

5 Zusammenfassung

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

Die Synthese der *N*- und *O*-Glycopeptidmimetika erfolgte Festphasen-gestützt nach dem *Building-Block*-Verfahren. Hierfür wurden zunächst modifizierte *N*- und *O*-Glycosylaminosäurebausteine synthetisiert. Ausgehend von der natürlichen β -*N*-glycosidischen Verknüpfung zwischen L-Asparagin und 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose zeichnet sich der synthetisierte modifizierte *N*-Glycosylaminosäurebaustein durch eine amidische Verknüpfung zwischen der 2-Aminofunktion von 1,5-Anhydro-2-amino-2-desoxy-glucitol und der δ -Carboxygruppe von L-Asparaginsäure aus. Die Verknüpfung der Aminosäure mit dem freien Anhydrozucker, der ausgehend von *N*-Acetyl-2-amino-glucopyranosylchlorid durch radikalische Dehalogenierung mit Bu_3SnH und Entschützung erhalten wurde, konnte durch Aktivierung der Carboxyfunktion der Aminosäure als gemischtes Anhydrid erreicht werden. Anschließender Schutzgruppenwechsel am Aminosäureteil zum freien C-Terminus und Fmoc-geschützten *N*-Terminus führte zu dem für die Festphasensynthese geeigneten *Building-Block*. Dieser wurde erfolgreich zur Synthese von modifizierten Glycopeptidstrukturen des V3-Loops des gp120 aus dem HIV eingesetzt, die hinsichtlich ihrer Virus-neutralisierenden Eigenschaften untersucht werden sollen.

Die synthetisierten modifizierten *O*-Glycosylaminosäurebausteine sind durch Etherbrücken zwischen den Seitenkettenhydroxyfunktionen von L-Serin und L-Threonin und der 2-Hydroxy-Funktion von 1,5-Anhydro-galactitol sowie der 1-Hydroxyfunktion des *C*-glycosidischen Zuckers 2,6-Anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitol gekennzeichnet. Die Synthese des 2,6-Anhydro-D-glycero-L-gluco-heptitols erfolgte ausgehend von Galactosepentaacetat durch Umsetzung mit Propargyltrimethylsilan und anschließender ozonolytischer Spaltung. Untersuchungen hinsichtlich der optimalen Kupplungsmethode zwischen Aminosäuren und Saccharidderivaten zeigten, daß ausschließlich durch säurekatalysierte nucleophile Ringöffnung von chiralen aktivierten Aziridinen die gewünschten Produkte erhalten werden konnten. Die erfolgreiche Anwendung dieser Reaktion zur Verknüpfung von komplexen

Saccharidderivaten mit Aminosäurebausteinen wurde bisher nicht beschrieben und stellt eine vorteilhafte neuartige Variante zur Funktionalisierung von Sacchariden dar. Die hierfür erforderlichen aktivierten Aziridine konnten aus entsprechenden L-Serin und L-Threonin-Derivaten erhalten werden. In Anlehnung an die Synthese des *N*-Glycosylaminosäurebausteins wurde anschließend ein Schutzgruppenwechsel am Aminosäureteil zu den für die Festphasensynthese geeigneten *Building-Blocks* durchgeführt, die erfolgreich zur Synthese von Modell-*O*-Glycopeptidmimetika eingesetzt werden konnten.

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

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

Die zur Synthese des UDP-Gal-Mimetikums erforderliche, durch eine Hydroxymethylengruppe α -*C*-glycosidisch verlängerte Galactose konnte durch Umsetzung des benzylgeschützten α -Methylgalactosids mit Propargyltrimethylsilan und anschließender Ozonolyse erhalten werden. Die Synthese der homologen GlcNAc- und GalNAc-Derivate gelang ausgehend von den benzylgeschützten anomeren Chloriden durch reduktive Lithiierung mit Lithiumnaphthalid und anschließender Umsetzung mit Kohlendioxid. Methylierung der somit erhaltenen *C*-glycosidischen Heptonsäuren und anschließende Reduktion führte zu den

gewünschten, mit einer Hydroxymethylengruppe α -C-glycosidisch verlängerten GlcNAc- und GalNAc-Derivaten. Durch Phosphorylierung, Entschützung und Kupplung mit UMP-Morpholidat wurden abschließend die UDP-Gal-, UDP-GlcNAc- und UDP-GalNAc-Mimetika erhalten.

5 Summary

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

For the synthesis of the *N*- and *O*-glycopeptide mimetics the *building block* procedure using solid phase support was applied. Initially modified *N*- and *O*-glycosylamino acid units were synthesized. In contrast to the natural β -*N*-glycosidic linkage between L-asparagine and 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose, the modified *N*-glycosylamino acid unit has an amide linkage between the 2-amino function of 1,5-anhydro-2-amino-2-deoxy-glucitol and the δ -carboxy group of L-aspartic acid. The glucitol was obtained from the appropriate anomeric chloride by radical dehalogenation using Bu_3SnH and subsequent deprotection. For the coupling the amino acid was activated as mixed anhydride and attached to the glucitol. By subsequent protection group exchange the complete *building block* suitable for solid phase synthesis with Fmoc-protected *N*-terminus was obtained. It was successfully used for the synthesis of several *N*-glycopeptide mimetics, which correspond to V3-loop glycopeptides of gp120 from HIV, which are currently subject to biological tests.

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

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

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

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