

# **Kohlenhydratbibliotheken**

## **Glycosylierungen von ungeschützten Glycosylakzeptoren unter Anwendung einer neuartigen Glycosylierungsmethode**

**Dissertation**

Zur Erlangung des Doktorgrades  
des Fachbereichs Chemie  
der Universität Hamburg

vorgelegt von

**Andreas Steinmann**

aus Rheinbach

Hamburg 2007

1. Gutachter: Prof. Dr. J. Thiem

2. Gutachter: Prof. Dr. C. Meier

Tag der Disputation: 16.11.2007

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von September 2003 bis September 2007 im Arbeitskreis von Prof. Dr. J. Thiem am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. J. Thiem möchte ich für die interessante Themenstellung, die außergewöhnliche Unterstützung im Verlauf dieser Arbeit und für die Möglichkeit der Teilnahme an internationalen Fachkonferenzen danken.

**Für Nancy, Julia, Jaqueline, Daniel und Kevin**

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1.</b>	<b>Kombinatorische Kohlenhydratchemie</b>	<b>1</b>
<b>1.2.</b>	<b>Kohlenhydratpolymere</b>	<b>6</b>
<b>2.</b>	<b>Zielsetzung</b>	<b>9</b>
<b>3.</b>	<b>Kohlenhydratbibliotheken</b>	<b>10</b>
<b>3.1.</b>	<b>Glycosylierungsmethoden</b>	<b>10</b>
<b>3.2.</b>	<b>Analyse der Saccharidbibliotheken</b>	<b>20</b>
3.2.1.	Methylierungsanalyse	20
3.2.2.	NMR-Spektroskopie	22
<b>3.3.</b>	<b>Disaccharidbibliotheken</b>	<b>26</b>
3.3.1.	Galactosylglucoside	26
3.3.2.	Galactosylgalactoside	31
<b>3.4.</b>	<b>Trisaccharidbibliotheken</b>	<b>35</b>
3.4.1.	Galactosyltrehalosen	37
3.4.2.	Glucosyltrehalosen	42
3.4.3.	Galactosylsaccharosen	44
<b>3.5.</b>	<b>Oligo- und Polysaccharidbibliotheken</b>	<b>49</b>
<b>3.6.</b>	<b>Hochverzweigte Saccharidstrukturen</b>	<b>67</b>
<b>4.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>72</b>
<b>5.</b>	<b>Summary</b>	<b>74</b>
<b>6.</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>76</b>
<b>7.</b>	<b>Gefahrenhinweise</b>	<b>111</b>
<b>8.</b>	<b>Literatur</b>	<b>113</b>

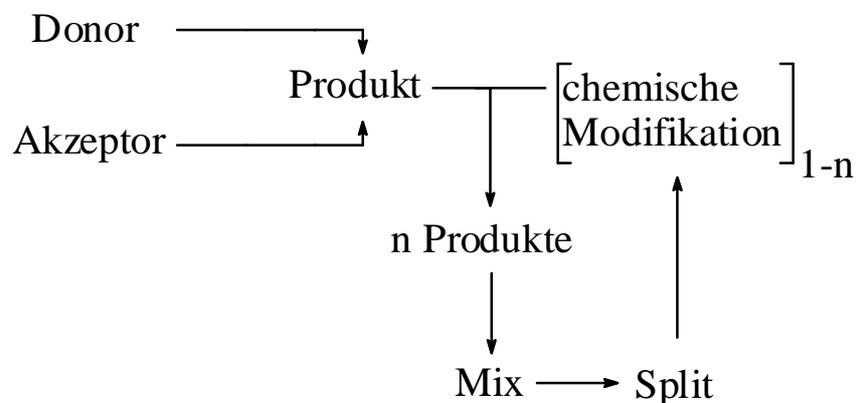
## Abkürzungsverzeichnis

Ac <sub>2</sub> O	Essigsäureanhydrid
AcOH	Essigsäure
AgOTf	Silbertriflat
CHCl <sub>3</sub>	Chloroform
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Dichlormethan
CH <sub>3</sub> I	Methyliodid
CH <sub>3</sub> OH	Methanol
DMSO	Dimethylsulfoxid
HBr	Bromwasserstoff
<i>N, N</i> -DMF	<i>N, N</i> -Dimethylformamid
NaBD <sub>4</sub>	Natriumbordeuterid
NH <sub>3</sub>	Ammoniak
NaOCH <sub>3</sub>	Natriummethanolat
NaOH	Natriumhydroxid
TMSOTf	Trimethylsilyltrifluormethansulfonat

# 1. Einleitung

## 1.1. Kombinatorische Kohlenhydratchemie

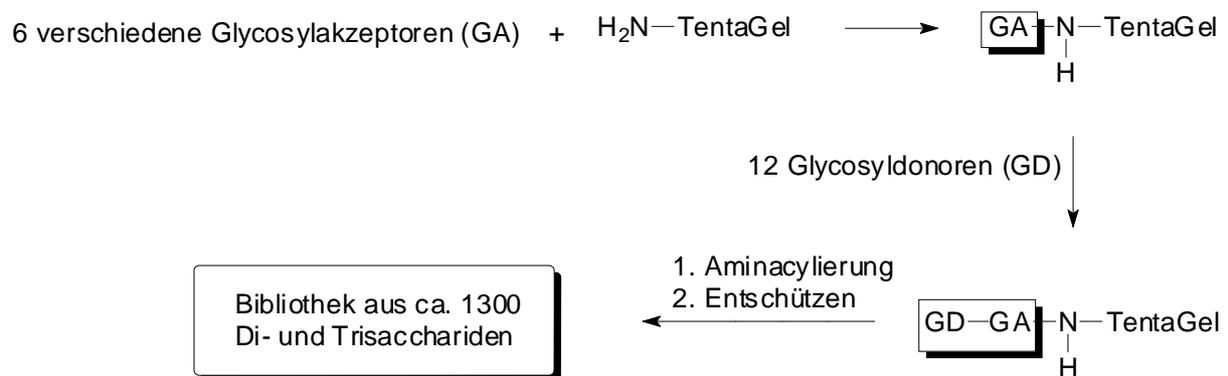
Bisherige Untersuchungen zur kombinatorischen Kohlenhydratchemie beschäftigen sich entweder mit Reaktionen an Glycosylakzeptoren, deren reduzierendes Ende mit einem großen, unpolaren Aglycon blockiert wird und die über mehrere freie Hydroxylgruppen verfügen,<sup>1, 2, 3</sup> oder sie untersuchen eine so genannte „Split-Mix-Synthese“, bei der verschiedene Glycosyldonoren und Glycosylakzeptoren zunächst zur Reaktion gebracht, gemischt und in kleine Portionen aufgeteilt werden. Anschließend werden sie selektiv entschützt und dann erneut mit anderen Glycosyldonoren umgesetzt werden (Abbildung 1).<sup>4</sup> Übersichten findet man in verschiedenen Reviews.<sup>5-10</sup> Einige der wichtigsten Arbeiten sollen hier kurz vorgestellt werden. Erwähnenswert ist, dass in den letzten Jahren, außer einigen Reviews, kaum auf dem Gebiet der kombinatorischen Kohlenhydratchemie publiziert worden ist, daher sind die hier vorgestellten Arbeiten schon einige Zeit bekannt.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung einer Split-Mix-Synthese, wobei sich der chemische Modifikationsschritt beliebig oft wiederholen lässt.

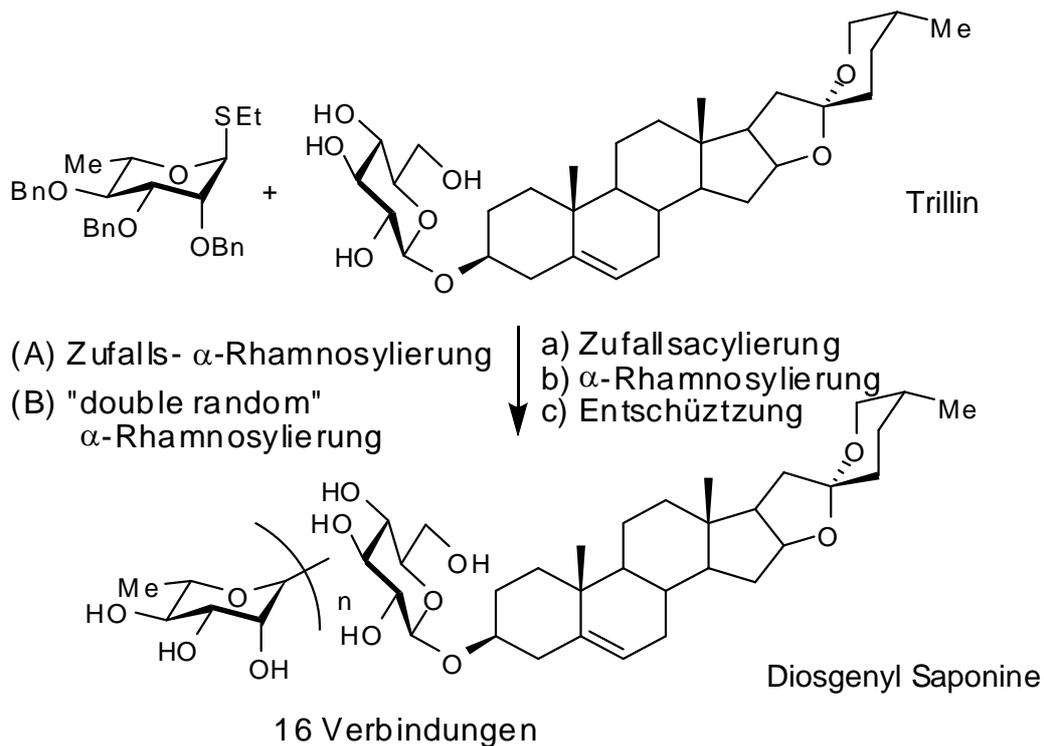
Ein wichtiges Beispiel für eine Split-Mix-Synthese wurde von Kahne et al. im Jahre 1996 publiziert.<sup>11</sup> Dabei wurden zunächst sechs verschiedene Monomere an TentaGel-Harzkügelchen gebunden. Die Kügelchen wurden gemischt und in zwölf Gruppen aufgeteilt. Jede dieser Gruppen wurde nun mit einem anderen Glycosyldonor umgesetzt. Dabei wurde eine Glycosylierungsmethode mit anomeren Sulfoxiden als Glycosyldonoren angewandt, die

bei niedrigen Temperaturen in Gegenwart einer großen Anzahl etwaiger Schutzgruppen aktiviert werden können und in Festphasensynthesen nahezu quantitativ reagieren.<sup>12</sup> Danach wurden die Kügelchen vereinigt und eine an den Glycosylakzeptoren vorhandene Azidogruppe zu einer Aminogruppe reduziert. Anschließend wurden die Kügelchen in achtzehn Gruppen aufgeteilt, mit verschiedenen Acylierungsreagenzien umgesetzt und von allen Schutzgruppen befreit. Auf diese Weise konnte eine Bibliothek von circa 1300 Di- und Trisacchariden erhalten werden (Abbildung 2).

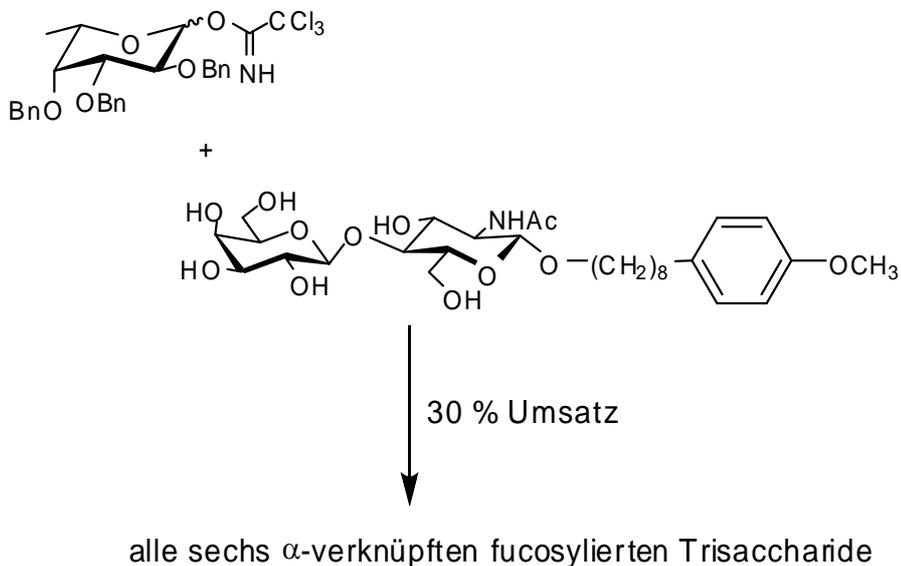


**Abbildung 2:** Festphasenverfahren nach Kahne et al.

Yu et al. nutzten die kombinatorische Glycosylierung eines Trillinmoleküls zur Darstellung einer Bibliothek von 16 Diosgenyl - Saponinen, welche in der Natur regionselektiv vorkommen (Abbildung 3).<sup>1</sup> Die direkte  $\alpha$ -Rhamnosylierung von Trillin führte zu einer recht ungleichmäßigen Produktverteilung, da sich die verschiedenen Hydroxygruppen am Akzeptor unterschiedlich reaktiv zeigten. 73 % der Produkte enthielten eine 6-*O*-Verknüpfung, 55 % besaßen eine 2-*O*-verknüpfte Rhamnose, 49 % waren 3-*O*- und 28 % waren 4-*O*-glycosyliert. Als Verbesserung wurde eine vor der Glycosylierung vorgenommene Zufallsacylierung eingeführt, was zu einer sehr einheitlichen Verteilung der 16 Produkte führte.



**Abbildung 3:** Zufalls-  $\alpha$ -Rhamnosylierung nach B. Yu et al.

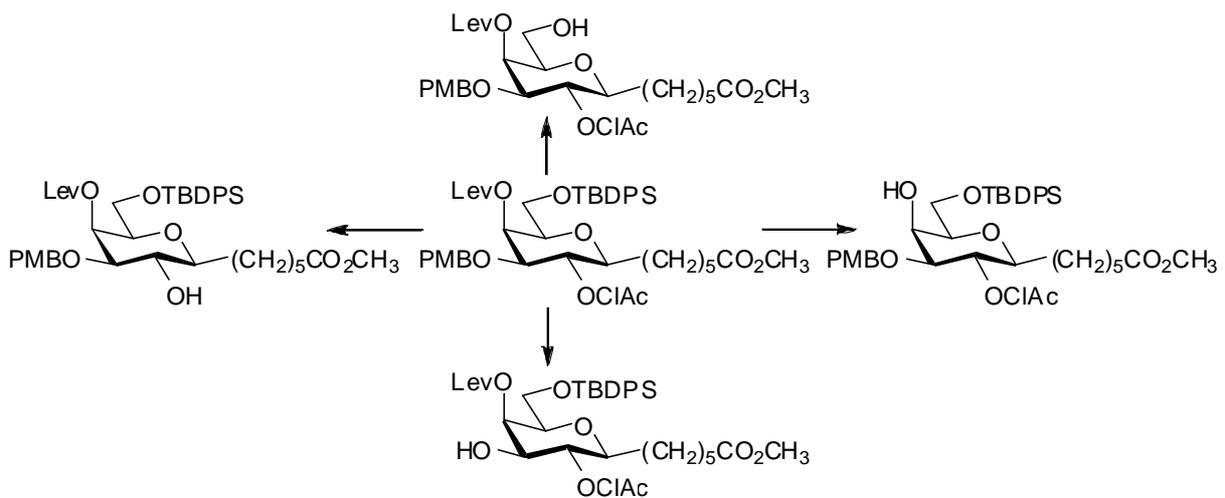


**Abbildung 4:** Zufallsfucosylierung nach O. Hindagaul et al.

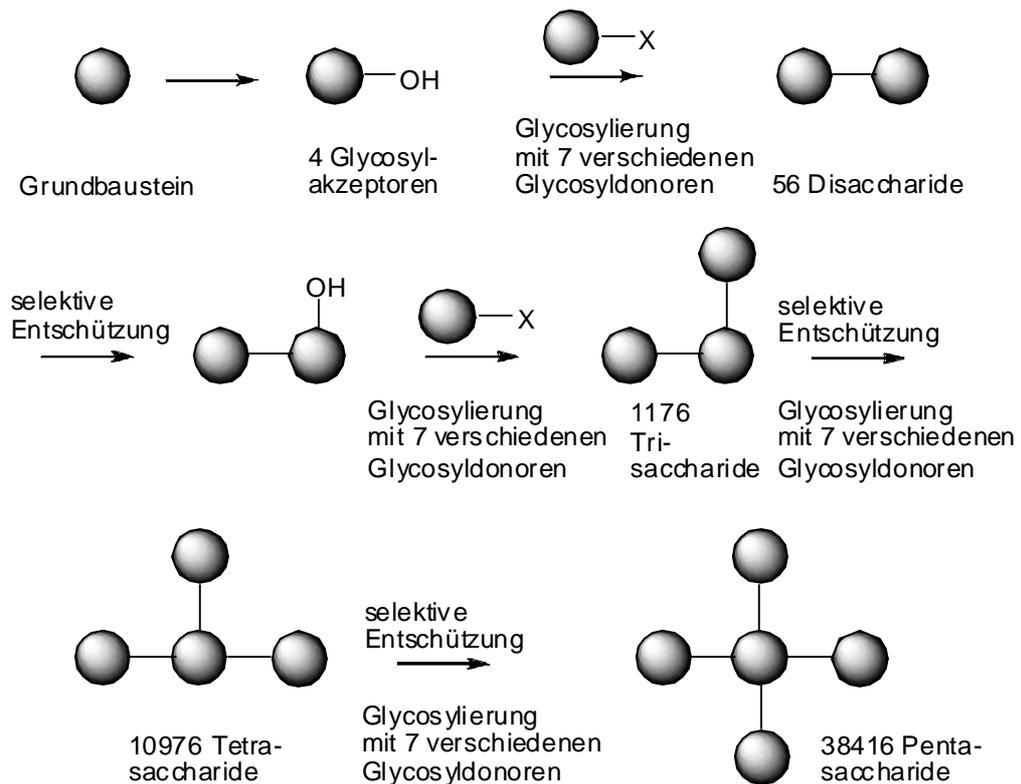
Eine Arbeit, die der vorliegenden thematisch am nächsten kommt, wurde in der Gruppe von O. Hindsgaul durchgeführt. Man fucosylierte ein Lactosaminderivat, welches am reduzierenden Ende mit einem großen, unpolarem Spacermolekül versehen war, mit dem Trichloracetimidatdonor einer benzylgeschützten L-Fucose (Abbildung 4).<sup>2,3</sup> Es wurden auch

verschiedene andere Glycosyldonoren (Fucosylbromid, -fluorid, -thioglycoside, -xanthogenat, -phosphit und das Pentenylfucosid) mit verschiedenen Katalysatoren getestet. Jedoch lieferte nur die Methode nach R. R. Schmidt mit dem Trichloracetimidatdonor reproduzierbare Ergebnisse. Überraschenderweise erwiesen sich die primären Hydroxygruppen als nicht wesentlich reaktiver als die sekundären. Die relativen Produktausbeuten für die einzelnen Positionen lagen zwischen 8 % und 23 %. Eine schlüssige Erklärung hierfür gibt es noch nicht.

Ein anderer Ansatz ist die Idee von C.-H. Wong, einen Glycosylakzeptor zu konstruieren, welcher sich selektiv an verschiedenen Hydroxygruppen entschützen lässt um ihn dann mit verschiedenen Glycosyldonoren umzusetzen (Abbildungen 5, 6).<sup>13</sup> Anschließend können weitere Schutzgruppen entfernt werden, so dass weitere Glycosylierungen möglich sind. So erhält man relativ schnell eine große Anzahl möglicher Verbindungen.



**Abbildung 5:** Synthese von vier verschiedenen Glycosylakzeptoren aus einem Grundbaustein durch selektive Entschützung.

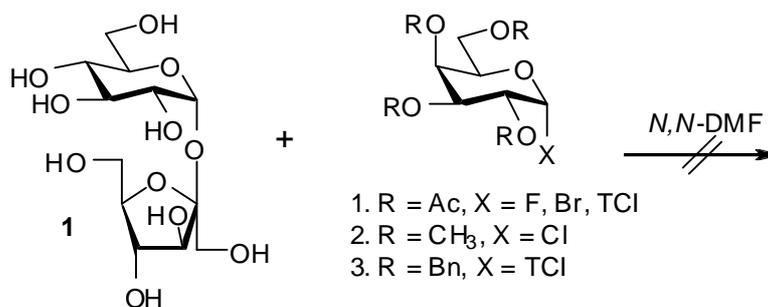


**Abbildung 6:** Herstellung einer Oligosaccharidbibliothek durch selektive Entschützung eines Grundbausteins und Umsetzung mit verschiedenen Glycosyldonoren.

Alle hier vorgestellten Verfahren erfordern immer eine sequentielle Schutzgruppenstrategie, auch wenn diese oft weniger aufwändig ist als bei der klassischen Synthese.

Nach bisherigem Kenntnisstand gibt es bisher jedoch keine Verfahren zur kombinatorischen Glycosylierung von völlig ungeschützten Zuckern, im Speziellen von Trehalose und Saccharose. Bereits O. Hindsgaul wies auf Probleme bei der Anwendung gängiger Glycosylierungsmethoden hin.

Auch in der dieser Arbeit vorangegangenen Diplomarbeit stellt sich die Glycosylierung eines ungeschützten, nichtreduzierenden Disaccharides mit bekannten Methoden als bisher ungelöstes Problem dar.<sup>14</sup> So wurden verschiedene Glycosylierungsmethoden getestet, darunter die Koenigs-Knorr-Methode, die Trichloracetimidatmethode nach R. R. Schmidt und Glycosylfluoride. Die Glycosyldonoren wurden sowohl in Ester - geschützter Form als auch in der reaktiveren Ether - geschützten Form eingesetzt, gleichwohl konnte in keinem Fall eine Umsetzung beobachtet werden (Abbildung 7).



**Abbildung 7:** Versuchte Zufallsgalactosylierung von Saccharose.

Vermutlich liegt die Ursache für die Probleme bei dieser Reaktion in der Unlöslichkeit des Glycosylakzeptors in organischen Lösungsmitteln, die üblicherweise bei Glycosylierungen verwendet werden (Dichlormethan, Tetrahydrofuran, Toluol, etc.) Lediglich *N, N*-Dimethylformamid löst freie Zucker hinreichend gut. Jedoch hat sich dieses Lösungsmittel als ungeeignet für Glycosylierungen herausgestellt. Zum einen zersetzt es sich leicht, wobei Amine entstehen. Diese blockieren dann Lewis-saure Katalysatoren. Weiterhin ist unklar, wie ein freier Zucker in *N, N*-Dimethylformamid gelöst vorliegt. Es ist möglich, dass er, ähnlich einem in Wasser gelösten Ion, eine Lösungsmittelhülle besitzt, welche ihn vor nukleophilen Angriffen schützt. Sicher ist zumindest, dass *N, N*-Dimethylformamid stabile Wasserstoffbrückenbindungen ausbildet.<sup>15</sup>

## 1.2. Kohlenhydratpolymere

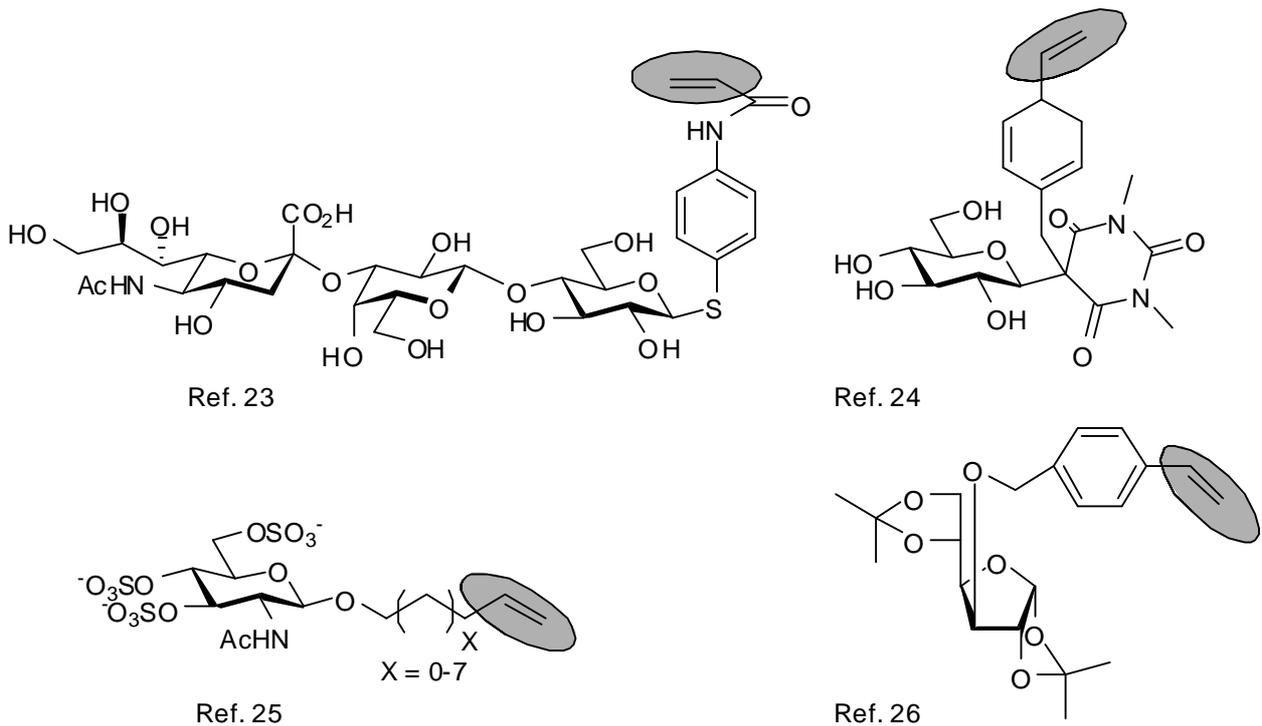
Lange bekannt sind natürliche Kohlenhydratpolymere wie Alginat, das man in der Kosmetikindustrie als Gel - bildenden Werkstoff einsetzt, oder die Pflanzenbestandteile Cellulose, Stärke, Amylose und viele andere.<sup>16</sup>

Synthetisch können Kohlenhydratpolymere jedoch bisher nur in Molmassenbereichen hergestellt werden, die deutlich kleiner sind als bei den natürlich vorkommenden Kohlenhydratpolymeren. Dies liegt vor allem daran, dass es noch keine hinreichend gute Polymerisationsmethode gibt, die zu höheren Molmassen führt. Gleichwohl sind bereits verschiedene Arbeiten auf diesem Gebiet bekannt.

Synthetische Kohlenhydratpolymere spielen eine wichtige Rolle bei der Erforschung von kohlenhydratinduzierten Wechselwirkungen in der Natur.<sup>17, 18</sup> Einen Überblick darüber geben verschiedene Reviews.<sup>19-21</sup> Einige wichtige Arbeiten auf diesem Gebiet sollen hier kurz vorgestellt werden.

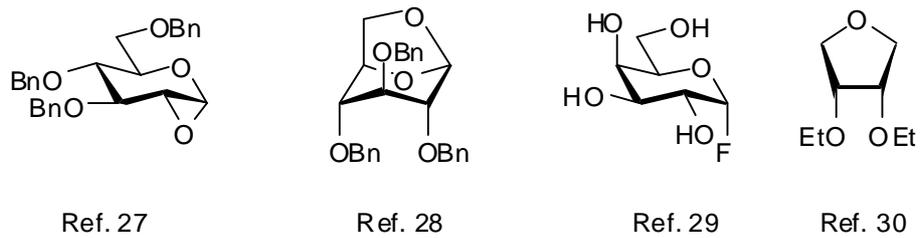
Kohlenhydrate werden bei der Darstellung entweder als Anhängsel des zu polymerisierenden Monomers eingesetzt, oder durch eine chemische Modifikation polymerisierbar gemacht.

Im ersten Fall entstehen bekannte Polymerstrukturen, die zusätzliche Zuckereinheiten enthalten.<sup>22</sup> Dabei kommen praktisch alle bekannten Polymerisationsmethoden (radikalisch, ionisch, ringöffnend) zum Einsatz. Eine Auswahl verschiedener polymerisierbarer oder copolymerisierbarer Monosaccharide zeigt Abbildung 8.<sup>23-26</sup> Sie enthalten alle einen olefinischen Anteil, der außerhalb des Kohlenhydratbereichs liegt. Nach der Polymerisation hängen die Zucker dann als Seitenkette am Polymergerüst.



**Abbildung 8:** Monomerbausteine mit Zuckerrest.

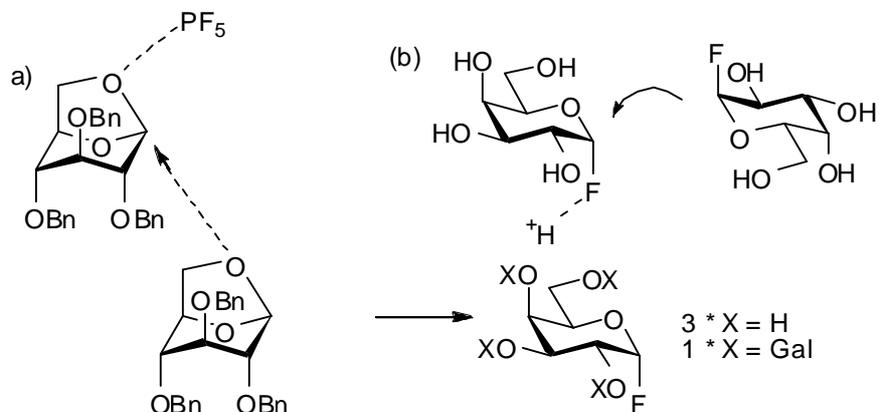
Nach direkter Umwandlung von Zuckern in polymerisierbare Monomere kann man ebenfalls Polymere herstellen, denen man ihre Abstammung von Kohlenhydraten noch deutlich ansieht. Einige solcher Bausteine zeigt Abbildung 9.<sup>27-30</sup>



**Abbildung 9:** Polymerisierbare Monosaccharidbausteine.

Anhydroverbindungen und Ether werden mit Lewis-sauren Katalysatoren polymerisiert. Die Polymerisation läuft über einen  $S_N2$ -artigen Mechanismus ab. Dabei aktiviert der Katalysator den Kohlenstoff des anomeren Zentrums, indem er sich an den Anhydro-Sauerstoff bindet (Abbildung 10a).

Die Polymerisation von Glycosylfluoriden wird ebenfalls durch Säuren katalysiert, wobei die Reaktionsbedingungen jedoch harscher sind (Inkubation mit Chlorwasserstoffgas bei Temperaturen bis 160 °C). Dabei entstehen oligo- und polymere Saccharidketten mit etwa 10 Monomerbausteinen (Abbildung 10b).



**Abbildung 10:** Polymerisationsmechanismen für a) Anhydrozucker; b) Glycosylfluoride.

## **2. Zielsetzung**

Hauptaugenmerk dieser Arbeit liegt auf der Glycosylierung ungeschützter Saccharidbausteine zur Darstellung von Di- und Oligosaccharidbibliotheken sowie der Analyse der Zusammensetzung der entstehenden Produktgemische. Dazu muss zunächst eine geeignete Glycosylierungsmethode gefunden werden, da bekannte Methoden hierzu nicht geeignet sind. Anschließend soll die gefundene Glycosylierungsmethode auf ihre breitere Anwendbarkeit hin untersucht werden, wobei auch nach einer Möglichkeit der Steuerung von Mono- oder Mehrfachglycosylierung an einem Akzeptor gesucht werden soll.

### 3. Kohlenhydratbibliotheken

#### 3.1. Glycosylierungsmethoden

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich mit der Suche nach einer geeigneten Glycosylierungsmethode zur Herstellung von Oligosaccharidbibliotheken, ausgehend von freien Zuckern. Dabei muss das in Kap. 1 beschriebene Löslichkeitsproblem berücksichtigt werden.

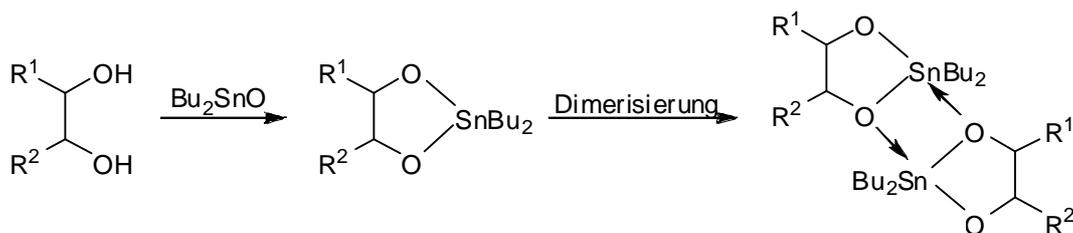
Grundsätzlich kommen zwei Lösungsansätze in Frage.

Zum einen kann der Glycosylakzeptor chemisch modifiziert werden, so dass er auch in unpolaren Lösungsmitteln gelöst werden kann, die man üblicherweise bei Glycosylierungen verwendet. Dieser Ansatz wird in der vorliegenden Arbeit nur kurz bearbeitet, da er dem Ziel, Glycosylierungen ohne Schutzgruppenchemie durchzuführen, eigentlich nicht gerecht wird und sich auch in der Umsetzung als problematisch erwiesen hat.

Der zweite Ansatz besteht darin, den Glycosylakzeptor so zu aktivieren, dass er auch in *N,N*-Dimethylformamid glycosyliert werden kann.

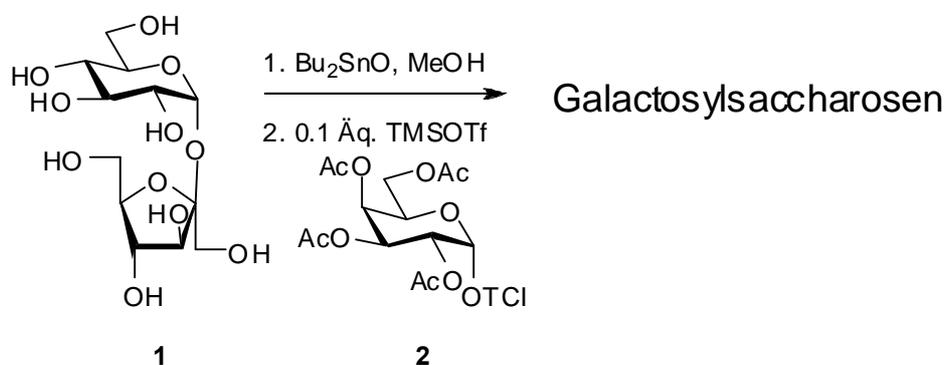
Im Folgenden wird zunächst auf den ersten Ansatz eingegangen.

Man kann freie Zucker in unpolaren Lösungsmitteln lösen, wenn man sie mit einer temporären Schutzgruppe versieht, die bei der nachfolgenden Glycosylierung wieder abgespalten wird. Dazu setzt man den Zucker zunächst mit einem Zinnderivat, in diesem Fall Dibutylzinnoxid, um, entfernt das Lösungsmittel und löst das nun unpolare Stannylidenacetal (genauer: Zinnsäureester) des Zuckers im gewünschten Lösungsmittel. Das Zinnintermediat lässt sich in der Regel nicht charakterisieren, da es äußerst hydrolyseempfindlich ist. Es lässt sich aber als Glycosylakzeptor verwenden, wobei oftmals eine Differenzierung der am Stannylidenacetal beteiligten Sauerstoffe hinsichtlich ihrer Nukleophilie beobachtet wird.<sup>31</sup> Dies ist auf die Bildung von Dimeren zurückzuführen, die sogar in der Gasphase stabil sind. Dabei findet ein Elektronendichtetransfer zu dem an der Dimerisierung nicht beteiligten Sauerstoff statt (Abbildung 11), dessen Nukleophilie dadurch erhöht wird.<sup>32</sup> Wichtiger ist hier aber, dass die Löslichkeit des Moleküls in unpolaren Lösungsmitteln nun gegeben ist.



**Abbildung 11:** Dimerisierung von Stannylidenacetalen.

In dieser Arbeit wird Saccharose mit Dibutylzinnoxid umgesetzt, dann in Dichlormethan gelöst und versucht, mit 0.8 Äquivalenten *O*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-trichloracetimidat zu galactosylieren (Abbildung 12).



**Abbildung 12:** Darstellung von Galactosylsaccharosen über ein Stannylidenintermediat.

Dabei wird zunächst kein Umsatz beobachtet. Erst nachdem nach 34 Stunden die Menge an Katalysator verdoppelt wird, lässt sich dünnschichtchromatographisch ein Produkt detektieren.

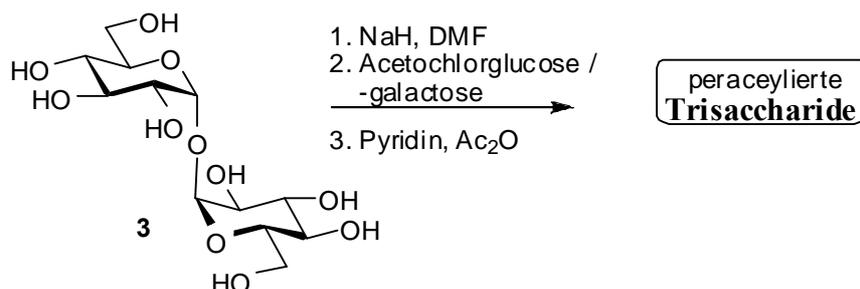
Im MALDI-TOF-Spektrum findet man nach der Reaktion neben nicht umgesetztem Edukt auch Signale von Tri- und Tetrasacchariden.

Zur Sicherstellung der Reproduzierbarkeit wird die gesamte Reaktion wiederholt. Dabei findet allerdings auch nach einer Woche Reaktionszeit und einer portionsweisen Zugabe von insgesamt drei Äquivalenten des Katalysators keine Reaktion statt. Bei einer weiteren Wiederholung, dieses Mal mit 8 Äquivalenten Dibutylzinnoxid, findet unter den gleichen Bedingungen 24 Stunden lang keine Reaktion statt. Nach Zugabe von 0.5 mmol Katalysator färbt sich die Lösung schwarz. Nach der Aufarbeitung sind im MALDI-TOF-Spektrum, neben nicht umgesetztem Edukt, Oligosaccharide bis hin zum Hexasaccharid zu erkennen.

Die Uneinheitlichkeit der Experimente lässt sich mit der Annahme erklären, dass das zur Katalyse zugegebene Trimethylsilyltriflat nicht den Glycosyldonor aktiviert, sondern mit dem Stannylidenacetal zu einem Zinntriflatintermediat reagiert. Wie diese Zwischenverbindung aussieht und weiterreagiert, ist unklar. Sie ist allerdings äußerst hydrolyseempfindlich, was bedeutet, dass nach einer eventuellen Hydrolyse auch freie Hydroxylgruppen am Glycosylakzeptor vorliegen würden. Es hat den Anschein, als müsste zunächst eine Hydrolyse an einigen Stannylidenacetalen stattfinden, ehe eine Glycosylierung abläuft.

Auf Grund der uneinheitlichen Ergebnisse der Experimente bestehen erhebliche Zweifel an der Reproduzierbarkeit dieser Glycosylierungsmethode, weshalb dieser Ansatz nicht weiter verfolgt wird.

Ein besserer Ansatz besteht darin, den Glycosylakzeptor so zu aktivieren, dass er unter Verzicht auf einen Lewis-sauren Katalysator mit einem Glycosyldonor reagieren kann. Dazu wird der Glycosylakzeptor zunächst in ein Oxianion mit einem Alkalimetallgegenion überführt, welches dann ähnlich der Williamson – Ether – Synthese mit einem Glycosylhalogenid reagiert (Abbildung 13). Auch wenn dadurch die Nucleophilie des Sauerstoffes sicherlich nicht so stark erhöht wird wie seine Basizität, so stellt doch zumindest das Kation ein besseres Gegenion für das Chlorid dar als ein Proton, da es bei der Reaktion als thermodynamisch sehr stabiles Salz ausfällt und damit aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt wird.



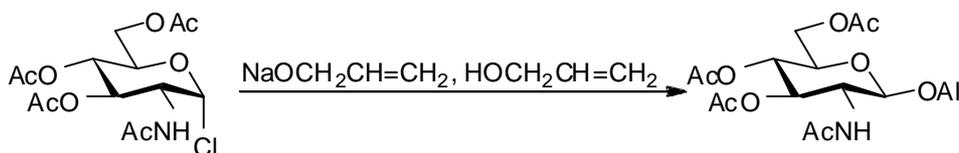
**Abbildung 13:** Glycosylierungsmethode zur Darstellung von Saccharidbibliotheken am Beispiel von  $\alpha, \alpha$ -Trehalose.

In obigem Beispiel wird ein ungeschütztes, nicht reduzierendes und symmetrisches Disaccharid ( $\alpha, \alpha$ -Trehalose) in *N, N*-Dimethylformamid gelöst und durch Zugabe von Natriumhydrid deprotoniert. Eine möglichst vollständige Umsetzung kann man erreichen, wenn man den entstehenden Wasserstoff entfernt. Dazu wird der Reaktionskolben solange am

Rotationsverdampfer bei 20 mbar und Raumtemperatur gehalten, bis keine Blasenbildung mehr erkennbar ist. Anschließend wird der Glycosyldonor bei 0 °C hinzugegeben und 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Danach wird die Lösung direkt eingengt und peracetyliert.

Der Umsatz bei diesem Reaktionstyp liegt in der Regel zwischen 10 und 37 %. Dies erscheint gering, andererseits darf der Umsatz aber nicht höher werden, wenn man eine Monoglycosylierung des Akzeptors erzielen will, denn bei höheren Umsätzen erhielte man auch mehrfach glycosylierte Produkte.

Ausgangspunkt für die Idee zu dieser Glycosylierungsmethode ist eine Arbeit von R. Roy et al., in der die Synthese eines Allylglycosides aus einer Acetochlorhexose und einem Allylalkoholat beschrieben wird.<sup>33</sup> Bei einer mehrfachen Wiederholung der dort angeführten Synthese konnte das Produkt erhalten werden, wenn auch nur in einer Ausbeute von 15 % im Gegensatz zu den dort angegebenen 80 % (Abbildung 14).



**Abbildung 14:** Basische Glycosylierung nach R. Roy.

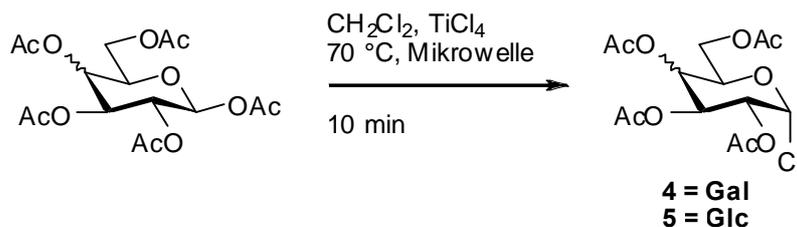
In der vorliegenden Arbeit werden ebenfalls Acetochlorhexosen verwendet. In dieser Arbeit werden Acetochlorglucose und –galactose verwendet. Acetochlorhexosen sind einerseits reaktiv genug, andererseits aber ausreichend stabil, um die harschen Reaktionsbedingungen zu überstehen.

Diese Art der Glycosylierung erinnert an Arbeiten von R. R. Schmidt (Abbildung. 4), bei denen ebenfalls Alkoholate als Nukleophile eingesetzt werden.<sup>34-42</sup> Allerdings sind dort die Rollen von Glycosyldonor und Glycosylakzeptor genau andersherum als bei der hier beschriebenen Methode. Darstellungen von Arylglycopyranosiden sind bereits vor längerer Zeit auf einem ähnlichen Weg beschrieben worden.<sup>43-46</sup>

Eine Umsetzung mit Acetobromgalactose liefert eine zu geringe Ausbeute (ca. 4 %). Vermutlich zersetzt sich dieser Glycosyldonor unter den Reaktionsbedingungen oder reagiert mit dem Alkoholat, das ja eine starke Base ist, unter Eliminierung zu einem Galactal.

Ein etherschutzter Glycosyldonor, Tetra-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranosylchlorid, zeigt keinen erkennbaren Umsatz bei seiner Reaktion mit  $\alpha$ ,  $\alpha$ -Trehalose unter den oben beschriebenen Reaktionsbedingungen. Auch bei einer Temperatur von 80 °C ist nach zwei Stunden kein Umsatz erkennbar.

Die Herstellung von Acetochlorglucose /-galactose kann durch die Verwendung eines Mikrowellenreaktors zur Energiezufuhr gegenüber herkömmlichen Methoden stark beschleunigt werden, die Reaktionszeiten betragen nur ca. 10 Minuten (Abbildung 15).<sup>47</sup> Hierzu wird das  $\beta$ -Pentaacetat in Dichlormethan gelöst und mit Titan-tetrachlorid auf 70 °C erhitzt. Dies ist im Mikrowellenreaktor möglich, da das verwendete Reaktionsgefäß geschlossen ist und Drücke bis 18 bar aushalten kann.



**Abbildung 15:** Mikrowellensynthese von Acetochlorhexosen.

Es werden verschiedene Glycosylierungsbedingungen getestet, um die Reaktion zu optimieren. Dabei werden Variationen bezüglich der Art und Menge der verwendeten Base, der Reaktionstemperatur und der Reaktionsdauer vorgenommen. Eine Variation des Lösungsmittels ist nicht möglich, da neben *N,N*-Dimethylformamid nur Dimethylsulfoxid in der Lage ist, nicht nur ungeschützte Zucker sondern auch deren Alkoholate hinreichend gut zu lösen. Allerdings ist Dimethylsulfoxid gegenüber starken Basen instabil und wird selbst deprotoniert, weshalb es nicht in Betracht gezogen wird.

Zunächst werden vier verschiedene Basen getestet: Lithiumhydrid, Natriumhydrid, Kaliumhydrid und Lithiumaluminiumhydrid (Tabelle 1). Als Glycosylakzeptor wird  $\alpha$ ,  $\alpha$ -Trehalose, als Glycosyldonor Acetochlorglucose verwendet.

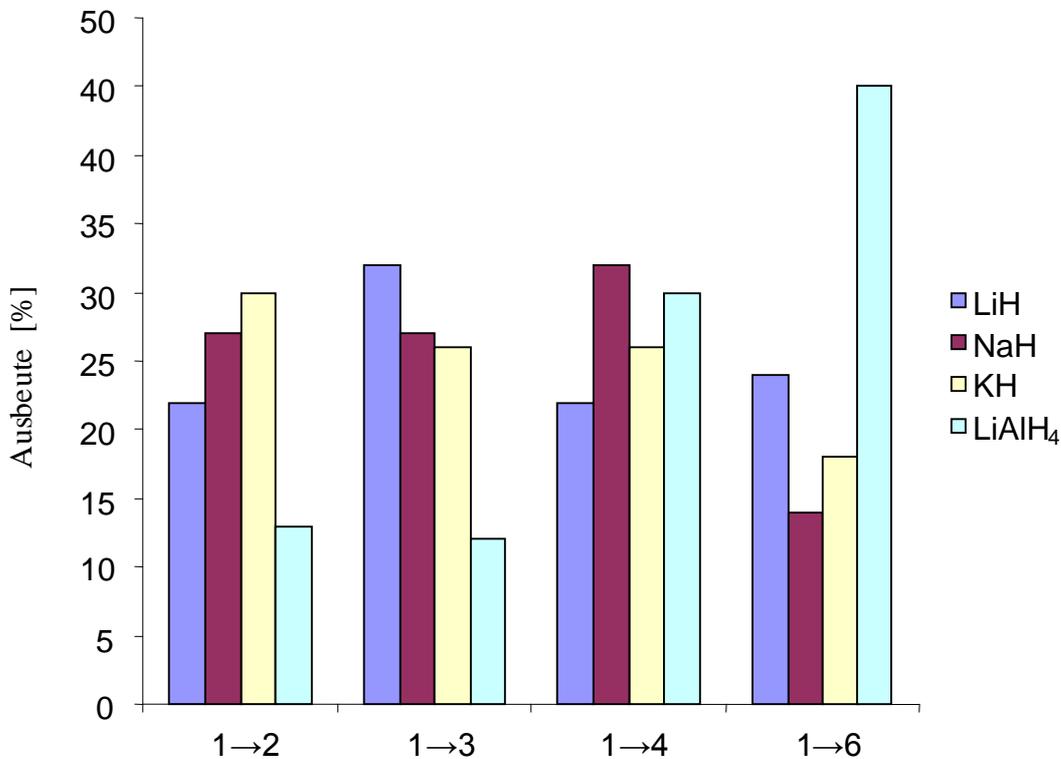
Base	Umsatz	1→2	1→3	1→4	1→6
LiH	3 %	22 %	32 %	22 %	24 %
NaH	18 %	27 %	27 %	32 %	14 %
KH	5 %	30 %	26 %	26 %	18 %
LiAlH <sub>4</sub>	5 %	13 %	12 %	30 %	45 %

**Tabelle 1:** Umsatz und rel. Ausbeute basischer Glycosylierung mit verschiedenen Metallhydriden.

Es zeigt sich, dass nur mit Natriumhydrid ein hinreichend guter Umsatz erzielt werden kann.

Die Variation der Basenmenge wird in den folgenden Kapiteln beschrieben.

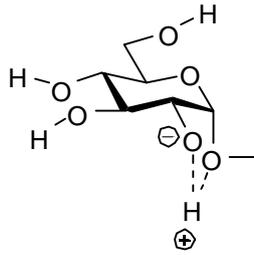
Die relativen Verhältnisse der regioisomeren Produkte variieren nur leicht (Diagramm 1).



**Diagramm 1:** Relative Produktausbeuten beim Einsatz verschiedener Alkalimetallhydride zur Glycosylierung.

Dies ist überraschend, wenn man bedenkt, dass in den meisten Fällen die Hydroxylgruppe an Position 6 die reaktivste ist, während sich die sekundären in der Regel in ihrer Reaktivität nicht sehr unterscheiden. Eine Ausnahme bildet die Hydroxylgruppe an Position 2 bei  $\alpha$ -verknüpften Glycosiden.

Die Acidität und die Nukleophilie dieser Hydroxylgruppe sind größer als die der übrigen Hydroxylgruppen. Der Grund dafür liegt in einer sich ausbildenden Brückenbindung vom Proton der Hydroxylgruppe zum anomeren Sauerstoff, welche die Nukleophilie des Sauerstoffes steigert und die Bindung zum Proton schwächt (Abbildung 16).



**Abbildung 16:** Wasserstoffbrückenbindung im  $\alpha$ -Glycosid.

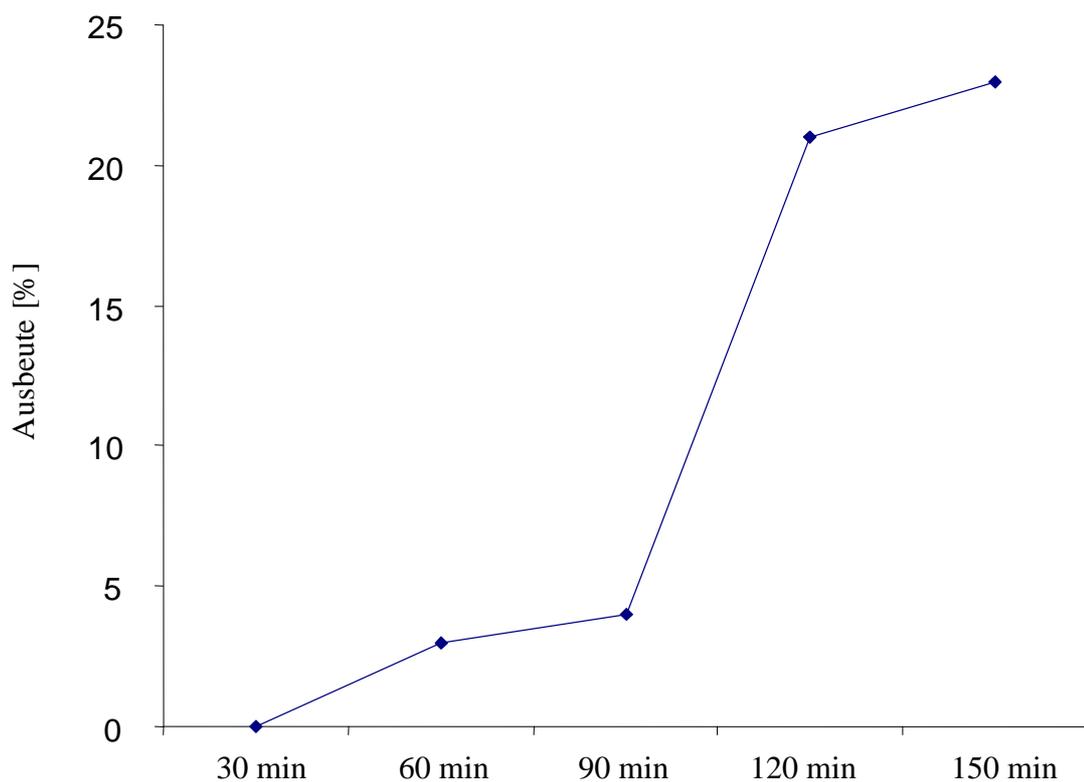
Zur weiteren Optimierung der Reaktionsbedingungen wird die Reaktionstemperatur variiert. Bei 40 °C färbt sich die Lösung direkt nach der Zugabe des Glycosyldonors schwarz. Bei 0 °C hingegen lässt sich nach 30 min noch kein Umsatz feststellen. Daher wird als Konsequenz der Glycosyldonor zunächst bei 0 °C zugegeben, dann 30 min gerührt, wobei die Eisbadkühlung entfernt wird, und dann wird die Lösung ohne Neutralisation direkt am Rotationsverdampfer eingengt. Hierbei wird das Wasserbad auf 40 °C vorgeheizt und es wird 6 mbar angelegt. Im Verlauf der Entfernung des Lösungsmittels färbt sich die verbliebene Lösung immer dunkler, bis schließlich ein dunkelbrauner, amorpher Feststoff im Kolben verbleibt. Dieser wird sofort in Pyridin aufgenommen und peracetyliert.

Zur Untersuchung der zeitlichen Reaktionsverlaufs wird ein Experiment durchgeführt, bei dem Acetochlorgalactose (zur besseren Dosierung in *N,N*-Dimethylformamid gelöst) in fünf Portionen zu 0.2 Äquivalenten zum deprotonierten Glycosylakzeptor zugegeben wird. Gleichzeitig wird vor jeder Zugabe eine Probe genommen und der Umsatz ermittelt. Dies geschieht nach säulenchromatographischer Reinigung der peracetylierten Produkte. Die Reaktionslösung wird vor jeder Zugabe von Glycosyldonor kurz auf 0 °C gekühlt und danach auf Raumtemperatur erwärmt.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 17 zusammengefasst.

Bis zu einer Zugabe von 0.6 Äquivalenten des Glycosyldonors findet nur ein geringer Umsatz statt (ca. 3 %). Bei der nächsten Zugabe von 0.2 Äquivalenten Glycosyldonor steigt der Umsatz sprunghaft an auf über 20 % und bleibt bei der letzten Zugabe annähernd auf diesem Niveau.

Dies zeigt, dass eine Mindestmenge vom Glycosyldonor benötigt wird, damit die Reaktion gelingt. Die Ursache hierfür ist bislang nicht bekannt. Es kann daher an dieser Stelle nur spekuliert werden, dass möglicherweise die deprotonierten Glycosylakzeptormoleküle mit ihren Gegenionen eine Art Cluster bilden, der bei der Reaktion mit dem Glycosyldonor auseinander bricht. Dabei müsste genügend vom Glycosyldonor vorhanden sein, damit die Reaktin nicht abbricht und sich die Glycosylakzeptormoleküle wieder zu Clustern formen können.



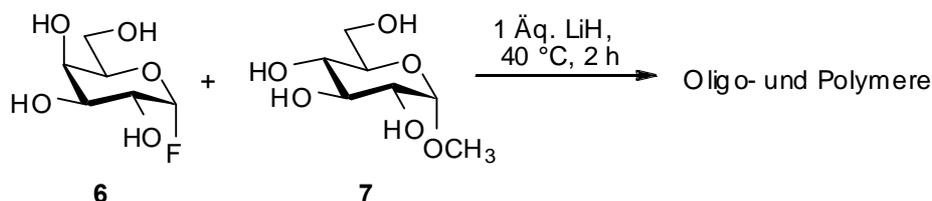
**Abbildung 17:** Zeitabhängigkeit des Umsatzes bei der basischen Galactosylierung von  $\alpha, \alpha$  Trehalose.

Zuletzt soll noch angemerkt werden, dass bei allen durchgeführten basischen Glycosylierungen mit Acetochlorhexosen als Glycosyldonoren nur die  $\beta$ -verknüpften

Reaktionsprodukte gefunden werden. Weder in  $^1\text{H}$ -NMR noch im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren gibt es Hinweise auf mögliche  $\alpha$ - verknüpfte Reaktionsprodukte.

Die Ursache dafür ist vermutlich der bekannte Nachbargruppeneffekt der Acetylgruppe an Position 2 des Glycosyldonors.

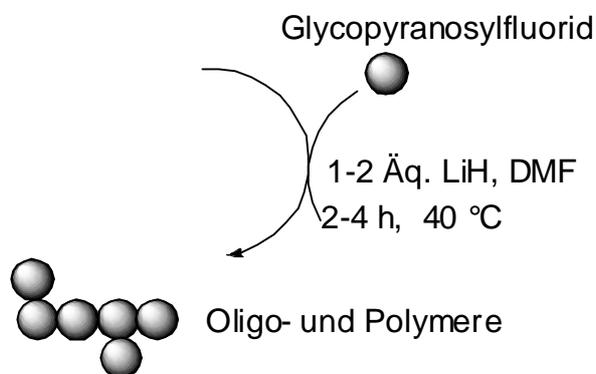
Es hat sich dann im Verlauf dieser Arbeit gezeigt, dass ungeschützte Glycosylfluoride reaktiv genug sind um, ähnlich wie acetylgeschützte Glycosylchloride, mit ungeschützten Akzeptoren zu reagieren (Abbildung 18).



**Abbildung 18:** Zufallsglycosylierung mit einem Glycopyranosylfluorid als Glycosyldonor.

Hier lassen sich deutlich höhere Umsätze erzielen, so dass man auch mehrfach glycosylierte Produkte erhält. Die Reaktionsführung entspricht der Glycosylierung mit Acetochlorodonoren, nur wird hier Lithiumhydrid anstelle von Natriumhydrid verwendet, wegen der höheren Affinität von Fluor zu Lithium.

Da der verwendete Glycosyldonor selbst auch freie Hydroxygruppen enthält, stellt sich die Frage, ob man nicht das ungeschützte Glycosylfluorid mit Hilfe von Lithiumhydrid polymerisieren kann. Tatsächlich gelingt dies, wenn man das Glycosylfluorid zunächst bei 0 °C mit Lithiumhydrid deprotoniert und dann auf 40 °C erhitzt (Abbildung 19).



**Abbildung 19:** Polymerisation von Glycopyranosylfluoriden.

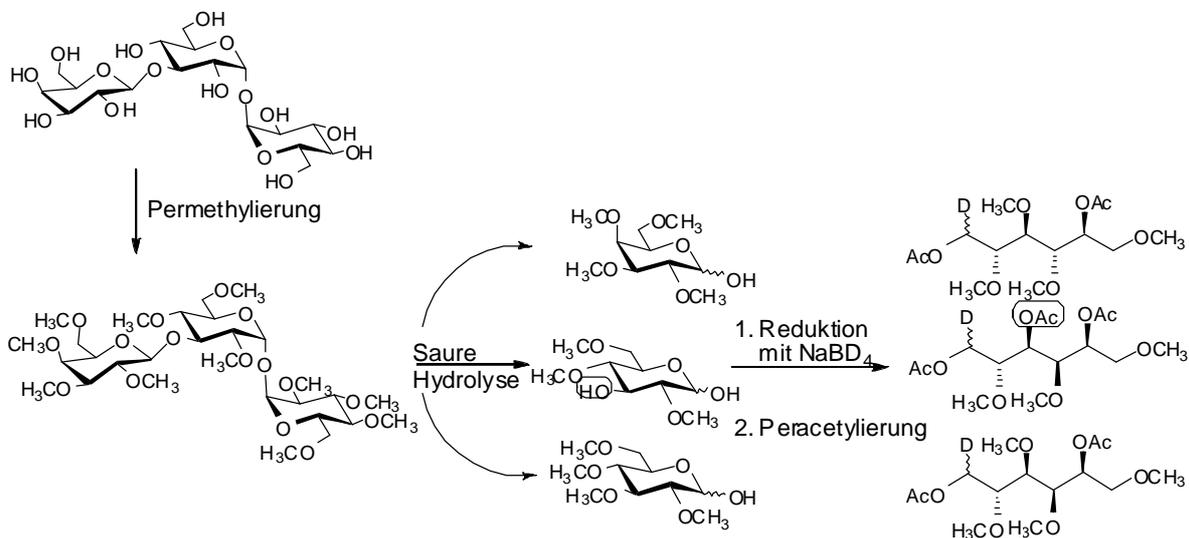
Im Verlauf dieser Arbeit werden Polymerisationen mit D-Gluco-, D-Galacto-, D-Manno- und D-Fucosylpyranosylfluoriden durchgeführt.

## 3.2. Analyse der Saccharidbibliotheken

Nach der Herstellung einer Saccharidbibliothek muss das entstandene Produktgemisch auf seine Zusammensetzung hin analysiert werden. Klassische Auswertungen von wie NMR-, IR- oder Massenspektren sind hier nicht ohne weiteres durchführbar, weil die Gemische meist äußerst komplex sind. In dieser Arbeit werden daher zwei andere Verfahren benutzt: Die Methylierungsanalyse und ein Vergleich der NMR-Signale von Gemischen mit Referenzsubstanzen. Diese beiden Verfahren sollen kurz erläutert werden.

### 3.2.1. Methylierungsanalyse

Mit dieser Methode werden die Saccharide in verdampfbare Substanzen überführt, welche sich anschließend gaschromatographisch trennen lassen. Auf Grund ihrer charakteristischen Massenspektren lassen sich die Verbindungen identifizieren und anhand ihrer Integrale über die Peaks im Gaschromatogramm auch quantifizieren. Dies soll anhand einer Beispielverbindung erläutert werden (Abbildung 20).



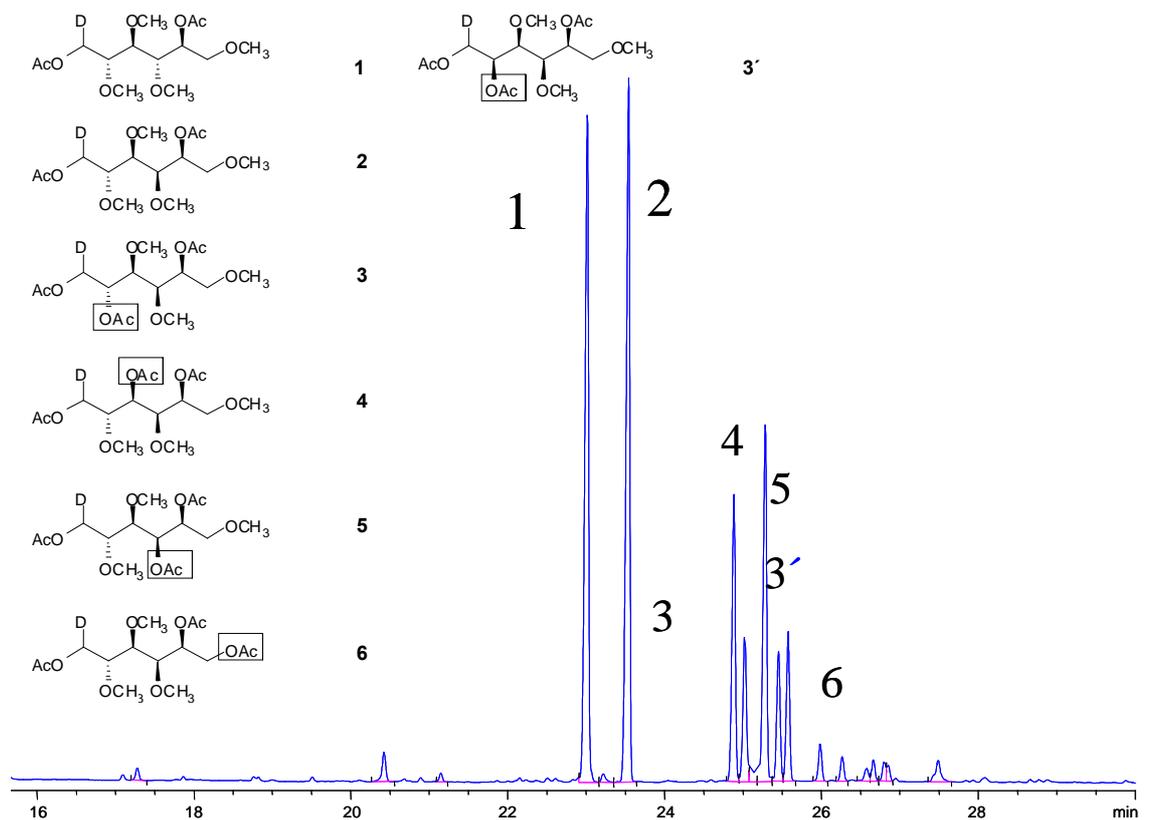
**Abbildung 20:** Methylierungsanalyse einer Beispielverbindung.

Zuerst wird die Verbindung permethyliert. Danach werden die glycosidischen Bindungen sauer hydrolysiert. Abschließend erfolgen eine Reduktion der Carbonylgruppe und eine Nachacetylierung der restlichen Hydroxylgruppen. Die Reduktion erfolgt mit Natriumborodeuterid, um an Position 1 des Hexitols ein Deuterium einzuführen. Dies

erleichtert die Interpretation des späteren Massenspektrums, weil alle Fragmente, die Deuterium enthalten, eine gegenüber Wasserstoff um eins erhöhte Masse besitzen und so dem richtigen Ende des Hexitols zugeordnet werden können.

Entscheidend ist nun, dass immer dort, wo sich im ursprünglichen Saccharid eine glycosidische Bindung befand, eine Acetylgruppe eingeführt wird, während alle nicht glycosylierten Positionen Methylgruppen tragen.

Auf diese Weise erhält man für jede mögliche Position der glycosidischen Bindung ein charakteristisch substituiertes Hexitol. Die Trennung solcher Verbindungen im Gaschromatogramm illustriert Abbildung 21.



**Abbildung 21:** Gaschromatogramm von Hexitolen aus einer Methylierungsanalyse.

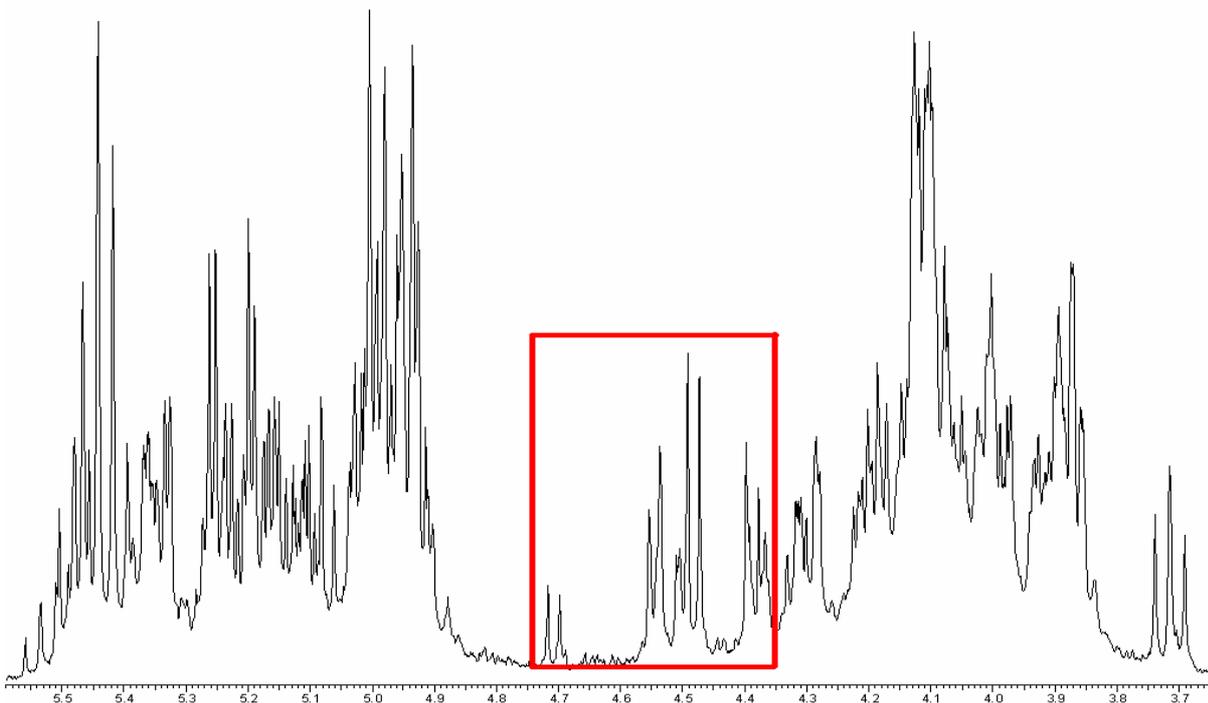
Die Trennung ist in der Regel hinreichend gut, um über die Integrale der Peaks die prozentuale Zusammensetzung bestimmen zu können.

In dieser Arbeit wird eine modifizierte Methode von A. G. Darvil et al. verwendet.<sup>48</sup> Dabei wird das Verbindungsgemisch zunächst nach P. B. Taylor mit Methyljodid und Natronlauge

permethyliert, anschließend mit 2 N Trifluoressigsäure eine Stunde bei 120 °C hydrolysiert und danach mit wässriger, ammoniakalischer Natriumbordeuteridlösung reduziert.<sup>49</sup> Die abschließende Acetylierung geschieht mit Essigsäureanhydrid, Essigsäure und Perchlorsäure. Letztere dient zur Zerstörung eventuell vorhandener Alditol-Bor-Komplexe, aus denen heraus sich das Hexitol nicht leicht acetylieren lässt.

### 3.2.2. NMR-Spektroskopie

NMR-Spektren von Oligosaccharidgemischen sind meistens zu komplex, um die Signale eindeutig zuordnen zu können. Im Falle von  $\beta$ -glycosylierten, peracetylierten Di- und Trisacchariden gibt es aber eine Region im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum, in der die anomeren Protonen des Glycosyldonors erscheinen, ohne mit zu vielen anderen Signalen zu überlappen (Abbildung 22).



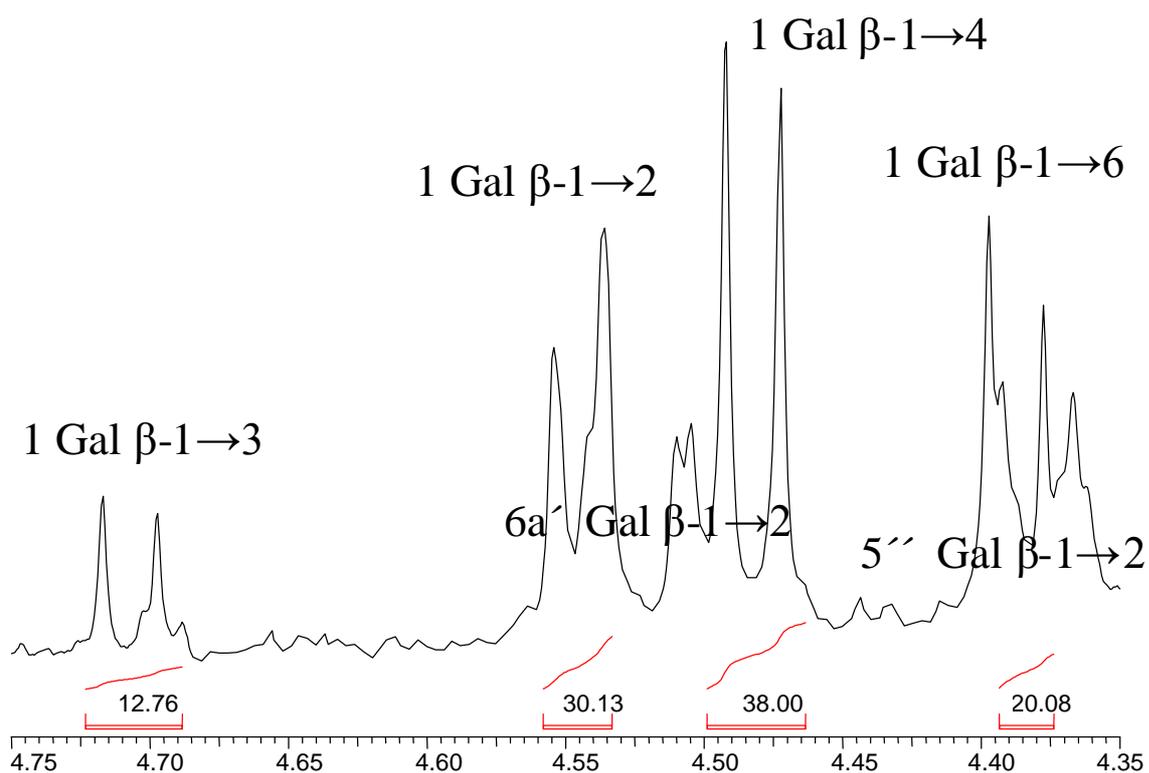
**Abbildung 22:**  $^1\text{H}$ -Mischspektrum von vier peracetylierten Trisacchariden. Die markierte Region zeigt die Signale der anomeren Protonen des Glycosyldonors.

Nach der Zuordnung dieser Signale zu den einzelnen Verbindungen mit Hilfe von Referenzsubstanzen kann, ähnlich wie beim Gaschromatogramm, integriert werden, um die

prozentualen Anteile der Produkte zu bestimmen. Diese Methode ist zwar weniger genau als die Methylierungsanalyse, dient aber dazu, die Ergebnisse aus der Methylierungsanalyse abzusichern. Ein Beispiel für ein  $^1\text{H}$ -Mischspektrum von vier Trisacchariden und ihrer Zuordnung zeigt Abbildung 23.

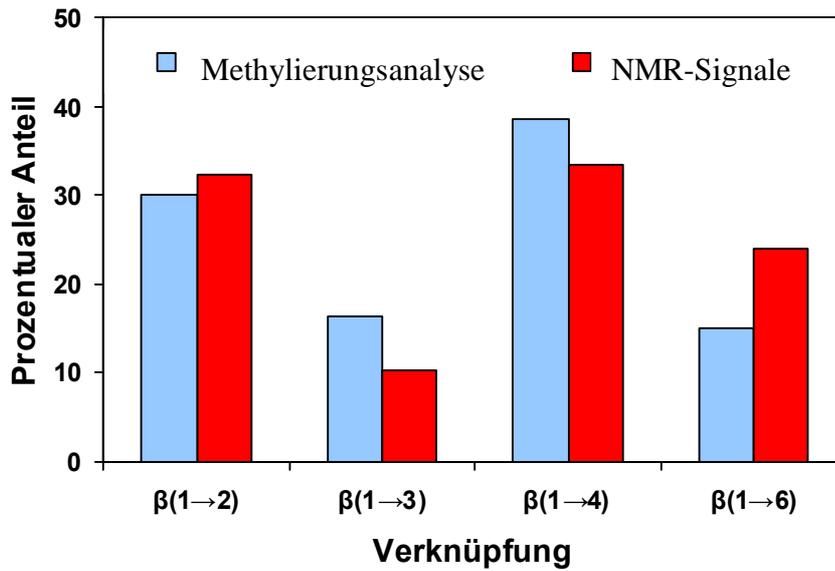
Neben einem Wald von sich überlappenden Signalen erkennt man eine Region mit nur wenigen Signalen. Dort erscheinen die Signale der anomeren Protonen der Glycosyldonoren, sofern die glycosidische Bindung  $\beta$ -konfiguriert ist. Ein Zoom auf diese Region (Abbildung 23) zeigt, dass man nach Integration über die Signale die prozentuale Zusammensetzung des Gemisches abschätzen kann. Zur Zuordnung der Signale in der Region mit den anomeren Protonen des Glycosyldonors werden die peracetylierten Trisaccharidgemische an Kieselgel vorgetrennt. Die Trennungen gelingen dabei in dem Maße, dass eine NMR-Charakterisierung der Trehalose-Bibliotheken und eine partielle Analyse der Galactosyl-Saccharosen möglich ist.

Es wird aber auch deutlich, dass die Methylierungsanalyse die weitaus genaueren Ergebnisse liefert, weil es dort viel seltener zu Signalüberlappungen kommt. Zudem sind die Referenzspektren der Endprodukte der Methylierungsanalyse katalogisiert und somit leichter zugänglich als die NMR-Referenzspektren. Daher wird die Zusammensetzung der Produktgemische im Folgenden wenn immer möglich mit Methylierungsanalysen bestimmt.



**Abbildung 23:** Zoom auf die Region mit den anomeren Protonen des Glycosyldonors (siehe Abbildung 22) und ihre Zuordnung.

Zum Vergleich der beiden Analysenmethoden zeigt Diagramm 2, dass mit NMR-Daten die Ergebnisse aus der Methylierungsanalyse gestützt, jedoch nicht genau wiedergegeben werden können. Gründe dafür sind Überlappungen, wie man auch in Abbildung 23 gut erkennen kann. Dies macht eine genaue Integration über einzelne Signale unmöglich und erlaubt nur eine grobe Abschätzung der Mengenverhältnisse.



**Diagramm 2:** Vergleich Methylierungsanalyse vs. Auswertung der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren.

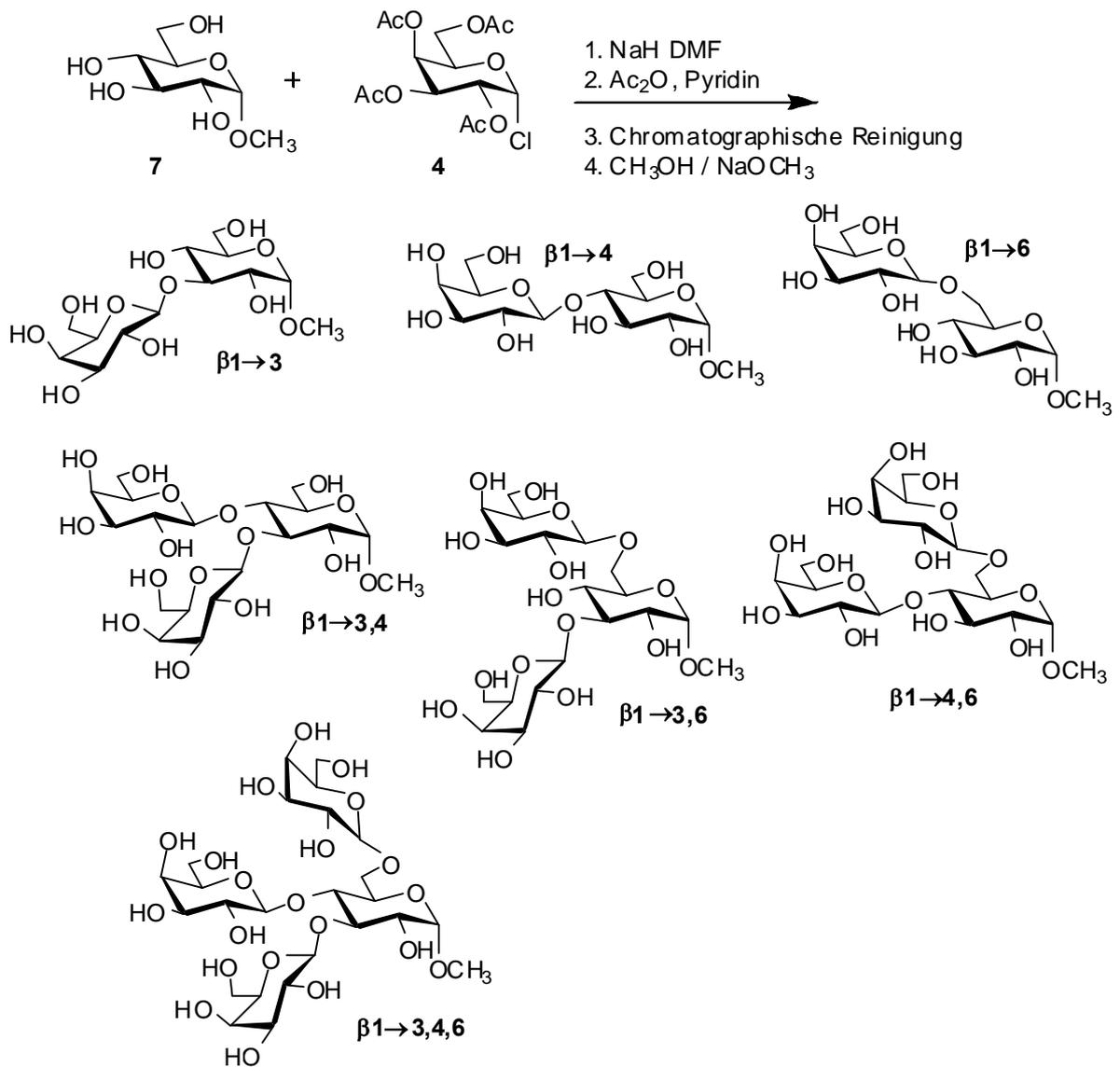
Aus  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren kann man in der Regel nur die Information erhalten, wie viele verschiedene Verbindungen mindestens im Substanzgemisch vorhanden sind, wenn man die sichtbaren Signale der anomeren Kohlenstoffe zählt. Signale von Verbindungen mit nur geringem prozentualem Anteil am Gesamtgemisch können jedoch im Rauschen verschwinden, so dass diese leicht übersehen werden.

### **3.3. Disaccharidbibliotheken**

Zur Darstellung von Disaccharidbibliotheken wird ein Glycosylakzeptor verwendet, der am reduzierenden Ende geschützt ist. Andernfalls besteht die Gefahr von Nebenreaktionen an der Carbonylfunktion. Als Glycosylakzeptoren werden Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid und Methyl- $\alpha$ -D-galactopyranosid eingesetzt, der Glycosyldonor leitet sich von Galactose ab.

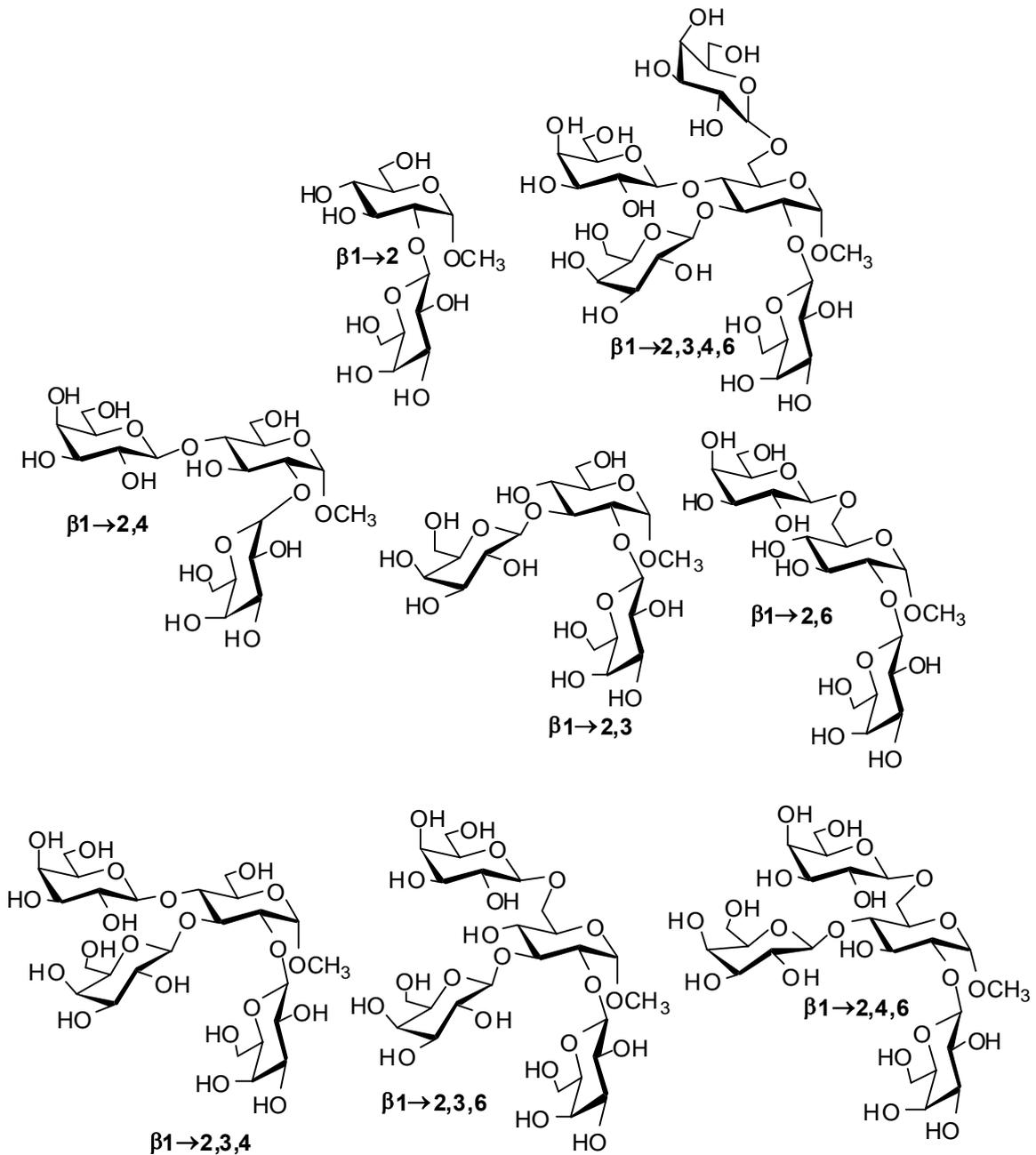
#### **3.3.1. Galactosylglucoside**

Zur Darstellung einer Bibliothek von Galactosylglucosiden wird Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid mit Acetochlorgalactose umgesetzt (Abbildung 24). Dazu wird der Glycosylakzeptor, gelöst in *N, N*-Dimethylformamid, zunächst mit Natriumhydrid partiell deprotoniert. Das Gemisch der verschiedenen Alkoholate wird dann mit Acetochlorgalactose umgesetzt.



**Abbildung 24:** Zufallsglycosylierung von Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid mit Acetochlor- galactose.

Nach der Umsetzung mit Acetochlorgalactose wird die Lösung eingengt und sofort peracetyliert. Dies ist notwendig, da die Reaktion sonst dünn-schichtchromatographisch nicht zu verfolgen ist, denn das Lösungsmittel *N, N*-Dimethylformamid verschmiert die DC-Folie zu stark. Nach säulenchromatographischer Reinigung können bei einem Umsatz von 37 % die in Abbildung 24 gezeigten Produkte als Gemisch isoliert werden.

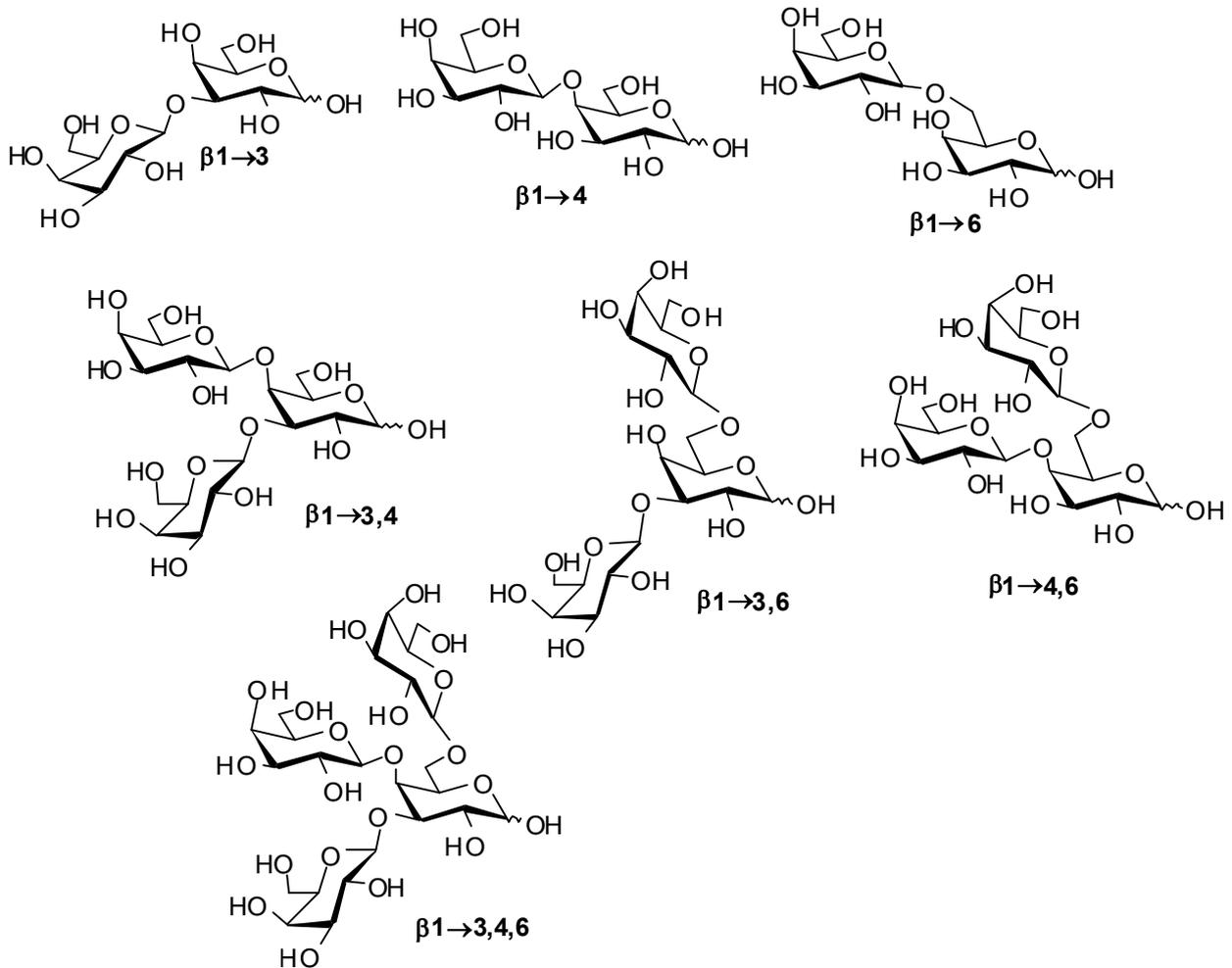


**Abbildung 25:** Nicht beobachtete Produkte bei der Zufallsglycosylierung von Methyl- $\alpha$ -D- glucopyranosid mit Acetochlorgalactose.

Anschließend können die Disaccharide säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol / Aceton als Eluent von Edukten getrennt werden, und es wird eine Methylierungsanalyse durchgeführt, um die Zusammensetzung des Produktgemisches zu bestimmen.

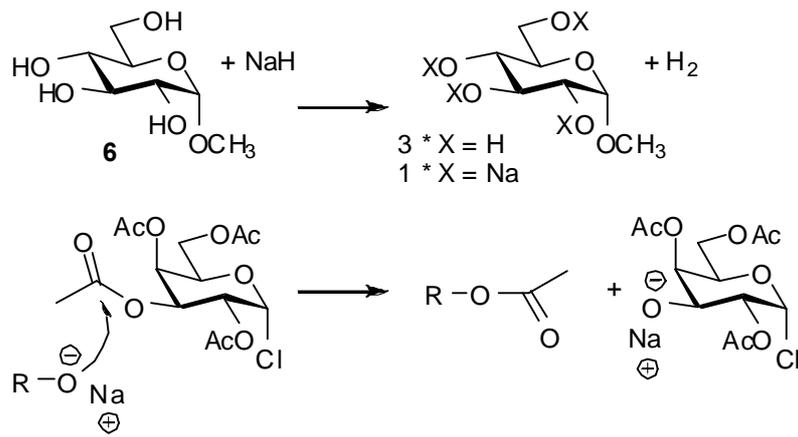
Dabei fällt auf, dass einige der möglichen Produkte nicht gebildet werden. Es fehlen alle Produkte, die bei denen eine Glycosylierung an Position 2 des Glycosylakzeptors stattgefunden hätte (Abbildung 25).

Stattdessen entstehen Nebenprodukte, welche an Hand von Retentionszeiten und Peak-Intensitäten in Massenspektrum aus der Methylierungsanalyse als Galactosylgalactosen identifiziert werden können (Abbildung 26). Auch hier fällt das Fehlen von an Position 2 glycosylierten Verbindungen ins Auge.



**Abbildung 26:** Nebenprodukte bei der Zufallsglycosylierung von Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid mit Acetochlorgalactose.

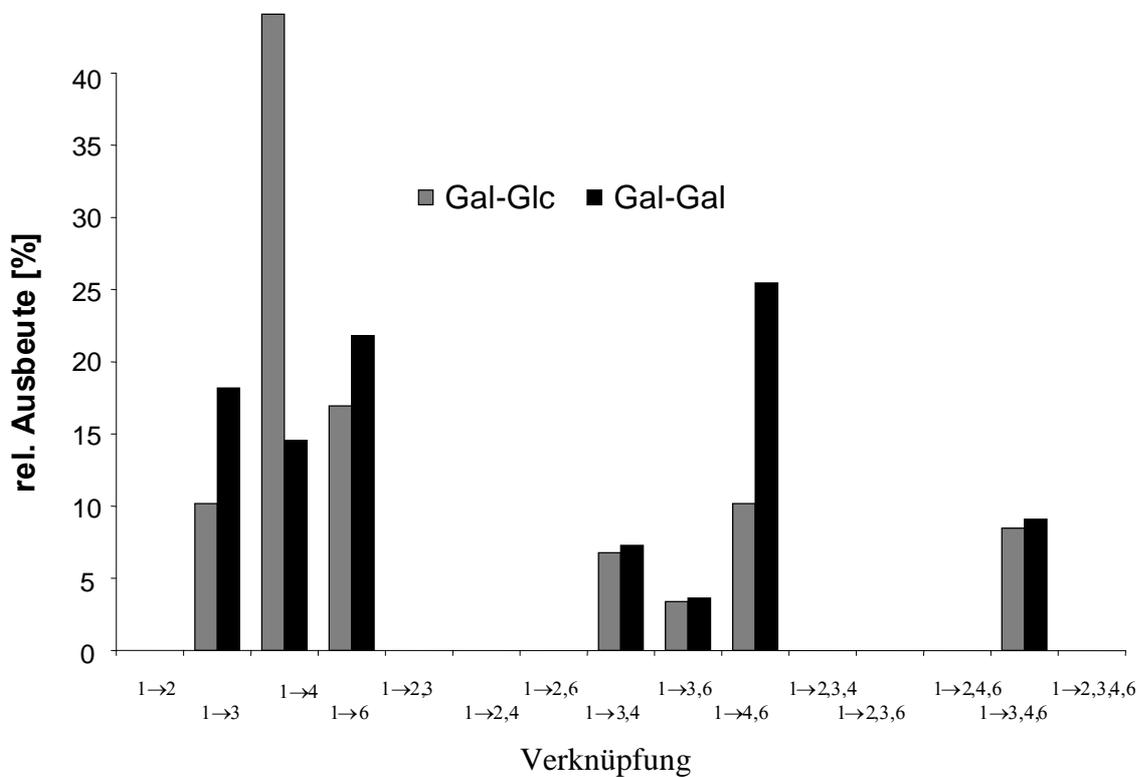
Diese Nebenprodukte können durch eine basische Umesterung mit intermolekularer Acetylwanderung und anschließender Glycosylierung an der freigewordenen Position an Glycosyldonor entstehen (Abbildung 27).



**Abbildung 27:** Intermolekulare Acetylwanderung.

Solche Acetatwanderungen finden in der Regel intramolekular zwischen cis ständigen Hydroxygruppen statt, werden jedoch auch intermolekular beobachtet.<sup>50, 53</sup>

Die prozentuale Verteilung der Produkte, die durch eine Methylierungsanalyse ermittelt wird, zeigt Diagramm 3.



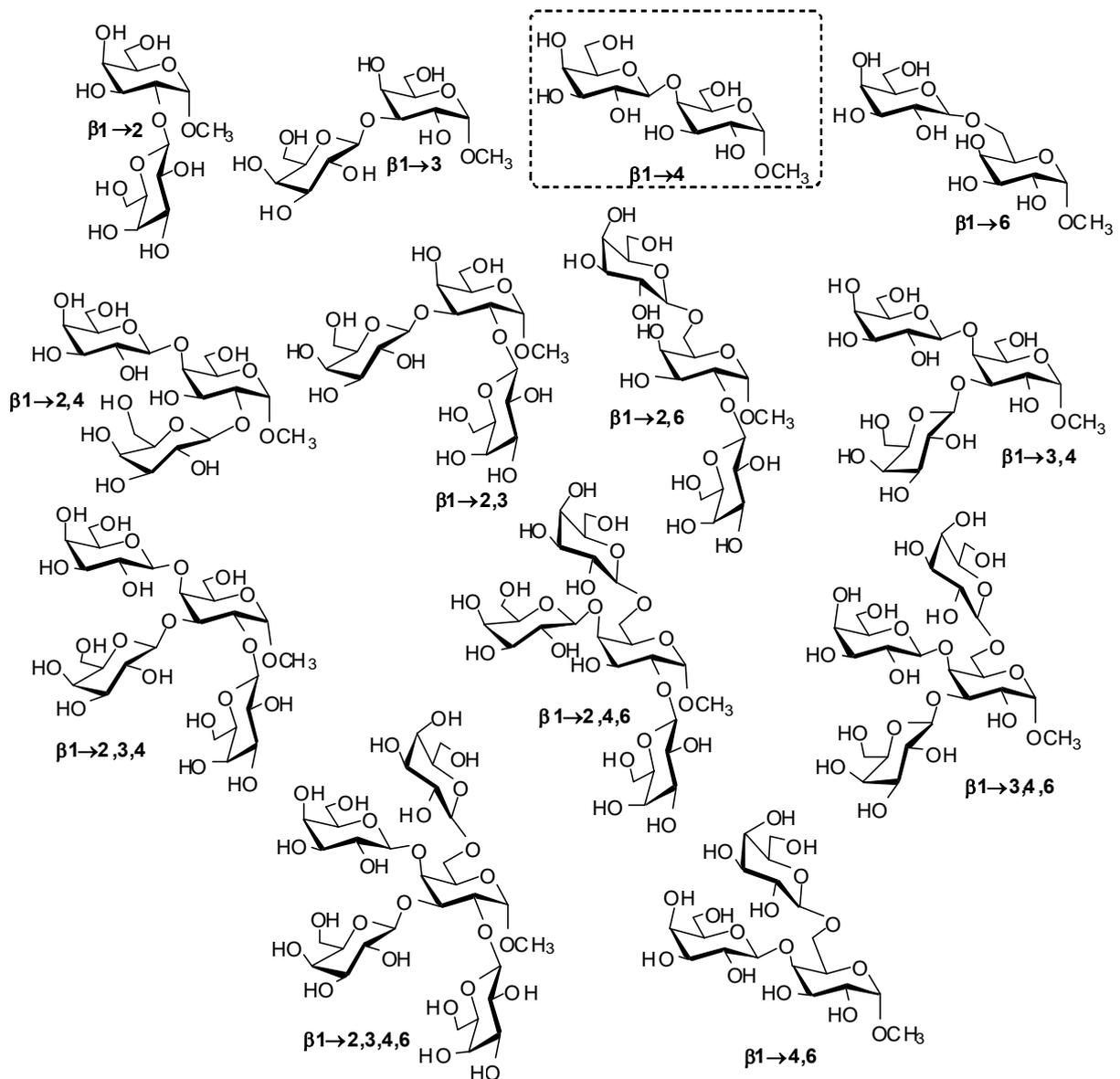
**Diagramm 3:** Prozentualer Anteil der Komponenten bei der Reaktion von Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid mit Acetochlorgalactose, ermittelt durch eine Methylierungsanalyse.

Man sieht, dass eine Bibliothek aus 14 verschiedenen Di- und Oligosacchariden gebildet wird. Die prozentualen Anteile der Komponenten sind sehr ähnlich, eine Ausnahme bildet nur die 1→4 verknüpfte Galactosylglucose.

Das Fehlen sämtlicher Produkte, die an Position 2 galactosyliert worden wären, ist allerdings sehr überraschend. Eine schlüssige Erklärung dafür gibt es bisher nicht. Es kann nur spekuliert werden, dass bei dieser Reaktion die Acetylwanderung zu Position 2 hin aus einem noch unbekanntem Grund so schnell abläuft, dass sie einer möglichen Glycosylierung zuvorkommt. Dieser Befund steht im Gegensatz zu sämtlichen, in den folgenden Kapiteln vorgestellten Saccharidbibliotheken.

### **3.3.2. Galactosylgalactoside**

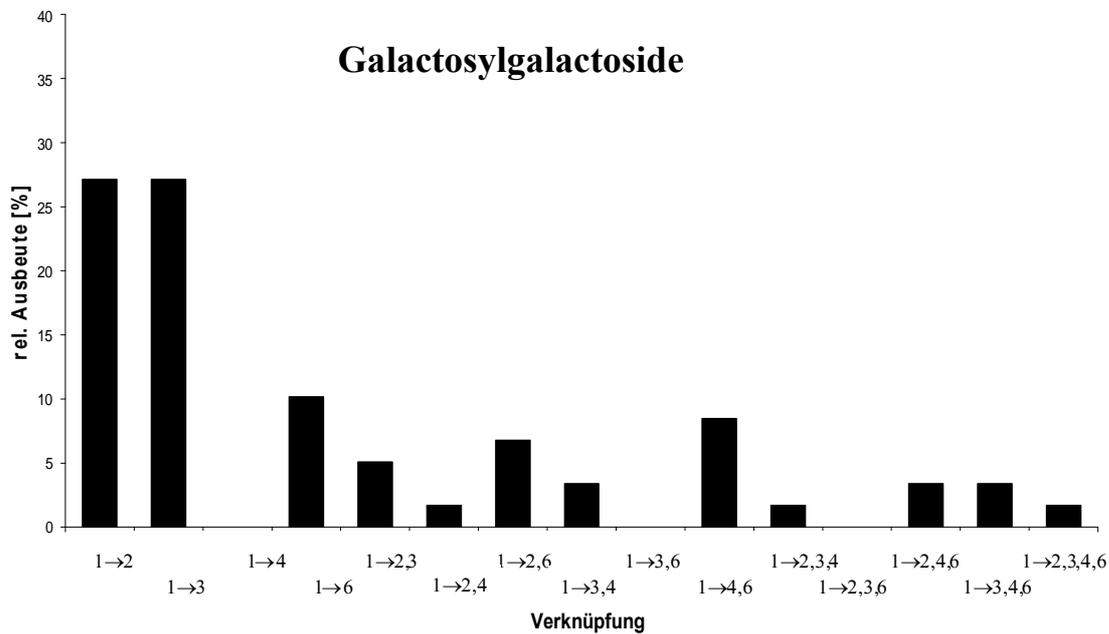
Um den Einfluss des Glycosylakzeptors auf die Regioselektivität zu untersuchen, soll der Glycosyldonor Acetochlorgalactose auch mit Methyl- $\alpha$ -D-galactopyranosid umgesetzt werden. Die möglichen Produkte zeigt Abbildung 28.



**Abbildung 28:** Produkte der Reaktion von Acetochlorgalactose mit Methyl- $\alpha$ -D-galactopyranosid.

Mit einer Methylierungsanalyse können bei einem Umsatz von 28 % 12 der 15 möglichen Produkte (Abbildung 28) nachgewiesen werden, wobei es noch deutliche Hinweise auf das Auftreten eines Produktes mit einer 1 $\rightarrow$ 4 Verknüpfung gibt. Das zugehörige Massenspektrum ist jedoch nicht eindeutig. Es sieht so aus wie ein Mischspektrum aus dem  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 verknüpften Produkt und einer nicht zu identifizierenden Substanz. Weitere Indizien für das Vorhandensein dieses Produktes sind mehrfachglycosylierte Produkte, bei denen eine  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 Verknüpfung vorkommt ( $\beta$ -1 $\rightarrow$ 2,4;  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 3,4;  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4,6;  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 2,3,4;  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 2,4,6;  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 3,4,6;  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 2,3,4,6 Verknüpfung ).

Eine prozentuale Verteilung der Produkte zeigt Diagramm 4.



**Diagramm 4:** Prozentuale Verteilung der Galactosylgalactoside, ermittelt durch Methylierungsanalyse.

Man erkennt, dass hauptsächlich monoglycosylierte Produkte entstanden sind, jedoch können auch 9 der 11 möglichen mehrfach glycosylierten Produkte nachgewiesen werden. Sogar das pergalactosylierte Pentasaccharid tritt auf.

Anders als bei der Darstellung der Galactosylglucoside (Kapitel 3.3.1) findet man hier auch die über Position 2 verknüpften Produkte und dies in nicht geringer Menge. Eine logische Erklärung für diesen Unterschied ist schwer zu finden und kann bisher nicht angeboten werden.

Als Zwischenfazit ist festzustellen, dass der erste Teilschritt der vorliegenden Arbeit, die Entwicklung einer Methode zur Glycosylierung von freien Zuckern gelungen ist. Mit der vorgestellten Glycosylierungsmethode lassen sich Saccharidbibliotheken herstellen. Die Bibliotheken sind allerdings nicht vollständig und die Einzelkomponenten kommen in recht unterschiedlichen Konzentrationen vor. Der Einfluss des Glycosylakzeptors ist beträchtlich, allerdings kann keine eindeutige Ursache für die gefundenen Unterschiede bei den Umsetzungen mit Acetochlorgalactose gefunden werden.

Um das Problem der Selbstglycosylierung des Glycosyldonors zu lösen, werden im Folgenden weitere Umsetzungen nach dem gleichen Schema durchgeführt, nun aber mit

Disacchariden als Glycosylakzeptoren um die weitere Anwendbarkeit der Methode zu überprüfen. Dies soll ermöglichen, die Produkte (hauptsächlich Trisaccharide) von selbstglycosylierten Glycosyldonoren (hauptsächlich Disaccharide) zu unterscheiden.

### 3.4 Trisaccharidbibliotheken

Drei Trisaccharidbibliotheken sollen hergestellt werden: Galactosyltrehalosen, Glucosyltrehalosen und Galactosylsaccharosen.

Galactosyl- und Glucosyltrehalosen finden Verwendung als Zusatzstoffe in der Mund- und Zahnhygiene, da sie die Aggregation von zahnschädigenden Bakterien verhindern.<sup>54</sup> Daher ist ihre industrielle Synthese auch bereits recht gut entwickelt und wird in der Regel enzymatisch betrieben.<sup>55, 56</sup> Allerdings können die verwendeten Enzyme meist nur jeweils ein bestimmtes Regioisomer herstellen, so dass man bei der Synthese von Regioisomergemischen auf die kombinatorische Chemie zurückgreifen muss, zumal klassische Schutzgruppenchemie aus Kostengründen kaum dafür in Frage kommt.

Die Darstellung der beiden Trehalosebibliotheken stellt eine Weiterentwicklung der vorher beschriebenen Glycosylierungsmethode dar, weil hier ein komplett ungeschütztes Disaccharid als Glycosylakzeptor fungiert. Es wird ein nichtreduzierendes Disaccharid gewählt, da sonst Nebenreaktionen am reduzierenden Ende zu befürchten wären.

In dieser Arbeit wird zunächst die  $\alpha, \alpha$ - verknüpfte Trehalose als Glycosylakzeptor gewählt, da dieses Disaccharid symmetrisch ist (Abbildung 29) und daher trotz acht freier Hydroxygruppen nur vier verschiedene regioisomere Trisaccharide entstehen können. Dies vereinfacht die Analyse des Produktgemisches bedeutend. Eine Trennung von Galacto- und Glucosyltrehalosegemischen wurde von Ajisaka et al. beschrieben und wird daher hier nicht wiederholt.<sup>57</sup>

Später wird dann über die Verwendung eines unsymmetrischen Disaccharides (Saccharose, Abbildung 29) als Glycosylakzeptor berichtet werden, dessen Glycosylierung zu acht regioisomeren monoglycosylierten Produkten führen kann.

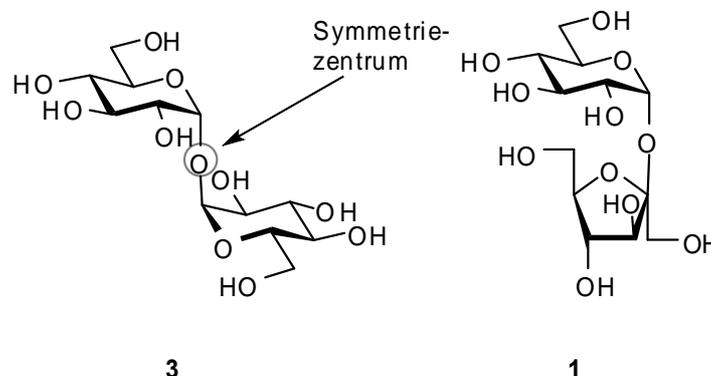
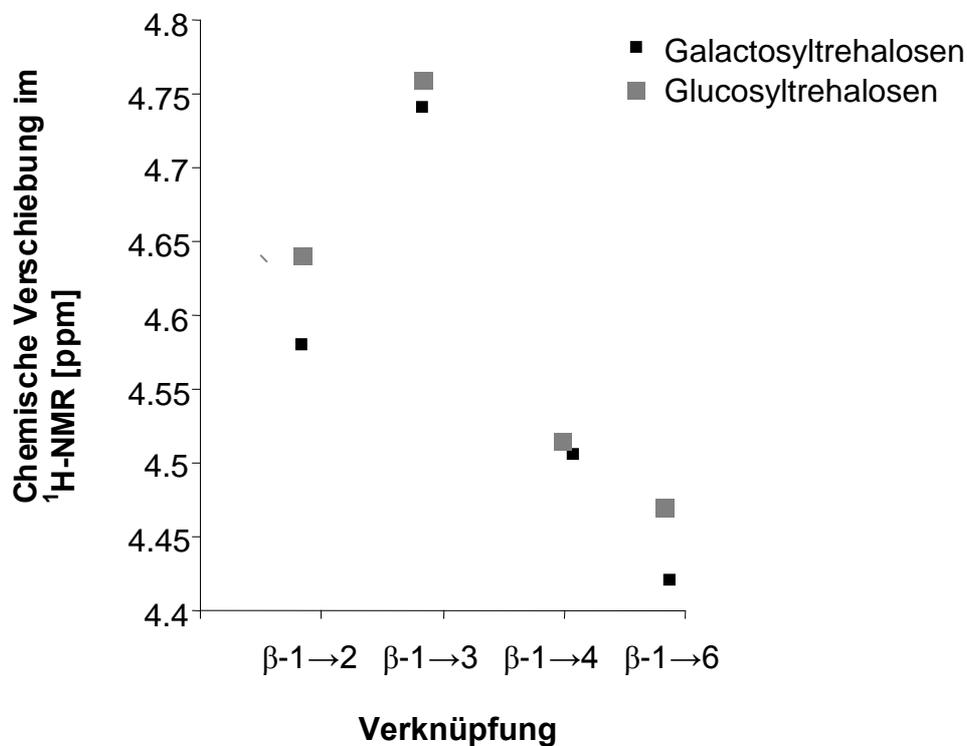


Abbildung 29:  $\alpha, \alpha$ -Trehalose und Saccharose.

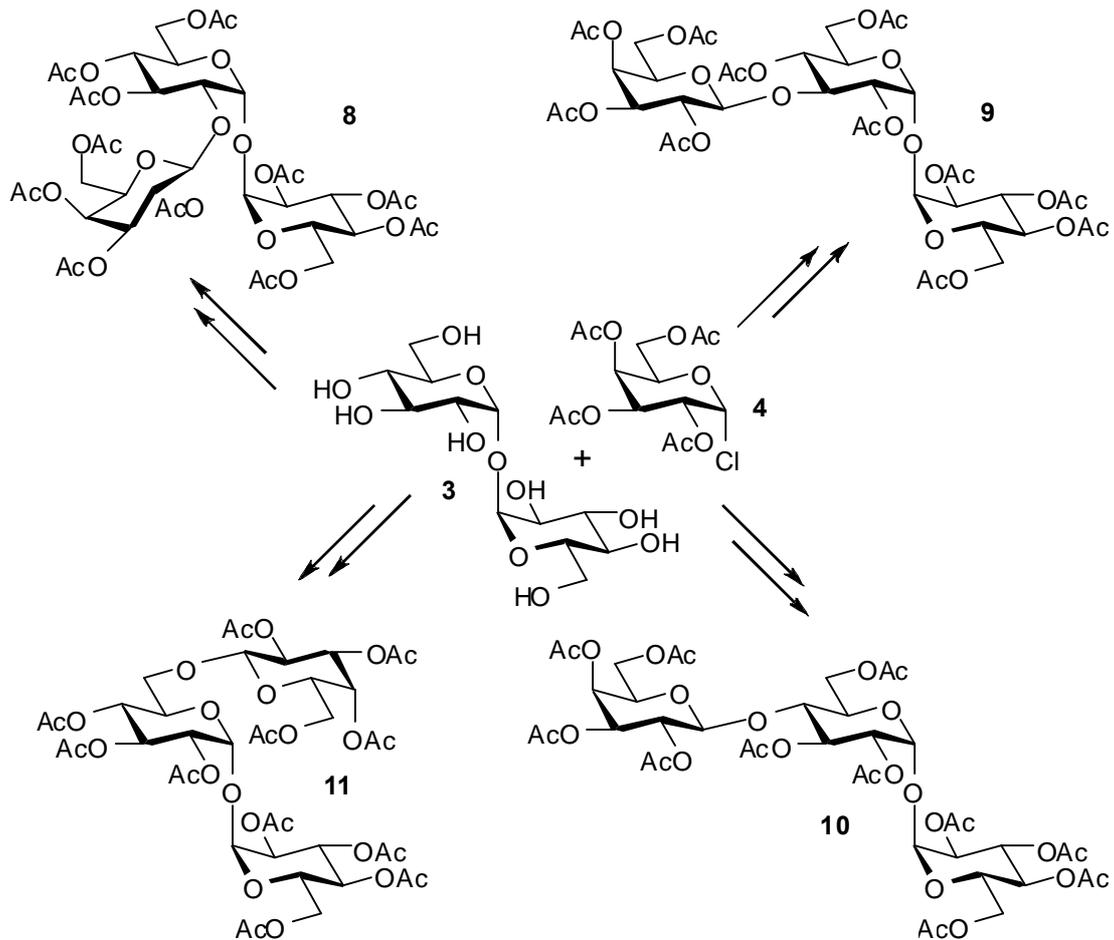
Die Analyse der Verbindungsbibliotheken gelingt bei den beiden Trehalosebibliotheken mit Methylierungsanalysen. Bei den Galactosylsaccharosen treten jedoch Probleme auf, worüber später berichtet wird. Alle Bibliotheken werden auch NMR-spektroskopisch untersucht. Nach einer bestmöglichen Trennung der peracetylierten Produktgemische an Kieselgel werden die so erhaltenen NMR-Daten der einzelnen Verbindungen als Referenz verwendet, wie in Kapitel 3.2. bereits beschrieben wurde. Bei Galactosyltrehalosen und Glucosyltrehalosen fällt dabei eine Korrelation der chemischen Verschiebung der anomeren Protonen des ursprünglichen Glycosyldonors ins Auge. Sie zeigt damit eine größere Abhängigkeit von der Position der glycosidischen Bindung als von der Art des Glycosyldonors (Diagramm 5).



**Diagramm 5:** Chemische Verschiebung der <sup>1</sup>H-Signale der anomeren Protonen der Glycosyldonoren.

### 3.4.1. Galactosyltrehalosen

In diesem Abschnitt soll über die Galactosylierung von ungeschützter  $\alpha, \alpha$ -Trehalose berichtet werden (Abbildung 30). Die Durchführung entspricht der bei der Darstellung der Disaccharidbibliotheken beschriebenen (Kapitel 3.3.).

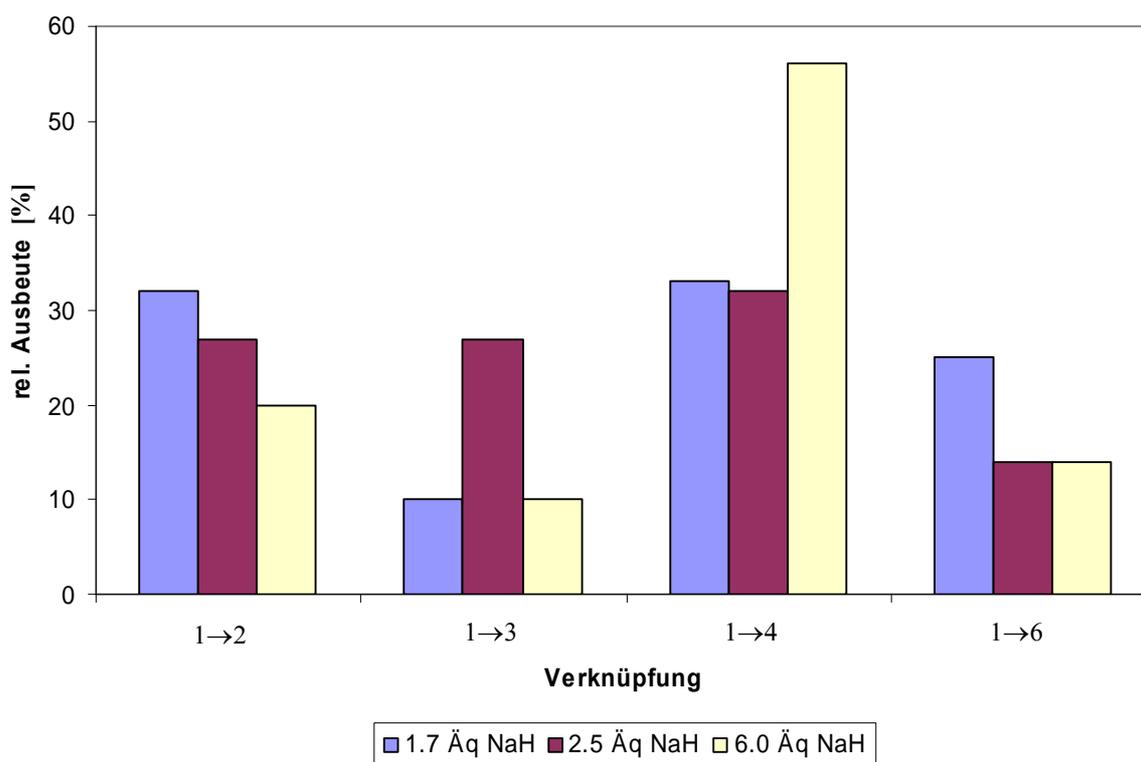


**Abbildung 30:** Galactosylierung von  $\alpha, \alpha$ -Trehalose.

Es wird zunächst die optimale Menge von Natriumhydrid ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 sowie Diagramm 6 dargestellt.

Äquivalente NaH [%]	Gesamtausbeute [%]
1.7	21
2.5	9
6.0	5

**Tabelle 2:** Gesamtausbeute an Galactosyltrehalosen bei verschiedenen eingesetzten Mengen Natriumhydrid.



**Diagramm 6:** Produktverhältnisse von Galactosyltrehalosen bei verschiedenen eingesetzten Mengen von Natriumhydrid.

Aus Tabelle 2 ist zu entnehmen, dass bei der Verwendung von 1.7 Äquivalenten Natriumhydrid die beste Ausbeute erzielt werden kann. Der Unterschied zu 2.5 Äquivalenten ist signifikant. Größere Mengen an Natriumhydrid führen auf Grund von Löslichkeitsproblemen vermutlich nicht zu einer weiteren Deprotonierung von Hydroxylgruppen.

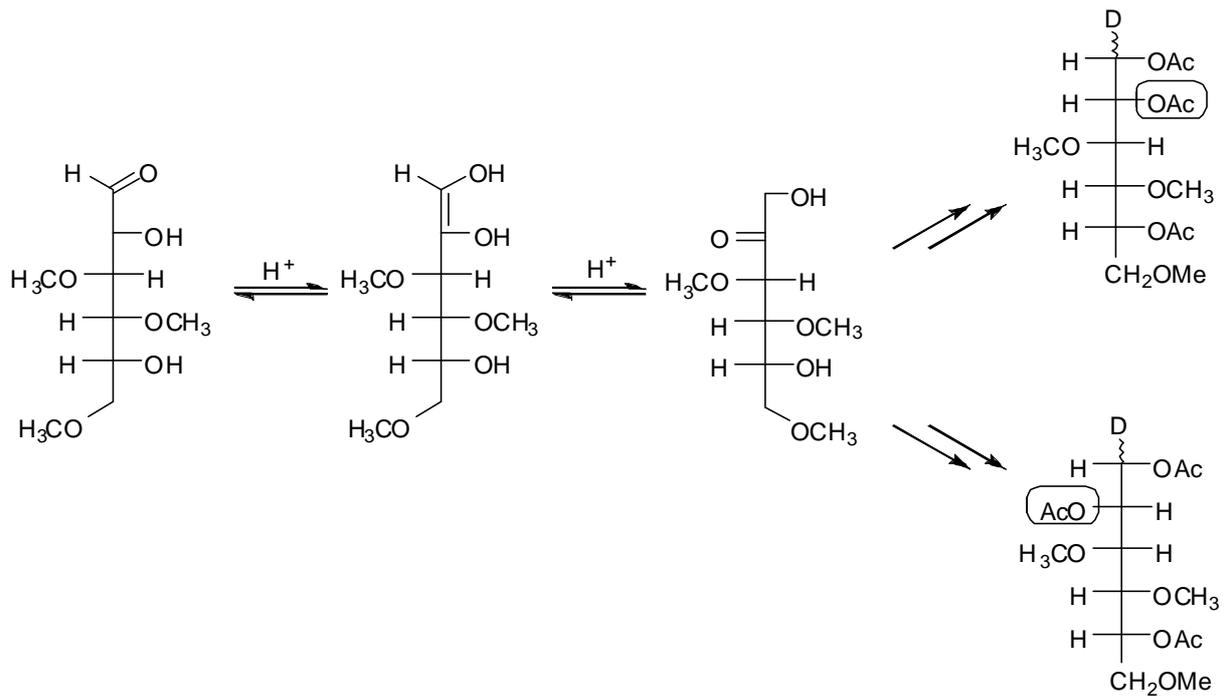
Aus diesen und den folgenden Versuchen mit anderen Glycosylakzeptoren wird deutlich, dass die Gesamtausbeute bei der Verwendung von Disacchariden als Glycosylakzeptoren immer

bei etwa 20 % liegt. Als Ursachen für die limitierte Ausbeute kommen folgende Faktoren in Betracht:

- a) Die Tatsache, dass das zwischenzeitlich gebildete Alkoholat nicht nur ein Nukleophil, sondern auch eine starke Base ist. Als solche kann es sowohl den Glycosyldonor als auch den Glycosylakzeptor zersetzen. So kann z. B. durch Eliminierung aus dem Glycosyldonor ein Glycal gebildet werden. Nichtreduzierende Disaccharide sind gegenüber Basen zwar deutlich stabiler als reduzierende, zersetzen sich jedoch auch.<sup>58, 59</sup>
- b) Die schon bei der Darstellung der Disaccharidbibliotheken aufgetretene intermolekulare Acetylmigration durch einen nukleophilen Angriff des Alkoholat-anions auf die Acetylgruppen des Glycosylakzeptors.
- c) Löslichkeitsprobleme, da sich das sehr polare Edukt  $\alpha$ ,  $\alpha$ -Trehalose nur durch Erwärmen in *N,N*-Dimethylformamid lösen lässt und das gebildete Alkoholat noch polarer ist.

Es soll an dieser Stelle aber noch einmal betont werden, dass ein solch niedriger Umsatz notwendig ist, wenn man monoglycosylierte Produkte erhalten will. Wäre der Umsatz höher, würden wahrscheinlich auch mehrfach glycosylierte Produkte gebildet werden. Hierzu wird später in Kapitel 3.6. weiter ausgeführt.

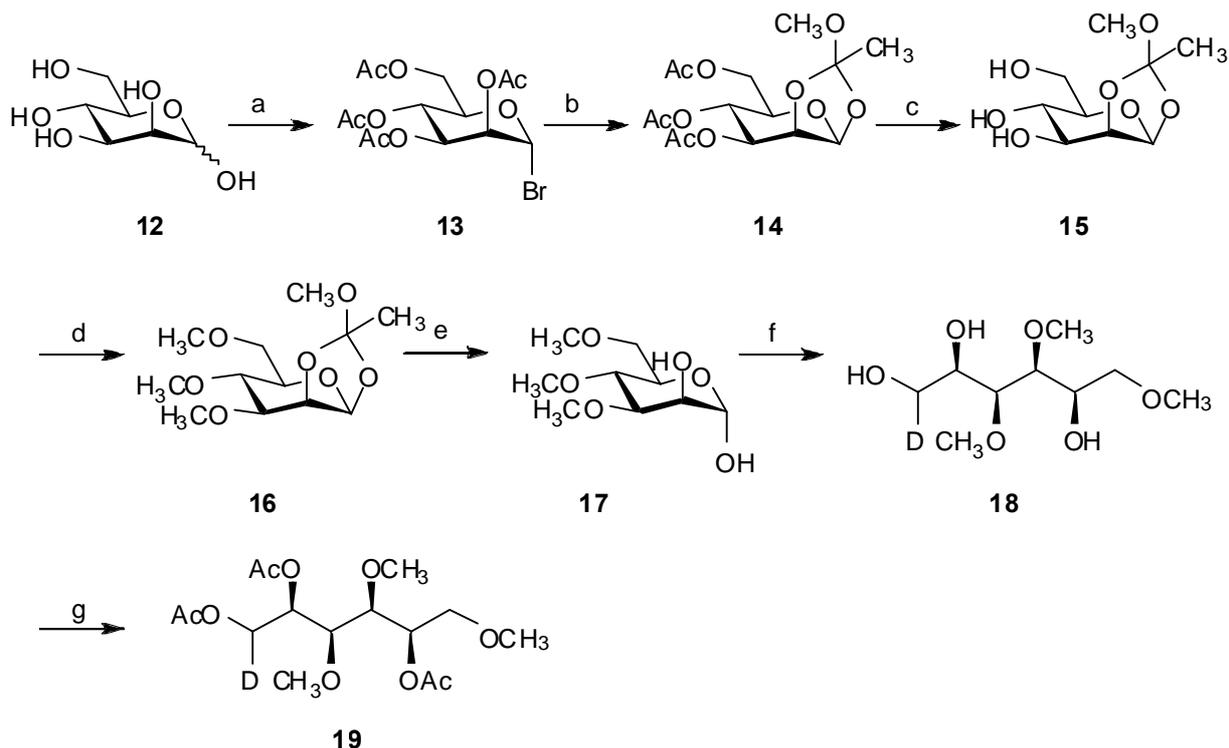
Es soll auch noch auf eine Besonderheit bei der Methylierungsanalyse der Substanzgemische hingewiesen werden. Im Gaschromatogramm, das zum Ende der Methylierungsanalyse ermittelt wird, taucht ein zusätzlicher Peak auf, dessen Massenspektrum auf einen an Position 2 glycosylierten Glycosylakzeptor schließen lässt. Da er jedoch nicht die gleiche Retentionszeit wie das von Glucose stammende Hexitol (Glucitol) besitzt und sich in den Signalintensitäten der Peaks im Massenspektrum etwas unterscheidet, wird vermutet, dass es sich um ein isomeres Hexitol mit manno-Konfiguration handelt. Dieses kann durch Tautomerisierung während der sauren Hydrolyse bei der Methylierungsanalyse aus dem Glucoderivat entstehen (Abbildung 31).



**Abbildung 31:** Tautomerisierung bei Glucose.

Um diese Hypothese zu prüfen, wird das entsprechende Mannitol synthetisiert, um davon ein GC-MS-Referenzspektrum zu erhalten (Abbildung 32).

D-Mannose wird mit Pyridin / Essigsäureanhydrid peracetyliert und dann zu Acetobrommannose umgesetzt.<sup>60</sup> Diese wird in Methanol aufgenommen und mit 2,4-Lutidin zum Methylorthoester umgesetzt, welcher danach mit Methanolat deacetyliert wird.<sup>61</sup> Anschließend werden die freien Hydroxygruppen mit Methyljodid methyliert und danach der Orthoester mit verdünnter Essigsäure hydrolysiert.<sup>62,63</sup> Schließlich wird der entstandene Aldehyd zum Alkohol reduziert, und nach einer abschließenden Acetylierung der freien Hydroxygruppen wird die Substanz per GC-MS vermessen.



a) 1. Pyridin / Ac<sub>2</sub>O, 2. AcOH / HBr; b) CH<sub>3</sub>OH, Lutidin, AgOTf; c) NaOCH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>OH; d) CH<sub>3</sub>I, NaOH (50 %), DMSO; e) Wasser / Essigsäure 4 / 1; f) NaBD<sub>4</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O; g) Pyridin, Ac<sub>2</sub>O.

**Abbildung 32:** Synthese von 1,2,5-Tri-O-acetyl-3,4,6-tri-O-methyl-D-mannitol.

Das so erhaltene Massenspektrum gibt eine gute Übereinstimmung bezüglich der Signalintensitäten im Massenspektrum mit dem zusätzlichen Peak, der bei der Analyse der Galactosyltrehalosen auftritt, auch wenn die Retentionszeit nicht ganz übereinstimmt. Dieses Phänomen tritt jedoch bei fast allen untersuchten Substanzgemischen auf. Der Grund dafür liegt darin, dass die Retentionszeit erheblich vom Einspritzvorgang und von der Konzentration der Lösung abhängt, mit der die GC-MS-Analyse durchgeführt wird. Die relativen Abstände der jeweiligen Peaks bei der Analyse von Substanzgemischen sind jedoch nur vom Temperaturprogramm der GC-Messung abhängig.

### 3.4.2. Glucosyltrehalosen

In gleicher Weise wie in Kapitel 3.4.1. wird  $\alpha$ ,  $\alpha$ - Trehalose auch mit Acetochlorglucose umgesetzt (Abbildung 33).

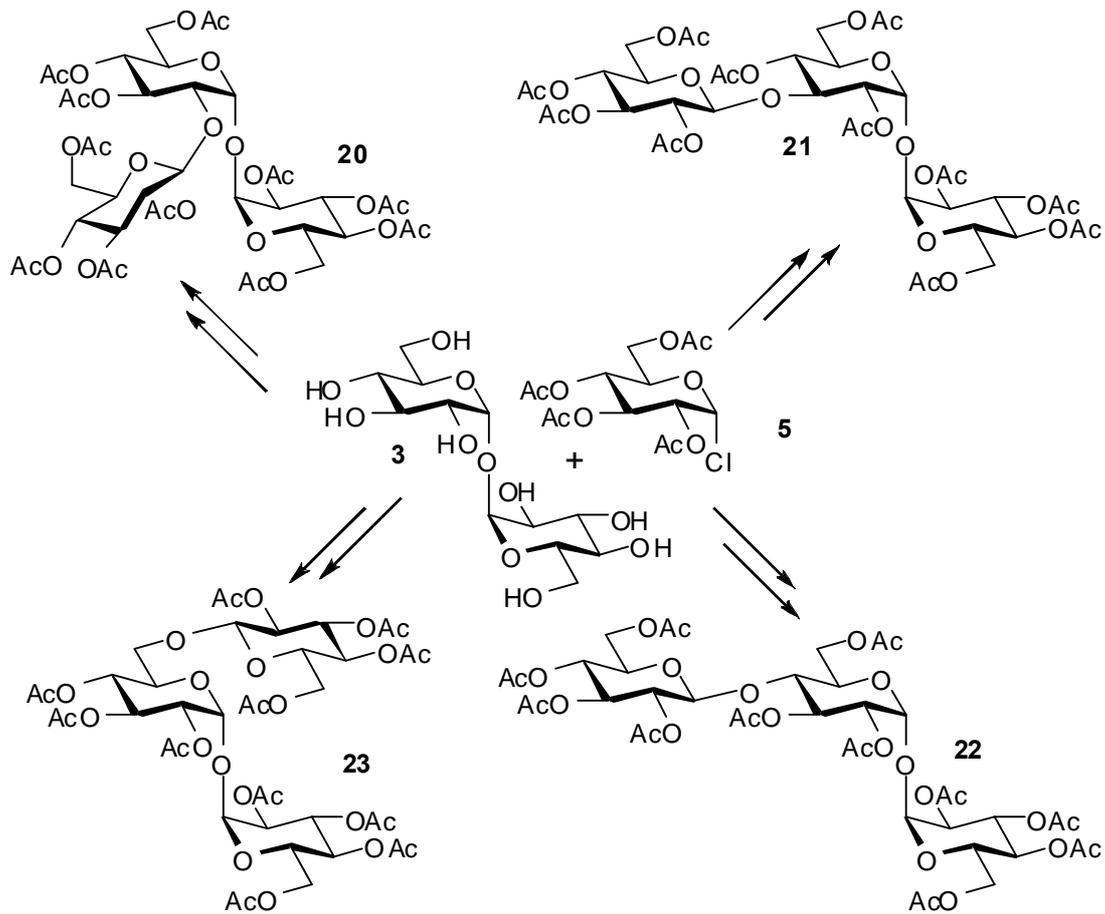


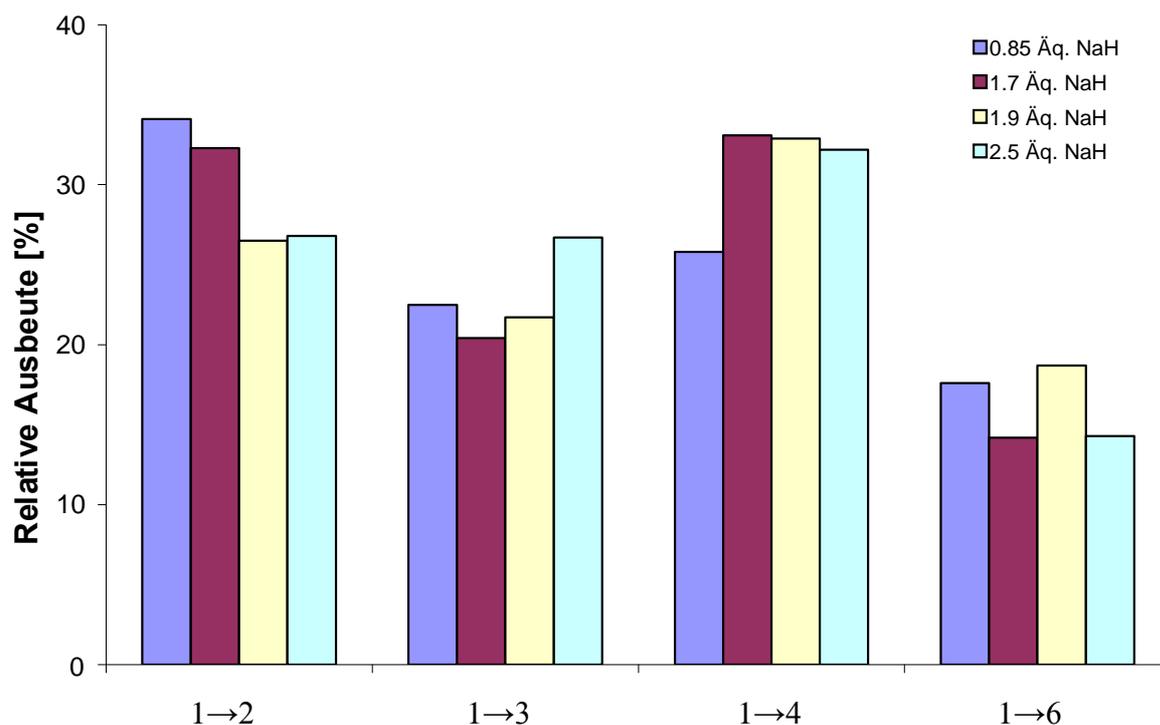
Abbildung 33: Glucosylierung von  $\alpha$ ,  $\alpha$ - Trehalose.

Äquivalente NaH [%]	Gesamtausbeute [%]
0.85	11
1.7	5
1.9	12
2.5	18

Tabelle 3: Relativer Umsatz bei verschiedenen Mengen Natriumhydrid.

Auch hier wird zuerst die optimale Menge von Natriumhydrid gesucht (Tabelle 3).

Die beste Ausbeute erhält man mit 2.5 Äquivalenten Natriumhydrid. Eine noch größere Menge davon einzusetzen erscheint jedoch wegen der zu erwartenden Löslichkeitsprobleme nicht sinnvoll. Die Ergebnisse der anschließenden Methylierungsanalysen nach den Umsetzungen geben Diagramm 7 wieder.



**Diagramm 7:** Vergleich der prozentualen Zusammensetzung der Glucosyltrehalosen

Man findet keine signifikanten Unterschiede bei den relativen Ausbeuten. Es wird daher angenommen, dass die Menge an zugegebenem Natriumhydrid keinen besonderen Einfluss auf die Produktverteilung hat. Auffällig ist auch die sehr gleichmäßige Verteilung der prozentualen Anteile der einzelnen Verbindungen. Alle Hydroxygruppen zeigen hier eine fast gleiche Reaktivität, nur die primäre fällt überraschend etwas ab.

### 3.4.3. Galactosylsaccharosen

Die nächste Stufe stellt die Glycosylierung eines unsymmetrischen Disaccharides dar, bei der acht regioisomere Produkte entstehen können. Als Glycosylakzeptor wird Saccharose gewählt, eines der gängigsten nicht reduzierenden Disaccharide. Als Glycosyldonor wird Acetochlorgalactose verwendet (Abbildung 34).

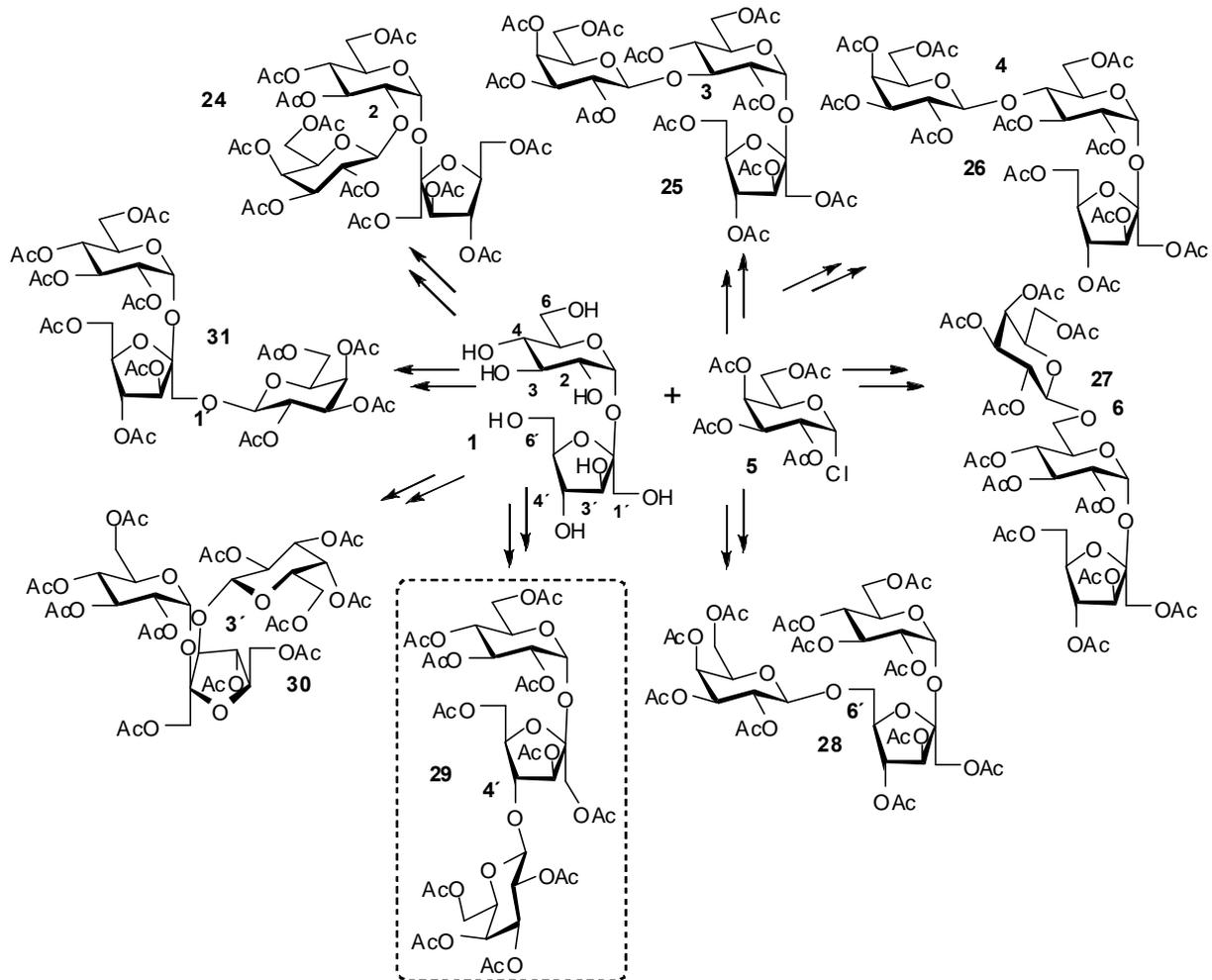
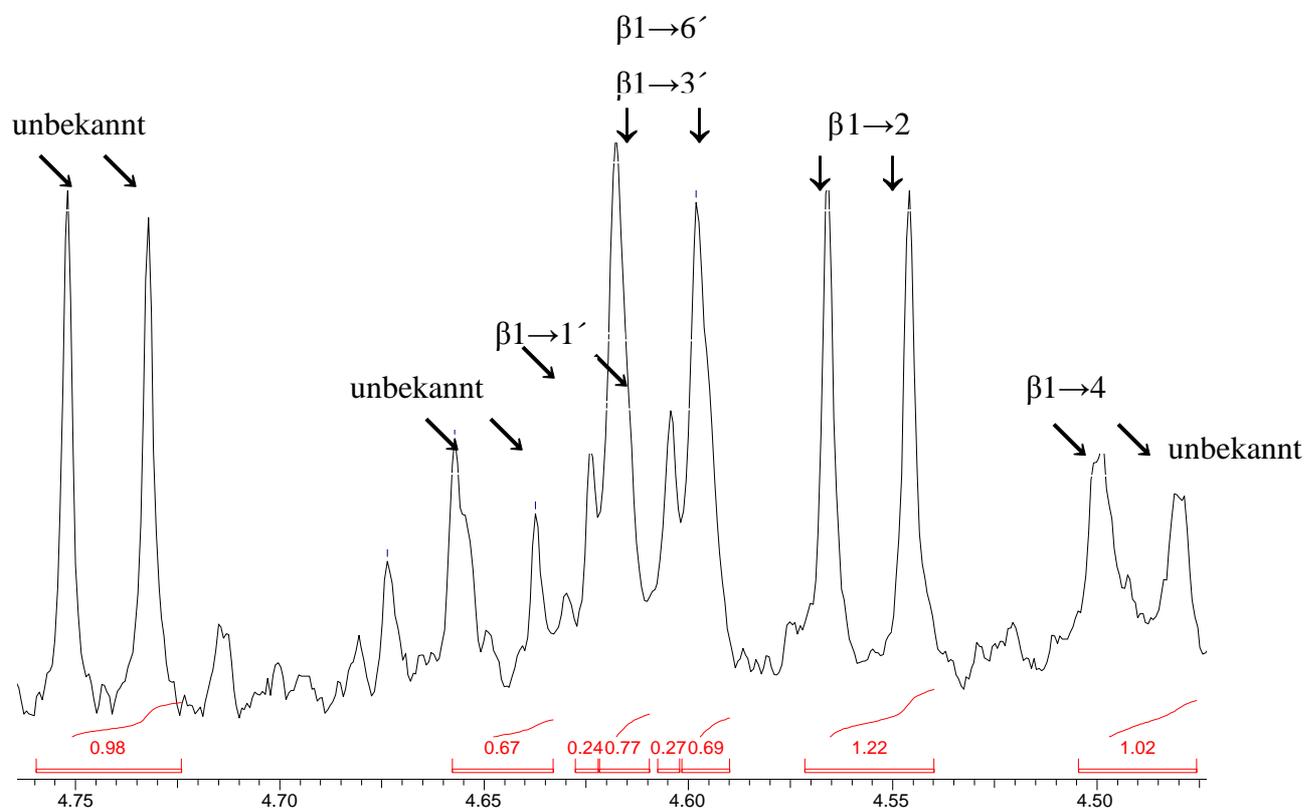


Abbildung 34: Zufallsgalactosylierung von Saccharose.

Nach säulenchromatographischer Reinigung werden 18 % eines Trisaccharidgemisches erhalten. Zur Analyse des Produktgemisches wird wieder eine Methylierungsanalyse durchgeführt, die allerdings keine vollständige Bestimmung der Zusammensetzung des Gemisches erlaubt. Es werden nur die vier Produkte gefunden, bei denen die Galactosylierung am Glucoseteil der Saccharose stattfindet. Es entstehen jedoch auch mindestens drei am Fructoseteil galactosylierte Trisaccharide, wie durch eine säulenchromatographische

Antrennung des peracetylierten Produktgemisches an Kieselgel und anschließende Analyse der NMR-Spektren nachgewiesen werden kann (Abbildung 35).



**Abbildung 35:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von den anomeren Protonen der Galactose-Bausteine im Galactosylsaccharose-Gemisch.

In diesem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum erkennt man acht zu Dubletts aufgesplante Signale im Bereich der anomeren Protonen der Galactose-Einheiten, die zu den verschiedenen Regioisomeren gehören. Vier davon lassen sich durch Vergleich mit den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der Referenzsubstanzen, die säulenchromatographisch aus dem Gemisch isoliert werden können, identifizieren. Es sind dies drei am Fructoseteil galactosylierte Trisaccharide **28**, **30**, **31** und eine am Glucoseteil galactosylierte Verbindung **24**. Das Vorliegen von  $\beta$ -Verknüpfungen wird auf Grund der Kopplungskonstanten von 7.9 bis 8.1 Herz gesichert.

Hinweise auf  $\alpha$ -verknüpfte Produkte gibt es keine, weder im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum noch im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum.

Zum Vergleich mit dem  $\beta 1 \rightarrow 4$  verknüpften Produkt **26** wird käuflich erwerbbares Lactosucrose peracetyliert.

Ein Vergleich der Integrale lässt eine Abschätzung der prozentualen Anteile zu (Tabelle 4).

Verknüpfung / Verbindung	Anteil [%]	
$\beta 1 \rightarrow 1'$	<b>31</b>	9
$\beta 1 \rightarrow 3'$ , $\beta 1 \rightarrow 6'$	<b>28, 30</b>	25
$\beta 1 \rightarrow 2$	<b>24</b>	21
$\beta 1 \rightarrow 4$	<b>26</b>	9
$\beta 1 \rightarrow 3$ , $\beta 1 \rightarrow 6$ , $\beta 1 \rightarrow 4'$	<b>25, 27, 29</b>	36

Tabelle 4: Abschätzung der Produktverteilung aus  $^1\text{H-NMR}$ -Daten bei der Zufallsgalactosylierung von Saccharose.

Warum die am Fructoseteil galactosylierten Trisaccharide durch die Methylierungsanalyse nicht nachgewiesen werden können, ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch unklar. Es ist jedoch bekannt, dass Methylierungsanalysen von Ketohexosen und Derivaten Probleme bereiten können, weil diese Zucker oft sehr säureempfindlich sind.<sup>64-66</sup> Es wird daher angenommen, dass bei der sauren Hydrolyse der glycosidischen Bindungen während der Methylierungsanalyse eine Zersetzung auftritt. Daher werden verschiedene andere Hydrolysemethoden ausprobiert, die jedoch alle nicht zum Erfolg führen. Entweder werden die glycosidischen Bindungen der Regioisomere nur unvollständig hydrolysiert, oder die am Fructoseteil galactosylierten Trisaccharide können im GC-MS nach der Methylierungsanalyse nicht detektiert werden. Auch ein spezielles Reagenz, 4-Methylmorpholinboran, welches bei der sauren Hydrolyse hinzugegeben wird, bringt keinen Erfolg (Abbildung 36).

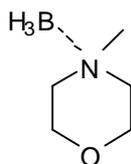
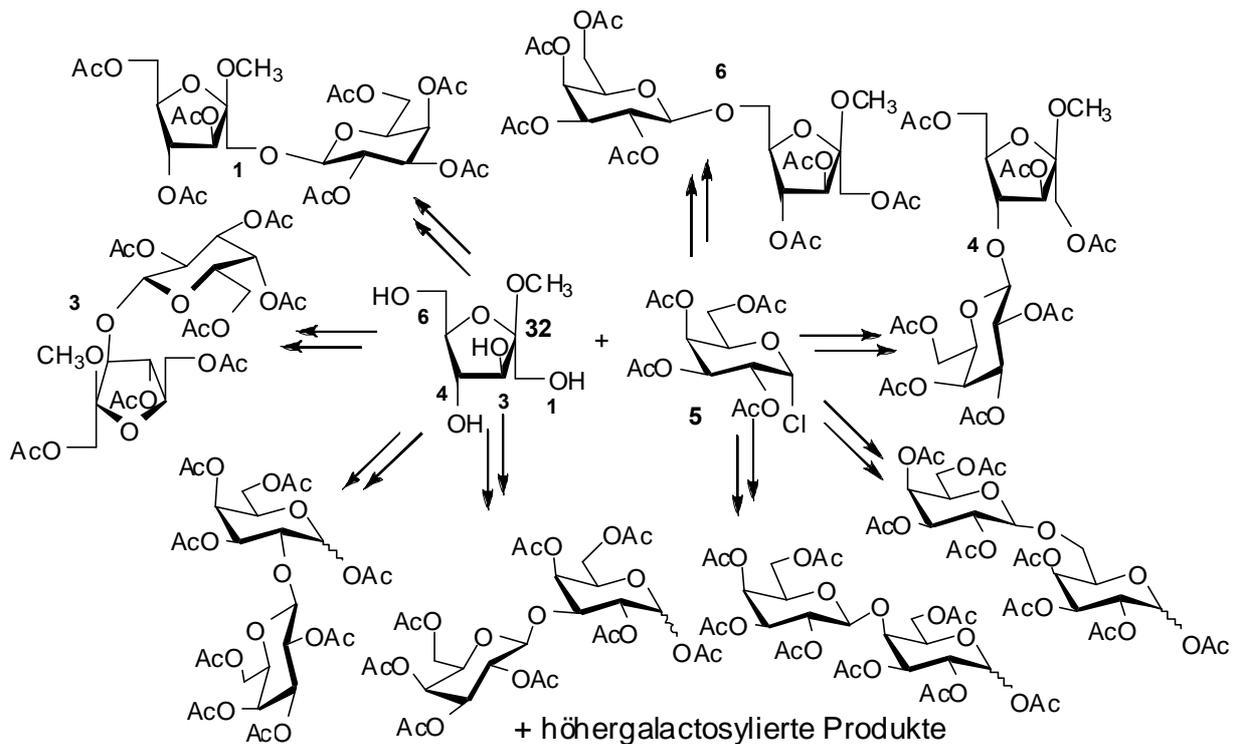


Abbildung 36: 4-Methylmorpholinboran

4-Methylmorpholinboran soll die bei der Hydrolyse freiwerdenden Carbonylgruppen sofort reduzieren, um eine Zersetzung zu vermeiden. Dazu wird das Galactosylsaccharose-Gemisch zunächst mit Trifluoressigsäure und Methylmorpholinboran eine Stunde auf 60 °C erhitzt, um zunächst den Fructoseanteil zu hydrolysieren und zu reduzieren. Danach wird frisches Methylmorpholinboran zugesetzt und eine Stunde auf 120 °C erhitzt. Diese Umsetzung wird bei vier verschiedenen Konzentrationen von Trifluoressigsäure ausgeführt: 1M, 2M, 3M und 4M. Die Produkte werden nach einer Peracetylierung mit GC-MS untersucht. Es gibt jedoch in keinem der Spektren Hinweise auf Fructose oder andere Bestandteile der Trisaccharide. Es muss daher davon ausgegangen werden, dass die Reduktion mit Methylmorpholinboran nicht gelungen ist.

Daher wird noch einmal eine Hydrolyse mit Trifluoressigsäure ohne Methylmorpholinboran durchgeführt, allerdings nun auch in zwei Schritten: einmal bei 60 °C mit anschließender Reduktion mit Natriumbordeuterid und noch einmal bei 120 °C mit anschließender Reduktion und Peracetylierung. Das hiervon gemessene GC-MS zeigt jedoch wieder nur die galactosylierten Glucoseanteile der Galactosylsaccharosen.

Um das Problem näher zu untersuchen, wird Methyl- $\alpha$ -D-fructofuranosid (**32**) mit Acetochlorgalactose unter den gleichen Reaktionsbedingungen wie Saccharose umgesetzt (Abbildung 37).

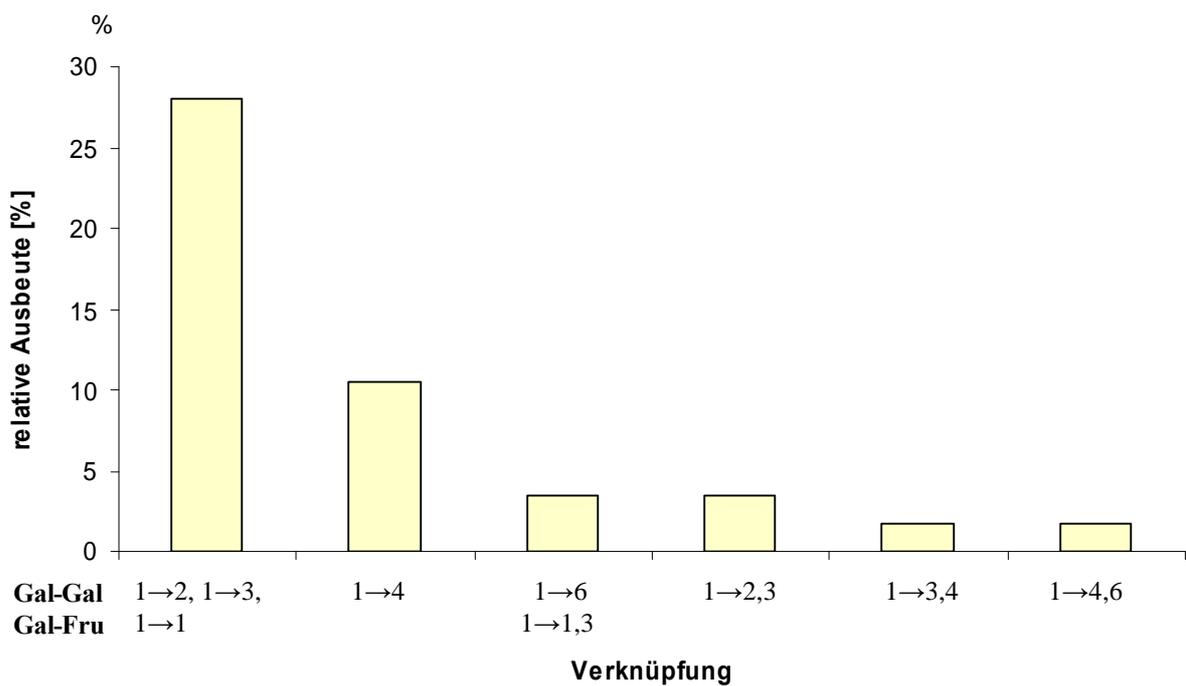


**Abbildung 37:** Galactosylierung von Methyl- $\alpha$ -D-fructofuranosid.

Die Ausbeute beträgt hier nur 10 %. Eine säulenchromatographische Trennung und NMR-Analyse der entstandenen Produkte gelingt in diesem Fall nicht. Es wird daher eine Methylierungsanalyse durchgeführt. Deren Ergebnisse sind allerdings sehr schwierig zu interpretieren, da auch hier, wie in Kapitel 3.3. beschrieben, eine Selbstglycosylierung des Glycosyldonors auftritt. Dies ist in diesem Fall auch die Hauptreaktion, der Anteil an Selbstglycosylierung beträgt ca. 75 %.

Auf Grund der Retentionszeiten in der Gaschromatographie können einige Produkte, die durch Eigenglycosylierung des Glycosyldonors entstanden sind, identifiziert werden, wobei sich die Integrale im GC-Spektrum aber überlagern.

Weitere Produkte können nicht eindeutig galactosylierten Galactosen oder Fructosen zugeordnet werden. Die prozentuale Verteilung gibt Diagramm 8 wieder.



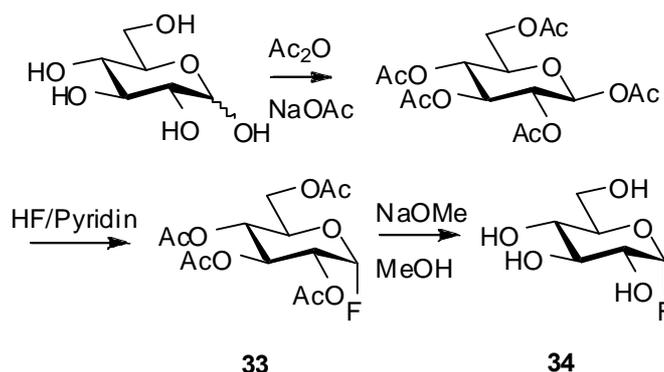
**Diagramm 8:** Ergebnisse der Methylierungsanalyse nach der Galactosylierung von Methyl- $\alpha$ -D-fructofuranosid.

Somit bleibt nur die Auswertung des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums des Galactosylsaccharose-Gemisches zur Bestimmung der Zusammensetzung.

### 3.5. Oligo- und Polysaccharidbibliotheken

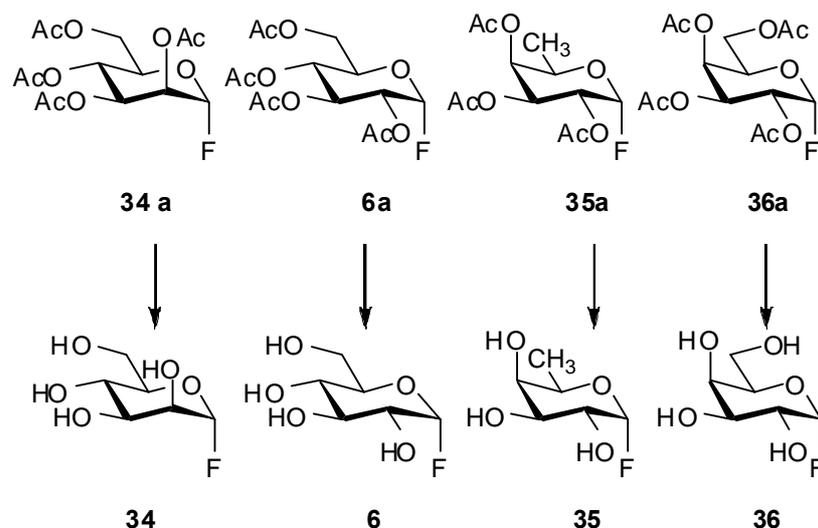
In diesem Kapitel soll gezeigt werden, dass sich mit der anionischen Glycosylierungsmethode auch höhere Umsätze erzielen lassen, wenn man stabilere Glycosyldonoren einsetzt.

Glycosylfluoride sind als sehr stabile Glycosyldonoren bekannt. Sie wurden lange Zeit in der Kohlenhydratchemie eher selten für Glycosylierungen eingesetzt, da sie als zu unreaktiv galten, um als Glycosyldonor Verwendung finden zu können. In den sechziger Jahren führte Micheel et al.<sup>67, 68</sup> erste Untersuchungen durch. Eine breitere Anwendung fanden Glycosylfluoride aber erst, als T. Mukaiyama et al. sowie J. Thiem und M. Kreuzer gut handhabbare fluorophile Glycosylierungskatalysatoren wie Titanetrafluorid einführten.<sup>69 - 71</sup> Zur Darstellung der Glycosylfluoride kann man mittlerweile aus einer breiten Palette von Möglichkeiten auswählen.<sup>72</sup> In dieser Arbeit wird die von S. Schröder beschriebene Methode gewählt, weil sie einfach durchzuführen ist und gute Ausbeuten liefert (Abbildung 38).<sup>73</sup>



**Abbildung 38:** Darstellung von ungeschützten  $\alpha$ -D-Glycopyranosylfluoriden am Beispiel von  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid.

Zunächst wird ein  $\beta$ -Pentaacetat des Monosaccharids hergestellt. Der peracetylierte Zucker wird dann in einer 70 %igen Lösung von Fluorwasserstoff in Pyridin gelöst und bei Raumtemperatur gerührt. Diese Methode liefert ausschließlich das  $\alpha$ -Glycopyranosylfluorid in etwa um 10% höhere Ausbeuten gegenüber der von Sharma et al., da der peracetylierte Zucker direkt im Reagenz gelöst wird.<sup>74</sup> Eine anschließende Deacetylierung nach Zémlen führt zum ungeschützten  $\alpha$ -D-Glycopyranosylfluorid. Abbildung 39 zeigt die gewählten Ausgangsverbindungen:  $\alpha$ -D-Mannopyranosylfluorid (34),  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid (6),  $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid (35) und  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid (36).<sup>75, 76</sup>



**Abbildung 39:** Verwendete Glycosylfluoride.

Polymerisationen mit Glycosylfluoriden sind bislang nur von R. Leino et al. in einer Patentanmeldung beschrieben worden.<sup>29</sup> Dort wurden verschiedene Glycosylfluoride bei hohen Temperaturen mit anorganischen Säuren inkubiert. Die erreichten Molmassen liegen im Bereich um 1000 – 2000 Dalton, was etwa 7-15 Monomereinheiten entspricht.

Im Folgenden soll gezeigt werden, dass Glycopyranosylfluoride auch basisch bei moderaten Temperaturen polymerisiert werden können.

Zunächst wird die Polymerisation mit  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid durchgeführt (Abbildung 40). Mit diesem Baustein sollen die Reaktionstemperatur und -zeit optimiert werden, um dann auch die anderen Zucker auf die gleiche Weise umzusetzen.

Die Untersuchungen von F. Micheel lassen eine  $\beta$ -Konfiguration der entstehenden glycosidischen Bindungen erwarten.<sup>67</sup> Ob dies tatsächlich der Fall ist, lässt sich jedoch nicht feststellen, da diese Information in der späteren Methylierungsanalyse verloren geht und NMR-Spektroskopische Untersuchungen auf Grund der Komplexität der entstehenden Produktgemische hoffnungslos sind.



Der Zucker wird zunächst in *N, N*- Dimethylformamid gelöst und mit einem Äquivalent Lithiumhydrid versetzt. Anschließend wird die Lösung solange bei 22 mbar und 0°C gerührt, bis keine Gasentwicklung mehr zu sehen ist. Danach wird die Lösung eine Stunde erhitzt.

Ein Vergleich der MALDI-TOF-Spektren, die von Umsetzungen bei 20 °C, 40 °C, 60 °C und 90 °C aufgenommen wurden, zeigt, dass bei 40 °C die Umsetzung am besten verläuft. Hier werden die größten Molekülmassen gefunden. Bei 0°C findet noch keine Umsetzung statt, wie ebenfalls per MALDI-TOF-Spektrometrie festgestellt wird.

An dieser Stelle muss angemerkt werden, dass die MALDI-TOF-Spektren der ungeschützten Oligo- und Polymere wegen schlechter Flugeigenschaften dieser Moleküle meist nicht sehr aussagekräftig sind. Daher werden alle Proben vor der Messung permethyliert, um die Flugeigenschaften der Saccharide zu verbessern. Ein Beispiel für ein solches Spektrum zeigt Abbildung 41. Die höchsten gefundenen Molmassen entsprechen Polymeren mit bis zu 25 Monomereinheiten.

*N, N*- Dimethylformamid hat sich als geeignetes Lösungsmittel herausgestellt. Es löst die Edukte hinreichend gut und ist, verglichen mit Dimethylsulfoxid und Sulfolan, unter den basischen Reaktionsbedingungen verhältnismäßig stabil. In Diethylendiglycoldimethylether löst sich  $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid (**35**) im Ultraschallbad zwar zunächst auf, fällt jedoch nach Abschalten des Ultraschalls schnell wieder aus. Eine Testumsetzung von  $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid in Diethylendiglycoldimethylether mit Lithiumhydrid führt erwartungsgemäß nicht zu nachweisbaren höheren Sacchariden, da angenommen wird, dass das Lithiumalkoholat auf Grund seiner gegenüber dem Edukt nochmals erhöhten Polarität in Diethylendiglycoldimethylether erst recht unlöslich ist. Die anderen Glycosylfluoride lösen sich auch im Ultraschall nicht in Diethylendiglycoldimethylether.

Es werden auch einige Experimente durchgeführt mit  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid und Lithiumhydrid, bei denen die Erwärmung des Reaktionsmediums durch das Einstrahlen von Mikrowellen erreicht wird. Die MALDI-TOF-Spektren der Produkte zeigen jedoch beträchtlich kürzere Kettenlängen als bei den im Ölbad erhitzten Proben. Daher wird diese Idee nicht weiter verfolgt.

Über die Ursache lässt sich an dieser Stelle nur spekulieren. Dazu soll zunächst kurz das Prinzip der Mikrowellen vermittelten Reaktionsführung erläutert werden.<sup>77</sup>

Mikrowellen werden von polaren Medien absorbiert. Je größer die Polarität des absorbierenden Materials ist, umso besser fällt die Absorption der Strahlung aus. Daher

absorbieren Alkoholate Mikrowellenstrahlung sehr stark und zwar am Ort ihrer elektrischen Ladung. Dadurch entsteht eine starke, örtlich eng begrenzte Überhitzung, ein „hot Spot“. Von hier wird die thermische Energie dann auf die Umgebung übertragen.

Weitere Unterschiede zum klassischen thermischen Erhitzen bestehen in der Möglichkeit, polare Substanzen sehr viel schneller als mit klassischen Methoden aufzuheizen sowie dem Erhitzen von Lösungsmitteln über ihren Siedepunkt bei Normaldruck hinaus, wenn das Reaktionsgefäß abgeschlossen ist.

Beim Erhitzen von in *N, N*-Dimethylformamid gelösten Glycosylfluoriden mit Mikrowellenstrahlung, welche vorher mit Lithiumhydrid deprotoniert wurden, wird demnach die Strahlung vom Zuckeralkoholat wegen seines ionischen Charakters stark absorbiert. Somit erhöht sich vermutlich die Reaktivität des Glycosylakzeptors. Allerdings sind Alkoholate normalerweise auch ohne die Anregung durch Mikrowellen sehr reaktive Verbindungen. In den getesteten Fällen (Reaktionsdauer: 2 Stunden bei 40 °C bzw. bei 60 °C) lassen sich zwar nach Permethylierung der Proben Disaccharide und kurzkettige Oligosaccharide im MALDI-TOF-Spektrum nachweisen, jedoch fällt eine Schwarzfärbung der Lösung nach der Polymerisation negativ auf. Offenbar führt die Anregung der Alkoholate durch Mikrowellenstrahlung auf Grund ihrer Basizität zur teilweisen Zersetzung der Zucker oder des Lösungsmittels.

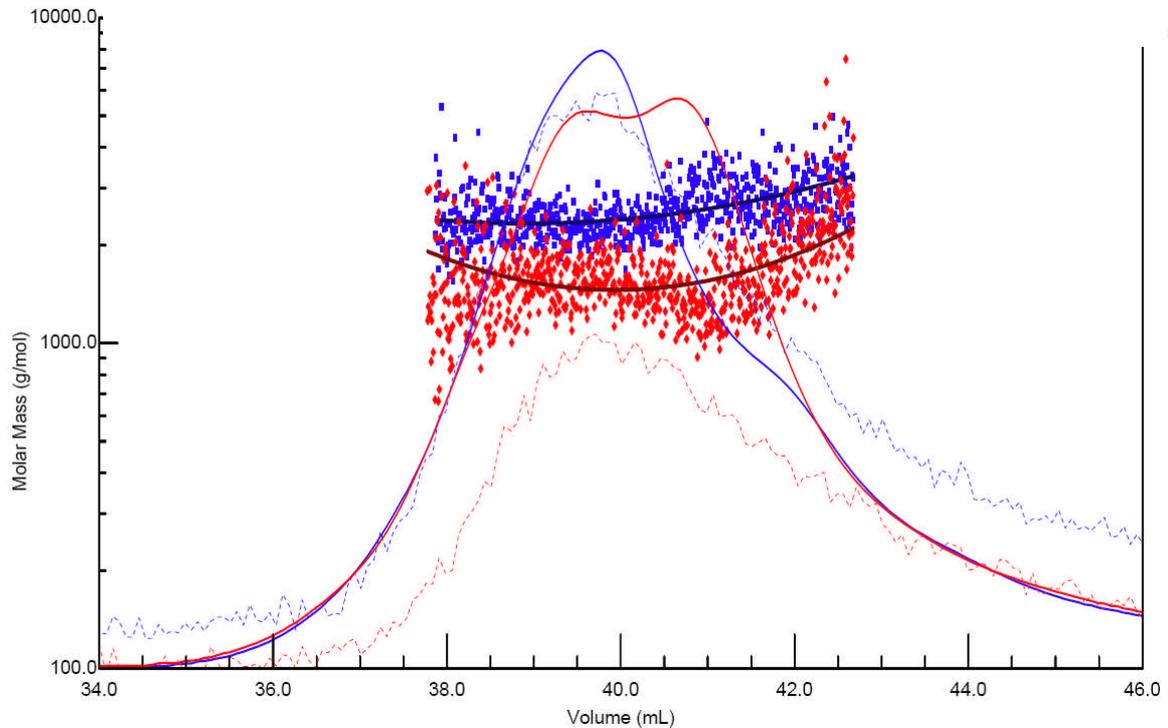
Weiterhin soll auch die Reaktionsdauer optimiert werden. Dazu wird eine Polymerisation von  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid bei 40 °C gestartet, und es werden nach bestimmten Zeiten fünf Proben genommen. Danach werden die Molmassen der Polymere bestimmt.

Eine erste Tendenz geben MALDI-TOF-Spektren an, welche aber nur qualitative Schlussfolgerungen erlauben, da die Peakintensität sehr von den Flugeigenschaften der einzelnen Moleküle abhängig und daher nicht quantifizierbar ist.

Es werden daher auch GPC-Messungen durchgeführt. Diese sind allerdings ebenfalls nicht sehr aussagekräftig, weil die Molmassen der Proben in einem niedrigen Bereich liegen, der experimentell nicht richtig erfasst werden kann. Es lassen sich daher aus den Messungen ebenfalls nur qualitative Aussagen über die Molmassen treffen. Ein Beispiel soll dies illustrieren.

Abbildung 42 zeigt die mit GPC ermittelten Molmassenverteilungen von Glucosylpolymeren, hergestellt in *N, N*-Dimethylformamid bei 40 °C, einem Äquivalent Lithiumhydrid und zwei Stunden Reaktionsdauer. Die Messpunkte im oberen blauen Bereich (Molmassen um 2000 Dalton) geben eine einfache Umsetzung wieder, die Messpunkte im unteren roten Bereich

zeigen die Molmassen nach einer nochmaligen Glucosylierung des Rohproduktes aus der ersten Umsetzung (Molmassen um 1500 Dalton).

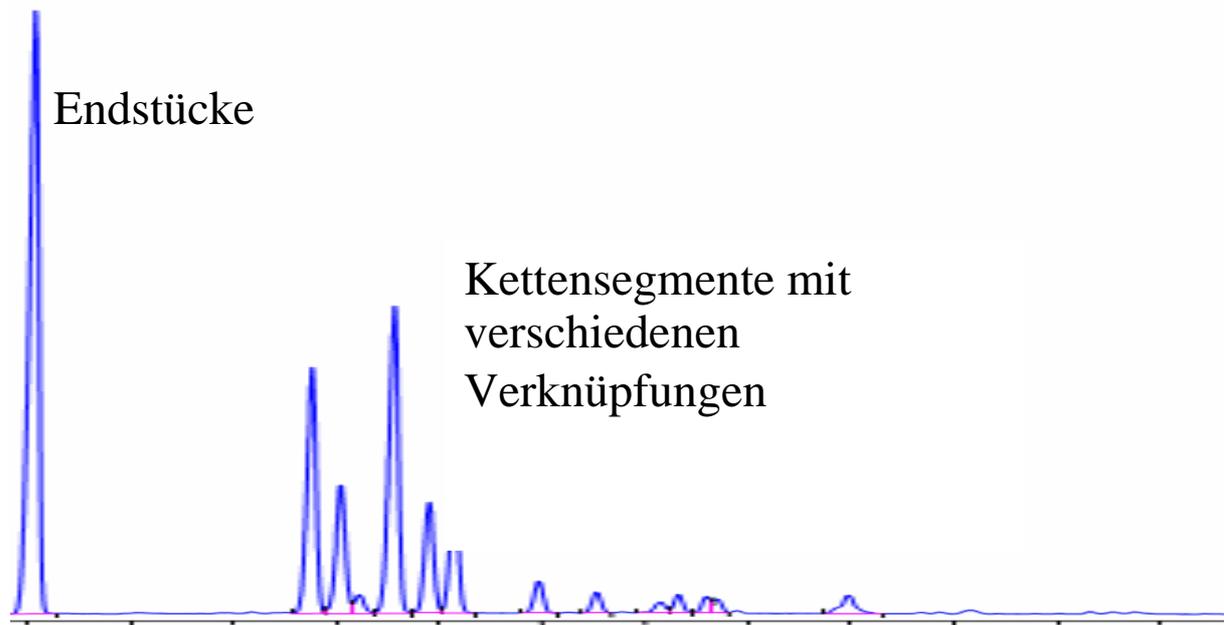


**Abbildung 42:** GPC-Messung von Glucosylpolymeren. Messpunkte in blau (oben) für einfache Umsetzung ( $M_w \sim 2000$ ) und rot (unten) für nochmalige Glucosylierung.

Die Messwerte weisen eine sehr starke Streuung und einen untypischen Kurvenverlauf auf, so dass keine exakten Daten mit der GPC-Methode erhalten werden können.

Daher muss eine weniger gängige Methode zur Molmassenbestimmung verwendet werden, die Methylierungsanalyse.

Aus dem Gaschromatogramm am Ende der Methylierungsanalyse kann man nicht nur die statistische Verteilung der Verknüpfungen erhalten, sondern auch die durchschnittliche Kettenlänge bestimmen. Dies soll an einem Beispielchromatogramm erläutert werden (Diagramm 9).



**Diagramm 9:** Gaschromatogramm nach der Methylierungsanalyse eines Saccharidgemisches aus der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid.

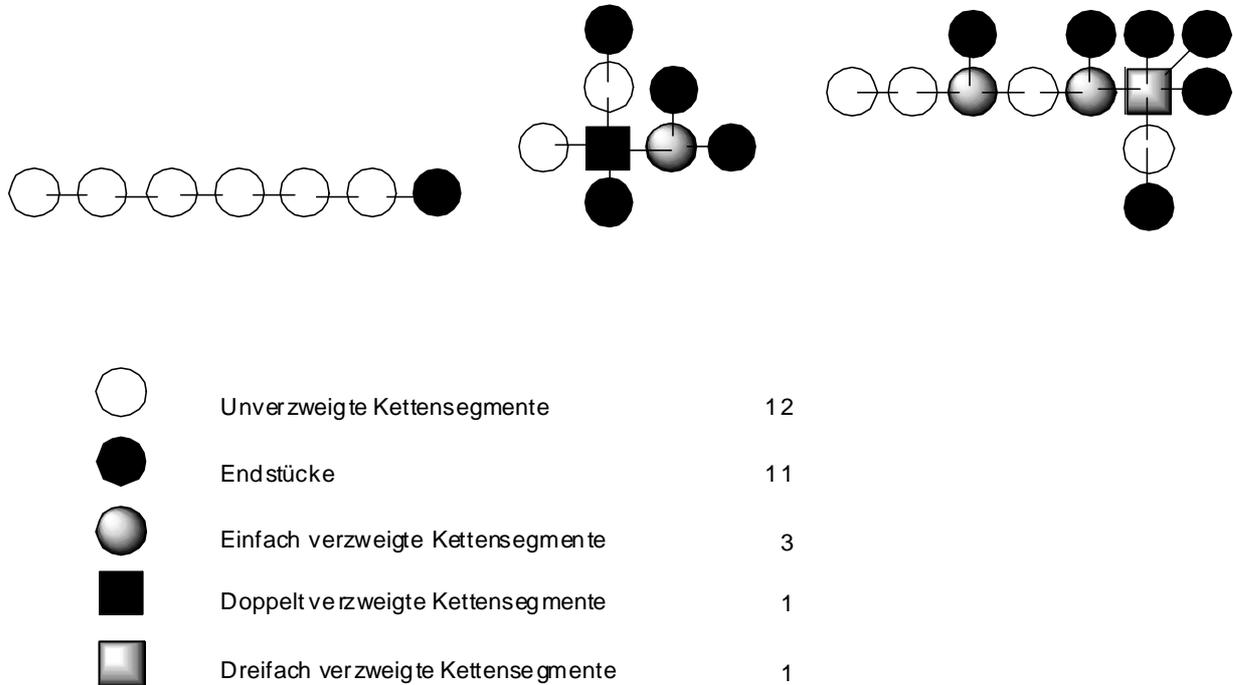
Man findet Peaks sowohl für die Kettenendstücke als auch für die inneren Kettensegmente, wobei diese je nach Verknüpfungsmuster eine verschiedene Retentionszeit besitzen. Man kann nun durch Integration über die Peakfläche sowohl die prozentualen Anteile der einzelnen Kettenbestandteile als auch das Verhältnis der Anzahl der Kettensegmente zur Anzahl der Endstücke bestimmen, woraus sich eine durchschnittliche Kettenlänge ergibt. Man muss dabei nur berücksichtigen, dass Verzweigungen zu zusätzlichen Kettenenden führen.

Dazu wird folgende Formel zur Berechnung der durchschnittlichen Kettenlänge entwickelt:

$$\text{Durchschnittskettenlänge} = (x + a + b + c + d) / (x - b - 2c - 3d) = 100 / (x - b - 2c - 3d)$$

- mit:
- x = Kettenendstücke [%]
  - a = unverzweigte Kettenglieder [%]
  - b = einfach verzweigte Kettensegmente [%]
  - c = zweifach verzweigte Kettensegmente [%]
  - d = dreifach verzweigte Kettensegmente [%]

Da Kohlenhydratpolymere bisher nicht auf diese Weise auf ihre Molmassen hin untersucht worden sind, soll dies am Beispiel eines Gemisches von drei Polysacchariden erläutert werden (Abbildung 43).



**Abbildung 43:** Beispiel zur Erläuterung der Berechnung der durchschnittlichen Kettenlänge bei Saccharidgemischen.

In diesem Beispiel von drei unterschiedlichen Polymeren (Kettenlänge: 7, 8 und 13 Monomerbausteine) gibt es zwölf unverzweigte, drei einfach verzweigte Kettensegmente, ein doppelt verzweigtes, ein dreifach verzweigtes Kettensegment und elf Endstücke. Bei 28 Kettengliedern, die sich auf drei Moleküle verteilen, ergibt sich eine durchschnittliche

Kettenlänge von 9.33 Kettengliedern. Auf dieses Ergebnis kommt man mit der oben angegebenen Formel, wenn man die Werte einsetzt:

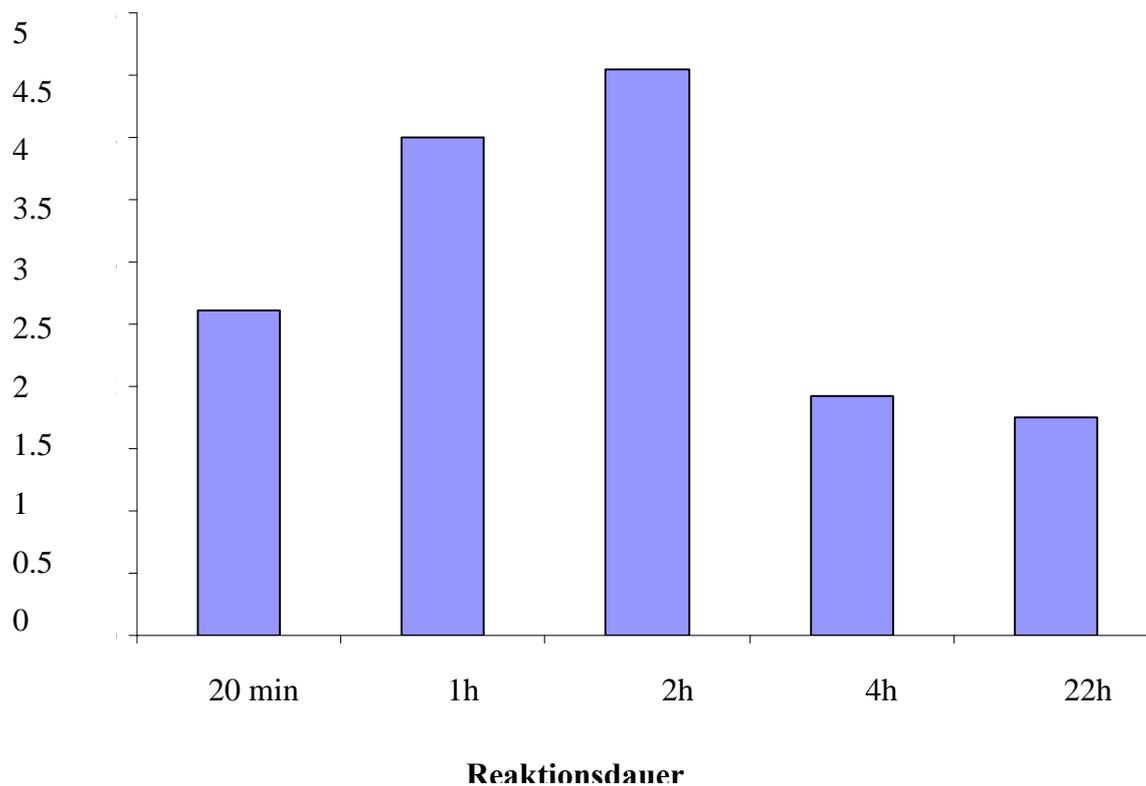
$$28 / (11 - 3 - 2 - 3) = 28 / 3 = 9.33$$

Aus den Methylierungsanalysen erhält man keine absoluten Zahlen der einzelnen Bausteine, sondern ihre prozentualen Verhältnisse. Damit kann man die Rechnung jedoch genauso ausführen:

$$100\% / (39.28 - 10.71 - 7.14 - 10.71)\% = 100\% / 10.72\% = 9.33$$

Die Berechnung der durchschnittlichen Kettenlängen der Glucosylpolymere aus den Methylierungsanalysen der fünf Proben ergibt folgendes Bild (Diagramm 10):

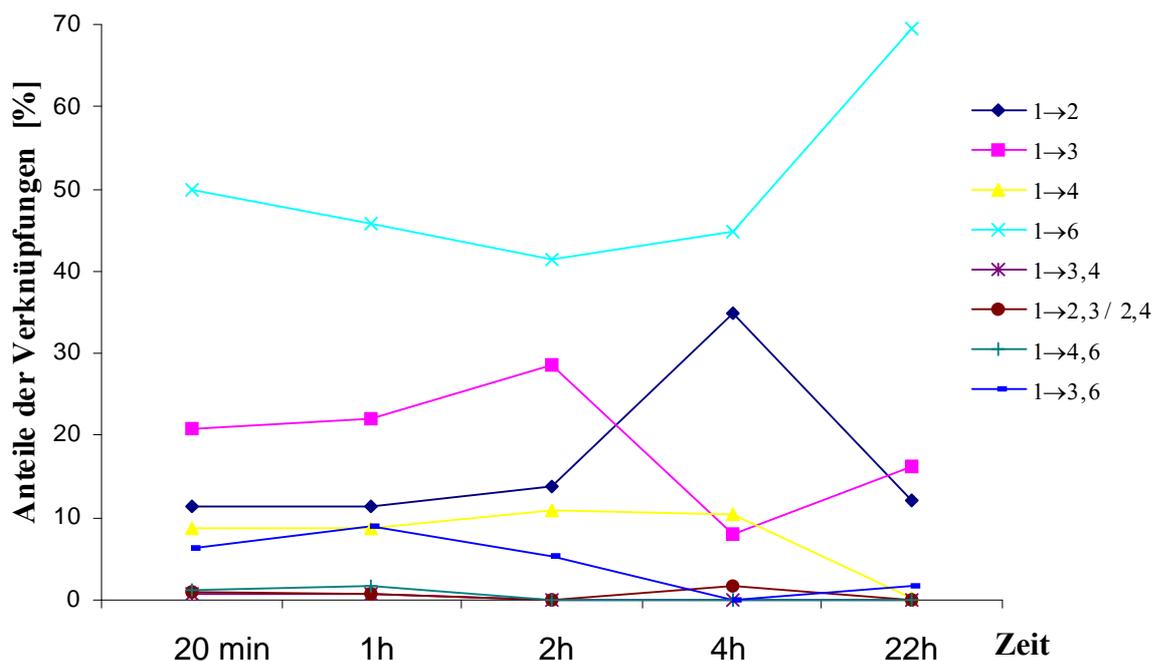
### Durchschnittliche Kettenlänge [Monomereinheiten]



**Diagramm 10:** Durchschnittliche Kettenlängen der Produkte bei der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid nach verschiedenen Zeiten und 40 °C.

Es zeigt sich, dass die Oligomere nach zwei Stunden die größte durchschnittliche Kettenlänge besitzen. Vermutlich findet danach bedingt durch das basische Reaktionsmilieu eine Zersetzung der Oligomere statt.

Die anschließende Methylierungsanalyse der Oligomere zeigen folgende Diagramm 11:

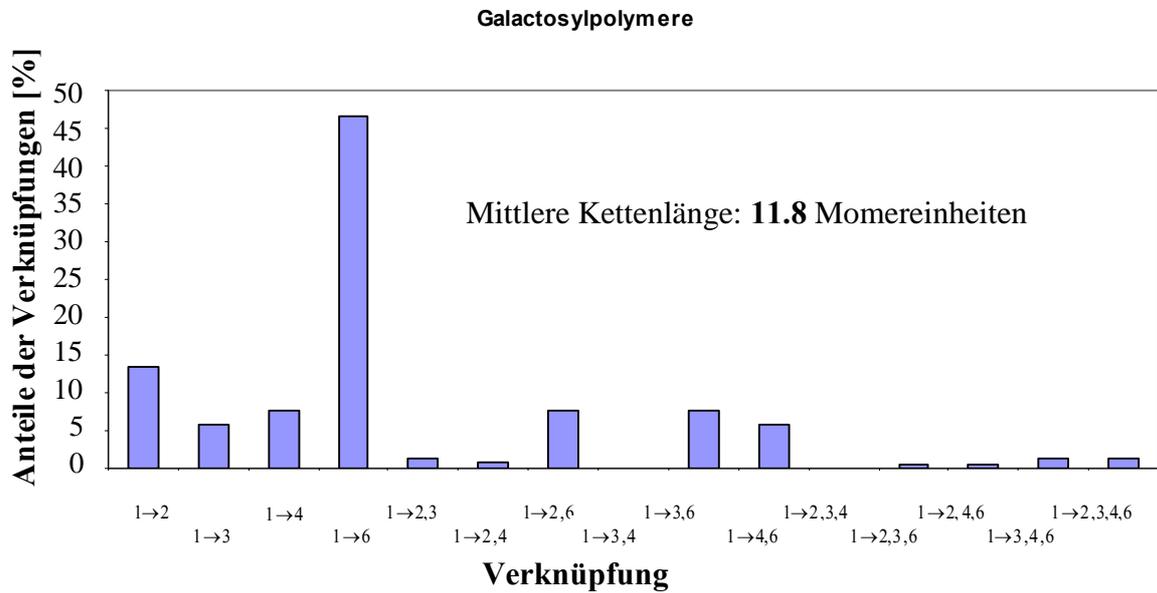


**Diagramm 11 :** Entwicklung der prozentualen Anteile der Verknüpfungen bei der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid nach verschiedenen Zeiten bei 40 °C.

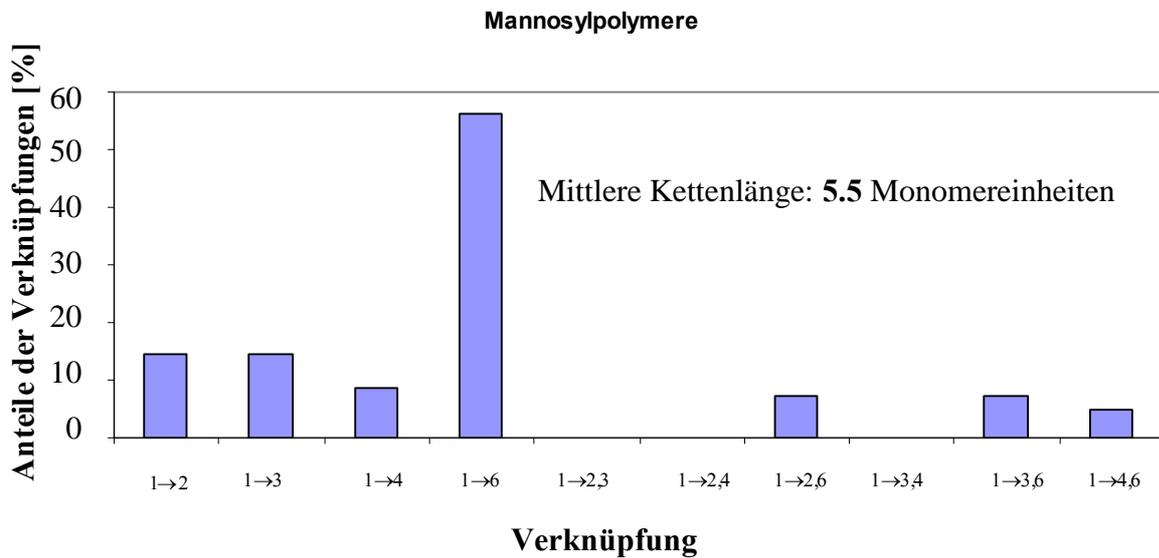
Aus diesen Daten kann man eine Hypothese über den Verlauf der Polymerisation erstellen. Als Grundlage dient die Annahme, dass die Bildung der Oxianionen bei der Reaktion des Glycosylfluorids mit Lithiumhydrid zu allen denkbaren regioisomeren Monolithiumsalzen führt. Dafür spricht die Tatsache, dass alle vier möglichen monoglycosylierten Kettensegmente gefunden werden. Die einzelnen Positionen sind allerdings unterschiedlich reaktiv, wie Diagramm 11 zeigt. Zunächst findet man einen großen Anteil 1→6 verknüpfte Produkte (nach 20 min Reaktionszeit ca. 50 %), der nach zwei Stunden vor allem auf Kosten der 1→3-Verknüpfung abnimmt. Dies lässt den Schluss zu, dass die Position 6 die reaktivste ist und am schnellsten reagiert. Nach zwei Stunden nimmt die durchschnittliche Kettenlänge wieder ab (Diagramm 10) und der Anteil an 1→6-Verknüpfung wieder zu. Offenbar zersetzen sich die Oligomere teilweise wieder aufgrund der basischen Bedingungen. Dabei erweist sich die 1→6-Verknüpfung als die am wenigsten empfindliche.

Um eine breitere Anwendbarkeit der Methode zu demonstrieren, sollen auch die anderen Monosaccharide (Abbildung 38) polymerisiert werden. Dabei werden die bei der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid gefundenen optimierten Reaktions-

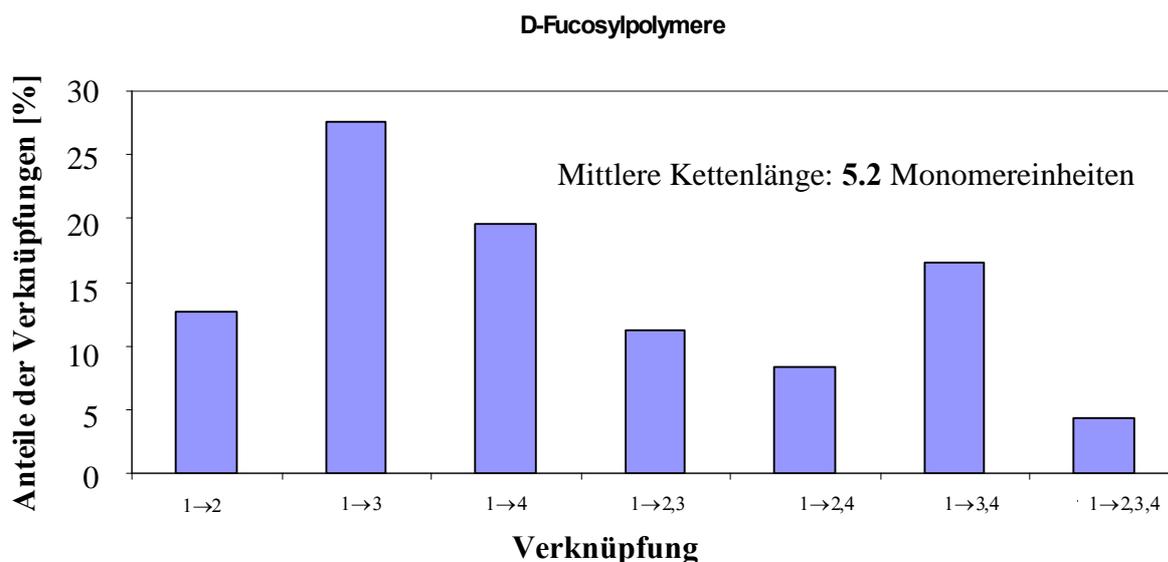
bedingungen von zwei Stunden bei 40 °C in *N, N*-Dimethylformamid übernommen. Die Ergebnisse sind in den Diagrammen 12-14 dargestellt.



**Diagramm 12:** Prozentuale Anteile der Verknüpfungen und mittlere Kettenlänge bei der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid.



**Diagramm 13:** Prozentuale Anteile der Verknüpfungen und mittlere Kettenlänge bei der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Mannopyranosylfluorid.



**Diagramm 14:** Prozentuale Anteile der Verknüpfungen und mittlere Kettenlänge bei der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid.

Es zeigt sich, dass mit allen vier verschiedenen Glycosylfluoriden Polymerisationen möglich sind. Hierbei ist auffällig, dass die 1→6 Verknüpfungen mit Anteilen um 50 % sowohl bei Oligomeren von Glucose, Galactose als auch bei Mannose dominieren. Die sekundären Hydroxygruppen unterscheiden sich hingegen nicht sehr in ihrer Reaktivität. Dies findet man auch bei der Polymerisation mit  $\alpha$ -D-Fucosylfluorid, welches keine primäre Hydroxygruppe besitzt.

Mit  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid lässt sich der höchste Polymerisationsgrad mit 11.8 Monomeren als mittlere Kettenlänge erreichen. Dies entspricht einer Molmasse von ca. 2000 Dalton.

Die Produkte der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid sind im Hinblick auf die Darstellung einer Verbindungsbibliothek sehr interessant: Alle möglichen Verknüpfungsmuster kommen in vergleichbaren Anteilen vor, so dass man davon ausgehen kann, dass alle denkbaren unterschiedlich verknüpften Saccharide in der Bibliothek enthalten sind.

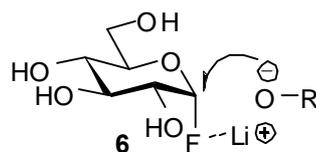
Eine Erklärung für die obigen Befunde muss berücksichtigen, dass vor der Polymerisation die Bildung des Lithium-Alkoholats stattfindet. In welchen Anteilen die verschiedenen Positionen deprotoniert werden, lässt sich auf Grund fehlender pKs-Werte zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht sagen. Weiterhin ist nicht bekannt, in welcher Weise das sehr polare, Wassertoffbrücken bildende DMF die verschiedenen Lithium-Alkohlolate stabilisieren kann. Es ist auch möglich, dass sich nach der Deprotonierung durch einen inter- oder intramolekularen Austausch von

Protonen und Lithiumkationen die prozentualen Anteile der zunächst gebildeten Alkoholate verändern. Da die prozentualen Anteile der Verknüpfungen immer recht ähnlich sind, kann es sein, dass sich nach einiger Zeit ein Gleichgewicht einstellt und die prozentualen Anteile der Alkoholate dann konstant bleiben.

Dagegen sprechen allerdings die Befunde aus Diagramm 11, in dem der zeitliche Verlauf der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid dargestellt wird. Dort wird deutlich, dass zunächst vorwiegend Position 6 reagiert. Danach nimmt der Anteil 1 $\rightarrow$ 6-verknüpfter Produkte wieder ab solange die Polymerisation fortschreitet. Dies lässt die Vermutung zu, dass die Polymerisation schneller abläuft, als die Einstellung eines Gleichgewichtes zwischen den verschiedenen Alkoholaten. Wäre es anders, sollte sich das Verhältnis der Verknüpfungen im Verlauf der Polymerisation nicht ändern. Die prozentualen Anteile der Verknüpfungen in den Produkten sollten daher den prozentualen Anteilen bei der Deprotonierung entsprechen. Um eine Vorhersage über die Anteile der Verknüpfungen treffen zu können, müssen also die pKs-Werte bekannt sein.

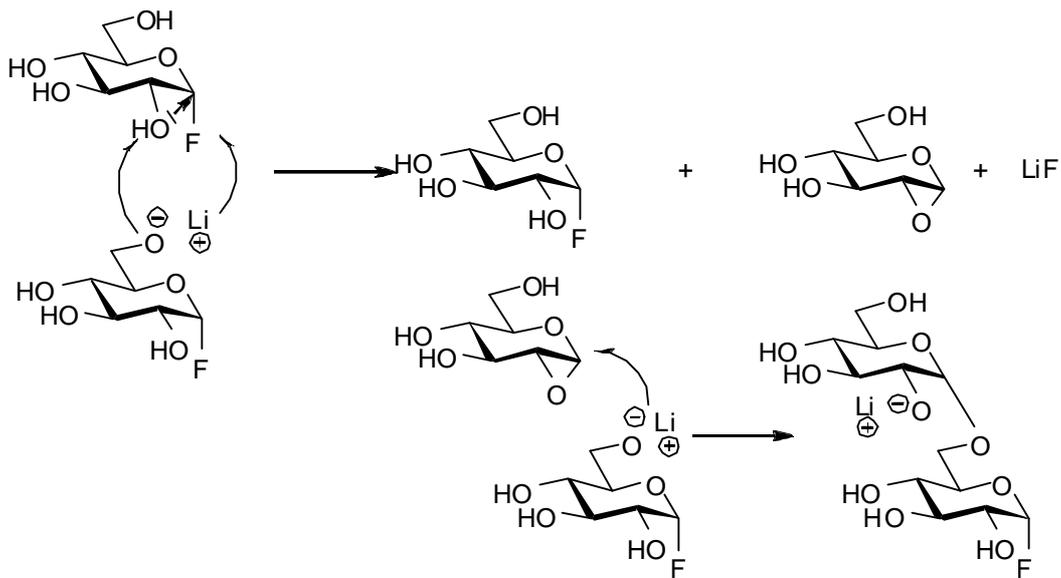
Der Mechanismus der Knüpfung der glycosidischen Bindungen ist bis jetzt noch unklar. Im Folgenden sollen zwei denkbare Reaktionsmechanismen diskutiert werden.

- a) Eine Möglichkeit ist ein Reaktionsmechanismus analog der Williamson-Ether-Synthese (Abbildung 44).



**Abbildung 44:** Mechanismus der Williamson-Ether-Synthese

- b) Denkbar ist auch die zwischenzeitliche Bildung eines Epoxids, welches danach nukleophil von einem Alkoholat angegriffen wird (Abbildung 45).

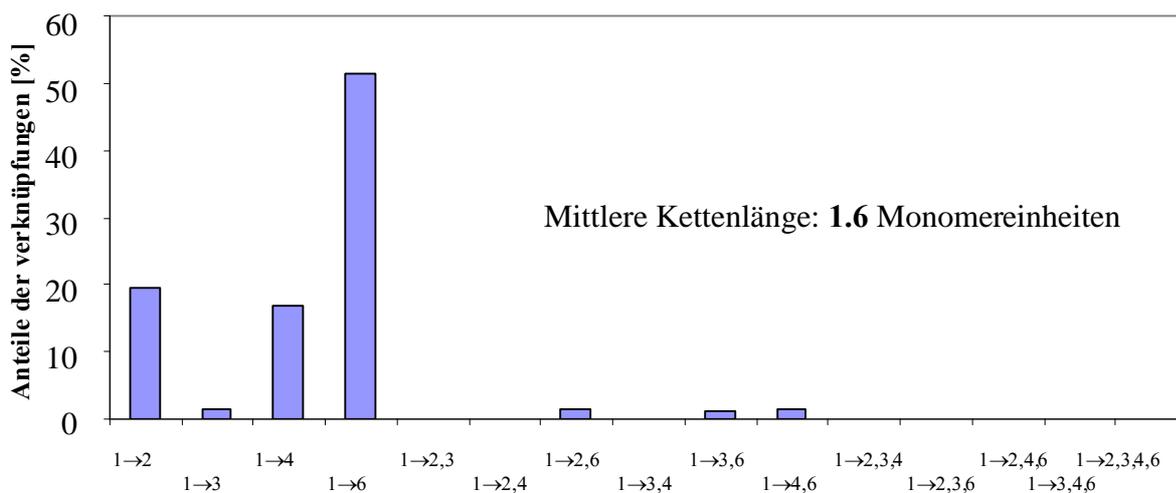


**Abbildung 45:** Glycosylierung durch nukleophilen Angriff auf ein Epoxid.

Gegen den Mechanismus b) sprechen die Resultate der Methylierungsanalysen, wonach die Hydroxygruppen an Position 6 am reaktivsten sind. Nach b) entsteht aus dem Epoxidzucker ein Alkoholat an Position 2. Daher sollten diese Verknüpfungen dominieren, falls die Reaktion nach Mechanismus b) verläuft. Ein Mechanismus analog der Williamson-Ether-Synthese erscheint daher wahrscheinlicher.

Um zu testen, ob eine höherer Anteil deprotonierter Hydroxygruppen zu einer Verbesserung der Polymerisation führt, werden auch Polymerisationen von  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid,  $\alpha$ -D-Mannopyranosylfluorid,  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid und  $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid bei 40 °C und zwei Stunden Reaktionszeit mit zwei Äquivalenten Lithiumhydrid durchgeführt. Es stellt sich jedoch heraus, dass die mittleren Kettenlängen meist deutlich kürzer ausfallen als bei der Verwendung von einem Äquivalent Lithiumhydrid. Die Ergebnisse der Methylierungsanalysen sind in den Diagrammen 15 und 16 dargestellt.

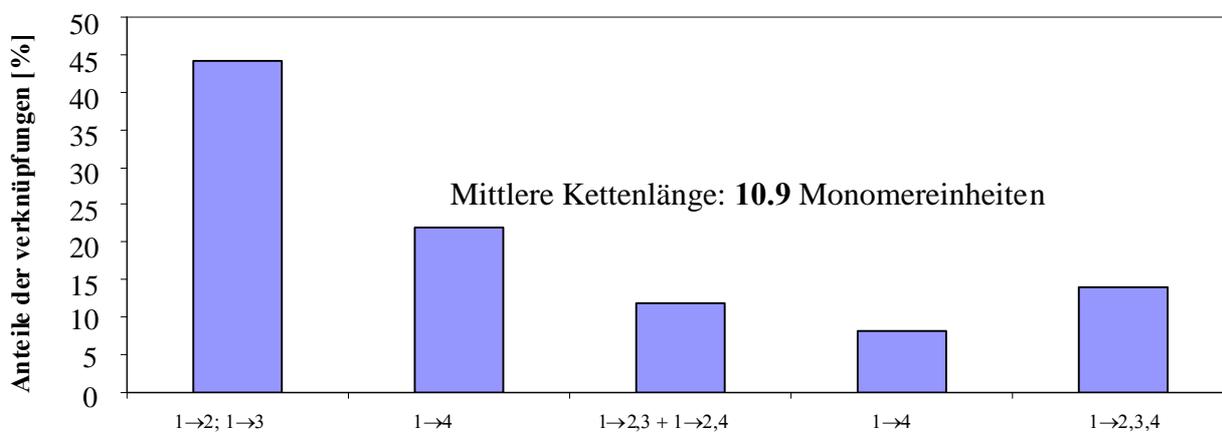
### Galactosylpolymere



### Verknüpfung

**Diagramm 15:** Prozentuale Anteile der Verknüpfungen und mittlere Kettenlänge bei der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid.

### D-Fucosylpolymere



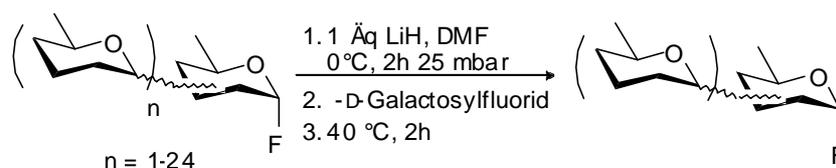
### Verknüpfung

**Diagramm 16:** Prozentuale Anteile der Verknüpfungen und mittlere Kettenlänge bei der Polymerisation von  $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid.

Bei  $\alpha$ -D-Mannopyranosylfluorid und  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid kann kein Umsatz nachgewiesen werden, bei  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid ist er minimal (Diagramm 15). In drei Fällen führt die Verwendung eines Überschusses an Lithiumhydrid also zu einer deutlich schlechteren Umsetzung, nur bei  $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid hat sich der Umsatz erhöht. Als Ursache hierfür kommt in Betracht, dass doppelt deprotoniertes  $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid vermutlich besser löslich ist, als die anderen verwendeten Derivate, da Fucose eine Methyl-

anstelle einer Hydroxymethylgruppe aufweist. Erwähnenswert ist auch der hohe Anteil (12 %) an dreifach verknüpfter  $\alpha$ -D-Fucose (Diagramm 16).

Ausgehend von den oben beschriebenen Befunden soll nun geprüft werden, ob es möglich ist, die einmal gebildeten Zuckeroligomere noch zu verlängern. Dazu wird das zunächst aus  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid hergestellte Oligomergemisch nochmals mit Lithiumhydrid und anschließend mit frischem  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid versetzt (Abbildung 46).

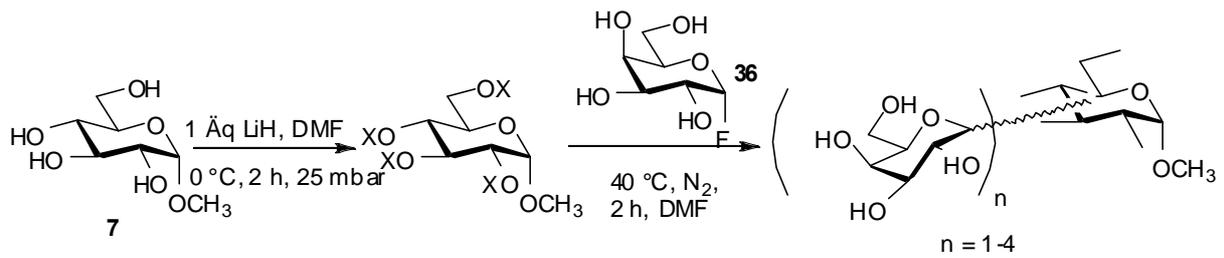


**Abbildung 46:** Mehrfachpolymerisation von  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid.

Dieser Vorgang wird danach noch zweimal wiederholt. Nach jeder Polymerisation werden MALDI-TOF-Spektren gemessen. Hierbei zeigt sich jedoch, dass der Anteil an kürzerkettigen Oligomeren nach jeder Umsetzung zunimmt, womit sich die Idee, die einmal hergestellten Zuckerketten zu verlängern als nicht praktikabel erweist. Ein ähnliches Resultat ergibt die zweimalige Polymerisation von  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid (Abbildung 42).

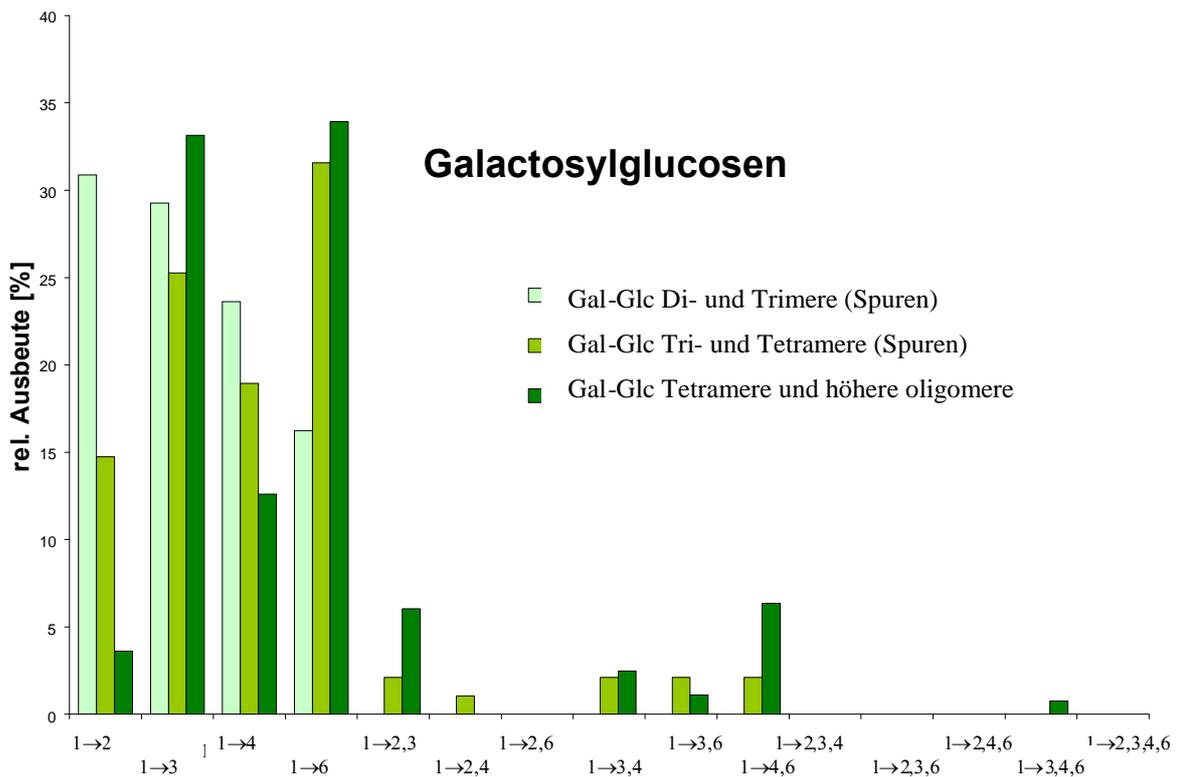
Als Ursache kommt sowohl eine Übertragung der Lithiumionen von den Zuckerketten auf frisch zugegebenes  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid als auch die Zersetzung der langkettigen Anteile mit fortschreitender Reaktionsdauer (siehe auch Diagramm 11) in Betracht.

Da eine Kettenverlängerung nicht gelingt, wird nun ein anderer Ansatz gewählt, indem ein Methylglycosid zunächst mit Lithiumhydrid und danach mit einem Glycosylfluorid umgesetzt werden soll (Abbildung 47). Dabei wird als Glycosyldonor  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid und als Glycosylakzeptor Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid gewählt. So wird gewährleistet, dass sich der glycosylierte Akzeptor von eventuell selbstglycosyliertem Produkt unterscheidet. Im MALDI-TOF-Spektrum findet man hauptsächlich Di-, Tri- und Tetramere, aber auch geringe Mengen von höheren Oligomeren.



**Abbildung 47:** Galactosylierung von Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid.

Nach der Umsetzung wird das Produktgemisch an einer Biogel-P4-Säule aufgereinigt. Dabei können drei Fraktionen erhalten werden, zum einen die Disaccharide mit Spuren von Trisacchariden, dann die übrigen Trisaccharide mit Spuren von Tetrasacchariden und die höheren Oligosaccharide. Eine Methylierungsanalyse der drei Fraktionen ergibt folgendes Bild (Diagramm 17):



**Diagramm 17:** Methylierungsanalyse der Galactosylierung von Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid.

Bei den Trimeren findet man einen kleinen Anteil verzweigter Saccharide, der bei den Tetrameren und höheren Oligosacchariden noch größer wird. Der Anteil an eigenglycosylierten Produkten bei den höheren Oligosacchariden lässt sich mit einer Lithiummigration vom Glycosylakzeptor zum Glycosyldonor erklären.

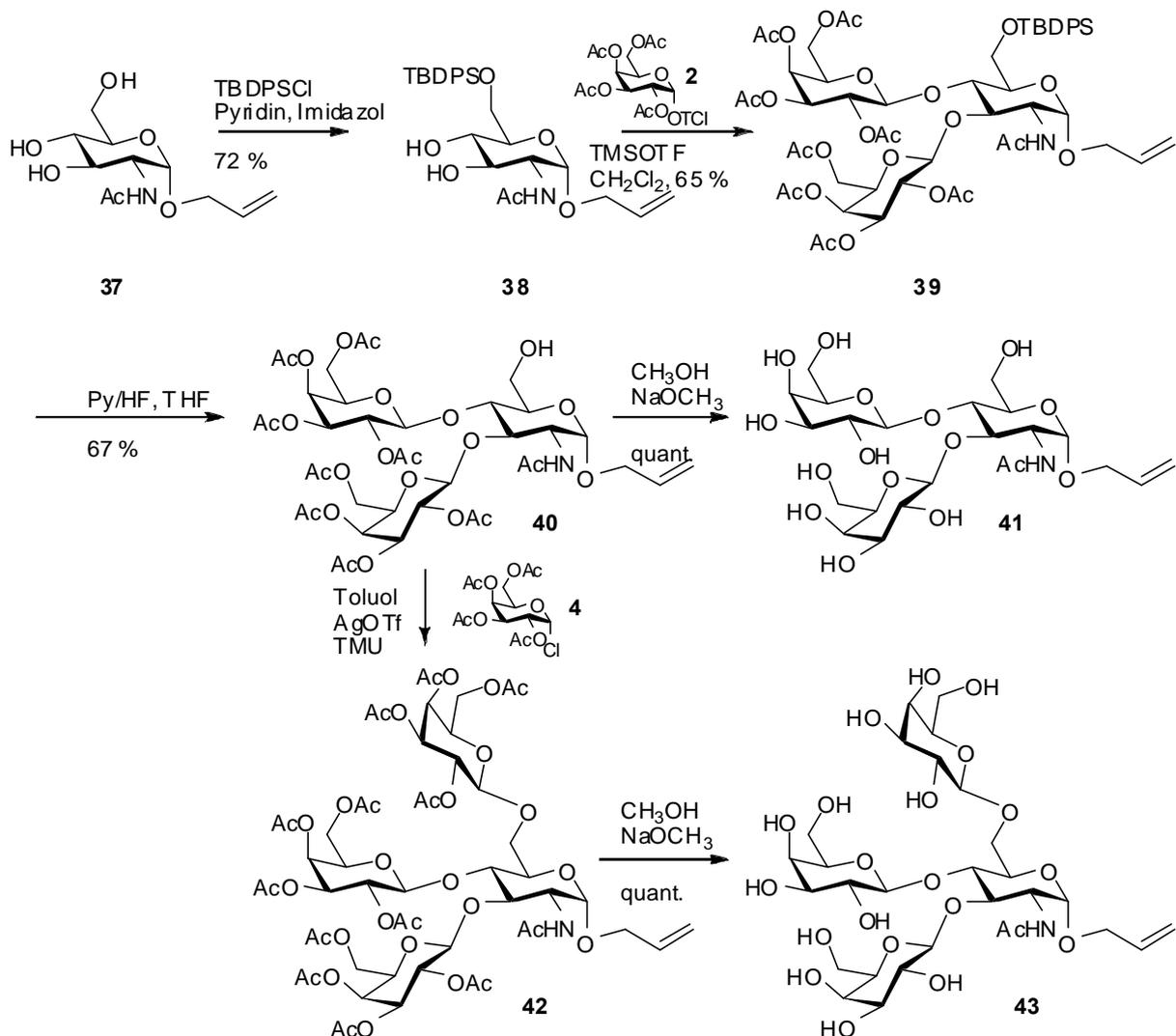
Die Anteile der verschiedenen Verknüpfungstypen sind uneinheitlich. Bei den Dimeren kommen alle vier möglichen Verknüpfungsmuster noch zu recht ähnlichen Anteilen (zwischen 16 und 32 %) vor. Bei den Trimeren sind die Anteile auch noch in ähnlichen Größenordnungen (15 bis 33 %), aber bei den höheren Sacchariden unterscheiden sich die Anteile stark.

Interessant ist vor allem der Anteil 1→2 verknüpfter Saccharidbausteine. Während er bei den Dimeren den größten Anteil darstellt, hat er sich bei den Trimeren halbiert. Setzt man voraus, dass die erste Glycosylierung des Glycosylakzeptors zu einer gleichen Produktverteilung geführt hat wie bei den Dimeren, bedeutet dies, dass bei der zweiten Glycosylierung keine weiteren 1→2-Verknüpfungen mehr gebildet werden. Das weitere starke Absinken des Anteils der 1→2-Verknüpfungen bei den höheren Oligosacchariden auf 4 % deutet darauf hin, dass auch im weiteren Verlauf der Reaktion keine neuen derartigen Verknüpfungen gebildet werden. Bedenkt man, dass der Anteil an eigenglycosylierten Produkten bei den höheren Sacchariden zunimmt, kann dies so interpretiert werden, dass zunächst das Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid glycosyliert wird, wobei alle vier möglichen Verknüpfungen zu etwa gleichen Anteilen gebildet werden (15-30 %). Die weiteren Glycosylierungen finden dann an einem neu dazugekommenen Baustein, einer Galactoseeinheit, statt, wobei keine 1→2-Verknüpfungen entstehen. In diesem Zusammenhang soll der Befund der in Kapitel 3.3.1. diskutierten Glycosylierung des gleichen Glycosylakzeptors mit Acetochlorgalactose erwähnt werden, bei der gar keine 1→2-Verknüpfungen nachgewiesen werden konnten.

Mit der Abnahme der 1→2-Verknüpfungen steigt der Anteil der 1→6-Verknüpfungen von den Dimeren zu den höheren Oligomeren an. Er verdoppelt sich von 16 % (Dimere) auf 35 % (Tetramere und höhere Oligomere). Dies geht einher mit den Befunden bei den Glycosylierungen der verschiedenen Glycosylfluoride, bei denen die 1→6-Verknüpfungen überwiegen (Diagramme 11, 12 und 13).

### 3.6. Hochverzweigte Saccharidstrukturen

Mehrfach verzweigte Saccharide sind relativ selten, kommen aber auf Zelloberflächen, darunter Krebszellen vor.<sup>78, 79</sup> Des Weiteren sind derartige Moleküle als Ausgangsstoff für verzweigte Polymerstrukturen interessant. Von Interesse war die Frage, ob mit der basischen Glycosylierungsmethode auch solche Strukturen zugänglich sind. Dazu wird ein hochverzweigtes Molekül als Grundbaustein hergestellt (Abbildung 48). Die Verbindungen **41** und **43** werden dann, wie in Kapitel 3.6. beschrieben, mit Lithiumhydrid und  $\alpha$ -D-Galactosylfluorid umgesetzt.



**Abbildung 48:** Synthese von hochverzweigten Ausgangsbausteinen zur Dendrimersynthese.

Allyl-2-acetamido-2-deoxy- $\alpha$ -D-glucopyranosid (**37**), welches nach einer Vorschrift von L. Kröger hergestellt wird, wird in Pyridin gelöst und mit TBDPSCl sowie Imidazol zu Allyl-2-acetamido-2-deoxy-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (**38**) umgesetzt.<sup>51,80</sup> Anschließend erfolgt eine doppelte Galactosylierung der beiden Hydroxygruppen des Glycosylakzeptors mit *O*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-trichloracetimidat (**2**) zu **39**. Die darauffolgende Abspaltung des Silylethers gelingt nur unter speziellen Bedingungen. Gängige Methoden sind hier nicht anwendbar, weil die TBDPS-Schutzgruppe entweder nicht abgespalten wird oder sich die Substanz zersetzt. Die überprüften Methoden und die aufgetretenen Probleme sind in Tabelle 5 aufgeführt.

	<b>Abspaltungsreagenz</b>	<b>Problem</b>	<b>Literatur</b>
Test 1	TBAF	Zunächst geringer Umsatz, später Zersetzung	[81]
Test 2	1 % Ethanolische Salzsäure	Zersetzung	[82]
Test 3	FeCl <sub>3</sub>	Kein Umsatz	[83]

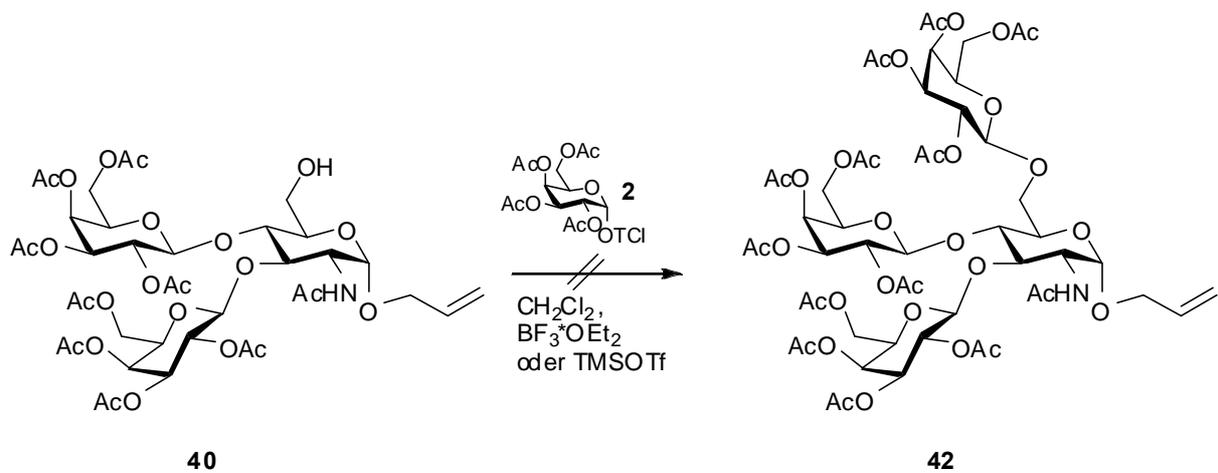
**Tabelle 5:** Abspaltungsversuche der Silylschutzgruppe.

Die Schlussfolgerung aus diesen Misserfolgen lautet, dass die Abspaltung des Silylethers nur mit einem Reagenz gelingen kann, das zum einen weder zu sauer noch zu basisch ist, und zum anderen klein genug ist, um die sterischen Hinderungen durch die beiden Galactosen zu überwinden.

Dieses Reagenz wird in Pyridiniumpolyhydrogenfluorid gefunden. Das Fluorid, welches das Silicium als Nukleophil angreift, hat hier kein sterisch anspruchsvolles Gegenion wie das quartäre Amin bei TBAF. Das Pyridin wirkt als Puffer, und der Fluorwasserstoff liegt in einer gitterartigen Struktur vor, in der die Protonen nicht besonders acid sind.<sup>84</sup>

Nach gelungener Entschützung zu **40** wird ein Teil des Trisaccharids zu **41** deacetyliert und mit  $\alpha$ -D-Galactosylfluorid und Lithiumhydrid umgesetzt (Abbildung 51).

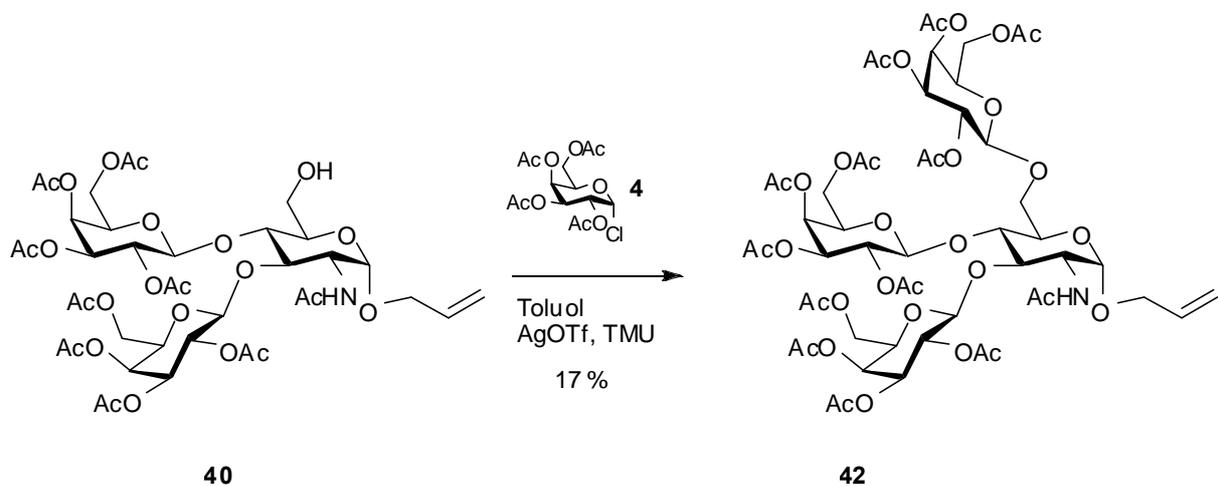
Der Rest von **40** wird an der verbleibenden Hydroxygruppe erneut galactosyliert. Dies wird zunächst wieder mit dem *O*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-trichloracetimidat (**2**) und gängigen Katalysatoren in verschiedenen Konzentrationen versucht (Abbildung 49).



**Abbildung 49:** Versuchte Glycosylierung von **40** mit *O*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-trichloracetimidat.

Nach diesen Reaktionen werden jedoch im MALDI-TOF-Massenspektrum eine Mischung aus acetyliertem Glycosylakzeptor, Mono- und dideacetyliertem Glycosylakzeptor, einem peracetyliertem Tetrasaccharid und höheren Oligosacchariden, teilweise mit fehlenden Acetylgruppen, detektiert. Dies lässt sich nur mit intermolekularen Acetylmigrationen erklären, wobei die Acetylgruppen sowohl vom Glycosyldonor wie auch von -akzeptor stammen können.

Es liegt Nahe, dass der Lewis-saure Katalysator neben der Glycosylierung auch die Esterwanderung katalysiert. Daher wird nun eine Glycosylierungsmethode verwendet, bei der keine Lewis-Säure benötigt wird (Abbildung 50).

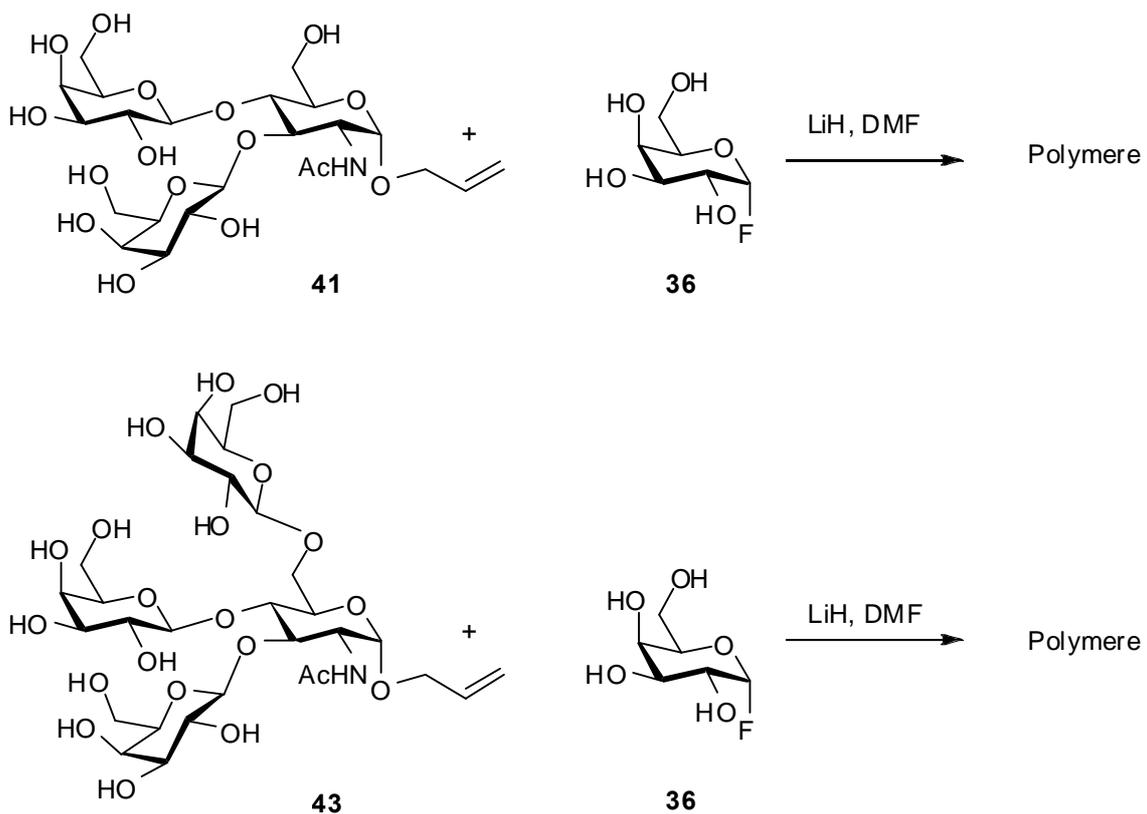


**Abbildung 50:** Glycosylierung von **40** mit Acetochlorgalactose.

Die Glycosylierung gelingt nach der Koenigs-Knorr-Methode mit Acetochlorgalactose unter Zusatz von Tetramethylharnstoff, welcher die aus Silbertriflat entstehende Trifluormethansulfonsäure neutralisiert.

Erfreulicherweise entsteht hier kein Orthoester, dessen Bildung in basischem Milieu möglich wäre, jedoch ist die Ausbeute an **42** mit 17 % gering. Allerdings lässt sich der Glycosylakzeptor **40** zu 55 % nach säulenchromatographischer Reinigung zurückgewinnen. Eine Verbesserung der Ausbeute ist wünschenswert, erscheint jedoch schwierig, da die Reaktion sehr langsam abläuft und daher die Hydrolyse des Glycosyldonors als Nebenreaktion auftritt.

Nach Zemplén-Deacetylierung zu **43** erfolgt eine Umsetzung mit Lithiumhydrid und  $\alpha$ -D-Galactosylfluorid (Abbildung 51).



**Abbildung 51:** Synthese von Galactosylpolymeren mit verzweigtem Startmolekül.

Das verzweigte Startmolekül wird in *N, N*-Dimethylformamid gelöst, mit Lithiumhydrid versetzt und dann mit  $\alpha$ -D-Galactosylfluorid zwei Stunden bei 40 °C umgesetzt. Da sich hier nach wenigen Minuten ein Niederschlag bildet, werden die Reaktionskolben in ein Ultraschallbad gestellt, woraufhin sich der Niederschlag bald wieder löst.

Nach Aufarbeitung werden die Produkte permethyliert und mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie charakterisiert. Darin erkennt man jedoch nur Spuren des glycosylierten Tetrasaccharidakzeptors. Eine Glycosylierung des Trisaccharidakzeptors kann nicht nachgewiesen werden. Als Ursache kommen die aufgetretenen Löslichkeitsprobleme in Betracht.

Auch wenn die beiden Experimente nicht gelungen sind, so geben sie doch Informationen über die Grenze der Polymerisationsmethode, die durch die Löslichkeit der Edukte gesetzt wird. Sie stehen auch im Einklang mit den Befunden aus Kapitel 3.6., in denen gezeigt wird, dass sich die dort synthetisierten Polymere nicht mehr verlängern lassen.

Ausblickend kann daher gesagt werden, dass der Schlüssel zu einer effektiveren Umsetzung in der Verbesserung der Löslichkeit der Edukte liegt, zum Beispiel durch Verknüpfung eines Reaktanden mit einem unpolaren, inerten Polymer.

## 4. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden die Herstellung von Saccharidbibliotheken und die Bestimmung ihrer Zusammensetzung hinsichtlich der Einzelkomponenten beschrieben.

Ausgangspunkt zu Beginn dieser Arbeit war die Erkenntnis, dass bekannte Glycosylierungsmethoden zur Glycosylierung von völlig ungeschützten Sacchariden ungeeignet sind. Vermutliche Ursache ist ihr polarer Charakter, der sie in normalerweise bei Glycosylierungen verwendeten Lösungsmitteln unlöslich macht.

Im ersten Teil wird die für die Glycosylierung ungeschützter Saccharide verwendete Glycosylierungsmethode vorgestellt (Abbildung 52). Dabei wird der Glycosylakzeptor zunächst deprotoniert und dann mit einem Glycosylhalogenid umgesetzt.

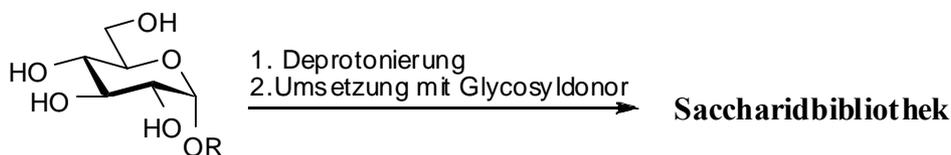


Abbildung 52: Basische Glycosylierung.

Als Glycosyldonoren werden Acetochlorglucose, Acetochlorgalactose sowie verschiedene OH-freie Glycosylfluoride verwendet.

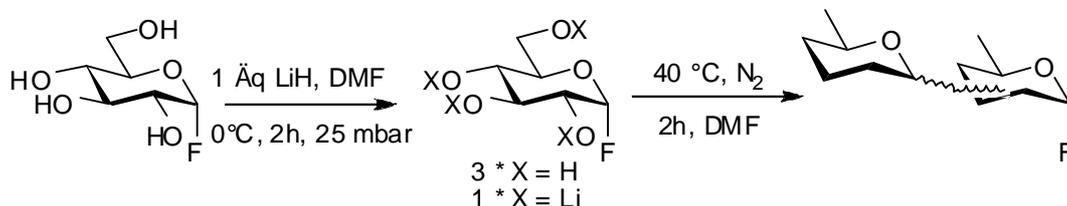
Diese Methode der Glycosylierung zur Verknüpfung von Zuckern ist neu. Sie ist die erste und bislang einzige, mit der sich ungeschützte Saccharide glycosylieren lassen.

Im weiteren Verlauf wird die gefundene Glycosylierungsmethode auf die Breite ihrer Anwendbarkeit hin untersucht, und es werden ihre Grenzen aufgezeigt. Diese liegen in einem begrenzten Umsatz sowie dem Auftreten von Acylmigrationen vom Glycosyldonor zum Glycosylakzeptor. Die dadurch am Glycosyldonor freiwerdenden Hydroxylgruppen können danach ebenfalls glycosyliert werden.

Es werden Di- und Trisaccharidbibliotheken von Methyl- $\alpha$ -D-glycopyranosiden,  $\alpha$ ,  $\alpha$ -Trehalose (symmetrisch) und Saccharose (unsymmetrisch) hergestellt und NMR-spektroskopisch sowie mittels Methylierungsanalysen auf ihre Zusammensetzung hin untersucht.

Dabei wird fast immer eine recht einheitliche Produktverteilung erzielt, eine wichtige Voraussetzung für Screening-Prozesse in Assays.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wird in Anlehnung an die basische Glycosylierungsmethode (Abbildung 53) eine Methode zur Polymerisierung von ungeschützten Glycosylfluoriden vorgestellt.



**Abbildung 53:** Polymerisation eines  $\alpha$ -D-Glycopyranosylfluorids.

Es werden Polymerisationen mit  $\alpha$ -D-Mannopyranosylfluorid,  $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid,  $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid und  $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid durchgeführt. Die erhaltenen Produkte werden mit Methylierungsanalysen, MALDI-TOF-Spektrometrie und GPC-Messungen auf ihre Molmasse sowie ihre innere Struktur hin untersucht. Die erzielten Molmassen liegen in einem Bereich von durchschnittlich 1000 - 2000 Dalton, es können aber auch höhere Polymere mit bis zu 24 Monomereinheiten nachgewiesen werden.

Die Methylierungsanalysen der Polymere deuten auf eine recht große Anzahl unterschiedlich verknüpfter oligomerer und polymerer Saccharidstrukturen hin, da fast alle der möglichen unterschiedlich verknüpften Monomerbausteine als Kettensegmente in den Zuckerpolymeren gefunden werden.

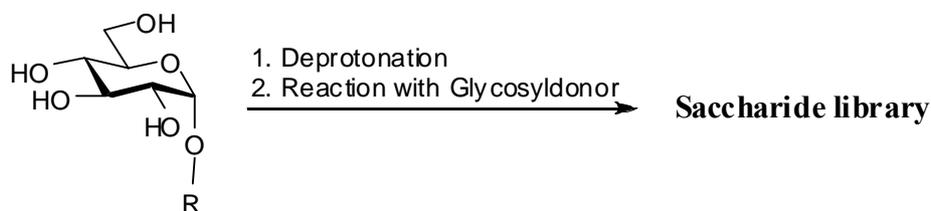
Einige Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind bereits in Fachzeitschriften und auf Fachkonferenzen vorgestellt worden.<sup>92-97</sup>

## 5. Summary

This work presents the preparation of saccharide libraries and the analysis of their product compositions.

At the beginning of this work it was known, that common glycosylation methods are inapplicable to completely unprotected carbohydrates. Reason for this seems to be their polarity, which makes them insoluble in common organic solvents usually used for glycosylation reactions.

The first part of this work describes the glycosylation method, which is used for the glycosylation of completely unprotected carbohydrates (Scheme 54). The glycosyl acceptor is first deprotonated and then reacted with a glycosyl halide.



**Scheme 54:** Basic Glycosylation.

Acetochloroglucose, Acetochlorogalactose and different unprotected glycosyl fluorides are used as glycosyl donors.

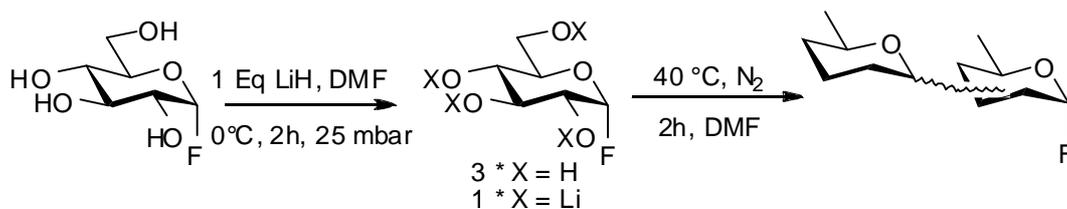
This method to connect saccharides is new and the first one which works for entirely unprotected carbohydrates.

Furthermore this glycosylation method is examined concerning its applicability and the frontiers thereof. They lie in a limited yield and the occurrence of acyl migration during the reaction which leads to self-glycosylated products.

The preparation of libraries of di- and trisaccharides ( from methyl  $\alpha$ -D-glycopyranosides,  $\alpha$ ,  $\alpha$ - trehalose (symmetric) und sucrose (unsymmetric) and the assignation of their composition is described. The assignation is done by NMR spectroscopy and by methylation analysis.

A uniform product composition is found in almost all cases.

Later in this work a method to polymerize unprotected glycosyl fluorides is presented (Scheme 55).



**Scheme 55:** Polymerisation of an  $\alpha$ -D-glycopyranosylfluoride.

Polymerizations are carried out with  $\alpha$ -D-mannopyranosyl fluoride,  $\alpha$ -D-glucopyranosyl fluoride,  $\alpha$ -D-fucopyranosyl fluoride and  $\alpha$ -D-galactopyranosyl fluoride.

The obtained products are examined by methylation analysis, MALDI-TOF-spectrometry and GPC-measurements concerning their structure, branching and mass. The average mass range are in the order of 1000 - 2000 Dalton, but polymers consisting of up to 24 monomer units can be detected.

The results of the methylation analysis hint to a large number of different oligomers and polymers. Nearly all of the possible differently linked monomer units can be identified as constituents of the polymer chains.

Some results of the presented work have been published in scientific journals and at international conferences.<sup>92-97</sup>

## 6. Experimenteller Teil

### Allgemeine Methoden

Zur dünnenschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktionen dient Kieselgelfolie 60 F<sub>254</sub> (Merck). Die Detektion erfolgt durch UV-Absorption oder durch Besprühen mit 10 prozentiger ethanolischer Schwefelsäure und anschließender Wärmebehandlung.

Säulenchromatographische Trennungen werden an Kieselgel von Merck (0.063-0.200 mm, 230-400 mesh) oder an Biogel<sup>®</sup> P2 durchgeführt.

Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgt an einem AMX-400 (100 MHz für <sup>13</sup>C) oder DRX-500 (125 MHz für <sup>13</sup>C) der Firma Bruker im Automationsbetrieb. Wenn es notwendig ist, werden <sup>1</sup>H <sup>1</sup>H – COSY-, <sup>1</sup>H <sup>13</sup>C – COSY-, HMBC- und TOCSY- Experimente durchgeführt. Als interner Standard wird Tetramethylsilan verwendet, oder es wird auf das charakteristische Lösungsmittelsignal von CHCl<sub>3</sub> in CDCl<sub>3</sub> (7.25 ppm) oder d<sub>3</sub>-MeOD in d<sub>4</sub>-MeOD (3.35 ppm) kalibriert.

Schmelzpunkte wurden mit einem Apotec Schmelzpunktbestimmer gemessen und sind unkorrigiert.

Die Messung von Drehwerten erfolgt mit einem Perkin-Elmer-Polarimeter 241 (Küvettenlänge 1 dm).

MALDI-TOF-MS wird mit einem Bruker Biflex III vermessen, als Matrix wird 2,5-Dihydroxybenzoesäure verwendet.

Anomerenverhältnisse werden aus den Integralverhältnissen im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum bestimmt. Umsetzungen mit Mikrowellenbestrahlung werden in einer Labormikrowelle der Firma CEM, Typ „Discover“ mit einer Maximalleistung von 300 Watt durchgeführt.

GC-MS-Messungen werden an einem HP 6890 Gerät mit einer HP-5 Säule (30 cm Länge, Durchmesser 0.32 mm, Filmdicke 25 µm) und Wasserstoff als Trägergas durchgeführt. Für die Methylierungsanalyse wird folgendes Temperaturprogramm gewählt:

40°C / 2 min, danach Erhitzen 30°/min auf 60°C, dann Erhitzen 5°/min bis 300°C. Es wird ein Standart FID Detector verwendet. Massenspektren werden mit einem an das HP 6890 gekoppelten 5890-A Hewlett Packard MS von Hewlett Packard, Kalifornien, gemessen .

## Allgemeine Arbeitsvorschriften

### AAV 1: Glycosylierung von ungeschützten, nicht reduzierenden Disacchariden

Durchführung:

Unter Stickstoffatmosphäre werden 2.00 g (5.84 mmol) Disaccharid in 50 mL *N, N*-Dimethylformamid (abs.) gelöst und eine Stunde über frisch aktiviertem Molekularsieb 3A gerührt. Dann werden 0.85 bis 6 Äquivalente einer 60 prozentigen Suspension von Natriumhydrid in Paraffin (4.96 - 30.60 mmol) hinzugegeben. Diese Lösung wird ca. eine Stunde bei 22 mbar und Raumtemperatur gerührt, bis keine Gasentwicklung mehr auftritt. Anschließend wird die Lösung auf 0 °C abgekühlt und mit einer Lösung aus 2.10 g (5.74 mmol) Acetochlorgalactose/-glucose in 5 mL trockenem *N, N*-Dimethylformamid versetzt. Nach 30 Minuten Rühren bei 0 °C wird die Lösung ohne weitere Aufarbeitung zügig eingengt (40 °C Wasserbadtemperatur, 4 mbar), wobei die Lösung eine braune Farbe annimmt.

Der erhaltene Sirup wird in 25 mL Pyridin aufgenommen, die Lösung auf 0 °C abgekühlt und mit 15 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Diese Lösung rührt über Nacht bei Raumtemperatur und wird dann eingengt. Restliches Pyridin wird durch Kodestillation mit Toluol entfernt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel: Toluol / Aceton 4 / 1), um die entstandenen Trisaccharide von verbliebenen peracetylierten Edukten zu trennen.

Zur Antrennung der Produkte werden die Produktgemische an Kieselgel mit Toluol / Aceton 8 / 1 → 3 / 1 in ca. 100 Fraktionen chromatographiert.

Die Glycosylierungen von Methyl- $\alpha$ -D-monosacchariden werden mit denselben Moläquivalenten der Reagenzien ausgeführt. Als Eluent bei der säulenchromatographischen Reinigung dient Toluol / Aceton 6 / 1.

### AAV 2: Polymerisation mit Glycosylfluoriden

1.00 g (5.5 mmol) Glycosylfluorid wird bei 0 °C unter Stickstoff oder Argon in 20 mL trockenem *N, N*-Dimethylformamid gelöst und mit 1.00 Äquivalenten Lithiumhydrid versetzt. Anschließend wird die Lösung etwa eine Stunde bei 22 mbar und 0 °C gerührt, bis keine Blasenentwicklung mehr zu erkennen ist. Daraufhin wird der Reaktionskolben mit Stickstoff belüftet, und die Lösung wird zwei Stunden bei 40 °C gerührt. Im Falle der Glycosylierung

der in Kapitel 3.7. beschriebenen verzweigten Glycosylakzeptoren findet die Polymerisation in einem Ultraschallbad statt, um den entstehenden Niederschlag wieder zu lösen.

Nach der Reaktion wird die Lösung mit einem Mischbettionentauscher (Ionentauscher V, Merck) neutralisiert, filtriert und im Vakuum bei 40 °C eingeengt. Das Rohprodukt wird in deionisiertem Wasser gelöst und lyophilisiert. Zur MALDI-TOF-Messung wird ein Teil des Produktes permethyliert (siehe AAV 4).

### **AAV 3: Peracetylierung mit Pyridin und Essigsäureanhydrid**

Das Edukt wird in der ca. 20-fachen Menge Pyridin gelöst und bei 0 °C mit fünf Äquivalenten Essigsäureanhydrid pro zu veresternder Hydroxylgruppe versetzt und gerührt, wobei die Kühlung nach der Zugabe des Essigsäureanhydrids entfernt wird. Nach Beendigung der Reaktion wird die Lösung eingeengt und das Rohprodukt so oft mit Toluol kodestilliert, bis kein Pyridingeruch mehr wahrzunehmen ist. Wenn nötig, folgt danach eine säulenchromatographische Reinigung oder eine Umkristallisation ans Ethanol.

### **AAV 4: Methylierungsanalyse**

20 mg des peracetylierten Saccharidgemisches werden in 10 mL Methanol (abs.) gelöst und mit einer Spatelspitze Natriummethanolat versetzt. Die Lösung wird über Nacht gerührt, anschließend mit DOWEX-50 (H<sup>+</sup>-Form) neutralisiert, filtriert und im Vakuum eingeengt.

Der Rückstand wird in 20 mL Dimethylsulfoxid gelöst und mit 1 mL Methyliodid versetzt. Zu dieser Lösung wird 4 mL 50 prozentige Natronlauge gegeben. Nach 30 Minuten Rühren bei Raumtemperatur wird die Lösung mit 20 mL Wasser verdünnt und dreimal mit jeweils 30 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden einmal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, unter vermindertem Druck etwas eingeengt und im Stickstoffstrom getrocknet.

10 mg des Rückstands werden mit 5 mL 2.5 N Trifluoressigsäure in einem Mikrowellenreaktor für eine Stunde auf 120 °C erhitzt. Anschließend wird die Lösung im Stickstoffstrom getrocknet und wird zweimal, ebenfalls im Stickstoffstrom, mit Acetonitril (abs.) kodestilliert.

Der Rückstand wird in einer Lösung von 40 mg Natriumbordeuterid, 0.27 mL Ammoniaklösung (25 %) und 1.73 mL Wasser (dest.) gelöst (0.5 M NaBD<sub>4</sub> in 2 M NH<sub>3</sub>-Lsg.). Diese Lösung wird 1 Stunde bei 60 °C gerührt, anschließend werden 2 mL Aceton zugegeben und 20 Minuten gerührt. Dann werden 5 mL Acetonitril hinzugegeben und die Lösung im Stickstoffstrom getrocknet. Der Trockenvorgang wird einmal wiederholt.

Der Rückstand wird in 2 mL Eisessig gelöst, mit 1 mL Ethylacetat und 3 mL Essigsäureanhydrid versetzt, umgeschwenkt und mit 0.1 mL Perchlorsäure versetzt. Diese Lösung wird 5 Minuten gerührt, dann auf 0 °C abgekühlt, mit 10 mL H<sub>2</sub>O und 0.2 mL 1-Methylimidazol versetzt und weitere 5 Minuten gerührt.

Anschließend wird 1 mL Dichlormethan hinzugegeben, der Kolben verschlossen und die Lösung wird kräftig geschüttelt. Nach Phasentrennung wird die Dichlormethanschicht abpipettiert und bis zur GC-MS-Messung bei -26 °C aufbewahrt.

#### **AAV 5: Darstellung von Glycosylfluoriden**

Die Reaktion wird in einem verschlossenen Kunststoffbehälter durchgeführt.

10 mmol des peracetylierten Edukts werden in 10 mL einer 70 prozentigen Lösung von Fluorwasserstoff in Pyridin gelöst und 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wird dünnschichtchromatographisch verfolgt (Laufmittel: Ethylacetat / Petrolether 1 / 1). Nach Beendigung der Reaktion wird die Lösung mit 30 mL Dichlormethan und 30 mL Wasser verdünnt und dann unter Rühren mit soviel Natriumcarbonat versetzt, bis keine Gasentwicklung mehr zu erkennen ist und der pH-Wert über 7 liegt. Danach werden die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und bei vermindertem Druck eingeengt. Das Rohprodukt wird wenn notwendig an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Ethylacetat / Petrolether 1 / 2).

Das fertige, peracetylierte Produkt wird in einer Lösung von Natriummethanolat in Methanol (pH 8.5) bei 0 °C für zwei Stunden gerührt (DC-Kontrolle, (Laufmittel: Ethylacetat / Petrolether 3 / 1). Danach wird die Lösung mit einem Ionentauscher (DOWEX-50, H<sup>+</sup>-Form) neutralisiert, filtriert und im Vakuum eingeengt. Eine weitere Reinigung erfolgt nicht.

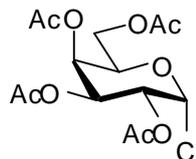
## Versuchte Galactosylierung von Saccharose - Stannylidenintermediaten

2.00 g Saccharose (5.8 mmol) werden in 25 mL Methanol suspendiert und mit 6.00 g Dibutylzinnoxid (24.4 mmol) sowie zwei Esslöffeln Molsieb 3Å zwei Stunden unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt. Danach wird die klare Lösung unter Stickstoff filtriert und am Rotationsverdampfer eingeengt, wobei der Rotationsverdampfer danach mit Stickstoff belüftet wird. Die Substanz wird über Nacht im Hochvakuum getrocknet und dreimal mit 20 mL absolutem Dichlormethan kodestilliert. Nach erneutem Lösen in 20 mL Dichlormethan werden 10 mL der Lösung abgenommen und der Rest mit 1.00 g *O*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-trichloracetimidat (2.0 mmol) zunächst 90 Minuten bei Raumtemperatur über Molekularsieb 3Å gerührt. Dann werden 2 mL einer 0.221 M Lösung von TMSOTf in Dichlormethan hinzugegeben und 24 Stunden bei RT gerührt. Danach wird 34 Stunden zum Sieden erhitzt und dann noch einmal 2 mL der 0.221 M Lösung von TMSOTf in Dichlormethan zugesetzt. Die Lösung siedet weiter und wird nach insgesamt 60 Stunden auf Raumtemperatur abgekühlt, mit 10 mL Pyridin versetzt und dann mit 5 mL H<sub>2</sub>O abgebrochen. Nach dem Einengen der Lösung wird die Rohsubstanz nach AAV 3 peracetyliert.

## Synthesen und Charakterisierungen

### 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosylchlorid (Acetochlorgalactose) [4]

- $C_{14}H_{19}ClO_9$
- 350.29 g/mol
- Ausbeute: 8.80 g (94 %)
- $[\alpha]_D^{20} = +83^\circ$  (c 1,  $CHCl_3$ ); Lit.<sup>85</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = +115.5^\circ$  (c 1,  $CHCl_3$ )
- Smp. : 82.2 °C, Lit.<sup>85</sup>: 86-87 °C
- Farblose Kristalle



10.0 g (27.3 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranose werden in 40 mL absolutem Dichlormethan gelöst und mit 3 mL Titan-tetrachlorid versetzt. Der dabei entstehende gelbe Niederschlag wird durch Schütteln wieder gelöst und die Lösung wird 10 Minuten bei 70 °C in einer Mikrowelle erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung auf Raumtemperatur wird sie in 100 mL Eiswasser gegeben und ca. eine Minute gerührt. Anschließend wird die organische Phase von der wässrigen getrennt. Die wässrige Phase wird dreimal mit Dichlormethan extrahiert, und die vereinigten organischen Phasen werden so oft mit jeweils 100 mL Eiswasser gewaschen, bis keine Trübung der organischen Phase durch Titandioxid mehr in zu erkennen ist. Anschließend wird die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und bei vermindertem Druck eingeeengt. Der ölige Rückstand wird in Diethylether gelöst und mit soviel Petrolether versetzt, dass sich ein farbloser Niederschlag bildet. Nun wird gerade genug Diethylether zugegeben, um den Niederschlag wieder zu lösen. Durch langsames Verdampfen des Diethylethers erhält man das kristalline Produkt.

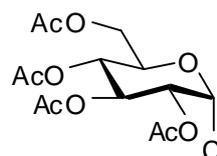
$^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 6.35 (d, 1H, H-1), 5.50 (vt, 1H, H-4), 5.40 (vt, 1H, H-3), 5.24 (dd, 1H, H-2), 4.50 (vt, 1H, H-5), 4.15 (dd, 1H, H-6b), 4.08 (dd, 1H, H-6a), 2.14, 2.10, 2.04, 2.00 ( $CH_3$ ) ppm.

$J_{1,2} = 3.8$ ,  $J_{2,3} = 10.7$ ,  $J_{3,4} = 3.3$ ,  $J_{4,5} = 1.3$ ,  $J_{5,6a} = 6.9$ ,  $J_{5,6b} = 6.4$ ,  $J_{6a,6b} = 11.4$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.75$ ,  $170.55$ ,  $170.35$ ,  $170.20$  (CO),  $91.60$  (C1),  $69.77$  (C5),  $68.27$  (C2),  $67.63$  (C4),  $67.50$  (C3),  $61.42$  (C6),  $21.10$ ,  $21.05$ ,  $21.01$ ,  $20.98$  ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

### 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosylchlorid (Acetochlorglucose) [5]

- $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{ClO}_9$
- 350.29 g/mol
- Ausbeute: 8.89 g, (95 %)
- Smp. 71-72 °C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +165^\circ$  (c 1,  $\text{CHCl}_3$ )
- Lit.<sup>86</sup>: Smp. 72-73 °C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +163^\circ$  (c 1,  $\text{CHCl}_3$ ).
- Farblose Kristalle



Die Durchführung entspricht der Darstellung von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosylchlorid.

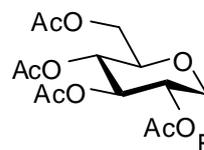
$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 6.29$  (d, 1H, H-1),  $5.55$  (vt, 1H, H-3),  $5.13$  (vt, 1H, H-4),  $5.01$  (dd, 1H, H-2),  $4.30$  (m, 2H, H-5, H-6a),  $4.12$  (dd, 1H, H-6b),  $2.10$ ,  $2.09$ ,  $2.04$ ,  $2.03$  ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1,2} = 3.9$ ,  $J_{2,3} = 10.0$ ,  $J_{3,4} = 10.1$ ,  $J_{4,5} = 10.1$ ,  $J_{5,6b} = 6.4$ ,  $J_{6a,6b} = 11.5$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.96$ ,  $170.30$ ,  $170.30$ ,  $169.89$ , (CO),  $90.49$  (C1),  $71.15$  (C5),  $71.80$  (C2),  $69.83$  (C3),  $67.82$  (C4),  $61.53$  (C6),  $21.10$ ,  $21.05$ ,  $21.01$ ,  $20.98$  ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

## 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosylfluorid [6a]

- $C_{14}H_{19}O_9F$
- 350.30 g/mol
- $[\alpha]_{546}^{20} = +80$  (c 1,  $CHCl_3$ ); Lit. <sup>88</sup>:  $[\alpha]_{D}^{25} = +91$  (c 1.1  $CHCl_3$ )
- Smp. <sup>89</sup>: 100 °C, Lit.: Smp.: 112 °C
- Ausbeute: 70 %
- Farbloser Feststoff.



Die Durchführung entspricht AAV 5.

$^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 5.74 (d, 1H, H-1), 5.41 (vt, 1H, H-3), 5.13 (vt, 1H, H-4), 4.96 (dd, 1H, H-2), 4.27 (vt, 1H, H-6a), 4.14 (dd, 1H, H-5, H-6b), 2.03, 2.02, 1.97, 1.92 ( $CH_3$ ) ppm.

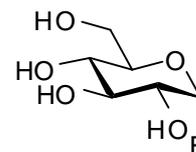
$J_{1,2} = 2.8$ ,  $J_{2,3} = 10.0$ ,  $J_{3,4} = 10.2$ ,  $J_{4,5} = 10.1$ ,  $J_{5,6a} = 4.6$ ,  $J_{5,6b} = 2.4$ ,  $J_{6a,6b} = 12.5$ ,  $J_{1,F5} = 53.0$ ,  $J_{2,F} = 25.0$  Hz.

$^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 170.00, 170.00, 169.66, 169.84, (CO), 103.61 (C1), 70.00 (C2), 69.64 (C5), 69.57 (C3), 67.15 (C4), 61.0 (C6), 20.50, 20.55, 20.25, 20.31 ( $CH_3$ ) ppm.

$J_{C1,F} = 228$ ,  $J_{C2,F} = 24$  Hz.

### $\alpha$ -D-Glucopyranosylfluorid [6]

- $C_6H_{11}FO_5$
- 182.15 g/mol
- Smp.: 115 °C, Lit. <sup>89</sup>: Smp.: 112 - 119 °C
- $[\alpha]_{546}^{20} = +77$  (c 1 H<sub>2</sub>O); Lit. <sup>90</sup>:  $[\alpha]_D^{25} = +90$  (c 1 H<sub>2</sub>O)
- Ausbeute: quantitativ
- Farbloser Feststoff



Die Durchführung entspricht AAV 5.

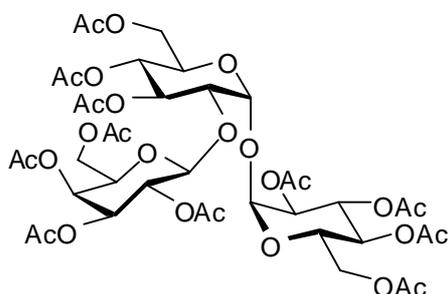
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  = 5.63 (dd, 1H, H-1), 3.87 - 3.54 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5), 3.50 - 3.38 (m, 2H, H-6a, H-6b) ppm.

$J_{1,2} = 2.8$ ,  $J_{1,F} = 53.0$ ,  $J_{2,F} = 24.1$  Hz.

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  = 107.71 (C1), 74.52, (C3), 71.38 (C2), 72.67, 68.92 (C-4, C-5), 60.52 (C-6) ppm.

$J_{C1,F} = 222$ ,  $J_{C2,F} = 25$  Hz.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-3,4,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid [8]**

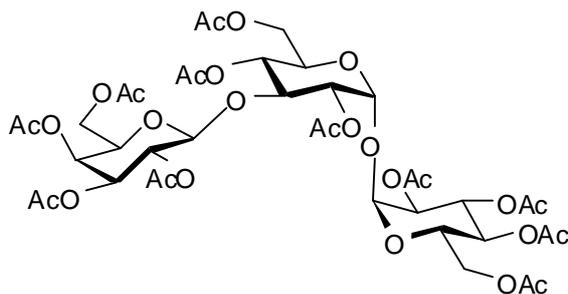


$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.46 (vt, 1H, H-3), 5.44 (vt, 1H, H-3'), 5.39 (dd, 1H, H-4''), 5.25 (d, 1H, H-1'), 5.20 (m, 1H, H-4'), 5.19 (m, 1H, H-4), 5.18 (d, 1H, H-1), 4.95 (m, 3H, H-2'', H-3'', H-2), 4.57 (d, 1H, H-1'), 4.53 (dd, 1H, H6a'), 4.40 (ddd, 1H, H-5), 4.34 (dd, 1H, H6b'), 4.15 (m, 1H, H-5'), 4.13 (m, 2H, H-6a'', H-6b''), 4.10 (m, 2H, H-6a, H-6b), 3.87 (m, 2H, H-2', H-5'), 2.15 – 1.96 (m,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1'',2''} = 7.6$ ,  $J_{3'',4''} = 2.2$ ,  $J_{4'',5''} < 1$ ,  $J_{1',2'} = 3.8$ ,  $J_{2',3'} = 10.1$ ,  $J_{3',4'} = 10.7$ ,  $J_{5',6a'} = 1.9$ ,  $J_{5'6b'} = 5.0$ ,  $J_{6a',6b'} = 12.7$ ,  $J_{1,2} = 4.1$ ,  $J_{2,3} = 9.1$ ,  $J_{3,4} = 10.7$ ,  $J_{4,5} = 10.1$ ,  $J_{5,6a} < 1$ ,  $J_{5,6b} < 1$  Hz.

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 169.48 – 170.47 (m, CO), 102.34 ( $\text{C}1''$ ), 95.76 ( $\text{C}1'$ ), 94.31 ( $\text{C}1$ ), 75.98 ( $\text{C}2'$ ), 72.25 ( $\text{C}3'$ ), 71.62 ( $\text{C}3$ ), 67.35 ( $\text{C}4''$ ), 70.96, 70.86, 70.83, 68.75, 68.56, 68.22, 68.04, 67.83, 62.11, 61.48, 61.32 ( $\text{C}2$ ,  $\text{C}2''$ ,  $\text{C}3''$ ,  $\text{C}4$ ,  $\text{C}4'$ ,  $\text{C}5$ ,  $\text{C}5'$ ,  $\text{C}5''$ ,  $\text{C}6$ ,  $\text{C}6'$ ,  $\text{C}6''$ ), 21.14 – 20.95 (m,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-2,4,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid [9]**

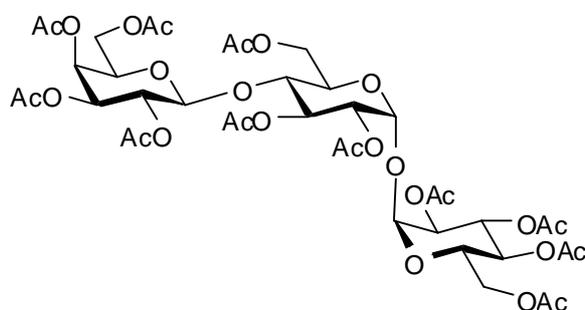


$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.55 (vt, 1H, H-3), 5.37 (dd, 1H, H-4''), 5.29 (d, 1H, H-1), 5.21 (d, 1H, H-1'), 5.10 (dd, 1H, H-2''), 5.04 (m, 1H, H-2), 5.01 (m, 1H, H-4'), 4.99 (m, 1H, H-3''), 4.96 (m, 1H, H-2'), 4.93 (vt, 1H, H-4), 4.40 (d, 1H, H-1''), 4.21 (m, 1H, H-5), 4.13 (vt, 1H, H-3'), 4.08 (m, 2H, H-6a'', H-6b''), 4.01 (m, 2H, H-6a', H-6b'), 4.00 (m, 2H, H-6a, H-6b), 3.95 (vt, 1H, H-5'), 3.87 (vt, 1H, H-5''), 1.98 – 2.11 (m,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1'',2''} = 7.9$ ,  $J_{2'',3''} = 10.4$ ,  $J_{3'',4''} = 2.4$ ,  $J_{4'',5''} < 1$ ,  $J_{5'',6a''} = 6.3$ ,  $J_{5'',6b''} = 6.6$ ,  $J_{1',2'} = 4.1$ ,  $J_{2',3'} = 9.5$ ,  $J_{3',4'} = 9.4$ ,  $J_{4',5'} = 10.1$ ,  $J_{5',6a'} = 6.3$ ,  $J_{5',6b'} = 6.0$ ,  $J_{6a',6b'} = 11.9$ ,  $J_{1,2} = 3.8$ ,  $J_{2,3} = 9.8$ ,  $J_{3,4} = 9.8$  Hz.

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 169.48 – 170.47 (m, CO), 101.61 ( $\text{C}1''$ ), 91.96 ( $\text{C}1'$ ), 91.81 ( $\text{C}1$ ), 75.92 ( $\text{C}3'$ ), 71.11 ( $\text{C}5''$ ), 70.50 ( $\text{C}3$ ), 67.18 ( $\text{C}4''$ ), 62.38 ( $\text{C}6''$ ), 61.52 ( $\text{C}6$ ), 61.05 ( $\text{C}6'$ ), 21.16 – 20.92 (m,  $\text{CH}_3$ ) ppm. Weitere Signale bei Verbindung **11**.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid [10]**

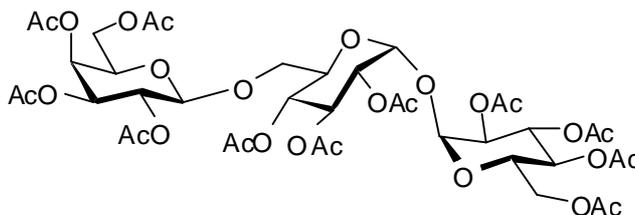


$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.50 (vt, 1H, H-3), 5.47 (vt, 1H, H-3'), 5.35 (d, 1H, H-4''), 5.26 (d, 1H, H-1'), 5.22 (d, 1H, H-1), 5.12 (dd, 1H, H-2''), 5.04 (m, 1H, H-2'), 5.03 (m, 1H, H-4'), 4.96 (dd, 1H, H-3''), 4.95 (m, 1H, H-2), 4.50 (d, 1H, H-1''), 4.32 (d, 1H, H-6b), 4.21 (m, 1H, H-6b'), 4.15 (m, 1H, H-6a), 4.13 (m, 1H, H-6a''), 4.10 (m, 1H, H-6b''), 4.03 (m, 1H, H-6a'), 4.02 (m, 1H, H-5'), 3.94 (m, 1H, H-5), 3.90 (vt, 1H, H-5''), 3.73 (vt, 1H, H-4), 2.16, 2.10, 2.08, 2.07, 2.06, 2.06, 2.05, 2.05, 2.02, 2.02, 1.96 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1'',2''} = 7.9$ ,  $J_{2'',3''} = 10.1$ ,  $J_{3'',4''} = 3.2$ ,  $J_{4'',5''} < 1$ ,  $J_{5'',6a''} = 7.2$ ,  $J_{5'',6b''} = 5.3$ ,  $J_{1',2'} = 3.8$ ,  $J_{2',3'} = 10.1$ ,  $J_{3',4'} = 10.1$ ,  $J_{5',6b'} = 5.5$ ,  $J_{6a',6b'} = 11.7$ ,  $J_{1,2} = 3.8$ ,  $J_{2,3} = 9.1$ ,  $J_{3,4} = 9.5$ ,  $J_{4,5} = 9.8$ ,  $J_{5,6a} < 1$ ,  $J_{6a,6b} = 11.7$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 171.02$ , 170.81, 170.59, 170.51, 170.35, 170.20, 170.06, 169.70, 169.67, 169.30, 169.28 (CO), 101.80 ( $\text{C}1''$ ), 92.14 (2C,  $\text{C}1'$ , C1), 77.28 (C4), 71.47 ( $\text{C}5''$ ), 71.11 (C2), 70.66 ( $\text{C}3''$ ), 70.40, 70.36 ( $\text{C}3'$ , C3), 70.24 ( $\text{C}2'$ ), 69.69 ( $\text{C}2''$ ), 69.39 ( $\text{C}4'$ ), 68.95 (C5), 68.49 ( $\text{C}5'$ ), 66.93 ( $\text{C}4''$ ), 62.23 ( $\text{C}6'$ ), 62.18 (C6), 61.14 ( $\text{C}6''$ ), 21.11 – 20.94 (m,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid [11]**



$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.48$  (vt, 1H, H-3'), 5.46 (vt, 1H, H-3), 5.41 (dd, 1H, H-4), 5.27 (d, 1H, H-1'), 5.23 (d, 1H, H-1), 5.15 (m, 1H, H-2), 5.12 (dd, 1H, H-2'), 5.04 (m, 1H, H-3), 5.02 (vt, 1H, H-4), 4.96 (m, 1H, H-4'), 4.94 (m, 1H, H-2'), 4.73 (d, 1H, H-1''), 4.18 (m, 1H, H-5), 4.11 (m, 1H, H-5'), 4.06 (m, 2H, H-6a, H-6b), 4.03 (m, 3H, H-5'', H-6a'', H-6b''), 3.92 (dd, 1H, H-6b'), 3.44 (dd, 1H, H-6a'), 2.11 – 1.98 (m,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1'',2''} = 7.9$ ,  $J_{2'',3''} = 10.4$ ,  $J_{3'',4''} = 2.2$ ,  $J_{1',2'} = 3.4$ ,  $J_{2',3'} = 9.9$ ,  $J_{3',4'} = 9.9$ ,  $J_{5',6a'} = 6.3$ ,  $J_{5',6b'} = 1.9$ ,  $J_{6a',6b'} = 10.4$ ,  $J_{1,2} = 3.5$ ,  $J_{2,3} = 10.1$ ,  $J_{3,4} = 9.9$ ,  $J_{4,5} = 9.6$  Hz.

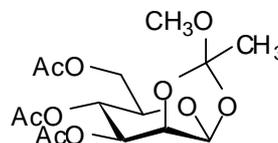
$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 169.48$  – 170.47 (CO), 101.28 ( $\text{C}1''$ ), 93.09 (C1), 92.63 ( $\text{C}1'$ ), 71.14 ( $\text{C}5''$ ), 70.47 (C3), 70.46 ( $\text{C}3'$ ), 68.04 ( $\text{C}6'$ ), 67.31 ( $\text{C}4''$ ), 62.47 ( $\text{C}6''$ ), 62.28 (C6), 21.16 – 20.92 (m,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

Weitere  $^{13}\text{C}$ -Signale vom Mischspektrum von  $\beta$ -D-Galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid und  $\beta$ -D-Galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid, die nicht einer der beiden Verbindungen zugeordnet werden können:

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 72.41, 71.50, 70.89, 70.80, 70.46, 70.18, 69.68, 69.48, 69.32, 69.22, 68.98$  (2C), 68.90, 68.84, 68.69, 68.54 ppm.

### 3,4,6-Tri-*O*-acetyl-1,2-*O*-(methoxyethyliden)- $\beta$ -D-mannopyranose [14]

- $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$
- 362.12 g/mol
- farbloser, sirupöser Feststoff
- Ausbeute: 3.09 g (70 %)



Durchführung:

5.00 g (12.2 mmol) Acetobrommannose werden in 25 mL trockenem Methanol gelöst und mit 3.4 mL (24.2 mmol) 2,4-Lutidin versetzt. Die Lösung für 1h bei RT und wird dann durch Kodestillation mit Toluol eingengt. Anschließend wird das Produkt säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel Petrolether / Ethylacetat 3 / 1).

Die Substanz liegt als Epimerengemisch vor. Das Verhältnis *endo* / *exo* beträgt 10 / 1. Es werden nur die NMR-Daten des *endo*-Produkts angegeben.

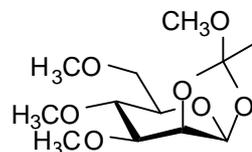
$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.35$  (dd, 1H, H-3), 5.30 – 5.16 (m, 3H, H-1, H-2, H-4), 4.23-4.15 (m, 2H, H-5, H-6a), 4.10 (m, 1H, H-6b), 2.10, 2.04, 1., 1.94 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{2,3} = 3.3, J_{3,4} = 10.0, J_{5,6a} = 6.3, J_{6a,6b} = 11.3$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.78$  (CO), 170.15 (CO), 169.98 (CO), 169.77 (CO), 92.20 (C1), 70.01 (C2), 69.59 (C3), 69.53 (C5), 66.23 (C4), 62.59 (C6), 20.85, 20.72, 20.67, 20.64 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

### 3,4,6-Tri-*O*-methyl-1,2-*O*-(methoxyethyliden)- $\beta$ -D-mannopyranose [16]

- $C_{12}H_{22}O_7$
- 278.30 g/mol
- farbloses Öl
- Ausbeute: 831 mg (71 %)



#### Durchführung:

3.00 g (8.3 mmol) 3,4,6-Tri-*O*-acetyl-1,2-*O*-(methoxyethyliden)- $\beta$ -D-mannopyranose (**14**) werden in 20 mL trockenem Methanol gelöst und mit Natriummethanolat auf pH 9.5 eingestellt. Nach 1h Rühren bei Raumtemperatur wird die Lösung mit Amberlite IR 120 ( $H^+$ -Form) neutralisiert, filtriert und eingengt. Von dem amorphen Rückstand wird 1 g in 40 mL DMSO gelöst und mit 2 mL (31.2 mmol) Methyljodid versetzt. Daraufhin werden bei 0°C und starkem Rühren 10 mL Natronlauge (50 prozentig) zugegeben. Nach 30 min wird mit 40 mL  $CH_2Cl_2$  verdünnt und mit 40 mL Wasser gewaschen (zweimal). Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum etwas eingengt. Die verbliebene Lösung wird im Stickstoffstrom getrocknet. Der sirupöse Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel Petrolether / Ethylacetat 1 / 1).

Die Substanz liegt als Epimerengemisch vor. Das Verhältnis *endo* / *exo* beträgt 10 / 1. Es werden nur die NMR-Daten des *endo*-Produkts angegeben.

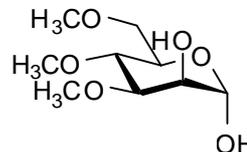
$^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 5.07 (dd, 1H, H-2), 4.97 (d, 1H, H-1), 3.75 (ddd, 1H, H-5), 3.50 (dd, 1H, H-3), 3.47 (m, 2H, H-6a, H-6b), 3.35 (s, 3H, Methoxy- $CH_3$ ), 3.25 (s, 3H, Methoxy- $CH_3$ ), 3.23 (s, 3H, Methoxy- $CH_3$ ), 3.20 (dd, 1H, H-4) 1.97 (s, 3H, Orthoester- $CH_3$ ) ppm.

$J_{1,2} = 1.5$ ,  $J_{2,3} = 3.3$ ,  $J_{3,4} = 9.3$ ,  $J_{4,5} = 3.0$ ,  $J_{5,6a} = 7.5$ ,  $J_{5,6b} = 9.5$  Hz.

$^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 170.42 (CO), 91.89 (C1), 79.12 (C3), 76.20 (C4), 71.62 (C6), 70.29 (C4), 68.95 (C2), 60.34 (Methoxy- $CH_3$ ), 58.76 (Methoxy- $CH_3$ ), 57.22 (Methoxy- $CH_3$ ), 20.76 (Orthoester- $CH_3$ ) ppm.

### 3,4,6-Tri-*O*-methyl- D-mannose [17]

- $C_9H_{18}O_6$
- 222.11 g/mol
- Ausbeute: quantitativ
- farbloses Sirup



300 mg (1.1 mmol) 3,4,6-Tri-*O*-methyl-1,2-*O*-(methoxyethyliden)- $\beta$ -D-mannopyranose (**16**) werden in 10 prozentiger wässriger Essigsäure gelöst und 30 min bei RT stehengelassen. Danach wird die Lösung im Vakuum eingengt und mit Toluol bis zur Trockne kdestilliert.

Es entsteht nur das  $\alpha$ -Anomer. Im  $^1\text{H-NMR}$  sind aber auch Spuren der offenkettigen Verbindung zu erkennen.

#### $\alpha$ -Anomer:

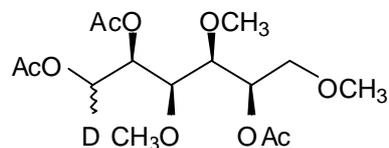
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 5.18 (dd, 1H, H-2), 5.03 (d, 1H, H-1), 3.82 (ddd, 1H, H-5), 3.63 (m, 2H, H-3, H-6a), 3.55 (dd, 1H, H-6b), 3.50 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.40 (s, 1H,  $\text{CH}_3$ ), 3.38 (m, 4H,  $\text{CH}_3$ , H4) ppm.

$J_{1,2} = 1.9$ ,  $J_{2,3} = 3.2$ ,  $J_{4,5} = 10.6$ ,  $J_{5,6a} = 4.4$ ,  $J_{5,6b} = 1.6$ ,  $J_{6a,6b} = 10.7$  Hz.

$^{13}\text{C-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 93.57 (C1), 81.32 (C3), 77.92 (C4), 73.15 (C6), 72.29 (C5), 71.02 (C2), 61.25, 59.88, 59.84 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ) ppm.

### 1,2,5-Tri-*O*-acetyl-1-deutero-3,4,6-tri-*O*-methyl-D-mannitol [19]

- C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>DO<sub>9</sub>
- 351.16 g/mol
- Ausbeute: quantitativ
- farbloser Sirup



10 mg (0.045 mmol) 3,4,6-Tri-*O*-methyl- D-mannose (17) werden in 2 mL einer 25 prozentigen Ammoniaklösung gegeben, mit 40 mg Natriumbordeuterid (0.95 mmol) versetzt und 1 Stunde bei 60 °C gerührt. Danach werden 2 mL Aceton zugegeben und weitere 15 min bei 60 °C gerührt. Anschließend wird die Lösung im Stickstoffstrom getrocknet und zweimal mit 2 mL Acetonitril bis zur Trockene codestilliert. Das Produkt wird ohne weitere Aufarbeitung in 5 mL Pyridin gelöst und mit 2.5 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Die Lösung rührt 2 Stunden und wird dann mit Toluol bis zur Trockne kodestilliert. Das Rohprodukt wird in 10 mL Wasser aufgenommen und mit 1 mL Dichlormethan geschüttelt. Nach Phasentrennung wird die Dichlormethanphase abpipettiert. Ein Teil dieser Lösung wird für eine GC-MS-Messung verwahrt. Der Rest wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt.

#### Anmerkung:

Die Substanz liegt als Gemisch zweier Diastereomere vor. Im NMR findet man jedoch nur für die Protonen am neu gebildeten Stereozentrum unterschiedliche Signale, die übrigen sind ununterscheidbar.

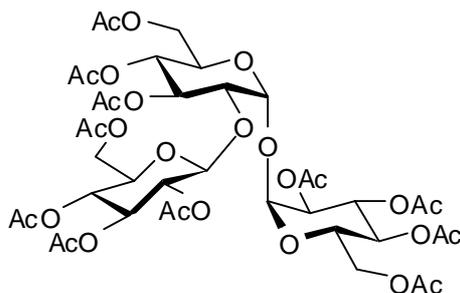
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 5.15 (dd, 1H, H-2), 5.06 (ddd, 1H, H-5), 4.60 (s, 1H, H-1), 4.10 (d, 1H, H-1'), 3.66 (dd, 1H, H-6a) 3.63 (dd, 1H, H-6b), 3.54 (dd, 1H, H-4), 3.51 (dd, 1H, H-3), 3.44 (s, 3H, Methoxy-CH<sub>3</sub>), 3.42 (s, 3H, Methoxy-CH<sub>3</sub>), 3.36 (s, 3H, Methoxy-CH<sub>3</sub>), 2.09, 2.07, 2.04 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>) ppm.

$J_{1,2} < 1$ ,  $J_{1,2} = 6.0$ ,  $J_{2,3} = 3.2$ ,  $J_{3,4} = 6.6$ ,  $J_{4,5} = 2.8$ ,  $J_{5,6a} = 4.7$ ,  $J_{5,6b} = 7.6$ ,  $J_{6a,6b} = 11.0$  Hz.

<sup>13</sup>C-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 172.48, 171.92, 171.83, 80.80 (C3), 80.36 (C4), 73.21 (C5), 72.52 (C2), 71.69 (C2), 61.17 (C1), 61.08 (C1'), 61.06 (Methoxy-CH<sub>3</sub>), 59.24

(Methoxy- $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 59.23 (Methoxy- $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 21.03 ( $\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 20.93 ( $\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 20.65 ( $\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ) ppm.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-3,4,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid [20]**



**Ausgewählte Signale**

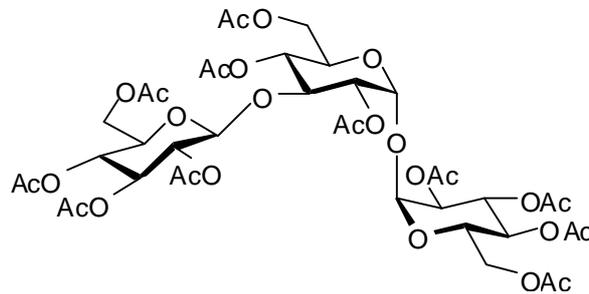
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.45 (m, 2H, 3-H, 3-H'), 5.26 (d, 1H, 1-H), 5.22 (d, 1H, 1-H'), 5.15 (vt, 2H, 4-H, 4-H'), 4.85 (dd, 1H, 2-H'), 4.64 (d, 1H, 1-H'), 3.93 (dd, 1H, 2-H'), 2.10 – 1.98 (m, 33H,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1',2'} = 7.9$ ,  $J_{2',3'} = 9.8$ ,  $J_{1,2'} = 3.8$ ,  $J_{2,3'} = 9.9$ ,  $J_{3,4'} = 9.5$ ,  $J_{4,5'} = 9.5$ ,  $J_{1,2} = 3.8$ ,  $J_{2,3} = 10.0$ ,  $J_{3,4} = 9.5$ ,  $J_{4,5} = 9.5$  Hz.

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 101.86 (C-1'), 95.17 (C-1), 93.66 (C-1'), 76.01 (C-2') ppm.

Die weiteren Signale könne auf Grund von regioisomeren Verunreinigungen nicht eindeutig zugeordnet werden.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-2,4,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-  
2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid [21]**



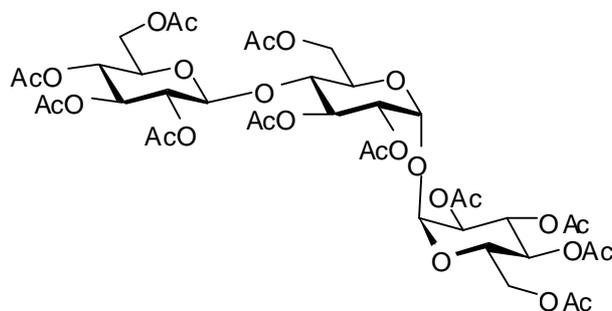
**Ausgewählte Signale**

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.55 (vt, 1H, H-3), 5.28 (d, 1H, 1-H'), 5.20 (d, 1H, 1-H), 5.03 (dd, 1H, 2-H), 4.95 (m, 2H, H 4, 4-H'), 4.76 (d, 1H, 1-H''), 4.45 (dd, 1H, 6-Ha'), 4.15 (m, 1H, 3-H'), 3.87 (m, 1H, 5-H'), 2.10 – 1.98 (m, 33H,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1'',2''} = 7.9$ ,  $J_{5'',6a''} = 3.8$ ,  $J_{6a'',6b''} = 12.6$ ,  $J_{1',2'} = 4.0$ ,  $J_{1,2} = 4.0$ ,  $J_{2,3} = 10.1$  Hz.

Die weiteren Signale könne auf Grund von regioisomeren Verunreinigungen nicht eindeutig zugeordnet werden.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-  
2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid [22]**



### Ausgewählte Signale

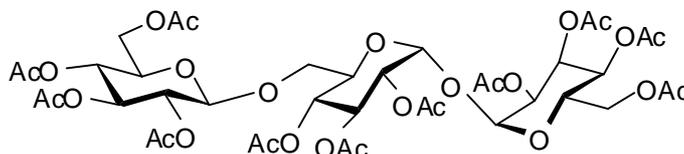
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.46$  (2 vt, 2H, 3-H, 3-H'), 5.27 (d, 1H, 1-H), 5.23 (d, 1H, 1-H'), 4.99 (m, 2H, 2-H, 2-H'), 4.51 (d, 1H, 1-H'), 3.70 (vt, 1H, 4-H'), 3.67, ddd, 1H, 5-H'), 2.10 – 1.98 (m, 33H,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1'',2''} = 7.9$ ,  $J_{1',2'} = 3.8$ ,  $J_{1,2} = 4.1$ ,  $J_{2',3'} = 10.0$ ,  $J_{2,3} = 10.1$ ,  $J_{3',4'} = 9.5$ ,  $J_{3,4} = 9.4$  Hz.

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 101.44$  (C-1'), 92.04 (2C, C-1, C-1'), 77.29 (C-4') ppm.

Die weiteren Signale könne auf Grund von regioisomeren Verunreinigungen nicht eindeutig zugeordnet werden.

### 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid [23]



### Ausgewählte Signale

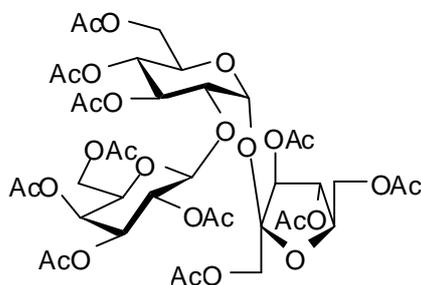
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 4.47$  (d, 1H, 1-H'), 3.45 (dd, 1H, 6-Ha') ppm.

$J_{1'',2''} = 8.0$ ,  $J_{5'',6a''} = 6.5$ ,  $J_{6a'',6b''} = 10.6$  Hz.

$^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 68.03$  (C-6') ppm.

Die weiteren Signale könne auf Grund von regioisomeren Verunreinigungen nicht eindeutig zugeordnet werden.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-3,4,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-fructofuranosid [24]**



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.62 (d, 1H, H-3'), 5.53 (d, 1H, H-1), 5.43 (vt, 1H, H-4'), 5.38 – 5.34 (m, 2H, H-3, H-4''), 5.27 (dd, 1H, H-2''), 4.93-4.96 (m, 2H, H-4, H-3''), 4.55 (d, 1H, H-1''), 4.04 – 4.40 (m, 10H, H-5, H-6a, H-6b, H-1a', H-1b', H-5', H-6a', H-6b', H-6a'', H-6b''), 3.87 (dd, 1H, H-5), 3.81 (dd, 1H, H-2), 2.17, 2.14, 2.13, 2.11, 2.10, 2.07, 2.07, 2.06, 2.05, 1.96, 1.96 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1,2} = 3.5$ ,  $J_{2,3} = 9.8$ ,  $J_{3',4'} = 7.9$ ,  $J_{4',5'} = 7.3$ ,  $J_{1'',2''} = 7.8$ ,  $J_{2'',3''} = 10.6$ ,  $J_{4'',5''} < 1$ ,  $J_{5'',6a''} = 6.7$ ,  $J_{5'',6b''} = 6.8$  Hz.

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 171.11, 171.00, 170.83, 170.70, 170.55, 170.49, 170.47, 170.19, 170.12, 169.97, 169.21 (CO), 104.10 (C2'), 102.16 (C1''), 92.12 (C1), 79.00 (C5), 75.59 (C2), 75.16 (C4'), 74.98 (C3'), 71.93 (C4''), 71.48 (C5''), 71.02 (C3''), 68.98 (C5), 68.76 (C4), 68.14 (C2''), 67.16 (C3), 65.48, 63.04, 62.48, 61.63 (C6, C1', C6', C6''), 21.20 – 20.73 (m,  $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ) ppm.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-2,4,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-fructofuranosid [25]**

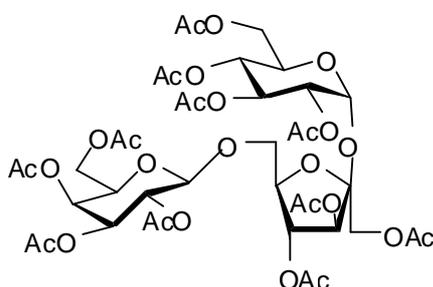
**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-2,3,4-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-fructofuranosid [27]**

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galacto-pyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4')-2,4,6-tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-fructofuranosid [29]**

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 4.74 (d, 1H, 1-H), 4.63 (d, 1H, 1-H), 4.78 (d, 1H, 1-H) ppm.

Anmerkung: Die Signale können den einzelnen Verbindungen nicht eindeutig zugeordnet werden.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6')-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-1,3,4-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-fructofuranosid [28]**

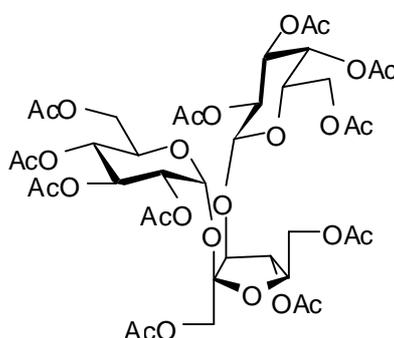


$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.59 (d, 1H, H-1), 5.48 (d, 1H, H-3'), 5.45 (vt, 1H, H-3), 5.39 (d, 1H, H-4''), 5.30 (vt, 1H, H-3'), 5.17 (dd, 1H, H-2''), 5.07 (vt, 1H, H-4), 5.05 (dd, 1H, H-3''), 4.89 (dd, 1H, H-2), 4.60 (d, 1H, H-1''), 4.38-4.25 (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), 4.20 – 4.05 (m, 5H, H-1a', H-1b', H-5', H-6a'', H-6b''), 4.06 (m, 1H, H-6b'), 3.97 (vt, 1H, H-5'), 3.81 (dd, (1H, H-6a'), 2.15, 2.14, 2.11, 2.10, 2.10, 2.08, 2.06, 2.03, 2.03, 2.01, 1.97 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1,2} = 3.8$ ,  $J_{2,3} = 10.4$ ,  $J_{3,4} = 9.7$ ,  $J_{4,5} = 10.1$ ,  $J_{3',4'} = 7.3$ ,  $J_{4',5'} = 7.0$ ,  $J_{1'',2''} = 7.9$ ,  $J_{2'',3''} = 10.5$ ,  $J_{3'',4''} = 3.5$ ,  $J_{4'',5''} < 1$ ,  $J_{5'',6a''} = 7.3$ ,  $J_{5'',6b''} = 7.3$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 171.10, 170.74, 170.70, 170.62, 170.53, 170.53, 170.46, 170.40, 170.30, 169.99, 169.93$  (CO),  $103.90$  ( $\text{C}1'$ ),  $102.14$  ( $\text{C}1''$ ),  $90.29$  ( $\text{C}1$ ),  $80.06$  ( $\text{C}5'$ ),  $76.01$  ( $\text{C}3'$ ),  $74.97$  ( $\text{C}4'$ ),  $71.17$  ( $\text{C}3''$ ),  $71.02$  ( $\text{C}6'$ ),  $70.98$  ( $\text{C}5''$ ),  $70.60$  ( $\text{C}2$ ),  $69.91$  ( $\text{C}3$ ),  $69.14$  ( $\text{C}2''$ ),  $68.93$  ( $\text{C}5$ ),  $68.63$  ( $\text{C}4$ ),  $67.35$  ( $\text{C}4''$ ),  $63.48$  ( $\text{C}6$ ),  $62.21$  ( $\text{C}6''$ ),  $61.32$  ( $\text{C}6'$ ),  $20.94 - 20.27$  (m,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3')-2,3,4-6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-1,4,6-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-fructofuranosid [30]**



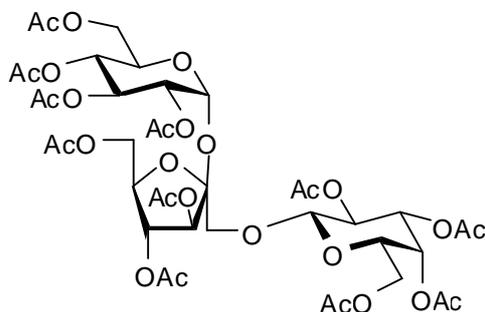
$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.75$  (d, 1H, H-1),  $5.50$  (vt, H-4'),  $5.43$  (vt, 1H, H-3),  $5.36$  (d, 1H, H-4''),  $5.13$  (dd, 1H, H-2''),  $5.07$  (vt, 1H, H-4),  $5.04$  (dd, 1H, H-3''),  $4.95$  (dd, 1H, H-2),  $4.60$  (d, 1H, H-1''),  $4.35$  (d, 1H, H-1a'),  $4.32$  (d, 1H, H-3'),  $4.27 - 4.29$  (m, 2H, H-5, H-6a),  $4.04 - 4.19$  (m, 7H, H-6a, H-1a', H-5', H-6a', H-6b', H-6a'', H-6b''),  $3.92$  (vt, 1H, H-5''),  $2.19, 2.15, 2.11, 2.11, 2.10, 2.09, 2.08, 2.05, 2.05, 2.00, 1.98$  ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1,2} = 3.8, J_{2,3} = 9.7, J_{3,4} = 9.8, J_{4,5} = 9.8, J_{1a',1b'} = 11.0, J_{3',4'} = 7.9, J_{4',5'} = 7.5, J_{1'',2''} = 7.8, J_{2'',3''} = 10.5, J_{3'',4''} = 2.8, J_{4'',5''} < 1, J_{5'',6a''} = 6.6, J_{5'',6b''} = 6.6$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 103.32$  ( $\text{C}2'$ ),  $102.24$  ( $\text{C}1''$ ),  $89.85$  ( $\text{C}1$ ),  $82.75$  ( $\text{C}3'$ ),  $79.01$  ( $\text{C}5$ ),  $74.23$  ( $\text{C}4'$ ),  $71.18$  ( $\text{C}3''$ ),  $71.16$  ( $\text{C}5''$ ),  $70.57$  ( $\text{C}3$ ),  $70.52$  ( $\text{C}2$ ),  $69.00$  ( $\text{C}2''$ ),  $68.58$  ( $\text{C}4$ ),  $68.47$  ( $\text{C}5$ ),  $67.00$  ( $\text{C}4''$ ),  $64.27, 63.34, 62.22, 61.08$  ( $\text{C}6, \text{C}1', \text{C}6', \text{C}6''$ ),  $20.93 - 21.25$  (m,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$\text{CO}$ -Signale sind auf Grund der geringen zur Verfügung stehenden Substanzmenge nicht zu ermitteln.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 1')-2,3,4-6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-fructofuranosid [31]**



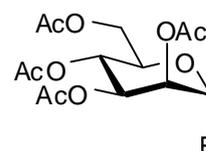
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.67 (d, 1H, H-1), 5.41-5.45 (m, 2H, H-3'', H-4'), 5.35 (m, 1H, H-3), 5.26 (d, 1H, H-4'), 5.16 (dd, 1H, H-2'), 5.02 (m, 1H, H-3'), 5.01 (m, 1H, H-4), 4.84 (dd, 1H, H-2), 4.53 (d, 1H, H-1'), 4.26-3.97 (m, 9H, H-5, H-5', H-5'', H-6a, H-6a', H-6a'', H-6b, H-6b', H-6b''), 3.75 (d, 1H, H-1a'), 3.46 (d, 1H, H-1b''), 2.15, 2.14, 2.12, 2.11, 2.09, 2.06, 2.04, 2.04, 2.03, 2.01 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1,2} = 3.7$ ,  $J_{2,3} = 10.4$ ,  $J_{1a',1b'} = 10.7$ ,  $J_{1'',2''} = 7.5$ ,  $J_{2'',3''} = 8.2$ ,  $J_{3'',4''} < 1$ ,  $J_{4'',5''} = 3.0$  Hz.

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 171.10, 170.91, 170.64, 170.63, 170.56, 170.52, 170.47, 170.26, 170.18, 170.04, 169.95 (CO), 101.21 ( $\text{C}2''$ ), 101.95 ( $\text{C}1'$ ), 90.01 ( $\text{C}1$ ), 82.32 ( $\text{C}5''$ ), 75.24 ( $\text{C}3''$ ), 73.57 ( $\text{C}4''$ ), 71.27 ( $\text{C}3'$ ), 71.09 ( $\text{C}2$ ), 71.03 ( $\text{C}3$ ), 70.32 ( $\text{C}1''$ ), 69.12 ( $\text{C}2'$ ), 68.63 ( $\text{C}4$ ), 68.86 ( $\text{C}5$ ), 68.78 ( $\text{C}5'$ ), 67.36 ( $\text{C}4'$ ), 63.32, 62.01, 61.59 ( $\text{C}6, \text{C}6', \text{C}6''$ ), 21.10 – 21.03 (m,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

**2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosylfluorid [34a]**

- $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_9\text{F}$
- 350.30 g/mol
- $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 7$  (c 1,  $\text{CHCl}_3$ )
- Smp.: 115 °C, Lit. <sup>91</sup>: Smp.: 67 - 68 °C
- $[\alpha]_{546}^{20} = + 29$  (c 1  $\text{CHCl}_3$ ); Lit. <sup>91</sup>:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 22$  (c 1.68  $\text{CHCl}_3$ )
- Ausbeute: 65 %
- Farbloser sirupöser Feststoff.



Die Durchführung entspricht AAV 5.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.55 (d, 1H, H-1), 5.40 – 5.30 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 4.14 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2.01, 1.98, 1.98, 1.97 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1,2} = 1.7$ ,  $J_{1,F5} = 48.3$  Hz.

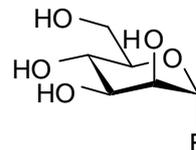
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 104.01 (C1), 72.73 (C5), 68.37 (C3), 66.62 (C2), 66.15 (C4), 62.51 (C6), 20.58, 20.05, 19.95, 19.56 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{\text{C1,F}} = 220$ ,  $J_{\text{C2,F}} = 24$  Hz.

$\underline{\text{CO}}$ -Signale sind auf Grund der geringen Signalintensität nicht zu ermitteln.

### $\alpha$ -D-Mannopyranosylfluorid [34]

- $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{FO}_5$
- 182.15 g/mol
- $[\alpha]_{546}^{20} = +27$  (c 1,  $\text{CHCl}_3$ )
- Ausbeute: quantitativ
- Farbloser, sirupöser Feststoff



Die Durchführung entspricht AAV 5b.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  = 5.42 (d, 1H, H-1), 3.90 (s, 1H, H-3), 3.72 (m, 1H, H-2), 3.50 – 3.40 (m, 3H, H-4, H-6a, H-6b), 3.25 (m, 1H, H-5) ppm.

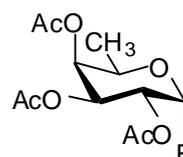
$J_{1,2} = 1.0$ ,  $J_{1,F5} = 49.3$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta = 103.19$  (C1), 77.32 (C5), 75.30 (C3), 71.22 (C2), 68.20 (C4), 61.95 (C6) ppm.

$J_{\text{C1,F}} = 220$ ,  $J_{\text{C2,F}} = 24$  Hz.

### 2,3,4-Tri-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-fucopyranosylfluorid [35a]

- $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{FO}_7$
- 292.09 g/mol
- $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +100^\circ$  (c 1  $\text{CHCl}_3$ ); Lit. <sup>73</sup>:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +148^\circ$  (c 0.4,  $\text{CHCl}_3$ )
- Smp. : 84 °C
- Ausbeute: 36 %
- Farbloser Feststoff



:

Die Durchführung entspricht AAV 5.

$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 5.76$  (dd, 1H, H-1), 5.39-5.35 (m, 2H, H-3, H-4), 5.17 (ddd, 1H, H-2), 4.35 (vt, 1H, H-5), 2.17, 2.11, 2.01, ( $\text{CH}_3$ ), 1.20 (d, 3H, H-6) ppm.

$J_{1,2} = 2.5$ ,  $J_{2,3} = 10.8$ ,  $J_{4,5} < 1$ ,  $J_{5,6} = 6.6$ ,  $J_{1,\text{F}} = 53.8$ ,  $J_{2,\text{F}} = 24.0$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 104.55$  (C1), 70.38, (C4), 67.61 (C5), 67.45, (C-2), 67.36 (C3), 20.70, 20.64, 20.58, ( $\text{COCH}_3$ ), 15.79 (C-6) ppm.

$\underline{\text{CO}}$ -Signale sind auf Grund der geringen Signalintensität nicht zu ermitteln.

$J_{\text{C1,F}} = 181$ ,  $J_{\text{C2,F}} = 12$  Hz.

### $\alpha$ -D-Fucopyranosylfluorid [35]

-  $C_6H_{11}FO_4$

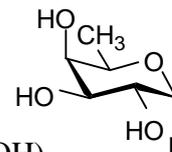
- 166.15 g/mol

-  $[\alpha]_D^{20} = +139$  (c=1 in MeOH); Lit.<sup>73</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = +137^\circ$  (c 1 in MeOH)

- Smp. : 235 °C

- Ausbeute: quantitativ

- Farbloser Feststoff



Die Durchführung entspricht AAV 5.

$^1H$ -NMR (400 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 5.60$  (dd, 1H, H-1), 5.13 (d, 1H, H-4), 4.21 (vt, 1H, H-3), 3.84 (ddd, 1H, H-2), 3.79 (m, 1H, H-5), 1.13 (d, 3H, H-6) ppm.

$J_{1,2} = 3.5$ ,  $J_{2,3} = 10.1$ ,  $J_{3,4} = 3.8$ ,  $J_{4,5} < 1$ ,  $J_{5,6} = 6.6$ ,  $J_{1,F} = 54.1$ ,  $J_{2,F} = 24.0$  Hz.

$^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $D_2O$ )  $\delta = 97.63$  (C1), 73.33, (C4), 72.29 (C5), 71.84, (C-2), 69.67 (C-3), 14.93 (C-6) ppm.

$J_{C1,F} = 182$ ,  $J_{C2,F} = 12$  Hz.

### 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosylfluorid [36a]

-  $C_{14}H_{19}O_9F$  (350.30 g/mol)

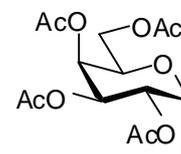
-  $[\alpha]_D^{20} = +100^\circ$  (c 1,  $CHCl_3$ );

Lit.<sup>73</sup>:  $[\alpha]_D^{20} = +96.5^\circ$  (c 1,  $CHCl_3$ )

- Smp.: 62 °C, Lit.<sup>87</sup>: 67-68 °C

- Ausbeute: 68 %

- Farbloser Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.74 (dd, 1H, H-1), 5.46 (d, 1H, H-4), 5.29 (dd, 1H, H-3), 5.12 (ddd, 1H, H-2), , 4.34 (vt, 1H, H-5), 4.08 (m, 2H, H-6a. H-6b) 2.09, 2.05, 1.99, 1.94 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

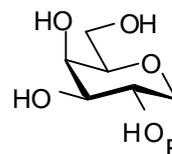
$J_{1,2} = 2.8$ ,  $J_{2,3} = 11.0$ ,  $J_{3,4} = 3.4$ ,  $J_{5,6a} = 6.6$ ,  $J_{5,6b} = 6.6$ ,  $J_{1,F} = 53.3$ ,  $J_{2,F} = 23.6$  Hz.

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 174.34, 172.98, 172.85, 171.02 (CO), 104.72 (C-1), 69.27 (C-5), 67.95 (C-3), 67.76 (C-4), 67.40 (C-2), 61.67 (C-6), 21.06, 21.03, 21.00, 20.94 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

$^1J_{\text{C-1,F}} = 113.6$  Hz.

### $\alpha$ -D-Galactopyranosylfluorid [36]

- $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{FO}_5$
- 182.15 g/mol
- $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +122$  (c=1 in MeOH),
- Lit.<sup>87</sup>:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +127$  (c=1 in MeOH)
- Smp.: 114 °C
- Ausbeute: quantitativ
- Farbloser Feststoff



Die Durchführung entspricht AAV 5b.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  = 5.42 (dd, 1H, H-1), 4.98 (d, 1H, H-4), 4.56 (ddd, 1H, H-2), 3.67 (vt, 1H, H-3), 3.55 (m, 1H, H-5), 3.41 (m, 2H, H-6a, H-6b) ppm.

$J_{1,2} = 2.8$ ,  $J_{2,3} = 9.1$ ,  $J_{3,4} = 3.8$ ,  $J_{4,5} < 1$ ,  $J_{1,F} = 54.7$ ,  $J_{2,F} = 24.1$  Hz.

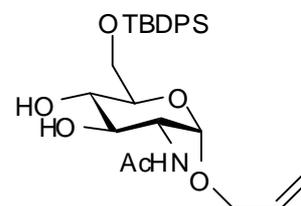
$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  = 108.62 (C1), 74.30, (C5), 74.27 (C4), 69.41, (C-3), 68.12 (C-2), 14.93 (C-6) ppm.

$J_{\text{C1,F}} = 222$ ,  $J_{\text{C2,F}} = 23$  Hz.

## Allyl-2-acetamido-2-deoxy-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid [38]

- $C_{27}H_{37}NO_6Si$
- 499.68 g/mol
- Drehwert:  $[\alpha]_{546}^{20} = + 50^\circ$  (c 0.25,  $CHCl_3$ )
- Smp: 147 °C
- MALDI-TOF: 522.1  $[M + Na]^+$
- Ausbeute: 652 mg (72 %)
- Elementaranalyse:
 

Ber.:	C	64.90	N	2.80	H	7.26
Gef.:	1.	C 64.83	N 2.65	H 7.36		



### Durchführung:

0.5 g Allyl-2-acetamido-2-deoxy- $\alpha$ -D-glucopyranosid (1.82 mmol) werden in 10 mL trockenem Pyridin gelöst und mit 0.3 g Imidazol 1 h über aktiviertem Molsieb 3Å gerührt. Dann werden 0.56 mL *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid (2.10 mmol, 1.15 Åq) hinzugegeben und die Lösung über Nacht gerührt. Dann wird die Lösung mit 50 mL Dichlormethan verdünnt, zweimal mit 50 mL Wasser, einmal mit 0.5 N Salzsäure und mit ges. Natriumcarbonatlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Verbliebenes Pyridin wird zweimal mit Toluol kodestilliert. Der Rückstand wird in 20 mL Dichlormethan aufgenommen und mit soviel Petrolether versetzt, bis ein weißer Niederschlag entsteht. Dieser wird abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

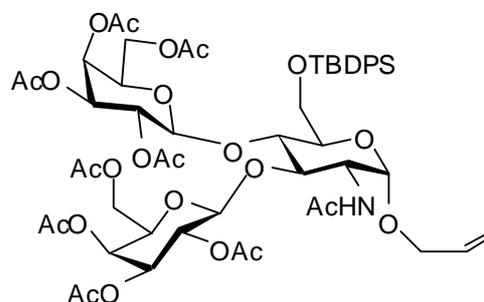
$^1H$ -NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  = 7.62 – 7.60 (m, 4H, H-Ar), 7.33 – 7.25 (m, 6H, H-Ar), 6.43 (d, 1H, N-H), 5.80 (ddd, 1H,  $OCH_2CHCH_2$ ), 5.17 (dd, 1H,  $OCH_2CHCH_2$ ), 5.10 (dd, 1H,  $OCH_2CHCH_2$ ), 4.42 (d, 1H, H-1), 4.25 (dd, 1H,  $OCH_2CHCH_2$ ), 3.97 (dd, 1H,  $OCH_2CHCH_2$ ), 3.64 (vt, 1H, H-3), 3.89 (dd, 1H, H-6a), 3.80 (dd, 1H, H-6b), 3.52 – 3.42 (m, 2H, H-2, H-4), 3.35 (ddd, 1H, H-5), 1.94 (s, 3H,  $COCH_3$ ), 0.91 (s, 9H,  $C(CH_3)_3$ ) ppm.

$J_{1,2} = 4.1$ ,  $J_{2A,NH} = 6.4$ ,  $J_{2,3} = 8.9$ ,  $J_{3,4} = 9.7$ ,  $J_{4,5} = 9.1$ ,  $J_{5,6a} = 6.3$ ,  $J_{5,6b} = 5.6$ ,  $J_{6a,6b} = 10.9$ ,  $J_{AllylOCH_2CHCH_2, 1} = 1.0$ ,  $J_{AllylOCH_2CHCH_2, 2} = 5.1$ ,  $J_{AllylOCH_2CHCH_2, 3} = 10.4$ ,  $J_{AllylOCH_2CHCH_2, 4} = 17.3$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 173.08 (CO), 134.19 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 118.23 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 99.88 (C1), 76.32 (C5), 75.44 (C3), 72.29 (C4), 69.92 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 64.46 (C6), 57.81 (C2), 27.19 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 23.94 ( $\text{COCH}_3$ ) 19.67 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ) ppm.

**Allyl-2-acetamido-2-deoxy-6-*O*-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-di-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-galactopyranosid [39]**

- $\text{C}_{55}\text{H}_{73}\text{NO}_{24}\text{Si}$
- 1160.26 g/mol
- Drehwert:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +100^\circ$  (c 1,  $\text{CHCl}_3$ )
- Smp.:  $82^\circ\text{C}$
- MALDI-TOF: 1182.1  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ,  
1199.1  $[\text{M} + \text{K}]^+$



- $R_f = 0.60$  (Aceton / Petrolether 1 : 1)
- Ausbeute: 810 mg (47 %) (Anmerkung: Es tritt als Nebenprodukt ein monoglycosylierter und monoacetylierter Akzeptor auf, der einen  $R_f$  –Wert von 0.63 (Aceton / Petrolether 1 : 1) besitzt. Dieser kann nur als Mischfraktion mit dem Produkt isoliert werden. Die Gesamtausbeute an Produkt (Trisaccharid) beträgt damit ca. 65 % (Addition von sauberer Produktfraktion und Mischfraktion, deren Anteile über die Integrale im  $^1\text{H}$  NMR abgeschätzt werden)).
- Weißer, amorpher Feststoff
- Elementaranalyse: Ber.: C 56.94 N 1.21 H 6.34  
Gef.: 1. C 56.25 N 1.30 H 5.95

Die Reaktion findet unter Schlenck-Bedingungen statt.

750 mg (1.5 mmol) Allyl-2-acetamido-2-deoxy- $\alpha$ -D-galactopyranosid (**38**) werden zusammen mit 2.00 g (4.0 mmol, 2.7 Äq) *O*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-trichloracetimidat (**2**) in 10 mL trockenem Dichlormethan gelöst und zwei Stunden über aktiviertem Molsieb  $3\text{\AA}$  gerührt. Dann werden bei  $0^\circ\text{C}$  2 mL einer 0.221 M Lösung von Trimethylsilyltriflat in Dichlormethan zugegeben. Nach drei Stunden Rühren bei  $0^\circ\text{C}$  wird noch eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt, danach wird die Reaktion durch Zugabe von

1 mL Pyridin abgebrochen. Die Lösung wird filtriert, eingengt, in 5 mL Pyridin aufgenommen und mit 1 mL Essigsäureanhydrid versetzt. Dies geschieht, um den Glycosyldonor und das Hydrolyseprodukt des Glycosyldonors säulenchromatographisch besser abtrennen zu können.

Nach Rühren über Nacht wird die Lösung zur Trockne eingengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel Aceton / Petrolether 1 : 1).

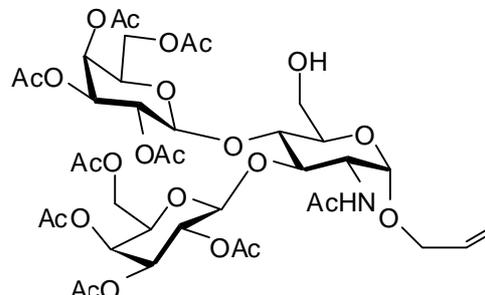
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ )  $\delta = 7.87 - 7.85$  (m, 4H, H-Ar), 7.43-7.33 (m, 6H, H-Ar), 5.86 (d, 1H, N-H), 5.57 (ddd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.40 – 5.33 (m, 4H, H-2B, H-4B, H-2C, H-4C), 5.07 (dd, 1H, H-3C), 5.05 (dd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.02 (dd, 1H, H-3B), 4.84 (dd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.80 (d, 1H, H-1A), 4.52 (d, 1H, H-1B), 4.48 (ddd, 1H, H-2A), 4.30 (d, 1H, H-1C), 4.22 (dd, 1H, H-6aB), 4.18 (dd, 1H, H-6bB), 4.10 – 4.07 (m, 4H, H-6aC, H-6bC, H-6aA, H-3A), 3.95 (dd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3.80 (m, 2H, H-4A, H-6bA), 3.73 (m, 1H, H-5A), 3.70 (dd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3.57 (vt, 1H, H-5B), 3.43 (vt, 1H, H-5C), 1.98, 1.90, 1.83, 1.80, 1.80, 1.77, 1.74, 1.73, 1.71 ( $\text{COCH}_3$ ), 1.21 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ) ppm.

$J_{1A,2A} = 3.2$ ,  $J_{2A,NH} = 9.2$ ,  $J_{2A,3A} = 9.5$ ,  $J_{5A,6aA} = 6.0$ ,  $J_{5A,6bA} = 6.0$ ,  $J_{1B,2B} = 7.9$ ,  $J_{2B,3B} = 10.4$ ,  $J_{3B,4B} = 3.8$ ,  $J_{4B,5B} < 1$ ,  $J_{5B,6aB} = 6.6$ ,  $J_{5B,6bB} = 6.6$ ,  $J_{6aB,6bB} = 11.4$ ,  $J_{1C,2C} = 7.9$ ,  $J_{2C,3C} = 10.4$ ,  $J_{3C,4C} = 3.8$ ,  $J_{4C,5C} < 1$ ,  $J_{5C,6aC} = 6.6$ ,  $J_{5C,6bC} = 6.6$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 1} < 1$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 2} = 5.4$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 3} = 9.7$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 4} = 16.7$  Hz.

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ )  $\delta = 170.48$ , 170.28, 170.25, 170.23, 170.22, 170.05, 169.99, 169.93, 169.79 (CO), 134.50 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 117.78 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 100.85 (C1B), 100.41 (C1C), 94.83 (C1A), 76.51 (C3A), 75.44 (C5A), 74.38 (C4A), 71.58 (C5B), 71.54 (C3C), 71.43 (C3B), 71.24 (C5C), 69.86, 69.35 (C2B, C2C), 69.09 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 67.77 (2C, C4B, C4C), 62.15, 61.85, 61.69 (C6A, C6B, C6C), 51.45 (C2A), 27.35 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 20.94, 20.88, 20.57, 20.54, 20.52, 20.49, 20.48, 20.46, 20.44 ( $\text{COCH}_3$ ), 19.77 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ) ppm.

**Allyl-2-acetamido-2-deoxy-3,4-di-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-α-D-glucopyranosid [40]**

- C<sub>39</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>24</sub>
- 921.86 g/mol
- Drehwert:  $[\alpha]_{546}^{20} = + 47^\circ$  (c 0.25, CHCl<sub>3</sub>)
- Smp.: 112-113 °C
- MALDI-TOF: 944.3 [M + Na]<sup>+</sup>
- Ausbeute: 321 mg (67 %, 0.35 mmol)
- weißer, amorpher Feststoff
- Elementaranalyse: Ber.: C 50.81 N 1.52 H 6.01  
Gef.: 1. C 50.96 N 1.48 H 6.28



**Durchführung:**

Die Reaktion findet unter Schleck-Bedingungen statt.

600 mg Allyl-2-acetamido-2-deoxy-6-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-3,4-di-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-α-D-glucopyranosid (**39**) werden in einem Plastikgefäß in 20 mL trockenem THF gelöst und mit 20 mL einer 65 prozentigen Lösung von Fluorwasserstoff in Pyridin versetzt. Nach 4 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wird die Lösung mit gesättigter Natriumcarbonatlösung und festem Natriumcarbonat neutralisiert. Danach wird die Lösung mit 20 mL Wasser verdünnt und 3 mal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Das Rohprodukt wird an Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel: Gradient Aceton / Petrolether 1 / 2 → 2 / 1).

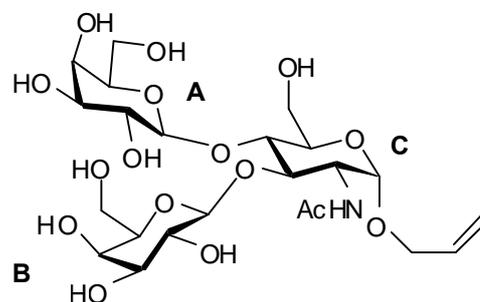
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 5.84 (d, 1H, NH), 5.78 (dddd, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.33 (m, 2H, H-4B, H-4C), 5.20 (dd, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.16 (dd, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 5.08 (dd, 1H, H-2B), 5.03 (dd, 1H, H-3C), 5.00 (dd, 1H, H-2C), 4.94 (dd, 1H, H-3B), 4.72 (d, 1H, H-1A), 4.69 (d, 1H, H-1C), 4.68 (d, 1H, H-1B), 4.29 (dd, 1H, H-6aC), 4.19 – 4.05 (m, 6H, H-2A, H-3A, H-6aB, H-6aC, H-6bC, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4.00 (vt, 1H, H-5C), 3.89 (dd, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 3.80 (vt, 1H, H-5B), 3.77 (vt, 1H, H-4A), 3.72 – 3.70 (m, 2H, H-6aA, H-6bA), 3.65 (ddd, 1H, H-5A), 2.09 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.07, 2.03, 2.03, 1.99, 1.98, 1.96, 1.91, 1.91 (CH<sub>3</sub>) ppm.

$J_{1A,2A} = 3.5$ ,  $J_{2A,NH} = 9.4$ ,  $J_{3A,4A} = 7.9$ ,  $J_{4A,5A} = 10.0$ ,  $J_{5A,6aA} = 5.8$ ,  $J_{5A,6bA} = 8.2$ ,  $J_{6aA,6bA} = 11.0$ ,  $J_{1B,2B} = 7.8$ ,  $J_{2B,3B} = 10.4$ ,  $J_{3B,4B} = 3.4$ ,  $J_{4B,5B} < 1$ ,  $J_{5B,6bB} = 6.4$ ,  $J_{1C,2C} = 7.8$ ,  $J_{2C,3C} = 10.4$ ,  $J_{3C,4C} = 3.4$ ,  $J_{4C,5C} < 1$ ,  $J_{5C,6aC} = 7.2$ ,  $J_{5C,6bC} = 8.2$ ,  $J_{6aC,6bC} = 11.0$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 1} = 1.3$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 2} = 5.7$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 3} = 11.0$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 4} = 16.7$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.73$ ,  $170.69$ ,  $170.66$ ,  $170.61$ ,  $170.46$ ,  $170.44$ ,  $170.36$ ,  $170.24$  (CO),  $133.78$  ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $118.72$  ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $100.44$  (C1C),  $99.82$  (C1B),  $95.77$  (C1A),  $75.34$  (C3A),  $74.95$  (C4A),  $72.57$  (C5A),  $71.41$  (C3C),  $71.26$  (C3B),  $71.04$  (C5C),  $70.84$  (C5B),  $70.01$  (C2B),  $69.38$  (C2C),  $69.16$  ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $67.37$ ,  $67.29$  (2C, C4B, C4C),  $61.76$  (C6A),  $61.13$  (C6B),  $61.08$  (C6C),  $52.20$  (C2A),  $21.10 - 21.07$  (4C, 4\*  $\text{CH}_3$ ),  $21.31$ ,  $21.24$ ,  $20.99$ ,  $20.94$ ,  $20.90$  ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

### Allyl-2-acetamido-2-deoxy-3,4-di-*O*- $\beta$ -D-galactopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid [41]

- $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{NO}_{16}$
- 585.7 g/mol
- Smp.: 122-123 °C
- $[\alpha]_{546}^{20} = +184^\circ$  (c 0.2,  $\text{H}_2\text{O}$ )
- $R_f = 0.1$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{MeOH} / \text{H}_2\text{O}$  7 / 3.5 / 0.6)
- weißer, amorpher Feststoff



Die Durchführung entspricht AAV 5.

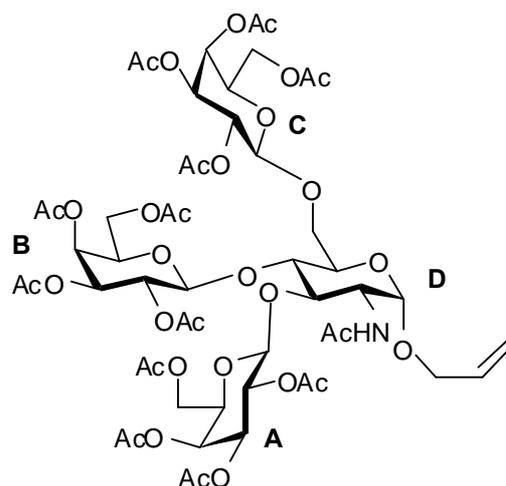
$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta = 5.98$  (dddd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $5.32$  (dd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $5.28$  (dd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.95$  (d, 1H, H-1C),  $4.65$  (d, 1H, H-1A),  $4.63$  (d, 1H, H-1B),  $4.35$  (vt, 1H, H-3C),  $4.23$  (dd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $4.13$  (dd, 1H, H-2C),  $4.07$  (m, 2H, H-4C,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ),  $3.95$  (m, 4H, H-4A, H-4B, H-6aC, H-6bC),  $3.92$  (m, 1H, H-5C),  $3.86 - 3.72$  (m, 6H, H-5A, H-5B, H-6aA, H-6bA, H-6aB, H-6bB),  $3.70 - 3.65$  (m, 3H, H-2A, H-3A, H-3B),  $3.63$  (dd, 1H, H-2B),  $2.07$  (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1A,2A} = 7.3$ ,  $J_{1B,2B} = 7.3$ ,  $J_{1C,2C} = 3.5$ ,  $J_{2C,3C} = 10.6$ ,  $J_{3C,4C} = 9.8$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2,1} = 1.0$ ,  
 $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2,2} = 5.4$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2,3} = 10.9$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2,4} = 16.7$  Hz.

$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta = 174.59$  ( $\underline{\text{C}}\text{O}$ ), 133.87 ( $\text{OCH}_2\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ), 118.49 ( $\text{OCH}_2\text{CH}\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ),  
 101.52 (C1A), 102.10 (C1B), 96.39 (C1C), 76.09, 76.00 (C5A, C5B), 73.10 (C3C), 72.97,  
 72.69 (C3A, C3B), 72.79 (C4C), 71.98 (C5C), 68.76 (2C, C4A, C4B), 70.67, 70.33 (C2A,  
 C2B), 68.94 ( $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CHCH}_2$ ), 61.37, 61.32 (C6A, C6B), 60.40 (C6C), 53.87 (C2C), 22.34  
 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ) ppm.

**Allyl-2-acetamido-2-deoxy-3,4,6-tri-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosid [42]**

- $\text{C}_{53}\text{H}_{73}\text{NO}_{33}$
- 1252.15 g/mol
- $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +91^\circ$  (c 1,  $\text{CHCl}_3$ )
- Smp.: 187 °C (Zersetzung)
- MALDI-TOF: 1273.8  $[\text{M} + \text{Na}]^+$
- $R_f = 0.16$  (Aceton / Petrolether 1 : 1)
- Ausbeute: 600 mg (15 %, 0.5 mmol)
- weißer, amorpher Feststoff



Durchführung:

Die Reaktion findet unter Schlenck-Bedingungen statt.

3.00 g (3.25 mmol) Allyl-2-acetamido-2-deoxy-3,4-di-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosid (**40**) werden in 30 mL trockenem Toluol gelöst und zusammen mit 3.00 g (8.1 mmol) Acetochlorgalactose zwei Stunden über aktiviertem Molsieb 3A gerührt. Dann wird eine Lösung von 2.10 g (8.1 mmol) Silbertriflat in 10 mL Toluol und 1 mL Tetramethylharnstoff hinzugegeben. Nach 24 Stunden Rühren bei Raumtemperatur werden 3 mL Pyridin und 1 mL Wasser hinzugegeben. Die Lösung wird filtriert, eingengt und das Produkt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Aceton / Petrolether 1 / 2), wobei 55 % von Allyl-2-acetamido-2-deoxy-3,4-

di-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosid zurückgewonnen (**40**) werden.

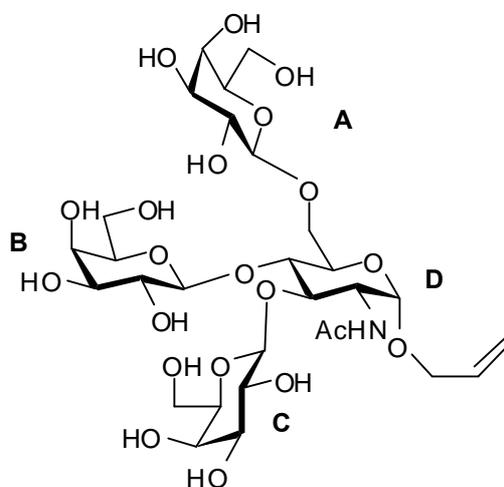
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 5.91 (d, 1H, N-H), 5.80 (dddd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.35 (d, 1H, H-4C), 5.33 (d, 1H, H-4A), 5.32 (d, 1H, H-4B), 5.23 (dd, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.16 (m, 1H, H-2C), 5.14 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 5.07 (dd, 1H, H-2B), 5.03-4.98 (m, 3H, H-2A, H-3B, H-3C), 4.92 (dd, 1H, H-3A), 4.66 (d, 1H, H-1A), 4.63 (d, 1H, H-1D), 4.60 (d, 1H, H-1B), 4.50 (d, 1H, H-1C), 4.17 – 4.03 (m, 8H, H-6aA, H-6bA, H-6aB, H-6bB, H-6aC, H-6bC, H-4D,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4.18 (m, 1H, H-2D), 4.06 (vt, 1H, H-4D), 3.96 (m, 1H, H-6bD), 3.94 – 3.82 (m, 5H, H-5A, H-5B, H-5C, H-3D,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3.86 (m, 1H, H-3D), 3.66 (vt, 1H, H-5D), 3.70 (dd, 1H, 6-aD), 1.91, 1.91, 1.92, 1.98, 1.98, 1.98, 1.99, 1.99, 2.01, 2.04, 2.07, 2.09, 2.10 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

$J_{1A,2A} = 7.9$ ,  $J_{2A,3A} = 10.4$ ,  $J_{3A,4A} = 3.5$ ,  $J_{4A,5A} < 1$ ,  $J_{1B,2B} = 7.5$ ,  $J_{2B,3B} = 10.4$ ,  $J_{3B,4B} = 3.1$ ,  $J_{4B,5B} < 1$ ,  $J_{1C,2C} = 8.2$ ,  $J_{3C,4C} = 2.9$ ,  $J_{4C,5C} < 1$ ,  $J_{1D,2D} = 3.2$ ,  $J_{2D,NH} = 9.7$ ,  $J_{3D,4D} = 10.1$ ,  $J_{4D,5D} = 9.8$ ,  $J_{5D,6aD} = 6.3$ ,  $J_{5D,6bD} = 6.6$ ,  $J_{6aD,6bD} = 11.7$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 1} = 1.9$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 2} = 5.9$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 3} = 10.4$ ,  $J_{\text{AllylOCH}_2\text{CHCH}_2, 4} = 16.7$  Hz.

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 170.77 – 170.17 (CO), 133.87 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 118.52 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 102.24 (C1C), 100.08 (C1A), 99.53 (C1B), 94.41 (C1A), 74.86 (C5A), 74.43 (C4A), 72.90 (C3A), 71.29, 71.23, 71.13 (3C, C5A, C5B, C5C), 71.04 (C3A), 69.58 (C2A), 68.91 (C6A), 68.57 ( $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2$ ), 67.38, 67.31, 67.25 (3C, C4A, C4B, C4C), 61.47, 61.39, 61.10 (3C, C6A, C6B, C6C), 51.00 (C2A), 21.19 – 20.94 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**Allyl-2-acetamido-2-deoxy-(3,4,6-tri-O-β-D-galactopyranosyl)-α-D-glucopyranosid [43]**

- $C_{27}H_{46}NO_{20}$
- 704.66 g/mol
- $[\alpha]_{546}^{20} = + 69.5^\circ$  (c 0.4, H<sub>2</sub>O)
- Smp.: 203 °C (Zersetzung)
- $R_f = 0.05$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH / H<sub>2</sub>O 7 / 3.5 / 0.6)
- FAB: 770.5 [M+Na<sup>+</sup>]
- weißer, amorpher Feststoff



Die Durchführung entspricht AAV 5.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta = 5.90$  (ddd, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCHCH<sub>2</sub>),  $5.30$  (d, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCHCH<sub>2</sub>),  $5.22$  (dd, 1H, OCH<sub>2</sub>CHCHCH<sub>2</sub>),  $4.91$  (d, 1H, H-1D),  $4.60$  (d, 1H, H-1B),  $4.56$  (t, 1H, H-1C),  $4.38$  (d, 1H, H-1A),  $4.33$  (vt, 1H, H-3D),  $4.23$  (d, 1H, H-6aD),  $4.05 - 3.95$  (m, 4H, H-2D, H-4D, H-6bD, OCH<sub>2</sub>CHCHCH<sub>2</sub>),  $3.88 - 3.85$  (m, 3H, H-4A, H-4B, H-4C),  $3.80 - 3.48$  (m, 15H, H-2B, H-2C, H-3A, H-3B, H-3C, H-5A, H-5B, H-5C, H-5D, H-6aA, H-6bA, H-6aB, H-6bB, H-6aC, H-6bC),  $3.50$  (dd, 1H, H-2A),  $1.99$  (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ppm.

$J_{1A,2A} = 7.9$ ,  $J_{1B,2B} = 7.9$ ,  $J_{1C,2C} = 7.2$ ,  $J_{1D,2D} = 3.2$ ,  $J_{2A,3A} = 9.4$ ,  $J_{2D,3D} = 9.8$ ,  $J_{3D,4D} = 10.1$ ,  $J_{6aD,6bD} = 10.1$ ,  $J_{AllylOCH_2CH_2CH_2, 2} = 5.9$ ,  $J_{AllylOCH_2CH_2CH_2, 3} = 10.4$ ,  $J_{AllylOCH_2CH_2CH_2, 4} = 17.0$  Hz.

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta = 174.59$  (CO),  $133.72$  (OCH<sub>2</sub>CHCHCH<sub>2</sub>),  $118.72$  (OCH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>),  $103.38$  (C1A),  $101.84$  (C1B),  $101.61$  (C1C),  $96.31$  (C1D),  $73.93$  (C4D),  $72.02$  (C3D),  $69.14$  (OCH<sub>2</sub>CHCHCH<sub>2</sub>),  $69.06$ ,  $68.84$ ,  $68.68$  (C4A, C4B, C4C),  $67.51$  (C6D),  $61.39$ ,  $61.35$ ,  $61.31$  (C6A, C6B, C6C),  $53.80$  (C2D),  $22.33$  (CH<sub>3</sub>) ppm.

Weitere <sup>13</sup>C-NMR-Signale, welche sich nicht zuordnen lassen:

$76.00$ ,  $75.95$ ,  $75.47$ ,  $73.07$ ,  $72.82$ ,  $72.72$ ,  $70.94$ ,  $70.93$ ,  $70.75$ ,  $70.15$  ppm.

## 7. Gefahrenhinweise

	R-Sätze	S-Sätze	Gefahren- symbole
Aceton	11-36-66-67	9-16-26	F, Xi
Acetonitril	11-23/24/25	16-27-45	F, T
Allylalkohol	10-23/24/25 36/37/38-50	36/37/39-38 45-61	T, N
Essigsäure (33 prozentig)		36/37/39-45	
Chloroform	22-38-40-48/20/22	36/37	Xn
<i>syn</i> -Collidin	10-22-36/38	23.2	Xn
Dichlormethan	40	23.2-24/25-36/37	Xn
Diethylether	12-19-22-66-67	2-9-16-29-33	Xn, F+
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	61-E20/21-36	53-45	T
Ethylacetat	11-36-66-67	16-26-33	F, Xi
Essigsäure	10-35	23.2-26-45	C
Essigsäureanhydrid	10-20/22-34	26-36/37/39-45	C
Ethanol	11	7-16	F
Fluorwasserstoff	26/27/28-35	1-2-7/9-26-36/37 39-45	T+, C
Lithiumhydrid	15-34	7/8-26-36/37/39 43-45	F, C
Methanol	11-23/24/25- 39/23/24/25	7-16-36/37-45	F, T
1-Methylimidazol	21/22-34	26-36-45	C
Natriumhydrid	15-34	7/8-26-36/37/39 43.6-45	F, C
Natriumhydroxid	45	26-37/39-45	C
Natriumsulfat		22-24/25	
Petrolether (50/70)	12-65	9-16-23.2-24-33-62	F, Xn
Pyridin	11-20/21/22	26-28.1	F, Xn
Pyridinhydrochlorid	22-36/38	22	Xn

Tert-Butyldiphenylsilyl- chlorid	14-20/21/22-29-34	8-26-36/37/38-45	c
Titantetrachlorid	14-34-36/37	7/8-26-45	C
Trifluoressigsäure	20-35-52/53	9-26-27-28-45-61	C
Trimethylsilyltriflat	10-34		C
Toluol	11-20	16-25-29-33	F, Xn

## 8. Literatur

- [1] B. Yu, B. Li, G. Xing, Y. Hui, *J. Comb. Chem.* **2001**, *3*, 404-406.
- [2] Y. Ding, J. Labbe, O. Kanie, O. Hindsgaul, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 683-692.
- [3] O. Kanie, F. Barresi, Y. Ding, J. Labbe, A. Otter, L. S. Forsberg, B. Ernst, O. Hindsgaul, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *34*, 2720-2722; *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2912-2915.
- [4] X.-S. Ye, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2410-2431.
- [5] P. Arya, B. V. N. B. S. Sarma, *Organic Chemistry of Sugars*, CRC Press Boca Raton **2006**, 729-754.
- [6] O. Plante, *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2005**, *8*, 153-159.
- [7] J. L. de Paz, P. Seeberger, *QSAR Comb. Sci.* **2005**, *25*, 1027-1032.
- [8] L. Cipolla, B. La Ferla, M. Gregori, *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2006**, *9*, 571-582.
- [9] S. Baytas, *Mini-Rev. Org. Chem.* **2004**, *1*, 27-39.
- [10] P. M. St. Hilaire, M. Meldal, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1163-1179; *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1210-1228.
- [11] R. Liang, L. Yan, J. Loebach, M. Ge, Y. Uozumi, K. Sekanina, N. Horan, J. Glidersleeve, C. Thomson, A. Smith, K. Biswas, W. C. Still, D. Kahne; *Science* **1996**, *274*, 1520-1522.
- [12] L. Yan, C. M. Taylor, R. Goodnow Jr., D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6953 – 6954.
- [13] C.-H. Wong, X.-S. Ye, Z. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7137-7138.
- [14] A. Steinmann, *Diplomarbeit*, Hamburg **2003**.
- [15] M. Zolkiewski, W. Zielenkiewicz, *J. Sol. Chem.* **1991**, *20*, 517-530.
- [16] R. J. Alexander, *Dev. Carbohydr. Chem.* **1992**, 343-370.
- [17] D. D. Manning, X. Xu, P. Beck, L. L. Kiessling, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3161-3162.
- [18] T. Furuike, N. Nishi, S. Tokura, S. Nishimura, *Macromolecules* **1995**, *28*, 7241 - 7247.
- [19] T. Sato, T. Imai, Y. Kitajyo, T. Kakuchi, *Curr. Top. Polymer Res.* **2005**, 195-231.
- [20] J. Maslinka-Solich, S. Kukowka, *Macromol. Biosci.* **2004**, *4*, 421-430.
- [21] Q. Wang, J. S. Dordick, R. J. Linhardt, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 3232-3244.
- [22] V. Ladmiral, E. Melia, D. M. Haddelton, *Eur. Polym. J.* **2004**, *40*, 431-449.
- [23] G. Wulff, G. Clarkson, *Carbohydr. Res.* **1994**, *257*, 81-95.

- [24] S. Cao, R. Roy, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 3421-3424.
- [25] D. Grande, S. Baskaran, C. Baskaran, Y. Gnanou, E. L. Chaikov, *Macromolecules* **2001**, *34*, 1640-1646.
- [26] S. Loykulnant, M. Hayashi, A. Hiaro, *Macromolecules* **1998**, *31*, 9121-9126.
- [27] E. Ruckel, C. Schuerch, *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 2065-2066.
- [28] S. J. Sondheimer, H. Yamaguchi, C. Schuerch, *Carbohydr. Res.* **1980**, *74*, 327-332.
- [29] J. Helin, J. Natunen, R. Lethilae, M. Roslund, R. Leino, *PTC Int. Appl.* **2004**, CAN 140:341030.
- [30] J. Thiem, W. A. Strietholt, *Macromol. Chem. Phys.* **1995**, *196*, 1487-1493.
- [31] D. Wagner, J. P. H. Verheiden, J. G. Moffatt, *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 24-30.
- [32] S. David, *Preparative Carbohydrate Chemistry*, Dekker Verlag New York **1997**, 69-86.
- [33] Z. Gan, S. Cao, Q. Wu, R. Roy, *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 755-765.
- [34] R. R. Schmidt, M. Reichrath, *Angew. Chem.* **1979**, *91*, 497-499.
- [35] R. R. Schmidt, W. Klotz, Y. E. Tsvetkov, *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, *4*, 371-375.
- [36] R. R. Schmidt, M. Reichrath, U. Moering, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 3565-3568.
- [37] R. R. Schmidt, M. Reichrath, U. Moering, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 3561-3564.
- [38] R. R. Schmidt, M. Reichrath, U. Moering, *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 39-41.
- [39] R. R. Schmidt, M. Reichrath, U. Moering, *J. Carbohydr. Chem.* **1984**, *3*, 67-81.
- [40] R. R. Schmidt, W. Klotz, *Synlett* **1991**, *3*, 168-170.
- [41] R. R. Schmidt, W. Klotz, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, *6*, 683-690.
- [42] R. R. Schmidt, W. Klotz, *J. Carbohydr. Chem.* **1994**, *13*, 1093-1101.
- [43] A. Michael, *Compt. Rend.* **1879**, *89*, 6.
- [44] E. Fischer, K. Raske, *Ber. Deutsch. Chem. Ges.* **1909**, *42*, 1465-1476.
- [45] R. M. Hann, *J. Am. Chem. Soc.* **1934**, *56*, 1631-1632.
- [46] K. Krohn, J. Thiem, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1977**, *10*, 1186-1190.
- [47] W. E. Dich, D. Weisleder, *Carbohydr. Res.* **1976**, *46*, 173-182.
- [48] S. H. Doares, P. Albersheim, A. G. Darvil, *Carbohydr. Res.* **1991**, *210*, 311-317.
- [49] K. R. Anumula, P. B. Taylor, *Anal. Biochem.* **1992**, *203*, 101-109.
- [50] T. K. Lindhorst, *Essentials of carbohydrate chemistry and biochemistry*, Wiley, VCH-Weinheim, **2000**, 51 ff.
- [51] L. Kröger, *Dissertation*, Hamburg **2003**.
- [52] T. Halmos, R. Montserret, J. Filippi, K. Antonakis, *Carbohydr. Res.* **1987**, *170*, 57-69.
- [53] N. Moitessier, P. Englebienne, Y. Chapleur, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6839-6853.

- [54] T. Ishii, M. Takimoto, Jpn. Kokai Tokkyo Koho **1998**, CAN: 130:100383.
- [55] T. Ishii, M. Tanimoto, Y. Itagaki, Y. Honda, T. T. Win, C. Kawase, A. Kita, S. Onodera, H. Ito, H. Matsui, M. Honma, *J. Appl. Glycosci.* **2000**, *47*, 193-196.
- [56] T. Kase, K. Motojima, J. Sukai, E. Takahashi, Y. Konai, *Eur. Pat. Appl.* **1996**, CAN: 125:245818.
- [57] K. Ajisaka, H. Fujimoto, *Carbohydr. Res.* **1990**, *199*, 227-234.
- [58] M. Manley-Harris, W. Moody, G. N. Richards, *Aust. J. Chem.* **1980**, *33*, 1041-1047.
- [59] M. Manley-Harris, G. N. Richards, *Carbohydr. Res.* **1983**, *114*, 306-310.
- [60] C. Nobrega, J. T. Vazques, *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 2793-2801.
- [61] P. J. Garegg, L. Maron, *Acta Chem. Scand. Series B*: **1979**, *33*, 453-456.
- [62] S. S. Bhattacharjee, P. A. J. Gorin, *Carbohydr. Res.* **1970**, *12*, 57-68.
- [63] K. R. Anumula, P. B. Taylor, *Anal. Biochem.* **1992**, *203*, 101-109.
- [64] D. Rolf, G. R. Gray, *Carbohydr. Res.* **1984**, *131*, 17-28
- [65] J. F. G. Vliegthart, persönliche Mitteilung.
- [66] I. Sims, *Phytochemistry* **2003**, *63*, 351-359.
- [67] F. Micheel, A. Klemer, *Adv. Carbohydr. Chem.* **1961**, *16*, 85-103;
- [68] F. Micheel, A. Klemer, R. Flitsch, *Chem. Ber.* **1958**, *91*, 663-67.
- [69] T. Mukaiyama, K. Takeuchi, *Chem. Lett.* **1998**, *6*, 555-556;
- [70] M. Kreuzer, J. Thiem, *Carbohydr. Res.* **1986**, *149*, 347-361.[
- [71] J. Thiem, H.- M. Deger, W. Fritsche-Lang, M. Kreuzer, Ger. Offen. 1987, CAN: 107:176407.
- [72] H. Hagemann, D. Klamann (Herausgeber), Methoden der organischen Chemie (Houben-Weyl), Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1992**, *Bd. E14a/3*, 621-651.
- [73] S. Schröder, *Dissertation*, Hamburg **2003**.
- [74] M. N. Sharma, R. Eby, *Carbohydr. Res.* **1984**, *127*, 201-208.
- [75] G. Zemplén, A. Kunz, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1923**, *56*, 1705-1717.
- [76] G. Zemplén, Z. Csürös, S. J. Angyal, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1937**, *37*, 1848-1856
- [77] A. de la Hoz, Á. Diaz-Ortiz, A. Moreno, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 164 – 175.
- [78] A. Rebbaa, P. M. Chou, I. Vucic, B. L. Mirkin, T. Tornita, E. G. Bremer, *Clin. Cancer. Res.* **1999**, *5*, 3661 – 3668.
- [79] Y. Guerardel, L. Balanzino, E. Maes, Y. Leroy, B. Coddeville, R. Oriol, G. Strecker, *Biochem. J.* **2001**, *357*, 167-182.
- [80] H. Kondo, S. Aoki, Y. Ichikawa, R. L. Halcomb, H. Ritzen, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 864 – 877.

- [81] M. Müller, R. R. Schmidt. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *11*, 2055-2066.
- [82] J. S. Davies, R. C. Headgold, C. C. Higginbotham, E. J. Tremeer, C. Brown, *J. Chem. Soc., Perkin Trans I* **1992**, *22*, 3043-3048.
- [83] C. Dalla, *Synth. Commun.* **1990**, *5*, 757-760.
- [84] G. A. Olah, J. T. Welch, Y. D. Vankar, M. Nojima, I. Kerekes, J. A. Olah, *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 3872 – 3881.
- [85] Y. V. Voznij, L. N. Kiokov, A. A. Galoyan, *Carbohydr. Res.* 1984, *132*, 339-341.
- [86] K. Jansson, G. Noori, G. Magnusson, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3181-5.
- [87] A. M. Horneman, I. Lundt, *Carbohydr. Res.* **1984**, *132*, 339-341.
- [88] K. Igarashi, T. Honma, J. Irisawa, *Carbohydr. Res.* **1970**, *13*, 49-55.
- [89] A. M. Horneman, I. Lundt, *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, *14*, 1-8.
- [90] J. E. G. Barnett, *Carbohydr. Res.* **1969**, *9*, 21-31.
- [91] R. Miethchen, C. Hager, M. Hein, *Synthesis* **1997**, *2*, 159-161.
- [92] A. Steinmann, J. Thimm, J. Thiem, *Eur. J. Org. Chem.* **im Druck**.
- [93] J. Thiem, A. Steinmann, J. Thimm, N. Wollik, *Curr. Org. Chem.* **eingereicht**.

#### **Vorträge:**

- [94] A. Steinmann, J. Thimm, J. Thiem, *EUROCARB 13 (Bratislava)* **2005**.
- [95] A. Steinmann, J. Thimm, J. Thiem, *Baltic meeting (Rostock)* **2006**.
- [96] J. Thiem, A. Steinmann, J. Thimm, *IASOC 2006 (Ischia)* **2006**.
- [97] J. Thiem, A. Steinmann, J. Thimm, *ACS 2007 (Chicago)* **2007**.

Ich möchte mich bei allen bedanken, die mich bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit unterstützt haben:

- meinen Kollegen aus dem AK Thiem, insbesondere bei Julian für fachliche Diskussionen, vielfältige Unterstützung und kurzweilige Mittagspausen
- Lilia und Kirsten
- meiner Familie für ihre Geduld
- meinen Eltern
- zahlreichen Praktikanten des OC-F-Praktikums und des ISP
- dem NMR-Service
- Henning Storz vom AK Kulicke

Ich versichere ich an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, keine anderen Hilfsmittel und Quellen als die angegeben verwendet und die benutzten wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.