



# **Synthese seltener und funktionalisierter Nucleosiddiphosphat-Zucker**

## **Dissertation**

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

**Nathalie Lunau**

aus Eutin

vorgelegt dem Fachbereich Chemie  
der Universität Hamburg

Hamburg, im August 2012

Die Arbeiten zur vorliegenden Dissertation wurden in der Zeit von Oktober 2008 bis Januar 2012 in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Chris Meier im Institut für Organische Chemie des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

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

Datum der Disputation: 19.10.2012

## DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Chris Meier danke ich für die hervorragenden Arbeitsbedingungen, den gewährten wissenschaftlichen Freiraum bei der Bearbeitung dieser interessanten und vielseitigen Themenstellung sowie die stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft.

Herrn Prof. Dr. Joachim Thiem danke ich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens und die Hilfestellungen im Bereich der „Zuckerchemie“.

Bei meinen Kooperationspartnern aus den Arbeitsgruppen von Herrn Prof. Dr. U. Hahn und Prof. Dr. S. Rohn möchte ich mich für die sehr gute und erfolgreiche Zusammenarbeit bei der Untersuchung der synthetisierten NDP-Zucker-Derivate bedanken. Dies gilt insbesondere für Katrin Seelhorst, die mir bei biochemischen Fragestellungen stets mit Rat und Tat zur Seite stand und mich über den „fluoreszierenden News-Flash“ immer auf dem Laufenden hielt. Kathrin Tscherch danke ich für die zahlreichen HPTLC-MS-Analysen, die letztendlich den Beweis für den Erfolg unserer Kooperation erbrachten.

Allen Mitgliedern der NMR- und MS-Abteilungen danke ich für die Durchführung der zahlreichen analytischen Experimente. Hervorzuheben sind hierbei Dr. T. Hackl, Eva Juhas, Vera Priegnitz und Silke Weidner, die durch ihre Hilfsbereitschaft und schnelle, ordentliche Arbeitsweise die Messungen der NMR-Verfolgungen zum Erfolg werden ließen.

Bei allen Studenten, die im Rahmen ihres Studiums experimentelle Arbeiten für mich durchgeführt haben, möchte ich mich für die tatkräftige Unterstützung bedanken. Dies gilt insbesondere für meine Bachelor-Schützlinge, Tomas Piernitzki und Katharina Klingeberg, sowie für Thiago Dinis de Oliveira, der mir den Endspurt im Labor zu einem Vergnügen gemacht hat!

Meinen Arbeitskollegen aus der gesamten OC danke ich für die gute Zusammenarbeit und die stete Hilfsbereitschaft, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Dies gilt v.a. den ehemaligen und aktuellen Mitgliedern der „Ackermeiers“. Ein spezieller Dank gilt hierbei Viktoria Tonn für die gute und lustige alte Zeit, das Abenteuer Wien und so manch „(la) boum-bastische“ Insider!

Mein ganz herzliches Dankeschön für die intensive und kritische Durchsicht dieser Arbeit gilt Katrin Schäfer und Tilmann Schulz.

Meiner Familie, insbesondere meiner Mutter Jacqueline Isenberg, möchte ich aus tiefstem Herzen für ihre liebevolle, uneingeschränkte und beispiellose Unterstützung danken, die ich (nicht nur) während meiner gesamten Ausbildung erfahren durfte! - “Thank you fohor the earth!”

Meinem Freund Tilmann Schulz danke ich inständig für seine unermüdliche Hilfsbereitschaft, den liebevollen Rückhalt, seine unglaubliche Geduld und dafür, dass der Weg zu zweit nur halb so weit ist!

Ihm und dem Rest meiner Familie sei diese Arbeit gewidmet!



*Meiner Familie*



„Wir haben die Hufeisen, wir haben die Glücksschweine  
Wir werden niemals dumm dastehen, wie X-Beine“

Beginner - Gustav Gans



## Abkürzungen und Symbole

$\delta$	chemische Verschiebung (NMR)
$\Delta$	Energie
$\lambda$	Wellenlänge
$\nu$	Wellenzahl
A	Adenosin
Abb.	Abbildung
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
abs.	absolut
Ac	Acetyl
AG	Abgangsgruppe/Austrittsgruppe
Alt	Altrose
Äq.	Äquivalent, Äquivalente
arom.	Aromatisch
ber.	Berechnet
Bn	Benzyl
Bz	Benzoyl
bs	breites Singulett (NMR)
COSY	correlation spectroscopy
CuAAC	Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition
<i>cycloSal</i>	<i>cycloSaligenyl</i>
d	Dublett (NMR)
d	Desoxy (Nucleoside/Nucleotide/Zucker)
DAST	Diethylaminoschwefeltrifluorid
DC	Dünnschichtchromatographie
DCI	4,5-Dicyanoimidazol

dd	Doppeldublett (NMR)
ddd	Dreifachdublett (NMR)
dddd	Vierfachdublett (NMR)
dest.	Destilliert
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
DMP	2,2-Dimethoxypropan
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DANN	Deoxyribonucleic Acid (Desoxyribonukleinsäure)
dt	Doppeltriplett
dT	2'-Desoxythymidin
EE	Ethylacetat
EI	Electron Impact
em	Emission
ESI	Electrospray Ionization
FAB	Fast Atom Bombardement
FRET	Förster-Resonanzenergietransfer (auch Fluoreszenz- Resonanz- energietransfer)
Fuc	Fucose
FucT	Fucosyltransferase
G	Guanosin
Gal	Galactose
GDP	Guanosin-5'-diphosphat
GMP	Guanosin-5'-monophosphat
GT	Glycosyltransferase
gef.	Gefunden
h	Stunde

hept	Heptett (NMR)
hFucT	Humane Fucosyltransferase
HMBC	hetero nuclear multiple bond correlation
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPTLC	engl.: high-performance thin-layer chromatography dt.: Hochleistungsdünnschichtchromatographie
HR	high resolution
HWZ	Hydrolysehalbwertszeit
<i>i</i>	<i>ipso</i>
IR	Infrarot
<i>J</i>	Skalare Kern-Kern Kopplungskonstante (NMR)
konz.	konzentriert
Lac	Lactose
LacNAc	<i>N</i> -Acetyllactosamin
Le <sup>x</sup>	Lewis X Epitop
LPS	Lipopolysaccharid
m	Multiplett (NMR)
<i>m</i>	<i>meta</i>
M	mol/L
Man	Mannose
max.	Maximum
Me	Methyl
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
Ms	Methansulfonyl
min	Minute
Min.	Minimum
MP	Monophosphat

MS	Massenspektrometrie
n	Nano
n.d.	nicht detektierbar
NDP	Nucleosid-5'-diphosphat
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimidyl
NMP	Nucleosid-5'-monophosphat
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NTP	Nucleosidtriphosphat
<i>o</i>	<i>ortho</i>
<i>p</i>	<i>para</i>
PBS	Phosphate Buffered Saline
PD-ECGF	Platelet-derived endothelial cell growth factor
PE	Petrolether
pH	negativ dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
ppm	parts per million
$R_f$	Ratio of fronts
Rib	Ribose
Rib-MP	Ribofuranosylmonophosphat
RNA	Ribonucleic Acid (Ribonukleinsäure)
RP	Reversed Phase
rpm	revolutions per minute
$R_t$	Raumtemperatur
$R_t$	Retentionszeit
RP	Reversed Phase
s	Singulett (NMR), Sekunde
Sdp.	Siedepunkt
sept	Septett (NMR)
SG	Schutzgruppe

sLe <sup>x</sup>	Sialyl-Lewis X Epitop
Smp.	Schmelzpunkt
t	Triplett (NMR)
t <sub>1/2</sub>	Hydrolysehalbwertszeit
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -Butyl
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
TDP	Thymidin-5'-diphosphat
TEA	Triethylamin
Tf	Trifluormethansulfonyl
THF	Tetrahydrofuran
TMP	Thymidin-5'-monophosphat
TP	Thymidin-Phosphorylase
Ts	<i>para</i> -Toluolsulfonyl
TSA	Toluolsulfonsäure
UV	Ultraviolett
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
v/v	Volumen / Volumen
vs	versus
2d-D-Rib-MP	2-Desoxy-D-ribofuranosylmonophosphat



# Inhaltsverzeichnis

## Teil I: Synthese seltener und funktionalisierter NDP-Zucker

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Kenntnisstand</b> .....	<b>6</b>
2.1	Fucosyltransferasen .....	6
2.2	Glycosyltransferasen-Assays.....	8
2.2.1	FRET-Assay nach Maeda und Nishimura .....	11
2.3	Glycosyltransferase-Inhibitor-Design .....	12
2.4	Synthesen von Nucleosiddiphosphatzuckern.....	15
2.4.1	Enzymatische NDP-Zucker-Synthesen.....	15
2.4.2	Chemische NDP-Zucker-Synthesen .....	16
2.4.2.1	Synthese von NDP-Zuckern über die Glycosylierung von Nucleosidmono- phosphaten .....	17
2.4.2.2	Synthese von NDP-Zuckern über eine NMP-Aktivierung .....	19
2.4.3	Synthese seltener natürlicher NDP-Zucker .....	24
<b>3</b>	<b>Aufgabenstellung</b> .....	<b>29</b>
3.1	Synthese fluoreszenzmarkierter GDP-β-L-fucose .....	29
3.2	Synthese Triazol-modifizierter GDP-Zucker .....	30
3.3	Synthese von TDP-6-desoxy-α/β-L-altrose .....	32
<b>4</b>	<b>Resultate und Diskussion</b> .....	<b>33</b>
4.1	Synthese fluoreszenzmarkierter GDP-β-L-fucose .....	33
4.1.1	Synthesen zur Darstellung von GDP-6-azido-β-L-fucose .....	33
4.1.2	Auf der Suche nach einem geeigneten FRET-Paar .....	35
4.1.3	Synthesestrategie zur Darstellung ATTO 550-markierter GDP-β-L-fucose .....	38
4.1.3.1	Synthese von 5-Nitro- <i>cycloSal-N<sup>2</sup></i> -acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosinmono- phosphat.....	40

4.1.3.2	Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -galactopyranosylphosphat.....	42
4.1.3.3	Synthese von Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose.....	49
4.1.3.4	Synthese von GDP- $\beta$ -L-fucose.....	53
4.1.3.5	Synthese ATTO 550-markierter GDP- $\beta$ -L-fucose .....	55
4.1.4	Untersuchungen der FucT-IX-katalysierten Umsetzung von farbstoffmarkierten Substratanaloga über HPTLC-MS.....	58
4.2	Synthese Triazol-modifizierter GDP-Zucker.....	64
4.2.1	Synthesestrategien zur Darstellung Triazol-modifizierter GDP-Zucker .....	64
4.2.2	Synthese von $\beta$ -Glycosylaziden.....	65
4.2.3	Synthese vom Propargylphosphat .....	66
4.2.4	Syntheseroute A zur Darstellung Triazol-modifizierter GDP-Zucker .....	67
4.2.5	Syntheseroute B zur Darstellung Triazol-modifizierter GDP-Zucker .....	73
4.3	Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose .....	79
4.3.1	Synthesestrategie .....	79
4.3.2	Syntheseweg A.1: Synthese von L-Altrose .....	81
4.3.2.1	Synthese von L-Altrose nach <i>Hung et al.</i> .....	85
4.3.3	Syntheseweg A.2: Versuche zur 6-Desoxygenierung von L-Altrose.....	88
4.3.4	Syntheseweg B: Synthese von 6-Desoxy-L-altrose über die 5-Epimerisierung von 6-Desoxy-D-galactose.....	101
4.3.5	Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose .....	107
4.3.6	Fazit.....	116

## **Teil II Synthese und Charakterisierung lipophiler *cycloSal*-(2-desoxy)-ribofuranosylmonophosphat Prodrugs**

<b>5</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>118</b>
<b>6</b>	<b>Kenntnisstand .....</b>	<b>120</b>
<b>7</b>	<b>Aufgabenstellung.....</b>	<b>127</b>
<b>8</b>	<b>Resultate und Diskussion .....</b>	<b>129</b>

8.1	Synthesestrategie .....	129
8.2	Darstellung von <i>cycloSal</i> -Prodrugs .....	130
8.2.1	Synthese von <i>cycloSal</i> -Triestern über <i>cycloSal</i> igenylchlorphosphite (Phosphor(III)-Route) .....	130
8.2.2	Synthese von <i>cycloSal</i> -Triestern über <i>cycloSal</i> igenylphosphorchloridate (Phosphor(V)-Route) .....	132
8.2.3	Synthese von lipophilen <i>cycloSal</i> -(2d)-Ribofuranosylmonophosphaten .....	133
8.2.3.1	Synthese der selektiv geschützten Monosaccharide .....	134
8.2.3.2	Synthese der <i>cycloSal</i> -Chlorphosphite und -Phosphorchloridate .....	134
8.2.3.3	Darstellung der <i>cycloSal</i> -(2d)-Rib-1-MPs über <i>cycloSal</i> -Chlorphosphite (Phosphor(III)-Route) .....	136
8.2.3.4	Synthese von <i>cycloSal</i> -(2d)-Rib-1-MPs über <i>cycloSal</i> -Phosphorchloridate (Phosphor(V)-Route) .....	141
8.2.3.5	Untersuchungen zur chemischen Hydrolyse lipophiler <i>cycloSal</i> -(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs .....	148
<b>9</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>156</b>
9.1	Teil I: Synthese seltener und funktionalisierter NDP-Zucker .....	156
9.1.1	Synthese fluoreszenzmarkierter GDP- $\beta$ -L-fucose .....	156
9.1.2	Synthese Triazol-modifizierter GDP-Zucker .....	158
9.1.3	Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose .....	159
9.2	Teil II: Synthese und Charakterisierung lipophiler <i>cycloSal</i> -(2-desoxy)-Ribofuranosylmonophosphat Prodrugs .....	161
<b>10</b>	<b>Summary</b> .....	<b>163</b>
10.1	Part I: Synthesis of rare and functionalized NDP-sugars .....	163
10.1.1	Synthesis of fluorescence-labeled GDP-L-fucose .....	163
10.1.2	Synthesis of triazole modified GDP-sugars .....	165
10.1.3	Synthesis of TDP-6-deoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose .....	166
10.2	Part II: Synthesis and characterization of lipophilic <i>cycloSal</i> -(2-deoxy)-ribofuranosylmonophosphate prodrugs .....	167
<b>11</b>	<b>Experimenteller Teil</b> .....	<b>169</b>
11.1	Verwendete Chemikalien, Methoden und Geräte .....	169

11.2	Synthesen.....	174
11.2.1	Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV).....	174
11.2.2	Synthese von selektiv geschützten Nucleosiden .....	185
11.2.3	Synthese von <i>cyclo</i> Sal-Nucleosidmonophosphaten .....	189
11.2.3.1	Synthese der Salicylalkohole .....	189
11.2.3.2	Synthese der <i>cyclo</i> Saligenylchlorphosphite .....	190
11.2.3.3	Synthese der <i>cyclo</i> Saligenylphosphorchloridate .....	192
11.2.4	Synthese von Glycosylphosphaten .....	195
11.2.5	Synthese von NDP-Zuckern .....	203
11.2.6	Synthese Farbstoff-funktionalisierter GDP-Fucose .....	207
11.2.7	Synthese Triazol-funktionalisierter GDP-Zucker .....	221
11.2.8	Synthese von TDP-6-desoxy-L-altrose.....	232
11.2.8.1	Synthese von L-Altrose nach <i>Hung et al.</i> .....	232
11.2.9	Synthese von L-Altrose ausgehend von D-Galactose.....	237
11.2.9.2	Synthese von 6-Desoxy-L-altrose .....	251
11.2.10	Synthese lipophiler Ribofuranosylmonophosphat Prodrugs.....	264
11.2.10.1	<sup>31</sup> P-NMR-Hydrolysestudien .....	271
11.2.11	Anmerkungen: .....	272
<b>12</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>273</b>

## Anhang

Gefahrstoffverzeichnis .....	I
Verbindungsliste I .....	XI
Verbindungsliste II .....	XII
Verbindungsliste III .....	XIII
Verbindungsliste IV .....	XIV
Lebenslauf .....	XV
Publikationen .....	XVI
Eidesstattliche Erklärung .....	XVII

## **Teil I:**

# **Synthese seltener und funktionalisierter Nucleosiddiphosphat-Zucker**

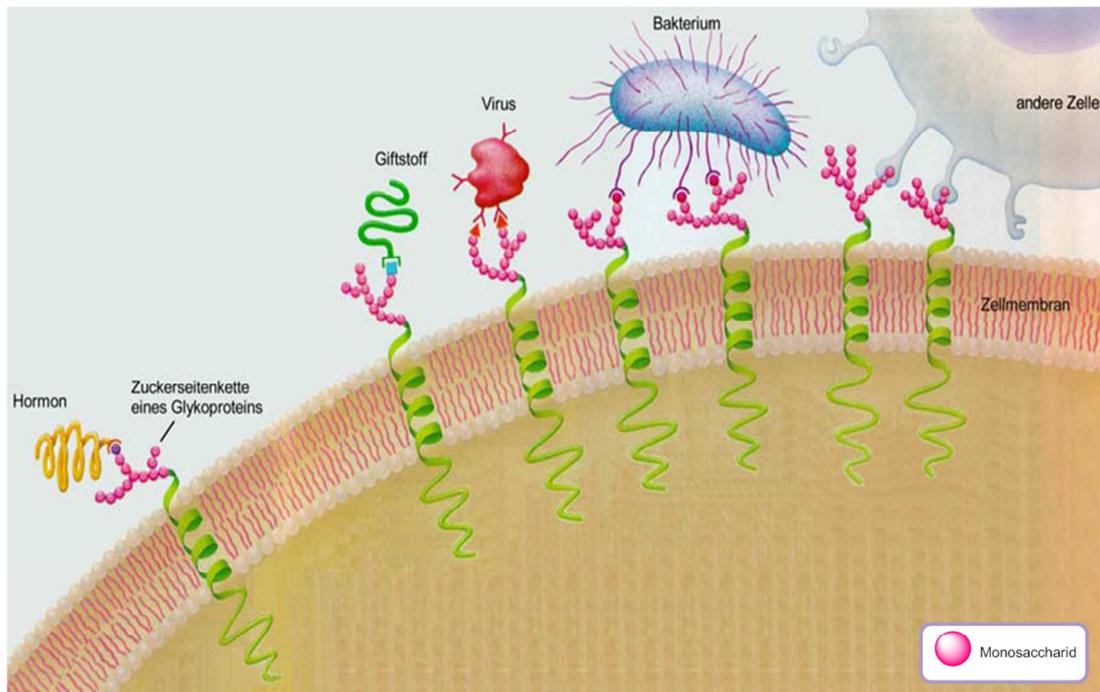
# 1 Einleitung

Kohlenhydrate gehören neben Proteinen, Lipiden und Nucleinsäuren zu den vier Hauptklassen von Biomolekülen und stellen aufgrund ihrer strukturellen und funktionellen Vielfalt den größten Teil der organischen Materie dar. Neben ihrer zentralen Rolle als physiologischer Energiespeicher (z.B. Stärke oder Glycogen), als Bestandteile der Grundgerüste von DNA und RNA (2-Desoxy- bzw. Ribose), übernehmen sie in Form von Glycokongugaten, gebunden an Lipide (Glycolipide) oder Proteine (Glycoproteine), als Strukturelemente der Zellwände wichtige Aufgaben in biologischen Signal- und Erkennungsprozessen.<sup>1</sup>

## Glycoproteine

Proteine können nach ihrer Biosynthese in ihrer Struktur und Zusammensetzung verändert werden. Ihre kovalente Bindung an Kohlenhydrate unter Bildung von Glycoproteinen wird als Glycosylierung bezeichnet und stellt die komplexeste Form der posttranslationalen Modifikationen von Proteinen dar. Verschiedene Oligosaccharidketten werden dabei durch spezifische Enzyme im endoplasmatischen Retikulum entweder über eine Hydroxyfunktion der Seitenkette von Serin- oder Threoninresten (*O*-glycosidische Bindung) oder über eine Aminofunktion der Seitenkette von Asparaginresten an die Proteine gebunden (*N*-glycosidische Bindung).<sup>1,2</sup>

Glycoproteine zeichnen sich aufgrund der zahlreichen Verzweigungsmöglichkeiten der Kohlenhydratkomponente durch eine außergewöhnlich hohe strukturelle Vielfalt aus, welche durch zusätzliche Modifikationen wie z.B. Acetylierungen oder Sulfatierungen noch erhöht werden kann. Sie finden sich sowohl in gelöster Form in Sekreten (Schleimsubstanzen) und Körperflüssigkeiten (Blutplasma) als auch fest verankert in Membranen. Bei membranständigen Glycoproteinen durchzieht der Proteinteil als „integrales Protein“ die gesamte Zellmembran, während die Zuckerseitenketten nach außen ragen. Die extrazellulären Oligosaccharidketten wirken antigen oder rezeptiv und können so Hormone, Viren, Giftstoffe, Bakterien und andere Zellen binden (Abb. 1).<sup>3</sup>



**Abb. 1: Glycoproteine als Zellrezeptoren.<sup>4</sup>**

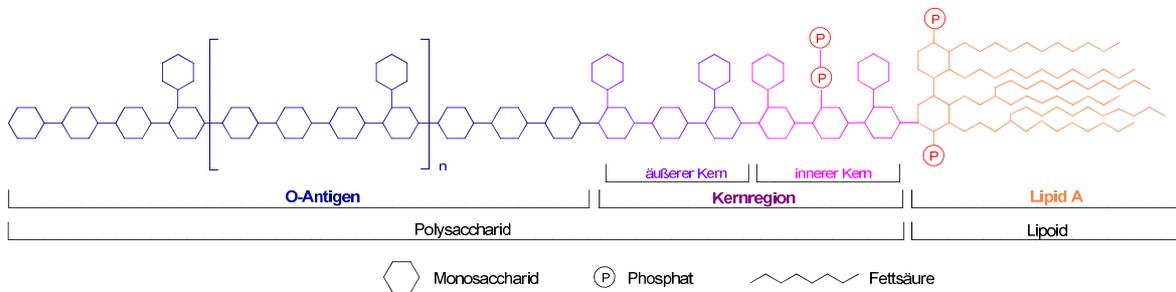
Die biologische Bedeutung der Glycoproteine umfasst ein weites Spektrum. So spielen sie eine entscheidende Rolle bei der Proteinfaltung, als Liganden für Lectine und sind an essenziellen Prozessen wie zellulären Transportvorgängen, Zell-Zell-Interaktionen, Zelldifferenzierung und der hormonellen Zellerkennung beteiligt.<sup>3</sup>

Desweiteren ist bekannt, dass einige Glycoproteine an diversen Krankheiten (Infektionen,<sup>5</sup> Entzündungen<sup>6,7</sup> und Krebs<sup>7</sup>) beteiligt sind, für die Glycan-vermittelte Zell-Zell-Kontakte eine entscheidende Rolle spielen.<sup>8,9</sup> So steht beispielsweise eine verstärkte Präsentation von Sialyl-Lewis X-Strukturen (sLe<sup>x</sup>), welche in Zelladhäsionsprozessen als Liganden für Selektine dienen, in direktem Zusammenhang mit der Metastasierung verschiedener Tumoren.<sup>10-12</sup> Als Ursache für das erhöhte Aufkommen der sLe<sup>x</sup>-Epitope wird eine Überexpression der an ihrer Biosynthese beteiligten Enzyme, den sogenannten Glycosyltransferasen, angenommen.<sup>13-16</sup>

### **Lipopolysaccharide**

Lipopolysaccharide (LPS), welche aufgrund ihrer toxischen Wirkung auch als Endotoxine bezeichnet werden, sind wesentliche Bestandteile der äußeren Zellmembran Gramnegativer Bakterien. Sie sind dort von wesentlicher Bedeutung für die Interaktionen zwischen dem Bakterium und seiner Umwelt und übernehmen aufgrund ihrer besonderen physikochemischen Eigenschaften wichtige Funktionen als Permeationsbarriere.<sup>17</sup>

LPS bestehen aus einem hydrophoben Lipid-A-Teil und einer hydrophilen Kohlenhydratkomponente (Abb. 2). Der Zuckeranteil lässt sich in eine strukturell konservative Kernregion und das O-Antigen unterteilen, welches je nach Bakterienart und -stamm verschieden ist und zur Unterscheidung der Bakterien genutzt werden kann.<sup>18</sup>



**Abb. 2: Aufbau eines Lipopolysaccharids.**

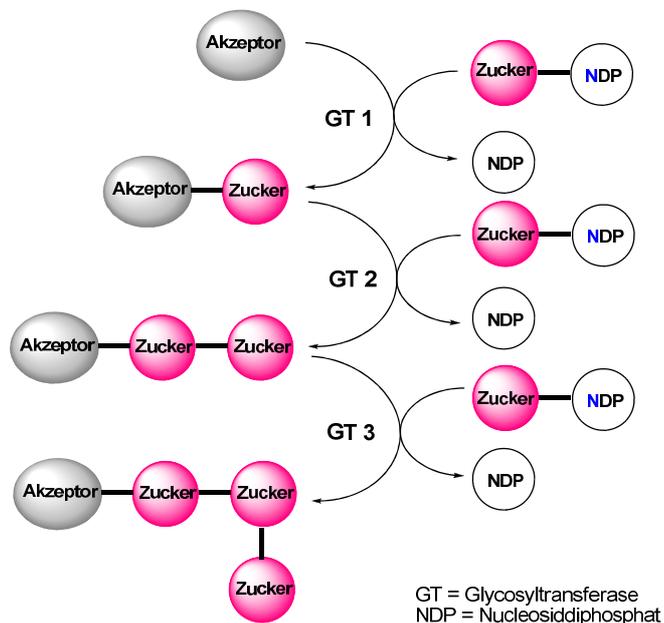
Durch ihren Lipid-A-Teil besitzen LPS eine endotoxische Wirkung, welche sie jedoch nur beim Zerfall der Bakterien entfalten können. Während jeder Zellteilung wird ein geringer Teil der Lipopolysaccharide freigesetzt, größere Mengen gelangen jedoch erst bei der Autolyse nach dem Tod der Bakterien in den Körper. Viele Antibiotika bewirken aber eben diese Selbstaflösung, was zwar zu einer Reduktion der Anzahl an lebenden Bakterien aber auch zu einer vermehrten Endotoxin-Ausschüttung führt.<sup>19-21</sup> Diese kann in einem septischen Schock resultieren und zum Tode führen. Daher besteht ein enormes medizinisches Interesse in der Entwicklung neuer antibakterieller Therapeutika, deren Wirkmechanismen geringe Mengen oder gar kein Endotoxin freisetzt. Außerdem verlangen die mittlerweile von vielen Bakterienstämmen entwickelten Multiresistenzen gegen gängige Antibiotika nach alternativen Therapieansätzen.<sup>17,19</sup>

In der LPS-Biosynthese erfolgt die Verknüpfung der Lipid-A-Komponente mit dem Polysaccharid erst nach der vollständigen Verlängerung der Kernregion.<sup>22,23</sup> Durch eine Störung in der Biosynthese der Oligosaccharidkette, z.B. über eine Inhibition der daran beteiligten Enzyme (Glycosyltransferasen), würde also eine Komplettierung der beiden Untereinheiten verhindert werden, wodurch die gesamte LPS-Biosynthese gehemmt wäre. Eine derartige Inhibition würde neben einer Reduktion der Lebendkeimzahl auch eine reduzierte Freisetzung von Endotoxinen bewirken und somit ein interessantes Ziel zur Entwicklung neuartiger Antibiotika darstellen.

## Glycosyltransferasen

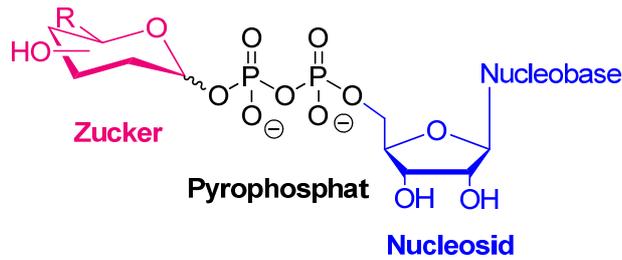
In einer Vielzahl von Biosynthesen der strukturell vielfältigen Polysaccharide und Glyco-konjugate spielen Glycosyltransferasen (GT) eine entscheidende Rolle.<sup>24,25</sup> Nach *L. Leloir* erfolgt eine Unterteilung dieser Enzymklasse: Während die *Leloir*-Glycosyltransferasen Zucker umsetzen, welche als Nucleosiddiphosphate (NDP) oder -Monophosphate (NMP) aktiviert sind, verwenden die Transferasen des Nicht-Leloir-Weges Zuckerphosphate oder Saccharide (wie Sucrose) als Substrate.<sup>26,27</sup>

*Leloir*-Glycosyltransferasen katalysieren den Transfer einer Glycosyl-Einheit des Nucleotid-donors auf eine Hydroxylgruppe eines Akzeptors, bei dem es sich sowohl um das nicht-reduzierende Ende einer wachsenden Oligosaccharidkette als auch um ein Aglycon in Form eines Proteins oder Lipides handeln kann (Abb. 3).<sup>28,29</sup> Abhängig von der jeweiligen GT kann dieser Prozess unter Inversion oder Retention der Konfiguration am anomeren Zentrum des Zuckers erfolgen. Die meisten Glycosyltransferasen zeichnen sich durch eine hohe Spezifität bezüglich ihrer Substrate sowie der Regio- und Stereospezifität der katalysierten Transglycosylierungsreaktion aus.



**Abb. 3: Generelles Prinzip des von Glycosyltransferasen-katalysierten Zucker-Transfers.**

DIE elementaren Bausteine der enzymatisch katalysierten Reaktionen der *Leloir*-Glycosyl-transferasen bilden die Nucleosiddiphosphat-Zucker, welche auch als Zuckernucleotide bezeichnet werden und deren allgemeine Struktur in Abb. 4 gezeigt ist.<sup>27,30</sup>



**Abb. 4: Allgemeine Struktur eines NDP-Zuckers.**

Die einzelnen Segmente der NDP-Zucker erfüllen unterschiedliche Aufgaben. Die Pyrophosphateinheit dient der Aktivierung des Glycosylrests in den enzymkatalysierten Übertragungsreaktionen. Die Affinität des Zuckernucleotids zum Enzym wird hauptsächlich durch die Nucleotideinheit bestimmt, welche neben dem Zuckerrest als zusätzliches spezifisches Erkennungsmerkmal für das Enzym fungiert.<sup>27</sup>

In Prokaryoten findet sich eine Vielzahl an verschiedenen NDP-Zucker-Strukturen, die sich sowohl in der Kohlenhydratkomponente als auch im Nucleosid unterscheiden, wohingegen eukaryotische Glycosyltransferasen nur bestimmte NDP- bzw. NMP-Zucker (GDP-Fuc, GDP-Man, UDP-Gal, UDP-Glc, UDP-GlcNAc, UDP-GlcUA, UDP-GalNAc, und CMP-Neu5Ac) als Glycosyldonoren erkennen.<sup>26,27,31</sup> Die vielen übrigen Monosaccharidbausteine (wie z.B. anionische oder sulfatierte Zucker in Heparin), welche in Säugetieren zudem vorhanden sind, werden meist nach deren Einbau in das Oligosaccharid durch Modifizierung eines Zuckerbausteins erhalten.<sup>27</sup>

Da Glycosyltransferasen in der Biosynthese verschiedenster Oligosaccharide und Glyco-konjugate eine entscheidende Rolle spielen, wuchs das Interesse an dieser Enzymklasse als molekulare Targets in der Biochemie und in der Entwicklung neuer Wirkstoffe stetig.

Um ein detailliertes Verständnis der GT-katalysierten Prozesse zu erlangen, sind ausführliche Studien über die Struktur und die Funktionen der Glycosyltransferasen notwendig. Neben dem Bedarf an größeren Mengen des Enzyms, ist ein synthetischer Zugang zu den natürlichen GT-Substraten, den NDP-Zuckern, von essenzieller Bedeutung.

Zudem können entsprechend markierte NDP-Zucker als analytische Sonden in biochemischen Assays eingesetzt werden. Die daraus resultierenden Erkenntnisse können zur Aufklärung der katalytischen Mechanismen und zur Entwicklung von Substratanaloga als potentielle Inhibitoren der Zucker-Übertragungsreaktionen angewendet werden.

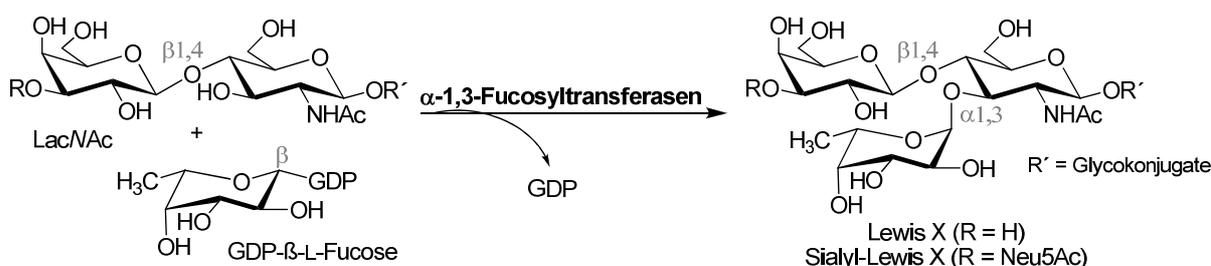
## 2 Kenntnisstand

### 2.1 Fucosyltransferasen

Die Einteilung von Glycosyltransferasen richtet sich nach der Identität der transferierten Glycosyleinheit, des Akzeptorsubstrats, der gebildeten anomeren Verknüpfung sowie den Verknüfungspositionen.<sup>28</sup>

In vielen biologisch relevanten Glycanen, wie z.B. Sialyl-Lewis X (sLe<sup>x</sup>), Sialyl Lewis A (sLe<sup>a</sup>), und Sialyl Lewis B (sLe<sup>b</sup>) stellt die durch Fucosyltransferasen (FucTs) katalysierte Übertragung eines L-Fucose-Restes aus Guanosindiphosphat-β-L-fucose (GDP-Fuc) auf einen Akzeptor in einer α-1,2-, α-1,3-, α-1,4- oder α-1,6-Verknüpfung, oft den letzten Glycosylierungsschritt dar. Abhängig von der katalysierten Bindungsart werden Fucosyltransferasen in vier Gruppen eingeteilt: α-1,2-FucT, α-1,3/4-FucT, und α-1,6-FucT.<sup>32</sup>

Innerhalb der Enzymklasse der Glycosyltransferasen kommt den α-1,3-Fucosyltransferasen eine besondere Bedeutung zu. Diese Enzyme vermitteln den Transfer einer L-Fucose-Einheit aus GDP-β-L-fucose auf eine N-Acetyl-D-lactosamin-Einheit (LacNAc) unter Inversion der Konfiguration am anomeren Kohlenstoffatom der L-Fucose und unter Bildung einer α-1,3-glycosidischen Bindung (Abb. 5).<sup>33</sup>



**Abb. 5: Reaktion der α-1,3-Fucosyltransferasen.**

Innerhalb der Familie der α-1,3-Fucosyltransferasen unterscheidet man verschiedene Isoformen (FucT-I bis FucT-XIII), welche in unterschiedlichen Geweben exprimiert werden und voneinander abweichende Akzeptor-Substrat-Spezifitäten aufweisen.<sup>33,34</sup>

## Fucosyltransferase IX

Bei der humanen Fucosyltransferase IX (hFucT-IX) handelt es sich um ein hoch konserviertes Enzym der  $\alpha$ -1,3-FucT-Familie, welches hauptsächlich in den neuronalen Zellen des zentralen Nervensystems, Epithelzellen des Magens und den Blutleukozyten exprimiert wird.<sup>35</sup> Es katalysiert den invertierenden Transfer einer aktivierten Fucosyleinheit aus GDP- $\beta$ -L-fucose auf eine nichtreduzierende terminale *N*-Acetyl-D-lactosamin-Einheit eines Akzeptors. Diese Fucosylierung bildet den letzten Schritt in der Biosynthese terminaler Lewis-X-Epitope diverser Glycokonjugate.<sup>35-39</sup>

Da unter anderem ein Zusammenhang zwischen der Überexpression von Lewis-Epitopen und bestimmten Tumorerkrankungen wie dem Colon-Carzinom, Prostata-, Lungen- oder Leberkrebs besteht, könnte die Hemmung der Fucosyltransferasen einen therapeutischen Nutzen zur Folge haben.<sup>10-12</sup> Dies ist ein besonderer Anreiz für die Entwicklung biochemischer Assays zur detaillierten Untersuchung der FucT-katalysierten Prozesse und für das Design potentieller FucT-Inhibitoren.

Für ausführliche Studien über Proteinstrukturen und Funktionen von Glycosyltransferasen wird die Verfügbarkeit geeigneter Mengen an Enzym vorausgesetzt. Die Gewinnung humaner Glycosyltransferasen aus natürlichen Quellen ist aufgrund ihrer geringen Expressionsrate in den unterschiedlichen Geweben und den daraus resultierenden hohen Kosten oft begrenzt. Bis heute wurden diverse rekombinante Expressionssysteme zur Herstellung der Glycosyltransferasen entwickelt. Während für funktionelle, kinetische und zellbiologische Tests geringe Mengen an Enzym benötigt werden, erfordern strukturelle Untersuchungen Expressionssysteme, welche es ermöglichen, das Protein in größerem Maßstab herzustellen.

Erst kürzlich gelang *Stacke et al.* die rekombinante Produktion einer N-terminal verkürzten Variante der humanen FucT IX. Dazu wurden zunächst verschiedene Expressionssysteme untersucht, wobei die größten Mengen an enzymatisch aktiver shFucT-IX in baculoviral infizierten Sf9-Insektenzellen erhalten werden konnten. Im Anschluss an diverse Reinigungsschritte wurden erste Untersuchungen zur Charakterisierung des Enzyms durchgeführt, in denen neben dem Temperatur- und pH-Optimum auch erste enzymkinetische Faktoren wie die spezifische Aktivität (0.24 U/mg) und die Michaeliskonstanten ( $K_m$  (LacNAc) = 0.70 mM,  $K_m$  (GDP-Fuc) = 1.6  $\mu$ M) bestimmt wurden. Zudem konnte eine Abhängigkeit der Katalysereaktion von zweiwertigen Metallionen, wie sie für andere Vertreter der  $\alpha$ -1,3-Fucosyltransferasen bekannt ist, ausgeschlossen werden.<sup>40,41</sup>

Somit gelang *Stacke et al.* nicht nur die Produktion und Reinigung von größeren Mengen rekombinanter hFucT-IX, sondern auch eine erste grundlegende Charakterisierung dieses Enzyms.

## 2.2 Glycosyltransferase-Assays

Um ein detailliertes Verständnis von GT-katalysierten Prozessen zu erlangen, sind ausführliche Studien über die Struktur und die Funktionen der Glycosyltransferasen notwendig, welche die Verfügbarkeit geeigneter biochemischer Assays voraussetzen.

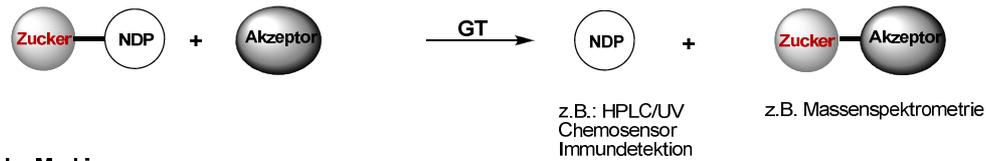
Bis heute wurde eine Reihe an analytischen Methoden entwickelt, um die GT-Aktivität während und nach der Enzymreinigung, für mechanistische Studien und für Hochdurchsatz-Screenings (engl. High-Throughput-Screening, HTS) von Inhibitor-Bibliotheken beobachten zu können. Prinzipiell ist dies über eine Verfolgung des Substratabbaus (Donor und/oder Akzeptor) oder der Produktbildung möglich.<sup>9</sup>

Für biochemische Assays ist die Einhaltung bestimmter Kriterien wie Präzision, Reproduzierbarkeit, und Einfachheit in der Durchführung essenziell. Zudem wäre eine generelle Anwendbarkeit der Assays auf eine Vielzahl von Glycosyltransferasen und die Eignung für HTS-Inhibitor-Studien wünschenswert. Wie oben bereits erwähnt wurde, ist die Konzentration vieler Glycosyltransferasen in Zellen oft sehr gering, weshalb für eine Verfolgung der GT-katalysierten Prozesse eine Detektion von hoher Empfindlichkeit notwendig ist.<sup>9</sup>

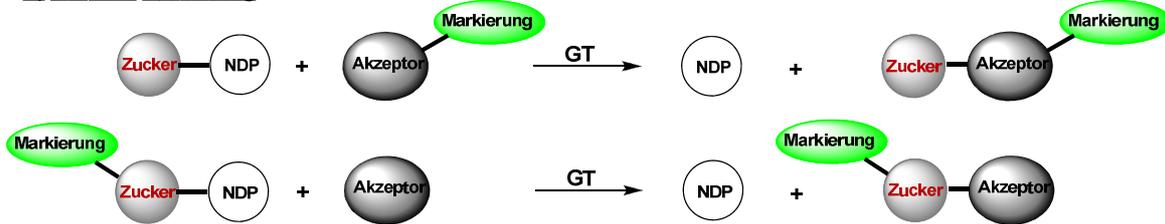
Da die meisten natürlichen GT-Substrate keine bzw. schwache chromo- bzw. fluorophore Gruppen tragen, gelingt die Detektion der natürlichen Produkte der GT-Reaktionen ausschließlich unter Zuhilfenahme einfacher analytischer Methoden wie z.B. HPL-Chromatographie<sup>42</sup> und Massenspektrometrie (Abb. 6: A).<sup>43-45</sup> In vielen GT-Assays finden deshalb oft chemisch modifizierte Donor- oder Akzeptor-Analoga, die eine radioaktive, eine fluoreszierende oder eine Isotopen-Markierung tragen, Verwendung (Abb. 6: B-D).<sup>9</sup>

Wegen ihrer außerordentlichen Empfindlichkeit gehören radiometrische Methoden zu den am häufigsten verwendeten Methoden der GT-Assays.<sup>46</sup> Oft basieren diese auf dem GT-katalysierten Transfer eines radioaktiv markierten Zuckers von dem entsprechenden NDP-Zucker auf einen Akzeptor und anschließender Quantifizierung der Übertragung. Die Anwendbarkeit dieser Methode ist jedoch durch die teils limitierte Verfügbarkeit von radioaktiv-markierten Donoren und den mitunter komplexen Akzeptor-Strukturen begrenzt.<sup>9</sup>

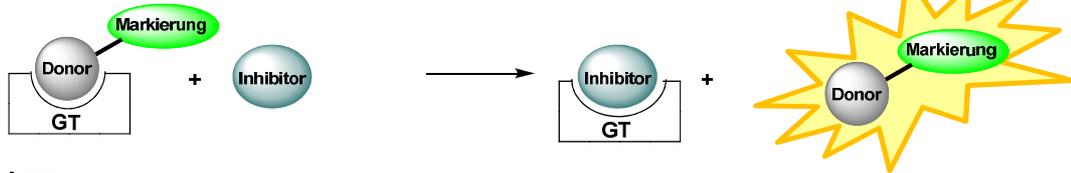
**A) Produkt-Detektion**



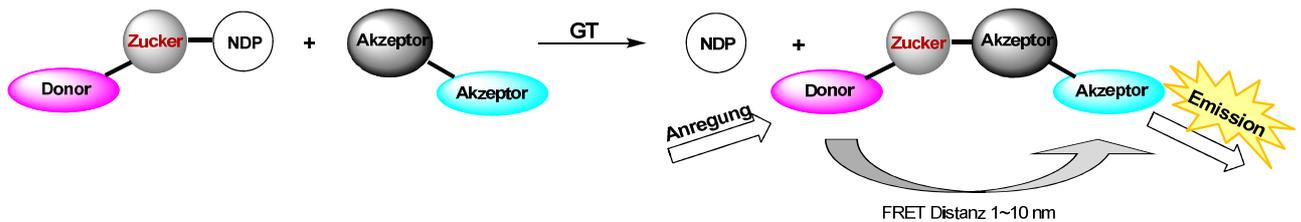
**B) einfache Markierung**



**C) fluoreszenz-basierter Ligandenaustausch-Assay für Inhibitor-Screening**

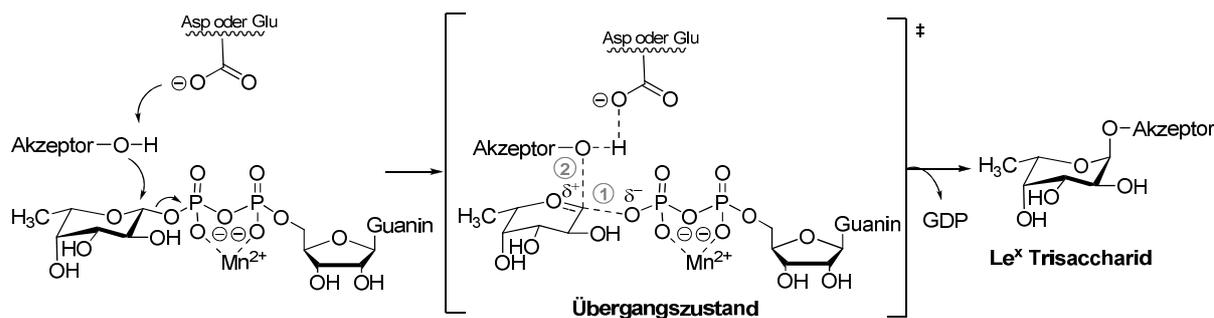


**D) FRET Assay**



**Abb. 6: Methoden für GT-Assays.<sup>9</sup>**

*Murray et al.* entwickelten einen nicht-radioaktiven Fluoreszenz-Assay zur Untersuchung des Reaktionsmechanismus' der invertierenden Fucosyltransferasen am Beispiel der FucT-V. Unter Einsatz von verschiedenen Substratanaloga, nutzten sie neben dem sekundären Isotopeneffekt der GDP-[1-<sup>2</sup>H]-Fucose auch das Inhibitionspotential der GDP-[2F]-Fucose zur Identifizierung des geladenen sp<sup>2</sup>-hybridisierten Übergangszustandes und postulierten den in Abb. 7 gezeigten Mechanismus. Bei dieser geordneten sequentiellen bi-bi-Reaktion wird die glycosidische Bindung des NDP-Zuckers bereits vor der Bindungsknüpfung zum Akzeptor gebrochen.<sup>47</sup>



**Abb. 7: Postulierter Reaktionsmechanismus der Fucosyltransferase V nach Murray et al.<sup>47</sup>**

Fluoreszenz-basierte Methoden (Abb. 6: B-D) zeichnen sich vor allem durch ihre hohe Empfindlichkeit und die Einfachheit ihrer Durchführungen aus, weshalb sie für die Entwicklung von Bioassays und HTS-Studien in den letzten Jahren zunehmend eingesetzt wurden.<sup>48</sup>

Neben der einfachen Fluoreszenz-Markierung der Substrate bzw. Produkte und dem Fluoreszenz-basierten Ligandenaustausch (Abb. 6: C),<sup>49</sup> bietet diese Technik über geeignet markierte Donor-Akzeptor-Paare auch die Möglichkeit zur abstandsabhängigen Untersuchung von GT-Reaktionen über den Förster-Resonanz-Energie-Transfer (FRET) (Abb. 6:D). Hierbei wird die Energie eines angeregten Donorfarbstoffes (Donor) strahlungsfrei über Dipol-Dipol-Wechselwirkungen auf das Akzeptorchromophor übertragen. Für eine erfolgreiche Messung eines FRET-Effektes werden an das Donor-Akzeptor-Paar folgende Voraussetzungen gestellt: Das Absorptionsspektrum des Akzeptors muss mit dem Emissionsspektrum des Donorchromophors überlappen. Donor und Akzeptor sollten parallele Dipolorientierungen aufweisen und ihr Abstand darf 10 nm nicht überschreiten (Abb. 6: D).<sup>50,51</sup>

Im Vergleich zu den Assays mit einer einfachen Markierung, die bei einer einzigen Wellenlänge gemessen werden, ist bei der Durchführung eines FRET-Assays eine geringe Farbstoffkonzentration nötig um ein vergleichbar intensives Signal zu erzielen, da bei dem Einsatz von zwei Farbstoffen sowohl die Abnahme der Donor- als auch die Zunahme der Akzeptorfluoreszenz parallel gemessen werden und diese ins Verhältnis gesetzt werden. FRET-Assays erlauben eine Echtzeit-Verfolgung von Abstandsänderungen im nm-Bereich und zeichnen sich durch eine einfache und direkte Detektion des Signals (z.B. mittels Fluoreszenzmikroskopie oder Spektrofluorometrie) aus, weshalb sie besonders für Assays von biochemischen Ereignissen sowohl *in vitro* als auch *in vivo* geeignet sind.<sup>52</sup>

### 2.2.1 FRET-Assay nach Maeda und Nishimura

Maeda und Nishimura entwickelten einen auf FRET-basierenden Assay zur *in vitro* Untersuchung der von der humanen Fucosyltransferase-VI (hFucT VI) katalysierten Bildung des Sialyl-Lewis-X-Epitops (sLe<sup>x</sup>) unter Verwendung entsprechend markierter Substrat-analoga. Dabei erfolgte die Modifikation der GDP-β-L-fucose mit einem Naphthyl-Donor-Farbstoff in der C6-Position der Fucosyleinheit (1), wohingegen Sialyl-α-2,3-LacNAc mit einem Dansyl-Akzeptor-Chromophor in der 1-Position der N-Acetylglucosamineinheit markiert wurde (2) (Abb. 8).<sup>53</sup>

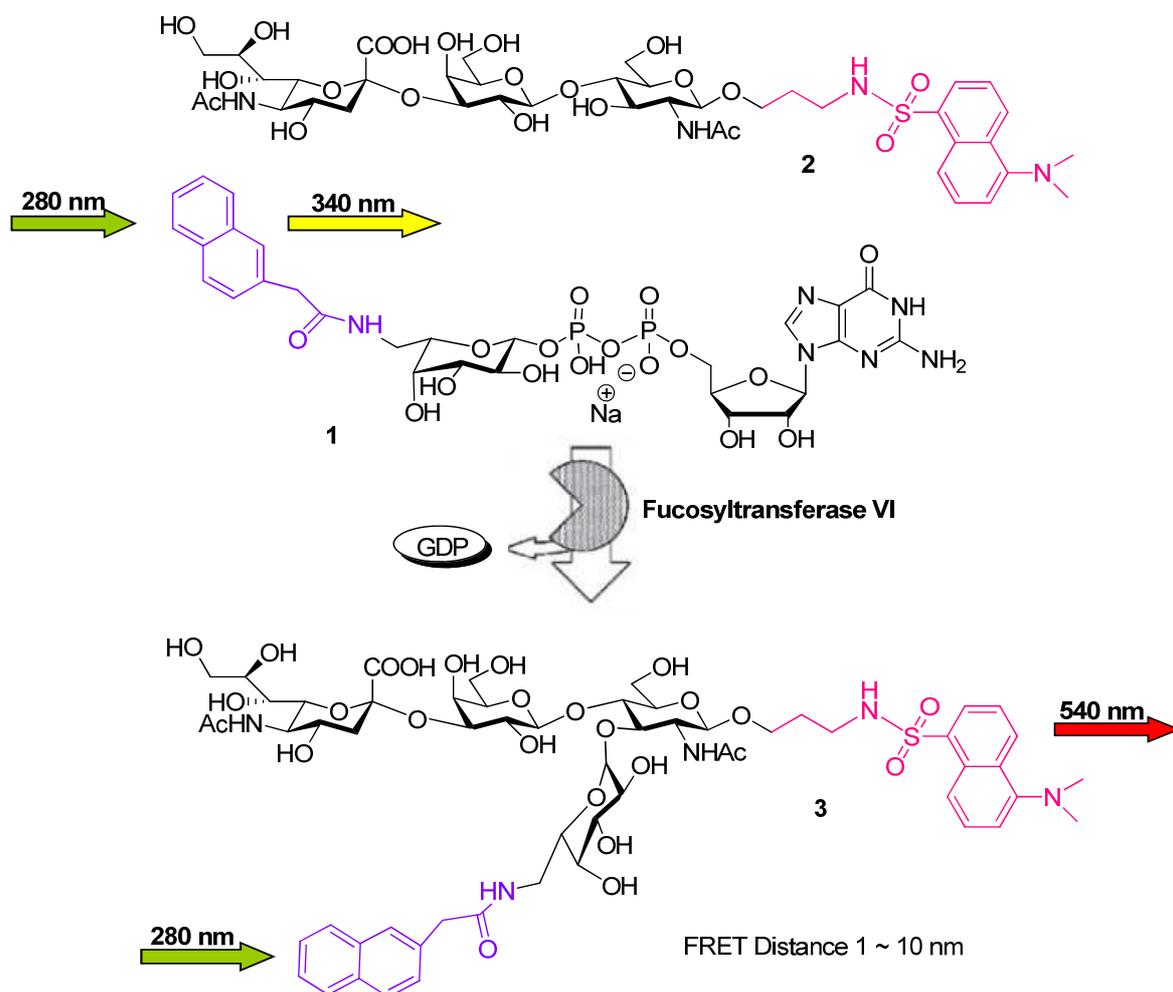


Abb. 8: FRET-Assay zur *in vitro* Untersuchung der hFucT VI-Aktivität nach Maeda und Nishimura.<sup>53</sup>

Während der Bildung des sLe<sup>x</sup>-Tetrasaccharids 3 führte die Anregung des Donors mit UV-Strahlung einer Wellenlänge von 290 nm im Laufe der Reaktion zu einer Abnahme der Naphthyl-Emission und parallel zu einem FRET-induzierten Anstieg der Dansyl-Emission bei 540 nm. Anhand dieser Methode gelang eine hochempfindliche, direkte und kontinuier-

liche *in vitro*-Verfolgung der FucT-VI-katalysierten Reaktion und die Identifizierung eines micromolekularen Inhibitors dieses Enzyms.<sup>53</sup>

Das Konzept der abstandsabhängigen Untersuchung von Enzymen über einen FRET-Assay konnte in der Arbeitsgruppe von *Nishimura* ebenfalls erfolgreich auf die 2,6-Sialyltransferase angewendet werden.<sup>54</sup>

Obwohl es generell möglich sein sollte, diese Technik auch zur Charakterisierung anderer Glycosyltransferasen nutzen zu können, sind bislang keine analogen Untersuchungen bekannt. In Anbetracht der Beteiligung von Glycosyltransferasen an diversen essenziellen biologischen Prozessen (siehe oben), ist die Verfolgung ihrer Aktivitäten über analoge Fluoreszenz-basierte Assays von großem Interesse. Ein Nachteil des von Maeda und Nishimura verwendeten Donor-Akzeptor-Paares ist jedoch, dass der Donorfarbstoff mit einer Anregung bei 280 nm für eine Anwendung des Assays in Zellen nur beschränkt einsetzbar ist, da Strahlung dieser Wellenlänge sowohl zur Anregung anderer Zellkomponenten, wie Tryptophan, als auch zur Bildung mutagener Thymidin-Dimere in der DNA führen kann. Für einen zellulären Assay, sollte daher ein anderer Donorfarbstoff Verwendung finden, welcher eine Anregung mit Strahlung energieärmerer Wellenlängen erlaubt.

## 2.3 Glycosyltransferase-Inhibitor-Design

Für das Auffinden kompetitiver Glycosyltransferase-Inhibitoren ist das Design und die Synthese von Analoga ihrer natürlichen Substrate unerlässlich. Eine Strategie bei der Entwicklung potentieller Inhibitoren ist die Imitation von Form und Funktionalitäten der natürlichen Substrate sowohl im Grund- als auch im Übergangszustand.<sup>55-60</sup>

In Abb. 9 sind einige Beispiele bislang synthetisierter potentieller Inhibitoren der Fucosyltransferasen aufgeführt. Obwohl diesen Verbindungen jeweils unterschiedliche Ansätze zugrunde liegen, ist allen gemein, dass sie neben einer oder mehreren chemischen Modifikationen auch einige Strukturmerkmale der natürlichen Substrate (GDP-, L-Fucose und LacNAc) beinhalten, um bestimmte Bindungsaffinitäten zum Enzym zu erhalten.

Da gezeigt werden konnte, dass der Hauptanteil der Bindungsenergie der Fucosyltransferasen auf Wechselwirkungen mit der GDP-Einheit des Donorsubstrates zurückzuführen ist,<sup>59-61</sup> galt dem Design von potentiellen Inhibitoren mit einer intakten GDP-Struktur (Abb. 9: **4-9**) besonderes Interesse.

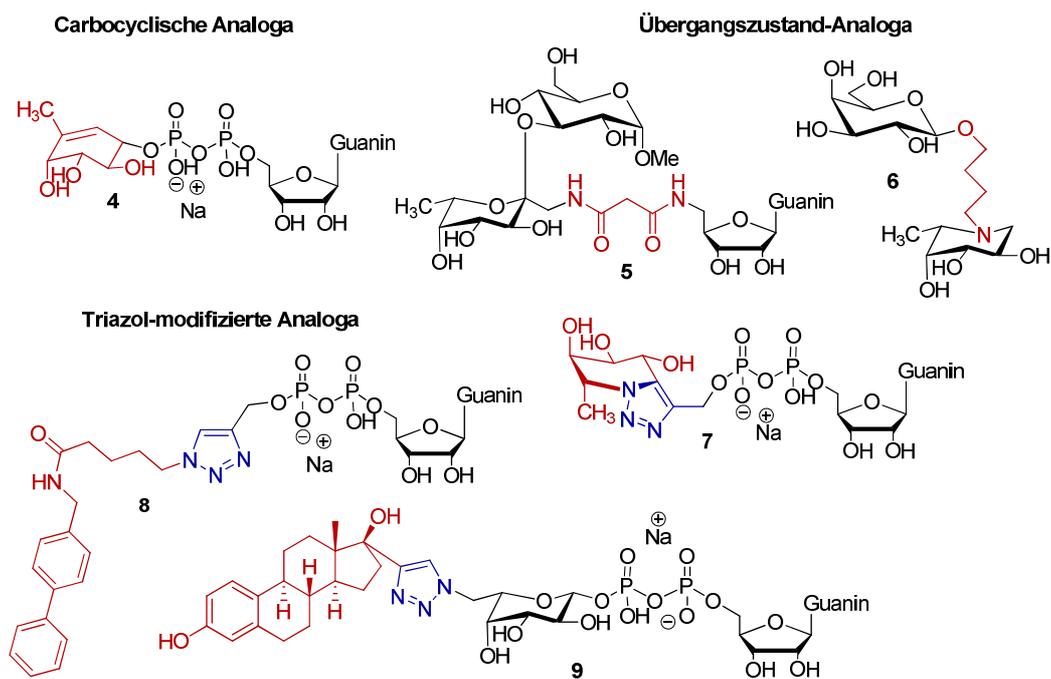


Abb. 9: Beispiele für verschiedene potente FucT-Inhibitoren.<sup>55-60</sup>

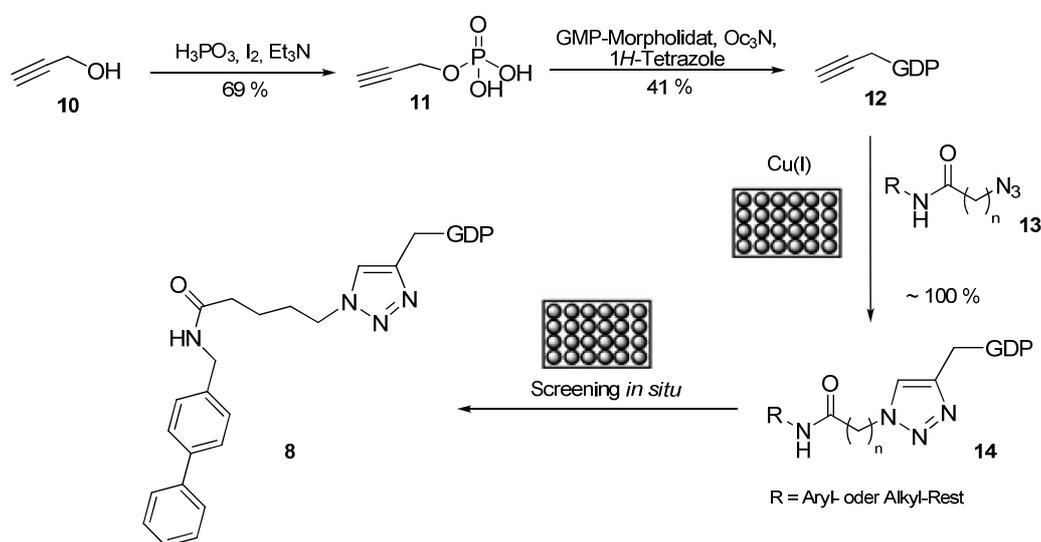
Eine häufig vorgenommene strukturelle Veränderung stellt das Ersetzen des endocyclischen oder glycosidischen Sauerstoffatoms durch andere Hetero- oder Kohlenstoffatome dar. So besteht das Bisubstrat-Analogon **6** aus einem Amino-Derivat der L-Fucose, welches über einen Linker mit einer Galactosyleinheit des natürlichen Akzeptorsubstrates verbunden ist.<sup>55</sup> Bei **4** handelt es sich um ein carbocyclisches Analogon der GDP-β-L-fucose, in dem die Fucosyleinheit gegen einen Cyclohexen-Rest ausgetauscht wurde. Hierdurch wurde eine strukturelle Abweichung des natürlichen Donorsubstrates vorgenommen, die der Konformation des Übergangszustandes sehr ähnelt.<sup>56</sup> Verbindung **7** wird durch die Einführung des Triazolrings in eine analoge Konformation gezwungen.<sup>60</sup>

Da bis heute ein detailliertes Verständnis von der Struktur der Fucosyltransferasen fehlt, ist eine rationale Entwicklung von potentiellen Inhibitoren der FucT stark erschwert, so dass die „besten“ der in Abb. 9 gezeigten Inhibitoren mit Ausnahme von **8** lediglich in einem mikromolaren Bereich lagen.<sup>55-60</sup>

Da die hydrophobe Tasche in Nachbarschaft zu der Akzeptorbindungsstelle die Affinität des Akzeptormoleküls um das 70-fache verstärkt, entwickelten *Lee et al.* eine kombinatorische Substanzbibliothek potentieller Inhibitoren, in denen zwar der wichtige GDP-Kern beibehalten wurde, die Zuckerstrukturen der natürlichen Substrate jedoch durch hydrophobe Gruppen ersetzt wurden, wodurch der synthetische Aufwand minimiert werden konnte.<sup>59</sup> Dabei nutzt sie nach der Synthese von 85 verschiedenen Azidoverbindungen **13**,

welche sich sowohl in der hydrophoben Gruppe als auch in der Länge des Linkers unterschieden, eine Kupfer(I)-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition nach *Huisgen*,<sup>62</sup> durch die jede der Azidverbindungen **13** über eine nahezu quantitativen Kupplung mit GDP-Alkin **12** regioselektiv in das entsprechende GDP-Triazol **14** überführt wurde (Abb. 10). Diese Reaktion ist enthalpisch getrieben, verläuft unter milden wässrigen Bedingungen und zeichnet sich nicht nur durch eine hohe Zuverlässigkeit sondern auch durch eine modulare und breite Anwendbarkeit aus. Somit erfüllt diese Reaktion viele der für sogenannte „Click-Reaktionen“ definierten Kriterien und gilt als Paradebeispiel für dieses von *K. B. Sharpless* geprägte Synthesekonzept.<sup>63</sup>

Die Darstellung des benötigten GDP-Alkins **12** erfolgte über die Morpholidat-Methode nach *Moffat* und *Khorana* aus dem entsprechenden Alkinphosphat **11**.<sup>59,64</sup>



**Abb. 10: Triazol Synthese in Mikrotiterplatten für ein *in situ* Inhibitor-Screening nach Lee et al.<sup>59</sup>**

Das Inhibitor-Screening der dargestellten Verbindungen erfolgte gegen hFucT VI als Vertreter der  $\alpha$ -1,3-Fucosyltransferasen, direkt in den zur Synthese der Triazole verwendeten Mikrotiterplatten durch einen Pyruvat-Kinase/Lactat-Dehydrogenase gekoppelten Enzymassay. Dabei erwies sich das GDP-Triazol **8** als bislang einziger kompetitiver Inhibitor einer Fucosyltransferase, dessen Bindungskonstante im nanomolaren Bereich liegt. Dies bedeutet, dass zwischen Hemmstoff und Enzym eine relativ starke und spezifische Bindung besteht und eine entsprechend geringe Menge des Inhibitors ausreicht, um eine bestimmte Inhibition der Enzymaktivität hervorzurufen.<sup>59</sup>

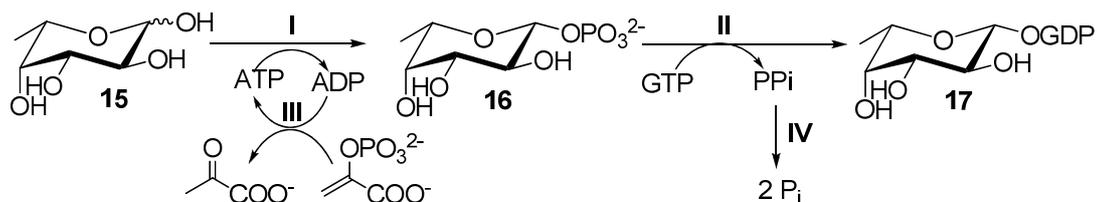
## 2.4 Synthesen von Nucleosiddiphosphatzuckern

Nucleosiddiphosphatzucker sind die natürlichen Substrate der Glycosyltransferasen. Sie bestehen aus einem Glycosylrest, der über eine Pyrophosphatbrücke mit einem Nucleosid verbunden ist. Obwohl sich in Säugetieren nur eine begrenzte Anzahl von Zuckernucleotiden finden lässt, existieren in der Natur zahlreiche andere Kombinationen von Zuckern und Nucleotiden. Da sowohl natürliche NDP-Zucker als auch ihre Strukturanaloga von großem Interesse als Substrate von enzymatischen Reaktionen in der Kohlenhydrat-Synthese, als potentielle Enzyminhibitoren, als Werkzeuge in der Assay-Entwicklung und für Studien der Glycokonjugat-Biosynthese (z.B. LPS) sind, ist ein synthetischer Zugang zu dieser wichtigen Verbindungsklasse von essenzieller Bedeutung. Die Darstellung von NDP-Zuckern birgt diverse Komplikationen, die bei der Entwicklung neuer Synthesestrategien berücksichtigt werden müssen. Dazu gehören neben der geringen Löslichkeit der Zuckernucleotide in organischen Lösungsmitteln, sowohl die Anwesenheit diverser polarer und geladener funktioneller Gruppen und vor allem die Hydrolyseempfindlichkeit der glycosidischen und Pyrophosphat-Bindungen.<sup>65</sup>

Unter Berücksichtigung dieser Faktoren wurde eine Reihe enzymatischer<sup>66-68</sup> und chemischer Methoden<sup>64,69-72</sup> zur Darstellung von NDP-Zuckern entwickelt, von denen einige in den folgenden Kapiteln vorgestellt werden.

### 2.4.1 Enzymatische NDP-Zucker-Synthesen

Enzymatische Synthesen zeichnen sich durch eine hohe Stereo- und Regioselektivität aus und können unter Verzicht auf Schutzgruppen durchgeführt werden. Als repräsentatives Beispiel für eine enzymatische Synthese eines NDP-Zuckers soll an dieser Stelle die Darstellung von GDP- $\beta$ -L-fucose **17** unter Verwendung verschiedener Enzyme nach *Stiller et al.* vorgestellt werden.<sup>73</sup> Bei dieser Methode erfolgt zunächst die Fucose-Kinase-katalysierte Phosphorylierung der L-Fucose **L-15** in das entsprechende 1-Phosphat **16** unter ATP-Verbrauch. Das generierte Fucosylphosphat **16** wird anschließend in einer GDP-Fucose-Pyrophosphorylase-katalysierten Reaktion mit GTP in die gewünschte GDP- $\beta$ -L-fucose **17** überführt (Abb. 11).<sup>73</sup>



I = Fucose-Kinase, II = GDP-Fucose-Pyrophosphorylase, III = Pyruvat-Kinase, IV = anorganische Pyrophosphatase

**Abb. 11: Enzymatische Synthese von GDP-Fucose nach Stiller et al.<sup>73</sup>**

Der letzte Schritt dieser Synthese, welche meist in einem 50  $\mu$ molaren Maßstab durchgeführt wird, verläuft lediglich mit Ausbeuten um die 20%.<sup>73</sup> Neben der geringen Ausbeute, besteht ein großer Nachteil solch enzymatischer Synthesen in der begrenzten Verfügbarkeit der Enzyme durch Isolierung aus natürlichen Quellen oder Klonierung. Zudem verhindert der Mangel an einer generell anwendbaren enzymatischen Synthesemöglichkeit, besonders in Bezug auf nicht natürliche Donorsubstrate, den Fortschritt dieser Methoden.<sup>66-68</sup>

Aus diesem Grund besteht ein großer Bedarf an chemischen Synthesemethoden, die einen Zugang zu NDP-Zuckern und ihren Analoga eröffnen.

## 2.4.2 Chemische NDP-Zucker-Synthesen

Es gibt verschiedene Synthesestrategien zur chemischen Darstellung von NDP-Zuckern **18**, welche entweder die Knüpfung der glycosidischen Bindung über einen elektrophilen Angriff eines aktivierten Glycosyldonors **19** auf die terminale Phosphatgruppe eines Nucleosid-diphosphates **20** (Abb. 12: Weg A) oder die Knüpfung der Pyrophosphatbindung über den nucleophilen Angriff eines Zucker-1-monophosphates **21** auf ein aktiviertes Nucleotid **22** (Abb. 12: Weg B) vorsehen.

Während als aktivierte Zucker (Weg A) unter anderem Bromide **23**<sup>75,76</sup> oder Thioimidoyl-glycoside **24**<sup>70</sup> Verwendung finden, eignen sich zur Aktivierung von Nucleosidmonophosphaten nach Weg B verschiedene Austrittsgruppen, wie die in Abb. 12 gezeigten Morpholidate **25**,<sup>64</sup> und Imidazolide **26**.<sup>74</sup>

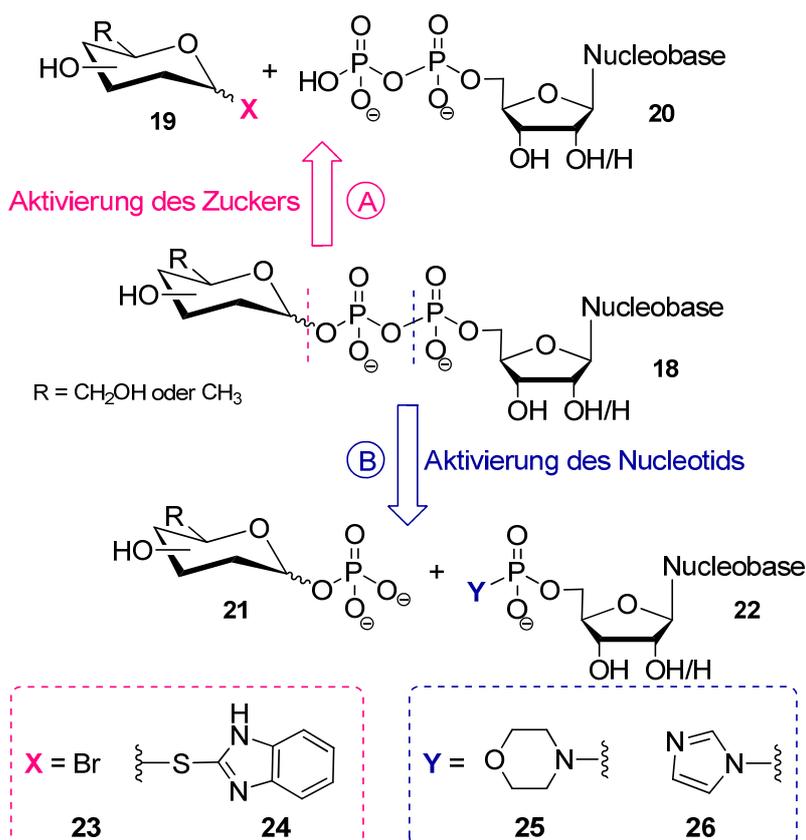


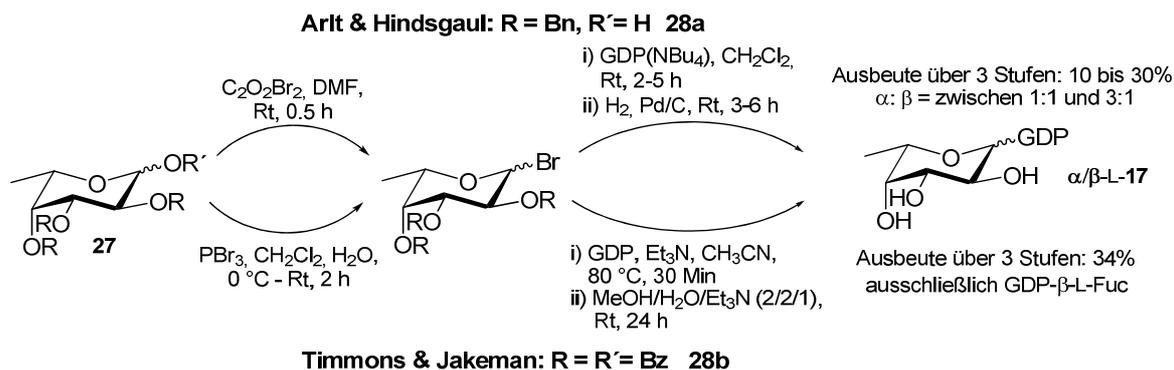
Abb. 12: Generelle Synthesestrategien zur Darstellung von NDP-Zuckern 18.

Im Folgenden erfolgt eine kurze Vorstellung der wichtigsten Methoden zur Darstellung von NDP-Zuckern.

#### 2.4.2.1 Synthese von NDP-Zuckern über die Glycosylierung von Nucleosidmonophosphaten

Nach der in Abb. 12 gezeigten Synthesestrategie A erfolgt die Darstellung von NDP-Zuckern über eine Glycosylierung von Nucleosiddiphosphaten. Da bei solchen Reaktionen die Bindungsknüpfung an einem anomeren Zentrum erfolgt, stellt hier die Steuerung der Stereoselektivität die größte Herausforderung dar. Andererseits bietet diese Methode aufgrund der kommerziellen Verfügbarkeit vieler NDPs, einen schnellen synthetischen Zugang zu einer Vielzahl an strukturell unterschiedlichen NDP-Zuckern.

Bei der von *Arlt* und *Hindsgaul* zur Synthese von Zuckernucleotiden entwickelten Halogenose-Methode wird das jeweilige Monosaccharid **27** durch Einführung eines Halogenids am anomeren Zentrum gegenüber einem nucleophilen Angriff des NDPs aktiviert (Abb. 13, oben).<sup>76</sup>

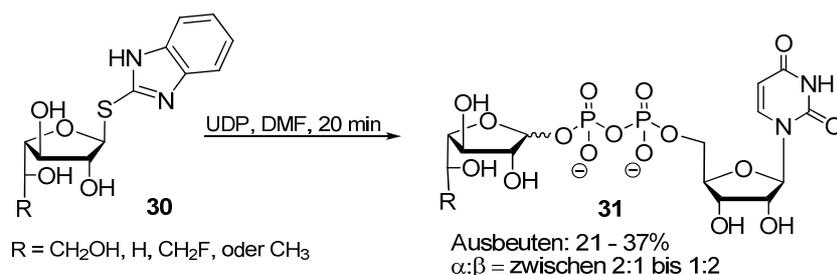


**Abb. 13: Synthese von GDP- $\beta$ -L-fucose über die Glycosylierung von GDP.**<sup>69,76</sup>

Durch die Umsetzung des O-benzyl-geschützten Glycosylbromids **28a** mit dem entsprechenden Nucleosiddiphosphat in Form eines Tetra-*n*-butylammoniumsalzes, gelang mit dieser Methode die Darstellung von UDP-Galactose, UDP-Arabinose und GDP-Fucose. Trotz der kurzen Reaktionszeiten von wenigen Stunden, konnten bei diesen Reaktionen nach dem Entfernen der Benzylschutzgruppen lediglich Ausbeuten zwischen 10% und 30% erzielt werden. Darüber hinaus besteht ein großer Nachteil dieses Verfahrens in der begrenzten Kontrolle der Stereoselektivität, so dass die Produkte in Abhängigkeit vom pH-Wert der Reaktionslösung als untrennbares Gemisch ihrer Anomere in  $\alpha/\beta$ -Verhältnissen zwischen 1:1 und 3:1 erhalten wurden.<sup>65,76</sup>

*Timmons* und *Jakeman* gelang eine Verbesserung der Stereokontrolle dieser Reaktionen durch den Einsatz anderer Schutzgruppen (**28b**) (Abb. 13: unten).<sup>69</sup> So verwendeten sie anstelle der Benzylether Acetate bzw. Benzoate, die eine Glycosylierung unter Beteiligung der Nachbargruppen am C2-Atom erlaubten und so in der Bildung einer Reihe anomerer-reiner NDP-Zucker (UDP- $\alpha$ -D-Man, GDP- $\alpha$ -D-Man, UDP- $\beta$ -L-Fuc, GDP- $\beta$ -L-Fuc) resultierten. Eine vollständige Kontrolle der Stereochemie ist hier jedoch nur im Fall des 1,2-*trans*-konfigurierten Anomers eines Monosaccharids möglich. Obwohl während der Reaktionssequenz (Kupplung und Entfernen der Schutzgruppen) keine Zersetzung der Produkte beobachtet werden konnte, konnten diese lediglich in Ausbeuten zwischen 31% und 38% erhalten werden.<sup>65,77</sup>

Eine weitere Methode zur Glycosylierung von Nucleosidmonophosphaten wurde von *Peltier et al.* zur Darstellung von Nucleotidglycofuranosen **31** entwickelt.<sup>70</sup> Als aktivierter Glycosyldonor fungiert hierbei ein Benzimidazolthiofuranosid **30**, welches aus der entsprechenden peracetylierten Furanose erhalten werden kann.



**Abb. 14** Synthese von NDP-Glycofuranosen nach *Peltier et al.*<sup>70</sup>

Die Synthesen der NDP-Glycofuranosen werden durch eine direkte Kupplung von dem jeweiligen ungeschützten Thiofuranosid **30** mit dem entsprechenden NDP in der protonierten Form in DMF durchgeführt. Trotz der kurzen Reaktionszeiten von 10 bis 60 Minuten, konnte hierbei allerdings auch eine Zersetzung von UDP zu UMP beobachtet werden. Mit dieser Methode gelang die Darstellung acht verschiedener UDP-Glycofuranosen (**31**) in Ausbeuten zwischen 21% und 37%, wobei die erhaltenen Anomerengemische mittels präparativer HPLC getrennt werden konnten.<sup>70</sup>

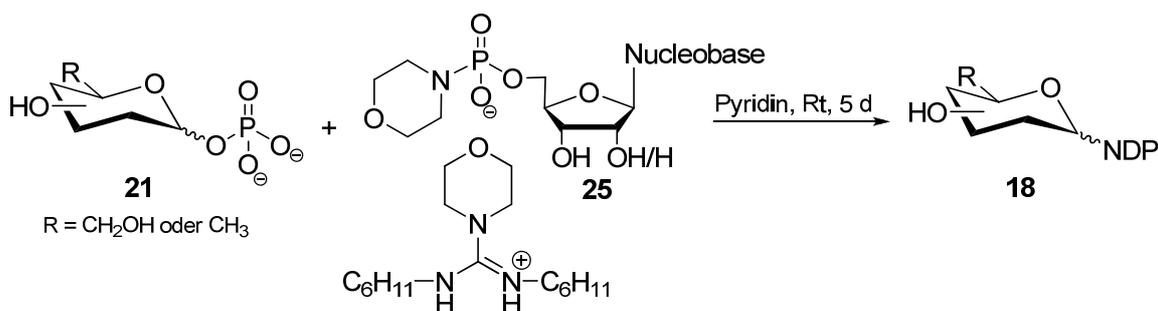
Die Methode nach *Peltier et al.* hat den Vorteil, dass sie in Abwesenheit jeglicher Schutzgruppen und ohne weitere Additive realisiert werden kann. Ein Nachteil ist hierbei jedoch, dass die Produkte wiederum in Form anomerer Gemische erhalten werden, welche nur unter erheblichem Aufwand getrennt werden können.<sup>70</sup>

#### 2.4.2.2 Synthese von NDP-Zuckern über eine NMP-Aktivierung

Die Strategie, die bei der Synthese von NDP-Zuckern bislang am meisten Anwendung fand, basiert auf der Kondensation zweier Monophosphate (Zucker-1-MP **21** und NMP **22**), bei der die Knüpfung der Pyrophosphatbindung über den nucleophilen Angriff eines Zucker-1-monophosphates **21** auf ein aktiviertes Nucleotid **22** erfolgt (Abb. 12: Weg B). Diese Methode erlaubt nicht nur die Durchführung der Reaktionen bei relativ tiefen Temperaturen, wodurch die Möglichkeit einer Produktzersetzung minimiert und eine Homodimerbildung unterdrückt werden kann, sondern auch die Kontrolle der Stereochemie am anomeren Zentrum über den Einsatz anomerenreiner Zuckerphosphate.

Der bekannteste Vertreter dieser Synthese-Technik ist die Methode nach *Moffat* und *Khorana*, bei welcher die Aktivierung des NMPs als Morpholidat erfolgt (Abb. 15).<sup>64</sup> Um das Risiko einer Hydrolyse dieser Phosphormorpholidate während der Kupplung zu minimieren, muss die Reaktion unter Ausschluss jeglicher Feuchtigkeit durchgeführt werden. Zudem bereitet auch oft die Wahl eines geeigneten Reaktionsmediums Schwierigkeiten, da es sich bei beiden Reaktionspartnern um sehr polare Verbindungen handelt.

Unter Berücksichtigung dieser kritischen Faktoren konnte die Morpholidatmethode dennoch sowohl zur Synthese einer Reihe an natürlichen NDP-Zuckern als auch zur Darstellung einiger ihrer Analoga angewendet werden.<sup>64,77-86</sup> Vergleicht man dabei jedoch die bislang publizierten synthetischen Anwendungen dieses Prinzips, lässt sich eine mangelnde Reproduzierbarkeit der Produktausbeuten (16% bis 70%) und die langen Reaktionszeiten als entscheidende Schwachpunkte der Morpholidat-Methode feststellen.<sup>65</sup>



**Abb. 15: Morpholidat-Methode zur Synthese von NDP-Zuckern nach Moffatt und Khorana.<sup>64</sup>**

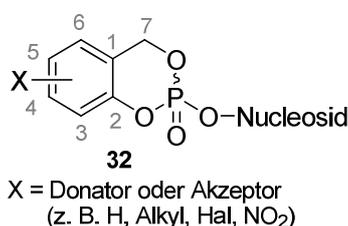
Aufgrund der sehr langen Reaktionszeiten von bis zu neun Tagen, welche meist in einem vermehrten Auftreten von Neben- und/oder hydrolytischen Zersetzungsreaktionen resultieren, wurden über die Jahre verschiedene Versuche unternommen, die Morpholidat-Methode z.B. durch die Verwendung von Katalysatoren zu optimieren. So gelang *Wittmann* und *Wong* beispielsweise unter Zusatz von 1*H*-Tetrazol eine Verkürzung der Reaktionszeit auf ein bis zwei Tage zu Gunsten einer höheren Ausbeute von bis zu 91%.<sup>66</sup> Diese Ergebnisse konnten jedoch in unserem Arbeitskreis nicht reproduziert werden.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass obwohl bereits eine Reihe von Methoden zur chemischen Synthese von Nucleosiddiphosphatzuckern entwickelt wurde, noch immer ein großer Bedarf nach einer generell anwendbaren Methode besteht, die einen reproduzierbaren synthetischen Zugang sowohl zu den natürlichen als auch zu unnatürlichen Zuckernucleotiden in hohen Ausbeuten und unter Kontrolle der Stereochemie am anomeren Zentrum erlaubt.

Zur Erschließung alternativer Synthesewege wurden bereits verschiedene Konzepte, welche beispielsweise in der DNA-Synthese oder Prodrug-Entwicklung eingesetzt werden, ihrer ursprünglichen Anwendung entzogen und für die Darstellung von Zuckernucleotiden adaptiert.<sup>73,87</sup>

### CycloSal-aktivierte Phosphatriester zur Synthese von NDP-Zuckern

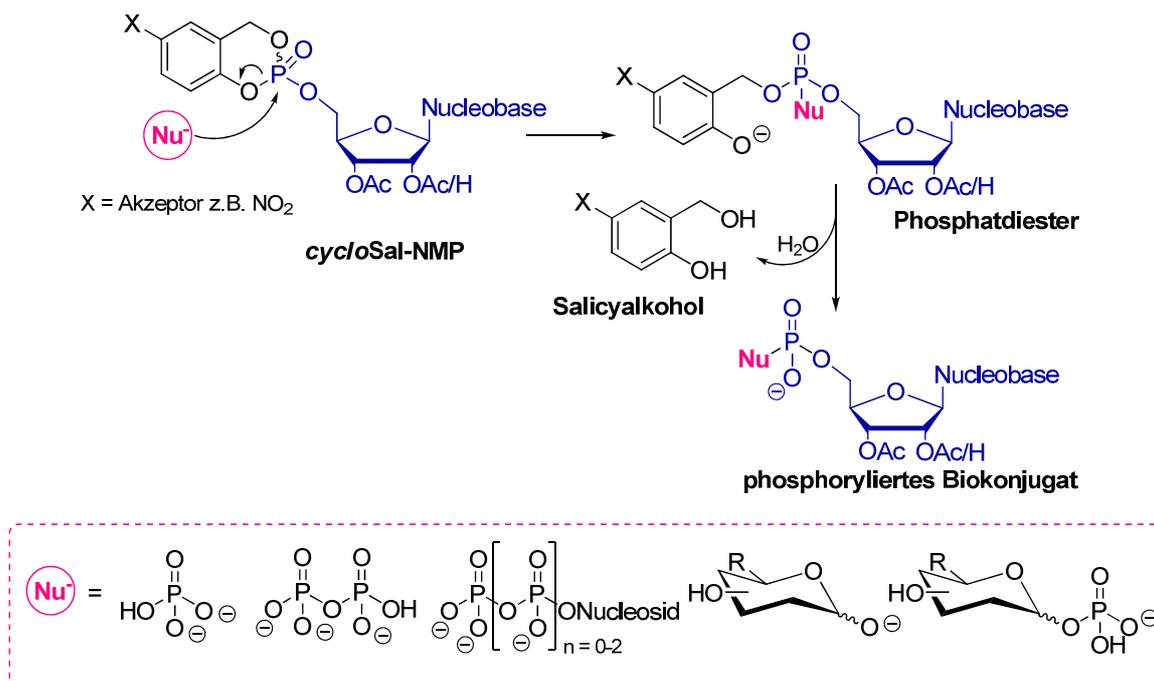
Ursprünglich wurde das *cycloSal*-Konzept von *Meier et al.* für die Synthese von lipophil maskierten Wirkstoffvorläufern, sogenannten Pronucleotiden, zur intrazellulären Freisetzung von biologisch aktiven Nucleosidmonophosphaten entwickelt (*Anmerkung:* nähere Informationen zu dem *cycloSal*-Prodrug-Konzept finden sich in Teil II dieser Arbeit). Die Maskierung der negativen Ladungen erfolgt dabei über eine zweifache cyclische Veresterung mit einem Salicylalkohol-Derivat (Abb. 16). Die Nomenklatur der *cycloSal*-NMPs **32**, die auch als *cycloSal*-Nucleotide oder –Phosphatriester bezeichnet werden, erfolgt in Anlehnung an die IUPAC-Regeln nach einer internen Festlegung.



**Abb. 16: Grundstruktur von *cycloSal*igenyl-Nucleosidmonophosphaten.**

Die Besonderheit der *cycloSal*-Nucleosidmonophosphaten **32** liegt in ihrem Hydrolyseverhalten: So kommen sie im Gegensatz zu anderen Pronucleotid-Systemen ohne eine enzymatische Aktivierung aus und nutzen für ihre Freisetzung lediglich den Anstieg des pH-Wertes beim Eintritt in die Zelle. Die Hydrolyse-Geschwindigkeit von *cycloSal*-Prodrugs ist dabei abhängig von ihrer Stabilität, welche vor allem durch den Substituenten X am aromatischen Ring der Maske bestimmt wird. Während Elektronendonatoren in 3- oder 5-Position einen stabilisierenden Effekt ausüben, zeigen Akzeptoren in der 5-Position einen gegenteiligen Effekt, welcher zu einer Destabilisierung und somit zu einer schnellen Freisetzung des NMPs führt.<sup>88</sup>

Da die Freisetzung der Nucleotide rein chemisch verläuft, sind neben Hydroxidionen auch weitere Nucleophile (z.B. Phosphate, NMPs oder Zucker-1-Phosphate) zur Ringöffnung in den *cycloSal*-Nucleotiden befähigt (Abb. 17). Diese Erkenntnisse eröffneten die Möglichkeit einer synthetischen Anwendung der *cycloSal*-Triester als aktive Phosphat-Donatoren für die Synthese diverser phosphorylierter Biokonjugate wie den NMP- und NDP-Zuckern<sup>71,72,89</sup> sowie Dinucleosid-5'-, 5'-di-, -tri- und -tetraphosphaten.<sup>90</sup> Da für die synthetische Anwendung der Prodrugs ein schneller Zerfall, d.h. eine kurze Hydrolysehalbwertszeit erwünscht ist, wurden ausschließlich Akzeptor-substituierte *cycloSal*-Triester als synthetische Aktivester eingesetzt, wobei der 5-Nitro-Substituent den größten aktivierenden Effekt ausübt.



**Abb. 17: Synthetische Anwendung des cycloSal-Konzepts.**

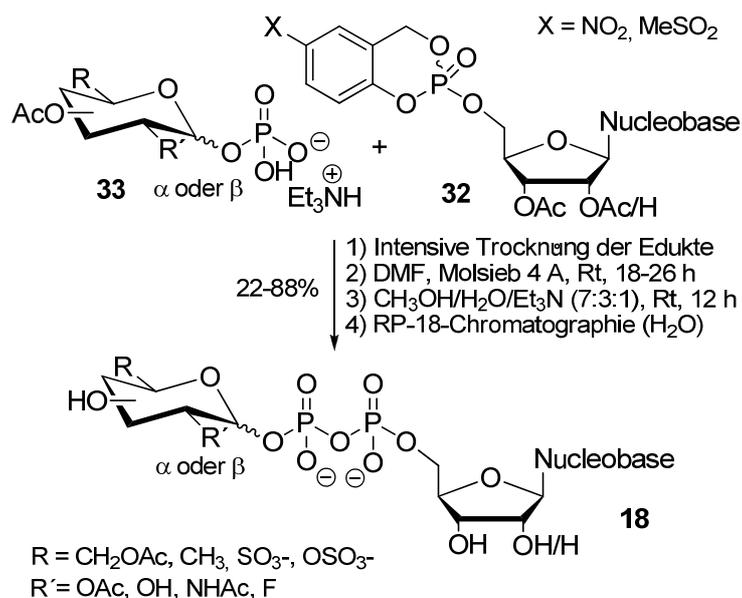
Bedingt durch die verschiedenen Stabilitäten der Phenyl-, Benzyl- und Alkylphosphatesterbindungen verläuft die Hydrolyse äußerst selektiv. So erfolgt im ersten Schritt die Spaltung der phenylischen Phosphatesterbindung durch einen Angriff des Nucleophils auf das Phosphoratom unter Bildung eines (2-Hydroxybenzyl)phosphatdiesters, welcher aufgrund seiner Mesomeriestabilisierung bevorzugt gebildet wird. Anschließend erfolgt über einen spontanen Bindungsbruch der benzylichen C-O-Bindung die Freisetzung des Salicylalkohols und des entsprechenden phosphorylierten Biokonjugates.

Die Synthese von Nucleosiddiphosphatzuckern mit Hilfe von *cycloSal*-aktivierten Nucleosidmonophosphaten wurde erstmals in der Dissertation von *S. Wendicke* vorgestellt.<sup>87</sup> Während ihrer Arbeit untersuchte und optimierte sie verschiedene Parameter der Reaktion wie die generellen Reaktionsbedingungen (Lösungsmittel, Temperatur, Reaktionszeit), den Einfluss der Substituenten X der aromatischen Maske, des Gegenions, die Schutzgruppenstrategie und die chromatographische Reinigung der polaren NDP-Zucker. Das erste geeignete Syntheseprotokoll sah dabei das gleichzeitige Zusammenfügen von einem 5-Nitro-substituierten *cycloSal*-Nucleotid (1 Äqu.) und einem Zuckerphosphat (1.2 Äqu.) bei 50 °C in DMF vor, wobei die NDP-Zucker nach 3-5 Stunden in Ausbeuten zwischen 21% und 56% erhalten wurden. Um eine selektive Phosphorylierung des Zuckerphosphates zu garantieren wurden beide Komponenten vor ihrer Kupplung selektiv mit Acetylgruppen versehen, wodurch eine simultane Abspaltung der Schutzgruppen im Anschluss an die Synthese unter relativ milden basischen Bedingungen ermöglicht wurde. Die chromato-

graphische Reinigung der stark polaren Produkte, welche in Form ihres Triethylammoniumsalzes erhalten wurden, gelang an RP-18-Kieselgel mit Wasser als Eluenten, meist jedoch erst nach mehrmaliger Wiederholung.<sup>71,87</sup>

Die Arbeiten von *S. Wendicke* legten somit den Grundstein für eine neuartige Synthesestrategie zur Darstellung von NDP-Zuckern, welche jedoch in Bezug auf die erzielten Produktausbeuten einer gewissen Optimierung bedurften.

Eine Verbesserung des Syntheseprotokolls nach *S. Wolf* sieht vor allem einen intensiven Trocknungsvorgang der Edukte vor Reaktionsbeginn vor. So werden diese zunächst erst einige Tage im Vakuum und anschließend, gelöst in DMF, über aktiviertem Molsieb getrocknet. Zudem beinhaltet das optimierte Protokoll eine Erhöhung des Überschuss' am Zuckerphosphat **33** (2.0 statt 1.2 Äqu.), eine Veränderung im Turnus der Zugabe (der gelöste Triester **32** wird langsam zu dem gelösten Zuckerphosphat **33** hinzugetropft) und eine Erniedrigung der Reaktionstemperatur von 50 °C auf Raumtemperatur (Abb. 18).<sup>72,89</sup>



**Abb. 18: Synthese von NDP-Zuckern 18 mit Hilfe von *cycloSal*-Nucleotiden 32.**

Nach diesem optimierten Verfahren konnte in unserer Arbeitsgruppe ein synthetischer Zugang zu einer Vielzahl unterschiedlichster NDP-Zucker-Strukturen in hohen Ausbeuten bis zu 88% erschlossen werden. Die Anwendung der Methode ist dabei nicht nur auf die Synthese der natürlichen Zuckernucleotide<sup>72,89</sup> beschränkt, sondern konnte bereits erfolgreich auf die Darstellung unnatürlicher NDP-Zucker<sup>91</sup> übertragen werden. Dabei wurden sowohl diverse Nucleosid- als auch verschiedene Zucker-Analoga eingesetzt.<sup>91</sup>

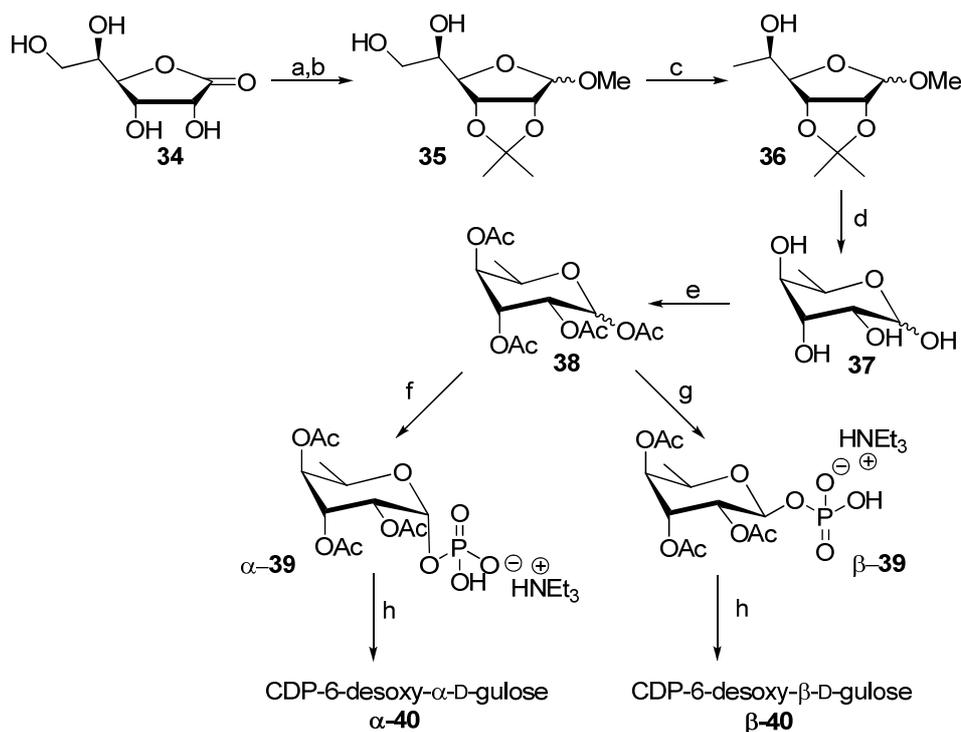
Somit stellt die Verwendung von Akzeptor-substituierten *cycloSal*-Nucleotiden als aktivierte Phosphatester eine zuverlässige, generell anwendbare und reproduzierbare Methode in der Darstellung von strukturell vielfältigen NDP-Zuckern und ihrer Analoga dar. Die Zuckernucleotide wurden dabei in hohen Ausbeuten und zudem in Form reiner Anomere erhalten, da die Stereoinformation des anomeren Kohlenstoffatoms der Glycosyleinheit im NDP-Zucker durch die Konfiguration des eingesetzten Zuckerphosphates vorgegeben wird.<sup>71,72,89,91</sup>

### 2.4.3 Synthese seltener natürlicher NDP-Zucker

Während in den Eukaryoten ausschließlich acht NDP- bzw. NMP-Zucker (siehe Kapitel 1) als Substrate der Glycosyltransferasen dienen, findet sich in Prokaryoten eine große Anzahl an vielfältigen NDP-Zucker-Strukturen, die sich sowohl in der Zucker- als auch in der Nucleosidkomponente unterscheiden. Ein genereller synthetischer Zugang zu den in Eukaryoten vorkommenden NDP-Zuckern konnte über die Kupplung von *cycloSal*-aktivierten Phosphatriestern mit den leicht verfügbaren und größtenteils kommerziell erhältlichen Zuckern bzw. Zucker-1-phosphaten bereits erfolgreich erschlossen werden.

Aufgrund ihrer Rolle in der Zellwand- und Glycoprotein-Biosynthese in Bakterien (z.B. LPS-Biosynthese Gram-negativer Bakterien), Mycobakterien und Pilzen, stellen einzelne NDP-Zucker als Substrate der Glycosyltransferasen dieser Spezies attraktive Targets für die Entwicklung innovativer Antiinfektiva dar.<sup>92,93</sup> Aus diesem Grund ist ein synthetischer Zugang zu bestimmten NDP-Zuckern und ihrer Analoga, welche als potentielle Inhibitoren der Glycosylierungen dienen könnten, von großem Interesse. Die Darstellung dieser Zuckernucleotide wird jedoch vor allem durch die unzureichende Verfügbarkeit der benötigten Zucker erschwert, weshalb bisher nur wenige Versuche unternommen worden, um diese speziellen Moleküle zu synthetisieren.

Die Synthese von CDP-6-desoxy-D-gulose  $\alpha/\beta$ -**40**, einem NDP-Zucker, welcher an der LPS-Biosynthese Gram-negativer Bakterien beteiligt ist, konnte erfolgreich durch Kupplung des selektiv geschützten *cycloSal*-Cytidinmonophosphates **41** mit dem entsprechenden anomerenreinen 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-D-gulose-1-phosphat  $\alpha/\beta$ -**39** durchgeführt werden (Abb. 19: Schritt h).<sup>72</sup> Letztere Zuckerphosphate wurden dabei durch Phosphorylierung unterschiedlicher acetylierter 6-Desoxy-D-gulose-Derivate erhalten: Während die Darstellung des  $\alpha$ -Anomers über die Phosphoramidit-Methode (Abb. 19 : Schritt f) erfolgte, gelang die Synthese des  $\beta$ -Anomers ausgehend vom  $\alpha$ -Bromid des Zuckers über eine Silber-katalysierte Kupplung mit Dibenzylphosphat (Abb. 19: Schritt h).



a) i)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Aceton,  $75^\circ\text{C}$ , 48 h; ii) DIBAL-H, Toluol,  $-78^\circ\text{C}$ , 2 h (56% über 2 Stufen); b) i) KOH,  $\text{CH}_3\text{l}$ , [18]crown-6, THF, Rt, 2 h; ii) HOAc,  $\text{H}_2\text{O}$ , Rt, 20 h (92% über 2 Stufen); c) i) MsCl, Pyridin,  $0^\circ\text{C}$  - Rt, 2 h; ii)  $\text{LiAlH}_4$ , Benzol,  $85^\circ\text{C}$ , 7 d (74% über 2 Stufen); d) HCl,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\Delta$ , 2-3 Min (80%); e)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Pyridin, Rt, 18 h (quant.); f) i) Hydrazinacetat, DMF, Rt, 3 h; ii) Bis(benzyl)-*N,N*-diisopropylphosphoramidit **xx**, DCl,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $0^\circ\text{C}$  - Rt, 2 h; iii) *m*CPBA,  $0^\circ\text{C}$  - Rt; iv) Pd/C,  $\text{H}_2$ ,  $\text{NEt}_3$ , Rt, 46-72 h; g) i) HBr, HOAc,  $0^\circ\text{C}$  - Rt, 2 h; ii)  $(\text{BnO})_2\text{P}(\text{O})\text{OH}$ ,  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$ ,  $0^\circ\text{C}$  - Rt, 16 h; iii) Pd/C,  $\text{H}_2$ ,  $\text{NEt}_3$ , Rt, 46-72 h; h) i) 5-Nitro-*cycloSal-N^4*-Ac-2',3'-di-O-Ac-cytidin-monophosphat, DMF, Rt, 24 h; ii)  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{Et}_3\text{N}$  (7:3:1), Rt, 16 h ( $\alpha$ : 66%;  $\beta$ : 60% über 2 Stufen)

**Abb. 19: Synthese von CDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-gulose  $\alpha/\beta$ -40 ausgehend von D-Gulono- $\gamma$ -lacton **34**.**

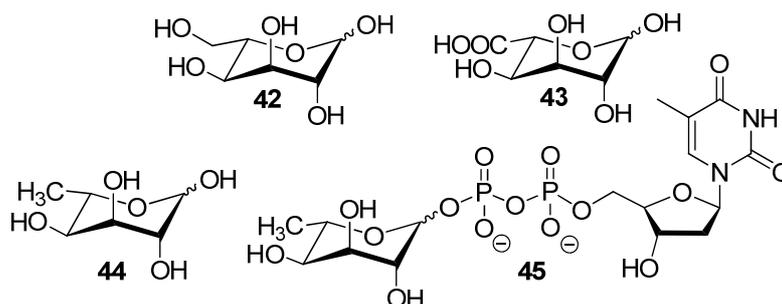
6-Desoxy-D-gulose **37** wurde über eine siebenstufige Syntheseroute ausgehend von D-Gulono- $\gamma$ -lacton **34** mit einer Gesamtausbeute von 30% synthetisiert (Abb. 19: a-d). Dabei stellten neben einer komplexen Schutzgruppenstrategie, vor allem die Reduktion der Ketofunktion und die 6-Desoxygenierung die Schlüsselschritte dieser Synthese dar.<sup>72</sup>

## L-Hexosen

Obwohl der Fokus der Aufmerksamkeit aufgrund ihrer weiten Verfügbarkeit stets auf dem Gebrauch von üblichen D-Zuckern als bequeme Quelle für Startmaterialien biologischer Untersuchungen lag, wuchs in letzter Zeit auch das Interesse an ihren L-Enantiomeren. Diese sind zwar in der Natur weniger präsent als die D-Hexosen, sind aber dennoch als Schlüsselbausteine sowohl zahlreicher bioaktiver Oligosaccharide, Glycopeptide, Terpen- und Steroidglycoside als auch diverser Antibiotika nicht minder bedeutsam.<sup>94</sup>

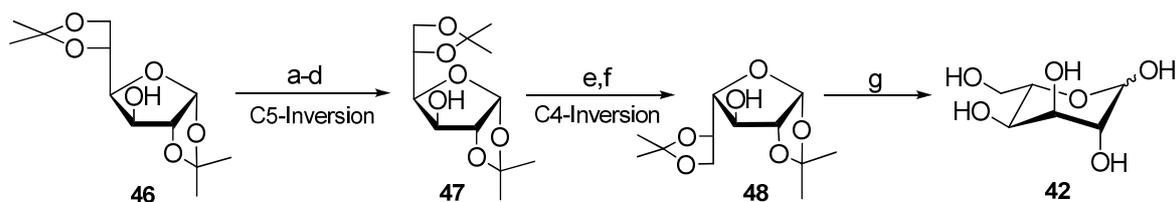
So finden sich in der Natur beispielsweise diverse Vertreter der L-Altro-Zucker-Reihe als essenzielle Bestandteile einiger Oligo- bzw. Polysaccharide (Abb. 20): L-Altrose **42** wurde

als Komponente der extrazellulären Polysaccharide des *Butyrivibrio fibrisolvens* Stammes CF3 identifiziert.<sup>95</sup> Zudem wurde L-Altruronsäure **43** in der O-spezifischen Region der LPS von *Proteus mirabilis* O10, einem opportunistischen Erreger von Infektionen des menschlichen Harntraktes, gefunden.<sup>96</sup> Desweiteren besteht nicht nur das LPS-O-Antigen der *Yersinia Enterocolotica* (Serotyp O:3)<sup>97-99</sup> sondern auch das des *Pectinatus Frisingensis*<sup>100</sup> aus einem Homopolymer von 6-Desoxy- $\alpha$ -L-altrose **44**, dessen Biosynthese von Glycosyltransferasen unter Verwendung von TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose **45** als Glycosyldonoren katalysiert wird (Abb. 20).<sup>101-104</sup>



**Abb. 20: Biologisch relevante Vertreter der L-Altro-Reihe.**

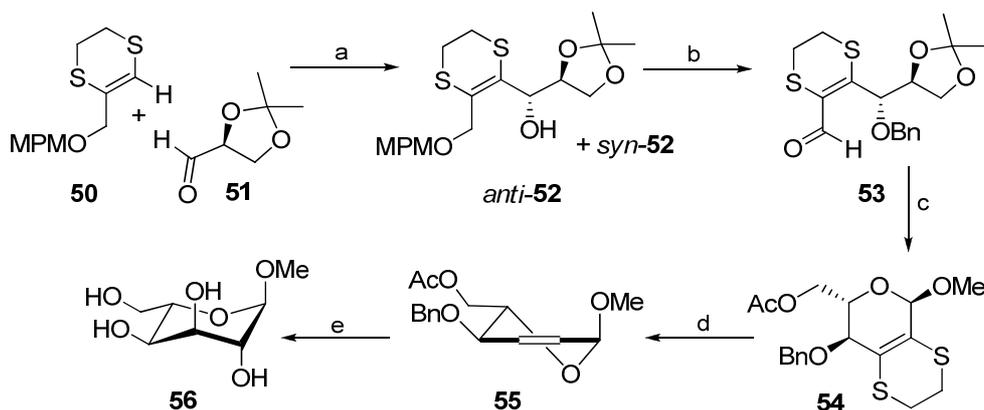
Da die meisten L-Hexosen kommerziell nicht erhältlich sind und zudem oft praktische Schwierigkeiten bei ihrer Gewinnung aus den natürlichen Quellen bestehen, wurde eine Reihe von Methoden zur chemischen Synthese dieser Zucker entwickelt. Bei den meisten der bekannten Synthesen handelt es sich um Kettenverlängerungen von kurzkettigen Zuckern, chemische oder enzymatische Epimerisierungen von kommerziell erhältlichen D-Zuckern<sup>105</sup> und ihrer Derivate<sup>106,107</sup> oder *de novo* Synthesen<sup>108-111</sup> ausgehend von sehr einfachen Molekülen.<sup>94</sup> Im Folgenden werden die verschiedenen Strategien zur Darstellung von L-Hexosen anhand einiger Beispiele zur Synthese von L-Altrose **42** und ihrem 6-Desoxy-Derivat **44** vorgestellt. Eine der effizientesten Methoden zur Darstellung von L-Altrose ist die sequentielle Epimerisierung von D-Glucose nach *Hung et al.* (Abb. 21).<sup>105</sup> Ausgehend von Diaceton- $\alpha$ -D-glucose **46** wird hier in einer siebenstufigen Synthese über eine C5-Epimerisierung zunächst L-Idose **47** erhalten, welche anschließend über eine Inversion der Konfiguration des C4-Atoms in die gewünschte L-Altrose **42** überführt wird. Die Schlüsselschritte dieser Synthese stellen stereoselektive Hydroborierungen von Olefinen dar.<sup>105</sup>



a)  $\text{Ph}_3\text{P}$ , NBS, (75%); b) DBU, Toluol (84%); c)  $\text{BH}_3/\text{THF}$ ;  $\text{H}_2\text{O}_2$ , NaOH, (90%); d) kat. CSA, Aceton, 2,2-Dimethoxy-propan, (42%); e) DAST, Pyridin,  $100^\circ\text{C}$ , 0.12 mmHg, (51%); f)  $\text{BH}_3/\text{THF}$ ;  $\text{H}_2\text{O}_2$ , NaOH, (78%); g) Amberlite-120- $\text{H}^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 1,4-Dioxan, (100%)

**Abb. 21: Synthese von L-Altrose 42 über eine zweifache Epimerisierung nach Hung et al.<sup>105</sup>**

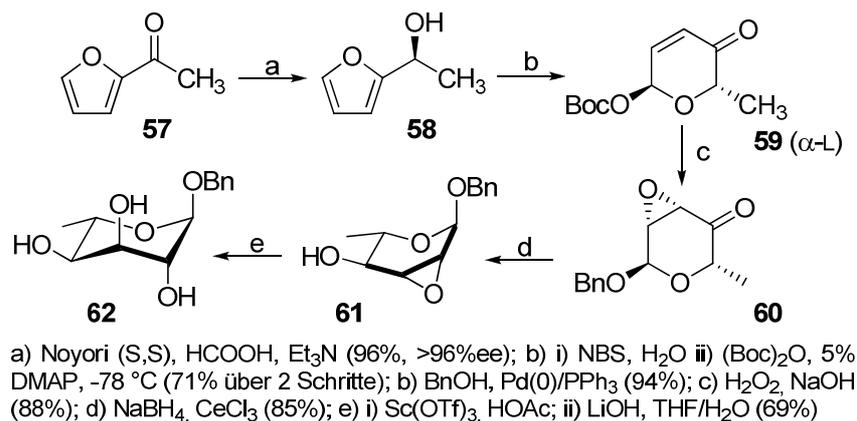
Eine weitere Möglichkeit zur Darstellung der L-Altrose **42** bietet die Methode nach Guaragna et al., in der das geschützte (5,6-Dihydro-1,4-dithiin-2-yl)methanol **50** als Reagenz zur Kettenverlängerung des elektrophilen 2,3-O-Isopropyliden-L-glyceraldehyds **51** dient (Abb. 22). Die Einführung einer  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Formylfunktion resultiert dabei zunächst in der Bildung des 2,3-ungesättigten L-Pyranosids **54**, welches anschließend über eine stereoselektive Dihydroxylierung in das Methyl- $\alpha$ -L-altropyranosid **56** überführt wird.<sup>108</sup>



a) BuLi, THF,  $-78^\circ\text{C}$  (95%); b) i) NaH, BnBr, DMF,  $0^\circ\text{C}$  (95%) ii) DDQ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ , Rt (70%) iii) PCC, Pyridin (99%); c) i) Amberlite 15,  $\text{CH}_3\text{OH}$ , Rt ii)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Pyridin (97%), d) Raney-Nickel, THF,  $0^\circ\text{C}$  (75%); e) i)  $\text{CF}_3\text{COCH}_3$ , Oxone,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $0^\circ\text{C}$  ii)  $\text{HClO}_4$ , Rt (87% über 2 Stufen)

**Abb. 22: De novo Synthese vom Methyl- $\alpha$ -L-altropyranosid 56 nach Guaragna et al.<sup>108</sup>**

Als letztes soll hier die von Shan et al. entwickelte asymmetrische *de novo* Synthese vom Benzyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosid **62** über ein Pyranon-Intermediat **59** vorgestellt werden. Diese Route stützt sich auf eine Palladium(0)-katalysierte Glycosylierungsreaktion und entsprechende Postglycosylierungstransformationen. Die Kontrolle der absoluten und relativen stereochemischen Konfiguration resultiert dabei aus einer Noyori-Reduktion von 2-Acyloxyfuran **57** und anschließender diastereoselektiver Einführung weiterer stereogener Zentren über eine stereoselektive Epoxidöffnung.<sup>112</sup>



**Abb. 23: Asymmetrische *de novo* Synthese von Benzyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrosid 62 nach Shan *et al.*<sup>112</sup>**

Während für die Synthese von L-Altrose **42** bislang eine Vielzahl von verschiedenen Methoden entwickelt wurden,<sup>94,105,108-111,113</sup> ist die *de novo* Synthese nach Shan *et al.* eines der wenigen Beispiele,<sup>112,114</sup> die einen Zugang zu ihrem 6-Desoxy-Derivat **44** eröffnen, welches an der LPS-Biosynthese diverser Gram-negativer Bakterien beteiligt ist.

Allen hier vorgestellten Synthesestrategien gemein ist, dass sie in ihrer Anwendung nicht nur auf einen bestimmten Zucker beschränkt sind, sondern je nach eingesetzten Reagenzien den synthetischen Zugang zu einer Reihe an L-Hexosen bieten. Da viele natürliche D-Zucker, wie D-Glucose oder D-Galactose, aufgrund ihrer Omnipräsenz in Naturprodukten wie Stärke, Cellulose und Lactose, nahezu uneingeschränkt verfügbar sind, eignen sich insbesondere Epimerisierungen von D-Hexosen, wie die in Abb. 21 gezeigte Synthese nach Hung *et al.*, zur Darstellung von L-Hexosen in einem Gramm-Maßstab.

Obwohl die Suche nach Methodologien für die Synthese von natürlichen und unnatürlichen Zuckern in optisch aktiven Formen schon seit über einem Jahrhundert anhält, stellt dieses Untersuchungsfeld noch immer ein faszinierendes Forschungsgebiet und eine zentrale Herausforderung für Synthese-Chemiker dar. Dabei ist für weiterführende Untersuchungen im Bereich der chemischen Biologie und Wirkstoffentwicklung vor allem ein synthetischer Zugang zu den entsprechenden NDP-Zuckern als Substrate der Glycosyltransferasen, welche an der Konstruktion von komplexeren bioaktiven Molekülen beteiligt sind, von besonderem Interesse.<sup>108</sup>

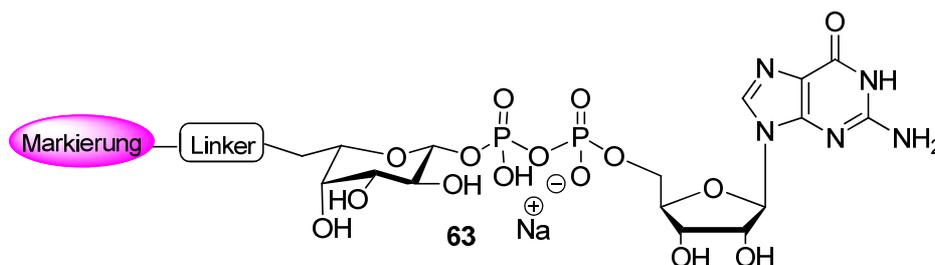
## 3 Aufgabenstellung

### 3.1 Synthese fluoreszenzmarkierter GDP- $\beta$ -L-fucose

Dieser Abschnitt der Arbeit ist Teil eines Projektes im Rahmen einer Kooperation verschiedener Arbeitsgruppen der Organischen Chemie und der Biochemie der Universität Hamburg, welche es sich zum Ziel gesetzt hat, eine Methode zu entwickeln, die sowohl eine Visualisierung der humanen Fucosyltransferase IX-Aktivität als auch eine Lokalisierung fucosylierter Glycostrukturen *in vivo* ermöglicht. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse sollen zur Aufklärung ihres enzymkatalytischen Mechanismus´ und ihrer Funktionen beitragen und somit das rationale Design potentieller Inhibitoren vereinfachen.

Ein besonders effizientes Verfahren zur kontinuierlichen Verfolgung enzymkatalysierter Prozesse basiert auf dem Förster-Resonanz-Energie-Transfer (FRET). Aus diesem Grund sollte im Rahmen unserer Kooperation ein FRET-Assay für die Untersuchungen der hFucT-IX entwickelt werden. Als Vorbild sollte das von *Maeda* und *Nishimura* entwickelte Verfahren zur *in vitro* Untersuchung der hFucT-VI-Aktivität dienen. Die Anregung des dabei verwendeten Naphthyl-Donor- und Dansyl-Akzeptorsubstratpaares erfolgte mit UV-Strahlung bei 230 nm.<sup>53</sup> Da Strahlung dieser Wellenlänge unter anderem von diversen Zellkomponenten absorbiert wird, ist das von *Maeda* und *Nishimura* verwendete FRET-Paar für eine Anwendung in zellulären Assays nur beschränkt geeignet. Da die mechanistischen Studien der hFucT-IX jedoch sowohl *in vitro* als auch *in vivo* durchgeführt werden sollen, sollte ein andere Farbstoffe Verwendung finden, welche eine Anregung mit Strahlung energieärmerer Wellenlängen erlauben.

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit besteht in der Darstellung von fluoreszenzmarkierter GDP- $\beta$ -L-fucose **63** (Abb. 24). Da Fucosyltransferasen eine ausgeprägte Toleranz gegenüber Modifikationen in der C6-Position der Zuckereinheit ihres Substrates GDP- $\beta$ -L-fucose **17** aufweisen,<sup>53,115-117</sup> sollte im Rahmen dieser Arbeit die Markierung des Donorsubstrats **17** an dieser Stelle vorgenommen werden. Die Verknüpfung mit dem Farbstoff sollte dabei über einen geeigneten Linker erfolgen, der zuvor in das Molekül eingeführt werden muss. Die Knüpfung der Pyrophosphatbrücke des Zuckernucleotids sollte unter Verwendung eines Akzeptor-substituierten *cycloSal*-Nucleotids als Phosphataktivester erfolgen.



**Abb. 24: Fluoreszenzmarkierte GDP- $\beta$ -L-fucose 63.**

Anschließend sollte im Rahmen unserer Kooperation mit Hilfe von Hochleistungsdünn-schichtchromatographie (HPTLC) gekoppelt mit einer massenspektrometrischen Detektion zunächst überprüft werden, ob sowohl die von uns synthetisierte fluoreszenzmarkierte GDP- $\beta$ -L-fucose **63** als auch von ein *S. Kahl* dargestelltes entsprechend markiertes LacNAc-Akzeptorsubstrat von der hFucT-IX als Substrate erkannt und enzymatisch umgesetzt werden können. Im Fall einer erfolgreichen Akzeptanz beider Substratanaloga sollte die Aktivität der Fucosyltransferase IX über einen FRET-Assay untersucht werden.

Eine weitere Verwendungsmöglichkeit für die fluoreszenzmarkierte GDP- $\beta$ -L-fucose **63** bestünde zudem in der Markierung fucosylierter Proteine (Proteinlabeling).<sup>9,116</sup>

### 3.2 Synthese Triazol-modifizierter GDP-Zucker

Da die meisten der bis heute entwickelten Fucosyltransferase (FucT)-Inhibitoren über sehr geringe Bindungsaffinitäten zum Enzym verfügen, besteht ein großes Interesse an der Entwicklung neuer Strategien zum Auffinden hochwirksamer und spezifischer Hemmstoffe. Da ein detailliertes Verständnis von der Struktur der Fucosyltransferasen jedoch bislang fehlt, ist das rationale Design von potentiellen FucT-Inhibitoren stark erschwert. Aus diesem Grund ist man auf die Verfügbarkeit von Synthesemethoden, welche einen schnellen und zuverlässigen Zugang zu einer Vielzahl von strukturell unterschiedlichen Substratanaloga eröffnen, angewiesen.

Aufgrund dessen, dass der Hauptanteil der Bindungsenergie der Fucosyltransferasen auf Wechselwirkungen mit der GDP-Einheit des Donorsubstrats zurückzuführen ist,<sup>59-61</sup> gilt dem Design von potentiellen Inhibitoren mit einer intakten GDP-Struktur ein besonderes Interesse. Eine effiziente und generell anwendbare Methode zur Darstellung von strukturell vielfältigen NDP-Strukturen, stellt die Verwendung von *cycloSal*-Nucleotiden als aktivierte Phosphatester dar. Neben der Knüpfung der Pyrophosphatbrücke ist für den synthetischen

Zugang von GT-SubstratanaLOGA eine schnelle, leistungsfähige, gut funktionierende und einfache Methode zur Einführung von Modifikationen entscheidend.

Lee *et al.* nutzten für das Erstellen einer kombinatorischen Bibliothek potentieller FucT-Inhibitoren die als *Huisgen*-Reaktion bekannte Kupfer(I)-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen organischen Aziden und Alkinen (CuAAC). Um den synthetischen Aufwand möglichst gering zu halten wurden hier anstelle der natürlichen Zuckereinheiten der Donor- und Akzeptorsubstrate, aromatische und somit hydrophobe Azide verwendet.<sup>59</sup>

Da im ersten Teil dieser Arbeit die Darstellung von Glycosylaziden durch die Verwendung von Mikrowellensystemen in ihrer Durchführung stark vereinfacht und zudem unter Verkürzung der Reaktionszeit im Vergleich zum literaturbekannten Syntheseprotokoll optimiert werden konnte,<sup>115,118</sup> sollten in der vorliegenden Arbeit im Unterschied zu dem von Lee *et al.* entwickelten Konzept, Azide verschiedener Mono- bzw. Disaccharide über eine 1,2,3-Triazolbrücke mit einer GDP-Einheit verknüpft werden. Während Lee *et al.* zur Darstellung von GDP-Alkin **12** die Morpholidatmethode nach Moffat und Khorana nutzten, sollte erneut das *cycloSal*-Verfahren zur Knüpfung der Pyrophosphatbrücke Anwendung finden.

Um die Anwendbarkeit der Synthese zu untersuchen, sollte neben L-Fucose L-**15** auch ihr D-Enantiomer D-**15** sowie D-Galactose D-**64** und das Disaccharid D-Lactose **65** in Form ihrer entsprechenden Azide über eine 1,2,3-Triazol-Brücke mit der GDP-Einheit verknüpft werden.

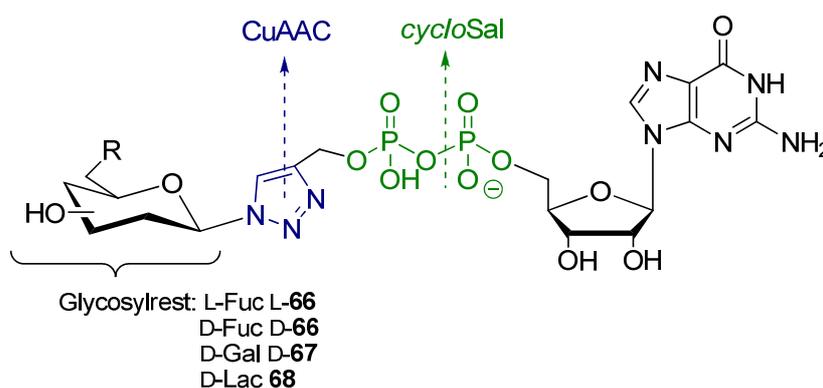


Abb. 25: Triazol-modifizierte GDP-Zucker.

### 3.3 Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit bestand in der Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose  $\alpha/\beta$ -**45**, welche für biosynthetische Studien über Lipopolysaccharide diverser Gram-negativer Bakterien benötigt wird.<sup>97-104</sup>

Die Synthese beider Anomere dieses seltenen NDP-Zuckers sollte nach der *cycloSal*-Methode über die Reaktion des jeweiligen anomerenreinen 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosylphosphates  $\alpha/\beta$ -**69** mit 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-acetyl-thymidinmonophosphat **70** erfolgen.

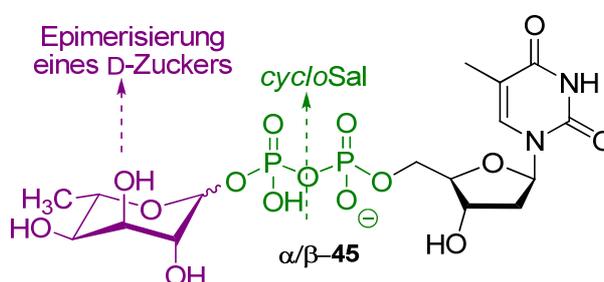


Abb. 26: Konzept zur Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose  $\alpha/\beta$ -**45**.

Die Darstellung der 6-Desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosylphosphate  $\alpha$ -**69** und  $\beta$ -**69** sollte über eine Phosphorylierung von 6-Desoxy-L-altropyranose **44** erzielt werden. Da dieser seltene L-Zucker kommerziell nicht erhältlich ist, sollte ein neuer synthetischer Zugang zu **44** gefunden werden. Um eine Synthese im Gramm-Maßstab zu ermöglichen, sollte die Epimerisierung eines entsprechenden, uneingeschränkt verfügbaren D-Zuckers den Schlüsselschritt der Reaktionssequenz bilden.

## 4 Resultate und Diskussion

### 4.1 Synthese fluoreszenzmarkierter GDP- $\beta$ -L-fucose

#### 4.1.1 Synthesen zur Darstellung von GDP-6-azido- $\beta$ -L-fucose

Wegen der Toleranz der Fucosyltransferasen gegenüber Modifikationen in der C6-Position der Zuckereinheit ihres Substrates GDP- $\beta$ -L-fucose **17**, wurden bislang verschiedene Strategien zur Einführung von Farbstoffen in diese Position über geeignete Linker entwickelt.

Viele Syntheserouten zur Darstellung fluoreszenzmarkierter GDP- $\beta$ -L-fucose **63** verlaufen über GDP-6-azido- $\beta$ -L-fucose **71**, da diese vielseitige Möglichkeiten zur Anbindung an entsprechend funktionalisierte Chromophore bietet: Zum einen kann die Azidogruppe, wie in dem von *Sawa et al.* zur Visualisierung fucosylierter Glycane entwickelten Konzept, über eine Kupfer(I)-katalysierte [3+2]-Cycloaddition (Click-Chemie) unter Bildung eines Tetrazolringes mit fluoreszierenden Alkinen **72** verknüpft werden (Abb. 27: A).<sup>116</sup> Zum anderen kann die Azidogruppe, wie bei der von *Maeda und Nishimura* beschriebenen Synthese von GDP-6-naphtyl- $\beta$ -L-fucose **2**, über eine Reduktion in das entsprechende primäre Amin **73** überführt werden, welches dann mit einem fluoreszierenden NHS-Ester **74** unter Ausbildung einer stabilen Amidbindung reagiert (Abb. 27: B).<sup>53</sup>

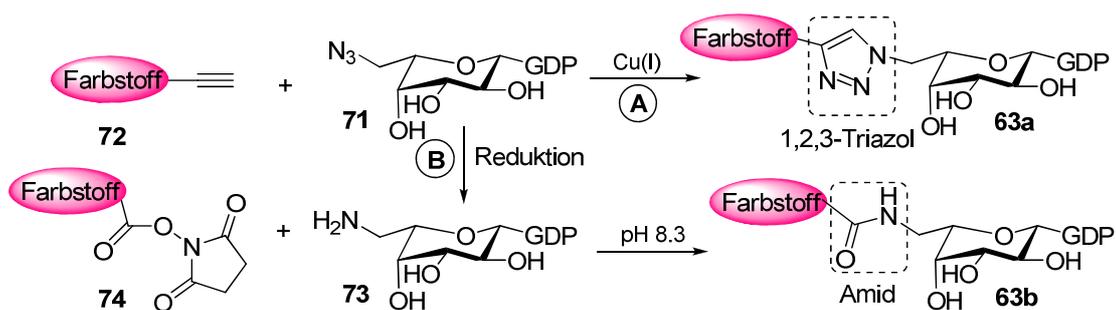


Abb. 27: Synthesestrategien zur Darstellung Farbstoff-modifizierter GDP- $\beta$ -L-fucose.

Aufgrund ihrer vielseitigen Verwendungsmöglichkeiten wurden verschiedene Synthesestrategien zur Darstellung der GDP-6-azido- $\beta$ -L-fucose **71** über das entsprechende 6-Azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactosylmonophosphat **75** entworfen, wobei die von *Srivastava et al.* entwickelte Methode ausgehend von L-Galactose L-**64** bislang am meisten Anwendung fand.<sup>115,116</sup> Hierbei erfolgt zunächst die selektive Schützung der sekundären Hydroxygruppen als Isopropylidenacetale (**76**) bevor die primäre Hydroxygruppe über das ent-

sprechende Triflat in eine Azidogruppe (**77**) überführt wird. Nach anschließender Umsetzung zum  $\alpha$ -Bromid **79**, erfolgt die Phosphorylierung zum 6-Azido- $\beta$ -L-fucosylmonophosphat **75**. Dieses konnte von *Sawa et al.* über die Morpholidat-Methode mit einer sehr geringen Ausbeute von 5% in GDP-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **71** überführt werden.<sup>116</sup>

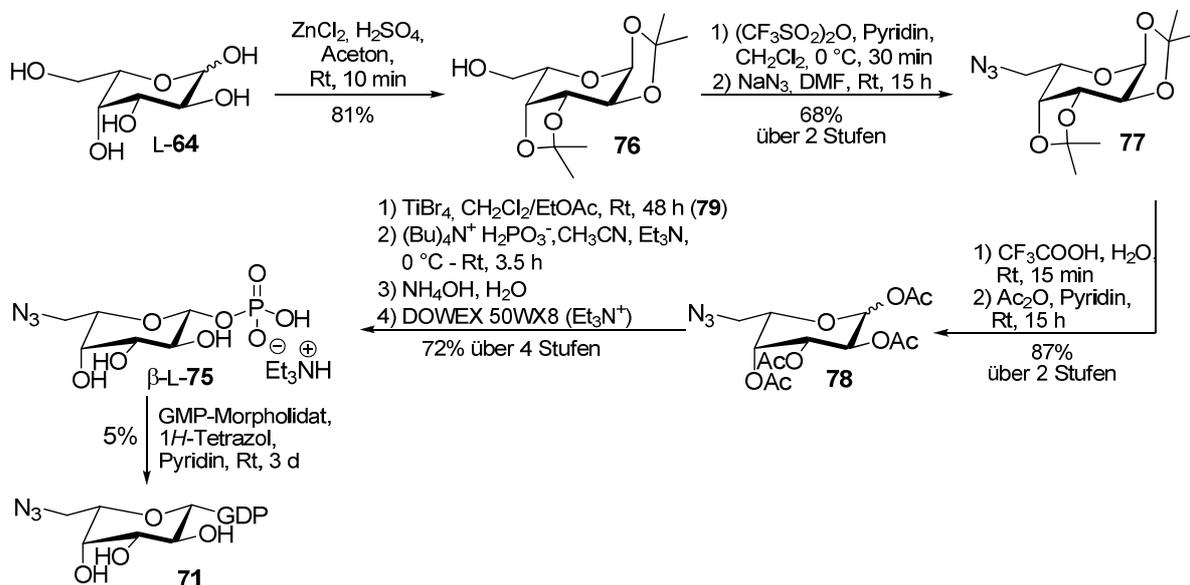


Abb. 28: Synthese von **71** nach *Srivastava et al.* und *Sawa et al.*<sup>115,116</sup>

Da es sich bei der für diese Synthese als Ausgangsverbindung gewählten L-Galactose **L-64** um einen vergleichsweise teuren Zucker (ca.  $\text{€ } 2.5 \text{ mg}^{-1}$ ) handelt, wurde von *Maeda* und *Nishimura* ein alternativer Syntheseweg ausgehend von der weitaus günstigeren D-Galactose **D-64** (ca.  $\text{€ } 0.2 \text{ g}^{-1}$ ) entwickelt.<sup>53</sup> Da sich hierbei jedoch schon die Darstellung des acetylierten Azido-Zuckers **78** über 13 Stufen erstreckt, ist dieser Weg im Vergleich zu der von *Srivastava et al.* entwickelten Strategie sehr lang und mit erheblichem synthetischen Aufwand verbunden. Zudem erfolgte die Synthese der GDP-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **71** hier ebenfalls über die Kupplung des 6-Azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactosylmonophosphats  **$\beta$ -L-75** mit einem GMP-Morpholidat, so dass **71** im letzten Schritt lediglich mit einer Ausbeute von 11% erhalten werden konnte.<sup>53</sup>

Das von *Srivastava et al.* entwickelte Synthesekonzept zur Darstellung des 6-Azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactosylmonophosphats  **$\beta$ -L-75** besticht neben der geringen Anzahl an Syntheseschritten vor allem durch die hohen Ausbeuten, die bei jeder einzelnen Stufe erzielt werden konnten.<sup>115</sup>

Die Überführung des modifizierten Zuckerphosphates  **$\beta$ -L-75** in GDP-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **71** wurde bislang ausschließlich über die Morpholidatmethode erprobt.<sup>53,116</sup> Da in

diesen Reaktionen lediglich Ausbeuten zwischen 5% und 11% erreicht werden konnten, wurde die Gesamtausbeute von **71** erheblich durch diesen finalen Schritt limitiert.

Aus diesem Grund sollte in der vorliegenden Arbeit die Knüpfung der Pyrophosphatbrücke über eine alternative Aktivierung des Nucleosidmonophosphats mit Hilfe des *cycloSal*-Konzepts erfolgen.

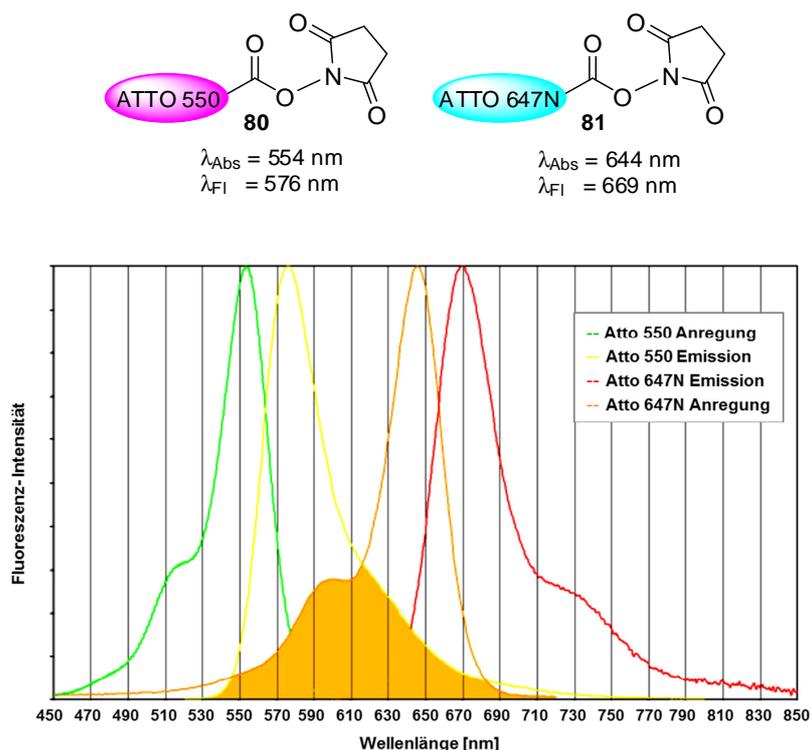
#### **4.1.2 Auf der Suche nach einem geeigneten FRET-Paar**

Für ihre Eignung als Donor-Akzeptor-Paar in einem auf FRET basierten Assay werden an Chromophore bestimmte Anforderungen gestellt: So sollten sie für das Auftreten eines FRET-Effektes eine parallele Dipolorientierung aufweisen und zudem muss das Absorptionsspektrum des Akzeptors mit dem Emissionsspektrum des Donorchromophors ausreichend überlappen. Befinden sich beide Farbstoffe nach der Reaktion in einem Molekül, sollte ihr Abstand 10 nm nicht überschreiten.

Da die Mehrzahl an organischen Fluorophoren wegen ihrer kurzen Fluoreszenz-Lebensdauern im ns-Bereich nicht zeitaufgelöst gemessen werden können, stellt die Hintergrundfluoreszenz der Proben durch die Anwesenheit natürlicher Chromophore (wie z.B. Tryptophan) häufig ein Problem bei der Messung eines FRETs dar. Dies hat eine deutliche Abnahme der Empfindlichkeit der Methode zur Folge, weshalb die Konzentration der Chromophore oft erhöht werden muss. Um dies zu verhindern, wurden Akzeptoren entwickelt, die energieärmere Strahlung mit sehr langen Wellenlängen emittieren und so zu einer Minimierung der Hintergrundfluoreszenz führen.<sup>52</sup> Ein Beispiel hierfür ist der Cyanin-Farbstoff Cy5, welcher ein Emissionsmaximum von 667 nm besitzt und meist in Kombination mit dem Cy3-Farbstoff ( $\lambda_{\text{Abs}} = 570 \text{ nm}$ ) eingesetzt wird. Dennoch wird auch bei dem Einsatz solch optimierter Chromophore oft nicht die Empfindlichkeit einer zeitaufgelösten Messung erzielt, weshalb fortwährend an der Entwicklung alternativer Akzeptor-Farbstoffe gearbeitet wird, welche eine lang anhaltende Fluoreszenz aufweisen.

Fluoreszenzfarbstoffe der Firma ATTO-TEC zeichnen sich nicht nur durch eine höhere Photostabilität sondern auch durch eine starke Absorption (hoher Extinktionskoeffizient) und eine hohe Fluoreszenzquantenausbeute aus und eignen sich somit als Fluoreszenzlabel zur Markierung von Amino- und Thiolgruppen einer Vielzahl von Biomolekülen wie Proteinen und Nukleotiden. Sie sind gut charakterisiert und können u.a. in zeitaufgelöster Fluoreszenzspektroskopie, zur Detektion von Einzelmolekülen sowie in FRET-Experimenten eingesetzt werden.<sup>119</sup>

Aufgrund ihrer hervorragenden Eigenschaften sollten im Rahmen unserer Kooperation zur Untersuchung der hFucT-IX ebenfalls ATTO-Farbstoffe zur Markierung der Substrate Verwendung finden. Um eine Messung des FRET-Effektes bei längeren Wellenlängen zu gewährleisten, fiel unsere Wahl auf das kommerziell erhältliche FRET-Paar ATTO 550/ATTO 647N, deren Extinktions- und Emissionsspektren in Abb. 29 gezeigt sind. Darin ist die für die Entstehung eines FRETs vorausgesetzte Überlappung des Emissionsspektrums von ATTO 550 mit dem Extinktionsspektrum des Farbstoffs ATTO 647N deutlich zu erkennen.<sup>119</sup>



**Abb. 29: Extinktions- und Emissionsspektren der NHS-Ester des FRET-Paares ATTO 550/ATTO 647N 80 und 81.**

Bei beiden Farbstoffen handelt es sich um kationische Verbindungen, welche aus verschiedenen Isomeren identischer Absorptions- und Fluoreszenzeigenschaften bestehen. Ihre genaue Struktur wird von der Firma ATTO-TEC aufgrund eines laufenden Patentverfahrens jedoch nicht bekannt gegeben.<sup>119</sup>

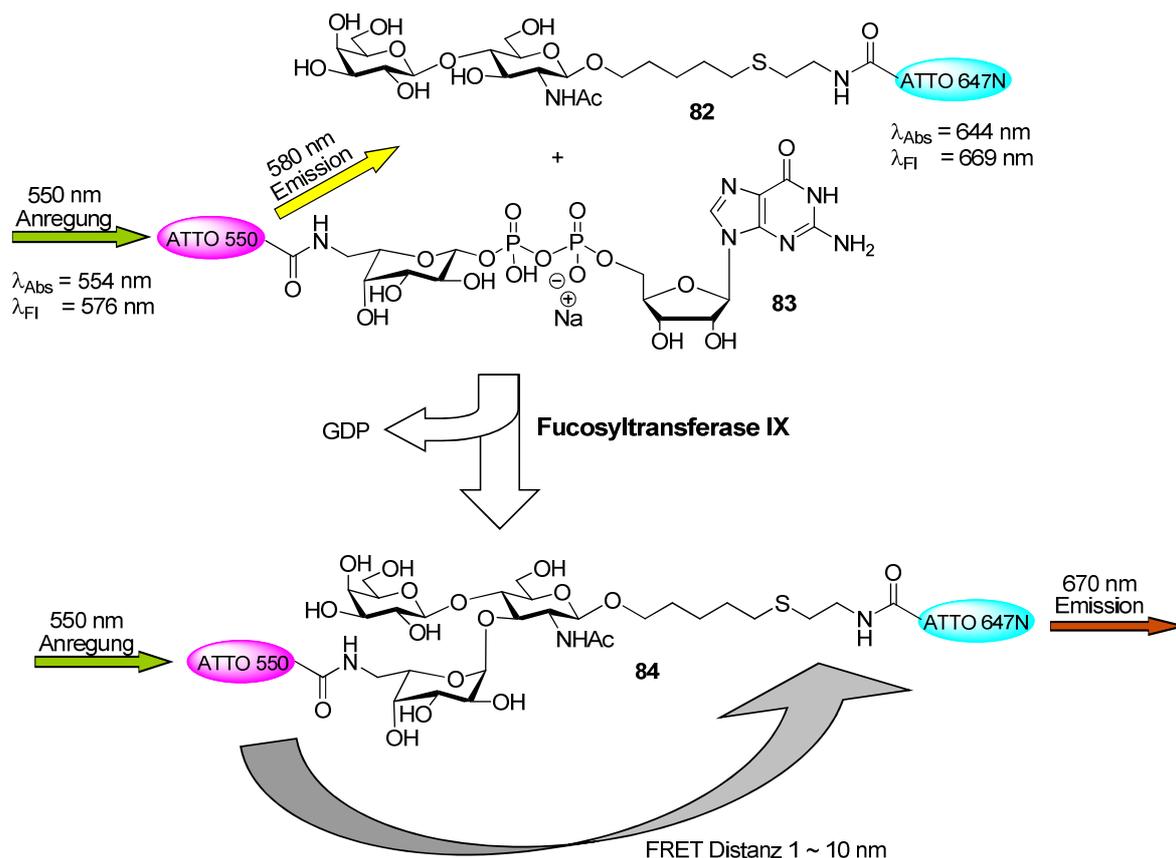
ATTO-Farbstoffe sind in Form verschiedener Modifikationen erhältlich, wobei sie zur Markierung von Aminogruppen aus Reaktivitätsgründen vor allem als *N*-Hydroxysuccinimidyl-(NHS)-ester **80/81** eingesetzt werden (Abb. 29). Durch einen nucleophilen Angriff der Aminogruppe auf das Carbonyl-Kohlenstoffatom des NHS-Esters entsteht hierbei unter Abspaltung von *N*-Hydroxysuccinimid eine stabile Amidbindung.

Das Fundament eines FRET-Assays besteht in der Synthese eines geeignet markierten Donor-Akzeptor-Paares. Im Rahmen der Kooperation zur Untersuchung der hFucT-IX-Aktivität sollte neben dem ATTO 647N-markierten LacNAc-Derivat **82**, ATTO 550-markierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** dargestellt werden.

Die Synthese des ATTO 647N-markierten Akzeptorsubstrates **82** erfolgte von *S. Kahl* im Rahmen ihrer Diplomarbeit. Hierbei wurde *N*-Acetyl-D-lactosamin am anomeren Kohlenstoffatom zunächst mit einem geeigneten Linker versehen, welcher im Anschluss mit dem Akzeptorchromophor verknüpft wurde.<sup>120</sup> Die Synthese der ATTO 550-markierten GDP- $\beta$ -L-fucose **83** war Ziel der vorliegenden Arbeit.

In Abb. 30 ist das Konzept des zur Untersuchung der hFucT-IX-Aktivität entwickelten FRET-Assays unter Verwendung des ATTO-Farbstoff-modifizierten Substratpaares **82** und **83** dargestellt. Nach Umsetzung beider fluoreszenzmarkierter Substrate, würde die Anregung des Donorfarbstoffes ATTO 550 (Absorptionsmaximum  $\lambda_{\text{Abs}} = 554 \text{ nm}$ ) in der C6-Position der GDP- $\beta$ -L-fucose **17** über einen FRET zur Emission der Akzeptorfluoreszenz von ATTO 647N (Fluoreszenzmaximum  $\lambda_{\text{Fl}} = 669 \text{ nm}$ ) führen. Dadurch wäre eine abstandsabhängige Studie zur Aufklärung des Mechanismus' der FucT-IX-katalysierten Reaktion möglich. Zudem könnte ein solcher Assay in HT-Screenings zum Auffinden neuer FucT-Inhibitoren eingesetzt werden.

Voraussetzung für die Beobachtung eines FRETs ist jedoch, dass das Enzym tatsächlich in der Lage ist, beide Substratanaloga zu erkennen und umzusetzen und dass der Abstand der ATTO-Farbstoffe im gebildeten Trisaccharid **84** einen Abstand von 10 nm nicht überschreitet.



**Abb. 30: Konzept des zur Untersuchung der hFucT-IX-Aktivität entwickelten FRET-Assays.**

Sollte die hFucT-IX nicht imstande sein beide Analoga gleichzeitig umzusetzen, bestünde eine weitere Verwendungsmöglichkeit für die ATTO 550 funktionalisierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** als Substrat von Fucosyltransferasen in der Markierung glycosylierter Proteine (Protein-labeling), um ihre Funktion in lebenden Zellen z.B. mit Hilfe der Fluoreszenz-Mikroskopie zu analysieren.<sup>116</sup>

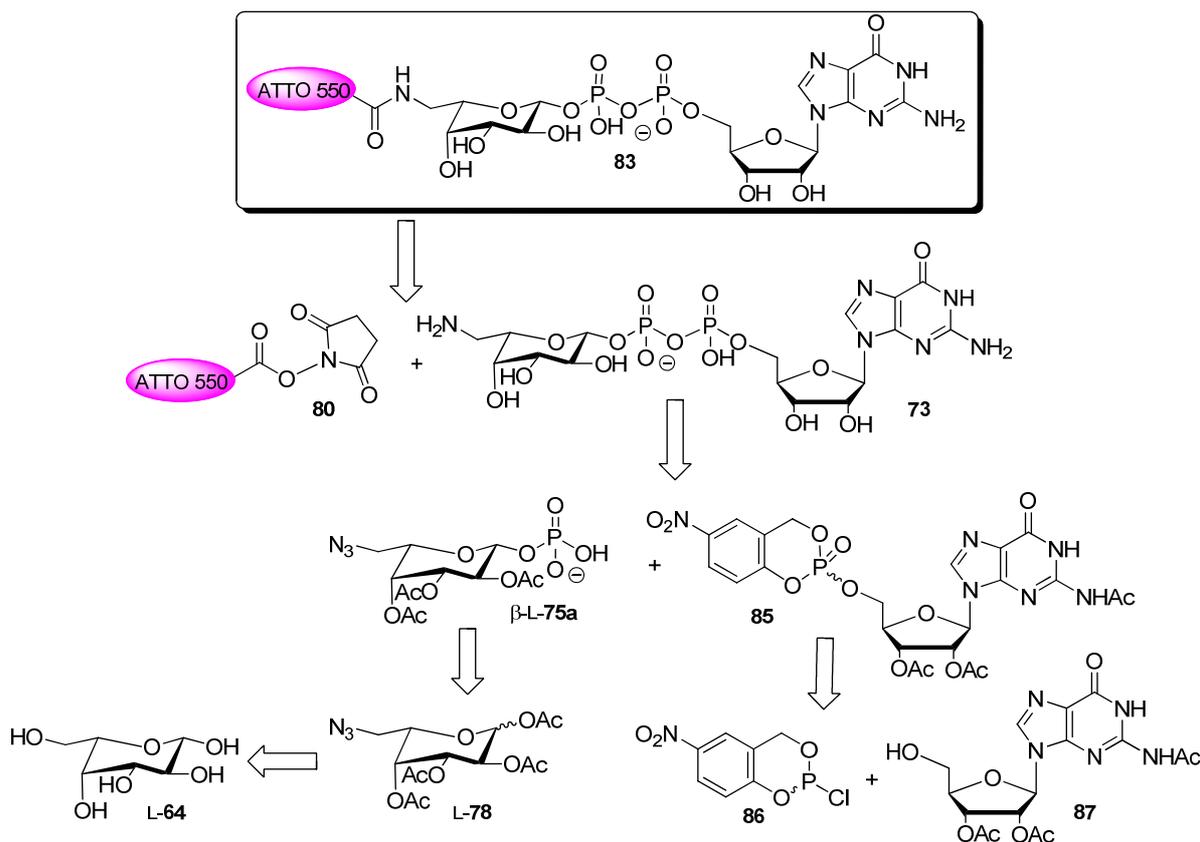
#### 4.1.3 Synthesestrategie zur Darstellung ATTO 550-markierter GDP- $\beta$ -L-fucose

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit bestand in der Darstellung von ATTO 550-markierter GDP- $\beta$ -L-fucose. Die Strategie, die bei dieser Synthese angewendet wurde, ist in Abb. 31 gezeigt.

Die Markierung sollte aus den zuvor genannten Gründen in der C6-Position der Fucosyl-einheit des Zuckernucleotids eingeführt werden. Dabei sollte der ATTO 550-Farbstoff als NHS-Ester **80** verwendet werden und nach der in Abb. 27 gezeigten Markierungsstrategie B mit GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **83** umgesetzt werden. Da es sich bei ATTO 550 um einen sehr teuren Fluoreszenzfarbstoff handelt ( $\text{€ } 146 \text{ mg}^{-1}$ ),<sup>119</sup> sollte seine Anbindung

an **71**, welche durch Reduktion aus dem entsprechenden Azido-Vorläufer **73** dargestellt werden sollte, erst im letzten Schritt der Syntheseroute erfolgen (Abb. 31).

Als erstes sollte deshalb ein synthetischer Zugang zum GDP-Zucker **83** als zentrales Zwischenprodukt der Route erschlossen werden. Eine zuverlässige und generell anwendbare Methode zur Darstellung von strukturell vielfältigen anomerreinen NDP-Zuckern in hohen Ausbeuten, stellt die Verwendung von Akzeptor-substituierten *cycloSal*-Nucleotiden als aktivierte Phosphatester dar (Kapitel 2.4.2.2).<sup>71,72,89,91</sup>

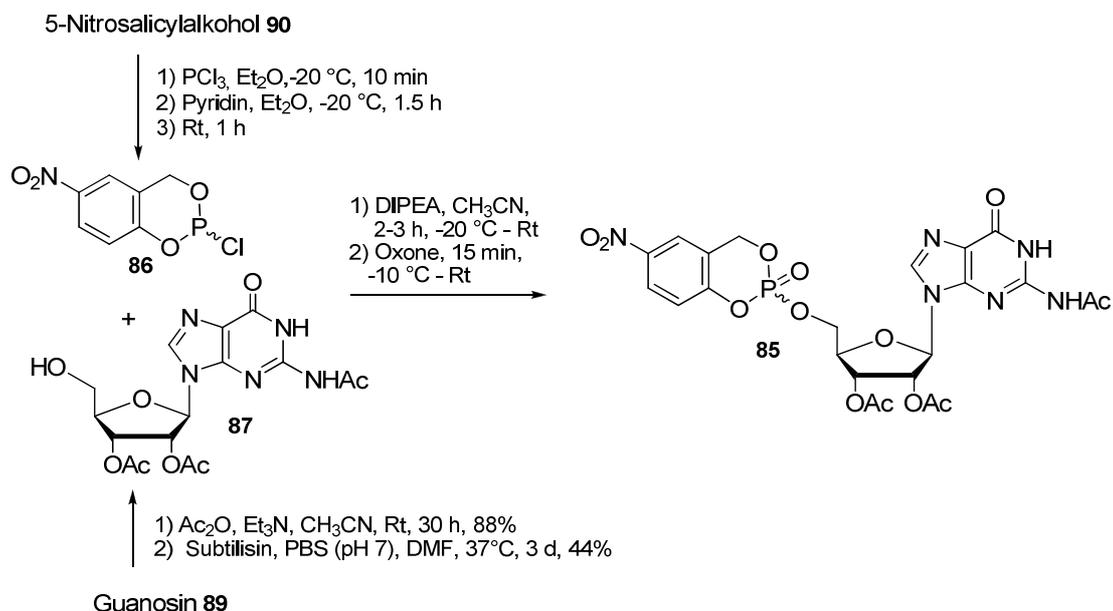


**Abb. 31: Synthesestrategie zur Darstellung ATTO 550-markierter GDP-β-L-fucose 83.**

Die gewählte Synthesestrategie zur Darstellung von GDP-6-amino-6-desoxy-β-L-galactose **73** nach dem *cycloSal*-Konzept war konvergent und begann mit der Synthese der Schlüsselbausteine, bei denen es sich zum einen um 6-Azido-6-desoxy-β-L-galactopyranosylphosphat **β-L-75a** und zum anderen um 5-Nitro-*cycloSal*-N<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-O-acetyl-guanosinmonophosphat **85** handelte.

#### 4.1.3.1 Synthese von 5-Nitro-*cycloSal*-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosi- monophosphat

Das für die Synthese von **73** als aktivierter Phosphatester benötigte *cycloSal*-Nucleotid **85** wurde ausgehend vom 5-Nitro-*cycloSal*-chlorophosphit **86** und dem selektiv blockierten Guanosin **87** dargestellt.<sup>90,121</sup>



**Abb. 32: Synthese von 5-Nitro-*cycloSal*-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosi-  
monophosphat **85**.**

Die Darstellung des *cycloSal*igenylchlorophosphits **86** erfolgte aus 5-Nitrosalicylalkohol **90** nach einem in unserem Arbeitskreis etablierten Syntheseprotokoll unter Ausschluss von Feuchtigkeit.<sup>122</sup> Dabei wurde der in Diethylether gelöste Salicylalkohol **90** bei tiefen Temperaturen ( $-40$  bis  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ ) mit Phosphortrichlorid versetzt. Zu dieser Reaktionslösung wurde langsam Pyridin in Diethylether getropft, um den bei der Reaktion entstehenden Chlorwasserstoff in Form von festem Pyridiniumchlorid abzufangen (Abb. 32). Der intramolekulare Ringschluss wird dabei durch die tiefe Temperatur und eine geeignete Verdünnung sichergestellt. Das nach einer Schlenkfiltration und Entfernen des Lösungsmittels erhaltene hochreaktive Chlorphosphit **86** wies eine außerordentliche Empfindlichkeit gegenüber Feuchtigkeit auf, weshalb es nicht weiter gereinigt wurde und direkt als Rohprodukt für die Synthese des entsprechenden *cycloSal*-Triesters **85** eingesetzt wurde.<sup>90</sup> Auf eine genaue Bestimmung der Ausbeute musste verzichtet werden, es konnte lediglich eine Rohausbeute unter Berücksichtigung der Verunreinigungen durch Pyridiniumchlorid aus dem aufgenommenen  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum bestimmt werden.

Damit die Umsetzungen zum *cycloSal*-Triester **85** regioselektiv an der 5'-Position des Guanosins erfolgen konnte, musste das Nucleosid dementsprechend selektiv blockiert werden. Um nach der Synthese des NDP-Zuckers eine simultane Abspaltung der Schutzgruppen der Nucleosid- sowie der Zucker-Einheit zu gewährleisten, wurden in beiden Fällen basenlabile Acetyl-Schutzgruppen verwendet.

Im ersten Schritt erfolgte die vollständige Acetylierung von Guanosin **89** nach *Panero et al.* durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid in Acetonitril unter basischen Bedingungen.<sup>123</sup> Nach chromatographischer Reinigung konnte *N*<sup>2</sup>-Acetyl-2',3',5'-tri-O-acetylguanosin **88** in hoher Ausbeute (88%) erhalten werden.

Im zweiten Schritt erfolgte die Darstellung von *N*<sup>2</sup>-Acetyl-2',3'-tri-O-acetylguanosin **87** über eine enzymatisch-katalysierte regioselektive De-O-acetylierung in der 5'-Position von **88** nach einer von *Singh et al.* entwickelten enzymatischen Methode.<sup>124</sup> Das Prinzip dieses Verfahrens beruht darauf, dass eine enzymatische Hydrolyse bevorzugt an der für das Enzym am leichtesten zugänglichen 5'-Acetylgruppe stattfindet.

In mehreren kleinen Ansätzen (à 400 mg **88**) wurde das vollständig acetylierte Guanosin **88** in einer Mischung aus DMF und Phosphat-Puffer (pH = 7.0) gelöst und mit der in Propylenglykol gelösten Protease Subtilisin versetzt. Anschließend wurden die Ansätze bei 37 °C gerührt und die Reaktion dünnschichtchromatographisch verfolgt. Obwohl nach vier Tagen noch kein vollständiger Umsatz des Eduktes beobachtet werden konnte, wurde die Reaktion nach dieser Zeit durch Fällung des Enzyms mit Methanol beendet, weil ein vermehrtes Auftreten unselektiver De-O-acetylierungen festgestellt wurde. Die anschließende Aufarbeitung und Reinigung des Produktes war mit einigen Schwierigkeiten verbunden. Während das Entfernen des Enzyms nach der Fällung durch mehrmaliges Zentrifugieren und Filtrieren relativ gut gelang, gestaltete sich die Beseitigung des hochsiedenden Propylenglykols als problematisch. Dieser ließ sich weder im Hochvakuum noch durch chromatographische Reinigungen entfernen. Erst nach mehrmaliger Gefriertrocknung konnte das Rohprodukt schließlich von dem Diol befreit werden.

Die anschließende chromatographische Reinigung wurde zum einen durch restliche Spuren des Propylenglykols und zum anderen durch die ähnlichen Retentionsfaktoren von Edukt **88**, Produkt **87** und unselektiv acetylierten Nebenprodukten erschwert, so dass mehrere langwierige Durchführungen notwendig waren. Schließlich konnte *N*<sup>2</sup>-Acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosin **87** jedoch mit einer Ausbeute von 44% (Lit: 40%)<sup>124</sup> erhalten werden (Abb. 32).

Um die Schwierigkeiten zu umgehen, die bei der Reinigung des selektiv geschützten Guanosins **87** aufgetreten sind, könnte die Protease für eine chemoenzymatische De-O-acetylierung von **89** alternativ in ungelöster Form als lyophilisiertes Pulver eingesetzt werden. Da dieses jedoch erheblich teurer ist als die hier verwendete Lösung (Pulver: € 561 g<sup>-1</sup>; Lösung: € 24 g<sup>-1</sup>), wurde von einer solchen Optimierungsmöglichkeit abgesehen. Ein weiterer Nachteil der hier durchgeführten Synthese von **87** besteht darin, dass die Ansätze jeweils auf nur 400 mg des vollständig acetylierten Eduktes beschränkt sind, da das verwendete Enzym nicht in der Lage ist, größere Substratmengen umzusetzen. Dies macht die Durchführung der Reaktion zu einer praktischen Herausforderung und die Synthese von **87** in größeren Gramm-Maßstäben nahezu unmöglich.

Eine rein chemische Synthese von **87** über eine geeignete Schutzgruppenchemie, wie sie in der Darstellung vieler anderer Nucleoside verwendet wird, wurde von *T. Zismann* in unserer Arbeitsgruppe eingehend untersucht. Dabei konnte *N*<sup>2</sup>-Acetyl-2',3'-di-O-acetyl-guanosin **87** jedoch lediglich in sehr geringen Ausbeuten isoliert werden.<sup>125</sup>

Das in der Arbeitsgruppe etablierte Protokoll zur Synthese von *cycloSaligenyl*-Nucleosidmonophosphaten sieht die Reaktion eines selektiv geschützten Nucleosids mit einem *cycloSaligenyl*chlorphosphit zum korrespondierenden Phosphittriesters und einer sich direkt anschließenden Oxidation zum entsprechenden Phosphattriesters vor. Die Umsetzung von *N*<sup>2</sup>-Acetyl-2',3'-tri-O-acetylguanosin **87** und *cycloSaligenyl*chlorphosphit **86** erfolgte bei tiefen Temperaturen in Acetonitril unter Zusatz von DIPEA als Base. Nach vollständiger Umsetzung des Nucleosids wurde der gebildete Phosphittriesters in einer Eintopf-Reaktion mit Oxone<sup>®</sup> (2KHSO<sub>5</sub>·KHSO<sub>4</sub>·K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) zum 5-Nitro-*cycloSal*-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-O-acetyl-guanosinmonophosphat **85** oxidiert (Abb. 32). Aufgrund der erhöhten Reaktivität und Hydrolyseempfindlichkeit wurde **85** als Rohprodukt isoliert und ohne weitere Reinigung in nachfolgenden Synthesen von NDP-Zuckern eingesetzt.

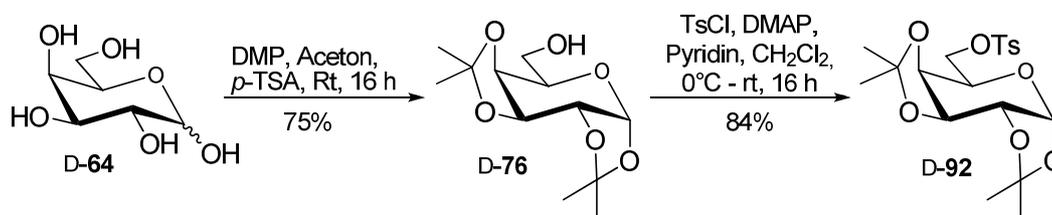
#### 4.1.3.2 Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy-β-galactopyranosylphosphat

Für die Darstellung von GDP-6-amino-6-desoxy-β-L-galactose **73** nach der *cycloSal*-Methode wurde neben 5-Nitro-*cycloSal*-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-tri-O-acetylguanosinmonophosphat **85** auch das 6-Azido-6-desoxy-β-L-galactopyranosylphosphat β-L-**75a** benötigt.

Letzteres sollte nach einer bereits etablierten Methode nach *Srivastava et al.* aus dem Azido-Zucker L-**78** synthetisiert werden, welcher wiederum durch entsprechende Modifizierungen aus L-Galactose L-**64** erhalten werden sollte.<sup>115,116,126,127</sup> Da es sich bei

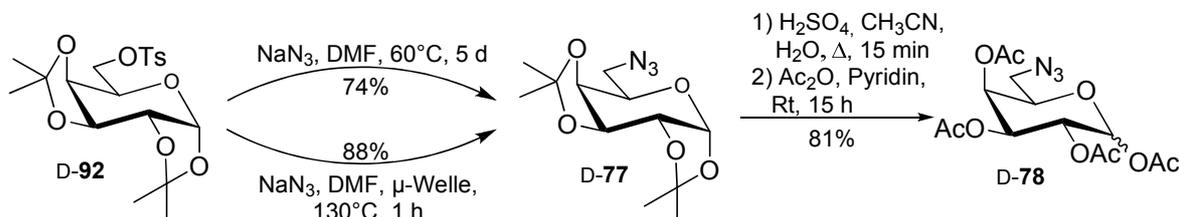
L-Galactose **L-64** im Vergleich zu ihrem D-Enantiomer **D-64** um ein relativ teures Monosaccharid (ca. € 2.5 mg<sup>1</sup>) handelt, sollten die einzelnen Syntheseschritte zunächst mit der deutlich preiswerteren D-Galactose **D-64** (ca. € 0.2 g<sup>1</sup>) erprobt werden.

Um eine selektive Einführung der Azido-Gruppe in die C6-Position der Galactose **D-64** zu ermöglichen, mussten zunächst alle sekundären Hydroxygruppen als *Isopropyliden-Acetale* blockiert werden. Dazu wurde **D-64** mit 2,2-Dimethoxypropan (DMP) in Aceton unter sauren Bedingungen umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte **D-76** in einer Ausbeute von 75% erhalten werden (Abb. 33). Um eine Substitution der primären Hydroxygruppe zu begünstigen, wurde diese zunächst in eine bessere Abgangsgruppe überführt. Dies erfolgte durch Reaktion von **D-76** mit *para*-Toluolsulfonsäurechlorid unter Zusatz von DMAP in Pyridin, wobei das Produkt **D-92** nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 84% isoliert werden konnte.



**Abb. 33: Synthese von 1,2,3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-tosyl- $\alpha$ -D-galactopyranose **D-92**.**

Anschließend konnte nun die Tosylatgruppe substituiert werden. In einem ersten Versuch erfolgte dies unter Standardbedingungen mit Natriumazid in DMF bei 60 °C. Nach einer Reaktionszeit von fünf Tagen konnte das gewünschte Produkt **D-77** in einer Ausbeute von 74% erhalten werden. Zudem konnte nach dieser langen Wärmebehandlung die Bildung einer Reihe an Zersetzungsprodukten beobachtet werden, weshalb nach einer Methode gesucht wurde, die Reaktionszeit zu verkürzen.



**Abb. 34: Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azido-6-desoxy-galactopyranose **D-78**.**

Eine Möglichkeit zur Geschwindigkeitserhöhung chemischer Reaktionen besteht in dem Einsatz von Mikrowellensystemen. Diese erlauben ein konvektionsfreies Erhitzen des Reaktionsgemisches unter optimaler Energieeintragung und –aufnahme, was in reduzierten

Reaktionszeiten, einem reduziertem Energiebedarf und oft auch in verbesserten Ausbeuten bzw. Selektivitäten resultiert.

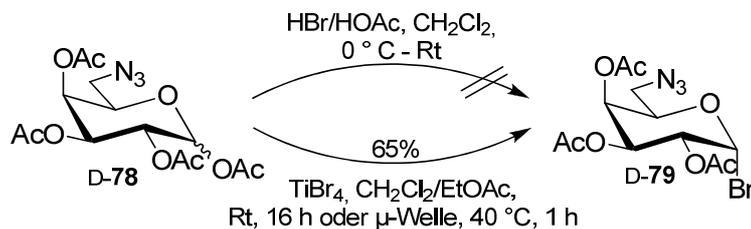
Tatsächlich führte der Einsatz eines Mikrowellensystems im Fall der Umsetzung von **D-92** mit Natriumazid in DMF bei 130 °C zu einer Erhöhung der Ausbeute auf 88%, vor allem konnte dadurch eine Verkürzung der Reaktionszeit von fünf Tagen auf eine Stunde erzielt werden (Abb. 34). Die erfolgreiche Einführung der Azidogruppe wurde IR-spektroskopisch anhand der charakteristisch intensiven Bande der Valenzschwingung organischer Azide bei 2100 cm<sup>-1</sup> belegt.

Im Anschluss erfolgte ein Austausch der Schutzgruppen von Isopropylidenacetalen gegen Acetate. Zur Spaltung der Acetale wurde **D-77** im sauren Milieu in einem Gemisch aus Acetonitril und Wasser in einem offenen System bis zum vollständigen Umsatz des Eduktes zum Sieden erhitzt. Die Reaktion wurde durch Neutralisation beendet. Nach einer entsprechenden Aufarbeitung wurde das erhaltene Rohprodukt ohne weitere Reinigung unter Standardbedingungen acetyliert. Das gewünschte Produkt **D-78** konnte nach chromatographischer Reinigung mit einer Ausbeute von 81% über zwei Stufen erhalten werden.

Für die Synthese des gewünschten  $\beta$ -konfigurierten Phosphates  $\beta$ -**D-75a** nach der Koenigs-Knorr-Methode, sollte der vollständig acetylierte 6-Azido-Zucker **D-78** zunächst in das entsprechende  $\alpha$ -Bromid **D-79** überführt werden. In einem ersten Versuch wurde **D-78** mit einer Bromwasserstoffsäurelösung (33% in Eisessig) in Dichlormethan umgesetzt (Abb. 35). Nach vollständigem Umsatz des Eduktes wurde das erhaltene Rohprodukt IR-spektroskopisch untersucht. Dabei wurde ersichtlich, dass es unter den verwendeten Reaktionsbedingungen nicht nur zur Bromierung der C1-Position, sondern ebenfalls zu einer Substitution der 6-Azido-Gruppe unter Bildung des 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-bromo-6-desoxy- $\alpha$ -D-galactopyranosylbromids kam.

Aus diesem Grund wurde die Reaktion in einem zweiten Versuch nach dem Syntheseprotokoll von *Srivastava et al.* durchgeführt.<sup>115</sup> 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **D-78** wurde mit Titanatetrbromid in einem Gemisch aus Dichlormethan und Ethylacetat bei Raumtemperatur umgesetzt und die Reaktion nach 16 Stunden durch Neutralisation beendet. Ein Austausch der Azido-Gruppe blieb unter diesen Bedingungen aus, so dass das gewünschte Produkt **D-79** nach chromatographischer Reinigung mit einer Ausbeute von 65% erhalten werden konnte. Um die Reaktionszeit zu verkürzen erfolgte die Umsetzung von **D-78** mit Titanbromid in einem weiteren Versuch in einem Mikrowellensystem bei 40 °C. Tatsächlich konnte unter diesen Bedingungen ein vollständiger Umsatz

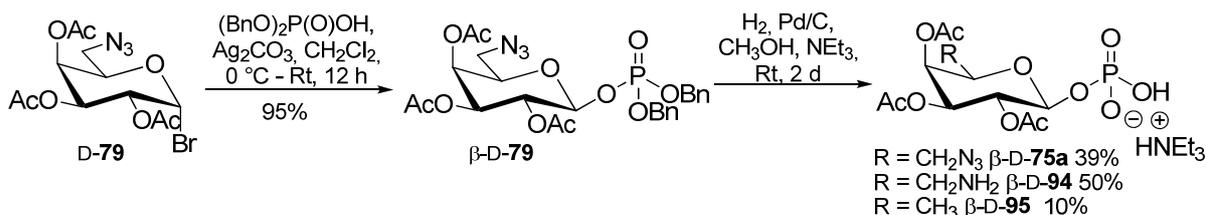
des Eduktes schon nach einer Stunde beobachtet werden, eine Steigerung der Ausbeute konnte jedoch nicht erzielt werden (Abb. 35).



**Abb. 35: Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha$ -D-galactopyranosylbromid D-79.**

Ein ausbeutelimitierender Faktor in der Synthese von Glycosylhalogeniden ist ihre Hydrolyseempfindlichkeit, die vor allem bei der chromatographischen Reinigung zu Verlusten führen kann. So wurde auch in diesem Fall neben dem Glycosylbromid D-79 (65%) 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose (20%) erhalten.

Die anschließende Phosphorylierung des anomeren Kohlenstoffatoms erfolgte in einem ersten Versuch durch Reaktion des  $\alpha$ -Bromids D-79 mit Dibenzylphosphat in Gegenwart von Silbercarbonat als Aktivator. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das benzylierte Phosphat  $\beta$ -D-93 mit einer sehr guten Ausbeute von 95% erhalten werden. Aufgrund der Nachbargruppenbeteiligung der Acetylgruppe in der C2-Position verlief die Phosphorylierung stereospezifisch unter Bildung des  $\beta$ -Glycosylphosphats  $\beta$ -D-75a (Abb. 36).



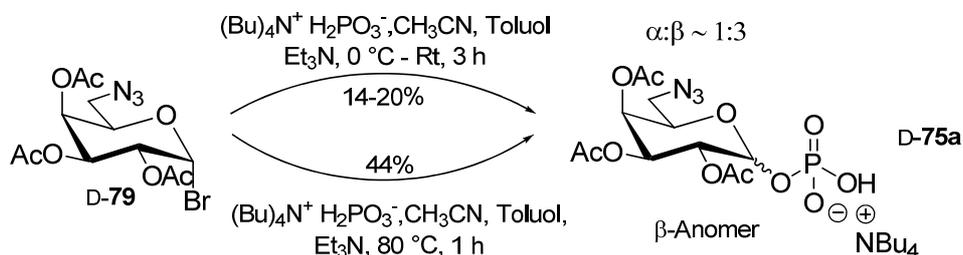
**Abb. 36: Darstellung von  $\beta$ -D-75a über das benzylierte Phosphat  $\beta$ -D-93.**

Für die Umsetzung mit dem *cycloSal*-Triester **85** in der späteren NDP-Zucker-Synthese musste der Phosphatriester  $\beta$ -D-93 in das Glycosylphosphat  $\beta$ -D-75a überführt werden. Zur hydrogenolytischen Spaltung der Benzylether wurde  $\beta$ -D-93 unter leichtem Wasserstoff-Überdruck mit Palladium an Aktivkohle (Pd/C) und unter Zusatz von Triethylamin in Methanol umgesetzt. Nach Entfernen der Pd/C-Rückstände und des Lösungsmittels konnte aus den aufgenommenen NMR-spektroskopischen Daten die Bildung von drei verschiedenen Produkten detektiert werden. Nach chromatographischer Trennung des

erhaltenen Gemisches konnten die einzelnen Komponenten als das gewünschte 6-Azido-6-desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosylphosphat  $\beta$ -D-**75a** (39%), 6-Amino-6-desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosylphosphat  $\beta$ -D-**94** (50%) und 6-Desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosylphosphat  $\beta$ -D-**95** (10%) identifiziert werden. Letztere Verbindungen resultierten aus der schrittweisen Reduktion von  $\beta$ -D-**75a**.

Obwohl das Epimer von  $\beta$ -D-**94**, wie sich später herausstellen sollte, generell auch als Synthesebaustein in der Darstellung von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** über die *cycloSal*-Methode geeignet ist, wurde nach einer alternativen Phosphorylierungsmethode gesucht, welche eine selektive Darstellung von  $\beta$ -D-**75a** ermöglicht.

Dazu wurde auf Tetrabutylammoniumphosphat als Phosphorylierungsreagenz zurückgegriffen, welches die Synthese von Zuckerphosphaten aus dem entsprechenden Glycosylbromid in nur einem Schritt ermöglicht. Zunächst wurde die Reaktion nach einem bekannten Syntheseprotokoll in Acetonitril, Toluol und Triethylamin bei 0 °C durchgeführt.<sup>115</sup> Nach drei Stunden wurde ein vollständiger Verbrauch des eingesetzten Bromids **D-79** festgestellt und die Reaktion durch Entfernen des Lösungsmittels abgebrochen. Nach chromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt als Gemisch seiner Anomere ( $\alpha$ : $\beta$   $\approx$  1:3) in einer Ausbeute von 14% erhalten werden (Abb. 37). Als Hauptprodukt konnte die durch Hydrolyse des Bromids entstandene 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha$ / $\beta$ -D-galactopyranose isoliert werden. Die Reaktion wurde wiederholt und diesmal wurde besonders auf den Ausschluss von Feuchtigkeit geachtet um die ausbeutelimittierende Hydrolyse der Ausgangsverbindung **D-79** zu verhindern. Dazu wurden die Edukte vor ihrem Einsatz intensiv im Hochvakuum und ihre Lösungen vor dem Zusammenfügen mehrere Stunden über aktiviertem Molsieb getrocknet. Durch diese Maßnahmen konnte die Ausbeute jedoch lediglich auf 20% gesteigert werden (Abb. 37).



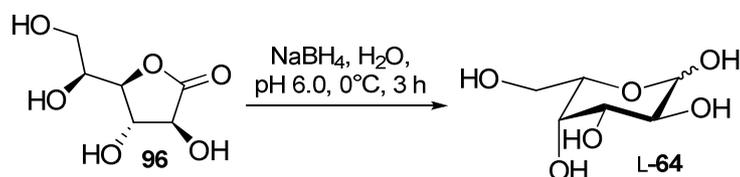
**Abb. 37: Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosylmonophosphat **D-75a**.**

Im Rahmen eines Versuchs zur Reaktionsoptimierung wurde die Reaktion bei 80 °C durchgeführt. Diese Erhöhung der Reaktionstemperatur resultierte zum einen in einer Verkürzung

der Reaktionszeit von drei Stunden auf eine Stunde und zum anderen konnte eine Kontrolle der Stereochemie erreicht werden, welche zur selektiven Bildung des kinetisch begünstigten  $\beta$ -Anomers  $\beta$ -D-**75a** führte. Aufgrund der hygroskopischen Eigenschaften des zur Phosphorylierung eingesetzten Phosphatsalzes, war die Durchführung der Reaktion unter absolut wasserfreien Bedingungen erschwert, weshalb die hydrolytische Spaltung des Bromids D-**79** als ausbeutelimierende Konkurrenzreaktion kaum verhindert werden konnte und die Phosphorylierung mit 44% immer noch den „Flaschenhals“ der durchgeführten Reaktionssequenz zur Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -D-**75a** bildete.

Da sämtliche Syntheseschritte zur Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -D-**75a** erfolgreich erprobt wurden, konnte nun mit der Synthese des entsprechenden L-Enantiomers  $\beta$ -L-**75a** ausgehend von L-Galactose L-**64** begonnen werden. Da die Anschaffung von L-**64** im Gegensatz zur D-Galactose D-**64** mit erheblichen Kosten verbunden ist, sollte sie jedoch eigenständig dargestellt werden.

Eine Möglichkeit zur Synthese von L-Galactose L-**64** besteht in der milden Reduktion von L-Galactono-1,4-lacton **96**. Nach dem von *Bock et al.* entwickelten Syntheseprotokoll wurde die Reaktion mit Natriumborhydrid unter sauren Bedingungen in Wasser durchgeführt.<sup>128,129</sup> Da größere Mengen des Lactons **96** zur Verfügung standen, gelang die Synthese von L-Galactose L-**64** nach diesem Verfahren im Multigramm-Maßstab.

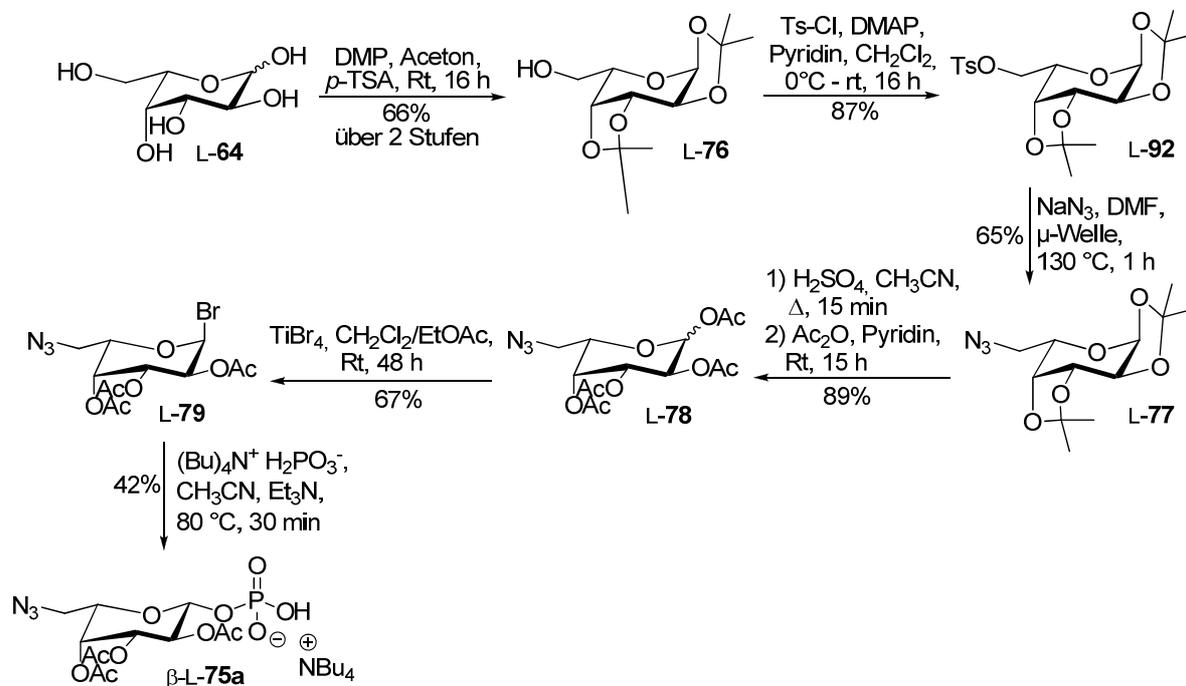


**Abb. 38: Darstellung von L-Galactose L-64.**

Das erhaltene Rohprodukt war durch bei der Reaktion entstehende Salze stark verunreinigt, weshalb auf eine genaue Bestimmung der Ausbeute verzichtet wurde. Da diese Verunreinigungen jedoch nur einen geringen ausbeutelimierenden Einfluss auf die anschließende Acetalisierung ausübten, konnte das Produkt ohne weitere Reinigung umgesetzt werden.

Die folgenden Syntheseschritte zur Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -L-**75a** erfolgten analog zu der ausgehend von D-Galactose D-**64** erprobten Reaktionssequenz (Abb. 39). Die Ausbeuten der einzelnen Stufen stimmten dabei weitestgehend mit denen der zuvor vorgestellten Route überein.

Lediglich die Einführung der Azidgruppe gelang mit 65% im Vergleich zu der in Abb. 34 vorgestellten Reaktion etwas schlechter, da es unter den gewählten Bedingungen neben der Bildung des Produkts L-77 zu Zersetzungsreaktionen kam, welche die Ausbeute limitierten.



**Abb. 39: Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -L-75a.**

Mit Hilfe der etablierten Synthesestrategie nach Srivastava *et al.*, welche durch die eigenständige Synthese von L-Galactose L-64 ergänzt und unter anderem durch den Einsatz von einem Mikrowellensystem modifiziert bzw. optimiert werden konnte, wurde 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -L-75a über eine 8-stufige Synthese ausgehend von L-Galactono-1,4-lacton **96** mit einer Gesamtausbeute von 9% dargestellt.

Im Vergleich zu anderen Synthesestrategien, welche sich zum Teil über 15 Stufen erstrecken,<sup>53</sup> bietet die hier verwendete Methode also einen sehr schnellen und effizienten Zugang zu dem Azido-modifizierten Glycosylphosphat  $\beta$ -L-75a im Multigramm-Maßstab.

#### 4.1.3.3 Synthese von Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose

Nach der erfolgreichen Darstellung von 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -L-**75a** und 5-Nitro-*cycloSal*-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosinmonophosphat **85**, konnte nun mit der Synthese von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** begonnen werden.

Die Knüpfung der Pyrophosphatbrücke sollte über die *cycloSal*-Methode nach einem in unserer Arbeitsgruppe entwickelten und optimierten Syntheseprotokoll erfolgen, welches bereits in Kapitel 2.4.2.2 vorgestellt wurde.<sup>72,89</sup>

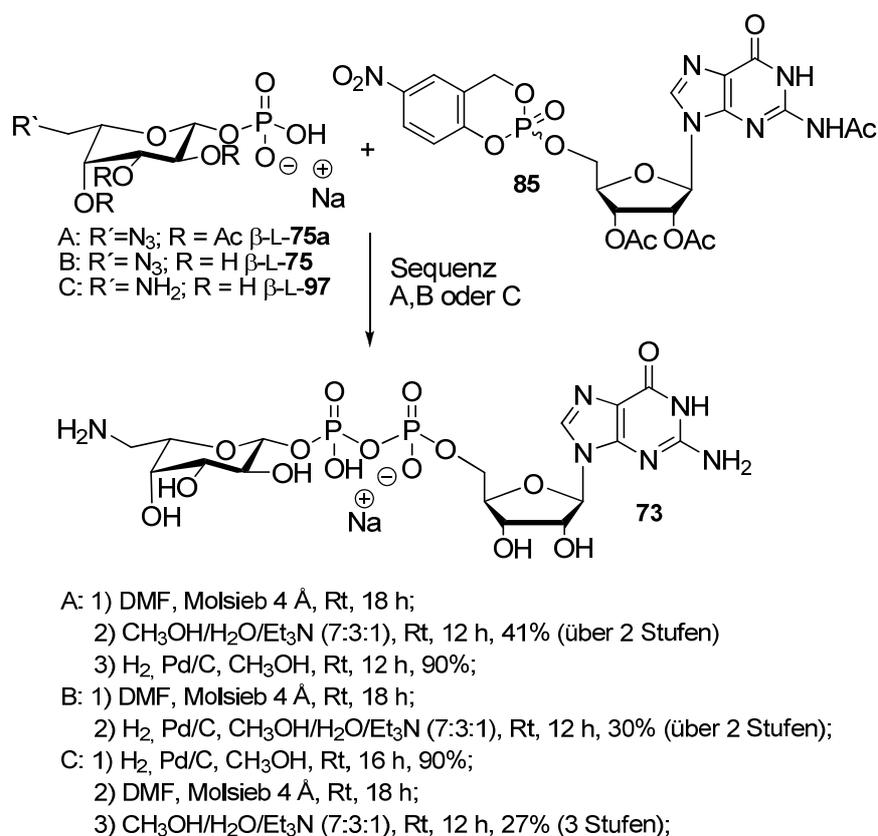
Um die Verknüpfung mit dem Farbstoff ATTO 550 in Form eines NHS-Esters **80** zu ermöglichen, musste die Azidogruppe in der C6-Position der Fucosyleinheit in eine primäre Aminogruppe überführt werden. Eine solche Reduktion kann über eine Pd/C-katalysierte Hydrogenolyse erzielt werden, welche sowohl vor als auch nach der Knüpfung der Pyrophosphatbrücke erfolgen kann.

Zur Ermittlung der optimalen Synthesestrategie (A-C) für die Darstellung von GDP-6-amino- $\beta$ -L-fucose **73**, wurden drei verschiedene Reaktionssequenzen erprobt, welche sich ausschließlich in der Reihenfolge der einzelnen Schritte unterschieden (Abb. 40):

- A) Die Reaktion von *cycloSal*-Triester **85** mit 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -L-**75a**, gefolgt von einer De-*O*-acetylierung und einer RP-18-chromatographischen Reinigung, lieferte GDP-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **71** in einer Ausbeute von 41% über zwei Stufen. Im zweiten Schritt erfolgte die Reduktion von **71** und anschließender RP-18-chromatographischer Reinigung mit einer Ausbeute von 90%.  
GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** wurde nach dieser Reaktionsabfolge A in einer Ausbeute von 39% über drei Stufen erhalten.
- B) Durch die Reaktion von *cycloSal*-Triester **85** mit 6-Azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -L-**75a** (isoliert nach der ersten chromatographischen Reinigung von Sequenz A), gefolgt von einer Hydrogenolyse unter basischen Bedingungen zur parallelen Reduktion und De-*O*-acetylierung von GDP-6-azido-6-desoxy-galactose **71**, konnte **73** nach RP-18-chromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 30% erhalten werden.
- C) Die Reaktion von dem bereits reduzierten und de-*O*-acetylierten 6-Amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -L-**97** (isoliert nach den chromatographischen Reinigungen von Sequenz A und B), mit *cycloSal*-Triester **85**, gefolgt von einer

Spaltung der Schutzgruppen der Nucleosid-Einheit und einer RP-18-chromatographischen Reinigung, lieferte **73** in einer Gesamtausbeute von 27%.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass alle drei Reaktionssequenzen (A-C) zu dem gewünschten Produkt **73** in adäquaten Ausbeuten führten, wobei über die Abfolge A die beste Ausbeute von 39% erzielt werden konnte. Neben den modifizierten GDP-Zuckern **71** und **73** konnte bei den Reaktionen mit *cycloSal*-Triester **85**, das jeweilige im Überschuss eingesetzte deacetylierte Glycosylphosphat  $\beta$ -L-**75** bzw.  $\beta$ -L-**97** und GMP als Hydrolyseprodukt von **85** isoliert werden.



**Abb. 40: Synthesen zur Darstellung von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73**.**

In Sequenz A wurde der *cycloSal*-Triester **85** mit  $\beta$ -L-**75a** umgesetzt. Die resultierende GDP-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **71** wurde anschließend chromatographisch gereinigt und erst dann durch eine nahezu quantitativ verlaufende Hydrogenolyse in GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** überführt. Während die Umsetzung des *cycloSal*-Triesters **85** bei allen Reaktionssequenzen ähnlich verlief (DC-Kontrolle), gelang die anschließende chromatographische Reinigung der bei der Route A zunächst synthetisierten GDP-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **71** in Bezug auf die Trennung von Zuckerphosphat  $\beta$ -L-**75** und GMP besser als die der beiden anderen Reaktionsabfolgen, worin GDP-6-azido-6-desoxy-

$\beta$ -L-galactose **71** vor einer Reinigung in das entsprechende Amin **73** überführt wurde. Folglich lassen sich die Ausbeutedifferenzen der drei Reaktionsabfolgen vermutlich auf die unterschiedlich verlaufenden Chromatographien der jeweiligen Produkte zurückführen.

Desweiteren wäre aber auch denkbar, dass die fehlenden Schutzgruppen in der Glycosyl-einheit von  $\beta$ -L-**75** und  $\beta$ -L-**97** in der Sequenz B und C zu einer verringerten Löslichkeit der Zucker1-phosphate in DMF während der Reaktion führten und somit der Umsatz im Vergleich zur Sequenz A limitiert wurde.

In den Abbildungen 40-42 sind die  $^1\text{H}$  und  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** zusammen mit der Zuordnung der Signale zu den entsprechenden Protonen bzw. Phosphoratomen gezeigt. Letztere konnten über die Auswertung eines  $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$ -COSY-NMR-Spektrums zugewiesen werden (Abb. 43). Charakteristisch für den GDP-Zucker **73** ist zum einen das  $^1\text{H}$ -Signal der Glycosyleinheit bei 5 ppm, welches eine Aufspaltung zu einem Triplett mit für die  $\beta$ -Konfiguration typischen Kopplungskonstanten  $^3J_{\text{HH}}$  bzw.  $^3J_{\text{HP}}$  von 7.6 Hz aufwies. Zum anderen sind die beiden in Abb. 42 gezeigten Dubletts mit Kopplungskonstanten  $^2J_{\text{PP}}$  von 21.2 Hz sehr typisch für die Phosphoratome der Pyrophosphateinheit eines NDP-Zuckers. Nicht abgebildet ist das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von **73**, in welchem zudem die charakteristischen Kopplungen von dem  $\beta$ -Phosphoratom zu C1 ( $^2J_{\text{CP}} = 7.2$  Hz) und C2 ( $^3J_{\text{CP}} = 9.0$  Hz) sowie vom  $\alpha$ -Phosphoratom zu C5' ( $^2J_{\text{CP}} = 6.1$  Hz,) und C4' ( $^3J_{\text{CP}} = 10.1$  Hz) zu erkennen sind. Die Überführung der GDP-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **71** in das entsprechende Amin **73** konnte IR-spektroskopisch anhand der fehlenden charakteristisch intensiven Bande der Valenzschwingung organischer Azide bei  $2100\text{ cm}^{-1}$  bzw. mit Hilfe der zwei für primäre Amine typischen scharfen Absorptionsbanden bei  $3335\text{ cm}^{-1}$  belegt werden.

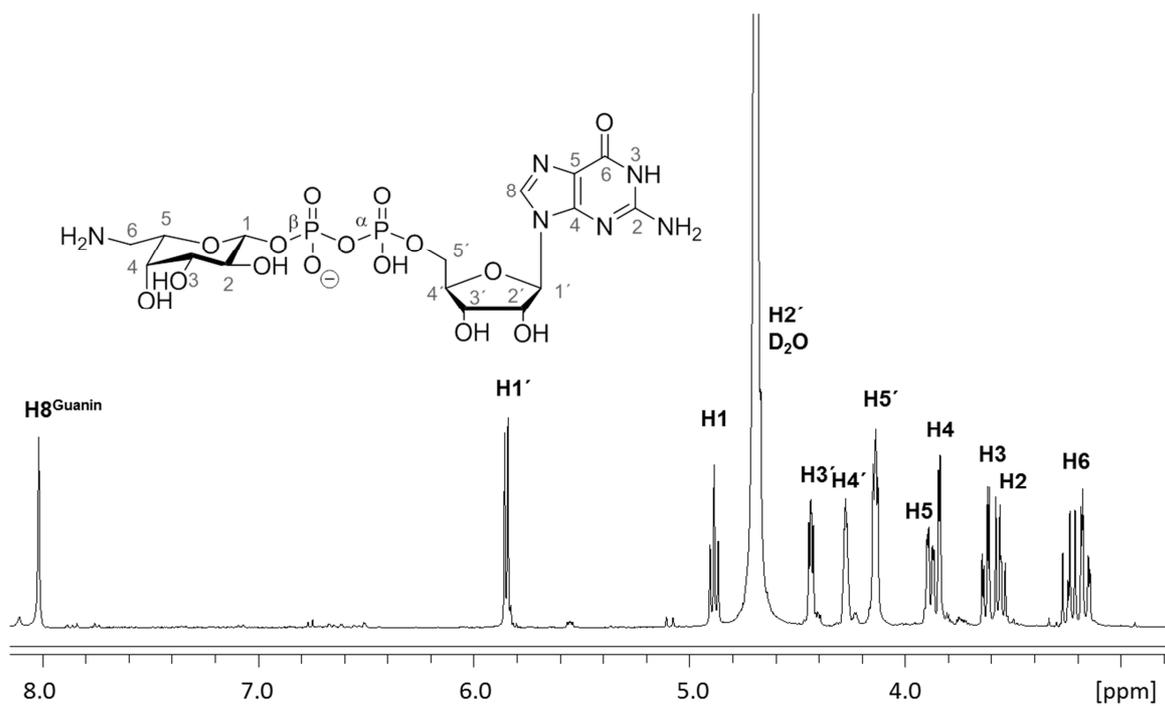


Abb. 41:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose 73.

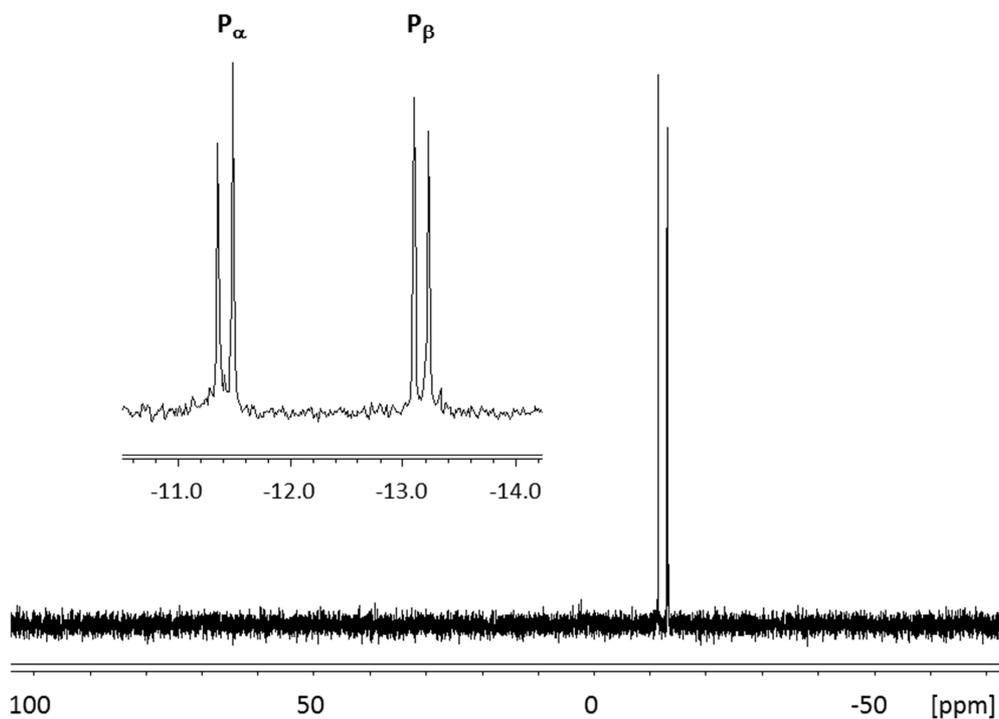
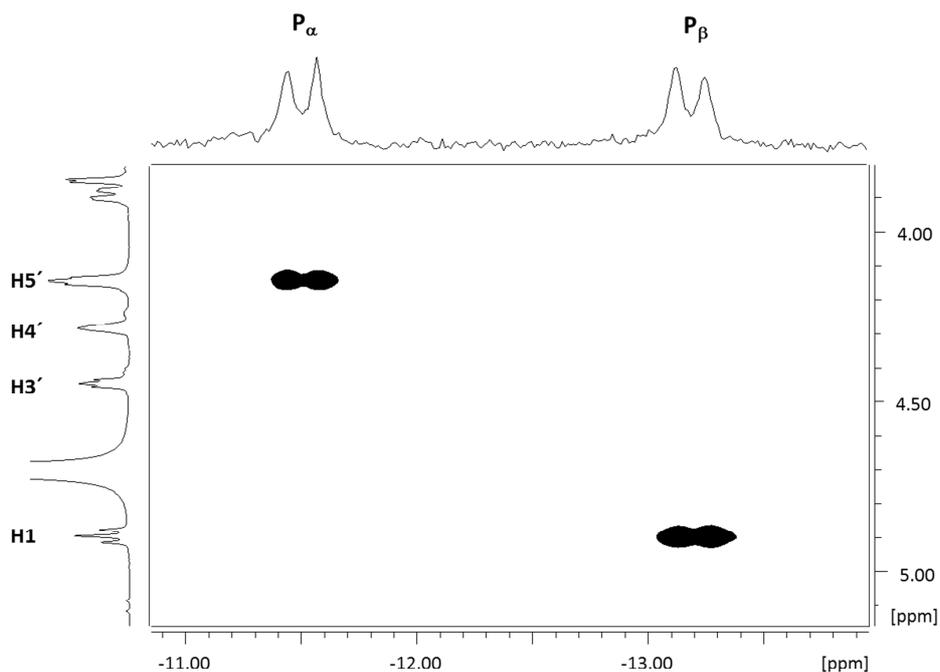


Abb. 42:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum (162 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose 73.



**Abb. 43:**  $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$ -COSY-NMR-Spektrum von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73**.

Abschließend ist festzuhalten, dass die Modifikation in der C6-Position (Azido oder Amino) des jeweils eingesetzten Zuckerphosphates  $\beta$ -L-**75**,  $\beta$ -L-**75a** bzw.  $\beta$ -L-**97** bei der Synthese von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** zwar nahezu keinen Einfluss auf den Erfolg der Umsetzung des *cycloSal*-Triesters **85** hatte, allerdings auf die chromatographische Reinigung der Produkte, was sich wiederum in der Ausbeute niederschlug.

Obwohl die erzielten Ausbeuten der oben vorgestellten Kupplungsreaktionen mit 30-40% geringer waren als die Ausbeuten, die mit Hilfe der *cycloSal*-Technik in der Synthese diverser anderer natürlicher und unnatürlicher NDP-Zucker seither erreicht wurden (<91%),<sup>72,89,91</sup> ergab die Reaktion von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -L-**75** mit *cycloSal*-Triester **85** die bislang beste Ausbeute für die Synthese von GDP-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **71** über die Aktivierung eines Nucleosidmonophosphates. (siehe Kapitel 4.1.1).<sup>53,116</sup>

#### 4.1.3.4 Synthese von GDP- $\beta$ -L-fucose

Um einen Einfluss der Modifikationen in der C6-Position der Zuckerphosphate  $\beta$ -L-**75**,  $\beta$ -L-**75a** bzw.  $\beta$ -L-**97** auf die Umsetzung mit *cycloSal*-Triester **85** tatsächlich ausschließen und einen direkten Vergleich der Ausbeuten anstellen zu können, sollte auch das unmodi-

fizierte, natürliche Substrat der Fucosyltransferase, GDP- $\beta$ -L-fucose **17**, über die *cycloSal*-Methode dargestellt werden (Abb. 44).

Zunächst wurde L-Fucose L-**15** in das entsprechende Monophosphat  $\beta$ -L-**95** überführt. Dazu wurde L-**15** unter Standardbedingungen erst peracetyliert und anschließend in der C1-Position bromiert. Das erhaltene  $\alpha$ -Bromid L-**99** wurde dann mit Dibenzylphosphat in Anwesenheit von Silbercarbonat zum Phosphatriester  $\beta$ -L-**100** umgesetzt, welcher durch Hydrogenolyse in das entsprechende Glycosylphosphat  $\beta$ -L-**95** überführt wurde. Die anschließende Reaktion mit dem *cycloSal*-Triester **85** erfolgte analog zu den Synthesen von GDP-6-amino- bzw. GDP-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **71/73** nach dem bereits etablierten Syntheseprotokoll (Kapitel 2.4.2.2). Nach chromatographischer Reinigung konnte **17** in einer Ausbeute von 42% erhalten werden.

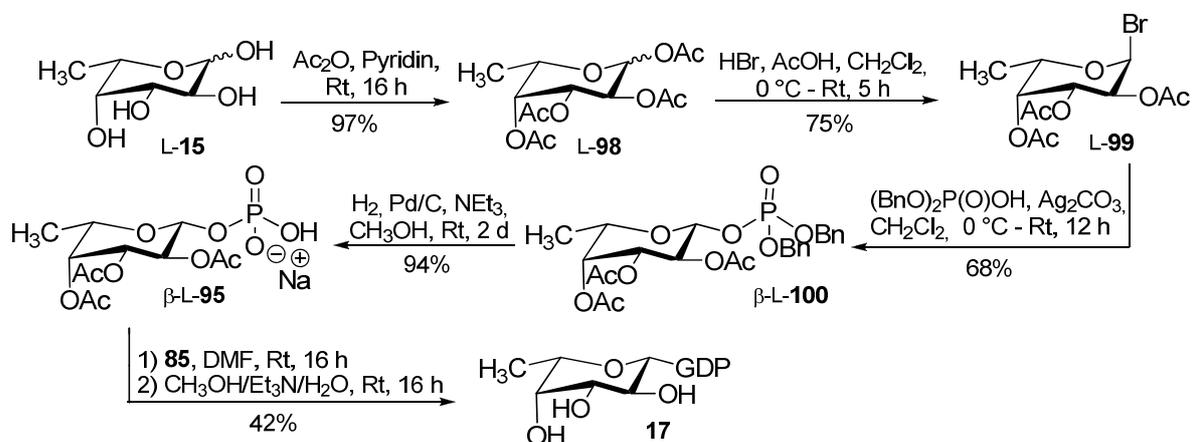


Abb. 44: Synthese von GDP- $\beta$ -L-fucose **17**.

Die bei der Darstellung der GDP- $\beta$ -L-fucose **17** erzielte Ausbeute liegt somit in dem gleichen Bereich wie jene, die bei den Synthesen von **71** und **73** erreicht wurden.

Daraus lässt sich schließen, dass der Verlauf der Reaktionen der Zuckerphosphate  $\beta$ -L-**75**,  $\beta$ -L-**75a** und  $\beta$ -L-**97** mit *cycloSal*-Triester **85** unabhängig von der Modifikation in der C6-Position war.

Im Vergleich zu der Synthese von TDP- $\beta$ -L-fucose **102**, welche in bereits veröffentlichten Resultaten durch Umsetzung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylphosphat  $\beta$ -L-**95** mit 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-acetyl-thymidinmonophosphat **70** mit einer Ausbeute von 75% gelungen ist,<sup>72,89</sup> verliefen die Reaktionen mit *cycloSal*-GMP **85** jedoch weniger erfolgreich. Vermutlich liegt dies in einer Abhängigkeit derartiger Reaktionen von dem eingesetzten *cycloSal*-Nucleotid begründet, welche ihren Ursprung beispielsweise in

einem unterschiedlichen Löslichkeitsverhalten der Triester im Reaktionsmedium haben könnte.

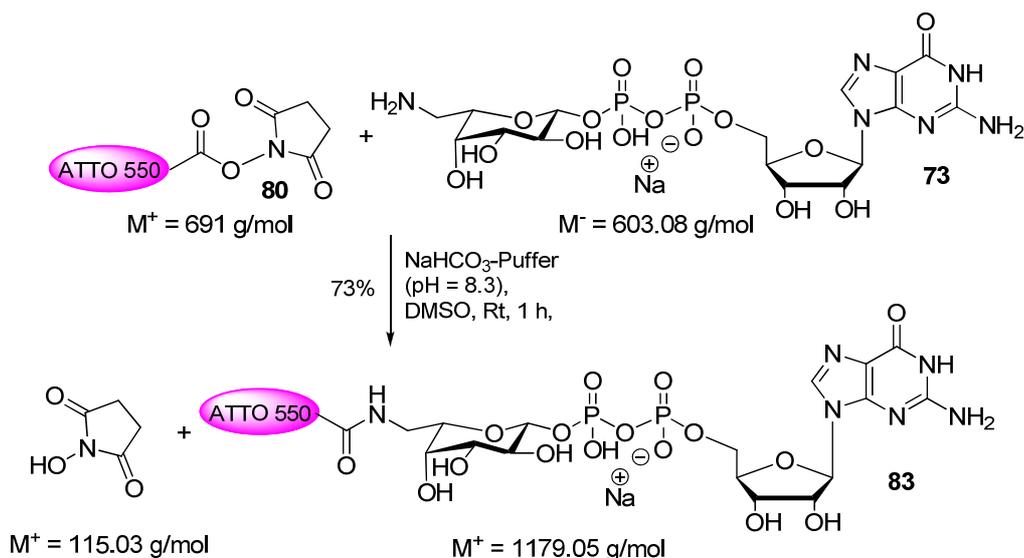
Um diese Abhängigkeit zu bestätigen, sollten weitere GDP-Zucker dargestellt werden. Da sowohl 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactose-1-phosphat als auch 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucose-1-phosphat im Arbeitskreis zur Verfügung standen, wurden beide mit *cycloSal*-GMP **85** nach den oben genannten Bedingungen umgesetzt. Während GDP- $\beta$ -D-glucose **103** dabei mit einer Ausbeute von 32% erhalten wurde, gelang die Synthese von GDP- $\beta$ -D-galactose **104** mit 35%. Neben dem gewünschten GDP-Zucker konnte bei beiden Reaktionen, das jeweilige im Überschuss eingesetzte deacetylierte Glycosylphosphat und GMP als Hydrolyseprodukt von **85** isoliert werden.

Ein Zusammenhang zwischen den geringen Ausbeuten und dem Einsatz des *cycloSal*-GMPs konnte somit bestätigt werden. Die genaue Ursache hierfür bleibt bislang jedoch ungeklärt.

#### 4.1.3.5 Synthese ATTO 550-markierter GDP- $\beta$ -L-fucose

Nach der erfolgreichen Darstellung von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** bestand der finale Schritt der Synthese des Zielmoleküls **83** in der Einführung des Farbstoffes. Dieser sollte als NHS-Ester **80** eingesetzt werden, welcher selektiv mit der primären Aminogruppe der Glycosyleinheit in **73** unter Bildung einer stabilen Amidbindung zwischen dem Farbstoff und dem Zuckernucleotid reagieren sollte. Um diese Bindungsknüpfung zu ermöglichen, muss das Amin **83** in der reaktiven, nicht-protonierten Form vorliegen, so dass der pH-Wert der Reaktionslösung entsprechend hoch eingestellt werden sollte. Da NHS-Ester unter diesen Bedingungen jedoch unter Freisetzung des freien, nicht reaktiven Farbstoffs hydrolysieren, sollte der pH-Wert so niedrig wie möglich gehalten werden. Als Kompromisslösung sollte die Reaktion in einer gepufferten Lösung bei einem pH-Wert von 8.3 durchgeführt werden.

Schließlich wurde eine Lösung des ATTO 550-NHS-Esters **80** in DMSO zu einer Lösung aus GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** in einer Natriumhydrogencarbonat-Pufferlösung (pH 8.3) gegeben. Bereits nach einer Stunde Rühren bei Raumtemperatur konnte dünnschichtchromatographisch der vollständige Umsatz des NHS-Esters **80** beobachtet werden (Abb. 45). Neben dem gewünschten Produkt **83** konnte auch der freie Farbstoff als Hydrolyseprodukt des NHS-Esters **80** detektiert werden. Die Detektion des unmarkierten Zuckernucleotids **73** gelang aufgrund der geringen Konzentration in der Reaktionslösung nicht.



**Abb. 45: Synthese ATTO 550-markierter GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **83**.**

Um die bei der Reaktion entstandenen farbigen Komponenten voneinander zu trennen, wurden verschiedene chromatographische Methoden erprobt: Als erstes wurde eine Normal-Phasen-Chromatographie an Kieselgel mit einem polaren Eluenten verwendet. Um restliche Spuren des freien Farbstoffs zu entfernen, wurde anschließend noch eine Größenausschluss-Chromatographie an Sephadex<sup>®</sup> durchgeführt, so dass die gewünschte ATTO 550-markierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** in einer Ausbeute von 73% erhalten werden konnte.

Da die Molekülstruktur des eingesetzten Farbstoffs unbekannt war, gelang die Identifizierung des Produktes ausschließlich massenspektrometrisch. Zunächst musste dazu die Molekülmasse des markierten Zuckernucleotids **83** über folgende Formel berechnet werden:

$$M^+ [\mathbf{80}] + M^- [\mathbf{73}] - M [\text{NHS}] = M[\mathbf{83}]$$

Demzufolge sollte das Produkt **83** eine Masse von 1179 g/mol besitzen. Und tatsächlich konnte dem in Abb. 46 gezeigten ESI<sup>+</sup>-Massenspektrum ein Molekülpeak mit  $m/z = 1180.4200$  entnommen werden, dem nach obiger Rechnung  $[M+H]^+$  entspricht. Des Weiteren zeigte das Spektrum einige Fragmentierungen des Produktes **83**, welche vermutlich unter den leicht sauren Messbedingungen stattgefunden haben (Abb. 46).

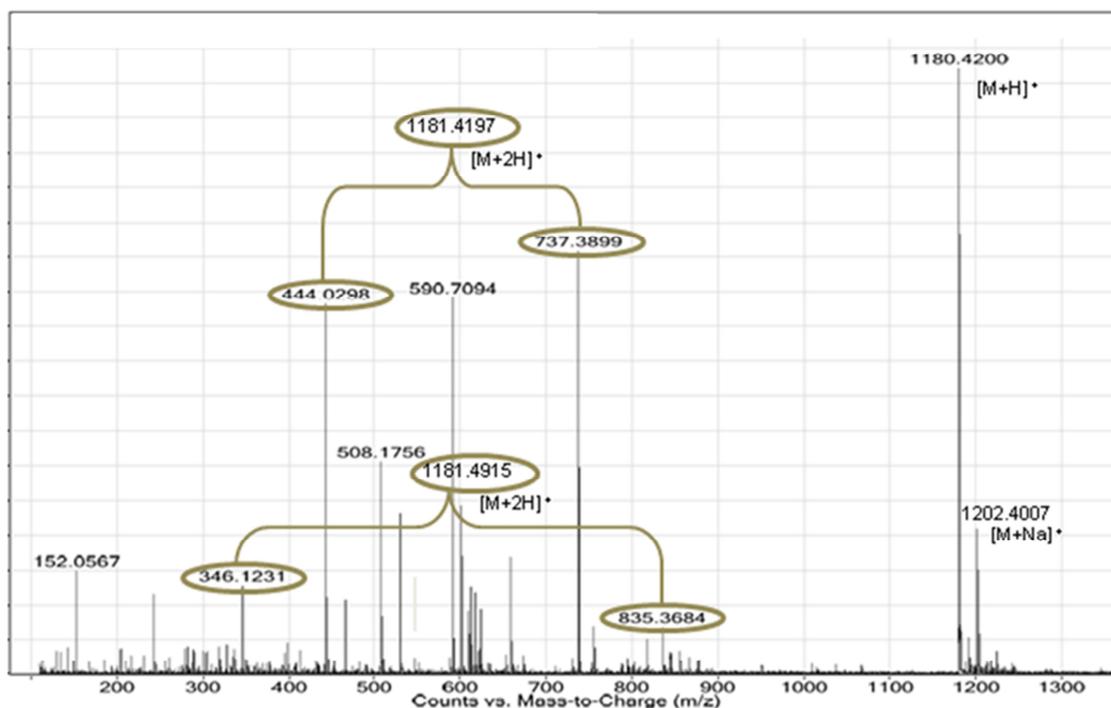


Abb. 46: ESI<sup>+</sup>-Massenspektrum von ATTO 550-markierter GDP-β-L-fucose **83** ( $M^+ = 1179$  g/mol). Die vereinigenden Klammern zeigen die Fragmentierung von **83** im Spektrometer an.

Durch einen Vergleich der Extinktions- und Fluoreszenzspektren von NHS-Ester **80** und ATTO 550-markierter GDP-β-L-fucose **83** (Abb. 47) sollten die Eigenschaften des Farbstoffes nach Verknüpfung mit dem Zuckernucleotid näher untersucht werden, um die Eignung von **83** als Donorsubstrat in einem FRET-Assay zur Untersuchung der FucT-IX-Aktivität zu überprüfen.

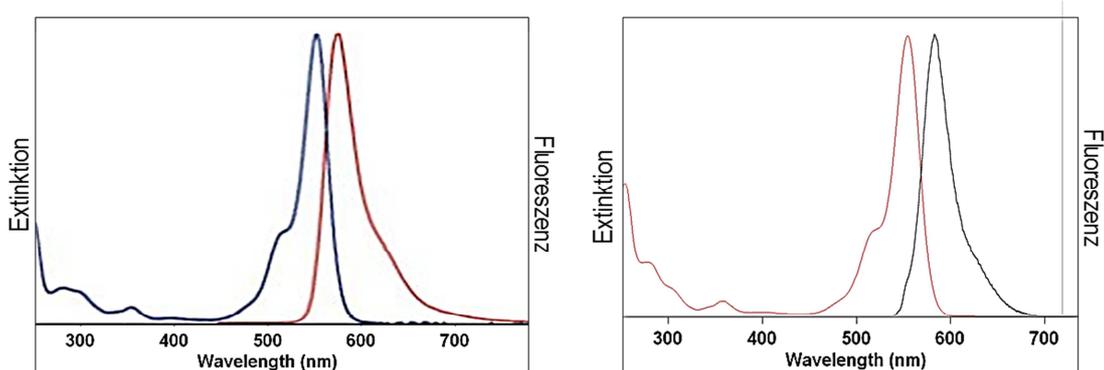


Abb. 47: Vergleich der Extinktions- und Fluoreszenzspektren von NHS-Ester **80** (links) und ATTO 550-markierter GDP-β-L-fucose **83** (rechts).

Da weder Verschiebungen der Fluoreszenz- bzw. Extinktions-Maxima noch ein Unterschied in der Intensität der Signale zu erkennen waren, konnte **83** zusammen mit den von unseren

Kooperationspartner synthetisierten Akzeptorsubstratanalogon **82** für weiterführende Untersuchungen des Enzyms verwendet werden.

#### 4.1.4 Untersuchungen der FucT-IX-katalysierten Umsetzung von farbstoffmarkierten Substratanaloga über HPTLC-MS

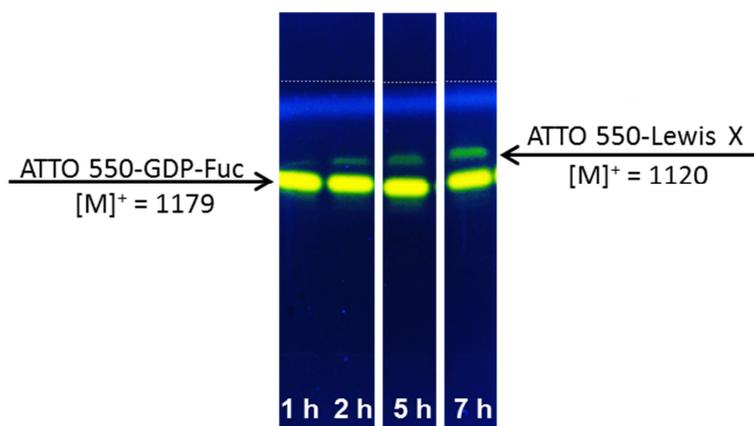
Vor der Untersuchung der Aktivität der Fucosyltransferase IX mit einem FRET-Assay, sollte zunächst überprüft werden, ob sowohl die von uns synthetisierte ATTO 550-markierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** als auch das von *S. Kahl* dargestellte ATTO 647N-markierte *N*-Acetyl-D-lactosamin **82** überhaupt von dem Wildtyp der hFucT-IX als Substrate erkannt und enzymatisch umgesetzt werden können.

Im Rahmen unserer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von *Prof. U. Hahn* wurden von *K. Seelhorst* mit FucT IX (200 ng) verschiedene Reaktionsansätze in einer gepufferten Lösung in Gegenwart von Manganchlorid bei 37 °C in unterschiedlichen Kombinationen von markierten und natürlichen Substraten durchgeführt. Da in Vorversuchen der enzymatischen Umsetzung der unmodifizierten Substrate festgestellt wurde, dass es sich bei GDP- $\beta$ -L-fucose **17** um den limitierenden Faktor der Reaktion handelte, wurde das jeweilige Akzeptorsubstrat **82** bzw. LacNAc bei einigen Reaktionsansätzen im Überschuss eingesetzt. Die Reaktionen wurden anschließend in Zusammenarbeit mit *K. Tschersch* aus der Arbeitsgruppe von *Prof. S. Rohn* mit Hilfe von Hochleistungsdünnschichtchromatographie (engl. „high-performance thin-layer chromatography“, HPTLC) gekoppelt mit einer massenspektrometrischen Detektion analysiert. Die dabei verwendeten Ionisationsmethoden (MALDI- und ESI<sup>+</sup>-TOF) erlaubten die Detektion und Identifizierung der bei der enzymkatalysierten Reaktion gebildeten Produkte direkt von der TLC-Platte und zudem zeitlich unabhängig von der chromatographischen Trennung. Die Lokalisierung der einzelnen Produktpots auf den TLC-Platten erfolgte aufgrund ihrer intensiven Färbung bzw. UV-Aktivität entweder im sichtbaren oder ultravioletten Licht. Als Kontrollen dienten Lösungen aus dem jeweils eingesetzten markierten Edukt und dem Enzym ohne Zusatz des jeweils anderen Substrates. Da es sich bei allen Reaktionskomponenten um sehr polare Verbindungen handelte, wurden die Chromatographien mit einem ebenfalls sehr polaren Eluenten (*iso*-Propanol/Ammoniumacetat (1 M) 2:1 v/v) durchgeführt.

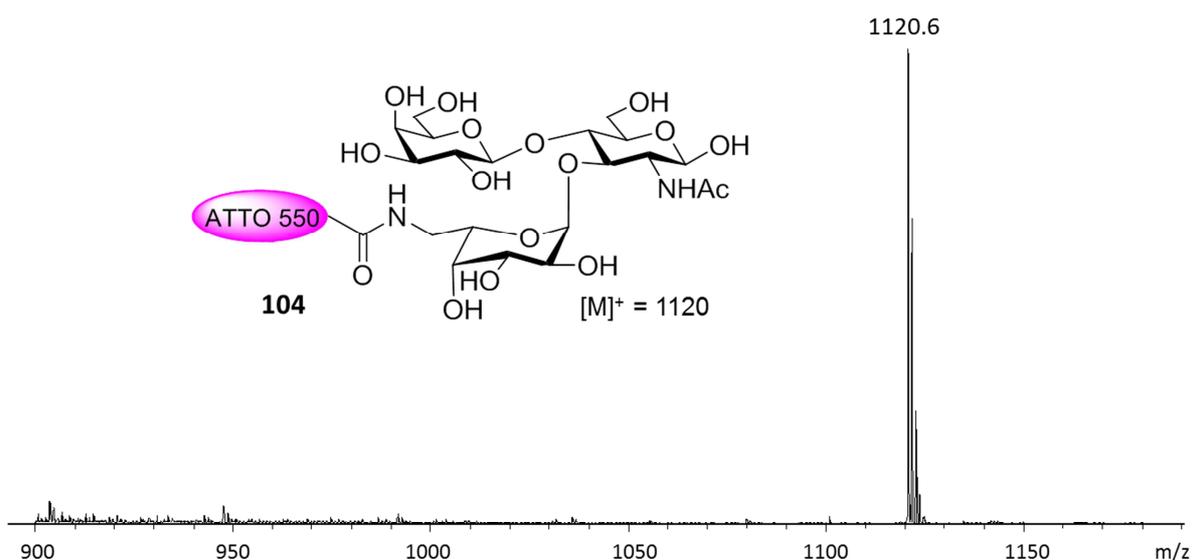
In der ersten Versuchsreihe wurde die ATTO 550-markierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** mit LacNAc unter FucT IX-Katalyse umgesetzt. Da bei der Umsetzung der natürlichen Substrate durch das Wildtyp-Enzym unter analogen Bedingungen eine maximale Reaktionsgeschwindigkeit von etwa 300 pmol/min pro  $\mu$ g Enzym erreicht wird und dies bei der gewählten Ansatzgröße

einer maximalen Reaktionsdauer von 130 Minuten entsprach, erfolgte die erste HPTLC-MS-Messung nach einer Reaktionszeit von zwei Stunden.

Da hierbei nur ein geringer Umsatz des markierten Eduktes **83** beobachtet und massenspektrometrisch kein Produkt detektiert werden konnte, wurde der Reaktionsverlauf im nächsten Versuch unter wiederholter Enzymzugabe (200 ng; stündlich) über sieben Stunden untersucht (Abb. 48). Während dieser Reaktionsverfolgung konnte deutlich die Bildung eines neuen markierten Produktes beobachtet werden, welches durch die anschließende massenspektrometrische Analyse eindeutig als das ATTO 550-markierte Lewis X-Trisaccharid **104** identifiziert werden konnte (Abb. 49:  $m/z = 1120.6$ ).

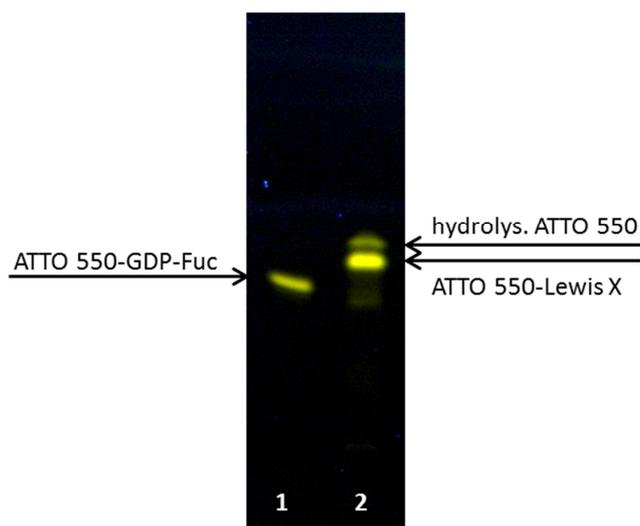


**Abb. 48:** HPTLC-Verfolgung (Kieselgel; Eluent: *iso*-Propanol/Ammoniumacetat (1 M) 2:1 v/v; UV-Detektion) der Reaktion von ATTO 550-markierter GDP-β-L-fucose **83** (312 μM) mit LacNAc (312 μM) unter FucT IX-Katalyse bei 37 °C über 7 Stunden. Nach jeder stündlichen Probenentnahme erfolgte eine weitere Enzymzugabe (200 ng).



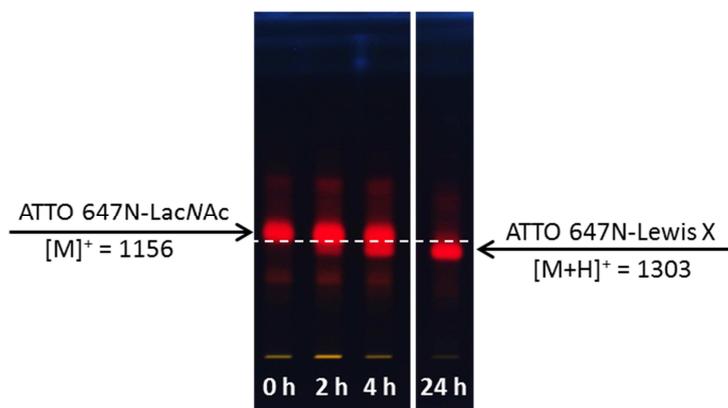
**Abb. 49:** Ausschnitt aus dem ESI<sup>+</sup>-Massenspektrum des ATTO 550-markierten Lewis X Trisaccharides **104**.

Da im Verlauf der Reaktion zwar eine Zunahme der Produktbildung erkennbar war, ein vollständiger Umsatz des Eduktes jedoch nicht erreicht wurde, wurde sie in einem dritten Versuch über einen längeren Zeitraum untersucht (Abb. 50). Zudem wurde ein Überschuss an LacNAc eingesetzt, um den Akzeptor als limitierenden Faktor bei der Umsetzung der markierten GDP- $\beta$ -L-fucose **83** ausschliessen zu können. Unter wiederholter Enzymzugabe (200 ng, ca. alle 3 Stunden) konnte nach einer Reaktionszeit von 48 Stunden die Vollständigkeit der Reaktion festgestellt werden. Neben dem markierten Produkt **104**, wurde ebenfalls das Hydrolyseprodukt des eingesetzten Farbstoffes detektiert.



**Abb. 50:** HPTLC-Platte (Kieselgel; Eluent: *iso*-Propanol/Ammoniumacetat (1 M) 2:1 v/v; UV-Detektion) der Reaktion von ATTO 550-markierter GDP- $\beta$ -L-fucose **83** (312  $\mu$ M) mit LacNAc (4 mM) unter FucT IX-Katalyse bei 37 ° nach 48 h. Alle ca. 3 h erfolgten weitere Enzymzugaben (200 ng).

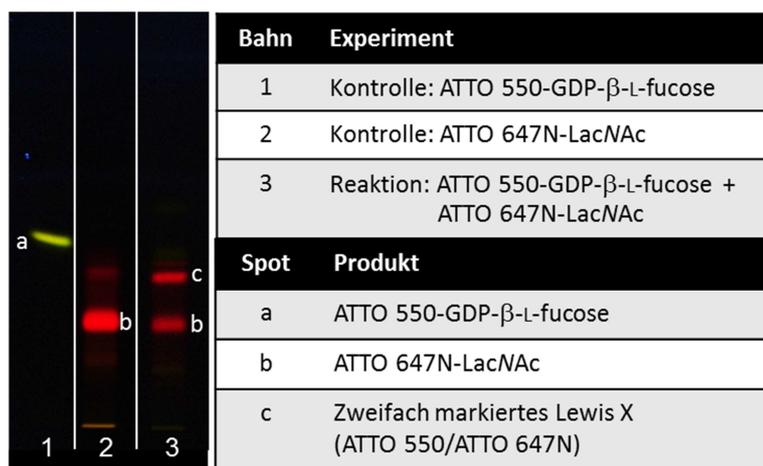
Nachdem die Erkennung und Umsetzung des Substratanalogons **83** durch die hFucT IX erfolgreich belegt werden konnte, wurde in einer weiteren Versuchsreihe die enzymkatalysierte Reaktion des markierten Akzeptorsubstrats **82** mit GDP- $\beta$ -L-fucose **17** verfolgt (Abb. 51). Im Vergleich zu dem natürlichen Substrat erfolgte die Reaktion wie in der ersten Versuchsreihe nur sehr langsam und unvollständig, so dass auch hier nach jeder Probenentnahme (nach 2, 4, 9, 15, 20 und 24 h) eine weitere Enzymzugabe erfolgte und die Reaktion erst nach 24 Stunden beendet wurde. Nach dieser Reaktionszeit konnte nach der dünnschichtchromatographischen Trennung des Reaktionsgemisches unter UV-Licht ein vollständiger Umsatz an ATTO 647N-markiertem LacNAc **82** unter Bildung eines markierten Produktes beobachtet werden, welches massenspektrometrisch als das ATTO 647N-markierte Lewis X-Trisaccharid **105** identifiziert werden konnte.



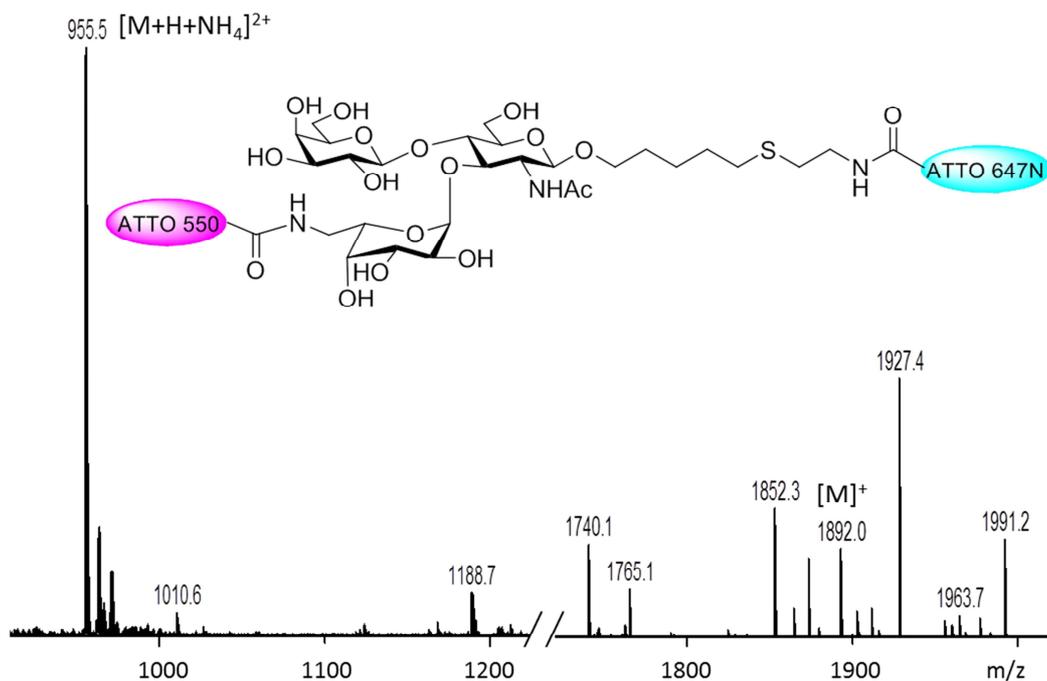
**Abb. 51: HPTLC-Verfolgung (Kieselgel; Eluent: *iso*-Propanol/Ammoniumacetat (1 M) 2:1 v/v; UV-Detektion) der Reaktion von ATTO 647N-markiertem LacNAc **82** (312  $\mu$ M) mit GDP- $\beta$ -L-fucose **17** (312  $\mu$ M) unter FucT IX-Katalyse bei 37  $^{\circ}$ C über 24 Stunden. Nach jeder Probenentnahme erfolgte eine weitere Enzymzugabe (200 ng).**

Obwohl die enzymkatalysierten Reaktionen in beiden Versuchsreihen nur sehr langsam und unter wiederholter Enzymzugabe vollständig verliefen, konnte anhand der massenspektrometrischen Analyse der über HPTLC getrennten Reaktionsprodukte erfolgreich bewiesen werden, dass die hFucT IX in der Lage ist, beide Substratanaloga **82** und **83** zu erkennen und mit dem jeweiligen unmarkierten Substrat zu **104** bzw. **105** umzusetzen.

Aus diesem Grund sollte im nächsten Versuch die Reaktion beider Analoga **82** und **83** ohne Zusatz der natürlichen Substrate (Abb. 52; Bahn 3) unter analogen Bedingungen untersucht werden. Wie bei dem in Abb. 50 gezeigten Reaktionsansatzes wurde ein Überschuss am Akzeptorsubstrat eingesetzt. Nach einer Reaktionszeit von 48 h und anschließender HPTLC wurden die einzelnen Komponenten des Reaktionsgemisches massenspektrometrisch analysiert. Neben nicht umgesetzten **82**, konnte hierbei tatsächlich das doppelt markierte Lewis X Trisaccharid **84** (Spot c) mit einer Masse von 1882.0  $[M]^+$  bzw. 955.5  $[M+H+NH_4]^{2+}$  detektiert werden (Abb. 53).



**Abb. 52:** HPTLC-Platte (Kieselgel; Eluent: *iso*-Propanol/Ammoniumacetat (1 M) 2:1 v/v; UV-Detektion) der Reaktion beider markierten Substrate **83** (312 μM) und **82** (4 mM) unter FucT IX-Katalyse bei 37 °C nach 48 h. Ca. alle 3 h erfolgte n weitere Enzymzugaben (200 ng). Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der ESI<sup>+</sup>-massenspektrometrischen Analyse zur Identifikation der markierten Verbindungen.



**Abb. 53:** Ausschnitt aus dem ESI<sup>+</sup>-Massenspektrum des ATTO 550-markierten Lewis X Trisaccharides **84** (Abb. 52: Spot c).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass durch die auf HPTLC-MS-gestützten Experimente, die Akzeptanz der FucT IX gegenüber den farbstoffmodifizierten Substratanaloga **82** und **83**, eindeutig bewiesen werden konnte.

Diese Ergebnisse bilden die Grundlage für weiterführende Untersuchungen der Enzymaktivität über fluoreszierende Assays. So könnte die von uns synthetisierte ATTO 550-

markierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** in Verbindung mit dem ATTO 674N gelabelten Akzeptorsubstrat **82** als fluoreszierender Donor in einem auf FRET-basierenden Assay zur Visualisierung der hFucT IX-Aktivität dienen. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse könnten zur Aufklärung ihres enzymkatalytischen Mechanismus´ und ihrer Funktionen beitragen und somit das rationale Design potentieller Inhibitoren vereinfachen.

Zudem bestünde eine weitere Verwendungsmöglichkeit für die ATTO 550 funktionalisierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** als Substrat von Fucosyltransferasen in der Markierung fucosylierter Proteine (Proteinlabeling) um ihre Funktion in lebenden Zellen z.B. mit Hilfe der Fluoreszenz-Mikroskopie zu analysieren.<sup>116</sup>

## 4.2 Synthese Triazol-modifizierter GDP-Zucker

Das Ziel dieses Abschnitts der vorliegenden Arbeit war die Erschließung eines synthetischen Zugangs zu verschiedenen funktionalisierten GDP-Zuckern über den kombinatorischen Einsatz des Click-Chemie-Ansatzes (CuAAC) und der *cycloSal*-Methode nach Meier *et al.*

Teile der im Folgenden vorgestellten Ergebnisse wurden von T. Piernitzki im Rahmen seiner Bachelor-Arbeit unter Betreuung in unserer Arbeitsgruppe erarbeitet und bereits veröffentlicht.<sup>130</sup>

### 4.2.1 Synthesestrategien zur Darstellung Triazol-modifizierter GDP-Zucker

Zur Ermittlung der optimalen Synthesestrategie zur Darstellung der Triazol-modifizierten GDP-Zucker **66-68** sollten zwei verschiedene Reaktionssequenzen erprobt werden (Abb. 54: A und B).

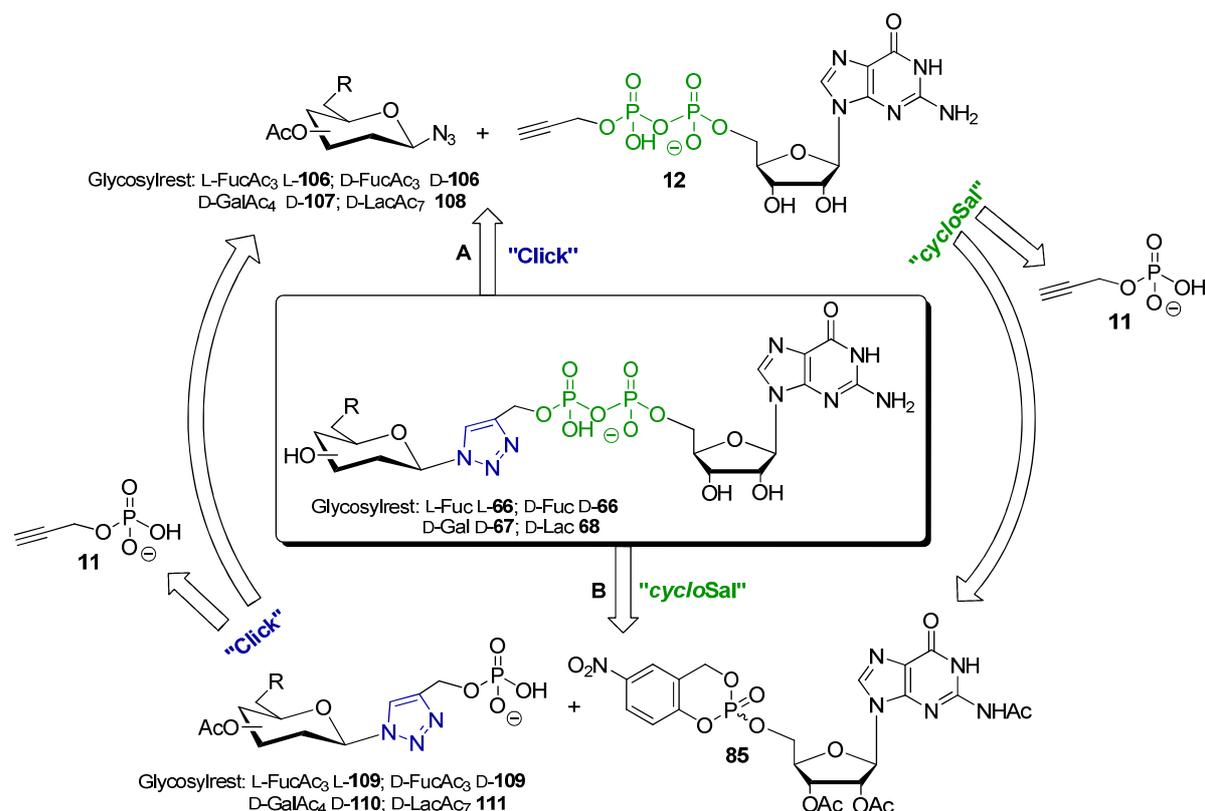


Abb. 54: Synthesestrategien zur Darstellung Triazol-modifizierter GDP-Zucker.

Bei der Syntheseroute A sollte zunächst die Pyrophosphatbrücke über die Reaktion des *cycloSal*-Nucleotids **85** mit Propargylphosphat **11** geknüpft werden. Das gebildete GDP-

Alkin **12** sollte anschließend über eine 1,3-Cycloaddition mit einem  $\beta$ -Glycosylazid D/L-**106-107** in das entsprechende GDP-Zucker-Derivat D/L-**66-68** überführt werden. Die strukturelle Variation der Verbindungen sollte also analog zu der von *Lee et al.* entwickelten Reaktionsabfolge über eine Click-Reaktion erst im letzten Schritt der mehrstufigen Synthese eingeführt werden. Da derartige Reaktionen enthalpisch getrieben sind, unter milden wässrigen Bedingungen nahezu quantitativ verlaufen und sich durch eine hohe Selektivität, große Zuverlässigkeit und einfache Durchführung auszeichnen, sind sie besonders für das Erstellen von Substanzbibliotheken (mit anschließendem HT-Screening) geeignet.

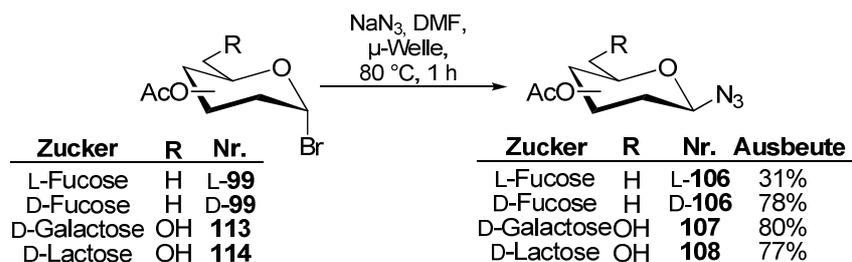
Syntheseroute B sollte hingegen mit der CuAAC zwischen Propargylphosphat **11** und einem  $\beta$ -Glycosylazid D/L-**106-108** beginnen. Die so dargestellten Triazol-verbrückten Zuckerphosphate D/L-**109-111** sollten dann jeweils in einer Kupplungsreaktion mit *cycloSal*-Triester **85** als Nucleophil wirken und zu den Zielverbindungen D/L-**66-68** umgesetzt werden.

Während über den Weg A im finalen Schritt lediglich eine Variation über die Azidokomponente eingeführt werden könnte, böte Syntheseroute B an dieser Stelle neben dem Einsatz verschiedener Nucleophile zusätzlich die Möglichkeit eine Variation in Bezug auf das Nucleosid vorzunehmen.

Als Ausgangspunkt beider Routen kann die Synthese des *cycloSal*-Triesters **85** angesehen werden. Da diese bereits in Kapitel 4.1.3.1 ausführlich beschrieben wurde, soll im Folgenden nun auf die Darstellung der für die Durchführung beider Synthesewege ebenfalls benötigten  $\beta$ -Glycosylazide D/L-**106-108** und Propargylphosphat **11** eingegangen werden.

#### 4.2.2 Synthese von $\beta$ -Glycosylaziden

Die Synthese der  $\beta$ -Glycosylazide D/L-**106-108** erfolgte aus den entsprechenden  $\alpha$ -Glycosylbromiden D/L-**99**, **113** und **114**, welche aus vorangegangenen Synthesen in ausreichenden Mengen zur Verfügung standen (Kapitel 4.1.3.4). Die Reaktionen verliefen nach einem  $S_N2$ -Mechanismus unter Inversion der Konfiguration des anomeren Kohlenstoffatoms. Bei der Durchführung wurde nach dem in Kapitel 4.1.3.2 beschriebenen Syntheseprotokoll unter Verwendung eines Mikrowellensystems verfahren: Im polar aprotischen Lösungsmittel DMF wurden die Bromide D/L-**99**, **113** und **114** mit Natriumazid unter jeweils analogen Bedingungen bei 80 °C umgesetzt. Zur Produktdetektion wurde in allen Fällen die Anwesenheit der charakteristisch intensiven Bande der Valenzschwingung organischer Azide bei 2100  $\text{cm}^{-1}$  im IR-Spektrum genutzt.<sup>130</sup>



**Abb. 55: Synthese der  $\beta$ -Glycosylazide.**

Die Durchführung der Substitutionsreaktionen in der Mikrowelle stellte bei den Ansätzen der hier verwendeten Größe eine schnell zugängliche und dazu sehr gut reproduzierbare Form der Reaktionsführung dar, welche zudem in einer Verkürzung der Reaktionszeit (von mehreren Stunden auf 60 Minuten)<sup>131-134</sup> resultierte, so dass die gewünschten  $\beta$ -Glycosylazide D/L-**106-108** nach einer Reaktionszeit von nur einer Stunde in guten Ausbeuten von 77-80% erhalten werden konnten (Abb. 55).

Lediglich bei der Synthese der 2,3,4-Tri-O-acetyl-1-azido-1-desoxy- $\beta$ -L-fucopyranose L-**106** konnte eine moderate Ausbeute von 31% erzielt werden. Die Ursache hierfür könnte in der Solvolyseempfindlichkeit des eingesetzten Bromids L-**99** liegen, welche in einer hydrolytischen Spaltung des Eduktes in die entsprechende 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-L-galactopyranose und Bromwasserstoff resultierte. Im Vergleich zu den Bromiden D-**99**, **113** und **114** wurde L-**99** zuvor längere Zeit gelagert, so dass es in diesem Fall vermutlich im Vorfeld verstärkt zu Zersetzungsreaktionen kam, welche sich nachteilig auf die Ausbeute der Folgereaktion auswirkten.<sup>130</sup>

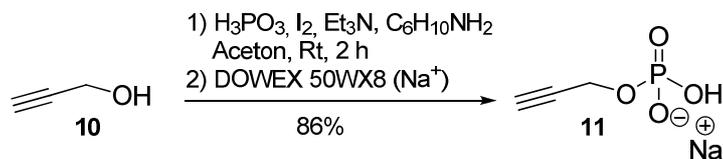
Somit konnten alle für die Durchführung beider Syntheserouten benötigten  $\beta$ -Glycosylazide D/L-**106-108** erfolgreich dargestellt und mit der Synthese des Propargylphosphats **11** begonnen werden.

#### 4.2.3 Synthese vom Propargylphosphat

2-Propin-1-phosphat **11** wurde sowohl zur Darstellung des GDP-Alkins **12** (Abb. 54: Route A) als auch der Triazol-Phosphate D/L-**109-111** (Abb. 54: Route A) benötigt.

Die Synthese von **11** erfolgte nach *Lee et al.* durch Umsetzung von Propargylalkohol **10** mit Phosphoriger Säure und Iod in Aceton. Iod fungiert bei dieser Reaktion als Oxidationsmittel. Die Fällung des Produktes erfolgte in Form seines Cyclohexylammoniumsalzes. Eine anschließende Umkristallisation und Ionenaustauschchromatographie an DOWEX 50WX8

(Na<sup>+</sup>) lieferte schließlich 2-Propin-1-phosphat **11** in Form seines Natriumsalzes in einer guten Ausbeute von 86% (Literatur: 69%).<sup>59,130</sup>



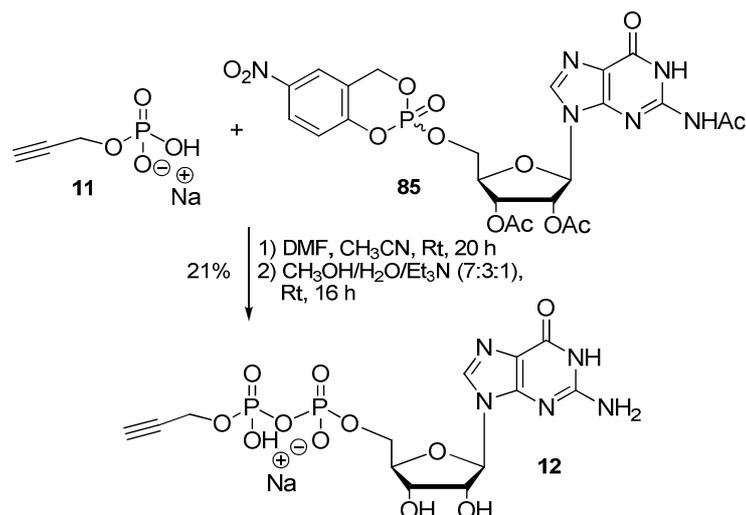
**Abb. 56: Synthese von 2-Propin-1-phosphat 11.**

Damit standen alle für die Erprobung beider Syntheserouten benötigten Komponenten zur Verfügung, so dass mit der Durchführung der ersten Reaktionssequenz begonnen werden konnte.

#### 4.2.4 Syntheseroute A zur Darstellung Triazol-modifizierter GDP-Zucker

Die Syntheseroute A beinhaltetete im ersten Schritt die Darstellung des GDP-Alkins **12**, welches im Anschluss über eine Kupfer(I)-katalysierte Click-Reaktion mit verschiedenen  $\beta$ -Glycosylaziden **D/L-106-108** in die entsprechenden Triazol-modifizierten GDP-Zucker überführt werden sollte (Abb. 54).

Die Knüpfung der Pyrophosphatbrücke erfolgte über die *cycloSal*-Methode nach dem in Kapitel 2.4.2.2 vorgestellten Syntheseprotokoll mit einer anschließenden De-O-acetylierung. Aufgrund der geringen Löslichkeit von Propargylphosphat **11** in DMF, wurden hier in Abweichung zum etablierten Protokoll zusätzlich geringe Mengen Acetonitril hinzugegeben. Da das Produkt **12** und das eingesetzte Propargylphosphat **11** nahezu identische Retentionsfaktoren aufwiesen, gestaltete sich die RP-chromatographische Trennung beider Komponenten als problematisch. Das gewünschte Produkt **12** konnte erst nach dreimaliger Wiederholung der Chromatographie in einer Ausbeute von 21% erhalten werden.<sup>130</sup>



**Abb. 57: Synthese von GDP-Alkin 12.**

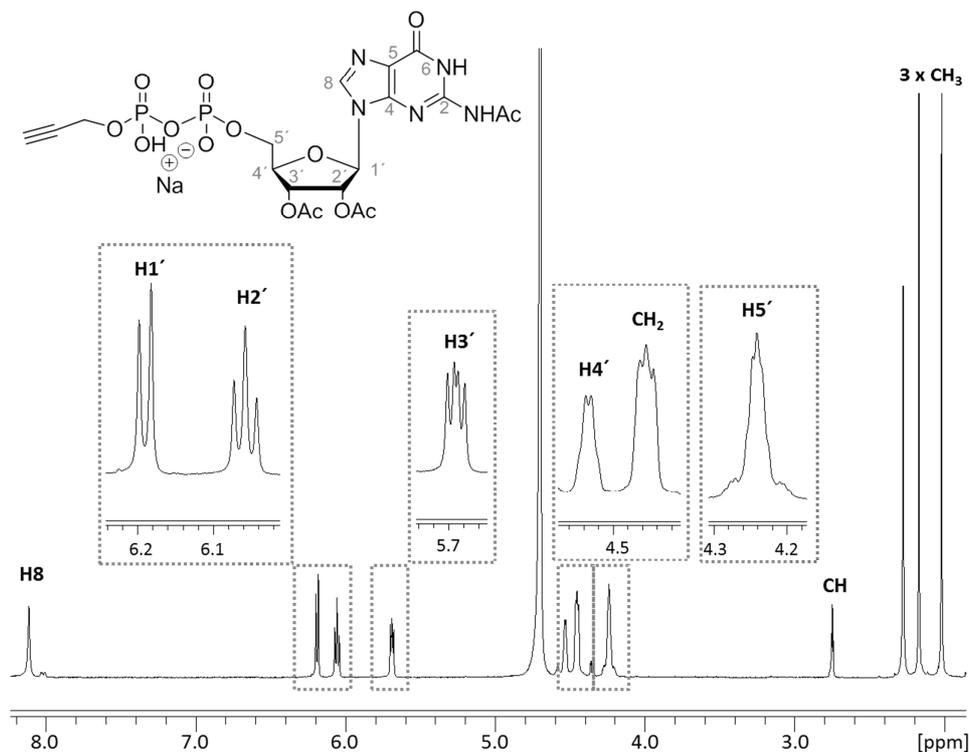
Da die Spaltung der Acetylschutzgruppen der Nucleosideinheit auch als letzter Schritt in der Synthese der modifizierten GDP-Zucker simultan mit der De-O-acetylierung der Zuckereinheit denkbar wäre, wurde in einer weiteren Reaktionsdurchführung auf diesen Schritt verzichtet. Neben der Verkürzung der Reaktionsabfolge sollte dadurch vor allem eine größere Divergenz der Retentionsfaktoren von Edukt **11** und Produkt **12a** erzielt werden um eine chromatographische Trennung beider Komponenten zu erleichtern.

Nach der Kupplung von Propargylphosphat **11** mit *cycloSal*-Triester **85** wurde das erhaltene acetylierte GDP-Alkin **12a** RP-chromatographisch gereinigt. Obwohl die Anwesenheit der Acetylgruppen und die damit einhergehende verringerte Polarität des Produktes zu einer Verbesserung der chromatographischen Trennung führte, konnte keine Erhöhung der Ausbeute erzielt werden. Das acetylierte GDP-Alkin **12a** wurde lediglich mit einer Ausbeute von 19% erhalten. Eine Erhöhung der Ausbeute konnte somit bei der Synthese des GDP-Alkins **12** bzw. **12a** über die Verwendung des aktivierten Phosphatriesters **85**, im Vergleich zu den von *Lee et al.* mit Hilfe der Morpholidatmethode erzielten Ergebnisse, nicht erreicht werden.<sup>59</sup>

Da bei beiden Reaktionen ein nahezu vollständiger Verbrauch des *cycloSal*-Nucleotids **85** unter Bildung des jeweiligen Produktes beobachtet werden konnte (DC-Kontrolle) und bei den Chromatographien neben GDP-Alkin **12** bzw. **12a** vor allem das im Überschuss eingesetzte Propargylphosphat **11** und GMP isoliert werden konnte, lassen die geringen Ausbeuten auf eine Spaltung der Pyrophosphatbrücke unter den gewählten Bedingungen der Aufarbeitung und Reinigung schließen. Im Vergleich zu unmodifizierten NDP-Zuckern wurde ein solcher hydrolytischer Bindungsbruch vermutlich durch den elektronenziehenden

Effekt des Alkins, welcher einen nucleophilen Angriff auf das  $\beta$ -Phosphoratom erleichtert, begünstigt.

In Abb. 58 bis Abb. 59 sind die  $^1\text{H}$ - und  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren von GDP-Alkin **12a** gezeigt. Dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum konnte der vollständige Satz der Protonensignale des Produktes **12a** entnommen werden.



**Abb. 58:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) von GDP-Alkin **12a**.

Obwohl für beide Phosphoratome der Pyrophosphatbrücke, ähnlich wie bei NDP-Zucker **73** (Abb. 42), jeweils ein Dublett erwartet wurde, zeigte das  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des GDP-Alkins **12a** lediglich ein verbreitertes Signal ohne definiertes Aufspaltungsmuster zwischen -11.4 und -11.5 ppm (Abb. 59). Vermutlich führte in diesem Fall eine ähnliche elektronische Umgebung der Phosphoratome, z.B. bedingt durch die Methylengruppen in Nachbarschaft zu beiden Phosphatgruppen, dazu, dass beide Phosphoratome eine nahezu identische chemische Verschiebung aufwiesen.

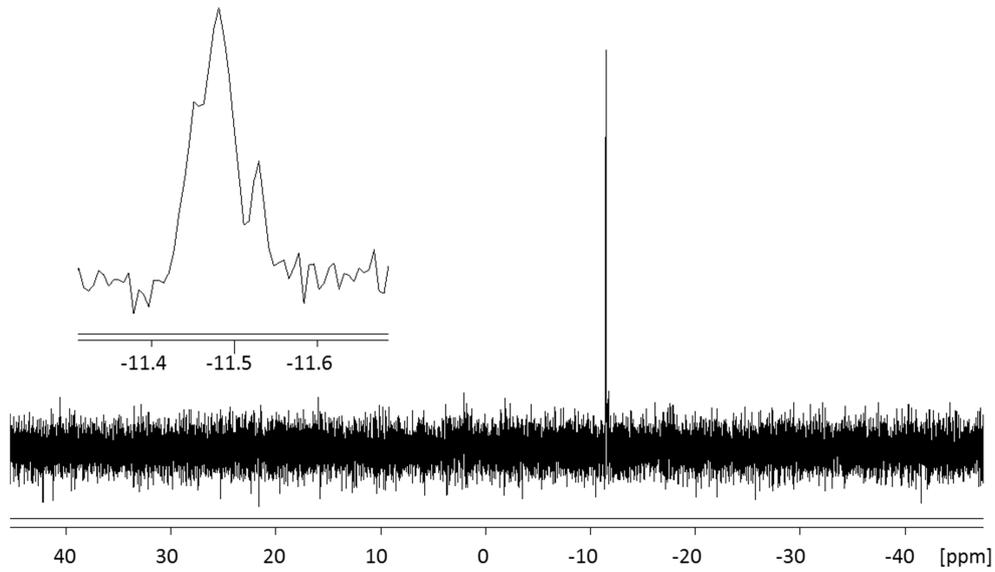


Abb. 59:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum (162 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) von GDP-Alkin 12a.

Da Lee *et al.* zur Identifizierung des GDP-Alkins **12** lediglich  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-spektroskopische und massenspektrometrische Daten nutzten, war ein Vergleich der  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren nicht möglich. Zur eindeutigen Charakterisierung des GDP-Alkins **12** dienen deshalb neben den NMR-Spektren auch die IR-spektroskopischen ( $\text{C}\equiv\text{C}$ -H-Valenzschwingung bei  $3300\text{ cm}^{-1}$ ) und massenspektrometrischen Daten (Abb. 60).

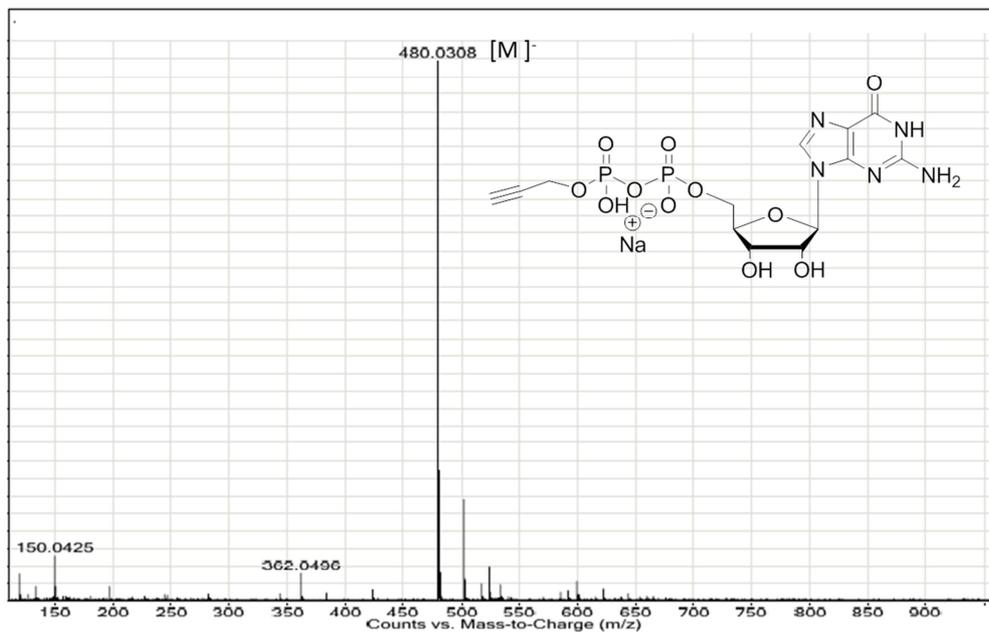
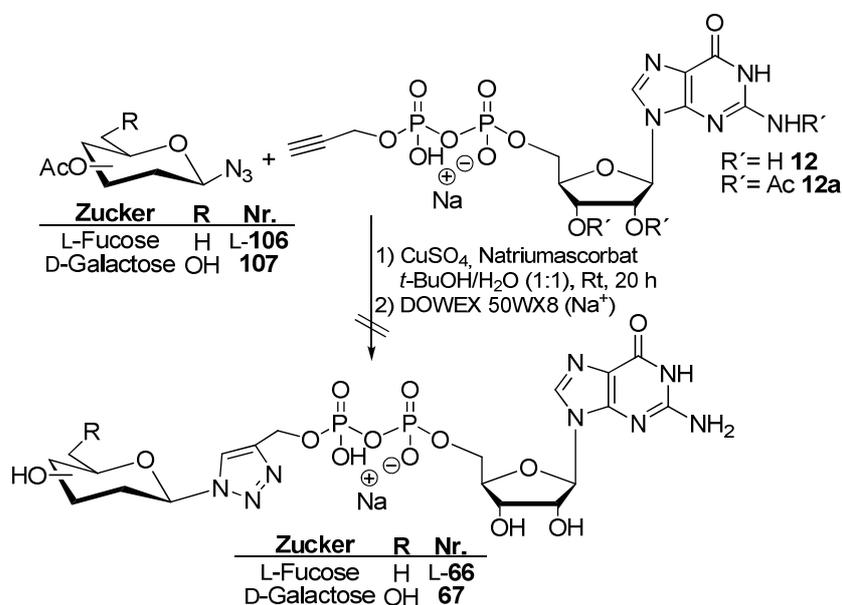


Abb. 60: ESI-MS-Spektrum von GDP-Alkin 12.

Nach der erfolgreichen Synthese vom GDP-Alkin **12** bestand der letzte Schritt der Syntheseroute A in der Kupfer(I)-katalysierten Cycloaddition der Glycosylazide D/L-**106-108**. Die Durchführung der CuAAC erfolgte nach Syntheseprotokollen, die bereits von *Ding et al.* und *Wilkinson et al.* für entsprechende Reaktionen genutzt wurden.<sup>135,136</sup> Die für diese Art der Click-Reaktion benötigten Kupfer(I)-Ionen wurden aus Kupfer(II)sulfat mit Hilfe von Natriumascorbat als Reduktionsmittel *in situ* generiert. Die Reaktionsbedingungen sollten zunächst unter Einsatz der Glycosylazide L-**106** und **107** erprobt werden. Das entsprechende Glycosylazid wurde dabei im Überschuss eingesetzt und als Lösungsmittel diente ein *tert*-Butanol/Wasser-Gemisch. Im Anschluss an die Cycloaddition erfolgte die Abspaltung der Acetyl-Schutzgruppen der Glycosyleinheit unter basischen Bedingungen. Nach RP-chromatographischer Reinigung der erhaltenen Rohgemische konnte jedoch in keiner der Fälle das gewünschte Produkt isoliert werden (Abb. 61).<sup>130</sup>



**Abb. 61: Versuch der Darstellung von Triazol-modifizierten GDP-Zuckern L-66 und 67 über Syntheseroute A.**

Aufgrund der geringen Ansatzgrößen (5-10 mg GDP-Alkin (10-20  $\mu\text{mol}$ )) und der damit einhergehenden geringen Produktkonzentration in den einzelnen Fraktionen, bereitete die Detektion des Produktes nach der Chromatographie besondere Schwierigkeiten.

Da die Verfügbarkeit des *cycloSal*-GMPs **85** aufgrund des erheblichen synthetischen Aufwands und den geringen Ausbeuten bei der Synthese des selektiv geschützten Guanosins **87** begrenzt ist, wird **85** als Phosphataktivester in Synthesen meist nur mit bis zu 70 mg eingesetzt. Gelingen die Umsetzungen wie im Fall des GDP-Alkins **12** dazu lediglich in Ausbeuten um 20%, bedingt dies wiederum eine stark limitierte Disponibilität des Alkins

**12** für den Einsatz in der CuAAC nach Syntheseweg A. Eine Durchführung dieser Cycloaddition in einem größeren Maßstab wurde dadurch erheblich erschwert.

Während die dünnschichtchromatographische Verfolgung der Cycloaddition bei geringen Konzentrationen der Reaktionslösung in ausreichendem Maße gelungen ist, war eine dünnschichtchromatographische Detektion der Produkte nach der Chromatographie nicht möglich. Im Fall der CuAAC von GDP-Alkin **12** mit Fucosylazid L-**106** wurden daher nach der säulenchromatographischen Trennung alle erhaltenen Fraktionen zu größeren vereint und NMR-spektroskopisch analysiert. Hierbei konnte lediglich das eingesetzte Glycosylazid L-**106**, nicht jedoch GDP-Alkin **12** oder etwaige Hydrolyse-Spaltprodukte, wie GMP, identifiziert werden. Da die vermessenen NMR-Proben eine leichte Blaufärbung aufwiesen, wurde auf das Vorhandensein von Kupfer(II)-Ionen geschlossen. Da paramagnetische Verunreinigungen die longitudinale Relaxation stark beschleunigen, wird die Aufnahme von NMR-Spektren solcher Proben behindert. Aus diesem Grund wurden diese einer Ionenaustauschchromatographie unterzogen und anschließend erneut untersucht.

Das  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum einer Fraktion, welches ein geringes Signal-Rausch-Verhältnis aufwies, zeigte Spuren von drei phosphorhaltigen Verbindungen (0.5 ppm, 1.5 ppm, -11.4 ppm). Da die erhaltenen Mengen jedoch für eine eindeutige Identifizierung der Produkte nicht ausreichten, konnte zunächst nur vermutet werden, dass es sich dabei um das Produkt L-**66** (-11.4 ppm), das Triazol-modifizierte Phosphat L-**109** (1.5 ppm) und GMP (0.5 ppm) handelte. Diese Vermutung konnte durch den Vergleich mit Ergebnissen von Synthesen, die im folgenden Kapitel vorgestellt werden, bestärkt werden.

Daraus lässt sich schliessen, dass es zu einem hydrolytischen Bruch der Pyrophosphatbrücke kam, der entweder ausgehend von GDP-Alkin **12** vor bzw. während der CuAAC oder in dem bereits gebildeten Produkt L-**66/67** unter den gewählten Reaktions- bzw. Reinigungsbedingungen erfolgte. Im Fall der CuAAC von GDP-Alkin **12** mit dem Galactosylazid **107** wurde ein ähnliches Ergebnis beobachtet.

Aufgrund der geringen Ausbeute der Reaktion von Propargylphosphat **11** und *cycloSal*-GMP **85**, den damit einhergehenden Schwierigkeiten bei der chromatographischen Reinigung der Folgeprodukte und der unter den gewählten Reaktionsbedingungen beobachteten hydrolytischen Spaltung des GDP-Alkins **12** bzw. der Produkte L-**66/67**, wurden weitere Versuche, die gewünschten modifizierten GDP-Zucker über den Syntheseweg A darzustellen, eingestellt.

Da CuAA-Cycloadditionen als Vertreter der Click-Reaktionen in der Regel nahezu quantitativ verlaufen und zudem analoge Reaktionen mit GDP-Alkin **12** bereits von *Lee et*

a). erfolgreich erprobt wurden, ist ein generelles Scheitern der Syntheseroute A jedoch kaum denkbar. Aufgrund der limitierten Verfügbarkeit des Alkins sollten allerdings die chromatographischen bzw. analytischen Verfahren, z.B. durch die Verwendung eines (präparativen) HPLC-Systems, den geringen Reaktionskonzentrationen, die aus den spärlichen Umsätzen der GDP-Alkin-Synthese resultieren, angepasst werden.

#### 4.2.5 Syntheseroute B zur Darstellung Triazol-modifizierter GDP-Zucker

Im Gegensatz zu Syntheseweg A sollte bei Route B vor der Knüpfung der Pyrophosphat-einheit, die Cycloaddition zwischen 2-Propin-1-phosphat **11** und den verschiedenen  $\beta$ -Glycosylaziden D/L-**106-108** erfolgen. Die so erhaltenen Triazol-modifizierten Phosphate D/L-**109-111** sollten dann jeweils in einer Kupplungsreaktion mit dem *cycloSal*-Triester **85** zu den Zielverbindungen D/L-**66-68** umgesetzt werden. Auf die einzelnen Syntheseschritte dieser Route wird im Folgenden näher eingegangen.

Die Click-Reaktionen des Propargylphosphates **11** mit den Glycosylaziden D/L-**106-108** erfolgten wie die CuAAC der Syntheseroute A mit einem Überschuss an dem entsprechenden Glycosylazid in einem *tert*-Butanol/Wasser-Gemisch. Nach entsprechender Aufarbeitung, säulenchromatographischer Reinigung und einer zur Entfernung von Kupfersalzen durchgeführten Ionenaustauschchromatographie konnten alle gewünschten Phosphate D/L-**109-111** erhalten werden (Abb. 65).

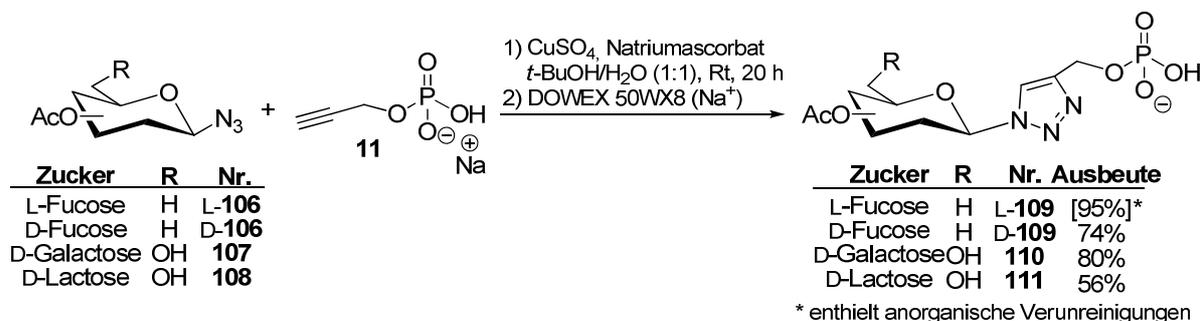


Abb. 62: Synthese Triazol-modifizierter Glycosylphosphate D/L-**109-111**.

Während die Phosphate D/L-**109-111** mit guten Ausbeuten zwischen 74% und 95% erhalten werden konnten, gelang die Umsetzung des Lactosylazids **108** aus bislang ungeklärten Gründen mit nur 56%. Neben dem Produkt konnten beide Edukte zum Teil reisoliert werden, so dass sie in weiteren Synthesen wiederverwendet werden konnten. Das modifizierte Phosphat der 6-Desoxy-L-galactose L-**109** konnte mit der höchsten Ausbeute von 95% dargestellt werden.<sup>130</sup> Anzumerken ist hier jedoch, dass das Produkt anorganische Salze enthielt, welche sich durch die durchgeführten Chromatographien nicht trennen

ließen und bei der Berechnung der Ausbeute nicht berücksichtigt werden konnten, da das Ausmaß der Verunreinigungen im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum nicht ersichtlich war. Da diese Salze jedoch keinen störenden Einfluss auf die darauffolgenden Reaktionen haben sollten, wurde das Phosphat ohne weitere Reinigungsschritte eingesetzt.

Die Produkte **D/L-109-111** wurden anhand der NMR- und IR-spektroskopischen und massenspektrometrischen Daten eindeutig identifiziert. Im  $^{31}\text{P-NMR}$ -Spektrum zeigte sich jeweils ein Singulett mit einer chemischen Verschiebung im Bereich zwischen von 0.6 und 3.9 ppm. Der erfolgreiche Ringschluss wurde mit Hilfe des  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums durch das charakteristische Singulett des Protons in der 5-Position des Triazolrings mit einer chemischen Verschiebung von 8.28 bis 8.36 ppm belegt (Abb. 63).

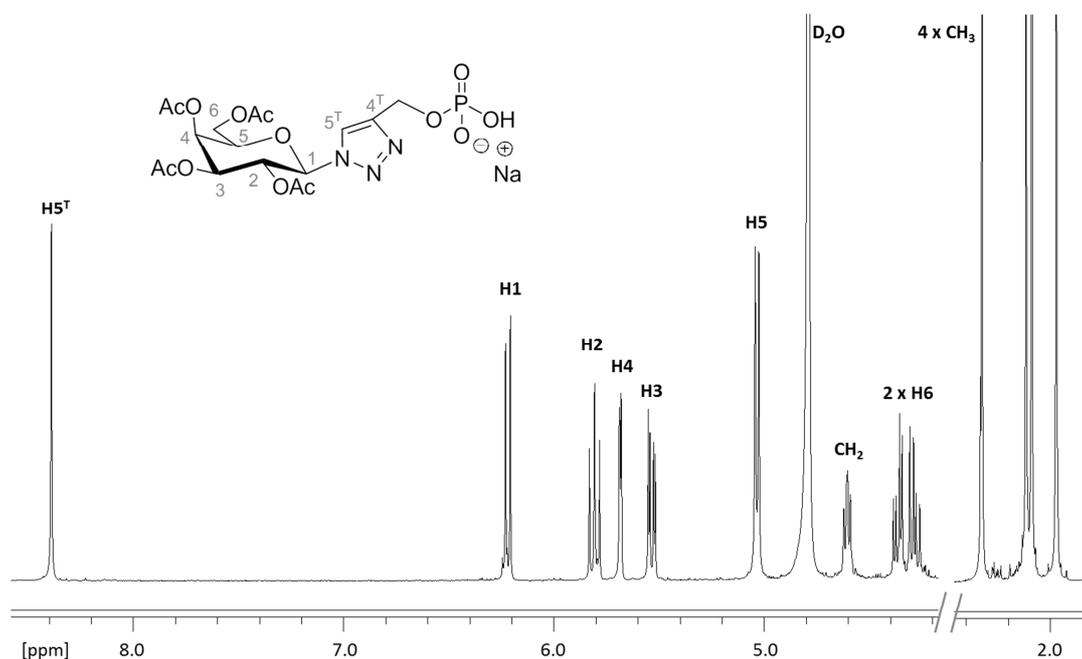
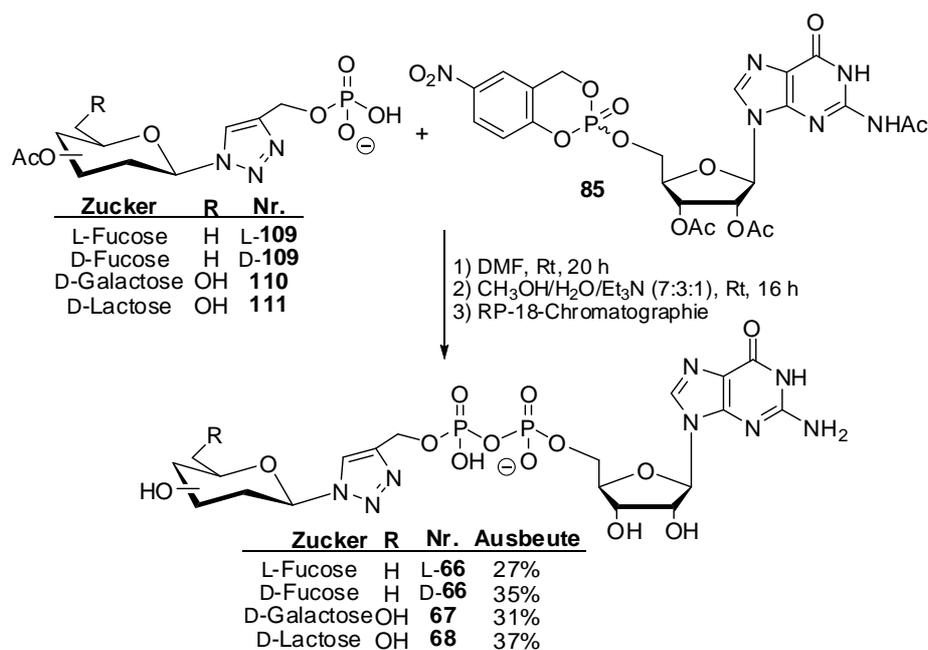


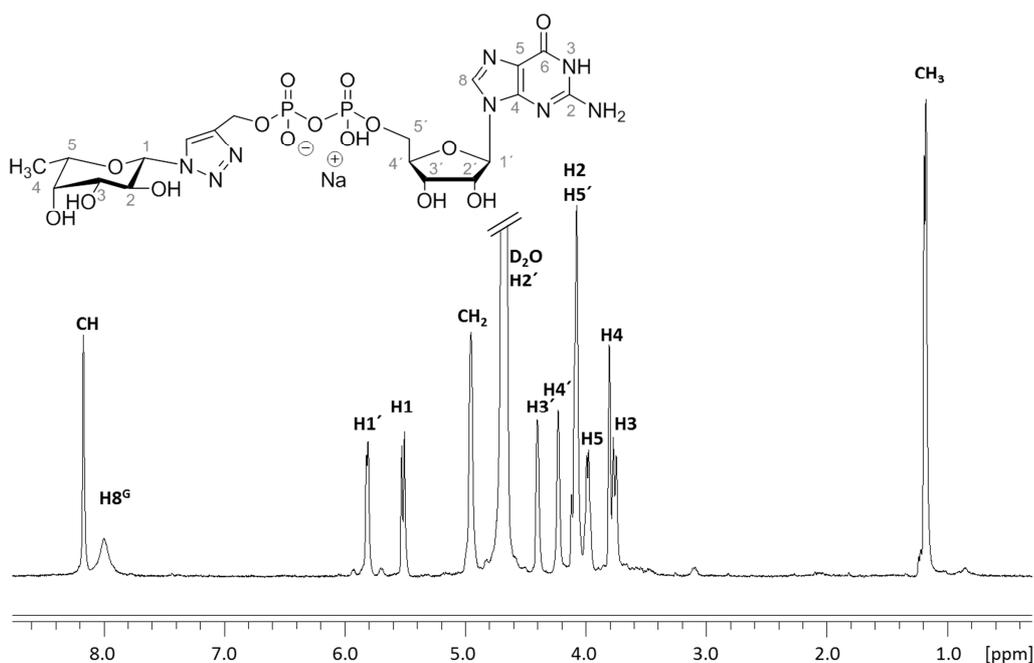
Abb. 63:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) von **110**.

Nach erfolgreicher Synthese der modifizierten Glycosylphosphate **D/L-109-111** konnte nun mit der Darstellung der Zielverbindungen **D/L-66-68** nach Weg B begonnen werden. Dazu wurde das jeweilige Phosphat mit *cycloSal-GMP* **85** nach dem etablierten Syntheseprotokoll (Kapitel 2.4.2.2) umgesetzt. Direkt im Anschluss an die Reaktion erfolgte die Abspaltung der Acetylschutzgruppen unter basischen Bedingungen. Nach RP-chromatographischer Reinigung wurden alle modifizierten GDP-Zucker **D/L-66-68** in Ausbeuten zwischen 27% und 37% erhalten (Abb. 64).



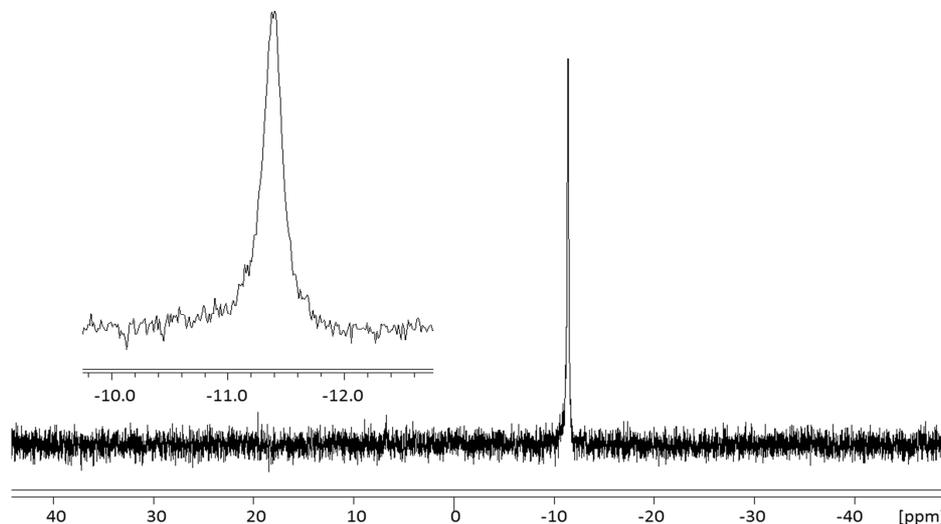
**Abb. 64: Synthesen Triazol-modifizierter GDP-Zucker D/L-66-68.**

Die erfolgreiche Darstellung der modifizierten GDP-Zucker D/L-66-68 wurde anhand der NMR-spektroskopischen und massenspektrometrischen Daten belegt. Dem in Abb. 65 gezeigten  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von L-66 können die vollständigen Signalsätze der Glycosyl-, Triazol- und Nucleosideinheit entnommen werden. Charakteristisch für die  $\beta$ -Konfiguration des gemischten Vollacetals ist die Aufspaltung des H1-Signals der Fucosyleinheit zum Dublett mit einer Kopplungskonstanten über drei Bindungen von 9.2 Hz.



**Abb. 65:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) von L-66.**

Obwohl für beide Phosphoratome der Pyrophosphatbrücke jeweils ein Dublett erwartet wurde, zeigte das  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum (Abb. 66), lediglich ein verbreitertes Signal bei einer chemischen Verschiebung von -11.4 ppm.



**Abb. 66:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum (162 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) von L-66.

Ein ähnliches Spektrum wurde auch für GDP-Alkin **12** (Abb. 59) erhalten. Vermutlich fallen die zwei im  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum erwarteten Signale der Phosphoratome auch in diesem Fall aufgrund der ähnlichen elektronischen Umgebung zusammen. Die in Abb. 59 erkennbare Signalverbreiterung könnte zum einen durch Wechselwirkungen der im Triazol-Ring vorhandenen  $^{14}\text{N}$ -Quadrupolkerne mit den  $^{31}\text{P}$ -Kernen und zum anderen durch die Anwesenheit von Spuren paramagnetischer Kupfer(II)-Ionen, welche durch die durchgeführte Ionenaustauschchromatographie nicht vollständig entfernt werden konnten, hervorgerufen worden sein. Auch in diesem Fall wurden deshalb zur eindeutigen Identifizierung der Produkte die IR-spektroskopischen und massenspektrometrischen Daten der Verbindungen herangezogen (Abb. 67).

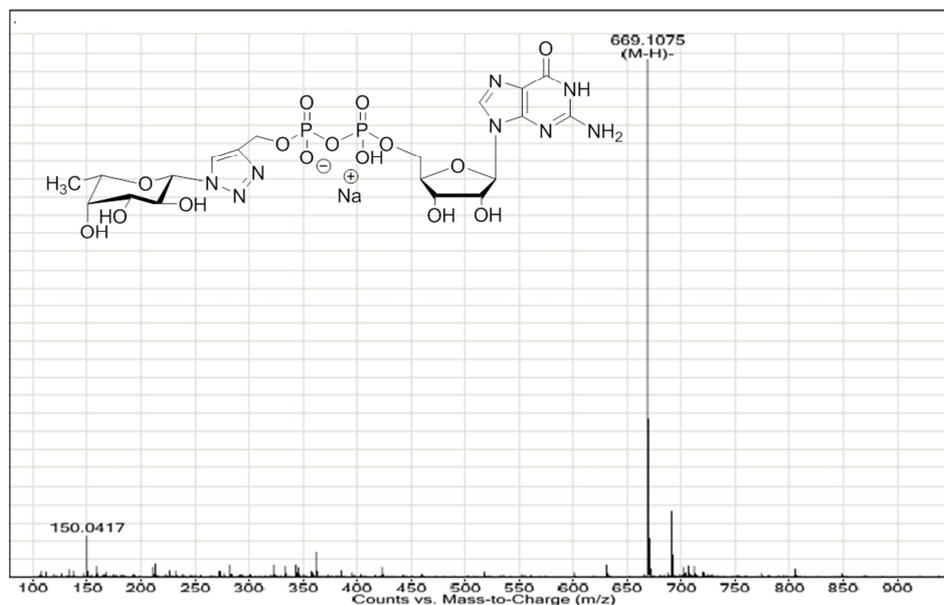


Abb. 67: ESI<sup>-</sup>MS-Spektrum von L-66.

Die bei den Synthesen der modifizierten GDP-Zucker D/L-**66-68** erzielten Ausbeuten stimmten in der Größenordnung mit denen überein, die bei der Synthese unmodifizierter GDP-Zucker mit Hilfe der *cycloSal*-Technik erreicht wurden (siehe Kapitel 4.1.3.4). Ein ausbeutelimittierender Einfluss der Modifikation auf die Reaktion konnte somit nicht festgestellt werden.

Somit konnte über den Syntheseweg B ein effizienter synthetischer Zugang zu den funktionalisierten GDP-Zuckern D/L-**66-68** erschlossen werden. Diese Verbindungen sollen im Rahmen einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von *Prof. U. Hahn*, Institut für Biochemie der Universität Hamburg, auf ihr Potential als Inhibitoren von Glycosyltransferasen untersucht werden.

Dieses Potential ergibt sich aus der Kombination von struktureller Modifikation und Ähnlichkeit, welche die Verbindungen im Vergleich zu den natürlichen Substraten dieser Enzyme aufweisen: Einerseits weisen die synthetisierten GDP-Zucker-Derivate D/L-**66-68** im Vergleich zu den natürlichen Substraten einige strukturelle Unterschiede auf: So besitzen sie durch die Triazol-Verbrückung einen deutlich größeren Abstand zwischen der Glycosyl- und der Pyrophosphat-Einheit. Zudem wurde das glycosidische Vollacetal durch ein N,O-Acetal ersetzt. Durch diese Modifikationen scheint eine enzymatische Glycosylübertragung erschwert und eine Inhibition der Enzymaktivität denkbar.

Andererseits enthalten die triazol-modifizierten GDP-Zucker-Derivate D/L-**66-68** alle Strukturmerkmale der natürlichen Zuckernucleotide (Zucker, GDP-Einheit), welche eine

Erkennung durch das Enzym ermöglichen. Da der Hauptanteil der Bindungsenergie der Fucosyltransferasen auf Wechselwirkungen mit der GDP-Einheit des Donorsubstrats zurückzuführen ist,<sup>59-61</sup> ist außerdem eine gewisse Bindungsaffinität zwischen den Derivaten und dem Enzym zu erwarten. In der Zelle wäre aufgrund der großen Ähnlichkeit zum natürlichen Substrat zudem ein aktiver Transport der Verbindungen D/L-**66-68** zu den im Endoplasmatischen Retikulum und Golgi lokalisierten Glycosyltransferasen durch die Zuckernucleotid-Transporter<sup>137</sup> denkbar.

## 4.3 Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose

### 4.3.1 Synthesestrategie

Für die Darstellung von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose  $\alpha/\beta$ -**45** wurden zum einen die anomerensreinen 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosylphosphate  $\alpha/\beta$ -**69** und zum anderen das 5-Nitro-*cycloSal*-3'-*O*-acetylthymidinmonophosphat **70** benötigt. Während die Darstellung des *cycloSal*-Triesters **70** durch Umsetzung von 5-Nitro-*cycloSal*-chlorphosphit **86** und dem selektiv acetylierten Thymidin **115** von S. Warnecke bereits ausführlich erprobt und optimiert wurde,<sup>87,138</sup> sollte zu den Glycosylphosphaten  $\alpha/\beta$ -**69** hingegen erstmalig ein synthetischer Zugang eröffnet werden.

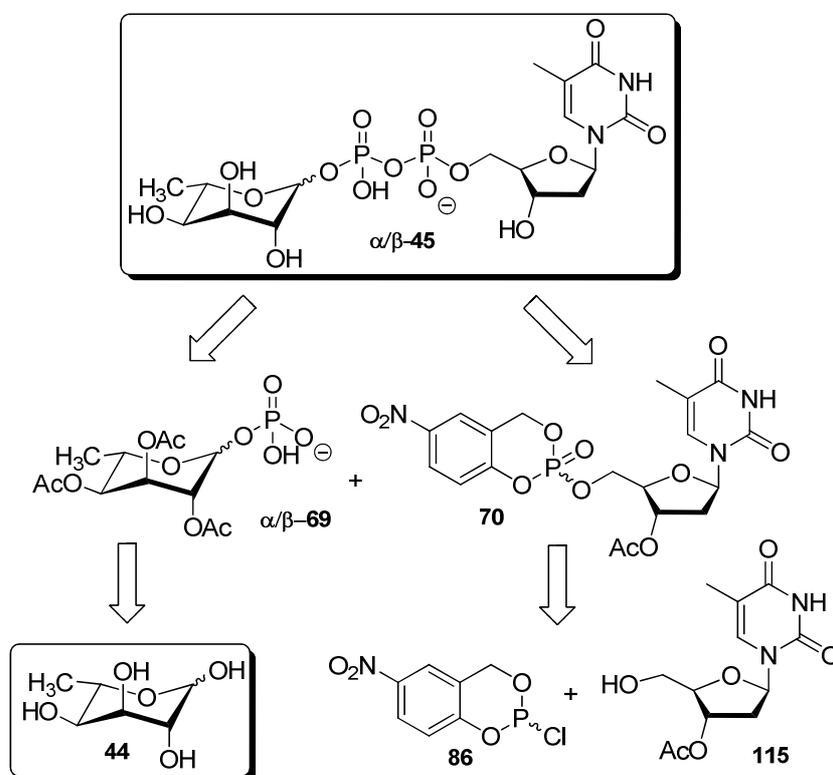
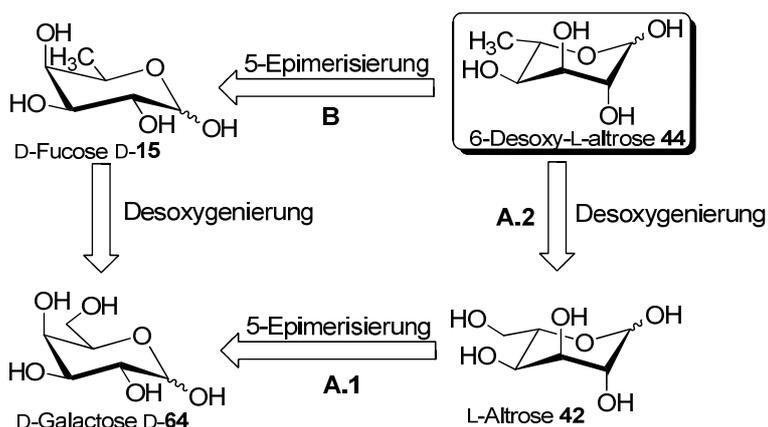


Abb. 68: Synthesestrategie zur Darstellung von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose  $\alpha/\beta$ -**45**.

Die 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosylphosphate  $\alpha/\beta$ -**69** sollten durch Phosphorylierung von 6-Desoxy-L-altrose **44** erhalten werden. Da es sich bei diesem Desoxyzucker um einen kommerziell nicht erhältlichen Vertreter der L-Hexosen handelt, konnte er nicht als Ausgangsverbindung bei der Darstellung der Glycosylphosphate dienen, sondern musste zunächst synthetisiert werden.

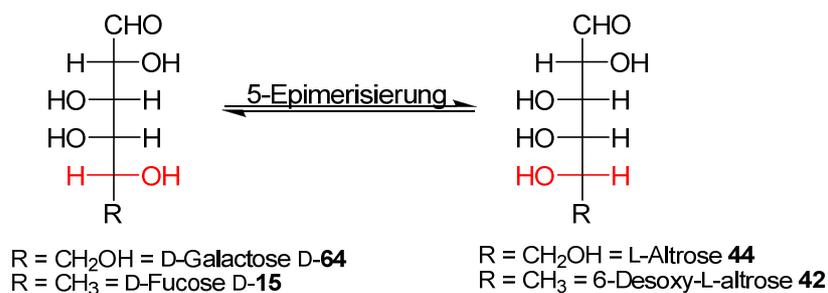
Wie bereits in Kapitel 2.4.3 beschrieben, sind bislang nur sehr wenige Methoden zur Synthese von 6-Desoxy-L-altrose **44** bekannt.<sup>112,114</sup> Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit bestand deshalb in der Entwicklung einer neuen Synthesestrategie zur Darstellung dieses seltenen L-Zuckers **44**. Um einen Zugang im Gramm-Maßstab zu ermöglichen, sollte die 5-Epimerisierung der kostengünstigen D-Galactose D-**64** bzw. der 6-Desoxy-D-galactose (D-Fucose) D-**15** den Schlüsselschritt der Synthese bilden.

Es sollten zwei verschiedene Reaktionssequenzen untersucht werden (Abb. 69). Zum einen sollte die 5-Epimerisierung von D-Galactose D-**64** zunächst zur L-Altrose **42** führen, welche im nächsten Schritt über eine Desoxygenierung in ihr 6-Desoxy-Derivat **44** überführt werden sollte (Abb. 69: Weg A). Zum anderen sollte eine 5-Epimerisierung von 6-Desoxy-D-galactose D-**15** den gewünschten Zucker **44** liefern (Abb. 69: Weg B), so dass auf eine Desoxygenierung verzichtet werden könnte. Während die erste Abfolge einen Zugang zu zwei verschiedenen seltenen Zuckern der L-Altro-Serie (**42** und **44**) bieten würde, bestünde der Vorteil des zweiten Weges in der geringen Anzahl von Reaktionsschritten.



**Abb. 69: Synthesestrategien zur Darstellung von 6-Desoxy-L-altrose **44**.**

Eine zuverlässige Methode für die Umkehrung der Konfiguration von Alkoholen ist die Mitsunobu-Reaktion, in der eine Substitution der Hydroxyfunktion durch ein Nucleophil (z.B. eine deprotonierte Säure) unter milden Bedingungen über den kombinierten Einsatz eines oxidierenden Azo- und eines reduzierenden Phosphinreagenzes erzielt wird.<sup>139,140</sup> Um eine Inversion der Konfiguration in der C5-Position von D-Galactose D-**64** bzw. D-Fucose D-**15** zu ermöglichen, ist es nötig die Glycopyranosen durch entsprechende Modifikation in ihre offenkettige Form zu überführen (Abb. 70). Erst nach erfolgreicher Epimerisierung würde im Anschluss der Halbacetal-Ringschluss zur entsprechenden L-Altropyranose **42** bzw. **44** erfolgen.



**Abb. 70: 5-Epimerisierung von D-Galactose D-64 und dem 6-Desoxy-Derivat D-15.**

In den folgenden Kapiteln werden beide Reaktionssequenzen zur Darstellung von 6-Desoxy-L-altrose **44** (Abb. 69: Weg A und B) vorgestellt.

### 4.3.2 Syntheseweg A.1: Synthese von L-Altrose

Syntheseroute A beinhaltet die 5-Epimerisierung von D-Galactose D-**64** mit einer anschließenden Desoxygenierung des erhaltenen L-Altrose-Derivates **42**. Dieses Konzept wurde bereits von *S. Wendicke* in ihrer Dissertation begonnen, scheiterte jedoch aus ungeklärten Gründen an der entscheidenden Mitsunobu-Reaktion.<sup>87</sup> Um ein generelles Misslingen der Synthesestrategie ausschließen zu können, wurden die einzelnen Schritte dieser Reaktionssequenz in eigenen Vorarbeiten nochmals untersucht, wobei ein Zugang zur 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-L-altropyranose **123** eröffnet werden konnte.<sup>141</sup> Da einige Reaktionen im Laufe der vorliegenden Arbeit optimiert wurden und die bisherige Syntheseroute für die Darstellung der 6-Desoxy-L-altrose **44** erweitert werden musste, werden die einzelnen Syntheseschritte der Vollständigkeit halber im Folgenden vorgestellt.

Um eine Ringöffnung des Halbacetals der D-Galactose D-**64** erreichen zu können, mussten zunächst alle freien Hydroxygruppen entsprechend selektiv blockiert werden. Dazu wurde D-**64** über eine Kombination der Methoden von *Marek et al.* und *Nüchter et al.* durch den Einsatz eines protonierten Ionenaustauschers in einer Mikrowellen-unterstützten Reaktion mit Methanol in das entsprechende Methylgalactosid überführt.<sup>142,143</sup> Schon nach einer Reaktionszeit von 20 Minuten konnte ein quantitativer Umsatz von D-Galactose D-**64** beobachtet werden (DC-Kontrolle). Das Produkt wurde nach einfacher Filtration und Entfernen des Lösungsmittels  $\alpha$ -anomerenrein und in hoher Reinheit erhalten, so dass es ohne weitere Reinigungsschritte in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt werden konnte (Abb. 71).

Der nächste Schritt bestand in der Blockierung der übrigen Hydroxygruppen des Methylgalactosids als Benzylether, welche den unterschiedlichen Reaktionsbedingungen der Folgereaktionen standhalten sollten. Dazu wurde das Methyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid

zunächst mit Hilfe von Natriumhydrid deprotoniert und anschließend durch Reaktion mit Benzylbromid mit einer Ausbeute von 93% über 3 Stufen in das vollständig geschützte Methylgalactosid **116** überführt. Die darauffolgende Spaltung des Methylglycosids unter sauren Bedingungen lieferte die selektiv geschützte Galactopyranose **117** mit einer Ausbeute von 87% (Abb. 71).

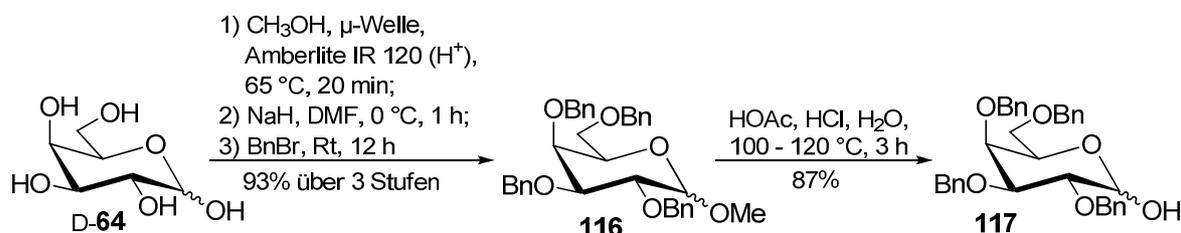


Abb. 71: Synthese der selektiv geschützten Galactopyranose **117**.

Die zur Epimerisierung notwendige Ringöffnung von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **117** konnte durch Behandlung mit Ethanthiol unter stark sauren Bedingungen erzielt werden.<sup>144</sup> Neben dem gewünschten Diethyl-dithioacetal **118**, welches nach chromatographischer Trennung des erhaltenen Reaktionsgemisches mit einer Ausbeute von 58% als Hauptprodukt erhalten wurde, konnte das Thioglycosid **119** mit einer Ausbeute von 34% isoliert werden (Abb. 72). Letzteres stellte das Intermediat der Dithioacetalbildung dar und konnte somit unter analogen Bedingungen wiederverwendet werden.

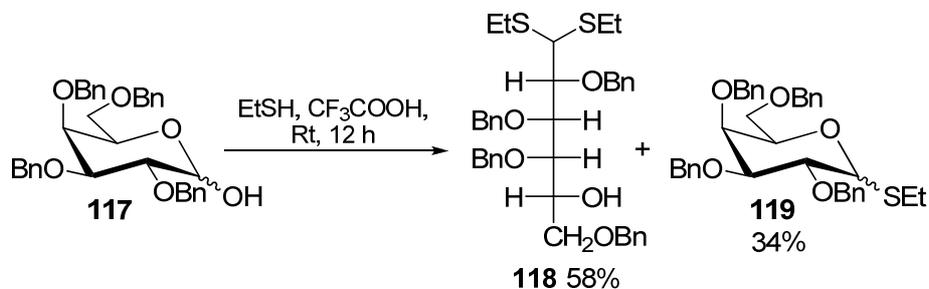


Abb. 72: Synthese des Diethyl-dithioacetals **118**.

Nachdem D-Galactose **D-64** erfolgreich in das offenkettige Dithioacetal **118** überführt wurde, konnte nun die Umkehrung der Konfiguration der C5-Hydroxygruppe vorgenommen werden. Diese Inversion sollte mit Hilfe der Mitsunobu-Reaktion unter Standardbedingungen erzielt werden. Dazu wurde das Dithioacetal **118** mit Benzoesäure sowie einem zuvor hergestellten Betain-Addukt aus Triphenylphosphin und DIAD umgesetzt. Das benzylierte Dithioacetal **120** konnte nach Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung mit einer Ausbeute von 71% erhalten werden. Neben dem Produkt konnten geringe Mengen des eingesetzten Dithioacetals **118** (20%) reisoliert werden.

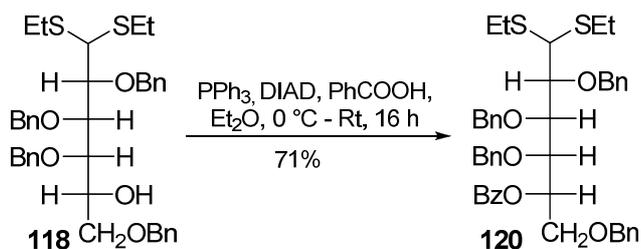


Abb. 73: Mitsunobu-Inversion am Dithioacetal **120**.

Aufgrund der acyclischen Struktur von **120** war eine exakte Bestimmung der Konfiguration des C5-Atoms an dieser Stelle nicht möglich. Der Erfolg der 5-Epimerisierung konnte erst nach dem darauffolgenden Ringschluss mit Hilfe von NMR-spektroskopischen Daten beurteilt werden. Dazu sollte das Dithioacetal **120** zunächst in das entsprechende Dimethylacetal **121** überführt werden. Spaltungen von Thioacetalen werden im Allgemeinen in Anwesenheit von Quecksilber(II)-Salzen beobachtet, welche das abgespaltene Thiol durch Bildung starker Komplexe aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernen. Dementsprechend führte die Reaktion von Dithioacetal **120** mit Quecksilber(II)-chlorid und -oxid in Methanol zur Bildung des Dimethylacetals **121** in einer sehr hohen Ausbeute von 95% (Abb. 74).<sup>145</sup>

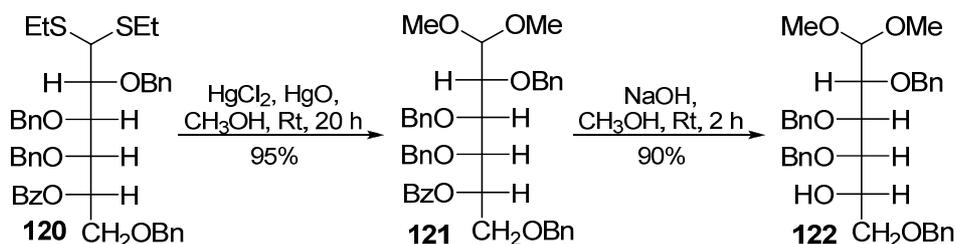
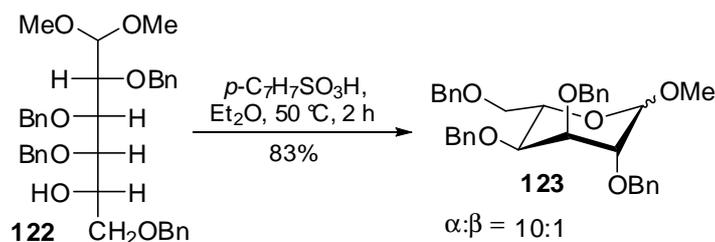


Abb. 74: Darstellung von Dimethylacetal **122**.

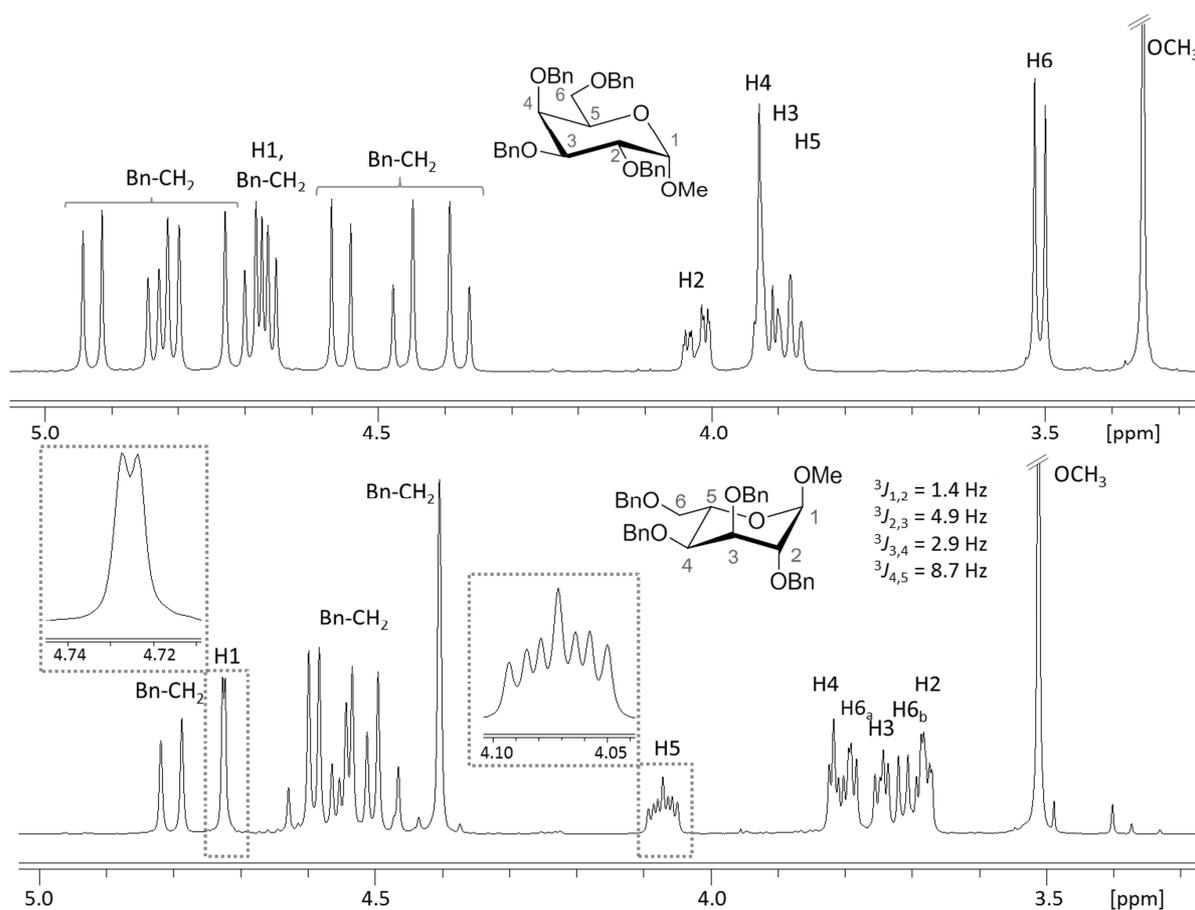
Um einen Ringschluss zu ermöglichen, wurde der Benzylester am C5-Atom des Dimethylacetals **121** anschließend hydrolytisch unter Zugabe einer methanolischen Natriumhydroxidlösung gespalten, wodurch das Dimethylacetal **122** in einer Ausbeute von 90% erhalten wurde.

Im Anschluss erfolgte in einer säurekatalysierten Umacetalisierung nach *Gent et al.* der Ringschluss zum Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **123** mit einer Ausbeute von 83% (Abb. 75).<sup>145</sup> Das Produkt wurde als Gemisch seiner Anomere in einem Verhältnis von  $\alpha:\beta \approx 10:1$  erhalten, welche größtenteils säulenchromatographisch voneinander getrennt werden konnten.



**Abb. 75: Synthese von Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **123**.**

Die erfolgreiche 5-Epimerisierung von Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **116** zum entsprechenden L-Altrose-Derivat **123** wurde NMR-spektroskopisch verifiziert. Vergleicht man die in Abb. 76 gezeigten Ausschnitte der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren beider anomerenreinen Epimere **116** und **123**, so ist deutlich zu erkennen, dass die meisten Signale nach der Konfigurationsänderung des C5-Atoms und dem Wechsel von der  $^4\text{C}_1$ - in die  $^1\text{C}_4$ -Konformation sowohl eine veränderte chemische Verschiebung als auch ein verändertes Aufspaltungsmuster aufwiesen.



**Abb. 76: Vergleich der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) von **116** (oben) und **123** (unten).**

Als Bestätigung für eine erfolgreiche Inversion diene vor allem die große vicinale Kopplung zwischen den beiden axialen Protonen H4 und H5 des Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -L-altropyranosids **123** ( $^3J_{4,5} = 8.7$  Hz), welches in der  $^1C_4$ -Konformation vorlag. Charakteristisch für die  $\alpha$ -Konfiguration des anomeren Kohlenstoffatoms ist die Aufspaltung des H1-Signals zum Dublett mit einer kleinen Kopplungskonstanten von  $^3J_{1,2} = 1.4$  Hz.

Über den ersten Teil des Synthesewegs A ist es somit gelungen Methyl-2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-galactopyranosid **116** in einer fünfstufigen Reaktionsabfolge unter Inversion der Konfiguration des C5-Atoms mit einer Gesamtausbeute von 25% in das entsprechende L-Altrose-Derivat **123** zu überführen.

Um einen Vergleich der eigenständig entwickelten Synthesestrategie A mit einer literaturbekannten Methode zur Darstellung von L-Altrose **42** vornehmen zu können, sollte parallel zu der Erprobung der Reaktionssequenz A, zusätzlich ein bereits etabliertes Synthesekonzept verfolgt werden. Die einzige bislang veröffentlichte Synthese von **42**, welche ebenfalls auf der Epimerisierung eines D-Zuckers beruht, wurde von *Hung et al.* entwickelt.<sup>105,146</sup>

#### 4.3.2.1 Synthese von L-Altrose nach *Hung et al.*

Im ersten Schritt wurde die kommerziell erhältliche 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucofuranose **46** unter Neuordnung der Isopropyliden-Acetale in das primäre Bromid **124** überführt.<sup>146,147</sup> Dabei wurde zunächst aus Triphenylphosphin und *N*-Bromsuccinimid ein Phosphoniumsalz gebildet, welches anschließend in einer Reaktion mit dem Alkohol **46** zu einem Alkoxyphosphonium-Intermediat umgesetzt wurde. Beim Erhitzen der Reaktionslösung wurde unter Abspaltung von Triphenylphosphinoxid das Alkylbromid **124** mit einer Ausbeute von 70% gebildet. Im Anschluss erfolgte unter Zusatz von DBU die Eliminierung des zuvor eingeführten Halogenids, wobei das Olefin **125** in einer Ausbeute von 61% erhalten wurde. Anders als in der Literatur beschrieben, wurde die Reaktion nicht bei Raumtemperatur sondern unter Erhitzen in einem Mikrowellengerät durchgeführt. Diese Maßnahme führte zu einer Verkürzung der Reaktionszeit, eine Steigerung der Ausbeute konnte im Vergleich zur Literatur (84%) nicht erzielt werden. Die folgende stereoselektive Hydroborierung des Alkens **125** lieferte nach einer oxidativen Aufarbeitung 1,2:4,5-Di-O-isopropyliden- $\beta$ -L-idofuranose **126** in einer guten Ausbeute von 85%.<sup>146</sup>

Als nächstes wurde eine orthogonale Umordnung der Isopropyliden-Schutzgruppen durchgeführt. Dazu wurden die Acetale unter sauren Bedingungen zunächst partiell gespalten und anschließend in einer säurekatalysierten Reaktion mit Dimethoxypropan und Aceton unter Ausbildung fünfgliedriger Acetale neu geknüpft. Neben dem gewünschten Produkt **47**, welches in einer Ausbeute von 49% gebildet wurde, wurde, wie in der Literatur beschrieben,

eine Mischung aus nicht umgesetzten Edukt und einem vollständig acetalisierten Nebenprodukt erhalten, welche unter analogen Bedingungen wiederverwendet werden konnte.<sup>105</sup>

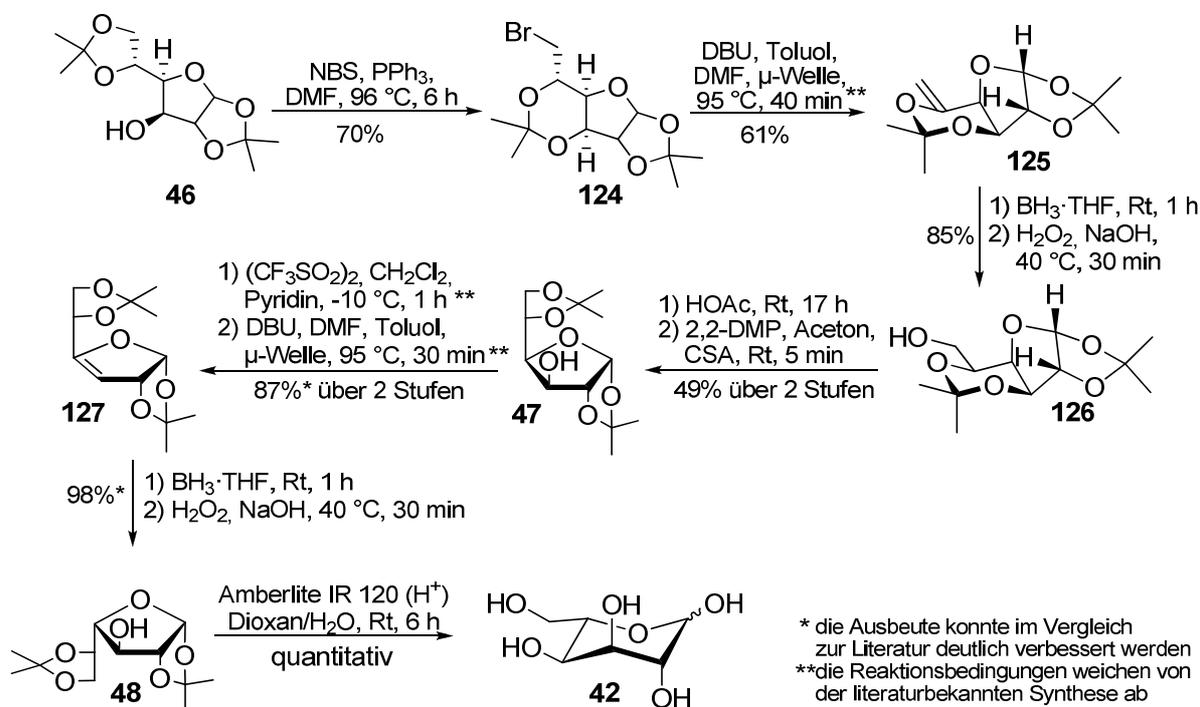


Abb. 77: Angepasste Synthese von L-Altrose 42 nach *Hung et al.*

Die folgende C4-Epimerisierung der acetalisierten L-Idose **47** sollte über eine Dehydratisierung zum Alken **127** erfolgen, welches anschließend in einer stereoselektiven Hydroborierung mit oxidativer Aufarbeitung in das entsprechende L-Altrose-Derivat **48** überführt werden sollte. Um eine Eliminierung zu ermöglichen, musste die Hydroxygruppe in **47** zunächst in eine bessere Austrittsgruppe überführt werden. Nach dem von *Hung et al.* entwickelten Syntheseprotokoll sollte 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- $\beta$ -L-idofuranose **47** dazu durch Reaktion mit Diethylaminoschwefeltrifluorid zum entsprechenden Fluorid umgesetzt werden, welches anschließend in einer Kugelrohrdestillation durch eine Dehydrohalogenierung in das Alken **127** überführt werden sollte.<sup>105</sup> Da das gewünschte Produkt unter diesen Reaktionsbedingungen nicht erhalten werden konnte, wurde im nächsten Ansatz versucht, eine Dehydratisierung über das entsprechende Triflat zu bewirken. Im ersten Schritt erfolgte dazu die Umsetzung von 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- $\beta$ -L-idofuranose **47** mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid bei tiefer Temperatur in Pyridin. Nach vollständigem Verbrauch des Eduktes wurde das nach der Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt aufgrund seiner Hydrolyseempfindlichkeit keiner weiteren Reinigung unterzogen und direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt. Die Eliminierung der zuvor eingeführten Austrittsgruppe

erfolgte basenkatalysiert (DBU) in einer Mischung aus DMF und Toluol. Die Reaktion wurde unter Erhitzen in einem Mikrowellengerät durchgeführt, so dass bereits nach einer Reaktionszeit von 30 Minuten ein nahezu vollständiger Umsatz des Triflats erzielt wurde. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Alken **127** in einer Ausbeute von 87% erhalten werden. Im Vergleich zur literaturbekannten Synthese (51%) konnten die Reaktionsbedingungen somit unter einer deutlichen Erhöhung der Ausbeute durchgeführt werden.

Im Anschluss erfolgte die Hydroborierung von **127**, wobei die gewünschte 1,2:5,6-Di-*O*-isopropyliden- $\beta$ -L-altrofanose **48** nach einer oxidativen Aufarbeitung in einer sehr hohen Ausbeute von 98% erhalten wurde. Im Vergleich zur Literatur konnte somit auch in diesem Fall eine Steigerung der Ausbeute erzielt werden.<sup>105</sup> Der letzte Schritt der Syntheseroute bestand in der Spaltung der *Isopropylidenacetale*, welche unter sauren Bedingungen quantitativ unter Bildung der gewünschten L-Altrose **42** verlief.<sup>105</sup>

Somit konnte L-Altrose **42** nach der von *Hung et al.* entwickelten Methode in einer neunstufigen Synthese über eine zweifache Epimerisierung ausgehend von 1,2:5,6-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucofuranose **46** in einer Gesamtausbeute von 15% dargestellt werden. Mit Ausnahme der Dehydratisierung von 1,2:5,6-Di-*O*-isopropyliden- $\beta$ -L-idofuranose **47** verliefen alle Reaktionen dabei wie in der Literatur beschrieben. Über die Variation der Austrittsgruppe (OTf anstatt F) und den Einsatz eines Mikrowellengeräts konnte die Synthese von **127** entscheidend verbessert und somit die Effizienz der gesamten Route gesteigert werden.

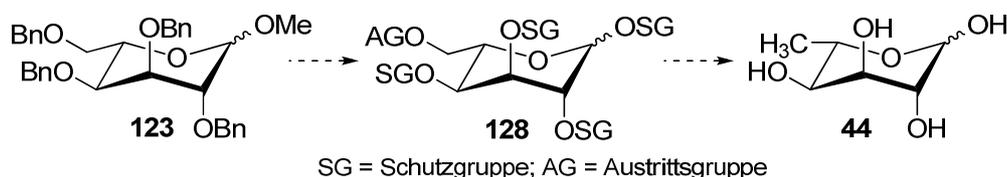
Obwohl beide zur Synthese von L-Altrose **42** erprobten Strategien auf dem Prinzip der Epimerisierung eines D-Zuckers beruhen, weisen sie im Vergleich einige Unterschiede auf: So wird die Inversion der Konfiguration bei Syntheseweg A über eine Mitsunobu-Reaktion erzielt, wohingegen sich das Verfahren nach *Hung et al.* einer Kombination aus Eliminierung und Hydroborierung unter Bildung des jeweiligen Anti-Markownikow-Produktes bedient. Während die Epimerisierung nach dem eigenständig entwickelten Synthesekonzept über die offenkettige Form der D-Zucker verläuft, gelingt die Darstellung von L-Altrose **42** nach der von *Hung et al.* entwickelten Methode über Epimerisierungen von selektiv acetalisierten Glycofuranosen **46** bzw. **47**. Um eine Ringöffnung zu ermöglichen, ist die Synthesestrategie A auf die Verwendung unterschiedlicher Schutzgruppen für die Hydroxygruppen angewiesen. Da *Isopropyliden-Acetale* durch säurekatalysierte Umacetalisierungen eine Freisetzung der jeweils benötigten Hydroxygruppe ermöglichen, kann bei der literaturbekannten Synthese hingegen auf den Einsatz weiterer Schutzgruppen verzichtet werden. Während sich die Schlüsselschritte der Syntheseroute A (von **116** zu

**123**) auf sechs Stufen beschränken, besteht die Synthese nach *Hung et al.* (von **46** zu **42**) aus neun Schritten. Vergleicht man jedoch beide Synthesen ausgehend von dem jeweiligen D-Zucker, D-Glucose bzw. D-Galactose **D-64**, erstreckt sich die Darstellung von L-Altrose **42** in beiden Fällen aufgrund der unterschiedlich komplexen Schutzgruppenstrategien über eine gleiche Anzahl von Reaktionsschritten.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass es über den Syntheseweg A durch eine 5-Epimerisierung von D-Galactose **D-64** erfolgreich gelungen ist, einen neuen, effizienten Zugang zum Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -L-altropyranosid **123** zu erschliessen. Im Vergleich zu der Synthese von **42** nach *Hung et al.* stellt die hier entwickelte Methode eine kongeniale Alternative zur Darstellung von L-Altrose **42** im Gramm-Maßstab dar.

### 4.3.3 Syntheseweg A.2: Versuche zur 6-Desoxygenierung von L-Altrose

Mit der Darstellung von Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **123** konnte der erste Teil des Synthesewegs A erfolgreich erschlossen werden. Über eine Desoxygenierung sollte **123** im Anschluss in das entsprechende 6-Desoxy-Derivat **44** überführt werden. Dazu sollte eine Schutzgruppenstrategie entwickelt werden, welche eine Blockierung der sekundären Hydroxygruppen erlauben würde. Die primäre Hydroxygruppe sollte anschließend in eine bessere Austrittsgruppe überführt werden, welche die Reduktion zur 6-Desoxy-L-altrose **44** erleichtern sollte (Abb. 78).



**Abb. 78: Synthesestrategie zur Desoxygenierung von 44.**

Zunächst sollten die Benzylether gegen andere Schutzgruppen ausgetauscht werden, welche eine selektive Blockierung der Hydroxygruppen ermöglichen würden.

#### Versuche zur De-O-benzylierung

Eine der am häufigsten verwendeten Methoden zur Spaltung von Benzylethern ist die katalytische Hydrogenolyse unter Bildung des entsprechenden Alkohols und Toluol. Als Katalysator findet dabei meist Palladium an Aktivkohle Verwendung, da dieser sich durch eine erhöhte Aktivität sowie eine geringe Tendenz zur Reduktion des aromatischen Systems auszeichnet.

Im ersten Ansatz wurde Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **123** unter leichtem Wasserstoff-Überdruck mit Palladium an Aktivkohle in Methanol umgesetzt (Abb. 79: Reaktion 1). Bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung des Reaktionsverlaufs wurde in geringem Maße eine schrittweise Abspaltung der Schutzgruppen beobachtet. Nachdem die Suspension 20 Tage unter wiederholter Zugabe des Katalysators bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde die Reaktion abgebrochen und das erhaltene Produktgemisch säulenchromatographisch an RP-Kieselgel getrennt. Hierbei wurden Gemische partiell benzylierter Zucker erhalten, welche auch nach wiederholter Chromatographie nicht separiert werden konnten. Das gewünschte Methyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **129** konnte nicht isoliert werden.

Der zweite Versuch zur vollständigen De-O-benzylierung von **123** folgte abermals dem Prinzip der katalytischen Hydrierung, die Durchführung erfolgte dabei jedoch nicht in einer Wasserstoff-Atmosphäre sondern unter Zusatz von Ameisensäure als Wasserstoff-Donor (Abb. 79: Reaktion 2).<sup>148</sup> Auch in diesem Fall konnte dünnschichtchromatographisch eine schrittweise Spaltung der Benzylether beobachtet werden. Diese verlief im Gegensatz zum ersten Versuch jedoch viel langsamer und wurde ebenfalls nach 20 Tagen abgebrochen. Anhand der NMR-spektroskopischen Daten des erhaltenen Rohgemisches wurde eine nahezu quantitative Spaltung des Methylglycosids ersichtlich, die Spaltung der Benzylether verlief jedoch unselektiv und unvollständig. Es wurde auf eine chromatographische Trennung verzichtet und das erhaltene Produktgemisch nach entsprechender Aufarbeitung für weitere De-O-benzylierungsversuche verwahrt.

In einer dritten Testreaktion wurde Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **123** mit Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran umgesetzt (Abb. 79: Reaktion 3).<sup>149</sup> Auch in diesem Fall verlief die De-O-benzylierung durch das komplexe Hydrid weder gleichmäßig noch quantitativ (DC-Kontrolle). Da nach ca. drei Stunden kein Umsatz mehr beobachtet werden konnte, wurden weitere Mengen Lithiumaluminiumhydrid hinzugegeben. Da der Umsatz dadurch nicht erhöht werden konnte, wurde die Reaktion nach insgesamt 16 Stunden abgebrochen. Das gewünschte Produkt **129** konnte nach chromatographischer Trennung des Reaktionsgemisches nicht erhalten werden.

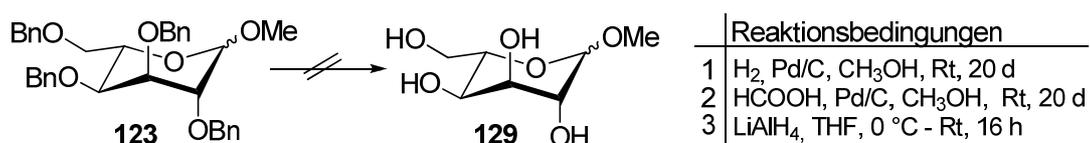


Abb. 79: Versuche zur De-O-benzylierung von **123**.

Um einem unnötigen Verbrauch des synthetisierten Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosids **123** für weitere Untersuchungen zur Spaltung der Benzylether entgegenzuwirken, wurden die nun folgenden Versuche zur Ermittlung geeigneter De-O-benzylierungsbedingungen zunächst mit Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **116** durchgeführt.

Neben einer hydrogenolytischen Spaltung besteht eine weitere Möglichkeit zur Abspaltung von Benzylschutzgruppen im Einsatz von Lewis-Säuren. So gelang *Rodebaugh et al.* die vollständige De-O-benzylierung sowohl diverser benzylierter Methylglycoside als auch komplexer Oligosaccharide durch Reaktion mit Eisen(III)chlorid. Nach einer Reaktionszeit von fünf Stunden wurden die Produkte dabei in Ausbeuten bis zu 85% erhalten.<sup>150</sup>

Die Umsetzung von Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **116** mit Eisen(III)chlorid wurde unter analogen Bedingungen durchgeführt. Da nach sechs Stunden und wiederholter Zugabe der Lewis-Säure dünnschichtchromatographisch nahezu kein Umsatz beobachtet werden konnte, wurde die Reaktion abgebrochen und das erhaltene Produktgemisch verworfen.

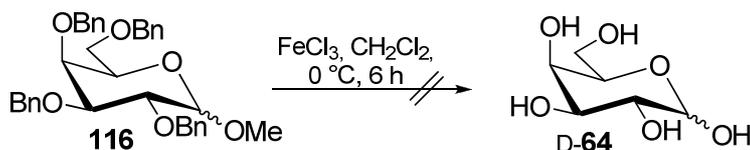


Abb. 80: Versuch zur De-O-benzylierung von **116** durch Eisen(III)chlorid.

Da es sich bei Eisen(III)chlorid um eine mäßig starke Lewis-Säure handelt, sollte der nächste Versuch unter drastischeren Bedingungen durchgeführt werden. Dazu wurde Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **116** mit einem Bortrifluorid-Diethylether-Komplex bei 0 °C umgesetzt (Abb. 81). Die Reaktion erfolgte in Essigsäureanhydrid, wodurch ein direkter Austausch der bisherigen Schutzgruppen gegen Acetylgruppen ermöglicht werden sollte. Diese würden die Polarität des erhaltenen Produktes im Vergleich zur D-Galactose **D-64** deutlich erniedrigen und somit eine chromatographische Reinigung an Kieselgel mit unpolaren Eluenten erleichtern.

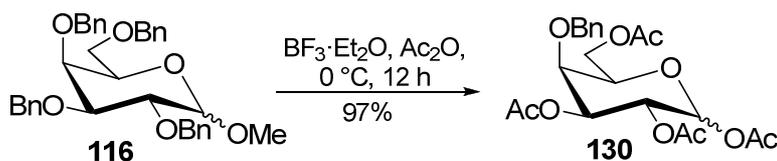
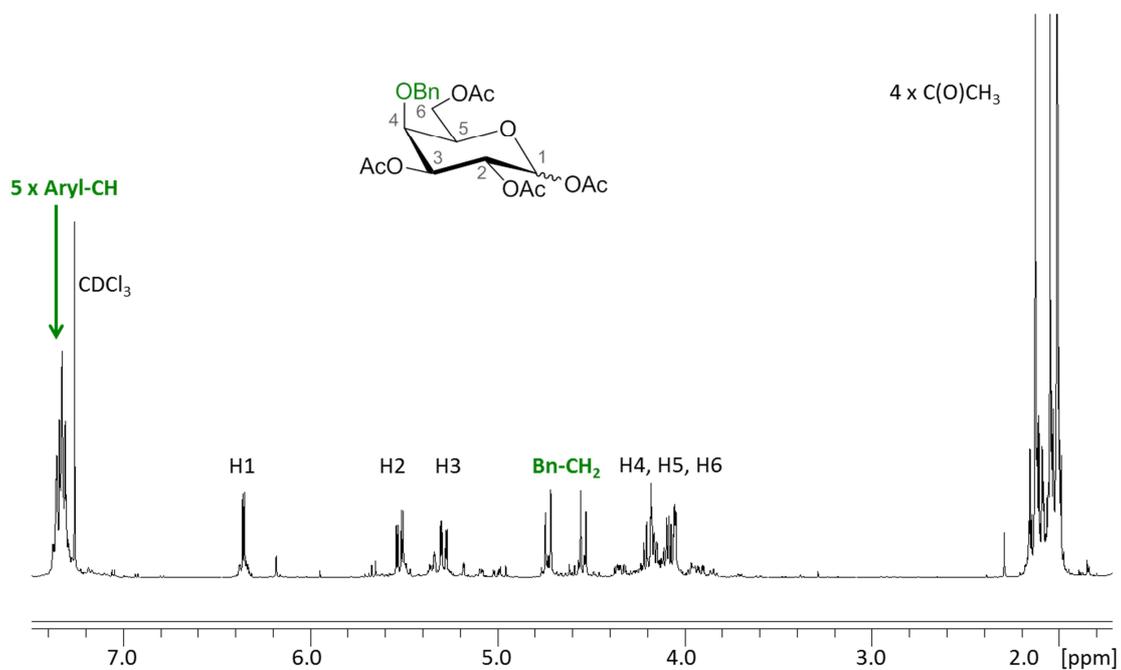
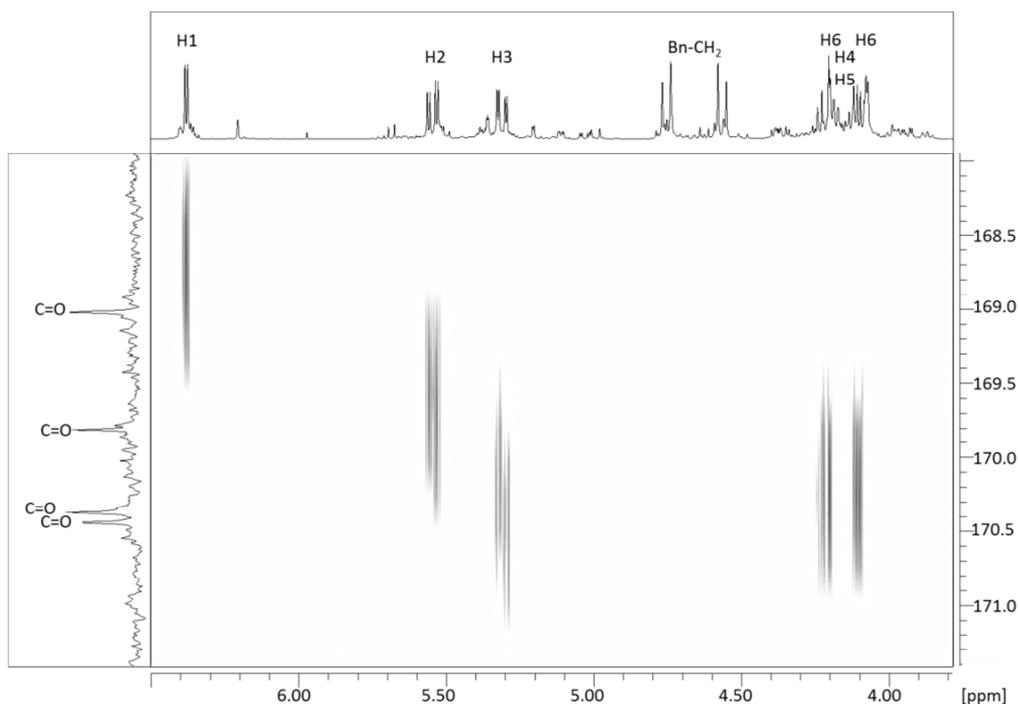


Abb. 81: Selektive Acetolyse von **116** durch Bortrifluorid.

Nach einer Reaktionszeit von zwölf Stunden konnte dünn-schichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz des Ausgangsmaterials **116** unter Bildung eines neuen Produktes beobachtet werden. Die Reaktion wurde abgebrochen und das Rohprodukt nach entsprechender Aufarbeitung chromatographisch gereinigt. Die Auswertung der NMR-spektroskopischen Daten des erhaltenen Produktes ergab, dass es unter den gewählten Reaktionsbedingungen zu einem selektiven Austausch der Schutzgruppen kam, bei dem lediglich der Benzylether in der C4-Position erhalten blieb (Abb. 82, Abb. 83). Die eindeutige Zuordnung der Acetylgruppen erfolgte mit Hilfe des HMBC-NMR-Spektrums anhand der vicinalen Kopplung zwischen den Carbonylkohlenstoffatomen der Acetylgruppen und den entsprechenden Kohlenstoffatomen des Zuckers (Abb. 83). Es konnte somit gezeigt werden, dass mit Hilfe von Bortrifluorid zwar eine selektive, aber dennoch ebenfalls keine vollständige De-O-benzylierung von **116** möglich war. Die Ursache für diese außergewöhnliche Regioselektivität der Acetylyse wurde nicht näher untersucht.



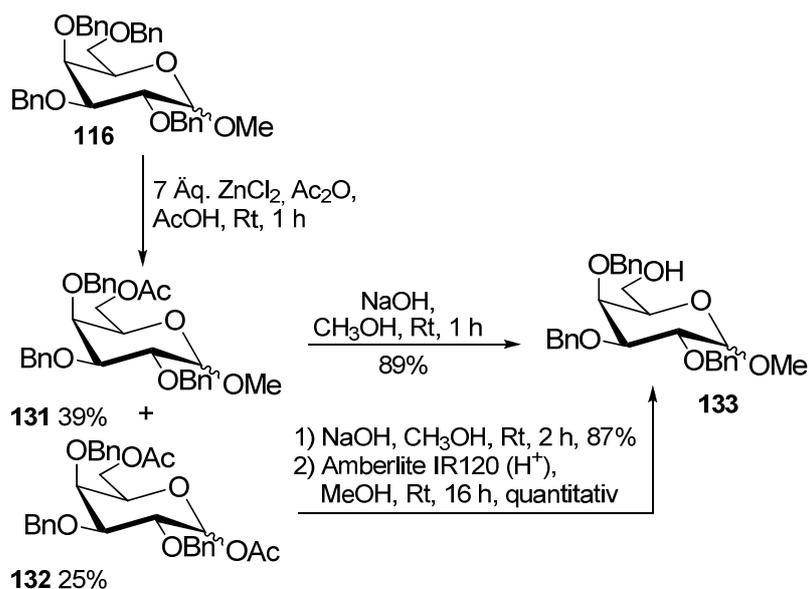
**Abb. 82:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) von **130**.



**Abb. 83: Ausschnitt aus dem HMBC-NMR-Spektrum von 130.**

Neben Eisen(III)chlorid und Bor-Halogen-Verbindungen gibt es noch weitere Lewis-Säuren, die zur Spaltung von Benzylethern eingesetzt werden. So berichteten *Yang et al.* von einer selektiven 6-O-Debenzylierung einer Reihe von Mono- und Disaccharid-Derivaten durch den Einsatz von frisch geschmolzenen Zinkchlorid.<sup>151</sup> Die Umsetzungen erfolgten dabei in einem Gemisch aus Essigsäureanhydrid und Essigsäure, so dass die 6-O-Benzylgruppe durch eine Acetylgruppe ersetzt wurde. Analog zu der in Abb. 78 gezeigten Schutzgruppenstrategie würde die Anwendung dieser Methode bei der Darstellung von 6-Desoxy-L-altrose **44** den Vorteil bieten, dass die anderen Benzylether weiterhin zum Blockieren der übrigen Hydroxygruppen genutzt werden könnten und erst nach erfolgter Desoxygenierung vollständig entfernt werden müssten.

Nach dem von *Yang et al.* entwickelten Syntheseprotokoll wurde Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **116** mit sieben Äquivalenten Zinkchlorid umgesetzt und die Reaktion dünnenschichtchromatographisch verfolgt. Obwohl nach einer Stunde der Umsatz des Eduktes noch nicht vollständig erschien, wurde die Reaktion wegen der zunehmenden Anzahl an Nebenprodukten abgebrochen und das Produktgemisch nach entsprechender Aufarbeitung chromatographisch getrennt. Dabei konnte neben dem gewünschten 6-O-acetylierten Produkt **131** (39%) auch der zweifach acetylierte Zucker **132** (25%) isoliert werden (Abb. 84). Beide Verbindungen wurden anschließend separat einer basischen Hydrolyse unterzogen, wobei **133** in einer Ausbeute von 89% und 2,3,4-Tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose mit 87% erhalten wurde.



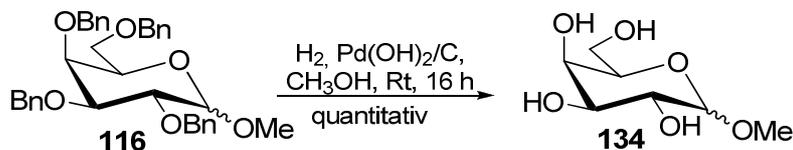
**Abb. 84: Selektive De-O-benzylierung von 116 nach Yang et al und anschließender Hydrolyse zu 133.**

Es wurde dann versucht die Selektivität der Acetylierung zugunsten des einfach acetylierten Produkts zu erhöhen. Dazu wurde die Reaktion unter Variation der eingesetzten Äquivalente Zinkchlorid (1 bis 8 Äquivalente), der Reaktionszeit (0.5 bis 16 h) sowie der Temperatur (0 °C oder Rt) wiederholt und der Umsatz bzw. die Produktverteilung dünn-schichtchromatographisch verfolgt. Im Vergleich zu den in Abb. 84 gezeigten Ergebnissen konnte in keinem Fall eine Optimierung der Reaktionsbedingungen zugunsten des gewünschten Produktes **131** erzielt werden. Da es jedoch möglich war, die nach der De-O-acetylierung erhaltene 2,3,4-Tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactose durch eine säurekatalysierte Reaktion mit Methanol quantitativ ebenfalls in das gewünschte Methylglycosid **133** zu überführen, wurde von weiteren Versuchen zur Erhöhung der Produktselektivität abgesehen.

Bevor die 6-De-O-benzylierung nach Yang et al. mit dem L-Altrose-Derivat **123** durchgeführt wurde, sollte eine Methode ermittelt werden, welche eine Spaltung der übrigen Benzylether nach der später folgenden Desoxygenierung ermöglichen würde. Da durch den Einsatz von Lewis-Säuren lediglich eine partielle De-O-benzylierung erzielt werden konnte, sollte nochmals versucht werden die Schutzgruppen über eine katalysierte Hydrierung vollständig zu entfernen. Dabei wurde der sogenannte Pearlman-Katalysator (20% Palladiumhydroxid an Aktivkohle)<sup>152</sup> eingesetzt, welcher schon oft zum Erfolg führte, wenn andere De-O-benzylierungsmethoden scheiterten.<sup>153</sup>

Die Palladiumhydroxid-katalysierte Umsetzung von Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **116** erfolgte unter leichtem Wasserstoff-Überdruck in Methanol und verlief

bereits nach einer Reaktionszeit von 16 Stunden quantitativ unter Bildung des vollständig debenzylierten Methyl- $\alpha/\beta$ -D-galactosids **134**.



**Abb. 85: De-O-benzylierung von 116 über eine Pd(OH)<sub>2</sub>-katalysierte Hydrogenolyse.**

Somit konnte die in Abb. 78 gezeigte Schutzgruppenstrategie für die geplante 6-Desoxygenierung eines benzylierten Methylglycosids über die Kombination der selektiven 6-O-Debenzylierung nach *Yang et al.* und der katalytischen Hydrierung nach *Pearlman et al.* am Beispiel des Methylgalactopyranosids **116** erfolgreich erprobt werden. Anschließend erfolgte nun die Anwendung dieser Strategie auf das entsprechende L-Altrose-Derivat **123**. Dazu wurde Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **123** mit Zinkchlorid in einem Gemisch aus Essigsäure und Essigsäureanhydrid umgesetzt. Die Reaktion wurde nach einer Stunde abgebrochen und das erhaltene Produktgemisch chromatographisch getrennt, wobei das einfach acetylierte Methylglycosid **135** in einer Ausbeute von 37% und der zweifach acetylierte Zucker **136** mit 29% isoliert wurden (Abb. 86). Die Regioselektivität der Reaktion konnte anhand der NMR-spektroskopischen Daten eindeutig bestätigt werden. Die Zuordnung der Acetylgruppen erfolgte dabei mit Hilfe des HMBC-NMR-Spektrums über die vicinale Kopplung zwischen den Carbonylkohlenstoffatomen der Acetylgruppen und den entsprechenden Kohlenstoffatomen des Zuckers.

Die alkalische Hydrolyse von **135** lieferte Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **137** in einer Ausbeute von 90%. Der di-O-acetylierte Zucker **136** wurde nach der Acetatspaltung in einer säurekatalysierten Reaktion mit Methanol in das 6-OH-freie Methylglycosid **137** überführt (85% über zwei Stufen).

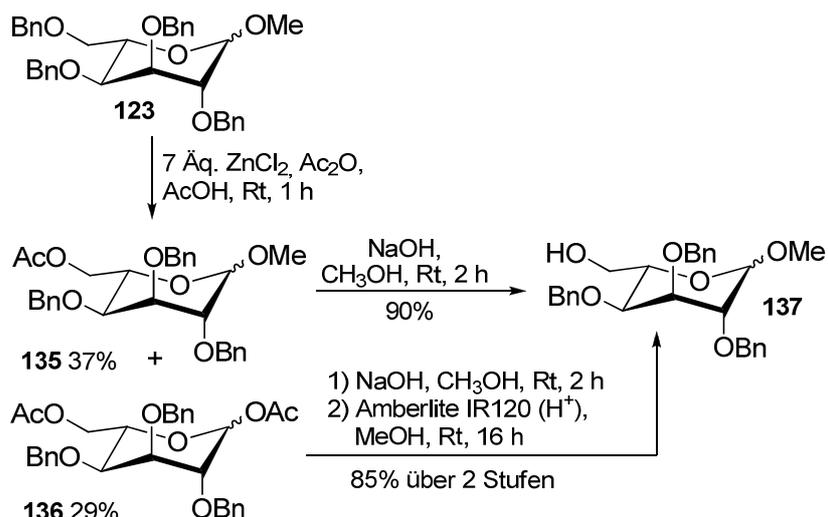
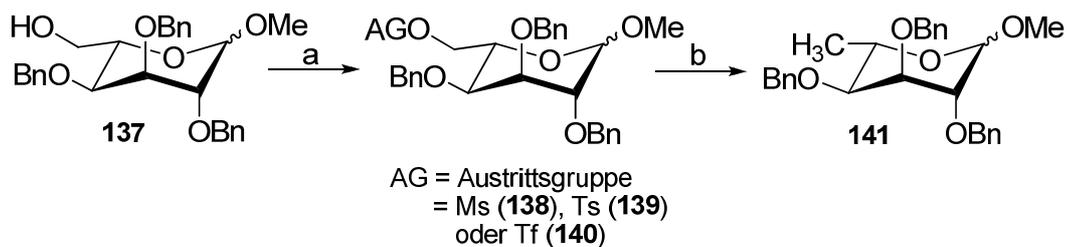


Abb. 86: Selektive 6-O-Debenzylierung von **123**.

### Versuche zur 6-Desoxygenierung

Im Anschluss an die selektive De-O-benzylierung von **123** sollte die Hydroxygruppe in der C6-Position des erhaltenen Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosids **137** für die nachfolgende Desoxygenierung in eine bessere Austrittsgruppe überführt werden (Abb. 87). Dazu sollten verschiedene literaturbekannte Methoden, sowohl unter Einsatz diverser Abgangsgruppen als auch unter Verwendung unterschiedlicher Hydridendonoren, erprobt werden (Tab. 1).<sup>154-157</sup>

Als erstes sollte analog zu dem desoxygenierenden Schritt der in Abb. 19 dargestellten Synthese von 6-Desoxy-D-gulose **38**, die primäre Hydroxygruppe des Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosids **137** in das entsprechende Mesylat **138** überführt werden.<sup>72</sup> Dazu wurde **137** in Pyridin mit Mesylchlorid umgesetzt und der Reaktionsverlauf dünnschichtchromatographisch verfolgt (Tab. 1: Reaktion 1). Da nach einer Reaktionszeit von sechs Stunden nahezu kein Umsatz beobachtet werden konnte, wurde ein weiteres Äquivalent Mesylchlorid hinzugegeben. Eine Erhöhung des Umsatzes konnte dadurch nicht erzielt werden, so dass die Reaktion nach einer Reaktionszeit von insgesamt 16 h abgebrochen wurde. Bei der chromatographischen Reinigung des erhaltenen Reaktionsgemisches konnte ausschließlich das eingesetzte Methylglycosid **137** reisoliert werden. Das gewünschte Produkt wurde nicht erhalten.


**Abb. 87: Versuch der 6-Desoxygenierung von 137.**

	Reaktion a	Ausbeute	Reaktion b	Ausbeute
<b>1</b>	MsCl, Pyridin, 0 °C-Rt, 16 h	--	--	--
<b>2</b>	TsCl, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , DMAP, Pyridin, Rt, 24 h	19%	LiAlH <sub>4</sub> , THF, Rt-60 °C, 24 h	--
<b>3</b>	(CF <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , Pyridin, -10 °C, 1 h	Nicht identifiziert.	LiAlH <sub>4</sub> , THF, Rt, 24 h	--

**Tab. 1: Reaktionsbedingungen und Ergebnisse der Versuche zur 6-Desoxygenierung von 137.**

Als nächstes sollte die 6-Desoxygenierung von **137** über das entsprechende Tosylat **139** erprobt werden.<sup>143,144</sup> Dazu wurde **137** mit Tosylchlorid in Pyridin unter Zusatz von DMAP umgesetzt, welches bei dieser Reaktion als Aktivator fungierte (Tab. 1: Reaktion 2). Da nach einer Reaktionszeit von fünf Stunden nur ein geringer Umsatz des Methylglycosids **137** beobachtet werden konnte (DC-Kontrolle), erfolgte die Zugabe eines weiteren Äquivalents Tosylchlorid. Nach einer Reaktionszeit von insgesamt 24 Stunden konnte noch immer keine Steigerung des Umsatzes detektiert werden, so dass die Reaktion beendet wurde. Nach der Aufarbeitung wurde das erhaltene Produktgemisch säulenchromatographisch getrennt. Dabei konnte neben dem gewünschten Produkt, welches in einer geringen Ausbeute von 19% erhalten wurde, das eingesetzte Methylglycosid **137** (ca. 60%) reisoliert werden.

Anschließend sollte das erhaltene Tosylat **139** über eine nucleophile Substitution mit einem komplexen Hydrid in das entsprechende 6-Desoxy-Derivat **141** überführt werden. Die Reaktion erfolgte mit einem Überschuss an Lithiumaluminiumhydrid in THF bei Raumtemperatur.<sup>154,155</sup> Da nach einer Reaktionszeit von 20 Stunden kein Umsatz des Ausgangsmaterials detektiert werden konnte, wurde die Reaktionstemperatur auf 65 °C erhöht und die Reaktion noch weitere vier Stunden verfolgt. Anschließend wurde die Reaktion beendet und das nach der hydrolytischen Aufarbeitung erhaltene Reaktionsgemisch säulenchromatographisch getrennt. Dabei konnten neben dem nicht umgesetzten Tosylat **139** (76%), geringe Mengen des Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosids **137** erhalten

werden, welches vermutlich durch Hydrolyse aus **139** gebildet wurde. Das gewünschte 6-desoxygenierte Produkt **141** konnte nicht erhalten werden.

Da es sich bei der beschriebenen Synthese vom Tosylat **139** um eine Testreaktion handelte, welche zum Auffinden einer geeigneten Austrittsgruppe zunächst in einem kleinen Maßstab (10 mg) durchgeführt wurde, stand nur eine sehr geringe Menge von **139** zur Erprobung des Desoxygenierungsschrittes zur Verfügung. Um weitere Versuche zur Ermittlung geeigneter Reaktionsbedingungen unternehmen zu können, sollte zunächst die Synthese vom Tosylat **139** in einem größeren Maßstab wiederholt werden. Die Reaktion wurde unter den zuvor beschriebenen Bedingungen durchgeführt. Aus ungeklärten Gründen verlief jedoch keiner der hierzu durchgeführten Versuche mit Ansatzgrößen zwischen 50 und 500 mg unter Bildung des gewünschten Produktes **139**, so dass weitere Untersuchungen zur 6-Desoxygenierung von Methylglycosid **137** über das entsprechende Tosylat **139** nicht möglich waren.

Da sich Triflate im Vergleich zu Tosylaten durch eine wesentlich höhere Reaktivität gegenüber Nucleophilen auszeichnen, sollte die Desoxygenierung von **137** in einem weiteren Versuch unter Verwendung einer Trifluormethansulfonyl-Abgangsgruppe erprobt werden. Im ersten Schritt wurde dazu das selektiv benzylierte Methylglycosid **137** bei einer niedrigen Temperatur mit Trifluoressigsäureanhydrid in Pyridin umgesetzt (Tab. 1: Reaktion 3). Bei der dünnschichtchromatographischen Reaktionsverfolgung konnte bereits nach einer Stunde ein nahezu vollständiger Umsatz des Eduktes unter Bildung eines Hauptproduktes detektiert werden, so dass diese durch Hydrolyse des überschüssigen Anhydrids beendet werden konnte.

Bei der dünnschichtchromatographischen Überprüfung des nach der Aufarbeitung erhaltenen Rohproduktes konnte in geringem Maße die Bildung einer Reihe an Zersetzungsprodukten beobachtet werden. Um weitere Verluste zu vermeiden, wurde das solvolyseempfindliche Rohprodukt ohne weitere Reinigungsschritte und nähere Charakterisierung in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt. Die Umsetzung mit Lithiumaluminiumhydrid erfolgte in THF bei Raumtemperatur. Schon nach einer Stunde wurde ein vollständiger Reaktionsumsatz festgestellt und die Reaktion abgebrochen. Bei der chromatographischen Trennung des erhaltenen Produktgemisches konnte neben Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **137**, welches aus der hydrolytischen Spaltung vom Triflat **140** resultierte, eine Reihe an Zersetzungsprodukten isoliert werden, welche jedoch nicht weiter charakterisiert wurden. Das gewünschte 6-desoxygenierte Produkt **141** konnte abermals nicht erhalten werden.

Da bei den meisten Versuchen zur 6-Desoxygenierung vom selektiv benzylierten Methylglycosid **137** schon die Überführung der primären Hydroxygruppe in eine bessere Abgangsgruppe mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden war, wurde vermutet, dass die Alkoholfunktion durch die benachbarten Benzylgruppen eine sterische Abschirmung erfährt, welche ihre Reaktivität gegenüber den sehr reaktiven Carbonsäurederivaten (Mesylchlorid, *para*-Toluolsulfonsäurechlorid, Trifluormethansulfonsäureanhydrid) vermindert.

Aus diesem Grund wurde im nächsten Ansatz versucht eine selektive Sulfonierung der primären Hydroxygruppe unter Verzicht von Schutzgruppen zu erzielen.<sup>158,159</sup> Dazu wurden sämtliche aus den De-O-benzilyierungsversuchen von Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **123** erhaltenen Produktgemische vereint und zur Spaltung der übrigen Benzylether einer katalytischen Hydrierung an Palladiumhydroxid unterzogen (Abb. 88). Das quantitativ erhaltene de-O-benzylierte Methyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid sollte anschließend in das entsprechende 6-O-tosylierte Derivat überführt werden. Um die Regioselektivität dieser Reaktion unter Bildung von Methyl-6-*p*-tosyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **142** zu erhöhen, wurde das Sulfonierungsreagenz im Gegensatz zu den zuvor vorgestellten Reaktionen im Unterschuss eingesetzt. Zudem erfolgte die Zugabe des Tosylchlorids sehr langsam und bei tiefer Temperatur (Abb. 88). Bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktion konnte anfangs ausschließlich die Bildung eines Produktes beobachtet werden. Da es nach einer Reaktionszeit von vier Stunden schließlich zur Bildung einer Reihe an weiteren Produkten kam, wurde die Reaktion trotz des unvollständigen Umsatzes vom Methylglycosid durch Zugabe eines Überschusses an Essigsäureanhydrid, zur Blockierung der übrigen Hydroxygruppen abgebrochen (Abb. 88).

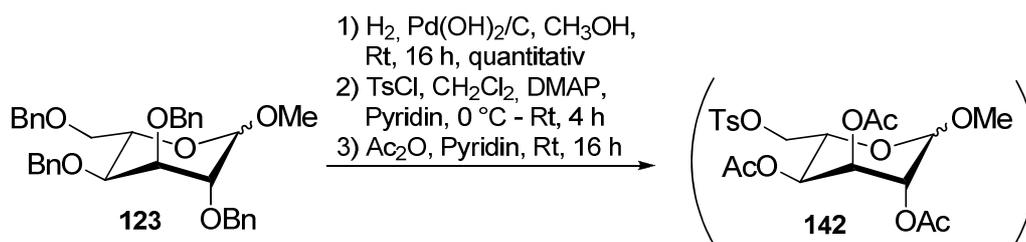


Abb. 88: Versuch zur Darstellung von **142**.

Anschließend wurde versucht, das nach der Acetylierung erhaltene Produktgemisch chromatographisch zu trennen. Während nach wiederholter Durchführung der Chromatographie die einfach substituierten Methylglycoside von den mehrfach tosylierten Nebenprodukten separiert werden konnten, war eine Trennung der verschiedenen einfach substituierten Produkte nicht möglich. Das gewünschte Methyl-6-*p*-tosyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **142** konnte somit nicht isoliert werden. Nichtsdestotrotz gelang die Identifizierung

des Produktes anhand der NMR-spektroskopischen Daten des erhaltenen Produktgemisches.

Der nächste Versuch zur Darstellung von Methyl-6-*p*-tosyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **142** erfolgte unter analogen Bedingungen, jedoch wurde auf den Zusatz von DMAP als Aktivator verzichtet. Im Unterschied zu der vorherigen, verlief diese Reaktion zwar viel langsamer, eine Erhöhung der Regioselektivität konnte aber dennoch nicht erreicht werden.

Da die selektive Einführung einer guten Austrittsgruppe weder durch eine 6-O-Debenzylierung noch unter Verzicht auf eine Blockierung der sekundären Hydroxygruppen gelungen ist, sollte in einem letzten Versuch eine alternative Schutzgruppenstrategie ausgehend von L-Altrose **42** erprobt werden. Dabei sollte die primäre Hydroxygruppe zunächst durch eine sterisch anspruchsvolle Schutzgruppe blockiert und die übrigen Hydroxygruppen dann anschließend als Acetate geschützt werden. Erst nach Entfernen der Schutzgruppe in der C6-Position sollte die Alkoholfunktion in eine bessere Austrittsgruppe überführt werden, welche die nachfolgende Desoxygenierung ermöglichen sollte.

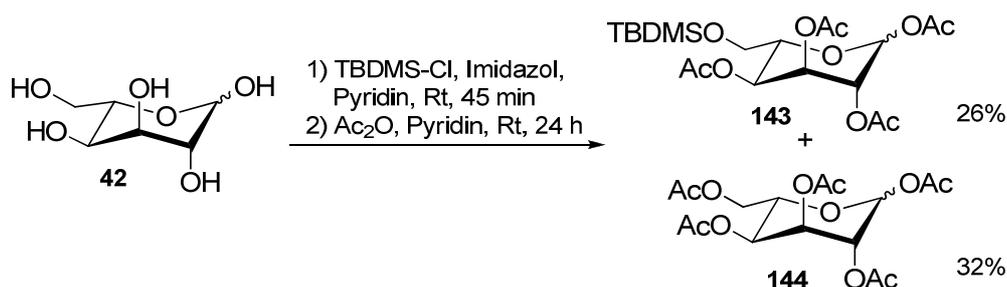


Abb. 89: Synthese von **143** und **144**.

Im ersten Schritt wurde die primäre Hydroxygruppe der L-Altrose **42**, welche über die in Abb. 77 gezeigte Synthese erhalten wurde, als Silylether blockiert. Dazu wurde **42** mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid unter Zusatz von Imidazol in Pyridin umgesetzt und der Reaktionsverlauf verfolgt (DC-Kontrolle). Da es nach 45 Minuten neben der Bildung des Hauptproduktes zur Entstehung einiger Nebenprodukte kam, wurde die Reaktion trotz des unvollständigen Umsatzes von L-Altrose **42** durch Zugabe von einem Überschuss an Essigsäureanhydrid zur Blockierung der übrigen Hydroxygruppen abgebrochen. Das nach der Acetylierung erhaltene Produktgemisch wurde anschließend säulenchromatographisch getrennt, wobei neben dem gewünschten Produkt **143**, welches in einer Ausbeute von 26% über zwei Stufen erhalten wurde, vor allem die peracetylierte L-Altrose **144** (32%) isoliert wurde.

Im nächsten Schritt erfolgte die Spaltung des Silylethers mit Tetrabutylammoniumfluorid in THF (Abb. 90).<sup>160</sup> Schon nach einer Stunde konnte dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz des TBDMS-geschützten Eduktes **143** festgestellt werden. Das nach Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt wurde anschließend chromatographisch gereinigt, wobei ein Gemisch unselektiv acetylierter L-Altrose-Derivate erhalten wurde. Vermutlich kam es nach der Bildung des gewünschten Produktes **145** unter den Bedingungen der Silyletherspaltung zu einer O-4→6-Migration der Acylgruppen, wobei das in der 4-Position deblockierte Nebenprodukt **146** gebildet wurde. Alle Versuche das erhaltene Gemisch chromatographisch zu trennen, schlugen aufgrund der nahezu identischen Retentionsfaktoren fehl. Zudem kam es unter den Bedingungen der Chromatographie zu einer Anreicherung des Nebenproduktes **146**.

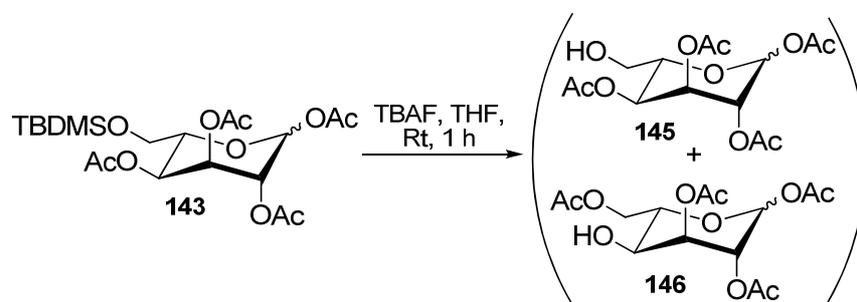


Abb. 90: O-4→6-Migration der Acetylgruppen bei der Silyletherspaltung von **143**.

Acylgruppen-Wanderungen innerhalb partiell acylierter Kohlenhydrate sind unter sauren bzw. alkalischen Bedingungen literaturbekannt und wurden bereits bei diversen *gluco*- und *manno*-konfigurierten Zuckern festgestellt.<sup>161-164</sup> Sie haben einen stereochemischen Hintergrund und verlaufen über einen sechsgliedrigen Übergangszustand, dessen Bildung in der <sup>1</sup>C<sub>4</sub>-Konformation von **145** ebenfalls möglich wäre.

Somit ist eine Überführung der L-Altrose **42** in das entsprechende 6-Desoxy-Derivat **44** über die Anwendung diverser Schutzgruppenstrategien und die Erprobung unterschiedlicher Austrittsgruppen nicht gelungen. Da zudem die gesamte Menge der synthetisierten L-Altrose-Derivate **123** bzw. **48** für diese Untersuchungen aufgebraucht wurde, wurden weitere Versuche diesbezüglich vorerst eingestellt und mit der Erprobung von Synthesestrategie B (Abb. 69) begonnen.

#### 4.3.4 Syntheseweg B: Synthese von 6-Desoxy-L-altrose über die 5-Epimerisierung von 6-Desoxy-D-galactose

Die Darstellung von 6-Desoxy-L-altrose **44** über den Syntheseweg B basierte auf der 5-Epimerisierung von 6-Desoxy-D-galactose (D-Fucose) **D-15**. Bei diesem Zucker handelt es sich um ein unnatürliches Enantiomer der L-Fucose **L-15**, welches ausgehend von D-Galactose **D-64** dargestellt werden kann.

Wie bereits in Kapitel 4.1.3.2 gezeigt wurde, erlaubt die  ${}^4C_1$ -Konformation der D-Galactose **D-64** im Gegensatz zur  ${}^1C_4$ -Konformation der L-Altrose **42** eine selektive Blockierung der sekundären Hydroxygruppen durch Isopropyliden-Acetale, welche eine selektive Sulfonierung der primären Hydroxygruppe unter Bildung der 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-*para*-toluolsulfonyl- $\alpha$ -D-galactopyranose **D-92** ermöglicht (Seite 43; Abb. 33). Die anschließende Desoxygenierung mit Hilfe komplexer Hydride unter Bildung von D-Fucose **D-15** ist literaturbekannt und konnte bereits in eigenen Vorarbeiten erfolgreich erprobt werden.<sup>141,165,166</sup> Da dieser Desoxyzucker allerdings ebenfalls kommerziell erhältlich ist und für die im Folgenden vorgestellten Untersuchungen als Ausgangsmaterial in ausreichenden Mengen zur Verfügung stand, konnte auf dem Syntheseweg B im Gegensatz zu Route A auf einen Desoxygenierungsschritt verzichtet werden. Davon abgesehen, folgten beide Synthesewege der gleichen Reaktionssequenz:

Der erste Schritt bestand in der selektiven Blockierung der Hydroxygruppen. Dazu wurde D-Fucose **D-15** zunächst unter sauren Bedingungen in das entsprechende Methylglycosid überführt und die übrigen Hydroxygruppen unter Standardbedingungen als Benzylether geschützt, wobei das Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **147** über 3 Stufen in einer Ausbeute von 65% erhalten wurde (Abb. 91).

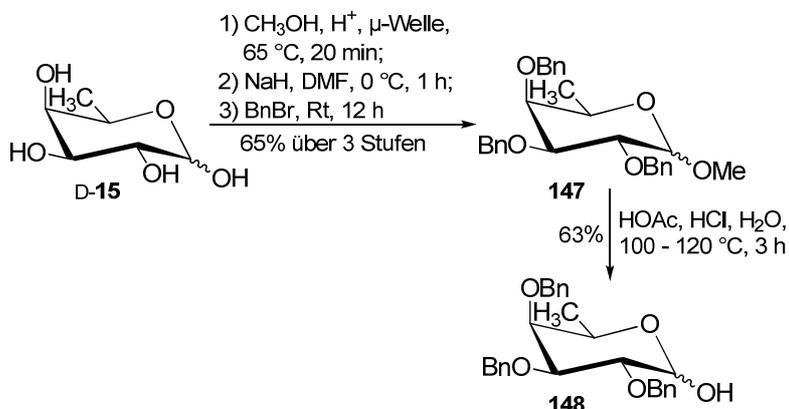
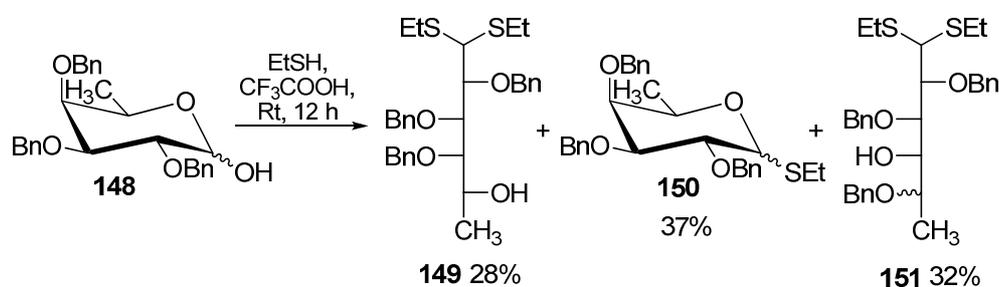


Abb. 91: Darstellung von 2,3,4-Tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **148**.

Im Anschluss erfolgte dann die säurekatalysierte Spaltung des Methylglycosids unter Freisetzung der anomeren Hydroxyfunktion in einer Ausbeute von 63% (Abb. 91). Zudem konnten bei dieser Gleichgewichtsreaktion 30% des eingesetzten Methylglycosids isoliert werden.

Die zur Epimerisierung notwendige Ringöffnung wurde durch Umsetzung mit Ethanthiol in Gegenwart von Trifluoressigsäure erzielt.<sup>144,167</sup> Bei der chromatographischen Trennung des erhaltenen Rohgemisches wurde neben dem gewünschten 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy-D-galactose-diethyldithioacetal **149**, welches lediglich in einer Ausbeute von 28% erhalten wurde, das entsprechende anomere Thioglycosid **150** isoliert. Letzteres wurde mit einer Ausbeute von 37% als Hauptprodukt gebildet und konnte als Intermediat der Dithioacetalbildung unter analogen Bedingungen wiederverwendet werden.



**Abb. 92: Säurekatalysierte Reaktion von 148 mit Ethanthiol.**

Im Gegensatz zu der in Abb. 72 gezeigten Reaktion der selektiv geschützten D-Galactose **117** kam es bei der Derivatisierung ihres 6-Desoxy-Derivates **148** zur Bildung eines weiteren Produktes, welches anhand der massenspektrometrischen und <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Daten (Abb. 93) als ein Isomer von Diethyl-dithioacetal **149** identifiziert werden konnte. Mit Hilfe zweidimensionaler Korrelationsspektren konnten die Hydroxy- bzw. Benzylgruppen den entsprechenden Kohlenstoffatomen des acyclischen Gerüsts zugeordnet werden (Abb. 94). Auf Basis dieser Daten wurde vermutet, dass es unter den gewählten Reaktionsbedingungen der Thioacetalbildung zu einer säurekatalysierten intramolekularen O-4→5-Wanderung der Benzylgruppen unter Bildung des acyclischen Diethyl-dithioacetals **151** kam. Solche Benzyl-Migrationen sind unter sauren Bedingungen literaturbekannt und wurden bereits bei einer Reihe benzylgeschützter Derivate diverser Stickstoff-Heterozyklen wie Quinolinen und Indolen beobachtet.<sup>168-170</sup> Zudem werden ähnliche Reaktionsbedingungen zur Spaltung von Benzylethern eingesetzt.<sup>171,172</sup> Ein Beispiel hierfür ist die von *Fuji et al.* entwickelte Methode, nach der die O-Benzylschutzgruppen über eine Behandlung mit harten Lewis-Säuren wie Bortrifluorid-diethyletherat in Kombination mit weichen Nucleophilen wie Ethanthiol entfernt werden.<sup>171</sup>

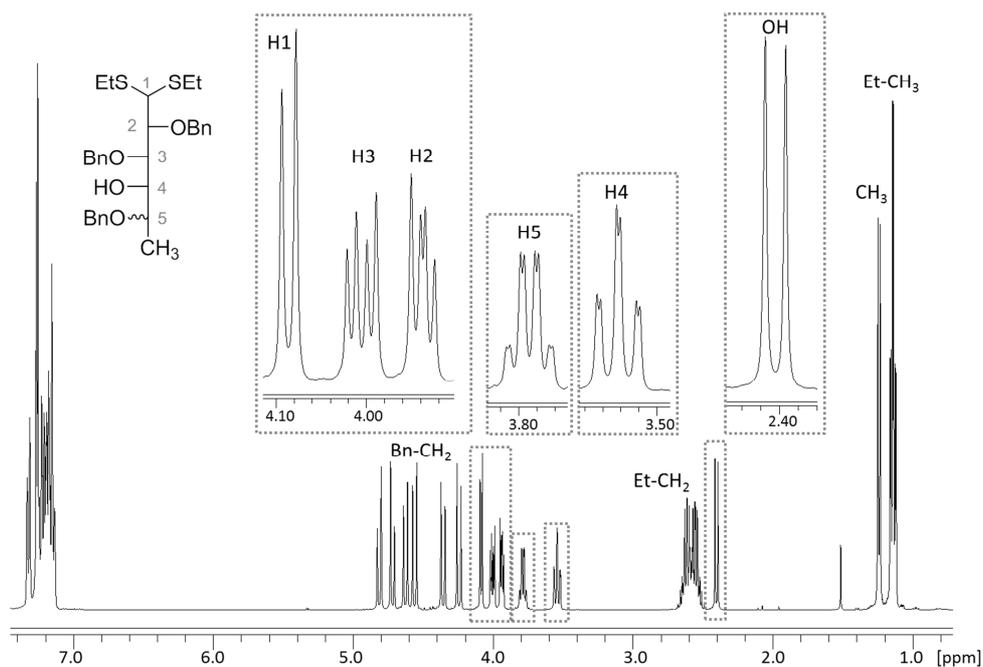


Abb. 93:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) von Diethyl-dithioacetal **151**.

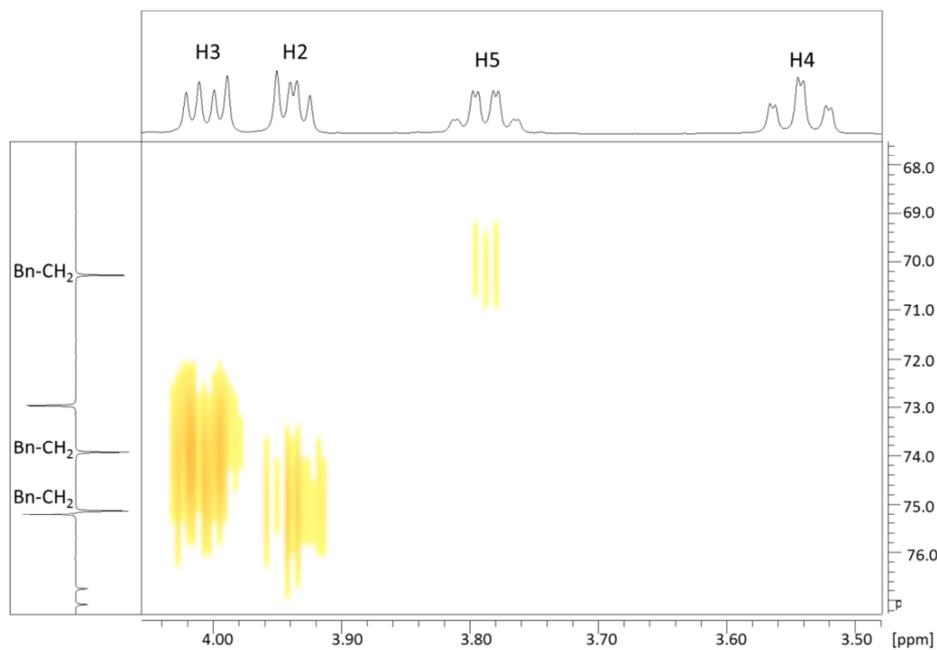
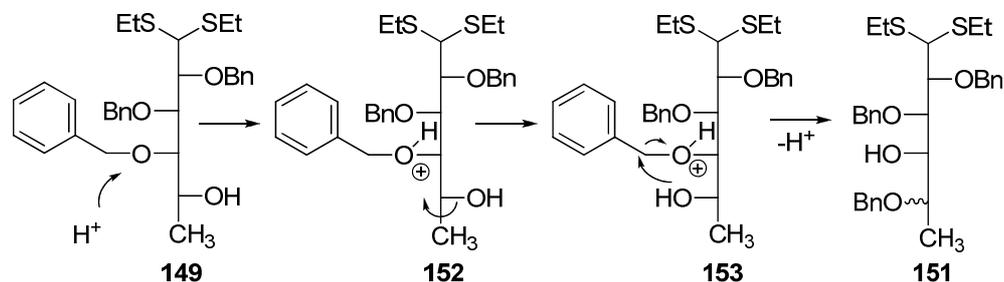


Abb. 94: Ausschnitt aus dem HMBC-NMR-Spektrum von **151**.

Für die intramolekulare  $O\text{-}4 \rightarrow 5$ -Benzylwanderung von in **149** wird der in Abb. 95 gezeigte Mechanismus angenommen. Dabei greift die C5-Hydroxygruppe nach einer Rotation um die C4-C5-Bindung den zuvor protonierten C4-Benzylether nucleophil an. Nach dem Transfer der Benzylgruppe, wird unter Abspaltung eines Protons das Dithioacetal **151** erhalten. Eine eindeutige Bestimmung der Konfiguration der Kohlenstoffatome in der acyclischen Form des Produktes war nicht möglich, so dass der in Abb. 95 postulierte Mechanismus

nicht bestätigt werden konnte. Da eine Benzylwanderung jedoch vermutlich nur unter Rotation der Hydroxygruppe begünstigt wird, wurde das Diethyldithioacetal **151** den Abbildungen 91-95 als Gemisch seiner Diastereomere dargestellt.



**Abb. 95: Postulierter Mechanismus der O-4→5-Benzyl-Wanderung in 149.**

Eine mögliche Erklärung dafür, dass die O-4→5-Benzylwanderung ausschließlich bei der Acetalisierung des 6-Desoxy-D-galactose-Derivates **149** beobachtet wurde, bei der Umsetzung des entsprechenden D-Galactose-Derivates **118** jedoch ausblieb, liegt in der unterschiedlichen elektronischen und sterischen Umgebung der Hydroxygruppen beider Dithioacetale begründet. Da die Methylgruppe in **149** im Vergleich zu dem primären Benzylether in der C6-Position des analogen D-Galactose-Derivates **118** eine geringere elektronenziehende Wirkung und einen geringen sterischen Anspruch besitzt, wird vermutlich sowohl die Protonierung des C4-Benzylethers als auch die Rotation der Hydroxygruppe während des anschließenden nucleophilen Angriffs auf die Benzylgruppe erleichtert.

Mit einer Ausbeute von nur 28% bildete die Synthese von 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy-D-galactopyranose-diethyl-dithioacetal **149** den Flaschenhals der Syntheseroute B. In weiterführenden Arbeiten sollte die Ringöffnung zum Dithioacetal **149** daher unter alternativen Reaktionsbedingungen untersucht werden. Eine Möglichkeit das Produktverhältnis dieser Reaktion zu beeinflussen, wurde von *Boulineau et al.* beschrieben. Sie beobachteten, dass eine Abhängigkeit der Chemoselektivität der säurekatalysierten Reaktion von Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -D-fucopyranosid **148** mit Ethanthiol von der Stöchiometrie der eingesetzten Lewis-Säure besteht: Während die Reaktion unter Zusatz einer äquivalenten Menge an Bortrifluorid-Diethyletherat unter Bildung des anomeren Thioglycosids **150** verlief, führte der Einsatz von einem Überschuss der Lewis-Säure (6 Äquivalente) hingegen zur Bildung des acyclischen Dithioacetals **149**.<sup>167</sup> Eine Benzylgruppenwanderung konnte unter diesen Bedingungen nicht beobachtet werden.

Da das bei der säurekatalysierten Reaktion von Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **148** mit Ethanthiol erhaltene Produktgemisch über Säulenchromatographie erfolgreich voneinander getrennt werden konnte, war es möglich, die Synthese-

strategie B zur Darstellung von 6-Desoxy-L-altrose **44** weiter zu verfolgen. Diese sah im nächsten Schritt die Mitsunobu-Inversion von 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy-D-galactose-diethyldithioacetal **149** vor (Abb. 96). Das benzylierte Dithioacetal **154** konnte nach Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung mit einer Ausbeute von 61% erhalten werden. Neben dem Produkt konnten geringe Mengen des eingesetzten Dithioacetals **149** (25%) reisoliert werden.

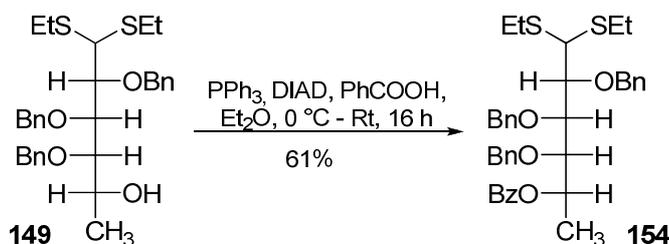


Abb. 96: Synthese von **154**.

Aufgrund der acyclischen Struktur von **154** war auch in diesem Fall eine exakte Bestimmung der Konfiguration des C5-Atoms nicht möglich. Der Erfolg der Inversion konnte erst nach dem darauffolgenden Ringschluss anhand NMR-spektroskopischer Daten beurteilt werden. Dazu wurde Dithioacetal **154** durch Reaktion mit Quecksilber(II)-chlorid und -oxid in Methanol zunächst in das entsprechende Dimethylacetal **156** überführt und anschließend durch alkalische Hydrolyse von der Benzoylgruppe in der C5-Position befreit. Das gewünschte Produkt wurde dabei in einer Ausbeute von 67% über zwei Stufen erhalten (Abb. 75). In einer säurekatalysierten Umacetalisierung erfolgte schließlich der Ringschluss zum Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **141** mit einer Ausbeute von 93% (Abb. 75).<sup>145</sup> Das Produkt wurde als Gemisch seiner Anomere in einem Verhältnis von  $\alpha:\beta \approx 10:1.3$  erhalten und konnte größtenteils säulenchromatographisch getrennt werden.

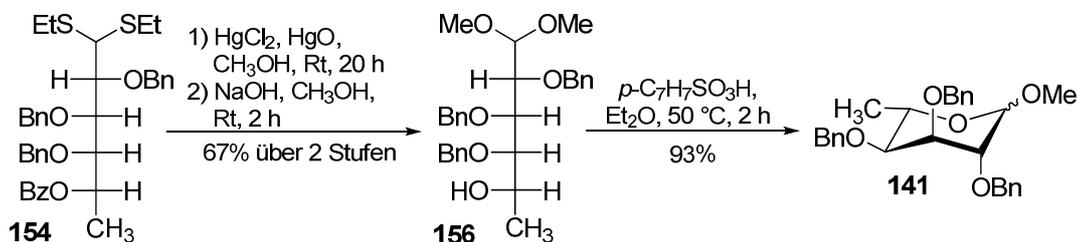
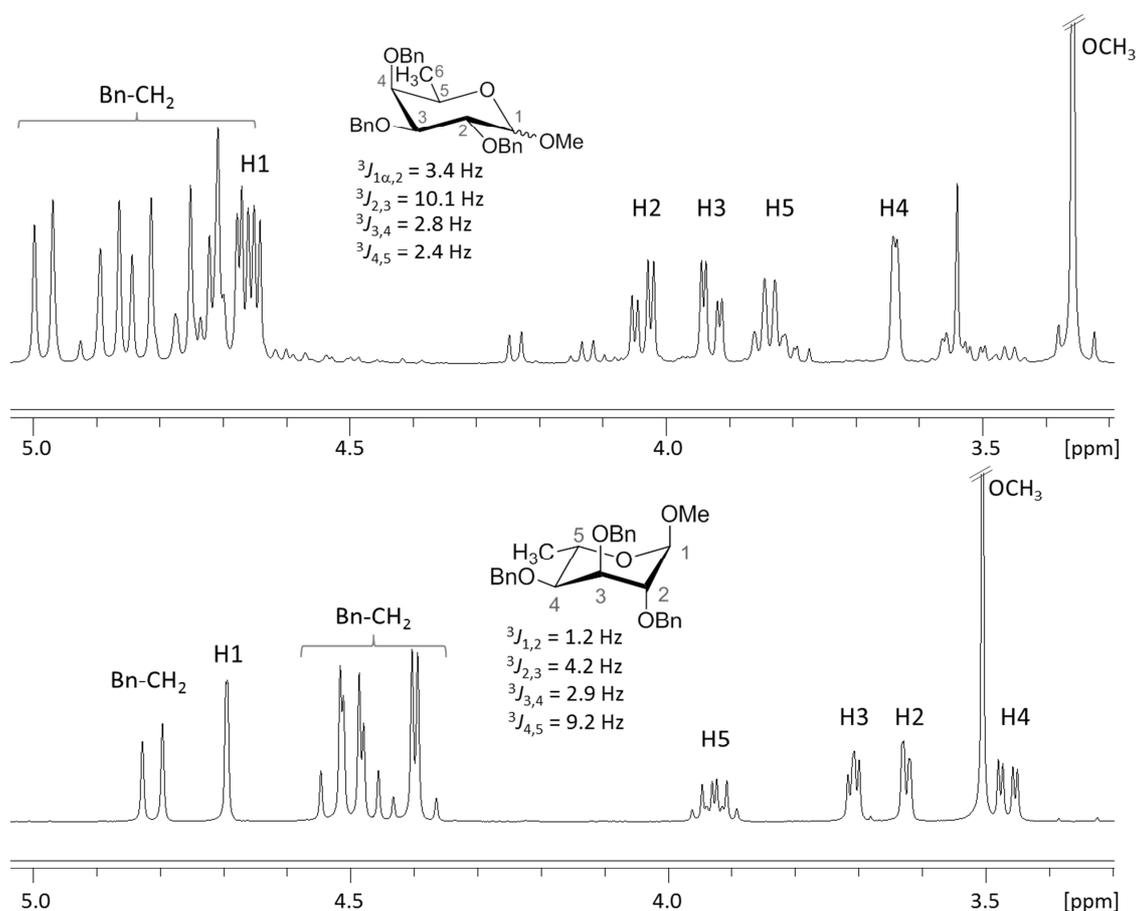


Abb. 97: Darstellung von Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **141**.

Die erfolgreiche 5-Epimerisierung vom benzylierten Methyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **147** zu dem entsprechenden 6-Desoxy-L-altrose-Derivat **141** wurde NMR-spektroskopisch verifiziert. Beim Vergleich der in Abb. 98 dargestellten Ausschnitte der <sup>1</sup>H-NMR-

Spektren beider Epimere **141** und **147** zeigte sich, dass alle Signale nach der Konfigurationsumkehr am C5-Atom und dem Wechsel von der  ${}^4C_1$ - in die  ${}^1C_4$ -Konformation sowohl eine veränderte chemische Verschiebung als auch ein verändertes Aufspaltungsmuster bzw. unterschiedliche Kopplungskonstanten aufwiesen. Wie schon beim Methyl- $\alpha$ -L-altropyranosid **123**, diente insbesondere die große vicinale Kopplung zwischen den beiden axialen Protonen am C4- und C5-Atom des Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosids **141** ( ${}^3J_{4,5} = 9.2$  Hz) als Bestätigung für eine erfolgreiche Epimerisierung. Die Aufspaltung des H1-Signals zum Dublett mit einer kleinen Kopplungskonstanten von  ${}^3J_{1,2} = 1.2$  Hz war zudem charakteristisch für die  $\alpha$ -Konfiguration des anomeren Kohlenstoffatoms.



**Abb. 98:** Ausschnitte aus den  ${}^1\text{H-NMR}$ -Spektren (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) von **147** (oben) und **141** (unten).

Somit ist es über den Syntheseweg B durch eine 5-Epimerisierung von 6-Desoxy-D-galactose **D-15** erfolgreich gelungen, einen Zugang zum Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosid **141** zu erschliessen, so dass mit der Darstellung von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose  $\alpha/\beta$ -**45** begonnen werden konnte.

### 4.3.5 Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose

Für die Darstellung von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose  $\alpha/\beta$ -**45** nach der *cycloSal*-Methode wurde zum einen das 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-acetyl-thymidinmonophosphat **70**, welches nach einer bereits etablierten Synthese durch Umsetzung von 5-Nitro-*cycloSal*-chlorphosphit **86** und dem 3'-O-acetylierten Thymidin **87** dargestellt wurde,<sup>90,138</sup> und zum anderen die anomerreinen 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosylphosphate  $\alpha/\beta$ -**69** benötigt. Letztere sollten durch Phosphorylierung des zuvor synthetisierten Methyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosids **141** erhalten werden.

Für die Darstellung von Glycosylphosphaten gibt es in Abhängigkeit von der gewünschten anomeren Konfiguration unterschiedliche Synthesestrategien, die in Analogie zu den in Abb. 12 (Seite 17) gezeigten Verfahren zur Darstellung von NDP-Zuckern, entweder auf einem Donor- oder einem Akzeptorprinzip basieren. Während die Koenigs-Knorr-Methode, über Verwendung des entsprechenden acetylierten Glycosylbromids (Glycosyldonor) einen zuverlässigen Zugang zu dem  $\beta$ -konfigurierten Phosphat bietet (siehe Kapitel 2.4.2.1),<sup>69,75</sup> wird bei einer Phosphorylierung nach der Phosphoramidit-Methode durch Reaktion der anomeren Hydroxygruppe eines selektiv geschützten Zuckers (Akzeptor) mit einem Phosphor(III)-Reagenz und anschließender Oxidation das Glycosylphosphat in der Regel als Anomerengemisch erhalten, in dem das  $\alpha$ -Isomer aufgrund des anomeren Effektes meist überwiegt.<sup>173</sup> Da das Phosphat dabei als unpolarer Triester erhalten wird, gelingt oftmals eine chromatographische Trennung der Anomere, so dass die Phosphoramidit-Methode einen Zugang zu beiden anomeren Glycosylphosphaten bietet.

Um in der späteren Synthese der TDP-Zucker eine simultane Abspaltung der Schutzgruppen sowohl der Glycosyl- als auch der Nucleosideinheit gewährleisten zu können, sollte vor der Phosphorylierung des Methyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosids **141** zunächst ein Austausch der Schutzgruppen vorgenommen werden. Dazu wurden im ersten Schritt die Benzylgruppen hydrogenolytisch entfernt und das erhaltene Methyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid anschließend unter Standardbedingungen acetyliert. Das gewünschte Produkt **158** konnte dabei in einer Ausbeute von 97% über zwei Stufen erhalten werden (Abb. 99).

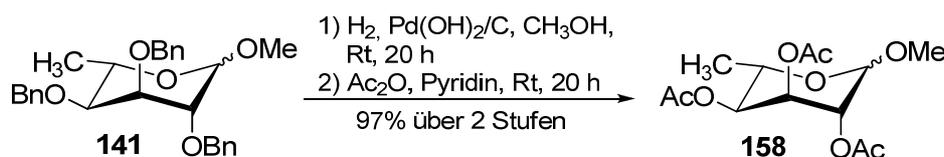
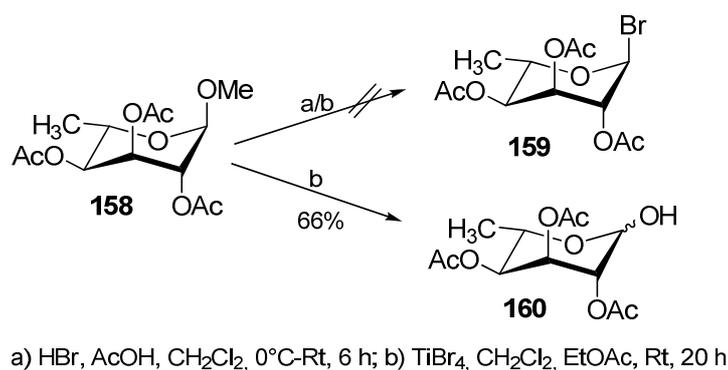


Abb. 99: Synthese von **158**.

Für die Darstellung des  $\beta$ -Glycosylphosphates  $\beta$ -**69** sollte Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -L-6-desoxy-altropyranosid **158** zunächst in das entsprechende 1-Bromid **159** überführt werden. Glycosylbromide können in der Regel aus den entsprechenden peracetylierten Monosacchariden durch Umsetzung mit Bromwasserstoffsäure in Essigsäure erhalten werden. Da von *Laughrey et al.* neben peracetylierten Zuckern auch Methylglycoside über diese Methode bereits erfolgreich in die entsprechenden Bromide überführt werden konnten,<sup>174</sup> wurde zunächst auf einen Umweg über den peracetylierten Zucker verzichtet und das Methylglycosid **158** direkt mit Bromwasserstoffsäure bei 0 °C in Essigsäure und Dichlormethan umgesetzt (Abb. 100).

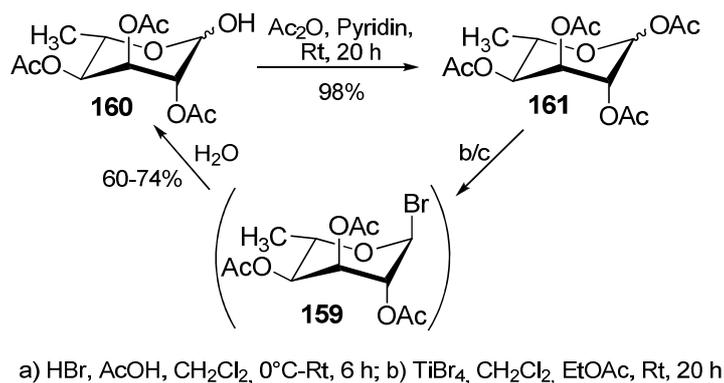


**Abb. 100: Versuch der Synthese von Glycosylbromid 159 ausgehend von Methylglycosid 158.**

Da diese Reaktion unter Bildung einer Vielzahl von Zersetzungsprodukten verlief, sollte der nächste Versuch unter Verwendung eines alternativen Bromierungsreagenzes durchgeführt werden. Dazu wurde das Methylglycosid **158**, analog zu der Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha$ -D/L-galactopyranosylbromid D/L-**79** (Abb. 35, Seite 45), mit Titan(IV)bromid in einem Gemisch aus Essigsäure und Essigsäureanhydrid umgesetzt. Bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktion wurde nach 16 Stunden ein nahezu vollständiger Umsatz des Eduktes unter Bildung eines Hauptproduktes festgestellt. Zudem konnte die Entstehung einiger Neben- bzw. Zersetzungsprodukte beobachtet werden. Die Reaktion wurde durch Neutralisation abgebrochen und das nach entsprechender Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt anschließend säulenchromatographisch gereinigt. Anhand der IR- und NMR-spektroskopischen Daten konnte das isolierte Produkt als 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **160** (66%) identifiziert werden. Demzufolge kam es unter den sauren Reaktionsbedingungen ausschließlich zu einer Spaltung des Methylglycosids, das gewünschte Glycosylbromid **159** konnte nicht erhalten werden (Abb. 100).

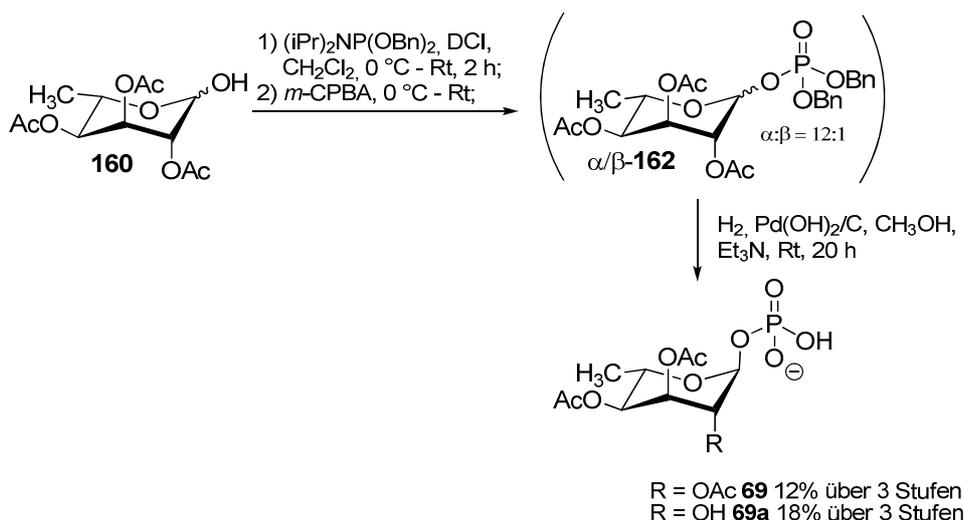
Als nächstes wurde versucht, das Halogenid **159** über eine Bromierung des entsprechenden peracetylierten Monosaccharids unter Einsatz der zuvor verwendeten

Reagenzien zu erhalten (Abb. 101). Dabei verlief sowohl die Reaktion mit Bromwasserstoffsäure als auch die Umsetzung mit Titan(IV)bromid abermals unter Bildung eines Hauptproduktes. Anders als bei den Reaktionen des Methylglycosides **158**, wies dieses Produkt vor der wässrigen Aufarbeitung jedoch einen höheren Retentionsfaktor auf als danach, so dass in diesem Fall von einer hydrolytischen Spaltung des zuvor gebildeten Bromids **159** ausgegangen werden konnte. Durch säulenchromatographische Reinigung konnte 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **160** von übrigen Zersetzungsprodukten getrennt und in Ausbeuten zwischen 60% und 65% isoliert werden.



**Abb. 101: Versuch der Synthese von Glycosylbromid 159**

Da für die Erprobung der Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose  $\alpha/\beta$ -**45** nur eine begrenzte Menge an Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosid **141** zur Verfügung stand, wurden weitere Versuche zur Darstellung des Glycosylbromids eingestellt und mit 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **160** eine Phosphorylierung über die Phosphoramiditmethode erprobt. Dazu wurde **160** mit Dibenzyl-*N,N*-diisopropylphosphoramidit unter Zusatz von DCI umgesetzt, welches bei dieser Reaktion als Aktivator fungierte (Abb. 102). Nach einer Reaktionszeit von zwei Stunden konnte dünn-schichtchromatographisch ein nahezu vollständiger Umsatz des Eduktes **160** beobachtet werden, so dass die Oxidation des gebildeten Phosphit-Intermediates durch *meta*-Chlorperbenzoesäure eingeleitet werden konnte. Nach Aufarbeitung konnte neben dem Dibenzyl-*N,N*-diisopropylphosphoramidat, welches als Oxidationsprodukt des im Überschuss eingesetzten Phosphorylierungsreagenzes gebildet wurde, der gewünschte Phosphatriester  $\alpha/\beta$ -**162** als Gemisch seiner Anomere in einem Verhältnis von  $\alpha:\beta \approx 12:1$  erhalten werden. Anschließend wurde versucht, das Produktgemisch säulenchromatographisch zu trennen. Da aufgrund nahezu identischer Retentionsfaktoren auch nach mehrmaliger Wiederholung der Reinigung unter Verwendung verschiedener Eluenten weder eine Abtrennung des Nebenproduktes noch eine Trennung des anomeren Gemisches erzielt werden konnte, wurde das Produktgemisch ohne weitere Reinigungsschritte in der nächsten Reaktion umgesetzt.



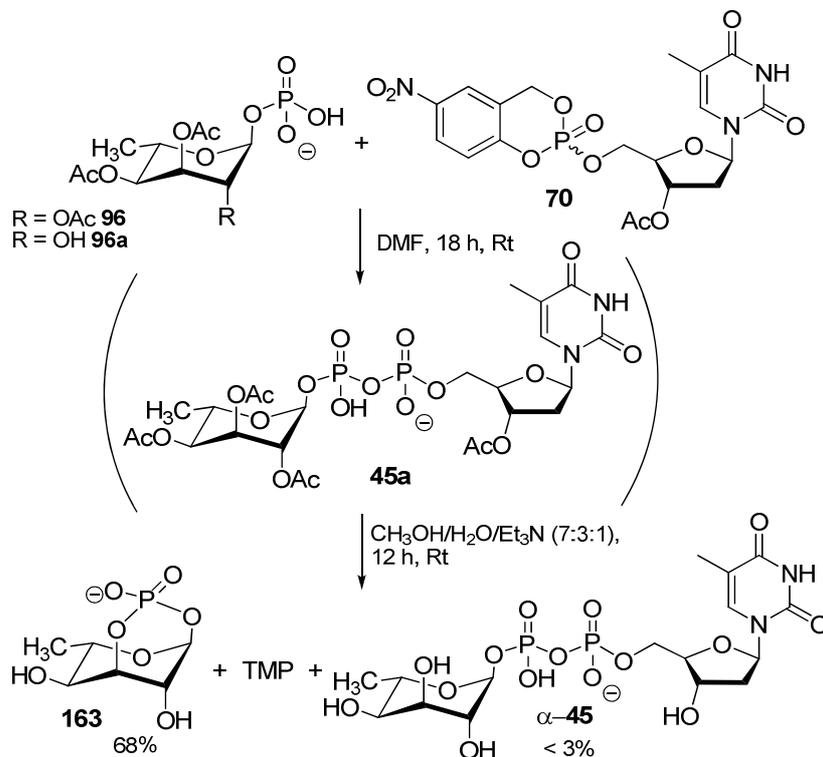
**Abb. 102: Synthese des  $\alpha$ -Glycosylphosphates 69/69a.**

Die Spaltung der Benzylether erfolgte durch eine katalytische Hydrogenolyse in Methanol. Zur Einführung definierter Gegenionen, welche eine bessere Löslichkeit des Glycosylphosphates in DMF bei der folgenden Synthese des TDP-Zuckers ermöglichen sollten, wurde die Reaktion außerdem unter Zusatz einer geringen Menge Triethylamin durchgeführt (Abb. 102). Unter den gewählten Reaktionsbedingungen konnte neben der Abspaltung der Benzylgruppen ebenfalls eine schrittweise De-O-acetylierung des Glycosylphosphates beobachtet werden. Die säulenchromatographische Trennung des Produktgemisches erfolgte an Kieselgel unter Verwendung eines polaren Eluenten (Acetonitril/Wasser). Das Nebenprodukt der vorherigen Reaktion konnte dabei erfolgreich entfernt werden. Neben dem gewünschten 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosylphosphat  $\alpha$ -**69** (12%), konnte das partiell acetylierte  $\alpha$ -Glycosylphosphat  $\alpha$ -**69a** (18%) sowie Spuren des  $\beta$ -Anomers  $\beta$ -**69** isoliert werden.

Da in vorangegangenen Arbeiten gezeigt werden konnte, dass die Schutzgruppen der Zucker-1-phosphate bei der NDP-Zucker-Synthese nach der *cycloSal*-Methode zwar einen Einfluss auf ihre Löslichkeit jedoch nicht auf das Ergebnis sowie die Selektivität der Umsetzung haben, konnten beide erhaltenen  $\alpha$ -Glycosylphosphate  $\alpha$ -**69** und  $\alpha$ -**69a** in der folgenden Reaktion zur Darstellung von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose  $\alpha/\beta$ -**45** eingesetzt werden.<sup>72,91</sup> Die erhaltene Menge des  $\beta$ -Glycosylphosphates reichte für eine Umsetzung mit *cycloSal*-Triester **70** zur Darstellung von TDP-6-desoxy- $\beta$ -L-altrose  $\beta$ -**45** nicht aus.

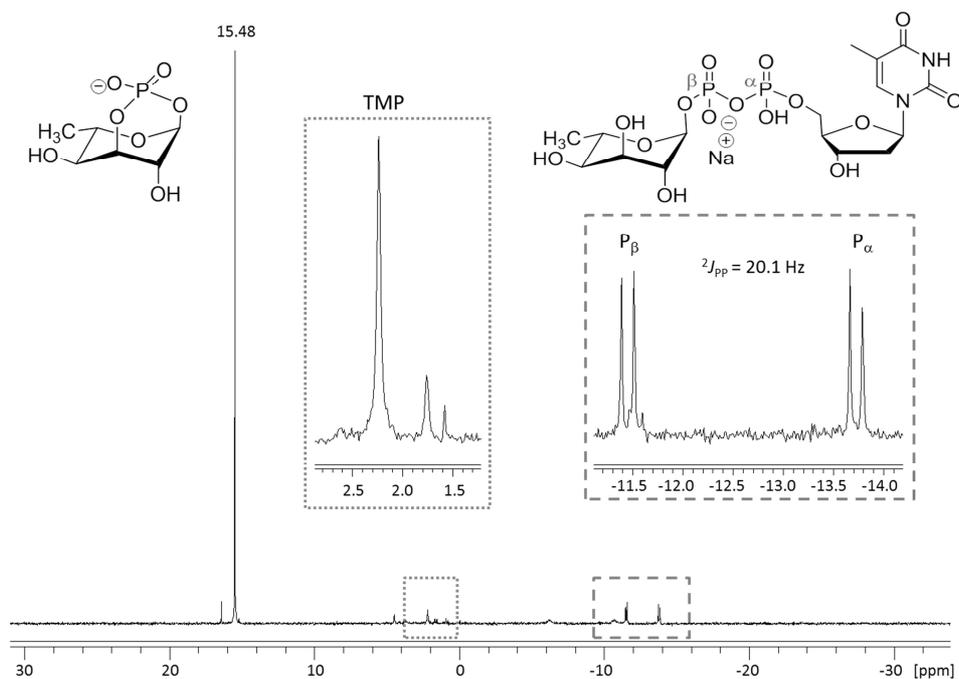
Die Reaktion mit 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-acetylthymidinmonophosphat **70** erfolgte dabei nach dem in Kapitel 2.4.2.2 beschriebenen Syntheseprotokoll in DMF (Abb. 103). Nach vollständiger Umsetzung vom Triester **70** wurden die Acetylgruppen unter basischen Bedingungen in einer Mischung aus Methanol, Wasser und Triethylamin (7:3:1, v/v) hydrolytisch

entfernt. Anschließend wurde versucht, das Reaktionsgemisch an RP-18-Kieselgel mit Wasser als Eluenten zu trennen.



**Abb. 103: Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose  $\alpha$ -45 bzw. 1,3-Cyclophosphat 163.**

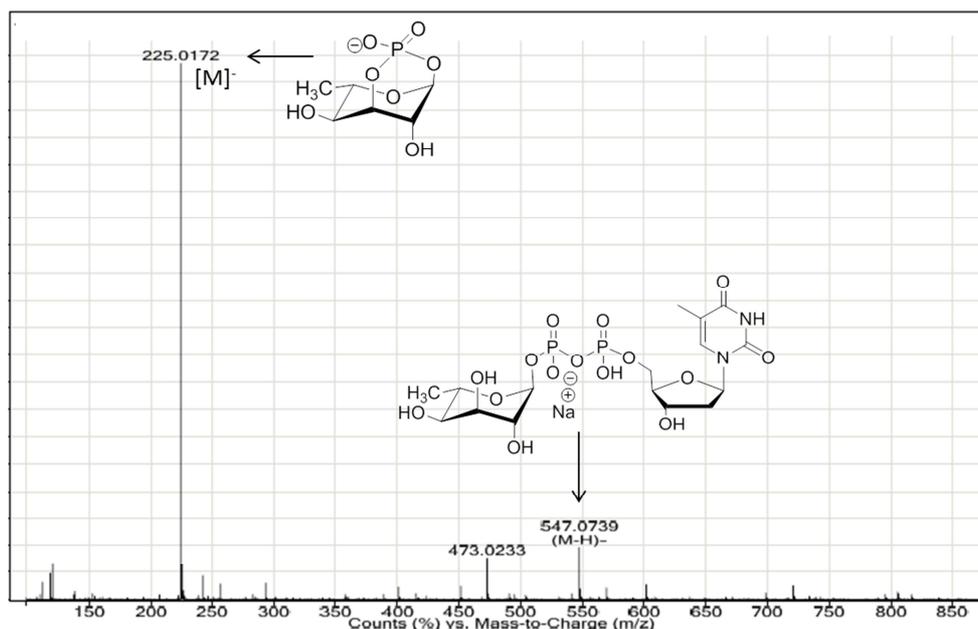
Nach der ersten Reinigung wurde neben dem deacetylierten Analogon (**157**) des im Überschuss eingesetzten  $\alpha$ -Glycosylphosphates  $\alpha$ -**69** bzw.  $\alpha$ -**69a** und Thymidinmonophosphat (TMP), ein Gemisch diverser phosphorylierter Verbindungen erhalten, dessen  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum in Abb. 104 dargestellt ist. Während das Singulett mit einer chemischen Verschiebung von  $\delta = 2.24$  ppm auf eine unvollständige Trennung vom TMP schließen ließ, konnten die beiden Dubletts mit  $\delta = -11.45$  ppm und  $-13.73$  ppm und einer geminalen Kopplungskonstante von  $^2J_{\text{PP}} = 20.1$  Hz den Phosphoratomen des gewünschten deacetylierten TDP-Zuckers  $\alpha$ -**45** zugeordnet werden. Beide Verbindungen waren in der Mischung jedoch nur in sehr geringen Mengen enthalten. In Bezug auf  $\alpha$ -**45** wurde in einem Verhältnis von 9:1 (Bestimmung erfolgte anhand der Signalintegrale des  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrums) als Hauptprodukt ein phosphorylierter Zucker erhalten, welcher im  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum ein Singulett mit einer chemischen Verschiebung von  $\delta = 15.48$  ppm aufwies und dessen Struktur bislang unbekannt war.



**Abb. 104:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum (162 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) der nach der ersten Chromatographie erhaltenen Mischfraktion aus  $\alpha$ -45, TMP und 163.

Da nach einer weiteren säulenchromatographischen Reinigung zwar das übrige TMP entfernt werden konnte, eine Trennung des Zuckernucleotids  $\alpha$ -45 von dem unbekanntem Produkt jedoch nicht möglich war, wurde das Gemisch im Anschluss mit Hilfe präparativer Dünnschichtchromatographie mit einem Gemisch aus *iso*-Propanol und 1 M Ammoniumacetatlösung (2:1 v/v) als Eluenten separiert. Nach erfolgreicher Trennung wurden beide Produktlinien jeweils zusammen mit dem Kieselgel mechanisch von der Trägerplatte entfernt. Durch Filtration wurde anschließend unter Verwendung diverser polarer Lösungsmittel (Acetonitril, Methanol, Wasser) versucht, die phosphorylierten Verbindungen von der stationären Phase zu eluieren. Während die unbekannte Phosphorspezies durch diesen Reinigungsschritt erfolgreich isoliert werden konnte, ist es leider nicht gelungen, TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose  $\alpha$ -45 vom Kieselgel zu befreien, so dass das gewünschte Produkt nicht erhalten werden konnte.

Eine vollständige Charakterisierung von TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose  $\alpha$ -45 war nicht möglich. Anhand der massenspektrometrischen (Abb. 105:  $m/z = 547.0739$ ) und  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopischen Daten (Abb. 104:  $\delta$  (ppm) = -13.73 (d,  $^2J_{PP} = 20.2$  Hz,  $P_\beta$ ), -11.45 (d,  $^2J_{PP} = 20.1$  Hz,  $P_\alpha$ )) der nach den ersten Chromatographien erhaltenen Produktgemische konnte die Bildung dieses Zuckernucleotids dennoch belegt werden.



**Abb. 105:** ESI-Massenspektrum von der nach der zweiten Chromatographie erhaltenen Mischfraktion von  $\alpha$ -45 und **163**.

Auf Grundlage des nach der dünnschichtchromatographischen Reinigung erhaltenen analytischen Datensatzes konnte das bislang unbekannte Produkt als 6-Desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosyl-1,3-cyclophosphat **163** identifiziert werden. Dabei dienten als Beweis für die Bildung des sechsgliedrigen 1,3-cyclischen Phosphates neben dem tieffeldverschobenen Signal des Phosphoratoms im  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum (Abb. 104:  $\delta = 15.48$  ppm), vor allem die große heteronucleare Kopplungskonstante ( $^3J_{\text{H1P}} = 21.5$  Hz) des Protons am  $\alpha$ -konfigurierten Kohlenstoffatom ( $^3J_{\text{H1H2}} = 2.8$  Hz) (Abb. 106), sowie die ungewöhnliche Aufspaltung der C2- und C3-Signale im  $^1\text{H}$ -entkoppelten  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum (Abb. 107). Während für das C3-Atom ein Dublett bei 67.7 ppm mit einer Kopplungskonstanten von  $^2J_{\text{CP}} = 10.9$  ppm erhalten wurde, zeigte das Signal des C2-Atoms eine kleinere Kopplung mit  $^3J_{\text{CP}} = 1.3$  ppm, so dass für das gebildete cyclische Phosphat eine 1,3-Verknüpfung ermittelt wurde. Zudem konnte die Bildung des 6-Desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosyl-1,3-cyclophosphates **163** massenspektrometrisch verifiziert werden (Abb. 105:  $m/z$   $[\text{M}]^- = 225.0172$ ).

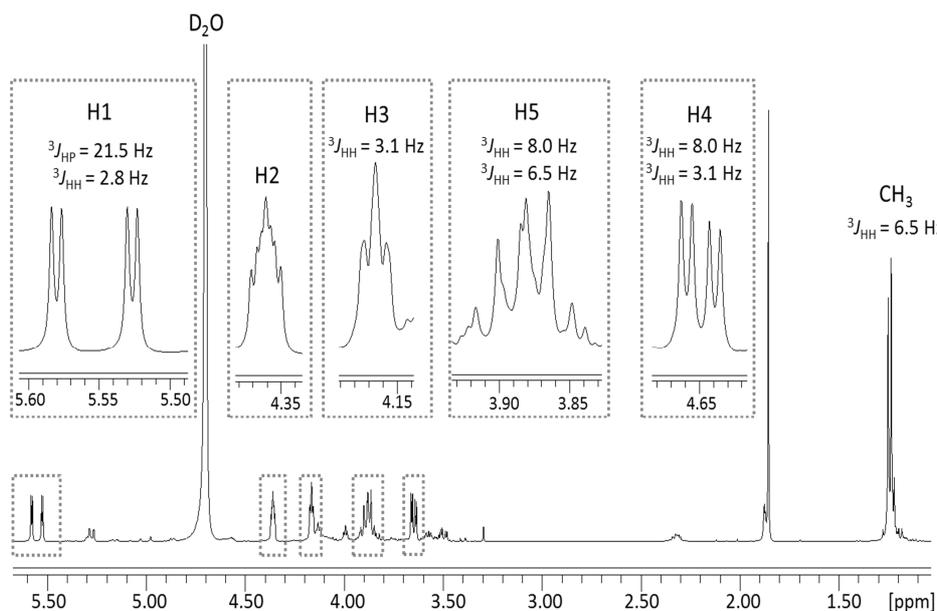


Abb. 106:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) von **163**.

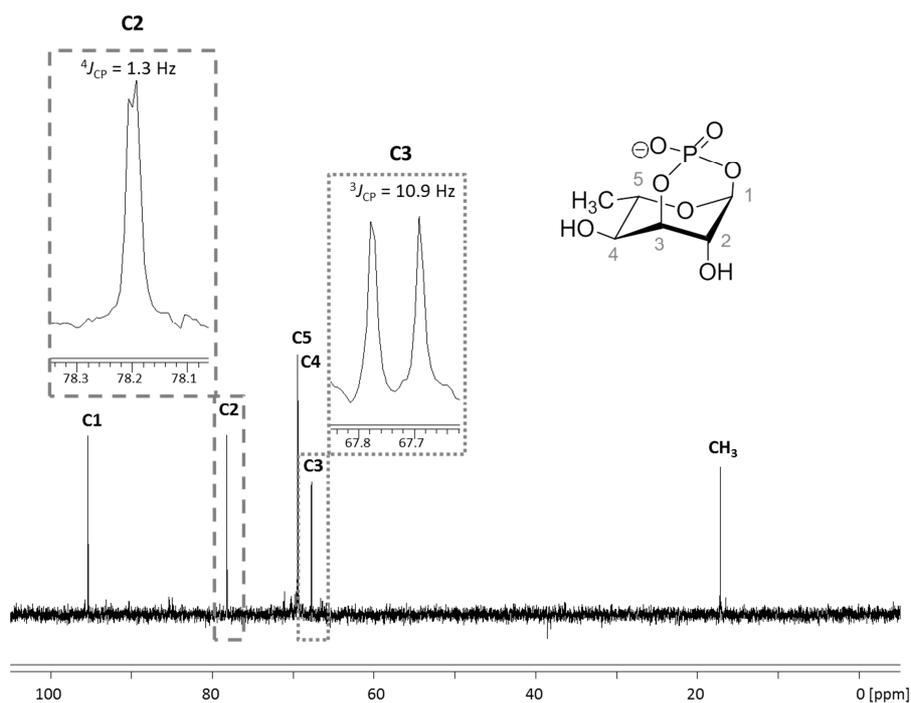
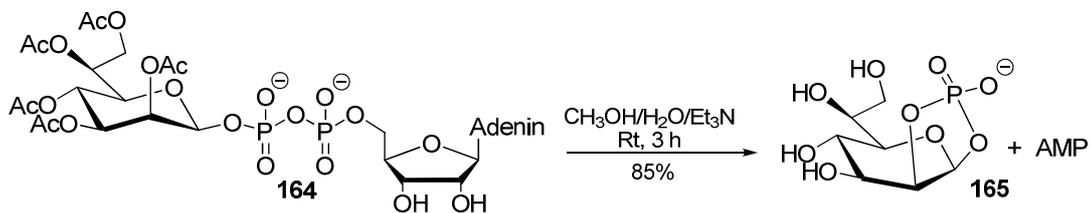


Abb. 107:  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) von **163**.

Cyclische Zuckerphosphate sind als Spaltprodukte von NDP-Zuckern unter basischen Bedingungen literaturbekannt.<sup>84,175-178</sup> So beobachteten *Zamyatina et al.* beispielsweise bei der Abspaltung der Acetylgruppen von ADP-2,3,4,6,7-penta-*O*-acetyl-L-glycero- $\beta$ -D-mannopyranose **164**, welche analog zu den in Abb. 103 dargestellten Reaktionsbedingungen unter Zusatz von Methanol, Wasser und Triethylamin bei Raumtemperatur durchgeführt

wurde, die Bildung eines entsprechenden 1,2-cyclischen Phosphates **165**, welches im  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum ein Signal mit einer chemische Verschiebung von  $\delta = 17.8$  ppm aufwies.<sup>178</sup>



**Abb. 108:** Spaltung eines NDP-Zuckers unter basischen Bedingungen nach *Zamyatina et al.*

Bei der Ausbildung cyclischer Phosphate verlaufen der Bruch der Pyrophosphatbrücke und die Cyclisierung unter Nachbargruppenbeteiligung nach einem  $\text{S}_{\text{N}}2$ -artigen Mechanismus. Hierbei erfolgt ein nucleophiler Angriff einer Hydroxygruppe (z.B. 2-OH oder 3-OH) der Glycosyleinheit auf das  $\beta$ -Phosphoratom unter Abspaltung des entsprechenden Nucleosidmonophosphates.<sup>178</sup>

Während in der Literatur einige Beispiele über die Entstehung von 1,2-cyclischen Phosphaten beschrieben sind,<sup>84,175,177,178</sup> ist über analoge 1,3-cyclische Verbindungen hingegen wenig bekannt.<sup>177</sup> Es wird vermutet, dass die Bildung der cyclischen Phosphate von der Konformation der jeweiligen Glycosyleinheit des NDP-Zuckers abhängt: Während die Ausbildung eines fünfgliedrigen 1,2-Cyclophosphates beispielsweise bei der Spaltung von UDP- $\alpha$ -D-glucose,<sup>175</sup> TDP- $\alpha$ -D-galactose<sup>179</sup> und ADP-L-glycero- $\beta$ -D-mannoheptopyranose<sup>178</sup> begünstigt wird, wird TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose **45** aufgrund der 1,3-diaxialen Stellung der Hydroxygruppen in der  $^1\text{C}_4$ -Konformation der Zuckereinheit bevorzugt unter Ausbildung eines sechsgliedrigen 1,3-cyclischen Phosphates gespalten.

Bislang konnte eine Vielzahl von NDP-Zuckern nach dem von *Wolf et al.* entwickelten Syntheseprotokoll, welches eine De-O-acetylierung unter stark basischen Bedingungen beinhaltet, erfolgreich dargestellt werden.<sup>72,89,91</sup> Eine Spaltung der Pyrophosphatbrücke unter der Ausbildung cyclischer Phosphate konnte bei diesem Verfahren jedoch nur sehr selten und allenfalls in geringem Maße beobachtet werden.<sup>179</sup> Da 6-Desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosyl-1,3-cyclophosphat **163** bei der in Abb. 103 gezeigten Reaktionsabfolge hingegen als Hauptprodukt (68%) erhalten wurde, wird vermutet, dass die Bildung dieses cyclischen Phosphates aufgrund der 1,3-diaxialen Stellung der Hydroxygruppen der Glycosyleinheit und der daraus resultierenden Stabilität der bicyclischen Struktur besonders begünstigt wurde.

Da es sich beim 1,3-Cyclophosphat **163** und TMP um Spaltprodukte von TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose  $\alpha$ -**45** handelte, konnte davon jedoch ausgegangen werden, dass der erste Schritt der in Abb. 103 dargestellten Reaktionssequenz erfolgreich unter Bildung des gewünschten Zuckernucleotids  $\alpha$ -**45a** verlaufen ist und es erst im zweiten Schritt unter den stark basischen Bedingungen der De-O-acetylierung zu einer nahezu vollständigen Spaltung des zuvor gebildeten Produktes kam. Folglich konnte die Ausbeute der NDP-Zucker-Synthese aus der erhaltenen Menge an 6-Desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosyl-1,3-cyclophosphat **163** ermittelt werden. Mit einer Ausbeute von ca. 68% verlief die Synthese der acetylierten TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose  $\alpha$ -**45a** somit im Vergleich mit bereits veröffentlichten Resultaten, welche bei der Darstellung diverser TDP-Zucker mit Hilfe des *cycloSal*-Konzepts bislang erzielt wurden, relativ erfolgreich.<sup>72,89</sup> Um eine Spaltung des gebildeten Zuckernucleotids während der De-O-acetylierung zu verhindern, sollte in weiterführenden Arbeiten jedoch der Einsatz alternativer Reagenzien (z.B. Triethylammoniumbicarbonat-Pufferlösung)<sup>178</sup> erprobt werden, welche eine basische Hydrolyse der Acetatgruppen von  $\alpha$ -**45a** unter milderer Konditionen ermöglichen.

#### 4.3.6 Fazit

Somit konnte über eine 5-Epimerisierung der kommerziell erhältlichen D-Galactose D-**64** (Abb. 69: Syntheseweg A.1) bzw. D-Fucose D-**15** (Abb. 69: Syntheseweg B) in einer achtstufigen Synthese, Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -L-altropyranosid **123** sowie dessen 6-Desoxy-Derivat **141** erfolgreich dargestellt werden. Ein Zugang zur 6-Desoxy-L-altrose **44** über die Desoxygenierung von L-Altrose **42** blieb verwehrt (Abb. 69: Syntheseweg A.2).

Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosid **141** konnte nach einem Schutzgruppenaustausch über die Phosphoramidit-Methode in das entsprechende 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosylphosphat  $\alpha$ -**69** bzw.  $\alpha$ -**69a** überführt werden. Letzteres konnte im Anschluss nach dem *cycloSal*-Verfahren durch Reaktion mit 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-acetylthymidinmonophosphat **70** erfolgreich zur acetylierten TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose  $\alpha$ -**45a** umgesetzt werden (68%). Nach der basischen De-O-acetylierung und anschließender Chromatographie konnte jedoch eine nahezu vollständige Spaltung des zuvor dargestellten Produktes  $\alpha$ -**45a** unter Bildung des bislang unbekanntenen 6-Desoxy- $\alpha$ -L-altropyranose-1,3-cyclophosphates **163** und TMP festgestellt werden. Während sich das *cycloSal*-Verfahren für die Synthese der für LPS-Biosynthese-Studien benötigten TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose  $\alpha$ -**45** als sehr geeignet erwies, sollten in weiterführenden Arbeiten alternative De-O-acetylierungsbedingungen erprobt werden, unter denen eine Spaltung des NDP-Zuckers verhindert werden kann.

## **Teil II**

# **Synthese und Charakterisierung lipophiler *cycloSal*-(2-desoxy)- ribofuranosylmonophosphat Prodrugs**

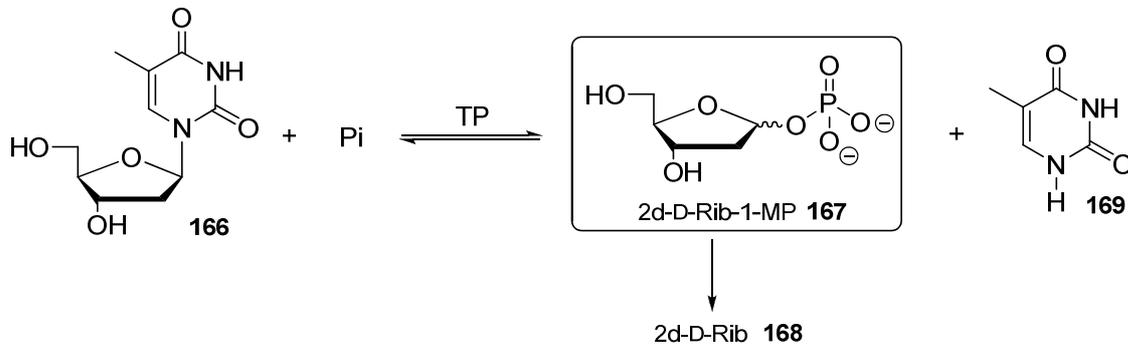
## 5 Einleitung

Im menschlichen Körper unterliegen Zellwachstum, Zellteilung und Zelltod (Apoptose) verschiedenen Kontrollmechanismen. Durch Mutationen kann es zu einer Störung oder gar zu einem Verlust dieser Regulation kommen, so dass die Zahl der neugebildeten Zellen, die der abgestorbenen übersteigt. Dies führt zur Bildung von überschüssigem Gewebe (Tumor), welches gut- oder bösartig sein kann. Während gutartige (benigne) Tumoren auf den Ort ihres Ursprungs begrenzt bleiben und umliegendes Gewebe zwar verdrängen, jedoch nicht in dieses eindringen können, zeichnen sich bösartige (maligne) vor allem durch ein infiltrierendes und destruktives Wachstum aus. Maligne Zellen, die auch als Krebszellen bezeichnet werden, können sich zudem aus dem ursprünglichen Tumor herauslösen und sich über das Lymphsystem oder die Blutbahn im Körper verteilen. Dabei kommt es in anderen Körperteilen zur Bildung von Tochtergeschwülsten, sogenannten Metastasen.<sup>180</sup>

Zur kontinuierlichen Sauerstoff- und Substratversorgung von Zellen aber auch zum Abtransport diverser Stoffwechselprodukte verfügt der menschliche Körper über ein dichtes und fein verästeltes System von Blutgefäßen. Im frühen Wachstumsstadium (avaskuläre Phase) findet die Versorgung von malignen Tumoren über Diffusionsprozesse statt. In der späteren Phase ihres Wachstums, benötigen sie aufgrund der zu weiten Diffusionsstrecke jedoch einen eigenen Anschluss an das Blutgefäßsystem (vaskuläre Phase), damit ein weiteres Wachstum und eine Metastasierung stattfinden können.<sup>181</sup> Tatsächlich sind Tumoren in der Lage die Bildung neuer Blutgefäße, die sogenannte Angiogenese, zu veranlassen. Dieser Prozess ist sehr komplex und steht unter enger Kontrolle von verschiedenen endogenen Stimulatoren und Inhibitoren (angiogenetische Faktoren), die unter normalen physiologischen Bedingungen im Gleichgewicht stehen.<sup>182</sup> Malignen Tumoren gelingt es mit Hilfe dieser Faktoren das Gleichgewicht zu verschieben und so die Proliferation von Endothelzellen und das Gefäßwachstum zu stimulieren, um die eigene Versorgung mit Gefäßen zu erreichen.<sup>183-185</sup>

Neben dem VEGF (Vascular endothelial growth factor), gehört unter anderem auch der PD-ECGF (Platelet-Derived Endothelial Cell Growth Factor) zu den bekanntesten und häufigsten angiogenetischen Faktoren. PD-ECGF stimuliert die Chemotaxis der Endothelzellen und folglich auch die Angiogenese.<sup>186</sup> Im Widerspruch zu dem, was der Name vermuten lässt, geht von ihm jedoch keine wachstumsstimulierende Wirkung auf die Endothelzellen aus, so dass es sich beim PD-ECGF um keinen klassischen Wachstumsfak-

tor handelt.<sup>187,188</sup> Zudem wurde ECGF in den 1990er Jahren als Thymidin-Phosphorylase (TP) identifiziert.<sup>189,190</sup> Dieses salvage-pathway Enzym katalysiert die Spaltung von Thymidin **166** in Thymin **169** und 2-Desoxy-D-ribofuranosylmonophosphat (2d-D-Rib-1-MP) **167**, welches über eine Dephosphorylierung in die zellmembranpermeable 2-Desoxy-D-ribose (2d-D-Rib) **168** überführt wird.



**Abb. 109: TP-katalysierte Spaltung von Thymidin 166.**

In den späten 1970er Jahren wurde bei einer Vielzahl von Tumorpatienten eine erhöhte Konzentration an TP festgestellt.<sup>191</sup> Später wurde bekannt, dass TP die Tumorzellen über einen angiogenen und chemotaktischen Effekt vor der durch Sauerstoffmangel induzierten Apoptose schützt und so das Tumorwachstum einiger Krebszelllinien verstärkt.<sup>192</sup>

Obwohl bereits einige Untersuchungen zur Aufklärung des molekularen Mechanismus, über den TP diese biologischen Funktionen ausübt, durchgeführt wurden, fehlt bis heute ein detailliertes Verständnis von der Signalübertragungskaskade, die von TP und seinen Abbauprodukten **167** – **169** ausgelöst wird.<sup>193</sup> Dieses Wissen könnte jedoch wesentliche Informationen für die Entwicklung potentieller TP-Inhibitoren als innovative Wirkstoffe im Kampf gegen den Krebs liefern.

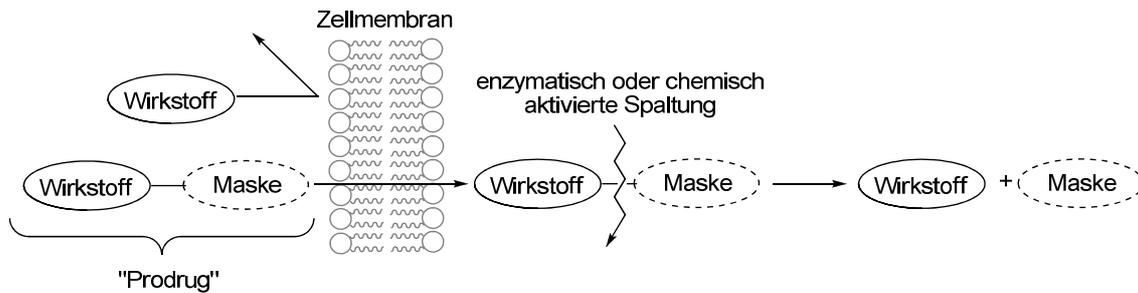
## 6 Kenntnisstand

In einer Reihe von soliden Tumoren von Krebspatienten wurden eine erhöhte Konzentrationen an Thymidin-Phosphorylase (auch bezeichnet als TP oder PD-ECGF) festgestellt.<sup>191</sup> Dieses Enzym ist in der Lage den Zelltod der Krebszellen zu verhindern und die Bildung neuer Blutgefäße zu veranlassen, so dass das Wachstum und die Metastasierung des Tumors stimuliert werden.<sup>192</sup> Für die Krebstherapie ist die Entwicklung potentieller TP-Inhibitoren und deren Einsatz als neuartige Wirkstoffe daher von großem Interesse.

Die Verwendung von TP-Inhibitoren in der Behandlung von Krebs sollte jedoch mit Vorsicht und Bedacht erfolgen, da die TP-Aktivität häufig für die Aktivierung diverser Wirkstoffvorläufer (Prodrugs) essenziell ist, um die enzymatische Freisetzung des eigentlichen Wirkstoffs im Tumor zu erzielen. Beispielsweise setzt Capecitabine über eine enzymatische Aktivierung 5-Fluoruracil frei, welches die Inhibition der DNA-Synthese veranlasst, so dass das Tumorwachstum verlangsamt wird.<sup>193</sup>

Der therapeutische Einsatz von TP-Inhibitoren in Kombination mit solchen TP-aktivierungsabhängigen Wirkstoffen wäre demnach nicht möglich. Eine potenzielle Strategie um dieses Problem zu umgehen, liegt in der indirekten Hemmung der TP-Aktivität über die Blockierung ihrer Downstream Mediatoren. Es ist bekannt, dass viele der biologischen TP-Funktionen durch 2d-D-Rib **168** vermittelt werden und daher konnte das Konzept einer indirekten Inhibition bereits erfolgreich auf das entsprechende L-Enantiomer angewendet werden. Dieses Molekül ist tatsächlich in der Lage die biologische TP-Aktivität unter Erhalt der enzymatischen Funktion zu inhibieren und könnte somit in Kombination mit einer Fluorpyrimidin Chemotherapie eingesetzt werden.<sup>193</sup> Ob auch das 2d-D-Rib-1-MP **167** in der Vermittlung der angiogenen und chemotaktischen TP-Funktionen und somit in der Stimulation des Tumorwachstums als Mediator fungiert, ist nicht bekannt.<sup>194</sup> Um die Rolle von 2d-D-Rib-1-MP **167** in diesen Prozessen eingehender untersuchen zu können, ist es nötig, dieses in Zellen einzuschleusen. Bedingt durch die negativen Ladungen der Phosphatgruppe weist **167** jedoch eine erhöhte Hydrophilie auf und wäre ohne weiteres nicht in der Lage eine lipophile Zellmembran zu durchdringen. Um dennoch eine intrazelluläre Freisetzung solch polarer Verbindungen zu erreichen, müsste die Phosphatgruppe lipophil maskiert werden. Eine Möglichkeit, um dies zu erreichen, stellt die Verwendung des Prodrug-Ansatzes dar.

Wie im Zusammenhang mit Capecitabin erwähnt wurde, werden als Prodrugs pharmakologisch inaktive oder wenig aktive Substanzen bezeichnet, die als lipophile Wirkstoffvorläufer dienen und erst durch eine chemische oder enzymatische Metabolisierung im Organismus in eine aktive Form überführt werden (Abb. 110).<sup>195</sup> Dabei kann die Aktivierung vor, während oder nach der Aufnahme in die Zelle oder im besten Falle erst am spezifischen Wirkort im Körper erfolgen.



**Abb. 110:** Prodrug-Konzept zur intrazellulären Freisetzung von Wirkstoffen.

Um eine tatsächliche Verbesserung der biopharmazeutischen und pharmakokinetischen Eigenschaften eines Wirkstoffs zu erreichen, muss sein Prodrug verschiedene Kriterien erfüllen:

- Eine ausreichende Hydrophilie, um die Löslichkeit im Blutserum zu gewährleisten,
- Eine hinreichende Stabilität, um an den spezifischen Wirkort zu gelangen,
- Eine verbesserte Lipophilie um die Penetration der Zellmembran zu garantieren,
- Eine intrazelluläre Abspaltung der lipophilen Maske,
- Und eine geringe Toxizität der Spaltprodukte, um Nebenwirkungen zu verhindern<sup>196</sup>

Voraussetzung für die Synthese von Prodrugs bzw. das Einführen einer lipophilen Maske in das Wirkstoffmolekül ist das Vorhandensein geeigneter funktioneller Gruppen, die eine Derivatisierung der Verbindung erlauben.

Zur Maskierung von antiviral aktiven phosphorylierten Nucleosidanaloga wurde eine Vielzahl von Prodrug-Konzepten entwickelt.<sup>197-208</sup> Solche Prodrugs werden als Pronucleotide bezeichnet. Nucleosidmonophosphate liegen beim physiologischen pH-Wert als Dianionen vor, so dass die Möglichkeit einer einfachen bzw. einer doppelten Maskierung der negativen Ladungen besteht. Die Entwicklung von Pronucleotiden, in denen nur eine Ladung durch eine einfache Alkyl- oder Arylester maskiert ist, scheiterte an der verbleibenden Polarität der Verbindungen und den Abbau durch Phosphodiesterasen.<sup>209</sup> Die Maskierung beider Ladungen als Dialkylphosphatester erlaubte keine NMP-Frei-

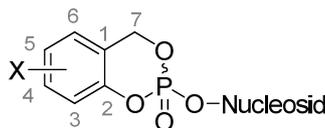
setzung, da die nach Abspaltung einer Maske gebildeten Phosphatdiester aufgrund mesomerer Effekte hydrolytisch stabil sind.<sup>210</sup> Folglich wurden dreiteilige Prodrug Systeme entwickelt, bei denen die Freisetzung des NMP erst nach einer mehrstufigen Hydrolysekaskade erfolgt, die in der Regel enzymatisch aktiviert wird.<sup>197-208,211</sup> Die selektive Freisetzung der Nucleotide aus diesen Prodrugs beruht darauf, dass die aktivierenden Esterasen in der Zelle in einer höheren Konzentration vorliegen als im Blutplasma.<sup>211,212</sup>

Eine enzymkatalysierte Spaltung der Pronucleotide bringt jedoch den Nachteil der Abhängigkeit von den aktivierenden Enzymen mit sich: So kann eine zu geringe Konzentration des Enzyms am Wirkort, eine Aktivierung des Pronucleotids und somit die NMP-Freisetzung unterbinden. Andererseits kann es auch zu einer frühzeitigen Aktivierung kommen, wenn die Enzymkonzentration vor dem Zelleintritt zu hoch ist.

Das 1996 von C. Meier entwickelte *cycloSal*-Konzept basiert daher auf einer Enzym-unabhängigen chemischen Aktivierung von Prodrugs.<sup>122</sup>

#### Das *cycloSal*-Konzept

Bei den *cycloSal*-Pronucleotiden handelt es sich um cyclische Phosphatdiester, in dem die Maskierung über eine zweifache cyclische Veresterung mit einem Salicylalkohol-Derivat erfolgt (Abb. 111). Dabei verleiht der aromatische Ring des Alkohols den *cycloSaligenyl-Nucleosid*Monophosphaten (*cycloSal*-NMP) eine ausreichende Lipophilie, die zu einer Erhöhung der Zellmembrangängigkeit führt.<sup>213</sup>



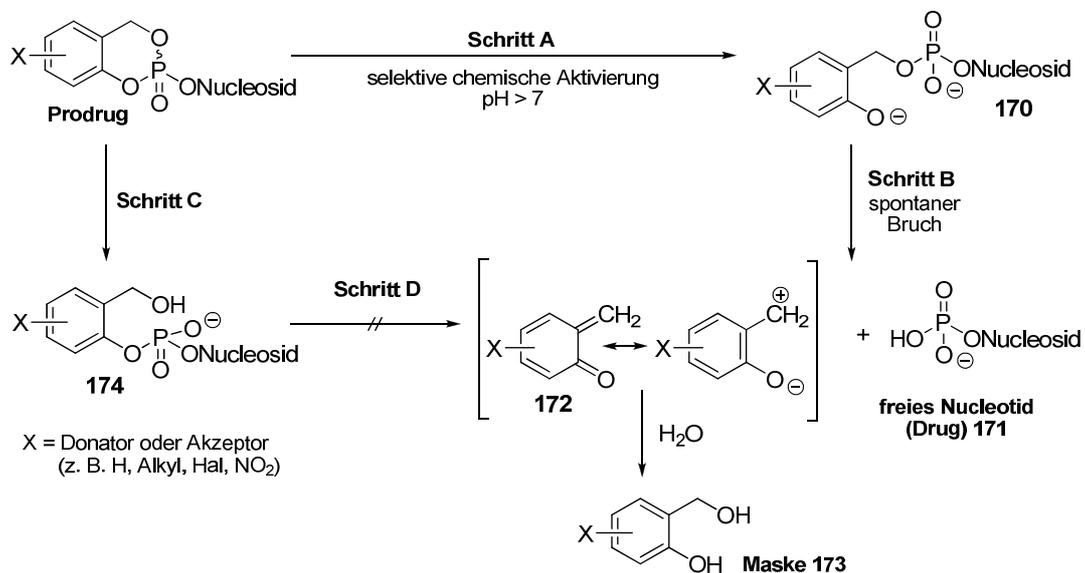
X = Donator oder Akzeptor  
(z. B. H, Alkyl, Hal, NO<sub>2</sub>)

**Abb. 111: Grundstruktur von *cycloSal*-Nucleosidmonophosphaten.**

Die Nomenklatur der *cycloSal*-NMPs, die auch als *cycloSal*-Nucleotide oder –Phosphatdiester bezeichnet werden, erfolgt in Anlehnung an die IUPAC-Regeln nach einer internen Festlegung.

Die besondere Struktur der *cycloSal*-Pronucleotide ermöglicht die chemische Differenzierbarkeit der verschiedenen Phosphatesterbindungen (Phenyl-, Benzyl-, und Alkylester), die eine hochselektive hydrolytische Freisetzung des Nucleotids erlaubt. Im Unterschied zu anderen Pronucleotid-Konzepten, die meist eine enzymatische Aktivierung vorsehen,

verläuft die Aktivierung dabei rein chemisch über einen pH-Wert-abhängigen Kaskadenmechanismus. Ausgelöst von einem Anstieg des pH-Wertes wie z.B. beim Übergang ins Cytosol, erfolgt im ersten Schritt (Abb. 112, Schritt A) die Spaltung der phenylischen Phosphatesterbindung durch einen nucleophilen Angriff auf das Phosphoratom. Dabei kommt es zur Bildung des (2-Hydroxybenzyl)phosphatdiesters **170**, welcher aufgrund seiner Mesomeriestabilisierung bevorzugt gebildet wird. Der *ortho*-Substituent des Benzylesters wird dadurch von einem schwachen (Phosphatgruppe) zu einem starken Elektronendonator (Hydroxylgruppe). Diese Umpolung im Aromaten induziert nach einer intramolekularen Protonenübertragung anschließend die spontane Spaltung der benzylichen C-O-Bindung, welche wiederum die Freisetzung des Nucleotids und 2-Chinonmethids **172** zur Folge hat (Abb. 112, Schritt B). Der maskierende Salicylalkohol **173** wird durch eine weitere Hydrolyse von **172** erhalten.<sup>88</sup> Ein alternativer Bindungsbruch der Benzylesterbindung des Pronucleotids würde zu dem (2-Hydroxymethylphenyl)phosphatdiester **174** führen (Abb. 112, Schritt C). Dieser Schritt findet jedoch nur im untergeordneten Maße statt, da die Phosphatestergruppe als sehr schwacher Donor-Substituent in *ortho*-Position zum Benzylester dessen Hydrolyse stark verlangsamt. Aufgrund der negativen Ladung der Phosphatgruppe des Diesters **174**, ist dieser gegenüber einem erneuten Angriff eines Hydroxidions inert. Eine Freisetzung des Nucleotids auf diesem Wege ist daher chemisch nicht möglich (Abb. 112, Schritt D).



**Abb. 112: Hydrolytische Spaltung von *cycloSal*-Nucleosidmonophosphaten.**

Die Geschwindigkeit der Hydrolyse von *cycloSal*-Prodrugs ist abhängig von der Stabilität der *cycloSal*-Nucleotide, welche unter anderem durch den Substituenten X am aromatischen Ring der Maske bestimmt wird. Während Elektronendonatoren in 3- oder 5-

Position einen stabilisierenden Effekt ausüben, zeigen Akzeptoren in 5-Position einen gegenteiligen Effekt, welcher zu einer Destabilisierung des Prodrugs führt.<sup>88</sup>

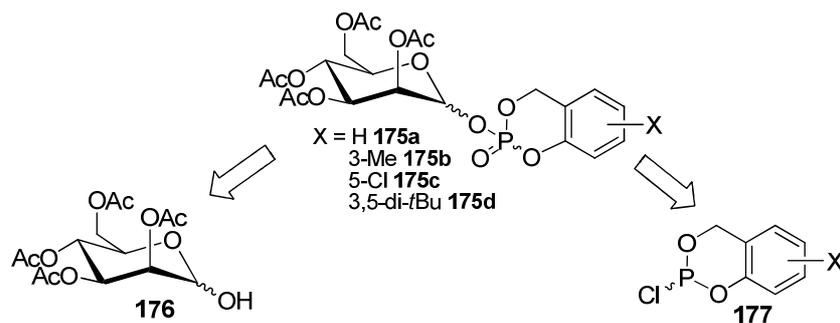
Das *cycloSal*-Konzept wurde bereits erfolgreich auf diverse Nucleosidanaloga angewendet und ihre intrazelluläre Freisetzung konnte anhand zahlreicher Studien belegt werden.<sup>121,214,215</sup> Um eine optimale Wirksamkeit zu erzielen, unterlagen die Pronucleotide der ersten Generation einer steten Weiterentwicklung. Dabei wurden unter anderem Modifikationen der Substituenten X,<sup>216-221</sup> und Derivatisierungen mit Aminosäuren<sup>222</sup> und Kohlenhydraten<sup>223</sup> vorgenommen. Zudem gelang die Synthese von sogenannten Bis-*cycloSal*-Nucleotiden, welche ein Wirkstoff-Maske-Verhältnis von 2:1 aufwiesen, was auf dem Gebiet der Pronucleotid-Konzepte bisher als einzigartig gilt.<sup>217,220</sup>

Das *cycloSal*-Konzept beschränkt sich in seiner Anwendung als Prodrug-System nicht nur auf die intrazelluläre Freisetzung von biologisch aktiven Nucleotiden. Wie das folgende Kapitel zeigt, ist es ebenfalls gelungen, lipophile *cycloSal*-Mannose-1-phosphate in Zellen zu schleusen und dort Mannose-1-phosphate freizusetzen.

#### *cycloSal*-Mannopyranosylmonophosphate als Strategie in der CDG-Ia-Therapie

"Congenital Disorders of Glycosylation" (CDG = angeborene Defekte der Glykoproteinbiosynthese) beschreibt erbliche Stoffwechselkrankheiten, in denen einzelne Schritte in der Synthese bzw. der Prozessierung von Glycosiden defekt sind. Beim Menschen führen diese meist zu schweren multisystemischen Erkrankungen, die häufig von neurologischen Defekten begleitet werden und eine geringe Lebenserwartung zur Folge haben. Am häufigsten vertreten ist der CDG-Ia-Typ, welcher durch eine defekte Umwandlung von Mannose-6-phosphat in das Mannose-1-phosphat (Man-1-MP) hervorgerufen wird.<sup>224,225</sup> Als therapeutischer Ansatz wäre hier die intrazelluläre Freisetzung von Man-1-MP denkbar.<sup>226</sup>

Analog zu der Synthese der *cycloSal*-NMPs, gelang *U. Muus et al.* die Darstellung verschiedener *cycloSal*-Man-1-MPs **175** durch Umsetzung der selektiv geschützten Mannose **176** mit den entsprechend substituierten *cycloSal*igenylchlorphophiten **177** und anknüpfender Oxidation (Abb. 113).<sup>227,228</sup>

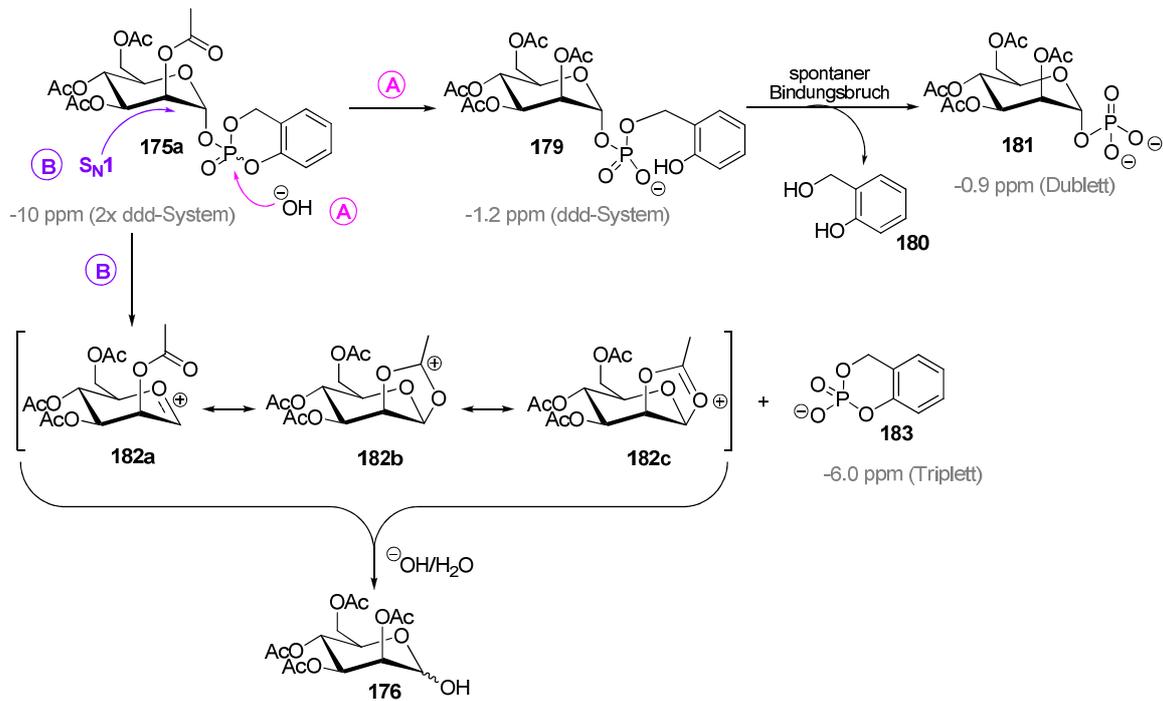


**Abb. 113: Retrosynthese von *cycloSaligenyl-Mannose-1-monophosphaten*.**

Anschließend wurde das Hydrolyseverhalten der dargestellten *cycloSal*-Triester **175a-d** bei physiologischem pH-Wert untersucht. Die aus den Hydrolyseexperimenten gewonnenen Daten zeigten, dass die Halbwertszeit  $t_{1/2}$  der Prodrugs mit zunehmender Elektronendonorstärke der in *ortho*- bzw. *para*-Position zum phenylischen Phosphatester befindlichen Substituenten X zunahm. Zudem wurden 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose ( $\text{ManAc}_4$ ) **176** und 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannopyranose-1-phosphat ( $\text{ManAc}_4$ )-1-MP **181** eindeutig als die Produkte der Hydrolyse identifiziert.<sup>227</sup>

Auf diesen Beobachtungen basierend wurde folgender Mechanismus postuliert, nach dem die Hydrolyse von *cycloSal*-( $\text{ManAc}_4$ )-1-MP **178a** auf zwei parallelen Wegen verläuft: Zum einen kann die Phenylesterbindung im Triester **178a** durch den nucleophilen Angriff eines Hydroxidions selektiv gespalten werden. Anschließend erfolgt hier der spontane Bindungsbruch der benzylicischen C-O-Bindung unter Freisetzung von Monophosphat **181** und Salicylalkohol **180** (Abb. 114; Weg A). Zum anderen besteht die Möglichkeit, dass der Mannoserest durch eine Protonierung oder in einer  $\text{S}_{\text{N}}1$ -artigen Reaktion als stabilisiertes Oxocarbeniumion **182** abgespalten wird. Durch den Angriff eines Hydroxidions wird dann  $\text{ManAc}_4$  **176** und *cycloSaligenylphosphat* **183** freigesetzt (Abb. 114; Weg B).<sup>227</sup>

Neben der Hydrolysehalbwertszeit wird auch das Verhältnis der Hydrolyseprodukte (**181** zu **176**) durch den Substituenten X der *cycloSal*-Maske beeinflusst: Akzeptorsubstituenten (wie 5-Chlor) üben einen destabilisierenden Effekt auf den Triester **175a** aus. Je destabilisierender ihr Einfluss dabei ist, desto schneller erfolgt der Bruch der Phenylesterbindung, was in einer Verkürzung der Halbwertszeit und einem größeren Anteil an MP **181** resultiert. Bei konstantem pH-Wert von 7.3 wird  $\text{ManAc}_4$  **176** mit gleichbleibender Geschwindigkeit gebildet.<sup>227</sup>



**Abb. 114:** Postulierter Hydrolysemechanismus des *cycloSal*-(ManAc<sub>4</sub>)-1-MPs **175a** und der jeweiligen chemischen Verschiebung des Phosphoratoms (<sup>31</sup>P-NMR, 162 MHz) in grau.

Abschließend wurde die biologische Aktivität der *cycloSal*-(ManAc<sub>4</sub>)-1-MPs **178a-d** in *in-vitro*-Tests unter Verwendung von CDG-Ia-Patientenzellen untersucht. Hierbei wies vor allem die Verwendung des 3-Methyl-*cycloSal*igenyl-Prodrugs **178b** auf eine Totalkorrektur der Hypoglycosylierung in diesen Zellen hin.<sup>227,228</sup>

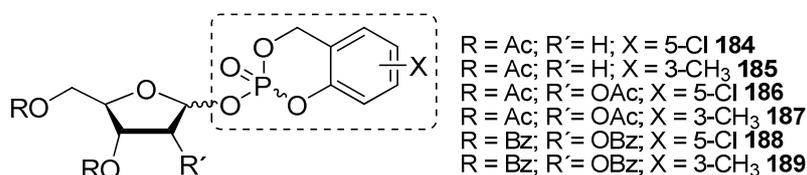
Somit konnte gezeigt werden, dass sich das *cycloSal*-Prodrug-Konzept nicht nur zur intrazellulären Freisetzung von Nucleotiden und ihren Analoga eignet, sondern dass es ebenfalls erfolgreich auf Zuckermorphosphate angewendet werden kann.

Neben dem *cycloSal*-Ansatz wurden noch andere Prodrug-Systeme für Man-1-MP entwickelt.<sup>229,230</sup> Hier erfolgten die Synthesen über Silber-katalysierte Kupplungen des Mannopyranosylbromids mit anionischen Phosphateestern. Die Maskierungen der negativen Ladungen wurden über zwei einfache Alkyl-Reste<sup>229</sup> eine zweite Zuckereinheit oder Aminosäuren erreicht.<sup>230</sup> Neben den oben genannten Schwierigkeiten, die mit dem Einsatz von Dialkylphosphateestern als Prodrugs einhergehen, sind diese Systeme im Gegensatz zu den *cycloSal*-Verbindungen zudem auf eine Aktivierung durch Enzyme angewiesen. Eine biologische Aktivität dieser Prodrugs wurde noch nicht untersucht.

## 7 Aufgabenstellung

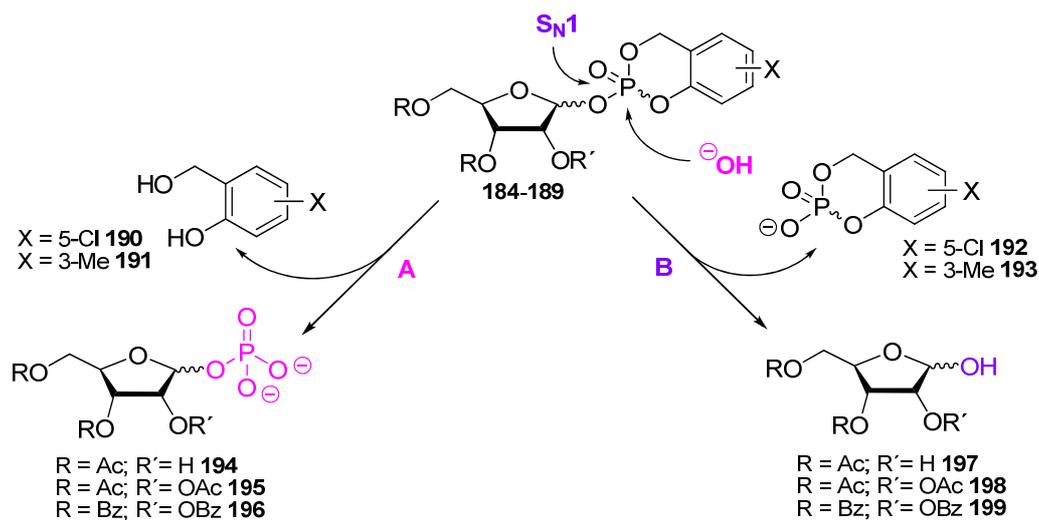
Bei einer Vielzahl von Tumorpatienten wurde eine erhöhte Konzentration an Thymidin Phosphorylase (TP) festgestellt.<sup>191</sup> Dieses Enzym, welches die Spaltung von Thymidin in Thymin und 2d-D-Rib-1-MP **162** katalysiert, schützt die Tumorzellen über seine angiogenen und chemotaktischen Funktionen vor der Sauerstoffmangel induzierten Apoptose und stimuliert so das Tumorwachstum.<sup>192</sup> Um die Rolle von 2d-D-Rib-1-MP **162** in diesen Prozessen eingehender untersuchen zu können, wäre es notwendig diese polare Verbindung z.B. in Form eines lipophilen Prodrugs in Zellen einzuschleusen.

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war die Synthese und Charakterisierung verschiedener *cycloSaligenyl*-(2d)-Ribofuranosylmonophosphate **174 – 179** (Abb. 115). Um den Prodrugs unterschiedliche Eigenschaften zu verleihen, sollten Variationen der Schutzgruppen (OAc oder OBz), des Substituenten X (Akzeptor oder Donor) und des Glycons (2d-Rib oder Rib) vorgenommen werden. Die Schutzgruppen des Glycons sollten dabei so gewählt werden, dass ihre Abspaltung vor chemisch *in vitro*-Tests bzw. währenddessen enzymatisch in der Zelle erfolgen kann.



**Abb. 115: Darzustellende *cycloSaligenyl*-(2d)-Ribofuranosylmonophosphate 184-189.**

Anschließend sollte das Hydrolyseverhalten der generierten Zielverbindungen **184-189** bei physiologischem pH-Wert untersucht werden. Die Bestimmung der Hydrolysehalbwertszeiten der Prodrugs sollte sowohl in isotonischen Phosphatpuffern als auch in Zell-extrakten erfolgen.



**Abb. 116: Mögliche Hydrolyseverläufe der *cycloSal*-(2d)-Ribofuranosylmonophosphate 184-189 bei pH 7.3.**

Eine <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopische und HPL-chromatographische Verfolgung der Hydrolyse sollte zur Aufklärung ihres Verlaufs und zur Identifizierung der resultierenden Produkte beitragen. Da aus Vorarbeiten bekannt ist, dass die Hydrolyse von *cycloSal*-Zuckermonophosphaten generell auf zwei verschiedene Weisen ablaufen kann (Abb. 116: Weg A oder B),<sup>227,228</sup> sollte zudem geprüft werden, ob das Produktverhältnis über Substituenteneffekte zu Gunsten des gewünschten Monophosphates **194**, **195** oder **196** beeinflusst werden kann (Abb. 116: Weg A).

## 8 Resultate und Diskussion

### 8.1 Synthesestrategie

Die Darstellung von *cycloSaligenyl*-Triestern kann generell auf zwei unterschiedlichen Wegen erfolgen: Zum einen kann der selektiv geschützte Wirkstoff zunächst mit dem entsprechend substituierten *cycloSaligenyl*chlorphosphit (**203** oder **204**), einer hochreaktiven Phosphor(III)-Spezies, umgesetzt werden. Anschließend wird der dabei gebildete *cycloSal*-Phosphitriester durch eine direkte Oxidation in die gewünschte Phosphor(V)-Verbindung (**184-189**) überführt (Abb. 117: Methode A: Phosphor(III)-Route). Zum anderen kann die Maskierung des Wirkstoffs über eine Reaktion mit dem weniger reaktiven *cycloSaligenyl*phosphorchloridat (**205** oder **206**) erfolgen, in dem das Phosphoratom bereits in der Oxidationsstufe V vorliegt (Abb. 117: Methode B: Phosphor(V)-Route).

Die Synthese der *cycloSaligenyl*-(2d)-Ribofuranosylmonophosphate **184-189** sollte auf beiden Wegen erprobt werden (Abb. 117).

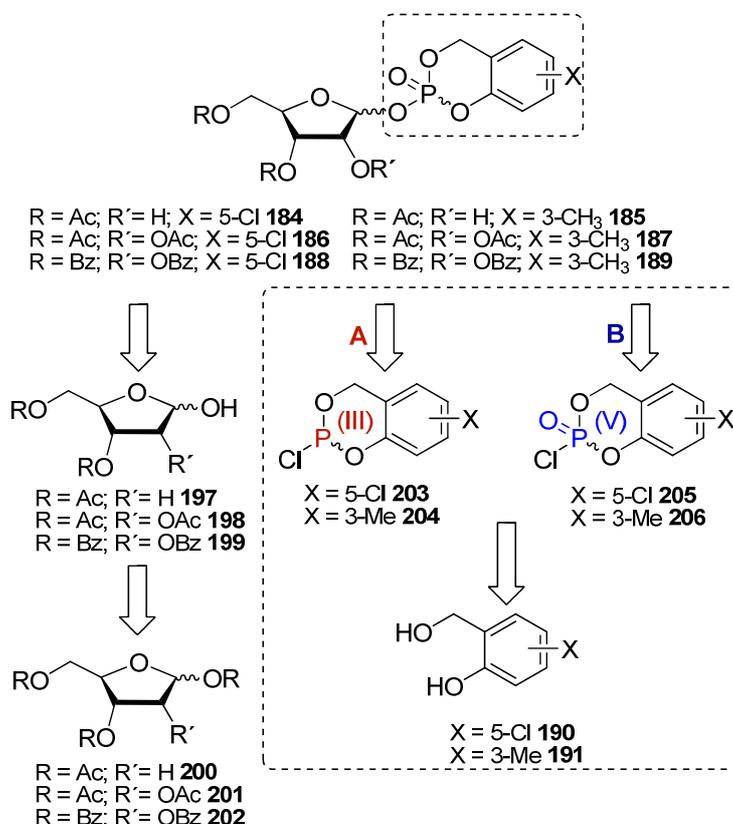
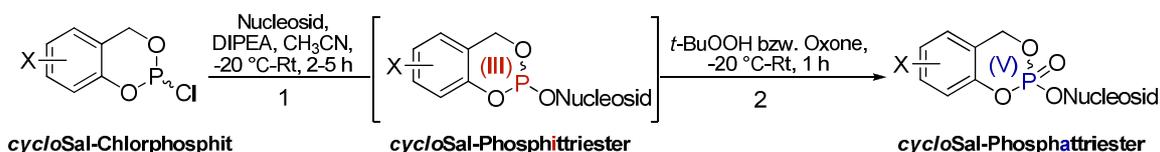


Abb. 117: Retrosyntheschema zur Darstellung der *cycloSal*-(2d)-Ribofuranosylmonophosphate **184-189**.

## 8.2 Darstellung von *cyclo*Sal-Prodrugs

### 8.2.1 Synthese von *cyclo*Sal-Triestern über *cyclo*Saligenylchlorphosphite (Phosphor(III)-Route)

Das in der Arbeitsgruppe etablierte Protokoll zur Synthese von *cyclo*Saligenyl-Nucleosidmonophosphaten (*cyclo*Sal-NMP) sieht die Reaktion eines selektiv geschützten Nucleosids mit einem *cyclo*Saligenylchlorphosphit und einer sich direkt anschließenden Oxidation zum Phosphatriester vor (Abb. 118).



**Abb. 118: Darstellung von *cyclo*Sal-NMPs über die Phosphor(III)-Route**

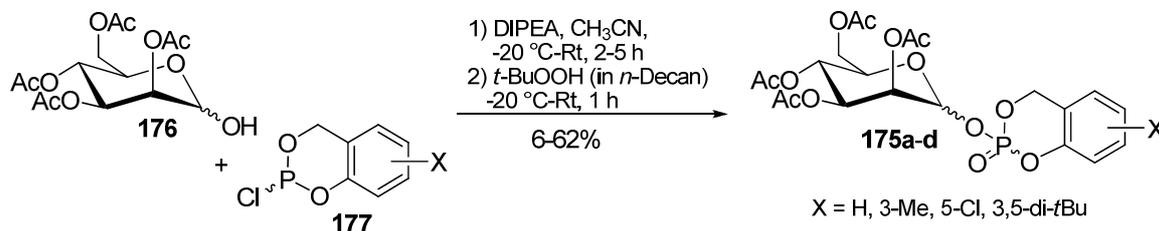
Das jeweilige Nucleosid bzw. Nucleosidanalogen wird dabei unter Feuchtigkeitsabschluss in Acetonitril gelöst und bei tiefer Temperatur langsam unter Zusatz einer Base mit dem Chlorphosphit versetzt. Nach vollständigem Umsatz des Nucleosids erfolgt die umgehende Oxidation des gebildeten Phosphittriesters. Unter Verwendung von *tert*-Butylhydroperoxid (in *n*-Decan) als Oxidationsmittel gelang die Darstellung einer ganzen Reihe an *cyclo*Sal-NMPs. Die Produkte wurden dabei je nach Substituent X am aromatischen System in Ausbeuten zwischen 50% und 80% erhalten. Ein reproduzierbarer Zugang zu den reaktiveren 5-Nitro-Triestern, die als aktivierte Phosphorlierungsreagenzien für synthetische Zwecke Anwendung finden sollten, blieb unter diesen Bedingungen jedoch verwehrt.<sup>138</sup>

Eine <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopische Verfolgung der Reaktion von 3'-O-Acetylthymidin **115** mit 5-Nitrosaligenylchlorphosphit **86** zeigte, dass die Bildung des Phosphittriesters zwar nahezu quantitativ verlief, es nach der Zugabe von *tert*-Butylhydroperoxid jedoch zur Bildung einer Vielzahl von Zersetzungs- und Nebenprodukten kam und der gewünschte Triester nur zu einem geringen Teil gebildet wurde.<sup>138</sup> Da die Oxidation unter diesen Bedingungen als ausbeutelimittierender Schritt der Reaktionssequenz identifiziert werden konnte, wurden diverse mildere Oxidationsmittel zur Synthese der 5-Nitro-*cyclo*Sal-Triester erprobt. Dabei stellte sich heraus, dass die Oxidation des Phosphittriesters unter Verwendung einer wässrigen Lösung von Oxone<sup>®</sup>, ein Salzgemisch aus 2KHSO<sub>5</sub>·KHSO<sub>4</sub>·K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, bei tiefen Temperaturen in kürzester Zeit fast quantitativ verlief.

Trotz ihrer Hydrolyseempfindlichkeit zeigten die Triester unter den wässrigen Bedingungen eine ausreichende Stabilität, die durch den niedrigen pH-Wert (bedingt durch Sulfationen), die kurze Reaktionszeit und die tiefen Temperaturen gewährleistet wurde. Die Aufarbeitung der Reaktion bestand aus einer einfachen Extraktion mit Ethylacetat und kaltem Wasser. Dabei konnten die im Überschuss eingesetzten Reagenzien und Salze meist vollständig entfernt werden und die erhaltenen Triester wiesen eine ausreichend hohe Reinheit auf, so dass sie meist ohne weitere Reinigungsschritte in folgenden Reaktionen eingesetzt werden konnten. Eine chromatographische Reinigung der Verbindungen war generell jedoch unter Zusatz von Säure (0.5%-1%) möglich. Die Oxidation mit Oxone<sup>®</sup> eignet sich nicht nur zur Synthese von reaktiven 5-NO<sub>2</sub>-substituierten Triestern. Inzwischen wurde sie in das optimierte Syntheseprotokoll zur Darstellung einer Vielzahl verschieden substituierter *cycloSal*-Phosphatriester aufgenommen.<sup>138</sup>

#### Synthese von *cycloSal*-Mannopyranosylmonophosphaten

Analog zu der Synthese der *cycloSal*-NMPs, gelang *Muus et al.* die Darstellung verschiedener *cycloSal*-Mannopyranosylmonophosphate **175a-d** durch Umsetzung der selektiv geschützten Mannose **176** mit den entsprechend substituierten *cycloSal*igenylchlorphosphiten **177** und anschließender Oxidation (Abb. 119).<sup>228</sup>



**Abb. 119: Darstellung von *cycloSal*-Man-1-MPs über die Phosphor(III)-Route.**

Die Oxidation des im ersten Reaktionsschritt gebildeten *cycloSal*-Phosphittriesters erfolgte dabei noch nach dem „alten“ Syntheseprotokoll mit *tert*-Butylhydroperoxid (in *n*-Decan). In Abhängigkeit vom Substituenten X des aromatischen Systems konnten die *cycloSal*-Man-1-MPs **175a-d** in Ausbeuten von 6% im Fall des 5-Chlor-Akzeptorsubstituenten und ca. 60% für Donorsubstituenten (H, 3-Methyl, 3,5-Di-*tert*-butyl) erhalten werden.

## 8.2.2 Synthese von *cycloSal*-Triestern über *cycloSal*igenylphosphorchloridate (Phosphor(V)-Route)

Eine weitere Möglichkeit zur Synthese von *cycloSal*-NMPs liegt in der Umsetzung eines selektiv geschützten Nucleosides bzw. Nucleosidanalogs mit einem *cycloSal*igenylphosphorchloridat. Im Unterschied zu der zuvor beschriebenen Triester-Synthese über Chlorphosphite findet die Oxidation zum Phosphat hier schon vor der Kupplung mit dem Nucleosid statt.

Die Synthese des *cycloSal*-Phosphorchloridates erfolgt bei tiefen Temperaturen durch eine direkte Cyclisierung des entsprechenden Salicylalkohols mit Phosphorylchlorid unter Zusatz von Triethylamin als Base.<sup>219</sup> Nach Filtration und chromatographischer Reinigung werden die Chlorphosphate in hohen Ausbeuten erhalten. Diese Verbindungen zeichnen im Vergleich zu den hochreaktiven Chlorphosphiten durch eine erhöhte Stabilität aus und sind so einfacher zu handhaben.

Die Darstellung der entsprechenden *cycloSal*-NMPs erfolgte unter Feuchtigkeitsausschluss und tiefer Temperatur durch langsame Zugabe des *cycloSal*-Phosphorchloridates zu einer Lösung des Nucleosides in Pyridin, welches in dieser Reaktion als Lösungsmittel und Base fungierte (Abb. 120). Nach vollständigem Umsatz des Nucleosides wurde das Lösungsmittel entfernt und das Produkt chromatographisch gereinigt.

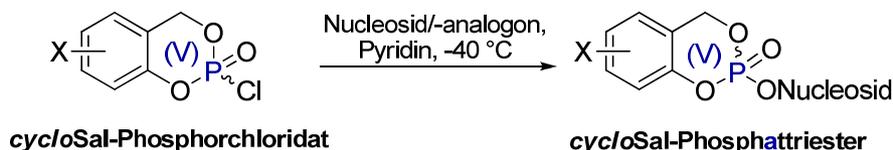
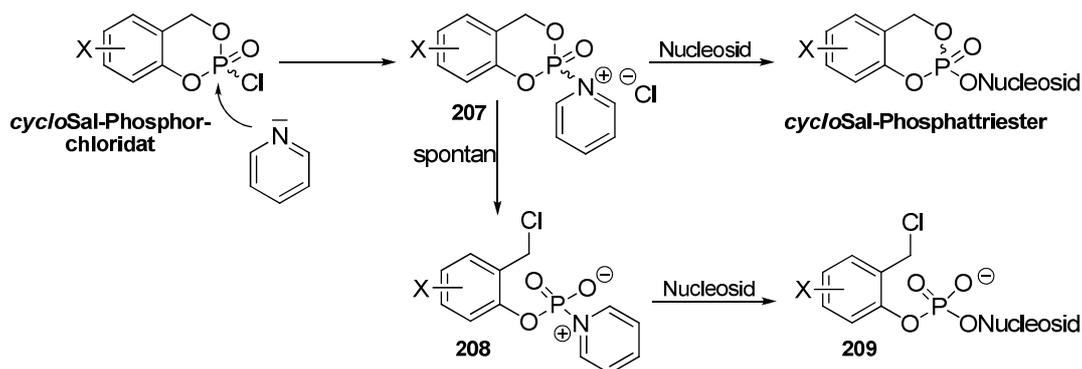


Abb. 120: Darstellung von *cycloSal*-NMPs über die Phosphor(V)-Route.

Die Verwendung von Pyridin kann jedoch auch zu einer Nebenreaktion führen, in der das Phosphorsäurechlorid nucleophil unter Bildung des Pyridiniumsalzes **207** angegriffen wird. Dieses kann zum einen mit dem Nucleosid zum gewünschten Produkt *cycloSal*-Phosphat triester reagieren und zum anderen unter einer spontanen Spaltung des Benzylesters in das thermodynamisch stabilere Zwitterion **208** überführt werden, welches wiederum in einer Reaktion mit dem Nucleosid in den Phosphatdiester **209** umgewandelt werden kann (Abb. 121).<sup>231,232</sup>



**Abb. 121: Mögliche Reaktionen bei der Umsetzung eines *cycloSal*-Phosphorchloridates mit einem Nucleosid in Pyridin.**

Eine solche Dealkylierungsreaktion wurde schon von *Perich et al.* beschrieben und kann durch die Einhaltung folgender Faktoren weitestgehend unterdrückt werden: eine langsame Zugabe des Phosphorylierungsreagenzes, eine hohe Verdünnung der Reaktionslösung und vor allem eine konstante Temperatur von  $-40\text{ °C}$ .<sup>233</sup>

Unter Einhaltung dieser Bedingungen konnte über die Phosphor(V)-Route ein alternativer Zugang zu diversen *cycloSal*-NMPs erschlossen werden. Die resultierenden Ausbeuten hingen dabei nicht nur von dem jeweils verwendeten Nucleosid/-Analogon sondern auch besonders von dem Substitutionsmuster X der Phosphorchloridate ab. So konnten bei Umsetzungen von Nucleosiden mit einer 3'-OH-Gruppe nur Ausbeuten von ca. 20% erreicht werden. Beim Einsatz von 3'-Desoxynucleosiden lagen diese jedoch im Bereich von 78-85%.<sup>234</sup> Während Donor-substituierte *cycloSal*-NMPs mit der Chloridat-Methode in Ausbeuten von über 80% dargestellt werden konnten, gelang die Synthese von Akzeptor-substituierten Triestern mit nur 50-60%.<sup>87</sup> Die Synthese eines 5-NO<sub>2</sub>-*cycloSal*-NMPs scheiterte hingegen gänzlich.<sup>138</sup>

### 8.2.3 Synthese von lipophilen *cycloSal*-(2d)-Ribofuranosylmonophosphaten

Wie im letzten Kapitel beschrieben wurde, ist die Darstellung von *cycloSal*igenyl-Triestern generell auf zwei unterschiedlichen Wegen möglich. Zum einen kann der selektiv geschützte Wirkstoff über die Umsetzung mit einem hochreaktiven *cycloSal*igenylchlorphosphit und anschließender Oxidation in den gewünschten Triester überführt werden. Bei dieser zweistufigen Synthese wird die hohe Reaktivität des Phosphor(III)-Reagenzes ausgenutzt. Zum anderen kann die Maskierung des Wirkstoffs über eine Reaktion mit dem weniger reaktiven *cycloSal*igenylphosphorchloridat erfolgen, welches den Vorteil der leichteren Handhabung und Dosierung mit sich bringt.

Die Synthese der *cyclo*Saligenyl-(2d)-Ribofuranosylmonophosphate **184-189** sollte auf beiden Wegen erprobt werden (Abb. 117). Dazu mussten zunächst die für die Zielreaktionen benötigten Reaktionspartner dargestellt werden. Einerseits handelte es sich dabei um die selektiv geschützten Ribose-Derivate **194-196** und andererseits um die akzeptor- bzw. donorsubstituierten *cyclo*Sal-Verbindungen unterschiedlicher Oxidationsstufen (**203-204** bzw. **205-206**).

### 8.2.3.1 Synthese der selektiv geschützten Monosaccharide

Damit die Umsetzungen zu den Triestern **184-189** regioselektiv an der 1-Position des Zuckers erfolgen können, müssen die in der Reaktion verwendeten Monosaccharide dementsprechend selektiv blockiert werden.

Die Darstellung von 3,5-Di-O-acetyl-2-desoxy-D-ribofuranose **197** erfolgte über zwei Stufen aus 2-Desoxy-D-ribose **168**. Im ersten Schritt wurde **168** durch Reaktion mit einem Überschuss an Essigsäureanhydrid in Pyridin in einer Ausbeute von 87% peracetyliert. Im nächsten Schritt sollte dann die selektive Freisetzung der Hydroxylgruppe am anomeren Zentrum von **200** folgen. Erste Versuche einer selektiven De-O-acetylierung über eine Aminolyse mit Hydrazinacetat führten lediglich zu einer Mischung aus unselektiv acetylierten Ribose-Derivaten. Daraufhin wurde zur selektiven Esterspaltung die Methode nach *Nudelman et al.* gewählt. Durch Reaktion von **200** mit Tributylzinnmethoxid in Dichlormethan unter Erhitzen und anschließender säulenchromatographischer Reinigung konnte **197** in einer Ausbeute von 80% erhalten werden. Zudem konnte nicht umgesetztes Edukt **200** reisoliert werden.

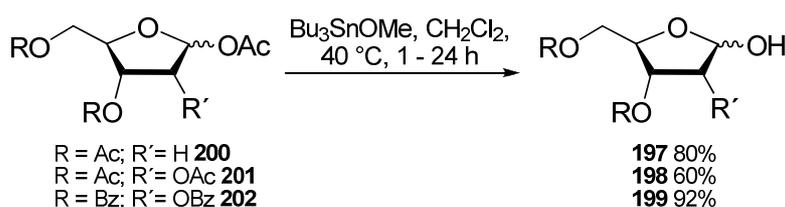


Abb. 122: Synthese der selektiv geschützten Zucker 197-199.

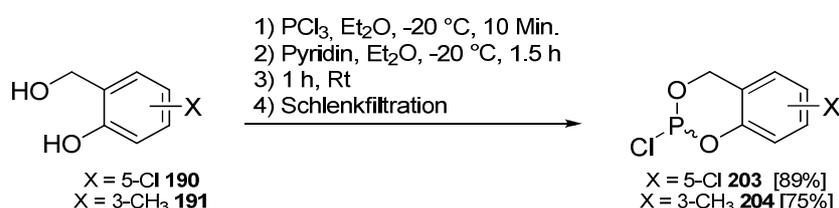
Die Synthesen von **198** und **199** erfolgten auf analoge Weise aus den kommerziell erhältlichen vollständig veresterten Ribofuranosen **201** und **202** in 60% bzw. 92% Ausbeute.

### 8.2.3.2 Synthese der *cyclo*Sal-Chlorphosphate und -Phosphorchloridate

Die Synthesen der *cyclo*Saligenyl-Phosphorylierungsreagenzien erfolgten unabhängig von der Oxidationsstufe des Phosphors in beiden Fällen ausgehend von den jeweiligen

Salicylalkoholen. Diese wurden ihrerseits durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid aus den entsprechenden Salicylsäure-Derivaten erhalten.<sup>235</sup>

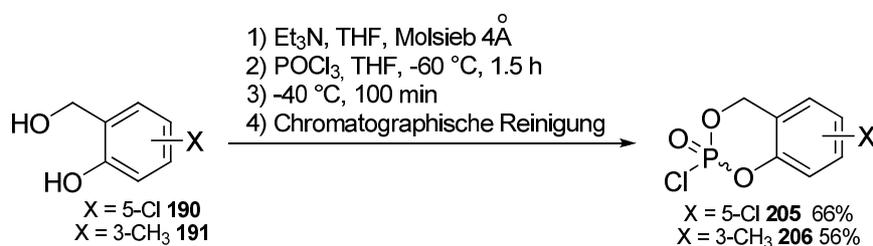
Die Darstellung der für die Route A benötigten *cyclo*Saligenylchlorphosphite **203** und **204** erfolgte nach einer etablierten Methode unter Ausschluss von Feuchtigkeit.<sup>122</sup> Die in Diethylether gelösten Salicylalkohole **190** und **191** wurden bei tiefen Temperaturen (-40 bis -20 °C) mit Phosphortrichlorid versetzt. Zu dieser Reaktionslösung wurde anschließend langsam Pyridin in Diethylether getropft, um den bei der Reaktion entstehenden Chlorwasserstoff in Form von festem Pyridiniumchlorid abzufangen (Abb. 123). Der intramolekulare Ringschluss wird dabei durch die tiefe Temperatur und eine geeignete Verdünnung sichergestellt.



**Abb. 123: Synthese der *cyclo*Saligenylchlorphosphite **203** und **204**.**

Die nach Schlenkfiltration und Entfernen des Lösungsmittels erhaltenen hochreaktiven Chlorphosphite wiesen eine außerordentliche Empfindlichkeit gegenüber Feuchtigkeit auf, weshalb sie nicht weiter gereinigt wurden und direkt als Rohprodukte für die Synthesen der entsprechenden *cyclo*Sal-Triester eingesetzt wurden.<sup>90</sup> Bei den in Abb. 123 gezeigten Ausbeuten handelt es sich demzufolge um Rohausbeuten, die unter Berücksichtigung der Verunreinigungen durch Pyridiniumchlorid aus den aufgenommenen  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren bestimmt wurden.

Die Darstellung der für die Route B benötigten *cyclo*Saligenylphosphorchloridate **205** und **206** erfolgte ebenfalls nach einem bereits etablierten Verfahren (Abb. 124).<sup>236</sup>



**Abb. 124: Synthese der *cyclo*Saligenylphosphorchloridate **205** und **206**.**

Unter Feuchtigkeitsausschluss wurde der entsprechende Salicylalkohol in THF bei tiefer Temperatur ( $-60\text{ }^\circ\text{C}$ ) mit Phosphorylchlorid unter Zusatz von Triethylamin umgesetzt. Da

es sich bei den nach der Aufarbeitung erhaltenen Rohprodukte im Gegensatz zu den *cycloSal*-Chlorphosphiten **203** und **204** um weniger reaktive Phosphor(V)-Spezies handelt, ist eine weitere Reinigung der Chloridate möglich. Da diese Verbindungen jedoch nicht hitzebeständig sind, sollte das Entfernen von Lösungsmitteln unbedingt ohne Wärmezufuhr erfolgen. Die gewünschten *cycloSal*igenylphosphorchloridate **205** und **206** konnten so nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel in hoher Reinheit und mit Ausbeuten von 66% und 56% erhalten werden.

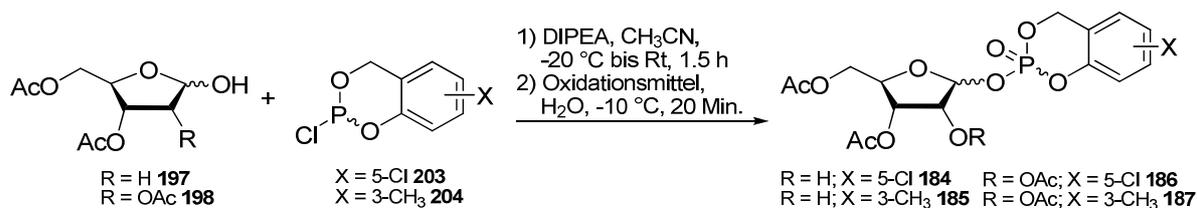
Somit konnten alle der für die Zielreaktionen erforderlichen Reaktionspartner erfolgreich dargestellt und mit den Versuchen zur Darstellung der *cycloSal*-(2d)-Ribofuranosylmonophosphate **184-187** begonnen werden.

### 8.2.3.3 Darstellung der *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MPs über *cycloSal*-Chlorphosphite (Phosphor(III)-Route)

In einer ersten Versuchsreihe, welche von *K. Klingeberg* unter Betreuung im Rahmen ihrer Bachelor-Arbeit in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt wurde, sollten die Darstellungen von *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MPs in Anlehnung an die Synthesen der *cycloSal*-Mannopyranosylmonophosphat-Prodrugs **175a-d** nach *Muus et al.* über die entsprechenden *cycloSal*-Chlorphosphite **177** mit anschließender Oxidation erprobt werden (siehe Kapitel 8.2.1).<sup>237</sup>

Zu Beginn erfolgte ein Versuch zur Darstellung von **184** durch Umsetzung der selektiv geschützten 2d-Ribose **197** mit 5-Chlor-*cycloSal*igenylchlorphosphit **203** nach der in Kapitel 8.2.1 vorgestellten Vorschrift. Jedoch wurden die Reaktionsbedingungen dabei zunächst dem mittlerweile optimierten Syntheseprotokoll angepasst, so dass die Oxidation mit Oxone<sup>®</sup> anstelle von *tert*-Butylhydroperoxid durchgeführt wurde.

Der erste Teil der Reaktion, also die Kupplung von **197** und **203** unter Zusatz von DIPEA bei tiefen Temperaturen, wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Es wurden dazu verschiedene Laufmittel (Dichlormethan/Methanol oder PE/EE in verschiedenen Verhältnissen) verwendet, dennoch konnte in allen Fällen kein vollständiger Umsatz des Zuckers **197** beobachtet werden. Es wurde lediglich ein neuer UV-aktiver Spot geringer Intensität detektiert, dessen  $R_f$ -Wert mit dem des Eduktes nahezu identisch war. Die Reaktion wurde nach 7 Stunden durch die anschließende Oxidation mit Oxone<sup>®</sup> in wässriger Lösung abgebrochen. Das aufgenommene <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum des nach der Aufarbeitung erhaltenen Rohproduktes zeigte zwar die erwarteten Produktpeaks im Bereich zwischen -9 und -11 ppm, es wurde jedoch vor allem die Bildung diverser phosphorhaltiger Nebenprodukte deutlich.



**Abb. 125: Darstellung von *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MPs über *cycloSal*-Chlorphosphite.**

Die Reaktion wurde dann unter den gleichen Bedingungen wiederholt und mit Hilfe einer <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopischen Verfolgung der einzelnen Reaktionsschritte genauer untersucht. <sup>31</sup>P-Kerne zeichnen sich durch ihre natürliche Isotopenhäufigkeit von annähernd 100% aus und erlauben so eine relative Quantifizierung der erhaltenen phosphorylierten Produkte. Die erste <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopische Messung erfolgte 30 Minuten nach der Zugabe des *cycloSal*igenylchlorphosphits **203** zu dem in Acetonitril gelösten Zucker **197** bei -20 °C (Abb. 126). In diesem Spektrum waren neben dem Peak bei 139 ppm, der dem Edukt **203** zugeordnet werden konnte, noch weitere Signale zu erkennen. Die Peaks bei 115 und 116 ppm ließen auf die Bildung des korrespondierenden Phosphitriesters **210** als Diastereomerengemisch schließen.<sup>138</sup> Bei dem Signal mit einer chemischen Verschiebung von 102 ppm handelte es sich um ein unbekanntes Nebenprodukt, welches nicht weiter charakterisiert wurde. Da sowohl eine dünnschichtchromatographische Verfolgung der Reaktion aufgrund nahezu identischer R<sub>F</sub>-Werte von Zucker und Produkt, als auch eine NMR-spektroskopische Verfolgung des Zucker-Verbrauchs aus dem Reaktionsgemisch nicht möglich war, wurde die Reaktion erst dann durch Einleiten der Oxidation gestoppt, als keine weitere Umsetzung des Chlorphosphits **203** zum Phosphitriester **210** mehr beobachtet wurde. Die nächste <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopische Messung erfolgte dann 20 Minuten nach Zugabe der wässrigen Oxone<sup>®</sup>-Lösung. Daraus wurde ersichtlich, dass der im ersten Reaktionsschritt erhaltene Phosphitriester **210** nicht in den gewünschten Triester **184** überführt werden konnte (Abb. 127). Vielmehr kam es nach der Zugabe des Oxidationsgemisches zur Bildung zweier Zersetzungs- bzw. Nebenprodukte. Das Signal mit einer chemischen Verschiebung von -7.9 ppm konnte dem *cycloSal*-Phosphat **205**, also einem Hydrolyseprodukt der Triester-Spaltung, zugeordnet werden. Das Produkt mit einem Peak bei 5.6 ppm wurde nicht weiter charakterisiert.

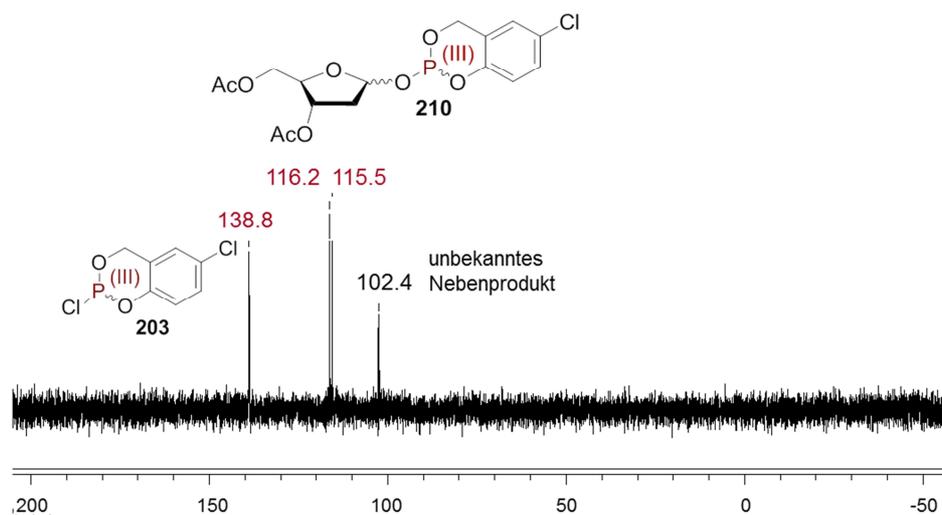


Abb. 126:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz) der Reaktionsmischung vor der Oxidation.

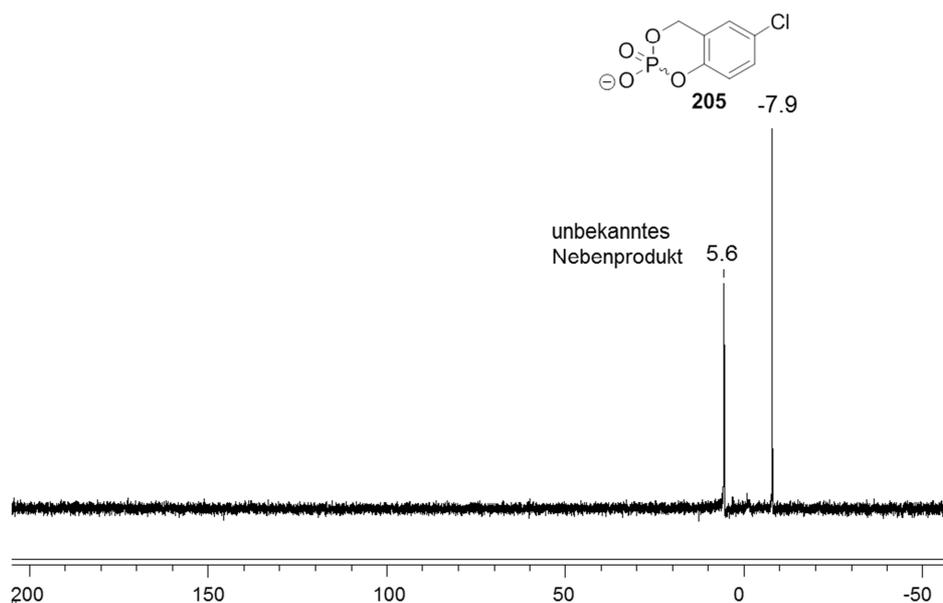


Abb. 127:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz) der Reaktionsmischung nach der Oxidation mit Oxone®.

Da es sich bei Oxone® um ein sehr starkes und vor allem saures Oxidationsmittel handelt, das noch dazu in einer Suspension mit Wasser verwendet wurde, wurde in folgenden Versuchen zur Synthese von Triester **184** der Einsatz von milderem und weniger sauren Oxidantien untersucht. Es wurde dazu auf das ältere Syntheseprotokoll nach *Muus et al.* zurückgegriffen und der zweite Reaktionsschritt mit *tert*-Butylhydroperoxid zum einen in Wasser (70%ig) und zum anderen in *n*-Decan (0.5 M) durchgeführt (Tab. 2). Es wurden

hier ebenfalls  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren der Rohprodukte herangezogen, um den Erfolg der Synthese beurteilen zu können. In beiden Fällen konnte die Bildung des gewünschten Produktes ausgeschlossen werden, beide Reaktionen resultierten vielmehr in einer Vielzahl an Zersetzungs- und Nebenprodukten mit chemischen Verschiebungen zwischen +8 und -8 ppm. Von einer Charakterisierung der vielen verschiedenen Produkte wurde abgesehen.<sup>237</sup>

Oxidationsmittel	Produktbildung
Oxone <sup>®</sup>	nicht reproduzierbar
<i>t</i> BuOOH (H <sub>2</sub> O)	nein
<i>t</i> BuOOH ( <i>n</i> -Decan)	nein

**Tab. 2: Variation des Oxidationsmittels im zweiten Schritt der Reaktion von 197 und 203.**

Insgesamt verlief die Versuchsreihe zur Synthese des 5-Chlor-*cycloSal*-2d-Ribofuranosylmonophosphates **184** über das entsprechende *cycloSal*-Chlorphosphit **203** mit anschließender Oxidation durch verschiedene Oxidationsmittel also nicht erfolgreich. Lediglich im ersten Versuch, in dem die Oxidation des gebildeten Phosphittriesters mit Oxone<sup>®</sup> erfolgte, wurde das gewünschte Produkt in Spuren gebildet. Dieses Ergebnis konnte jedoch in einer wiederholten Durchführung nicht reproduziert werden. Um ein Reaktionspartner abhängiges Scheitern der Reaktion über die Phosphor(III)-Route ausschließen zu können, wurden dennoch Versuche zur Synthese von **185**, **186** und **187** unter den gleichen Reaktionsbedingungen durchgeführt.

Den  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren der jeweiligen Rohprodukte konnte entnommen werden, dass es bei den Reaktionen vom Ribose-Derivat **198** mit den unterschiedlich substituierten Chlorphosphiten **203** bzw. **204** zur Bildung des jeweils gewünschten Produktes kam. Lediglich Triester **185** konnte unter den gewählten Reaktionsbedingungen über die Reaktion von 2d-Ribose-Derivat **197** mit **204** nicht erhalten werden. Im Gegensatz zu den Reaktionen des 2d-Ribose-Derivates **197**, kam es bei den Synthesen der Ribose-Triester **186** und **187** nur in einem geringen Maße zur Bildung von phosphorylierten Neben- bzw. Spaltprodukten. Dieses Ergebnis ließ den Schluss zu, dass die Triester der Ribose (**186** und **187**) unter den Bedingungen der Phosphor(III)-Route im Vergleich zu denen der 2d-Ribose (**184** und **185**) eine erhöhte Stabilität aufwiesen.

Es konnte nun mit der Reinigung der Produkte begonnen werden. Aufgrund nahezu identischer Retentionsfaktoren von Produkt und Edukt kam es schon im Vorfeld zu

Schwierigkeiten bei der dünnschichtchromatographischen Verfolgung der Reaktionen bzw. des Zucker-Umsatzes. Um eine gewisse Kontrolle der Trennung des Rohgemisches zu gewährleisten, wurde zunächst versucht die UV-aktiven Triester mit Hilfe des Chromatotrons zu reinigen. Es handelt sich hierbei um eine radiale Form der präparativen Dünnschichtchromatographie, welche zentrifugal beschleunigt wird. In Verbindung mit einer direkten UV-Detektion ist die genaue Beobachtung der Trennung UV-aktiver Substanzen möglich. Erste Trennungen wurden mit Dichlormethan und einem Methanol-Gradienten als Eluenten durchgeführt. Die NMR-Spektren der erhaltenen Fraktionen zeigten zwar, dass die Produkte meist schon nach der ersten Reinigung von phosphorylierten Verunreinigungen getrennt werden konnten, eine Trennung von dem nicht umgesetzten Zucker wurde jedoch aufgrund ähnlicher  $R_f$ -Werte stark erschwert. Es wurde dann versucht die aus den ersten Chromatographien erhaltenen Gemische säulenchromatographisch zu trennen. Zur Optimierung der Trennleistung wurden dabei verschiedene Laufmittelmischungen ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ , PE/EE oder Toluol/Aceton) in unterschiedlichen Verhältnissen und Glassäulen verschiedener Länge bzw. Durchmesser getestet. Eine erfolgreiche Trennung konnte dennoch nicht erreicht werden. Bei der Verwendung von Aluminiumoxid als alternative feste Phase blieb die Elution des Produktes vollständig aus.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass es zwar möglich war drei (**184**, **186** und **187**) der vier für diverse Hydrolysestudien benötigten acetylierten Ribose-Prodrugs über die entsprechenden *cyclo*Saligenylchlorphosphite darzustellen, die Triester dabei jedoch nur in geringen Mengen und noch dazu als Gemische mit dem jeweils eingesetzten Zucker erhalten werden konnten. Eine chromatographische Trennung beider Komponenten war aufgrund ihrer nahezu identischen Retentionsfaktoren nicht möglich, weshalb auf eine genaue Bestimmung des Reaktionsumsatzes bzw. der Ausbeute verzichtet werden musste. Da Verunreinigungen von phosphorhaltigen Verbindungen jedoch entfernt werden konnten, standen die über die Phosphor(III)-Route erhaltenen Produktgemische für die im Kapitel 8.2.3.5 vorgestellten  $^{31}\text{P}$ -NMR-Hydrolysestudien zur Aufklärung des Hydrolysemechanismus zu Verfügung.

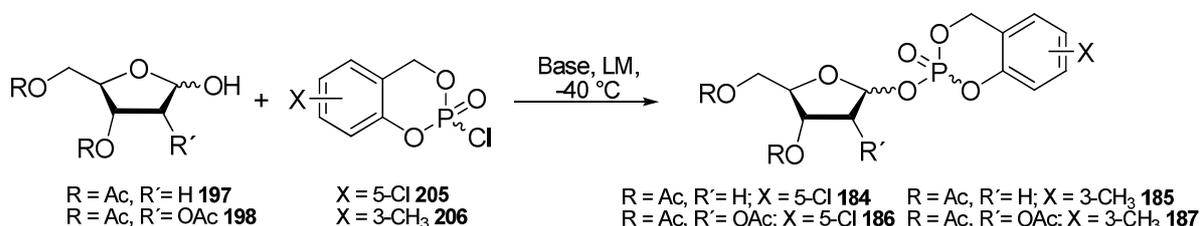
Um eine vollständige Charakterisierung der *cyclo*Sal-(2d)-Ribofuranosylmonophosphate zu ermöglichen, wurden allerdings größere Mengen der Prodrugs in ausreichender Reinheit benötigt. Aus diesem Grund sollte ein alternativer Zugang gefunden werden, der einen höheren Umsatz der eingesetzten Ribose erlaubt. Ein vollständiger Zucker-Verbrauch würde zudem die Schwierigkeiten bei der anschließenden chromatographischen Reinigung der Triester minimieren.

### 8.2.3.4 Synthese von *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MPs über *cycloSal*-Phosphorchloridate (Phosphor(V)-Route)

Da die Oxidation über eine  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopische Verfolgung als ausbeutelimierender Schritt der Reaktionssequenz der Phosphor(III)-Route identifiziert werden konnte, sollte die Darstellung der *cycloSal*-(2d)-Ribofuranosylmonophosphate **184-187** über die weniger reaktiven *cycloSal*-Phosphorchloridate **205** und **206** erprobt werden, in dem das Phosphoratom bereits in der Oxidationsstufe V vorliegt.

#### Darstellung acetylierter *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs

Die Umsetzungen der selektiv geschützten (2d)-Ribofuranosen **197** und **198** mit den Chloridaten **205** und **206** erfolgten nach folgendem Syntheseprotokoll: Der jeweilige Zucker wurde zunächst im gewählten Lösungsmittel bei  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelöst und mit 2 Äquivalenten der Base versetzt. Die Zugabe des entsprechenden *cycloSal*igenylphosphates erfolgte stets bei  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Abb. 128). Da die *cycloSal*-Rib-MP-Prodrugs **186** und **187** im Vergleich zu ihren 2d-Derivate **184** und **185** unter den Bedingungen der Phosphor(III)-Route eine höhere Stabilität gezeigt hatten, wurden die ersten Versuche zur Darstellung der Triester über die *cycloSal*-Phosphorchloridate mit **198** durchgeführt. Zur Ermittlung der optimalen Reaktionsbedingungen wurden verschiedene Variationen in Bezug auf das Lösungsmittel (LM) sowie auf die Base vorgenommen. Als Basen wurden Pyridin oder DIPEA verwendet und als Lösungsmittel wurden THF, Acetonitril und Pyridin eingesetzt. Das Fortschreiten der Reaktion wurde  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopisch verfolgt, da dünnschichtchromatographische Reaktionsverfolgungen aufgrund der gleichen  $R_f$ -Werte von Zucker und Produkt nicht aussagekräftig erschienen (siehe Kapitel 8.2.3.3). Die erste Aufnahme eines  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrums erfolgte nach vollständiger Zugabe des Chloridates, weitere Messungen wurden stündlich durchgeführt.



**Abb. 128:** Darstellung von *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MPs über *cycloSal*-Phosphorchloridate (Phosphor(V)-Route).

Der erste Versuch zur Darstellung von **184** erfolgte nach dem etablierten Syntheseprotokoll zur Darstellung der *cycloSal*-NMPs,<sup>234</sup> in dem Pyridin sowohl als Base als auch

als Lösungsmittel fungierte. Während der  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopischen Untersuchung konnte eine Abnahme des Signals des eingesetzten Chloridats bei -6.9 ppm beobachtet werden (Abb. 129), die Bildung des Produktes mit einem Signal bei -10 ppm blieb jedoch aus. Nach vollständigem Umsatz des im Überschuss eingesetzten Chloridates **205** nach 4 h konnte dem aufgenommenen NMR-Spektrum lediglich die Bildung eines Produktes mit zwei Singulets bei -24.5 ppm entnommen werden (Abb. 130).

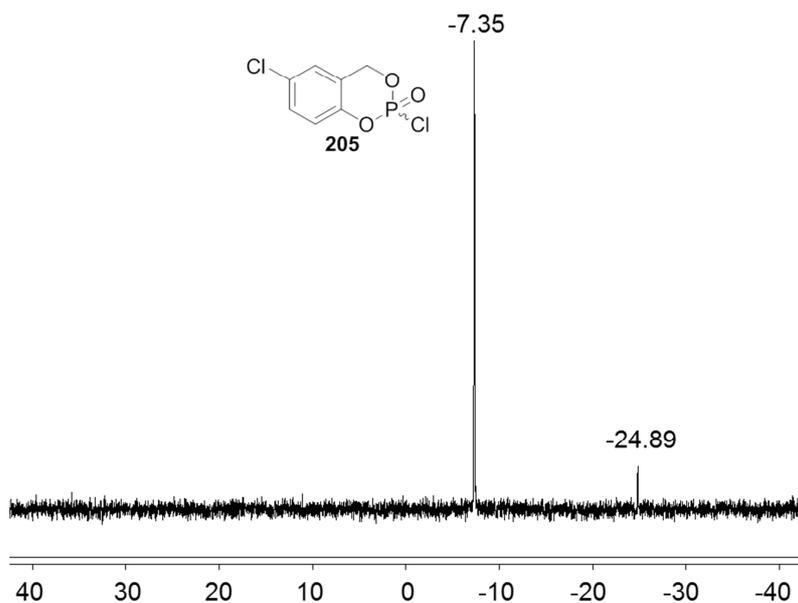


Abb. 129:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz) der Reaktion von 198 und 205 in Pyridin nach vollständiger Zugabe.

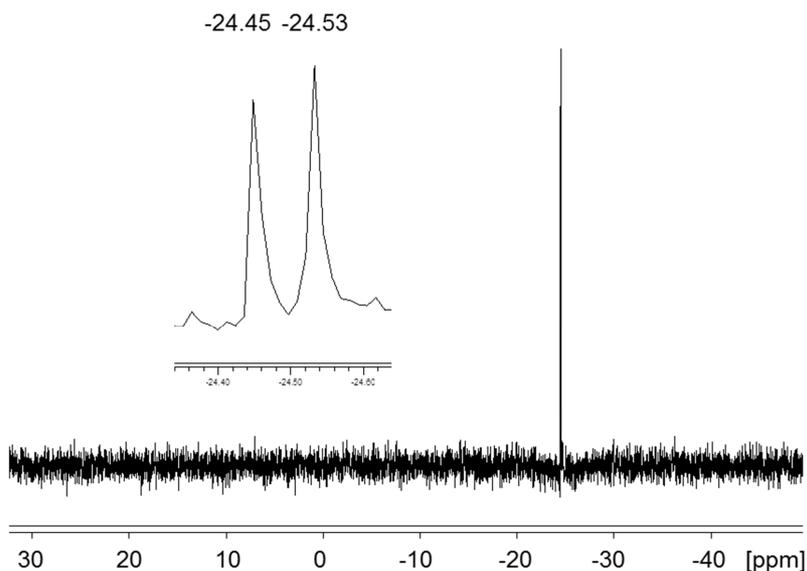
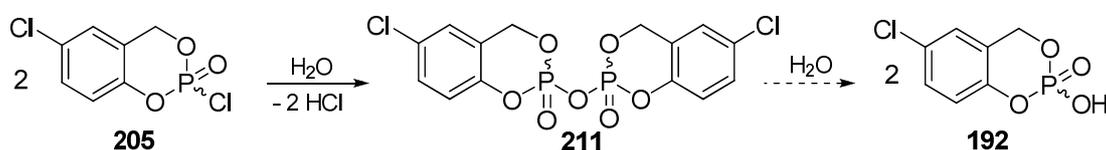


Abb. 130:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 162 MHz) der Reaktion von 197 und 205 in Pyridin nach 4 h.

Zur Identifizierung des unbekanntes Produktes, sollte das nach dem Entfernen des Lösungsmittels erhaltene Rohgemisch zunächst säulenchromatographisch an Kieselgel (Eluent: Toluol/Aceton 15:1, v/v) gereinigt werden. Eine Isolierung des Produktes gelang jedoch nicht, vielmehr wurde eine Reihe an phosphorylierten Spaltprodukten und größere Mengen an **198** erhalten, was auf eine Spaltung des phosphorylierten Produktes mit einer chemischen Verschiebung von -24.5 ppm unter den Bedingungen der durchgeführten Chromatographie bzw. Aufarbeitung schließen ließ.

H. Jessen postulierte in seiner Dissertation die Bildung eines Dimers mit einem gleichen Signalmuster und einer ähnlichen chemischen Verschiebung von -23 ppm. Diese Verbindung würde bei der Hydrolyse des 5-Chlor-*cycloSal*-phosphorchloridates **205** entstehen (Abb. 131).<sup>219</sup>



**Abb. 131: Postulierte Nebenreaktion bei der Reaktion von **198** und **205** in Pyridin.**

Folgende Annahmen führten zur Erklärung des erhaltenen <sup>31</sup>P-NMR-Signalmusters: Für das Dimer **211** wären prinzipiell vier Konfigurationen möglich (RS, SR, SS und RR). Aufgrund des Inversionszentrums handelt es sich bei RS- und SR-**211** um *meso*-Verbindungen. RR- und SS-**211** sind Enantiomere, so dass diese Verbindungen im <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum theoretisch nur Signal erzeugen sollten. Da die Phosphoratome magnetisch äquivalent sind, sollte keine zusätzliche P-P-Kopplung auftreten, so dass das Dimer **211** in einem <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum, wie beobachtet, mit insgesamt zwei Singulets auftreten sollte.<sup>219</sup> Da nach der Chromatographie des Rohproduktes ausschließlich Zeretzungsprodukte bzw. Edukte gefunden werden konnten, wird angenommen, dass das Dimer **211** unter Feuchtigkeitseinfluss einer hydrolytischen Spaltung in das 5-Chlor-*cycloSal*-Phosphat **192** unterliegt.

Da die beschriebene Dimerisierung theoretisch nur hydrolytisch katalysiert ablaufen kann, wurde in einer Wiederholung der Reaktion unter analogen Bedingungen noch einmal mehr auf den Ausschluss jeglicher Feuchtigkeit geachtet: Es wurde frisch absolutiertes Pyridin verwendet, die Reaktionspartner, insbesondere der hygroskopische Zucker **198**, vor ihrem Einsatz mit Pyridin coevaporiert, intensiv im Hochvakuum getrocknet und anschließend gelöst in Pyridin eine Stunde über aktiviertem Molsieb stehengelassen. Doch auch bei dieser Reaktion blieb die Bildung des gewünschten Produkts aus.

Als nächstes wurde dann Variationen des Lösungsmittels vorgenommen. So wurde **198** mit **205** in THF unter Zusatz von zwei Äquivalenten Pyridin als Base umgesetzt. Auch in diesem Fall konnte während der  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopischen Verfolgung der Reaktion die Bildung des Dimers beobachtet werden. Da auch nach einer Reaktionszeit von 6 h keine Produktbildung beobachtet werden konnte, wurde die Reaktionslösung nach vollständigem Umsatz des eingesetzten Chloridates auf  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  erwärmt und über Nacht gerührt. Das anschließend aufgenommene NMR-Spektrum wies auf eine Zersetzung des Dimers, jedoch nicht auf den gewünschten Triester **185** hin.

Um den Einfluss der Base auf die Synthese der *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MPs zu untersuchen, wurde im nächsten Versuch der Einsatz von DIPEA, welches auch in der Darstellung der *cycloSal*-Triester über die Phosphor(III)-Route verwendet wurde, erprobt. Zunächst wurde die Reaktion in THF durchgeführt. Da das Chloridat **205** in diesem Medium jedoch eine geringe Löslichkeit aufwies, wurde in einem zweiten Versuch Acetonitril als Lösungsmittel verwendet. Während der  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopischen Verfolgung dieser Reaktion konnte neben der Entstehung von **211**, zum ersten Mal die Bildung eines Produktes mit einer für *cycloSal*-Zucker-1-monophosphate typischen chemischen Verschiebung von  $-9.82\text{ ppm}$  beobachtet werden. Zusätzlich wurden in geringem Maße diverse andere Nebenprodukte gebildet (Abb. 132).

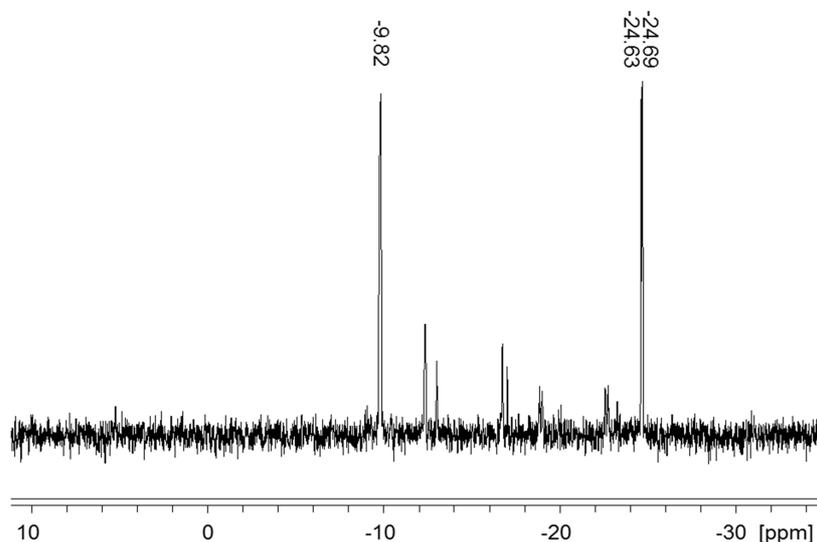


Abb. 132:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum der Synthese von **186** in Acetonitril unter Zusatz von DIPEA.

Nach vollständigem Umsatz des im Überschuss eingesetzten *cycloSal*-Phosphorchloridates **205**, wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das erhaltene Rohprodukt mehrmals säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Dabei konnte jedoch lediglich

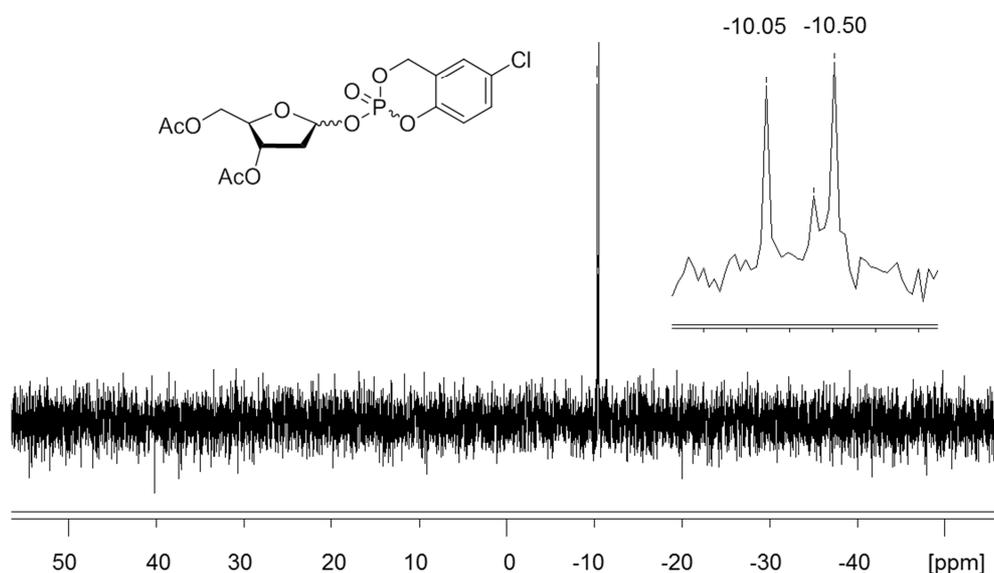
ein phosphoryliertes Nebenprodukt mit einem  $^{31}\text{P}$ -NMR-Signal bei -16 ppm isoliert werden, welches nicht näher charakterisiert wurde.

Da es auch unter den zuletzt gewählten Reaktionsbedingungen abermals zur Bildung des Dimers **211** kam, konnte auch in diesem Fall keine vollständige Umsetzung von **198** mit dem Chloridat **205** erzielt werden. Aus diesem Grund konnten die in Kapitel 8.2.3.3 beschriebenen Schwierigkeiten bei der chromatographischen Reinigung der Prodrugs nicht umgangen werden, so dass der gewünschte *cycloSal*-Triester **186** nur als Gemisch mit dem eingesetzten Zucker **198** erhalten wurde. Der Umsatz bei dieser Reaktion schien im Vergleich zu den Reaktionen der Phosphor(III)-Route in Anbetracht der erhaltenen Substanzmenge jedoch höher zu sein. Auf eine Bestimmung der Ausbeute musste verzichtet werden.

Da zwar eine Optimierung der Synthese bzw. der chromatographischen Reinigung der *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MPs über die Verwendung von *cycloSal*-Phosphorchloridaten nicht gelungen ist, die Handhabung der Phosphor(V)-Reagenzien gegenüber den hochreaktiven *cycloSal*-Chlorphosphiten jedoch stark vereinfacht ist, wurden die Synthesen der Triester **184**, **186** und **187** ebenfalls über den Phosphor(V)-Weg erprobt. Die Reaktionen wurden in Acetonitril unter Zusatz von DIPEA durchgeführt. Dabei konnten alle drei Verbindungen **184**, **186** und **187** als Gemische mit dem jeweils eingesetzten Zucker erhalten werden. Eine chromatographische Trennung beider Komponenten war auch in diesen Fällen nicht möglich.

Bei der Umsetzung vom 5-Chlor-*cycloSal*igenylphosphorchloridat **205** mit **197** kam es wie bei der Synthese von **184** zur Bildung eines Produktes mit einem  $^{31}\text{P}$ -NMR-Signal bei -16 ppm. Bei den Reaktionen mit dem 3-Methyl-*cycloSal*-phosphorchloridat **206** blieben analoge Nebenreaktionen jedoch aus. Anhand der massenspektrometrischen Daten konnte sowohl die molare Masse (ESI<sup>+</sup>-MS:  $m/z = 342.9688$  [M]<sup>+</sup>) als auch die Summenformel (C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P) des phosphorylierten Nebenproduktes ermittelt werden. Die Aufklärung der Struktur dieser Verbindung gelang jedoch aufgrund der widersprüchlichen EI-massenspektrometrischen und NMR-spektroskopischen Daten nicht. Während beispielsweise einige Fragmentpeaks des EI-Massenspektrums ( $m/z = 77$ ,  $m/z = 123$ ) eindeutig auf die Anwesenheit eines aromatischen Systems hinwiesen, zeigte das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum lediglich Signale, die den Protonen der 2-Desoxy-D-Ribose sowie der Acetylgruppen zugewiesen werden konnten. Protonensignale eines aromatischen Systems, welche in dem Bereich zwischen 6.5 und 8.0 ppm erwartet wurden, waren in dem NMR-Spektrum hingegen nicht enthalten.

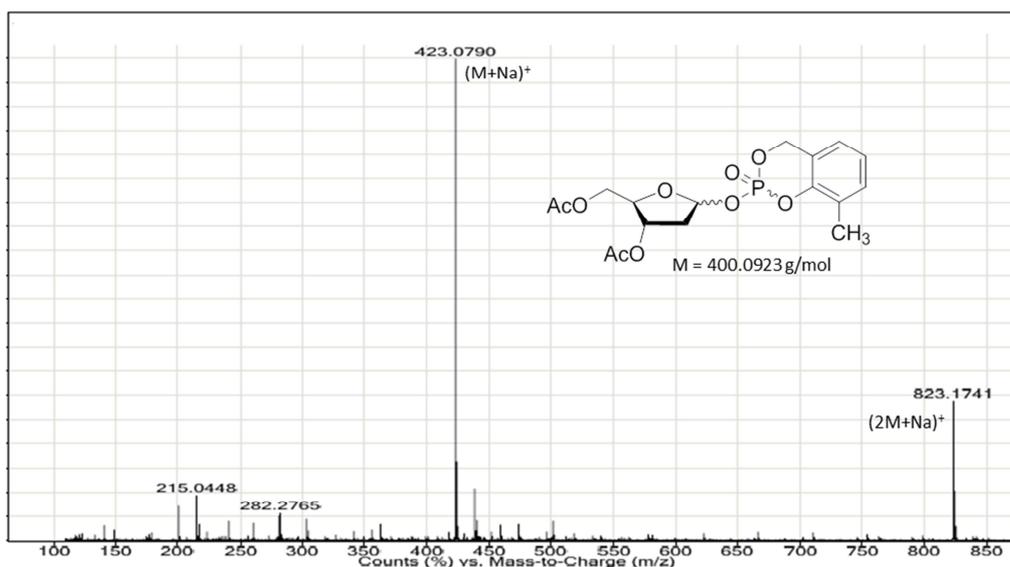
Da eine vollständige chromatographische Reinigung der synthetisierten Prodrugs **184-187** nicht möglich war, musste die Auswertung der NMR-spektroskopischen Daten aus dem erhaltenen Gemisch mit dem jeweils eingesetzten Zucker erfolgen. Für ein *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP sind aufgrund der zwei vorhandenen stereogenen Zentren prinzipiell vier Konfigurationen (SR, RS, SS, RR) denkbar. Bei dem Produkt handelt es sich also um ein Gemisch von zwei enantiomeren Paaren, so dass jedes Paar in einem  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum theoretisch nur ein Signal erzeugen sollte. Tatsächlich wurde dieses Signalmuster für 5-Chlor-*cycloSal*-2d-Rib-MP **184** erhalten (Abb. 133). Im Gegensatz dazu ergaben sich für die Verbindungen **185-187** aus bislang ungeklärten Gründen komplexere Multipletts im Bereich von -9 und -11 ppm (Kapitel 8.2.3.5:Abb. 136, Abb. 138).



**Abb. 133:**  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum des Produktgemisches von **184** in  $\text{CDCl}_3$ .

Aus den  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-spektroskopischen Daten wurde ersichtlich, dass der Triester im Vergleich zum Zucker stets nur einen sehr geringen Anteil (<10%) des Produktgemisches bildete. Zudem lagen beide Komponenten als Mischung ihrer Stereoisomere vor, so dass auf eine vollständige Auswertung der Spektren verzichtet wurde.

Zusätzlich zu den  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektren dienten daher ausschließlich  $\text{ESI}^+$ -Massen-Spektren zur Identifizierung der synthetisierten Triester **184-187** (Abb. 134).



**Abb. 134: ESI<sup>+</sup>-MS-Spektrum von 3-Methyl-cycloSal-2d-Rib-MP 185.**

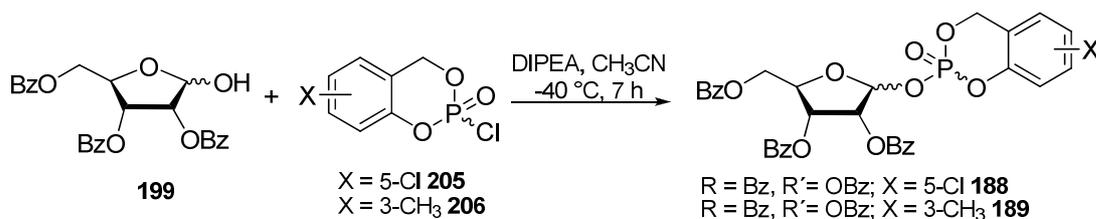
Im Anschluss an die Synthese der *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs, sollte ihr Hydrolyseverhalten bei physiologischem pH-Wert untersucht werden. Zur Aufklärung des Hydrolyseverlaufs und zur Identifizierung der Produkte sollte ihre Freisetzung <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopisch und HPL-chromatographisch (UV-Detektion) verfolgt werden.

Da die Anwesenheit eines acetylierten Zuckers bei diesen Untersuchungen keinen störenden Einfluss auf die Detektion haben sollte, konnten die generierten Prodrugs in Form der erhaltenen Produktgemische eingesetzt werden, um erste Erkenntnisse über ihr Hydrolyseverhalten zu erlangen. Lediglich eine genaue Bestimmung der Produktkonzentrationen während der Messungen war unter diesen Voraussetzungen nicht möglich.

Neben den acetylierten Prodrugs sollten für spätere HPL-chromatographische Untersuchungen der Hydrolyse von *cycloSal*-Rib-1-MPs, benzylierte Derivate dargestellt werden. Diese zeichnen sich im Vergleich zu acetylierten Verbindungen durch eine erhöhte UV-Aktivität aus und könnten somit die Detektion der Hydrolyseprodukte erleichtern.

### **Darstellung benzylierter *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs**

Die Darstellung der benzylierten Prodrugs **188** und **189** erfolgte analog zu den im vorherigen Kapitel vorgestellten Synthesen über die *cycloSal*-Phosphorchloridate (Abb. 135).



**Abb. 135: Darstellung von benzoylierten *cycloSal*-Rib-1-MP-Prodrugs.**

Leider war die Reinigung der benzoylierten *cycloSal*-Rib-MPs **188** und **189** aufgrund der nahezu identischen Retentionsfaktoren von Produkt und Edukt auch in diesen Fällen nicht möglich, so dass auf eine genaue Bestimmung der Ausbeute verzichtet werden musste. In den erhaltenen Produktgemischen lag **189** zudem in einem großen Überschuss vor.

Die Charakterisierung der benzoylierten Produkte erfolgte wie bei den Verbindungen **184-187** über die Auswertung der  $^{31}\text{P}$ -NMR- und ESI-MS-Spektren der erhaltenen Produktgemische.

### 8.2.3.5 Untersuchungen zur chemischen Hydrolyse lipophiler *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs

In diesem Teil der Arbeit werden erste Untersuchungen des Hydrolyseverhaltens der generierten Zielverbindungen **184-189** bei physiologischem pH-Wert vorgestellt. Zur Aufklärung des Hydrolyseverlaufs und Identifizierung der Produkte sollte ihre Freisetzung dabei sowohl  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopisch als auch HPL-chromatographisch verfolgt werden. Da aus Vorarbeiten bekannt war, dass die Hydrolyse von *cycloSal*-Zuckermonophosphaten generell auf zwei verschiedene Weisen ablaufen kann (Abb. 116: Weg A oder B),<sup>227</sup> sollte zudem geprüft werden, ob das Produktverhältnis über Substituenteneffekte zu Gunsten des jeweiligen Monophosphates (**194-196**) beeinflusst werden kann (Abb. 116: Weg A).

#### $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopische Untersuchungen zur chemischen Hydrolyse lipophiler *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs

Die chemischen Hydrolysen der *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs erfolgten in  $\text{DMSO-d}_6$  unter Zusatz eines Imidazol-HCl-Puffers (50 mM) bei pH 7.3 und Raumtemperatur. Dazu wurde der jeweilige *cycloSal*-Triester in  $\text{DMSO-d}_6$  gelöst und die Hydrolyse durch Zugabe der Puffer-Lösung gestartet. Die erste  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopische Messung erfolgte direkt nach Beginn der Hydrolyse, weitere Messungen wurden zunächst stündlich, dann täglich und abschließend wöchentlich bis zum vollständigen Verbrauch der Prodrugs durchgeführt.

Zur Identifizierung der gebildeten Hydrolyseprodukte, wurden die nach Entfernen des Lösungsmittels erhaltenen Rohgemische massenspektrometrisch untersucht.

#### Hydrolyseverhalten der 5-Chlor-*cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs

Die chemische Hydrolyse von 5-Chlor-*cycloSal*-Rib-MP **186** wurde, wie oben beschrieben, durch die Zugabe der Pufferlösung gestartet und sofort  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopisch verfolgt (Abb. 136). Dabei konnte schon nach einer Stunde eine deutliche Abnahme der Prodrug-Signale (-9.5 bis -11.5 ppm) beobachtet werden, welche in der Zunahme eines einzigen neuen Produktsignals bei -1.4 ppm resultierte (Abb. 136). Eine solche chemische Verschiebung ist charakteristisch für Zucker-1-Monophosphate, was darauf schließen ließ, dass die Hydrolyse von **186** über einen nucleophilen Angriff eines Hydroxidions nach Weg A verlief (Abb. 116).<sup>237</sup>

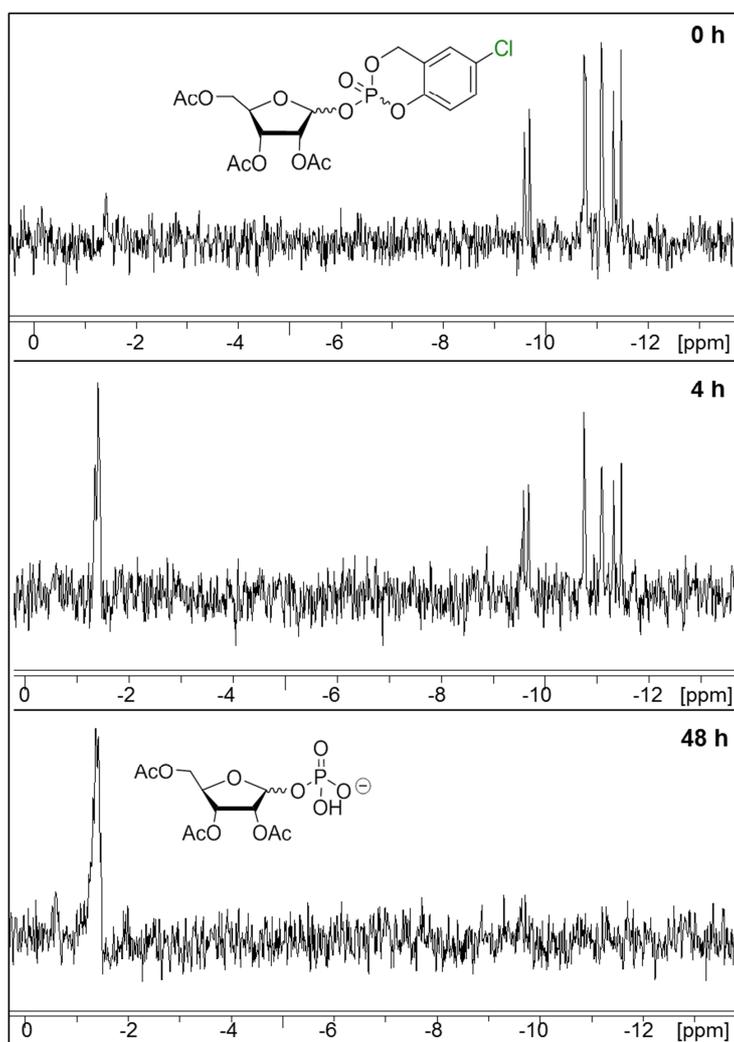
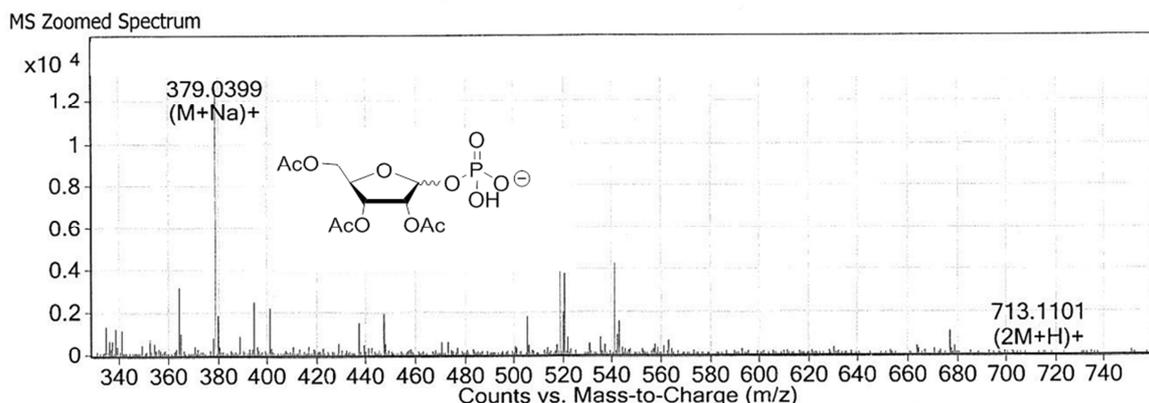


Abb. 136:  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopische Verfolgung der chemischen Hydrolyse von **186** zu **195** in Imidazol-HCl-Puffer bei pH 7.3.

Nach 48 h konnte ein vollständiger Verbrauch an Triester **186** zu Gunsten des neuen Hydrolyseproduktes detektiert werden. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Hydrolysat zur Identifizierung des Hydrolyseproduktes massenspektrometrisch untersucht. Dabei konnten dem ESI<sup>+</sup>-MS-Spektrum zwei Peaks ( $m/z = 379.0399$  und  $m/z = 713.1101$ ) entnommen werden, die dem Phosphat **195** ( $M = 355.0436$  g/mol) als  $[M+Na]^+$  und  $[2M+H]^+$  zugeordnet werden konnten (Abb. 137), so dass die hydrolytische Spaltung von **186** nach dem Reaktionsweg A (Abb. 116) angenommen wird.



**Abb. 137: ESI<sup>+</sup>-MS-Spektrum des Hydrolyseproduktes 195.**

Die hydrolytische Spaltung von 5-Chlor-*cycloSal*-2d-Rib-1-MP **184** verlief zwar analog zu der von **186** unter Freisetzung des 2d-Ribofuranosylmonophosphates **184** ( $\delta = -1.2$  ppm), dennoch konnten einige Unterschiede im Hydrolyseverhalten beider Verbindungen festgestellt werden: Während die Hydrolyse des Prodrugs **186** selektiv nach Weg A (Abb. 116) verlief, kam es bei der hydrolytischen Spaltung von **184** in geringem Maße zur Bildung einiger Neben- bzw. Spaltprodukte, die eine massenspektrometrische Identifizierung des Hauptproduktes aus dem Hydrolysat erschwerten. Zudem wurde ein vollständiger Umsatz von **184** erst nach 24 Tagen beobachtet, die Hydrolyse von **186** war im Vergleich zu **184** also stark verlangsamt.

Die Hydrolyse des benzylierten 5-Chlor-*cycloSal*-Rib-1-MPs **188** verlief ebenfalls unter Freisetzung des entsprechenden Ribofuranosylphosphates **196**. Eine vollständige Umsetzung des Prodrugs konnte dabei schon nach drei Stunden beobachtet werden.

#### Hydrolyseverhalten der 3-Methyl-*cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs

Die Hydrolysen der 3-Methyl-*cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs **185** und **187** wurden analog zu denen der 5-Chlor-substituierten Verbindungen in einem Imidazol-HCl-Puffer bei pH 7.3 durchgeführt.

In Abb. 138 ist die  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopische Verfolgung der chemischen Hydrolyse **187** dargestellt. Es ist schnell zu erkennen, dass das 3-Methyl-substituierte Prodrug **187** ein deutlich anderes Hydrolyseverhalten zeigt als die 5-Chlor-substituierten **184**, **186** und **188**. Bereits nach der ersten Messung, die unmittelbar nach der Zugabe des Puffers erfolgte, ist neben den Signalen, die dem Prodrug zugeordnet wurden (-10 bis -12 ppm), die Bildung eines Hydrolyseproduktes mit einem Signal bei -7.5 ppm zu erkennen (Abb. 138). Nach drei Tagen konnte ein vollständiger Umsatz des Triesters **187** beobachtet werden. Die Freisetzung des Ribofuranosylmonophosphates **195** mit einer chemischen Verschiebung von -1.4 ppm blieb aus, so dass vermutet wurde, dass die Hydrolyse über Weg B (Abb. 116) nach einer  $\text{S}_{\text{N}}1$ -artigen Reaktion in *cyclo*Sal-Phosphat **193** und Ribose **198** resultierte. Dies konnte durch eine anschließende massenspektrometrische Untersuchung des Hydrolysats bestätigt werden.<sup>237</sup>

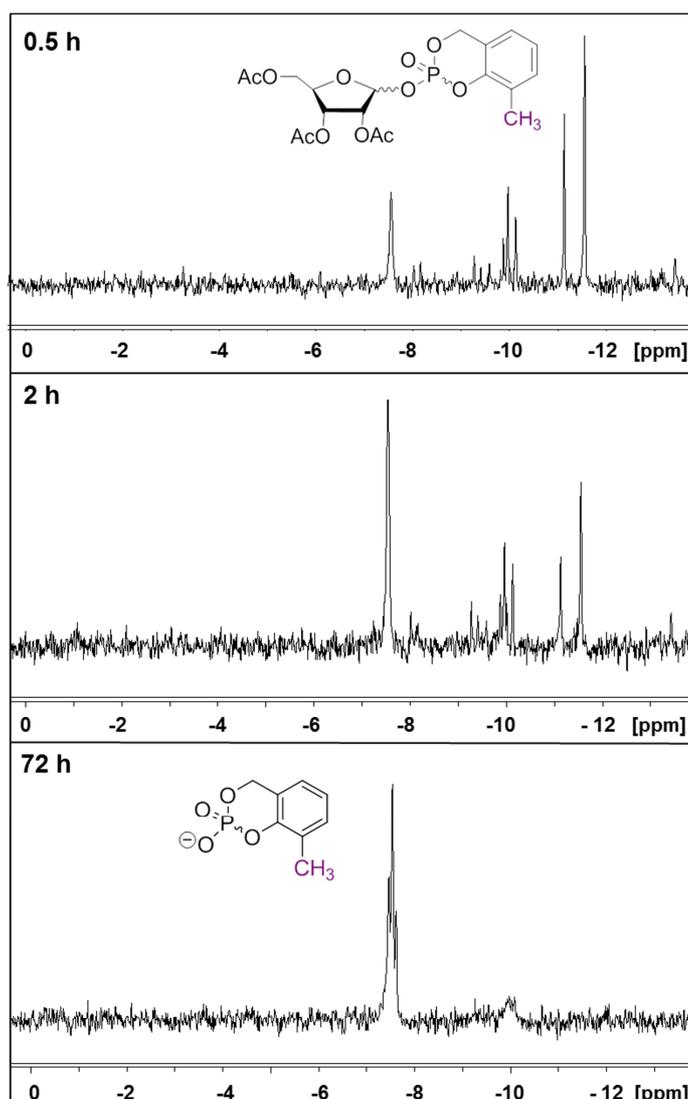


Abb. 138:  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopische Verfolgung der chemischen Hydrolyse von **187** zu **193** in Imidazol-HCl-Puffer bei pH 7.3.

Die Hydrolyse von 3-Methyl-*cycloSal*-2d-Rib-MP **185** verlief analog zu der von **187** unter der selektiven Freisetzung von *cycloSal*-Phosphat **193** und dem 2d-Ribose-Derivat **197**. Allerdings verlief die hydrolytische Spaltung dieses Prodrugs, ähnlich wie schon bei den 5-Chlor-substituierten Verbindungen **184** und **186** beobachtet, viel langsamer als die des Rib-MPs **187**, so dass ein vollständiger Umsatz erst nach zehn Tagen festgestellt werden konnte.

Die hydrolytische Spaltung des benzylierten 3-Methyl-*cycloSal*-2d-Rib-1-MPs **189** erfolgte ebenfalls unter Freisetzung des entsprechenden Zuckers **199** und dem *cycloSal*-Phosphat **193**. Eine vollständige Umsetzung des Prodrugs konnte bereits nach fünf Stunden beobachtet werden.

#### Zusammenfassung der <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopisch verfolgten Hydrolysestudien

Die Hydrolyse von *cycloSal*-Zuckermonophosphaten kann generell auf zwei verschiedene Weisen verlaufen. Über die <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopische Verfolgung der chemischen Hydrolyse der *cycloSal*-(2d)-Rib-MP-Prodrugs **184-189** bei physiologischem pH-Wert konnte gezeigt werden, dass das Verhältnis der Hydrolyseprodukte über die Substituenten der aromatischen Maske massiv beeinflusst werden kann (Abb. 139):

Dabei verliefen die hydrolytischen Spaltungen der 5-Chlor-substituierten Triester **184**, **186** und **188** ( $\delta = -10$  ppm) auf dem Reaktionsweg A unter Freisetzung des entsprechenden Ribose-1-phosphates **193**, **195** oder **196** ( $\delta = -1$  ppm) (Abb. 136). Dieses Verhalten liegt vermutlich in der destabilisierenden Wirkung des Akzeptorsubstituenten des aromatischen Systems begründet. Diese erleichtert einen nucleophilen Angriff auf das Phosphoratom, welcher zur Spaltung der Phenylesterbindung führt.

Die Hydrolysen der 3-Methyl-substituierten Prodrugs **185**, **187** und **189** ( $\delta = -10$  ppm) hingegen führten auf dem Weg B unter einer S<sub>N</sub>1-artigen Freisetzung des *cycloSal*-Phosphates **193** ( $\delta = -7$  ppm) zur Bildung des 1-OH-freien Zuckers **197**, **198** oder **199** (Abb. 138).

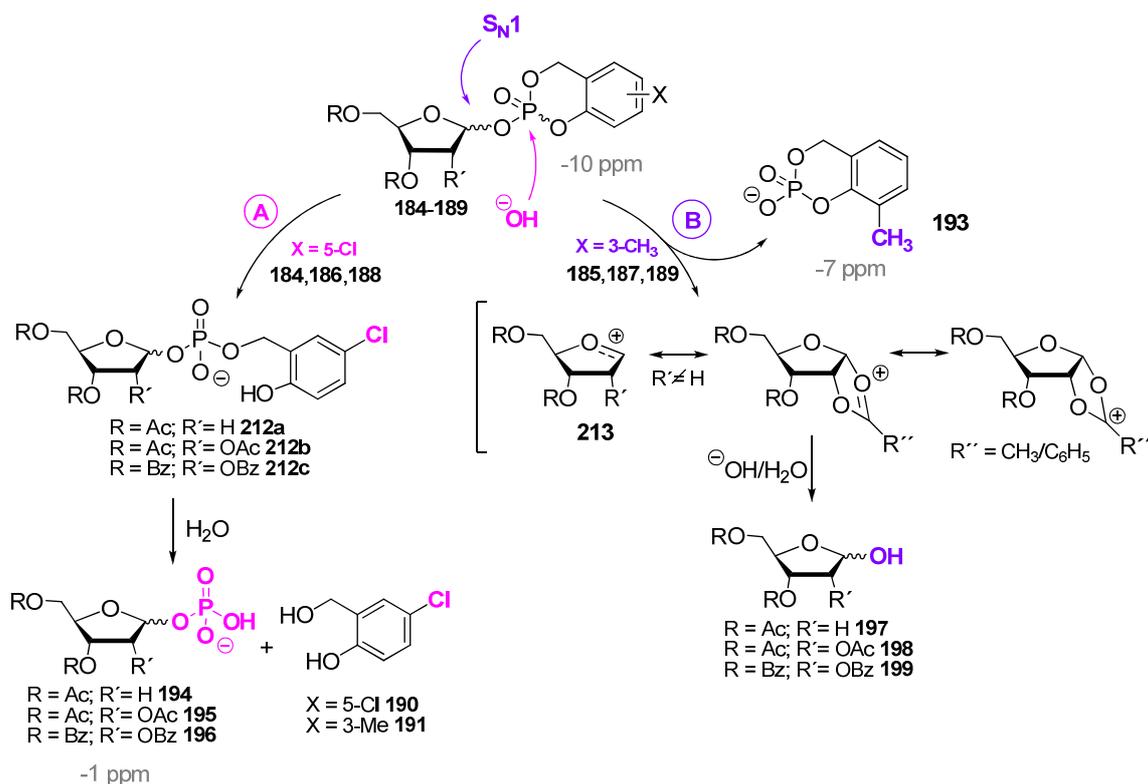
Neben dem vom Substituenten X ausgeübten Effekt auf das Produktverhältnis der Hydrolyse, konnte ein vom Rest R' abhängiger Einfluss auf die Hydrolysegeschwindigkeit beobachtet werden: Während die Hydrolyse der benzylierten Prodrugs schon nach wenigen Stunden (3 bzw. 5 h) abgeschlossen war, dauerte sie bei den acetylierten Verbindungen wenige Tage (48 bzw. 78 h). Die hydrolytische Spaltung der 2-Desoxyribose-Derivate hingegen benötigte sogar mehrere Wochen (24 bzw. 10 d). Außerdem verlief die Hydrolyse von 5-Chlor-*cycloSal*-2d-Rib-MP **184** unter Bildung einer Reihe von Produkten.

Das Gefälle der Hydrolysezeiten der Prodrugs **184-189** liegt vermutlich in der unterschiedlichen Umgebung der Phosphatester begründet. Acylgruppen in der 2-Position des Zuckers besitzen eine elektronenziehende Wirkung und begünstigen den nucleophilen Angriff auf das Phosphoratom. Bei den akzeptorsubstituierten Verbindungen **184**, **186** und **188**, in denen der 5-Chlor-Substituent bereits einen destabilisierenden Effekt ausübt, kommt es daher zu einem schnelleren Bruch der Phenylesterbindung, was in einer spontanen Spaltung des Benzylesters resultiert und somit zu dem entsprechenden Zucker-1-phosphat führt (Abb. 139; Weg A). Die Hydrolysegeschwindigkeit der acylierten Ribofuranosylmonophosphat-Prodrugs ist daher im Vergleich zu der der 2-Desoxy-Derivate erhöht.

Bei der Hydrolyse der 3-Methyl-substituierten Triester **185**, **187** und **189** findet zudem eine Stabilisierung des gebildeten Carbeniumions **213** über eine Beteiligung der Acyl-Nachbargruppe statt (Abb. 139; Weg B), welche ebenfalls zur Erhöhung der Hydrolysegeschwindigkeit führt. Durch die Mesomeriestabilisierung wird dieser Effekt bei den benzylierten Derivaten noch verstärkt.

Anhand der durchgeführten  $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopischen Verfolgungen konnten somit erste Erkenntnisse über die Hydrolyseverläufe unterschiedlich substituierter *cycloSal*-(2d)-Rib-MP-Prodrugs gewonnen werden. Neben den chemischen Verschiebungen der phosphorylierten Verbindungen dienten außerdem ESI-MS-Spektren der Hydrolysate zur Identifizierung der Hydrolyseprodukte.

Genauere Untersuchungen, wie die Bestimmung der einzelnen Hydrolysehalbwertszeiten, sollten anschließend per HPL-chromatographie erfolgen



**Abb. 139:** Hydrolyseverläufe unterschiedlich substituierter *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs.

### HPL-chromatographische Untersuchungen zur chemischen Hydrolyse lipophiler *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs

Die HPL-chromatographisch verfolgten Hydrolysestudien der *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MP-Prodrugs **184-189** bei physiologischem pH-Wert sollten zunächst chemisch induziert in isotonischen Phosphatpuffern durchgeführt werden bevor eine enzymatisch-unterstützte Spaltung in Zellextrakten untersucht werden sollte.

Hierfür wurden die Verbindungen bei 37 °C in Phosphatpuffer (pH 7.3) inkubiert und zu bestimmten Zeiten der Hydrolysefortschritt mittels HPLC analysiert. Aufgrund der Analogie der Verbindungen wurde dabei die von *U. Muus* für die Hydrolyse von *cycloSal*-Glycosylmonophosphaten entwickelte HPLC-Methode unter UV-Detektion im Bereich zwischen 197 und 215 nm verwendet.<sup>228</sup>

Erste Untersuchungen erfolgten mit den *cycloSal*-Rib-MP-Prodrugs **186** und **187**. Diese mussten in Form des erhaltenen Produktgemisches mit **198** eingesetzt werden, so dass eine genaue Konzentrationsbestimmung der angesetzten Hydrolyselösungen nicht möglich war. Es wurde daher versucht die für eine aussagekräftige HPLC-Verfolgung benötigte Substanzmenge in Hydrolyse-Testläufen durch Variation der eingesetzten Substanzmenge (2-15 mg) und des Injektionsvolumen (10-35  $\mu\text{L}$ ) zu ermitteln. Eine

präzise Verfolgung der Zu- und Abnahme von Hydrolyseprodukten erfordert Signalintensitäten von mindestens 1000 milli-Absorptionseinheiten (mAE). Leider konnte in keiner der Fälle eine ausreichende Intensität der Prodrug-Signale erzielt werden, so dass auf eine HPL-chromatographische Verfolgung der Hydrolyse von *cycloSal*-(2d)-Rib-MP-Prodrugs verzichtet werden musste.

Generell sollten sich die Prodrugs **184-187** jedoch aufgrund ihrer UV-absorbierenden aromatischen Maske für Untersuchungen dieser Art eignen. Um eine genaue Konzentrationsbestimmung für eine ausreichende Signalintensität zu ermöglichen, sollten die Verbindungen jedoch in großer Reinheit, d.h. nicht wie oben beschrieben in Form von Gemischen, eingesetzt werden.

Eine Erhöhung der UV-Absorption der Prodrugs könnte durch die Einführung ungesättigter bzw. aromatischer Gruppen erreicht werden. Aus diesem Grund wurden neben den acetylierten Triestern **184-187** auch benzoyleierte Derivate **188** und **188** dargestellt.

Während bei einer hydrolytischen Spaltung der acetylierten Prodrugs über eine HPLC-Verfolgung mit UV-Detektion ausschließlich die aromatisch maskierten Produkte bzw. die Maske selbst detektiert werden kann, wäre bei der Hydrolyse benzoyleierter Prodrugs die Detektion und somit auch die Bestimmung der Halbwertszeiten sämtlicher (Spalt-)Produkte möglich. Wie oben (S. 147) beschrieben, konnten die benzoyleierten *cycloSal*-Rib-MP's jedoch ebenfalls nur als Produktgemische mit dem nicht umgesetzten Zucker **199** erhalten werden. Da es sich bei **199** im Gegensatz zu **197** bzw. **198** um ein UV-aktives Zuckerderivat handelt, musste von einer HPL-chromatographischen Hydrolyseverfolgung über UV-Detektion abgesehen werden. Zwar eignete sich das Produktgemisch für eine <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopische Untersuchung des Hydrolyseverhaltens, ihren eigentlichen Zweck, welcher in der erleichterten UV-Detektion sämtlicher Hydrolyseprodukte lag, konnten die benzoyleierten *cycloSal*-(2d)-Rib-1-MPs jedoch nicht erfüllen.

## 9 Zusammenfassung

### 9.1 Teil I: Synthese seltener und funktionalisierter NDP-Zucker

Glycosylierungen stellen die komplexeste Form der posttranslationalen Modifikation von Proteinen dar und beeinflusst somit eine Vielzahl von fundamentalen biologischen Prozessen (Kap. 1).<sup>2</sup> Da Glycosyltransferasen (GT) in der Biosynthese verschiedenster Oligosaccharide und Glycokonjugate eine entscheidende Rolle spielen, wuchs das Interesse an dieser Enzymklasse als molekulare Targets in der Biochemie und in der Entwicklung neuer Wirkstoffe stetig. Um ein detailliertes Verständnis der GT-katalysierten Prozesse zu erlangen, sind ausführliche Studien über die Struktur und die Funktionen der Glycosyltransferasen notwendig. Neben dem Bedarf an größeren Mengen des Enzyms, ist ein synthetischer Zugang zu den natürlichen GT-Substraten, den Nucleosiddiphosphat-(NDP)-Zuckern, und ihrer Analoga von essenzieller Bedeutung.<sup>24,25,30</sup> Zudem können entsprechend markierte NDP-Zucker als analytische Sonden in biochemischen Assays eingesetzt werden. Die daraus resultierenden Erkenntnisse können zur Aufklärung der katalytischen Mechanismen und zur Entwicklung von Substratanaloga als potentielle Inhibitoren der Zucker-Übertragungsreaktionen angewendet werden.

Eine zuverlässige, generell anwendbare und reproduzierbare Methode zur Darstellung von strukturell vielfältigen NDP-Zuckern und ihrer Analoga stellt die Verwendung von Akzeptorsubstituierten *cycloSal*-Nucleotiden als aktivierte Phosphatester dar. Die Zuckernucleotide werden dabei in hohen Ausbeuten und zudem in Form reiner Anomere erhalten (Kap. 2.4.2.2, S. 21).<sup>71,72,89,91</sup>

#### 9.1.1 Synthese fluoreszenzmarkierter GDP- $\beta$ -L-fucose

Die humane Fucosyltransferase IX (hFucT-IX) katalysiert den invertierenden Transfer einer aktivierten Fucosyleinheit aus GDP- $\beta$ -L-fucose **17** auf eine nichtreduzierende terminale *N*-Acetyl-D-lactosamin-Einheit eines Akzeptors. Diese Fucosylierung bildet den letzten Schritt in der Biosynthese terminaler Lewis-X-Epitope diverser Glycokonjugate.<sup>35-39</sup>

Im Rahmen einer Kooperation verschiedener Arbeitsgruppen der Organischen Chemie und der Biochemie der Universität Hamburg, welche es sich zur Aufgabe gemacht hat, eine Methode zu entwickeln, welche eine genaue Untersuchung der hFucT-IX-Aktivität

ermöglicht, bestand ein Ziel der vorliegenden Arbeit in der Darstellung von ATTO 550-markierter GDP- $\beta$ -L-fucose **83**.

Das Schlüsselintermediat der Synthese bildete GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73**, welche durch Reduktion aus dem entsprechenden Azido-Vorläufer **71** erhalten werden sollte. Da es sich bei ATTO 550 um einen sehr teuren Fluoreszenzfarbstoff handelt,<sup>119</sup> sollte die Anbindung des als NHS-Ester vorliegenden Chromophors über die primäre Aminogruppe von **73** erst im letzten Schritt der Syntheseroute erfolgen (Kap. 4.1.3, S. 38).

Die Synthesestrategie zur Darstellung von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** nach dem *cycloSal*-Konzept war konvergent und umfasste die Darstellung der Schlüsselbausteine 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -L-**75a** und 5-Nitro-*cycloSal*-N<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosinmonophosphat **85** (Kap. 4.1.3, S. 38). Das *cycloSal*-Nucleotid **85** wurde ausgehend vom 5-Nitro-*cycloSal*-chlorophosphit **86** und dem selektiv blockierten Guanosin **87** dargestellt und aufgrund seiner hohen Hydrolyseempfindlichkeit als Rohprodukt isoliert. (Kap. 4.1.3.1, S. 40).<sup>90,121</sup> Die Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylmonophosphat  $\beta$ -L-**75a** erfolgte nach einer literaturbekannten Methode nach Srivastava *et al.*, welche durch die eigenständige Synthese von L-Galactose L-**64** ergänzt und unter anderem durch den Einsatz eines Mikrowellensystems optimiert wurde. Dabei wurde  $\beta$ -L-**75a** über eine 8-stufige Synthese ausgehend von L-Galactono-1,4-lacton **96** mit einer Gesamtausbeute von 9% erhalten (Kap. 4.1.3.2, S. 42).

Zur Ermittlung der optimalen Synthesestrategie für die Darstellung von GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73**, wurden drei verschiedene Reaktionssequenzen (A-C) erprobt. Das gewünschte Produkt konnte dabei in allen drei Fällen in adäquaten Ausbeuten erhalten werden, wobei über die Abfolge A (Knüpfung der Pyrophosphatbrücke, Deacetylierung und Reduktion der 6-Azidofunktion) die beste Ausbeute von 39% erzielt werden konnte (Kap. 4.1.3.3, S. 49). Die bei den Synthesen der modifizierten GDP-Zucker **71** und **73** erzielten Ausbeuten stimmten in der Größenordnung mit denen überein, die bei der Synthese unmodifizierter GDP-Zucker mit Hilfe der *cycloSal*-Technik erreicht wurden (Kap. 4.1.3.4, S. 53). Ein ausbeutelimitierender Einfluss der Modifikation auf die Reaktion konnte somit nicht festgestellt werden.

Im finalen Syntheseschritt wurde der ATTO 550-NHS-Ester unter leicht alkalischen Bedingungen mit GDP-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** umgesetzt, wobei die fluoreszenzmarkierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** in einer sehr guten Ausbeute von 73% erhalten wurde (Kap. 4.1.3.5, S. 55).

Vor der Untersuchung der Aktivität der FucT-IX mit einem FRET-Assay, sollte überprüft werden, ob sowohl die ATTO 550-markierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** als auch das von unseren Kooperationspartnern dargestellte ATTO 647N-markierte Akzeptorsubstrat **82** von der hFucT-IX als Substrate erkannt und enzymatisch umgesetzt werden können.

In Zusammenarbeit mit den Arbeitsgruppen von *Prof. U. Hahn* sowie *Prof. S. Rohn* wurden mit FucT IX verschiedene Reaktionsansätze in unterschiedlichen Kombinationen von markierten und natürlichen Substraten durchgeführt und anschließend mit Hilfe von Hochleistungsdünnschichtchromatographie (HPTLC) analysiert. Anhand der massenspektrometrischen Detektion der über HPTLC getrennten Reaktionsprodukte konnte erfolgreich bewiesen werden, dass die hFucT IX in der Lage ist, beide Substratanaloga **82** und **83** zu erkennen und umzusetzen (Kap. 4.1.4, S. 58).

Diese Ergebnisse bilden die Grundlage für weiterführende Untersuchungen der Enzymaktivität über fluoreszierende Assays. So könnte die im Rahmen der vorliegenden Arbeit synthetisierte ATTO 550-markierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** in Verbindung mit dem ATTO 674N gelabelten Akzeptorsubstrat **82** als fluoreszierender Donor in einem auf FRET-basierenden Assay zur Visualisierung der hFucT IX-Aktivität dienen. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse könnten zur Aufklärung ihres katalytischen Mechanismus´ und ihrer Funktionen beitragen und somit das rationale Design potentieller Inhibitoren vereinfachen. Zudem bestünde eine weitere Verwendungsmöglichkeit für die ATTO 550 funktionalisierte GDP- $\beta$ -L-fucose **83** als Substrat von Fucosyltransferasen in der Markierung fucosylierter Proteine um ihre Funktion in lebenden Zellen z.B. mit Hilfe der Fluoreszenz-Mikroskopie zu analysieren.<sup>116</sup>

### 9.1.2 Synthese Triazol-modifizierter GDP-Zucker

Die meisten der bis heute entwickelten FucT-Inhibitoren verfügen über sehr geringe Bindungsaffinitäten zum Enzym, daher besteht ein großes Interesse an der Entwicklung neuer Strategien zum Auffinden hochwirksamer und spezifischer Hemmstoffe. Da ein detailliertes Verständnis von der Struktur der Fucosyltransferasen bislang fehlt, ist das rationale Design von potentiellen FucT-Inhibitoren stark erschwert. Aus diesem Grund ist man auf die Verfügbarkeit von Synthesemethoden angewiesen, welche einen schnellen und zuverlässigen Zugang zu einer Vielzahl von strukturell unterschiedlichen Substratanaloga eröffnen.

Ziel dieser Arbeit war die Synthese der triazol-funktionalisierten GDP-Zucker **66-68**. Während die Synthese der GDP-Struktur dabei nach dem *cycloSal*-Verfahren erfolgen

sollte, sollte die Triazol-Modifikation über eine Kupfer(I)-katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen einem Glycosylazid und einem Alkin (CuAAC) eingeführt werden. Zur Ermittlung der optimalen Synthesestrategie wurden zwei verschiedene Reaktionssequenzen erprobt, welche sich lediglich in der Reihenfolge der Knüpfung von Triazol- und Pyrophosphat-Einheit unterschieden (Kap. 4.2.1, S. 64). Als Ausgangsverbindungen beider Routen dienten neben dem *cycloSal*-Triester **85** (Kap. 4.1.3.1, S. 40), das Propargylphosphat **11** (Kap. 4.2.3, S.66) und die  $\beta$ -Glycosylazide D/L-**106-108** (Kap. 4.2.2, S. 65).

Im ersten Schritt der Syntheseroute A erfolgte die Darstellung vom GDP-Alkin **12** durch Umsetzung vom *cycloSal*-Triester **85** mit Propargylphosphat **11** mit einer Ausbeute von 21% (Kap. 4.2.4, S. 67). Analog zu der von Lee *et al.* entwickelten Reaktionsabfolge<sup>59</sup> wurde anschließend versucht, **12** über eine CuAAC mit einem  $\beta$ -Glycosylazid D/L-**106-108** in das entsprechende GDP-Zucker-Derivat D/L-**66-68** zu überführen. Dabei konnte jedoch in keinem Fall das gewünschte Produkt isoliert werden (Kap. 4.2.4, S. 71).

Bei Syntheseroute B erfolgte vor der Knüpfung der Pyrophosphateinheit, die CuAAC zwischen Propargylphosphat **11** und den verschiedenen  $\beta$ -Glycosylaziden D/L-**106-108**. Während die modifizierten Glycosylphosphate D/L-**109-111** dabei mit guten Ausbeuten zwischen 74% und 95% erhalten wurden, gelang die Umsetzung des Lactosylazids mit nur 56% (Kap. 4.2.5, S. 73). Im nächsten Schritt erfolgte der Aufbau der GDP-Struktur durch Reaktion der modifizierten Glycosylphosphate D/L-**109-111** mit *cycloSal*-Triester **85**. Dabei wurden die GDP-Zucker-Derivate D/L-**66-68** in Ausbeuten zwischen 27% und 37% erhalten (Kap. 4.2.5, S. 75). Mit den über den Syntheseweg B dargestellten funktionalisierten GDP-Zuckern D/L-**66-68** konnte somit ein neuartiger Zugang zu potentiellen FucT-Inhibitoren entwickelt werden

Diese Verbindungen sollen im Rahmen einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. U. Hahn auf ihr Potential als Inhibitoren von Fucosyltransferasen untersucht werden. Dieses Potential ergibt sich aus der Kombination von struktureller Modifikation und Ähnlichkeit, welche die Verbindungen im Vergleich zu den natürlichen Substraten dieser Enzyme aufweisen (Kap. 4.2.5, S. 77).

### 9.1.3 Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit bestand in der Synthese von TDP-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose  $\alpha/\beta$ -**45**, welche für biosynthetische Studien über Lipopolysaccharide diverser Gram-negativer Bakterien benötigt wird.<sup>97-104</sup> Die Synthese beider Anomere dieses seltenen NDP-Zuckers sollte nach der *cycloSal*-Methode über die Reaktion von 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-

acetylthymidinmonophosphat **70** mit dem jeweiligen anomerenreinen 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosylphosphat  $\alpha$ -**69** bzw.  $\beta$ -**69** erfolgen. Letztere sollten durch Phosphorylierung aus 6-Desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose **44** erhalten werden. Da es sich bei diesem Desoxyzucker um einen kommerziell nicht erhältlichen Vertreter der L-Hexosen handelt, konnte er nicht als Ausgangsverbindung bei der Darstellung der Glycosylphosphate dienen, sondern musste eigenständig synthetisiert werden. Um einen Zugang im Gramm-Maßstab zu ermöglichen, sollte die 5-Epimerisierung der kostengünstigen D-Galactose D-**64** (Weg A) bzw. ihres 6-Desoxy-Derivates D-**15** (Weg B) den Schlüsselschritt der Synthese bilden (Kap. 4.3.1, S. 79).

Eine zuverlässige Methode für die Umkehrung der Konfiguration von Alkoholen ist die Mitsunobu-Reaktion.<sup>139,140</sup> Um eine solche Inversion in C5-Position von D-Galactose D-**64** bzw. D-Fucose D-**15** vornehmen zu können, war es nötig, diese Monosaccharide als Diethyldithioacetale **118** bzw. **119** in ihre offenkettige Form zu überführen. Nach erfolgter Ringöffnung konnte die Mitsunobu-Reaktion an der freien C5-Hydroxyfunktion durchgeführt werden. Anschließend wurden die Diethyldithioacetale **121** und **154** zu den entsprechenden Dimethylacetalen **122** und **156** umgesetzt, welche in einer säurekatalysierten Umacetalisierung in die benzylierten Methyl- $\alpha$ -L-altropyranoside **123** und **141** überführt werden konnten.

Im ersten Teil des Synthesewegs A ist es so gelungen, Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-L-altropyranosid **123** ausgehend von D-Galactose D-**64** über eine achtstufige Reaktionssequenz mit einer Gesamtausbeute von 24% darzustellen (Kap. 4.3.2, S. 81). Da ein Zugang zur 6-Desoxy-L-altrose **44** über die im zweiten Teil der Route erprobte Desoxygenierung von L-Altrose **42** verwehrt blieb (Kap. 4.3.3, S. 88), wurde für den Syntheseweg B die Abfolge von Epimerisierung und Desoxygenierung geändert. Da die kommerziell erhältliche 6-Desoxy-D-galactose D-**15** als Ausgangsverbindung in ausreichender Menge zur Verfügung stand, konnte auf die Desoxygenierung verzichtet werden.

Über den Syntheseweg B konnte über acht Stufen ausgehend von D-Fucose D-**15** mit einer Gesamtausbeute von 4% erfolgreich ein Zugang zum Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosid **141** erschlossen werden (Kap. 4.3.4, S. 101).

Nach einem Schutzgruppenaustausch wurde **160** über die Phosphoramiditmethode in das entsprechende 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosylphosphat  $\alpha$ -**69** überführt (Kap. 4.3.5, S. 107). Dieses wurde im Anschluss nach dem *cycloSal*-Verfahren durch Reaktion mit 5-Nitro-*cycloSal*-3'-*O*-acetylthymidinmonophosphat **70** erfolgreich zur acetylierten TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose  $\alpha$ -**45a** umgesetzt (68%). Nach der finalen basischen

Deacetylierung und anschließender Chromatographie wurde eine nahezu vollständige Spaltung des zuvor dargestellten Produktes  **$\alpha$ -45a** unter Bildung des bislang unbekanntes 6-Desoxy- $\alpha$ -L-altropyranose-1,3-cyclophosphates **163** und TMP festgestellt (Kap. 4.3.5, S. 113). Während sich das *cycloSal*-Verfahren für die Synthese der TDP-6-desoxy- $\alpha$ -L-altrose  **$\alpha$ -45a** als sehr geeignet erwies, sollten in weiterführenden Arbeiten alternative Deacetylierungsbedingungen erprobt werden, unter denen eine Spaltung des NDP-Zuckers verhindert werden kann.

## 9.2 Teil II: Synthese und Charakterisierung lipophiler *cycloSal*-(2-desoxy)-Ribofuranosylmonophosphat Prodrugs

Das Enzym Thymidin Phosphorylase (TP), welches die Spaltung von Thymidin in Thymin und 2d-D-Rib-1-MP **162** katalysiert, schützt Tumorzellen über seine angiogenen und chemotaktischen Funktionen vor der Sauerstoffmangel-induzierten Apoptose und stimuliert so das Tumorwachstum.<sup>192</sup> Um die Rolle von 2d-D-Rib-1-MP **162** in diesen Prozessen eingehender untersuchen zu können, ist es notwendig, diese polare Verbindung z.B. in Form von lipophilen Prodrugs in Zellen einzuschleusen. Das Ziel des zweiten Teils dieser Arbeit bestand daher in der Synthese und Charakterisierung lipophiler *cycloSal*igenyl-(2-desoxy)-Ribofuranosylmonophosphat-Prodrugs.

Die Darstellung der *cycloSal*igenyl-Triester **184-189** wurde auf zwei unterschiedlichen Wegen erprobt (Kap. 8.1, S. 129). Über die Umsetzung der selektiv geschützten Zucker **197-199** mit den hochreaktiven *cycloSal*-Chlorphosphiten **203** bzw. **204** und anschließender Oxidation ist es gelungen, drei (**184**, **186** und **187**) der vier acetylierten Ribosylphosphat-Prodrugs darzustellen (Kap. 8.2.3.3, S. 136). Da die Produkte hierbei jedoch nur in geringen Mengen und noch dazu als Gemische mit dem jeweils eingesetzten Zucker erhalten wurden, welche aufgrund der nahezu identischen Retentionsfaktoren beider Komponenten chromatographisch nicht getrennt werden konnten, war eine genaue Bestimmung des Reaktionsumsatzes bzw. der Ausbeute nicht möglich.

Mit Hilfe einer <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopischen Verfolgung konnte die Oxidation als ausbeute-limitierender Schritt der Reaktionssequenz der Phosphor(III)-Route identifiziert werden. Aus diesem Grund wurde die Möglichkeit zur Darstellung der *cycloSal*-(2d)-Ribofuranosylmonophosphate **184-189** über die weniger reaktiven *cycloSal*igenylphosphorchloridate **205** und **206** untersucht (Kap. 8.2.3.4, S. 141). Um die optimalen Reaktionsbedingungen zu ermitteln, wurden mehrere Reaktionen unter Variation des Lösungsmittels, der Base und der Reaktionszeit durchgeführt und die Reaktionsverläufe <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopisch

verfolgt. Einzig bei den Reaktionen in Acetonitril unter Zusatz von DIPEA konnten alle der gewünschten, sowohl acetylierten als auch benzoilyerten *cycloSal*-(2d)-Ribose-1-MP-Prodrugs **184-189** dargestellt werden.

Eine Optimierung des Umsatzes gelang im Vergleich zur Phosphor(III)-Route bei diesen Reaktionen jedoch nicht, so dass die Produkte auch in diesem Fall als Gemische mit dem jeweils eingesetzten Zucker erhalten wurden. Eine chromatographische Trennung beider Komponenten war zwar nicht möglich, da die Verunreinigungen durch phosphorylierte Nebenprodukte jedoch entfernt werden konnten, standen die erhaltenen Produktgemische für Studien zur Aufklärung ihres Hydrolysemechanismus zu Verfügung (Kap. 8.2.3.5, S. 148). Über die <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopische Verfolgung der chemischen Hydrolyse der *cycloSal*-(2d)-Rib-MP-Prodrugs **184-189** bei physiologischem pH-Wert in Imidazol-HCl-Puffer konnte gezeigt werden, dass das Verhältnis der Hydrolyseprodukte entscheidend über Substituenten der aromatischen Maske beeinflusst werden kann (Abb. 139, S. 154): So verliefen die hydrolytischen Spaltungen der 5-Chlor-substituierten Triester **184**, **186** und **187** auf dem Reaktionsweg A unter Freisetzung des entsprechenden Ribose-1-Phosphates (**194-196**) (Abb. 136, S. 149). Dieses Verhalten liegt vermutlich in der destabilisierenden Wirkung des Akzeptorsubstituenten des aromatischen Systems begründet, welche einen nucleophilen Angriff auf das Phosphoratom unter Spaltung der Phenylesterbindung erleichtert. Die Hydrolysen der 3-Methyl-substituierten Prodrugs **185**, **187** und **189** hingegen führten auf dem Weg B unter einer S<sub>N</sub>1-artigen Freisetzung des *cycloSal*-Phosphates **193** zur Bildung der 1-OH-freien Zuckers (**197-199**) (Abb. 138, S. 151). Neben den chemischen Verschiebungen der phosphorylierten Verbindungen dienten dabei ESI-MS-Spektren der Hydrolysate zur Identifizierung der Hydrolyseprodukte.

Somit konnten anhand der durchgeführten <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopischen Verfolgungen erste Erkenntnisse über die Hydrolyseverläufe unterschiedlich substituierter *cycloSal*-(2d)-Rib-MP-Prodrugs gewonnen werden.

## 10 Summary

### 10.1 Part I: Synthesis of rare and functionalized NDP-sugars

Glycosylation is the most complex form of posttranslational modification of proteins, which influences various essential biological processes from structure and storage to signaling.<sup>2</sup> The biosyntheses of a range of structurally diverse polysaccharides and glycoconjugates, are catalyzed by glycosyltransferases (GT) using nucleoside diphosphate sugars (NDP sugars) as donors (chap. 1). To obtain a detailed understanding of the GT-catalyzed processes, extensive studies of the GT-structure and their functions are demanded. Therefore, appropriately marked NDP sugars can be used as analytical tools in bioassays to visualize the GT-activity. Resulting findings may contribute to an elucidation of the catalytic mechanism and may help to develop substrate analogues as potential inhibitors of the glycosyltransferases.

For biosynthetic studies of various glycoconjugates an efficient access to NDP sugars as glycosyltransferase substrates is of crucial importance.<sup>24,25,30</sup> A reliable and high yielding synthetic pathway for the synthesis of a large variety of naturally occurring NDP sugars as well as NDP sugar analogues is based on the *cycloSal* approach. Thereby, strong acceptor bearing *cycloSal*-nucleotides serve as active phosphate ester building blocks, which can be reacted with anomericly pure glycopyranosyl phosphates to yield anomericly defined sugar nucleotides (chap. 2.4.2.2, p. 21).<sup>71,72,89,91</sup>

#### 10.1.1 Synthesis of fluorescence-labeled GDP-L-fucose

Human fucosyltransferase IX (hFucT-IX) mediates the inverting transfer of an activated L-fucose to a terminal *N*-acetyl-D-lactosamine (LacNAc) unit representing the final step in the biosynthesis of the Lewis X (Le<sup>x</sup>) epitope of various glycoconjugates.<sup>35-39</sup>

This work is a part of a cooperation of several working groups of the Department Chemistry of the University of Hamburg, which set its goal on a detailed investigation of the FucT-IX activity. Within this framework, the aim of this thesis was the synthesis of ATTO 550-labeled GDP-β-L-fucose **83**.

The key intermediate of the synthesis was GDP-6-amino-L-fucose **73**, which should be obtained by reduction of the corresponding azido compound **71**. Since the ATTO 550 dye

was quite expensive, a synthesis concept was developed that allowed the introduction of the dye to the primary amino group of **73** in the last step (chap. 4.1.3, p. 38).

For the synthesis of GDP-6-amino-L-fucose **73** two building blocks **85** and  $\beta$ -L-**75a** were needed. 5-nitro-*cycloSal*-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosine monophosphate **85** was synthesized by reaction of the *N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosine **87** with 5-nitro-*cycloSal*-chlorophosphate **86**. Because of its hydrolytic sensitivity **86** had to be isolated as a crude product. (chap. 4.1.3.1, p. 40).<sup>90,121</sup> 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosyl phosphate  $\beta$ -L-**75a** was synthesized by a published procedure,<sup>115</sup> which was supplemented by the separate synthesis of L-galactose D-**64**.<sup>128</sup> Furthermore, some reactions were optimized using a microwave system. Starting from L-galactono-1,4-lacton **96**, the needed glycosyl phosphate was obtained in an 8-step synthesis with an overall yield of 9% (chap. 4.1.3.2, p. 42).

With both building blocks **85** and  $\beta$ -L-**75a** in hand, three different approaches (A-C) to the key intermediate **73** were studied. As a conclusion, all three reaction sequences led to the needed key intermediate **73** in adequate yields, although sequence A gave the best yield (39%). Here, the *cycloSal* triester **85** was converted with the glycosylazide  $\beta$ -L-**75a** and the resulting product **71** was first purified and then quantitative hydrogenolysis yielded the amine **73** (chap. 4.1.3.3, p. 49). In the final step, the ATTO 550 NHS-ester was converted with GDP-6-amino-L-fucose **73** under slightly alkaline conditions to yield the target fluorescent GDP-fucose derivative **83** in a very good yield of 73% (chap. 4.1.3.5, p. 55).

Before investigating FucT-IX-activity in a FRET-based-assay, it was examined whether FucT-IX is able to recognize both ATTO 550-labeled GDP- $\beta$ -L-fucose **83** and ATTO 647N-labeled LacNAc **82**, latter was synthesized by one of our cooperation partners. In collaboration with the groups of Prof. U. Hahn and Prof. S. Rohn, various reactions of different combinations of labeled and natural substrates in the presence of hFucT-IX were monitored by HPTLC (high-performance thin-layer chromatography). Successful recognition and conversion of both substrate analogues, **82** and **83**, by FucT-IX was verified by mass spectrometric detection of the separated reaction products (chap. 4.1.4, p. 58).

These results form the basis for further studies of the enzymatic activity. In connection with the labeled acceptor substrate **82**, the ATTO 550-labeled GDP- $\beta$ -L-fucose **83** could act as a fluorescent donor in a FRET-based assay to visualize the hFucT-IX-activity in vitro. In addition, **83** could be used for the intracellular localization of fucosylated glycoconjugates by using fluorescence microscopy, for instance.<sup>116</sup>

### 10.1.2 Synthesis of triazole modified GDP-sugars

Since, most of the FucT-inhibitors, which have been developed so far, are in the micromolar range and show low binding affinities to the enzyme, there is a great interest in finding new strategies for identifying effective and specific inhibitors. Due to the lack of detailed structural data for FucTs, the rational development of potent FucT-inhibitors is very difficult. Therefore, synthesis methods, which allow a fast and reliable access to a large number of structurally diverse substrate analogues are of large interest.

The objective of this part of the thesis was the synthesis of the triazole modified GDP sugars **66-68**. While the synthesis of the GDP-structure should be achieved by the *cycloSal*-approach, the triazole modification should be introduced by a Copper(I)-catalyzed 1,3-cycloaddition of a glycosyl azide and an alkyne (CuAAC). Two approaches to the target molecules **66-68** were studied, which only differed in the order of both key reaction steps. (chap. 4.2.1, p. 64). Thereby, *cycloSal* triester **85** (chap. 4.1.3.1, p. 40), propargyl phosphate **11** (chap. 4.2.3, p.66) and the glycosyl azides D/L-**106-108** (chap. 4.2.2, p. 65) served as precursors for both routes.

In the first step of pathway A, the conversion of *cycloSal*-triester **85** with propargyl phosphate **11** resulted in the formation of GDP alkyne **12** in 21% yield (chap. 4.2.4, p. 67). To obtain the GDP sugar derivatives D/L-**66-68**, several attempts have been made to link the glycosyl azides D/L-**106-108** to the alkyne **12** by using CuAAC in analogy to the reaction sequence developed by Lee *et al.*<sup>59</sup> However, in none of the cases the desired product was isolated (chap. 4.2.4, p. 71).

On route B, the CuAAC between propargyl phosphate **11** and the various glycosyl phosphate derivatives D/L-**109-111** was followed by the formation of the pyrophosphate bond: While the modified glycosyl phosphates D/L-**109-111** were obtained in very good yields between 74% and 95%, the conversion of lactosyl azide **108** led to **68** with 56% yield (chap. 4.2.5, p. 73). In the next step, the glycosyl phosphate derivatives were reacted with *cycloSal* triester **85** yielding the corresponding GDP sugar derivatives D/L-**66-68** in adequate yields (27%-37%) (chap. 4.2.5, p. 75). So, a novel approach to potential FucT-inhibitors was developed and can be used to generate more structures of interest.

In cooperation with the group of Prof. Hahn, these compounds will be tested for their potential as FucT-inhibitors. This potential results from their structural modification as well as similarity compared to the natural substrate of the enzymes. (chap. 4.2.5, p. 77).

### 10.1.3 Synthesis of TDP-6-deoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose

Another objective of this thesis was the synthesis of TDP-6-deoxy- $\alpha/\beta$ -L-altrose  **$\alpha\beta$ -45**, which was required for lipopolysaccharide biosynthesis studies.<sup>97-104</sup>

The synthesis of both anomers of this rare NDP sugar should be conducted by the *cycloSal* approach by reaction of 5-nitro-*cycloSal*-3'-O-acetylthymidine monophosphate **70** with the corresponding anomeric defined 2,3,4-tri-O-acetyl-6-deoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosyl phosphate  **$\alpha$ -69** and  **$\beta$ -69**, respectively. Therefore, the latter  **$\beta$ -69** were envisaged to be generated by phosphorylation of 6-deoxy-L-altrose **44**, which is a commercially non-available representative of the L-hexoses.

Our concept for the synthesis of L-altrose **42** and 6-deoxy-L-altrose **44** was based on the 5-epimerization of abundantly available D-galactose **D-64** (pathway A) and D-fucose **D-15** (pathway B), respectively (chap. 4.3.1, p. 79). One powerful method for the inversion of the configuration of alcohols is the widely used Mitsunobu reaction.<sup>139</sup> To enable the epimerization at C5 of 6-deoxy-D-galactose **D-15** and D-galactose **D-64**, the glycopyranoses had to be converted into their open chain diethyl dithioacetals **118** and **149**, respectively. After successful ring opening, those acyclic compounds were used in the following Mitsunobu inversions. Subsequently, **121** and **154** were converted into the corresponding dimethyl acetals **122** and **156**, respectively. Further acid catalyzed transacetalisation led to the benzylated L-altropyranosides **123** and **141**.

Starting from D-galactose **D-64**, the first part of pathway A successfully provided an efficient access to methyl 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-L-altropyranoside **123** by an 8-step chemical synthesis with a high overall yield of 24% (chap. 4.3.2, p. 81). In the second part, several attempts have been made to convert L-altrose **42** into its 6-deoxy-derivative **44**, but they all failed for unknown reasons (chap. 4.3.3, p. 88). Hence, the sequence of epimerization and deoxygenation was changed for synthesis pathway B. Since purchasable 6-deoxy-D-galactose **D-64** was available in sufficient quantities, the deoxygenation step could be spared.

So, pathway B provided an efficient access to methyl 2,3,4,6-tetra-O-benzyl-6-deoxy-L-altropyranoside **141** by an 8-step chemical synthesis starting from D-fucose **D-15** with an overall yield of 4% (chap. 4.3.4, p. 101).

After an exchange of protecting groups, **141** was converted into the corresponding 2,3,4-tri-O-acetyl-6-deoxy- $\alpha$ -L-altropyranosyl phosphate  **$\alpha$ -69** by the phosphoramidite method,

subsequent hydrogenolysis and chromatographic separation of the resulting anomeric mixture (chap. 4.3.5, p. 107).

While both precursors were available, the acetylated TDP-6-deoxy- $\alpha$ -L-altrose  **$\alpha$ -45a** was synthesized by reaction of 6-deoxy- $\alpha$ -L-altrosyl phosphate  **$\alpha$ -69a** and 5-nitro-*cycloSal*-3'-O-acetylthymidine monophosphate **70** (68%). In the basic deacetylation and chromatography the decomposition of the product  **$\alpha$ -45** leading to TMP and the previously unknown 6-deoxy- $\alpha$ -L-altropyranose 1,3-cyclophosphate **163** was observed (chap. 4.3.5, p. 113).

Hence, while the *cycloSal*-approach was proven to be suitable for the synthesis of TDP-6-deoxy- $\alpha$ -L-altrose  **$\alpha$ -45**, in further studies appropriate conditions should be investigated to prevent the cleavage of the target NDP sugar during deacetylation.

## 10.2 Part II: Synthesis and characterization of lipophilic *cycloSal*-(2-deoxy)-ribofuranosylmonophosphate prodrugs

Thymidine phosphorylase (TP) is an enzyme, which catalyzes the reversible decomposition of thymidine to thymine and 2-deoxy-D-ribofuranosyl phosphate **162** (2d-D-Rib-1-MP). It promotes tumor growth and metastasis progression by preventing apoptosis and inducing angiogenesis, the formation of new blood vessels.<sup>192</sup> Thus, TP turned out to be a promising target for an antiangiogenic treatment of cancer. In order to prove whether 2d-D-Rib-1-MP **162** is actually responsible for the angiogenic stimulation, it is necessary to deliver this compound into cells.

The objective of the second part of this thesis was the synthesis and characterization of different lipophilic *cycloSal*-(2-desoxy)-ribofuranosyl monophosphate prodrugs **184-189** in order to study their potential for a selective delivery of the corresponding 2d-D-Rib-1-MP. For the synthesis of the *cycloSal* triesters **184-189**, two different pathways were studied (chap. 8.1, p. 129): By conversion of selectively blocked sugars **197-199** with highly reactive *cycloSal*-chloro phosphites (**203** or **204**) and following *in-situ* oxidation of the resulting *cycloSal* phosphite triesters, three (**184**, **186** and **187**) out of four acetylated ribofuranosylphosphate prodrugs were obtained (chap. 8.2.3.3, p. 136). Since the products were received in only small quantities and also in form of inseparable mixtures with each applied monosaccharide, an exact determination of the reaction yield was not possible. By <sup>31</sup>P-NMR spectroscopic reaction monitoring, the oxidation could be identified as yield limiting step of the phosphorus(III)-pathway.

For this reason another pathway using less reactive *cycloSal* chlorophosphates **205** and **206** was explored (chap. 8.2.3.4, p. 141). In order to determine the ideal reaction conditions yielding the desired *cycloSal*-triesters **184-189**, several reactions were carried out varying the solvent, the base as well as the reaction time and the progression was followed by  $^{31}\text{P}$ -NMR spectroscopy. Thereby, only reactions performed in acetonitrile under addition of DIPEA led to the acetylated and benzoylated prodrugs **184-189**. Nevertheless, in comparison with the phosphorus(III)-pathway, an optimization of reaction yield could not be achieved, so that the products were obtained only in inseparable mixtures with each applied monosaccharide again.

Because of the fact that all phosphorylated byproducts were easily removed by chromatography, the resulting product mixtures were suitable for further chemical hydrolysis studies followed by  $^{31}\text{P}$ -NMR spectroscopy (chap. 8.2.3.5, p. 148). It revealed that substituents of the aromatic mask exercise a significant influence on the ratio of hydrolysis products (fig. 139, p. 154): While hydrolysis of the acceptor-substituted (e.g. 5-Cl) triesters **184**, **186** and **188** proceeded under release of the corresponding ribosyl phosphates **194**, **195** or **196** (pathway A, fig. 136, p. 149). Hydrolytic cleavage of the donor substituted prodrugs **185**, **187** and **189** led to the 1-OH-free monosaccharides **197**, **198** or **199** and *cycloSal*-phosphate **193** (fig. 138, p. 151). The hydrolysis products were identified by both  $^{31}\text{P}$ -NMR-spectroscopic and mass spectrometric data.

Based on these investigations, first insights into the hydrolysis behavior of different substituted *cycloSal*-(2d)-Rib-MP-prodrugs were obtained.

## 11 Experimenteller Teil

### 11.1 Verwendete Chemikalien, Methoden und Geräte

#### 11.1.1 Lösungsmittel

Aceton:	$C_3H_6O$ ; Sdp: 56.2 °C; über Phosphor(V)-oxid getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Acetonitril:	$C_2H_3N$ ; Sdp: 81.5 °C; über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Benzol:	$C_6H_6$ ; Sdp: 80.0 °C; über Kalium getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Benzylbromid:	$C_7H_7Br$ ; Sdp: 198 °C; zur Synthese im Vakuum unter Stickstoff destilliert.
Dichlormethan:	$CH_2Cl_2$ ; Sdp: 40.0 °C; zur präparativen Chromatographie über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck destilliert; zur Synthese über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Diethylether:	$C_4H_{10}O$ ; Sdp: 34.6 °C; über Natrium getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
<i>N,N</i> -Dimethylformamid:	$C_3H_7NO$ ; Sdp: 153.0 °C; über Calciumhydrid getrocknet und im Vakuum unter Stickstoff destilliert.
Dimethylsulfoxid:	$C_2H_6SO$ ; Sdp: 72.0 °C; über Calciumhydrid getrocknet und im Vakuum unter Stickstoff destilliert.
DIPEA:	$C_8H_{19}N$ ; Sdp: 127 °C; zur Synthese im Vakuum unter Stickstoff destilliert.
Essigsäureethylester:	$C_4H_8O_2$ ; Sdp: 77.1 °C; zur Chromatographie über Calciumchlorid getrocknet und bei Normaldruck destilliert.

Ethanol:	$C_2H_6O$ ; Sdp: 78.3 °C; über Natrium getrocknet und unter Stickstoff destilliert.
Petrolether (50-70):	Sdp: 50 – 70 °C; zur präparativen Chromatographie bei Normaldruck destilliert.
Phosphor(III)-chlorid:	$PCl_3$ ; Sdp: 76.0 °C; zur Synthese unter Stickstoff destilliert.
Pyridin:	$C_5H_5N$ ; Sdp: 116 °C; über Calciumhydrid getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Tetrahydrofuran:	$C_4H_8O$ ; Sdp: 65.4 °C; über Kalium getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.
Toluol	$C_7H_8$ ; Sdp: 111 °C; Über Natrium getrocknet und bei Normaldruck destilliert.
Triethylamin:	$C_6H_{15}N$ ; Sdp: 89 °C, über Natrium getrocknet und bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert.

### 11.1.2 Chromatographie

#### Dünnschichtchromatographie:

Für die Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien (Merck Nr. 5554; Schichtdicke 0.2 mm und Macherey-Nagel: ALUGRAM® Xtra SIL G/UV<sub>254</sub> Nr. 818333) verwendet. Die Laufstrecke der Substanzen betrug 5 – 6 cm. Alle  $R_f$ -Werte wurden bei Kammerfüllung ermittelt. Die Detektion der UV-aktiven Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254 nm und durch Eintauchen in eine 10%ige wässrige Schwefelsäure und anschließender Wärmebehandlung.

#### Zentrifugale Dünnschichtchromatographie (Chromatotron):

Zur Trennung von Substanzgemischen mit Rohausbeuten von maximal 4 g stand ein Chromatotron der Firma Harrison Research, Modell 7924 T zur Verfügung. Als Material zur Trennung diente gipshaltiges Kieselgel 60 PF254 (Merck Nr. 7749) in Schichtdicken von 1, 2 und 4 mm auf Glasplatten (Durchmesser: 20 cm). Die Detektion der UV-aktiven Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe der Firma Konrad Benda bei einer Wellenlänge von 254 nm.

#### Präparative Dünnschichtchromatographie:

Die präparativen dünnschichtchromatographischen Trennungen wurden an Macherey-Nagel DC-Fertigplatten SIL G-200 UV<sub>254</sub> mit einer Schichtdicke von 2.0 mm an Kieselgel mit Fluoreszenzindikator UV<sub>254</sub> durchgeführt.

#### Präparative Säulenchromatographie:

Die säulenchromatographischen Trennungen wurden an Kieselgel 60 (230 – 400 mesh, Korngröße 0.040 – 0.063 mm, Merck) durchgeführt. Es wurden stets destillierte Lösungsmittel verwendet.

#### Umkehrphasenchromatographie (RP-Chromatographie):

Für die Säulenchromatographie sehr polarer Substanzen kam LiChroprep RP-18 (40-63 µm) als Trennungsmaterial zum Einsatz.

### **11.1.3 Kernresonanzspektroskopie (NMR-Spektroskopie)**

Die NMR-Spektren wurden in den NMR-spektroskopischen Abteilungen der Universität Hamburg aufgenommen.

Zur Verfügung standen dabei folgende Geräte:

- Bruker AMX 400 (<sup>1</sup>H mit 400 MHz; <sup>13</sup>C mit 101 MHz)
- Bruker AV 400 (<sup>31</sup>P mit 162 MHz)
- Bruker DMX 500 (<sup>1</sup>H mit 500 MHz; <sup>13</sup>C mit 125 MHz; <sup>31</sup>P mit 202 MHz)
- Bruker AVANCE 400 (<sup>1</sup>H mit 400 MHz; <sup>31</sup>P mit 162 MHz)

#### Korrelationsspektren:

Zusätzlich wurden von allen luftunempfindlichen Verbindungen <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H- sowie <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-Korrelationsspektren (H,H-COSY bzw. HMBC und HSQC) aufgenommen.

#### Standardisierung:

<sup>1</sup>H-NMR: Die Standardisierung erfolgte gegen CDCl<sub>3</sub> (δ = 7.26 ppm), DMSO-*d*<sub>6</sub> (δ = 2.50 ppm) und D<sub>2</sub>O (δ = 4.79 ppm).

<sup>13</sup>C-NMR: Die Standardisierung erfolgte gegen CDCl<sub>3</sub> (δ = 77.16 ppm) und DMSO-*d*<sub>6</sub> (δ = 39.52 ppm).

<sup>31</sup>P-NMR: Die Standardisierung erfolgte gegen einen externen Standard (85%ige Phosphorsäure).

#### Multiplizitäten:

Zur Wiedergabe der Multiplizitäten in den <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C- und <sup>31</sup>P-NMR-Spektren finden folgende Abkürzungen Verwendung:

s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett eines Dubletts, t = Triplett, q = Quartett, dq = Dublett eines Quartetts, quin = Quintett, sept = Septett, m = Multiplett.

### **11.1.4 Massenspektrometrie (MS)**

Die **EI**-Massenspektren wurden an der Universität Hamburg an einem VG Analytical VG/70-250S-Spektrometer (doppelt fokussierend) gemessen.

Die **ESI**-Massenspektren wurden an der Universität Hamburg mit einem Elektrospray-Gerät (Hewlett Packard HP 5989 B MS mit einem ESI Interface HP 599 87 A API oder Finnegan MAT 95 Trap XL oder einem Agilent Technologies ESI-TOF 6224 Massenspektrometer im Negativ- oder Positiv-Modus) gemessen und mit der Software ISIS 8.1 nachbearbeitet. Als Fließmittel wurde Acetonitril mit 0.1 % Essigsäure (ESI+) oder 1:1 v/v benutzt.

Die **FAB**-Massenspektren wurden an der Universität Hamburg mit einem doppelt-fokussierenden Spektrometer VG/70-250 F der Firma VG Analytical gemessen. Als Matrix diente dabei *m*-Nitrobenzylalkohol.

### **11.1.5 Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie (FT-IR)**

Die Infrarotspektren wurden an einem IR-Spektrometer ATR platinum Diamond der Firma Bruker gemessen.

### **11.1.6 Sonstige Geräte**

- Polarimeter

Drehwerte optisch aktiver Substanzen wurden mit einem Krüss Optronic Polarimeter P 8000 in 10 cm Küvetten mit einer Natriumlampe bei einer Wellenlänge von 589 nm gemessen.

- Gefriertrocknung

Wässrige Lösungen wurden an einer Amsco/Finn-Aqua Lyovac GT2 Gefriertrocknungsanlage bzw. an einer Christ/Alpha 2-4 Gefriertrocknungsanlage gefriergetrocknet.

- Schmelzpunktbestimmung

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Schmelzpunkt-Messgerät apotec der Firma Otto Stein ermittelt.

- Mikrowelle

Für Mikrowellen unterstützte Reaktionen wurde eine Mikrowelle CEM Discover<sup>®</sup> LabMate der Firma CEM Corp. verwendet. Es wurde dabei im „open vessel“-Modus bei 150 W gearbeitet.

- Zentrifuge

Suspensionen des Hydrierkatalysators wurden an einer Heraeus Biofuge Primo R bei 6000 U/min zentrifugiert.

## 11.2 Synthesen

### 11.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

#### **AAV 1: Synthese von Salicylalkoholen durch Reduktion von Carbonylverbindungen**

Die Reaktionen wurden in einer Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Es wurden 2.0 Äquivalente Lithiumaluminiumhydrid in abs. THF suspendiert. Zu dieser Suspension wurde bei Rt eine Lösung von 1.0 Äquivalenten der jeweiligen Salicylsäure in abs. THF über 30 min hinzugegeben und anschließend über Nacht bei Rt gerührt. Danach wurde noch eine Stunde unter Rückfluss erhitzt. Überschüssiges Lithiumaluminiumhydrid wurde bei 0 °C zunächst durch vorsichtige Zugabe von Eis und anschließend durch Zugabe von 2 M Salzsäure hydrolysiert bis ein pH-Wert zwischen 4 und 5 erreicht war. Nach Zugabe von Wasser wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase noch dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die Produkte wurden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

#### **AAV 2: Synthese von *cyclo*Saligenylchlorphosphiten**

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurde 1.0 Äquivalente des jeweiligen Salicylalkohols in abs. Diethylether gelöst und auf -20 °C gekühlt. Anschließend wurden bei -20 °C 1.2 Äquivalente  $\text{PCl}_3$  zugegeben und nach ca. 5 min 2.3 Äquivalente abs. Pyridin, gelöst in abs. Diethylether (bzw. abs. THF), über einen Zeitraum von 45 min bis 1 h zugetropft.

Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung dann auf Rt erwärmt und noch 2 h gerührt. Anschließend wurde die Lösung über Nacht bei -20 °C aufbewahrt, um eine vollständige Fällung des entstandenen Pyridiniumhydrochlorids zu gewährleisten, welches anschließend unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre filtriert wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Aufgrund der Hydrolyseempfindlichkeit der Produkte wurde auf eine säulenchromatographische Reinigung verzichtet und die erhaltenen Rohprodukte in nachfolgenden Synthesen ohne weitere Reinigung eingesetzt.

#### **AAV 3: Synthese von *cyclo*Saligenylphosphorchloridaten**

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquivalente des jeweiligen Salicylalkohols und 2.1 Äquivalente Triethylamin in abs. Diethylether oder abs. THF gelöst und über einen Zeitraum von 30 min über aktiviertem

Molsieb (4Å) in einem Tropftrichter getrocknet. Danach wurde diese Mischung über einen Zeitraum von 1.5 h in eine auf -60 °C gekühlte Lösung von 1.1 Äquivalenten Phosphorylchlorid in Diethylether oder THF getropft. Das Molsieb wurde mit dem jeweiligen Lösungsmittel nachgespült und dann weitere 100 min bei -40 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung der Rohprodukte erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE v/v 2:1 als Eluenten. Das Lösungsmittel der Produkt-beinhaltenden Fraktionen wurde anschließend bei Rt im Vakuum mit Hilfe einer Arbeitskühlfalle entfernt.

#### **AAV 4: Synthese von *cycloSal*-Triestern**

##### Variante I: Synthese von *cycloSal*-Triestern durch Umsetzung mit *cycloSal*igenylchlorphosphiten (AAV 4.1)

Die Reaktionen wurden unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Die zu veresternde Verbindung (1.0 Äquivalent) wurde in abs. Acetonitril gelöst und bei -20 °C mit je 2.0 Äquivalenten DIPEA versetzt und 30 Minuten über wenigen Körnern Molsieb 3 Å getrocknet. Anschließend wurden 2.0-2.5 Äquivalente des entsprechenden Saligenylchlorphosphits, ebenfalls gelöst in abs. Acetonitril, langsam zu der Reaktionslösung hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch bis zur vollständigen Umsetzung der zu veresternden Verbindung (DC-Kontrolle: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1) bei Rt gerührt (3-5 h). Anschließend wurden zur Oxidation der Phosphor-(III)-Verbindung bei -10 °C 4.0 Äquivalente Oxone<sup>®</sup>, gelöst in wenig kaltem Wasser, zugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde das Kältebad entfernt und die erhaltene Suspension 15 Minuten bei Rt gerührt. Nach vollendeter Oxidation (DC-Kontrolle CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1 v/v) wurden dem Reaktionsgemisch Ethylacetat sowie kaltes Wasser zugegeben, die organische Phase zweimal mit Wasser gewaschen und die wässrige Phase mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und von unlöslichen Bestandteilen durch Filtration befreit. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurden meist gelbliche Schäume erhalten.

Die 5-Chlor- und 3-Methyl-substituierten Rohprodukte wurden am Chromatotron (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH-Gradient (angesäuert mit 0.1% Essigsäure)) gereinigt und anschließend gefriergetrocknet (Acetonitril und Wasser (1:2 v/v)).

Aufgrund ihrer hohen Hydrolyse-Empfindlichkeit wurden die 5-Nitro-substituierten Rohprodukte ohne einen weiteren Reinigungsschritt gefriergetrocknet und direkt in nachfolgenden Reaktionen eingesetzt.

Variante II: Synthese von *cycloSal*-Triestern durch Umsetzung mit *cycloSaligenylphosphorchloridaten* (AAV 4.2)

Um Feuchtigkeit auszuschließen wurden die Reaktionen unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Ein Äquivalent der zu veresternden Verbindung wurde mit abs. Pyridin coevaporiert, 1-2 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wurde diese wieder in wenig abs. Pyridin gelöst, die Lösung auf  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und es wurden 1.9 Äquivalente des entsprechenden *cycloSaligenylphosphorchloridats*, gelöst in abs. THF, über einen Zeitraum von 1 h hinzuge tropft. Danach wurde bei  $-40$  bis  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  weitere 5 h gerührt und das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Die Rohprodukte wurden säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

Variante III: Synthese von *cycloSal*-Triestern durch Umsetzung mit *cycloSaligenylphosphorchloridaten* (AAV 4.3)

Um Feuchtigkeit auszuschließen wurden die Reaktionen unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Ein Äquivalent der zu veresternden Verbindung wurde mit abs. Pyridin coevaporiert, 1-2 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet, in abs. Acetonitril gelöst, bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  mit je 2.0 Äquivalenten DIPEA versetzt und 30 Minuten über wenigen Körnern Molsieb  $3\text{ \AA}$  getrocknet. Anschließend wurden 2.0-2.5 Äquivalente des entsprechenden *cycloSaligenylphosphorchloridats*, ebenfalls gelöst in abs. Acetonitril, langsam zu der Reaktionslösung hinzuge tropft. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch bis zur vollständigen Umsetzung der zu veresternden Verbindung ( $^{31}\text{P}$ -NMR-spektroskopische oder dünnschichtchromatographische Verfolgung) 3 bis 5 h bei Rt gerührt. Die Rohprodukte wurden säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt.

**AAV 5: Spaltung von Benzylethern**Variante I (AAV 5.1):

In einer Stickstoffatmosphäre wurde die jeweilige benzylgeschützte Verbindung (1.0 Äquivalent) zunächst in abs. Methanol gelöst und dann tropfenweise mit 2.0 Äquivalenten Triethylamin versetzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung je nach Ansatzgröße mit ein bis drei Spatelspitzen Pd/C (10%ig) versetzt und der Reaktionsansatz wurde bei leichtem  $\text{H}_2$ -Überdruck bei Rt reduziert. Die Reaktionszeit betrug 24-48 h (DC-Kontrolle). Nach vollständigem Umsatz des Eduktes wurden die Pd/C-Rückstände mit Hilfe einer Zentrifuge vollständig abgetrennt. Das Rohprodukt wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  aufgenommen, fünfmal mit Wasser extrahiert und konnte aus den vereinigten wässrigen Fraktionen durch Gefriertrocknung gewonnen werden. Das Rohprodukt wurde anschließend an Kieselgel mit  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  5:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Variante II (AAV 5.2):**

Die benzylgeschützte Verbindung (1.0 Äquivalent) wurde zunächst in abs. Methanol gelöst, mit einer katalytischen Menge an Pd(OH)<sub>2</sub> (20 wt. % Pd) an Kohle versetzt und dann unter leichtem H<sub>2</sub>-Überdruck ca. 24 h bei Rt gerührt. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes (DC-Kontrolle: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1 v/v) wurden Pd(OH)<sub>2</sub>/C-Rückstände mit Hilfe eines Spritzenfilters oder einer Zentrifuge vollständig abgetrennt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

**Variante III (AAV 5.3):**

Zunächst wurden 7.0 Äquivalente Zinkchlorid solange erhitzt bis eine farblose Schmelze entstand. Nach Abkühlen auf Rt wurde diese dann in einer Mischung aus Essigsäure und Essigsäureanhydrid (2:1 v/v) gelöst. Diese Lösung wurde anschließend zu einer Lösung aus 1.0 Äquivalenten des benzylierten Zuckers in einer Mischung aus Essigsäure und Essigsäureanhydrid (2:1 v/v) gegeben. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Die Reaktion wurde sobald die Bildung eines weiteren Produktes zu beobachten war, trotz unvollständigem Edukt-Umsatzes, durch Zugabe von Wasser gestoppt und dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die organische Phase wurde erst mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung, dann mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE mit einem EE-Gradienten (PE/EE 8:1 → 3:1 v/v) gereinigt.

**AAV 6: Acetylierung von Hydroxylgruppen**

Die zu acetylierende Verbindung (1.0 Äquivalent) wurde zunächst in abs. Pyridin gelöst, mit 3.0 Äquivalenten (pro Hydroxylgruppe) Essigsäureanhydrid versetzt und das Reaktionsgemisch 18 h bei Rt gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und anschließend mehrmals mit Toluol codestilliert bis kein Pyridin mehr vorhanden war. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und gründlich mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE als Eluent gereinigt.

**AAV 7: Selektive Freisetzung der anomeren Hydroxylgruppe peracetylierter Zucker****Variante I: Freisetzung durch Umsetzung mit Hydrazinacetat (AAV 7.1)**

In einer Stickstoffatmosphäre wurde der peracetylierte Zucker (1.0 Äquivalent) in abs. DMF gelöst und mit Hydrazinacetat (1.2 Äquivalente) versetzt. Das Reaktionsgemisch

wurde solange auf 50 °C erwärmt bis das Hydrazinacetat vollständig gelöst war. Anschließend wurde unter Rühren auf Rt gekühlt und der Umsatz dünnschichtchromatographisch (PE/EE 2:1 v/v) verfolgt. Nach beendeter Reaktion wurde die Reaktionslösung in Ethylacetat aufgenommen und zweimal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel zunächst am Rotationsverdampfer eingeeengt und restliches DMF dann im Ölpumpenvakuum entfernt. Der ölige Rückstand wurde mehrfach mit Toluol und CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> coevaporiert. Die abschließende Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 2:1 v/v als Eluenten.

#### Variante II: Freisetzung durch Umsetzung mit Tributylzinnmethoxid (AAV 7.2)

Um Feuchtigkeit auszuschließen, wurde die Reaktion unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurde 1.0 Äquivalente des geschützten Monosaccharids in abs. Dichlormethan gelöst und mit 1.5 Äquivalenten Tributylzinnmethoxid versetzt. Der Reaktionsansatz wurde 18 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionskontrolle erfolgte dünnschichtchromatographisch (PE/EE 1:2, v/v). Erschien der Umsatz noch nicht vollständig, wurde weiteres Tributylzinnmethoxid zugegeben. Nach vollständigem Umsatz wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE (1:2) als Eluent gereinigt.

#### **AAV 8: Isopropyliden-Acetalisierung von Monosacchariden**

Es wurden 1.0 Äquivalente des zu acetalisierenden Zuckers in Aceton suspendiert, mit 10 Äquivalenten Dimethoxypropan und einer katalytischen Menge an *para*-Toluolsulfonsäure versetzt und 24 h bei Rt gerührt. Die Reaktion wurde durch Neutralisation mit Natriumhydrogencarbonatlösung gestoppt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand anschließend in Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde zweimal mit Wasser gewaschen und die vereinigten wässrigen Phasen wurden anschließend mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE und 0.1% Triethylamin als Eluent gereinigt.

#### **AAV 9: Spaltung von Isopropyliden-Acetalen**

##### Variante I (AAV 9.1):

Die zu deacetalisierende Verbindung wurde in einem Gemisch aus Acetonitril und Wasser (1:1 v/v) gelöst, mit einer katalytischen Menge an konz. Schwefelsäure versetzt und ca.

40 Minuten mit Hilfe eines Heißluftföns zum starken Sieden erhitzt. Nach vollständiger Reaktion (DC-Kontrolle) wurde die Lösung durch Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Auf eine säulenchromatographische Reinigung wurde verzichtet und das erhaltene Rohprodukt ohne weitere Reinigung umgesetzt.

#### Variante II (AAV 9.2):

Das zu spaltende Acetal wurde in einem Gemisch aus Dioxan und Wasser (1:1, v/v) aufgenommen und über Amberlite® IR 120+ bis zur vollständigen Spaltung der Acetale (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v) bei Rt gerührt oder unter Rückfluss mit Hilfe einer Mikrowelle erhitzt. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel entfernt und das erhaltene Rohprodukt ohne weitere chromatographische Reinigung umgesetzt.

#### **AAV 10: Tosylierung von selektiv geschützten Glycopyranosen**

Zu einer Lösung aus 1.0 Äquivalenten der zu tosylierenden Verbindung und 2.0 Äquivalenten 4-(Dimethylamino)pyridin in Pyridin wurden bei 0 °C langsam 1.5 Äquivalente *p*-Toluolsulfonylchlorid gelöst in Dichlormethan zugegeben. Nach 24 h Rühren bei Rt wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in EE/H<sub>2</sub>O 1:1 v/v aufgenommen. Die organische Phase wurde mit 0.5 molarer Schwefelsäure, mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und mit Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/Ethylacetat 3:1 v/v als Eluent gereinigt.

#### **AAV 11: Synthese von Azido-Zuckern**

Es wurde ein Äquivalent der entsprechend geschützten Galactopyranose in abs. DMF gelöst, mit 5.6 Äquivalenten Natriumazid versetzt und mit Hilfe einer Mikrowelle bei 150 W bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (30-60 Minuten) unter leichtem Rückfluss zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von Ethylacetat wurde die organische Phase mit Wasser und Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 2:1 v/v als Eluenten gereinigt.

**AAV 12: Synthese von  $\alpha$ -Glycosylbromiden**Variante I: (AAV 12.1)

Eine Lösung aus einem Äquivalent des peracetylierten Zuckers in abs. Dichlormethan wurde unter Rühren und Eiskühlung mit Bromwasserstoffsäure (33% in Eisessig) versetzt und bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle PE/EE 1:1 v/v) bei Rt gerührt. Bei unvollständiger Umsetzung des Eduktes wurde eventuell nochmals kleine Mengen von Bromwasserstoffsäure hinzugefügt.

Anschließend wurde das Reaktionsgemisch zum Abbruch der Reaktion in Eiswasser gegossen und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde dann jeweils zweimal mit Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat- sowie gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent.

Variante II: Bromierung nach der Koenigs-Knorr-Methode (AAV 12.2)

Zu einer Lösung aus einem Äquivalent des peracetylierten Zuckers in Dichlormethan/Ethylacetat 9:1 v/v wurden bei 0 °C portions weise 3 Äquivalente Titan(IV)bromid hinzugefügt. Die Lösung wurde bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (dünnschichtchromatographische Verfolgung, PE/EE 1:1 v/v) bei Rt gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit Natriumacetat neutralisiert und weitere 15 Minuten gerührt. Die Suspension wurde dann in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aufgenommen und 5-mal mit eiskaltem Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent gereinigt.

**AAV 13: Stereoselektive Phosphorylierung von Monosacchariden**Variante I: Synthese von  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Glycosylphosphaten nach der Phosphoramidit-Methode (AAV 13.1)

Es wurde 1.0 Äquivalente der zu phosphorylierenden Verbindung in abs. Dichlormethan gelöst und mit Dicyanoimidazol (1.2 Äquivalente) versetzt. Unter Eiskühlung wurden langsam 1.5 Äquivalente Bis-(benzyl)-*N,N*-diisopropyl-phosphoramidit zugetropft. Die Reaktion wurde auf Rt erwärmt und 2 h gerührt. Nach vollständiger Reaktion (DC-Kontrolle, PE/EE 2:1 v/v) wurden unter erneuter Eiskühlung 2 Äquivalente 3-Chlorperbenzoesäure in kleinen Portionen zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf Rt

erwärmt und nach 30 min Rühren mit Diethylether verdünnt. Die organische Phase wurde zunächst solange mit Natriumsulfit-Lösung gewaschen bis keine Peroxide mehr vorhanden waren und anschließend noch mit gesättigter Natriumchloridlösung und Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel (PE/EE 2:1 v/v) gereinigt.

#### Variante II: Synthese von $\beta$ -Glycosylphosphaten nach *Hindsgaul et al.* (AAV 13.2)

Es wurden 1.0 Äquivalente Dibenzylphosphat unter Stickstoff-Atmosphäre über aktiviertem Molsieb (3 Å) in einem Gemisch aus abs. Dichlormethan und abs. Acetonitril gelöst. Unter Eiskühlung und starkem Rühren wurden dann 0.5 Äquivalente des jeweiligen  $\alpha$ -Glycosylbromides, gelöst in abs. Dichlormethan, zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde mit 1.0 Äquivalenten Silbercarbonat versetzt und über Nacht bei Rt gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch über Celite filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent.

#### Variante III: Synthese von $\beta$ -Glycosylphosphaten (AAV 13.3)

Es wurden zunächst zwei Reaktionslösungen in zwei unterschiedlichen Kolben unter Feuchtigkeitsausschluss vorbereitet. Zum einen wurde ein Äquivalent des jeweiligen  $\alpha$ -Glycosylbromids in abs. Toluol gelöst und mit einem Äquivalent Triethylamin versetzt. Zum anderen wurden 2 Äquivalente Tetrabutylammoniumphosphat über aktiviertem Molsieb (4 Å) in abs. Acetonitril gelöst. Anschließend wurde das gelöste Bromid langsam zur zweiten Lösung hinzugegeben und die Reaktionslösung bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (0.5 bis 1 h) unter Rühren auf 80 °C erhitzt. Dann wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat gewaschen. Das Rohprodukt wurde durch Gefriertrocknung vom Wasser befreit und säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1 v/v als Eluenten gereinigt.

### **AAV 14: Darstellung von Nucleosiddiphosphatglycopyranosen**

Um Feuchtigkeit auszuschließen wurde die Reaktion unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Sowohl das hygroskopische Glycosylphosphat als auch das *cyclo*Sal-maskierte Nucleosidmonophosphat wurden vor der Reaktion ca. 16 h im Ölpumpenvakuum getrocknet. Das jeweilige Glycosylphosphat (2 Äquivalente) wurde in abs. DMF gelöst und 3 h über aktiviertem Molsieb (4 Å) gerührt. Zu dieser Lösung wurde

anschließend das *cycloSal*-maskierte Nucleosidmonophosphat, gelöst in abs. DMF, langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 20 h bei Rt gerührt und die Vollständigkeit der Reaktion durch dünnschichtchromatographische Verfolgung ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$  9:1 v/v) überprüft. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Die wässrige Phase wurde durch Gefriertrocknung vom Wasser befreit. Das danach erhaltene Zuckernucleotid wurde in einem Gemisch von Methanol, Wasser und Triethylamin (7:3:1 v/v) aufgenommen und über Nacht bei Rt gerührt. Nach erneuter Gefriertrocknung wurde das Rohprodukt 1- bis 4-mal säulenchromatographisch an RP-18 Kieselgel mit Wasser als Eluent gereinigt. Die Detektion der Produktfraktionen erfolgte dünnschichtchromatographisch mit einem Gemisch aus *iso*-Propanol und 1 M Ammoniumacetat-Lösung (2:1, v/v) als Eluent.

#### **AAV 15: Darstellung von Methylglycosiden**

Das entsprechende Monosaccharid wurde in Methanol gelöst, mit Amberlite® IR-120+ (Wasserstoff-Form) versetzt und mit Hilfe einer Mikrowelle ca. 20 Minuten bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle:  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  5:1 v/v) unter Rückfluss erhitzt. Danach wurde die Reaktionslösung durch Filtration vom Harz getrennt und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das erhaltene Methylglycosid wurde anschließend ohne weitere Reinigung als Rohprodukt in weiteren Reaktionen eingesetzt.

#### **AAV 16: Darstellung von Benzylethern**

Unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre wurden 1.0 Äquivalente der entsprechenden Glycopyranose in abs. DMF gelöst und unter Rühren und Eiskühlung mit 1.5 Äquivalenten (pro zu benzylierenden OH-Gruppe) Natriumhydrid versetzt. Die erhaltene Suspension wurde auf Rt erwärmt und 1 h gerührt. Anschließend wurden unter erneuter Eiskühlung 1.3 Äquivalente (pro OH-Gruppe) Benzylbromid zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Rt gerührt.

Zum Abbruch der Reaktion wurde unter Rühren und Eiskühlung tropfenweise Methanol hinzugegeben. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der erhaltene Rückstand in EE aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit EE extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 4:1 v/v als Eluent gereinigt.

**AAV 17: Spaltung von Methylglycosiden**

Das entsprechende Methylglycosid wurde in einem Gemisch aus konzentrierter Essigsäure, 1 M Salzsäure und Wasser (5:2:1) gelöst und zunächst 3 h bei 100 °C, dann eine weitere Stunde bei 120 °C gerührt. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes wurde das Produkt mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden vorsichtig mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen bis keine Gasentwicklung mehr beobachtet werden konnte. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 4:1 v/v als Eluent gereinigt.

**AAV 18: Synthese von Diethyldithioacetalen**

Die entsprechend selektiv geschützte Glycopyranose wurde in Ethanthiol gelöst und unter Rühren mit Trifluoressigsäure versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Rt gerührt und dann wurde diese solange vorsichtig mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser versetzt und anschließend mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten etherischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel mit Hilfe einer Arbeitskühlfalle im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 6:1 v/v als Eluent gereinigt.

**AAV 19: Inversion einer Hydroxyfunktion von Alkoholen (Mitsunobu-Reaktion)**

Die Reaktionen erfolgten unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre. Zunächst wurden in zwei Schlenkkolben zwei verschiedene Reaktionslösungen vorbereitet. In einem Kolben wurden 3.0 Äquivalente Triphenylphosphin in abs. Diethylether suspendiert und bei 0 °C mit 2.8 Äquivalenten DIAD versetzt. Nach 30 minütigem Rühren bei 0 °C wurde dieser Komplex zu einer Lösung aus dem entsprechenden Alkohol (1.0 Äquivalent) und 3.0 Äquivalenten Benzoesäure in abs. Diethylether in den zweiten Reaktionskolben gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Rt gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde der entstandene Niederschlag filtriert, mit Diethylether gewaschen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 6:1 v/v als Eluent gereinigt.

**AAV 20: Darstellung von Dimethylacetalen**

Zu einer Lösung des entsprechenden Diethyldithioacetals (1.0 Äquivalent) in abs. Methanol wurden Quecksilber(II)oxid (3.2 Äquivalente) und -chlorid (2.5 Äquivalente) gegeben. Die Suspension wurde anschließend 20 h bei Rt gerührt und über Celite filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der erhaltene Rückstand in Diethylether aufgenommen und mehrmals mit ges. Natriumiodidlösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde abschließend säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/Aceton 25:1 v/v als Eluent gereinigt.

**AAV 21: Saure Hydrolyse von Dimethylacetalen**

Das entsprechende Dimethylacetal wurde in abs. Diethylether gelöst, mit einer katalytischen Menge *para*-Toluolsulfonsäure versetzt und 3-4 h unter Rückfluss erhitzt. Danach wurde die Lösung durch Zugabe von einer 1%igen methanolischen NaOH-Lösung neutralisiert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/Aceton 25:1 v/v als Eluent gereinigt.

**AAV 22: Synthese von 1,2,3-triazolfunktionalisierten Zuckerphosphaten**

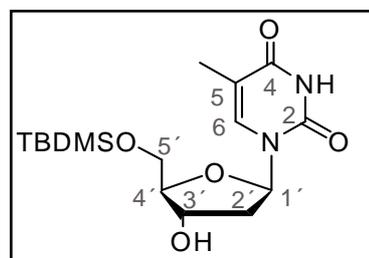
1.2 Äquivalente des entsprechenden  $\beta$ -Glycosylazids und 1.0 Äquivalente des 2-Propin-1-phosphats **11** wurden in *tert*-Butanol und Wasser (1:1 v/v) gelöst und anschließend nacheinander mit einer wässrigen Kupfersulfat-Pentahydrat-Lösung (5 %-ig) und einer Natriumascorbat-Lösung (10 %-ig) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 18 Stunden bis zur vollständigen Umsetzung des Azids (DC-Kontrolle: EE/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v) bei Rt gerührt. Anschließend wurde zwei Mal mit Dichlormethan extrahiert und die wässrigen Phasen gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde in wenig Acetonitril aufgenommen und säulenchromatographisch an Kieselgel mit Acetonitril/Wasser (5:1 v/v) als Eluent gereinigt.

## 11.2.2 Synthese von selektiv geschützten Nucleosiden

### Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2'-desoxythymidin **214**

6.00 g (24.3 mmol, 1.0 Äq.) 2'-Desoxythymidin wurden in einer N<sub>2</sub>-Atmosphäre mehrmals mit Pyridin coevaporiert und anschließend in 40 mL abs. Pyridin gelöst. Bei Rt wurden 4.86 g TBDMS-Chlorid (32.2 mmol, 1.0 Äq.) portionsweise zugegeben und über Nacht gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde die Reaktionslösung mit 120 mL Methanol versetzt und das Lösungsmittel dann unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wurde mehrmals mit Toluol und Dichlormethan codestilliert bis kein Pyridin mehr vorhanden war. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und zweimal mit Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel erneut im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus 120 mL Benzol und 30 mL Essigester umkristallisiert.

**Ausbeute:** 7.13 g (20.0 mmol, 81%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Si; **Molgewicht:** 356.45 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v): 0.90; **Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -7 ° (c=1.0, CHCl<sub>3</sub>); **Schmelzpunkt:** 199 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.29 (s, 1H, NH), 7.49 (q, 1H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.2 Hz, H-6), 6.36 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.3 Hz, H-1'), 4.47-4.44 (m, 1H, H-3'), 4.03 (dt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.8 Hz, H-4'), 3.83 (ddd, 2H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 24.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 11.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.8 Hz, H-5'), 2.35 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.3 Hz, H-2'a), 2.13-2.03 (m, 1H, H-2'b), 1.92 (d, 3H, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 1.2 Hz, H-7), 0.92 (s, 9H, *t*Bu-CH<sub>3</sub>), 0.11 (s, 6H, Silyl-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 163.9 (C-4), 150.5 (C-2), 135.6 (C-6), 111.1 (C-5), 87.3 (C-4'), 85.1 (C-1'), 72.8 (C-3'), 63.7 (C-5'), 41.3 (C-2'), 26.1 (*t*Bu-CH<sub>3</sub>), 18.5 (*t*Bu-C<sub>q</sub>), 12.7 (C-7), -5.0 (Silyl-CH<sub>3</sub>).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3550, 3157, 2950, 2927, 2854, 1696, 1254, 1118, 830, 779.

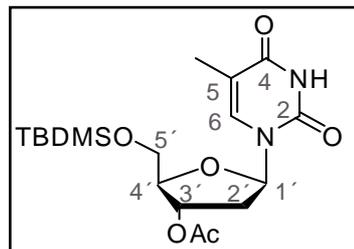
**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub>Si<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 379.1665, gefunden: 379.1662.

### Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-acetyl-2'-desoxy-thymidin **215**

Die Durchführung erfolgte gemäß **AAV 6**. Es wurden 2.40 g 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2'-desoxythymidin **214** (6.73 mmol, 1.0 Äq.), gelöst in 17 mL abs. Pyridin und 1.90 mL

(20.2 mmol, 3.0 Äq.) Essigsäureanhydrid eingesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit PE/EE 2:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 1.74 g (4.37 mmol, 72%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:**  $C_{18}H_{30}N_2O_6Si$ ; **Molgewicht:** 398.53 g/mol;  **$R_f$**  ( $CH_2Cl_2/CH_3OH$  9:1 v/v): 0.60; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -4^\circ$  (c=1.0,  $CHCl_3$ ); **Schmelzpunkt:** 109 °C.



**$^1H$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 8.18 (s, 1H, NH), 7.54 (q, 1H,  $^4J_{HH} = 1.0$  Hz, H-6), 6.35 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 9.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 5.3$  Hz, H-1'), 5.24 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz, H-3'), 4.09-4.08 (m, 1H, H-4'), 3.91 (d, 2H,  $^3J_{HH} = 2.0$  Hz, H-5'), 2.42-2.37 (m, 1H, H-2'a), 2.15-2.10 (m, 1H, H-2'b), 2.10 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.92 (d, 3H,  $^4J_{HH} = 1.0$  Hz, H-7), 0.93 (s, 9H, *tert*Bu-CH<sub>3</sub>), 0.14 (s, 6H, Silyl-CH<sub>3</sub>).

**$^{13}C$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $CDCl_3$ ): 170.8 (C=O), 163.9 (C-4), 150.6 (C-2), 135.1 (C-6), 111.4 (C-5), 85.5 (C-4'), 84.7 (C-1'), 75.5 (C-3'), 63.7 (C-5'), 38.1 (C-2'), 26.0 (*tert*Bu-CH<sub>3</sub>), 21.1 (C(O)CH<sub>3</sub>), 18.5 (*tert*Bu-C<sub>q</sub>), 12.6 (C-7), -4.6 (Silyl-CH<sub>3</sub>).

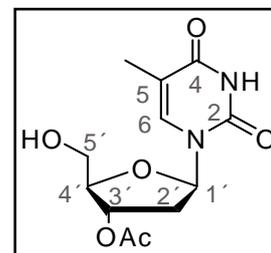
**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ]: 3242, 3067, 2950, 2929, 2856, 1709, 1685, 1461, 1246, 1120, 1070, 829, 779.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für  $C_{18}H_{30}NaN_2O_6Si^+$  [M+Na]<sup>+</sup>: 421.1771, gefunden: 421.1774.

### Synthese von 3'-O-Acetyl-2'-desoxythymidin 115

4.00 g 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-acetyl-2'-desoxythymidin **215** (10.0 mmol, 1.0 Äq.) wurden bei Rt in THF gelöst, mit 15.0 mL einer 1.0 M Tetrabutylammonium-fluorid-Lösung (15.0 mmol, 1.5 Äq.) versetzt und 1 h gerührt. Nach vollständiger Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit EE/CH<sub>3</sub>OH 8:2 v/v gereinigt.

**Ausbeute:** 2.74 g (9.64 mmol, 96%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:**  $C_{12}H_{16}N_2O_6$ ; **Molgewicht:** 284.27 g/mol;  **$R_f$**  ( $CH_2Cl_2/CH_3OH$  9:1 v/v): 0.60; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -11^\circ$  (c=1.0,  $CHCl_3$ ); **Schmelzpunkt:** 179 °C.



**$^1H$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 8.10 (s, 1H, NH), 7.49 (q, 1H,  $^4J_{HH} = 1.2$  Hz, H-6), 6.24 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 8.2$  Hz,  $^3J_{HH} = 8.2$  Hz, H-1'), 5.35 (dt, 1H,  $^3J_{HH} = 5.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 2.5$  Hz, H-3'), 4.09 (dt, 1H,  $^3J_{HH} = 2.5$  Hz,  $^3J_{HH} = 2.5$  Hz, H-4'), 3.94-3.92 (m, 2H, H-5'), 2.43-2.38 (m, 2H, H-2'), 2.11 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.93 (d, 3H,  $^4J_{HH} = 1.2$  Hz, H-7).

**$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 170.9 (C=O), 163.6 (C-4), 150.5 (C-2), 136.3 (C-6), 111.6 (C-5), 86.0 (C-1'), 85.2 (C-4'), 74.8 (C-3'), 62.8 (C-5'), 37.3 (C-2'), 21.1 (C(O)CH<sub>3</sub>), 12.7 (C-7).

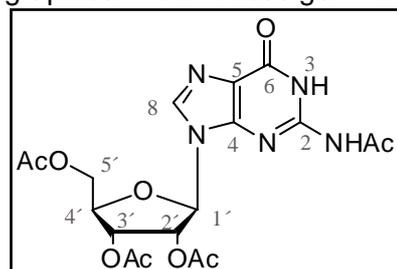
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3469, 3171, 2497, 2326, 1707, 1662, 1475, 1241, 1096, 956, 775.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NaN}_2\text{O}_6^+$  [M+Na]<sup>+</sup>: 307.0906, gefunden: 307.09272.

### Synthese von *N*<sup>2</sup>-Acetyl-2',3',5'-tri-*O*-acetylguanosin **88**

4.99 g Guanosin **89** (21.0 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 71 mL Acetonitril sowie 23.8 mL Triethylamin gelöst. Es wurden 35.7 mL (377 mmol, 18 Äq.) Essigsäureanhydrid zugegeben und 30 Stunden bei Rt gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch (EE/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v) überprüft. Anschließend wurden das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in wenig EE aufgenommen und die Lösung drei Mal mit EE und Wasser extrahiert. Die organischen Phasen wurden zwei Mal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach erfolgter Filtration wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel mit EE/CH<sub>3</sub>OH (9:1 v/v) als Elutionsmittel gereinigt.

**Ausbeute:** 7.00 g (15.5 mmol, 88%) eines orangen Feststoffes; **Summenformel:**  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_9$ ; **Molgewicht:** 451.39 g/mol; **R<sub>f</sub>** (EE/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v): 0.41.



**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 11.96 (s, 1H, NH), 9.17 (s, 1H, NHAc), 7.72 (s, 1H, H-8), 5.96-5.88 (m, 2H, H-1', H-2'), 5.72 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 4.5$  Hz, H-3'), 4.57 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.7$  Hz, H-5'), 4.46-4.41 (m, 1H, H-4'), 4.38 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.2$  Hz, H-5'), 2.32, 2.15, 2.09 (je s, je 3H, je C(O)CH<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 172.3, 171.4, 169.8, 169.5 (je C=O), 155.6 (C-6), 147.8 (C-4), 147.7 (C-2), 138.6 (C-8), 122.6 (C-5), 87.6 (C-1'), 80.2 (C-4'), 73.0 (C-2'), 71.1 (C-3'), 63.3 (C-5'), 24.3, 20.9, 20.6, 20.5 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2925, 1745, 1682, 1611, 1561, 1373, 1226, 1043.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_9^+$  [M+H]<sup>+</sup>: 452.1412, gefunden: 452.1413; berechnet für  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{NaO}_9^+$  [M+Na]<sup>+</sup>: gefunden: 474.1231.

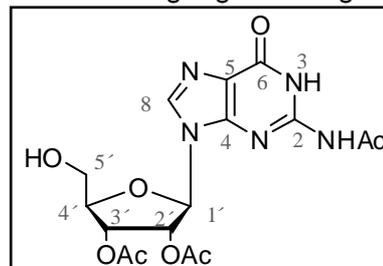
### Synthese von *N*<sup>2</sup>-Acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosin **87**

In acht Ansätzen wurden je 400 mg *N*<sup>2</sup>-Acetyl-2',3',5'-tri-*O*-acetylguanosin **88** (7.09 mmol) in je 1 mL Dimethylformamid und 4 mL Phosphatpuffer (pH = 7.0) gelöst. Anschließend

erfolgte die Zugabe von je 0.9 mL des in Propylenglykol gelösten Enzyms Subtilisin (91.0 mg/mL). Die Lösungen wurden vier Tage bei 37 °C gerührt und anschließend auf Rt gekühlt. Es wurden je 4 mL Methanol zugegeben und nach einer Wartezeit von 30 Minuten der farblose Niederschlag durch Zentrifugation und anschließendes Dekantieren entfernt. Die Lösungen wurden vereinigt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, wobei ein dickflüssiges, dunkelbraunes Öl zurück blieb. Dieses wurde in 15 mL EE aufgenommen, nach Zugabe von 15 mL Methanol erneut zentrifugiert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Produktgemisch wurde in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aufgenommen und säulenchromatographisch an Silicagel mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und einem CH<sub>3</sub>OH-Gradienten (0-5 %) als Eluent gereinigt. Nach Entfernung des Lösungsmittels unter vermindertem Druck und nachfolgender Gefriertrocknung wurde das reine Produkt als farbloser Feststoff erhalten.

Desweiteren konnte das Edukt als farbloser Feststoff reisoliert werden. Die vorhandenen Mischfraktionen wurden einer zweiten säulenchromatographischen Reinigung unterzogen.

**Ausbeute:** 1.28 g (3.14 mmol, 44%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub>; **Molgewicht:** 409.35 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v): 0.59.



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 12.18 (s, 1H, NH), 9.66 (s, 1H, NHAc), 7.71 (s, 1H, H-8), 5.97 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.1 Hz, H-2'), 5.90 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.0 Hz, H-1'), 5.66 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H-3'), 4.80 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.8 Hz, OH), 4.29 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, H-4'), 3.95 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12.7 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz, H-5'), 3.81 (t, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.5 Hz, H-5'), 2.31 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.14, 2.04 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 172.6, 170.0, 169.4 (je C=O), 155.3 (C-6), 148.1 (C-2), 147.2 (C-4), 122.9 (C-5), 87.7 (C-1'), 84.6 (C-4'), 72.1 (C-2'), 71.5 (C-3'), 62.1 (C-5'), 24.4 (NHAc), 20.7, 20.3 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3158, 1747, 1680, 1610, 1560, 1403, 1373, 1242, 1042.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub> [M]: 409.1234, gefunden: 410.1309 [M+H]<sup>+</sup>, 432.1126 [M+Na]<sup>+</sup>.

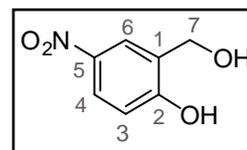
### 11.2.3 Synthese von *cycloSal*-Nucleosidmonophosphaten

#### 11.2.3.1 Synthese der Salicylalkohole

##### Synthese von 5-Nitrosalicylalkohol 90

6.00 g 5-Nitrosalicylaldehyd (35.9 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 180 mL abs. Ethanol gelöst. Nach Zugabe von 1.20 g (31.7 mmol, 0.9 Äq.) Natriumborhydrid wurde die Reaktionslösung über Nacht bei Rt gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v). Danach wurde die Reaktionslösung mit 4 mL Wasser verdünnt und konzentrierte Salzsäure hinzugegeben bis ein Farbumschlag von rot nach gelb beobachtet werden konnte. Der Niederschlag wurde filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und anschließend mit Methanol coevaporiert. Zum Schluss erfolgte die Umkristallisation aus Wasser.

**Ausbeute:** 3.90 g (23.1 mmol, 64%) eines gelb kristallinen Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub>; **Molgewicht:** 169.13 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ CH<sub>3</sub>OH 10:1 v/v): 0.25; **Schmelzpunkt:** 129 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 11.09 (s, 1H, Ph-OH), 8.20 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, H-6), 8.02 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.9 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 3.0 Hz, H-4), 6.93 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.9 Hz, H-3), 5.35 (s, 1H, Bn-OH), 4.50 (s, 2H, H-7).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 161.0 (C-2), 139.3 (C-5), 130.5 (C-1), 124.3 (C-4), 122.6 (C-6), 114.5 (C-3), 57.7 (C-7).

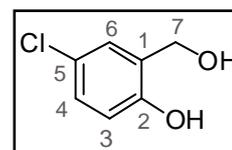
**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3245, 1608, 1580, 1480, 1275, 1006, 871, 735.

**HRMS** (EI, m/z): berechnet für [M]: 169; gefunden: 169 (M, 72 %), 151 (100), 93 (11), 79 (28), 65 (26), 51 (20), 39 (12).

##### Synthese von 5-Chlorsalicylalkohol 190

Die Durchführung erfolgte nach **AAV 1**. Dabei wurden 6.03 g (34.9 mmol, 1.0 Äq.) 5-Chlorsalicylsäure mit 2.93 g Lithiumaluminiumhydrid (77.2 mmol, 2.2 Äq.) in 40 mL abs. THF umgesetzt.

**Ausbeute:** 5.53 g (34.9 mmol, 96%) eines glänzend gelben Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>ClO<sub>2</sub>; **Molgewicht:** 158.58 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v): 0.56; **Schmelzpunkt:** 91 °C.



**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9.64 (s, 1H, Ph-OH), 7.27 (d, 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.7$  Hz, H-6), 7.06 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.5$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.7$  Hz, H-4), 6.76 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.5$  Hz, H-3), 5.10 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.7$  Hz, Bn-OH), 4.45 (d, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.6$  Hz, H-7).

**$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 152.9 (C-2), 131.1 (C-1), 126.8 (C-6), 126.6 (C-4), 122.5 (C-5), 116.0 (C-3), 57.7 (C-7).

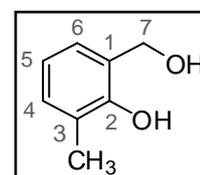
**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3436, 3155, 1878, 1609, 1500, 1435, 1268, 1124, 886, 820, 660.

**MS** (FAB, m/z): berechnet für [M]: 158.0; gefunden: 158.0 [M].

### Synthese von 3-Methylsalicylalkohol 191

Die Durchführung erfolgte gemäß **AAV 1**. Dabei wurden 2.98 g (19.6 mmol, 1.0 Äq.) 3-Methylsalicylsäure mit 1.38 g (36.4 mmol, 2.0 Äq.) Lithiumaluminiumhydrid in 40 mL abs. THF umgesetzt.

**Ausbeute:** es wurden 2.58 g eines farblosen Feststoffes (18.7 mmol, 95%) erhalten. **Summenformel:**  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$ ; **Molgewicht:** 138.165 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE 1:1 v/v): 0.68 **Schmelzpunkt:** 73 °C.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.38 (s, 1H, Ph-OH), 7.06 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H-6), 7.00 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H-4), 6.71 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H-5), 5.27 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.5$  Hz, Bn-OH), 4.56 (d, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4$  Hz, H-7), 2.15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 152.5 (C-2), 129.0 (C-5), 127.9 (C-4), 125.0 (C-6), 124.0 (C-1), 118.9 (C-3), 59.8 (C-7), 16.1 ( $\text{CH}_3$ ).

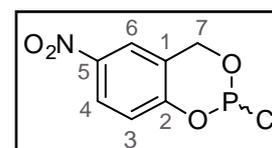
**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3354, 2922, 2874, 1709, 1596, 1217, 1085, 992, 836, 768, 739, 608.

### 11.2.3.2 Synthese der *cyclo*Salicylchlorphosphite

#### Synthese von 5-Nitrosalicylchlorphosphit 86

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 2** durchgeführt. Es wurden 0.50 g 5-Nitrosalicylalkohol **90** (3.0 mmol, 1.0 Äq.) in 15 mL abs. Diethylether, 0.31 mL frisch destilliertes Phosphor(III)-chlorid (487 mg, 3.55 mmol, 1.2 Äq.) und 0.55 mL abs. Pyridin (0.90 g, 6.5 mmol, 2.2 Äq.) gelöst in 10 mL abs. Diethylether eingesetzt.

**Ausbeute:** es wurden 283 mg eines gelben Feststoffes als Rohprodukt erhalten; **Summenformel:**  $\text{C}_7\text{H}_5\text{ClNO}_4$ ; **Molgewicht:** 233.55 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE 2:1v/v): 0.80.



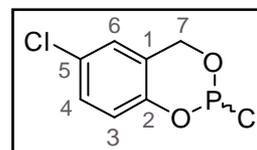
**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.19 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.7$  Hz, H-4), 7.97 (d, 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.7$  Hz, H-6), 7.13 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.6$  Hz, H-3), 5.52 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.0$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 2.6$  Hz, H-7a), 5.13 (dd, 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 9.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.7$  Hz, H-7b).

**$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 139.3.

### Synthese von 5-Chlorsaligenylchlorphosphit 203

Gemäß **AAV 2** wurden 3.01 g 5-Chlorsalicylalkohol (19.0 mmol, 1.0 Äq.) **190** in 31 mL abs. Diethylether gelöst. Zu dieser Lösung wurden 3.0 mL dest.  $\text{PCl}_3$  (4.71 g, 34.3 mmol, 1.8 Äq.) gegeben. Bei  $-40$  °C wurden 5.29 mL abs. Pyridin (5.18 g, 65.5 mmol, 3.4 Äq.) in 25 mL abs. Diethylether zu der Reaktionslösung getropft. Die Verunreinigung konnte dem  $^1\text{H-NMR}$  entnommen werden.

**Ausbeute:** es wurden 3.88 g eines gelbes Öls als Rohprodukt (17.5 mmol, 92%, davon 3% Verunreinigung durch Pyridiniumchlorid) erhalten; **Summenformel:**  $\text{C}_7\text{H}_5\text{ClO}_4$ ; **Molgewicht:** 233.55 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE 2:1v/v): 0.80.



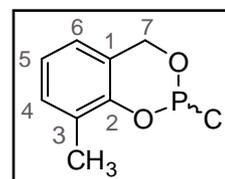
**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.12 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.6$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.5$  Hz, H-4), 6.97 (d, 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.5$  Hz, H-6), 6.91 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.8$  Hz, H-3), 5.18 (s, 2H, H-7).

**$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 139.4.

### Synthese von 3-Methyl-cyclosaligenylchlorphosphit 204

Gemäß **AAV 2** wurden 3.69 g 3-Methylsalicylalkohol **191** (26.7 mmol, 1.0 Äq.) in 34 mL abs. Diethylether gelöst. Zu dieser Lösung wurden 2.87 mL (4.51 g, 32.8 mmol, 1.2 Äq.) dest.  $\text{PCl}_3$  gegeben. Nachdem bei  $-15$  °C gerührt worden war, wurden 6.38 mL (6.25 g, 79.0 mmol, 3.0 Äq.) abs. Pyridin in 30 mL abs. Diethylether zu der Reaktionslösung getropft. Die Verunreinigung konnte dem  $^1\text{H-NMR}$  entnommen werden.

**Ausbeute:** es wurden 4.04 g eines gelbes Öls als Rohprodukt (19.9 mmol, 75%, davon 4% Verunreinigung durch Pyridiniumchlorid) erhalten; **Summenformel:**  $\text{C}_8\text{H}_8\text{ClO}_2\text{P}$ ; **Molgewicht:** 202.57 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE 2:1v/v): 0.80.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.17 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 0.8$  Hz, H-4), 7.03 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H-5), 6.84 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H-6), 5.59-4.95 (m, 2H, H-7).

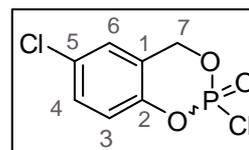
**$^{31}\text{P-NMR}$**  (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$  entkoppelt):  $\delta$  [ppm] = 140.7.

### 11.2.3.3 Synthese der *cyclo*Saligenylphosphorchloridate

#### Synthese von 5-Chlorsaligenylphosphorchloridat 192

Es wurden 2.11 g 5-Chlorsalicylalkohol **190** (13.3 mmol, 1.0 Äq.) in einen Schlenkkolben überführt und mit 3 mL abs. Toluol coevaporiert und anschließend 16 h im Ölpumpenvakuum getrocknet. Dann wurde der Alkohol gemäß **AAV 3** in 8 mL abs. THF gelöst und mit 4.06 mL Triethylamin (2.96 g, 29.3 mmol, 2.2 Äq.) versetzt. Diese Lösung wurde dann zu 1.33 mL Phosphorylchlorid (2.24 g, 14.6 mmol, 1.1 Äq.) in 40 mL abs. THF zugegeben.

**Ausbeute:** 2.10 g (8.79 mmol, 66%) eines farblosen Feststoffes;  
**Summenformel:** C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>P; **Molgewicht:** 238.99 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1 v/v): 0.41.



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.11 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.8 Hz, H-4), 6.96-6.94 (m, 1H, H-6), 6.84 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, H-3), 5.17 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 13.3 Hz, H-7).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 147.1 (C-2), 130.5 (C-5), 130.4 (C-4), 125.3 (C-6), 120.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 9.8 Hz, C-3), 69.6 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 8.2 Hz, C-7).

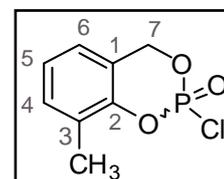
**<sup>31</sup>P-NMR** (162 MHz, D<sub>2</sub>O entkoppelt): δ [ppm] = -5.06.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3085, 2967, 1481, 1423, 1394, 1375, 1283, 1198, 1136, 1085, 1019, 954, 739, 673.

#### Synthese von 3-Methylsaligenylphosphorchloridat 204

Die Durchführung erfolgte gemäß **AAV 3**. Dabei wurden 1.54 g 3-Methylsalicylalkohol **191** (11.1 mmol, 1.0 Äq.), 3.23 mL Triethylamin (2.36 g, 23.3 mmol, 2.1 Äq.) und 1.11 mL Phosphorylchlorid (1.87 g, 12.2 mmol, 1.1 Äq.) in insgesamt 40 mL abs. THF verwendet.

**Ausbeute:** 1.37 g (6.27 mmol, 56%) eines braunen Feststoffes;  
**Summenformel:** C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>ClO<sub>3</sub>P; **Molgewicht:** 218.57 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1 v/v): 0.34.



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.23 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H-4), 7.11 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H-5), 6.95 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H-6), 5.50 (s, 1H, H-7b), 5.46 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.7 Hz, H-7a), 2.31 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 147.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 8.4 Hz, C-2), 131.8 (C-4), 125.1 (C-5), 122.8 (C-6), 70.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 7.5 Hz, C-7), 15.0 (CH<sub>3</sub>).

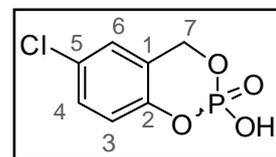
**<sup>31</sup>P-NMR** (162 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = -5.06.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2985, 1473, 1270, 1177, 1031, 965, 833, 772.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>ClO<sub>3</sub>P [M+H]<sup>+</sup>: 218.9978; gefunden: 218.9965.

### Synthese von 5-Chlorsaligenylphosphat **192**

Nach Versetzen des 5-Chlorsaligenylphosphorchloridates **205** mit Wasser konnte das 5-Chlorsaligenylphosphat **192** als Hydrolyseprodukt in Form eines braunen Feststoffes erhalten werden.



**Summenformel:** C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>ClO<sub>4</sub>P<sup>-</sup>; **Molgewicht:** 220.55 g/mol.

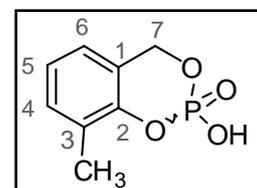
**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 7.34-7.31 (m, 1H, H-4), 7.22 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.3 Hz, H-6), 6.99 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.8 Hz, H-3), 5.22 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12.7 Hz, H-7).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, D<sub>2</sub>O): 151.3 (C-2), 151.3 (C-1), 130.5 (C-5), 128.6 (C-4), 126.9 (C-6), 121.5 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 8.4 Hz, C-3), 67.9 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.9 Hz, C-7).

**<sup>31</sup>P-NMR** (162 MHz, D<sub>2</sub>O entkoppelt): δ [ppm] = -7.12.

### Synthese von 3-Methylsaligenylphosphat **193**

3-Methylsaligenylphosphat **193** konnte als Hydrolyseprodukt sowohl beim Versetzen des 3-Methylsaligenylphosphorchloridates **206** mit Wasser als auch während der Hydrolyse der 3-Methyl-substituierten (2d)-Ribose-Prodrugs **185**, **187** und **189** in Form eines braunen Feststoffes erhalten werden.



**Summenformel:** C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O<sub>4</sub>P; **Molgewicht:** 200.13 g/mol;

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 7.27-7.24 (m, 1H, H-6), 7.06 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.1 Hz, H-4, H-5), 5.26 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 13.0 Hz, H-7), 2.27 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, D<sub>2</sub>O): 149.5 (C-3), 131.7 (C-6), 124.5 (C-4), 124.0 (C-5), 68.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.7 Hz, C-7), 16.3 (CH<sub>3</sub>).

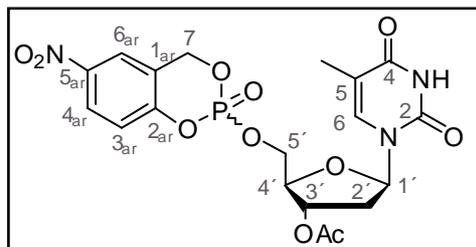
**<sup>31</sup>P-NMR** (162 MHz, D<sub>2</sub>O entkoppelt): δ [ppm] = -6.61.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>P<sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>: 201.0317; gefunden: 201.0305.

### Synthese von 5-Nitro-cycloSal-3'-O-acetyl-thymidinmonophosphat **70**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 4.1** durchgeführt. Dabei wurden 252 mg 3'-O-Acetyl-2'-desoxythymidin **115** (0.889 mmol, 1.0 Äq.), 0.37 mL DIPEA (1.8 mmol, 2.0 Äq.), 415 mg 5-Nitrosaligenylchlorphosphit **86** (1.77 mmol, 2.0 Äq.), 2.21 g Oxone<sup>®</sup> (3.56 mmol, 4.0 Äq.) und 50 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

**Ausbeute:** es wurden 310 mg eines gelblichen Feststoffes als Rohprodukt erhalten; **Summenformel:**  $C_{19}H_{20}N_3O_{11}P$ ; **Molgewicht:** 497.34 g/mol; **R<sub>f</sub>** ( $CH_2Cl_2/CH_3OH$  9:1 v/v): 0.54, **Diastereomerenverhältnis:** 1:0.7.



**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11.36 (s, 2x 1H, 2x NH), 8.31-8.30 (m, 2x 1H, 2x H-6), 8.31-8.22 (m, 2x 1H, 2x H-4<sub>ar</sub>), 7.50 (d, 1H,  $^4J_{HH} = 1.0$  Hz, H-6<sub>ar</sub>), 7.47 (d, 1H,  $^4J_{HH} = 1.0$  Hz, H-6<sub>ar</sub>), 7.39 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 8.9$  Hz, H-3<sub>ar</sub>), 7.37 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 8.9$  Hz, H-3<sub>ar</sub>), 6.17-6.11 (m, 2x 1H, 2x H-1'), 5.71-5.53 (m, 2x 2H, 2x Bn-CH<sub>2</sub>), 5.19-5.15 (m, 2x 1H, 2x H-3'), 4.50-4.36 (m, 2x 2H, 2x H-2'), 4.18-4.15 (m, 2x 1H, 2x H-4'), 2.37-2.23 (m, 2x 2H, 2x H-5'), 2.05 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.75 (d, 3H,  $^3J_{HH} = 1.0$  Hz, CH<sub>3</sub>), 1.73 (d, 3H,  $^3J_{HH} = 1.0$  Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, DMSO- $d_6$ ): 170.0 (2x C=O), 163.6 (2x C-4), 156.0 (2x C-5<sub>ar</sub>), 150.3 (2x C-2), 143.5 (2x C-2<sub>ar</sub>), 135.8 (2x C-6), 125.5, 125.4 (je C-4<sub>ar</sub>), 122.5 (2x C-6<sub>ar</sub>), 119.6 (2x C-1), 119.5 (2x C-3<sub>ar</sub>), 109.9 (2x C-5), 84.2 (2x C-1'), 81.4 (d,  $^3J_{CP} = 7.6$  Hz, 2x C-4'), 81.3 (2x C-3'), 68.0 (d,  $^2J_{CP} = 7.4$  Hz, 2x Bn-CH<sub>2</sub>), 67.9, 67.8 (je d,  $^2J_{CP} = 7.4$  Hz, C-5'), 35.5, 35.4 (C-2'), 20.7 (2 x C(O)CH<sub>3</sub>), 12.0 (2x CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, DMSO- $d_6$ ): -10.92, -10.72.

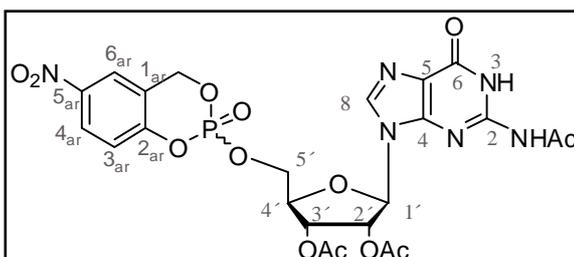
**IR** (KBr):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3454, 3200, 3076, 2931, 1693, 1533, 1349, 1251, 1030, 939, 749.

**HRMS** (FAB, m/z): berechnet für  $C_{19}H_{21}N_3O_{11}P^+$ : 498.0914 [M+H]<sup>+</sup>, gefunden: 498.0895.

### Synthese von 5-Nitro-cycloSal-N<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosinmonophosphat **85**

Gemäß **AAV 4.1** wurden 243 mg N<sup>2</sup>-Acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosin **87** (0.595 mmol, 1.0 Äq.) gelöst in 10 mL abs. Acetonitril mit 230  $\mu$ L DIPEA (175 mg, 1.35 mmol) und 277 mg 5-Nitrosaligenylchlorphosphit **86** (1.19 mmol, 2.0 Äq.) gelöst in 3 mL abs. Acetonitril umgesetzt. Nach 5 Stunden Rühren bei Rt erfolgte die one-pot-Oxidation durch Zugabe von 1.45 g Oxone<sup>®</sup> (2.36 mmol, 4 Äq.) suspendiert in 5 mL kaltem Wasser bei -10 °C.

**Ausbeute:** 0.295 g (0.473 mmol, 80%, bezogen auf das Rohprodukt) eines gelben Feststoffes als Diastereomeregemisch (1:1); **Summenformel:**  $C_{23}H_{23}N_6O_{13}P$ ; **Molgewicht:** 622.43 g/mol; **R<sub>f</sub>** ( $CH_2Cl_2/CH_3OH$  9:1 v/v): 0.49.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 12.17 (s, 2H, 2x NH), 10.45 (s, 2H, 2x NHAc), 8.28 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.3$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.4$  Hz, H-4<sub>ar</sub>), 8.24 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.9$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 2.5$  Hz, H-4<sub>ar</sub>), 8.10 (d, 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.5$  Hz, H-6<sub>ar</sub>), 8.08 (d, 1H,  $^4J_{\text{HH}} = 2.5$  Hz, H-6<sub>ar</sub>), 7.68 (s, 2H, 2x H-8), 7.32 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.1$  Hz, H-3<sub>ar</sub>), 7.14 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.1$  Hz, H-3<sub>ar</sub>), 6.10-6.00 (m, 2H, 2x H-2'), 5.93 (dd,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz,  $^4J_{\text{HH}} = 4.3$  Hz, 2x H-1'), 5.73-5.68 (m, 2H, 2x H-3'), 5.56 (d, 2H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.6$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 5.46 (dd, 2H,  $^2J_{\text{HH}} = 14.0$  Hz,  $^3J_{\text{HP}} = 3.3$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.84-4.75 (m, 2H, 2x H-5'a), 4.64-4.57 (m, 1H, H-5'b), 4.55-4.48 (m, 1H, H-5'b), 4.43-4.38 (m, 2H, 2x H-4'), 2.25, 2.24, 2.16, 2.15 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.06 (s, 6H, 2 x C(O)CH<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 173.1, 170.0, 169.9, 169.5, 169.4 (je C=O), 155.7 (C-6), 148.1, 148.0 (2x C-2), 147.9 (C-4), 126.1, 126.0 (2x C-4<sub>ar</sub>), 123.0, 122.9 (2x C-5), 122.0, 121.9 (2x C-6<sub>ar</sub>), 120.1, 119.9 (2x C-3<sub>ar</sub>), 88.0, 87.9 (2x C-1'), 81.2, 81.1 (2x C-4'), 72.0, 71.8 (2x C-2'), 71.2, 71.1 (2x C-3'), 68.3, 68.2 (2x Bn-CH<sub>2</sub>), 67.9, 67.8 (2x C-5'), 24.2, 20.7, 20.5 (C(O)CH<sub>3</sub>).

**$^{31}\text{P-NMR}$**  (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = -10.70, -10.33.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 1678, 1526, 1339, 1230, 1027, 937, 724, 436.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O<sub>13</sub>P<sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>: 623.1133, gefunden: 623.1126.

## 11.2.4 Synthese von Glycosylphosphaten

### Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose D-216

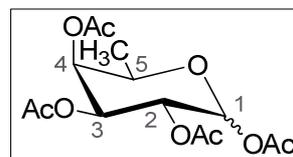
Die Durchführung erfolgte entsprechend **AAV 6**. Es wurden 1.00 g  $\alpha$ -D-Fucose D-15 (6.09 mmol) gelöst in 20 mL abs. Pyridin und 8.10 mL Essigsäureanhydrid (8.75 g, 85.7 mmol) eingesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:2 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 1.70 g (5.12 mmol, 84 %) eines farblosen Feststoffes;

**Summenformel:** C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>; **Molgewicht:** 332.30 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE

1:2 v/v): 0.80; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1:0.3$ ; **Schmelzpunkt:**

44.4 °C.



**$\alpha$ - $^1\text{H-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 6.33 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 2.8$  Hz, H-1), 5.35-5.33 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 4.27 (q, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$ , H-5), 2.18, 2.15, 2.02, 2.00 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.15 (d, 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, CH<sub>3</sub>).

**$\alpha$ - $^{13}\text{C-NMR}$** :  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 170.7, 170.2, 169.6, 169.3 (C=O), 89.9 (C-1), 70.5 (C-4), 67.8 (C-2), 67.3 (C-3), 66.4 (C-5), 21.0, 20.8, 20.7, 20.6 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 15.9 (CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2990, 1741, 1432, 1368, 1209, 1071, 1042, 925, 899, 821, 739, 473.

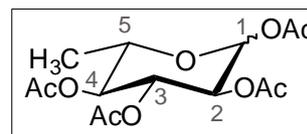
**Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-galactopyranose L-216**

Die Durchführung erfolgte entsprechend **AAV 6**. Es wurden 6.00 g L-Fucose L-15 (36.6 mmol) gelöst in 100 mL abs. Pyridin und 48.6 mL (52.5 g, 514 mmol) Essigsäureanhydrid eingesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:2 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 11.80 g (35,51 mmol, 97%) eines gelben Öls;

**Summenformel:** C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>; **Molgewicht:** 332.30 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:2 v/v): 0.80; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 3:1$ .



Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers D-216.

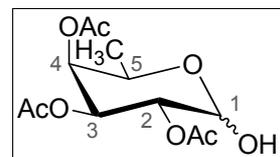
**Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose D-217**

Die Synthese erfolgte nach **AAV 7.1**. Es wurden 1.50 g 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose D-216 (5.51 mmol, 1.0 Äq.) gelöst in 5 mL abs. DMF und mit 507 mg Hydraziniumacetat (5.51 mmol, 1.0 Äq.) eingesetzt.

**Ausbeute:** 1.18 g (4.06 mmol, 90%) eines farblosen Öls;

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>; **Molgewicht:** 290.27 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE

1:2 v/v): 0.67; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1:0.6$ .



**$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.41 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, H-1), 5.35 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, H-3), 5.26-5.25 (m, 1H, H-4), 5.10 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, H-2), 4.35 (q, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-5), 2.11, 2.04, 1.93 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.08 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, CH<sub>3</sub>).

**$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 170.6, 170.4, 170.1 (je C=O), 90.6 (C-1), 71.2 (C-4), 68.3 (C-2), 67.6 (C-3), 64.4 (C-5), 20.9, 20.8, 20.7 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 15.9 (C-6).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3447, 2987, 2363, 1743, 1654, 1437, 1241, 1047, 669.

**MS (FAB, m/z):** berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>: 290.1002, gefunden: 273.2 [M-OH].

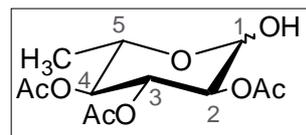
**Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-galactopyranose L-217**

Die Synthese erfolgte nach **AAV 7.1**. Es wurden 5.00 g 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-galactopyranose L-216 (15.0 mmol, 1.0 Äq.) gelöst in 15 mL abs. DMF und 1.66 g Hydraziniumacetat (18.0 mmol, 1.2 Äq.) eingesetzt.

**Ausbeute:** 3.01 g (10.4 mmol, 69%) eines farblosen Öls;

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>; **Molgewicht:** 290.27 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:2 v/v): 0.67; **Anomerenverhältnis:** α:β ≈ 1:0.6.



Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers D-**217**

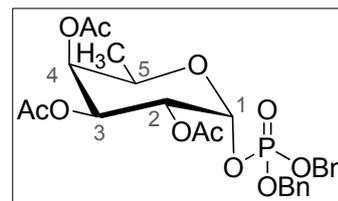
### Synthese von Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy-α-D-galactopyranosylphosphat α-D-100

Die Reaktion erfolgte entsprechend **AAV 13.1**. Es wurden dabei 986 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-α/β-D-galactopyranose D-**217** (3.40 mmol, 1.0 Äq.) in 50 mL abs. Dichlormethan, 16.3 mL Dicyanoimidazol (0.25 M in CH<sub>3</sub>CN, 4.10 mmol, 1.2 Äq.), 1.68 mL Bis-(benzyl)-N,N-diisopropyl-phosphoramidit (1.76 mg, 5.10 mmol, 1.5 Äq.) und 1.17 g 3-Chlorperbenzoesäure (6.78 mmol, 2.0 Äq.) verwendet.

**Ausbeute:** 785 mg (1.43 mmol, 42%) eines farblosen Öls;

**Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>O<sub>11</sub>P; **Molgewicht:** 550.49 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:2 v/v): 0.62; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein; **Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 24° (c=1.0, CHCl<sub>3</sub>).



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.38-7.35 (m, 10H, CH<sub>ar</sub>), 5.91 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-1), 5.32 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-3), 5.27 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-4), 5.22-5.18 (m, 1H, H-2), 5.17-5.00 (m, 5H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.16 (q, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, H-5), 2.16, 2.00, 1.91 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.04 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 169.9, 169.6, 169.2 (C=O), 130.2, 129.8, 128.7, 128.2, 128.0, 127.9 (CH<sub>ar</sub>), 95.0 (C-1), 70.5 (C-4), 69.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.6 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 69.5 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.6 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 67.4 (C-3), 67.1 (C-2), 66.8 (C-5), 20.7, 20.6, 20.5 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 15.7 (CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -2.72.

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3034, 1745, 1456, 1370, 1215, 1073, 998, 948, 925, 736, 696, 466.

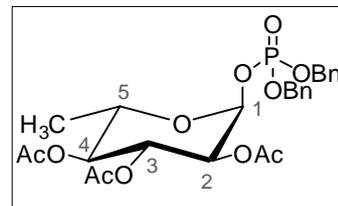
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>NaO<sub>11</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 573.1502, gefunden: 573.1510.

### Synthese von Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy-α-L-galactopyranosylphosphat α-L-100

Die Reaktion erfolgte entsprechend **AAV 13.1**. Es wurden dabei 2.57 g 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-α/β-L-galactopyranose L-**217** (8.86 mmol, 1.0 Äq.) in 120 mL abs. Dichlormethan, 43.8 mL Dicyanoimidazol (0.25 M in CH<sub>3</sub>CN, 11.02 mmol, 1.2 Äq.),

4.38 mL Bis-(benzyl)-*N,N*-diisopropyl-phosphoramidit (4.59 mg, 13.3 mmol, 1.5 Äq.) und 3.06 g 3-Chlorperbenzoesäure (17.7 mmol, 2.0 Äq.) verwendet.

**Ausbeute:** 4.88 g (96.7 mmol, 72%) eines farblosen Öls;  
**Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>O<sub>11</sub>P; **Molgewicht:** 550.49 g/mol; **R<sub>f</sub>**  
 (PE/EE 1:2 v/v): 0.62; **Anomerenverhältnis:** α-anomeren-  
 rein; **Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -28 ° (c=1.0, CHCl<sub>3</sub>).



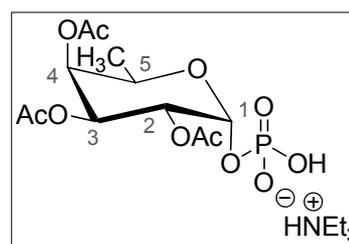
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>NaO<sub>11</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 573.1496, gefunden: 573.1492.

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers α-D-**100**.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxyα-D-galactopyranosylphosphat in Form des Monotriethylammoniumsalzes α-D-95

Die Reaktion wurde entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 5.1** durchgeführt. Es wurden 646 mg Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy-α-D-galactopyranosylphosphat α-L-**100** (1.17 mmol, 1.0 Äq.), 325 μL Triethylamin (237 mg, 2.34 mmol, 2.0 Äq.) und 127 mg Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 15 mL abs. Methanol verwendet, die Reaktionszeit betrug 48 h. Das erhaltene Rohprodukt wurde an Kieselgel mit CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 3:1 v/v als Eluent gereinigt. Das Produkt wurde über eine protonierte Ionenaustauschersäule DOWEX 50WX8 eluiert. Die protonierte Form des Phosphates wurde mit Triethylamin zum Neutralpunkt titriert und das Lösungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt.

**Ausbeute:** 515 mg (1.09 mmol, 94%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>11</sub>P; **Molgewicht:**  
 471.43 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 3:1 v/v): 0.81; **Anomeren-  
 verhältnis:** α-anomerenrein; **Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +62° (c=1.0, H<sub>2</sub>O).



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 5.67 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-1), 5.35-5.34 (m, 1H, H-4), 5.20 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-3), 4.51 (q, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, H-5), 4.07 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H-2), 3.21 (q, 6H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 2.23, 2.12, 2.03 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.29 (t, 9H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 1.17 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, D<sub>2</sub>O): 173.7, 173.1, 173.0 (je C=O), 91.9 (d,  $^2J_{CP} = 5.2$  Hz, C-1), 71.5 (C-4), 68.5 (C-3), 68.0 (d,  $^3J_{CP} = 7.8$  Hz, C-2), 65.9 (C-5), 46.8 (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>), 8.4 (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>), 14.8 (CH<sub>3</sub>), 19.9, 20.1, 20.2 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O): -1.52.

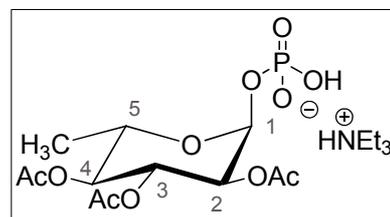
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2982, 2495, 1741, 1476, 1371, 1222, 1068, 921, 852, 529, 469.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>11</sub>P<sup>-</sup> [M]: 369.0587, gefunden: 369.0609.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-galactopyranosylphosphat in Form des Monotriethylammoniumsalzes $\alpha$ -L-95

Die Reaktion wurde entsprechend **AAV 5.1** durchgeführt. Es wurden 2.63 g Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-galactopyranosylphosphat  $\alpha$ -L-**100** (4.78 mmol, 1.0 Äq.), 1.32 mL Triethylamin (963 mg, 9.52 mmol, 2.0 Äq.) und 517 mg Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 60 mL abs. Methanol verwendet, die Reaktionszeit betrug 48 h. Das erhaltene Rohprodukt wurde an Kieselgel mit CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 3:1 v/v als Eluent gereinigt. Das Produkt wurde über eine protonierte Ionenaustauschersäule DOWEX 50WX8 eluiert. Die protonierte Form des Phosphates wurde mit Triethylamin zum Neutralpunkt titriert und das Lösungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt.

**Ausbeute:** 1.76 g (3.73 mmol, 78%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>11</sub>P; **Molgewicht:** 471.43 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 3:1 v/v): 0.81; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -71^\circ$  (c=1.0, H<sub>2</sub>O).



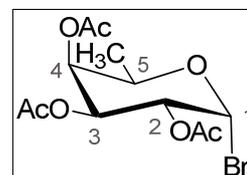
**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>11</sub>P<sup>-</sup> [M]: 369.0587, gefunden: 369.0600.

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers  $\alpha$ -D-**95**.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -D-galactopyranosylbromid D-99

Die Synthese wurde gemäß **AAV 12.1** durchgeführt. Es wurden 2.00 g 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose D-**216** (6.02 mmol) in 10 mL abs. Dichlormethan und 4.44 mL Bromwasserstoffsäure (33% in Eisessig) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 48 h bei Rt gerührt.

**Ausbeute:** 2.04 g (5.77 mmol, 96%) eines gelben Öls; **Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>BrO<sub>7</sub>; **Molgewicht:** 353.16 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:1 v/v):



0.85; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -6^\circ$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 6.69 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9$  Hz, H-1), 5.40 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 10.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz, H-3), 5.35 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 2.2$  Hz, H-4), 5.02 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 10.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9$  Hz, H-2), 4.40 (q, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, H-5), 2.17, 2.10, 2.01 (je: s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 1.21 (d, 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz,  $\text{CH}_3$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 170.2, 170.1, 169.8 (je  $\text{C}=\text{O}$ ), 89.3 (C-1), 70.0 (C-4), 69.8 (C-5), 68.9 (C-3), 67.9 (C-2), 20.7, 20.6, 20.5 (je  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 15.5 ( $\text{CH}_3$ ).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2986, 1698, 1636, 1384, 1246, 1164, 1055, 1026, 963, 898, 752, 666.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-galactopyranosylbromid L-99

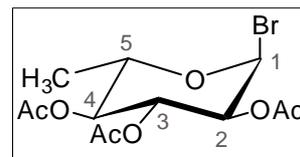
Die Synthese wurde gemäß **AAV 12.1** durchgeführt. Es wurden 6.71 g 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-desoxy-L-galactopyranose L-216 (20.2 mmol) in 30 mL abs. Dichlormethan und 15.0 mL Bromwasserstoffsäure (33% in Eisessig) eingesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 24 h bei Rt gerührt.

**Ausbeute:** 5.36 g (15.2 mmol, 75%) eines gelben Öls;

**Summenformel:**  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{BrO}_7$ ; **Molgewicht:** 353.16 g/mol;

**$R_f$**  (PE/EE 1:1 v/v): 0.85; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +6^\circ$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).



Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers D-99.

### Synthese von Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosylphosphat $\beta$ -D-100

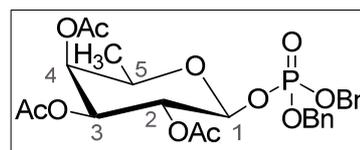
Die Reaktion erfolgte entsprechend **AAV 13.2**. Es wurden 2.27 g Dibenzylphosphat (8.16 mmol, 1.8 Äq.), 1.60 g 3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -D-galactopyranosylbromid D-99 (4.53 mmol, 1.0 Äq.) und 2.25 g Silbercarbonat (8.16 mmol, 1.2 Äq.) eingesetzt.

**Ausbeute:** 1.44 g (2.62 mmol, 58%) eines gelben Öls;

**Summenformel:**  $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{O}_{11}\text{P}$ ; **Molgewicht:** 550.49 g/mol;

**$R_f$**  (PE/EE 1:1 v/v): 0.30; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -ano-

merenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +40^\circ$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).



**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.36-7.30 (m, 10H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 5.31-5.28 (m, 2H, H-1, H-4), 5.26-5.24 (m, 1H, H-3), 5.09 (dd, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.0$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 5.02-5.01

(m, 3H, H-2, Bn-CH<sub>2</sub>), 3.90 (q, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, H-5), 2.19, 2.00, 1.91 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.20 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 170.9, 170.5, 169.9, 169.6 (je C=O), 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.0, 127.9, 127.8 (CH<sub>ar</sub>), 96.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 4.6 Hz, C-1), 70.9 (C-2), 69.8 (C-5), 69.7 (Bn-CH<sub>2</sub>), 69.1 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.4 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 68.9 (C-4), 66.0 (C-3), 21.0, 20.7, 20.6 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 15.9 (CH<sub>3</sub>).

<sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -3.90.

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2941, 1738, 1372, 1220, 1168, 994, 879, 737, 695, 497, 451.

HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>NaO<sub>11</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 573.1502, gefunden: 573.1509.

### Synthese von Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desox-β-L-galactopyranosylphosphat β-L-100

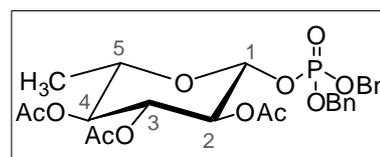
Die Reaktion erfolgte entsprechend **AAV 13.2**. Es wurden 1.75 g Dibenzylphosphat (6.29 mmol, 1.8 Äq.), 1.23 g 3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-α-L-galactopyranosylbromid **D-99** (3.48 mmol, 1.0 Äq.) und 1.73 g Silbercarbonat (6.27 mmol, 1.8 Äq.) eingesetzt.

**Ausbeute:** 1.30 g (2.36 mmol, 68%) eines gelben Öls;

**Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>O<sub>11</sub>P; **Molgewicht:** 550.49 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:1 v/v): 0.30; **Anomerenverhältnis:** β-ano-

merenrein; **Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -44° (c=1.0, CHCl<sub>3</sub>).



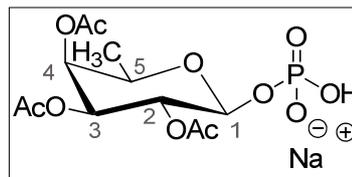
HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>NaO<sub>11</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 573.1496, gefunden: 573.1497.

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers β-D-**100**.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-β-D-galactopyranosylphosphat in Form eines Natriumsalzes β-D-95

Die Reaktion wurde entsprechend **AAV 5.1** durchgeführt. Es wurden 753 mg Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy-β-D-galactopyranosylphosphat β-L-**100** (1.37 mmol, 1.0 Äq.), 379 μL Triethylamin (276 mg, 2.73 mmol, 2.0 Äq.) und 148 mg Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 15 mL abs. Methanol verwendet, die Reaktionszeit betrug 48 h. Durch die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1 v/v als Eluent, wurde das im Rohprodukt noch vorhandene Triethylammonium-Gegenion durch im Wasser stets vorhandene Natriumionen ausgetauscht.

**Ausbeute:** 408 mg (1.04 mmol, 76%) eines gelben Feststoffes; **Summenformel:**  $C_{12}H_{18}NaO_{11}P$ ; **Molgewicht:** 392.23 g/mol;  $R_f$  ( $CH_3CN/H_2O$  3:1 v/v): 0.81; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +16.0^\circ$  ( $c=1.0, H_2O$ ).



**$^1H$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $D_2O$ ): 6.20 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 3.9$  Hz, H-1), 5.23 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 3.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 1.2$  Hz, H-4), 5.12 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 10.6$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.3$  Hz, H-3), 4.15-4.11 (m, 1H, H-5), 4.08 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 10.6$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.9$  Hz, H-2), 2.27, 2.15, 2.05 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.25 (d, 3H,  $^3J_{HH} = 6.5$  Hz, CH<sub>3</sub>).

**$^{13}C$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $D_2O$ ): 173.8, 173.3, 172.9 (je C=O), 95.3 (d,  $^2J_{CP} = 4.4$  Hz, C-1), 71.5 (C-3), 70.9 (C-4), 70.2 (d,  $^3J_{CP} = 7.6$  Hz, C-2), 69.9 (C-5), 20.4, 20.0, 19.9 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 15.0 (C-6).

**$^{31}P$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $D_2O$ ): -1.41.

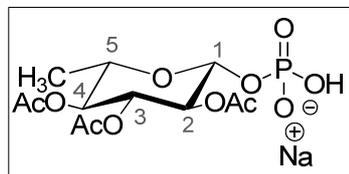
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ]: 2983, 2357, 1747, 1372, 1229, 1130, 1068, 924, 854, 529, 466.

**HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z):** berechnet für  $C_{12}H_{18}O_{11}P^-$  [M]<sup>-</sup>: 369.0592, gefunden: 369.0608.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylphosphat in Form eines Natriumsalzes $\beta$ -L-95

Die Reaktion wurde entsprechend **AAV 5.1** durchgeführt. Es wurden 1.05 g Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-galactopyranosylphosphat  $\beta$ -L-**100** (1.90 mmol, 1.0 Äq.), 526  $\mu$ L Triethylamin (383 mg, 3.78 mmol, 2.0 Äq.) und 200 mg Pd/C eingesetzt. Als Lösungsmittel wurden 30 mL Dioxan verwendet, die Reaktionszeit betrug 48 h. Durch die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit  $CH_3CN/H_2O$  5:1 v/v als Eluent, wurde das im Rohprodukt noch vorhandene Triethylammonium-Gegenion durch im Wasser stets vorhandene Natriumionen ausgetauscht.

**Ausbeute:** 704 mg (1.79 mmol, 94%) eines gelben Feststoffes; **Summenformel:**  $C_{12}H_{18}NaO_{11}P$ ; **Molgewicht:** 392.23 g/mol;  $R_f$  ( $CH_3CN/H_2O$  3:1 v/v): 0.81; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -20.0^\circ$  ( $c=1.0, H_2O$ ).



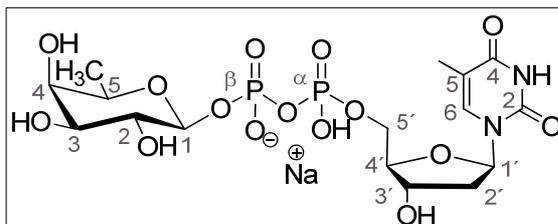
**HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z):** berechnet für  $C_{12}H_{18}O_{11}P^-$  [M]<sup>-</sup>: 369.0592, gefunden: 369.0597.

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers  $\beta$ -D-**100**.

## 11.2.5 Synthese von NDP-Zuckern

### Synthese von Thymidindiphosphat- $\beta$ -D-fucose $\beta$ -D-218

Die Darstellung erfolgte nach **AAV 14**. Es wurden 57 mg 5-Nitro-cycloSal-3'-O-acetylthymidinmonophosphat **70** (0.11 mmol, 1.0 Äq.), 95 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -D-galactopyranosylphosphat  $\alpha$ -D-**95** (0.23 mmol, 2.0 Äq.) und 5 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 36 h bei Rt gerührt.



**Ausbeute:** 58 mg (0.10 mmol, 81%) eines gelben Feststoffes; **Summenformel:**  $C_{16}H_{25}N_2NaO_{15}P_2$ ; **Molgewicht:** 570.31 g/mol;  $R_f$  (iPrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.57; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -78.6^\circ$  (c=1.0, D<sub>2</sub>O).

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 7.78 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 1.1$  Hz, Thymin-H-6), 6.39 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 6.7$  Hz, H-1'), 4.97 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 8.1$  Hz, H-1), 4.69-4.66 (m, 1H, H-3'), 4.21 (d, 3H,  $^3J_{HH} = 4.7$  Hz, H-4', H-5'), 3.86 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 7.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz, H-5), 3.78 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 3.2$  Hz, H-4), 3.72 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 6.5$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.5$  Hz, H-3), 3.60 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 7.7$  Hz,  $^3J_{HH} = 2.3$  Hz, H-2), 2.43-2.39 (m, 2H, H-2'), 1.97 (d, 3H,  $^4J_{HH} = 1.0$  Hz, Thymin-CH<sub>3</sub>), 1.92 (d, 3H,  $^3J_{HH} = 6.5$  Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O): -12.13 (d,  $J_{PP} = 19.8$  Hz, P <sub>$\beta$</sub> ), -11.28 (d,  $J_{PP} = 19.4$  Hz, P <sub>$\alpha$</sub> ).

**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, D<sub>2</sub>O): 166.6, 151.8 (je C=O), 137.4 (Thymin-H-6), 111.8 (Thymin-C<sub>q</sub>), 98.4 (d,  $^2J_{CP} = 6.0$  Hz, C-1), 85.4 (d,  $^3J_{CP} = 9.1$  Hz, C-4'), 85.0 (C-1'), 72.4 (C-3), 71.4 (C-5), 71.2 (C-2), 71.1 (C-4), 71.0 (C-3'), 65.5 (d,  $^2J_{CP} = 5.6$  Hz, C-5'), 38.7 (C-2'), 15.5 (C-6), 11.7 (Thymin-CH<sub>3</sub>).

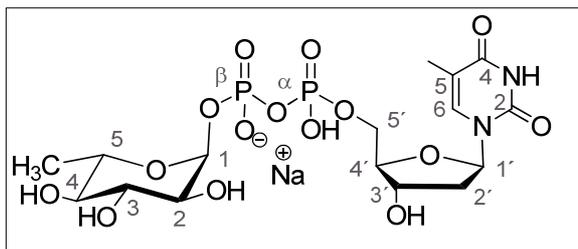
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3219, 1662, 1476, 1234, 1171, 1011, 936, 812, 751.

**HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z):** berechnet für  $C_{16}H_{25}N_2O_{15}P_2^-$  [M]<sup>-</sup>: 547.0741, gefunden: 547.0706.

### Synthese von Thymidindiphosphat- $\alpha$ -L-fucose $\alpha$ -L-218

Die Darstellung erfolgte nach **AAV 14**. Es wurden 53 mg 5-Nitro-cycloSal-3'-O-acetylthymidinmonophosphat **70** (0.11 mmol, 1.0 Äq.), 89 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-

galactopyranosylphosphat  $\alpha$ -L-**95** (0.21 mmol, 2.0 Äq.) und 5 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 36 h bei Rt gerührt.



**Ausbeute:** 41.0 mg (0.072 mmol, 65%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:**  $C_{16}H_{25}N_2NaO_{15}P_2$ ; **Molgewicht:** 570.31 g/mol; **R<sub>f</sub>** (iPrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.61; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -3^\circ$  (c = 0.1, D<sub>2</sub>O).

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 7.76 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 1.1$  Hz, Thymin-H-6), 6.37 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 6.9$  Hz, H-1'), 5.58 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 6.8$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.7$  Hz, H-1), 4.66-4.63 (m, 1H, H-3'), 4.30 (q, 1H,  $^3J_{HH} = 6.6$  Hz, H-5), 4.23-4.18 (m, 3H, H-4', H-5'), 3.93 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 10.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.4$  Hz, H-3), 3.84 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 3.2$  Hz, H-4), 3.76 (td, 1H,  $^3J_{HH} = 10.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.3$  Hz, H-2), 2.44-2.34 (m, 2H, H-2'), 1.94 (d, 3H,  $^3J_{HH} = 1.0$  Hz, Thymin-CH<sub>3</sub>), 1.23 (d, 3H,  $^3J_{HH} = 6.6$  Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O): -12.79 (d, 1H,  $^3J_{PP} = 20.7$  Hz, P <sub>$\beta$</sub> ), -11.36 (d, 1H,  $^3J_{PP} = 20.3$  Hz, P <sub>$\alpha$</sub> ).

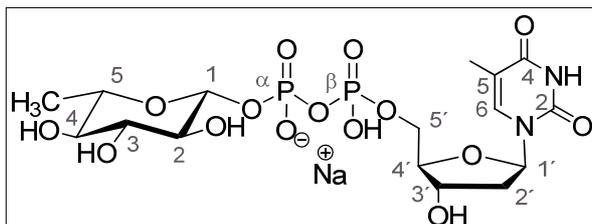
**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, D<sub>2</sub>O): 168.3 (C=O), 151.8 (C=O), 137.4 (Thymin-H-6), 111.8 (Thymin-C<sub>q</sub>), 95.5 (d,  $^2J_{CP} = 7.2$  Hz, C-1), 85.5 (d,  $^3J_{CP} = 8.9$  Hz, C-4'), 85.1 (C-1'), 71.9 (C-4), 71.1 (C-3'), 69.6 (C-3), 68.3 (d,  $^3J_{CP} = 8.5$  Hz, C-2), 68.0 (C-5), 65.5 (d,  $^2J_{CP} = 5.8$  Hz, C-5'), 38.6 (C-2'), 15.5 (C-6), 11.8 (Thymin-CH<sub>3</sub>).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3228, 1662, 1474, 1233, 1172, 1045, 935, 886, 811, 750, 666.

**HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z):** berechnet für  $C_{16}H_{25}N_2O_{15}P_2^-$  [M-H]<sup>-</sup>: 547.0741, gefunden: 547.0712.

### Synthese von Thymidindiphosphat- $\beta$ -L-fucose 102

Die Darstellung erfolgte nach **AAV 14**. Es wurden 60 mg 5-Nitro-cycloSal-3'-O-acetylthymidinmonophosphat **70** (0.12 mmol, 1.0 Äq.), 0.10 g 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylphosphat  $\beta$ -L-**95** (0.24 mmol, 2.0 Äq.) und 5 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 36 h bei Rt gerührt.



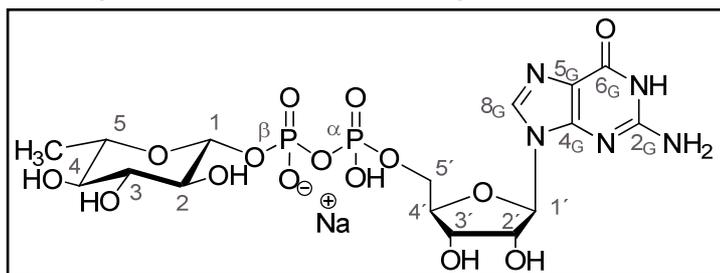
**Ausbeute:** 53 mg (0.093 mmol, 75%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:**  $C_{16}H_{25}N_2NaO_{15}P_2$ ; **Molgewicht:** 570.31 g/mol; **R<sub>f</sub>** (*i*PrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.61; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -10^\circ$  (c = 0.2, H<sub>2</sub>O).

**HRMS-ESI<sup>-</sup> (m/z):** berechnet für  $C_{16}H_{25}N_2O_{15}P_2^-$  [M-H]<sup>-</sup>: 547.0741, gefunden: 547.0734.

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers β-D-**218**.

### Synthese von Guanosindiphosphat-β-L-fucose 17

Die Darstellung erfolgte nach **AAV 14**. Es wurden 78 mg 5-Nitro-*cycloSal-N<sup>2</sup>*-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosinmonophosphat **85** (0.13 mmol, 1.0 Äq.), 98 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-β-L-galactopyranosylphosphat β-L-**95** (0.25 mmol, 2.0 Äq.) und 3 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 24 h bei Rt gerührt.

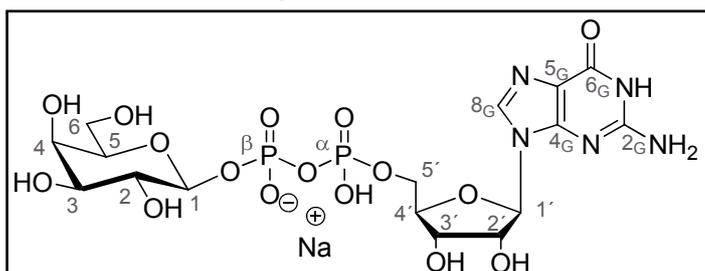


**Ausbeute:** 33 mg (55 μmol, 42%) eines farblosen Feststoffs; **Summenformel:**  $C_{16}H_{24}N_5NaO_{15}P_2$ ; **Molgewicht:** 611.32 g/mol; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein;

Die analytischen Daten stimmten mit denen der Literatur überein.<sup>126,238</sup>

### Synthese von Guanosindiphosphat-β-D-galactose 104

Die Darstellung erfolgte nach **AAV 14**. Es wurden 44 mg 5-Nitro-*cycloSal-N<sup>2</sup>*-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosinmonophosphat **85** (71 μmol, 1.0 Äq.), 75 mg 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosylphosphat (0.14 mmol, 2.0 Äq.) und 2 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 24 h bei Rt gerührt.



**Ausbeute:** 15 mg (24 mmol, 35%) eines farblosen Feststoffs; **Summenformel:**  $C_{16}H_{24}N_5NaO_{16}P_2$ ; **Molgewicht:** 627.32 g/mol; **R<sub>f</sub>** (*i*PrOH/ NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.67; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25} : +10^\circ$  (c = 2.4, D<sub>2</sub>O).

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 8.13 (s, 1H, H-8<sub>G</sub>), 5.95 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-1'), 4.97 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, H-1), 4.82-4.79 (m, 1H, H-2'), 4.55 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-3'), 4.37 (s, 1H, H-4'), 4.23 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-5'), 3.92 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-4), 3.83 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, H-6), 3.76-3.68 (m, 3H, H-3, H-5, H-6), 3.63 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H-2).

**<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O): -12.93 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>PP</sub> = 20.5 Hz, P<sub>β</sub>), -11.24 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>PP</sub> = 21.2 Hz, P<sub>α</sub>).

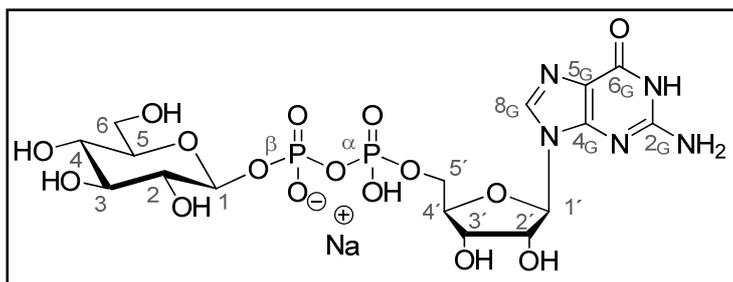
**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, D<sub>2</sub>O): 159.2 (C-6<sub>G</sub>), 153.1 (C-2<sub>G</sub>), 152.1 (C-4<sub>G</sub>), 137.7 (C-8<sub>G</sub>), 116.2 (C-5<sub>G</sub>), 98.5 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.1 Hz, C-1). 86.7 (C-1'), 83.9 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 9.2 Hz, C-4'), 75.8 (C-5), 73.5 (C-2'), 72.3 (C-3), 71.2 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 8.5 Hz, C-2), 70.5 (C-3'), 68.6 (C-4), 65.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.2 Hz, C-5'), 61.2 (C-6).<sup>[c]</sup>

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3139, 1721, 1691, 1599, 1227, 1032, 938.

**HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>5</sub>O<sub>16</sub>P<sub>2</sub><sup>-</sup> [M]: 603.0699, gefunden: 604.0686.

### Synthese von Guanosindiphosphat-β-D-glucose 103

Die Darstellung erfolgte nach **AAV 14**. Es wurden 37 mg 5-Nitro-*cycloSal-N<sup>2</sup>*-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosinmonophosphat **85** (59 μmol, 1.0 Äq.), 61 mg 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-glucose-1-phosphat (Triethylammonium Salz) (0.12 mmol, 2.0 Äq.) und 4 mL abs. DMF verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde 24 h bei Rt gerührt.



**Ausbeute:** 12 mg (19 μmol, 32%) eines farblosen Feststoffs; **Summenformel:**  $C_{16}H_{24}N_5O_{16}P_2$ ; **Molgewicht:** 604.33 g/mol; **R<sub>f</sub>** (*i*PrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.66; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein.

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 8.11 (s, 1H, H-8<sub>G</sub>), 5.94 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, H-1'), 5.02 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, H-1), 4.82-4.79 (m, 1H, H-2'), 4.54 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-3'),

4.37 (s, 1H, H-4'), 4.23 (d, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.4$  Hz, H-5'), 3.91-3.88 (m, 1H, H-6), 3.69 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 12.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz, H-6), 3.54-3.48 (m, 2H, H-3, H-5), 3.39 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.3$  Hz, H-2, H-4).

$^{31}\text{P-NMR}$ :  $\delta$  [ppm](162 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): -13.04 (d, 1H,  $^3J_{\text{PP}} = 20.7$  Hz,  $\text{P}_\beta$ ), -11.27 (d, 1H,  $^3J_{\text{PP}} = 20.8$  Hz,  $\text{P}_\alpha$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  [ppm](101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 158.8 (C-6<sub>G</sub>), 151.8 (C-4<sub>G</sub>), 137.8 (C-8<sub>G</sub>), 116.2 (C-5<sub>G</sub>), 97.9 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 6.0$  Hz, C-1), 86.8 (C-1'), 83.9 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 9.3$  Hz, C-4'), 76.5 (C-5), 75.2 (C-3), 73.6 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 8.5$  Hz, C-2), 73.5 (C-2'), 70.5 (C-3'), 69.4 (C-4), 65.4 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 5.5$  Hz, C-5'), 60.8 (C-6).<sup>[d]</sup>

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 1687, 1474, 1234, 1057, 947, 817, 411.

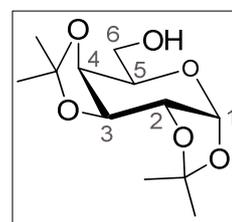
**HRMS** (ESI<sup>-</sup>; m/z): berechnet für  $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_{16}\text{P}_2^-$  [M]<sup>-</sup>: 603.0699, gefunden: 604.0690.

## 11.2.6 Synthese Farbstoff-funktionalisierter GDP-Fucose

### Synthese von 1,2,3,4-Di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose D-76

Die Darstellung erfolgte nach **AAV 8**. Es wurden 1.04 g D-Galactose D-64 (5.77 mol), 6.88 mL Dimethoxypropan (55.8 mol) und 152 mg *para*-Toluolsulfonsäure (0.798 mmol) in 20 mL Aceton eingesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 1.13 g (4.34 mmol, 75%) eines farblosen Öls. **Summenformel:**  $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_6$ ; **Molgewicht:** 260.28 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE 5/1 v/v) 0.85; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_{589\text{nm}}^{25} : -52^\circ$  (c = 0.90,  $\text{CHCl}_3$ ).



$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.56 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0$  Hz, H-1), 4.60 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.4$  Hz, H-3), 4.33 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.4$  Hz, H-2), 4.26 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.6$  Hz, H-4), 3.87-3.84 (m, 2H, H-5, H-6a), 3.76-3.73 (m, 1H, H-6b), 1.52 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.45 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.35 (s, 6H, 2x  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 109.5 (C<sub>q</sub>), 108.7 (C<sub>q</sub>), 96.3 (C-1), 71.6 (C-2), 70.8 (C-3), 70.6 (C-4), 68.1 (C-5), 62.3 (C-6), 26.1, 26.0, 25.0, 24.0 (je  $\text{CH}_3$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3492, 2986, 2937, 1457, 1373, 1254, 1063, 996, 897, 857, 771, 509.

**HRMS** (FAB, m/z): berechnet für  $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_6$  [M+H]<sup>+</sup>: 261.1338, gefunden: 261.1335.

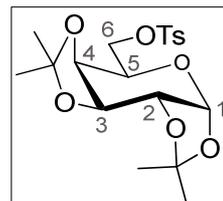
### Synthese von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-*para*-toluolsulfonyl- $\alpha$ -D-galactopyranose D-92

Die Synthese erfolgte entsprechend **AAV 10**. Es wurden 3.22 g 1,2,3,4-Di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose **D-76** (12.4 mmol, 1 Äq.), 3.02 mg 4-(Dimethyl-amino)pyridin (24.7 mmol, 2.0 Äq.) in 20 mL abs. Pyridin und 3.53 g *p*-Toluolsulfonylchlorid (18.5 mmol, 1.5 Äq.) in 5 mL abs. Dichlormethan eingesetzt.

**Ausbeute:** 4.32 g (10.4 mmol, 84%) eines farblosen Feststoffes;

**Summenformel:** C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>8</sub>S; **Molgewicht:** 414.47 g/mol; **R<sub>f</sub>** (Toluol/EE 3:1, v/v) 0.53; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein; **Drehwert:**

$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25}$ : -51° (c = 1.00, CHCl<sub>3</sub>), **Schmelzpunkt:** 99.8 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.78-7.76 (m, 2H, CH<sub>ar</sub>), 7.33-7.31 (m, 2H, CH<sub>ar</sub>), 5.46 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, H-1), 4.59 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H-3), 4.23 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H-2), 4.22-4.18 (m, 2H, H-4, H-6a), 4.11-4.04 (m, 2H, H-5, H-6b), 2.44 (s, 3H, Ts-CH<sub>3</sub>), 1.50, 1.34, 1.31, 1.28 (je s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 144.7 (Ts-C<sub>q</sub>), 129.7, 129.0, 128.2, 128.1 (je CH<sub>ar</sub>), 109.6, 108.9 (je C<sub>q</sub>), 96.1 (C-1), 70.5 (C-3), 70.4 (C-2), 70.3 (C-4), 68.2 (C-6), 65.9 (C-5), 26.0, 25.8, 25.0, 24.3 (je CH<sub>3</sub>), 21.6 (Ts-CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2996, 2919, 2853, 1383, 1170, 1074, 988, 897, 841, 663, 553, 511.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>NaO<sub>8</sub>S<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 437.1246, gefunden: 437.1275.

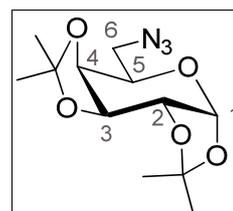
### Synthese von 6-Azido-6-desoxy-1,2:3,4-di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose D-77

Die Reaktion erfolgte nach **AAV 11**. Es wurden 2.93 g 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-*para*-toluolsulfonyl- $\alpha$ -D-galactopyranose **D-92** (7.07 mmol, 1.0 Äq.) und 2.29 g Natriumazid (35.2 mmol, 5.0 Äq.) in 50 mL DMF eingesetzt.

**Ausbeute:** 1.77 g (6.20 mmol, 88%) eines farblosen Feststoffes;

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>; **Molgewicht:** 285.30 g/mol; **R<sub>f</sub>** (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>/CH<sub>3</sub>OH 12:1 v/v) 0.85; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein; **Drehwert:**

$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25}$ : -12° (c = 0.88, CHCl<sub>3</sub>), **Schmelzpunkt:** 80 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.55 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, H-1), 4.63 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H-3), 4.34 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.5 Hz, H-2), 4.20 (dd,

$^1\text{H}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 1.9 \text{ Hz}$ , H-4), 3.92 (ddd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 5.3 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 1.8 \text{ Hz}$ , H-5), 3.51 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 12.7 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{H,H}} = 7.9 \text{ Hz}$ , H-6a), 3.36 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 12.7 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4 \text{ Hz}$ , H-6b), 1.55, 1.46, 1.35, 1.34 (je: s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 114.9, 110.3 (je  $\text{C}_q$ ), 104.8 (C-1), 87.7 (C-3), 84.8 (C-2), 82.8 (C-4), 73.8 (C-5), 65.5 (C-6), 27.1, 26.3, 26.7, 25.3 (je  $\text{CH}_3$ ).

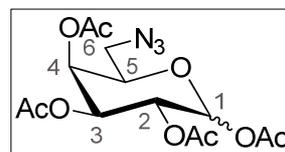
**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2988, 2936, 2099, 1373, 1209, 1065, 1003, 860, 510.

**MS** (FAB, m/z): berechnet für  $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_5^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 285.1403, gefunden: 285.1325.

### Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose D-78

Die Spaltung der *Isopropyliden*-Acetale erfolgte nach **AAV 9.1**. Dabei wurden 1.91 g 6-Azido-6-desoxy-1,2:3,4-di-*O-isopropyliden*- $\alpha$ -D-galactopyranose D-77 (6.68 mmol) und 40 mL des Gemisches und 0.1 mL konz. Schwefelsäure verwendet. Das erhaltene Rohprodukt wurde nach der Aufarbeitung ohne weitere Reinigung eingesetzt. Die anschließende Acetylierung wurde entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 6** durchgeführt. Das Rohprodukt wurde dabei in 40 mL Pyridin gelöst und mit 22 mL Essigsäureanhydrid (233 mmol) versetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 2.02 g (5.41 mmol, 81% über 2 Stufen) eines farblosen Öls; **Summenformel:**  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_9$ ; **Molgewicht:** 373.32 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE 1:1 v/v) 0.58; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1:0.4$ .



$\alpha$ - $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 6.39 (s, 1H, H-1), 5.48 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 1.0 \text{ Hz}$ , H-4), 5.33 (s, 2H, H-2, H-3), 4.23 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.2 \text{ Hz}$ , H-5), 3.44 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.8 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5 \text{ Hz}$ , H-6a), 3.22 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.8 \text{ Hz}$ ,  $^3J_{\text{HH}} = 5.5 \text{ Hz}$ , H-6b), 2.18, 2.17, 2.02, 2.00 (je: s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ).

$\alpha$ - $^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 170.1, 170.0, 169.9, 168.8 (je  $\text{C}=\text{O}$ ), 89.6 (C-1), 70.1 (C-5), 68.1 (C-4), 67.3 (C-2), 66.3 (C-3), 50.3 (C-6), 20.9, 20.7, 20.6, 20.5 (je  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2102, 1743, 1433, 1205, 1062, 934, 898, 652, 489.

**MS** (FAB, m/z): berechnet für  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_9^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 373.11, gefunden: 373.11.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha$ -D-galactopyranosylbromid D-79

**Ansatz 1:** Zunächst wurde versucht, 661 mg 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose D-78 (1.77 mmol) nach **AAV 12.1** durch Umsetzung mit 1.5 mL Brom-

wasserstoffsäure (33% in Eisessig) in 7 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> in das gewünschte Bromid **D-79** zu überführen.

Es konnte kein Produkt erhalten werden, vielmehr kam es zu einer weiteren Bromierungsreaktion, in der die Azidgruppe ersetzt wurde (IR-spektroskopische Überprüfung).

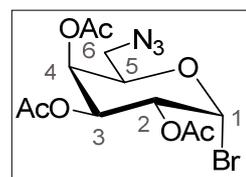
**Ansatz 2:** Nach **AAV 12.2** wurden 250 mg 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **D-78** (0.670 mmol, 1.0 Äq.), 739 mg Titanbromid (2.01 mmol, 3.0 Äq.), 239 mg Natriumacetat (2.91 mmol, 4.3 Äq.) und 10 mL eines Gemisches aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EE eingesetzt.

**Ausbeute:** 172 mg (0.436 mmol, 65%) eines farblosen Öls.

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>7</sub>; **Molgewicht:** 394.18 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:1) 0.85; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein;

**Drehwert:** [ $\alpha$ ]<sub>589 nm</sub><sup>25</sup>: +164 °(c = 0.6, CHCl<sub>3</sub>).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 6.71 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, H-1), 5.49 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.2 Hz, H-4), 5.39 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-3), 5.05 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, H-2), 4.40-4.37 (m, 1H, H-5), 3.49 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H-6a), 3.28 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, H-6b), 2.17, 2.12, 2.00 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.1, 170.0, 169.9 (je C=O), 87.0 (C-1), 71.4 (C-5), 67.1 (C-3), 66.9 (C-2), 66.8 (C-4), 49.1 (C-6), 20.0, 19.8, 19.7 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2111, 1744, 1373, 1237, 1212, 1119, 1074, 1033, 961, 899, 543, 418.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>BrN<sub>3</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup>: 416.0064 [M+Na]<sup>+</sup>, gefunden: 516.0058.

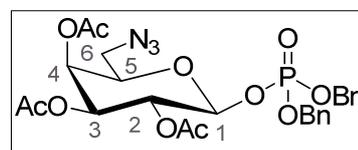
### Synthese von Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosylphosphat **D-93**

Die Reaktion erfolgte entsprechend **AAV 13**. Es wurden 56 mg Dibenzyolphosphat (0.20 mmol, 2.0 Äq.), 39 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha$ -D-galactopyranosylbromid **D-79** (0.10 mmol, 1.0 Äq.) und 56 mg Silbercarbonat (60.20 mmol, 2.0 Äq.) eingesetzt.

**Ausbeute:** 56 mg (0.095 mmol, 95%) eines farblosen Öls.

**Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>P; **Molgewicht:** 591.50 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:1) 0.44; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -ano-



merenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_{589\text{nm}}^{25}$ : +2.66° (c = 0.79, CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.36-7.30 (m, 10H, CH<sub>ar</sub>), 5.39 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.0 Hz, H-4), 5.36-3.31 (m, 2H, H-1, H-3), 5.11 (dd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.8 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 5.03-5.01 (m, 3H, Bn-CH<sub>2</sub>, H-2), 3.88 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.0 Hz, H-5), 3.47 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, H-6b), 3.23 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, H-6a), 2.19, 1.99, 1.90 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 169.9, 169.8, 169.5 (je C=O), 128.7, 128.6, 128.5, 127.9, 127.8 (je CH<sub>ar</sub>), 96.8 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 4.4 Hz, C-1), 73.1 (C-5), 70.5 (C-2), 69.7 (Bn-CH<sub>2</sub>), 69.6 (Bn-CH<sub>2</sub>), 68.6 (C-3), 67.4 (C-4), 50.3 (C-6), 20.6, 20.5, 20.4 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -3.15

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2923, 2103, 1749, 1456, 1369, 1215, 1064, 1014, 889, 740, 697, 501.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>P: 591.1618 [M]<sup>+</sup>, gefunden: 591.1516 [M]<sup>+</sup>.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy-β-D-galactopyranosylphosphat in Form eines Tetrabutylammoniumsalzes β-D-75a

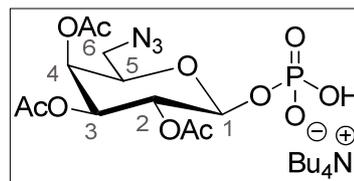
#### Synthese I:

Es wurden zunächst zwei Reaktionslösungen in zwei unterschiedlichen Kolben unter Feuchtigkeitsausschluss vorbereitet. Zum einen wurden 55 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy-α-D-galactopyranosylbromid **D-79** (0.14 mmol, 1.0 Äq.) in 0.5 mL abs. Toluol gelöst. Zum anderen wurden 85 mg Tetrabutylammoniumphosphat (0.25 mmol, 1.8 Äq.) über aktiviertem Molsieb (4 Å) in abs. Acetonitril gelöst. Anschließend wurde das gelöste Bromid bei 0 °C langsam zu der zweiten Lösung hinzu getropft und die Reaktionslösung bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes über Nacht bei Rt gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat gewaschen. Das Rohprodukt wurde durch Gefriertrocknung vom Wasser befreit und säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1 v/v als Eluenten gereinigt.

**Ausbeute:** 55 mg (0.084 mmol, 60%) eines farblosen Feststoffs; **Anomerenverhältnis:** α:β ≈ 1:0.4.

Synthese II: Die Reaktion wurde gemäß **AAV 13.3** durchgeführt. Es wurden dabei 293 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy-α-D-galactopyranosylbromid **D-79** (0.743 mmol, 1.0 Äq.), 792 mg Tetrabutylammoniumphosphat (0.966 mmol, 1.3 Äq.) und 30 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

**Ausbeute:** 213 mg (0.326 mmol, 44%) eines farblosen Feststoffs; **Summenformel:** C<sub>28</sub>H<sub>53</sub>N<sub>4</sub>O<sub>11</sub>P; **Molgewicht:** 652.71 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1 v/v) 0.41; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_{589\text{nm}}^{25}$ : +29 ° (c = 0.09, H<sub>2</sub>O).



**<sup>1</sup>H-NMR:** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 5.51 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-4), 5.33-5.27 (m, 1H, H-1, H-3), 5.18 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, H-2), 4.19-4.16 (m, 1H, H-5), 3.66 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, H-6a), 3.49 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, H-6b), 3.25-3.21 (m, 8H, N((CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>), 2.28, 2.18, 2.07 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.73-1.65 (m, 8H, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 1.45-1.36 (m, 8H, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 0.99 (t, 12H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, N((CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:** (101 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 173.4, 173.2, 172.8 (je C=O), 95.5 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 4.3 Hz, C-1), 72.1 (C-5), 71.1 (C-3), 70.0 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.6 Hz, C-2), 68.4 (C-4), 58.3, 58.2, 58.2 (je N((CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>), 49.8 (C-6), 23.2 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 20.4, 20.1, 20.0 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 19.2 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 12.9 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>).

**<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O): -1.72

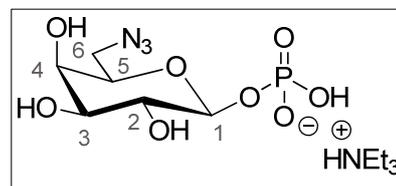
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2962, 2876, 2107, 1748, 1369, 1223, 1068, 812, 925.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>28</sub>H<sub>53</sub>N<sub>4</sub>O<sub>11</sub>P<sup>+</sup> [M]: 410.0601; gefunden: 410.0611.

### Synthese von 6-Azido-6-desoxy-β-D-galactopyranosylphosphat in Form eines Triethylammoniumsalzes β-D-75

6-Azido-6-desoxy-β-D-galactopyranosylphosphat β-D-75 wurde bei dem Versuch der Darstellung von Guanosindiphosphat-6-azido-6-deoxy-β-D-galactose nach **AAV 14** als farbloser Feststoff isoliert.

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>P; **Molgewicht:** 386.34 g/mol; **R<sub>f</sub>** (iPrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.34; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein.



**<sup>1</sup>H-NMR:** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 4.91 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, H-1), 3.94 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-4), 3.85 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.4 Hz, H-5), 3.72 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, H-3), 3.65 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, H-6a), 3.59 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, H-2), 3.53 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.1 Hz, H-6b), 3.23 (q, 6H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 1.30 (t, 9H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>).

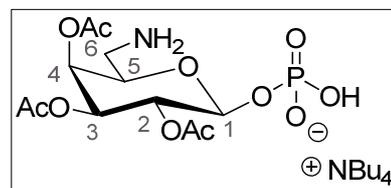
**<sup>13</sup>C-NMR:** (101 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 98.0 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.6 Hz, C-1), 73.6 (C-5), 72.2 (C-3), 71.2 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 7.9 Hz, C-2), 68.7 (C-4), 50.6 (C-6), 46.7 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 8.2 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>).

**<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O): -0.99.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-amino-6-deoxy-β-D-galactopyranosylmonophosphat in Form eines Triethylammoniumsalzes β-D-94

63 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy-β-D-galactopyranosylphosphat β-D-75a (0.097 mmol) wurden in das Amin durch eine Reduktion analog zu **AAV 5.1** überführt.

**Ausbeute:** 60 mg (0.096 mmol, 99%) eines farblosen Feststoffs; **Summenformel:** C<sub>28</sub>H<sub>55</sub>N<sub>2</sub>O<sub>11</sub>P<sup>-</sup>; **Molgewicht:** 626.35 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1, v/v) 0.30; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein.



**<sup>1</sup>H-NMR:** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 5.17-5.10 (m, 3H, H-1, H-2, H-3), 4.15-4.13 (m, 1H, H-4), 3.90 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.3 Hz, H-5), 3.61 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.9 Hz, H-6), 3.37 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 14.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.4 Hz, H-6), 3.25-3.21 (m, 8H, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 2.17, 2.15, 2.04 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.73-1.65 (m, 8H, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 1.44-1.35 (m, 8H, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 0.99 (t, 12H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>).

**<sup>13</sup>C-NMR:** (101 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 173.4, 173.2, 172.8 (je C=O), 95.4 (C-1), 73.1 (C-5), 73.0 (C-3), 70.5 (C-2), 68.8 (C-4), 58.3, 58.2, 58.2 (je (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 39.4 (C-6), 23.1 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 21.8, 20.4, 20.2 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 19.0 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 12.8 (N((CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>)<sup>[b]</sup>.

**<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O): -0.65.

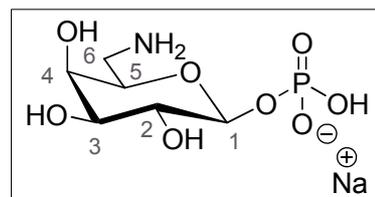
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3244, 2960, 2875, 1738, 1659, 1487, 1464, 1369, 1229, 1150, 1104, 1057, 906, 806, 740, 591, 517.

**HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>11</sub>P<sup>-</sup> [M]<sup>-</sup>: 384.0701; gefunden: 384.0701.

### Synthese von 6-Amino-6-desoxy-β-D-galactopyranosylphosphat in Form eines Triethylammoniumsalzes D-97

6-Azido-6-desoxy-β-D-galactopyranosylphosphat **D-97** wurde bei dem Versuch der Darstellung von Guanosindiphosphat-6-azido-6-desoxy-β-D-galactose nach **AAV 14** mit anschließender Hydrierung nach **AAV 5.1** als farbloser Feststoff isoliert.

**Summenformel:**  $C_{12}H_{29}N_2O_8P$ ; **Molgewicht:** 360.34 g/mol;  
 **$R_f$**  (*i*PrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.07, **Anomeren-**  
**verhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein.



**<sup>1</sup>H-NMR:** (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 4.86-4.82 (m, 1H, H-1), 3.92-3.87 (m, 2H, H-4, H-5), 3.73-3.71 (m, 1H, H-3), 3.59-3.54 (m, 1H, H-2), 3.25-3.14 (m, 2H, H-6).

**<sup>13</sup>C-NMR:** (101 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 97.7 (d, <sup>2</sup> $J_{CP}$  = 5.1 Hz, C-1), 72.5 (C-3), 72.2 (C-4), 71.8 (d, <sup>3</sup> $J_{CP}$  = 7.8 Hz, C-2), 69.2 (C-5), 40.4 (C-6).

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O): -0.01.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3546, 3445, 3242, 2994, 1508, 1457, 1063, 968, 923, 811, 765, 519, 508, 419, 397.

**HRMS (ESI-; m/z):** berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>8</sub>P<sup>-</sup> [M]<sup>-</sup>: 258.0384; gefunden: 258.0372.

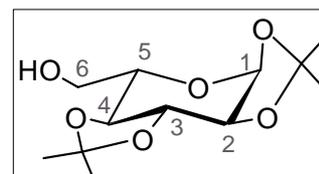
### Synthese von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-L-galactopyranose L-76

Es wurden 13.57 g L-Galactono-1,4-lacton (76.17 mmol, 1.0 Äq.) in einer Mischung aus 80 mL Methanol und 340 mL Wasser gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden zunächst 68 mL Amberlite® IR 120+ (H<sup>+</sup>) und anschließend 3.00 g Natriumborhydrid (79.3 mmol, 1.0 Äq.) portionsweise so hinzugegeben, dass der pH-Wert zwischen 3 und 5 (pH-Meter-Kontrolle) blieb. Nach vollständiger Zugabe wurde die Reaktion noch eine weitere Stunde bei Rt gerührt. Dann wurde filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Zum vollständigen Entfernen der bei der Reaktion entstandenen Boronsäure wurde der erhaltene Feststoff in 50 mL Methanol gelöst und das Lösungsmittel dann anschließend wieder entfernt. Dies wurde dreimal wiederholt. Die so dargestellte L-Galactose L-64 wurde anschließend ohne weitere Reinigung acetyliert. Die Darstellung der 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-L-galactopyranose L-76 erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8**. Dabei wurden 80 mL Dimethoxypropan (0.65 mol), 1.5 mg *p*-Toluolsulfonsäure (8.1  $\mu$ mol) und 82 mL Aceton eingesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 13.06 g (50.18 mmol, 66%) eines farblosen Öls.

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>; **Molgewicht:** 260.28 g/mol;

**$R_f$**  (PE/EE 5/1) 0.85; **Drehwert:** [ $\alpha$ ]<sub>589nm</sub><sup>25</sup>: +54 ° (c = 0.28, CHCl<sub>3</sub>).



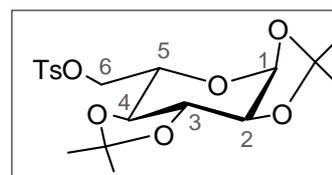
**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 261.1152, gefunden: 261.1151.

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers D-76.

### Synthese von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-*para*-toluolsulfonyl-L-galactopyranose L-92

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 10** durchgeführt. Es wurden 1.77 g 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-L-galactopyranose L-76 (6.80 mmol, 1.0 Äq.) mit 1.60 g DMAP (13.1 mmol, 1.9 Äq.) in 10 mL Pyridin und 1.87 g *p*-Toluolsulfonylchlorid (9.80 mmol, 1.5 Äq.) in 3 mL Dichlormethan umgesetzt.

**Ausbeute:** 2.36 g (5.69 mmol, 87%) eines farblosen Öls;  
**Summenformel:** C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>8</sub>S; **Molgewicht:** 414.47 g/mol;  
**R<sub>f</sub>** (Toluol/EE 3:1 v/v) 0.53; **Drehwert:**  $[\alpha]_{589\text{nm}}^{25}$ : +44 ° (c = 0.28, CHCl<sub>3</sub>).



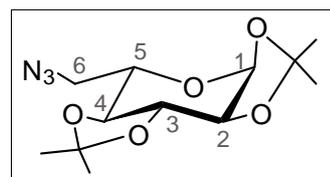
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>NaO<sub>8</sub>S<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 437.1246; gefunden: 437.1239;  
 C<sub>38</sub>H<sub>52</sub>NaO<sub>16</sub>S<sup>+</sup> [2M+Na]<sup>+</sup>: 851.2589; gefunden: 851.2582.

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers D-92.

### Synthese von 6-Azido-6-desoxy-1,2:3,4-di-O-isopropyliden-L-galactopyranose L-77

Die Durchführung erfolgte nach **AAV 11**. Dabei wurden 2.36 g 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-*para*-toluolsulfonyl-L-galactopyranose L-92 (5.69 mmol, 1.0 Äq.) mit 1.84 g Natriumazid (28.3 mmol, 5.0 Äq.) in 50 mL abs. DMF umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 1 h.

**Ausbeute:** 1.05 g (3.68 mmol, 65%) eines farblosen Öls;  
**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>O<sub>5</sub>N<sub>3</sub>; **Molgewicht:** 285.30 g/mol;  
**R<sub>f</sub>** (PE/EE v/v) 0.89; **Drehwert:**  $[\alpha]_{589\text{nm}}^{25}$ : +52° (c = 2.2, CHCl<sub>3</sub>).



**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>N<sub>3</sub> [M+3H]<sup>+</sup>: 288.1543, gefunden: 288.1441 [M+3H]<sup>+</sup>

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers D-77.

### Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azido-6-desoxy-α/β-L-galactopyranose L-78

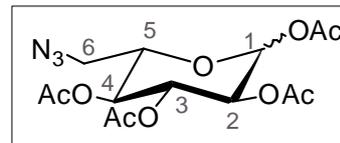
Die Spaltung der Isopropyliden-Acetale erfolgte nach **AAV 9.1**. Es wurden 1.01 g 6-Azido-6-desoxy-1,2:3,4-di-O-isopropyliden-α/β-L-galactopyranose L-77 (3.54 mmol), 14 mL Wasser, 14 mL Acetonitril und 0.15 mL konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> verwendet. Die Acetylierung der

freigewordenen Hydroxygruppen erfolgte nach **AAV 6**. Es wurden 12.0 mL Essigsäureanhydrid (127 mmol) in 25 mL Pyridin umgesetzt.

**Ausbeute:** 1.18 g (3.16 mmol, 89%) eines gelblichen Öls;

**Summenformel:**  $C_{14}H_{19}O_9N_3$ ; **Molgewicht:** 373.32 g/mol;

$R_f$  (PP/EE 1:1 v/v) 0.59. Anomerenverhältnis:  $\alpha:\beta \approx 0.8:1$ .



**HRMS-ESI<sup>+</sup> (m/z):** berechnet für  $C_{14}H_{19}O_9N_3Na^+$   $[M+Na]^+$ : 396.1019; gefunden: 396.1015.

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers L-78.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-deoxy- $\alpha$ -L-galactopyranosylbromid L-79

Die Bromierung von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-galactopyranose L-78 erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 8.2**.

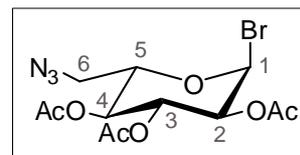
Es wurden 200 mg L-78 (0.536 mmol, 1.0 Äq.) in 7 mL eines Gemisches aus  $CH_2Cl_2$ /EE gelöst und mit 621 g Titanbromid (1.69 mmol, 3.2 Äq.) versetzt.

**Ausbeute:** 142 mg (0.360 mmol, 67%) eines gelben Öls;

**Summenformel:**  $C_{12}H_{16}BrN_3O_7$ ; **Molgewicht:** 394.18 g/mol;

$R_f$  (PE/EE 1:1) 0.85; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein;

**Drehwert:**  $[\alpha]_{589nm}^{25}$ :  $-164^\circ$  ( $c = 0.56$ ,  $CHCl_3$ ).



**HRMS-ESI<sup>+</sup> (m/z):** berechnet für  $C_{12}H_{16}BrN_3O_7$  [M]: 393.0172, gefunden: 393.2093 [M].

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers D-79.

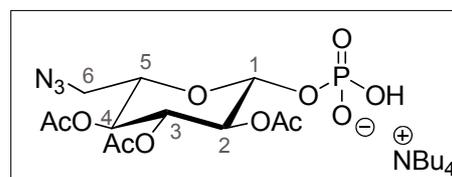
### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylphosphat in Form eines Tetrabutylammoniumsalzes $\beta$ -L-75a

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 13.3** durchgeführt. Es wurden dabei 120 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\alpha$ -L-galactopyranosylbromid L-79 (0.304 mmol, 1.0 Äq.) in 1 mL abs. Toluol und 206 mg Tetrabutylammoniumphosphat (0.608 mmol, 2.0 Äq.) in 2 mL abs. Acetonitril eingesetzt.

**Ausbeute:** 83 mg (0.13 mmol, 42%) eines farblosen

Feststoffs; **Summenformel:**  $C_{28}H_{53}N_4O_{11}P$ ; **Molge-**

**wicht:** 652.71 g/mol;  $R_f$  ( $CH_3CN/H_2O$  5:1, v/v) 0.41;



**Drehwert:**  $[\alpha]_{589\text{nm}}^{25}$ : -29 ° (c = 0.09, H<sub>2</sub>O).

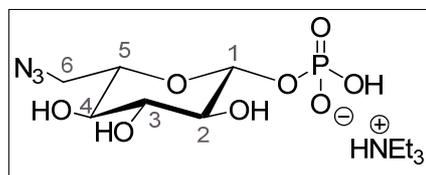
**HRMS** (ESI<sup>-</sup>; m/z): berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>P<sup>-</sup> [M]<sup>-</sup>: 410.0606, gefunden: 410.0607.

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers β-D-**75a**.

### Isolierung von 6-Azido-6-desoxy-β-L-galactopyranosylphosphat in Form eines Triethylammoniumsalzes β-L-75

6-Azido-6-desoxy-β-L-galactopyranosylphosphat β-L-**75** wurde bei der Darstellung von Guanosindiphosphat-6-azido-6-desoxy-β-L-galactose **71** nach **AAV 14** als farbloser Feststoff isoliert.

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>P; **Molgewicht:**  
386.34 g/mol; **R<sub>f</sub>** (iPrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.34.

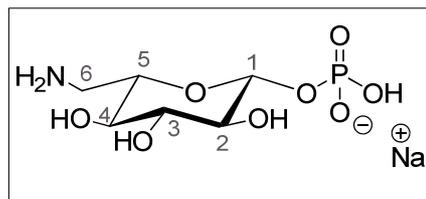


Die **NMR**- und **IR**-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers β-D-**75**.

### Isolierung von 6-Amino-6-desoxy-β-L-galactopyranosylphosphat in Form eines Natriumsalzes β-L-97

6-Amino-6-desoxy-β-L-galactopyranosylphosphat β-L-**97** wurde bei der Darstellung von Guanosindiphosphat-6-azido-6-desoxy-β-L-galactose **71** nach **AAV 14** mit anschließender Hydrierung nach **AAV 5.1** als farbloser Feststoff isoliert.

**Summenformel:** C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NNaO<sub>8</sub>P; **Molgewicht:**  
281.13 g/mol; **R<sub>f</sub>** (iPrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.07.

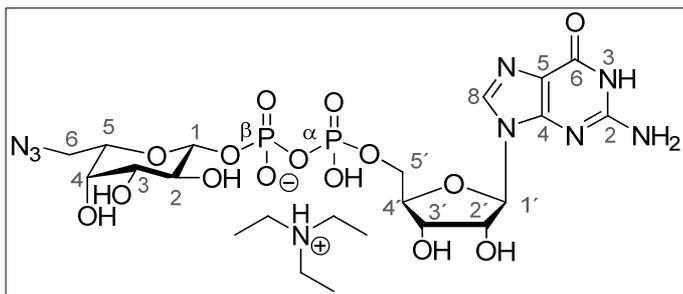


**HRMS** (ESI<sup>-</sup>; m/z): berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>8</sub>P<sub>2</sub><sup>-</sup> [M]<sup>-</sup>: 258.0384; gefunden: 258.0372.

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des D-Enantiomers β-D-**97**.

### Synthese von Guanosindiphosphat-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose in Form eines Triethylammoniumsalzes **71**

Die Darstellung erfolgte nach **AAV 14**. Es wurden 32 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylphosphat in Form eines Triethylammoniumsalzes  $\beta$ -L-**75a** (62  $\mu$ mol, 2.0 Äq.) in 1.5 mL abs. DMF und 20 mg 5-Nitro-*cycloSal-N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosinphosphat **85** (31  $\mu$ mol, 1.0 Äq.) in 2mL abs. DMF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h.



**Ausbeute:** 9.5 mg (13  $\mu$ mol, 41%) eines farblosen Feststoffs; **Summenformel:**  $C_{22}H_{39}N_9O_{15}P_2$ ; **Molgewicht:** 731.54 g/mol; **R<sub>f</sub>** (iPrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.49; **Drehwert:**  $[\alpha]_{589nm}^{25}$ : -7.1 °(c = 0.11, H<sub>2</sub>O).

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 8.03 (s, 1H, H-8<sub>G</sub>), 5.83 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, H-1'), 4.86 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, H-1<sup>Fuc</sup>), 4.73-4.71 (m, 1H, H-2'), 4.44 (s, 1H, H-3'), 4.26 (s, 1H, H-4'), 4.12 (s, 2H, H-5'), 3.79 (s, 1H, H-4<sup>Fuc</sup>), 3.68 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.7 Hz, H-5<sup>Fuc</sup>), 3.57 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-3<sup>Fuc</sup>), 3.52-4.48 (m, 2H, H-6<sup>Fuc</sup>, H-2<sup>Fuc</sup>), 3.36 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, H-6<sup>Fuc</sup>), 3.10 (q, 6H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 1.18 (t, 9H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>).

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm](162 MHz, D<sub>2</sub>O): -13.13 (d, <sup>3</sup>J<sub>PP</sub> = 20.5 Hz, P <sub>$\beta$</sub> ), -11.10 (d, <sup>3</sup>J<sub>PP</sub> = 20.1 Hz, P <sub>$\alpha$</sub> ).

**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm](101 MHz, D<sub>2</sub>O): 151.8 (C-4<sub>G</sub>), 137.7 (C-8<sub>G</sub>), 116.2 (C-5<sub>G</sub>), 98.5 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.8 Hz, C-1<sup>Z</sup>), 86.7 (C-1'), 83.9 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 9.5 Hz, C-4'), 73.6 (C-5<sup>Z</sup>), 73.4 (C-2'), 72.1 (C-3<sup>Z</sup>), 71.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 8.2 Hz, C-2<sup>Z</sup>), 70.5 (C-3'), 68.5 (C-4), 65.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.1 Hz, C-5'), 50.2 (C-6<sup>Z</sup>), 46.7 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 8.2 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>).<sup>[d]</sup>

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2110, 1692, 1236, . 1058, 947, 819, 777, 503, 458.

**HRMS** (ESI<sup>-</sup>; m/z): berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>8</sub>O<sub>15</sub>P<sub>2</sub><sup>-</sup> [M]: 629.0764, gefunden: 629.0761.

### Synthese von Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose in Form eines Triethylammoniumsalzes **73**

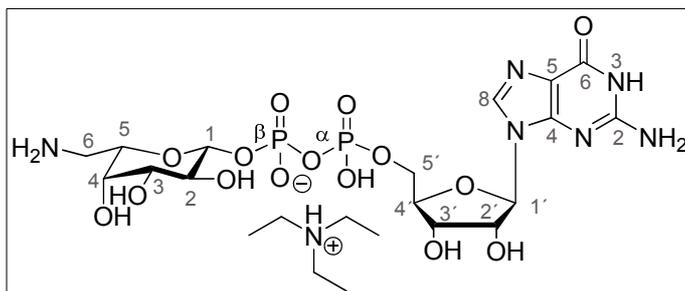
Synthese 1: Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **73** wurde durch Reduktion nach den in **AAV 5.1** vorgestellten Bedingungen aus Guanosindiphosphat-6-azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactose **71** erhalten. Dabei wurden 9.5 mg **71** (13  $\mu$ mol) in 2 mL Methanol eingesetzt.

**Ausbeute:** 8.2 mg (12  $\mu$ mol, 90%) eines farblosen Feststoffs.

Synthese 2: Die Durchführung erfolgte nach **AAV 14**. Es wurden 56 mg 6-Azido-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylphosphat in Form eines Triethylammoniumsalzes  $\beta$ -L-**75** (145  $\mu$ mol, 2.3 Äq.) (isoliert bei der Synthese von **71**) in 1 mL abs. DMF und 41 mg 5-Nitro-*cycloSal-N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosinmonophosphat **85** (64  $\mu$ mol, 1.0 Äq.) in 1 mL abs. DMF verwendet. Die anschließende Deacetylierung erfolgte mit der Reduktion der Azidgruppe zum Amin in einem Schritt. Dabei wurden dem Spaltungsreagenz bestehend aus Methanol, Wasser und Triethylamin eine Spatelspitze Pd/C hinzugefügt und in einer H<sub>2</sub>-Atmosphäre 16 h bei Rt gerührt.

**Ausbeute:** 13.5 mg (19.2  $\mu$ mol, 30% über 2 Stufen) eines farblosen Feststoffs.

Synthese 3: Die Durchführung erfolgte nach **AAV 14**. Es wurden 22 mg 6-Amino-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylphosphat in Form eines Natriumsalzes  $\beta$ -L-**97** (78  $\mu$ mol, 2.8 Äq.) (isoliert aus der Synthese 2) in 0.5 mL abs. DMF und 17 mg 5-Nitro-*cycloSal-N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosinmonophosphat **85** (27  $\mu$ mol, 1.0 Äq.) in 0.5 mL abs. DMF verwendet.



**Ausbeute:** 19 mg (7.3  $\mu$ mol, 27%) eines farblosen Feststoffs; **Summenformel:** C<sub>22</sub>H<sub>41</sub>N<sub>7</sub>O<sub>15</sub>P<sub>2</sub>; **Molgewicht:** 705.55 g/mol; **R<sub>f</sub>** (iPrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1, v/v) 0.26; **Drehwert:**  $[\alpha]_{589\text{nm}}^{25}$ : -2.7 °(c = 1.3, H<sub>2</sub>O).

**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 8.03 (s, 1H, H-8), 5.95 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, H-1'), 4.98 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, H-1<sup>Fuc</sup>), 4.73-4.71 (m, 1H, H-2'), 4.53-4.52 (m, 1H, H-3'), 4.37

(s, 1H, H-4'), 4.23 (s, 2H, H-5'), 3.98 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, H-5<sup>Fuc</sup>), 3.93 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.1$  Hz, H-4<sup>Fuc</sup>), 3.71 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 10.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.2$  Hz, H-3<sup>Fuc</sup>), 3.66-3.63 (m, 1H, H-2<sup>Fuc</sup>), 3.35-3.31 (m, 1H, H-6<sup>Fuc</sup>), 3.26 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 13.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.1$  Hz, H-6<sup>Fuc</sup>), 3.21 (q, 6H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 1.28 (t, 9H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.3$  Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>).

<sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm](162 MHz, D<sub>2</sub>O): -13.18 (d,  $^3J_{\text{PP}} = 21.2$  Hz, P<sub>β</sub>), -11.57 (d,  $^3J_{\text{PP}} = 21.3$  Hz, P<sub>α</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm](101 MHz, D<sub>2</sub>O): 151.7 (C-4<sub>G</sub>), 137.6 (C-8<sub>G</sub>), 116.1 (C-5<sub>G</sub>), 98.3 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 7.2$  Hz, C-1<sup>Fuc</sup>). 86.8 (C-1'), 83.8 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 10.1$  Hz, C-4'), 73.7 (C-2'), 72.0 (C-3<sup>Fuc</sup>), 71.5 (C-5<sup>Fuc</sup>), 70.7 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 9.0$  Hz, C-2<sup>Fuc</sup>), 70.4 (C-3'), 68.9 (C-4<sup>Fuc</sup>), 65.3 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 6.1$  Hz, C-5'), 46.7 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 40.0 (C-6<sup>Fuc</sup>), 8.2 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>).<sup>[d]</sup>

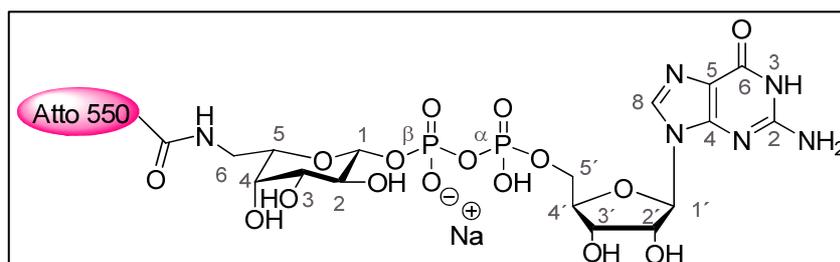
IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3118, 1690, 1532, 1231, 1058, 950, 819, 690, 499.

HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z): berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>25</sub>N<sub>6</sub>O<sub>15</sub>P<sub>2</sub><sup>-</sup> [M]<sup>-</sup>: 603.0859, gefunden: 603.0852.

### Synthese von ATTO 550 verknüpfter Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy-β-L-galactose in Form eines Natriumsalzes **83**

Zu einer Lösung aus 4 mg Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy-β-L-galactose **73** in Form eines Natriumsalzes und 1 mL 0.1 M Natriumhydrogencarbonat-Puffer (pH 8.3) wurden unter Lichtausschluss 5 mg des ATTO 550 NHS-Esters **80** (6.3 μmol) gelöst in 0.2 mL DMSO hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde ca. 1 h bis zur vollständigen Umsetzung des Farbstoffes (dünnschichtchromatographische Verfolgung CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1) bei Rt gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1 v/v als Eluent gereinigt. Da noch Reste der unmarkierten GDP-6-amino-6-desoxy-β-L-galactose **73** im <sup>31</sup>P-NMR-Spektrum zu erkennen waren wurde außerdem eine Größenausschluss-Chromatographie über Sephadex<sup>®</sup> LH-20 mit Acetonitril als Eluenten als letzter Reinigungsschritt durchgeführt.

**Ausbeute:** 5.5 mg (4.7 μmol, 73%) eines pinken Feststoffs; **Molgewicht:** 1179 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1, v/v) 0.23.



Anmerkungen: Wegen der geringen Lichtdurchlässigkeit der Probe konnte die optische Drehung nicht bestimmt werden.

Aufgrund der geringen Stoffmenge und der unbekanntes Strukturformel des ATTO-550-Farbstoffes konnten keine eindeutig auswertbaren NMR-Spektren erhalten werden.

<sup>31</sup>P-NMR: δ [ppm](162 MHz, D<sub>2</sub>O): -10.87 bis -11.29 (m, P<sub>β</sub>), -12.90 bis -13.42 (m, P<sub>α</sub>).

**MALDI-TOF:** berechnet für [M+H]<sup>+</sup>: 1180.0; gefunden: 1180.4; berechnet für [M+Na]<sup>+</sup>: 1202.0; gefunden: 1202.3; berechnet für [M+K]<sup>+</sup>: 1218.0; gefunden: 1218.3.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für [M+H]<sup>+</sup>: 1180.0; gefunden: 1180.4200.

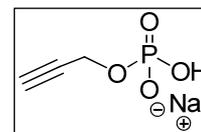
### 11.2.7 Synthese Triazol-funktionalisierter GDP-Zucker

#### Synthese von 2-Propin-1-phosphat in Form des Natriumsalzes 11

1.65 g Phosphorige Säure (20.2 mmol, 1.0 Äq.) wurden in einem Gemisch aus 40.0 mL Propargylalkohol **10** (38.8 g, 692.1 mmol, 34.2 Äq.) und 10 mL Triethylamin gelöst. Unter Rühren erfolgte innerhalb von 5 Minuten die Zugabe von 7.60 g Iod (30.0 mmol, 1.5 Äq.). Die Lösung wurde 5 Minuten gerührt und anschließend zu einem Gemisch aus 400 mL Aceton und 15 mL Triethylamin gegeben. Es wurde 2 Stunden bei Rt gerührt. Danach wurden der Reaktionslösung 30 mL Cyclohexylamin zugesetzt, wobei ein farbloser Feststoff ausfiel. Dieser wurde filtriert und aus Ethanol unter Zusatz einiger Tropfen Cyclohexylamin umkristallisiert. Mittels Ionenchromatographie (DOWEX, 50WX8) wurde das Cyclohexylammoniumsalz in das Natriumsalz überführt und schließlich gefriergetrocknet.

**Ausbeute:** 2.74 g (17.4 mmol, 86%) eines gelben Feststoffes;

**Summenformel:** C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>NaO<sub>4</sub>P<sup>-</sup>; **Molgewicht:** 158.03 g/mol.



<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 4.29 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.2 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.71 (t, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 2.2 Hz, 1H, CH).

<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 81.1 (CH), 74.5 (C<sub>q</sub>), 52.1 (CH<sub>2</sub>).

<sup>31</sup>P-NMR (202 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 3.72.

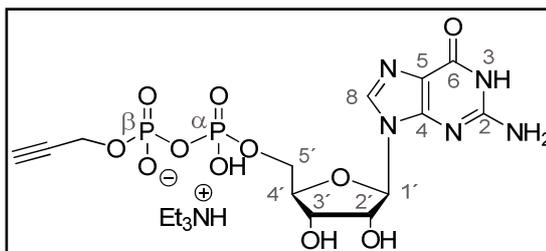
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2988, 1681, 1452, 1386, 1181, 1111, 1047, 978, 809, 572, 534.

**HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>P<sup>-</sup> [M]<sup>-</sup>: 134.9853, gefunden: 134.9855.

### Synthese von 2-Propinyl-guanosindiphosphat in Form eines Triethylammoniumsalzes **12**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 14** durchgeführt. Es wurden 37 mg 2-Propin-1-phosphat **11** (0.23 mmol, 2.1 Äq.), 71 mg 5-Nitro-*cyclo*Saligenyl-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosinmonophosphat **85** (0.11 mmol, 1.0 Äq.) und 2 mL abs. DMF eingesetzt.

**Ausbeute:** 13 mg (0.023 mmol, 21%) eines gelben Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>11</sub>P<sub>2</sub>; **Molgewicht:** 582.44 g/mol; **R<sub>f</sub>-Wert** (*t*PrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1 v/v): 0.47.



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm](400 MHz, D<sub>2</sub>O): 8.11 (s, 1H, H-8<sub>G</sub>), 5.93 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, H-1'), 4.83 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.7 Hz, H-2'), 4.54 (dd, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.7 Hz, H-3', CH<sub>2</sub>), 4.36 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, H-4'), 4.23-4.20 (m, 2H, H-5'), 3.21 (q, 6H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 2.84 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.4 Hz, CH), 1.29 (t, 9H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, (HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>).

**<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm](162 MHz, D<sub>2</sub>O): -11.48 (s, 2P).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm](101 MHz, D<sub>2</sub>O): 159.7 (C-6<sub>G</sub>), 154.5 (C-4<sub>G</sub>), 137.3 (C-8<sub>G</sub>), 116.4 (C-5<sub>G</sub>), 86.8 (C-1'), 83.9 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 8.9 Hz, C-4'), 78.6 (C<sub>q</sub>-Alkin), 73.4 (C-2'), 70.5 (C-3'), 65.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 4.8 Hz, C-5'), 54.0 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 3.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 46.7 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>), 8.2 ((HN(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)<sup>+</sup>).

**Anmerkung:** Die <sup>13</sup>C-NMR-Signale für (C-2<sub>G</sub>) sowie für das endständige Alkin-C-Atom konnten nicht identifiziert werden.

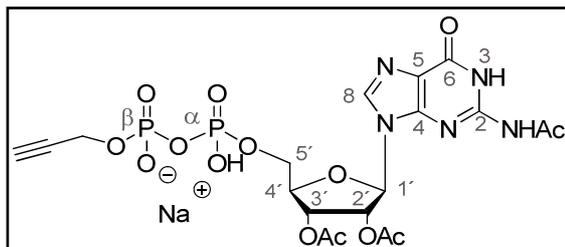
**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2363, 1695, 1234, 1077, 803, 410.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>5</sub>O<sub>11</sub>P<sub>2</sub><sup>-</sup> [M]: 480.0327, gefunden: 480.0309.

### Synthese von 2-Propinyl-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosindiphosphat in Form eines Natriumsalzes **12a**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 14** durchgeführt, auf die Deacetylierung wurde hier jedoch verzichtet. Es wurden 153 mg 2-Propin-1-phosphat **11** (0.97 mmol, 3.0 Äq.), 200 mg 5-Nitro-*cyclo*Saligenyl-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosinmonophosphat **85** (0.32 mmol, 1.0 Äq.), 3 mL abs. DMF und 0.3 mL abs. Acetonitril eingesetzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Reaktionsgemisch säulenchromatographisch an RP-18-Kieselgel mit Wasser als Eluenten gereinigt.

**Ausbeute:** 38 g (0.061 mmol, 19%) eines gelben Feststoffes; **Summenformel:**  $C_{19}H_{22}NNaO_{14}P_2$ ; **Molgewicht:** 629.34 g/mol;  **$R_f$ -Wert** ( $i$ PrOH/ $NH_4$ OAc (1 M) 2:1 v/v): 0.71



**$^1H$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $D_2O$ ): 8.18 (s, 1H, H-8), 6.26 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 6.4$  Hz, H-1'), 6.12 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz, H-2'), 5.75 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 5.6$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.5$  Hz, H-3'), 4.61-4.58 (m, 1H, H-4'), 4.53-4.51 (m, 2H,  $CH_2$ ), 4.32-4.28 (m, 2H, H-5'), 2.34 (s, 3H,  $NHC(O)CH_3$ ), 2.23, 2.08 (je: s, 3H,  $C(O)CH_3$ ).

**$^{31}P$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $D_2O$ ): -11.53 (s, 2P).

**$^{13}C$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $D_2O$ ): 175.7 ( $NHC(O)CH_3$ ), 173.0, 172.3 (je  $C=O$ ), 149.4 ( $C-4_G$ ), 140.9 ( $C-8_G$ ), 86.6 ( $C-1'$ ), 81.7 ( $C-4'$ ), 72.3 ( $C-2'$ ), 71.4 ( $C-3'$ ), 64.9 ( $C-5'$ ), 53.9 ( $CH_2$ ), 20.2 ( $NHAc$ ), 20.1, 19.8 (je  $C(O)CH_3$ ).<sup>[d]</sup>

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ]: 3268, 2948, 1745, 1676, 1610, 1563, 1375, 1229, 1049, 934, 803, 505.

**HRMS** (ESI<sup>-</sup>; m/z): berechnet für  $C_{19}H_{23}N_5O_{14}P_2^-$  [M]: 607.0722, gefunden: 607.0710.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylazid L-106

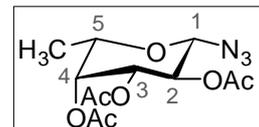
Die Reaktion wurde gemäß **AAV 11** durchgeführt. Es wurden 101 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-galactopyranosylbromid L-112 (0.286 mmol, 1.0 Äq.), 56 mg Natriumazid (0.86 mmol, 3.0 Äq.) und 2 mL DMF eingesetzt.

**Ausbeute:** 28 mg (0.088 mmol, 31%) eines farblosen Feststoffs;

**Summenformel:**  $C_{12}H_{17}N_3O_7$ ; **Molgewicht:** 315.28 g/mol;

**$R_f$**  (PE/EE 1:1 v/v): 0.72; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +4.31^\circ$  ( $c=0.34$ ,  $CHCl_3$ ).



**$^1H$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 5.27 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 3.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 1.0$  Hz, H-4), 5.14 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 10.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 8.7$  Hz, H-2), 5.03 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 10.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.4$  Hz, H-3), 4.58 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 8.6$  Hz, H-1), 3.90 (dq, 1H,  $^3J_{HH} = 6.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 0.9$  Hz, H-5), 2.19, 2.08, 1.99 (je: s, 3H,  $C(O)CH_3$ ), 1.25 (d, 3H,  $^3J_{HH} = 6.4$  Hz,  $CH_3$ ).

**$^{13}C$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $CDCl_3$ ): 170.7, 170.2, 168.6 (je  $C=O$ ), 88.4 ( $C-1$ ), 71.8 ( $C-5$ ), 71.4 ( $C-3$ ), 70.1 ( $C-4$ ), 68.4 ( $C-2$ ), 20.9, 20.8, 20.7 (je  $C(O)CH_3$ ), 16.2 ( $C-6$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ]: 2986, 2942, 2115, 1743, 1674, 1443, 1368, 1211, 1165, 1058, 953, 821, 522, 503, 474, 394.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für  $C_{12}H_{17}N_3NaO_7^+$  [M+Na]<sup>+</sup>: 338.0959, gefunden: 338.0960.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosylazid D-106

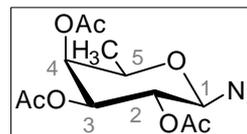
Die Reaktion wurde gemäß **AAV 11** durchgeführt. Es wurden 543 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -D-galactopyranosylbromid **D-99** (1.54 mmol, 1.0 Äq.), 299 mg Natriumazid (4.60 mmol, 3.0 Äq.) und 5 mL DMF eingesetzt.

**Ausbeute:** 379 mg (1.20 mmol, 78%) eines farblosen Feststoffs;

**Summenformel:**  $C_{12}H_{17}N_3O_7$ ; **Molgewicht:** 315.28 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE

1:1 v/v): 0.72; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein; **Drehwert:**

$[\alpha]_D^{20} = -6.4^\circ$  (c=0.39,  $CHCl_3$ ).



Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des L-Enantiomers **L-106**.

**HRMS-ESI<sup>+</sup> (m/z):** berechnet für  $C_{12}H_{17}N_3NaO_7$   $[M+Na]^+$ : 338.0959, gefunden: 338.0962.

### Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosylazid 107

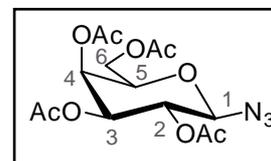
Die Reaktion wurde gemäß **AAV 11** durchgeführt. Es wurden 1.00 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosylbromid **D-112** (2.43 mmol, 1.0 Äq.), 510 mg Natriumazid (7.85 mmol, 3.2 Äq.) und 15 mL DMF verwendet.

**Ausbeute:** 723 mg (1.94 mmol, 80%) eines farblosen Feststoffes;

**Summenformel:**  $C_{14}H_{19}N_3O_9$ ; **Molgewicht:** 373.32 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1 v/v): 0.38; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{25} = -8.6^\circ$  (c = 0.89,  $CHCl_3$ ).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.42 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 3.1$  Hz, H-4), 5.17 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 10.2$  Hz,  $^3J_{HH} = 8.9$  Hz, H-2), 5.03 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 10.4$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.5$  Hz, H-3), 4.60 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 8.8$  Hz, H-1), 4.21-4.12 (m, 2H, H-6), 4.01 (t, 1H,  $^3J_{HH} = 6.5$  Hz, H-5), 2.17, 2.09, 2.06, 1.99 (je: s, 3H,  $C(O)CH_3$ ).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 170.3, 170.1, 170.0, 169.3 (je C=O), 88.3 (C-1), 72.9 (C-5), 70.7 (C-3), 68.1 (C-2), 66.8 (C-4), 61.2 (C-6), 20.7, 20.6, 20.5 (je  $C(O)CH_3$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ] = 2118, 1747, 1369, 1218, 1058, 954, 900.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für  $C_{14}H_{19}N_3NaO_9$   $[M+Na]^+$ : 396.1014, gefunden: 396.1013.

**Synthese von 2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-O-acetyl- $\beta$ -D-lactosylazid 108**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 11** durchgeführt. Es wurden 252 mg 2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-O-acetyl- $\alpha$ -D-lactosylbromid **114** (0.361 mmol, 1.0 Äq.), 79 mg Natriumazid (1.2 mmol, 3.4 Äq.) und 2 mL DMF eingesetzt.

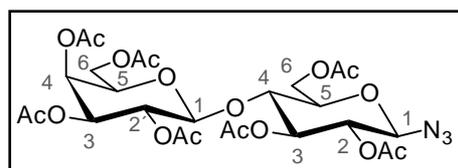
**Ausbeute:** 185 mg (0.279 mmol, 77%) eines farb-

losen Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>17</sub>;

**Molgewicht:** 661.57 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1 v/v):

0.29; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein;

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{25} = +1.6^\circ$  (c = 0.49, CHCl<sub>3</sub>).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.35 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, <sup>4</sup>J<sub>HH</sub> = 0.9 Hz, H-4<sup>Gal</sup>), 5.21 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.2 Hz, H-3<sup>Glc</sup>), 5.11 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, H-2<sup>Gal</sup>), 4.96 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-3<sup>Gal</sup>), 4.86 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.0 Hz, H-2<sup>Glc</sup>), 4.62 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, H-1<sup>Glc</sup>), 4.54-4.46 (m, 2H, H-6<sup>Glc</sup>), 4.13-4.09 (m, 2H, H-6<sup>Gal</sup>, H-5<sup>Gal</sup>), 3.86 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 13.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, H-4<sup>Glc</sup>), 3.80 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.2 Hz, H-1<sup>Gal</sup>), 3.78-3.67 (m, 2H, H-6<sup>Gal</sup>, H-5<sup>Glc</sup>), 2.17, 2.15, 2.14, 2.07, 2.06, 1.96, 1.25 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.6, 170.5, 170.3, 170.2, 169.7, 169.6, 169.2 (je C=O), 101.2 (C-1<sup>Gal</sup>), 87.7 (C-1<sup>Glc</sup>), 75.8 (C-4<sup>Glc</sup>), 74.8 (C-5<sup>Glc</sup>), 72.5 (C-3<sup>Glc</sup>), 71.0 (C-2<sup>Glc</sup>), 70.9 (C-3<sup>Gal</sup>), 70.8 (C-5<sup>Gal</sup>), 69.1 (C-2<sup>Gal</sup>), 66.6 (C-4<sup>Gal</sup>), 61.7 (C-6<sup>Glc</sup>), 60.8 (C-6<sup>Gal</sup>), 21.0, 21.0, 20.9, 20.9, 20.9, 20.8, 20.6 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2121, 1750, 1370, 1227, 1058.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>17</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 684.1859, gefunden: 684.1854.

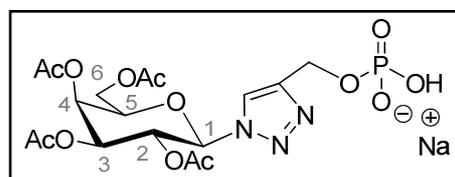
**Synthese von [1-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]methylphosphat 110**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 22** durchgeführt. Es wurden 20 mg 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosylazid **107** (0.054 mmol, 1.0 Äq.), 9 mg 2-Propin-1-phosphat **11** (0.06 mmol, 1.1 Äq.), 1.5 mL *tert*-Butanol, 0.5 mL Wasser und je 0.5 mL der Kupfersulfat- und Natriumascorbat-Lösung verwendet.

**Ausbeute:** 23 mg (0.043 mmol, 80%) eines gelben

Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>13</sub>P<sup>-</sup>;

**Molgewicht:** 531.34 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1 v/v):



0.74; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein.<sup>[a]</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 8.36 (s, 1H, Triazol-CH), 6.19 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.2 Hz, H-1), 5.77 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.3 Hz, H-2), 5.65 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-4), 5.50 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-3), 5.02 (d, 2H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.59-4.54 (m, 1H, H-5), 4.33 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, H-6), 4.25 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, H-6), 2.29, 2.08, 2.05, 1.94 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 173.6, 173.3, 172.6, 172.1 (je C=O), 145.1 (Triazol-C<sub>q</sub>), 124.4 (Triazol-CH), 85.1 (C-1), 73.7 (C-5), 71.1 (C-3), 68.5 (C-2), 67.8 (C-4), 62.1 (C-6), 58.0 (CH<sub>2</sub>), 20.2, 20.2, 20.2, 19.9 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR** (162 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 0.59.

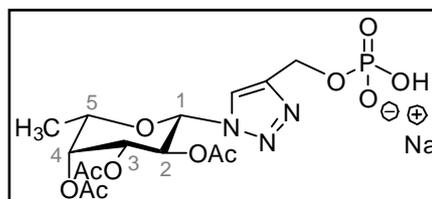
**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3427, 2338, 2164, 1730, 1640, 1386, 1151, 956.

**HRMS** (ESI<sup>-</sup>; m/z): berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>13</sub>P<sup>-</sup> [M-H]<sup>-</sup>: 508.0974, gefunden: 508.0977.

### Synthese von [1-(2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]methyl phosphat L-109

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 22** durchgeführt. Es wurden 44 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosylazid **L-106** (0.15 mmol, 1.2 Äq.), 21 mg 2-Propin-1-phosphat **11** (0.13 mmol, 1.0 Äq.), 1.5 mL *tert*-Butanol, 0.5 mL Wasser und je 0.5 mL der Kupfer-sulfat-(5 %-ig) und Natriumascorbat-Lösung (10 %-ig) verwendet.

**Ausbeute:** 73 mg (0.16 mmol, 95%) eines gelben Feststoffes, welcher durch anorganische Salze verunreinigt war; **Summenformel:** C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>11</sub>P<sup>-</sup>; **Molgewicht:** 473.30 g/mol; **R<sub>f</sub>** (EE/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v): 0.65; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein.<sup>[a]</sup>



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 8.32 (s, 1H, Triazol-CH), 6.16 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.2 Hz, H-1), 5.78 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.5 Hz, H-2), 5.51-5.48 (m, 2H, H-3, H-4), 5.05 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.46 (q, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, H-5), 2.34, 2.08, 1.96 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.31 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 173.7, 172.7, 172.2 (je C=O), 139.0 (Triazol-C<sub>q</sub>), 124.6 (Triazol-CH), 85.2 (C-1), 72.8 (C-5), 71.7 (C-4), 70.7 (C-3), 68.5 (C-2), 58.0 (CH<sub>2</sub>), 20.1, 20.0, 19.7 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 15.1 (CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR** (162 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 1.02.

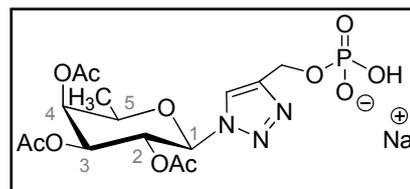
**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2939, 2909, 2364, 2045, 1393, 668.

**HRMS** (ESI<sup>-</sup>; m/z): berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>P<sup>-</sup> [M-H]<sup>-</sup>: 450.0919, gefunden: 450.0916.

### Synthese von [1-(2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]methyl-phosphat **D-109**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 22** durchgeführt. Es wurden 287 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -D-galactopyranosylazid **D-106** (0.910 mmol, 1.0 Äq.), 137 mg 2-Propin-1-phosphat **11** (0.867 mmol, 1.0 Äq.), 1.5 mL *tert*-Butanol, 0.5 mL Wasser und je 0.5 mL der Kupfersulfat- (5 %-ig) und Natriumascorbat-Lösung (10 %-ig) verwendet.

**Ausbeute:** 337 mg (0.673 mmol, 74%) eines gelben Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>11</sub>P; **Molgewicht:** 473.30 g/mol; **R<sub>f</sub>** (EE/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v): 0.65; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein.<sup>[a]</sup>



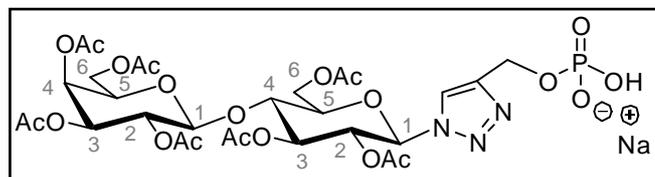
Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des L-Enantiomers **L-109**.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>P<sup>+</sup> [M-H]<sup>+</sup>: 450.0919, gefunden: 450.0931.

### Synthese von [1-(2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-O-acetyl- $\beta$ -D-lactosyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]methylphosphat **111**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 22** durchgeführt. Es wurden 166 mg 2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-O-acetyl- $\beta$ -D-lactosylazid **108** (0.250 mmol, 1.2 Äq.), 33 mg 2-Propin-1-phosphat **11** (0.21 mmol, 1.0 Äq.), 1.5 mL *tert*-Butanol, 0.5 mL Wasser und je 0.5 mL der Kupfersulfat-(5 %-ig) und Natriumascorbat-Lösung (10 %-ig) verwendet.

**Ausbeute:** 96 mg (0.12 mmol, 56 %) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>29</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>21</sub>P; **Molgewicht:** 819.59 g/mol; **R<sub>f</sub>** (EE/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v): 0.67; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein.<sup>[a]</sup>



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 8.28 (s, 1H, Triazol-CH), 6.17 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.9 Hz, H-1<sup>Glc</sup>), 5.63 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.5 Hz, H-2<sup>Glc</sup>), 5.50 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.2 Hz, H-3<sup>Glc</sup>), 5.46 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-4<sup>Gal</sup>), 5.22 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, H-3<sup>Gal</sup>), 5.07 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, H-2<sup>Gal</sup>), 4.93 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, H-1<sup>Gal</sup>), 4.91-4.87 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.57 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.5 Hz, H-6<sup>Glc</sup>), 4.36 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.4 Hz, H-5<sup>Glc</sup>), 4.28-4.22 (m, 5H, H-4', H-5', H-6<sup>Glc</sup>, H-6<sup>Gal</sup>), 2.17, 2.16, 2.15, 2.14, 2.03, 1.94, 1.92 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  [ppm] = 173.8, 173.4, 173.1, 172.9, 172.8, 172.0, 163.5 (je  $\text{C}=\text{O}$ ), 148.4 (Triazol- $\text{C}_q$ ), 126.5 (Triazol- $\text{CH}$ ), 100.3 ( $\text{C-1}^{\text{Gal}}$ ), 84.6 ( $\text{C-1}^{\text{Glc}}$ ), 75.4 ( $\text{C-4}^{\text{Glc}}$ ), 75.1 ( $\text{C-5}^{\text{Glc}}$ ), 73.1 ( $\text{C-3}^{\text{Glc}}$ ), 71.3 ( $\text{C-3}^{\text{Gal}}$ ), 70.9 ( $\text{C-2}^{\text{Glc}}$ ), 70.5 ( $\text{C-5}^{\text{Gal}}$ ), 70.0 ( $\text{C-2}^{\text{Gal}}$ ), 67.9 ( $\text{C-4}^{\text{Gal}}$ ), 62.4 ( $\text{C-6}^{\text{Glc}}$ ), 62.1 ( $\text{C-6}^{\text{Gal}}$ ), 57.0 ( $\text{CH}_2$ ), 20.5, 20.4, 20.3, 20.2, 20.1, 19.9, 19.7 (je  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ).

**$^{31}\text{P-NMR}$**  (162 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  [ppm] = 3.89.

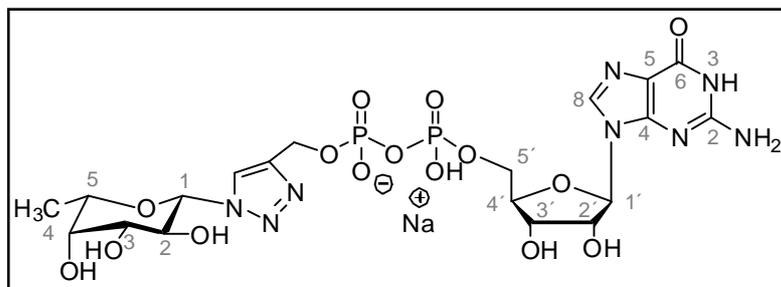
**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3152, 2938, 1747, 1678, 1611, 1370, 1225, 936, 906.

**HRMS** (ESI $^-$ ;  $m/z$ ): berechnet für  $\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_{21}\text{P}^-$  [ $\text{M-H}$ ] $^-$ : 796.1819, gefunden: 796.1817.

### Synthese von [1-(6-Desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methylguanosindiphosphat L-66

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 14** durchgeführt. Es wurden 69 mg [1-(2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-desoxy- $\beta$ -L-galactopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methylphosphat **L-109** (0.15 mmol, 2.0 Äq.), 46 mg 5-Nitro-*cyclo*Saligenyl-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-*O*-acetyl-guanosinmonophosphat **85** (0.074 mmol, 1.0 Äq.) und 3 mL abs. DMF eingesetzt. Anschließend wurde das erhaltene Produkt in Wasser aufgenommen und mittels Ionenaustauschchromatographie an DOWEX (50WX8) in das Natriumsalz überführt.

**Ausbeute:** 14 mg (0.020 mmol, 27%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:**  $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_8\text{NaO}_{15}\text{P}_2$ ; **Molekulargewicht:** 692.40 g/mol;  **$R_f$**  (*i*PrOH/ $\text{NH}_4\text{OAc}$  (1 M) 2:1 v/v): 0.46; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein.<sup>[a]</sup>



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.30 (s, 1H, Triazol- $\text{CH}$ ), 8.11 (s, 1H, H-8), 5.94 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.2$  Hz, H-1'), 5.65 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.2$  Hz, H-1<sup>Fuc</sup>), 5.10-5.07 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.84-4.81 (m, 1H, H-2'), 4.53 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.1$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.4$  Hz, H-3'), 4.36-4.34 (m, 1H, H-4'), 4.25-4.20 (m, 3H, H-2<sup>Fuc</sup>, H-5'), 4.11 (q, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.4$  Hz, H-5<sup>Fuc</sup>), 3.94 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.2$  Hz, H-4<sup>Fuc</sup>), 3.89 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.8$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz, H-3<sup>Fuc</sup>), 3.23 (q, 6H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz,  $((\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH})^+$ ), 1.33-1.29 (m, 12H,  $\text{CH}_3$ ,  $((\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH})^+$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (126 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  [ppm] = 159.0 (C-6), 151.8 (C-4), 144.5 (Triazol- $\text{C}_q$ ), 137.5 (C-8), 123.5 (Triazol- $\text{CH}$ ), 116.4 (C-5), 88.1 ( $\text{C-1}^{\text{Fuc}}$ ), 86.8 ( $\text{C-1}'$ ), 83.8 ( $\text{C-4}'$ ), 74.3 ( $\text{C-5}^{\text{Fuc}}$ ),

73.4 (C-2'), 73.1 (C-3<sup>Fuc</sup>), 71.2 (C-4<sup>Fuc</sup>), 70.4 (C-3'), 69.4 (C-2<sup>Fuc</sup>), 65.3 (C-5'), 58.9 (CH<sub>2</sub>), 46.7 ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>), 15.5 (CH<sub>3</sub>), 8.22 ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>).

Anmerkung: Das <sup>13</sup>C-NMR-Signal des C-2-Atoms konnten nicht identifiziert werden.

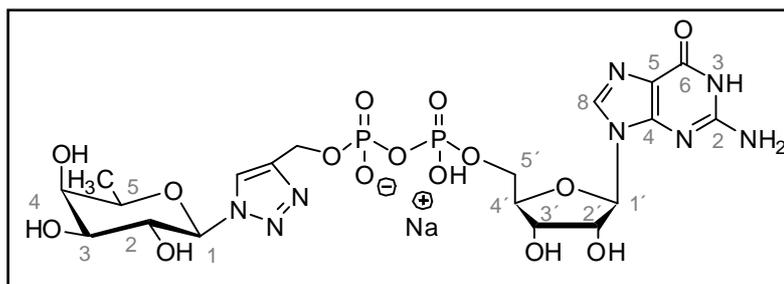
<sup>31</sup>P-NMR (162 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = -11.49 (s, 2P).

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3228, 2938, 2835, 1599, 1536, 1289, 1048, 779.

HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z): berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>8</sub>O<sub>15</sub>P<sub>2</sub><sup>-</sup> [M]: 669.1077, gefunden: 669.1075.

### Synthese von [1-(6-Desoxy-β-D-galactopyranosyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]methyl-guanosindiphosphat D-66

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 14** durchgeführt. Es wurden 113 mg [1-(2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-β-D-galactopyranosyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]methylphosphat **D-109** (0.23 mmol, 1.9 Äq.), 75 mg 5-Nitro-cycloSaligenyl-N<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-O-acetyl-guanosinmonophosphat **85** (0.12 mmol, 1.0 Äq.) und 3 mL abs. DMF eingesetzt. Anschließend wurde das erhaltene Produkt in Wasser aufgenommen und mittels Ionenaustauschchromatographie an DOWEX (50WX8) in das Natriumsalz überführt.



**Ausbeute:** 29 mg (0.042 mmol, 35%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>8</sub>NaO<sub>15</sub>P<sub>2</sub>; **Molgewicht:** 692.40 g/mol; **R<sub>f</sub>** (iPrOH/ NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1 v/v): 0.46; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein.<sup>[a]</sup>

Die NMR- und IR-spektroskopischen Daten entsprechen denen des L-Enantiomers **L-66**.

HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z): berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>8</sub>O<sub>15</sub>P<sub>2</sub><sup>-</sup> [M]: 669.1077, gefunden: 669.1075.

### Synthese von [1-(β-L-Galactopyranosyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl]methyl-guanosindiphosphat D-67

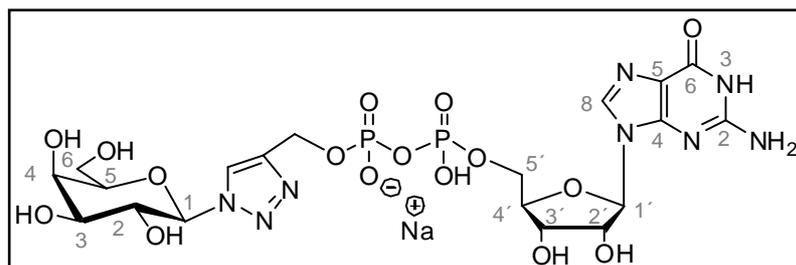
Variante I: Versuch der Synthese durch eine Cu(I)-vermittelte Umsetzung von β-Galactopyranosylazid **107** mit GDP-Alkin **12**

Es wurden 4.9 mg 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosylazid **107** (0.013 mmol, 1.7 Äq.) und 4.4 mg 2-Propinyl-guanosindiphosphat **12** (0.0087 mmol, 1.0 Äq.) in 1.5 mL *tert*-Butanol, 0.5 mL Wasser gelöst und nacheinander mit je 0.5 mL einer wässrigen

Kupfersulfat-Pentahydrat- (5 %-ig) und einer Natriumascorbat-Lösung (10 %-ig) versetzt. Das Reaktions-gemisch wurde 18 h bis zur vollständigen Umsetzung des Azids (DC-Kontrolle: EE/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v) bei Rt gerührt. Anschließend wurde zwei Mal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert und die wässrigen Phasen gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde in einem Gemisch aus Methanol, Wasser und Triethylamin (7:3:1 v/v/v) aufgenommen und 16 h bei Rt gerührt. Schließlich wurden die Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an RP-18-Silicagel mit Wasser als Eluenten gereinigt. Durch nachfolgende Gefrier Trocknung konnte jedoch kein Produkt erhalten werden.

Variante II: Synthese durch Umsetzung vom *cyclo*Sal-Nucleotid **85** mit einem Nucleophil **110**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 14** durchgeführt. Es wurden 81 mg [1-(2,3,4-Tri-O-acetyl-β-L-galactopyranosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methylphosphat **110** (0.15 mmol, 1.9 Äq.), 49 mg 5-Nitro-*cyclo*Saligenyl-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-O-acetyl-guanosin-monophosphat **85** (0.079 mmol, 1.0 Äq.) und 4 mL abs. DMF eingesetzt. Anschließend wurde das erhaltene Produkt in Wasser aufgenommen und mittels Ionenaustauschchromatographie an DOWEX (50WX8) in das Natriumsalz überführt.



**Ausbeute:** 17 mg (0.024 mmol, 31%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>8</sub>NaO<sub>16</sub>P<sub>2</sub><sup>-</sup>; **Molgewicht:** 708.40 g/mol; **R<sub>f</sub>** (iPrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1 v/v): 0.40; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein.<sup>[a]</sup>

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 8.27 (s, 1H, Triazol-CH), 8.11 (s, 1H, H-8), 5.91 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.9 Hz, H-1'), 5.66 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.1 Hz, H-1<sup>Gal</sup>), 5.01 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.84-4.81 (m, 1H, H-2'), 4.50-4.49 (m, 1H, H-3'), 4.33 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, H-4'), 4.21 (dd, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 18.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.4 Hz, H-2<sup>Gal</sup>, H-5'), 4.09 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-4<sup>Gal</sup>), 4.01 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, H-5<sup>Gal</sup>), 3.88 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-3<sup>Gal</sup>), 3.81 (dd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, H-6<sup>Gal</sup>), 3.20 (q, 6H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH)<sup>+</sup>), 1.28 (t, 9H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH)<sup>+</sup>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (126 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 144.2 (Triazol-C<sub>q</sub>), 123.8 (Triazol-CH), 86.9 (C-1<sup>Gal</sup>), 88.2 (C-1'), 83.4 (C-4'), 78.3 (C-5<sup>Gal</sup>), 73.4 (C-2'), 72.9 (C-3<sup>Gal</sup>), 70.3 (C-3'), 69.7 (C-2<sup>Gal</sup>), 68.6 (C-4<sup>Gal</sup>), 64.9 (C-5'), 60.9 (C-6<sup>Gal</sup>), 58.8 (CH<sub>2</sub>), 46.7 ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH)<sup>+</sup>, 8.22 ((CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH)<sup>+</sup>.

**Anmerkung:** Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale für die quartären Guanosin-Kohlenstoffatome konnten nicht identifiziert werden.

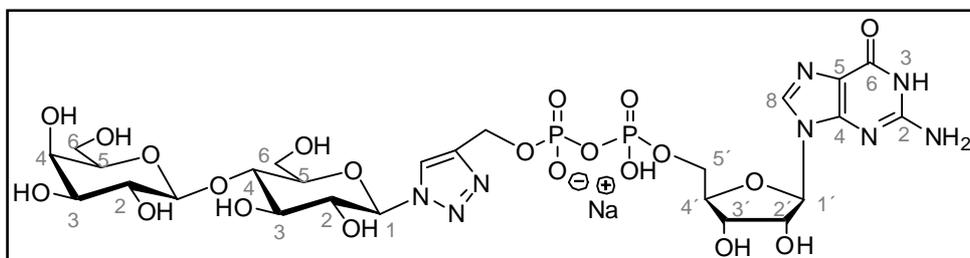
$^{31}\text{P}$ -NMR (162 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  [ppm] = -11.44 (s, 2P).

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3135, 1694, 1235, 1076, 946, 814, 466.

HRMS (ESI $^-$ ; m/z): berechnet für  $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_8\text{O}_{16}\text{P}_2^-$  [M]: 685.1020, gefunden: 685.1010.

### Synthese von [1-( $\beta$ -D-Lactosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methylguanodin-diphosphat **68**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 14** durchgeführt. Es wurden 77 mg [1-(2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-O-acetyl- $\beta$ -D-lactosyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]methylphosphat **111** (0.094 mmol, 2.0 Äq.), 30 mg 5-Nitro-*cycloSaligenyl*-*N*<sup>2</sup>-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanodin-monophosphat **85** (0.047 mmol, 1.0 Äq.) und 3 mL abs. DMF eingesetzt. Anschließend wurde das erhaltene Produkt in Wasser aufgenommen und mittels Ionenaustauschchromatographie an DOWEX (50WX8) in das Natriumsalz überführt.



**Ausbeute:** 15 mg (0.017 mmol, 37%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:**  $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_8\text{NaO}_{21}\text{P}_2$ ; **Molgewicht:** 870.54 g/mol; **R<sub>f</sub>** (iPrOH/ $\text{NH}_4\text{OAc}$  (1 M) 2:1 v/v): 0.40; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein.<sup>[a]</sup>

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  [ppm] = 8.30-8.23 (m, 2H, Triazol-CH, H-8), 5.91 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.1$  Hz, H-1'), 5.81 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.3$  Hz, H-1<sup>glc</sup>), 5.72 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.1$  Hz, H-3<sup>glc</sup>), 5.00 (dd, 2H,  $^2J_{\text{HH}} = 17.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 4.78-4.75 (m, 1H, H-2'), 4.54-4.47 (m, 2H, H-3', H-1<sup>gal</sup>), 4.33 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.1$  Hz, H-4'), 4.23-4.14 (m, 2H, H-5'), 4.03 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.2$  Hz, H-2<sup>glc</sup>), 3.98-3.94 (m, 2H, H-6<sup>gal</sup>, H-4<sup>gal</sup>), 3.93-3.81 (m, 3H, H-5<sup>glc</sup>, H-5<sup>gal</sup>, H-6<sup>gal</sup>), 3.80-3.74 (m, 3H, H-4<sup>glc</sup>, H-6<sup>glc</sup>), 3.70 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz, H-3<sup>gal</sup>), 3.59 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.8$  Hz, H-2<sup>gal</sup>), 3.20 (q, 6H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz,  $((\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH})^+$ ), 1.27 (t,  $^3J_{\text{HH}} = 7.1$  Hz, 9H,  $((\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH})^+$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (126 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  [ppm] = 144.6 (Triazol- $\text{C}_q$ ), 124.1 (Triazol-CH), 103.1 (C-1<sup>gal</sup>), 87.5 (C-1<sup>glc</sup>), 87.4 (C-3<sup>glc</sup>), 86.7 (C-1'), 83.8 (C-4'), 77.5 (C-5<sup>gal</sup>), 75.4 (C-4<sup>glc</sup>), 74.7 (C-5<sup>glc</sup>), 73.5 (C-2'), 72.6 (C-3<sup>gal</sup>), 72.1 (C-2<sup>glc</sup>), 71.2 (C-2<sup>gal</sup>), 70.5 (C-3'), 68.6 (C-4<sup>gal</sup>), 65.3 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 5.0$  Hz, C-5'), 61.3 (C-6<sup>glc</sup>), 60.1 (C-6<sup>gal</sup>), 58.0 ( $\text{CH}_2$ ), 46.8  $((\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH})^+$ , 8.2  $((\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{NH})^+$ .

Anmerkung: Die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale für Guanosin-C-Atome konnten nicht identifiziert werden.

$^{31}\text{P}$ -NMR (202 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  [ppm] = -11.4 (s, 2P).

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3326, 1641, 1455, 1398, 1373, 1071.

HRMS (ESI $^-$ ; m/z): berechnet für  $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_8\text{O}_{21}\text{P}_2^-$  [M-H] $^-$ : 847.1542, gefunden: 847.1554.

## 11.2.8 Synthese von TDP-6-desoxy-L-altrose

### 11.2.8.1 Synthese von L-Altrose nach Hung et al.

#### Synthese von 6-Bromo-1,2:3,4-di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucofuranose 124

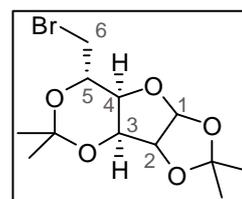
Es wurden 5.01 g 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucofuranose **46** (19.2 mmol, 1.0 Äq.) in 100 mL Dimethylformamid gelöst, 6.81 g *N*-Bromsuccinimid (38.3 mmol, 2.0 Äq.) hinzugegeben und auf 0 °C (Eisbad) abgekühlt. Anschließend wurden 10.0 g Triphenylphosphin (38.2 mmol, 2.0 Äq.) in kleinen Portionen über einen Zeitraum von 30 Minuten hinzugegeben, wodurch sich die Reaktionslösung rot färbte. Nach kompletter Lösung des Triphenylphosphins wurde die Reaktionslösung 6 h auf 96 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Rt wurde das Reaktionsgemisch mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und die wässrige Phase anschließend mit je 300 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit je 300 mL ges. Natriumthiosulfatlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 4.32 g (13.4 mmol, 70%) eines gelblichen Sirups;

**Summenformel:**  $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{BrO}_5$ ; **Molgewicht:** 323.18 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE

1:1 v/v): 0.83; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein, **Drehwert:**

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +13.4^\circ$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).



$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.99 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.8$  Hz, H-1), 4.59 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.5$  Hz, H-2), 4.33 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.8$  Hz, H-4), 4.24 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.8$  Hz, H-3), 3.74 (td, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.2$  Hz, H-5), 3.62 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 10.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz, H-6a), 3.44 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 10.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.5$  Hz, H-6b), 1.50, 1.39, 1.37, 1.33 (je: s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 112.4 ( $\text{C}_q$ ), 106.4 (C-1), 101.4 ( $\text{C}_q$ ), 83.9 (C-2), 81.6 (C-4), 75.1 (C-3), 72.0 (C-5), 33.1 (C-6), 27.2, 26.5, 24.0, 23.8 (je  $\text{CH}_3$ ).

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2988, 2938, 1736, 1374, 1217, 1159, 1070, 1018, 856, 833, 791.

**MS** (FAB, m/z): berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>BrO<sub>5</sub> [M+Na]: 322.04, gefunden: 322.00.

### Synthese von 6-Methylen-1,2:3,5-di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucofuranose **125**

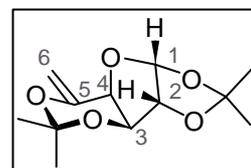
Es wurden 1.08 g 6-Bromo-1,2:3,5-di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucofuranose **124** (3.33 mmol, 1.0 Äq.) in 30 mL einem Toluol/DMF-Gemisch (5:1) gelöst. Es wurden 1.01 mL DBU (6.67 mmol, 2.0 Äq.) hinzugegeben und anschließend mit Hilfe einer Mikrowelle (150 Watt) 40 Minuten bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: Toluol/Aceton v/v 25:1) auf 95 °C erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/Aceton 25:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 0.49 g (2.02 mmol, 61%) eines gelblichen Feststoffs;

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>; **Molgewicht:** 242.27 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE

8:1 v/v): 0.47; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein, **Drehwert:**

$[\alpha]_D^{20} = +118.9^\circ$  (c = 1, CHCl<sub>3</sub>); **Schmelzpunkt:** 35 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.99 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.7 Hz, H-1), 4.76 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 0.8 Hz, 1H, H-6), 4.69 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 0.8 Hz, H-6), 4.56 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.7 Hz, H-2), 4.37 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.3 Hz, H-3), 4.34 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.2 Hz, H-4), 1.52, 1.48, 1.40, 1.33 (je: s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 150.3, 111.9 (je C<sub>q</sub>), 105.2 (C-1), 101.5 (C-6), 100.6 (C-5), 84.3 (C-2), 74.7 (C-3), 72.4 (C-4), 28.0, 26.7, 26.1, 21.2 (je CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2991, 2937, 1658, 1380, 1293, 1257, 1202, 1148, 1075, 1008, 943, 866, 846, 826, 793.

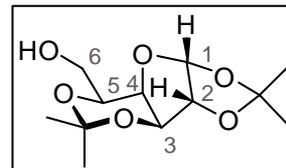
**HRMS** (FAB, m/z): berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> [M]: 242.1154, gefunden: 242.1152.

### Synthese von 1,2:3,5-Di-O-isopropyliden- $\beta$ -L-idofuranose **126**

Es wurden 190 mg 6-Methylen-1,2:3,5-di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucofuranose **125** (0.784 mmol) in 6 mL abs. Tetrahydrofuran gelöst und 1.57 mL eines 1 M Boranwasserstoff-Tetrahydrofuran-Komplexes bei Rt zugetropft. Nach einer Stunde Rühren bei Rt wurde die Reaktionslösung oxidativ aufgearbeitet. Dazu wurde ein Gemisch aus 2.3 mL einer 30%igen Wasserstoffperoxidlösung (29 mmol) und 1.7 mL einer 3 M Natriumhydroxidlösung bei 0 °C (Eisbad) zur Reaktionslösung zugetropft. Anschließend wurde das Zweiphasengemisch für 30 Minuten auf 40 °C erhitzt. Nach Abkühlung Rt wurde das Gemisch dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das

Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 3:2 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 0.174 g (0.669 mmol, 85%) eines gelben Sirups;  
**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>; **Molgewicht:** 260.28 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 3:2 v/v): 0.32; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein, **Drehwert:** [α]<sup>20</sup><sub>D</sub> = + 10 ° (c = 1, CHCl<sub>3</sub>).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 5.95 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, H-1), 4.49 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, H-2), 4.31 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.3 Hz, H-3), 4.13-4.10 (m, 1H, H-5), 4.01 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.0 Hz, H-4), 3.91-3.76 (m, 2H, H-6), 2.22 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 9.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, OH), 1.49, 1.45, 1.40, 1.32 (je: s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 111.8 (C<sub>q</sub>), 105.3 (C-1), 98.2 (C-5), 83.9 (C-2), 73.9 (C-3), 71.8 (C-4), 69.1 (C<sub>q</sub>), 63.2 (C-6), 29.2, 26.7, 26.1, 19.2 (je CH<sub>3</sub>).

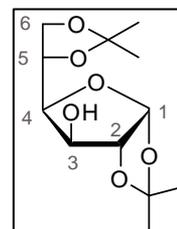
**IR:**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2989, 2939, 1375, 1257, 1202, 1137, 1075, 1011, 891, 860, 844.

**FAB-MS:** berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub> [M+Na] 260.13, gefunden: 260.12.

#### Synthese von 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden-β-L-idofuranose 47

Es wurden 231 mg 1,2:3,5-Di-O-isopropyliden-β-L-idofuranose **126** (0.887 mmol) in 2.26 mL (23.7 mmol) 60%iger Essigsäure gelöst, 17 Stunden bei 40 °C gerührt und anschließend mit Toluol ko-evaporiert. Das Rohprodukt wurde in abs. Aceton unter Stickstoffatmosphäre bei Rt gelöst. Es wurden 0.430 mL (3.51 mmol) 2,2-Dimethoxypropan und 8.69 mg (0.0402 mmol) Camphersulfonsäure zur Lösung hinzugegeben. Nach 5 Minuten Rühren wurde die Reaktion mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Das Gemisch wurde dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel anschließend im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 0.114 g (0.438 mmol, 49%) eines farblosen Feststoffs; **Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>; **Molgewicht:** 260.28 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 3:2 v/v): 0.32; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein, **Drehwert:** [α]<sup>20</sup><sub>D</sub> = -21.5 (c = 0.5, CHCl<sub>3</sub>); **Schmelzpunkt:** 156 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 5.97 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, H-1), 4.51-4.47 (m, 2H, H-5, H-2), 4.26 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.0 Hz, H-4), 4.14-4.10 (m, 2H, H-3, H-6b), 3.75 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, H-6a), 2.17 (s, 1H, OH), 1.48, 1.46, 1.40, 1.32 (je: s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 130.0, 110.4 (je  $\text{C}_q$ ), 104.9 (C-1), 85.3 (C-2), 78.0 (C-4), 76.5 (C-5), 74.8 (C-3), 66.1 (C-6), 26.8, 26.2, 25.8, 25.7 (je  $\text{CH}_3$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3433, 2991, 2943, 1733, 1533, 1373, 1213, 1159, 1060, 1036, 1011, 939, 886, 856, 844, 796, 776, 649, 636, 527, 507.

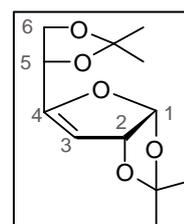
**MS** (FAB, m/z): berechnet für  $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_6$  [M] 260.13, gefunden: 260.13.

### Synthese von 3-Deoxy-1,2:5,6-di-O-isopropyliden- $\beta$ -L-threo-hex-3-enofuranose **127**

Es wurden 1.15 g 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- $\beta$ -L-idofuranose **47** (4.42 mmol, 1.0 Äq.) in 15 mL abs. Dichlormethan und 2 mL abs. Pyridin gelöst. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf  $-10^\circ\text{C}$  gekühlt, dann 1.50 mL Trifluormethansulfonsäureanhydrid (8.92 mmol, 2.0 Äq.) langsam hinzugegeben und bei dieser Temperatur eine Stunde gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch (PE/EE v/v 1:1) überprüft. Nach Zugabe von 30 mL Eiswasser wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

1,2:5,6-Di-O-isopropyliden-3-O-triflyl- $\beta$ -L-idofuranose konnte mit einer Rohausbeute von 1.90 g (4.84 mmol) erhalten werden und wurde in der folgenden Reaktion ohne weitere Reinigung als Rohprodukt eingesetzt. Dazu wurde **es** in 10 mL eines Gemischs aus Toluol und DMF (5:1, v/v) gelöst, mit 1.43 mL DBU (9.58 mmol, 2.2 Äq.) versetzt und mit Hilfe einer Mikrowelle (150 Watt) 30 Minuten auf  $95^\circ\text{C}$  erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 932 mg (3.85 mmol, 87% über zwei Stufen) eines farblosen Feststoffs; **Summenformel:**  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_5$ ; **Molgewicht:** 242.12 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE 1:1 v/v): 0.85, **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 6.08 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2$  Hz, H-1). 5.30 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.3$  Hz, H-2), 5.26 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 2.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 0.9$  Hz, H-3), 4.61 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, H-5), 4.15 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 8.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.8$  Hz, H-6b), 3.94 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 8.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.3$  Hz, H-6a), 1.47, 1.45, 1.44, 1.40 (je: s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 160.0 (C-4), 112.5 ( $\text{C}_q$ ), 110.8 ( $\text{C}_q$ ), 106.7 (C-1), 99.6 (C-3), 83.5 (C-2), 71.7 (C-5), 67.5 (C-6), 28.3, 28.0, 26.3, 25.7 (je  $\text{CH}_3$ ).

**Anmerkung:** Aufgrund der Instabilität des Produktes musste auf die Aufnahme weiterer analytischer Daten verzichtet werden

**Synthese von 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- $\beta$ -L-altrofuranose 48**

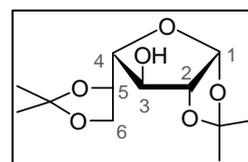
Es wurden 930 mg 3-Deoxy-1,2:5,6-di-O-isopropyliden- $\beta$ -L-threo-hex-3-enofuranose **127** (3.84 mmol) in 20 mL abs. THF gelöst und 7.66 mL eines 1 M Boranwasserstoff-Tetrahydrofuran-Komplexes bei Rt zugetropft. Nach einer Stunde Rühren bei Rt wurde die Reaktionslösung oxidativ aufgearbeitet. Dazu wurde ein Gemisch aus 11 mL einer 30%igen Wasserstoffperoxidlösung (0.14 mol) und 8.3 mL einer 3 M Natriumhydroxidlösung (0.11 mol) bei 0 °C (Eisbad) zur Reaktionslösung zugetropft. Anschließend wurde das Zweiphasengemisch 30 Minuten auf 40 °C erhitzt. Nach Abkühlung auf Rt wurde das Gemisch dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 3:2 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 979 mg (3.76 mmol, 98%) eines farblosen Feststoffs;

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>; **Molgewicht:** 260.28 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE

3:2 v/v): 0.40; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein, **Drehwert:**

$[\alpha]_D^{25} = -17.7$  (c = 1.0, CHCl<sub>3</sub>); **Schmelzpunkt:** 88 °C.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.88 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.9 Hz, H-1), 4.56 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.9 Hz, H-2), 4.42 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.2 Hz, H-3), 4.25 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.2 Hz, H-5), 4.11 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 8.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, H-6), 3.94 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 8.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.1 Hz, H-6), 3.80 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.4 Hz, H-4), 1.51, 1.43, 1.35, 1.31 (je: s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 112.9, 109.9 (je C<sub>q</sub>), 105.8 (C-1), 88.5 (C-4), 87.3 (C-2), 77.2 (C-3), 75.8 (C-5), 66.8 (C-6), 27.2, 27.1, 26.3, 25.5 (je CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3458, 2987, 2938, 1374, 1254, 1212, 1163, 1064, 1017, 882, 523.

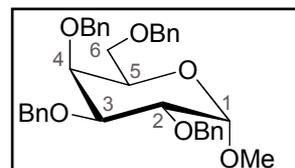
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 283.1152, gefunden: 283.1153.

### 11.2.9 Synthese von L-Altrose ausgehend von D-Galactose

#### Synthese von Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -D-galactosid **116**

Das Methyl-D-galactopyranosid wurde nach der **AAV 15** dargestellt. Dabei wurden 5.00 g D-Galactose **D-64** (27.8 mol, 1.0 Äq.), 150 mL Methanol und 50 mL Amberlite® IR 120 (H<sup>+</sup>) verwendet. Anschließend erfolgte die Benzylierung mit dem erhaltenen Rohprodukt nach **AAV 16**. Es wurden 4.00 g Natriumhydrid (167 mmol, 6 Äq.), 100 mL abs. DMF und 20.5 mL Benzylbromid (24.8 g, 145 mmol, 5.2 Äq.) eingesetzt.

**Ausbeute:** 14.34 g (25.85 mmol, 93% über 2 Stufen) eines leicht gelblichen Sirups; **Summenformel:** C<sub>35</sub>H<sub>38</sub>O<sub>6</sub>; **Molgewicht:** 554.67 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 4:1 v/v): 0.67; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +7^\circ$  (c=1.0, CHCl<sub>3</sub>).



**$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.38-7.22 (m, 20H, CH<sub>ar</sub>), 4.92 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.5 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.84-4.80 (m, 2H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.71 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.8 Hz, 1H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.66-4.65 (m, 2H, H-1, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.56 (d, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.5 Hz, 1H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.46 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.8 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.38 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.8 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.04-4.01 (m, 1H, H-2), 3.93-3.86 (m, 3H, H-4, H-3, H-5), 3.51 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-6), 3.35 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

**$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 138.9, 138.7, 138.5, 138.1 (C<sub>q</sub>), 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5 (CH<sub>ar</sub>), 98.9 (C-1), 79.2 (C-4), 76.5 (C-2), 75.2 (C-3), 74.7, 73.5, 73.4, 73.3 (je Bn-CH<sub>2</sub>), 69.2 (C-5), 69.1 (C-6), 55.3 (OCH<sub>3</sub>).

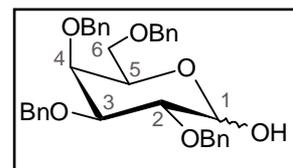
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3029, 2009, 1496, 1350, 1194, 1093, 1044, 732, 694.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>35</sub>H<sub>38</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 577.2561, gefunden: 577.2561.

#### Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **117**

Es wurden 20.19 g Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha$ -D-galactosid **116** (36.40 mmol) in 4 gleich große Portionen aufgeteilt und je in einem 100 mL-Kolben in einem Gemisch aus 25 mL konzentrierter Essigsäure, 10 mL 1 M Salzsäure und 5 mL Wasser gelöst und 1 h mit Hilfe eines Mikrowellen-Gerätes unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurden die Reaktionslösungen vereinigt und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen bis keine Gasentwicklung mehr beobachtet werden konnte. Nach Trocknung über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 4:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 17.12 g (31.7 mmol, 87%) eines leicht gelblichen Sirups; **Summenformel:** C<sub>34</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub>; **Molgewicht:** 540.65 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 3:1 v/v): 0.33; **Anomerenverhältnis:** α:β ≈ 1:0.6.



**α-<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.39-7.23 (m, 20H, CH<sub>ar</sub>), 5.26 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, H-1), 4.91 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.5 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.81 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.75-4.72 (m, 2H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.69 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.8 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.56 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.5 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.47-4.37 (m, 2H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.14 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, H-5), 4.02 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, H-2), 3.95-9.93 (m, 1H, H-4), 3.89 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.8 Hz, H-3), 3.59-3.45 (m, 2H, 2x H-6), 2.93 (s, 1H, OH).

**α-<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 138.6, 138.5, 138.2, 137.9 (C<sub>q</sub>), 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4 (CH<sub>ar</sub>), 91.9 (C-1), 78.7 (C-3), 76.6 (C-2), 74.7 (C-4), 74.6, 73.6, 73.5, 72.9 (Bn-CH<sub>2</sub>), 69.5 (C-5), 68.9 (C-6).

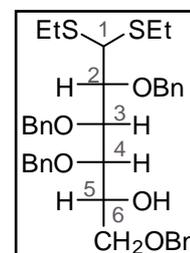
**IR (ATR) :**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3062, 3029, 2867, 1496, 1453, 1363, 1208, 1059, 910, 732, 694, 599, 461.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>34</sub>H<sub>36</sub>KO<sub>6</sub> [M+K]<sup>+</sup>: 563.2404, gefunden: 563.2403.

### Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-L-galactopyranose-diethyl-dithioacetal **118**

Die Synthese erfolgte gemäß **AAV 18**. Es wurden 23.90 g 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-α/β-D-galactopyranose **117** (44.20 mmol) in 330 mL Ethanthiol (277 g, 4.46 mol) gelöst und mit 50 mL Trifluoressigsäure versetzt

**Ausbeute:** 16.59 g (25.65 mmol, 58%) eines gelben Öls;  
**Summenformel:** C<sub>38</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>; **Molgewicht:** 646.90 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 4:1 v/v): 0.73; **Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -13 °(c=1.0, CHCl<sub>3</sub>).



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.30-7.14 (m, 20H, CH<sub>ar</sub>), 4.81 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.0 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.61 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.43 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.8 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.35 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.29 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, H-3), 4.25 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 3.97-3.94 (m, 1H, H-5), 3.89 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, H-2), 3.83 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, H-1), 3.69 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, H-4), 3.49-3.41 (m, 2H, H-6), 2.65-2.56 (m, 2H, Et-CH<sub>2</sub>), 2.51-2.42 (m, 2H, Et-CH<sub>2</sub>), 1.11 (t, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, Et-CH<sub>3</sub>), 1.07 (t, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, Et-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 138.8, 138.6, 138.5, 138.3 (je C<sub>q</sub>), 128.2, 127.7, 127.5, 127.3 (CH<sub>ar</sub>), 83.1 (C-2), 81.8 (C-3), 76.3 (C-4), 75.7, 75.0, 73.2, 72.4 (je Bn-CH<sub>2</sub>), 70.6 (C-6), 70.1 (C-5), 53.7 (C-1), 24.9, 24.8 (Et-CH<sub>2</sub>), 14.5, 14.4 (je Et-CH<sub>3</sub>).

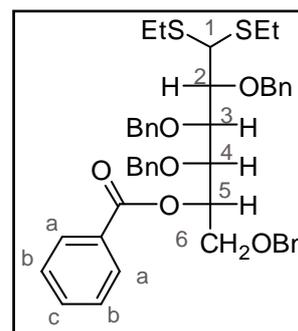
**IR:**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3029, 2924, 2867, 1749, 1495, 1453, 1363, 1209, 1064, 819, 732, 694, 605, 460.

**HRMS (ESI):** berechnet für  $\text{C}_{38}\text{H}_{46}\text{NaO}_5\text{S}_2^+$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 669.2679, gefunden: 669.2686.

### Synthese von 5-O-Benzoyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-L-altropyranose-diethyl-dithioacetal **120**

Die Synthese erfolgte nach der **AAV 19** unter Einsatz von 12.65 g Triphenylphosphin (48.23 mmol, 2.9 Äq.), 9.69 mL DIAD (48.8 mmol, 3.0 Äq.), 10.59 g 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-L-altropyranose-diethyl-dithioacetal **118** (16.37 mmol, 1.0 Äq), 6.02 g Benzoesäure (49.30 mmol, 3 Äq.) und 200 mL abs. Diethylether.

**Ausbeute:** 8.73 g (11.62 mmol, 71 %) eines gelben Öls;  
**Summenformel:**  $\text{C}_{45}\text{H}_{50}\text{O}_6\text{S}_2$ ; **Molgewicht:** 751.01 g/mol; **R<sub>f</sub>**  
 (Toluol/Aceton 25:1 v/v): 0.82; **Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +2^\circ$  (c=1.0,  $\text{CHCl}_3$ ).



**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8.05 (d, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.9$  Hz, Bz-CHa), 7.59-7.55 (m, 1H, Bz-CHc), 7.45 (t, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, Bz-CHb), 7.37-7.22 (m, 20H, Bn-CH), 5.61 (td, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz, H-5), 4.84 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.2$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-2b), 4.79 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.3$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-2a), 4.71-4.64 (m, 4H, Bn-CH<sub>2</sub>-3, Bn-CH<sub>2</sub>-4), 4.53 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.2$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-6b), 4.46 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.1$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-6a), 4.30 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.3$  Hz, H-3), 4.13 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, H-1), 4.09-4.05 (m, 2H, H-4, H-6), 4.02 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, H-2), 3.86 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.1$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.6$  Hz, H-6), 2.76-2.58 (m, 2H, Et-CH<sub>2</sub>), 1.19 (t, 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, Et-CH<sub>3</sub>), 1.16 (t, 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, Et-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 165.9 (C=O), 141.0 (Bn-C<sub>q</sub>), 138.9, 138.7, 138.4, 138.1 (je Bn-C<sub>q</sub>), 133.1 (Bz-CHc), 129.9 (Bz-CHa), 126.7 (Bz-CHb), 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4, 127.1 (je Bn-CH), 84.0 (C-2), 80.9 (C-3), 79.3 (C-4), 75.7 (Bn-CH<sub>2</sub>), 75.0 (Bn-CH<sub>2</sub>), 73.9 (C-5), 73.1 (Bn-CH<sub>2</sub>), 73.0 (Bn-CH<sub>2</sub>), 68.9 (C-6), 54.4 (C-1), 25.6, 25.0 (Et-CH<sub>2</sub>), 14.6, 14.5 (je Et-CH<sub>3</sub>).

**IR:**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2924, 2866, 1718, 1496, 1452, 1267, 1093, 1068, 1267, 1093, 1068, 1025, 733, 695, 462.

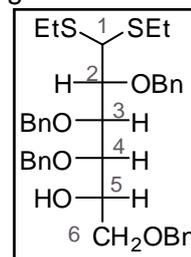
**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** berechnet für  $\text{C}_{45}\text{H}_{50}\text{NaO}_6\text{S}_2^+$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ : 773.2941, gefunden: 773.2938.

### Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-L-altropyranose-diethyl-dithioacetal

Es wurden 100 mg 5-O-Benzoyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-L-altropyranose-diethyl-dithioacetal **120** (0.133 mmol) in einer methanolischen Natriumhydroxid-Lösung (1%) gelöst

und 2 h bei Rt gerührt. Anschließend wurde die Lösung mittels Zugabe von 1 M Salzsäure neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 3:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 75.1 mg (0.116 mmol, 87%) eines gelben Öls; **Summenformel:**  $C_{38}H_{46}O_5S_2$ ; **Molgewicht:** 646.90 g/mol;  $R_f$  (PE/EE 3:1 v/v): 0.68; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = -7^\circ$  (c=1.0,  $CHCl_3$ ).



**$^1H$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 7.30-7.17 (m, 20H,  $CH_{ar}$ ), 4.80 (d, 1H,  $^2J_{HH} = 11.1$  Hz, Bn- $CH_2$ ), 4.76 (d, 1H,  $^2J_{HH} = 10.9$  Hz, Bn- $CH_2$ ), 4.74 (d, 1H,  $^2J_{HH} = 11.1$  Hz, Bn- $CH_2$ ), 4.69 (d, 1H,  $^2J_{HH} = 11.1$  Hz, Bn- $CH_2$ ), 4.64 (d, 1H,  $^2J_{HH} = 11.6$  Hz, Bn- $CH_2$ ), 4.46 (d, 2H,  $^2J_{HH} = 11.5$  Hz, Bn- $CH_2$ ), 4.40 (d, 1H,  $^2J_{HH} = 11.8$  Hz, Bn- $CH_2$ ), 4.21 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 7.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 2.5$  Hz, H-3), 4.10 (dq, 2H,  $^3J_{HH} = 7.3$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.0$  Hz, H-2, H-5), 3.95 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 3.1$  Hz, H-1), 3.68-3.63 (m, 2H, H-6, H-4), 3.50 (dd, 1H,  $^2J_{HH} = 9.7$  Hz,  $^3J_{HH} = 6.5$  Hz, H-6), 2.72-2.62 (m, 2H, Et- $CH_2$ ), 2.52 (dq, 2H,  $^3J_{HH} = 7.4$  Hz,  $^3J_{HH} = 1.5$  Hz, Et- $CH_2$ ), 1.11 (t, 3H,  $^3J_{HH} = 6.5$  Hz, Et- $CH_3$ ), 1.07 (t, 3H,  $^3J_{HH} = 6.8$  Hz, Et- $CH_3$ ).

**$^{13}C$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $CDCl_3$ ): 139.1, 139.0, 138.4, 138.2 (je  $C_q$ ), 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.5, 127.4 ( $CH_{ar}$ ), 83.9 (C-2), 82.1 (C-3), 80.0 (C-4), 75.9, 75.3, 73.5, 72.6 (je Bn- $CH_2$ ), 71.8 (C-6), 70.3 (C-5), 54.3 (C-1), 25.8, 25.2 (Et- $CH_2$ ), 14.7, 14.6 (je Et- $CH_3$ ).

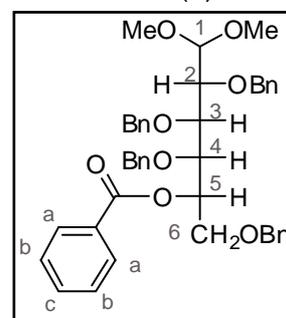
**IR:**  $\tilde{\nu}$  [ $cm^{-1}$ ]: 3445, 3029, 2924, 2866, 1496, 1453, 1263, 1208, 1087, 1068, 910, 732, 695.

**HRMS (ESI):** berechnet für  $C_{38}H_{46}NaO_5S_2^+$   $[M+Na]^+$ : 669.2679, gefunden: 669.2701.

### Synthese von 5-O-Benzoyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-L-altropyranose-dimethylacetal **121**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 20** durchgeführt. Es wurden dabei 6.72 g 5-O-Benzoyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-L-altropyranose-diethyl-dithioacetal **120** (8.95 mmol, 1.0 Äq.), 6.13 g Quecksilber(II)oxid (28.30 mmol, 3.2 Äq.) und 6.13 g Quecksilber(II)chlorid (22.6 mmol, 2.5 Äq.) in 400 mL abs. Methanol eingesetzt.

**Ausbeute:** 5.87 g (8.50 mmol, 95%) eines gelben Öls; **Summenformel:**  $C_{43}H_{46}O_8$ ; **Molgewicht:** 690.32 g/mol;  $R_f$  (Toluol/Aceton 25:1 v/v): 0.58; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{20} = +1.2^\circ$  (c=1.0,  $CHCl_3$ ).



**$^1H$ -NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $CDCl_3$ ): 8.04-8.02 (m, 2H, Bz- $CH_a$ ), 7.59-7.55 (m, 1H, Bz- $CH_c$ ), 7.44 (t, 2H,  $^3J_{HH} = 7.7$  Hz, Bz- $CH_b$ ), 7.37-7.22 (m, 20H,  $CH_{ar}$ ), 5.82 (td, 1H,  $^3J_{HH} = 6.8$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.5$  Hz, H-5), 4.82-4.77 (m, 3H, Bn- $CH_2$ ), 4.70 (d, 1H,  $^2J_{HH} = 11.5$  Hz, Bn- $CH_2$ ), 4.55 (d, 1H,  $^2J_{HH} = 11.6$  Hz, Bn- $CH_2$ ), 4.53 (d, 1H,  $^2J_{HH} =$

12.1 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.50 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, H-1), 4.46-4.41 (m, 2H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.15 (dd, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, 1H, H-4), 3.99-3.95 (m, 2H, H-3, H-6), 3.90 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 10.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.8 Hz, H-6), 3.79 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, H-2), 3.39 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.28 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165.6 (C=O), 139.1, 138.7, 138.4, 138.3 (je C<sub>q</sub>), 133.0 (Bz-CHc), 129.9 (Bz-CHa), 128.6, 128.5, 128.4, 128.3 (CH<sub>ar</sub>), 128.0 (Bz-CHb), 128.9, 127.8, 127.6, 127.4 (Bn-CH), 105.6 (C-1), 79.0 (C-4), 78.9 (C-2), 78.7 (C-3), 74.2, 74.1 (je Bn-CH<sub>2</sub>), 73.7 (C-5), 73.2, 73.1 (je Bn-CH<sub>2</sub>), 68.9 (C-6), 56.0, 54.5 (je OCH<sub>3</sub>).

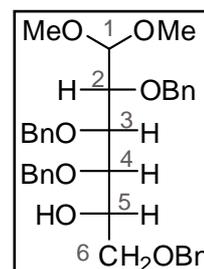
IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2923, 2853, 1720, 1453, 1269, 1093, 1069, 1026, 734, 711, 697.

HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>43</sub>H<sub>46</sub>O<sub>8</sub>Na<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 713.3085, gefunden: 713.3081.

### Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-L-altropyranose-dimethylacetal **122**

Es wurden 5.00 g 5-O-Benzoyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-L-altropyranose-dimethylacetal **121** (7.24 mmol) in einer methanolischen Natriumhydroxid-Lösung (1%) gelöst und 2 h bei Rt gerührt. Anschließend wurde die Lösung mittels Zugabe von 1 M Salzsäure neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/Aceton 25:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 3.82 g (6.52 mmol, 90%) eines farblosen Feststoffes; **Summenformel:** C<sub>36</sub>H<sub>42</sub>O<sub>7</sub>; **Molgewicht:** 586.71 g/mol; **R<sub>f</sub>** (Toluol/Aceton 25:1 v/v): 0.32; **Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -20 ° (c=1.0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 1:1 v/v); **Schmelzpunkt:** 82.8 °C.



<sup>1</sup>H-NMR: δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.33-7.20 (m, 20H, CH<sub>ar</sub>), 4.73-4.68 (m, 3H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.62 (d, 2H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.4 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.52-4.45 (m, 4H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.40 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, H-1), 4.09-4.03 (m, 1H, H-5), 3.96 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.4 Hz, H-3), 3.83 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.1 Hz, H-4), 3.78 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, H-2), 3.64-3.57 (m, 2H, H-6), 3.35 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.31 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.96 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, OH).

<sup>13</sup>C-NMR: δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 138.9, 138.7, 138.4, 138.2 (Aryl-C<sub>q</sub>), 128.5, 128.4, 128.2, 128.0, 127.9, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6 (CH<sub>ar</sub>), 106.0 (C-1), 79.9 (C-3), 79.5 (C-4), 79.4 (C-2), 74.7 (Bn-CH<sub>2</sub>), 74.4 (Bn-CH<sub>2</sub>), 73.5 (Bn-CH<sub>2</sub>), 72.9 (Bn-CH<sub>2</sub>), 71.6 (C-6), 71.0 (C-5), 56.1 (OCH<sub>3</sub>), 55.4 (OCH<sub>3</sub>).

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3030, 2867, 1493, 1453, 1325, 1150, 1073, 923, 881, 747, 698, 595.

HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>36</sub>H<sub>42</sub>NaO<sub>7</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 609.2823, gefunden: 609.2835.

**Synthese von Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid 123**

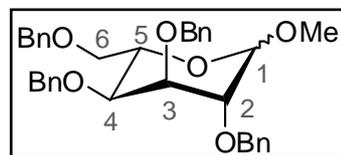
Die Reaktion wurde nach **AAV 21** durchgeführt unter Einsatz von 3.03 g 2,3,4-Tri-O-benzyl-L-altropyranose-dimethylacetal **122** (5.16 mmol) in 200 mL abs. Diethylether.

**Ausbeute:** 2.28 mg (4.29 mmol, 83%) eines gelblichen Öls;

**Summenformel:** C<sub>35</sub>H<sub>38</sub>O<sub>6</sub>; **Molgewicht:** 554.67 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (Toluol/Aceton 25:1 v/v): 0.70; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx$

1:0.1.



**$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.34-7.20 (m, 20H, CH<sub>ar</sub>), 4.80 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.5 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.73 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.4 Hz, H-1), 4.61 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.1 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.57 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.1 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.55 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.0 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.53 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.5 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.48 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.1 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.43-4.40 (m, 2H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.07 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-5), 3.82 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.7 Hz, H-4), 3.79 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-6), 3.75 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.7 Hz, H-3), 3.71 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.6 Hz, H-6), 3.60 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.4 Hz, H-2), 3.42 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

**$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 138.9, 138.7, 138.4, 138.2 (je C<sub>q</sub>), 128.5, 128.4, 128.2, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6 (CH<sub>ar</sub>), 100.5 (C-1), 75.7 (C-2), 74.0 (C-3), 73.9 (Bn-CH<sub>2</sub>), 73.8 (C-4), 73.7 (C-5), 73.6 (Bn-CH<sub>2</sub>), 73.0 (Bn-CH<sub>2</sub>), 71.9 (Bn-CH<sub>2</sub>), 70.3 (C-6), 57.1 (OCH<sub>3</sub>).

**IR:**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3029, 2865, 1496, 1453, 1366, 1207, 1113, 1073, 1024, 910, 732, 695.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>):** berechnet für C<sub>35</sub>H<sub>38</sub>NaO<sub>6</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 577.2561, gefunden: 577.2559.

**Synthese von Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid 135 und 1,6-Di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose 136**

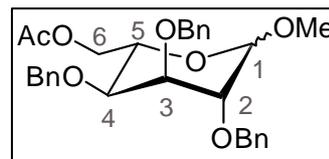
Die Durchführung erfolgte gemäß **AAV 5.3**. Es wurden 208 mg ZnCl<sub>2</sub> (1.53 mmol, 7 Äq.), 120 mg Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **123** (0.216 mmol) und insgesamt 2 mL einer Mischung aus Essigsäure und Essigsäureanhydrid und in 1 mL Essigsäure eingesetzt. Es wurde neben Edukt sowohl Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl-L-altropyranosid **135** als auch 1,6-Di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl-L-altropyranose **136** erhalten.

**Ausbeute:** 40 mg Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **135** (79  $\mu$ mol, 37%) eines farblosen Öls; 33 mg 1,6-Di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **136** (62  $\mu$ mol, 29%) eines farblosen Öls.

Charakterisierung von Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **135**

**Summenformel:**  $C_{30}H_{34}O_7$ ; **Molgewicht:** 506.59 g/mol;

**$R_f$**  (PE/EE 3:1 v/v): 0.42; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 8:1$ .



**$\alpha$ - $^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.35-7.20 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 4.82 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 12.6$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.73 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 1.1$  Hz, H-1), 4.56-4.47 (m, 4H, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.42-4.33 (m, 3H, H-6, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.26 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4$  Hz, H-6), 4.08-4.02 (m, 1H, H-5), 3.80-3.77 (m, 2H, H-3, H-4), 3.66 (dd, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 4.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.1$  Hz, H-2), 3.51 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.02 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ).

**$\alpha$ - $^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 171.1 (C=O), 138.8, 138.2, 137.9 (je  $\text{C}_q$ ), 128.9, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 100.6 (C-1), 75.4 (C-2), 73.9 (Bn- $\text{CH}_2$ ), 73.6 (C-4), 73.2 (Bn- $\text{CH}_2$ , C-3), 73.1 (Bn- $\text{CH}_2$ ), 71.8 (C-5), 64.4 (C6), 57.2 ( $\text{OCH}_3$ ), 21.1 ( $\text{C(O)CH}_3$ ).

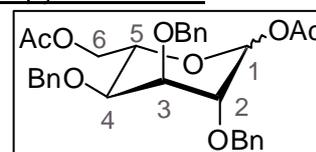
**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3030, 2924, 2855, 1740, 1496, 1454, 1368, 1231, 1076, 1027, 803, 735, 697.

**HRMS** ( $\text{ESI}^+$ ; m/z): berechnet für  $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{NaO}_7^+$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ : 529.2197, gefunden: 529.2195.

 Charakterisierung von 1,6-Di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **136**

**Summenformel:**  $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_8$ ; **Molgewicht:** 534.60 g/mol;

**$R_f$**  (PE/EE 3:1 v/v): 0.46; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1:0.3$ .



**$\alpha$ - $^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.35-7.24 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 6.24 (s, 1H, H-1), 4.66 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.8$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.60-4.45 (m, 5H, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.42 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 8.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.1$  Hz, H-6), 4.33 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.3$  Hz, H-4), 4.13-4.09 (m, 2H, H-6, H-2), 4.03 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 1.1$  Hz, H-3), 3.75 (dt, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.7$  Hz, H-5), 2.06 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ), 2.04 (s, 3H,  $\text{C(O)CH}_3$ ).

**$\alpha$ - $^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 170.9, 170.17 (je C=O), 138.1, 137.7, 137.4 (je  $\text{C}_q$ ), 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 100.9 (C-1), 86.5 (C-3), 84.7 (C-4), 83.3 (C-2), 76.2 (C-5), 72.8, 72.0, 71.9 (je Bn- $\text{CH}_2$ ), 62.8 (C-6), 21.4, 21.0 (je  $\text{C(O)CH}_3$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3030, 2918, 1743, 1496, 1454, 1370, 1226, 1101, 1046, 1008, 908, 727, 696, 602.

**HRMS** ( $\text{ESI}^+$ ; m/z): berechnet für  $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_8\text{Na}^+$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$  557.2146, gefunden: 557.2137.

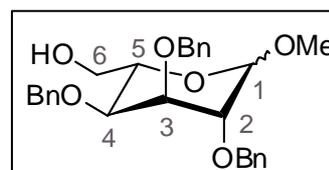
**Synthese von Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid 137**

Es wurden 26 mg Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **135** (0.051 mmol) in 3 mL einer 1%igen methanolischen NaOH-Lösung gelöst und 1 h bei Rt gerührt. Anschließend wurde die Lösung durch Zugabe von 1 M HCl neutralisiert und mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 2:1 v/v als Eluenten gereinigt.

**Ausbeute:** 19 mg (0.041 mmol, 90%) eines farblosen Öls;

**Summenformel:**  $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_6$ ; **Molgewicht:** 464.55 g/mol;

**$R_f$**  (PE/EE 2:1 v/v): 0.20; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 3:1$ .



**$\alpha$ - $^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.34-7.20 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 4.79-4.76 (m, 2H, H-1, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.59-4.41 (m, 5 H, Bn- $\text{CH}_2$ ), 3.95-3.89 (m, 2 H, H-4, H-6), 3.82-3.75 (m, 2 H, H-5, H-6), 3.73 (t, 1 H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.39$  Hz, H-3), 3.62-3.59 (m, 1 H, H-2), 3.53 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ).

**$\alpha$ - $^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 138.5, 138.2, 138.0 (je  $\text{C}_q$ ), 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8 (je  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 100.5 (C1), 75.5 (C-2), 74.0 (Bn- $\text{CH}_2$ ), 73.8 (C3), 73.6 (C5), 73.2 (C4), 73.1 (Bn- $\text{CH}_2$ ), 72.0 (Bn- $\text{CH}_2$ ), 63.0 (C6), 57.4 ( $\text{OCH}_3$ )

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3442, 2923, 1496, 1454, 1363, 1206, 1075, 1028, 735, 698.

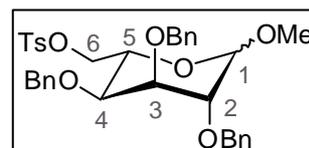
**HRMS** (ESI $^+$ ; m/z): berechnet für  $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_6\text{Na}^+$  [M+Na] $^+$  487.2091, gefunden: 487.2091.

**Synthese von Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-tosyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid 139**

Zunächst wurden 8.0 mg Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **135** (0.016 mmol) in 0.5 mL 1%iger methanolischer NaOH gelöst und 1 h bei Rt gerührt. Anschließend wurde die Lösung durch Zugabe von 1 M HCl neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt.

Der Rückstand wurde anschließend in abs. Pyridin aufgenommen, in einen Schlenk-Kolben überführt und mehrmals coevaporiert. Dann wurde der Zucker in 1 mL abs. Pyridin gelöst und einige Kugeln aktiviertes Molsieb (4Å) hinzugegeben. Nun erfolgte die Tosylierung in der 6-Position nach **AAV 10** unter Verwendung von 3.7 mg DMAP (0.030 mmol, 1.9 Äq.) und 4.5 mg TsCl (0.023 mmol, 1.4 Äq.) in 0.5 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

**Ausbeute:** 2.3 mg (3.7  $\mu$ mol, 23% über 2 Stufen) eines gelben Öls; **Summenformel:**  $C_{35}H_{38}O_8S$ ; **Molgewicht:** 618.74 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE 3:1 v/v): 0.73; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein.



**$\alpha$ - $^1$ H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.77 (d, 2H,  $^3J_{HH} = 8.3$  Hz, Ts-CH<sub>ar</sub>), 7.34-7.17 (m, 17H, Bn-CH<sub>ar</sub>, Ts-CH<sub>ar</sub>), 4.78 (d, 1H,  $^2J_{HH} = 12.6$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.64 (d, 1H,  $^3J_{HH} = 1.1$  Hz, H-1), 4.50-4.40 (m, 3H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.33-4.28 (m, 3H, H-6, 2x Bn-CH<sub>2</sub>), 4.16 (dd,  $^2J_{HH} = 10.2$  Hz,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz, H-6), 4.05 (ddd, 1H,  $^3J_{HH} = 8.6$  Hz,  $^3J_{HH} = 6.0$  Hz,  $^3J_{HH} = 2.6$  Hz, H-5), 3.70-3.66 (m, 2H, H-3, H-4), 3.60 (dd, 2H,  $^3J_{HH} = 4.1$  Hz,  $^3J_{HH} = 1.2$  Hz, H-2), 3.43 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.40 (s, 3H, Ts-CH<sub>3</sub>).

**Anmerkung:** Die erhaltene Substanzmenge war so gering, dass diese nicht zur vollständigen Charakterisierung des Produktes ausreichte.

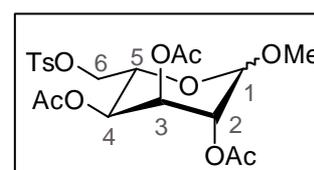
### Synthese von Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-O-tosyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid 142

Es wurden 45 mg Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **123** (0.081 mmol) gemäß **AAV 5.2** debenzyliert.

Anschließend wurde der erhaltene Rückstand nach **AAV 10** in 1.5 mL abs. Pyridin gelöst, mit 17 mg DMAP (0.089 mmol, 1.1 Äq.) und dann mit 12 mg TsCl (0.065 mmol, 0.8 Äq.) gelöst in 0.5 mL  $CH_2Cl_2$  versetzt. Nach 4 h Rühren bei Rt erfolgte die Zugabe von 0.1 mL Essigsäureanhydrid und die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Rt gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluenten gereinigt.

Neben der Bildung des gewünschten Produktes **142**, kam es bei dieser Reaktion außerdem zur Bildung einer Vielzahl anderer Produkte (durch unselektive Tosylierungs- und Acetylierungsreaktionen), die hier nicht weiter charakterisiert wurden. Da **142** auch nach mehrfacher chromatographischer Reinigung von diesen nicht getrennt werden konnte, erfolgte folgende Charakterisierung aus einer Mischfraktion. Eine genaue Bestimmung der Ausbeute war nicht möglich.

**Ausbeute:** 8.0 mg eines farblosen Öls eines Produktgemisches; **Summenformel:**  $C_{20}H_{26}O_{11}S$ ; **Molgewicht:** 474.48 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE 1:1 v/v): 0.64; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 5:1$ .



**$\alpha$ - $^1$ H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.80-7.78 (m, 2H, Ts-CH<sub>ar</sub>), 7.36-7.34 (m, 2H, Ts-CH<sub>ar</sub>), 5.34 (dd, 1H,  $^3J_{HH} = 5.6$  Hz,  $^3J_{HH} = 3.3$  Hz, H-3), 5.08-5.06 (m, 2H, H-2, H-4), 4.79

(d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 2.0$  Hz, H-1), 4.18 (dd, 2H,  $^3J_{\text{HH}} = 4.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.3$  Hz, H-6), 4.12-4.08 (m, 1H, H-5), 3.46 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.46 (s, 3H, Ts-CH<sub>3</sub>), 2.10, 2.03, 1.99 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 130.2, 128.2 (Ts-C<sub>q</sub>), 98.9 (C-1), 71.4 (C-5), 68.7 (C-6), 68.3 (C-4), 68.7 (C-3), 68.4 (C-2), 57.5 (OCH<sub>3</sub>), 21.9 (Ts-CH<sub>3</sub>), 21.1, 20.9, 20.8 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

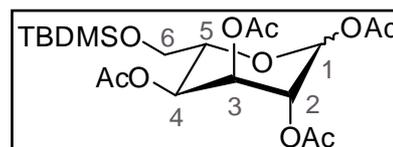
IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 1748, 1449, 1370, 1219, 1191, 1099, 1059, 1019, 667, 555.

HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>11</sub>S<sup>+</sup> [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> 492.1534, gefunden: 492.1539; berechnet für C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>NaO<sub>11</sub>S<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup> 497.1083, gefunden: 497.1091.

### Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-tertbutyldimethylsilyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose 143

Es wurden 100 mg 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- $\beta$ -L-altrofuranose **48** (0.38 mmol, 1.0 Äq.) in 4 mL eines Dioxan/Wasser-Gemisches (v/v 1:1) gelöst und 6 Stunden bis zur vollständigen Spaltung der Isopropyliden-Acetale (DC-Kontrolle, PE/EE v/v 1:1) über Amberlite® IR 120 gerührt. Anschließend wurde filtriert, das Filtrat in einen Schlenk-Kolben überführt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Dann wurde mehrmals mit abs. Pyridin coevaporiert, einige Kugeln aktiviertes Molsieb (4 Å) hinzugefügt und der Rückstand in 2 mL abs. Pyridin gelöst. Nach Zugabe von 50 mg Imidazol (0.73 mmol, 1.9 Äq.) wurden portionsweise 57.5 mg TBDMS-Chlorid (0.38 mmol, 1.0 Äq.) hinzugefügt und 45 Minuten bei Rt gerührt. Nach Zugabe von 0.36 mL Essigsäureanhydrid (3.8 mmol, 10 Äq.) wurde die Reaktionslösung über Nacht bei Rt gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum vollständig entfernt und dreimal mit Toluol coevaporiert. Der Rückstand wurde in EE und Wasser aufgenommen und die Phasen getrennt. Die organische Phase wurde dreimal mit Natriumhydrogencarbonatlösung und zweimal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem PE und einem EE-Gradienten (4:1 → 2:1) als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 45.7 mg (98.8  $\mu$ mol, 26% über 3 Stufen) eines farblosen Öls; **Summenformel:** C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>10</sub>Si; **Molgewicht:** 462.56 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1, v/v): 0.94, **Anomeren-verhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1:0.3$ .



$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.93 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 4.0$  Hz, H-1), 5.19-5.15 (m, 2H, H-3, H-5), 4.55 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.9$  Hz, H-2), 4.25 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.8$  Hz, H-4), 3.86 (dq,

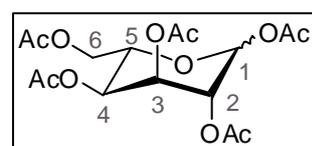
2H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.5$  Hz,  $^2J_{\text{HH}} = 11.4$  Hz, H-6), 2.10, 2.09, 1.56, 1.29 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 0.88 (s, 9H, *tert*Bu-CH<sub>3</sub>), 0.04 (s, 6H, Silyl-CH<sub>3</sub>).

$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.3, 169.3, 169.7, 112.9 (je C=O), 106.2 (C-1), 84.9 (C-2), 82.9 (C-4), 77.7 (C-3), 72.8 (C-5), 61.5 (C-6), 26.7 (C(O)CH<sub>3</sub>), 26.0 (*tert*Bu-CH<sub>3</sub>, C(O)CH<sub>3</sub>), 21.2, 21.0 (je C(O)CH<sub>3</sub>), -5.3 (Silyl-CH<sub>3</sub>),

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2932, 2857, 1749, 1373, 1230, 1099, 1058, 836, 778.

Neben der gewünschten 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-*tert*butyldimethylsilyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **143** wurde bei dieser Synthese auch Penta-O-acetyl-L-altropyranose **144** erhalten, welche im Folgenden ebenfalls charakterisiert werden soll.

**Ausbeute:** 47.5 mg (0.122 mmol, 32% über 3 Stufen) eines farblosen Öls; **Summenformel:** C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>; **Molgewicht:** 390.34 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:1 v/v): 0.54; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 2.5:1$ .



$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 6.14 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 1.8$  Hz, H-1), 5.43 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.3$  Hz, H-3), 5.23-5.17 (m, 2H, H-2, H-4), 4.30-4.27 (m, 1H, H-6), 4.22-4.18 (m, 1H, H-6, H-5), 2.15, 2.12, 2.10, 2.08, 2.03 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.6, 169.5, 169.4, 169.2, 168.7 (je C=O), 90.1 (C-1), 72.2 (C-2), 67.3 (C-3), 66.6 (C-4), 65.5 (C-5), 62.7 (C-6), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>NaO<sub>11</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 413.1060, gefunden: 413.1048.

### Versuch der Darstellung von Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **141**

6.0 mg Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-L-altropyranosid **137** (0.013 mmol, 1.0 Äq.) wurden in 1 mL abs. Dichlormethan gelöst und mit 0.1 mL abs. Pyridin versetzt. Anschließend wurde die Lösung auf -10 °C gekühlt, mit 4.0  $\mu$ L Trifluormethansulfonsäureanhydrid (0.024 mmol, 2.0 Äq.) und 1 h bei dieser Temperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurden 10 mL kaltes Wasser hinzugegeben und 3 mal mit je 10 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Erhaltener Rückstand wurde in Pyridin gelöst, in einen Schlenk Kolben überführt und anschließend mit Pyridin coevaporiert. Das Triflat wurde in 1 mL abs. THF gelöst und mit 1 mg LiAlH<sub>4</sub> versetzt. Nach 24 h Rühren bei Rt wurde die Reaktion durch Zugabe von 2 mL CH<sub>3</sub>OH gestoppt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum, wurde der Rückstand in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aufgenommen und mehrmals mit Wasser

gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Es konnte kein Produkt erhalten werden.

### Testreaktionen zur selektiven De-O-benzilylierung Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **116**

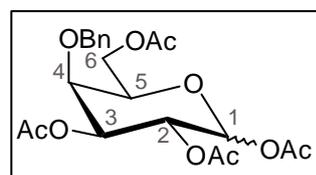
#### Synthese von 1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-4-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **130**

Es wurden 196 mg Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **116** (0.353 mmol) in 25 mL Essigsäureanhydrid (0.227 mol) gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit 0.38 mL Bor(III)-fluorid-Diethyletherat-lösung (2.90 mmol) versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf Rt erwärmt und 16 h bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes gerührt. Anschließend wurde die Lösung durch Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 3:1 v/v gereinigt. Dabei wurde nicht der erwartete vollständig acetylierte Zucker erhalten, sondern ausschließlich 1,2,3,6-Tetra-O-acetyl-4-O-benzyl-D-galactopyranose **130**.

**Ausbeute:** 149 mg (0.340 mmol, 97%) eines farblosen Öls;

**Summenformel:** C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub>; **Molgewicht:** 438.43 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 3:1 v/v): 0.25; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ : $\beta$   $\approx$  2:1.



**$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.35-7.31 (m, 5H, CH<sub>ar</sub>), 6.36 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.7 Hz, H-1), 5.52 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.7 Hz, H-2), 5.29 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, H-3), 4.73 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.4 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.54 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.4 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.22-4.15 (m, 2H, H-5, H-6), 4.10-4.04 (m, 2H, H-4, H-6), 2.13 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>-C1), 2.05 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>-C3), 2.01 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>-C2), 2.00 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>-C6).

**$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.6 (C3-C=O), 170.5 (C6-C=O), 169.9 (C2-C=O), 169.2 (C1-C=O), 137.4 (C<sub>q</sub>), 128.7, 128.5, 128.3, 128.2 (CH<sub>ar</sub>), 90.2 (C-1), 70.5 (Bn-CH<sub>2</sub>), 74.4 (C-4), 70.6 (C-5), 70.5 (C-3), 67.1 (C-2), 62.4 (C-6), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 1745, 1433, 1371, 1217, 1137, 1048, 1012, 935, 739, 701, 601.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>NaO<sub>10</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 461.1418, gefunden: 461.1419; berechnet für C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>NO<sub>10</sub><sup>+</sup> [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>: 456.1864, gefunden: 456.1865.

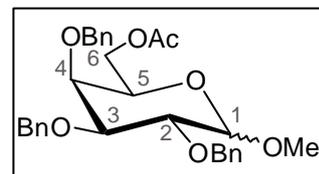
### Synthese von Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosid **131** und 1,6-Di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **132**

Die Durchführung erfolgte gemäß **AAV 5.3**. Es wurden 201 mg  $\text{ZnCl}_2$  (1.47 mmol, 6.8 Äq.), 117 mg Methyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **126** (0.216 mmol, 1.0 Äq.) und 2 mL einer Mischung aus Essigsäure und Essigsäureanhydrid und in 1 mL Essigsäure eingesetzt. Es wurde neben Edukt sowohl Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosid **131** als auch Di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **132** erhalten.

**Ausbeute:** 42 mg Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosid **131** (82  $\mu\text{mol}$ , 39%) eines farblosen Öls; 29 mg 1,6-Di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **132** (54  $\mu\text{mol}$ , 25%) eines farblosen Öls.

#### Charakterisierung von Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosid **131**

**Summenformel:**  $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{O}_7$ ; **Molgewicht:** 506.59 g/mol;  
 **$R_f$  (PE/EE 3:1 v/v):** 0.48; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein.

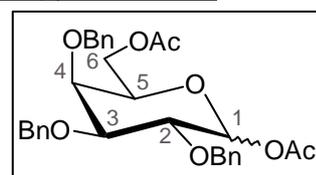


**$\beta$ - $^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.38-7.20 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 4.97 (d, 1H, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.7$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.91 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.0$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.82 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.8$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.75 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.1$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.1$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.27 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H-1), 4.24 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.3$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.4$  Hz, H-6), 4.07 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.1$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.4$  Hz, H-6), 3.83 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 9.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7$  Hz, H-2), 3.79-3.74 (m, 1H, H-4), 3.55-3.51 (m, 2H, H-5, H-3), 3.56 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 1.97 (s, 3H,  $\text{C(O)-CH}_3$ ).

**$\beta$ - $^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 170.8 (C=O), 139.0, 138.7, 138.5 (je Aryl- $\text{C}_q$ ), 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 105.2 (C-1), 82.4 (C-3), 79.8 (C-2), 75.4, 74.5, 73.7 (je Bn- $\text{CH}_2$ ), 73.2 (C-4), 72.3 (C-5), 63.3 (C-6), 57.2 ( $\text{OCH}_3$ ), 21.0 (Acetyl- $\text{CH}_3$ ).

#### Charakterisierung von 1,6-Di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **132**

**Summenformel:**  $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_8$ ; **Molgewicht:** 534.60 g/mol;  
 **$R_f$  (PE/EE 3:1 v/v):** 0.45; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 3:1$ .



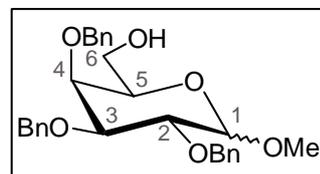
**$\alpha$ - $^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.34-7.19 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 6.35 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.7$  Hz, H-1), 4.94 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.4$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.83 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.7$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.58 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.4$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.73-4.65 (m, 3H, Benzyl- $\text{CH}_2$ ), 4.14 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 9.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.7$  Hz, H-2), 4.10 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.7$  Hz, H-6), 4.03 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.1$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 5.8$  Hz, H-6), 3.99 (m, 1H, H-5), 3.89-3.88

(m, 1H, H-4), 3.85 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.7$  Hz, H-3), 2.07 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.93 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.6, 169.5 (je C=O), 138.6, 138.1, 138.0 (je C<sub>q</sub>), 128.6, 128.5, 128.4, 128.1, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5 (CH<sub>ar</sub>), 90.8 (C-1), 78.7 (C-3), 75.5 (C-2), 74.8 (Bn-CH<sub>2</sub>), 74.3 (C-4), 73.6, 73.5 (je Bn-CH<sub>2</sub>), 70.9 (C-5), 63.2 (C-6) 21.2, 20.9 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

### Synthese von Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosid 133

Es wurden 40 mg Methyl-6-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **131** (0.079 mmol) in 2.5 mL einer 1%igen methanolischen NaOH-Lösung gelöst und 1 h bei Rt gerührt. Anschließend wurde die Lösung durch Zugabe von 1 M HCl neutralisiert und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 2:1 v/v als Eluenten gereinigt.



**Ausbeute:** 33 mg (0.070 mmol, 89%) eines farblosen Öls; **Summenformel:** C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub>; **Molgewicht:** 464.55 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 2:1 v/v): 0.21; **Anomerenverhältnis:**  $\beta$ -anomerenrein.

$\beta$ -<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.38-7.28 (m, 15H, CH<sub>ar</sub>), 4.96 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.8$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.91 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.0$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.81 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.9$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.76 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 10.8$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.74 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.9$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.66 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.8$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.29 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 7.6$  Hz, H-1), 3.83 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 7.7$  Hz, H-2), 3.80-3.76 (m, 2H, H-5, H-6), 3.56 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.53 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.7$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.0$  Hz, H-3), 3.52-3.47 (m, 1H, H-6), 3.40-3.36 (m, 1H, H-4), 1.49 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.6$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.1$  Hz, OH).

$\beta$ -<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 138.6, 138.5, 138.2 (je C<sub>q</sub>), 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.8, 127.7, 127.6 (CH<sub>ar</sub>), 105.3 (C-1), 82.4 (C-3), 79.9 (C-2), 75.3 (Bn-CH<sub>2</sub>), 74.6 (C-4), 74.3 (Bn-CH<sub>2</sub>), 73.5 (Bn-CH<sub>2</sub>), 73.0 (C-5), 62.2 (C-6), 57.2 (OCH<sub>3</sub>).

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose

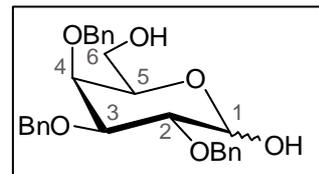
Es wurden 26 mg 1,6-Di-O-acetyl-2,3,4-tri-O-benzyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **132** (0.049 mmol) in 2 mL einer 1%igen methanolischen NaOH-Lösung gelöst und 1 h bei Rt gerührt. Anschließend wurde die Lösung durch Zugabe von 1 M HCl neutralisiert und mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase über Natriumsulfat wurde das

Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 2:1 v/v als Eluenten gereinigt.

**Ausbeute:** 19 mg (0.042 mmol, 87%) eines farblosen Öls;

**Summenformel:**  $C_{27}H_{30}O_6$ ; **Molgewicht:** 450.52 g/mol;

**$R_f$**  (PE/EE 2:1 v/v): 0.13 ; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1.3:1$ .



**$\alpha$ - $^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.35-7.24 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 5.25 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.2$  Hz, H-1), 4.90 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.7$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.77 (d, 2H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.3$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.71 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 10.9$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.66 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.7$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.58 (d, 2H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.6$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 3.99 (dd, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 9.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, H-2), 3.95-3.92 (m, 1H, H-5), 3.87-3.84 (m, 2H, H-3, H-4), 3.73-3.65 (m, 1H, H-6), 3.52-3.39 (m, 2H, H-6), 3.23 (s, 1H, OH).

**$\alpha$ - $^{13}\text{C-NMR}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 138.7, 138.4, 138.3 (je Aryl- $\text{C}_q$ ), 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 92.0 (C-1), 78.9 (C-3), 76.8 (C-2), 74.8 (C-4), 74.5, 73.7, 73.4 (je Bn- $\text{CH}_2$ ), 71.0 (C-5), 62.5 (C-6).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3403, 2924, 1496, 1453, 1209, 1077, 1027, 736, 697.

**HRMS** (ESI $^+$ ; m/z): berechnet für  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{Na}^+$  [M+Na] $^+$  473.5133, gefunden: 473.1936.

### 11.2.9.1 Synthese von 6-Desoxy-L-altrose

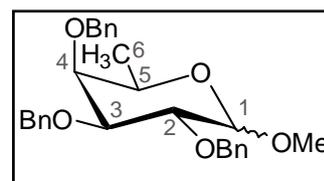
#### Darstellung von Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid 147

Es wurden 6.90 g  $\alpha$ -D-Fucose **D-15** (42.0 mmol) in 150 mL abs. Methanol gelöst, mit 0.30 mL konz. Salzsäure versetzt und 30 Minuten mit Hilfe eines Mikrowellengerätes unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung durch Zugabe von ges. Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in der folgenden Reaktion nach **AAV 16** eingesetzt. Dabei wurden 7.40 g Methyl-6-desoxy-D-galactopyranosid (41.5 mmol, 1.0 Äq.), 5.97 g Natriumhydrid (0.249 mol, 6.0 Äq.), 25.4 mL Benzylbromid (214 mmol, 5.1 Äq.) und 200 mL DMF eingesetzt.

**Ausbeute:** 12.05 g (26.86 mmol, 65%) eines farblosen Sirups;

**Summenformel:**  $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_5$ ; **Molgewicht:** 448.55 g/mol;

**$R_f$**  (PE/EE 4:1 v/v): 0.51; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1:0.9$ .



**$\alpha$ - $^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.41-7.26 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 4.98 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.6$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.88 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.0$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.93 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 12.1$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.75-4.71 (m, 2H, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.68-4.64 (m, 1H, H-1, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.04 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} =$

10.1 Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, H-2), 3.93 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 10.1$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.8$  Hz, H-3), 3.84 (q, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.4$  Hz, H-5), 3.64 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 2.4$  Hz, H-4), 3.54 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.12 (d, 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.4$  Hz, CH<sub>3</sub>).

$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 139.1, 138.8, 138.7 (je C<sub>q</sub>), 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6 (CH<sub>ar</sub>), 98.9 (C-1), 79.6 (C-3), 78.1 (C-4), 76.5 (C-2), 75.0, 73.6, 73.5 (je Bn-CH<sub>2</sub>), 66.2 (C-5), 55.4 (OCH<sub>3</sub>), 16.8 (CH<sub>3</sub>).

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3029, 2768, 1606, 1495, 1453, 1369, 1099, 1042, 945, 733, 695, 613, 451.

HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 471.2147, gefunden: 471.2135.

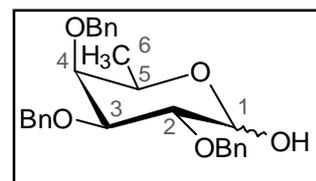
### Darstellung von 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose 148

Es wurden 12.05 g Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid **147** (26.86 mmol) nach **AAV 17** in 330 mL des Gemisches aus konz. Essigsäure, 1 M Salzsäure und Wasser umgesetzt.

**Ausbeute:** 7.28 g (16.8 mmol, 63%) eines farblosen Sirups;

**Summenformel:** C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>; **Molgewicht:** 434.52 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (PE/EE 4:1 v/v): 0.20; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1:0.7$ .



$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.40-7.28 (m, 15H, CH<sub>ar</sub>), 5.27 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, H-1), 4.98 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.6$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.84-4.81 (m, 2H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.76 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.7$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.72 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.7$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.67 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.5$  Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.11-4.09 (m, 1H, H-5), 4.04 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.6$  Hz, H-2), 3.90 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.8$  Hz, H-3), 3.67 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 1.9$  Hz, H-4), 1.14 (d, 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz, CH<sub>3</sub>).

$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 138.8, 138.7, 138.3 (je C<sub>q</sub>), 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.6 (CH<sub>ar</sub>), 92.0 (C-1), 79.2 (C-4), 77.3 (C-3), 76.7 (C-2), 66.8 (C-5), 74.9, 73.7, 73.1 (je Bn-CH<sub>2</sub>), 16.9 (CH<sub>3</sub>).

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3403, 3030, 2931, 2869, 1496, 1453, 1206, 1092, 999, 910, 733, 695, 607, 505, 460.

HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>NaO<sub>5</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 457.1991, gefunden: 457.1988.

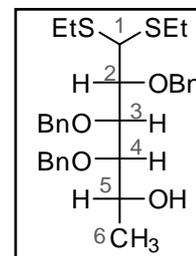
### Darstellung von 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy-D-galactopyranose-diethyl-dithioacetal **149**

Die Reaktion erfolgte gemäß **AAV 18**. Es wurden 7.10 g 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose **148** (16.3 mmol) in 126 mL Ethanthiol und 13 mL Trifluoressigsäure eingesetzt.

Bei dieser Synthese kam es neben der Bildung des gewünschten Produktes **149** zur Bildung einer Reihe an Nebenprodukten (Dithioacetal **151** und Thioglycosid **150**), die während der chromatographischen Reinigung voneinander getrennt werden konnten und die im Folgenden vorgestellt werden.

2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy-D-galactopyranosediethyl-dithioacetal **149**

**Ausbeute:** 2.47 g (4.56 mmol, 28%) eines gelben Sirups; **Summenformel:** C<sub>31</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>; **Molgewicht:** 540.78 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 4:1 v/v): 0.68; **Drehwert:** [α]<sup>20</sup><sub>D</sub> = -13 °(c = 1, CHCl<sub>3</sub>).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.40-7.26 (m, 15H, CH<sub>ar</sub>), 4.82-4.80 (m, 4H, Bn-CH<sub>2</sub>-C2/C3), 4.74 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C4), 4.59 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C4), 4.28 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.6 Hz, H-3), 4.05-4.01 (m, 1H, H-5), 3.97-3.93 (m, 2H, H-2, H-1), 3.48-3.46 (m, 1H, H-4), 3.17 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, OH), 2.71-2.59 (m, 4H, Et-CH<sub>2</sub>), 1.19-1.23 (m, 9H, Et-CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>).

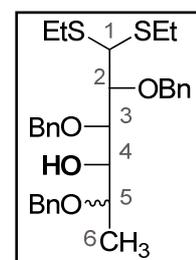
**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 138.8, 138.4, 138.2 (Aryl-C<sub>q</sub>), 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 123.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8 (CH<sub>ar</sub>), 83.0 (C-2), 82.1 (C-4), 81.3 (C-3), 75.4 (Bn-CH<sub>2</sub>-C3), 74.8 (Bn-CH<sub>2</sub>-C2), 73.5 (Bn-CH<sub>2</sub>-C4), 67.4 (C-5), 54.0 (C-1), 25.5, 25.4 (je Et-CH<sub>2</sub>), 20.1 (CH<sub>3</sub>), 14.6 (2x Et-CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3029, 2978, 2922, 2853, 1496, 1373, 1206, 1067, 1026, 732, 694, 459.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>31</sub>H<sub>40</sub>NaO<sub>4</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>[M+Na]<sup>+</sup>: 563.2266, gefunden: 563.2258.

2,3,5-Tri-O-benzyl-6-desoxy-D-galactopyranose-diethyl-dithioacetal **151**

**Ausbeute:** 2.82 g (5.22 mmol, 32%) eines gelben Sirups; **Summenformel:** C<sub>31</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>; **Molgewicht:** 540.78 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 4:1 v/v): 0.74; **Drehwert:** [α]<sup>20</sup><sub>D</sub> = -45 °(c = 1, CHCl<sub>3</sub>).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.33-7.14 (m, 15H, CH<sub>ar</sub>), 4.81 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.1 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C2), 4.72 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.1 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C2), 4.63 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C3), 4.56 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C4), 4.36 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C3), 4.24 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C4), 4.09 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, H-1), 4.01 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.1 Hz, H-3), 3.94 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.1 Hz, H-2), 3.79 (dq, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.4 Hz, H-5), 3.54 (dt, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.6 Hz, H-4), 2.66-2.39 (m, 4H, Et-CH<sub>2</sub>), 2.40 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, OH), 1.24 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.14 (dt, 6H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.8 Hz, Et-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 138.8, 138.7, 138.5 (Aryl-C<sub>q</sub>), 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 123.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.6, 127.5 (CH<sub>ar</sub>), 82.8 (C-2), 79.0 (C-3), 75.3

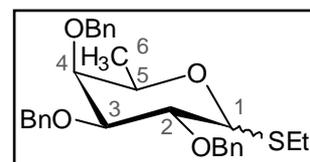
(C-4), 75.2 (Bn-CH<sub>2</sub>-C2), 74.0 (Bn-CH<sub>2</sub>-C3), 73.0 (C-5), 70.4 (Bn-CH<sub>2</sub>-C5), 53.8 (C-1), 25.9, 25.1 (je Et-CH<sub>2</sub>), 16.3 (CH<sub>3</sub>), 14.6, 14.5 (2x Et-CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3029, 2978, 2922, 2853, 1496, 1373, 1206, 1067, 1026, 732, 694, 459.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>31</sub>H<sub>40</sub>NaO<sub>4</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>[M+Na]<sup>+</sup>: 563.2266, gefunden: 563.2238.

Ethyl-1-thio-2,3,5-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid 150<sup>167,240</sup>

**Ausbeute:** 2.89 g (6.03 mmol, 37%) eines gelben Sirups; **Summenformel:** C<sub>29</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>S; **Molgewicht:** 478.64 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 4:1 v/v): 0.82, **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein.



**$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.33-7.16 (m, 15H, CH<sub>ar</sub>), 5.39 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, H-1), 4.91 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.79 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.68 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.64-4.57 (m, 3H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.21 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.5 Hz, H-2), 4.12 (q, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-5), 3.71 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.8 Hz, H-3), 3.56 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.1 Hz, H-4), 2.53-2.37 (m, 2H, Et-CH<sub>2</sub>), 1.19 (t, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, Et-CH<sub>3</sub>), 1.06 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>).

**$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 139.0, 138.7, 138.4 (Aryl-C<sub>q</sub>), 128.5, 128.4, 128.4, 128.3, 128.0, 127.9, 127.8, 128.7, 127.6, 127.5 (CH<sub>ar</sub>), 83.5 (C-1), 79.9 (C-3), 77.9 (C-4), 76.2 (C-2), 75.0, 73.5, 72.5 (je Bn-CH<sub>2</sub>), 66.7 (C-5), 23.8 (Et-CH<sub>2</sub>), 16.7 (CH<sub>3</sub>), 14.9 (Et-CH<sub>3</sub>).

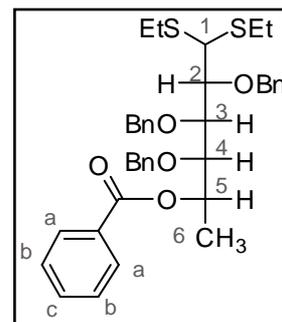
**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 2871, 1496, 1453, 1360, 1207, 1066, 1027, 910, 732, 695, 637, 595, 460.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>34</sub>NaO<sub>4</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup>[M+Na]<sup>+</sup>: 501.2070, gefunden: 501.2060.

### Darstellung von 5-O-Benzoyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy-L-altropyranosyediethyl-dithioacetal 154

Die Durchführung erfolgte gemäß **AAV 19**. Es wurden 5.26 g 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy-D-galactopyranosyediethyl-dithioacetal **149** (9.23 mmol, 1.0 Äq.), 3.66 g Benzoesäure (30.0 mmol, 3.3 Äq.), 7.61 g Triphenylphosphin (30.0 mmol, 3.3 Äq.), 5.80 mL DIAD (5.97 g, 29.5 mmol, 3.2 Äq.) und insgesamt 250 mL abs. Diethylether verwendet.

**Ausbeute:** 3.63 g (5.63 mmol, 61%) eines gelben Sirups; **Summenformel:** C<sub>38</sub>H<sub>44</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>; **Molgewicht:** 644.88 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 4:1 v/v): 0.86; **Drehwert:**  $[\alpha]_D^{23} = +3^\circ$  (c = 2.6, CHCl<sub>3</sub>).



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.01-8.00 (m, 2H, Bz-CHa), 7.58-7.54 (m, 1H, Bz-CHc), 7.45-7.42 (m, 2H, Bz-CHb), 7.39-7.23 (m, 15H, CH<sub>ar</sub>), 5.47 (dq, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.6 Hz, H-5), 4.85 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.6 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C4), 4.82-4.79 (m, 5H, Bn-CH<sub>2</sub>), 4.63 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.5 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C4), 4.18-4.15 (m, 1H, H-3), 4.12 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.0 Hz, H-1), 3.99 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.1 Hz, H-2), 3.92 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.7 Hz, H-4), 2.71-2.56 (m, 4H, Et-CH<sub>2</sub>), 1.43 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.17 (dt, 6H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, Et-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 160.4 (C=O), 139.0 (Aryl-C<sub>q</sub>-C2), 138.7 (Aryl-C<sub>q</sub>-C3), 138.5 (Aryl-C<sub>q</sub>-C4), 133.2, 129.8 (je Bz-C<sub>q</sub>), 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.0, 127.9, 127.8, 127.5 (CH<sub>ar</sub>), 84.1 (C-2), 81.6 (C-4), 80.2 (C-3), 75.7 (Bn-CH<sub>2</sub>-C2), 74.9 (Bn-CH<sub>2</sub>-C3), 73.5 (Bn-CH<sub>2</sub>-C4), 72.5 (C-5), 54.7 (C-1), 25.6, 25.4 (je Et-CH<sub>2</sub>), 15.3 (CH<sub>3</sub>), 14.7, 14.6 (je Et-CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>] = 3062, 3030, 2963, 2868, 1715, 1496, 1271, 1211, 1090, 1067, 734, 711.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>38</sub>H<sub>44</sub>NaO<sub>5</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 667.2528, gefunden: 667.2522; berechnet für C<sub>38</sub>H<sub>48</sub>NO<sub>5</sub>S<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>: 662.2968, gefunden: 662.2968.

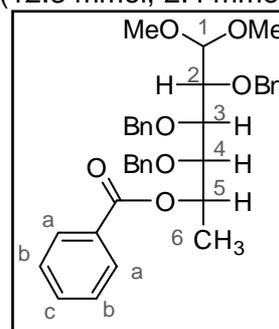
### Darstellung von 5-O-Benzoyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy-L-altropyranose-dimethyl-acetal **155**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 20** durchgeführt. Dabei wurden 3.26 g 5-O-Benzoyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy-L-altropyranose-diethyl-dithioacetal **154** (5.06 mmol), 3.33 g Quecksilberoxid (15.4 mmol, 3.0 Äq.), 3.33 g Quecksilber(II)chlorid (12.3 mmol, 2.4 mmol) und 200 mL abs. Methanol verwendet.

**Ausbeute:** 2.63 g (4.50 mmol, 89%) eines farblosen Öls;

**Summenformel:** C<sub>36</sub>H<sub>40</sub>O<sub>7</sub>; **Molgewicht:** 584.70 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (Toluol/Aceton 25:1 v/v): 0.43; **Drehwert:** [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> = -1 ° (c=1.2, CHCl<sub>3</sub>).



**<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8.00 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, Bz-CHa), 7.55 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, Bz-CHc), 7.45-7.41 (m, 2H, Bz-CHb), 7.37-7.22 (m, 15H, CH<sub>ar</sub>), 5.60 (dq, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.5 Hz, H-5), 4.90 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.5 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C4), 4.84 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.7 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C2), 4.75 (s, 2H, Bn-CH<sub>2</sub>-C3), 4.58-4.55 (m, 2H, H-1, Bn-CH<sub>2</sub>-C2), 4.42 (d, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.5 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>-C4), 4.08 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, H-4), 3.83 (ddd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 10.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, H-3, H-2), 3.42 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.34 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 1.38 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 165.6 (C=O), 139.1, 138.7, 138.4 (je Aryl- $\text{C}_q$ ), 133.0 (Bz-CHc), 129.7 (Bz-CHa), 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 127.8, 127.7, 127.6, 127.4 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 105.6 (C-1), 80.2 (C-4), 78.9 (C-3), 78.3 (C-2), 74.2 (Bn- $\text{CH}_2$ -C2), 73.9 (Bn- $\text{CH}_2$ -C3), 73.4 (Bn- $\text{CH}_2$ -C4), 72.8 (C-5), 56.2, 54.3 (je  $\text{OCH}_3$ ), 14.5 ( $\text{CH}_3$ ).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3030, 2933, 1715, 1496, 1452, 1272, 1068, 1026, 734, 712, 697.

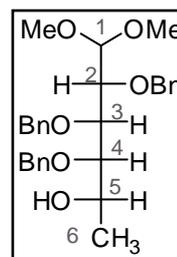
**HRMS (ESI $^+$ ; m/z):** berechnet für  $\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{NaO}_7^+$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ : 607.2672, gefunden: 607.2675; berechnet für  $\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{NO}_7^+$  [ $\text{M}+\text{NH}_4$ ] $^+$ : 602.3112, gefunden: 602.3125.

### Darstellung von 2,3,4,-Tri-O-benzyl-6-desoxy-L-altropyranose-dimethylacetal 156

Es wurden 2.06 g **155** (3.53 mmol) in 400 mL einer methanolischen Natriumhydroxid-Lösung (1%) gelöst und 2 h bei Rt gerührt. Anschließend wurde die Lösung durch Zugabe von 1 M Salzsäure neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/Aceton 25:1 v/v als Eluent gereinigt.

**Ausbeute:** 1.27 g (2.65 mmol, 75%) eines farblosen Öls;

**Summenformel:**  $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_6$ ; **Molgewicht:** 480.59 g/mol;  **$R_f$**  (Toluol/Aceton 25:1 v/v): 0.22; **Drehwert:**  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -11^\circ$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).



**$^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.26-7.18 (m, 20H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 4.74 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.5$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ -C2), 4.67-4.63 (m, 2H, Bn- $\text{CH}_2$ -C3), 4.59 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.5$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ -C2), 4.50 (d, 1H,  $^2J_{\text{HH}} = 11.5$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ -C4), 4.46-4.42 (m, 2H, Bn- $\text{CH}_2$ -C4, H-1), 3.96-3.92 (m, 1H, H-5), 3.87 (t, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 4.2$  Hz, H-3), 3.68 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.8$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.8$  Hz, H-2), 3.48 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.9$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 4.9$  Hz, H-4), 3.37 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.29 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.73 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 3.7$  Hz, OH), 1.19 (d, 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.3$  Hz,  $\text{CH}_3$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 138.7, 138.7, 138.5 (je  $\text{C}_q$ ), 128.5, 128.4, 128.3, 128.1, 127.9, 127.8, 127.6 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 105.9 (C-1), 83.7 (C-4), 80.1 (C-3), 79.1 (C-2), 72.6 (Bn- $\text{CH}_2$ -C3), 74.1 (Bn- $\text{CH}_2$ -C2), 73.4 (Bn- $\text{CH}_2$ -C4), 68.3 (C-5), 56.2, 54.9 (je  $\text{OCH}_3$ ), 19.5 ( $\text{CH}_3$ ).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3271, 2096, 2932, 1497, 1454, 1394, 1330, 1206, 1089, 1070, 1027, 734, 697.

**HRMS (ESI $^+$ ; m/z):** berechnet für  $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{NaO}_6^+$  [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ : 503.2410, gefunden: 503.2406.

### Synthese von Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid 141

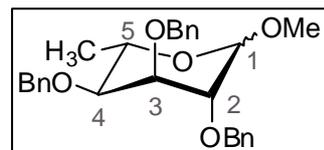
Die Reaktion erfolgte nach **AAV 21**. Dabei wurden 1.29 g 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy-L-altropyranose-dimethyl-acetal **156** (2.69 mmol) in 100 mL abs. Diethylether umgesetzt.

**Ausbeute:** 1.12 mg (2.50  $\mu\text{mol}$ , 93%) eines gelben Öls;

**Summenformel:**  $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_5$ ; **Molgewicht:** 448.55 g/mol;

**$R_f$**  (Toluol/Aceton 25:1 v/v): 0.55; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx$

1:0.13; **Drehwert**  $\alpha$ -Anomer:  $[\alpha]_D^{24} = +22^\circ$  ( $c=0.74$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).



**$\alpha$ - $^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 7.37-7.20 (m, 15H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 4.82 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 12.7$  Hz, Bn- $\text{CH}_2$ ), 4.70 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 1.2$  Hz, H-1), 4.55-4.39 (m, 5H, Bn- $\text{CH}_2$ ), 3.93 (dq, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 6.3$  Hz, H-5), 3.71 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 4.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.8$  Hz, H-3), 3.63 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 4.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.1$  Hz, H-2), 3.51 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.47 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 9.2$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 2.9$  Hz, H-4), 1.32 (d, 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.3$  Hz,  $\text{CH}_3$ ).

**$\alpha$ - $^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 138.9, 138.4, 138.3 (je Aryl- $\text{C}_q$ ), 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7 ( $\text{CH}_{\text{ar}}$ ), 100.4 (C-1), 78.5 (C-4), 75.6 (C-2), 74.0 (Bn- $\text{CH}_2$ ), 73.7 (C-3), 72.9, 72.0 (je Bn- $\text{CH}_2$ ), 69.4 (C-5), 57.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 18.3 ( $\text{CH}_3$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3029, 2897, 1496, 1453, 1390, 1367, 1327, 1245, 1210, 1090, 1053, 736, 698.

**HRMS** (ESI $^+$ ; m/z): berechnet für  $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{NaO}_5^+$  [M+Na] $^+$ : 471.2142, gefunden: 471.2132.

### Synthese von Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-deoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid 158

Zunächst wurden 1.10 g Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **141** (2.45 mmol, 1.0 Äq.) nach **AAV 5.2** in 50 mL Methanol debenzyliert und anschließend nach **AAV 6** acetyliert. Dabei wurden 30 mL abs. Pyridin und 2.10 mL Essigsäureanhydrid (22.1 mmol, 9.0 Äq.) verwendet.

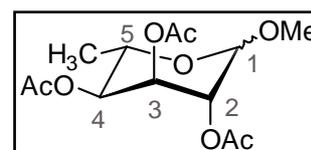
**Ausbeute:** 720 mg (2.37  $\mu\text{mol}$ , 97% über 2 Stufen) eines

gelben Öls; **Summenformel:**  $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_8$ ; **Molgewicht:**

304.29 g/mol;  **$R_f$**  (PE/EE 1:1 v/v): 0.30; **Anomerenverhältnis:**

$\alpha:\beta \approx 1:11$ ; **Drehwert:**  $\alpha$ -Anomer:  $[\alpha]_D^{24} = +34^\circ$  ( $c = 0.35$ ,

$\text{CHCl}_3$ ).



**$\beta$ - $^1\text{H-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 5.39 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.2$  Hz, H-3), 5.10 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 5.5$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, H-2), 4.95 (dd, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 8.0$  Hz,  $^3J_{\text{HH}} = 3.1$  Hz, H-4), 4.81 (d, 1H,  $^3J_{\text{HH}} = 1.7$  Hz, H-1), 4.00-3.93 (m, 1H, H-5), 3.50 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2.10, 2.10, 2.03 (je s, 3H,  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 1.33 (d, 3H,  $^3J_{\text{HH}} = 6.5$  Hz,  $\text{CH}_3$ ).

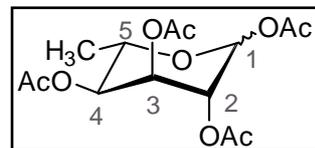
**$\beta$ - $^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 169.7, 169.6, 169.0 (je C=O), 98.7 (C-1), 71.1 (C-4), 69.5 (C-5), 68.7 (C-2), 67.1 (C-3), 57.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 21.0, 20.9, 20.8 (je  $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ ), 18.2 ( $\text{CH}_3$ ).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 2926, 1749, 1371, 1219, 1173, 1059, 1027, 940.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>NaO<sub>8</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 327.1056, gefunden: 327.1053

### Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose 161

Nach **AAV 6** wurden 55 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **160** (0.19 mmol) in 1 mL Pyridin mit 0.04 mL Essigsäureanhydrid (0.40 mmol, 2.0 Äq.) versetzt. Die Reaktionszeit betrug 1.5 h. **Ausbeute**: 60 mg (0.18 mmol, 98%)



eines gelben Öls; **Summenformel**: C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>; **Molgewicht**: 332.11 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:1 v/v): 0.52; **Anomerenverhältnis**:  $\alpha:\beta \approx 1:0.6$ .

**$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR**:  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 6.13-6.12 (m, 1H, H-1), 5.40 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-3), 5.16 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.8 Hz, H-2), 4.97 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-4), 4.13-4.06 (m, 1H, H-5), 2.15 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>-C2), 2.12 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>-C3), 2.04 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>-C4), 2.03 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>-C1), 1.31 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>).

**$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 170.0, 169.7, 169.4, 169.0 (je C=O), 90.2 (C-1), 70.5 (C-5), 70.3 (C-4); 67.8 (C-3), 66.9 (C-2), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 18.1 (CH<sub>3</sub>).

**$\beta$ -<sup>1</sup>H-NMR**:  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.93 (s, 1H, H-1), 5.26 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, H-3), 5.02-4.95 (m, 2H, H-2, H-4), 4.25 (dq, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 13.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-5), 2.14, 2.12, 2.09, 2.05 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.24 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>).

**$\beta$ -<sup>13</sup>C-NMR**:  $\delta$  [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 169.9, 169.4, 169.3, 168.8 (je C=O), 90.3 (C-1), 69.7 (C-4), 68.7 (C-2), 66.9 (C-3), 65.1 (C-5), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 17.2 (CH<sub>3</sub>).

**IR** (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2985, 1748, 1369, 1215, 1056, 1014, 960, 928.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>NaO<sub>9</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 355.1000, gefunden: 355.1005.

### Versuch der Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy-L-altropyranosylbromid 159

Ansatz 1: Gemäß **AAV 12.1** wurden 30 mg Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **141** (0.098 mmol) in 2 mL Dichlormethan mit 0.09 mL Bromwasserstoffsäure (33% in Eisessig, 5 Äq.) versetzt. Es konnte kein Produkt erhalten.

Ansatz 2: Gemäß **AAV 12.1** wurden 30 mg Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **141** (0.098 mmol, 1.0 Äq.) mit 0.09 mL Bromwasserstoffsäure (33% in Eisessig, 5.0 Äq.) versetzt. Als Lösungsmittel diente anstelle von CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> jedoch 1 mL Ac<sub>2</sub>O/AcOH (1:1, v/v). Es konnte kein Produkt erhalten.

**Ansatz 3:** Die Durchführung erfolgte nach **AAV 12.2**. Es wurden 30 mg Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **141** (0.098 mmol, 1.0 Äq.), 106 mg Titan(IV)bromid (0.288 mmol, 2.9 Äq.) und 2 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EE (9:1, v/v) verwendet. Bei diesem Versuch konnte kein Bromid **159** erhalten werden. Es wurde ausschließlich 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **160** erhalten, welches im Folgenden vorgestellt wird.

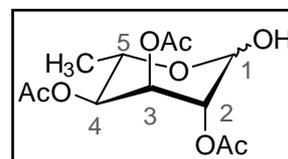
### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **160**

Bei dem Versuch 30 mg Methyl-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosid **141** (0.098 mmol, 1.0 Äq.) nach **AAV 12.2** (s.o.) mit 106 mg Titan(IV)bromid (0.288 mmol, 2.9 Äq.) in 2 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EE (9:1, v/v) in das entsprechende 1-Bromid **159** zu überführen, konnte fast ausschließlich 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **160** erhalten werden.

**Ausbeute:** 19 mg (0.065 mmol, 66%) eines gelben Öls;

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>; **Molgewicht:** 290.27 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (Toluol/Aceton 9:2 v/v): 0.20; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1:0.8$



**$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.32-5.30 (m, 1H, H-3), 5.02-5.01 (m, 1H, H-1), 4.98-4.94 (m, 2H, H-2, H-4), 4.30 (p, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.7 Hz, H-5), 3.39-3.37 (m, 1H, OH), 2.20, 2.13, 2.04 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.27-1.25 (m, 3H, CH<sub>3</sub>).

**$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 170.3, 169.9, 169.3 (je C=O), 92.1 (C-1), 70.3 (C-2), 70.2 (C-4), 67.6 (C-3), 64.0 (C-5), 21.0, 20.9, 20.8 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 17.1 (CH<sub>3</sub>).

**$\beta$ -<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.39 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, H-3), 5.18 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.3 Hz, H-1), 4.98-4.94 (m, 1H, H-2), 4.83 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-4), 4.02-3.96 (m, 1H, H-5), 3.39-3.37 (m, 1H, OH), 2.20, 2.12, 2.04 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.27-1.25 (m, 3H, CH<sub>3</sub>).

**$\beta$ -<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 170.3, 169.9, 169.3 (je C=O), 91.6 (C-1), 70.3 (C-2), 70.2 (C-4), 69.8 (C-5), 67.3 (C-3), 21.0, 20.9, 20.8 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 17.9 (CH<sub>3</sub>).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3436, 2981, 2939, 1742, 1432, 1370, 1213, 1047, 943, 912, 732.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>NaO<sub>8</sub><sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 313.0894, gefunden: 313.0895

### Synthese von Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranosylphosphat **162**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 13.1** durchgeführt. Es wurden 116 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha/\beta$ -L-altropyranose **160** (0.400 mmol, 1.0 Äq.), 58 mg DCI (0.49 mmol, 1.2 Äq.), 0.20 mL Bis-(benzyl)-*N,N*-diisopropyl-phosphoramidit (0.61 mmol, 1.5 Äq.), 139 mg

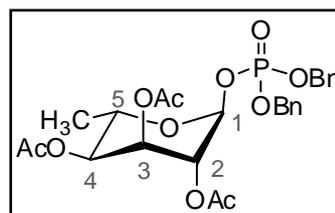
*m*-Chlorperbenzoesäure (0.805 mmol, 2.0 Äq.) und 5 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> verwendet. Anschließend wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Dabei wurde während der ersten Reinigung PE/EE 2:1 v/v als Eluent und während der zweiten Toluol/Aceton 9:2 v/v verwendet.

Da das Produkt aufgrund nahezu identischer R<sub>f</sub>-Werte weder von dem als Nebenprodukt entstandenen Bis-(benzyl)-*N,N*-diisopropyl-phosphoramidat, noch das erhaltene anomere Produkt-Gemisch erfolgreich getrennt werden konnte, wurde es ohne weitere Reinigungsschritte als Gemisch in Form eines gelben Öls in der nächsten Reaktion eingesetzt. Die folgende Charakterisierung des Phosphates **α-162** erfolgte aus geringen Mengen reiner Fraktionen. Da das β-Anomer **β-162** in dem Gemisch lediglich in Spuren enthalten war, war in diesem Fall eine Charakterisierung nicht möglich.

**Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>O<sub>11</sub>P; **Molgewicht:** 550.49 g/mol; **R<sub>f</sub>** (Toluol/Aceton 9:2 v/v): 0.52 und 0.55; **Anomerenverhältnis:** α:β ≈ 12:1.

**Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy-α-L-altropyranosylphosphat α-162**

**α-<sup>1</sup>H-NMR:** δ [ppm] (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.35-7.34 (m, 10H, CH<sub>ar</sub>), 5.80 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.2 Hz, H-1), 5.41 (td, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-3), 5.18 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.2 Hz, H-2), 5.09 (d, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.7 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 5.05 (dd, 2H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.8 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 5.01 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.4 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-4), 4.09 (p, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, H-5), 2.09, 2.06, 2.05 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.31 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, CH<sub>3</sub>).



**α-<sup>13</sup>C-NMR:** δ [ppm] (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 170.0, 169.7, 169.5 (je C=O), 128.8, 128.7, 128.7, 128.6, 128.1 (CH<sub>ar</sub>), 94.6 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.0 Hz, C-1), 71.1 (C-5), 70.5 (C-4), 69.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 6.0 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 69.6 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 5.5 Hz, Bn-CH<sub>2</sub>), 68.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 8.2 Hz, C-2), 66.4 (C-3), 21.0, 20.9, 20.8 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 18.4 (CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR:** δ [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -2.64.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2981, 1746, 1342, 1370, 1212, 1171, 1047, 1012, 949, 740, 698, 598, 500.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>NaO<sub>11</sub>P<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 573.1496, gefunden: 573.1496; berechnet für C<sub>52</sub>H<sub>62</sub>NaO<sub>22</sub>P<sub>2</sub><sup>+</sup> [2M+Na]<sup>+</sup>: 1123.3100, gefunden: 1123.3093.

### Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosylphosphat in Form eines Natrium-Salzes **69**

Die Durchführung erfolgte nach **AAV 5.2**. Es wurden 166 mg des aus der vorherigen Phosphorylierung erhaltenen Rohgemisches des Bis-(benzyl)-2,3,4-tri-O-acetyl-6-desoxy-L-altropyranosylmonophosphats **162**, wenige Tropfen Et<sub>3</sub>N und 5 mL Methanol eingesetzt. Die Reinigung und Trennung des anomeren Rohgemisches erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1 v/v als Eluenten in mehrfacher Wiederholung. Dabei wurden nach Trennung des  $\alpha$ -Anomers von Spuren des  $\beta$ -Anomers folgende Produkte erhalten:

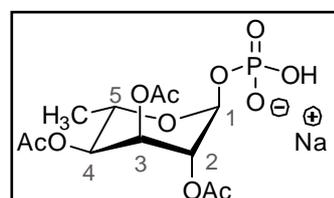
#### 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosylphosphat in Form eines Natrium-Salzes **69**

**Ausbeute:** 18 mg (46  $\mu$ mol, 12% über 2 Stufen) eines

farbloser Schaums; **Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>NaO<sub>11</sub>P;

**Molgewicht:** 392.23 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1 v/v): 0.47;

**Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein.



**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 5.63 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 9.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, H-1), 5.46 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-3), 5.18 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.7 Hz, H-2), 5.94 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-4), 4.16 (qd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 12.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-5), 2.24, 2.22, 2.12 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.35 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, D<sub>2</sub>O): 173.0, 172.8, 172.6 (je C=O), 94.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 3.0 Hz, C-1), 70.7 (C-4), 69.9 (C-5), 69.2 (C-2), 66.9 (C-3), 20.2, 20.1, 20.0 (je C(O)CH<sub>3</sub>), 17.2 (CH<sub>3</sub>).<sup>[b]</sup>

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O): -0.79.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2987, 1748, 1372, 1223, 1174, 1059, 982, 825, 592.

**HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>11</sub>P<sup>-</sup> [M]<sup>-</sup>: 369.0592, gefunden: 369.0600.

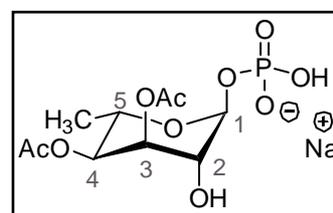
#### 3,4-Di-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosylphosphat in Form eines Natrium-Salzes **69a**

**Ausbeute:** 25 mg (71  $\mu$ mol, 18% über 2 Stufen) eines farbloser

Schaums; **Summenformel:** C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>NaO<sub>10</sub>P; **Molgewicht:**

350.19 g/mol; **R<sub>f</sub>** (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O 5:1 v/v): 0.30;

**Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein.



**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 5.48 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.6 Hz, H-1), 5.37-5.35 (m, 1H, H-3), 4.93 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.5 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.9 Hz, H-4), 4.16 (qd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 13.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, H-5), 3.99 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, H-2), 2.16, 2.09 (je: s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.30 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, CH<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 173.1, 173.0 (je C=O), 94.1 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 3.9$  Hz, C-1), 70.7 (C-4), 69.9 (C-5), 69.3 (C-3), 68.0 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 6.3$  Hz, C-2), 20.2 (2x C(O)CH<sub>3</sub>), 17.2 (CH<sub>3</sub>).

**$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): -0.61.

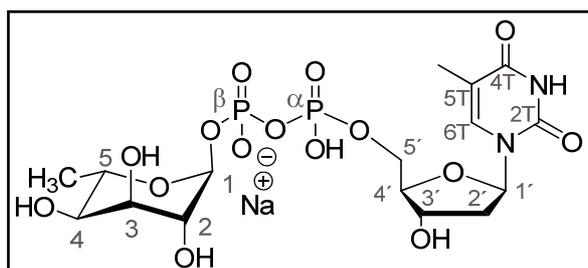
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 3648, 2987, 2901, 1748, 1507, 1456, 1249, 1228, 1066, 923.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_{10}\text{P}^-$  [M]<sup>-</sup>: 327.0487, gefunden: 327.0492.

### Thymidindiphosphat-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranose in Form eines Natrium-Salzes $\alpha$ -45

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 14** durchgeführt. Es wurden 20 mg 3,4-Di-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosylphosphat  **$\alpha$ -69a** (51 mmol), 11 mg 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosylphosphat  **$\alpha$ -69** (31 mmol) und 26 mg 5-Nitro-cycloSal-3'-O-acetylthymidinmonophosphat **70** (41 mmol, 1.0 Äq.) in 1 mL abs. DMF eingesetzt. Die Deacetylierung erfolgte in 2 mL des Deacetylierungsreagenzes aus Methanol/Wasser/ $\text{Et}_3\text{N}$  (7:3:1 v/v).

Nach der säulenchromatographischen Reinigung an RP-18-Kieselgel wurden mehrere Verbindungen isoliert. Zwar kam es während des ersten Schrittes zur Bildung des gewünschten Produktes  **$\alpha$ -45**, dieses wurde jedoch unter den gewählten Deacetylierungsbedingungen im zweiten Schritt in großem Maße in das 6-Desoxy- $\alpha$ -L-altropyranose 1,3-cyclophosphat **163** und TMP gespalten. Daneben wurde außerdem das deacetylierte 6-desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosylphosphat **157** erhalten. Die verschiedenen Verbindungen werden im Folgenden charakterisiert, wobei eine vollständige Charakterisierung von  **$\alpha$ -45** war aufgrund der geringen Substanzmenge nicht möglich.



**Ausbeute:** < 1 mg (< 3%) eines farblosen Schaums; **Summenformel:**  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{NaO}_{15}\text{P}_2$ ; **Molgewicht:** 570.31 g/mol;  **$R_f$  (iPrOH/  $\text{NH}_4\text{OAc}$  (1 M) 2:1 v/v):** 0.15; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein.

**$^{31}\text{P-NMR}$ :**  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): -13.73 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 20.2$  Hz,  $\text{P}_\beta$ ), -11.45 (d,  $^2J_{\text{PP}} = 20.1$  Hz,  $\text{P}_\alpha$ ).

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_{15}\text{P}_2^-$  [M]<sup>-</sup>: 547.0739, gefunden: 547.0736.

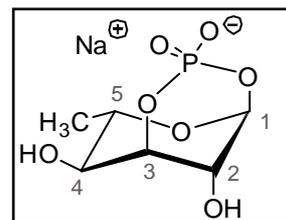
**6-Desoxy- $\alpha$ -L-altropyranose 1,3-cyclophosphat in Form eines Natrium-Salzes 163**

**Ausbeute:** 7.0 mg (28  $\mu$ mol, 68%) eines farbloser Schaums;

**Summenformel:** C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>NaO<sub>7</sub>P; **Molgewicht:** 248.10 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (iPrOH/NH<sub>4</sub>OAc (1M) 2:1 v/v): 0.62; **Anomerenverhältnis:**

$\alpha$ -anomerenrein.



**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 5.61 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 21.5 Hz,

<sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.8 Hz, H-1), 4.46-4.44 (m, 1H, H-2), 4.25 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-3), 3.97 (dd, 1H,

<sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, H-5), 3.71 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 8.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-4), 1.30 (d,

3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, D<sub>2</sub>O): 95.4 (C-1), 78.2 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub> = 1.3 Hz, C-2), 69.5 (C-5),

69.4 (C-4), 67.7 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub> = 10.9 Hz, C-3), 17.2 (CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O, <sup>1</sup>H-entkoppelt): 15.49.

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, D<sub>2</sub>O, <sup>1</sup>H-gekoppelt): 15.49 (d, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub> = 21.1 Hz).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3335, 2933, 2477, 1561, 1406, 1245, 1121, 1022, 651, 621, 496.

**HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>P<sup>-</sup> [M]: 225.0170, gefunden: 225.0172.

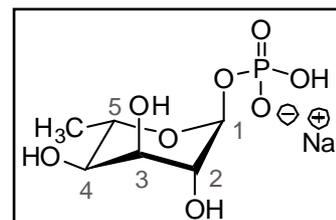
**6-Desoxy- $\alpha$ -L-altropyranosylphosphat in Form eines Natrium-Salzes 157**

**Ausbeute:** 8 mg (0.03 mmol) eines farbloser Schaums;

**Summenformel:** C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>NaO<sub>8</sub>P; **Molgewicht:** 266.12 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (iPrOH/ NH<sub>4</sub>OAc (1 M) 2:1 v/v): 0.05; **Anomerenver-**

**hältnis:**  $\alpha$ -anomerenrein.



**<sup>1</sup>H-NMR:**  $\delta$  [ppm] (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 5.33 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HP</sub> = 8.7 Hz, H-1), 4.05 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> =

3.6 Hz, H-3), 3.93 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, H-2), 3.90 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz,

H-5), 3.55 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 9.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.2 Hz, H-4), 1.30 (d, 3H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.4 Hz, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:**  $\delta$  [ppm] (101 MHz, D<sub>2</sub>O): 93.2 (C-1), 70.3 (C-2), 70.2 (C-3), 69.6 (C-5), 69.5 (C-

4), 17.3 (CH<sub>3</sub>).

**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2.11.

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3337, 2482, 1378, 1068, 971, 872, 817, 617, 528.

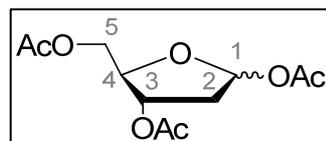
**HRMS (ESI<sup>-</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>8</sub>P<sup>-</sup> [M]: 243.0275, gefunden: 243.0275.

### 11.2.10 Synthese lipophiler Ribofuranosylmonophosphat Prodrugs

#### Synthese von 1,3,5-Tri-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **200**

Die Darstellung erfolgte nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift **AAV 7.2**. Es wurden 3.33 g (24.8 mmol, 1.0 Äq.) 2-Desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose in 100 mL abs. Pyridin gelöst und 10.0 mL (10.8 g, 108 mmol, 4.3 Äq.) Essigsäureanhydrid zugetropft. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE (1:1) als Laufmittel gereinigt.

**Ausbeute:** 5.63 g (21.6 mmol, 87%) eines farblosen Öls;  
**Summenformel:** C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>; **Molgewicht:** 260.24 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:1, v/v) 0.54; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1.0.2$ .



**$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 6.27-6.26 (m, 1H, H-1), 5.31 (ddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.1 Hz, H-3), 5.21 (s, 1H, H-4), 4.02 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.5 Hz, H-5), 3.86 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 13.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 2.7 Hz, H-5), 2.15, 2.11 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 2.10-2.06 (m, 2H, H-2), 2.04 (s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

**$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR:** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.7, 169.3 (je C=O), 91.8 (C-1), 67.2 (C-4), 65.2 (C-3), 63.0 (C-5), 29.7 (C-2), 21.0, 20.9, 20.8 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

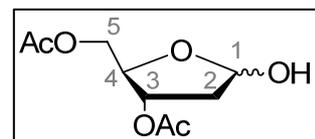
**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 2980, 2946, 1735, 1367, 1220, 1012, 604, 481.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>: 260.0896 [M]<sup>+</sup>, gefunden: 260.0896 [M]<sup>+</sup>.

#### Synthese von 3,5-Di-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **197**

Gemäß **AAV 7.2** wurden 2.18 g (8.38 mmol, 1.0 Äq.) 1,3,5-Tri-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **200** in 45 mL abs. Dichlormethan gelöst und mit 3.6 mL (4.0 g, 12.5 mmol, 1.5 Äq.) Tributylzinnmethoxid versetzt. Der Reaktionsansatz wurde 24 h unter Rückfluss erhitzt. Während der Reaktionszeit wurden weitere 2.0 mL (2.2 g, 0.8 Äq.) Tributylzinnmethoxid zugegeben.

**Ausbeute:** 1.48 g (6.78 mmol, 80%) eines gelben Öls; **Summenformel:** C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>; **Molgewicht:** 218.20 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:2, v/v) 0.44; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha:\beta \approx 1:0.3$ .



**$\alpha$ -<sup>1</sup>H-NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.42 (t, 1H, <sup>3</sup>J<sub>H,H</sub> = 3.1 Hz, H-1), 5.39 (dddd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 11.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.8 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-3), 5.19-5.17 (m, 1H, H-4), 4.16 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.9 Hz, H-5), 3.77 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.7 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> =

3.5 Hz, H-5), 2.18-2.15 (m, 1H, H-2), 2.13, 2.04 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>), 1.95-1.88 (m, 1H, H-2).

$\alpha$ -<sup>13</sup>C-NMR: (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 170.0, 170.5 (je C=O), 92.3 (C-1), 67.7 (C-4), 65.5 (C-3), 61.1 (C-5), 31.4 (C-2), 21.0, 20.9 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3438, 2950, 2876, 1736, 1367, 1223, 1021, 971, 884, 606, 470.

HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>: 218.0790 [M]<sup>+</sup>, gefunden: 218.0779 [M]<sup>+</sup>.

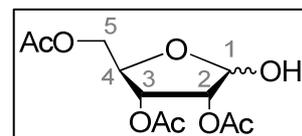
### Synthese von 2,3,5-Tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose 198

Gemäß **AAV 7.2** wurden 3.01 g (9.46 mmol, 1.0 Äq.) 1,3,5-Tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **201** in 50 mL abs. Dichlormethan gelöst und mit 3.0 mL (3.3 g, 10.4 mmol, 1.5 Äq.) Tributylzinnmethoxid versetzt. Der Reaktionsansatz wurde 12 h unter Rückfluss erhitzt. Während der Reaktionszeit wurden weitere 2.0 mL (2.2 g, 0.8 Äq.) Tributylzinnmethoxid zugegeben.

**Ausbeute:** 1.57 g (5.68 mmol, 60%) eines farblosen Öls;

**Summenformel:** C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub> **Molgewicht:** 276.24 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE

1:2, v/v) 0.57; **Anomerenverhältnis:**  $\alpha$ : $\beta$   $\approx$  1:0.7.



<sup>1</sup>H-NMR: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.53 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.4 Hz, H-1<sub>α</sub>), 5.37 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.6 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, H-3<sub>α</sub>), 5.36 (s, 1H, H-1<sub>β</sub>), 5.27 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.4 Hz, H-3<sub>β</sub>), 5.23 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.9 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 1.1 Hz, H-2<sub>α</sub>), 5.08 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.4 Hz, H-2<sub>β</sub>), 4.42-4.10 (m, 6H, 2x H-5<sub>α</sub>, 2x H-5<sub>β</sub>, H-4<sub>α</sub>, H-4<sub>β</sub>), 2.14, 2.12, 2.11, 2.10, 2.09, 2.06 (je s, 3H, C(O)CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR: (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  [ppm] = 171.0-169.1 (C=O), 100.3 (C-1<sub>α</sub>), 95.6 (C-1<sub>β</sub>), 79.4 (C-4<sub>β</sub>), 78.9 (C-4<sub>α</sub>), 75.6 (C-3<sub>β</sub>), 71.4 (C-2<sub>β</sub>), 71.1 (C-3<sub>α</sub>), 71.0 (C-2<sub>α</sub>), 64.7 (C-5<sub>α</sub>), 63.7 (C-5<sub>β</sub>), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5 (je C(O)CH<sub>3</sub>).

IR (ATR):  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3460, 2950, 1738, 1367, 1370, 1039, 1214, 956, 899, 603.

HRMS (ESI; m/z): berechnet für C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>: 276.0845 [M], gefunden: 276.0845 [M].

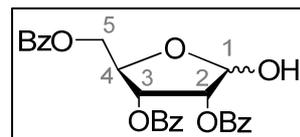
### Synthese von 2,3,5-Tri-O-benzoyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose 199

Gemäß **AAV 7.2** wurden 1.53 g (3.04 mmol, 1.0 Äq.) 1-O-Acetyl-2,3,5-tri-benzoyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose in 20 mL abs. Dichlormethan gelöst und mit 1.35 mL (1.52 g, 4.46 mmol, 1.5 Äq.) Tributylzinnmethoxid versetzt. Der Reaktionsansatz wurde zunächst eine Stunde unter Rückfluss erhitzt und dann 18 h bei Rt gerührt.

**Ausbeute:** 1.41 g (3.05 mmol, 92%) eines farblosen Öls;

**Summenformel:** C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>O<sub>8</sub>; **Molgewicht:** 462.45 g/mol;

**R<sub>f</sub>** (Toluol/Aceton 15:1, v/v) 0.19; **Anomerenverhältnis:** α:β ≈



1:0.6.

**<sup>1</sup>H-NMR:** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 8.09-7.88 (m, 6H, Bz-CH), 7.60-7.31 (m, 24H, Bz-CH), 5.90 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5.0 Hz, H-3<sub>α</sub>), 5.82-5.78 (m, 2H, H-1<sub>β</sub>, H-3<sub>β</sub>), 5.70 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.8 Hz, H-2<sub>α</sub>), 5.64 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.3 Hz, H-1<sub>α</sub>), 5.50 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6.3 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.4 Hz, H-2<sub>β</sub>), 4.80 (dd, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.2 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.6 Hz, H-4<sub>β</sub>), 4.75-4.66 (m, 4H, 2x H-5<sub>α</sub>, H-5<sub>β</sub>, H-4<sub>α</sub>), 4.58 (dd, 1H, <sup>2</sup>J<sub>HH</sub> = 12.0 Hz, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4.1 Hz, H-5<sub>β</sub>), 3.35 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 3.5 Hz, OH<sub>α</sub>), 3.29 (d, 1H, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 7.9 Hz, OH<sub>β</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR:** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 166.6-162.9 (6x Bz-C=O), 133.8, 133.7, 133.6, 133.5, 133.4, 133.4 (Bz-C<sub>q</sub>), 130.0, 129.9, 129.8, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.5, 128.4 (je Bz-CH), 100.6 (C-1<sub>α</sub>), 96.0 (C-1<sub>β</sub>), 79.8 (C-4<sub>β</sub>), 79.6 (C-4<sub>α</sub>), 76.3 (C-2<sub>α</sub>), 72.5 (C-3<sub>α</sub>), 72.0 (C-2<sub>β</sub>), 71.9 (C-3<sub>β</sub>), 65.3 (C-5<sub>α</sub>), 64.3 (C-5<sub>β</sub>).

**IR (ATR):**  $\tilde{\nu}$  [cm<sup>-1</sup>]: 3436, 1717, 1600, 1492, 1248, 1023, 961, 703.

**HRMS (ESI<sup>+</sup>; m/z):** berechnet für [C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>NaO<sub>8</sub>]<sup>+</sup>: 485.1207 [M+Na]<sup>+</sup>, gefunden: 485.1195 [M+Na]<sup>+</sup>.

### Darstellung von *cycloSal*-Ribofuranosylmonophosphaten

*Anmerkung:* Da die im Folgenden vorgestellten Produkte aufgrund nahezu identischer R<sub>f</sub>-Werte auch nach mehrfacher chromatographischer Reinigung nicht von unvollständig umgesetzten Edukt bzw. Nebenprodukten getrennt werden konnten, erfolgte ihre Charakterisierung ausschließlich anhand von <sup>31</sup>P-NMR- und HRMS-Spektren. Auf die Auswertung der <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-spektroskopischen Daten wurde verzichtet, da das Produkt in dem erhaltenen Gemisch lediglich einen geringen Anteil ausmachte.

Zudem waren Ausbeute-Bestimmungen der unterschiedlichen Reaktionen nicht möglich.

Da eine dünnschichtchromatographische Reaktionsverfolgung aufgrund der ähnlichen R<sub>f</sub>-Werte nahezu unmöglich war, wurden die Reaktionen <sup>31</sup>P-NMR-spektroskopisch über den Umsatz der jeweils eingesetzten Phosphor-Verbindung verfolgt.

### Synthese von 5-Chlor-cycloSaligenyl-3,5-di-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranosylphosphat **184**

**Ansatz 1:** Gemäß **AAV 4.1** wurden 358 mg 3,5-Di-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **197** (1.64 mmol, 1.0 Äq.) in 10 ml abs. Acetonitril gelöst und mit 494  $\mu$ L DIPEA (2.90 mmol, 2.2 Äq.) versetzt. Es wurden 728 mg 5-Chlor-cycloSaligenylchlorphosphit **203** (3.11 mmol 1.9 Äq.) bei -20 °C zu der Reaktionslösung gegeben. Die Lösung wurde 18 h bei Rt gerührt. Zur Oxidation wurden 4.00 g Oxone<sup>®</sup> (6.51 mmol, 4.0 Äq) verwendet.

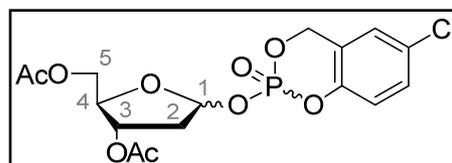
Das Rohprodukt wurde zweimal mit Hilfe eines Chromatotrons mit PE und einem EE-Gradienten als Eluenten gereinigt. Anschließend erfolgte eine säulenchromatographische Reinigung noch nicht sauberer Fraktionen.

**Ansatz 2:** Nach **AAV 4.2** wurden 128 mg 3,5-Di-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **197** (0.587 mmol, 1.0 Äq.) in 2 mL abs. THF gelöst und mit 80  $\mu$ L Pyridin (1.0 mmol, 1.8 Äq.) versetzt. Dann wurden 214 mg 5-Chlor-cycloSaligenylchlor(V)oxyphosphan **205** (0.895 mmol 1.5 Äq.) bei -30 °C über den Zeitraum einer Stunde zu der Reaktionslösung gegeben. Anschließend wurde weitere 3.5 h bei -30 °C gerührt. Unter langsamem Erwärmen auf 4 °C wurde die Reaktionslösung weitere 25 h weiter gerührt. Anschließend erfolgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit EE/PE (2:1) als Eluent.

Es konnte kein Produkt erhalten werden.

**Ansatz 3:** Gemäß **AVV 4.3** wurden 102 mg 3,5-Di-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **197** (0.467 mmol, 1.0 Äq.) in Acetonitril gelöst und mit 0.250 mL DIPEA (1.47 mmol) und 177 mg 5-Chlor-cycloSaligenylchlorphosphat **205** (0.741 mmol, 1.6 Äq.) in 3 mL abs. Acetonitril versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 15 h bei Temperaturen zwischen -30 °C und 4°C gerührt. Unter langsamem Erwärmen auf 4 °C wurde die Reaktionslösung weitere 4 h weiter gerührt. Anschließend erfolgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit EE/PE (2:1) als Eluent.

**Summenformel:** C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClO<sub>9</sub>P, **Molgewicht:** 420.72 g/mol; *R<sub>f</sub>* (PE/EE 1:2, v/v) 0.44.



<sup>31</sup>P-NMR:  $\delta$  [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -10.45, -10.14, -9.91, -9.81.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClNaO<sub>9</sub>P<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 443.0269, gefunden: 443.0242;

berechnet für C<sub>32</sub>H<sub>36</sub>Cl<sub>2</sub>NaO<sub>18</sub>P<sub>2</sub><sup>+</sup> [2M+Na]<sup>+</sup>: 863.0646, gefunden: 863.0601.

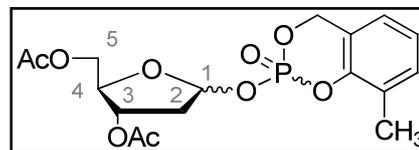
### Synthese von 3-Methyl-cycloSaligenyl-3,5-di-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranosylphosphat 185

**Ansatz 1:** Gemäß **AAV 4.1** wurden 233 mg 3,5-Di-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **197** (1.07 mmol, 1.0 Äq.) in 10 ml abs. Acetonitril gelöst und mit 342  $\mu$ L DIPEA (2.01 mmol, 1.9 Äq.) versetzt. Bei -20 °C wurden zu dieser Lösung 541 mg 3-MethylcycloSaligenylchlorphosphit **204** (2.67 mmol, 2.5 Äq.) gegeben und auf Rt erwärmt. Nach 2 h Rühren bei Rt wurden weitere 252 mg **204** (1.24 mmol 1.2 Äq.) bei -20 °C zu der Reaktionslösung gegeben. Die Oxidation erfolgte mit 2.67 g Oxone<sup>®</sup> (4.34 mmol, 4.1 Äq.) in 20 mL kaltem Wasser.

Es konnte kein Produkt erhalten werden.

**Ansatz 2:** Die Reaktion erfolgte nach **AAV 4.2**. Es wurden 99 mg 3,5-Di-O-acetyl-2-desoxy- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **197** (0.45 mmol, 1.0 Äq.), 1.5 mL abs. Pyridin und 191 mg 3-MethylcycloSaligenyl-phosphorchloridat **206** (0.87 mmol, 1.9 Äq.), gelöst in 1.5 ml abs. THF eingesetzt. Die Reaktionslösung wurde 5 h zwischen -40 und -60 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1 v/v als Eluenten gereinigt.

**Summenformel:** C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>O<sub>9</sub>P, **Molgewicht:** 400.32 mol;  
**R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:2, v/v) 0.44.



<sup>31</sup>P-NMR:  $\delta$  [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -9.14, -9.08, -8.84, -8.71.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NaO<sub>9</sub>P<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 423.0815, gefunden: 423.0814.  
berechnet für C<sub>34</sub>H<sub>42</sub>NaO<sub>18</sub>P<sub>2</sub><sup>+</sup> [2M+Na]<sup>+</sup>: 823.1739, gefunden: 823.1727.

### Synthese von 5-Chlor-cycloSaligenyl-2,3,5-tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranosylphosphat 186

**Ansatz 1:** Die Durchführung erfolgte nach **AAV 4.3**. Es wurden 102 mg 2,3,5-Tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **198** (0.369 mmol, 1.0 Äq.) in 3 mL abs. Acetonitril gelöst und mit 129  $\mu$ L DIPEA (0.759 mmol, 2.0 Äq.) und 161 mg 5-Chlor-cycloSaligenylchlorphosphat **205** (0.673 mmol, 1.8 Äq.) in 3 mL abs. MeCN versetzt. Die Reaktionslösung wurde 25 h zwischen -30 und -4 °C gerührt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel mit EE und PE (2:1) als Eluent gereinigt.

Es konnte kein Produkt erhalten werden.

**Ansatz 2:** Die Durchführung erfolgte gemäß **AAV 4.3**, anstelle von Acetonitril wurde jedoch abs. THF als Lösungsmittel verwendet. Es wurden 104 mg 2,3,5-Tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **198** (0.376 mmol, 1.0 Äq.) in 3 mL abs. THF, 129  $\mu$ L DIPEA (0.759 mmol, 2.0 Äq.) und 164 mg 5-Chlor-cycloSaligenylchlor(V)oxyphosphan **205** (0.686 mmol, 1.8 Äq.) in 3 mL abs. THF verwendet. Die Reaktion wurde 20 h bei 4 °C gerührt. Die Reinigung erfolgte an Kieselgel mit EE/PE (2:1) als Eluent.

Es konnte kein Produkt erhalten werden.

**Ansatz 3:** Die Reaktion wurde gemäß **AAV 4.2** durchgeführt. Es wurden 87 mg 2,3,5-Tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **198** (0.31 mmol, 1.0 Äq.), 1.5 mL abs. Pyridin, 135 mg 5-Chlor-cycloSaligenylchlorphosphat **205** (0.565 mmol, 1.8 Äq.) und 2 mL abs. THF verwendet. Die Reaktionslösung wurde 15 h bei Rt gerührt. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch an Aluminiumoxid mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> und MeOH (25:1) als Eluent.

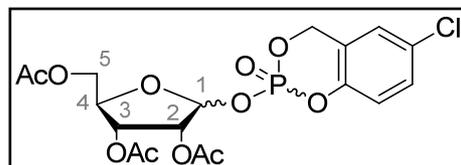
Es konnte kein Produkt erhalten werden.

**Ansatz 4:** Die Durchführung erfolgte gemäß **AAV 4.3**. Es wurden 140 mg 2,3,5-Tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **198** (0.510 mmol, 1.0 Äq.), 2 mL abs. Acetonitril, 173  $\mu$ L DIPEA (1.02 mmol, 2.0 Äq.) und 222 mg 5-Chlor-cycloSaligenylchlorphosphat **205** (1.02 mmol, 2.0 Äq.)

in 2 mL abs. Acetonitril eingesetzt. Die Reaktionslösung wurde 25 h bei Rt gerührt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel mit EE/PE (2:1) gereinigt.

**Ansatz 5:** Gemäß **AAV 4.3** wurden 280 mg 2,3,5-Tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **198** (1.01 mmol, 1.0 Äq.) in 10 mL abs. Acetonitril gelöst und mit 260  $\mu$ L DIPEA (1.52 mmol, 1.5 Äq.) und 458 mg 5-ChlorcycloSaligenylchlorphosphit **203** (1.96 mmol, 1.9 Äq.) versetzt. Das Rohprodukt wurde zweimal mit Hilfe eines Chromatotröns mit PE und einem EE-Gradienten gereinigt. Anschließend erfolgte noch eine säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit dem gleichen Eluenten.

**Summenformel:** C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>ClO<sub>11</sub>P, **Molgewicht:** 478.77 g/mol; **R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:2, v/v) 0.57.



**<sup>31</sup>P-NMR:**  $\delta$  [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -10.75, -11.08, -11.32, -11.46.

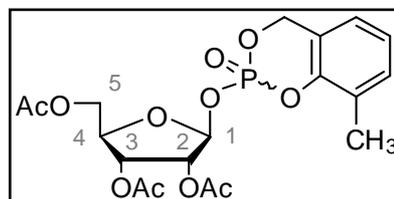
**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>ClNaO<sub>11</sub>P<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 501.0324, gefunden: 501.0322.

### Synthese von 3-Methyl-cycloSaligenyl-2,3,5-tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranosylphosphat **187**

**Ansatz 1:** Gemäß **AAV 4.3** wurden 316 mg 2,3,5-Tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **198** (1.14 mmol, 1.0 Äq.) in 10 mL abs. Acetonitril gelöst und mit 294  $\mu$ L DIPEA (1.73 mmol, 1.5 Äq.) versetzt. Zu dieser Lösung wurden bei -20 °C 587 mg 3-Methyl cycloSaligenylchlorphosphit **204** (2.90 mmol, 2.5 Äq.) gegeben. Es wurden 2.78 g (4.52 mmol, 4.0 Äq.) Oxon<sup>®</sup> in 20 mL kaltem Wasser zur Oxidation verwendet. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte säulenchromatographisch (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1 mit 0.5% Essigsäure).

**Ansatz 2:** Gemäß **AAV 4.3** wurden 102 mg 2,3,5-Tri-O-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **198** (0.369 mmol, 1.0 Äq.) in 2 mL abs. CH<sub>3</sub>CN gelöst, dann zunächst mit 130  $\mu$ L DIPEA (0.764 mmol, 2.0 Äq.) und anschließend mit 161 mg 3-Methyl-cycloSaligenylchlor(V)oxyphosphan **206** (0.737 mmol, 2.0 Äq.) gelöst in 3 mL abs. Acetonitril versetzt. Die Reaktionslösung wurde weitere 16 h bei 0 °C und danach 3 h bei Rt gerührt. Durch eine dünnschichtchromatographische Reaktionsverfolgung wurde festgestellt, dass das eingesetzte Chloridat nach 16 h bereits vollständig verbraucht war, weshalb eine weitere Zugabe von 0.06 mL DIPEA (0.353 mmol, 1.0 Äq.) und portionsweiser Zugabe von 80 mg **206** (3.66 mmol, 1.0 Äq.) erfolgte. Danach wurde das Reaktionsgemisch 1.5 h bei -30 °C und eine weitere Stunde bei Rt gerührt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt zunächst mit PE und einem EE-Gradienten, dann mit Toluol/Aceton 12:1 v/v.

**Summenformel:** C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>O<sub>11</sub>P, **Molgewicht:** 458.35 g/mol;  
**R<sub>f</sub>** (PE/EE 1:2, v/v) 0.60.



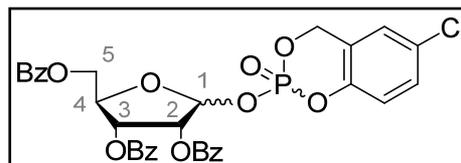
<sup>31</sup>P-NMR:  $\delta$  [ppm] (162 MHz, CDCl<sub>3</sub>): -10.89, -10.75.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>NaO<sub>11</sub>P<sup>+</sup> [M+Na]<sup>+</sup>: 481.0870, gefunden: 481.0877.  
berechnet für C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>KO<sub>11</sub>P<sup>+</sup> [M+K]<sup>+</sup>: 497.0610, gefunden: 497.0609.

### Synthese von 5-Chlor-cycloSaligenyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranosylphosphat **188**

Gemäß **AVV 4.3** wurden 175 mg 2,3,5-Tri-O-benzoyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **199** (0.378 mmol, 1.0 Äq.) in 2 mL abs. Acetonitril gelöst und mit 0.132 mL DIPEA (0.776 mmol, 2.0 Äq.) versetzt. Hinzu wurde bei -30 °C über den Zeitraum von einer Stunde eine Lösung aus 181 mg 5-Chlor-cycloSaligenylchlorphosphat **205** (0.757 mmol 2.0 Äq.) in 5 mL MeCN zugegeben. Nach 2 h Rühren bei -30 °C wurde das Reaktionsgemisch auf Rt erwärmt und weitere 16 h gerührt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/Aceton 15:1 v/v als Eluenten gereinigt.

**Summenformel:**  $C_{33}H_{26}ClO_{11}P$ , **Molgewicht:**  
664.98 g/mol;  $R_f$  (Toluol/Aceton 15:1, v/v) 0.19.



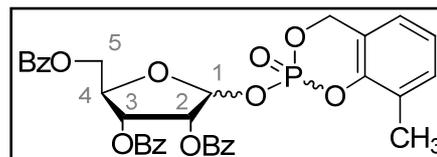
$^{31}P$ -NMR:  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $CDCl_3$ ): -12.92.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für  $C_{33}H_{26}ClNaO_{11}P^+$  [M+Na]<sup>+</sup>: 687.0793, gefunden: 687.0790.

### Synthese von 3-Methyl-cycloSaligenyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranosyl-phosphat 189

Gemäß **AVV 4.3** wurden 169 mg 2,3,5-Tribenzoyl- $\alpha/\beta$ -D-ribofuranose **199** (0.365 mmol, 1.0 Äq.) gelöst in 2 mL abs. Acetonitril und mit 128  $\mu$ L DIPEA (0.753 mmol, 2.0 Äq.) versetzt. Hinzu wurde bei -30 °C über den Zeitraum von einer Stunde eine Lösung aus 160 mg 3-Methyl-cycloSaligenylchlorphosphat **206** (0.732 mmol 2.0 Äq.) in 3 mL MeCN zugegeben. Nach 2 h bei -30 °C wurde das Reaktionsgemisch auf Rt erwärmt und weitere 16 h gerührt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/Aceton 15:1 v/v als Eluenten gereinigt.

**Summenformel:**  $C_{34}H_{29}O_{11}P$ , **Molgewicht:**  
644.14 g/mol;  $R_f$  (Toluol/Aceton 15:1, v/v) 0.19.



$^{31}P$ -NMR:  $\delta$  [ppm] (162 MHz,  $CDCl_3$ ): -11.60, -11.27.

**HRMS** (ESI<sup>+</sup>; m/z): berechnet für  $C_{34}H_{29}NaO_{11}P^+$  [M+Na]<sup>+</sup>: 667.1340, gefunden: 667.1326.  
berechnet für  $C_{68}H_{58}NaO_{22}P_2^+$  [2M+Na]<sup>+</sup>: 1311.2787, gefunden: 1311.2762.

#### 11.2.10.1 $^{31}P$ -NMR-Hydrolysestudien

Von dem jeweiligen cycloSaligenyl-Monophosphat wurden ca. 12  $\mu$ mol auf einer Analysenwaage in ein Eppendorf-Cap eingewogen und mit 300  $\mu$ L DMSO-*d*<sub>6</sub> sowie 200  $\mu$ L eines 50 mM Imidazol-Salzsäure-Puffers (pH = 7.3) versetzt. Bei der Verbindung **187** wurden weitere 200  $\mu$ L DMSO-*d*<sub>6</sub> zugegeben, um eine klare Lösung zu erhalten. Die Kinetik-Lösungen wurden in NMR-Röhrchen überführt und sofort  $^{31}P$ -NMR-spektroskopisch ( $^1H$ -entkoppelt 161 MHz, 128 bzw. 256 Scans) vermessen. Die NMR-Proben wurden bei Rt aufbewahrt und zunächst in Abständen von einigen Stunden und dann Tagen erneut  $^{31}P$ -NMR-spektroskopisch untersucht.

**11.2.11 Anmerkungen:**

Anmerkung [a]: Das Molekül liegt mit einem Natrium-Gegenion vor, als zweites Gegenion wurde ein Proton angenommen. Danach berechneten sich auch die Summenformel sowie das Molekulargewicht. Eine genaue Bestimmung der Konzentration war jedoch nicht möglich, weshalb auf eine Drehwert-Messung verzichtet wurde.

Anmerkung [b]: Die erhaltene Substanzmenge reichte nicht zur Aufnahme eines vollständig auswertbaren  $^{13}\text{C}$ -NMR's aus. Die hier aufgeführten Signale wurden daher zum Teil dem HSQC- bzw. HMBC-NMR entnommen.

Anmerkung [c]: Die erhaltene Substanzmenge reichte nicht zur Aufnahme eines vollständigen  $^{13}\text{C}$ -NMR's aus. Die Signale der quartären Guanodin-Kohlenstoffatome wurden daher zum Teil dem HSQC- bzw. dem HMBC-NMR entnommen.

Anmerkung [d]: Die erhaltene Substanzmenge reichte leider nicht zur Aufnahme eines vollständigen  $^{13}\text{C}$ -NMR's aus. Die Signale der quartären Guanodin-Kohlenstoffatome wurden daher zum Teil dem HSQC- bzw. dem HMBC-NMR entnommen. Die Signale für das C2, C6 bzw. C5 konnten nicht gefunden werden.

## 12 Literaturverzeichnis

- [1] J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer *Biochemie*, 5. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg/Berlin, **2003**.
- [2] C. Haase; O. Seitz, V. Wittmann, *Chemical Synthesis of Glycopeptides, Glycopeptides and Glycoproteins*, Springer Berlin/Heidelberg: **2007**; 267, 1-36.
- [3] N. Sharon; H. Lis, Carbohydrates in cell recognition. *Sci. Am.* **1993**, 268, 82-89.
- [4] In Anlehnung an das Titelblatt von: Glycoprotein Cell Receptors. *Nature* **1995**, 373.
- [5] A. Imberty; A. Varrot, Microbial recognition of human cell surface glycoconjugates. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2008**, 18, 567-576.
- [6] J.D. Marth; P.K. Grewal, Mammalian glycosylation in immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **2008**, 8, 874-887.
- [7] D.H. Dube; C.R. Bertozzi, Glycans in cancer and inflammation-potential for therapeutics and diagnostics. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, 4, 477-488.
- [8] I. Brockhausen, W. Kuhns, *Glycoproteins and Human Disease*, Verlag Chapman and Hall: London, **1997**.
- [9] G.K. Wagner; T. Pesnot, Glycosyltransferases and their assays. *Chembiochem* **2010**, 11, 1939-1949.
- [10] E.H. Holmes; G.K. Ostrander; S. Hakomori, Enzymatic basis for the accumulation of glycolipids with X and dimeric X determinants in human lung cancer cells (NCI-H69). *J. Biol. Chem.* **1985**, 260, 7619-7627.
- [11] S. Nakamori; M. Kameyama; S. Imaoka; H. Furukawa; O. Ishikawa; Y. Sasaki; Y. Izumi; T. Irimura, Involvement of carbohydrate antigen sialyl Lewis[x] in colorectal cancer metastasis. *Dis. Colon. Rectum* **1997**, 40, 420-431.
- [12] T. Jorgensen; A. Berner; O. Kaalhus; K.J. Tveter; H.E. Danielsen; M. Bryne, Up-regulation of the oligosaccharide sialyl Lewis X: a new prognostic parameter in metastatic prostate cancer. *Cancer Res.* **1995**, 55, 1817-1819.
- [13] T. Hada; K. Fukui; M. Ohno; S. Akamatsu; S. Yazawa; K. Enomoto; K. Yamaguchi; Y. Matsuda; Y. Amuro; N. Yamanaka, Increased plasma  $\alpha$ -1,3-L-fucosyltransferase activities in patients with hepatocellular carcinoma. *Glycoconj. J.* **1995**, 12, 627-631.
- [14] N. Yamada; Y.S. Chung; S. Takatsuka; Y. Arimoto; T. Sawada; T. Dohi; M. Sowa, Increased sialyl Lewis A expression and fucosyltransferase activity with acquisition of a high metastatic capacity in a colon cancer cell line. *Br. J. Cancer* **1997**, 76, 582-587.
- [15] R. Kannagi, Molecular mechanism for cancer-associated induction of sialyl Lewis X and sialyl Lewis A expression-The Warburg effect revisited. *Glycoconj. J.* **2004**, 20, 353-364.
- [16] M. Martin-Satue; R. Marrugat; J.A. Cancelas; J. Blanco, Enhanced expression of  $\alpha$ -(1,3)-fucosyltransferase genes correlates with E-selectin-mediated adhesion and metastatic potential of human lung adenocarcinoma cells. *Cancer Res.* **1998**, 58, 1544-1550.
- [17] S. Löbau; W. Brabetz; L. Brade, Glycosyltransferasen der frühen Lipopolysaccharid-Biosynthese. *CTJ* **1999**, 8, 183-186.
- [18] M. Skurnik; L. Zhang, Molecular genetics and biochemistry of *Yersinia* lipopolysaccharide. *APMIS* **1996**, 104, 849-872.
- [19] T. Kirikae; M. Nakano; D.C. Morrison, Antibiotic-induced endotoxin release from bacteria and its clinical significance. *Microbiol. Immunol.* **1997**, 41, 285-294.
- [20] M. Heinemann; M. Trautmann, Sepsis und Antibiotika-induzierte Freisetzung von Endotoxinen Konsequenzen für die Therapie? *CTJ* **1999**, 5, 176-182.
- [21] R.C. Bone, Gram-Negative Sepsis: a Dilemma of Modern Medicine. *Clin. Microbiol. Rev.* **1993**, 6, 57-68.

- [22] X. Wang; P.J. Quinn, Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification. *Prog. Lipid Res.* **2010**, *49*, 97-107.
- [23] J.D. King; D. Kocincova; E.L. Westman; J.S. Lam, Review: Lipopolysaccharide biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Innate Immun.* **2009**, *15*, 261-312.
- [24] W.M. Watkins, Glycosyltransferases, early history, development and future prospects. *Carbohydr. Res.* **1986**, *149*, 1-12.
- [25] E.F. Neufeld; W.Z. Hassid, Biosynthesis of Saccharides from Glycopyranosyl Esters of Nucleotides ("Sugar Nucleotides"). *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1963**, *18*, 309-356.
- [26] L.F. Leloir, Two decades of research on the biosynthesis of saccharides. *Science* **1971**, *172*, 1299-1303.
- [27] C.H. Wong; R.L. Halcomb; Y. Ichikawa; T. Kajimoto, Enzyme in der organischen Synthese: das Problem der molekularen Erkennung von Kohlenhydraten (Teil 2). *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 569-593.
- [28] C. Breton; L. Šnajdrová; C. Jeanneau; J. Koča; A. Imberty, Structures and mechanisms of glycosyltransferases. *Glycobiology* **2006**, *16*, 29-37.
- [29] J.C. Paulson; K.J. Colley, Glycosyltransferases. Structure, localization, and control of cell type-specific glycosylation. *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 17615-17618.
- [30] N.K. Kochetkov; V.N. Shibaev, Glycosyl Esters of Nucleoside Pyrophosphates. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1973**, *28*, 307-399.
- [31] K. Ohtsubo; J.D. Marth, Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell* **2006**, *126*, 855-867.
- [32] M. Li; X.W. Liu; J. Shao; J. Shen; Q. Jia; W. Yi; J.K. Song; R. Woodward; C.S. Chow; P.G. Wang, Characterization of a novel  $\alpha$ -1,2-fucosyltransferase of *Escherichia coli* O128:b12 and functional investigation of its common motif. *Biochemistry* **2008**, *47*, 378-387.
- [33] B. Ma; J.L. Simala-Grant; D.E. Taylor, Fucosylation in prokaryotes and eukaryotes. *Glycobiology* **2006**, *16*, 158R-184R.
- [34] T. de Vries; R.M. Knegtel; E.H. Holmes; B.A. Macher, Fucosyltransferases: structure/function studies. *Glycobiology* **2001**, *11*, 119-128.
- [35] M. Kaneko; T. Kudo; H. Iwasaki; Y. Ikehara; S. Nishihara; S. Nakagawa; K. Sasaki; T. Shiina; H. Inoko; N. Saitou; H. Narimatsu,  $\alpha$ -1,3-Fucosyltransferase IX (Fuc-TIX) is very highly conserved between human and mouse; molecular cloning, characterization and tissue distribution of human Fuc-TIX. *FEBS Lett.* **1999**, *452*, 237-242.
- [36] S. Nishihara; H. Iwasaki; K. Nakajima; A. Togayachi; Y. Ikehara; T. Kudo; Y. Kushi; A. Furuya; K. Shitara; H. Narimatsu,  $\alpha$ -1,3-fucosyltransferase IX (Fut9) determines Lewis X expression in brain. *Glycobiology* **2003**, *13*, 445-455.
- [37] S. Nishihara; H. Iwasaki; M. Kaneko; A. Tawada; M. Ito; H. Narimatsu,  $\alpha$ -1,3-Fucosyltransferase 9 (FUT9; Fuc-TIX) preferentially fucosylates the distal GlcNAc residue of polylactosamine chain while the other four  $\alpha$ 1,3FUT members preferentially fucosylate the inner GlcNAc residue. *FEBS Lett.* **1999**, *462*, 289-294.
- [38] T. Kudo; T. Fujii; S. Ikegami; K. Inokuchi; Y. Takayama; Y. Ikehara; S. Nishihara; A. Togayachi; S. Takahashi; K. Tachibana; S. Yuasa; H. Narimatsu, Mice lacking  $\alpha$ 1,3-fucosyltransferase IX demonstrate disappearance of Lewis x structure in brain and increased anxiety-like behaviors. *Glycobiology* **2007**, *17*, 1-9.
- [39] S. Toivonen; S. Nishihara; H. Narimatsu; O. Renkonen; R. Renkonen, Fuc-TIX: a versatile  $\alpha$ -1,3-fucosyltransferase with a distinct acceptor- and site-specificity profile. *Glycobiology* **2002**, *12*, 361-368.
- [40] C. Stacke; P. Ziegelmuller; U. Hahn, Comparison of expression systems for human fucosyltransferase IX. *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 35-38.
- [41] C. Stacke, Human fucosyltransferase IX: Production, purification and characterisation, *Dissertation*, Universität Hamburg **2010**.
- [42] M. Kopp; C. Rupprath; H. Irschik; A. Bechthold; L. Elling; R. Muller, SorF: a glycosyltransferase with promiscuous donor substrate specificity *in vitro*. *ChemBiochem* **2007**, *8*, 813-819.

- [43] M. Yang; M. Brazier; R. Edwards; B.G. Davis, High-throughput mass-spectrometry monitoring for multisubstrate enzymes: determining the kinetic parameters and catalytic activities of glycosyltransferases. *ChemBiochem* **2005**, *6*, 346-357.
- [44] N. Nagahori; S. Nishimura, Direct and efficient monitoring of glycosyltransferase reactions on gold colloidal nanoparticles by using mass spectrometry. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6478-6485.
- [45] A.J. Norris; J.P. Whitelegge; K.F. Faull; T. Toyokuni, Analysis of enzyme kinetics using electrospray ionization mass spectrometry and multiple reaction monitoring: fucosyltransferase V. *Biochemistry* **2001**, *40*, 3774-3779.
- [46] M.M. Palcic; M. Pierce; O. Hindsgaul, Synthetic neoglycoconjugates in glycosyltransferase assay and purification. *Methods Enzymol.* **1994**, *247*, 215-227.
- [47] B.W. Murray; V. Wittmann; M.D. Burkart; S.C. Hung; C.H. Wong, Mechanism of human  $\alpha$ -1,3-fucosyltransferase V: glycosidic cleavage occurs prior to nucleophilic attack. *Biochemistry* **1997**, *36*, 823-831.
- [48] P. Gribbon; A. Sewing, Fluorescence readouts in HTS: no gain without pain? *Drug Discov. Today* **2003**, *8*, 1035-1043.
- [49] B.J. Gross; B.C. Kraybill; S. Walker, Discovery of O-GlcNAc transferase inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14588-14589.
- [50] P.R. Selvin, The renaissance of fluorescence resonance energy transfer. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2000**, *7*, 730-734.
- [51] T. Ha, Single-Molecule Fluorescence Resonance Energy Transfer. *Methods* **2001**, *25*, 78-86.
- [52] E. Kainmüller, Etablierung eines neuen robusten und hochempfindlichen FRET-Systems anhand eines Thrombin-Assays, *Dissertation*, Albert-Ludwigs-Universität **2006**.
- [53] T. Maeda; S. Nishimura, FRET-based direct and continuous monitoring of human fucosyltransferases activity: an efficient synthesis of versatile GDP-L-fucose derivatives from abundant D-galactose. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 478-487.
- [54] K. Washiya; T. Furuike; F. Nakajima; Y.C. Lee; S.I. Nishimura, Design of fluorogenic substrates for continuous assay of sialyltransferase by resonance energy transfer. *Anal. Biochem.* **2000**, *283*, 39-48.
- [55] I. Jefferies; B.R. Bowen, Synthesis of inhibitors of  $\alpha$ -1,3-fucosyltransferase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1171-1174.
- [56] S. Cai; M.R. Stroud; S. Hakomori; T. Toyokuni, Synthesis of carbocyclic analogs of guanosine 5'-( $\beta$ -L-fucopyranosyl diphosphate) (GDP-fucose) as potential inhibitors of fucosyltransferases. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6693-6696.
- [57] B.M. Heskamp; G.H. Veeneman; G.A.v. der Marel; C.A.A. van Boeckel; J.H. van Boom, Design and synthesis of a trisubstrate analogue for  $\alpha$ -1,3-fucosyltransferase: A potential inhibitor. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 8397-8406.
- [58] K. Hosoguchi; T. Maeda; J. Furukawa; Y. Shinohara; H. Hinou; M. Sekiguchi; H. Togame; H. Takemoto; H. Kondo; S. Nishimura, An efficient approach to the discovery of potent inhibitors against glycosyltransferases. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5607-5619.
- [59] L.V. Lee; M.L. Mitchell; S.J. Huang; V.V. Fokin; K.B. Sharpless; C.H. Wong, A potent and highly selective inhibitor of human  $\alpha$ -1,3-fucosyltransferase via click chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9588-9589.
- [60] M.L. Mitchell; F. Tian; L.V. Lee; C.H. Wong, Synthesis and evaluation of transition-state analogue inhibitors of  $\alpha$ -1,3-fucosyltransferase. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 3041-3044.
- [61] B.W. Murray; S. Takayama; J. Schultz; C.H. Wong, Mechanism and specificity of human  $\alpha$ -1,3-fucosyltransferase V. *Biochemistry* **1996**, *35*, 11183-11195.
- [62] R. Huisgen *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*, Wiley: New York, **1984**.
- [63] H.C. Kolb; M.G. Finn; K.B. Sharpless, Click-Chemie: diverse chemische Funktionalität mit einer Handvoll guter Reaktionen. *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056-2075.

- [64] J.G. Moffatt; H.G. Khorana, Nucleoside Polyphosphates. VIII.1 New and Improved Syntheses of Uridine Diphosphate Glucose and Flavin Adenine Dinucleotide Using Nucleoside-5' Phosphoramidates. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3756-3761.
- [65] G.K. Wagner; T. Pesnot; R.A. Field, A survey of chemical methods for sugar-nucleotide synthesis. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 1172-1194.
- [66] V. Wittmann; C.H. Wong, 1*H*-Tetrazole as Catalyst in Phosphomorpholidate Coupling Reactions: Efficient Synthesis of GDP-Fucose, GDP-Mannose, and UDP-Galactose. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2144-2147.
- [67] M.C. Field; L.J. Wainwright, Molecular cloning of eukaryotic glycoprotein and glycolipid glycosyltransferases: a survey. *Glycobiology* **1995**, *5*, 463-472.
- [68] I. Heller; S. Biner; A. Isakov; Y. Kornitzky; I. Shapira; S. Marmor; M. Topilsky, TB or not TB: cavitory bronchiolitis obliterans organizing pneumonia mimicking pulmonary tuberculosis. *Chest* **2001**, *120*, 674-678.
- [69] S.C. Timmons; D.L. Jakeman, Stereoselective Chemical Synthesis of Sugar Nucleotides via Direct Displacement of Acylated Glycosyl Bromides. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1227-1230.
- [70] P. Peltier; R. Daniellou; C. Nugier-Chauvin; V. Ferrières, Versatile Synthesis of Rare Nucleotide Furanoses. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5227-5230.
- [71] S. Wendicke; S. Warnecke; C. Meier, Efficient synthesis of nucleoside diphosphate glycopyranoses. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2008**, *47*, 1500-1502.
- [72] S. Wolf; T. Zismann; N. Lunau; C. Meier, Reliable synthesis of various nucleoside diphosphate glycopyranoses. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7656-7664.
- [73] R. Stiller; J. Thiem, Enzymatic Synthesis of  $\beta$ -L-Fucose-1-phosphate and GDP-fucose. *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 467-471.
- [74] F. Cramer; H. Neunhoffer; K.H. Scheit; G. Schneider; J. Tennigkeit, New Phosphorylation Reactions and Protecting Groups for Nucleotides. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1962**, *1*, 331-331.
- [75] G. Baisch; R. Öhrlein, Convenient chemoenzymatic synthesis of  $\beta$ -purine-diphosphate sugars (GDP-fucose-analogues). *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 383-391.
- [76] M. Arlt; O. Hindsgaul, Rapid Chemical Synthesis of Sugar Nucleotides in a Form Suitable for Enzymic Oligosaccharide Synthesis. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 14-15.
- [77] F. Reck; S. Marmor; S. Fisher; M.A. Wuonola, Inhibitors of the bacterial cell wall biosynthesis enzyme MurC. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1451-1454.
- [78] S. Roseman; J.J. Distler; J.G. Moffatt; H.G. Khorana, Nucleoside Polyphosphates. XI.1 An Improved General Method for the Synthesis of Nucleotide Coenzymes. Syntheses of Uridine-5', Cytidine-5' and Guanosine-5' Diphosphate Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 659-663.
- [79] G.M. Watt; S.L. Flitsch; S. Fey; L. Elling; U. Kragl, The preparation of deoxy derivatives of mannose-1-phosphate and their substrate specificity towards recombinant GDP-mannose pyrophosphorylase from *Salmonella enterica*, group B. *Tetrahedron: Asymmetr.* **2000**, *11*, 621-628.
- [80] T. Müller; R.R. Schmidt, Investigations towards the synthesis of dTDP-2,6-dideoxy-D-erythro-3-hexulose — a potential intermediate in the biosynthesis of rare sugars. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5473-5476.
- [81] J. Elhalabi; K.G. Rice, Thiosugar nucleotide analogs: synthesis of 5'-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-S-acetyl-6-thio- $\alpha$ -D-galactopyranosyl diphosphate]. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1935-1940.
- [82] D. Lazarevic; J. Thiem, Syntheses of unnatural *N*-substituted UDP-galactosamines as alternative substrates for *N*-acetylgalactosaminyl transferases. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 2187-2194.
- [83] D. Lazarevic; J. Thiem, Artificial *N*-functionalized UDP-glucosamine analogues as modified substrates for *N*-acetylglucosaminyl transferases. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 569-576.

- [84] A. Zamyatina; S. Gronow; M. Puchberger; A. Graziani; A. Hofinger; P. Kosma, Efficient chemical synthesis of both anomers of ADP L-glycero- and D-glycero-D-manno-heptopyranose. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 2571-2589.
- [85] A. Graziani; A. Zamyatina; P. Kosma, A convenient synthesis of GDP D-glycero- $\alpha$ -D-manno-heptopyranose. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 147-151.
- [86] M.-C. Chapeau; P.A. Frey, Synthesis of UDP-4-deoxy-4-fluoroglucose and UDP-4-deoxy-4-fluorogalactose and their Interactions with Enzymes of Nucleotide Sugar Metabolism. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 6994-6998.
- [87] S. Wendicke, Neue Synthese von Nucleosiddiphosphatpyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-aktivierten Phosphatdonatoren, *Dissertation*, Universität Hamburg **2007**.
- [88] C. Meier, *cycloSal* Phosphates as Chemical Trojan Horses for Intracellular Nucleotide and Glycosylmonophosphate Delivery - Chemistry meets Biology. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 1081-1102.
- [89] S. Wolf; T. Zismann; N. Lunau; S. Warnecke; S. Wendicke; C. Meier, A convenient synthesis of nucleoside diphosphate glycopyranoses and other polyphosphorylated bioconjugates. *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, 89, 63-75.
- [90] S. Warnecke; C. Meier, Synthesis of nucleoside Di- and triphosphates and dinucleoside polyphosphates with *cycloSal*-nucleotides. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3024-3030.
- [91] S. Wolf; R.M. Berrio; C. Meier, Synthesis of Non-natural Nucleoside Diphosphate Sugars. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2011, 6304-6313.
- [92] J.S. Helm; Y. Hu; L. Chen; B. Gross; S. Walker, Identification of active-site inhibitors of MurG using a generalizable, high-throughput glycosyltransferase screen. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11168-11169.
- [93] M. Kotnik; P.S. Anderluh; A. Prezelj, Development of novel inhibitors targeting intracellular steps of peptidoglycan biosynthesis. *Curr. Pharm. Des.* **2007**, 13, 2283-2309.
- [94] D. D'Alonzo; A. Guaragna; G. Palumbo, Recent Advances in Monosaccharide Synthesis: A Journey into the L-Hexose World. *Curr. Org. Chem.* **2009**, 13, 71-98.
- [95] R.J. Stack, Identification of L-altrose in the extracellular polysaccharide from *Butyrivibrio fibrisolvens* strain CF3. *FEMS Microbiol. Lett.* **1987**, 48, 83-87.
- [96] Z. Sidorczyk; A. Swierzko; K. Zych; N.A. Paramonov; E.V. Vinogradov; A.S. Shashkov; Y.A. Knirel, Structure of the O-specific polysaccharide chain and serological characterization of the *Proteus penneri* 62 lipopolysaccharide compared with the lipopolysaccharides of the *P. penneri* strains. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)* **1996**, 44, 179-185.
- [97] M. Skurnik; R. Venho; P. Toivanen; A. al-Hendy, A novel locus of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 involved in lipopolysaccharide outer core biosynthesis. *Mol. Microbiol.* **1995**, 17, 575-594.
- [98] L. Zhang; A. al-Hendy; P. Toivanen; M. Skurnik, Genetic organization and sequence of the *rfb* gene cluster of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3: similarities to the dTDP-L-rhamnose biosynthesis pathway of *Salmonella* and to the bacterial polysaccharide transport systems. *Mol. Microbiol.* **1993**, 9, 309-321.
- [99] J. Hoffman; B. Lindberg; R.R. Brubaker, Structural studies of the O-specific side-chains of the lipopolysaccharide from *Yersinia enterocolitica* Ye 128. *Carbohydr. Res.* **1980**, 78, 212-214.
- [100] S.N. Senchenkova; A.S. Shashkov; A.P. Moran; I.M. Helander; Y.A. Knirel, Structures of the O-specific polysaccharide chains of *Pectinatus cerevisiiphilus* and *Pectinatus frisingensis* lipopolysaccharides. *Eur. J. Biochem.* **1995**, 232, 552-557.
- [101] A. Trefzer; J.A. Salas; A. Bechthold, Genes and enzymes involved in deoxysugar biosynthesis in bacteria. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, 16, 283-299.
- [102] P.R. Reeves; M. Hobbs; M.A. Valvano; M. Skurnik; C. Whitfield; D. Coplin; N. Kido; J. Klena; D. Maskell; C.R. Raetz; P.D. Rick, Bacterial polysaccharide synthesis and gene nomenclature. *Trends Microbiol.* **1996**, 4, 495-503.

- [103] W. Beer; G. Seltmann, Sugar composition of lipopolysaccharides in various *Yersinia enterocolitica* strains. *Z. Allg. Mikrobiol.* **1973**, *13*, 167-169.
- [104] W. Beer; G. Seltmann, Studies on the antigenic structure of Shigella. VII. Structure of the O-specific side chains of the lipopolysaccharides from strains 2 (serotype Ib) and 1290-63 (variant Y). *Z Allg Mikrobiol* **1973**, *13*, 107-113.
- [105] S.-C. Hung; C.-C. Wang; S.R. Thopate, Efficient Synthesis of L-Altrose and L-Mannose. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3119-3122.
- [106] M. Adinolfi; G. Barone; F. De Lorenzo; A. Iadonisi, Intramolecular Tishchenko Reactions of Protected Hexos-5-uloses: a Novel and Efficient Synthesis of L-Idose and L-Altrose. *Synlett* **1999**, 336-338.
- [107] H. Takahashi; Y. Hitomi; Y. Iwai; S. Ikegami, A Novel and Practical Synthesis of L-Hexoses from D-Glycono-1,5-lactones. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2995-3000.
- [108] A. Guaragna; C. Napolitano; D. D'Alonzo; S. Pedatella; G. Palumbo, A versatile route to L-hexoses: synthesis of L-mannose and L-altrose. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4863-4866.
- [109] L. Ermolenko; N.A. Sasaki, Diastereoselective synthesis of all eight L-hexoses from L-ascorbic acid. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 693-703.
- [110] S.Y. Ko; A.W.M. Lee; S. Masamune; L. A. Reed Iii; K. Barry Sharpless; F.J. Walker, Total synthesis of the L-hexoses. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 245-264.
- [111] M. Takeuchi; T. Taniguchi; K. Ogasawara, Back to the Sugars: A New Enantio and Diastereocontrolled Route to Hexoses from Furfural. *Synthesis* **1999**, 341-354.
- [112] M. Shan; Y. Xing; G.A. O'Doherty, *De novo* asymmetric synthesis of an  $\alpha$ -6-deoxy-altropyranoside as well as its 2-/3-deoxy and 2,3-dideoxy congeners. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5961-5966.
- [113] F.P. Boulineau; A. Wei, Synthesis of L-sugars from 4-deoxypentenoses. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2281-2283.
- [114] C. Sowa; R. Miethchen; H. Reinke, Non-Anomeric Sugar Isoureas. *J. Carbohydr. Chem.* **2002**, *21*, 293-303.
- [115] G. Srivastava; K.J. Kaur; O. Hindsgaul; M.M. Palcic, Enzymatic transfer of a pre-assembled trisaccharide antigen to cell surfaces using a fucosyltransferase. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 22356-22361.
- [116] M. Sawa; T.-L. Hsu; T. Itoh; M. Sugiyama; S.R. Hanson; P.K. Vogt; C.-H. Wong, Glycoproteomic probes for fluorescent imaging of fucosylated glycans *in vivo*. *Nat. Acad. Sci. Proc.* **2006**, *103*, 12371-12376.
- [117] C. Vogel; C. Bergemann; A.-J. Ott; T.K. Lindhorst; J. Thiem; W.V. Dahlhoff; C. Hällgren; M.M. Palcic; O. Hindsgaul, Synthesis of Carbon-Backbone-Elongated GDP-L-Fucose Derivatives as Substrates for Fucosyltransferase-Catalysed Reactions. *Liebigs Ann.* **1997**, 601-612.
- [118] C. Bullock; L. Hough; A.C. Richardson, The synthesis of some substituted D-glucose 1-phosphate derivatives and their reactivity towards nucleophilic substitution. *Carbohydr. Res.* **1986**, *147*, 330-336.
- [119] [www.atto-tec.com](http://www.atto-tec.com), letzter Zugriff am 23.05.12.
- [120] S. Kahl, Synthese und Untersuchung Farbstoff-funktionalisierter N-Acetyllactosamin-Glycoside, *Diplomarbeit*, Universität Hamburg **2009**.
- [121] C. Meier; T. Knispel; E. De Clercq; J. Balzarini, *cycloSal*-Pronucleotides of 2',3'-dideoxyadenosine and 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydroadenosine: synthesis and antiviral evaluation of a highly efficient nucleotide delivery system. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1604-1614.
- [122] C. Meier, 2-Nucleos-5'-O-yl-4H-1,3,2-benzodioxaphosphinin-2-oxides A new concept for lipophilic, potential Prodrugs of biologically active nucleoside monophosphates. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1996**, *35*, 70-72.
- [123] J. Panero; J. Trelles; V. Rodano; J.M. Montserrat; L.E. Iglesias; E.S. Lewkowicz; A.M. Iribarren, Microbial hydrolysis of acetylated nucleosides. *Biotechnol. Lett.* **2006**, *28*, 1077-1081.

- [124] H.K. Singh; G.L. Cote; R.S. Sikors, Enzymatic regioselective deacylation of 2', 3', 5'-tri-O-acylribonucleosides: Enzymatic synthesis of 2',3'-di-O-acylribonucleosides. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 5201-5204.
- [125] T. Zismann, Synthese von Nucleosiddiphosphatglycosiden basierend auf acceptor-substituierten *cycloSal*-Nucleosidmonophosphatestern, *Dissertation*, Universität Hamburg **2011**.
- [126] U.B. Gokhale; O. Hindsgaul; M.M. Palcic, Chemical synthesis of GDP-fucose analogs and their utilization by the Lewis \*A(1→4) fucosyltransferase. *Canad. J. Chem.* **1990**, 68, 1063-1071.
- [127] J.A.F. Joosten., B. Evers, R.P.v. Summeren, J.P. Kamerling, J.F.G.Vliegthart, Synthesis of  $\beta$ -D-Galp-(1→4)- $\beta$ -D-GlcpNAc-(1→2)- $\alpha$ -D-Manp-(1→O)(CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub> Mimics to Explore the Substrate Specificity of Sialyltransferases and trans-Sialidases. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2003, 3569-3586.
- [128] K. Bock; I. Lundt; C. Pedersen, The preparation of some bromodeoxy- and deoxyhexoses from bromodeoxyaldonic acids. *Carbohydr. Res.* **1981**, 90, 7-16.
- [129] H. Binch; K. Stangier; J. Thiem, Chemical synthesis of GDP-L-galactose and analogues. *Carbohydr. Res.* **1998**, 306, 409-419.
- [130] T. Piernitzki, Synthese Funktionalisierter Nucleosiddiphosphat-Zucker, *Bachelor-Arbeit*, Universität Hamburg **2011**.
- [131] P.I. Abronina; V.V. Kachala; L.O. Kononov, A novel synthesis of  $\beta$ -D-mannopyranosyl azide by phase transfer catalysis. *Carbohydr. Res.* **2009**, 344, 240-244.
- [132] H. Yu; H. Chokhawala; R. Karpel; H. Yu; B. Wu; J. Zhang; Y. Zhang; Q. Jia; X. Chen, A Multifunctional *Pasteurella multocida* Sialyltransferase: A Powerful Tool for the Synthesis of Sialoside Libraries. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 17618-17619.
- [133] S. Porwanski; A. Marsura, Tandem Staudinger–Aza-Wittig Templated Reaction: *De Novo* Synthesis of Sugar–Ureido Cryptands. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 2047-2050.
- [134] S. Maschauer; O. Prante, A series of 2-O-trifluoromethylsulfonyl-D-mannopyranosides as precursors for concomitant 18F-labeling and glycosylation by click chemistry. *Carbohydr. Res.* **2009**, 344, 753-761.
- [135] B.L. Wilkinson; L.F. Bornaghi; S.-A. Poulsen; T.A. Houston, Synthetic utility of glycosyl triazoles in carbohydrate chemistry. *Tetrahedron* **2006**, 62, 8115-8125.
- [136] H. Ding; R. Yang; Y. Song; Q. Xiao; J. Wu, A Highly Efficient and Selective Synthesis of 1,2,3-Triazole Linked Saccharide Nucleosides Via "Click Chemistry". *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **2008**, 27, 368-375.
- [137] R. Gerardy-Schahn; S. Oelmann; H. Bakker, Nucleotide sugar transporters: biological and functional aspects. *Biochimie* **2001**, 83, 775-782.
- [138] S. Warnecke, Neue Synthese phosphorylierter Biokonjugate aus *cycloSal*-aktivierten Nucleotiden, *Dissertation*, Universität Hamburg **2010**.
- [139] T.Y. But; P.H. Toy, The Mitsunobu reaction: origin, mechanism, improvements, and applications. *Chem. Asian J.* **2007**, 2, 1340-1355.
- [140] O. Mitsunobu, The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. *Synthesis* **1981**, 1981, 1-28.
- [141] N. Lunau, Synthese von Thymidindiphosphat-6-desoxy-glycopyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-aktivierten Phosphatdonatoren, *Diplomarbeit*, Universität Hamburg **2008**.
- [142] J.J. M. Marek, Synthesis of Methyl 2,6-Dideoxy- $\alpha$ -D-xylo- and  $\alpha$ -D-xylohexapyranoside. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1980**, 45, 2979.
- [143] M. Nüchter; B. Ondruschka; W. Lautenschläger, Microwave-assisted Synthesis of Alkyl Glycosides. *Synth. Commun.* **2001**, 31, 1277-1283.
- [144] B. Jager; H. Lay; J. Lehmann; L. Ziser, The stepwise degradation of a glycosylated aldose. A potential method for sequencing branched oligosaccharides. *Carbohydr. Res.* **1991**, 217, 99-106.
- [145] P.A. Gent; R. Gigg, The allyl ether as a protecting group in carbohydrate chemistry. Part V. Preparation of benzyl ethers of carbohydrates for use in oligosaccharide synthesis. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1974**, 1446-1455.

- [146] S.-C. Hung; R. Puranik; F.-C. Chi, Novel synthesis of 1,2:3,5-di-O-isopropylidene- $\beta$ -L-idofuranoside and its derivatives at C6. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 77-80.
- [147] G. Hodosi; B. Podányi; J. Kuzsmann, The mechanism of the hydroxyl  $\rightarrow$  halogen exchange reaction in the presence of triphenylphosphine, N-bromosuccinimide, and N,N-dimethylformamide: application of a new Vilsmeier-type reagent in carbohydrate chemistry. *Carbohydr. Res.* **1992**, *230*, 327-342.
- [148] B. ElAmin; G.M. Anantharamaiah; G.P. Royer; G.E. Means, Removal of benzyl-type protecting groups from peptides by catalytic transfer hydrogenation with formic acid. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 3442-3444.
- [149] J.P. Kutney; N. Abdurahman; C. Gletsos; P. Le Quesne; E. Piers; I. Vlattas, Total synthesis of indole and dihydroindole alkaloids. V. Total synthesis of dl-quebrachamine and dl-aspidospermidine. General entry into the aspidosperma alkaloids. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 1727-1735.
- [150] R. Rodebaugh; J.S. Debenham; B. Fraser-Reid, Debenzylation of complex oligosaccharides using ferric chloride. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5477-5478.
- [151] G. Yang; X. Ding; F. Kong, Selective 6-O-Debenzylation of Mono- and Disaccharide Derivatives Using  $ZnCl_2$ - $Ac_2O$ -HOAc. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6725-6728.
- [152] W.M. Pearlman, Noble metal hydroxides on carbon nonpyrophoric dry catalysts. *Tetrahedron Lett.* **1967**, *8*, 1663-1664.
- [153] *Modern Synthetic Methods*; B. Ernst; C. Leumann, Eds.; Verlag Helvetica Chimica Acta: Basel, 1995.
- [154] M.E. Haque; T. Kikuchi; K. Kanemitsu; Y. Tsuda, Selective Deoxygenation via Regioselective Thioacylation of Non-protected Glycopyranosides by the Dibutyltin Oxide Method. *Chem. Pharmaceut. Bull.* **1987**, *35*, 1016-1029.
- [155] P. Simerská; D. Monti; I. Čechová; H. Pelantová; M. Macková; K. Bezouška; S. Riva; V. Křen, Induction and characterization of an unusual  $\alpha$ -D-galactosidase from *Talaromyces flavus*. *J. Biotech.* **2007**, *128*, 61-71.
- [156] M. Mori; S. Tejima; T. Niwa, New Syntheses of 6-Deoxy-L-gulose and 6-Deoxy-L-talose. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 4037-4044.
- [157] M. Brackhagen; H. Boye; C. Vogel, Synthesis of [6-2H]- and 6-Deoxy-6-fluoro-L-galactose Derivatives. *J. Carbohydr. Chem.* **2001**, *20*, 31-43.
- [158] R.W. Binkley, Reactions of *p*-toluenesulfonates with lithium triethylborohydride. Visible and hidden rearrangements. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5646-5649.
- [159] B. Matsuhira; A.B. Zanlungo, Selective *p*-toluenesulfonylation of methyl  $\alpha$ -D-galactopyranoside. *Carbohydr. Res.* **1980**, *81*, 330-334.
- [160] E.J. Corey; A. Venkateswarlu, Protection of hydroxyl groups as tert-butyltrimethylsilyl derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190-6191.
- [161] K. Yoshimoto; Y. Tsuda, General Path of O-Acyl Migration in D-Glucose Derivatives: Acyl Migration of Methyl Mono-O-myristoyl- $\alpha$ - and  $\beta$ -D-Glucopyranosides and Mono-O-myristoyl-D-glucopyranoses. *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*, 4324-4334.
- [162] J.M. Sugihara, Relative reactivities of hydroxyl groups of carbohydrates. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1953**, *8*, 1-44.
- [163] W. Bonner, Notes: CL-C2 Acetyl Migration on Methylation of the Anomeric 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-glucopyranoses. *J. Org. Chem. Soc.* **1959**, *24*, 1388-1390.
- [164] H.B. Wood; H.G. Fletcher, Stevioside. III. The Anomeric 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-O-mesitoyl-D-glucopyranoses and their Behavior with Alkali<sup>1,2</sup>. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 207-210.
- [165] L. Benati; R. Leardini; M. Minozzi; D. Nanni; R. Scialpi; P. Spagnolo; S. Strazzari; G. Zanardi, A novel tin-free procedure for alkyl radical reactions. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2004**, *43*, 3598-3601.
- [166] L.M. Lerner, A convenient synthesis of 1,2,3,4-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-fucopyranose from D-galactose. *Carbohydr. Res.* **1993**, *241*, 291-294.
- [167] F.P. Boulineau; A. Wei, Mirror-image carbohydrates: synthesis of the unnatural enantiomer of a blood group trisaccharide. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3391-3399.

- [168] N. Blank; B.F. Straub; T. Opatz, 1,3-Benzyl Migration in Iminium Ions: Evidence for a Fast Free-Radical Chain Reaction. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2011, 7355-7365.
- [169] I.G. Moores; E.F.V. Scriven; R.K. Smalley; H. Suschitzky, An *N*→*N'*-benzyl migration during the formation of some [trifluoro-methyl]imidazo[4,5-*h*]quinolines. *J. Fluorine Chem.* **1988**, 41, 277-288.
- [170] S. Samsoniya; I. Chikvaizze; É. Gogrichiani; N. Machaidze; Z. Saliya, 1,7-migration of benzyl group in 2-substituted *N*-benzylindoles. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1997**, 33, 527-531.
- [171] K. Fujii; K. Ichikawa; M. Node; E. Fujita, Hard acid and soft nucleophile system. New efficient method for removal of benzyl protecting group. *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 1661-1664.
- [172] J.P. Marsh; L. Goodman, Removal of *O*-Benzyl Blocking Groups with Trifluoroacetic Acid. *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 2491-2492.
- [173] M.M. Sim; H. Kondo; C.-H. Wong, Synthesis of dibenzyl glycosyl phosphites using dibenzyl *N,N*-diethylphosphoramidite as phosphitylating reagent: an effective route to glycosyl phosphates, nucleotides, and glycosides. *J. Amer. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2260-2267.
- [174] Z.R. Laughrey; S.E. Kiehna; A.J. Riemen; M.L. Waters, Carbohydrate- $\pi$  Interactions: What Are They Worth? *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 14625-14633.
- [175] E. Huhta; A. Parjanen; S. Mikkola, A kinetic study on the chemical cleavage of nucleoside diphosphate sugars. *Carbohydr. Res.* **2010**, 345, 696-703.
- [176] Y. Kajihara; S. Nishigaki; D. Hanzawa; G. Nakanishi; R. Okamoto; N. Yamamoto, Unique Self-Anhydride Formation in the Degradation of Cytidine-5'-monophosphosialic Acid (CMP-Neu5Ac) and Cytidine-5'-diphosphosialic Acid (CDP-Neu5Ac) and its Application in CMP-sialic Acid Analogue Synthesis. *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 7645-7655.
- [177] Vincent S. Tagliabracci; C. Heiss; C. Karthik; Christopher J. Contreras; J. Glushka; M. Ishihara; P. Azadi; Thomas D. Hurley; Anna A. DePaoli-Roach; Peter J. Roach, Phosphate Incorporation during Glycogen Synthesis and Lafora Disease. *Cell Metab.* **2011**, 13, 274-282.
- [178] A. Zamyatina; S. Gronow; M. Puchberger; A. Graziani; A. Hofinger; P. Kosma, Efficient chemical synthesis of both anomers of ADP L-glycero- and D-glycero-D-manno-heptopyranose. *Carbohydr. Res.* **2003**, 338, 2571-2589.
- [179] V.C. Tonn, Festphasen-gebundene *cycloSal*-Nucleotide zur Synthese phosphorylierter Biomoleküle, *Dissertation*, Universität Hamburg **2011**.
- [180] D. Hanahan; R.A. Weinberg, The hallmarks of cancer. *Cell* **2000**, 100, 57-70.
- [181] L. Holmgren; M.S. O'Reilly; J. Folkman, Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nat. Med.* **1995**, 1, 149-153.
- [182] J. Denekamp, Review article: angiogenesis, neovascular proliferation and vascular pathophysiology as targets for cancer therapy. *Br. J. Radiol.* **1993**, 66, 181-196.
- [183] W.-D. Beecken; Y. Shang, Tumorangioese und Antiangiogenesetherapie maligner Tumore. *Journal für Urologie und Urogynäkologie* **2000**, 7, 7-14.
- [184] R. Bicknell, C.E. Lewis, N. Ferrara, *Tumour Angiogenesis*, Oxford University Press: Oxford, **1997**.
- [185] I.D. Goldberg, E.M. Rosen, *Regulation of Angiogenesis*, 1st ed., Birkhäuser Basel, **1996**.
- [186] F. Ishikawa; K. Miyazono; U. Hellman; H. Drexler; C. Wernstedt; K. Hagiwara; K. Usuki; F. Takaku; W. Risau; C.H. Heldin, Identification of angiogenic activity and the cloning and expression of platelet-derived endothelial cell growth factor. *Nature* **1989**, 338, 557-562.
- [187] A. Moghaddam; R. Bicknell, Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor in *Escherichia coli* and confirmation of its thymidine phosphorylase activity. *Biochemistry* **1992**, 31, 12141-12146.

- [188] C. Finnis; N. Dodsworth; C.E. Pollitt; G. Carr; D. Sleep, Thymidine phosphorylase activity of platelet-derived endothelial cell growth factor is responsible for endothelial cell mitogenicity. *Eur. J. Biochem.* **1993**, *212*, 201-210.
- [189] G.J. Barton; C.P. Ponting; G. Spraggon; C. Finnis; D. Sleep, Human platelet-derived endothelial cell growth factor is homologous to *Escherichia coli* thymidine phosphorylase. *Protein Sci.* **1992**, *1*, 688-690.
- [190] K. Miyadera; T. Sumizawa; M. Haraguchi; H. Yoshida; W. Konstanty; Y. Yamada; S. Akiyama, Role of thymidine phosphorylase activity in the angiogenic effect of platelet derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase. *Cancer Res.* **1995**, *55*, 1687-1690.
- [191] J.L. Pauly; M.G. Schuller; A.A. Zelcer; T.A. Kirss; S.S. Gore; M.J. Germain, Identification and comparative analysis of thymidine phosphorylase in the plasma of healthy subjects and cancer patients. *J. Natl. Cancer Inst.* **1977**, *58*, 1587-1590.
- [192] M. Kitazono; Y. Takebayashi; K. Ishitsuka; S. Takao; A. Tani; T. Furukawa; K. Miyadera; Y. Yamada; T. Aikou; S. Akiyama, Prevention of hypoxia-induced apoptosis by the angiogenic factor thymidine phosphorylase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, *253*, 797-803.
- [193] A. Bronckaers; F. Gago; J. Balzarini; S. Liekens, The dual role of thymidine phosphorylase in cancer development and chemotherapy. *Med. Res. Rev.* **2009**, *29*, 903-953.
- [194] I.V. Bijnsdorp; K. Azijli; E.E. Jansen; M.M. Wamelink; C. Jakobs; E.A. Struys; M. Fukushima; F.A. Kruyt; G.J. Peters, Accumulation of thymidine-derived sugars in thymidine phosphorylase overexpressing cells. *Biochem. Pharmacol.* **2010**, *80*, 786-792.
- [195] A. Albert, Chemical aspects of selective toxicity. *Nature* **1958**, *182*, 421-422.
- [196] P. Krosgaard-Larsen, H. Bundgaard, *Textbook of Drug Design and Development*, Harwood Academic Publishers, **1991**.
- [197] A. Pompon; I. Lefebvre; J.L. Imbach; S. Kahn; D. Farquhar, Decomposition pathways of the mono- and bis(pivaloyloxymethyl) esters of azidothymidine 5'-monophosphate in cell extract and in tissue culture medium: an application of the 'online ISRP-cleaning' HPLC technique. *Antiviral Chem. Chemother.* **1994**, *5*, 91-98.
- [198] J.K. Sastry; P.N. Nehete; S. Khan; B.J. Nowak; W. Plunkett; R.B. Arlinghaus; D. Farquhar, Membrane-permeable dideoxyuridine 5'-monophosphate analogue inhibits human immunodeficiency virus infection. *Mol. Pharmacol.* **1992**, *41*, 441-445.
- [199] D. Farquhar; S. Khan; D.N. Srivastva; P.P. Saunders, Synthesis and antitumor evaluation of bis[(pivaloyloxy)methyl] 2'-deoxy-5-fluorouridine 5'-monophosphate (FdUMP): a strategy to introduce nucleotides into cells. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3902-3909.
- [200] C. Périgaud; G. Gosselin; I. Lefebvre; J.-L. Girardet; S. Benzaria; I. Barber; J.L. Imbach, Rational design for cytosolic delivery of nucleoside monophosphates: "SATE" and "DTE" as enzyme-labile transient phosphate protecting groups. *Bioorg. Med. Chem.* **1993**, *3*, 2521-2526.
- [201] S. Peyrottes; D. Egron; I. Lefebvre; G. Gosselin; J.L. Imbach; C. Perigaud, SATE pronucleotide approaches: an overview. *Mini Rev. Med. Chem.* **2004**, *4*, 395-408.
- [202] I. Lefebvre; C. Perigaud; A. Pompon; A.M. Aubertin; J.L. Girardet; A. Kirn; G. Gosselin; J.L. Imbach, Mononucleoside phosphotriester derivatives with S-acyl-2-thioethyl bioreversible phosphate-protecting groups: intracellular delivery of 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine 5'-monophosphate. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3941-3950.
- [203] W. Thomson; D. Nicholls; W.J. Irwin; J.S. Al-Mushadani; S. Freeman; A. Karpas; J. Petrik; N. Mahmood; A.J. Hay, Synthesis, bioactivation and anti-HIV activity of the bis(4-acyloxybenzyl) and mono(4-acyloxybenzyl) esters of the 5'-monophosphate of AZT. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1993**, 1239-1245.

- [204] C. McGuigan; R.N. Pathirana; J. Balzarini; E. De Clercq, Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 1048-1052.
- [205] C. McGuigan; R.N. Pathirana; N. Mahmood; K.G. Devine; A.J. Hay, Aryl phosphate derivatives of AZT retain activity against HIV1 in cell lines which are resistant to the action of AZT. *Antiviral Res.* **1992**, 17, 311-321.
- [206] Y. Mehellou; J. Balzarini; C. McGuigan, An investigation into the anti-HIV activity of 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxyuridine (d4U) and 2',3'-dideoxyuridine (ddU) phosphoramidate 'ProTide' derivatives. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 2548-2553.
- [207] M.D. Erion; D.A. Bullough; C.C. Lin; Z. Hong, HepDirect prodrugs for targeting nucleotide-based antiviral drugs to the liver. *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2006**, 7, 109-117.
- [208] M.D. Erion; K.R. Reddy; S.H. Boyer; M.C. Matelich; J. Gomez-Galeno; R.H. Lemus; B.G. Ugarkar; T.J. Colby; J. Schanzer; P.D. Van Poelje, Design, synthesis, and characterization of a series of cytochrome P(450) 3A-activated prodrugs (HepDirect prodrugs) useful for targeting phosph(on)ate-based drugs to the liver. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 5154-5163.
- [209] C. Meier, Pro-Nucleotides - Recent advances in the design of efficient tools for the delivery of biologically active nucleoside monophosphates. *Synlett* **1998**, 233-242.
- [210] C.R. Wagner; V.V. Iyer; E.J. McIntee, Pronucleotides: toward the in vivo delivery of antiviral and anticancer nucleotides. *Med. Res. Rev.* **2000**, 20, 417-451.
- [211] B.M. Liederer; R.T. Borchardt, Enzymes involved in the bioconversion of ester-based prodrugs. *J. Pharm. Sci.* **2006**, 95, 1177-1195.
- [212] C. Perigaud; G. Gosselin; J.-L. Imbach, Minireview: from the pronucleotide concept to the SATE phosphate protecting groups. *Curr. Top. Med. Chem.* **1997**, 2, 15-29.
- [213] C. Meier, *cycloSal*-pronucleotides design of chemical trojan horses. *Mini Rev. Med. Chem.* **2002**, 2, 219-234.
- [214] J. Balzarini; S. Aquaro; T. Knispel; C. Rampazzo; V. Bianchi; C.-F. Perno; E.d. Clercq; C. Meier, *cycloSal*igenyl-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine monophosphate: Efficient intracellular delivery of d4TMP. *Mol. Pharmacol.* **2000**, 58, 928-935.
- [215] C. Meier; E.d. Clercq; J. Balzarini, Nucleotide delivery from *cycloSal*igenyl-3'-azido-3'-deoxythymidine monophosphates (*cycloSal*-AZTMP). *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 837-846.
- [216] M. Ruppel, Synthese und Hydrolyseverhalten von "lock-in"-modifizierten *cycloSal*-Pronucleotiden, *Dissertation*, Universität Hamburg **2003**.
- [217] C. Ducho, *cycloSal*-Nucleotide-Ansätze zur Optimierung eines Wirkstoffsystems, *Dissertation*, Universität Hamburg **2005**.
- [218] D. V.-Tenter, Neue Entwicklungen der "lock-in" modifizierten *cycloSal*-Nucleosidmonophosphate, *Dissertation*, Universität Hamburg **2008**.
- [219] H.J. Jessen, Untersuchungen zur intrazellulären Freisetzung von Nucleosidphosphaten, *Dissertation*, Universität Hamburg **2008**.
- [220] N. Gisch, Synthese und Untersuchungen zur Struktur-Aktivitäts-Beziehung enzymatisch aktivierbarer *cycloSal*-Pronucleotide, *Dissertation*, Universität Hamburg **2008**.
- [221] N. Gisch; J. Balzarini; C. Meier, Studies on enzyme-cleavable dialkoxymethyl-*cycloSal*igenyl-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine monophosphates. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 6752-6760.
- [222] H.J. Jessen; J. Balzarini; C. Meier, Intracellular trapping of *cycloSal*-pronucleotides: modification of prodrugs with amino acid esters. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 6592-6598.
- [223] T. Schulz, Synthese von Glycosyl-funktionalisierten *cycloSal*-Pronucleotiden, *Diplomarbeit*, Universität Hamburg **2007**.
- [224] J. Jaeken; M. Vanderschueren-Lodeweyckx; P. Casaer, Familial Psychomotor Retardation with Markedly Low Fluctuating Serum Proteins, FSH and GH Levels, Partial TBG Deficiency, Increased Serum Arylphosphatase A and Increased CSF Protein: a new Syndrome? *Pediatr. Res.* **1980**, 14, 179-187.

- [225] T. Marquardt; H.H. Freeze, Congenital Disorder of Glycosylation. Glycosylation Defects in Man and Biological Models for their Study. *Biol. Chem.* **2001**, 382, 161-177.
- [226] K. Penneerselvam; H.H. Freeze, Mannose Corrects Altered N-Glycosylation in Carbohydrate-deficient Glycoprotein Syndrome Fibroblasts. *J. Clin. Invest.* **1996**, 97, 1478-1487.
- [227] U. Muus; C. Kranz; T. Marquardt; C. Meier, *cyclo*Saligenyl-mannose-1-monophosphates as a new Strategy in CDG-Ia Therapy: Hydrolysis, Mechanistic Insights and Biological Activity. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1228-1235.
- [228] U. Muus, Synthese, Untersuchung und mechanistische Interpretation von Prodrug-Konzepten an Nucleotidanaloga und Glycosylmonophosphaten, *Dissertation*, Universität Hamburg **2003**.
- [229] R. Hardre; A. Khaled; A. Willemetz; T. Dupre; S. Moore; C. Gravier-Pelletier; Y. Le Merrer, Mono, di and tri-mannopyranosyl phosphates as mannose-1-phosphate prodrugs for potential CDG-Ia therapy. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 152-155.
- [230] A. Khaled; C. Gravier-Pelletier; Y.L. Merrer, Synthesis of bis-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl)-L-serinyl phosphate, as a prodrug of mannose-1-phosphate, *Tetrahedron: Asymmetr.* **2007**, 18, 2121-2124.
- [231] P.F. Alewood; S. Palma; R.B. Johns, Synthesis of a model phosphopeptide. *Aust. J. Chem.* **1984**, 37, 425-428.
- [232] P.F. Alewood; J.W. Perich; R.B. Johns, Preparation of  $N\alpha$ -(*tert*-butoxycarbonyl)-O-(dibenzylphosphono)-L-serine. *Aust. J. Chem.* **1984**, 37, 429-433.
- [233] J.W. Perich; R.B. Johns, Synthesis of casein-related peptides and phosphopeptides. XV. The efficient synthesis of multiple-Ser(P)-containing peptides. *Aust. J. Chem.* **1991**, 44, 1683-1690.
- [234] O. Ludek, Synthese carbocyclischer Analoga des Thymidylats für Struktur-Aktivitäts-Untersuchungen an Thymidylatkinasen, *Dissertation*, Universität Hamburg **2005**.
- [235] A. Meinzer; A. Breckel; N.M. B. A. Thaher; H.-H. Otto, Properties and Reactions of Substituted 1,2-Thiazetidines 1,1-Dioxides: Chiral Mono and Bicyclic 1,2-Thiazetidines 1,1-Dioxides from  $\alpha$ -Amino acids. *Helv. Chim. Acta* **2004**, 87, 90 -105.
- [236] E.H. Rios Morales; J. Balzarini; C. Meier, Diastereoselective synthesis of *cyclo*saligenyl-nucleosyl-phosphotriesters. *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 1649-1659.
- [237] K. Klingenberg, Synthese lipophiler Ribose-Prodrugs, *Bachelor-Arbeit*, Universität Hamburg **2010**.
- [238] H.A. Nunez; J.V. O'Connor; P.R. Rosevear; R. Barker, The synthesis and characterization of  $\alpha$ - and ( $\beta$ -L-fucopyranosyl phosphates and GDP fucose. *Can. J. Chem.* **1981**, 59, 2086-2095.

## Anhang

### Gefahrstoffverzeichnis

Das folgende Verzeichnis umfasst Verbindungen und Lösungsmittel, mit denen während dieser Arbeit umgegangen wurde. Die Stoffe, für die keine bekannte Einstufung existiert, sind als gefährlich einzustufen. Es ist unbedingt zu vermeiden, dass man sich mit diesen Stoffen in irgendeiner Weise kontaminiert und dass diese Stoffe in die Umwelt eingebracht werden.

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Aceton	Gefahr		225-319-336-EU066	210-233-305+351+338
Acetonitril	Gefahr		225-302+312+332-319	210-305+351+338-403+235
Acetylchlorid	Gefahr		EU014-225-314	210-233-240-241-242-243-260-264-280-301+330+331-303+361+353
Amberlite IR 120	Achtung		319	305+351+338
Amoniumacetat	Kein gefährliches Produkt im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG			
<i>bis</i> -Benzyl- <i>N,N</i> -diisopropylphosphoramidit	Achtung		315-319-335	261-305+351+338
Benzoessäure	Achtung		280-270	305+351+338-337+313
Benzol	Gefahr		225-315-319-340-350-372-304	201-301+310-331-302+352-305+351+338

Anhang

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Benzylbromid	Achtung		319-335-315	305+351+338-302+352
Boran-Tetrahydrofuran-Komplex	Gefahr		314	280-305+351+338-310
<i>N</i> -Brom-succinimid	Gefahr		302-314	260-264-280-301+312-301+330+331-303+361+353-304+340-305+351+338-310-321-405
Bromwasserstoff in Eisessig (33%)	Gefahr		314-335	260-264-280-301+330+331-303+361+353-304+340-305+351+338-310-321-403+233-405
<i>tert</i> -Butanol	Gefahr		225-332-319-335	210-280-305+351+338-304+340-312-403+233
<i>tert</i> -Butylhydroperoxid	Gefahr		242-226-302+332-311-314-417-411	273-280-301+330+331-302+353-305+351+338
Calciumchlorid	Achtung		319	280-305+351+338
Calciumhydrid	Gefahr		260	402+404
Camphersulfonsäure	Gefahr		314	280-305+351+338-310
<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure	Achtung		242-315-317-319-335	220-261-280-305+351-338-410-411+235

Anhang

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Chloroform	Achtung		302-315-351-373	302/352-314
5-Chlorsalicylsäure	Achtung		319-302-335-315	261-301+312-302+352-280-305+351+338
Cyclohexylamin	Gefahr		226-312-302-314-361f	210-280-302/352-301/330/331-305/351/338-309/310
Deuteriochloroform	Achtung		351-302-373-315	302+352-314
Deuteriumoxid	Kein gefährliches Produkt im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG			
1,8-Diazabicyclo[4.5.0]undec-7-en	Gefahr		301-314	280-305+351+338-310
Dichlormethan	Achtung		351	281-308+313
4,5-Dicyanidoimidazol	Gefahr		302	260-262
Diethylether	Gefahr		224-302-336-EU019-EU066	210-240-403+235
N,N-Diisopropylethylamin	Gefahr		225-302-314-412	210-233-240-241-242-243-260-264-273-280-301+312-301+330+331-303+361+353-304+340

Anhang

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Chloroform	Achtung		302-315-351-373	302/352-314
Diisopropylazodicarboxylat	Achtung		315-319-335-411	273-302+352-304+340-305+351+338
2,2-Dimethoxypropan	Gefahr		225-319	210-305+351+338-403+235
4-(Dimethylamino)pyridin	Gefahr		301-310-315-319-335	261-262-264-280-301+310-302+350-304+340-305+351+338-321-330-332+313-337+313-361
N,N-Dimethylformamid	Gefahr		360D-226-332-312-319	201-302+352-305+351+338-308+313
Dimethylsufoxid-d <sub>6</sub>	Kein gefährliches Produkt im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG			
1,4-Dioxan	Gefahr		225-351-319-335-EU019-EU066	210-281-305+351+338-308+313
DOWEX 50WX8	Achtung		319	280-264-305+351+338
Essigsäure	Gefahr		226-314	280-305+351+338-310
Essigsäureanhydrid	Gefahr		226-332-302-314-335	280-301+330+331-305+351+338-309+310

Anhang

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Ethanol	Gefahr		225	210
Ethylacetat	Gefahr	 	225-319-336-EU066	210-240-305+351+338
Hydrazinium-acetat	Gefahr	  	301-311-331-350-410	201-261-273-280-301+310-311
Imidazol	Gefahr	  	301-314-361	260-281-303+361+353-301+330+331-305+351+338
Iod	Gefahr	  	302-312-332-315-319-335-372-400	260-261-280-305+351+338-321-322-362-301+312-405-501
Kaliumcarbonat	Achtung		315-319-335	302+352-305+351+338-337+313
Kaliumpermanganat	Gefahr	  	272-302-410	210-280-301+312-319-501
Kupfer(II)-sulfat-pentahydrat	Achtung	 	302-319-315-410	273-302-352-305+351+338-330-312-501
Lithium-aluminiumhydrid	Gefahr	 	260-314	280-301+330+331-305+351+338-402+404

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
3-Methylsalicylsäure	Gefahr		302-315-318-335	303+353-305+351+338-313
Mesylchlorid	Gefahr		301-311-314-330-335	260-264-280-284-301+310-301+330+331-302+352-303+361+353-304+340-305+351+338-320-403+233
Methanol	Gefahr		225-301+311+331	210-233-240-280-302+352-304+340-309+310-403+235
Natrium	Gefahr		260-314-EU014	280-301+330+331-305+351+338-309+310-370+378-422
Natriumazid	Gefahr		300+EUH032-410	273-270-301+310-302+350-405-501
Natriumascorbat	Kein gefährliches Produkt im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG			
Natriumborhydrid	Gefahr		360FD	201-202-281-308+313-405-501
Natriumchlorid	Kein gefährliches Produkt im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG			
Natriumhydrid	Gefahr		260-314	280-301+330+331-305+351+338-402+404
Natriumhydrogenphosphat	Kein gefährliches Produkt im Sinne der Richtlinie 67/548/EWG			
Natriumhydroxid	Gefahr		314-290	280-301+330+331-305+351+338

Anhang

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
5-Nitrosalicylaldehyd	Achtung		315-319	264-280-302+352-305+351+338-321-332+313-337+313-362
Oxone®	Gefahr		302-314	260-264-280-301+312-301+330+331-303+361+353-304+340-305+351+338-310-321-405
Palladium/Kohle	Achtung		315-319	305+351+338
Petrolether 50/70	Gefahr		225-304-340-350-361-373-412	201-210-273-281-301+/310-308+313
Phosphorige Säure	Gefahr		314-302	280-305+351+338
Phosphorsäure	Gefahr		290-314	280-301+330+331-305+351+338-310
Phosphortrichlorid	Gefahr		290-314	280-303+361+353-301+330+331-305+351+338-309-310
Phosphoroxychlorid	Gefahr		330-302-314-372-EUH014-EUH029	223-271-280-301+330+331-305+351+338
iso-Propanol	Gefahr		225-319-336	210-233-240-241-242-243-264-280-303+361+353-305+351+338-337+313-370+378-403+235

Anhang

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Propargyl- alkohol	Gefahr		226-331-311-301- 314-317-411	280-273-302+352- 301+330+331- 305+351+338- 309+310-403+235- 403+233-405
Pyridin	Gefahr		225-302+312+332	210-233-302+352
Salzsäure	Gefahr		314-335-290	280-301+330+331- 309+310- 305+351+338
Schwefelsäure	Gefahr		290-314	301+330+331- 305+351+338
Silbercarbonat	Achtung		315-319-335	261-264-280- 302+352-304+340- 305+351+338- 403+233-405
Silica gel	-	-	-	260
Subtilisin (Propylenglycol- Lösung)	Gefahr		315-318-334-335	261-280- 305+351+338- 342+311
TBAF-Lösung (1 M in THF)	Gefahr		EU019-314	260-264-280- 301+330+331- 303+361+353- 304+340- 305+351+338-310- 321-405
TBDMS-Cl	Gefahr		314	260-264-280- 301+330+331- 303+361+353- 304+340- 305+351+338- 310-321-405

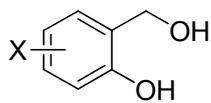
Anhang

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Tetrahydrofuran	Gefahr		225-319-335-EU019	210-233-243-305+351+338
Titantetrabromid	Gefahr		318-314-EUH014	301+330+331-280-305+351+338-310-402+404
Toluol	Gefahr		225-304-315-336-361d-373	201-202-210-233-240-241-242-243-260-264-280-281-301+310-302+352-303+361+353
<i>para</i> -Toluol-sulfonsäure	Achtung		315-319-335	261-280-305+351+338-321-405-501
Tributylzinn-methoxid	Gefahr		301-312-315-319-372-410	27-280-301+310-305+351+338-314-501
Triethylamin	Gefahr		225-332-312-302-314-335	210-280-301+330+331-302+352-305+351+338-309+310
Triethylamin-Trihydrofluorid	Gefahr		300-310-314-330	260-262-264-280-284-301+310-301+330+331-302+350-303+361+353-304+340-305+351+338-320
Trifluor-essigsäure	Gefahr		314-332-412	260-264-273-280-301+330+331-303+361+353-304+340-305+351+338-310-321-405-501

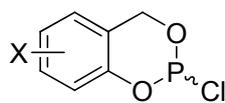
Anhang

Substanz	Signalwort	Piktogramm	H-Sätze	P-Sätze
Trifluormethan-sulfonsäure-anhydrid	Gefahr		302-314	280-301+330+331-305+351+338
Triphenyl-phosphin	Achtung		302-317-413	262-273-280-302+352
Wasserstoff	Gefahr		220	210-377-381-403
Wasserstoff-peroxid	Gefahr		302-318	280-301+330+331-305+351+338-310

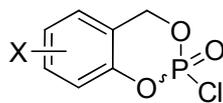
## Verbindungsliste I



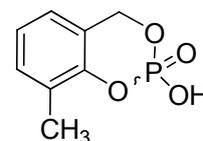
X = 5-NO<sub>2</sub> **90**  
 X = 5-Cl **190**  
 X = 3-CH<sub>3</sub> **191**



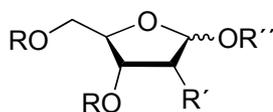
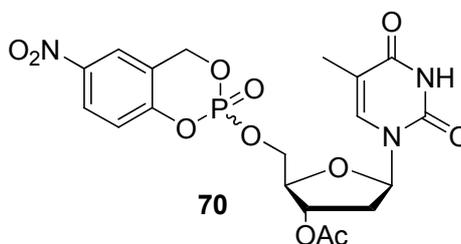
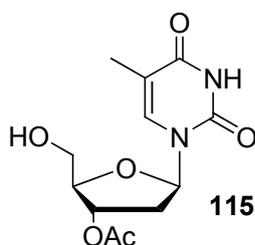
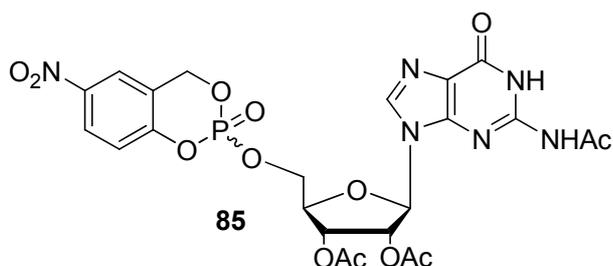
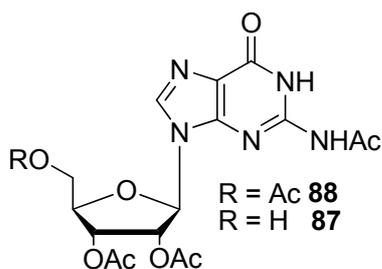
X = 5-NO<sub>2</sub> **86**  
 X = 5-Cl **203**  
 X = 3-CH<sub>3</sub> **204**



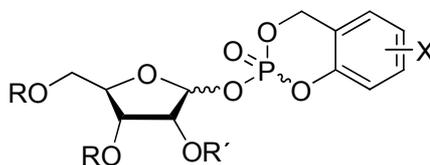
X = 5-Cl **205**  
 X = 3-CH<sub>3</sub> **206**



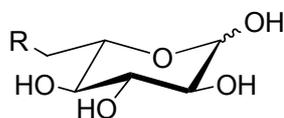
**193**



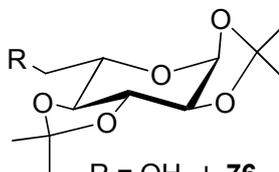
R = Ac; R' = H; R'' = H **197**  
 R = Ac; R' = OAc; R'' = H **198**  
 R = Bz; R' = OBz; R'' = H **199**  
 R = Ac; R' = H; R'' = Ac **200**  
 R = Ac; R' = OAc; R'' = Ac **201**  
 R = Bz; R' = OBz; R'' = Ac **202**



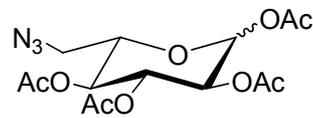
R = Ac; R' = H; X = 5-Cl **184** R = Ac; R' = H; X = 3-CH<sub>3</sub> **185**  
 R = Ac; R' = OAc; X = 5-Cl **186** R = Ac; R' = OAc; X = 3-CH<sub>3</sub> **187**  
 R = Bz; R' = OBz; X = 5-Cl **188** R = Bz; R' = OBz; X = 3-CH<sub>3</sub> **189**



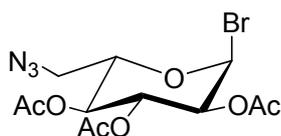
R = OH **L-64**  
 R = H **L-15**



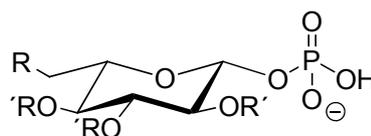
R = OH **L-76**  
 R = OTs **L-92**  
 R = N<sub>3</sub> **L-77**



**L-78**

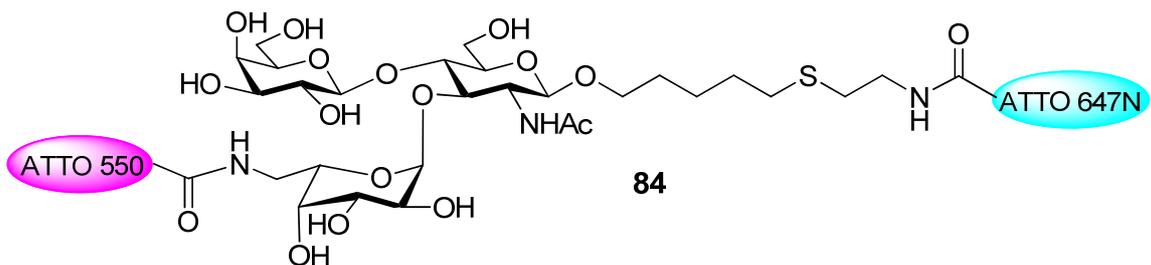
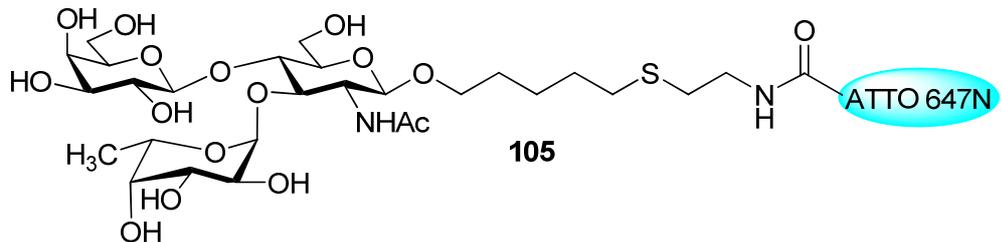
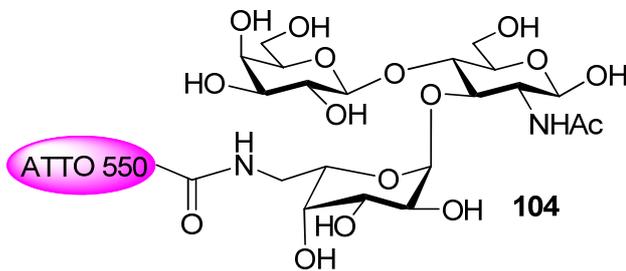
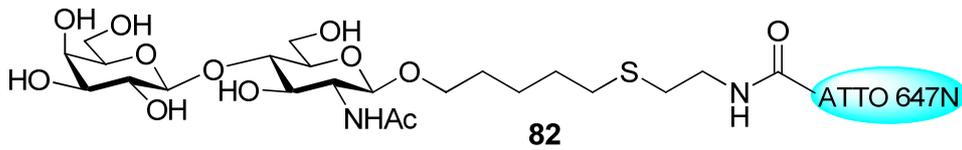
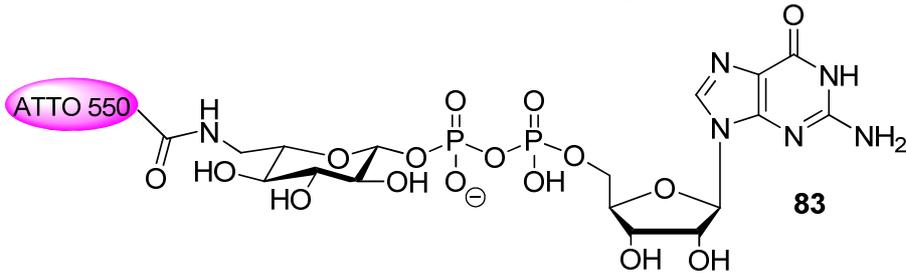
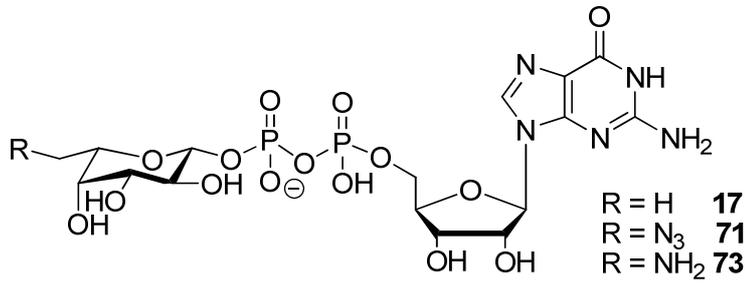


**L-79**

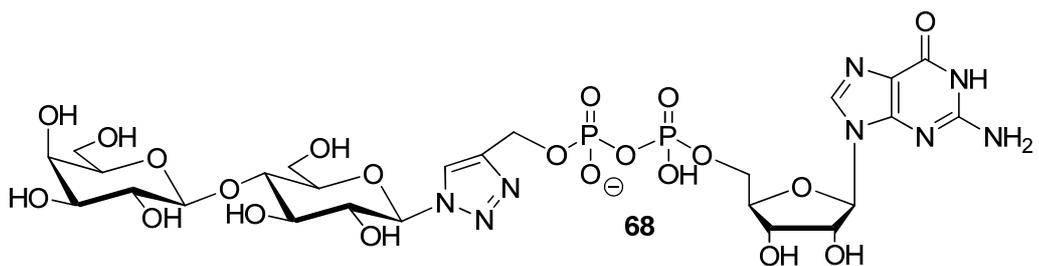
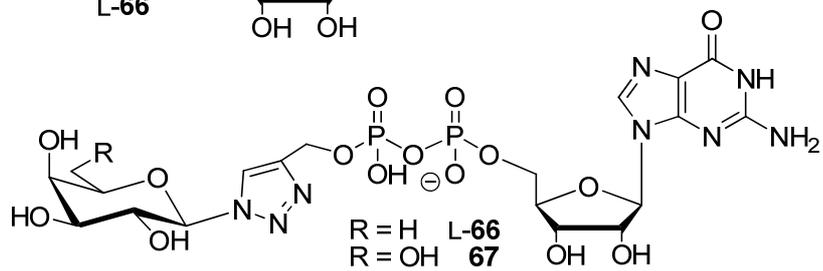
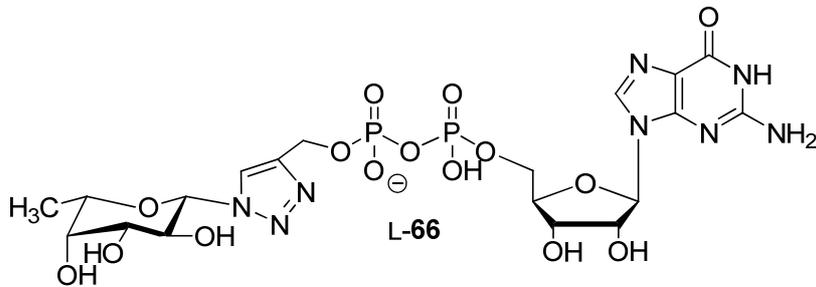
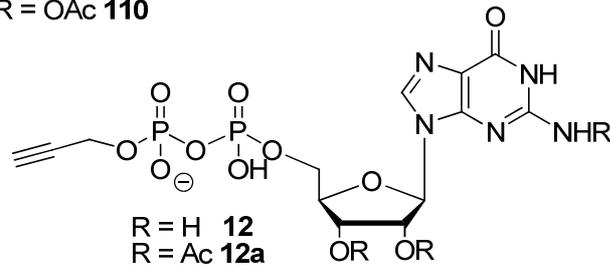
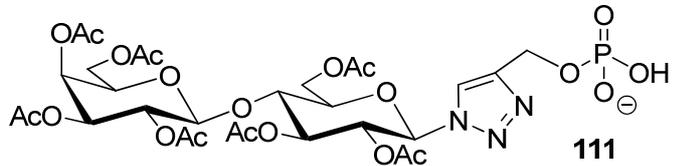
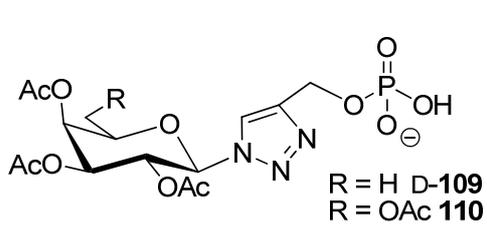
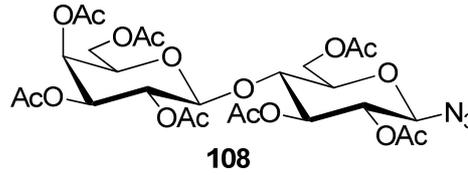
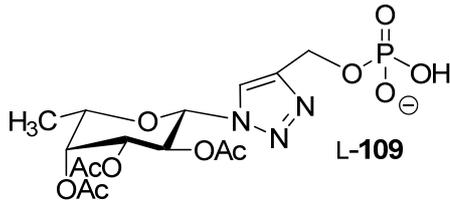
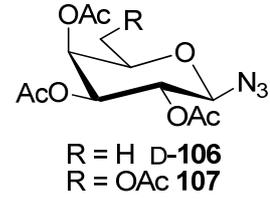
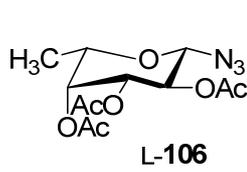
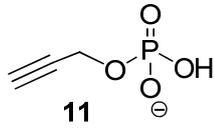


R = N<sub>3</sub>; R' = H  $\beta$ -L-**75**  
 R = N<sub>3</sub>; R' = Ac  $\beta$ -L-**75a**  
 R = NH<sub>2</sub>; R' = H  $\beta$ -L-**97**

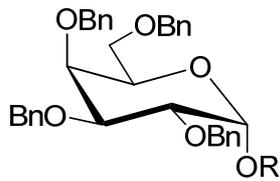
## Verbindungsliste II



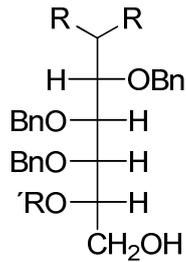
## Verbindungsliste III



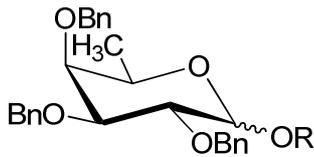
## Verbindungsliste IV



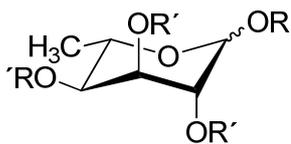
R = CH<sub>3</sub> **116**  
R = H **117**



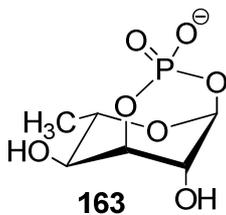
R = SEt; R' = Bz **120**  
R = OMe; R' = Bz **121**  
R = OMe; R' = H **122**



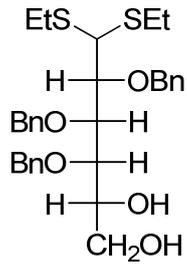
R = CH<sub>3</sub> **147**  
R = H **148**



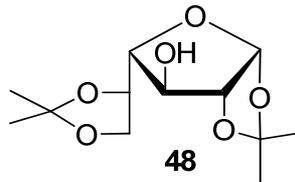
R = CH<sub>3</sub>; R' = Bn **141**  
R = CH<sub>3</sub>; R' = Ac **158**  
R = H; R' = Ac **161**  
R = R' = Ac **161**



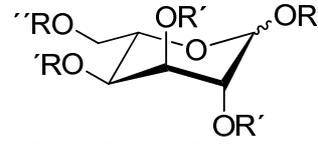
**163**



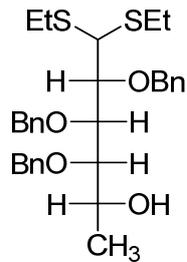
**118**



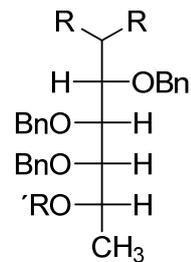
**48**



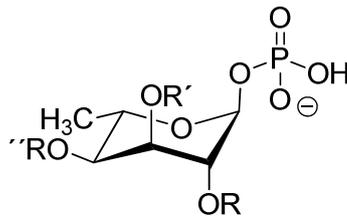
R	R'	R''	Nr.
H	H	H	<b>42</b>
CH <sub>3</sub>	Bn	Bn	<b>123</b>
CH <sub>3</sub>	Bn	Ac	<b>135</b>
Ac	Bn	Ac	<b>136</b>
CH <sub>3</sub>	Bn	H	<b>137</b>
CH <sub>3</sub>	Bn	Ts	<b>139</b>
CH <sub>3</sub>	Ac	Ts	<b>142</b>
Ac	Ac	TBDMS	<b>143</b>
Ac	Ac	Ac	<b>144</b>



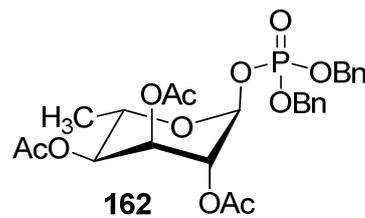
**149**



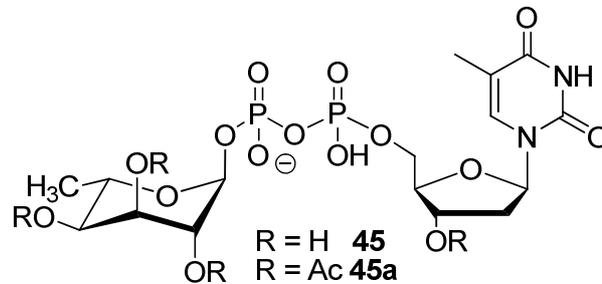
R = SEt; R' = Bz **154**  
R = OMe; R' = Bz **155**  
R = OMe; R' = H **156**



R = R' = Ac **69**  
R = H; R' = Ac **69a**  
R = R' = H **157**



**162**



R = H **45**  
R = Ac **45a**

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Nathalie Lunau  
geboren am 16. Juni 1983 in Eutin

### Schulbildung

1989-1990            Grundschule am Stadtpark in Lübeck  
1990-1993            Gustav-Peters-Grundschule in Eutin  
1993-2002            Carl-Maria-von-Weber-Gymnasium in Eutin - Abschluss: Abitur

### Akademische Ausbildung

10/2002-09/2008    Studium der Chemie an der Universität Hamburg  
01/2008-09/2008    Diplomarbeit:  
  
Thema: „Synthese von Thymidindiphosphat-6-desoxyglyco-pyranosen mit Hilfe von *cycloSal*-aktivierten Phosphatdonatoren“, an der *Universität Hamburg, Institut für Organische Chemie*, unter der Betreuung von Prof. Dr. Chris Meier  
  
Abschluss: Diplom-Chemikerin (Note: 1.3)  
  
seit 10/2008            Promotion an der Universität Hamburg am Institut für Organische Chemie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Chris Meier

### Universitäre Arbeiten

10/2008-09/2012    Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Department Chemie der Universität Hamburg:  
  
Assistentin im organisch chemischen Grundpraktikum; Assistentin im Fortgeschrittenenpraktikum in Organischer Chemie sowie im Integrierten Synthesepraktikum in Anorganischer und Organischer Chemie

## Publikationen

### Zeitschriftenbeiträge

S. Wolf, T. Zismann, N. Lunau, C. Meier, Reliable synthesis of various nucleoside diphosphate glycopyranoses. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7656-7664.

S. Wolf, T. Zismann, N. Lunau, S. Warnecke; S. Wendicke; C. Meier, A convenient synthesis of nucleoside diphosphate glycopyranoses and other polyphosphorylated bioconjugates. *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 63-75.

N. Lunau, C. Meier, Synthesis of l-Altrose and some Derivatives, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 6260-6270.

### Posterbeiträge

S. Wolf, N. Lunau, C. Meier, Synthesis of Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses, *15th European Carbohydrate Symposium*, 19.-24.06.2009, Wien, Österreich.

N. Lunau, K. Klingeberg C. Meier, Synthesis of Membrane Permeable Ribofuranosylmonophosphat-Prodrugs, *16th European Carbohydrate Symposium*, 03.-07.07.2011, Neapel, Italien.

Folgende Bachelorarbeiten wurden im Rahmen der vorliegenden Dissertation unter meiner Betreuung angefertigt und bereits veröffentlicht:

Katharina Klingeberg, Synthese lipophiler Ribose-Prodrugs, *Bachelor-Arbeit*, Universität Hamburg **2010**.

Tomas Piernitzki, Synthese Funktionalisierter Nucleosiddiphosphat-Zucker, *Bachelor-Arbeit*, Universität Hamburg **2011**.

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die Dissertation „Synthese seltener und funktionalisierter Nucleosiddiphosphat-Zucker“ selbständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Ich habe früher außer mit dem Zulassungsversuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Dipl.-Chem. Nathalie Lunau

Hamburg, den 09.08.12