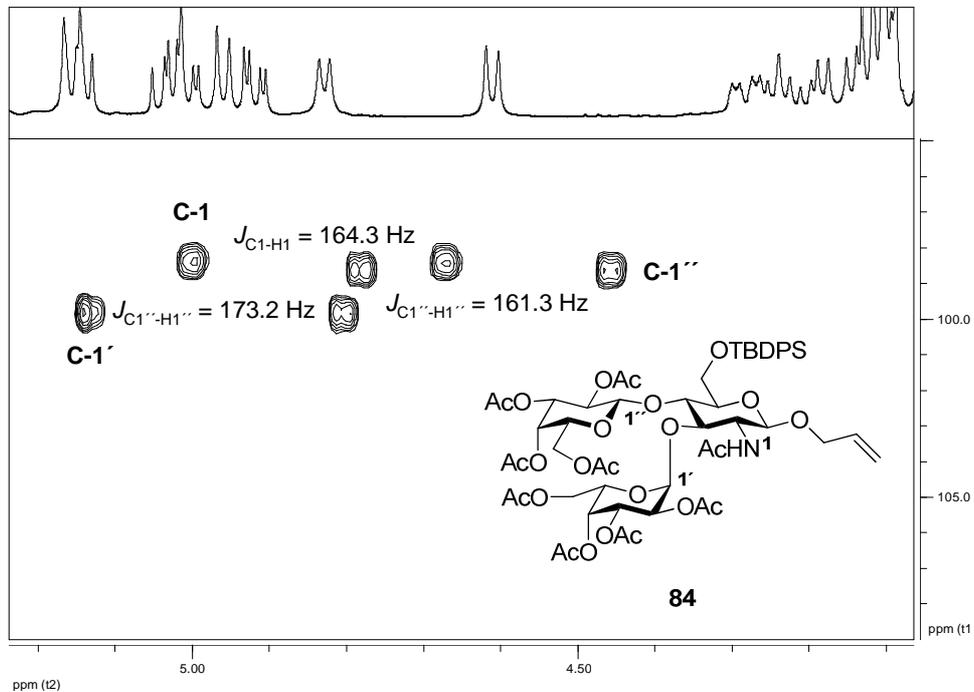
**Abb. 28.** C,H-gekoppeltes HSQC-NMR-Spektrum der Verbindung **87** (anomere  $^{13}\text{C}$ -Signalregion).

### 3. Synthesen



**Abb. 29.** HSQC-NMR-Spektrum der Verbindung **84** mit Vergrößerung der anomeren  $^{13}\text{C}$ -Signalregion.

Auch beim L-Gal-Derivat **84** war eine Bestimmung der  $\alpha$ -Konfiguration nur durch die Analyse des C,H-gekoppelten HSQC-NMR-Experiments möglich, da das Signal des anomeren L-Gal-Protons mit anderen überlagerte und die  $^{13}\text{C}$ -Verschiebungen der C1-Atome sich nicht signifikant unterschieden (Abb. 29).



**Abb. 30.** C,H-gekoppeltes HSQC-NMR-Spektrum der Verbindung **84** (anomere  $^{13}\text{C}$ -Signalregion).

### 3. Synthesen

Während die  $\beta$ -konfigurierte Galactose und das *N*-Acetylglucosamin C,H-Kopplungskonstanten von 161.3 Hz bzw. 164.3 Hz zeigten, musste bei der L-Galactose in Position 3 des Glucosaminbausteins eine  $\alpha$ -glycosidische Bindung vorliegen, da  $^1J_{C1',H1'}$  zu 173.2 Hz ermittelt werden konnte (Abb. 30). Die charakteristischen NMR-Daten für wichtige Intermediate sind mit den C,H-Kopplungskonstanten, die die Konfigurationen der glycosidischen Bindungen belegen, in der nachstehenden Tabelle 10 zusammengefasst.

**Tabelle 10.** Charakteristische NMR-Daten für wichtige Intermediate. Die  $^1J_{C,H}$ -Kopplungskonstanten belegen die Konfiguration der jeweiligen glycosidischen Bindung.

Verbindung	C1 / H1 [ppm], $^1J_{C1,H1}$	C1' / H1' [ppm], $^1J_{C1',H1'}$	C1''/H1'' [ppm], $^1J_{C1'',H1''}$
DiLe <sup>x</sup> <b>116</b>	98.8 / 4.77, 161.4 Hz	100.9 / 4.70, 160.4 Hz	-
DiLe <sup>a</sup> <b>117</b>	97.5 / 4.97, 164.3 Hz	101.4 / 4.57, 162.3 Hz	-
DiLe <sup>x-Glc</sup> <b>119</b>	98.9 / 4.76, 161.4 Hz	100.5 / 4.82, 164.0 Hz	-
DiLe <sup>x-D→L</sup> <b>121</b>	99.0 / 4.80, 161.0 Hz	101.9 / 4.75, 163.5 Hz	-
Le <sup>x</sup> <b>82</b>	99.0 / 4.57, 161.4 Hz	105.7 / 5.43, 178.9 Hz	99.7 / 4.69, 164.3 Hz
Le <sup>x-Glc</sup> <b>83</b>	100.4 / 4.59, 162.6 Hz	103.3 / 5.40, 175.3 Hz	99.5 / 4.62, 163.9 Hz
Le <sup>x-L-Gal</sup> <b>84</b>	98.9 / 4.83, 164.3 Hz	101.0 / 4.96, 173.2 Hz	98.7 / 4.61, 161.3 Hz
Le <sup>x-β-Fuc</sup> <b>85</b>	98.6 / 4.83, 162.5 Hz	99.4 / 4.95, 171.9 Hz	98.8 / 4.59, 164.0 Hz
Le <sup>a</sup> <b>86</b>	95.9 / 5.10, 161.5 Hz	97.1 / 4.49, 163.9 Hz	100.5 / 5.25, 172.0 Hz
Le <sup>x-Rha</sup> <b>87</b>	97.4 / 4.84, 164.3 Hz	97.1 / 4.92, 173.2 Hz	99.4 / 4.76, 161.3 Hz
Le <sup>x-D→L</sup> <b>88</b>	100.1 / 4.80, 162.9 Hz	104.6 / 5.40, 170.5 Hz	101.8 / 4.75, 161.1 Hz

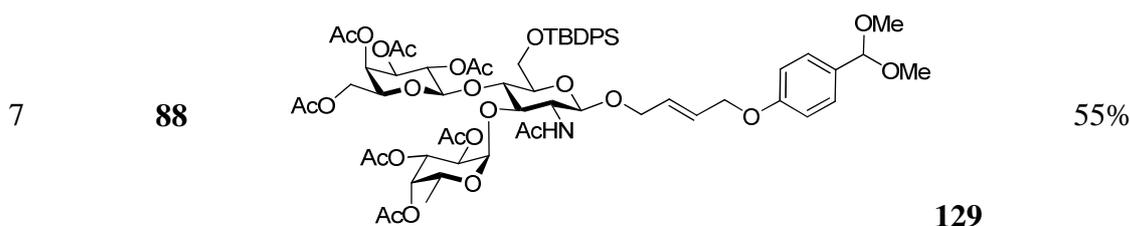
Die so erhaltenen, gut charakterisierten Trisacharide wurden nun der Benzaldehyd-Funktionalisierung durch Olefinmetathese zugeführt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 11 enthalten.

### 3. Synthesen

**Tabelle 11.** Darstellung der Benzaldehyd-verknüpften Trisaccharide durch Olefin-Metathese.<sup>[a]</sup>

Edukt	Produkt	Ausbeute <sup>[b]</sup>
1		81%
2		87%
3		85%
4		79%
5		74%
6		84%

### 3. Synthesen



[a] Reagenzien und Reaktionsbedingungen: 9-10 eq. **41**, 10 mol% Katalysator **38**, DCM, Rückfluss, 6 h. [b] Es wurden nur (*E*)-konfigurierte Produkte gefunden.

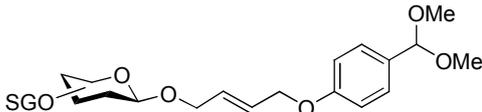
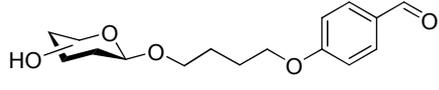
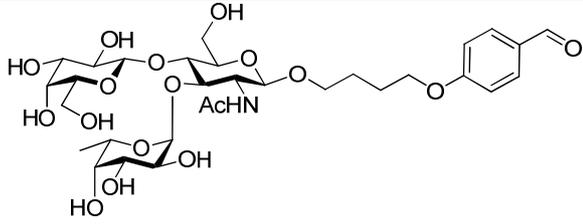
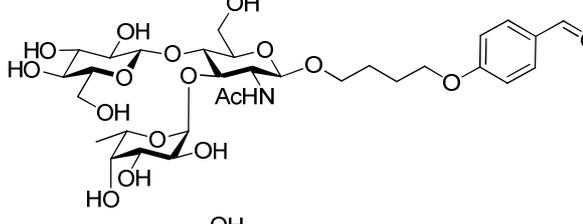
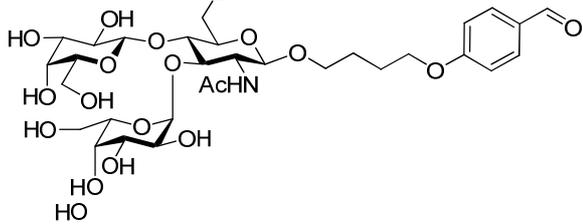
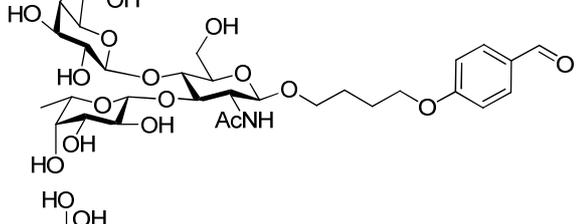
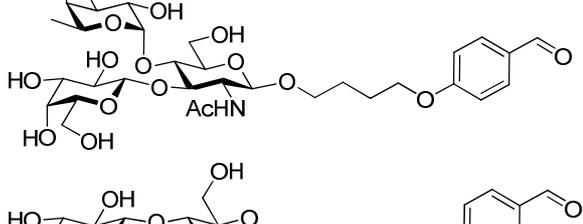
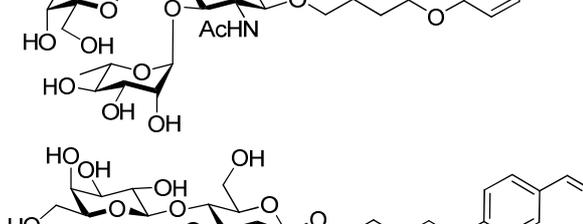
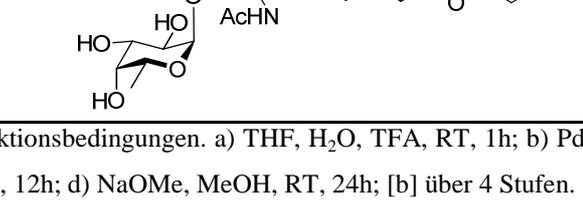
Mit den unter 3.2 für die Funktionalisierung der Allylmonosaccharidglycoside erarbeiteten Bedingungen konnten auch erfolgreich die Trisaccharide **82** – **88** in die Benzaldehydfunktionalisierten Glycoderivate **123** - **129** überführt werden. Dazu ließ man die Verbindungen **82** – **88** jeweils mit 9 bis 10 Äquivalenten des allylischen Benzaldehydderivats **41** in der Anwesenheit des Grubbs-Hoveyda-Metathesekatalysators **38** (0.1 Äquivalente) für sechs Stunden in DCM refluxieren. Die leichte Erhöhung von 5-8 Äquivalenten der Menge an Komponente **41** führte zu einer allgemeinen Verbesserung der Ausbeute. So wurden die Verbindungen **123** – **128** mit hervorragenden Ausbeuten von 74% bis 87% dargestellt, lediglich bei der Synthese von Verbindung **129** konnte nur eine moderate Ausbeute von 55% erzielt werden (Tabelle 11).

Abschließend mussten die Le<sup>x</sup>-Analoge durch eine vierstufige Sequenz entschützt und die Doppelbindung zur Einfachbindung umgewandelt werden. Die Charakterisierung der Produkte **130** – **136** erfolgte erst nach der vollständigen Transformation. In den Verbindungen **123** - **129** wurde zunächst die Aldehydfunktion durch die einstündige Behandlung mit Trifluoressigsäure in wässrigem THF freigesetzt. Ohne die Benzaldehydfunktion zu beeinflussen, konnte die Doppelbindung mit Palladium auf Aktivkohle und Wasserstoff hydriert werden. Allerdings musste der Katalysator dazu mit Diphenylsulfid passiviert werden. Anders als zuvor für die Mono- und Disaccharide, mussten die Silylschutzgruppen mit TBAF und Eisessig in THF entfernt werden, bevor die Zielverbindungen durch Zemplén-Deacetylierung erhalten wurden. Nach vier Stufen konnten die Aldehydfunktionalisierten Le<sup>x</sup>-Analoge **130** – **136** mit sehr guten Gesamtausbeuten von 63% - 78% synthetisiert werden (Tabelle 12).

Somit war die Synthese der mit einem Benzaldehyd-Linker ausgestatteten Kohlenhydratderivate abgeschlossen. Nun konnte sowohl mit der Synthese der Glyconanopartikel als auch mit der Glyco-SAM-Bildung fortgefahren werden.

### 3. Synthesen

**Tabelle 12.** Entschützung der Aldehyd-funktionalisierten Trisaccharide.<sup>[a]</sup>

	Edukt	Produkt	Ausbeute <sup>[b]</sup>
			
		a, b, c, d	
1	<b>123</b>		63%
		<b>130 (Le<sup>x</sup>)</b>	
2	<b>124</b>		68%
		<b>131 (Le<sup>x-Glc</sup>)</b>	
3	<b>125</b>		70%
		<b>132 (Le<sup>x-L-Gal</sup>)</b>	
4	<b>126</b>		68%
		<b>133 (Le<sup>x-β-Fuc</sup>)</b>	
5	<b>127</b>		78%
		<b>134 (Le<sup>a</sup>)</b>	
6	<b>128</b>		70%
		<b>135 (Le<sup>x-L-Rham</sup>)</b>	
7	<b>129</b>		73%
		<b>136 (Le<sup>x-D→L</sup>)</b>	

[a] Reagenzien und Reaktionsbedingungen. a) THF, H<sub>2</sub>O, TFA, RT, 1h; b) Pd/C, H<sub>2</sub>, DPS, EtOAc, 24 h, RT; c) TBAF, AcOH, THF, RT, 12h; d) NaOMe, MeOH, RT, 24h; [b] über 4 Stufen.

#### 3.5 Synthese Kohlenhydrat-funktionalisierter Goldnanopartikel

Im bislang wenig erforschten Gebiet der Nanomedizin sind Goldnanopartikel als Trägermaterial für biologisch-aktive Substanzen von besonderem Interesse. In der Fachliteratur wird deshalb intensiv ihre Präparation, Toxizität und ihre Anwendung in Bildgebungsverfahren, Diagnose und Therapie diskutiert.<sup>[296]</sup> Nach der Entdeckung des Goldes vor fünftausend Jahren im heutigen Bulgarien wurde es bereits in der Antike von Chinesen und Ägyptern in kolloidaler Form therapeutisch und kosmetisch verwendet. Die erste wissenschaftliche Veröffentlichung zu Goldnanopartikeln (AuNP) stammt aus dem Jahr 1857. Faraday beschrieb und diskutierte dort den Zusammenhang zwischen der kolloidalen Form von Gold, also AuNPs, und ihrer intensiven Rotfärbung.<sup>[297]</sup> Im Jahr 1908 beschrieb Mie erstmals die visuelle Lichtabsorption von AuNPs durch Maxwells elektromagnetische Gleichung.<sup>[298]</sup> AuNPs sind in Größen von 1 bis 120 nm erhältlich, ihre Plasmonbanden-Absorption beginnt ab einer Größe von 3 nm. Diese sichtbare Eigenschaft ist nur eine von vielen physikalischen Eigenschaften, die AuNP von metallischem Gold unterscheiden. Diese veränderten Eigenschaften von AuNP sind nicht nur für die Optik, Katalyse, Materialwissenschaften, sondern auch für Biologie, Biochemie und Medizin interessant.<sup>[299]</sup> Ihre Größe liegt in der Größenordnung von Proteinen und anderen Biomakromolekülen. Heute existieren viele Arbeiten zu AuNP, die mit Peptiden, Proteinen, DNA oder RNA funktionalisiert worden sind.<sup>[300, 301]</sup> Nur wenige Beispiele sind für Kohlenhydrate beschrieben, obwohl Glyconanopartikel (GNP) eine ideale Plattform sind, um die Glycocalix von Zellmembranen zu mimikrieren.<sup>[86]</sup>

AuNP werden hauptsächlich durch zwei unterschiedliche Reduktionreaktionen von kommerziell erhältlicher, sogenannter Goldsäure ( $\text{HAuCl}_4$ ) synthetisiert. Das Turkevitch-Protokoll wurde schon 1951 eingeführt und findet bis heute verbreitete Anwendung.<sup>[302]</sup> Hier wurde  $\text{Au}^{\text{III}}$  in Wasser mit Natriumcitrat zu  $\text{Au}^0$  reduziert.<sup>[303]</sup> Die Citrat-stabilisierten AuNP werden anschließend durch Ligandenaustausch mit Thiolen in die funktionalisierten AuNP umgewandelt. Dieser Ligandenaustausch bringt eine größere Stabilität der AuNP, da die Au-S-Bindungen sehr stark sind (ca. 50 kcal/mol).<sup>[304]</sup> Jüngere Methoden haben das Turkevitch-Protokoll hinsichtlich der Größenkontrolle und -verteilung erheblich verbessert. So können heute kontrolliert und nahezu monodispers AuNP mit einer definierten Größen von 9 – 120 nm hergestellt werden.<sup>[305]</sup>

Von Schiffrin und Brust wurde eine einstufige Synthese von thiolierten AuNP vorgestellt. In einem Phasentransfer-System aus Wasser und Toluol wurde  $\text{HAuCl}_4$  mit  $\text{NaBH}_4$  in

### 3. Synthesen

Anwesenheit eines Alkylthiols und Tetrabutylammoniumbromid reduziert.<sup>[306]</sup> Die Größe der so erhaltenen AuNP hängt sehr stark von dem verwendeten Alkylthiol ab. Mit dieser Methode lassen sich auch AuNP herstellen, die kleiner als 9 nm sind. Um einheitlich große AuNP mit unterschiedlichen Funktionalitäten zu erlangen, muss auch hier in einem zweiten Syntheseschritt durch meist organisch-chemische Reaktion oder durch Thiolaustauschreaktion nach folgender Gleichung die Diversifizierung durchgeführt werden.<sup>[307]</sup>



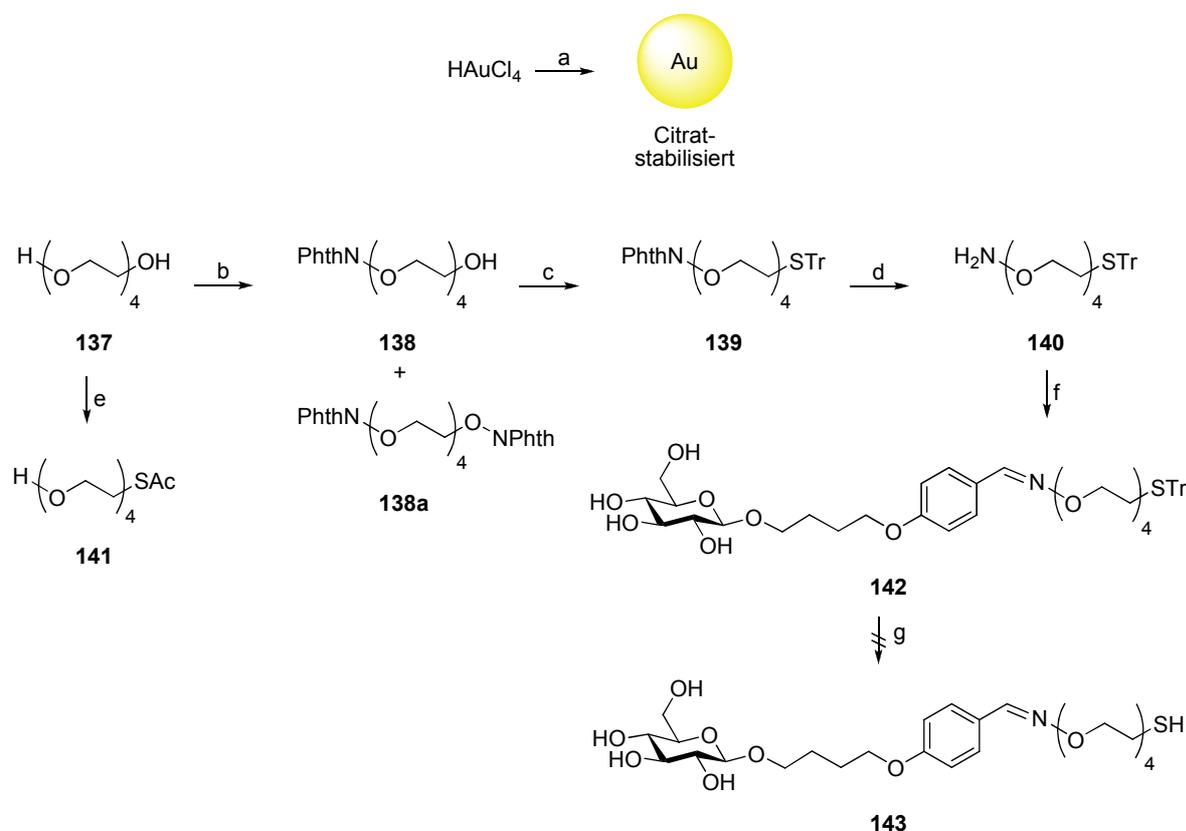
Auf dem Gebiet der Glyconanopartikel (GNP), also mit Kohlenhydraten funktionalisierten AuNP, sind in Europa die Gruppen von S. Penades und K. J. Jensen führend. Die Gruppe von Penades verfolgt bei ihren Synthesen das Brust-Protokoll,<sup>[308]</sup> während K. J. Jensens Gruppe auf das modulare Prinzip von Thiolligandenaustausch an Citrat-stabilisierten AuNP setzt.<sup>[309]</sup> Das Konzept von Jensen *et al.* erfüllte die Voraussetzung einer modularen Kohlenhydrat-Funktionalisierung von AuNP, wie es in dieser Arbeit umgesetzt werden sollte. Die Citrat-stabilisierten AuNP mussten nur einmal hergestellt werden. Zur Funktionalisierung konnte die Lösung der AuNP aliquotiert werden. Dieses Prinzip vereinfacht die Präparation von einer großen Anzahl verschiedener GNP, und die Einheitlichkeit des Materials erlaubt eine bessere Interpretierbarkeit der SPR-Experimente (Abschnitt 4). Deshalb wurde in Kooperation mit der Gruppe von K. J. Jensen die Synthese der GNP angegangen. Das Know-how zur Synthese von GNP konnten in Jensens Laboratorien in einem einwöchigen Forschungsaufenthalt intensiv erlernt und später in Hamburg weiter verfolgt werden.

Zunächst wurden die Citrat-stabilisierten AuNP synthetisiert (Schema 26). Es wurde HAuCl<sub>4</sub> in entgastem Wasser refluxiert, und nach etwa 10 Minuten wurde die ca. 60 °C warme Lösung von Natriumcitrat zugegeben.<sup>[310]</sup> Unter diesen Bedingungen entstanden AuNP mit einem Durchmesser von ca. 13 nm.<sup>[311, 312]</sup> Die Charakterisierung der AuNP ist weiter unten beschrieben.

Jensen *et al.* benutzten das Aminooxim-tetraethylenglycol **140**, um freie Oligosaccharide über das reduktive Ende zu binden. Anschließend wurden mit diesen Glykokonjugaten über die Thiofunktion AuNP funktionalisiert. Mit diesen GNP wurden biologische Erkennungsprozesse untersucht.<sup>[313]</sup> Dieser Ansatz sollte auch für die hier synthetisierten Benzaldehyd-funktionalisierten Kohlenhydratstrukturen angewendet werden.

### 3. Synthesen

Dazu wurde Tetraethylenglycol **137** mit Hydroxyphthalimid in einer Mitsunobu-Reaktion in das *N*-Alkoxyphthalimidat **138** überführt. Diese Desymmetrisierung wurde in äquimolarem Verhältnis der Reaktanden durchgeführt. Um eine aufwendige Entfernung des Triphenylphosphinoxids zu vermeiden, wurde Polymer-gebundenes Triphenylphosphin (PS-Ph<sub>3</sub>P) verwendet. Das monosubstituierte Produkt **138** wurde dabei in 37% Ausbeute neben 18% disubstituiertem Nebenprodukt **138a** erhalten. Das entsprach einer statisch-bereinigten Ausbeute von 74%, wenn man eine theoretische Ausbeute von 50% bei äquimolarem Einsatz der Reaktanden zu Grunde legte.<sup>[313]</sup>



**Schema 26.** Synthese der Citrat-stabilisierten Goldnanopartikel und Versuche zu deren Funktionalisierung nach Jensen *et al.*<sup>[313]</sup> Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) HAuCl<sub>4</sub>, Natriumcitrat, H<sub>2</sub>O, 60°C, 2h; b) *N*-Hydroxyphthalimid, PS-PPh<sub>3</sub>, DIAD, THF, RT, 16 h, 37%; c) TrSH, PS-PPh<sub>3</sub>, DIAD, THF, 0 °C → RT, 16 h, 78%; d) Hydrazinhydrat, MeCN, RT, 2h, 97%; e) Thioessigsäure, PPh<sub>3</sub>, DIAD, THF, RT, 16 h, 23%; f) **53** (1.1 Äq.), MeCN, H<sub>2</sub>O, AcOH, 16 h, quant.; g) TFA, Triethylsilan, DCM, 5 min.

Das Phthalimid **138** wurde ebenfalls in einer Mitsunobu-Reaktion thio-funktionalisiert. Die Reaktion des Ethylenglycols **138** mit Triphenylmethanthiol, DIAD und Polymer-gebundenem Triphenylphosphin (PS-Ph<sub>3</sub>P) lieferte das geschützte Thiol **139** in sehr guter Ausbeute von 78% und wurde erstmals 2005 von Jin *et al.* berichtet.<sup>[314]</sup> Durch Hydrazinolyse der

### 3. Synthesen

Phthalimidgruppen konnte nahezu quantitativ der Aminoxy-Linker **140** freigesetzt werden. Als Verdünnungsspacer für die GNP-Synthese sollte das Tetraethylglycolthioacetat **141** dienen. Es wurde ebenso durch Mitsunobu-Reaktion mit Thioessigsäure erhalten (Schema 26). Jensen *et al.* konnten erfolgreich sowohl Glucose und Maltose als auch Maltotriose säurekatalysiert an den Aminoxy-Linker **140** mit Ausbeuten von 74 – 88% binden. Mit TFA und Triethylsilan wurde dann das freie Thiol erzeugt. Die Kompatibilität dieser Prozedur wurde am Glucosederivat **53** getestet. Die Kopplung zum Oxim **142** war noch erfolgreich. Nachdem man das Glucopyranosid **53** mit dem Linker **140** in wässrigem, essigsaurem Acetonitril für 16 Stunden reagieren ließ, konnte das Oxim **142** nach kurzer Kieselgelfiltration quantitativ erhalten werden.

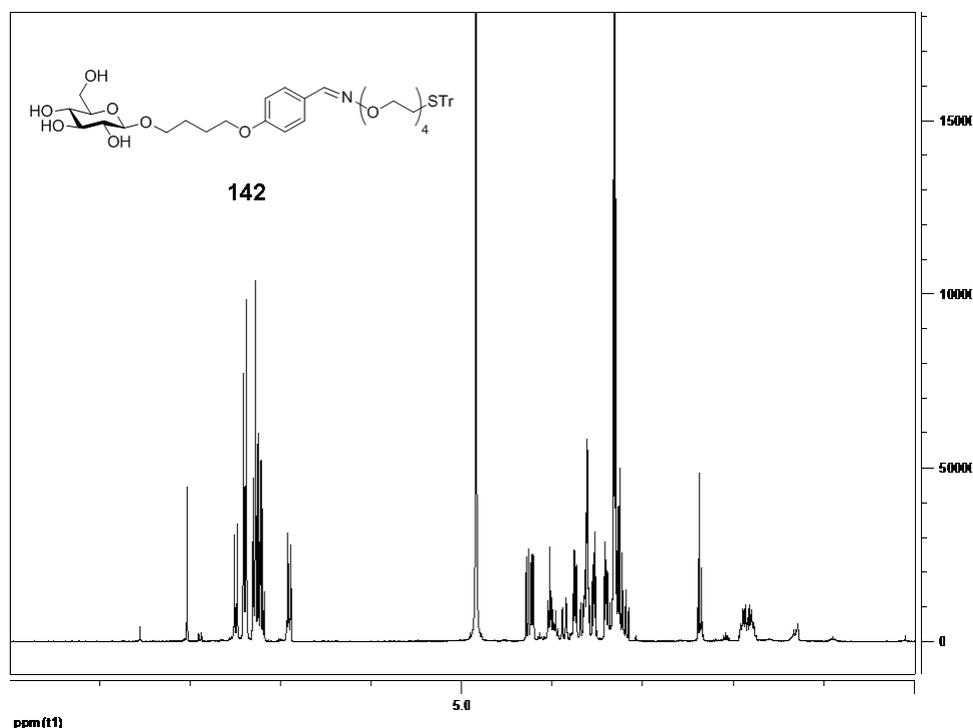
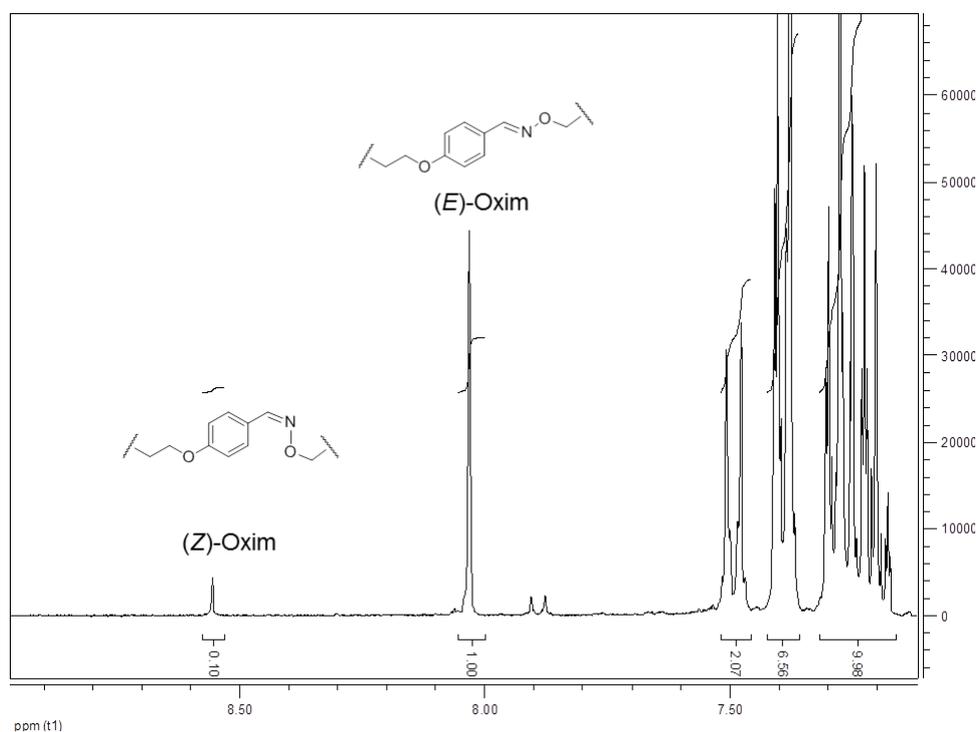


Abb. 31. NMR-Spektrum des Oxims **142**, erhalten nach schneller Kieselgelfiltration .

Die lipophile Natur und die starke UV-Adsorption des Thioltrityl-Linkers ermöglichte eine schnelle Reinigung des Konjugats **142** innerhalb einer Stunde. Das Rohprodukt wurde über ein Kieselgel-Pad in einer Saugfritte filtriert. Dabei verblieb das unumgesetzte Glucose-Derivat **53** auf dem Pad zurück. Der Linker **140** war nicht mehr nachweisbar. Jensen *et al.* konnten mit diesem Ansatz ungeschützte Trisaccharide mit dem Linker ausstatten und einigen. Deshalb war die Annahme, dass sich diese Methode auf die hier dargestellten Trisaccharide anwenden lassen sollte, gut begründet und vielversprechend. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des so erhaltenen Oxims **142** war kein Aldehyd-Signal mehr erkennbar, wodurch

### 3. Synthesen

die Vollständigkeit der Oximbildung wie auch die Einfachheit der Reinigung solcher Konjugate bestätigt werden konnte (Abb. 31). Bei der Bildung von asymmetrischen Oximen können (*E*)- bzw. (*Z*)-Konfigurationsisomere auftreten. Für die spätere Konjugation an die AuNP und die anstehenden Untersuchungen von Kohlenhydrat-abhängigen Erkennungsprozessen sollten die Kohlenhydrat-Linker-Konjugate möglichst einheitlich sein. Mit einem (*E/Z*)-Verhältnis von 10:1 betrug der Anteil an (*E*)-konfiguriertem Oxim 91% (Abb. 32). Dieser Anteil war im Allgemeinen groß genug, um bei der Untersuchung von biologischen Erkennungsprozessen, die von der Ligandenpräsentation orientierungsabhängig sind, keine systematischen Fehler hervorzurufen.

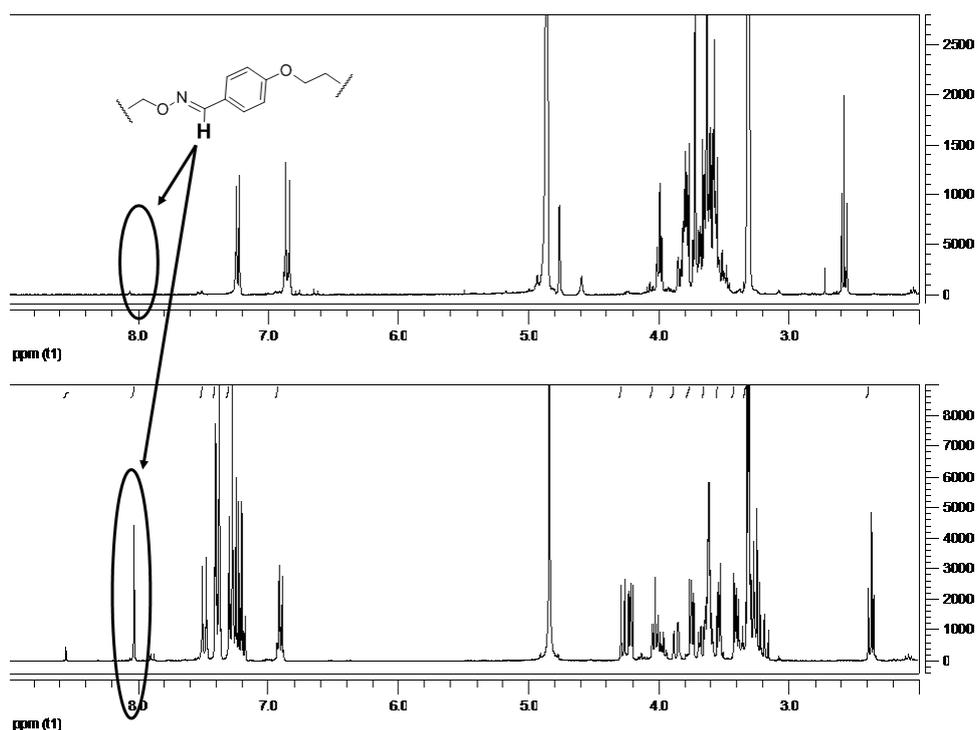


**Abb. 32.** Ausschnitt aus dem NMR-Spektrum des Oxims **142**. Es sind die Signale des (*E*)- und (*Z*)-Oxims erkennbar. Sie liegen im Verhältnis 10:1 vor.

Die finale Entschützung zum Thiol **143** mit TFA und Triethylsilan in DCM war jedoch nicht erfolgreich, da es zu einer unerwarteten Nebenreaktion kam (Schema 26). Vergleicht man das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Oxims **142** mit dem Rohprodukt-<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Entschützensreaktion, fiel sofort auf, dass das charakteristische Oxim-Signal bei ca. 8 ppm verloren gegangen war (Abb. 33). Die Tritylgruppe ist entfernt worden, denn die aromatischen Protonensignale zeigten nur noch die vier Benzaldehydprotonen. Das Signal der CH<sub>2</sub>-S-Gruppe hat eine Tieffeldverschiebung erfahren, was auf die Bildung des freien Thiols **143** hindeutet. Wenn die freie Thiolgruppe trotz der Reduktion des Oxims im Glycokonjugat vorhanden ist, könnte dieses unerwartete Nebenprodukt nach eingehender Charakterisierung

### 3. Synthesen

dennoch für die SAM-Bildung auf den AuNP eingesetzt werden. Aber betrachtete man die CH<sub>2</sub>-S-Region im Detail, fiel im Vergleich zum Oxim **142** auf, dass das Signal der CH<sub>2</sub>-S-Trityl bei 2.37 ppm nicht mehr zu beobachten war. Dafür erschien bei 2.57 ppm ein neues Signal (Abb. 34). Diese chemische Verschiebung entspricht aber der zu erwartenden. Jensen *et al.* hatten bei allen Glycokonjugaten für die CH<sub>2</sub>-Gruppe des freien Thiols im Linker eine chemische Verschiebung von 2.66 – 2.67 ppm gefunden. Dieser Unterschied war zu signifikant, als dass er zu vernachlässigen war.

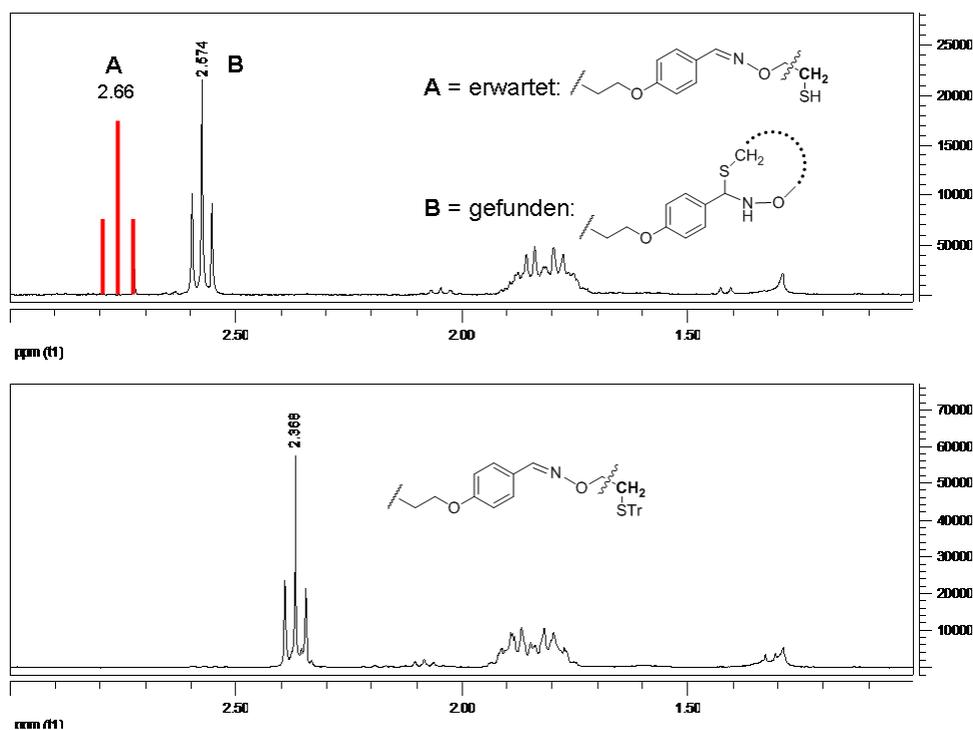


**Abb. 33.** NMR-Spektren des Oxims **142** (unten) und nach versuchter Detritylierung zu Verbindung **143** (oben). Unten: Signal des (*E*)-Oxims ist hervorgehoben. Oben: nach Detritylierung ist das Signal nicht mehr vorhanden.

Zwei Indizien sprachen dafür, dass es sich bei der unerwarteten Verbindung um ein gemischtes Amino-Thioacetal des Benzaldehydmotivs handeln musste. Dieses Acetal kann durch eine innermolekulare, säurekatalysierte Reaktion mit dem freien Thiol zustande kommen. Zum einen war im <sup>1</sup>H-NMR des Versuchs zur Synthese von Verbindung **143** ein Singulett bei ca. 4.8 ppm zu beobachten, welches zunächst als ein Lösungsmittelsignal interpretiert wurde (Abb. 34, oben). Diese chemische Verschiebung ist jedoch charakteristisch für das acetalische Proton in solchen Molekültypen und zum anderen sprach die chemische Verschiebung der CH<sub>2</sub>-S-Gruppen für eine erhöhte Entschirmung der Protonen, wie sie für ein gemischtes Acetal zu erwarten wäre. Das freie Thiol hat eine noch größere Entschirmung, was zu einer noch stärkeren Tieffeldverschiebung führt (Abb. 34). Damit war dieser Ansatz

### 3. Synthesen

zur Darstellung von Glycokonjugaten zur Funktionalisierung von AuNP nicht anwendbar. Die Thioaminalbildung verläuft vermutlich säurekatalysiert (TFA), nachdem das Thiol durch Reduktion mit Triethylsilan freigesetzt wurde. Das Imin wird protoniert. Es entsteht ein Carbeniumion, das nukleophil vom Thiol unter Thioaminalbildung angegriffen wird. Dieses Amino-Thiolacetal wäre nicht zur Ausbildung von Au-S-Bindungen fähig.

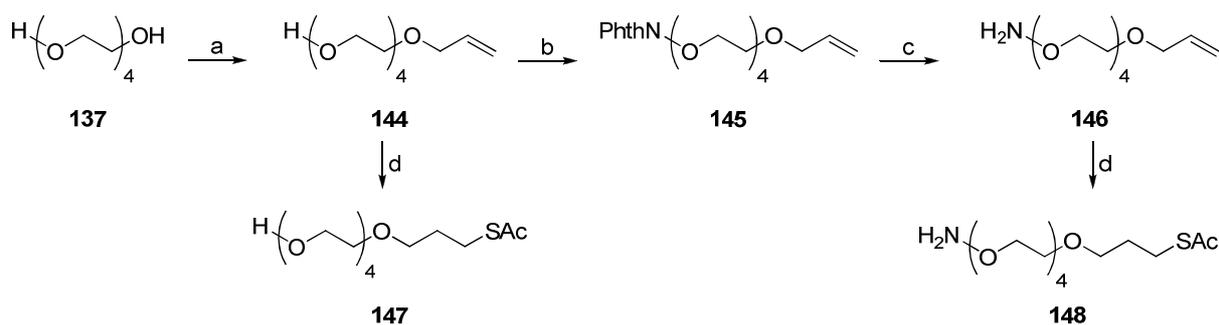


**Abb. 34.** Ausschnitt aus dem NMR-Spektrum des Oxims **142** (unten) und nach versuchter Detritylierung zu Verbindung **143** (oben). Region der Thiomethylengruppe im Linker. Unten: die Thiotrityl-CH<sub>2</sub>-Protonen zeigen eine chemische Verschiebung von 2.37 ppm. Oben: nach Detritylierung wird  $\delta = 2.66$  (CH<sub>2</sub>-SH) erwartet **A**, gefunden wurde  $\delta = 2.57$  **B**.

Deshalb musste das Linker-System geändert werden. Mit Hilfe von Thioacetaten lassen sich erfolgreich Thiolat-SAMs auf Goldsubstraten bilden (theoretische Betrachtung siehe Abschnitt 4.1). Weil sich terminale Thioacetate hervorragend durch radikalische Addition von Thioessigsäure an Doppelbindungen erzeugen lassen, sollte der neue Ansatz auf einem monoallylierten Tetraethylenglycolderivat **144** basieren (Schema 27). Der Precursor **144** wurde durch nukleophile Substitution von kommerziell erhältlichem Tetraethylenglycol (**137**) an Allylbromid erhalten. Beim Einsatz von zwei Äquivalenten des Diols **137** wurde neben einer geringen Menge des diallyliertem Derivats die monoallylierte Verbindung **144** in sehr guter Ausbeute von 90% erhalten. Dieser Precursor konnte durch radikalische Thioacetylierung quantitativ in den benötigten Verdünnungsspacer **147** überführt werden. Für

### 3. Synthesen

die Synthese des Ankerspacers **148** wurde der Allylether **144** in einer Mitsunobu-Reaktion mit *N*-Hydroxyphthalimid, Triphenylphosphin und DIAD in die geschützte Aminooxy-Verbindung **145** mit moderater Ausbeute umgewandelt. Nach Hydrazinolyse des Phthalimids konnte abschließend der Ankerspacer **148** wiederum durch radikalische Addition von Thioessigsäure an die allylische Doppelbindung in einer Ausbeute von 75% über zwei Stufen erhalten werden (Schema 26).



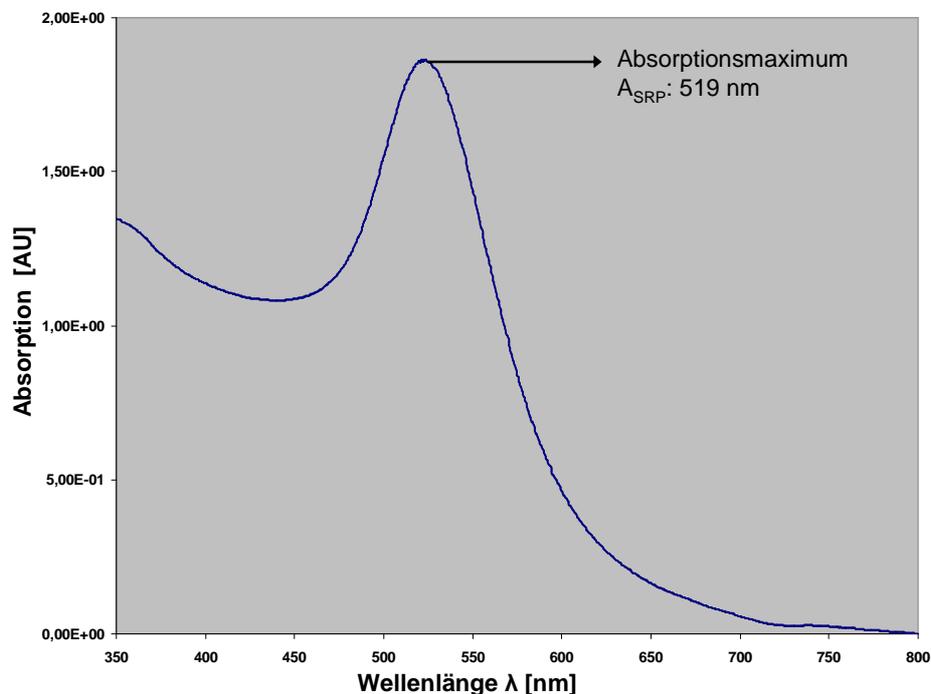
**Schema 27.** Synthese der Verdünnungs- und Anker-moleküle **147** und **148** zur Funktionalisierung der Goldnanopartikel. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) NaH, DMF, 0 °C → RT, 12h, 90%; b) *N*-Hydroxyphthalimid, PPh<sub>3</sub>, DIAD, THF, RT, 16 h, 56%; c) Hydrazinhydrat, MeCN, RT, 2h, 75%; d) AcSH, AIBN, THF, hv, 3h; **147**: quant., **148**: quant.

Mit den Thioacetaten **147** und **148** waren nun die Grundlagen für die Synthese der Glyconanopartikel gelegt. In einem sequenziellen Ansatz sollten die AuNP zunächst in verschiedenen Verhältnissen mit dem Ankerspacer **148** und dem Verdünnungsspacer **147** durch SAM-Bildung funktionalisiert werden. Anschließend sollten die Kohlenhydrate direkt durch Oximbildung auf den AuNP immobilisiert werden. Diese Abfolge konnte bereits erfolgreich von Jensen *et al.* umgesetzt werden.

Die besten Methoden zur Charakterisierung von AuNP sind die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) und die UV-Vis-Spektroskopie. Nach der Mie-Theorie induziert eine elektromagnetische Frequenz eine Resonanz-kohärente Oszillation von freien Elektronen an der Oberfläche von sphärischen Nanopartikeln, wenn diese Partikel sehr viel kleiner sind als die Lichtwellenlänge.<sup>[298]</sup> Dieses Phänomen nennt man Oberflächenplasmonenresonanz (SPR, engl.: *surface plasmon resonance*), sie tritt auch an dünnen Metallschichten auf.<sup>[315]</sup> Es bildet die physikalische Grundlage der SPR-Sensorgraphie (für theoretische Betrachtung siehe Abschnitt 4.1). Diese SPR-Adsorptionsbande liegt bei metallischen Nanopartikeln aus Gold, Silber oder Kupfer im

### 3. Synthesen

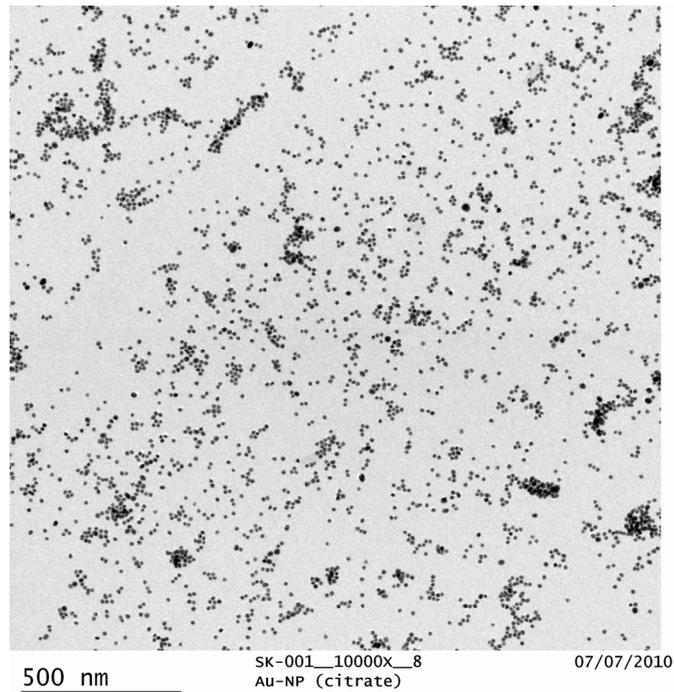
sichtbaren Bereich. Die Lösungen von Goldnanopartikeln mit einem Durchmesser von 5 nm – 20 nm erscheinen rötlich, weil das Absorptionsmaximum bei etwa 520 nm liegt.<sup>[316]</sup> Die Lage des Absorptionsmaximums ist stark abhängig von Größe, Form, Konzentration, Zusammensetzung und Umgebung der AuNP.<sup>[317]</sup> Aus diesem Grund kann die Größe und die Konzentration der hergestellten AuNP-Lösung leicht durch UV-Vis-Spektroskopie ermittelt werden. Die hier synthetisierten Citrat-stabilisierten AuNP hatten im Durchschnitt ein SPR-Absorptionsmaximum  $A_{\text{SPR}}$  von 519 nm (Abb. 35). Nach Haiss *et al.* konnte daraus ein Durchmesser der AuNP von  $13.0 \pm 0.4$  nm ermittelt werden (detaillierte Berechnung im experimentellen Teil).<sup>[318]</sup> Die Konzentration der AuNP-Lösung betrug 10.9 nM.



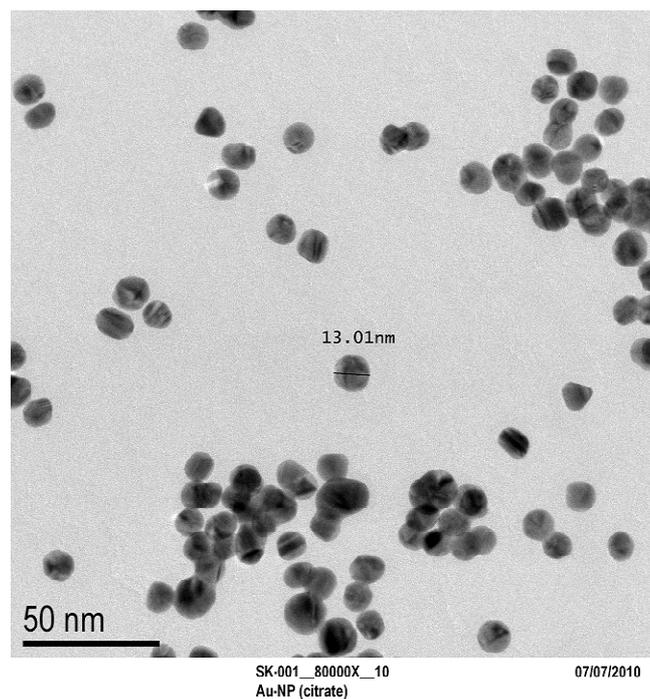
**Abb. 35.** UV-Vis-Spektrum Citrat-stabilerter AuNP. Absorptionsmaximum 519 nm.

Die durch UV-Vis-Spektroskopie ermittelte Größe der AuNP von 13 nm konnte durch TEM-Aufnahmen und deren Auswertung bestätigt werden. Die Vermessung von insgesamt 168 Partikeln ergab einen Durchmesser von  $13.3 \pm 1.3$  nm. Die Homogenität der AuNP-Lösung war relativ gut, was repräsentativ aus der Abbildung 36 hervorgeht. Es waren keine großen Aggregate zu erkennen. Das kleinste gefundene Partikel hatte eine Größe von 9 nm und das größte eine von 16 nm. Insgesamt hatten 71% der AuNP eine Größe zwischen 12 und 14 nm (siehe Partikelgrößenverteilung im experimentellen Teil). In der Mitte der Abbildung 37 ist ein repräsentatives Partikel mit einer Größe von 13.01 nm hervorgehoben. Mit dem Lineal-Tool der TEM-Software ließen sich die AuNP bei 80,000-facher Vergrößerung vermessen.

### 3. Synthesen



**Abb. 36.** TEM-Bild der Citrat-stabilisierten AuNP; geringe Vergrößerung (500 nm)



**Abb. 37.** TEM-Bild der Citrat-stabilisierten AuNP; starke Vergrößerung (50 nm). In der Mitte des Bilds ist ein durchschnittlich großes Partikel hervorgehoben (13.01 nm).

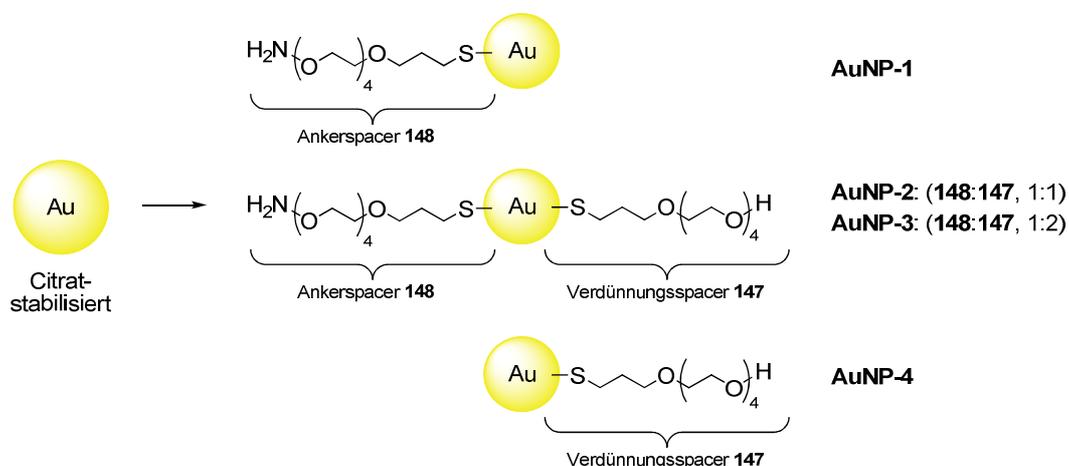
Es ist auch erkennbar, dass die AuNP teilweise von der idealen Form einer Kugel abweichen (Abb. 37). Es sind sowohl Prismen mit dreieckiger Grundfläche als auch Doppelkegel erkennbar. Die Aggregation der AuNP in einer TEM-Abbildung ist dem Umstand geschuldet, dass die Konzentration der AuNP trotz Hydrophilisierung des Kohlenstoffträgers zu groß war,

### 3. Synthesen

um homogen abzutrocknen. Weil die AuNP noch nicht funktionalisiert waren, konnte es zu einer sehr dichten Anlagerung zweier AuNP kommen. Die Oberflächen der AuNP berühren sich, schienen sich sogar teilweise zu durchdringen. Dieses Verhalten änderte sich nach der SAM-Bildung auf den AuNP.

Die Thiolat-SAM-Bildung auf AuNP ist eine weit verbreitete Methode zur Funktionalisierung<sup>[306]</sup> und Stabilisierung<sup>[319]</sup> von Goldclustern. Natriumchlorid-Lösungen sowie physiologische Puffer lassen Citrat-stabilisierte AuNP kolabieren. Funktionalisierte Alkanthiol-SAMs verbessern die Stabilität gegenüber diesen Lösungen.<sup>[320]</sup> Dabei wird eine Vielzahl von Funktionalitäten im Thiol bei der SAM-Bildung wie Phosphate, Borate, Alkohole, Carboxylate, Ester,<sup>[321]</sup> Amide<sup>[310]</sup> und auch Amine<sup>[322]</sup> toleriert. In dieser Arbeit wurde die Funktionalisierung der AuNP durch SAM-Bildung nach einem Protokoll von Jensen *et al.* durchgeführt.<sup>[323]</sup> Es wurden vier Typen von AuNP (**AuNP-1** – **AuNP-4**) synthetisiert, in denen wässrige Lösungen der Citrat-stabilisierten AuNP mit methanolischen Lösungen des Ankerspacers **148** und des Verdünnungspacers **147** in unterschiedlichem Verhältnis für 16 Stunden inkubiert wurden (Tabelle 13).

**Tabelle 13.** Synthese von Aminoxy-terminierten *core-shell*-Goldnanopartikeln.<sup>[a]</sup>

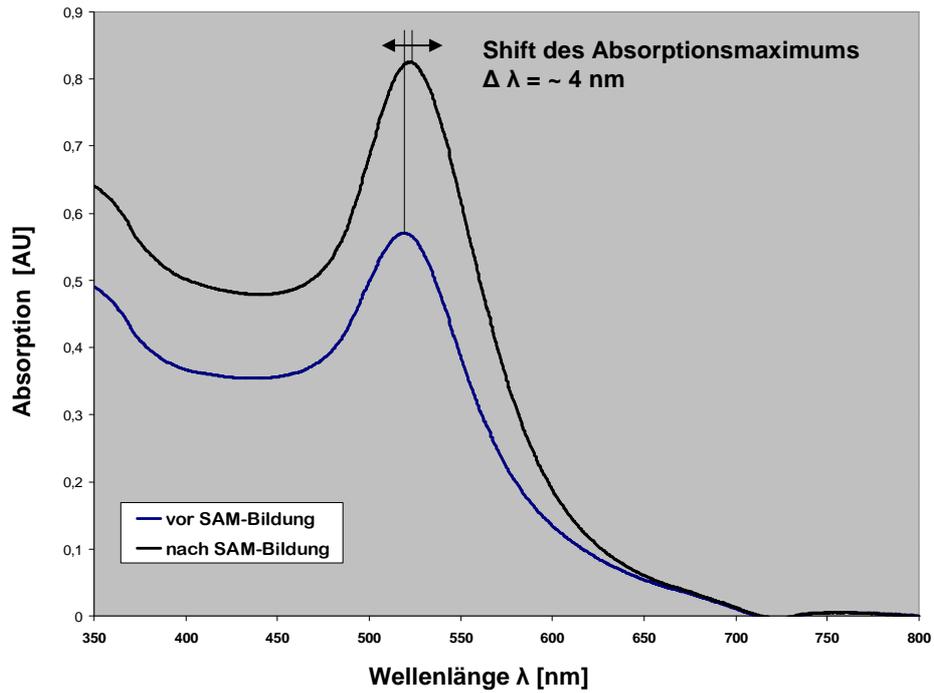


Verhältnis <b>148</b> : <b>147</b>		Produkt	$\Delta \lambda_{SP,max}^{[b]}$
1	<b>1 : 0</b>	<b>AuNP-1</b>	~ 4 nm
2	<b>1 : 1</b>	<b>AuNP-2</b>	~ 3 nm
3	<b>1 : 2</b>	<b>AuNP-3</b>	~ 3 nm
4	<b>0 : 1</b>	<b>AuNP-4</b>	~ 6 nm

[a] SAM-Bildung durch Inkubieren der wässrigen AuNP mit methanolischen Lösungen der Thioacetate **148** und **147** in verschiedenen Verhältnissen für 16h. [b] Durch SAM-Bildung auf Goldnanopartikeln ändert sich die Lage des Absorptionsmaximums der Oberflächenplasmonen  $\lambda_{SP,max}$ .

### 3. Synthesen

Bereits kurze Zeit nach der Zugabe der Thioacetat-Lösungen war eine Farbveränderung der AuNP-Lösung von Rot nach Violett erkennbar. Der Grund dafür war die Änderung der Lage des SPR-Absorptionsmaximums. Diese Änderung tritt bei der SAM-Bildung auf AuNP ein und kann als Charakteristikum der SAM-Bildung angesehen werden. Die Änderung des Absorptionsmaximums konnte durch UV-Vis-Spektroskopie für die **AuNP-1** bis **AuNP-4** ermittelt werden (Abb. 38).



**Abb. 38.** UV-Vis-Spektrum Citrat-stablisierter AuNP vor und nach der SAM-Bildung. Absorptionsmaximum vor der SAM-Bildung 519 nm und nach der SAM-Bildung 523 nm für **AuNP-1**.

### 3. Synthesen

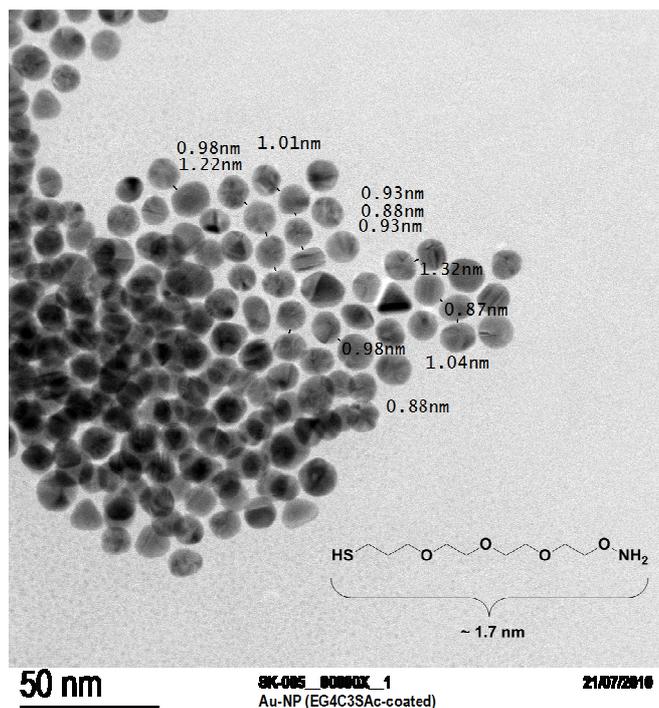


Abb. 39. TEM-Bild der AuNP-1; starke Vergrößerung (50 nm).

Die Analyse der TEM-Bilder der AuNP-1 bestätigte die Bildung des Thiolat-SAMs durch das hier angewandte Protokoll (Abb. 39). Die AuNP-1 lagerten sich zwar zusammen, aber auf Grund der SAMs konnten sich die Oberflächen nicht mehr berühren (vgl. Abb. 37 und 39). Der Abstand zwischen den einzelnen AuNP war mit etwa 1 nm sehr konstant. Es war anzunehmen, dass die Abweichung von dem theoretischen Abstand von  $2 \times 1.7$  nm höchstwahrscheinlich dadurch zu Stande kam, dass die Ethylenglycol-Einheiten wie bei einem Zahnrad ineinander griffen und der SAM teilweise Defekte aufwies.

Die so hergestellten funktionalisierten AuNP wurden anschließend durch Oxim-Bildung mit den Benzaldehyd-Glycokonjugaten **53** – **59** (Monosaccharide), **78** – **81** (Disaccharide) und **130** – **136** (Trisaccharide) in die Glyconanopartikel GNP-1 bis GNP-19 überführt. Dazu inkubierte man die AuNP-Lösung bei pH 4.7 und 40 °C mit den verschiedenen Glycan-Lösungen für 16 Stunden (Tab. 14).<sup>[323]</sup> Es war davon auszugehen, dass sich zum größten Teil das (*E*)-Oxim wie bei der Synthese von Verbindung **142** gebildet hatte. Dieser Umstand war erheblich, da für die CPI- bzw. CCI-Untersuchungen ein einheitliches Material bereitgestellt werden sollte.

Die Analyse bzw. Charakterisierung der GNPs erfolgte durch TEM und Quantifizierung der Kohlenhydratligen auf der Oberfläche der GNPs. Die Quantifizierung von Kohlenhydratligen pro GNP könnte zwar sehr akkurat durch Gaschromatographie<sup>[324]</sup> oder Elementaranalyse<sup>[325]</sup> erfolgen, jedoch benötigen diese Methoden eine zehnfach größere

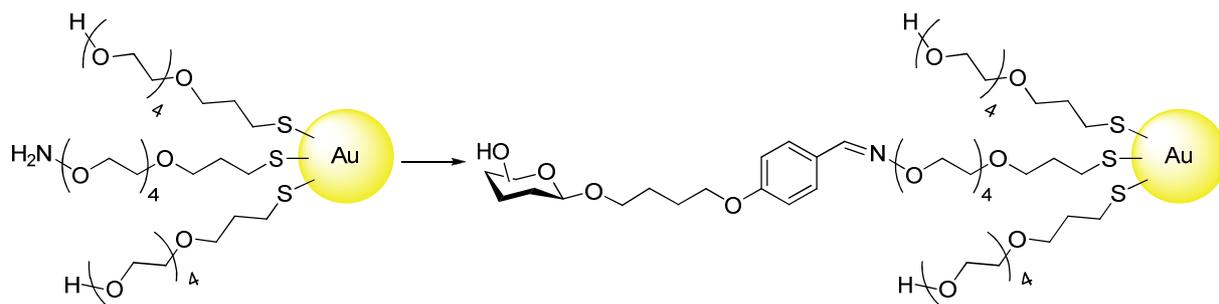
### 3. Synthesen

Menge an Material im Gegensatz zu einem colorimetrischen Test.<sup>[326]</sup> Dadurch kann die Anzahl der Kohlenhydratliganden pro GNP ermittelt werden.<sup>[100]</sup> Diese Information war für die Diskussion der SPR-Untersuchungen ausreichend. Die Konzentrationsbestimmung von Kohlenhydraten durch Farbreaktionen, die sich durch UV-Vis-Spektroskopie quantifizieren lassen, ist hinlänglich bekannt. So reagieren Kohlenhydratlösungen in einem Phenol-Schwefel-Assay zu Produkten, die ein Absorptionsmaximum bei etwa 490 nm aufweisen.<sup>[327]</sup> Da dieses Maximum dicht bei dem der GNP von ca. 520 nm lag, wurde in dieser Arbeit ein Anthron-Test vorgezogen. Schwefelsaure Anthronlösungen reagieren mit Zuckern zu grünfarbenen Produkten, die ein Absorptionsmaximum bei ca. 620 nm haben.<sup>[328]</sup> Dieses Maximum ist ausreichend weit vom SPR-Maximum der AuNP entfernt, so dass eine negative Beeinflussung der UV-Vis-Messungen ausgeschlossen werden konnte. Die Kohlenhydratligandenanzahl pro GNP ergab sich aus der Stoffmenge  $n_{\text{Zucker}}$  pro Stoffmenge  $n_{\text{GNP}}$ . Die Menge Kohlenhydrat in  $\mu\text{g}$  pro mg GNP ließ sich durch einen Anthron-Test bestimmen. Die Extinktion der Farblösungen war linear proportional zu der Menge Zucker, die sich durch Abgleich über eine Standardgerade ermitteln ließ. Eine detaillierte Durchführung des Tests, sowie die daraus resultierenden Berechnungen, sind im experimentellen Teil zu finden. Die ermittelte Anzahl der Kohlenhydratliganden pro GNP ist in der Tabelle 14 aufgelistet.

Chien *et al.* konnten für das P<sup>k</sup>-Antigen-Trisaccharid [Gal $\alpha$ (1→4)Gal $\beta$ (1→3)Glc] mit unterschiedlichen Spacern auf ebenfalls 13 nm großen AuNP durch einen Anthron-Test etwa 820 (kurzer Spacer) bzw. 1300 (langer Spacer) Liganden pro AuNP finden.<sup>[100]</sup> Die hier gefundenen Ligandenmengen lagen in der gleichen Größenordnung. Jensen *et al.* fanden durch *Trim*-(*Trimellitoyl*)-Quantifizierung etwa 440 Liganden auf 13 nm großen AuNP.<sup>[323]</sup> Auf 20 nm AuNP ließen sich von Lin *et al.* etwa 680 Mannose-C5-Spacer-Liganden und etwa 880 Mannose-Tetraethylenglycol-Spacer-Liganden nachweisen.<sup>[329]</sup> wurden, tragen deutlich weniger Kohlenhydratliganden, da sich die Anzahl der Goldoberflächenatome erheblich verringert hatte. Hier wurden etwa 55-70<sup>[330]</sup> bzw. 20-40<sup>[331]</sup> Kohlenhydrate pro GNP gefunden. Bei den hier hergestellten GNPs war deutlich erkennbar, dass je kleiner der Kohlenhydratligand war, desto mehr Replikante pro GNP zu finden waren. Auf den mit Monosacchariden funktionalisierten GNPs (**GNP-10** – **GNP-15**) wurden 1200 – 1280 Liganden pro GNP gefunden, wohingegen bei Disacchariden (**GNP-16** – **GNP-19**) 980-1060 und bei den Trisacchariden (**GNP-1**, **GNP-4** – **GNP-9**) nur 880 – 920 Liganden pro GNP nachgewiesen wurden.

### 3. Synthesen

**Tabelle 14.** Synthese von Aminoxy-terminierten *core-shell*-Goldnanopartikeln.<sup>[a]</sup>



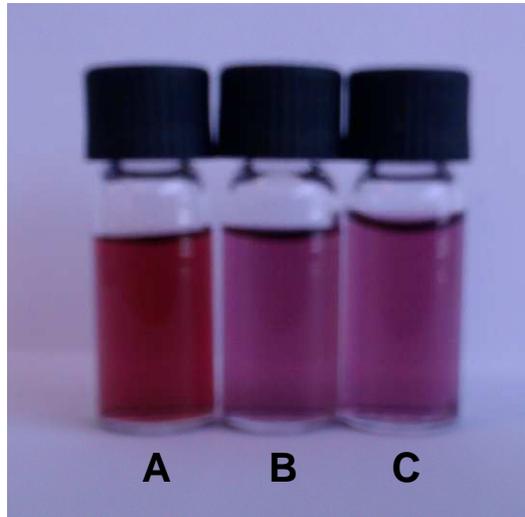
Nanopartikel		Kohlenhydratkopfgruppe	Liganden pro GNP <sup>[e]</sup>	
<b>GNP-1</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc	Le <sup>x</sup> <b>130</b>	~880 <sup>[f]</sup>
<b>GNP-2</b>	<b>AuNP-2</b> <sup>[c]</sup>	Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc	Le <sup>x</sup> <b>130</b>	~660 <sup>[f]</sup>
<b>GNP-3</b>	<b>AuNP-3</b> <sup>[d]</sup>	Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc	Le <sup>x</sup> <b>130</b>	~400 <sup>[f]</sup>
<b>GNP-4</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	Glc $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc	Le <sup>x-Glc</sup> <b>131</b>	~900 <sup>[f]</sup>
<b>GNP-5</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[L-Gal $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc	Le <sup>x-L-Gal</sup> <b>132</b>	~960 <sup>[f]</sup>
<b>GNP-6</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Fuc $\beta$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc	Le <sup>x-<math>\beta</math>-Fuc</sup> <b>133</b>	~880 <sup>[f]</sup>
<b>GNP-7</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 3)[Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4)]GlcNAc	Le <sup>a</sup> <b>134</b>	~880 <sup>[f]</sup>
<b>GNP-8</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Rha $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc	Le <sup>x-Rha</sup> <b>135</b>	~920 <sup>[f]</sup>
<b>GNP-9</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	L-Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[D-Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc	Le <sup>x-D<math>\rightarrow</math>L</sup> <b>136</b>	~900 <sup>[f]</sup>
<b>GNP-10</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	$\beta$ -Glucose	<b>53</b>	~1280 <sup>[g]</sup>
<b>GNP-11</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	$\alpha$ -Glucose	<b>54</b>	~1160 <sup>[g]</sup>
<b>GNP-12</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	$\alpha$ -Mannose	<b>55</b>	~1260 <sup>[g]</sup>
<b>GNP-13</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	$\beta$ -Galactose	<b>56</b>	~1280 <sup>[g]</sup>
<b>GNP-14</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	$\alpha$ -Idose	<b>58</b>	~1200 <sup>[g]</sup>
<b>GNP-15</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	$\alpha$ -Talose	<b>59</b>	~1220 <sup>[g]</sup>
<b>GNP-16</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	$\beta$ -Cellobiose	<b>78</b>	~1040 <sup>[h]</sup>
<b>GNP-17</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	$\beta$ -Lactose	<b>79</b>	~1060 <sup>[h]</sup>
<b>GNP-18</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	$\beta$ -Maltose	<b>80</b>	~1040 <sup>[h]</sup>
<b>GNP-19</b>	<b>AuNP-1</b> <sup>[b]</sup>	$\beta$ -N-Acetylactosamin	<b>81</b>	~980 <sup>[h]</sup>

[a] Oxim-Kopplung durch Inkubation von Glycanen in Acetat-Puffer (pH 4.7) mit AuNP-Lösung für 16 h bei 40 °C; [b] theoretische Oberflächenbelegung von 100% Glycan; [c] theoretische Oberflächenbelegung von 50% Glycan; [d] theoretische Oberflächenbelegung von 33% Glycan; [e] Bestimmung durch Anthron-Methode; [f] Referenz: Verbindung **130**; [g] Referenz: Verbindung **53**; [h] Referenz: Verbindung **78**.

Sterische Hinderung verhinderte bei den größeren Kohlenhydratstrukturen eine vollständige Belegung der Aminoxy-Funktionen auf den AuNP. Dieser Aspekt wurde dadurch bestätigt, dass die Le<sup>x</sup>-Ligandenanzahl pro GNP nicht linear mit der theoretischen Oberflächenfunktionalisierung anstieg (Tabelle 14, **GNP-1** – **GNP-3**). Bei einer 33%igen Oberflächenfunktionalisierung, wie sie theoretisch im **AuNP-3** vorhanden sein sollte, wurden

### 3. Synthesen

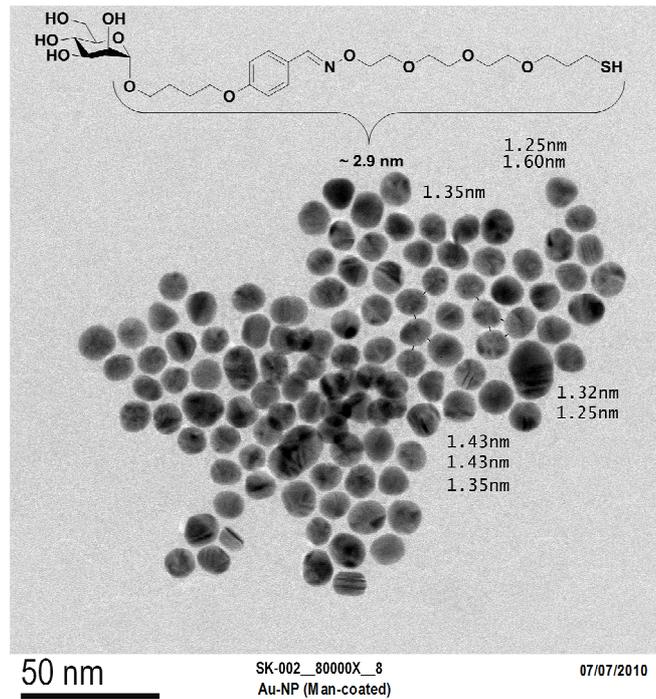
400 Liganden gefunden. Jedoch wären dann etwa 1200 Liganden bei einer 100%igen Oberflächenfunktionalisierung (**AuNP-1**) zu finden gewesen. Es konnten aber nur 880 Liganden ermittelt werden, was einem Defizit von etwa 25% entsprach.



**Abb. 40.** AuNP-Lösungen: A) Citrat-stabilisierte AuNP (vor SAM-Bildung), B) AuNP-1 (vor Oximibildung, nach SAM-Bildung), C) GNP-12 (nach Oximibildung).

Die SPR-Absorption der AuNP änderte sich nur nach der SAM-Bildung mit dem Ankerspacer und/oder dem Verdünnungsspacer, was auch visuell wahrnehmbar war (Abb. 40; A→B). Die äußere Erscheinung der GNP-Lösungen sowie die Lage ihres SPR-Absorptionsmaximums war vor und nach der Oximibildung identisch. Der Erfolg der Kohlenhydratfunktionalisierung konnte, wie oben beschrieben, durch einen Anthron-Test nachgewiesen werden. Aber auch die TEM-Bilder der Mannose-GNP (**GNP-12**) und der Le<sup>x</sup>-GNP (**GNP-1**) bestätigten den Erfolg der Funktionalisierung (Abb. 41 und 42).

### 3. Synthesen



**Abb. 41.** TEM-Bild der GNP-12; starke Vergrößerung (50 nm).

Im Vergleich zu den Aminoxy-Spacer-terminierten AuNP waren die Abstände zwischen den einzelnen GNP mit ca. 1.4 nm deutlich größer (Abb. 41). Dieser Abstand vergrößerte sich noch einmal bei Funktionalisierung mit dem Le<sup>x</sup>-Trisaccharid auf etwa 2 nm. Hier waren auch erste Indizien für das Vorhandensein von Le<sup>x</sup>-Le<sup>x</sup>-Selbsterkennungsprozessen erkennbar, da sich in der TEM-Probe sehr viel größere Aggregate als bei der Mannose-Funktionalisierung gebildet hatten (Abb. 42).

### 3. Synthesen

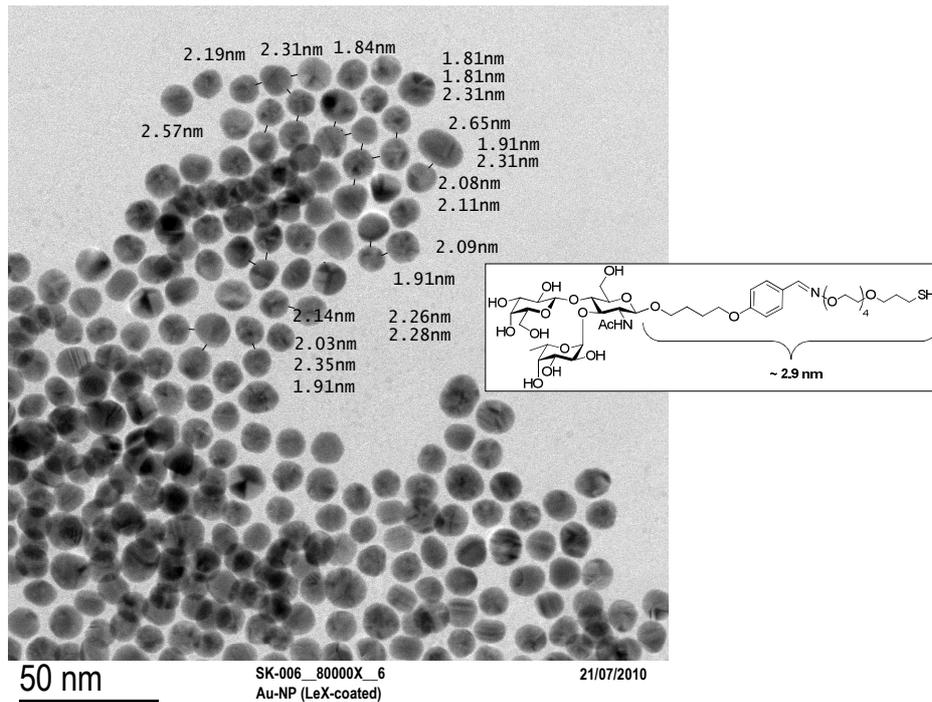


Abb. 42. TEM-Bild der GNP-1; starke Vergrößerung (50 nm).

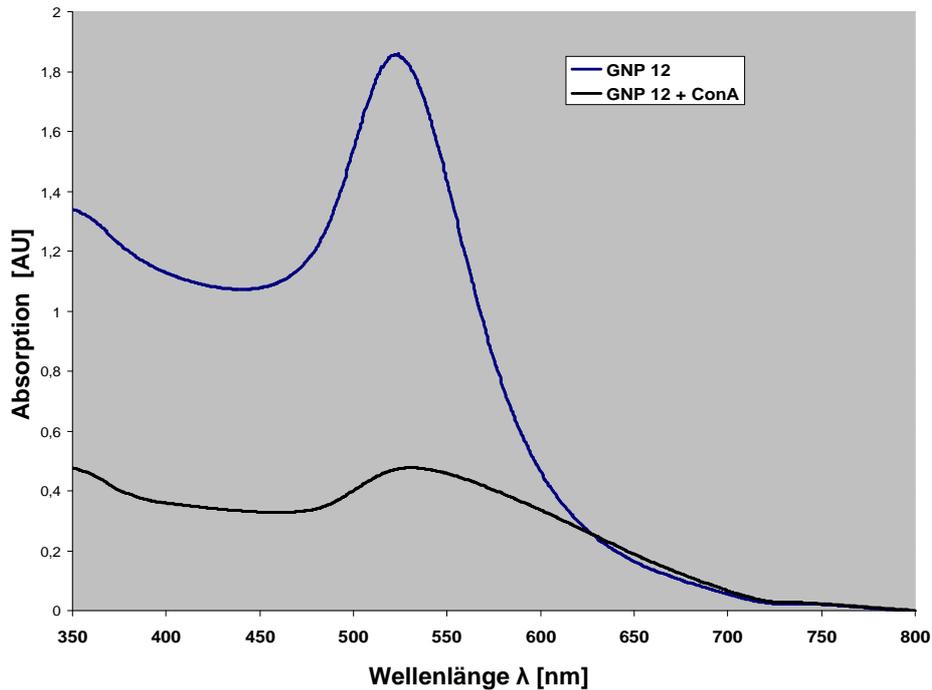
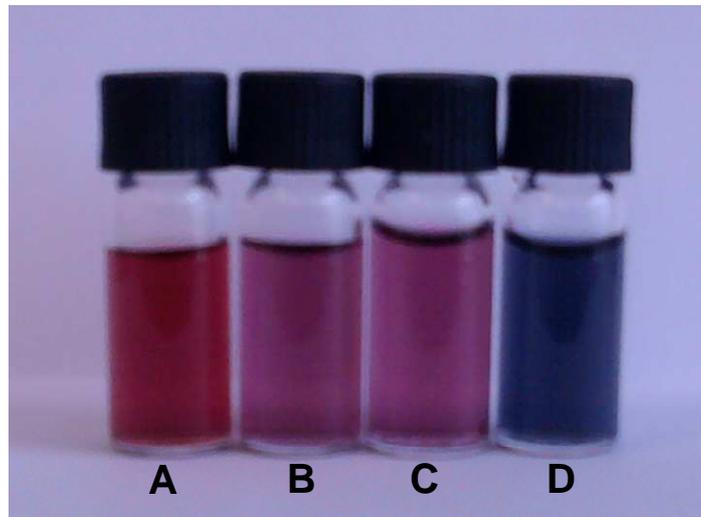


Abb. 43. UV-Vis-Spektrum der Mannose-GNP-12 vor und nach der Inkubation für 12 Stunden mit dem Mannose-erkennenden Lectin Concanavalin A (ConA).

Dass die in dieser Arbeit hergestellten GNP zur Untersuchung spezifisch-biologischer Erkennungsprozesse geeignet waren, konnte durch einen UV-Vis-Assay und durch TEM-Experimente gezeigt werden. Concanavalin A (ConA) ist ein Mannose-erkennendes und

### 3. Synthesen

bindendes Lectin (Details siehe Abschn. 4.1). Über vier Bindungsstellen ist es in der Lage, Mannose-GNP zu aggregieren.<sup>[323]</sup> Die **GNP-12** (Mannose) zeigten im HEPES-Puffer ein normales UV-Vis-Spektrum mit einem SPR-Absorptionsmaximum von etwa 520 nm. Nachdem man diese GNP-Lösung mit HEPES-gepufferter ConA-Lösung, die 1 mM  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Mn}^{2+}$ -Ionen enthielt, versetzte und für 12 Stunden ruhen ließ, aggregierten die GNP. Erkennbar war dies im UV-Vis-Spektrum durch eine deutliche Verschiebung des Absorptionsmaximums und eine erhebliche Abflachung der Kurve (Abb. 43). Diese ConA-induzierte Aggregation der **GNP-12** war auch visuell erkennbar. Die Lösung färbte sich von Violett nach Blau (Abb. 44, C→D). Nach zwei Tagen waren alle GNP ausgefallen.

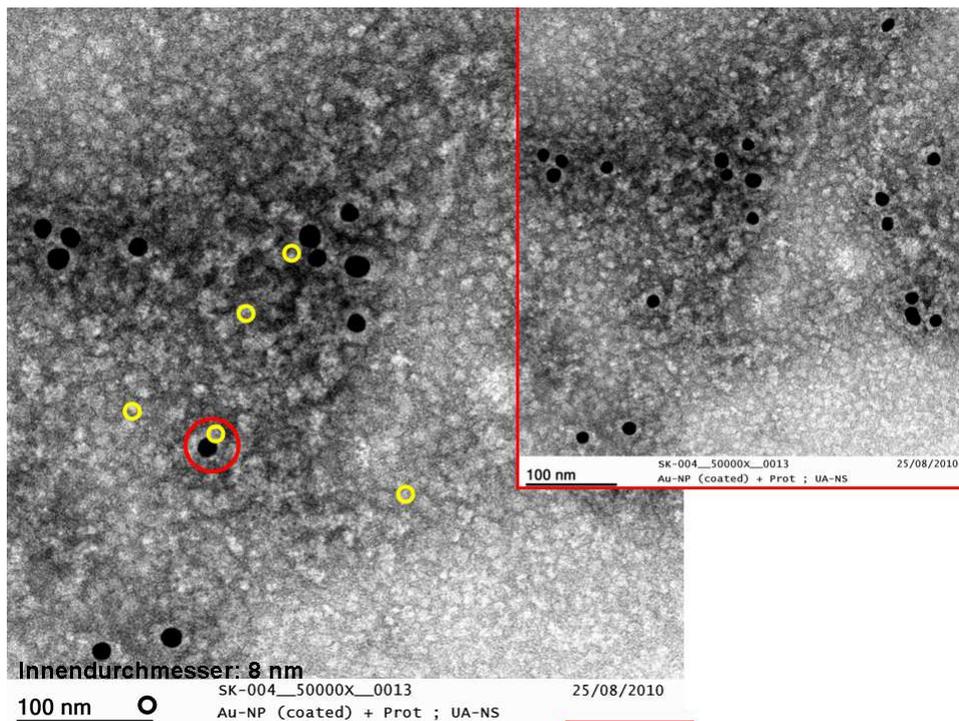


**Abb. 44.** AuNP-Lösungen: A) Citrat-stabilisierte AuNP (vor SAM-Bildung), B) AuNP-1 (vor Oximbindung, nach SAM-Bildung), C) GNP-12 (nach Oximbindung), D) GNP-12 nach Inkubation mit ConA.

Die Anlagerung des Lectins ConA an die Mannose-GNP konnte auch durch TEM-Experiment nachgewiesen werden. In der Negativprobe war diese spezifische Interaktion nicht aufzufinden. In herkömmlichen TEM-Abbildungen erscheinen Objekte wie die AuNP dunkel, weil der Elektronenstrahl an den Atomkernen schwerer Elemente abgelenkt wird und deshalb den Detektor (CCD-Kamera) nicht erreicht. Organisches Material, das aus leichteren Atomen wie Wasser-, Kohlen-, Sauer- oder Stickstoff besteht, ist nicht darstellbar. Mit sogenannten *Negative Staining*-Methoden können organische Materialien sichtbar gemacht werden. Die TEM-Probe, die Biomaterialien wie Proteine u.s.w. enthält, wird mit Schwermetalllösungen, u.a. aus Phosphorwolframsäure, Rutheniumtetroxid oder Uranylacetat behandelt.<sup>[332, 333]</sup> An den Stellen auf der Probe ohne organisches Material schlägt sich das Schwermetallsalz nieder. Diese Flächen erscheinen dunkel. Dort, wo sich Proteine oder Kohlenhydrate ect. befinden, bestehen hellere Flächen.

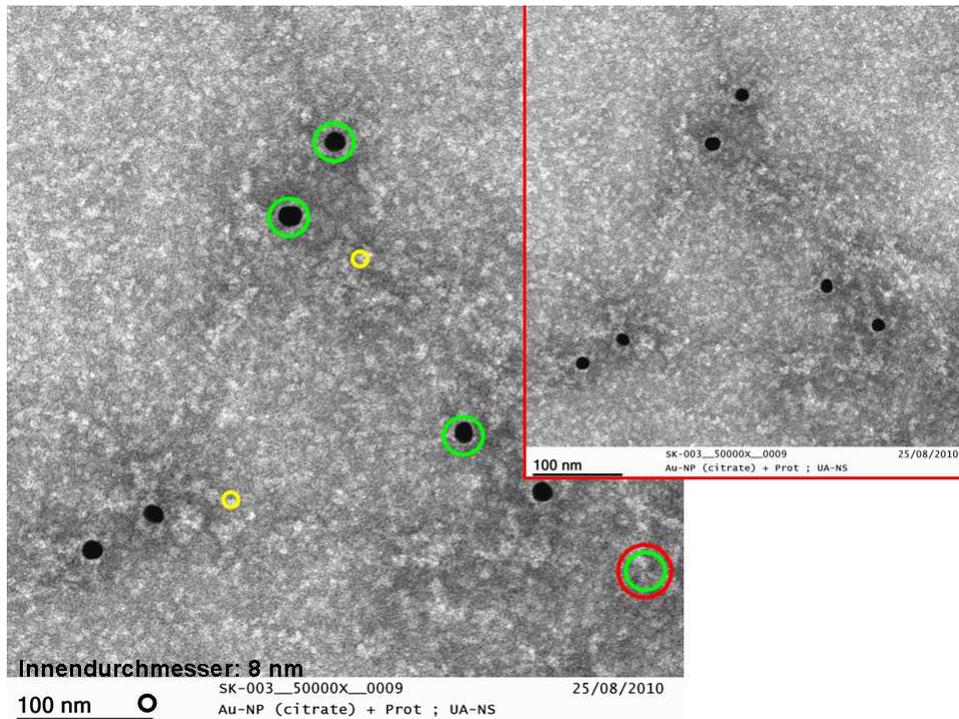
### 3. Synthesen

Im *Negative Staining* TEM-Bild, das von **GNP-12** mit ConA gemacht wurde, erschienen die Proteine als helle Flecken (Abb. 45). Die gelben Kreise um diese Flecken hatten einen Durchmesser von 8 nm, was den Dimensionen des Lectins ConA entsprach. Diese Information wurde aus Kristallstrukturdaten erhalten (siehe Abschnitt 4.1). Um alle **GNP-12** war eine systematische Anordnung der Proteine durch einen ausgedehnten hellen Bereich um die GNP erkennbar. Diese Anordnung wurde durch den roten Kreis visualisiert und war für die **GNP-12** charakteristisch. Inkubierte man jedoch **AuNP-4** (SAM nur mit Verdünnungspacer **147**) waren die hellen Bereiche um die AuNP deutlich kleiner (Abb. 46, grüner Kreis vs. roter Kreis). In dieser Probe erkannte man zwar die Lectine (gelber Kreis), diese ordneten sich jedoch nicht um die AuNP an. Die helle Zone um die AuNP rührte ausschließlich vom organischen Material des SAMs vom Verdünnungspacer **147** her. Mit einer Dicke von etwa 1.5 nm entsprach diese Schicht dem zu erwartenden Wert für den hier verwendeten SAM.

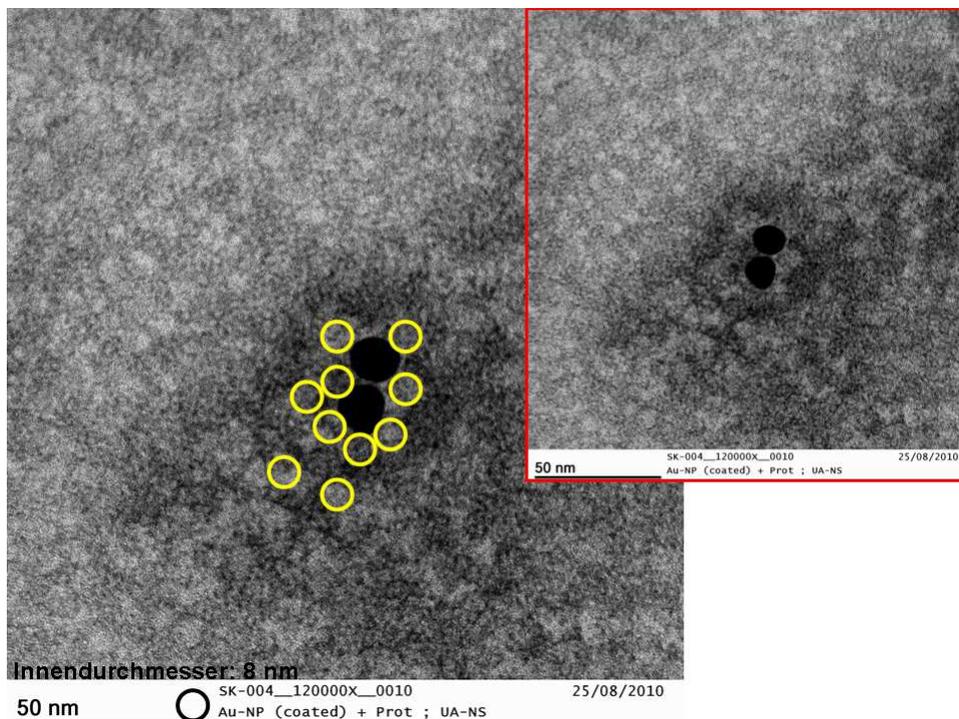


**Abb. 45.** *Negative Staining*-TEM-Bild von **GNP-12** inkubiert mit ConA. Gelbe Kreise repräsentieren die ConA-Proteine (Innendurchmesser 8 nm). Der rote Kreis repräsentiert die systematische Anordnung der ConA-Proteine um ein **GNP-12**. Kleines Bild ist die Originalabbildung; 50,000-fache Vergrößerung.

### 3. Synthesen



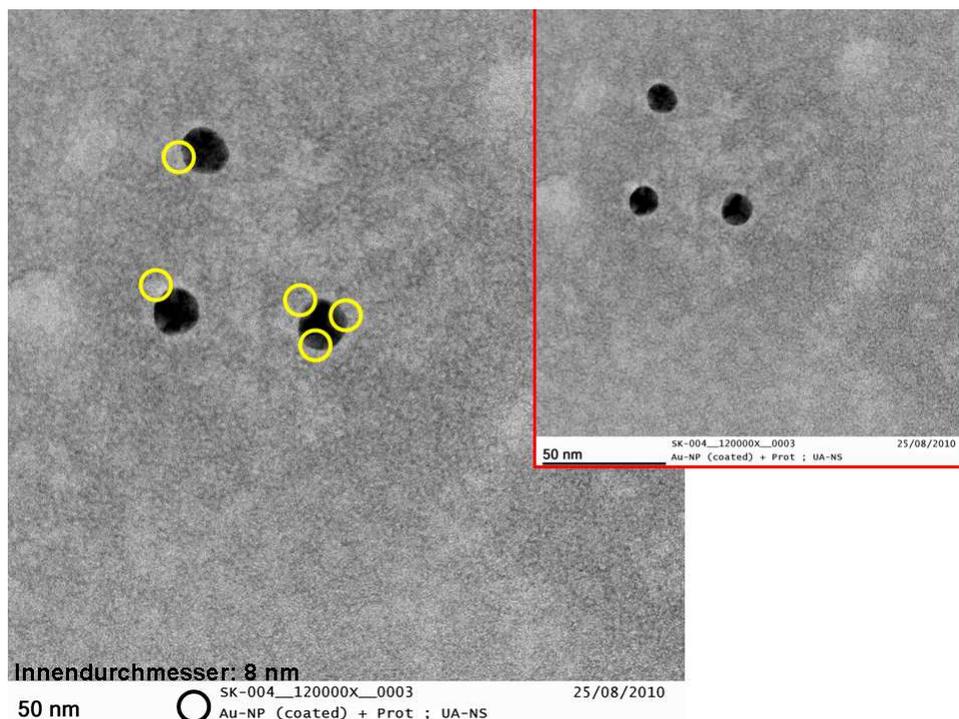
**Abb. 46.** *Negative Staining*-TEM-Bild von **AuNP-4** inkubiert mit ConA. Gelbe Kreise repräsentieren die ConA-Proteine (Innendurchmesser 8 nm). Die grünen Kreise repräsentieren den SAM des Verdünnungspacer **147** um die **AuNP-4**. Kleines Bild ist die Originalabbildung; 50,000-fache Vergrößerung.



**Abb. 47.** *Negative Staining*-TEM-Bild von **GNP-12** inkubiert mit ConA. Gelbe Kreise repräsentieren die ConA-Proteine (Innendurchmesser 8 nm), die sich systematisch um die **GNP-12** anordnen. Kleines Bild ist die Originalabbildung; 120,000-fache Vergrößerung.

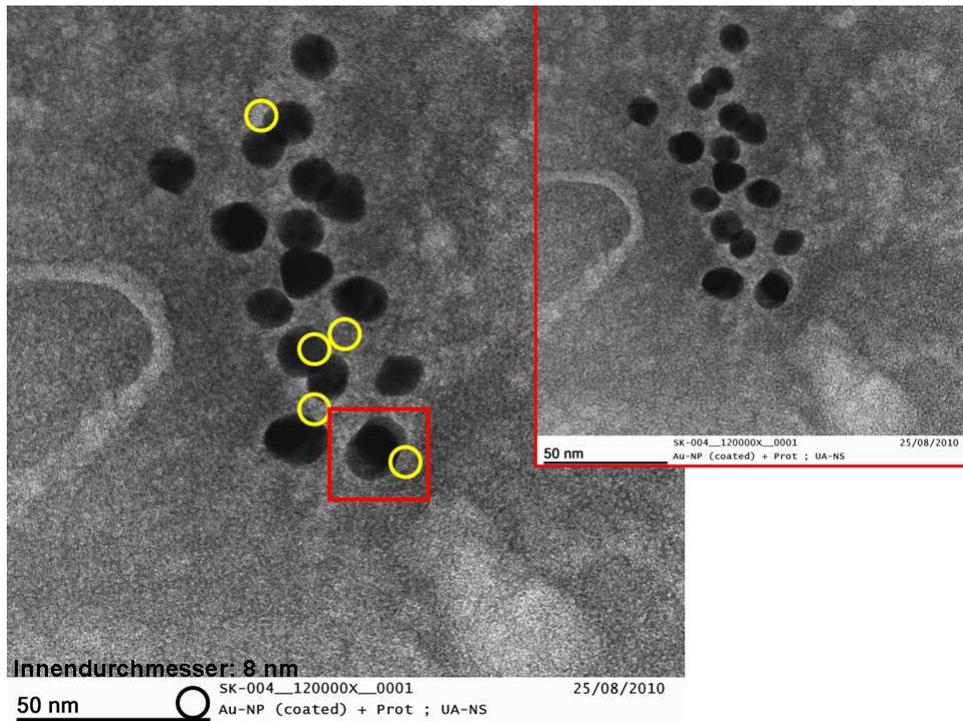
### 3. Synthesen

Mit einer stärkeren Vergrößerung konnte verdeutlicht werden, dass sich viele Lectin-Moleküle um ein GNP-12 anordneten (Abb. 47). Diese Anlagerung war nicht nur als heller Bereich um die GNP zu erkennen, sondern auch als Aufhellung auf den GNP. Dieser Befund zeigte, dass es sich um einen sphärischen Mannose-SAM um die GNP handelte, was auch erwartet wurde (Abb. 48). Weil das Lectin ConA über vier Bindungsstellen verfügt, war es in der Lage mehrere **GNP-12** quer zu vernetzen. Die Abbildung 49 zeigt, wie sich die GNP durch die Bindung von ConA aneinander anlagerten und sogar übereinander stapelten. Durch diese *Negative Staining*-TEM-Experimente konnte eindeutig gezeigt werden, dass die in dieser Arbeit dargestellten Glyconanopartikel eine multiple, sphärische Präsentation der Kohlenhydrate aufwiesen. Diese Kohlenhydratepitope waren in der Lage spezifische, biologische Bindungen einzugehen. Die Beschaffenheit der GNP und des Linkers hatten keinen negativen Einfluss auf die Spezifität der Lectinbindung. Mit diesen gut charakterisierten GNP wurden schließlich die CCI-Experimente durch SPR-Messungen durchgeführt.



**Abb. 48.** *Negative Staining*-TEM-Bild von **GNP-12** inkubiert mit ConA. Gelbe Kreise repräsentieren die ConA-Proteine (Innendurchmesser 8 nm), die sich sphärisch auf den **GNP-12** anordnen. Kleines Bild ist die Originalabbildung; 120,000-fache Vergrößerung.

### 3. Synthesen



**Abb. 49.** *Negative Staining*-TEM-Bild von **GNP-12** inkubiert mit ConA. Gelbe Kreise repräsentieren die ConA-Proteine (Innendurchmesser 8 nm), die die **GNP-12** miteinander vernetzen. Kleines Bild ist die Originalabbildung; 120,000-fache Vergrößerung.

### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Die Oberflächenplasmonenresonanz-(SPR)-Technologie ermöglicht Bindungsstudien in einem fließenden System unter Echtzeitverfolgung. Es besteht somit Zugang zu kinetischen Daten und thermodynamischen Bindungskonstanten, wodurch die bisher durch ELISA gewonnenen Erkenntnisse deutlich vertieft werden können. Grundsätzlich können durch SPR Adsorptionsvorgänge an Metalloberflächen, speziell Goldoberflächen, beobachtet werden. Ein weiterer Vorteil dieser Technologie ist, dass sich die Sensoroberflächen durch SAM-Bildung individuell gestalten lassen. Im Gegensatz zu anderen Oberflächen, wie z. B. Glasslides, lässt sich die Zusammensetzung besser kontrollieren. Im Folgenden werden die Prozesse näher erläutert, die die chemischen und physikalischen Grundlagen für SAM-Bildung und SPR-Phänomene darstellen.

#### 4.1 SPR-Untersuchungen zu Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen

Der Begriff SAM (engl. *self assembled monolayer*, selbstanordnende Monoschichten) wurde im Jahr 1983 durch die Arbeit von Nuzzo *et al.* geprägt. Hier wurde erstmals gezeigt, dass sich Monoschichten spontan durch die Einwirkung von Dialkyldisulfiden auf Goldoberflächen bildeten.<sup>[334]</sup> Diese Erkenntnis stellte die Grundlage der in dieser Arbeit durchgeführten SAM-Bildungen mit Thiolen bzw. Thioacetaten auf Goldsubstraten dar. Die Selbstanordnung bzw. Ausbildung organischer Filme an Grenzflächen ist ein hinlänglich bekanntes Phänomen. Bereits in der Antike erkannten die Römer den wellendämpfenden Effekt von Ölfilmen auf Wasseroberflächen und nutzten ihn für die Schifffahrt. Die systematische, wissenschaftliche Bearbeitung solcher Systeme begann bereits im Jahr 1758 mit der Erforschung des Verhaltens von Öl in Wasser durch B. Franklin und wurde schließlich im Jahr 1932 mit der Vergabe des Nopelpreises an I. Langmuir für dessen Entwicklung der Langmuir-Waage gewürdigt. Mit dieser Filmwaage konnten die Einflüsse amphiphiler Moleküle auf die Oberflächenspannung von Wasser untersucht werden.<sup>[335]</sup> Drei Jahre nach der Vergabe des Nobelpreises an Langmuir gelang es K. Blodgett erstmals Monoschichten auf feste Substrate zu übertragen (Langmuir-Blodgett-Filme).<sup>[336]</sup> Die spontane Bildung von organischen Monoschichten auf Metallen konnte dann von Bigelow *et al.* in einer Pionierarbeit aus dem Jahr 1946 verwirklicht werden. Dort wurde SAM-Bildung von Alkylaminen auf Platin beobachtet und untersucht. Heutzutage ist eine Vielzahl solcher

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Monoschichten auf den unterschiedlichsten Substraten bekannt. Thiolat-SAMs bilden sich durch die Adsorption von Disulfiden, Thiolen und Thioacetaten auf Münzmetallen wie Silber, Palladium, Platin oder eben Gold. Durch die Adsorption von Alkyltrichlorsilanen bzw. Alkyltrialkoxysilanen auf Siliciumdioxid oder Glas lassen sich Alkylsiloxan-SAMs erhalten. Fettsäuren und Alkylphosphonsäuren hingegen können zur Funktionalisierung von oxidischen Metalloberflächen eingesetzt werden. Hierzu und im Besonderen zu Thiolat-SAMs auf Gold ist eine Reihe sehr guter Übersichtartikel veröffentlicht worden.<sup>[337, 338]</sup> Die Alkyl(derivat)thiolat-SAMs auf Gold können wohl als das am genauesten untersuchte System angesehen werden. Solche Monoschichten lassen sich leicht darstellen, sowohl aus Lösung als auch aus der Gasphase. Die Bindung zwischen Schwefel und Gold ist sehr stabil, sie weist in etwa eine Bindungsenergie von 50 kcal/mol auf und kann durch folgende Reaktionsgleichung beschrieben werden.<sup>[339, 340]</sup>

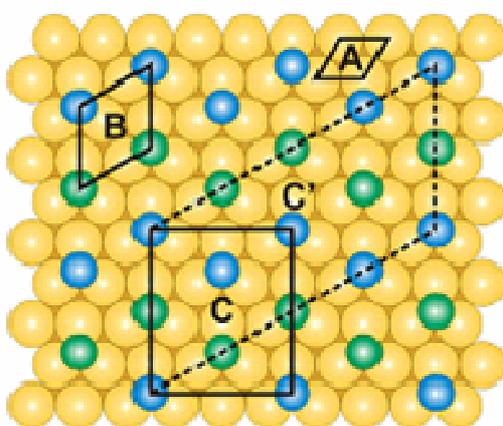


Lange war dieser Mechanismus der SAM-Bildung umstritten, da der Verbleib des Protons (Wasserstoffs) nicht geklärt werden konnte. Letzendlich konnte aber der Wasserstoff im Hochvakuum nachgewiesen werden.<sup>[341]</sup> Der Mechanismus der Bildung von Thiolat-SAMs mit Thioacetaten als Adsorbentien hingegen ist nicht geklärt. Thiolate bilden einen organischen quasi zweidimensionalen Kristall auf der Goldoberfläche aus. Dieser Prozess der Monoschichtbildung ist relativ schnell. So bilden Hexadecanthiole aus einer 2 mM ethanolischen Lösung innerhalb einiger Minuten eine perfekte SAM aus. Mechanistisch ist dieser Prozess jedoch relativ komplex. Allgemein wird davon ausgegangen, dass es sich bei der Schichtbildung um einen zweistufigen Prozess handelt. Im ersten, nur wenige Minuten dauernden Teilschritt adsorbieren die Thiolgruppen spontan und mit hoher Ordnung an der Goldoberfläche und bilden den 2D-Kristall zu 90%. Es folgen im zweiten Schritt durch Adsorption und Desorption, sowie durch Diffusion in der SAM die Besetzung von Fehlstellen und die Beseitigung von Defekten. Der zweite Schritt kann abhängig von der Natur des Thiols, des Lösungsmittels und der Temperatur von wenigen Stunden bis zu mehreren Tagen dauern.<sup>[337, 342, 343]</sup>

Die 2D-Struktur der Monoschicht ist von drei Faktoren abhängig, zum einen von der Kristallstruktur des Goldes, folglich von der daraus resultierenden, präsentierten Kristallfläche, und von der Natur des Thiols.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Gold kristallisiert in der kubisch-flächenzentrierten (kfz, bzw. engl. *face centered cubic* (fcc)) Phase, was einer Stapelfolge ...ABCABC... entspricht. Bei der Herstellung von dünnen Goldfilmen entstehen normalerweise sogenannte Gold(111)-Oberflächen<sup>†</sup>. Eine solche Oberfläche der Goldatome (gelbe Kugeln) ist in Abbildung 50 skizziert. Die Alkylthiolate (blaue und grüne Kugeln) adsorbieren nun auf den hexagonalen Gitterplätzen, die sich aus der Stapelfolge ergeben. Sie sitzen quasi zwischen drei Goldatomen. Auf Grund von Verdrillung entstehen zwei inäquivalente Spezies von Alkylthiolaten, die durch grüne und blaue Kugeln in Abbildung 50 representiert werden. Es ergibt sich so für die Struktur eines Alkanthiolat-SAMs auf Gold(111) ein sogenanntes  $\sqrt{3}\times\sqrt{3}R30^\circ$ -Gitter mit der  $p(2\sqrt{3}\times\sqrt{3})$ -Überstruktur bzw. der  $c(4 \times 2)$ -Überstruktur.<sup>[344, 345]</sup>



**Abb. 50.** Die Gold(111)-Oberfläche mit den Thiolat-Gittern

Die Einheitszelle des Golds ist durch die Raute A und die der Monoschicht durch die Raute B gekennzeichnet. Sie beinhaltet jeweils vier Atome bzw. Moleküle. C beschreibt die Elementarzelle der  $p(2\sqrt{3}\times\sqrt{3})$ -Überstruktur und C' die Elementarzelle der  $c(4 \times 2)$ -Überstruktur. Für die folgenden theoretischen Überlegungen zu den in dieser Arbeit hergestellten SAMs werden nur die Elementarzellen A und B in Betracht gezogen. Die übrigen Elementarzellen sind an dieser Stelle nur der Vollständigkeit halber erwähnt, haben aber in der Charakterisierung von SAMs keine zentrale Bedeutung. In der Raute A sind die Kantenlängen durch den Atomradius des Golds (0.144 nm) mit 0.288 nm gegeben. Auf Grund der hexagonalen Geometrie ergibt sich für die Kanten der Raute B eine Länge von  $\sqrt{3} \times a$ , also  $b = 0.499$  nm. Betrachtet man nun die Anreihung der Alkylthiolate entlang der Kante b,

---

<sup>†</sup> (111) ist die Miller'sche Indizierung (hkl) der Gitterebene im Kristall, wobei im kubischen System die Ebene (100) senkrecht zur kristallographischen x-Achse steht. Damit steht die Ebene (111) senkrecht auf der Raumdiagonalen.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

wie in Abbildung 51 dargestellt, erkennt man, dass die Alkylkette um ca.  $30^\circ$  gegenüber der Goldoberfläche verkippt ist.<sup>[346, 347]</sup> Im Fall von SAMs, gebildet aus Verbindung **157**, konnte eine Verkipfung von etwa  $28^\circ$  festgestellt werden (Darstellung und Struktur Schema 27).<sup>[348]</sup> Röntgenbeugungs- und IR-spektroskopische Untersuchungen haben darüber hinaus ergeben, dass die Alkylketten im Thiolat-SAM eine all-*trans*-Konformation aufweisen. Ein weiterer Nachweis für die Verkipfung konnte durch Schichtdickemessungen mittels Ellipsometrie erbracht werden, denn die ermittelten Schichtdicken weichen mit ca. 3.1 nm für die aus Verbindung **157** angeheftete Kette deutlich von den theoretischen Werten für eine vertikale Ausrichtung ab.

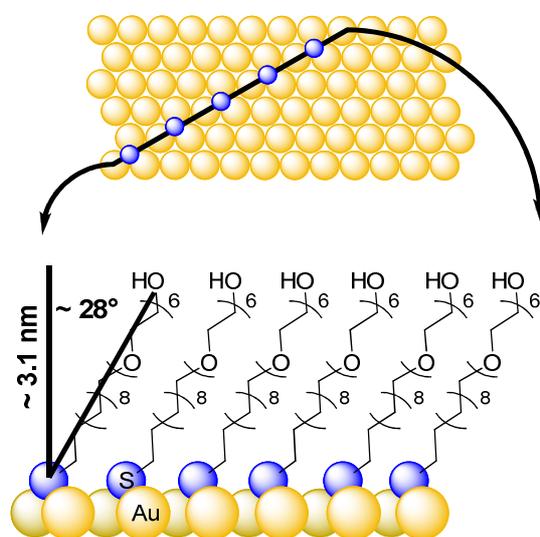


Abb. 51. Schematische Darstellung

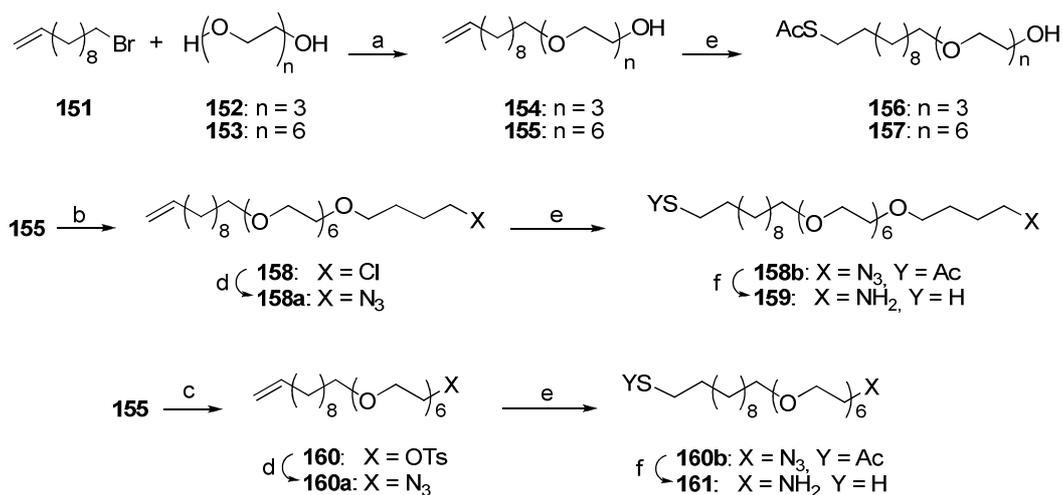
Diese Konformation der Methylengruppen der strukturgebenden Alkylkette sorgt durch intermolekulare Wechselwirkungen (hier von der Waals-Kräfte) für eine hohe Ordnung und Packungsdichte in der Monoschicht. Dabei konnten in Alkyl-SAMs auf Gold von der Waals-Wechselwirkungen zu etwa 2 kJ/mol pro  $\text{CH}_2$ -Gruppe bestimmt werden. Die höchsten Packungsgrade werden ab 6-8  $\text{CH}_2$ -Gruppen erreicht.<sup>[349]</sup> Reine Alkanthiol-SAMs bilden zwar nahezu perfekte 2D-kristalline Strukturen aus, machen die Oberfläche aber hydrophob. Dieser Umstand ist für biologische Untersuchungen in wässrigen Systemen von großem Nachteil, da Proteine unspezifisch hydrophobe Wechselwirkungen mit solchen Oberflächen eingehen. Das gilt im Besonderen für membranständige Proteine. Durch die Installation einer Oligoethylenglycol-Einheit an das Ende der Alkylkette wird die Oberfläche hydrophilisiert und erlangt sogenannte biorepulsive Eigenschaften.<sup>[350, 351]</sup> Dies bedeutet, dass die unspezifischen Wechselwirkungen zum größten Teil unterdrückt werden. Diese

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Oligoethylenglycol-Einheiten schwächen zu einem Teil die Packungsdichte der SAMs, so dass im ungünstigen Fall eine große Anzahl von Fehlstellen auftritt. Das führt zu einer Verstärkung von unspezifischen Wechselwirkungen. Whitesides *et al.* haben die biorepulsiven Eigenschaften von verschiedenen Oligoethylenglycol-terminierten Undecylthiolen in gemischten SAMs mit dem hydrophoben, unfunktionalisierten Thiol gegenüber vier verschiedenen Proteinen untersucht und konnten zeigen, dass eine Zusammensetzung des Spacers mit einer C<sub>11</sub>-Alkylkette und einer Hexaethylenglycol gute biorepulsive Eigenschaften aufweist.<sup>[350, 351]</sup> Zwar ist eine deutliche Reduktion der unerwünschten Wechselwirkungen bereits für eine Diethylenglycol-Einheit erkennbar, aber diese wurde erst ab Verhältnissen von EG<sub>2</sub>-C<sub>11</sub>-Thio zu C<sub>11</sub>-Thio von 70% erreicht. Für Untersuchungen mit gemischten SAMs, wie sie in dieser Arbeit durchgeführt werden sollten, wurde aber eine sehr gute Reduktion der unspezifischen Wechselwirkungen ab einem Verhältnis von mindestens 1:1 (50%) benötigt. Das ist der Fall für die EG<sub>6</sub>-Terminierung.

In dieser Arbeit wurde eine neuartige Funktionalisierung der SAMs mit Kohlenhydraten für CPI- und CCI-Untersuchungen durch reduktive Aminierung von Glyco-Benzaldehydderivaten auf Amino- bzw. Aminoxy-terminierten SPR-Sensoroberflächen angestrebt. Um die Robustheit und die Vielfältigkeit in der Anwendbarkeit zu gewährleisten, wurden verschiedene Verdünnungspacer sowie Anker-moleküle synthetisiert. Als Verdünnungsmoleküle wurden aus oben genannten Gründen die Undecylthiol-Derivate **156** und **157** mit einer Tri- bzw. Hexaethylenglycol-Einheit ausgewählt. Als Anker-moleküle wurden Amino-funktionalisierte Verbindungen ausgesucht, die sich von Verbindung **157** ableiten. Dabei handelt es sich um Verbindung **159**, die um eine Butylgruppe verlängert ist, und um Verbindung **161**, die direkt an der Ethylenglycol-Einheit funktionalisiert ist. Mit diesen Verbindungen ist es möglich, verschiedene Abstände der Kohlenhydratkopfgruppe zur biorepulsiven Matrix der Sensoroberflächen einzustellen. So lassen sich Änderungen in der Zugänglichkeit von Lectinbindungsstellen untersuchen und verbessern, um eine optimale Bindung zu gewährleisten. Die Synthese der SAM-Spacer ist in Schema 28 zusammengefasst.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente



**Schema 28.** Synthese des Verdünnungs- und Ankermoleküle **156**, **157**, **159** und **161** zur Funktionalisierung der Goldsensoroberflächen (Glyco-SAMs). Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) NaH, DMF, 0 °C → RT, 12 h, **154**: 95%, **155**: 96%; b) **155**, 1-Brom-4-chlorbutan, NaH, DMF, 0 °C für 2 h, dann 0 °C → RT, 15 h, 78%; c) TsCl, Py, 0 °C → RT, 15 h, 92%; d) NaN<sub>3</sub>, TBAI, DMF, 70 °C, 2 h; **158a**: 82%, **160a**: 85%; e) AcSH, AIBN, THF, hv, 3 h, **156**: quant., **157**: quant., **158b**: 95%, **160b**: 96%; f) LAH, Et<sub>2</sub>O, 0 °C → RT, 2–3 h, **159**: 64%, **161**: 66%.

Die Synthese der Verdünnungs- und Ankermoleküle **156**, **157**, **159** und **161** zur Funktionalisierung der Goldsensoroberflächen ging von dem kommerziell erhältlichen Alkenylbromid **151** sowie zum einen von Triethylenglycol (**152**) und zum anderen von Hexaethylenglycol (**153**) aus. Im ersten Schritt wurde durch nukleophile Substitution die Ethylenglycol-Einheit in die Spacer-Vorläufer eingeführt. Dabei wurden modifizierte Bedingungen zur ursprünglichen Synthese der Verbindungen **154** und **155** von Whitesides *et al.* angewendet.<sup>[351]</sup> Zunächst wurden die Ethylenglycole und das Bromid **151** mit Natriumhydrid in DMF bei 0°C und dann bei Raumtemperatur für insgesamt 12 Stunden zur Reaktion gebracht, anstatt wie ursprünglich beschrieben mit 50%iger NaOH für 24 Stunden bei 100 °C. Die Ethylenglycole wurden in zweifachem Überschuss eingesetzt, um die Disubstitution zu verhindern. So konnten die Zwischenprodukte **154** und **155** in verbesserter Ausbeute von 95% für **154** und 96% für **155** gegenüber 63% bis 87% erhalten werden. Die finalen Verdünnungsmoleküle **156** und **157** konnten schließlich durch radikalische Addition mit UV-Lichtbestrahlung von Thioessigsäure an die terminale Doppelbindung der jeweiligen Edukte unter Anti-Markownikow-Orientierung erhalten werden. Als Radikalstarter diente AIBN.<sup>[352]</sup> Nach drei Stunden Reaktionszeit konnte kein Startmaterial mehr detektiert werden und nach abschließender Reinigung wurden die Produkte **156** und **157** unter vollständiger Konversion erhalten. Damit waren die Verdünnungsmoleküle mit sehr guten

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

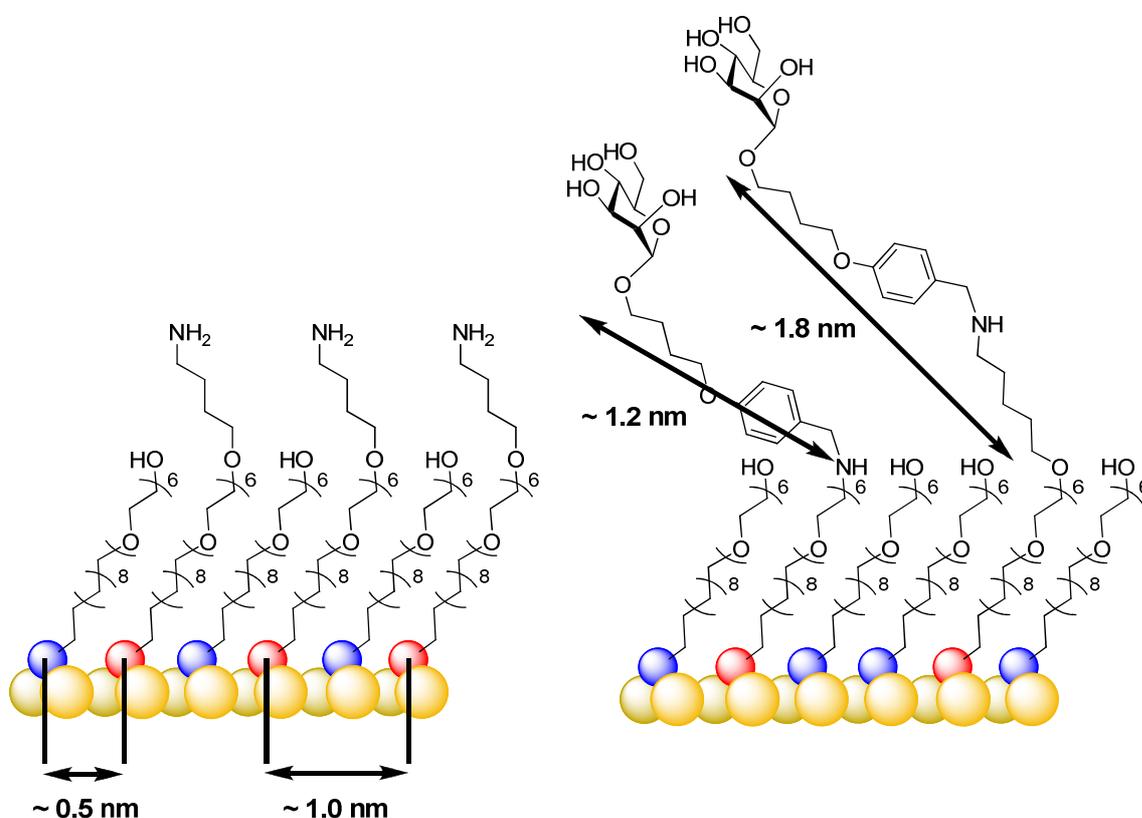
Gesamtausbeuten in nur zwei Schritten zugänglich. Für die Darstellung der Ankermoleküle **159** und **161** diente das Zwischenprodukt **155**. Für die Synthese des Ankermoleküls **159** wurde zunächst eine Kettenverlängerung um eine Butyleinheit vorgenommen. Dabei wurde auf eine Synthese zurückgegriffen, die bereits bei der Synthese von thioalkylierten Glucose-Derivaten erarbeitet und erfolgreich eingesetzt werden konnte.<sup>[353]</sup> Auch im hier vorliegenden Fall mussten zwei aufeinander folgende Substitutionsreaktionen durchgeführt werden. Die Anknüpfung des Butylspacers an die Ethylenglycolgruppe und nachfolgend die Derivatisierung zum Azid als Vorläufer für die Aminofunktion. Dazu wurde die unterschiedliche Abgangstendenz von Bromid gegenüber Chlorid genutzt. Der Alkohol **155** wurde mit Natriumhydrid deprotoniert und anschließend im Eisbad gekühlt. Die Zugabe des zehnfachen Überschusses von 1-Brom-4-chlorbutan verhindert die Dimerisierung und ermöglicht eine hohe Selektivität. So konnte nach 15 Stunden Reaktionszeit das Zwischenprodukt **158** mit guter Ausbeute von 78% erhalten werden. Durch NMR-Spektroskopie wurde nachgewiesen, dass ausschließlich das 4'-Chlorid isoliert wurde (<sup>13</sup>C-NMR: -CH<sub>2</sub>-Cl = ~ 45 ppm). Die Umsetzung zum Azid **158a** erfolgte mit Natriumazid in DMF unter TBAI-Katalyse für zwei Stunden bei 70 °C.<sup>[354]</sup> Das Produkt konnte mit 82% Ausbeute isoliert werden. Die Thiofunktionalisierung wurde, wie bereits für die Verdünnungsmoleküle, mit radikalischer Addition von Thioessigsäure durchgeführt, wobei die Verbindung **158b** mit einer Ausbeute von 95% erhalten wurde.<sup>[354, 355]</sup> Da eine Reduktion des Azids zur Aminogruppe mit Wasserstoff an Palladium/Aktivkohlen wegen der Thioacetatgruppe, die den Katalysator vergiftet, nicht möglich ist, wurde die Staudinger-Reaktion mit Triphenylphosphin im wässrigen THF versucht. Dies schlug jedoch fehl, da kein Produkt isoliert werden konnte. Die stark reduktiven Bedingungen mit Lithiumaluminiumhydrid waren zwar erfolgreich, führten aber dazu, dass neben dem Azid auch das Thioacetat zum Thiol reduziert wurde. Die Reinigung dieser amphiphilen Verbindung war sehr aufwendig und bedurfte mehrerer Säulenchromatographien mit einem sehr unpolaren Gradienten, wodurch der Verbrauch an Lösungsmittel recht hoch war. Dennoch konnte die Verbindung **159** mit einer Ausbeute von 64% erhalten werden.

Um die Verbindung **161** zu erhalten, die keine Butylspacer trägt, wurde die terminale Hydroxygruppe der Ethylenglycoleinheit zunächst durch Tosylierung unter Standardbedingungen in eine gute Abgangsgruppe überführt. Die Verbindung **160** konnte so mit einer Ausbeute von 92% isoliert werden. Anschließend wurde das Tosylat **160** der gleichen Synthesesequenz aus nukleophiler Substitution, radikalischer Thioacetylierung und Hydridreduktion unterzogen, wie sie für das Ankermolekül **159** angewandt worden war. So

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

konnte das kettenverkürzte Ankermolekül **161** mit einer Ausbeute von 53% über drei Stufen für die anstehenden SAM-Formierungen bereitgestellt werden.

In Abbildung 52 ist schematisch dargestellt, wie sich die räumlichen Ausdehnungen im gemischten 1:1-SAM aus den Ankerspacern **159** und **157** theoretisch verhalten. Solche Überlegungen unterstützen die Auswertung der später erhobenen experimentellen Daten zu CPI und CCI und sollten gerade bei neuartigen Sensorsystemen, wie hier verwendet, in die Bewertung der Resultate einfließen. Whitesides *et al.* konnten zeigen, dass SAMs mit verschiedenen Zusammensetzungen zwischen Verdünnungsmolekül und Ligandenspacer einen Einfluss auf die ermittelten Bindungskonstanten  $K_D$  zwischen Ligand und Rezeptor hatten.<sup>[356]</sup>



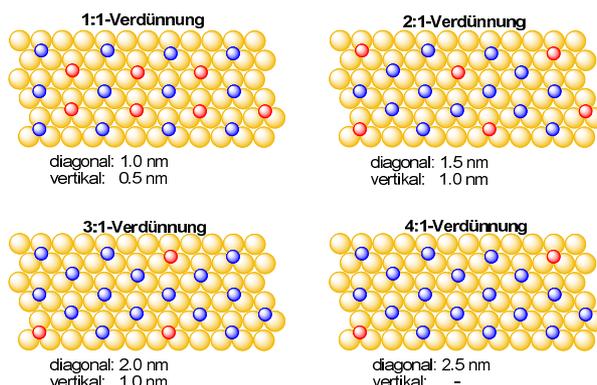
**Abb. 52.** Theoretische räumliche Ausdehnungen in 1:1 SAMs des Anker-moleküls **159** und des Verdünnungsmoleküls **157**, sowie Abstand der Kohlenhydratkopfgruppe bei Verwendung des Anker-moleküls **159** ( $\sim 1,8 \text{ nm}$ ) bzw. **161** ( $1,2 \text{ nm}$ ).

Gerade bei Kohlenhydrat-basierten Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen treten häufig Multivalenzeffekte auf, da die Natur die relativ schwachen Bindungen durch mehrere Bindungsstellen pro Lectin/Rezeptor kompensiert.<sup>[357, 358]</sup> Wong *et al.* konnten zeigen, dass die Bindungskonstante des Lectins zu einer Mannose-funktionalisierten Mikroarrayoberfläche

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

von der Konzentration der immobilisierten Mannose abhängt. Bei 100  $\mu\text{M}$  Mannose betrug  $K_D$  80 nM und bei 1  $\mu\text{M}$  war  $K_D$  220 nM. Die Abnahme war nicht kontinuierlich, sondern fand sprunghaft statt.<sup>[359]</sup> Als Erklärung wurde der Verlust der Multivalenz angegeben. Konradsson *et al.* fanden bei der Wechselwirkung zwischen dem  $P^k$ -Antigen-Trisaccharid  $[\text{Gal}\alpha(1\rightarrow4)\text{Gal}\beta(1\rightarrow3)\text{Glc}]$  und verschiedenen Antikörpern, dass hohe Konzentrationen des Liganden auf der SPR-Sensoroberfläche die Bindung des Antikörpers verschlechterten. In einem Fall wurde die Bindung sogar ganz verhindert. Bei hohen Konzentrationen waren die Abstände zwischen den Liganden zu gering, so dass die Bindungsstelle des Antikörpers nicht erreicht werden konnte.<sup>[360]</sup> Diese Befunde zeigten, dass für die Beurteilung von SPR- bzw. Fluoreszenz-Daten eine theoretische Betrachtung der geometrischen Verhältnisse auf den Sensoroberflächen äußerst hilfreich war.

Auf Grund der Au(111)-Geometrie beträgt der Abstand zwischen zwei Alkylthiolaten etwa 0.5 nm. Für eine 1:1-Verdünnung ergibt sich somit ein Abstand für die Anker-moleküle und damit für die Kohlenhydratkopfgruppen von ca. 1.0 nm. Der Abstand der Kohlenhydratliganden zur SAM-Oberfläche, die durch reduktive Aminierung auf die Sensoroberfläche fixiert werden sollten, beträgt für den kurzen Ankerspacer etwa 1.2 nm. Beim langen Ankerspacer beträgt dieser Abstand ca. 1.8 nm (Abb. 52). Die Abbildung 53 veranschaulicht den Effekt der Verdünnung auf den Abstand der Anker-moleküle. Der Zuwachs an Raum zwischen zwei Funktionalitäten ist nicht linear. So beträgt der Abstand zwischen den Anker-molekülen bei einer 1:1-Verdünnung etwa 1 nm. Bei einer 4-fachen Verdünnung vervierfacht sich der Abstand nicht, sondern beträgt etwa 2.5 nm.

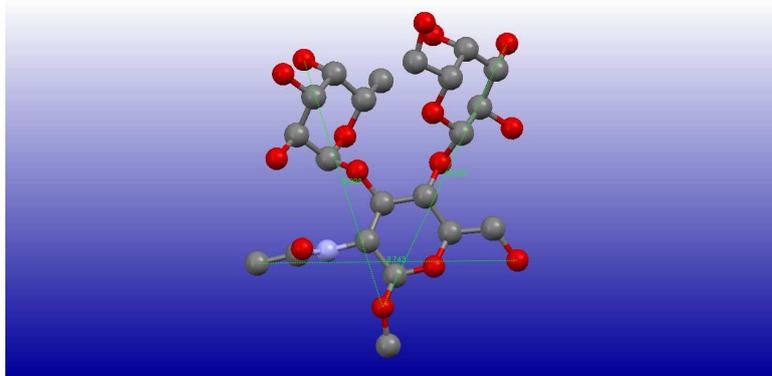


**Abb. 53.** Theoretischer Abstand zwischen Anker-molekülen (rote Kugeln) bei verschiedenen Verdünnungen von Anker-molekülen (rote Kugeln) und Verdünnungsmolekülen (blaue Kugeln).

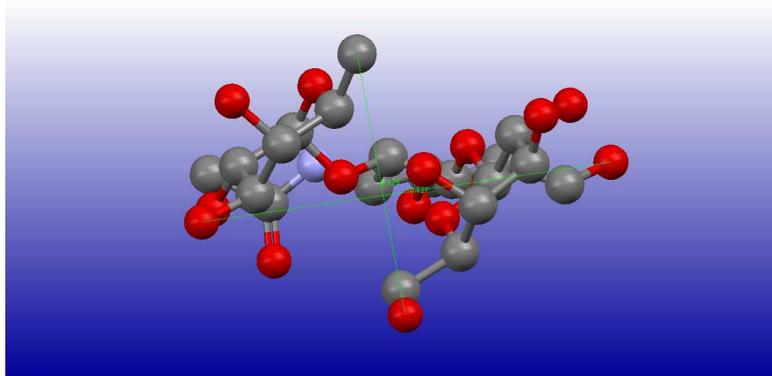
Bei solchen Überlegungen ist natürlich auch der Raumbedarf der Kohlenhydratkopfgruppe zu berücksichtigen. Die räumlichen Dimensionen der Kohlenhydratliganden lassen sich bequem aus Röntgenkristallstrukturen abschätzen. Für das  $\text{Le}^x$ -Trisaccharid war aus den

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

kristallographischen Daten ein Modell entwickelt worden, mit dem sich der Raumbedarf ermitteln ließ (Abb. 54 + 55).<sup>[62]</sup> Für ein Monosaccharid, wie die Mannose, ergab sich eine Ausdehnung von etwa 0.65 nm. Mit 0.87 nm war das *N*-Acetyl-glucosamin etwas größer.



**Abb. 54.** Schematische Darstellung der räumlichen Ausdehnung des  $Le^x$ -Trisaccharids aus Sicht der kristallographischen a-Achse.



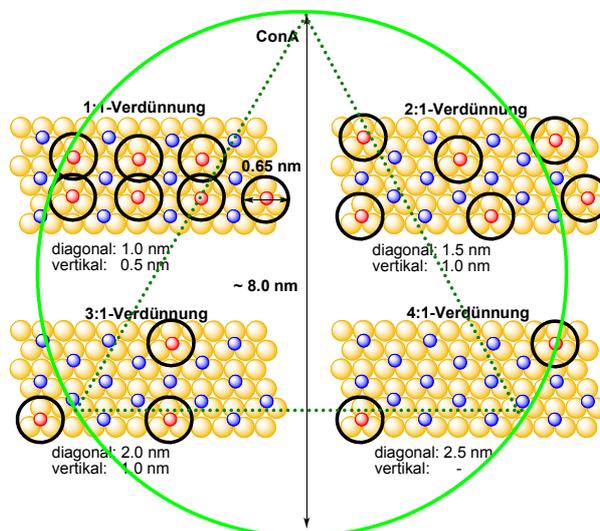
**Abb. 55.** Schematische Darstellung der räumlichen Ausdehnung des  $Le^x$ -Trisaccharids aus Sicht der kristallographischen c-Achse.

Als ungefähre Raumbedarf des  $Le^x$ -Trisaccharids konnte ca. 1 nm aus den kristallographischen Daten abgeschätzt werden.

Platzierte man diesen Raumbedarf bei verschiedenen Verdünnungen zunächst für die Mannose als Kreis zentriert über die Repräsentanten der Ankermoleküle in den schematischen Darstellungen der SAMs, war erkennbar, dass sich bei einer 1:1-Verdünnung die Kohlenhydratkopfgruppen sehr nahe kommen können (Abb. 56). Die Oberfläche wäre nahezu bedeckt. Es könnten Probleme bei der Erreichbarkeit der Bindungsstellen in einem Lectin wie ConA auftreten. Diese Zugänglichkeit der Bindungsstelle würde sich bereits bei einer 2:1-Verdünnung deutlich verbessern. Zieht man nun in Betracht, dass das Lectin ConA erheblich

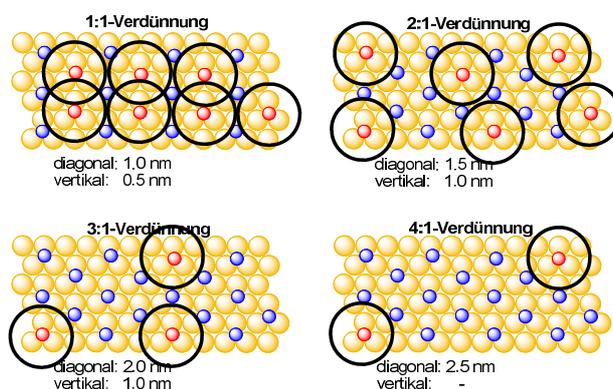
#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

größer ist als die Mannose-Kopfgruppe, so wird deutlich, dass ein Verlust der Multivalenz des Lectins erst bei größeren Verdünnungen von 1:10 oder 1:25 feststellbar wäre (Abb. 56, grüner Kreis: Ausmaß von ConA mit Durchmesser  $\sim 8.0$  nm und Abstand zwischen Bindungsstellen  $\sim 6.5$  nm (gestrichelte Linie)).<sup>[361]</sup>



**Abb. 56.** Theoretischer Platzbedarf der Mannose-Kopfgruppe (schwarze Kreise) im Verhältnis zur SAM-Verteilung (rote Punkte = Ankermoleküle, blaue Punkte = Verdünnungsmoleküle). Durchmesser (0.65 nm) abgeleitet aus der größten Ausdehnung im Modell und erhalten aus kristallographischen Daten sowie Dimensionen des Lectins ConA (grüner Kreis).

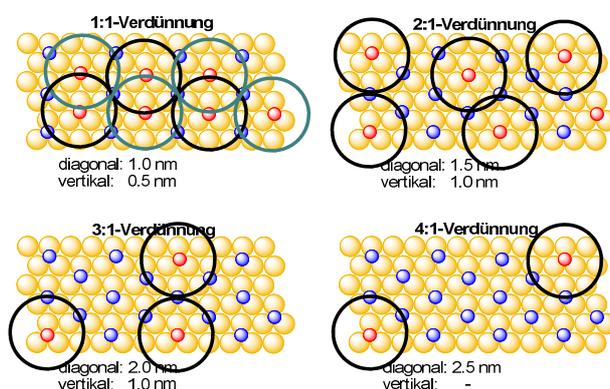
Bei der *N*-Acetylglucosamin-Kopfgruppe wäre der Platzbedarf derart groß, dass es bei einer 1:1-Verdünnung zu Abstoßungen kommen könnte. Auch bei einer 1:2-Verdünnung könnte noch ein sehr hoher Bedeckungsgrad erreicht werden (Abb. 57).



**Abb. 57.** Theoretischer Platzbedarf der *N*-Acetyl-Glucosamin-Kopfgruppe (schwarze Kreise) im Verhältnis zur SAM-Verteilung (rote Punkte = Ankermoleküle, blaue Punkte = Verdünnungsmoleküle). Durchmesser (0.87 nm) abgeleitet aus der größten Ausdehnung im Modell und erhalten aus kristallographischen Daten.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Noch drastischer fielen die Auswirkungen der Größe für das Le<sup>x</sup>-Trisaccharid aus. Selbst bei einer 1:2-Verdünnung drohen die Abstände zu gering zu werden, so dass eine spezifische Interaktion wegen sterischer Hinderung behindert werden könnte (Abb. 58). Ebenso wäre die Gefahr einer hohen Anzahl von Fehlstellen bei einer 1:1-Verdünnung gegeben. Diese Fehlstellen würden hier viele Aminofunktionen frei legen, die ungewollte, unspezifische Reaktionen mit Rezeptoren, Wasserstoffbrücken oder im Fall der Protonierung ionische Wechselwirkungen eingehen könnten. So würden die Messwerte einem erheblichen systematischem Fehler unterliegen.



**Abb. 58.** Theoretischer Platzbedarf der Le<sup>x</sup>-Kopfgruppe (schwarze Kreise) im Verhältnis zur SAM-Verteilung (rote Punkte = Anker-moleküle, blaue Punkte = Verdünnungsmoleküle). Durchmesser (1.0 nm) abgeleitet aus der größten Ausdehnung im Modell und erhalten aus kristallographischen Daten.

Basierend auf diesen theoretischen Betrachtungen wurden nach der unten vorgestellten Methode folgende SAMs aus den Anker-molekülen **159** (C4-NH<sub>2</sub>) und **161** (NH<sub>2</sub>), sowie den Verdünnungsmolekülen **156** (EG3) und **157** (EG6) hergestellt und für die SPR-Untersuchungen verwendet. Dabei sollte der Einfluss sowohl der Oberflächenkonzentration der Kohlenhydratliganden, gegeben durch die verschiedenen Verdünnungsverhältnisse, als auch der Abstand zur Sensoroberfläche, gegeben durch die Verwendung unterschiedlich langer Ankerspacer, untersucht werden (Tabellen 15 und 16).

**Tabelle 15.** Glyco-SAMs für die CPI-Untersuchungen.

	Anker-molekül	Verdünnungsmolekül	Verhältnis	Kohlenhydratkopfgruppe
<b>SAM 1<sup>a</sup></b>	-	<b>157</b>		
<b>SAM 2<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 25</b>	$\alpha$ -Mannopyranose
<b>SAM 3<sup>b</sup></b>	<b>161</b>	<b>157</b>	<b>1 : 25</b>	$\alpha$ -Mannopyranose

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

<b>SAM 4<sup>a</sup></b>	-	<b>156</b>	-	-
<b>SAM 5<sup>b</sup></b>	<b>161</b>	<b>156</b>	<b>1 : 25</b>	$\alpha$ -Mannopyranose
<b>SAM 6<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 1</b>	$\alpha$ -Mannopyranose
<b>SAM 7<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 2</b>	$\alpha$ -Mannopyranose
<b>SAM 8<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 4</b>	$\alpha$ -Mannopyranose
<b>SAM 9<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 10</b>	$\alpha$ -Mannopyranose
<b>SAM 10<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 2</b>	$\alpha$ -Glucopyranose
<b>SAM 11<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 2</b>	$\beta$ -Glucopyranose
<b>SAM 12<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 2</b>	$\beta$ -Maltose
<b>SAM 13<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 2</b>	$\beta$ -Galactospyranose
<b>SAM 14<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 25</b>	$\beta$ -Galactopyranose
<b>SAM 15<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 2</b>	2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -glucopyranose
<b>SAM 16<sup>b</sup></b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1 : 25</b>	2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -glucopyranose

a) SAM für die Referenzzelle; b) SAM für die aktive Zelle.

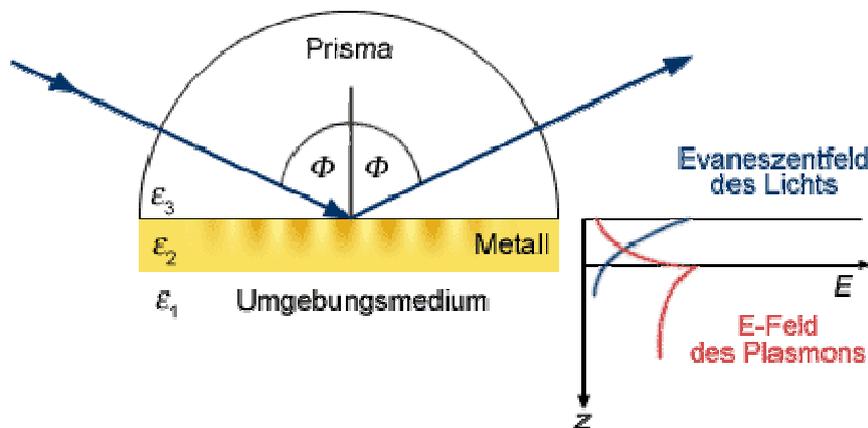
**Tabelle 16.** Glyco-SAMs für die CCI-Untersuchungen.

	Ankermolekül	Verdünnungsmolekül	Verhältnis	Kohlenhydratkopfgruppe
<b>SAM 17</b>	<b>159</b>	<b>157</b>	<b>1:1</b>	Le <sup>x</sup>
<b>SAM 18</b>	<b>159</b>	-	-	Le <sup>x</sup>
<b>SAM 19</b>	<b>161</b>	<b>157</b>	<b>1:1</b>	Le <sup>x</sup>
<b>SAM 20</b>	<b>161</b>	-	-	Le <sup>x</sup>
<b>SAM 21</b>	<b>161</b>	-	-	$\beta$ -Lactose
<b>SAM 22</b>	<b>161</b>	-	-	2-Acetamido-2-desoxy- $\beta$ -lactose
<b>SAM 23</b>	<b>161</b>	-	-	$\alpha$ -Idopyranose
<b>SAM 24</b>	<b>161</b>	-	-	$\alpha$ -Talopyranose

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Die hier verwendete Methode zur Untersuchung von CPI und CCI sollte die Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie sein, weil Glyco-SAMs hervorragende Plattformen zur Mimikrierung der Glycocalix und Gold-SAMs eine Grundlage dieser spektroskopischen Methode darstellen.

Die Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie (engl.: *surface plasmon resonance spectroscopy*, SPR) ist eine optische Methode, mit der Adsorptionsvorgänge an Metalloberflächen gemessen werden können. Wenn ein Lichtstrahl oberhalb eines kritischen Winkels  $\Theta_K$  von einem optisch-dichteren Medium (Glasprisma) in ein optisch-dünnere Medium (wässrige Lösung) übertritt, so wird er totalreflektiert, wobei die Intensität des reflektierten Lichtstrahls der des einfallenden Lichtstrahls entspricht. Ebenso erzeugt diese elektromagnetische Welle im optisch-dünnere Medium ein sog. evaneszentes elektrisches Feld. Ist der Glasträger jedoch mit einer dünnen Schicht eines Edelmetalls beschichtet, werden die Oberflächenplasma-Schwingungen, auch eine evaneszente Welle, angeregt (Abb. 59). Die Oberflächenplasma-Schwingungen können als Schwingungen der Leitungselektronen elektrischer Leiter um die positiv geladenen Atomrümpfe an der Oberfläche des Metalls angesehen werden. Die Quanten dieser Oberflächenplasma-Schwingungen nennt man Oberflächenplasmonen.



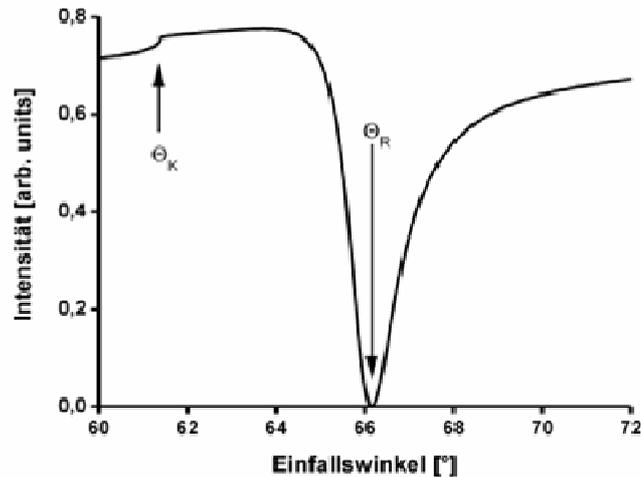
**Abb. 59.** Evaneszente E-Felder des totalreflektierten Lichts und des Oberflächenplasmons.

Weil zwischen diesen Schwingungen und dem elektrischen evaneszenten E-Feld des totalreflektierten Lichts Interferenz eintritt, kommt es zur Resonanz. Die Intensität des reflektierten Lichts wird dadurch abgeschwächt. Diese Abschwächung ist beim Resonanzwinkel  $\Theta_R$  am größten (Abb. 60).

Das evaneszente E-Feld der Oberflächenplasmonen reicht in das Umgebungsmedium hinein. Die Eindringtiefe dieses Feldes hängt von der Wellenlänge und dem Einfallswinkel des Lichts

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

ab. Der Resonanzwinkel  $\Theta_R$  hängt auch von den Brechungsindices der Medien ab. Bei gleichbleibendem Brechungsindex des Prismas wird  $\Theta_R$  also ausschließlich von Veränderungen an der Oberfläche des metallischen Mediums beeinflusst.<sup>[362]</sup>



**Abb. 60.** Reflexionskurve des Lichts; ab  $\Theta_K$  (kritischer Winkel) tritt Totalreflexion ein;  $\Theta_R$  ist der Resonanzwinkel.

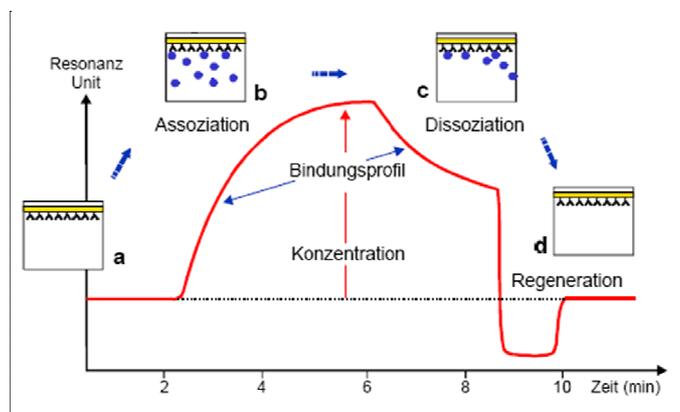
Im Jahr 1959 wurde dieses physikalische Prinzip erstmals von Turbadar beschrieben.<sup>[363]</sup> Weiterentwicklungen wurden von Otto<sup>[364, 365]</sup> und Kretschmann<sup>[366]</sup> vorgenommen. Seit Anfang der neunziger Jahre des letzten Jahrhunderts sind basierend auf diesem Prinzip von der Firma *Biacore* Sensorsysteme kommerziell erhältlich, mit denen leicht SPR-Messungen von biologischen Erkennungsprozessen durchgeführt werden können.<sup>[367]</sup>

Dabei werden vereinfacht ausgedrückt Sensorchips verwendet, die, wie DVDs, CDs oder Kassetten in HiFi-Geräte, in das Messinstrument einlegt und vollautomatisch mit präparierten Analytlösungen eluiert und analysiert werden. Diese Sensorchips bestehen aus einem Glasträger, auf den eine 50 nm dünne Goldschicht aufgetragen ist. Diese Goldschicht ist durch Thiolanker mit einer funktionalisierten Matrix beschichtet.<sup>[368]</sup> In diese Matrix kann nun der zu untersuchende Ligand über verschiedene chemische Methoden eingebettet werden.

Kommerziell erhältlich sind Sensoroberflächen mit Carboxygruppen terminierten Dextranmatrices in verschiedenen Schichtdicken (CM3-CM5, NHS-Aktivester-Immobilisierung von Aminen (Proteine)), mit Streptavidin terminierte Dextranmatrices (SA, Biotin-Affinitätsimmobilisierung), mit Nitrilotriessigsäure terminierte Dextranmatrices (NTA,  $Zn^{2+}$ -Polyhistidin-(His-Tag)-Immobilisierung), mit langkettigen Alkylthiolen (HPA, lipophile Einbettungsimmobilisierung) sowie unbeschichtete Goldoberflächen (Au, benutzerdefinierte

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Thiol-Immobilisierung).<sup>[369]</sup> Bei dem in dieser Arbeit verwendeten *Biacore T100* Gerät wird das Licht einer LED (~ 800 nm Wellenlänge) über einen festgelegten Bereich von Einfallswinkel und Ausfallswinkel auf der Sensoroberfläche totalreflektiert. Unter diesen Bedingungen ist die Eindringtiefe des resultierenden evaneszenten Feldes in die Analytlösung etwa 150 nm.<sup>[370]</sup> Bei Bindung des Analyten an den Liganden, der auf der Sensoroberfläche immobilisiert ist, ändert sich der Brechungsindex an der Sensoroberfläche. Diese Änderung verschiebt die Lage des Resonanzwinkels  $\Theta_R$  ( $\Theta_{R1} - \Theta_{R2} = \Delta\Theta_R$ ), was vom Gerät detektiert und aufgezeichnet wird.  $\Delta\Theta_R$  wird in Form von sog. *Response units* (RU) ausgedrückt. Dabei entsprechen 10,000 RU einer Änderung von  $\Delta\Theta_R = 1^\circ$ .<sup>[371]</sup> Die Abbildung 61 zeigt ein typisches SPR-Sensorgramm, wie es mit dem *Biacore*-Gerät erhalten wird.



**Abb. 61.** Typisches Sensorgramm, das von SPR-Bindungsexperimenten erhalten wird.

Der Durchfluss des Elutionspuffers bildet die Basislinie (a, Grundzustand). Beginnt dann nach Injektion die Elution des Analyten, zeigt die Resonanzkurve einen Anstieg, weil sich der Brechungsindex auf Grund der Bindung zwischen Liganden und Analyt an der Sensoroberfläche ändert (b, Assoziationsphase). Im Fall des Gleichgewichtszustands (Assoziation = Dissoziation) findet keine Änderung des RU-Signals mehr statt. Es wird ein um  $\Delta RU$  erhöhter Grundzustand erreicht (b  $\rightarrow$  c). Nach Beendigung der Analytinjektion nimmt die Response wegen der Dissoziation ab (c, Dissoziationsphase). Da die vollständige Dissoziation oft sehr lange dauert, wird in einem Regenerationschritt der Analyt durch die Injektion einer speziellen Lösung (Detergenz, sehr hoher oder sehr niedriger pH-Wert) von der Sensoroberfläche heruntergespült (d, Regenerationsphase). Nach diesem Waschschrift wird der Grundzustand schnell wieder erreicht. Anschließend kann eine erneute Analyse erfolgen. Die SPR-Technologie eignet sich im Gegensatz zu anderen Verfahren auch für Messungen von schwachen Wechselwirkungen ( $K_D > 0.1$  mM), wie sie bei Protein-

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Kohlenhydrat-Interaktionen vorliegen.<sup>[372]</sup> Dadurch ist es beispielsweise möglich, Lectin-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen zu untersuchen.<sup>[373]</sup>

Die Präparation von SPR-Sensorchips, wie sie hier vorgestellt wird, ist in großen Teilen neuartig. Deshalb wurde zur Evaluierung der Immobilisierungsmethode von Kohlenhydraten an Amino-SAMs bekannte Lectine, wie Concanavalin A, *ricinus communis* Agglutinin und Weizenkeimagglutinin (WGA, engl.: *wheat germ agglutinin*) in den Bindungstests verwendet und mit bekannten Systemen verglichen. Im Folgenden werden diese Lectine kurz vorgestellt. Grundsätzlich bezeichnet man als Lectin (von *lectus*, lat.: *legere*, auswählen) ein Kohlenhydrat-bindendes Protein, das kein Enzym oder Antikörper ist.<sup>[374, 375]</sup> Sie kommen in den meisten lebenden Organismen vor und übernehmen dort verschiedenste biologische Aufgaben (Beispiele siehe 1.1). Eine Doktorarbeit aus dem Jahr 1888, in der die Agglutination von roten Blutkörpern, hervorgerufen durch den Extrakt aus Castor-Bohnen, beschrieben wurde, wird oft zitiert als der Beginn der Lectinologie. Die dort beschriebene aktive Komponente war ein Protein, das als Ricin bezeichnet wurde.<sup>[376]</sup>

##### **Concanavalin A:**



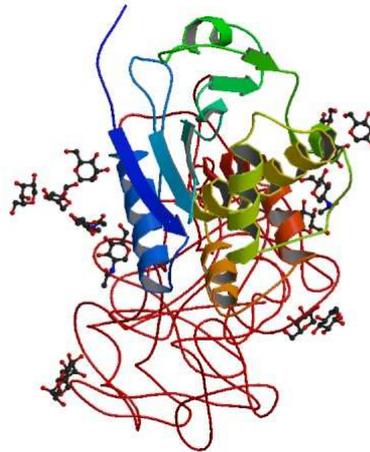
**Abb. 62.** Kristallstruktur von Concanavalin A.

Die Samen der Jack-Bohne (*Canavalia ensiformis*) enthalten als Hauptkomponente ein hämagglutinierendes Lectin namens Concanavalin A (ConA). ConA wurde als erstes Lectin überhaupt bereits 1919 in reiner Form von Sumner isoliert.<sup>[377]</sup> 1936 konnte ebenfalls Sumner nach konventioneller Proteinreinigung ConA kristallisieren und seine Kohlenhydratspezifität nachweisen.<sup>[378]</sup> Dieses Lectin war auch das erste, das durch Affinitätschromatographie gereinigt und bei dem die komplette dreidimensionale Struktur durch Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt wurde (siehe Abb. 62; ProteinDataBase-Code: 2cna).<sup>[379, 380]</sup> ConA weist die

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

höchste Affinität zu D-Mannose und dessen  $\alpha$ -Glycosiden auf. In Oligo- bzw. Polysacchariden ist die Affinität am höchsten, wenn sich der Mannose-Rest am nicht reduzierenden Ende des Kohlenhydrats befindet. Es werden aber auch innere Mannoseeinheiten erkannt. ConA bindet auch an terminale D-Glucose- und D-N-Acetylglucosamin-Reste, aber mit geringerer Affinität.<sup>[381]</sup> Es ist nicht-glycosyliert und besteht bei neutralen pH-Wert aus vier nicht-kovalent verbundenen Untereinheiten von 26.5 kDa, die sich zu einem tetraedrischen Tetramer zusammenlagern (Gesamtgewicht 106 kDa). Unterhalb von pH 5.6 dissoziiert es zu einem Dimer.<sup>[382]</sup> Jede Untereinheit besitzt eine Kohlenhydratbindungsstelle. ConA ist eine Metalloprotein mit einem  $\text{Ca}^{2+}$ - und einem  $\text{Mn}^{2+}$ -Ion pro Bindungsstelle.<sup>[383]</sup> Bei Demetallierung verliert es seine Aktivität. Als Tetramer hat es einen Durchmesser von etwa 8 nm und die Bindungsstellen haben eine Entfernung von ca. 6.5 nm.<sup>[361]</sup>

#### ***Ricinus communis* Agglutinin (RCA):**



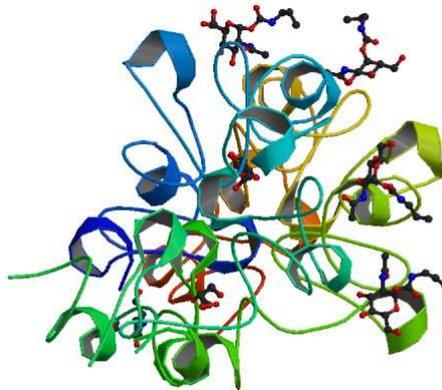
**Abb. 63.** Kristallstruktur von RCA.

Die Bohne des Wunderbaums (*Ricinus communis*) enthält zwei verwandte Lectine, *Ricin* und *Ricinus communis* Agglutinin (RCA). Das Erstgenannte ist eines der potentesten und tödlichsten Toxine. Es ist zehnmal giftiger als das Kobragift.<sup>[381]</sup> *Ricin* ist ein 60 kDa-Heterodimer aus zwei Untereinheiten A und B, die durch eine Disulfidbrücke miteinander verknüpft sind. Die Untereinheit A macht die Giftigkeit durch enzymatische Inaktivierung der Proteinbiosynthese aus, und die Untereinheit B trägt zwei Galactose-spezifische Kohlenhydratbindungsstellen. RCA ist ein Dimer von 120 kDa gleicher Untereinheiten A und B. Es ist aber nicht toxisch, da die A-Untereinheiten über eine Disulfidbrücke miteinander

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

verbunden sind. Diese S-S-Brücke führt zu einer leicht konformativen Änderung in der A-Untereinheit.<sup>[384, 385]</sup> Das Lectin RCA ist ein langgestrecktes Molekül (12 nm × 6 nm × 4 nm), in dem sich die Kohlenhydrat-bindenden Einheiten (Untereinheiten B) terminal befinden, während die Untereinheiten A zentriert sind (Abb. 63, ProteinDataBase-Code: 1AAI). Damit ergibt sich ein Abstand der Kohlenhydratbindungsstellen von maximal etwa 12 nm.<sup>[16, 386]</sup>

#### **Wheat Germ Agglutinin (WGA):**



**Abb. 64.** Kristallstruktur von WGA.

WGA ist ein GlcNAc-spezifisches Lectin, welches ursprünglich aus Weizenkeimen (*Triticum aestivum*) durch klassische Proteinreinigung erhalten werden konnte. Heute wird es über Affinitätschromatographie an immobilisiertem *N*-Acetylglucosamin gewonnen.<sup>[387]</sup> Die Kohlenhydratspezifität ist gegen *N*-Acetylglucosamin und dessen Oligomere gerichtet, wobei die festeste Bindung zu *N*-Acetylchitotriose erreicht wird. WGA bindet aber auch Sialinsäurehaltige Oligomere.<sup>[381]</sup> WGA besteht aus zwei identischen Untereinheiten von 17 kDa (Gesamtprotein: 34 kDa) und enthält keine Metallionen.<sup>[388]</sup> Jede Untereinheit enthält vier sich wiederholende Domänen von 43 Aminosäuren. Jede Domäne bildet eine Bindungsstelle, womit das gesamte Protein acht Bindungsstellen vorzuweisen hat.<sup>[389]</sup> WGA ist ausserordentlich stabil, da es sehr Cystein-reich ist und deshalb pro Untereinheit 16 Disulfidbrücken ausbildet.<sup>[390]</sup> WGA hat eine globuläre Quartärstruktur von etwa 6 nm Durchmesser, wobei die Bindungsstellen einen Abstand von 1.4 nm bis 5.3 nm haben (Abb. 64, ProteinDataBase-Code: WGC).<sup>[16, 391]</sup>

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

In dieser Arbeit wurden unbeschichtete Goldsensoroberflächen (SIA Kit Au, Biacore) verwendet, die durch SAM-Bildung funktionalisiert wurden. Konventionell benutzte CM5-Chips (Carboxymethylierte Dextranmatrix) weisen eine große Variation an Immobilisierungsmöglichkeiten sowohl von Proteinen als auch von leichten Liganden auf. Ferner zeigen sie einen hohen Grad an Unterdrückung nicht-spezifischer Bindungen, aber CM5-Chips haben auf Grund der Dextranmatrix einen Gel-artigen Charakter. Deshalb sind die auf ihnen erhaltenen Resulte gerade bei der Untersuchung von Proteinen als Analyt für Massentransporteffekte sehr anfällig.<sup>[392, 393]</sup> Ebenso könnten die  $\alpha$ -glycosidischen Bindungen der Glucoseeinheiten die Bindungen von ConA beeinflussen.

Demgegenüber ist ein weiterer Vorteil von benutzerdefinierten SAMs als Sensoroberfläche, dass ihre zweidimensionale Präsentation der Liganden die Zellmembran besser mimikriert als die dreidimensionale Dextranmatrix.<sup>[325, 394]</sup> Durch SAM-Bildung lässt sich hervorragend die Ligandendichte kontrollieren, wie von Konradsson *et al.* gezeigt werden konnte.<sup>[360]</sup> Whitesides *et al.* fanden bei ihren SAMs sogar eine bessere Unterdrückung der nicht-spezifischen Interaktionen im Vergleich zu CM5-Chips.<sup>[356]</sup> Hernaiz *et al.* hatten SPR-Bindungsstudien mit dem Lectin *Viscum album* Agglutinin (VAA) an CM5- und SAM-Au-Chips durchgeführt, die beide mit Lactosederivaten funktionalisiert waren. Beide Chipsysteme lieferten vergleichbare Ergebnisse.<sup>[102]</sup> Damit eignen sich Glyco-SAM-Sensoroberflächen hervorragend für die Untersuchung von Kohlenhydrat-basierten biologischen Erkennungsprozessen.

Die Glyco-SAM-Bildung wurde in zwei Schritten durchgeführt. Zunächst wurden die Ankerspacer mit den Verdünnungsspacers in verschiedenen Verhältnissen auf der Goldoberfläche fixiert. Dann wurden die Kohlenhydratkopfgruppen durch Iminbildung und anschließende reduktive Aminierung auf dem SAM installiert. Die Thiolat-Lösungen und die Benzaldehyd-Konjugate wurden durch Programmierung des Biacore-Gerätes injiziert und über die Goldsensoroberfläche eluiert. Diese Prozedur und die SAM-Bildung konnten *online* beobachtet und analysiert werden.<sup>[180, 395]</sup>

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

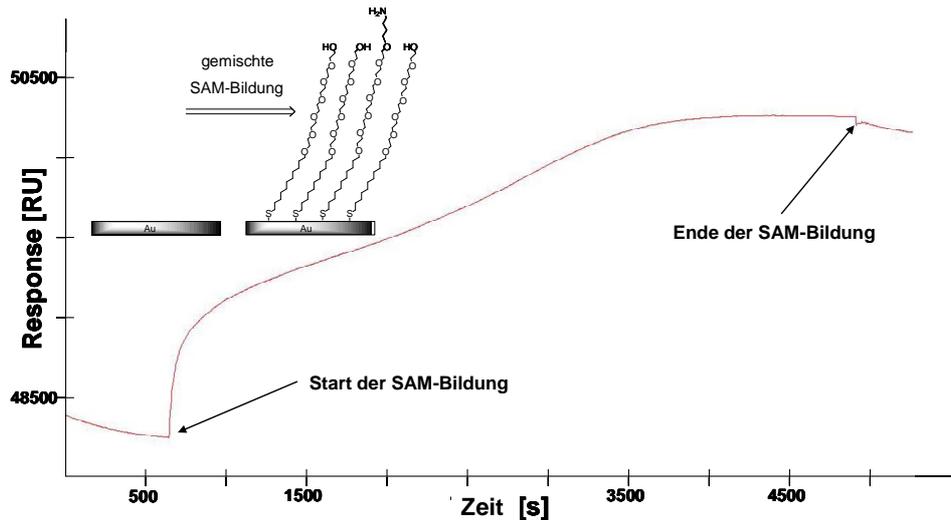
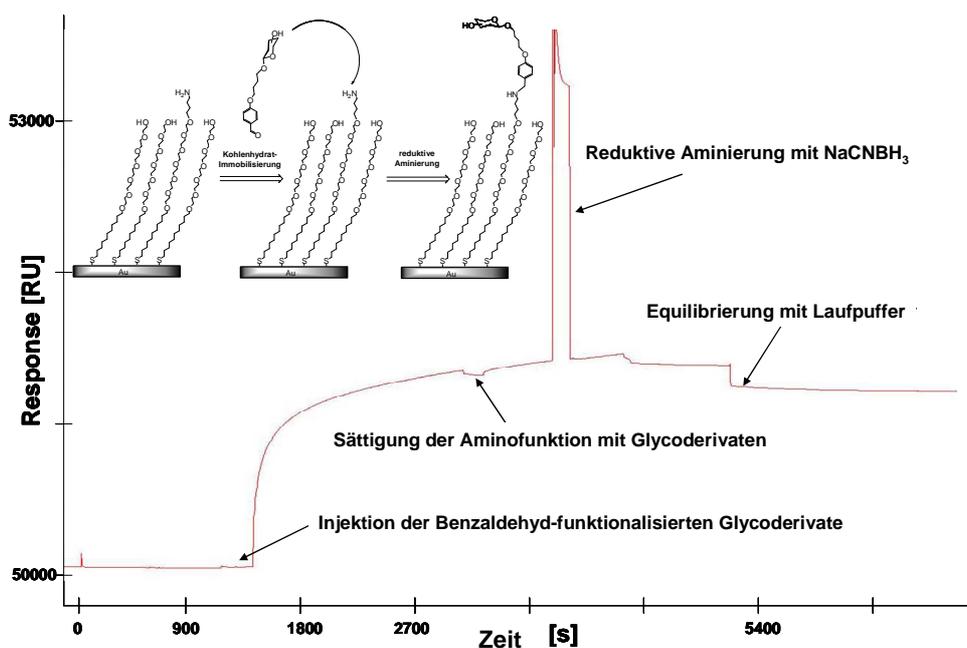


Abb. 65. *Online*-SAM-Bildung (SAM 2; 157/159, 25:1). Der Anstieg der Response [RU] signalisiert den Fortschritt der Bildung.

Für die SAM-Bildung mit den Amino-Linkern **159** ( $\text{H}_2\text{NC}_4\text{EG}_6\text{C}_{11}\text{SH}$ ) und **161** ( $\text{H}_2\text{NEG}_6\text{C}_{11}\text{SH}$ ) sowie den Verdünnungsmolekülen **156** ( $\text{EG}_3\text{C}_{11}\text{SAC}$ ) und **157** ( $\text{EG}_6\text{C}_{11}\text{SAC}$ ) wurden 100  $\mu\text{molare}$  Lösungen über die frisch gereinigten Goldsensoroberflächen für mindestens 45 Minuten eluiert (Details siehe experimenteller Teil). Die Abbildung 65 zeigt beispielhaft den Verlauf der Resonanzkurve, wie sie allgemein bei der SAM-Bildung erhalten wurde, am Beispiel des gemischten SAM 2 (**157** zu **159**, 25:1). Nach Start der Injektion stieg die Responsekurve sprunghaft an, was den Beginn der SAM-Bildung signalisierte. Zu Beginn wurde der SAM schnell gebildet ( $dRU/dt = \text{groß}$ ). Im Verlauf der SAM-Bildung flachte die Responsekurve ab. In dieser Phase wurden Fehlstellen im SAM aufgefüllt und Fehlerkorrekturen vorgenommen ( $dRU/dt = \text{klein}$ ). Nachdem dieser Prozess abgeschlossen war, ging die Resonanzkurve in den Sättigungsbereich über, der dadurch gekennzeichnet war, dass nur noch ein sehr geringer Zuwachs an Response zu verzeichnen war ( $dRU/dt \sim 0$ ). An dieser Stelle wurde die Injektion der Thiollösungen abgebrochen, und der neugebildete SAM wurde mit dem Laufpuffer für mehrere Minuten gewaschen. Die Differenz  $\Delta RU$  zwischen Start und Ende der SAM-Bildung ist proportional zur adsorbierten Thiolmenge und konnte zur Charakterisierung des SAMs herangezogen werden (s. u.).

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente



**Abb. 66.** Beispielhaftes Sensorgramm für die *Online*-Glyco-SAM-Bildung.

Unmittelbar danach wurde jeweils der entsprechende Glyco-SAM hergestellt (Abb. 66, typisches Sensorgramm für die *Online*-Glyco-SAM-Bildung). Die Verankerung der Glycostrukturen sollte dabei über Iminbildung zwischen der Aminooberfläche und den Benzaldehyd-Glycokonjugaten mit anschließender Reduktion durch Natriumcyanoborhydrid erreicht werden. Dass dieser Ansatz erfolgreich sein konnte, wurde an einfachen Systemen von Reinhoudt *et al.*<sup>[396]</sup> und Griesser *et al.*<sup>[397]</sup> gezeigt. Reinhoudt *et al.* bildeten Imine von Propanal, Pentanal, Decanal und Terephthalaldehyd aus ethanolischen Lösungen auf Amino-undecylthiol-SAMs. Durch Kontaktwinkelanalyse und Oberflächen-Infrarotspektroskopie (FT-IRRAS) konnte die Imin-Elongation des SAMs nachgewiesen werden. Im wässrig-sauren Milieu (pH 3.0) war die Iminbildung reversibel.<sup>[396]</sup> Die reverse Iminbildung konnte von Griesser *et al.* realisiert werden.<sup>[397]</sup> Dazu wurde auf einer Aldehyd-funktionalisierten Oberfläche (Propanal-Polymerplasma-beschichtete Silikonwafer) Poly-(L-lysine)-g-polyethylenglycol immobilisiert. Die Inkubation erfolgte in HEPES-Puffer (pH 7.4) für 30 Minuten. Anschließend wurde eine 30 mg/mL NaCNBH<sub>3</sub>-Lösung in HEPES-Puffer (10 mM) für die reduktive Aminierung zugegeben. Nach weiteren 30 Minuten wurde die Oberfläche gewaschen und der Erfolg der Immobilisierung durch Proteinabsorptionstests bestätigt.<sup>[397]</sup> Konzeptionell wurden diese Ansätze auf die in dieser Arbeit verfolgten Ziele mit Veränderungen übertragen. Zum einen erschien die Verwendung von aromatischen Aldehyden vorteilhafter, da diese Imin schneller bilden, und die Produkte durch induktive und mesomere Effekte stabilisiert werden können. Zum anderen erfolgten die Immobilisierungen

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

der Kohlenhydratkopfgruppe in einem SPR-Durchflusssystem, was eine *online*-Verfolgung des Immobilisierungsprozesses erlaubte. Die Abbildung 66 zeigt beispielhaft, wie dieser Prozess zu beobachten war. Die Lösungen (100  $\mu\text{M}$ ) der Benzaldehyd-funktionalisierten Kohlenhydratstrukturen in PBS-Puffer wurden jeweils bei einer Flussrate von 10  $\mu\text{L}/\text{min}$  für mindestens 30 Minuten über die Aminooberfläche eluiert. Bei Sättigung der Resonanzkurve wurde für die reduktive Aminierung über einen Zeitraum von vier Minuten bei 10  $\mu\text{L}/\text{min}$  eine  $\text{NaCNBH}_3$ -Lösung (100 mM) injiziert. Im Detail stellte sich die Immobilisierung wie folgt dar: Nach einer Equilibrierungsphase mit dem PBS-Laufpuffer wurden die Benzaldehyd-funktionalisierten Glycoderivate – gelöst in PBS-Puffer – injiziert und über die Amino-SAMs eluiert. Auch hier konnte zu Beginn ein sprunghafter Anstieg der Resonanzkurve festgestellt werden. In der Anfangsphase war die Iminbildung schnell ( $dRU/dt = \text{gro\ss}$ ). Eine Abflachung der Resonanzkurve deutete auf eine vollständige Belegung der Aminogruppen durch Iminbildung hin ( $dRU/dt = \text{klein bzw. } \approx 0$ ). Zu diesem Zeitpunkt wurde durch Injektion des Reduktionsmittels die reduktive Aminierung eingeleitet (extrem hohe Resonanz wegen der hohen Konzentration an Reduktionsmittel). Anschließend wurde mit dem Laufpuffer gewaschen. Die Differenz  $\Delta\text{RU}$  zwischen Start und Ende der Imin-Bildung ist proportional zur immobilisierten Kohlenhydratmenge.

Die Charakterisierung der Glyco-SAMs konnte durch die Analyse der Differenz der Resonanz  $\Delta\text{RU}$  erfolgen. Der Zuwachs um eine Resonanzeinheit RU entspricht der Immobilisierung bzw. Absorption von 1 pg Material pro  $\text{mm}^2$  Sensoroberfläche.<sup>[398]</sup> Die Grundfläche der Flusszelle ließ sich mit den Angaben des Herstellers zu  $1.5 \text{ mm}^2$  berechnen (Volumen/Höhe =  $0.06 \text{ mm}^3 / 0.04 \text{ mm}$ ).<sup>[370]</sup> Die Einheitszelle von Alkylthiolen auf Au(111) hat eine Größe von  $0.2165 \text{ nm}^2$  und enthält ein Molekül. So können bei einer perfekten Au(111)-Oberfläche maximal  $6.93 \cdot 10^{12}$  Anker- bzw. Verdünnungsmoleküle in der Flusszelle adsorbiert werden ( $1.5 \text{ mm}^2 = 1.5 \cdot 10^{12} \text{ nm}^2 / 0.2165 \text{ nm}^2$ ). Mit der Avogadrozahl  $N_A$  ergibt sich eine maximale Stoffmenge pro Flusszelle von  $1.15 \cdot 10^{-11} \text{ mol}$  bzw. 11.5 pmol. Für die Referenzflusszelle mit dem **SAM 1** (Verdünnungsmolekül **157**, Mol.-gew. des Thiolats  $M = 467.68 \text{ g/mol}$ ) ergab die Berechnung der maximal-adsorbierbaren Masse einen Wert von 5380 pg, was einem  $\text{RU}_{\text{Max}}$  von 5380 RU entsprach. Für die Berechnung von  $\text{RU}_{\text{Max}}$  der gemischten SAMs wurde ein durchschnittliches Molekulargewicht zu Grunde gelegt. Beispielhaft ergab sich für den **SAM 2** (1:25 = **159/157**) ein Molekulargewicht von 470.40 g/mol ( $[(1 \cdot 538.38 \text{ g/mol}) + (25 \cdot 467.68 \text{ g/mol})] / 26 = 470.40 \text{ g/mol}$ ). Damit ergab sich für  $\text{RU}_{\text{Max}}$  ein Wert von 5410 RU. Die so erhaltenen Werte für  $\text{RU}_{\text{Max}}$  sind in den Tabellen 17 und 18 zusammengefasst.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

**Tabelle 17.** Charakteristische Eigenschaften und Zusammensetzung der Glyco-SAMs für CPI-Untersuchungen.

SAM	Theor. Anteil Aminolinker	Kopfgruppe	$\Delta RU_{SAM}$ ( $RU_{Max}$ )*	$\Delta RU_{GlycoSAM}$ ( $RU_{Max}$ )*
<b>1<sup>a</sup></b>	-	-	2540 (5380) 47.2%	-
<b>2<sup>b</sup></b>	~ 4% <sup>c</sup>	$\alpha$ -Man	2310 (5410) 42.9%	210 (70) 12%
<b>3<sup>b</sup></b>	~ 4% <sup>d</sup>	$\alpha$ -Man	2410 (5370) 44.9%	200 (75) 11%
<b>4<sup>a</sup></b>	-	-	1510 (3860) 39.1%	-
<b>5<sup>b</sup></b>	~ 4% <sup>e</sup>	$\alpha$ -Man	1480 (3920) 37.8%	170 (60) 11%
<b>6<sup>b</sup></b>	~ 50% <sup>c</sup>	$\alpha$ -Man	2550 (5785) 44.1%	1450 (900) 80%
<b>7<sup>b</sup></b>	~ 33% <sup>c</sup>	$\alpha$ -Man	2510 (5650) 44.4%	1130 (600) 62%
<b>8<sup>b</sup></b>	~ 20% <sup>c</sup>	$\alpha$ -Man	2390 (5540) 43.1%	780 (355) 44%
<b>9<sup>b</sup></b>	~ 9% <sup>c</sup>	$\alpha$ -Man	2200 (5450) 40.4%	420 (150) 26%
<b>10<sup>b</sup></b>	~ 33% <sup>c</sup>	$\alpha$ -Glc	2270 (5650) 40.2%	990 (545) 60%
<b>11<sup>b</sup></b>	~ 33% <sup>c</sup>	$\beta$ -Glc	2345 (5650) 41.8%	585 (560) 58%
<b>12<sup>b</sup></b>	~ 33% <sup>c</sup>	$\beta$ -Malt	2630 (5650) 46.5%	1470 (915) 53%
<b>13<sup>b</sup></b>	~ 33% <sup>c</sup>	$\beta$ -Gal	2480 (5650) 43.9%	1115 (595) 62%
<b>14<sup>b</sup></b>	~ 4% <sup>c</sup>	$\beta$ -Gal	2530 (5410) 46.8%	190 (75) 10%
<b>15<sup>b</sup></b>	~ 33% <sup>c</sup>	$\beta$ -GlcNAc	2490 (5650) 44.1%	1310 (665) 65%
<b>16<sup>b</sup></b>	~ 4% <sup>c</sup>	$\beta$ -GlcNAc	2550 (5410) 47.1%	240 (85) 11%

a) SAM für die Referenzzelle; b) SAM für die aktive Zelle; c) Spacer **159/157**; d) Spacer **161/157**; e) Spacer **161/156**; \*Werte gerundet.

Vergleicht man die tatsächlich erhaltenen Werte für  $\Delta RU_{SAM}$  der SAM-Bildung mit den theoretischen Werten  $RU_{Max}$ , so ergibt sich eine akkurate SAM-Bildung je näher  $\Delta RU_{SAM}$  an  $RU_{Max}$  war. Je akurater wiederum die SAM-Bildung ausfiel, desto weniger Fehlstellen sollte es im SAM geben. Die prozentuale Abweichung vom theoretischen Wert konnte als Qualitätsmerkmal des SAM gedeutet werden. In der Tabelle 17 sind die Werte von  $\Delta RU_{SAM}$ ,  $RU_{Max}$  und deren prozentualer Belegungsgrad für die einzelnen SAMs, wie sie für die Untersuchung von CPIs hergestellt wurden, aufgelistet. Grundsätzlich wichen alle  $\Delta RU_{SAM}$

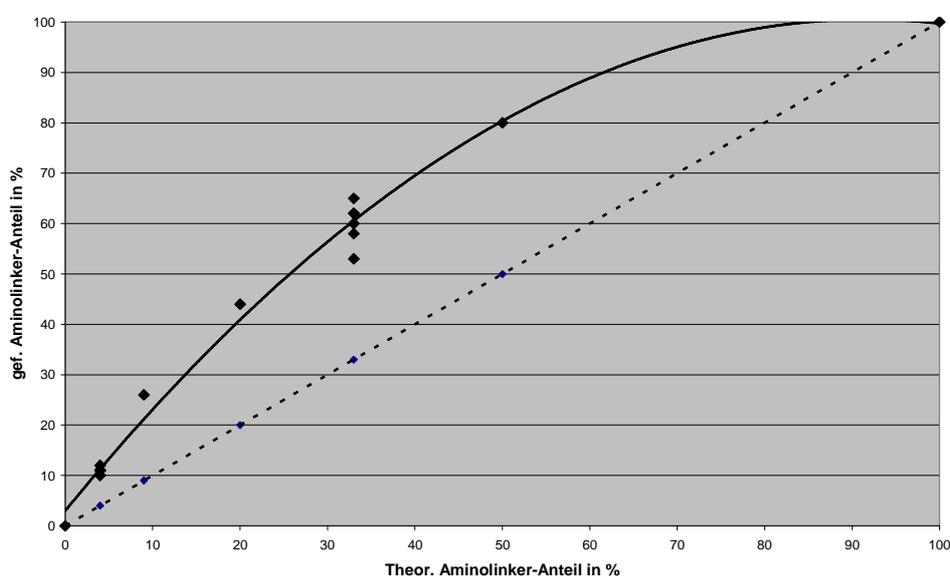
#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

mit 37.8% bis 47.2% erheblich vom theoretischen Wert ab. Dieses Ergebnis konnte zum einen mit einer hohen Zahl an Fehlstellen im SAM und/oder mit zu großen Ungenauigkeiten in den Annahmen zur Berechnung von  $RU_{\text{Max}}$  erklärt werden. Der Tabelle 17 ist zu entnehmen, dass die SAMs untereinander verglichen eine weitgehende Homogenität in der Abweichung zum perfekten SAM aufwiesen. Deshalb waren die Ergebnisse der CPI-Bindungsstudien verlässlich und gut miteinander vergleichbar. Ebenso konnte festgestellt werden, dass die SAMs mit dem langen Verdünnungsmolekül **157** (Hexaethylenglycol) einen besseren Belegungsgrad von etwa 45% aufwiesen als die SAMs, die mit dem kurzen Verdünnungsmolekül **156** (Belegungsgrad  $\sim 38\%$ ) hergestellt wurden (Tabelle 17, 1-5). Deshalb wurden für die CPI-Untersuchungen SAMs mit dem Hexaethylenglycolderivat **157** als Verdünnungsmolekül verwendet. Darüber hinaus hatten die gemischten SAMs einen geringeren Belegungsgrad als die reinen SAMs der Referenzflusszellen. So hatte die **SAM 1** mit dem Verdünnungspacer **157** einen Belegungsgrad von 47.2 % gegenüber der gemischten **SAM 2** mit 42.9% (Tabelle 17, 1 und 2). Auch mit dem kurzen Verdünnungspacer **156** konnte die gleiche Tendenz beobachtet werden (**SAM 4** = 39.1% zu **SAM 5** = 37.8% (Tabelle 17, 4 und 5)).

Die durch reduktive Aminierung erhaltene Glyco-SAM-Bildung wurde analog analysiert. Zum Beispiel hätte die **SAM 2** einen theoretischen Anteil von Aminogruppen von etwa 4% (**159** zu **157**;  $1/25 \approx 4\%$ ) (Tabelle 17, 2). Bei der erhaltenen Resonanz von 2310 RU entsprach dies einer adsorbierten Stoffmenge von 4.91 pmol ( $2310 \text{ RU} = 2310 \text{ pg}$ ;  $2310 \text{ pg}/470.4 \text{ g/mol} = 4.91 \text{ pmol}$ ). Bei 4% Aminolinker-Anteil hätten maximal 0.196 pmol Benzaldehydfunktionalisiertes Mannosylglycosid **55** durch Iminbildung immobilisiert werden können, also 70 pg ( $0.196 \text{ pmol} \times 356.37 \text{ g/mol} = 70 \text{ pg}$ ). Das entspräche einer  $RU_{\text{Max}}$  von 70 RU. Tatsächlich wurde festgestellt, dass  $\Delta RU_{\text{GlycoSAM}}$  mit 210 RU dreimal höher als erwartet war. Dieser Befund war nicht darauf zurückzuführen, dass es zu unspezifischer Immobilisierung des Benzaldehydderivates kam, sondern auf eine ungleichmäßige Verteilung zwischen Aminolinkeranteil in Lösung und in der SAM. Dieses Phänomen ist bekannt und weitläufig diskutiert wurden. Die Einbettung von verschiedenen Thiolen in die SAM aus einer Mischung von Thiolen hängt von der chemischen Struktur der Thiole ab, weshalb es zu dieser Ungleichverteilung kam. <sup>[399-401]</sup> Im hier vorliegenden Fall waren alle Verhältnisse von Anker-molekül zu Verdünnungsmolekül in der SAM größer als in der Lösung, aus denen die SAMs hergestellt wurden. Der Anteil an Aminolinker war bei Systemen mit 1/25-Verdünnung im SAM mit 10 – 12% etwa dreimal so hoch wie erwartet (Tabelle 17, 2, 3, 5, 14 und 16). Bei einer 1/2-Verdünnung war der Anteil am Aminolinker im SAM etwa doppelt so

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

hoch wie zu erwarten war (Tabelle 17, 7, 10 – 13 und 15). Der Bedeckungsgrad der Kohlenhydratkopfgruppe hing aber auch von der Größe des Saccharids ab. So war der Bedeckungsgrad bei der Maltose-Kopfgruppe mit 53% geringer als bei den Monosacchariden, bei denen Bedeckungsgrade von 58% bis 65% für den 1/2-SAM gefunden wurden (Tabelle 17, 7, 10 – 13 und 15). Die Abbildung 67 zeigt einen Plot von Aminolinkeranteil in der Lösung gegen Aminolinkeranteil im SAM. Ein solcher Verlauf wurde auch von Whitesides *et al.* für ähnliche Alkylthiolpaare gefunden wie sie hier eingesetzt wurden.<sup>[356]</sup> Damit war davon auszugehen, dass es sich beim Bedeckungsgrad der Kohlenhydratkopfgruppen nicht um einen systematischen Fehler handelte, sondern um ein Charakteristikum des Spacersystems. Dieses Ergebnis konnte als Diskussionsgrundlage für die CPI-Untersuchungen genutzt werden.



**Abb. 67.** Plot von Aminolinkeranteil in Lösung gegen Aminolinkeranteil in der SAM (feste Linie = gefunden; gestrichelt = theoretisch).

Für die CCI-Untersuchungen wurden die SAMs **SAM 17** bis **SAM 24** hergestellt (Tab. 18; 17-24). Da CCIs in biologischen Systemen ausschließlich in und zwischen sogenannten *carbohydrate micro domains* bzw. *glycosphingolipid patches* vorkommen, in denen die Kohlenhydratkopfgruppen sehr eng aneinander gelagert sind (siehe Einleitung), wurden in dieser Arbeit fast nur reine Amino-funktionalisierte SAM für die CCI-Untersuchungen benutzt (Tab. 18; 18, 20-24). Mit den SAMs **SAM 17** und **SAM 19** sollte jedoch untersucht werden, welchen Einfluss eine 1/1-Verdünnung des Aminolinkers zum einen auf den Bedeckungsgrad an Le<sup>x</sup>-Kopfgruppen und zum anderen auf die bekannte Le<sup>x</sup>-Le<sup>x</sup>-CCI hatte. Auch hier war zu erkennen, dass reine SAMs (**SAM 18** und **20**) gegenüber den gemischten

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

SAMs (**SAM 17** und **19**) einen höheren Belegungsgrad (45.8% zu 44.6% bzw. 49.3% zu 45.2%) vorzuweisen hatten. Ebenfalls war der Bedeckungsgrad der Le<sup>x</sup>-Kopfgruppe in den gemischten SAMs größer als der Aminolinkeranteil in den Thiollösungen. Allerdings wurden hier geringere Verhältnisse gefunden als für die Monosaccharide in Tabelle 18. Die Ursache hierfür war in dem größeren Platzbedarf der Trisaccharide gegenüber den Monosacchariden zu finden. Bei den reinen SAMs waren die Bedeckungsgrade für die Le<sup>x</sup>-Köpfen mit 89% bzw. 92% zu 100% wegen sterischer Hinderung geringer als erwartet (Tabelle 18; 18 und 20). Mit 95% ( $\beta$ -Lac, **SAM 21**) und 93% ( $\beta$ -LacNAc, **SAM 22**) war der Bedeckungsgrad für die Disaccharide schon besser, und für die Monosaccharide  $\alpha$ -Idose (99%, **SAM 23**) und  $\alpha$ -Talose (98%, **SAM 24**) konnte die Belegung der Aminogruppen als nahezu vollständig angesehen werden.

**Tabelle 18.** Charakteristische Eigenschaften und Zusammensetzung der Glyco-SAMs für CCI-Untersuchungen.

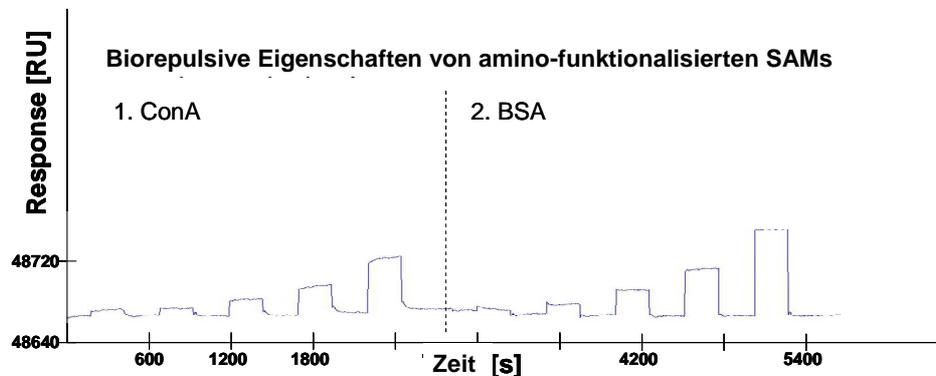
SAM	Theor. Anteil Aminolinker	Kopfgruppe	$\Delta RU_{\text{SAM}}$ ( $RU_{\text{Max}}$ )*	$\Delta RU_{\text{GlycoSAM}}$ ( $RU_{\text{Max}}$ )*
<b>17<sup>a</sup></b>	50% <sup>b</sup>	Le <sup>x</sup>	2580 (5785) 44.6%	2715 (1810) 75%
<b>18<sup>a</sup></b>	100% <sup>c</sup>	Le <sup>x</sup>	2835 (6190) 45.8%	3320 (3715) 89%
<b>19<sup>a</sup></b>	50% <sup>d</sup>	Le <sup>x</sup>	2430 (5370) 45.2%	2825 (1835) 77%
<b>20<sup>a</sup></b>	100% <sup>e</sup>	Le <sup>x</sup>	2650 (5370) 49.3%	3685 (4005) 92%
<b>21<sup>a</sup></b>	100% <sup>e</sup>	$\beta$ -Lac	2580 (5370) 48.0%	2730 (2870) 95%
<b>22<sup>a</sup></b>	100% <sup>e</sup>	$\beta$ -LacNAc	2570 (5370) 47.9%	2865 (3080) 93%
<b>23<sup>a</sup></b>	100% <sup>e</sup>	$\alpha$ -Ido	2590 (5370) 48.2%	1960 (1980) 99%
<b>24<sup>a</sup></b>	100% <sup>e</sup>	$\alpha$ -Tal	2620 (5370) 48.8%	1960 (2000) 98%

a) SAM für die aktive Zelle; b) Spacer **159/157**; c) Spacer **159**; d) Spacer **161/157**; e) Spacer **161**; \*Werte gerundet.

Nach dieser Prozedur wurden insgesamt 12 Sensorchips hergestellt und charakterisiert. Bevor mit den eigentlichen CPI- und CCI-Untersuchungen begonnen wurde, wurden zunächst die biorepulsiven Eigenschaften der Referenzflusszelle und die Spezifität der aktiven Flusszelle untersucht. Die Reproduzierbarkeit der Messwerte wurde ebenfalls geprüft, indem auf einem Sensorchip zwei identische Referenzflusszellen (Fc 1 und 3, **SAM 1**) und aktive Flusszellen (Fc 2 und 4, **SAM 2**) hergestellt und miteinander verglichen wurden. Mit diesem Testchip

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

wurde zunächst die Biorepulsivität der unfunktionalisierten Referenzflusszelle mit der **SAM 1** (Spacer **157**, Hexaethylenglycol) untersucht. Unter Biorepulsivität versteht man die Eigenschaft von Oberflächen, die unspezifische Adhäsion von biologisch-organischem Material, wie Proteinen aber auch Bakterien, Viren und Pilzen zu verhindern. Unspezifische Adhäsion unter anderem von Bakterien führt zu sogenannten Biofilmen auf künstlichen medizinischen Oberflächen wie Prothesen oder Kathetern und stellt eine zunehmende Gefahr für den Patienten dar. Aber auch in der Untersuchung von biologischen Prozessen durch Methoden wie SPR, ELISA, sowie Fluoreszenz-Microarrays kann unspezifische Adhäsion bzw. Wechselwirkung zur Verfälschung von Messwerten führen. In diesem Bereich haben sich Oligo- bzw. Polyethylenglycol-Spacer, wie in dieser Arbeit verwendet wurden, als hervorragende Strukturelemente erwiesen, um unspezifische Interaktionen zu minimieren.

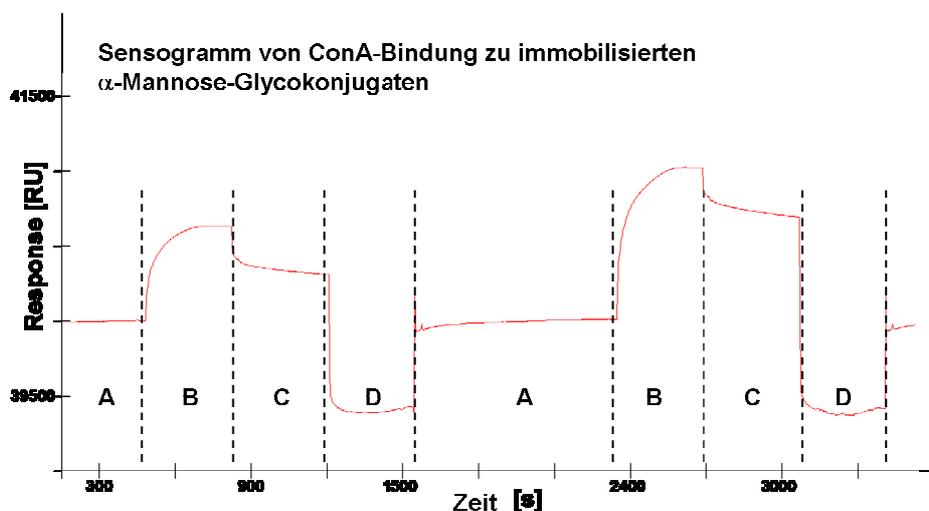


**Abb. 68.** Sensogramm der Referenzflusszelle mit ConA (6.25 – 100  $\mu$ M, 1. Kurvenschar) und BSA (6.25 – 100  $\mu$ M, 2. Kurvenschar).

Die Abbildung 68 zeigt das Sensogramm der Referenzflusszelle, die mit der **SAM 1** belegt wurde. Dieses Sensogramm wurde durch fünfminütige Elution von ConA (1. Kurvenschar) und BSA (2. Kurvenschar) mit Konzentrationen von 6.25  $\mu$ M bis 100  $\mu$ M erhalten und zeigte die biorepulsiven Eigenschaften dieser SAM. Die Resonanzkurven zeigten den typischen „Kastenverlauf“, wie er zu beobachten ist, wenn die Sensoroberflächen unspezifische Bindung annähernd vollständig unterdrückt. Diese Resonanz wurde durch Brechungsindex-Unterschiede zwischen Analytlösung und Elutionspuffer hervorgerufen. Unspezifische Bindung würde einen Verlauf erzeugen, der ein typisches „echtes“ Bindungsprofil mit Assoziations- und Dissoziationsphase zeigen würde (vgl. Abb. 68 und 69). Das kastenförmige Aussehen der Resonanzkurven kam ausschließlich durch Konzentrationsunterschiede zwischen Laufpuffer und Injektionslösung zustande. In der Kurvenschar der ConA-Injektionen war jedoch ein geringer Anteil an unspezifischer Bindung vorhanden. Nach dem sprunghaften Anstieg der Resonanzkurve war gerade bei hohen Konzentrationen eine

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Assoziations- oder Bindungsphase durch kontinuierlichem Zuwachs der RU erkennbar.

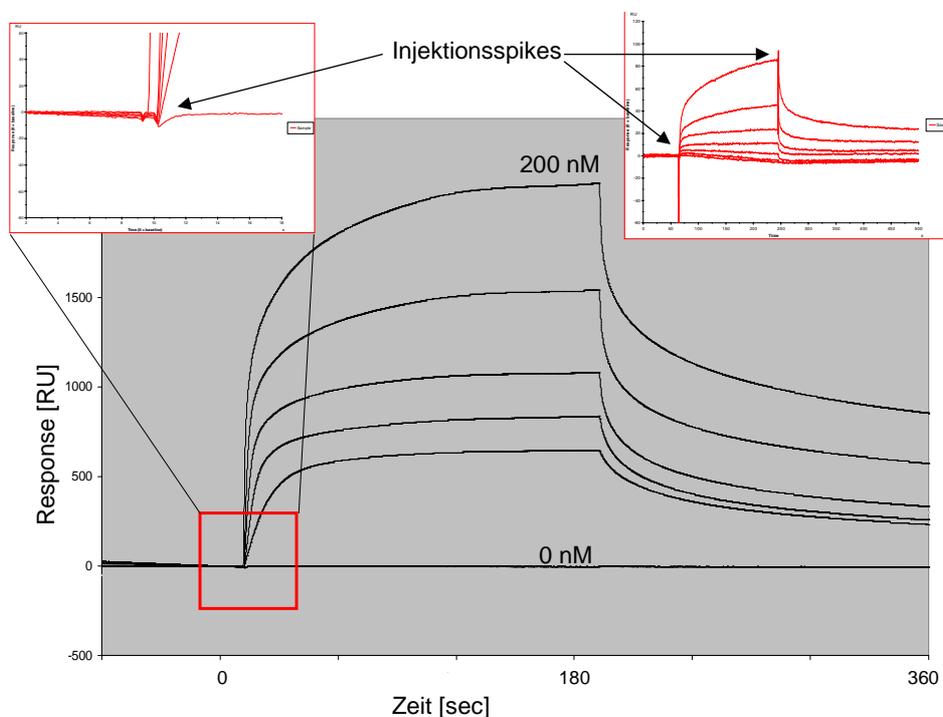


**Abb. 69.** Bindungsstudie von ConA zur Mannopyranosid-funktionalisierten SPR-Sensoroberfläche. A: Equilibrierungsphase; B: Assoziation (1. 50  $\mu$ M ConA, 2. 100  $\mu$ M ConA); C: Dissoziation; D: Regeneration.

Die aktive Zelle, die mit der **SAM 2** ( $\alpha$ -Man, ca. 10% Oberflächenbelegung) belegt wurde, zeigte den typischen Bindungsverlauf für spezifische Bindung (Abb. 69, hier ConA-Bindung an  $\alpha$ -Man-Oberfläche). In der Basislinien-Phase **A** wurde mit dem Laufpuffer eluiert, wobei die Resonanzkurve konstant blieb. Nach dem Start der Analyt-Injektion stieg die Resonanzkurve auf Grund aktiver Bindung von ConA zur  $\alpha$ -Mannose-funktionalisierten Sensoroberfläche. In dieser Assoziationsphase **B** wurde nach längerer Injektionszeit der Gleichgewichtszustand zwischen Bindung und Dissoziation erreicht. Die Resonanzkurve blieb erneut konstant ( $dRU/dt = 0$ ). Nach Beendigung der Injektion des Analyten (ConA) begann die Dissoziationsphase **C**. Sie war dadurch gekennzeichnet, dass nach schneller Anfangsdissoziation die Resonanzkurve nur sehr langsam abfiel. Um schneller den Anfangszustand zu erreichen, wurde die Regenerationsphase **D** durch die Injektion einer 0.1%-igen SDS-Lösung eingeleitet. War die Regeneration abgeschlossen, stellte sich in der Equilibrierungsphase **A** der Ausgangszustand des Sensorchips wieder ein. Ein neuer Bindungszyklus **B-C-D** konnte durchlaufen werden. Als Negativkontrolle wurde auf gleiche Weise die Elution von BSA (engl.: *bovine serum albumin*) untersucht. Der Resonanzkurvenverlauf zeigte ausschließlich Massen-bedingte Brechungsindex-Änderungen (Daten nicht gezeigt). So konnte die Spezifität des Sensorchips bestätigt werden. Um die Analysendaten von unspezifischen Bindungsanteilen und Massen-bedingten Brechungsindex-Änderungen zu bereinigen, werden in der SPR-Spektroskopie sogenannte

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Differenzsensorgramme zur Bestimmung der kinetischen und thermodynamischen Daten von Bindungsereignissen verwendet. Diese Differenzsensorgramme werden gebildet, indem das Signal der Referenzzelle (Hintergrundsignal) von dem der aktiven Zelle (Bindungssignal) abgezogen wird (Abb. 70).



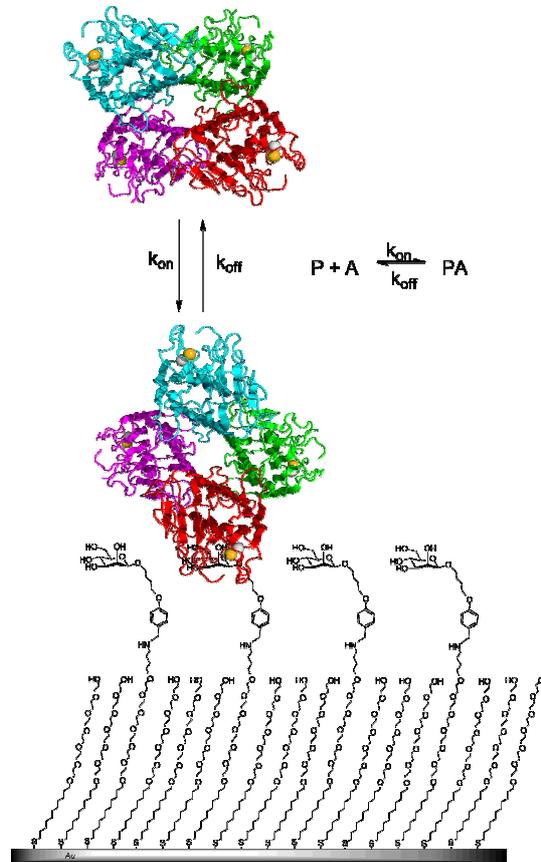
**Abb. 70.** Differenzsensor der ConA-Bindung (12.5 nM – 200 nM) zur Mannopyranosid-funktionalisierten SPR-Sensoroberfläche erhalten durch Substraktion des Referenzsignals **SAM 1** vom Bindungssignal **SAM 2**.

Konstruktionsbedingt entstehen bei der Differenzbildung sogenannte Injektionsspitzen, weil die Referenz- und aktive Zelle leicht zeitlich versetzt von der Analytlösung durchflossen werden. Diese Spikes sind besonders stark ausgebildet, wenn ein großer Unterschied im Brechungsindex zwischen Laufpuffer und Injektionslösung besteht. Die Auswirkungen können bei der Analyse von kleinen Molekülen, wie Abbildung 70 (kleines Fenster rechts) zeigt, ziemlich groß sein. In dieser Arbeit konnten die Spikes dadurch minimiert werden, dass der Analyt im Laufpuffer gelöst wurde. Die Ausprägung der Injektionsspitzen war in den Differenzsensorgrammen nur bei starker Vergrößerung der Region zu Beginn der Injektion zu erkennen (Abb. 70, kleines Fenster links).

Die Datenanalyse mit der *Biacore T100 Evaluation*-Software konnte keine befriedigenden Ergebnisse liefern. Die Kurvenanpassung, basierend auf einem 1:1-Bindungsmodells (*one site binding model*), lieferte sehr große  $\chi^2$ -Werte, was für ein unkorrektes Bindungsmodell sprach. Deshalb wurde zur Ermittlung der thermodynamischen Dissoziationskonstanten  $K_D$

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

für die Analyse der Bindungsdaten eine lineare Regression des Scatchard-Plots durchgeführt. Die Rezeptor-Ligand-Wechselwirkung, in den vorliegenden Fällen fast ausschließlich Protein – immobilisierte Glycokonjugate, kann beschrieben werden als:



**Abb. 71.** Schematische Darstellung der Rezeptor-Liganden-Wechselwirkung.

Wobei R die Probe bzw. der Rezeptor (z.B. Protein, Antikörper, Kohlenhydrat oder Glyconanopartikel), L der Analyt bzw. Ligand (z. B. anderes Protein, kleine Moleküle, immobilisierte Kohlenhydrate ect.) und RL der Rezeptor-Ligand-Komplex ist. Diese Wechselwirkung wird durch die Geschwindigkeitsrate der Assoziation  $k_{on}$  (Einheit:  $M^{-1}s^{-1}$ ) sowie der Geschwindigkeitsrate der Dissoziation  $k_{off}$  (Einheit:  $s^{-1}$ ) beschrieben. Für den Gleichgewichtszustand, also wenn die gleichen Mengen an Probe assoziieren sowie dissoziieren, ist das Verhältnis der Konzentration des Rezeptor-Ligand-Komplex  $[R*L]$  zum Produkt aus der Konzentration des freien Rezeptors  $[R]$  und der Konzentration des freien Liganden  $[L]$  konstant. Diese Konstante wird als Affinitäts- bzw. Assoziationskonstante  $K_A$  bezeichnet:

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

$$K_A = \frac{[RL]}{[R]^*[L]} \quad (1)$$

In der Biochemie wird häufig die Dissoziationskonstante  $K_D$  zur Beschreibung von Bindungsstärken verwendet. Sie bezieht sich auf die Rückreaktion und ist deshalb reziprok zur Assoziationskonstanten und beschreibt ebenfalls das Verhältnis der Geschwindigkeitsraten der Assoziation und Dissoziation:

$$K_D = \frac{1}{K_A} = \frac{[R]^*[L]}{[RL]} = \frac{k_{off}}{k_{on}} \quad (2)$$

Die Gesamtkonzentration des Rezeptors/Probe  $[R]_{total}$  ist die Summe aus freiem Rezeptor  $[R]$  und gebundenem  $[RL]$ :  $[R]_{total} = [R] + [RL]$ . Mit dieser Annahme liefert die Umformung der Gleichungen (1) und (2) eine lineare Gleichung der Form  $y = m*x + b$ . Diese Auftragung wird als Scatchard-Plot bezeichnet und ist analog zum Michealis-Menten-Modell in der Enzymkinetik:

$$\frac{[RL]}{[R]} = \frac{1}{K_D} * ([R]_{total} - [RL]) \quad (3)$$

Dabei hat die Gerade die Steigung  $m = -1/K_D$  und den y-Achsenabschnitt  $[R]_{total} / K_D$ . Im SPR-Experiment ist  $[RL]$  proportional zur *response unit* RU. Da  $[R]_{total}$  den Gesamtbindungsstellen auf dem Chip entspricht, ist  $[R]_{total}$  proportional zur maximal erhaltbaren *response unit*  $RU_{Max}$ . Es ergibt für Gleichung (3):

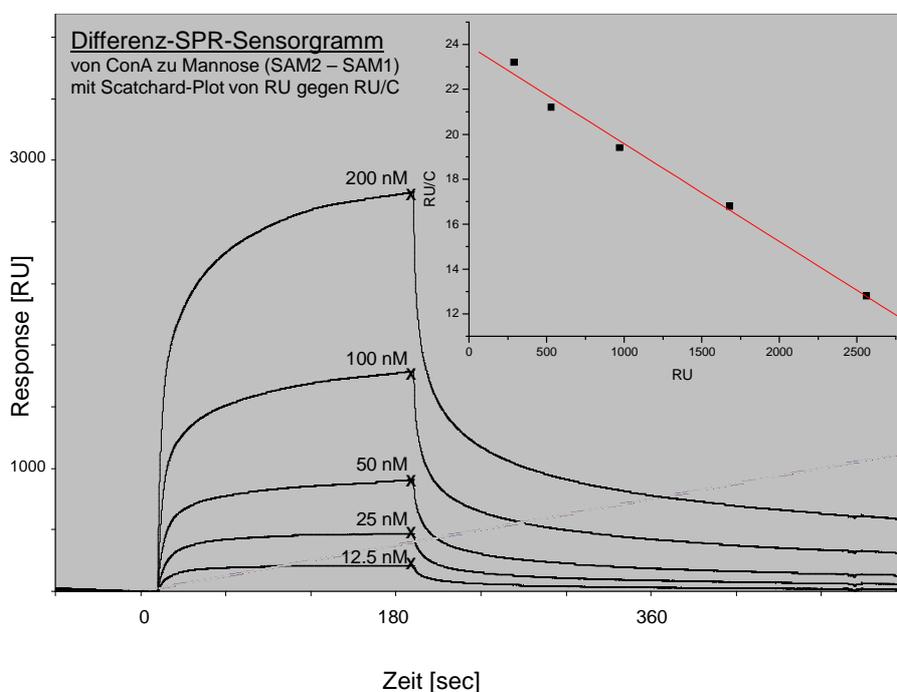
$$\frac{[RU]}{[P]} = \frac{1}{K_d} * ([RU]_{Max} - [RU]) \quad (4)$$

Eine Auftragung von  $[RU]/[P]$  gegenüber  $[RU]$  liefert den Scatchard-Plot. Die resultierende Gerade hat die Steigung  $-1/K_D$  und den y-Achsenabschnitt  $RU_{Max}/K_D$ .

In den anfänglichen qualitativen Untersuchungen zu den Bindungs- und Biorepulsionseigenschaften wurden hohe Konzentrationen des Lectins ConA von 6.25 – 100  $\mu$ M verwendet, um die Unterschiede in den Bindungsereignissen der jeweiligen SAMs

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

deutlicher hervorheben zu können. Zur Bestimmung der Dissoziationskonstanten  $K_D$  sollten jedoch Konzentrationen an Analyt verwendet werden, die in der Größenordnung der zu erwartenden Dissoziationskonstanten lagen. Für die Bindung von Lectinen zu immobilisierten Kohlenhydraten, die polyvalent auf Oberflächen präsentiert werden, wurden Dissoziationskonstanten im nanomolaren Bereich gefunden. Deshalb wurde für die jeweiligen Bestimmungen von  $K_D$  der Bindungen der Lectine zu den hier präparierten Glyco-SAMs Konzentrationen von 12.5 – 200 nM eingesetzt. Zum Vergleich hat das monovalente  $\alpha$ -Methyl-mannopyranosid nur eine Affinität von etwa 130  $\mu$ M. Nach dreiminütiger Elution bei einer Flussrate von 10  $\mu$ L/Minute der Lectine über die Sensoroberfläche erfolgte die Analyse der enthaltenen Sensorgramme. Diese Analyse wird im Detail beispielhaft für die Bindung von ConA zur **SAM 2** (Mannose) diskutiert und wurde so bei allen Bindungsstudien durchgeführt (Abb. 72). Am Ende der Assoziationsphase sollte ein Gleichgewicht zwischen Bindung und Dissoziation herrschen ( $dRU/dt \approx 0$ ). Die Resonanz in RU zu diesem Zeitpunkt wurde in den Resonanzkurven ermittelt (x-Markierungen in Abb. 72). Die Auftragung der so erhaltenen Resonanz gegen die Konzentration lieferte den Scatchard-Plot (kleines Fenster, Abb. 72). Durch die lineare Regression wurde eine Gerade der Gleichung (4) mit der Steigung  $-1/K_D = -1/(229 \text{ nM})$  und dem x-Achsenabschnitt  $RU_{\text{Max}} = 5481 \text{ RU}$  erhalten.



**Abb. 72.** SPR-Sensorgramm mit zugehörigem Scatchard-Plot.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Der Wert  $RU_{\text{Max}}$  (5481 RU) entsprach der maximal adsorbierbaren Menge 5481 pg Lectin auf der Sensoroberfläche. Der theoretische Wert entspräche der kompletten Belegung der Sensoroberfläche mit Lectin. Bei den hier verwendeten Sensorchips mit einer Oberfläche von  $1.5 \text{ mm}^2 = 1.5 * 10^{12} \text{ nm}^2$  und einem Durchmesser des ConA von etwa  $8 \text{ nm}^2$  könnten maximal  $29.8 * 10^9$  Moleküle ( $1.5 * 10^{12} \text{ nm}^2 / A_{\text{Lectin}}$ ;  $A_{\text{Lectin}} = \pi * d^2 / 4$ ) in einer Monolage angeordnet werden. Mit der Avogadro-Konstanten und dem Molekulargewicht des ConA ergab sich eine theoretisch-maximal adsorbierbare Menge von  $5245 \text{ pg} = 5245 \text{ RU}$ . Je näher der experimentelle Wert am theoretischen Wert lag, desto genauer stimmte der Bindungsprozess mit einer Langmuir-Isotherme (1:1-Bindungsmodell) überein. Für starke Abweichungen nach oben hätten unspezifische Wechselwirkungen oder Selbstaggregation des Lectins der Grund sein können. Ebenso wären starke Abweichungen die Folge multivalenten Bindungsverhaltens, bei dem der Scatchard-Plot von der Linearität abweicht. Die lineare Regressionsgerade würde steiler verlaufen und kreuzte die x-Achse bei niedrigen  $RU_{\text{Max}}$ -Werten.

**Tabelle 19.** Dissoziationskonstanten von ConA zu Mannose-SAMs mit unterschiedlichem Linkersystem.

	SAM	Theor. Anteil Aminolinker	Kopfgruppe	Lectin	$K_D / RU_{\text{Max}}$
1	<b>2</b>	~ 4% <sup>a</sup>	$\alpha$ -Man	ConA	$229 \pm 12.6 \text{ nM} / 5481 \text{ RU}^{\text{d}}$
2	<b>3</b>	~ 4% <sup>b</sup>	$\alpha$ -Man	ConA	$235 \pm 12.9 \text{ nM} / 5560 \text{ RU}^{\text{d}}$
3	<b>5</b>	~ 4% <sup>c</sup>	$\alpha$ -Man	ConA	$233 \pm 4.4 \text{ nM} / 6499 \text{ RU}^{\text{d}}$

a) Spacer **159/157**; b) Spacer **161/157**; c) Spacer **161/156**, Verhältnis jeweils in Lösung; d) Theoretisches  $RU_{\text{Max}} = 5245 \text{ RU}$ .

Die erste Versuchsreihe von SPR-Experimenten, die mit einer hohen Verdünnung der Mannose-Kopfgruppen im Glyco-SAM durchgeführt wurde, zeigte, dass für die Untersuchung von CPIs die Kombination aus dem Hexaethylglycol-Verdünnungsmolekül **157** und dem Aminobutyl-terminierten Anker-molekül **159** besonders gut geeignet war (Tabelle 19; 1). Bei einem  $K_D$  von  $229 \pm 12.6 \text{ nM}$  des Lectins ConA zum Glyco-SAM **2** konnte ein  $RU_{\text{Max}}$ -Wert von 5481 RU erreicht werden, der sehr nahe am theoretischen Wert von 5245 RU lag. Die leicht erhöhte Resonanz war auf einen sehr geringen Anteil unspezifischer Bindung des Lectins zur Sensoroberfläche zurückzuführen. Die hier erreichte Resonanz von etwa 2600 RU bei einer Lectin-Konzentration von 200 nM war deutlich grösser als in SPR-Untersuchungen von Karamanska *et al.* (Abb. 72).<sup>[402]</sup> Hier konnten RU-Anworten

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

von etwa 1000 RU zu einem Thioethyl-mannopranosid-SAM mit einer ConA-Konzentration von 2400 nM erhalten werden. Dieser Vergleich machte deutlich, dass das hier verwendete System eine erhebliche Verbesserung der Bindungseigenschaften des SAMs gewährleistete. Bei der Verwendung des verkürzten Amino-hexaethylenglycol-Linkers **161** mit dem gleichen Verdünnungsmolekül **159** konnte mit einem  $K_D$  von  $235 \pm 12.9$  nM eine ähnlich gute Affinität des ConA zur Mannose-Kopfgruppe festgestellt werden (Tabelle 19; 2, **SAM 3**). Jedoch war der Anteil an unspezifischer Wechselwirkung mit einem  $RU_{Max}$  von 5560 RU grösser als bei der **SAM 2**. Der Grund hierfür dürfte darin liegen, dass eine Verkürzung des Ankerlinkers gegenüber dem Verdünnungsmolekül dazu führte, dass die Mannose-Kopfgruppe zwar die Bindungstasche des Lectins erreichen konnte, aber der Kontakt mit der Hexaethylenglycolschicht unspezifische Wechselwirkungen verursacht hatte. Die Verwendung der **SAM 5** (Amino-hexaethylenglycolinker **161** und Triethylenglycolverdünnungsspacer **156**) verschlechterte die Affinität ( $233 \pm 4.4$  nM) nicht, jedoch wies diese Interaktion einen grossen Anteil an nicht spezifischer Bindung auf, der durch den hohen  $RU_{Max}$ -Wert von 6499 RU zum Ausdruck kam. Bereits bei der *online*-SAM-Bildung zeigte die **SAM 5** eine geringere Belegungsrate gegenüber **SAM 2** und **SAM 3**, was aus einer grösseren Anzahl an Fehlstellen resultieren sollte. Diese Fehlstellen führten nun zu einer grösseren nicht-spezifischen Wechselwirkung von ConA mit der Sensoroberfläche. Aus diesen Gründen wurden für weiterführende Untersuchungen SAMs verwendet, die aus dem Ankermolekül **159** und dem Verdünnungsspacer **157** hergestellt wurden.

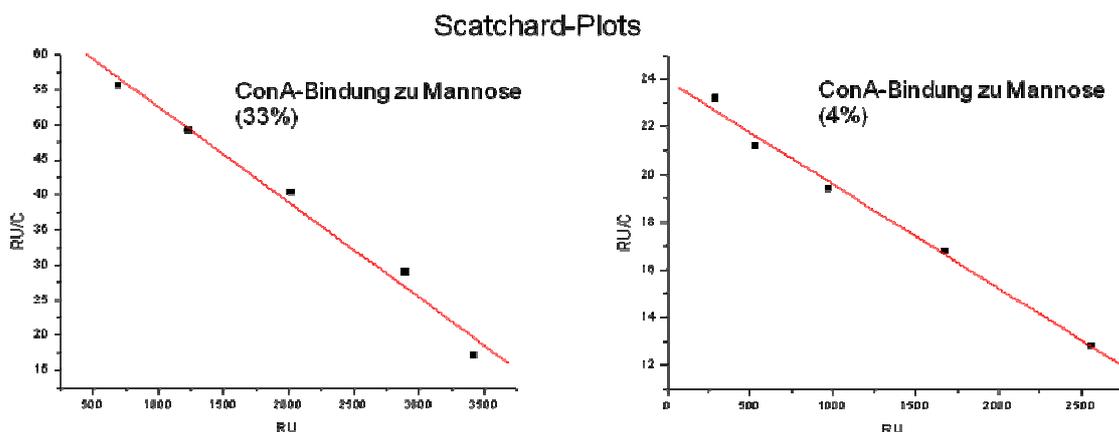
**Tabelle 20.** Dissoziationskonstanten von ConA zu Mannose-SAMs mit unterschiedlichen Kopfgruppenkonzentrationen.

	SAM	Theor. Anteil Aminolinker	Kopfgruppe	Lectin	$K_D / RU_{Max}$
1	<b>2</b>	~ 50% <sup>a</sup>	$\alpha$ -Man	ConA	$68 \pm 5.5$ nM / 4791 RU <sup>b</sup>
2	<b>6</b>	~ 33% <sup>a</sup>	$\alpha$ -Man	ConA	$73 \pm 5.3$ nM / 4862 RU <sup>b</sup>
3	<b>7</b>	~ 20% <sup>a</sup>	$\alpha$ -Man	ConA	$72 \pm 5.4$ nM / 4917 RU <sup>b</sup>
4	<b>8</b>	~ 9% <sup>a</sup>	$\alpha$ -Man	ConA	$76 \pm 5.5$ nM / 4974 RU <sup>b</sup>
5	<b>9</b>	~ 4% <sup>a</sup>	$\alpha$ -Man	ConA	$229 \pm 12.6$ nM / 5481 RU <sup>b</sup>

a) Spacer **159/157** Verhältnis in Lösung, b) Theoretisches  $RU_{Max} = 5245$  RU.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Da ConA ein multivalentes Lectin mit vier Mannose-Bindungsstellen ist, wurde der Einfluss des Belegungsgrads mit Mannose-Kopfgruppen untersucht. Dazu wurden die Dissoziationskonstanten von ConA zu den Sensoroberflächen mit verschiedenen Konzentrationen an immobilisierter Mannose bestimmt (Tabelle 20). Es konnte gezeigt werden, dass die Mannosebelegungen einen deutlichen Einfluss auf die Dissoziationskonstante von ConA zu den unterschiedlichen SAMs hatte (**SAM 2, SAM 6-9**). Die größte Affinität mit einer  $K_D$  von  $68 \pm 5.5$  nM hatte der **SAM 6** mit der höchsten Mannosebelegungsrate (Tabelle 20, 1). Die Affinität nahm mit steigender Verdünnung von 50% bis 9% kontinuierlich ab, die  $K_D$ -Werte stiegen von  $68 \pm 5.5$  nM über  $73 \pm 5.3$  nM bzw.  $72 \pm 5.4$  nM nach  $76 \pm 5.5$  nM an (Tabelle 20; 1-4). Zwischen den Verdünnungen von 9% und 4% gab es einen erheblichen Sprung in der Affinität von  $76 \pm 5.5$  nM auf  $229 \pm 12.6$  nM (Tabelle 20; 4 und 5). Dieser Sprung war dadurch zu erklären, dass ConA auf der stark verdünnten Oberfläche seine Multivalenz verlor. Während bei Mannosebelegungsgraden von 9% - 50% der Abstand zwischen den Mannose-Kopfgruppen ausreichend klein war, dass zwei oder mehr Bindungsstellen für eine grosse Affinität sorgten, konnte bei der 4%igen Belegung nur noch eine Bindungsstelle erreicht werden. Im ConA-Tetramer liegen die Bindungsstellen ca. 6.5 nm auseinander. Dieser Abstand musste bei **SAM 2** überschritten worden sein. Es konnte keine Überbrückung zweier Mannosekopfguppen durch das Lectin hergestellt werden. Diese Resultate bestätigten eindeutig die besondere Bedeutung der Multivalenz in Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen.



**Abb. 73.** Scatchard-Plots von ConA-Bindung zu Mannose-SAMs.

Der multivalente Bindungscharakter von ConA wurde durch die gefundenen  $RU_{Max}$ -Werte untermauert. Scatchard-Plots, die von multivalenten Interaktionen mit unterschiedlichen  $K_D$ -

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Werten pro Bindungsstelle erhalten werden, zeigen „konkaves“ Verhalten, weshalb niedrigere  $RU_{\text{Max}}$ -Werte verursacht werden, als zu erwarten sind. Mit  $RU_{\text{Max}}$ -Werten von 4791 RU – 4974 RU liegen die Werte für die vermeintlich multivalenten Interaktionen von ConA mit den Oberflächen **SAM 6-9** nicht unerheblich unter dem theoretischen  $RU_{\text{Max}}$ -Wert von 5245 RU (Tabelle 20, 1-4). Dahingegen war der  $RU_{\text{Max}}$ -Wert für die monovalente Bindung von ConA zur 4%ig-Mannose-belegten **SAM 2** mit 5481 RU etwas höher, was durch einen kleinen Anteil unspezifischer Bindung verursacht worden sein konnte.

In den Scatchard-Plots für die ConA-Bindung zu den Mannose-SAMs war jedoch kein auffälliges „konkaves“ Verhalten erkennbar (Abb. 73). Deshalb konnte davon ausgegangen werden, dass die Bindung von ConA zu den hochfunktionalisierten SAMs zwar multivalent war, die  $K_D$ -Werte aber für die einzelnen Bindungsstellen weitgehend gleich sind, oder keine besonders ausgeprägten kompetitiven Effekte bei der ConA-Bindung auftraten.

Die hier gefundenen  $K_D$ -Werte standen in guter Übereinstimmung mit publizierten Resultaten, die ebenfalls durch SPR-Experimente an Gold-Monolayern erhalten wurden, sind allerdings nicht direkt vergleichbar, da unterschiedliche Linker-Systeme verwendet wurden. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass bereits leichte Veränderungen in Linkerlänge und – chemie Einfluss auf die Bindungsstärke hatten (Tabelle 19). Smith *et al.* berichteten im Jahr 2003 über SPR-Experimente zur Bindung von ConA zu einer einheitlichen SAM aus 5-Thiopentyl-mannopyranosid.<sup>[403]</sup> Durch die Analyse der Resonanzkurven mittels der Frumkin-Isotherme wurde eine Assoziationskonstante von  $5.6 \pm 1.7 \times 10^{-6} \text{ M}^{-1}$  ermittelt (entspricht einer  $K_D$  von  $179 \pm 54 \text{ nM}$ ). Ratner *et al.* bestimmten die Assoziationskonstanten von ConA zu SAMs mit verschiedenen Konzentrationen aus dem Trisaccharid  $[\text{Man}\alpha(1\rightarrow2)\text{Man}\alpha(1\rightarrow2)\text{Man}]$ .<sup>[404]</sup> Als Linker- und Spacereinheit wurde das Triethylglycol-Motiv verwendet. Ebenfalls durch Frumkin-Isothermenanalyse der Daten wurde zum 100%igen Trimannosid-SAM eine Assoziationskonstante von  $3.1 \pm 1.4 \times 10^{-6} \text{ M}^{-1}$  ( $K_D = 322 \pm 145 \text{ nM}$ ) ermittelt. Bei der Verdünnung der Mannose-Kopfgruppe auf 80% bzw. 60% im SAM ging die Affinität auf  $1.9 \pm 1.1 \times 10^{-6} \text{ M}^{-1}$  ( $K_D = 526 \pm 304 \text{ nM}$ ) bzw.  $1.3 \pm 0.6 \times 10^{-6} \text{ M}^{-1}$  ( $K_D = 769 \pm 354 \text{ nM}$ ) zurück. In dieser Studie wurde auf eine drastischere Verdünnung verzichtet und somit der sprunghafte Affinitätsverlust nicht registriert. Dieser Verlust konnte jedoch von Wong *et al.* in einem Fluoreszenz-Microarray-Assay gefunden werden.<sup>[359]</sup> Für sogenannte „printing“-Konzentrationen<sup>†</sup> von 10  $\mu\text{M}$  bis 100  $\mu\text{M}$  wurde ein

---

<sup>†</sup> unter „printing“-Konzentrationen versteht man in der Microarray-Technik die Konzentrationen der Analytlösung, die zur Belegung des Microchips verwendet werden. Sie entspricht nicht der tatsächlichen, nicht bestimmbaren Konzentration auf dem Chip.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

durchschnittlicher  $K_D$ -Wert von  $83 \pm 4.7$  nM erhalten. Bei einer „printing“-Konzentration von  $1\mu\text{M}$  stieg dieser Wert auf  $221$  nM an. Auch wenn die Technik der Bestimmungen sehr unterschiedlich waren, stimmten die in dieser Arbeit gewonnenen Resultate sehr gut mit denen überein, die von Wong *et al.* gefundenen wurden.<sup>[359]</sup>

Das Lectin ConA bindet auch  $\alpha$ -glycosidisch gebundene Glucose, jedoch mit geringerer Affinität als Mannose. Deshalb wurde die ConA-Bindung zu den **SAMs 10, 11 und 12** untersucht, die jeweils etwa mit einem 50% - 60%igem Anteil (33% theoretischer Aminolinker-Anteil) an  $\alpha$ -Glucose,  $\beta$ -Glucose und dem  $\alpha$ -Glucose-terminierten Disaccharid Maltose belegt waren (Tabelle 21). Während ConA keine Bindung zur  $\beta$ -Glucose-SAM zeigte, konnte zum  $\alpha$ -Glucose-SAM eine Dissoziationskonstante von  $335 \pm 32$  nM gefunden werden (Tabelle 21; 2 + 4). Wie erwartet war diese Bindung deutlich schwächer als die von ConA zur  $\alpha$ -Mannose-SAM. Interessanterweise zeigte die ConA-Bindung einen erheblichen unspezifischen Anteil, der durch den hohen  $RUMax$ -Wert von  $5963$  RU zum Ausdruck kam. Dieser Wert war für die Maltose-SAM mit  $5775$  RU besser, indizierte jedoch immer noch eine gewisse Unspezifität (Tabelle 21; 3). Auch die Bindungsaffinität war mit  $305 \pm 33$  nM zur Maltose-SAM größer. Die terminale Exposition der  $\alpha$ -Glucose im Disaccharid ermöglicht offensichtlich eine bessere Zugänglichkeit für das Lectin.

**Tabelle 21.** Dissoziationskonstanten von ConA zu SAMs mit unterschiedlichen Kopfgruppen.

	SAM	Theor. Anteil Aminolinker	Kopfgruppe	Lectin	$K_D$ / $RUMax$
1	<b>7</b>	$\sim 33\%^a$	$\alpha$ -Man	ConA	$73 \pm 5.3$ nM / $4862$ RU <sup>b</sup>
2	<b>10</b>	$\sim 33\%^a$	$\alpha$ -Glc	ConA	$335 \pm 32$ nM / $5963$ RU <sup>b</sup>
3	<b>12</b>	$\sim 33\%^a$	$\beta$ -Malt	ConA	$305 \pm 33$ nM / $5775$ RU <sup>b</sup>
4	<b>11</b>	$\sim 33\%^a$	$\beta$ -Glc	ConA	- <sup>c</sup>

a) Spacer **159/157** Verhältnis in Lösung; b) Theoretisches  $RUMax = 5245$  RU; c) Resonanz für größte Konzentration  $>20$  RU.

In der Reihe der SPR-Untersuchungen zu Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen wurde der Multivalenzeffekt der Bindung von  $RCA_{120}$  und WGA zu Galactose- bzw. *N*-Acetylglucosamin-SAMs untersucht. Wie bereits für ConA beschrieben, wurden zunächst die theoretischen  $RUMax$ -Wert für die Bindung der Lectine zu den SAMs berechnet. Für  $RCA_{120}$  erhielt man einen theoretischen  $RUMax$ -Werte von  $4150$  RU und für WGA einen von

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

3020 RU.<sup>†</sup> Bei der Bindung von RCA<sub>120</sub> zu Galactose-SAMs mit unterschiedlichen Konzentrationen an Kohlenhydratligenanden konnte ebenso ein multivalenter Effekt beobachtet werden. Die RCA<sub>120</sub>-Bindung zur 33%-Galactose-SAM war mit  $155 \pm 9.7$  nM etwa doppelt so stark wie zum 4%-Galactose-SAM ( $315 \pm 80$  nM) (Tabelle 22, 1 + 2). Mit einem RU<sub>Max</sub> von 4908 RU lag bei der Bindung zur 33%-SAM ein erheblicher Anteil von unspezifischer Bindung vor. Es war nicht auszuschließen, dass diese unspezifische Bindung auch bei der 4%-SAM vorlag, obwohl ein niedriger RU<sub>Max</sub>-Wert von 3264 RU erhalten wurde. Dieser Wert konnte auf das konkave Verhalten des Scatchard-Plots zurückgeführt werden (Abb. 74, B). Interessant war, dass dieses Multivalenzindiz stärker bei der 4%-SAM vorhanden war als bei der 33%-SAM, bei dem der Scatchard-Plot relativ linear verlief.

**Tabelle 22.** Dissoziationskonstanten von RCA<sub>120</sub> und WGA zu Galactose- bzw. *N*-Acetylglucosamin-SAMs mit unterschiedlichen Kopfgruppenkonzentrationen.

	SAM	Theor. Anteil Aminolinker	Kopfgruppe	Lectin	$K_D / \text{RU}_{\text{Max}}$
1	<b>7</b>	~ 33% <sup>a</sup>	β-Gal	RCA <sub>120</sub>	$155 \pm 9.7$ nM / 4908 RU <sup>b</sup>
2	<b>10</b>	~ 4% <sup>a</sup>	β-Gal	RCA <sub>120</sub>	$315 \pm 80$ nM / 3264 RU <sup>b</sup>
3	<b>12</b>	~ 33% <sup>a</sup>	β-GlcNAc	WGA	$281 \pm 10$ nM / 3134 RU <sup>d</sup>
4	<b>11</b>	~ 4% <sup>a</sup>	β-GlcNAc	WGA	$276 \pm 10$ nM / 3299 RU <sup>d</sup>

a) Spacer **159/157** Verhältnis in Lösung, b) Theoretisches RU<sub>Max</sub> = 4150 RU; c) durch lineare Regression des Gesamt-Scatchard-Plots:  $133 \pm 45$  nM / 2031 RU d) Theoretisches RU<sub>Max</sub> = 3020 RU.

In der Literatur wurden etwas stärkere Bindungen von RCA<sub>120</sub> zu Galactose-Gruppen durch SPR-Experimente gefunden. Jedoch waren die Sensorchip-Systeme unterschiedlich zu dem hier verwendeten Ansatz. Shinohara *et al.* fanden eine Dissoziationskonstante von  $6.25 \pm 0.47$  nM für die RCA<sub>120</sub>-Bindung zu Asialofetuin, das auf CM5-Chips immobilisiert wurde.<sup>[405]</sup> Asialofetuin ist ein Glycoprotein, das triantennäre *N*-Glycane trägt. Critchley *et al.* erhielten

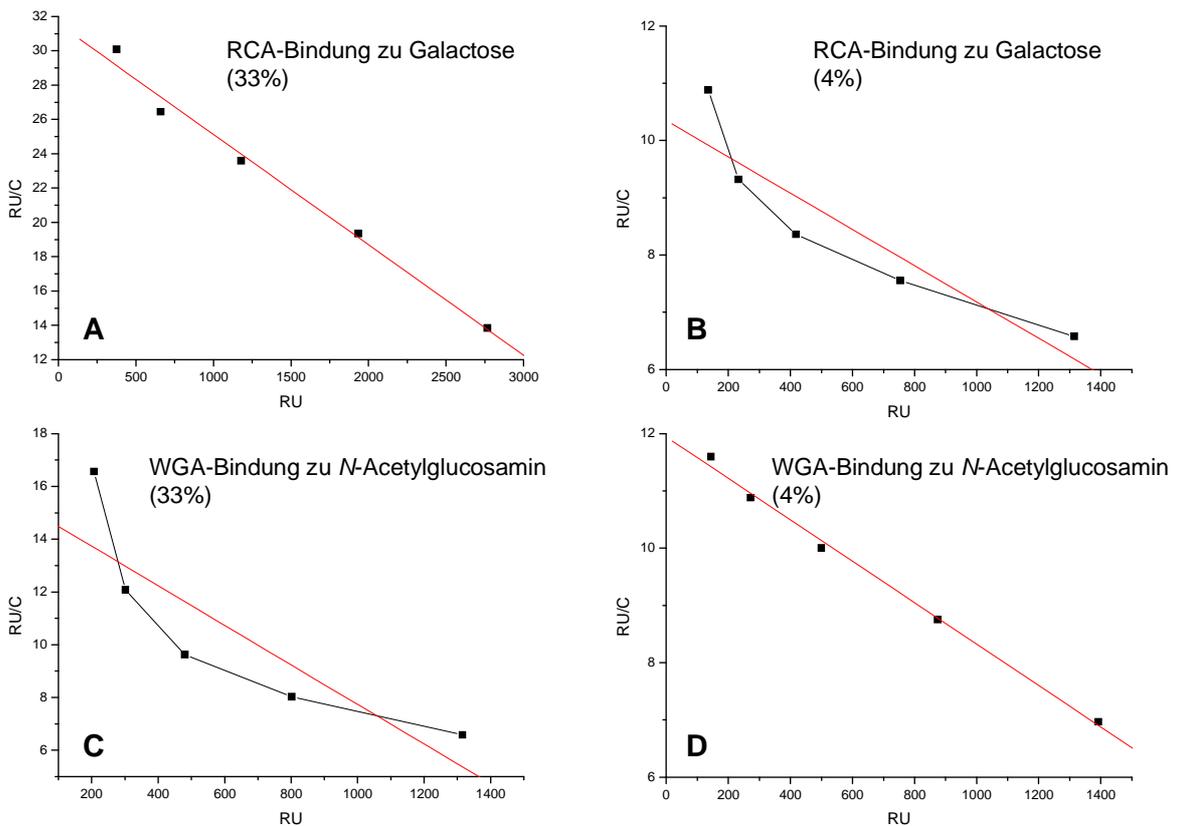
<sup>†</sup> für RCA: RCA<sub>120</sub>-Dimensionen: 12 nm Länge × 6 nm Breite × 4 nm Höhe, Bindungsstellen an Stirnseiten → Grundfläche  $A = 12 \times 6 \text{ nm} = 72 \text{ nm}^2$ . Maximale Anzahl von Molekülen pro Flusszelle =  $1.5 \times 10^{12} \text{ nm}^2 / 72 \text{ nm}^2 = 2.08 \times 10^{10}$  Moleküle ⇒  $3.46 \times 10^{-14}$  mol; mit einem Mol.-gewicht von 120 kDa ergeben sich  $4150 \text{ pg} = 4150$  RU.

für WGA: WGA-Dimensionen: Globuläre Form mit 6 nm Ø, Grundfläche  $A = \pi r^2 = 28 \text{ nm}^2$ . Maximale Anzahl von Molekülen pro Flusszelle =  $1.5 \times 10^{12} \text{ nm}^2 / 28 \text{ nm}^2 = 5.35 \times 10^{10}$  Moleküle ⇒  $8.90 \times 10^{-14}$  mol; mit einem Mol.-gewicht von 34 kDa ergeben sich  $3020 \text{ pg} = 3020$  RU.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

einen  $K_D$ -Wert von  $97.3 \pm 3.4$  nM für die Bindung zu Lactose mit einem Triethylglycol- $C_{15}H_{31}$ -Spacer.<sup>[406]</sup> Die Lactose war als 10%iges Glycolipid nicht kovalent in einem HPA-Chip verankert. D'Agata *et al.* ermittelten für die Lectin-Bindung zu Dithiobissuccinimidylpropionat-(DTSP)-SAMs auf Gold, die mit 2-Aminoethyl-galactosid funktionalisiert wurden, einen  $K_D$ -Wert von  $14.1 \pm 4.7$  nM. Auch dieser Vergleich zeigt, dass die Ergebnisse erheblich von System abhängig sind, mit dem sie ermittelt wurden.<sup>[407]</sup>

Scatchard-Plots

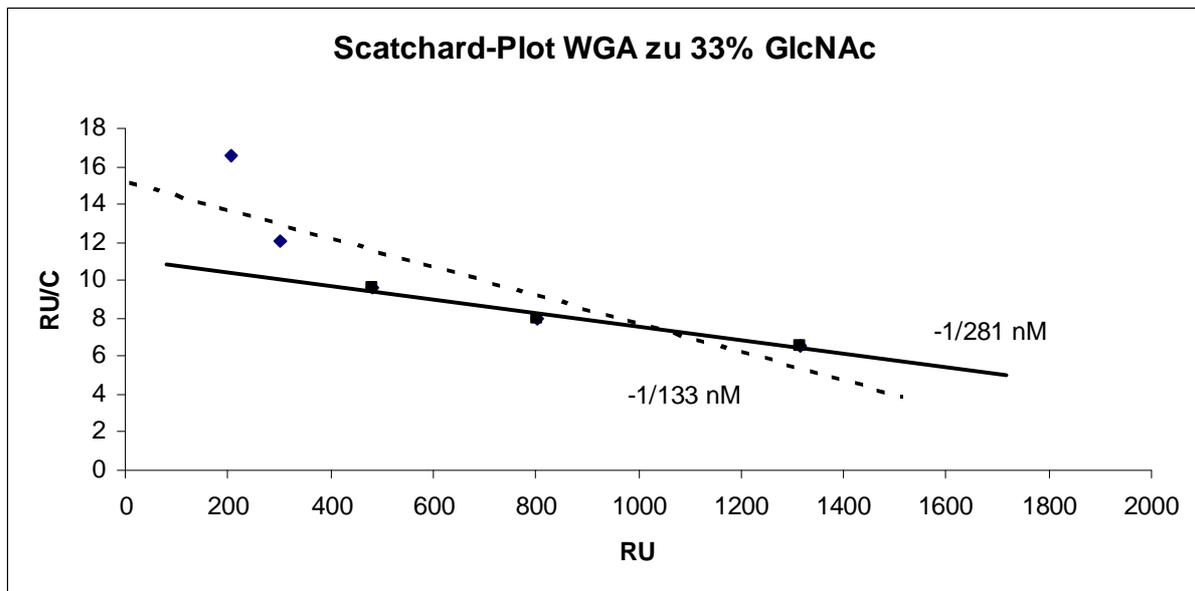


**Abb. 74.** Scatchard-Plots von RCA<sub>120</sub>-Bindung zu Galactose-SAMs (A + B) und von WGA-Bindung zu N-Acetylglucosamin-SAMs (D + C).

Die umgekehrten Verhältnisse waren bei der WGA-Bindung zu GlcNAc-SAMs zu finden (Abb. 74, C + D). Die Analyse des Scatchard-Plots der Bindung von WGA zur 33%-GlcNAc-SAM lieferte bei stark konkavem Verlauf einen  $K_D$ -Wert von  $133 \pm 45$  nM. Bei der hochverdünnten SAM (4%) wurde ein  $K_D$ -Wert von  $276 \pm 10$  nM gefunden. Es hatte zunächst den Anschein, dass die Bindung zur 33%-SAM stärker war als zur 4%-SAM ( $K_D$ : 133 nM (33%) zu 276 nM (4%)). Jedoch war durch die multivalente Bindung (konkaver Scatchard-Plot, Abb. 74 C) eine lineare Regression mit einer stärkeren Steigung entstanden, die einen zu

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

niedrigen  $K_D$ -Wert lieferte. Nahm man die RU-Werte, die bei niedrigen Konzentrationen erhalten wurden, aus der linearen Regression heraus, so erhielt man einen  $K_D$ -Wert von 281 nM (Abb. 75). Dieser modifizierte Wert entsprach dem  $K_D$ -Wert zur 4%-SAM. In diesem Fall war davon auszugehen, dass die Bindung von WGA zu GlcNAc-SAMs keinen multivalenten Charakter aufwies. Es konnte nur eine Dissoziationskonstante von 281 nM ermittelt werden. Die hier gefundene Bindungsstärke war etwa 1000-fach stärker als in der SPR-Studie von Lienemann *et al.*, die einen  $K_D$ -Wert von 47  $\mu$ M von gebundenem WGA zu gelöster Chitotriose ermitteln konnten.<sup>[408]</sup> Dieser Vergleich zeigte, dass die Lectin-Bindung zu immobilisierten Kohlenhydraten erheblich stärker sind als die zu freien Zuckerstrukturen. Leider wurde in dieser Studie auf die Bestimmung der Dissoziationskonstanten von WGA zu einer Octanthiol-Thiooctyl-Chitotriose-Misch-SAM (90:10) verzichtet. Diese SPR-Sensoroberfläche wurde nur zu Konkurrenzexperimenten verwendet.

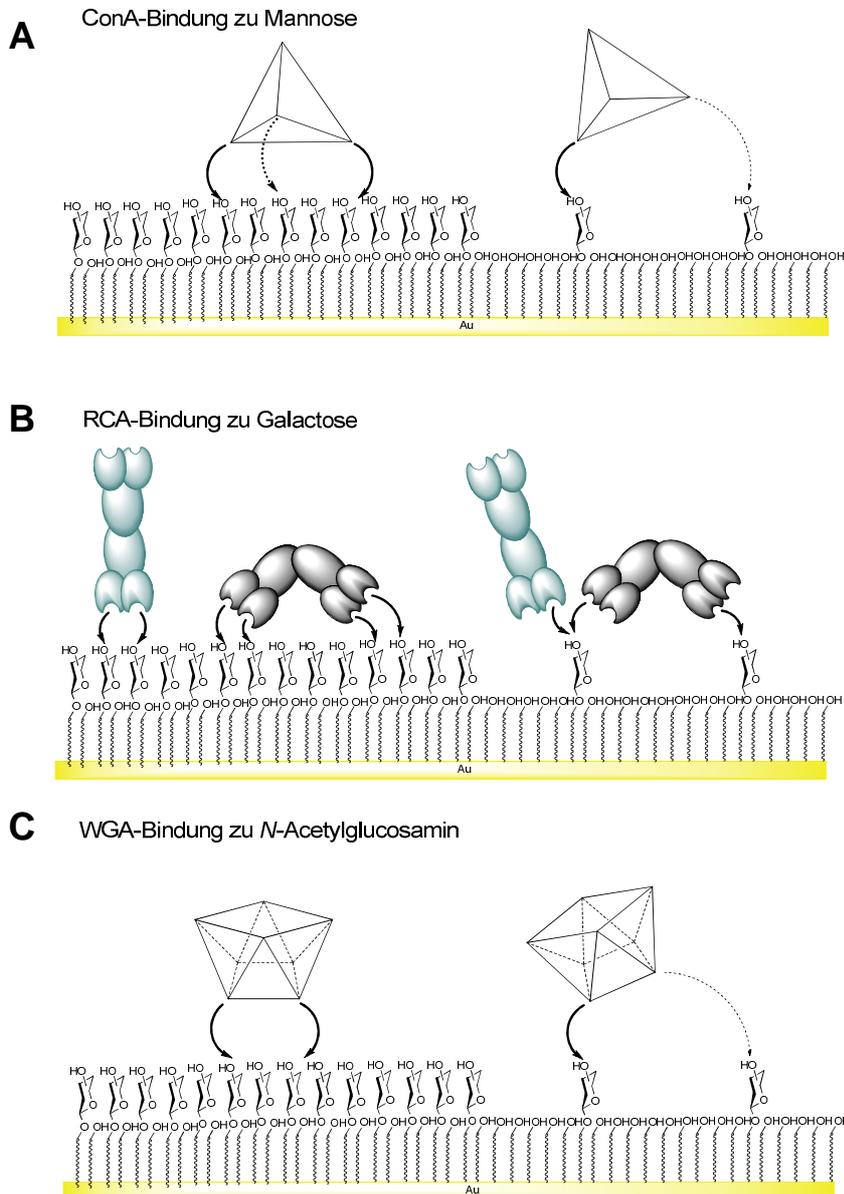


**Abb. 75.** Lineare Regressionsgraden: gesamter Scatchard-Plot für WGA-Bindung zu 33%-*N*-Acetylglucosamin-SAM (gestrichelte Linie) und von den drei höchsten Konzentrationen (volle Linie).

Aus den gewonnenen Daten ließ sich eine Hypothese zu den Bindungseigenschaften der Lectine erstellen, welche ein detaillierteres Bild von der Struktur-Bindungseffekt-Beziehung der Lectine ConA, RCA<sub>120</sub> und WGA lieferte. ConA ist ein tetrameres Lectin mit einer tetragonale Quartärstruktur, in der die Kohlenhydratbindungsstellen an den Ecken platziert sind. Zu hochfunktionalisierten SAMs bindet ConA multivalent mit mehr als einer Bindungsstelle, was einen niedrigeren  $K_D$ -Wert zur Folge hatte. Alle Bindungsstellen sind äquivalent und nicht kompetitiv, da die Scatchard-Plots kein „konkaves“ Verhalten zeigten. An gering funktionalisierte SAMs bindet ConA monovalent mit nur einer Bindungsstelle, was

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

einen höheren  $K_D$ -Wert zur Folge hatte (Abb. 76, A). Auch das Lectin RCA<sub>120</sub> zeigte auf Grund von Multivalenzeffekten zur hochfunktionalisierten SAM stärkere Bindung als zur gering funktionalisierten, jedoch war der Scatchard-Plot der Bindung zur 4%-SAM durch ein ausgeprägtes „konkaves“ Verhalten gekennzeichnet.



**Abb. 76.** Bindungsmodelle für die Lectine ConA (A), RCA<sub>120</sub>(B) und WGA (C) zu Mannose-, Galactose- bzw. N-Acetylglucosamin-SAMs.

Dieser Effekt ist auf einen erheblichen kompetitiven Anteil in der monovalenten Bindung zur gering funktionalisierten SAM zurückzuführen. Die Struktur des RCA<sub>120</sub> befähigt das Lectin zu einem besonderen Bindungsverhalten. Jeweils zwei Galactosebindungsstellen liegen an den Ende eines langgestreckten Proteins. Wahrscheinlich bindet RCA<sub>120</sub> zur 33%-Galactose-SAM

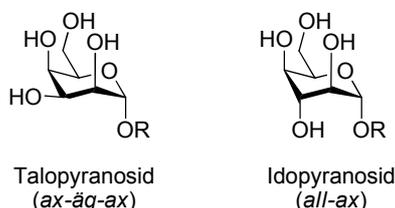
#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

nur mit den beiden Bindungsstellen einer Seite des Lectins (Abb. 76, B: hellgraues Lectin). Durch eine Konformationsänderung im Protein wäre die Bindung über alle vier Bindungsstellen möglich, was eine kompetitive Bindung zur Folge hätte (Abb. 76, B: dunkelgraues Lectin). Der Scatchard-Plot für die Bindung zur hochfunktionalisierten SAM war jedoch linear und zeigte damit gewöhnliche Langmuir-1:1-Bindung an. Andererseits zeigte die Bindung zur 4%-Galactose-SAM ausgeprägtes kompetitives Verhalten, da der Scatchard-Plot erheblich von der Linearität abwich. Der Grund hierfür dürfte sein, dass das RCA<sub>120</sub> nicht einfach mit einer Bindungsstelle zur SAM bindet (Abb 76, B: hellgraues Lectin), sondern von einem Galactose-Liganden zum anderen unter Konformationsänderung „springt“ (Abb 76, B: dunkelgraues Lectin). Dass dieses Springen des Lectins auf der hochfunktionalisierten SAM nicht zu beobachten war, lag wohl an der starken multivalenten Bindung der beiden Kopfbindungsstellen (*Zweipunkt-Fixierung*). Für WGA konnte kein Multivalenzeffekt festgestellt werden. Nach Fehlerkorrektur konnte sowohl für die Bindung zur 33%-SAM als auch zur 4%-SAM sehr ähnliche  $K_D$ -Werte gefunden werden. Auf Grund der quasi-globulären Struktur des WGAs mit einer annähernden Gleichverteilung der Bindungsstellen kann immer nur eine *N*-Acetylglucosamin-Bindungsstelle für die Bindung zur SAM verantwortlich sein. Das kompetitive Verhalten der Bindung von WGA zur 33%-SAM, erkennbar an der Abweichung des Scatchard-Plots von der Linearität, war damit zu erklären, dass das Lectin über die Sensoroberfläche „rollte“. Diese „Rollen“ war begleitet von gleichzeitiger Assoziation und Dissoziation der unterschiedlichen Bindungsstellen, was zur kompetitiven Bindung des WGAs führte.

Anhand dieser drei Beispiel für die Bindung von Lectinen zu SPR-Sensoroberflächen konnte gezeigt werden, welche Bedeutung Multivalenzeffekte für die Kohlenhydrat-Protein-(Lectin)-Wechselwirkungen basierend auf Strukturunterschieden haben. Das hier vorgestellte Sensorsystem könnte damit in Zukunft einen Beitrag zum besseren Verständnis von CPIs und deren Multivalenzeffekten in krankhaften biologischen Prozessen leisten.

## 4.2 SPR-Untersuchungen zu Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen

Wie bereits erwähnt, konnten auch Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen (CCIs) mit biologischen Effekten nachgewiesen werden. Diese Wechselwirkungen sind mit  $K_D$ -Werten von  $10^{-2} - 10^{-4}$  M sehr schwach und werden oft durch multivalente Präsentation der Liganden verstärkt (z. Vgl. CPIs:  $K_D \approx 10^{-4} - 10^{-6}$  M (in Lösung);  $10^{-9}$  M (oberflächengebunden / multivalent) oder Antikörper-Antigen-Interaktionen:  $10^{-8} - 10^{-12}$  M).<sup>[19, 409, 410]</sup> Alle z. Z. bekannten CCIs sind  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen abhängig, d. h. in Abwesenheit von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen sind die Interaktionen analytisch nicht nachweisbar.<sup>[411]</sup> Viele bekannte CPIs sind ebenfalls Metallionen abhängig. So benötigt z. B. das Lectin ConA für die Bindung von Mannose  $\text{Mn}^{2+}$ - und  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen.<sup>[412, 413]</sup> Kohlenhydrat-Metall-Komplexe konnten auch für bestimmte Metalloenzyme des Kohlenhydratmetabolismus charakterisiert werden.<sup>[414]</sup> Für  $\beta$ -Galactosidase konnte in einer Struktur-Reaktivitätsstudie die katalytische Rolle eines  $\text{Mn}^{2+}$ -Ionen-Galactose-Komplexes aufgeklärt werden.<sup>[415]</sup> Nach heutiger Auffassung kommen CCIs durch Komplexierung des Kations durch mindestens zwei Kohlenhydrate zustande. Kohlenhydrat-Metall-Komplexe sind wie die CCIs sehr schwach und nur im festen Zustand stabil.<sup>[416, 417]</sup> Generell wird angenommen, dass mindestens drei Hydroxygruppen im Kohlenhydrat mit entsprechender konfigurerer und konformeller Anordnung für eine Komplexierung von Metallionen nötig sind. Nach S. Angyal sollte diese Anordnung für Pyranosen entweder axial-äquatorial-axial (*ax-äq-ax*) oder all-axial (*all-ax*) sein (1. Angyal-Regel).<sup>[418-421]</sup>  $\alpha$ -D-Talo- (*ax-äq-ax*) oder  $\alpha$ -D-Idopyranoside (*all-ax*) erfüllen diese Voraussetzungen, wobei bei den Idopyranosiden entweder der Ringsauerstoff oder die 6-Hydroxygruppe an der Metallionenkomplexierung beteiligt wird (Abb. 77).



**Abb. 77.** Schematische Darstellung der *ax-äq-ax*- bzw. *all-ax*-Konfiguration der Hydroxygruppen in Talopyranosiden bzw. Idopyranosiden.

Die Größe des Kations spielt ebenfalls eine entscheidende Rolle in der Komplexbildung zwischen Kohlenhydraten. Während sowohl die *ax-äq-ax*- als auch die *all-ax*-Konfiguration eine ähnliche Geometrie mit drei Sauerstoffatomen in einen Abstand von etwa 295 pm

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

aufweist, so unterscheiden sie sich in der relativen Ausrichtung der Orbitale mit freien Elektronenpaaren. Dieser Unterschied führt zu unterschiedlichen Komplexierungsvermögen von Metallionen mit unterschiedlichen Ionenradien. Die *ax-äq-ax*-Konfiguration komplexiert nur Kationen, die einen Ionenradius größer 80 pm aufweisen. Die *all-ax*-Konfiguration hingegen komplexiert Kationen, die einen Ionenradius größer als 60 pm und kleiner als 100 pm aufweisen (2. Angyal-Regel).<sup>[419, 422]</sup> Die folgende Tabelle listet biologisch wichtige Kationen mit ihren Ionenradien, bevorzugten Koordinationszahlen und –geometrien auf:<sup>[423-425]</sup>

**Tabelle 23.** Ionenradien biologisch wichtiger Kationen mit ihren bevorzugten Koordinationszahlen *N* und –geometrien.<sup>a</sup>

Alkalimetalle				Erdalkalimetalle			
Ion	Radius	<i>N</i>	Koord. Geom.	Ion	Radius	<i>N</i>	Koord. Geom.
Li <sup>+</sup>	~76 pm	6	Okt	Be <sup>2+</sup>	~45 pm	6	Okt
Na <sup>+</sup>	~102 pm	6	Okt	Mg <sup>2+</sup>	~72 pm	6	Okt
K <sup>+</sup>	~138 pm	6	Okt	Ca <sup>2+</sup>	~100 pm	7,8	variabel
Rb <sup>+</sup>	~152 pm	6	Okt	Sr <sup>2+</sup>	~118 pm	6	Okt

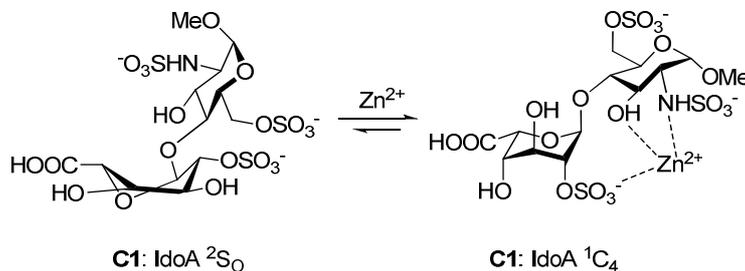
Übergangsmetalle							
Ion	Radius	<i>N</i>	Koord. Geom.	Ion	Radius	<i>N</i>	Koord. Geom.
Mn <sup>2+</sup>	~83 / 67 pm	6	Okt	Pb <sup>2+</sup>	~119 pm	4	Tet
Fe <sup>3+</sup>	~64 / 55 pm	6	Okt	Cd <sup>2+</sup>	~109 pm	6	Okt
Zn <sup>2+</sup>	~74 pm	4,6	planar, Oh	Hg <sup>2+</sup>	~102 pm	4	Tet
Cu <sup>2+</sup>	~87 pm	6	Okt	Yb <sup>2+</sup>	~102 pm	6	Okt
Ni <sup>2+</sup>	~69 / 56 pm	6	Okt	La <sup>3+</sup>	~103 pm	8,9	variabel

a) Okt = Oktaeder, Tet = Tetraeder.

In biologischen Systemen konnten bis dato in der Reihe der Erdalkalimetalle nur Komplexe von Ca<sup>2+</sup>-Ionen nachgewiesen werden. Nach den Angyal-Voraussetzungen sind die Ionen der übrigen Erdalkalielemente entweder zu klein (Be<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) oder zu groß (Sr<sup>2+</sup>). Calcium(II)-Ionen haben darüber hinaus die besondere Eigenschaft bevorzugt die Koordinationszahlen 7 bzw. 8 einzunehmen und zeigen sich in der Koordinationsgeometrie außerordentlich flexibel. Alle anderen Erdalkalimetallionen bilden mit einer Koordinationszahl von 6 oktaedrische Komplexe aus. Auch die Alkalimetallionen sind bezüglich der Angyal-Voraussetzungen entweder zu klein (Li<sup>+</sup>) oder zu groß (K<sup>+</sup>, Rb<sup>+</sup>). Nur Na<sup>+</sup> erfüllt die Größenvoraussetzungen, ist jedoch wegen seiner bevorzugten Koordinationszahl *N* = 6 und der oktaedrischen Koordinationsgeometrie nicht geeignet Kohlenhydrat-Komplexe auszubilden. Damit vereint Ca<sup>2+</sup> besondere Eigenschaften, die es zur Komplexbildung mit Kohlenhydraten befähigt. Diese Eigenschaften und die geeigneten strukturellen Voraussetzungen im

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Kohlenhydratgerüst bilden die Grundlage für CCI's. Viele Übergangsmetallionen erfüllen ebenfalls die 2. Angyal-Regel, obwohl ihre bevorzugte Koordinationszahl und –geometrie eigentlich die Kohlenhydratkomplexierung nicht begünstigen. So weisen  $Mn^{2+}$  und  $Cu^{2+}$  ideale Größen auf, weshalb ihre Kohlenhydratkomplexe relativ stabil sind, wohingegen Eisen(III)-Ionen eigentlich zu klein sind. Allerdings bilden sie wegen ihrer großen Oxophilie starke Komplexe mit Kohlenhydraten, die Elektronendonorguppen (Carboxygruppen in Uronsäuren) tragen.<sup>[426]</sup> Bei den Übergangsmetallionen nimmt  $Zn^{2+}$  eine besondere Stellung ein. Es bildet starke Komplexe mit Heparin-Fragmenten.<sup>[427]</sup> In einer vergleichenden Studie konnte gezeigt werden, dass das Disaccharid Methyl-2-desoxy-2-sulfamido-4-*O*-(2-*O*-sulfo- $\alpha$ -L-idopyranosyluronsäure)-6-*O*-sulfo- $\alpha$ -D-glucopyranosid **C1**  $Zn^{2+}$ -Ionen 100mal stärker bindet als  $Ni^{2+}$ - und  $Cu^{2+}$ -Ionen, die eine geeignete Größe haben und die gleiche Koordinationszahl und –geometrie bevorzugen. Durch NOE-NMR-Experimente konnte darüber hinaus festgestellt werden, dass die Komplexbildung mit den  $Zn^{2+}$ -Ionen zu einer Stabilisierung der  ${}^1C_4$ -Konformation im Iduronsäurebaustein führte. In normalen Puffersystemen wird die  ${}^2S_0$ -Konformation vom Iduronsäurerest bevorzugt eingenommen, da so 1,3-diaxiale Wechselwirkungen verringert werden (Abb. 78).<sup>[428-433]</sup>

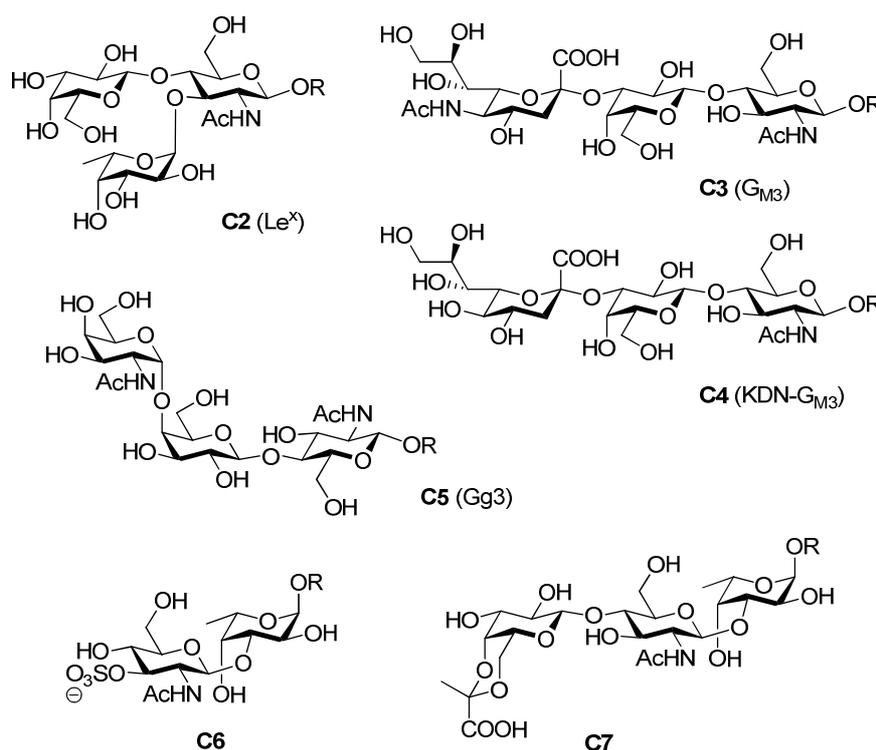


**Abb. 78.** Durch Komplexbildung von  $Zn^{2+}$ -Ionen wird der Iduronsäure-Baustein im Disaccharid **C1** von der  ${}^2S_0$ - in die  ${}^1C_4$ -Konformation gezwungen.

Vergleichbare Effekte konnten durch den Zusatz von  $Ca^{2+}$ -Salzen gefunden werden. Die Ionenradien von Cadmium(II)- und Quecksilber(II)-Ionen sind mit dem von  $Ca^{2+}$  vergleichbar und bilden wie  $Pb^{2+}$ -Ionen mit Polygalactopyranuronsäure starke Komplexe, was medizinisch zu deren Beseitigung bei akuten Vergiftungen genutzt werden kann.<sup>[434, 435]</sup> Die mechanistische Grundlage für CCI's ist die Fähigkeit bestimmter Kohlenhydratstrukturen mit geeigneten Metallionen stabile Komplexe einzugehen. In wässrigen, physiologischen Puffersystemen sind Komplexbildungskonstanten jedoch sehr klein, so dass die Untersuchung von CCI's relativ schwierig ist. Durch Shift-Analysen von Protonensignalen können in NMR-

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Experimenten Hydroxygruppen identifiziert werden, die an der Metallkomplexierung beteiligt sind.<sup>[131, 436-438]</sup> In Kristallstrukturen können Wasserstoffbrückennetzwerke identifiziert werden, die ebenfalls Indizien zu den an der Komplexierung beteiligten Hydroxygruppen geben können.<sup>[62, 439, 440]</sup> Ergänzend wurden theoretische Studien mit *molecular modeling* durchgeführt, die die experimentellen Befunde untermauerten.<sup>[441, 442]</sup> Die Bindungsstärken der verschiedenen CCIs konnten zum einen durch AFM-<sup>[61]</sup> und zum anderen durch SPR-Experimente bestimmt werden.<sup>[19, 410, 443]</sup>



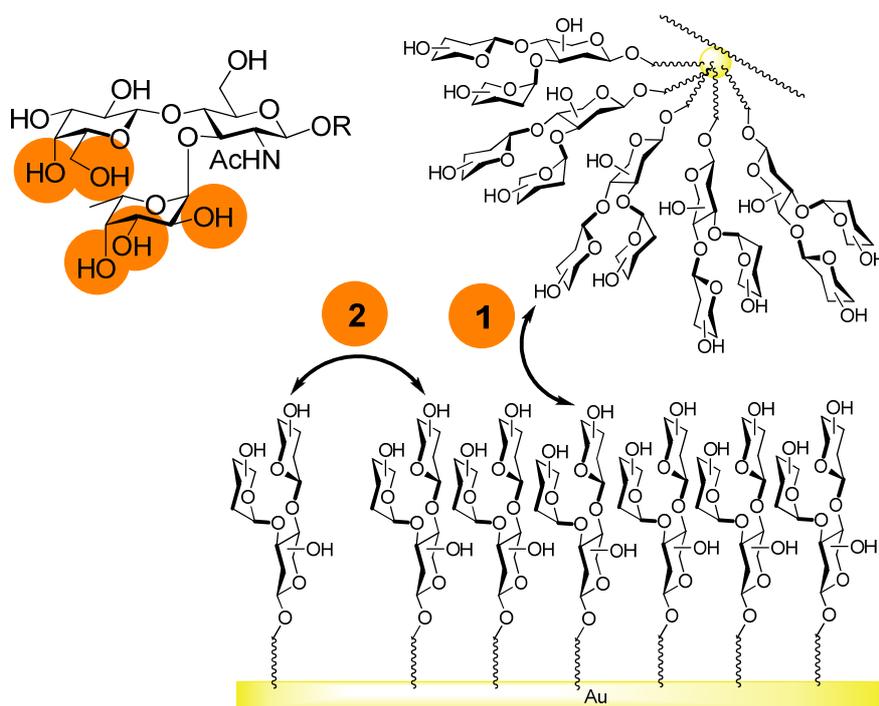
**Abb. 79.** Glycane, bei denen CCIs durch SPR-Experimente an synthetischen Sensoroberflächen nachgewiesen werden konnten. *Homotyp*: C2→C2, C6→C6, C7→C7 (NMR); *Heterotyp*: C3→C5, C4→C5.

Die erste SPR-Studie zu CCIs wurde von Kobayashi *et al.* in Jahr 2000 erbracht. In dieser Arbeit konnte die Ca<sup>2+</sup>-abhängige *heterotyp*-Wechselwirkung zwischen G<sub>M3</sub>- bzw. KDN-G<sub>M3</sub>-Trisacchariden **C3** und **C4** und dem Gg3-Trisaccharid **C5** gezeigt werden (Abb. 79). Im Jahr 2002 nutzten Penades *et al.* erstmals Goldnanopartikel als multivalente Kohlenhydratträger in der SPR-Untersuchung zur *homotyp*-CCI zwischen Le<sup>x</sup>-Trisacchariden **C2**. Später folgten SPR-Studien von Kamerling *et al.*, die die zelladhäsive Rolle der Kohlenhydrate 3-*O*-Sulfo-GlcNAcβ(1→3)Fucα **C6** und 4,6-*O*-Pyr-Galβ(1→4)GlcNAcβ(1→3)Fucα **C7** im Glycan g200 aus dem Schwamm *Microciona prolifera* aufklärte. Es traten *homotyp*-CCI zwischen **C6** und **C7** auf, wohingegen eine **C6**→**C7**-*heterotyp*-CCI nicht nachweisbar war (Abb. 79). Auffällig

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

bei den Kohlenhydraten **C2** – **C7** ist ein strukturelles Merkmal. Alle Strukturen beinhalten Galato- oder Fucopyranosylreste mit einer *ax-äq*-Konfiguration zweier Hydroxygruppen. Nimmt man Hydroxy-, Carboxy- oder Acetamidogruppen von benachbarten Kohlenhydratresten hinzu, kann eine quasi-*ax-äq-ax*-Konfiguration entstehen, die der 1. Angyal-Regel entspricht und damit zur CCI befähigt.

Bis dato fehlt für die bekannten CCI-Systeme eine systematische Untersuchung über die Rolle der einzelnen Hydroxygruppen in der spezifischen Wechselwirkung, in der synthetische Analoga mit unterschiedlicher Konfiguration der Hydroxygruppen eingesetzt werden.



**Schema 29.** Schematische Darstellung von möglichen  $\text{Le}^x$ - $\text{Le}^x$ -Wechselwirkungen mit den dort potentiell beteiligten Hydroxygruppen . 1. Kopf-Kopf-*(trans)*-Wechselwirkung; 2. Seite-Seite-*(cis)*-Wechselwirkung.

Mit dieser Arbeit sollte ein experimenteller Beitrag zum Verständnis der strukturellen Voraussetzungen für das Zustandekommen von CCIs geleistet werden, in dem Analoga im  $\text{Le}^x$ -CCI-System auf ihre Fähigkeit zur Ausbildung von Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen untersucht wurden. Obwohl die *homotyp*-CCI zwischen  $\text{Le}^x$ -Trisacchriden wohl zu am besten untersuchten gehört, ist bis dato wenig über den Einfluss der konfigurationellen Anordnung der Hydroxygruppen bekannt. Mit Hilfen von NMR- und *molecular modeling*-Experimenten sowie durch Kristallstrukturanalyse läßt sich ein hypotetisches Profil der an der CCI ( $\text{Ca}^{2+}$ -Komplexierung) beteiligten Hydroxygruppen erstellen (Schema 29). Im Fucosebaustein sollen je nach Experiment bzw. Studie wesentlich

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

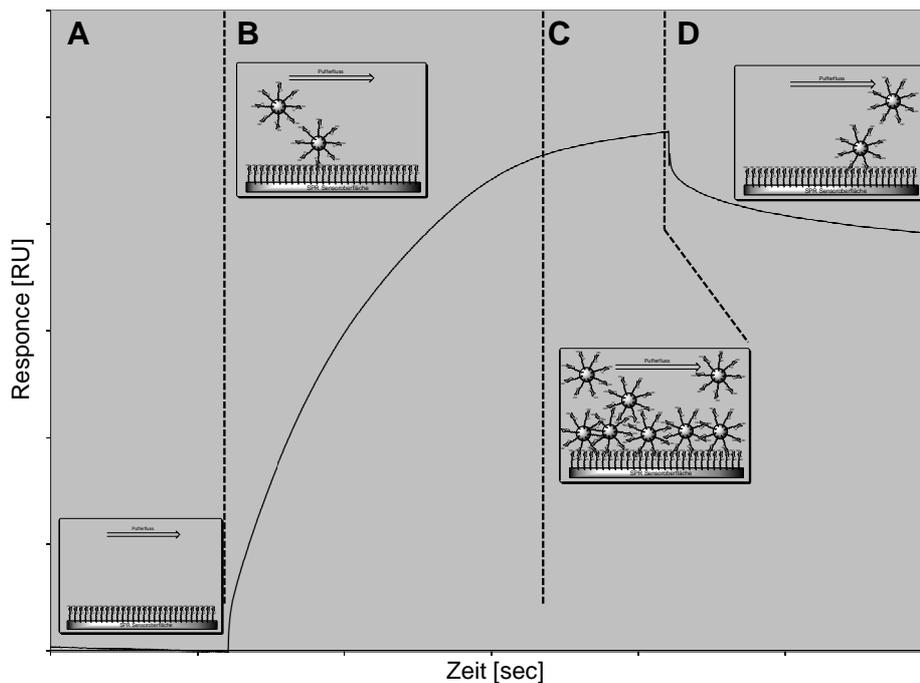
die Hydroxygruppen an C-2, -3 und -4 an der Komplexbildungen der  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen beteiligt sein. Für die Hydroxygruppen der Galactose haben sich hingegen nur die Positionen 4 und 6 als relevant herausgestellt. Die Hydroxygruppen bzw. die Acetamidogruppe des Glucosaminrestes spielen für die *trans*-CCIs nur eine untergeordnete Rolle.

Penades *et al.* hatten für ihre SPR-Untersuchungen zu  $\text{Le}^x$ -CCIs Glyconanopartikel von 1.8 nm Durchmesser mit einer Konzentration von bis zu 1.8  $\mu\text{M}$  verwendet.<sup>[19]</sup> Zur Elution der GNPs über die  $\text{Le}^x$ -funktionalisierte SPR-Sensoroberfläche wurde ein 10 mM HEPES-Puffer mit 150 mM Natriumchlorid und 10 mM Calciumchlorid verwendet. Das in hier vorliegenden Arbeit verfolgte Protokoll zur Synthese der GNPs lieferte wässrige Lösungen mit einer Konzentration von 1.0  $\mu\text{M}$ . Die hier hergestellten GNPs zeigten sich jedoch beim Umpuffern auf die Bedingungen von Penades *et al.* als nicht stabil und fielen nach kurzer Zeit aus der Lösung aus. Hinreichend stabil erwiesen sich die GNPs ausschließlich in 10 mM  $\text{CaCl}_2$ -Lösungen, jedoch waren nach zwei Stunden leichte Trübungen bei einigen GNPs erkennbar, und nach Stehen über Nacht waren auch hier die GNPs ausgefallen. Die Aggregation der Partikel war wohl auf eine  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen induzierte Selbsterkennung der  $\text{Le}^x$ -Kopfgruppen zurückzuführen, da ein Ausfallen der GNPs mit Mono- und Disaccharid-Kopfgruppen nicht zu beobachten war. Dieser Effekt war fast ausschließlich bei relativ hohen Konzentration auszumachen, die Verdünnungen der GNPs von 100 nM waren länger stabil, weshalb diese Konzentration für die anfänglichen CCI-Untersuchungen gewählt wurde. Bei frisch präparierten Lösungen war davon auszugehen, dass ein Zeitraum von etwa 90 Minuten zwischen  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenzugabe und SPR-Analyse ausreichend war, um eine negative Beeinflussung der Messungen durch eventuelle Eintrübungen auszuschließen.

Weil davon auszugehen war, dass hohe Kohlenhydratbelegungsrate so wohl in der SAM als auch auf dem GNP eine optimale Bindung begünstigen, wurden erste CCI-Untersuchungen an der  $\text{Le}^x$ -funktionalisierten **SAM 20** durchgeführt, da sie die höchste Belegungsrate (92%) aufwies. Diese Eigenschaft erfüllte auch das  $\text{Le}^x$ -**GNP-1**. Deshalb wurde zunächst eine 100 nM (+10 mM  $\text{Ca}^{2+}$ ) Lösung der **GNP-1** für drei Minuten bei einer Flussrate von 5  $\mu\text{L}/\text{Minute}$  über die Sensoroberfläche eluiert. Das enthaltene Sensorgramm zeigte eindeutig die zu erwartende Bindung der **GNP-1** zur **SAM 20** mit sehr hoher Response von etwa 4800 RU (Abb. 80). Charakteristisch für diese CCI ist der Verlauf der Bindungskurve. Anders als bei SPR-Sensorgrammen für CPIs geht die Resonanzkurve nicht in einem Gleichgewichtszustand ( $d\text{RU}/dt = 0$ ) über, sondern steigt stetig an (vgl. Abb. 69, S. 137). Man kann die Bindung der **GNP-1** zur **SAM 20** in zwei Phasen unterteilen. In der ersten Phase binden die GNPs zur SAM bis alle „SAM-Bindungsstellen“ belegt sind. Diese Bindung ist relativ schnell ( $d\text{RU}/dt$

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

$\approx k_{\text{ion}} = \text{gro\ss}$ ) (Abb. 80, B). In der zweiten Phase folgt anschließend die Bindung der **GNP-1** zur ersten „Monolage“ der GNPs auf der SAM. Diese Interaktion ist langsamer ( $dRU/dt \approx k_{2\text{on}} = \text{gro\ss}$ ) (Abb. 80, C). In der Dissoziationsphase kommt es zur schnellen Dissoziation der GNP-GNP-Bindung, gefolgt von der sehr langsam Dissoziation der GNPs von der SAM (Abb. 80, D).

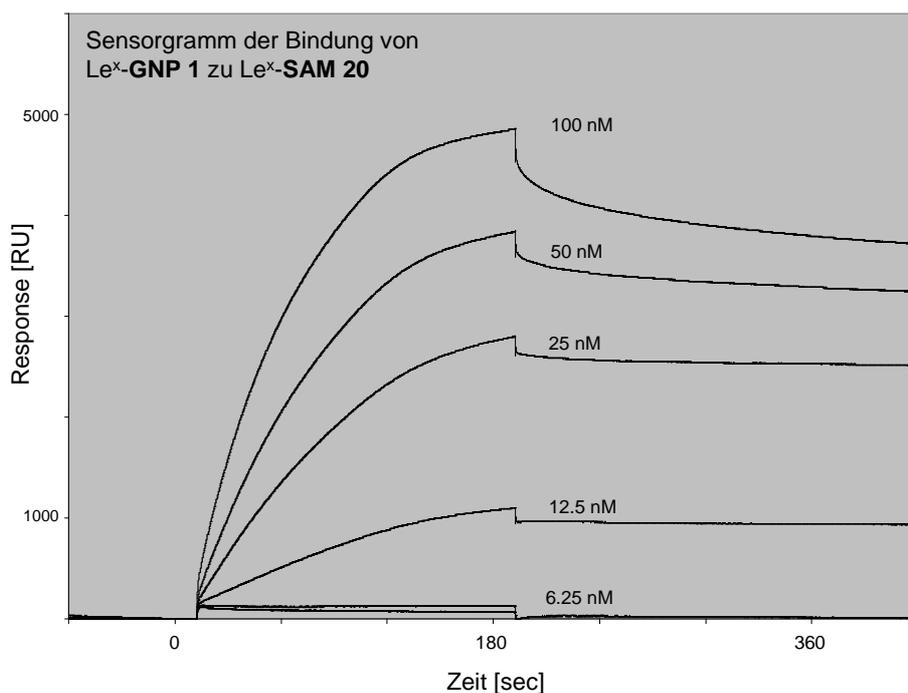


**Abb. 80.** SPR-Differenzsensorgramm für die Bindung von **GNP-1** zur **SAM 20**. A) Laufpufferelution, B) Elution **GNP-1** (100 nM): 1. Assoziationsphase (SAM-Bindung), C) 2. Assoziationsphase (GNP-GNP-Bindung), D) Dissoziationsphase.

Zur Bestimmung der Dissoziationskonstanten  $K_D$  der  $\text{Le}^x$ -**GNP-1** zur  $\text{Le}^x$ -**SAM 20** wurden fünf Verdünnungen der **GNP-1** von 100 nM bis 6.25 nM für jeweils drei Minuten bei einer Flussrate von 5  $\mu\text{L}/\text{Minute}$  zur Differenzsensorgrammbildung über die **SAM 20** und die **SAM 1** (Ref.-Zelle) eluiert. Abbildung 81 zeigt die erhaltenen Differenzsensorgramme (Resonanz **GNP-1**→**SAM 20** - **GNP-1**→**SAM 1**), die mit Hilfe der linearen Regression des Scatchard-Plots der RU-Wert für den „Gleichgewichtszustand“ (maximale Response) der Bindung analysiert wurde. So konnte eine Dissoziationskonstante  $K_D$  von  $166 \pm 3.9$  nM mit einem  $\text{RU}_{\text{Max}}$ -Wert von 12860 RU erhalten werden (Tab. 24, 1, S. 160). Dieser Wert lag in der Größenordnung der Lectinbindung zu Glyco-SAMs (vgl. Abschn. 4.1). Im Vergleich dazu fanden Penades *et al.* für die Bindung von 1.8 nm großen  $\text{Le}^x$ -GNPs mit einer Ligandenanzahl von etwa 100 Moleküle pro GNP einen  $K_D$  von 540 nM bei einem maximalen RU-Wert von

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

etwa 700 RU.<sup>[19]</sup> Dass in den hier durchgeführten SPR-Experimenten für die Le<sup>x</sup>-Le<sup>x</sup>-CCI eine stärkere Bindung als von Penades *et al.* gefunden wurde, war auf die Tatsache zurückzuführen, dass Penades *et al.* kleinere GNPs mit einer geringeren Ligandenanzahl verwendete hatten ( $\varnothing = 1.8$  nm,  $\sim 100$  Le<sup>x</sup> pro GNP). Die hier verwendeten GNPs waren mit einem Durchmesser von etwa 13 nm deutlich größer, wobei die Ligandenanzahl pro GNP etwa 880 Moleküle betrug.



**Abb. 81.** SPR-Sensorgramm für die Bindung von Le<sup>x</sup>-Glyconanopartikeln (**GNP-1**) bei verschiedenen Konzentrationen zu einer Le<sup>x</sup>-funktionalisierten SAM (**SAM 20**).

Die etwa zehnmal höhere Belegung zeigte hier also eine Verstärkung des Multivalenzeffekts, weshalb eine bessere Bindung zu beobachten war. Zum Vergleich bindet monovalentes Le<sup>x</sup>-Methylglycosid zu einer Le<sup>x</sup>-SAM mit einer Dissoziationskonstanten  $K_D$  von nur 5.7 mM etwa sechs Größenordnungen schlechter.<sup>[19]</sup> In SPR-Experimenten zu G<sub>M3</sub>-Gg3-CCI basiert auf Sphingolipidmonolagen und Polymer-gebundenen Liganden konnten für die spezifischen CCI ein  $K_D$ -Wert von 400 nM gefunden werden.<sup>[443]</sup>

Dieses erste Ergebnis zu den Le<sup>x</sup>-basierten CCIs lag in der Größenordnung zuvor ermittelter  $K_D$ -Werte für CCIs und bildete eine sehr gute Grundlage für die weiterführenden Untersuchungen, da die starke Bindung und der geringe relative Fehler von 2.3% eine zuverlässige Beurteilung der Unterschiede in der Bindung von Le<sup>x</sup>-Analoga zu ließ.

Als Nächstes sollte der Einfluss der Le<sup>x</sup>-Kopfgruppenkonzentration und die Struktur des Linker auf die spezifische Interaktion untersucht werden. Im Jahr 2005 konnten Sinaÿ *et al.*

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

einen Verdünnungseffekt in der Adhäsionsenergie durch Messung des Kontaktwinkels zwischen  $\text{Le}^x$ -Ceramid enthaltenden Vesikeln feststellen.<sup>[444]</sup> Ähnlichen Kontaktwinkelmessungen wurden von Basu *et al.* an Langmuir-Monolagen von Lactose- und  $\text{GM}_3$ -Ceramiden durchgeführt.<sup>[445]</sup> Auch hier konnte ein Verdünnungseffekt mit Verschlechterung der Bindung festgestellt werden. Nur in den 100%-igen Kohlenhydratmonolagen konnte ausreichend Bindungsenergie festgestellt werden. Bis dato fehlten experimentelle Untersuchungen zu Verdünnungseffekten in CCI, die auf SPR-Sensoroberflächen durchgeführt wurden.

**Tabelle 24.** Dissoziationskonstanten der Bindung von  $\text{Le}^x$ -Goldnanopartikeln zu  $\text{Le}^x$ -SAMs mit unterschiedlichen Kopfgruppenkonzentrationen und Spacertypen.

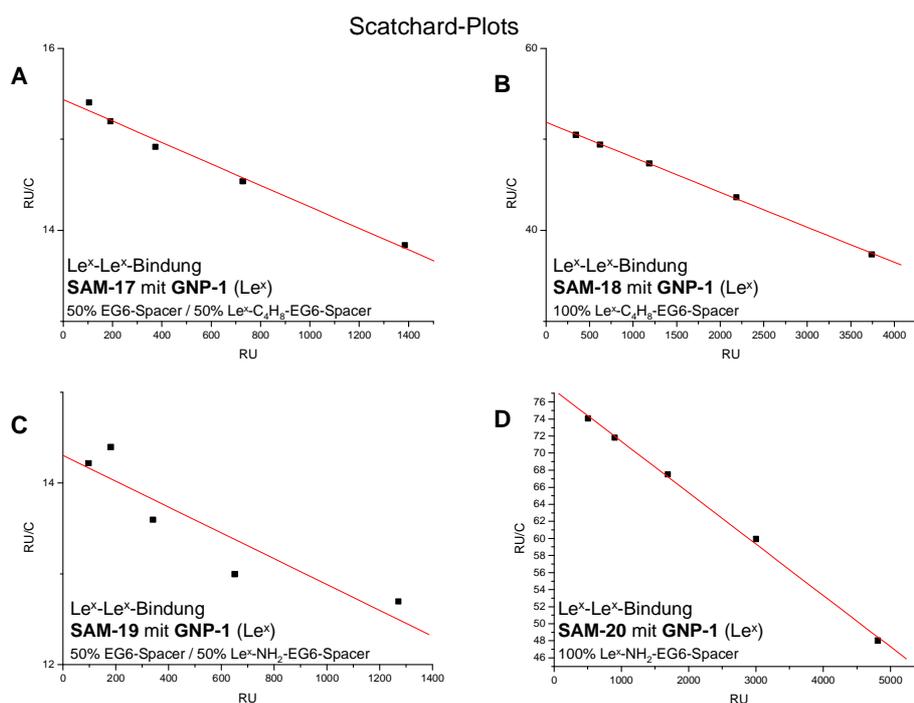
	Theor. Anteil Aminolinker	SAM	GNP	$K_D$ ( $\text{Ca}^{2+}$ )
1	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 20</b> ( $\text{Le}^x$ )	<b>GNP-1</b> ( $\text{Le}^x$ )	$166 \pm 3.9$ nM / 12860 RU*
2	50% <sup>b</sup>	<b>SAM 19</b> ( $\text{Le}^x$ )	<b>GNP-1</b> ( $\text{Le}^x$ )	$704 \pm 180$ nM / 10075 RU*
3	100% <sup>c</sup>	<b>SAM 18</b> ( $\text{Le}^x$ )	<b>GNP-1</b> ( $\text{Le}^x$ )	$259 \pm 3.2$ nM / 13475 RU*
4	50% <sup>d</sup>	<b>SAM 17</b> ( $\text{Le}^x$ )	<b>GNP-1</b> ( $\text{Le}^x$ )	$847 \pm 57$ nM / 13080 RU*

a) Spacer **161**; b) Spacer **161/157**; c) Spacer **159**; d) Spacer **159/157**; \*Werte gerundet.

Bei einer 1:1-Verdünnung des Linkerspacers **161** mit dem Triethylenglycolspacer **157** und anschließender  $\text{Le}^x$ -Belegung konnte ein Belegungsgrad von 77% erreicht werden (**SAM 19**). Der  $K_D$ -Wert der Bindung der **GNP-1** zur **SAM 19** verringerte sich etwa um das Vierfache auf  $704 \pm 180$  nM (Tab. 24, 2). Der Verlust von lediglich 14% an  $\text{Le}^x$ -Belegung führte zu einer deutlichen Verringerung der Bindungsstärke verbunden mit dem Verlust an  $\text{RU}_{\text{Max}}$  und einer Zunahme des Fehlers. Bereits hier wurde deutlich, dass CCI nur bei sehr dichter Packung der Kohlenhydratliganden mit effektiver Stärke zustande kommen können, wie sie in Glycosphingolipid-Patches zu finden sind. Die Verwendung des um einen Butylspacer verlängerten Anker-moleküls **159** (**SAM 18**) schwächte ebenfalls die Bindung der **GNP-1** zur Sensoroberfläche ( $259 \pm 3.2$  nM, Tab. 24, 3). Der Grund hierfür dürfte daran liegen, dass die SAM-Bildung mit dem Anker-molekül **159** schlechter als mit der Verbindung **161** war (SAM-Qualität: **SAM 18** = 45.8% zu **SAM 20** = 49.3%) und deshalb eine geringere Belegungsgrad zur Folge hatte (89% zu 92%). Bei einer durch Verdünnung verringerten Belegungsrate von 75% (**SAM 17**) wurde ebenfalls eine deutlich schwächere Bindung der **GNP-1** beobachtet

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

( $K_D = 847 \pm 57$  nM; Tab. 24, 4). Es konnten dabei aber ähnliche  $RU_{Max}$ -Werte erzielt werden, woraus geschlossen werden konnte, dass die Bindungsmodalität gleich war. Dieser Umstand könnte wichtig werden, wenn solche Sensorsysteme zur Untersuchung von *cis*-CCIs eingesetzt werden. Es ist davon auszugehen, dass eine lockere Präsentation der Liganden einen zahnradmäßigen Kontakt der Liganden auf der SAM und dem GNP ermöglicht, wie er bei *Cis*-CCIs zu finden ist (Schema 29, S. 156). Bislang wurden diese Wechselwirkungen nur durch *cis*-CCI induzierte Konformationsänderungen in  $Le^x$ -glycosylierten Peptidfoldameren untersucht.<sup>[446]</sup> Um bessere Vergleiche zwischen *trans*- und *cis*-CCIs durchführen zu können, sollten die Bindungscharakteristika oder –modalitäten, hier charakterisiert durch eine gute Übereinstimmung der  $RU_{Max}$ -Werte, gleich bzw. sehr ähnlich sein. Dies könnte bei dem vorliegenden Linkersystem der Fall sein. Zur genaueren Abklärung wären detailliertere Untersuchungen notwendig, jedoch wurde der Schwerpunkt in dieser Arbeit auf die Untersuchung von *trans*-CCIs gelegt.



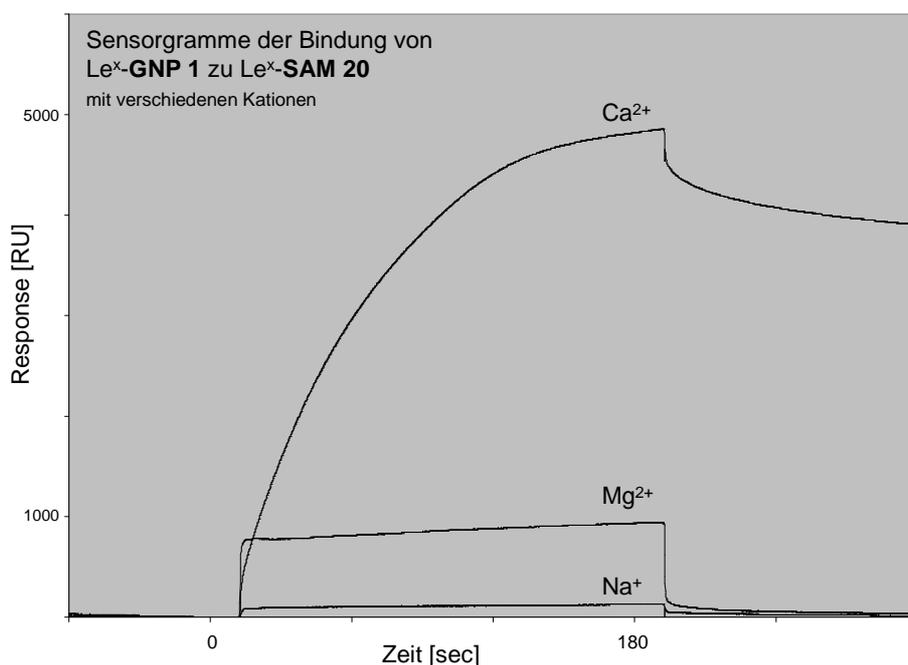
**Abb. 82.** Scatchard-Plots von  $Le^x$ -GNP-Bindung zu  $Le^x$ -SAMs mit und ohne Kopfgruppenverdünnung (mit: A + C, ohne: B + D).

Abbildung 82 zeigt die Scatchard-Plots der  $Le^x$ - $Le^x$ -CCIs, die mit dem GNP-1 auf den  $Le^x$ -SAMs (SAM 17 - 20) mit unterschiedlichen Linkersystemen erhalten wurden. Die Plots für die verdünnten SAMs zeigen Abweichungen von der Linearität. Die Regressionsgraden sind fehlerbehaftet. Das System aus den Spacern 157/161 lieferte besonders große Abweichungen

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

(Abb.82, A + C). Die einheitlichen SAMs sowohl aus dem Anker-molekül **161** als auch aus **159** lieferten sehr lineare Scatchard-Plots (Abb. 82, B + D). Weil die  $RU_{\text{Max}}$ -Werte für beide SAMs sehr ähnlich waren, jedoch die Bindung zur **SAM 20** fast doppelt so stark war, wurde in den weiterführenden CCI-Untersuchungen Glyco-SAMs basierend auf dem Anker-molekül **161** verwendet.

Da  $\text{Le}^x$ -CCIs als ausschließlich  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängig postuliert wurden, wurde als nächstes der Einfluss von  $\text{Mg}^{2+}$  und  $\text{Na}^+$ -Ionen auf die  $\text{Le}^x$ -CCI untersucht. Hierzu wurden von der **GNP-1**-Stammlösung 100 nM Verdünnungen hergestellt, die zum einen 10 mM  $\text{Na}^+$ -Ionen und zum anderen 10 mM  $\text{Mg}^{2+}$ -Ionen enthielten.



**Abb. 83.** SPR-Sensorgramm für die Bindung von  $\text{Le}^x$ -Glyconanopartikeln (**GNP-1**) mit verschiedenen Kationen (je 10 mM) zu einer  $\text{Le}^x$ -funktionalisierten SAM (**SAM 20**). Konzentration der GNP-Lösung: 100 nM.

Die Abbildung 83 zeigt die Sensorgramme, die durch Elution der **GNP-1** mit verschiedenen Kationen über den **SAM 20** erhalten wurden. Mit  $\text{Na}^+$ -Ionen war überhaupt keine Interaktion zwischen die  $\text{Le}^x$ -funktionalisierten Oberflächen festzustellen. Beim Zusatz von  $\text{Mg}^{2+}$ -Ionen konnte zwar ein deutlicher Anstieg der Response beobachtet werden, jedoch zeigte die Resonanzkurve nicht das typische zweiphasige CCI-Verhalten. Nach sprunghaftem Anstieg der Response war nur eine sehr geringe Zunahme auszumachen. Auf Grund dieses Aussehens der Resonanzkurve musste von einer unspezifischen Interaktion ausgegangen werden, die durch eine hohe Ionenstärke in der Lösung hervorgerufen wurde. Obwohl auf die Untersuchung von anderen Kationen wie  $\text{Hg}^{2+}$  oder  $\text{Pb}^{2+}$  verzichtet wurde, kann nach diese

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Experimente vermutet werden, dass die  $\text{Le}^x\text{-Le}^x\text{-CCI}$  in biologischen Systemen ausschließlich Calcium-abhängig ist, da solch hohe Konzentrationen an Übergangsmetallionen in der Regel unüblich sind.

Nachdem ein erheblicher Einfluss der Verdünnung im SAM auf die CCI zu beobachten war, sollte nun der verringerte Belegungsgrad an  $\text{Le}^x$  auf den GNPs untersucht werden. Dazu wurden die **GNP-2** und **-3** unter identischen Bedingungen wie die **GNP-1** über die **SAM 20** eluiert. Dabei konnte festgestellt werden, dass die Auflockerung der Ligandendichte von 880  $\text{Le}^x$ -Molekülen pro GNP (**GNP-1**) über 660 Liganden/GNP (**GNP-2**) zu 400 Liganden/GNP (**GNP-3**) mit einem dramatischen Verlust von Bindungsstärke verbunden war (Tab. 25).

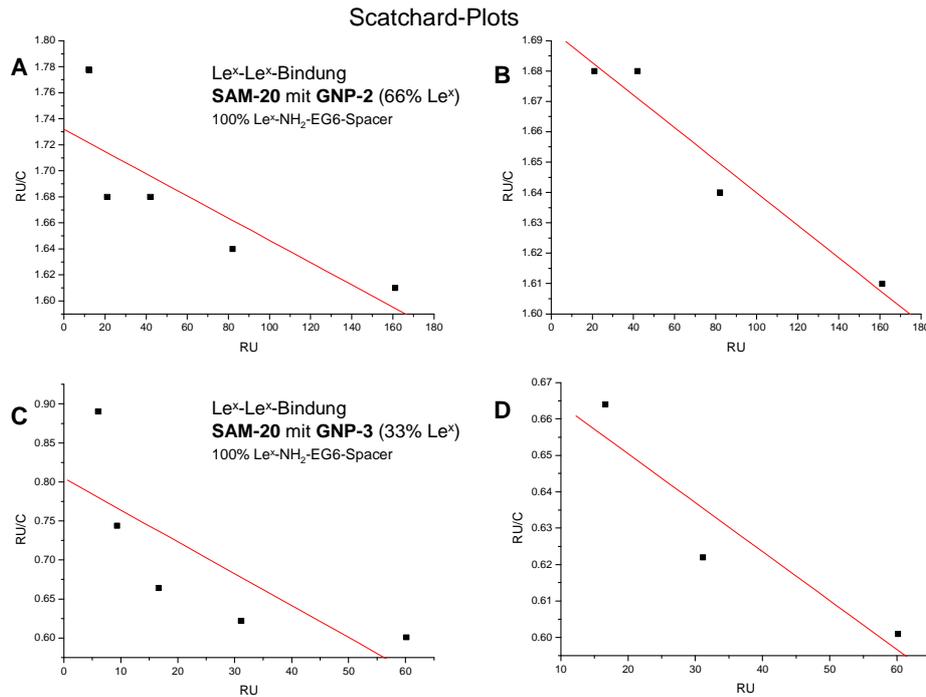
**Tabelle 25.** Dissoziationskonstanten der Bindung von  $\text{Le}^x$ -Goldnanopartikeln mit unterschiedlichen Kopfgruppenkonzentrationen zur einheitlichen  $\text{Le}^x$ -SAM (**SAM 20**).

	Theor. Anteil Aminolinker	SAM	GNP	$K_D$ ( $\text{Ca}^{2+}$ )
1	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 20</b> ( $\text{Le}^x$ )	<b>GNP-1</b> $\text{Le}^x$ (100%) <sup>b</sup>	$166 \pm 3.9$ nM / 12860 RU
2	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 20</b> ( $\text{Le}^x$ )	<b>GNP-2</b> $\text{Le}^x$ (~66%) <sup>b</sup>	$1.86 \pm 0.31$ $\mu\text{M}$ / 3160 RU <sup>c</sup>
4	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 20</b> ( $\text{Le}^x$ )	<b>GNP-3</b> $\text{Le}^x$ (~33%) <sup>b</sup>	$746 \pm 299$ nM / 505 RU <sup>d</sup>

a) Spacer **161**; b) 6.25 – 100 nM; c) nach Scatchard-Plot B (Abb. 84), mit A:  $1.17 \pm 0.47$   $\mu\text{M}$  / 2030 RU; d) nach Scatchard-Plot D (Abb. 84), mit C:  $245 \pm 120$  nM / 197 RU.

Für die **GNP-2** konnte nur noch ein  $K_D$  von  $1.86 \pm 0.31$   $\mu\text{M}$  bei einer  $\text{RU}_{\text{Max}}$  von 3160 gemessen werden (Tab. 25, 2). Die Abnahme der Belegung von 880 Liganden auf 660 Liganden pro GNP war vergleichbar mit der Reduktion des Belegungsgrades in der **SAM 19** und der **SAM 17**, jedoch hatte die Verringerung der Belegung auf den GNPs einen sehr viel stärkeren Einfluss auf die Bindung. Der Grund hier für dürfte wohl die globuläre Struktur der GNPs sein, die im Vergleich zu einer planaren Oberflächen bei Verlust von Liganden zu einem größeren Abstand führt. Für die **GNP-3** wurde wiederum eine stärkere Bindung mit einem  $K_D$  von  $746 \pm 299$  nM beobachtet. Der sehr große relative Fehler von über 40% und der sehr kleine  $\text{RU}_{\text{Max}}$ -Wert von 505 RU ließen die Vermutung nahe liegen, dass die Bindung einen hohen Anteil an Unspezifität aufwies. Dieser Verdacht konnte für die Interaktion beider GNPs untermauert werden, da die Scatchard-Plots der Bindungen stark von der Linearität abwichen (Abb. 84). Abweichung von der Linearität des Scatchard-Plots können sowohl durch Kompetitivität (s. o.) als auch durch Unspezifität der Bindung zustande kommen.

## 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

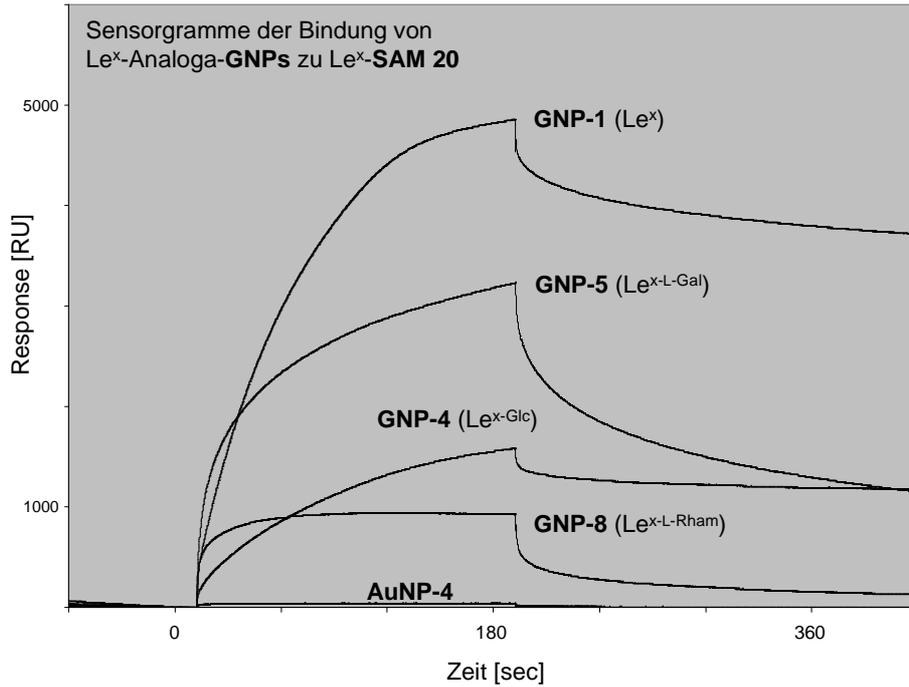


**Abb. 84.** Scatchard-Plots von Le<sup>x</sup>-GNP-Bindung mit unterschiedlichen Kopfverdünnungen zur einheitlichen Le<sup>x</sup>-SAM SAM 20. A: Lineare Regressionsgerade durch fünf Werte für **GNP-2**; B: Lineare Regressionsgerade durch vier Werte für **GNP-2**; C: Lineare Regressionsgerade durch fünf Werte für **GNP-3**; D: Lineare Regressionsgerade durch drei Werte für **GNP-3**.

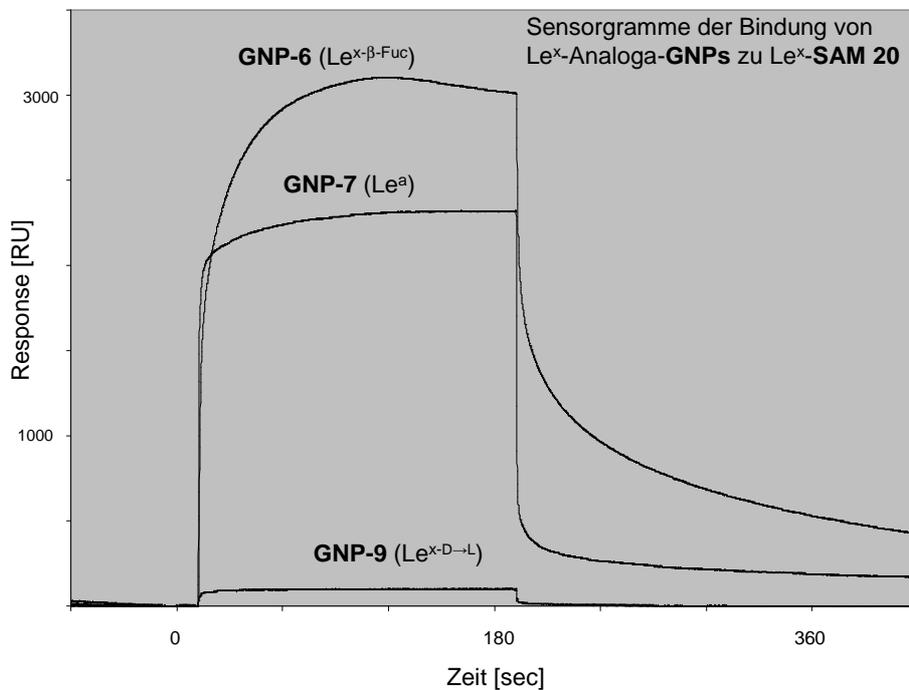
Mit den vorangegangenen SPR-Experimenten konnte die Abhängigkeit der CCI-Bindung vom Linkersystem und dem Kohlenhydratbelegungsgrad sowohl auf der SAM als auch dem GNP gezeigt werden. Für die weiterführenden Untersuchungen zur Struktur-Wechselwirkungsbeziehung im Le<sup>x</sup>-CCI-System wurde die **SAM 20** (Le<sup>x</sup>-Kopfgruppe) verwendet, da die Le<sup>x</sup>-GNP zu ihr die stärkste Bindung zeigten.

Aufeinander folgend wurden die Le<sup>x</sup>-Analog-GNPs **GNP-4** bis **GNP-9** und die Disaccharid-GNPs **GNP-17** bis **GNP-19** zunächst in einer Konzentrationsreihe von 6.25 nM bis 100 nM für drei Minuten über die **SAM 20** mit einer Flussrate von 5  $\mu$ L/min eluiert. Als Negativkontrolle wurden darüber hinaus die unfunktionalisierten **AuNP-4** unter den gleichen Bedingungen analysiert. Alle GNP-Lösungen enthielten Ca<sup>2+</sup>-Ionen mit einer Konzentration von 10 mM. Bereits hier zeigten sich deutliche Unterschiede in der Bindung der einzelnen GNPs zur Le<sup>x</sup>-SAM. Während die Response für die Le<sup>x</sup>-ähnlichen Kopfgruppen Le<sup>x</sup>-L-Gal, Le<sup>x</sup>-Glc und Le<sup>x</sup>-Rha (**GNP-4**, **-5**, **-8**) bei diesen Konzentrationen mit etwa 1000 bis 3000 RU sehr groß war, konnte für die restlichen GNPs bei der höchsten Konzentration (100 nM) nur eine maximale Response von bis zu ca. 100 RU erhalten werden.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente



**Abb. 85.** SPR-Sensorgramme für die Bindung von Le<sup>x</sup>-Glyconanopartikeln (**GNP-1**) und Le<sup>x</sup>-Analoga-Glyconanopartikeln (**GNP-4**, **GNP-5**, **GNP-8**) zu einer Le<sup>x</sup>-funktionalisierten SAM (**SAM 20**). Konzentration der GNP-Lösung: 100 nM.



**Abb. 86.** SPR-Sensorgramme für die Bindung von Le<sup>x</sup>-Analoga-Glyconanopartikeln (**GNP-6**, **GNP-7**, **GNP-9**) zu einer Le<sup>x</sup>-funktionalisierten SAM (**SAM 20**). Konzentration der GNP-Lösung: 4000 nM.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Deshalb wurden diese GNP-Lösungen konzentriert und jeweils Verdünnungsreihen von 4000 bis 250 nM hergestellt. Auch hier wurde eine  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionenkonzentration von 10 mM eingestellt, und unter den gleichen Bedingungen die SPR-Experimente durchgeführt. Alle so erhaltenen Differenzsensorgramme wurde mit Hilfe der linearen Regression der Scatchard-Plots analysiert. Die Abbildungen 85 und 86 zeigen die Sensorgramme der GNP-Bindung der  $\text{Le}^x$ -Analoge zur  $\text{Le}^x$ -SAM 20 in jeweils der höchsten Konzentration (Abb. 85: 100 nM GNP; Abb. 86: 4000 nM GNP). Die durch die lineare Regression der Scatchard-Plots ermittelten  $K_D$ -Werte der verschiedenen GNP-Bindungen sind in der Tabelle 26 zusammengefasst.

**Tabelle 26.** Dissoziationskonstanten der Bindung von Glyconanopartikeln mit unterschiedlichen  $\text{Le}^x$ -Analogakopfgruppen und verschiedenen Disaccharidkopfgruppen zur einheitlichen  $\text{Le}^x$ -SAM SAM 20.

	Theor. Anteil Aminolinker	SAM	GNP	$K_D$ ( $\text{Ca}^{2+}$ )
1	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-1 ( $\text{Le}^x$ )	$166 \pm 3.9$ nM / 12860 RU <sup>b</sup>
2	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-4 ( $\text{Le}^{x-\text{Glc}}$ )	$735 \pm 110$ nM / 12770 RU <sup>b</sup>
3	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-5 ( $\text{Le}^{x-\text{L-Gal}}$ )	$347 \pm 2.3$ nM / 13365 RU <sup>b</sup>
4	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-6 ( $\text{Le}^{x-\beta\text{-Fuc}}$ )	$16.6 \pm 0.2$ $\mu\text{M}$ / 14970 RU <sup>c</sup>
5	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-7 ( $\text{Le}^a$ )	$24.9 \pm 0.6$ $\mu\text{M}$ / 16260 RU <sup>c</sup>
6	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-8 ( $\text{Le}^{x-\text{Rha}}$ )	$1.09 \pm 0.08$ $\mu\text{M}$ / 10560 RU <sup>b</sup>
7	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-9 ( $\text{Le}^{x-\text{D} \rightarrow \text{L}}$ )	$44.5 \pm 1.2$ $\mu\text{M}$ / 1220 RU <sup>c</sup>
8	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-19 (LacNAc)	$276 \pm 97$ $\mu\text{M}$ / 6950 RU <sup>c</sup>
9	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-17 (Lac)	- <sup>d</sup>
10	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-16 (Cell)	- <sup>d</sup>
11	100% <sup>a</sup>	SAM 20 ( $\text{Le}^x$ )	GNP-18 (Malt)	- <sup>d</sup>

a) Spacer 161; b) ermittelt mit einer Verdünnungsreihe von 6.25 – 100 nM; c) ermittelt mit einer Verdünnungsreihe von 250 – 4000 nM; d) Resonanz bei Bindungsgleichgewicht < 60 RU.

Die beste Bindung aller gemessenen GNPs zur  $\text{Le}^x$ -SAM 20 konnte mit dem natürlichen  $\text{Le}^x$ -GNP-1 erhalten werden ( $K_D = 166 \pm 3.9$  nM, Tab. 26, 1). Tauschte man die D-Galactose durch D-Glucose aus, so verschlechterte sich die Bindung mit einem  $K_D$ -Wert von  $735 \pm 110$  nM um etwa das fünffache (Tab. 26, 2). Eine zusätzliche Hydroxygruppe in der L-

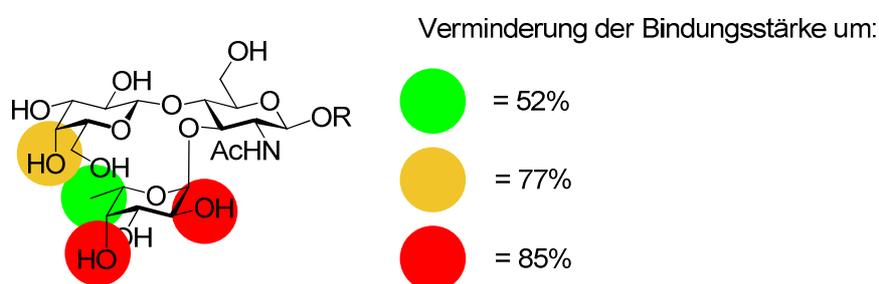
#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Fucose ( $\rightarrow$ L-Galactose) führte ebenfalls zu einer geringeren Bindung der GNPs. Diese Verringerung war jedoch nicht so gravierend. Es wurde für die Bindung der **GNP-5** zur **SAM 20** mit einem  $K_D$ -Wert von  $347 \pm 2.3$  nM ein doppelt so hoher Wert gefunden (Tab. 26, 3). Einen noch deutlicheren Einfluss auf die  $Le^x$ -CCI hatte der Austausch von L-Fucose durch L-Rhamnose. Die Bindung der **GNP-8** zur **SAM 20** war neun- bis zehnmalschwächer als die „natürliche“  $Le^x$ - $Le^x$ -CCI ( $K_D = 1.09 \pm 0.08$   $\mu$ M, Tab. 26, 6). Interessant war der Vergleich der Resonanzkurven für die stark bindenden  $Le^x$ -Analog-GNPs (Abb. 85). Während im Sensorgramm für die  $Le^x$ - $Le^x$ -CCI deutlich das zweiphasige Verhalten der GNP-Bindung erkennbar ist, fand für die Analoga  $Le^{x-L-Gal}$  und  $Le^{x-Glc}$  ein kontinuierlicherer Aufbau der GNP-Lagen auf der SAM statt. Davon wiederum wich die Bindung der  $Le^{x-Rham}$ -GNP deutlich ab. Hier bildete sich sehr schnell eine GNP-Monolage auf der SAM aus. Jedoch konnten sich nur sehr schlecht weitere GNP-Lagen ausbilden. Hieraus ließ sich folgendes ableiten: sowohl die  $Le^{x-L-Gal}$ -GNP als auch die  $Le^{x-Glc}$ -GNP binden zur  $Le^x$ -SAM. Darüber hinaus interagieren die  $Le^{x-L-Gal}$ -GNP und die  $Le^{x-Glc}$ -GNP – erkennbar um kontinuierlichem Anstieg der Resonanzkurven – mit sich selbst. Folglich existieren neben der  $Le^x$ - $Le^{x-L-Gal}$ - und der  $Le^x$ - $Le^{x-Glc}$ -CCI, welche als *heterotyp*-CCIs betrachtet werden können, zwei neuartige „künstliche“ *homotyp*-CCIs, die als  $Le^{x-L-Gal}$ - $Le^{x-L-Gal}$ -CCI bzw.  $Le^{x-Glc}$ - $Le^{x-Glc}$ -CCI bezeichnet werden können. Es schien, dass die Bindungsstärke der  $Le^{x-Glc}$ - $Le^{x-Glc}$ -CCI grösser war als die der  $Le^{x-L-Gal}$ - $Le^{x-L-Gal}$ -CCI, weil die Dissoziationskurve für **GNP-5** ( $Le^{x-L-Gal}$ ) nach Beendigung der GNP-Injektion schneller und steiler abfiel als für die **GNP-4** ( $Le^{x-Glc}$ ) (Abb. 85). Für das  $Le^{x-Rham}$ -Analog konnte zwar die *heterotyp*- $Le^x$ - $Le^{x-Rham}$ -CCI beobachtet werden, jedoch war eine *homotyp*- $Le^{x-Rham}$ - $Le^{x-Rham}$ -CCI nicht nachweisbar. Ein weiteres Indiz für diese Vermutung waren die ermittelten  $RU_{Max}$ -Werte. Während die Werte für die  $Le^x$ -,  $Le^{x-L-Gal}$ - und  $Le^{x-Glc}$ -Systeme etwa 13000 RU betragen, konnte im  $Le^{x-Rham}$ -System nur ein Wert von ca. 10500 RU gefunden werden. Dass diese Bindungen spezifisch waren, konnte durch die Elution der unfunctionalisierten **AuNP-4** gezeigt werden. Im Sensorgramm ist keine Bindung festzustellen (Abb. 85). Aus zeitlichen Gründen konnten weitere SPR-Experimente zur Abklärung der vorstehenden Hypothese nicht durchgeführt werden. So sollten die reversen SPR-Experimente sowie die Untersuchungen an  $Le^{x-L-Gal}$ - und  $Le^{x-Glc}$ -SAMs weitere Belege für die neuartigen „künstlichen“ *homotyp*-CCIs liefern.

Die strukturellen Änderungen gegenüber dem  $Le^x$ -Trisaccharid waren in den Trisacchariden  $Le^a$ ,  $Le^{x-\beta-Fuc}$  und  $Le^{x-D\rightarrow L}$  größer als in den zuvor besprochenen Glycosiden, weshalb die Bindungen der **GNP-6**, **-7** und **-9** zur  $Le^x$ -**SAM 20** um ein Vielfaches geringer waren (Abb. 86 und Tab. 26; 4, 5, 7). Es konnten nur Dissoziationskonstanten im mittleren  $\mu$ molaren

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Bereich ermittelt werden. Für die **GNP-6** ( $\text{Le}^{\text{x}-\beta\text{-Fuc}}$ ) konnte ein  $K_D$  von  $16.6 \pm 0.2 \mu\text{M}$  gefunden werden. Dieser Wert war der niedrigste für die schlecht bindenden  $\text{Le}^{\text{x}}$ -Analog-GNPs, was an der geringsten strukturellen Veränderung gegenüber  $\text{Le}^{\text{x}}$  gelegen hatte. Je größer die Abweichung war desto schlechter die Bindung. Die **GNP-7** ( $\text{Le}^{\text{a}}$ ) banden zur **SAM 20** mit einem  $K_D$  von  $24.9 \pm 0.6 \mu\text{M}$  und die **GNP-9** ( $\text{Le}^{\text{x-D} \rightarrow \text{L}}$ ) mit einem  $K_D$  von  $44.5 \pm 1.2 \mu\text{M}$ . Weil die  $\text{RU}_{\text{Max}}$ -Werte dieser drei SPR-Experimente Werte von etwa 15000, 16200 und 1200 aufwiesen, war davon auszugehen, dass die Bindungen einen sehr großen Anteil an Unspezifität enthielt. Anhand dieser Daten ließ sich für die  $\text{Le}^{\text{x}}$ -CCI eine vorläufige sogenannte „heat map“ für den Einfluss der Hydroxygruppen für das Zustandekommen der Wechselwirkung erstellen (Schema 30).



**Schema 30.** „heat map“ über den Einfluss der verschiedenen Hydroxygruppen auf die  $\text{Le}^{\text{x}}$ -CCI: grün = gering, orange = mittel, rot = hoch.

Grundsätzlich war die konfigurationellen Anordnung der Hydroxygruppen in  $\text{Le}^{\text{x-L-Gal}}$  identisch mit der in  $\text{Le}^{\text{x}}$ . Jedoch führte eine zusätzliche Hydroxygruppe in Position 6 der L-Fucose zu einer leichten konformellen Änderung im Molekül, was zur Folge hatte, dass vom idealen Abstand der Hydroxygruppen für die  $\text{Ca}^{2+}$ -Komplexierung abgewichen wurde. Die konfigurationellen Änderung der 4-Hydroxygruppe im Galactosebaustein ( $\text{Le}^{\text{x}} \rightarrow \text{Le}^{\text{x-Glc}}$ ) führte zu einer Verminderung der  $\text{Le}^{\text{x}}$ - $\text{Le}^{\text{x}}$ -Bindungsstärke um 77%. Einen noch größeren Einfluss hatte der Austausch der L-Fucose durch L-Rhamnose. Die konfigurationellen Änderung der Hydroxygruppen 2' und 4' verminderten die Bindungsstärke um 85%. Diese Resultate standen mit den theoretischen Befunden über Einfluss der Hydroxygruppen im Einklang. Zukünftig sollten noch detailliertere Untersuchungen basierend auf der hier vorgestellten SPR-Methodik zur Erforschung von CCIs einen tieferen Einblick in den Mechanismus dieser Interaktionen liefern. Dazu sollte ein umfassende Bibliothek an Desoxy- $\text{Le}^{\text{x}}$ -Analoga sowie an  $\text{Le}^{\text{x}}$ -Konfigurationsanaloga synthetisiert und analysiert werden.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

In den SPR-Experimenten zur Bindung der Disaccharid-GNPs **GNP-16**, **-17**, **-18** und **-19** zur **SAM 20** konnte nur noch für das „Le<sup>x</sup>-Disaccharid“-**GNP-19** (LacNAc) eine Bindung mit einer im Vergleich sehr großen Dissoziationskonstanten  $K_D$  von  $276 \pm 97 \mu\text{M}$  festgestellt werden (Tab. 26, 8). Bugg konnte im Jahr 1973 erstmals die Kristallstruktur eines Calcium-Lactose-Komplexes aufklären und berichtete in dieser Arbeit über die Rolle von Calcium-Lactose-Komplexen in wichtigen biologischen Prozessen wie dem Calciumtransport, der Calcifikation in Knochen oder der Zell-Zell-Adhäsion.<sup>[439]</sup> Da die Komplexierung von Metallionen durch Kohlenhydrate die Grundlage aller CCIs zu sein scheint, war davon auszugehen, dass mit SPR-Bindungsexperimenten die Lactose-Komplexierung durch spezifische CCI nachzuweisen ist.

**Tabelle 27.** Dissoziationskonstanten der Bindung von Glyconanopartikeln mit unterschiedlichen Monosaccharid- und Disaccharidkopfgruppen zu den **SAMs 21** und **22**.

	Theor. Anteil Aminolinker	SAM	GNP	$K_D$ (Ca <sup>2+</sup> )
1	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-10</b> (β-Glc)	- <sup>b</sup>
2	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-11</b> (α-Glc)	- <sup>b</sup>
4	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-12</b> (α-Man)	- <sup>b</sup>
5	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-13</b> (β-Gal)	- <sup>b</sup>
6	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-14</b> (β-GlcNAc)	- <sup>b</sup>
7	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-15</b> (α-Ido)	- <sup>b</sup>
8	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-16</b> (α-Tal)	- <sup>b</sup>
9	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-17</b> (Lac)	$1.20 \pm 0.17 \mu\text{M}$ 10310 RU <sup>c</sup>
10	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-16</b> (Cell)	$187 \pm 6.7 \mu\text{M}$ 6400 RU <sup>d</sup>
11	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-18</b> (Malt)	- <sup>b</sup>
12	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 21</b> (β-Lac)	<b>GNP-19</b> (LacNAc)	$1.45 \pm 0.27 \mu\text{M}$ 3520 RU <sup>c</sup>
13	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 22</b> (β-LacNAc)	<b>GNP-19</b> (LacNAc)	- <sup>b</sup>
14	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 22</b> (β-LacNAc)	<b>GNP-17</b> (Lac)	$2.10 \pm 0.89 \mu\text{M}$ 3470 RU <sup>c</sup>

a) Spacer **161**; b) Resonanz bei Bindungsgleichgewicht < 60 RU ;c) ermittelt mit einer Verdünnungsreihe von 6.25 – 100 nM; d) ermittelt mit einer Verdünnungsreihe von 250 – 4000 nM.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Deshalb wurden unter den oben erarbeiteten SPR-Bedingungen verschiedenen Mono- und Disaccharid-GNPs über die **SAMs 21** und **22** eluiert, die zum einen mit Lactose und zum anderen mit *N*-Acetyllactosamin funktionalisiert waren. Die Sensorgramme wurden mittels Scatchard-Plots analysiert (Tab. 27, 1 - 8). Für alle Monosaccharid-GNPs konnte keine Bindung zur **SAM 21** (Lactose) gefunden werden (Tab 27, 1-8). Dahingegen banden die Disaccharid-GNPs mit unterschiedlicher Stärke zur Lactose-**SAM 21**, abgesehen von den Maltose-**GNP-18** (Tab. 27, 9 - 12). Für die Lac-Lac-Bindung der **GNP-17** zur **SAM 21** konnte eine Dissoziationskonstante von  $1.20 \pm 0.17 \mu\text{M}$  ermittelt werden. Obwohl diese Bindung etwa 100mal schwächer war als die  $\text{Le}^x$ -Selbsterkennung, könnte hier von einer Calcium-induzierten Lactose-Komplexierung, also einer Lac-CCI gesprochen werden. Einen weiteren Beleg für eine spezifische *homotyp*-CCI lieferte der sehr hohe  $\text{RU}_{\text{Max}}$ -Wert von 10310 RU. Dieser lag durchaus in der Größenordnung der  $\text{Le}^x$ -CCI. Obwohl für die Lactosamin-**GNP-19** eine vergleichbare Dissoziationskonstante  $K_D$  von  $1.45 \pm 0.27 \mu\text{M}$  zur **SAM 21** gefunden wurde, war diese Bindung einem sehr großen Anteil an Unspezifität unterworfen, weil hier ein deutlich niedrigerer  $\text{RU}_{\text{Max}}$ -Wert von 3520 RU ermittelt wurde (Tab. 27, 12). Dieses Resultat konnte mit dem reversen Experiment bestätigt werden (Tab. 27, 14). Für die Bindung der Lactose-**GNP-17** zur Lactosamin-**SAM 22** konnte eine Dissoziationskonstante  $K_D$  von  $2.10 \pm 0.89 \mu\text{M}$  bei einem  $\text{RU}_{\text{Max}}$ -Wert von 3470 RU bestimmt werden und lag damit in der Größenordnung des zuvor bestimmten  $K_D$ -Wertes. Eine LacNAc-LacNAc-CCI konnte hingegen nicht beobachtet werden (Tab. 27, 13). Mit dieser Reihe von SPR-Experimenten konnte gezeigt werden, dass auch kleinere Kohlenhydratstrukturen wie Disaccharide unter günstigen Voraussetzung in der Lage sind spezifische CCIs auszubilden. Im Vergleich dazu hatte Penades *et al.* für die Lac-Lac-CCI mit einer Dissoziationskonstanten  $K_D$  von 150 mM eine etwa 100000fach schwächere Bindung gefunden.<sup>[19]</sup> Die erhebliche Verstärkung der Bindung in vorliegendem Fall war auf eine Verstärkung des Multivalenzeffektes zurückzuführen. Penades *et al.* hatten für ihre SPR-Experimente ca. 2 nm große Glyconanopartikel mit 70 Lactose Liganden pro Partikel verwendet. Hier konnten für die CCI mit 1060 Liganden pro Nanopartikel etwa 15mal mehr Liganden präsentiert werden (**GNP-17**). Damit ergab sich ein Multivalenzfaktor von etwa 8250.<sup>⊗</sup> In diesem Zusammenhang wäre zukünftig von Interesse, wie sich die Partikelgrößen im Detail auf die Wechselwirkungen im SPR-Experiment auswirken und ob aus den Resultaten allgemeine Multivalenzfaktoren für die einzelnen CCIs ableitbar sind.

---

<sup>⊗</sup> Berechnung des Multivalenzeffekte:  $\text{MF} = [150 \text{ mM} (70 \text{ Lig./GNP}) / 1.2 \mu\text{M} (1060 \text{ Lig./GNP})] / (1060/70) = 8254.$

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Abschließend wurden CCIs von Monosacchariden untersucht. Bereits im Jahr 1973 postulierte S. Angyal die strukturellen Voraussetzungen im Kohlenhydrat für das Zustandekommen von Metall-Kohlenhydrat-Komplexen, die Grundlage für CCIs. Dieses Postulat war das Resultat von NMR-Untersuchungen, die unter anderem an Alloose in Ab- oder Anwesenheit von Kationen durchgeführt wurden.<sup>[131, 420]</sup> In neutralen Lösungen von Alloose stellte sich ein Gleichgewicht von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Pyranose neben den Furanosenformen ein. Dieses lag mit 77% auf der Seite der  $\beta$ -Pyranose mit einer *äq-äq-ax*-Anordnung der Hydroxygruppen 1, 2 und 3. Bei der Zugabe von Calciumionen war ein Shift des  $\alpha$ -anomeren Protonensignals zu beobachten, während das  $\beta$ -Signal unbeeinflusst war. Das  $\alpha/\beta$ -Pyranosengleichgewicht wurde in Richtung  $\alpha$ -Pyranose verschoben ( $\alpha$ -Py.: 37%,  $\beta$ -Py.: 54%, Furanosen: 9%). In der  $\alpha$ -Pyranose lag eine *ax-äq-ax*-Anordnung der OH-Gruppen vor. Diese Konfiguration ist in der Talose zwischen den Hydroxygruppen 2, 3 und 4 zu finden. Unter Einbeziehung des Ringsauerstoffs oder der 6-Hydroxygruppe liegen in Idose ähnliche Voraussetzungen vor. Deshalb sollten Idose- und Talose-GNPs mit einer entsprechend funktionalisierten SAM interagieren. Darüber hinaus könnten auch andere Monosaccharid-GNPs zu Idose- oder Talose-SAMs binden. Zur Untersuchung dieser Vermutung wurden die Monosaccharid-GNPs **GNP-10** ( $\alpha$ -Glc), **GNP-11** ( $\beta$ -Glc), **GNP-12** ( $\alpha$ -Man), **GNP-13** ( $\beta$ -Gal), **GNP-14** ( $\alpha$ -Ido) und **GNP-15** ( $\alpha$ -Tal) unter den Standard-CCI-SPR-Bedingungen über die **SAM 23** ( $\alpha$ -Ido) und **SAM 24** ( $\alpha$ -Tal) eluiert. Die Analyse erfolgte durch die lineare Regression der Scatchard-Plots und die Ergebnisse sind in der Tabelle 28 zusammengefasst.

Die Glucose-GNPs-**10** und **-11** sowie die Mannose-GNP-**12** zeigten keine Interaktion mit der **SAM 23**, während bei den Galactose-GNP-**14** nur eine Interaktion mit der **SAM-23** festzustellen war. Zwar zeigten die Galactose-GNP-**13** mit einem  $K_D$ -Wert von  $19.3 \pm 0.7 \mu\text{M}$  eine relativ starke Bindung zur **SAM 23**, jedoch war der  $\text{RU}_{\text{Max}}$ -Wert mit 500 RU zu 7140 RU bei der Ido-Ido-Interaktion vergleichsweise gering (Tab. 28, 5 + 6). Es war folglich von einem hohen Anteil an Unspezifität auszugehen. Sowohl die Idose-GNP-**14** als auch die Talose-GNP-**15** zeigten zu den **SAMs 23** und **24** *homotyp*- und *heterotyp*-Wechselwirkungen (Tab. 28, 6 - 9). Die *homotyp*-Wechselwirkungen waren mit hohen  $\text{RU}_{\text{Max}}$ -Werten sehr spezifisch, wobei die Talose-CCI mit einer Dissoziationskonstanten von  $24.1 \pm 0.4 \mu\text{M}$  stärker war als die Idose-CCI ( $38.7 \pm 0.4 \mu\text{M}$ ). Offensichtlich befähigte die *ax-äq-ax*-Anordnung der OH-Gruppen in der Talose zu einer besseren  $\text{Ca}^{2+}$ -Komplexbildung als die *all-ax*-Anordnung der Idose, in der der Ringsauerstoff oder die 6-Hydroxygruppen in die Komplexbildung miteinbezogen werden muss. Jedoch könnte es Kationen geben, die in Abhängigkeit von ihrer

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente

Größe zu umgekehrten Verhältnissen führen. Dazu sollten zukünftig weiterführende Experimente durchgeführt werden. Interessanterweise ergaben sich für die *heterotyp*-Talose-Idose-CCI (**GNP-15** → **SAM 23**) als auch im reversen Experiment (**GNP-14** → **SAM 24**) in etwa die gleichen Dissoziationskonstanten  $K_D$  von  $37.7 \pm 1.2 \mu\text{M}$  bzw.  $37.1 \pm 1.1 \mu\text{M}$  (Tab. 28, 7 + 8). Weil die *homotyp*-Talose-CCI stärker war als die *homotyp*-Idose-CCI, wurde für die Talose-**GNP-15** wegen des besseren Aufbaus größerer **GNP-15**-Lagen auf der SAM mit 2705 RU der größte  $\text{RU}_{\text{Max}}$ -Wert ermittelt.

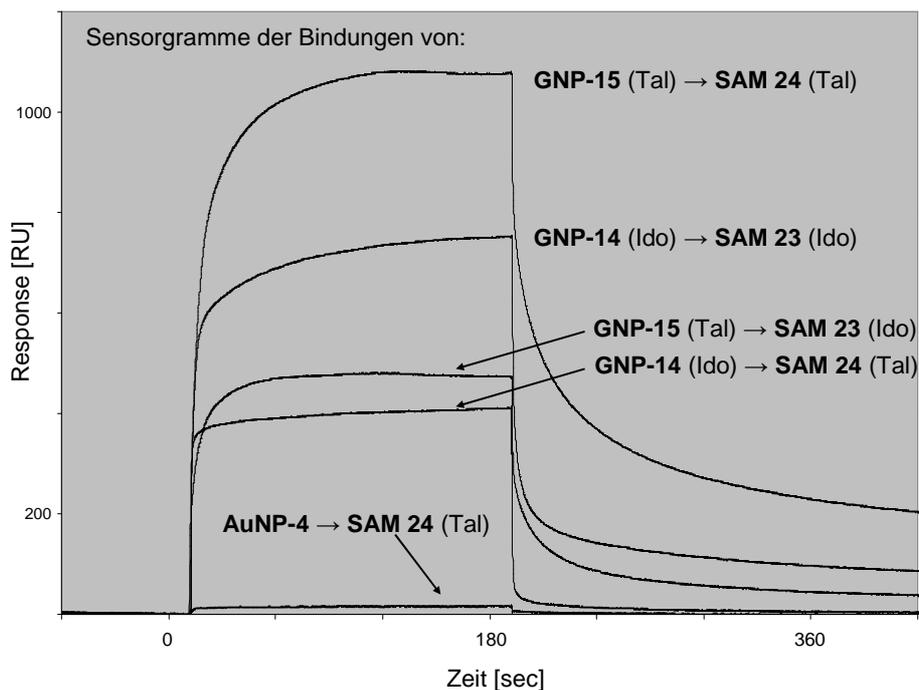
**Tabelle 28.** Dissoziationskonstanten der Bindung von Glyconanopartikeln mit unterschiedlichen Monosaccharidkopfgruppen zu den **SAMs 23** und **24**.

	Theor. Anteil Aminolinker	SAM	GNP	$K_D$ ( $\text{Ca}^{2+}$ )
1	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 23</b> ( $\alpha$ -Ido)	<b>GNP-11</b> ( $\alpha$ -Glc)	- <sup>b</sup>
2	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 23</b> ( $\alpha$ -Ido)	<b>GNP-10</b> ( $\beta$ -Glc)	- <sup>b</sup>
4	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 23</b> ( $\alpha$ -Ido)	<b>GNP-12</b> ( $\alpha$ -Man)	- <sup>b</sup>
5	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 23</b> ( $\alpha$ -Ido)	<b>GNP-13</b> ( $\beta$ -Gal)	$19.3 \pm 0.7 \mu\text{M} / 500 \text{RU}$ <sup>c</sup>
6	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 23</b> ( $\alpha$ -Ido)	<b>GNP-14</b> ( $\alpha$ -Ido)	$38.7 \pm 0.4 \mu\text{M} / 7140 \text{RU}$ <sup>c</sup>
7	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 23</b> ( $\alpha$ -Ido)	<b>GNP-15</b> ( $\alpha$ -Tal)	$37.7 \pm 1.2 \mu\text{M} / 2705 \text{RU}$ <sup>c</sup>
8	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 24</b> ( $\alpha$ -Tal)	<b>GNP-14</b> ( $\alpha$ -Ido)	$37.1 \pm 1.1 \mu\text{M} / 2360 \text{RU}$ <sup>c</sup>
9	100% <sup>a</sup>	<b>SAM 24</b> ( $\alpha$ -Tal)	<b>GNP-15</b> ( $\alpha$ -Tal)	$24.1 \pm 0.4 \mu\text{M} / 7290 \text{RU}$ <sup>c</sup>

a) Spacer **161**; b) Resonanz bei Bindungsgleichgewicht < 60 RU; c) ermittelt mit einer Verdünnungsreihe von 250 – 4000 nM.

Die Abbildung 87 zeigt die Sensorgramme der *homotyp*- und *heterotyp*-Idose/Talose-CCI. Die Spezifität der Bindung konnte mit einem Negativkontrolllexperiment durch die Elution von unfunktionalisierten **AuNP-4** über die **SAM 24** nachgewiesen werden. Hier konnte keine Bindung festgestellt werden. Anhand der Resonanzkurven konnte ein weiteres interessantes Charakteristikum dieser neuartigen Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkung festgestellt werden (Abb. 87). Die Bindung der Talose-**GNP-15** zur Talose-**SAM 24** war schnell und ging zügig in einen Gleichgewichtszustand über. Erst spät war der Aufbau von Talose-**GNP-15**-Lagen zu beobachten. Für die Idose-CCI war die Bildung der **GNP-14**-Lagen wegen des kontinuierlichen Anstiegs der Resonanzkurve schneller.

#### 4. Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente



**Abb. 87.** SPR-Sensorgramme für die Bindung von Idose- und Talose-Glyconanopartikeln (**GNP-14** und **GNP-15**) zu den funktionalisierten **SAMs 23** und **24**. Konzentration der GNP-Lösung: 4000 nM.

In den *heterotyp*-Experimenten war ein ähnliches Verhalten erkennbar. Für das **GNP-14**→**SAM 24**-Experiment war nach der Bildung der GNP-SAM-Monolage ein kontinuierlicher Anstieg der Resonanzkurve zu beobachten. Dahingegen setzte die Bildung der Talose-GNP-GNP-Mehrfachlagen erst spät nach der GNP-SAM-Bindung ein. Daraus konnte geschlossen werden, dass  $k_{\text{on}}$  für Idose-GNP-Bindung größer war als für die Talose-Bindung. Mit den hier durchgeführten Experimenten konnten die Angyal-Postulate bestätigt werden.

Insgesamt konnte mit diesen Arbeiten zu SPR-Untersuchungen über Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen zum einen ein Beitrag zum besseren Verständnis der strukturellen Voraussetzung für das Zustandekommen von  $\text{Le}^x$ -CCIs geleistet werden und zum anderen konnten neuartige CCIs mittels SPR-Untersuchungen entdeckt werden. Damit lieferte der hier vorgestellte Ansatz zur Kohlenhydrat-Funktionalisierung von Goldoberflächen eine leistungsstarke Plattform, mit der in Zukunft durch weiterführende Untersuchungen ein erheblicher Beitrag zum besseren Verständnis von CCIs erbracht werden könnte.

## 5. Zusammenfassung

Kohlenhydrat-basierte Erkennungsprozesse, sowohl Kohlenhydrat-Protein- als auch Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Interaktionen, spielen eine wichtige Rolle in biologischen Prozessen. Mit dem hier vorgestellten Ansatz zur modularen Funktionalisierung von Goldoberflächen konnte eine leistungsstarke Plattform für die SPR-Untersuchung sowohl von CPIs als auch von CCIIs bereitgestellt werden.

Dazu wurde eine umfassende Reihe von insgesamt achtzehn Benzaldehyd-funktionalisierten Mono- und Disacchariden sowie Le<sup>x</sup>-Analoga synthetisiert. Die Benzaldehyd-Funktionalisierung konnte über die Kreuzmetathese von Allylglycosiden und *para*-Allyloxybenzaldehyd-dimethylacetal realisiert werden. Für die Synthese der Le<sup>x</sup>-Analoga wurden unter anderen neuartige TES-gestützte Thioglycosyldonoren verwendet, mit denen eine Hydrierung von konventionellen Benzylschutzgruppen verhindert werden konnte. Der Einsatz von einfachen Monosaccharid-Bausteinen verkürzte und vereinfachte dabei die Synthese komplexer Glycoside. Die Benzaldehydfunktion diente als Ankergruppen für die Funktionalisierung auf der SPR-Sensoroberfläche. Ebenso konnten dadurch hochfunktionalisierte Glyconanopartikel erhalten werden, die hervorragende Trägermaterialien für die multivalente Präsentation von Liganden darstellten. Die Bildung von selbstanordnenden Monolagen (SAM) von Thiolen auf Goldoberflächen diente zur korrespondierenden Funktionalisierung der Sensoroberflächen.

In Kooperation mit der Gruppe von K. J. Jensen in Kopenhagen wurden die Goldnanopartikel synthetisiert. Die relativ monodispersen, Citrat-stabilisierten Goldnanopartikel hatten einen Durchmesser von etwa 13 nm und konnten anschließend durch Ligandenaustausch Aminoxy-funktionalisiert werden. Durch Iminbildung mit den Benzaldehyd-funktionalisierten Glycosiden war die Synthese von Glyconanopartikeln (GNP) möglich. Die Kohlenhydratligandenanzahl konnte durch die Anthron-Methode bestimmt werden. Dieser Ansatz lieferte einheitlich große GNPs mit einheitlicher Ligandenpräsentation und erleichterte damit die Interpretation der SPR-Resultate.

Die SAM-Bildung auf den SPR-Sensoroberflächen und die anschließenden Kohlenhydrat-Funktionalisierung konnte *online* verfolgt werden, was die einfache und schnelle Charakterisierung der Glyco-SAMs ermöglichte. Dieses System konnte zur Untersuchung von CPIs der Lectine ConA, RCA<sub>120</sub> und WGA eingesetzt werden. Es zeigte sich eine Abhängigkeit der Bindung vom Linkersystem. Die vergleichenden Untersuchung zur

## 5. Zusammenfassung

Abhängigkeit der Multivalenz der Lectinbindung zu unterschiedlich dicht funktionalisierten Mannose-, Galactose- und *N*-Acetylglucosamin-SAMs konnte neue Einblicke in Struktur-Wechselwirkungsbeziehung der Lectine liefern.

Durch die SPR-CCI-Analyse der Bindung von  $\text{Le}^x$ -Analog-GNPs zur  $\text{Le}^x$ -SAM konnte eine „heat map“ über den Einfluss der Hydroxygruppen auf das Zustandekommen der *homotyp*- $\text{Le}^x$ -CCI erstellt werden. Desweiteren wurden neuartige „künstliche“ *homotyp*-CCIs zwischen  $\text{Le}^{x\text{-L-Gal}}$ - und  $\text{Le}^{x\text{-Glc}}$ -Kopfgruppen und Disaccharid-CCIs beobachtet. Durch Analyse der Talose- und Idose-GNP auf den entsprechenden SAMs konnte erstmals thermodynamische Daten für die  $\text{Ca}^{2+}$ -Komplexbildung von Monosacchariden ermittelt und damit das Angyal-Postulat zur konfigurationellen Voraussetzung für CCIs bestätigt werden.

Der hier vorgestellten Ansatz zur Kohlenhydrat-Funktionalisierung mittels 2D- und 3D-Glyco-SAM-Bildung auf Goldoberflächen lieferte eine leistungsstarke Plattform, mit der in Zukunft durch weiterführende Untersuchungen ein erheblicher Beitrag zum besseren Verständnis sowohl von CPIs als auch von CCIs erbracht werden könnte.

Darüber hinaus konnte ein Syntheseweg zu Mannose-6-(thio)phosphat-Derivaten aufgezeigt werden, die als inhibitorische Liganden in der Affinitätschromatographie eingesetzt werden sollten. Dabei wurden Allylglycoside von Mannose-6-thiophosphaten sowie Mannose-6-phosphat synthetisiert und danach durch radikalische Addition von Cystamin-hydrochlorid mit einem Aminolinker versehen. Abschließend sollten die 6-Thiophosphate über den Aminolinker an CNBr-aktivierte Sepharose oder Agarose gekoppelt werden. Dieses inhibitorische Affinitätschromatographie-Material sollte zur Reinigung einer bislang unbekanntes Mannose-6-phosphatase eingesetzt werden.

## 6. Summary

Carbohydrate based recognition events – carbohydrate protein (CPI) as well as carbohydrate carbohydrate interactions (CCI) – play a crucial role in important biological processes. The present approach of modular functionalization of gold surface provided a powerful tool for surface plasmon resonance investigation for CPI and CCI.

Therefore, a series of eightenn benzaldehyde functionalized mono- and disaccharides as well as Le<sup>x</sup>-analoga was synthesized. The benzaldehyde functionalization was realized by cross metathesis of allyl glucosides and *para*-allyloxy-benzaldehyde dimethyl acetale. To avoid hydrogenation of benzyl protecting groups novel TES protected thioglycosides were used for the synthesis of Le<sup>x</sup>-analoga. The assembly of simple monosaccharide building blocks enabled a short and facile synthesis of complex components. The benzaldehyde function was utilized as an anchor group for he functionalization of SPR sensor surfaces. Furthermore, using this approach high density glyco nanoparticles were obtained, which are excellent carrier materials for the multivalent presentation of carbohydrate ligands. The formation of self-assembled monolayers (SAM) was used to form the corresponding functionalization of the sensor surface.

In cooperation with the K. J. Jensen group in Copenhagen the gold nanoparticles were synthesized. The monodisperse citrate stabilized gold nanoparticles had a diameter of circa 13 nm and could be aminoxy functionalized by subsequent ligand exchange. The synthesis of glyco nanoparticles (GNP) was conducted by imine formation with benzaldehyde functionalized glycosides. The number of carbohydrate ligands on the GNP was determined via the anthrone method. This approach provided GNPs with an unique size, ligand amount and ligand presentation, which facilitates the interpretation of the SPR results.

The SAM formation on sensor surfaces and the subsequent carbohydrate functionalization was followed *online*, which allowed the facile and rapid characterization of glyco-SAM. This system was used in investigation of CPIs with the lectins ConA, RCA<sub>120</sub> and WGA. It was shown, that the binding of the lectins is strogly dependent on the linker system. A comparative study on mannose, galactose and *N*-acetyl glucosamine functionalized surfaces with different ligand densities gave novel insights of the structure activity relationship (SAR) of binding of these lectins.

By the binding analysis of different Le<sup>x</sup> analoga GNPs to a Le<sup>x</sup> funtionalized gold surfaces utilizing SPR a so called „heat map“ was created, which showed the influence of the different

## 6. Summary

hydroxy groups to the *homotype* Le<sup>x</sup> CCI. Furthermore, novel artificial *homotype* CCI between Le<sup>x-L-Gal</sup> and Le<sup>x-Glc</sup> carbohydrate head groups could be discovered. By analysis of talose- and idose-GNP binding to the corresponding SAM for the first time thermodynamic data of Ca<sup>2+</sup> complex formation of monosacchrides were obtained. Thus, Angyal's postulation of hydroxyl group configurational requirements for CCI could be confirmed. The presented approach for carbohydrate functionalization of gold surfaces by 2D and 3D glyco SAM formation provides a powerful tool for future investigation of CPI and CCI. This could afford a significant improvement of the understanding of CPI and CCI.

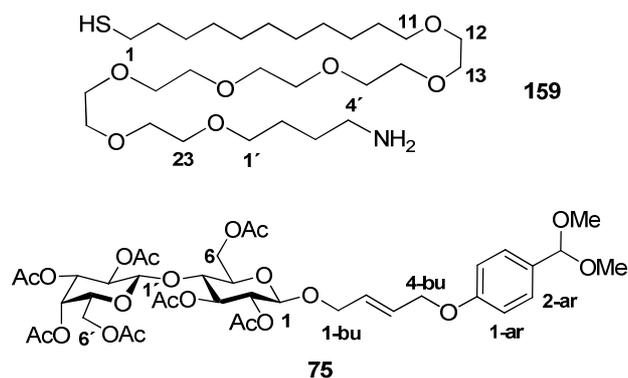
Furthermore, a novel synthetic approach to mannose-6-(thio) phosphates was shown. These thio phosphates should be applied to affinity chromatography after reaction of an amino linker with CNBr activated sepharose or agarose gels. This inhibitory affinity chromatography material should be applied for purification of an yet unknown mannose-6-phosphatase.

## 7. Experimenteller Teil

### 7.1 Allgemeine Arbeitsmethoden

Alle Reagenzien wurden in handelsüblicher Qualität von Sigma-Aldrich oder Merck bezogen und wurden ohne weitere Reinigung verwendet. Sofern nicht anders erwähnt, wurden alle Reaktionen unter Ausschluss von Feuchtigkeit in einer Argonatmosphäre mit kommerziell erhältlichen trockenen Reaktionslösungsmitteln (absolut,  $\geq 99.5\%$  (GC), über Molekularsieb, Wassergehalt  $\leq 0.005\%$ ) durchgeführt. Analytische Dünnschichtchromatographie (DC) wurde auf beschichteten Aluminiumplatten (Kieselgel 60 F254, Merck5554 oder RP) mit den jeweiligen Laufmitteln durchgeführt. Die Verbindungspots wurden mit UV-Licht (254 nm) und durch Besprühen mit einer gelben Lösung aus  $\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_3)_6$  (0.5 g) und  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} / 4 \text{H}_2\text{O}$  (24.0 g) in 6%iger Schwefelsäure (500 mL) (Sprühreagenz 1, SR1) oder mit konzentrierter Schwefelsäure (10%) in Ethanol (Sprühreagenz 2, SR2) und anschließender Hitzebehandlung visualisiert. Die Säulenchromatographie wurde mit Kieselgel 60 (230- 400 mesh, 43 - 60  $\mu\text{m}$ , Merck) mit den jeweils angegebenen Laufmitteln durchgeführt.  $^1\text{H}$ -NMR- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden mit den Spektrometern Bruker AMX-400 (400 MHz für  $^1\text{H}$ , 100.6 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) und Bruker DRX-500 (500 MHz für  $^1\text{H}$ , 125.8 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) bei 300 K aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen wurden auf Restlösungsmittelsignal kalibriert ( $\text{CDCl}_3$ :  $\delta = 7.26$  ppm für  $^1\text{H}$  und  $\delta = 77.0$  ppm für  $^{13}\text{C}$ ;  $\text{MeOH-d}_4$ :  $\delta = 3.35$  ppm für  $^1\text{H}$  und  $\delta = 49.3$  ppm für  $^{13}\text{C}$ ). Die Signal wurden durch  $^1\text{H} - ^1\text{H}$ -COSY-, HSQC-, HMBC- und wenn notwendig durch NOESY-Experimente zugeordnet. Die Wasserstoff- und Kohlenstoffatome wurden wie folgt indiziert: Das Kohlenhydrat-Gerüst ist wie gewohnt von 1 bis 6 beginnend mit 1 an der anomeren Position. Verzweigungen und Verlängerungen des Kohlenhydrat-Gerüsts bei Oligosacchariden werden mit steigender Anzahl von Apostrophen gekennzeichnet. Die Atome der Linker-Einheiten erhalten konsequent aufsteigende Nummer mit den Indices „all“ für Allyl, „bu“ für Butyl oder Butenyl, und „ar“ für Aromat beginnend mit 1 für das Atom, das dem Kohlenhydratgerüst am nächsten ist. Beispiele sind in Abbildung 88 dargestellt. In den Kohlenhydrat-freien Spacer-Molekülen wird die Thiol-Funktion als Terminus definiert, wie beispielhaft für Verbindung **159** gezeigt (Abb. 88).

## 7. Experimenteller Teil



**Abb. 88.** Nummerierung der Wasserstoff- und Kohlenstoffatome für die Bezeichnung der NMR-Signale.

Die Bestimmung der Drehwerte erfolgte mit einem Krüss-Polarimeter Optronic P8000 (Natrium-D-Linie 589 nm, Küvettenlänge 1 dm) bei 20 °C. Die Schmelzpunkte wurden mit einem ST-apotec Schmelzpunktbestimmer ermittelt und sind unkorrigiert. MALDI-TOF-Massenspektrometrie wurde mit einem Bruker Biflex III (positive reflector mode, Matrix: 1,8,9-Anthraceniol oder Dihydroxybenzoesäure) durchgeführt. Hochaufgelöste FAB-Massenspektrogramme wurden auf einem Thermo Finnigan MAT95 XL Massenspektrometer erhalten. UV-Vis-Spektroskopie wurde an einem Varian Cary 50 UV-Vis-Spektrophotometer durchgeführt.

### Stocklösungen:

Die Kohlenhydratkonjugate (GNPs und Glyco-SAMs), die in dieser Arbeit präpariert wurden, wurden aus 1 M Stocklösungen der Benzaldehyd-funktionalisierten Glycoderivate hergestellt. Dazu wurden die jeweiligen isolierten Mengen (einschließlich NMR-Proben und Proben, mit denen die spezifische optische Rotation bestimmt wurde) der Glycane in der entsprechenden Menge sterilfiltriertem Millipore-Wasser (NaN<sub>3</sub>-haltig zur Verhinderung von bakteriellen Kontaminationen) gelöst. Diese Lösungen waren tiefgefroren bei ca. -20 °C mindestens sechs Monate lagerbar und sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

## 7. Experimenteller Teil

**Tabelle 29.** Stocklösungen der Glycokonjugate.

Glycan	Menge in mg	Menge in $\mu\text{mol}$	1 M Lsg.
$\beta$ -Glucose <b>53</b>	192 mg	539 $\mu\text{mol}$	539 $\mu\text{L}$
$\alpha$ -Glucose <b>54</b>	285 mg	799 $\mu\text{mol}$	799 $\mu\text{L}$
$\alpha$ -Mannose <b>55</b>	230 mg	645 $\mu\text{mol}$	645 $\mu\text{L}$
$\beta$ -Galactose <b>56</b>	223 mg	625 $\mu\text{mol}$	625 $\mu\text{L}$
$\beta$ - <i>N</i> -Acetylglucosamin <b>57</b>	252 mg	634 $\mu\text{mol}$	634 $\mu\text{L}$
$\alpha$ -Idose <b>58</b>	105 mg	294 $\mu\text{mol}$	294 $\mu\text{L}$
$\alpha$ -Talose <b>59</b>	99 mg	277 $\mu\text{mol}$	277 $\mu\text{L}$
$\beta$ -Cellobiose <b>78</b>	149 mg	287 $\mu\text{mol}$	287 $\mu\text{L}$
$\beta$ -Lactose <b>79</b>	205 mg	395 $\mu\text{mol}$	395 $\mu\text{L}$
$\beta$ -Maltose <b>80</b>	139 mg	268 $\mu\text{mol}$	268 $\mu\text{L}$
$\beta$ - <i>N</i> -Acetyllactosamin <b>81</b>	41 mg	73 $\mu\text{mol}$	73 $\mu\text{L}$
Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc Le <sup>x</sup> <b>130</b>	243 mg	344 $\mu\text{mol}$	344 $\mu\text{L}$
Glc $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc Le <sup>x-Glc</sup> <b>131</b>	112 mg	159 $\mu\text{mol}$	159 $\mu\text{L}$
Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[L-Gal $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc Le <sup>x-L-Gal</sup> <b>132</b>	168 mg	233 $\mu\text{mol}$	233 $\mu\text{L}$
Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Fuc $\beta$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc Le <sup>x-<math>\beta</math>-Fuc</sup> <b>133</b>	63 mg	89 $\mu\text{mol}$	89 $\mu\text{L}$
Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 3)[Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4)]GlcNAc Le <sup>a</sup> <b>134</b>	109 mg	155 $\mu\text{mol}$	155 $\mu\text{L}$
Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[Rha $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc Le <sup>x-Rha</sup> <b>135</b>	209 mg	296 $\mu\text{mol}$	296 $\mu\text{L}$
L-Gal $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4)[D-Fuc $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 3)]GlcNAc Le <sup>x-D<math>\rightarrow</math>L</sup> <b>136</b>	87 mg	124 $\mu\text{mol}$	124 $\mu\text{L}$

### **Transmissionselektronenmikroskopie:**

Die Transmissionselektronenmikroskopie wurde an einem JEOL JEM 2100F ausgestattet mit einer 2k x 2k CCD-Kamera und einem EDXS-System bei 200 kV durchgeführt. Für die Messungen wurde ein Tropfen der jeweiligen Nanopartikel-Lösungen auf einen Kohlenstoff-beschichteten Kupferträger aufgetragen und an der Luft getrocknet. Zuvor wurde der Träger in einem Sauerstoff-Plasma hydrophilisiert (Discharge Grid), damit der Tropfen der wässrigen Lösungen sich homogen über den Probenträger verteilt. Die Zusammensetzung der Teilchen konnte mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie (energy dispersive X-ray spectroscopy (EDXS)) ermittelt werden. Mit der Software DigitalMicrograph (Version 1.83) der Firma Gatan Inc. wurden die Partikelgrößen bestimmt und die Abbildungen der Nanopartikel bearbeitet.

### **7.2 Synthese und Charakterisierung der Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikel (AuNP)**

Alle Glasgeräte wurden vor dem Gebrauch gründlich zunächst mit Aqua dest., dann mit Königswasser und abschließend mit entgastem Millipore-Wasser gereinigt. Eine Lösung von Gold(III)-chlorid-trihydrat ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ , 158 mg, 400  $\mu\text{mol}$ ) in entgastem Millipore-Wasser (400 mL) wurde zum Rückfluss erhitzt. Zu dieser gelblichen Lösung wurde unter Rückfluss eine warme ( $\sim 50 \text{ }^\circ\text{C} - 60 \text{ }^\circ\text{C}$ ) Lösung von Natriumcitrat-dihydrat (447 mg, 1.52 mmol) in entgastem Millipore-Wasser (40 mL) gegeben. Die Lösung färbte sich dunkelrot und wurde für 30 min unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und durch einen Spritzenfilter (0.2  $\mu\text{m}$ ) filtriert.

### **Größenbestimmung durch UV-Vis-Spektroskopie:**

Zur Größenbestimmung wurden von der AuNP-Lösung UV-Vis-Spektren (beispielhaft Abb. 35, Seite 91) aufgenommen. Es wurden drei Proben jeweils in Doppelbestimmung untersucht (3 x 2 Spektren). Aus den UV-Vis-Spektren wurde zum einen die Lage und Absorption des Absorptionsmaximums (Oberflächenplasmonresonanz-Peak,  $A_{\text{SPR}}$ ) sowie die Absorption bei 450 nm ( $A_{450}$ ) ermittelt (siehe Tab. 30). Nach Haiss *et al.* steht für Partikelgrößen von 3 bis

## 7. Experimenteller Teil

35 nm das Verhältnis von  $A_{\text{SPR}}$  zu  $A_{450}$  in potentielltem Zusammenhang zum Durchmesser  $d$ .<sup>[318]</sup> Die Auftragung der Werte für  $A_{\text{SPR}}/A_{450}$  zum Partikeldurchmesser  $d$  ist in Abb. 89 wiedergegeben. Eine potentielle Ausgleichkurve liefert folgende Gleichung zur Berechnung des Durchmessers  $d$ :

$$A = 0.88864 * d^{0.2224}$$

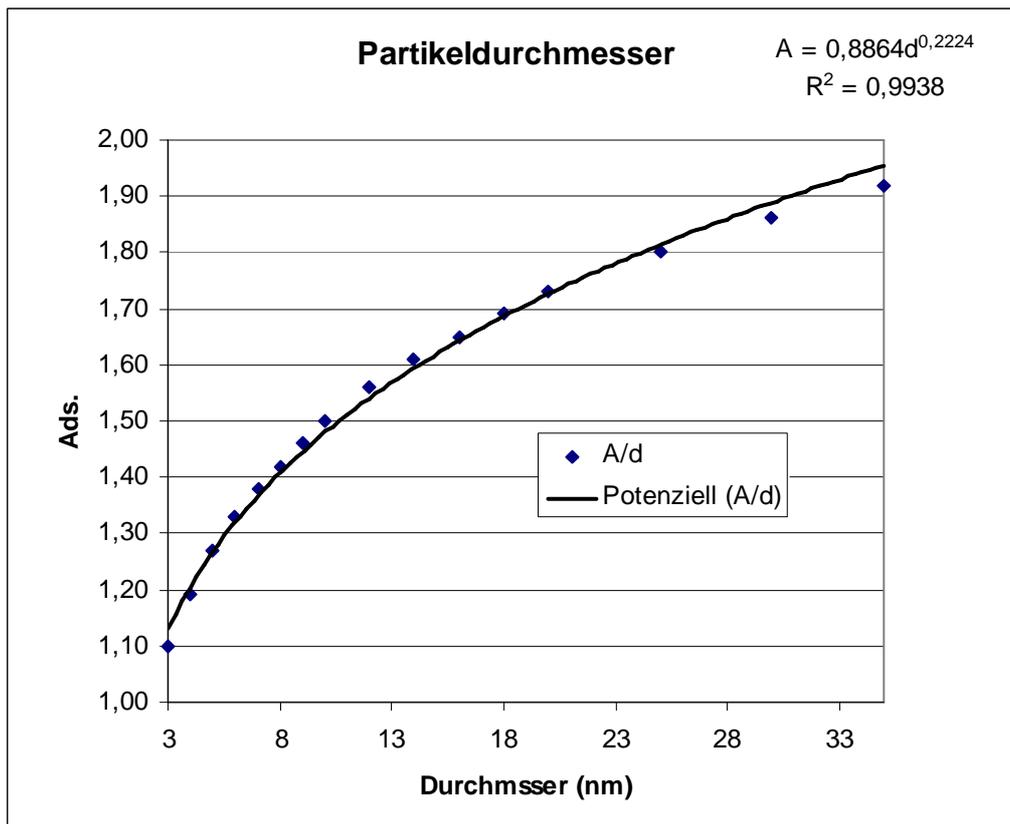
$$\text{mit } A = \frac{A_{\text{SPR}}}{A_{450}}$$

**Tabelle 30.** Spektroskopische Daten zur Ermittlung des Durchmessers der Goldnanopartikel.

Lage des $A_{\text{SPR}}$ (nm)	$A_{\text{SPR}}$ (dimensionslos)	$A_{\text{SPR}}$ (dimensionslos)	$d$ (nm)
521.5	2.420	1.543	13.01
518.5	2.429	1.545	13.18
517.4	2.553	1.671	11.59
518.4	2.438	1.547	13.32
517.4	2.437	1.548	13.25
521.1	2.423	1.536	13.38
		Mittelwert:	13.01
		Abweichung:	$\pm 0.4$

Daraus ergibt eine Nanopartikelgröße von  $13.0 \pm 0.4$  nm.

## 7. Experimenteller Teil



**Abb. 89.** Auftragung von Partikelgröße gegen Adsorption.

### **Größenbestimmung und Größenverteilung durch Transmissionselektronenmikroskopie:**

Zur Bestimmung der Partikelgröße sowie der Größenverteilung wurden insgesamt 168 Partikel in zwei verschiedenen Bereichen der Probe bei 25000facher Vergrößerung (siehe Abb. 90 und 91) mit der Software DigitalMicrograph vermessen. Dabei wurden nur einzeln liegende Teilchen berücksichtigt um auszuschließen, dass Aggregate das Ergebnis verfälschen. Durch Mittlung über alle Partikel ergibt sich eine durchschnittliche Größe von  $13.3 \pm 1.3$  nm. Aus der Auftragung der gerundeten Durchmesser gegen die Anzahl ergibt sich die Größenverteilung (Abb. 92).

## 7. Experimenteller Teil

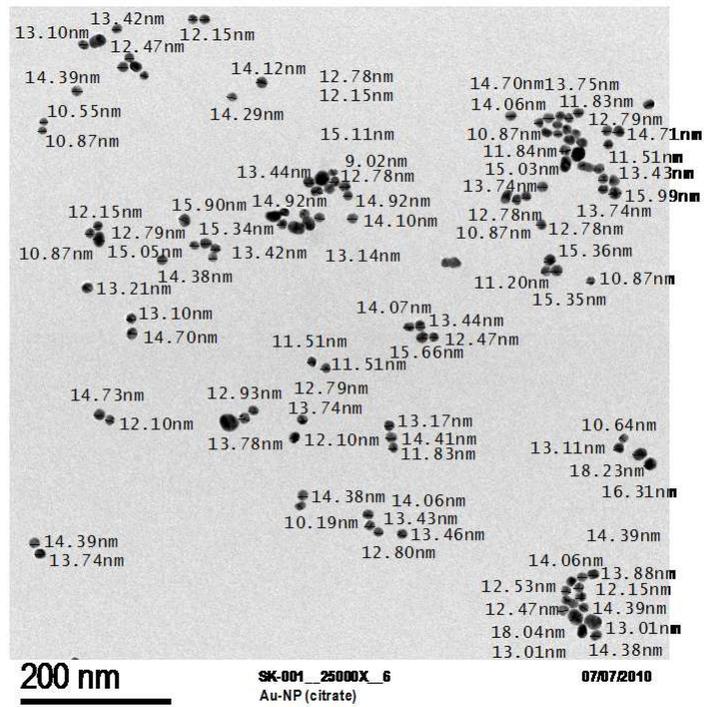


Abb. 90. Vermessene Goldnanopartikel I.

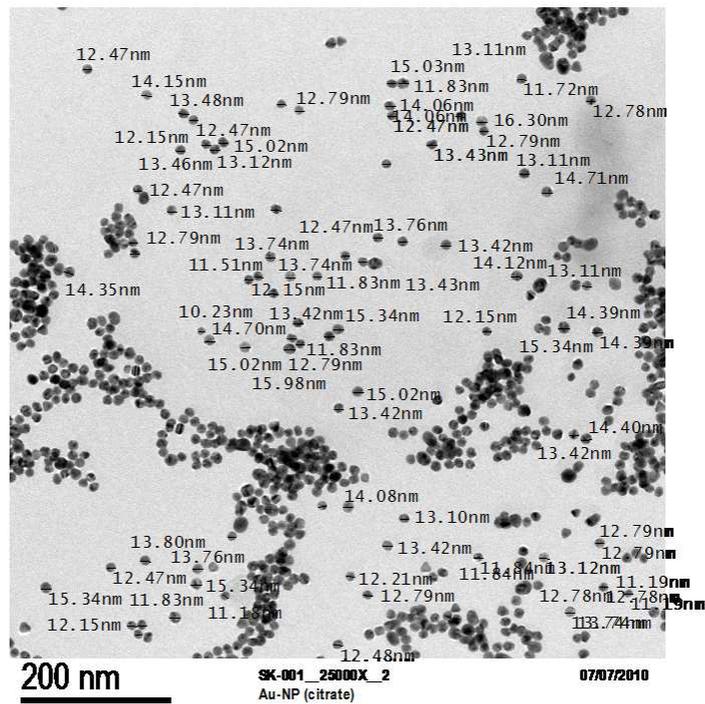
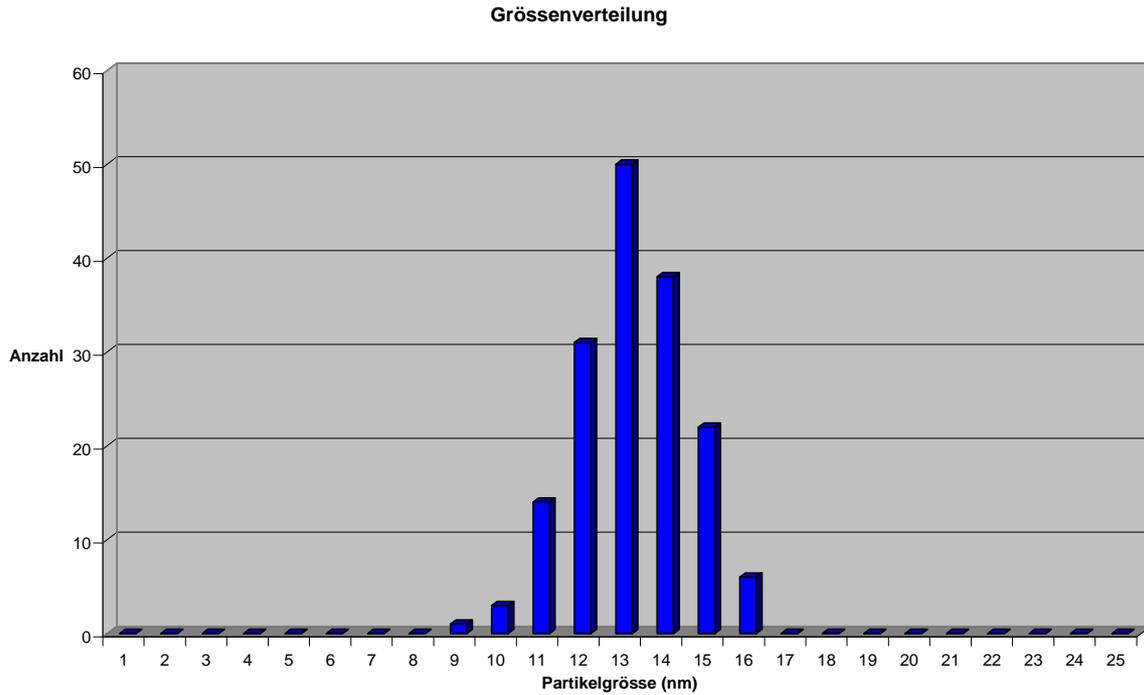


Abb. 91. Vermessene Goldnanopartikel II.

## 7. Experimenteller Teil



**Abb. 92.** Verteilung der Nanopartikelgrößen.

### **Bestimmung der Konzentration der Nanopartikellösung:**

Nach Haiss *et al.* lässt sich die Konzentration von Goldnanopartikeln durch UV-Vis-Spektroskopie durch folgende Gleichung bestimmen:

$$c = \frac{A_{450}}{\epsilon_{450}}$$

Dabei ist  $c$  die Konzentration in mol pro Liter und  $A_{450}$  ist die Absorption für eine Standardküvettenlänge von 1 cm.  $\epsilon$  ist der molare dekadische Extinktionskoeffizient, der in der Referenz theoretisch berechnet und praktisch verifiziert wurde.<sup>[318]</sup> Dieser ist abhängig vom Partikeldurchmesser  $d$ . Aus Auftragung von  $\epsilon$  gegen  $d$  ergibt sich nach exponentiellem Ausgleich folgende Gleichung zur Berechnung von  $\epsilon$  (Abb. 93):

$$d = 0.0319 * \epsilon_{450}^{0,3201}$$

Mit den Werten aus Tabelle 29 ermittelt sich die Konzentration der Goldnanopartikel zu:

$$c = 10.9 \text{ nM}$$

## 7. Experimenteller Teil

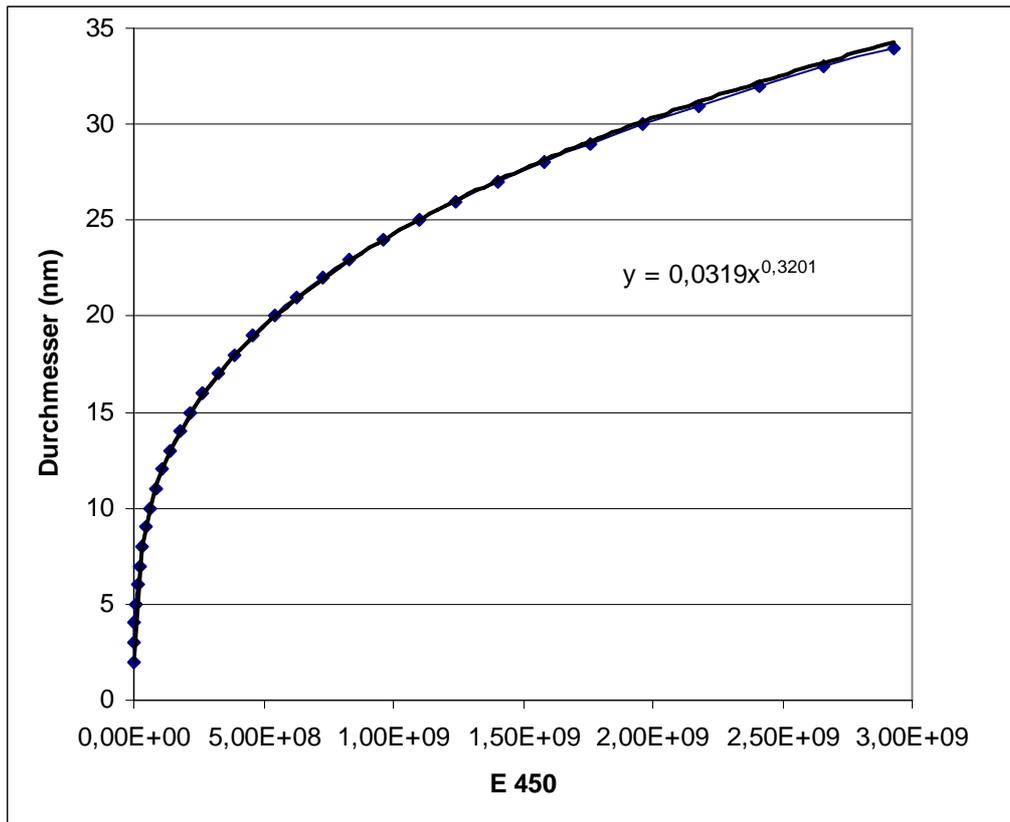


Abb. 93. Auftragung der  $\epsilon_{450}$ -Werte gegen den Partikeldurchmesser.

### 7.3 Synthese und Charakterisierung der Glyco-AuNPs

#### Selbstanordnung der Tetraethylglycol-Linker 147 und 148 auf Goldnanopartikel (AuNP)

Unter starkem Rühren wurde eine Thiol-Lösung (0.06 mmol: 1. **148** 100% = 19.5 mg; 2. **148** / **147** 1 / 1 = 9.8 mg + 9.3 mg; 2. **148** / **147** 1 / 2 = 6.5 mg + 12.4 mg) in Methanol (5 mL) zu einer 11 nM Lösung von ~13 nm Citrat-stabilisierten Goldnanopartikeln (120 mL, 1.32 nmol) gegeben. Nach der Zugabe war eine Farbveränderung der Lösung von Rot nach Violett erkennbar. Diese Mischung wurde für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden die erfolgreich beschichteten **Au-NP** durch Zentrifugfiltration (Millipore Amicon Ultra, 50 kDa cutoff) in 30 mL Portionen gereinigt, indem die Nanopartikel zunächst konzentriert (2 x 15 mL) und dann fünfmal wiederholt in 5 mL Millipore-Wasser gelöst und zentrifugiert wurden. Nach der letzten Filtration wurden die Nanopartikel mit insgesamt 330  $\mu\text{L}$  (200  $\mu\text{L}$  Filtrationsrückstand + 130  $\mu\text{L}$  Zugabe) Millipore-Wasser verdünnt. So wurden

## 7. Experimenteller Teil

1.0  $\mu\text{M}$  Lösungen der SAM beschichteten Goldnanopartikel **Au-NP 1**, **Au-NP 2** und **Au-NP 3** erhalten (insgesamt je 1.32 mL). Diese Lösungen waren bei ca. 4 °C im Kühlschrank mindestens vier Wochen lagerbar.

### **Oxim-Kopplung von Benzaldehyd-funktionalisierten Glycosiden an Aminooxy-beschichtete Goldnanopartikeln**

Zu einer 1 M Glycan-Stocklösung (100  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{mol}$ ; für  $\beta$ -N-Ac-Lactosamin: 50  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{mol}$ ; für  $\text{Le}^{\alpha\text{-}\beta\text{-Fuc}}$ : 50  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{mol}$ ) in 10 mM Acetatpuffer (pH 4.7) wurde eine 1.0  $\mu\text{M}$  Lösung der Aminooxy-beschichteten AuNPs (400  $\mu\text{L}$ , 0.400 nmol) in Millipore-Wasser gegeben. Die transparenten, tiefroten Reaktionsmischungen wurden bei 40 °C für 16 Stunden geschüttelt. Anschließend wurden die Glyconanopartikel durch eine zehnfach wiederholte Prozedur aus Zentrifugation (Millipore Amicon Ultra, 50 kDa cutoff) und erneutem Verdünnen mit Millipore-Wasser gereinigt. Nach der abschließenden Filtration wurden die GNPs mit insgesamt 400  $\mu\text{L}$  (200  $\mu\text{L}$  Filtrationsrückstand + 200  $\mu\text{L}$  Zugabe) Millipore-Wasser verdünnt. Es wurden 1.0  $\mu\text{M}$  Lösungen (400  $\mu\text{L}$ ) der Glyconanopartikel **GNP-1** - **GNP-19** erhalten. Die Glyconanopartikel waren tiefgefroren bei ca. -20 °C mindestens sechs Monate lagerbar (Lagerung in sterilfiltriertem,  $\text{NaN}_3$ -haltigem Millipore-Wasser zur Verhinderung von bakteriellen Kontaminationen).

### **Bestimmung der durchschnittlichen Kohlenhydrat-Ligandenanzahl pro GNP**

Die durchschnittliche Anzahl von Kohlenhydrat-Ligand  $N_{\text{KL}}$  ergibt sich aus der Stoffmenge Zucker  $n_Z$  pro Stoffmenge Glyconanopartikel  $n_{\text{GNP}}$ :

$$N_{\text{KL}} = \frac{n_Z}{n_{\text{GNP}}} = \frac{m_Z / M_Z}{m_{\text{GNP}} / M_{\text{GNP}}} \quad \text{Gleichung I}$$

Dabei sind  $M_Z$  und  $m_{\text{GNP}}$  gegeben und  $M_{\text{GNP}}$  lässt sich wie folgt berechnen. Für diese Berechnung werden folgende Vereinfachungen angenommen:

## 7. Experimenteller Teil

Das Molekulargewicht der GNPs kann als konstant angesehen werden und ändert sich nicht signifikant durch die SAM-Belegung und die Kohlenhydrat-Anheftung.

Für die Berechnung der Goldatomanzahl pro Nanopartikel wird die Kugelgeometrie der Au-NP angenommen.

Dann ergibt sich für die Anzahl  $N_{13nm}$  von Goldatom in Nanopartikeln von 13 nm Durchmesser:

$$N_{13nm} = \frac{m * N_A}{M} \quad \text{mit } m = V * \rho \quad \text{und } V = \frac{3}{4} \pi * r^3 = \frac{1}{6} \pi * D^3$$
$$N_{13nm} = \frac{\pi \rho * D^3}{6M} * N_A$$

Wobei  $\rho$  die Dichte von kubisch-flächenzentriertem Gold ( $19.3 \text{ g/cm}^3$ ),  $D$  der Durchmesser der Nanopartikel ( $13 \text{ nm} = 13 \times 10^{-7} \text{ cm}$ ),  $M$  das Molekulargewicht von Gold ( $196.97 \text{ g/mol}$ ) und  $N_A$  die Avogadrozahl ( $6.023 * 10^{23} \text{ Atome/mol}$ ) ist.

$$N_{13nm} = \frac{\pi * 19.3 * (13 * 10^{-7})^3}{6 * 196.97} * 6.023 * 10^{23} * \frac{\text{g} * \text{mol} * \text{cm}^3 * \text{Atome}}{\text{cm}^3 * \text{g} * \text{mol}}$$
$$N_{13nm} = 0.309 * (13 * 10^{-7})^3 * 10^{23} * \text{Atome}$$
$$N_{13nm} = 0.309 * 100 * 13^3 * \text{Atome} = \underline{67800 \text{ Atome}}$$

Damit ergibt sich eine gerundete Anzahl von durchschnittlich 67800 Atomen pro Nanopartikel.

Mit der Anzahl der Goldatome pro Nanopartikel lässt sich nun das Molekulargewicht berechnen zu:

$$M = \text{Atomasse (Gold)} * \text{Atomanzahl} * 1.66 * 10^{27} \text{ kg}$$
$$M = 196.97 \text{ u} * \text{Atomanzahl} * 1.66 * 10^{-27} \text{ g/u} * 6.023 * 10^{23} \text{ Atome/mol}$$
$$M = 196.97 \text{ u} * 67800 \text{ Atome} * 1.66 * 10^{-27} \text{ g/u} * 6.023 * 10^{23} \text{ Atome/mol}$$
$$M = 13\,458\,282 \text{ g/mol} \approx \underline{13\,458\,000 \text{ g/mol}}$$

## 7. Experimenteller Teil

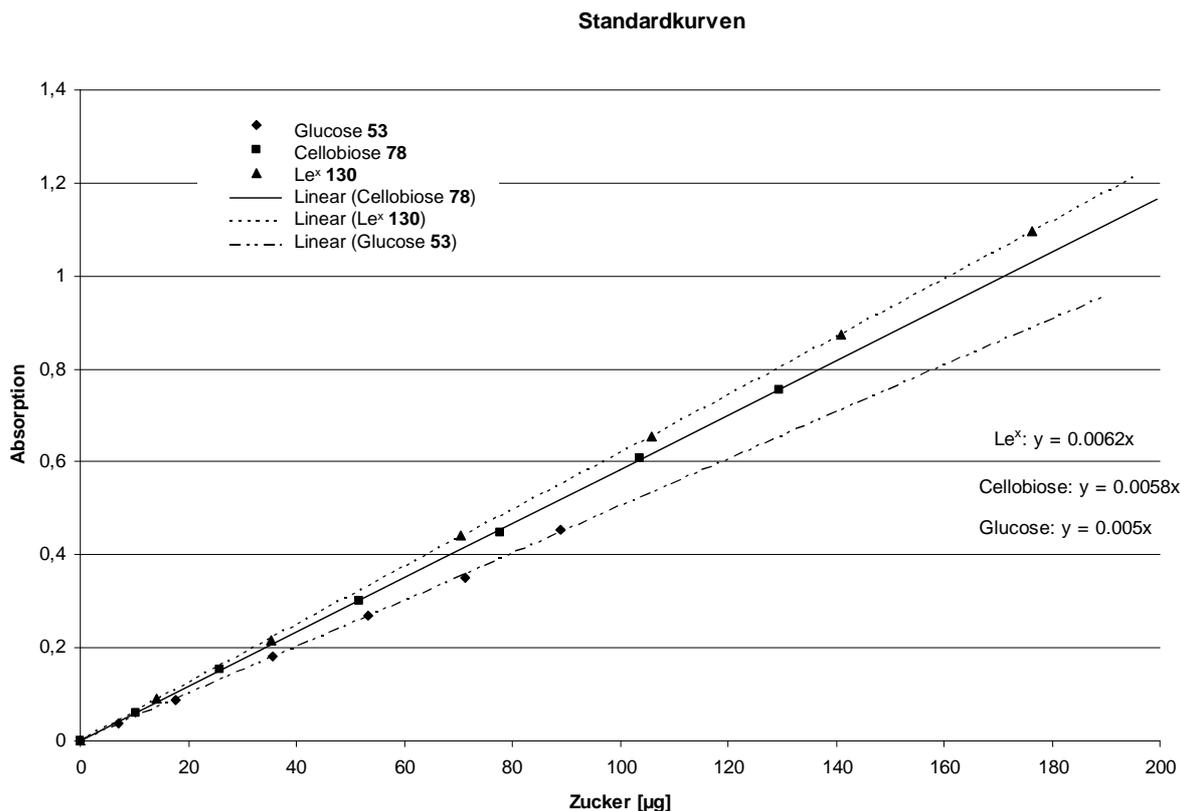
Die Menge Zucker auf den GNPs kann einfach durch ein Anthron-Schwefelsäure-Assay bestimmt werden. Dazu wurden Standardkurven mit den Glycokonjugaten **53** (für Monosaccharide,  $M_Z = 356.37$  g/mol), **78** (für die Disaccharide,  $M_Z = 518.51$  g/mol) und **130** (für Trisaccharide,  $M_Z = 705.70$  g/mol) aufgenommen. Die Stocklösungen wurden 1:100 verdünnt (**53**:  $3.56 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; **78**:  $5.18 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ; **130**:  $7.05 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ). Von den Verdünnungen wurden Aliquote abgenommen, um einen Gehalt von 7 - 176  $\mu\text{g}$  pro mL Lösung zu erhalten (siehe Tabelle 31). Die Farbreaktion wurde durchgeführt, indem zu 1 mL Kohlenhydratlösung in einem Reagenzglas 2.5 mL einer frisch hergestellten Lösung von 0.5% Anthron (Gew.%) in 95%iger Schwefelsäure gegeben wurde. Das Reaktionsgemisch wurde vorsichtig für 10 min im kochenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde unverzüglich im UV-Vis-Spektrometer die Absorption bei 620 nm gemessen (Doppelbestimmung). Eine Blindwertprobe wurde ohne Kohlenhydrat hergestellt.

Für die Gehaltsbestimmung auf den Nanopartikeln wurde 1  $\mu\text{M}$  GNP-Lösung (40  $\mu\text{L}$  / 538  $\mu\text{g}$ ) auf 1 mL verdünnt und wie für die Erstellung der Standardkurven beschrieben mit Anthron-Schwefelsäure behandelt. Die Absorption wurde bei 620 nm gemessen. Mit den Formeln in Tabelle 31 lassen sich die Kohlenhydratgehalte errechnen. Die Ligandenzahl pro Nanopartikel ergibt sich aus Gleichung I. Die Ergebnisse sind in Tabelle 32 zusammengefasst.

**Tabelle 31.** Daten zur Ermittlung der Standardkurven und Formel zur Berechnung des Kohlenhydratgehaltes.

Stocklsg. (1:100) → $\mu\text{g}$ Kohlenhydrat <b>53</b> / mL	$A_{620 \text{ nm}}$	Stocklsg. (1:100) → $\mu\text{g}$ Kohlenhydrat <b>78</b> / mL	$A_{620 \text{ nm}}$
25 $\mu\text{L}$ → 89 $\mu\text{g}$	0.453	25 $\mu\text{L}$ → 129.5 $\mu\text{g}$	0.756
20 $\mu\text{L}$ → 71.2 $\mu\text{g}$	0.352	20 $\mu\text{L}$ → 103.6 $\mu\text{g}$	0.607
15 $\mu\text{L}$ → 53.4 $\mu\text{g}$	0.270	15 $\mu\text{L}$ → 77.7 $\mu\text{g}$	0.448
10 $\mu\text{L}$ → 35.6 $\mu\text{g}$	0.181	10 $\mu\text{L}$ → 51.8 $\mu\text{g}$	0.301
5 $\mu\text{L}$ → 17.8 $\mu\text{g}$	0.089	5 $\mu\text{L}$ → 25.9 $\mu\text{g}$	0.155
2 $\mu\text{L}$ → 7.1 $\mu\text{g}$	0.039	2 $\mu\text{L}$ → 10.4 $\mu\text{g}$	0.060
Stocklsg. (1:100) → $\mu\text{g}$ Kohlenhydrat <b>130</b> / mL	$A_{620 \text{ nm}}$		
25 $\mu\text{L}$ → 176.3 $\mu\text{g}$	1.095	$\text{Gehalt}_{\text{Mono}} [\mu\text{g}] = A_{620 \text{ nm}} / 0.0062$  $\text{Gehalt}_{\text{Di}} [\mu\text{g}] = A_{620 \text{ nm}} / 0.0058$  $\text{Gehalt}_{\text{Tri}} [\mu\text{g}] = A_{620 \text{ nm}} / 0.0050$	
20 $\mu\text{L}$ → 141 $\mu\text{g}$	0.873		
15 $\mu\text{L}$ → 105.8 $\mu\text{g}$	0.654		
10 $\mu\text{L}$ → 70.5 $\mu\text{g}$	0.441		
5 $\mu\text{L}$ → 35.3 $\mu\text{g}$	0.215		
2 $\mu\text{L}$ → 14.1 $\mu\text{g}$	0.092		

## 7. Experimenteller Teil



**Abb. 94.** Standardkurven zur Berechnung der Kohlenhydratgehaltes.

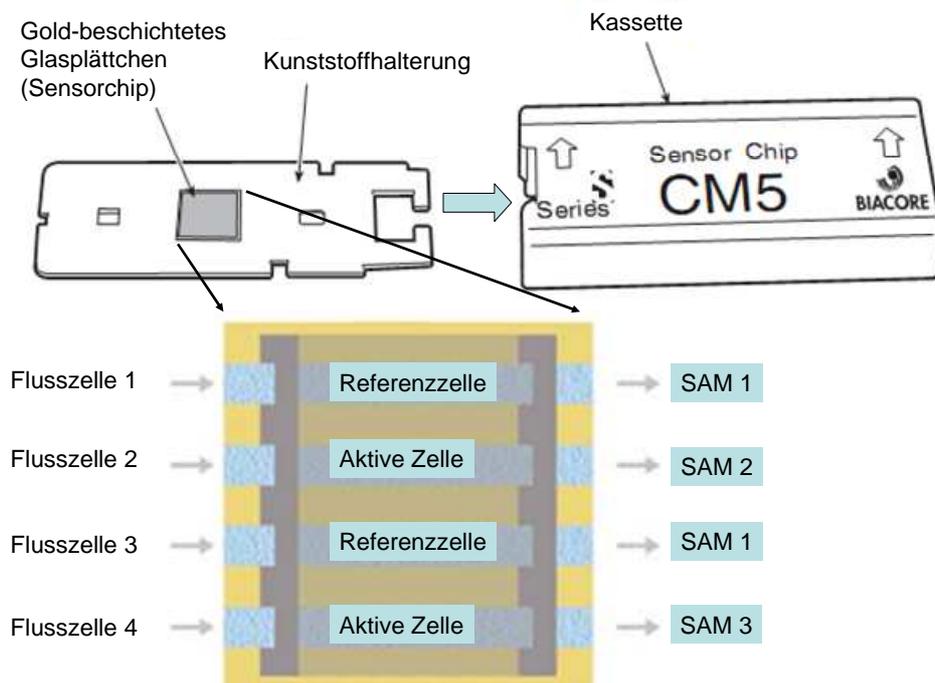
**Tabelle 32.** Absorption nach Behandlung der GNPs mit der Anthron-Methode und daraus berechnete Liganden pro GNP.

GNP	$A_{620 \text{ nm}}$	Geh. [ $\mu\text{g}$ ]	Lig.	GNP	$A_{620 \text{ nm}}$	Geh. [ $\mu\text{g}$ ]	Lig.
<b>GNP-1<sup>[a]</sup></b>	0.153	24.7	876	<b>GNP-10<sup>[b]</sup></b>	0.090	18.1	1270
<b>GNP-2<sup>[a]</sup></b>	0.117	18.9	669	<b>GNP-11<sup>[b]</sup></b>	0.083	16.6	1165
<b>GNP-3<sup>[a]</sup></b>	0.072	11.6	411	<b>GNP-12<sup>[b]</sup></b>	0.090	18.0	1260
<b>GNP-4<sup>[a]</sup></b>	0.158	25.5	904	<b>GNP-13<sup>[b]</sup></b>	0.091	18.2	1277
<b>GNP-5<sup>[a]</sup></b>	0.168	27.1	961	<b>GNP-14<sup>[b]</sup></b>	0.085	17.0	1193
<b>GNP-6<sup>[a]</sup></b>	0.155	25.0	886	<b>GNP-15<sup>[b]</sup></b>	0.087	17.4	1221
<b>GNP-7<sup>[a]</sup></b>	0.160	25.8	915	<b>GNP-16<sup>[c]</sup></b>	0.126	21.7	1046
<b>GNP-8<sup>[a]</sup></b>	0.155	25.0	886	<b>GNP-17<sup>[c]</sup></b>	0.127	21.9	1056
<b>GNP-9<sup>[a]</sup></b>	0.159	25.6	907	<b>GNP-18<sup>[c]</sup></b>	0.126	21.7	1046
				<b>GNP-19<sup>[c]</sup></b>	0.119	20.5	989

[a] Trisaccharid; [b] Monosaccharid; [c] Disaccharid.

#### 7.4 SPR-Messungen

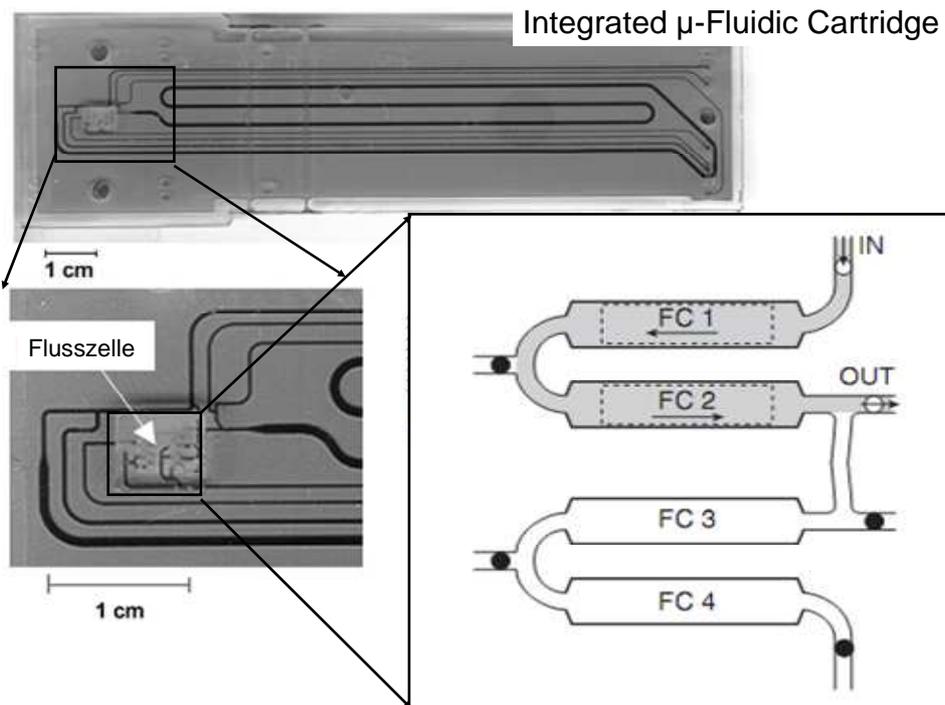
Das BIACORE T100 SPR-imaging Instrument wurde für CPI- und CCI-Studien benutzt, die in dieser Arbeit beschrieben werden. Die Bedienung erfolgte über die BIACORE T100 *control software*, und die Auswertung der Sensorgramme erfolgte mit der BIACORE T100 *evaluation software*. Als Sensor-Oberflächen wurden durch SAM-Bildung beschichtete Goldsensorchips (BIACORE SIA kit Au) der Firma BIACORE verwendet (Abb. 95). Dazu wurden die unbeschichteten Goldchips auf der Kunststoffhalterung fixiert und unmittelbar vor dem Gebrauch (SAM-Belegung) durch Behandlung für 10 Minuten mit saurem Knabberwasser (*piranha solution*, konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  / 30 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  1:1) gereinigt. Nachdem Spülen mit bidest. Wasser und Ethanol wurden die blanken Goldoberflächen im Stickstoffstrom gründlich getrocknet und in die Schutzkassette geschoben.



**Abb. 95.** Schematische Darstellung der verwendeten Sensorchips. Auf der Goldoberfläche werden vier Flusszellen hergestellt, die einzeln belegt werden können (s. a. Abb. 96). Differenzsensorgramme werden gebildet, indem das Signal der Referenzzelle (Hintergrundsignal) von dem der Aktiven Zellen (Bindungssignal) abgezogen wird.

## 7. Experimenteller Teil

Danach wurde unverzüglich die SAM-Bildung im Biacore-Instrument durchgeführt. Der Sensorchip wurde auf der sogenannten *Integrated  $\mu$ -Fluidic Cartridge* platziert, in der vier unabhängig ansteuerbare Flusszellen hergestellt werden (Abb. 96). Die SAM-Bildung wurde im *manual run* Modus vorgenommen. Hierzu wurden die in Tabelle 29 (S. 180) aufgelisteten Lösungen (100  $\mu$ M, Verdünnung der Stocklösung) über die Goldoberflächen in den entsprechenden Flusszellen (Flussrate: 5  $\mu$ L/min) für mindestens 45 min eluiert. Nach Sättigung des RU-Signals wurde mit Laufpuffer gewaschen, und die Kohlenhydrat-Immobilisierung konnte erfolgen (Abb. 65 + 66, Seite 129 + 130).



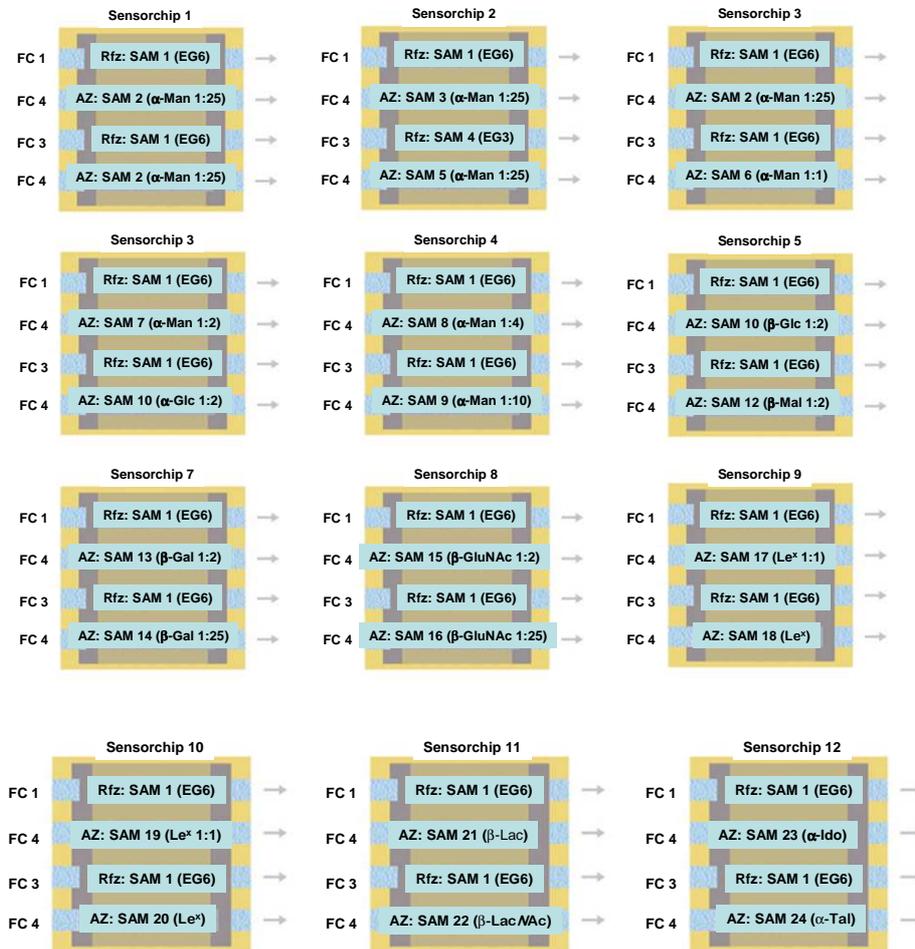
**Abb. 96.** Der Sensorchip wird im BIACORE Instrument auf der IFC (Integrated  $\mu$ -Fluidic Cartridge) platziert, in der vier unabhängige Flusszellen hergestellt werden.

Als generelle Prozedur zur Immobilisierung der Kohlenhydrat-Konjugate an Amino-funktionalisierten SPR-Sensorchips durch reduktive Aminierung wurden folgende Bedingungen ausgearbeitet:

Eine 100  $\mu$ molare Lösung der jeweiligen Kohlenhydrat-Derivate in PBS-Puffer wurde über einen Zeitraum von 30 min (Flussrate: 10  $\mu$ L/min) in die sogenannte aktive Flusszelle injiziert (manual run-Modus). Wenn das Sensorgramm Sättigung anzeigte, wurde die Injektion gestoppt, und die Reduktion wurde durch Einspritzen einer NaCNBH<sub>3</sub>-Lösung (4 min bei 10  $\mu$ L/min) eingeleitet. Abschließend wurde mit Laufpuffer gewaschen. Die so präparierten Sensorchips konnten anschließend für die CCI- bzw. CPI-Studien verwendet werden. Die Sensorchips waren bei ca. 4 °C im Kühlschrank mindestens sechs Monate lagerbar

## 7. Experimenteller Teil

(Lagerung in sterilfiltriertem,  $\text{NaN}_3$ -haltigem Millipore-Wasser zur Verhinderung von bakteriellen Kontaminationen). Eine Zusammenfassung aller so präparierten Sensorchips zeigt die folgende Abbildung:



**Abb. 97.** Zusammenfassung der in dieser Arbeit präparierten SPR-Sensorchips.

### Für CPI-Bindungsstudien:

Für die Bindungsstudien wurden die Lectine *Concanavalin A* (ConA / Mannose positiv / 106 kDa / Sigma-Aldrich) aus *Canavalia ensiformis* (Jack-Bohne), *Ricinus communis agglutinin I* ( $\text{RCA}_{120}$  / Galactose positiv / 120 kDa / Vector lab) aus *Ricinus communis* (Wunderbaum) und *Wheat Germ Agglutinin* (Weizenkeimagglutinin, WGA / *N*-Acetyl-glucosamin positiv / 36 kDa / Sigma-Aldrich) aus *Triticum vulgare* (Weizen) genutzt. Als Kontrollprotein (Negativkontrolle) wurde BSA (engl.: *bovine serum albumin* / Kohlenhydrat negativ / 66 kDa / Sigma-Aldrich) benutzt. Die Messungen wurden in HEPES-gepufferter physiologischer Kochsalz-Lösung (150 mM NaCl, 10 mM NaHEPES, 0.005% Tween 20 / pH 7.4)

## 7. Experimenteller Teil

durchgeführt, die  $\text{Ca}^{2+}$  -(1mM  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ) und  $\text{Mn}^{2+}$ - (1 mM  $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ) Ionen für die ConA Aktivierung enthalten. Das Lectin ConA wurde vor dem Gebrauch zwei Tage in HEPES-Puffer dialysiert, um Mannose-Rückstände zu entfernen. Die anderen Lectine wurden ohne weitere Bearbeitung verwendet. Die Lösungen der Lectine/BSA in HEPES-Puffer (für Spezifitätsstudien: 6.25  $\mu\text{M}$  – 100  $\mu\text{M}$ ; für Affinitätsstudien: 12.5 nM – 200 nM) wurden über einen Zeitraum von 3 min bei einem Fluss von 20  $\mu\text{L}/\text{min}$  injiziert. Die Differenzsensorgramme wurden durch Subtraktion des Referenzsignals vom aktiven Signal erhalten und mit der BIACORE T100 *evaluation software* aufgezeichnet. Die Auswertung erfolgte mittels Scatchard-Plots.

### **Für CCI-Bindungsstudien:**

Die Lösungen der GNPs in Millipore-Wasser mit 10 mM  $\text{CaCl}_2$  (6.75 nM – 100 nM, bei RU < 100 für 100 nM wurde eine Verdünnungsreihe von 200 nM - 4000 nM verwendet) wurden über einen Zeitraum von 3 min bei einem Fluss von 5  $\mu\text{L}/\text{min}$  injiziert. Die Differenzsensorgramme wurden durch Subtraktion des Referenzsignals vom aktiven Signal erhalten und mit der BIACORE T100 *evaluation software* aufgezeichnet. Die Auswertung erfolgte mittels Scatchard-Plots.

### 7.5 Allgemeine Arbeitsvorschriften

**AAV-1: Acetylierungen mit Acetanhydrid:** Zu einer Lösung der zu acetylierenden Verbindung (1 mmol) in abs. Pyridin (5 mL) wurde bei 0 °C Essigsäureanhydrid (5 mL) gegeben. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 16 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und die organische Phase dreimal mit 1 M Salzsäure und einmal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert. Das Rohprodukt wurde, wenn nötig, durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem jeweils angegebenen Laufmittel gereinigt.

**AAV-2: Synthese von peracetylierten Allyl-monosaccharidglycosiden:** Zu einer Suspension des Monosaccharids (5.00 g, 27.8 mmol: D-Gal, D-Glc, D-Man; 22.6 mmol: D-GlcNAc) in Allylalkohol (100 mL, 1.47 mol) wurde eine katalytische Menge konz. Schwefelsäure (96%, 500 µL, 9.38 mmol) gegeben. Diese Mischung wurde für 3 bis 4 Stunden bei 80 °C gerührt. Wenn die Suspension sich dunkel färbte, wurde die Reaktion durch Zugabe von Triethylamin (2.00 mL, 14.3 mmol) abgebrochen. Die Lösung wurde bei vermindertem Druck konzentriert. Edukt und Salze wurden durch Säulenchromatographie an Kiesel mit dem Laufmittel Dichlormethan – Methanol (5 : 1) entfernt. Anschließend wurde das Rohprodukt in abs. Pyridin (150 mL) und Essigsäureanhydrid (150 mL) gelöst. Nach Rühren für 16 bis 18 Stunden bei Raumtemperatur wurde die Lösung bei vermindertem Druck konzentriert, und der Rückstand wurde in Dichlormethan (100 mL) aufgenommen. Vor der Trocknung über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurde die organische Phase mit Wasser (100 mL), 1 M Salzsäure (2 × 100 mL), gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (100 mL), und gesättigter NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel evaporiert, und das Rohprodukt wurde mit Toluol (3 × 100 mL) coevaporiert. Die Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Laufmittelgradienten von PE – EE (4 : 1 → 2 : 1).

**AAV-3: Synthese von Trichloracetimidaten aus Acetaten:** Teil 1): Zu einer Lösung des 1-Acetyl-Zuckers in abs. THF (3 mL/mmol) wurde Benzylamin (1.5 Äq.) gegeben. Die Lösung wurde für 25 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe 1 M HCl gestoppt und noch weitere 10 Minuten gerührt. Die Lösung wurde mit Dichlormethan verdünnt und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten

## 7. Experimenteller Teil

organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem jeweils angegebenen Laufmittel gereinigt.

Teil 2): Das Produkt aus Teil 1) wurde unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss mit Trichloracetonitril (20 - 30 Äq.) in abs. Dichlormethan (6 mL/mmol) gelöst und mit frisch getrocknetem 4 Å Molsieb versetzt. Die Lösung wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit DBU (0.2 Äq.) versetzt und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde bei vermindertem Druck konzentriert und der Rückstand durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem jeweiligen Laufmittelgradienten gereinigt.

**AAV-4: Kreuzmetathese mit Allyl-glycosiden:** Das Allylglycosid (1 mmol) und ein 5-8-facher Überschuss an *para*-Allyloxybenzalhyd-dimethylacetal **41** (5-8 mmol) wurden in trockenem und entgastem Dichlormethan (49 mL) gelöst und in einen sorgfältig ausgeheiztem Schlenkkolben mit frisch aktiviertem Molekularsieb (4 Å) unter Gebrauch der Standard-Schlenktechnik gegeben. Anschließend wurde der Metathesekatalysator **37** oder **38** (0.10 mmol), gelöst in trockenem und entgastem Dichlormethan (1 mL), über eine Spritze oder als Feststoff zu gegeben, so dass eine 0.02 M Lösung erhalten wurde. Das Reaktionsgemisch wurde für 6 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Die Umsetzung der Edukte wurde durch DC detektiert. Bei vermindertem Druck wurde die Lösung konzentriert und und das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem jeweiligen Laufmittelgradienten aus PE/EE gereinigt (4 : 1 → 2 : 1 / 1 : 1 / 100% EE für Monosaccharide/Disaccharide/Trisaccharide).

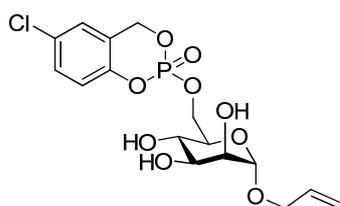
**AAV-5: Entschützung und Hydrierung der Metatheseprodukte:** Die Metatheseprodukte (870 µmol – 90 µmol) wurden in einer Mixtur von THF, Wasser und TFA (90:9.9:0.1 v/v) so gelöst, dass eine 0.2 M Lösung erhalten wurde. Nach Rühren für eine Stunde wurde die Reaktionslösung mit DCM (100 mL) verdünnt, und die Reaktion wurde durch Zugabe von Triethylamin (2 mL) gestoppt. Nach Zugabe von Wasser (100 mL) wurde die organische Phase abgetrennt und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt ohne weitere Aufreinigung in der folgenden Umsetzung verwendet. Für die Hydrierung wurde der Aldehyd in abs. EtOAc gelöst und in einen sorgfältig ausgeheiztem Schlenkkolben mit Palladium (10%) auf Aktivkohle und

## 7. Experimenteller Teil

Diphenylsulfid (0.01 Äq.) gegeben. Die Suspension wurde entgast. Nach mehrmaligem Fluten mit Wasserstoff wurde der Reaktionsansatz für 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Suspension filtriert und gründlich getrocknet. Im Fall der TBDPS-Schützung wurde vor der Zemplén-Deacetylierung zunächst unter einer Argonatmosphäre zu einer Lösung aus der zu desilylierenden Verbindung in abs. THF (5-10 mL) 5 Äq. Eisessig bei 0 °C gegeben, und der Reaktionsansatz wurde auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Zugabe von 1.2 Äq. einer 1 M Lösung von TBAF in THF wurde das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt. Nach DC-Kontrolle (EE) wurde ges. NaCl-Lösung (100 mL) zum Reaktionsansatz gegeben, und die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (4 × 100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurde bei vermindertem Druck evaporiert. Der Rückstand wurde in einer methanolischen Natriummethanolat-Lösung gelöst (20 mL, 0.1 M) und für 6 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsansatz wurde mit Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>) neutralisiert. Nach Filtration und Evaporierung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kiesel mit dem Laufmittel Dichlormethan – Methanol (5 : 1) gereinigt.

### 7.6 Spezielle Arbeitsschriften

#### Versuche zur Darstellung von Allyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-(5-chlor-cyclosaligenyl)-phosphat (2):



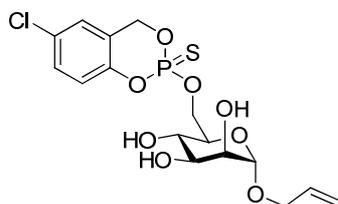
Zur Darstellung des Phosphorylierungsreagenzes 5-Chlor-cycloSaligenylchlorphosphat wurden unter Argonatmosphäre 502 mg (3.21 mmol) 5-Chlorsalicyalkohol in einen Stickstoffkolben eingewogen und in 10 mL abs. Diethylether, 5 mL abs. THF sowie 0.92 mL Triethylamin gelöst. Die Lösung wurde mit Molsieb 4 $\text{\AA}$  ca. 30 Minuten getrocknet. Zu dieser Reaktionslösung wurde unter Stickstoffkühlung bei -70 °C innerhalb von 30 Minuten eine Lösung aus 0.33 mL Phosphorylchlorid und 10 mL abs. THF zugetropft. Anschließend wurde die Reaktionslösung 90 Minuten bei -40 °C gerührt. Die entstandene Suspension wurde filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde

## 7. Experimenteller Teil

durch Säulenchromatographie mit einem Laufmittel aus PE/EE (Gradient: 100 % PE → PE/EE 2/1) gereinigt. Das Phosphorylierungsreagenz wurde als gelblicher Feststoffs erhalten (187 mg, 25%).  $R_f = 0.47$  (PE/EE 2/1); Schmelzp.: 90-91 °C;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.29$  (dd,  $^3J_{3,4} = 8.8$  Hz, 1H, H-4), 7.08-7.05 (m, 1H, H-6); 6.99 (d,  $^3J_{3,4} = 8.8$  Hz, 1H, H-3); 5.45-5.32 (m, 2H, H-7) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 131.3$  (C-2), 130.8 (d,  $^4J_{\text{C-P}} = 1.3$  Hz, C-1), 125.5, 121.1, 121.0 ( $\text{C}_{\text{arom.}}$ ), 69.9 (d,  $^3J_{\text{C-P}} = 8.0$  Hz, C-7) ppm;  $^{31}\text{P-NMR}$  (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = -6.6$  ppm.

Es wurden 100 mg (552  $\mu\text{mol}$ ) Allyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**1**) in 5 mL abs. Pyridin und 5 mL abs. DMF gelöst. Die Lösung wurde auf -50 °C gekühlt und unter Rühren innerhalb von 60 Minuten eine Lösung aus 113 mg (443  $\mu\text{mol}$ ) Phosphorylierungsreagenz in 6 mL abs. THF langsam zugetropft. Anschließend wurde die Lösung für 4 Stunden bei -40 °C gerührt. Es konnte kein Produkt isoliert werden.

### Versuche zur Darstellung von Allyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-(5-chlor-cyclosaligenyl)-thiophosphat (**3**):



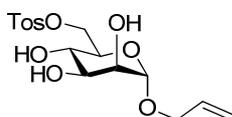
Zur Darstellung des Thiophosphorylierungsreagenzes 5-Chlor-cycloSaligenylchlorphosphorinsulfid wurden unter Argonatmosphäre 499 mg (3.19 mmol) 5-Chlorsalicyalkohol in einen Stickstoffkolben eingewogen und in 10 mL abs. THF sowie 0.93 mL Triethylamin gelöst. Die Lösung wurde mit Molsieb 4 $\text{Å}$  ca. 30 Minuten getrocknet. Zu dieser Reaktionslösung wurde unter Stickstoffkühlung bei -70 °C innerhalb von 30 Minuten eine Lösung aus 0.33 mL Thiophosphorylchlorid und 10 mL abs. THF zugetropft. Anschließend wurde die Reaktionslösung 90 Minuten bei -40 °C gerührt. Die Suspension wurde filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie mit einem Laufmittel aus PE/EE (Gradient: 100 % PE → PE/EE 2/1) gereinigt. Das Thiophosphorylierungsreagenz wurde als farbloser Feststoffs erhalten (296 mg, 43%).  $R_f = 0.86$  (PE/EE 2/1); Schmelzp.: 78-81 °C;  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.25$  (dd,  $^3J_{3,4} = 8.8$  Hz, 1H, H-4), 7.05-7.02 (m, 1H, H-6), 6.97 (d,  $^3J_{3,4} = 8.8$  Hz, 1H, H-3), 5.46-5.30 (m, 2H, H-7) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 131.0$  (C-2); 130.5

## 7. Experimenteller Teil

(C-1), 125.1 (C-6), 121.1 (C-4), 120.1 (C-3), 69.3 (d,  $^3J_{C-P} = 10.7$  Hz, C-7) ppm;  $^{31}\text{P}$ -NMR (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 51.4$  ppm.

Es wurden 100 mg (552  $\mu\text{mol}$ ) Allyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**1**) in 5 mL abs. Pyridin und 5 mL abs. DMF gelöst. Die Lösung wurde auf  $-50$  °C gekühlt und unter Rühren innerhalb von 60 Minuten eine Lösung aus 105 mg (440  $\mu\text{mol}$ ) Thiophosphorylierungsreagenz in 6 mL abs. THF langsam zugetropft. Anschließend wurde die Lösung für 4 Stunden bei  $-40$  °C gerührt. Es konnte kein Produkt isoliert werden.

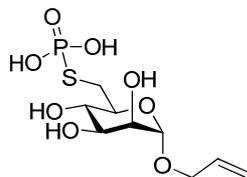
### Allyl-6-O-tosyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**4**):



Es wurden 2.00 g (9.08  $\mu\text{mol}$ ) Allyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**1**) in 40 mL abs. Pyridin gelöst, und unter Eiskühlung eine Lösung aus 2.11 g (11.1  $\mu\text{mol}$ ) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid und 20 mL abs. Pyridin langsam zugetropft. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM/MeOH (9/1) gereinigt. Verbindung **4** wurde als gelblicher Sirup erhalten. (1.89 g, 58%).  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{S}$  (374.41 g/mol),  $R_f = 0.61$  (DCM/MeOH, 5/1);  $[\alpha]_D^{20} : 9.5^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz, MeOD)  $\delta = 7.80$  (d,  $^3J_{\text{H}_{\text{arom}}} = 6.7$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ); 7.43 (d,  $^3J_{\text{H}_{\text{arom}}} = 6.7$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 5.90 (dddd, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.28 (dd,  $^3J_{\text{Allyl, trans}} = 17.3$  Hz, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.15 (dd,  $^3J_{\text{Allyl, cis}} = 10.8$  Hz, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 4.77 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 1.6$  Hz, H-1), 4.21 (dd, 1H,  $^2J_{\text{O-CH}_2} = 13.0$  Hz,  $^3J_{\text{O-CH}_2\text{-CH}} = 5.1$  Hz, O-CH<sub>2</sub>), 3.91 (dd, 1H, H-2); 3.80 (dd, 1H, H-3), 3.72 – 3.66 (m, 2H, H-6), 3.52 (dd, 1H,  $^3J_{3,4} = 9.8$  Hz,  $^3J_{4,5} = 9.5$  Hz, H-4), 3.19 (m, 1H, H-5) ppm;  $^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz, MeOD)  $\delta = 135.5$  (-CH Allyl), 117.3 (=CH<sub>2</sub> Allyl), 100.8 (C-1), 74.7 (C-5), 72.6 (C-3), 72.2 (C-2), 68.6 (C-4), 64.8 (O-CH<sub>2</sub>), 62.9 (C-6) ppm.

## 7. Experimenteller Teil

### Allyl-6-desoxy-6-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-phosphat (**5**):



Ansatz A) Zu einer wässrigen Lösung (30 mL) von  $\text{Na}_3\text{PO}_3\text{S}$  (290 mg, 1.61 mmol) wurde Verbindung **4** (596 mg, 1.59 mmol) gegeben. Diese Lösung wurde mit 0.1 M Natronlauge auf pH 10.3 eingestellt und für 48 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde durch Lyophilisation und das nicht umgesetzte Edukt durch Filtration über Kieselgel mit dem Laufmittel DCM / MeOH (5:1) entfernt. Das Rohprodukt wurde anschließend mit Wasser aus dem Kieselgel gelöst und an Biogel gereinigt. Es wurde 287 mg eines 3:2 Produktgemisches aus Verbindung **5** und **12** erhalten. Eine konventionelle chromatographische Trennung des Gemisches war nicht möglich.

Ansatz B) Zu einer Lösung von Verbindung **4** (400 mg, 1.07 mmol) in DMF (10 mL) und Wasser (10 mL) wurde  $\text{Na}_3\text{PO}_3\text{S}$  (290 mg, 1.61 mmol) gegeben, und das Gemisch über Nacht bei 60 °C gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde vom Rohprodukt ein  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum aufgenommen. Nach Analyse des Spektrums wurde auf eine Reinigung wegen zu geringen Umsatzes verzichtet.

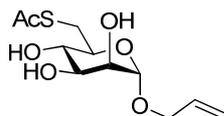
Ansatz C) Zu einer Lösung von Verbindung **4** (400 mg, 1.07 mmol) in DMSO (10 mL) und Wasser (10 mL) wurde  $\text{Na}_3\text{PO}_3\text{S}$  (290 mg, 1.61 mmol) gegeben und das Gemisch über Nacht bei 60 °C gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde vom Rohprodukt ein  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum aufgenommen. Nach Analyse des Spektrums wurde auf eine Reinigung wegen zu geringen Umsatzes verzichtet.

Ansatz D) Verbindung **17** (200 mg, 452  $\mu\text{mol}$ ) wurde in trockenem Methanol mit einer katalytischen Menge Kaliumcarbonat gelöst und für 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes (DC-Kontrolle: Ethylacetat) wurde Ansatz neutralisiert und konzentriert. Das Rohprodukt wurde an Biogel gereinigt. Die Verbindung **5** wurde als hygroskopischer, farbloser Feststoff erhalten (135 mg, 95%).  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -5.5^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{H}_2\text{O}$ );  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta = 5.95$  (dddd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-cis}} = 10.5$ ,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-trans}} = 16.9$  Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.30 (d,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-trans}} = 16.9$  Hz, 1H, H-3a<sub>all</sub>), 5.24 (d,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-cis}} = 10.5$  Hz, 1H, H-3b<sub>all</sub>), 4.86 (d,  $^3J_{1,2} = 1.2$  Hz, 1H, H-1), 4.19 (dd,  $^2J_{1\text{a},\text{ball}} = 12.8$ ,  $^3J_{1\text{all},2\text{all}} = 5.4$  Hz, 1H, H-1a<sub>all</sub>), 4.10 – 4.07 (m, 1H, H-1b<sub>all</sub>), 3.95-3.90 (m, 3H, H-2, H-6a,b), 3.83-3.74 (m, 2H, H-3,

## 7. Experimenteller Teil

H-4), 3.69 (m, 1H, H-5) ppm;  $^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta = 135.1$  (C-2<sub>all</sub>), 120.2 (C-3<sub>all</sub>), 97.9 (C-1), 70.9 (C-5), 70.6 (C-2), 70.3 (C-3), 69.4 (C-1<sub>all</sub>), 65.2 (C-4), 35.6 (C-6);  $^{31}\text{P}$ -NMR (202 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta = 47.5$  ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{O}_8\text{PS}$ : 316.03, gefunden 315.3 [ $M\text{-H}$ ].

### Allyl-6-S-acetyl-6-desoxy-6-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (6):



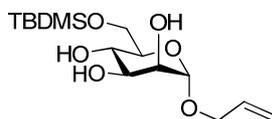
Ansatz A) Zu einer Lösung aus Verbindung **4** (512 mg, 1.36 mmol) in 10 mL abs. DMF wurde Kaliumthioacetat (780 mg, 6.83 mmol) gegeben und der Reaktionsansatz wurde für 12 Stunden bei 60 °C gerührt. DC-Kontrolle (DCM/MeOH, 5/1) des Reaktionsansatzes zeigte keine Umsetzung. Deshalb wurde nochmals Kaliumthioacetat (780 mg, 6.83 mmol) zugegeben und weitere 24 Stunden bei 60 °C gerührt. Nach erneuter DC-Kontrolle wurde wiederum keine Umsetzung detektiert. Die Reaktion wurde abgebrochen und nach der Reinigung konnte die Verbindung **4** zurück gewonnen werden.

Ansatz B) Unter Argonatmosphäre wurde DIAD (4.45 mL, 22.5 mmol) tropfenweise bei 0 °C zu einer Lösung von Triphenylphosphin (5.89 g, 22.5 mmol) in abs. THF (30 mL) gegeben. Allyl-mannosid **1** (4.12 g, 18.7 mmol) und Thioessigsäure (1.61 mL, 22.5 mmol) wurden in abs. THF (30 mL) suspendiert und anschließend bei 0 °C in die obenbeschriebene Lösung getropft. Dieser Reaktionsansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Vollständiger Umsatz des Edukts wurde durch DC (DCM/MeOH, 5/1) detektiert. Das Reaktionsgemisch wurde bei vermindertem Druck konzentriert und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM/MeOH (9/1) gereinigt. Verbindung **4** wurde als farbloses Öl erhalten. (5.20 g, 48%).  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_6\text{S}$  (278.32 g/mol),  $R_f = 0.53$  (DCM/MeOH, 5/1);  $[\alpha]_D^{20} : +85.0^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ),  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz, MeOD)  $\delta = 5.92$  (m, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.28 (dd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-trans}} = 17.2$ ,  $^4J_{1\text{all},3\text{all}} = 1.3$  Hz, 1H, H-3a<sub>all</sub>), 5.18 (d,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-cis}} = 10.3$  Hz, 1H, H-3b<sub>all</sub>), 4.72 (d,  $^3J_{1,2} = 1.1$ , 1H, H-1), 4.18 (dd,  $^2J_{1\text{a},\text{ball}} = 12.9$ ,  $^3J_{1\text{all},2\text{all}} = 4.9$  Hz, 1H, H-1a<sub>all</sub>), 3.97 (dd,  $^2J_{1\text{a},\text{ball}} = 12.9$ ,  $^3J_{1\text{all},2\text{all}} = 5.9$  Hz, 1H, H-1b<sub>all</sub>), 3.79 (d,  $^3J_{1,2} = 1.1$ , 1H, H-2), 3.71-3.41 (m, 4H, H-3, H-4, H-5, H-6a), 2.93 (dd,  $^2J_{6\text{a},\text{b}} = 13.4$ ,  $^3J_{5,6\text{b}} = 8.4$  Hz, 1H, H-6b), 2.33 (s, 3H, SOCCH<sub>3</sub>) ppm;  $^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz, MeOD)  $\delta = 197.2$  (CSOCH<sub>3</sub>), 135.3 (C-2<sub>all</sub>), 117.5 (C-3<sub>all</sub>), 100.7 (C-1), 73.2, 72.4, 72.1, 71.9 (C-2,3,4,5), 68.8

## 7. Experimenteller Teil

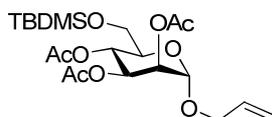
(C-1<sub>all</sub>), 32.2 (C-6), 30.4 (CH<sub>3</sub>CSO) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>S: 278.08, gefunden 301.1 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>.

### Allyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (7):



Zu einer Lösung aus Verbindung **1** (2.97 g, 13.5 mmol) in abs. Pyridin (40 mL) wurde TBDMSCl (2.57 mL, 14.8 mmol) bei 0 °C gegeben und der Reaktionsansatz nach Erwärmen auf Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach DC-Kontrolle (DCM/MeOH, 5:1) wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt in DCM (100 mL) aufgenommen und mit 1 M HCl (2 × 100 mL) sowie ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (100 mL) und ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Nach Evaporation des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM/MeOH (9/1) gereinigt. Die Verbindung **7** wurde als farbloses Öl erhalten (3.46 g, 76%). Auf eine NMR-Charakterisierung wurde verzichtet und die Verbindung direkt zur Synthese von Verbindung **8** verwendet. C<sub>15</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub>Si (334.48 g/mol),  $R_f = 0.76$  (DCM/MeOH, 5/1); MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub>Si: 334.18, gefunden 357.2 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>.

### Allyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (8):

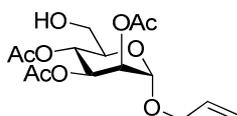


Die Verbindung **7** (3.46 g, 10.3 mmol) wurde nach AAV-1 acetyliert. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel PE-EE (3:1). Die Verbindung **8** wurde als farbloses Öl erhalten (4.55 g, 96%). C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O<sub>9</sub>Si (460.59 g/mol),  $R_f = 0.36$  (Petroleum/EtOAc 2:1);  $[\alpha]_D^{20} = +44.6^\circ$  ( $c = 1.5$  in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 5.89$  (dddd, <sup>3</sup> $J_{2all,3all-cis} = 10.4$ , <sup>3</sup> $J_{2all,3all-trans} = 17.4$  Hz, 1H), 5.37 (dd, <sup>3</sup> $J_{2all,3all-cis} = 10.4$  Hz, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.33-5.18 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-3<sub>ball</sub>), 4.83 (d, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 0.8$  Hz, 1H, H-1), 4.19 (dd, <sup>2</sup> $J_{1a,ball} = 12.8$ , <sup>3</sup> $J_{1all,2all} = 5.1$  Hz, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 4.00 (dd, <sup>2</sup> $J_{1a,ball} = 12.8$ , <sup>3</sup> $J_{1all,2all} = 6.2$  Hz, 1H, H-1<sub>b<sub>all</sub></sub>), 3.83 (ddd, <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 2.7$ , <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 5.0$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 9.4$  Hz, 1H, H-5), 3.76-3.61 (m, 2H, H-6<sub>a,b</sub>), 2.12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO),

## 7. Experimenteller Teil

2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 1.98 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 0.90 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CSi), 0.05 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.1 (OOCCH<sub>3</sub>), 170.0 (OOCCH<sub>3</sub>), 169.6 (OOCCH<sub>3</sub>), 133.2 (C-2<sub>all</sub>), 118.0 (C-3<sub>all</sub>), 96.2 (C-1), 71.4, 69.8, 69.4, 68.1 (C-2,3,4,5), 66.7 (C-1<sub>all</sub>), 62.3 (C-6), 25.8 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CSi), 20.9 (CH<sub>3</sub>COO), 20.8 (CH<sub>3</sub>COO), 20.7 (CH<sub>3</sub>COO), -5.3 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si) ppm; MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O<sub>9</sub>Si: 460.21, gefunden 483.7 [M+Na]<sup>+</sup>.

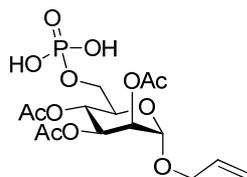
### Allyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**9**):



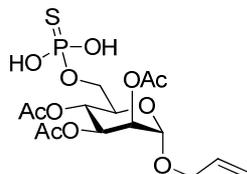
Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung aus Verbindung **8** (1.14 g, 2.48 mmol) in abs. THF (20 mL) Eisessig (710  $\mu$ L, 12.4 mmol) bei 0 °C gegeben und der Reaktionsansatz auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Zugabe einer 1 M Lösung von TBAF in THF (2.97 mL, 2.97 mmol) wurde das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt. Nach DC-Kontrolle (PE/EE, 1:1) wurde zum Reaktionsansatz ges. NaCl-Lösung (100 mL) gegeben und die wässrige Phase mit Ethylacetat (4  $\times$  100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden bei vermindertem Druck evaporiert und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel PE/EE (1/1) gereinigt. Die Verbindung **9** wurde als gelbliches Öl erhalten (704 mg, 82%). C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub> (346.33 g/mol), *R<sub>f</sub>* = 0.26 (Petroleum/EtOAc 1:1); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 52.1° (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 5.88 (dddd, <sup>3</sup>*J*<sub>2all,3all-cis</sub> = 10.1, <sup>3</sup>*J*<sub>2all,3all-trans</sub> = 17.1 Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.42 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 10.1, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 3.5 Hz, 1H, H-3), 5.33-5.20 (m, 4H, H-2, H-4, H-3<sub>aall</sub>, H-3<sub>ball</sub>), 4.87 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 1.3 Hz, 1H, H-1), 4.18 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>1a,ball</sub> = 12.8, <sup>3</sup>*J*<sub>1all,2all</sub> = 5.2 Hz, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 4.02 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>1a,ball</sub> = 12.8, <sup>3</sup>*J*<sub>1all,2all</sub> = 6.2 Hz, 1H, H-1<sub>ball</sub>), 3.79 (ddd, <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 10.1, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 4.1, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 2.2 Hz, 1H, H-5), 3.70 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>6a,b</sub> = 12.7, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 2.2 Hz, 1H, H-6a), 3.61 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>6a,b</sub> = 12.7, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 4.1 Hz, 1H, H-6b), 2.13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 2.08, (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 1.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.8 (OOCCH<sub>3</sub>), 170.0 (OOCCH<sub>3</sub>), 169.8 (OOCCH<sub>3</sub>), 132.9 (C-2<sub>all</sub>), 118.2 (C-3<sub>all</sub>), 96.6 (C-1), 70.6 (C-5), 69.6, 66.4 (C-2, C-4), 68.8 (C-3), 68.5 (C-1<sub>all</sub>), 61.2 (C-6), 20.8 (CH<sub>3</sub>COO), 20.7 (CH<sub>3</sub>COO), 20.6 (CH<sub>3</sub>COO) ppm; MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>: 346.13, gefunden 368.9 [M+Na]<sup>+</sup>.

## 7. Experimenteller Teil

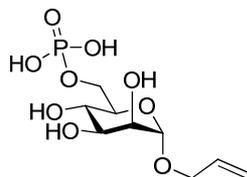
### Allyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-phosphat (**10**):



Zu einer Lösung von Verbindung **9** (600 mg, 1.73 mmol) und *N*-Ethylmorpholin (240  $\mu$ L, 1.90 mmol) in trockenem Dichlormethan (4 mL) wurde langsam  $\text{POCl}_3$  (168  $\mu$ L, 1.80 mmol) zutropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach Konzentration (halbes Lösungsmittelvolumen) wurde der Rückstand mit Hexan (10 mL) verdünnt und bei 0 °C für 10 Minuten gerührt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat bei vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde mit Dichlormethan (20 mL), verdünnter Eiswasser-HCl-Lösung (0.4%, 20 mL) und Wasser (20 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde bei vermindertem Druck konzentriert und der erhaltene Chlorphosphatester durch dreimaliges Konzentrieren mit Wasser (100 mL) bei 40 °C hydrolysiert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel Ethylacetat gereinigt. Die Verbindung **10** wurde als gelbliches Öl erhalten (494 mg, 67%).  $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_{12}\text{P}$  (426.31 g/mol),  $R_f = 0.52$  (EtOAc);  $[\alpha]_D^{20} = +18.2^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 5.91$  (dddd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-cis}} = 10.5$ ,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-trans}} = 17.4$  Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.29 (dd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-trans}} = 17.4$  Hz, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.22 (dd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-cis}} = 10.5$  Hz, 1H, H-3<sub>ball</sub>), 5.15-5.10 (m, 2H, H-2, H-3), 5.05 (dd,  $^3J_{3,4} = 9.7$ ,  $^3J_{4,5} = 9.7$  Hz, 1H, H-4), 4.86 (d,  $^3J_{1,2} = 1.3$  Hz, 1H, H-1), 4.40 – 4.16 (m, 4H, H-5, H-6<sub>a,b</sub>, H-1<sub>aall</sub>), 3.99 (dd,  $^2J_{1\text{a},\text{ball}} = 12.8$ ,  $^3J_{1\text{all},2\text{all}} = 5.8$  Hz, 1H, H-1<sub>b<sub>all</sub></sub>), 2.10 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 2.01 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 1.93 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 171.3$  ( $\text{OOCCH}_3$ ), 171.1 ( $\text{OOCCH}_3$ ), 170.6 ( $\text{OOCCH}_3$ ), 132.2 (C-2<sub>all</sub>), 115.4 (C-3<sub>all</sub>), 99.6 (C-1), 71.9 (d,  $^4J_{\text{C-P}} = 3.2$  Hz, C-5), 71.3, 70.7 (C-2, C-3), 69.4 (C-4), 68.0 (C-1<sub>all</sub>), 65.6 (d,  $^3J_{\text{C-P}} = 5.6$  Hz, C-6), 20.7 ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 20.6 ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 20.3 ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ) ppm;  $^{31}\text{P-NMR}$  (162 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 2.7$  ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{15}\text{H}_{29}\text{O}_{12}\text{P}$ : 426.09, gefunden 424.1 [ $M\text{-H}$ ] $^-$ .

**Allyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-thiophosphat (11):**

Gemäß der Synthese von Verbindung **10** wurde die Verbindung **9** (255 mg, 735  $\mu$ mol) mit *N*-Ethylmorpholin (100  $\mu$ L, 806  $\mu$ mol) und  $\text{PSCl}_3$  (78  $\mu$ L, 765  $\mu$ mol) in trockenem Dichlormethan (2 mL) langsam zur Reaktion gebracht. Nach Reinigung wurde die Verbindung **11** als gelbliches Öl erhalten (234 mg, 72%).  $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_{11}\text{PS}$  (442.37 g/mol),  $R_f = 0.55$  (EtOAc);  $[\alpha]_D^{20} = -10.5^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 5.94$  (dddd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-cis}} = 10.3$ ,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-trans}} = 17.3$  Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.30 (dd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-trans}} = 17.3$  Hz, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.20 (dd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-cis}} = 10.3$  Hz, 1H, H-3<sub>ball</sub>), 5.14-5.10 (m, 2H, H-2, H-3), 5.00 (dd,  $^3J_{3,4} = 9.8$ ,  $^3J_{4,5} = 9.8$  Hz, 1H, H-4), 4.86 (d,  $^3J_{1,2} = 1.3$  Hz, 1H, H-1), 4.18 (dd,  $^2J_{1\text{a},\text{ball}} = 12.8$ ,  $^3J_{1\text{all},2\text{all}} = 4.8$  Hz, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 3.99 (dd,  $^2J_{1\text{a},\text{ball}} = 12.8$ ,  $^3J_{1\text{all},2\text{all}} = 5.8$  Hz, 1H, H-1<sub>ball</sub>), 3.95-3.86 (m, 1H, H-5), 3.84-3.72 (m, 2H, H-6<sub>a,b</sub>), 2.10 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 2.01 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 1.93 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 169.6$  ( $\text{OOCCH}_3$ ), 169.5 ( $\text{OOCCH}_3$ ), 169.3 ( $\text{OOCCH}_3$ ), 133.7 (C-2<sub>all</sub>), 117.6 (C-3<sub>all</sub>), 95.6 (C-1), 69.5 (d,  $^4J_{\text{C-P}} = 9.2$  Hz, C-5), 68.8, 68.7 (C-2, C-3), 67.3 (C-1<sub>all</sub>), 66.01 (C-4), 63.6 (d,  $^3J_{\text{C-P}} = 23.5$  Hz, C-6), 20.6 ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 20.5 ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 20.3 ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ) ppm;  $^{31}\text{P-NMR}$  (162 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 18.6$  ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{15}\text{H}_{29}\text{O}_{11}\text{PS}$ : 442.07, gefunden 441.3 [ $M\text{-H}$ ] $^-$ .

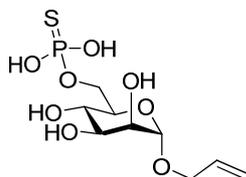
**Allyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-phosphat (12):**

Gemäß der Synthese von Verbindung **5** (Ansatz D) wurde die Verbindung **9** (150 mg, 352  $\mu$ mol) in Methanol mit einer katalytischen Menge Kaliumcarbonat zur Reaktion gebracht. Nach Reinigung wurde die Verbindung **12** als hygroskopischer, amorpher Feststoff erhalten

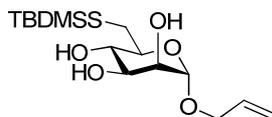
## 7. Experimenteller Teil

(101 mg, 95%).  $C_9H_{17}O_9P$  (300.20 g/mol),  $[\alpha]_D^{20} = +36.0^\circ$  ( $c = 2.0$  in  $H_2O$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 5.95$  (dddd,  $^3J_{2all,3all-cis} = 10.4$ ,  $^3J_{2all,3all-trans} = 17.2$  Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.33 (d,  $^3J_{2all,3all-trans} = 17.2$  Hz, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.25 (d,  $^3J_{2all,3all-cis} = 10.4$  Hz, 1H, H-3<sub>ball</sub>), 4.88 (d,  $^3J_{1,2} = 1.0$  Hz, 1H, H-1), 4.21 (dd,  $^2J_{1a,ball} = 12.8$ ,  $^3J_{1all,2all} = 5.4$  Hz, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 4.17 – 4.10 (m, 2H, H-6<sub>a,b</sub>), 4.05 (dd,  $^2J_{1a,ball} = 12.8$ ,  $^3J_{1all,2all} = 5.8$  Hz, 1H, H-1<sub>ball</sub>), 3.92 (dd, 1H,  $^3J_{1,2} = 1.0$ ,  $^3J_{2,3} = 3.1$  Hz, H-2), 3.78-3.70 (m, 3H, H-3, H-4, H-5) ppm  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 135.7$  (C-2<sub>all</sub>), 121.2 (C-3<sub>all</sub>), 101.6 (C-1), 74.1 (C-5), 73.9 (C-2), 72.9 (C-3), 70.8 (C-1<sub>all</sub>), 68.7 (C-4), 67.3 (C-6);  $^{31}P$ -NMR (202 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 0.7$  ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $C_9H_{17}O_9P$ : 300.06, gefunden 298.9 [ $M-H$ ] $^-$ .

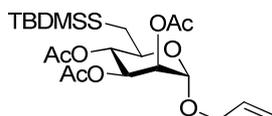
### Allyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-thiophosphat (**13**):



Gemäß der Synthese von Verbindung **5** (Ansatz D) wurde die Verbindung **11** (150 mg, 339  $\mu$ mol) in Methanol mit einer katalytischen Menge Kaliumcarbonat zur Reaktion gebracht. Nach Reinigung wurde die Verbindung **13** als hygroskopischer, amorpher Feststoff erhalten (105 mg, 98%).  $C_9H_{17}O_8PS$  (316.26 g/mol),  $[\alpha]_D^{20} = -5.5^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $H_2O$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 5.93$  (dddd,  $^3J_{2all,3all-cis} = 10.4$ ,  $^3J_{2all,3all-trans} = 17.2$  Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.32 (d,  $^3J_{2all,3all-trans} = 17.2$  Hz, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.24 (d,  $^3J_{2all,3all-cis} = 10.4$  Hz, 1H, H-3<sub>ball</sub>), 4.88 (d,  $^3J_{1,2} = 1.3$  Hz, 1H, H-1), 4.19 (dd,  $^2J_{1a,ball} = 12.8$ ,  $^3J_{1all,2all} = 5.4$  Hz, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 4.10 – 3.98 (m, 3H, H-6<sub>a,b</sub>, H-1<sub>ball</sub>), 3.92-3.90 (m, 1H, H-2), 3.83-3.74 (m, 2H, H-3, H-4), 3.71 (m, 1H, H-5) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 135.9$  (C-2<sub>all</sub>), 120.2 (C-3<sub>all</sub>), 98.2 (C-1), 71.3 (C-5), 70.8 (C-2), 70.3 (C-3), 69.4 (C-1<sub>all</sub>), 65.2 (C-4), 64.4 (C-6);  $^{31}P$ -NMR (202 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 17.1$  ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $C_9H_{17}O_8PS$ : 316.03, gefunden 315.6 [ $M-H$ ] $^-$ .

**Allyl-6-*S*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-desoxy-6-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (14):**

Unter Argonatmosphäre wurde die Verbindung **6** (577, 2.07 mmol) in entgaster methanolischer Natriumethanolat-Lösung (112 mg, 2.07 mmol, 10 mL) gelöst und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Unter Inertgas-Bedingungen wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in abs. Pyridin (20 mL) aufgenommen. Bei 0 °C wurde TBDMSCl (900  $\mu$ L, 5.18 mmol) zugegeben, der Reaktionsansatz über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach DC-Kontrolle (DCM/MeOH, 5:1) wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt in DCM (100 mL) aufgenommen und mit 1 M HCl (2  $\times$  100 mL) sowie ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (100 mL) und ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Nach Evaporation des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt direkt zur Synthese von Verbindung **15** eingesetzt. C<sub>15</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>SSi (350.55 g/mol).

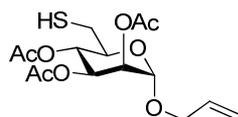
**Allyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*S*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-desoxy-6-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (15):**

Die Verbindung **14** (480 mg, 1.38 mmol) wurde nach AAV-1 acetyliert. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel PE-EE (3:1). Die Verbindung **15** wurde als farbloses Öl erhalten (640 mg, 97%). C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O<sub>8</sub>SSi (476.66 g/mol),  $R_f = 0.40$  (Petroleum/EtOAc 2:1);  $[\alpha]_D^{20} = +12.4^\circ$  ( $c = 1.0$  in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 5.83$  (dddd, <sup>3</sup> $J_{1a_{all},2_{all}} = 5.2$ , <sup>3</sup> $J_{1a_{all},2_{all}} = 6.2$ , <sup>3</sup> $J_{2_{all},3_{all-cis}} = 10.4$ , <sup>3</sup> $J_{2_{all},3_{all-trans}} = 17.2$  Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.24 (dd, <sup>3</sup> $J_{2_{all},3_{all-trans}} = 17.2$  Hz, 1H, H-3a<sub>all</sub>), 5.17 (dd, <sup>3</sup> $J_{2_{all},3_{all-cis}} = 10.4$  Hz, 1H, H-3b<sub>all</sub>), 5.07-4.97 (m, 2H, H-2, H-4), 4.69 (d, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 1.5$  Hz, 1H, H-1), 4.12 (dd, <sup>2</sup> $J_{1a,b_{all}} = 12.9$ , <sup>3</sup> $J_{1a_{all},2_{all}} = 5.2$  Hz, 1H, H-1a<sub>all</sub>), 4.03 (dd, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 3.6$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 9.3$  Hz, 1H, H-3), 3.92 (dd, <sup>2</sup> $J_{1a,b_{all}} = 12.9$ , <sup>3</sup> $J_{1a_{all},2_{all}} = 6.2$  Hz, 1H, H-1b<sub>all</sub>), 3.68 (ddd, <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 2.6$ , <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 8.7$ , <sup>3</sup> $J = ^3J_{3,4} = 9.8$  Hz, 1H, H-5), 3.23 (dd, <sup>2</sup> $J_{6a,b} = 14.1$ , <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 2.6$  Hz, 1H, H-6a), 2.85 (dd, <sup>2</sup> $J_{6a,b} = 14.1$ , <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 8.7$  Hz, 1H, H-6b), 2.29 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 2.09 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 2.07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 0.77 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CSi),

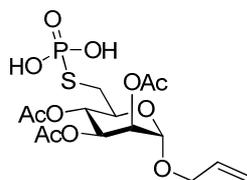
## 7. Experimenteller Teil

0.01 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.1 (OOCCH<sub>3</sub>), 170.0 (OOCCH<sub>3</sub>), 169.8 (OOCCH<sub>3</sub>), 135.6 (C-2<sub>all</sub>), 117.9 (C-3<sub>all</sub>), 97.9 (C-1), 71.4, 69.8, 69.4, 68.1 (C-2,3,4,5), 66.7 (C-1<sub>all</sub>), 30.7 (C-6), 25.8 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CSi), 20.9 (CH<sub>3</sub>COO), 20.8 (CH<sub>3</sub>COO), 20.7 (CH<sub>3</sub>COO), -5.3 ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si) ppm.

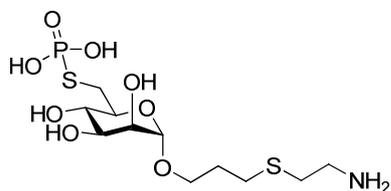
### Allyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-desoxy-6-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**16**):



Gemäß der Synthese von Verbindung **9** wurde die Verbindung **15** (500 mg, 1.05 mmol) in abs. THF (10 mL) mit Eisessig (310  $\mu$ L, 5.42 mmol) und 1 M TBAF in THF (1.20 mL, 1.20 mmol) zur Reaktion gebracht. Die Verbindung **16** wurde als gelblicher Sirup erhalten (322mg, 85%).  $R_f$  = 0.34 (Petroleum/EtOAc 1:1); C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>S (362.40 g/mol),  $[\alpha]_D^{20}$  = + 2.4° ( $c$  = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 5.82 (dddd, <sup>3</sup> $J_{2all,3all-cis}$  = 10.1, <sup>3</sup> $J_{2all,3all-trans}$  = 17.1 Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.45 (dd, <sup>3</sup> $J_{3,4}$  = 10.1, <sup>3</sup> $J_{2,3}$  = 3.4 Hz, 1H, H-3), 5.33-5.20 (m, 4H, H-2, H-4, H-3<sub>aall</sub>, H-3<sub>ball</sub>), 4.82 (d, <sup>3</sup> $J_{1,2}$  = 1.3 Hz, 1H, H-1), 4.18 (dd, <sup>2</sup> $J_{1a,ball}$  = 12.8, <sup>3</sup> $J_{1all,2all}$  = 5.2 Hz, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 4.02 (dd, <sup>2</sup> $J_{1a,ball}$  = 12.8, <sup>3</sup> $J_{1all,2all}$  = 6.2 Hz, 1H, H-1<sub>ball</sub>), 3.76 (ddd, <sup>3</sup> $J_{4,5}$  = 9.6, <sup>3</sup> $J_{5,6b}$  = 5.6, <sup>3</sup> $J_{5,6a}$  = 2.2 Hz, 1H, H-5), 3.70 (dd, <sup>2</sup> $J_{6a,b}$  = 12.7, <sup>3</sup> $J_{5,6a}$  = 2.2 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 3.61 (dd, <sup>2</sup> $J_{6a,b}$  = 12.7, <sup>3</sup> $J_{5,6b}$  = 4.1 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 2.13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 2.08, (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO), 1.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>COO) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.8 (OOCCH<sub>3</sub>), 170.0 (OOCCH<sub>3</sub>), 169.8 (OOCCH<sub>3</sub>), 134.9 (C-2<sub>all</sub>), 117.7 (C-3<sub>all</sub>), 96.6 (C-1), 70.6, 69.6, 66.4 (C-2, C-4, C-5), 68.8 (C-3), 68.5 (C-1<sub>all</sub>), 32.3 (C-6), 20.8 (CH<sub>3</sub>COO), 20.7 (CH<sub>3</sub>COO), 20.6 (CH<sub>3</sub>COO) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>S: 362.10, gefunden 386.1 [M+Na]<sup>+</sup>.

**Allyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-desoxy-6-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-phosphat (17):**

In Analogie zur Synthese von Verbindung **10** wurde die Verbindung **16** (255 mg, 735  $\mu$ mol) mit *N*-Ethylmorpholin (100  $\mu$ L, 806  $\mu$ mol) und  $\text{PSCl}_3$  (78  $\mu$ L, 765  $\mu$ mol) in trockenem Dichlormethan (2 mL) langsam zur Reaktion gebracht. Nach Reinigung wurde die Verbindung **17** als gelbliches Öl erhalten (234 mg, 72%).  $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_{11}\text{PS}$  (442.38 g/mol),  $R_f = 0.55$  (EtOAc);  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -10.5^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 5.94$  (dddd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-cis}} = 10.3$ ,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-trans}} = 17.3$  Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.30 (dd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-trans}} = 17.3$  Hz, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.20 (dd,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-cis}} = 10.3$  Hz, 1H, H-3<sub>ball</sub>), 5.14-5.10 (m, 2H, H-2, H-3), 5.00 (dd,  $^3J_{3,4} = 9.8$ ,  $^3J_{4,5} = 9.8$  Hz, 1H, H-4), 4.86 (d,  $^3J_{1,2} = 1.3$  Hz, 1H, H-1), 4.18 (dd,  $^2J_{1\text{a},\text{ball}} = 12.8$ ,  $^3J_{1\text{all},2\text{all}} = 4.8$  Hz, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 3.99 (dd,  $^2J_{1\text{a},\text{ball}} = 12.8$ ,  $^3J_{1\text{all},2\text{all}} = 5.8$  Hz, 1H, H-1<sub>ball</sub>), 3.95-3.86 (m, 1H, H-5), 3.84-3.72 (m, 2H, H-6<sub>a,b</sub>), 2.10 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 2.01 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 1.93 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO}$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 169.6$  ( $\text{OOCCH}_3$ ), 169.5 ( $\text{OOCCH}_3$ ), 169.3 ( $\text{OOCCH}_3$ ), 133.7 (C-2<sub>all</sub>), 117.6 (C-3<sub>all</sub>), 95.6 (C-1), 69.5 (d,  $^4J_{\text{C-P}} = 9.2$  Hz, C-5), 68.8, 68.7 (C-2, C-3), 67.3 (C-1<sub>all</sub>), 66.0 (C-4), 42.6 (d,  $^3J_{\text{C-P}} = 23.5$  Hz, C-6), 20.6 ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 20.5 ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ), 20.3 ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ) ppm;  $^{31}\text{P-NMR}$  (162 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 51.6$  ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{15}\text{H}_{29}\text{O}_{11}\text{PS}$ : 442.07, gefunden 441.3 [ $M\text{-H}$ ] $^-$ .

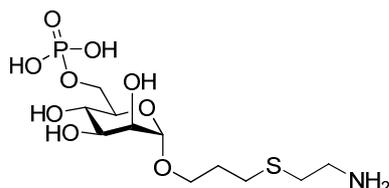
**3-(2-Aminoethylthio)propyl-6-desoxy-6-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-phosphat (18):**

Die Verbindung **5** (120 mg, 379  $\mu$ mol) wurde mit Cystamin-hydrochlorid (861 mg, 7.58 mmol) in entgastem Wasser (5 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde für drei Stunden mit einer UV-Lampe bestrahlt. Anschliessend wurde die Lösung lyophilisiert und das Rohprodukt an RP-18-Kieselgel mit Wasser als Eluent gereinigt. Die Verbindung **18** wurde als

## 7. Experimenteller Teil

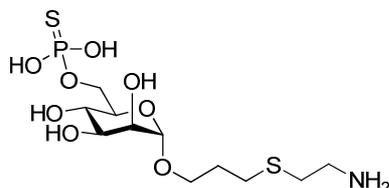
hygroskopischer, gelblicher, mit Startmaterial verunreinigter Feststoff erhalten (179 mg, 72% Verbindung **18**). Die Ausbeute wurde durch Integration der Signale von H-2<sub>allyl</sub>-Startmaterial und H-2<sub>Linker</sub>-Produkt im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum bestimmt. C<sub>11</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>8</sub>PS<sub>2</sub> (393.42 g/mol), MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>8</sub>PS<sub>2</sub>: 393.07, gefunden 416.3 [*M*+Na]<sup>+</sup>.

### 3-(2-Aminoethylthio)propyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-phosphat (**19**):



Die Verbindung **12** (85 mg, 283  $\mu$ mol) wurde mit Cystamin-hydrochlorid (644mg, 5.66 mmol) in entgastem Wasser (5 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde für drei Stunden mit einer UV-Lampe bestrahlt. Anschliessend wurde die Lösung lyophilisiert und das Rohprodukt an RP-18-Kieselgel mit Wasser als Eluent gereinigt. Die Verbindung **19** wurde als hygroskopischer, gelblicher, mit Startmaterial verunreinigter Feststoff erhalten (113 mg, 75% Verbindung **19**). Die Ausbeute wurde durch Integration der Signale von H-2<sub>allyl</sub>-Startmaterial und H-2<sub>Linker</sub>-Produkt im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum bestimmt. C<sub>11</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>9</sub>PS (377.35 g/mol), MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>8</sub>PS<sub>2</sub>: 377.09, gefunden 400.8 [*M*+Na]<sup>+</sup>.

### 3-(2-Aminoethylthio)propyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid-6-thiophosphat (**20**):

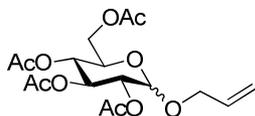


Die Verbindung **13** (65 mg, 205  $\mu$ mol) wurde mit Cystamin-hydrochlorid (470 mg, 4.11 mmol) in entgastem Wasser (5 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde für drei Stunden mit einer UV-Lampe bestrahlt. Anschliessend wurde die Lösung lyophilisiert und das Rohprodukt an RP-18-Kieselgel mit Wasser als Eluent gereinigt. Die Verbindung **20** wurde als hygroskopischer, gelblicher, mit Startmaterial verunreinigter Feststoff erhalten (94 mg, 69% Verbindung **20**). Die Ausbeute wurde durch Integration der Signale von H-2<sub>allyl</sub>-Startmaterial

## 7. Experimenteller Teil

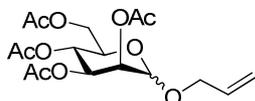
und H-2<sub>Linker</sub>-Produkt im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum bestimmt. C<sub>11</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>8</sub>PS<sub>2</sub> (393.42 g/mol), MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>8</sub>PS<sub>2</sub>: 393.07, gefunden 416.1 [*M*+Na]<sup>+</sup>.

### Allyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranosid (**23**):



Die Reaktion wurde nach AAV-2 mit D-Glucose **21** (5.00 g, 27.8 mmol) durchgeführt. Die Produkte **23α** und **23β** wurden als farblose Feststoffe erhalten (**23α**: 3.88 g, 36%; **23β**: 2.70 g, 25%). C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub> (388.37 g/mol), Daten für **3β**: *R<sub>f</sub>* = 0.42 (Petroleum/EtOAc 1:1); Schmelzp.: 88°C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -21.0° (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 5.90-5.74 (m, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.45 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 9.7, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 9.7 Hz, 1H, H-3), 5.26 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>2all,3all trans</sub> = 17.1 Hz, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.17 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>2all,3all cis</sub> = 10.6 Hz, H-3<sub>b<sub>all</sub></sub>), 5.05 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 3.9 Hz, 1H, H-1), 5.01 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 9.7, <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 9.9, 1H, H-4), 4.83 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 3.9, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 9.7 Hz, 1H, H-2), 4.20 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>6a,6b</sub> = 12.3, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 4.5 Hz, 1H, H-6a), 4.17-4.11 (m, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 4.03 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>6a,6b</sub> = 12.3, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 2.3 Hz, 1H, H-6b), 4.01-3.94 (m, 2H, H-5, H-1<sub>b<sub>all</sub></sub>), 2.04 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.01 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.97 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.95 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.4 (CH<sub>3</sub>CO), 169.9 (CH<sub>3</sub>CO), 169.8 (CH<sub>3</sub>CO), 169.4 (CH<sub>3</sub>CO), 132.9 (C-2<sub>all</sub>), 117.9 (C-3<sub>all</sub>), 94.7 (C-1), 70.6 (C-3), 70.0 (C-4), 68.6 (C-1<sub>all</sub>), 68.4 (C-2), 67.2 (C-5), 61.7 (C-6), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5-20.4 (3 x CH<sub>3</sub>CO) ppm; MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>: 388.14, gefunden 411.2 [*M*+Na]<sup>+</sup>.

### Allyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranosid (**24**):

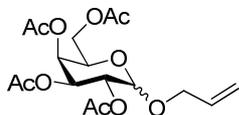


Die Reaktion wurde nach AAV-2 mit D-Mannose **22** (5.00 g, 27.8 mmol) durchgeführt. Die Produkte **24α** und **24β** wurden als farblose Feststoffe erhalten (**24α**: 3.67 g, 34%; **24β**: 2.27 g, 21%). C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub> (388.37 g/mol), Daten für **24α**: *R<sub>f</sub>* = 0.36 (Petroleum/EtOAc 1:1); Schmelzp.: 99 °C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +48.7° (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 5.90 (dddd, <sup>3</sup>*J*<sub>2aall,3all-cis</sub> = 10.4, <sup>3</sup>*J*<sub>2aall,3all-trans</sub> = 17.2 Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.38 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 3.5, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 9.8 Hz, 1H, H-3), 5.32-5.30 (m, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.29 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 10.1 Hz, 1H, H-4), 5.26 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> =

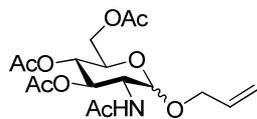
## 7. Experimenteller Teil

3.5 Hz, 1H, H-2), 5.25-5.23 (m, 1H, H-3<sub>b<sub>all</sub></sub>), 4.29 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 12.2$ ,  $^3J_{5,6a} = 2.4$  Hz 1H, H-6a), 4.87 (d,  $^3J_{1,2} = 1.8$  Hz, 1H, H-1), 4.19 (m, 1H, H-1<sub>a<sub>all</sub></sub>), 4.11 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 12.2$ ,  $^3J_{5,6b} = 5.3$  Hz 1H, H-6b), 4.04 (m, 1H, H-1<sub>b<sub>all</sub></sub>), 4.02 (ddd,  $^3J_{4,5} = 9.8$ ,  $^3J_{5,6a} = 2.4$ ,  $^3J_{5,6b} = 5.3$  Hz, 1H, H-5), 2.16 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.11 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.04 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.00 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.7$  ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 170.1 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 169.9 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 169.8 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 132.9 (C-2<sub>all</sub>), 118.5 (C-3<sub>all</sub>), 96.6 (C-1), 69.7 (C-2), 69.1 (C-3), 68.7 (C-1<sub>all</sub>), 68.6 (C-5), 66.2 (C-4), 62.5 (C-6), 20.9 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.8 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.7( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.5 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ : 388.14, gefunden: 411.3 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ .

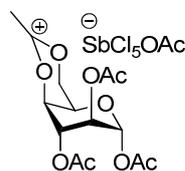
### Allyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-galactopyranosid (**27**):



Die Reaktion wurde nach AAV-2 mit D-Galactose **25** (5.00 g, 27.8 mmol) durchgeführt. Die Produkte **27 $\alpha$**  und **27 $\beta$**  wurden als farblose Feststoffe erhalten (**27 $\alpha$** : 4.43 g, 41%; **27 $\beta$** : 2.27 g, 21%).  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$  (388.37 g/mol), Daten für **27 $\beta$** :  $R_f = 0.36$  (Petroleum/EtOAc 1:1); Schmelzpt.: 103 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -16.9^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.87$ -5.85 (m, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.30-5.38 (m, 2H, H-3, H-4), 5.18-5.29 (m, 3H, H-2, H-3<sub>a,b<sub>all</sub></sub>), 4.85 (d,  $^3J_{1,2} = 9.8$  Hz, 1H, H-1); 4.27 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 12.2$ ,  $^3J_{5,6a} = 5.1$  Hz, 1H, H-6a); 4.17 (dd,  $^2J_{1a_{all},1b_{all}} = 12.3$ ,  $^3J_{1a_{all},2a_{all}} = 4.4$  Hz 1H, H-1<sub>a<sub>all</sub></sub>), 4.06-4.11 (m, 1 H, H-5); 3.96-4.04 (m, 2H, H-1<sub>a<sub>all</sub></sub> H-6b); 2.13 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.08 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.02 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) 1.97 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.6$  ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 170.0 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 169.8 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 169.7 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 133.5 (C-2<sub>all</sub>); 118.4 (C-3<sub>all</sub>); 96.5 (C-1), 69.7 (C-2), 69.1 (C-3), 68.7 (C-1<sub>all</sub>) 68.6 (C-5), 66.2 (C-4), 62.5 (C-6); 21.1 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.9 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.4 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ : 388.14, gefunden: 411.3 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ .

**Allyl-2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-D-galactopyranosid (28):**

Die Reaktion wurde nach AAV-2 mit D-Glucosamin **26** (5.00 g, 22.6 mmol) durchgeführt. Die Produkte **28 $\alpha$**  und **28 $\beta$**  wurden als farblose Feststoffe erhalten (**28 $\alpha$** : 2.98 g, 34%; **28 $\beta$** : 1.31 g, 15%). C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>9</sub> (387.38 g/mol), Data für **28 $\beta$** :  $R_f = 0.12$  (Petroleum/EtOAc 1:1); Schmelztp.: 164 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -17.5^\circ$  ( $c = 1.0$  in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 5.88$  (m, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.25 (ddd, <sup>3</sup> $J_{2a_{all},3a_{all-trans}} = 17.0$  Hz, 1H, H-3<sub>a<sub>all</sub></sub>), 5.20 (dd, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.5$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 10.5$  Hz, 1H, H-3), 5.15 (ddd, <sup>3</sup> $J_{2a_{all},3a_{all-cis}} = 10.5$  Hz, 1H, H-3<sub>a<sub>all</sub></sub>), 4.97 (dd, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 10.5$ , <sup>3</sup> $J_{4,5} = 10.5$  Hz, 1H, H-4), 4.65 (d, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.5$  Hz, 1H, H-1), 4.30 (m, 1H, H-1<sub>a<sub>all</sub></sub>), 4.27 (dd, <sup>2</sup> $J_{6a,6b} = 12.3$ , <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 5.0$  Hz, 1H, H-6a), 4.10 (dd, <sup>2</sup> $J_{6a,6b} = 12.3$ , <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 2.5$  Hz, 1H, H-6b), 4.05 (m, 1H, H-1<sub>b<sub>all</sub></sub>), 3.86 (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.5$ , <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.5$  Hz, 1H, H-2), 3.76 (ddd, <sup>2</sup> $J_{6a,6b} = 12.3$ , <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 5.0$ , <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 2.5$  Hz, 1H, H-5), 2.05 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.99 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.97 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.6$  (CH<sub>3</sub>CO), 170.3 (CH<sub>3</sub>CO), 170.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.1 (CH<sub>3</sub>CON), 133.4 (C-2<sub>all</sub>), 117.0 (C-1<sub>all</sub>), 99.4 (C-1), 72.1 (C-3), 71.1 (C-5), 69.6 (C-1<sub>all</sub>), 68.7 (C-4), 62.0 (C-6), 53.9 (C-2), 22.7 (CH<sub>3</sub>CON), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>9</sub>: 387.15, gefunden: 410.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

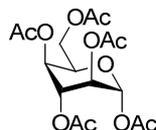
**4,6-O-Acetoxonium-1,2,3-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranosyl-acetoxopentachlorantimonat (30):**

Es wurden 20.0 g (51.5 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose (**29**) unter Argonatmosphäre in 120 mL abs. Dichlormethan gelöst und auf -10 °C gekühlt. Bei -10 °C wurden dann 8.40 mL (19.8 g, 66.7 mmol) Antimonpentachlorid gelöst in 20 mL abs. Dichlormethan zu der Lösung hinzugefügt. Daraufhin wurde auf Raumtemperatur erwärmt. Nachdem eine schlagartige Trübung der Lösung erfolgte, wurde noch weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde filtriert und der Rückstand mit 60 mL abs.

## 7. Experimenteller Teil

Dichlormethan und 160 mL abs. Diethylether gewaschen. Das Produkt wurden als farbloser Feststoff erhalten (18.1 g, 51%).  $C_{16}H_{22}Cl_5O_{11}Sb$  (689.36 g/mol), Schmelzpt.: 87°C (Zersetzung, Lit.<sup>[143]</sup>: 90°C).

### 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranose (31):

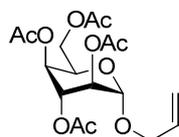


Es wurden 18.1 g (26.2 mmol) der Verbindung **30** in eine Lösung von 30.9 g (377 mmol, 14 eq.) Natriumacetat in 160 mL Wasser gegeben und 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Das Produktgemisch aus 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranose und 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranose wurde in einem Verhältnis von 5:2 erhalten und nicht weiter getrennt. Es wurde ein gelblicher Sirup erhalten (7.69 g, 84%).  $C_{16}H_{22}O_{11}$  (390.34 g/mol); Daten für 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranose:  $R_f = 0.49$  (PE/EE 1:2);  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 6.02$  (d,  $^3J_{1,2} = 1.2$  Hz, 1H, H-1), 4.98 (dd,  $^3J_{3,4} = 3.1$ ,  $^3J_{2,3} = 3.5$  Hz, 1H, H-3), 4.92 (dd,  $^3J_{1,2} = 1.2$ ,  $^3J_{2,3} = 3.5$  Hz, 1H, H-2), 4.35 (ddd,  $^3J_{4,5} = 1.6$ ,  $^3J_{5,6b} = 3.2$ ,  $^3J_{5,6a} = 4.7$  Hz, 1H, H-5), 4.32 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 11.3$ ,  $^3J_{5,6a} = 4.7$  Hz, 1H, H-6a), 4.29 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 11.3$ ,  $^3J_{5,6b} = 3.2$  Hz, 1H, H-6b), 3.73 (ddd,  $^3J_{4,5} = 1.6$ ,  $^3J_{3,4} = 3.1$ ,  $^3J_{4,OH} = 9.8$  Hz, 1H, H-4), 2.34 (d,  $^3J_{4,OH} = 9.8$  Hz, 1H, OH); 2.15-2.09 (m, 12H, 4 x  $H_{Ac}$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 170.8$ , 168.9, 168.5, 168.4 (4x  $CH_3CO$ ), 90.7 (C-1), 68.7 (C-3), 67.7 (C-5), 66.5 (C-2), 65.9 (C-4), 62.7 (C-6), 20.8 - 20.7 (4x  $CH_3CO$ ) ppm. Daten für 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranose:  $R_f = 0.34$  (PE/EE 1:2);  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 6.04$  (d,  $^3J_{1,2} = 1.9$  Hz, 0.4H, H-1), 5.07 (dd,  $^3J_{2,3} = 3.2$ ,  $^3J_{3,4} = 3.4$  Hz, 0.4H, H-3), 4.89 (dd,  $^3J_{1,2} = 1.9$  Hz,  $^3J_{2,3} = 3.2$  Hz, 0.4H, H-2), 4.33 (ddd,  $^3J_{4,5} = 1.6$ ,  $^3J_{5,6b} = 5.7$ ,  $^3J_{5,6a} = 7.2$  Hz, 0.4H, H-5), 3.75 (ddd,  $^2J_{6a,6b} = 12.0$  Hz,  $^3J_{5,6a} = 7.2$  Hz,  $^3J_{6a,OH} = 10.0$  Hz 0.4H, H-6a); 3.56 (ddd,  $^2J_{6a,6b} = 12.0$  Hz,  $^3J_{5,6b} = 5.7$  Hz,  $^3J_{6b,OH} = 10.0$  Hz 0.4H, H-6a), 2.64 (d,  $^3J_{6,OH} = 10.0$  Hz, 0.4H, OH), 2.15-2.09 (m, 4.8H, 4 x  $H_{Ac}$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 170.4$ , 169.3, 168.9, 168.5 (4 x  $CH_3CO$ ), 90.6 (C-1), 69.0 (C-3), 67.7 (C-4), 67.1 (C-5), 66.6 (C-2), 60.6 (C-6), 20.8 - 20.7 (4 x  $CH_3CO$ ) ppm.

## 7. Experimenteller Teil

Es wurden 7.69 g (22.0 mmol) des Stoffgemisches aus 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranose und 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranose in 50 mL Pyridin gelöst und bei 0 °C mit 150 mL (162 g, 1.59 mol) Essigsäureanhydrid versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 16 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und die organische Phase dreimal mit Salzsäure und einmal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert. Das Produkt **31** wurde als farbloser Feststoff erhalten (8.10 g, 95%). C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub> (390.34 g/mol),  $R_f = 0.53$  (PE/EE 1:2); Schmelztp.: 92 °C (Lit.<sup>[143]</sup>: 94-95 °C);  $[\alpha]_D^{20} = +69.7^\circ$  ( $c = 1.0$  in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 6.06$  (d, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 1.3$  Hz, 1H, H-1), 5.07 (dd, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 3.8$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.8$  Hz, 1H, H-3), 4.93 (dd, <sup>3</sup> $J_{4,5} = 2.2$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.8$  Hz, 1H, H-4), 4.88 (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 1.3$  Hz, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 3.8$  Hz, 1H, H-2), 4.47 (ddd, <sup>3</sup> $J_{4,5} = 2.2$  Hz, <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 6.0$  Hz, <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 6.9$  Hz, 1H, H-5), 4.20 (dd, <sup>2</sup> $J_{6ab} = 11.7$  Hz, <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 6.9$  Hz, 1H, H-6a), 4.16 (dd, <sup>2</sup> $J_{6ab} = 11.7$  Hz, <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 6.0$  Hz, 1H, H-6b), 2.12-2.06 (m, 15H, 5x H<sub>ac</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.6, 169.8, 169.2, 168.9, 168.6$  (5x CH<sub>3</sub>CO); 90.8 (C-1), 66.9 (C-3), 66.5 (C-2), 66.4 (C-4), 66.3 (C-5), 61.9 (C-6), 20.9 - 20.8 (5x CH<sub>3</sub>CO) ppm.

### Allyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranosid (**32**):



Die Synthese der 1-OH freien Verbindung wurde nach AAV-3 Teil 1) mit Verbindung **31** (3.00 g, 7.68 mmol) und Benzylamin (1.26 mL, 11.6 mmol) in 20 mL THF durchgeführt. Chromatographie: Kieselgel mit PE/EE (1:1) Das Zwischenprodukt 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-idopyranose wurde als farbloser Feststoff erhalten (2.14 g, 80%). C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub> (388.37 g/mol),  $R_f = 0.24$  (PE/EE 1:1),  $[\alpha]_D^{20} = +17.1^\circ$  ( $c = 1.0$  in CHCl<sub>3</sub>),  $\alpha$ : <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 5.25$  (dd, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 3.8$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.8$  Hz, 0.9H, H-3), 5.15 (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 1.2$ , <sup>3</sup> $J_{1,OH} = 8.5$  Hz, 0.9H, H-1), 4.86 (ddd, <sup>3</sup> $J_{4,5} = 1.6$ , <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 3.5$ , <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 4.4$  Hz, 0.9H, H-5), 4.85 (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 1.2$ , <sup>3</sup> $J_{2,3} = 3.8$  Hz, 0.9H, H-2), 4.27 (dd, <sup>2</sup> $J_{6a,6b} = 10.7$ , <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 3.5$  Hz, 0.9H, H-6a), 4.26 (dd, <sup>3</sup> $J_{4,5} = 1.6$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.8$  Hz, 0.9H, H-4), 4.21 (dd, <sup>2</sup> $J_{6a,6b} = 10.7$ , <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 4.4$  Hz, 0.9H, H-6a), 3.50 (d, <sup>3</sup> $J_{1,OH} = 8.5$  Hz, 1H, OH); 2.16-2.07 (m, 10.8H, 4x H<sub>ac</sub>) ppm;  $\beta$ : <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 5.21$  (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 2.5$ , <sup>3</sup> $J_{1,OH} = 5.6$  Hz, 1H, H-1), 5.12 (dd, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 4.4$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 4.4$  Hz,

## 7. Experimenteller Teil

1H, H-3), 4.96 (dd,  $^3J_{4,5} = 2.2$ ,  $^3J_{3,4} = 4.4$  Hz, 1H, H-4), 4.85 (dd,  $^3J_{1,2} = 2.5$ ,  $^3J_{2,3} = 4.4$  Hz, 1H, H-2), 4.59 (ddd,  $^3J_{4,5} = 2.2$ ,  $^3J_{5,6b} = 3.5$ ,  $^3J_{5,6a} = 6.9$  Hz, 1H, H-5), 4.26 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 11.7$ ,  $^3J_{5,6a} = 6.9$  Hz, 1H, H-6a), 4.20 (dd,  $^2J_{5,6b} = 11.7$ ,  $^3J_{5,6b} = 3.5$  Hz, 1H, H-6b), 3.05 (d,  $^3J_{1,OH} = 5.6$  Hz, 1H, OH), 2.16-2.07 (m, 12H, 4 x H<sub>ac</sub>) ppm;  $\alpha$ :  $^{13}\text{C-NMR}$  (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.6$ , 170.4, 169.9, 169.6 (4 x CH<sub>3</sub>CO), 91.8 (C-1), 71.5 (C-2), 68.0 (C-3), 67.1 (C-4), 65.6 (C-5), 62.5 (C-6), 20.8 - 20.6 (4 x CH<sub>3</sub>CO) ppm;  $\beta$ :  $^{13}\text{C-NMR}$  (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.6$ , 170.4, 169.9, 169.6 (4 x CH<sub>3</sub>CO), 92.5 (C-1), 68.3 (C-3), 67.4 (C-4), 67.0 (C-5), 65.1 (C-2), 62.2 (C-6), 20.8 - 20.6 (4 x CH<sub>3</sub>CO) ppm.

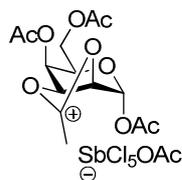
Die Synthese des Trichloracetimidates wurde nach AAV-3 Teil 2) mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-idopyranose (2.10 g, 6.02 mmol), 18.2 mL (26.2 g, 181 mmol) Trichloracetonitril und 537  $\mu\text{L}$  (546 mg, 3.59 mmol) DBU in 120 mL abs. Dichlormethan durchgeführt. Das Zwischenprodukt 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranosyl-trichloracetimidat wurde als farbloser Sirup erhalten (1.93 g, 65%).  $R_f = 0.57$  (PE/EE 2:1),  $[\alpha]_D^{20} = +29.5^\circ$  ( $c = 0.25$  in CHCl<sub>3</sub>);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 8.74$  (s, 1H, H<sub>imidat</sub>), 6.27 (d,  $^3J_{1,2} = 1.3$  Hz, 1H, H-1), 5.07 (dd,  $^3J_{3,4} = 2.2$ ,  $^3J_{2,3} = 2.5$  Hz, 1H, H-3), 5.00 (dd,  $^3J_{1,2} = 1.3$ ,  $^3J_{2,3} = 2.5$  Hz, 1H, H-2), 4.92 (dd,  $^3J_{4,5} = 1.6$ ,  $^3J_{3,4} = 2.2$  Hz, 1H, H-4), 4.61 (ddd,  $^3J_{4,5} = 1.6$ ,  $^3J_{5,6b} = 3.8$ ,  $^3J_{5,6a} = 5.4$  Hz, 1H, H-5), 4.24 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 11.7$  Hz,  $^3J_{5,6a} = 5.4$  Hz, 1H, H-6a), 4.16 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 11.7$ ,  $^3J_{5,6b} = 3.8$  Hz, 1H, H-6b), 2.12-2.13 (m, 9H, 3 x H<sub>ac</sub>), 2.02 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.4$ , 169.9, 168.7, 168.6 (4 x CH<sub>3</sub>CO), 93.9 (C-1), 66.3 (C-3), 65.8 (C-4), 65.6 (C-5), 65.3 (C-2), 62.1 (C-6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.4 (4 x CH<sub>3</sub>CO) ppm.

Gemäß der Synthese (Methode B) von Verbindung **116** wurden 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranosyl-trichloracetimidat (1.00 g, 2.03 mmol) und Allylalkohol (275  $\mu\text{L}$ , 4.06 mmol) mit Trimethylsilyltriflat (36  $\mu\text{L}$ , 200  $\mu\text{mol}$ ) in absolutem DCM (30 mL) zur Reaktion gebracht. Das Produkt **32** wurde als farbloser Sirup erhalten (725 mg, 92%). C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub> (388.37 g/mol),  $R_f = 0.49$  (PE/EE 2:1),  $[\alpha]_D^{20} = +15.7^\circ$  ( $c = 1.0$  in CHCl<sub>3</sub>);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 5.86$ -5.83 (m, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.25 - 5.18 (m, 2H, H-3<sub>a,b</sub><sub>all</sub>), 5.04 (dd,  $^3J_{3,4} = 2.2$ ,  $^3J_{2,3} = 2.5$  Hz, 1H, H-3), 4.98 (dd,  $^3J_{1,2} = 1.5$ ,  $^3J_{2,3} = 2.5$  Hz, 1H, H-2), 4.92 (dd,  $^3J_{4,5} = 1.6$ ,  $^3J_{3,4} = 2.2$  Hz, 1H, H-4), 4.89 (d,  $^3J_{1,2} = 1.5$  Hz, 1H, H-1), 4.57 (ddd,  $^3J_{4,5} = 1.6$ ,  $^3J_{5,6b} = 3.8$ ,  $^3J_{5,6a} = 5.4$  Hz, 1H, H-5), 4.24 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 11.8$  Hz,  $^3J_{5,6a} = 5.4$  Hz, 1H, H-6a), 4.20 - 4.15 (m, 2H, H-6<sub>b</sub>, H-1<sub>a</sub><sub>all</sub>), 3.98 (dd,  $^2J_{1a_{all},1b_{all}} = 12.3$ ,  $^3J_{1b_{all},2_{all}} = 4.4$  Hz, 1H, H-1<sub>b</sub><sub>all</sub>), 2.12-2.13 (m, 9H, 3 x H<sub>ac</sub>), 2.02 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.4$ , 169.9, 168.7, 168.6 (4 x CH<sub>3</sub>CO), 132.5 (C-2<sub>all</sub>), 118.1 (C-3<sub>all</sub>), 98.5 (C-1), 67.7 (C-1<sub>all</sub>), 66.8 (C-3), 66.0 (C-4), 65.6 (C-5), 65.5 (C-2), 62.1 (C-6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.4 (4 x CH<sub>3</sub>CO) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>: 388.14, gefunden: 411.7 [ $M+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.

## 7. Experimenteller Teil

### 2,3-*O*-Acetoxonium-1,4,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-talopyranosyl-acetoxopentachlorantimonat

(**34**):

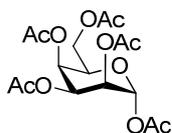


Unter Argonatmosphäre wurden 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranose (**33**) (12.0 g, 30.7 mmol) und Aluminiumtrichlorid (2.60 g, 19.8 mmol) in abs. Dichlormethan (150 mL) gelöst und für 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit Chloroform (120 mL) versetzt und die organische Phase dreimal mit Eiswasser gewaschen und anschließend mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum eingengt und der Rückstand aus Diethylether umkristallisiert. 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosylchlorid wurde als farbloser Feststoff erhalten (6.73 g, 60%).  $R_f = 0.18$  (PE/EE 1:1); Schmelzpt.: 94 °C (Lit.<sup>[145]</sup>: 93-94.5 °C);  $[\alpha]_D^{20} = + 59.6^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.41$  (dd,  $^3J_{3,4} = 3.4$ ,  $^3J_{4,5} = 2.2$  Hz, 1H, H-4), 5.36 (dd,  $^3J_{1,2} = 8.8$ ,  $^3J_{2,3} = 10.1$  Hz, 1H, H-2), 5.24 (d,  $^3J_{1,2} = 8.8$  Hz, 1H, H-1), 4.99 (dd,  $^3J_{3,4} = 3.4$ ,  $^3J_{2,3} = 10.1$  Hz, 1H, H-3), 4.16 (dd,  $^3J_{4,5} = 2.2$ ,  $^3J_{5,6a} = 6.0$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.9$  Hz, 1H, H-5), 4.16-4.12 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2.16, 2.07, 2.04, 1.97 (s, 12H, 4 x  $\text{H}_{\text{ac}}$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.4$ , 170.1, 169.9, 169.2 (4 x  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 88.2 (C-1), 74.6 (C-3), 70.9 (C-2), 70.7 (C-4), 66.8 (C-5), 61.3 (C-6), 20.7 - 20.5 (4 x  $\text{CH}_3\text{CO}$ ) ppm.

Unter Argonatmosphäre wurden 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosylchlorid (6.70 g, 18.3 mmol) in  $\text{CCl}_4$  (180 mL) bei 50 °C gelöst. Unter Rühren wurden  $\text{SbCl}_5$  (2.33 mL, 22.6 mmol) gelöst in  $\text{CCl}_4$  (10 mL) zu der Lösung hinzugegeben. Das Acetoxoniumsalz **34** fiel sofort aus und die Suspension wurde für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, danach filtriert und der Rückstand mit  $\text{CCl}_4$  gewaschen. Das Produkt wurde im Vakuum getrocknet. Das Produkt **34** wurde als farbloser Feststoff erhalten (11.4 g 90%).  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{Cl}_5\text{O}_{11}\text{Sb}$  (689.36 g/mol), Smp.: 46 °C (Zersetzung, Lit.<sup>[145]</sup>: ca. 50 °C).

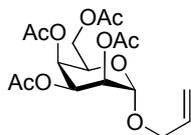
## 7. Experimenteller Teil

### 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-talopyranose (**35**):



Es wurde Verbindung **34** (11.3 g, 16.5 mmol) zu einer Lösung von Natriumacetat (20.0 g, 244 mmol) in Wasser (150 mL) gegeben und 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Das entstandene Rohprodukt, welches ein Produktgemisch aus 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-talopyranose und 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-talopyranose enthielt wurde nicht weiter gereinigt, sondern direkt für die Umsetzung zu **35** eingesetzt.

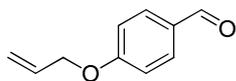
Es wurde das Stoffgemisch aus 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-talopyranose und 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-talopyranose (4.30 g, 12.4 mmol) in Pyridin (30 mL) gelöst und bei 0 °C mit Essigsäureanhydrid (100 mL, 1.06 mol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 16 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und die organische Phase dreimal mit Salzsäure und einmal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 3:1) gereinigt. Es wurde das Produkt **35** als farbloser Feststoff erhalten (1.29 g, 20%).  $C_{16}H_{22}O_{11}$  (390.34 g/mol),  $R_f = 0.48$  (PE/EE 1:1); Schmelzp.: 103 °C (Lit.<sup>[145]</sup>: 104-105 °C);  $[\alpha]_D^{20} = +34.6^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 6.15$  (d,  $^3J_{1,2} = 1.7$  Hz, 1H, H-1), 5.37-5.34 (m, 1H, H-4), 5.31 (dd,  $^3J_{2,3} = 3.7$ ,  $^3J_{3,4} = 3.7$  Hz, 1H, H-3), 5.09 (dd,  $^3J_{1,2} = 1.7$ ,  $^3J_{2,3} = 3.7$  Hz 1H, H-2), 4.33-4.29 (m, 1H, H-5), 4.18-4.13 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2.15, 2.14, 2.13, 2.03, 2.00 (s, 15H, 5 x  $H_{ac}$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 170.1, 169.8, 169.4, 168.9, 167.8$  (5 x  $CH_3CO$ ), 91.3 (C-1), 68.7 (C-3), 66.3 (C-2), 65.2 (C-4), 64.4 (C-5), 61.4 (C-6), 20.5 - 20.3 (5 x  $CH_3CO$ ) ppm.

**Allyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-talopyranosid (36):**

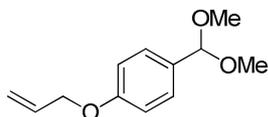
Die Synthese der 1-OH freien Verbindung wurde nach AAV-3 Teil 1) mit Verbindung **31** (1.20 g, 3.07 mmol) und Benzylamin (1.25 mL, 11.6 mmol) in THF (20 mL) durchgeführt. Chromatographie: Kieselgel mit PE/EE (1:1) Das Zwischenprodukt 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-talopyranose wurde als farbloser Feststoff erhalten (876 mg, 82%).  $R_f$  = : 0.24 (PE/EE 1:1); MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $C_{14}H_{20}O_{10}$ : 348.11, gefunden: 371.1 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>.

Die Synthese des Trichloracetimidates wurde nach AAV-3 Teil 2) mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-talopyranose (800 mg, 2.30 mmol), 6.06 mL (8.73 g, 60.3 mmol) Trichloracetonitril und 171  $\mu$ L (178 mg, 1.15 mmol) DBU in abs. Dichlormethan (40 mL) durchgeführt. Das Zwischenprodukt 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-talopyranosyl-trichloracetimidat wurde als farbloser Sirup erhalten (883 mg, 78%).  $R_f$  = : 0.52 (PE/EE 2:1),  $[\alpha]_D^{20}$  = + 29.5° ( $c$  = 0.25 in  $CHCl_3$ ); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 8.78 (s, 1H,  $H_{imidat}$ ), 6.30 (d, <sup>3</sup> $J_{1,2}$  = 2.1 Hz, 1H, H-1), 5.40 (d, <sup>3</sup> $J_{3,4}$  = 3.7 Hz, 1H, H-4), 5.25 (dd, <sup>3</sup> $J_{2,3}$  = 3.7, <sup>3</sup> $J_{3,4}$  = 3.7 Hz, 1H, H-3), 5.20 (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2}$  = 1.7, <sup>3</sup> $J_{2,3}$  = 3.7 Hz 1H, H-2), 4.40 (dd, <sup>3</sup> $J_{5,6a}$  = 5.9, <sup>3</sup> $J_{5,6b}$  = 6.4 Hz 1H, H-5), 4.29-4.20 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2.15, 2.14, 2.13, 2.03, 2.00 (s, 15H, 5 x  $H_{ac}$ ) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 170.1, 169.8, 169.4, 167.8 (4 x  $CH_3CO$ ), 95.2 (C-1), 70.3 (C-3), 68.4 (C-2), 66.2 (C-4), 65.1 (C-5), 63.1 (C-6), 20.5 - 20.3 (4 x  $CH_3CO$ ) ppm.

Gemäß der Synthese (Methode B) von Verbindung **116** wurden 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-talopyranosyl-trichloracetimidat (800 mg, 1.62 mmol) und Allylalkohol (330  $\mu$ L, 4.86 mmol) mit Trimethylsilyltriflat (29.0  $\mu$ L, 160  $\mu$ mol) in absolutem DCM (10 mL) zur Reaktion gebracht. Das Produkt **36** wurde als farbloser Sirup erhalten (439 mg, 70%).  $C_{17}H_{24}O_{10}$  (388.37 g/mol),  $R_f$  = : 0.43 (PE/EE 2:1),  $[\alpha]_D^{20}$  = + 23.6° ( $c$  = 1.0 in  $CHCl_3$ ); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 5.86-5.83 (dddd, <sup>3</sup> $J_{2a_{all},3a_{all-cis}}$  = 10.0, <sup>3</sup> $J_{2a_{all},3a_{all-trans}}$  = 17.2 Hz 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.23 - 5.19 (m, 2H, H-4, H-3<sub>a<sub>all</sub></sub>), 5.15 (dd, <sup>3</sup> $J_{2,3}$  = 3.5, <sup>3</sup> $J_{3,4}$  = 3.8 Hz, 1H, H-3), 4.96 (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2}$  = 1.5, <sup>3</sup> $J_{2,3}$  = 3.5 Hz 1H, H-2), 4.89 (d, <sup>3</sup> $J_{1,2}$  = 1.5 Hz, 1H, H-1), 4.25 (dd, <sup>3</sup> $J_{5,6a}$  = 5.9, <sup>3</sup> $J_{5,6b}$  = 6.4 Hz 1H, H-5), 4.20 - 4.11 (m, 3H, H-6a, H-6b, H-1<sub>a<sub>all</sub></sub>), 3.94 (dd, <sup>2</sup> $J_{1a_{all},1b_{all}}$  = 12.3, <sup>3</sup> $J_{1b_{all},2a_{all}}$  = 4.4 Hz 1H, H-1<sub>b<sub>all</sub></sub>), 2.15, 2.14, 2.13, 2.03, 2.00 (s, 12H, 4 x  $H_{ac}$ ) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 170.1, 169.8, 169.4, 167.8 (4 x  $CH_3CO$ ), 132.2 (C-2<sub>all</sub>), 117.2 (C-3<sub>all</sub>), 97.1 (C-1), 70.3 (C-3), 68.4 (C-2), 68.0 (C-1<sub>all</sub>), 65.9 (C-4), 65.1 (C-5), 62.8 (C-6), 20.5 - 20.3 (4 x  $CH_3CO$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $C_{17}H_{24}O_{10}$ : 388.14, gefunden: 411.3 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>.

***para*-Allyloxybenzalhyd (40):**

*p*-Hydroxybenzaldehyd (**39**) (35 g, 0.29 mol) und wasserfreies K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (80 g, 0.58 mmol) wurden in trockenem Aceton (300 mL) unter Feuchtigkeitsausschluss suspendiert. Zu dieser Mixtur wurde Allylbromid (45 mL, 0.52 mmol) gegeben und das Reaktionsgemisch unter Rückfluss für 18 Stunden gerührt. Nach Filtration und Entfernung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Laufmittelgradienten von PE – EE (8 : 1 → 6 : 1) gereinigt. Das Produkt **40** wurde als gelbes Öl erhalten (44 g, 94%). C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub> (162.18 g/mol), *R<sub>f</sub>* = 0.37 (PE/EE 6:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 10.02 (s, 1H, H<sub>Ald</sub>), 7.86 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>arom</sub> = 4.2 Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 7.25 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>arom</sub> = 4.2 Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 6.18 (m, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.25-5.18 (m, 2H, H-3<sub>all</sub>), 4.02-3.98 (m, 2H, H-1<sub>all</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 190.2 (C<sub>ald</sub>), 163.2 (C-3<sub>arom</sub>), 132.0 (C-2,6<sub>arom</sub>), 131.7 (C-3<sub>arom</sub>), 129.7 (C-1<sub>arom</sub>), 117.8 (C-3<sub>all</sub>), 114.6 (C-3,5<sub>arom</sub>), 68.6 (C-1<sub>all</sub>) ppm.

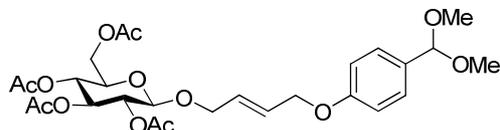
***para*-Allyloxybenzalhyd-dimethylacetal (41):**

Verbindung **40** (13.3 g, 82.0 mmol) wurde in Trimethylorthoformiat (100 mL, 942 mmol) gelöst und eine katalytische Menge *para*-Toluolsulfonsäure zugegeben. Die Lösung färbte sich violett und nach Rühren für 12 h unter Feuchtigkeitsausschluss wurde die Reaktion durch Zugabe von Triethylamin (2.00 mL, 14.3 mmol) gestoppt. Das Lösungsmittel wurde evaporiert und das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Laufmittelgradienten von PE – EE (10 : 1 → 6 : 1) Das Produkt **41** wurde als farbloses Öl erhalten (16.7 g, 98%). C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub> (208.25 g/mol), *R<sub>f</sub>* = 0.42 (Petroleum/EtOAc 6:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.36 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>arom</sub> = 8.8 Hz, 1H, H-1<sub>arom</sub>), 6.91 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>arom</sub> = 8.8 Hz, 1H, H-2<sub>arom</sub>), 6.06 (tdd, <sup>3</sup>*J*<sub>1aall,2all</sub> = 5.3, <sup>3</sup>*J*<sub>2aall,3all cis</sub> = 10.5, <sup>3</sup>*J*<sub>2aall,3all</sub> = 17.2 Hz, 1H, H-3<sub>all</sub>), 5.45 – 5.25 (m, 3H, H-3<sub>all</sub>, H<sub>acetal</sub>), 4.54 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1aall,2all</sub> = 5.3 Hz, 2H, H-1<sub>all</sub>), 3.31 (s, 6H, CH<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 133.1 (C-2<sub>all</sub>), 130.5 (C-1<sub>arom</sub>), 127.8 (C-3,5<sub>arom</sub>), 118.3 (C-

## 7. Experimenteller Teil

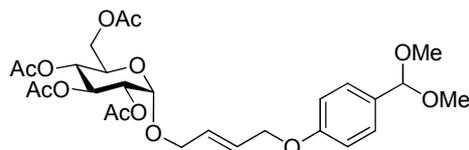
$4_{\text{arom}}$ ) 117.6 (C-3<sub>all</sub>), 114.3 (C-2,6<sub>arom</sub>), 103.0 (C<sub>acetal</sub>), 68.77 (C-1<sub>all</sub>), 52.60 (CH<sub>3</sub>) ppm.

### (E)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)but-2-enyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosid (42):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **23β** (388 mg, 1.00 mmol), Verbindung **41** (1.04 g, 5.00 mmol) und Katalysator **38** (63 mg, 0.10 mmol) durchgeführt. Das Produkt **42** wurde als farbloser Sirup erhalten (523 mg, 92%). C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>13</sub> (568.57 g/mol),  $R_f = 0.36$  (Petroleum/EtOAc 1:1);  $[\alpha]_D^{20} = -15.3^\circ$  ( $c = 1.0$  in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta =$  7.32 (d, <sup>3</sup> $J_{\text{Ar}} = 8.4$  Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.86 (d, <sup>3</sup> $J_{\text{Ar}} = 8.4$  Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.96 – 5.80 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.32 (s, 1H, H<sub>acetal</sub>), 5.18 (dd, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 9.4$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 9.6$  Hz, 1H, H-3), 5.06 (dd, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 9.6$ , <sup>3</sup> $J_{4,5} = 9.9$  Hz, 1H, H-4), 4.99 (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 7.9$ , <sup>3</sup> $J_{2,3} = 9.4$  Hz, 1H, H-2), 4.53 (d, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 7.9$  Hz, 1H, H-1), 4.50-4.48 (m, 2H, H-4<sub>bu</sub>) 4.38-4.32 (m, 1H, H-1<sub>abu</sub>), 4.23 (dd, <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 4.7$ , <sup>2</sup> $J_{6a,6b} = 12.3$  Hz, 1H, H-6b), 4.15-4.03 (m, 2H, H-1<sub>b</sub><sub>bu</sub>, H-6a), 3.65 (ddd, <sup>3</sup> $J_{4,5} = 9.9$ , <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 2.4$ , <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 4.7$  Hz, 1H, H-5), 3.28 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.06 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.01 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.00 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.98 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta =$  170.5 (CH<sub>3</sub>CO), 170.1 (CH<sub>3</sub>CO), 169.3 (CH<sub>3</sub>CO), 169.2 (CH<sub>3</sub>CO), 130.6 (C<sub>arom</sub>), 128.4 (C<sub>arom</sub>), 128.2 (C<sub>arom</sub>), 127.9 (C<sub>arom</sub>), 114.2 (C-2<sub>bu</sub>), 114.1 (C-3<sub>bu</sub>), 102.9 (C<sub>acetal</sub>), 99.6 (C-1), 72.8 (C-3), 71.7 (C-5), 71.2 (C-2), 68.8 (C-4<sub>bu</sub>), 68.3 (C-4), 67.5 (C-1<sub>bu</sub>), 61.8 (C-6), 52.5 (OCH<sub>3</sub>), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5 (CH<sub>3</sub>CO), 20.4 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>37</sub>O<sub>13</sub><sup>+</sup>: 569.2229, gefunden: 569.2157 [M+H]<sup>+</sup>.

### (E)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)but-2-enyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-α-D-glucopyranosid (43):

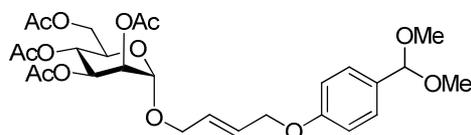


Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **23α** (200 mg, 515 μmol), Verbindung **41** (1.00 g, 4.80 mmol) und Katalysator **38** (33 mg, 52 μmol) durchgeführt. Das Produkt **43** wurde als farbloser Sirup erhalten (223 mg, 91%). C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>13</sub> (568.57 g/mol),  $R_f = 0.32$

## 7. Experimenteller Teil

(Petroleum/EtOAc 1:1);  $[\alpha]_D^{20} = + 5.9^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta =$  7.32 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.4$  Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.86 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.4$  Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.96 – 5.80 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.32 (s, 1H, H<sub>acetal</sub>), 5.18 (dd,  $^3J_{2,3} = 9.4$ ,  $^3J_{3,4} = 9.6$  Hz, 1H, H-3), 5.06 (dd,  $^3J_{3,4} = 9.6$ ,  $^3J_{4,5} = 9.9$  Hz, 1H, H-4), 4.99 (dd,  $^3J_{1,2} = 7.9$ ,  $^3J_{2,3} = 9.4$  Hz, 1H, H-2), 4.53 (d,  $^3J_{1,2} = 7.9$  Hz, 1H, H-1), 4.50-4.48 (m, 2H, H-4<sub>bu</sub>) 4.38-4.32 (m, 1H, H-1<sub>abu</sub>), 4.23 (dd,  $^3J_{5,6b} = 4.7$ ,  $^2J_{6a,6b} = 12.3$  Hz, 1H, H-6b), 4.15-4.03 (m, 2H, H-1<sub>b<sub>bu</sub></sub>, H-6a), 3.65 (ddd,  $^3J_{4,5} = 9.9$ ,  $^3J_{5,6a} = 2.4$ ,  $^3J_{5,6b} = 4.7$  Hz, 1H, H-5), 3.28 (s, 6H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.06 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.01 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.00 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.98 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta =$  170.5 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 170.1 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 169.3 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 169.2 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 130.6 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 128.4 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 128.2 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 127.9 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 114.2 (C-2<sub>bu</sub>), 114.1 (C-3<sub>bu</sub>), 102.9 ( $\text{C}_{\text{acetal}}$ ), 99.6 (C-1), 72.8 (C-3), 71.7 (C-5), 71.2 (C-2), 68.8 (C-4<sub>bu</sub>), 68.3 (C-4), 67.5 (C-1<sub>bu</sub>), 61.8 (C-6), 52.5 ( $\text{OCH}_3$ ), 20.7 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.5 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.4 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{O}_{13}^+$ : 569.2229, gefunden: 569.2157 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>.

### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)but-2-enyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**44**):

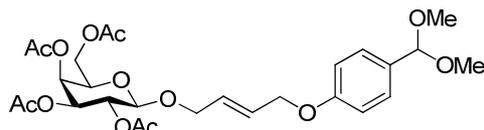


Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **24** (388 mg, 1.00 mmol), Verbindung **41** (1.04 g, 5.00 mmol) und Katalysator **38** (63 mg, 0.10 mmol) durchgeführt. Das Produkt **44** wurde als farbloser Sirup erhalten (495 mg, 87%).  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{13}$  (568.57 g/mol),  $R_f = 0.30$  (Petroleum/EtOAc 1:1);  $[\alpha]_D^{20} = + 32.6^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta =$  7.29 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.4$  Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.95 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.4$  Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.95-5.82 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.30 (dd,  $^3J_{3,4} = 9.8$ ,  $^3J_{4,5} = 10.0$  Hz, 1H, H-4), 5.28 (s, 1H, H<sub>acetal</sub>), 5.24 (dd,  $^3J_{2,3} = 2.7$ ,  $^3J_{3,4} = 9.8$  Hz, 1H, H-3), 5.28 (s, 1H), 5.19 (dd,  $^3J_{1,2} = 1.4$ ,  $^3J_{2,3} = 2.7$  Hz, 1H, H-2), 4.80 (d,  $^3J_{1,2} = 1.4$  Hz, 1H, H-1), 4.54-4.50 (m, 1H, H-1<sub>abu</sub>), 4.28-4.18 (m, 2H, H-1<sub>b<sub>bu</sub></sub>, H-6<sub>a</sub>), 4.08-3.98 (m, 3H, H-4<sub>bu</sub>, H-6<sub>a</sub>), 3.94 (ddd,  $^3J_{4,5} = 10.0$ ,  $^3J_{5,6a} = 3.1$ ,  $^3J_{5,6b} = 5.6$  Hz, 1H, H-5), 3.24 (s, 6H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.09 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.03 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.98 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.93 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta =$  170.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 170.0 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 169.8 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 169.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 131.9 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 130.7 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 129.1 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 127.9 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 114.9 (C-2<sub>bu</sub>), 114.2 (C-3<sub>bu</sub>), 103.0 ( $\text{C}_{\text{acetal}}$ ), 96.7 (C-1), 69.5 (C-2), 69.0 (C-4), 68.6 (C-5), 68.6 (C-

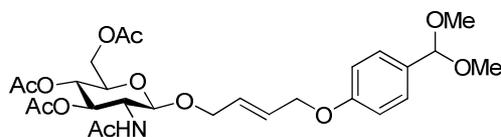
## 7. Experimenteller Teil

1<sub>bu</sub>), 67.5 (C-4<sub>bu</sub>), 66.1 (C-3), 62.4 (C-6), 52.6 (OCH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>37</sub>O<sub>13</sub><sup>+</sup>: 569.2229, gefunden: 569.2258 [M+H]<sup>+</sup>.

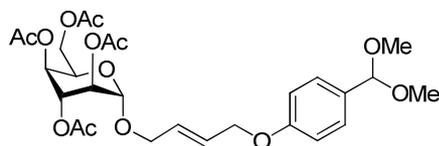
### (E)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)but-2-enyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosid (45):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **27** (395 mg, 1.02 mmol), Verbindung **41** (1.18 g, 5.65 mmol) und Katalysator **38** (63 mg, 0.10 mmol) durchgeführt. Das Produkt **45** wurde als farbloser Sirup erhalten (435 mg, 75%). C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>13</sub> (568.57 g/mol),  $R_f = 0.32$  (Petroleum/EtOAc 1:1);  $[\alpha]_D^{20} = +9.8^\circ$  ( $c = 1.0$  in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 7.35$  (d, <sup>3</sup>J<sub>Ar</sub> = 8.5 Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.88 (d, <sup>3</sup>J<sub>Ar</sub> = 8.5 Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.99-5.85 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.38 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.9, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 0.9 Hz, 1H, H-4), 5.28 (s, 1H, H<sub>acetal</sub>), 5.24 (dd, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.9, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.5 Hz, 1H, H-2), 5.01 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.5, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.9 Hz, 1H, H-3), 4.58-4.54 (m, 1H, H-1<sub>abu</sub>) 4.51 (d, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-1) 4.44-4.36 (m, 1H, H-1<sub>bbu</sub>), 4.20-4.08 (m, 4H, H-4<sub>bu</sub>, H-6<sub>a,b</sub>), 3.89 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 0.9, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 6.7, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 6.8 Hz, 1H, H-5), 3.30 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.09 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.03 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.98 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.93 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm; <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.3$  (CH<sub>3</sub>CO), 132.0 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (C<sub>arom</sub>), 128.0 (C<sub>arom</sub>), 126.9 (C<sub>arom</sub>), 114.9 (C-2<sub>bu</sub>), 114.3 (C-3<sub>bu</sub>), 103.1 (C<sub>acetal</sub>), 100.4 (C-1), 70.9 (C-3), 70.7 (C-5), 68.8 (C-2), 68.7 (C-1<sub>bu</sub>), 67.9 (C-4<sub>bu</sub>), 67.0 (C-4), 61.2 (C-6), 52.7 (OCH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>37</sub>O<sub>13</sub><sup>+</sup>: 569.2229, gefunden: 569.2230 [M+H]<sup>+</sup>.

**(E)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)but-2-enyl-2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (46):**

Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **28** (387 mg, 1.00 mmol), Verbindung **41** (1.04 g, 5.00 mmol) und Katalysator **38** (63 mg, 0.10 mmol) durchgeführt. Das Produkt **46** wurde als farbloser Sirup erhalten (494 mg, 81%).  $C_{27}H_{37}NO_{12}$  (567.58 g/mol),  $R_f = 0.10$  (Petroleum/EtOAc 1:1);  $[\alpha]_D^{20} = -14.7^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.34$  (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.87 (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.92-5.85 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.29-5.21 (m, 2H, H<sub>acetal</sub>, H-3), 4.97 (dd,  $^3J_{3,4} = 10.5$ ,  $^3J_{4,5} = 10.5$  Hz, 1H, H-4), 4.80 (d,  $^3J_{1,2} = 8.5$  Hz, 1H, H-1), 4.52-4.50 (m, 1H, H-1<sub>abu</sub>), 4.40-4.36 (m, 1H, H-1<sub>bbu</sub>), 4.27 (m, 3H, H-4<sub>bu</sub>, H-6b), 4.09 (dd,  $^3J_{5,6b} = 2.4$ ,  $^3J_{6a,6b} = 12.2$  Hz, 1H, H-6a), 3.82 (dd,  $^3J_{1,2} = 8.5$ ,  $^3J_{2,3} = 10.5$  Hz, 1H, H-2), 3.80 (ddd,  $^3J_{5,6a} = 5.0$ ,  $^3J_{5,6b} = 2.5$ ,  $^3J_{6a,6b} = 12.2$  Hz, 1H, H-5), 3.29 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.05 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.99 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.97 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.88 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 170.6$  (CH<sub>3</sub>CO), 170.3 (CH<sub>3</sub>CO), 170.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.1 (CH<sub>3</sub>CON), 132.0 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (C<sub>arom</sub>), 128.0 (C<sub>arom</sub>), 126.9 (C<sub>arom</sub>), 114.7 (C-2<sub>bu</sub>), 114.1 (C-3<sub>bu</sub>), 102.9 (C<sub>acetal</sub>), 99.4 (C-1), 71.8 (C-3), 71.0 (C-5), 68.8 (C-4), 68.7 (C-1<sub>bu</sub>), 67.7 (C-4<sub>bu</sub>), 61.9 (C-6), 53.9 (C-5), 52.6 (OCH<sub>3</sub>), 22.7 (CH<sub>3</sub>CON), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für  $C_{27}H_{38}NO_{12}^+$ : 568.2389, gefunden: 568.2370  $[M+H]^+$ .

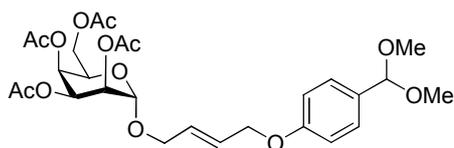
**(E)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)but-2-enyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-idopyranosid (47):**

Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **32** (300 mg, 775  $\mu$ mol), Verbindung **41** (830 mg, 4.00 mmol) und Katalysator **38** (63 mg, 0.10 mmol) durchgeführt. Das Produkt **47** wurde als farbloser Sirup erhalten (291 mg, 66%).  $C_{27}H_{36}O_{13}$  (568.57 g/mol),  $R_f = 0.43$  (PE/EE 2:1),  $[\alpha]_D^{20} = +4.7^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.30$  (d,  $^3J_{Ar}$

## 7. Experimenteller Teil

= 8.1 Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.87 (d,  $^3J_{Ar} = 8.1$  Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.96 – 5.80 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.29 (s, 1H, H<sub>acetal</sub>), 5.05 (dd,  $^3J_{3,4} = 2.1$ ,  $^3J_{2,3} = 2.5$  Hz, 1H, H-3), 4.99 (dd,  $^3J_{1,2} = 1.5$ ,  $^3J_{2,3} = 2.5$  Hz, 1H, H-2), 4.90 (dd,  $^3J_{4,5} = 1.6$ ,  $^3J_{3,4} = 2.1$  Hz, 1H, H-4), 4.89 (d,  $^3J_{1,2} = 1.5$  Hz, 1H, H-1), 4.57 (ddd,  $^3J_{4,5} = 1.6$ ,  $^3J_{5,6b} = 3.8$ ,  $^3J_{5,6a} = 5.4$  Hz, 1H, H-5), 4.53 - 4.48 (m, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 4.38-4.32 (m, 1H, H-1a<sub>bu</sub>), 4.24 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 11.8$  Hz,  $^3J_{5,6a} = 5.4$  Hz, 1H, H-6a), 4.15 (dd,  $^2J_{6a,6b} = 11.8$  Hz,  $^3J_{5,6b} = 6.4$  Hz, 1H, H-6b), 4.07-4.03 (m, 1H, H-1b<sub>bu</sub>), 3.27 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.12-2.13 (m, 9H, 3 x H<sub>ac</sub>), 2.08 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.4$ , 169.9, 168.7, 168.6 (4 x CH<sub>3</sub>CO), 130.4 (C<sub>arom</sub>), 128.1 (C<sub>arom</sub>), 127.9 (C<sub>arom</sub>), 127.5 (C<sub>arom</sub>), 114.1 (C-2<sub>bu</sub>), 114.0 (C-3<sub>bu</sub>), 103.0 (C<sub>acetal</sub>), 98.2 (C-1), 68.8 (C-4<sub>bu</sub>), 67.0 (C-1<sub>bu</sub>), 66.8 (C-3), 66.0 (C-4), 65.6 (C-5), 65.5 (C-2), 62.1 (C-6), 52.3 (OCH<sub>3</sub>), 20.8, 20.7, 20.6, 20.4 (4 x CH<sub>3</sub>CO) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>37</sub>O<sub>13</sub><sup>+</sup>: 569.2229, gefunden: 569.2365 [M+H]<sup>+</sup>.

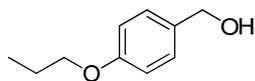
### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)but-2-enyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-talopyranosid (48):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **36** (200 mg, 515  $\mu$ mol), Verbindung **41** (1.04 g, 5.00 mmol) und Katalysator **38** (33 mg, 50  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **48** wurde als farbloser Sirup erhalten (240 mg, 82%). C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>13</sub> (568.57 g/mol),  $R_f = 0.36$  (PE/EE 2:1),  $[\alpha]_D^{20} = -1.3^\circ$  ( $c = 0.2$  in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 7.31$  (d,  $^3J_{Ar} = 8.4$  Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.88 (d,  $^3J_{Ar} = 8.4$  Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.97 – 5.81 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.28 (s, 1H, H<sub>acetal</sub>), 5.20 (dd,  $^3J_{4,5} = 0.9$ ,  $^3J_{3,4} = 3.8$  Hz, 1H, H-4), 5.15 (dd,  $^3J_{2,3} = 3.4$ ,  $^3J_{3,4} = 3.8$  Hz, 1H, H-3), 4.95 (dd,  $^3J_{1,2} = 1.4$ ,  $^3J_{2,3} = 3.4$  Hz, 1H, H-2), 4.87 (d,  $^3J_{1,2} = 1.4$  Hz, 1H, H-1), 4.53 - 4.49 (m, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 4.40 - 4.35 (m, 1H, H-1a<sub>bu</sub>), 4.24 (ddd,  $^3J_{4,5} = 0.9$ ,  $^3J_{5,6a} = 5.9$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.4$  Hz, 1H, H-5), 4.20 – 4.13 (m, 2H, H-6a,b), 4.10-4.07 (m, 1H, H-1b<sub>bu</sub>), 3.28 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.15, 2.14, 2.13, 2.03, 2.00 (s, 12H, 4 x H<sub>ac</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.1$ , 169.8, 169.4, 167.8 (4 x CH<sub>3</sub>CO), 130.4 - 126.5 (C<sub>arom</sub>), 114.1 (C-2<sub>bu</sub>), 114.5 (C-3<sub>bu</sub>), 101.9 (C<sub>acetal</sub>), 97.1 (C-1), 70.3 (C-3), 68.7 (C-4<sub>bu</sub>), 68.4 (C-2), 67.5 (C-1<sub>bu</sub>), 65.9 (C-4), 65.2 (C-5), 63.0 (C-6), 52.0 (OCH<sub>3</sub>) 20.5 - 20.3 (4 x CH<sub>3</sub>CO) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>37</sub>O<sub>13</sub><sup>+</sup>: 569.2229, gefunden: 569.2185 [M+H]<sup>+</sup>.

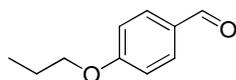
## 7. Experimenteller Teil

### ***para*-Propanyloxybenzalkohol (49):**



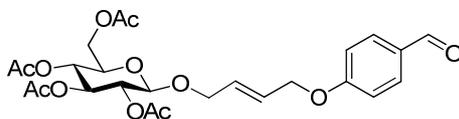
Für die Hydrierung wurde der Aldehyd **40** (400 mg, 2.47  $\mu\text{mol}$ ) in Methanol gelöst, in einen Schlenkkolben mit Palladium (10%) auf Aktivkohle versetzt und die Suspension entgast. Nach mehrmaligem Fluten mit Wasserstoff wurde der Reaktionsansatz für 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Suspension filtriert und gründlich getrocknet. Die Verbindung **49** wurde als farblose Flüssigkeit erhalten (415 mg, quant.).  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$  (166.22 g/mol),  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.20$  (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.6$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 6.81 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.6$  Hz, 2H), 4.53 (s, 2H,  $\text{H}_{\text{Benz.}}$ ), 3.84 (t,  $^3J_{1,2} = 6.6$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Prop-1}}$ ), 1.81-1.66 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Prop-2}}$ ), 0.96 (t,  $^3J_{2,3} = 7.4$  Hz, 3H,  $\text{H}_{\text{Prop-3}}$ ) ppm.

### ***para*-Propanyloxybenzaldehyd (50):**



Für die Hydrierung wurde der Aldehyd **40** (400 mg, 2.47  $\mu\text{mol}$ ) in abs. EtOAc gelöst und in einen sorgfältig ausgeheiztem Schlenkkolben mit Palladium (10%) auf Aktivkohle und Diphenylsulfid (0.01 Äq.) gegeben. Die Suspension wurde entgast. Nach mehrmaligem Fluten mit Wasserstoff wurde der Reaktionsansatz für 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Suspension filtriert und gründlich getrocknet. Die Verbindung **49** wurde als farblose Flüssigkeit erhalten (404 mg, quant.).  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$  (164.20 g/mol),  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 9.87$  (s, 1H,  $\text{H}_{\text{Ald.}}$ ), 7.82 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 6.98 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 4.00 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Prop-1}}$ ), 1.90-1.75 (m, 1H,  $\text{H}_{\text{Prop-2}}$ ), 1.05 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H,  $\text{H}_{\text{Prop-3}}$ ) ppm.

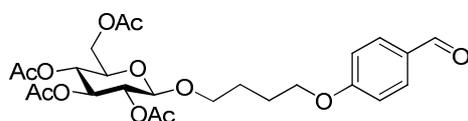
### **(*E*)-4-(4-Formylphenoxy)-but-2-enyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (51):**



## 7. Experimenteller Teil

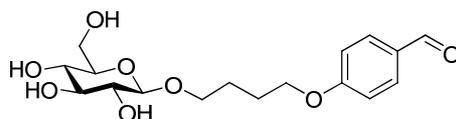
Die Verbindung **42** (345 mg, 607  $\mu\text{mol}$ ) wurde in einer Mischung von THF, Wasser und TFA (90:9.9:0.1 v/v) so gelöst, dass eine 0.2 M Lösung erhalten wurde. Nach Rühren für eine Stunde wurde die Reaktionslösung mit DCM (100 mL) verdünnt und die Reaktion durch Zugabe von Triethylamin (2 mL) gestoppt. Nach Zugabe von Wasser (100 mL) wurde die organische Phase abgetrennt und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.  $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$  (522.49 g/mol).

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**52**):



Für die Hydrierung wurde der Aldehyd **51** (316 mg, 607  $\mu\text{mol}$ ) in abs. EtOAc gelöst und in einen sorgfältig ausgeheiztem Schlenk Kolben mit Palladium (10%) auf Aktivkohle und Diphenylsulfid (0.01 Äq.) gegeben. Die Suspension wurde entgast. Nach mehrmaligem Fluten mit Wasserstoff wurde der Reaktionsansatz für 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Suspension filtriert und gründlich getrocknet. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.  $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$  (524.51 g/mol).

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**53**):

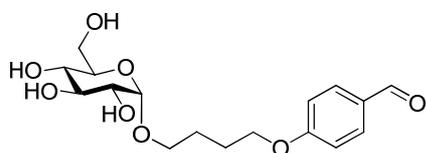


Die Verbindung **52** (319 mg, 607  $\mu\text{mol}$ ) wurde in einer methanolischen Natriummethanolat-Lösung gelöst (20 mL, 0.1 M) und für 6 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsansatz wurde Amberlite IR 120 ( $\text{H}^+$ ) neutralisiert. Nach Filtration und Evaporierung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kiesel mit dem Laufmittel Dichlormethan – Methanol (5 : 1) gereinigt. Das Produkt **53** wurde als farbloser Sirup erhalten (192 mg, 89%).  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_8$  (356.57 g/mol),  $R_f = 0.45$  (DCM/MeOH 5:1);  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +42.5^\circ$  ( $c = 1.0$  in MeOH);  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 9.81$  (s, 1H,  $\text{H}_{\text{ald}}$ ), 7.84 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.8$  Hz, 1H, H-1<sub>arom</sub>), 7.07 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.8$  Hz, 1H, H-2<sub>arom</sub>), 4.27 (d,  $^3J_{1,2} = 7.9$  Hz, 1H, H-1),

## 7. Experimenteller Teil

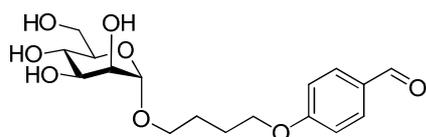
4.12 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.7$  Hz, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 4.05-3.95 (m, 1H, H-1a<sub>bu</sub>), 3.90-3.83 (m, 1H, H-1b<sub>bu</sub>), 3.66 (dd,  $^3J_{5,6a} = 5.03$ ,  $^2J_{6a,6b} = 12.17$  Hz, 1H, H-6a), 3.40-3.23 (m, 3H, H-3, H-4, H-6b), 3.17 (dd,  $^3J_{1,2} = 7.9$ ,  $^3J_{2,3} = 8.9$  Hz, 1H, H-2), 1.96-1.87 (m, 2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.85-1.75 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>) ppm;  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 192.9$  (C<sub>ald</sub>), 133.1 (C<sub>arom</sub>), 116.0 (C<sub>arom</sub>), 104.4 (C-1), 78.1 (C-4), 77.9 (C-5), 75.1 (C-2), 71.7 (C-1<sub>bu</sub>), 70.31 (C-4<sub>bu</sub>), 69.3 (C-3), 62.8 (C-6), 27.2 (C-3<sub>bu</sub>), 26.9 (C-2<sub>bu</sub>) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{O}_8^+$ : 357.1544, gefunden: 357.1548 [ $M+H$ ] $^+$ .

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (**54**):



Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **43** (500 mg, 879  $\mu\text{mol}$ ) durchgeführt. Das Produkt **54** wurde als farbloser Sirup erhalten (285 mg, 91%).  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_8$  (356.57 g/mol),  $R_f = 0.46$  (DCM/MeOH 5:1);  $[\alpha]_D^{20} = +36.0^\circ$  ( $c = 1.0$  in MeOH);  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 9.81$  (s, 1H, H<sub>ald</sub>), 7.83 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.7$  Hz, 1H, H-1<sub>arom</sub>), 7.00 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.7$  Hz, 1H, H-2<sub>arom</sub>), 4.12 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.7$  Hz, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 4.09 (d,  $^3J_{1,2} = 3.6$  Hz, 1H, H-1), 4.01-3.95 (m, 1H, H-1a<sub>bu</sub>), 3.90-3.83 (m, 1H, H-1b<sub>bu</sub>), 3.55-3.23 (m, 4H, H-3, H-4, H-6ab), 3.20 (dd,  $^3J_{1,2} = 3.6$ ,  $^3J_{2,3} = 9.4$  Hz, 1H, H-2), 1.96-1.89 (m, 2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.83-1.75 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>) ppm;  $^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 192.0$  (C<sub>ald</sub>), 133.1 (C<sub>arom</sub>), 116.0 (C<sub>arom</sub>), 99.7 (C-1), 77.9 (C-4), 77.7 (C-5), 74.1 (C-2), 71.7 (C-1<sub>bu</sub>), 70.31 (C-4<sub>bu</sub>), 69.9 (C-3), 62.9 (C-6), 27.2 (C-3<sub>bu</sub>), 26.9 (C-2<sub>bu</sub>) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{O}_8^+$ : 357.1544, gefunden: 357.1601 [ $M+H$ ] $^+$ .

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid (**55**):

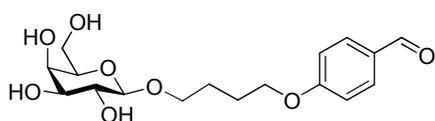


Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **44** (400 mg, 704  $\mu\text{mol}$ ) durchgeführt. Das Produkt **55** wurde als farbloser Sirup erhalten (230 mg, 92%).  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_8$  (356.57 g/mol),  $R_f = 0.44$  (DCM/MeOH 5:1);  $[\alpha]_D^{20} = +10.2^\circ$  ( $c = 1.0$  in MeOH);  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta =$

## 7. Experimenteller Teil

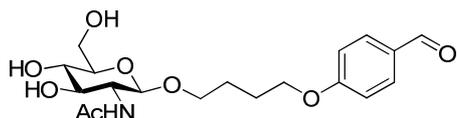
9.83 (s, 1H, H<sub>ald</sub>), 7.86 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H, H-1<sub>arom</sub>), 7.08 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H, H-2<sub>arom</sub>), 4.77 (d,  $^3J_{1,2} = 1.3$  Hz, 1H, H-1), 4.13 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.7$  Hz, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 3.93-3.65 (m, 4H, H-6ab, H-1<sub>bu</sub>), 3.55-3.46 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 1.92-1.85 (m, 2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.84-1.76 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>).ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 192.9$  (C<sub>ald</sub>), 129.0 (C<sub>arom</sub>), 115.1 (C<sub>arom</sub>), 101.6 (C-1), 74.6 (C-5), 72.7 (C-4), 72.3 (C-2), 68.81 (C-1<sub>bu</sub>), 68.7 (C-3), 68.3 (C-4<sub>bu</sub>), 62.9 (C-6), 27.3 (C-3<sub>bu</sub>), 27.2 (C-2<sub>bu</sub>) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup>: 357.1544, gefunden: 357.1539 [M+H]<sup>+</sup>.

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (56):



Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **45** (400 mg, 704  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **56** wurde als farbloser Sirup erhalten (223 mg, 89%). C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>8</sub> (356.57 g/mol),  $R_f = 0.45$  (DCM/MeOH 5:1);  $[\alpha]_D^{20} = -4.5^\circ$  ( $c = 1.0$  in MeOH);  $^1H$ -NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 9.80$  (s, 1H, H<sub>ald</sub>), 7.83 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H, H-1<sub>arom</sub>), 7.06 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H, H-2<sub>arom</sub>), 4.22 (d,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, 1H, H-1), 4.11 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.4$  Hz, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 4.02-3.93 (m, 1H, H-1<sub>abu</sub>), 3.82 (dd,  $^3J_{3,4} = 3.1$  Hz, 1H, H-4), 3.74-3.70 (m, 2H, H-6ab), 3.65-3.57 (m, 1H, H-1<sub>abu</sub>), 3.53-3.42 (m, 3H, H-2, H-3, H-5), 1.95-1.85 (m, 2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.82-1.75 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 193.0$  (C<sub>ald</sub>), 133.1 (C<sub>arom</sub>), 116.0 (C<sub>arom</sub>), 105.0 (C-1), 76.6 (C-3), 75.0 (C-5), 72.6 (C-2), 70.3 (C-4), 70.2 (C-1<sub>bu</sub>), 69.3 (C-4<sub>bu</sub>), 62.5 (C-6), 27.3 (C-3<sub>bu</sub>), 26.9 (C-2<sub>bu</sub>) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup>: 357.1544, gefunden: 357.1551 [M+H]<sup>+</sup>.

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl-2-acetamido-2-desoxy-beta-D-galactopyranosid (57):

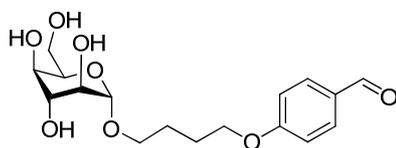


Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **46** (450 mg, 793  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **56** wurde als farbloser Sirup erhalten (252 mg, 80%). C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>8</sub> (397.42 g/mol),  $R_f = 0.21$  (DCM/MeOH 5:1);  $[\alpha]_D^{20} = +9.5^\circ$  ( $c = 1.0$  in MeOH);  $^1H$ -NMR (500 MHz,

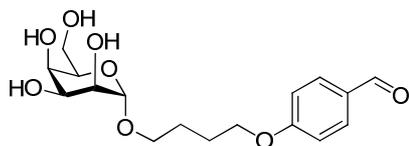
## 7. Experimenteller Teil

CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ = 9.80 (s, 1H, H<sub>ald</sub>), 7.84 (d,  $^3J_{Ar}$  = 8.7 Hz, 1H, H-1<sub>arom</sub>), 7.10 (d,  $^3J_{Ar}$  = 8.8 Hz, 1H, H-2<sub>arom</sub>), 4.42 (d,  $^3J_{1,2}$  = 8.5 Hz, 1H H-1), 4.10 (t,  $^3J_{3bu,4bu}$  = 6.7 Hz, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 3.86 (dd,  $^3J_{5,6b}$  = 2.5,  $^2J_{6a,6b}$  = 12.3 Hz, H-6a), 3.65-3.50 (m, 3H, H-6b, H-1<sub>bu</sub>), 3.32 (dd,  $^3J_{1,2}$  = 8.5,  $^3J_{2,3}$  = 12.3 Hz, 1H, H-2), 3.26-3.21 (m, 2H, H-3, H-4), 3.23 (ddd, J=2.5, 5.0, 10.5 Hz, H-5), 1.96 (s, 3H, H<sub>NHAc</sub>), 1.92-1.85 (m, 2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.84-1.76 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ = 192.9 (C<sub>ald</sub>), 129.0 (C<sub>arom</sub>), 115.1 (C<sub>arom</sub>), 98.5 (C-1), 73.6 (C-4), 73.1 (C-5), 68.2 (C-1<sub>bu</sub>), 68.7 (C-3), 67.3 (C-4<sub>bu</sub>), 62.5 (C-6), 55.3 (C-2), 27.3 (C-3<sub>bu</sub>), 27.2 (C-3<sub>bu</sub>), 22.8 (CH<sub>3</sub>CON) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>8</sub><sup>+</sup>: 398.1809, gefunden: 398.1812 [M+H]<sup>+</sup>.

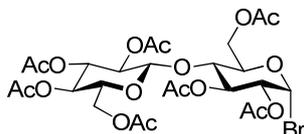
### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl- $\alpha$ -D-idopyranosid (58):



Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **47** (200 mg, 352  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **54** wurde als farbloser Sirup erhalten (105 mg, 84%). C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>8</sub> (356.57 g/mol),  $R_f$ = 0.39 (DCM/MeOH 5:1);  $[\alpha]_D^{20}$  = - 22.8° ( $c$  = 1.0 in MeOH); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ = 9.81 (s, 1H, H<sub>ald</sub>), 7.83 (d,  $^3J_{Ar}$  = 8.8 Hz, 1H, H-1<sub>arom</sub>), 7.05 (d,  $^3J_{Ar}$  = 8.8 Hz, 1H, H-2<sub>arom</sub>), 4.45 (ps, 1H, H-1), 4.12 (t,  $^3J_{3bu,4bu}$  = 6.4 Hz, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 4.02-3.93 (m, 1H, H-1<sub>abu</sub>), 3.79 (dd,  $^3J_{4,5}$  = 0.8,  $^3J_{3,4}$  = 1.1 Hz, 1H, H-4), 3.74 -3.70 (m, 2H, H-6ab), 3.62-3.57 (m, 1H, H-2 H-1<sub>b</sub>bu), 3.53-3.42 (m, 3H, H-3, H-5), 1.95-1.86 (m, 2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.82-1.74 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ = 193.1 (C<sub>ald</sub>), 133.1 (C<sub>arom</sub>), 116.2 (C<sub>arom</sub>), 100.0 (C-1), 78.6 (C-4), 75.0 (C-5), 71.3 (C-3), 70.5 (C-2), 70.1 (C-1<sub>bu</sub>), 69.1 (C-4<sub>bu</sub>), 63.5 (C-6), 27.9 (C-3<sub>bu</sub>), 26.9 (C-2<sub>bu</sub>) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup>: 357.1544, gefunden: 357.2149 [M+H]<sup>+</sup>.

**4-(4-Formylphenoxy)-butyl- $\alpha$ -D-talopyranosid (59):**

Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **48** (200 mg, 352  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **59** wurde als farbloser Sirup erhalten (99 mg, 79%).  $C_{17}H_{24}O_8$  (356.57 g/mol),  $R_f = 0.40$  (DCM/MeOH 5:1);  $[\alpha]_D^{20} = -23.4^\circ$  ( $c = 1.2$  in MeOH);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 9.80$  (s, 1H,  $H_{ald}$ ), 7.84 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-1_{arom}$ ), 7.10 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-2_{arom}$ ), 4.77 (d,  $^3J_{1,2} = 1.1$  Hz, 1H, H-1), 4.13 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.7$  Hz, 2H,  $H-4_{bu}$ ), 3.93-3.65 (m, 4H,  $H-6ab$ ,  $H-1_{bu}$ ), 3.60 (dd,  $^3J_{4,5} = 0.9$ ,  $^3J_{3,4} = 3.6$  Hz, 1H, H-4), 3.55-3.46 (m, 3H, H-2, H-3, H-5), 1.90-1.84 (m, 2H,  $H-3_{bu}$ ), 1.82-1.76 (m, 2H,  $H-2_{bu}$ ).ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 192.9$  ( $C_{ald}$ ), 129.0 ( $C_{arom}$ ), 115.1 ( $C_{arom}$ ), 101.1 (C-1), 74.0 (C-5), 72.7 (C-3), 72.1 (C-2), 70.7 (C-4), 68.7 (C-1<sub>bu</sub>), 68.3 (C-4<sub>bu</sub>), 63.5 (C-6), 27.1 (C-3<sub>bu</sub>), 26.5 (C-2<sub>bu</sub>) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{17}H_{25}O_8^+$ : 357.1544, gefunden: 357.1677 [ $M+H$ ] $^+$ .

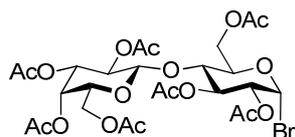
**2,2',3,3',4',6,6'-Hepta-O-acetyl- $\alpha$ -cellobiosyl-bromid (62):**

Octa-*O*-acetyl-cellobiose **60** (6.24 g, 9.21 mmol) wurde in DCM (100 mL) gelöst und auf 0°C gekühlt. Unter Ausschluss von Luftfeuchtigkeit wurde langsam HBr (33%) in Eisessig (8.34 mL, 46.0 mmol) über einen Tropftrichter zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über einen Zeitraum von einer Stunde auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Detektion der vollständigen Umsetzung des Edukts durch DC (PE/EE 1/1) wurde die Lösung mit DCM (100 mL) verdünnt und in Eiswasser gegossen. Die organische Phase wurde separiert und mit Wasser (2 x 100 mL), ges.  $NaHCO_3$ -Lösung (100 mL) und ges.  $NaCl$ -Lösung (100 mL) gewaschen und anschließend über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgradienten PE/EE (3 : 1  $\rightarrow$  1 : 1 + 0.1%  $Et_3N$ ) gereinigt. Die Verbindung **62** wurde als farbloser Feststoff erhalten (5.48 g, 85%).  $C_{26}H_{35}BrO_{17}$  (699.45 g/mol),  $R_f = 0.29$

## 7. Experimenteller Teil

(PE/EE 1:1); Schmelzpt.: 185 °C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +94.5^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 6.55$  (d,  $^3J_{1,2} = 4.0$  Hz, 1H, H-1), 5.66 (dd,  $^3J_{2,3} = 9.7$  Hz, 1H, H-3), 5.13 (dd,  $^3J_{1,2'} = 7.9$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.4$  Hz, 1H, H-2'), 4.96 (dd,  $^3J_{2',3'} = 10.4$ ,  $^3J_{3',4'} = 9.4$  Hz, 1H, H-3'), 4.89 (dd,  $^3J_{3',4'} = 9.4$ ,  $^3J_{4',5'} = 9.9$  Hz 1H, H-4') 4.72 (dd,  $^3J_{1,2} = 4.0$ ,  $^3J_{2,3} = 9.7$  Hz, 1H, H-2), 4.52-4.49 (m, 2H, H-1', H6'a), 4.23-4.06 (m, 4H, H-5, H-6a, H6b, H-6'b), 3.91-3.84 (m, 2H, H-4, H5'), 2.16 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.13 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.09 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.07 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.06 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.05 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 1.92 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 101.3$  (C-1'), 88.4 (C-1), 74.6 (C-4), 73.8 (C-5'), 72.5 (C-5), 70.4 (C-3'), 69.9 (C-2), 69.5 (C-3), 68.7 (C-2'), 66.1 (C-4'), 60.5 (C-6'), 60.3 (C-6), 20.9 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.8 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.7 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.5 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.4 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.1 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ : 698.11 gefunden: 721.4  $[M+\text{Na}]^+$ .

### 2,2',3,3',4',6,6'-Hepta-O-acetyl- $\alpha$ -lactosyl-bromid (**63**):

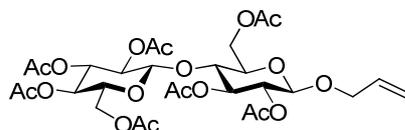


Octa-O-acetyl-lactose **61** (10.0 g, 14.7 mmol) wurde in DCM (100 mL) gelöst und auf 0°C gekühlt. Unter Ausschluss von Luftfeuchtigkeit wurde langsam HBr (33%) in Eisessig (13.3 mL, 73.0 mmol) über einen Tropftrichter zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über einen Zeitraum von einer Stunde auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Detektion der vollständigen Umsetzung des Edukts durch DC (PE/EE 1/1) wurde die Lösung mit DCM (100 mL) verdünnt und in Eiswasser gegossen. Die organische Phase wurde separiert und mit Wasser (2 x 100 mL), ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (100 mL) und ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung (100 mL) gewaschen und anschließend über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgradienten PE/EE (3 : 1  $\rightarrow$  1 : 1 + 0.1%  $\text{Et}_3\text{N}$ ) gereinigt. Die Verbindung **63** wurde als farbloser Feststoff erhalten (9.46 g, 92%).  $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{BrO}_{17}$  (699.45 g/mol),  $R_f = 0.31$  (PE/EE 1:1); Schmelzpt.: 140°C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +110^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 6.52$  (d,  $^3J_{1,2} = 4.0$  Hz, 1H, H-1), 5.58 (dd,  $^3J_{2,3} = 9.7$  Hz, 1H, H-3), 5.46 (dd,  $^3J_{3',4'} = 9.4$ ,  $^3J_{4',5'} = 9.9$  Hz 1H, H-4'), 5.13 (dd,  $^3J_{1,2'} = 7.9$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.4$  Hz, 1H, H-2'), 4.96 (dd,  $^3J_{2',3'} = 10.4$ ,  $^3J_{3',4'} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 4.72 (dd,  $^3J_{1,2} = 4.0$ ,  $^3J_{2,3} = 9.7$  Hz, 1H, H-2), 4.52-4.49 (m, 2H, H-1', H6'a), 4.23-4.06 (m, 4H, H-5, H-6a, H6b, H-6'b), 3.92-3.86 (m, 2H, H-4,

## 7. Experimenteller Teil

H5'), 2.16 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.13 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.09 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.07 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.06 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.05 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.97 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 102.3 (C-1'), 89.4 (C-1), 74.6 (C-4), 73.8 (C-5'), 72.5 (C-5), 71.5 (C-4'), 69.9 (C-2), 69.3 (C-3), 68.5 (C-2'), 68.1 (C-3'), 60.5 (C-6'), 60.3 (C-6), 20.9 (CH<sub>3</sub>CO), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5 (CH<sub>3</sub>CO), 20.4 (CH<sub>3</sub>CO), 20.1 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>: 698.11 gefunden: 721.4 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Allyl-2,2',3,3',4',6,6'-hepta-O-acetyl-β-cellobiosid (64):

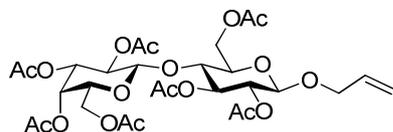


Cellobiosylbromid **62** (5.00 g, 7.15 mmol), Allylalkohol (970 μL, 14.3 mmol) und aktiviertes Molekularsieb (4 Å, 2 g) wurden in abs. DCM (50 mL) gelöst und für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Silbercarbonat (2.95 g, 10.7 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch bis zum vollständigen Umsatz des Edukts (DC-Detektion (PE/EE 1/1)) gerührt. Die Lösung wurde mit DCM (200 mL) verdünnt und mit Wasser (2 x 100 mL), ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (100 mL) und ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Anschließend wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgradienten PE/EE (3 : 1 → 1 : 1) gereinigt. Die Verbindung **64** wurde als farbloser Feststoff erhalten (3.63 g, 75%). C<sub>29</sub>H<sub>40</sub>O<sub>18</sub> (676.62 g/mol), *R*<sub>f</sub> = 0.27 (PE/EE 1:1); Schmelzpt. 186 °C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 24.9° (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 5.90-5.78 (m, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.30-5.18 (m, 1H, H-3, H-3', H-3<sub>aall</sub>), 5.13 (m, 3H, H-3<sub>ball</sub>), 5.05 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>3',4'</sub> = 9.6, <sup>3</sup>*J*<sub>4',5'</sub> = 9.5 Hz, 1H, H-4'), 4.92-4.85 (m, 2H, H-2, H-2'), 4.55-4.48 (m, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 7.6, <sup>3</sup>*J*<sub>1',2'</sub> = 7.6 Hz, 3H, H-1, H-1', H-6<sub>a</sub>), 4.37-4.20 (m, 2H, H-1<sub>aall</sub>), 4.11-4.02 (m, 3H, H-6<sub>a</sub>, H-6'<sub>a,b</sub>), 3.77 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 9.4, <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 9.8 Hz, 1H, H-4), 3.65 (m, 1H, H-5'), 3.57 (ddd, <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 9.8 <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 3.2 Hz, 1H, H-5), 2.12 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.08 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.03 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.02 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.01 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.00 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.97 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 170.4 (CH<sub>3</sub>CO), 170.3 (CH<sub>3</sub>CO), 170.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.8 (CH<sub>3</sub>CO), 169.5 (CH<sub>3</sub>CO), 169.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.0 (CH<sub>3</sub>CO), 133.3 (C-2<sub>all</sub>), 117.63 (C-3<sub>all</sub>), 100.7 (C-1'), 99.3 (C-1), 76.4 (C-4), 72.9 (C-5), 72.6 (C-3'), 72.5 (C-3), 71.94 (C-5'), 71.6 (C-2'), 71.5 (C-2), 70.01 (C-1<sub>all</sub>), 67.7 (C-4'), 61.8 (C-6), 61.5 (C-6'), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7

## 7. Experimenteller Teil

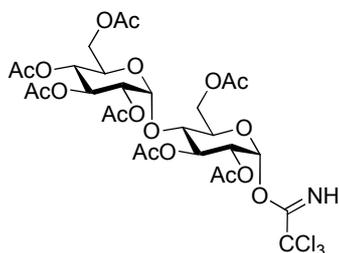
(CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>: 676.22, gefunden: 699.3. [M+Na]<sup>+</sup>;

### Allyl-2,2',3,3',4',6,6'-hepta-O-acetyl-β-lactosid (65):



Lactosylbromid **63** (5.00 g, 7.15 mmol), Allylalkohol (970 μL, 14.3 mmol) und aktiviertes Molekularsieb (4 Å, 2 g) wurden in abs. DCM (50 mL) gelöst und für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Silbercarbonat (2.95 g, 10.7 mmol) zu gegeben und das Reaktionsgemisch bis zum vollständigen Umsatz des Edukts (DC-Detektion (PE/EE 1/1) gerührt. Die Lösung wurde mit DCM (200 mL) verdünnt und mit Wasser (2 x 100 mL), ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (100 mL) und ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Anschließend wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgradienten PE/EE (3 : 1 → 1 : 1) gereinigt. Die Verbindung **65** wurde als farbloser Feststoff erhalten (3.43 g, 71%). C<sub>29</sub>H<sub>40</sub>O<sub>18</sub> (676.62 g/mol),  $R_f = 0.28$  (PE/EE 1:1); Schmelzpt.: 69 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +30.2^\circ$  ( $c = 1.0$  in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 5.85$ -5.77 (m, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.33 (d, <sup>3</sup> $J_{3',4'} = 3.1$  Hz, 1H, H-4'), 5.25-5.15 (m, 3H, H-3, H-3<sub>all</sub>), 5.09 (dd, <sup>3</sup> $J_{1',2'} = 7.9$ , <sup>3</sup> $J_{2',3'} = 10.4$  Hz, 1H, H-2'), 4.95-4.88 (m, 2H, H-2, H-3'), 4.50 (d, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 7.9$  Hz, 1H, H-1), 4.49-4.48 (m, 1H, H-6a) 4.47 (d, <sup>3</sup> $J_{1',2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.28 (m, 1H, H-1a<sub>all</sub>), 4.15-4.02 (m, 4H, H-1a<sub>all</sub>, H-6b, H-6'ab), 3.86 (m, 1H, H-5'), 3.79 (dd, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 9.4$ , <sup>3</sup> $J_{4,5} = 9.8$  Hz, 1H, H-4), 3.58 (ddd, <sup>3</sup> $J_{4,5} = 9.8$ , <sup>3</sup> $J_{5,6a} = 4.9$ , <sup>3</sup> $J_{5,6b} = 1.8$  Hz, 1H, H-5), 2.13 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.10 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.04 (s, 6H, H<sub>ac</sub>), 2.03 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.94 (s, 3H, H<sub>ac</sub>). ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.6$  (CH<sub>3</sub>CO), 170.3 (CH<sub>3</sub>CO), 170.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.1 (CH<sub>3</sub>CO), 133.6 (C-2<sub>all</sub>), 117.2 (C-3<sub>all</sub>), 101.1 (C-1') 99.0 (C-1), 76.2 (C-4), 72.6 (C-3), 72.9 (C-5), 72.3 (C-3), 71.9 (C-2), 71.1 (C-3') 70.5 (C-5'), 70.4 (C-1<sub>all</sub>), 69.0 (C-2'), 66.5 (C-4'), 61.9 (C-6), 60.5 (C-6'), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>: 676.22, gefunden: 699.3 [M+Na]<sup>+</sup>.

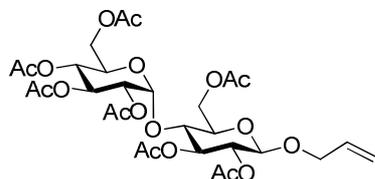
**2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-trichloracetimidat (68):**



Die Synthese der 1-OH freien Verbindung wurde nach AAV-3 Teil 1) mit Verbindung **66** (1.53 g, 2.25 mmol) und Benzylamin (400  $\mu$ L, 3.48 mmol) in THF (6 mL) durchgeführt. Chromatographie: Kieselgel mit PE/EE (1:1) Das Zwischenprodukt 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)- $\alpha$ / $\beta$ -D-glucopyranose wurde als farbloser Feststoff erhalten (1.03 g, 72%).  $R_f = 0.24$  (PE/EE 1:1); die physikalische und NMR-spektroskopische Daten entsprachen Literaturwerten.<sup>[191]</sup>

Die Synthese des Trichloracetimidats wurde nach AAV-3 Teil 2) mit 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)- $\alpha$ / $\beta$ -D-glucopyranose (954 mg, 1.50 mmol), Trichloracetonitril (4.55 mL, 45 mmol) und DBU (113  $\mu$ L, 3.59 mmol) in abs. Dichlormethan (10 mL) durchgeführt. Die Verbindung **68** wurde als farbloser Sirup erhalten (890 mg, 76%).  $C_{28}H_{36}Cl_3NO_{18}$  (780.94 g/mol),  $R_f = 0.33$  (PE/EE 2:1),  $[\alpha]_D^{20} = +125^\circ$  ( $c = 1$ ,  $CHCl_3$ ); die NMR-spektroskopische Daten entsprachen Literaturwerten.<sup>[191]</sup>

**Allyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (69):**

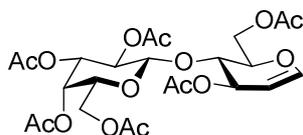


Gemäß der Synthese (Methode B) von Verbindung **116** wurden Trichloracetimidat **68** (781 mg, 1.00 mmol) und Allylalkohol (190  $\mu$ L, 3.00 mmol) mit Trimethylsilyltriflat (18  $\mu$ L, 0.10 mmol) in absolutem DCM (5 mL) zur Reaktion gebracht. Die Verbindung **69** wurde als farbloser Feststoff erhalten (560 mg, 83%).  $C_{29}H_{40}O_{18}$  (676.62 g/mol),  $R_f = 0.32$  (PE/EE 1:1); Schmelzpt.: 113  $^\circ$ C;  $[\alpha]_D^{20} = +45.3^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (400 MHz,

## 7. Experimenteller Teil

$\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.84 (ddd,  $^3J_{2,3\text{all}} = 5.5$ ,  $^3J_{\text{cis}} = 10.7$ ,  $^3J_{\text{trans}} = 16.7$  Hz, 1H, H<sub>All-2</sub>), 5.40 (d,  $^3J_{1,2'} = 3.8$  Hz, 1H, H-1'), 5.35 (dd,  $J = 8.25$ , 8.25 Hz, 1H, H-3'), 5.30-5.16 (m, 3H, H-3, H<sub>All-3</sub>), 5.04 (t,  $J = 9.86$ , 9.86 Hz, 1H, H-4'), 4.91-4.80 (m, 2H, H-2, H-2'), 4.57 (d,  $^3J_{1,2} = 7.7$  Hz, 1H, H-1), 4.47 (dd,  $^2J_{6\text{ab}} = 12.1$  Hz, 1H H-6a), 4.34-4.16 (m, 3H, H<sub>All-1a</sub>), 4.15-3.89 (m, 5H, H-5', H<sub>All-1b</sub>), 3.75-3.58 (m, 1H, H-5), 2.14 - 2.00 (7 x s, 7 x 3H, H<sub>Ac</sub>) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ : 676.22, gefunden: 699.5 [ $M+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.

### 3,6-Di-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-1,5-anhydro-2-desoxy-D-arabino-hex-1-enitol (**70**):

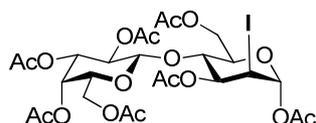


Zu einer Suspension von Zinkpulver (6.22 g, 95.1 mmol) in abs. Ethylacetat (90 mL) wurde 1-Methylimidazol (1.22 mL, 15.5 mmol) gegeben und die Mixtur zum Rückfluss erhitzt. Unter Ausschluss von Luftfeuchtigkeit wurde zum kochenden Reaktionsansatz eine Lösung von Hepta-*O*-acetyl- $\alpha$ -lactosylbromid (**63**) (10.8 g, 15.4 mmol) in abs. Ethylacetat (30 mL) langsam zugetropft und die Suspension anschließend drei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz über Celite filtriert und der Rückstand mit Ethylacetat (3 x 50 mL) gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 1 N Salzsäure (100 mL), Wasser (100 mL), ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (100 mL) und ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung (100 mL) gewaschen. Anschließend wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgradienten PE/EE (3 : 1  $\rightarrow$  1 : 1) gereinigt. Die Verbindung **70** wurde als farbloser Feststoff erhalten (7.53 g, 87%).  $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$  (560.50 g/mol),  $R_f = 0.19$  (PE/EE 1:1); Schmelzpt.: 131 °C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +6.3^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 6.39 (dd,  $^3J_{1,2} = 6.1$  Hz, 1H, H-1), 5.40-5.38 (m, 1H, H-3), 5.35 (dd,  $^3J_{3',4'} = 3.4$ ,  $^3J_{4',5'} = 1.0$  Hz, 1H, H-4'), 5.18 (dd,  $^3J_{1',2'} = 7.8$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.5$  Hz, 1H, H-2'), 4.99 (dd, 1H, H-3'), 4.82 (dd,  $^3J_{1,2} = 6.1$ ,  $^3J_{2,3} = 3.4$  Hz, 1H, H-2), 4.65 (d,  $^3J_{1',2'} = 7.8$ , Hz 1H, H-1'), 4.42 (dd,  $^3J_{5,6a} = 2.5$ ,  $^3J_{6a,6b} = 11.5$  Hz, 1H, H-6a), 4.13-4.07 (m, 4H, H-5, H-6b, H-6'a, H-6'b), 3.98 (dd, 1H, H-4), 3.91-3.87 (m, 1H, H-5'), 2.14 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.10 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.07 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.05 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.04 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.96 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 145.7 (C-1), 101.9 (C-1'), 99.8 (C-2), 75.3 (C-4), 74.9 (C-5), 71.5 (C-3'), 71.2 (C-5'), 70.2 (C-3), 69.7 (C-2'), 67.6 (C-4'), 62.4 (C-6), 62.0 (C-6'), 21.0 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.8

## 7. Experimenteller Teil

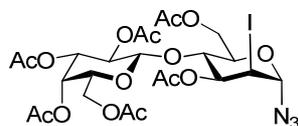
(CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5 (CH<sub>3</sub>CO), 20.4 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>: 560.17, gefunden: 583.21 [M+Na]<sup>+</sup>.

### 1,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-2-desoxy-2-iod-α-D-mannopyranose (71):



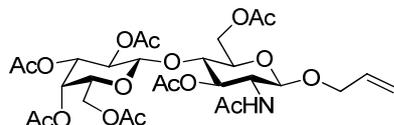
Unter Argonatmosphäre wurde Hexa-*O*-acetyl-lactal **70** (2.00 g, 3.60 mmol), Kupferacetat-Hydrat (780 mg, 3.92 mmol) und Iod (1.12g, 4.36 mmol) in AcOH (27 mL) gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde für 6 Stunden bei 80 °C gerührt, anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt und bei vermindertem Druck konzentriert. Es wurde Diethylether (100 mL) zum Rückstand gegeben und die organische Phase mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung bis zur Neutralisation versetzt. Anschließend wurde mit Wasser (50 mL), Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung (50 mL) und wieder mit Wasser (50 mL) gewaschen, und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgradienten PE/EE (3 : 1 → 1 : 1) gereinigt. Die Verbindung **71** wurde als farbloser Feststoff (2.55 g, 96%). C<sub>26</sub>H<sub>35</sub>IO<sub>17</sub> (746.45 g/mol),  $R_f = 0.56$  (PE/EE, 1:1); Schmelzpt.: 59 °C;  $[\alpha]_D^{20} = + 22.4^\circ$  ( $c = 1.0$  in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 6.32$  (d, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 2.3$  Hz, 1H, H-1), 5.37 (dd, <sup>3</sup> $J_{3,4'} = 3.4$ , <sup>3</sup> $J_{4',5'} = 0.8$  Hz, 1H, H-4'), 5.15 (dd, <sup>3</sup> $J_{1',2'} = 7.9$ , <sup>3</sup> $J_{2',3'} = 10.4$  Hz, 1H, H-2'), 5.00 (dd, <sup>3</sup> $J_{2',3'} = 10.4$ , <sup>3</sup> $J_{3',4'} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 4.68 (dd, <sup>3</sup> $J_{2,3} = 4.2$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 7.4$  Hz, 1H, H-3), 4.61 (d, <sup>3</sup> $J_{1',2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.51 (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 2.3$ , <sup>3</sup> $J_{2,3} = 4.2$  Hz, 1H, H-2), 4.43 (dd, <sup>3</sup> $J_{5,6} = 2.7$ , <sup>3</sup> $J_{6a,6b} = 12.3$  Hz, 1H, H-6a), 4.17 (dd, <sup>3</sup> $J_{5',6'a} = 6.7$ , <sup>3</sup> $J_{6'a,6'b} = 11.3$  Hz, 1H, H-6'a), 4.12-4.00 (m, 4H, H-4, H-5, H-6b, H-6'b), 3.94 (ddd, <sup>3</sup> $J_{5',6'a} = 6.7$ , <sup>3</sup> $J_{5',6'b} = 6.4$ , <sup>3</sup> $J_{6'a,6'b} = 11.3$  Hz, 1H, H-5'), 2.16 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.15 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.14 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.12 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.07 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.06 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.97 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 101.3$  (C-1'), 94.4 (C-1), 75.1 (C-4), 74.3 (C-5), 70.8 (C-3'), 70.4 (C-5'), 69.7 (C-2'), 69.3 (C-3), 67.1 (C-4'), 62.4 (C-6), 61.5 (C-6'), 27.8 (C-2), 20.9 (CH<sub>3</sub>CO), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5 (CH<sub>3</sub>CO), 20.4 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>: 746.09, gefunden: 768.99 [M+Na]<sup>+</sup>.

**3,6-Di-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-2-desoxy-2-iod- $\alpha$ -D-mannopyranosyl-azid (**72**):**



Zu einer Lösung vom Iodoacetat **71** (2.55 g, 3.42 mmol) in abs. DCM (30 mL) wurde Trimethylsilylazid (800  $\mu$ L, 6.00 mmol) und Trimethylsilyltriflat (90  $\mu$ L, 50  $\mu$ mol) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 Stunden bis zum vollständigen Umsatz des Edukts gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 1/1). Die Lösung wurde durch vorsichtige Zugabe von ges.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (20 mL) neutralisiert und die organische Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgradienten PE/EE (3 : 1  $\rightarrow$  1 : 1) gereinigt. Die Verbindung **72** wurde als farbloser Feststoff erhalten (2.36 g, 94%).  $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{I}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (729.42 g/mol),  $R_f = 0.36$  (PE/EE 2:3); Schmelzpt.: 64°C;  $[\alpha]_D^{20} = +48.0$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.62$  (d,  $^3J_{1,2} = 3.1$  Hz, 1H, H-1), 5.36 (dd,  $^3J_{3,4'} = 3.4$  Hz, 1H, H-4'), 5.15 (dd,  $^3J_{1',2'} = 7.9$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.5$  Hz, 1H, H-2'), 4.99 (dd, 1H, H-3'), 4.69 (dd,  $^3J_{2,3} = 3.9$ ,  $^3J_{3,4} = 7.9$  Hz, 1H, H-3), 4.58 (d,  $^3J_{1',2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.43-4.40 (m, 2H, H-2, H-6a), 4.19-4.04 (m, 4H, H-5, H-6b, H-6'a, H-6'b), 3.96-3.92 (m, 2H, H-4, H-5'), 2.15 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.14 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.13 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.06 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.05 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 1.97 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 101.4$  (C-1'), 90.8 (C-1), 75.2 (C-5'), 71.2 (C-5), 70.8 (C-3'), 70.0 (C-4), 69.7 (C-2'), 69.1 (C-3), 66.8 (C-4'), 61.7 (C-6'), 61.2 (C-6), 27.5 (C-2), 20.9 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.8 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.7 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.5 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.4 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ : 729.09, gefunden: 751.96  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

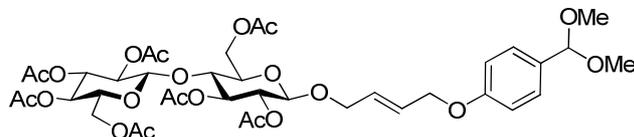
**Allyl-2-acetamido-3,6-di-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (**73**):**



Die Verbindung **72** (1.04 g, 1.43 mmol) und Allylalkohol (147  $\mu$ L, 2.15 mmol) wurden in trockenem DCM (15 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung aus Triphenylphosphin (411 mg, 1.57 mmol) in trockenem DCM (5 mL) tropfenweisen über einen Zeitraum von 5 min zugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und für 4 Stunden gerührt. Nach Eineigen des Reaktionsgemisches wurde der Rückstand in Ethanol (10 mL) gelöst und über eine Dowex 2X8 (OH<sup>-</sup>)-Säule eluiert. Das Eluat wurde eingeeengt und der Rückstand über Nacht mit mit einer katalytischen Menge Natriummethoxid in Methanol (10 mL) behandelt. Nach Einengen wurde der Rückstand mit einem Gemisch aus Pyridin und Essigsäureanhydrid (2:1, 15 mL) acetyliert. Das Rohprodukt wurde anschließend durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat – Aceton (6 : 1) gereinigt. Die Verbindung **73** wurde als farbloser Feststoff erhalten (792 mg, 82%). C<sub>29</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>17</sub> (675.63 g/mol), *R*<sub>f</sub> = 0.45 (EE); Schmelzpt.: 175 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 21.6° (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 5.81 (m, 1H, H-3<sub>all</sub>), 5.63 (d, 1 H, NH), 5.29-5.16 (m, 4 H, H-4, H-3, H-3<sub>all</sub>), 5.07 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>2',3'</sub> = 7.6 Hz, H-2'), 4.90 (dd, 1 H, <sup>3</sup>*J*<sub>2',3'</sub> = 7.6, <sup>3</sup>*J*<sub>3',4'</sub> = 3.6 Hz, H-3'), 4.46 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1',2'</sub> = 7.9 Hz, H-1'), 4.42 (d, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 8.1 Hz, H-1) 4.39 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 5.7, <sup>3</sup>*J*<sub>6a,b</sub> = 12.3 Hz H-6a), 4.17-4.12 (m, 1H, H-2), 4.10-4.08 (m, 1H, H-1<sub>all</sub>), 4.05-3.99 (m, 3H, H-6b, H-6a' b'), 3.90-3.88 (m, 1H, H-1<sub>all</sub>), 3.83-3.78 (m, 2H, H-5, H-5'), 3.70 (dd, 1H, <sup>3</sup>*J*<sub>3,5</sub> = 9.9, <sup>3</sup>*J*<sub>4,54</sub> = 9.9 Hz, H-4), 2.15 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.14 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.13 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.06 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.05 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.88 (s, 3H, H<sub>NHAc</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.4 (CH<sub>3</sub>CO), 170.3 (CH<sub>3</sub>CO), 170.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.8 (CH<sub>3</sub>CON), 169.5 (CH<sub>3</sub>CO), 169.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.0 (CH<sub>3</sub>CO), 132.0 (C-2<sub>all</sub>), 117.5 (C-3<sub>all</sub>), 100.2 (C-1'), 95.2 (C-1), 75.3 (C-4), 70.6 (C-3), 70.0 (C-3'), 69.5 (C-5), 68.2 (C-2'), 67.7 (C-1<sub>all</sub>), 67.5 (C-5'), 65.5 (C-4'), 60.9 (C-6), 59.7 (C-6'), 51.0 (C-2) 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 22.8 (CH<sub>3</sub>CON), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>10</sub>: 675.24, gefunden: 698.4 [M+Na]<sup>+</sup>.

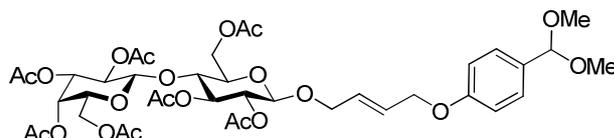
## 7. Experimenteller Teil

### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2,2',3,3',4',6,6'-hepta-*O*-acetyl- $\beta$ -cellobiosid (**74**):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **64** (677 mg, 1.00 mmol), Verbindung **41** (1.67 g, 8.00 mmol) und Katalysator **38** (63 mg, 0.10 mmol) durchgeführt. Das Produkt **74** wurde als farbloser Sirup erhalten (394 mg, 46%).  $C_{39}H_{52}O_{21}$  (856.82 g/mol),  $R_f = 0.25$  (PE/EE 1:1);  $[\alpha]_D^{20} = -21.1^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.34$  (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.86 (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.95-5.85 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.32 (s, 1H, H<sub>acetal</sub>), 5.20-5.10 (m, 2H, H-3, H-3') 5.04 (dd,  $^3J_{3',4'} = 9.6$ ,  $^3J_{4',5'} = 9.8$  Hz, 1H, H-4'), 4.94-4.86 (m, 2H, H-2, H-2') 4.52-4.46 (m,  $^3J_{1,2} = 7.6$ ,  $^3J_{1',2'} = 7.6$  Hz, 5H, H-1, H-1', H-6<sub>a</sub>, H-4<sub>bu</sub>), 4.35 (dd,  $^3J_{5,6a} = 4.3$ ,  $^3J_{6a,6b} = 12.3$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.76 (t,  $J = 9.48$ , 9.48 Hz, 1 H), 3.64 (ddd,  $^3J_{4',5'} = 9.8$  Hz,  $^3J_{5',6'a} = 4.2$ ,  $^3J_{5',6'b} = 2.2$  Hz, 1H, H-5'), 3.55 (ddd,  $^3J_{4,5} = 9.9$ ,  $^3J_{5,6a} = 4.3$ ,  $^3J_{5,6b} = 1.9$  Hz, 1H, H-5), 3.29 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.11 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.07 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.01 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.00 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.99 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.96 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 170.4$  (CH<sub>3</sub>CO), 170.3 (CH<sub>3</sub>CO), 170.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.8 (CH<sub>3</sub>CO), 169.5 (CH<sub>3</sub>CO), 169.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.0 (CH<sub>3</sub>CO), 132.0 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (C<sub>arom</sub>), 128.0 (C<sub>arom</sub>), 126.9 (C<sub>arom</sub>), 114.7 (C-2<sub>bu</sub>), 114.1 (C-3<sub>bu</sub>), 103.5 (C<sub>acetal</sub>), 100.7 (C-1), 99.3 (C-1'), 76.4 (C-4), 72.9 (C-5), 72.6 (C-3'), 72.5 (C-3), 71.9 (C-5'), 71.6 (C-2'), 71.5 (C-2), 68.3 (C-1<sub>bu</sub>), 67.7 (C-4'), 67.5 (C-4<sub>bu</sub>), 61.8 (C-6), 61.5 (C-6'), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für  $C_{39}H_{53}O_{21}^+$ : 857.3074, gefunden: 857.3000  $[M+H]^+$ .

### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2,2',3,3',4',6,6'-hepta-*O*-acetyl- $\beta$ -lactosid (**75**):

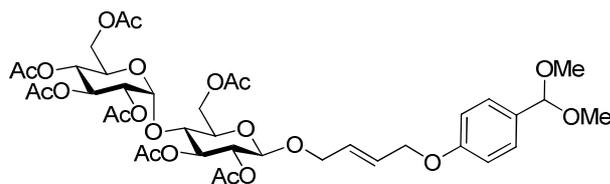


Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **65** (677 mg, 1.00 mmol), Verbindung **41**

## 7. Experimenteller Teil

(1.67 g, 8.00 mmol) und Katalysator **38** (63 mg, 0.10 mmol) durchgeführt. Das Produkt **75** wurde als farbloser Sirup erhalten (446 mg, 52%).  $C_{39}H_{52}O_{21}$  (856.82 g/mol),  $R_f = 0.27$  (PE/EEc 1:1);  $[\alpha]_D^{20} = +33.1^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.35$  (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.88 (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.95-5.80 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.36-5.33 (m, 2H, H-4', H<sub>acetal</sub>), 5.19 (dd,  $^3J_{2,3} = 10.5$ ,  $^3J_{3,4} = 9.8$  Hz, 1H, H-3), 4.94-4.86 (m, 2H, H-2, H-2'), 5.10 (dd,  $^3J_{1',2'} = 7.9$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.4$  Hz, 1H, H-2'), 4.94-4.86 (m, 2H, H-2, H-3') 4.52-4.46 (m,  $^3J_{1,2} = 7.6$ ,  $^3J_{1',2'} = 7.6$  Hz, 5H, H-1, H-1', H-6a, H-4<sub>bu</sub>), 4.35-4.33 (m, 1H, H-1a<sub>bu</sub>), 4.15-4.00 (m, 4H, H-1b<sub>bu</sub>, H-6b, H-6'ab) 3.87 (ddd,  $^3J_{4',5'} = 0.8$  Hz,  $^3J_{5',6'a} = 6.4$ ,  $^3J_{5',6'b} = 6.5$  Hz, 1H, H-5'), 3.80 (dd,  $^3J_{3,4} = 9.4$ ,  $^3J_{4,5} = 9.5$  Hz, 1H, H-4), 3.58 (ddd,  $J = 1.92, 4.88, 9.78$  Hz, 1H), 3.31 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.16 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.15 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.11 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.05 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.04 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.03 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.96 (s, 3H, H<sub>ac</sub>) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 170.4$  (CH<sub>3</sub>CO), 170.3 (CH<sub>3</sub>CO), 170.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.8 (CH<sub>3</sub>CO), 169.5 (CH<sub>3</sub>CO), 169.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.0 (CH<sub>3</sub>CO), 132.0 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (C<sub>arom</sub>), 128.0 (C<sub>arom</sub>), 126.9 (C<sub>arom</sub>), 114.7 (C-2<sub>bu</sub>), 114.1 (C-3<sub>bu</sub>), 103.0 (C<sub>acetal</sub>), 101.0 (C-1'), 99.4 (C-1), 76.23 (C-4), 72.8 (C-3), 72.6 (C-5'), 71.6 (C-2), 70.9 (C-3'), 70.6 (C-5'), 69.1 (C-2'), 68.9 (C-1<sub>bu</sub>), 67.6 (C-4<sub>bu</sub>), 66.6 (C-4'), 61.9 (C-6), 60.7 (C-6'), 52.6 (OCH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für  $C_{39}H_{53}O_{21}^+$ : 857.3074, gefunden: 857.3052 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>

### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**76**):

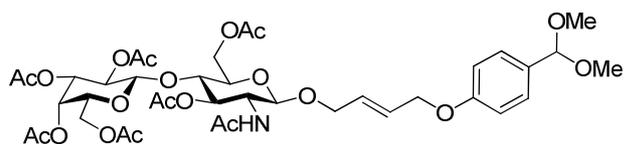


Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **69** (412 mg, 609  $\mu$ mol), Verbindung **41** (1.27 g, 6.10 mmol) und Katalysator **38** (39 mg, 61  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **76** wurde als farbloser Sirup erhalten (396 mg, 76%).  $C_{39}H_{52}O_{21}$  (856.82 g/mol),  $R_f = 0.30$  (PE/EE 1:1);  $[\alpha]_D^{20} = +23.8^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.34$  (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.88 (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.95-5.80 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.40 (d,  $^3J_{1',2'} = 3.8$  Hz, 1H, H-1'), 5.36-5.33 (m, 2H, H-3', H<sub>acetal</sub>), 5.20 (dd,  $^3J_{3,4} = 7.8$ ,  $^3J_{2,3} = 9.8$  Hz, 3H, H-3), 5.04 (dd,  $^3J_{3',4'} = 9.8$ ,  $^3J_{4',5'} = 9.9$  Hz, 1H, H-4'), 4.91-4.80 (m, 2H, H-2, H-2'), 4.59 (d,  $^3J_{1,2} = 7.9$  Hz, 1H, H-1), 4.47 (dd,  $^2J_{6ab} = 12.1$  Hz, 1H H-6a), 4.43-4.40

## 7. Experimenteller Teil

(m, 2H, H-1<sub>bu</sub>), 4.34-4.16 (m, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 4.15-3.89 (m, 3H, H-6'ab, H-5'), 3.66 (ddd,  $^3J_{5,6a} = 3.4$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.9$ ,  $^3J_{4,5} = 9.8$  Hz, 1H, H-5), 3.30 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.14 - 2.00 (7 x s, 7 x 3H, H<sub>Ac</sub>) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.4$  (CH<sub>3</sub>CO), 170.3 (CH<sub>3</sub>CO), 170.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.8 (CH<sub>3</sub>CO), 169.5 (CH<sub>3</sub>CO), 169.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.0 (CH<sub>3</sub>CO), 132.0 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (C<sub>arom</sub>), 128.0 (C<sub>arom</sub>), 126.9 (C<sub>arom</sub>), 114.9 (C-2<sub>bu</sub>), 114.5 (C-3<sub>bu</sub>), 105.5 (C<sub>acetal</sub>), 102.7 (C-1'), 98.3 (C-1), 76.1 (C-4), 72.9 (C-5), 72.7 (C-3'), 72.1 (C-2), 72.0 (C-5'), 71.6 (C-2'), 71.6 (C-3), 68.0 (C-1<sub>bu</sub>) 67.7 (C-4') 67.5 (C-4<sub>bu</sub>), 61.8 (C-6), 61.5 (C-6'), 52.0 (OCH<sub>3</sub>), 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 20.7 (CH<sub>3</sub>CO), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>39</sub>H<sub>53</sub>O<sub>21</sub><sup>+</sup>: 857.3074, gefunden: 857.3100 [M+H]<sup>+</sup>.

### (E)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2-acetamido-3,6-di-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (**77**):

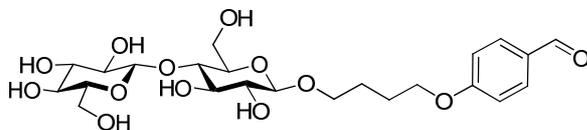


Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **73** (720 mg, 1.07 mmol), Verbindung **41** (1.67 g, 8.00 mmol) und Katalysator **38** (63 mg, 0.10 mmol) durchgeführt. Das Produkt **77** wurde als farbloser Feststoff erhalten (110 mg, 12%). C<sub>39</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>20</sub> (855.83 g/mol), R<sub>f</sub> = 0.21 (EE); Schmelzpt.: 87 °C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -9.4^\circ$  ( $c = 0.5$  in CHCl<sub>3</sub>);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 7.36$  (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.5$  Hz, 2H, H-1<sub>arom</sub>), 6.92 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.5$  Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 5.92-5.85 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.68 (d, 1 H, NH), 5.31 (s, 1H, H<sub>acetal</sub>), 5.29-5.20 (m, H, H-4, H-3), 5.07 (dd, 1H,  $^3J_{2,3'} = 7.6$  Hz, H-2'), 4.90 (dd, 1 H,  $^3J_{2,3'} = 7.6$ ,  $^3J_{3',4'} = 3.6$  Hz, H-3'), 4.50-4.40 (m, 3H, H-1', H-1<sub>bu</sub>), 4.42 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 8.1$  Hz, H-1) 4.39 (dd, 1H,  $^3J_{5,6a} = 5.7$ ,  $^3J_{6a,b} = 12.3$  Hz H-6a), 4.28-4.12 (m, 3H, H-2, H-4<sub>bu</sub>), 4.05-3.99 (m, 3H, H-6b, H-6a' b'), 3.83-3.78 (m, 2H, H-5, H-5'), 3.70 (dd, 1H,  $^3J_{3,5} = 9.9$ ,  $^3J_{4,5} = 9.9$  Hz, H-4), 3.29 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.15 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.14 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.13 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.06 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 2.05 (s, 3H, H<sub>ac</sub>), 1.88 (s, 3H, H<sub>NHAc</sub>) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.4$  (CH<sub>3</sub>CO), 170.3 (CH<sub>3</sub>CO), 170.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.8 (CH<sub>3</sub>CON), 169.5 (CH<sub>3</sub>CO), 169.2 (CH<sub>3</sub>CO), 169.0 (CH<sub>3</sub>CO), 132.0 (C<sub>arom</sub>), 129.3 (C<sub>arom</sub>), 128.0 (C<sub>arom</sub>), 126.9 (C<sub>arom</sub>), 114.7 (C-2<sub>bu</sub>), 114.1 (C-3<sub>bu</sub>), 103.5 (C<sub>acetal</sub>), 100.2 (C-1'), 95.2 (C-1), 75.3 (C-4), 70.6 (C-3), 70.0 (C-3'), 69.5 (C-5), 68.0 (C-4<sub>bu</sub>), 68.2 (C-2'), 67.4 (C-4<sub>bu</sub>), 67.2 (C-5'), 65.4 (C-4'), 60.9 (C-6), 59.7 (C-6'), 52.7 (OCH<sub>3</sub>), 51.0 (C-2) 20.8 (CH<sub>3</sub>CO), 22.8 (CH<sub>3</sub>CON), 20.6 (CH<sub>3</sub>CO), 20.5 (CH<sub>3</sub>CO) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für

## 7. Experimenteller Teil

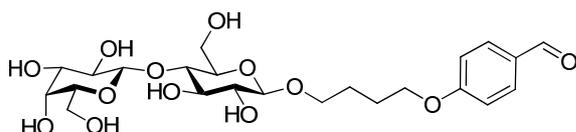
$C_{39}H_{54}NO_{20}^+$ : 856.3234, gefunden: 856.3239  $[M+H]^+$ .

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl- $\beta$ -cellobiosid (**78**):



Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **74** (300 mg, 350  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **78** wurde als farbloser Feststoff erhalten (149 mg, 80%).  $C_{23}H_{34}O_{13}$  (518.50 g/mol),  $R_f = 0.16$  (DCM/MeOH 5:1); Schmelzpt.: 120 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +20.4^\circ$  ( $c = 1.0$  in MeOH);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 9.80$  (s, 1H,  $H_{ald}$ ), 7.84 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-1_{arom}$ ), 7.10 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H,  $H-2_{arom}$ ), 4.52 (d,  $^3J_{1,2} = 7.9$  Hz, 1H,  $H-1$ ), 4.43 (d,  $^3J_{1,2} = 7.9$  Hz, 1H,  $H-1'$ ) 4.20 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.7$  Hz, 2H,  $H-4_{bu}$ ), 3.86-3.57 (m, 6H,  $H-1_{bu}$ ,  $H-6$ ,  $H-6'$ ), 3.50-3.30 (m, 8H,  $H-2$ ,  $H-3$ ,  $H-4$ ,  $H-5$ ,  $H-2'$ ,  $H-3'$ ,  $H-4'$ ,  $H-5'$ ), 1.92-1.85 (m, 2H,  $H-3_{bu}$ ), 1.84-1.76 (m, 2H,  $H-2_{bu}$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 192.9$  ( $C_{ald}$ ), 129.0 ( $C_{arom}$ ), 115.1 ( $C_{arom}$ ), 103.4 ( $C-1'$ ), 102.2 ( $C-1$ ), 80.7 ( $C-4$ ), 77.1 ( $C-3'$ ), 77.0 ( $C-5'$ ) 75.3 ( $C-3'$ ), 74.9 ( $C-5$ ), 73.8 ( $C-2'$ ), 73.5 ( $C-2$ ), 68.8 ( $C-1_{bu}$ ), 67.6 ( $C-4_{bu}$ ), 66.6 ( $C-4'$ ), 63.9 ( $C-6'$ ), 63.0 ( $C-6$ ), 27.3 ( $C-2_{bu}$ ), 27.2 ( $C-3_{bu}$ ) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für  $C_{23}H_{35}O_{13}^+$ : 519.2072, gefunden: 519.2066  $[M+H]^+$ .

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl- $\beta$ -lactosid (**79**):

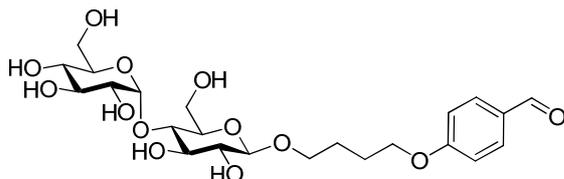


Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **75** (400 mg, 446  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **79** wurde als farbloser Feststoff erhalten (206 mg, 82%).  $C_{23}H_{34}O_{13}$  (518.50 g/mol),  $R_f = 0.15$  (DCM/MeOH 5:1); Schmelzpt.: 114 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +44.6^\circ$  ( $c = 1.0$  in MeOH);  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 9.81$  (s, 1H,  $H_{ald}$ ), 7.84 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H,  $H-1_{arom}$ ), 7.11 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H,  $H-2_{arom}$ ), 4.50 (d,  $^3J_{1,2} = 8.0$  Hz, 1H,  $H-1$ ), 4.42 (d,  $^3J_{1,2} = 7.7$  Hz, 1H  $H-1$ ) 4.17 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.6$  Hz, 2H,  $H-4_{bu}$ ), 3.95 (dd,  $^3J_{5,6a} = 1.7$ ,  $^2J_{6a,6b} = 12.2$  Hz,  $H-6a$ ), 3.89 (dd,  $^3J_{3',4'} = 3.1$ ,  $^3J_{4',5'} = 0.7$  Hz,  $H-4'$ ), 3.78-3.65 (m, 5H,  $H-6$ ,  $H-6'_{ab}$ ,  $H-1_{bu}$ ), 3.52 (dd,  $^3J_{3,4} = 8.9$ ,  $^3J_{4,5} = 9.8$  Hz,  $H-4$ ), 3.50-3.30 (m, 6H,  $H-2$ ,  $H-3$ ,  $H-5$ ,  $H-2'$ ,  $H-3'$ ,  $H-5'$ ), 1.95-1.86 (m,

## 7. Experimenteller Teil

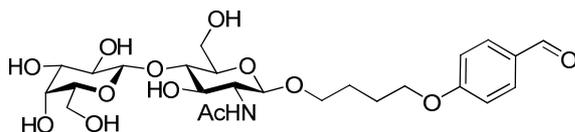
2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.83-1.77 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 192.9 (C<sub>ald</sub>), 129.0 (C<sub>arom</sub>), 115.1 (C<sub>arom</sub>), 105.8 (C-1'), 103.9 (C-1), 81.3 (C-4), 78.3 (C-5'), 77.6 (C-5) 77.3 (C-3), 75.9 (C-2), 74.8 (C-3'), 73.6 (C-2'), 70.7 (C-4'), 68.8 (C-1<sub>bu</sub>), 67.6 (C-4<sub>bu</sub>), 66.6 (C-4'), 63.9 (C-6'), 63.0 (C-6), 27.3 (C-2<sub>bu</sub>), 27.2 (C-3<sub>bu</sub>) ppm; HRMS (FAB): *m/z* berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>O<sub>13</sub><sup>+</sup>: 519.2072, gefunden: 519.2063 [*M+H*]<sup>+</sup>.

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl-4-*O*-(α-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**80**):



Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **76** (300 mg, 350 μmol) durchgeführt. Das Produkt **80** wurde als farbloser Feststoff erhalten (139 mg, 77%). C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>O<sub>13</sub> (518.50 g/mol), *R<sub>f</sub>* = 0.20 (DCM/MeOH 3:1); Schmelzpt.: 140 °C; [*α*]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 9.8° (*c* = 1.0 in MeOH); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 9.84 (s, 1H, H<sub>ald</sub>), 7.88 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>Ar</sub> = 8.6 Hz, 1H, H-1<sub>arom</sub>), 7.10 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>Ar</sub> = 8.6 Hz, 1H, H-2<sub>arom</sub>), 4.56 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-1), 4.43 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-1') 4.20 (t, <sup>3</sup>*J*<sub>3<sub>bu</sub>,4<sub>bu</sub></sub> = 6.6 Hz, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 3.86-3.50 (m, 6H, H-1<sub>bu</sub>, H-6, H-6'), 3.50-3.30 (m, 8H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-2', H-3', H-4', H-5'), 1.90-1.85 (m, 2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.84-1.76 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ= 192.9 (C<sub>ald</sub>), 129.0 (C<sub>arom</sub>), 122.3 (C<sub>arom</sub>), 115.1 (C<sub>arom</sub>), 102.2 (C-1), 96.3 (C-1'), 79.7 (C-4), 77.1 (C-3'), 77.0 (C-5') 75.0 (C-2'), 74.0 (C-5), 73.8 (C-3'), 73.5 (C-2), 71.2 (C-4'), 68.2 (C-1<sub>bu</sub>), 67.6 (C-4<sub>bu</sub>), 63.9 (C-6'), 63.0 (C-6), 27.3 (C-2<sub>bu</sub>), 27.0 (C-3<sub>bu</sub>) ppm; HRMS (FAB): *m/z* berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>35</sub>O<sub>13</sub><sup>+</sup>: 519.2072, gefunden: 519.2075 [*M+H*]<sup>+</sup>.

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl-2-acetamido-4-*O*-(β-D-galactopyranosyl)-2-desoxy-β-D-glucopyranosid (**81**):

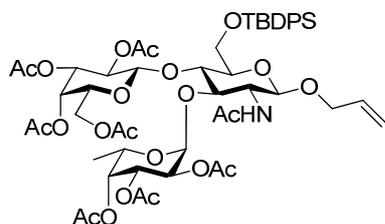


Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **77** (80 mg, 93 μmol) durchgeführt. Das Produkt **81** wurde als farbloser Feststoff erhalten (41 mg, 79%). C<sub>25</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>13</sub> (559.56 g/mol), *R<sub>f</sub>* = 0.25 (DCM/MeOH 3:1); Schmelzpt.: 150 °C; [*α*]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 2.7° (*c* = 1.0 in MeOH); <sup>1</sup>H-NMR

## 7. Experimenteller Teil

(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 9.85 (s, 1H, H<sub>ald</sub>), 7.80 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H, H-1<sub>arom</sub>), 7.08 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H, H-2<sub>arom</sub>), 4.60 (d,  $^3J_{1',2'}$  = 7.8 Hz, 1H, H-1'), 4.49 (d,  $^3J_{1,2}$  = 7.8 Hz, 1H, H-1), 4.12 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.6$  Hz, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 4.02-3.93 (m, 2H, H<sub>6a</sub>, H-1<sub>abu</sub>), 3.94 (dd,  $^3J_{3',4'}$  = 3.1 Hz, H-4'), 3.85 (dd,  $^3J_{5,6b} = 5.5$ ,  $^2J_{6a,6b} = 12.3$  Hz, 1H, H-6b), 3.80-3.65 (m, 7H, H-3, H-4, H-2', H-3', H-5', H-6'), 3.62-3.60 (m, 2H, H-5, H-1<sub>abu</sub>), 3.55 (d,  $^3J_{1,2} = 7.8$ ,  $^3J_{2,3} = 9.9$  Hz, 1H, H-2), 2.05 (s, 3H, H<sub>NHAc</sub>), 1.95-1.86 (m, 2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.83-1.77 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 193.0 (C<sub>ald</sub>), 174.5 (CH<sub>3</sub>CON), 133.1 (C<sub>arom</sub>), 116.0 (C<sub>arom</sub>), 102.8 (C-1'), 100.0 (C-1), 78.4 (C-4), 75.3, 74.7, 72.4, 70.9 (C-3, C-2', C-3', C-5'), 70.4 (C-4'), 68.8 (C-1<sub>bu</sub>), 68.5 (C-5), 67.6 (C-4<sub>bu</sub>), 61.0 (C-6), 60.0 (C-6'), 55.0 (C-2), 27.3 (C-2<sub>bu</sub>), 26.9 (C-2<sub>bu</sub>), 22.1 (CH<sub>3</sub>CON) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>33</sub>NO<sub>13</sub><sup>+</sup>: 560.2338, gefunden: 560.2330 [M+H]<sup>+</sup>.

### Allyl-2-acetamido-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-O-tert-butyl-diphenylsilyl-2-deoxy-3-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**82**):



#### Methode A:

Unter Argonatmosphäre wurde eine Lösung von Akzeptor **116** (300 mg, 361  $\mu$ mol) und Donor **92** (298 mg, 541  $\mu$ mol) in abs. DCM / DMF (5 mL / 5 mL) mit aktiviertem Molekularsiebpulver (4 Å, 1 g) für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde TBAB (198 mg, 614 mmol) und Kupfer-(II)-bromid (137 mg, 614 mmol) zugegeben. Nach 24 Stunden Reaktionszeit wurde das Lösungsmittelgemisch unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in DCM aufgenommen und über Celite filtriert. Das Filtrat wurde bei vermindertem Druck evaporiert und das Rohprodukt für 3 Stunden in wässrigem THF mit einer katalytischen Menge Eisessig gerührt. Anschließend wurde das Rohprodukt nach AAV-1 acetyliert. Die Trennung des Trisaccharids von den Edukten erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel PE/EE (1/1). Das Anomerengemisch **82/85** wurde als farbloser Feststoff erhalten (270 mg, 68%,  $\alpha/\beta$ -

## 7. Experimenteller Teil

Verhältnis: 1 : 1.1, bestimmt durch  $^1\text{H-NMR}$ ). Die Trennung des Anomerengemisches erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Laufmittel PE/EE (3/7). Die Verbindung **82** wurde als farbloser Feststoff erhalten (95 mg).

### Methode B:

Unter Argonatmosphäre wurde zu einer Lösung von Akzeptor **116** (150 mg, 180  $\mu\text{mol}$ ) und Donor **92** (118 mg, 216  $\mu\text{mol}$ ) in abs. DCM (3 mL) mit aktiviertem Molekularsieb (4 Å, 200 mg) NIS (53 mg/ 0.23 mmol) gegeben. Nach Kühlung auf  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  wurde zum Reaktionsansatz Trifluormethansulfonsäure (3  $\mu\text{L}$ , 0.04 mmol) getropft. Nach einer Stunde wurde die Reaktion durch Zugabe von Triethylamin abgebrochen. Die DC-Analyse zeigte keine Umsetzung zum Produkt.

### Methode C:

Unter Argonatmosphäre wurde eine Lösung von Donor **92** (299 mg, 541  $\mu\text{mol}$ ) und DMTST (186 mg, 722  $\mu\text{mol}$ ) in abs. DCM (2.5 mL) mit aktiviertem Molekularsiebpulver (4 Å, 200 mg) für 30 Minuten bei  $0\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Anschließend eine Lösung von Akzeptor **116** (300 mg, 361  $\mu\text{mol}$ ) in abs. DCM (750  $\mu\text{L}$ ) zu gegeben. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde für eine Stunde gerührt und anschließend die Reaktion durch Zugabe von Triethylamin abgebrochen. Nach Filtration über Celite wurde das Gemisch mit DCM (20 mL) verdünnt und mit 1 M HCl, gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung sowie mit Wasser gewaschen, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und konzentriert. Das Filtrat wurde bei vermindertem Druck evaporiert und das Rohprodukt für 3 Stunden in wässrigem THF mit einer katalytischen Menge Eisessig gerührt. Anschließend wurde das Rohprodukt nach AAV-1 acetyliert. Die Trennung des Trisaccharids von den Edukten erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel PE/EE (1/1). Das Anomerengemisch **82/85** wurde als farbloser Feststoff erhalten (155 mg, 39%,  $\alpha/\beta$ -Verhältnis: 4.3 : 1, bestimmt durch  $^1\text{H-NMR}$ ). Die Trennung des Anomerengemisches erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Laufmittel PE/EE (3/7). Die Verbindung **82** wurde als farbloser Feststoff erhalten (103 mg).

### Methode D:

Unter Argonatmosphäre wurde eine Lösung von Donor **92** (240 mg, 433  $\mu\text{mol}$ ), 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylpyridin (300 mg, 361  $\mu\text{mol}$ ) in abs. DCM (2 mL) mit aktiviertem Molekularsiebpulver (4 Å, 200 mg) für 30 Minuten bei  $-40\text{ }^\circ\text{C}$  gerührt. Es folgte die Zugabe einer 1 M Lösung von Dimethyldisulfid und  $\text{Tf}_2\text{O}$  in abs. DCM (450  $\mu\text{L}$ , 450  $\mu\text{mol}$ ). Nach

## 7. Experimenteller Teil

weiterem Rühren für 30 Minuten bei - 40 °C wurde eine Lösung von Akzeptor **116** (300 mg, 361  $\mu\text{mol}$ ) in abs. DCM (750  $\mu\text{L}$ ) zugegeben. Nach einer Stunde Reaktionszeit wurde die Reaktion durch Zugabe von Triethylamin abgebrochen. Nach Filtration über Celite wurde das Gemisch mit DCM (20 mL) verdünnt, mit 1 M HCl, gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und konzentriert. Das Rohprodukt wurde für 3 Stunden in wässrigem THF mit einer katalytischen Menge Eisessig gerührt. Anschließend wurde das Rohprodukt nach AAV-1 acetyliert. Die Trennung des Trisaccharids von den Edukten erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel PE/EE (1/1). Das Anomerengemisch **82/85** wurde als farbloser Feststoff erhalten (266 mg, 67%,  $\alpha/\beta$ -Verhältnis: 8.3 : 1, bestimmt durch  $^1\text{H-NMR}$ ). Die Trennung des Anomerengemisches erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Laufmittel PE/EE (3/7). Die Verbindung **82** wurde als farbloser Feststoff erhalten (187 mg).

### Methode E:

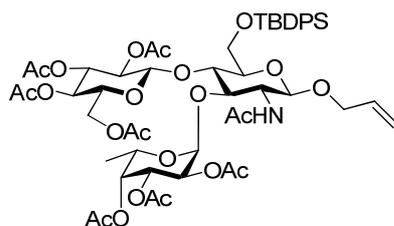
Unter Argonatmosphäre wurde eine Lösung von Donor **92** (240 mg, 433  $\mu\text{mol}$ ) und MeOTf (50  $\mu\text{g}$ , 433  $\mu\text{mol}$ ) in abs. DCM (2.5 mL) mit aktiviertem Molekularsiebpulver (4 Å, 200 mg) für 30 Minuten bei - 40 °C gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von Akzeptor **116** (300 mg, 361  $\mu\text{mol}$ ) in abs. DCM (750  $\mu\text{L}$ ) zugegeben. Es wurde für eine Stunde gerührt und anschließend die Reaktion durch Zugabe von Triethylamin abgebrochen. Das Gemisch wurde mit DCM (20 mL) verdünnt, mit 1 M HCl, gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und konzentriert. Das Rohprodukt wurde für 3 Stunden in wässrigem THF mit einer katalytischen Menge Eisessig gerührt. Anschließend wurde das Rohprodukt nach AAV-1 acetyliert. Die Trennung des Trisaccharids von den Edukten erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel PE/EE (1/1). Das Anomerengemisch **82/85** wurde als farbloser Feststoff erhalten (84 mg, 21%,  $\alpha/\beta$ -Verhältnis: 4.3 : 1, bestimmt durch  $^1\text{H-NMR}$ ).

Charakterisierung für **82**:  $\text{C}_{53}\text{H}_{71}\text{NO}_{22}\text{Si}$  (1102.21 g/mol);  $R_f = 0.45$  (EE); Schmelzpt.: 176 °C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 74.5^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.80\text{-}7.62$  (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.51-7.34 (m, 6H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 5.92-5.82 (m, 1H, H-3<sub>all</sub>), 5.81 (d,  $^3J_{2,\text{HNAc}} = 8.9$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{NAc}}$ ), 5.43 (d,  $^3J_{1',2'} = 3.2$  Hz, 1H, H-1'), 5.32 (d,  $^3J_{3'',4''} = 3.2$  Hz, 1H, H-4''), 5.29-5.20 (m, 1H, H-3a<sub>all</sub>), 5.19-4.99 (m, 5H, H-2', H-4', H-5', H-2'', H-3b<sub>all</sub>), 4.99-4.90 (m,  $^3J_{3'',4''} = 3.2$ ,  $^3J_{2'',3''} = 10.1$  Hz 2H, H-3', H-3''), 4.69 (d,  $^3J_{1'',2''} = 8.1$  Hz, 1H, H-1''), 4.57 (d,  $^3J_{1,2} = 6.2$  Hz, 1H, H-1), 4.34-4.25 (dd,  $^2J_{1\text{aall}} = 11.2$ ,  $^3J_{1\text{all},2\text{all}} = 5.1$  Hz, 1H, H-1a<sub>all</sub>), 4.22-4.16 (m, 2H, H-4, H-6a'), 4.11-4.01 (m, 2H, H-6b'', H-1a<sub>all</sub>), 4.00-3.92 (m, 4H, H-2, H-3, H-6ab), 3.73

## 7. Experimenteller Teil

(dd,  $^3J_{5'',6a''} = 6.4$ ,  $^3J_{5'',6b''} = 6.4$  Hz, 1H, H-5''), 3.33 (ddd,  $^3J_{5,6a} = 6.7$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.7$ ,  $^3J_{4,5} = 10.5$  Hz, 1H, H-5), 2.14 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.11 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.08 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.06 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.03 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.02 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.00 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.87 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.31 (d,  $^3J_{5',6'} = 6.5$  Hz, 3H, H-6'), 1.08 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.4$ -169.4 (CH<sub>3</sub>CO), 136.5 - 134.5 (C<sub>arom</sub>), 133.5 (C-2<sub>all</sub>), 130.5 - 126.9 (C<sub>arom</sub>), 116.8 (C-3<sub>all</sub>), 105.7 (C-1'), 99.7 (C-1''), 99.0 (C-1) 83.6 (C-4), 80.9 (C-4'), 76.8 (C-3'), 75.6 (C-3), 74.9 (C-5), 70.7 (C-3''), 70.6 (C-5''), 70.3 (C-2'), 69.9 (C-1<sub>all</sub>), 69.1 (C-2''), 68.9 (C-5'), 66.5 (C-4''), 61.4 (C-6), 60.8 (C-6''), 52.8 (C-2), 26.7 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 24.0 - 20.3 (CH<sub>3</sub>CO), 19.1 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 15.8 (C-6') ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>SiNa<sup>+</sup>: 1124.4135, gefunden: 1124.4153 [*M*+Na]<sup>+</sup>.

### Allyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-6-*O*-tert-butyl-diphenylsilyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**83**):

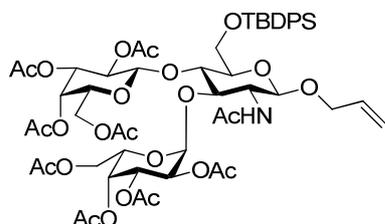


Gemäß der Synthese (Methode D) von Verbindung **82** wurden Donor **92** (318 mg, 578  $\mu$ mol) und Akzeptor **119** (400 mg, 482  $\mu$ mol) mit einer 1 M DCM-Lösung (578  $\mu$ L, 578  $\mu$ mol) von Dimethyldisulfid und Tf<sub>2</sub>O in abs. DCM (8 mL) zur Reaktion gebracht. Das Anomerengemisch wurde als farbloser Feststoff erhalten (335 mg, 63%,  $\alpha/\beta$ -Verhältnis: 9.5 : 1, bestimmt durch <sup>1</sup>H-NMR). Die säulenchromatographische Anomerentrennung lieferte die Verbindung **83** als farblose Feststoff (240 mg, 72%). C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>Si (1102.21 g/mol); *R<sub>f</sub>* = 0.45 (EE); Schmelzpt.: 170 °C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 34.9° (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 7.79$ -7.60 (m, 4H, H<sub>arom</sub>), 7.52-7.34 (m, 6H, H<sub>arom</sub>), 5.88 (ddd,  $^3J_{2,3all} = 5.2$ ,  $^3J_{cis} = 10.7$ ,  $^3J_{trans} = 17.5$  Hz), 5.81 (d,  $^3J_{2,HNAC} = 8.9$  Hz, 1H, H<sub>NAc</sub>), 5.40 (d,  $^3J_{1',2'} = 3.0$  Hz, 1H, H-1'), 5.29-5.20 (m, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.19-4.99 (m, 6H, H-2', H-4', H-5', H-2'', H-4'', H-3<sub>ball</sub>), 4.98-4.90 (m, 2H, H-3', H-3''), 4.62 (d,  $^3J_{1'',2''} = 8.0$  Hz, 1H, H-1''), 4.58 (d,  $^3J_{1,2} = 7.9$  Hz, 1H, H-1), 4.29 (dd,  $^2J_{1aball} = 10.9$ ,  $^3J_{1all,2all} = 5.0$  Hz, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 4.21-4.16 (m, 2H, H-4, H-6a'), 4.11-4.07 (m, 1H, H-1<sub>ball</sub>), 4.00-3.92 (m, 5H, H-2, H-3, H-6ab, H-6b''), 3.53 (ddd,  $^3J_{4,5} = 9.9$ ,  $^3J_{5,6a} = 4.3$ ,  $^3J_{5,6b} = 2.1$  Hz, 1H, H-5), 2.16 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.13 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.08 (s, 3H,

## 7. Experimenteller Teil

H<sub>Ac</sub>), 2.06 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.04 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.01 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.00 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.85 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.32 (d, <sup>3</sup>J<sub>5',6'</sub> = 6.5 Hz, 3H, H-6'), 1.08 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.4-169.4 (CH<sub>3</sub>CO), 136.5 - 134.5 (C<sub>arom</sub>), 133.5 (C-2<sub>all</sub>), 130.5 - 126.9 (C<sub>arom</sub>), 116.8 (C-3<sub>all</sub>), 103.3 (C-1'), 100.4 (C-1) 99.5 (C-1''), 83.6 (C-4), 75.6 (C-3), 75.1 (C-3'), 74.9 (C-5), 70.6 (C-5''), 70.3 (C-2'), 69.9 (C-1<sub>all</sub>), 69.5 (C-3''), 69.1 (C-2''), 68.4 (C-5'), 67.7 (C-4'), 66.5 (C-4''), 61.8 (C-6'), 61.2 (C-6), 51.9 (C-2), 26.9 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 24.0 - 20.3 (CH<sub>3</sub>CO), 19.0 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 15.7 (C-6') ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>SiNa<sup>+</sup>: 1124.4135, gefunden: 1124.4178 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Allyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-tert-butylidiphenylsilyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-α-L-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**84**):

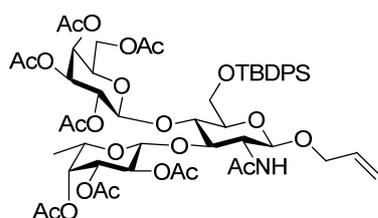


Gemäß der Synthese (Methode D) von Verbindung **82** wurden Donor **93** (735 mg, 1.08 mmol) und Akzeptor **116** (750 mg, 904 μmol) mit einer 1 M DCM-Lösung (1.08 μL, 1.08 mmol) von Dimethyldisulfid und Tf<sub>2</sub>O in abs. DCM (8 mL) zur Reaktion gebracht. Das Anomerengemisch wurde als farbloser Feststoff erhalten (556 mg, 53%, α/β-Verhältnis: 8.7 : 1, bestimmt durch <sup>1</sup>H-NMR). Die säulenchromatographische Anomerentrennung lieferte die Verbindung **84** als farblose Feststoff (491 mg, 88%). C<sub>55</sub>H<sub>73</sub>NO<sub>24</sub>Si (1160.24 g/mol); *R<sub>f</sub>* = 0.36 (EE); Schmelzpt.: 185 °C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 55.8° (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.74-7.67 (m, 4H, H<sub>arom</sub>), 7.48-7.30 (m, 8H, H<sub>arom</sub>), 6.84 (d, <sup>3</sup>J<sub>Ar</sub> = 8.0 Hz, 2H, H-2<sub>arom</sub>), 6.00 (d, <sup>3</sup>J<sub>2,HNAc</sub> = 7.8 Hz, 1H, H<sub>NAc</sub>), 5.97 - 5.79 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>), 5.36 (d, <sup>3</sup>J<sub>3',4'</sub> = 3.0 Hz, 1H, H-4'), 5.34-5.31 (m, 2H, H-4'', H<sub>acetal</sub>), 5.15 (dd, <sup>3</sup>J<sub>1',2'</sub> = 3.6, <sup>3</sup>J<sub>2',3'</sub> = 9.4 Hz, 1H, H-2'), 5.06-4.99 (m, 2H, H-3', H-2''), 4.95 - 4.91 (m, 2H, H-1', H-3''), 4.80 (d, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, 1H, H-1), 4.60 (d, <sup>3</sup>J<sub>1'',2''</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-1''), 4.51 - 4.47 (m, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 4.39-4.16 (m, 4H, H-3, H-6'ab, H-1<sub>abu</sub>), 4.11 - 3.99 (m, 3H, H-4, H-6''ab, H-1<sub>abu</sub>), 3.97-3.89 (m, 3H, H-6ab, H-5'), 3.62 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.8, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 7.2 Hz <sup>3</sup>J<sub>2,HNAc</sub> = 7.8 Hz, 1H, H-2), 3.55 (dd, <sup>3</sup>J<sub>5'',6a''</sub> = 6.6, <sup>3</sup>J<sub>5'',6a''</sub> = 6.9 Hz, 1H, H-5''), 3.39-3.31 (m, 1H H-5), 3.28 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.17 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.16 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.10 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.08 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.06 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.03 (s,

## 7. Experimenteller Teil

3H, H<sub>Ac</sub>), 2.00 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.99 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.95 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.07 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.9-168.5 (CH<sub>3</sub>CO), 136.0 - 127.4 (C<sub>arom</sub>), 114.1 (C-2<sub>bu</sub>), 113.4 (C-3<sub>bu</sub>), 103.0 (C<sub>acetal</sub>), 100.2 (C-1<sup>′</sup>), 98.9 (C-1), 98.7 (C-1<sup>′′</sup>), 75.5 (C-5), 74.3 (C-4), 74.2 (C-3), 71.1 (C-5<sup>′</sup>), 70.7 (C-3<sup>′</sup>), 70.7 (C-5<sup>′′</sup>), 70.4 (C-3<sup>′′</sup>), 69.4 (C-1<sub>all</sub>), 69.1 (C-2<sup>′′</sup>), 69.0 (C-2<sup>′</sup>), 68.8 (C-4<sub>bu</sub>), 68.7 (C-4<sup>′</sup>), 67.9 (C-1<sub>bu</sub>), 67.4 (C-4<sup>′′</sup>), 62.5 (C-6), 61.3 (C-6<sup>′</sup>), 60.9 (C-6<sup>′′</sup>), 54.9 (C-2), 52.5 (OCH<sub>3</sub>), 26.6 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 23.1 – 20.1 (CH<sub>3</sub>CO), 19.1 (SiC(CH<sub>3</sub>)) ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C<sub>55</sub>H<sub>73</sub>NO<sub>24</sub>SiNa<sup>+</sup>: 1182.4189, gefunden: 1124.4213 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Allyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-tert-butyl-diphenylsilyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-β-L-fucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**85**):

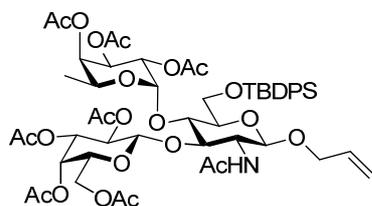


Die Verbindung **85** wurde als Nebenprodukt der Glycosylierungen zu Verbindung **82** erhalten (233 mg, 45%). C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>Si (1102.21 g/mol); *R<sub>f</sub>* = 0.42 (EE); Schmelzpt.: 170 °C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +10.5° (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.81-7.59 (m, 4H, H<sub>arom</sub>), 7.51-7.29 (m, 6H, H<sub>arom</sub>), 6.12 (s, 1H, H<sub>NAc</sub>), 5.97-5.79 (m, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.33 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>3<sup>′′</sup>,4<sup>′′</sup></sub> = 3.1 Hz, 1H, H-4<sup>′′</sup>), 5.29-5.24 (m, 1H, H-3a<sub>all</sub>), 5.20 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>3<sup>′</sup>,4<sup>′</sup></sub> = 3.2 Hz, 1H, H-4<sup>′</sup>), 5.17-5.08 (m, 2H, H-2<sup>′</sup>, H-2b<sub>all</sub>), 5.03 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>1<sup>′′</sup>,2<sup>′′</sup></sub> = 7.9, <sup>3</sup>*J*<sub>2<sup>′′</sup>,3<sup>′′</sup></sub> = 10.5 Hz, 1H, H-2<sup>′′</sup>), 4.99 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>3<sup>′</sup>,4<sup>′</sup></sub> = 3.2, <sup>3</sup>*J*<sub>2<sup>′</sup>,3<sup>′</sup></sub> = 10.5, 3.44 Hz, 1H, H-3<sup>′</sup>), 4.95 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1<sup>′</sup>,2<sup>′</sup></sub> = 8.1 Hz, 1H, H-1<sup>′</sup>), 4.91 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>3<sup>′′</sup>,4<sup>′′</sup></sub> = 3.1, <sup>3</sup>*J*<sub>2<sup>′′</sup>,3<sup>′′</sup></sub> = 10.5 Hz, 1H, H-3<sup>′′</sup>), 4.83 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 6.6 Hz, 1H, H-1), 4.59 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1<sup>′</sup>,2<sup>′</sup></sub> = 7.9 Hz, 1H, H-1<sup>′</sup>), 4.34-4.22 (m, 2H, H-3, H-1a<sub>all</sub>), 4.13-4.08 (m, 2H, H-6<sup>′</sup>), 4.06-4.00 (m, 2H, H-4, H-1b<sub>all</sub>), 3.94-3.89 (m, 2H, H-6), 3.82 (q, <sup>3</sup>*J*<sub>5<sup>′</sup>,6<sup>′</sup></sub> = 6.1 Hz, 1H, H-5<sup>′</sup>), 3.64 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 6.6, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 6.6 Hz, 1H, H-2), 3.57 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>5<sup>′′</sup>,6a<sup>′′</sup></sub> = 6.7, <sup>3</sup>*J*<sub>5<sup>′′</sup>,6a<sup>′′</sup></sub> = 6.7 Hz, 1H, H-5<sup>′′</sup>), 3.40-3.28 (m, 1H, H-5), 2.17 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.16 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.04 (s, 6H, 2 x H<sub>Ac</sub>), 2.03 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.00 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.96 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.91 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.22 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>5<sup>′</sup>,6<sup>′</sup></sub> = 6.1 Hz, 3H, H-6<sup>′</sup>), 1.08 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.4-169.4 (CH<sub>3</sub>CO), 136.5 - 134.5 (C<sub>arom</sub>), 133.8 (C-2<sub>all</sub>), 130.3 - 126.9 (C<sub>arom</sub>), 116.8 (C-3<sub>all</sub>), 99.4 (C-1<sup>′</sup>), 98.8 (C-1<sup>′′</sup>), 98.6 (C-

## 7. Experimenteller Teil

1), 75.3 (C-5), 74.6 (C-3), 74.1 (C-4), 71.2 (C-3'), 70.7 (C-5''), 70.4 (C-4'), 70.3 (C-3''), 69.2 (C-5'), 69.1 (C-2'), 68.9 (C-2''), 68.8 (C-1<sub>all</sub>), 66.5 (C-4''), 62.6 (C-6), 60.5 (C-6''), 54.4 (C-2), 29.4 (C-6'), 26.8 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 23.4 – 20.1 (CH<sub>3</sub>CO), 19.2 (SiC(CH<sub>3</sub>)) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>SiNa<sup>+</sup>: 1124.4135, gefunden: 1124.4146 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Allyl-2-acetamido-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-6-O-tert-butylidiphenylsilyl-2-deoxy-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-α-L-fucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**86**):

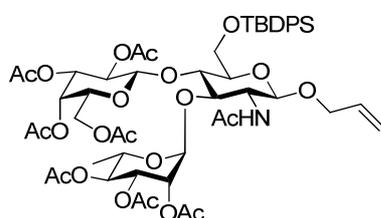


Gemäß der Synthese (Methode D) von Verbindung **82** wurden Donor **92** (238 mg, 433 μmol) und Akzeptor **117** (300 mg, 361 μmol) mit einer 1 M DCM-Lösung (433 μL, 433 μmol) von Dimethyldisulfid und Tf<sub>2</sub>O in abs. DCM (2.5 mL) zur Reaktion gebracht. Das Anomerengemisch wurde als farbloser Feststoff erhalten (234 mg, 59%, α/β-Verhältnis: 7.8 : 1, bestimmt durch <sup>1</sup>H-NMR). Die säulenchromatographische Anomerentrennung lieferte die Verbindung **86** als farblose Feststoff (201 mg, 86%). C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>Si (1102.21 g/mol);  $R_f$  = 0.43 (EE); Schmelzpt.: 162 °C;  $[\alpha]_D^{20}$  = - 5.4° ( $c$  = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 7.79-7.60 (m, 4H, H<sub>arom</sub>), 7.51-7.33 (m, 6H, H<sub>arom</sub>), 5.92-5.82 (m, 1H, H-1<sub>all</sub>), 5.75 (d, <sup>3</sup> $J_{2, \text{HNac}}$  = 8.6 Hz, 1H, H<sub>NAc</sub>), 5.37 (d, <sup>3</sup> $J_{3'',4''}$  = 3.4 Hz, 1H, H-4''), 5.31 (d, <sup>3</sup> $J_{3',4'}$  = 3.3 Hz, 1H, H-4'), 5.29-5.20 (m, 3H, H-1'', H-3'', H-3a<sub>all</sub>), 5.10 (d, <sup>3</sup> $J_{1,2}$  = 8.0 Hz, 1H, H-1), 4.97 (m, 2H, H-5'', H-3b<sub>all</sub>), 4.95 (dd, <sup>3</sup> $J_{1',2'}$  = 8.1, <sup>3</sup> $J_{2',3'}$  = 10.4 Hz, 1H, H-2'), 4.91 (dd, <sup>3</sup> $J_{1'',2''}$  = 3.8, <sup>3</sup> $J_{2'',3''}$  = 10.4 Hz, 1H, H-2''), 4.76 (dd, <sup>3</sup> $J_{3,4}$  = 9.4, <sup>3</sup> $J_{2,3}$  = 10.0 Hz, 1H, H-3), 4.71 (dd, <sup>3</sup> $J_{3',4'}$  = 3.3, <sup>3</sup> $J_{2',3'}$  = 10.4 Hz, 1H, H-3'), 4.49 (d, <sup>3</sup> $J_{1',2'}$  = 8.1, 1H, H-1') 4.40 (dd, <sup>2</sup> $J_{6',6a'}$  = 11.6, <sup>3</sup> $J_{5',6a'}$  = 6.5 Hz, 1H, H-6a'), 4.34 (dd, <sup>2</sup> $J_{6',6a'}$  = 11.6, <sup>3</sup> $J_{5',6b'}$  = 6.7 Hz, 1H, H-6b'), 4.30 (dd, <sup>2</sup> $J_{1a_{all}}$  = 11.3, <sup>3</sup> $J_{1a_{all},2a_{all}}$  = 5.0 Hz, 1H, H-1a<sub>all</sub>), 4.09 (ddd, <sup>3</sup> $J_{1,2}$  = 8.0, <sup>3</sup> $J_{2, \text{HNac}}$  = 8.6, <sup>3</sup> $J_{2,3}$  = 10.0 Hz 1H, H-2), 4.05 (dd, <sup>2</sup> $J_{1a_{all}}$  = 11.3, <sup>3</sup> $J_{1a_{all},2a_{all}}$  = 5.1 Hz, 1H, H-1b<sub>all</sub>) 4.00 (dd, <sup>3</sup> $J_{3,4}$  = 9.4, <sup>3</sup> $J_{4,5}$  = 9.4 Hz, 1H, H-4), 3.92 (dd, <sup>2</sup> $J_{6ab}$  = 11.8, <sup>3</sup> $J_{5,6a}$  = 2.9 Hz, 1H, H-6a), 3.65 - 3.60 (m, 2H, H-6b, H-5'), 3.56- 3.50 (m, 1H, H-5), 2.13 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.10 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.07 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.05 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.03 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.01 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.99 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.87 (s,

## 7. Experimenteller Teil

3H, H<sub>Ac</sub>), 1.21 (d,  $^3J_{5'',6''} = 6.5$  Hz, 3H, H-6''), 1.08 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 171.5 - 169.4$  (CH<sub>3</sub>CO), 136.2 - 134.5 (C<sub>arom</sub>), 133.1 (C-2<sub>all</sub>), 130.5 - 126.9 (C<sub>arom</sub>), 116.8 (C-3<sub>all</sub>), 100.5 (C-1'), 97.1 (C-1'), 95.9 (C-1), 75.6 (C-4), 74.0 (C-5) 73.5 (C-3), 72.8 (C-3''), 72.2 (C-4'), 71.2 (C-5'), 70.9 (C-2''), 69.9 (C-1<sub>all</sub>), 68.6 (C-5''), 67.4 (C-2'), 66.7 (C-3'), 64.3 (C-4'), 62.3 (C-6), 60.9 (C-6'), 59.2 (C-2), 26.7 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 24.0 - 20.3 (CH<sub>3</sub>CO), 19.1 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 15.8 (C-6'') ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>SiNa<sup>+</sup>: 1124.4135, gefunden: 1124.4146 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Allyl-2-acetamido-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-3-O-(2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (**87**):

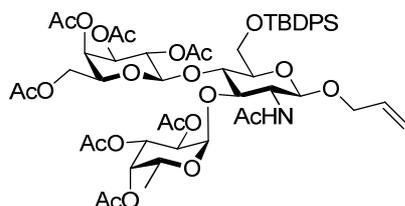


Gemäß der Synthese (Methode B) von Verbindung **116** wurden Trichloracetimidat **94** (315 mg, 722  $\mu$ mol) und Akzeptor **116** (500 mg, 602  $\mu$ mol) mit Trimethylsilyltriflat (11  $\mu$ L, 13 mg, 60  $\mu$ mol) in absolutem DCM (5 mL) zur Reaktion gebracht. Das Produkt **87** wurde als farbloser Feststoff erhalten (278 mg, 42%). C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>Si (1102.21 g/mol); *R<sub>f</sub>* = 0.39 (EE); Schmelzpt.: 163 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -13.6^\circ$  (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 7.75-7.69$  (m, 4H, H<sub>arom</sub>), 7.47-7.34 (m, 6H, H<sub>arom</sub>), 6.20 (s, 1H, H<sub>NHAc</sub>), 5.86 (ddd,  $^3J_{1,2all} = 5.6$ ,  $^3J_{cis} = 10.7$ ,  $^3J_{trans} = 22.2$  Hz, 1H, H-2<sub>allyl</sub>), 5.32 (d,  $^3J_{3'',4''} = 3.5$  Hz, 1H, H-4''), 5.27-5.19 (m, 3H, H-2', H-3', H-3a<sub>allyl</sub>), 5.15 (dd,  $^4J_{1,3ball} = 0.8$ ,  $^3J_{cis} = 10.7$  Hz, 1H, H-3b<sub>allyl</sub>), 5.11-5.04 (m, 2H, H-4' H-2''), 4.94 (dd,  $^3J_{3'',4''} = 3.5$ ,  $^3J_{2'',3''} = 10.5$  Hz, 1H, H-3''), 4.92 (ps, 1H, H-1'), 4.84 (d,  $^3J_{1,2} = 6.2$  Hz, 1H, H-1), 4.76 (d,  $^3J_{1,2} = 8.1$  Hz, 1H, H-1'), 4.48 (qd,  $^3J_{5',6'} = 6.1$ ,  $^3J_{4',5'} = 9.9$  Hz, 1H, H-5'), 4.31-4.20 (m, 3H, H-3, H-6a, H-1a<sub>all</sub>), 4.13-4.07 (dd,  $^2J_{6ab} = 11.6$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.8$  Hz, 1H, H-6b), 4.06-3.94 (m, 4H, H-4, H-6''ab, H-1b<sub>all</sub>), 3.75 (dd,  $^3J_{5,6a} = 6.8$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.8$  Hz, 1H, H-5), 3.53-3.42 (m, 1H, H-2), 3.33-3.25 (m, 1H, H-5'), 2.12 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.09 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.02 (s, 6H, 2 x H<sub>Ac</sub>), 1.97 (s, 9H, 3 x H<sub>Ac</sub>), 1.87 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.25 (d,  $^3J_{5',6'} = 6.1$  Hz, 3H, H-6'), 1.10 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 172.1-168.8$  (CH<sub>3</sub>CO), 136.8-134.3 (C<sub>arom</sub>), 133.8 (C-2<sub>all</sub>), 130.6-127.4 (C<sub>arom</sub>), 117.3 (C-3<sub>all</sub>), 99.4 (C-1'), 97.6 (C-1), 97.4 (C-1'), 75.5 (C-3), 74.7 (C-5), 74.0 (C-4), 71.2 (C-4), 71.1 (C-4'),

## 7. Experimenteller Teil

70.7 (C-5''), 70.6 (C-3''), 70.1 (C-3'), 69.3 (C-1<sub>all</sub>), 68.9 (C-2'), 68.7 (C-2''), 67.0 (C-4'), 66.3 (C-5'), 62.1 (C-6''), 60.8 (C-6), 55.7, (C-2), 29.6 (C-6'), 27.1 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 23.7-19.9 (CH<sub>3</sub>CO), 19.3 (SiC(CH<sub>3</sub>)) ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>SiNa<sup>+</sup>: 1124.4135, gefunden: 1124.4209 [*M*+Na]<sup>+</sup>.

### Allyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-L-galactopyranosyl)-6-*O*-tert-butyl-diphenylsilyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-α-D-fucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**88**):

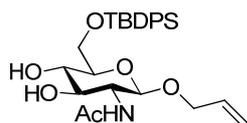


Gemäß der Synthese (Methode D) von Verbindung **82** wurden Donor **96** (358 mg, 650 μmol) und Akzeptor **121** (450 mg, 542 μmol) mit einer 1 M DCM-Lösung (650 μL, 650 μmol) von Dimethyldisulfid und Tf<sub>2</sub>O in abs. DCM (3.5 mL) zur Reaktion gebracht. Das Anomerengemisch wurde als farbloser Feststoff erhalten (352 mg, 59%, α/β-Verhältnis: 6.9:1, bestimmt durch <sup>1</sup>H-NMR). Die säulenchromatographische Anomerentrennung lieferte die Verbindung **88** als farblose Feststoff (265 mg, 75%). C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>Si (1102.21 g/mol); *R*<sub>f</sub> = 0.39 (EE); Schmelzp.: 166 °C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 30.4° (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.78-7.66 (m, 4 H, H<sub>arom</sub>), 7.45-7.32 (m, 6 H, H<sub>arom</sub>), 5.90 (dddd, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2all</sub> = 5.0, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2all</sub> = 5.6, <sup>3</sup>*J*<sub>all-cis</sub> = 11.1, <sup>3</sup>*J*<sub>all-trans</sub> = 17.6 Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.75 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>NH,2</sub> = 8.1 Hz, 1H, NHAc), 5.40 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1',2'</sub> = 3.0 Hz, 1H, H-1') 5.35 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>3',4'</sub> = 3.3 Hz, 1H, H-4'), 5.22-4.99 (m, 6H, H-2', H-4', H-5', H-2'', H-3a<sub>all</sub>, H-3b<sub>all</sub>), 4.95 - 4.88 (m, 2H, H-3', H-3''), 4.80 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, 1 H, H-1), 4.75 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1'',2''</sub> = 7.8 Hz, 1 H, H-1''), 4.31 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>1a,ball</sub> = 12.9, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2all</sub> = 5.1 Hz, 1H, H-1a<sub>all</sub>), 4.17-4.10 (m, 2H, H-6''a,b), 4.09-3.98 (m, 2H, H-4, H-1b<sub>all</sub>), 3.96-3.78 (m, 4H, H-3, H-6ab, H-5'), 3.54 (ddd, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 7.8, <sup>3</sup>*J*<sub>2,NH</sub> = 8.1, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 9.9 Hz, 1H, H-2), 3.43 (ddd, <sup>3</sup>*J*<sub>4,5</sub> = 9.9, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6a</sub> = 5.3, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 6.2 Hz, 1H, H-5), 2.16 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.15 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.10 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.08 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.06 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.03 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.99 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.72 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.28 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>5',6'</sub> = 6.5 Hz, 3H, H-6'), 1.07 (s, 9 H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.4 - 169.4 (CH<sub>3</sub>CO), 136.6 - 134.8 (C<sub>arom</sub>), 134.2 (C-2<sub>all</sub>), 130.4 - 127.0 (C<sub>arom</sub>), 117.2 (C-3<sub>all</sub>), 104.6 (C-1'), 101.8 (C-1''), 100.1 (C-1), 81.0 (C-4'),

## 7. Experimenteller Teil

79.7 (C-4), 76.8 (C-3'), 76.3 (C-3), 75.7 (C-5), 72.6 (C-3'), 72.2 (C-5'), 71.4 (C-2'), 70.3 (C-2'), 69.9 (C-1<sub>all</sub>), 69.3 (C-4'), 68.8 (C-5') 61.9 (C-6), 61.2 (C-6'), 55.9 (C-2), 26.6 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 24.0 – 20.3 (CH<sub>3</sub>CO), 19.2 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 15.8 (C-6') ppm; HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C<sub>53</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>22</sub>SiNa<sup>+</sup>: 1124.4135, gefunden: 1124.4118 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Allyl-2-acetamido-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy-β-D-glucopyranosid (**89**):

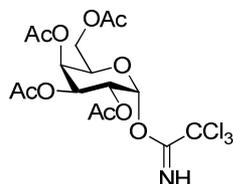


Allylglycosid **28β** (6.78 g, 17.5 mmol) wurde in einer methanolischen Natriummethanolat-Lösung gelöst (60 mL, 0.1 M) und für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsansatz wurde mit Amberlite IR 120 (H<sup>+</sup>) neutralisiert. Nach Filtration und Evaporierung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt direkt in der folgenden Reaktion verwendet. Dazu wurde zu einer Lösung aus Verbindung (4.12 g, 17.5 mmol) und einer katalytischen Menge DMAP in abs. Pyridin / DCM (50 mL; 1 / 1) TBDPSCl (5.85 mL, 22.8 mmol) bei 0 °C gegeben und der Reaktionsansatz nach Erwärmen auf Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach DC-Kontrolle (DCM/MeOH, 5:1) wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt in DCM (100 mL) aufgenommen und mit 1 M HCl (2 × 100 mL), ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (100 mL) sowie ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Nach Evaporation des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM/MeOH (9/1) gereinigt. Die Verbindung **89** wurde als farbloser Sirup erhalten (6.64 g, 80%). *R<sub>f</sub>* = 0.75 (DCM/MeOH 5:1); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 43.5° (*c* = 1.0 in CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.74-7.62 (m, 4H, H<sub>arom</sub>), 7.42-7.31 (m, 6H, H<sub>arom</sub>), 6.46 (s, 1H, H<sub>NAC</sub>), 5.89 (m, 1H, H-2<sub>allyl</sub>), 5.28-5.11 (m, 2H, H-3<sub>a,b</sub><sub>allyl</sub>), 4.49 (d, <sup>3</sup>*J*<sub>1,2</sub> = 8.1 Hz, 1H, H-1), 4.32 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>1ab</sub> = 12.8, <sup>3</sup>*J*<sub>1a,2all</sub> = 4.8 Hz, 1H, H-1<sub>a</sub><sub>allyl</sub>), 4.05 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>1ab</sub> = 12.8, <sup>3</sup>*J*<sub>1b,2all</sub> = 6.2 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub><sub>allyl</sub>), 4.01-3.92 (m, 1H, H-6a), 3.88 (dd, <sup>2</sup>*J*<sub>6ab</sub> = 10.8, <sup>3</sup>*J*<sub>5,6b</sub> = 5.3 Hz, 1H, H-6b), 3.72 (dd, <sup>3</sup>*J*<sub>2,3</sub> = 9.2, <sup>3</sup>*J*<sub>3,4</sub> = 9.2 Hz, 1H, H-3), 3.61-3.49 (m, 2H, H-2, H-4), 3.47-3.37 (m, 1H, H-5), 2.05 (s, 3H, NHCH<sub>3</sub>), 1.03 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 172.8 (CH<sub>3</sub>CON), 135.6 (C<sub>arom</sub>), 133.6 (C<sub>arom</sub>), 133.2 (C-3<sub>all</sub>), 129.8 (C<sub>arom</sub>), 129.5 (C<sub>arom</sub>), 127.7 (C<sub>arom</sub>), 127.5 (C<sub>arom</sub>), 117.8 (C-2<sub>all</sub>), 99.2 (C-1), 75.8 (C-5), 71.9 (C-3), 71.8 (C-4), 71.7 (C-1<sub>all</sub>), 64.0 (C-6), 57.8 (C-2), 26.7 ((CH<sub>3</sub>)CSi), 23.4 (CH<sub>3</sub>CON), 19.2 ((CH<sub>3</sub>)CSi) ppm; MALDI-TOF: *m/z* berechnet für

## 7. Experimenteller Teil

$C_{27}H_{37}NO_6Si$ : 499.24, gefunden: 522.26  $[M+Na]^+$ . Optische Rotation und NMR-Daten entsprechen den Literaturwerten.<sup>[228]</sup>

### 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl-trichloracetimidat (**90**):

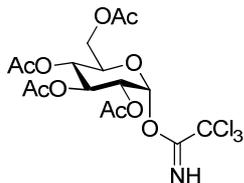


Die Synthese der 1-OH freien Verbindung wurde nach AAV-3 Teil 1) mit Verbindung **33** (5.00g, 13.0 mmol) und Benzylamin (2.10 mL, 19.0 mmol) THF (20 mL) durchgeführt. Chromatographie: Kieselgel mit PE/EE (1:1) Die Verbindung **98** wurde als farbloser Sirup erhalten (2.70 g, 60%,  $\alpha/\beta$ -Verhältnis 1:1).  $R_f = : 0.37$  (PE/EE 1:2); die NMR-Daten entsprechen den Literaturwerten.<sup>[94]</sup>

Die Synthese des Trichloracetimidats wurde nach AAV-3 Teil 2) mit Verbindung **98** (2.70 g, 7.70 mmol), Trichloracetonitril (23 mL, 0.23 mol) und einer katalytischen Menge DBU in abs. Dichlormethan (100 mL) durchgeführt. Die Verbindung **90** wurde als farbloser Sirup erhalten (2.50 g, 66%).  $R_f = : 0.57$  (PE/EE 2:1),  $[\alpha]_D^{20} = + 116.0^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 8.69$  (s, 1H,  $H_{imidat}$ ), 6.62 (d,  $^3J_{1,2} = 3.4$  Hz, 1H, H-1), 5.58 (dd,  $^3J_{4,5} = 0.5$ ,  $^3J_{3,4} = 2.9$  Hz, 1H, H-4), 5.45 (dd,  $^3J_{3,4} = 2.9$ ,  $^3J_{2,3} = 10.9$  Hz, 1H, H-3), 5.38 (dd,  $^3J_{1,2} = 3.4$ ,  $^3J_{2,3} = 10.9$  Hz, 1H, H-2), 4.46 (dd,  $^3J_{5,6a} = 6.6$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.6$  Hz, 1H, H-5), 4.19 (dd,  $^3J_{6ab} = 11.3$ ,  $^3J_{5,6a} = 6.6$  Hz, 1H, H-6a), 4.11 (dd,  $^3J_{6ab} = 11.3$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.6$  Hz, 1H, 6b), 2.19 (s, 1H,  $H_{Ac}$ ), 2.05 (s, 1H,  $H_{Ac}$ ), 2.04 (s, 1H,  $H_{Ac}$ ), 2.04 (s, 1H,  $H_{Ac}$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 170.8$  ( $CH_3CO$ ), 170.4 ( $CH_3CO$ ), 170.0 ( $CH_3CO$ ), 169.5 ( $CH_3CO$ ), 163.7 ( $CCl_3CNH$ ), 91.9 (C-1), 70.3 (C-5), 68.7 (C-4), 67.5 (C-3), 65.9 (C-2), 61.3 (C-6), 20.9 ( $CH_3CO$ ), 20.7 ( $CH_3CO$ ), 20.6 ( $CH_3CO$ ), 20.5 ( $CH_3CO$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $C_{16}H_{20}Cl_3NO_{10}$ : 491.02, gefunden: 514.1  $[M+Na]^+$ .

## 7. Experimenteller Teil

### 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-trichloracetimidat (**91**):



Die Synthese der 1-OH freien Verbindung wurde nach AAV-3 Teil 1) mit Verbindung **29** (5.00g, 13.0 mmol) und Benzylamin (2.10 mL, 19.0 mmol) THF (20 mL) durchgeführt. Chromatographie: Kieselgel mit PE/EE (1:1) Die Verbindung **99** wurde als farbloser Sirup erhalten (4.20 g, 93%,  $\alpha/\beta$ -Verhältnis 1:1).  $R_f = 0.28$  (PE/EE 1:1); die NMR-Daten entsprechen den Literaturwerten.<sup>[216]</sup>

Die Synthese des Trichloracetimidates wurde nach AAV-3 Teil 2) mit Verbindung **99** (2.00 g, 6.00 mmol), Trichloracetonitril (11.6 mL, 46.0 mol) und einer katalytischen Menge DBU in abs. Dichlormethan (100 mL) durchgeführt. Die Verbindung **91** wurde als farbloser Sirup erhalten (2.56 g, 87%).  $R_f = 0.53$  (PE/EE 2:1),  $[\alpha]_D^{20} = +119^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 8.69$  (s, 1H,  $\text{H}_{\text{Imidat}}$ ), 6.55 (d,  $^3J_{1,2} = 3.7$  Hz, 1H, H-1), 5.56 (dd,  $^3J_{3,4} = 9.8$ ,  $^3J_{2,3} = 10.2$  Hz, H-3), 5.18 (dd,  $^3J_{3,4} = 9.8$ ,  $^3J_{4,5} = 10.3$  Hz, H-4), 5.13 (dd,  $^3J_{1,2} = 3.7$ ,  $^3J_{2,3} = 10.2$  Hz, 1H, H-2), 4.27 (dd,  $^3J_{6ab} = 12.4$ ,  $^3J_{5,6a} = 4.2$  Hz, 1H, H-6a), 4.21 (ddd,  $^3J_{5,6b} = 2.1$ ,  $^3J_{5,6a} = 4.2$  Hz,  $^3J_{4,5} = 10.3$ , 1H, H-5), 4.13 (dd,  $^3J_{6ab} = 12.4$ ,  $^3J_{5,6b} = 2.1$  Hz, 1H, 6b), 2.07 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 2.04 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 2.03 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 2.01 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.5$  ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 170.0 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 169.8 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 169.4 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 160.7 ( $\text{CCl}_3\text{CNH}$ ), 92.8 (C-1), 69.9 (C-5), 69.8 (C-3), 69.7 (C-2), 67.6 (C-4), 61.3 (C-6), 20.85-20.26 (4 x  $\text{CH}_3\text{CO}$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{Cl}_3\text{NO}_{10}$ : 491.02, gefunden: 514.3  $[M+\text{Na}]^+$ .

### Thioethyl-2,3,4-tri-*O*-triethylsilyl- $\beta$ -L-fucopyranosid (**92**):



Zu einer Lösung aus Verbindung **102** (1.15 g, 5.52 mmol) und einer katalytischen Menge DMAP in trockenem Pyridin (15 mL) wurde TESCl (5.85 mL, 33.1 mmol) bei 0 °C gegeben und der Reaktionsansatz nach Erwärmen auf Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach DC-

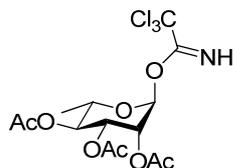
## 7. Experimenteller Teil

Kontrolle (Petrolether/Ethylacetat, 3:1) wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt wurde in DCM (100 mL) aufgenommen und mit 1 M HCl (2 × 100 mL), ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (100 mL) sowie ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Nach Evaporation des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel Petrolether/Ethylacetat (4 : 1) gereinigt. Die Verbindung **92** wurde als farbloser Sirup erhalten (2.55 g, 84%).  $R_f = 0.47$  (PE/EE 3:1),  $[\alpha]_D^{20} = -28.3^\circ$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 4.18$  (d, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.8$  Hz, 1H, H-1), 3.81 (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.8$ , <sup>3</sup> $J_{2,3} = 8.7$  Hz, 1H, H-2), 3.64 (d, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 2.2$  Hz, 1H, H-4), 3.51 (q, <sup>3</sup> $J_{5,6} = 6.3$  Hz, 1H, H-5), 3.45 (dd, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 2.2$ , <sup>3</sup> $J_{2,3} = 8.7$  Hz, 1H, H-3), 2.77-2.56 (m, 2H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.26 (t, <sup>3</sup> $J_{SEt} = 7.4$  Hz, 3H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.20 (d, <sup>3</sup> $J_{5,6} = 6.3$  Hz, 3H, H-6), 1.06-0.90 (m, 27H, SiCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.81-0.56 (m, 18H, SiCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 86.5$  (C-1), 78.0 (C-3), 74.8 (C-4), 74.6 (C-5), 71.2 (C-2), 24.4 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 17.5 (C-5), 14.8 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 7.3-6.8 (SiCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.9-4.6 (SiCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>58</sub>SSi<sub>3</sub>O<sub>4</sub>: 550.34, gefunden: 573.7 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Thioethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-triethylsilyl- $\beta$ -L-galactopyranosid (**93**):

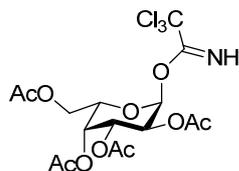


Gemäß der Synthese von Verbindung **92** wurde das Thioglycosid **106** (1.15 g, 5.13 mmol) mit TESCOl (6.00 mL, 34.0 mmol) und einer katalytischen Menge DMAP in absolutem Pyridin (15 mL) zur Reaktion gebracht. Das Produkt **93** wurde als farbloses Öl erhalten (2.76 g, 79%, nur  $\beta$ ).  $R_f = 0.43$  (PE/EE 3:1),  $[\alpha]_D^{20} = +8.2^\circ$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 4.23$  (d, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.2$  Hz, 1H, H-1), 3.86 (dd, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.2$ , <sup>3</sup> $J_{2,3} = 8.8$  Hz, 1H, H-2), 3.64 (d, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 2.9$  Hz, 1H, H-4), 3.51 (ddd, <sup>3</sup> $J_{4,5} = 0.9$  Hz, <sup>3</sup> $J_{5,6} = 5.9$  Hz, 1H, H-5), 3.48 (m, 2H, H-6ab), 3.45 (dd, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 2.2$ , <sup>3</sup> $J_{2,3} = 8.7$  Hz, 1H, H-3), 2.77-2.56 (m, 2H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.26 (t, <sup>3</sup> $J_{SEt} = 7.4$  Hz, 3H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.10-0.85 (m, 36H, SiCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0.82-0.51 (m, 24H, SiCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 86.5$  (C-1), 78.0 (C-3), 74.8 (C-4), 74.6 (C-5), 71.2 (C-2), 24.4 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 17.5 (C-5), 14.8 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 7.3-6.8 (SiCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 5.9-4.6 (SiCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) ppm; HRMS (ES):  $m/z$  berechnet für C<sub>32</sub>H<sub>72</sub>O<sub>5</sub>SSi<sub>4</sub>: 703.4070 [M+Na] gefunden: 703.4222 [M+Na].

**2,3,4-Tri-O-acetyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-trichloracetimidat (94):**

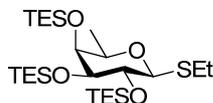
Die Synthese der 1-OH freien Verbindung wurde nach AAV-3 Teil 1) mit Verbindung **108** (4.00 g, 12.0 mmol) und Benzylamin (2.61 mL, 24.0 mmol) in THF (20 mL) durchgeführt. Chromatographie: Kieselgel mit PE/EE (1:1) Das Anomerengemisch **109** wurde als farbloser Feststoff erhalten (2.72 g, 78%).  $R_f = 0.30$  (PE/EE 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.37$  (dd,  $^3J_{2,3} = 3.4$ ,  $^3J_{3,4} = 10.1$  Hz, 1H, H-3), 5.25 (dd,  $^3J_{1,2} = 1.7$ ,  $^3J_{2,3} = 3.4$  Hz, 1H, H-2) 5.13 (d,  $^3J_{1,2} = 1.7$  Hz, 1H, H-1), 5.06 (dd,  $^3J_{4,5} = 9.9$ ,  $^3J_{3,4} = 10.1$  Hz, 1H, H-4), 4.12 (dq,  $^3J_{5,6} = 6.3$ ,  $^3J_{4,5} = 9.9$  Hz, 1H, H-5), 2.13 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 1.97 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 1.19 (d,  $^3J_{5,6} = 6.3$  Hz, 3H, H-6) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.2$  ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 170.1 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 170.0 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 91.9 (C-1), 71.2 (C-4), 70.4 (C-2), 68.9 (C-3), 66.1 (C-5), 20.8 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.7 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 20.6 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 17.4 (C-6) ppm.

Die Synthese des Trichloracetimidats wurde nach AAV-3 Teil 2) mit Verbindung **109** (2.50 g, 8.62 mmol), Trichloracetonitril (8.55 mL, 85.0 mmol) und einer katalytische Menge DBU in abs. Dichlormethan (50 mL) durchgeführt. Die Verbindung **94** wurde als farbloser Feststoff erhalten (3.18 g, 85%).  $R_f = 0.47$  (PE/EE 3:1),  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -10.2^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 8.73$  (s, 1H,  $\text{H}_{\text{Imidat}}$ ), 6.18 (d,  $^3J_{1,2} = 1.8$  Hz, 1H, H-1), 5.44 (dd,  $^3J_{1,2} = 1.8$ ,  $^3J_{2,3} = 3.4$  Hz, 1H, H-2), 5.34 (dd,  $^3J_{2,3} = 3.4$ ,  $^3J_{3,4} = 10.2$  Hz, 1H, H-3), 5.16 (dd,  $^3J_{4,5} = 9.9$ ,  $^3J_{3,4} = 10.2$  Hz, 1H), 4.08 (qd,  $^3J_{5,6} = 6.2$ ,  $^3J_{4,5} = 9.9$  Hz, 1H, H-5), 2.18 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 2.06 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 1.99 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 1.26 (d,  $^3J_{5,6} = 6.2$  Hz, 1H, H-6) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.4$ -169.4 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 163.8 ( $\text{CCl}_3\text{CNH}$ ), 94.6 (C-1), 71.8 (C-3), 69.3 (C-4), 68.7 (C-2), 68.0 (C-5), 21.2-20.2 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 17.4 (C-6) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{Cl}_3\text{NO}_8$ : 433.01, gefunden: 456.1  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-galactopyranosyl-trichloracetimidat (95):**

Die Verbindung **105** (1.50 g, 3.82 mmol) wurde in einer Mischung aus THF/Wasser (9:1, 50 mL) gelöst und im Eisbad gekühlt. Es wurden nacheinander NIS (1.03 g, 4.58 mmol) und TfOH (43  $\mu$ L, 382  $\mu$ mol) zugeben. Nach 30 Minuten Reaktionszeit wurde das Eisbad entfernt. Die vollständige Umsetzung wurde nach weiteren 1.5 Stunden Reaktionszeit durch DC-Kontrolle (PE/EE, 1:1) detektiert. Das Reaktionsgemisch wurde durch Zugabe von  $\text{Na}_2\text{HCO}_3$  (500 mg) neutralisiert und mit DCM (150 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser (100 mL) und ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Das Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt **107** ohne weitere Reinigung in der Trichloracetimidat-Synthese eingesetzt.

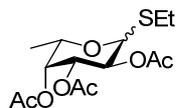
Die Synthese des Trichloracetimidates wurde nach AAV-3 Teil 2) mit Verbindung **107** (1.33 g, 3.82 mmol), Trichloracetonitril 5.00 mL (26.2 g, 5.01 mmol) und einer katalytischen Menge DBU (ca. 0.4  $\mu$ g) abs. Dichlormethan (25 mL) durchgeführt. Das Trichloracetimidat **95** wurde als farbloser Feststoff erhalten (1.34 g, 71%).  $R_f = 0.57$  (PE/EE 2:1), Schmelzp.: 90 °C,  $[\alpha]_D^{20} = -113.6^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), Lit.-Wert für D-Enantiomer:  $[\alpha]_D^{20} = +115.0^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); NMR-Daten entsprachen denen für Verbindung **90**.

**Thioethyl-2,3,4-tri-*O*-triethylsilyl-D-fucopyranosid (96):**

Gemäß der Synthese von Verbindung **92** wurde das Thioglycosid **115** (180 mg, 864  $\mu$ mol) mit TESCI (1.0 mL, 5.7 mmol) und einer katalytischen Menge DMAP in absolutem Pyridin (5 mL) zur Reaktion gebracht. Das Produkt **96** wurde als farbloses Öl erhalten (410 mg, 86%).  $R_f = 0.48$  (PE/EE 3:1),  $[\alpha]_D^{20} = +22.7^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); Die spektroskopischen Daten entsprechen denen der Verbindung **92**.

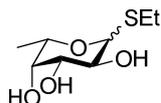
## 7. Experimenteller Teil

### Thioethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-L-fucopyranosid (**101**):



Unter Argonatmosphäre wurden 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha,\beta$ -L-fucopyranose **100** (5.00 g, 15.1 mmol) und Molsieb 4 Å (2.00g) in trockenem DCM aufgenommen (80 mL). Das Gemisch wurde 30 Min. gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Unter Rühren bei 0 °C wurde Ethanthiol (1.4 mL, 27 mmol) und dann Bortrifluorid-Diethyletherat (4.65 mL 29.0 mmol) langsam injiziert. Das Reaktionsgemisch wurde 20 Stunden bei RT gerührt und die Reaktion wurde durch Zugabe eines Gemisches aus Eis und gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lsg. beendet. Nach Abklingen der Gasentwicklung wurde der Ansatz durch Zugabe von festem NaHCO<sub>3</sub> neutralisiert und anschließend filtriert. Die organische Phase des Filtrats wurde mit Wasser gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden mit DCM extrahiert. Anschließend wurden die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockne eingengt. Das Produkt **101** wurde ohne weitere Reinigung als gelblicher Sirup erhalten (3.64 g, 72%,  $\alpha/\beta$ -Verhältnis: 1 : 2).  $\alpha,\beta$ -Gemisch: <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 5.69 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 5.2 Hz, 1-H $\alpha$ ), 5.29-5.19 (m, 3H, H-2, H-3 $\alpha$ , H-4), 5.04 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.6, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 10.0 Hz, H-3 $\beta$ ), 4.50-4.44 (m, 2H, H-1 $\beta$ , H-5 $\alpha$ ), 3.82 (q, 1H, <sup>3</sup>J<sub>4,5</sub> = 0.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.4 Hz, H-5 $\beta$ ) 2.78-2.65 (m, 2H, SCH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> $\beta$ ), 2.60-2.47 (m, 2H, SCH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> $\alpha$ ), 2.17, 2.05, 1.98 (3 x s, 3 x 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.29- 1.23 (m, 3H, SCH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 1.21 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.4 Hz, H-6 $\beta$ ), 1.15 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>5,6</sub> = 6.4 Hz, H-6 $\alpha$ ) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.6, 170.1, 169.7 (CH<sub>3</sub>CO), 83.9 (C-1 $\alpha$ ), 82.5 (C-1 $\beta$ ), 73.2, 72.4, 71.0, 69.1, 68.5, 67.4, (C-2, C-3, C-4), 64.6 (C-5), 24.7 (SCH<sub>2</sub>), 20.8, 20.7, 20.6 (3 x CH<sub>3</sub>CO), 16.4 (C-6), 15.9 (CH<sub>3</sub>) ppm.

### Thioethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-L-fucopyranosid (**102**):

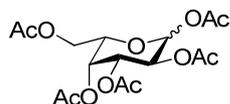


Unter Argonatmosphäre wurde das Thioglycosid **101** (2.00 g, 5.98 mmol) in trockenem MeOH (100 mL) gelöst und mit zwei Spatelspitze Natriummethanolat versetzt. Der Ansatz wurde über Nacht bei RT gerührt. Durch Zugabe von Ionentauscher Amberlite® IR 120 (H<sup>+</sup>)

## 7. Experimenteller Teil

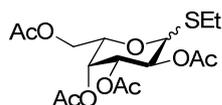
wurde das Reaktionsgemisch neutralisiert. Anschließend wurde der Ionentauscher abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt **102** wurde ohne weitere Reinigung als gelblicher Sirup erhalten (1.19 g, 96%).

### 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl-L-galactopyranose (**104**):



Zu einer Lösung von L-Galactono-1,4-lacton (**103**) (5.00 g, 27.5 mmol) in MeOH (30 mL) und Wasser (120 mL) wurde unter Eisbadkühlung Amberlite IR120-(H<sup>+</sup>)-Ionentauscherharz (25 mL) gegeben. Es wurde zu dieser Lösung portionsweise Natriumborhydrid (1.10 g, 28.0 mmol) so zugegeben, dass der pH-Wert zwischen 3 und 5 gehalten wurde. Nach Zugabe von NaBH<sub>4</sub> wurde das Reaktionsgemisch für eine Stunde gerührt, anschließend ließ man den Ansatz auf Raumtemperatur erwärmen bevor das Harz durch Filtration entfernt wurde. Das Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt und der resultierende Rückstand in MeOH (250 mL) gelöst und erneut bei vermindertem Druck konzentriert. Diese Prozedur wurde zweimal wiederholt. Das Rohprodukt wurde in einem Gemisch aus Ac<sub>2</sub>O (150 mL), Pyridin (150 mL) und einer katalytischen Menge DMAP nach AAV-1 acetyliert. Das Produkt **104** wurde als farbloser Sirup erhalten (7.30 g, 68%, α/β-Verhältnis: 1 : 2.3).  $R_f = 0.41$  (PE/EE 2:1), β: <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 5.74 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.1 Hz, H-1), 5.58 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 6.6, <sup>3</sup>J<sub>1,2</sub> = 7.1 Hz, H-2), 5.48 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.0 Hz, H-4), 4.73 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>3,4</sub> = 3.0, <sup>3</sup>J<sub>2,3</sub> = 6.6 Hz, H-3), 4.49 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>6ab</sub> = 11.7, <sup>3</sup>J<sub>5,6a</sub> = 5.0 Hz, H-6a), 4.39 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>6ab</sub> = 11.7, <sup>3</sup>J<sub>5,6b</sub> = 6.6 Hz, H-6b), 4.25 (m, 1H, H-5), 2.30 - 2.10 (5 x s, 15H, H<sub>Ac</sub>) ppm.

### Thioethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-L-galactopyranosid (**105**):

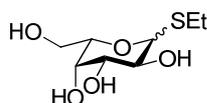


Gemäß der Synthese von Verbindung **101** wurden Verbindung **104** (6.60 g, 16.9 mmol), Ethanthiol (1.6 mL, 30 mmol) und Bortrifluorid-Etherat (4.81 mL 30.0 mmol) zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel PE-EE (2:1). Die

## 7. Experimenteller Teil

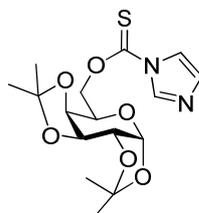
Verbindung **105** wurde als gelblicher Sirup erhalten (4.97 g, 75%,  $\beta/\alpha$ -Verhältnis 9:1).  $R_f = 0.38$  (PE/EE 2:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.43$  (d,  $^3J_{3,4} = 3.3$  Hz, 1H, H-4), 5.23 (dd,  $^3J_{1,2} = 9.7$ ,  $^3J_{2,3} = 10.0$  Hz, 1H, H-2), 5.04 (dd,  $^3J_{2,3} = 10.0$ ,  $^3J_{3,4} = 3.0$  Hz, 1H, H-3), 4.49 (d,  $^3J_{1,2} = 9.7$  Hz, 1H, H-1), 4.18 – 4.09 (m, 2H, H-6a,b), 3.94 (ddd,  $^3J_{4,5} = 1.0$ ,  $^3J_{5,6} = 7.0$  Hz, 1H, H-5), 2.78 – 2.65 (m, 2H,  $\text{SCH}_2\text{-CH}_3$ ), 2.15 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 2.06 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 2.03 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 1.98 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 1.28 (t,  $^3J_{\text{SEt}} = 7.5$  Hz,  $\text{SCH}_2\text{-CH}_3$ ) ppm.

### Thioethyl-L-galactopyranosid (**106**):



Gemäß der Synthese von Verbindung **102** wurde das Thioglycosid **105** (2.00 g, 5.09 mmol) mit einer katalytischen Menge Natriummethanolat in trockenem Methanol zur Reaktion gebracht. Das Produkt **106** wurde als farbloser Feststoff erhalten (1.15 g, quant.) und wurde ohne weitere Charakterisierung in der folgenden Synthese eingesetzt.

### 1,2;3,4-Di-isopropyliden-6-O-thiocarbonylimidazol- $\alpha$ -D-galactopyranose (**111**):

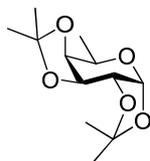


Unter Ausschluss von Luftfeuchtigkeit und unter Argonatmosphäre wurden 1,2;3,4-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose (**110**) (5.30 g, 20.4 mmol) und 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol (TCDI, 8.71 g, 48.9 mmol) in abs. THF (80 mL) gelöst und für 40 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der erhaltende Rückstand in Dichlormethan (150 mL) aufgenommen und dreimal mit 0.1 M Salzsäure (je 15 mL) ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (25 mL) neutralisiert und mit Wasser (50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und bei vermindertem Druck konzentriert. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel PE-EE (PE 100%  $\rightarrow$  PE/EE 1:1). Die

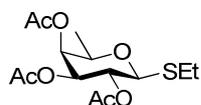
## 7. Experimenteller Teil

Verbindung **111** wurde als viskoses, farbloses Öl erhalten (4.50 g, 60%).  $R_f = 0.60$  (PE/EE 1:1),  $[\alpha]_D^{20} = -31.5^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 8.34$  (s, 1H,  $\text{H}_{\text{Im}2}$ ), 7.61 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{Im}4}$ ), 7.05 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{Im}5}$ ), 5.55 (d,  $^3J_{1,2} = 5.0$  Hz, 1H, H-1), 4.85 (m, 1H, H-6a), 4.73 (m, 1H, H-6b), 4.67 (dd,  $^3J_{2,3} = 2.5$ ,  $^3J_{3,4} = 7.7$  Hz, 1H, H-3), 4.37 (dd,  $^3J_{2,3} = 2.5$ ,  $^3J_{1,2} = 5.0$  Hz, 1H, H-2), 4.30 – 4.25 (m, 2H, H-4, H-5), 1.51 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.47 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.35 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.34 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 184.4$  (C=S), 136.2 ( $\text{C}_{\text{Im}2}$ ), 131.2 ( $\text{C}_{\text{Im}2}$ ), 118.9 ( $\text{C}_{\text{Im}4}$ ), 110.5 ( $\text{C}_{\text{Isop}}$ ), 109.5 ( $\text{C}_{\text{Isop}}$ ), 96.4 (C-1), 72.7 (C-6), 71.7 (C-3), 71.5 (C-2), 70.6 (C-4), 66.5 (C-5), 26.8 ( $\text{CH}_3$ ), 26.6 ( $\text{CH}_3$ ), 25.4 ( $\text{CH}_3$ ), 24.1 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

### 1,2;3,4-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-fucopyranose (**112**):



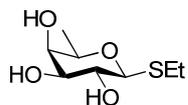
In einer ausgeheizten Apparatur wurden unter Schlenk-Bedingungen Tributylzinnhydrid (4.0 mL, 15 mmol) in abs. und entgastem Toluol (80 mL) unter Rückfluss erwärmt. Zu dieser Lösung wurde Verbindung **111** (2.00g, 5.60 mmol) als Lösung in abs. und entgastem Toluol (20 mL) sehr langsam innerhalb von 60 Minuten zugetropft und für 15 Stunden unter Rückfluss gerührt. Das Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand dreimal mit heißem Acetonitril (100 mL) extrahiert. Die Acetonitril-Phase wurde zweimal mit Petrolether (150 mL) gewaschen und anschließend eingeeengt. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel PE-EE (2:1). Die Verbindung **112** wurde als viskoses, farbloses Öl mit Verunreinigungen erhalten (511 mg, ~30%).  $R_f = 0.85$  (PE/EE 2:1), Das gewünschte Produkt konnte nicht vollständig gereinigt werden. Das Verhältnis zwischen Produkt und Verunreinigung betrug etwa 4:1. Die Verunreinigung konnte nicht identifiziert werden. Eindeutig zugeordnete Signale:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.52$  (d,  $^3J_{1,2} = 5.1$  Hz, 1H, H-1), 3.91 (dq,  $^3J_{5,6} = 0.8$ ,  $^3J_{5,6} = 6.6$  Hz, 1H, H-5), 1.25 (d,  $^3J_{5,6} = 6.6$  Hz, 3H, H-6) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_5$ : 244.13, gefunden: 267.12  $[M+\text{Na}]^+$ .

**Thioethyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-fucopyranosid (114):**

Die Verbindung **112** (500 mg, 2.05 mmol) wurden in 0.2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (100 mL, 20 mmol) suspendiert und für 12 Stunden auf 60 °C erwärmt. Eine DC-Kontrolle (PE/EE 1:1) zeigte vollständige Umsetzung und nach Abkühlen des Reaktionsgemisches wurde der Ansatz durch Zugabe von Natriumhydroxid (3.24 g, 21 mmol) neutralisiert. Das ausgefallene BaSO<sub>4</sub> wurde abfiltriert und das Filtrat wurde gefriergetrocknet. Das Produkt **113** wurde als feiner, farbloser Feststoff erhalten (560 mg, quant., enthält Salze) und ohne weitere Charakterisierung in der folgenden Synthese eingesetzt.

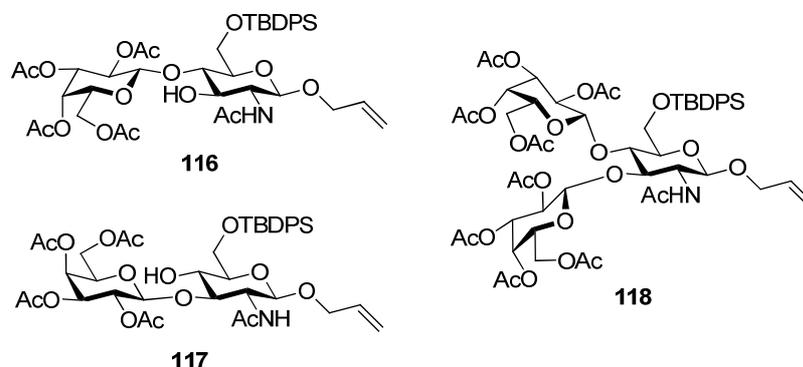
Die Verbindung **113** (560 mg) wurde nach AAV1 peracetyliert. Die 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-fucopyranose wurde nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Laufmittel PE/EE 1:1) als farbloser Sirup erhalten (416 mg, 61%,  $\beta/\alpha$ -Verhältnis: 2:1).  $R_f = 0.58$  (PE/EE 1:1),  $\beta$ : <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 5.67$  (d, <sup>3</sup> $J_{1,2} = 8.31$  Hz, 1H, H-1), 5.34-5.28 (m, 1H, H-2), 5.26 (dd, <sup>3</sup> $J_{4,5} = 0.8$ , <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.4$  Hz, 1H, H-4), 5.06 (dd, <sup>3</sup> $J_{3,4} = 3.4$ , <sup>3</sup> $J_{2,3} = 10.4$  Hz, 1H, H-3), 3.95 (dq, <sup>3</sup> $J_{4,5} = 0.8$ , <sup>3</sup> $J_{5,6} = 6.4$  Hz, 1H, H-5), 2.18 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.10 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.03 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.98 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 1.22 (d, <sup>3</sup> $J_{5,6} = 6.4$  Hz, 3H, H-6) ppm.

Gemäß der Synthese von Verbindung **101** wurde 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-fucopyranose (400 mg, 1.20 mmol), Ethanthiol (130  $\mu$ L, 2.41 mmol) und Bortrifluorid-Etherat (380  $\mu$ L 2.40 mmol) zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel PE-EE (2:1). Die Verbindung **114** wurde als gelblicher Sirup erhalten (320 mg, 80%).  $R_f = 0.37$  (PE/EE 2:1);  $[\alpha]_D^{20} = + 3.6^\circ$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>); die spektroskopischen Daten entsprechen der Verbindung **101**.

**Thioethyl-2,3,4-tri-*O*- $\beta$ -D-fucopyranosid (115):**

Gemäß der Synthese von Verbindung **102** wurde das Thioglycosid **114** (288 mg, 861  $\mu$ mol) mit einer katalytischen Menge Natriummethanolat in trockenem Methanol zur Reaktion gebracht. Das Produkt **116** wurde als farbloser Feststoff erhalten (185 mg, quant.) und wurde ohne weitere Charakterisierung in der folgenden Synthese eingesetzt.

**Allyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (116), Allyl-2-acetamido-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (117) und Allyl-2-acetamido-3,4-di-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (118):**

Methode A:

Zu einer Lösung von Verbindung **89** (200 mg, 400  $\mu$ mol) und Trichloracetimidat **90** (295 mg, 600  $\mu$ mol) in absolutem Dichlormethan (10 mL) wird unter Argonatmosphäre Molekularsieb-Pulver (4 $\text{\AA}$ , 500 mg) gegeben. Nach zwei Stunden Rühren bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch auf  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$  abgekühlt und tropfenweise mit Bortrifluorid-Etherat (50  $\mu$ L, 57 mg, 0.40 mmol) versetzt. Unter DC-Kontrolle (EE) wurde die Reaktion nach einer Stunde durch Zugabe von Triethylamin (1 mL) abgebrochen. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt, über Celite filtriert und der Filtrückstand mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wurde mit Salzsäure (1 N, 20 mL), demineralisiertem Wasser (20 mL) und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die

## 7. Experimenteller Teil

organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und bei vermindertem Druck eingengt. Der sirupöse Rückstand wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan-Methanol (30:1) gereinigt. Das Produkt **116** (143 mg, 43%) wurde als farbloser Feststoff neben den Verbindungen **117** (77 mg, 23%) und **118** (74 mg, 16%) erhalten.

### Methode B:

Zu einer Lösung von Verbindung **89** (200 mg, 400  $\mu\text{mol}$ ) und Trichloracetimidat **90** (295 mg, 600  $\mu\text{mol}$ ) in absolutem Dichlormethan (6 mL) wird unter Argonatmosphäre Molekularsieb-Pulver (4 $\text{\AA}$ , 500 mg) gegeben. Nach zwei Stunden Rühren bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch auf  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  abgekühlt und tropfenweise mit Trimethylsilyltriflat (7.2  $\mu\text{L}$ , 8.9 mg, 40  $\mu\text{mol}$ ) versetzt. Unter DC-Kontrolle (EE) wurde die Reaktion nach einer Stunde durch Zugabe von Triethylamin (1 mL) abgebrochen. Das Reaktionsgemisch wurde mit Dichlormethan (10 mL) verdünnt, über Celite filtriert und der Filtrückstand mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat wurde mit Salzsäure (1 N, 20 mL), demineralisiertem Wasser (20 mL) und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und bei vermindertem Druck eingengt. Der sirupöse Rückstand wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan-Methanol (30:1) gereinigt. Das Produkt **116** (186 mg, 56%) wurde als farbloser Feststoff neben den Verbindungen **117** (63 mg, 19%) und **118** (32 mg, 7%) erhalten.

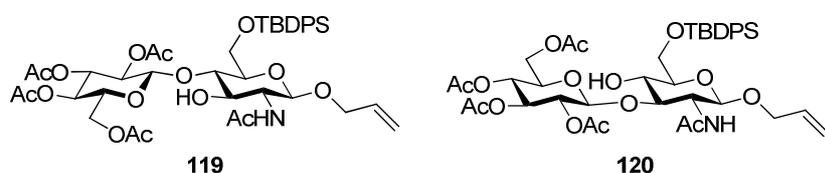
Für **116**:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -3.4^{\circ}$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ),  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.77\text{-}7.65$  (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.49-7.32 (m, 6H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 5.89 (ddd,  $^3J_{1,2\text{all}} = 5.0$ ,  $^3J_{\text{all-cis}} = 10.7$ ,  $^3J_{\text{all-trans}} = 16.6$  Hz, 1H, H-2 $_{\text{all}}$ , H-2 $_{\text{all}}$ ), 5.70 (d,  $^3J_{2,\text{NH}} = 7.1$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{NAC}}$ ), 5.36 (d,  $^3J_{3',4'} = 3.0$  Hz, 1H, H-4'), 5.26 (dd,  $^3J_{\text{all-trans}} = 16.6$  Hz, 1H, H-3 $_{\text{all}}$ ), 5.22-5.15 (m, 2H, H-2', H-3 $_{\text{all}}$ ), 4.97 (dd,  $^3J_{3',4'} = 3.0$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.4$  Hz, 1H, H-3'), 4.77 (d,  $^3J_{1,2} = 7.9$  Hz, 1H, H-1), 4.70 (d,  $^3J_{1',2'} = 8.1$  Hz, 1H, H-1'), 4.32 (dd,  $^2J_{1\text{a},\text{ball}} = 12.9$ ,  $^3J_{1,2\text{all}} = 5.0$  Hz, 1H, H-1 $_{\text{all}}$ ), 4.17-4.11 (m, 2H, H-6'ab), 4.09-3.98 (m, 2H, H-3, H-1 $_{\text{all}}$ ), 3.96-3.87 (m, 2H, H-6a, H-5'), 3.86-3.79 (m, 2H, H-4, H-6b), 3.55 (ddd,  $^3J_{2,\text{NH}} = 7.1$ ,  $^3J_{1,2} = 7.9$ ,  $^3J_{2,3} = 10.3$  Hz, 1H, H-2), 3.42 (m, 1H, H-5), 2.15 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 2.06 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 2.03 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 1.99 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 1.72 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ), 1.07 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ) ppm; ;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 171.1\text{-}168.8$  ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 136.3-133.3 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 132.5 (C-2 $_{\text{all}}$ ), 130.6-127.4 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 117.4 (C-3 $_{\text{all}}$ ), 100.9 (C-1'), 98.8 (C-1), 79.8 (C-4), 74.5 (C-5), 71.3 (C-3), 71.2 (C-5'), 70.7 (C-3'), 69.3 (C-1 $_{\text{all}}$ ), 68.8 (C-2'), 66.8 (C-4'), 61.8 (C-6), 61.2 (C-6'), 56.7 (C-2), 26.8 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 23.7-19.9 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 19.3 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{41}\text{H}_{55}\text{NO}_{15}\text{Si}$ : 829.33, gefunden: 852.51 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ .

## 7. Experimenteller Teil

Für **117**:  $[\alpha]_D^{20} = + 17.1^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.72$ -7.68 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.43-7.32 (m, 6H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 5.90 (dddd,  $^3J_{2\text{all},1\text{aall}} = 5.2$ ,  $^3J_{2\text{all},1\text{aall}} = 5.8$ ,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-cis}} = 10.9$ ,  $^3J_{2\text{all},3\text{all-trans}} = 17.3$  Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.69 (d,  $^3J_{2,\text{NH}} = 6.9$  Hz, 1H, NH), 5.37 (d,  $^3J_{3',4'} = 3.1$  Hz, 1H, H-4'), 5.31-5.17 (m, 3H, H-2', H-3a,b<sub>all</sub>), 5.00 (dd,  $^3J_{3',4'} = 3.1$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.97 (d,  $^3J_{1,2} = 8.3$  Hz, 1H, H-1), 4.57 (d,  $^3J_{1',2'} = 8.1$  Hz, 1H, H-1'), 4.42 (dd,  $^3J_{3,4} = 8.1$ ,  $^3J_{2,3} = 10.2$  Hz, 1H, H-3), 4.34 (dd,  $^2J_{1\text{aall}} = 12.8$ ,  $^3J_{2\text{all},1\text{aall}} = 5.2$  Hz, 1H, H-1a<sub>all</sub>), 4.15-4.05 (m, 3H, H-6'ab H-1a<sub>all</sub>), 4.05-3.95 (m, 2H, H-6a, H-5'), 3.87 (dd,  $^2J_{6\text{ab}} = 11.1$ ,  $^3J_{5,6\text{b}} = 5.6$  Hz, 1H, H-6b), 3.77 (s, 1H, OH), 3.53-3.37 (m, 2H, H-4, H-5), 3.05 (ddd,  $^3J_{2,\text{NH}} = 6.9$ ,  $^3J_{1,2} = 8.3$ ,  $^3J_{2,3} = 10.2$  Hz, 1H, H-2), 2.15 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.07 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 2.01 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 1.98 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 1.98 (s, 3H,  $\text{H}_{\text{ac}}$ ), 1.05 (s, 9H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.4$ -169.4 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 136.3 – 134.2 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 133.7 ( $\text{C-2}_{\text{all}}$ ), 130.2 – 125.9 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 117.7 ( $\text{C-3}_{\text{all}}$ ), 101.4, ( $\text{C-1}'$ ), 97.5 ( $\text{C-1}$ ), 83.6 ( $\text{C-3}$ ), 76.4 ( $\text{C-5}$ ), 71.1 ( $\text{C-5}'$ ), 70.9 ( $\text{C-3}'$ ), 69.7 ( $\text{C-1}_{\text{all}}$ ), 69.3 ( $\text{C-4}$ ), 68.7 ( $\text{C-2}'$ ), 68.4 ( $\text{C-4}'$ ), 63.4 ( $\text{C-6}$ ), 61.5 ( $\text{C-6}'$ ), 57.7 ( $\text{C-2}$ ), 26.8 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ), 24.0 – 20.3 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ) 19.2 ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{41}\text{H}_{55}\text{NO}_{15}\text{Si}$ : 829.33, gefunden: 852.49 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ .

Für **118**: auf NMR-Charakterisierung wurde verzichtet, MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{55}\text{H}_{73}\text{NO}_{24}\text{Si}$ : 1159.43, gefunden: 1182.40 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ .

### Allyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-6-*O*-tert-butylidiphenylsilyl-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (**119**) und Allyl-2-acetamido-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-6-*O*-tert-butylidiphenylsilyl-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (**120**)



Gemäß der Synthese (Methode B) von Verbindung **116** wurden Trichloracetimidat **91** (460 mg, 930  $\mu\text{mol}$ ) und Akzeptor **89** (310 mg, 620  $\mu\text{mol}$ ) mit Trimethylsilyltriflat (22  $\mu\text{L}$ , 27 mg, 0.12 mmol) in absolutem DCM (6 mL) zur Reaktion gebracht. Das Produkt **119** (128 mg, 25%) wurde neben Verbindung **120** (252 mg, 49%) als farbloser Feststoff erhalten.

Für **119**:  $[\alpha]_D^{20} = + 39.2^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.81$ -7.74 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 7.51-7.36 (m, 6H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 5.98-5.82 (m, 2H, H-2<sub>all</sub>,  $\text{H}_{\text{NAc}}$ ), 5.29 (dd,  $^3J_{\text{all-trans}} =$

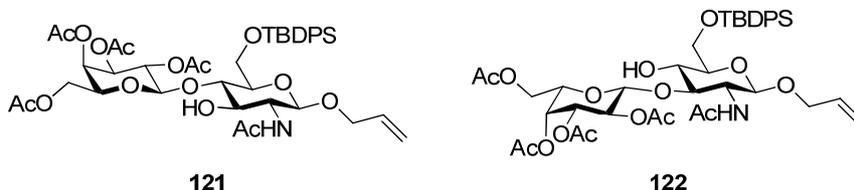
## 7. Experimenteller Teil

17.3, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.25-5.14 (m, 2H, H-3', H-3<sub>aall</sub>), 5.10 (dd,  $^3J_{3',4'} = 9.6$ ,  $^3J_{4',5'} = 9.6$  Hz, 1H, H-4'), 5.04 (dd,  $^3J_{1',2'} = 8.1$ ,  $^3J_{2',3'} = 9.5$  Hz, 1H, H-2'), 4.82 (d,  $^3J_{1',2'} = 8.1$  Hz, 1H, H-1'), 4.76 (d,  $^3J_{1,2} = 8.1$  Hz, 1H, H-1), 4.35 (dd,  $^2J_{1a,ball} = 12.9$ ,  $^3J_{1,2all} = 5.0$  Hz, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 4.29 (dd,  $^2J_{6'ab} = 12.4$ ,  $^3J_{5',6'a} = 5.6$  Hz, 1H, H-6'a), 4.22-4.04 (m, 1H, H-6'b), 4.01-3.90 (m, 3H, H-3, H-6a, H-1<sub>ball</sub>), 3.89-3.81 (m, 2H, H-4, H-6b), 3.70 (m, 1H, H-5'), 3.61 (dd,  $^3J_{1,2} = 8.1$ ,  $^3J_{2,NH} = 8.4$ ,  $^3J_{2,3} = 9.3$  Hz, 1H, H-2), 3.41 (m, 1H, H-5), 2.13 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.06 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.05 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.05 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.03 (s, 1H, H<sub>Ac</sub>), 1.10 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.4$ -169.4 (CH<sub>3</sub>CO), 136.7 - 134.8 (C<sub>arom</sub>), 134.1 (C-2<sub>all</sub>), 130.4 - 127.0 (C<sub>arom</sub>), 117.2 (C-3<sub>all</sub>), 100.5 (C-1'), 98.9 (C-1), 79.9 (C-4), 74.7 (C-5), 72.7 (C-3'), 72.2 (C-5'), 71.7 (C-3), 71.3 (C-2'), 69.4 (C-1<sub>all</sub>), 68.3 (C-4'), 61.6 (C-6), 61.3 (C-6'), 56.6 (C-2), 26.8 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 24.0 - 20.3 (CH<sub>3</sub>CO) 19.2 (SiC(CH<sub>3</sub>)) ppm; MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>41</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>15</sub>Si: 829.33, gefunden: 852.43 [M+Na]<sup>+</sup>.

Für **120**:  $[\alpha]_D^{20} = +19.7^\circ$  (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 7.73$ -7.67 (m, 4H, H<sub>arom</sub>), 7.45-7.31 (m, 6H, H<sub>arom</sub>), 5.90 (dddd,  $^3J_{1,2all} = 5.0$ ,  $^3J_{1,2all} = 5.8$ ,  $^3J_{all-cis} = 10.9$ ,  $^3J_{all-trans} = 17.3$  Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>), 5.71 (d,  $^3J_{2,NH} = 7.0$  Hz, 1H, H<sub>NAc</sub>), 5.27 (dd,  $^3J_{all-trans} = 17.3$  Hz, 1H, H-3<sub>aall</sub>), 5.23-5.17 (m, 2H, H-3' H-3<sub>ball</sub>), 5.06-4.97 (m, 2H, H-2', H-4'), 4.95 (d,  $^3J_{1,2} = 8.3$  Hz, 1H, H-1), 4.61 (d,  $^3J_{1',2'} = 8.1$  Hz, 1H, H-1'), 4.42 (dd,  $^3J_{3,4} = 7.6$ ,  $^3J_{2,3} = 10.1$  Hz, 1H, H-3), 4.33 (dd,  $^2J_{1a,ball} = 12.8$ ,  $^3J_{1,2all} = 5.2$  Hz, 1H, H-1<sub>aall</sub>), 4.19-4.06 (m, 3H, H-6'ab, H-1<sub>ball</sub>), 4.01 (dd,  $^2J_{6ab} = 11.0$ ,  $^3J_{5',6a} = 1.3$  Hz, 1H, H-6a), 3.87 (dd,  $^2J_{6ab} = 11.0$ ,  $^3J_{5',6b} = 5.1$  Hz, 1H, H-6b), 3.83-3.75 (m, 1H, H-5'), 3.68 (s, 1H, OH), 3.51-3.40 (m, 2H, H-4, H-5), 3.04 (ddd,  $^3J_{2,NH} = 7.0$ ,  $^3J_{1,2} = 8.3$ ,  $^3J_{2,3} = 10.1$  Hz, 1H, H-2), 2.05 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.04 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.02 (s, 1H, H<sub>Ac</sub>), 2.01 (s, 3H, H<sub>Ac</sub>), 2.00 (s, 1H, H<sub>Ac</sub>), 1.04 (s, 9H, SiC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.4$ -169.4 (CH<sub>3</sub>CO), 136.6 - 134.9 (C<sub>arom</sub>), 133.9 (C-2<sub>all</sub>), 130.2 - 126.9 (C<sub>arom</sub>), 117.9 (C-3<sub>all</sub>), 100.8 (C-1'), 97.8 (C-1), 83.4 (C-3), 76.2 (C-5), 72.8 (C-3'), 71.8 (C-5'), 71.4 (C-2'), 69.9 (C-1<sub>all</sub>), 69.6 (C-4), 68.4 (C-4'), 63.6 (C-6), 62.0 (C-6'), 58.0 (C-2), 26.8 (SiC(CH<sub>3</sub>)), 24.0 - 20.3 (CH<sub>3</sub>CO) 19.2 (SiC(CH<sub>3</sub>)) ppm; MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>41</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>15</sub>Si: 829.33, gefunden: 852.51 [M+Na]<sup>+</sup>.

## 7. Experimenteller Teil

**Allyl-2-acetamido-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -L-galactopyranosyl)-6-O-tert-butyl-diphenylsilyl-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (121) und Allyl-2-acetamido-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -L-galactopyranosyl)-6-O-tert-butyl-diphenylsilyl-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (122):**



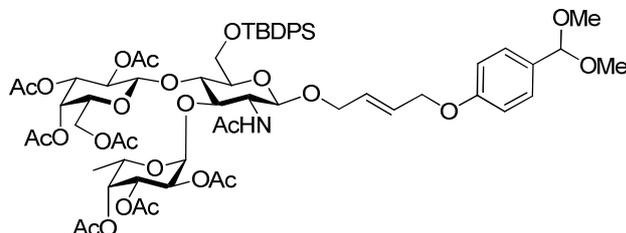
Gemäß der Synthese (Methode B) von Verbindung **116** wurden Trichloracetimidat **95** (625 mg, 1.27 mmol) und Akzeptor **89** (475 mg, 1.06 mmol) mit Trimethylsilyltriflat (7.2  $\mu$ L, 8.9 mg, 40  $\mu$ mol) in absolutem DCM (5 mL) zur Reaktion gebracht. Das Produkt **121** (394 mg, 45%) wurde neben Verbindung **122** (169 mg, 20%) als farbloser Feststoff erhalten.

Für **121**:  $[\alpha]_D^{20} = -25.5^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ),  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.78$ - $7.66$  (m, 4 H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ),  $7.47$ - $7.32$  (m, 6 H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ),  $5.89$  (dddd,  $^3J_{1,2\text{all}} = 5.1$ ,  $^3J_{1,2\text{all}} = 5.6$ ,  $^3J_{\text{all-cis}} = 11.1$ ,  $^3J_{\text{all-trans}} = 17.0$  Hz, 1H, H-2<sub>all</sub>),  $5.70$  (d,  $^3J_{\text{NH},2} = 7.1$  Hz, 1H, NHAc),  $5.35$  (dd,  $^3J_{3',4'} = 3.1$  Hz, 1H, H-4'),  $5.23$  (dd,  $^3J_{1,2\text{all}} = 5.1$ ,  $^3J_{\text{all-trans}} = 17.0$  Hz, 1H, H-3a<sub>all</sub>),  $5.21$ - $5.16$  (m, 2 H, H-2', H-3a<sub>all</sub>),  $4.89$  (dd,  $^3J_{3',4'} = 3.1$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.5$  Hz, 1H, H-3'),  $4.80$  (d,  $^3J_{1,2} = 7.8$  Hz, 1 H, H-1),  $4.75$  (d,  $^3J_{1',2'} = 7.8$  Hz, 1 H, H-1'),  $4.31$  (dd,  $^2J_{1\text{a},\text{ball}} = 12.9$ ,  $^3J_{1,2\text{all}} = 5.1$  Hz, 1H, H-1a<sub>all</sub>),  $4.17$ - $4.10$  (m, 2H, H-6'a,b),  $4.09$ - $3.98$  (m, 2H, H-4, H-1b<sub>all</sub>),  $3.96$ - $3.78$  (m, 4H, H-3, H-6ab, H-5'),  $3.54$  (ddd,  $^3J_{1,2} = 7.8$ ,  $^3J_{2,\text{NH}} = 8.3$ ,  $^3J_{2,3} = 9.9$  Hz, 1H, H-2),  $3.42$  (ddd,  $^3J_{4,5} = 10.1$ ,  $^3J_{5,6\text{a}} = 5.3$ ,  $^3J_{5,6\text{b}} = 6.2$  Hz, 1H, H-5),  $2.15$  (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ),  $2.06$  (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ),  $2.03$  (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ),  $1.99$  (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ),  $1.72$  (s, 3H,  $\text{H}_{\text{Ac}}$ ),  $1.07$  (s, 9 H,  $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.4$  -  $169.4$  ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ),  $136.6$  -  $134.8$  ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ),  $134.2$  (C-2<sub>all</sub>),  $130.4$  -  $127.0$  ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ),  $117.2$  (C-3<sub>all</sub>),  $101.9$  (C-1'),  $99.0$  (C-1),  $80.1$  (C-4),  $75.7$  (C-5),  $72.6$  (C-3'),  $72.2$  (C-5'),  $72.1$  (C-3),  $71.4$  (C-2'),  $69.9$  (C-1<sub>all</sub>),  $69.3$  (C-4'),  $62.0$  (C-6'),  $61.9$  (C-6),  $55.9$  (C-2),  $26.6$  ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ),  $24.0$  -  $20.3$  ( $\text{CH}_3\text{CO}$ )  $19.2$  ( $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{41}\text{H}_{55}\text{NO}_{15}\text{Si}$ : 829.33, gefunden: 852.40  $[M+\text{Na}]^+$ .

Für **122**: auf NMR-Charakterisierung wurde verzichtet, MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{41}\text{H}_{55}\text{NO}_{15}\text{Si}$ : 829.33, gefunden: 852.54  $[M+\text{Na}]^+$ .

## 7. Experimenteller Teil

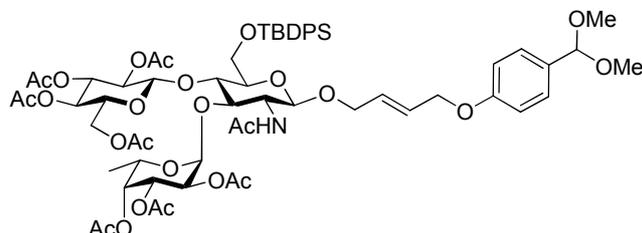
### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**123**):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **82** (200 mg, 515  $\mu$ mol), Verbindung **41** (1.00 g, 4.80 mmol) und Katalysator **38** (33 mg, 52  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **123** wurde als farbloser Sirup erhalten (700 mg, 546  $\mu$ mol, 81%).  $C_{53}H_{71}NO_{22}Si$  (1102.21 g/mol);  $R_f = 0.45$  (EE); Schmelzpt.: 166 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +48.7^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.80$ -7.62 (m, 4H,  $H_{arom}$ ), 7.51-7.30 (m, 8H,  $H_{arom}$ ), 6.86 (d,  $^3J_{Ar} = 8.4$  Hz, 2H,  $H_{2arom}$ ), 5.96 – 5.79 (m, 3H,  $H_{NAc}$ ,  $H_{2bu}$ ,  $H_{3bu}$ ), 5.41 (d,  $^3J_{1',2'} = 3.3$  Hz, 1H,  $H_{-1'}$ ), 5.33 (d,  $^3J_{3'',4''} = 3.3$  Hz, 1H,  $H_{-4''}$ ), 5.22 (d,  $^3J_{3',4'} = 3.9$  Hz, 1H,  $H_{-4'}$ ), 5.16-5.00 (m, 3H,  $H_{-2'}$ ,  $H_{-5'}$ ,  $H_{-2''}$ ), 4.99-4.92 (m, 2H,  $H_{-3'}$ ,  $H_{-3''}$ ), 4.70 (d,  $^3J_{1'',2''} = 7.9$  Hz, 1H,  $H_{-1''}$ ), 4.61 (d,  $^3J_{1,2} = 7.8$  Hz, 1H,  $H_{-1}$ ), 4.51-4.48 (m, 2H,  $H_{-4bu}$ ), 4.38-4.30 (m, 1H,  $H_{-1abu}$ ), 4.22-4.16 (m, 2H,  $H_{-4}$ ,  $H_{-6a''}$ ), 4.15-4.00 (m, 2H,  $H_{-6b''}$ ,  $H_{-1b_{bu}}$ ), 4.00-3.92 (m, 4H,  $H_{-2}$ ,  $H_{-3}$ ,  $H_{-6ab}$ ), 3.73 (dd,  $^3J_{5'',6a''} = 6.4$ ,  $^3J_{5'',6b''} = 6.4$  Hz, 1H,  $H_{-5''}$ ), 3.33 (ddd,  $^3J_{5,6a} = 6.7$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.7$ ,  $^3J_{4,5} = 10.5$  Hz, 1H,  $H_{-5}$ ), 3.25 (s, 6H,  $OCH_3$ ), 2.14 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.11 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.08 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.06 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.03 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.02 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.00 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.87 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.31 (d,  $^3J_{5',6'} = 6.5$  Hz, 3H,  $H_{-6'}$ ), 1.08 (s, 9H,  $SiC(CH_3)_3$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 170.4$ -169.4 ( $CH_3CO$ ), 136.5 - 134.5 ( $C_{arom}$ ), 130.5 – 126.9 ( $C_{arom}$ ), 114.6 ( $C_{-2bu}$ ), 114.1 ( $C_{-3bu}$ ), 105.0 ( $C_{-1'}$ ), 102.9 ( $C_{aectal}$ ), 99.9 ( $C_{-1''}$ ), 98.9 ( $C_{-1}$ ), 80.8 ( $C_{-4}$ ), 79.5 ( $C_{-4'}$ ), 76.8 ( $C_{-3'}$ ), 75.6 ( $C_{-3}$ ), 74.0 ( $C_{-5}$ ), 71.1 ( $C_{-3''}$ ), 70.6 ( $C_{-5''}$ ), 70.0 ( $C_{-2'}$ ), 69.1 ( $C_{-2''}$ ), 68.9 ( $C_{-5'}$ ), 68.8 ( $C_{-4bu}$ ), 68.2 ( $C_{-1bu}$ ), 66.5 ( $C_{-4'}$ ), 61.4 ( $C_{-6}$ ), 60.8 ( $C_{-6''}$ ), 52.8 ( $C_{-2}$ ), 52.4 ( $OCH_3$ ), 26.7 ( $SiC(CH_3)_3$ ), 24.0 – 20.3 ( $CH_3CO$ ), 19.1 ( $SiC(CH_3)_3$ ), 15.8 ( $C_{-6'}$ ) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{63}H_{83}NO_{25}SiNa^+$ : 1304.4916, gefunden: 1304.4902 [ $M+Na$ ] $^+$ .

## 7. Experimenteller Teil

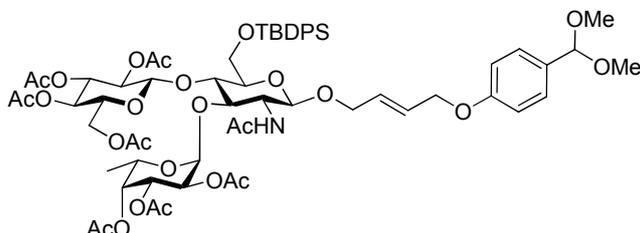
### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**124**):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **83** (200 mg, 515  $\mu$ mol), Verbindung **41** (1.00 g, 4.80 mmol) und Katalysator **38** (33 mg, 52  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **124** wurde als farbloser Sirup erhalten (300 mg, 234  $\mu$ mol, 87%).  $C_{53}H_{71}NO_{22}Si$  (1102.21 g/mol);  $R_f = 0.45$  (EE); Schmelzpt.: 160 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +23.8^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.79$ -7.60 (m, 4H,  $H_{arom}$ ), 7.52-7.34 (m, 6H,  $H_{arom}$ ), 7.32 (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H,  $H_{1arom}$ ), 6.85 (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H,  $H_{2arom}$ ), 5.96 – 5.81 (m, 2H,  $H_{2bu}$ ,  $H_{3bu}$ ), 5.78 (d,  $^3J_{2,HNAc} = 8.2$  Hz, 1H,  $H_{NAc}$ ), 5.39 (d,  $^3J_{1',2'} = 3.1$  Hz, 1H,  $H_{1'}$ ), 5.30 (s, 1H,  $H_{acetal}$ ), 5.19-4.99 (m, 5H,  $H_{2'}$ ,  $H_{4'}$ ,  $H_{5'}$ ,  $H_{2''}$ ,  $H_{4''}$ ), 4.95 (dd,  $^3J_{3',4'} = 3.5$ ,  $^3J_{2',3'} = 9.3$  Hz, 1H,  $H_{3'}$ ), 4.89 (dd,  $^3J_{2'',3''} = 9.5$ ,  $^3J_{3'',4''} = 9.5$  Hz, 1H,  $H_{3''}$ ), 4.60 (d,  $^3J_{1'',2''} = 8.9$  Hz, 1H,  $H_{1''}$ ), 4.57 (d,  $^3J_{1,2} = 8.0$  Hz, 1H,  $H_{1}$ ), 4.51-4.46 (m, 2H,  $H_{4bu}$ ), 4.37-4.32 (m, 1H,  $H_{1abu}$ ), 4.21-4.16 (m, 2H,  $H_{4}$ ,  $H_{6a'}$ ), 4.05-3.92 (m, 5H,  $H_{2}$ ,  $H_{3}$ ,  $H_{6ab}$ ,  $H_{6b''}$ ,  $H_{1b_{bu}}$ ), 3.54 (ddd,  $^3J_{4,5} = 9.8$ ,  $^3J_{5,6a} = 6.3$ ,  $^3J_{5,6b} = 2.1$  Hz, 1H,  $H_{5}$ ), 3.25 (s, 6H,  $OCH_3$ ), 2.15 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.13 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.10 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.08 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.04 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.01 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.00 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.85 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.32 (d,  $^3J_{5',6'} = 6.5$  Hz, 3H,  $H_{6'}$ ), 1.08 (s, 9H,  $SiC(CH_3)_3$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 171.3$  - 169.0 ( $CH_3CO$ ), 136.5 - 126.9 ( $C_{arom}$ ), 114.2 ( $C_{2bu}$ ), 114.1 ( $C_{3bu}$ ), 103.2 ( $C_{1'}$ ), 102.3 ( $C_{acetal}$ ), 99.7 ( $C_{1}$ ) 99.5 ( $C_{1''}$ ), 82.0 ( $C_{4}$ ), 80.0 ( $C_{3}$ ), 75.0 ( $C_{3'}$ ), 74.5 ( $C_{5}$ ), 70.6 ( $C_{5''}$ ), 70.3 ( $C_{2'}$ ), 69.0 ( $C_{3''}$ ), 69.0 ( $C_{2''}$ ), 68.8 ( $C_{4bu}$ ), 68.4 ( $C_{5'}$ ), 67.9 ( $C_{1bu}$ ), 67.7 ( $C_{4'}$ ), 66.5 ( $C_{4''}$ ), 61.8 ( $C_{6'}$ ), 61.2 ( $C_{6}$ ), 52.5 ( $OCH_3$ ), 51.9 ( $C_{2}$ ), 26.9 ( $SiC(CH_3)_3$ ), 24.0 – 20.3 ( $CH_3CO$ ), 19.0 ( $SiC(CH_3)_3$ ), 15.7 ( $C_{6'}$ ) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{63}H_{83}NO_{25}SiNa^+$ : 1304.4916, gefunden: 1304.4889 [ $M+Na$ ] $^+$ .

## 7. Experimenteller Teil

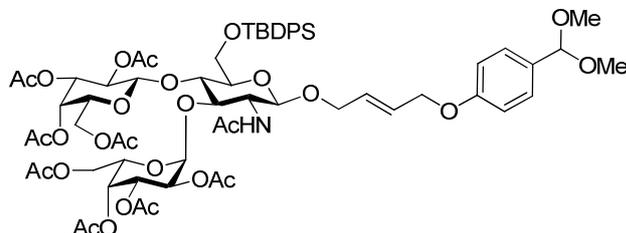
### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**124**):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **83** (200 mg, 515  $\mu$ mol), Verbindung **41** (1.00 g, 4.80 mmol) und Katalysator **38** (33 mg, 52  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **124** wurde als farbloser Sirup erhalten (300 mg, 234  $\mu$ mol, 87%).  $C_{53}H_{71}NO_{22}Si$  (1102.21 g/mol);  $R_f = 0.44$  (EE); Schmelzpt.: 160 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +23.8^\circ$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.79$ -7.60 (m, 4H,  $H_{arom}$ ), 7.52-7.34 (m, 6H,  $H_{arom}$ ), 7.32 (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H,  $H_{1arom}$ ), 6.85 (d,  $^3J_{Ar} = 8.5$  Hz, 2H,  $H_{2arom}$ ), 5.96 – 5.81 (m, 2H,  $H_{2bu}$ ,  $H_{3bu}$ ), 5.78 (d,  $^3J_{2,HNAc} = 8.2$  Hz, 1H,  $H_{NAc}$ ), 5.39 (d,  $^3J_{1',2'} = 3.1$  Hz, 1H,  $H_{1'}$ ), 5.30 (s, 1H,  $H_{acetal}$ ), 5.19-4.99 (m, 5H,  $H_{2'}$ ,  $H_{4'}$ ,  $H_{5'}$ ,  $H_{2''}$ ,  $H_{4''}$ ), 4.95 (dd,  $^3J_{3',4'} = 3.5$ ,  $^3J_{2',3'} = 9.3$  Hz, 1H,  $H_{3'}$ ), 4.89 (dd,  $^3J_{2'',3''} = 9.5$ ,  $^3J_{3'',4''} = 9.5$  Hz, 1H,  $H_{3''}$ ), 4.60 (d,  $^3J_{1'',2''} = 8.9$  Hz, 1H,  $H_{1''}$ ), 4.57 (d,  $^3J_{1,2} = 8.0$  Hz, 1H,  $H_{1}$ ), 4.51-4.46 (m, 2H,  $H_{4bu}$ ), 4.37-4.32 (m, 1H,  $H_{1abu}$ ), 4.21-4.16 (m, 2H,  $H_{4}$ ,  $H_{6a''}$ ), 4.05-3.92 (m, 5H,  $H_{2}$ ,  $H_{3}$ ,  $H_{6ab}$ ,  $H_{6b''}$ ,  $H_{1b_{bu}}$ ), 3.54 (ddd,  $^3J_{4,5} = 9.8$ ,  $^3J_{5,6a} = 6.3$ ,  $^3J_{5,6b} = 2.1$  Hz, 1H,  $H_{5}$ ), 3.25 (s, 6H,  $OCH_3$ ), 2.15 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.13 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.10 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.08 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.04 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.01 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.00 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.85 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.32 (d,  $^3J_{5',6'} = 6.5$  Hz, 3H,  $H_{6'}$ ), 1.08 (s, 9H,  $SiC(CH_3)_3$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 171.3$  - 169.0 ( $CH_3CO$ ), 136.5 - 126.9 ( $C_{arom}$ ), 114.2 ( $C_{2bu}$ ), 114.1 ( $C_{3bu}$ ), 103.2 ( $C_{1'}$ ), 102.3 ( $C_{acetal}$ ), 99.7 ( $C_{1}$ ) 99.5 ( $C_{1''}$ ), 82.0 ( $C_{4}$ ), 80.0 ( $C_{3}$ ), 75.0 ( $C_{3'}$ ), 74.5 ( $C_{5}$ ), 70.6 ( $C_{5''}$ ), 70.3 ( $C_{2'}$ ), 69.0 ( $C_{3''}$ ), 69.0 ( $C_{2''}$ ), 68.8 ( $C_{4bu}$ ), 68.4 ( $C_{5'}$ ), 67.9 ( $C_{1bu}$ ), 67.7 ( $C_{4'}$ ), 66.5 ( $C_{4''}$ ), 61.8 ( $C_{6'}$ ), 61.2 ( $C_{6}$ ), 52.5 ( $OCH_3$ ), 51.9 ( $C_{2}$ ), 26.9 ( $SiC(CH_3)_3$ ), 24.0 – 20.3 ( $CH_3CO$ ), 19.0 ( $SiC(CH_3)_3$ ), 15.7 ( $C_{6'}$ ) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{63}H_{83}NO_{25}SiNa^+$ : 1304.4916, gefunden: 1304.4889 [ $M+Na$ ] $^+$ .

## 7. Experimenteller Teil

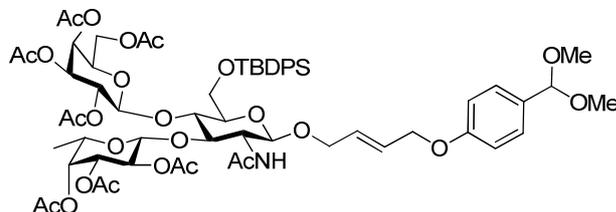
### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**125**):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **84** (200 mg, 515  $\mu$ mol), Verbindung **41** (1.00 g, 4.80 mmol) und Katalysator **38** (33 mg, 52  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **125** wurde als farbloser Sirup erhalten (445 mg, 332  $\mu$ mol, 85%).  $C_{55}H_{73}NO_{24}Si$  (1160.24 g/mol);  $R_f = 0.36$  (EE); Schmelzpt.: 171  $^{\circ}C$ ;  $[\alpha]_D^{20} = +41.5^{\circ}$  ( $c = 1.0$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.74$ - $7.67$  (m, 4H,  $H_{arom}$ ),  $7.48$ - $7.30$  (m, 8H,  $H_{arom}$ ),  $6.84$  (d,  $^3J_{Ar} = 8.0$  Hz, 2H,  $H_{2arom}$ ),  $6.00$  (d,  $^3J_{2,HNAc} = 7.8$  Hz, 1H,  $H_{NAc}$ ),  $5.97$  -  $5.79$  (m, 2H,  $H_{2bu}$ ,  $H_{3bu}$ ),  $5.36$  (d,  $^3J_{3',4'} = 3.0$  Hz, 1H,  $H_{4'}$ ),  $5.34$ - $5.31$  (m, 2H,  $H_{4''}$ ,  $H_{acetal}$ ),  $5.15$  (dd,  $^3J_{1',2'} = 3.6$ ,  $^3J_{2',3'} = 9.4$  Hz, 1H,  $H_{2'}$ ),  $5.06$ - $4.99$  (m, 2H,  $H_{3'}$ ,  $H_{2''}$ ),  $4.95$  -  $4.91$  (m, 2H,  $H_{1'}$ ,  $H_{3''}$ ),  $4.80$  (d,  $^3J_{1,2} = 7.8$  Hz, 1H,  $H_{1}$ ),  $4.60$  (d,  $^3J_{1'',2''} = 8.0$  Hz, 1H,  $H_{1''}$ ),  $4.51$  -  $4.47$  (m, 2H,  $H_{4bu}$ ),  $4.39$ - $4.16$  (m, 4H,  $H_{3}$ ,  $H_{6'ab}$ ,  $H_{1abu}$ ),  $4.11$  -  $3.99$  (m, 3H,  $H_{4}$ ,  $H_{6''ab}$ ,  $H_{1abu}$ ),  $3.97$ - $3.89$  (m, 3H,  $H_{6ab}$ ,  $H_{5'}$ ),  $3.62$  (ddd,  $^3J_{1,2} = 7.8$ ,  $^3J_{2,3} = 7.2$  Hz,  $^3J_{2,HNAc} = 7.8$  Hz, 1H,  $H_{2}$ ),  $3.55$  (dd,  $^3J_{5'',6a''} = 6.6$ ,  $^3J_{5',6a'} = 6.9$  Hz, 1H,  $H_{5''}$ ),  $3.39$ - $3.31$  (m, 1H,  $H_{5}$ ),  $3.28$  (s, 6H,  $OCH_3$ ),  $2.17$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $2.16$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $2.10$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $2.08$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $2.06$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $2.03$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $2.00$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $1.99$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $1.95$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $1.07$  (s, 9H,  $SiC(CH_3)_3$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 170.9$ - $168.5$  ( $CH_3CO$ ),  $136.0$  -  $127.4$  ( $C_{arom}$ ),  $114.1$  ( $C_{2bu}$ ),  $113.4$  ( $C_{3bu}$ ),  $103.0$  ( $C_{acetal}$ ),  $100.2$  ( $C_{1'}$ ),  $98.9$  ( $C_{-1}$ ),  $98.7$  ( $C_{-1''}$ ),  $75.5$  ( $C_{-5}$ ),  $74.3$  ( $C_{-4}$ ),  $74.2$  ( $C_{-3}$ ),  $71.1$  ( $C_{-5'}$ ),  $70.7$  ( $C_{-3'}$ ),  $70.7$  ( $C_{-5''}$ ),  $70.4$  ( $C_{-3''}$ ),  $69.4$  ( $C_{-1_{all}}$ ),  $69.1$  ( $C_{-2''}$ ),  $69.0$  ( $C_{-2'}$ ),  $68.8$  ( $C_{-4_{bu}}$ ),  $68.7$  ( $C_{-4'}$ ),  $67.9$  ( $C_{-1_{bu}}$ ),  $67.4$  ( $C_{-4''}$ ),  $62.5$  ( $C_{-6}$ ),  $61.3$  ( $C_{-6'}$ ),  $60.9$  ( $C_{-6''}$ ),  $54.9$  ( $C_{-2}$ ),  $52.5$  ( $OCH_3$ ),  $26.6$  ( $SiC(CH_3)_3$ ),  $23.1$  -  $20.1$  ( $CH_3CO$ ),  $19.1$  ( $SiC(CH_3)_3$ ) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{65}H_{85}NO_{27}SiNa^+$ : 1362.4976, gefunden: 1362.4943  $[M+Na]^+$ .

## 7. Experimenteller Teil

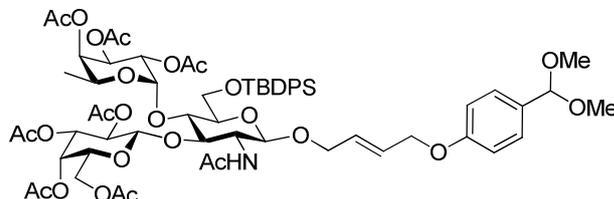
### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -L-fucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**126**):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **85** (200 mg, 515  $\mu$ mol), Verbindung **41** (1.00 g, 4.80 mmol) und Katalysator **38** (33 mg, 52  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **126** wurde als farbloser Sirup erhalten (169 mg, 132  $\mu$ mol, 79%).  $C_{53}H_{71}NO_{22}Si$  (1102.21 g/mol);  $R_f = 0.42$  (EE); Schmelzpt.: 179 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +2.6^\circ$  ( $c = 0.25$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.80$ -7.57 (m, 4H,  $H_{arom}$ ), 7.55-7.29 (m, 8H,  $H_{arom}$ ), 6.85 (d,  $^3J_{Ar} = 8.0$  Hz, 2H,  $H_{2arom}$ ), 6.10 (s, 1H,  $H_{NAc}$ ), 5.93 – 5.79 (m, 2H,  $H_{-2bu}$ ,  $H_{-3bu}$ ), 5.35-5.31 (m, 2H,  $H_{-4''}$ ,  $H_{acetal}$ ), 5.21 (d,  $^3J_{3',4'} = 3.3$  Hz, 1H,  $H_{-4'}$ ), 5.08 (dd,  $^3J_{1'',2''} = 8.0$ ,  $^3J_{2'',3''} = 10.5$  Hz, 1H,  $H_{-2''}$ ), 5.00 (dd,  $^3J_{3',4'} = 3.3$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.5$ , 3.44 Hz, 1H,  $H_{-3'}$ ), 4.95 (d,  $^3J_{1',2'} = 8.1$  Hz, 1H,  $H_{-1'}$ ), 4.91 (dd,  $^3J_{3'',4''} = 3.1$ ,  $^3J_{2'',3''} = 10.5$  Hz, 1H,  $H_{-3''}$ ), 4.88 (d,  $^3J_{1,2} = 7.8$  Hz, 1H,  $H_{-1}$ ), 4.62 (d,  $^3J_{1'',2''} = 8.0$  Hz, 1H,  $H_{-1''}$ ), 4.50-4.47 (m, 2H,  $H_{-4bu}$ ), 4.38-4.26 (m, 2H,  $H_{-3}$ ,  $H_{-1abu}$ ), 4.13-4.08 (m, 2H,  $H_{-6''}$ ), 4.10-4.00 (m, 2H,  $H_{-4}$ ,  $H_{-1bbu}$ ), 3.94-3.89 (m, 2H,  $H_{-6}$ ), 3.82 (q,  $^3J_{5',6'} = 6.1$  Hz, 1H,  $H_{-5'}$ ), 3.65 (dd,  $^3J_{1,2} = 8.0$ ,  $^3J_{2,3} = 9.5$  Hz, 1H,  $H_{-2}$ ), 3.57 (dd,  $^3J_{5'',6a''} = 6.7$ ,  $^3J_{5',6'} = 6.7$  Hz, 1H,  $H_{-5''}$ ), 3.40-3.30 (m, 1H,  $H_{-5}$ ), 3.28 (s, 6H,  $OCH_3$ ), 2.17 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.13 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.04 (s, 6H, 2 x  $H_{Ac}$ ), 2.03 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.00 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.95 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.91 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.22 (d,  $^3J_{5',6'} = 6.1$  Hz, 3H,  $H_{-6'}$ ), 1.09 (s, 9H,  $SiC(CH_3)_3$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 171.4$  - 168.4 ( $CH_3CO$ ), 136.5 – 126.8 ( $C_{arom}$ ), 114.1 ( $C_{-2bu}$ ), 113.8 ( $C_{-3bu}$ ), 102.5 ( $C_{acetal}$ ), 100.1 ( $C_{-1'}$ ), 99.2 ( $C_{-1}$ ), 98.9 ( $C_{-1''}$ ), 75.2 ( $C_{-5}$ ), 74.6 ( $C_{-3}$ ), 74.2 ( $C_{-4}$ ), 71.2 ( $C_{-3'}$ ), 70.7 ( $C_{-5''}$ ), 70.4 ( $C_{-4'}$ ), 70.3 ( $C_{-3''}$ ), 69.6 ( $C_{-2'}$ ), 69.2 ( $C_{-5'}$ ), 69.0 ( $C_{-2''}$ ), 68.8 ( $C_{-4bu}$ ), 67.5 ( $C_{-1bu}$ ), 66.5 ( $C_{-4''}$ ), 62.6 ( $C_{-6}$ ), 60.5 ( $C_{-6''}$ ), 54.4 ( $C_{-2}$ ), 52.5 ( $OCH_3$ ), 29.4 ( $C_{-6'}$ ), 26.7 ( $SiC(CH_3)_3$ ), 23.4 – 20.1 ( $CH_3CO$ ), 19.1 ( $SiC(CH_3)_3$ ) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{63}H_{83}NO_{25}SiNa^+$ : 1304.4916, gefunden: 1304.4936 [ $M+Na$ ] $^+$ .

## 7. Experimenteller Teil

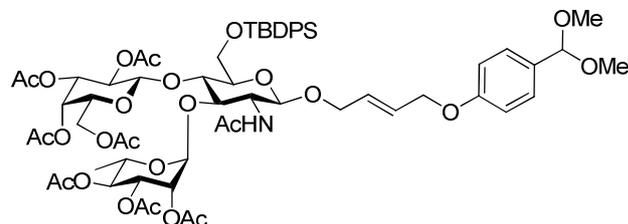
### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2-acetamido-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**127**):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **86** (200 mg, 515  $\mu$ mol), Verbindung **41** (1.00 g, 4.80 mmol) und Katalysator **38** (33 mg, 52  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **127** wurde als farbloser Sirup erhalten (255 mg, 199  $\mu$ mol, 74%).  $C_{53}H_{71}NO_{22}Si$  (1102.21 g/mol);  $R_f = 0.42$  (EE); Schmelzp.: 173 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -6.9^\circ$  ( $c = 0.5$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.80$ - $7.61$  (m, 4H,  $H_{arom}$ ),  $7.55$ - $7.34$  (m, 6H,  $H_{arom}$ ),  $7.30$  (d,  $^3J_{Ar} = 8.4$  Hz, 2H,  $H_{1arom}$ ),  $6.85$  (d,  $^3J_{Ar} = 8.4$  Hz, 2H,  $H_{2arom}$ ),  $5.96$  –  $5.82$  (m, 2H,  $H_{2bu}$ ,  $H_{3bu}$ ),  $5.70$  (d,  $^3J_{2,HNAc} = 8.5$  Hz, 1H,  $H_{NAc}$ ),  $5.38$  (d,  $^3J_{3'',4''} = 3.5$  Hz, 1H,  $H_{4''}$ ),  $5.33$  –  $5.30$  (m, 2H,  $H_{4'}$ ,  $H_{acetal}$ ),  $5.27$  (dd,  $^3J_{3'',4''} = 3.5$ ,  $^3J_{2'',3''} = 10.0$  Hz, 1H,  $H_{3''}$ )  $5.20$  (d,  $^3J_{1'',2''} = 3.7$  Hz, 1H,  $H_{1''}$ ),  $5.09$  (d,  $^3J_{1,2} = 8.0$  Hz, 1H,  $H_{-1}$ ),  $4.95$  (q,  $^3J_{5'',6''} = 6.6$  Hz, 1H,  $H_{5''}$ ),  $4.93$  (dd,  $^3J_{1',2'} = 8.1$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.4$  Hz, 1H,  $H_{-2'}$ ),  $4.91$  (dd,  $^3J_{1'',2''} = 3.7$ ,  $^3J_{2'',3''} = 10.0$  Hz, 1H,  $H_{-2''}$ ),  $4.76$  (dd,  $^3J_{3,4} = 9.4$ ,  $^3J_{2,3} = 10.0$  Hz, 1H,  $H_{-3}$ ),  $4.71$  (dd,  $^3J_{3',4'} = 3.3$ ,  $^3J_{2',3'} = 10.4$  Hz, 1H,  $H_{-3'}$ ),  $4.49$  (d,  $^3J_{1',2'} = 8.1$ , 1H,  $H_{-1'}$ )  $4.42$  (dd,  $^2J_{6'ab} = 12.0$ ,  $^3J_{5',6a'} = 6.5$  Hz, 1H,  $H_{-6a'}$ ),  $4.38$  –  $4.32$  (m, 2H,  $H_{-6b'}$ ,  $H_{-1abu}$ ),  $4.12$  –  $4.05$  (m, 2H,  $H_{-2}$ ,  $H_{-1abu}$ ),  $4.00$  (dd,  $^3J_{3,4} = 9.4$ ,  $^3J_{4,5} = 9.4$  Hz, 1H,  $H_{-4}$ ),  $3.93$  (dd,  $^2J_{6ab} = 11.9$ ,  $^3J_{5,6a} = 2.9$  Hz, 1H,  $H_{-6a}$ ),  $3.65$  -  $3.60$  (m, 2H,  $H_{-6b}$ ,  $H_{-5'}$ ),  $3.56$ -  $3.50$  (m, 1H,  $H_{-5}$ ),  $3.28$  (s, 6H,  $OCH_3$ ),  $2.15$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $2.11$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $2.08$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $2.05$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $2.02$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $1.99$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $1.95$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $1.87$  (s, 3H,  $H_{Ac}$ ),  $1.22$  (d,  $^3J_{5'',6''} = 6.6$  Hz, 3H,  $H_{-6''}$ ),  $1.10$  (s, 9H,  $SiC(CH_3)_3$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 170.9$  -  $169.4$  ( $CH_3CO$ ),  $136.3$  -  $127.0$  ( $C_{arom}$ ),  $114.8$  ( $C_{-2bu}$ ),  $114.3$  ( $C_{-3bu}$ ),  $102.6$  ( $C_{acetal}$ ),  $101.2$  ( $C_{-1''}$ ),  $97.1$  ( $C_{-1'}$ ),  $96.5$  ( $C_{-1}$ ),  $76.7$  ( $C_{-3}$ ),  $74.5$  ( $C_{-5}$ )  $74.0$  ( $C_{-4}$ ),  $72.8$  ( $C_{-3''}$ ),  $72.2$  ( $C_{-4'}$ ),  $71.2$  ( $C_{-5'}$ ),  $70.9$  ( $C_{-2''}$ ),  $69.0$  ( $C_{-1bu}$ ),  $68.8$  ( $C_{-4bu}$ ),  $68.6$  ( $C_{-5''}$ ),  $67.4$  ( $C_{-2'}$ ),  $66.7$  ( $C_{-3'}$ ),  $64.3$  ( $C_{-4''}$ ),  $62.3$  ( $C_{-6}$ ),  $60.8$  ( $C_{-6'}$ ),  $59.2$  ( $C_{-2}$ ),  $52.1$  ( $OCH_3$ ),  $26.7$  ( $SiC(CH_3)_3$ ),  $24.0$  –  $20.3$  ( $CH_3CO$ ),  $19.1$  ( $SiC(CH_3)_3$ ),  $15.8$  ( $C_{-6''}$ ) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{63}H_{83}NO_{25}SiNa^+$ : 1304.4916, gefunden: 1304.4974 [ $M+Na$ ] $^+$ .

## 7. Experimenteller Teil

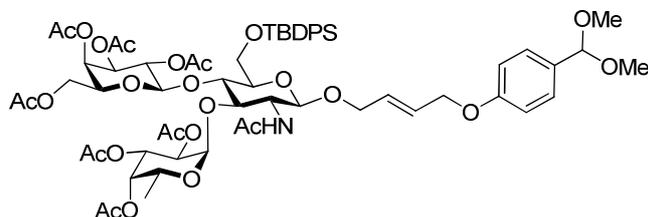
### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-6-*O*-tert-butyl-diphenylsilyl-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (**128**):



Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **87** (200 mg, 515  $\mu$ mol), Verbindung **41** (1.00 g, 4.80 mmol) und Katalysator **38** (33 mg, 52  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **128** wurde als farbloser Sirup erhalten (540 mg, 422  $\mu$ mo, 84%).  $C_{53}H_{71}NO_{22}Si$  (1102.21 g/mol);  $R_f = 0.35$  (EE); Schmelzpt.: 166 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +5.7^\circ$  ( $c = 0.25$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.81$ -7.70 (m, 4H,  $H_{arom}$ ), 7.48 - 7.35 (m, 6H,  $H_{arom}$ ), 7.31 (d,  $^3J_{Ar} = 8.1$  Hz, 2H,  $H_{1arom}$ ), 6.84 (d,  $^3J_{Ar} = 8.1$  Hz, 2H,  $H_{2arom}$ ), 6.15 (s, 1H,  $H_{NHAc}$ ), 5.97 - 5.82 (m, 2H,  $H_{2bu}$ ,  $H_{3bu}$ ), 5.33 (s, 1H,  $H_{acetal}$ ), 5.31 (d,  $^3J_{3',4''} = 3.4$  Hz, 1H,  $H_{4''}$ ), 5.25 (dd,  $^3J_{2',3'} = 3.5$ ,  $^3J_{3',4'} = 9.9$  Hz, 1H,  $H_{3'}$ ) 5.19 (dd,  $^3J_{1',2'} = 1.8$ ,  $^3J_{2',3'} = 3.5$  Hz, 1H,  $H_{2'}$ ), 5.12 (dd,  $^3J_{3',4'} = 9.9$ ,  $^3J_{4',5'} = 9.9$  Hz, 1H,  $H_{4'}$ ), 5.06 (dd,  $^3J_{1',2'} = 1.8$ ,  $^3J_{2'',3''} = 10.5$  Hz, 1H,  $H_{2''}$ ), 4.93 (dd,  $^3J_{3',4''} = 3.4$ ,  $^3J_{2'',3''} = 10.5$  Hz, 1H,  $H_{3''}$ ), 4.90 (d,  $^3J_{1',2'} = 1.8$  Hz, 1H,  $H_{1'}$ ), 4.84 (d,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, 1H,  $H_{1}$ ), 4.80 (d,  $^3J_{1,2} = 8.1$  Hz, 1H,  $H_{1'}$ ), 4.50 - 4.48 (m, 2H,  $H_{4bu}$ ), 4.46 (qd,  $^3J_{5',6'} = 6.1$ ,  $^3J_{4',5'} = 9.9$  Hz, 1H,  $H_{5'}$ ), 4.35-4.20 (m, 3H,  $H_{-3}$ ,  $H_{6a}$ ,  $1a_{bu}$ ), 4.13-4.07 (m, 2H,  $H_{6b}$ ,  $H_{1b_{bu}}$ ), 4.06-3.94 (m, 3H,  $H_{-4}$ ,  $H_{6''ab}$ ), 3.79 (dd,  $^3J_{5,6a} = 6.8$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.8$  Hz, 1H,  $H_{-5}$ ), 3.53-3.42 (m, 1H,  $H_{-2}$ ), 3.33-3.25 (m, 7H,  $H_{-5''}$ ,  $OCH_3$ ), 2.15 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.10 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.02 (s, 6H, 2 x  $H_{Ac}$ ), 1.98 (s, 9H, 3 x  $H_{Ac}$ ), 1.92 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.25 (d,  $^3J_{5',6'} = 6.1$  Hz, 3H,  $H_{-6'}$ ), 1.07 (s, 9H,  $SiC(CH_3)_3$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 172.1$ -168.8 ( $CH_3CO$ ), 136.8 - 127.4 ( $C_{arom}$ ), 115.0 ( $C_{-2bu}$ ), 114.1 ( $C_{-3bu}$ ), 101.9 ( $C_{acetal}$ ), 99.4 ( $C_{-1''}$ ), 98.1 ( $C_{-1'}$ ), 97.7 ( $C_{-1}$ ), 75.7 ( $C_{-3}$ ), 75.0 ( $C_{-5}$ ), 74.4 ( $C_{-4}$ ), 71.1 ( $C_{-4'}$ ), 70.7 ( $C_{-5''}$ ), 70.6 ( $C_{-3''}$ ), 70.1 ( $C_{-3'}$ ), 69.3 ( $C_{-1_{all}}$ ), 68.9 ( $C_{-2'}$ ), 68.7 ( $C_{-2''}$ ), 68.0 ( $C_{-4_{bu}}$ ), 67.6 ( $C_{-1_{bu}}$ ), 67.0 ( $C_{-4''}$ ), 66.3 ( $C_{-5'}$ ), 62.1 ( $C_{-6''}$ ), 61.5 ( $C_{-6}$ ), 54.9 ( $C_{-2}$ ), 53.1 ( $OCH_3$ ), 29.6 ( $C_{-6'}$ ), 27.1 ( $SiC(CH_3)_3$ ), 23.7 - 19.9 ( $CH_3CO$ ), 19.3 ( $SiC(CH_3)_3$ ) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{63}H_{83}NO_{25}SiNa^+$ : 1304.4916, gefunden: 1304.4910 [ $M+Na$ ] $^+$ .

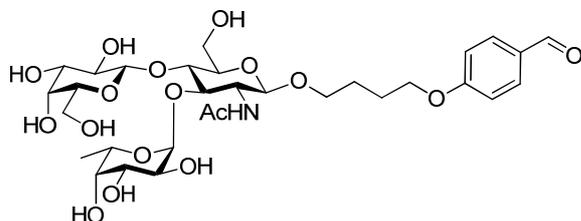
## 7. Experimenteller Teil

### (*E*)-4-(4-Dimethoxymethylphenoxy)-but-2-enyl-2-acetamido-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -L-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-fucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**129**):



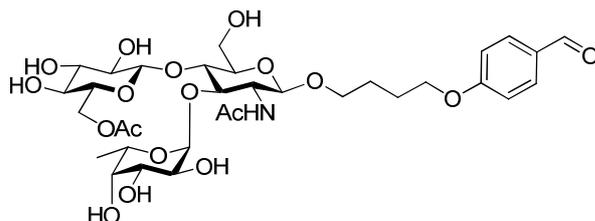
Die Synthese wurde nach AAV-4 mit Verbindung **88** (200 mg, 515  $\mu$ mol), Verbindung **41** (1.00 g, 4.80 mmol) und Katalysator **38** (33 mg, 52  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **129** wurde als farbloser Sirup erhalten (218 mg, 170  $\mu$ mol, 55%).  $C_{53}H_{71}NO_{22}Si$  (1102.21 g/mol);  $R_f = 0.41$  (EE); Schmelzpt.: 175 °C;  $[\alpha]_D^{20} = +22.3^\circ$  ( $c = 0.5$  in  $CHCl_3$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 7.78 - 7.65$  (m, 4 H,  $H_{arom}$ ), 7.45-7.31 (m, 8H,  $H_{arom}$ ), 6.91 (d,  $^3J_{Ar} = 8.3$  Hz, 2H,  $H_{2arom}$ ), 5.96 – 5.80 (m, 2H,  $H_{2bu}$ ,  $H_{3bu}$ ), 5.73 (d,  $^3J_{NH,2} = 8.2$  Hz, 1H,  $NHAc$ ), 5.40 (d,  $^3J_{1',2'} = 3.0$  Hz, 1H,  $H_{1'}$ ), 5.36 (dd,  $^3J_{4',5'} = 0.5$ ,  $^3J_{3',4'} = 3.3$  Hz, 1H,  $H_{4''}$ ), 5.29 (s, 1H,  $H_{acetal}$ ), 5.22-4.99 (m, 4H,  $H_{2'}$ ,  $H_{4'}$ ,  $H_{5'}$ ,  $H_{2''}$ ), 4.95 - 4.88 (m, 2H,  $H_{3'}$ ,  $H_{3''}$ ), 4.81 (d,  $^3J_{1,2} = 8.5$  Hz, 1 H,  $H_{-1}$ ), 4.75 (d,  $^3J_{1'',2''} = 7.8$  Hz, 1 H,  $H_{-1''}$ ), 4.51-4.47 (m, 2H,  $H_{4_{bu}}$ ) 4.38 - 4.35 (m, 1H,  $H_{-1a_{bu}}$ ), 4.17-4.05 (m, 3H,  $H_{-6''a,b}$ ,  $H_{-1b_{bu}}$ ), 4.02 (dd,  $^3J_{4,5} = 9.3$ ,  $^3J_{3,4} = 9.9$  Hz, 1H,  $H_{-4}$ ), 3.96-3.78 (m, 4H,  $H_{-3}$ ,  $H_{-6ab}$ ,  $H_{-5''}$ ), 3.55 (ddd,  $^3J_{2,NH} = 8.2$ ,  $^3J_{1,2} = 8.5$ ,  $^3J_{2,3} = 9.9$  Hz, 1H,  $H_{-2}$ ), 3.44 (ddd,  $^3J_{5,6a} = 5.3$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.2$ ,  $^3J_{4,5} = 9.3$  Hz, 1H,  $H_{-5}$ ), 3.27 (s, 6H,  $OCH_3$ ), 2.16 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.15 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.10 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.08 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.06 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 2.03 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.99 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.72 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.28 (d,  $^3J_{5',6'} = 6.5$  Hz, 3H,  $H_{-6'}$ ), 1.07 (s, 9H,  $SiC(CH_3)_3$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta = 171.0 - 168.2$  ( $CH_3CO$ ), 136.6 - 127.0 ( $C_{arom}$ ), 114.4 ( $C_{-2_{bu}}$ ), 114.3 ( $C_{-3_{bu}}$ ), 103.2 ( $C_{-1'}$ ), 102.7 ( $C_{acetal}$ ), 101.9 ( $C_{-1''}$ ), 99.5 ( $C_{-1}$ ), 79.9 ( $C_{-4'}$ ), 79.3 ( $C_{-4}$ ), 76.8 ( $C_{-3'}$ ), 76.3 ( $C_{-3}$ ), 75.7 ( $C_{-5}$ ), 72.6 ( $C_{-3''}$ ), 72.2 ( $C_{-5''}$ ), 71.4 ( $C_{-2''}$ ), 70.3 ( $C_{-2'}$ ), 69.9 ( $C_{-1_{all}}$ ), 69.3 ( $C_{-4''}$ ), 69.0 ( $C_{-4_{bu}}$ ), 68.8 ( $C_{-5'}$ ), 68.8 ( $C_{-4_{bu}}$ ), 68.0 ( $C_{-1_{bu}}$ ), 62.5 ( $C_{-6}$ ), 62.0 ( $C_{-6''}$ ), 54.8 ( $C_{-2}$ ), 52.5 ( $OCH_3$ ), 26.6 ( $SiC(CH_3)_3$ ), 24.0 – 20.3 ( $CH_3CO$ ), 19.2 ( $SiC(CH_3)_3$ ), 16.0 ( $C_{-6'}$ ) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{63}H_{83}NO_{25}SiNa^+$ : 1304.4916, gefunden: 1304.4941 [ $M+Na$ ] $^+$ .

**4-(4-Formylphenoxy)-butyl-2-acetamido-2-deoxy-3-O-( $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-4-O-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**130**):**



Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **123** (700 mg, 546  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **130** wurde als farbloser Feststoff erhalten (243 mg, 63%).  $C_{31}H_{47}NO_{17}$  (705.70 g/mol),  $R_f = 0.25$  (DCM/MeOH 2:1); Schmelzpz.: 209 °C,  $[\alpha]_D^{20} = +15.1^\circ$  ( $c = 0.2$  in  $H_2O$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 9.80$  (s, 1H,  $H_{ald}$ ), 7.86 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-1_{arom}$ ), 7.12 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-2_{arom}$ ), 5.03 (d, 1H,  $^3J_{1',2'} = 3.5$  Hz,  $H-1'$ ), 4.76 (m, 1H,  $H-5'$ ), 4.40 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.5$  Hz,  $H-1$ ), 4.38 (d, 1H,  $^3J_{1'',2''} = 8.0$  Hz,  $H-1''$ ), 4.10 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.6$  Hz, 2H,  $H-4_{bu}$ ), 4.00 - 3.98 (m, 1H,  $H-1a_{bu}$ ), 3.94-3.92 (m, 1H,  $H-5$ ), 3.90-3.75 (m, 5H,  $H-3$ ,  $H-4$ ,  $H-3''$ ,  $H-6ab$ ), 3.72 (m, 1H,  $H-2$ ), 3.70 - 3.58 (m, 4H,  $H-6ab''$ ,  $H-3'$ ,  $H-4''$ ), 3.57 (d, 1H,  $^3J_{3',4'} = 3.5$  Hz,  $H-4'$ ), 3.53 - 3.50 (m, 2H,  $H-2'$ ,  $H-2''$ ), 1.95 (s, 3H,  $NHAc$ ), 1.94-1.87 (m, 2H,  $H-3_{bu}$ ), 1.85-1.75 (m, 2H,  $H-2_{bu}$ ), 1.10 (d, 3H,  $^3J_{5',6'} = 7.0$  Hz,  $H-6'$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 192.3$  ( $C_{ald}$ ), 173.9 ( $COHN$ ), 133.0 ( $C_{arom}$ ), 115.5 ( $C_{arom}$ ), 103.9 ( $C-1$ ), 103.2 ( $C-1''$ ), 100.4 ( $C-1'$ ), 77.4 ( $C-4$ ), 76.7 ( $C-5$ ), 76.6 ( $C-3$ ), 75.2 ( $C-5''$ ), 74.9 ( $C-4''$ ), 73.7 ( $C-5'$ ), 72.7 ( $C-4'$ ), 72.0 ( $C-1_{bu}$ ), 71.5 ( $C-3'$ ), 71.2 ( $C-3''$ ), 70.2 ( $C-4_{bu}$ ), 70.0 ( $C-2'$ ), 67.7 ( $C-2''$ ), 62.8 ( $C-6''$ ), 61.3 ( $C-6$ ), 57.3 ( $C-2$ ), 27.1 ( $C-3_{bu}$ ), 26.0 ( $C-2_{bu}$ ), 23.0 ( $C_{Ac}$ ), 16.6 ( $C-6'$ ); HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{31}H_{47}NO_{17}Na^+$ : 728.2742, gefunden: 728.2830 [ $M+Na$ ] $^+$ .

**4-(4-Formylphenoxy)-butyl-2-acetamido-2-deoxy-3-O-( $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-4-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**131**):**

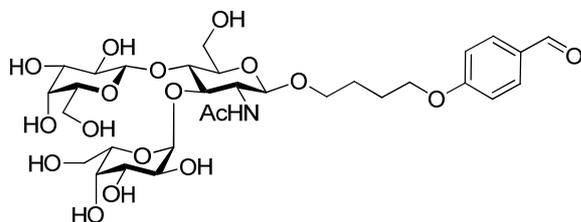


Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **124** (300 mg, 234  $\mu$ mol) durchgeführt. Das

## 7. Experimenteller Teil

Produkt **131** wurde als farbloser Feststoff erhalten (112 mg, 68%).  $C_{31}H_{47}NO_{17}$  (705.70 g/mol),  $R_f = 0.29$  (DCM/MeOH 2:1); Schmelzpt.: 197 °C,  $[\alpha]_D^{20} = +25.4^\circ$  ( $c = 0.2$  in  $H_2O$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 9.79$  (s, 1H,  $H_{ald}$ ), 7.86 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H,  $H-1_{arom}$ ), 7.12 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H,  $H-2_{arom}$ ), 4.99 (d, 1H,  $^3J_{1',2'} = 3.5$  Hz,  $H-1'$ ), 4.76 (m, 1H,  $H-5'$ ), 4.44 (d, 1H,  $^3J_{1'',2''} = 8.8$  Hz,  $H-1''$ ), 4.40 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.6$  Hz,  $H-1$ ), 4.10 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.6$  Hz, 2H,  $H-4_{bu}$ ), 4.00 - 3.98 (m, 1H,  $H-1a_{bu}$ ), 3.94-3.92 (m, 1H,  $H-5$ ), 3.90-3.75 (m, 6H,  $H-3$ ,  $H-4$ ,  $H-4'$ ,  $H-3''$ ,  $H-6ab$ ), 3.72 (m, 1H,  $H-2$ ), 3.70 - 3.58 (m, 4H,  $H-6ab''$ ,  $H-3'$ ,  $H-4''$ ), 3.55 - 3.50 (m, 3H,  $H-2'$ ,  $H-4'$ ,  $H-2''$ ), 1.95 (s, 3H,  $NHAc$ ), 1.94-1.87 (m, 2H,  $H-3_{bu}$ ), 1.85-1.75 (m, 2H,  $H-2_{bu}$ ), 1.15 (d, 3H,  $^3J_{5',6'} = 6.6$  Hz,  $H-6'$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 192.3$  ( $C_{ald}$ ), 173.9 ( $COHN$ ), 133.0 ( $C_{arom}$ ), 115.5 ( $C_{arom}$ ), 103.5 ( $C-1'$ ), 100.7 ( $C-1$ ), 100.4 ( $C-1''$ ), 77.4 ( $C-4$ ), 76.7 ( $C-5$ ), 76.6 ( $C-3$ ), 75.2 ( $C-5''$ ), 73.7 ( $C-5'$ ), 72.7 ( $C-4'$ ), 72.0 ( $C-1_{bu}$ ), 71.29 ( $C-3''$ ), 71.5 ( $C-3'$ ), 70.2 ( $C-4_{bu}$ ), 70.1 ( $C-4''$ ), 70.0 ( $C-2'$ ), 67.7 ( $C-2''$ ), 62.8 ( $C-6''$ ), 61.3 ( $C-6$ ), 57.2 ( $C-2$ ), 27.1 ( $C-3_{bu}$ ), 26.0 ( $C-2_{bu}$ ), 23.0 ( $C_{Ac}$ ), 16.7 ( $C-6'$ ); HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{31}H_{47}NO_{17}Na^+$ : 728.2742, gefunden: 728.2711 [ $M+Na$ ] $^+$ .

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl-2-acetamido-2-deoxy-3-O-( $\alpha$ -L-galactopyranosyl)-4-O-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**132**):

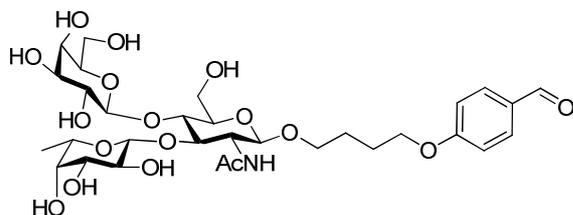


Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **125** (445 mg, 332  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **132** wurde als farbloser Feststoff erhalten (168 mg, 70%).  $C_{31}H_{47}NO_{18}$  (721.70 g/mol),  $R_f = 0.16$  (DCM/MeOH 2:1); Schmelzpt.: 244 °C,  $[\alpha]_D^{20} = -1.2^\circ$  ( $c = 0.1$  in  $H_2O$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 9.81$  (s, 1H,  $H_{ald}$ ), 7.84 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H,  $H-1_{arom}$ ), 7.07 (d,  $^3J_{Ar} = 8.8$  Hz, 1H,  $H-2_{arom}$ ), 4.99 (d,  $^3J_{1',2'} = 3.8$  Hz, 1H,  $H-1'$ ), 4.59 (d,  $^3J_{1,2} = 8.4$  Hz, 1H, 1H), 4.48 (d,  $^3J_{1'',2''} = 7.6$  Hz, 1H,  $H-1''$ ), 4.12 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.7$  Hz, 2H,  $H-4_{bu}$ ), 4.00 - 3.92 (m, 3H,  $H-5$ ,  $H-6a$ ,  $H-1a_{bu}$ ), 3.90 - 3.80 (m, 6H,  $H-4$ ,  $H-3'$ ,  $H-4''$ ,  $H-6b$ ,  $H-6a'$ ), 3.79 - 3.75 (m, 4H,  $H-2$ ,  $H-4'$ , 2 x  $H-6ab''$ ), 3.72 - 3.66 (m, 1H,  $H-6b'$ ,  $H-1b_{bu}$ ), 3.65 - 3.58 (m, 3H,  $H-3$ ,  $H-3''$ ,  $H-5''$ ), 3.58 - 3.47 (m, 3H,  $H-5'$ ,  $H-2'$ ,  $H-2''$ ), 2.02 (s, 3H,  $H_{Ac}$ ), 1.96-1.87 (m, 2H,  $H-3_{bu}$ ), 1.85-1.75 (m, 2H,  $H-2_{bu}$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 192.9$  ( $C_{ald}$ ), 176.8

## 7. Experimenteller Teil

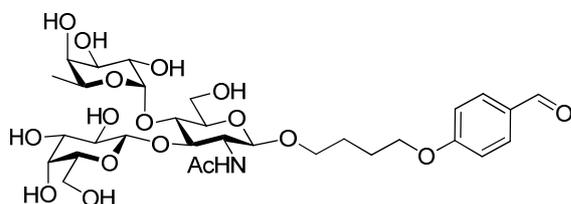
(CONH), 133.1 ( $C_{\text{arom}}$ ), 116.0 ( $C_{\text{arom}}$ ), 106.1 (C-1), 103.9 (C-1''), 101.3 (C-1'), 82.1 (C-4), 77.2 (C-5), 76.9 (C-3), 76.6 (C-5''), 76.5 (C-5'), 74.1 (C-4''), 73.6 (C-2), 72.9 (C-2''), 72.8 (C-2'), 72.5 (C-4'), 72.4 (C-3'), 71.7 (C-1<sub>bu</sub>), 70.3 (C-4<sub>bu</sub>), 70.0 (C-3''), 62.6 (C-6'), 62.3 (C-6''), 61.1 (C-6), 56.2 (C-2), 27.2 (C-3<sub>bu</sub>), 26.9 (C-2<sub>bu</sub>), 23.9 ( $C_{\text{Ac}}$ ) ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{31}H_{47}NO_{17}Na^+$ : 744.2961, gefunden: 744.3010 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>.

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl-2-acetamido-2-deoxy-3-O-( $\beta$ -L-fucopyranosyl)-4-O-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**133**):



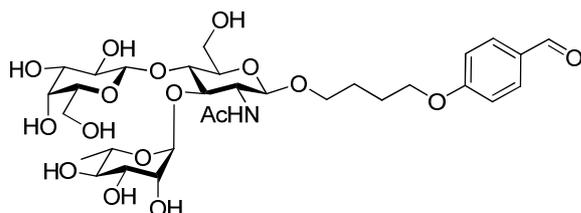
Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **126** (169 mg, 132  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **133** wurde als farbloser Feststoff erhalten (63 mg, 68%).  $C_{31}H_{47}NO_{17}$  (705.70 g/mol),  $R_f = 0.27$  (DCM/MeOH 2:1); Schmelzpt.: 198 °C,  $[\alpha]_D^{20} = +7.6^\circ$  ( $c = 0.1$  in  $H_2O$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 9.80$  (s, 1H,  $H_{\text{ald}}$ ), 7.86 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.7$  Hz, 1H, H-1<sub>arom</sub>), 7.12 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.7$  Hz, 1H, H-2<sub>arom</sub>), 4.56 (m, 1H, H-5'), 4.40 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.5$  Hz, H-1), 4.38 (d, 1H,  $^3J_{1'',2''} = 8.0$  Hz, H-1''), 4.33 (d, 1H,  $^3J_{1',2'} = 7.5$  Hz, H-1'), 4.12 (t,  $^3J_{3_{bu},4_{bu}} = 6.6$  Hz, 2H, H-4<sub>bu</sub>), 4.01 - 3.98 (m, 1H, H-1<sub>abu</sub>), 3.92-3.75 (m, 6H, H-3, H-4, H-5, H-3'', H-6<sub>ab</sub>), 3.72 (m, 1H, H-2), 3.70 - 3.58 (m, 4H, H-6<sub>ab''</sub>, H-3', H-4'), 3.57 (d, 1H,  $^3J_{3',4'} = 3.4$  Hz, H-4'), 3.53 - 3.50 (m, 2H, H-2', H-2''), 1.95 (s, 3H, NHAc), 1.94-1.87 (m, 2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.85-1.75 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>), 1.27 (d, 3H,  $^3J_{5',6'} = 6.3$  Hz, H-6') ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 192.3$  ( $C_{\text{ald}}$ ), 173.9 (COHN), 133.0 ( $C_{\text{arom}}$ ), 115.5 ( $C_{\text{arom}}$ ), 103.9 (C-1), 103.2 (C-1), 102.9 (C-1'), 77.4 (C-4), 76.7 (C-5), 76.6 (C-3), 75.2 (C-5''), 74.9 (C-4''), 73.7 (C-5'), 72.7 (C-4'), 72.0 (C-1<sub>bu</sub>), 71.5 (C-3'), 71.2 (C-3''), 70.2 (C-4<sub>bu</sub>), 70.0 (C-2'), 67.7 (C-2''), 62.8 (C-6''), 61.3 (C-6), 57.3 (C-2), 27.1 (C-3<sub>bu</sub>), 26.0 (C-2<sub>bu</sub>), 23.0 ( $C_{\text{Ac}}$ ), 16.6 (C-6'); HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{31}H_{47}NO_{17}Na^+$ : 728.2742, gefunden: 728.2830 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>.

**4-(4-Formylphenoxy)-butyl-2-acetamido-2-deoxy-4-O-( $\alpha$ -L-fucopyranosyl)-3-O-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (134):**



Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **127** (255 mg, 199  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **134** wurde als farbloser Feststoff erhalten (109 mg, 78%).  $C_{31}H_{47}NO_{17}$  (705.70 g/mol),  $R_f = 0.20$  (DCM/MeOH 2:1); Schmelzpt.: 201 °C,  $[\alpha]_D^{20} = -29.0^\circ$  ( $c = 0.2$  in  $H_2O$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 9.80$  (s, 1H,  $H_{ald}$ ), 7.86 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-1_{arom}$ ), 7.12 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-2_{arom}$ ), 5.05 (d, 1H,  $^3J_{1',2'} = 3.5$  Hz,  $H-1'$ ), 4.65 (m, 1H,  $H-5'$ ), 4.51 (d, 1H,  $^3J_{1'',2''} = 8.9$  Hz,  $H-1''$ ), 4.39 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 7.5$  Hz,  $H-1$ ), 4.10 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.6$  Hz, 2H,  $H-4_{bu}$ ), 4.00 - 3.98 (m, 1H,  $H-1a_{bu}$ ), 3.94-3.92 (m, 1H,  $H-5$ ), 3.90-3.75 (m, 5H,  $H-3$ ,  $H-4$ ,  $H-3''$ ,  $H-6ab$ ), 3.73-3.69 (m, 1H,  $H-2$ ,  $H-3'$ ), 3.66 - 3.58 (m, 4H,  $H-6ab''$ ,  $H-4'$ ,  $H-4''$ ), 3.53 - 3.50 (m, 2H,  $H-2'$ ,  $H-2''$ ), 1.93 (s, 3H,  $NHAc$ ), 1.94-1.87 (m, 2H,  $H-3_{bu}$ ), 1.80-1.70 (m, 2H,  $H-2_{bu}$ ), 1.13 (d, 3H,  $^3J_{5',6'} = 7.4$  Hz,  $H-6'$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 192.1$  ( $C_{ald}$ ), 173.5 ( $COHN$ ), 133.0 ( $C_{arom}$ ), 115.5 ( $C_{arom}$ ), 103.9 ( $C-1$ ), 103.2 ( $C-1''$ ), 100.4 ( $C-1'$ ), 76.9 ( $C-3$ ), 76.7 ( $C-5$ ), 76.0 ( $C-4$ ), 75.2 ( $C-5''$ ), 74.9 ( $C-4''$ ), 73.7 ( $C-5'$ ), 72.7 ( $C-4'$ ), 72.0 ( $C-1_{bu}$ ), 71.5 ( $C-3'$ ), 71.2 ( $C-3''$ ), 70.2 ( $C-4_{bu}$ ), 70.0 ( $C-2'$ ), 67.7 ( $C-2''$ ), 62.8 ( $C-6''$ ), 61.3 ( $C-6$ ), 57.3 ( $C-2$ ), 27.1 ( $C-3_{bu}$ ), 26.0 ( $C-2_{bu}$ ), 23.0 ( $C_{Ac}$ ), 16.6 ( $C-6'$ ); HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{31}H_{47}NO_{17}Na^+$ : 728.2742, gefunden: 728.2744 [ $M+Na$ ] $^+$ .

**4-(4-Formylphenoxy)-butyl-2-acetamido-2-deoxy-3-O-( $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl)-4-O-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (135):**

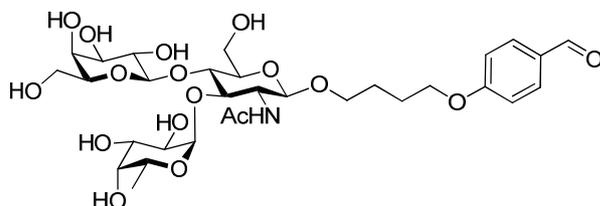


Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **128** (540 mg, 422  $\mu$ mol) durchgeführt. Das

## 7. Experimenteller Teil

Produkt **135** wurde als farbloser Feststoff erhalten (209 mg, 70%).  $C_{31}H_{47}NO_{17}$  (705.70 g/mol),  $R_f = 0.19$  (DCM/MeOH 2:1); Schmelztp. 187 °C,  $[\alpha]_D^{20} = +6.6^\circ$  ( $c = 0.2$  in  $H_2O$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 9.80$  (s, 1H,  $H_{ald}$ ), 7.86 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-1_{arom}$ ), 7.12 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-2_{arom}$ ), 5.23 (d, 1H,  $^3J_{1',2'} = 1.8$  Hz,  $H-1'$ ), 4.76 (m, 1H,  $H-5'$ ), 4.45 (d, 1H,  $^3J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $H-1$ ), 4.39 (dq,  $^3J_{5',6'} = 7.0$ ,  $^3J_{4',5'} = 9.7$  Hz, 1H,  $H-5'$ ), 4.33 (d, 1H,  $^3J_{1'',2''} = 8.1$  Hz,  $H-1''$ ), 4.10 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.6$  Hz, 2H,  $H-4_{bu}$ ), 4.00 - 3.92 (m, 2H,  $H-5$ ,  $H-1a_{bu}$ ), 3.90 - 3.75 (m, 5H,  $H-3$ ,  $H-4$ ,  $H-3''$ ,  $H-6ab$ ), 3.74 (m, 1H,  $H-2$ ), 3.70 - 3.58 (m, 4H,  $H-6ab''$ ,  $H-3'$ ,  $H-4'$ ), 3.57 (d, 1H,  $^3J_{3',4'} = 3.5$  Hz,  $H-4'$ ), 3.53 - 3.50 (m, 2H,  $H-2'$ ,  $H-2''$ ), 1.95 (s, 3H, NHAc), 1.94-1.87 (m, 2H,  $H-3_{bu}$ ), 1.85-1.75 (m, 2H,  $H-2_{bu}$ ), 1.18 (d, 3H,  $^3J_{5',6'} = 7.0$  Hz,  $H-6'$ ) ppm;  $^{13}C$ -NMR (126 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 192.3$  ( $C_{ald}$ ), 173.9 (COHN), 133.0 ( $C_{arom}$ ), 115.7 ( $C_{arom}$ ), 103.1 ( $C-1$ ), 102.9 ( $C-1''$ ), 102.3 ( $C-1'$ ), 76.4 ( $C-4$ ), 76.0 ( $C-5$ ), 76.6 ( $C-3$ ), 75.6 ( $C-5'$ ), 75.2 ( $C-5''$ ), 74.9 ( $C-4'$ ), 72.7 ( $C-4'$ ), 72.5 ( $C-2'$ ), 72.0 ( $C-1_{bu}$ ), 71.5 ( $C-3'$ ), 71.2 ( $C-3''$ ), 70.2 ( $C-4_{bu}$ ), 67.7 ( $C-2''$ ), 62.8 ( $C-6''$ ), 61.3 ( $C-6$ ), 57.3 ( $C-2$ ), 27.2 ( $C-3_{bu}$ ), 26.6 ( $C-2_{bu}$ ), 23.1 ( $C_{Ac}$ ), 20.1 ( $C-6'$ ); HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{31}H_{47}NO_{17}Na^+$ : 728.2742, gefunden: 728.2738  $[M+Na]^+$ .

### 4-(4-Formylphenoxy)-butyl-2-acetamido-2-deoxy-3-O-( $\alpha$ -D-fucopyranosyl)-4-O-( $\beta$ -L-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**136**):

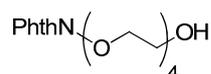


Die Synthese wurde nach AAV-5 mit Verbindung **129** (218 mg, 170  $\mu$ mol) durchgeführt. Das Produkt **136** wurde als farbloser Feststoff erhalten (87 mg, 73%).  $C_{31}H_{47}NO_{17}$  (705.70 g/mol),  $R_f = 0.23$  (DCM/MeOH 2:1); Schmelztp. 160 °C,  $[\alpha]_D^{20} = -32.0^\circ$  ( $c = 0.2$  in  $H_2O$ );  $^1H$ -NMR (500 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 9.80$  (s, 1H,  $H_{ald}$ ), 7.86 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-1_{arom}$ ), 7.12 (d,  $^3J_{Ar} = 8.7$  Hz, 1H,  $H-2_{arom}$ ), 5.05 (d,  $^3J_{1',2'} = 4.0$  Hz,  $H-1$ ,  $H-1'$ ), 4.79 (dd, 1H,  $H-5'$ ), 4.49 (d,  $^3J_{1,2} = 8.4$  Hz, 1H,  $H-1$ ), 4.40 (d,  $^3J_{1'',2''} = 8.4$  Hz, 1H,  $H-1''$ ), 4.10 (t,  $^3J_{3bu,4bu} = 6.6$  Hz, 2H,  $H-4_{bu}$ ), 3.91 (dd,  $^3J_{1',2''} = 8.4$ ,  $^3J_{2'',3''} = 10.8$  Hz, 1H,  $H-2''$ ), 3.89 - 3.85 (m, 5H,  $H-2$ ,  $H-6a$ ,  $H-3'$ ,  $4''$ ,  $H-1a_{bu}$ ), 3.82 (dd,  $^3J_{3,4} = 9.0$ ,  $^3J_{4,5} = 9.0$  Hz,  $H-4$ ), 3.78 (dd,  $^3J_{2,3} = 8.5$ ,  $^3J_{3,4} = 9.0$  Hz, 1H,  $H-3$ ), 3.76-3.74 (m, 2H,  $H-4'$ ,  $H-1b_{bu}$ ), 3.71 (dd,  $^3J_{5',6'} = 7.8$ ,  $^3J_{6a'',6b''} = 11.6$  Hz, 1H,  $H-6a''$ ),

## 7. Experimenteller Teil

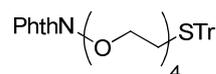
3.68 - 3.64 (m, 4H, H-3, H-2', H-6b, H-6b''), 3.52 - 3.50 (m, 1H, H-5''), 3.45 (ddd,  $^3J_{5,6a} = 3.4$ ,  $^3J_{5,6b} = 6.8$ ,  $^3J_{4,5} = 9.0$  Hz, 1H, H-5), 1.99 (s, 3H, NHAc), 1.94-1.87 (m, 2H, H-3<sub>bu</sub>), 1.85-1.75 (m, 2H, H-2<sub>bu</sub>), 1.20 (d,  $^3J_{5,6'} = 6.6$  Hz, 3H, H-6') ppm; HRMS (ESI):  $m/z$  berechnet für  $C_{31}H_{47}NO_{17}Na^+$ : 728.2742, gefunden: 728.2720 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>.

### **O-Phthalimido-tetraethylenglycol (138):**



Unter Argonatmosphäre wurde Tetraethylenglycol (0.97 g, 5.0 mmol) zusammen mit PS-PPh<sub>3</sub> (5.07 g, 7.5 mmol, 1.48 mmol/g) und *N*-Hydroxyphthalimid (0.82 g, 5.0 mmol) in abs. THF (80 mL) gelöst. Unter Rühren wurde eine Lösung von Diisopropylazodicarboxylat (1.52 g, 7.5 mmol) in abs. THF (20 mL) tropfenweise über einen Zeitraum von 30 min zugegeben. Der Reaktionsansatz wurde zunächst für 4 Stunden gerührt und dann für 16 Stunden ohne Rühren stehen gelassen. Das Harz wurde über Celite abfiltriert und das Filtrat bei vermindertem Druck eingengt. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel Ethylacetat. Die Verbindung **138** wurde als farbloses Öl erhalten (622 mg, 37%). <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 7.88$ – $7.80$  (m, 2H, Phth<sub>ortho</sub>),  $7.78$ – $7.71$  (m, 2H, Phth<sub>meta</sub>),  $4.41$ – $4.36$  (m, 2H, CH<sub>2</sub>ON),  $3.89$ – $3.84$  (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>ON),  $3.74$ – $3.66$  (m, 4H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O),  $3.66$ – $3.57$  (m, 8H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O),  $2.47$  (t,  $^3J_{CH_2,OH} = 6.2$  Hz, OH) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 163.4$  (C=O),  $134.4$  (C-Phth<sub>meta</sub>),  $128.9$  (C-Phth<sub>ipso</sub>),  $123.5$  (C-Phth<sub>ortho</sub>),  $77.2$  (CH<sub>2</sub>ON),  $72.4$ ,  $70.8$ ,  $70.6$ ,  $70.4$ ,  $70.3$ , (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH),  $69.2$  (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>ON),  $61.7$  (CH<sub>2</sub>OH) ppm; HRMS (ES):  $m/z$  berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>7</sub>: 340.1396 [ $M+H$ ], gefunden 340.1378 [ $M+H$ ].

### **O-Phthalimido-( $\omega$ -thiotrityl)-tetraethylenglycol (139):**

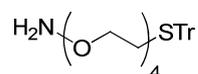


Unter Argonatmosphäre wurde Diisopropylazodicarboxylat (607 mg, 3.00 mmol) bei 0 °C zu einer Suspension von Polymer-gebundenem Triphenylphosphin (2.03 g, 3.0 mmol, 1.48 mmol/g) in abs. THF (25 mL) gegeben. Die Mischung wurde für 30 min bei 0 °C gerührt, und

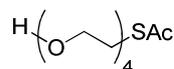
## 7. Experimenteller Teil

anschließend eine Lösung von Verbindung **138** (509 mg, 1.5 mmol) und Triphenylmethanthiol (829 mg, 3.0 mmol) in abs. THF (20 mL) bei 0 °C langsam zugetropft. Nach Erwärmen auf Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz für 4 Stunden gerührt. Das Harz wurde über Celite abfiltriert und das Filtrat bei vermindertem Druck eingeeengt. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittelgradienten Diethylether-Hexan (1:1 → 1:0). Die Verbindung **139** wurde als farbloses Öl erhalten (699 mg, 78%). <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.86–7.79 (m, 2H, o-ArH), 7.76–7.69 (m, 2H, m-ArH), 7.44–7.38 (m, 6H, H-Trityl), 7.31–7.16 (m, 9H, H-Trityl), 4.38–4.33 (m, 2H, CH<sub>2</sub>ON), 3.87–3.81 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>ON), 3.66–3.60 (m, 2H), 3.57–3.51 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.51–3.45 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.43–3.36 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.28 (t, <sup>3</sup>J<sub>OCH<sub>2</sub>,CH<sub>2</sub>STr</sub> = 6.7 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>STr), 2.41 ppm (t, <sup>3</sup>J<sub>OCH<sub>2</sub>,CH<sub>2</sub>STr</sub> = 6.7 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>STr); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 163.3 (C=O), 144.7 (C-Trityl<sub>ipso</sub>), 134.3 (C-Phth<sub>meta</sub>), 129.5 (C-Trityl), 129.0 (C-Phth<sub>ipso</sub>), 127.8 (C-Trityl), 126.6 (C-Trityl<sub>para</sub>), 123.4 (C-Phth<sub>ortho</sub>), 77.1 (CH<sub>2</sub>ON), 70.7, 70.4, 70.3, 70.0, 69.5 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 69.2 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>STr), 66.5 (C-Trityl<sub>quaternary</sub>), 31.6 OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>STr); HRMS (ES): *m/z* berechnet für C<sub>35</sub>H<sub>36</sub>NO<sub>6</sub>S: 620.2083 [*M*+Na] gefunden: 620.2089 [*M*+Na].

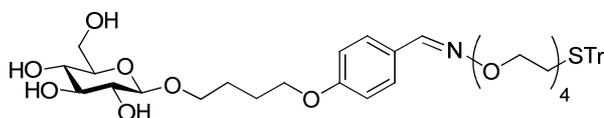
### Hydroxylamino-(ω-thiotrityl)-tetraethylenglycol (**140**):



Die Verbindung **139** (598 mg, 1.0 mmol) wurde in Acetonitril (20 mL) gelöst und Hydrazinhydrat (230 µL, 5.0 mmol) zugegeben. Rühren für 2 Stunden bei Raumtemperatur ergab eine weiße Suspension, die bei vermindertem Druck konzentriert wurde. Der Rückstand wurde in DCM suspendiert und über Celite filtriert. Durch Einengen des Filtrats zur Trockne wurde die Verbindung **140** ohne weitere Reinigung als farbloses Öl erhalten (454 mg, 97%). <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7.44–7.38 (m, 6H, H-Trityl), 7.31–7.16 (m, 9H, H-Trityl), 5.48 (s, 2H, ONH<sub>2</sub>), 3.84–3.79 (m, 2H, CH<sub>2</sub>ON), 3.69–3.64 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>ON), 3.63 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.60–3.55 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.48–3.43 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.31 (t, <sup>3</sup>J<sub>OCH<sub>2</sub>,CH<sub>2</sub>STr</sub> = 6.9 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>STr), 2.43 (t, <sup>3</sup>J<sub>OCH<sub>2</sub>,CH<sub>2</sub>STr</sub> = 6.9 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>STr) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 144.8 (C-Trityl<sub>ipso</sub>), 129.6 (C-Trityl), 127.8 (C-Trityl), 126.6 (C-Trityl<sub>para</sub>), 74.8 (CH<sub>2</sub>ON), 70.6, 70.5, 70.4, 70.1, 69.7, 69.6 (CH<sub>2</sub>O), 66.6 (C-Trityl<sub>quartär</sub>), 31.6 (CH<sub>2</sub>STr) ppm; HRMS (ES): *m/z* berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>4</sub>S: 468.2209 [*M*+H], gefunden: 468.2199.

**Thioacetyl-tetraethylenglycol (141):**

Gemäß der Synthese von Verbindung **138** wurden Tetraethylenglycol (970 mg, 5.00 mmol), Triphenylphosphin (1.97 g, 7.50 mmol), Diisopropylazodicarboxylat (1.52 g, 7.50 mmol) und Thioessigsäure (360  $\mu$ L, 5.00 mmol) zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel PE-EE (1:1). Die Verbindung **141** wurde als gelbliches Öl erhalten (290 mg, 23%).  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 3.89–3.66(m, 12H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3.36 (t,  $^3J_{\text{OCH}_2, \text{CH}_2\text{STr}} = 6.4$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{SAc}$ ), 2.52 (t,  $^3J_{\text{OCH}_2, \text{CH}_2\text{STr}} = 6.4$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{SAc}$ ), 2.19 (s, 3H,  $\text{SCOCH}_3$ ) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 72.4, 70.8, 70.6, 70.4, 70.3, 69.2 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 61.7 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 31.6 ( $\text{CH}_2\text{SAc}$ ) 22.7 ( $\text{CH}_3\text{COS}$ ) ppm.

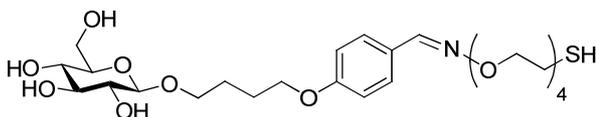
**4-(4-( $\omega$ -Thiotrityl)-tetraethylenglycolyl-benzaldehydoxim)-butyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (142):**

Der Aminoxylinker **140** (150 mg, 0.32 mmol) und das Glycosid **53** (124 mg, 0.35 mmol) wurden in Acetonitril (5 mL) gelöst. Anschließend wurde Eisessig (150  $\mu$ L) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT für 16 Stunden gerührt und schließlich bei vermindertem Druck konzentriert. Die Reinigung erfolgte durch Kieselgelfiltration mit dem Laufmittel DCM-Methanol (20:1). Die Verbindung **142** wurde als farbloser Sirup erhalten (260 mg, quant.).  $^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 8.03 (s, 1H,  $\text{CH}=\text{NO}$ ), 7.49 (d,  $^3J_{\text{ar}} = 8.8$  Hz, 2H, H-1<sub>ar</sub>), 7.43-7.34 (m, 6H, H-Trityl), 7.32-7.13 (m, 9H, H-Trityl), 6.90 (d,  $^3J_{\text{ar}} = 8.8$  Hz, 2H, H-2<sub>ar</sub>), 4.31-4.16 (m, 3H, H-1), 4.08-3.91 (m, 3H), 3.87 (dd,  $J = 11.85, 1.80$  Hz, 1H), 3.80-3.72 (m, 3H), 3.67-3.58 (m, 6H), 3.57-3.50 (m, 2H), 3.45-3.36 (m, 1H), 3.36-3.12 (m, 18H), 2.37 (t,  $J = 6.74, 6.74$  Hz, 1H), 1.96-1.71 (m, 4H, H-2<sub>bu</sub>, H-3<sub>bu</sub>) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 150.0 ( $\text{CH}=\text{NO}$ ), 146.3 (C-Trityl<sub>ipso</sub>), 130.8 (C-Trityl), 129.6 (C-arom), 128.9 (C-Trityl), 127.8 (C-Trityl), 126.1 (C-arom), 115.8 (C-arom), 104.4 (C-1), 78.2 (C-4), 78.0 (C-5), 75.2 (C-2), 74.3 ( $\text{CH}_2\text{ON}$ ), 71.7, 71.6, 71.5, 71.4, 71.2, 70.7, 70.6, 70.3 (C-1<sub>bu</sub>, C-2<sub>bu</sub>,  $\text{CH}_2$ -

## 7. Experimenteller Teil

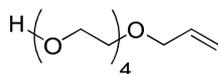
OEG), 68.9 (C-3), 62.8 (C-6), 32.8 (CH<sub>2</sub>-STr), 27.4 (C-2<sub>bu</sub>), 27.0 (C-3<sub>bu</sub>) ppm; MALDI-TOF: *m/z* berechnet für C<sub>44</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>11</sub>S: 805.35, gefunden: 828.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Versuch zur Darstellung von 4-(4-(ω-Thio)-tetraethylglycolyl-benzaldehydoxim)-butyl-β-D-glucopyranosid (**143**):



Die Verbindung **142** (260 mg, 0.35 mmol) wurde unter Argonatmosphäre in absolutem DCM (5 mL) gelöst. Es wurde unter Rühren Triethylsilan (1 mL) zu gegeben, gefolgt von tropfenweiser Zugabe von Trifluoressigsäure (1.5 mL). Das Reaktionsgemisch wurde für 5 Minuten bei RT gerührt und dann bei vermindertem Druck konzentriert. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM-Methanol (20:1). Die Verbindung **143** konnte nicht erhalten werden. NMR-Daten des unerwarteten Nebenproduktes finden sich in Abschnitt 3.5.

### Allyl-tetraethylglycol (**144**):

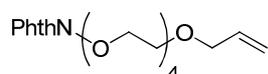


Zu einer Lösung von Tetraethylglycol **137** (3.41 g, 17.6 mmol) in trockenem DMF (20 mL) wurde langsam Natriumhydrid (510 mg, 21.1 mmol) gegeben. Nach Rühren für eine Stunde bei Raumtemperatur wurde die Suspension im Eisbad gekühlt. Zu dem Reaktionsansatz wurde anschließend Allylbromid (760 µL, 8.80 mmol) zugetropft. Nach Erwärmen auf RT wurde das Reaktionsgemisch für 12 Stunden gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (10 mL) abgebrochen und dann mit Ethylacetat (20 mL) verdünnt. Die wässrige Phase wurde mit Ethylacetat (3 × 20 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Filtration und Entfernung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Laufmittelgradienten von DCM – Methanol (20 : 1) gereinigt. Die Verbindung **144** wurde als farbloses Öl erhalten (1.86 g, 90%). *R<sub>f</sub>* =

## 7. Experimenteller Teil

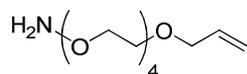
0.38 (DCM/MeOH 15:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.90 (tdd,  $^3J_{2,3} = 4.9$ ;  $^3J_{1b,2} = 10.3$ ;  $^3J_{1a,2} = 17.4$  Hz, 1H, H-2), 5.26 (d,  $^3J_{1a,2} = 17.4$  Hz, 1H, H-1a), 5.20 (d,  $^3J_{1b,2} = 10.3$  Hz, 1H, H-1b), 4.00 (d,  $^3J_{2,3} = 4.9$  Hz, 2H, H-3), 3.69-3.63 (m, 2H, H-4), 3.63-3.57 (m, 10H, H-5,6,7,8,9), 3.56-3.51 (m, 4H, H-10, H-11), 2.67 (s, 1H, OH) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 134.6 (C-2), 117.0 (C-1), 72.4 (C-3), 72.1 (C-4), 71.1 -69.9 (C-6,7,8,9,10), 69.3 (C-5), 61.7 (C-11) ppm.

### Allyl-( $\omega$ -O-phthalimido)-tetraethylglycol (**145**):



Gemäß der Synthese von Verbindung **138** wurden das Tetraethylglycol-Derivat **144** (1.10 g, 4.70 mmol), Triphenylphosphin (1.85 g, 7.05 mmol), Diisopropylazodicarboxylat (1.43 g, 7.05 mmol) und *N*-Hydroxyphthalimid (1.15 g, 7.05 mmol) zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel PE-EE (1:1). Die Verbindung **145** wurde als farbloses Öl erhalten (1.50 g, 56%).  $R_f = 0.31$  (PE/EE 1:1);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 7.87–7.80 (m, 2H, Phth<sub>ortho</sub>), 7.76–7.70 (m, 2H, Phth<sub>meta</sub>), 5.97 (tdd,  $^3J_{2,3} = 5.4$ ;  $^3J_{1b,2} = 10.5$ ;  $^3J_{1a,2} = 17.1$  Hz, 1H, H-2), 5.24 (d,  $^3J_{1a,2} = 17.1$  Hz, 1H, H-1a), 5.17 (d,  $^3J_{1b,2} = 10.5$  Hz, 1H, H-1b), 4.40–4.37 (m, 2H, H-11), 4.00 (d,  $^3J_{2,3} = 5.4$  Hz, 2H, H-3), 3.89–3.84 (m, 2H, H-10), 3.68-3.57 (m, 12H, H-4,5,6,7,8,9) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25 °C)  $\delta$  = 163.4 (C<sub>Carboxy</sub>), 134.7 (C-2), 133.9 (C-Phth<sub>meta</sub>), 128.9 (C-Phth<sub>ipso</sub>), 123.9 (C-Phth<sub>ortho</sub>), 117.0 (C-1), 77.2 (C-11), 72.0 - 69.9 (C-3,4,5,6,7,8,9), 68.9 (C-10) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_7$ : 379.16, gefunden: 402.5 [ $M+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.

### Allyl-( $\omega$ -hydroxylamino)-tetraethylglycol (**146**):

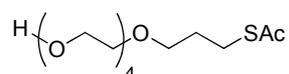


Gemäß der Synthese von Verbindung **140** wurden das Tetraethylglycol-Derivat **144** (1.45 g, 3.82 mmol) mit Hydrazin-Hydrat (880  $\mu\text{L}$ , 19.1 mmol) in Acetonitril zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM-Methanol (10:1). Die Verbindung **146** wurde als farbloses Öl erhalten (750 mg, 75%).  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,

## 7. Experimenteller Teil

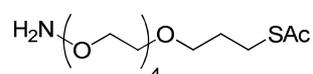
$\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.99$  (tdd,  $^3J_{2,3} = 5.1$ ;  $^3J_{1a,2} = 10.3$ ;  $^3J_{1b,2} = 17.2$  Hz, 1H, H-2), 5.45 (s, 2H,  $\text{ONH}_2$ ), 5.28 (d,  $^3J_{1a,2} = 17.2$  Hz, 1H, H-1b), 5.19 (d,  $^3J_{1a,2} = 10.3$  Hz, 1H, H-1a), 4.00 (d,  $^3J_{2,3} = 5.1$  Hz, 2H, H-3), 3.84–3.79 (m, 2H, H-11), 3.70–3.64 (m, 2H, H-10), 3.62–3.50 (m, 12H, H-4,5,6,7,8,9) ppm;  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 133.9$  (C-2), 117.0 (C-1), 74.2 (C-11), 72.0 - 68.9 (C-3,4,5,6,7,8,9,10) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ : 249.16, gefunden: 272.9  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

### 3-Thioacetylpropyl-tetraethylenglycol (147):



Zu einer Lösung von Alken **144** (680 mg, 2.90 mmol) in abs. THF (10 mL) wurden unter Rühren Thioessigsäure (1.03 mL, 14.5 mmol) und AIBN (450 mg, 2.74 mmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 3 h bei RT mit UV-Licht bestrahlt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und das gelbliche Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit einem Laufmittelgradienten von DCM – Methanol (20 : 1) gereinigt. Die Verbindung **147** wurde als fahlgelbes Öl erhalten (905 mg, quant.)  $R_f = 0.40$  (DCM/MeOH 15:1);  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 3.75$ – $3.71$  (m, 2H, H-11), 3.69–3.52 (m, 16H, H-3,4,5,6,7,8,9,10), 3.09 (t,  $^3J_{1,2} = 6.4$  Hz, 2H, H-1), 2.57 (s, 1H, OH), 2.33 (s, 3H, SAc), 2.14–1.97 (m, 2H, H-2)  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 72.4$  (C-3), 71.5–68.8 (C-4,5,6,7,8,9,10), 61.7 (C-11), 30.5 (C-1), 28.7 (SAc), 21.2 (C-2) ppm.

### Hydroxylamino-( $\omega$ -3-thioacetylpropyl)-tetraethylenglycol (148):

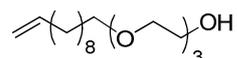


Gemäß der Synthese von Verbindung **147** wurden das Alken **146** (600 mg, 2.41 mmol) mit Thioessigsäure (850  $\mu\text{L}$ , 12.0 mmol) und einer katalytischen Menge AIBN in trockenem THF zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM-Methanol (10:1). Die Verbindung **148** wurde als farbloses Öl erhalten (780 mg, quant.).  $R_f = 0.28$  (DCM/MeOH 10:1)  $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.99$  (tdd,  $^3J_{2,3} = 5.1$ ;  $^3J_{1a,2} = 10.3$ ;  $^3J_{1b,2} = 17.2$  Hz, 1H, H-2), 5.45 (s, 2H,  $\text{ONH}_2$ ), 5.28 (d,  $^3J_{1a,2} = 17.2$  Hz, 1H, H-1b), 5.19 (d,

## 7. Experimenteller Teil

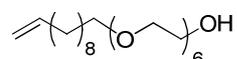
$^3J_{1a,2} = 10.3$  Hz, 1H, H-1a), 4.00 (d,  $^3J_{2,3} = 5.1$  Hz, 2H, H-3), 3.84–3.79 (m, 2H, H-11), 3.70–3.64 (m, 2H, H-10), 3.62–3.50 (m, 12H, H-4,5,6,7,8,9) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25 °C)  $\delta = 133.9$  (C-2), 117.0 (C-1), 74.2 (C-11), 72.0 - 68.9 (C-3,4,5,6,7,8,9,10) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ : 325.16, gefunden: 348.0  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

### Undec-10-enyl-triethylenglycol (154):



Gemäß der Synthese von Verbindung **144** wurden das Triethylenglycol (**152**) (1.33 g, 8.81 mmol) mit Natriumhydrid (217 mg, 9.02 mmol) und 11-Bromundec-2-en (**151**) (1.03 g, 4.41 mmol; Lösung in 4 mL DMF) in trockenem DMF (8 mL) zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM-Methanol (20:1). Die Verbindung **154** wurde als farbloses Öl erhalten (1.27 g, 95%).  $R_f = 0.43$  (DCM/MeOH 10:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.73$  (ddt,  $^3J_{2,3} = 6.8$ ,  $^3J_{cis} = 10.3$ ,  $^3J_{trans} = 16.9$  Hz, 1H, H-2); 4.89 (dq,  $^4J_{1,3} = 2.0$  Hz,  $^3J_{trans} = 16.9$  Hz H-1), 3.61–3.50 (m, 12 H, H-11, H-12, H-13, H-15, H-16, H-17), 3.38 (t,  $^3J_{10,11} = 7.1$  Hz, 2H, H-11), 2.60 (bs, 1 H, OH), 1.96 (q, 2H,  $^3J_{2,3} = 6.8$ , H-3), 1.51 (t,  $^3J_{10,11} = 7.1$  Hz, 2H, H-10), 1.28–1.21 (m, 12H, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 139.2$  (C-2) 114.1 (C-1), 72.5 (C-16), 71.5 (C-11), 70.6–70.0 (C12–C16), 61.7 (C-17), 36.4 (C-3), 33.8–26.0 (C4–C10) ppm.

### Undec-10-enyl-hexaethylenglycol (155):

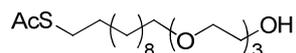


Gemäß der Synthese von Verbindung **144** wurden das Hexaethylenglycol (**153**) (2.50 g, 8.85 mmol) mit Natriumhydrid (218 mg, 9.10 mmol) und 11-Bromundec-2-en (**151**) (1.05 g, 4.50 mmol; Lösung in 4 mL DMF) in trockenem DMF (8 mL) zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM-Methanol (20:1). Die Verbindung **155** wurde als farbloses Öl erhalten (1.88 g, 96%).  $R_f = 0.56$  (DCM/MeOH 10:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.80$  (ddt,  $^3J_{2,3} = 6.8$ ,  $^3J_{cis} = 10.3$ ,  $^3J_{trans} = 16.9$  Hz, H-2); 4.95 (dq, 2H,  $^4J_{1,3} = 2.0$  Hz,  $^3J_{trans} = 16.9$  Hz, H-1), 3.68–3.56 (m, 24 H, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22), 3.44 (t, 2 H,  $^3J_{10,11} = 6.8$  Hz, H-11), 2.60 (bs, 1H, OH),

## 7. Experimenteller Teil

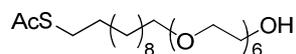
2.02 (m, 2H, H-3), 1.56 (t, 2 H,  $^3J_{10,11} = 6.8$  Hz, H-10), 1.33-1.22 (m, 12 H, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 139.2$  (C-2), 114.9 (C-1), 72.5 (C-22), 71.5 (C-11), 71.5-70.0 (C3, C12-C20), 61.7 (C-23), 36.4 (C-10), 33.8-26.0 9 (C-3-C-11) ppm.

### 11-Thioacetylundecyl-triethylglycol (156):



Gemäß der Synthese von Verbindung **147** wurden das Alken **154** (1.05 g, 3.47 mmol) mit Thioessigsäure (740  $\mu\text{L}$ , 10.4 mmol) und AIBN (450 mg, 2.74 mmol) in trockenem THF (20 mL) zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM-Methanol (20 : 1  $\rightarrow$  18 : 1). Die Verbindung **156** wurde als farbloses Öl erhalten (1.31 g, quant.).  $R_f = 0.40$  (DCM/MeOH 10:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25  $^\circ\text{C}$ )  $\delta = 3.66$  (m, 2H, H-17), 3.61-3.51 (m, 10H, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16), 3.38 (t,  $^3J_{10,11} = 6.8$  Hz, 2H, H-11), 2.79 (t,  $^3J_{1,2} = 7.3$  Hz, 2H, H-1), 2.45 (m, 2H, H-16), 2.25 (s, 3H,  $\text{OSCCH}_3$ ), 1.49 (m, 2 H, H-8), 1.25-1.16 (m, 12H, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13, H-14) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25  $^\circ\text{C}$ )  $\delta = 196.1$  ( $\text{OSCCH}_3$ ), 70.0- 72.5 (C-11, C-12,C-13,C-14,C-15,C-16), 61.8 (C-17), 30.6 (C-1), 26.0- 29.5 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10) ppm.

### 11-Thioacetylundecyl-hexaethylglycol (157):

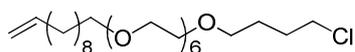


Gemäß der Synthese von Verbindung **147** wurden das Alken **155** (1.56 g, 3.59 mmol) mit Thioessigsäure (770  $\mu\text{L}$ , 10.8 mmol) und AIBN (470 mg, 2.87 mmol) in trockenem THF (20 mL) zur Reaktion gebracht. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM-Methanol (20 : 1  $\rightarrow$  18 : 1). Die Verbindung **157** wurde als farbloses Öl erhalten (1.83 g, quant.).  $R_f = 0.35$  (DCM/MeOH 10:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 3.71$ -3.69 (m, 2H, H-23), 3.66-3.52 (m, 22 H, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22), 3.42 (t, 1 H,  $^3J = 6.8$  Hz, H-11), 2.83 (t,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, 2H, H-1), 2.30 (s, 3H,  $\text{OSCCH}_3$ ), 1.53 (m, 4 H, H-2, H-10), 1.33-1.23 (m, 14 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9) ppm;  $^{13}\text{C-}$

## 7. Experimenteller Teil

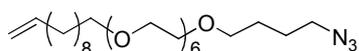
NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 196.1 (OSCCH<sub>3</sub>), 70.0- 72.5 (C-11, C-12,C-13,C-14,C-15,C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22), 61.8 (C-23), 30.6 (CH<sub>3</sub>), 29.5- 26.5 (C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10) ppm.

### ***O*-(4'-Chlorbutyl)-(ω-undec-10-enyl)-hexaethylenglycol (158):**



Der Alkohol **155** (632 mg, 1.45 mmol) wurde in trockenem DMF (15 mL) gelöst und im Eisbad gekühlt. Zu dieser Lösung wurde langsam eine Suspension von Natriumhydrid (68 mg, 1.68 mmol) in DMF (5 mL) zu getropft. Nach Rühren für 30 min wurde eine Lösung von 1-Brom-4-chlorbutan (1.75 mL, 15.2 mmol) in trockenem DMF (15 mL) tropfenweise zugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 Stunden im Eisbad und nach Erwärmen auf RT für weitere 15 Stunden gerührt. Nach Abbruch der Reaktion durch Zugabe von gesättigter NH<sub>4</sub>Cl-Lösung (5 mL) wurde der Ansatz bei vermindertem Druck konzentriert. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM-Methanol (30 : 1). Die Verbindung **158** wurde als farbloses Öl erhalten (594 mg, 78%).  $R_f$  = 0.68 (DCM/MeOH 10:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 5.80 (ddt, <sup>3</sup> $J_{2,3}$  = 6.8, <sup>3</sup> $J_{cis}$  = 10.2, <sup>3</sup> $J_{trans}$  = 16.9 Hz, 1H, H-2), 5.00-4.91 (m, 2H, H-1), 3.64-3.42 (m, 26 H, (H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23, H-4'), 2.03-2.00 (m, 2H, H-3), 1.84-1.80 (m, 1H, H-3'), 1.73-1.71 (m, 2H, H-2'), 1.58-1.55 (m, 2 H, H-10), 1.36-1.27 (m, 16 H, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9, H-11, H-1') ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 139.5 (C-2), 114.4 (C-1), 77.3-69.2 (C-11, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22, C-23, C-1'), 45.2 (C-4'), 34.1-26.4 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-2', C-3') ppm.

### ***O*-(4'-Azidobutyl)-(ω-undec-10-enyl)-hexaethylenglycol (158a):**

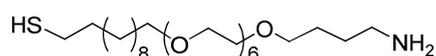


Das Chlorid **158** (500 mg, 952  $\mu$ mol), Natriumazid (250 mg, 3.80 mmol) und Tetrabutylammoniumiodid (175 mg, 476  $\mu$ mol) wurden in trockenem DMF (20 mL) gelöst und unter Rühren für 2 h auf 70 °C erhitzt. Nach Entfernung des Lösungsmittels bei

## 7. Experimenteller Teil

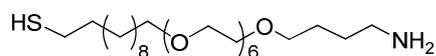
vermindertem Druck erfolgte die Reinigung des Rohprodukts an Kieselgel mit dem Laufmittel Petrolether - Ethylacetat (1 : 1). Die Verbindung **158a** wurde als farbloses Öl erhalten (415 mg, 82%).  $R_f = 0.68$  (DCM/MeOH 10:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.80$  (ddt,  $^3J_{2,3} = 6.8$ ,  $^3J_{\text{cis } 2} = 10.2$ ,  $^3J_{\text{trans } 2} = 16.9$  Hz, 1H, H-2), 5.01-4.92 (m, 2H, H-1), 3.64-3.42 (m, 26 H, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23, H-1'), 3.39 (t,  $^3J_{1,2} = 5.8$  Hz, 2H, H-4'), 2.03-2.00 (m, 2H, H-3), 1.73-1.71 (m, 2H, H-2'), 1.62-1.60 (m, 2H, H-3'), 1.58-1.55 (m, 2H, H-10), 1.36-1.27 (m, 14H, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 139.9$  (C-2), 114.0 (C-1), 77.3-69.2 (C-11, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22, C-23, C-1'), 51.2 (C-4'), 34.1-26.4 (C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-2', C-3') ppm.

### ***O*-(4'-Azidobutyl)-(ω-11-thioacetyl-undecanyl)-hexaethylenglycol (158b):**



Gemäß der Synthese von Verbindung **147** wurden das Alken **158a** (400 mg, 752  $\mu\text{mol}$ ) mit Thioessigsäure (160  $\mu\text{L}$ , 2.26 mmol) und AIBN (100 mg, 600  $\mu\text{mol}$ ) in trockenem THF (15 mL) zur Reaktion gebracht. Die Verbindung **158b** wurde als farbloses Öl erhalten (434 mg, 95%).  $R_f = 0.52$  (DCM/MeOH 10:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 3.64$ -3.45 (m, 26 H, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23, H-1'), 3.40 (t,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, 2H, H-11), 3.39 (t,  $^3J_{1,2} = 5.8$  Hz, 2H, H-4'), 2.85 (t,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, 2H, H-1), 1.73-1.70 (m, 2H, H-2'), 1.62-1.60 (m, 2H, H-3'), 1.58-1.55 (m, 2H, H-10), 1.36-1.27 (m, 16H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 25 °C)  $\delta = 77.3$ -69.2 (C-11, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22, C-23, C-1'), 51.2 (C-4'), 34.1-26.4 (C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-2', C-3',  $\text{CH}_3$ ) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{29}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$ : 607.39, gefunden: 630.9 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$

### ***O*-(4'-Aminobutyl)-(ω-11-undecanthiol)-hexaethylenglycol (159):**

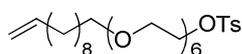


Eine Suspension von Lithiumaluminiumhydrid (105 mg, 2.76 mmol) in trockenem THF (10 mL) wurde auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde eine Lösung von Verbindung **158b** (420

## 7. Experimenteller Teil

mg, 691  $\mu\text{mol}$ ) in trockenem THF (5 mL) langsam zugefügt. Nach Erwärmen auf RT wurde das Reaktionsgemisch für 3 h gerührt und die Reaktion durch vorsichtige Zugabe von Wasser (5 mL) gestoppt. Die Suspension wurde filtriert und der Rückstand mit THF (100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden bei vermindertem Druck konzentriert. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel DCM-Methanol (20 : 1  $\rightarrow$  18 : 1). Die Verbindung **159** wurde als gelbliches Öl erhalten (239 mg, 64%).  $R_f = 0.33$  (DCM/MeOH 5:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 3.64\text{--}3.45$  (m, 26 H, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23, H-1'), 3.40 (t,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, 2H, H-11) 3.39 (t,  $^3J_{1,2} = 5.8$  Hz, 2H, H-4'), 2.85 (t,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, 2H, H-1), 2.65 (t,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, 2H, H-1) 1.73-1.70 (m, 2H, H-2'), 1.62-1.60 (m, 4H, H-2, H-3'), 1.58-1.55 (m, 2H, H-10), 1.36-1.27 (m, 16H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 77.3\text{--}69.2$  (C-11, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22, C-23, C-1'), 42.3 (C-4'), 39.4 (C-1), 34.1-26.4 (C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-2', C-3') ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{27}\text{H}_{57}\text{NO}_7\text{S}$ : 539.3856, gefunden: 562.3802 [ $M\text{-Na}$ ] $^+$ .

### **O-Tosyl-( $\omega$ -undec-10-enyl)-hexaethylenglycol (160):**

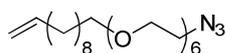


Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von Alkohol **155** (2.01 g, 4.62 mmol) in trockenem Pyridin (20 mL) wurde Tosylchlorid (1.76 g, 9.24 mmol) portionsweise zugegeben. Nach Erwärmen auf RT wurde das Reaktionsgemisch für 15 h gerührt und anschließend bei vermindertem Druck konzentriert. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte an Kieselgel mit dem Laufmittel Petrolether - Ethylacetat (1 : 1  $\rightarrow$  1 : 2). Die Verbindung **160** wurde als gelbliches Öl erhalten (2.50 g, 92%).  $R_f = 0.60$  (DCM/MeOH 10:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 7.79$  (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.4$  Hz, 2H, H-1 $_{\text{arom}}$ ), 7.39 (d,  $^3J_{\text{Ar}} = 8.4$  Hz, 2H, H-2 $_{\text{arom}}$ ), 5.80 (ddt,  $^3J_{2,3} = 6.8$ ,  $^3J_{\text{cis}} = 10.0$ ,  $^3J_{\text{trans}} = 16.8$ , 1H, H-2), 5.00-4.91 (m, 2 H, H-1), 4.15 (t,  $^3J_{\text{H}22, 23} = 4.8$  Hz, 2H, H-23), 3.69-3.56 (m, 22H, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22), 3.44 (t,  $^3J_{\text{H}11, 10} = 6.8$  Hz, 2H, H-11), 2.44 (s, 3H, Ar- $\text{CH}_3$ ), 2.03 (q, 2H, H-3), 1.58-1.53 (m, 2H, H-10), 1.36-1.27 (m, 12H, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 144.7$  (C-1 $_{\text{arom}}$ ), 139.2 (C-2), 132.9 (C-2 $_{\text{arom}}$ ), 129.8 (C-2 $_{\text{arom}}$ ), 127.9 (C-2 $_{\text{arom}}$ ), 114.1 (C-1), 71.5 (C-22), 70.5-70.0 (C-13, C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20,

## 7. Experimenteller Teil

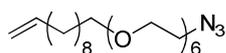
C-21), 69.7 (C-23), 69.2 (C-12), 68.6 (C-11), 33.7 (C-3), 29.1 – 26.0 (C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10), 21.6 (CH<sub>3</sub>) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O<sub>9</sub>S: 588.33, gefunden: 611.5 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Azido-( $\omega$ -undec-10-enyl)-hexaethylenglycol (**161a**):



Das Tosylat **160** (2.05 g, 3.48 mmol), Natriumazid (905 mg, 13.9 mmol) und Tetrabutylammoniumiodid (642 mg, 1.74 mmol) wurden in trockenem DMF (40 mL) gelöst und unter Rühren für 2 h auf 70 °C erhitzt. Nach Entfernung des Lösungsmittels bei vermindertem Druck erfolgte die Reinigung des Rohprodukts an Kieselgel mit dem Laufmittel Petrolether - Ethylacetat (1 : 1). Die Verbindung **161a** wurde als farbloses Öl erhalten (1.36 g, 85%).  $R_f$  = 0.41 (DCM/MeOH 10:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 5.80 (ddt, <sup>3</sup> $J_{2,3}$  = 6.8, <sup>3</sup> $J_{cis}$  = 10.3, <sup>3</sup> $J_{trans}$  = 17.1, 1H, H-2), 4.98 (ddt, <sup>4</sup> $J_{1,3a}$  = 1.6, <sup>4</sup> $J_{1,3b}$  = 2.2, <sup>3</sup> $J_{trans}$  = 17.1 Hz, 1H, H-1a), 4.98 (ddt, <sup>4</sup> $J_{1,3a}$  = 1.1, <sup>4</sup> $J_{1,3b}$  = 2.0, <sup>3</sup> $J_{trans}$  = 10.3 Hz, 1H, H-1a) 3.69-3.62 (m, 20H, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22), 3.44 (t, <sup>3</sup> $J_{H11,10}$  = 6.8 Hz, 2H, H-11), 3.58 - 3.56 (t, 2H, H-11) 3.43 (t, <sup>3</sup> $J_{10,11}$  = 6.8 Hz, 2H, H-11), 3.38 (t, <sup>3</sup> $J_{22,23}$  = 5.1 Hz, 2H, H-23) 2.05-2.05 (m, 2H, H-3), 1.58-1.53 (m, 2H, H-10), 1.36-1.27 (m, 12H, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9) ppm; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 139.3 (C-2), 114.0 (C-1), 71.5 (C-11), 70.5-70.0 (C-13, C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22), 50.6 (C-23), 33.7 (C-3), 29.1 – 26.0 (C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>45</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>: 459.33, gefunden: 482.6 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Azido-( $\omega$ -thioacetyl-undecanyl)-hexaethylenglycol (**161b**):

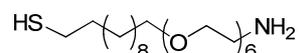


Gemäß der Synthese von Verbindung **147** wurden das Alken **161a** (1.10 g, 2.39 mmol) mit Thioessigsäure (510  $\mu$ L, 7.17 mmol) und AIBN (314 mg, 1.91 mmol) in trockenem THF (15 mL) zur Reaktion gebracht. Die Verbindung **161b** wurde als farbloses Öl erhalten (1.22 g, 96%).  $R_f$  = 0.38 (DCM/MeOH 10:1); <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 3.69-3.66 (m, 20H, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21), 3.57-3.55 (m, 2H, H-22) 3.43 (t,

## 7. Experimenteller Teil

$^3J_{10,11} = 6.8$  Hz, 2H H-11), 3.38 (t,  $^3J_{22,23} = 5.0$  Hz, 2H H-23) 2.85 (t,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, 2H, H-1), 2.31 (s, 3H, OSCCH<sub>3</sub>), 1.53-1.51 (m, 4H, H-2, H-10), 1.33-1.23 (m, 14 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 196.0$  (OSCCH<sub>3</sub>), 72.5-70.1 (C-11, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22), 50.6 (C-23), 30.6 (CH<sub>3</sub>), 29.5- 26.5 (C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10) ppm; MALDI-TOF:  $m/z$  berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>49</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S: 535.33, gefunden: 558.9 [ $M+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.

### Amino-( $\omega$ -11-undecanthiol)-hexaethylenglycol (**161**):



Gemäß der Synthese von Verbindung **159** wurden das Azid **161b** (850 mg, 1.59 mmol) mit Lithiumaluminiumhydrid (241 mg, 6.36 mmol) in trockenem THF (30 mL) zur Reaktion gebracht. Die Verbindung **161** wurde als farbloses Öl erhalten (491 mg, 66%).  $R_f = 0.32$  (DCM/MeOH 5:1);  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 3.69$ -3.66 (m, 20H, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21), 3.57-3.55 (m, 2H, H-22) 3.40 (t,  $^3J_{10,11} = 6.8$  Hz, 2H H-11), 2.80 (t,  $^3J_{22,23} = 6.2$  Hz, 2H H-23) 2.65 (t,  $^3J_{1,2} = 7.4$  Hz, 2H, H-1), 1.51-1.49 (m, 2H, H-10), 1.33-1.23 (m, 16 H, H-2 H-3, H-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9) ppm;  $^{13}\text{C-NMR}$  (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 72.5$ -70.1 (C-11, C-12, C-13, C-14, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20, C-21, C-22), 41.8 (C-23), 29.5- 26.5 (C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10) ppm; HRMS (FAB):  $m/z$  berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>6</sub>S: 467.3281, gefunden: 490.3155 [ $M-\text{Na}$ ]<sup>+</sup>.

## 8. Literatur

- [1] aus Würzburger Denkschrift, *Nachrichten aus der Chemie* **1996**, 859-862.
- [2] D. M. Ratner, E. W. Adams, M. D. Disney, P. H. Seeberger, *ChemBioChem* **2004**, *15*, 1375-1383.
- [3] T. K. Lindhorst, *Chemie in Unserer Zeit* **2000**, *34*, 38-52.
- [4] A. Varki, *Glycobiology* **1993**, *3*, 97-130.
- [5] S. Ito, *J. Cell Biol.* **1965**, *27*, 475-491.
- [6] H. S. Bennett, *J. Histochem. Cytochem.* **1963**, *11*, 14-23.
- [7] S. Ito, *Philos. Trans. B, Biol. Sci.* **1974**, *268*, 55-66.
- [8] J. D. Marth, P. K. Grewal, *Nature Rev.* **2008**, *8*, 874-887.
- [9] R. L. Nuenke, L. W. Cunningham, *J. Biol. Chem.* **1961**, *236*, 2452-2460.
- [10] H. Schachter, *Glycoconj. J.* **2000**, *17*, 465-483.
- [11] R. S. Haltiwanger, J. B. Lowe, *Annu. Rev. Biochem.* **2004**, *73*, 491-537.
- [12] M. G. Low, M. A. Ferguson, I. Silman, *Annu. Rev. Biochem.* **1988**, *57*, 285-320.
- [13] K. Ohtsubo, J. D. Marth, *Cell* **2006**, *126*, 855-867.
- [14] R. A. Dwek, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683-720.
- [15] M. Ono, S. Hakomori, *Glycoconj. J.* **2004**, *20*, 71-78.
- [16] H. Lis, N. Sharon, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637-674.
- [17] E. E. Simanek, G. J. McGarvey, J. A. Jablonowski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833-862.
- [18] S.-I. Hakomori, *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 473-482.
- [19] M. J. Hernaiz, J. M. de la Fuente, A. G. Barrientos, S. Penades, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1554-1557.
- [20] J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555-578.
- [21] L. L. Kiessling, N. L. Pohl, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 71-77.
- [22] J. DeAnna, J. Jagirdar, K. Mamoru, *Amer. J. Pathol.* **1989**, *135*, 931-937.
- [23] K. Kollmann, S. Pohl, K. Marschner, M. Encarnacao, I. Sakwa, S. Tiede, B. Poorthuis, T. Lübke, S. Müller-Loennies, S. Storch, T. Bräulke, *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 117-123.
- [24] C. L. Schengrund, N. J. Ringler, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 13232-13237.
- [25] M. Masserini, E. Freire, P. Palestini, E. Calappi, G. Tettamanti, *Biochemistry* **1992**, *31*, 2422-2426.

## 8. Literatur

- [26] S. Schenkman, M.-S. Jiang, G. W. Hart, V. Nussenzweig, *Cell* **1991**, *65*, 1117-1125.
- [27] S. Schenkman, L. Pontes de Calvalho, V. Nussenzweig, *J. Exp. Med.* **1992**, *175*, 567-575.
- [28] A. J. Parodi, G. D. Pollevick, M. Mautner, A. Buschiazzo, D. O. Sanchez, A. C. C. Frasch, *EMBO J.* **1992**, *11*, 1705-1710.
- [29] M. L. Phillips, E. Nudelman, M. C. A. Gaete, M. Perez, A. K. Singhal, S. Hakomori, J. C. Paulson, *Science* **1990**, *250*, 1130-1132.
- [30] M. J. Polley, M. L. Phillips, E. Wayner, E. Nudelman, A. K. Singhal, S. Hakomori, J. C. Paulson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*.
- [31] G. Walz, A. Aruffo, W. Kalunus, M. Bevilacqua, B. Seed, *Science* **1990**, *250*, 1132-1135.
- [32] U. Bakowsky, G. Schumacher, C. Gege, R. R. Schmidt, U. Rothe, G. Bendas, *Biochemistry* **2002**, *41*, 4704-4712.
- [33] J. R. Bishop, M. Schuksz, J. D. Esko, *Nature Rev.* **2007**, *446*, 1030-1037.
- [34] J. A. Huntington, *J. Thromb. Haemost.* **2003**, *1*, 1535-1549.
- [35] J. D. Esko, S. B. Selleck, *Annu. Rev. Biochem.* **2002**, *71*, 435-471.
- [36] J. L. de Paz, E. A. Moseman, C. Noti, L. Polito, U. H. von Andrian, P. H. Seeberger, *Chem. Biol.* **2007**, *2*, 733-744.
- [37] T. Feizi, M. Larkin, *Glycobiology* **1991**, *1*, 17-24.
- [38] T. J. Matthews, K. J. Weinhold, H. K. Lyster, A. J. Langlois, H. Wigzell, D. P. Bolognesi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, *84*, 5424-5428.
- [39] D. C. Montefiori, W. E. Robinson, W. M. Mitchell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 9248-9252.
- [40] C. A. A. van Boeckel, M. Petitou, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1671-1690.
- [41] C. A. A. van Boeckel, M. Petitou, *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69*, 1839-1846.
- [42] M. Remko, C.-W. von der Lieth, *J. Chem. Inf. Model.* **2006**, *46*, 1194-1200.
- [43] C. A. A. van Boeckel, M. Petitou, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2004**, *43*, 3118-3133.
- [44] S.-I. Hakomori, *Glycoconj J.* **2004**, *21*, 125-137.
- [45] S.-I. Hakomori, *Glycoconj. J.* **2001**, *17*, 627-647.
- [46] S. Arnott, A. Fulmer, W. E. Scott, I. C. M. Dea, R. Moorhouse, D. A. Rees, *J. Mol. Biol.* **1974**, *90*, 269-284.
- [47] T. A. Bryce, A. A. McKinnon, E. R. Morris, D. A. Rees, D. Thom, *Faraday Disc. Chem. Soc.* **1974**, *57*, 221-229.
- [48] E. A. Turley, S. Roth, *Nature* **1980**, *283*, 268-271.

## 8. Literatur

- [49] S.-I. Hakomori, *Histochem. J.* **1992**, *1010*, 221-229.
- [50] S. Garcia-Manyes, I. Bucior, R. Ros, D. Anselmetti, F. Sanz, M. M. Burger, X. Fernandez-Busquets, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 5992-5999.
- [51] I. Eggens, B. A. Fenderson, T. Toyokuni, B. Dean, M. R. Stroud, S.-I. Hakomori, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 9976-9984.
- [52] N. Kojima, S.-I. Hakomori, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 20159-20162.
- [53] X. Wang, P. Sun, A. Al-Qamari, T. Tai, I. Kawashima, A. S. Paller, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 8436-8444.
- [54] D. Solter, B. B. Knowles, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1978**, *75*, 5565-5569.
- [55] S.-I. Hakomori, E. D. Nudelman, S. B. Levery, D. Solter, B. B. Knowles, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1981**, *100*, 1578-1586.
- [56] R. Kannagi, E. D. Nudelman, S. B. Levery, S.-I. Hakomori, *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 14865-14874.
- [57] H. C. Gooi, T. Feizi, A. Kapadia, B. B. Knowles, D. Solter, M. J. Evans, *Nature* **1981**, *292*, 156-158.
- [58] B. A. Fenderson, U. Zehavi, S.-I. Hakomori, *J. Exp. Med.* **1984**, *160*, 1591-1596.
- [59] N. Kojima, B. A. Fenderson, M. R. Stroud, R. I. Goldberg, R. Habermann, T. Toyokuni, S.-I. Hakomori, *Glycoconj. J.* **1994**, *11*, 238-248.
- [60] T. Muramatsu, G. Gachelin, M. Damonville, C. Delarbre, F. Jacob, *Cell* **1979**, *18*, 183-191.
- [61] C. Tromas, J. Rojo, J. M. de la Fuente, A. G. Barrientos, R. Garcia, S. Penades, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3052-3055.
- [62] F. Yvelin, Y.-M. Zhang, J.-M. Mallet, F. Robert, Y. Jeannin, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Lett.* **1996**, *1*, 475-482.
- [63] C. Nüsslein-Vollhardt, *Das Werden des Lebens. Wie Gene die Entwicklung steuern.*, C. H. Beck, München, **2004**.
- [64] L. H. Shevinsky, B. B. Knowles, I. Damjanow, D. Solter, *Cell* **1982**, *30*, 697-705.
- [65] Z. Zhu, N. Kojima, M. R. Stroud, S.-I. Hakomori, B. A. Fenderson, *Biol. Repro.* **1995**, *52*, 903-912.
- [66] S. J. Kimber, S. Lindenberg, A. Lundblad, *J. Reprod. Immunol.* **1988**, *12*, 297-313.
- [67] S.-I. Hakomori, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *99*, 225-232.
- [68] T. W. Tillack, M. Allietta, R. E. Moran, W. W. J. Young, *Biochim. Biophys. Acta* **1983**, *773*, 15-24.

## 8. Literatur

- [69] P. Rock, M. Allietta, W. W. J. Young, T. E. Thompson, T. W. Tillack, *Biochemistry* **1991**, *30*, 19-25.
- [70] S.-I. Hakomori, K. Handa, *FEBS Lett.* **2002**, *531*, 88-92.
- [71] J. T. Dong, P. W. Lamb, C. W. Rinker-Schaeffer, J. Vukanovic, T. Ichikawa, J. T. Isaacs, J. C. Barrett, *Science* **1995**, *268*, 884-886.
- [72] J. T. Dong, H. Suzuki, S. S. Pin, S. Bova, J. A. Schalken, W. B. Isaacs, J. C. Barrett, J. T. Isaacs, *Cancer Res.* **1996**, *56*, 4387-4390.
- [73] D. M. Kingsley, K. F. Kozarsky, L. Hobbie, M. Krieger, *Cell* **1986**, *44*, 749-759.
- [74] M. Ono, K. Handa, D. A. Withers, S.-I. Hakomori, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *279*, 744-750.
- [75] M. Ono, K. Handa, S. Sonnino, D. A. Withers, H. Nagai, S.-I. Hakomori, *Biochemistry* **2001**, *40*, 6414-6421.
- [76] S. Park, M.-Y. Lee, I. Shin, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1579-1591.
- [77] L. K. Mahal, K. J. K. J. Yarema, C. R. Bertozzi, *Science* **1997**, *276*, 1125-1128.
- [78] H. Kayser, R. Zeitler, C. Kannicht, D. Grunow, R. Nuck, W. Reutter, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 16934-16938.
- [79] E. Saxon, C. R. Bertozzi, *Science* **2000**, *287*, 2007-2010.
- [80] J. A. Prescher, D. H. Dube, C. R. Bertozzi, *Nature* **2004**, *430*, 873-877.
- [81] T.-L. Hsu, S. R. Hanson, K. Kishikawa, S.-K. Wang, M. Sawa, C.-H. Wong, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 2614-2619.
- [82] J. M. Baskin, J. A. Prescher, S. T. Laughlin, N. J. Agard, P. V. Chang, I. A. Miller, A. Lo, J. A. Codelli, C. R. Bertozzi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 16793-16797.
- [83] S. Halazy, V. Berges, A. Ehrhard, C. Danzin, *Bioorg. Chem.* **1990**, *18*, 330-344.
- [84] C. P. Lu, C.-T. Ren, Y.-N. Lai, S.-H. Wu, W.-M. Wang, J.-Y. Chen, L.-C. Lo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6888-6892.
- [85] D. J. Vocadlo, C. R. Bertozzi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5338-5342.
- [86] J. M. de la Fuente, S. Penades, *Biochim. Biophys. Acta* **2006**, *1760*, 636-651.
- [87] Y.-J. Chen, S.-H. Chen, Y.-Y. Chien, Y.-W. Chang, H.-K. Liao, C.-Y. Chang, M.-D. Jan, K.-T. Wang, C.-C. Lin, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 1169-1173.
- [88] L. Ballell, K. J. Alink, M. Slijper, C. Versluis, R. M. J. Liskamp, R. J. Pieters, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 291-295.
- [89] M.-R. Lee, D. W. Jung, D. Williams, I. Shin, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5477-5480.
- [90] O. Martinez-Avila, K. Hijazi, M. Marradi, C. Clavel, C. Champion, C. Kelly, S. Penades, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 3874-3888.

## 8. Literatur

- [91] R. Ojeda, J. L. de Paz, A. G. Barrientos, M. Martin-Lomas, S. Penades, *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 448-459.
- [92] J. Gallo, I. García, N. Genicio, D. Padro, S. Penadés, *Biomaterials* **2011**, *32*, 9818-9825.
- [93] I. García, J. Gallo, N. Genicio, D. Padro, S. Penadés, *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 264-273.
- [94] S. van Kasteren, S. J. Campbell, S. Serres, D. C. Anthony, N. R. Sibsonc, B. G. Davis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *106*, 18-23.
- [95] J. M. de la Fuente, S. Penadés, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 387-391.
- [96] L. Russo, E. Landi, A. Tampieri, A. Natalello, S. M. Doglia, L. Gabrielli, L. Cipolla, F. Nicotra, *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 1564-1568.
- [97] A. Sanchez-Ruiz, S. Serna, N. Ruiz, M. Martin-Lomas, N.-C. Reichardt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1-5.
- [98] S. Park, M.-R. Lee, I. Shin, *Chem. Commun.* **2008**, 4389-4399.
- [99] S. Serna, J. Etxebarria, N. Ruiz, M. Martin-Lomas, N.-C. Reichardt, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 13163-13175.
- [100] Y.-Y. Chien, M.-D. Jan, A. K. Adak, H.-C. Tzeng, Y.-P. Lin, Y.-J. Chen, K.-T. Wang, C.-T. Chen, C.-C. Chen, C.-C. Lin, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 1100-1109.
- [101] J. Clayden, *Organic Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, **2005**.
- [102] F. J. Munoz, J. Perez, A. Rumbero, J. I. Santos, F. J. Canada, S. Andre, H.-J. Gabius, J. Jimenez-Barbero, J. V. Sinisterra, M. J. Hernaiz, *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 673-682.
- [103] Y.-J. Chen, S.-H. Chen, Y.-Y. Chien, Y.-W. Chang, Y. H.-K. Liao, C.-Y. Chang, M.-D. Jan, K.-T. Wang, C.-C. Lin, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 1169-1173.
- [104] J. H. Pazur, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1981**, *38*, 405-447.
- [105] P. Cuatrecasas, *J. Biol. Chem.* **1970**, *245*, 3059-3076.
- [106] L. Blomberg, J. Wieslander, T. Norberg, *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 265-270.
- [107] T. Ziegler, E. Eckhardt, J. Strayle, H. Herzog, *Carbohydr. Res.* **1994**, *253*, 167-174.
- [108] E. v. Meel, J. Klumperman, *Histochem. Cell Biol.* **2008**, *129*, 253-266.
- [109] T. Braulke, J. S. Bonifacio, *Biochim. Biophys. Acta* **2009**, *1793*, 604-615.
- [110] P. Sun, D. E. Sleat, M. Lecocq, A. R. Hayman, M. Jadot, P. Lobel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 16590-16595.
- [111] J. Thiem, P. Stangier, P. Matschulat, H. Paulsen, *Carbohydr. Res.* **1992**, *225*, 147-150.

## 8. Literatur

- [112] T. Rodrigez-Perez, I. Lanvandra, S. Fernandez, Y. S. Sanghvi, M. Ferrero, V. Gotro, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 2769-2778.
- [113] A. M. Michelson, A. R. Todd, *J. Chem. Soc.* **1955**, 34, 2632-2638.
- [114] G. Srivastava, O. Hindsgaul, M. M. Palcic, *Carbohydr. Res.* **1992**, 245, 137-144.
- [115] J. W. Perich, R. B. Johns, *Synth. Commun.* **1988**, 18, 142-144.
- [116] J. W. Perich, R. B. Johns, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 101-102.
- [117] H. Güzlek, A. Graziani, P. Kosma, *Carbohydr. Res.* **2005**, 340, 2808-2811.
- [118] F. Eckstein, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 4292-4294.
- [119] M. Mikolajczyk, *Chem. Ber.* **1966**, 99, 2083-2087.
- [120] F. Eckstein, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 36, 1157-1160.
- [121] F. Eckstein, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 36, 3495-3499.
- [122] F. Cramer, H. Schaller, H. A. Staab, *Chem. Ber.* **1961**, 94, 1612-1619.
- [123] C. Meier, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1081-1102.
- [124] U. Muus, C. Kranz, T. Marquardt, C. Meier, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1228-1235.
- [125] S. Wolf, T. Zismann, N. Lunau, C. Meier, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 7656-7664.
- [126] W. B. Knight, D. S. Sem, K. Smith, H. M. Mizioro, A. D. Rendina, W. W. Cleland, *Biochemistry* **1991**, 30, 4970-4977.
- [127] C.-C. Lin, F. Morõas-Varas, G. Weitz-Schmidt, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7, 425-433.
- [128] F.-I. Auzanneau, M. K. Christensen, S. L. Harris, M. Meldal, B. M. Pinto, *Can. J. Chem.* **1998**, 76, 1109-1118.
- [129] R.-T. Lee, Y.-C. Lee, *Carbohydr. Res.* **1974**, 37, 193-200.
- [130] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1893**, 26, 2400-2411.
- [131] S. J. Angyal, *Pure Appl. Chem.* **1973**, 56, 131-146.
- [132] Y. Kurihara, K. Ueda, *Carbohydr. Res.* **2006**, 341, 2565-2574.
- [133] S. Ernst, G. Venkataraman, V. Sasisekhara, R. Langer, C. L. Cooney, R. Sasisekharan, *J. Am. Chem. Soc.* **1998** 120, 2099-2107.
- [134] D. A. Horita, P. J. Hajduk, L. E. Lerner, *Glycoconj. J.* **1997**, 14, 691-696.
- [135] L. Rochepeau-Jobron, J.-C. Jaquinet, *Carbohydr. Res.* **1997**, 303, 395-406.
- [136] H. Takahashi, T. Shida, Y. Hitomi, Y. Iwai, N. Miyama, K. Nishiyama, D. Sawada, S. Ikegami, *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 5868-5877.
- [137] C. A. A. van Boeckel, T. Beetz, J. N. Vos, A. J. M. de Jong, S. F. van Aelst, R. H. van den Bosch, J. M. R. Mertens, F. A. van der Vlugt, *J. Carbohydr. Chem.* **1985**, 4, 293-321.

## 8. Literatur

- [138] H. A. Orgueira, A. Bartolozzi, P. Schell, R. Litjens, E. R. Palmacci, P. H. Seeberger, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 140-169.
- [139] J. D. C. Codee, B. Stubba, M. Schiattarella, H. S. Overkleeft, C. A. A. van Boeckel, J. H. van Boom, G. A. van der Marel, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3767-3773.
- [140] P. Czechura, N. Guedes, S. Kopitzki, N. Vazques, M. Martin-Lomas, N.-C. Reichardt, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 2390-2392.
- [141] W. Sowa, *Can. J. Chem.* **1969**, *47*, 3931-3934.
- [142] W. S. Szarek, G. W. Hay, D. M. Vyas, E. R. Ison, L. J. J. Hronows, *Can. J. Chem.* **1984**, *62*, 671-674.
- [143] H. Paulsen, W.-P. Trautwein, F. Garrido Espinosa, K. Heyns, *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 2822-2836.
- [144] D. Waschke, Diplomarbeit, Universität Hamburg **2008**.
- [145] H. Paulsen, F. Garrido Espinosa, W.-P. Trautwein, *Chem. Ber.* **1968**, *101*, 186-190.
- [146] W. E. Dick jr., *Carbohydr. Res.* **1972**, *21*, 255-268.
- [147] Y. Chauvin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3740-3747.
- [148] R. H. Grubbs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3760-3765.
- [149] R. R. Schrock, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3748-3759.
- [150] T. M. Trnka, R. H. Grubbs, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 18-29.
- [151] A. Fürstner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3012-3043.
- [152] M. Schuster, S. Blechert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 2037-2056.
- [153] J. L. Herisson, Y. Chauvin, *Makromol. Chem.* **1971**, *141*, 161-176.
- [154] E. L. Dias, S. T. Nguyen, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3887-3897.
- [155] M. S. Sanford, M. Ulman, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 749-750.
- [156] M. S. Sanford, J. A. Love, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6543-6554.
- [157] J. A. Tallarico, J. P. J. Bonitatebus, M. L. Snapper, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7157-7158.
- [158] V. Calderon, H. Y. Chen, K. W. Scott, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 3327-3329.
- [159] R. R. Schrock, *Acc. Chem. Res.* **1979**, *12*, 98-104.
- [160] G. C. Bazan, O. S. Oskam, H. Y. Cho, L. Y. Park, R. R. Schrock, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 6899-6907.
- [161] S. T. Nguyen, L. K. Johnson, R. H. Grubbs, J. W. Ziller, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3974-3975.
- [162] T. Weskamp, W. C. Schattenmann, M. Spiegler, W. A. Herrmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2490-2493.

## 8. Literatur

- [163] M. Scholl, S. Ding, C. W. Lee, R. H. Grubbs, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 953-956.
- [164] J. S. Kingsbury, J. P. A. Harrity, P. J. Bonitatebus jr., A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 791-799.
- [165] S. B. Garber, J. S. Kingsbury, B. L. Gray, A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8168-8179.
- [166] J. B. Alexander, D. S. La, D. R. Cefalo, A. H. Hoveyda, R. R. Schrock, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4042-4042.
- [167] T. J. Seiders, D. W. Ward, R. H. Grubbs, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3225-3228.
- [168] J. J. van Veldhuizen, J. E. Campbell, R. E. Giudici, A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *2005*, 6877-6882.
- [169] R. Roy, S. K. Das, *Chem. Commun.* **2000**, 519-529.
- [170] M. Jorgensen, P. Hadwiger, R. Madsen, A. E. Stutz, T. M. Wrodnigg, *Curr. Org. Chem.* **2000**, *4*, 565-588.
- [171] R. Dominique, S. K. Das, R. Roy, *Chem. Commun.* **1998**, 2437-2438.
- [172] G. X. Chang, T. L. Lowary, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *46*, 4561-4564.
- [173] R. Dominique, S. K. Das, B. Liu, J. Nahra, B. Schmor, Z. Gan, R. Roy, *Methods Enzymol.* **2003**, *362*, 17-28.
- [174] C. Mukherjee, A. K. Misra, *J. Carbohydr. Chem.* **2009**, *28*, 475-482.
- [175] Y.-J. Hu, R. Roy, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3305-3308.
- [176] A. Dondoni, P. P. Giovannini, A. Marra, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **2001**, 2380-2388.
- [177] M. S. M. Timmer, M. V. Chumillas, W. E. Donker-Koopman, J. M. F. G. Aerts, G. A. van der Marel, H. S. Overkleeft, J. H. van Boom, *J. Carbohydr. Chem.* **2005**, *24*, 335-351.
- [178] R. Dominique, R. Roy, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 395-398.
- [179] R. Madsen, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 399-415.
- [180] S. Kopitzki, K. J. Jensen, J. Thiem, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 7017-7029.
- [181] H. L. Goering, R. R. Jacobson, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3277-3285.
- [182] E. Wenkert, T. E. Goodwin, *Synth. Commun.* **1977**, *7*, 409-410.
- [183] L. Xing, X. Wang, C. Cheng, R. Zhu, B. Liu, Y. Hu, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9382-9386.
- [184] S. Nishimura, *Handbook of Heterogeneous Catalytic Hydrogenation for Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York, **2001**.
- [185] H. Sajiki, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3465-3468.

## 8. Literatur

- [186] H. Oelschläger, *Arch. Pharmacol.* **1960**, 293, 442-451.
- [187] F. S. Dovell, H. Greenfield, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 87, 2767-2768.
- [188] A. Mori, T. Mizusaki, Y. Miyakawa, E. Ohashi, T. Haga, T. Maegawa, Y. Monguchi, H. Sajiki, *Tetrahedron* **2006**, 62, 11925-11932.
- [189] W. Koenigs, E. Knorr, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901**, 34, 957-981.
- [190] R. Bukowski, L. M. Morris, R. J. Woods, T. Weimar, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 14, 2697.
- [191] R. R. Schmidt, J. Michel, M. Roos, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1343-1357.
- [192] D. Lafont, P. Boullanger, F. Carvalho, P. Vottero, *Carbohydr. Res.* **1997**, 297, 117-126.
- [193] E. Farkas, J. Thiem, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 3073-3077.
- [194] R. K. Yu, T. Ariga, M. Yanagisawa, G. Zeng, *Glycoscience* **2008**, 2, 1672-1695.
- [195] V. H. Pomin, P. A. S. Mourao, *Glycobiology* **2008**, 18, 1016-1027.
- [196] V. Wittmann, *Glycoscience* **2008**, 2, 1736-1770.
- [197] W. G. Glasser, *Glycoscience* **2008**, 2, 1474-1512.
- [198] D. B. Werz, P. H. Seeberger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 6315-6318.
- [199] A. V. Demchenko, in *Handbook of Chemical Glycosylation* (Ed.: A. V. Demchenko), Wiley-VCH, Weinheim, **2008**, pp. 1-27.
- [200] L. Goodman, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1967**, 22, 109-175.
- [201] T. H. Fife, R. Bembi, R. Natarajan, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 12956-12963.
- [202] T. Nukada, A. Berces, M. Z. Zgierski, D. M. Whitfield, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 13291-13295.
- [203] I. Tvaroska, T. Bleha, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1989**, 47, 45-123.
- [204] A. V. Demchenko, *Synlett* **2003**, 1225-1240.
- [205] A. V. Demchenko, *Curr. Org. Chem.* **2003**, 7, 35-79.
- [206] A. F. Bedford, C. T. Mortimer, *J. Chem. Soc.* **1960**, 1622-1625.
- [207] O. Mitsunobu, *Synthesis* **1981**, 1-28.
- [208] W. A. Szarek, C. Depew, H. C. Jarrell, J. K. N. Jones, *J. Chem. Soc.* **1975**, 648-649.
- [209] S. Koto, T. Miura, M. Hirooka, A. Tomaru, M. Iida, M. Kanemitsu, K. Takenaka, S. Masuzawa, S. Miyaji, N. Kuroyanagi, M. Yagishita, S. Zen, K. Yago, F. Tomonaga, *Bull. Chem. Soc. Jp.* **1996**, 69, 3247-3259.
- [210] B. A. Garcia, J. L. Poole, D. Y. Gin, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 7597-7598.
- [211] J. Leroux, A. S. Perlin, *Carbohydr. Res.* **1976**, 47, C8-C10.
- [212] G. Zemplén, A. Gerecs, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1930**, 63B, 2720-2729.

## 8. Literatur

- [213] B. Helferich, K. F. Wedemeyer, *Liebigs Ann. Chem.* **1949**, 563, 139-145.
- [214] M. Kreuzer, J. Thiem, *Carbohydr. Res.* **1986**, 149, 347-361.
- [215] J. R. Pougny, J. C. Jacquinet, M. Nassr, D. Duchet, M. L. Milat, P. Sinaÿ, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 6762-6763.
- [216] R. R. Schmidt, J. Michel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, 19, 731-732.
- [217] R. J. Ferrier, R. W. Hay, N. Vethaviasar, *Carbohydr. Res.* **1973**, 27, 55-61.
- [218] P. J. Garegg, C. Henrichson, T. Norberg, *Carbohydr. Res.* **1983**, 118, 162-165.
- [219] S. Oscarson, in *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology, Vol. 1* (Eds.: B. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem), Springer, Berlin, Heidelberg, New York, **2001**, pp. 643-671.
- [220] O. J. Plante, R. B. Andrade, P. H. Seeberger, *Org. Lett.* **1999**, 1, 211-214.
- [221] W. Zhong, G.-J. Boons, in *Handbook of Chemical Glycosylation* (Ed.: A. V. Demchenko), Wiley-VCH, Weinheim, **2008**, pp. 261-303.
- [222] J. C. Jacquinet, P. Sinaÿ, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1979**, 314-318.
- [223] A. Toepfer, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 5161-5164.
- [224] G. Dekany, K. Wright, I. Toth, *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, 16, 989-999.
- [225] C. Filser, D. Kowalczyk, C. Jones, M. K. Wild, U. Ipe, U. Vestweber, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 2108-2111.
- [226] V. Wittmann, A. K. Datta, K. M. Koeller, C.-H. Wong, *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 162-171.
- [227] P. J. Kocienski, *Protective Groups*, Thieme, Stuttgart-New York, **1994**.
- [228] Z. Gan, S. Cao, Q. Wu, R. Roy, *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, 18, 755-773.
- [229] A. J. Ross, O. V. Sizova, A. V. Nikolaev, *Carbohydr. Res.* **2006**, 341, 1954-1964.
- [230] P.-H. Amvam-Zollo, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1986**, 150, 199-212.
- [231] P. Zimmermann, R. Sommer, T. Bär, R. R. Schmidt, *J. Carbohydr. Chem.* **1988**, 7, 435-452.
- [232] R. R. Schmidt, M. Stumpp, *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 1249-1255.
- [233] B. Kluge, B. Schneider, D. Sicker, *Carbohydr. Res.* **1997**, 298, 147-152.
- [234] M. M. Sim, O. Kondo, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2260-2264.
- [235] X. F. Huang, L. J. Huang, H. S. Wang, X. S. Ye, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 5221-5224.
- [236] F. Burkhart, Z. Y. Zhang, S. Wacowich-Sgarbi, C.-H. Wong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 1274-1277.
- [237] K. K. T. Mong, C.-H. Wong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 4087-4090.

## 8. Literatur

- [238] Z. Zhang, I. R. Ollmann, X. S. Ye, R. Wischnat, T. Baasov, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 734-753.
- [239] T. K. Ritter, K. K. T. Mong, H. T. Liu, T. Nakatani, C.-H. Wong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4657-4660.
- [240] J. Bartek, R. Müller, P. Kosma, *Carbohydr. Res.* **1998**, *308*, 259-273.
- [241] C. Steindl, P. Kosma, L. März, A. Neszmelyi, *Carbohydr. Res.* **1993**, *246*, 353-360.
- [242] J.-L. de Paz, R. Ojeda, A. G. Barrientos, S. Penades, M. Martin-Lomas, *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 149-158.
- [243] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis* 3ed., John Wiley & Sons Inc., New York, Weinheim, **1999**.
- [244] T. W. Hart, D. A. Metcalfe, F. Scheinmann, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 156-159.
- [245] F. S. Gonzalez, H. H. Baer, *Carbohydr. Res.* **1990**, *202*, 33-47.
- [246] H. Binch, K. Stangier, J. Thiem, *Carbohydr. Res.* **1998**, *306*, 409-419.
- [247] M. Ceiba, J. Cleophax, S. Petit, S. D. Gero, *Agro Industrie Recherches et Developments (A.R.D.)*, French Pat., N° 90.10676, **1990**.
- [248] M. Ceiba, J. Cleophax, S. Petit, S. D. Gero, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7281-7282.
- [249] H. L. Frush, H. S. Isbell, *Methods Carbohydr. Chem.* **1962**, *1*, 127-130.
- [250] K. Bock, I. Lundt, C. Pedersen, *Carbohydr. Res.* **1981**, *90*, 7-16.
- [251] M. G. Donahue, J. N. Johnston, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5602-5604.
- [252] D. H. R. Barton, S. W. McCombie, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1975**, 1574-1585.
- [253] A. Rivera-Sagerdo, J. Jimenez-Barbero, M. Martin-Lomas, D. Solis, T. Diaz-Maurino, *Carbohydr. Res.* **1992**, *232*, 207-226.
- [254] M. J. Robin, J. S. Wilson, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 902-903.
- [255] J. R. Rasmussen, C. J. Slinger, R. J. Kordish, D. D. Newman-Evans, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4843-4846.
- [256] H. Paulsen, R. Rutz, I. Brockhausen, *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 735-745.
- [257] T. Ichikawa, R.-T. Lee, Y.-C. Lee, *J. Carbohydr. Chem.* **1990**, *9*, 707-719.
- [258] M. A. Nashed, L. Anderson, *Carbohydr. Res.* **1983**, *114*, 43-50.
- [259] K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, N. J. Bockovich, C.-H. Wong, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 870-873.
- [260] K. von dem Bruch, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 101-104.
- [261] J. C. Jacquinet, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1976**, *46*, 138-140.
- [262] F. Schmitt, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1973**, *29*, 99-110.

## 8. Literatur

- [263] K. Heyns, K. Propp, R. Harrison, H. Paulsen, *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 2655-2669.
- [264] S. Numomura, M. Iida, M. Numata, M. Sugimoto, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1994**, *263*, C1-C4.
- [265] Y.-M. Zhang, A. Brodzky, P. Sinay, G. Saint-Marcoux, B. Perly, *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 1195-1200.
- [266] K. B. Jain, B.-G. Huang, E. V. Chandrasekaran, K. L. Matta, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1997**, 23-26.
- [267] A. Steinmann, J. Thimm, M. Matwiejuk, J. Thiem, *Macromolecules* **2010**, *43*, 3606-3612.
- [268] M. Matwiejuk, J. Thiem, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 8379-8381.
- [269] M. B. Cid, I. Alonso, F. Alfonso, J. B. Bonilla, J. C. Lopez-Prados, M. Martin-Lomas, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 3947-3959.
- [270] J. Kalikanda, L. Zhitao, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1550-1553.
- [271] N. Ruiz, S. S. Ferreira, D. Padro, N.-C. Reichardt, M. Martin-Lomas, *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 1581-1591.
- [272] L. Bohe, D. Crich, *Trends Glycosci. Glycotech.* **2010**, *22*, 1-15.
- [273] S. Berger, S. Braun, *200 and more NMR Experiments*, 2 ed., Wiley VCH, Weinheim, **2004**.
- [274] T. D. W. Claridge, *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*, 2 ed., Elsevier, Heidelberg, New York, Sidney, **2009**.
- [275] J. Jimenez-Barbero, T. Peters, *NMR Spectroscopy of Glycoconjugates*, 1 ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2002**.
- [276] K. Bock, C. Pedersen, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1974**, 293-297.
- [277] Z. Wang, Y. Xu, B. Yang, G. Tiruchinapally, B. Sun, R. Liu, S. Dulaney, J. Liu, X. F. Huang, *Chem. Eur. J.* **2010**, *00*, 0-0.
- [278] N. E. Nifant'ev, V. Y. Amochaeva, A. S. Shashkov, N. K. Kochetkov, *Carbohydr. Res.* **1993**, *242*, 77-89.
- [279] A. G. Myers, J. Liang, M. Hammond, P. M. Harrington, Y. Wu, E. Y. Kuo, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 5319-5320.
- [280] S. Sato, M. Mori, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1986**, *155*, C6-C10.
- [281] R. U. Lemieux, K. B. Hendricks, R. V. Stick, K. James, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4056-4062.
- [282] J. Tanemura, T. Suzuki, T. Horaguchi, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1992**, 2997-3003.

## 8. Literatur

- [283] M. Weiwer, T. Sherwood, R. J. Linhardt, *J. Carbohydr. Chem.* **2008**, *27*, 420-427.
- [284] P. Fügedi, P. J. Garegg, H. Lönn, T. Norberg, *Glycoconj. J.* **1987**, *4*, 97-108.
- [285] P. Smid, G. A. de Ruiter, G. A. van der Marel, M. Rombouts, J. H. van Boom, *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 833-849.
- [286] G. H. Veeneman, J. H. van Boom, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 275-278.
- [287] R. U. Lemieux, A. G. Morgan, *Can. J. Chem.* **1965**, *43*, 2190.
- [288] T. Zhu, G.-J. Boons, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3495-3497.
- [289] P. Fügedi, P. J. Garegg, *Carbohydr. Res.* **1986**, *149*, C9-C12.
- [290] G. Thoma, J. L. Magnani, P. J. T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 923-925.
- [291] H. Lönn, *Carbohydr. Res.* **1985**, *135*, 105-113.
- [292] J. Tatai, G. Osztrovszky, M. Kajtar-Peredy, P. Fügedi, *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 596-606.
- [293] M. Ravenscroft, R. M. G. Roberts, J. G. Tillett, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1982**, 1569-1572.
- [294] K. Okuma, T. Koike, S. Yamamoto, K. Yanekura, H. Ohta, *Chem. Lett.* **1989**, 1953-1956.
- [295] H. Lönn, *J. Carbohydr. Chem.* **1987**, *6*, 301-306.
- [296] E. Boisselier, D. Astruc, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*.
- [297] M. Faraday, *Philos. Trans. R. Soc. London* **1857**, *147*, 145-181.
- [298] G. Mie, *Ann. Phys.* **1908**, *25*, 377-445.
- [299] M.-C. Daniel, D. Astruc, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 293-346.
- [300] C. M. Niemeyer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4128-4158.
- [301] E. Katz, I. Willner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *33*, 6042-6108.
- [302] J. Turkevitch, P. C. Stevenson, J. Hillier, *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, *11*, 55-75.
- [303] E. Enüstün, J. Turkevitch, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3317-3328.
- [304] M. Giersig, P. Mulvaney, *Langmuir* **1993**, *9*, 3404-3413.
- [305] J. Kimling, M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, A. Plech, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 5700-5707.
- [306] M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. J. Schiffrin, R. Whymna, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 801-802.
- [307] A. C. Templeton, W. P. Wuelhing, R. W. Murray, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *33*, 27-36.
- [308] J. Rojo, V. Diaz, J. M. de la Fuente, I. Segura, A. G. Barrientos, H. H. Riese, A. Bernad, S. Penades, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 291-297.

## 8. Literatur

- [309] K. Larsen, M. B. Thygesen, F. Guillaumie, W. G. T. Willats, K. J. Jensen, *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1209-1234.
- [310] R. Levy, N. T. K. Thanh, R. C. Doty, I. Hussain, R. J. Nichols, D. J. Schiffrin, M. Brust, D. G. Fernig, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10076-10084.
- [311] K. C. Grabar, R. G. Freeman, M. B. Hommer, M. Natan, *J. Anal. Chem.* **1995**, *67*, 735-743.
- [312] G. Frens, *Nature Phys. Sci.* **1973**, *241*, 20-22.
- [313] M. B. Thygesen, J. Sauer, K. J. Jensen, *Chem. Eur. J.* **2008**, *15*, 1649-1660.
- [314] S. Jin, C. V. Miduturu, D. C. McKinney, S. K. Silverman, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4284-4299.
- [315] S. K. Ghosh, T. Pal, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4797-4862.
- [316] L. M. L. Marzan, *Langmuir* **2006**, *22*, 32-41.
- [317] S. L. Lal, S. E. Clare, N. J. Halas, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1842-1851.
- [318] W. Haiss, N. T. K. Thanh, J. Aveyard, D. G. Fernig, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 4215-4221.
- [319] G. Schmid, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1709-1727.
- [320] M. G. Bellino, E. J. Calvo, G. Gordillo, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 424-428.
- [321] Carl S. Weisbecker, Margaret V. Merritt, G. M. Whitesides, *Langmuir* **1996**, *12*, 3763-3772.
- [322] T. Belser, M. Stöhr, A. Pfaltz, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8720-8731.
- [323] M. B. Thygesen, K. K. Sørensen, E. Clo, K. J. Jensen, *Chem. Commun.* **2009**, 6367-6369.
- [324] A. Carvalho de Souza, K. M. Halkes, J. D. Meeldijk, A. J. Verkleij, J. F. G. Vliegthart, J. P. Kamerling, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 4323-4339
- [325] M. Mrksich, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, *29*, 267-273.
- [326] H. Scherz, G. Bonn, *Analytical Chemistry of Carbohydrates*, Thieme, Stuttgart, **1998**.
- [327] M. Dubios, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, F. Smith, *Anal. Chem.* **1956**, *28*, 350-356.
- [328] L. H. Koehler, *Anal. Chem.* **1952**, *24*, 1576-1579.
- [329] C. C. Lin, Y. C. Yeh, C. Y. Yang, G. F. Chen, Y. C. Chen, Y. C. Wu, C. C. Chen, *Chem. Commun.* **2003**, 2920-2921.
- [330] J. M. de la Fuente, P. Eaton, A. G. Barrientos, M. Menendez, S. Penades, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6192-6197.

## 8. Literatur

- [331] A. Carvalho de Souza, K. M. Halkes, J. D. Meeldijk, A. J. Verkleij, J. F. G. Vliegthart, J. P. Kamerling, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 828-831.
- [332] D. P. Penney, J. M. Powers, M. Frank, C. Churukian, *Biotech. Histochem.* **2002**, *77*, 237-275.
- [333] S. de Carlos, J. R. Harris, *Micron* **2011**, *42*, 117-131.
- [334] R. G. Nuzzo, D. L. Allara, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4481-4483.
- [335] I. Langmuir, *J. Am. Chem. Soc.* **1917**, *39*, 1848-1906.
- [336] K. B. Blodgett, *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, *57*, 1007-1022.
- [337] J. C. Love, L. A. Estroff, J. K. Kriebel, R. G. Nuzzo, G. M. Whitesides, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1103-1169.
- [338] Y. Xia, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 550-575.
- [339] C. Vericat, M. E. Vela, R. C. Salvarezza, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 3258-3268.
- [340] E. Delamarche, B. Michel, H. A. Biebuyck, C. Gerber, *Adv. Mater.* **1996**, *8*, 719-725.
- [341] C. Kodama, T. Hayashi, H. Nozoye, *Appl. Surf. Sci.* **2001**, *169*, 264-267.
- [342] C. D. Bain, E. B. Throughton, Y.-T. Tao, J. Evall, G. M. Whitesides, R. G. Nuzzo, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 321-325.
- [343] O. Dannenberger, M. Buck, M. Grunze, *J. Chem. Phys. B* **1999**, *103*, 2202-2210.
- [344] G. E. Poirier, M. J. Tarlov, *Langmuir* **1994**, *10*, 2853-2856.
- [345] F. Schreiber, *Prog. Surf. Sci.* **2000**, *65*, 151-256.
- [346] P. E. Laibinis, G. M. Whitesides, D. L. Allara, Y.-T. Tao, A. N. Parikh, R. G. Nuzzo, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7152-7167.
- [347] K. D. Truong, P. A. Rowntree, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 19917-19926.
- [348] K. L. Prime, G. M. Whitesides, *Science* **1993**, *252*, 1164-1167.
- [349] A. Ulman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1533-1600.
- [350] Catherine Pale-Grosdemange, Ethan S. Simon, Kevin L. Prime, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 12-20.
- [351] K. L. Prime, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10714-10721.
- [352] B. T. Houseman, M. Mrksich, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7552-7555.
- [353] S. Kopitzki, Diplomarbeit „Synthese thioalkylierter Glucose-Derivate und AFM-Untersuchungen“, Universität Hamburg **2006**.
- [354] M. Kleinert, T. Winkler, A. Terfort, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 2118-2132.
- [355] M. Kleinert, N. Roekendorf, T. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3931-3940.

## 8. Literatur

- [356] J. Lahiri, L. Isaacs, J. Tien, G. M. Whitesides, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 777-790.
- [357] C. Maierhofer, K. Rohmer, V. Wittmann, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 7661-7676.
- [358] N. Parera Pera, H. M. Branderhorst, R. Kooji, C. Maierhofer, M. van der Kaaden, R. M. J. Liskamp, V. Wittmann, R. Ruitjenbeek, R. J. Pieters, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 1896-1904.
- [359] P.-H. Liang, S.-K. Wang, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11177-11184.
- [360] S. Svedhem, L. Öhberg, S. Borrelli, R. Valiokas, M. Andersson, S. Oscarson, S. L. T. Svensson, B. Liedberg, P. Konradsson, *Langmuir* **2002**, *18*, 2848-2458.
- [361] H. Bittiger, H. P. Schnebli, *Concanavalin A as a Tool*, John Wiley & Sons, London, New York, **1976**.
- [362] J. Homola, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 462-493.
- [363] T. Turbadar, *Proc. Phys. Soc.* **1959**, *59*, 40-44.
- [364] A. Otto, *Phys. Status Solidi B* **1968**, *26*, K99-K101.
- [365] A. Otto, *Z. Phys.* **1968**, *216*, 398-410.
- [366] E. Kretschmann, H. Raether, *Z. Naturforsch., A: Phys. Sci.* **1968**, *23*, 2135-2136.
- [367] U. U. Jönsson, L. Fägestam, B. Ivarsson, B. Johnsson, R. Karlsson, K. Lundh, S. Löfås, P. Persson, H. Roos, I. Rönnerberg, s. Sjölander, E. Stenberg, R. Ståhlberg, S. Urbaniczky, H. Östlin, M. Malmqvist, *BioTechniques* **1991**, *11*, 620-622, 624-627.
- [368] S. Löfås, B. Johnsson, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 1526-1528.
- [369] *Biacore T100 Sensor Surface Handbook*, Biacore AB, Uppsala, **2003**.
- [370] *Biacore T100 Instrument Handbook*, Biacore AB, Uppsala, **2005**.
- [371] B. T. Houseman, E. S. Gawalt, M. Mrksich, *Langmuir* **2003**, *13*, 1522-1531.
- [372] S. Ohlson, M. Strandh, H. Nilshans, *J. Mol. Recogn.* **1997**, *10*, 135-138.
- [373] P. Mehta, R. D. Cummings, P. R. McEver, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 32506-32513.
- [374] W. C. Boyd, E. Shapleigh, *Science* **1954**, *119*, 419-425.
- [375] S. H. Barondes, *Trends Biochem. Sci.* **1988**, *13*, 480-504.
- [376] N. Sharon, H. Lis, *Trends Biochem. Sci.* **1987**, *12*, 488-497.
- [377] J. B. Sumner, *J. Biol. Chem.* **1919**, *37*, 137-140.
- [378] J. B. Sumner, S. F. Howell, *J. Bacteriol.* **1936**, *32*, 227-231.
- [379] B. B. L. Agrawal, I. J. Goldstein, *Biochem. J.* **1967**, *97*, 23C-25C.
- [380] G. M. Edelman, B. A. Cunningham, G. N. Reeke, J. W. Becker, M. J. Waxdal, J. C. Wang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1972**, *62*, 2580-2585.
- [381] I. J. Goldstein, R. D. Poretz, *The Lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine*, Academic Press, Orlando, **1986**.

## 8. Literatur

- [382] J. L. Wang, B. A. Cunningham, G. M. Edelman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1971**, *68*, 1130-1134.
- [383] B. B. L. Agrawal, I. J. Goldstein, *Can. J. Biochem.* **1968**, *46*, 1147-1150.
- [384] E. Rutenber, B. J. Katzin, E. J. Collins, D. Mlsna, S. E. Ernst, M. P. Ready, J. D. Robertus, *Proteins* **1991**, *10*, 240-247.
- [385] E. Rutenber, J. D. Robertus, *Proteins* **1991**, *10*, 260-265.
- [386] E. C. Sweeney, R. A. Palmer, T. A. G., D. E. Temiakov, *Proteins* **1997**, *28*, 586-594.
- [387] W. J. Peumans, H. M. Stinissen, A. R. Carlier, *Planta* **1982**, *154*, 562-568.
- [388] J. Emsley, H. E. White, B. P. O'Hara, G. Oliva, N. Srinivasan, I. J. Tickle, T. Blundell, M. B. Pepys, S. P. Wood, *Nature* **1994**, *367*, 338-343.
- [389] C. S. Wright, G. E. Kellog, *Protein Sci.* **1996**, *5*, 1466-1471.
- [390] C. S. Wright, *J. Mol. Biol.* **1987**, *194*, 501-509.
- [391] D. Schwefel, C. Maierhofer, J. G. Beck, K. Seeberger, K. Diederichs, H. M. Möller, W. Welte, V. Wittmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 8704-8719.
- [392] R. W. Glaser, *Anal. Biochem.* **1993**, *213*, 152-161.
- [393] L. Nieba, A. Krebber, A. Plückthun, *Anal. Biochem.* **1996**, *234*, 155-165.
- [394] N. Horan, L. Yan, H. Isobe, G. M. Whitesides, D. Kahne, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 11782-11786.
- [395] A. M. Scheppokat, A. Gerber, A. Schroven, S. Meinke, S. Kopitzki, E. Beketow, J. Thimm, J. Thiem, *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 39-52.
- [396] D. I. Rozkiewicz, B. J. Ravoo, D. N. Reinhoudt, *Langmuir* **2005**, *21*, 6337-6343.
- [397] T. M. Blättler, S. Pasche, M. Textor, H. J. Griesser, *Langmuir* **2006**, *22*, 5760-5769.
- [398] H. Meyer, *BIOSpektrum* **2003**, *8*, 532-535.
- [399] C. D. Bain, J. Evall, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7155-7164.
- [400] J. P. Folkers, P. E. Laibinis, J. Deutch, G. M. Whitesides, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 563-571.
- [401] M. Mrksich, J. R. Grunwell, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 12009-12010.
- [402] R. Karamanska, B. Mukhopadhyay, D. A. Russell, R. A. Field, *Chem. Commun.* **2005**, 3334-3336.
- [403] E. A. Smith, W. D. Thomas, L. L. Kiessling, R. M. Corn, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6140-6148.
- [404] M. Dhayal, D. M. Ratner, *Langmuir* **2009**, *25*, 2181-2187.

## 8. Literatur

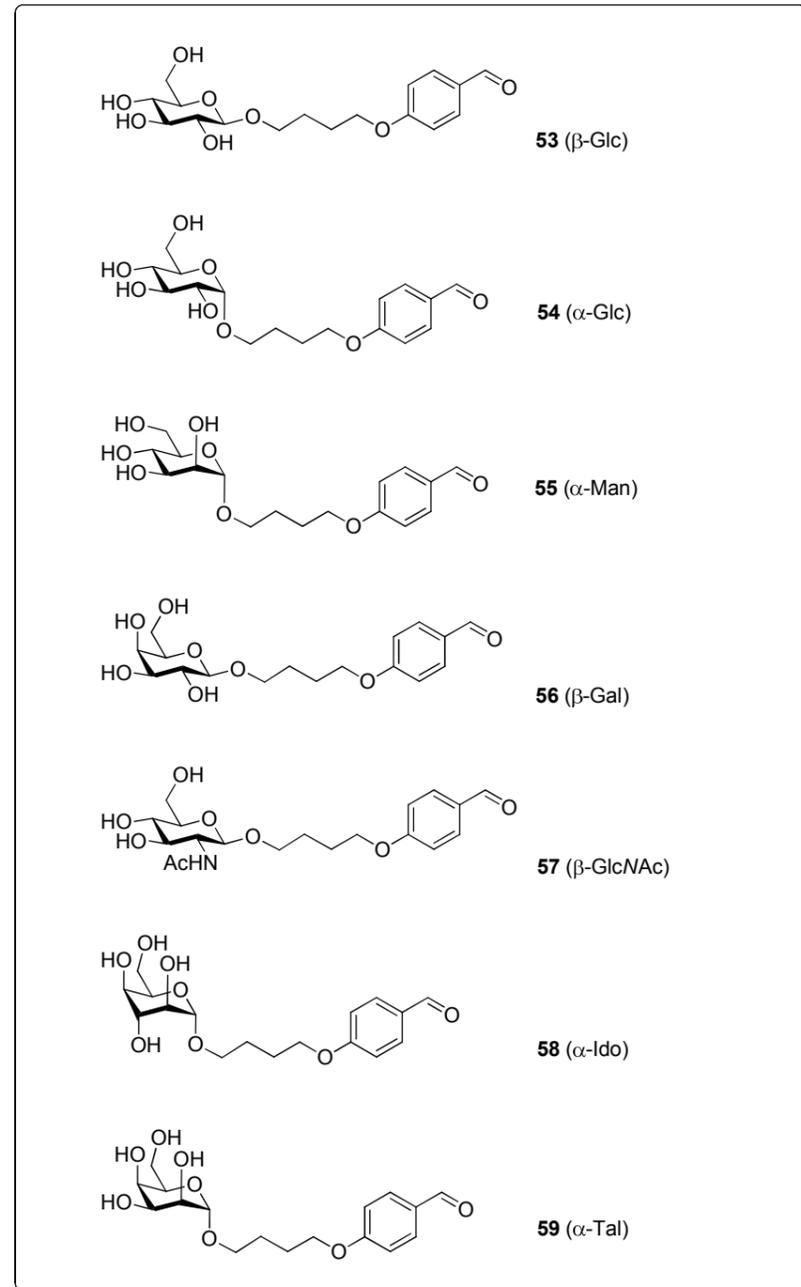
- [405] Y. Shinohara, F. Kim, M. Shimizu, M. Goto, M. Tosu, Y. Hasewaga, *Eur. J. Biochem.* **1994**, *223*, 189-194.
- [406] P. Chritchley, G. J. Clarkson, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 4148-4159.
- [407] R. D'Agata, G. Grasso, G. Iacono, G. Spoto, G. Vecchio, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 610-612.
- [408] M. Lienemann, A. Paananen, H. Boer, J. M. de la Fuente, I. Garcia, S. Penades, A. Koivula, *Glycobiology* **2009**, *19*, 633-643.
- [409] A. Geyer, C. Gege, R. R. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1466-1468.
- [410] K. Matsuura, H. Kitakouji, N. Sawada, H. Ishida, M. Kiso, K. Kitajima, K. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7406-7407.
- [411] A. Carvalho de Souza, J. P. Kamerling, *Methods Enzymol.* **2006**, *417*, 221-243.
- [412] J. N. Sanders, S. A. Chenoweth, F. P. Schwarz, *J. Inorg. Biochem.* **1988**, *70*, 71-82.
- [413] J. Bouckaert, F. Poortmans, L. Wyns, R. J. Loris, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 16144-16151.
- [414] M. L. Sinnott, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1171-1256.
- [415] R. H. Jacobson, X.-J. Zhang, R. F. DuBose, B. J. Matthews, *Nature* **1994**, *369*, 761-766.
- [416] B. Gyurcsik, L. Nagy, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, *203*, 81-149.
- [417] T. Allscher, P. Klüfers, P. Mayer, in *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology*, Vol. 2, 2nd ed. (Eds.: B. O. Fraser-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem), Springer, Berlin, Heidelberg, New York, **2008**, pp. 1077-1140.
- [418] S. J. Angyal, *Chem. Soc. Rev.* **1980**, *9*, 415-443.
- [419] S. J. Angyal, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1989**, *47*, 1-167.
- [420] S. J. Angyal, *Tetrahedron* **1974**, *30*, 1695-1701.
- [421] M. E. Daman, K. Dill, *J. Magn. Reson.* **1984**, *60*, 118-125.
- [422] R. D. Carter, K. Dill, *Inorg. Chim. Acta* **1986**, *108*, 83-90.
- [423] Y. E. Alexeev, I. S. Vasilchenko, B. I. Kharisov, L. M. Blanco, A. D. Garnocski, Y. A. Zhdanov, *J. Coord. Chem.* **2004**, *57*, 1447-1517.
- [424] L. Nagy, A. Szorcik, *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *89*, 1-12.
- [425] E. Riedel, C. Janiak, *Anorganische Chemie*, 7 ed., Walter de Gruyter, Berlin, New York, **2007**.
- [426] I. Zay, F. Gaizer, K. Burger, *Inorg. Chim. Acta* **1983**, *80*, L9-L12.
- [427] D. M. Whitfield, S. Stojkovski, B. Sarkar, *Coord. Chem. Rev.* **1993**, *122*, 171-225.
- [428] D. M. Whitfield, J. Choay, B. Sarkar, *Biopolymers* **1992**, *32*, 585-597.

## 8. Literatur

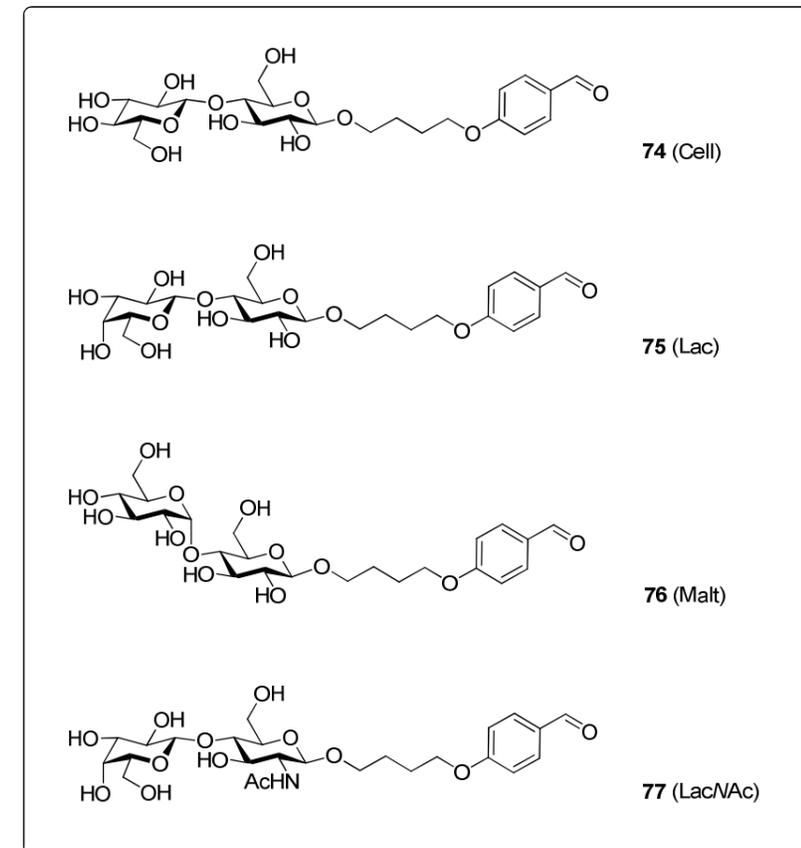
- [429] D. M. Whitfield, B. Sarkar, *Biopolymers* **1992**, *32*, 597-610.
- [430] D. R. Ferro, A. Provasoli, M. Ragazzi, G. Torri, B. Casu, J. C. Jacquinet, P. Sinaÿ, M. Petitou, J. Choay, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 6773-6778.
- [431] C. A. A. van Boeckel, S. F. van Aelst, G. N. Wagenaars, J.-R. Mellema, H. Paulsen, T. Peters, A. Pollex, V. Sinnwell, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1987**, *106*, 19-29.
- [432] D. Mikhailov, R. J. Linhardt, K. H. Mayo, *Biochem. J.* **1997**, *328*, 51-61.
- [433] D. Mikhailov, K. H. Mayo, I. R. Vlahov, T. Toida, A. Pervin, R. J. Linhardt, *Biochem. J.* **1996**, *318*, 93-102.
- [434] R. Kohn, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1982**, *47*, 3424-3430.
- [435] P. R. Singh, S. G. Jones, G. R. Gale, M. M. Jones, A. B. Smith, L. M. Atkins, *Chem. Biol. Interact.* **1990**, *74*, 79-85.
- [436] J. I. Santos, A. Carvalho de Souza, F. J. Canada, S. M. Santamaria, J. P. Kamerling, J. Jimenez-Barbero, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 511-519.
- [437] A. Geyer, C. Gege, R. R. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3246-3249.
- [438] C. Gege, A. Geyer, R. R. Schmidt, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2475-2875.
- [439] C. E. Bugg, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 908-913.
- [440] S. Perez, N. Mouhous-Riou, N. E. Nifant'ev, Y. E. Tsvetkov, B. Bachet, A. Imberty, *Glycobiology* **1996**, *6*, 537-542.
- [441] M. Palma, Y.-J. Pascal, *Can. J. Chem.* **1995**, *73*, 22-40.
- [442] Y. Luo, F. Barbault, C. Gourmala, Y. Zhang, F. Maurel, Y. Hu, B. T. Fan, *J. Mol. Model.* **2008**, *14*, 901-910.
- [443] K. Matsuura, R. Oda, H. Kitakouji, M. Kiso, K. Kitajima, K. Kobayashi, *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 937-941.
- [444] C. Gourier, F. Pincet, E. Perez, Y. Zhang, Z. Zhu, J.-M. Mallet, P. Sinaÿ, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1683-1687.
- [445] N. Seah, P. V. Santacroce, A. Basu, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 559-562.
- [446] G. L. Simpson, A. H. Gordon, D. M. Lindsay, N. Promsawan, M. P. Crump, K. Mulholland, B. R. Hayter, T. Gallagher, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10638-10639.

## 9. Anhang I: Benzaldehyd-funktionalisierte Mono- und Disaccharide

### Monosaccharide

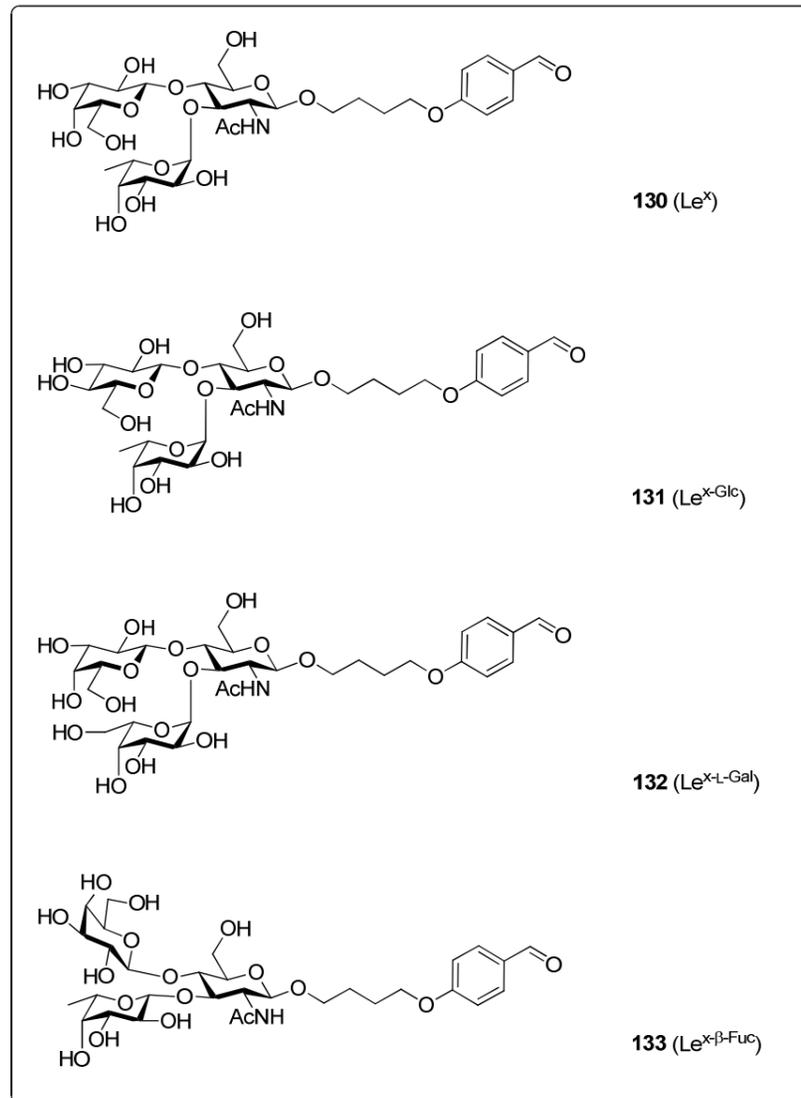


### Disaccharide

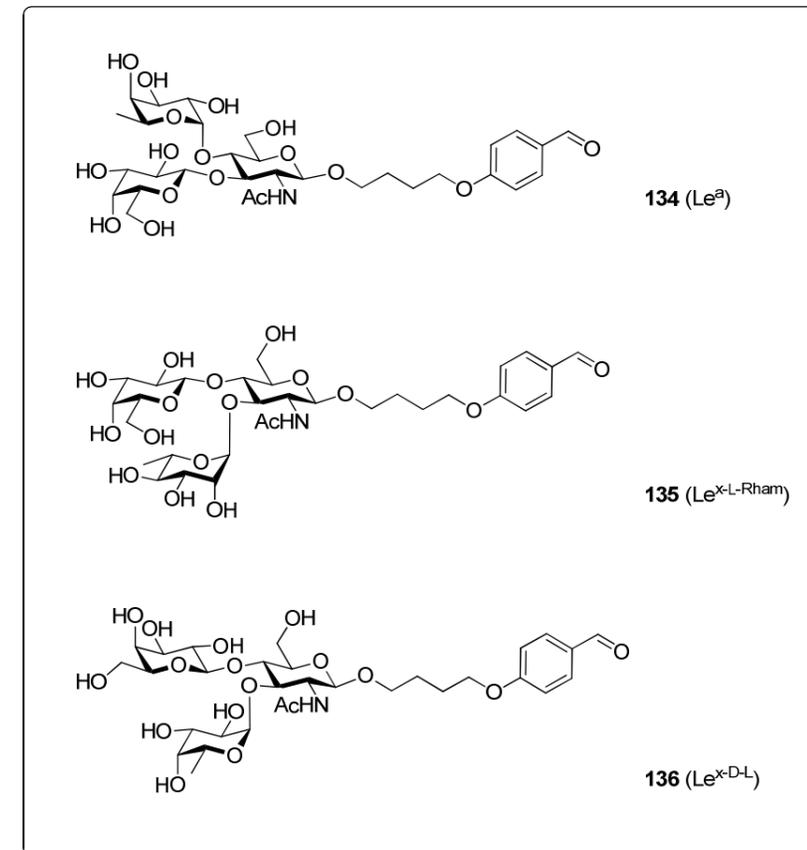


## 10. Anhang II: Benzaldehyd-funktionalisierte Le<sup>x</sup>-Trisaccharid-Analoga

### Le<sup>x</sup>-Trisaccharide-Analoga I

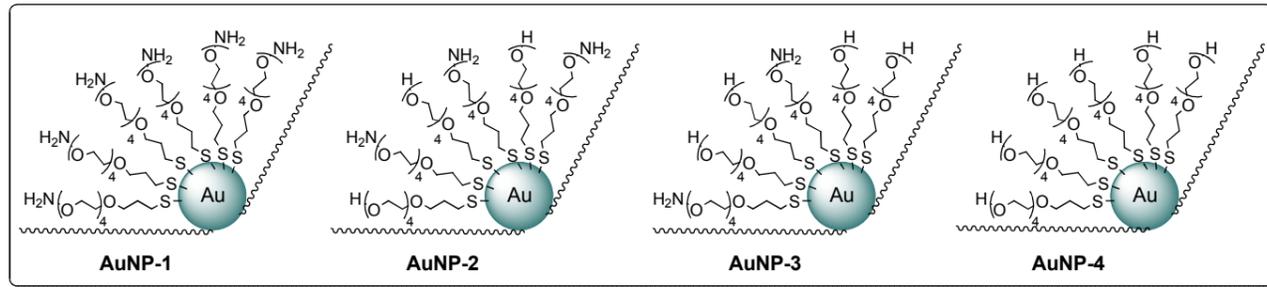
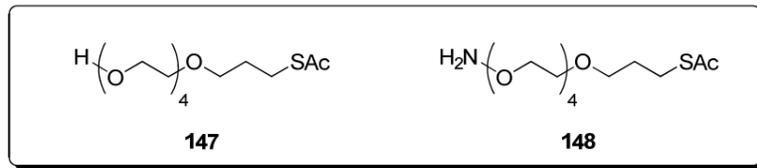


### Le<sup>x</sup>-Trisaccharide-Analoga II

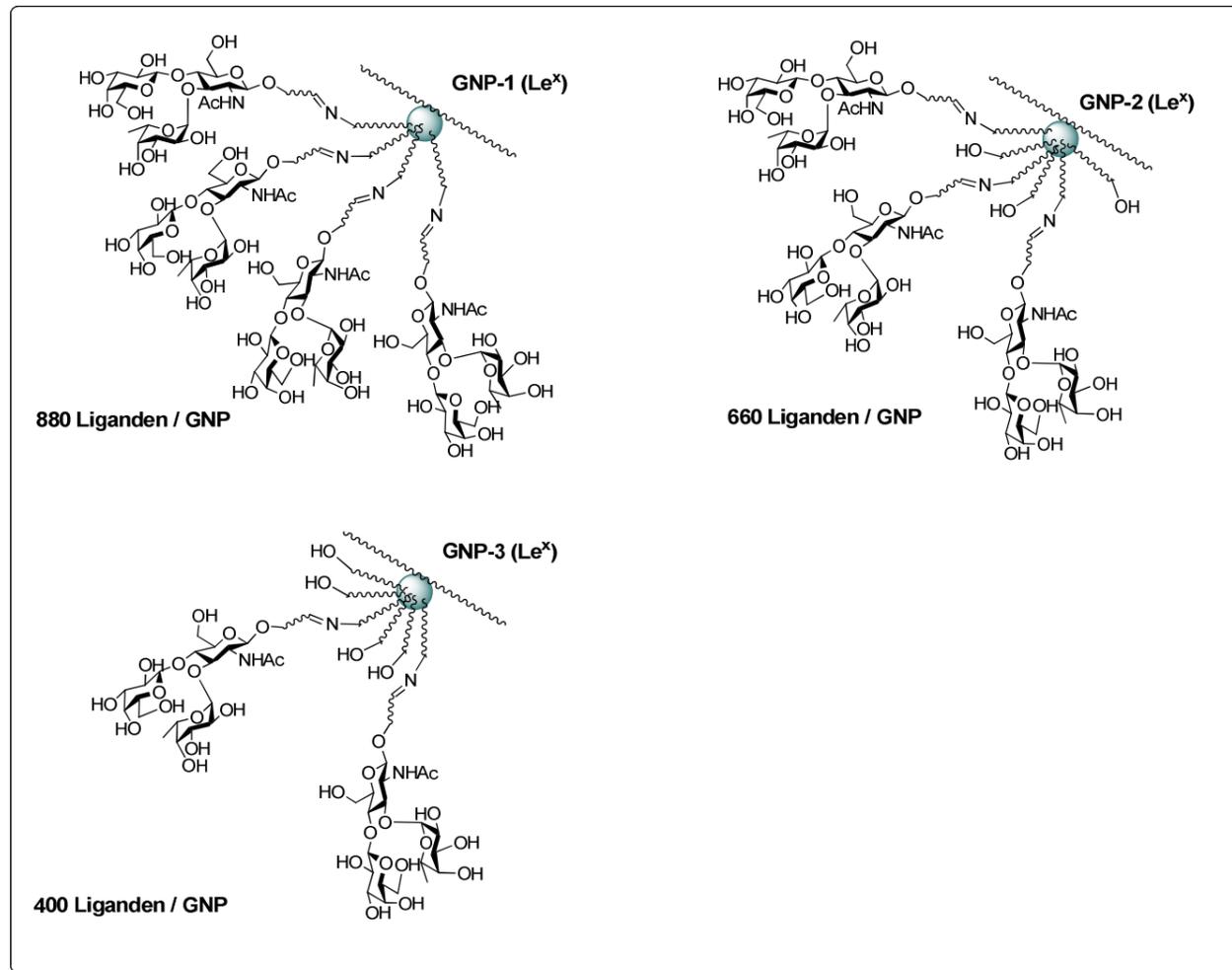


# 11. Anhang III: Glyconanopartikel (GNP)

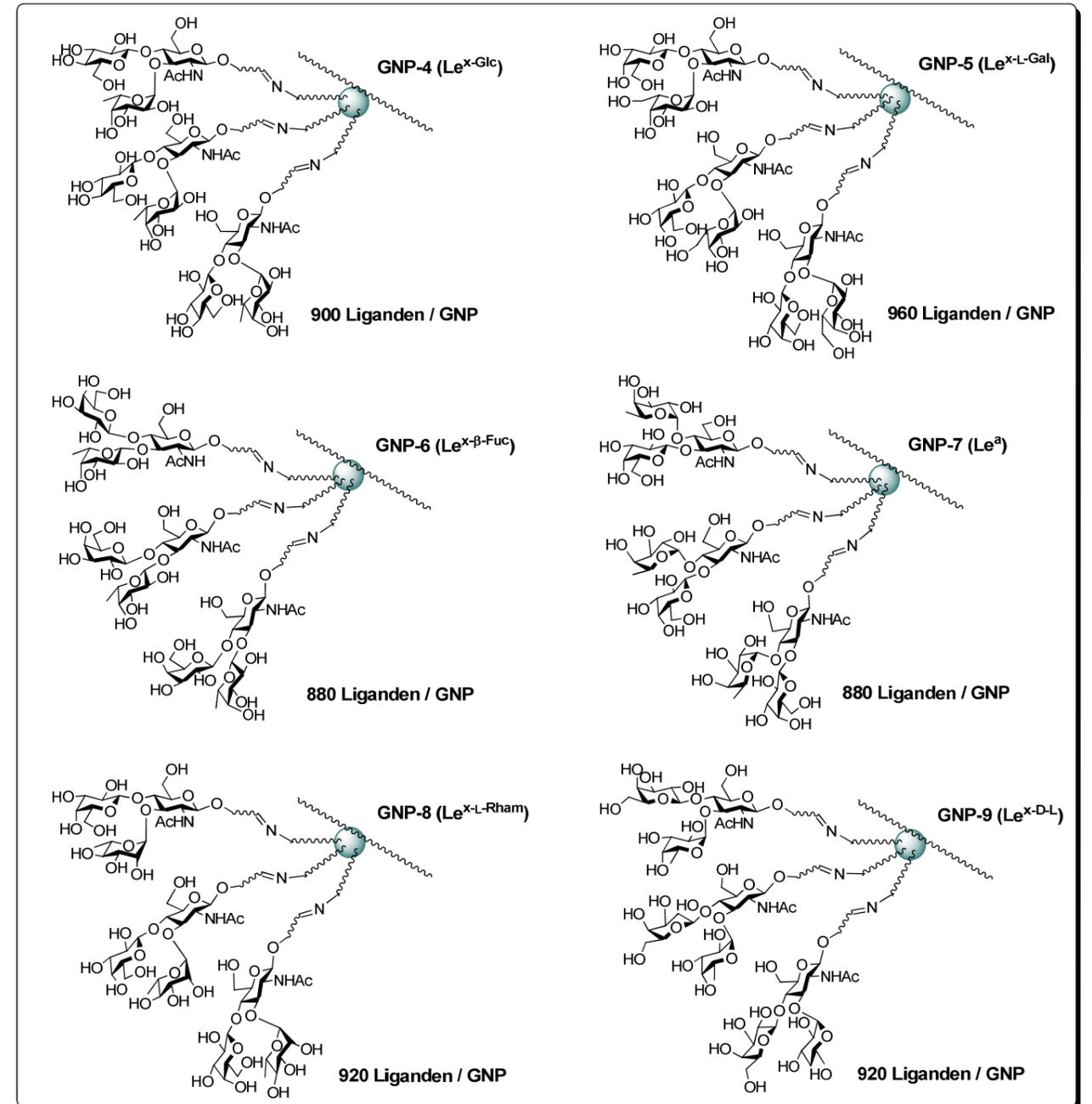
## Spacer und Goldnanopartikel für die GNPs



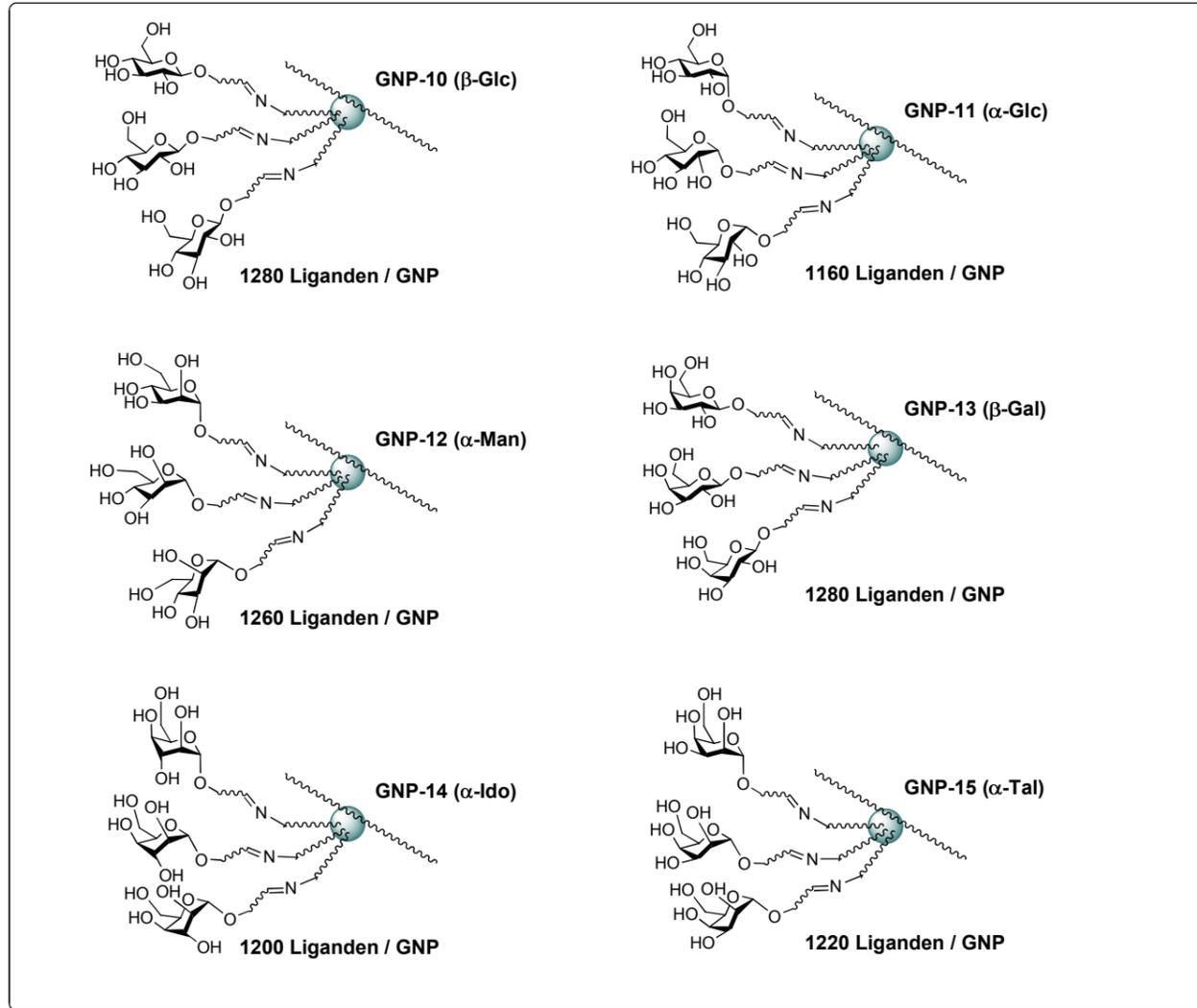
## Le<sup>x</sup>-GNPs mit unterschiedlicher Kopfgruppenkonzentration



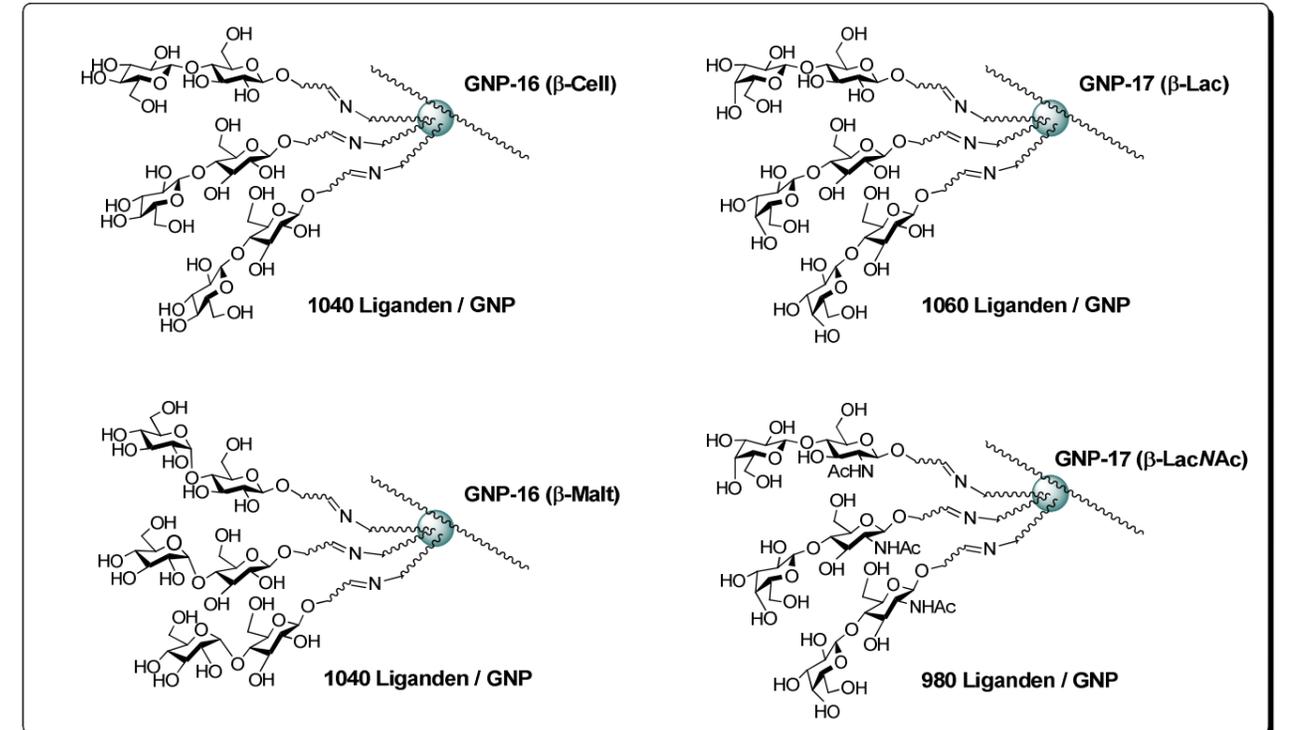
## Le<sup>x</sup>-Analog-GNPs



**Monosaccharid-GNPs**

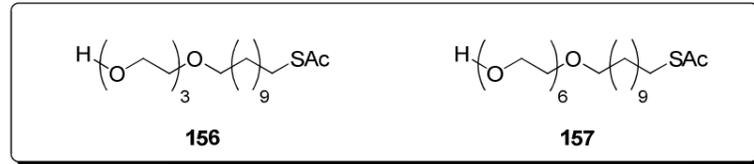


**Disaccharid-GNPs**

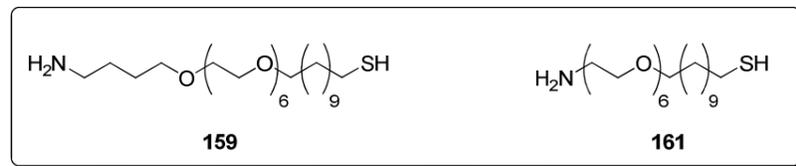


12. Anhang IV: Glyco-SAMs

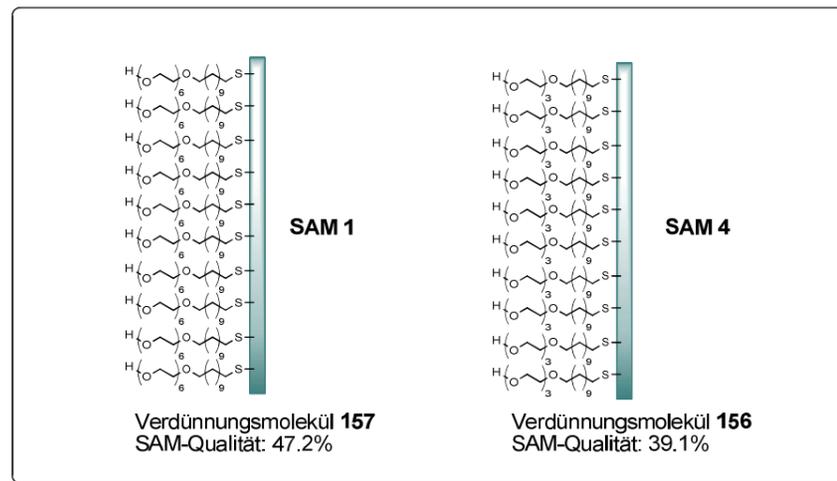
Verdünnungsmoleküle für die Glyco-SAMs



Ankermoleküle für die Glyco-SAMs

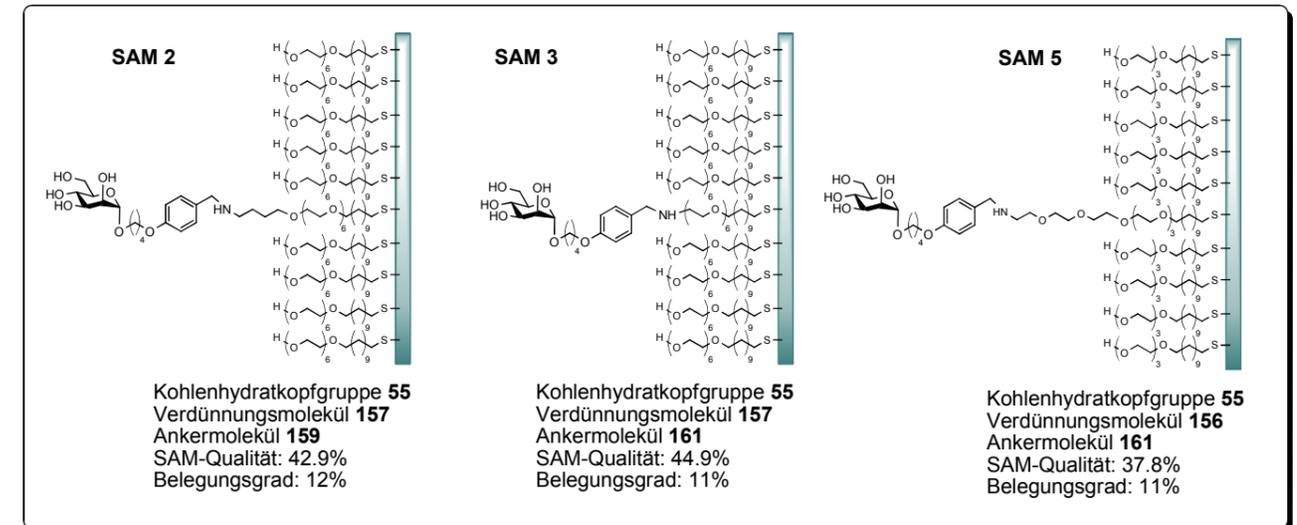


SAMs für die Referenzflusszelle

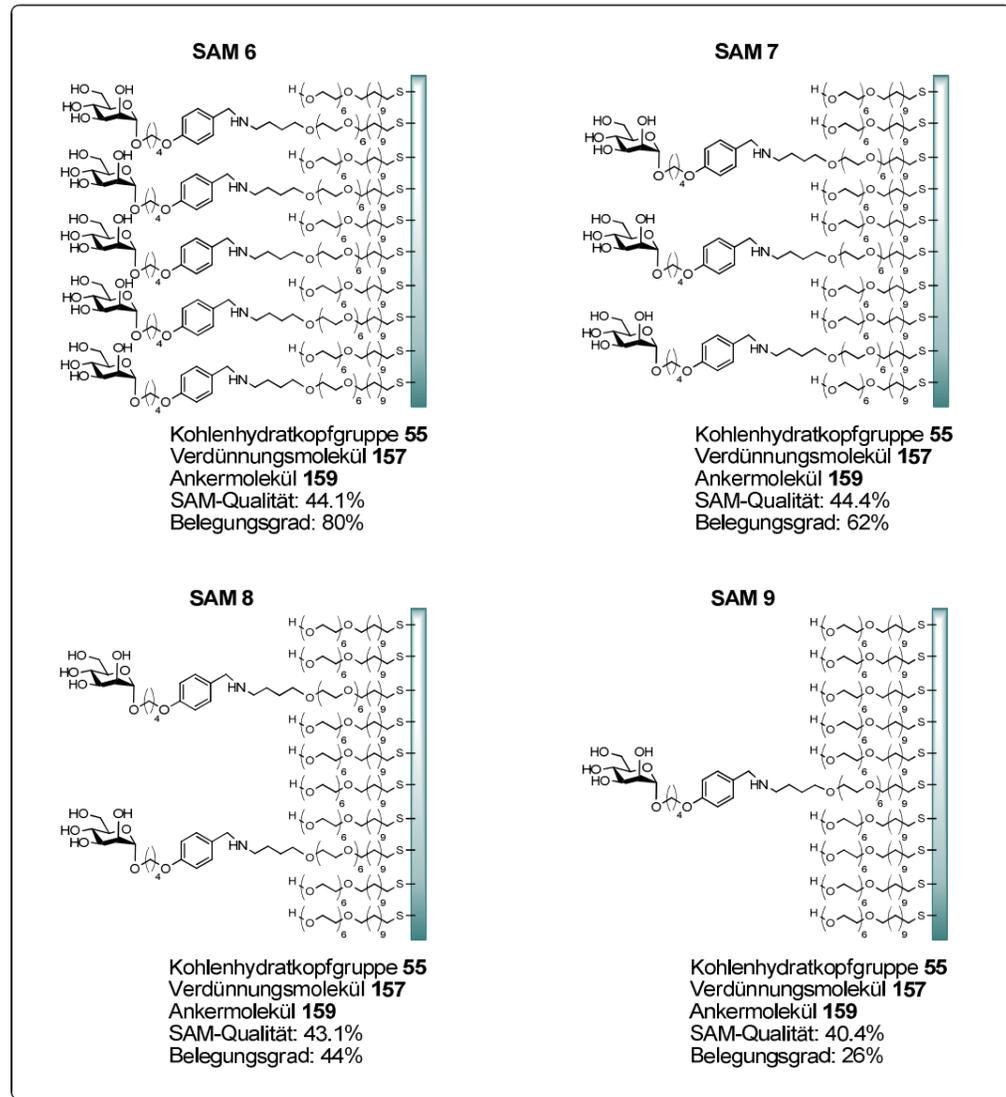


Mannopyranosid-Glyco-SAMs mit unterschiedlicher Linkerstruktur

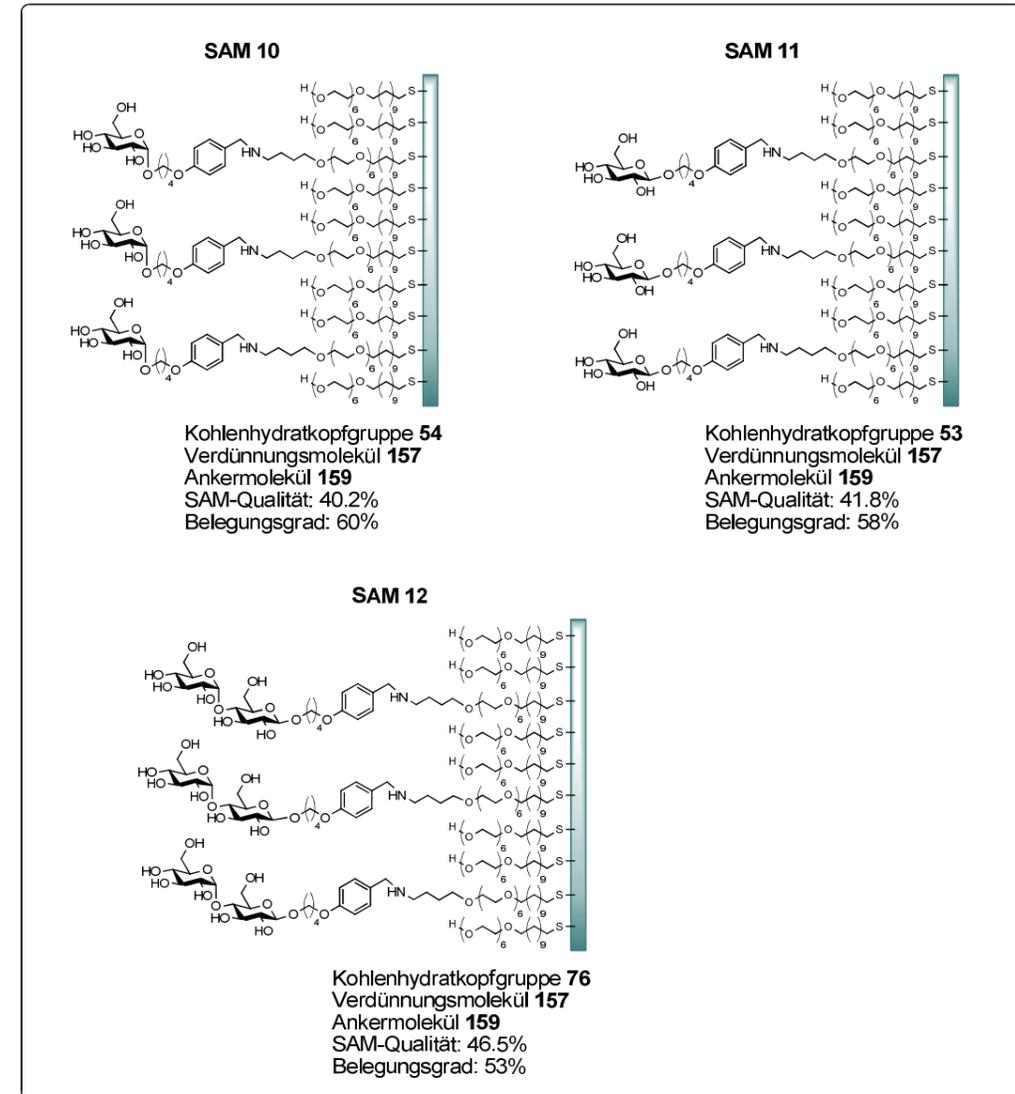
(Verdünnung: 1:25)



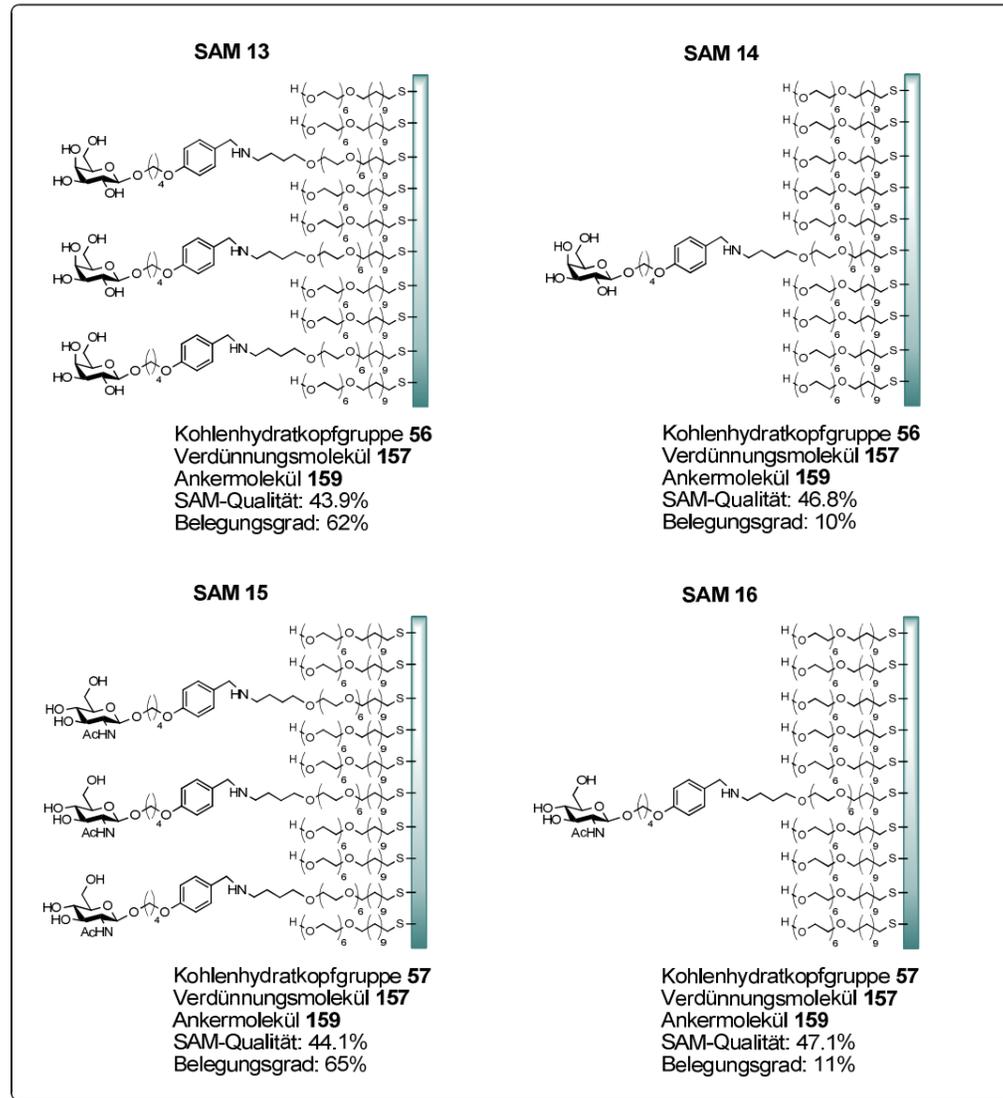
**Mannopyranosid-Glyco-SAMs mit verschiedenen Kopfgruppenkonzentrationen**



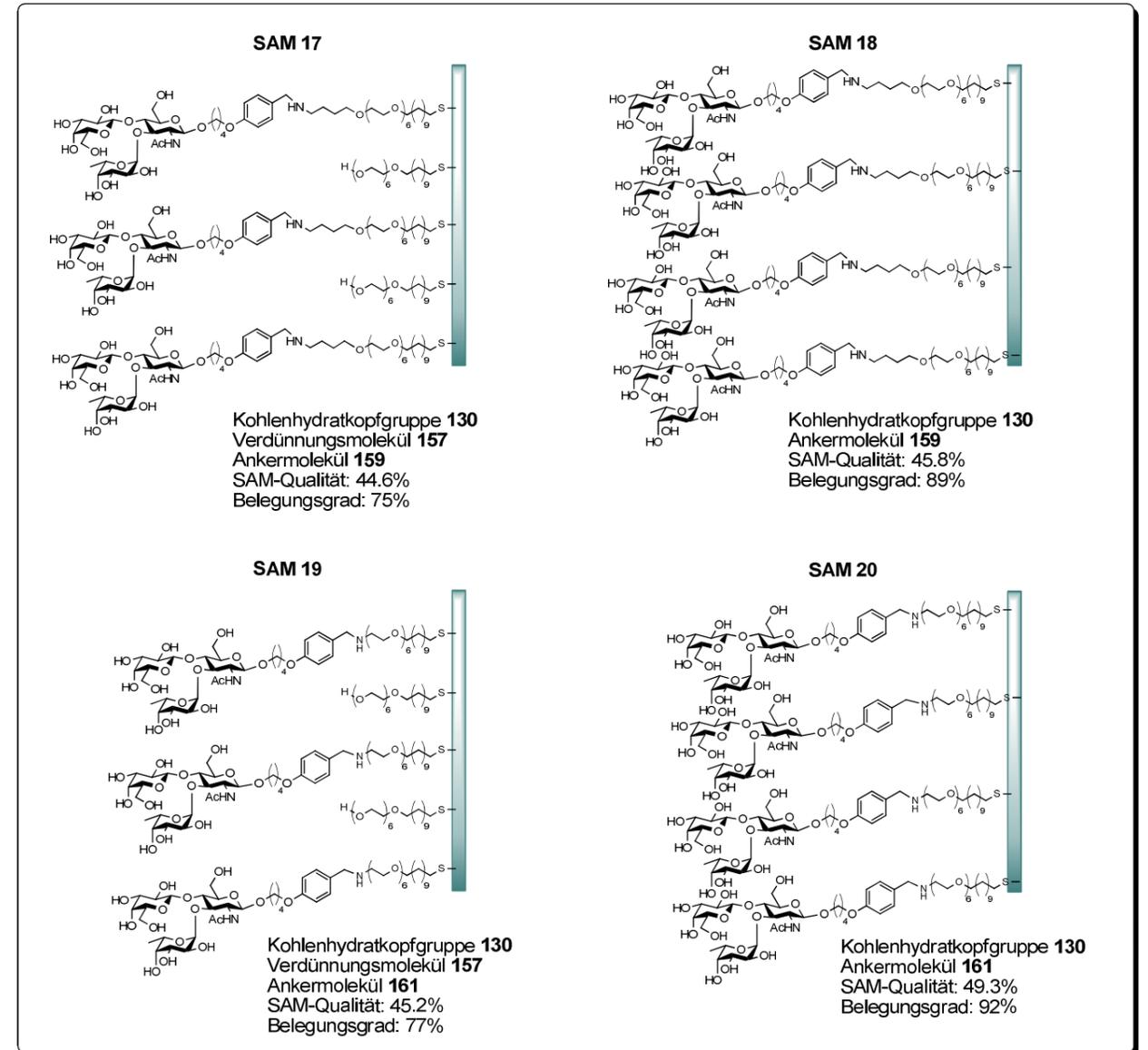
**Glucopyranosid enthaltende Glyco-SAMs**



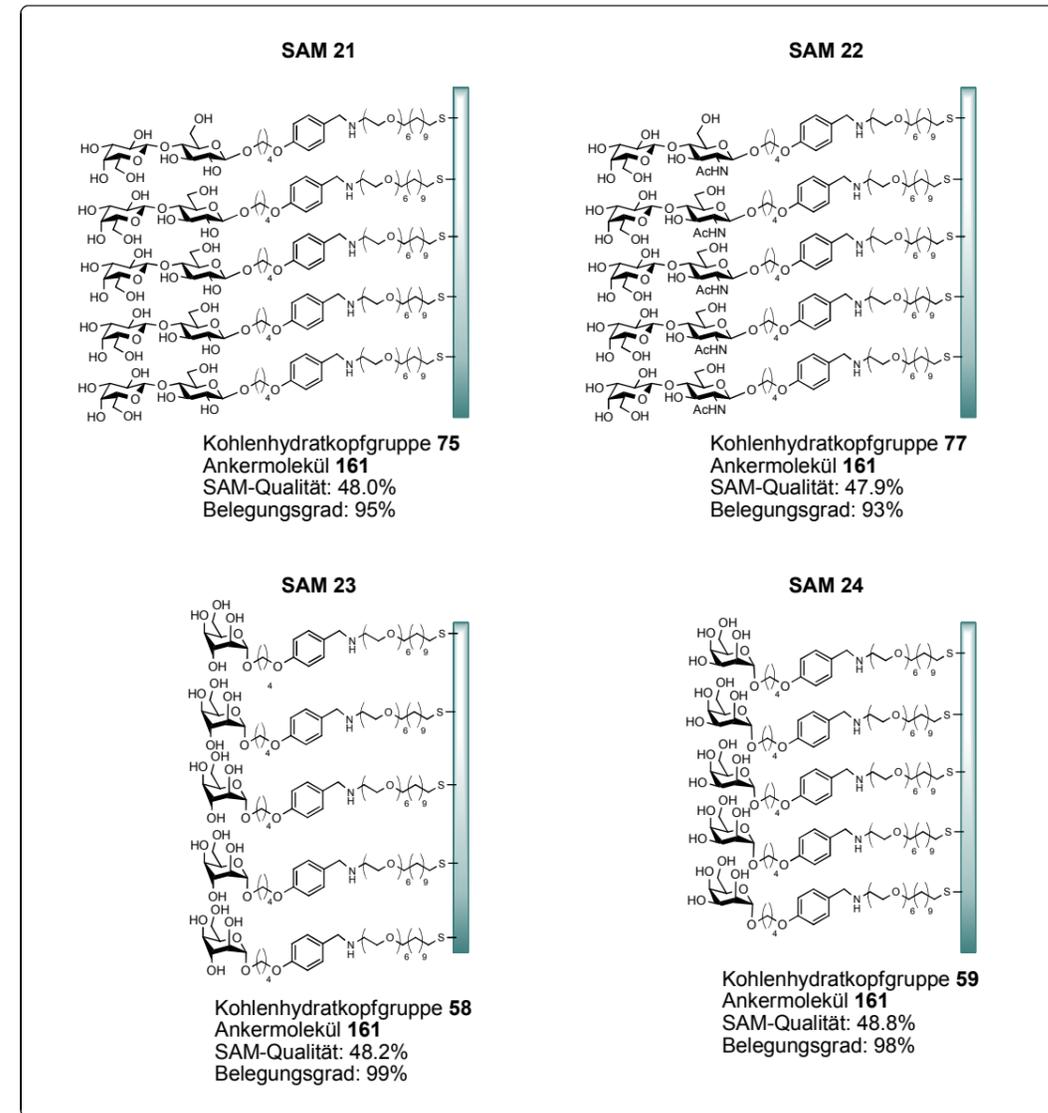
**Galactopyranosid und 2-Acetamido-2-desoxy-gluco-pyranosid  
enthaltende Glyco-SAMs**



**Le<sup>x</sup>-Glyco-SAMs mit verschiedenen Kopfgruppenkonzentrationen  
und unterschiedlicher Linkerstruktur**



**Glyco-SAMs mit verschiedenen Mono- und Disaccharidkopfgruppen**  
**für CCI-Untersuchungen**



## Auflistung der verwendeten Gefahrstoffe nach GHS

Gefahrstoff	Gefahrensymbol	Gefahrenhinweise (Hazard statements)	Vorsichtsmassnahme (Precautionary Statements)
Aceton	GHS02, GHS07	H225-H319-H336	P210-P261-P305 + P351 + P338
Allylalkohol	GHS02, GHS06, GHS09	H225-H301-H311-H315-H319-H331-H335-H400	P210-P261-P273-P280-P301 + P310-P305 + P351 + P338
Allylbromid	GHS02, GHS05, GHS06, GHS08, GHS09	H225-H301-H314-H340-H350-H400	P201-P210-P273-P280-P301 + P310-P305 + P351 + P338
Aluminiumtrichlorid	GHS05	H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Ammoniumchlorid	GHS07	H302-H319	P305 + P351 + P338
Anthron	GHS07	H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
Antimonpentachlorid	GHS05, GHS09	H314-H411	P273-P280-P305 + P351 + P338-P310
Azo-bis-isobutyronitril (AIBN)	GHS02, GHS07	H242-H302-H332-H412	P273
Batriumhydroxid	GHS05, GHS07	H302-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Benzylamin	GHS05, GHS07	H302-H312-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Bortrifluorid-Diethyletherat	GHS02, GHS05, GHS06, GHS08	H226-H302-H314-H330-H372	P260-P280-P284-P305 + P351 + P338-P310
1-Brom-4-chlorbutan	GHS02	H226	
11-Bromundec-2-en	GHS07	H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
Calciumchlorid	GHS07	H319	P305 + P351 + P338
Cerammoniumnitrat	GHS03, GHS07	H272-H302-H315-H319-H335	P220-P261-P305 + P351 + P338
Chloroform	GHS07, GHS08	H302-H315-H351-H373	P281
ConA	GHS08	H317-H334-H361	P261-P280-P342 + P311
Cystamin-hydrochlorid	GHS07	H302	
1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU)	GHS05, GHS06	H290-H301-H314-H412	P273-P280-P301 + P310-P305 + P351 + P338-P310
Dichlormethan	GHS008	H351	P281
Diethylether	GHS02, GHS07	H224-H302-H336	P210-P261
Dihydroxybenzoesäure	GHS07	H302-H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
Diisopropylazodicarboxylat (DIAD)	GHS07, GHS08, GHS09	H315-H319-H335-H351-H373-H411	P261-P273-P281-P305 + P351 + P338
Dimethyldisulfid	GHS02, GHS06, GHS09	H225-H302-H319-H331-H335-H411	P210-P261-P273-P305 + P351 + P338-P311
Dimethylformamid	GHS02, GHS07, GHS08	H226-H312-H319-H332-H360D	P201-P280-P305 + P351 + P338-P308 + P313
Diphenylsulfid	GHS07, GHS09	H302-H315-H410	P273-P501
DMAP	GHS06	H301-H310-H315-H319-H335	P261-P280-P301 + P310-P302 + P350-P305 + P351 + P338-P310
Essigsäure	GHS02, GHS05	H226-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Essigsäureanhydrid	GHS02, GHS05, GHS07	H226-H302-H314-H332	P280-P305 + P351 + P338-P310
Ethanol	GHS02	H225	P210
Ethanthiol	GHS02, GHS07, GHS09	H225-H332-H410	P210-P273-P501
Ethylacetat	GHS02, GHS07	H225-H319-H336	P210-P261-P305 + P351 + P338
N-Ethylmorpholin	GHS02, GHS05, GHS06	H226-H302 + H332-H311-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Gold(III)-chlorid-trihydrat	GHS05, GHS07	H314-H317	P280-P305 + P351 + P338-P310
Grubbs Katalystor, 2. Generation, (1,3-Bis(-2,4,6-trimethylphenyl)-2-imidazolidinyliden)-dichlor-(phenylmethylen)-(tricyclohexylphosphin)ruthenium HBr (33%) in Eisessig	GHS05, GHS07	H228	P210
Hexan	GHS02, GHS07, GHS08, GHS09	H225-H304-H315-H336-H361f-H373-H411	P210-P261-P273-P281-P301 + P310-P331
Hydrazin-Hydrat	GHS05, GHS06, GHS08, GHS09	H301-H311-H314-H317-H331-H350-H410	P201-P261-P273-P280-P301 + P310-P305 + P351 + P338
p-Hydroxybenzaldehyd	GHS07	H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
N-Hydroxyphthalimid	GHS07	H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
Iod	GHS07, GHS09	H312-H332-H400	P273-P280
N-Iodosuccinimid	GHS07	H302-H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
Kaliumcarbonat	GHS07	H302-H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
Kaliumthioacetat	GHS07	H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
Kupfer-(II)-bromid	GHS05, GHS07	H302-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Kupferacetat-Hydrat	GHS07, GHS09	H302-H315-H319-H335-H400	P261-P273-P305 + P351 + P338
Lithiumaluminiumhydrid	GHS02, GHS05	H260-H314	P223-P231 + P232-P280-P305 + P351 + P338-P370 + P378-P422
Manganchlorid	GHS07	H302	

Methanol	GHS02, GHS06, GHS08	H225-H301-H311-H331-H370	P210-P260-P280-P301 + P310-P311
1-Methylimidazol	GHS05, GHS07	H302-H312-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Methyl-trifluoromethanesulfonat	GHS02, GHS05	H226-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Natriumazid	GHS06, GHS09	H300-H410	P264-P273-P301 + P310-P501
Natriumborhydrid	GHS02, GHS05, GHS06	H260-H301 + H311-H314	P223-P231 + P232-P280-P301 + P310-P370 + P378-P422
Natriumcyanoborhydrid	GHS02, GHS05, GHS06, GHS09	H228-H260-H300-H310-H314-H330-H410	P210-P223-P231 + P232-P260-P370 + P378-P422
Natriumhydrid	GHS02, GHS07	H260-H319	P223-P231 + P232-P305 + P351 + P338-P370 + P378-P422
Natriumhydroxid	GHS05	H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Natriummethanolat	GHS02, GHS05	H251-H314	P235 + P410-P280-P305 + P351 + P338-P310
Natriumthiophosphat	GHS07	H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
Palladium auf Aktivkohle	GHS07	H315-H319	P305 + P351 + P338
Petrolether	GHS02, GHS07, GHS08, GHS09	H225-H304-H315-H336-H361-H373-H411	P210-P261-P273-P281-P301 + P310-P331
Phosphorylchlorid	GHS05, GHS06, GHS08	H302-H314-H330-H372	P260-P280-P284-P305 + P351 + P338-P310
Pyridin	GHS02, GHS07	H225-H302-H312-H332	P210-P280
Salzsäure	GHS05, GHS07	H314-H335	P261-P280-P305 + P351 + P338-P310
Schwefelsäure	GHS05	H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Silbercarbonat	GHS07	H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
<i>tert</i> -Butylphenylsilylchlorid (TBDPSCI)	GHS05	H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl)	GHS02, GHS05	H228-H314	P210-P280-P305 + P351 + P338-P310
Triethylsilylchlorid (TESCl)	GHS02, GHS05, GHS06	H226-H301-H314	P280-P301 + P310-P305 + P351 + P338-P310
Tetrabutylammoniumbromid	GHS07		
Tetrabutylammoniumfluorid	GHS02, GHS05, GHS07	H225-H314-H335	P210-P261-P280-P305 + P351 + P338-P310
Tetrabutylammoniumiodid	GHS07	H302-H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
Tetrachlorkohlenstoff	GHS06, GHS08	H301 + H311 + H331-H351-H372-H412-H420	P261-P273-P280-P301 + P310-P311
Tetrahydrofuran	GHS02, GHS07	H225-H319-H335	P210-P261-P305 + P351 + P338
Thioessigsäure	GHS02, GHS05, GHS06	H225-H301-H314	P210-P280-P301 + P310-P305 + P351 + P338-P310
Thiophosphorylchlorid	GHS05, GHS06	H302-H314-H330	P260-P280-P284-P305 + P351 + P338-P310
Toluol	GHS02, GHS07, GHS08	H225-H304-H315-H336-H361d-H373	P210-P261-P281-P301 + P310-P331
<i>p</i> -Toluolsulfonsäure	GHS07	H315-H319-H335	P261-P305 + P351 + P338
<i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid	GHS05	H315-H318	P280-P305 + P351 + P338
Tributylzinnhydrid	GHS02, GHS06, GHS08, GHS09	H226-H301-H312-H315-H319-H372-H410	P273-P280-P301 + P310-P305 + P351 + P338-P314-P501
Trichloroacetonitril	GHS06, GHS09	H301-H311-H331-H411	P261-P273-P280-P301 + P310-P311
Triethylamin	GHS02, GHS05, GHS07	H225-H302-H312-H314-H332	P210-P280-P305 + P351 + P338-P310
Triethylsilan	GHS02	H225-H412	P210-P273
Trifluoressigsäure	GHS05, GHS07	H314-H332-H412	P273-P280-P305 + P351 + P338-P310
Trifluormethansulfonsäure	GHS05, GHS07	H302 + H312-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Trifluormethansulfonsäureanhydrid	GHS05, GHS07	H302-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Trimethylorthoformiat	GHS02, GHS07	H225-H319	P210-P305 + P351 + P338
Trimethylsilyl-trifluoromethanesulfonate (Trimethylsilyltriflat)	GHS02, GHS05	H226-H314	P280-P305 + P351 + P338-P310
Trimethylsilylazid	GHS02, GHS06	H225-H301 + H311 + H331	P210-P261-P280-P301 + P310-P311
Triphenylmethanthiol	GHS07	H332	
Triphenylphosphin	GHS07, GHS08	H302-H317-H373	P280
Wasserperoxid 30%	GHS05, GHS07	H302-H318	P280-P305 + P351 + P338
Wasserstoff	GHS02, GHS04	H220	P210
Zinkpulver	GHS09	H410	P273-P501

entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

## Publikationen

### Zeitschriftenbeiträge:

1. “A New Linker for Solid-Phase Synthesis of Heparan Sulfate Precursors by Sequential Assembly of Monosaccharide Building Blocks”, P. Czechura, N. Guedes, S. Kopitzki, N. Vazquez, M. Martin-Lomas, N.-C. Reichardt, *Chem. Comm.* **2011**, 47, 2390 – 2392.
2. “Synthesis of Benzaldehyde-Functionalized Glycans: A Novel Approach Towards Glyco-SAMs as a Tool for Surface Plasmon Resonance Studies”, S. Kopitzki, K. J. Jensen, J. Thiem, *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 7017 – 7029.
3. “Enzymatic Glycosylation, Inhibitor Design, and Synthesis and Formation of Glyco-Self Assembled Monolayers for Simulation of Recognition”, A. Scheppokat, A. Gerber, A. Schroven, S. Meinke, S. Kopitzki, E. Beketow, J. Thimm, J. Thiem, *Eur J. Cell Biol.* **2010**, 89, 39 – 52.

### Buchkapitel:

1. “Pyranose-Fused Butenolides: An Expedient Preparation from Furanose Synthons”, N. M. Xavier, S. Kopitzki, A. P. Rauter, in *Carbohydrate Chemistry: Proven Synthetic Methods* (Ed. P. Kováč), CRC Press, Boca Raton, London, New York, **2012**, 137 – 157.

### Posterpräsentationen:

1. „A General Strategy for the Solid-Phase Synthesis of Glycosaminoglycans“, S. Kopitzki, N. Guedes, O. Mitxelena, M. Martin-Lomas, N.-Ch. Reichardt, *1<sup>st</sup> International Glycomics Symposium* in San Sebastian, 19. – 21. Juli **2012**.
2. “Towards Solid Phase Synthesis of Heparin-like Oligosaccharides: Design of a Novel Linker and Systematic Study of Coupling Reactions”, S. Kopitzki, P. Czechura, N. Guedes, M. Martin-Lomas, N.-Ch. Reichardt, *16<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium* in Sorrento, 3. – 7. Juli **2011**.
3. “Preparation of Glycoarrays by Reductive Amination of Benzaldehyde Functionalized Carbohydrates for Surface Plasmon Resonance Studies”, S. Kopitzki, J. Thiem, *Annual Meeting of the Society for Glycobiology* in Forth Worth, 12. – 15. November **2008**.
4. “Synthesis of Amino Functionalized Spacers and Aldehyde-linked Glyco-Derivates for Immobilisation on SPR-Chips by Reductive Amination”, S. Kopitzki, J. Thiem, *4<sup>th</sup> Glycan Forum* in Berlin, 23. - 24. Mai **2008**.
5. “Synthesis of Regioselective Thioalkane-linked and Sulfated Glyco-Derivates and Investigation of Carbohydrate-Carbohydrate-Interactions by AFM”, S. Kopitzki, J. Thiem, *14<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium* in Lübeck, 2. – 7. September **2007**.

### **Posterbeiträge:**

1. „A General Strategy for the Solid-Phase Synthesis of Glycosaminoglycans“, N. Guedes, S. Kopitzki, O. Mitxelena, M. Martin-Lomas, N.-Ch. Reichardt, *26<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium* in Madrid, 22. – 27. Juli **2012**.
2. “Towards Solid-Phase Synthesis of Heaprin-like Glycosaminoglycans”, P. Czechura, N. Guedes, S. Kopitzki, M. Martin-Lomas, N.-Ch. Reichardt, *X. Jornadas de Carbohidratos* in Granada, 15. – 18. September **2010**.

### **Stipendien und Auszeichnung:**

- 1) Kongressreisestipendium der GlaxoSmithKline Stiftung für die Konferenz *Annual Meeting of the Society for Glycobiology* in Forth Worth, USA, 2008
- 2) Travel Award der Society for Glycobiology für die Konferenz *Annual Meeting of the Society for Glycobiology* in Forth Worth, USA, 2008

# Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Sebastian Kopitzki, an Eides statt, daß ich die vorliegende Dissertation “Darstellung Kohlenhydrat-funktionalisierter Goldoberflächen und –nanopartikel: Ein neuartiger modularer Ansatz für die Anwendung von 2D- und 3D-Glyco-SAMs in Wechselwirkungsstudien“ selbständig angefertigt und nur die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Ich erkläre außerdem, daß diese Dissertation weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat. Es handelt sich hierbei um meinen ersten Promotionsversuch.

Donostia, im September 2012