Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

CYCLOSAL-GLYCOPYRANOSYLPHOSPHATE

Ihre Darstellung sowie Anwendung als

aktivierte Synthesebausteine

von

Johanna Huchting

vorgelegt dem
Fachbereich Chemie
der Universität Hamburg

Hamburg 2014

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom April 2010 bis zum März 2014 am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Chris Meier angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Chris Meier

2. Gutachter: Prof. Dr. Joachim Thiem

Datum der Disputation: 09.05.2014

Abkürzungen und Symbole

AAV Allgemeine Arbeitsvorschrift

abs. absolut

Ac Acetyl

acc acceptor

Äq. Äquivalente

ar aromatisch

ATP Adenosin-5'-triphosphat

Bn Benzyl

BSA N,O-(Bistrimethylsilyl)-acetamid

BSP 1-Benzylsulfinyl-Piperidin

Bu Butyl

Bz Benzoyl

CMP Cytidin-5'-monophosphat

COSY correlation spectroscopy

C_q quartäres C-Atom

cycloSal cycloSaligenyl

 δ chemische Verschiebung (NMR)

d Duplett (NMR)

d4TMP 2',3'-Didesoxydidehydrothymidin-5'-monophosphat

DBU 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en

DC Dünnschichtchromatographie

DCA Dichloressigsäure

DCC Dicyclohexylcarbodiimid

demin. demineralisiert

dd doppel-Duplett (NMR)

DIPEA Diisopropylethylamin

DMF Dimethylformamid

DMSO Dimethylsulfoxid

DMTr 4,4'-Dimethoxytriphenylmethyl

DNA *deoxyribonucleic acid* (Desoxyribonucleinsäure)

DP Diphosphat

dT 2'-Desoxythymidin

EE Ethylacetat

ESI electron spray ionization (MS)

Et Ethyl

Fmoc Fluorenylmethoxycarbonyl

Fuc Fucose

Gal Galactose

GalNAc 2-Acetamido-2-desoxygalactose

GDP Guanosin-5'-diphosphat

ges. gesättigt

Glc Glucose

GlcNAc 2-Acetamido-2-desoxyglucose

GlcUA Glucuronsäure

GPI Glycosyl-Phosphatidylinositol

GPS glycosyl phosphosugar

Gua Guanin

HIV human immunodeficiency virus

HR high resolution

IC₅₀ mittlere Inhibitorische Konzentration

IFN-γ Interferon gamma

IL-12 Interleukin 12

iNOS Stickstoffmonoxid-Synthase; Isoform i, vorkommend in

Makrophagen/Mikrogliazellen

*i*Pr *iso*Propyl

IR Infrarotspektroskopie

J skalare Kopplung (NMR)

kat. katalytisch

konz. konzentriert

LG leaving group (Abgangsgruppe)

m Multiplett (NMR)

M molar (mol/L)

Man Mannose

VERZEICHNISSE

mCPBA meta-Chlorperbenzoesäure

Me Methyl

MP Monophosphat

MP para-Methoxyphenyl

MS Massenspektrometrie

MS Molsieb

MSNT Mesitylensulfonsäure-[1H]-3-nitrotriazol

Neu5Ac *N*-Acetylneuraminsäure

NIS *N*-lodsuccinimid

NMP Nucleosid-5'-monophosphat

NDP Nucleosid-5'-diphosphat

NTP Nucleosid-5'-triphosphat

NMR nuclear magnetic resonance

Nu Nucleophil

PA Phenoxyacetyl

PE Petrolether

Pr Propyl

pTSA para-Toluolsulfonsäure

PyNTP 3-Nitro-1,2,4-triazol-1-yl-tris(pyrrolidin-1-yl)-phosphonium-

hexafluorophosphat

q Quartett (NMR)

R_f Retentionsfaktor (DC)

RNA ribonucleic acid (Ribonucleinsäure)

RP reversed phase

Rt Raumtemperatur

s Sigulett (NMR)

SI Selektivitätsindex

SG Schutzgruppe

S_N nucleophile Substitution

t Triplett (NMR)

TBAF Tetrabutylammoniumfluorid

TBAI Tetrabutylammoniumiodid

TBDMS tertButyldimethylsilyl

TEA Triethylamin

Tf Trifluoracetyl

TFA Trifluoressigsäure

THF Tetrahydrofuran

TMS Trimethylsilyl

TMP Thymidin-5'-monophosphat

TP Triphosphat

TTBP 2,4,6-Tri-*tert*butylpyrimidin

UDP Uridin-5'-diphosphat

Ura Uracil

Inhaltsverzeichnis

1	Einlei	itung	1
2	Kenn	tnisstand	5
	2.1 A:	Aktivierung des nicht-phosphorhaltigen Bausteins	8
	2.2 B:	Aktivierung des Phosphor-Bausteins	18
	2.2.1	aktivierte Phosphor-Bausteine der Oxidationsstufe +III (Phosphite)	19
	2.2.2	aktivierte Phosphor-Bausteine der Oxidationsstufe +V (Phosphate)	32
	2.3 ch	nemische Synthese von Nucleosid-5'-triphosphaten	39
	2.4 Py	yranonucleoside	43
3	Aufga	abenstellung	47
4	Resul	tate	51
	4.1 Sy	nthese von 5-NO ₂ -cycloSal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten	59
	4.1.1	Erste Versuche zur Synthese von 5-NO ₂ -cycloSal-(Glycopyranosyl-6)-	
		phosphaten I ausgehend von Vorläufer II	60
	4.1.2	Synthese von 5-NO ₂ -cycloSal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten I ausgehvon Vorläufer IIa	
	112		70
	4.1.5	Derivatisierung der Vorläuferverbindungen IIa zur Darstellung von komplexeren cycloSal-(Glycopyranosidyl-6)-phosphaten Ib	0E
	111	Darstellung eines <i>cyclo</i> Sal-Triesters an der endständigen primären Ol	
	4.1.4	Gruppe eines Disaccharids	
	4.2 Sy	nthese von 5-NO ₂ -cycloSal-(Pyranonucleosid-6')-phosphaten	
	4.2.1	Darstellung von Vorläufer II auf Weg A	121
	4.2.2	Darstellung von Vorläufer II auf Weg B	122
	4.2.3	Darstellung der 5-NO ₂ -cycloSal-(Pyranonucleosid-6')-phosphate	128
	4.3 Re	eaktivität von 5-NO ₂ - <i>cyclo</i> Sal-(D-Mannopyranosyl)-phosphaten	131
	4.4 Ei	nsatz der <i>cyclo</i> Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphate zur Synthese	136
	4.4.1	Darstellung von Phosphatdiester-verbrückten Disacchariden	136
	4.4.2	Anwendung der optimierten Kupplungsbedingungen auf die Darstellu	ıng
		eines Phosphatdiester-verbrückten Tetrasaccharids	151
	4.4.3	Darstellung eines Konjugats mit einem nicht-glycosidischen Nucleoph	nil . 161
	4.5 Da	arstellung von Pyranonucleosid-6'-triphosphaten	164
5	Zusar	mmenfassung	173
6	Sumr	nary	177
7	Expe	rimenteller Teil	181
	7.1 Ger	äte und Analytik	181
	7.2 Lösu	ungsmittel und Reagenzien	181
	7.3 Chr	omatographie	182
	7.4 Allgo	emeine Arbeitsvorschriften (AAV)	183
	7 5 Synt	hesen	187

7.5.1	Synthesen der <i>manno</i> -Vorstufen	.187
7.5.2	Synthesen der <i>gluco-</i> Vorstufen	.196
7.5.3	Synthesen der <i>2-acetamido-2-desoxy-gluco-</i> Vorstufen	.204
7.5.4	Synthesen der <i>galacto-</i> Vorstufen	.208
7.5.5	Synthesen der <i>Disaccharid</i> -Vorstufen	.214
7.5.6	Synthesen der <i>cyclo</i> Sal-Triester	.227
7.5.7	Kupplungsreaktionen	.238
Gefahrstoff	verzeichnis	.247
Literaturver	zeichnis	.261
Verbindung	sübersicht	.277
Lebenslauf .		.283
Publikations	sliste	.285
Ich Danke		.287
Eidesstattlic	che Erklärung	.289

1 Einleitung

Phosphathaltige, organische Moleküle können über die Art und Weise der Anbindung des Phosphates von sehr stabilen Strukturen bis zu sehr energiereichen, instabilen Verbindungen rangieren. Auf diese Weise können sie vielfältige Funktionen in allen Prozessen des Lebens übernehmen.¹

In der DNA bilden Phosphatester organischer Strukturen das sehr stabile Rückgrat für die genetische Information. Auch die einzelnen Nucleotide (Nucleosid-5'-monophosphate, NMP) bilden chemisch sehr stabile Strukturen. Werden hier aber über eine Anhydridbindung weitere Phosphate angeknüpft, so erhält man die energiereichen und chemisch instabileren Nucleosiddi- und -triphosphate (NDP, NTP). Letztere stellen die aktivierten Substrate für den enzymatischen Aufbau der DNA bzw. RNA dar; Derivate der natürlichen Verbindungen können durch Inhibition dieses enzymatischen Prozesses als Wirkstoffe fungieren. Adenosintriphosphat übernimmt zusätzlich im Energiestoffwechsel die Aufgabe des wichtigsten Energieüberträgers. Wirkstoffe, die von den Nucleosiden abgeleitet sind, können sowohl an der Nucleobase als auch am Glycon Modifikationen tragen. Allen gemein ist, dass nicht sie selbst aktiv sind sondern ihre triphosphorylierte Form.

Abbildung 1: DNA/RNA und ATP

Über die Phosphorylierung von vornehmlich Tyrosin-, Serin- oder Threonin-Seitenketten in Proteinen wird deren Funktion und Aktivität gesteuert. In Phospholipiden liegt wiederum eine Verbrückung zweier Struktureinheiten über eine Phosphatbrücke vor. In Zuckernucleotiden ist ein Glycosylrest über eine Phosphat-

(NMP-Zucker) oder Diphosphatbrücke (NDP-Zucker), welche der Aktivierung dient, mit einem Nucleosid verknüpft.² Zuckernucleotide stellen die aktivierten Substrate für Glycosyltransferasen dar;³ diese Enzyme katalysieren die Übertragung von Zuckern auf ein Akzeptormolekül.⁴

Abbildung 2: Zuckernucleotide

Zucker spielen in allen Bereichen des Lebens eine bedeutende Rolle. Ihre monomeren Bausteine – die Monosaccharide – sind Polyhydroxyaldehyde bzw. -ketone. Am häufigsten anzutreffen sind die Pentosen oder Hexosen, also die 5- oder 6-gliedrigen, cyclischen Zuckereinheiten. Durch Kondensation zweier solcher Monosaccharide entstehen Disaccharide, durch Verknüpfung mit einem weiteren Monosaccharid Trisaccharide etc. In der Natur finden sie in Form von Polysacchariden weite Verbreitung als Stützsubstanz (Cellulose, Chitin) und Energiespeicher (Stärke, Glycogen). An Proteine oder Lipide gebunden erfüllen Oligosaccharide in Glycokonjugaten wichtige Funktionen in entscheidenden biologischen Prozessen, wie z. B. der Zelldifferenzierung, der Zelladhäsion und -erkennung.⁵

Nicht nur im Rückgrat der DNA bzw. RNA kommen über Phosphatbrücken verknüpfte Zuckereinheiten vor. Auf Zelloberflächen bilden oligomere Strukturen, aufgebaut aus repetitiv über Phosphatdiester verknüpfte Zuckereinheiten, wichtige Erkennungsmerkmale. Diese werden im Folgenden als Glycosylphosphozucker (glycosyl phosphosugar - GPS) bzw. Phosphoglycane bezeichnet (Abb. 3). Bei der Zuckereinheit kann es sich sowohl um Mono- als auch um Disaccharide handeln. Meist wird das anomere Zentrum eines Zuckerbausteins über den Phosphatester mit einer primären oder sekundären Alkoholfunktion einer weiteren Zuckereinheit verknüpft. Sie sind unter anderem auf bakteriellen Zellwänden⁶ sowie in Lipophosphoglycanen und in Proteophosphoglycanen von Parasiten zu finden.⁷

Glycosylphosphozucker

Abbildung 3: Glycosylphosphozucker

Aufgrund ihrer Funktion als Antigene ist es vorstellbar, dass GPS-Teilstrukturen Anwendung in Impfstoffen gegen bestimmte Bakterien und Parasiten finden könnten. Dies macht einen chemischen Zugang zu solchen Verbindungen äußerst interessant. Ein Beispiel für eine Anwendung als Vakzin stellt das Polyribosylribitolphosphat dar, welches in klinischen Studien die Bildung von Antikörpern gegen Haemophilus influenzae Typ b zeigte.⁸ Der Parasit Leishmania trägt auf seiner Oberfläche eine GPS-Struktur, welche es dem Parasiten ermöglicht, seine Phagocytose durch Macrophagen anzuregen und sich anschließend vom Immunsystem des Wirtes unerkannt in diesem zu vermehren.^{7,9,10} Auch die Erforschung und eventuelle medizinische Nutzung dieses Phänomens macht eine chemische Synthese dieser Strukturen erstrebenswert.¹¹

2 Kenntnisstand

I – Phosphatdiester verknüpfte Saccharid-Strukturen

Das wohl populärste Biomolekül mit Phosphatdiester-Verbrückung ist die Desoxyribonucleinsäure (deoxyribonucleic acid, DNA) bzw. Ribonucleinsäure (ribonucleic acid, RNA). In dieser sind jeweils die 3'- und die 5'-Positionen von Nucleosiden über eine Phosphatbrücke miteinander verknüpft. Die oligomere (desoxy)Ribosephosphat-Struktur bildet das Rückgrat für die codierende Anordnung der Nucleobasen, welche jeweils an Position 1' der (desoxy)Ribose angeknüpft sind (Abbildung 1).

Weniger bekannt, aber für das Leben nicht minder wichtig, sind NMP-Zucker^{12,13} ein weiteres Beispiel für solche Strukturen. Im Vergleich zur DNA/RNA hat man es in diesem Fall nicht mit einer oligomeren Struktur zu tun - pro Molekül liegt nur eine Phosphatdiesterbrücke vor. Außerdem ist die Position der Phosphatesterbindung am Glycon eine besondere: das Glycosid ist über das anomere Zentrum an das Nucleotid gebunden. Diese glycosidische Phosphatesterbindung ist wesentlich instabiler gegenüber Hydrolyse als ein Phosphatester einer gewöhnlichen OH-Funktion. Hier dient die Phosphatdiester-Verknüpfung der Aktivierung des Glycons.¹²

Abbildung 4: NMP-Zucker

Darüber hinaus finden sich Biomoleküle mit Phosphatdiester-Verbrückung in der Gruppe der Phospholipide, welchen aufgrund ihrer amphiphilen Eigenschaften eine große biologische Bedeutung zukommt: sie bilden die Zellmembranen. Auch der Glycosyl-Phosphatidylinositol-Anker (GPI-Anker), durch den Proteine mit der Zellmembran verankert werden, stellt eine solche Phosphatdiester-verbrückte Struktur dar.¹⁴

Abbildung 5: Glycosyl-Phosphatidylinositol-Anker (Kernstruktur, Typ II)

Eine weitere Klasse von Phosphatdiester-verbrückten Biomolekülen bilden die Glycosylphosphozucker. Hier liegt eine Verknüpfung von Pyranosen, seltener auch Furanosen, untereinander vor. Diese besteht meist zwischen dem anomeren Zentrum eines Zuckers und einer primären oder sekundären Hydroxyl-Funktion eines weiteren Zuckers.

Abbildung 6: 1-6-verknüpftes Phosphoglycan mit Pyranose-Monomeren

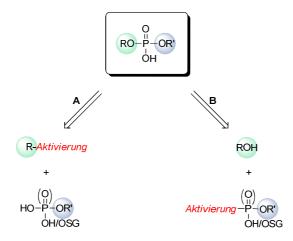
Nicht selten handelt es sich bei den Zuckerbausteinen um Disaccharide.

Abbildung 7: 1-6-verknüpftes Phosphoglycan mit Disaccharid-Einheiten

Phosphatdiester-Verbrückungen zweier Zuckerbausteine über nicht-glycosidische OH-Gruppen finden sich beispielsweise in der Stärke (vornehmlich Kartoffelstärke). Hier liegen Verknüpfungen von Stärkemakromolekülen durch 6-6-, 6-3-, 6-2- und 3-2-Phosphatdiester unter einzelnen Glucose-Bausteinen vor.¹⁵

Glycosidisch verknüpfte Glycosylphosphozucker finden sich beispielsweise auf Zelloberflächen. Ihr Vorkommen in bakteriellen Zellwänden⁶ sowie in der Glycocalix von Parasiten⁷ macht sie zu Erkennungsmerkmalen für das Immunsystem. Es konnte bereits gezeigt werden, dass eine Vakzinierung mit Glycosylphosphozuckern als Antigene gelingen kann⁸. Diese Tatsache macht einen synthetischen Zugang zu solchen Verbindungen sehr interessant.

Verschiedene Methoden zur Knüpfung von Phosphatdiester-verbrückten Strukturen organischer Moleküle sind bekannt. Allen gemein ist die Notwendigkeit entweder eines aktivierten Bausteins, der mit einem Phosphatmonoester zur Reaktion gebracht wird (Schema 1, WEG A), oder eines aktivierten Phosphit/Phosphat-Derivats, mithilfe dessen durch Reaktion mit einem zweiten Baustein der Phosphatdiester gebildet wird (WEG B). Im Folgenden wird näher auf diese beiden möglichen Wege und ihre wesentlichen Unterschiede eingegangen.



Schema 1: mögliche Wege zur Darstellung von Phosphatdiestern, SG = Schutzgruppe

2.1 A: Aktivierung des nicht-phosphorhaltigen Bausteins

Zur Synthese eines Phosphatdiesters, welcher das anomere Zentrum eines Zuckers mit einer Alkoholfunktion eines zweiten Bausteins verknüpft, bieten sich zunächst die gängigen Glycosylierungsmethoden an. Dies sind Reaktionen, in denen ein aktivierter Glycosyldonor mit dem bereits veresterten Phosphatbaustein als Glycosylakzeptor reagiert (Schema 2).



Schema 2: Glycosylierung eines Phosphatbausteins; SG = Schutzgruppe, LG = Abgangsgruppe (*leaving group*)

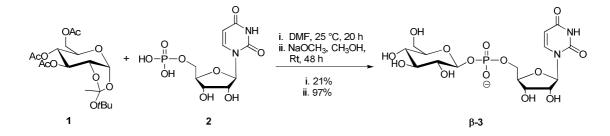
Der Glycosyldonor trägt am anomeren Kohlenstoffatom eine schwache Abgangsgruppe (LG), welche meist noch einer zusätzlichen Aktivierung durch einen sog. Promotor/Aktivator (meist eine Brönstedt- oder Lewissäure) bedarf, damit eine Reaktion mit dem Glycosylakzeptor stattfinden kann. Der Mechanismus einer Glycosylierung ist abhängig von der Art des Glycosyldonors (sowohl der Abgangsgruppe LG als auch den sonstigen Substituenten SG sowie der Konfiguration), von dem verwendeten Promoter und vom Lösungsmittel. Somit können durch die Wahl dieser Komponenten verschiedene Stereoisomere erhalten werden. Aufgrund eines mangelnden Verständnisses der Mechanismen sowie der starken Abhängigkeit dieser vom Substitutionsmuster der Pyranose ist eine Voraussage über den "stereochemischen Ausgang" einer Reaktion häufig nicht möglich. Der Jur Aktivierung von Glycopyranosen sind verschiedene Methoden in der Fachliteratur beschrieben, viele von diesen sind auch bereits zur Glycosylierung von Phosphatbausteinen angewandt worden. Einige Beispiele sollen im Folgenden dargestellt werden.

Orthoester

Schema 3: Glycosylierung mit Orthoester als Glycosyldonor, allgemein

Ein cyclischer Orthoester zwischen der 2-Position und der halbacetalischen OH-Gruppe kann unter (Lewis-)Säurekatalyse als Glycosyldonor fungieren. Meist werden Acetylorthoester eingesetzt, sodass bei der Glycosylierung der entsprechende Alkohol (HOR) abgespalten und auf der 2-Position eine Acetylgruppe erhalten wird.

SALAM und BEHRMANN berichteten von der Darstellung des NMP-Zuckers β -3 ausgehend von dem Orthoester 1 und dem Nucleosidmonophosphat 2 (Schema 4).

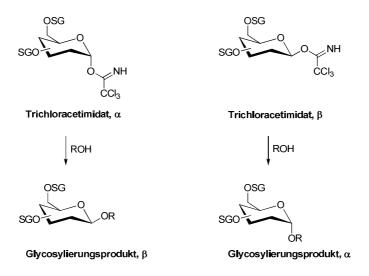


Schema 4: Synthese von UMP- β -Glucose β -3, Salam und Behrmann

Nachteile dieser Methode bilden die Beschränkung auf 1,2-*trans*-verknüpfte Produkte sowie die relativ geringe Ausbeute für die Kupplungsreaktion.

Trichloracetimidate

Auch die Trichloracetimidat-Methode wurde für die Darstellung von NMP-Zuckern angewendet. Bei dieser Methode ist eine Kontrolle der Stereochemie sowohl über den Einsatz des reinen α - oder β -konfigurierten Glycosyldonors sowie über die Wahl der Schutzgruppen gegeben.



Schema 5: Trichloracetimidat zur Glycosylierung, allgemein, SG = Schutzgruppe, nicht-nachbargruppenaktiv

 ${\it O}$ -Glycopyranosyltrichloracetimidate werden durch Reaktion des 1-OH-freien Zuckerbausteins mit Trichloracetonitril unter Basenkatalyse erhalten. Dabei stellt aufgrund der stereoelektronisch bedingt deutlich höheren Nucleophilie des β -konfigurierten Pyranosyl-1-oxids das β -Trichloracetimidat das kinetische Produkt, das α -konfigurierte aufgrund des anomeren Effektes das thermodynamische Produkt

dar. 21 Wird also die Reversibilität der Reaktion unterdrückt, erhält man das β -Trichloracetimidat; bei Reaktionsbedingungen, welche eine Rückreaktion zulassen, das α -Trichloracetimidat (Schema 6).

Schema 6: Bildung der α - und β -Trichloracetimidate

Die *O*-Glycopyranosyltrichloracetimidate zeigen unter Säurekatalyse erhebliches Glycosylierungspotential und können auch Brönstedtsäuren direkt glycosylieren. Unter Verwendung von nicht-nachbargruppenaktiven Schutzgruppen wird das glycosylierte Produkt unter Inversion der anomeren Konfiguration erhalten (Schema 5). Bei der Glycosylierung des Phosphats 5 mit dem α -konfigurierten Trichloracetimidat 4 wurde das β -verknüpfte Produkt β -6 erhalten. Allerdings zeigte sich, dass dieses bereits mit Spuren von Säure zum thermodynamischen α -Produkt α -6 anomerisiert.

Schema 7: Glycosylierung von Dibenzylphosphat $\bf 5$ mit dem Glucopyranosyltrichloracetimidat $\bf 4$; sauer katalysierte Anomerisierung des β -Phosphats $\bf \beta$ - $\bf 6$

Das Problem der säurekatalysierten Anomerisierung trat ebenfalls bei der Synthese der NDP-Zucker **9/10** auf (Schema 8).²² Da das Nucleotid in Form der freien Säure eingesetzt wurde, lagen saure Bedingungen während der Reaktion vor, sodass die Produkte schließlich nur als Anomerengemische isoliert werden konnten.

Schema 8: Synthese von U/GMP- α/β -Fucose **9/10**, SCHMIDT *et al.*

Da die Glycosylierung mit Trichloracetimidaten unter (Lewis-)Säurekatalyse abläuft, ist es aufgrund der sauer-katalysierten Anomerisierung der Produkte nur über die Wahl der Reaktionsdauer möglich, Einfluss auf das Anomerenverhältnis im Phosphatdiesterverbrückten Produkt zu nehmen. Hier lässt sich ein gleichzeitiger negativer Einfluss auf die Ausbeute nicht vermeiden.

Glycosylphosphite

$$OR'$$
 OR'
 OR'
 OR'
 OR'
 OR'
 OR''
 OR''
 OR''
 OR''
 OR''
 OR''
 OR''
 OR''
 OR''
 OR''

Schema 9: Glycosylphosphittriester als Glycosyldonor, allgemein

Eine weitere Klasse von Glycosyldonoren stellen die Glycosylphosphite dar. Hier wird die anomere Bindung durch Zugabe einer (Lewis-)Säure geschwächt, sodass das

Phosphit (in Form des H-Phosphonats, Schema 12) als Abgangsgruppe durch ein Nucleophil verdrängt werden kann.

Kondo *et al.* zeigten mit der Synthese des Disaccharids **14**, dass das acetylierte Dibenzyl(sialyl- β)-phosphit β -**12** gute Glycosyldonoreigenschaften besitzt.²³

Schema 10: Sialylphosphittriester β-12 als Glycosyldonor

T. J. Martin und R. R. Schmidt berichteten ebenfalls von der erfolgreichen Glycosylierung mit dem Glycosylphosphit β -15 unter Katalyse mit der Lewissäure TMSOTf.²⁴ Darüber hinaus konnte die Anwendung von Sialylphosphiten zur Glycosylierung auf die Darstellung des Phosphat-verbrückten Biokonjugats CMP-Neu5Ac ausgeweitet werden.²⁵ Unter thermodynamischer Kontrolle wurde das acetyl-blockierte Kupplungsprodukt als β -Anomer β -17 erhalten (Schema 11).

Schema 11: Diethyl-(4,7,8,9-tetra-O-acetyl-N-acetylneuraminsäure-methylester-2)-phosphit β -15 als Glycosyldonor zur Synthese von acetylierter CMP-Neu5Ac β -17

Die Beispiele zeigen, dass mit dieser Methode, abhängig von der Reaktionsführung, sowohl α - als auch β -konfigurierte Produkte erhalten werden können. Sie

verdeutlichen zudem die Instabilität von anomeren C-O-P-Strukturen, insbesondere mit Phosphor in der Oxidationsstufe +III. Das Phosphit eignet sich durch seinen ausgeprägten Abgangsgruppencharakter als Glycosyldonor (peracetyliertes Sialyldiethylphosphit **15** reagiert bereits ohne katalytische Aktivierung mit Methanol zum korrespondierenden Methylglycosid). Das freigesetzte Phosphonat (Schema 12) zeigt nur eine geringe Basizität wodurch der saure Katalysator mit diesem nicht abreagiert, er kann folglich substöchiometrisch eingesetzt werden. ²⁶

Schema 12: Reaktionsschema zur Glycosylierung mit Sialylphosphit als Glycosyldonor

Glycosylbromide

Zu den Standard-Glycosylierungsmethoden zählt die Koenigs-Knorr-Methode. Bei dieser wird als Glycosyldonor ein Glycopyranosylbromid eingesetzt (Schema 13). Mit Katalyse durch Silberkationen kann dieses mit einem Nucleophil reagieren. Glycosylbromide liegen aufgrund des anomeren Effektes in der α -Konfiguration vor. Unter kinetischer Kontrolle und S_N2 -Bedingungen würden also immer β -Glycoside erhalten. Jedoch kann eine α -Glycosylierung stattfinden, wenn ein Gleichgewicht der Substitution von Bromid durch Bromid vorliegt. Denn das β -Bromid ist, ebenfalls auf stereoelektronischen Ursachen beruhend, das reaktivere Isomer. 17,27

Schema 13: Glycosylierung mit Glycosylbromid als Donor, allgemein

Diese Methode wird meist in Verbindung mit nachbargruppenaktiven Schutzgruppen, wie beispielsweise der Acetylgruppe, angewandt. Das führt dazu, dass 1,2-transverknüpfte Produkte gebildet werden (Schema 14).

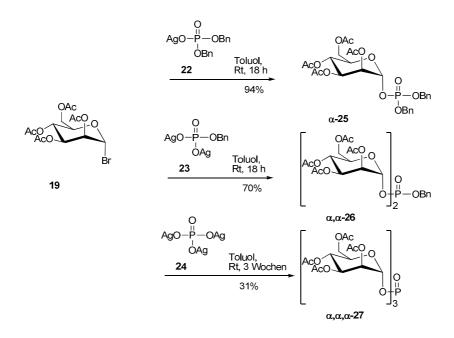
OAC
$$AcO$$

Schema 14: Die Koenigs-Knorr-Methode am Beispiel von 18 und 19 als Glycosyldonor

Lindhorst und Thiem beschrieben die Verwendung dieser Methode zur Synthese von Verbindung 21. Unter Zusatz von Silbercarbonat wurde das β -konfigurierte Produkt in sehr guten Ausbeuten erhalten (Schema 15). Durch den Einsatz eines löslichen Silbersalzes wie Silbertriflat konnte durch Anomerisierung des Produktes das entsprechende α -Anomer als thermodynamisches Produkt dargestellt werden.

Schema 15: Glycosylierung von Dibenzylphosphat **5** mit 2,3-Di-O-benzoyl-4,6-dideoxy-4-iodo- α -L-glucopyranosylbromid **20**

Die Koenigs-Knorr-Methode wurde auch zur Darstellung Phosphat-verbrückter Pyranosen verwendet. Durch die Umsetzung von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -mannopyranosylbromid **19** mit verschiedenen Phosphat-Silbersalzen **22-24** konnten die Phosphate **25-27** erhalten werden (Schema 16).



Schema 16: Darstellung Phosphat-verbrückter Pyranosen durch Glycosylierung mit Glycopyranosylbromiden, HARDRÉ et al.

Zwar sind die Glycosylierungsausbeuten mit 70% für das Produkt α,α -26 gut, jedoch bietet sich die Methode in dieser Form nur zur Synthese symmetrischer Phosphatdiester an. Zudem liegt auch bei dieser Methode eine Einschränkung auf die Darstellung von 1,2-*trans*-verknüpften Produkten vor.

Thioglycoside und Glycosylsulfoxide

Schema 17: Glycosylierung mit Thioglycosid bzw. Glycosylsulfoxid als Glycosyldonor, allgemein

Eine weitere Standardmethode zur Glycosylierung stellt die Verwendung von Thioglycosiden bzw. Glycosylsulfoxiden als Glycosyldonoren dar.

VEENEMAN *et al.* beschrieben die Darstellung von 1,2-*trans*-Glycosylphosphaten ausgehend von Thioglycosiden in kurzen Reaktionszeiten und mit sehr guten Ausbeuten (Schema 18).³⁰

Schema 18: Glycosylierung von Dibenzylphosphat **5** mit dem Thioglycosid β -28 unter Aktivierung mit NIS = N-lodsuccinimid, VEENEMAN *et al.*

CRICH und DUDKIN berichteten von der Synthese eines β -Mannopyranosyl-Phosphoisoprenoids ausgehend von dem entsprechend mit Schutzgruppen versehenen Mannopyranosyl-Sulfoxid mittels Aktivierung durch Trifluormethansulfonsäure-anhydrid. Auch die Synthese von α -verknüpften Glycosylphosphozuckern gelang CRICH und PICARD auf ähnliche Weise mit dem Thioglycosid α -30 als Donor und einem Zuckerphosphat als Glycosylakzeptor (Schema 19).

Schema 19: Darstellung von Glycosylphosphozuckern mit dem Thioglycosid α -30 als Glycosyldonor; CRICH *et al.*, BSP = 1-Benzylsulfinyl-Piperidin, TTBP = 2,4,6-Tri-*tert*butylpyrimidin

Um eine α -Selektivität bei der Kupplungsreaktion zu erreichen, wurde die Reaktion in Dichlormethan durchgeführt, welches eine größere Polarität als das für die Darstellung des β -Mannopyranosyl-Phosphoisoprenoids verwendete Toluol aufweist. Zusätzlich trug der Glycosyldonor in der 3-Position eine *disarming* Ester-Schutzgruppe, welche einen starken Einfluss auf die Stereochemie der zu bildenden glycosidischen Bindung zeigte. Auf diese Weise konnten nach anschließender Deblockierung verschiedene,

 α -konfigurierte Glycosylphosphozucker in kurzen Kupplungszeiten von ca. zwei Stunden erhalten werden. Die Ausbeuten lagen mit ca. 60% in einem guten Bereich. 32

Wie aus den vorangegangenen Beispielen hervorgeht, wurden verschiedenste Glycosylierungsmethoden bereits vereinzelt auf die Synthese von Phosphatverbrückten Zuckerstrukturen angewandt. Jedoch gibt es keine Variante, die eine generelle Anwendbarkeit für die Darstellung vieler verschiedener Derivate aufzeigte. Wie bei den einzelnen Methoden beschrieben, weisen viele eine Einschränkung auf die Darstellung von 1,2-trans-verknüpften Produkten auf. Bei anderen wiederum zeigt sich unter den Kupplungsbedingungen eine Anomerisierung des Produktes zum thermodynamisch favorisierten Isomer. Dies verdeutlicht erneut die Instabilität von anomeren Zuckerphosphaten bzw. -phosphiten und deren Derivaten, welches den Einsatz dieser als Glycosyldonoren bedingt. Somit ist aber zugleich klar, dass solche Strukturen in Gegenwart von Aktivatoren/Promotern, wie sie standardmäßig in Glycosylierungsreaktionen eingesetzt werden, eine geringe Stabilität zeigen. Diese Tatsache macht eine Darstellung von Glycosylphosphozuckern durch "normale" Glycosylierungen, wie sie im vorangegangenen Abschnitt beschrieben wurden, wenig attraktiv.

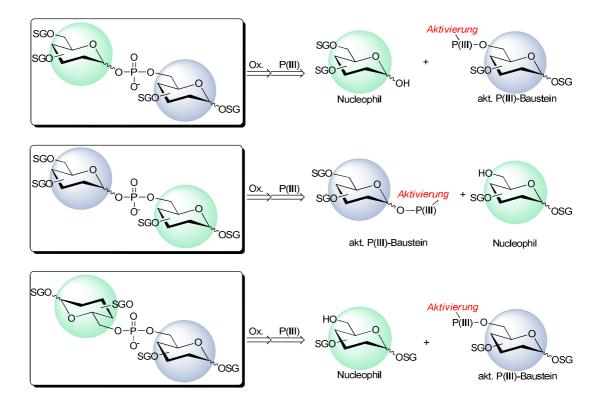
2.2 B: Aktivierung des Phosphor-Bausteins

Eine alternative Synthesestrategie zur Darstellung von Phosphat-verbrückten Saccharidstrukturen stellt die Kupplung eines Zuckers mit einer aktivierten Phosphit-/Phosphat-Verbindung dar. In der Fachliteratur sind eine Reihe verschiedener Konzepte zu einer solchen Aktivierung zu finden. Diese Konzepte lassen sich nach der Verwendung von Phosphiten – Phosphor in der Oxidationsstufe +III – oder von Phosphaten – Phosphor in der Oxidationsstufe +V – einstufen. Sowohl Phosphate als auch Phosphite können – sofern sie eine geeignete Abgangsgruppe tragen – Substitutionsreaktionen mit Nucleophilen eingehen. P(III)-Verbindungen weisen hier eine erheblich höhere Reaktivität auf als die entsprechenden P(V)-Verbindungen. Dies kann für die Kupplungsreaktion von Vorteil, für die Darstellung und Isolierung des aktivierten Bausteins allerdings auch von Nachteil sein.

Anders als bei den Glycosylierungsreaktionen (Kapitel 2.1), bei denen die Aktivierung am anomeren Zentrum liegen muss, ist es hier prinzipiell möglich, Nucleophil und aktivierten Baustein frei zu wählen (Schemata 20 und 34): Die aktivierte Phosphit/Phosphatgruppe kann am anomeren Zentrum angeknüpft sein, es ist aber auch möglich, diese an eine andere OH-Funktion anzubinden. Auf diese Weise ist zusätzlich die Darstellung solcher Derivate möglich, die nicht über die anomere Position verknüpft sind.

2.2.1 aktivierte Phosphor-Bausteine der Oxidationsstufe +III (Phosphite)

Phosphite sind im Allgemeinen gegenüber Oxidation instabile Verbindungen. Ist eine Luftoxidation nicht kinetisch gehemmt, muss unter Schutzgas gearbeitet werden. Darüber hinaus kann Wasser das Phosphit eventuell ohne weitere Aktivierung nucleophil angreifen, weswegen unter Feuchtigkeitsausschluss gearbeitet werden muss. Aktivierte Ester der Phosphonsäure eignen sich für Kupplungen mit verschiedensten *O*-Nucleophilen, durch anschließende Oxidation wird das Phosphat-Kupplungsprodukt erhalten (Schema 20).



Schema 20: Kupplung mit aktivierten P(III)-Bausteinen

Phosphittriester (Phosphor-Choridit)

Schema 21: Phosphittriester-Methode, allgemein

In Phosphor-Chloriditen kann das Chlorid-Ion leicht nucleophil substituiert werden, ähnlich der Reaktion von Carbonsäurehalogeniden mit Nucleophilen. Die Aktivierung des Phosphits liegt in der energiereichen Bindung zu dem Chlorid-Substituenten. Ausgehend von PCl₃ kann jeder Chlorid-Substituent durch ein Nucleophil - beispielsweise einen Alkohol - ersetzt werden. Es bildet sich der Phosphittriester. Dieser kann durch Oxidation in den Phosphattriester überführt werden. Unter Umständen kann einer der Substituenten gezielt abgespalten werden, so wird der Phosphatdiester erhalten (Schema 21).

Im Jahr 1976 veröffentlichten Lunsford und Letsinger eine Methode zur Synthese von Thymidin-Oligonucleotiden über Phosphittriester. OGAWA und SETA benutzten diese Methode im Jahr 1982 zur Synthese von 1-6-Phosphat-verknüpften Saccharidstrukturen. Ausgehend von den tetraacetylierten Zuckern 32/33 wurden die Phosphitdiester α -34/35 dargestellt. Diese wurden anschließend zu den Phosphittriestern α , α -38/39 umgesetzt. Nach anschließender Oxidation und Deblockierung wurden die Produkte α , α -40/41 in Ausbeuten von 16-19% erhalten (Schema 22).

Schema 22: Phosphittriester-Methode zur Darstellung von Phosphatverbrückten Glycopyranosen, OGAWA und SETA

Ein Nachteil dieser Methode liegt darin, dass der Phosphitdiester **34/35** nicht gereinigt werden kann. Er wird direkt weiter umgesetzt. So kann es durch einen Überschuss an Pyranose **32/33** zur Bildung des jeweiligen symmetrischen Phosphatdiesters **42/43** und durch einen Überschuss an Phosphordichloridit zur Bildung des jeweiligen symmetrischen Phosphatdiesters **44/45** kommen. Die Autoren geben an, dass sich – in Übereinstimmung mit dem Anomeren Effekt – lediglich das α -Anomer bildet. Es bleibt allerdings zu bezweifeln, ob sich dieses Phänomen auf die verschiedensten Pyranosen übertragen ließe. Zudem wird keine Möglichkeit zur Darstellung von β -verknüpften Produkten gegeben. Nicht zuletzt lassen die Ausbeuten zu wünschen übrig.

Schema 23: Phosphoramidit-Methode, allgemein

Phosphoramidite, also solche Verbindungen, in denen zweifach veresterte Phosphonsäuren als dritten P-Bindungspartner ein Amin tragen, sind weniger reaktiv als Phosphorchloridite und können daher unter Umständen sogar gereinigt, zumindest isoliert werden. Sie können mit beispielsweise 1*H-*Tetrazol 4,5-Dicyanoimidazol für Kupplungsreaktionen mit O-Nucleophilen aktiviert werden (Schema 23). Bereits in Abschnitt 2.1 (Glycosylphosphite) wurde auf eine Arbeit von KONDO et al. eingegangen. Dort wurde beschrieben, dass Sialylphosphite als Glycosyldonoren in der Synthese von Glycosiden dienen können.²³ In derselben Arbeit wird die Synthese von CMP-Neu5Ac 46 über das Sialyl-Phosphoramidit β -47 beschrieben (Schema 24). Da sich das Phosphoramidit β -47 als reines β -Anomer bildete, wurde auch das β -konfigurierte Kupplungsprodukt β -49 erhalten, es fand keine Anomerisierung während der Reaktion statt. Jedoch ist das Zwischenprodukt der Kupplung seinerseits wie in Abschnitt 2.1 erläutert und bereits durch die Autoren dargelegt als Phosphittriester selbst ein Glycosyldonor. Das in der Synthese eingesetzte Cytidin-Derivat könnte als Glycosylakzeptor fungieren und 1H-Tetrazol als saurer Promoter. Somit kann die labile Zwischenstufe vor der Oxidation Nebenreaktionen eingehen, dies zeigt sich auch in der geringen Ausbeute von 12%.

Schema 24: Synthese des CMP-Neu5Ac-Derivats β -49 mit der Phosphoramidit-Methode, Kondo und Wong

MAKINO *et al.* beschrieben im Jahr 1993 die Darstellung von CMP-Neu5Ac **46** ausgehend von einem Cytidin-5'-phosphoramidit.³⁵ Sie arbeiteten mit einem großen Überschuss an Phosphoramidit und Aktivator, dadurch konnten sehr kurze Reaktionszeiten erreicht werden. Die Ausbeute für die CMP-Neu5Ac **46** betrug unter diesen Bedingungen 25%. Damit zeigt sich erneut die Instabilität des Phosphit-Intermediats unter den sauren Kupplungsbedingungen.

Westerduin et al. wandten diese Methode zur Darstellung eines α -L-Fucopyranosylphosphatdiesters an (Schema 25). Dazu stellten sie zunächst das anomere Phosphoramidit α -51 dar. Mittels Aktivierung durch 1H-Tetrazol wurde dieses mit dem Mannopyranosid β -52 zu dem Phosphit-Derivat 53 umgesetzt. Nach Oxidation und Spaltung der β -Cyanoethylgruppe wurde der Phosphatdiester 54 in einer Ausbeute von 76% ausgehend von dem Phosphoramidit α -51 erhalten.

Schema 25: Synthese des Phosphatdiesters **54** mit der Phosphoramidit-Methode, WESTERDUIN *et al.*

Mit derselben Strategie konnten die Autoren ein α -1-6-Phosphatdiester-verknüpftes 2-Acetamido-2-desoxyglucopyranosylderivat darstellen. ³⁷ Jedoch wird erneut eingeräumt, dass es sinnvoll wäre, die sehr instabile Phosphittriesterverbindung zu umgehen.

H-Phosphonat

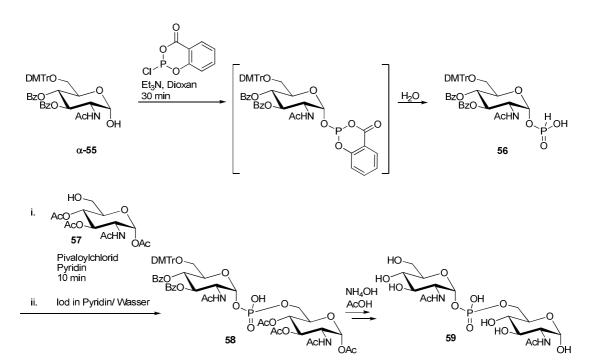
Schema 26: H-Phosphonat-Methode, allgemein

Bei dieser Methode wird als aktiver Baustein ein mono-verestertes Phosphit, das H-Phosphonat, eingesetzt. Dieses wird durch Zugabe eines Säurehalogenids, wie beispielsweise Diphenylchlorphosphat oder Pivaloylchlorid, oder auch eines Säureanhydrids in das gemischte Anhydrid überführt, welches dann von einem Nucleophil angegriffen werden kann. Diese Kupplung liefert den H-Phosphonatdiester.

Durch anschließende Oxidation wird der Phosphatdiester gebildet.³⁸ Ein wesentlicher Unterschied zwischen dieser und der zuvor dargestellten Phosphoramidit- sowie auch der Phosphittriester-Methode ist, dass intermediär ein Phosphitdiester und kein -triester gebildet wird.

FROEHLER und MATTEUCCI berichteten 1986 erstmals von der Synthese eines Dinucleotids mittels der H-Phosphonat-Methode. Sie konnten mit dieser Methode ebenfalls die Oligonucleotide T_{20} und T_{40} mittels einer Festphasen-gestützten Syntheseführung darstellen. Besonders die Darstellung der Oligomere zeigt die hohe Effizienz der Kupplung mit einem H-Phosphonat.

In dem bereits bei der Phosphoramidit-Methode vorgestellten Artikel von Westerdun et al., in dem auch die Synthese des 1-6-Phosphatdiester-verknüpften 2-Acetamido-2-desoxyglucopyranosylderivates **59** beschrieben wird, zeigen die Autoren die Darstellung desselben Moleküls in einer sehr guten Ausbeute von 87% mittels der H-Phosphonat-Methode (Schema 27).³⁷



Schema 27: Darstellung des interglycosidischen Phosphatdiesters **59** mit der H-Phosphonat-Methode, WESTERDUIN *et al.*

Vielfache Verwendung zur Darstellung von Glycosylphosphozuckern fand die H-Phosphonat-Methode von der Gruppe um Nikolaev. Durch Aktivierung einer 0.1 M Lösung von 2,3,4-Tri-O-benzoyl- α -D-mannopyranosyl-H-phosphonat α -60 in Pyridin mit Pivaloylchlorid und anschließende Oxidation konnten Nikolaev et~al. ein Gemisch oligomerer Produkte erhalten (Schema 28).

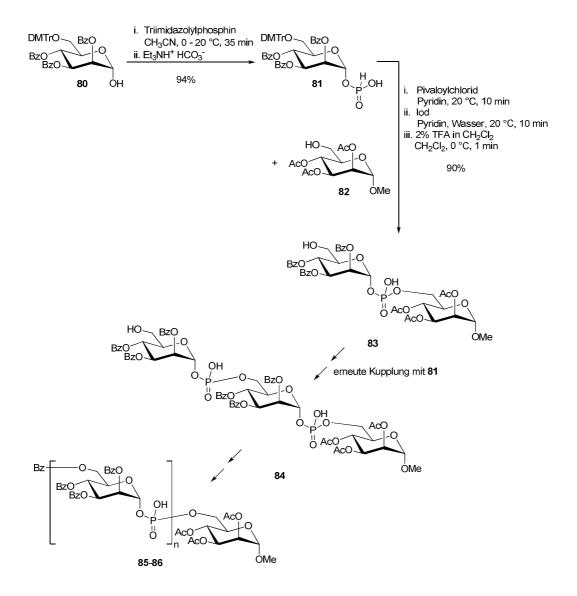
Schema 28: Darstellung oligomerer interglycosidischer Phosphatdiester mit der H-Phosphonat-Methode, NIKOLAEV *et al.*

Auf diese Weise wurden nach Debenzoylierung das cyclische Dimer **68**, das cyclische Trimer **69** und die linearen Oligomere **70**-**74** erhalten. Jedoch konnte auch die Bildung des 6,6'-verknüpften Phosphatdiesters **79** beobachtet werden (Schema 29). Dies wurde zurückgeführt auf den wohlmöglich während der Reaktion stattfindenden Bruch der anomeren Bindung des Phosphonat-Diesters **75** und anschließende Reaktion des Mannose-6-Phosphonatderivates **76** mit einer 6-OH-Gruppe eines weiteren Bausteins **77** (Schema 29). Hier zeigt sich die Labilität des intermediär gebildeten Phosphonat-Diesters.³⁹

Schema 29: Nebenreaktion zum 6,6'-Phosphatdiester 79

NIKOLAEV, IVANOVA, SHIBAEV und KOTCHEKOV berichteten darüber hinaus erstmals über die Anwendung der H-Phosphonat-Methode für die Darstellung von Glycosylphosphozuckern, die über sekundäre Hydroxylgruppen verknüpft sind. 40

Um die H-Phosphonat-Methode gezielt auf die Darstellung oligomerer Strukturen anwenden zu können, bedienten sich Nikolaev *et al.* der orthogonalen Schutzgruppenstrategie (Schema 30).⁴¹ Dazu wurde das H-Phosphonat **81** dargestellt, welches die sauer spaltbare DMTr-Gruppe an der primären OH-Funktion trägt. Dieses wurde mit einem zweiten Glycopyranosid-Derivat **82** in sehr guter Ausbeute zu dem Glycosylphosphozucker **83** umgesetzt, bei dem die DMTr-Gruppe bereits abgespalten ist. Dieser Baustein kann nun durch erneutes Umsetzen mit dem H-Phosphonat **81** zu dem Trimer **84** reagieren.



Schema 30: Darstellung oligomerer Glycosylphosphozucker **83-86** mit der H-Phosphonat-Methode, NIKOLAEV *et al.*

Auf diese Weise wurden die jeweils um einen Zuckerphosphatbaustein verlängerten Strukturen **83-86** mit n = 1,2,3,4 erhalten.

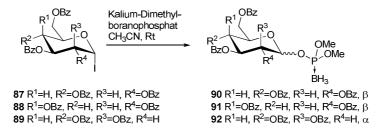
Auch solche Strukturen, in denen Disaccharide über Phosphatdiester verknüpft sind, wurden bereits nach der H-Phosphonat-Methode von verschiedenen Gruppen in sehr guten Ausbeuten dargestellt.^{42,47-49}

GREIMEL *et al.* zeigten im Jahr 2008 die Anwendbarkeit der H-Phosphonat-Methode für die Darstellung von Phosphatidyl- β -D-glucose und Analogen. Sie erhielten das D-Glucopyranosyl- β -H-Phosphonat ausgehend von dem entsprechenden α -Trichloracetimidat. In Kapitel 2.1 (Trichloracetimidate) wurde die Glycosylierung eines Phosphatesters mit einem Trichloracetimidat vorgestellt. Dort trat das Problem

der Anomerisierung des Produktes unter den sauren Glycosylierungsbedingungen auf. Eine ähnliche Problematik könnte man sich auch an dieser Stelle vorstellen. Die Autoren beschrieben jedoch, dass eine vergleichbare Reaktion in diesem Fall nicht auftrat. Sie führten dies auf die größere Stabilität der anomeren Bindung zum Phosphonat-Phosphoratom verglichen mit der anomeren Bindung zum Phosphonatester zurück. Aus diesem Beispiel wird ersichtlich, dass es auch möglich ist, die H-Phosphonat-Methode zur Darstellung von β -verknüpften Glycosylphosphatdiestern zu nutzen.

Sowohl Berkin *et al.* als auch Slättegard *et al.* konnten das Problem der Labilität der anomeren Phoshatdiesterbindung während der Synthese durch eine Azido-Gruppe in 2-Position teilweise umgehen. Diese stabilisiert die anomere Bindung durch ihre Eigenschaften als nicht-nachbargruppenaktive, elektronenziehende Funktion. Dieses Prinzip ist aber nur auf solche Derivate übertragbar, welche 2-*N*-2-desoxy-Pyranosederivate enthalten.

WADA *et al.* entwickelten eine Variante der H-Phosphonat-Methode, welche ebenfalls die Problematik der labilen H-Phosphonatdiester verringert, allerdings eine breitere Anwendbarkeit als die von Berkin und Slättegard eingesetzte 2-Azido-Gruppe verspricht. Dazu werden Glycosylborano-Phosphate verwendet.^{53,54} Diese stellen P-modifizierte Glycosylphosphate dar, in denen das doppelt gebundene Sauerstoffatom durch eine BH₃-Gruppe ersetzt ist. Glycosylborano-Phosphate besitzen eine deutlich höhere Stabilität als die H-Phosphonatdiester, können aber quantitativ in letztere überführt werden.⁵⁵ Daher werden sie als "geschützte" H-Phosphonate beschrieben.⁵⁶ Die Glycosylborano-Phosphate wurden ausgehend von den Glycosyliodiden erhalten. Aufgrund der Nachbargruppenbeteiligung der Acylschutzgruppe in der 2-Position wurden die 1,2-*trans*-Produkte erhalten (Schema 31).⁵⁶

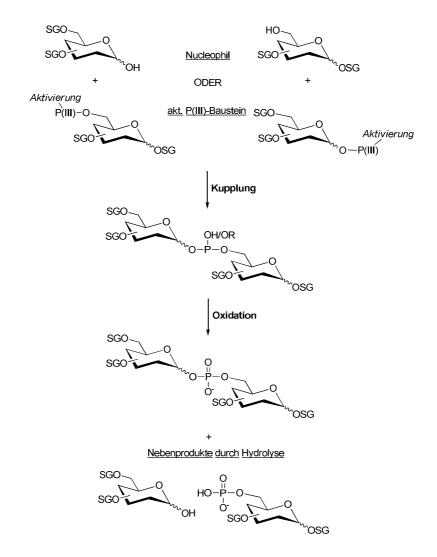


Schema 31: Darstellung der Glycosylborano-Phosphate

Nach Spaltung einer Methylgruppe konnte die Kupplung des Boranophosphats **93** mit dem Glycopyranosid **94** stattfinden. Anschießend wurde die zweite Methylgruppe entfernt. Der Boranophosphatdiester **96** wurde dann in das H-Phosphonat **97** überführt, welches direkt zu dem Phosphatdiester **98** oxidiert wurde (Schema 32). Die sauren Bedingungen, die zur Überführung des Boranophosphats in das H-Phosphonat nötig waren, führten zu einer partiellen Hydrolyse und Anomerisierung des letzteren. Diese Problematik konnte durch den Zusatz der Lewisbase Dioxan eingedämmt werden. Insgesamt liefert diese Methode sehr gute Ausbeuten, auch sie ist aber auf die Darstellung **1,2**-*trans*-konfigurierter Produkte beschränkt.

Schema 32: Darstellung von Glycosylphosphozuckern über Boranophosphate, SATO *et al.*

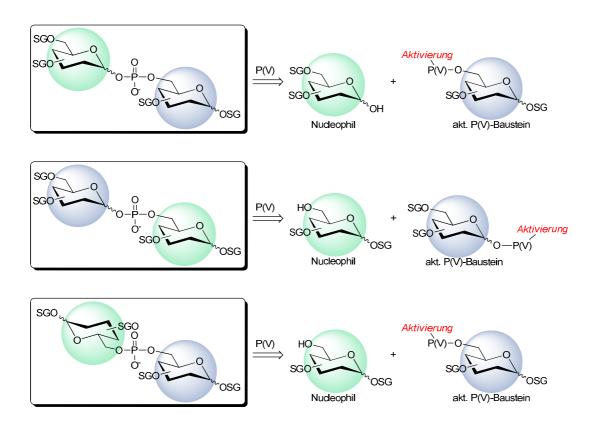
All diesen Methoden ist gemein, dass die Synthese über instabile P(III)-Di- oder Triester verlaufen, welche oxidiert werden müssen. An dieser Stelle kann es oft zu Nebenreaktionen kommen, vor allem zur Hydrolyse der glycosidischen Bindung (Schema 33; zur Aktivierung des anomeren Phosphits s. Kapitel 2.1 - Glycosylphosphite).



Schema 33: P(III)-Route mit möglicher Hydrolyse während der Oxidation

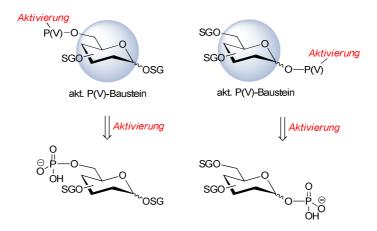
2.2.2 aktivierte Phosphor-Bausteine der Oxidationsstufe +V (Phosphate)

Ein großer Vorteil einer P(V)-Route gegenüber den P(III)-Methoden ist, dass das bereits gekuppelte Produkt nicht mehr oxidiert werden muss und so Nebenreaktionen umgangen werden können. Ein Nachteil ist, dass P(V)-Verbindungen im Allgemeinen eine viel geringere Reaktivität als P(III)-Verbindungen aufweisen. Aus diesem Grund gibt es deutlich weniger Beispiele in der Fachliteratur, in denen die Bildung von Phosphatdiester-verbrückten Molekülen mit P(V)-Reagenzien beschrieben wird.



Schema 34: Kupplung mit aktivierten P(V)-Bausteinen

Allgemein betrachtet gibt es zum einen die Möglichkeit, dass das Phosphat bereits eine Abgangsgruppe trägt, die eine nucleophile Substitution ihrer selbst erlaubt. Zum anderen kann aber auch – ähnlich wie bei der H-Phosphonat-Methode – ein Phosphatmonoester eingesetzt und durch Zugabe von Reagenzien aktiviert werden, welche mit dem Phosphat reagieren und so gute Abgangsgruppen bilden (Schema 35).



Schema 35: Aktivierung von Phosphaten

Kondensation eines Phosphatesters mit einem Alkohol

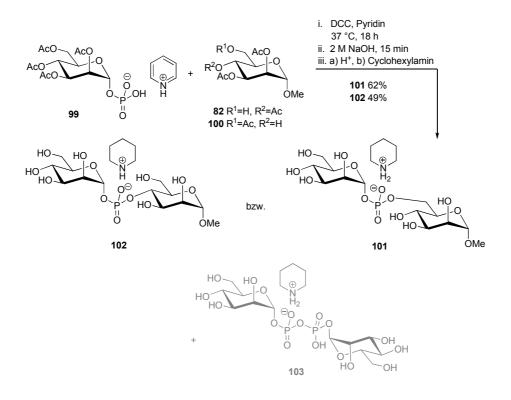
Liegt das Phosphat bereits monoverestert vor, so kann dieses unter Zusatz von Aktivierungsreagenzien mit einem Alkohol ein zweites Mal verestert werden, um den Phosphatdiester zu ergeben (Schema 36).

Schema 36: Kondensation eines monoveresterten Phosphats mit einem Alkohol, allgemein

Als Kondensationsreagenzien bieten sich solche Verbindungen an, die mit einem Phosphat-Sauerstoffatom reagieren und als Folge gute Abgangsgruppen bilden, also nucleophil ersetzt werden können. Bereits in Abschnitt 2.1 (Trichloracetimidate) wurde Trichloracetonitril als solches Reagenz vorgestellt: Es reagiert mit Oxyanionen unter Bildung von Trichloracetimidaten, welche dann nucleophil verdrängt werden können. Dies gelingt nicht nur am anomeren Zentrum von Glycosiden, CRAMER und WEIMANN beschrieben die Kondensation eines Phosphatmonoesters mit einem Alkohol unter Aktivierung des Phosphats durch Trichloracetonitril.⁵⁷

Darüber hinaus berichteten Cawley und Letters von der DCC-vermittelten Synthese von sowohl dem 1-6- wie auch dem 1-4-verknüpften Mannopyranosyl-Phosphatdiester

101 bzw. **102** in guten Ausbeuten. Dabei wurde als Nebenreaktion die Bildung des symmetrischen, Diphosphat-verbrückten Derivats **103** beobachtet (Schema 37). ⁵⁸



Schema 37: DCC-vermittelte Kupplung des Zuckerphosphats **99** mit **82** bzw. **100**, CAWLEY und LETTERS

Ähnliche Bedingungen wählten Warren *et al.*, als Aktivierungsreagenz diente hier Benzylsulfonylchlorid. Die so erzielten Ausbeuten lagen bei 41%, von der Bildung der symmetrischen Pyrophosphatspezies wird hier nicht berichtet.⁵⁹

FRANZOWIAK *et al.* stellten die 6-6-, 6-2- und 6-3-Phosphatdiester-verbrückten Glucosederivate durch Kondensation der entsprechenden Glucopyranosylphosphate mit einem an Position 1-4 mit Schutzgruppen versehenen Glucosederivat dar. Als Kondensationsreagenz diente hier Mesitylensulfonsäure-[1H]-3-nitrotriazol (MSNT).¹⁵ Die Autoren berichteten von einer *O*-Sulfonierung durch MSNT als eine in geringem Maße ablaufende Nebenreaktion. Die eventuelle Bildung einer Diphosphatspezies, welche durch Reaktion eines aktivierten Phosphats mit nicht-aktiviertem Phosphat gebildet würde, wurde nicht erwähnt.

Als problematisch erweist sich bei diesen Methoden, dass bei einer nicht vollständigen Aktivierung des Phosphats dieses selbst als Nucleophil agieren kann. Dadurch kommt es zur Bildung der Diphosphat-verbrückten Nebenprodukte. Zudem

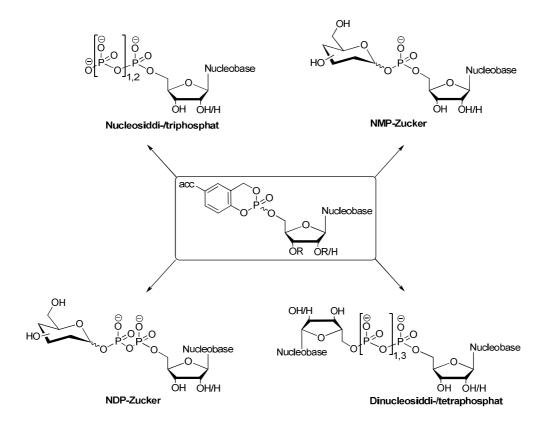
sind die Aktivatoren häufig sehr reaktive Verbindungen, sodass es durch diese zur Bildung von Nebenprodukten kommen kann, wie beispielsweise zur *O*-Sulfonierung im Falle von MSNT.

cycloSal-Phosphat

Das von MEIER *et al.* entwickelte *cyclo*Sal-Konzept dient der lipophilen Maskierung biologisch aktiver Nucleotidanaloga, es handelt sich hierbei um ein Prodrug-Konzept. Den Spaltungsmechanismus (Schema 38) kann man sich für die Synthese zu Nutzen machen: Trägt das Salicylalkoholderivat in *para*-Position zum Phenol einen desaktivierenden Substituenten, so wird die Elektrophilie des Phosphoratoms erhöht. Dadurch wird der Angriff eines Nucleophils begünstigt. Ein solcher Angriff führt zur Spaltung der phenolischen Phosphatesterbindung, wodurch der zuvor schwache Donorsubstituent in einen starken Donorsubstituenten überführt wird. Dies wiederum hat den Bruch der benzylischen Phosphatesterbindung zur Folge. Es bilden sich der Phosphatdiester und ein Chinonmethid, welches nach Reaktion mit Wasser den Salicylalkohol ergibt. 60,62,63

Schema 38: *cyclo*Sal-Nucleotide zur Darstellung von Phosphatdiestern, Nu = Nucleophil

Diese Methode wurde bereits erfolgreich zur Synthese von Dinucleosidoligophosphaten, Nucleosiddi- und –triphosphaten sowie NDP- und NMP- Zuckern sowohl in Lösung als auch an einer festen Phase angewendet (Schema 39). 62-72



Schema 39: phosphorylierte Biokonjugate, dargestellt mit *cyclo*Sal-Triestern als Synthesebausteine

Die Synthese von NMP-Zuckern gelang durch den nucleophilen Angriff eines Glycopyranosyl-1-oxids auf 5-Nitro-*cyclo*Sal-TMP **107** (Schema 40).⁶⁹ Die anomere Konfiguration der Produkte ergibt sich aus der unterschiedlichen nucleophilen Reaktivität der verschiedenen Glycopyranosyl-1-oxide.

Schema 40: Darstellung der NMP-Glycopyranosen **108**, **109** und **110** mittels der *cyclo*Sal-Methode, MEIER *et al*.

Dieselbe Strategie konnte auf die Darstellung von CMP-Neu5Ac **46** und Derivaten dieser Verbindung übertragen werden.⁶⁵

Diese Methode zeichnet sich durch ihre hohe Kupplungseffizienz sowie ihre geringe Tendenz zu Nebenreaktionen aus. Die aktivierte Phosphatspezies kann vor ihrer weiteren Umsetzung isoliert werden. Sofern auf den völligen Ausschluss von Feuchtigkeit geachtet wird, ist nur ein Nucleophil (evtl. als Diastereomerengemisch) im Reaktionsgemisch enthalten, so dass es zu der Bildung nur eines Produktes (eventuell als Diastereomerengemisch) kommen kann. Wie auch bei der zuvor beschriebenen Variante der Kondensation eines Phosphatesters mit einem Alkohol unter Zuhilfenahme von Kondensationsreagenzien muss bei der *cyclo*Sal-Methode nach der Kupplung nicht mehr oxidiert werden, sodass im Vergleich zu den P(III)-Methoden ein für Nebenreaktionen "anfälliger" Syntheseschritt umgangen wird. Dennoch ist das P(V)-Reagenz – der *cyclo*Sal-Triester – ausreichend reaktiv, dass die Kupplung unter relativ milden Reaktionsbedingungen und in kurzen Reaktionszeiten vorgenommen werden kann. Da diese Methode die Grundlage für die vorliegende Arbeit bildet, wird sowohl im nächsten Kapitel als auch besonders in Kapitel 4 näher auf sie eingegangen.

II - Triphosphate

Wie bereits eingangs erwähnt stellen Nucleosid-5'-triphosphate die natürlichen Substrate für die RNA-/DNA-Synthese dar. Darüber hinaus übernimmt Adenosintriphosphat die Aufgabe des wichtigsten Überträgers freier Enthalpie in lebenden Organismen. Die Besonderheit der Nucleosidtriphosphate besteht in dem zweifachen Vorliegen einer Phosphorsäureanhydrid-Bindung. Dies macht sie zu energiereichen, gegenüber Hydrolyse relativ labilen Verbindungen. Für den Aufbau der (Desoxy-)Ribonucleinsäure stellt das endständige Diphosphat dem Nucleosidtriphosphat eine gute Abgangsgruppe dar, welche von der 3'-OH-Gruppe des wachsenden RNA-/DNA-Stranges verdrängt werden kann. Die anschließende Hydrolyse der Anhydridbindung in dem freigesetzten Diphosphat begünstigt die Thermodynamik der Reaktion enorm (Schema 41).

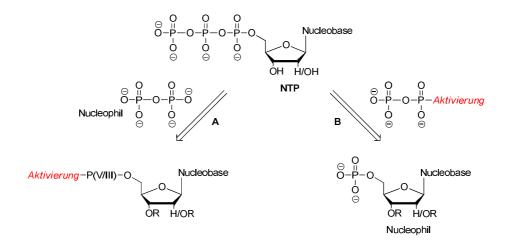
Schema 41: RNA-/DNA-Synthese

Werden Nucleosidanaloga als Wirkstoffe zur Therapie von beispielsweise viralen Erkrankungen eingesetzt, so bilden stets die Triphosphate die eigentlich wirksame Substanz. Um genauere biochemische Untersuchungen über die Wirkungsweise solcher Substanzen zu ermöglichen, ist ein synthetischer Zugang zu dieser Verbindungsklasse von enormer Bedeutung.⁷³ Darüber hinaus werden die

Triphosphate als Substrate in der Polymerasekettenreaktion und zur DNA-Sequenzierung eingesetzt. Besonders für modifizierte Nucleoside stehen selten enzymatische Methoden zur Triphosphatsynthese zur Verfügung, daher werden im Folgenden chemische Methoden zur Synthese von Nucleosid(analoga)-5'-triphosphaten vorgestellt.

2.3 chemische Synthese von Nucleosid-5'-triphosphaten

Wie bereits im ersten Teil eingehend erläutert, wird auch hier ein aktivierter Baustein benötigt, welcher von einem Nucleophil angegriffen werden kann. Hierbei kann es sich entweder (A) um ein aktiviertes Nucleotid handeln, welches mit der jeweiligen Phosphateinheit zur Reaktion gebracht wird, oder (B) um eine aktivierte Phosphateinheit, welche mit dem Nucleotid umgesetzt wird (Schema 42).



Schema 42: mögliche Wege zur Darstellung von Nucleosid-5'-triphosphaten

Hier sollen nur einige der Methoden Erwähnung finden, die sich eines aktivierten Nucleotids bedienen (A). Für eine Aktivierung bieten sich im Wesentlichen auch die in den Kapiteln 2.2.1 und 2.2.2 vorgestellten Konzepte an. Einen umfassenderen Überblick über chemische Methoden zur Synthese von Nucleosid-5'-triphosphaten bietet der von Weinschenk und Meier verfasste Review-Artikel.⁷⁴

Schema 43: Synthese eines Triphosphats aus einem Dichlorphosphat

Bei dieser Methode wird zuerst das Dichlorphosphat dargestellt, welches anschließend mit einem Diphosphatsalz umgesetzt wird. Dabei werden zunächst beide Chlorid-Ionen substituiert – ein cyclisches Triphosphat-Intermediat bildet sich – und anschließend erfolgt die Hydrolyse des Intermediates zum Triphosphat (Schema 43).⁷³

Diese sehr populäre Methode wurde von Ludwig aufbauend auf der Nucleosid-5′-monophosphatsynthese nach Yoshikawa entwickelt. Auf diesem Weg wurde beispielsweise ATP in einer Ausbeute von 85% erhalten. Darüber hinaus wurden die Desoxynucleotide 2′-dATP und 3′-dATP und an der Nucleobase modifizierte Verbindungen in sehr guten Ausbeuten erhalten. Diese Methode erlaubt den Einsatz von Nucleosiden, die keine Schutzgruppen tragen und ist einfach durchzuführen, jedoch liefert sie nicht in jedem Fall das gewünschte Triphosphat in guten Ausbeuten. Darüber hinaus muss mit einem großen Überschuss an Pyrophosphat gearbeitet werden. Die Abtrennung dieses vom Produkt gestaltet sich häufig sehr aufwendig und mindert in vielen Fällen die Ausbeute.

Phosphit

Schema 44: Synthese eines Triphosphats aus einem Phosphit

Eine weitere von Ludwig und Eckstein entwickelte Methode verläuft über ein dem zuvor gezeigten cyclischen Triphosphat ähnliches Intermediat I. Hier wird von einem Phosphit ausgegangen, in dem zwei Gruppen leicht verdrängt werden können. Der

cyclische Phosphonsäureester der Salicylsäure bildet mit einem Diphosphatsalz das Intermediat I, in dem eines der drei Phosphoratome noch in der Oxidationsstufe +III vorliegt. Nach Oxidation und Hydrolyse kann so das Triphosphat erhalten werden (Schema 44).⁷⁹

Auf diese Weise war es möglich, eine Vielzahl natürlicher und modifizierter Nucleosid-5'-triphosphate in Ausbeuten um 65% darzustellen. Allerdings ist es bei dieser Variante nötig, die im Molekül vorhandenen nucleophilen Gruppen, die nicht reagieren sollen, mit Schutzgruppen zu versehen.⁷⁹ Das aktivierte Nucleosid-5'-phosphit wird zudem nicht isoliert, alle beschriebenen Schritte werden in einer *one-pot*-Prozedur durchgeführt. Dies führt vermehrt zu der Bildung von Nebenprodukten, welche abschließend abgetrennt werden müssen.

Phosphoramidat

Schema 45: Darstellung eines Triphosphats aus einem Phosphoramidat

Wie bereits in Kapitel 2.2.1 erwähnt, sind Phosphoramidite aktivierte Phosphite. Auch die entsprechenden Phosphor(V)-Verbindungen – die Phosphoramidate – sind gegenüber einer sauer katalysierten nucleophilen Substitution aktiviert.

CHAMBERS und KHORANA berichteten 1957 von der Synthese von Nucleosid-5'-di- und -triphosphaten durch Kondensation des entsprechenden Monophosphats mit Phosphorsäure in Anwesenheit von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) als aktivierendes Reagenz. Da diese Methode sich aber aufgrund der Bildung einer Vielzahl an Kondensationsprodukten, unter anderem der intramolekulare Bildung des cyclischen Phosphats, als wenig zufriedenstellend erwies, gingen sie dazu über, einen Reaktionspartner als Phosphoramidat einzusetzen und so die Kondensation "zu steuern". Basierend auf diesen Untersuchungen entwickelte MOFFATT die Morpholidat-Methode, bei der das Nucleotid zunächst mit DCC und Morpholin zu dem

entsprechenden Phosphoramidat umgesetzt wird.⁸² Dieses kann dann mit einem Pyrophosphatsalz zu dem Triphosphat umgesetzt werden (Schema 45).

Mit dieser Methode wurden die Triphosphate dATP, dCTP, dGTP, TTP, CTP und 6-Aza-UTP in Ausbeuten von 73-80% dargestellt. Ein Vorteil neben den hohen Ausbeuten ist, dass bei dieser Methode das Morpholidat als Salz isoliert werden kann und nicht wie bei den zuvor vorgestellten Methoden in einer *one-pot-*Reaktion direkt weiter umgesetzt wird. Dies mindert das Auftreten von Nebenreaktionen. Jedoch muss hier zunächst das Nucleosid-5'-monophosphat hergestellt werden, dieses kann dann zum Morpholidat umgesetzt werden. Es fällt also ein zusätzlicher Synthese- und Reinigungsschritt an. Zudem sind die relativ langen Reaktionszeiten ein erheblicher Nachteil. Auch bei dieser Methode muss mit einem erheblichen Überschuss an Pyrophosphatsalz gearbeitet werden, dadurch wird die Reinigung erschwert.

cycloSal-Phosphat

Schema 46: Darstellung eines Triphosphats aus einem cycloSal-Phosphat

Wie bereits in Kapitel 2.2.2 vorgestellt, können mittels der cycloSal-Methode eine Vielzahl phosphorylierter Biokonjugate dargestellt werden, darunter auch Nucleosid-5'-triphosphate. 63,69 Hier liegt die Aktivierung der Phosphatgruppe in der cyclischen Veresterung mit einem para-desaktivierend substituierten Saligenol. S. WARNECKE konnte in ihrer Dissertation zeigen, dass mit dieser Methode Nucleosid-5'-triphosphate in sehr guten Ausbeuten erhalten werden können.⁶⁹ Ausgehend von den 5-NO₂cycloSal-nucleosid-5'-monophosphaten, in OH-Gruppen denen die mit Acetylschutzgruppen versehen waren, konnten durch Umsetzung mit einem Überschuss an Tris-(tetra-n-butylammonium)-pyrophosphat in kurzer Kupplungszeit und anschließende Deacetylierung die entsprechenden Triphosphate erhalten werden. Die isolierten Ausbeuten verschiedener natürlicher sowie modifizierter NTPs betrugen aber nur 40-83%, was im Wesentlichen auf Schwierigkeiten bei der Isolierung der

Produkte zurückzuführen war, denn auch hier wurde mit einem Überschuss an Pyrophosphat gearbeitet. Für die Umkehrphasenchromatographie war es unerlässlich einen Austausch der lipophilen Tetra-*n*-butylammoniumionen gegen Ammoniumionen durchzuführen. Auch dies führte aufgrund der Labilität der Pyrophosphatbindungen zu Ausbeuteverlusten. Um die Reinigung zu vereinfachen wurde dieses Synthesekonzept von V. Tonn auf eine Festphasen-gestützte Version übertragen. 68,72

Durch die Darstellung der verschiedensten Nucleosid-5'-triphosphate und Analoga dieser wurde gezeigt, dass die *cyclo*Sal-Methode eine sehr verlässliche Möglichkeit zur Synthese dieser Verbindungen darstellt. Sehr gute Umsätze, relativ kurze Reaktionszeiten und die Möglichkeit der Isolierung des aktivierten Phosphates sowie keine Beschränkung in Hinblick auf die eingesetzten Nucleosidanaloga zeigen die Vorteile dieser Methode.

2.4 Pyranonucleoside

Analoga der natürlichen Nucleoside können ein vielfältiges medizinisches Potenzial als Wirkstoffe gegen virale und bakterielle Infektionen sowie gegen Krebs aufweisen. Modifikationen können sowohl an der Nucleobase als auch im Glycon vorliegen. Anti-HIV-Wirkstoffe zeichnen sich beispielsweise durch eine fehlende 3'-OH-Gruppe aus (Abbildung 8 zeigt als Beispiel AZT). Ihre Triphosphate werden von der Reversen Transcriptase – der HIV-eigenen Polymerase, die die virale RNA in DNA umschreibt, welche anschließend in die Wirts-DNA incorporiert wird – als Substrate erkannt und in den wachsenden DNA-Strang eingebaut. Der Einbau des nächsten Nucleotids ist nun aufgrund der fehlenden 3'-OH-Funktion nicht mehr möglich und es kommt so zum Strangabbruch. Auch carbocyclische^{84,85} sowie acyclische⁸⁶ Nucleosidanaloga (wie beispielsweise *carba*-dT und Aciclovir, Abbildung 8) oder solche mit einem viergliedrigen Ring (Bsp. Oxetanocin)⁸⁷ besitzen antivirale Eigenschaften.

Abbildung 8: Nucleosidanaloga

Eine weitere Möglichkeit zur Modifikation des Glycons von Nucleosiden ist die Ringerweiterung, es ergeben sich Homo-/Pyranonucleoside.

Abbildung 9: (β -D-Glucopyranosyl)-thymin **111** als Beispiel für ein Pyranonucleosid

Diese können über weitere Modifikationen an der Nucleobase verfügen. So zeigt beispielsweise die Verbindung **112**, welche an der Nucleobase zusätzliche Benzylgruppen trägt, Aktivität gegen das Hepatitis B Virus mit einem IC₅₀-Wert von $0.2~\mu M$ bei einem Selektivitätsindex (SI) von >500 (zum Vergleich die Werte für das klassischerweise in der Therapie bei chronischer HBV-Infektion eingesetzte Nucleosidanalogon Lamivudin: IC₅₀ $0.1~\mu M$, SI >1000).

Abbildung 10: Pyranonucleosid 112

C5-substituierte Pyrimidinnucleoside zeigen häufig interessante biologische Eigenschaften. Derivat **113** stellt ein C5-Alkinyl-Uracil-Glucopyranonucleosid dar. Diese Verbindung zeigt cytostatische Aktivität.⁸⁹

Abbildung 11: Pyranonucleosid 113

Über die antiviralen- und anti-Tumor-Aktivitäten hinaus zeigen einige Pyranonucleoside inhibitorische Aktivität gegen die Glycogen-Phosphorylase. Dieses Enzym katalysiert den Abbau von Glycogen – die tierische Glucose-Speicherform – zu Glucose-1-Phosphat. Eine Inhibierung dieses Enzyms nimmt Einfluss auf den Blut-Glucosespiegel, wie es beispielsweise bei Diabetes Typ 2 nötig sein kann.

Viele Pyranonucleosidanaloga zeigen jedoch keine oder nur schwache antivirale Aktivitäten. Dies scheint ein Ergebnis der mangelnden intrazellulären Phosphorylierung dieser Verbindungen zu sein. Während manche von virus-eigenen Kinasen umgesetzt werden und so intrazellulär das aktive Triphosphat gebildet werden kann, gelingt dies bei anderen nicht. Umso erstaunlicher ist es, dass bis jetzt kein Bericht über die Anwendung eines Prodrug-Konzeptes auf diese Nucleosidanaloga in der Literatur zu finden ist. Der direkte Einsatz phosphorylierter Derivate der Pyranonucleoside ist – wie auch bei den Furanonucleosiden – nicht geeignet, da Nucleotide aufgrund ihrer negativen Ladung die Zellmembran nicht passieren können. Um dieses "Hindernis" zu überwinden, existieren sogenannte Prodrug-Konzepte. Bei diesen wird die Ladung "maskiert", soll heißen mit einer lipophilen Gruppe ersetzt, welche in der Zelle abgespalten werden kann. So kann das Pronucleotid in die Zelle gelangen und in dieser kann dann das Nucleotid freigesetzt werden.

Nicht nur für die Studie der antiviralen Aktivitäten sind phosphorylierte Nucleosidanaloga von Bedeutung. Bei der Betrachtung von natürlichen Nucleosiden und der Pyrano-Analoga stellt sich eine wichtige Frage: Aus welchem Grund sind Nucleinsäuren aus Furanonucleosiden und nicht aus Pyranonucleosiden aufgebaut?⁹² Denn der am häufigsten in der Natur zu findende Zucker, die D-Glucose, ist eine Pyranose. Dazu wurden bereits viele Studien durchgeführt; Aufschluss gaben besonders diejenigen, bei denen die oligomere Struktur von Pyranonucleinsäuren

untersucht wurde. Dabei ergab sich, dass Glucopyranosenucleinsäure-Analoga nicht in der Lage sind Basenpaarungen mit natürlichen Nucleinsäuren einzugehen. Ebenso wenig konnte die Bildung eines Duplex zwischen zwei komplementären Strängen beobachtet werden. Vielmehr scheint β -homo-DNA (Abbildung 12) sehr effizient eine Hybridisierung mit sich selbst einzugehen, wobei die Purin-Purin-Basenpaarung gegenüber der natürlichen Watson-Crick-Basenpaarung bevorzugt wird.

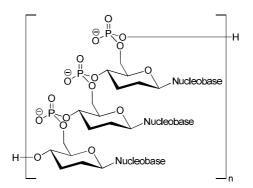


Abbildung 12: β-homo-DNA

Aufgrund dieser Abweichungen ist es von Interesse zu untersuchen, ob die in der Natur für den Aufbau der Nucleinsäuren verantwortlichen Enzyme – die Polymerasen – auch Pyrano-Analoga umsetzen. Dazu führten Herdewijn *et al.* Verlängerungsexperimente mit verschiedenen Pyranonucleotid-Analoga und der Vent-(exo⁻)-DNA-Polymerase an einem bereits bestehenden DNA-Duplex durch. Erstaunlicherweise ergab sich, dass alle getesteten Analoga in das DNA-Duplex gegenüber ihrer kanonischen Base – auch mehrfach hintereinander – eingebaut wurden. ⁹⁴

Die Synthese phosphorylierter Pyranonucleoside wurde bereits von Herdewijn *et al.* beschrieben, die die Triphosphate für Polymerase-Studien einsetzten. Im vorangegangenen Kapitel wurden verschiedene Methoden zur Synthese von Nucleosid-5'-triphosphaten vorgestellt. Herdewijn *et al.* bedienten sich der Methode nach Ludwig (Kapitel 2.3 Dichlorphosphat). Auf diese Weise wurden verschiedene (Dideoxy-β-D-glucopyranosid)-thymin-6'-triphosphate in Ausbeuten von nur 10% erhalten. Ein Grund für diese niedrige Ausbeute wurde nicht angegeben. Es kann angenommen werden, dass vor allem die Separation der Triphosphate von dem in erheblichem Überschuss eingesetzten Pyrophosphatsalz einen stark limitierenden Faktor darstellte.

3 Aufgabenstellung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine Übertragung des cycloSal-Konzeptes auf die Synthese von Phosphatdiester-verbrückten Glycopyranose-Derivaten – insbesondere Glycosylphosphozuckern – sowie Pyranonucleosid-6'-triphosphaten zu erarbeiten. Dem cycloSal-Konzept liegt eine Methode zur Aktivierung von Phosphaten zugrunde, die die Knüpfung von Phosphat- bzw. Diphosphatdiestern, wie sie beispielsweise in NMP- bzw. NDP-Zuckern vorkommen, sowie die Darstellung von Nucleosiddi- und -triphosphaten ermöglicht. Mit diesem Synthesekonzept konnten bereits die in Säugetieren natürlich vorkommenden Zuckernucleotide (UDP- α -D-Glc, UDP- α -D-GlcNAc, UDP- α -D-Gal, UDP- α -D-GalNAc, GDP- α -D-Man, GDP- β -L-Fuc, UDP- α -D-GlcUA und CMP-β-D-Neu5Ac) sowie auch Derivate dieser, die Modifikationen sowohl im Glycon als auch im nucleosidischen Teil tragen, dargestellt werden. 62,64-68 Darüber hinaus konnten mit dieser Methode natürliche und unnatürliche Nucleotide (NMPs, NDPs und NTPs)^{63,68} sowie Dinucleosidoligophosphate (NppN, NppppN)⁶³ synthetisiert werden. Allen diesen bisher synthetisierten Verbindungen ist gemein, dass sie jeweils ausgehend von einem akzeptorsubstituierten cycloSal-Nucleotid erhalten wurden. Die Darstellung dieser Verbindungen ist bereits etabliert und gelingt mit sehr guten chemischen Ausbeuten. Um die cycloSal-Methode auf die Darstellung phosphorylierter Glycopyranosyl-Konjugate übertragen zu können, sollte zunächst eine möglichst allgemein anwendbare Syntheseroute zu akzeptorsubstituierten cycloSal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten konzipiert und ausgearbeitet werden. Dies sollte in Anlehnung an die bereits etablierte Synthese der cycloSal-Nucleotide geschehen. Dabei kam es vor allem darauf an, zu verhindern, dass sich durch eine Wanderung der Acetyl-Schutzgruppe von der 4- auf die 6-Position, welche besonders in 4,6-ciskonfigurierten Glycopyranosen auftritt, das cycloSal-(Glycopyranosyl-4)-phosphat als Regioisomer bildet (Schema 47). Dieses Problem lag bei der Synthese von cycloSal-Nucleotiden durch den größeren räumlichen Abstand zwischen der 5'- und 3'-Position nicht vor.

Schema 47: selektive Bildung des zielführenden *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphats durch Unterdrückung der Wanderung der Schutzgruppe

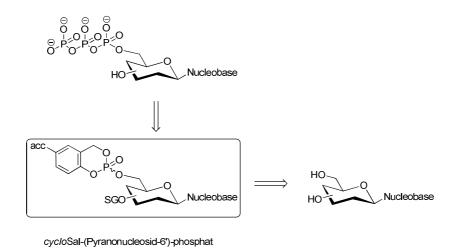
Mit dem erhaltenen akzeptorsubstituierten *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphat-Baustein sollte anschließend die Kupplungsreaktion zu den Phosphatdiesterverbrückten Strukturen realisiert werden (Schema 48).

Schema 48: Kupplung des cycloSal-(Glycopyranosyl-6)-phosphats

Da in natürlichen Glycosylphosphozuckern häufig Disaccharid-Einheiten über Phosphatdiester miteinander verknüpft sind, sollte die erarbeitete Synthesestrategie auch auf die Darstellung einer solchen Struktur angewendet werden (Schema 49).

Schema 49: Anwendung des zuvor vorgestellten Konzeptes auf Disaccharide

Wie im vorangegangenen Kapitel dargelegt, kann die *cyclo*Sal-Methode ebenfalls zur Darstellung von Nucleosid-5'-triphosphaten genutzt werden. Die Übertragung dieser Methode auf die Darstellung von Pyranonucleosid-6'-triphosphaten sollte im Rahmen dieser Arbeit realisiert werden. Dazu sollten für die Synthese der benötigten Bausteine – der *cyclo*Sal-(Pyranonucleosid-6')-phosphate – die gewonnenen Erkenntnisse zur Darstellung der *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphate genutzt werden (Schema 50).



Schema 50: Darstellung von Pyranonucleosid-6'-triphosphaten ausgehend von *cyclo*Sal-(Pyranonucleosid-6')-phosphaten

4 Resultate

Der *cyclo*Sal-Methode, wie sie bis jetzt zur Anwendung kam, liegt eine Aktivierung der Phosphatgruppe in Nucleosidmonophosphaten gegenüber nucleophilen Angriffen zugrunde. Diese wird durch die cyclische Veresterung des Nucleotids **b** mit den zwei Hydroxylfunktionen des Salicylalkohol-Derivats **a** erreicht (Abb. 13). Im *cyclo*Sal-Nucleotid **c** liegt also eine dreifach veresterte Phosphateinheit vor (Triester).

Abbildung 13: Aufbau eines cycloSal-Nucleotids

Das Phosphoratom besitzt in Triestern eine erheblich größere Elektrophilie als in dem entsprechenden Nucleotid. Zudem bildet das Phenolat in dem *cyclo*Sal-Triester eine gute Abgangsgruppe, hier kann also eine nucleophile Substitution stattfinden.

Schema 51: Nucleophiler Angriff am Phosphoratom, Substitution des phenylischen Phosphatesters

Durch den so entstandenen guten Donorsubstituenten (O⁻) in *ortho*-Position zu der Benzylestergruppe findet ein Bindungsbruch statt, welcher das nucleophil substituierte Nucleotid und das Chinonmethid-Derivat freisetzt (Schema 52). Letzteres ergibt durch Reaktion mit Wasser das entsprechende Salicylalkohol-Derivat.⁶⁰⁻⁶³

Schema 52: Bruch der benzylischen Phosphatesterbindung, Freisetzung des nucleophil substituierten Nucleotids sowie des Salicylalkohol-Derivats

Durch die Position und Art des Substituenten X am Aromaten kann Einfluss auf die Elektrophilie des Phosphoratoms und damit auf die Geschwindigkeit der oben gezeigten nucleophilen Substitutionsreaktion genommen werden. Dieser Einfluss konnte durch die Bestimmung der Hydrolyse-Halbwertszeiten unterschiedlich substituierter *cyclo*Sal-d4TMPs gezeigt werden. ⁹⁵

Schema 53: Hydrolyse verschieden substituierter *cyclo*Sal-d4TMPs in Phosphatpuffer

Dabei ergab sich für die Geschwindigkeit der Hydrolyse in Abhängigkeit vom Substituenten X (in *para*-Position zum Phenylester) folgende Reihenfolge: NO₂ > Cl > H > Me. Dieses Ergebnis ist über die Herabsetzung (NO₂, Cl) bzw. Erhöhung (Me) der Elektronendichte am Phosphoratom im Vergleich zum unsubstituierten Salicylalkohol-Derivat (H) zu erklären. Den Einfluss der Position des Substituenten X verdeutlicht der Vergleich der 5- bzw. 3-substituierten Methoxy- und Methyl-*cyclo*Sal-Triester: Die 5-substiuierten Derivate zeigen ähnliche Stabilität, die 3-substituierten *cyclo*Sal-Triester hingegen unterscheiden sich erheblich in ihrem Hydrolyseverhalten. Dies zeigt, dass im Fall der Substitution in 3-Position der Induktive Effekt der Methoxy-Gruppe ihren Mesomeren Effekt überwiegt und so zu einer erhöhten Labilität gegenüber Hydrolyse führt.⁶¹

Bei der Nutzung des *cyclo*Sal-Konzeptes als Prodrug-System – also zur Erhöhung der Membrangängigkeit von Nucleotiden und der intrazellulären Freisetzung selbiger – ist eine ausreichend lange Halbwertszeit gefragt, damit das Pronucleotid nicht bereits außerhalb der Zelle hydrolysiert wird. Bei der Anwendung dieses Konzeptes zur Synthese hingegen sollte eine möglichst reaktive Verbindung eingesetzt werden. Als aktivierte Synthesebausteine kamen also das 5-Chlor- und das 5-Nitro-*cyclo*Sal-Nucleotid in Frage. Als ein weiterer aktivierender Substituent bietet sich die

Methylsulfonylgruppe in 5-Position des Salicylalkohols an. Wie in Kapitel 2.2.2 (cycloSal-Methode) beschrieben, konnten 5-Nitro- und 5-Chlor-substituierte cycloSal-Nucleotide bereits für die Darstellung einer Vielzahl an phosphorylierten Biokonjugaten wie Nucleosiddiphosphaten und -triphosphaten, Dinucleosidoligophosphaten, NDP- und NMP-Zuckern angewendet werden. Die Darstellung der cycloSal-Nucleotide erfolgte durch die Umsetzung eines geeignet mit Acetyl-Schutzgruppen versehenen Nucleosids mit einem cycloSaligenylchlorphosphit zu dem entsprechenden Phosphit und eine anschließende Oxidation (Schema 54). Dabei gestaltete sich die Darstellung der 5-Nitro-substituierten Verbindungen zunächst schwierig, da die Oxidation, welche standardmäßig mit tertButylhydroperoxid vorgenommen wurde, hier zu einer Vielzahl an Nebenprodukten führte. Auch eine Oxidation mit lod konnte keine zufriedenstellenden Ergebnisse liefern. Erst der Einsatz von Oxone, einem gemischten Salz mit Peroxosulfat als oxidierende Komponente, lieferte zuverlässig den cycloSal-Triester. Die Salicyland von Sali

Schema 54: Darstellung der cycloSal-Nucleotide

Da sowohl die verwendeten Nucleoside als auch viele der in der Kupplungsreaktion eingesetzten Nucleophile mehrere Hydroxylfunktionen besitzen, welche zu Nebenreaktionen führen können, musste eine geeignete Schutzgruppenstrategie entwickelt werden. Es sollte möglichst eine einheitliche Schutzgruppe verwendet werden, welche unter den Reaktionsbedingungen zur Bildung des Triesters und der Kupplung stabil war, sich aber anschließend unter milden Bedingungen vollständig und ohne Nebenreaktionen abspalten ließ. Unter diesen Voraussetzungen war die Acetylgruppe die Geeignetste. Beispielhaft ist die Synthesesequenz für die Darstellung von TMP-Mannose 110, welche von S. WARNECKE entwickelt und durchgeführt wurde, in Schema 55 gezeigt. 65,69

Schema 55: Synthese von 140 nach der cycloSal-Methode, S. WARNECKE

Wie Schema 55 zu entnehmen ist, wurde das Produkt als Anomerengemisch im Verhältnis α/β von 1:3.5 gebildet. Die entsprechenden Derivate mit Galactose bzw. Glucose als Zuckereinheit wurden als reine β -Anomere erhalten. Grund dafür ist der bereits in Kapitel 2.1 (Trichloracetimidate) erläuterte Effekt, dass die β -Glycopyranosyl-1-oxyanionen deutlich schneller mit Elektrophilen reagieren als die entsprechenden α -konfigurierten Derivate (kinetischer Anomerer Effekt).

Schema 56: thermodynamischer und kinetischer Anomerer Effekt als Erklärung der Anomerenverhältnisse bei der Synthese von NMP-Zuckern mittels der *cyclo*Sal-Methode

Die bevorzugte Bildung des β -konfigurierten Produktes resultiert also aus kinetischer Kontrolle. Eine Möglichkeit zur Rückreaktion und somit zur thermodynamisch kontrollierten Bildung des α -Produktes ist nicht gegeben. Im Fall der Mannose wird das Produkt aufgrund der axialen Stellung der Acetylgruppe in 2-Position, welche den thermodynamischen Anomeren Effekt im Vergleich zu den gluco- bzw. galacto-Derivaten deutlich verstärkt, als Anomerengemisch erhalten. Aus dem Verhältnis von α/β mit 1:3.5 wird aber deutlich, dass der kinetische Anomere Effekt unter diesen Reaktionsbedingungen überwiegt. Diese Resultate ergaben sich unter Verwendung von Natriumhydrid als Base. Die Reaktivität der α - und β -Glycopyranosyl-1-oxyanionen ist aber auch vom Gegenion abhängig. So konnte S. WARNECKE feststellen, dass mit 2,3,4,6-Tetra-O-acetylglucopyranose 104 unter Verwendung von DBU als Base das TMP-Derivat **108** in einem Anomerenverhältnis von α/β = 1:2.5 gebildet wurde. Hieraus folgt, dass durch das deutlich sperrigere und lipophilere Kation HDBU⁺ der thermodynamische Anomere Effekt an Bedeutung gewinnt. 69 Auch unter Verwendung des weniger stark aktivierenden Chlor-Substituenten am Triester wurde dieselbe Tendenz beobachtet, wenn auch weniger stark ausgeprägt. 69

Neben den NMP-Zuckern konnten auch Nucleosid-5'-triphosphate ausgehend von den 5-NO₂-substituierten *cyclo*Sal-Nucleotiden dargestellt werden. Als Nucleophil diente hier Pyrophosphat, welches nicht als Dinatriumsalz eingesetzt werden konnte, sondern zur Steigerung der Nucleophilie sowie zur besseren Löslichkeit in organischen Solventien zuvor in das Tris-(tetra-*n*-butylammonium)salz überführt werden musste. Das Pyrophosphatsalz wurde in einem Überschuss von zweieinhalb Äquivalenten nach ausführlicher Trocknung aller Komponenten mit dem *cyclo*Sal-Triester in trockenem DMF gerührt. ³¹P-NMR-Spektroskopie bestätigte bereits nach einstündigem Rühren bei Raumtemperatur eine vollständige Umsetzung des Triesters. Außer einem Nebenprodukt, welches aus der Reaktion des abgespaltenen Chinonmethids **116** mit dem Pyrophosphat resultiert (Schema 57), wurde nur das gewünschte Triphosphat gebildet.

Schema 57: Darstellung von Nucleosid-5'-triphosphaten mittels der *cyclo*Sal-Methode mit der Bildung des benzylierten Pyrophosphats **117** als Nebenprodukt

Jedoch gestaltete sich die Isolierung und Reinigung des Produktes schwierig. Aufgrund der lipophilen Tetra-*n*-butylammonium-Ionen musste vor der *reversed phase*-Chromatographie ein Ionenaustausch durchgeführt werden. Da dieser erst nach mehreren Durchgängen vollständig war, kam es zu einer geringen Zersetzung des Produktes. Zudem war die Abtrennung des in der Nebenreaktion gebildeten benzylierten Pyrophosphats **117** eine Herausforderung. Es ergaben sich für die natürlichen NTPs Ausbeuten von 40 – 83%.

In Anlehnung an die zuvor beschriebenen Ergebnisse sollte in dieser Arbeit eine Übertragung der *cyclo*Sal-Methode auf die Darstellung phosphorylierter Pyranosyl-Konjugate wie Phosphatdiester-verbrückter Pyranosid-Strukturen, beispielsweise D-Mannopyranosyl-(D-mannopyranosyl-6)-phosphat (Man-1P6-Man) **118**, und Pyranonucleosid-6'-triphosphate, z. B. $1(\beta$ -D-Glucopyranosyl)-thymin-6'-triphosphat **119**, erarbeitet werden.

Abbildung 14: D-Mannopyranosyl-(D-mannopyranosyl-6)-phosphat (Man-1P6-Man) **118**, 1(β -D-Glucopyranosyl)-thymin-6'-triphosphat **119**

Dazu musste zunächst eine Syntheseroute zu einem geeigneten *cyclo*Sal-Glycopyranosylphosphat entwickelt werden, welches vergleichbar den *cyclo*Sal-Nucleotiden als aktivierter Phosphatbaustein für Kupplungsreaktionen mit Nucleophilen dienen sollte. Für die Phosphatdiester-Verbrückung über die primäre Hydroxylgruppe und das anomere Zentrum zweier Glycopyranosylbausteine, wie sie bei Verbindung **118** (Abb. 14) vorliegt, bietet es sich an, den in Schema 58 gezeigten Baustein A zu nutzen.

Schema 58: zwei mögliche Wege zur Darstellung eines Glycosylphosphozuckers, verknüpft über die primäre und die anomere OH-Funktion

Gegen den – zumindest theoretisch ebenso denkbaren – Baustein B spricht die Labilität der anomeren Bindung zu einem veresterten Phosphat, auf die in Kapitel 2 wiederholt eingegangen wurde. Die Labilität wird in diesem Fall durch den Elektronenzug, welcher durch den desaktivierenden NO₂-Substituenten an der *cyclo*Sal-Maske ausgeübt wird, zudem noch verstärkt. Als Nebenreaktion wäre eine Glycosylierung denkbar (Schema 59), die aber möglichst vermieden werden sollte.

$$SGO \longrightarrow NO_{2} \longrightarrow NO_{$$

Schema 59: ungewünschter nucleophiler Angriff am *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-1)-phosphat **B**

Zudem war eine auf der *cyclo*Sal-Methode beruhende Synthesesequenz für die Darstellung phosphorylierter Pyranonucleosid-Konjugate wie beispielsweise Pyranonucleosid-6'-triphosphate zu entwickeln. Baustein **A** ist hier ebenfalls *die* Schlüsselverbindung, mit dem Unterschied, dass sich in Position 1 der Pyranose statt der Schutzgruppe die Nucleobase befindet (Baustein **A**').

Schema 60: cycloSal-(Pyranonucleosid-6')-phosphat A' als Synthesebaustein

Für die Übertragung der zuvor für die Synthese Phosphat-konjugierter Pentofuranosid-Derivate angewandten *cyclo*Sal-Methode auf die Synthese der gezeigten Phosphat-konjugierten Hexopyranosid-Derivate musste also eine geeignete Syntheseroute entwickelt werden, welche die zuverlässige Darstellung der den *cyclo*Sal-Nucleotiden analogen Schlüsselverbindungen **A/A'** zuließ. Diese wird im Folgenden geschildert.

4.1 Synthese von 5-NO₂-cycloSal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten

In Anlehnung an die Synthese von *cyclo*Sal-Nucleotiden wurde zunächst die in Schema 61 retrosynthetisch gezeigte Synthesefolge für die Darstellung eines *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphats I aufgestellt.

Schema 61: Retrosyntheseschema I zur Darstellung von *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten I (SG = Schutzgruppe)

Der cycloSal-Triester I sollte durch die Reaktion der primären Hydroxylgruppe eines Glycopyranosylderivates mit 5-NO₂-cycloSaligenylchlorphosphit und eine anschließende Oxidation mit Oxone erhalten werden. Mittels selektiver Deblockierung der primären Hydroxylgruppe sollte die für diese Reaktion benötigte Struktur II Verwendung dargestellt werden. Dazu die einer orthogonalen war Schutzgruppenstrategie vonnöten, um die 6-OH-Gruppe gegenüber den anderen differenzieren zu können. Die tertButyldimethylsilyl- (TBDMS-) Gruppe zeigt nicht nur bei Nucleosiden eine ausgeprägte Selektivität für die primäre Hydroxylgruppe sondern auch bei verschiedenen Glycopyranosen reagiert TBDMSCI stark bevorzugt mit der primären 6-OH-Gruppe. 96,97 Diese Regioselektivität kommt durch den sterischen Anspruch der zwei Methyl-Substituenten, vor allem aber der tertButyl-Gruppe am Siliciumatom zustande. So sollte selektiv der 6-Silylether IV ausgehend von dem Zucker V erhalten werden. Als Schutzgruppe für die übrigen Hydroxylgruppen wurde die Acetylgruppe ausgewählt, da sich diese bei der Nutzung von cycloSal-Nucleotiden zur Synthese Phosphat-verbrückter Konjugate bereits als sehr geeignet erwiesen hatte, nicht zuletzt aufgrund der milden, vollständigen Abspaltung dieser Gruppen. Es ergab sich die Synthesesequenz selektive Silylierung der primären Hydroxylgruppe, Acetylierung aller übrigen OH-Gruppen, Spaltung des Silylethers, Reaktion mit dem *cyclo*Sal-Phosphitreagenz und anschließende Oxidation.

4.1.1 Erste Versuche zur Synthese von 5-NO₂-cycloSal-(Glycopyranosyl-6)phosphaten I ausgehend von Vorläufer II

4.1.1.1 Synthese des Bausteins III

Wie bereits erwähnt kann eine Differenzierung der primären gegenüber den sekundären bzw. acetalischen OH-Gruppen in Glycopyranosen mittels selektiver Blockierung der primären Hydroxylfunktion mit TBDMSCI erfolgen. 96 Dazu wurde D-Mannose in trockenem Pyridin gelöst, mit zwei Äquivalenten Imidazol versetzt und anschließend wurde ein Äquivalent TBDMSCl portionsweise hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 45 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit zwölf Äquivalenten Essigsäureanhydrid (drei Äquivalente pro OH-Gruppe) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 18 Stunden bei Raumtemperatur wurde Pyridin im Ölpumpenvakuum und durch Coevaporieren zuerst mit Toluol, dann mit Dichlormethan entfernt. Eine erste Reinigung des Rohproduktes erfolgte durch Aufnahme in Ethylacetat und Waschen mit NaHCO₃-Lösung und Wasser. Nach einer Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 4:1 nach 2:1 konnte das reine Produkt isoliert werden. Es wurden nur sehr geringe Mengen von zweifach silyliertem Produkt erhalten, wobei auf eine genauere Charakterisierung verzichtet wurde. Dementsprechend wurden auch nur sehr geringe Mengen an peracetylierter Glycopyranose erhalten. Die Ausbeute des Zielprodukts (1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-tertbutyldimethylsilyl-D-mannopyranose 122) war mit 86% sehr erfreulich und entsprach etwa der in der Literatur beschriebenen. 96 Für das entsprechende gluco-Derivat 123 lag die Ausbeute mit 83% in demselben Bereich.

Schema 62: Darstellung von 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*butyldimethylsilyl-p-manno-/glucopyranose **122/123**

Dass es sich bei diesen Produkten um die ausschließlich in 6-Position silylierten Verbindungen **122** und **123** handelte, konnte mittels NMR-Spektroskopie bewiesen werden: So zeigt die chemische Verschiebung der Protonen an C-6 mit einem Bereich von δ [ppm]=3.79-3.70 (manno) bzw. 3.77-3.63 (gluco) im Vergleich zu den peracetylierten Verbindungen **124** und **125** mit Werten für die chemische Verschiebung der Protonen an C-6 von δ [ppm]=4.31-4.09 (manno) und 4.28-4.04 (gluco) den typischen shift zu höherem Feld, welcher durch die Silylgruppe verursacht wird. Zudem kann im HMBC-Spektrum für die silylierten Verbindungen keine Kopplung der C-6-Protonen mit dem quartären C-Atom einer Acetyl-Gruppe festgestellt werden, jedoch ist diese für die Positionen 1-4 vorhanden.

Abbildung 15: Vergleich der peracetylierten Mannopyranose **124** mit dem 6-*O*-TBDMS-Derivat **122**

Die Darstellung des entsprechenden galacto-Derivats auf demselben Weg war nicht Bereits bei der Silylierung als erstem Schritt konnte mittels Dünnschichtchromatographie festgestellt werden, dass die Regioselektivität deutlich geringer ausgeprägt war. Es bildete sich nicht wie bei Mannose und Glucose ein Hauptprodukt, sondern es entstanden zwei Produkte, von denen das eine einen R_f-Wert vergleichbar dem der 6-silylierten Mannose bzw. Glucose aufwies und das andere einen deutlich höheren R_f-Wert besaß. Es handelte sich also um eine deutlich unpolarere Verbindung. Allem Anschein nach bildete sich hier das zweifach silylierte Galactopyranose-Derivat. Zwar wurde nicht aufgeklärt, welche Position zusätzlich mit dem TBDMSCI reagierte, es können aber Vermutungen angestellt werden: Die relativen Reaktivitäten der Hydroxylgruppen in Glycopyranosen hängen zum einen davon ab, ob die jeweilige Gruppe axial oder äquatorial steht, wobei hierbei sterische und elektronische Effekte zusammenkommen, zum anderen liegt eine Abhängigkeit benachbarter Gruppen aufgrund der Ausbildung von Stellung Wasserstoffbrückenbindungen vor. 98-100 Vergleicht man die galacto- und gluco-

Derivate der 1,2,3,6-Tetramethylglycopyranoside, so ist bei dem galacto-Derivat eine deutlich höhere Acidität der 4-Hydroxylgruppe festzustellen. 98 Das bedeutet, dass die axiale OH-Bindung in dem galacto-Derivat stärker polarisiert ist und das Sauerstoffatom somit eine größere Reaktivität gegenüber Nucleophilen aufweist. Da hier ein direkter Vergleich von axialer OH-Gruppe (galacto) und äquatorialer OH-Gruppe (gluco) vorliegt, ist es denkbar, dass im Fall der Galactose das TBDMSCl in einem deutlich höheren Ausmaß mit der Hydroxylgruppe in 4-Position reagiert hat als im Fall der Glucose. Jedoch sind hiermit noch nicht eventuell bestehende Unterschiede den Wasserstoffbrückenbindungen zwischen benachbarten OH-Gruppen in berücksichtigt. Eine erhöhte Reaktivität der 3-OH-Gruppe der Galactose kann nicht ausgeschlossen werden. Dieses Ergebnis verwundert, wenn man die selektive Silylierung der Mannose betrachtet, denn diese besitzt ebenfalls eine axiale Hydroxylgruppe - hier in 2-Position - welche demselben stereoelektronischen Effekt wie die 4-OH-Gruppe der Galactose unterliegt. Vergleicht man die manno- und gluco-Derivate der 1,4,6-Trimethylglycopyranoside, so zeigt das manno-Derivat eine erheblich größere Acidität98 was auch eine erheblich größere Reaktivität gegenüber Nucleophilen zur Folge haben sollte. Hier scheint aber dennoch die Differenzierung zu der primären Hydroxylgruppe möglich zu sein.

Auf weitere Versuche zur Darstellung von 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O-tert*butyl-dimethylsilyl-D-galactopyranose wurde verzichtet. Der alternative Syntheseweg zu dem angestrebten *cyclo*Sal-Triester wird zu einem späteren Zeitpunkt dargelegt.

4.1.1.2 Synthese des Bausteins II

Mit der Darstellung der 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-tertbutyldimethylsilyl-D-mannobzw. -glucopyranose 122/123 waren nun die Ausgangsverbindungen für eine selektive Deblockierung der primären OH-Gruppe vorhanden. Silylether können sowohl mittels Säure als auch durch Fluorid-Ionen gespalten werden. Dazu werden häufig Reagenzien wie Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) oder Triethylamin Trihydrofluorid (TEA*3HF) verwendet. Da TBAF basisch ist und die Acetylester nicht gespalten werden sollten, erschien die Verwendung von TEA*3HF geeignet. Standardmäßig werden für die Spaltung eines Silylethers drei Äquivalente TEA*3HF in Dichlormethan verwendet und die Reaktionslösung wird für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Diese Reaktionsbedingungen führten zu einem Produktgemisch. Während der relativ langen Reaktionsdauer fand vermutlich eine Wanderung der Acetylgruppe von der 4- auf die 6-Position in der bereits desilylierten Substanz statt.

Eine solche Schutzgruppenwanderung ist eine bekannte Problematik in der Kohlenhydratchemie. Die Wanderung von Acylsubstituenten zwischen benachbarten Hydroxylgruppen kann sowohl im basischen als auch im sauren Milieu ablaufen. 101-105 Um festzustellen, ob die Silyletherspaltung so weit beschleunigt werden kann, dass sie viel schneller als die Acetyl-Wanderung abläuft und somit das gewünschte 6-OH-freie Produkt 126 erhalten werden kann, wurden Versuche mit 15, 20 und 30 Äquivalenten TEA*3HF durchgeführt. Die benötigte Reaktionszeit für die Spaltung des Silylethers konnte bei Verwendung von sehr geringen Mengen an Lösungsmittel (Dichlormethan) zwar auf 30 Minuten verkürzt werden, jedoch gelang es nicht, das gewünschte 6-OH-freie Produkt 126 zu isolieren. Stets war das 4-OH-freie Regioisomer 127 als Nebenprodukt vorhanden, dabei variierte das Verhältnis 126:127 von 1:0.15 bis 1:0.6. Die säulenchromatographische Abtrennung des 4-OH-freien Regioisomers 127 durch die Verwendung eines langsamen Petrolether/Ethylacetat-Gradienten brachte nicht das gewünschte Ergebnis, sondern führte sogar noch zu einer Steigerung des Anteils an

unerwünschtem Regioisomer **127**. Hieraus kann geschlussfolgert werden, dass während der Säulenchromatographie – sowohl mit als auch ohne Zusatz von Triethylamin zur Pufferung des sauren Kieselgels – eine Wanderung der Acetylgruppe stattfand.

Die hier beobachtete Wanderung einer Acetylgruppe von der 4- auf die 6-Position nutzt man in der Kohlenhydratchemie bereits, um 4-OH-freie Glycopyranosylderivate darzustellen. 101,104,105 Dem Anschein nach liegt das Gleichgewicht unter verschiedenen Bedingungen (basisch 101,105 sowie sauer 104 katalysiert) stark auf der Seite der 4-OHfreien Verbindung, so dass diese Reaktion nahezu irreversibel erscheint. 101 Dieser Befund passt zu der Beobachtung, dass die 4-OH-Gruppe in der ungeschützten Glycopyranose (bei äquatorialer Stellung) die geringste Reaktivität aufweist. Versetzt man beispielsweise D-Mannose mit Essigsäureanhydrid und Natriumacetat, so werden vorrangig die Positionen 1-3 und 6 acetyliert. Bei der Verwendung von 5.7 Äquivalenten Essigsäureanhydrid erhielten LEE et al. 60% der pentaacetylierten Mannose **124** und 29% der 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetylmannose **127** als einziges tetraacetyliertes Produkt. 106 Diese Synthese konnte in dieser Arbeit reproduziert werden. Hier war auch bei säulenchromatographischer Reinigung des Produktes keine Bildung der isomeren 1,2,3,4-Tetra-O-acetylmannose 126 festzustellen. Auch der Vergleich der Aciditäten verschiedener trimethylierter Methylglucopyranoside zeigt, dass die Verbindung mit freier 4-OH-Gruppe mit geringster Acidität folglich auch die geringste Reaktivität aufweist. 98

Eine deutlich geringere Wanderungstendenz als Acylgruppen zeigen Ether-Schutzgruppen. Daher wurde der Versuch unternommen, das Derivat 128 darzustellen, welches Benzyl- statt Acetyl-Schutzgruppen trägt. Alkohole werden meist durch Deprotonierung mit Natriumhydrid und anschließende SN-Reaktion mit Benzylbromid verethert. Häufig wird dem Reaktionsgemisch zudem noch eine katalytische Menge Tetrabutylammoniumiodid (TBAI) hinzugefügt. In Anlehnung an die zuvor vorgestellte Synthesesequenz zur Darstellung der 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-tertbutyldimethylsilyl-D-mannopyranose 122 wurde D-Mannose mit einem Äquivalent TBDMSCl unter Zugabe von zwei Äquivalenten Imidazol in Pyridin zur Reaktion gebracht. Nach einer Reaktionszeit von 45 Minuten bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter

vermindertem Druck und durch Coevaporieren vollständig entfernt. Der Rückstand wurde in DMF aufgenommen und sollte nun zur Deprotonierung der OH-Gruppen bei 0 °C portionsweise mit NaH (1.2 Äquivalente pro OH-Gruppe) versetzt werden. Es kam zu einer solch enormen Schaumentwicklung, dass der Versuch abgebrochen werden musste. In einem zweiten Versuch wurde zunächst D-Mannose mittels TBDMSCl silyliert, allerdings wurde nun NaH in DMF als Suspension (1.2 Äquivalente pro OH-Gruppe) vorgelegt und der Zucker sollte dann (als Rohprodukt) bei 0 °C gelöst in DMF hinzugetropft werden. Es kam aber erneut zu einer starken Schaumentwicklung, sodass keine flüssige Phase mehr ausgemacht werden konnte. Dennoch wurde im Anschluss Benzylbromid (1.3 Äquivalente pro OH-Gruppe), ebenfalls bei 0 °C, zu dem Reaktionsgemisch getropft, welches für 18 Stunden gerührt wurde. Anschließend wurde überschüssiges NaH und Benzylbromid durch Zugabe von Methanol zerstört. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels folgte mehrfache Säulenchromatographie an Kieselgel mit verschiedenen Petrolether/Ethylacetat-Gradienten.

Schema 64: Versuch der Darstellung von 128

Bei der einzigen sauber isolierten Substanz handelte es sich um Verbindung **129**, in der die OH-Gruppen der Positionen 2-4 weiterhin unverändert vorliegen. Da es sich um geringe Mengen handelte, war ein erneuter Versuch der Umsetzung dieser Verbindung zu dem Tetra-*O*-benzyl-Derivat **128** keine Option.

Abbildung 16: Benzyl-6-O-tertbutyldimethylsilyl-D-mannopyranosid 129

Unter der Annahme, dass Verunreinigungen bzw. das überschüssige Imidazol aus dem ersten Reaktionsschritt die Benzylierung negativ beeinflussen, wurde die Zwischenstufe 6-*O*-TBDMS-D-mannopyranose **130** isoliert. D-Mannose wurde hierzu in Pyridin mit einem Äquivalent TBDMSCl unter Zusatz von zwei Äquivalenten Imidazol

zur Reaktion gebracht. Nach einer Reaktionszeit von einer Stunde bei Raumtemperatur wurde zum Abbruch der Reaktion Methanol hinzugefügt und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck und durch Coevaporieren vollständig entfernt. Die Reinigung des erhaltenen Rohprodukts fand mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol im Verhältnis 9:1 als Eluent statt. Auf diese Weise konnte Verbindung **130** in einer Ausbeute von 91% erhalten werden.

Schema 65: Darstellung von 130

Allerdings trat bei der Umsetzung der Verbindung **130** mit NaH erneut eine sehr starke Schaumentwicklung auf, sodass keine flüssige Phase mehr auszumachen war. Dennoch wurden Benzylbromid und TBAI hinzugefügt. Der Abbruch der Reaktion durch Zugabe von Methanol und säulenchromatographische Reinigung des Rohproduktes brachten allerdings nicht das gewünschte Ergebnis.

Da die Schaumbildung durch die Entstehung von Wasserstroff während der Reaktion hervorgerufen wird, bot sich die Verwendung einer anderen Base an. 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) ist eine starke Base, die aber selbst kaum nucleophile Eigenschaften aufweist und als solche besonders geeignet erschien. Verbindung 130 wurde in DMF gelöst und mit sechs Äquivalenten DBU versetzt. Anschließend wurden sechs Äquivalente Benzylbromid hinzugefügt. Da keine Umsetzung der Ausgangsverbindung 130 detektiert werden konnte, wurde dem Reaktionsgemisch eine Spatelspitze TBAI hinzugefügt. Da auch dies nicht zu einer Umsetzung von Verbindung 130 führte, wurden nochmals je sechs Äquivalente DBU und Benzylbromid hinzugefügt. Auch nach längerer Reaktionszeit bei Raumtemperatur konnte keine Umsetzung des Eduktes detektiert werden, daher wurde der Versuch abgebrochen.

Da die Darstellung der tetrabenzylierten Verbindung **128** also auf verschiedene Weisen – weder in einer *one-pot*-Prozedur noch mit Isolierung von Verbindung **130** – keine Erfolge zeigte und es zudem fraglich war, ob es überhaupt möglich ist, die

Benzylgruppen am Ende der Syntheseroute vollständig abzuspalten, wurden weitere Versuche mit der acetylierten Verbindung **122** durchgeführt.

4.1.1.3 Synthese des cycloSal-Triesters ausgehend von dem Gemisch aus **126** und **127**

Bei kurzer Desilylierungszeit (hohe Konzentration an Triethylamin Trihydrofluorid zur Spaltung des TBDMS-Ethers in Verbindung 122) und schneller Säulenchromatographie gelang es, die gewünschte Verbindung 126 mit nur einer geringen Menge an Regioisomer 127 zu erhalten (126:127 1:0.15). Im Folgenden wurde die angestrebte Synthese des *cyclo*Sal-Triesters 132 erprobt. Es sollte untersucht werden, ob beide Regioisomere 126 und 127 zu den Triestern umgesetzt würden und falls dem so sei, ob eine chromatographische Trennung der daraus resultierenden isomeren *cyclo*Sal-Triester möglich wäre.

Das standardmäßig eingesetzte Syntheseprotokoll zur Darstellung von 5-Nitrosubstituierten cycloSal-Nucleotiden sieht folgende Arbeitsschritte vor: Zuerst wird das entsprechend blockierte Nucleosid in trockenem Acetonitril gelöst und die Reaktionslösung wird auf -20 °C gekühlt. Dann werden Diisopropylethylamin (DIPEA) und anschließend 5-NO₂-cyclosaligenylchlorphosphit **131** hinzugegeben. Nach einer Reaktionszeit von fünf Stunden bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch erneut auf -10 °C gekühlt und mit Oxone, gelöst in wenig kaltem Wasser, versetzt. Nach einer Reaktionszeit von zehn Minuten bei Raumtemperatur wird die Reaktionslösung mit Ethylacetat verdünnt und mit kaltem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Bei den letzten Schritten muss schnell gearbeitet werden, um eine Hydrolyse des Triesters zu vermeiden. Nachdem das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurde, wird der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und filtriert. Nach erneuter Entfernung des Lösungsmittels wird der Rückstand aus Acetonitril/Wasser gefriergetrocknet. 69 Diese Arbeitsschritte sollten für die Darstellung des cycloSal-Glycopyranosylphosphats 132 übernommen werden.

Dazu wurde das Mannosederivat 126, welches wie beschrieben 13% 127 enthielt, analog der Synthese der *cyclo*Sal-Nucleotide in trockenem Acetonitril gelöst und bei -20 °C mit zwei Äquivalenten Base versetzt. Das Chlorphosphit 131 (zwei Äquivalente) wurde, ebenfalls gelöst in trockenem Acetonitril, bei derselben Temperatur hinzugetropft. Nach dreieinhalb Stunden Reaktionszeit bei Raumtemperatur war Verbindung 126 bzw. 127 vollständig umgesetzt. Zur Oxidation des intermediär gebildeten Phosphittriesters wurde bei -10 °C Oxone (vier Äquivalente gelöst in wenig Wasser) zu der Reaktionslösung gegeben. Nach zehn Minuten Reaktionszeit bei Raumtemperatur war mittels Dünnschichtchromatographie ein vollständiger Umsatz zu erkennen. Die Reaktionslösung wurde daraufhin mit viel Dichlormethan verdünnt und zweimal mit kaltem Wasser gewaschen. Das Rohprodukt wurde nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat, Entfernung des Lösungsmittels und Gefriertrocknung aus Acetonitril/Wasser als farblose Watte erhalten.

Schema 66: Darstellung des *cyclo*Sal-Triesters ausgehend von dem Gemisch **126/127**

Für das gewünschte Produkt **132** wurden vier Signale im ³¹P-NMR-Spektrum um -10 ppm erwartet, da es sich um vier Diastereomere handeln musste, denn es wurde bereits ein Anomerengemisch für die Reaktion eingesetzt und es wird mit dem Phosphat-Triester ein weiteres Stereozentrum eingeführt. Die erwarteten Signale waren in dem Spektrum deutlich zu erkennen, aber es zeigten sich neben diesen deutlich drei kleinere Signale (Abb. 17). Vermutlich handelte es sich bei diesen Signalen um das Regioisomer **133** (wobei eines dieser Signale mit einem der vier Signale der gewünschten Verbindung **132** zusammenfiel). Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird diese Annahme bestätigt werden.

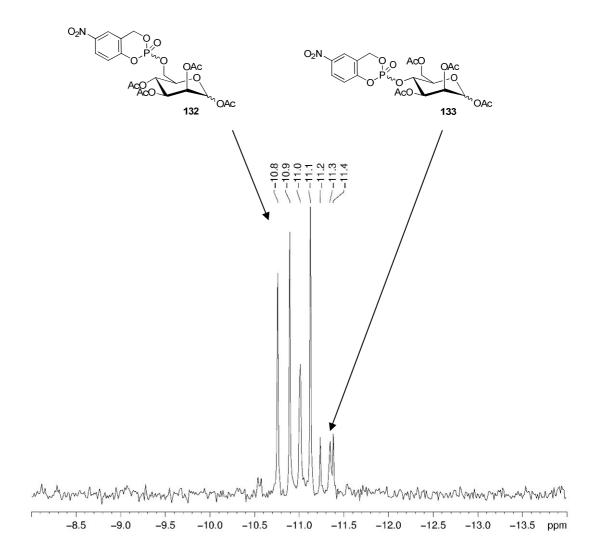


Abbildung 17: ³¹P-NMR-Spektrum der Verbindungen 132 und 133

Der Ansatz, die geringere Reaktivität der 4-Position für die selektive Darstellung des Triesters **132** ausgehend von dem Gemisch von **126** und **127** zu nutzen, war somit nicht erfolgreich. Da die Signale der Verbindungen **132** und **133** weder im ¹H- noch im ³¹P-NMR-Spektrum vollständig basisliniengetrennt vorlagen, konnte deren Verhältnis nicht genau bestimmt werden. Es war jedoch abzuschätzen, dass es in derselben Größenordnung wie das der eingesetzten Verbindungen lag.

CycloSal-Triester, insbesondere solche, die einen Nitro-Substituenten tragen, sind sehr reaktive Verbindungen, weshalb in der Vergangenheit meist auf eine Reinigung verzichtet wurde und die Rohprodukte für die Synthesen der angestrebten Kupplungsprodukte eingesetzt wurden. Jedoch wurde beispielsweise für Chlorsubstituierte Triester bereits beschrieben, dass eine säulenchromatographische Reinigung unter Zusatz von Essigsäure zum Eluenten möglich ist. Diese Methode wurde

auch hier angewendet und es zeigte sich, dass der Nitro-substituierte *cyclo*Sal-Triester bei Zusatz von 2% Essigsäure zu dem Petrolether/Ethylacetat-Gemisch im Verhältnis 1:1 für die Chromatographie ausreichend stabil war. Allerdings musste festgestellt werden, dass eine Trennung der Regioisomere **132** und **133** aufgrund ihres gleichen Laufverhaltens nicht möglich war. Demzufolge war die Darstellung und Isolierung von *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten I ausgehend von Vorläufer II nicht möglich.

4.1.2 Synthese von 5-NO₂-cycloSal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten I ausgehend von Vorläufer IIa

Es galt folglich das Problem zu lösen, dass bei dem Versuch der Isolierung von der 6-OH-freien Verbindung **126** eine Wanderung der Acetylgruppe von der 4- auf die 6-Position stattfand. Angestrebt wurde, auf eine Isolierung dieser Verbindung zu verzichten und eine *one-pot*-Prozedur zu entwickeln, in der die Abspaltung der Schutzgruppe in 6-Position und anschließend die Reaktion der 6-OH-freien Verbindung mit dem *cyclo*Saligenylchlorphosphit in ein und demselben Reaktionsgemisch direkt aufeinander folgend stattfinden würde.

Schema 67: alternative Synthesestrategie zur Umgehung der Acetylgruppenwanderung (SG und SG* = Schutzgruppe, SG orthogonal zu SG*)

Es wurde nach einer Schutzgruppe (SG*) für die 6-Position gesucht, die den folgenden Parametern genügen sollte:

- o Orthogonalität zu Acetylgruppen,
- vollständige, schnelle Abspaltung unter den vergleichsweise milden Bedingungen der Triestersynthese,
- o keine Freisetzung einer nucleophilen Spezies und
- o leichte Abtrennung der Abspaltprodukte.

Unter diesen Rahmenbedingungen wurde die Fluorenylmethoxycarbonyl- (Fmoc-) Gruppe ausgewählt, die durch mild basische Bedingungen schnell und vollständig abgespalten werden sollte. Die Spaltung dieser Gruppe erfolgt nach einem E1cb-Mechanismus, bei dem CO₂ und Dibenzofulven frei werden. Ersteres entweicht in die Gasphase, letzteres weist keine nucleophilen Eigenschaften auf und sollte durch seine enorm geringe Polarität leicht vom Produkt abzutrennen sein.

Schema 68: Abspaltungsmechanismus der Fmoc-Gruppe und direkte Reaktion mit dem *cyclo*Saligenylchlorphosphit **131** mit anschließender Oxidation

Die Fmoc-Gruppe findet hauptsächlich Verwendung als Amino-Schutzgruppe bei der Festphasen-gestützten Synthese von Peptiden. Auch in der Kohlenhydratchemie fand sie bereits Anwendung, hauptsächlich im Bereich der Festphasen-gestützten Synthese oligomerer Strukturen. Die Einführung der Fmoc-Gruppe in der 6-Position erfolgte hier meist durch selektive Reduktion des 4:6-Benzylidenacetals (wie es in der Verbindung 135 vorhanden ist) mittels BH₃*THF, sodass nur die 6-Position frei vorlag, und durch die anschließende Reaktion mit einem Überschuss an FmocCl in Gegenwart von Pyridin (Schema 69). Tür die Synthese von Oligomeren ist es wichtig, die verschiedenen Positionen der Glycopyranose gezielt ansteuern – also selektiv deblockieren – zu können. Daher ist es in diesem Zusammenhang nötig, an jede der

OH-Gruppen eine andere Schutzgruppe anzubringen. Ausgehend von der Glycopyranose bringt dies eine Vielzahl von Syntheseschritten mit sich.

Schema 69: Darstellung des Mannopyranose-Derivats **136** mit Fmoc-Gruppe in 6-Position, PA = Phenoxyacetyl, MP = p-Methoxyphenyl, SCHMIDT¹¹¹

Jedoch ist für das in dieser Arbeit angestrebte Ziel eine Blockierung der unterschiedlichen OH-Gruppen der Glycopyranose mit verschiedensten Schutzgruppen nicht vonnöten, sodass eine solch aufwendige Syntheseroute, wie sie zur Darstellung von **136** durchzuführen ist, umgangen werden sollte.

Im Folgenden wurde versucht, die für die Darstellung der 6-*O*-TBDMS-1,2,3,4-tetra-*O*-acetylglycopyranosen (Baustein III, Schema 70) genutzte Synthesefolge für die Darstellung der entsprechenden 6-*O*-Fmoc-Derivate anzuwenden. Dabei stellte sich heraus, dass bei Verwendung von FmocCl anstelle von TBDMSCl als Reagenz für die Blockierung der 6-Position eine deutlich geringere Regioselektivität zu verzeichnen war. Es wurden sowohl doppelt carbonylierte Verbindungen, als auch solche mit nur einer Fmoc-Gruppe, diese aber an verschiedenen Positionen der Glycopyranose, erhalten. Da die 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-Fmoc-glycopyranosen IIa als Ausgangsverbindungen für die Synthese der *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphate I dienen sollten, war es erforderlich, eine effiziente Syntheseroute zu entwickeln, die regioselektiv und mit guten Ausbeuten zu dem gewünschten Produkt IIa führt.

4.1.2.1 Synthese des alternativen Bausteins IIa aus Baustein III

Da die Silylierung mit TBDMSCI zuvor sehr gute Ergebnisse geliefert hatte, sollte als nächstes ein Austausch dieser Gruppe gegen die Fmoc-Gruppe erprobt werden. Die TBDMS-Gruppe sollte also abgespalten werden und – ohne Isolierung der 6-OH-freien Verbindung II, da genau dieser Schritt ja zu der Bildung der Regioisomeren führte – sollte diese mit FmocCl umgesetzt werden, um selektiv IIa zu liefern (Schema 70).

Schema 70: Retrosyntheseschema für die alternative Synthesestrategie zur selektiven Darstellung von *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten I

Um die bereits beschriebene Wanderung der Acetyl-Gruppe in dem 6-OH-freien Intermediat zu vermeiden, sollte die Reaktionsdauer so gering wie möglich gehalten werden. Dazu wurden 15 Äquivalente TEA*3HF zu der in wenig Dichlormethan gelösten Verbindung 122 gegeben. Nach einer Stunde Reaktionszeit bei Raumtemperatur konnte mittels Dünnschichtchromatographie eine vollständige Umsetzung der Ausgangsverbindung detektiert werden. Die Reaktionslösung wurde mit Dichlormethan verdünnt und mit drei Äguivalenten FmocCl und neun Äguivalenten Pyridin versetzt. Nach weiteren zweieinhalb Stunden Rühren bei Raumtemperatur konnte mittels Dünnschichtchromatographie erneut ein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Der Reaktionsansatz wurde mit Wasser gewaschen und im Anschluss erfolgte eine säulenchromatographische Reinigung des Rohproduktes. Auf diese Weise war es möglich, die gewünschte Verbindung 134 mit einer Ausbeute von 97% zu erhalten. Das entsprechende Regioisomer mit der Fmoc-Gruppe in 4-Position wurde nicht gebildet. Analog gelang die Reaktion mit dem qluco-Derivat 123, Verbindung 137 konnte mit einer Ausbeute von 82% erhalten werden. Somit war die Darstellung der 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonylglycopyranosen Ila als Synthesebausteine für die anschließende Synthese der cycloSal-Triester I ausgehend von den ungeschützten Zuckern V über vier Stufen (davon zwei isoliert) mit sehr guten Gesamtausbeuten von 68-83% erfolgreich. Dieses Ergebnis verdeutlicht, dass die Acetylgruppenwanderung von der 4- auf die 6-Position in Baustein II nicht während der möglichst kurz gehaltenen Silyletherspaltung, sondern während der versuchten Isolierung der 6-OH-freien Glycopyranose II stattfand. Der Austausch der TBDMS-Gruppe gegen die Fmoc-Gruppe kann daher unter ausschließlicher Bildung des Derivats **IIa** erfolgen und somit konnten die 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-Fmoc-glycopyranosen **IIa** auf einem kurzen, äußerst effizienten Weg erhalten werden.

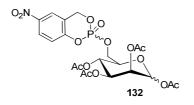
Schema 71: Darstellung von 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-p-manno-/glucopyranose **134/137**

4.1.2.2 Synthese von cycloSal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten I ausgehend von

Mit der erfolgreichen Synthese der Verbindungen 134 und 137 standen die Bausteine zur Verfügung, um eine regioselektive Synthese von cycloSal-Triestern zu erproben. Anders als zuvor sollte nun die 6-OH-freie Verbindung nicht isoliert werden um eine Wanderung der Acetylgruppe zu unterbinden. Die jeweilige 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-Ofluorenylmethoxycarbonylglycopyranose IIa sollte in einer one-pot-Reaktion zu dem entsprechenden cycloSal-Triester umgesetzt werden. Dabei sollte das nach Abspaltung der Fmoc-Gruppe gebildete Oxyanion direkt mit dem bereits im Reaktionsgemisch vorhandenen Chlorphosphit reagieren. wurden, anders Dazu Syntheseprotokoll zur Darstellung von cycloSal-Nucleotiden vorgegeben, Verbindung 134 und 5-NO₂-cyclosaligenylchlorphosphit 131 in trockenem Acetonitril vorgelegt und anschließend mit der Base versetzt.

Schema 72: selektive Synthese des *cyclo*Sal-*manno*-Triesters **132** ausgehend von der 6-*O*-Fmoc-Verbindung **134**

Als Base wurde anstelle des üblichen Diisopropylethylamin Triethylamin verwendet, da beobachtet werden konnte, dass ersteres nicht zu einer Spaltung der Fmoc-Gruppe führte. Als Grund ist die größere sterische Hinderung der Base DIPEA im Vergleich zu TEA anzunehmen, da ihre pK_B-Werte mit 3.02 (DIPEA) und 3.25 (TEA) in derselben Größenordnung liegen. Mit Zugabe der Base startete die Reaktion und mittels Dünnschichtchromatographie war gut zu sehen, dass Dibenzofulven als Abspaltprodukt der Fmoc-Schutzgruppe gebildet wurde. Zudem konnte angenommen werden, dass sich der intermediäre Phosphit-Triester bildete. Es ist bekannt, dass dieser im Fall des Nitro-Substituenten beim Auftragen auf die DC-Platte sofort zerfällt, sodass ein spot auf der Grundlinie erscheint. Nach der Oxidation mit Oxone zeigte sich bei der Dünnschichtchromatographie ein neuer spot mit einem R_F-Wert von 0.33 (PE/EE 1:1 + 2% HOAc). Nach der Aufarbeitung der Reaktion und der Säulenchromatographie des Rohproduktes unter Zusatz von Essigsäure zum Eluenten, die der Unterdrückung der Hydrolyse des Triesters diente, konnte gezeigt werden, dass es sich bei dieser Verbindung um das gewünschte Produkt handelte. Das ³¹P-NMR-Spektrum der Verbindung 132 ist in Abbildung 18 dargestellt. Deutlich sind die vier Signale der vier Diastereomere zu erkennen. Daneben liegen keine weiteren Signale vor, die auf eine regioisomere Verbindung hindeuten (vgl. Abb. 17, Kapitel 4.1.1.3). Die Bildung der regioisomeren Verbindung 133, wie es bei dem zuvor beschriebenen Versuch der Fall war, wurde also vermieden. Die Position des Phosphattriesters konnte über ein HP-COSY-NMR-Spektrum eindeutig zugeordnet werden. Auch das ¹H-NMR-Spektrum zeigt deutlich, dass das Produkt nur aus den vier Diastereomeren von Verbindung 132 besteht. Aus diesem Spektrum ließ sich das Verhältnis der Diastereomere von $\alpha_1:\alpha_2:\beta_1:\beta_2 = 1.00:0.79:0.94:0.82$ bestimmen.



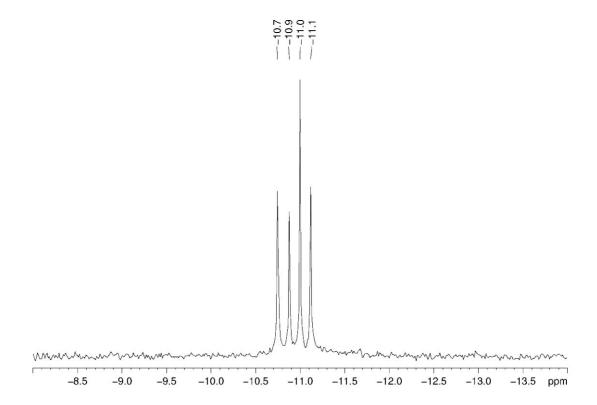


Abbildung 18: ³¹P-NMR-Spektrum der Verbindung **132**

Die Abtrennung des bei der Reaktion gebildeten Dibenzofulvens gelang bei der Säulenchromatographie aufgrund dessen sehr geringer Polarität problemlos. Zudem wurde festgestellt, dass die bei der Darstellung der *cyclo*Sal-Nucleotide vorgenommene Kühlung des Reaktionsgemisches auf -20 °C nicht nötig war. Eine kurzzeitige Kühlung erfolgte allein zur Oxidation. Auf diese Weise konnte 5-Nitro*cyclo*Sal-(1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranosyl-6)-phosphat **132** mit einer Ausbeute von 66% ausgehend von 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenyl-methoxycarbonyl-D-mannopyranose **134** erhalten werden. Auf dem gleichen Weg gelang auch die Darstellung des *gluco*-konfigurierten Derivates mit einer Ausbeute von 57%.

Schema 73: selektive Synthese des *cyclo*Sal-*gluco*-Triesters **138** ausgehend von der 6-Fmoc-Verbindung **137**

Das entsprechende 31 P-NMR-Spektrum ist in Abbildung 19 gezeigt. Deutlich sind die erwarteten vier Signale der vier Diastereomere von Verbindung **138** zu erkennen. Das 1 H-NMR-Spektrum beweist ebenfalls, dass kein unerwünschtes Regioisomer gebildet wurde. Aus diesem Spektrum ließ sich wieder das Verhältnis der Diastereomere von $\alpha_1:\alpha_2:(\beta_1+\beta_2)=0.19:0.25:1$ bestimmen (die Signale der zwei β -Anomere lagen nicht getrennt vor).

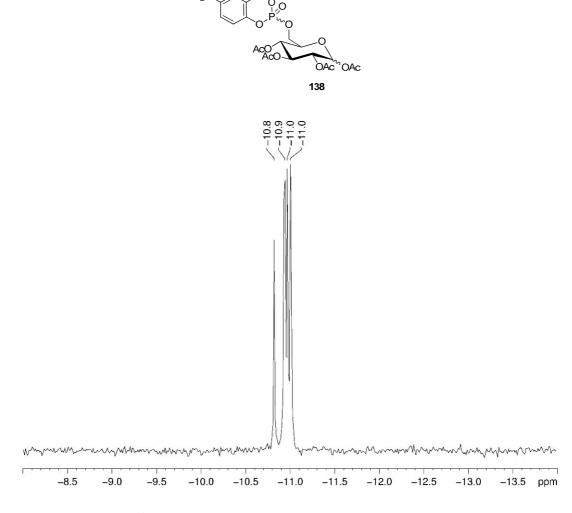


Abbildung 19: ³¹P-NMR-Spektrum der Verbindung 138

Laut DC schien der Reaktionsumsatz in beiden Fällen deutlich höher zugunsten des Produkts zu liegen. Typische Ausbeuten für die 5-Nitro-substituierten *cyclo*Sal-Nucleotide, welche nicht gereinigt wurden, liegen bei 65-95%. 69,71 Somit liegen die hier erzielten Ausbeuten im unteren Bereich. Allerdings wurde in dieser Arbeit eine säulenchromatographische Reinigung der *cyclo*Sal-Triester vorgenommen. Bei dieser wurde Essigsäure zum Eluenten hinzugefügt, um eine Hydrolyse der labilen Triester zu vermeiden, jedoch ist diese nicht gänzlich auszuschließen. Da weder das Edukt oder das 6-OH-freie Zwischenprodukt, noch ein Nebenprodukt isoliert wurden, wurde angenommen, dass eine teilweise Hydrolyse bei der Säulenchromatographie stattgefunden hatte. Die *cyclo*Sal-Triester wurden aber auf diese Weise in sehr guten Reinheiten erhalten, sodass die Ausbeute im Bereich von 60% zufriedenstellend war.

Die Einführung der Fmoc-Gruppe als Schutzgruppe für die 6-Position der jeweiligen Glycopyranose, welche in einer *one-pot*-Reaktion durch die *cyclo*Sal-Phosphat-Gruppe ersetzt werden konnte, war somit äußerst erfolgreich. Diese Gruppe erfüllte alle der zu Beginn von Kapitel 4.1.2 geforderten Kriterien und ermöglichte die Darstellung der 5-NO₂-*cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphate I. Diese konnten in einer 7-stufigen Synthesesequenz (davon 3 Stufen isoliert) ausgehend von der jeweiligen Glycopyranose in Gesamtausbeuten von 39-55% erhalten werden. Dieses positive Ergebnis wird im Folgenden für die Darstellung weiterer *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphate Anwendung finden. Zunächst folgt jedoch die Synthese des Regioisomers 133 [5-NO₂-*cyclo*Sal-(1,2,3,6-tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranosyl-4)-phosphat], um zu belegen, dass es sich bei der in Kapitel 4.1.1.3 beschriebenen Mischung tatsächlich um die postulierte handelt.

4.1.2.3 Synthese von 5-NO₂-cycloSal-(1,2,3,6-tetra-O-acetyl-D-mannopyranosyl-4)-phosphat **133**

Um die in Kapitel 4.1.1.3 beschriebene, zu **132** regioisomere Verbindung **133** darzustellen, wurde zunächst die in Schema 74 gezeigte Syntheseroute aufgestellt. Wie in den vorangegangenen Kapiteln vorgestellt, sollte die Synthese des *cyclo*Sal-Triesters **133** analog zu der Synthese des entsprechenden Triesters in 6-Position, ausgehend von Verbindung **139**, erfolgen.

Schema 74: Retrosyntheseschema zur selektiven Darstellung von 133

Dieser 4-O-Fmoc-Baustein 139 sollte ausgehend von 1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-Ddargestellt werden. mannopyranose 127 In diesem Fall sollte eine Acetylgruppenwanderung in 127 kein Problem darstellen, da bereits berichtet wurde, dass zwar eine Wanderung der Acetylgruppe von der 4- auf die 6-Position sowohl im basischen als auch im sauren Medium stattfindet, nicht jedoch die entsprechende Rückreaktion. 104,105 Wie bereits in Kapitel 4.1.1.1 erläutert, besitzen die OH-Gruppen in Glycopyranosen unterschiedliche Reaktivitäten. Im Fall der Mannopyranose ist die Reaktivität der 4-OH-Gruppe am geringsten. Dies sollte nicht nur die Acetylgruppenwanderung in diesem Fall verhindern, sondern auch die Darstellung der 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose **127** ermöglichen. LEE *et al.* berichteten von der Darstellung von 1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose 127 mittels Umsetzung von Mannopyranose mit 5.7 Äquivalenten Essigsäureanhydrid in Anwesenheit von Natriumacetat bei Raumtemperatur.

Schema 75: Darstellung von 1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose **127**, LEE *et al*.

Sie erhielten ca. 60% des Pentaacetats **124** und 29% des gewünschten Produktes **127**. ¹⁰⁶ Da die Ausgangsmaterialien kostengünstig sind und das Pentaacetat ebenfalls noch benötigt wurde, erfolgte zunächst die Erprobung dieser Reaktionsbedingungen zur Darstellung der 4-OH-freien Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose **127**. Da die Menge an Essigsäureanhydrid nicht ausreichte, um ein Rühren der Suspension zu ermöglichen,

wurde Acetonitril als Lösungsmittel hinzugefügt. Auf diese Weise konnte Verbindung 127 lediglich in einer Ausbeute von 5% erhalten werden. Diese fiel also deutlich geringer aus, als in der Literatur angegeben. Williams und Mitarbeiter berichteten von der Darstellung der 1,2,3,6-Tetra-*O*-benzoate von Gluco- und Mannopyranose mittels Acylierung mit 4.2 Äquivalenten Benzoylchlorid in Pyridin bei -35 °C. Sie konnten das entsprechende *manno*-Derivat 140 in einer Ausbeute von 51% isolieren. ¹¹⁷

Schema 76: Darstellung von 1,2,3,6-Tetra-*O*-benzoyl-D-mannopyranose **140**, WILLIAMS *et al*.

Auf dieser Grundlage wurde der Versuch unternommen, das entsprechende Acetylderivat **127** unter Verwendung von Acetylchlorid darzustellen. Das gewünschte Produkt konnte mit einer Ausbeute von 24% erhalten werden. Diese Ausbeute liegt zwar wieder unterhalb der in der Literatur berichteten, jedoch war das Ergebnis schon zufriedenstellender. Nebenprodukte waren die pentaacetylierte Verbindung sowie solche Verbindungen, die weniger als vier Acetylgruppen trugen.

Es wurde im Verlauf dieser Arbeit bereits mehrfach auf das Problem der Acetylgruppenwanderung von der 4- auf die OH-freie 6-Position eingegangen. An dieser Stelle sollte nun der Versuch unternommen werden, diese synthetisch zu nutzen. Dazu wurde 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-TBDMS-D-mannopyranose 122 in Dichlormethan gelöst und mit drei Äquivalenten Triethylamin Trihydrofluorid versetzt. 18stündigem Rühren bei Raumtemperatur zeigte die Dünnschicht-Nach chromatographie eine vollständige Abspaltung der TBDMS-Gruppe. Nach der Aufarbeitung bestätigte das ¹H-NMR-Spektrum, dass das bekannte Gemisch aus 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose 126 und 1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-Dmannopyranose 127 erhalten wurde. Der Versuch, die Wanderung der Acetylgruppe von der 4- auf die 6-Position im Basischen zu vervollständigen, führte nicht zum gewünschten Erfolg. Im Sauren hingegen gelang es, aus dem Gemisch reine 1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-p-mannopyranose 127 zu erhalten (Schema 77). Dazu wurde das aus der Desilylierung erhaltene Gemisch 126/127 in Toluol gelöst und mit Essigsäure versetzt. Nach dreimaligem, jeweils achtstündigem Erhitzen auf 80 °C (in der Zwischenzeit wurden ¹H-NMR-Spektren kleiner Proben gemessen und bei Raumtemperatur gerührt) konnte mittels NMR-Spektroskopie festgestellt werden, dass nur noch die gewünschte 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose **127** vorhanden war.

Schema 77: Darstellung von 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose **127** mittels Acetylgruppenwanderung

So war es möglich, durch die verwendete Sequenz (Desilylierung gefolgt von Acetylgruppenwanderung im Sauren) Verbindung **127** mit einer Ausbeute von 85% zu erhalten. Die Ausbeute ausgehend von D-Mannopyranose beträgt auf diesem Weg 73%. Es sind zwar mehr Stufen nötig, als bei den zuvor vorgestellten direkten Synthesen, jedoch liegt die Ausbeute bedeutend höher und auch die Reinigung gestaltete sich wesentlich einfacher.

Als nächstes sollte die 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl-p-mannopyranose 127 zu dem 4-*O*-Fmoc-Derivat 139 umgesetzt werden, denn an dieser Stelle sollte die Anwendbarkeit der Strategie, in einer *one-pot*-Reaktion die Fmoc-Gruppe abzuspalten und das Intermediat direkt mit dem Phosphit abzufangen, an einer sekundären OH-Gruppe der Glycopyranose überprüft werden. Dazu wurde die in Dichlormethan gelöste 4-OH-freie Verbindung 127 mit zwei Äquivalenten FmocCl und sechs Äquivalenten Pyridin versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Da das Dünnschichtchromatogramm nach relativ kurzer Zeit keine Veränderung mehr zeigte, aber noch Edukt vorhanden zu sein schien, wurde ein weiteres halbes Äquivalent FmocCl hinzugefügt. Da sich nach insgesamt zwei Stunden keine weitere Umsetzung mehr zeigte, wurde die Reaktion aufgearbeitet. Nach aufwendiger säulenchromatographischer Reinigung wurden 15% des α-konfigurierten Produktes isoliert. Des Weiteren lag das Produkt als Gemisch beider Anomere in Mischfraktionen mit einem Nebenprodukt vor, welches nicht identifiziert werden konnte.

Schema 78: Darstellung von 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl-4-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-p-mannopyranose **139**

Da auf diesem Weg der *cyclo*Sal-Triester lediglich zur eindeutigen Identifizierung des Nebenproduktes aus den ersten Versuchen zur Triestersynthese dargestellt werden sollte, wurde auf eine Optimierung hinsichtlich der isolierten Ausbeute von Verbindung **139** verzichtet. **139** wurde – wie für das Regioisomer **134** beschrieben – für die Synthese des entsprechenden 5-Nitro-*cyclo*Sal-Triesters eingesetzt. Das Produkt konnte mit einer Ausbeute von 65% erhalten werden.

Schema 79: selektive Darstellung von 5-Nitro-*cyclo*Sal-(1,2,3,6-tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranosyl-4)-phosphat **133**

Das erhaltene 31 P-NMR-Spektrum ist in Abbildung 20 gezeigt. Da Verbindung **133** als reine α -konfigurierte eingesetzt wurde, wurde auch das Produkt als α -Anomer erhalten. Das Verhältnis der Diastereomere betrug α_1 : α_2 = 0.55:0.45.

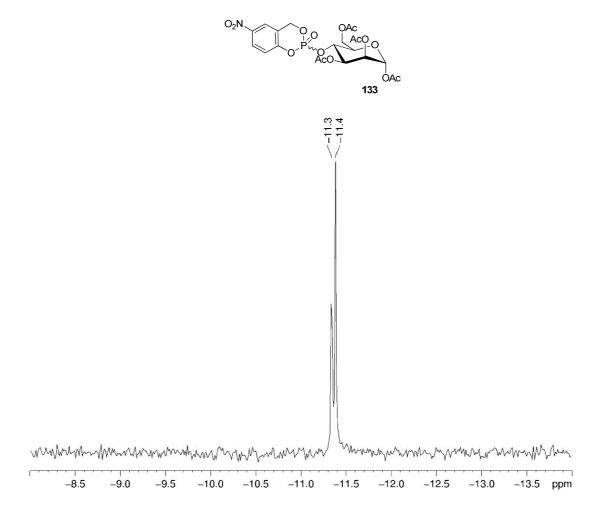


Abbildung 20: ³¹P-NMR-Spektrum von Verbindung **165**

Dieses konnte nun mit dem NMR-Spektrum des in Kapitel 4.1.1.3 beschriebenen Gemischs verglichen werden (Abb. 21).

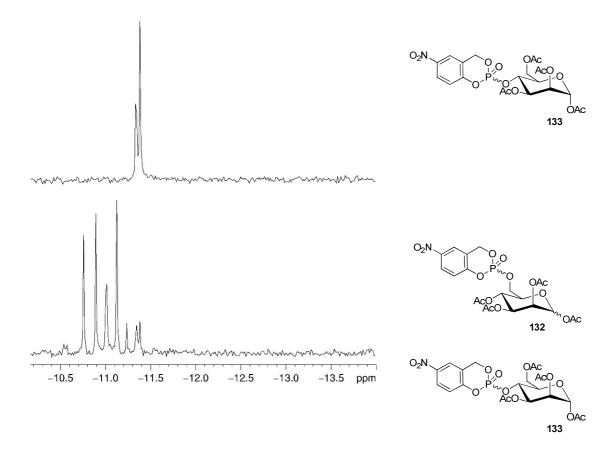


Abbildung 21: Vergleich der 31 P-NMR-Spektren von Verbindung **133** mit dem des Gemischs (vgl. Kapitel 4.1.1.3)

Man kann deutlich erkennen, dass die Signale des 4-Triesters **133** genau zu dem "Nebenprodukt" in dem unteren Spektrum passen. Auch die ¹H-NMR-Spektren lassen gleiches erkennen.

Somit konnte gezeigt werden, dass es sich bei der in Kapitel 4.1.1.3 beschriebenen Mischung tatsächlich um das vermutete Regioisomerengemisch aus den Verbindungen **132** und **133** handelte. Darüber hinaus stellt die erfolgreiche Synthese des *cyclo*Sal-Triesters an der 4-Position der Glycopyranose ein wichtiges Ergebnis für die Übertragung der in dieser Arbeit entwickelten Strategie auf die Darstellung von *cyclo*Sal-Triestern der sekundären OH-Gruppen von Glycopyranosen dar.

- 4.1.2.4 Synthese von 5-Nitro-cycloSal-(2-acetamido-2-desoxy-1,3,4-tri-O-acetyl-D-glucopyranosyl-6)-phosphat **145** mittels des Bausteins GlcNAc-**IIa 144**
- Die Entwicklung und Durchführung der im folgenden Kapitel dargelegten Syntheseroute erfolgte in Zusammenarbeit mit A. RUTHENBECK im Rahmen ihrer Bachelorarbeit am Departement Chemie der Universität Hamburg. –

Die für die Darstellung der gluco- und manno-konfigurierten Bausteine IIa entwickelte Syntheseroute sollte ebenfalls für die Darstellung des entsprechenden 2-Acetamido-2-desoxy-Derivates verwendet werden. Da von dem vollständig underivatisierten Zucker 2-Amino-2-desoxy-D-glucopyranose (Glucosamin) in Form des Hydrochlorids 141 ausgegangen wurde, musste zunächst die Acetylierung der Aminofunktion erfolgen. 118,119 So sollte zum einen die aufgrund der höheren Nucleophilie der Amino-Gruppe bevorzugte Reaktion dieser mit TBDMSCl verhindert und zum anderen die Löslichkeit der Verbindung erhöht werden. Dazu wurde Glucosaminhydrochlorid **141** in einer frisch hergestellten Lösung Natriummethanolat in Methanol suspendiert und für 15 Minuten in der Mikrowelle bei 50 °C (150 W) gerührt, um die Ammoniumfunktion in die basische Aminofunktion zu überführen. Das Erwärmen in der Mikrowelle zeigte hier erheblich bessere Ergebnisse als Rühren bei Raumtemperatur. Die nun klare Lösung wurde anschließend mit Essigsäureanhydrid versetzt und für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Auf eine Isolierung der 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose 142 wurde verzichtet. Es erfolgte direkt die Umsetzung zum 1,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-tertbutyldimethylsilyl-Derivat 143⁹⁷, analog zu der Darstellung der 6-Silylether-manno-/qluco-derivate 122 bzw. 123. Allerdings zeigten sich zwei Probleme: Erstens schien die Reaktion mit TBDMSCI deutlich langsamer zu verlaufen als im Fall der Mannose bzw. Glucose. Die erneute Zugabe von TBDMSCI brachte allerdings eine Verbesserung. Es wurde davon ausgegangen, dass im Rohprodukt verbliebenes Methanol mit einem Teil des TBDMSCl abreagierte. Aus diesem Grund wurde das Rohprodukt der Acetylierung der Aminofunktion in den folgenden Experimenten vor der Reaktion mit TBDMSCI mit Acetonitril coevaporiert. Zudem wurden statt einem Äquivalent eineinhalb Äquivalente TBDMSCI eingesetzt. Dies brachte nach einer Reaktionszeit von 90 Minuten das erwünschte Ergebnis. Anschließend wurde Essigsäureanhydrid hinzugegeben und für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Ein zweites Problem trat bei der Aufarbeitung auf: Die

erheblich höhere Polarität der 2-Acetamido-2-desoxy-Verbindung 143 im Vergleich zu dem gluco-Derivat 123 führte dazu, dass das Produkt eine relevante Löslichkeit in der wässrigen Phase aufwies, sodass auf den Waschschritt verzichtet werden musste. Das Rohprodukt wurde aus diesem Grund zur vollständigen Entfernung des überschüssigen Essigsäureanhydrids bzw. der Essigsäure ausführlich coevaporiert und anschließend mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat als Eluent gereinigt. 2-Acetamido-2-desoxy-1,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O-tert*butyldimethylsilyl-D-glucopyranose 143 konnte auf diese Weise über die beschriebenen vier Schritte mit einer Gesamtausbeute von 46% erhalten werden (Schema 80). Diese im Vergleich zu den Verbindungen 122 und 123 geringe Ausbeute konnte auch durch leichtes Erwärmen bei den einzelnen Reaktionsschritten nicht weiter gesteigert werden. Problematisch war sicherlich, dass nach dem ersten Schritt trotz intensiver Trocknung im Rohprodukt Methanol verblieb, welches bevorzugt mit dem zugegebenen TBDMSCI reagierte. Da die Menge nicht genau abgeschätzt werden konnte, wurden nur eineinhalb Äquivalente TBDMSCI zugegeben, denn bei einem Überschuss dieses Reagenzes bestand die Gefahr einer doppelten Silylierung des Zuckers. Allerdings ist die Reaktionsfolge von Verbindung 142 zu 143 in der Literatur⁹⁷ mit derselben Ausbeute beschrieben.

Anschließend erfolgte der Austausch der TBDMS-Gruppe gegen die Fmoc-Gruppe, wie im vorigen Kapitel bereits für das *manno*- bzw. *gluco*-Derivat beschrieben. Dazu wurde Verbindung **143** in wenig Dichlormethan gelöst und mit 15 Äquivalenten TEA*3HF versetzt. Nach einer Reaktionszeit von einer Stunde bei Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz mit Dichlormethan verdünnt und mit drei Äquivalenten FmocCl und neun Äquivalenten Pyridin versetzt. Nach dreistündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde erneut mit Dichlormethan verdünnt, dreimal mit wenig Wasser gewaschen und anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel mit Ethylacetat als Eluent gereinigt. 2-Acetamido-2-desoxy-1,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-Dglucopyranose **144** konnte auf diese Weise mit einer Ausbeute von 85% erhalten werden. Die Reaktionen verliefen also ähnlich gut wie mit den *manno-/gluco*-Derivaten **134/137**. Somit beträgt die Gesamtausbeute der sechs Schritte umfassenden Reaktionsfolge 39% (Schema 80).

Schema 80: Darstellung von 2-Acetamido-2-desoxy-1,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-glucopyranose **144** ausgehend von Glucosaminhydrochlorid **141**

Mit 144 stand der Baustein zur Verfügung, mit dem in analoger Weise wie für die gluco- und manno-Derivate die Synthese des cycloSal-Triesters vorgenommen werden sollte. Wie in Kapitel 4.1.2.2 beschrieben, wurde 2-Acetamido-2-desoxy-1,3,4-tri-Oacetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonyl-p-glucopyranose 144 in trockenem Acetonitril mit 5-NO₂-cycloSaligenylchlorphosphit **131**, ebenfalls trockenem Acetonitril, versetzt. Anschließend wurde bei Raumtemperatur die Base (Triethylamin) hinzugegeben, wodurch die Reaktion gestartet wurde. Als die Dünnschichtchromatographie den vollständigen Umsatz der Verbindung 144 anzeigte, wurde bei -10 °C mit Oxone oxidiert. Nach der säulenchromatographischen Reinigung mit Ethylacetat und einem Zusatz von 2% Essigsäure als Eluent konnte das gewünschte Produkt 145 in einer Ausbeute von 55% erhalten werden. Die Gesamtausbeute zur Darstellung des cycloSal-Triesters 145 ausgehend von Glucosaminhydrochlorid 141 betrug 21% über neun Stufen. Es konnte damit gezeigt werden, dass sich die für die manno- und gluco-Derivate 132/138 entwickelte Syntheseroute ebenfalls für das Aminozuckerderivat 145 eignete.

Schema 81: Selektive Synthese des *cyclo*Sal-2-acetamido-2-desoxy-*gluco*-Triesters **145** ausgehend von der 6-Fmoc-Verbindung **144**

Das entsprechende ³¹P-NMR-Spektrum ist in Abbildung 22 gezeigt. In diesem Fall liegen die Signale der Diastereomeren übereinander, so dass sich nicht vier getrennte Signale ergeben. Aus dem ¹H-NMR-Spektrum konnte lediglich das Anomerenverhältnis bestimmt werden, welches den gleichen Wert wie das für die Reaktion eingesetzte Anomerengemisch **144** aufwies. Die Signale für die Phosphor-Diastereomeren der jeweiligen Anomere lagen nicht basisliniengetrennt vor.

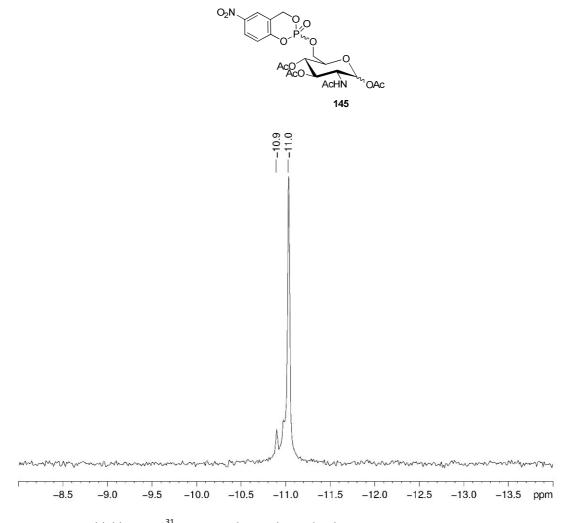


Abbildung 22: ³¹P-NMR-Spektrum der Verbindung **145**

4.1.2.5 Synthese von 5-Nitro-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-D-galactosyl-6)phosphat **146** mittels des Bausteins galacto-**IIa 147**

Wie bereits in Kapitel 4.1.1.1 erläutert, konnte die für die Darstellung der manno-, gluco- und Glucosamin-Derivate 134, 137 und 144 entwickelte, sehr erfolgreiche Synthesestrategie für die Darstellung der entsprechenden *galacto*-konfigurierten Verbindung aufgrund deutlich geringerer Regioselektivität bei der Blockierung der primären Hydroxylgruppe mit TBDMSCl nicht angewendet werden. Differenzierung der primären 6-OH-Gruppe gegenüber den anderen Hydroxylgruppen der Galactopyranose kann durch Umsetzung zu 1:2,3:4-Di-O-isopropylidengalactopyranose 149 erfolgen. Dies gelingt durch die Reaktion von Galactopyranose mit 2,2-Dimethoxypropan unter saurer Katalyse in Aceton. Allerdings eignen sich diese Acetal-Schutzgruppen weder für die Synthese von Phosphatdiester-verbrückten Glycopyranosiden noch für die Darstellung von Di-/Triphosphaten solcher Strukturen, da ihre Abspaltung unter sauren Bedingungen erfolgt, unter denen die Kupplungsprodukte nicht stabil sind. Da die Fmoc-Gruppe aber eine gewisse Stabilität gegenüber sauren Reaktionsbedingungen aufweist, sollte das 1:2,3:4-Di-O-acetalblockierte Derivat 149 zu dem 6-Fmoc-Derivat 148 umgesetzt werden (Schema 82). Hier sollte nun der Schutzgruppenwechsel für die Positionen 1-4 erfolgen. So kann die zu den manno- bzw. qluco-konfigurierten analoge Verbindung 147 erhalten werden.

$$O_2N$$
 O_2N
 O_2N

Schema 82: Retrosyntheseschema zu der alternativen Synthesestrategie zur Darstellung des *cyclo*Sal*-galacto-*Triesters **146**

Der erste Schritt ist die Bildung der 1:2,3:4-Di-*O-iso*propyliden-D-galactopyranose **149**, die in Aceton mit 2,2-Dimethoxypropan und *para*-Toluolsulfonsäure (*p*TSA) als Katalysator in einer Reaktionszeit von 70 Stunden bei Raumtemperatur gelang. Das Produkt **149** wurde ohne Isolierung direkt weiter umgesetzt. Dazu wurde das Rohprodukt nach der Aufarbeitung in Dichlormethan gelöst und mit FmocCl und Pyridin versetzt. Nach bereits 30 Minuten konnte mittels Dünnschichtchromatographie eine vollständige Umsetzung festgestellt werden. Nach der Aufarbeitung und der Säulenchromatographie konnte Verbindung **148** in einer Gesamtausbeute von 53% ausgehend von Galactose **150** erhalten werden.

Schema 83: Darstellung von 1:2,3:4-Di-*O-iso* propyliden-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-p-galactose **148**

Der Grund für diese mäßige Ausbeute könnte in der unvollständigen Umsetzung der Galactose zu dem Di-*O-iso*propyliden-blockierten Derivat **149** liegen, dies konnte bereits zuvor beobachtet werden. Es wurden mit den auch hier gewählten Reaktionsbedingungen 75% des Produktes **149** nach der säulenchromatographischen Reinigung erhalten. Da die weitere Reaktion mit nur einem Äquivalent FmocCl vorgenommen wurde, würde bei diesem Schritt die Ausbeute durch eine unvollständige Umsetzung im ersten Schritt gemindert, da dann mehr OH-Gruppen vorhanden sind, mit denen das Reagenz umgesetzt werden kann. Da aber ausreichend Material für die Erprobung der weiteren Reaktionsschritte zur Verfügung stand, wurde auf eine Optimierung verzichtet.

Im nächsten Schritt sollte der Wechsel der *Iso*propylidenacetale gegen Acetyl-Schutzgruppen vorgenommen werden. Acetale sind unter basischen Bedingungen stabil und werden unter sauren Bedingungen gespalten. *Iso*propylidenacetale werden häufig durch Eisessig oder Trifluoressigsäure (90%ig) abgespalten. Da die deblockierten

OH-Gruppen der Positionen 1-4 im Anschluss acetyliert werden sollten, wurde zunächst erprobt, ob dies in einem Schritt möglich ist.

Schema 84: Versuche zur Darstellung von 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-galactose **147** ausgehend von der *Iso*propyliden-blockierten Verbindung **148**

Dazu wurden verschiedene Reaktionsbedingungen getestet, die in Tabelle 1 zusammengefasst sind.

Tab. 1: Versuche zu dem Tausch der *Iso*propyliden- gegen Acetyl-Schutzgruppen in Verbindung **148**

	Temperatur	Reaktionszeit	Lösungsmittel	Zusatz	Ergebnis
1	80 °C	15 min	HOAc	Ac ₂ O (20 Äq.)	Keine Bildung
					von 147
2	60-100 °C	3.5 h	HOAc	-	Keine Bildung
					von 147
3	90 °C	7 h	Ac ₂ O	konz. HCl	Bildung von
				(6 Tropfen)	147 , sehr
					gering
4	90°C	7 h	Ac ₂ O	AcCl (4 Äq.)	Bildung von
					147 , sehr
					gering
5	i) 90 °C	i) 1 h	i) HOAc	i) konz. HCl (6	Bildung von
				Tropfen)	147
	ii) Rt	ii) 18 h	ii) Pyridin	ii) Ac₂O	
6	i) 80 °C	i) 10 min	i) Dioxan	i) 2M HCl	57% 147
				(8 Äq.)	
	ii) Rt	ii) 6 h	ii) Pyridin/	ii) Ac ₂ O	
			CH ₃ CN 1:1		

Es zeigte sich (Zeile 1-4), dass weder bei Verwendung von Essigsäure noch Essigsäureanhydrid als Lösungsmittel und der Zugabe verschiedener Säuren bzw. Reagenzien, welche mit dem wasserhaltigen Lösungsmittel Säure freisetzen, die erwünschte direkte Umsetzung zu 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-galactose **147** in zufriedenstellendem Maße stattfand. Die Ansätze, in denen die Spaltung der Acetale und die Veresterung in zwei Schritten vorgenommen wurden (Zeile 5 und 6), zeigten deutlich bessere Ergebnisse.

Leider wurde in größeren Ansätzen (2 g) die Bildung eines Nebenproduktes offenbar. Dieses bildete sich zwar nur in sehr untergeordnetem Maße, jedoch gestaltete sich die säulenchromatographische Abtrennung des Produktes schwierig. Daher wurde versucht, die Bildung dieses Nebenproduktes durch die säulenchromatographische Reinigung intermediär gebildeten 6-*O*-Fluorenylmethoxycarbonyl-Dder galactopyranose 151 unterbinden. Chromatographie gelang zu Die Dichlormethan/Methanol im Verhältnis 9:1 (R_f 0.2). Dennoch betrug die isolierte Ausbeute an **147** bei dieser Ansatzgröße nur 44%. Es wurde das α-Anomer isoliert, während das β-Anomer in verunreinigten Fraktionen vorlag, das Nebenprodukt konnte nicht identifiziert werden.

Schema 85: Darstellung von 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-galactose **147** ausgehend von der *Iso*propyliden-blockierten Verbindung **148**

Somit konnte auch ausgehend von Galactose das Vorläufermolekül **147** erhalten werden, welches als Ausgangsverbindung für die Synthese des *cyclo*Sal-Triesters **146** dienen sollte. Die Gesamtausbeute für **147** ausgehend von D-Galactose betrug 23% über vier Stufen. Auf eine Optimierung der Reaktionssequenz wurde an dieser Stelle verzichtet, da das Hauptaugenmerk auf der Synthese des *cyclo*Sal-Triesters **146** liegen sollte und für diesen Zweck eine ausreichende Menge an **147** zur Verfügung stand.

Die Synthese des 5-Nitro-*cyclo*Sal-(1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl-D-galactopyranosyl-6)-phosphates **146** wurde wie zuvor beschrieben durchgeführt. Dazu wurde 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-α-D-galactopyranose **147** in trockenem Acetonitril gelöst und mit ebenfalls in trockenem Acetonitril gelöstem 5-NO₂-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **131** versetzt. Nach Zugabe von Triethylamin wurde die Reaktionslösung bei Raumtemperatur gerührt, bis dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz der Ausgangsverbindung zu dem Phosphit-Intermediat detektiert werden konnte (drei Stunden). Anschließend wurde mit Oxone oxidiert.

Schema 86: selektive Synthese des *cyclo*Sal-*galacto*-Triesters **146** ausgehend von der 6-Fmoc-Verbindung **147**

Nach der Säulenchromatographie mit einem Zusatz von 2% Essigsäure zum Eluenten zur Vermeidung einer Hydrolyse des aktivierten Phosphattriesters konnte das gewünschte Produkt **146** mit einer Ausbeute von 59% erhalten werden. Auch diese Ausbeute liegt somit in dem Bereich, der für die *manno-, gluco-* und 2-Acetamido-2-desoxy-*gluco-*Derivate **132**, **138** und **145** erreicht werden konnte. Das zugehörige ³¹P-NMR-Spektrum ist in Abbildung 23 gezeigt.

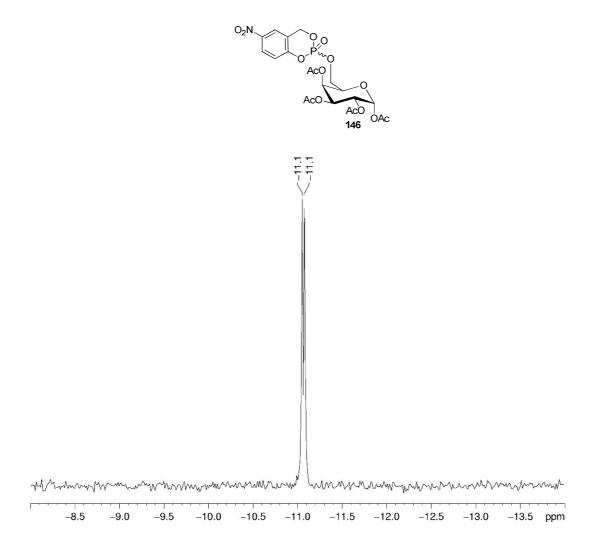


Abbildung 23: 31P-NMR-Spektrum der Verbindung 146

Da eine α -anomerenreine Verbindung für die Synthese eingesetzt wurde, wurde auch das Produkt als reines α -Anomer erhalten. Aus dem 1 H-NMR-Spektrum konnte das 1:1-Verhältnis der zwei Phosphor-Diastereomere bestimmt werden. Die Gesamtausbeute für diese siebenstufige Syntheseroute betrug 14%.

Bei den beschriebenen Reaktionsansätzen zur Darstellung der *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphate **132**, **138**, **145** und **146** handelte es sich um Ansatzgrößen von 200 - 500 mg der 6-*O*-Fluorenylmethoxycarbonyl-Ausgangsverbindungen **IIa**. Es war trotz mehrfacher Versuche nicht erfolgreich, diese auf ein Gramm zu erhöhen. Zwar konnte in jedem Fall das gewünschte Produkt erhalten werden, allerdings sank die Ausbeute mit steigender Menge der Ausgangsverbindung stark. Bei einer Ansatzgröße von einem Gramm der 1,2,3,4-Tetra-

O-acetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonylmannopyranose **134** konnte das Produkt lediglich mit einer Ausbeute von 27% erhalten werden. Ein Grund für dieses Phänomen konnte nicht gefunden werden. Denkbar ist, dass bei einem größeren Reaktionsansatz die Säulenchromatographie aufgrund der Labilität des Produktes eine stärker limitierende Wirkung ausübt, jedoch kann so eine Halbierung der Ausbeute wohl nicht erklärt werden.

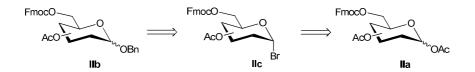
4.1.3 Derivatisierung der Vorläuferverbindungen IIa zur Darstellung von komplexeren *cyclo*Sal-(Glycopyranosidyl-6)-phosphaten Ib

Um im Vergleich zu den zuvor beschriebenen cycloSal-(1,2,3,4-tetra-O-acetylglycopyranosyl-6)-phosphaten I komplexere Verbindungen dieser Art darzustellen, wurde eine konvergente Syntheseroute erprobt. Dazu sollte die 6-O-Fluorenylmethoxycarbonyl-Vorläuferverbindung IIa in der 1-Position derivatisiert werden, um so direkt die Vorläuferverbindung IIb zur Darstellung des entsprechenden cycloSal-Triesters Ib zu erhalten. Auf diese Weise sollte zum einen ermöglicht werden, eine zu den Acetylgruppen orthogonale Schutzgruppe in der 1-Position einzuführen. Zum anderen sollte untersucht werden, ob die Einführung einer weiteren Glycopyranose – so dass das entsprechende Disaccharid erhalten würde – bzw. einer Nucleobase – so dass das entsprechende Pyranonucleosid erhalten würde – möglich ist.

Schema 87: Retrosyntheseschema zur Darstellung von in 1-Position derivatisierten *cyclo*Sal-(Glycopyranosidyl-6)-phosphaten **lb**

4.1.3.1 Darstellung eines cycloSal-(benzyl-2,3,4-tri-O-acetyl-p-glycopyranosidyl-6)-phosphates

Zuerst sollte die Einführung einer Benzylschutzgruppe in 1-Position an Baustein IIa vorgenommen werden. Dies kann über eine Glycosylierungsreaktion von Benzylalkohol mit IIa erfolgen. Sofern dieser unverändert eingesetzt wird, handelt es sich grundsätzlich um eine Glycosylierung nach Helferich, die unter saurer Katalyse erfolgen kann. Häufig sind hier höhere Reaktionstemperaturen und relativ starke Säuren vonnöten. Eine Alternative bietet die Glycosylierung nach Koenigs und Knorr, auf die bereits in Kapitel 2.1 eingegangen wurde. Dazu muss zunächst Baustein IIa in das entsprechende Glycopyranosylbromid IIc überführt werden, welches dann unter Aktivierung durch ein Silbersalz mit Benzylalkohol zu IIb umgesetzt werden kann.



Schema 88: Retrosyntheseschema zur Darstellung von in 1-Position derivatisierten Verbindungen **IIb**

Je nach Reaktionsführung kann das α - oder das β -konfigurierte Produkt **IIb** erhalten werden.²⁷ In dieser Arbeit wurde das reaktivere Glycopyranosylbromid **IIc** genutzt, um so die für die Glycosylierung mit **IIa** berschriebenen hohen Reaktionstemperaturen unter stark sauren Bedingungen zu vermeiden. Üblicherweise erfolgt die Darstellung der Tetra-O-acetyl-glycopyranosylbromide durch Reaktion des in Dichlormethan gelösten Pentaacetats mit HBr in Essigsäure. Bei der Isolierung des Bromids ist unbedingt auf eine vollständige Neutralisation des Reaktionsgemisches zu achten, da das Bromid unter sauren Bedingungen sehr instabil ist. Ferner ist es gegen hohe Temperaturen instabil, eine Hydrolyse ist sogar im Tiefkühlschrank (-18 °C) nach einigen Wochen zu beobachten. Die Neutralisation erfolgt gewöhnlich durch das Waschen der organischen Reaktionslösung mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung. In dem vorliegenden Fall stellte dies eine hohe Hürde dar, da die Fmoc-Schutzgruppe schon unter leicht basischen Bedingungen abgespalten wird. Es musste also genauestens darauf geachtet werden, dass die Reaktionslösung zu keiner Zeit in basische Bedingungen eingebracht wurde. Gleichzeitig durfte die Reaktionslösung wegen der Instabilität des Bromids unter keinen Umständen bei der Aufarbeitung sauer sein. Dennoch wurde der Versuch unternommen, auf diese Weise eine Benzylschutzgruppe in Position 1 an Verbindung 137 einzuführen. Zur Überführung in das entsprechende Bromid 152 wurde Verbindung 137 zunächst gelöst in Dichlormethan mit HBr in Eisessig (33%ig) versetzt. Nachdem die Reaktionslösung für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt worden war, konnte dünnschichtchromatographisch der vollständige Umsatz von Verbindung 137 detektiert werden.

Schema 89: Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonyl- α -D-glucopyranosyl-1-bromid **152**

Zur Hydrolyse des überschüssigen Bromwasserstoffs wurde die Reaktionslösung auf Eiswasser gegeben und vorsichtig mit verdünnter NaHCO₃-Lösung neutralisiert. Anschließend wurden die Phasen getrennt, die organische Phase getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Auf eine Reinigung des Bromids 152 wurde aufgrund seiner Labilität verzichtet. Es wurde als Rohprodukt für die Glycosylierungsreaktion eingesetzt.

Dazu wurde dieses zunächst in Dichlormethan gelöst und mit drei Äquivalenten Benzylalkohol versetzt. Diese Lösung wurde zur Vermeidung einer Hydrolyse des Bromids während der anschließenden Reaktion für eine halbe Stunde über frisch aktiviertem Molsieb stehen gelassen. Dann wurde Silbercarbonat portionsweise hinzugegeben und das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss gerührt.

Schema 90: Umsetzung des Bromids **152** zu der in 1-Position derivatisierten Verbindung Benzyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonyl- β -D-glucopyranosid **153**

Nach einer Reaktionszeit von einer Stunde und 45 Minuten wurde mittels Dünnschichtchromatographie ein vollständiger Umsatz des Bromids 152 festgestellt. Nach der Filtration des Reaktionsgemischs erfolgte eine Säulenchromatographie. Das gewünschte Produkt **153** konnte in einer Ausbeute von 42% als reines β -Anomer erhalten werden. Dies war auch zu erwarten, da dass Bromid aufgrund des anomeren Effektes als reines α-Anomer gebildet wird und keine Bedingungen zur Anomerisierung des Bromids vorlagen. Durch den Nachbargruppeneffekt, den die Acetylgruppe in der 2-Position ausübt, wird lediglich das β-konfigurierte Produkt gebildet (eine genauere Beschreibung erfolgte bereits in Kapitel 2.1, Glycosylbromide). Die Ausbeute wurde in erster Linie durch die Hydrolyse des Bromids limitiert. Dies könnte durch genauere Neutralisation bei der Aufarbeitung des ersten Reaktionsschritts sowie bessere Trocknung der Reaktanden vor der Zugabe des Silbercarbonats im zweiten Reaktionsschritt weitgehend vermieden werden. Eine Abspaltung der Fmoc-Gruppe konnte nur in sehr untergeordnetem Maße festgestellt werden. Festzuhalten bleibt das erfreuliche Ergebnis, dass sich die Vorläuferverbindung lla für Glycosylierungsreaktionen des Koenigs-Knorr-Typs eignet. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird darüber hinaus noch aufgezeigt werden, dass sie sich ebenso für Helferich-Glycosylierungsreaktionen eignet.

Im Anschluss wurde Verbindung **153**, auf gleiche Weise wie in den vorangegangenen Abschnitten gezeigt, zur Synthese des entsprechenden 5-NO₂-cycloSal-Triesters **154** eingesetzt.

Schema 91: selektive Synthese des *cyclo*Sal-*gluco*-Triesters **154** ausgehend von der 6-Fmoc-Verbindung **153**

Die Synthese und Isolierung gelangen problemlos und das gewünschte Produkt **154** konnte in einer Ausbeute von 66% erhalten werden, damit liegt auch diese Ausbeute in demselben Bereich wie sie für die Derivate **132**, **138**, **145** und **146** erzielt werden konnte. Die Gesamtausbeute für die Darstellung von Verbindung **154** ausgehend von

Glucose beträgt somit 19% über neun Stufen. Das Nadelöhr bildete dabei die Glycosylierungsreaktion, welche nicht optimiert wurde. In Abbildung 24 ist das dazugehörige ³¹P-NMR-Spektrum gezeigt.

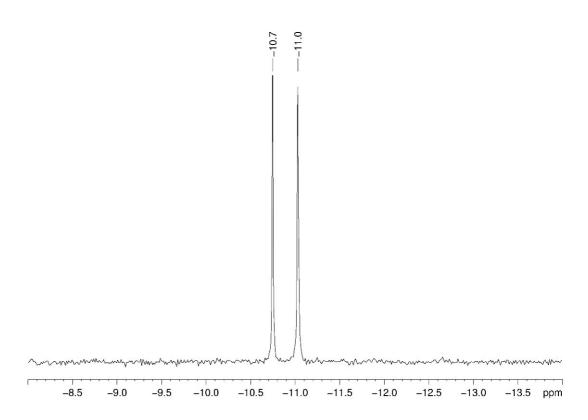


Abbildung 24: ³¹P-NMR-Spektrum der Verbindung **154**

Es wurden 2 Diastereomere erhalten, da die Verbindung als reines β -Anomer eingesetzt wurde. Das Verhältnis betrug 0.88:1.0.

Weitere Versuche zur Derivatisierung der Vorläuferverbindung **IIa** werden in den folgenden Kapiteln 4.1.4 und 4.2 vorgestellt.

4.1.4 Darstellung eines *cyclo*Sal-Triesters an der endständigen primären OH-Gruppe eines Disaccharids

Die bislang gesammelten Erkenntnisse sollten nun auf die Darstellung eines *cyclo*Sal-(Disaccharid-6')-phosphats (Abb. 25) angewendet werden.

Abbildung 25: cycloSal-(Disaccharid-6')-phosphat

Als Disaccharid wurde (D-Mannopyranosyl-4)- β -D-galactopyranosid **155**, also das C2-Epimer der Lactose **156**, ausgewählt. Dieses kommt – über Phosphatbrücken zwischen C1 und C6' verknüpft – als bedeutendes Strukturelement in dem natürlichen Lipophosphoglycan (sowohl membranverankert auf der Oberfläche als auch als Proteophosphoglycan sekretiert) des Parasiten *Leishmania* vor.⁷

Abbildung 26: Lactose **156**, (D-Mannopyranosyl-4)- β -D-galactopyranosid **155** und das aus diesem Disaccharid aufgebaute Phosphoglycan

Dieses Phosphoglycan ist zum einen in seiner Funktion als Antigen ein interessantes Strukturtemplat für Vaccinierung und zum anderen hat es eine sehr interessante Wirkung auf das Immunsystem des Wirts: Es stimuliert die Phagocytose des Parasiten durch Macrophagen ("silent entry").^{10,123} In diesen sichert es sein Überleben durch "Deaktivierung" der Makrophage, indem es die Produktion des Cytokins IL-12 hemmt. Dieses spielt auch bei der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen eine Rolle. Es würde T-Zellen aktivieren und zur Produktion des IFN-γ anregen. Das wiederum hätte

zur Folge, dass die iNOS Expression in den Makrophagen angeregt würde und es so zum Zelltod der Makrophagen und damit auch des Parasiten käme.^{7,9,10}

Verschiedenen Gruppen ist bereits die Synthese von Phosphatdiester-verbrückten Strukturen dieses Disaccharids gelungen, dabei bedienten sie sich zumeist der H-Phosphonat-Methode zur Knüpfung des Phosphatdiesters. ^{42,47-49} Hier sollte dies nun mittels der *cyclo*Sal-Methode erfolgen. Daher war zunächst die Darstellung des Triesters **157** ein wichtiges Ziel, welches ausgehend von der 6'-Fmoc-blockierten Verbindung **158** erreicht werden sollte. Dieser Ausschnitt der geplanten Retrosynthese ist in Schema 92 gezeigt.

Schema 92: Retrosyntheseschema zur Darstellung des *cyclo*Sal-(Disaccharid-6')-phosphats **157**

Ein möglicher Ansatz für die Darstellung der Verbindung **158** ist auch hier eine selektive Blockierungsstrategie mit der TBDMS-Gruppe und deren anschließender Austausch gegen die Fmoc-Gruppe, wie er bei den Monosacchariden erfolgte.

Schema 93: Retrosyntheseschema zur Darstellung von 158

4.1.4.1 Versuch der Darstellung von **159** nach Ruhela und Vishwakarma

Da das Disaccharid nicht kommerziell erhältlich ist, musste dieses zunächst dargestellt werden. Dabei wurde anfangs der Ansatz verfolgt, welcher von Ruhela und Vishwakarma beschrieben wurde.⁴⁷ Er basiert auf der Epimerisierung der C2-OH-Gruppe von Lactose **156** durch Darstellung des Lactals **161** und anschließende selektive Oxidation (Schema 94). Ein Vorteil bei diesem Ansatz ist, dass auf der Stufe des Lactals

die C6'-OH-Gruppe bereits selektiv mit der TBDMS-Gruppe geschützt wurde, so dass ein für die hier entwickelte Syntheseroute sehr geeigneter Vorläufer erhalten würde.

Schema 94: Darstellung von (1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranoseyl-4)-2,3,4,tri-O-acetyl-6-O-TBDMS- β -D-galactopyranosid **159**, RUHELA und VISHWAKARMA

Dazu wurde zunächst Lactose **156** unter Standardbedingungen peracetyliert und anschließend in das Bromid **163** überführt. Dieses wurde mittels reduktiver Eliminierung mit Zink und 1-Methylimidazol zu dem Lactal **164** umgesetzt. ^{47,124}

Schema 95: Synthese des Hexa-O-acetyl-D-lactals 164

Für diese drei Schritte konnte eine Ausbeute von 65% erzielt werden, wobei der erste Schritt nahezu quantitativ das Octaacetat **160** lieferte. Limitierend waren die geringe Stabilität des Bromids **163** sowie Schwierigkeiten bei dessen Zugabe zu der siedenden Suspension von Zink in trockenem Ethylacetat und 1-Methylimidazol unter Feuchtigkeitsausschluss.

Als nächstes folgte die Deacetylierung von Lactal **164** und anschließend die selektive Umsetzung zu dem Silylether in 6'-Position. Eine Strategie zur Selektierung zwischen verschiedenen OH-Gruppen, vor allem bei Glycosiden, auf die bis jetzt noch nicht

eingegangen wurde, ist die Umsetzung mit Dibutylzinnoxid.¹²⁵ Dabei bildet sich ein Stannylenacetal, welches selektiv mit dem gewünschten Reagenz umgesetzt werden kann. In der Stannylen-Verbindung ist die Nucleophilie einer OH-Gruppe gegenüber der Nucleophilie der anderen OH-Gruppe erhöht, sodass bevorzugt ein Produkt gebildet wird.¹²⁵ Dabei kann aber in Abhängigkeit von dem Reagenz, mit dem die OH-Gruppe umgesetzt werden soll, die reaktivere OH-Gruppe variieren.¹²⁶ Möglich wird dies durch das Vorliegen verschiedener Stannylenacetale im Gleichgewicht. Im Fall der *galacto*-Konfiguration kann dieses in der 4:6-, 3:4- und 2:3-Position vorliegen.^{127,128} Für den Fall eines Alkyl-p-lactosids ist das Stannylenacetal beschrieben, welches bevorzugt durch die Reaktion mit Dibutylzinnoxid gebildet wird.¹²⁶ Dieses ist in Schema 96 gezeigt, wobei es aber in Lösung dynamisch ist.

Schema 96: Reaktion eines Alkyl-D-lactosids mit Dibutylzinnoxid zum entsprechenden 3':4'-Stannylenacetal

LEIGH et al. berichteten, dass die Umsetzung dieser Verbindung mit TBDMSCI in trockenem THF zu der selektiven Silylierung der 6'-OH-Gruppe führte. 126 Dies bedeutet nicht, dass für die Blockierung mit jeder beliebigen Schutzgruppe dieselbe Selektivität auftritt. Es wurde berichtet, dass unter ähnlichen Bedingungen die meisten anderen Schutzgruppen zu den entsprechend 3'-blockierten Derivaten führten. 126 In einem anderen Zusammenhang, welcher zu einem späteren Zeitpunkt in dieser Arbeit behandelt wird (Kapitel 4.2), wurde der Versuch unternommen, ein Galactopyranosid durch Überführung in das Stannylenacetal und anschließende Reaktion mit FmocCl in die 6-Fmoc-derivatisierte Verbindung umzusetzen. Hier zeigte sich, dass auf diesem Weg die 3-Fmoc-derivatisierte Verbindung entsteht (Kapitel 4.2.2). Aus diesem Grund konnte nicht direkt die 6'-Fmoc-Vorläuferverbindung 158, welche für die Darstellung des Triesters 157 benötigt wurde, erhalten werden. Erneut wurde der Umweg über das entsprechende TBDMS-Derivat gegangen. In der von Ruhela und Vishwakarma publizierten Synthese wurde das deacetylierte Lactal 161 auf diese Weise, also durch Reaktion mit Dibutylzinnoxid und anschließende Umsetzung mit TBDMSCI, in das 6'-TBDMS-blockierte Derivat 162 überführt, welches in einer Ausbeute von 80% isoliert wurde. 47-49 Mittels dieser Synthesesequenz und der vorgeschalteten Deacetylierung wurde für die Darstellung von Verbindung **162** in dieser Arbeit eine Ausbeute von 32% ausgehend von dem peracetylierten Lactal **164** erzielt. Es konnte beobachtet werden, dass die Reaktion des Stannylenacetals mit TBDMSCl auch bei wiederholter Zugabe von TBDMSCl nicht vollständig ablief, worin der Grund für die deutlich geringere Ausbeute gesehen wird. Die Bildung von Nebenprodukten (durch Mehrfachsilylierung) konnte nur in sehr untergeordnetem Maß beobachtet werden.

Schema 97: Darstellung des 6'-Silylether-Derivats **162** ausgehend von Lactal **164**

Anschließend sollte diese Verbindung nach der Methode von Ruhela und VISHWAKARMA mittels *m*CPBA zu der *manno*-konfigurierten Verbindung **165** oxidiert werden. Diese sollte durch anschließende Acetylierung in Verbindung **159** überführt werden. Nach Ruhela und VISHWAKARMA wurde die Oxidation auf folgende Weise vorgenommen: Das 6'-TBDMS-derivatisierte Lactal **162** wurde in Wasser gelöst und bei -10 °C mit *m*CPBA, gelöst in Diethylether, versetzt und anschließend für vier Stunden bei 0 °C gerührt. In den in dieser Arbeit durchgeführten Versuchen gelang es nicht, die Reaktionslösung bei einer Temperatur von -10 °C in flüssigem Zustand zu halten, weshalb von Beginn an bei 0 °C gearbeitet wurde. Es zeigte sich, dass unter diesen Bedingungen eine Spaltung des Silylethers in erheblichem Umfang stattfand. Dies wurde auf die sauren Eigenschaften der *m*CPBA zurückgeführt (Schema 98, oben). Aus diesem Grund wurde versucht, die Reaktionslösung durch Zugabe von Natriumhydrogencarbonatlösung zu puffern. Hierbei konnte aber ein Wandern der TBDMS-Gruppe festgestellt werden – ein für Silylether unter basischen Bedingungen

nicht unüblicher Vorgang. Vermutlich lag der Silylether in dem Nebenprodukt an der 3'-Position vor (Schema 98, Mitte). Es wurde auch versucht, Verbindung 162 zuerst zu acetylieren, um dann die Oxidation ohne die Schutzgruppenwanderung durchführen zu können. Hier zeigte sich, dass für die selektive Oxidation zu der *manno*-konfigurierten Verbindung 165 die freien OH-Gruppen unerlässlich sind (Schema 98, unten), da die *gluco*-konfigurierte Verbindung 167 in großer Menge gebildet wurde. Dieses Ergebnis ist in guter Übereinstimmung mit in der Literatur berichteten Ergebnissen zur Epoxidierung von Glucalen. Wird das blockierte Glucal eingesetzt, so wird mit verschiedenen Oxidationsmitteln jeweils das *trans*-Epoxid erhalten. Die Hydrolyse dieses Epoxids liefert die *gluco*-konfigurierte Verbindung. Bei dem Einsatz der unblockierten Glucal-Verbindung wird überwiegend die *manno*-konfigurierte Verbindung erhalten, da die Epoxidierung bevorzugt *syn* zu der freien C3-OH-Gruppe stattfindet.

i.
$$mCPBA$$
 H_2O , Et_2O
 $0 ° C$
ii. Ac_2O
 $Pyridin$
162

I. $mCPBA$
 $AcOOAC$
 $AcOOTBDMS$
i. Ac_2O
 $AcOOTBDMS$
ii. Ac_2O
 $AcOOTBDMS$
ii. Ac_2O
 $AcOOTBDMS$
iii. Ac_2O
 $AcOO$
 $AcOO$

Schema 98: Verschiedene Versuche zur Darstellung von Verbindung 159

Es war nicht möglich, die Synthese von Ruhela und Vishwakarma nachzuvollziehen. Da eine säulenchromatographische Trennung der Verbindungen **159** und **167** nicht gelang, konnte die gewünschte Verbindung **159** auf diesem Weg nicht erhalten bzw. isoliert werden.

4.1.4.2 Versuch der Darstellung von **158** über Glycosylierung

Als nächstes wurde ein Ansatz gewählt, dessen Schlüsselschritt in einer Glycosylierungsreaktion zur Knüpfung des Disaccharids besteht (Schema 99). Auf diese Weise sollte es ermöglicht werden, direkt die bereits selektiv in der 6-Position Fmocderivatisierte *galacto*-Verbindung **147** einzusetzen (Kapitel 4.1.3). Somit wären auf der Stufe des Disaccharids keine weiteren regioselektiven Blockierungen mehr nötig und es könnte direkt der *cyclo*Sal-Triester dargestellt werden.

Schema 99: Retrosyntheseschema zur Darstellung des Disaccharids **158** mittels Glycosylierung

Die Darstellung von Verbindung **147** konnte ebenso wie die des zweiten Bausteins **127** bereits erfolgreich erarbeitet werden (Kapitel 4.1.2.5 und 4.1.2.3). Darüber hinaus konnte bereits gezeigt werden, dass an der entsprechenden *gluco*-konfigurierten Verbindung **137** eine Koenigs-Knorr-Glycosylierungsreaktion erfolgreich war (Kapitel 4.1.3). Nikolaev *et al.* beschrieben die Darstellung dieses Disaccharids mittels der Basen-defizienten Glycosylierung ausgehend von Acetobromgalactose **169** und dem 2,3,6-Tri-O-benzoyl- α -D-mannopyranosid **170** (Schema 100) unter Verwendung von Silbertriflat und *sym*-Collidin. Auf diese Weise konnten sie die β -verknüpfte Verbindung **171** in einer Ausbeute von 67% erhalten.⁴²

Schema 100: Darstellung des Disaccharids **171** mittels Basen-defizienter Glycosylierung, Nikolaev *et al*.

Um diese Reaktionsbedingungen zunächst zu erproben, wurde ebenfalls mit Acetobromgalactose **169** und Methyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-α-D-mannopyranosid **168** gearbeitet. Dies sollte dann auf die Verwendung von 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-galactopyranosylbromid **172** als Glycosyldonor

übertragen werden. Die Darstellung von Acetobromgalactose 169 ist unproblematisch. Nach der Peracetylierung von Galactose wird diese mit HBr in Essigsäure und Dichlormethan zum Bromid umgesetzt, welches nach Waschen in ausreichender Reinheit erhalten werden kann. Die Darstellung von Verbindung 168 erfolgte, nachdem das Methylglycosid hergestellt wurde, analog zu der Darstellung von 1,2,3,6-Tetra-Oacetylmannopyranose 127 (Kapitel 4.1.2.3): Methyl- α -D-mannopyranosid 173 wurde durch fünfstündiges Refluxieren von D-Mannose 120 in trockenem Methanol mit Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, gefolgt vom wenigen Rühren Raumtemperatur für 14 Stunden und nachfolgendem Neutralisieren der Reaktionslösung mit konz. NaHCO₃-Lösung sowie dem Entfernen des Lösungsmittels erhalten. Dieses wurde unter den bekannten Bedingungen (trockenes Pyridin, Imidazol, TBDMSCl, Ac₂O; Kapitel 4.1.1.1) direkt weiter zu Verbindung 174 umgesetzt, welche in einer Gesamtausbeute von 75% über drei Stufen erhalten werden konnte. Anschließend wurde die TBDMS-Gruppe durch Triethylamin Trihydrofluorid abgespalten und mittels Refluxieren unter essigsauren Bedingungen wurde die Verbindung 168 durch Acetylgruppenwanderung erhalten (vgl. Kapitel 4.1.2.5).

Schema 101: Darstellung von 168 ausgehend von Mannose 120

Nun waren die Ausgangsverbindungen für die Glycosylierungsreaktion vorhanden. Es wurde gründlich auf die Einhaltung wasserfreier Reaktionsbedingungen geachtet. Dennoch kam es bei Reaktionstemperaturen von -20 °C und -40 °C sowie bei Raumtemperatur jedes Mal zu einem sehr raschen, vollständigen Verbrauch des Bromids 169, ohne dass nach Aufarbeitung das gewünschte Produkt erhalten werden konnte. Stattdessen entstand eine Reihe von Nebenprodukten, von denen aber keines

eindeutig identifiziert werden konnte. Es ist bekannt, dass sich bei dieser Glycosylierungsreaktion leicht der Orthoester bildet (Schema 102). 127,130

Schema 102: Bildung von Orthoester 176

Dieser Effekt sollte durch eine schwächere Base vermindert werden, weshalb in einem weiteren Versuch mit Pyridin anstelle der stärkeren Base *sym*-Collidin gearbeitet wurde. Diese Veränderung brachte aber keinen Erfolg. Zwar konnte der Orthoester nicht eindeutig identifiziert werden, jedoch ist dessen Bildung anzunehmen. Auch die "normale" Koenigs-Knorr-Glycosylierung mit Ag₂CO₃ brachte nicht das gewünschte Ergebnis. Es fand auch bei Raumtemperatur keine Reaktion des Bromids **169** mit der 4-OH-Gruppe von Verbindung **168** statt, jedoch zersetzte sich das Bromid.

Eine Möglichkeit zur Glycosylierung mit Verbindung **147** als Glycosyldonor, bei der es nicht den "Umweg" über das Bromid bedarf, stellt die Aktivierung des Acetats mit TMSOTf dar. Dies ist eine gängige Synthesestrategie zur Darstellung von Nucleosiden – also für die Glycosylierung mit Nucleobasen als Glycosylakzeptoren (Kapitel 4.2).¹³¹ Auch dieser Ansatz wurde für die Darstellung des gewünschten Disaccharides erprobt. Dazu wurde Verbindung **168** mit peracetylierter Galactose **177** in Acetonitril unter wasserfreien Bedingungen mit verschiedenen Moläquivalenten TMSOTf versetzt und bei unterschiedlichen Temperaturen gerührt. Einzig in dem Fall, in dem die Reaktionslösung zu Beginn für zehn Minuten refluxiert und anschließend bei Raumtemperatur gerührt wurde, konnten Spuren des gewünschten Produktes erhalten werden. Allerdings bildete sich auch hier eine ganze Reihe an Nebenprodukten, welche nicht identifiziert werden konnten. Die geringe Reaktivität der 4-OH-Gruppe in Verbindung **168** scheint die gewünschte Glycosylierungsreaktion nicht zu ermöglichen.

4.1.4.3 Darstellung von **158** über Oxidation des Lactals **161** und anschließende selektive Blockierungsstrategie

Auf Glycosylierungsmethoden, die eine Reaktion bzw. eine Synthese des Glycosyldonors basischen Bedingungen unter voraussetzen, konnte nicht zurückgegriffen werden, denn damit wäre die Übertragung auf die 6-Fmocderivatisierte galacto-Verbindung 147 als Glycosyldonor bzw. dessen Vorläufer ausgeschlossen. Deshalb wurde die Syntheseroute über eine Glycosylierungsreaktion wieder verworfen. Stattdessen wurde wieder auf die Oxidation des Lactals 161 zur Darstellung des Disaccharids mit der gewünschten *qalacto*-β-1-4-*manno*-Konfiguration **155** zurückgegriffen. Der Ansatz bestand darin, nach der Epimerisierung der 2-Position der Lactose die TBDMS-Gruppe selektiv in der 6'-Position einzuführen. Dazu war es nötig, die halbacetalische OH-Gruppe zu blockieren, da die Bildung des bereits beschriebenen Stannylenacetals ansonsten nicht möglich wäre. Ein gekürztes Retrosyntheseschema ist in Schema 103 gezeigt.

Schema 103: Retrosyntheseschema zur Darstellung des *cyclo*Sal-(Disaccharid-6')-phosphats **157**

Die ersten Schritte dieser Syntheseroute sind bereits vom Anfang dieses Kapitels bekannt - zuerst erfolgt die vollständige Acetylierung von Lactose, anschließend über das Bromid die Darstellung des Lactals 164. Da bereits beobachtet werden konnte, dass die freien OH-Gruppen bei der Oxidation für die Selektivität vonnöten sind (Kapitel 4.1.4.1), sollte dieses nach der Deacetylierung mit mCPBA oxidiert werden. Nach der Reacetylierung sollte so 4-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-1,2,3,6-tetra-O-acetyl-D-mannopyranose **166** erhalten werden. Dieses sollte dann an der 1-Position basenstabil blockiert und erneut deacetyliert werden, um dann mittels Dibutylzinnoxid die 6'-TBDMS-blockierte Verbindung 159' darzustellen. Ausgehend von dieser Verbindung sollte dann die 6'-Fmoc-derivatisierte Verbindung 158' erhalten werden, welche für die Synthese des cycloSal-Triesters 157' eingesetzt werden sollte. Um die Stufen nach der Oxidation zu erproben – insbesondere die selektive Silylierung der 6'-Position und die Überführung der 6'-TBDMS-blockierten Verbindung 159' in das 6'-Fmoc-blockierte Derivat 158' - sollten diese zunächst mit Lactose durchgeführt werden. Als stabile Schutzgruppe für die halbacetalische OH-Gruppe wurde das Methylglycosid ausgewählt, welches leicht in einer Koenigs-Knorr-Reaktion über das Bromid erhältlich sein sollte. Die Syntheseroute für das Lactosederivat ist retrosynthetisch in Schema 104 dargestellt.

$$\begin{array}{c} \mathsf{ACO} \overset{\mathsf{OFmoc}}{\mathsf{ACO}} \overset{\mathsf{OAc}}{\mathsf{ACO}} \overset{\mathsf{OAc}}{\mathsf{AC$$

Schema 104: Retrosyntheseschema zur Darstellung von Verbindung 181

Es wurde zunächst das Methylglycosid der Lactose **182** dargestellt. Dies erfolgte durch die Umsetzung von Lactoseoctaacetat **160** zu Bromid **163** unter den bekannten Bedingungen, welches ohne chromatographische Reinigung in einer Koenigs-Knorr-Reaktion zu dem Methylglycosid **182** derivatisiert wurde. Letzteres konnte in einer zufriedenstellenden Ausbeute von 87% (als reines β -Anomer) erhalten werden.

Schema 105: Darstellung des Methyl-β-glycosids 182

Nach der Deacetylierung von Verbindung **182** erfolgte die Umsetzung zu dem bereits in Kapitel 4.1.4.1 beschriebenen Stannylenacetal unter Reflux in trockenem Methanol und anschließend die Reaktion mit TBDMSCl in trockenem THF zu der 6'-silylierten Verbindung **183**. Es folgte die erneute Acetylierung der übrigen OH-Gruppen und Verbindung **180** konnte in einer Ausbeute von 40% über die beschriebenen 4 Stufen erhalten werden.

Schema 106: Darstellung des 6'-TBDMS-Derivats 180

Da sowohl die Deacetylierung als auch die Acetylierung nahezu quantitativ verlaufen sollten, muss der Grund für die relativ niedrige Ausbeute in der Silylierung liegen. Dies war auch mittels Dünnschichtchromatographie zu erkennen. Die Umsetzung des Stannylenacetals mit TBDMSCI schritt, wie auch in ähnlichem Zusammenhang beobachtet wurde (Kapitel 4.2.2), ab einem gewissen Punkt nicht weiter fort. Auch die weitere Zugabe von TBDMSCI, längere Reaktionszeiten sowie die Zugabe von Imidazol zur Aktivierung des TBDMSCI zeigte keine Verbesserung. Da aber das gewünschte

Produkt nur auf diese Weise selektiv erhalten werden konnte (eine Differenzierung der 6'- gegenüber der 6-OH-Gruppe war auf anderem Wege nicht möglich) und der in der Silylierungsreaktion nicht umgesetzte Anteil von 179 nach der Acetylierung als Verbindung 182 zurückerhalten werden konnte, war das Ergebnis zufriedenstellend. Als nächster Schritt stand der Austausch der TBDMS- gegen die Fmoc-Gruppe an. Unter den aus Kapitel 4.1.2 bekannten Reaktionsbedingungen konnte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 65% erhalten werden.

Schema 107: Darstellung des 6'-Fmoc-Derivats 181

Verbindung **181** konnte also in einer Gesamtausbeute von 22% ausgehend von Lactose in einer neunstufigen Syntheseroute (davon vier Stufen isoliert) erhalten werden. Mit diesem vielversprechenden Ergebnis sollte dieselbe Reaktionsfolge für das C2-Epimer – also für die eigentlich angestrebte Darstellung der Verbindung **158**′ – wiederholt werden.

Es wurde zunächst die peracetylierte Verbindung **166** dargestellt. Dazu wurde – anders als in Kapitel 4.1.4.1 beschrieben – das Lactal ohne weitere Modifizierung mit *m*CPBA oxidiert. Wie von Ruhela und Vishwakarma publiziert⁴⁸ wurde diese Reaktion in einem 1:1-Gemisch aus Wasser und Diethylether bei einer Temperatur von 0°C durchgeführt. Entgegen der für die Oxidation beschriebenen Reaktionsdauer von vier Stunden betrug diese zwei Tage. Erst nach dieser Zeit konnte eine vollständige Umsetzung des Lactals detektiert werden. Anschließend erfolgte die Acetylierung aller OH-Gruppen. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte Verbindung **166** erhalten werden.

Schema 108: Darstellung des peracetylierten Disaccharids 166

Die Oxidation lieferte nicht ausschließlich das *manno*-konfigurierte Produkt **166**, sodass ein Gemisch von peracetylierter Lactose **160** und dem gewünschten Produkt **166** in einem Verhältnis von 0.25:1 (**160:166**, Rohprodukt) erhalten wurde, welches auch durch mehrfache Säulenchromatographie nicht vollständig getrennt werden konnte. Es wurde mit einem **160:166**-Gemisch im Verhältnis 0.1:1 weitergearbeitet, da eine Trennung auf einer der nächsten Stufen möglich erschien.

Nun sollte das Methylglycosid **178'Me** dargestellt werden. An dieser Stelle spielt die Konfiguration an C2 eine bedeutende Rolle. Während im Fall der Lactose (äquatoriale OAc-Gruppe am C2) das Methylglycosid über das Bromid **163** in einer Koenigs-Knorr-Reaktion erhalten werden konnte, ist dies im Fall der *manno*-Konfiguration (axiale OAc-Gruppe an C2) nicht so einfach möglich. Ein Versuch bestätigte, dass sich unter den Koenigs-Knorr-Bedingungen im Fall von Bromid **184** der Orthoester **185** bildete (Schema 109).

Schema 109: Darstellung des Orthoesters 185

Zur Bildung dieses Produktes kommt es durch die Spaltung des Bromids unter Nachbargruppenbeteiligung der Acetylgruppe in C2-Position. Das so gebildete Carbeniumion **186** (Schema 110) kann nun entweder am C1 (**A**) oder aber an dem tertiären Acetyl-Kohlenstoffatom (**B**) nucleophil angegriffen werden. Im Fall der Mannose ist letzterer Angriff unter den gewählten Bedingungen deutlich begünstigt, wie das Ergebnis zeigte. ¹³²

Schema 110: Bildung des Orthoesters 185

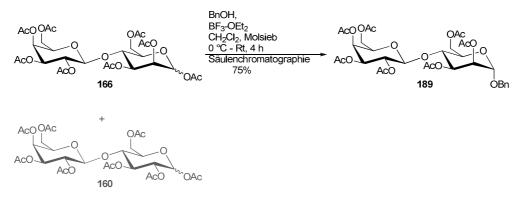
Der Orthoester **185** kann zwar unter Zuhilfenahme einer Lewissäure in das entsprechende Glycosid **187** überführt werden, jedoch würde die Synthesesequenz zur Darstellung des Glycosids ausgehend von dem peracetylierten Disaccharid **166** so drei Stufen umfassen, von denen jede mit Ausbeuteverlusten

einhergeht. Dies gestaltet sich für eine ohnehin schon viele Stufen umfassende Syntheseroute als hinderlich. Deutlich wünschenswerter wäre der direkte Zugang zu dem Glycosid ausgehend von der peracetylierten Verbindung.

Deshalb wurde nach einer geeigneten Glycosylierungsreaktion gesucht. Da das Disaccharid nach der Oxidation in seiner peracetylierten Form **166** gereinigt wurde, lag es bereits mit einer Acetylgruppe an der 1-Position vor. Solche Bausteine können mittels Aktivierung durch Lewissäuren wie beispielsweise TMSOTf¹³³ oder BF₃-OEt₂¹³⁴ als Glycosyldonoren dienen. Anstelle des im Fall der Lactose als Testsubstanz dienende Methylglycosids sollte an dieser Stelle das Benzylglycosid **178'Bn** dargestellt werden, da letzteres nach erfolgreicher Darstellung eines Phosphatdiester-verbrückten Produktes ganz am Ende der Syntheseroute leichter zu spalten sein sollte. Dazu wurden erste Testreaktionen mit peracetylierter Lactose durchgeführt, da diese deutlich einfacher erhalten werden kann. Es zeigte sich, dass die Verwendung von BF₃-OEt₂ der von TMSOTf vorzuziehen war, da in letzterem Fall nur Spuren des gewünschten Benzylglycosids erhalten werden konnten (Schema **111**).

Schema 111: Darstellung des Benzylglycosids 188

Folglich wurde die Darstellung des Benzylglycosids **189** durch Umsetzung der peracetylierten Verbindung **166** mit Benzylalkohol in Anwesenheit von BF₃-OEt₂ vorgenommen.¹³⁴ Es konnte dabei ausschließlich die Bildung des *trans*-Produktes beobachtet werden.



166/160 = 1:0.1

Schema 112: Darstellung des Benzylglycosids 189

An dieser Stelle war es möglich, die *manno*-konfigurierte Verbindung nach der Säulenchromatographie rein zu isolieren. Zwar ging dies mit Ausbeuteverlusten einher – das ¹H-NMR-Spektrum des Rohproduktes bewies eine vollständige Umsetzung von Verbindung **166** zu Verbindung **189** während die isolierte Ausbeute 75% betrug – war jedoch unbedingt nötig, um in den folgenden Schritten ausschließlich mit dem "gewünschten" Disaccharid weiterzuarbeiten.

Nun galt es, die TBDMS-Gruppe selektiv in der 6'-Position einzuführen. Dieser Schritt war zuvor mit Verbindung 182 erprobt worden. Die selektive Silylierung mittels vorangestellter Umsetzung mit Dibutylzinnoxid erwies sich dort zwar als möglich, jedoch war die Ausbeute aufgrund schlechten Umsatzes gering. Da keine andere Methode zur Verfügung stand, musste dennoch auf diese zurückgegriffen werden. Dabei war die Tatsache zu beachten, dass der größte Teil an Edukt, welches nicht zu dem gewünschten Produkt umgesetzt worden war, reisoliert werden konnte. Daher musste nicht mit großen Verlusten auf dieser langen Syntheseroute gerechnet werden. Verbindung 189 wurde in dem bekannten Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 deacetyliert. Nach der vollständigen Entfernung des Lösungsmittels erfolgte die Reaktion mit einem Äquivalent Dibutylzinnoxid in trockenem Methanol. Nach der erneuten Entfernung des Lösungsmittels wurde der auf diese Weise erhaltene farblose Feststoff in trockenem THF aufgenommen und mit 1.2 Äquivalenten TBDMSCl versetzt. Auch ohne die Zugabe von TBDMSCl kam es sehr schnell zu einer starken Trübung der Reaktionslösung. Dennoch wurde diese bei Raumtemperatur gerührt. Durch Dünnschichtchromatographie (Dichlormethan/Methanol 8:2) konnte nachgewiesen werden, dass eine Umsetzung der Ausgangssubstanz zu einer deutlich weniger polaren Verbindung stattgefunden hatte. Jedoch stoppte diese Umsetzung, wie auch bei dem Lactose-Derivat 183 beobachtet, weit vor deren Vollständigkeit. Auch hier brachte die weitere Zugabe von TBDMSCl keinen Erfolg. Die Reaktionslösung wurde folglich mit Methanol versetzt, um nicht reagiertes TBDMSCl abzufangen, und anschließend eingeengt. Zur Acetylierung wurde der Rückstand in trockenem Pyridin aufgenommen und mit Essigsäureanhydrid versetzt. Nach der Aufarbeitung erfolgte die Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1.

Schema 113: Darstellung der selektiv an der 6'-Position silylierten Verbindung **159'Bn**

Auf diese Weise konnte die gewünschte Verbindung **159'Bn** in Ausbeuten von 17 - 27% erhalten werden. Ein Großteil der "fehlenden" Stoffmenge wurde wie erwartet in Form der acetylierten Ausgangsverbindung **189** zurückerhalten und konnte erneut für die beschriebene Reaktionssequenz eingesetzt werden (die Ausbeute nach der Rückgewinnung der Ausgangsverbindung beträgt 62%). Auf diese Weise war es durch die Durchführung mehrerer Reaktionsansätze möglich, ausreichend Substanz **159'Bn** zu erhalten, um die weiteren Syntheseschritte vornehmen zu können.

Der nächste Schritt bestand in dem Austausch der TBDMS- gegen die Fmoc-Gruppe. Es wurden die in Kapitel 4.1.2 vorgestellten Reaktionsbedingungen verwendet, welche problemlos die gewünschte Verbindung **158'Bn** in einer Ausbeute von 80% lieferten.

Schema 114: Darstellung der Verbindung 158'Bn

4.1.4.4 Darstellung des cycloSal-Triesters **157'Bn**

Nun stand auch für das Disaccharid die Ausgangsverbindung für die Synthese des cycloSal-Phosphattriesters zur Verfügung. Es wurde nach dem für die Monosaccharide erarbeiteten Protokoll verfahren (vgl. Kapitel 4.1.2.2). Das heißt, Verbindung 158'Bn wurde in trockenem Acetonitril gelöst und mit dem cycloSaligenylchlorphosphit 131, ebenfalls gelöst in trockenem Acetonitril, versetzt. Durch die Zugabe von trockenem Triethylamin (bei Raumtemperatur) wurde die Reaktion gestartet. Nach einer bis eineinhalb Stunden Reaktionszeit konnte ein vollständiger Ausgangsverbindung 158'Bn sowie der intermediär gebildeten, 6'-OH-freien Verbindung festgestellt werden (DC, PE/EE 1:2). Es folgte die Oxidation mit Oxone, gelöst in wenig Wasser, bei -10 °C bis Raumtemperatur für zehn Minuten. Nach der Aufarbeitung und der Säulenchromatographie mit einem Zusatz von 2% Essigsäure zum Eluenten konnte das gewünschte Produkt – der cycloSal-Triester 157'Bn – in einer Ausbeute von 67% erhalten werden.

Schema 115: Darstellung des cycloSal-Triesters 157'Bn

Die Verbindung **157'Bn** wurde als Gemisch zweier Diastereomere im Verhältnis 1:0.63 erhalten. Das zugehörige ³¹P-NMR-Spektrum ist in Abbildung 27 gezeigt.

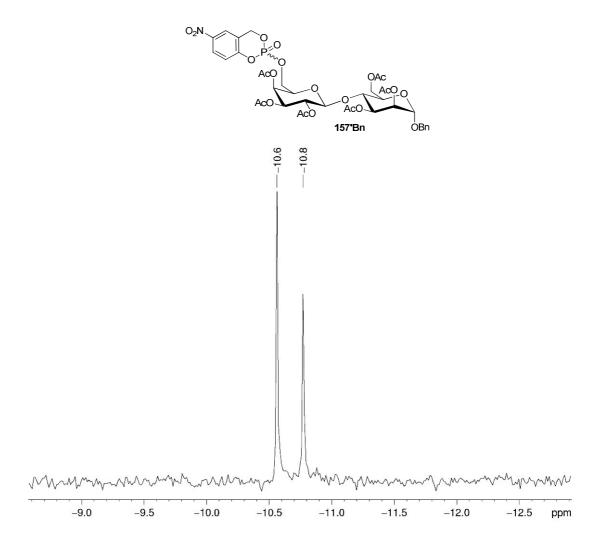


Abbildung 27: 31P-NMR-Spektrum der Verbindung 157'Bn

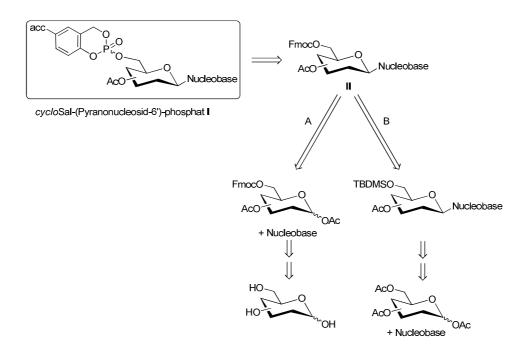
Auch die massenspektrometrische Analyse sowie die ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren bestätigten, dass es sich um die gewünschte Verbindung handelte und es nicht zum Bruch einer der glycosidischen Bindungen gekommen war.

Die Darstellung des cycloSal-Triesters an der endständigen, primären OH-Gruppe des Disaccharids Gal- β -1,4-Man **155** war also erfolgreich. Als problematisch erwies sich bei der Syntheseroute die Selektion der 6'- gegenüber der 6-OH-Gruppe, sodass dieser Schritt die Gesamtausbeute minimierte. Jedoch konnte die Ausgangssubstanz zurückgewonnen werden. Besonders hervorzuheben ist, dass die folgenden Schritte – also der selektive Austausch der TBDMS-Gruppe gegen die Fmoc-Gruppe und die Darstellung des cycloSal-Triesters ausgehend von diesem Derivat in einer one-pot-

Reaktion – problemlos und in guten Ausbeuten verliefen, die vergleichbar denen waren, die bei den Synthesen für die Monosaccharide erzielt wurden.

4.2 Synthese von 5-NO₂-cycloSal-(Pyranonucleosid-6')-phosphaten

Wie in Kapitel 3 erwähnt, sollte die für die Darstellung von *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten entwickelte Syntheseroute auf die Darstellung von *cyclo*Sal-(Pyranonucleosid-6')-phosphaten übertragen werden. Dazu waren grundsätzlich zwei Ansätze denkbar: Zum einen die Synthese des Pyranonucleosidderivats II, welches als Vorläufer für die Synthese des Triesters benötigt würde, ausgehend von der entsprechenden 6-Fmoc-derivatisierten Glycopyranose (A), zum anderen die Darstellung des Pyranonucleosids und anschließend die Anwendung der zuvor entwickelten Synthesestrategie zur regioselektiven Darstellung der Struktur II und daraus des Triesters (B). In Schema 116 sind beide Wege gezeigt.



Schema 116: zwei mögliche Synthesewege zur Darstellung von $\it cycloS$ al-(Pyranonucleosid-6')-phosphaten I

4.2.1 Darstellung von Vorläufer II auf Weg A

Die Synthesen der 6-Fmoc-Derivate für verschiedene Glycopyranosen wurden bereits erfolgreich ausgearbeitet. Daher wurde zunächst der Versuch unternommen, diesen Baustein zum Pyranonucleosid umzusetzen, sodass der für die Triestersynthese benötigte Baustein II unmittelbar erhalten würde. Beispielhaft wurde zunächst mit Glucose gearbeitet.

Schema 117: Darstellung von 190 auf Weg A

Prinzipiell können Nucleoside durch Glycosylierung der Nucleobase mit dem entsprechenden Glycon erhalten werden – beispielsweise durch Glycosylierung von Thymin mit Glucose. Es muss jedoch Sorge getragen werden, dass die Glycosylierung regioselektiv an der N 1 -Position stattfindet. Dazu wird die Nucleobase in einem vorangestellten Schritt silyliert. Die Silylierung findet an O 2 und O 4 statt, sodass nun N 1 die reaktivste Position ist. Die Glycosylierung kann auf verschiedene Weisen stattfinden. Bekannte Beispiele verfahren nach der Koenigs-Knorr-Methode (Aktivierung des Glycons als Halogenzucker 135 , Kapitel 2.1) oder nach der Aktivierung von peracetylierten Zuckern mit Lewis-Säuren. 131 Für die letztere Variante stellte Vorbrüggen eine Eintopf-Reaktion für die Silylierung der Nucleobase und die anschließende Nucleosidsynthese vor, mit welcher es ihm möglich war, verschiedene Nucleoside in guten Ausbeuten zu erhalten. 131 Diese Methode wurde von Agrofoglio et al. bereits erfolgreich für die Darstellung von 13 C- und 15 N-markiertem (β -D-Glucopyranosyl)-thymin **111** angewendet (s. Schema 118). 136

Schema 118: Darstellung von (2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-thymin **192**, Agrofoglio *et al.*, BSA – N,O-(Bistrimethylsilyl)-acetamid, TMSOTf - Trimethylsilyltrifluormethylsulfonat

Unter diesen Bedingungen wurde Verbindung 137 umgesetzt. Dazu wurde sie mit der Nucleobase und BSA in trockenem Acetonitril für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, bis eine klare Lösung vorlag. Anschließend wurde TMSOTf hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für viereinhalb Stunden unter Reflux und drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Per Dünnschichtchromatographie konnte festgestellt werden, dass bei einem Teil der Verbindung die Fmoc-Gruppe abgespalten worden war. Auch waren noch geringe Mengen der Ausgangsverbindung 137 im Reaktionsgemisch vorhanden. Der Ansatz wurde trotz des unvollständigen Umsatzes aufgearbeitet und das gewünschte Produkt konnte säulenchromatographisch in einer Ausbeute von 31% isoliert werden. Es wurde nur die β -verknüpfte Verbindung erhalten.

fluorenylmethoxycarbonyl-β-D-glucopyranosyl)-thymin **190**, Weg **A**

Dieses Ergebnis war zwar vielversprechend, jedoch zeigte die teilweise Spaltung der Fmoc-Gruppe eine Schwachstelle dieser Syntheseroute. Die Gesamtausbeute dieser Route liegt ausgehend von Glucose bei 21% über fünf Stufen, von denen drei isoliert wurden. Der limitierende Schritt ist hier die Glycosylierung zum Nucleosid. Um einen Vergleich zu ermöglichen, sollte im Folgenden die Route B erprobt werden, welche mit der Darstellung des Pyranonucleosids beginnt und anschließend die Anwendung der bekannten Synthesestrategie zur Darstellung der 6'-Fmoc-derivatisierten Verbindung 190 vorsieht.

4.2.2 Darstellung von Vorläufer II auf Weg B

Zur Darstellung des Pyranonucleosids **111** wurde dieselbe Synthesestrategie wie zuvor beschrieben (Kapitel 4.2.1) angewendet. Es wurde peracetylierte Glucose **191** zunächst mit Thymin und BSA in trockenem Acetonitril bei Raumtemperatur gerührt, bis sich eine klare Lösung ergab. Dann wurde TMSOTf hinzugegeben und die

Reaktionslösung wurde für vier Stunden unter Reflux und anschließend für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie konnte (2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-thymin **192** in einer Ausbeute von 92% erhalten werden. Die Verbindung **192** wurde anschließend in Methanol durch Zugabe von Triethylamin deacetyliert. Nach ausgiebiger Trocknung wurde das Produkt in Pyridin aufgenommen und mit TBDMSCl umgesetzt. Nach einer Reaktionsdauer von eineinhalb Stunden bei Raumtemperatur erfolgte die Zugabe von Essigsäureanhydrid. Auf diese Weise konnte Verbindung **193** analog der Darstellung von 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-tertbutyldimethylsilyl-D-glucopyranose **123** (Kapitel 4.1.1.1) erhalten werden. Die Ausbeute lag mit 63% etwas unter der Ausbeute, welche für die Glycopyranose erhalten wurde (83%). Dies liegt vermutlich in erster Linie an der vorgeschalteten Deacetylierung und einer unzureichenden Trocknung des Produktes, sodass das TBDMSCl mit Methanol abreagierte. Eine unzureichende Regioselektivität bei dieser Reaktion konnte nicht beobachtet werden.

Schema 120: Darstellung von (2',3',4'-Tetra-O-acetyl-6'-O-tertbutyldimethylsilyl- β -D-glucopyranosyl)-thymin **190**

Verbindung **193** sollte nun in gewohnter Weise zu dem 6'-Fmoc-Derivat **190** umgesetzt werden. Dazu wurde diese in wenig Dichlormethan gelöst und mit 15 Äquivalenten Triethylamin Trihydrofluorid versetzt. Nach einer Reaktionsdauer von einer Stunde bei Raumtemperatur wurde der Ansatz mit Dichlormethan verdünnt und es erfolgte die Umsetzung mit FmocCl unter Zugabe von Pyridin. Nachdem die Reaktionslösung für weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt worden war erfolgten die

Aufarbeitung und die säulenchromatographische Reinigung. Das gewünschte Produkt **190** konnte in einer Ausbeute von 83% erhalten werden.

Schema 121: Darstellung von (2',3',4'-Tetra-O-acetyl-6'-O-fluorenylmethoxycarbonyl- β -D-glucopyranosyl)-thymin **190**, Weg **B**

Somit beträgt die Gesamtausbeute auf dieser Route 48% ausgehend von Glucose über sieben Stufen von denen vier isoliert wurden. Zwar sind auf dem Weg B mehr Syntheseschritte notwendig, jedoch liegt die Ausbeute mehr als doppelt so hoch im Vergleich zu Weg A. Der Grund liegt in der deutlich höheren Ausbeute bei der Glycosylierung zum Nucleosid.

Im Folgenden sollte das entsprechende 6'-Fmoc-derivatisierte Pyranonucleosid-Derivat mit galacto-Konfiguration 199 auf Weg B dargestellt werden. Da die Umsetzung von Galactose mit TBDMSCl aber wenig regioselektiv verläuft (Kapitel 4.1.1.1 und 4.1.2.5), musste eine Strategie gefunden werden, die eine selektive (2',3',4'-Tri-*O*-acetyl-6'-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-β-D-Darstellung von galactopyranosyl)-thymin 199 ermöglicht. Zunächst wurde wie zuvor für Glucose beschrieben (β-D-Galactopyranosyl)-thymin **195** dargestellt: Nach der Peracetylierung von Galactose erfolgte die Glycosylierung von silyliertem Thymin. Das peracetylierte Pyranonucleosid 194 wurde mit einer Ausbeute von 74% erhalten. Anders als im Fall der Glucose bildete sich hier auch eine geringe Menge an α -Nucleosid (Verhältnis im Rohprodukt $\alpha/\beta = 0.1:1$), welches aber säulenchromatographisch abgetrennt werden konnte. Dadurch erklärt sich die geringere Ausbeute für diesen Fall. Die Deacetylierung in Methanol mittels Zugabe von Triethylamin lieferte das gewünschte Produkt 195 quantitativ.

Schema 122: Darstellung von (β-D-Galactopyranosyl)-thymin 195

Wie in Kapitel 4.1.4 geschildert kann die selektive Silylierung mit TBDMSCI in der 6-Position von *galacto*-konfigurierten Pyranosiden mittels vorangestellter Umsetzung mit Dibutylzinnoxid gelingen. Da die Darstellung des 6'-Fmoc-derivatisierten *galacto*-konfigurierten Pyranonucleosids **199** das angestrebte Zwischenziel war, wurde untersucht, ob auch auf direktem Wege die Fmoc-Gruppe in die 6'-Position in Verbindung **195** eingeführt werden konnte. Verbindung **195** wurde in trockenem Methanol mit Dibutylzinnoxid durch Erhitzen unter Rückfluss zur Reaktion gebracht. Nach der vollständigen Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand in THF aufgenommen und mit FmocCl versetzt. Anschließend erfolgte die Acetylierung des Reaktionsgemisches. Mittels Dünnschichtchromatographie war deutlich zu sehen, dass ein Hauptprodukt gebildet worden war. Nach der säulenchromatographischen Reinigung stellte sich allerdings heraus, dass es sich bei diesem um das 3'-Fmoc-Derivat **196** handelte.

Schema 123: Darstellung von (2',4',6'-Tetra-O-acetyl-3'-O-fluorenylmethoxycarbonyl- β -D-galactopyranosyl)-thymin **196**

Dieses Ergebnis war nicht ganz unerwartet, da das Stannylenacetal in den Reaktionen mit unterschiedlichen Reagenzien verschiedene Regioselektivitäten zeigt. Die Umsetzung eines Stannylenacetals eines Galactopyranosids mit FmocCl ist nicht beschrieben. Für die Umsetzung mit Tosylchlorid ist jedoch beschrieben, dass hier ebenfalls die 3-Position reagiert. Das Stannylenacetal, welches bei der Reaktion von Dibutylzinnoxid mit Methyl- α -galactopyranosid in trockenem Methanol gebildet wird, ist in Lösung dynamisch. Bevorzugt scheint die in Abbildung 28 gezeigte Verbindung 197 vorzuliegen, in welcher die äquatoriale Position (Position 3) die reaktivere darstellt.

Abbildung 28: Stannylenacetal 197

Für die Umsetzung des Stannylenacetals eines Galactopyranosids mit TBDMSCl begründen Leigh *et al.* die Selektivität für die 6-Position über eine sterische Hinderung, welche die Silylierung der 3-Position nicht zulässt. Es wird angenommen, dass über die reversible Wanderung des Stannylenacetals von der 3:4- entweder zu der 4:6- oder der 6:Ringsauerstoff-Position die sterisch deutlich begünstigte 6-Position reagiert. Die sterische Hinderung scheint für die Umsetzung mit FmocCl nicht aufzutreten. Dieses Ergebnis ist auch im Einklang mit der zu einem früheren Zeitpunkt getätigten Beobachtung, dass zwar eine regioselektive Umsetzung von 4,6-äquatorial konfigurierten Glycopyranosen mit TBDMSCl möglich ist, diese jedoch mit FmocCl nicht gelingt (Kapitel 4.1.2). Es musste also auch an dieser Stelle wieder der Umweg über das silylierte Derivat 198 gegangen werden. Dieses konnte in einer Ausbeute von 47% ausgehend von (β-p-Galactopyranosyl)-thymin 195 erhalten werden (s. Schema 124).

Schema 124: Darstellung von (2',3',4'-Tetra-O-acetyl-6'-O-tertbutyldimethylsilyl- β -D-galactopyranosyl)-thymin **198**

Es konnte erneut beobachtet werden, dass die Umsetzung mit TBDMSCI nach einem bestimmten Umsatz nicht fortschritt. Auch die erneute Zugabe von TBDMSCI änderte hieran nichts. Darin liegt vermutlich der Grund für die moderate Ausbeute. Eine Ursache für das Stoppen der Reaktion konnte nicht gefunden werden. Unter Berücksichtigung der in acetylierter Form zurückgewonnenen Ausgangsverbindung betrug die Ausbeute 80%.

Ebenso wie zuvor für das *gluco*-Derivat beschrieben, wurde die Verbindung **198** zu der 6'-Fmoc-derivatisierten Verbindung **199** umgesetzt, welche mit einer Ausbeute von 66% erhalten werden konnte.

Schema 125: Darstellung von (2',3',4'-Tetra-*O*-acetyl-6'-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-β-D-galactopyranosyl)-thymin **199**

Somit ergibt sich für die Darstellung des *galacto*-Derivates **199** eine Gesamtausbeute von 20% über acht Stufen ausgehend von Galactose, von denen fünf isoliert wurden. Die Ausbeute liegt deutlich unter derjenigen, die für das *gluco*-Derivat erzielt wurde. Dies liegt insbesondere an der komplizierteren Variante zur selektiven Ansteuerung der 6'-OH-Gruppe.

4.2.3 Darstellung der 5-NO₂-cycloSal-(Pyranonucleosid-6')-phosphate

Nun standen die zwei Verbindungen 190 und 199 zur Umsetzung zu den entsprechenden cycloSal-(Pyranonucleosid-6')-phosphaten 200 und 201 zur Verfügung. Es wurde auf die aus dieser Arbeit bereits bekannte Weise vorgegangen: Verbindung 190 bzw. 199 wurde in trockenem Acetonitril gelöst und mit zwei Äquivalenten 5-NO2-cycloSaligenylchlorphosphit 131 versetzt. Nach Zugabe von Triethylamin startete die Reaktion. Mittels Dünnschichtchromatographie (PE/EE 1:2) konnte deutlich beobachtet werden, dass die Fmoc-Gruppe abgespalten wurde. Es zeigte sich ein neuer spot auf der Grundlinie, wobei angenommen wurde, dass es sich bei diesem um das beim Auftragen sofort hydrolysierte Phosphit-Intermediat handelte. Als das gesamte Edukt verbraucht war (zwei Stunden), wurde oxidiert. Die Reinigung des nach Extraktion mit Dichlormethan erhaltenen Rohproduktes erfolgte an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:2 unter Zusatz von 2% Essigsäure, um eine Hydrolyse des labilen Nitro-Triesters zu verhindern. Beide Triester konnten in Ausbeuten von jeweils 66% erhalten werden.

Schema 126: Darstellung der *cyclo*Sal-(Pyranonucleosid-6')-phosphate **200** und **201**

Die zugehörigen ³¹P-NMR-Spektren sind im Folgenden abgebildet. Die *gluco*-konfigurierte Verbindung **200** wurde als Diastereomerengemisch im Verhältnis 1:1.1 erhalten. Das ³¹P-NMR-Spektrum der *galacto*-konfigurierten Verbindung **201** lässt zunächst vermuten, dass der *cyclo*Sal-Triester diastereomerenrein vorliegt. Aus dem Protonen-NMR-Spektrum wurde aber ersichtlich, dass auch hier ein Diastereomerengemisch im Verhältnis von 1:1.1 vorliegt.

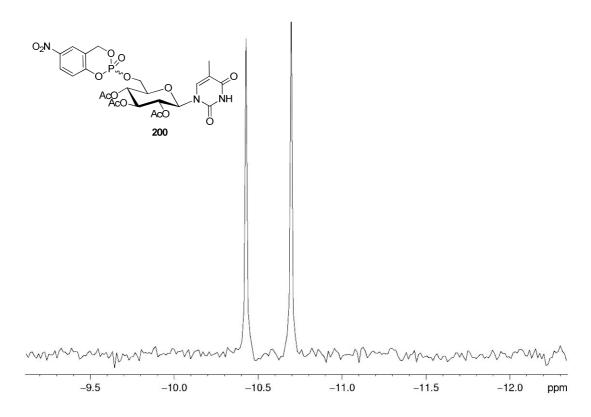


Abbildung 29: ³¹P-NMR-Spektrum der Verbindung **200**

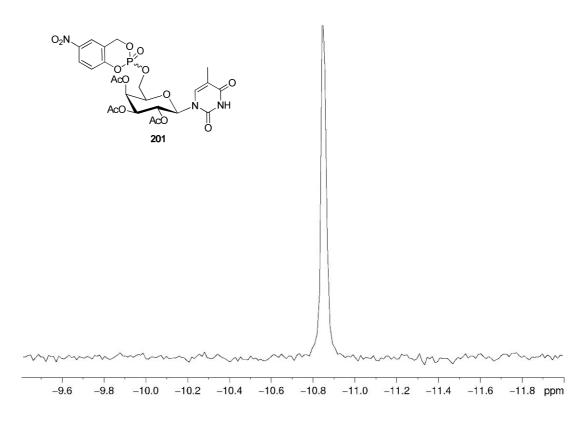


Abbildung 30: ³¹P-NMR-Spektrum der Verbindung **201**

Die erfolgreiche Darstellung der Triester **200** und **201** war der entscheidende Schritt, um eine Synthese von Pyranonucleosid-6'-triphosphaten mittels der *cyclo*Sal-Methode erproben zu können, auf die später eingegangen werden wird. Ebenfalls sollten mit diesem Protokoll beispielsweise die am Salicylalkohol-Rest in der 3-Position Methylsubstituierten Derivate zugänglich sein, welche sich möglicherweise als effiziente Pyranonucleosid-6'-monophosphat-Prodrugs erweisen könnten. Es wurde bereits von Herdewijn *et al.* erwähnt, dass manche Pyranonucleosid-Analoga aufgrund mangelnder intrazellulärer Phosphorylierung keine antivirale Aktivität zeigen, aber ihre phosphorylierten Metabolite durchaus eine solche Aktivität aufweisen könnten. ^{91,137} Es könnte also von großem Nutzen sein, das *cyclo*Sal-Prodrug-Konzept auch auf Pyranonucleosid-Analoga anzuwenden.

4.3 Reaktivität von 5-NO₂-cycloSal-(D-Mannopyranosyl)phosphaten

Wie bereits beschrieben besitzt das Phosphoratom in *cyclo*Sal-Triestern eine erhöhte Elektrophilie. Es ist also gegenüber Angriffen durch Nucleophile aktiviert. Dieses Prinzip wird zum einen zur Freisetzung biologisch aktiver Nucleotidanaloga in der Zelle (Prodrug-Konzept), zum anderen zur Synthese Phosphat-verbrückter Biokonjugate genutzt (Kapitel 2.2.2 *cyclo*Sal-Phosphat sowie Anfang Kapitel 4).

Um die Reaktivität des Phosphat-Triesters in Verbindung **132** abschätzen zu können, wurde mit dieser Verbindung eine Hydrolysestudie in Phosphat-Puffer (pH 7.3) bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Hydrolyse des *cyclo*Sal-Triesters wurde ³¹P-NMR-spektroskopisch verfolgt. Dazu wurde die Verbindung **132** in deuteriertem DMSO gelöst (0.6 mL) und mit Phosphat-Puffer (pH 7.3, 50 mM, 0.1 mL) versetzt. Es wurden zu Anfang alle fünf Minuten, später in längeren Abständen ³¹P-NMR-Spektren von dieser Probe gemessen. Abbildung 31 zeigt eine Auswahl der gemessenen Spektren. Die "0 min"-Spur zeigt das ³¹P-NMR-Spektrum von Verbindung **132** in CDCl₃. Es ist deutlich die Abnahme der vier Signale von Verbindung **132** und die Entstehung und Zunahme dreier Signalbereiche zu erkennen. Dabei konnten die Signale bei -0.55 ppm dem Phosphat **202** (als Anomerengemisch) zugeordnet werden. Die weiteren Signale bei -10.5 ppm und -11.5 ppm deuten auf die Bildung des Diphosphats **203** hin. Dieses entsteht durch den Angriff des im Puffer vorhandenen Phosphats auf den Triester **132** (Schema 127).

$$O_2N$$
 O_2N
 O_2N
 O_2N
 O_2N
 O_2N
 O_2N
 O_2N
 O_2N
 O_3N
 O_4N
 O_4N
 O_5N
 O_5N

Schema 127: Hydrolyse von Verbindung 132 in Phosphat-Puffer bei pH 7.3

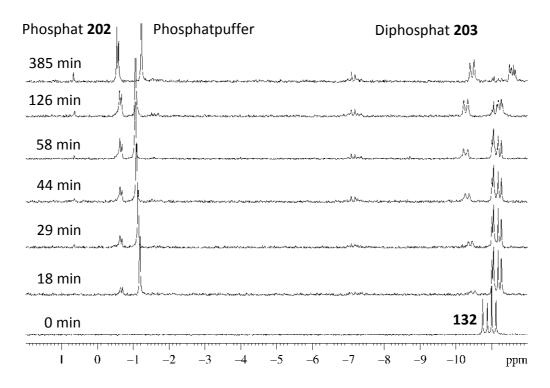


Abbildung 31: ³¹P-NMR-Spektren der Hydrolyse von Verbindung **132** in Phosphat-Puffer bei pH 7.3

Mit den ersten sieben Werten dieser Hydrolysestudie wurde für die Verbindung 132 unter diesen Bedingungen eine Halbwertszeit von 21 Minuten berechnet. Bei der Berechnung der Halbwertszeit ist es genauer, die ersten Werte heranzuziehen, da durch die Bildung von Phosphat 202 und Diphosphat 203 der pH-Wert in der Probe ansteigt und sich dadurch die Hydrolyse zu späteren Zeitpunkten zunehmend verlangsamt. Die Halbwertszeit befindet sich mit 21 Minuten in derselben Größenordnung, wie sie bereits für 5-Nitro-substituierte *cyclo*Sal-Nucleotide berichtet wurde. Die Reaktivität von Verbindung 132 sollte demnach in etwa der Reaktivität der 5-Nitro-substituierten *cyclo*Sal-Nucleotide entsprechen. Erstaunlich ist hingegen, dass das Diphosphat 203 in einer relativ großen Menge gebildet wurde. Bei den entsprechenden Hydrolysestudien der 5-Nitro-substituierten *cyclo*Sal-Nucleotide wurde meist ein Verhältnis Phosphat:Diphosphat von 1:0.2 gefunden. Hier betrug das Verhältnis 1:0.8. Dieses Ergebnis stellt aber für die Reaktivität von Verbindung 132 mit Nucleophilen kein negatives Resultat dar.

Die Verbindung **133** wurde ebenfalls in Phosphatpuffer bei einem pH-Wert von 7.3 hydrolysiert. Auch in diesem Fall wurden in regelmäßigen Abständen ³¹P-NMR-Spektren aufgenommen, von denen einige ausgewählte in Abbildung 32 gezeigt sind. Es ist deutlich die Bildung einer Diphosphat-Spezies zu erkennen. Die Spektren der späteren Zeitpunkte zeigen ein einzelnes Signal, welches die Bildung einer Monophosphat-Spezies aufzeigt. Die Hydrolyse verläuft also für die Verbindung **133** ähnlich wie bei der Verbindung **132** (Schema 128).

$$O_2N$$
 O_2N
 O_2N
 O_3N
 O_4C
 O_4C

Schema 128: Hydrolyse von Verbindung 133 in Phosphat-Puffer bei pH 7.3

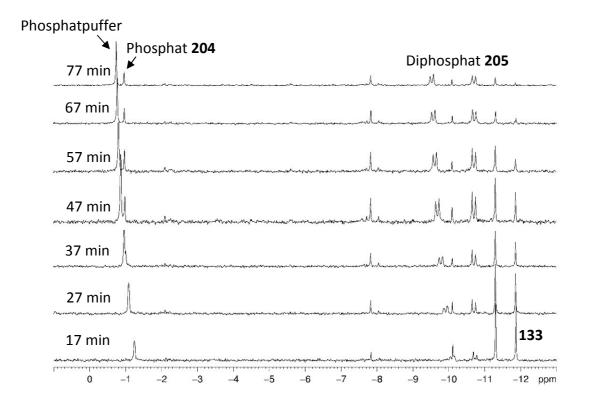


Abbildung 32: ³¹P-NMR-Spektren der Hydrolyse von Verbindung **133** in Phosphat-Puffer bei pH 7.3

Vermutlich liegt das Monophosphat-Signal in den Spektren der früheren Zeitpunkte unter dem Signal, welches durch den Phosphatpuffer hervorgerufen wird. Da nun keine konstante Größe mehr vorhanden ist, wird die Bestimmung einer genauen Halbwertszeit für Verbindung 133 unmöglich. Es konnte aber ein ungefährer Wert von ca. elf Minuten berechnet werden. Schon die ³¹P-NMR-Spektren zeigen, dass die Hydrolyse von Verbindung 133 schneller als die von Verbindung 132 abläuft. Darüber hinaus kann aus den späteren Spektren das Verhältnis Monophosphat 204:Diphosphat 205 bestimmt werden. Es beträgt in diesem Fall 1:2 – das Diphosphat wird in erstaunlich großer Menge gebildet. Schon bei der Hydrolyse von Verbindung 132 bildete sich das Diphosphat 203 in erheblich größerem Maße als es von den 5-Nitro-substituierten cycloSal-Triestern in 5'-Position von Nucleosiden bekannt war. Dass die Verbindung 133, in der der cycloSal-Triester mit einer sekundären Hydroxylgruppe – derjenigen in 4-Position der Mannose – gebildet wird, noch selektiver mit dem Phosphat als Nucleophil reagiert, konnte nicht erklärt werden.

Bei den Hydrolysestudien der 5-Akzeptor-substituierten *cyclo*Sal-Nucleotide konnte in den ³¹P-NMR-Spektren ein Signalsatz gefunden werden, der eindeutig dem Intermediat der Hydrolyse, dem Benzyldiester **206**, zugeordnet werden konnte (Schema 129). Dieses Signal bei ca. 0.2 ppm zeigte im Protonen-gekoppelten Experiment eine Aufspaltung zu einem pseudo-Quintett, was auf die Kopplung zu den benzylischen und den 5'-Protonen des Nucleosids schließen lässt. Das Signal des Nucleotids **115** bei -0.1 ppm zeigte nur noch eine Aufspaltung zu einem Triplett, welches durch die Kopplung mit den 5'-Protonen des Nucleosids hervorgerufen wird. ¹³⁸

Schema 129: Hydrolyse von 5-NO₂-cycloSal-d4TMP 114a

Auf diese Weise konnte nachgewiesen werden, dass im Fall der Akzeptorsubstituierten *cyclo*Sal-Nucleotide der erste Schritt des Hydrolysemechanismus im Vergleich zu den Donor-substituierten Verbindungen so stark beschleunigt wird, dass hier der zweite Schritt, der Bruch der Benzylesterbindung, der Geschwindigkeitsbestimmende wird. Bei den Donor-substituierten Verbindungen konnte aus ebendiesem Grund, nämlich dass hier der erste Schritt der Geschwindigkeitsbestimmende ist, das Intermediat nicht nachgewiesen werden. 138

Ähnliches ließ sich im Fall der hier untersuchten *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl)-phosphate nicht beobachten. In den ³¹P-NMR-Spektren der Hydrolysestudien konnte kein Signal gefunden werden, welches dem entsprechenden Intermediat der Hydrolyse hätte zugeordnet werden können. Dennoch sprechen die Ergebnisse der Studien deutlich dafür, dass sie demselben Hydrolysemechanismus unterliegen, wie die *cyclo*Sal-Nucleotide.

Aus diesen Ergebnissen wird deutlich, dass es sich bei den Verbindungen 132 und 133 um stark aktivierte Phosphattriester handelt, welche leicht von Nucleophilen angegriffen werden können. Auf diese Weise werden die entsprechenden Phosphate (Monophosphat 202 bzw. 204 und Diphosphat 203 bzw. 205) erhalten. Die Halbwertszeiten dieser aktivierten Phosphattriester 132 und 133 liegen mit 21 bzw. elf Minuten in dem Bereich, der schon für die *cyclo*Sal-Nucleotide bestimmt wurde. Die Ergebnisse aus den Hydrolysestudien bilden eine sehr gute Grundlage, um auch die hier synthetisierten *cyclo*Sal-Triester als aktivierte Phosphat-Bausteine in der Synthese zu nutzen.

4.4 Einsatz der *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphate zur Synthese

4.4.1 Darstellung von Phosphatdiester-verbrückten Disacchariden

Mit der erfolgreichen Synthese der 5-NO₂-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-Dglycopyranosyl-6)-phosphate standen die aktivierten Zucker-6-Phosphate Ausgangssubstanzen für die Kupplungsreaktion zu den Phosphat-verbrückten Disacchariden zur Verfügung. Diese Kupplungsreaktion sollte an die von S. WARNECKE zur Darstellung von NMP-Zuckern erzielten Ergebnisse angelehnt werden:⁶⁹ Nachdem die Darstellung von dTMP-D-Glucose 108 zunächst mit Kaliumcarbonat als Base mit einer Ausbeute von 35% erprobt worden war, wurde zur Beschleunigung der Reaktion Natriumhydrid gewählt. In diesem Fall konnte das Produkt in einer Ausbeute von 55% erhalten werden. Die Reaktionszeit verkürzte sich von zuvor zwei Tagen auf nur noch eine Stunde. In beiden Fällen wurden die Pyranose und die Base in einem äquimolaren Verhältnis eingesetzt. In Bezug auf den Triester lagen sie in einem deutlichen Überschuss vor. Mit beiden Basen wurde das β-verknüpfte Produkt erhalten. Dies wurde mit dem kinetischen anomeren Effekt begründet, der aus einer deutlich höheren Nucleophilie des β-Glycopyranosyl-1-oxids resultiert (Anfang Kapitel 4). Die anfänglich erzielte Ausbeute von 55% (mit NaH als Base) konnte durch die Optimierung der Reaktionsführung auf 80% gesteigert werden. Das optimierte Syntheseprotokoll sah folgende Schritte vor:⁶⁹

- Trocknung von einem Äquivalent 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glycopyranose sowie einem Äquivalent Natriumhydrid im Ölpumpenvakuum,
- Lösen beider Komponenten in trockenem Dichlormethan, Rühren bei Raumtemperatur für 30 Minuten,
- Langsame Zugabe von 0.2 Äquivalenten des 5-NO₂-cycloSal-dTMPs (gelöst in trockenem Dichlormethan), Rühren bei Raumtemperatur für eine Stunde,
- Extraktion des Reaktionsgemisches mit Wasser, Gefriertrocknung der wässrigen Phase,

- Deacetylierung des Rohproduktes durch 18stündiges Rühren in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1, anschließend erneute Gefriertrocknung,
- o Reinigung des Rohproduktes an RP18-Kieselgel mit Wasser als Eluent.

Schema 130: Synthese von 108 nach der cycloSal-Methode, S. WARNECKE^{65,69}

Dieselbe Reaktionsführung mit 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-galactopyranose **105** lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 69%, ebenfalls als reines β-Anomer. Auch mit 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose **106** war die Reaktion erfolgreich. Die Ausbeute betrug 71%. Allerdings wurde hier ein Anomerengemisch im Verhältnis α/β = 1:3.5 erhalten (Anfang Kapitel 4). Unter Verwendung der sterisch anspruchsvollen, lipophilen Base DBU führte die Kupplungsreaktion auch mit 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranose **104** zu der Bildung eines Anomerengemisches. Das Verhältnis betrug hier α/β = 1:2.5 bei gleicher Reaktionszeit. Das Glycopyranosyl-β-oxid scheint folglich durch das sperrige HDBU $^+$ -Gegenion deutlich stärker an Reaktivität zu verlieren als die entsprechende α-konfigurierte Verbindung.

Auf diesen Ergebnissen aufbauend sollte die Kupplung von 5-NO₂-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranosyl-6)-phosphat **132** mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose **106** erarbeitet werden. Dabei galt es vor allem, verschiedene Basen sowie Lösungsmittel zu erproben, um deren Einfluss auf das Anomerenverhältnis im Produkt zu ermitteln.

Für den ersten Versuch wurden folgende Reaktionsbedingungen gewählt: ein Äquivalent 106 wurden ebenso wie 0.25 Äquivalente 132 für eine Stunde im Ölpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wurden die Verbindungen jeweils in trockenem Dichlormethan gelöst, 106 wurde mit einem Äquivalent DBU versetzt und für zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Verbindung 132 zu dieser Lösung hinzugetropft. Per Dünnschichtchromatographie konnte nach dreieinhalb Stunden eine vollständige Umsetzung der Verbindung 132 festgestellt werden. Die Reaktionslösung wurde mit Wasser gewaschen und die wässrige Phase gefriergetrocknet. Im ³¹P-NMR-Spektrum waren deutlich erkennbar die vier Signale des Produkts bei -2.9 ppm zu identifizieren. Darüber hinaus waren einige deutlich kleinere Signale bei -5.8 ppm und -7 ppm vorhanden (Abb. 33). Es folgte die Deacetylierung unter den bekannten Bedingungen (CH₃OH/H₂O/Et₃N 7:3:1, 18 Stunden, Rt) und die erneute Gefriertrocknung. In dem danach aufgenommenen ³¹P-NMR-Spektrum waren entgegen der Erwartung keinerlei Signale von Nebenprodukten zu sehen. Nur die Diastereomere des Kupplungsproduktes 118 gaben Signale bei -1.3 ppm und -1.8 ppm (Abb. 34).

Schema 131: erster Kupplungsversuch von 106 mit 132 zu 207

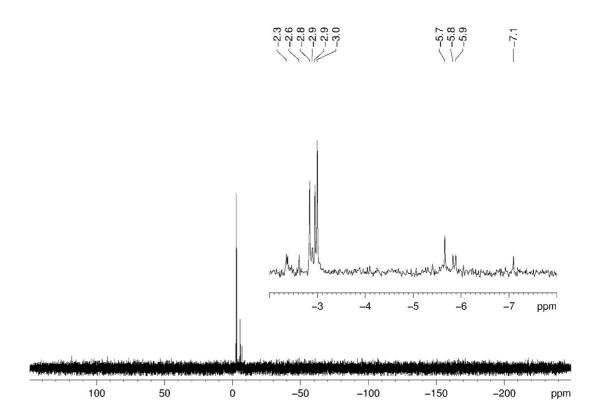


Abbildung 33: 31 P-NMR-Spektrum des Rohproduktes nach dem ersten Kupplungsversuch

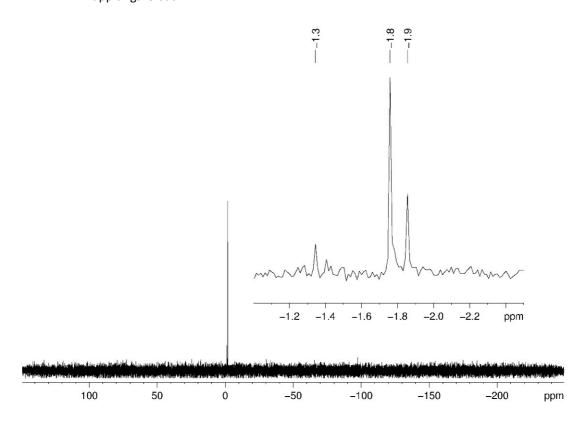


Abbildung 34: 31 P-NMR-Spektrum des ersten Kupplungsversuches nach der Deacetylierung

Anschließend wurde eine säulenchromatographische Reinigung an RP18-Kieselgel mit Wasser als Eluent vorgenommen. Dabei zeigte sich, dass es nicht möglich war, die überschüssige Mannose abzutrennen, welche durch Deacetylierung aus der im Überschuss eingesetzten 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose 106 gebildet worden war. Zwar konnte das gewünschte Produkt erhalten werden, jedoch nur im Gemisch mit Mannose. In den folgenden Versuchen sollte eine Reinigung vor der Deacetylierung erprobt werden, da sich das peracetylierte Kupplungsprodukt 207 in seiner Polarität deutlich von der 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose 106 unterscheidet. Das oben beschriebene Experiment wurde wiederholt. In dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohproduktes, das direkt nach der Kupplung aufgenommen wurde, zeigte sich, dass dieses Mal das Nebenprodukt (mit dem Signal bei -5.8 ppm im ³¹P-NMR-Spektrum), in erheblich höherem Maße gebildet worden war (vgl. Abb. 35).

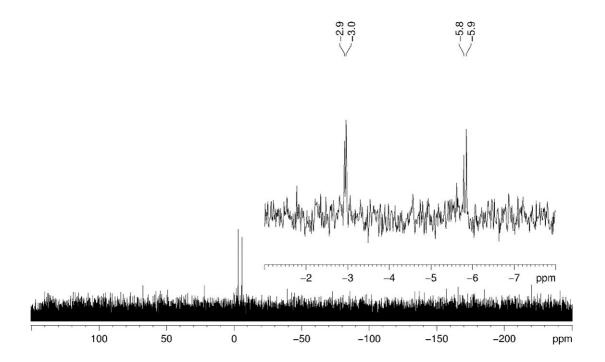


Abbildung 35: 31 P-NMR-Spektrum des Rohproduktes nach dem zweiten Kupplungsversuch

Der Reinigungsversuch wurde dennoch unternommen. Dazu wurde eine Säulenchromatographie an RP18-Kieselgel mit einem Acetonitril-Wasser-Gradienten von 1:9 nach 1:3 durchgeführt. Auch auf diese Weise war es nicht möglich, die überschüssige 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose **106** abzutrennen, da das Kupplungsprodukt gemeinsam mit der Verbindung **106** über sehr viele Fraktionen eluierte. Ein Grund für dieses Elutionsverhalten ist vermutlich das sehr lipophile

Gegenion (HDBU⁺). Deshalb wurde versucht, dieses vor der Chromatographie gegen Triethylammonium auszutauschen. Jedoch war dieser Austausch nur teilweise erfolgreich. Auch der Versuch, eine Chromatographie an Normalphasenkieselgel mit Acetonitril/Wasser im Verhältnis 7:1 vorzunehmen, brachte nicht das gewünschte Ergebnis. Nun gab es also ein altes und ein neues Problem: Die Reinigung des Kupplungsproduktes war erstens immer noch nicht zufriedenstellend, denn es konnte nur als Gemisch mit Mannose isoliert werden. Zweitens war das Nebenprodukt, welches im ³¹P-NMR-Spektrum ein Signal bei -5.8 ppm gab, in erheblich größerem Maße gebildet worden, obwohl keine Veränderungen an den Reaktionsbedingungen vorgenommen worden waren. Da diese Kupplung nur sinnvoll ist, wenn der Triester möglichst quantitativ zu dem gewünschten Produkt umgesetzt wird, galt es herauszufinden, wie die Nebenproduktbildung verhindert werden kann.

In einem ersten Schritt wurde die Ausgangssubstanz zur Generierung des Pyranosyl1-oxids verändert, da die Verwendung der sehr hygroskopischen 2,3,4,6-Tetra-*O*acetylglycopyranosen einen vollständigen Ausschluss von Feuchtigkeit erschwert.
Zudem wird dadurch die Einwaage ungenau. Daher wurde in einigen, im Folgenden
diskutierten Versuchen mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-*O*-fluorenylmethoxcarbonyl-α-Dmannopyranose 208 als Ausgangssubstanz gearbeitet. Diese war problemlos aus der
entsprechenden 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylmannopyranose 106 durch Reaktion mit FmocCl
und Pyridin in Dichlormethan darzustellen.

Schema 132: Darstellung von Verbindung 208

Der erste Kupplungsversuch wurde ähnlich wie die zuvor beschriebenen durchgeführt. Ein Unterschied lag darin, dass beide Zuckerderivate gemeinsam vorgetrocknet und in trockenem Dichlormethan gelöst wurden, um daraufhin zu der in trockenem Dichlormethan gelösten Base (DBU) hinzugetropft zu werden. Zunächst sah das Ergebnis vielversprechend aus, da in dem ³¹P-NMR-Spektrum des Rohproduktes nach der Kupplung nur die erwarteten Signale des Produkts zu sehen waren. Eine

Wiederholung des Versuchs bestätigte dieses aber nicht: erneut trat das Problem auf, dass dasselbe Nebenproduktes gebildet wurde. Auch die Verwendung der Reagenzien Triester 132, Nucleophil 106, Base im Verhältnis 1:2:2 sowie 1:1:2 führte zu diesem Ergebnis.

THF kam als alternatives Lösungsmittel in Frage, denn in diesem kann mit stärkeren Basen gearbeitet werden. Da sich durch die Verwendung der 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-*O*-fluorenylmethoxcarbonyl-α-D-glycopyranose verglichen mit der 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglycopyranose kein Unterschied im Ergebnis der Kupplung zeigte, wurde wieder auf letztere als Nucleophil zurückgegriffen. Der Ablauf des Experiments war bis auf den Wechsel des Lösungsmittels mit dem zuerst beschriebenen identisch. Das Ergebnis zeigte aber keine Verbesserung: Es entstand zwar das gewünschte Produkt, allerdings auch das Nebenprodukt in einem nicht zu vernachlässigenden Maße. Nach der Deacetylierung zeigte sich ein weiteres Nebenprodukt (Signale bei 18 ppm im ³¹P-NMR-Spektrum, Abb. 36). Interessanterweise verschwand aber das Signal bei -5.8 ppm.

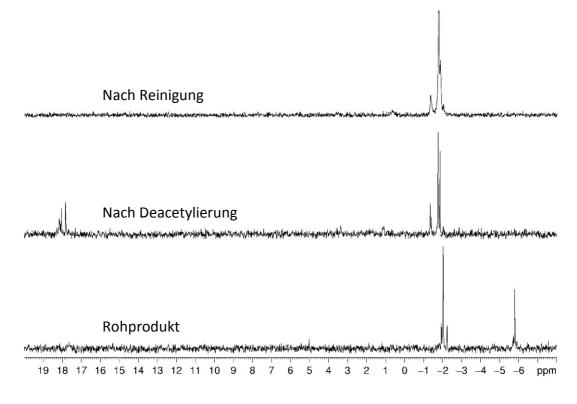


Abbildung 36: Vergleich der ³¹P-NMR-Spektren nach der Kupplung, nach der Deacetylierung, nach der Reinigung

Die positive Erkenntnis dieses Versuchs war, dass erstmals eine vollständige Reinigung des Produktes gelang. Dazu wurde zuerst eine Vorreinigung an RP18-Kieselgel und mit Wasser als Eluent vorgenommen, wobei in erster Linie der 5-Nitrosalicylalkohol abgetrennt wurde. Es folgte eine weitere Reinigung der Produktfraktionen mittels Größenausschlusschromatographie an Sephadex LH-20 (ebenfalls mit Wasser als Eluent). Auf diese Weise konnte das Produkt in einer Ausbeute von 34% als Natriumsalz isoliert werden. Das α/β -Verhältnis am über die Phosphatbrücke verknüpften anomeren Zentrum betrug 7:1. Ein Teil des Produkts lag noch in Mischfraktionen vor, auf deren erneute Reinigung an dieser Stelle verzichtet wurde, da die Reaktionsbedingungen noch nicht optimal waren. Um vorab zu klären, ob das Produkt möglicherweise unter den Bedingungen zur Deacetylierung instabil war schließlich war zuvor die Bildung einer/mehrerer Substanzen bei der Deacetylierung zu beobachten (Abb. 36) – wurde eine kleine Menge des isolierten Kupplungsproduktes 118 unter ebendiesen Bedingungen bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wieder ein ³¹P-NMR-Spektrum aufgenommen. Da nur die Signale des Produktes **118** vorhanden waren, kann geschlussfolgert werden, dass das Produkt unter den Deacetylierungsbedingungen stabil ist. Außerdem wurde eine kleine Probe des acetylierten Kupplungsproduktes 207 unter den Deacetylierungsbedingungen bei Raumtemperatur gerührt.

Schema 133: Deacetylierung von 207

Auch hier war nur die Bildung des gewünschten, deacetylierten Produktes **118**, jedoch keine Entstehung eines Nebenprodukts zu beobachten (Abb. 37). Daher wurden im weiteren Verlauf die Bedingungen zur Deacetylierung nicht geändert. Vermutlich bildet sich aus dem Nebenprodukt, welches ein Signal bei -5.8 ppm im ³¹P-NMR-Spektrum gibt, bei der Deacetylierung dasjenige/diejenigen Nebenprodukt(e), die Signale bei 18 ppm geben.

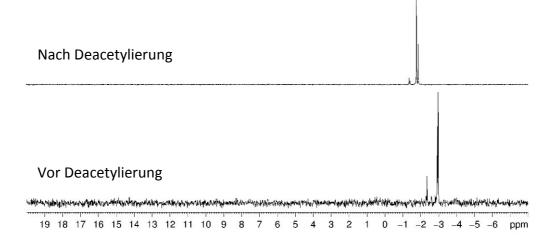


Abbildung 37: ³¹P-NMR-Spektren vor und nach der Deacetylierung von Verbindung **207**

Im Folgenden wurden andere Basen erprobt. Dies sollte einen positiven Trend zur Minimierung des Nebenproduktes aufzeigen. Zudem ist das Anomerenverhältnis im Produkt abhängig von der für die Kupplung eingesetzten Base.

Zunächst wurde die Kupplung mit Natriumhydrid als Base erprobt (Verhältnis Triester:Nucleophil:Base = 1:4:4, Lösungsmittel THF, Vorreaktion von Nucleophil und Base, dann Zugabe des Triesters und vierstündiges Rühren bei Raumtemperatur). Das 31 P-NMR-Spektrum bestätigte sowohl die Bildung des Produktes als auch in einem nicht zu vernachlässigenden Ausmaß die Bildung des "-5.8 ppm - Nebenprodukts". Erneut zeigten sich bei der Deacetylierung die Abnahme dieses Signals und das Erscheinen einiger Signale bei 18 ppm. Zudem trat ein weiteres Signal bei 3 ppm auf. Anschließend wurde die Reinigung mittels RP-Chromatographie und Chromatographie an Sephadex durchgeführt. Das Produkt konnte jedoch nicht sauber isoliert werden. Nichtsdestotrotz war es möglich, das Verhältnis der Anomeren am über die Phosphatbrücke verknüpften anomeren Zentrum mit α/β = 7:6 zu bestimmen. Es wird der gleiche Trend deutlich, der bereits bei den Arbeiten zur Synthese von NMP-Pyranosen mittels der *cyclo*Sal-Methode festgestellt werden konnte (Anfang Kapitel 4.3). 69

Als weitere Basen wurden Di*iso*propylethylamin und Triethylamin für die Kupplungsreaktion erprobt. In keinem Fall war die Bildung des Kupplungsproduktes zu beobachten. Langes Rühren der 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglycopyranose mit dem *cyclo*Sal-

Triester ohne Basenzugabe führte ebenfalls nicht zur Bildung des Produktes. Dies erlaubte den Schluss, dass eine ausreichend starke Base vorhanden sein muss, um das Glycopyranosyl-1-oxid zu bilden, da die Glycopyranose nicht nucleophil genug für die Reaktion mit dem 5-NO₂-substituierten *cyclo*Sal-Triester ist. Als sehr starke, nichtnucleophile Base wurde Kalium-*tert*butanolat ausprobiert. Es war in diesem Versuch jedoch erkennbar, dass die Reaktionslösung sofort sehr dunkel wurde. Zudem fiel ein Feststoff aus und in dem ³¹P-NMR-Spektrum der Reaktionslösung war kein Signal zu erkennen. Diese Ergebnisse belegen, dass mit DBU als Base bereits sehr gute Reaktionsbedingungen gefunden worden waren. Um aber die Entstehung des Nebenproduktes weiter aufzuklären, wurde nur der Triester **132** gelöst in trockenem THF mit DBU versetzt. Nach einer Reaktionszeit von einer Stunde bei Raumtemperatur wurde ein ³¹P-NMR-Spektrum aufgenommen. In diesem waren keine Signale des Triesters mehr zu sehen. Lediglich zwei Signale bei ca. -5 ppm traten hervor. Es ist folglich sehr wahrscheinlich, dass das beschriebene Nebenprodukt aus einer Reaktion des *cyclo*Sal-Triesters mit DBU resultierte.

Bereits in vorigen Arbeiten konnte als Nebenreaktion von *cyclo*Sal-Triestern die "falsche" Hydrolyse identifiziert werden.⁶⁹ Die "normale" Hydrolyse sieht als erstes die Spaltung des phenylischen Phosphatesters vor, wodurch es zu einem spontanen Bindungsbruch der benzylischen Phosphatesterbindung kommt. Wird hingegen letztere zuerst gespalten, resultiert ein stabiler Phosphatdiester. S. WARNECKE konnte diesen (Verbindung 210) als Nebenprodukt bei der Reaktion von Uridin-5'-monophosphat 2 mit 5-NO₂-*cyclo*Sal-3'-*O*-acetyldesoxythymidin-5'-monophosphat 107 nachweisen (Schema 134).⁶⁹

Schema 134: Umsetzung von 5-NO₂-cycloSal-3'-O-acetyldesoxythymidin-5'-monophosphat 137 mit Uridin-5'-monophosphat unter Bildung des "falschen" Diesters 239

Die Verbindung **210** gab im ³¹P-NMR-Spektrum ein Signal bei -6 ppm.⁶⁹ Dasselbe Problem konnte auch bei Reaktionen mit *cyclo*Sal-Triestern in Gegenwart von Pyridin beobachtet werden.⁷⁰ Die Bildung des "falschen" Diesters **211** kann folglich auch in den in dieser Arbeit durchgeführten Kupplungsreaktionen aufgetreten sein (Schema 135). Verwunderlich ist jedoch, dass das Signal bei -5.8 ppm unter den Deacetylierungsbedingungen verschwand und sich Signale bei 18 ppm bildeten. Letztendlich konnten diese Befunde nicht vollständig aufgeklärt werden.

Schema 135: Bildung des "falschen" Diesters **211** aus dem *cyclo*Sal-Triester **132** durch Reaktion mit DBU

Allerdings ist es verwunderlich, dass es trotz dieser schnellen Nebenreaktion des Triesters mit DBU überhaupt möglich gewesen war, das Kupplungsprodukt zu erhalten. Vermutlich reagierte das vorhandene DBU zwar mit dem Triester und bildete auf diese Weise das Nebenprodukt (Schema 136, Weg A), aber gleichzeitig führte das Glycopyranosyl-1-oxid, welches im Säure-Base-Gleichgewicht mit DBU und der

Glycopyranose vorliegt, zur Bildung des gewünschten Kupplungsproduktes (Schema 136, Weg B). Für eine möglichst quantitative Umsetzung des Triesters zu dem gewünschten Kupplungsprodukt war es also nötig, dass eine möglichst geringe Menge DBU und eine möglichst große Menge Glycopyranosyl-1-oxid vorlagen.

Schema 136: Reaktion des *cyclo*Sal-Triesters **132** mit (A) DBU oder (B) dem Glycopyranosyl-1-oxid **212**

Aus diesem Grund wurde das Verhältnis der Reaktanden Triester:Nucleophil:Base verändert. Abbildung 38 zeigt das ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemischs aus der Reaktion mit dem Verhältnis 1:4:1. Nach einer Reaktionszeit von drei Stunden konnte auch unter diesen Bedingungen eine vollständige Umsetzung des Triesters festgestellt werden. Wie aus dem Spektrum zu erkennen ist, war diese Unternehmung tatsächlich erfolgreich, denn das Nebenprodukt wurde nur noch in sehr untergeordnetem Maße gebildet.

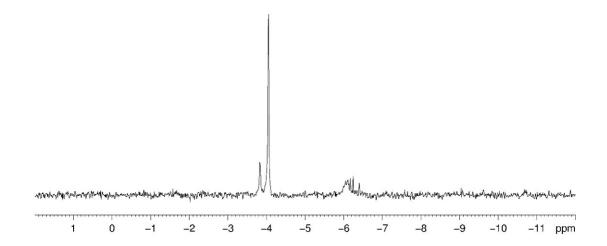


Abbildung 38: ³¹P-NMR-Spektrum des Rohgemischs aus der Kupplung mit dem Verhältnis Triester:Nucleophil:Base 1:4:1

Nach dem Protokoll von S. WARNECKE stand nach der Kupplung zunächst eine Extraktion des Produktes mit Wasser an, um die überschüssige Tetra-O-acetylglycopyranose zu entfernen. Nach der Gefriertrocknung folgte anschließend die Deacetylierung. Im Laufe der vielen Kupplungsversuche konnte in der vorliegenden Arbeit festgestellt werden, dass dieser Schritt nicht nur wenig hilfreich sondern gar hinderlich war. Sowohl mit Ethylacetat als auch mit Dichlormethan als organischem Lösungsmittel trat eine sehr schlechte Phasentrennung ein. Weiterhin war die Abtrennung der Tetra-O-acetylglycopyranose nicht vollständig. Aus diesen Gründen wurde auf die Extraktion verzichtet. Nach der Kupplung wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand in dem bekannten Gemisch zur Deacetylierung (Methanol, Wasser, Triethylamin 7:3:1) aufgenommen. Nach einer Reaktionszeit von 18 Stunden bei Raumtemperatur wurde erneut das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand aus Wasser gefriergetrocknet. Als erste Reinigungsstufe wurde zur Abtrennung des 5-Nitrosalicylalkohols eine Chromatographie an RP18-Kieselgel vorgenommen. Daran schloss sich die mehrmalige Größenausschlusschromatographie an Sephadex LH-20 an. Auf diese Weise war es möglich, das gewünschte Kupplungsprodukt mit einer sehr guten Ausbeute von 83% zu erhalten.

Schema 137: Erfolgreiche Kupplung von 106 und 132 zu 118

Damit waren die optimalen Kupplungs- sowie Reinigungsbedingungen gefunden:

- Base: DBU, Lösungsmittel: Dichlormethan,
- o Verhältnis der Reaktanden Triester:Glycopyranose:Base 1:4:1,
- Equilibrierung der Glycopyranose mit der Base für zehn Minuten bei Raumtemperatur,
- o gefolgt von der Zugabe des Triesters,
- o eine Reaktionszeit von drei Stunden bei Raumtemperatur,
- o anschließend die Entfernung des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum,
- danach die Deacetylierung des Rohproduktes (Methanol, Wasser, Triethylamin 7:3:1, 18 Stunden, Raumtemperatur),
- o erneute Entfernung des Lösungsmittels sowie anschließende Gefriertrocknung,
- o eine Vorreinigung des Rohproduktes an RP18-Kieselgel,
- o die Isolierung des Kupplungsproduktes durch (evtl. mehrfache) Größenausschlusschromatographie an Sephadex LH-20.

Unter diesen Bedingungen wurde eine weitere Kupplungsreaktion mit dem *cyclo*Sal-Triester **132** und 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranose **104** durchgeführt. Diese verlief ebenso erfolgreich: Das Produkt konnte mit einer Ausbeute von 62% isoliert werden. Die etwas geringere Ausbeute ist vor allem durch Schwierigkeiten bei der Abtrennung der Glucose von dem Produkt zu erklären. Selbst nach vierfacher Chromatographie an Sephadex LH-20 lag noch ein Teil des Produkts in Mischfraktionen mit Glucose vor. Das Anomerenverhältnis am verbrückenden Zentrum betrug $\alpha/\beta=1:2$. Dieses Ergebnis ist zu verstehen, wenn man die Erklärungen zum kinetischen Anomeren Effekt erneut heranzieht: Der thermodynamische Anomere Effekt hat im Fall der Mannose aufgrund der stärkeren Stabilisierung des α -Oxids größeres Gewicht als im Fall der Glucose. Bei letzterer überwiegt der kinetische Anomere Effekt, welcher durch eine höhere Nucleophilie des Glucopyranosyl- β -oxids verursacht wird (Anfang Kapitel 4 sowie Anfang dieses Kapitels).

Schema 138: Kupplung von 104 und 132 zu 213

Ein enormer Vorteil dieser Methode gegenüber der für die Darstellung solcher Phosphatdiester-verbrückten Strukturen hauptsächlich verwendeten H-Phosphonat-Methode liegt in der Verwendung eines aktivierten P(V)-Bausteins – dem *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphat. Eine Oxidation auf Stufe des bereits verknüpften Produktes kann auf diese Weise vermieden werden. Dies ist ein großer Vorteil, da es bei diesem Schritt häufig zu Nebenreaktionen kam (Kapitel 2.2.1).

Nachteilig ist bei dieser Methode der Kupplungsreaktion die Bildung beider Anomere. Jedoch zeigt sich je nach verwendetem Nucleophil und eingesetzter Base eine Präferenz für eines der Anomere, sodass es unter Verwendung der geeignetsten Base gelingt, eines der Anomere stark bevorzugt zu bilden.

4.4.2 Anwendung der optimierten Kupplungsbedingungen auf die Darstellung eines Phosphatdiester-verbrückten Tetrasaccharids

Im vorangegangenen Kapitel wurde die Entwicklung geeigneter Kupplungsbedingungen für die Darstellung 1-6-Phosphatdiester-verbrückter Pyranosen ausgehend von 5-Nitro-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-D-glycopyranosyl-6)-phosphaten geschildert. Diese sollten nun für die Darstellung des in Abbildung 39 gezeigten Phosphatdiester-verbrückten Tetrasaccharids angewendet werden. Dieses ist das Strukturmotiv aus dem Lipophosphoglycan des *Leishmania*-Parasiten.

Abbildung 39: $Gal(\beta 1-4)Man-\alpha 1P6-Gal(\beta 1-4)Man$ **214**

Das Retrosyntheseschema zur Darstellung von Verbindung **215** – dem α -Benzylglycosid der Verbindung **214** – mit der *cyclo*Sal-Methode ist in Schema 139 gezeigt.

Schema 139: Retrosyntheseschema zur Darstellung von Gal(β 1-4)Man-1P6-Gal(β 1-4)ManBn **215**

Nach den bereits gefundenen Ergebnissen konnte davon ausgegangen werden, dass sich bei der Knüpfung des Phosphatdiesters zwar bevorzugt, aber nicht ausschließlich, die α -Phosphat-verknüpfte Verbindung bilden würde. Das α -Benzylglycosid **215** sollte die Analytik vereinfachen: Im Vergleich zu der komplett deblockierten Verbindung **214** sollte hier nur der halbe Signalsatz vorliegen, da alle bis auf ein anomeres Zentrum (das an der Phosphatbrücke, 1*) festgelegt sind. Es können folglich nur zwei Diastereomere Verbindungen vorliegen. Im Fall der Verbindung **214** ist die Konfiguration in Position 1 ebenfalls nicht festgelegt, da das Halbacetal in Lösung im Gleichgewicht mit der offenen Form vorliegt, aus der sich bei Ringschluss sowohl die α -als auch die β -Verbindung bilden kann. Es ergeben sich somit für diesen Fall vier diastereomere Verbindungen. Ferner wird durch das α -Benzylglycosid die α -Verknüpfung zu dem nächsten Phosphat in einem Oligomer von Verbindung **214**

mimikriert, wie sie in den natürlichen Substanzen des Parasiten *Leishmania* vorkommt. Aus diesen Gründen war nur die Deacetylierung, nicht aber die vollständige Deblockierung von Verbindung **215** geplant. Es sollte aber unproblematisch sein, die Benzylgruppe durch Hydrierung abzuspalten.

Die Darstellung des *cyclo*Sal-Triesters **157'Bn** wurde bereits in Kapitel 4.1.4 beschrieben. Das Nucleophil **217** wurde durch selektive Spaltung der Acetylgruppe in der 1-Position ausgehend von Verbindung **166** mit Benzylamin in einer guten Ausbeute von 78% erhalten.

Schema 140: Darstellung des Nucleophils 217 für die Kupplungsreaktion

Damit waren die Ausgangssubstanzen 217 und 157'Bn für die Kupplung zu dem Phosphatdiester-verbrückten Tetrasaccharid vorhanden. Wie für die Kupplung des manno-Triesters 132 mit 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannose 106 in Kapitel 4.4.1 beschrieben, wurde auch in diesem Fall das Nucleophil zur Entfernung von Spuren von Wasser in trockenem Dichlormethan gelöst und für 30 Minuten über frisch aktiviertem Molsieb stehen gelassen. Anschließend wurden zur Deprotonierung der 1-OH-Gruppe 0.25 Äquivalente DBU hinzugegeben und für zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann folgte die Zugabe von ebenfalls 0.25 Äquivalenten des cycloSal-Triesters **157'Bn**. Die Reaktionsverfolgung mittels Dünnschichtchromatographie (PE/EE 1:2) zeigte eine rasche Abnahme des Triesters 157'Bn. Nach einer Reaktionsdauer von 45 Minuten bei Raumtemperatur war dieser vollständig verbraucht. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand zur Deacetylierung in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin (7:3:1) aufgenommen und für 26 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das durch erneute Entfernung des Lösungsmittelgemischs ³¹P-NMR-Spektroskopie erhaltene Rohprodukt wurde mittels (Abbildung 40). Deutlich zu sehen ist ein Signal bei -2.1 ppm, welches in sehr guter Übereinstimmung mit den Werten für die Phosphatdiester-verbrückten Disaccharide steht und wohl das Signal für das α-verknüpfte Produkt **215** darstellt. Daneben ist ein deutlich kleineres Signal bei -1.6 ppm zu sehen, welches vermutlich durch das

β-verknüpfte Produkt **215** hervorgerufen wird. Des Weiteren sieht man den bei den Kupplungen der Monosaccharide in Kapitel 4.4.1 beschriebenen Signalsatz bei -5.9 ppm.

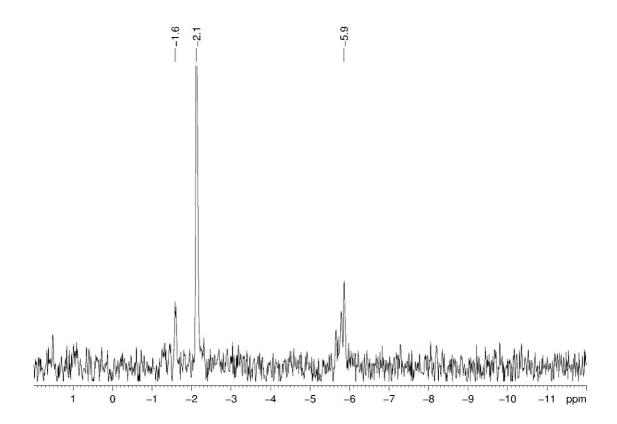


Abbildung 40: 31 P-NMR-Spektrum des Rohgemischs nach Kupplung von **217** mit **157'B** und Deacetylierung.

Das dort diskutierte Nebenprodukt scheint also auch in diesem Kupplungsfall gebildet worden zu sein, jedoch unter den ausgearbeiteten Bedingungen in geringerem Maße. Insgesamt scheint ein sehr guter Umsatz des *cyclo*Sal-Triesters **157'Bn** zu dem gewünschten Produkt **216** stattgefunden zu haben. Es folgte eine RP-Chromatographie des Rohproduktes mit Wasser und einem Methanol-Gradienten von 100:0 nach 93:7. Diese verlief deutlich erfolgreicher als im Fall der Monosaccharid-Kupplungen: Das deacetylierte Nucleophil **155** konnte problemlos vom Produkt abgetrennt werden, da dieses eine deutlich höhere Polarität aufwies und schon mit purem Wasser eluierte. Das Produkt hingegen war geringfügig lipophiler und eluierte erst bei Zugabe von wenigen Prozenten Methanol. Das Nebenprodukt, welches im ³¹P-NMR-Spektrum den Signalsatz bei -5.9 ppm aufwies, verhielt sich noch lipophiler, sodass auch dieses

abgetrennt werden konnte. Das ³¹P-NMR-Spektrum der erhaltenen Substanz ist in Abbildung 41 gezeigt.

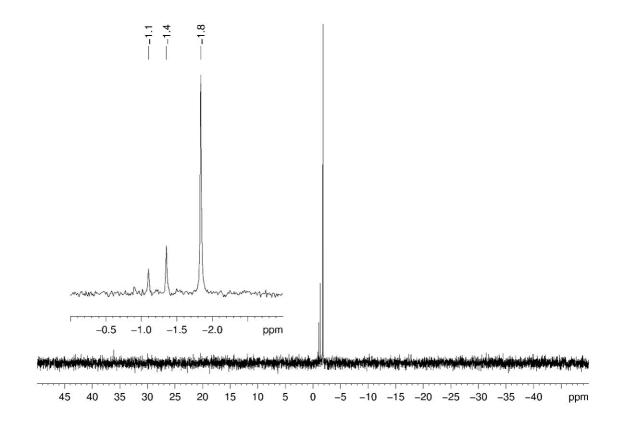


Abbildung 41: ³¹P-NMR-Spektrum nach RP-Chromatographie

Die erhaltene Stoffmenge entspricht einer Ausbeute von 82% für die Kupplungsreaktion mit anschließender Deacetylierung. Dies ist ein sehr gutes Ergebnis und spricht ebenfalls für die effiziente Umsetzung des *cyclo*Sal-Triesters zu dem gewünschten Produkt. Jedoch ist nun zu erkennen, dass ein weiteres, sehr kleines Signal bei -1.1 ppm vorhanden ist. Die Verbindung, welche dieses Signal hervorruft, konnte nicht isoliert werden. In keinem der anderen Spektren (¹H-NMR-, HR-ESI¹-MS-) konnte eine Verunreinigung gefunden werden. Diese Befunde sowie die sehr ähnliche ³¹P-Verschiebung sprechen dafür, dass es sich um eine dem gewünschten Produkt 215 sehr ähnliche Verbindung handeln muss. Prinzipiell wäre eine Wanderung der Phosphateinheit denkbar. Bei einem Angriff der OH-Gruppe in 4-Position des Galactopyranosid-Restes, an dem die Phosphateinheit angeknüpft ist (Schema 142), wäre der Austritt der anomeren Gruppe – also des zweiten Disaccharids – sehr wahrscheinlich. Es würde sich der cyclische Phosphatdiester 218 bilden.

Schema 142: mögliche Spaltung von Gal(β 1-4)Man-1P6-Gal(β 1-4)ManBn **215** zu dem cyclischen Phosphatdiester **218** unter Austritt von Verbindung **155**

Die Bildung solcher 4,6-Cyclophosphate von Glycopyranosen ist unter basischen Bedingungen oder beispielsweise durch Zusatz von CsF durchaus bekannt. PATEL und Davis berichteten von der Darstellung von Cyclophosphaten dieser Art. Sie wollten durch eine gezielte Öffnung die selektive Darstellung von entweder 4- oder 6-Phosphaten ermöglichen. Dafür postulierten sie den in Schema 142 gezeigten Mechanismus. Sie stellten fest, dass das Cyclophosphat 221, welches am Phosphat eine negative Ladung trägt, durch diese stabilisiert ist und somit nicht für eine selektive Öffnung (also eine gezielte Hydrolyse) genutzt werden kann. Sie berichten aber auch, dass im Vergleich zum *gluco*-konfigurierten Derivat bei der *galacto*-Konfiguration die initiale Cyclisierung aufgrund der axialen Stellung der 4-OH-Gruppe langsamer abläuft.

Schema 141: Bildung des 4,6-Cyclophosphats **221** aus Diphenyl-(glycopyranosidyl-6)-phosphat **219** unter basischen Bedingungen, PATEL und DAVIS

Es erscheint eher unwahrscheinlich, dass bei der in Kapitel 4.4.1 beschriebenen Kupplung zu dem Phosphatdiester-verbrückten Disaccharid Man-1P6-Man **118** (mit äquatorial konfigurierter 4-OH-Gruppe) die Bildung eines solchen 4,6-Cyclophosphats nicht auftrat, aber diese hier (mit axial konfigurierter 4-OH-Gruppe) stattgefunden haben soll. Zieht man diese dennoch in Betracht, wird aus dem Schema 141 deutlich, dass es sich bei der Verbindung, welche das Signal bei -1.1 ppm im ³¹P-NMR-Spektrum ergab, auch um die zu Verbindung **223** analoge handeln könnte, also das 1P4-verbrückte Tetrasaccharid **224**.

Abbildung 42: $Gal(\beta 1-4)Man-1P4-Gal(\beta 1-4)ManBn$ **224**

Die chemische Verschiebung des ³¹P-Signals mit -1.1 ppm würde eher für den letzteren Fall sprechen, da für 4,6-Cyclophosphate der Galactopyranose eine chemische Verschiebung für das Phosphoratom von ca. -3 bis -4 ppm beschrieben ist. ^{140,141} Auch

die Tatsache, dass bei dem Versuch der Abtrennung dieses Nebenproduktes mittels Größenausschlusschromatographie keinerlei Separation zu beobachten war, würden für den letzteren Vorschlag sprechen. Das Massenspektrum stützt diese These. Allerdings gelang eine eindeutige Identifizierung dieses Nebenproduktes nicht.

Die Versuche, das Nebenprodukt chromatographisch abzutrennen, waren nur mäßig zufriedenstellend. Wie bereits erwähnt, zeigte die Größenausschlusschromatographie keinerlei Trennung und auch die RP-Chromatographie brachte keine vollständige Reinigung des gewünschten Produktes. Nach mehrfacher Durchführung dieser mit Wasser-Methanol-Gradienten konnten schließlich 35% des sauberen Produktes als Anomerengemisch im Verhältnis α : β von 5:1 erhalten werden (31 P-NMR-Spektrum s. Abbildung 43, 1 H-NMR-Spektrum s. Abbildung 44). 45% des Produktes lagen weiterhin mit der beschriebenen Verunreinigung in einem Anteil von 7% vor.

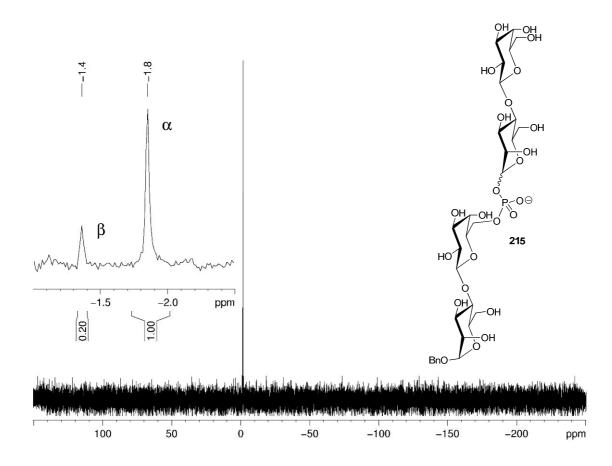


Abbildung 43: 31 P-NMR-Spektrum des isolierten, gewünschten Produkts **215**, α_P : β_P = 5:1

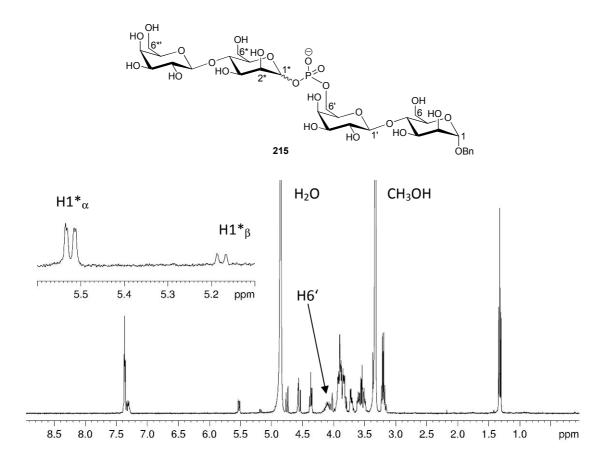


Abbildung 44: 31 P-NMR-Spektrum des isolierten, gewünschten Produkts **215**, α_P : β_P = 1.00:0.20

Aus dem ¹H-NMR-Spektrum geht hervor, dass eine Bindung des anomeren Zentrums eines Mannopyranose-Restes zum Phosphat vorlag: Die in der Vergrößerung gezeigten Signale werden durch die anomeren Protonen $H1^*_{\alpha}$ und $H1^*_{\beta}$ der α - (5.52 ppm) und der β-verknüpften (5.18 ppm) Verbindung hervorgerufen. Beide zeigen eine H,P-Kopplung im Bereich von 8 Hz. Die Zuordnung der Signale zu den Anomeren kann zum einen über den Vergleich der chemischen Verschiebungen erfolgen, denn das anomere Proton von α-verknüpften, manno-konfigurierten Pyranosylderivaten gibt ein Signal bei tieferem Feld als das der entsprechenden β-verknüpften Verbindung. Zum anderen ist bei dem Signal bei tieferem Feld eine zweite Kopplung von 1.6 Hz zu erkennen. Diese entspricht H1,H2-Kopplung eines α -konfigurierten der Mannopyranosyl-Derivats (hier ${}^3J_{\text{H1*H2*},\alpha}$). Die H1,H2-Kopplung des β-konfigurierten Produkts ist kleiner. Sie konnte in diesem Fall nicht aufgelöst werden. Über 2D-NMR-Spektroskopie konnte festgestellt werden, dass ein Satz an Signalen, der für eine 6-Position einer Glycopyranose steht, zu tieferem Feld verschoben ist als die Signale für die anderen drei Glycopyranosyl-6-Positionen. Dies spricht dafür, dass an dieser Position das Phosphat angeknüpft ist (6'). Das ¹³C-NMR-Spektrum bestätigte dies: Das zugehörige Signal bei 64 ppm spaltet zu einem Duplett mit einer für diese Position typischen C,P-Kopplungskonstante von 5.7 Hz auf.

Die für die Darstellung von Phosphat-verbrückten Disacchariden mittels der cycloSal-Methode entwickelte Strategie (Kapitel 4.4.1) konnte erfolgreich auf die Darstellung eines Phosphat-verbrückten Tetrasaccharids angewendet werden. Die Umsetzung des cycloSal-Triesters zu dem gewünschten Produkt gelang sehr effizient. Allerdings zeigte sich bei der chromatographischen Reinigung die Bildung eines Nebenproduktes, welches ähnliche Eigenschaften wie das gewünschte Produkt aufwies. Bei diesem Nebenprodukt handelte es sich wohlmöglich um die über die 4-Position verbrückte Verbindung 224. Vor der Chromatographie konnte dieses Nebenprodukt nicht detektiert werden. Um die Bildung des Nebenproduktes näher zu untersuchen, wurde die verunreinigte Fraktion in D2O und deuteriertem Methanol gelöst und die Lösung bei Raumtemperatur verwahrt. In ein-Tages-Abständen wurden ³¹P-NMR-Spektren gemessen. Dabei war zu sehen, dass die Menge an Nebenprodukt nicht zunahm, daher konnte sich das Nebenprodukt unter diesen Bedingungen nicht aus dem Produkt gebildet haben. Auch nach Zugabe von Triethylamin war keine Zunahme des Verhältnisses Nebenprodukt:Produkt zu verzeichnen. Dementsprechend kann es sich auch nicht unter den Deacetylierungsbedingungen aus dem Produkt gebildet haben. Schlussendlich blieben sowohl die eindeutige Struktur sowie die Entstehung des Nebenproduktes ungeklärt.

4.4.3 Darstellung eines Konjugats mit einem nicht-glycosidischen Nucleophil

Wie ganz zu Beginn dieser Arbeit gezeigt, sind Phosphatdiester-Strukturen an der primären OH-Gruppe einer Glycopyranose nicht nur in Verbindung mit einem Glycosid zu finden. In der GPI-Anker-Struktur (Typ II, vorhanden in Säugetieren und niederen Eukaryoten)¹⁴ findet sich ein an der Mannose in 6-Position angeknüpfter Phosphatdiester, welcher als zweiten Baustein 2-Aminoethanol trägt. An der Amino-Funktion werden Peptide/Proteine angeknüpft.

Abbildung 45: Glycosyl-Phosphatidylinositol-Anker (Typ II)

Im Folgenden sollte geprüft werden, ob der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierte *cyclo*Sal-Triester **132** sich auch als Baustein für die Synthese einer solchen Struktur eignet.

Schema 143: Retrosyntheseschema zur Synthese von Verbindung 225 ausgehend von dem *cyclo*Sal-Triester 132

Um die gezeigte Struktur **225** ausgehend von diesem darstellen zu können, wurde zur Vermeidung von Nebenreaktionen nicht direkt mit 2-Aminoethanol als Nucleophil gearbeitet, sondern mit dem an der Aminofunktion blockierten Derivat *N*-Benzyl-2-aminoethanol **226**. Da diese Verbindung bereits basisch ist, musste keine zusätzliche

Base hinzugefügt werden. Der *cyclo*Sal-Triester **132** wurde in Dichlormethan gelöst und mit *N*-Benzyl-2-aminoethanol **226** versetzt. Bereits nach zweistündigem Rühren bei Raumtemperatur konnte per Dünnschichtchromatographie ein vollständiger Umsatz von Verbindung **132** festgestellt werden. Es folgte die Deacetylierung (Methanol, Wasser, Triethylamin 7:3:1, 18 Stunden, Rt) mit anschließender Gefriertrocknung. Das Rohprodukt wurde anschließend zunächst durch Chromatographie an RP18-Kieselgel zur Abtrennung des 5-Nitrosalicylalkohols vorgereinigt und mittels Größenausschlusschromatographie an Sephadex LH-20 konnte das Produkt in einer guten Ausbeute von 68% isoliert werden.

Schema 144: Darstellung von Verbindung 227 durch Kupplung des *cyclo*Sal-Triesters 132 mit *N*-Benzyl-2-aminoethanol 226

Das 31 P-NMR-Spektrum (Abbildung 46) zeigt die Bildung zweier Diastereomere (α und β) im Verhältnis 1:0.43. Die Zuordnung konnte aus dem Protonen-NMR-Spektrum erfolgen. Die massenspektrometrische Analyse bestätigte, dass es sich bei dem erhaltenen Produkt um den gewünschten Phosphatdiester handelte.

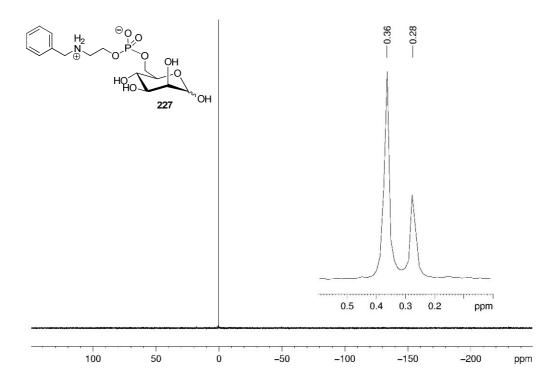


Abbildung 46: 31P-NMR-Spektrum von Verbindung 227

Somit war die Kupplung mit dem nicht-glycosidischen Nucleophil *N*-Benzyl-2-aminoethanol **226** erfolgreich. Von Vorteil war sicherlich die inhärente Basizität des Nucleophils.

Um Verbindung **225** zu erhalten, musste noch die Benzylschutzgruppe abgespalten werden. Dies erfolgte durch Hydrierung in einer Wasserstoffatmosphäre mit Palladium (5% auf Kohle) als Katalysator und Wasser als Lösungsmittel.

Schema 145: Darstellung von Verbindung 225 durch Hydrierung von Verbindung 227

Auf diese Weise war es möglich, die gewünschte Struktur in einer hohen Ausbeute von 67% ausgehend von dem *cyclo*Sal-Triester **132** zu erhalten. Es konnte gezeigt werden, dass die Kupplung dieses aktivierten Glycopyranosyl-Phosphats mit verschiedenen Nucleophilen möglich ist und somit ausgehend von diesem vielfältige Strukturen mit dem Glycopyranosyl-6-phosphatdiester-Motiv erhalten werden können.

4.5 Darstellung von Pyranonucleosid-6'-triphosphaten

Nach den erfolgreichen Reaktionen der 5-Nitro-cycloSal-glycopyranosylphosphate 132 und 157'Bn sowohl mit den deprotonierten Glycopyranosen 104, 106 und 217 als auch mit dem nicht-glycosidischen Nucleophil 226 sollte nun die Reaktion der 5-NitrocycloSal-[(2',3',4'-tri-O-acetyl-β-D-glycopyranosyl)-thymin)-6']-phosphate **200** und **201** mit Pyrophosphat als Nucleophil erprobt werden, um auf diesem Weg die 6'-Triphosphate der Pyranonucleoside zu erhalten. Eine Orientierung boten die Arbeiten von S. Warnecke zur Darstellung von Nucleosid-5'-triphosphaten ausgehend von cycloSal-Nucleotiden. 63,69 Um die Nucleophilie und Löslichkeit des Pyrophosphats in organischen Solventien zu erhöhen, wurde ein Kationenaustausch vorgenommen: Das kommerziell erhältliche Dinatriumdihydrogenpyrophosphat wurde dabei in Tris(tetra-n-butylammonium)-hydrogenpyrophosphat überführt. Von diesem wurde eine Stammlösung über frisch aktiviertem Molsieb in trockenem DMF (100 mg/mL) angesetzt. Es gestaltet sich grundsätzlich schwierig, die genaue molare Konzentration dieser Lösung zu berechnen, da nicht eindeutig bestimmt wurde, mit wievielen Tetran-butylammonium-Gegenionen das Pyrophosphat vorlag. Lediglich aufgrund des pH-Wertes wurde von dreien ausgegangen.⁶⁹ Dies stellt aber zu Anfang kein größeres Problem dar, da ohnehin mit einem Überschuss an Pyrophosphat gearbeitet wurde, um die Effizienz der Kupplungsreaktion überprüfen zu können. In einem ersten Versuch wurden 20 mg des cycloSal-Triesters 201 in einem Milliliter trockenem DMF gelöst und zu 0.69 mL der Pyrophosphat-Stammlösung gegeben. Bei der Zugabe färbte sich die Reaktionslösung sofort gelb - ein deutliches Indiz für die Spaltung des Triesters. Bereits nach einer Reaktionszeit von fünf Minuten bei Raumtemperatur konnte dünnschichtchromatographisch der vollständige Umsatz des cycloSal-Triesters festgestellt werden. Die Reaktionslösung wurde für zwei weitere Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde zur Deacetylierung in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 aufgenommen und für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt.

Schema 146: erste Synthese zur Darstellung des Triphosphats 228

Anschließend wurden ³¹P- und ¹H-NMR-Spektren der erhaltenen Substanz aufgenommen, aus denen deutlich hervorging, dass der Triester komplett umgesetzt worden war. Ansonsten hätte sich unter den Deacetylierungsbedingungen das Monophosphat **229** bzw. der Methylester **230** bilden müssen (Schema 146). Diese würden im ³¹P-NMR-Spektrum Signale um 0 ppm erzeugen. In diesem Bereich ist aber kein Signal vorhanden. Deutlich zu erkennen ist, dass ein Triphosphat vorliegen musste, da das Signal im ³¹P-NMR-Spektrum bei -23 ppm – ein doppel-Duplett – für diese typisch ist.

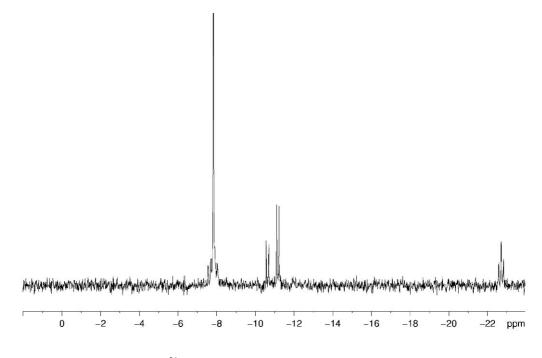


Abbildung 47: ³¹P-NMR-Spektrum des Reaktionsgemischs nach Deacetylierung

Darüber hinaus war erkennbar, dass eine Diphosphat-Spezies gebildet worden war. Hierbei kann es sich um das benzylierte Diphosphat **117** handeln, welches durch Reaktion des Chinonmethids **231** mit überschüssigem Pyrophosphat gebildet wird (Schema 147).

Pyrophosphat
$$ACO$$
 ACO ACO

Schema 147: Reaktion des *cyclo*Sal-Triesters **201** mit Pyrophosphat zu dem Triphosphat **228** unter Abspaltung des Chinonmethids **231**, welches mit Pyrophosphat zu dem benzylierten Diphosphat **117** reagieren kann

Dieses Nebenprodukt war auch bereits bei der Synthese der Nucleosid-5'-triphosphate beobachtet worden⁶⁹ und war daher bei der beschriebenen Syntheseführung zu erwarten. Es wurde an dieser Stelle nicht isoliert und identifiziert. Vergleiche mit der zitierten Arbeit von S. WARNECKE zeigten aber, dass es sich mit großer Sicherheit um diese Verbindung **117** handelte. Dies gilt insbesondere für das Auftreten eines Dupletts im ¹H-NMR-Spektrum bei einer Verschiebung von 4.94 ppm mit einer Kopplungskonstante von 5.4 Hz, welches durch die benzylischen Protonen hervorgerufen wird (Abb. 48).

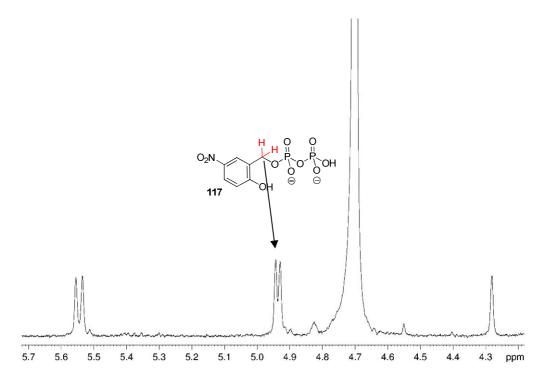


Abbildung 48: ¹H-NMR-Spektrum des Reaktionsgemischs nach Deacetylierung

Aus dem aktivierten Phosphat **201** ist somit in dieser Reaktion nur die gewünschte Verbindung **228** gebildet worden. Die Kupplungsreaktion erwies sich damit als hocheffizient.

Das Nebenprodukt **117** sowie das Salicylalkoholderivat **232** konnten nach einem Kationenaustausch von Tetra-*n*-butylammonium auf Ammonium mittels Chromatographie an RP18-Kieselgel mit Wasser als Eluent problemlos abgetrennt werden. Allerdings war ein großer Überschuss an Pyrophosphat enthalten, wie schon aus dem ³¹P-NMR-Spektrum zu sehen ist (Abbildung 47). Es gelang selbst nach wiederholter *reversed phase* Chromatographie sowie Größenausschlusschromatographie nicht, diesen vollständig zu entfernen.

Die Umsetzung des *cyclo*Sal-Triesters zum Triphosphat war folglich sehr effizient, aber die vollständige Reinigung bei einem so großen Überschuss an Pyrophosphat nicht möglich. Da bei der Reaktion ein sehr schneller Umsatz des Triesters zu dem gewünschten Triphosphat festgestellt werden konnte, wurde das Experiment umgestellt: Es sollte eine "Titration" des *cyclo*Sal-Triesters mit Pyrophosphat erfolgen. Die Pyrophosphatlösung wurde in kleinen Portionen zu dem gelösten Triester gegeben. Nach jeder Portion war eine Reaktionsdauer von fünf Minuten bei Raumtemperatur

einzuhalten. Im Anschluss folgte eine Überprüfung des Umsatzes per Dünnschichtchromatographie. Sobald der Triester komplett verbraucht war, wurde zum Abfangen des Chinonmethids **231** Wasser zu der Reaktionslösung gegeben und anschließend das Lösungsmittel entfernt. Nach der Deacetylierung unter den bekannten Bedingungen erfolgte der Austausch der Tetra-*n*-butylammonium-Ionen gegen Triethylammonium-Ionen.

Schema 148: verbesserte Synthese zur Darstellung des Triphosphats 228

Auch bei diesem Versuch zeigte sich in den NMR-Spektren des Rohproduktes, dass der Umsatz des *cyclo*Sal-Triesters zu dem entsprechenden Triphosphat sehr effizient war. Dies ist ein neues, bedeutendes Ergebnis, da bislang davon ausgegangen worden war, dass das Nucleophil zu jedem Zeitpunkt im Überschuss vorhanden sein muss.⁶⁹ Die Reinigung erfolgte schließlich durch Chromatographie an RP18-Kieselgel mit Wasser als Eluent. Auf diese Weise war es möglich, alle Nebenprodukte abzutrennen und das Triphosphat **228** rein zu isolieren.

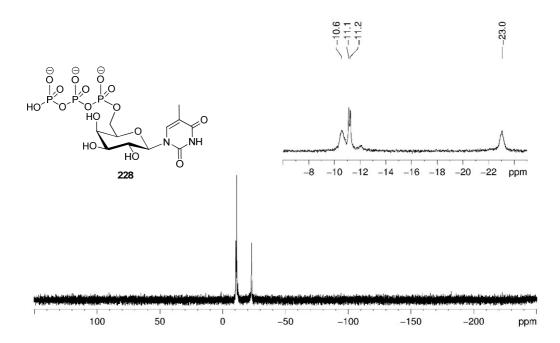


Abbildung 49: ³¹P-NMR-Spektrum des reinen Triphosphats **228**

Die Ausbeute für Verbindung **228** betrug 72%. Dies ist ein sehr gutes Ergebnis, insbesondere wenn man bedenkt, dass die Trennung polarer Verbindungen häufig mehrere Reinigungsschritte benötigt, welche mit entsprechenden Ausbeuteverlusten einhergehen. ^{63,69} Im Vergleich zu den durch RENDERS und HERDEWUN erzielten Ergebnissen zur Darstellung von Pyranonucleosid-6'-triphosphaten ⁹⁴ stellt diese Ausbeute eine immense Verbesserung dar. Hervorzuheben ist die einfache Reinigung durch den Einsatz eines möglichst geringen Überschusses an Pyrophosphat; eine ähnliche Methode zur Darstellung von Triphosphaten ist in der Literatur bisher nicht bekannt.

Betrachtet man die gesamte Syntheseroute ausgehend von dem Pyranonucleosid **194** konnte das Triphosphat **228** in einer Ausbeute von 15% in einer neunstufigen Synthesesequenz (von diesen wurden vier Stufen isoliert) erhalten werden.

In einem ersten Versuch der Umsetzung des *gluco*-Derivates **200** mit einem Überschuss an Tris(tetra-*n*-butylammonium)-hydrogenpyrophosphat konnte das Gleiche beobachtet werden, wie zuvor für das *galacto*-Derivat **201** beschrieben: Die Umsetzung erfolgte sehr schnell und lieferte effizient das Triphosphat **119**. Es wurde dasselbe Nebenprodukt (Verbindung **117**) gebildet, welches nach Deacetylierung und Kationenaustausch mittels Chromatographie an RP18-Kieselgel mit Wasser als Eluent problemlos abgetrennt werden konnte. Jedoch war auch in diesem Fall die Abtrennung des Triphosphats **119** von dem überschüssigen Pyrophosphat nicht möglich. Die Anwendung der verbesserten Reaktionsführung ("Titration" des Triesters **200** mit Pyrophosphat) brachte einen deutlichen Erfolg: Die portionsweise Zugabe der Pyrophosphat-Lösung zu dem in trockenem DMF gelösten *cyclo*Sal-Triester **200** bis zu dessen vollständigem Umsatz, anschließende Zugabe von Wasser, Entfernen des Lösungsmittels, Deacetylierung und Ionenaustausch gefolgt von Chromatographie an RP18-Kieselgel lieferte das reine Triphosphat **119** in einer sehr guten Ausbeute von 63%. Das zugehörige ³¹P-NMR-Spekrum ist in Abbildung 50 gezeigt.

Schema 149: Darstellung des Triphosphats 119

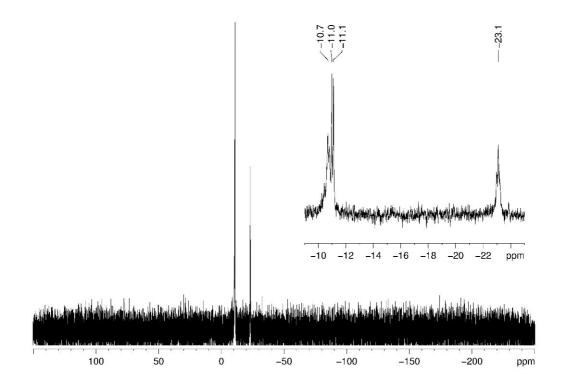


Abbildung 50: ³¹P-NMR-Spektrum der reinen Verbindung **119**

Ausgehend von dem Pyranonucleosid **192** beträgt die Gesamtausbeute für $(\beta-D-Glucopyranosyl)$ -thymin-6'-triphosphat **119** 22% über acht Stufen (von diesen wurden vier isoliert).

Durch die geänderte Reaktionsführung ist es gelungen, mit einem sehr geringen Überschuss an Pyrophosphat zu arbeiten und die Triphosphate **228** und **119** auf eine unkomplizierte Weise in hohen Ausbeuten zu isolieren. Im Gegensatz zu der Syntheseführung nach Renders und Herdewijn⁹⁴ wurde in der vorliegenden Arbeit mit einer Schutzgruppenstrategie gearbeitet (die OH-Gruppen an den Positionen 2', 3' und 4' wurden blockiert). Dieser Ansatz erfordert eine deutlich höhere Anzahl an Reaktionsschritten. Dafür erreicht man auf diese Weise eine "100%ige

Regioselektivität" bei der Synthese des Triphosphats. Es kann Phosphorylierung einer der anderen Positionen stattfinden. Zwar sollte die OH-Gruppe in der 6'-Position bevorzugt mit dem jeweiligen Phosphorylierungsreagenz umgesetzt werden, jedoch kann eine - wenn auch in geringerem Maße stattfindende -Phosphorylierung anderer OH-Gruppen nicht ausgeschlossen werden. An dieser Stelle sei nochmals darauf verwiesen, dass sich bei der Galactose bereits bei der selektiven Blockierung der primären OH-Gruppe als tertButyldimethylsilylether (Kapitel 4.1.1.1) die Reaktivität der primären OH-Gruppe zu wenig abhob und es zu der Bildung von Regioisomerengemischen kam. Sofern es überhaupt möglich ist, stellt die Regioisomerengemische, chromatographische Trennung der die aus der (Tri)Phosphorylierung eines Pyranonucleosids wie Verbindung 195 hervorgehen, einen enormen Aufwand dar. In einer Publikation von Ahmadibeni und Parang ist die Synthese von Triphosphaten an der primären OH-Gruppe von Kohlenhydraten mittels eines Festphasen-gebundenen Amidit-Reagenzes beschrieben – ebenfalls ohne die Blockierung der anderen OH-Gruppen. 144 Durch die Immobilisierung des Reagenzes an einer festen Phase können nur mono-substituierte Derivate gebildet werden. Die mehrfache Phosphorylierung an verschiedenen OH-Gruppen kann auf diese Weise ausgeschlossen werden. Die Regioselektivität für die primäre OH-Gruppe wird über sterische Hinderung durch die feste Phase begründet. Jedoch findet sich insbesondere für den Fall der Galactose in dieser Arbeit kein Beweis für das Vorliegen der Triphosphateinheit an der primären OH-Gruppe, wie beispielsweise eine entsprechende CP-Kopplung. Renders und Herdewijn beschrieben die Darstellungen von (2',3'-Dideoxy-1-β-D-glucopyranosyl)-thymin-6'-triphosphat, $(3',4'-Dideoxy-1-\beta-D$ glucopyranosyl)-thymin-6'-triphosphat und $(2',3'-Dideoxy-1-\beta-D-glucopyranosyl)$ adenin-6'-triphosphat nach der Methode von Ludwig⁷⁷, wobei die Ausbeuten ca. 10% betrugen.⁹⁴ Als Nebenprodukte wurden die mono-, di- und tetraphosphorylierten sowie die Monomethyl-veresterten Derivate erhalten. Ein Problem dieser Synthesestrategie war, dass mit einem großen Überschuss an Pyrophosphat gearbeitet werden musste. Dieses ist sehr schwierig von dem gewünschten Triphosphat Die Synthese von 1-(β-D-Glucopyranosyl)-thymin-6'-triphosphat abzutrennen. beschrieben die Autoren nach dem CDI-Ansatz¹⁴⁵ ausgehend von dem entsprechenden

Monophosphat.⁹⁴ Für diese Synthese wird keine Ausbeute angegeben, aber auch in diesem Fall musste mit einem großen Pyrophosphat-Überschuss gearbeitet werden.

Ein großer Vorteil der in dieser Arbeit entwickelten Syntheseführung zeigt sich darin, dass es durch die enorm schnelle Reaktion möglich ist, mit einem sehr geringen Überschuss an Pyrophosphat zu arbeiten. Dieser ließ sich in beiden Fällen durch eine sehr einfache, einmalige Säulenchromatographie an RP18-Kieselgel mit Wasser als Eluent problemlos abtrennen. Zudem ist aufgrund der verwendeten Schutzgruppenstrategie auf diesem Weg wahrscheinlich auch die Darstellung solcher Derivate möglich, bei denen die Triphosphateinheit nicht an derjenigen OH-Gruppe vorliegt, die sich durch höchste Reaktivität oder beste räumliche Zugänglichkeit auszeichnet.

5 Zusammenfassung

Die Verbrückung zweier Naturstoffe über eine Phosphateinheit bildet ein weit verbreitetes Motiv in der Gruppe der biologisch relevanten Moleküle. Nicht nur in der DNA bzw. RNA liegen Phosphatdiester-verknüpfte Glycoside vor. Eine ähnliche Substanzklasse, bei der Zuckereinheiten über Phosphatdiester miteinander verbunden sind, stellen die Glycosylphosphozucker dar. Solche Strukturen kommen beispielsweise in bakteriellen Zellwänden sowie auf der Oberfläche und in Sekreten von Parasiten vor. Die erfolgreiche Vakzinierung mit einem synthetischen Phosphoglycan gegen H. influenzae Typ b stellt ein erstes Beispiel zur medizinischen Nutzung dieser Phosphoglycane dar. Für die Darstellung von Glycosylphosphozuckern ist eine möglichst effiziente und breit anwendbare chemische Synthesemethode von großem Interesse.

Eine Möglichkeit, Phosphat-konjugierte Biomoleküle darzustellen, bietet die *cyclo*Sal-Methode. Bei dieser wird ein Monophosphat, welches durch die cyclische Veresterung mit einem akzeptorsubstituierten Salicylalkoholderivat aktiviert ist, mit einem Nucleophil umgesetzt. Auf diese Weise wird das gewünschte Konjugat erhalten ohne nach der Kupplung eine Oxidation vornehmen zu müssen.

Das Ziel der Arbeit war die Übertragung der *cyclo*Sal-Methode, die bis dahin nur für Nucleoside angewendet wurde, auf die Darstellung von Glycopyranosyl-Phosphatkonjugaten. Dazu musste zunächst eine Synthesestrategie für die Darstellung der mit Acetylgruppen blockierten *cyclo*Sal-Triester entwickelt werden. Um eine regioselektive Darstellung dieser an der primären OH-Gruppe der Glycopyranosen zu gewährleisten, musste die Schutzgruppenwanderung von der 4- auf die 6-Position verhindert werden. Diese findet bekanntermaßen sowohl unter leicht sauren als auch unter basischen Bedingungen statt. ^{101,104}

Erstmalig gelang die regioselektive Darstellung von *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphaten durch die Einführung der Fmoc-Schutzgruppe, deren Abspaltung in einer *one-pot*-Reaktion mit unmittelbar anschließender Umsetzung zu dem *cyclo*Sal-Triester realisiert wurde (Kapitel 4.1.2). Diese neue Methode zeichnet sich durch eine sehr

vielfältige Anwendbarkeit auf verschiedene Glycopyranosen und deren Glycoside, wie Pyranonucleoside oder Disaccharide, aus.

Die erfolgreiche Darstellung und Isolierung verschiedener 5-NO₂-cycloSal-(Glycopyranosyl-6)-phosphate in guten Ausbeuten ermöglichte im weiteren Verlauf die Synthese von 1,6-Phosphatdiester-verknüpften Disacchariden. Nach der Optimierung der Reaktionsführung sowie der chromatographischen Reinigung der Produkte wurden diese in hohen Ausbeuten erhalten (Kapitel 4.4.1). Somit wurde eine neue Methode zur Darstellung von Glycosylphosphozuckern entwickelt. Diese Methode zeichnet sich besonders dadurch aus, dass nach der Kupplung keine Oxidation vorgenommen werden muss. Dies ist ein Syntheseschritt, welcher bei den literaturbekannten Synthesen, die sich hauptsächlich der H-Phosphonatchemie bedienen, ein Problem aufgrund der Tendenz zu Nebenreaktionen darstellt. Daher bildet die hier entwickelte Methode eine sehr gute und wichtige Alternative zu den literaturbekannten Methoden.

Ebenfalls gelang die Übertragung der gesamten Synthesestrategie auf die Darstellung eines Phosphoglycans, in dem zwei Disaccharidbausteine über einen Phosphatdiester miteinander verknüpft sind. Diese Struktur ist besonders interessant, da sie auf der Oberfläche des *Leishmania*-Parasiten vorkommt (Kapitel 4.1.4 und 4.4.2). Darüber hinaus konnte auf identischem Weg die Peptid-Anknüpfungsstruktur aus dem GPI-Anker, 2-Aminoethyl-(D-mannopyranosyl-6)-phosphat, erhalten werden (Kapitel 4.4.3). Diese Beispiele verdeutlichen, dass sich die in dieser Arbeit entwickelte Syntheseroute für die Darstellung einer Vielzahl verschiedener bedeutender Glycopyranosyl-Phosphatkonjugate eignet.

Eine klassische Anwendung der *cyclo*Sal-Nucleotide ist die Synthese von Nucleosid-5'-triphosphaten.⁶³ Zur Untersuchung der antiviralen Eigenschaften von Pyranonucleosiden ist die Darstellung der entsprechenden Triphosphate grundlegend. Sehr erfolgreich konnte die für die Glycopyranosen entwickelte Synthesestrategie auf die Synthese von *cyclo*Sal-(Pyranonucleosid-6')-phosphaten übertragen werden und lieferte folglich die Bausteine für die Synthese der Triphosphate (Kapitel 4.2). Bei allen literaturbekannten Methoden zur Synthese von Nucleosidtriphosphaten muss mit einem großen Überschuss an Pyrophosphat gearbeitet werden. Selbst bei einem guten

Umsatz zum Triphosphat mindert die schwierige Reinigung die Ausbeute häufig enorm. Die in dieser Arbeit entwickelte neue Synthesemethodik hebt sich durch eine Art Titration des aktivierten *cyclo*Sal-(Pyranonucleosid-6')-phosphats mit Pyrophosphat von den bekannten Methoden ab, sodass mit einem möglichst geringen Überschuss gearbeitet werden konnte. Dadurch wurde die anschließende chromatographische Reinigung der Triphosphate entscheidend verbessert und die Pyranonucleosid-6'-triphosphate wurden in sehr guten Ausbeuten isoliert (Kapitel 4.5).

In dieser Arbeit wurde erstmals erfolgreich eine Synthesestrategie für die Darstellung von *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl)-phosphaten sowie verschiedener glycosidischer Konjugate dieser Verbindungen entwickelt. Die Beispiele für die Verwendung dieser *cyclo*Sal-Triester als Synthesebausteine für die Darstellung verschiedener Phosphatkonjugate von Glycopyranosen verdeutlichen die breite Anwendbarkeit sowie den enormen chemischen Nutzen dieser Verbindungen.

6 Summary

The linkage of two parts of a molecule via a phosphate diester is an abundant motive in nature which cannot only be found in the DNA, respectively RNA, but also in glycosyl phosphosugars for example. These structures occur in bacterial cell walls and on the surface as well as in secreted proteoglycans of parasites.^{6,7} There have already been first studies on the use of such structures as vaccines.⁸ For the synthesis of glycosyl phosphosugars an efficient, broadly applicable chemical method is of great interest.

The *cyclo*Sal-method has already proven to meet these requirements in the synthesis of phosphate bioconjugates such as NDPs, NTPs, NDP- and NMP-sugars. ⁶²⁻⁶⁸ Here, the monophosphate is activated via the cyclic esterification with an acceptor-substituted saligenol derivative. This activated species can react with a nucleophile yielding the corresponding phosphate conjugate. Thus, oxidation after the coupling step is avoided.

The objective of this thesis was to transfer the *cyclo*Sal-method to the synthesis of glycopyranosyl phosphate conjugates. Since the *cyclo*Sal-method had only been applied to the conjugation of nucleotides, the successful transfer would generate new chemical findings and broaden the spectrum of possible applications of this method. First, a synthetic strategy to obtain the fully acetylated *cyclo*Sal glycopyranosyl triesters had to be developed. For the regioselective synthesis of these triesters on the primary OH-group of the glycopyranoses, a huge challenge was the literature-known acetyl group migration from the 4- to the 6-position which is known to occur under slightly acidic as well as basic conditions. ^{101,104}

The regioselective synthesis of *cyclo*Sal-(glycopyranosyl-6)-phosphates was achieved for the first time by the introduction of the Fmoc-group which was cleaved in a *one pot* reaction with immediate conversion of the formed intermediate to the *cyclo*Sal triester (chapter 4.1.2). This new method excels by its broad applicability to various glycopyranoses and glycosides thereof.

The successful synthesis and isolation of various 5-NO₂-cycloSal-(glycopyranosyl-6)-phosphates in good yields allowed for the subsequent synthesis of 1,6-phosphate diester conjugated disaccharides. After optimizing the conditions of the reaction and the chromatographic purification, the products were obtained in high yields (chapter

4.4.1). Hence, a new method for the synthesis of glycosyl phosphosugars has been developed. This method is especially characterized by the use of an activated P(V)-reagent, so that no oxidation is needed after the coupling step. Since most of the literature-known procedures are based on H-phosphonate chemistry, this oxidation step is necessary here and often troublesome due to side reactions. Therefore, the method developed herein represents a very good and important alternative to the literature-known methods.

In addition, the synthetic strategy was transferred to the synthesis of a phosphate diester conjugate consisting of two disaccharide blocks, as it appears on the surface of the *leishmania* parasite (chapter 4.1.4 and 4.4.2). Furthermore, 2-aminoethyl-(p-mannopyranosyl-6)-phosphate, the core structure in the GPI anchor where peptides are attached, was synthesized starting from the 5-NO₂-cycloSal-(glycopyranosyl-6)-phosphate (chapter 4.4.3). These examples illustrate the broad applicability of the method developed in this thesis for the synthesis of various glycopyranosyl phosphate conjugates.

One of the first synthetic applications of *cyclo*Sal nucleotides was their use as activated building blocks for the synthesis of nucleoside triphosphates.⁶³ The synthesis of the corresponding triphosphates is essential for studying antiviral properties of pyranonucleosides for example. The synthetic strategy, that has been developed for glycopyranoses, was transferred to the synthesis of *cyclo*Sal-(pyranonucleoside-6')-phosphates and thus, the activated building blocks for the reaction to the pyranonucleoside-6'-triphosphates were obtained (chapter 4.2). Then, for the synthesis of these triphosphates, fundamental changes to the standard procedure gave the triphosphates after only one RP-chromatography in very good yields and very high purities (chapter 4.5). These changes were concerning the order of addition and the use of as little pyrophosphate as possible in a "titration-like" experiment. This is a huge improvement compared to usually applied methods.

This thesis has developed a successful strategy for the synthesis of *cyclo*Sal-(glycopyranosyl-6)-phosphates as well as glycosides thereof. The described examples for their use as activated building blocks in the synthesis of various phosphate

conjugates of glycopyranoses illustrate the broad applicability and their tremendous usefulness for chemical synthesis.

7 Experimenteller Teil

7.1 Geräte und Analytik

Die NMR-Spektren wurden in den NMR-Abteilungen der Institute für OC und AC des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg aufgenommen. Es wurden die Geräte AMX400, AV400, DRX500 und AV600 der Firma Bruker verwendet. Die chemische Verschiebung (1 H/ 13 C) wurde auf das jeweilige Lösungsmittelsignal kalibriert (CHCl $_{3}$ 7.26/77.0 (in CDCl $_{3}$); DMSO 2.50/39.5 (in DMSO- d_{6}), MeOH 3.31/49.0 (in CD $_{3}$ OD), H $_{2}$ O 4.79 (in D $_{2}$ O)), die Verschiebungen der 31 P-Signale wurden gegen 85%ige Phosphorsäure als externer Standard bestimmt. Zur Zuordnung der Signale wurden zweidimensionale Spektren (HH-COSY, HSQC, HMBC, HP-COSY) aufgenommen.

Die IR-Spektren wurden an einem ALPHA-P FT-IR Spektrometer der Firma Bruker gemessen.

Die HR-ESI-Massenspektren wurden an dem Gerät ESI-TOF 6224 der Firma Agilent aufgenommen.

Zur Gefriertrocknung wässriger Lösungen dienten die Gefriertrocknungsanlagen Alpha 2-4 sowie Alpha 2-4 LD Plus der Firma Christ.

Drehwerte optisch aktiver Verbindungen wurden an dem Polarimeter P8000 der Firma Krüss Optronic gemessen.

Für Mikrowellen-unterstützte Reaktionen wurde der Mikrowellenreaktor CEM Discover LabMate der Firma CEM im *open-vessel-*Modus verwendet.

7.2 Lösungsmittel und Reagenzien

Dichlormethan, Methanol, Ethylacetat, Petrolether, Tetrahydrofuran und Diethylether wurden in technischer Qualität bezogen und vor ihrer Verwendung destilliert. Zur Absolutierung wurde das jeweilige Lösungsmittel bzw. Reagenz über dem angegebenen Trocknungsmittel für mehrere Tage zum Rückfluss erhitzt, anschließend destilliert und über Molsieb (MS) gelagert: Diethylether, THF:

Vortrocknung über KOH, dann Kalium, MS 4 A; Dichlormethan, Triethylamin, Acetonitril: Calciumhydrid, MS 3 A. Chloroform-d, DBU und Benzylalkohol wurden über MS 4 A getrocknet. Absolutes Pyridin, Methanol, Ethylacetat und DMF wurden von Fluka und Sigma-Aldrich "absolut, über Molsieb" bezogen. PCl₃ wurde unter Inertgas destilliert.

7.3 Chromatographie

Zur Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator verwendet (Merck Nr. 5554, Schichtdicke 0.2 mm; Macherey-Nagel ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄, Schichtdicke 0.2 mm). Die Detektion UV-aktiver Verbindungen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 und 366 nm. Zur Visualisierung nicht-UV-aktiver Substanzen wurde die Folie in 10%ige wässrige Schwefelsäure getaucht und mit dem Heißluftföhn erhitzt.

Für Normalphasen-Säulenchromatographien wurde Kieselgel 60 (230-400 mesh, Korngröße 0.040-0.063 nm) als stationäre Phase verwendet, für *reversed-phase*-Chromatographien kam POLYGOPREP® 100-50C₁₈ der Firma Macherey-Nagel zum Einsatz. Zur Größenausschlusschromatographie wurde Sephadex LH-20 Gel verwendet.

7.4 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

AAV 1 Darstellung von peracetylierten Zuckern

Der jeweilige Zucker wurde in ca. 10 mL/g Zucker trockenem Pyridin gelöst und portionsweise mit drei Äquivalenten Essigsäureanhydrid pro zu acetylierender OH-Gruppe versetzt. Der Reaktionsansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum vollständig entfernt, im Anschluss wurde dreimal mit Toluol coevaporiert. Das Rohprodukt wurde in Ethylacetat und Wasser aufgenommen, nach Phasentrennung wurde die organische Phase dreimal mit Natriumhydrogencarbonatlösung und zweimal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

AAV 2 Deacetylierung in 1-Position von peracetylierten Zuckern

Der jeweilige peracetylierte Zucker wurde in THF gelöst und mit eineinhalb Äquivalenten Benzylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde bei Raumtemperatur gerührt. Bei nahezu vollständigem Umsatz wurde der Reaktionsansatz am Rotationsverdampfer eingeengt, in Ethylacetat aufgenommen und dann zweimal mit 1 M HCl, zweimal mit ges. NaHCO₃-Lösung und zweimal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat als Eluent.

AAV 3 vollständige Deacetylierung von OH-Gruppen

Die Substanz wurde in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet.

AAV 4 Darstellung von 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O-tert*butyldimethylsilyl-glycopyranosen

Die jeweilige Glycopyranose wurde in ca. 10 mL/g trockenem Pyridin gelöst und nacheinander portionsweise mit zwei Äquivalenten Imidazol und einem Äquivalent TBDMSCl versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 45 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann erfolgte die Zugabe von zehn Äquivalenten Essigsäureanhydrid, der Reaktionsansatz wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum vollständig entfernt, im Anschluss wurde dreimal mit Toluol coevaporiert. Das Rohprodukt wurde in Ethylacetat und Wasser aufgenommen, nach Phasentrennung wurde die organische Phase dreimal mit Natriumhydrogencarbonatlösung und zweimal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 4:1 nach 2:1, dabei wurde das Rohprodukt gelöst in Dichlormethan aufgetragen.

AAV 5 Darstellung von 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-glycopyranosen

Die jeweilige 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-tertbutyldimethylsilylglycopyranose wurde in wenig Dichlormethan gelöst und mit 15 Äquivalenten TEA*3HF versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurden drei Äquivalente FmocCl und neun Äquivalente Pyridin zu der Reaktionslösung gegeben. Nach ca. zweieinhalb Stunden konnte mittels DC [PE/EE 1:1 (Monosaccharide) bzw. 1:2 (Disaccharide); bzw. EE (Acetamido-Zucker)] vollständiger Umsatz festgestellt werden. Die Reaktionslösung wurde dreimal mit Wasser gewaschen, die wässrige Phase wurde vor der Entsorgung mit CaCl₂ versetzt. Die organische Phase wurde, um überschüssiges TEA*3HF abreagieren zu lassen, mit Kieselgel versetzt und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 4:1 nach 2:1 (Monosaccharide) bzw. 1:1 nach 1:2 (Disaccharide) bzw. EE pur (Acetamido-Zucker) gereinigt, dabei wurde das Rohprodukt gelöst in Dichlormethan aufgetragen.

AAV 6 Darstellung von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-glycopyranosen

Die jeweilige 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglycopyranose wurde in Dichlormethan gelöst und mit drei Äquivalenten FmocCl und drei Äquivalenten Pyridin versetzt. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur gerührt, nach vollständigem Umsatz (DC: PE/EE 1:1) mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde anschließend unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 2:1 als Eluent.

AAV 7 Darstellung von 5-NO₂-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-*O*-acetylglycopyranosyl-6)-phosphaten

Die jeweilige 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonylglycopyranose wurde in trockenem Acetonitril gelöst und mit zwei Äquivalenten 5-Nitro-cycloSaligenylchlorphosphit, ebenfalls gelöst in trockenem Acetonitril, versetzt. Nach Zugabe von sechs Äquivalenten trockenem Triethylamin wurde die Reaktionslösung bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurden zur Oxidation des Phosphits bei -10 °C fünf Äquivalente Oxone gelöst in wenig kaltem Wasser hinzugegeben. Nach zehnminütigem Rühren bei Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz mit Dichlormethan verdünnt und dreimal mit kaltem Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und Ethylacetat mit einem Zusatz von 2% Essigsäure gereinigt. Im Anschluss erfolgte eine Gefriertrocknung aus Acetonitril/Wasser, um das Produkt für die folgende Kupplungsreaktion in einer besser handhabbaren Konsistenz zu erhalten.

AAV 8 Darstellung von acetylierten Glycalen ausgehend von den acetylierten Zuckern

Der jeweilige peracetylierte Zucker wurde in Dichlormethan gelöst und mit 33%iger HBr in Essigsäure versetzt. Nach ca. zweieinhalb Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch auf Eiswasser gegeben. Nach Phasentrennung wurde die organische Phase mit gesättigter NaHCO3-Lösung und anschließend Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in trockenem Ethylacetat gelöst und über zwei Stunden zu einer refluxierenden Suspension von Zink-Staub in trockenem Ethylacetat und 1-Methylimidazol getropft. Nach vollständiger Zugabe wurde für eine weitere halbe Stunde refluxiert und das Reaktionsgemisch wurde im Anschluss für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Filtration wurde die organische Lösung mit 5%iger Salzsäure, Wasser, gesättigter NaHCO3-Lösung und anschließend wieder Wasser gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und Ethylacetat.

7.5 Synthesen

7.5.1 Synthesen der *manno*-Vorstufen

1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-tertbutyldimethylsilyl-D-mannopyranose 122

Die Synthese wurde gemäß AAV 4 durchgeführt. Es wurden 4.00 g Mannose **120** (22.2 mmol), 3.34 g TBDMSCl (22.2 mmol), 3.02 g Imidazol (44.4 mmol), 50 mL Pyridin und 21 mL Essigsäureanhydrid (0.22 mol) eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 20 Stunden bei Raumtemperatur.

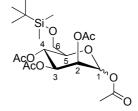
Ausbeute: 8.83 g (19.1 mmol, 86%,

 α/β = 0.67:1) eines farblosen Schaums,

Summenformel: C₂₀H₃₄O₁₀Si,

Molekulargewicht: 462.56 g/mol, DC: R_f (PE/EE

1:1 v/v): 0.79



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): α-Anomer 6.07 (d, ${}^{3}J_{HH} = 1.9$ Hz, 0.67H, 1-H), 5.41 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.8$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 9.8$ Hz, 0.67H, 4-H), 5.34 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.1$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.4$ Hz, 0.67H, 3-H), 5.22 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 3.2$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 2.1$ Hz, 0.67H, 2-H), 3.85 (ddd, ${}^{3}J_{HH} = 9.6$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 6.6$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 6.6$ Hz, 0.67H, 5-H), 3.79 – 3.70 (m, 1.4H, 6-H₂), 2.14 (s, 4H, 2xC(O)CH₃), 2.04 (s, 2H, C(O)CH₃), 2.01 (s, 2H, C(O)CH₃), 0.89 (s, 6H, Si-C(CH₃)₃), 0.05 (s, 2H, Si-CH₃), 0.03 (s, 2H, Si-CH₃), β-Anomer 5.83 (d, ${}^{3}J_{HH} = 1.1$ Hz, 1H, 1-H), 5.45 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 3.3$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 1.1$ Hz, 1H, 2-H), 5.32 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.0$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 9.7$ Hz 1H, 4-H), 5.11 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.0$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.3$ Hz, 1H, 3-H), 3.79 – 3.70 (m, 2H, 6-H₂), 3.60 (ddd, ${}^{3}J_{HH} = 9.7$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 4.3$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.1$ Hz, 1H, 5-H), 2.18 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.08 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.03 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.00 (s, 3H, C(O)CH₃), 0.89 (s, 9H, Si-C(CH₃)₃), 0.05 (s, 3H, Si-CH₃), 0.03 (s, 3H, Si-CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): α-Anomer 170.3, 169.9, 169.4, 168.4 (C(O)CH₃), 90.6 (1), 73.4 (5), 69.1 (3), 68.6 (2), 65.8 (4), 61.9 (6), 25.7 (Si-C(CH₃)₃), 20.8, 20.8, 20.7, 20.7 (C(O)CH₃), 18.2 (Si-C(CH₃)), -5.4 (Si-CH₃), β-Anomer 170.1, 169.8, 169.3, 168.2 (C(O)CH₃), 90.3 (1), 75.8 (5), 71.0 (3), 68.4 (2), 65.9 (4), 62.3 (6), 25.8 (Si-C(CH₃)₃), 20.8, 20.8, 20.7, 20.7, 20.7 (C(O)CH₃), 90.3 (1), 75.8 (5), 71.0 (3), 68.4 (2), 65.9 (4), 62.3 (6), 25.8 (Si-C(CH₃)₃), 20.8, 20.8, 20.8, 20.7, 20.7 (C(O)CH₃), 90.3 (1), 75.8 (5), 71.0 (3), 68.4 (2), 65.9 (4), 62.3 (6), 25.8 (Si-C(CH₃)₃), 20.8, 20.8, 20.8, 20.7, 20.7 (C(O)CH₃), 90.3 (1), 75.8 (5), 71.0 (3), 68.4 (2), 65.9 (4), 62.3 (6), 25.8 (Si-C(CH₃)₃), 20.8, 20.8, 20.7, 20.7 (C(O)CH₃), 90.3 (1), 75.8 (Si-C(CH₃)), -

5.4 (Si- CH_3). **HR-ESI**⁺-**MS**: [M+Na⁺] berechnet 485.1813, gefunden 485.1826. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2931, 2885, 2858, 1754, 1370, 1251, 1218, 1147, 1112, 1088, 1051, 975, 837, 779.

Methyl-2,3,4-tetra-O-acetyl-6-O-tertbutyldimethylsilyl-D-mannopyranosid 174

D-Mannopyranose 120 (1.22 g, 6.77 mmol) wurde in trockenem Methanol (30 mL) suspendiert, mit wenigen Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt und für fünf Stunden unter Reflux gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung für weitere 14 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit gesättigter, wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand im Ölpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wurde das Rohprodukt in trockenem Pyridin (7 mL) gelöst und gemäß AAV 4 weiter umgesetzt. Es wurden Imidazol (191 mg, 13.5 mmol), TBDMSCI (1.02 g, 6.77 mmol) Essigsäureanhydrid (5.7 mL, 60.9 mmol) verwendet. und säulenchromatographische Reinigung erfolgte an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 5:1 als Eluent.

Ausbeute: 2.22 g (5.11 mmol, 75%, α) eines

 $farblosen \ \ddot{O}ls, \textbf{Summenformel:} \ C_{19}H_{34}O_{9}Si,$

Molekulargewicht: 434.55 g/mol, DC: R_f (PE/EE

5:1 v/v): 0.44

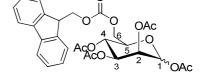
Si O OAC
ACO 5 2 1
OMe

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 5.28 (dd, ³ J_{HH} = 10.0 Hz, ³ J_{HH} = 3.4 Hz, 1H, 3-H), 5.20 (dd, ³ J_{HH} = 9.8 Hz, ³ J_{HH} = 9.8 Hz, 1H, 4-H), 5.15 – 5.14 (m, 1H, 2-H), 4.63 (s, 1H, 1-H), 3.75 – 3.71 (m, 1H, 5-H), 3.69 – 3.61 (m, 2H, 6-H₂), 2.07 (s, 3H, C(O)CH₃), 1.97 (s, 3H, C(O)CH₃), 1.93 (s, 3H, C(O)CH₃), 0.85 (s, 9H, Si-C(CH₃)₃), 0.01 (s, 3H, Si-CH₃), 0.00 (s, 3H, Si-CH₃), ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.2, 170.0, 169.7 (C(O)CH₃), 98.3 (1), 71.3 (5), 69.8 (2), 69.4 (3), 66.6 (4), 62.4 (6), 55.0 (OCH₃), 25.8 (Si-C(CH₃)₃), 20.9, 20.8, 20.7 (C(O)CH₃), 18.3 (Si-C(CH₃)), -5.4, -5.4 (Si-C(CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 457.1864, gefunden 457.1868. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2930, 2857, 1753, 1370, 1247, 1221, 1138, 1110, 1085, 1047, 837, 778. [α]_D^{26 °C} = 44° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonyl-p-mannopyranose 134

Die Synthese erfolgte nach AAV 5. Es wurden 600 mg (1.30 mmol) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-tertbutyldimethylsilyl-D-mannopyranose 122, 3.17 mL (19.5 mmol) Triethylamin Trihydrofluorid, 1.01 g (3.90 mmol) Fluorenylmethoxycarbonylchlorid und 940 μ L (11.7 mmol) Pyridin eingesetzt. Die gesamte Reaktionszeit betrug dreieinhalb Stunden.

Ausbeute: 718 mg (1.26 mmol, 97%, α : β = 1:1) eines farblosen Schaums, Summenformel: $C_{29}H_{30}O_{12}$, Molekulargewicht: 570.54 g/mol,



DC: R_f (PE/EE 1:1 v/v): 0.83

¹**H-NMR**: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): α-Anomer 7.77 (d, $^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar}), 7.63 $(dd, {}^{3}J_{HH} = 6.8 \text{ Hz}, {}^{3}J_{HH} = 6.1 \text{ Hz}, 2H, H_{ar}), 7.41 (dd, {}^{3}J_{HH} = 7.5 \text{ Hz}, {}^{3}J_{HH} = 7.4 \text{ Hz}, 2H, H_{ar}),$ 7.32 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.4 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 7.4 \text{ Hz}$, 2H, H_{ar}), 6.12 (d, ${}^{3}J_{HH} = 1.7 \text{ Hz}$, 1H, 1-H), 5.39 – 5.37 $(m, 2H, 3-H, 4-H), 5.33 - 5.28 (m, 1H, 2-H), 4.48 - 4.35 (m, 3H, fluorenyl-<math>H_2$, $6-H_a$), 4.29 -4.22 (m, 2H, fluorenyl-CH, 6-H_b), 4.15 - 4.10 (m, 1H, 5-H), 2.17 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.05(s, 3H, C(O)C H_3), 2.04 (s, 3H, C(O)C H_3), 2.02 (s, 3H, C(O)C H_3), β -Anomer 7.77 (d, $^{3}J_{HH} = 7.5 \text{ Hz}$, 2H, H_{ar}), 7.63 (dd, $^{3}J_{HH} = 6.8 \text{ Hz}$, $^{3}J_{HH} = 6.1 \text{ Hz}$, 2H, H_{ar}), 7.41 (dd, $^{3}J_{HH} = 7.5 \text{ Hz}, \, ^{3}J_{HH} = 7.4 \text{ Hz}, \, 2H, \, H_{ar}), \, 7.32 \, (dd, \, ^{3}J_{HH} = 7.4 \text{ Hz}, \, ^{3}J_{HH} = 7.4 \text{ Hz}, \, 2H, \, H_{ar}), \, 5.89$ (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 0.8 Hz, 1H, 1-H), 5.50 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.1 Hz, 1H, 2-H), 5.33 – 5.28 (m, 1H, 4-H), 5.16 $(dd, {}^{3}J_{HH} = 9.9 \text{ Hz}, {}^{3}J_{HH} = 3.1 \text{ Hz}, 1H, 3-H), 4.48 - 4.35 (m, 3H, fluorenyl-H₂, 6-H_a), 4.29 -$ 4.22 (m, 2H, fluorenyl-CH, 6-H_b), 3.87 - 3.83 (m, 1H, H-5), 2.21 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.17 (s, 3H, C(O)C H_3), 2.10 (s, 3H, C(O)C H_3), 2.02 (s, 3H, C(O)C H_3). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): α-Anomer 170.0, 169.8, 168.3, 168.0 (C(O)CH₃), 154.8 (fluorenyl-C=O), 143.4 $(C_{q,ar})$, 141.3 $(C_{q,ar})$, 127.9 (C_{ar}) , 125.2 (C_{ar}) , 125.2 (C_{ar}) , 120.0 (C_{ar}) , 90.4 (1), 70.5 (5), 70.2 (fluorenyl-CH₂), 68.6 (3), 68.3 (2), 66.0 (4), 65.9 (6), 46.7 (fluorenyl-CH), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃), **\beta-Anomer** 170.2, 169.7, 169.6, 168.0 (C(O)CH₃), 154.8 (fluorenyl-C=O), 143.2 ($C_{q,ar}$), 141.3 ($C_{q,ar}$), 127.9 (C_{ar}), 127.2 (C_{ar}), 125.1 (C_{ar}), 120.0 (C_{ar}), 90.5 (1), 73.0 (5), 70.5 (3), 70.2 (fluorenyl-CH₂), 68.1 (2), 65.9 (4), 65.8 (6), 46.7 (fluorenyl-CH), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃). **HR-ESI⁺-MS**: [M+Na⁺] berechnet 593.1629, gefunden 593.1643. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 1751, 1451, 1370, 1217, 1149, 1086, 1052, 1026, 972, 761, 741.

2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose 106

Die Darstellung erfolgte nach AAV 2. Es wurden 2.74 g (7.02 mmol) Penta-*O*-acetyl-D-mannopyranose **233**, 1.15 mL (10.5 mmol) Benzylamin und 20 mL THF verwendet. Die Reaktionszeit betrug drei Stunden. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:3 als Eluent.

Ausbeute: 2.31 g (6.63 mmol, 94%,

 α/β = 1:0.11) eines farblosen Schaums,

Summenformel: C₁₄H₂₀O₁₀, Molekulargewicht:

348.30 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE 1:1 v/v): 0.53

¹**H-NMR**: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 5.43 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.1 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.4 Hz, 1H, 3-H), 5.33 – 5.28 (m, 2H, 2-H, 4-H), 5.26 (s, 1H, 1-H), 4.29 – 4.22 (m, 2H, 5-H, 6-H_a), 4.17 – 4.13 (m, 1H, 6-H_b), 2.93 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.6 Hz, 1H, 1-OH), 2.17, 2.11, 2.05, 2.00 (s, 3H, C(O)CH₃). ¹³**C-NMR**: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.6, 169.9, 169.8, 169.6 (*C*(O)CH₃), 92.3 (1), 69.9 (4), 68.7 (3), 68.7 (5), 66.3 (2), 62.6 (6), 20.8, 20.7, 20.7, 20.6 (C(O)CH₃).

HR-ESI⁺-**MS**: [M+Na⁺] berechnet 371.0949, gefunden 371.0951. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3452, 1747, 1372, 1227, 1076, 1052.

2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-fluorenylmethoxycarbonyl-p-mannopyranose 208

Die Synthese erfolgte gemäß AAV 6. Es wurden 1.61 g (4.62 mmol) 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylmannopyranose **106**, 1.12 mL (13.9 mmol) Pyridin, 3.60 g (13.9 mmol) FmocCl und 10 mL Dichlormethan verwendet. Die Reaktionszeit betrug drei Stunden.

Ausbeute: 2.22 g (3.89 mmol, 84%, α) eines

farblosen Schaums, Summenformel: C₂₉H₃₀O₁₂,

Molekulargewicht: 570.54 g/mol, DC: R_f

(PE/EE 1:1 v/v): 0.54

Aco 3 1 0 0

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.79 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar}), 7.62 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 2H, H_{ar}), 7.43 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 2H, H_{ar}), 7.35 (dddd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 2H, H_{ar}), 6.01 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 1H, 1-H), 5.46 – 5.36 (m, 3H, 2-H, 3-H, 4-H), 4.50 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 1H, fluorenyl-H_{2,a}), 4.48

(d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.0 Hz, 1H, fluorenyl-H_{2,b}), 4.35 – 4.27 (m, 2H, 8-H, 6-H_a), 4.15 – 4.11 (m, 2H, 6-H_b, 5-H), 2.20 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.08 (s, 6H, 2xC(O)CH₃), 2.03 (s, 3H, C(O)CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 169.8, 169.6, 169.5, 169.5 (C(O)CH₃), 152.7 (fluorenyl-C=O), 143.0 (C_{q,ar}), 141.3 (C_{q,ar}), 128.0 (C_{ar}), 127.3 (C_{ar}), 125.1 (C_{ar}), 120.1 (C_{ar}), 94.1 (1), 70.7 (5), 70.7 (fluorenyl-CH₂), 68.5 (3), 68.2 (2), 65.4 (4), 61.9 (6), 46.6 (fluorenyl-CH), 20.7, 20.7, 20.6, 20.6 (C(O)CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 593.1629, gefunden 593.1641. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2958, 1747, 1451, 1369, 1216, 1155, 1089, 1050, 1021, 947, 761, 740. [α]_D^{26 °C} = 24° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose 127

Α

D-Mannose **120** (5.00 g, 28.0 mmol) wurde in trockenem Pyridin und Acetonitril (je 30 mL) gelöst und unter Kühlung durch ein Eisbad langsam mit Acetylchlorid (8.42 mL, 118 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur für 18 Stunden gerührt. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum und Coevaporieren mit Toluol und Dichlormethan wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 2:1 nach 1:1 gereinigt.

В

1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-tertbutyldimethylsilyl-D-mannopyranose 122 (1.84 g, 3.98 mmol) wurde in Dichlormethan (10 mL) gelöst und mit Triethylamin Trihydrofluorid (1.94 mL, 11.9 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde sie mit Wasser gewaschen, die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Toluol (10 mL) aufgenommen und mit Essigsäure (0.48 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung dreimal für acht Stunden bei 80 °C gerührt (zwischendurch wurden Proben für eine Analyse mittels ¹H-NMR-Spektroskopie entnommen und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt). Nach vollständigem Entfernen des Lösungsmittels durch Coevaporieren mit Dichlormethan wurde das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 1:1 nach 1:2 gereinigt.

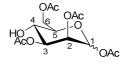
Ausbeute: A 2.36 g (6.78 mmol, 24%,

 α/β = 0.56:1), **B** 1.18 g (3.39 mmol, 85%,

 α/β = 1:1) eines farblosen Schaums,

Summenformel: C₁₄H₂₀O₁₀, Molekulargewicht:

348.30 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE 1:1 v/v): 0.31



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): *α*-Anomer 6.07 (d, ${}^{3}J_{HH} = 1.6$ Hz, 1H, 1-H), 5.25 – 5.21 (m, 2H, 2-H, 3-H), 4.57 (dd, ${}^{2}J_{HH} = 12.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.7$ Hz, 1H, 6-H), 4.26 (dd, ${}^{2}J_{HH} = 12.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 1.9$ Hz, 1H, 6-H), 3.93 – 3.79 (m, 2H, 4-H, 5-H), 2.78 (s, 1H, OH), 2.16, 2.14, 2.14, 2.08 (s, 3H, C(O)CH₃). *β*-Anomer 5.85 (d, ${}^{3}J_{HH} = 0.9$ Hz, 1H, 1-H), 5.48 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 3.1$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 0.8$ Hz, 1H, 2-H), 4.99 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.9$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.2$ Hz, 1H, 3-H), 4.57 (dd, ${}^{2}J_{HH} = 12.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.7$ Hz, 1H, 6-H), 4.32 (dd, ${}^{2}J_{HH} = 12.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 2.1$ Hz, 1H, 6-H), 3.82 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.8$ Hz, 3 ${}^{3}J_{HH} = 9.8$ Hz, 1H, 4-H), 3.64 (ddd, 3 ${}^{3}J_{HH} = 9.8$ Hz, 3 ${}^{3}J_{HH} = 4.4$ Hz, 3 ${}^{3}J_{HH} = 2.2$ Hz, 1H, 5-H), 2.78 (s, 1H, OH), 2.18, 2.15, 2.10, 2.08 (s, 3H, C(O)CH₃). 3 ${}^{1}J_{HH} = 3.0$ Hz, 170.6, 169.9, 168.2 (C(O)CH₃), 90.9 (1), 73.0 (5), 70.9 (3), 68.5 (2), 65.1 (4), 62.9 (6), 20.8, 20.7, 20.7, 20.6 (C(O)CH₃), β-Anomer 171.9, 170.4, 170.1, 168.4 (C(O)CH₃), 90.6 (1), 75.5 (5), 72.8 (3), 68.4 (2), 65.0 (4), 63.0 (6), 20.9, 20.8, 20.8, 20.7 (C(O)CH₃). HR-ESI*-MS: [M+Na*] berechnet 371.0949, gefunden 371.0951. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3469, 2925, 1747, 1371, 1221, 1151, 1074, 1026, 971.

1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-4-O-fluorenylmethoxycarbonyl-p-mannopyranose 139

1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose **127** (574 mg, 1.65 mmol) wurde gemäß AAV 6 in Dichlormethan (8 mL) gelöst und mit Pyridin (0.266 mL, 3.30 mmol) und FmocCl (854 mg, 3.30 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die organische Lösung mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte

säulenchromatographisch mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 3:1 nach 2:1.

Ausbeute: 143 mg (0.25 mmol, 15%, α, mehr und β-Anomer liegt in Mischfraktionen vor) eines farblosen Schaums, **Summenformel:** $C_{29}H_{30}O_{12}$, **Molekulargewicht:** 570.54 g/mol,

O OAC OAC OAC OAC OAC OAC OAC

DC: R_f (PE/EE 3:2 v/v): 0.65

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.77 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar}), 7.58 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.7 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 2H, H_{ar}), 7.42 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar}), 7.32 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 2H, H_{ar}), 6.10 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 1H, 1-H), 5.43 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.2 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.5 Hz, 1H, 3-H), 5.31 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.0 Hz, 1H, 2-H), 5.21 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.0 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.0 Hz, 1H, 4-H), 4.46 - 4.40 (m, 2H, fluorenyl-H₂), 4.35 – 4.27 (m, 2H, 8-H, 6-H_a), 4.33 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 12.0 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 4.4 Hz, 1H, 6-H_a), 4.25 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.3 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.3 Hz, 1H, fluorenyl-CH), 4.20 – 4.11 (m, 2H, 6-H_b, 5-H), 2.19, 2.17, 2.09, 1.95 (s, 3H, C(O)CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.5, 169.8, 169.7, 168.0 (C(O)CH₃), 154.2 (fluorenyl-C=O), 143.1 (C_{q,ar}), 141.3 (C_{q,ar}), 128.0 (C_{ar}), 127.3 (C_{ar}), 125.0 (C_{ar}), 120.2 (C_{ar}), 90.5 (1), 70.5 (5), 70.3 (fluorenyl-CH₂), 69.8 (4), 68.7 (3), 68.4 (2), 62.1 (6), 46.6 (fluorenyl-CH), 20.9, 20.7, 20.7, 20.6 (C(O)CH₃). HR-ESI[†]-MS: [M+Na[†]] berechnet 593.1629, gefunden 593.1632. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2957, 1050, 1451, 1370, 1268, 1216, 1148, 1086, 1031, 976, 761, 742.

Methyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-α-D-mannopyranosid **168**

Methyl-2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-tertbutyldimethylsilyl-α-D-mannopyranosid **174** (1.05 g, 2.42 mmol) wurde in Dichlormethan (10 mL) gelöst und mit Triethylamin Trihydrofluorid (1.18 mL, 7.26 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde sie mit Wasser gewaschen, die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Toluol (10 mL) aufgenommen und mit Essigsäure (0.48 mL) versetzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung zweimal für acht Stunden bei 80 °C gerührt (zwischendurch wurden

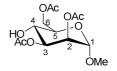
Proben für eine Analyse mittels ¹H-NMR-Spektroskopie entnommen und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt). Nach vollständigem Entfernen des Lösungsmittels durch Coevaporieren mit Dichlormethan wurde das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 1:1 nach 1:2 gereinigt.

Ausbeute: 660 mg (2.06 mmol, 85%) eines

farblosen Schaums, **Summenformel**: C₁₃H₂₀O₉,

Molekulargewicht: 320.29 g/mol, DC: R_f (PE/EE

1:1 v/v): 0.3



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 5.23 - 5.18 (m, 2H, 2-H, 3-H), 4.69 (s, 1H, 1-H), 4.53 (dd, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.1 Hz , ${}^{3}J_{HH}$ = 3.8 Hz, 1H, 6-H_a), 4.32 (d, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.7 Hz , 1H, 6-H_b), 3.83 (s, 2H, 4-H, 5-H), 3.40 (s, 3H, OCH₃), 2.61 (s, 1H, OH), 2.14, 2.14, 2.07 (s, 3H, C(O)CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 171.6, 170.8, 169.9 (C(O)CH₃), 98.7 (1), 71.6 (3), 70.8 (5), 69.7 (2), 65.8 (4), 63.3 (6), 55.2 (OCH₃), 20.9, 20.8, 20.8 (C(O)CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 343.1000, gefunden 343.1004. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3479, 2937, 1744, 1440, 1371, 1228, 1138, 1078, 971. [α]_D^{26 °C} = 25° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

<u>2-Azido-2-desoxy-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose</u> und <u>-glucopyranose</u> <u>234/235</u>

3,4,6-Tri-*O*-acetylglucal **236** (2.00 g, 7.35 mmol) wurde in trockenem Acetonitril (30 mL) gelöst, auf -20 °C gekühlt und mit Natriumazid (767 mg, 1.8 mmol) und Cerammoniumnitrat (12.5 g, 22.8 mmol) versetzt. Nach fünfstündigem Rühren bei -15 °C wurde die Reaktionslösung bei Raumtemperatur für 18 Stunden gerührt. Anschließend wurde sie in Diethylether aufgenommen, gründlich mit kaltem Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in Essigsäure (20 mL) aufgenommen, mit Natriumacetat (1.0 g) versetzt und für eine Stunde bei 100 °C gerührt. Nachdem das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurde es in Dichlormethan aufgenommen, mit Wasser, Natriumhydrogencarbonatlösung und erneut Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel

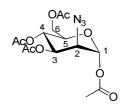
wurde unter vermindertem Druck entfernt. Ein ¹H-NMR-Spektrum des so erhaltenen Rohproduktes zeigte, dass die Epimere in einem Verhältnis 1:0.88 Glc/Man jeweils als Anomerengemische entstanden waren. Die Reinigung und Trennung der Epimere erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 4:1.

Ausbeute: 0.465 g (1.25 mmol, 17%) eines

farblosen Schaums, Summenformel:

C₁₄H₁₉N₃O₉, Molekulargewicht: 373.32 g/mol,

DC: R_f (PE/EE 2:1 v/v): 0.29



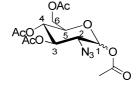
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 6.12 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 1H, 1-H), 5.43 – 5.35 (m, 2H, 3-H, 4-H), 4.25 (dd, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 4.5 Hz, 1H, 6-H_a), 4.10 (dd, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.3 Hz, 1H, 6-H_b), 4.04 – 4.00 (m, 2H, 2-H, 5-H), 2.17, 2.12, 2.10, 2.06 (s, 3H, C(O)CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.6, 170.0, 169.3, 168.1 (C(O)CH₃), 91.4 (1), 70.8 (3), 70.6 (5), 65.3 (4), 61.8 (6), 60.5 (2), 20.9, 20.7, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 396.1014, gefunden 396.1023. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2111, 1747, 1371, 1218, 1146, 1017, 975. [α]_D^{26 °C} = 83° (c = 1.0, CH₂Cl₂).

Ausbeute: 0.421 g (1.13 mmol, 15%) eines

farblosen Schaums, Summenformel:

C₁₄H₁₉N₃O₉, **Molekulargewicht:** 373.32 g/mol,

DC: R_f (PE/EE 2:1 v/v): 0.36



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 6.30 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.6 Hz, 1H, 1-H), 5.46 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.2 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.7 Hz, 1H, 3-H), 5.11 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.0 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.7 Hz, 1H, 4-H), 4.29 (dd, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 4.0 Hz, 1H, 6-H_a), 4.10 – 4.04 (m, 2H, 5-H, 6-H_b), 3.66 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.7 Hz, 1H, 2-H), 2.20, 2.11, 2.08, 2.05 (s, 3H, C(O)CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.5, 170.0, 169.5, 168.5 (*C*(O)CH₃), 90.0 (1), 70.8 (3), 69.8 (5), 67.9 (4), 61.4 (6), 60.3 (2), 20.9, 20.7, 20.7, 20.5 (C(O)CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 593.1629, gefunden 593.1641. IR: (Film) \widetilde{v} [cm⁻¹] = 2923, 2852, 2111, 1747, 1368, 1210, 1140, 1026, 1012, 935, 734, 703.

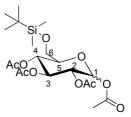
7.5.2 Synthesen der *gluco*-Vorstufen

1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-tertbutyldimethylsilyl-p-glucopyranose **123**

Die Synthese erfolgte nach AAV 4. Es wurden 1.00 g (5.55 mmol) D-Glucose **121**, 836 mg (5.55 mmol) TBDMSCl, 756 mg (11.1 mmol) Imidazol und 5.25 mL (5.67 g, 55.5 mmol) Essigsäureanhydrid eingesetzt.

Ausbeute: 2.12 g (4.58 mmol, 83%, α/β = 0.7:1) eines farblosen Schaums, Summenformel: $C_{20}H_{34}O_{10}Si$, Molekulargewicht: 462.56 g/mol,

DC: R_f (PE/EE 2:1 v/v): 0.63



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): *α-Anomer* 6.33 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.7 Hz, 0.7H, 1-H), 5.45 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.9 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.9 Hz, 0.7H, 3-H), 5.18 – 5.03 (m, 1.4H, 4-H, 2-H), 3.94 (ddd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.2 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 4.0 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.4 Hz, 0.7H, 5-H), 3.77 – 3.63 (m, 1.4H, 6-H₂), 2.15 (s, 2.1H, C(O)CH₃), 2.03 (s, 2.1H, C(O)CH₃), 2.02 (s, 2.1H, C(O)CH₃), 2.01 (s, 2.1H, C(O)CH₃), 0.88 (s, 6.3H, Si-C(CH₃)₃), 0.03 (s, 2.1H, Si-CH₃), 0.03 (s, 2.1H, Si-CH₃), *β-Anomer* 5.69 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.2 Hz, 1H, 1-H), 5.24 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.4 Hz, 1H, 3-H), 5.18 – 5.03 (m, 2H, 4-H, 2-H), 3.77 – 3.63 (m, 3H, 5-H, 6-H₂), 2.09 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.03 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.02 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.01 (s, 3H, C(O)CH₃), 0.87 (s, 9H, Si-C(CH₃)₃), 0.03 (s, 3H, Si-CH₃), 0.01 (s, 3H, Si-CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): *α-Anomer* 170.3, 169.7, 169.2, 168.9 (C(O)CH₃), 89.2 (1), 72.5 (5), 70.3 (3), 69.4 (4), 68.3 (2), 61.8 (6), 25.8 (Si-C(CH₃)₃), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (C(O)CH₃), 18.3 (Si-C(CH₃)₃), -5.4 (Si-CH₃), *β-Anomer* 170.4, 169.3, 169.0, 168.9 (C(O)CH₃), 91.7 (1), 75.3 (5), 73.2 (3), 70.4 (4), 68.4 (2), 62.0 (6), 25.8 (Si-C(CH₃)₃), 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃), 18.3 (Si-C(CH₃)₃), -5.5 (Si-C(H₃). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 485.1813, gefunden 485.1820. IR: (Film) \tilde{V} [cm⁻¹] = 2930, 1753, 1367, 1248, 1209, 1076, 1034, 897, 834, 778, 737, 701.

1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonyl-D-glucopyranose 137

Die Synthese erfolgte nach AAV 5. Es wurden 600 mg (1.30 mmol) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-tertbutyldimethylsilyl-D-glucopyranose **123**, 3.17 mL (19.5 mmol)

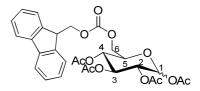
Triethylamin Trihydrofluorid, 1.01 g (3.90 mmol) Fluorenylmethoxycarbonylchlorid und 940 µL (11.7 mmol) Pyridin eingesetzt.

Ausbeute: 605 mg (1.06 mmol, 82%, α : β =

0.66:1) eines farblosen Schaums,

Summenformel: C₂₉H₃₀O₁₂, Molekulargewicht:

570.54 g/mol, **DC**: R_f (PE/EE 1:1 v/v): 0.83



¹**H-NMR**: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): α-Anomer 7.77 (d, $^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar}), 7.63 $(dd, {}^{3}J_{HH} = 7.8 \text{ Hz}, {}^{3}J_{HH} = 7.8 \text{ Hz}, 2H, H_{ar}), 7.41 (dd, {}^{3}J_{HH} = 7.4 \text{ Hz}, {}^{3}J_{HH} = 7.4 \text{ Hz}, 2H, H_{ar}),$ 7.34 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.2 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 7.2 \text{ Hz}$, 2H, H_{ar}), 6.37 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.6 \text{ Hz}$, 1H, 1-H), 5.50 (dd, $^{3}J_{HH}$ = 9.8 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 9.8 Hz, 1H, 3-H), 5.30 – 5.11 (m, 2H, 4-H, 2-H), 4.46 – 4.22 (m, 5H, fluorenyl-H₂, 6-H₂, fluorenyl-CH), 4.20 – 4.15 (m, 1H, 5-H), 2.18, 2.04, 2.03, 2.03 (s, 3H, C(O)C H_3), **\beta-Anomer** 7.77 (d, ${}^3J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar}), 7.63 (dd, ${}^3J_{HH}$ = 7.8 Hz, ${}^3J_{HH}$ = 7.8 Hz, 2H, H_{ar}), 7.41 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.4 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 7.4 \text{ Hz}$, 2H, H_{ar}), 7.34 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.2 \text{ Hz}$, $^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz, 2H, H_{ar}), 5.76 (d, $^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 1H, 1-H), 5.30 – 5.11 (m, 3H, 3-H, 4-H, 2-H), 4.46 - 4.22 (m, 5H, fluorenyl-H₂, 6-H₂, fluorenyl-CH), 3.91 - 3.87 (m, 1H, 5-H), 2.11, 2.04, 2.03, 2.03 (s, 3H, C(O)C H_3). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): α -Anomer 169.4, 168.9, (C(O)CH₃), 154.8 (fluorenyl-C=O), 143.4 (C_{q,ar}), 141.3 (C_{q,ar}), 127.9 (C_{ar}), 127.2 (C_{ar}), 125.2 (C_{ar}), 120.0 (C_{ar}), 89.0 (1), 70.2 (fluorenyl-CH₂), 69.7 (5), 69.7 (3), 69.2 (4), 68.2 (2), 65.4 (6), 46.6 (fluorenyl-CH), 20.8, 20.7, 20.6, 20.4 (C(O)CH₃), *B***-Anomer** 169.4, 168.9, (C(O)CH₃), 154.8 (fluorenyl-C=O), 143.2 (C_{q,ar}), 141.2 (C_{q,ar}), 127.9 (C_{ar}), 127.2 (C_{ar}), 125.2 (C_{ar}), 120.0 (C_{ar}), 91.6 (1), 72.7 (3), 72.5 (5), 70.2 (fluorenyl-CH₂), 69.7 (2), 68.1 (4), 65.3 (6), 46.6 (fluorenyl-CH), 20.8, 20.7, 20.6, 20.4 (C(O)CH₃). **HR-ESI⁺-MS**: [M+Na⁺] berechnet 593.1629, gefunden 593.1641. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3050, 3003, 1710, 1438, 1336, 1136, 1056, 806.

2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranose 104

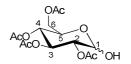
Die Darstellung erfolgte nach AAV 2. Es wurden 3.00 g (7.69 mmol) Penta-*O*-acetylglucose **191**, 1.26 mL (11.5 mmol) Benzylamin und 20 mL THF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 3 Stunden. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:3 als Eluent.

Ausbeute: 2.11 g (6.06 mmol, 79%,

 α/β = 1:0.37) eines farblosen Schaums,

Summenformel: $C_{14}H_{20}O_{10}$, Molekulargewicht:

348.30 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE 1:1 v/v): 0.53



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): *α-anomer* 5.54 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.8 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.8 Hz, 1H, 3-H), 5.47 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.6 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.6 Hz, 1H, 1-H), 5.12 – 5.06 (m, 1H, 4-H), 4.93 – 4.86 (m, 1H, 2-H), 4.29 – 4.22 (m, 2H, 5-H, 6-H_a), 4.17 – 4.10 (m, 1H, 6-H_b), 3.00 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.7 Hz, ${}^{4}J_{HH}$ = 1.0 Hz, 1H, O*H*), 2.10, 2.09, 2.04, 2.02 (s, 3H, C(O)C*H*₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): *α-anomer* 170.8, 170.1, 170.1, 169.6 (*C*(O)CH₃), 90.2 (1), 71.0 (2), 69.8 (3), 68.5 (4), 67.3 (5), 61.9 (6), 20.7, 20.7, 20.7, 20.6 (C(O)*CH*₃). **HR-ESI**[†]-**MS**: [M+Na[†]] berechnet 371.0949, gefunden 371.0954. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3460, 2961, 1746, 1369, 1223, 1037.

2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-O-fluorenylmethoxycarbonyl-D-glucopyranose 237

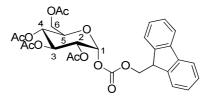
Die Synthese erfolgte gemäß AAV 6. Es wurden 783 mg (2.25 mmol) 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglucopyranose **104**, 0.540 mL (6.75 mmol) Pyridin, 1.75 g (6.75 mmol) FmocCl und 10 mL Dichlormethan verwendet. Die Reaktionszeit betrug drei Stunden.

Ausbeute: 473 mg (0.83 mmol, 37%) eines

farblosen Schaums, Summenformel: $C_{29}H_{30}O_{12}$,

Molekulargewicht: 570.54 g/mol, DC: R_f

(PE/EE 1:1 v/v): 0.54



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.79 (d, ${}^{3}J_{HH} = 7.6$ Hz, 2H, H_{ar}), 7.63 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.3$ Hz, 2H, H_{ar}), 7.43 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.5$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.5$ Hz, 2H, H_{ar}), 7.35 (dddd, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, ${}^{4}J_{HH} = 3.3$ Hz, ${}^{5}J_{HH} = 1.1$ Hz, 2H, H_{ar}), 6.24 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.6$ Hz, 1H, 1-H), 5.59 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.9$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 9.9$ Hz, 1H, 3-H), 5.16 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.9$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 9.9$ Hz, 1H, 4-H), 5.13 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.3$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.7$ Hz, 1H, 2-H), 4.52 – 4.42 (m, 2H, fluorenyl-H₂), 4.33 – 4.29 (m, 2H, fluorenyl-CH, 6-H_a), 4.21 – 4.17 (m, 1H, 5-H), 4.15 – 4.09 (m, 1H, 6-H_b), 2.09 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.07 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.05 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.00 (s, 3H, C(O)CH₃).

170.1, 169.7, 169.4 (C(O)CH₃), 153.3 (fluorenyl-C=O), 143.0 (C_{q,ar}), 141.3 (C_{q,ar}), 128.1 (C_{ar}), 127.3 (C_{ar}), 125.1 (C_{ar}), 120.1 (C_{ar}), 92.8 (1), 70.5 (fluorenyl-CH₂), 70.0 (5), 69.7 (3), 69.2 (2), 67.6 (4), 61.3 (6), 46.5 (fluorenyl-CH), 20.7, 20.7, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃). **HR-ESI**⁺-**MS**: [M+NH₄⁺] berechnet 588.2076, gefunden 588.2074. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2961, 1750, 1451, 1367, 1267, 1218, 1157, 1038, 919, 760, 741.

Benzyl-2,3,4-tetra-O-acetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonyl-β-D-glucopyranosid **153**

1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-fluorenylmethoxycarbonyl-p-glucopyranose 137 (1.00 g,1.75 mmol) wurde in Dichlormethan (20 mL) gelöst und mit 4.73 mL HBr (33%ig in HOAc) versetzt und für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde anschließend auf Eiswasser gegeben. Nach Trennung der Phasen wurde die organische Phase mit sehr verdünnter, kalter NaHCO₃-Lösung neutral gewaschen. Im Anschluss wurde die organische Phase nochmals mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in trockenem Dichlormethan (6 mL) mit Benzylalkohol (0.55 mL, 5.3 mmol) für eine halbe Stunde über frisch aktiviertem Molsieb 3A stehen gelassen. Anschließend wurde Ag₂CO₃ (483 mg, 1.75 mmol) portionsweise hinzugegeben und das Reaktionsgemisch wurde für eine Stunde und 45 Minuten bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert, das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 3:1 als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 451 mg (0.729 mmol, 42%, β) eines farblosen Schaums, **Summenformel:** $C_{34}H_{34}O_{11}$, **Molekulargewicht:** 618.63 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE

AcO 3 OAC OBn

3:2 v/v): 0.68

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.77 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.64 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.0 Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.41 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.38 – 7.27 (m, 7H, H_{ar,fluorenyl}, H_{ar}), 5.18 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.4 Hz, 1H, 3-H), 5.11 – 5.06 (m, 2H, 2-H, 4-H), 4.90 (d, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.2 Hz, CH-Ph), 4.63 (d, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.2 Hz, CH-Ph),

4.56 (d, ${}^3J_{HH}$ = 7.9 Hz, 1-H), 4.50 – 4.39 (m, 2H, fluorenyl-H₂,), 4.36 – 4.24 (m, 3H, 6-H₂, fluorenyl-CH), 3.72 (ddd, ${}^3J_{HH}$ = 9.9 Hz, ${}^3J_{HH}$ = 5.7 Hz, ${}^4J_{HH}$ = 3.2 Hz, 5-H), 2.02, 2.01, 2.01 (s, 3H, C(O)CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.3, 169.5, 169.3 (C(O)CH₃), 154.9 (fluorenyl-C=O), 143.2 (C_q, fluorenyl), 141.2 (C_q, fluorenyl), 136.6 (C_q, ar), 128.5 (C_{ar}), 128.0 (C_{ar}), 127.9 (C_{ar}), 127.8 (C_{ar}), 127.2 (C_{ar}), 125.2 (C_{ar}), 120.0 (C_{ar}), 99.1 (1), 72.7 (3), 71.7 (5), 71.3 (2), 70.7 (CH₂Ph), 70.2 (fluorenyl-CH₂), 68.9 (4), 66.1 (6), 46.7 (fluorenyl-CH), 20.6, 20.6, 20.6 (C(O)CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+NH₄⁺] berechnet 636.2439, gefunden 636.2441. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3031, 2957, 1752, 1451, 1368, 1237, 1217, 1036, 906, 760, 740, 699. [α]_D^{26°C} = -8° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-thymin **192**

1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl-D-glucopyranose **191** (2.00 g, 5.12 mmol) und Thymin (646 mg, 5.12 mmol) wurden in trockenem Acetonitril (30 mL) suspendiert und mit *N*,*O*-Bistrimethylsilylacetamid (2.9 mL, 11.8 mmol) versetzt. Nach vollständiger Lösung wurde Trimethylsilyltriflat (2.3 mL, 12 mmol) hinzugegeben und es wurde für vier Stunden unter Rückfluss gerührt. Anschließend wurde für 14 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und mit Wasser, gesättigter NaHCO₃-Lsg. und NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 2:3 nach 1:2 gereinigt.

Ausbeute: 2.14 g (4.69 mmol, 92%, β) eines

farblosen Schaums, Summenformel:

 $C_{19}H_{24}N_2O_{11}$, Molekulargewicht: 456.40 g/mol,

DC: R_f (PE/EE 2:3 v/v): 0.35

OAC 7 5 4 NH
ACO 3' ACO 1' N

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.18 (s, 1H, NH), 7.13 (d, ${}^{4}J_{HH}$ = 1.1 Hz, 1H, 6-H), 5.85 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.5 Hz, 1H, 1'-H), 5.37 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.4 Hz, 1H, 3'-H), 5.21 – 5.12 (m, 2H, 2'-H, 4'-H), 4.28 (dd, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.6 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 5.1 Hz, 1H, 6'-H_a), 4.15 – 4.09 (m, 1H, 6'-H_b), 3.92 (ddd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.1 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 5.1 Hz, ${}^{4}J_{HH}$ = 2.1 Hz, 5'-H), 2.10, 2.06, 2.04, 2.00 (s, 3H, C(O)C H_3), 1.96 (d, ${}^{4}J_{HH}$ = 1.0 Hz, 3H, 7-H₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101

MHz, CDCl₃): 170.5, 169.7, 169.5, 169.4 (C(O)CH₃), 162.7 (4), 150.2 (2), 134.5 (6), 112.3 (5), 80.3 (1'), 75.0 (5'), 72.8 (3'), 69.3 (2'), 67.8 (4'), 61.7 (6'), 20.7, 20.5, 20.5, 20.3 (C(O)CH₃), 12.6 (7). **HR-ESI⁺-MS**: [M+Na⁺] berechnet 479.1272, gefunden 479.1279. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3235, 3081, 2944, 1748, 1694, 1453, 1371, 1222, 1058, 1037, 592. $[\alpha]_D^{26 \, ^{\circ}C} = -14^{\circ}$ (c = 0.1, CH₂Cl₂).

(2',3',4'-Tri-*O*-acetyl-6'-*O*-tertbutyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-thymin **193**

 $(2',3',4',6'-\text{Tetra-}O-\text{acetyl-}\beta-D-\text{glucopyranosyl})-\text{thymin}$ **192** (1.44 g, 3.16 mmol) wurde in Methanol (14 mL) suspendiert und mit Triethylamin (4 mL) versetzt. Nach einer Reaktionsdauer von 24 Stunden bei Raumtemperatur wurde die nun klare Lösung unter vermindertem Druck eingeengt und das Rohprodukt im Ölpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wurde dieses in trockenem Pyridin (20 mL) gelöst und mit TBDMSCI (523 mg, 3.47 mmol) versetzt. Als nach eineinhalbstündiger Reaktionszeit bei Raumtemperatur mittels DC (Dichlormethan/Methanol 9:1) nahezu vollständiger Umsatz der Ausgangssubstanz detektiert werden konnte, wurde die Reaktionslösung mit Essigsäureanhydrid (2.9 mL, 31 mmol) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 48 Stunden bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel durch Coevaporieren mit Toluol und Dichlormethan restlos entfernt. Das Rohprodukt wurde in Ethylacetat und Wasser aufgenommen und nach Phasentrennung wurde die organische Phase mit gesättigter NaHCO₃-Lsg. und Wasser gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 2:1 nach 1:1 gereinigt.

Ausbeute: 1.05 g (1.99 mmol, 63%, β) eines

farblosen Schaums, **Summenformel**:

C₂₃H₃₆N₂O₁₀Si, Molekulargewicht:

528.62 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE 1:1 v/v): 0.45

TBDMSO 7 5 4 NH
ACO 3 ACO 1 N

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.21 (s, 1H, NH), 7.13 (d, ${}^{4}J_{HH}$ = 0.9 Hz, 1H, 6-H), 5.81 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.4 Hz, 1H, 1'-H), 5.36 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.5 Hz, 1H, 3'-H), 5.22 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.6 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.5 Hz, 1H, 4'-H),

3.78 – 3.67 (m, 3H, 5′-H, 6′-H₂), 2.04, 2.01, 1.99 (s, 3H, C(O)C H_3), 1.93 (d, ${}^4J_{HH}$ = 0.65 Hz, 3H, 7-H₃), 0.88 (s, 9H, C(C H_3)₃), 0.02, 0.01 (s, 3H, Si-C H_3). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 169.9, 169.6, 169.2 (C(O)CH₃), 162.8 (4), 150.2 (2), 134.8 (6), 111.9 (5), 80.2 (1′), 77.3 (5′), 73.1 (3′), 69.7 (4′), 67.9 (2′), 61.5 (6′), 25.7 (C(CH₃)₃), 20.6, 20.6, 20.4 (C(O)CH₃), 18.3 (Si-C(CH₃)₃), 12.4 (7), -5.4 (Si-CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+H⁺] berechnet 529.2212, gefunden 529.2215. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2930, 2885, 2857, 1750, 1691, 1463, 1372, 1238, 1212, 1147, 1070, 1034, 834, 778, 735, 592. [α]_D^{26 °C} = 26° (c = 0.1, cH₂Cl₂).

(2',3',4'-Tri-O-acetyl-6'-O-fluorenylmethoxycarbonyl-β-p-glucopyranosyl)-thymin **190**

Α

1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-glucopyranose 137 (200 mg, 0.351 mmol) und Thymin (44 mg, 0.351 mmol) wurden in trockenem Acetonitril (8 mL) suspendiert und mit *N*,*O*-Bistrimethylsilylacetamid (0.200 mL, 0.807 mmol) versetzt. Nach vollständiger Lösung wurde Trimethylsilyltriflat (0.16 mL, 0.83 mmol) hinzugegeben und es wurde für viereinhalb Stunden unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und mit Wasser, verdünnter NaHCO₃-Lsg. und NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1 als Eluent gereinigt.

В

(2',3',4'-Tri-*O*-acetyl-6'-*O*-tertbutyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-thymin 193 (500 mg, 0.946 mmol) wurde in Dichlormethan (3 mL) gelöst und mit Triethylamin Trihydrofluorid (2.31 mL, 14.2 mmol) versetzt. Der fortschreitende Umsatz der Ausgengsverbindung wurde mittels Dünnschichtchromatographie (PE/EE 1:2) verfolgt. Als sich nach einer Stunde Reaktionszeit bei Raumtemperatur nahezu vollständiger Umsatz zeigte, wurde die Reaktionslösung mit Dichlormethan verdünnt (10 mL) und es wurden FmocCl (735 mg, 2.84 mmol) und Pyridin (0.69 mL, 8.51 mmol) hinzugegeben. Nach einer Reaktionszeit von zwei Stunden bei Raumtemperatur konnte erneut

nahezu vollständiger Umsatz festgestellt werden. Der Reaktionsansatz wurde erneut mit Dichlormethan verdünnt und mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 3:1 nach 1:2 als Eluent gereinigt.

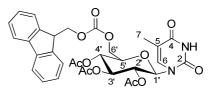
Ausbeute: A 70 mg (0.11 mmol, 31%, β), B

500 mg (0.785 mmol, 83%, β) eines farblosen

Schaums, **Summenformel**: $C_{32}H_{32}N_2O_{12}$,

Molekulargewicht: 636.60 g/mol, DC: R_f

(PE/EE 1:2 v/v): 0.56



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.32 (s, 1H, NH), 7.77 (d, ${}^{3}J_{HH} = 7.5$ Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.62 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.9$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.5$ Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.44-7.40 (m, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.35 – 7.31 (m, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.13 (d, ${}^{4}J_{HH} = 1.0$ Hz, 1H, 6-H), 5.87 (d, ${}^{3}J_{HH} = 9.5$ Hz, 1H, 1'-H), 5.40 (d, ${}^{3}J_{HH} = 9.5$ Hz, 1H, 3'-H), 5.21 – 5.16 (m, 2H, 2'-H, 4'-H), 4.47 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.5$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.2$ Hz, 1H, 6'-H_a), 4.39 – 4.32 (m, 2H, fluorenyl-H₂,), 4.27 – 4.24 (m, 2H, 6'-H_b, fluorenyl-CH), 3.96 (ddd, ${}^{3}J_{HH} = 10.2$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 5.1$ Hz, ${}^{4}J_{HH} = 2.5$ Hz, 5'-H), 2.06, 2.03, 2.00 (s, 3H, C(O)CH₃). 1.91 (s, 3H, 7-H₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 169.7, 169.5, 169.4 (C(O)CH₃), 162.6 (4), 154.7 (fluorenyl-C=O), 150.1 (2), 143.3 (C_{q, ar}), 141.3 (C_{q, ar}), 134.4 (6), 128.0 (C_{ar}), 127.2 (C_{ar}), 125.1(C_{ar}), 120.1 (C_{ar}), 112.2 (5), 80.3 (1') 74.7 (5'), 72.7 (3'), 70.4 (fluorenyl-CH₂), 69.3 (4'), 68.0 (2'), 65.3 (6'), 46.7 (fluorenyl-CH), 20.5, 20.5, 20.3 (C(O)CH₃), 12.5 (7). HR-ESI*-MS: [M+H⁺] berechnet 637.2028, gefunden 637.2034, [M+NH₄] berechnet 654.2294, gefunden 654.2298, [M+Na⁺] berechnet 659.1847, gefunden 659.1855. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3066, 2956, 1748, 1688, 1450, 1372, 1212, 1034, 732, 592. [α]₀^{26°C} = 7° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

3,4,6-Tri-*O*-acetyl-D-glucal **236**

Die Synthese erfolgte nach AAV 8. Es wurden $5.00\,\mathrm{g}$ ($12.8\,\mathrm{mmol}$) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-glucose 191, $35\,\mathrm{mL}$ 33%iger HBr in Essigsäure und $40\,\mathrm{mL}$ CH_2Cl_2 und anschließend $5.04\,\mathrm{g}$ ($77\,\mathrm{mmol}$) Zink-Staub, $1.02\,\mathrm{mL}$ ($12.8\,\mathrm{mmol}$) 1-Methylimidazol und

40 mL trockenes Ethylacetat eingesetzt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 3:1.

Ausbeute: 2.71 g (9.95 mmol, 77%) eines

farblosen Schaums, Summenformel: C₁₂H₁₆O₇,

Molekulargewicht: 272.25 g/mol, DC: R_f (PE/EE

2:1 v/v): 0.63

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 6.47 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 6.2 Hz, ${}^{4}J_{HH}$ = 1.2 Hz, 1H, 1-H), 5.36 – 5.33 (m, 1H, 3-H), 5.23 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.6 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 5.7 Hz, 1H, 4-H), 4.85 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 6.2 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.3 Hz, 1H, 2-H), 4.40 (ddd, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.0 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 5.7 Hz, 1H, 6-H_a), 4.28 – 4.18 (m, 2H, 5-H, 6-H_b), 2.10, 2.08, 2.05 (s, 3H, C(O)CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 145.6 (1), 99.0 (2), 74.0 (5), 67.4 (3), 67.2 (4), 61.4 (6), 21.0, 20.8, 20.7 (C(O)CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 295.0788, gefunden 295.0793. IR: (Film) \widetilde{V} [cm⁻¹] = 1741, 1650, 1370, 1220, 1045.

7.5.3 Synthesen der *2-acetamido-2-desoxy-gluco-*Vorstufen

<u>2-Acetamido-2-desoxy-1,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O-tert*butyldimethylsilyl-D-gluco-pyranose **143**</u>

Glucosaminhydrochlorid 141 (1.00 g, 4.64 mmol) wurde zu einer Lösung aus Natrium (0.16 g, 7.0 mmol) in Methanol (27 mL) gegeben und der Ansatz für 15 Minuten bei 150 W sowie 50 °C in der Mikrowelle erwärmt. Anschließend Essigsäureanhydrid (1.08 mL, 13.9 mmol) zur Reaktionslösung gegeben, für eineinhalb Stunden bei Raumtemperatur gerührt und schließlich das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Zur Vervollständigung wurde zweimal mit Acetonitril coevaporiert. Der Rückstand wurde in Pyridin aufgenommen, portionsweise mit Imidazol (0.52 g, 4.6 mmol) sowie TBDMSCI (0.86 g, 7.0 mmol) versetzt und 90 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Es folgte die erneute Zugabe von Essigsäureanhydrid (3.59 mL, 46.4 mmol). Nach 18 Stunden Rühren bei

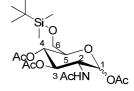
Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel durch dreimaliges Coevaporieren mit Toluol vollständig entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 0.98 g (2.1 mmol, 46%, α/β = 1:0.3)

eines farblosen Schaums, Summenformel:

C₂₀H₃₅NO₉Si, **Molekulargewicht:** 461.58 g/mol,

DC: R_f (EE): 0.35



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 6.18 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.7 \text{ Hz}$, 1H, 1-H), 5.50 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.0 \text{ Hz}$, 1H, NHAc), 5.25 -5.15 (m, 2H, 3-H, 4-H), 4.48 – 4.39 (m, 1 H, 2-H), 3.84 – 3.80 (m, 1H, 5-H), 3.71 - 3.66 (m, 2H, 6-H₂), 2.17, 2.08, 2.03, 1.93 (4xs, 4x3H, C(O)CH₃), 0.86 (s, 9H, Si-C(CH₃)₃), 0.02 (s, 3H, Si-CH₃), 0.01 (s, 3H, Si-CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 171.9, 169.9, 168.9, 168.7 (4xC(O)CH₃), 90.7 (1), 72.4 (4), 71.1 (5), 67.9 (3), 61.9 (6), 51.1 (2), 25.7 (Si-C(CH₃)₃), 23.1, 20.9, 20.8, 20.7 (C(O)CH₃), 18.2 (Si-C(CH₃)₃), -5.5 (Si-CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 484.1978, gefunden 484.1967. IR: (Film) \widetilde{v} [cm⁻¹] = 3274, 2930, 2857, 1749, 1661, 1541, 1367, 1212, 1123, 1035, 1009, 833, 777.

2-Acetamido-2-desoxy-1,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-p-gluco-pyranose **144**

2-Acetamido-2-desoxy-1,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-tertbutyldimethylsilyl-D-glucopyranose **143** (500 mg, 1.08 mmol) wurde gemäß AAV 5 in Dichlormethan (2 mL) gelöst und mit Triethylamin Trihydrofluorid (4.40 mL, 15.2 mmol) versetzt. Der Ansatz wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und die Reaktion dünnschichtchromatografisch verfolgt. Bei nahezu vollständigem Umsatz wurde mit Dichlormethan (2 mL) verdünnt, FmocCl (1.39 g, 3.34 mmol) und Pyridin (1.31 mL, 9.72 mmol) zugegeben und für drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit viel Dichlormethan verdünnt, dreimal mit wenig Wasser gewaschen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat als Eluent gereinigt.

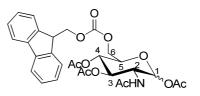
Ausbeute: 0.52 g (0.92 mmol, 85%,

 α/β = 1:0.3) eines farblosen Schaums,

Summenformel: C₂₉H₃₁NO₁₁,

Molekulargewicht: 569.55 g/mol, DC: R_f (EE):

0.36



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.77 (d, ${}^{3}J_{HH} = 7.5$ Hz, 2H, H_{ar}), 7.64 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.6$ Hz, ${}^{4}J_{HH} = 7.6$ Hz, 2H, H_{ar}), 7.41 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, 2H, H_{ar}), 7.34 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, 2H, H_{ar}), 6.22 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.6$ Hz, 1H, 1-H), 5.52 (d, ${}^{3}J_{HH} = 9.0$ Hz, 1H, NHAc), 5.27 – 5.24 (m, 2H, 3-H, 4-H), 4.52 (ddd, ${}^{3}J_{HH} = 10.2$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 10.2$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 10.2$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.8$ Hz 1H, 2-H), 4.31 – 4.22 (m, 5H, 6-H₂, fluorenyl-H₂, fluorenyl-CH), 4.07 - 4.02 (m, 1H, H-5), 2.20, 2.07, 2.04, 1.95 (4xs, 4x3H, C(O)CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 171.8, 170.0, 169.2, 168.5 (*C*(O)CH₃), 154.8 (fluorenyl-C=O), 143.4 (C_{q,ar}), 141.2 (C_{q,ar}), 127.9 (C_{ar}), 127.2 (C_{ar}), 125.3 (C_{ar}), 120.0 (C_{ar}), 90.6 (1), 70.6 (3), 70.3 (fluorenyl-CH₂), 69.6 (5), 67.9 (4), 65.5 (6), 51.1 (2), 46.6 (fluorenyl-CH), 23.0, 20.9, 20.7, 20.5 (C(O)CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 592.1794, gefunden 592.1788. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3675, 2987, 2900, 1737, 1671, 1338, 1243, 1154, 1051, 1028, 1011, 953, 750, 482.

2-Acetamido-2-desoxy-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glucopyranose 238

Zu einer Lösung aus Natrium (0.32 g, 14 mmol) in trockenem Methanol (53.3 mL) wurde portionsweise Glucosaminhydrochlorid **141** (2.00 g, 9.28 mmol) gegeben. Der Ansatz wurde für 15 Minuten bei 150 W sowie 50 °C in der Mikrowelle erwärmt und, nach Zugabe von Essigsäureanhydrid (2.14 mL, 27.8 mmol), für eineinhalb Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Pyridin aufgenommen. Es folgten die erneute Zugabe von Essigsäureanhydrid (8.56 mL, 111 mmol) sowie 18stündiges Rühren bei Raumtemperatur. Pyridin wurde im Ölpumpenvakuum entfernt, der Rückstand dreimal mit Toluol coevaporiert und in Ethylacetat aufgenommen. Das Rohprodukt wurde abschließend mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Ethylacetat als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 3.13 g (8.03 mmol, 85%,

 α/β = 1:0.25) eines farblosen Schaums,

Summenformel: C₁₆H₂₃NO₁₀,

Molekulargewicht: 389.35 g/mol, **DC:** R_f (EE):

0.35

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 6.17 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.7$ Hz, 1 H, 1-H), 5.57 (d, ${}^{3}J_{HH} = 8.8$ Hz, 1 H, N*H*Ac) 5.24 – 5.21 (m, 2 H, 3-H und 4-H),4.59 (ddd, ${}^{3}J_{HH} = 10.6$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 9.1$ Hz, ${}^{4}J_{HH} = 3.6$ Hz, 1 H, 2-H), 4.24 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 12.5$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 4.1$ Hz, 1 H, 6-H) 4,14 -4.05 (m, 2 H, 6-H), 4.00 – 3.98 (m, 1 H, 5-H), 2.19, 2.09, 2.05, 2.04, 1.94 (je s, je 3H, C*H*₃-Acetyl). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 171.8, 170.73, 169.96, 169.11, 168.63 (je *C*=O-Acetyl), 90.71 (1), 72.9 (4), 69.7 (5), 67.5 (3), 53.1 (6), 51.1 (2), 23.1, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (*C*H₃-Acetyl). **HR-ESI**⁺-**MS**: [M+Na⁺] berechnet 412.1219, gefunden 412.1214. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3283, 2967, 1738, 1661, 1366, 1208, 1032, 1009, 937, 919.

2-Acetamido-2-desoxy-3,4,6-tri-O-acetyl-D-glucopyranose 239

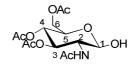
2-Acetamido-2-desoxy-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranose **238** (1.00 g, 2.56 mmol) wurde in Dichlormethan (100 mL) gelöst und mit 33%iger HBr in Essigsäure (6.92 mL, 5.12 mmol) versetzt. Nach zweistündigem Rühren bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss wurde die Reaktion durch Zugabe von wenig Eiswasser beendet. Anschließend wurde mit Dichlormethan extrahiert, die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Membranpumpenvakuum entfernt. Der resultierende Rückstand aus 2-Acetamido-2-desoxy-3,4,6-tri-*O*-acetylglucopyranosylbromid wurde direkt weiter umgesetzt und hierfür in CH₂Cl₂:CH₃CN 1:2 gelöst. Nach Zugabe von Wasser (0.14 mL, 7.9 mmol) sowie Ag₂CO₃ (1.41 g, 5.30 mmol) wurde über 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsansatz wurde filtriert, das Filtrat über Na₂SO₄ getrocknet und schließlich vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 0.38 g (1.1 mmol, 43%, α/β = 0.25:1)

eines farblosen Schaums, Summenformel:

C₁₄H₂₁NO₉, **Molekulargewicht:** 347.32 g/mol,

DC: R_f (EE): 0.31



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 5.81 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.8 Hz, 1 H, NHAc), 5.28 - 5.23 (m, 1 H, 3-H), 5.05 (t, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.6 Hz, 1 H, 4-H), 4.57 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.3 Hz, 1 H, 1-H), 4.27 – 4.11 (m, 2 H, 6-H), 3.86 (ddd, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.8 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.8 Hz, ${}^{4}J_{HH}$ = 8.8 Hz, 1 H, 2-H), 3.70 (ddd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.8 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.5 Hz, ${}^{4}J_{HH}$ = 2.4 Hz, 1 H, 5-H) 2.07, 2.02, 2.01, 1,94 (je s, je 3 H, CH₃-Acetyl). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 171.1, 170.9, 170.6, 169.5 (je *C*=O-Acetyl), 101.7 (1), 72.4 (3), 68.4 (4), 62.2 (6), 56.8 (2), 54.3 (5), 23.3, 20.8, 20.7, 20.6 (je CH₃-Acetyl). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 370.1113, gefunden 370.1100. IR: (Film) \widetilde{v} [cm⁻¹] = 3282, 2969, 2901, 1741, 1668, 1542, 1449, 1375, 1210, 1011, 901, 734, 552, 484.

7.5.4 Synthesen der galacto-Vorstufen

1:2,3:4-Di-*O-iso*propyliden-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-galactopyranose 148

D-Galactose **150** (4.00 g, 0.022 mol) wurde in Aceton (80 mL) suspendiert, mit Dimethoxypropan (10 mL, 0.082 mmol) und einer Spatelspitze *p*Toluolsulfonsäure versetzt. Nach 70stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung mit gesättigter NaHCO₃-Lösung versetzt und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die organsiche Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in 40 mL Dichlormethan gelöst und mit Pyridin (5.33 mL, 0.066 mmol) und Fluorenylmethoxycarbonylchlorid (5.69 g, 0.022 mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, anschließend mit Dichlormethan verdünnt und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat

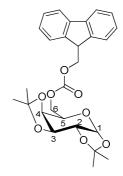
getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether mit einem Ethylacetat-Gradienten von 6:1 nach 4:1.

Ausbeute: 5.62 g (11.6 mmol, 53%) eines

farblosen Schaums, Summenformel: C₂₇H₃₀O₈,

Molekulargewicht: 482.52 g/mol, DC: R_f (PE/EE

2:1 v/v): 0.63



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃):): 7.77 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar}), 7.63 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar}), 7.41 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 2H, H_{ar}), 7.32 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, 2H, H_{ar}), 5.56 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 5.0 Hz, 1H, 1-H), 4.64 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, ${}^{4}J_{HH}$ = 2.5 Hz, 1H, 3-H), 4.41 – 4.39 (m, 2H, fluorenyl-H₂), 4.36 – 4.34 (m, 3H, 2-H, 6-H₂),4.30 – 4.26 (m, 2H, 4-H, fluorenyl-CH) 4.14 – 4.11 (m, 1H, 5-H), 1.53 (s, 3H, CH₃), 1.47 (s, 3H, CH₃), 1.36 (s, 3H, CH₃), 1.34 (s, 3H, CH₃), 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 155.1 (fluorenyl-C=O), 143.4 (C_{q,ar}), 141.3 (C_{q,ar}), 127.8 (C_{ar}), 125.3 (C_{ar}), 125.2 (C_{ar}), 120.0 (C_{ar}), 96.3 (1), 70.9 (4), 70.7 (3), 70.5 (2), 70.0 (fluorenyl-CH₂), 66.6 (6), 65.8 (5), 46.7 (fluorenyl-CH), 26.0, 26.0, 25.0, 24.5 (CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+NH₄⁺] berechnet 500.2279, gefunden 500.2283. IR: (Film) $\widetilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2988, 2936, 1746, 1451, 1382, 1258, 1212, 1167, 1114, 1069, 1007, 977, 920, 760, 741.

1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonyl-D-galactopyranose 147

1:2,3:4-Di-*O-iso*propyliden-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-galactopyranose

(1.00 g, 2.70 mmol) wurde in Dioxan (20 mL) gelöst und mit 2 M wässr. HCl (8.3 mL, 16.6 mmol) versetzt. Nach 15minütigem Refluxieren in einem Mikrowellenreaktor (150 W) wurde das Reaktionsgemisch mit Pyridin (10 mL) versetzt und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol 9:1 chromatographiert. Das erhaltene Produkt mit dem R_f-Wert 0.2 (Dichlormethan/Methanol 9:1) wurde in Pyridin (10 mL) aufgenommen und mit Essigsäureanhydrid (2.36 mL, 25.0 mmol) versetzt. Nach einer

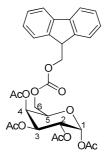
Reaktionszeit von 18 Stunden bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und mit Toluol coevaporiert. Das Rohprodukt wurde in Ethylacetat und Wasser aufgenommen, die organische Phase mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 4:1.

Ausbeute: 524 mg (0.918 mmol, 44%, α) eines

farblosen Schaums, Summenformel: $C_{29}H_{30}O_{12}$,

Molekulargewicht: 570.54 g/mol, DC: R_f (PE/EE

2:1 v/v): 0.33



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.77 (d, ${}^{3}J_{HH} = 7.5$ Hz, 2H, H_{ar}), 7.60 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 2.3$ Hz, 2H, H_{ar}), 7.41 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.5$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, 2H, H_{ar}), 7.33 (dddd, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 2.3$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 1.1$ Hz, 2H, H_{ar}), 6.41 (d, ${}^{3}J_{HH} = 1.5$ Hz, 1H, 1-H), 5.56 (s, 1H, 4-H), 5.37 – 5.36 (m, 2H, 2-H, 3-H), 4.44 – 4.36 (m, 3H, fluorenyl-H₂, 5-H), 4.26 (t, ${}^{3}J_{HH} = 7.5$ Hz, 1H, fluorenyl-CH), 4.22 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 6.1$ Hz, ${}^{4}J_{HH} = 1.6$ Hz, 2H, 6-H₂), 2.17, 2.16, 2.03, 2.02 (s, 3H, C(O)CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.1, 170.1, 169.9, 168.9 (C(O)CH₃), 154.7 (fluorenyl-C=O), 143.3 (C_{q,ar}), 141.3 (C_{q,ar}), 127.9 (C_{ar}), 127.2 (C_{ar}), 125.2 (C_{ar}), 120.1 (C_{ar}), 89.7 (1), 70.3 (fluorenyl-CH₂), 68.9 (5), 67.5 (4), 67.3 (3), 66.4 (2), 65.0 (6), 46.6 (fluorenyl-CH), 20.9, 20.7, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+NH₄⁺] berechnet 588.2076, gefunden 588.2071. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2961, 1748, 1451, 1370, 1214, 1070, 1012, 938, 900, 761, 742.

(2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-thymin 194

1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl-D-galactopyranose **177** (2.00 g, 5.12 mmol) und Thymin (646 mg, 5.12 mmol) wurden in trockenem Acetonitril (30 mL) suspendiert und mit *N*,*O*-Bistrimethylsilylacetamid (2.9 mL, 11.8 mmol) versetzt. Nach vollständiger Lösung wurde Trimethylsilyltriflat (2.3 mL, 12 mmol) hinzugegeben und es wurde für fünf Stunden unter Rückfluss gerührt. Anschließend wurde für 14 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Ethylacetat verdünnt und

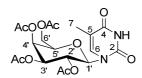
mit Wasser, gesättigter NaHCO $_3$ -Lsg. und NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 2:3 nach 1:2 gereinigt. Vor der Säulenchromatographie lag das Produkt als Anomerengemisch in einem Verhältnis α/β von 0.1:1 vor.

Ausbeute: 1.72 g (3.77 mmol, 74%, β) eines

farblosen Schaums, **Summenformel**:

 $C_{19}H_{24}N_2O_{11}$, Molekulargewicht: 456.40 g/mol,

DC: R_f (PE/EE 2:3 v/v): 0.33



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.34 (s, 1H, NH), 7.15 (s, 1H, 6-H), 5.82 (d, ${}^{3}J_{HH} = 9.3 \text{ Hz}$, 1H, 1'-H), 5.50 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.2 \text{ Hz}$, 1H, 4'-H), 5.33 – 5.29 (m, 1H, 2'-H), 5.20 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.2 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 3.2 \text{ Hz}$, 1H, 3'-H), 4.19 – 4.09 (m, 3H, 5'-H, 6'-H₂), 2.22, 2.05, 2.01, 2.00 (s, 3H, C(O)CH₃), 1.98 (s, 3H, 7-H₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.3, 169.8, 169.8, 169.7 (C(O)CH₃), 162.9 (4), 150.3 (2), 134.8 (6), 112.1 (5), 80.6 (1'), 73.8 (5'), 70.9 (3'), 67.0 (2'), 66.9 (4'), 61.2 (6'), 20.7, 20.7, 20.5, 20.4 (C(O)CH₃), 12.6 (7). HR-ESI[†]-MS: [M+H[†]] berechnet 457.1453, gefunden 457.1460, [M+Na[†]] berechnet 479.1272, gefunden 479.1280. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3215, 3064, 1745, 1693, 1465, 1368, 1214, 1086, 1051, 936, 893, 734. [α]_D^{26°C} = 14° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

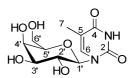
(β-D-Galactopyranosyl)-thymin **195**

(2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-thymin **194** (1.72 g, 3.77 mmol) wurde in Methanol (14 mL) suspendiert und mit Triethylamin (4 mL) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 24 Stunden bei Raumtemperatur war die Reaktionslösung klar. Sie wurde unter vermindertem Druck eingeengt und das Rohprodukt wurde abschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet und aus Wasser gefriergetrocknet.

Ausbeute: 1.09 g (3.77 mmol, 100%, β) eines

farblosen Schaums, Summenformel:

C₁₁H₁₆N₂O₇, **Molekulargewicht:** 288.25 g/mol



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 7.74 (d, ${}^{4}J_{HH}$ = 1.0 Hz, 1H, 6-H), 5.60 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.2 Hz, 1H, 1'-H), 4.09 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.6 Hz, 1H, 4'-H), 3.86 (dd, ${}^{2}J_{HH}$ = 9.6 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.3 Hz, 1H, 6'-H_a), 3.82 (s, 1H, '-H), 3.80 (s, 1H, '-H), 1.95 (d, ${}^{4}J_{HH}$ = 1.0 Hz, 3H, 7-H_a). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 166.3 (4), 152.2 (2), 137.4 (6), 112.1 (5), 83.0 (1'), 78.0 (5'), 73.1 (3'), 68.7 (2'), 68.6 (4'), 60.9 (6'), 11.5 (7). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 311.0850, gefunden 311.0848. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3348, 1682, 1660, 1471, 1374, 1283, 1254, 1085, 1056, 583, 408. [α]_D^{26 °C} = 65° (c = 0.1, MeOH).

(2',3',4'-Tri-O-acetyl-6'-O-tertbutyldimethylsilyl-β-D-galactopyranosyl)-thymin 198

(β-D-Galactopyranosyl)-thymin **194** (270 mg, 0.937 mmol) und Dibutylzinnoxid (233 mg, 0.937 mmol) wurden in trockenem Methanol (10 mL) suspendiert und für dreieinhalb Stunden unter Rückfluss gerührt. Die nun klare Lösung wurde unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit, der Rückstand wurde zunächst im Ölpumpenvakuum getrocknet und anschließend in trockenem THF (10 mL) suspendiert und mit TBDMSCI (141 mg, 0.937 mmol) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 24 Stunden bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in trockenem Pyridin (5 mL) aufgenommen und mit Essigsäureanhydrid (0.79 mL, 8.4 mmol) versetzt. Nach 42stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel durch Coevaporieren vollständig entfernt, der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mehrfach mit NaHCO₃-Lsg. und Wasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Natriumsulfat wurde diese unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1 gereinigt.

Ausbeute: 232 mg (0.439 mmol, 47%, β) eines

farblosen Schaums, Summenformel:

C₂₃H₃₆N₂O₁₀Si, Molekulargewicht:

528.62 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE 1:1 v/v): 0.41

ACO 6' 7 5 4 NH ACO 3' ACO 1' N

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.97 (s, 1H, NH), 7.15 (s, 1H, 6-H), 5.78 (d, $^3J_{HH}$ = 9.2 Hz, 1H, 1'-H), 5.59 (d, $^3J_{HH}$ = 3.1 Hz, 1H, 4'-H), 5.29 (dd, $^3J_{HH}$ = 9.8 Hz,

 $^{3}J_{HH} = 9.6$ Hz, 1H, 2'-H), 5.21 (dd, $^{3}J_{HH} = 10.1$ Hz, $^{3}J_{HH} = 3.2$ Hz, 1H, 3'-H), 3.93 (dd, $^{3}J_{HH} = 6.9$ Hz, $^{3}J_{HH} = 6.9$ Hz, 1H, 5'-H), 3.72 (dd, $^{2}J_{HH} = 9.9$ Hz, $^{3}J_{HH} = 5.2$ Hz, 1H, 6'-H_a), 3.61 (dd, $^{3}J_{HH} = 9.6$ Hz, $^{3}J_{HH} = 8.3$ Hz, 1H, 6'-H_b), 2.20, 2.01, 2.00 (s, 3H, C(O)CH₃), 1.97 (s, 3H, 7-H₃), 0.85 (s, 9H, C(CH₃)₃), 0.02, 0.01 (s, 3H, Si-CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 169.9, 169.7, 169.6 (C(O)CH₃), 162.8 (4), 150.1 (2), 134.9 (6), 111.8 (5), 80.8 (1'), 76.2 (5'), 71.2 (3'), 67.4 (2'), 66.7 (4'), 60.2 (6'), 25.7 (C(CH₃)₃), 20.7, 20.5, 20.5 (C(O)CH₃), 18.1 (Si-C(CH₃)₃), 12.6 (7), -5.6 (Si-CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+H⁺] berechnet 529.2212, gefunden 529.2217. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2927, 2856, 1751, 1696, 1464, 1369, 1217, 1106, 1060, 838, 779. [α]_D²⁶°C = -18° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

(2',3',4'-Tri-O-acetyl-6'-O-fluorenylmethoxycarbonyl-β-D-galactopyranosyl)-thymin 199

(2′,3′,4′-Tri-*O*-acetyl-6′-*O*-*tert*butyldimethylsilyl-β-D-galactopyranosyl)-thymin
(364 mg, 0.689 mmol) wurde in Dichlormethan (3 mL) gelöst und mit Triethylamin Trihydrofluorid (1.68 mL, 10.3 mmol) versetzt. Der fortschreitende Umsatz der Ausgangsverbindung wurde mittels Dünnschichtchromatographie (PE/EE 1:2) verfolgt. Als sich nach einstündiger Reaktionszeit bei Raumtemperatur nahezu vollständiger Umsatz zeigte, wurde die Reaktionslösung mit Dichlormethan verdünnt (10 mL) und es wurden FmocCl (536 mg, 2.07 mmol) und Pyridin (0.50 mL, 6.2 mmol) hinzugegeben. Nach einer Reaktionszeit von drei Stunden bei Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz erneut mit Dichlormethan verdünnt und mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 3:1 nach 1:2 als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 291 mg (0.457 mmol, 66%, β) eines

farblosen Schaums, Summenformel:

 $C_{32}H_{32}N_2O_{12}$, Molekulargewicht: 636.60 g/mol,

DC: R_f (PE/EE 1:2 v/v): 0.55

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.97 (s, 1H, NH), 7.77 (d, ${}^{3}J_{HH} = 7.6$ Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.59 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.1$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 4.3$ Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.42 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.5$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.5$ Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.33 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 8.0$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.6$ Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.15 (s, 1H, 6-H), 5.83 (d, ${}^{3}J_{HH} = 9.1$ Hz, 1H, 1'-H), 5.55 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.0$ Hz, 1H, 4'-H), 5.32 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.7$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 9.7$ Hz, 1H, 2'-H), 5.22 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.1$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.3$ Hz, 1H, 3'-H), 4.45 – 4.37 (m, 2H, fluorenyl-H₂), 4.25 – 4.23(m, 3H, 6'-H₂, fluorenyl-CH), 4.19 – 4.16 (m, 1H, 5'-H), 2.23 (s, 3H, C(O)CH₃), 2.02 (s, 6H, 2x C(O)CH₃). 1.95 (s, 3H, 7-H₃). 13C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 169.8, 169.8, 169.6 (*C*(O)CH₃), 162.8 (4), 154.6 (fluorenyl-C=O), 150.2 (2), 143.1 (C_{q, ar}), 141.3 (C_{q, ar}), 134.7 (6), 128.0 (C_{ar}), 127.2 (C_{ar}), 125.2(C_{ar}), 120.1 (C_{ar}), 112.1 (5), 80.7 (1'), 73.7 (5'), 70.8 (3'), 70.4 (fluorenyl-CH₂), 67.1 (2'), 67.0 (4'), 64.9 (6'), 46.6 (fluorenyl-CH), 20.7, 20.5, 20.4 (C(O)CH₃), 12.6 (7). HR-ESI*-MS: [M+H*] berechnet 637.2028, gefunden 637.2031. IR: (Film) $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2924, 2853, 1750, 1695, 1451, 1370, 1230, 1086, 1063, 735. [α]_D^{26*C} = 33° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

7.5.5 Synthesen der *Disaccharid*-Vorstufen

Octa-O-acetyl-D-lactose 160

Die Synthese erfolgte nach AAV 1. Es wurden 5.00 g (14.6 mmol) Lactose **156** in 50 mL trockenem Pyridin gelöst und mit 33.1 mL Essigsäureanhydrid (35.8 g, 351 mmol) versetzt. Die Reaktionszeit betrug 18 Stunden bei Raumtemperatur.

Ausbeute: 9.73 g (14.3 mmol, 98%,

 α/β = 1:0.07) eines farblosen Schaums,

Summenformel: C₂₈H₃₈O₁₉, Molekulargewicht:

678.59 g/mol, **DC:** R_f (DCM/MeOH 19:1 v/v):

0.7

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): *α*-Anomer 6.25 (d, $^3J_{HH}$ = 3.7 Hz, 1H, 1-H), 5.46 (dd, $^3J_{HH}$ = 10.2 Hz, $^3J_{HH}$ = 9.3 Hz, 1H, 3-H), 5.35 (dd, $^3J_{HH}$ = 3.4 Hz, $^3J_{HH}$ = 1.0 Hz, 1H,

4'-H), 5.12 (dd, ${}^{3}J$ = 10.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 1H, 2'-H), 5.00 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.3 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.7 Hz, 1H, 2-H), 4.96 (dd, $^2J_{HH}$ = 10.4 Hz, $^3J_{HH}$ = 3.5 Hz, 1H, 3'-H), 4.48 (d, $^3J_{HH}$ = 7.9 Hz, 1H, 1'-H), 4.44 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 12.2 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.0 Hz, 1H, 6-H_a), 4.17 – 4.06 (m, 3H, 6-H_b, 6'-H_a, 6'-H_b), 4.00 (ddd, ${}^{3}J_{HH} = 10.1 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 4.2 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 1.9 \text{ Hz}$, 1H, 5-H), 3.88 (ddd, $^{3}J_{HH} = 7.3 \text{ Hz}, ^{3}J_{HH} = 6.4 \text{ Hz}, ^{3}J_{HH} = 1.0 \text{ Hz}, 1H, 5'-H), 3.81 (dd, ^{3}J_{HH} = 9.9 \text{ Hz}, ^{3}J_{HH} = 9.4 \text{ Hz},$ 1H, 4-H), 2.18, 2.16, 2.12, 2.06, 2.06, 2.05, 2.01, 1.96 (s, 3H, C(O)C H_3), **\beta-Anomer** 5.67 (d, ${}^{3}J_{HH} = 8.3$ Hz, 1H, 1-H), 5.35 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 3.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 1.0$ Hz, 1H, 4'-H), 5.24 (dd, $^{3}J_{HH} = 9.3 \text{ Hz}, ^{3}J_{HH} = 8.8 \text{ Hz}, 1H, 3-H), 5.12 (dd, ^{3}J_{HH} = 10.4 \text{ Hz}, ^{3}J_{HH} = 7.9 \text{ Hz}, 1H, 2'-H),$ 5.02 - 5.06 (m, 1H, 2-H), 4.96 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.5$ Hz, 1H, 3'-H), 4.48 (d, $^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 1H, 1'-H), 4.44 (dd, $^{2}J_{HH}$ = 12.2 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 2.0 Hz, 1H, 6-H_a), 4.17 – 4.06 (m, 3H, 6-H_b, 6'-H_a, 6'-H_b), 3.88 (ddd, ${}^{3}J_{HH} = 7.3 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 6.4 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 1.0 \text{ Hz}$, 1H, 5'-H), 3.81 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.9$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 9.4$ Hz, 1H, 4-H), 3.75 (ddd, ${}^{3}J_{HH} = 9.9$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 4.7$ Hz, $^{3}J_{HH}$ = 1.9 Hz, 1H, 5-H), 2.15, 2.12, 2.09, 2.06, 2.06, 2.04, 2.03, 1.96 (s, 3H, C(O)CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): α-Anomer 170.3, 170.3, 170.1, 170.0, 169.9, 169.6, 169.1, 168.9 (C(O)CH₃), 101.2 (1'), 89.0 (1), 75.8 (4), 71.0 (3'), 70.7 (5'), 70.7 (5), 69.6 (3), 69.4 (2), 69.1 (2'), 66.6 (4'), 61.4 (6), 60.8 (6'), 20.9, 20.8, 20.8, 20.6, 20.6, 20.5 $(C(O)CH_3)$, β -Anomer 170.3, 170.3, 170.1, 170.0, 169.9, 169.6, 169.1, 168.9 $(C(O)CH_3)$, 101.2 (1'), 91.5 (1), 75.8 (4), 73.5 (5), 72.6 (3), 71.0 (3'), 70.7 (5'), 70.5 (2), 69.1 (2'), 66.6 (4'), 61.4 (6), 60.8 (6'), 20.9, 20.8, 20.8, 20.6, 20.6, 20.5 ($C(O)CH_3$). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 701.1900, gefunden 701.1910, [M+K⁺] berechnet 717.1639, gefunden 717.1634. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 1751, 1370, 1218, 1060.

4-(β-D-2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetylgalactopyranosyl)-D-3,6-di-*O*-acetyl-2-desoxyarabinohex-1-enitol **164**

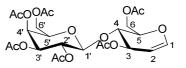
Die Synthese erfolgte gemäß AAV 8. Es wurden 10.7 g (15.7 mmol) 4-(β-D-2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetylgalactopyranosyl)-D-1,2,3,6-tetra-*O*-acetylglucopyranose **160**, 42 mL 33%iger HBr in Essigsäure und 200 mL Dichlormethan und anschließend 6.16 g (94.2 mmol) Zink-Staub sowie 1.26 mL (15.7 mmol) 1-Methylimidazol verwendet. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 2:1 nach 1:1.

Ausbeute: 5.70 g (10.2 mmol, 65%) eines

farblosen Schaums, **Summenformel**: C₂₄H₃₂O₁₅,

Molekulargewicht: 560.50 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE

1:1 v/v): 0.3



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 6.41 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 6.1 Hz, 1H, 1-H), 5.42 – 5.38 (m, 1H, 3-H), 5.36 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.1 Hz, 1H, 4'-H), 5.19 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 1H, 2'-H), 5.00 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.2 Hz, 1H, 3'-H), 4.84 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 6.0 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.3 Hz, 1H, 2-H), 4.66 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 1H, 1'-H), 4.43 (dd, ${}^{2}J_{HH}$ = 11.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.1 Hz, 1H, 6-H_a), 4.22 – 4.10 (m, 4H, 5-H, 6-H_b, 6'-H₂), 3.99 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.0 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 5.6 Hz, 1H, 4-H), 3.90 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 6.8 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 6.8 Hz, 1H, 5'-H), 2.16, 2.12, 2.08, 2.06, 2.05, 1.98 (s, 3H, C(O)CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.4, 170.3, 170.3, 170.1, 169.9, 169.2 (C(O)CH₃), 145.5 (1), 101.1 (1'), 98.9 (2), 74.7 (4), 74.2 (5), 70.7 (3'), 70.6 (5'), 68.8 (2'), 66.7 (3), 66.6 (4'), 61.8 (6), 60.9 (6'), 21.0, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 583.1633, gefunden 583.1633. IR: (Film) $\widetilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2922, 2852, 1743, 1654, 1370, 1219, 1053. [α]_D^{26°C} = -3° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

4-(β-D-6'-*O*-tertbutyldimethylsilylgalactopyranosyl)-D-2-desoxyarabino-hex-1-enitol 162

4-(β-D-2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetylgalactopyranosyl)-D-3,6-di-*O*-acetyl-2-desoxyarabino-hex-1-enitol **164** (2.73 g, 4.87 mmol) wurde in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin gelöst und für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand aus Wasser gefriergetrocknet. Die auf diese Weise erhaltene farblose Watte wurde in trockenem Methanol (100 mL) gelöst und mit Bu₂SnO (1.21 g, 4.87 mmol) versetzt. Nach vierstündigem Refluxieren wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand wurde in trockenem THF (80 mL) suspendiert, mit TBDMSCI (734 mg, 4.87 mmol) versetzt und für vier Tage bei Raumtemperatur gerührt. Da Dünnschichtchromatographie keinen vollständigen Umsatz anzeigte, wurde weiteres TBDMSCI (147 mg, 0.975 mmol) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für einen weiteren Tag bei Raumtemperatur gerührt.

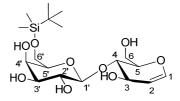
Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol 9:1 als Eluenten.

Ausbeute: 655 mg (1.55 mmol, 32%) eines

farblosen Schaums, Summenformel:

C₁₈H₃₄O₉Si, Molekulargewicht: 422.54 g/mol,

DC: R_f (CH₂Cl₂/MeOH 98:2 v/v): 0.3



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, DMSO- d_6): 6.36 (dd, ³ J_{HH} = 6.0 Hz, ⁴ J_{HH} = 1.6 Hz, 1H, 1-H), 4.52 (d, ³ J_{HH} = 2.3 Hz, 1H, 2-H), 4.29 (d, ³ J_{HH} = 7.4 Hz, 1H, 1'-H), 4.11 (dd, ³ J_{HH} = 6.6 Hz, ³ J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, 3-H), 3.92 (dd, ³ J_{HH} = 12.2 Hz, ³ J_{HH} = 2.7 Hz, 1H, 4'-H), 3.69 – 3.29 (m, 9H, 2'-H, 3'-H, 4-H, 5-H, 5'-H, 6-H₂, 6'-H₂), 0.87 (s, 9H, C(C H_3)₃), 0.04 (s, 6H, Si(C H_3)₂). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, DMSO- d_6): 143.3 (1), 104.2 (1'), 103.3 (2), 75.6 (4), 73.5 (5), 70.9 (2'), 70.8 (3'), 68.4 (5'), 67.1 (3), 64.3 (4'), 62.7 (6), 60.3 (6'), 26.2 (C(C H_3)₃), -5.1 (Si(C H_3)₂). HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 445.1864, gefunden 445.1875. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2922, 2852, 1743, 1654, 1370, 1219, 1172, 1140, 1053. [α]_D^{26°C} = 3° (c = 0.3, MeOH)

4-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-methyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosid **182**

1,2,3,4,6,2',3',4',6'-Octa-*O*-acetyl-D-lactose 160 (7.7 g, 11 mmol) wurde in Dichlormethan (80 mL) gelöst und unter Eiskühlung mit HBr (33%ig in Essigsäure, 30 mL) versetzt. Nach zweistündigem Rühren bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss wurde die Reaktionslösung mit Eiswasser versetzt, die Phasen wurden getrennt und die organische Phase wurde dreimal mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Für die Synthese des Lactosids wurde das Rohprodukt in trockenem Dichlormethan (30 mL) über Molsieb gelöst und nach kurzem Stehen zu einer Suspension aus trockenem Dichlormethan (40 mL), trockenem Methanol (20 mL) und Ag₂CO₃ (3.6 g, 13 mmol) getropft. Der Umsatz wurde mittels Dünnschichtchromatographie überprüft, nach 30 Minuten war das Bromid komplett verbraucht. Die Suspension wurde über Celite filtriert und unter vermindertem Druck eingeengt. Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 2:1 nach 1:1.

Ausbeute: 6.25 g (9.61 mmol, 87%) eines

farblosen Schaums, Summenformel:

C₂₇H₃₈O₁₈, Molekulargewicht: 650.58 g/mol,

DC: R_f (PE/EE 1:1 v/v): 0.37

ACO AC OAC OAC ACO 3' ACO 1' ACO 3 ACO 1 OMe

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 5.33 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.3$ Hz, 1H, 4'-H), 5.18 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.2$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 9.2$ Hz, 1H, 3-H), 5.09 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.9$ Hz, 1H, 2'-H), 4.94 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.4$ Hz, 1H, 3'-H), 4.87 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.4$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.9$ Hz, 1H, 2-H), 4.50 – 4.47 (m, 2H, 6-H_a, 1'-H), 4.38 (d, ${}^{3}J_{HH} = 7.9$ Hz, 1H, 1-H), 4.14 – 4.04 (m, 3H, 6-H_b, 6'-H₂), 3.86 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 7.2$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 7.2$ Hz, 1H, 5'-H), 3.79 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.6$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 9.3$ Hz, 1H, 4-H), 3.60 (ddd, ${}^{3}J_{HH} = 9.8$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 4.9$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 2.0$ Hz, 1H, 5-H), 3.46 (s, 3H, OCH₃), 2.13, 2.11, 2.04, 2.03, 1.95 (5 x s, 21H, C(O)CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.4, 170.3, 170.1, 170.0, 169.7, 169.7, 169.1 (*C*(O)CH₃), 101.4 (1), 101.1 (1'), 76.3 (4), 72.8 (3), 72.6 (5), 71.6 (2), 71.0 (3'), 70.7 (5'), 69.1 (2'), 66.6 (4'), 62.0 (6), 60.8 (6'), 57.0 (OCH₃), 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃). ESI[†]-MS: [M+NH₄[†]] berechnet 668.2396, gefunden 668.2394, [M+Na[†]] berechnet 673.1950, gefunden 673.1942. IR: (Film) $\widetilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2924, 1744, 1369, 1216, 1169, 1134, 1044, 954, 901, 733, 702, 603. [α]_D^{26 °C} = -23° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

<u>4-(2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-tert</u>butyldimethylsilyl-β-D-galactopyranosyl)-methyl-2,3,6-tri-<u>*O*-acetyl-β-D-glucopyranosid</u> **180**

4-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-methyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosid **182** (564 mg, 0.867 mmol) wurde in einer Mischung aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Entfernung des Lösungsmittels und Coevaporieren mit Acetonitril, wurde der Rückstand in trockenem Methanol (30 mL) aufgenommen und mit Dibutylzinnoxid (216 mg, 0.867 mmol) versetzt. Die Suspension wurde unter Rückfluss

gerührt, bis eine klare Lösung entstand (zweieinhalb Stunden). Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, das Produkt wurde in einen Schlenkkolben überführt und im Ölpumpenvakuum ausgiebig getrocknet. Dann wurde es in trockenem THF (50 mL) aufgenommen und mit frisch aktiviertem Molsieb (4 A) für eine halbe Stunde gerührt. Anfolgend wurde TBDMSCI (131 mg, 0.867 mmol) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 45 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abreagieren der entstandenen HCl sowie des nicht reagierten TBDMSCI wurde die Reaktionslösung mit wenigen Tropfen Et₃N und Methanol versetzt und das Lösungsmittel wurde entfernt. Der Rückstand wurde in trockenem Pyridin (5 mL) aufgenommen und mit Essigsäureanhydrid (1.47 mL, 15.6 mmol) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 70 Stunden bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand mit Toluol und Dichlormethan coevaporiert. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 2:1 nach 1:1.

Ausbeute: 253 mg (0.350 mmol, 40%) eines

farblosen Schaums, Summenformel:

C₃₁H₅₀O₁₇Si, **Molekulargewicht:** 722.80 g/mol,

DC: R_f (PE/EE 1:1 v/v): 0.6

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 5.43 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.2 \text{ Hz}$, 1H, 4'-H), 5.18 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.3 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 9.3 \text{ Hz}$, 1H, 3-H), 5.07 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.4 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 7.9 \text{ Hz}$, 1H, 2'-H), 4.96 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.4 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 3.4 \text{ Hz}$, 1H, 3'-H), 4.86 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.4 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 8.0 \text{ Hz}$, 1H, 2-H), 4.48 (dd, ${}^{2}J_{HH} = 12.0 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 1.9 \text{ Hz}$, 1H, 6-H_a), 4.45 (d, ${}^{3}J_{HH} = 7.9 \text{ Hz}$, 1H, 1'-H), 4.37 (d, ${}^{3}J_{HH} = 7.9 \text{ Hz}$, 1H, 1-H), 4.08 (dd, ${}^{2}J_{HH} = 12.0 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 4.8 \text{ Hz}$, 1H, 6-H_b), 3.80 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.5 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 9.5 \text{ Hz}$, 1H, 4-H), 3.69 – 3.62 (m, 2H, 5'-H, 6'-H_a), 3.59 (ddd, ${}^{3}J_{HH} = 9.8 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 4.7 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 1.9 \text{ Hz}$, 1H, 5-H), 3.55 – 3.52 (m, 1H, 6'-H_b), 3.46 (s, 3H, OCH₃), 2.11, 2.10, 2.03, 2.02, 2.01, 1.94 (6 x s, 18H, C(O)CH₃), 0.84 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.01 (s, 3H, SiCH₃). 13C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.3, 170.1, 169.9, 169.7, 169.6, 169.2 (C(O)CH₃), 101.3 (1), 101.0 (1'), 76.0 (4), 73.5 (5'), 73.0 (3), 72.6 (5), 71.7 (2), 71.3 (3'), 69.5 (2'), 66.7 (4'), 62.0 (6), 60.1 (6'), 56.9 (OCH₃), 25.7 (SiC(CH₃)₃), 20.8, 20.8, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃), 18.1 (SiC(CH₃)₃), -5.7, -5.7

(SiCH₃). **ESI**⁺-**MS**: [M+Na⁺] berechnet 745.2709, gefunden 745.2728. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2930, 2856, 1752, 1369, 1221, 1058, 840. $[\alpha]_D^{26 \, ^{\circ}\text{C}} = -19^{\circ}$ (c = 0.1, CH₂Cl₂).

4-(2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl- β -D-galactopyranosyl)-methyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosid **181**

4-(2,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-tertbutyldimethylsilyl-β-D-galactopyranosyl)-methyl-2,3,6-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosid **180** (240 mg, 0.332 mmol) wurde gemäß AAV 5 in Dichlormethan (3 mL) gelöst und mit Triethylamin Trihydrofluorid (0.81 mL, 4.98 mmol) versetzt. Nach einer Reaktionszeit von einer Stunde bei Raumtemperatur war die Ausgangsverbindung nahezu vollständig umgesetzt. Die Reaktionslösung wurde mit Dichlormethan verdünnt und mit FmocCl (258 mg, 0.996 mmol) und trockenem Pyridin (0.24 mL, 2.99 mmol) versetzt. Nach 16stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung mit Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wurde vor der Entsorgung mit CaCl₂ versetzt. Die organische Phase wurde mit wenig Kieselgel versetzt, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 2:1 nach 1:1.

Ausbeute: 180 mg (0.217 mmol, 65%) eines

farblosen Schaums, **Summenformel**:

 $C_{40}H_{46}O_{19}$, Molekulargewicht: 830.78 g/mol,

DC: R_f (PE/EE 1:1 v/v): 0.5

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.77 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.60 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.0 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 5.4 Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.41 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.5 Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.34 (ddd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, ${}^{2}J_{HH}$ = 2.6 Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 5.41 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.3 Hz, 1H, 4'-H), 5.21 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.2 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.2 Hz, 1H, 3-H), 5.12 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.3 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 1H, 2'-H), 4.98 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.3 Hz, 1H, 3'-H), 4.90 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.3 Hz, 1H, 2-H), 4.52 – 4.49 (m, 2H, 1'-H, 6-H_a), 4.46 – 4.39 (m, 3H, 1-H, fluorenyl-C*H*₂), 4.27 – 4.10 (m, 4H, 6'-H₂, 6-H_b, fluorenyl-C*H*), 3.90 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 6.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 6.4 Hz, 1H, 5'-H), 3.84 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.4 Hz, 1H, 4-H), 3.61 (ddd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.7 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 4.8 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 1H, 5-H), 3.47 (s, 3H, OC*H*₃), 2.16,

2.11, 2.05, 2.04, 2.03, 1.97 (6 x s, 18H, C(O)C H_3). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.4, 170.1, 170.0, 169.8, 169.7, 169.1 (C(O)CH₃), 154.6 (fluorenyl-C=O), 143.2 ($C_{q,ar}$), 141.3 ($C_{q,ar}$), 128.0 (C_{ar}), 127.3 (C_{ar}), 125.1 (C_{ar}), 120.1 (C_{ar}), 101.4 (1), 101.0 (1'), 76.2 (4), 72.9 (5), 72.6 (3), 71.7 (2), 70.9 (5'), 70.8 (3'), 70.3 (fluorenyl-CH₂), 69.2 (2'), 66.8 (4'), 64.5 (6'), 62.0 (6), 57.0 (CCH₃), 46.6 (fluorenyl-CCH), 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, 20.5 (CC(O)CCH₃). **ESI**⁺-**MS**: [M+NH₄⁺] berechnet 848.2972, gefunden 848.2976, [M+Na⁺] berechnet 853.2526, gefunden 853.2533. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2961, 1749, 1451, 1369, 1231, 1056. [α]_D^{26°C} = 130° (c = 0.1, cCH₂Cl₂).

<u>4-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-1,2,3,6-tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose **166**</u>

4-(β-D-2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetylgalactopyranosyl)-D-3,6-di-*O*-acetyl-2-

desoxyarabinohex-1-enitol 164 (759 mg, 1.35 mmol) wurden in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 (11 mL) für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand im Ölpumpenvakuum und durch Coevaporieren mit Acetonitril getrocknet. Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten. Dieser wurde in demin. Wasser (20 mL) gelöst und bei 0 °C mit mCPBA (699 mg, 4.05 mmol) gelöst in Diethylether (20 mL) versetzt. Dieses Reaktionsgemisch wurde für zwei Tage bei 4 °C gerührt. Der Umsatz wurde dünnschichtchromatographisch (CH₂Cl₂/MeOH 7:3) überprüft. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde dreimal mit Diethylether gewaschen. Die organische Phase wurde vor der Entsorgung mit Natriumsulfitlösung gewaschen. Die wässrige Phase wurde unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und das Rohprodukt wurde erneut im Ölpumpenvakuum und durch coevaporieren mit Acetonitril getrocknet. Es folgte die Acetylierung unter Standardbedingungen in Pyridin mit Essigsäureanhydrid (3.06 mL, 32.4 mmol) bei Raumtemperatur und einer Reaktionszeit von 18 Stunden. Nach Entfernung des Lösungsmittels und Coevaporieren mit Toluol und Dichlormethan erfolgte die Reinigung des Produktes mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 2:1 nach 1:2. Nach mehrfacher Wiederholung konnte das Produkt mit einer Verunreinigung von 9% von dem C2-Epimer – also

(1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranosyl-4)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosid **160** – erhalten werden.

Ausbeute: 743 mg (1.09 mmol, 81%, α/β =

1:0.4, Man/Glc = 1:0.1) eines farblosen

Schaums, **Summenformel**: C₂₈H₃₈O₁₉,

Molekulargewicht: 678.59 g/mol, DC: R_f

(PE/EE 1:2 v/v): 0.50

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): α-Anomer 6.01 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.1 Hz, 1H, 1-H), 5.37 – 5.35 (m, 2H, 3-H, 4'-H), 5.23 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.3 Hz, 1H, 2-H), 5.17 – 5.10 (m, 1H, 2'-H), 4.97 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.4 Hz, 1H, 3'-H), 4.55 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 1H, 1'-H), 4.38 (d, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.3 Hz, 1H, 6-H_a), 4.20 – 4.13 (m, 2H, 6-H_b, 6'-H_a), 4.06 – 4.01 (m, 1H, 6'-H_b), 3.96 – 3.94 (m, 2H, 5'-H, 4-H), 3.90 – 3.86 (m, 1H, 5-H), 2.15, 2.14, 2.11, 2.06, 2.04, 1.96 (6 x s, 24H, C(O)CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.4, 170.4, 170.1, 169.5, 169.4, 169.3, 168.3 (*C*(O)CH₃), 101.3 (1'), 90.4 (1), 73.9 (4), 71.0 (5'), 70.9 (3'), 70.5 (5), 69.1 (2'), 69.1 (3), 68.4 (2), 66.6 (4'), 62.2 (6), 60.8 (6'), 20.9, 20.9, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃).ESI[†]-MS: [M+NH₄[†]] berechnet 696.2346, gefunden 696.2345, [M+Na[†]] berechnet 701.1900, gefunden 701.1899. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2923, 1748, 1370, 1217, 1153, 1049.

<u>4-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-benzyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-D-mannopyranosid **189**</u>

4-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-1,2,3,6-tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose **166** (509 mg, 0.750 mmol) wurde in trockenem Dichlormethan (15 mL) gelöst und mit Benzylalkohol (0.390 mL, 3.75 mmol) versetzt. Die Lösung wurde für 30 Minuten über frisch aktiviertem Molsieb 3 A stehen gelassen. Dann wurde unter Eiskühlung langsam BF₃*OEt₂ (0.92 mL, 7.5 mmol) hinzugegeben. Als nach vierstündigem Rühren bei Raumtemperatur Dünnschichtchromatographie (PE/EE 1:1) vollständigen Umsatz der Ausgangsverbindung zeigte, wurde die Reaktionslösung unter Eiskühlung mit demin. Wasser (10 mL) versetzt. Nach 30minütigem Rühren wurde dieses Gemisch vorsichtig mit gesättigter NaHCO₃-Lösung neutralisiert.

Anschließend wurden die Phasen getrennt und die organische Phase je zweimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1 als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 410 mg (0.564 mmol, 75%) eines

farblosen Schaums, Summenformel: C₃₃H₄₂O₁₈,

Molekulargewicht: 726.68 g/mol, DC: R_f

(PE/EE 1:1 v/v): 0.25

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.38 - 7.31 (m, 5H, H_{ar}), 5.39 (dd, ³ J_{HH} = 8.7 Hz, ³ J_{HH} = 3.6 Hz, 1H, 3-H), 5.34 (dd, ³ J_{HH} = 3.3 Hz, ⁴ J_{HH} = 0.7 Hz, 1H, 4'-H), 5.27 (dd, ³ J_{HH} = 3.5 Hz, ³ J_{HH} = 1.8 Hz, 1H, 2-H), 5.13 (dd, ³ J_{HH} = 10.4 Hz, ³ J_{HH} = 7.9 Hz, 1H, 2'-H), 4.97 (dd, ³ J_{HH} = 10.5 Hz, ³ J_{HH} = 3.4 Hz, 1H, 3'-H), 4.81 (d, ³ J_{HH} = 1.8 Hz, 1H, 1-H), 4.69 (d, ² J_{HH} = 12.0 Hz, 1H, OC H_2 Ph), 4.55 (d, ³ J_{HH} = 7.9 Hz, 1H, 1'-H), 4.54 (d, ² J_{HH} = 10.4 Hz, 1H, OC H_2 Ph), 4.36 (dd, ² J_{HH} = 11.2 Hz, ⁴ J_{HH} = 0.7 Hz, 1H, 6-H_a), 4.19 – 3.85 (m, 6H, 4-H, 5-H, 5'-H, 6'-H₂, 6-H_b), 2.15, 2.14, 2.11, 2.06, 2.05, 2.03, 1.97 (7 x s, 21H, C(O)C H_3). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.5, 170.4, 170.2, 170.1, 169.8, 169.3, 168.3 (C(O)CH₃), 136.2 (C_{ar}), 128.6 (C_{ar}), 128.2 (C_{ar}), 101.1 (1'), 96.4 (1, ¹ J_{CH} = 169.1 Hz), 74.4 (4), 71.0 (5'), 70.4 (3'), 69.7 (5), 69.6 (CH₂Ph), 69.6 (2) 69.2 (3), 69.1 (2'), 66.6 (4'), 62.6 (6), 60.8 (6'), 20.9, 20.8, 20.6, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃). **ESI⁺-MS**: [M+Na⁺] berechnet 749.2263, gefunden 749.2269. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2937, 1746, 1369, 1218, 1057. [α]_D^{26°C} = 46° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

4-(2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-tertbutyl-dimethylsilyl-β-D-galactopyranosyl)-benzyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-D-mannopyranosid **159'Bn**

4-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-benzyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-D-mannopyranosid **189** (344 mg, 0.473 mmol) wurde gemäß AAV 3 für 18 Stunden in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mehrfach mit Methanol coevaporiert. Nach

ausführlicher Trocknung des so gebildeten farblosen Schaums im Ölpumpenvakuum wurde dieser in trockenem Methanol (10 mL) aufgenommen und mit Dibutylzinnoxid (118 mg, 0.473 mmol) versetzt. Dieses Gemisch wurde für drei Stunden zum Rückfluss erhitzt. Im Anschluss wurde die nun klare Reaktionslösung in einen Schlenkkolben überführt und das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum vollständig entfernt. Der Rückstand wurde in trockenem THF (20 mL) aufgenommen und zu dieser Lösung wurde frisch aktiviertes Molsieb 4A gegeben. (Nach nur kurzer Zeit wurde die Lösung trüb bis milchig.) Dann wurde TBDMSCI (86.0 mg, 0.568 mmol) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für vier Tage bei Raumtemperatur gerührt (DC CH₂Cl₂/MeOH 8:2) und dann mit Methanol versetzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt, der Rückstand in trockenem Pyridin (5 mL) aufgenommen und mit Essigsäureanhydrid (1.07 mL, 11.4 mmol) versetzt. Nach einer Reaktionsdauer von 18 Stunden bei Raumtemperatur wurde erneut das Lösungsmittel entfernt und mit Toluol Dichlormethan Rückstand und coevaporiert. Der wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Petrolether/Ethylacetat-Gemisch im Verhältnis 1:1 gereinigt. Neben 27% des gewünschten Produktes konnte die Ausgangsverbindung **189** in einer Ausbeute von 56% zurückgewonnen werden.

Ausbeute: 102 mg (0.128 mmol, 27% (62%brsm)) eines farblosen Schaums,

Summenformel: C₃₇H₅₄O₁₇Si,

Molekulargewicht: 798.90 g/mol, DC: R_f

(PE/EE 1:1 v/v): 0.70

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.36 - 7.31 (m, 5H, H_{ar}), 5.45 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.2 Hz, 1H, 4'-H), 5.39 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.8 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.6 Hz, 1H, 3-H), 5.26 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.6 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 1H, 2-H), 5.12 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 1H, 2'-H), 4.99 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.4 Hz, 1H, 3'-H), 4.81 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 1H, 1-H), 4.69 (d, ${}^{2}J_{HH}$ = 11.9 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.54 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.8 Hz, 1H, 1'-H), 4.53 (d, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.1 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.35 (d, ${}^{2}J_{HH}$ = 11.0 Hz, 1H, 6-H_a), 4.19 – 4.15 (m, 1H, 6-H_b), 3.93 – 3.91 (m, 2H, 4-H, 5-H), 3.66 – 3.57 (m, 3H, 5'-H, 6'-H₂), 2.13, 2.12, 2.11, 2.06, 2.04, 1.97 (6 x s, 18H, C(O)CH₃), 0.84 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0.01 (s, 3H, SiCH₃), -0.01 (s, 3H, SiCH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.5, 170.2, 169.9, 169.8, 169.3, 169.1 (*C*(O)CH₃), 128.6 (C_{ar}), 128.2 (C_{ar}), 101.2

(1'), 96.4 (1), 74.3 (5), 73.5 (5'), 71.3 (3'), 69.9 (3), 69.6 (CH_2Ph , 2, 2'), 69.0 (4), 66.6 (4'), 62.7 (6), 60.1 (6'), 25.7 ($SiC(CH_3)_3$), 20.9, 20.9, 20.8, 20.7, 20.7, 20.6 ($C(O)CH_3$), 18.1 ($SiC(CH_3)_3$), -5.7, -5.8 ($SiCH_3$). **ESI⁺-MS**: [M+NH₄⁺] berechnet 816.3469, gefunden 816.3480, [M+Na⁺] berechnet 821.3022, gefunden 821.3032. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2932, 2858, 1750, 1369, 1219, 1061, 840. [α]_D^{26°C} = 30° (c = 0.1, CH_2CI_2).

4-(2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-β-D-galactopyranosyl)-benzyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-D-mannopyranosid **158'Bn**

4-(2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*butyldimethylsilyl-β-D-galactopyranosyl)-benzyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-D-mannopyranosid **159'Bn** (411 mg, 0.514 mmol) wurde gemäß AAV 5 in Dichlormethan (5 mL) gelöst und mit Triethylamin Trihydrofluorid (1.25 mL, 7.71 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für eineinhalb Stunden bei Raumtemperatur gerührt (DC PE/EE 1:2). Im Anschluss wurde sie mit Dichlormethan (5 mL) verdünnt und mit FmocCl (398 mg, 1.54 mmol) und trockenem Pyridin (0.370 mL, 4.63 mmol) versetzt. Es wurde für weitere drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Kieselgel versetzt, kurz gerührt, filtriert und mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend erfolgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 2:1 nach 1:1.

Ausbeute: 0.373 g (0.411 mmol, 80%) eines

farblosen Schaums, Summenformel: $C_{46}H_{50}O_{19}$,

Molekulargewicht: 906.88 g/mol, DC: R_f

(PE/EE 1:1 v/v): 0.5

enformel: $C_{46}H_{50}O_{19}$, ACO 1' ACO 3' ACO 1' ACO 3' OBO 1' ACO 3' ACO 1' ACO 3' OBO 1' ACO 3' ACO 1' ACO 1' ACO 3' ACO 1' ACO 1' ACO 3' ACO 1' ACO

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 7.77 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.6 Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.59 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz, 2H, H_{ar,fluorenyl}), 7.41 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.4 Hz, H_{ar,fluorenyl}) 7.36 - 7.31 (m, 7H, H_{ar,fluorenyl}, H_{ar}), 5.41 – 5.38 (m, 2H, 4′-H, 3-H), 5.27 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 1H, 2-H), 5.15 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 1H, 2′-H), 4.99 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.4 Hz, 1H, 3′-H), 4.81 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.6 Hz, 1H, 1-H), 4.69 (d, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.0 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.56 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 1H, 1′-H), 4.53 (d, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.0 Hz, 1H,

OCH₂Ph), 4.43 – 4.35 (m, 3H, fluorenyl-CH₂, 6-H_a), 4.24 – 4.16 (m, 4H, fluorenyl-CH, 6-H_b, 6'-H₂), 3.95 – 3.90 (m, 3H, 4-H, 5-H, 5'-H), 2.16, 2.14, 2.08, 2.07, 2.01, 1.99 (6 x s, 18H, C(O)CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.5, 170.1, 170.1, 169.8, 169.3, 169.2 (C(O)CH₃), 154.7 (fluorenyl-C=O), 143.2 (C_{q,ar}), 143.1 (C_{q,ar}), 141.3 (C_{q,ar}), 128.6 (C_{ar}), 128.2 (C_{ar}), 128.0 (C_{ar,fluorenyl}), 127.2 (C_{ar,fluorenyl}), 125.1 (C_{ar,fluorenyl}), 120.1 (C_{ar,fluorenyl}), 101.2 (1'), 96.4 (1), 74.5 (5), 71.0 (3'), 70.6 (5'), 70.3 (fluorenyl-CH₂), 69.7 (2), 69.6 (CH₂Ph), 69.5 (3), 69.3 (2'), 69.1 (4), 66.8 (4'), 64.6 (6'), 62.6 (6), 46.6 (fluorenyl-CH), 20.9, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃). **ESI**[†]-**MS**: [M+NH₄[†]] berechnet 924.3285, gefunden 924.3287, [M+Na[†]] berechnet 929.2839, gefunden 929.2841, [M+K[†]] berechnet 945.2578, gefunden 945.2581. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2939, 1748, 1369, 1218, 1068, 742. [α]_D^{26°C} = 30° (c = 0.1, CH₂Cl₂).

<u>4-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-2,3,6-tri-*O*-acetyl-D-mannopyranose</u>

Die Synthese erfolgte gemäß AAV 2. Es wurden 326 mg 4-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-1,2,3,6-tetra-O-acetyl-D-mannopyranose **166** (0.480 mmol), 4 mL THF und 0.079 mL Benzylamin (0.72 mmol) verwendet. Nach Aufarbeitung erfolgte die Reinigung des Produktes mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 1:1 nach 1:2.

Ausbeute: 238 mg (0.374 mmol, 78%, α) eines

farblosen Schaums, **Summenformel**:

C₂₆H₃₆O₁₈, Molekulargewicht: 636.55 g/mol,

DC: R_f (PE/EE 1:2 v/v): 0.30

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 5.46 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.3 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.5 Hz, 1H, 3-H), 5.38 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.6 Hz, 1H, 4'-H), 5.28 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.0 Hz, 1H, 2-H), 5.21 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.7 Hz, 1H, 1-H), 5.17 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.4 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 1H, 2'-H), 5.01 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 10.5 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.4 Hz, 1H, 3'-H), 4.59 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 1H, 1'-H), 4.49 – 4.46 (m, 1H, 6-H_a), 4.24 – 4.12 (m, 3H, 5-H, 6-H_b, 6'-H_a), 4.08 – 4.04 (m, 1H, 6'-H_b), 3.97 – 3.90 (m, 2H, 4-H, 5'-H), 2.18, 2.16, 2.15, 2.09, 2.08, 2.07, 2.00 (7 x s, 21H, C(O)CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.6, 170.4, 170.2, 170.2, 169.9, 169.4, 169.2

EXPERIMENTELLER TEIL

(C(O)CH₃), 101.1 (1'), 92.0 (1), 74.3 (4), 71.0 (5'), 70.5 (3'), 70.0 (5), 69.2 (2'), 69.2 (3), 69.0 (2), 66.6 (4'), 62.6 (6), 60.9 (6'), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃).ESI⁺-MS: [M+NH₄⁺] berechnet 654.2240, gefunden 654.2249, [M+Na⁺] berechnet 659.1794, gefunden 659.1799. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3454, 2926, 1746, 1370, 1053.

7.5.6 Synthesen der cycloSal-Triester

5-Nitrosalicylalkohol **232**

5-Nitrosalicylaldehyd (6.00 g, 35.9 mmol) wurde in Ethanol (180 mL) gelöst und unter Wasserkühlung portionsweise mit NaBH₄ (1.23 g, 32.5 mmol) versetzt. Dabei färbte sich die Reaktionslösung von gelb nach rot. Es wurde für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Wasser (5 mL) verdünnt und bis zum Farbumschlag nach gelb tropfenweise mit konz. Salzsäure versetzt. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und dreimal mit Methanol coevaporiert. Anschließend erfolgte eine Umkristallisation aus Wasser.

Ausbeute: 5.45 g (32.2 mmol, 99%) gelber

Nadeln, Summenformel: C₇H₇NO₄,

Molekulargewicht: 169.13 g/mol, DC: R_f

(DCM/MeOH 9:1 v/v): 0.43

¹**H-NMR**: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 11.08 (s, 1H, Bn-OH), 8.21 (d, $^{4}J_{HH}$ = 2.5 Hz, 1H, 6-H), 8.02 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.89 Hz, ${}^{4}J_{HH}$ = 2.6 Hz, 1H, 4-H), 6.93 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.9 Hz, 1H, 3-H), 4.51 (s, 2H, CH_2). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 160.4 (5), 139.6 (2), 130.3 (1), 123.9 (4), 122.7 (6), 114.6 (3), 57.4 (CH₂). **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3358, 2928, 1619, 1593, 1523, 1493, 1441, 1338, 1283, 1233, 1168, 1089, 1008, 932, 907, 833, 752.

5-Nitro-cycloSaligenylchlorphosphit **131**

5-Nitrosalicylalkohol **232** (1.00 g, 5.91 mmol) wurde in trockenem Diethylether (70 mL) gelöst. Bei -20 °C wurde Phosphor(III)-chlorid (0.62 mL, 975 mg, 7.10 mmol) zugetropft und das Reaktionsgemisch wurde für zehn Minuten gerührt. Anschließend wurde ebenfalls bei -20 °C über einen Zeitraum von einer Stunde trockenes Pyridin (1.05 mL, 1.03 g, 13.0 mmol) gelöst in trockenem Diethylether (10 mL) zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung für eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Um eine vollständige Fällung des entstandenen Pyridinhydrochlorids zu gewährleisten, wurde die Lösung über Nacht bei -18 °C aufbewahrt und anschließend unter N₂-Atmosphäre filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum entfernt. Aufgrund der Instabilität des Produktes wurde auf eine weitere Reinigung verzichtet.

Ausbeute: 0.697 g (2.98 mmol, 50%) eines gelben Öls (Rohprodukt), Summenformel:

C₇H₅ClNO₄P, **Molekulargewicht:** 233.55 g/mol.

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.19 (dd, 1H, ${}^{3}J_{HH}$ = 6.2 Hz, ${}^{4}J_{HH}$ =2.7 Hz, H-4), 7.97 (d, 1H, ${}^{4}J_{HH}$ = 2.7 Hz, H-6), 7.13 (d, 1H, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.9 Hz, H-3), 5.52 (dd, 1H, ${}^{2}J_{HH}$ = 12.0 Hz, ${}^{3}J_{HP}$ = 2.6 Hz, H-7), 5.13 (dd, 1H, ${}^{4}J_{HH}$ = 9.7 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 4.7 Hz, H-7). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): 139.3.

5-Nitro-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-D-mannopyranosyl-6)-phosphat 132

Die Synthese wurde nach AAV 7 durchgeführt. Es wurden 0.49 g (0.86 mmol) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-mannopyranose **134**, 400 mg (1.71 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **131**, 0.72 mL (0.52 g, 5.2 mmol) Triethylamin und 2.6 g (4.3 mmol) Oxone verwendet. Die Reaktionszeit betrug drei Stunden. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1 unter Zusatz von 2% HOAc.

Ausbeute: 0.32 g (0.57 mmol, 66%) einer

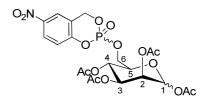
farblosen Watte, Summenformel: C21H24NO15P,

Molekulargewicht: 561.39 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE

1:1 v/v + 2% HOAc): 0.33

Diastereomerenverhältnis: $\alpha_1:\alpha_2:\beta_1:\beta_2=$

1.00:0.79:0.94:0.82



¹**H-NMR**: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.23 - 8.21 (m, 3.55H, H_{ar}), 8.05 – 8.05 (m, 3.55H, H_{ar}), 7.22 – 7.19 (m, 3.55H, H_{ar}), 6.03 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.6 Hz, 1H, 1- $H_{\alpha 1}$), 5.97 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.6 Hz, 0.79H, $1-H_{\alpha 2}$), 5.85 (d, ${}^{3}J_{HH} = 0.5$ Hz, 0.94H, $1-H_{\beta 1}$), 5.81 (d, ${}^{3}J_{HH} = 0.5$ Hz, 0.82H, $1-H_{\beta 2}$), 5.57 - 5.46 (m, 5.04H, ar- $CH_{2.a}$, $2-H_{\beta}$), 5.42 - 5.29 (m, 5.34H, ar- $CH_{2.b}$, $3-H_{\alpha}$), 5.27 - 5.17 $(m, 5.34H, 2-H_{\alpha}, 4-H), 5.14 - 5.11 (m, 1.76H, 3-H_{B}), 4.43 - 4.23 (m, 7.1H, 6-H_{2}), 4.15 -$ 4.12 (m, 1H, 5-H_{α}), 4.08 – 4.05 (m, 0.79H, 5-H_{α}2), 3.88 – 3.82 (m, 1.76H, 5-H_{β}), 2.16, 2.15, 2.11, 2.08, 2.07, 2.07, 2.03, 2.00, 2.00, 1.99 (10 x s, 42.6H, C(O)C H_3). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.0, 169.9, 169.8, 169.7, 169.6, 169.6, 169.5, 169.5, 168.3, 168.0, 168.0 ($C(O)CH_3$), 154.6 ($C_{q,ar}$), 154.5 ($C_{q,ar}$), 143.9 ($C_{q,ar}$), 125.4 (C_{ar}), 121.6 (C_{ar}), 121.5 (C_{ar}), 121.5 (C_{ar}), 119.8 (C_{ar}), 119.7 (C_{ar}), 90.3 ($1_{\alpha,2}$), 90.2 ($1_{\alpha,2}$), 90.1 (1_{β}), 90.1 (1_{β}), 73.7 (5_{β}) , 73.6 (5_{β}) , 70.8 (5_{α}) , 70.8 (5_{α}) , 70.4 (3_{β}) , 68.4 (3_{α}) , 68.4 (3_{α}) , 68.2 (2_{α}) , 68.0, 68.0, 68.0, 67.9, 67.8 (ar- CH_2 , 2_B), 67.1 (d, $^3J_{CP}$ = 5.7 Hz, 6), 67.0 (d, $^3J_{CP}$ = 5.5 Hz, 6), 66.8 (d, ${}^{3}J_{CP} = 5.2 \text{ Hz}$, 6), 65.4 (4), 65.2 (4), 65.2 (4), 65.2 (4), 20.8, 20.7, 20.7, 20.6, 20.6, 20.6, 20.5 (C(O)CH₃). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -10.8, -10.9, -11.0, -11.1. **HR-ESI**⁺-**MS**: [M+Na⁺] berechnet 584.0776, gefunden 584.0786. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2940, 1750, 1532, 1486, 1369, 1347, 1315, 1251, 1213, 1087, 1029, 937, 909, 818, 732, 603.

5-Nitro-cycloSal-(1,2,3,6-tetra-O-acetyl-D-mannopyranosyl-4)-phosphat 133

Die Synthese wurde nach AAV 7 durchgeführt. Es wurden 140 mg (0.86 mmol) 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl-4-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-mannopyranose 139, 143 mg (0.613 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit 131 und 0.20 mL (0.15 g, 1.47 mmol) Triethylamin verwendet. Da nach einer Reaktionszeit von zweieinhalb Stunden dünnschichtchromatographisch immernoch ein deutlicher Spot auf Laufhöhe der

Ausgangsverbindung **139** detektiert wurde, wurden wenige Tropfen Triethylamin hinzugefügt. Da nach einer weiteren halben Stunde Reaktionszeit keine Änderung eintrat, wurde anschließend durch Zugabe von 756 mg (1.23 mmol) Oxone oxidiert. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1 unter Zusatz von 2% HOAc.

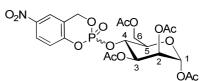
Ausbeute: 89 mg (0.159 mmol, 65%) einer

farblosen Watte, Summenformel: C₂₁H₂₄NO₁₅P,

Molekulargewicht: 561.39 g/mol, DC: R_f (PE/EE

1:1 v/v + 2% HOAc): 0.33

Diastereomerenverhältnis: $\alpha_1:\alpha_2=0.55:0.45$



¹**H-NMR**: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.26 - 8.24 (m, 1H, H_{ar}), 8.07 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.6 Hz, 0.43H, H_{ar}), 8.04 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.6 Hz, 0.55H, H_{ar}), 7.24 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.0 Hz, 0.55H, H_{ar}), 7.11 (d, $^{3}J_{HH} = 9.0 \text{ Hz}, 0.45 \text{H}, H_{ar}), 6.09 (d, {}^{3}J_{HH} = 1.8 \text{ Hz}, 0.55 \text{H}, 1-H^{1}), 6.08 (d, {}^{3}J_{HH} = 1.8 \text{ Hz},$ 0.45H, 1-H²), 5.47 – 5.35 (m, 3H, 3-H, ar-C H_2), 5.26 – 5.25 (m, 1H, 2-H), 5.07 (dd, $^{3}J_{HH} = 9.7 \text{ Hz}, \ ^{3}J_{HP} = 9.7 \text{ Hz}, \ 0.55 \text{H}, \ 4 \cdot \text{H}^{1}), \ 5.02 \ (dd, \ ^{3}J_{HH} = 9.9 \text{ Hz}, \ ^{3}J_{HP} = 9.9 \text{ Hz}, \ 0.45 \text{H},$ $4-H^2$), 4.38 - 4.29 (m, 2H, 6-H), 4.10 - 4.06 (m, 1H, 5-H), 2.20, 2.20, 2.18, 2.17, 2.15, 2.15, 2.14 (8 x s, 12H, C(O)C H_3). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.8, 170.7, 170.3, 169.9, 169.7, 167.8 ($C(O)CH_3$), 154.3 ($2xC_{q,ar}$), 144.1 ($C_{q,ar}$), 125.8 (C_{ar}), 121.7 ($C_{ar,1}$), 121.5 ($C_{ar,2}$), 119.9 (d, ${}^{3}J_{CP} = 9.8$ Hz, $C_{ar,1}$), 119.5 (d, ${}^{3}J_{CP} = 8.9$ Hz, $C_{ar,2}$), 90.5 (1_1) , 90.4 (1_2) , 72.9 $(d, {}^2J_{CP} = 5.4 \text{ Hz}, 4_1)$, 72.8 $(d, {}^2J_{CP} = 5.4 \text{ Hz}, 4_2)$, 70.6 $(d, {}^2J_{CP} = 5.4 \text{ Hz}, 4_2)$ $^{3}J_{CP} = 7.6 \text{ Hz}, 5_{1}), 70.5 \text{ (d, } ^{3}J_{CP} = 7.6 \text{ Hz}, 5_{2}), 68.8 \text{ (3}_{1}), 68.6 \text{ (3}_{2}), 68.6 \text{ (2}_{1}), 68.4 \text{ (2}_{2}), 67.9$ $(d, {}^{2}J_{CP} = 3.4 \text{ Hz}, ar_1-CH_2), 67.8 (d, {}^{2}J_{CP} = 3.4 \text{ Hz}, ar_2-CH_2), 62.0 (6_1), 61.9 (6_2), 20.9, 20.8,$ 20.8, 20.8, 20.7 (C(O)CH₃). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -11.3, -11.4. HR-ESI⁺-**MS**: $[M+Na^{+}]$ berechnet 584.0776, gefunden 584.0775, $[M+NH_{4}^{+}]$ berechnet 579.1222, gefunden 579.1218. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2959, 1746, 1532, 1486, 1369, 1348, 1311, 1209, 1146, 1088, 1025, 976, 937, 904, 831, 812, 732, 608, 501.

5-Nitro-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-D-glucopyranosyl-6)-phosphat 138

Die Synthese wurde nach AAV 7 durchgeführt. Es wurden 0.49 g (0.86 mmol) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-p-glucopyranose **137**, 400 mg (1.71 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **131**, 0.72 mL (0.52 g, 5.2 mmol) Triethylamin und 2.6 g (4.3 mmol) Oxone verwendet. Die Reaktionszeit betrug zwei Stunden. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1 unter Zusatz von 2% HOAc.

Ausbeute: 0.273 g (0.486 mmol, 57%) einer

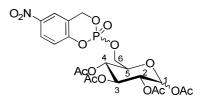
farblosen Watte, Summenformel: C₂₁H₂₄NO₁₅P,

Molekulargewicht: 561.39 g/mol, DC: R_f (PE/EE

1:1 v/v + 2% HOAc): 0.4

Diastereomerenverhältnis: $\alpha_1:\alpha_2(\beta_1+\beta_2)=$

0.19:0.25:1



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.26 - 8.23 (m, 1.44H, H_{ar}), 8.08 - 8.06 (m, 1.44H, H_{ar}), 7.23 - 7.20 (m, 1.44H, H_{ar}), 6.28 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.6$ Hz, 0.19H, 1-H_{α1}), 6.23 (d, ${}^{3}J_{HH} = 3.6$ Hz, 0.25H, 1-H_{α2}), 5.69 - 5.65 (m, 1H, 1-H_{β1+2}), 5.56 - 5.43 (m, 3.4H, ar-CH₂, 3-H_{α1}, 3-H_{α2}), 5.26 - 5.20 (m, 1H, 3-H_β), 5.14 - 4.98 (m, 2.6H, 4-H, 2-H_β, 2-H_{α1}), 4.89 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 10.3$ Hz, ${}^{3}J_{HH} = 3.7$ Hz, 0.25H, 2-H_{α2}), 4.43 - 4.22 (m, 2.9H, 6-H₂), 4.18 - 4.09 (m, 0.44H, 5-H_α), 3.89 - 3.83 (m, 1H, 5-H_β), 2.17, 2.15, 2.10, 2.09, 2.07, 2.06, 2.02, 2.02, 2.01, 2.00, 2.00, 1.99 (s, 17.3H, C(O)CH₃). 13 C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.1, 170.0, 169.6, 169.4, 169.3, 169.2, 169.2, 168.9, 168.9, 168.7, 168.6 (*C*(O)CH₃), 154.5 (C_{Q,ar}), 144.0 (C_{Q,ar}), 125.6 (C_{ar}), 121.6 (C_{ar}), 119.9 (C_{ar}), 91.6 (1_β), 88.9 (1_α), 73.0 (d, ${}^{3}J_{CP} = 6.7$ Hz, 5_β), 72.5 (3_β), 70.0 (5_α), 69.9 (2), 69.9 (2), 69.5 (3_α), 68.9 (2_{α2}), 68.1, (ar-CH₂), 67.5 (4), 67.5 (4), 66.4 (d, ${}^{3}J_{CP} = 5.2$ Hz, 6), 66.3 (d, ${}^{3}J_{CP} = 5.1$ Hz, 6), 66.2 (d, ${}^{3}J_{CP} = 5.2$ Hz, 6), 20.8, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, 20.5, 20.5, 20.4, 20.4 (C(O)CH₃). 31 P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -10.8, -10.9, -11.0, -11.0. HR-ESI*-MS: [M+Na*] berechnet 584.0776, gefunden 584.0765. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2928, 1755, 1533, 1368, 1348, 1317, 1250, 1216, 1037, 939, 910.

5-Nitro-cycloSal-(benzyl-2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosidyl-6)-phosphat **154**

Die Synthese wurde nach AAV 7 durchgeführt. Es wurden 296 mg (0.478 mmol) Benzyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonyl- β -D-glucopyranosid **153**, 280 mg (1.20 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **131**, 0.40 mL (0.29 g, 2.87 mmol)

Triethylamin und 1.47 g (2.39 mmol) Oxone verwendet. Die Reaktionszeit betrug drei Stunden. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1 unter Zusatz von 2% HOAc.

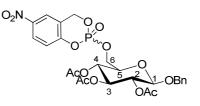
Ausbeute: 0.193 g (0.317 mmol, 66%) einer

farblosen Watte, Summenformel: C₂₆H₂₈NO₁₄P,

Molekulargewicht: 609.47 g/mol, DC: R_f (PE/EE

1:1 v/v + 2% HOAc): 0.4

Diastereomerenverhältnis: β_1 : β_2 = 0.88:1



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.23 - 8.20 (m, 1H, H_{ar}), 8.4 (s, 1H, H_{ar}), 7.36 – 7.18 (m, 6H, H_{ar}), 5.55 – 5.31 (m, 2H, NO₂-ar-CH₂), 5.19 – 5.12 (m, 1H, 3-H), 5.08 – 4.83 (m, 3H, 2-H, 4-H, O-CH₂-Ph_a), 4.63 – 4.54 (m, 2H, O-CH₂-Ph_b, 1-H), 4.48 – 4.41 (m, 1H, 6-H), 4.32 – 4.25 (m, 1H, 6-H), 3.75 – 3.69 (m, 1H, 5-H), 2.03, 2.00, 1.99, 1.97, 1.97 (s, 9H, C(O)CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.2, 169.4, 169.3, 169.2 (C(O)CH₃), 154.6 (C_{q,NO2-ar}), 154.5 (C_{q,NO2-ar}), 144.0 (C_{q,NO2-ar}), 136.5 (C_{q, ar}), 136.5 (C_{q, ar}), 128.5 (C_{ar}), 128.1 (C_{ar}), 127.7 (C_{ar}), 127.6 (C_{ar}), 125.7 (C_{NO2-ar}), 126.6 (C_{NO2-ar}), 121.7 (C_{NO2-ar}), 121,6 (C_{NO2-ar}), 120.1 (d, ³J_{CP} = 9.4 Hz, C_{NO2-ar}), 119.8 (d, ³J_{CP} = 9.7 Hz, C_{NO2-ar}), 99.3 (1), 72.6 (3), 72.5 (3), 72.0 (d, ³J_{CP} = 6.3 Hz, 5), 71.9 (d, ³J_{CP} = 7.5 Hz, 5), 71.1 (2), 71.0 (2), 70.8 (O-CH₂-Ph), 70.7 (O-CH₂-Ph), 68.1 (NO₂-ar-CH₂), 68.0 (4), 67.9 (4), 66.6 (d, ²J_{CP} = 5.3 Hz, 6), 66.5 (d, ²J_{CP} = 5.3 Hz, 6), 66.5 (d, ²J_{CP} = 5.3 Hz, 6), 20.6, 20.5, 20.5 (C(O)CH₃). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -10.7, -11.0. HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 632.1137, gefunden 632.1140, [M+NH₄⁺] berechnet 627.1586, gefunden 627.1585. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2948, 2888, 1754, 1589, 1532, 1486, 1366, 1347, 1316, 1245, 1216, 1089, 1034, 938, 906, 747, 701.

<u>5-Nitro-cycloSal-(2-acetamido-2-desoxy-1,3,4-tri-*O*-acetyl-D-glucopyranosyl-6)-phosphat **145**</u>

Die Synthese wurde nach AAV 7 durchgeführt. Es wurden 0.20 g (0.35 mmol) 2-Acetamido-2-desoxy-1,3,4-tri-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-D-glucopyranose **144**, 0.16 g (0.70 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **131**, 0.29 mL (2.1 mmol) Triethylamin und 1.08 g (1.75 mmol) Oxone verwendet. Die

Reaktionszeit betrug drei Stunden. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte unter Zusatz von 2% HOAc.

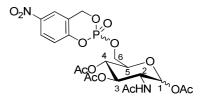
Ausbeute: 0.11 g (0.19 mmol, 55%,) einer

farblosen Watte, Summenformel:

 $C_{21}H_{25}N_2O_{14}P$, Molekulargewicht:

560.40 g/mol, **DC:** R_f (EE, 2% AcOH) 0.31

Diastereomerenverhältnis: $\alpha_1 + \alpha_2 : \beta_1 + \beta_2 = 1 : 0.2$



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.27 – 8-23 (m, 1H, H_{ar}), 8.09 – 8.07 (m, 1H, H_{ar}), 7.25 - 7.23 (m, 1H, H_{ar}), 6.11 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.6 Hz, 1-Hα₂), 6.08 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.6 Hz, 1-Hα₁), 5.59 – 5.32 (m, 3H, NO₂-ar-CH₂, NHAc), 5.25 – 5.21 (m, 1H, 3-H), 5.13 – 5.07 (m, 1H, 4-H), 4.43 – 4.22 (m, 3H, 6-H, 2-H), 4.10 - 4.00 (m, 1H, 5-H), 2.15, 2.08, 2.04, 1.93 (s, 4x 3H, C(O)CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 171.5, 169.7, 169.1, 168.5 (C(O)CH₃), 144.3 (C_{q,ar}), 125.6 (C_{ar}), 121.7 (C_{ar}), 119.9 (C_{ar}), 90.4 (1), 70.4 (3), 70.3 (5), 68.1 (CH₂-Bn), 68.1 (4), 67.2 (6), 50.9 (2), 22.9, 20.7, 20.3, 20.2 (C(O)CH₃). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -10.9, -11.1. HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 583.0940, gefunden 583.0934. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3294, 2930, 2856, 1750, 1667, 1531, 1215, 1029, 1011, 938, 911.

5-Nitro-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-α-D-galactopyranosyl-6)-phosphat **146**

Die Synthese wurde nach AAV 7 durchgeführt. Es wurden 0.368 g (0.645 mmol) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-α-D-galactopyranose **147**, 301 mg (1.29 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **131**, 0.54 mL (0.39 g, 3.87 mmol) Triethylamin und 1.97 g (3.20 mmol) Oxone verwendet. Die Reaktionszeit betrug drei Stunden. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:1 unter Zusatz von 2% HOAc.

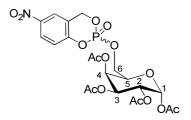
Ausbeute: 0.212 g (0.378 mmol, 59%) einer

farblosen Watte, **Summenformel**: C₂₁H₂₄NO₁₅P,

Molekulargewicht: 561.39 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE

1:1 v/v + 2% HOAc): 0.37

Diastereomerenverhältnis: α_1 : α_2 = 1:1



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.18 - 8.16 (m, 2H, H_{ar}), 8.00 – 7.98 (m, 2H, H_{ar}), 7.15 – 7.13 (m, 2H, H_{ar}), 6.30 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.7 Hz, 1H, 1-H_{α1}), 6.26 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.8 Hz, 1H, 1-H_{α2}), 5.46 – 5.42 (m, 2H, 4-H), 5.40 – 5.31 (m, 4H, Bn-CH₂), 5.27 – 5.23 (m, 4H, 2-H, 3-H), 4.35 – 4.31 (m, 2H, 5-H), 4.28 – 4.03 (m, 4H, 6-H), 2.09, 2.07, 2.06, 2.01, 1.96, 1.95, 1.93, 1.92 (s, 24H, C(O)CH₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.1, 170.0, 169.9, 169.8, 168.9, (C(O)CH₃), 154.4 (C_{q,ar}), 144.1 (C_{q,ar}), 125.7 (C_{ar}), 125.6 (C_{ar}), 121.7 (C_{ar}), 121.6 (C_{ar}), 119.8 (C_{ar}), 89.5 (1_{α,1}), 89.4 (1_{α,2}), 69.2 (d, ${}^{3}J_{CP}$ = 8.2 Hz, 5₁), 69.1 (d, ${}^{3}J_{CP}$ = 8.3 Hz, 5₂), 68.1 (d, ${}^{2}J_{CP}$ = 7.5 Hz, Bn-CH_{2,1}), 68.0 (d, ${}^{2}J_{CP}$ = 6.9 Hz, Bn-CH_{2,2}), 67.2 (3), 67.1 (4₁), 67.0 (4₂), 66.2 (2), 66.0 (d, ${}^{2}J_{CP}$ = 5.2 Hz, 6₁), 65.6 (d, ${}^{2}J_{CP}$ = 5.1 Hz, 6₂), 20.8, 20.6, 20.6, 20.5, 20.5 (C(O)CH₃). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -11.1, -11.1. HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 584.0776, gefunden 584.0780, [M+NH₄⁺] berechnet 579.1222, gefunden 579.1227. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2969, 1748, 1532, 1486, 1371, 1347, 1316, 1251, 1214, 1068, 1013, 937, 912, 819, 748, 733, 628, 473.

5-Nitro-cycloSal-[(2',3',4'-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-thymin)-6']-phosphat **200**

Die Synthese wurde nach AAV 7 durchgeführt. Es wurden 0.200 g (0.314 mmol) (2',3',4'-Tri-*O*-acetyl-6'-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-β-D-glucopyranosyl)-thymin **190**, 146 mg (0.628 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **131**, 0.260 mL (1.88 mmol) Triethylamin, 3 mL trockenes Acetonitril und 965 mg (1.57 mmol) Oxone verwendet. Die Reaktionszeit betrug zwei Stunden. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:2 unter Zusatz von 2% HOAc.

Ausbeute: 0.129 g (0.206 mmol, 66%) einer

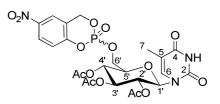
farblosen Watte, Summenformel:

C₂₄H₂₆N₃O₁₅P, **Molekulargewicht:**

627.45 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE 1:2 v/v + 2%

HOAc): 0.40 Diastereomerenverhältnis: β_1 : β_2 =

1:1.1



¹**H-NMR**: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.32 (s, 2.1H, N*H*), 8.27 – 8.23 (m, 2.1H, H_{NO2-ar}), 8.08 (d, ${}^{4}J_{HH} = 2.3 \text{ Hz}$, 2.1H, H_{NO2-ar}), 7.23 (d, ${}^{3}J_{HH} = 9.0 \text{ Hz}$, 1H, H_{NO2-ar}), 7.19 (d, $^{3}J_{HH}$ = 8.9 Hz, 1.1H, H_{NO2-ar}), 7.15 - 7.14 (m, 2.1H, 6-H), 5.86 (d, $^{3}J_{HH}$ = 9.5 Hz, 1.1H, 1'- H_{B2}), 5.86 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.5 Hz, 1H, 1'- H_{B1}), 5.53 – 5.35 (m, 6.3H, P-O- CH_{2} -ar, 3'-H), 5.21 – 5.10 (m, 4.2H, 4'-H, 2'-H), 4.46 – 4.39 (m, 2.1H, 6'-H_a), 4.35 – 4.27 (m, 2.1H, 6'-H_b), 3.98 -3.95 (m, 2.1H, 5'-H), 2.08, 2.01, 1.99 (s, 18.9H, C(O)C H_3), 1.94, 1.94 (s, 6.3H, 7- H_3). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 169.7, 169.4, 169.3 (C(O)CH₃), 162.7 (4), 150.2 (2), 144.1 ($C_{\alpha,NO2-ar}$), 134.5, 134.4 (6), 125.8, 125.7 (C_{NO2-ar}), 121.7 (C_{NO2-ar}), 119.7 (d, $^{4}J_{CP} = 9.7 \text{ Hz}, C_{NO2-ar}$, 119.7 (d, $^{4}J_{CP} = 9.9 \text{ Hz}, C_{NO2-ar}$), 112.3 (5), 80.3 (1'), 75.2 (d, $^{3}J_{CP} = 6.7 \text{ Hz}, 5'$), 75.1 (d, $^{3}J_{CP} = 6.7 \text{ Hz}, 5'$), 72.7, 72.6 (3'), 69.0, 68.9 (2'), 68.0 (d, $^{3}J_{CP} = 7.7 \text{ Hz}, \text{ P-O-}CH_{2}-\text{ar}), 67.8 \text{ (d, }^{3}J_{CP} = 6.6 \text{ Hz}, \text{ P-O-}CH_{2}-\text{ar}), 67.5, 67.4 (4'), 66.7 (d,$ $^{3}J_{CP} = 5.6 \text{ Hz}, 6'), 66.5 (d, {}^{3}J_{CP} = 4.5 \text{ Hz}, 6'), 20.6, 20.5, 20.3 (C(O)CH₃), 12.6 (7). <math>^{31}P$ -NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -10.4, -10.7. **HR-ESI**⁺-**MS**: [M+H⁺] berechnet 628.1174, gefunden 628.1171, [M+NH₄⁺] berechnet 645.1440, gefunden 645.1443, [M+Na⁺] berechnet 650.0994, gefunden 650.0989. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3079, 2940, 1753, 1693, 1533, 1239, 1218, 1035, 938.

5-Nitro-cycloSal-[(2',3',4'-tri-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-thymin)-6']-phosphat **201**

Die Synthese wurde nach AAV 7 durchgeführt. Es wurden 0.228 g (0.358 mmol) (2',3',4'-Tri-*O*-acetyl-6'-*O*-fluorenylmethoxycarbonyl-β-D-galactopyranosyl)-thymin **199**, 167 mg (0.716 mmol) 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **131**, 0.300 mL (2.15 mmol) Triethylamin und 1.10 g (1.79 mmol) Oxone verwendet. Die Reaktionszeit betrug zwei Stunden. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte mit Petrolether/Ethylacetat im Verhältnis 1:2 unter Zusatz von 2% HOAc.

Ausbeute: 0.149 g (0.237 mmol, 66%) einer

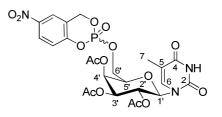
farblosen Watte, Summenformel:

 $C_{24}H_{26}N_3O_{15}P$, Molekulargewicht:

627.45 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE 1:2 v/v + 2%

HOAc): 0.43 Diastereomerenverhältnis: β_1 : β_2 =

1:1.1



¹**H-NMR**: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.60 (s, 2.1H, N*H*), 8.25 – 8.23 (m, 2.1H, H_{NO2-ar}), 8.05 (d, ${}^{4}J_{HH} = 2.6 \text{ Hz}$, 2.1H, H_{NO2-ar}), 7.22 (d, ${}^{3}J_{HH} = 9.0 \text{ Hz}$, 1H, H_{NO2-ar}), 7.18 (d, $^{3}J_{HH}$ = 9.0 Hz, 1.1H, H_{NO2-ar}), 7.15 (d, $^{3}J_{HH}$ = 1.2 Hz, 2.1H, 6-H), 5.84 (d, $^{3}J_{HH}$ = 9.4 Hz, 1H, 1'- $H_{\beta 2}$), 5.82 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.4 Hz, 1.1H, 1'- $H_{\beta 1}$), 5.53 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 2.8 Hz, 1H, 4'- $H_{\beta 1}$), 5.50 (d, $^{3}J_{HH}$ = 2.5 Hz, 1.1H, 4'-H_{B2}), 5.43 - 5.33 (m, 6.3H, P-O-CH₂-ar, 2'-H), 5.21 - 5.16 (m, 2.1H, 3'-H), 4.41 - 4.32 (m, 2.1H, $6'-H_a$), 4.30 - 4.23 (m, 2.1H, $6'-H_b$), 4.23 - 4.16 (m, 2.1H, 5'-H), 2.24, 2.18, 2.01, 2.01, 2.00, 1.99, 1.98 (s, 25.2H, C(O)C H_3 , 7- H_3). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 169.8, 169.7, 169.7, 169.7, 169.6 (C(O)CH₃), 162.9, 162.9 (4), 154.3, 154.3 ($C_{q,NO2-ar}$), 150.3, 150.3 (2), 144.1 ($C_{q,NO2-ar}$), 134.7 (6), 125.7 (C_{NO2-ar}), 121.7 (C_{NO2-ar}) , 121.4 (d, ${}^{4}J_{CP} = 9.9 \text{ Hz}$, C_{NO2-ar}), 119.8 (d, ${}^{4}J_{CP} = 9.5 \text{ Hz}$, C_{NO2-ar}), 119.8 (d, $^{4}J_{CP} = 9.4 \text{ Hz}, C_{NO2-ar}, 112.2 (5), 80.6, 80.6 (1'), 74.2 (d, <math>^{3}J_{CP} = 7.7 \text{ Hz}, 5'), 70.8, 70.8 (3'),$ 68.1 (d, ${}^{3}J_{CP} = 6.9 \text{ Hz}$, P-O-CH₂-ar), 68.0 (d, ${}^{3}J_{CP} = 7.2 \text{ Hz}$, P-O-CH₂-ar), 66.6 (2'), 66.6 (4'), 65.7 (d, ${}^{3}J_{CP} = 5.7 \text{ Hz}$, 6'), 65.7 (d, ${}^{3}J_{CP} = 5.4 \text{ Hz}$, 6'), 20.7, 20.6, 20.5, 20.4 (C(O)CH₃), 12.6 (7). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -10.8. HR-ESI⁺-MS: [M+H⁺] berechnet 628.1174, gefunden 628.1177, [M+NH₄⁺] berechnet 645.1440, gefunden 645.1435, [M+Na⁺] berechnet 650.0994, gefunden 650.0996. **IR**: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 3079, 2981, 1751, 1696, 1533, 1370, 1231, 1061, 939.

5-Nitro-*cyclo*Sal-[4-(2,3,4-Tri-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-benzyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-D-mannopyranosid-6']-phosphat **157'Bn**

Die Darstellung erfolgte nach AAV 7. 4-(2,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-fluorenylmethoxycarbonyl- β -D-galactopyranosyl)-benzyl-2,3,6-tri-O-acetyl-D-mannopyranosid **158'Bn** (214 mg, 0.236 mmol) wurden in 3 mL trockenem Acetonitril gelöst und mit 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **131** (110 mg, 0.472 mmol), gelöst in

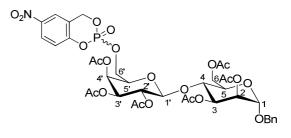
trockenem Acetonitril (0.3 mL), versetzt. Nach der Zugabe von trockenem Triethylamin (0.20 mL, 1.4 mmol) wurde die Reaktionslösung für eineinhalb Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte die Oxidation mit Oxone (725 mg, 1.18 mmol). Die Reinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit Petrolether und einem Ethylacetat-Gradienten von 1:1 nach 1:2 mit 2% Essigsäure.

Ausbeute: 0.142 g (0.158 mmol, 67%, Diastereomerenverhältnis 1:0.63) eines farblosen Schaums, **Summenformel:**

C₃₈H₄₄NO₂₂P, **Molekulargewicht:**

897.72 g/mol, **DC:** R_f (PE/EE 1:2 v/v): 0.50,

Diastereomerenverhältnis: α_1 : α_2 = 1:0.63



¹**H-NMR**: δ [ppm] (400 MHz, CDCl₃): 8.24 (d, $^{3}J_{HH}$ = 8.4 Hz, 1H, H_{NO2-ar}), 8.05 (d, $^{4}J_{HH}$ = 2.5 Hz, 1H, H_{NO2-ar}), 7.37 - 7.32 (m, 5H, H_{ar}), 7.25 - 7.20 (m, 1H, H_{NO2-ar}), 5.47 -5.34 (m, 5H, 4'-H, NO₂PhC H_2 OP, 3-H), 5.26 – 5.24 (m, 1H, 2-H), 5.13 (dd, ${}^3J_{HH}$ = 10.5 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 7.9 Hz, 1H, 2'-H), 5.00 – 4.93 (m, 1H, 3'-H), 4.81 (d, $^{3}J_{HH}$ = 1.2 Hz, 1H, 1-H), 4.69 $^{3}J_{HH}$ = 8.0 Hz, 1'-H_{Diast.b}), 4.54 (d, $^{2}J_{HH}$ = 11.7 Hz, 1H, OCH₂Ph), 4.38 – 4.31 (m, 2H, 6-H_a, $6'-H_a$), 4.19 - 4.04 (m, 2H, $6-H_b$, $6'-H_b$), 3.99 - 3.92 (m, 3H, 4-H, 5-H, 5'-H), 2.15, 2.14, 2.12, 2.10, 2.06, 2.02, 1.97, 1.95 (8 x s, 18H, C(O)C H_3). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl₃): 170.5, 170.1, 170.1, 170.0, 170.0, 169.8, 169.3, 169.3, 169.1, 169.2 (C(O)CH₃), 154.3, 154.2 (C_{q, NO2-ar}), 144.2, 144.1 (C_{q, NO2-ar}), 136.2 (C_{q, ar}), 128.6, 128.2, 128.2 (C_{ar}), 125.8, 125.7 (C_{NO2-ar}), 121.7, 121.7 (C_{NO2-ar}), 119.9, 119.8 (C_{NO2-ar}), 101.2, 101.1 (1'), 96.4 (1), 74.5, 74.5 (5), 70.9 (5'), 70.8 (3'), 69.7 (CH₂Ph), 69.6 (2), 69.5 (3), 69.1 (2'), 69.0 (4), 68.2 (d, ${}^{2}J_{CP} = 7.2 \text{ Hz}$, CH₂-ar_{NO2}), 68.1 (d, ${}^{2}J_{CP} = 7.5 \text{ Hz}$, CH₂-ar_{NO2}), 66.1, 66.1 (4'), 64.8 (d, $^2J_{CP} = 5.0 \text{ Hz}$, 6'), 64.7 (d, $^2J_{CP} = 4.7 \text{ Hz}$, 6'), 62.5 (6), 20.9, 20.9, 20.6, 20.5, 20.5 $(C(O)CH_3)$. ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl₃): -10.6, -10.8. HR-ESI⁺-MS: [M+Na⁺] berechnet 920.1985, gefunden 920.2010. IR: (Film) \tilde{v} [cm⁻¹] = 2933, 1748, 1369, 1219, 1058.

7.5.7 Kupplungsreaktionen

<u>D-Mannopyranosyl-(D-mannopyranosyl-6)-phosphat (Man-1P6-Man)</u> **118**

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-p-mannopyranose **106** (74 mg, 0.212 mmol) wurde in trockenem Dichlormethan (1 mL) gelöst und für eine Stunde über frisch aktiviertem Molsieb stehen gelassen. 5-NO₂-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-D-mannopyranosyl-6)phosphat 132 (30 mg, 0.053 mmol) wurde ebenfalls gelöst in trockenem Dichlormethan (0.5 mL) über Molsieb stehen gelassen. Dann wurde DBU (8.0 μL, 0.053 mmol) zum Zucker 106 gegeben, diese Lösung wurde für zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde der Triester 132 zu dem deprotonierten Zucker getropft. Nach einer Reaktionszeit von zwei Stunden bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Der Rückstand wurde zur Deacetylierung in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 (5.5 mL) aufgenommen und für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum erfolgte Chromatographie an RP18-Kieselgel mit Wasser als Eluent. Da das Produkt nicht sauber isoliert werden konnte, schloss sich eine weitere Chromatographie an Sephadex LH-20 ebenfalls mit Wasser als Eluent an. Es konnten 21 mg des Produktes isoliert werden. Als Gegenion liegt HDBU⁺ in einem Verhältnis **118**: HDBU⁺ 1:0.24 vor. Als restliches Gegenion wird von Na⁺ ausgegangen.

Ausbeute: 21 mg (0.044 mmol, 83%) einer

farblosen Watte, **Summenformel:** C₁₂H₂₂O₁₄P⁻,

Molekulargewicht: 475.52 g/mol (für 0.24x

 $HDBU^+$, 0.76xNa $^+$), **DC:** R_f (*i*PrOH/1 M wässr.

NH₄OAc 2:1): 0.6 Diastereomerenverhältnis:

 $\alpha_P:\beta_P = 1.00:0.15; \alpha:\beta = 1:0.34$

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 5.44 (d, ${}^3J_{HP}$ = 7.6 Hz, 0.88H, 1'-H_α), 5.18 (s, 0.85H, 1'-H_β, 1-H_α), 4.91 (s, 0.29H, 1-H_β), 4.21 – 4.04 (m, 2H, 6-H₂), 4.03 – 4.01 (m, 1.26H, 2'-H, 3-H_β), 3.94 – 3.56 (m, 8.74H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H₂, 2-H, 3-H_α, 4-H, 5-H), 3.57 – 3.51 (m, 0.96H, HDBU⁺), 3.32 (t, ${}^3J_{HH}$ = 6.0 Hz, 0.48H, HDBU⁺), 2.63 – 2.61 (m, 0.48H, HDBU⁺),

2.03 – 1.99 (m, 0.48H, HDBU⁺), 1.75 – 1.68 (m, 1.44H, HDBU⁺). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 96.2 (d, ${}^2J_{CP}$ = 5.6 Hz, 1'_α), 95.3 (d, ${}^2J_{CP}$ = 4.5 Hz, 1'_β), 94.1 (1_α), 93.8 (1_β), 76.8, 74.9 (d, ${}^3J_{CP}$ = 7.7 Hz, 5), 73.8, 72.9, 71.3 (d, ${}^3J_{CP}$ = 7.6 Hz, 2'), 71.2, 70.6, 70.4 (d, ${}^3J_{CP}$ = 8.1 Hz, 2'), 70.1, 69.9, 66.5, 66.4, 65.0 (d, ${}^2J_{CP}$ = 4.6 Hz, 6), 60.8 (6'), 54.1 (HDBU⁺), 48.2 (HDBU⁺), 37.9 (HDBU⁺), 32.8 (HDBU⁺), 28.4 (HDBU⁺), 25.8 (HDBU⁺), 23.3 (HDBU⁺), 18.9 (HDBU⁺). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -1.35, -1.77, -1.87. **HR-ESI**-MS: [M-H⁺] berechnet 421.0747, gefunden 421.0758.

D-Glucopyranosyl-(D-mannopyranosyl-6)-phosphat (Glc-1P6-Man) 213

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranose **104** (74 mg, 0.212 mmol) wurde in trockenem Dichlormethan (1 mL) gelöst und für eine Stunde über frisch aktiviertem Molsieb stehen gelassen. 5-NO₂-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-D-mannopyranosyl-6)-phosphat 132 (30 mg, 0.053 mmol) wurde ebenfalls gelöst in trockenem Dichlormethan (0.5 mL) über Molsieb stehen gelassen. Dann wurde DBU (32 μL, 0.212 mmol) zum Zucker 104 gegeben, diese Lösung wurde für zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde der Triester 132 zu dem deprotonierten Zucker getropft. Nach einer Reaktionszeit von einer Stunde und 15 Minuten bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Der Rückstand wurde zur Deacetylierung in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 (5.5 mL) aufgenommen und für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum erfolgte Chromatographie an RP18-Kieselgel mit Wasser als Eluent. Da das Produkt nicht sauber isoliert werden konnte, schlossen sich weitere Chromatographien an Sephadex LH-20 ebenfalls mit Wasser als Eluent an. Es konnten 16 mg des Produktes isoliert werden. Als Gegenion liegt Et₃NH⁺ in einem Verhältnis **213**: Et₃NH⁺ 1:0.49 vor. Als restliches Gegenion wird von Na⁺ ausgegangen.

Ausbeute: 16 mg (0.033 mmol, 62%) einer

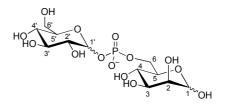
farblosen Watte, **Summenformel**: C₁₂H₂₂O₁₄P⁻,

Molekulargewicht: 483.07 g/mol (für 0.49x

Et₃NH⁺, 0.51xNa⁺), **DC:** R_f (*i*PrOH/1 M wässr.

NH₄OAc 2:1): 0.6 Diastereomerenverhältnis:

 α_P : $\beta_P = 1:2$



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 5.56 (dd, ${}^{3}J_{HP}$ = 6.9 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.5 Hz, 0.33H, 1'-H_α), 5.21 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.4 Hz, 0.69H, 1-H_α), 4.97 (dd, ${}^{3}J_{HP}$ = 7.7 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.7 Hz, 0.67H, 1'-H_β), 4.94 (s, 0.31H, 1-H_β), 4.24 – 4.13 (m, 2H, 6-H₂), 3.98 – 3.36 (m, 10H, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H₂, 2-H, 3-H, 4-H, 5-H), 3.24 (q, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.3 Hz, 2.9H, [†]HN(CH₂CH₃)₃), 1.31 (t, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.3 Hz, 4.3H, [†]HN(CH₂CH₃)₃). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 97.7 (d, ${}^{2}J_{CP}$ = 5.2 Hz, 1'_β), 95.3 (d, ${}^{2}J_{CP}$ = 6.2 Hz, 1'_α), 94.2 (1_α), 93.8 (1_β), 76.4, 75.2, 73.6 (d, ${}^{3}J_{CP}$ = 8.7 Hz), 72.9, 72.8, 72.5 (d, ${}^{3}J_{CP}$ = 4.2 Hz), 71.3 (d, ${}^{3}J_{CP}$ = 9.3 Hz), 71.2 (d, ${}^{3}J_{CP}$ = 4.4 Hz), 70.6, 70.1, 69.4, 69.2, 66.4, 66.2, 64.9 (d, ${}^{2}J_{CP}$ = 4.6 Hz), 64.8 (d, ${}^{2}J_{CP}$ = 5.4 Hz), 60.7, 60.3, 46.7 ([†]HN(CH₂CH₃)₃), 8.2 ([†]HN(CH₂CH₃)₃). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -1.2. HR-ESI-MS: [M-H[†]] berechnet 421.0747, gefunden 421.0802.

2-Benzylaminoethyl-(D-mannopyranosyl-6)-phosphat 227

N-Benzyl-2-aminoethanol 226 (30.0 μL, 0.212 mmol) wurden in trockenem Dichlormethan (1 mL) gelöst und für eine Stunde über frisch aktiviertem Molsieb stehen gelassen. Dann wurde 5-NO₂-cycloSal-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-Dmannopyranosyl-6)-phosphat 132 (30 mg, 0.053 mmol) zu der Lösung gegeben. Nach einer Reaktionszeit von zwei Stunden bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Der Rückstand wurde zur Deacetylierung in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 (5.5 mL) aufgenommen und für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum erfolgte Chromatographie an RP18-Kieselgel mit Wasser als Eluent. Da das Produkt nicht sauber isoliert werden konnte, schloss sich eine weitere Chromatographie an Sephadex LH-20 ebenfalls mit Wasser als Eluent an. Es konnten 14.2 mg des Produktes isoliert werden.

Ausbeute: 14.2 mg (0.036 mmol, 68%) einer

gelblichen Watte, Summenformel:

C₁₅H₂₄NO₉P, **Molekulargewicht:** 393.33 g/mol,

DC: R_f (*i*PrOH/1 M NH₄OAc 2:1): 0.66

Diastereomerenverhältnis: α : β =1:0.43

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 7.45 (s, 7.15H, H_{ar}), 5.07 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 1.3 Hz, 1H, 1-H_α), 4.83 (s, 0.43H, 1-H_β), 4.25 (s, 2.86H, Ph-C H_2 -N), 4.13 – 4.08 (m, 2.86H, 1'-H₂), 4.05 – 3.97 (m, 2.86H, 6-H₂), 3.88 – 3.84 (m, 3.29H, 2-H, 5-H_α), 3.79 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.6 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 3.3 Hz, 1H, 3-H_α), 3.66 (dd, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.8 Hz, ${}^{3}J_{HH}$ = 9.8 Hz, 1H, 4-H_α), 3.60 – 3.58 (m, 0.86H, 3-H_β, 4-H_β), 3.43 – 3.40 (m, 0.43H, 5-H_β), 3.32 – 3.29 (m, 2.86H, 2'-H₂). ¹³C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 132.4 (C_{ar}), 132.2 (C_{ar}), 131.8 (C_{ar}), 96.7 (1_α), 96.3 (1_β), 77.4 (d, ${}^{3}J_{CP}$ = 7.5 Hz, 5_β), 75.4 (3_β), 73.8 (d, ${}^{3}J_{CP}$ = 7.6 Hz, 5_α), 73.7 (2_β), 73.1 (2_α), 72.6 (3_α), 68.9 (4_α), 68.8 (4_β), 67.4 (d, ${}^{2}J_{CP}$ = 4.8 Hz, 6), 67.3 (d, ${}^{2}J_{CP}$ = 4.1 Hz, 6), 63.5 (1'), 53.6 (PhCH₂), 49.7 (2'). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): 0.36, 0.28. HR-ESI-MS: [M-H[†]] berechnet 392.1116, gefunden 392.1068.

2-Aminoethyl-(D-mannopyranosyl-6)-phosphat 225

2-Benzylaminoethyl-(D-mannopyranosyl-6)-phosphat **227** (6.0 mg, 0.015 mmol) wurde in demin. Wasser (1 mL) gelöst und mit einer katalytischen Menge Palladium (5% auf Kohle) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 20 Stunden bei Raumtemperatur in einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Anschließend folgte eine RP-Chromatographie mit Wasser als Eluent. Hiernach lag das Produkt mit 0.1 TEAH⁺-Gegenionen vor. Für die fehlenden 0.9 Gegenionen wurden Protonen (die dargestellte zwitterionische Form) angenommen.

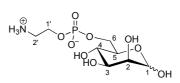
Ausbeute: 4.7 mg (0.015 mmol, 99%) einer

farblosen Watte, Summenformel: C₈H₁₈NO₉P,

Molekulargewicht: 303.20 g/mol, DC: R_f

(iPrOH/1 M NH₄OAc 2:1): 0.54

Diastereomerenverhältnis: α : β =1:0.46



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 5.12 (d, ${}^{3}J_{HH} = 1.6 \text{ Hz}$, 1H, 1-H_α), 4.87 (d, ${}^{3}J_{HH} = 1.0 \text{ Hz}$, 0.46H, 1-H_β), 4.11 – 4.03 (m, 5.84H, 1'-H₂, 6-H₂), 3.90 – 3.86 (m, 2.46H, 2-H, 5-H_α), 3.80 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.6 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 3.4 \text{ Hz}$, 1H, 3-H_α), 3.68 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 9.8 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 9.8 \text{ Hz}$, 1H, 4-H_α), 3.62 – 3.60 (m, 0.92H, 3-H_β, 4-H_β), 3.47 – 3.43 (m, 0.46H, 5-H_β), 3.23 (dd, ${}^{3}J_{HH} = 5.1 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 4.3 \text{ Hz}$, 2.92H, 2'-H₂), 3.15 (q, ${}^{3}J_{HH} = 7.3 \text{ Hz}$, †HN(CH₂CH₃)₃), 1.23 (t, ${}^{3}J_{HH} = 7.3 \text{ Hz}$, †HN(CH₂CH₃)₃). 13C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, D₂O): 94.2 (1_α), 93.8 (1_β), 74.8 (5_β), 72.8 (3_β), 71.3 (d, ${}^{3}J_{CP} = 7.8 \text{ Hz}$, 5_α), 71.1 (2_β), 70.6 (2_α), 70.1 (3_α), 66.4 (4_α), 66.1 (4_β), 64.8 (d, ${}^{2}J_{CP} = 5.3 \text{ Hz}$, 6), 61.9 (d, ${}^{2}J_{CP} = 4.7 \text{ Hz}$, 1'), 46.7 (†HN(CH₂CH₃)₃), 40.0 (2'), 8.2 (†HN(CH₂CH₃)₃). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): 0.42, 0.32. HR-ESI-MS: [2M-H[†]] berechnet 605.1366, gefunden 605.0775.

4-(β-D-Galactopyranosyl)-D-mannopyranosyl-[4-(β-D-galactopyranosyl)-benzyl-D-mannopyranosyl-6']-phosphat [(Gal-β1,4-Man)1P6(Gal-β1,4-Man1Bn)] **215**

4-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-2,3,6-tri-*O*-acetyl-D-mannopyranose **217** (56 mg, 0.088 mmol) wurde in trockenem Dichlormethan (1 mL) gelöst und für 30 Minuten über frisch aktiviertem Molsieb stehen gelassen. Dann wurde DBU (3.3 μL, 0.022 mmol) hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für zehn Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wurde 5-Nitro-*cyclo*Sal-[4-(2,3,4-Tri-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-benzyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-D-mannopyranosid-6']-phosphat **157'Bn** (20 mg, 0.022 mmol) hinzugefügt. Nach einer Reaktionszeit von 45 Minuten bei Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Zur Deacetylierung wurde das Rohprodukt in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin im Verhältnis 7:3:1 (5.5 mL) aufgenommen und für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Ölpumpenvakuum erfolgte Chromatographie an RP18-Kieselgel mit Wasser und einem Methanol-Gradienten von 100:0 nach 93:7 als Eluent.

Ausbeute: 16 mg (0.0181 mmol, 82%, Anomerenverhältnis 1.00:0.17; Gegenionen: 0.288 TEAH⁺, 0.712 Na⁺) mit einer Verunreinigung von 7%; 7 mg (0.0078 mmol, 35%, Anomerenverhältnis 1.00:0.20); Gegenionen: 0.55 TEAH⁺, 0.45 Na⁺), beides in Form einer farblosen Watte, **Summenformel:** $C_{31}H_{48}O_{24}P^{-}$, **Molekulargewicht:** für [M⁻+H⁺] 836.68 g/mol, **DC:** R_f (*i*PrOH/1 M NH₄OAc 2:1): 0.75

¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, MeOD, D₂O): 7.35 – 7.27 (m, 5H, H_{ar}), 5.51 (dd, ${}^{3}J_{HP} = 7.9 \text{ Hz}$, ${}^{3}J_{HH} = 1.6 \text{ Hz}$, 1H, 1*-H_α), 4.86 (1H, 1-H, unter dem H₂O-Signal), 4.73 (d, ${}^{2}J_{HH} = 11.9 \text{ Hz}$, 1H, CH₂Ph), 4.53 (d, ${}^{2}J_{HH} = 12.2 \text{ Hz}$, 1H, CH₂Ph), 4.36 (d, ${}^{3}J_{HH} = 7.2 \text{ Hz}$, 1H, 1'-H), 4.34 (d, ${}^{3}J_{HH} = 7.7 \text{ Hz}$, 1H, 1'-H), 4.13 – 4.00 (m, 3H, 6'-H₂, 2*-H), 3.91 – 3.77 (m, 13H), 3.71 – 3.66 (m, 2H), 3.60 – 3.47 (m, 6H), 3.18 (q, ${}^{3}J_{HH} = 7.3 \text{ Hz}$, †HN(CH₂CH₃)₃), 1.30 (t, ${}^{3}J_{HH} = 7.3 \text{ Hz}$, †HN(CH₂CH₃)₃). 13C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, MeOD, D₂O): 128.5, 128.3, 128.1, 103.5, 103.3, 99.0, 96.0 (d, ${}^{2}J_{CP} = 5.1 \text{ Hz}$), 77.6, 76.1, 75.5, 73.9 (d, ${}^{3}J_{CP} = 8.1 \text{ Hz}$), 72.8, 72.7, 72.6, 71.5, 71.1, 71.0, 70.2 (d, ${}^{3}J_{CP} = 7.6 \text{ Hz}$), 69.8, 69.7, 69.3, 68.9, 68.8, 68.3, 64.4 (d, ${}^{2}J_{CP} = 5.7 \text{ Hz}$), 61.2, 60.5, 60.3, 46.7, 8.2. 14P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -1.36, -1.85. HR-ESI-MS: [M-H†] berechnet 835.2279, gefunden 835.2269.

(β-D-Glucopyranosyl)-thymin-6'-triphosphat **119**

5-Nitro-*cyclo*Sal-[(2',3',4'-tri-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-thymin)-6']-phosphat **200** (20 mg, 0.032 mmol) wurde in trockenem DMF (1 mL) gelöst. Eine Lösung von $[(n-bu_4N)^{\dagger}]_3$ HP₂O₇ in trockenem DMF (100 mg/mL) wurde in kleinen Portionen zugegeben, nach jeder Zugabe wurde die Reaktionslösung für fünf Minuten bei Raumtemperatur gerührt und dann wurde per DC der Umsatz überprüft (PE/EE 1:2). Nach einer Zugabe von insg. 0.26 mL der Pyrophosphat-Lösung konnte vollständiger Umsatz des *cyclo*Sal-Triesters **200** festgestellt werden. Es wurde Wasser zu der

Reaktionslösung gegeben und anschließend wurden die Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triehtylamin im Verhältnis 7:3:1 (5.5 mL) aufgenommen und für fünf Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach erneuter Entfernung der Lösungsmittel wurde ein Kationenaustausch an DOWEX® Kationenaustauscherharz auf Triethylammonium vorgenommen. Nach Chromatographie an RP18 Kieselgel mit Wasser als Eluent wurden 16 mg (0.020 mmol, 63%) des Produktes erhalten. Als Gegenionen lagen 2.8 Triethylammonium-Ionen vor. Für die restlichen 0.2 Kationen wurde Natrium angenommen. Auf dieser Grundlage berechnet sich das Molekulargewicht.

Ausbeute: 16 mg (0.020 mmol, 63%) einer farblosen Watte, **Summenformel:** $C_{11}H_{16}N_2O_{16}P_3^{3-}$, **Molekulargewicht:** 689.18 g/mol, **DC:** R_f (*i*PrOH/1 M NH₄OAc 2:1): 0.13

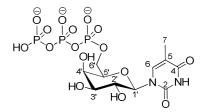
¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 7.72 (d, ${}^4J_{HH}$ = 1.0 Hz, 1H, 6-H), 5.67 (d, ${}^3J_{HH}$ = 9.2 Hz, 1H, 1'-H), 4.33 – 4.25 (m, 2H, 6'-H), 3.82 – 3.67 (m, 4H, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H), 3.24 (q, ${}^3J_{HH}$ = 7.3 Hz, 16.8H, ${}^+HN(CH_2CH_3)_3$), 1.94 (d, ${}^4J_{HH}$ = 0.8 Hz, 3H, 7-H₃), 1.31 (t, ${}^3J_{HH}$ = 7.3 Hz, 25H, ${}^+HN(CH_2CH_3)_3$). ¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, D₂O):): 166.3 (4), 152.1 (2), 137.5 (6), 112.0 (5), 82.5 (1'), 77.4 (d, ${}^3J_{CP}$ = 8.7 Hz, 5'), 75.6 (3'), 71.1 (2'), 68.2 (4'), 64.4 (${}^2J_{CP}$ = 5.3 Hz, 6'), 46.6 (${}^+HN(CH_2CH_3)_3$), 11.4 (7), 8.2 (${}^+HN(CH_2CH_3)_3$). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -10.7, -11.1 (d, ${}^2J_{PP}$ = 19.7 Hz), -23.1. HR-ESI-MS: [M-H⁺] berechnet 526.9875, gefunden 526.9858.

(β-D-Galactopyranosyl)-thymin-6'-triphosphat **228**

5-Nitro-*cyclo*Sal-[(2',3',4'-tri-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-thymin)-6']-phosphat **201** (20 mg, 0.032 mmol) wurde in trockenem DMF (1 mL) gelöst. Eine Lösung von [(n-bu₄N) †]₃HP₂O₇ in trockenem DMF (100 mg/mL) wurde in kleinen Portionen zugegeben, nach jeder Zugabe wurde die Reaktionslösung für fünf Minuten bei Raumtemperatur gerührt und dann wurde per DC der Umsatz überprüft (PE/EE 1:2). Nach einer Zugabe von insg. 0.28 mL der Pyrophosphat-Lösung konnte vollständiger

Umsatz des *cyclo*Sal-Triesters **201** festgestellt werden. Es wurde Wasser zu der Reaktionslösung gegeben und anschließend wurden die Lösungsmittel entfernt. Der Rückstand wurde in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triehtylamin im Verhältnis 7:3:1 (5.5 mL) aufgenommen und für fünf Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach erneuter Entfernung der Lösungsmittel wurde ein Kationenaustausch an DOWEX® Kationenaustauscherharz auf Triethylammonium vorgenommen. Nach Chromatographie an RP18 Kieselgel mit Wasser als Eluent wurden 16 mg (0.023 mmol, 72%) des Produktes erhalten. Als Gegenionen lagen 1.2 Triethylammonium-Ionen vor. Für die restlichen 1.8 Kationen wurde Natrium angenommen. Auf dieser Grundlage berechnet sich das Molekulargewicht.

Ausbeute: 16 mg (0.023 mmol, 72%) einer farblosen Watte, **Summenformel**: $C_{11}H_{16}N_2O_{16}P_3^{3-}$, **Molekulargewicht**: 689.18 g/mol, **DC**: R_f (iPrOH/1 M NH₄OAc 2:1): 0.13



¹H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, D₂O): 7.76 (d, ${}^{4}J_{HH}$ = 1.0 Hz, 1H, 6-H), 5.64 (d, ${}^{3}J_{HH}$ = 8.3 Hz, 1H, 1'-H), 4.31 – 4.09 (m, 4H, 4'-H, 5'-H, 6'-H), 3.96 – 3.89 (m, 2H, 2'-H, 3'-H), 3.23 (q, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.3 Hz, 7.2H, ${}^{4}HN(CH_{2}CH_{3})_{3}$), 1.95 (s, 3H, 7-H₃), 1.31 (t, ${}^{3}J_{HH}$ = 7.3 Hz, 10.8H, ${}^{4}HN(CH_{2}CH_{3})_{3}$). ¹³C-NMR: δ [ppm] (151 MHz, D₂O): 166.3 (4), 152.1 (2), 137.5 (6), 112.0 (5), 82.9 (1'), 76.3 (d, ${}^{3}J_{CP}$ = 8.8 Hz, 5'), 72.8 (3'), 68.8 (2'), 68.0 (4'), 64.2 (6'), 46.7 (${}^{4}HN(CH_{2}CH_{3})_{3}$), 11.4 (7), 8.2 (${}^{4}HN(CH_{2}CH_{3})_{3}$). ³¹P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, D₂O): -10.6, -11.18 (d, ${}^{2}J_{PP}$ = 19.1 Hz), -23.0. HR-ESI-MS: [M-H⁺] berechnet 526.9875, gefunden 526.9933.

Gefahrstoffverzeichnis

Die folgende Liste erfasst Gefahrstoffe, mit denen während der Anfertigung dieser Arbeit umgegangen wurde. Sie sind mit dem jeweiligen GHS-Piktogramm und Signalwort sowie H- und P-Sätzen gekennzeichnet. Solche Stoffe, für welche keine Einstufung vorliegt, sind als gefährlich zu betrachten. Die Kontamination seiner selbst oder anderer Personen sowie die Freisetzung dieser Stoffe in die Umwelt sind unbedingt zu vermeiden.

Substanz	Piktogramm	Signalwort	H-Sätze	P-Sätze
Aceton		Gefahr	H225, H319,	P210, P233,
			H336, EUH066	P305+P351+P338
Acetonitril	1	Gefahr	H225, H332,	P210,
	<u> </u>		H302, H312,	P305+P351+P338,
			H319	P403+P235
Acetylchlorid		Gefahr	H225, H314,	P210, P280,
			EUH014	P301+P330+P331,
	X			P305+P351+P338,
				P309+P310
Benzylalkohol		Achtung	H332, H302,	P280, P304+P340,
	<!-- -->		H319	P301+P312,
				P305+P351+P338

Benzylamin	Gefahr	H314, H302,	P280,
·		H312	, P305+351+338,
			P310
			1 310
	/		
A/ Deposit 2	A alabana a	11245 11240	D202:252
N-Benzyl-2-	Achtung	H315, H319	P302+352,
aminoethanol			P305+351+338
Benzylbromid	Achtung	H319, H335,	P305+P351+P338,
<!--</b-->	>	H315	P302+P352
	-		
N,O-	Gefahr	H318, H314,	P210, P240, P280,
Bistrimethyl-		H302, H226,	P301+P312,
silylacetamid		EUH014	P301+P330+P331,
Apr 6			P305+351+338,
			P310, P402+P404
	<i>/</i>		
Bortrifluorid-	Gefahr	H226, H330	P210, P280,
Diethyletherat 💆		Н302, Н372,	P301+P330+P331,
X		H314, H290	P304+P340,
			P305+P351+P338,
			P309+P310
X			
R			
	9 /		
•			

Bromwasser-	Gefahr	H314, H335	P261, P280,
stoff (33%ig in	Gerain	11317, 11333	P305+P351+P338
			L 307±L331±L330
HOAc)			
〈!〉			
Tetra- <i>n</i> -butyl-	Gefahr	H314	P280,
ammonium-			P305+P351+P338,
hydroxid			P309
Calciumchlorid	Achtung	H319	P305+P351+P338
Calciumhydrid	Gefahr	H260	P223, P231+P232,
23			P370+P378, P422
Communications	C of olon	11225 11240	D240 D264 D200
Cerammonium	Gefahr	H335, H318,	P210, P261, P280,
Cerammonium nitrat	Gefahr	Н302, Н315,	P301+P312,
	Gefahr		
	Gefahr	Н302, Н315,	P301+P312,
	Gefahr	Н302, Н315,	P301+P312, P305+351+338,
	Gefahr	Н302, Н315,	P301+P312, P305+351+338,
	Gefahr	Н302, Н315,	P301+P312, P305+351+338,
nitrat		H302, H315, H272	P301+P312, P305+351+338, P310
	Gefahr	H302, H315, H272 H351, H361d,	P301+P312, P305+351+338, P310 P280, P281, P260,
nitrat		H302, H315, H272 H351, H361d, H331, H302,	P301+P312, P305+351+338, P310 P280, P281, P260, P302+P352,
nitrat		H302, H315, H272 H351, H361d, H331, H302, H372, H319,	P301+P312, P305+351+338, P310 P280, P281, P260,
nitrat		H302, H315, H272 H351, H361d, H331, H302,	P301+P312, P305+351+338, P310 P280, P281, P260, P302+P352,

meta-Chlor- perbenzoe- säure	Gefahr	H242, H302, H314	P301+P330+P331, P280, P305+P351+P338, P301+P312
DBU	Gefahr	H290, H301, H314, H412	P273, P280, P301+P310, P305+P351+P338, P310
Dibutylzinn- oxid	Achtung	H302, H315, H319, H411	P273, P302+P352, P305+P351+P338
Dichlormethan	Achtung	H351	P281, P308+P313
Diethylether	Gefahr	H224, H302, H336, EUH019, EUH066	P210, P240, P403+P235

Di <i>iso</i> propyl-	Gefahr	H225, H301,	P210, P273, P280,
ethylamin		H314, H412	P301+P330+P331,
	X		P305+P351+P338,
•			P309+P310
•			
Dimethoxy-	Gefahr	H225, H319,	P210,
propan		EUH066	P305+P351+P338
<i>N,N</i> -Dimethyl-	Gefahr	H360D, H226,	P201, P302+P352,
formamid		H332, H312,	P305+P351+P338,
		H319	P308+P313
Dimethyl- sulfoxid-d ₆	Achtung	g H315, H319	P264, P280, P302+P350, P305+P351+P338, P332+P313,
			P337+P313, P362

Dioxan		Gefahr	H225, H351,	P210, P233, P281,
			H319, H335,	P308+P313,
	X		EUH019,	P305+P351+P338,
			EUH066	P403+P235
Essigsäure		Gefahr	H226, H314	P280,
				P301+P330+P331,
				P307+P310,
				P305+P351+P338
Essigsäure-		Gefahr	H226, H302,	P210, P233, P240,
anhydrid	<u>(#)</u>		H314, H332	P241, P242, P243,
				P260, P264, P280,
				P301+P312,
				P301+P330+P331,
				P303+P361+P353,
				P304+P340
Ethanol		Gefahr	H225	P210
Ethylacetat		Gefahr	EUH066, H225,	P210, P240,
	⟨₩ ⟩		H319, H336	P305+P351+P338
	▼			

Fluorenyl-		Gefahr	H332, H312,	P280, P301+P312,
methoxy-	不多		H302, H314,	P301+P330+P331,
carbonyl-	X		H318, EUH029	P302+P352,
chlorid				P304+P340,
	\'			P305+P351+P338,
				P310, P402+P404
Glucose	-	-	-	-
Glucosamin-	-	-	-	-
hydrochlorid				
Imidazol		Gefahr	H302, H314,	P280, P281,
	不豪		H360D	P301+P312,
	X			P301+P330+P331,
				P305+P351+P338,
	'			P310
Mali		Cafalan	11220 11252	D240 D222 D200
Kalium-	JAK.	Gefahr	H228, H252,	P210, P223, P280,
<i>t</i> butanolat			H302, H314,	P301+P330+P331,
			EUH014	P305+P351+P338,
	不系			P309+P310,
	X			P370+P378,
				P402+P404
	\			
Kieselgel	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-
Mannose	-	-	-	-

Methanol	Gefahr	H225, H301,	P210, P240, P241,
<u> </u>	<u>4</u>	H311, H331,	P242, , P243,
X		H370	P260, P264, P280,
			P301+P310,
			P302+P352,
			P303+P361+P353,
			P307+P311,
•			P403+P233
1-Methyl-	Gefahr	H312, H302,	P280,
imidazol		H314	P305+P351+P338,
			P310
/1			
•			
Natrium	Gefahr	H260, H314,	P280,
₹	3	EUH014	P301+P330+P331,
			P305+P351+P338,
No.			P309+P310,
			P370+P378, P422
Natriumacetat			-
Natriumazid	Gefahr	H300, H410,	P273, P309+P310
	\(\begin{array}{c}\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\	EUH032	
¥	7-73		
**	2		
Natriumchlorid		-	-
Natriumhydro-		-	-
Natriumhydro- gencarbonat		-	-
•	Gefahr	- H260	P223, P231+P232,

Tetranatrium	Achtung	H315, H319,	P261,
Pyrophosphat		H335	P305+P351+P338
Natriumsulfat		-	-
Natriumsulfit		-	-
5-Nitrosalicyl-	Achtung	H302, H315,	P305+P351+P338
aldehyd		H319	
Oxone	Gefahr	H272, H314,	P220, P261, P280,
<u> </u>		H317, H334,	P305+P351+P338,
	X	H335	P310
	•/		
D4/C	A alasticia a	11245 11240	D20F - D2F4 - D220
Pd/C	Achtung	H315, H319	P305+P351+P338
	•/		
Petrolether	Gefahr	EUH066, H225,	P210, P243, P273,
	%	H304, H315,	P280, P301+P310,
		н336, н350,	P331
		H361f, H373,	
	•/	H411	
	X		
_	/		

Phosphor(III)-	Gefahr	H300+H330,	P280,
chlorid	Jerain	H373, H314,	P301+P330+P331,
Cilioria			
		EUH014,	P304+P340,
		EUH029	P305+P351+P338,
			P309+P310
Pyridin	Gefahr	H225, H302,	P210, P233, P240,
<u> </u>	<u>4</u>	H312, H332	P241, P242, P243,
			P261, P264, P280,
			P301+P312,
·			P302+P352,
			P303+P361+P353,
			P304+P340
Salzsäure	Gefahr	H314, H335,	P234, P260,
Ap.	E S	H290	P305+P351+P338,
			P303+P361+P353,
			P304+P340,
			P309+P311, P501
Schwefelsäure	Gefahr	H314	P260, P264, P280,
44			P301+P330+P331,
			P303+P361+P353,
			P304+P340,
			P305+P351+P338,
			P310, P321, P405,
			P501
Silbercarbonat	Gefahr	H318	P260, P280,
N. C.			P305+P351+P338,
			P313

TBDMSCI		Gefahr	H314, H228,	P280,
	<u>⟨₩</u> ⟩		EUH029,	P301+P330+P331,
			EUH014	P305+P351+P338,
				P310, P402+P404
THF	\wedge	Gefahr	H225, H351,	P201, P202, P210,
			Н319, Н335,	P240, P241, P242,
	X		EUH019	P243, P261, P264,
				P280, P281,
				P303+P361+P353,
				P304+P340
Thymin	-	-	-	-
Toluol		Gefahr	H225, H361d,	P210, P301+P310,
	(A)		H304, H373,	P331, P302+P352
			H315, H336	
Toluolsulfon-		Achtung	H319, H335,	P305+P351+P338,
säure		ŭ	H315	P302+P352

Triethylamin	Gefahr	H225, H331,	P210, P280,
		H311, H302,	P303+P361+P353,
X		H314	P305+P351+P338,
The second secon			P310, P312
\searrow			
<u> </u>	A P		
Triethylamin	Gefahr	H300, H310,	P261, P280,
Trihydrofluorid	Geraiii		P301+P310,
Trinyaronaona		H314, H318, H330, H335	P301+P330+P331,
		пээй, пэээ	
	2		P302+P350,
~			P304+P340,
			P305+P351+P338,
			P361
Trimethylsilyl-	Gefahr	H226, H314,	P210, P280,
triflat		H335	P301+P330+P331,
X			P304+P340,
	系		P305+P351+P338,
X			P309+P310
!			
Wasserstoff	Gefahr	H220, H280	P210, P377, P381,
	>		P403
Zink-Staub	Gefahr	H250, H260,	P222, P231+P232,
<u> </u>		H410	P280, P273,
41/.			P335+P334, P391

Verwendete KMR-Substanzen:

CDCl₃ für NMR-Spektroskopie, Carc. Kat. 1B;

Dibutylzinnoxid zur Synthese, Repr. Kat. 1A;

N,N-Dimethylformamid zur Synthese, Repr. Kat. 1B.

Quelle: Gestis-Stoffdatenbank:

http://www.dguv.de/ifa/Gefahrstoffdatenbanken/GESTIS-Stoffdatenbank/

Letzter Zugriff: 21. Februar 2014

Literaturverzeichnis

- Bowler, M. W.; Cliff, M. J.; Waltho, J. P.; Blackburn, G. M., Why did Nature select phosphate for its dominant roles in biology? *New J. Chem.* **2010**, *34*, 784-794.
- Wagner, G. K.; Pesnot, T.; Field, R. A., A survey of chemical methods for sugarnucleotide synthesis. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 1172-1194.
- 3 Leloir, L. F., Two decades of research on the biosynthesis of saccharides. *Science* **1971**, *172*, 1299-1303.
- 4 Lairson, L. L.; Henrissat, B.; Davies, G. J.; Withers, S. G., Glycosyltransferases: structures, functions, and mechanisms. *Annu. Rev. Biochem.* **2008**, *77*, 521-555.
- Varki, A., Biological roles of oligosaccharides: All of the theories are correct. *Glycobiology* **1993**, *3*, 97-130.
- Bundle, D. R.; Smith, I. C. P.; Jennings, H. J., Determination of the structure and conformation of bacterial polysaccharides by carbon-13 nuclear magnetic resonance. X. Group-specific antigens of Neisseria Meningitidis serogroups A and X. J. Biol. Chem. **1974**, 249, 2275-2281.
- Mengeling, B. J.; Beverley, S. M.; Turco, S. J., Designing glycoconjugate biosynthesis for an insidious intent: phosphoglycan assembly in Leishmania parasites. *Glycobiology* **1997**, *7*, 873-880.
- Verez-Bencomo, V.; Fernandez-Santana, V.; Hardy, E.; Toledo, M. E.; Rodriguez, M. C.; Heynngnezz, L.; Rodriguez, A.; Baly, A.; Herrera, L.; Izquierdo, M.; Villar, A.; Valdes, Y.; Cosme, K.; Deler, M. L.; Montane, M.; Garcia, E.; Ramos, A.; Aguilar, A.; Medina, E.; Torano, G.; Sosa, I.; Hernandez, I.; Martinez, R.; Muzachio, A.; Carmenates, A.; Costa, L.; Cardoso, F.; Campa, C.; Diaz, M.; Roy, R., A Synthetic Conjugate Polysaccharide Vaccine Against Haemophilus influenzae Type b. Science 2004, 305, 522-525.
- Piedrafita, D.; Proudfoot, L.; Nikolaev, A. V.; Xu, D.; Sands, W.; Feng, G. J.; Thomas, E.; Brewer, J.; Ferguson, M. A.; Alexander, J.; Liew, F. Y., Regulation of macrophage IL-12 synthesis by Leishmania phosphoglycans. *Eur. J. Immunol.* 1999, 29, 235-244.

- Franco, L. H.; Beverley, S. M.; Zamboni, D. S., Innate immune activation and subversion of mammalian functions by Leishmania lipophosphoglycan. *J. Parasitol. Res.* **2012**, 165126-165136.
- Nikolaev, A. V.; Sizova, O. V., Synthetic neoglycoconjugates of cell-surface phosphoglycans of Leishmania as potential anti-parasite carbohydrate vaccines. *Biochemistry* **2011**, *76*, 761-773.
- Kean, E. L., Sialic acid activation. *Glycobiology* **1991,** *1*, 441-447.
- Comb, D. G.; Shimizu, F.; Roseman, S., Isolation of cytidine-5'-monophospho-N-acetylneuraminic acid. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 5513-5514.
- Al-Maharik, N.; Tee, J. A.; Nikolaev, A. V., Chemical synthesis of parasitic glycoconjugates and phosphoglycans. *Microb. Glycobiol.* **2009**, 477-548.
- Franzkowiak, M.; Thiem, J.; Demoulin, C., Synthesis of phosphate-bridge D-glucose units as partial structures of phosphorylated starches. *Carbohydr. Res.* **1986**, *158*, 13-35.
- Ranade, S. C.; Demchenko, A. V., Mechanism of Chemical Glycosylation: Focus on the Mode of Activation and Departure of Anomeric Leaving Groups. *J. Carbohydr. Chem.* **2013**, *32*, 1-43.
- 17 Cumpstey, I., On a so-called "kinetic anomeric effect" in chemical glycosylation. *Org. Biomol. Chem.* **2012,** *10,* 2503-2508.
- Barresi, F.; Hindsgaul, O., Chemically synthesized oligosaccharides, 1994. A searchable table of glycosidic linkages. *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, *14*, 1043-1087.
- 19 Mydock, L. K.; Demchenko, A. V., Mechanism of chemical O-glycosylation: from early studies to recent discoveries. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 497-510.
- Salam, M. A.; Behrman, E. J., Synthesis of nucleoside 5'-(beta-D-glucopyranosyl monophosphates) by the sugar ortho ester route. *Carbohydr. Res.* **1982**, *102*, 139-146.
- Schmidt, R. R., New methods of glycoside and oligosaccharide syntheses are there alternatives to the Koenigs-Knorr method? *Angew. Chem.* **1986,** *98*, 213-236.

- Schmidt, R. R.; Braun, H.; Jung, K. H., Glycosylimidates. 53. Direct synthesis of nucleoside monophosphate sugars. Synthesis of GMP-fucose. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 1585-1588.
- Kondo, H.; Ichikawa, Y.; Wong, C. H., beta-Sialyl phosphite and phosphoramidite: synthesis and application to the chemoenzymic synthesis of CMP-sialic acid and sialyl oligosaccharides. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8748-8750.
- Martin, T. J.; Schmidt, R. R., Efficient sialylation with phosphite as leaving group. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6123-6126.
- Martin, T. J.; Braun, H.; Schmidt, R. R., A convenient synthesis of nucleoside monophosphate-*N*-acetylneuraminic acids (NMP-Neu5Ac). *Bioorg. Med. Chem.* **1994**, *2*, 1203-1208.
- Martin, T. J.; Brescello, R.; Toepfer, A.; Schmidt, R. R., Synthesis of phosphites and phosphates of neuraminic acid and their glycosyl donor properties. Convenient synthesis of GM3. *Glycoconjugate J.* **1993**, *10*, 16-25.
- Lemieux, R. U.; Hendriks, K. B.; Stick, R. V.; James, K., Halide ion catalyzed glycosidation reactions. Syntheses of alpha-linked disaccharides. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4056-4062.
- 28 Lindhorst, T. K.; Thiem, J., Synthesis of 4-deoxy- and 4-deoxy-4-halo derivatives of ι-fucose as potential enzyme inhibitors. *Carbohydr. Res.* **1991**, 209, 119-129.
- Hardre, R.; Khaled, A.; Willemetz, A.; Dupre, T.; Moore, S.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y., Mono, di and tri-mannopyranosyl phosphates as mannose-1-phosphate prodrugs for potential CDG-la therapy. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 152-155.
- Veeneman, G. H.; Broxterman, H. J. G.; Van der Marel, G. A.; Van Boom, J. H., An approach towards the synthesis of 1,2-trans glycosyl phosphates via iodonium ion assisted activation of thioglycosides. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6175-6178.
- Crich, D.; Dudkin, V., Efficient, Diastereoselective Chemical Synthesis of a beta-Mannopyranosyl Phosphoisoprenoid. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3941-3943.

- 32 Crich, D.; Picard, S., Highly Stereoselective Synthesis of alpha-D-Mannopyranosyl Phosphosugars. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 9576-9579.
- Letsinger, R. L.; Lunsford, W. B., Synthesis of thymidine oligonucleotides by phosphite triester intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 3655-3661.
- Ogawa, T.; Seta, A., Synthetic studies on cell-surface glycans. Part XXI. An approach to the synthesis of aldosyl phosphates via aldosyl phosphites. *Carbohydr. Res.* **1982**, *110*, C1-C4.
- Makino, S.; Ueno, Y.; Ishikawa, M.; Hayakawa, Y.; Hata, T., Chemical synthesis of cytidine-5'-monophosphono-*N*-acetylneuraminic acid (CMP-Neu5Ac). *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 2775-2778.
- Westerduin, P.; Veeneman, G. H.; Marugg, J. E.; Van der Marel, G. A.; Van Boom, J. H., An approach to the synthesis of alpha-L-fucopyranosyl phosphoric mono- and diesters via phosphite intermediates. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 1211-1214.
- Westerduin, P.; Veeneman, G. H.; Van der Marel, G. A.; Van Boom, J. H., Synthesis of the fragment GlcNAc-alpha(1-P-6)-GlcNAc of the cell wall polymer of Staphylococcus lactis having repeating *N*-acetyl-D-glucosamine phosphate units. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 6271-6274.
- Froehler, B. C.; Matteucci, M. D., Nucleoside H-phosphonates: valuable intermediates in the synthesis of deoxyoligonucleotides. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 469-472.
- Nikolaev, A. V.; Utkina, N. S.; Shibaev, V. N.; Ignatenko, A. V.; Kochetkov, N. K., Cyclic and linear oligo(mannosyl phosphates) from partially protected alpha-D-mannopyranosyl hydrogen phosphonate. *Carbohydr. Res.* **1989**, *187*, C1-C5.
- Nikolaev, A. V.; Ivanova, I. A.; Shibaev, V. N.; Kochetkov, N. K., Application of the hydrogen phosphonate approach in the synthesis of glycosyl phosphosugars linked through secondary hydroxyl groups. *Carbohydr. Res.* **1990**, *204*, 65-78.
- Nikolaev, A. V.; Ivanova, I. A.; Shibaev, V. N., The stepwise synthesis of oligo(glycosyl phosphates) via glycosyl hydrogenphosphonates. The chemical synthesis of oligomeric fragments from Hansenula capsulata Y-1842

- exophosphomannan and from Escherichia coli K51 capsular antigen. *Carbohydr. Res.* **1993**, *242*, 91-107.
- Nikolaev, A. V.; Rutherford, T. J.; Ferguson, M. A. J.; Brimacombe, J. S., The chemical synthesis of Leishmania donovani phosphoglycan fragments. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 785-788.
- Nikolaev, A. V.; Chudek, J. A.; Ferguson, M. A., The chemical synthesis of Leishmania donovani phosphoglycan via polycondensation of a glycobiosyl hydrogenphosphonate monomer. *Carbohydr. Res.* **1995**, *272*, 179-189.
- Nikolaev, A. V.; Rutherford, T. J.; Ferguson, M. A. J.; Brimacombe, J. S., Parasite glycoconjugates. Part 4. Chemical synthesis of disaccharide and phosphorylated oligosaccharide fragments of Leishmania donovani antigenic lipophosphoglycan. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1 1995, 1977-1987.
- Routier, F. H.; Nikolaev, A. V.; Ferguson, M. A., The preparation of neoglycoconjugates containing inter-saccharide phosphodiester linkages as potential anti-Leishmania vaccines. *Glycoconjugate J.* **1999**, *16*, 773-780.
- Higson, A. P.; Ross, A. J.; Tsvetkov, Y. E.; Routier, F. H.; Sizova, O. V.; Ferguson, M. A. J.; Nikolaev, A. V., Synthetic fragments of antigenic lipophosphoglycans from Leishmania major and Leishmania mexicana and their use for characterisation of the Leishmania elongating alpha-D-mannopyranosylphosphate transferase. *Chem. Eur. J.* 2005, 11, 2019-2030.
- 47 Ruhela, D.; Vishwakarma, R. A., Efficient synthesis of the antigenic phosphoglycans of the Leishmania parasite. *Chem. Commun.* **2001**, 2024-2025.
- Ruhela, D.; Vishwakarma, R. A., Iterative Synthesis of Leishmania Phosphoglycans by Solution, Solid-Phase, and Polycondensation Approaches without Involving Any Glycosylation. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4446-4456.
- 49 Ruhela, D.; Vishwakarma, R. A., A facile and novel route to the antigenic branched phosphoglycan of the protozoan Leishmania major parasite. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2589-2592.
- Greimel, P.; Lapeyre, M.; Nagatsuka, Y.; Hirabayashi, Y.; Ito, Y., Syntheses of phosphatidyl-beta-D-glucoside analogues to probe antigen selectivity of monoclonal antibody 'DIM21'. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 7210-7217.

- Berkin, A.; Coxon, B.; Pozsgay, V., Towards a synthetic glycoconjugate vaccine against Neisseria meningitidis A. *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4424-4433.
- Slaettegard, R.; Teodorovic, P.; Hadgu Kinfe, H.; Ravenscroft, N.; Gammon, D. W.; Oscarson, S., Synthesis of structures corresponding to the capsular polysaccharide of Neisseria meningitidis group A. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3782-3787.
- Matsumura, F.; Oka, N.; Wada, T., Stereoselective Synthesis of alpha-Glycosyl Phosphites and Phosphoramidites via O-Selective Glycosylation of H-Phosphonate Derivatives. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5297-5300.
- Matsumura, F.; Oka, N.; Wada, T., Synthesis of Glycosyl Boranophosphates and Their Applications as Precursors of Glycosyl Phosphate Analogs. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1557-1560.
- Shimizu, M.; Tamura, K.; Wada, T.; Saigo, K., BH₃ as a protecting group for phosphonic acid: a novel method for the synthesis of dinucleoside H-phosphonate. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 371-374.
- Sato, K.; Oka, N.; Fujita, S.; Matsumura, F.; Wada, T., 1,2-trans-Selective Synthesis of Glycosyl Boranophosphates and Their Utility as Building Blocks for the Synthesis of Phosphodiester-Linked Disaccharides. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2147-2156.
- 57 Cramer, F.; Weimann, G., Imido esters. VII. Trichloroacetonitrile, a reagent for the selective esterification of phosphoric acid. *Chem. Ber.* **1961,** *94*, 996-1007.
- Cawley, T. N.; Letters, R., Phosphate migration in some phosphate monoesters and diesters of methyl alpha-D-mannopyranoside. *Carbohydr. Res.* **1971**, *19*, 373-382.
- Warren, C. D.; Nasir ud, D.; Jeanloz, R. W., Amino sugars. CXVI. Synthesis of methyl (or propyl) 2-acetamido-2-deoxy-alpha-D-glucopyranoside 6-(alpha-D-glucopyranosyl phosphate) and derivatives for the study of the phosphoric ester linkage in the Micrococcus lysodeikticus cell-wall. *Carbohydr. Res.* **1978**, *64*, 43-56.
- Meier, C., 2-Nucleos-5'-O-yl-4H-1,3,2-benzodioxaphosphinin-2-oxides: A new concept for lipophilic, potential prodrugs of biologically active nucleoside

- monophosphates. *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 77-79; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 70-72.
- Meier, C.; De Clercq, E.; Balzarini, J., Nucleotide delivery from *cyclo*Saligenyl-3'-azido-3'-deoxythymidine monophosphates (*cyclo*Sal-AZTMP). *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 837-846.
- Wendicke, S.; Warnecke, S.; Meier, C., Efficient synthesis of nucleoside diphosphate glycopyranoses. *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 1523-1525; *Angew. Chem.*, *Int. Ed.* **2008**, *47*, 1500-1502.
- Warnecke, S.; Meier, C., Synthesis of Nucleoside Di- and Triphosphates and Dinucleoside Polyphosphates with *cyclo*Sal-Nucleotides. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3024-3030.
- Wolf, S.; Berrio, R. M.; Meier, C., Synthesis of Non-natural Nucleoside Diphosphate Sugars. *Eur. J. Org. Chem.* **2011,** 6304-6313.
- Wolf, S.; Warnecke, S.; Ehrit, J.; Freiberger, F.; Gerardy-Schahn, R.; Meier, C., Chemical Synthesis and Enzymatic Testing of CMP-Sialic Acid Derivatives. *ChemBioChem* **2012**, *13*, 2605-2615.
- Wolf, S.; Zismann, T.; Lunau, N.; Meier, C., Reliable Synthesis of Various Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7656-7664.
- Wolf, S.; Zismann, T.; Lunau, N.; Warnecke, S.; Wendicke, S.; Meier, C., A convenient synthesis of nucleoside diphosphate glycopyranoses and other polyphosphorylated bioconjugates. *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 63-75.
- Tonn, V. C.; Meier, C., Solid-Phase Synthesis of (Poly)phosphorylated Nucleosides and Conjugates. *Chem. Eur. J.* **2011,** *17*, 9832-9842.
- Warnecke, S. Neue Synthese phosphorylierter Bioconjugate aus *cyclo*Salaktivierten Nucleotiden. *Dissertation*, Universität Hamburg, Hamburg, **2010**.
- Wendicke, S. Neue Synthese von Nucleosiddiphosphatpyranosen mit Hilfe von *cyclo*Sal-aktivierten Phosphatdonatoren. *Dissertation*, Universität Hamburg, Hamburg, **2007**.
- 71 Wolf, S. Synthese von Zuckernucleotiden. *Dissertation*, Universität Hamburg, Hamburg, **2012**.

- 72 Tonn, V. C. Festphasen-gebundene *cyclo*Sal-Nucleotide zur Synthese phosphorylierter Biomoleküle. *Dissertation*, Universität Hamburg, Hamburg, **2011**.
- 73 Merino, P., *Chemical Synthesis of Nucleoside Analogues*. John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, **2013**.
- Weinschenk, L.; Meier, C., Chemical syntheses of nucleoside triphosphates. In *Chemical Synthesis of Nucleoside Analogues*, First ed.; Merino, P., Ed. John Wiley & Sons Inc.: Hoboken, NJ, **2013**, 209-227.
- Yoshikawa, M.; Kato, T.; Takenishi, T., A novel method for phosphorylation of nucleosides to 5'-nucleotides. *Tetrahedron Lett.* **1967**, 5065-5068.
- Yoshikawa, M.; Kato, T.; Takenishi, T., Phosphorylation. III. Selective phosphorylation of unprotected nucleosides. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1969**, *42*, 3505-3508.
- Ludwig, J., A new route to nucleoside 5'-triphosphates. *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.* **1981,** *16,* 131-133.
- Ludwig, J., A simple one flask synthesis of nucleoside 5'-triphosphates from unprotected nucleosides via nucleoside 5'-cyclotriphosphates. *Bioact. Mol.* **1987**, *3*, 201-204.
- Ludwig, J.; Eckstein, F., Rapid and efficient synthesis of nucleoside 5'-*O*-(1-thiotriphosphates), 5'-triphosphates and 2',3'-cyclophosphorothioates using 2-chloro-4H-1,3,2-benzodioxaphosphorin-4-one. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 631-635.
- Chambers, R. W.; Khorana, H. G., Nucleoside polyphosphates. V. Syntheses of guanosine 5'-di- and triphosphates. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 3752-3755.
- Chambers, R. W.; Moffatt, J. G.; Khorana, H. G., Preparation of nucleoside 5'phosphoramidates and the specific synthesis of nucleotide coenzymes. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 4240-4241.
- Moffatt, J. G.; Khorana, H. G., Nucleoside polyphosphates. X. The synthesis and some reactions of nucleoside 5'-phosphoromorpholidates and related compounds. Improved methods for the preparation of nucleoside 5'-polyphosphates. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 649-658.

- Moffatt, J. G., General synthesis of nucleoside 5'-triphosphates. *Can. J. Chem.* **1964**, *42*, 599-604.
- Beres, J.; Sagi, G.; Tomoskozi, I.; Gruber, L.; Baitz-Gacs, E.; Otvos, L.; De Clercq, E., Stereospecific synthesis and antiviral properties of different enantiomerically pure carbocyclic 2'-deoxyribonucleoside analogs derived from common chiral pools: (+)-(1R,5S)- and (-)-(1S,5R)-2-oxabicyclo[3.3.0]oct-6-en-3-one. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1353-1360.
- Vince, R.; Hua, M.; Brownell, J.; Daluge, S.; Lee, F.; Shannon, W. M.; Lavelle, G.
 C.; Qualls, J.; Weislow, O. S.; et al., Potent and selective activity of a new carbocyclic nucleoside analog (carbovir: NSC 614846) against human immunodeficiency virus in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988, 156, 1046-1053.
- Schaeffer, H. J.; Beauchamp, L.; De Miranda, P.; Elion, G. B.; Bauer, D. J.; Collins, P., 9-(2-Hydroxyethoxymethyl)guanine activity against viruses of the herpes group. *Nature* **1978**, *272*, 583-585.
- Hoshino, H.; Shimizu, N.; Shimada, N.; Takita, T.; Takeuchi, T., Inhibition of infectivity of human immunodeficiency virus by oxetanocin. *J. Antibiot.* **1987**, *40*, 1077-1078.
- Abdel-Aal, M. T., Synthesis and anti-hepatitis B activity of new substituted uracil and thiouracil glycosides. *Arch. Pharmacal Res.* **2010,** *33*, 797-805.
- Dimopoulou, A.; Manta, S.; Kiritsis, C.; Gkaragkouni, D.-N.; Papasotiriou, I.; Balzarini, J.; Komiotis, D., Rapid microwave-enhanced synthesis of C5-alkynyl pyranonucleosides as novel cytotoxic antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 1330-1333.
- Kantsadi, A. L.; Hayes, J. M.; Manta, S.; Skamnaki, V. T.; Kiritsis, C.; Psarra, A.-M. G.; Koutsogiannis, Z.; Dimopoulou, A.; Theofanous, S.; Nikoleousakos, N.; Zoumpoulakis, P.; Kontou, M.; Papadopoulos, G.; Zographos, S. E.; Komiotis, D.; Leonidas, D. D., The σ-Hole Phenomenon of Halogen Atoms Forms the Structural Basis of the Strong Inhibitory Potency of C5 Halogen Substituted Glucopyranosyl Nucleosides towards Glycogen Phosphorylase b. *ChemMedChem* 2012, 7, 722-732.

- Verheggen, I.; Van Aerschot, A.; Toppet, S.; Snoeck, R.; Janssen, G.; Balzarini, J.; De Clercq, E.; Herdewijn, P., Synthesis and antiherpes virus activity of 1,5-anhydrohexitol nucleosides. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2033-2040.
- 92 Eschenmoser, A.; Dobler, M., Chemistry of alpha-amino nitriles. 5. Why pentose and not hexose nucleic acids? Part I. Introduction to the problem, conformational analysis of oligonucleotide single strands containing 2',3'-dideoxyglucopyranosyl building blocks (homo-DNA), and reflections on the conformation of A- and B-DNA. *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75*, 218-259.
- 93 Eschenmoser, A., Hexose nucleic acids. *Pure Appl. Chem.* **1993**, *65*, 1179-1188.
- Renders, M.; Abramov, M.; Froeyen, M.; Herdewijn, P., Polymerase-Catalysed Incorporation of Glucose Nucleotides into a DNA Duplex. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 5463-5470.
- 95 Meier, C.; Lorey, M.; De Clercq, E.; Balzarini, J., Cyclic saligenyl phosphotriesters of 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine (d4T). A new pronucleotide approach. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997,** *7*, 99-104.
- 96 Kantchev, E. A. B.; Parquette, J. R., Hyper-branched polyester supported disaccharide synthesis: The effect of loading level on glycosylation efficiency. *Synlett* **2005**, 1567-1570.
- 97 Weaver, L. G.; Foster, M.; Singh, Y.; Burn, P. L.; Blanchfield, J. T., A Direct, Heavy Metal Free Synthesis of the alpha-1,6-Linked GlcNAc Disaccharide. *Aust. J. Chem.* **2011,** *64*, 536-539.
- 98 Matwiejuk, M. Untersuchungen zur Hydroxygruppen-Reaktivität partiell geschützter Kohlenhydratderivate sowie der basischen Glycosylierung als alternativer Zugang zu Di- und Oligosacchariden. *Dissertation*, Universität Hamburg, Hamburg, **2010**.
- 99 Christofides, J. C.; Davies, D. B., Co-operative intramolecular hydrogen bonding in glucose and maltose. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 (1972-1999)* **1987**, 97-102.
- Jensen, H. H.; Bols, M., Stereoelectronic Substituent Effects. *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 259-265.

- Albert, R.; Dax, K.; Stuetz, A. E.; Weidmann, H., Acetyl migration in partially acetylated D-glucopyranosides and acylaminohexopyranosides. *J. Carbohydr. Chem.* **1983**, *2*, 279-292.
- Angyal, S. J.; Melrose, G. J. H., Cyclitols. XVIII. Acetyl migration. Equilibrium between axial and equatorial acetates. *J. Chem. Soc.* **1965**, 6494-6500.
- Bonner, W. A., C-1 to C-2 *O*-acetyl migration on methylation of the anomeric 1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranoses. *J. Org. Chem.* **1959,** 24, 1388-1390.
- Horrobin, T.; Tran, C. H.; Crout, D., Esterase-catalyzed regioselective 6-deacylation of hexopyranose per-acetates, acid-catalyzed rearrangement to the 4-deprotected products and conversions of these into hexose 4- and 6-sulfates. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* 1 1998, 1069-1080.
- Terreni, M.; Salvetti, R.; Linati, L.; Fernandez-Lafuente, R.; Fernandez-Lorente, G.; Bastida, A.; Guisan, J. M., Regioselective enzymatic hydrolysis of acetylated pyranoses and pyranosides using immobilized lipases. An easy chemoenzymatic synthesis of alpha- and beta-D-glucopyranose acetates bearing a free secondary C-4 hydroxyl group. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1615-1621.
- Lee, E.; Bruzzi, A.; O'Brien, E.; O'Colla, P. S., Selective acetylation of D-mannose and D-xylose. *Carbohydr. Res.* **1979**, *71*, 331-334.
- Boltje, T. J.; Kim, J.-H.; Park, J.; Boons, G.-J., Chiral-auxiliary-mediated 1,2-*cis*-glycosylation for the solid-supported synthesis of a biologically important branched alpha-glucan. *Nat. Chem.* **2010**, *2*, 552-557.
- Carrel, F. R.; Geyer, K.; Codee, J. D. C.; Seeberger, P. H., Oligosaccharide Synthesis in Microreactors. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2285-2288.
- Carrel, F. R.; Seeberger, P. H., Cap-and-Tag Solid Phase Oligosaccharide Synthesis. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 2058-2065.
- Ganesh, N. V.; Fujikawa, K.; Tan, Y. H.; Stine, K. J.; Demchenko, A. V., HPLC-Assisted Automated Oligosaccharide Synthesis. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3036-3039.
- Jonke, S.; Liu, K.-g.; Schmidt, R. R., Solid-phase oligosaccharide synthesis of a small library of N-glycans. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 1274-1290.

- Liu, X.; Wada, R.; Boonyarattanakalin, S.; Castagner, B.; Seeberger, P. H., Automated synthesis of lipo-mannan backbone alpha (1-6) oligomannoside via glycosyl phosphates: glycosyl tricyclic orthoesters revisited. *Chem. Commun.* **2008**, 3510-3512.
- Reichardt, H.-C.; Martin-Lomas, M., A practical solid-phase synthesis of glycosylphosphatidylinositol precursors. *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4822-4825; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 4674-4677.
- Walvoort, M. T. C.; Lodder, G.; Overkleeft, H. S.; Codee, J. D. C.; van der Marel,
 G. A., Mannosazide Methyl Uronate Donors: Glycosylating Properties and Use
 in the Construction of beta-ManNAcA-Containing Oligosaccharides. *J. Org. Chem.* 2010, 75, 7990-8002.
- 115 Wu, X.; Grathwohl, M.; Schmidt, R. R., Efficient solid-phase synthesis of a complex, branched N-glycan hexasaccharide: use of a novel linker and temporary-protecting-group pattern. *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 4664-4668; *Angew. Chem.*, *Int. Ed.* **2002**, *41*, 4489-4493.
- Wu, X.; Schmidt, R. R., Solid-Phase Synthesis of Complex Oligosaccharides Using a Novel Capping Reagent. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1853-1857.
- Batey, J. F.; Bullock, C.; O'Brien, E.; Williams, J. M., Selective benzoylation of monosaccharides. *Carbohydr. Res.* **1975**, *43*, 43-50.
- Babic, A.; Pecar, S., Synthesis of protected hydroxyethylamine transition-state analogs of *N*-Ac-muramyl-L-alanine. *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 3052-3061.
- Inoue, Y.; Onodera, K.; Kitaoka, S.; Kirii, T., A simplified preparation of *N*-acetyl-D-glucosamine. *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.* **1955,** *33*, 270-271.
- Lunau, N. Synthese seltener und funktionalisierter Nucleosiddiphosphat-Zucker. *Dissertation*, Universität Hamburg, Hamburg, **2012**.
- Helferich, B.; Schmitz-Hillebrecht, E., A new method for the synthesis of glucosides of the phenols. *Ber. Dtsch. Chem. Ges. B* **1933**, *66B*, 378-383.
- Koenigs, W.; Knorr, E., Über einige Derivate des Traubenzuckers und der Galactose. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1901,** *34*, 957-981.
- Culley, F. J.; Bodman-Smith, K. B.; Ferguson, M. A.; Nikolaev, A. V.; Shantilal, N.; Raynes, J. G., C-reactive protein binds to phosphorylated carbohydrates. *Glycobiology* **2000**, *10*, 59-65.

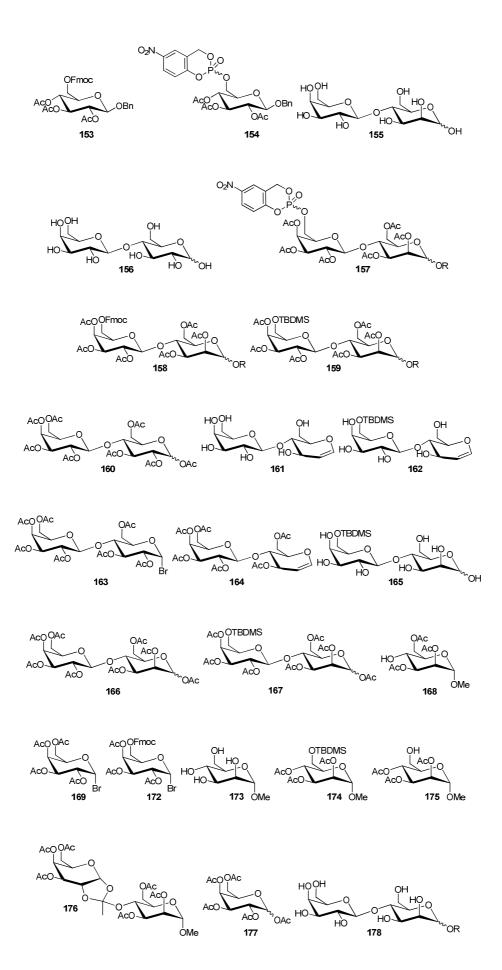
- Somsak, L.; Nemeth, I., A simple method for the synthesis of acylated pyranoid glycals under aprotic conditions. *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 679-684.
- David, S.; Hanessian, S., Regioselective manipulation of hydroxyl groups via organotin derivatives. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 643-663.
- Glen, A.; Leigh, D. A.; Martin, R. P.; Smart, J. P.; Truscello, A. M., The regioselective *tert*-butyldimethylsilylation of the 6'-hydroxyl group of lactose derivatives via their dibutylstannylene acetals. *Carbohydr. Res.* **1993**, *248*, 365-369.
- Maggi, A.; Madsen, R., Stannylene-Mediated Regioselective 6-*O*-Glycosylation of Unprotected Phenyl 1-Thioglycopyranosides. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 2683-2691.
- Tsuda, Y.; Nishimura, M.; Kobayashi, T.; Sato, Y.; Kanemitsu, K., Utilization of sugars in organic synthesis. XXIV. Regioselective monotosylation of non-protected and partially protected glycosides by the dibutyltin oxide method. *Chem. Pharm. Bull.* **1991,** *39*, 2883-2887.
- Marin, I.; Matheu, M. I.; Diaz, Y.; Castillon, S., Stereoselective Tandem Epoxidation-Alcoholysis/Hydrolysis of Glycals with Molybdenum Catalysts. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 3407-3418.
- 130 Crich, D.; Dai, Z.; Gastaldi, S., On the Role of Neighboring Group Participation and Ortho Esters in beta-Xylosylation: ¹³C NMR Observation of a Bridging 2-Phenyl-1,3-dioxalenium ion. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5224-5229.
- Vorbrueggen, H.; Bennua, B., Nucleoside syntheses. XXV. A new simplified nucleoside synthesis. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1279-1286.
- Wei, S.-Q.; Zhao, J.-Z.; Shao, H.-W., A facile method for the preparation of sugar orthoesters promoted by anhydrous sodium bicarbonate. *Can. J. Chem.* **2009**, *87*, 1733-1737.
- Paulsen, H.; Lorentzen, J. P., Building units of oligosaccharides. LXXIV. Synthesis of branched tri- and tetrasaccharide sequences representing the repeating unit of the O-specific chain of the lipopolysaccharide of Aeromonas salmonicida. *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 1586-1599.

- Polakova, M.; Roslund, M. U.; Ekholm, F. S.; Saloranta, T.; Leino, R., Synthesis of beta-(1-2)-linked oligomannosides. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 870-888.
- Wittenburg, E., Nucleosides and related compounds. III. Synthesis of thymine nucleosides via silylpyrimidine compounds. *Chem. Ber.* **1968**, *101*, 1095-1114.
- Gillaizeau, I.; Lagoja, I. M.; Nolan, S. P.; Aucagne, V.; Rozenski, J.; Herdewijn, P.; Agrofoglio, L. A., Straightforward synthesis of labeled and unlabeled pyrimidine d4Ns via 2',3'-diyne seco analogues through olefin metathesis reactions. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 666-671.
- Augustyns, K.; Rozenski, J.; Van Aerschot, A.; Janssen, G.; Herdewijn, P., Synthesis of 2,4-dideoxy-beta-D-erythro-hexopyranosyl nucleosides. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2977-2982.
- Meier, C., *cyclo*Sal-Pronucleotides Design of the Concept, Chemistry and antiviral Activity. In *Advances in Antiviral Drug Design*, Clercq, E. D., Ed. Elsevier B. V.: Amsterdam, **2004**; Vol. 4, 147-213.
- Patel, M. K.; Davis, B. G., Control of Phosphoryl Migratory Transesterifications Allows Regioselective Access to Sugar Phosphates. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 346-349.
- Ruttens, B.; Kovac, P., Synthesis of a phosphorylated disaccharide fragment of the O-specific polysaccharide of Vibrio cholerae O139, functionalized for conjugation. *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 320-332.
- Ruttens, B.; Saksena, R.; Kovac, P., Synthesis of phosphorylated, conjugation-ready di-, tri- and tetrasaccharide fragments of the O-specific polysaccharide of V. cholerae O139. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 4366-4375.
- Senchenkova, S. y. N.; Zatonsky, G. V.; Shashkov, A. S.; Knirel, Y. A.; Jansson, P.-E.; Weintraub, A.; Albert, M. J., Structure of the O-antigen of Vibrio cholerae O155 that shares a putative D-galactose 4,6-cyclophosphate-associated epitope with V. cholerae O139 Bengal. *Eur. J. Biochem.* **1998**, *254*, 58-62.
- Turek, D.; Sundgren, A.; Lahmann, M.; Oscarson, S., Synthesis of oligosaccharides corresponding to Vibrio cholerae O139 polysaccharide structures containing dideoxy sugars and a cyclic phosphate. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 1236-1241.

LITERATURVERZEICHNIS

- 144 Ahmadibeni, Y.; Parang, K., Selective diphosphorylation, dithiodiphosphorylation, triphosphorylation, and trithiotriphosphorylation of unprotected carbohydrates and nucleosides. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5589-5592.
- Hoard, D. E.; Ott, D. G., Conversion of mono- and oligodeoxyribonucleotides to 5'-triphosphates. *J. Am. Chem. Soc.* **1965,** *87*, 1785-1788.

Verbindungsübersicht



Lebenslauf

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

Publikationsliste

<u>Artikel</u>

- J. Huchting, C. Meier, Synthesis of Pyranonucleoside-6'-triphosphates through the *cyclo*Sal-Method, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 3423-3429.
- J. Huchting, A. Ruthenbeck, C. Meier, Synthesis of *cyclo*Sal-(Glycopyranosyl-6)-phosphates as Activated Sugar Phosphates, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 6907-6916.

<u>Posterbeiträge</u>

- J. Huchting, C. Meier, Synthesis of *cyclo*Sal-activated Glycopyranosyl Phosphates and their use as Key Building Blocks in Synthesis, *26*th *International Carbohydrate Symposium*, **2012**, Madrid.
- J. Huchting, C. Meier, Synthesis of Glycosyl Phosphate Conjugates Using the *cyclo*Sal-Method, 16th European Carbohydrate Symposium, **2011**, Sorrento.
- J. Huchting, S. Wolf, C. Meier, *cyclo*Sal-Nucleotides in Synthesis, *19*th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, **2010**, Lyon.

ANHANG

Ich Danke

Herrn Prof. Dr. Chris Meier für die interessante Themenstellung, den

wissenschaftlichen Freiraum bei der Bearbeitung, die stete Unterstützung durch

konstruktive Diskussionen und hervorragende experimentelle Bedingungen. Und nicht

zuletzt für das fantastische Essen, wann immer wir bei Ihnen zu Gast waren.

Herrn Prof. Dr. Joachim Thiem für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Frau Dr. Brita Werner und Herrn Prof. Dr. Jürgen Heck für die Teilnahme am

Disputationskolloquium.

Dem technischen Personal sowie den Mitarbeitern der Analytik-Abteilungen für die

großartige Unterstützung.

Dem Arbeitskreis "MS Ackermeier" – allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern – für

die schöne Zeit, die zahlreichen anregenden Diskussionen, den Zusammenhalt, tägliche

Heiterkeit und den ganzen wunderbaren Quatsch.

Allen PraktikantInnen und Bachelors für die fleißige Syntheseunterstützung.

Saskia und Malte für die kritische Auseinandersetzung mit diesem Manuskript.

Allen KommilitonInnen und meiner "Uni-Familie" für die Unterstützung während des

Studiums, der Diplom-Phase und der Anfertigung dieser Arbeit.

Meiner Familie.

Malte.

Danke!

ANHANG

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit "cycloSal-

Glycopyranosylphosphate – Ihre Darstellung sowie Anwendung als aktivierte

Synthesebausteine" selbstständig angefertigt und keine anderen als die von mir

angegebenen Hilfsmittel und Quellen verwendet habe.

Diese Dissertation wurde weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem

anderen Prüfungsverfahren vorgelegt.

Ich habe früher außer mit den im Zulassungsversuch urkundlich vorgelegten keine

weiteren Akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Hamburg, den

Dipl.-Chem. Johanna Huchting

289