

# Synthese und Evaluierung von Glycokonjugaten auf Basis von Adamantan

Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften  
Fachbereich Chemie, Institut für Pharmazie  
der Universität Hamburg

## Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

*Dr. rer. nat.*

vorgelegt

von Herrn Master of Science

Carsten Fleck

geboren am 30. Januar 1987 in Gießen

Hamburg 2015



1. Gutachter: Prof. Dr. Wolfgang Maison
2. Gutachter: Prof. Dr. Chris Meier

Tag der Disputation: 24. April 2015



Der praktische Teil der vorliegenden Arbeit wurde in der Zeit von Juni 2011 bis September 2011 am Institut für Organische Chemie der Justus-Liebig-Universität in Gießen und von Oktober 2011 bis Mai 2014 am Institut für Pharmazie der Universität Hamburg in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Wolfgang Maison angefertigt.

*„Man hat mir versichert, es funktioniert auch,  
wenn man nicht daran glaubt.“*

*Nils Bohr, dänischer Physiker*



Für meine Familie

## Danksagung

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Maison danke ich für die Möglichkeit diese Arbeit in seiner Arbeitsgruppe anzufertigen, für die hervorragenden Bedingungen, für die stete Diskussionsbereitschaft und die fachliche Unterstützung während dieser Arbeit.

Prof. Dr. Chris Meier danke ich für die bereitwillige Übernahme des Zweitgutachtens.

Ein großes Dankeschön an den ganzen AK Maison für die gemeinsame Zeit im Labor und darüber hinaus. Ohne Euch wären viele Teile dieser Arbeit anders passiert oder gar nicht zustande gekommen.

Besonders seien hier die Laborcrew des Labors 510 erwähnt. Danke Ella und Bernhard für das synthetische Know How und die zahlreichen gemeinsamen Stunden an- und abseits der Bench. Liebes Büro (alias Ella, Franzi, Verena und Jasper) Ihr seid tolle Kollegen und es war immer eine intensive Zeit mit euch in unseren (kleinen) drei Wänden und einer Glasfront. Vielen Dank an Verena. Es war immer gut, den langen Weg der akademischen Ausbildung, die vielen Prüfungen und die Umzüge gemeinsam zu bestreiten. Florian, Steffen, Julian und Marcel – auch euch vielen Dank. Gemeinsam haben wir die femininen Maisons in einen harritten, bärtigen Arbeitskreis verwandelt. Auch allen ehemaligen und zukünftigen Arbeitskreismitgliedern mit denen ich Zeit im Labor, im Kafferaum oder im Büro verbracht habe danke ich für den bereichernden Austausch. Den derzeitigen Masteretten des Arbeitskreises (alias Serge, Moritz, Malte und Joanna) danke ich für die kreativen Gedanken die mich oft zum Schmunzeln brachten. Dem gesamten Arbeitskreis gilt mein Dank frei nach dem Motto: „Mit guten Kollegen kann man’s nicht besser. Aber länger“.<sup>1</sup>

Danke Uli für das Vertrauen und die Freiheit die wir in den Praktika des 3. und 4. Semesters unter deiner Leitung hatten. Auch für die Unterstützung des AK Lemcke (alias Thomas, Sebastian, Moritz, Jan Hendrik, Daniel, Pia und Bernhard) im Hause bin ich Dankbar. Sowohl am Anfang unserer Zeit in Hamburg als auch im weiteren Verlauf unseres Daseins habt ihr viel zum Gelingen des Alltags beigetragen.

Elisabeth Memmel und Moritz Fölsing danke ich herzlich für die Umsetzung der Assays und die Unterstützung bei der Auswertung.

Sebastian Meinke danke ich für die Diskussionsbereitschaft und die zahlreichen Hilfestellungen bei meinen Anfängen in der Zuckerchemie sowie auch dem Korrekturlesen dieser Arbeit.

Vielen Dank an Fabian, Andreas und Julia, die als Studenten einen Beitrag zu dieser Arbeit geleistet haben.

---

<sup>1</sup> Freie Interpretation nach Wander AG, 2014

Ich danke den Analytik Teams in Hamburg und Gießen für alle Unterstützung bei Messungen und den Messservice von NMR-, IR-, MS- Spektren. Ganz besonders hervorzuheben sei hier Thomas Hackl, der mir bei dem Verständnis des STD-Teils immer informativ zur Seite stand. Ebenso Moritz nochmal danke für die vielen „schnellen“ NMRs.

Eine wissenschaftliche Arbeit kann auch nicht ohne die Unterstützung der Angestellten im Hause erfolgen. So seien an dieser Stelle besonders Anette und Rainer hervorgehoben, die nichts unversucht gelassen haben, um Chemikalien oder Geräte zu besorgen und auch sonst immer eine Bereicherung des Alltags waren. Ohne Kathleen Pruntsch wäre die Beschaffung der wichtigen Dinge im Leben, wie zum Beispiel die Chemikalie die gerade gebraucht wird, mit großen Schwierigkeiten versehen. Danke Kathleen für die gute Zeit und die kurzen Dienstwege.

Neben den Universitären Kollegen und Freunden danke ich Claus Stadelmann der mir in der Anfangszeit in Hamburg mit reichlich Optimismus zur Seite stand. Auch für die vielen guten Gespräche abseits der Chemie, den gemeinsamen Erlebnissen und den „Listen“ die wir geführt haben danke ich dir.

An dieser Stelle auch ein ganz großes Dankeschön an Meike. Vielen Dank für die gemeinsame Zeit die uns an diesen Punkt unseres Weges geführt hat und für alle gemeinsamen Erinnerungen die uns verbinden.

Danke auch an meine Eltern, ohne die mir vieles im Leben verwehrt geblieben wäre. Ich danke Euch für alles was ihr mir auf meinem bisherigen Weg gegeben habt. Ich bin sehr froh darüber das ihr mir den Freiraum gegeben habt, alles zu tun was ich wollte und mich bei jedem Vorhaben bedingungslos unterstützt habt.

## Inhaltsverzeichnis

|                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Vorbemerkung.....                                                                                           | i   |
| Abkürzungsverzeichnis .....                                                                                 | iii |
| 1    Einleitung.....                                                                                        | 1   |
| 1.1    Informationen biologisch verschlüsselt - Die Struktur von Oligosacchariden .....                     | 1   |
| 1.2    Der süße Mantel der Zelle – die Glycocalyx: Aufbau und Funktion .....                                | 3   |
| 1.2.1    Die Glycocalyx – Der molekulare Aufbau .....                                                       | 4   |
| 1.3    Kohlenhydrat-Protein Wechselwirkungen: Kommunikation komplexer Biomoleküle .....                     | 7   |
| 1.3.1    Biologische Bindungsverstärkung durch Multimerisierung – die Bindungsmechanismen der Lektine ..... | 10  |
| 1.4    Glycomimetika - Molekulare Werkzeuge zur Aufklärung biologischer Prozesse.....                       | 14  |
| 2    Kenntnisstand.....                                                                                     | 17  |
| 2.1    Polymere Glykokonjugate .....                                                                        | 17  |
| 2.2    Diskrete Glykokonjugate .....                                                                        | 18  |
| 3    Aufgabenstellung und Ziel dieser Arbeit .....                                                          | 23  |
| 4    Resultate und Diskussion .....                                                                         | 24  |
| 4.1    Synthese der Glykokonjugate auf Basis von Adamantan .....                                            | 24  |
| 4.1.1    Synthese der AB <sub>3</sub> -Grundgerüste auf Basis von Adamantan .....                           | 24  |
| 4.1.2    Retrosynthese und Strategie zum Aufbau der Glykokonjugate .....                                    | 31  |
| 4.1.3    Synthese der Glykokonjugate - Glycosylierung .....                                                 | 33  |
| 4.1.4    Synthese der Glykokonjugate – Peptidkupplung .....                                                 | 35  |
| 4.1.5    Sialinsäure-Konjugate.....                                                                         | 53  |
| 4.2    Kohlenhydrat-Lektin Assays .....                                                                     | 59  |
| 4.2.1    Evaluation der Bindungseigenschaften in Lösung: Das STD NMR-Experiment.....                        | 60  |
| 4.2.2    Evaluierung der Bindungseigenschaften auf einer Oberfläche: Der Oberflächenassay                   | 68  |
| 5    Zusammenfassung.....                                                                                   | 78  |

|        |                                                                    |     |
|--------|--------------------------------------------------------------------|-----|
| 6      | Summary.....                                                       | 80  |
| 7      | Ausblick.....                                                      | 82  |
| 8      | Experimenteller Teil .....                                         | 83  |
| 8.1    | Arbeitstechnik .....                                               | 83  |
| 8.2    | Dockingmethoden .....                                              | 83  |
| 8.3    | Kohlenhydratassays.....                                            | 83  |
| 8.4    | Chromatographie .....                                              | 83  |
| 8.4.1  | Säulenchromatographie .....                                        | 83  |
| 8.4.2  | HPLC.....                                                          | 84  |
| 8.5    | Analytik.....                                                      | 84  |
| 8.5.1  | Schmelzpunkte .....                                                | 84  |
| 8.5.2  | NMR-Spektroskopie.....                                             | 84  |
| 8.5.3  | Massenspektrometrie .....                                          | 84  |
| 8.6    | Synthesen .....                                                    | 86  |
| 8.6.1  | Synthesen bekannter Verbindungen.....                              | 86  |
| 8.6.2  | Allgemeine Arbeitsvorschriften.....                                | 86  |
| 8.6.3  | Synthese der Zuckerliganden .....                                  | 89  |
| 8.6.4  | Synthese der Grundgerüste.....                                     | 98  |
| 8.6.5  | Synthesen der Glucosaminderivate.....                              | 111 |
| 8.6.6  | Synthese der Glucose und Mannose 6-desoxy Verbindungen.....        | 116 |
| 8.6.7  | Synthesen der Glucosederivate.....                                 | 120 |
| 8.6.8  | Synthesen der Mannosederivate .....                                | 124 |
| 8.6.9  | Darstellung der Fluoreszenzmarkierten Mannosederivate.....         | 134 |
| 8.6.10 | Darstellung der Sialinsäurekonjugate .....                         | 137 |
| 8.6.11 | Staudinger Reaktion mittels Diphenylphosphinophenol .....          | 138 |
| 8.6.12 | Synthese der Glycokonjugate <i>via</i> Glycosylierungschemie ..... | 139 |
| 8.7    | Durchführung der Assays .....                                      | 141 |

|        |                                                             |     |
|--------|-------------------------------------------------------------|-----|
| 8.7.1  | STD-NMR Assay .....                                         | 141 |
| 8.7.2  | Molecular Modelling .....                                   | 141 |
| 8.7.3  | Fluoreszenzassay .....                                      | 142 |
| 9      | Anhang.....                                                 | 144 |
| 9.1    | NMR und LC-MS Spektren .....                                | 144 |
| 9.1.1  | Synthese der Zuckerliganden .....                           | 144 |
| 9.1.2  | Synthese der Grundgerüste.....                              | 154 |
| 9.1.3  | Synthese der Glucosaminderivate.....                        | 164 |
| 9.1.4  | Synthese der Glucose und Mannose 6-desoxy Verbindungen..... | 169 |
| 9.1.5  | Synthese der Glucosederivate.....                           | 173 |
| 9.1.6  | Synthese der Mannosederivate .....                          | 177 |
| 9.1.7  | Darstellung der Fluoreszenz markierten Mannosederivate..... | 187 |
| 9.1.8  | Darstellung der Sialinsäurekonjugate .....                  | 190 |
| 9.1.9  | Staudinger Reaktion mittels Diphenylphosphinophenol .....   | 191 |
| 9.1.10 | Synthese der Glycokonjugate via Glycosylierungschemie ..... | 194 |
| 9.2    | Gefahrstoffverzeichnis .....                                | 196 |
| 10     | Literatur.....                                              | 201 |



## Vorbemerkung

Diese Doktorarbeit beinhaltet die Ergebnisse zweier Bachelorarbeiten, die ich in meiner Zeit als Doktorand an der Uni Gießen und an der Uni Hamburg beaufsichtigt habe.

Auszüge der Ergebnisse die hier präsentiert werden finden, sich somit auch bereits in folgenden Bachelorarbeiten:

- Fabian Metz

„Synthese multivalenter Oligosaccharidmimetika“, Gießen 2011

- Andreas Böhmert

„Synthese Adamantan basierter Glycomimetika“, Hamburg 2013

Des Weiteren wurden die Kohlenhydratassays in Kooperation mit Elisabeth Memmel aus der AG Prof. Jürgen Seibel in Würzburg durchgeführt. Somit werden die Ergebnisse der Kohlenhydratassays voraussichtlich auch in ihrer Doktorarbeit veröffentlicht werden. Die STD-Experimente wurden in Kooperation mit Moritz Fölsing aus der AG Thomas Hackl der Universität Hamburg durchgeführt und werden ebenfalls in seiner Doktorarbeit veröffentlicht werden.

Teile aus dieser Arbeit wurden bereits in wissenschaftlichen Fachzeitschriften veröffentlicht:

Fleck, C.; Franzmann, E.; Claes, D.; Rickert, A.; Maison, W. *Synthesis* **2013**, 45, 1452.

Fleck, C.; Memmel, E.; Fölsing, M.; Poll, B.; Hackl, T.; Seibel, J.; Maison, W. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, DOI: 10.1002/ejoc.201403517

## Abkürzungsverzeichnis

|         |                                                                                                                 |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AAV     | Allgemeine Arbeitsvorschrift                                                                                    |
| abs     | absolutiert                                                                                                     |
| Ac      | Acetyl-Gruppe                                                                                                   |
| Äq      | Äquivalent                                                                                                      |
| aryl    | aromatisch                                                                                                      |
| bn      | benzylisch                                                                                                      |
| Bz      | Benzoyl-Gruppe                                                                                                  |
| Cbz     | Benzyloxycarbonyl-Gruppe                                                                                        |
| ConA    | <i>Concanavalin A</i>                                                                                           |
| CRD     | carbohydrate recognition domain                                                                                 |
| DAD     | diode array detector                                                                                            |
| DIPEA   | Diisopropylethylamin                                                                                            |
| DMAP    | 4-(Dimethylamino)-pyridin                                                                                       |
| DMF     | <i>N,N</i> -Dimethylformamid                                                                                    |
| DMSO    | Dimethylsulfoxid                                                                                                |
| EDC·HCl | <i>N</i> -Ethyl- <i>N'</i> -(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid Hydrochlorid                                    |
| ECI     | extracted ion chromatogram                                                                                      |
| ESI     | electrospray ionisation                                                                                         |
| FA      | Ameisensäure                                                                                                    |
| GlcN    | Glucosamin                                                                                                      |
| GNA     | Schneeglöckchen-Lektin                                                                                          |
| HATU    | 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i> ]-pyridinium-3-oxid-hexafluorophosphat |
| HBTU    | 2-(1 <i>H</i> -Benzotriazolyl)-1,1,3,3-Tetramethyluroniumhexafluorophosphat                                     |
| Hib     | <i>Haemophilus influenzae</i> Typ b                                                                             |
| HIV     | Humanes Immundefizienz-Virus                                                                                    |

|            |                                                                    |
|------------|--------------------------------------------------------------------|
| HOBt       | 1-Hydroxybenzotriazol                                              |
| HRMS       | high resolution mass spectrometer                                  |
| LcH        | Linsen-Lektin                                                      |
| LC-MS      | liquid chromatography – mass spectrometry                          |
| MBP        | Mannose bindendes Protein                                          |
| NHS        | <i>N</i> -Hydroxysuccinimid                                        |
| PBS        | Phosphate Buffered Saline                                          |
| PBST       | Phosphate Buffered Saline Tween                                    |
| PE         | Petrolether 50 – 70                                                |
| PSA        | <i>Pisum sativum</i> Lektin                                        |
| $R_f$      | Retentionsfaktor                                                   |
| RT         | Raumtemperatur                                                     |
| quant      | quantitativ                                                        |
| TACA       | Tumorassoziierte Antigene (Tumor-associated carbohydrate antigens) |
| TBAI       | Tetrabutylammoniumiodid                                            |
| TEM        | Transmissionselektronenmikroskop                                   |
| TFA        | Trifluoressigsäure                                                 |
| TF-Antigen | Thomsen-Friedenreich-Antigen                                       |
| THF        | Tetrahydrofuran                                                    |
| TIC        | total ion count                                                    |
| TMS        | Trimethylsilyl                                                     |
| $t_R$      | Retentionszeit                                                     |
| UV         | Ultraviolett                                                       |
| UV-Vis     | Ultraviolett-visible                                               |



# 1 Einleitung

Kohlenhydrate zählen zu den wichtigsten Biomolekülen. Sie übernehmen in nahezu jedem Organismus unterschiedlichste Funktionen, wie zum Beispiel die Speicherung und Bereitstellung von Energie (als Stärke oder Glycogen), als Gerüstsubstanz in Pflanzen (als Cellulose) oder als Intermediate im Metabolismus. Kohlenhydrate zählen, nicht zuletzt durch die Cellulose, welche durch Photosynthese weltweit in einer Menge von 200 Millionen Tonnen pro Jahr synthetisiert wird, zu der größten Klasse organischer Moleküle auf der Erde.<sup>1</sup> Sie stellen eine eigene Klasse der Biomoleküle dar, sind aber auch in Form der (Desoxy-)Ribose bei den Nucleinsäuren, in Form von Proteinmodifikationen (Glycopeptide) bei den Proteinen und ebenso bei den Lipiden (Glycolipiden) als Strukturelemente enthalten. Erst in der Mitte des letzten Jahrhunderts stellte sich heraus, dass die biologische Speicherung von Informationen nicht, wie bis zu diesem Zeitpunkt geglaubt, den Nucleinsäuren und Proteinen vorbehalten ist.<sup>2</sup> Kohlenhydrate sind durch ihre Polyfunktionalität und ihr ubiquitäres Vorkommen prädestiniert dafür, Informationen zu speichern und weiterzugeben. Zell-Zell Kommunikation, Zellreifung, Pathogenerkennung und verschiedenste Adhäsionsphänomene von Zellen und Bakterien stellen hier nur einen kleinen Teilbereich von komplexen Kohlenhydrat-Kohlenhydrat oder Kohlenhydrat-Protein Wechselwirkungen dar.<sup>3-7</sup>

## 1.1 Informationen biologisch verschlüsselt - Die Struktur von Oligosacchariden

Die Natur nutzt komplexe Kohlenhydrate als Informationsspeicher mit einer Vielzahl von Anwendungen. Wenn man sich die Struktur und die Möglichkeiten zur Verknüpfung der Oligosaccharide im Vergleich zu Nucleinsäuren oder Proteinen ansieht, wird deutlich warum das so ist. Während Proteine und Nucleinsäuren aus Monomereinheiten aufgebaut sind, welche in der Regel nur zwei Verknüpfungen mit weiteren Monomeren zulassen, werden Oligosaccharide aus Monomeren aufgebaut, welche verzweigte Oligomere zulassen, was die Komplexität bereits bei wenigen Monomereinheiten beträchtlich steigert. Beispielsweise können durch Verknüpfung von zwei unterschiedlichen Hexopyranosen 20 mögliche Disaccharide entstehen. Die strukturelle Vielfalt wird bei einer größeren Anzahl von Monomereinheiten noch deutlicher.<sup>8</sup> Ein Rechenbeispiel: Ausgehend von vier unterschiedlichen bifunktionalen Bausteinen ergeben sich für ein Tetramer 24 mögliche Tetranukleotide oder Tetrapeptide. Bei der Verwendung von polyfunktionalen Bausteinen ergeben sich 34560 mögliche Tetrasaccharide. Darüber hinaus können weitere strukturelle Veränderungen bei Oligosacchariden, wie z. B. die Substitution von Hydroxylgruppen durch Sulfat-, Phosphat- oder Methylgruppen, die Veränderung der Ringgröße oder auch die unterschiedlichen Anomere, zu einer noch größeren Zahl von möglichen Tetrasacchariden führen. Auch wenn in der

## 1. Einleitung

Natur nicht alle möglichen Verknüpfungen realisiert werden, geben diese Beispiele einen Eindruck von der strukturellen Komplexität des Glycoms<sup>ii</sup> (Abbildung 1).<sup>9</sup>

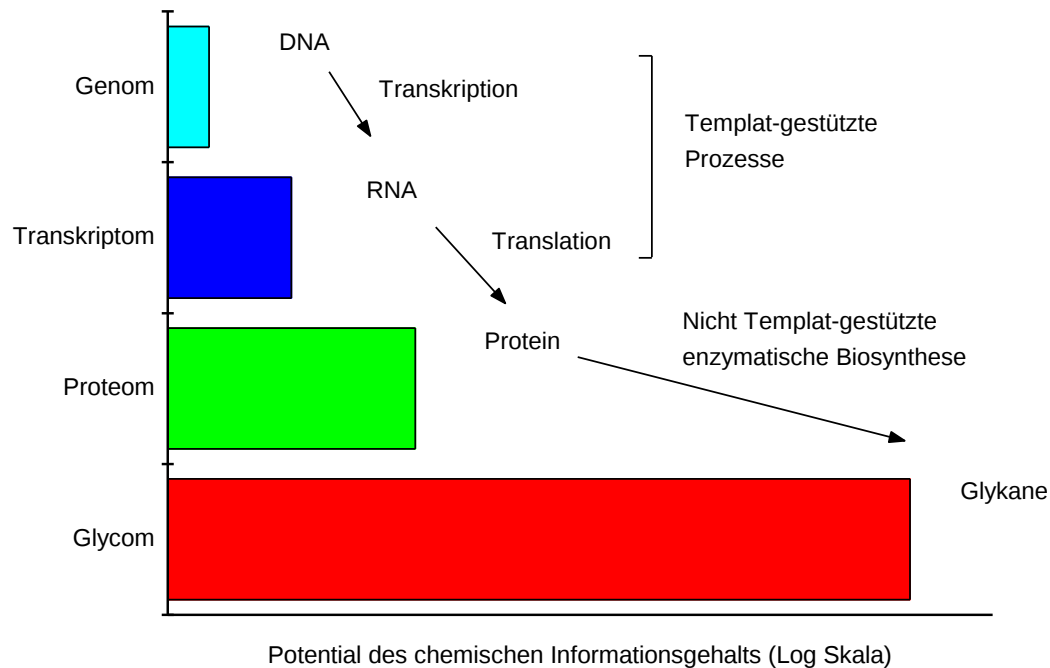


Abbildung 1 Schematische Darstellung des Informationsgehaltes der Biomoleküle.<sup>10</sup>

Schnell wird klar, dass die von der Natur gewählte Codierung auf Basis von Kohlenhydraten eine sehr komplexe und leistungsstarke Informationsspeicherung darstellt.

Wie auch bei Peptiden und Oligonukleotiden ergibt sich die Funktion der Oligosaccharide nicht nur aus der Sequenz, sondern auch aus der dreidimensionalen Struktur, die nicht direkt aus der „Sequenz“, also der Abfolge einzelner Monosaccharidbausteine, ersichtlich ist. Aufgrund der Komplexität von Kohlenhydraten, ist die Aufklärung der genauen Struktur weitaus problematischer als bei anderen Biopolymeren. Zwar gibt es Sequenzierungsprotokolle, die mittels massenspektrometrischer Analyse auf eine bestimmte Abfolge der Monosaccharide schließen lassen, allerdings fehlt bei diesen die Strukturinformation, also die genaue Verknüpfung, mit welcher sich die stereoisomeren Monosaccharide zweifelsfrei zuordnen lassen.<sup>11,12</sup> Die dreidimensionale Struktur, welche für die Wechselwirkungen von Kohlenhydraten mit anderen biologischen Molekülen

ii Der Begriff Glycom wurde in Anlehnung an „Genom“ verwendet und bezeichnet die Gesamtheit aller Saccharidstrukturen eines Organismus. Äquivalent hierzu werden die Begriffe Genom, für die Gesamtheit aller Gene und Proteom, für die Gesamtheit aller Proteine verwendet. Daraus leiten sich die Forschungsgebiete „Glycomics“, „Genomics“ und „Proteomics“ ab, welche sich mit der Erforschung dieser Teilgebiete auseinandersetzen

## 1. Einleitung

verantwortlich ist, kann dieser Information ebenfalls nicht entnommen werden, da es zu viele Verknüpfungsmöglichkeiten der monomeren Einheiten gibt (*N*- und *O*-Glycosylierung).<sup>13</sup>

### 1.2 Der süße Mantel der Zelle – die Glycocalyx: Aufbau und Funktion

Jede eukariontische Zelle ist mit einer Hülle aus Oligosacchariden umgeben. Diese extrazelluläre Schicht nennt sich Glycocalyx (Abbildung 2) und besteht aus verschiedenen biologischen Glykokonjugaten<sup>iii</sup> (Glycolipide und Glycoproteine).

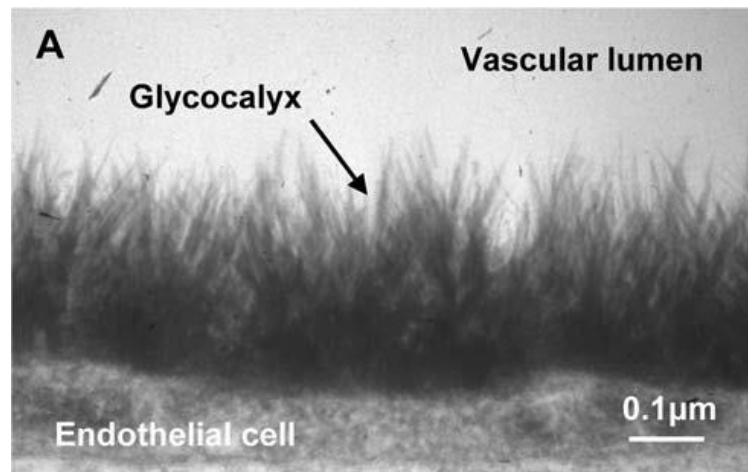


Abbildung 2 Elektronenmikroskopische Aufnahme der Glycocalyx einer Endothelzelle (entlehnt von *Chappel et al.*).<sup>14</sup>

Die Glycocalyx ist je nach Zellart unterschiedlich dick. Diese Eigenschaft korreliert unter anderem mit dem Zelltyp und deren Funktionen im Organismus. Während die Glycocalyx von roten Blutkörperchen vergleichsweise dünn ist (<10 nm), wurden bei Endothelzellen ausgeprägte Schichtdicken von über 200 nm gefunden.<sup>15</sup>

Die eukariontische Glycocalyx besteht zum Großteil aus Kohlenhydraten, welche an andere Biomoleküle assoziiert sind. Der Kohlenhydratteil der Glykokonjugate, die zum Aufbau der Glycocalyx verwendet werden, ist zu einem großen Teil aus wenigen Monosaccharideinheiten (Glucose, Galaktose, Mannose, Fucose, Xylose, *N*-Acetylglucosamin und *N*-Acetylgalaktosamin) sowie einigen Neuraminsäurederivaten (*N*-Acetylneuraminsäure) aufgebaut.<sup>16</sup> Die genaue Zusammensetzung ist charakteristisch für den Zelltyp und kann sich im Laufe der Zellreifung verändern. Aus diesem Grund stellt die Glycocalyx ein wichtiges Erkennungsmerkmal für den momentanen Zustand der Zelle dar.<sup>7,17,18</sup> Um die Glycocalyx bildet sich eine weitere Schicht, welche aus löslichen Sacchariden und Proteinen besteht, und im Gleichgewicht mit dem Plasma steht. Zusammen werden diese extrazellulären Bestandteile als extrazelluläre Matrix bezeichnet.<sup>19</sup> Die Funktion dieser zweiten

<sup>iii</sup> Der Begriff „Glykokonjugate“ wird in dieser Arbeit für die Klasse der Moleküle verwendet, welche sich aus einem Kohlenhydratteil und einem Aglycon, welches beispielsweise ein Lipid- oder Protein-Teil sein kann, aufbauen. Der Begriff dient also als Oberkategorie für Polysaccharide, Glycoproteine und Glycolipide.

## 1. Einleitung

Schicht ist weitgehend unklar. Analog zu der prokariotischen Glycocalyx, welche häufig als die bakterielle Kapsel bezeichnet wird, vermutet man hier eine Schutzfunktion der darunter liegenden Schicht, sowie adhäsive Eigenschaften.<sup>20-22</sup>

### 1.2.1 Die Glycocalyx – Der molekulare Aufbau

Glycoproteine und Glycolipide (Abbildung 3) werden innerhalb der Zelle durch Glycosyltransferasen biosynthetisiert und erst nach dem Transport in Vesikeln zur Plasmamembran und in den extrazellulären Raum durch Glycosidasen „zugeschnitten“. Dies beruht auf der Tatsache, dass die Biosynthese nicht wie bei Proteinen im Genom verankert ist, sondern eine posttranslationale Modifikation der Proteine bzw. Lipide darstellt und nicht oder nur indirekt unter genetischer Kontrolle steht.<sup>5,23</sup> Hier wird ein wesentlicher Unterschied zu den „Templat“-basierten Synthesemechanismen der Nucleinsäuren und Proteine deutlich (vgl. Abbildung 1). Während das Genom Base für Base „abgeschrieben“ wird, hängt die Oligosaccharidsynthese von vielen Faktoren zum Beispiel der Häufigkeit der Glycosyltransferasen ab.<sup>24</sup> Die dadurch erzeugte Heterogenität kann Vor- und Nachteil zugleich sein. Auf der einen Seite ist es der Zelle so möglich, ihren individuellen Zustand anhand ihres Glycosylierungsmuster deutlich zu machen, auf der anderen Seite macht dies jedoch die Erkennung und Identifizierung genau dieses Zustandes schwerer, da der gleiche Zellzustand mit unterschiedlichen Glycosylierungsmuster „codiert“ werden kann.

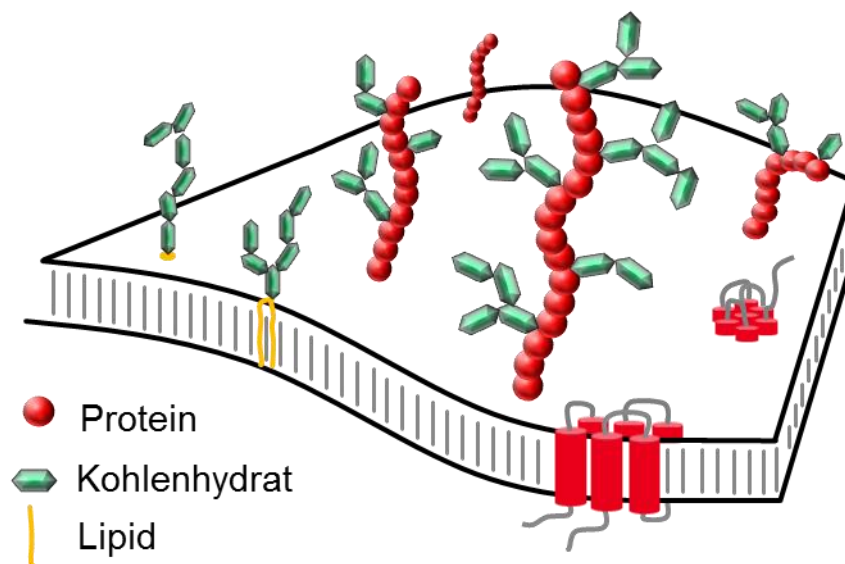


Abbildung 3 Schematische Darstellung der Zelloberfläche.

Glycolipide bestehen im weitesten Sinne aus einem Kohlenhydratteil, welcher über eine glycosidische Bindung mit einem Lipidrest verbunden ist.<sup>25</sup> Es gibt eine Vielzahl von Fettsäurederivaten, die als Lipidrest dienen können. Beispielsweise findet man in pflanzlichen Organismen häufig die Glycerolipide, welche als Lipidteil aus 1,2-Di-O-diacylglycerol aufgebaut sind.

## 1. Einleitung

In tierischen Organismen sind eine der am häufigsten vorkommenden Klassen der Glycolipide, die Glycosphingolipide, welche *N*-Acylsphingosin (das sog. Ceramid, Abbildung 4) als Lipidteil aufweisen.

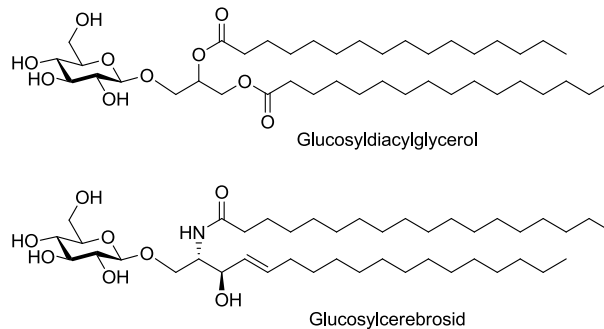


Abbildung 4 Glycolipide als Bestandteil der Glycocalyx: Glucosyldiacylglycerol, ein pflanzliches Glycolipid; Glucosylcerebrosid, ein einfaches tierisches Cerebrosid.<sup>26</sup>

Die Komplexität der Strukturen variiert deutlich und reicht von kleinen Glyceroglycolipiden bis hin zu sehr komplexen, makromolekularen Glycosphingolipiden, die sich in der Größe des Saccharidteils stark unterscheiden.<sup>8,25,27</sup> Die Verankerung der Glycolipide resultiert aus der Wechselwirkung des hydrophoben Lipidteils mit der Plasmamembran. Der hydrophile Kohlenhydrateil ragt folglich in den extrazellulären Raum.

Glycoproteine lassen sich in zwei große Gruppen einteilen, die *N*- und *O*-Glycoproteine.<sup>iv</sup> Auch S-Glycopeptide sind in der Literatur bekannt. Auf diese seltenen Vertreter wird im Folgenden nicht weiter eingegangen.<sup>28-30</sup> Alle Glycoproteine sind entweder als Transmembranproteine oder über bestimmte Membran-Anker wie dem GPI-Anker (Glycosylphosphatidylinositol-Anker) auf der Zelloberfläche fixiert (Abbildung 5).<sup>31,32</sup>

Bei *O*-Glycoproteinen liegt der Zuckerteil verbrückt über eine Serin- oder Threonin-Seitenkette vor, bei *N*-Glycoproteinen wird die Verknüpfung über eine Asparagin-Seitenkette realisiert. Ausgehend von den Proteinseitenketten besitzen sowohl *O*- als auch *N*-Glycoproteine charakteristische Kernstrukturen (Abbildung 5).

<sup>iv</sup> Glycoproteine werden anhand der Verbindung des Saccharidteils mit dem Proteinrückrat eingeteilt. *N*- oder *O*-Glycosylierung führt entsprechend zu *N*-Glycoproteinen oder *O*-Glycoproteinen.

## 1. Einleitung

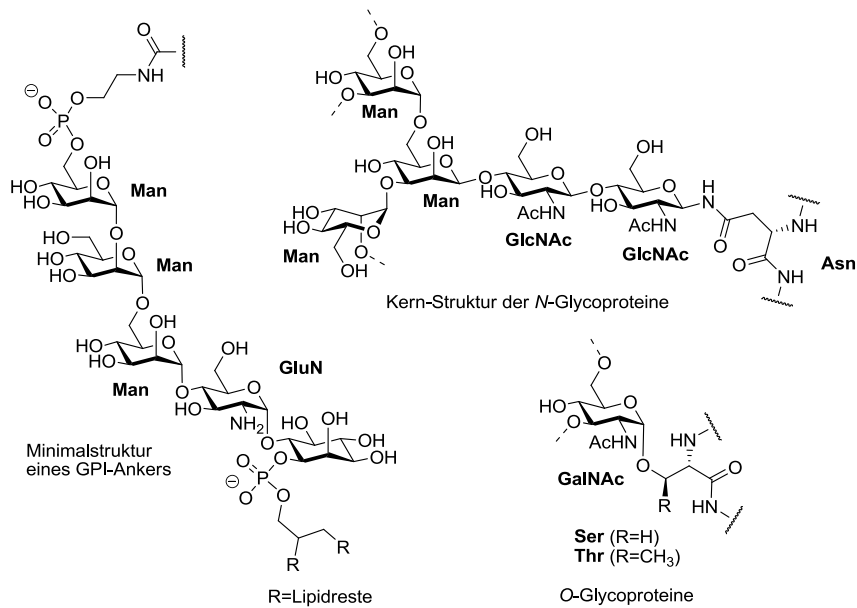


Abbildung 5 Kernstrukturen der GPI-Anker, N- und O-Glycoproteine. Die häufigsten Anknüpfungspunkte für Oligosaccharide sind mit gestrichelten Linien dargestellt.

Im Falle der O-Glycoproteine<sup>v</sup> liegt als Kernfragment ein N-Acetylgalaktosamin (GalNAc) vor. Die Erweiterung dieses GalNAc-Fragments führt zu sieben verschiedenen Kern-Strukturen, welche auf unterschiedliche Art und Weise funktionalisiert sind.<sup>33</sup> Die O-Glycoproteine bilden in der Regel bis zu zweifach verzweigte Strukturen aus. Im Gegensatz dazu führen N-Glycoproteine zu weitaus komplexeren Gesamtstrukturen. Die Kernstruktur bei N-Glycoproteinen ist ebenfalls komplexer, wie in Abbildung 5 zu sehen ist. Ausgehend von dieser sog. Core-Struktur werden sie in *high mannose*-, *complex*- oder *hybrid-type* Glycoproteine eingeteilt.<sup>34</sup> Die Core-Struktur resultiert aus der Biosynthese und findet sich in jedem der drei Typen wieder.<sup>35</sup>

Neben der Anknüpfung an das Proteinrückrat stellt die molekulare Struktur der endständigen Oligosaccharide einen ebenso wichtigen Teil der Glycoproteine dar, da dieser für die biologische Wirkung verantwortlich ist. Ein prominentes Beispiel hierfür sind die Blutgruppenantigene und das ABO-Blutgruppensystem.<sup>36</sup> Die Kohlenhydrate auf der Oberfläche von Erythrozyten sind spezifisch für die Blutgruppe. Eine andere Kohlenhydratoberfläche würde zur Agglutination, die Verklumpung durch Antikörper gegen das unnatürliche Antigen, führen. Der geringe Unterschied einer N-Acetyl-Gruppe gegenüber einer Hydroxylgruppe kann in diesem Fall schon entscheidend sein (Abbildung 6). Blutgruppe 0 unterscheidet sich nur in einem endständigen N-Acetylgalaktosyl- bzw. Galaktosylrest von A bzw. B. Dieser geringe Unterschied führt durch die korrespondierenden Antikörper zur Unverträglichkeit von Blut einer anderen Blutgruppe und kann schwere Schäden hervorrufen.<sup>37</sup>

<sup>v</sup> Häufig wird auch von Mucin-Typ Glycanen gesprochen, da diese Form der Glycoproteine vorherrschender Bestandteil des Mucus (Schleimhäute) ist.

## 1. Einleitung

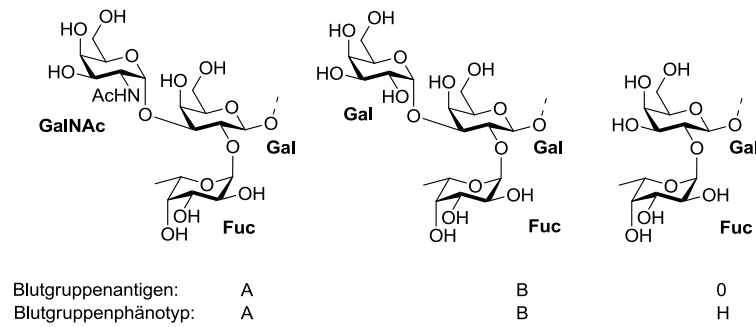


Abbildung 6 Minimale Struktur der Blutgruppenderminanten A,B und O.

Mutationen und Veränderungen in der Zelle spiegeln sich ebenfalls in Veränderungen der Glycocalyx wieder. So verändert sich das Glycosylierungsmuster, sowie die eingebauten Monosaccharide, bei Krebszellen drastisch. Zu den sogenannten „Tumorassoziierten Antigenen“ (TACA)<sup>38</sup> gehören zum Beispiel das Tn-Antigen, sowie ein erhöhter Sialylierungsgrad.<sup>39</sup> Ebenso kommt es bei Krebszellen aufgrund der hohen Konzentration an Glycosyltransferasen zu kleineren Oligosacchariden und somit zu einer dünneren Glycocalyx.<sup>40</sup> Die genauen Auswirkungen auf die Tumorzelle, die durch die Veränderung der Glycocalyx resultieren, sind jedoch noch weitgehend unklar.<sup>33</sup>

Dies sind nur einige der zahllosen Beispiele, die verdeutlichen, wie komplex und dennoch spezifisch der Aufbau und die Präsentation von Oligosacchariden in der Glycocalyx sind. Einer so vielfältigen Codierung muss aber auch ein ebenso gutes Werkzeug entgegen stehen, das es ermöglicht, diesen sog. „Glycocode“ zu dechiffrieren.<sup>9</sup> Da diese Speicherung von Informationen in biologischem Umfeld aus dem Zusammenspiel vieler Oligosaccharide resultiert, ist ein sensitives Erkennungssystem, welches eine kontinuierliche und verlässliche Decodierung dieser Informationen gewährleistet, von großer Wichtigkeit. Das Forschungsfeld der Glycobiologie beschäftigt sich auf molekularer Ebene mit den Wechselwirkungen der Kohlenhydrate untereinander und dem Wechselspiel von Sacchariden mit Proteinen als Rezeptoren.<sup>6,13,41</sup> Auf diesem Gebiet sind sowohl die Wechselwirkungen der Glycocalyx mit anderen Zellen, als auch mit Pathogenen von großem Interesse.<sup>42,43</sup>

### 1.3 Kohlenhydrat-Protein Wechselwirkungen: Kommunikation komplexer Biomoleküle

Der Glycocalyx stehen „Rezeptoren“ entgegen, welche die codierten, biologischen Informationen der Kohlenhydrate auslesen und weiterverarbeiten. Dies kann durch kohlenhydratspezifische Enzyme, Lektine oder Selektine geschehen.

Lektine sind Proteine, welche hochspezifisch Kohlenhydratmuster erkennen und binden. Insbesondere bei der Erkennung von Veränderungen des Kohlenhydratmusters auf Zelloberflächen während physiologischer oder pathologischer Prozesse, sind Lektine nützlich.<sup>44</sup> Sie besitzen jedoch keine enzymatische Aktivität. Die Bandbreite der Liganden reicht hier von einzelnen

## 1. Einleitung

Monosacchariden des Plasmas, bis zu komplexen Oligosacchariden, welche auf Zellmembranen zu finden sind. Ebenso vielfältig wie ihr Spektrum an Liganden ist ihre Verbreitung und Diversität. Lektine kommen auf nahezu jedem Zelltyp sowie auf Bakterien und Viren vor. Sie können sowohl membrangebunden, als Transmembranproteine, oder auch in löslicher Form auftreten und erfüllen unterschiedliche Aufgaben. Allen gemein ist die nichtkovalente Bindung an Kohlenhydrate durch Ionenbindungen, Wasserstoffbrücken und hydrophobe Interaktionen.<sup>45</sup>

In der Literatur gibt es verschiedene Möglichkeiten der Einteilung von Lektinen. Aus historischer Sicht geschah dies anhand ihrer Zuckerspezifität. Heute werden Lektine anhand der Homologie ihrer Aminosäuresequenz und Quartärstruktur, also ihrer dreidimensionalen Anordnung, kategorisiert.<sup>44</sup> Insbesondere das „aktive Zentrum“, die sog. *carbohydrate recognition domain* (CRD), ist bei zunehmender Homologie der Aminosäuresequenz sehr ähnlich. Lektine desselben Typs besitzen ähnliche Funktion und benötigen dieselben „Cofaktoren“ (z.B.  $\text{Ca}^{2+}$ ). Auch die Spezifität für ihre Liganden ist meist ähnlich. Eine Auswahl der verschiedenen Lektintypen findet sich nach Drickamer *et al.* in Tabelle 1 wieder.<sup>46</sup>

Tabelle 1 Lektintypen nach Drickamer und Dodd.<sup>46</sup>

| Lektin Gruppe    | Typische Liganden                         | Biologische Funktion                                 |
|------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Calnexin         | $\text{Glc}_1\text{Man}_9$ Oligosaccharid | Proteintransport im Endoplasmatischen Retikulum (ER) |
| L-Typ            | Verschiedene                              | Proteintransport im ER                               |
| P-Typ            | Man-6-Phosphat                            | Proteintransport <i>post Golgi</i>                   |
| C-Typ            | Verschiedene                              | Zelladhäsion (Selektine)<br>Immunabwehr (Kollektine) |
| S-Typ, Galektine | $\beta$ -Galaktoside                      | Zelladhäsion, Zell-Zell Kommunikation                |
| I-Typ, Siglecs   | Sialinsäuren                              | Zelladhäsion, andere biologische Prozesse            |
| R-Typ            | Verschiedene                              | Zelladhäsion                                         |

C-Typ Lektine stellen die größte Gruppe der tierischen Lektine dar. Alle diese Lektine sind  $\text{Ca}^{2+}$  abhängig und haben eine Vielzahl biologischer Funktionen, welche häufig in enger Zusammenarbeit mit dem Immunsystem stehen.<sup>7</sup> Diese Gruppe wird in endozytotische Lektine, Kollektine und

## 1. Einleitung

Selektine unterteilt. Aus der Gruppe der Selektine sind bisher lediglich drei, nämlich L-, E- und P-Selektin, bekannt. Diese sind für die Adhäsion der im Blutstrom zirkulierenden Leukozyten verantwortlich, welche aus dem Blutstrom entfernt werden und durch Penetration der Gefäßwand an ihren Wirkort gelangen.<sup>47</sup> Selektine können den Zell-Zell-Kontakt herbeiführen und beeinflussen. Die endozytotischen Lektine sind Transmembranproteine mit unterschiedlicher Kohlenhydratspezifität. Als Beispiel dient der Asialoglycoproteinrezeptor, welcher für die Beseitigung von gealterten Erythrozyten sorgt.<sup>48,49</sup> Dieses geschieht durch die Bindung von terminalen Galaktose-Einheiten. Bei „jungen“ Erythrozyten sind die Galaktosylreste mit Sialinsäuren verknüpft, diese werden nach und nach abgespalten, wodurch die Galaktosen freigelegt und vom Rezeptor erkannt und gebunden werden können.<sup>50</sup> Der *Mannose Macrophage Rezeptor* (MMR) ist ebenfalls ein Beispiel für die Gruppe der endozytotischen Lektine. Er bindet Mannosyleinheiten, welche oft auf der Oberfläche von Mikroorganismen zu finden sind.<sup>51,52</sup> Diese Lektine sind also ein Teil der angeborenen Immunantwort und unabhängig von T-Zellen, Reaktionen oder Antikörpern. Kollektine, als dritte Klasse der C-Typ Lektine, besitzen ähnliche Funktionen wie der MMR. Der Unterschied zu den anderen Klassen basiert auf den unterschiedlichen Strukturen, die in eine Kollagen- und eine Lektindomäne eingeteilt wird.<sup>53</sup> Ebenso wie die MMRs sind auch die Mannose-bindenden Proteine (MBPs) Teil des angeborenen Immunsystems.<sup>54</sup> Sie gehören ebenfalls zur Klasse der Kollektine und sind die meist untersuchten Lektine ihrer Art. Als lösliche Lektine zirkulieren sie im Serum höherer Organismen und binden terminale Mannosylreste vieler Pathogene, wie zum Beispiel Bakterien, Viren und Allergene. Neben der Funktion als Erkennungseinheit sind MBPs als Teil der angeborenen Immunantwort in der Lage die erkannten Pathogene zu opsonisieren, verschiedene Liganden zu aktivieren oder die Zell-Oberflächenrezeptoren zu regulieren.<sup>54</sup> Bei der Vielzahl an möglichen Pathogenen muss die Erkennung sehr präzise und die Bindung stark genug sein, um Folgereaktionen einzuleiten.<sup>55,56</sup> In Abbildung 7 ist das Mannose-bindende Protein der Ratte dargestellt. Im Serum liegt dieses Protein als hexameres Agglomerat von Trimeren mit einer molaren Masse von ca. 650 kDa vor.<sup>57</sup>

## 1. Einleitung

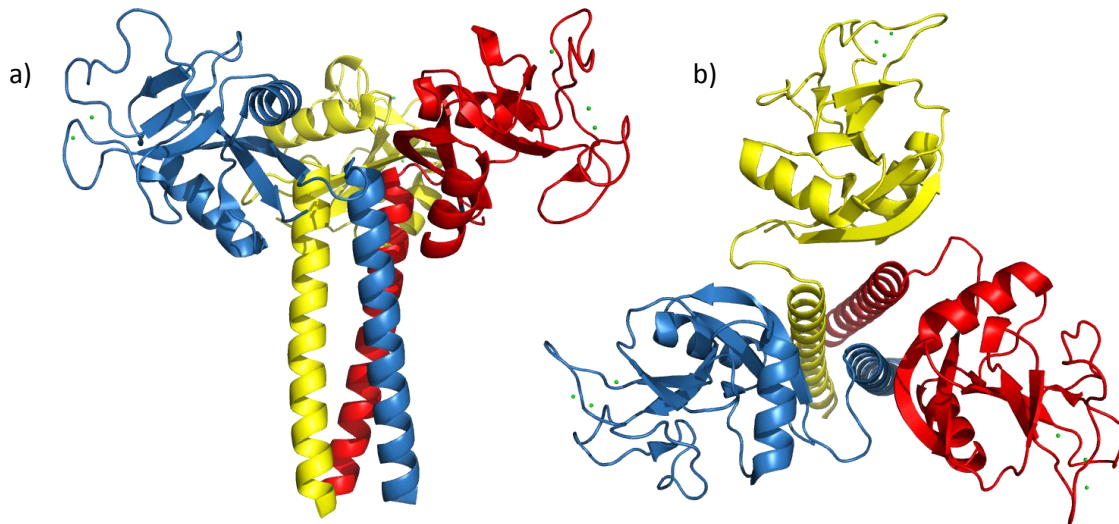


Abbildung 7 Dreidimensionale Struktur des MBP A. a) Seitenansicht auf das Homotrimer b) Draufsicht des Homotrimers.  
(Erstellt aus PDB 1RTM)

Die Tendenz der Oligomerisierung ist sowohl bei Membranproteinen als auch bei löslichen Lektinen ausgeprägt. Eine ähnliche, trimere Geometrie, wie die in Abbildung 7 gezeigte, ist bei weiteren Kollektinen, wie zum Beispiel den Surfactand-Proteinen A und B der Lunge (SP-A und B), zu beobachten.<sup>53</sup> Dimere und Tetramere Strukturen werden zum Beispiel bei *Concanavalin A* (ConA)<sup>58</sup> oder DC-SIGN (*dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin*, CD209)<sup>59,60</sup> ausgebildet. Die Bildung von Multimeren ist meist abhängig vom pH-Wert und ist durch diesen beeinflussbar.

### 1.3.1 Biologische Bindungsverstärkung durch Multimerisierung – die Bindungsmechanismen der Lektine

Kohlenhydrat-Lektin-Wechselwirkungen beruhen auf nicht kovalenten Wasserstoffbrückenbindungen, hydrophoben Wechselwirkungen oder ionischen Interaktionen. Mit dem Hintergrund, dass die Erkennung und Differenzierung in Gegenwart von Wassermolekülen stattfindet, sind Affinität und Selektivität dieser Wechselwirkungen bemerkenswert. Da Lektine als sog. „pattern-recognition receptors“ (PRRs) bekannt sind, wird die Affinität gegenüber bestimmten Oligosacchariden nicht durch eine Bindungsdomäne im Inneren des Enzyms generiert, sondern durch das Zusammenspiel von mehreren Bindungsdomänen an der Oberfläche des Proteins.<sup>61-64</sup> Die Zusammenarbeit von allen CRDs ermöglicht eine stabile Bindung, und somit einen Erkennungsprozess. Wie in Abbildung 7 gezeigt, befinden sich beim MBP A alle CRDs (in der Nähe der Calcium-Ionen) auf der Oberseite und können gleichzeitig mit Strukturen auf einem Bakterium oder einem Virus interagieren. Dieses Phänomen nennt man Multivalenz und ist ein generelles biologisches Prinzip zur Bindungsverstärkung und Erzeugung von Selektivität.<sup>50,65,66</sup>

## 1. Einleitung

Einzelne Wechselwirkungen zwischen einem Zuckerliganden und dem entsprechenden Lektinrezeptor sind vergleichsweise schwach. Die Bindungskonstante liegt normalerweise im millimolaren Bereich.<sup>67</sup> Durch die Ausbildung multivalenter Wechselwirkungen zwischen mehreren Bindungssepitopen und Liganden kann die sog. Avidität<sup>vi</sup> (die Bindungsverstärkung, über das additive Maß hinaus) resultieren. Generell sind multivalente Wechselwirkungen, als Wechselwirkung mehrerer Liganden (L), welche über geeignete Strukturen verbunden sind, mit mehreren Rezeptoren bzw. Bindungsstellen (R) definiert.<sup>vii</sup>

Im Folgenden soll kurz auf die wesentlichen Aspekte multivalenter Bindungen eingegangen werden. Die physikochemischen Betrachtungen der komplexeren Thermodynamik und Kinetik sind in einschlägiger Literatur von Whitesides *et al.*<sup>50</sup> oder Haag *et al.*<sup>65</sup> beschrieben und werden im Folgenden nur kurz dargestellt.

Multivalente Wechselwirkungen sind schwierig zu charakterisieren. Dies liegt zum einen häufig an der Unklarheit, wie viele Einheiten L mit wie vielen Einheiten R interagieren und zum anderen an der Schwierigkeit, ein geeignetes System zu entwerfen, welches die Abhängigkeit der Bindungen voneinander richtig abbildet (Kooperativität). Um diese zwei grundlegenden Probleme zu umgehen, wurden von Whitesides *et al.* Faktoren für die Kooperativität ( $\alpha$ ) und die Bindungsverstärkung ( $\beta$ ) in Bezug auf die monovalenten Wechselwirkungen eingeführt. Weitere Modelle zur thermodynamischen Beschreibung von multivalenten Wechselwirkungen, wie zum Beispiel von Jencks *et al.*<sup>68</sup> oder Kitov *et al.*<sup>69</sup>, werden im Folgenden nicht behandelt.

Die Kooperativität  $\alpha$  als Maß dafür, ob die multivalente Wechselwirkung positiv kooperativ (synergistisch), nicht kooperativ (additiv) oder negativ kooperativ ist (interferierend), kann wie in Gleichung (1) und (2) aus den Bindungskonstanten  $K_N^{poly}$  und  $K^{mono}$  oder den Gibbs-Bindungsenergien  $\Delta G_N^{poly}$  und  $\Delta G^{mono}$  errechnet werden, sofern die Anzahl der Wechselwirkungen  $N$  bekannt ist.

$$\alpha = \frac{\lg(K_N^{poly})}{\lg(K^{mono})^N} \quad (1)$$

$$\alpha = \frac{\Delta G_N^{poly}}{N \Delta G^{mono}} \quad (2)$$

---

<sup>vi</sup> Die Avidität beschreibt die Bindung eines multivalenten Liganden zu einem multivalenten Rezeptor. Sie kommt historisch gesehen aus der Immunologie und wurde zur Beschreibung der Bindung zwischen einem Antikörper und einem Antigen verwendet. Sie ist generell von der Affinität, welche die monovalente Wechselwirkung zwischen einem Liganden und einem Rezeptor beschreibt zu unterscheiden.

<sup>vii</sup> Eine Abgrenzung von Multivalenz zu Polyvalenz soll hier nicht stattfinden.

## 1. Einleitung

Ein gut untersuchtes Beispiel, hinsichtlich seiner Kooperativität, ist die Bindung von Sauerstoff an Hämoglobin, welches einen  $\alpha$  Wert größer 1 aufweist (also  $K_N^{poly} > K^{mono}$ ), da die Gibbs-Bindungsenergie des zweiten O<sub>2</sub> negativ ist.<sup>50,70-72</sup>

Die Bindungsverstärkung  $\beta$  kann ebenfalls aus den Bindungskonstanten  $K_N^{poly}$  und  $K^{mono}$  errechnet werden (Gleichung (3)). Besonderen Charme hat dieser Faktor, da er auch ohne das Wissen über die Anzahl der miteinander wechselwirkenden Partner aus den experimentellen Daten berechnet werden kann.

$$\beta = \frac{K_N^{poly}}{K^{mono}} \quad (3)$$

Dieser Faktor wurde von Whitesides *et al.* eingeführt und kann relativ universell auf multivalente Wechselwirkungen übertragen werden.

Generell ist festzuhalten, dass „Multivalenz“, im Sinne eines positiv kooperativen Bindungsverhaltens aufgrund von Gleichung (2) nur schwer vorstellbar ist, da es kaum Beispiele gibt, bei denen die polyvalente Wechselwirkung über das Maß der addierten monovalenten hinausgehen.<sup>65</sup> Dennoch können multivalente Liganden durchaus sinnvoll sein. Es gibt auf molekularer Ebene mehrere Möglichkeiten für eine Bindung zwischen einem multivalenten Ligand und einem Rezeptor, verglichen mit den monovalenten Analoga. In Abbildung 8 sind verschiedene Möglichkeiten zur Bindung für multivalente Liganden dargestellt.

Die einfachste Form der multivalenten Wechselwirkung ist die Chelatbindung (Abbildung 8a). Hierbei wird eine festere Bindung erreicht als bei monovalenten Wechselwirkungen u.a. durch die Erhöhung der lokalen Konzentration des Liganden, wenn der erste Ligand bereits am Rezeptor gebunden ist. Ebenso, wie bei allen multivalenten Bindungen, kommt der Entropieverlust, der mit der Bindung einhergeht, bereits bei der ersten Wechselwirkung des Liganden mit dem Rezeptor zum Tragen. Vergleicht man dies mit einer Anzahl  $n$  an monovalenten Liganden, ändert sich die Gesamtentropie nur geringfügig, da die Entropie von  $n-1$  Liganden erhalten bleibt. Bindet allerdings ein multivalenter Ligand, geht mit der ersten Bindung nahezu die gesamte Entropie verloren. Eine multivalente Bindung eines Liganden mit einem Rezeptor ist somit generell entropisch erschwert (verglichen mit der Bindung eines einzelnen monomeren Liganden).<sup>viii</sup>

---

<sup>viii</sup> Wenn hier natürlich die Summe der Entropien von  $N$  monomeren Liganden mit einem multivalenten Liganden mit  $N$  Bindungspartnern verglichen wird, wäre die Bindung des multivalenten Liganden natürlich entropisch deutlich günstiger als die der Monomere.

## 1. Einleitung

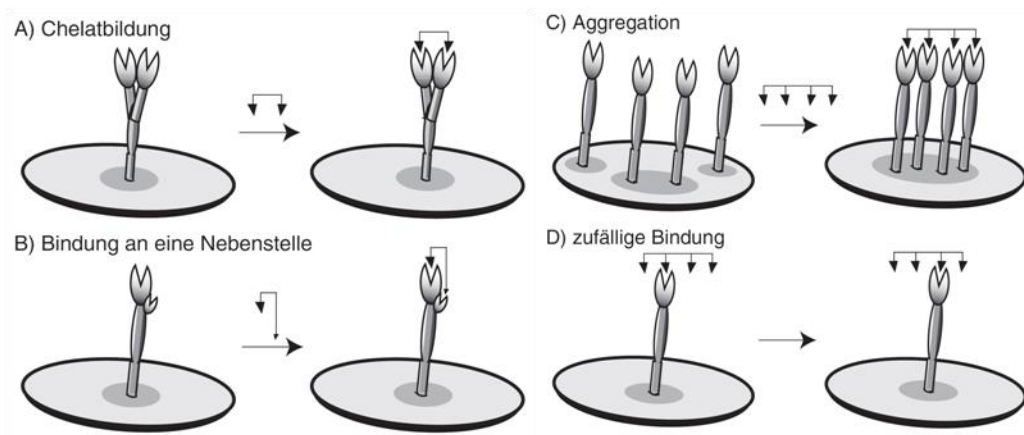


Abbildung 8 Darstellung möglicher multivalenter Wechselwirkungen von Ligand und Rezeptor (entlehnt von *Kiessling et al.*).<sup>73</sup>

Ein genauerer Blick auf die Entropie offenbart, dass sich die Gesamtentropie der Liganden in drei bzw. vier Anteile unterteilt (Gleichung (4) und (5)).

$$\Delta S_{mono} = \Delta S_{trans} + \Delta S_{rot} + \Delta S_{sol} \quad (4)$$

$$\Delta S_{multi} = \Delta S_{trans} + \Delta S_{rot} + \Delta S_{sol} + \Delta S_{conf} \quad (5)$$

Die Solvatationsentropie bleibt unberücksichtigt, da diese sich bei der Bindung eines mono- oder multivalenten Liganden nur marginal ändert (in Bezug auf das Gesamtsystem). Die Translations- sowie die Rotationsentropie wird bei der Bindung verändert. Dies wird allerdings, wie bereits erwähnt, im Falle des monomeren Liganden durch die verbleibenden ungebundenen Liganden kompensiert. Beim multivalenten Liganden verringert sich die Entropie erheblich. Die Konformationsentropie, welche nur beim multivalenten Liganden eine Rolle spielt, wird durch die verwendeten Spacermoleküle, über die die eigentlichen Bindungs epitope verbrückt sind, determiniert. Dieser Beitrag hat zur Folge, dass Liganden mit einer „passenden“ Geometrie mit höherer Affinität an einen Rezeptor binden, als Liganden, welche durch ihre Spacer eher zu „klein“ oder zu „groß“ sind. Auch die Art der Spacer beeinflusst die eingenommene Geometrie und den Modus der Bindung. Für z.B. die Bindung an eine Nebenstelle (Abbildung 8b) oder die Aggregation von Rezeptoren an der Oberfläche (Abbildung 8c) werden meist Liganden mit „passenden“ Spacern benötigt, da für diesen Bindungsmodus sowohl die Interaktion des Liganden mit den Rezeptoren als auch die Interaktion der Rezeptoren untereinander (zum Beispiel die Multimerisierung von Lektinen) entscheidend ist. Nach dieser Betrachtung sind rigide Spacer günstiger, als solche mit vielen, rotierbaren Bindungen, da diese auch ein höheres Maß an Rotationsentropie aufweisen. Diese Betrachtung kann auch über eine „bimolekulare“ Interaktion hinausgehen. Man spricht von sogenanntem cross-linking, wenn z.B. der Rezeptor in viel höherer Konzentration als der Ligand vorliegt.<sup>74</sup>

## 1. Einleitung

Ein multivalenter Ligand kann durch die Erhöhung der lokalen Konzentration an Bindungspartnern mit nur einem monovalenten Liganden wechselwirken. Dies wird als eine zufällige oder statistische Bindung (Abbildung 8d) bezeichnet, welche durchaus stärker sein kann, als die Bindung eines monovalenten Analogons.<sup>75</sup>

Dies zeigt, dass in der Literatur viele Modelle existieren, welche versuchen multivalente Wechselwirkungen, insbesondere zwischen Kohlenhydraten und Lektinen, zu beschreiben.<sup>69,75-78</sup> Sicherlich wird es sich bei diesen Interaktionen nicht nur um einen einzigen der in Abbildung 8 beschriebenen Bindungsmechanismen handeln, was die Multivalenz in biologischen Systemen zu einem komplexen und schwierig zu beschreibenden Phänomen macht. Für die Aufklärung der molekularen Mechanismen werden nennenswerte Mengen an Ligand und Rezeptor benötigt. Dies führt sowohl auf Seite der Lektine als auch auf Seite der Kohlenhydrate zu Problemen, da oftmals beide nicht leicht verfügbar sind.

### 1.4 Glycomimetika - Molekulare Werkzeuge zur Aufklärung biologischer Prozesse

Es ist schwierig, die zum Studium der Kohlenhydrat-Lektin Interaktion wichtigen Oligosaccharide in ausreichender Menge darzustellen, da grundsätzliche Synthesestrategien, wie zum Beispiel die Festphasensynthese von Peptiden, auf die Oligosaccharide nicht oder nur bedingt angewendet werden können.<sup>79-81</sup> Wissenschaftler bedienen sich hier dem Konzept der Glycomimetika. Das sind Substanzen, welche Kohlenhydrate in Struktur und Funktion imitieren, aber in einfachen, synthetischen Prozessen hergestellt werden können.

Die Veränderung der natürlichen Saccharidstruktur kann eine stärkere oder selektivere Bindung bewirken, oder auch die chemischen Eigenschaften verändern und die biologische Stabilität erhöhen. Dennoch gibt es nur wenige Glycomimetika, welche als Arzneistoffe zugelassen wurden. Eine kleine Auswahl ist in Abbildung 9 dargestellt.

## 1. Einleitung

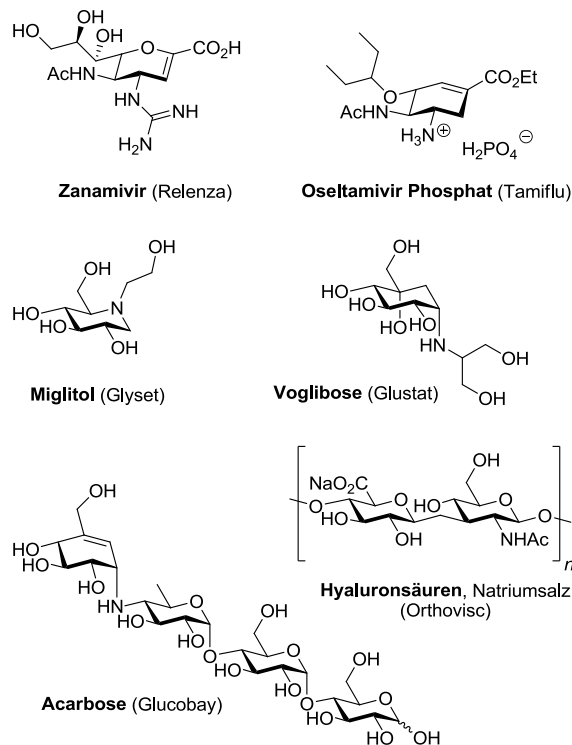


Abbildung 9 Von Kohlenhydraten abstammende Arzneistoffe: Zanamivir<sup>82</sup> und Oseltamivir<sup>83</sup> als anti-Influenza Arzneistoffe; Voglibose<sup>84</sup>, Miglitol<sup>85</sup> und Acarbose<sup>86</sup> als Diabeteswirkstoffe; Hyaluronsäure<sup>87</sup> als Osteoarthritiswirkstoff.

Die schwache Bindung an entsprechende Rezeptoren und die schlechten pharmakologischen Eigenschaften sind die größten Schwierigkeiten von Kohlenhydrat-basierenden Arzneistoffen. Wie an diesen Beispielen erkennbar ist, werden meist Funktionalitäten ausgetauscht, welche im biologischen Milieu unter anderem durch Enzyme gespalten werden können. So ist der Pyranosering bei Miglitol durch einen Piperidinring oder bei Voglibose durch einen stabileren Cyclohexanring ersetzt, der darüber hinaus auch in der Lage ist, ionisch an das gewünschte Enzym zu binden und dieses zu inhibieren. Ebenso wird die hohe Bandbreite der Glycomimetika verdeutlicht, die in der Pharmazie von relativ kleinen Strukturen über Oligosaccharide bis hin zu makromolekularen Biomolekülen reicht.<sup>88</sup>

Einen weiteren Bereich Kohlenhydrat-basierter Arzneistoffe stellen Impfstoffe dar.<sup>89</sup> Wie bereits erwähnt, arbeitet ein nennenswerter Teil der Immunabwehr auf Basis der Kohlenhydrat-Lektin Wechselwirkungen. Eine „Impfung“ mit Glycanen, welche eine Immunantwort hervorrufen, aber weniger schädlich als das Pathogen selbst sind, würde somit zur Immunisierung führen. Um ein besseres Verständnis über die genauen Mechanismen zu bekommen, werden hier Glycomimetika eingesetzt, welche die Glycocalyx vereinfacht darstellen sollen und dennoch mit den Lektinen interagieren. Ein bekanntes Prinzip ist die „Vervielfältigung“ bzw. die multivalente Präsentation der natürlichen Liganden. Ein Beispiel wäre das synthetische Quimi-Hib (Heber Biotech), welches der erste zugelassene, synthetische Impfstoff auf Kohlenhydratbasis ist.<sup>90</sup> Er wird heute zum Beispiel in

## 1. Einleitung

Kuba gegen *Haemophilus influenzae Typ b* (Hib) eingesetzt, welches Meningitis hervorruft (Abbildung 10).<sup>89</sup>

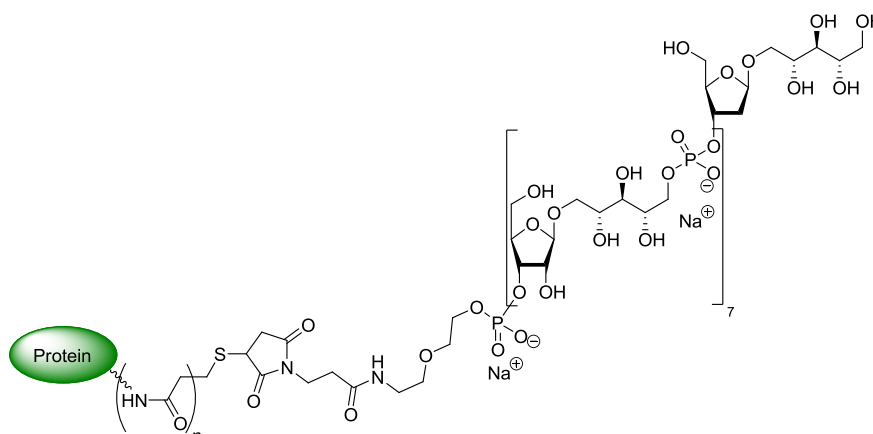


Abbildung 10 Schematische Darstellung des Quimi-Hib Wirkstoffs.<sup>91</sup>

Generell lassen sich multivalente Glycomimetika in statistische und strukturbasierte (diskrete) Liganden einteilen.<sup>92,ix</sup> Bei statistischen Liganden handelt es sich um große Moleküle, bei denen die Anzahl der Kohlenhydratepitope nur vage definiert ist. Strukturbasierte Liganden hingegen sind definierte Moleküle mit einer genauen Molmasse und einer gezielt eingestellten Anzahl an Kohlenhydratepitopen. Beide Gruppen haben Vor- und Nachteile im Hinblick auf Analytik, Bindungsverhalten und Aussagekraft bei der Lektinbindung. Grundsätzlich stellen beide nützliche Ligandenklassen für die Aufklärung der molekularen Mechanismen der Kohlenhydrat-Lektin Wechselwirkung dar. Nicht zuletzt da sie im Gegensatz zu natürlichen Oligosacchariden mit vertretbarem Aufwand darzustellen sind, aber auch gezielt in ihrer Struktur variiert werden können, um so den direkten Einfluss auf die Bindungseigenschaften zu beeinflussen.

<sup>ix</sup> Diese Unterscheidung wird in der Literatur nicht einheitlich benannt. In dieser Arbeit soll allerdings zwischen großen, makromolekularen Architekturen wie z.B. Nanopartikel oder Polymeren und kleinen, wohl definierten Molekülen unterschieden werden.

## 2 Kenntnisstand

Generell geschieht die Einteilung in statistische und diskrete Glykokonjugate fließend und wird nicht einheitlich verwendet. In einem Übersichtsartikel von Sébastien Gouin<sup>92</sup> wird anhand der präsentierten Zuckereinheiten, welche bei polymeren Strukturen nicht genau festgelegt werden kann und bei „kleinen“ Molekülen bis ca. 20 geht, eine Unterscheidung getroffen. Dies kann aber auch anhand des molekularen Charakters (definierte molare Masse bzw. Molmassenverteilung) oder Synthesestrategie geschehen, welche einen großen Einfluss auf die resultierenden Moleküle hat. Um sowohl einen kleinen Einblick in polymere als auch in diskrete Glykokonjugate zu geben, werden diese im folgenden Abschnitt anhand von Beispielen erläutert.

### 2.1 Polymere Glykokonjugate

Glycopolymere besitzen meist eine höhere Affinität zu Lektinen als vergleichbare monomere Saccharide. Dies liegt nicht unbedingt an der Anzahl der Liganden, da meist auch der Verstärkungsfaktor  $\beta$  größer als 1 ist (vgl. Gleichung (3)).<sup>93</sup> Beispielsweise berichten Whitesides *et al.* über eine  $10^3 - 10^6$ -fache Steigerung der Affinität pro Neuraminsäureeinheit gegenüber Influenza Viren durch die Präsentation der Neuraminsäuren auf einem funktionalisierten Polyacrylamid-Grundgerüst (Abbildung 11).<sup>94</sup> Ebenso gibt es Beispiele für funktionalisierte Polymere von Seeberger *et al.*<sup>95</sup> zur Detektion von *E. coli* in Lösung, von Wong *et al.*<sup>96</sup> zur Inhibierung des Influenza Virus oder auch die von Kiessling *et al.*<sup>97</sup> durch Ringöffnungs-Metathese-Polymerisation (ROMP) synthetisierten Polymere zur Interaktion mit ConA.

Eine unterschiedliche Anordnung im Vergleich zu linearen Polymeren wird durch die Verwendung von Nanopartikeln erreicht. Durch kovalente Verknüpfung von monomeren Vorläufern mit Metallkernen wird eine hohe Dichte an Sacchariden auf dem Nanopartikel erreicht, welche eine sphärische Geometrie einnehmen.<sup>98</sup> Abbildung 11 B zeigt ein Beispiel dafür, welches als antivirale Substanz zur Interaktion mit DC-SIGN von Penadés *et al.*<sup>99</sup> dargestellt wurde.

Auch Kohlenstoffnanoröhren wurden zur Funktionalisierung mit Sacchariden verwendet. Sie besitzen aufgrund ihrer elektrochemischen Eigenschaften großes Potential im Bereich der bildgebenden Verfahren und der Biosensorik.<sup>100,101</sup> In Abbildung 11 C ist ein mit Mannose funktionalisiertes Nanotube abgebildet, welches Anthrax Sporen in Gegenwart von  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen agglutiniert.<sup>101</sup>

Der fließende Übergang zwischen polymeren Architekturen und diskreten Liganden wird bei den selbstorganisierenden Liganden (*self assembly supramolecular architectures*, SAM) deutlich.<sup>102</sup> Die Wahl des Lösungsmittels ist entscheidend für die Selbstanordnung der SAMs, die dann Mizellen oder vergleichbare supramolekularen Strukturen ausbilden. Ein Beispiel ist das in Abbildung 11 D gezeigte,

## 2. Kenntnisstand

trivalente Monomer von Müller und Brunsfeld,<sup>103</sup> welches durch hydrophobe Interaktionen des aromatischen Gerüsts eine säulenförmige supramolekulare Anordnung einnimmt.

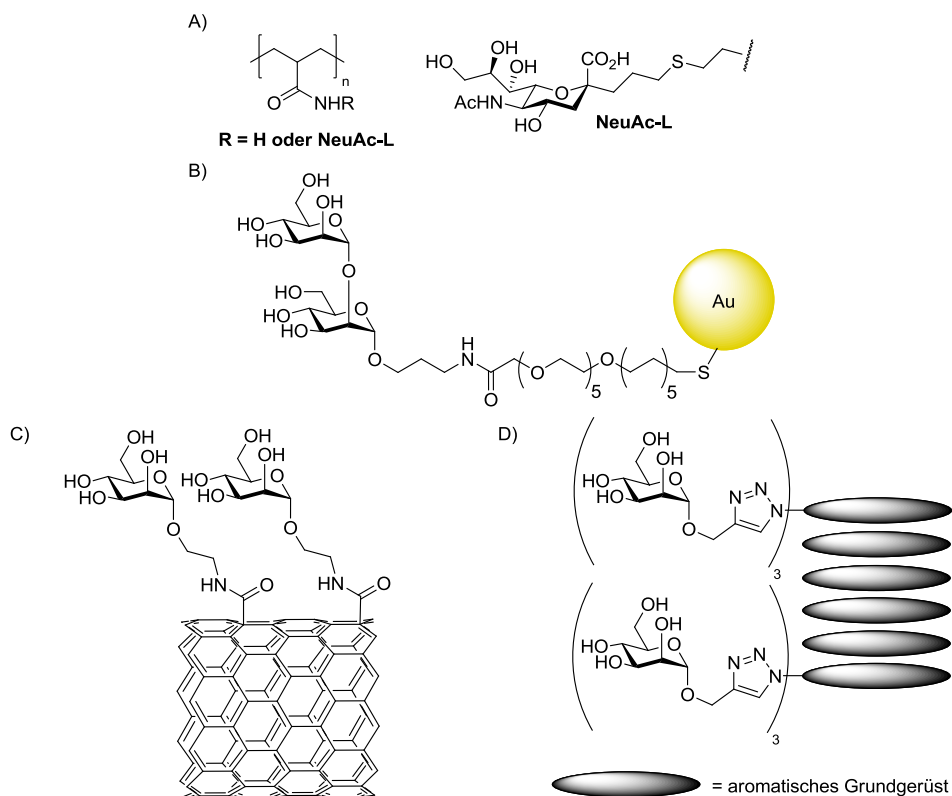


Abbildung 11 Polymere Glykokonjugate A) lineares Polymer auf Polyacrylamid Basis, welches mit Neuraminsäure verknüpft ist, von Whitesides.<sup>94</sup> B) Goldnanopartikel, welcher mit Dimannose-Einheiten funktionalisiert wurde, von Penadés.<sup>99</sup> C) Mannosylierte *single-walled* Kohlenstoff Nanoröhren von Sun.<sup>101</sup> D) Polymere durch Selbstaggregation von Trimeren, ein Beispiel von Müller und Brunsfeld,<sup>103</sup> das aromatische Grundgerüst der Trimere ist hier der Einfachheit halber schematisiert dargestellt.

Ein weiteres Beispiel für diesen fließenden Übergang von Polymeren zu diskreten Glykokonjugaten sind Dendrimere. Während große Strukturen mit einem hohen Verzweigungsgrad zu einer statistischen Verteilung der Kohlenhydratepitope führen, tragen Dendrimere mit geringem Verzweigungsgrad eine definierte Anzahl an Kohlenhydraten.<sup>104-106</sup> In diesem Fall unterscheidet man polymere und diskrete Glykokonjugate hinsichtlich der Synthese und der Struktur.

### 2.2 Diskrete Glykokonjugate

Analog zu den polymeren Glykokonjugaten besitzen auch diskrete Glykokonjugate großen Facettenreichtum. Es sind diverse unterschiedliche Grundgerüste in der Literatur beschrieben, die unter anderem zur Präsentation von Kohlenhydraten verwendet werden. Ein gewählter Ausschnitt diskreter Glykokonjugate ist in Abbildung 12 dargestellt und wird im folgenden Abschnitt erläutert.

Generell beeinflusst die Geometrie und die Natur des Grundgerüsts die Bindung zum Lektin. Während bei polymeren Glykokonjugaten die Geometrie und Anordnung der Liganden eine eher

## 2. Kenntnisstand

untergeordnete Rolle spielt, da Wechselwirkungen aufgrund der Flexibilität und Epitopdichte garantiert sind, müssen diese Kriterien bei kleineren Vertretern spezifisch auf das entsprechende Lektin zutreffen, um eine starke Wechselwirkung zu gewährleisten. Ebenso wie die Geometrie sind auch die verwendeten Grundgerüste und Spacer selbst ausschlaggebend für die Ausbildung einer starken Bindung. Da durch die rigide Präorganisation der Liganden sowohl eine erhöhte Affinität, als auch Selektivität induziert werden kann, kann sich ein rigides Grundgerüst vorteilhaft auf die Bindung auswirken, wenn es komplementär zur CRD des Lektins aufgebaut ist (Länge, Geometrie, Winkel etc.).<sup>92,107,108</sup> Diese Charakteristika der kleineren, diskreten Glykokonjugate muss auch beim Assaydesign zur Evaluation der Bindungseigenschaften berücksichtigt werden, zumal nur bei perfekt passenden Glykokonjugat-Lektin-Paaren eine gute Bindungsstärke gemessen wird. Im Gegensatz dazu kann polymeren Glykokonjugaten auch schon bei moderat passender Geometrie eine beachtliche Bindungsstärke gemessen werden. In Abbildung 12 und Abbildung 13 finden sich einige ausgewählte Beispiele, welche die Vielfalt und die bisher verwendeten Grundgerüste der diskreten Glykokonjugate verdeutlichen sollen.<sup>x</sup>

Die kleinsten Glykokonjugate werden durch die sog. Glycocluster repräsentiert (Abbildung 12). Hier finden sich wie bei Lindhorst *et al.* zum Beispiel tertiäre Amine<sup>109,110</sup> **1**, Polyphenole<sup>111,112</sup> **2** oder Nitromethanderivate<sup>113,114</sup> **3** als Grundgerüst. Ebenso denkbar sind Kohlenhydrate selbst als Grundgerüst zu verwenden, um pentavalente Strukturen aufzubauen.<sup>115</sup> Ein prominentes Beispiel ist das sog. STARFISH Pentamer **4** von Bundle *et al.* aus dem Jahre 2000.<sup>116</sup> Es besaß in einem *in vitro* Assay die bis zu diesem Zeitpunkt beste Bindungsaffinität gegenüber Shiga-like toxin I, ein bekanntes pentameres Lektin. Bemerkenswert bei dieser Struktur ist sowohl die Größe, als auch die Selektivität, welche durch die pentamere Anordnung der Bindungsepitope erreicht wird (Abbildung 12).

Dieses Beispiel verdeutlicht ebenfalls den fließenden Übergang der Glycocluster zu den Dendrimeren. So kann man Glycocluster als erste Generation Dendron verstehen. Bei Dendrimeren werden diese „Generationen“ weiter fortgesetzt und bilden größere Strukturen aus.<sup>117</sup> Unterschiedlichste Geometrie und Valenzen lassen sich ebenfalls mit aromatischen Grundgerüsten realisieren. Diese konjugierten Systeme können nahezu beliebig ausgedehnt werden.<sup>118</sup> Bei größeren Vertretern dieser Klasse treten die bereits erwähnten Selbstorganisations-Phänomene vermehrt auf und sollen in dieser Arbeit nicht weiter behandelt werden.

---

<sup>x</sup> Hier sollen nur exemplarisch einige Beispiele dargestellt werden um den Facettenreichtum in der Literatur zu verdeutlichen. Diese Auswahl erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

## 2. Kenntnisstand

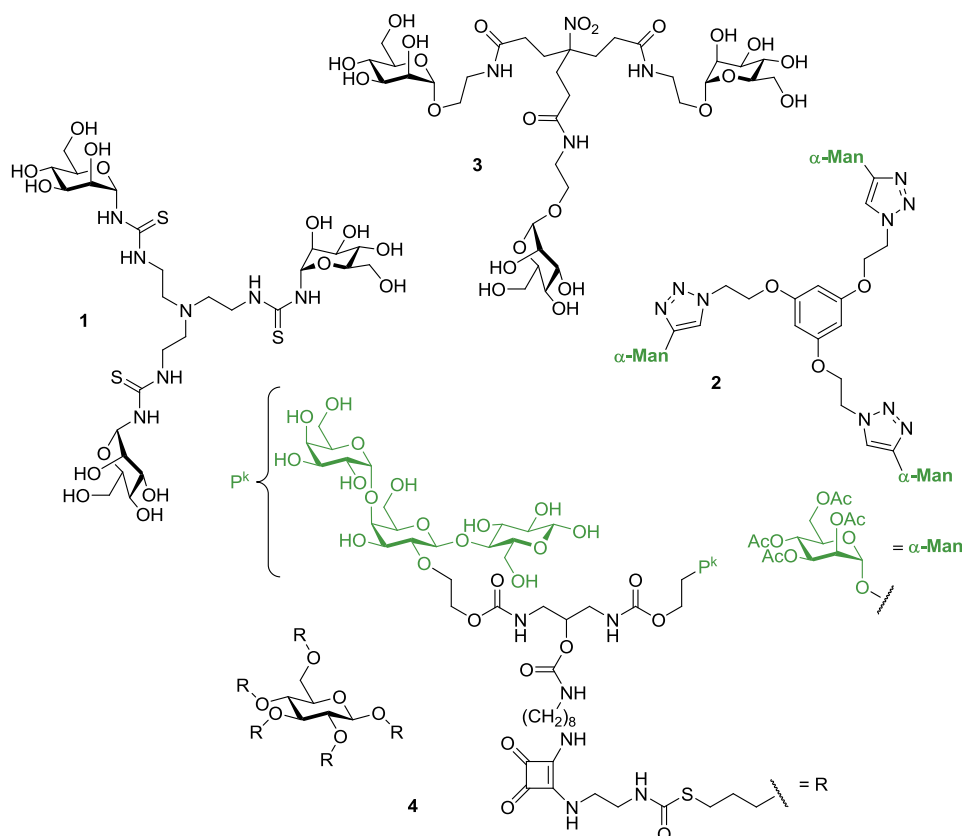


Abbildung 12 Glycocluster als Beispiel für synthetische, diskrete Glycokonjugate: **1** trimeres Glycokonjugat auf Basis eines Amins von Lindhorst,<sup>109</sup> **2** Polyphenol als Grundgerüst von Santoyo-Gonzales,<sup>111</sup> **3** trimeres Glycokonjugat mit Nitromethan-Grundgerüst von Lindhorst,<sup>113</sup> **4** STARFISH Pentamer von Bundle.<sup>116</sup>

Zunehmend beliebter wurden auch cyclische Grundgerüste wie zum Beispiel Calixarene, Cyclodextrine oder Cyclopeptide (Abbildung 13).

Calixarene<sup>XI</sup> bestehen aus Phenolen, welche in ortho Stellung durch Methylenbrücken verknüpft sind. Durch Rotation können sie verschiedene Geometrien einnehmen (z. B. „cone“ und „alternate“ bei Calix[4]aren), was sie in der Präsentation von Liganden sehr interessant macht. Durch sterisch anspruchsvolle Substituenten an den Hydroxylgruppen der Phenole wird die Fixierung gewünschter Geometrien erreicht. Ungaro *et al.* haben auf Basis eines Calix[4]arens einen potenten Liganden **5** für das pflanzliche Lektin *Viscum album agglutinin* (VAA) entwickelt und ebenso den Einfluss der unterschiedlichen Ligandenpräsentation durch die verwendeten Calixarene analysiert.<sup>119</sup>

Die Cyclodextrine, welche aus cyclischen  $\alpha$ -1-4-glycosidisch verknüpften Glucoseeinheiten aufgebaut sind, können in unterschiedlichen Ringgrößen dargestellt werden und lassen sich an den verbleibenden Hydroxylgruppen funktionalisieren. Sie weisen aufgrund der toroidalen Struktur eine Wirts-Gast-Chemie auf, die bei der Verwendung als Grundgerüst für Glycokonjugate genutzt werden kann.<sup>120,121</sup> Durch Funktionalisierung der 6-Position von Glucoseeinheiten, welche die einzige primäre

<sup>XI</sup> Calix = lat. für „Kelch“. Bei der Schreibweise Calix[n]aren beschreibt n die Anzahl der Phenolbausteine.

## 2. Kenntnisstand

Hydroxylgruppe darstellt, sind unterschiedliche Valenzen möglich. Ein Beispiel ist das von Fernández *et al.* gezeigte mannosylierte Cyclodextrin **6**, das als Transporter (engl. drug carrier) zur Verteilung eines Wirkstoffs verwendet wurde.<sup>122</sup>

Cyclische Peptide bilden ebenfalls geeignete Grundgerüste für die Präsentation von Kohlenhydraten. Die sogenannten „*regioselectively addressable functionalized templates*“ (RAFTs) ermöglichen es einfach heterogene Glykokonjugate aufzubauen. Homogene Glykokonjugate sind synthetisch leichter zugänglich, da sie nur einen Kohlenhydratrest tragen. Heterogene Glykokonjugate verfügen über unterschiedliche Kohlenhydratreste wie bei dem von Dumy *et al.* gezeigten Beispiel **7**.<sup>123,124</sup> Diese Substanzen sind gerade dann interessant, wenn es darum geht, komplexe Oligosaccharide zu imitieren und die Heterogenität der Glycocalyx synthetisch abzubilden.<sup>125</sup>

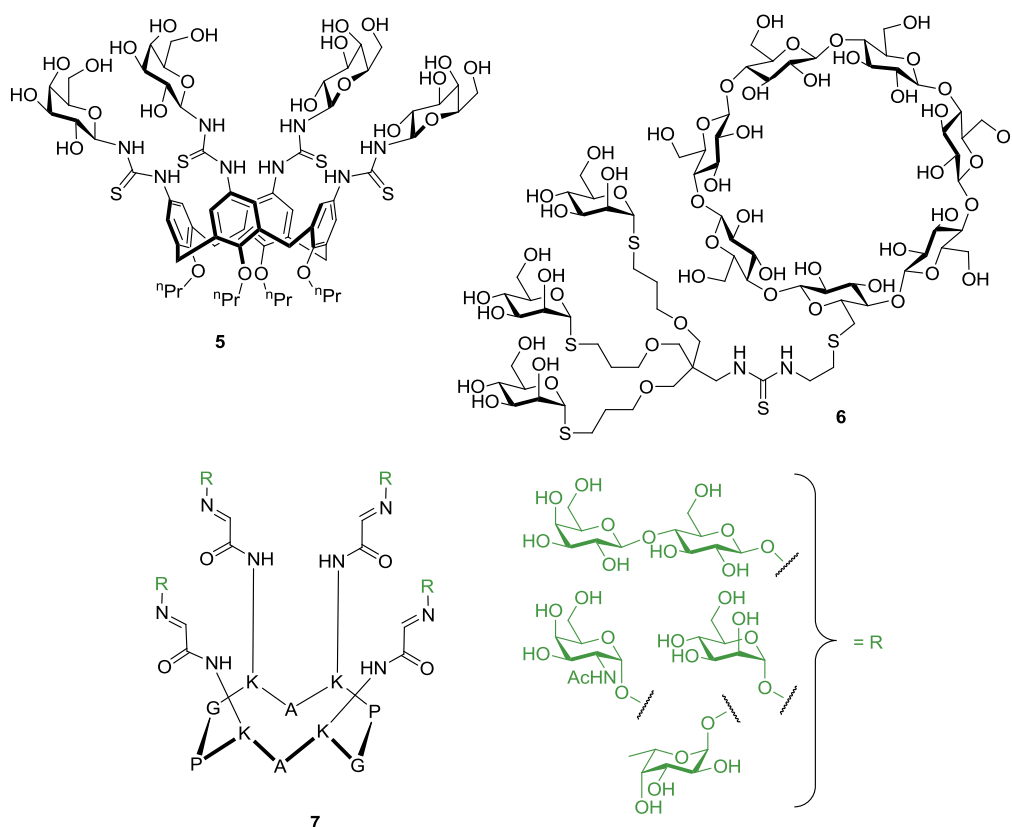


Abbildung 13 cyclische, diskrete Glykokonjugate: **5** Calixaren-Glykokonjugat von Ungaro,<sup>119</sup> **6** Cyclodextrin-Transporter von Fernandez,<sup>122</sup> Cyclisches Peptid als Grundgerüst für heterogene Glykokonjugate von Dumy.<sup>124</sup>

Ein Vorteil der Grundgerüste (**3**, **5**, **7**) einiger der gezeigten Glykokonjugaten ist, die Möglichkeit zur Konjugation von zusätzlichen Effektoren (sog. AB<sub>x</sub>-Grundgerüste). Dies kann für die Detektion der Wechselwirkungen zwischen Glykokonjugat und Lektin von Vorteil sein, da der Effektor ein direktes Signal wie beispielsweise Fluoreszenzintensität liefert. Andere Grundgerüste, wie zum Beispiel **4**, besitzen zwar eine höhere Anzahl an Zuckerepitopen, aber die Möglichkeit der weiteren Funktionalisierung fehlt.

## 2. Kenntnisstand

Des Weiteren ist die Flexibilität und Länge der Linkermoleküle charakteristisch bei verschiedenen Glycokonjugaten, da diese Kriterien die räumliche Anordnung der Kohlenhydratepitope beeinflussen. Während die räumliche Anordnung der Liganden bei kurzen Linkern eher rigide ist (**1**, **3**), besitzen Kohlenhydratepitope an längeren Linkermolekülen aufgrund ihrer flexiblen Anordnung diverse Freiheitsgrade. Ein exakt passender Ligand wird jedoch immer stärker mit dem Rezeptor interagieren, wenn eine rigide Präorganisation vorliegt, als sein flexibles Analogon.<sup>75,105</sup>

Eine Möglichkeit für ein rigides AB<sub>3</sub>-Grundgerüst bietet Adamantan. Maison *et al.* etablierte die Verwendung dieses Grundgerüsts bereits in einigen biologischen Fragestellungen, wie dem Tumor-Targeting<sup>126-128</sup> oder der Oberflächenbeschichtung<sup>129,130</sup>.

Durch die rigide Struktur des Adamantyl-Kerns, wird über die Präorganisation der Liganden hinaus eine Separation der Funktionalitäten erreicht, sodass eine Interaktion der Kohlenhydratepitope untereinander und mit dem vierten Substituenten erst bei sehr langen und flexiblen Linkern möglich wird. Darüber hinaus besteht durch die Orthogonalität der funktionellen Gruppen am Adamantyl-Grundgerüst die Möglichkeit einer selektiven Schutzgruppenstrategie, was die sequentielle Einführung von Kohlenhydrat und Effektor ermöglicht.

Als Linkermolekül können verschiedene Bausteine verwendet werden von Alkylketten über Ethylenglycol-Linker bis hin zu rigideren Peptidstrukturen. Die Linker können dann auf unterschiedliche Art und Weise am Grundgerüst angebracht werden. In der Literatur werden zumeist Harnstoffderivate<sup>109,110,131-135</sup> (**1**), Triazole<sup>111,112,136,137</sup> (**2**) oder Amide<sup>138-142</sup> (**3**) zur Verknüpfung der Bausteine verwendet (vgl. Abbildung 12). Weitere Verknüpfungen die auf der Bildung von Oximen<sup>143,144</sup>, Hydrazonderivaten<sup>145</sup> oder Alkenen<sup>146,147</sup> beruhen, sind ebenfalls bekannt.<sup>XII</sup>

Generell muss hier unterschieden werden, ob der Linker zunächst am Grundgerüst oder am Kohlenhydratteil angebracht wird. Diese Designfrage ist von zentraler Wichtigkeit, da sie die nachfolgende Chemie und die Modularität des Systems bestimmt.

---

<sup>XII</sup> Es sollen hier nur die Reaktionstypen der Verknüpfung zum fertigen Glycokonjugat diskutiert werden, nicht die Verbindung von Linker und Kohlenhydratepitop. In Spezialfällen, wenn zum Beispiel kein Linker verwendet wird, geschieht die Verknüpfung direkt am Saccharid. Dies soll hier nicht explizit behandelt werden.

### 3 Aufgabenstellung und Ziel dieser Arbeit

Ziel dieser Arbeit war die Synthese und Evaluation von Oligosaccharidmimetika. Basierend auf den in der Arbeitsgruppe entwickelten AB<sub>3</sub>-Adamantylgrundgerüsten zur multivalenten Präsentation von biologisch aktiven Liganden, sollte eine modulare Synthese zur Funktionalisierung mit Kohlenhydraten entwickelt werden (Abbildung 14). Die Synthese sollte flexibel im Hinblick auf Variation der Kohlenhydrate, Einstellung verschiedener Spacerlängen und Konjugation mit einer weiteren Effektoreinheit sein.

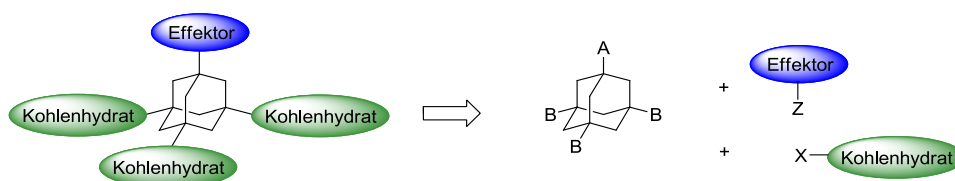


Abbildung 14 Modularer Aufbau von Oligosaccharidmimetika mit Effektor auf Basis von AB<sub>3</sub>-Adamantylgrundgerüsten.

Es sollte eine kleine Bibliothek von Glykokonjugaten synthetisiert werden, die sich in Art der Monosaccharide (Glucose, Galaktose, Mannose und Sialinsäure) und Länge der verwendeten Linker (Ethylenglycole verschiedener Länge) unterscheiden, um die allgemeinere Anwendbarkeit der Synthesesequenz zu zeigen.

Im Anschluss an die Darstellung sollten die Oligosaccharidmimetika in geeigneten Assays auf ihre Affinität zu Lektinen untersucht werden (Abbildung 15). Zum einen sollte ein Oberflächenbasierter Fluoreszenzassay etabliert werden, welcher sensitiv auf Multivalenzeffekte ist, zum anderen sollte ein Assay in Lösung durchgeführt werden, der Rückschlüsse auf den Bindungsmodus zulässt.

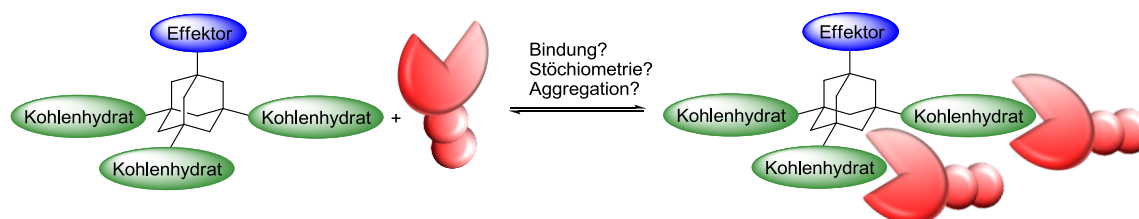


Abbildung 15 Schematischer Bindungsassay der Oligosaccharidmimetika (rot) mit der Fragestellung nach Stöchiometrie und Bindungsstärke gegenüber Lektinen.

Als Lektinkomponenten sollten gut charakterisierte Proteine wie zum Beispiel ConA verwendet werden, da ein Vergleich hinsichtlich der Bindungsaffinitäten mit der Literatur gewährleistet ist und die neuen Assaykonzepte einfach evaluiert werden können.

# 4 Resultate und Diskussion

Die Resultate gliedern sich in zwei Bereiche. Zunächst werden die verschiedenen Synthesen der Substrate beschrieben. Anschließend werden die Entwicklung und Durchführung der verschiedenen Assays und die Auswertung der Messergebnisse beschrieben.

## 4.1 Synthese der Glykokonjugate auf Basis von Adamantan

Wie bereits im vorhergehenden Abschnitt beschrieben, eignet sich Adamantan hervorragend als Basis für modular aufgebaute, multivalente Moleküle. Die Möglichkeit der AB<sub>3</sub> Substitution, bei der sich die Liganden gegenseitig nicht beeinflussen, ist einzigartig und wird von einigen Arbeitsgruppen für verschiedene Anwendungen verwendet. Beispiele hierfür kommen aus Bereichen der Supramolekularen Chemie<sup>148-151</sup>, der Materialforschung<sup>152-154</sup> und der Medizinischen Chemie<sup>155,156</sup>.

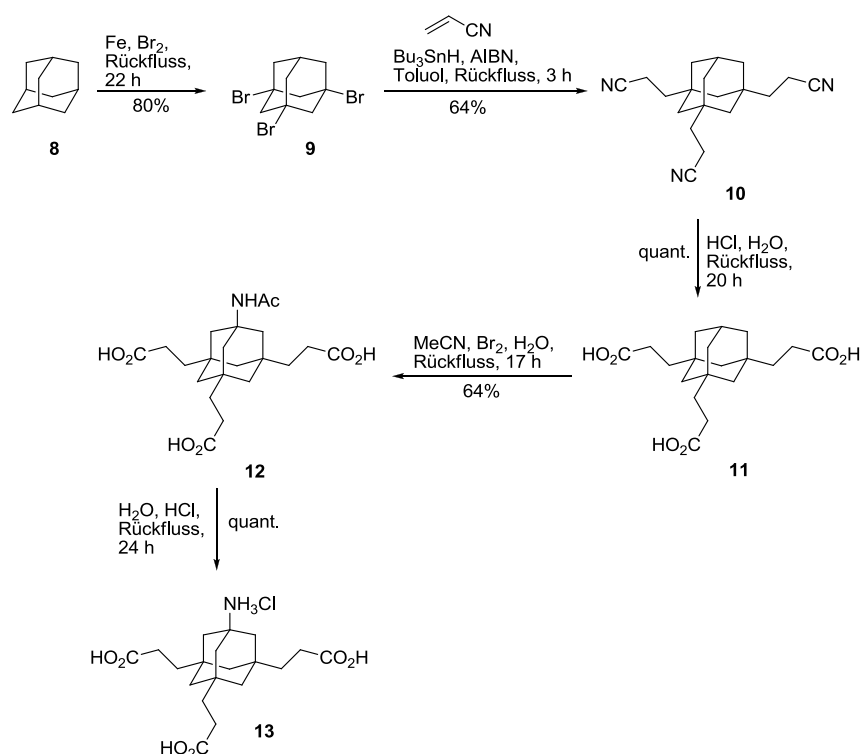
Besonders zu erwähnen ist hierbei, dass die Einführung des vierten Substituenten, welcher beispielsweise ein Farbstoff sein kann, die vorhandenen drei, welche meist die „Liganden“ sind, die vom Rezeptor erkannt werden, nahezu nicht beeinflusst. Dies wurde eindrucksvoll von Maison *et al.* gezeigt, welcher in einem Modellsystem das Prostata-spezifische-Membran-Antigen (PSMA) durch einen modularen AB<sub>3</sub>-Adamantylliganden selektiv adressieren konnte.<sup>127</sup>

### 4.1.1 Synthese der AB<sub>3</sub>-Grundgerüste auf Basis von Adamantan

Synthesekonzepte für verschiedene Grundgerüste zur multivalenten Präsentation von Liganden auf Basis von Adamantan sind bereits vor Jahren in der AG Maison etabliert worden. Diese Synthesen, ausgehend von Adamantan als preisgünstiges und kommerziell erhältliches Startmaterial, lieferten verschiedene Grundgerüste mit unterschiedlicher Linkerlänge zwischen dem Kern und den funktionellen Gruppen, unterschiedlichem Substitutionsgrad, wie zum Beispiel Mono-, Di-, Tri- und Tetrasubstituierte Derivate und unterschiedlichen funktionellen Gruppen, wie Amine, Azide, Alkohole und Carbonsäuren.<sup>129,157-159</sup>

#### 4. Resultate und Diskussion

Ausgehend von literaturbekannten Synthesen, die bereits Nadine Pannier in ihrer Dissertation<sup>160</sup> ausgearbeitet hatte, wurde zunächst versucht, die Synthese bis zum universellen AB<sub>3</sub>-Aminosäurebaustein **13** effizienter zu gestalten, sodass größere Ansätze im Multigrammmaßstab durchgeführt werden können (Schema 1). Darüber hinaus sollte die Reaktionsführung und die Reinigung der Reaktionsprodukte vereinfacht werden, indem Reinigungsschritte eingespart oder aber auch präparative Chromatografien durch beispielsweise Kristallisationen ersetzt werden, da dies einen zeitbestimmenden Faktor in der Synthese darstellt. Ebenso wäre unter ökologischen Gesichtspunkten eine Verminderung der benötigten Lösungsmittelmengen wünschenswert.



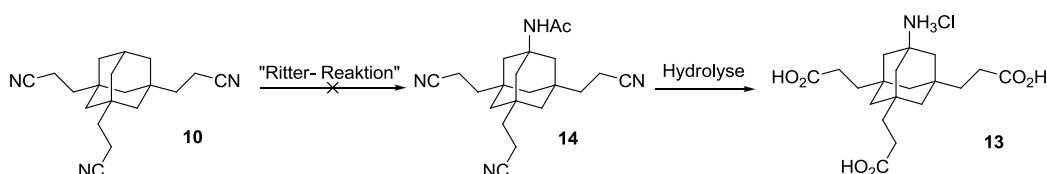
Schema 1 Synthese der AB<sub>3</sub>-Grundgerüste auf Basis von Adamantan.<sup>161</sup>

In Anlehnung an die Prozedur von Domasevitch *et al.* konnte auf eine chromatografische Reinigung des Tribromadamantans **9** zugunsten einer Kristallisation aus Methanol verzichtet werden.<sup>151</sup> Es konnten auf diese Weise ca. 160 g (Ansatzgröße: 68.1 g (0.5 mol) Adamantan) reines **9** in einem Ansatz dargestellt werden. Die radikalische Folgereaktion zum Triscyanoethyladamantan **10** konnte allerdings nicht in beliebigen Ansatzgrößen durchgeführt werden (Ansatzgröße: 50.5 g (135 mmol) Tribromadamantan **9**), da die Reaktionslösung beim Start der radikalischen Substitution instantan Gas entwickelt, was auch bei großzügig dimensionierten Reaktionsapparaturen zu Problemen führte. Bei dieser Reaktion entstand zusätzlich das mono- und disubstituierte Cyanoethyladamantan als Nebenprodukt. Auf die Isolierung dieser Nebenprodukte wurde bei der Reinigung verzichtet, um sowohl Zeit, als auch Lösungsmittel einzusparen. Eine Kristallisation des Produktes war erst nach säulenchromatografischer Reinigung erfolgreich. Die anschließende Hydrolyse zur Tricarbonsäure **11**

#### 4. Resultate und Diskussion

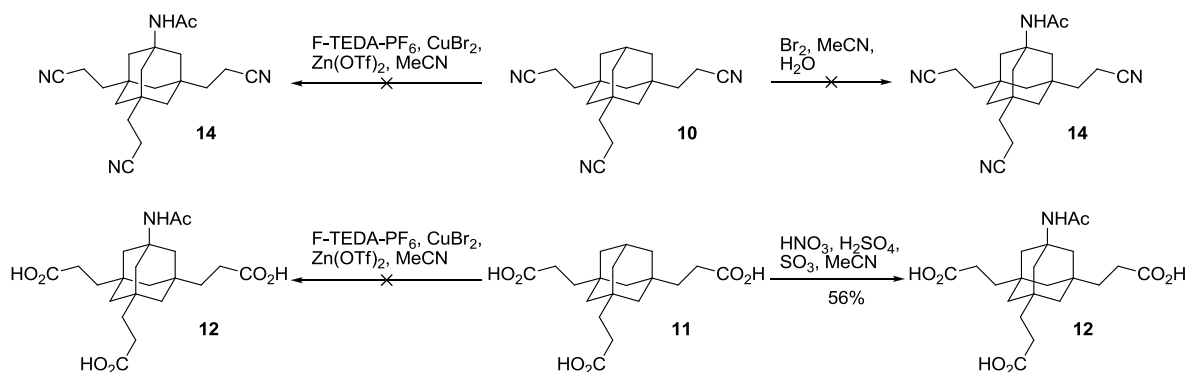
verläuft bei jeglicher Ansatzgröße quantitativ. **11** stellt ein wichtiges Intermediat dar, welches sich in späteren Synthesen als sehr nützlich erwiesen hat; es stellt aber streng genommen noch kein AB<sub>3</sub>-Grundgerüst dar. Die folgende Ritterreaktion zu Acetamid **12** zeigte sich als schwierig, da eine Erhöhung der Ansatzgröße unabhängig von der Reaktionszeit zu geringen Ausbeuten führte. Diese Probleme treten bei Ansatzgrößen über 10 g auf. Da das Startmaterial nicht immer vollständig reisoliert werden konnte, wurde auf die bewährte Methode von Nadine Pannier zurückgegriffen.<sup>160</sup> Die finale Hydrolyse des Acetamids **12** zum Hydrochlorid **13** erfolgte problemlos in diversen Ansatzgrößen.

Um die Effizienz der Reaktionssequenz zu steigern, wurde neben der bekannten Syntheseroute versucht, die Hydrolyse des Nitrils und des Acetamids in einer Eintopfreaktion durchzuführen, was die Reaktionssequenz um eine Stufe verkürzen würde und möglicherweise die Limitierung der Ritterreaktion beheben könnte. In Schema 2 ist die alternative Sequenz, ausgehend von **10** gezeigt.



Schema 2 Verkürzung der Literaturbekannten Reaktionssequenz zur Aminotricarbonsäure **13**.

Es konnten ausgehend vom Triscyanoethyladamantan **10** jedoch keine Bedingungen gefunden werden, bei denen das entsprechende Produkt der Ritterreaktion isoliert wurde. Die Vermutung, dass die geringe Löslichkeit von **10** problematisch ist, wurde durch erste Testansätze bestätigt. Auch die Variation der Lösungsmittelmenge blieb erfolglos. Nachdem die Verkürzung der Reaktionsfolge ausgehend von Triscyanoethyladamantan **10** mit Hilfe der etablierten Methoden nicht gelang, wurde mit Blick auf die Ansatzgröße nach alternativen Bedingungen der Ritterreaktion gesucht. Alternativen zur Ritterreaktion mit Brom/Acetonitril/Wasser stellen entweder ein Gemisch aus Schwefel- und Salpetersäure<sup>162</sup> oder die Verwendung von CuBr<sub>2</sub>/Zn(OTf)<sub>2</sub>/F-TEDA-PF<sub>6</sub><sup>163</sup> (Schema 3) dar.

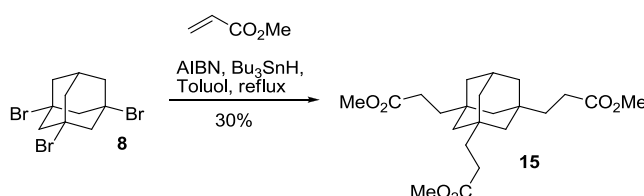


Schema 3 Versuch der Ritterreaktion mit **10** und **11**.

#### 4. Resultate und Diskussion

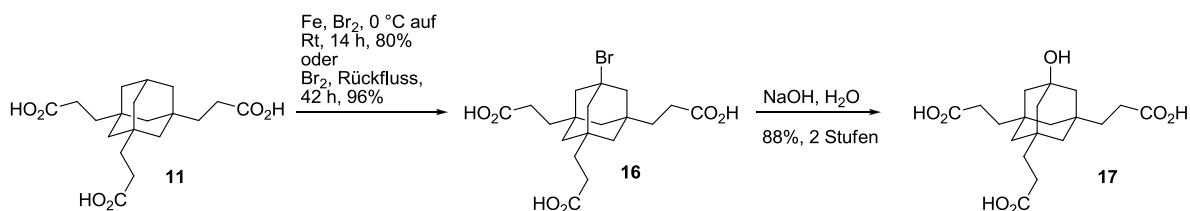
Die saure Variante mit Oleum und Salpetersäure wurde aufgrund der säurelabilen Nitrile für **10** ausgeschlossen. Die kupferkatalysierte Variante nach Baran *et al.* verlief ebenfalls erfolglos. Die Oleum-Variante nach Schreiner *et al.* führte zum gewünschten Produkt. Hier konnte jedoch keine Kristallisation im Säuren stattfinden, da das resultierende Acetamid **12** in mäßiger Geschwindigkeit bei stark saurem pH-Wert in wässriger Lösung hydrolysierte. Da sich die Aufarbeitung ebenfalls als schwierig erwies, wurde auf die bereits etablierte Methode der Arbeitsgruppe zurückgegriffen.<sup>157</sup>

Ein weiterer Weg die Reaktionssequenz zu verbessern, ist die direkte Einführung von Estern über Verwendung von Acrylsäureestern ohne den Umweg über das Nitril (Schema 4). Das gewünschte Molekül **15** konnte mit 30% Ausbeute erhalten werden. Auf eine Optimierung dieser Reaktion wurde verzichtet. Die direkte Kupplung von Acrylsäureestern könnte zur Funktionalisierung der vierten Brückenkopfposition bei anderen Fragestellungen jedoch interessant sein.



Schema 4 Radikalische Substitution mit Methylacrylat zum Triester **15**

Um neben der Aminofunktion am verbleibenden Brückenkopf weitere Möglichkeiten der Funktionalisierung zur Verfügung zu haben, wurde mit dem bereits etablierten Protokoll von Maison *et al.* ein Bromid an dieser Stelle eingeführt (Schema 5).<sup>157</sup> Dies geschieht entweder über die literaturbekannte Methode mit Eisen und Brom unter Kühlung, oder über eine Bromierung ohne Eisen unter Rückfluss. Es wurde gefunden, dass die zweite Variante auf den Mikromaßstab (bis ca. 500 mg **11**) limitiert ist. Bei größeren Ansätzen wird die Ausbeute an **16** gemindert, was die Reinigung der Reaktionsprodukte, welche eine chemisch sehr ähnliche Struktur wie das Edukt besitzen, erschwert.



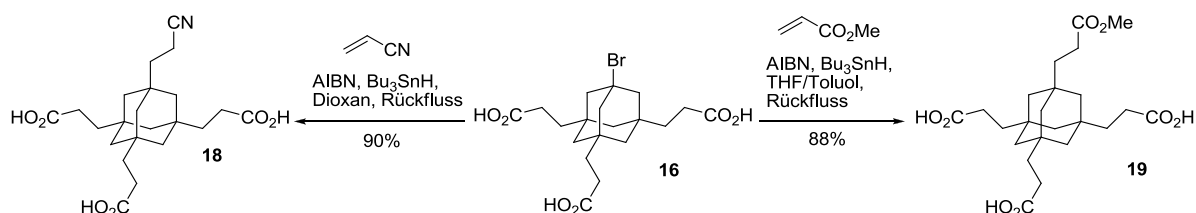
Schema 5 Bromierung der Tricarbonsäure **11**.

Durch eine Substitution des Bromids im Basischen kann in kurzen Reaktionszeiten und guten Ausbeuten Alkohol **17** erhalten werden. Bei allen Reaktionen der Tricarbonsäure ist zu beachten, dass durch die Funktionalisierung des vierten Brückenkopfs eine Trennung von Edukten und

#### 4. Resultate und Diskussion

Produkten, aufgrund der hohen Polarität der Substanzen, komplexer wird. Umso wichtiger ist es, Reaktionsbedingungen zu finden, welche eine hohe Ausbeute des gewünschten Produkts erzielen.

Wie bereits erwähnt, soll das Bromid am vierten Brückenkopf radikalische Substitutionen ermöglichen. Ausgehend von **16** konnten somit zwei tetrasubstituierte Derivate in sehr guten Ausbeuten von 90% im Falle des Nitrils **18** und 88% im Falle des Esters **19** dargestellt werden (Schema 6).<sup>164</sup>

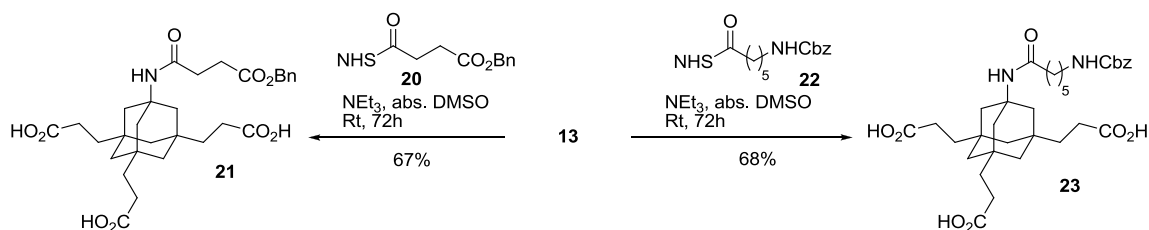


Schema 6 Darstellung der tetrasubstituierten Derivate **18** und **19** durch radikalische Substitution

Wie in der Literatur beschrieben kann aus dem Nitril **18** mit einfachen Mitteln das Amin, und aus dem Methylester **19** die Carbonsäure in guten Ausbeuten erhalten werden.<sup>164</sup>

Alternative Wege, den vierten Brückenkopf zu funktionalisieren, wurden in dieser Arbeit nicht untersucht. Aus diesem Grund wurde im Weiteren mit dem Hydrochlorid **13** weitergearbeitet und dieses als zentrales Grundgerüst verwendet.

Ausgehend von Hydrochlorid **13** konnten eine Vielzahl von verschiedenen Grundgerüsten dargestellt werden. Generell bieten sich zwei Vorgehensweisen an: zum einen die Reaktion an der Carbonsäuregruppen mit anschließender Funktionalisierung des Amins, zum anderen zuerst die Reaktion an der Aminofunktion mit anschließender Funktionalisierung der Carbonsäuren. Der Vorteil der direkten Funktionalisierung des Amins besteht darin, dass die Syntheseroute kürzer ist und ohne Schutzgruppen auskommt. Der Nachteil dieses Weges besteht in der Trennung des polaren Produkts von den Edukten. In Schema 7 ist dies für die Verknüpfung eines Linkers am vierten Brückenkopf dargestellt.



Schema 7 Brückenkopffunktionalisierung mittels NHS-Ester

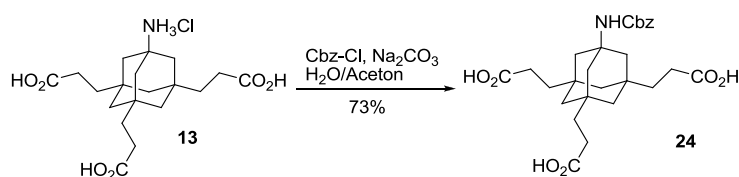
Die Reaktionen mit den Aktivestern **20** und **22** verliefen in abs. DMSO mit guten Ausbeuten im Grammmaßstab. Aufgrund der mäßigen Reaktivität des Aktivesters erfolgte keine vollständige

#### 4. Resultate und Diskussion

Umsetzung. Die Produkte **21** und **23** konnten durch wässrige Aufarbeitung ohne weitere Reinigung erhalten werden.

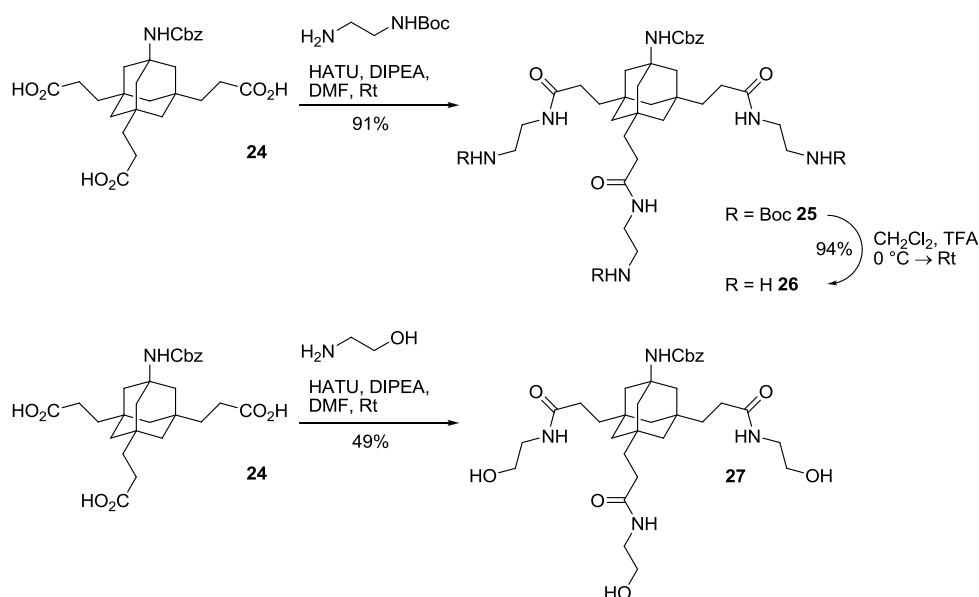
Es wurde ebenso versucht **23** über eine Säurechloridkupplung herzustellen, was jedoch zu keiner nennenswerten Steigerung der Ausbeute führte. Da der apparative Aufwand signifikant höher war, erwies sich diese Reaktionsführung als nicht praktikabel.

Der alternative Weg ausgehend von Aminosäure **13** erforderte die Schützung der Aminofunktion, um die volle Bandbreite der Peptidkupplungsmethoden an den Carbonsäuregruppen nutzen zu können. Protokolle für die Einführung von Schutzgruppen zu *N*-Boc, *N*-Fmoc oder *N*-Cbz Adamantanderivaten sind in der Literatur bekannt.<sup>162</sup> Generell lässt sich festhalten, dass Reaktionen an dieser Aminofunktion häufig schwierig sind, da der beträchtliche sterische Einfluss des Adamantylrests zu moderaten Ausbeuten führt. Aufgrund der einfachen Spaltung der *N*-Cbz Schutzgruppe und ihrer Orthogonalität zu vielen Kohlenhydrat-Schutzgruppen, wurde diese eingeführt (Schema 8). Auf eine *N*-Boc Schützung wurde verzichtet um Nebenreaktionen der resultierenden Glycokonjugate bei der sauren Abspaltung von zu vermeiden.<sup>165</sup>



Schema 8 *N*-Cbz Schützung von **24**.

Die Umsetzung wurde auch nach anderen in der Literatur beschriebenen Vorschriften durchgeführt, die angegebenen Ausbeuten konnten jedoch nicht verlässlich reproduziert werden.<sup>129</sup>



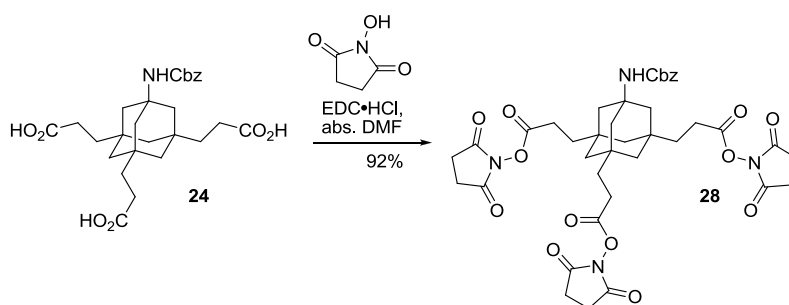
Schema 9 Linkerverknüpfung durch Peptidkupplung zu **25** und **27**.

#### 4. Resultate und Diskussion

Ausgehend von der geschützten Tricarbonsäure **24** waren Peptidkupplungen nach Standardmethoden möglich. Zunächst wurden unter Verwendung von HATU als Kupplungsreagenz verschiedene Linker angefügt, um sowohl ein geschütztes Tris-Amin **25** als auch einen Tris-Alkohol **27** zu erhalten (Schema 9).

Aus den *N*-Boc geschützten Aminen des Linkers lässt sich das freie Amin **26** unter Standardbedingungen in sehr guten Ausbeuten erhalten. Im Gegensatz zum geschützten Amin, welches sich leicht säulenchromatografisch an Kieselgel reinigen lässt, konnte der polare Trisalkohol **27** nur schwer in entsprechender Reinheit erhalten werden, da sowohl die wässrige Aufarbeitung als auch die chromatografische Reinigung problematisch waren. Die verschiedenen Funktionalitäten sollten eine breite Grundlage bilden, um im Weiteren verschiedene Konjugationsmethoden für die Zuckerderivate nutzen zu können.

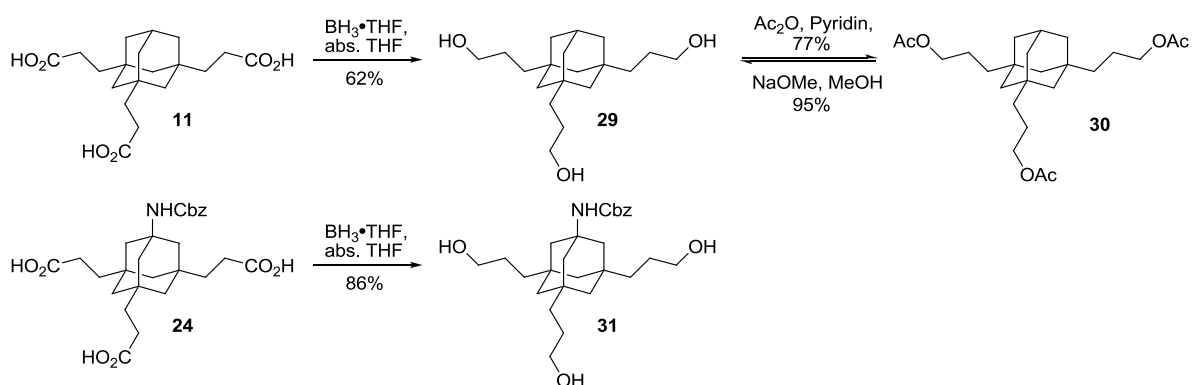
Eine weitere Plattform für Peptidkupplungen besteht in der Darstellung von *N*-Hydroxysuccinimid Estern (NHS-Ester). Diese können einfach dargestellt, gereinigt und gelagert werden. NHS-Ester **28** wurde in einem einfachen Verfahren mittels EDC-Kupplung in Anlehnung an Maison *et al.*<sup>157</sup> dargestellt und konnte durch Kristallisation gereinigt werden (Schema 10).



Schema 10 Darstellung des Tri-NHS-Esters **28**.

Weiterhin konnten aus den bekannten Tricarbonsäuren **11** und **24** durch Reduktion die entsprechenden Alkohole dargestellt werden (Schema 11). Diese konnten für Glycosylierungsreaktionen verwendet werden. Sie stellen aber auch Ausgangsverbindungen für weitere Applikationen, wie zum Beispiel der Oberflächenchemie<sup>166,167</sup> dar, auf die hier nicht gesondert eingegangen wird, und erweitern den synthetischen Baukasten auf dem Gebiet der Adamantanderivate.

## 4. Resultate und Diskussion



Schema 11 Darstellung der Alkohole **29** und **31** durch Reduktion mit  $\text{BH}_3$ .

Die Reduktion mit Boran in THF verlief sehr gut. Wie schon zuvor durch Maison *et. al* beschrieben, konnte der Trisalkohol **29** ohne vorhergehende Veresterung direkt aus der Trisäure **11** erhalten werden.<sup>159</sup> Die anschließende Veresterung mit Essigsäureanhydrid unter Standardbedingungen gelang in guten Ausbeuten. Acetat **30** konnte nach chromatografischer Reinigung in 77% Ausbeute erhalten werden und anschließend durch Entschützung unter Zemplén Bedingungen<sup>168</sup> wieder in den Alkohol **29** überführt werden. Analog dazu wurde auch der Trisalkohol des geschützten Derivates **31** dargestellt.

### 4.1.2 Retrosynthese und Strategie zum Aufbau der Glykokonjugate

Ausgehend von den bestehenden  $\text{AB}_3$  Grundgerüsten existieren zwei Wege zum modularen Aufbau der Glykokonjugate (Abbildung 16).

#### 4. Resultate und Diskussion

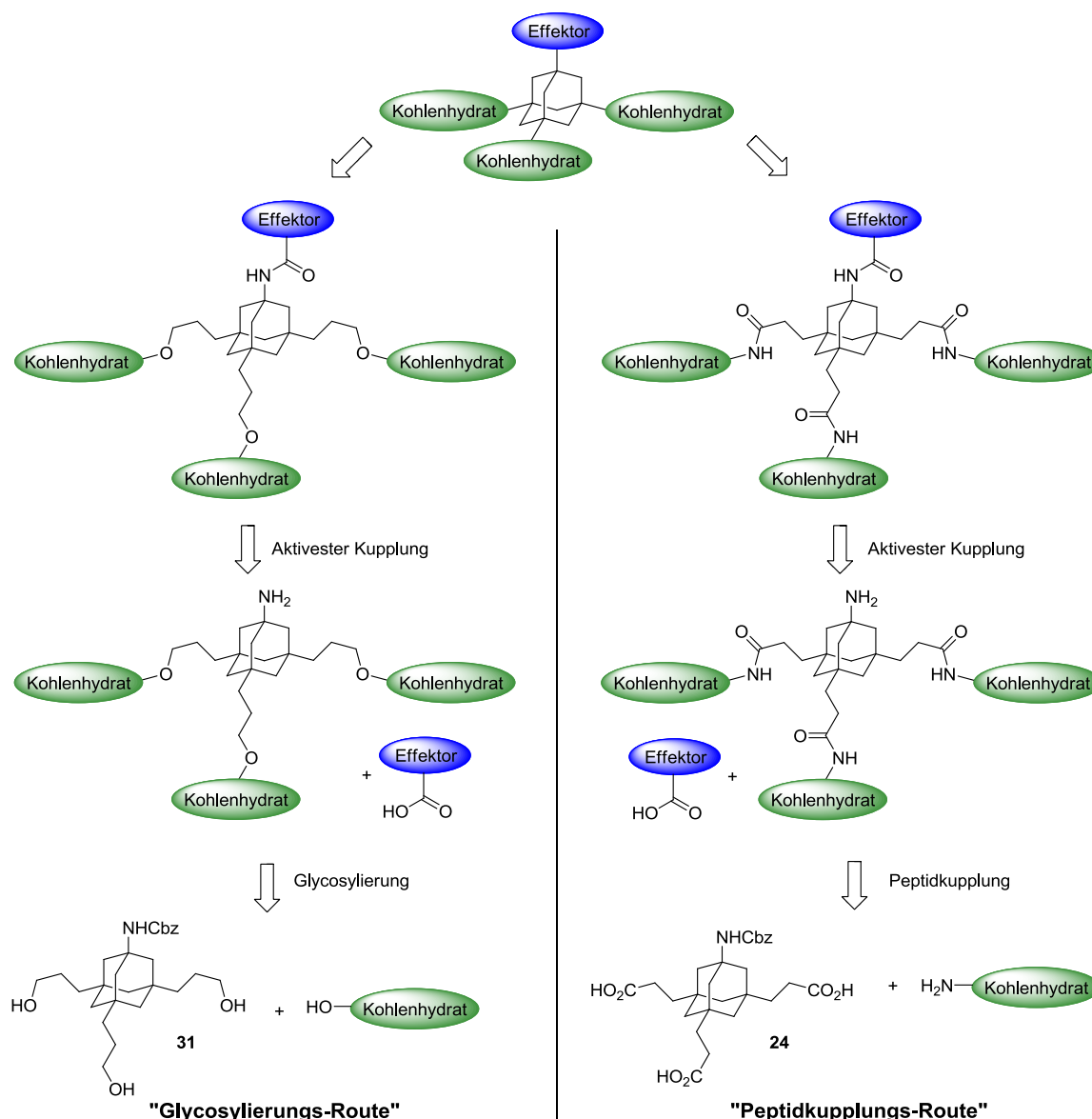


Abbildung 16 Retrosyntheschema zur Synthese von Glycokongjugaten auf Basis von Adamantan.

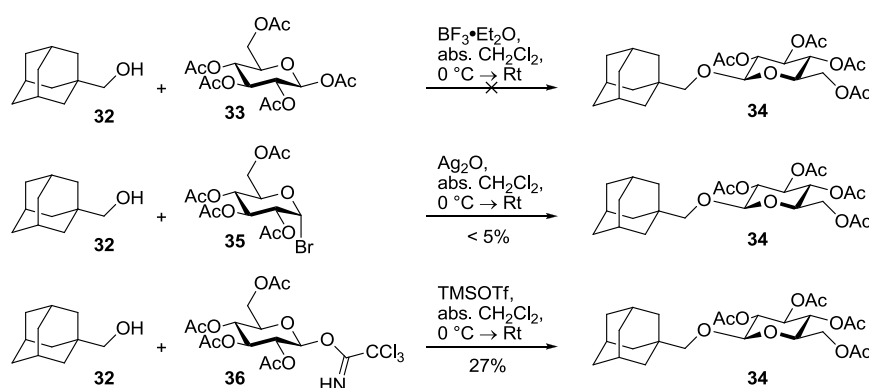
Zum einen besteht die Möglichkeit, die zuvor dargestellten Trisalkohole mit verschiedenen Kohlenhydratdonoren zu glycosylieren. Zum anderen können die Tricarbonsäuren verwendet werden, um mit zuvor angebrachten Aminen am Kohlenhydratteil eine Peptidbindung auszubilden. Der Effektor (Festphase oder Farbstoff) sollte so spät wie möglich in der Synthese angebracht werden, um eine größere Variabilität innerhalb der Synthese zu gewährleisten. Da erwartet wurde, dass für eine Bindung an Lektine die Abstände zwischen den Kohlenhydraten im Nanometerbereich liegen, wurde auf die Synthese der 1,3,5-Adamantantricarbonsäuren verzichtet und bereits bei der Synthese der Grundgerüste ein Ethylen-Spacer (Tricarbonsäure **24** und Trisalkohol **31**) eingeführt.

Beide Methoden haben Beachtung in der Literatur gefunden, jedoch kann bereits vor Beginn der Modellversuche gesagt werden, dass es bei der Glycosylierungsmethode schwieriger werden wird, Linker in verschiedenen Längen zwischen den Zucker und das Grundgerüst einzubauen, als bei der

Peptidkupplungsmethode. Im Falle der Peptidkupplung können Bibliotheken von verschiedenen Zuckern und Linkern erstellt werden, ohne das gewählte Grundgerüst zu verändern. Dies gewährleistet maximale Flexibilität in der Synthesesequenz und vermeidet schwierige Reinigungsverfahren mit hochpolaren Grundgerüsten. Zunächst sollten einfache Modellsysteme identifiziert und synthetisiert werden, um die generelle Anwendbarkeit und auch die Praktikabilität der Synthesen zu untersuchen. Ferner sollte im Anschluss eine kleine Bibliothek an Substanzen erstellt werden die für die nachfolgenden Assays geeignet ist.

#### 4.1.3 Synthese der Glycokonjugate - Glycosylierung

Bereits in den 1990iger Jahren synthetisierte Lindhorst *et al.* kleine Glycoclustern, welche durch Glycosylierung von multivalenten Alkoholen synthetisiert wurden.<sup>113,115</sup> Auf Grundlage dieser Arbeiten sollte versucht werden, Adamantylalkohole zu glycosylieren, um ähnliche Strukturen zu erhalten. An einem einfachen Modellsystem, dem 1-Adamantanmethanol **32**, sollten zunächst die Reaktionsbedingungen optimiert werden um diese später auf komplexere Alkohole übertragen zu können (Schema 12).



Schema 12 Glycosylierungsversuche des 1-Adamantanmethanols mit Glucosyltrichloracetimidat.

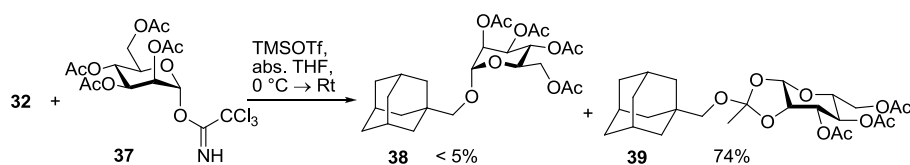
Um möglichst einfache Glycosylierungsbedingungen zu ermitteln, wurden auch Versuche mit wenig reaktiven Donoren, wie zum Beispiel dem Glucosepentaacetat **33** und einer Lewissäure zur Aktivierung durchgeführt. In dieser Reaktion konnte jedoch kein Umsatz festgestellt werden. Die ersten Glycosylierungen zur Verknüpfung von Monosaccharidbausteinen wurden unter Verwendung der Koenigs-Knorr-Methode<sup>169</sup> mit einem Glycosylhalogenid ( $\alpha$ -Acetobromoglucose **35**) durchgeführt. Das Silbersalz dient zur Aktivierung der anomeren Position. Es hat sich gezeigt, dass unlösliche Silbersalze, wie z.B. das hier verwendete Silberoxid, bessere Ausbeuten und Stereoselektivitäten liefern als lösliche Silbersalze (z.B. AgOTf).<sup>170</sup> Es stellte sich jedoch heraus, dass die Reinigung problematisch verlief, sodass kein sauberes Glycosylierungsprodukt erhalten werden konnte. Lediglich eine Mischung der Acetobromoglucose und **34** konnte isoliert werden. Vielversprechender verlief die Glycosylierung mit dem Trichloracetimidat **36**, welches in vielerlei Hinsicht besser geeignet

#### 4. Resultate und Diskussion

ist als die Königs-Knorr Variante. Die von Schmidt *et al.* entwickelte Methode wurde für die stereoselektive Oligosaccharidsynthese entwickelt und ist besonders wertvoll wegen der milden Reaktionsbedingungen.<sup>171</sup> Während die Verwendung von TMSOTf als aktivierende Lewissäure in abs. Dichlormethan in Anlehnung an Lindhorst *et al.* schlechte Ausbeuten lieferte, konnte auf diesem Weg erstmals die erwünschte Modellverbindung **34** rein isoliert und charakterisiert werden (Schema 12).<sup>114</sup>

Eine veränderte Schutzgruppenchemie am Glycosyldonor wäre denkbar, da z.B. Benzyl-Schutzgruppen nach dem Armed-Disarmed Konzept<sup>172</sup> die Reaktivität der Donors erhöhen. Dieser Weg wurde nicht verfolgt, da im gewünschten Endmolekül Benzylschutzgruppen nicht orthogonal zu den anderen Schutzgruppen (z.B. –NHCbz) abspaltbar gewesen wären und somit diese Reaktionsführung keine generelle Lösung des Problems bereitgestellt hätte. Da teilweise auch Edukt reisoliert wurde, konnte von der Verwendung von Benzoylschutzgruppen abgesehen werden, da diese den Donor in seiner Reaktivität herabgesetzt hätten.<sup>115</sup> Die schlechte Umsetzung ist durch den sterisch anspruchsvollen Adamantankern begründet.

Auf gleichem Weg sollte auch Mannosylderivat **38** hergestellt werden (Schema 13). Hier wurde noch deutlicher, dass Acetate als Schutzgruppen für diese Art der Chemie nicht geeignet sind. Statt des gewünschten Produkts **38** konnte in guter Ausbeute der Orthoester **39** erhalten werden. Diese Nebenreaktion findet häufig unter basischen Bedingungen statt. Der Versuch das Nebenprodukt **39** zum Produkt **38** umzulagern unter sauren Bedingungen war jedoch erfolglos.

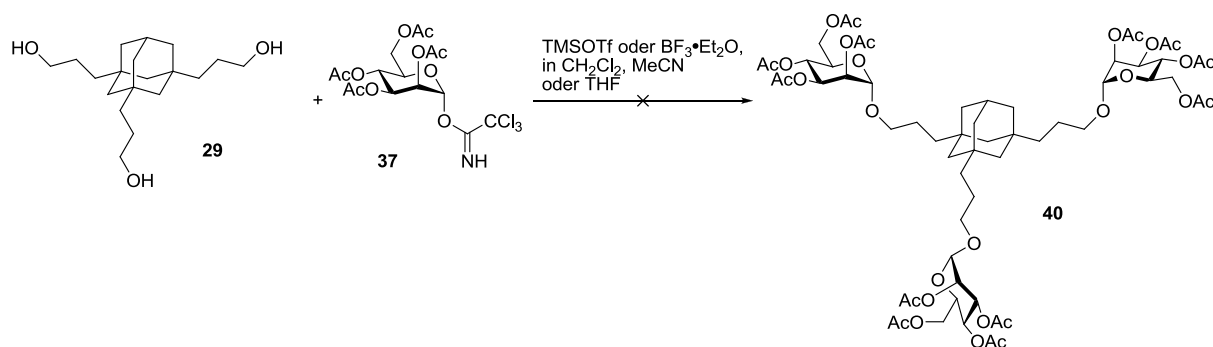


Schema 13 Glycosylierung von 1-Adamantanmethanol mit Mannosyltrichloracetimidat

Dieses Problem hätte mit einer anderen Schutzgruppenstrategie umgangen werden können, welche aber aus oben genannten Gründen zu diesem Zeitpunkt keine Option darstellte.

Da angenommen wurde, dass 1-Adamantanmethanol **32** als Aglycon wegen des sterischen Anspruchs zu schlechten Ausbeuten führt, wurden Glycosylierungsversuche mit dem synthetisierten Triol **29** durchgeführt (Schema 14).

## 4. Resultate und Diskussion



Schema 14 Glycosylierungsversuche von **29**.

Versuche, mit verschiedenen Lösungsmittel/Lewisäure Kombinationen, führten nicht zur Produktbildung. Trotz der Detektion von mono-, di- und trimeren Glycosylierungsprodukten mit Hilfe massenspektrometrischer Reaktionsverfolgung, konnte aus dem komplexen Reaktionsgemisch kein Produkt durch Anwendung chromatografischer Verfahren isoliert werden. Lediglich Orthoester wurden in hohem Anteil in den Mischfraktionen erhalten.<sup>XIII</sup>

Wie in der Literatur bereits beschrieben wurde, können Glycosylierungen problematisch sein und jede einzelne Glycosylierung kann neue Probleme aufwerfen.<sup>170</sup> Aufgrund dieser Resultate wurde diese Strategie nicht weiter verfolgt und die Peptidkupplungsrouten näher untersucht.

### 4.1.4 Synthese der Glycokonjugate – Peptidkupplung

#### 4.1.4.1 Glucosaminderivate und Synthese von Glycokonjugaten der 6-Amino-Glycoside

Ein einfaches Modellsystem, an dem erste Versuche unternommen werden konnten, stellt das kommerziell erwerbliche Glucosamin **41** dar (Abbildung 17).

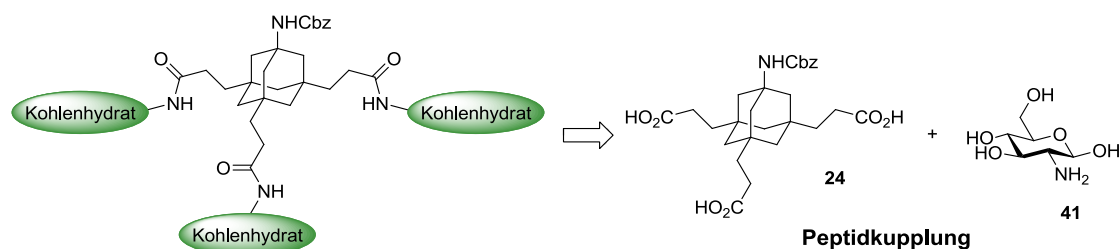


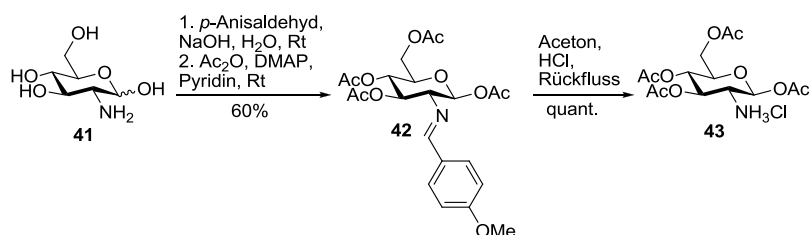
Abbildung 17 Retrosynthese der GlcN-Modellverbindung.

Zunächst wurden Peptidkupplungen mit HBTU und EDC HCl/HOBt unter Standardbedingungen getestet.<sup>173</sup> Diese Experimente stellten sich nach kurzer Zeit als erfolgreich heraus und lieferten Gemische aus mono-, di- und trimerem GlcN-Kupplungsprodukt. Die Produkte konnten mittels Massenspektrometrie identifiziert werden. Da das anomere Zentrum nicht geschützt, also in fixierter

<sup>XIII</sup> Diese Reaktionen wurden von Andreas Böhmert in seiner Bachelorarbeit (Hamburg 2013) durchgeführt und können in seiner Arbeit eingesehen werden.

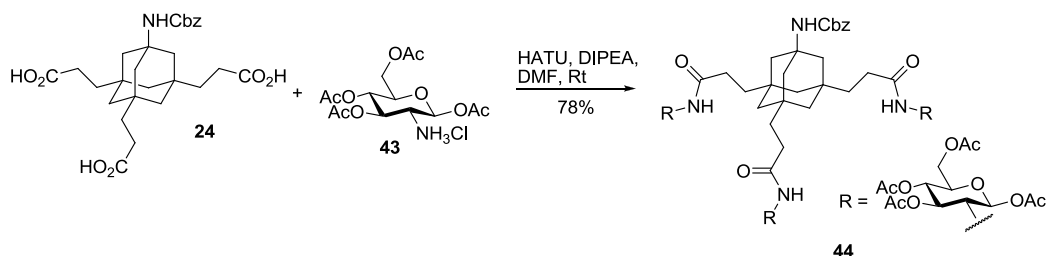
#### 4. Resultate und Diskussion

Konformation vorlag, sondern als  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomerengemisch, erhöhte die Komplexität der NMR-Spektren und der chromatografischen Reinigung, so dass die diastereomeren Reaktionsprodukte nicht getrennt voneinander isoliert werden konnten. Die Reaktionsbedingungen für die Kupplung konnten jedoch auf diese Weise ermittelt und optimiert werden. Als Schutzgruppenstrategie wurden Acetylgruppen verwendet. Die Synthese des geschützten Glucosaminderivates **43** wurde nach einer Vorschrift von Sofia *et al.* durchgeführt (Schema 15).<sup>174</sup>



Schema 15 Synthese des Acetyl-geschützten Glucosaminderivats **43**.<sup>174</sup>

Zunächst wurde das nucleophile Amin **41** mit *p*-Anisaldehyd geschützt, um anschließend die Hydroxylgruppen zu acetylieren. Dies gelang in Ausbeuten von 60% über zwei Stufen. Das Imin **42** wurde im letzten Schritt sauer gespalten und das *O*-acetylierte Glucosamin **43** als reines  $\beta$ -Isomer erhalten. Anschließend wurde versucht, die zuvor ermittelten Kupplungsbedingungen auf das geschützte Glucosamin **43** zu übertragen (Schema 16).



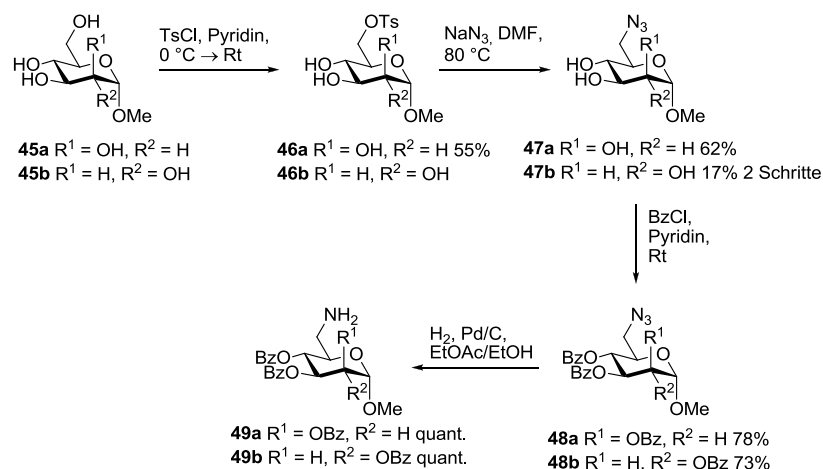
Schema 16 Synthese der GlcN-Modellverbindung **43**.

Dies gelang mit Ausbeuten von 78%. Die Schutzgruppenstrategie mit Acetylschutzgruppen erwies sich sowohl für die Vermeidung von Diastereomeren, als auch für die chromatografische Reinigung als sinnvoll. Es konnten mit dieser Kupplungsmethode keine mono- oder dimeren GlcN-Kupplungsprodukte massenspektrometrisch detektiert werden.

Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden weitere Mannose- und Glucosederivate synthetisiert. Ausgehend von den Methylglycosiden **45a** und **45b** wurde mit einer literaturbekannten Synthese von Lindhorst *et al.* zunächst in 6-Position tosyliert und anschließend mit Natriumazid substituiert (Schema 17).<sup>113</sup> Die erhaltenen Azide **48a** und **48b** wurden mit Benzoylchlorid in Pyridin geschützt, um eine vereinfachte Reinigung der Glykokonjugate zu gewährleisten. Auf Acetylschutzgruppen

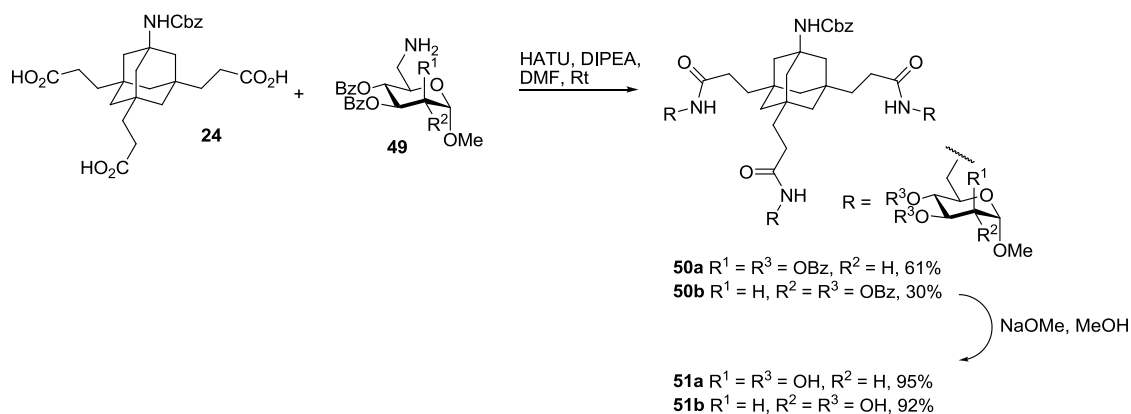
#### 4. Resultate und Diskussion

konnte in diesem Fall nicht zurückgegriffen werden, da bei der Reduktion des Azids zum Amin eine  $O \rightarrow N$  Acetylgruppenwanderung stattfinden kann.



Schema 17 Synthese der in 6-Position substituierten Glycoside **49a** und **49b**.<sup>175</sup>

Die Reduktion zum Amin verlief mit Benzoylschutzgruppen in guten Ausbeuten. Generell lässt sich nicht begründen, warum die Synthese mit  $\alpha$ -Methylglucosid schlechter verlief, als mit  $\alpha$ -Methylmannosid. Die erhaltenen Amine konnten im Anschluss unter Verwendung des zuvor entwickelten HATU/DIPEA Protokolls mit der *N*-Cbz geschützten Tricarbonsäure **24** gekuppelt werden (Schema 18).



Schema 18 Synthese der Glycokongugate **50** und **51**.

Das Mannosylderivat **50a** konnte in Ausbeuten von 61% dargestellt werden. Im Gegensatz dazu konnte das Glucosylderivat **50b** in moderaten Ausbeuten von 30% isoliert werden. Die Entschützung von beiden Verbindungen gelang in guten Ausbeuten unter Standardbedingungen ohne weitere Reinigung.

Aus der Dissertation von Nadine Pannier war bekannt, dass die Funktionalisierung des Amins am Brückenkopf des Adamantangrundgerüsts aufgrund des sterischen Anspruchs vergleichsweise schwierig ist, so dass an der Modellverbindung **44** versucht werden sollte, einen Linker einzubringen,

#### 4. Resultate und Diskussion

welcher eine einfachere Funktionalisierung mit Effektoren gewährleistet.<sup>160</sup> Deswegen sollte  $\epsilon$ -Aminohexansäure als Spacer eingeführt werden. Dies kann prinzipiell auf zwei Wegen realisiert werden: Zuerst die Kupplung der Kohlenhydratepitope und nachfolgend die Verknüpfung des Spacers oder zuerst die Spacerverknüpfung mit anschließender Kupplung der Kohlenhydratepitope (Abbildung 18).

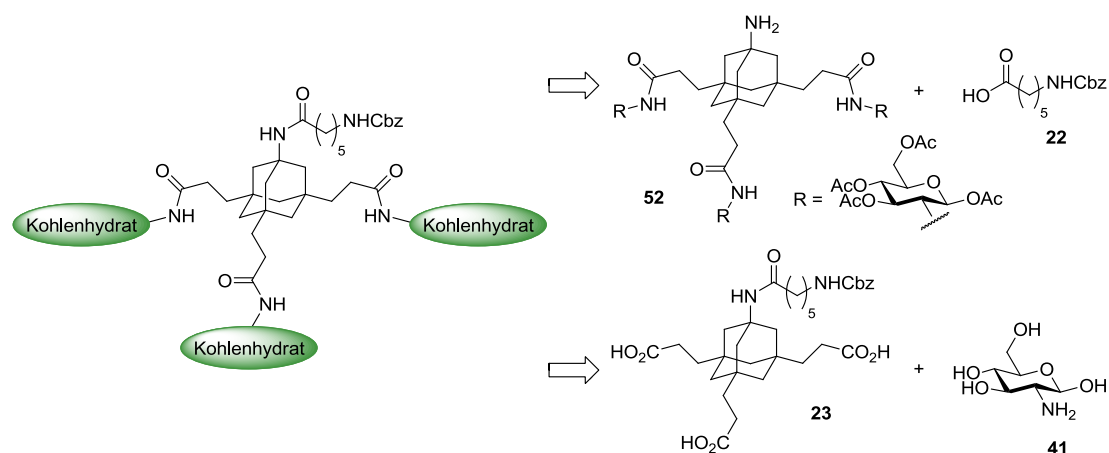
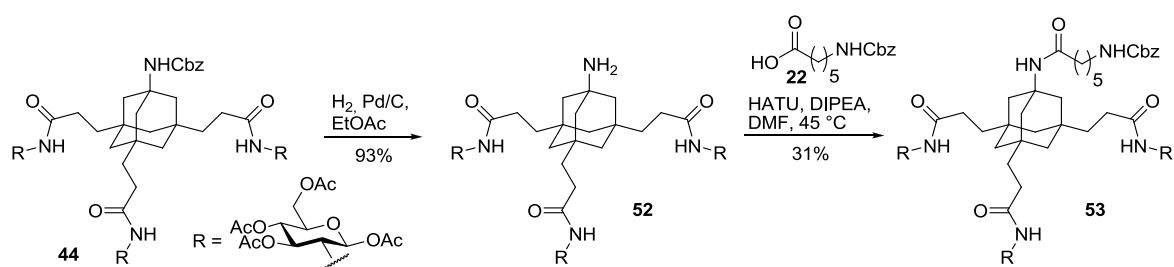


Abbildung 18 Retrosyntheschema von GlcN-Modellverbindung mit Spacer.

Da auf den ersten Blick nicht ersichtlich war, welcher der beiden Wege zu favorisieren ist, sollten beide ausprobiert werden, um zu einer geeigneten Vorgehensweise zu gelangen. Es lässt sich allerdings im Voraus sagen, dass die Einführung des Spacers nach der Kohlenhydratkupplung (Abbildung 18) zu einer größeren Flexibilität bzw. Modularität der Syntheseroute führt und somit in der Anwendung größere Relevanz besitzt.

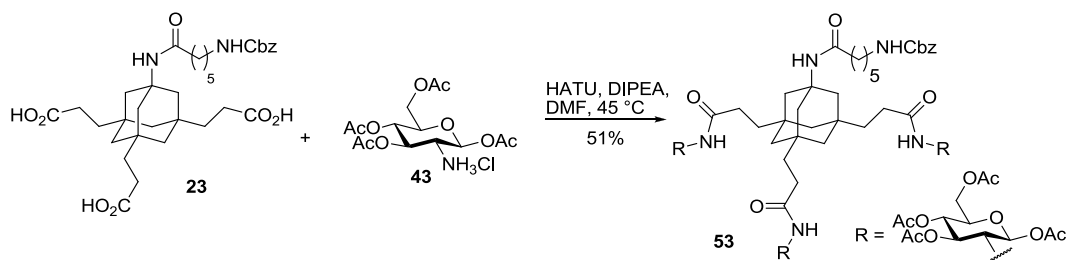


Schema 19 Brückenkopffunktionalisierung von GlcN-Modellverbindung **44** nachfolgend zur Kupplung des Kohlenhydratepitops.

Zunächst wurde die *N*-Cbz Schutzgruppe hydrogenolytisch in EtOAc gespalten (Schema 19). Aufgrund der langsamen Reaktion, konnte erst nach 72 h kein Edukt mehr dünnschichtchromatografisch detektiert werden. Die Ausbeute betrug 93%. Das freie Amin **52** wurde unter Standardbedingungen mit *N*-Cbz- $\epsilon$ -Aminohexansäure **22** umgesetzt. Diese Reaktion gelang in moderaten Ausbeuten, aufgrund des sterischen Anspruchs des Adamantylrests. Das Glycokonjugat **53** konnte nach chromatografischer Reinigung vollständig charakterisiert werden. Ausgehend von **24** als Grundkörper konnte auf diesem Weg über 4 Stufen eine Gesamtausbeute von 18% erreicht werden.

#### 4. Resultate und Diskussion

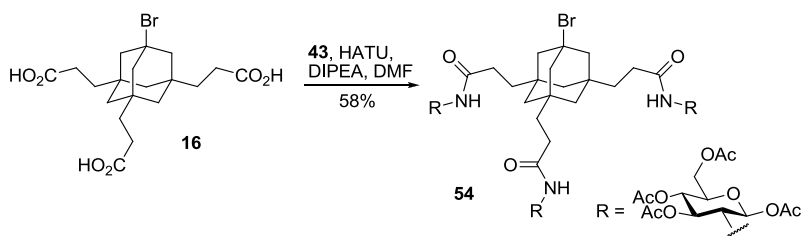
Während die Syntheseroute ausgehend von der Tricarbonsäure **23** kürzer ist, kann die vierte Brückenkopfposition nach der Kupplung der Kohlenhydratepitope mit anderen Effektoren nicht mehr funktionalisiert werden.



Schema 20 Peptidkupplung von **23** und **43** um zu Modellverbindung **53** zu gelangen.

Auf diesem Weg konnte Modellverbindung **53** in 51% aus **23** und **43** erhalten werden (Schema 20). Die Reinigung konnte wie zuvor säulenchromatografisch an Kieselgel durchgeführt werden. Um die erhaltenen Ergebnisse mit der vorherigen Methode vergleichen zu können, wurde die Brückenkopffunktionalisierung mit einbezogen. Damit ergab sich eine Ausbeute von 37% über zwei Stufen. Als Fazit der verschiedenen Syntheserouten ergibt sich zum einen eine höhere Gesamtausbeute, wenn der Spacer zuerst eingeführt wird. Zum anderen ist eine höhere Flexibilität bezüglich der verwendeten Effektoren geboten, wenn zuerst die Kohlenhydratkupplung erfolgt. Diese Problematik wird im weiteren Verlauf dieser Arbeit noch einmal diskutiert.

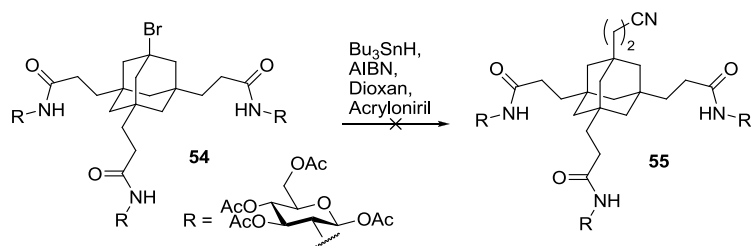
Eine andere Möglichkeit für die Brückenkopffunktionalisierung, welche nicht von den Aminotricarbonsäuren sondern von der Bromotricarbonsäure **16** ausgeht, wäre eine radikalische Reaktion. Diese wurden bereits zuvor angewendet, um einen Cyanoethyl-Rest oder einen Acrylsäureester an den vierten Brückenkopf anzubringen (vgl. Schema 6). Interessant wird diese Möglichkeit, wenn die Funktionalisierung spät in der Syntheseroute verwendet werden könnte, sodass die Kupplung der Kohlenhydratepitope vor der Radikalreaktion erfolgt. Aus diesem Grund wurde zunächst das Bromid **16** mittels HATU/DIPEA Methodik hergestellt (Schema 21).



Schema 21 Darstellung der Brom-Modellverbindung **54**.

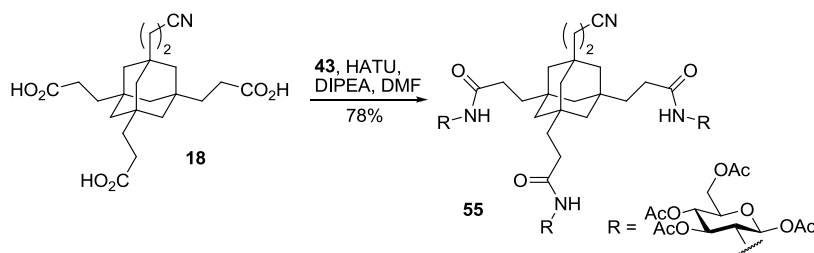
Die Modellverbindung **54** ist im Gegensatz zu dem Aminoderivat **44** in vielen Lösungsmitteln schwer löslich. Die Radikalreaktion mit Acrylnitril wurde mit verschiedenen Lösungsmitteln durchgeführt, führte aber nicht zum Produkt (Schema 22).

## 4. Resultate und Diskussion



Schema 22 Radikalreaktion mit **54** und Acrylnitril.

Während das Produkt **55** nach wenigen Minuten massenspektrometrisch detektiert werden konnte, wurde nach vollständiger Umsetzung des Edukts **54** ein komplexes Gemisch erhalten, welches chromatografisch nicht trennbar war. In einer massenspektrometrischen Analyse des Gemisches konnte kein Produkt mehr detektiert werden. Aufgrund der hohen Temperaturen, die zum Start der Reaktion mit AIBN benötigt werden, kommt es vermutlich zu einer thermischen Zersetzung des Produkts. Eine Möglichkeit wären andere Radikalstarter, die an dieser Stelle jedoch nicht getestet wurden. Es wurde stattdessen eine Peptidkupplung des bereits funktionalisierten Derivats **18** durchgeführt (Schema 23).



Schema 23 Alternative Synthese um zu Modellverbindung **55** zu gelangen.

Die Peptidkupplung verlief besser als mit dem Bromid **16** in einer Ausbeute von 78%. Die chromatografische Reinigung zeigte, dass es sich um das Hauptprodukt und nicht wie beim Versuch der Radikalreaktion aus Schema 22 um ein komplexes Reaktionsgemisch handelte, in der Verbindung **55** nur als Spurenkomponente enthalten war.

Die hergestellten Glucosaminderivate **44**, **53**, **54** und **55** können als Modellverbindungen angesehen werden, da diese nach der Abspaltung der Schutzgruppen epimerisieren würden und die aktiven Spezies in einem Lektinassay nicht analysierbar wären. Mit diesen Verbindungen konnten erste synthetische Erkenntnisse erhalten werden, welche sich im weiteren Verlauf dieser als Arbeit wertvoll erwiesen, um eine zielgerichtete Synthese von weiteren biologisch aktiven Glykokonjugaten zu entwickeln.

### 4.1.4.2 Glucosyl- und Mannosyl-Glykokonjugate mit unterschiedlichen Linkerlängen

Mit den gesammelten Ergebnissen konnte eine verfeinerte Zielstruktur mit entsprechenden retrosynthetischen Überlegungen entwickelt werden (Abbildung 19). Dabei wurde berücksichtigt,

#### 4. Resultate und Diskussion

dass sich Peptidkupplungen zum Aufbau der Glycokonjugate bewährt haben. Ebenso entstanden Vorschläge zu den verwendeten Linkern, welche die Abstände zwischen den einzelnen Kohlenhydraten variabel halten sollten. Aus synthetischen Gründen wurde auf kommerziell erhältliche Ethylenglycol-Derivate zurückgegriffen, welche unter Verwendung der Alkoholfunktionalität einfach mit den Zuckerbausteinen zu verknüpfen waren. Am anderen Ende des Linkers sollte ein Amin eingeführt werden, um die Kohlenhydrat-Linker-Konstrukte mit dem Grundgerüst zu verbinden.

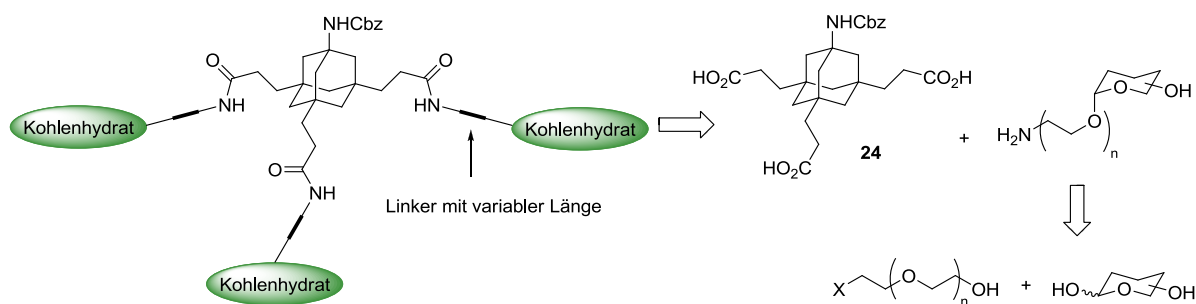
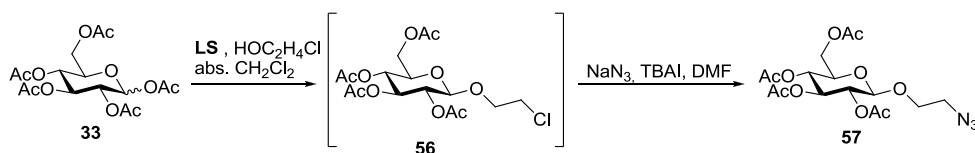


Abbildung 19 Retrosyntheschema der Glycokonjugate mit variabler Linkerlänge.

Um diese Strategie mit Glucose und Mannose zu realisieren, sollten zunächst die Zuckerderivate mit Linker synthetisiert werden. Der Anspruch dieser Synthese war, dass sie in größerem Maßstab und mit einfach zugänglichen Edukten durchgeführt werden kann. Zunächst wurden die peracetylierten Zucker mit verschiedenen Lewissäuren umgesetzt.

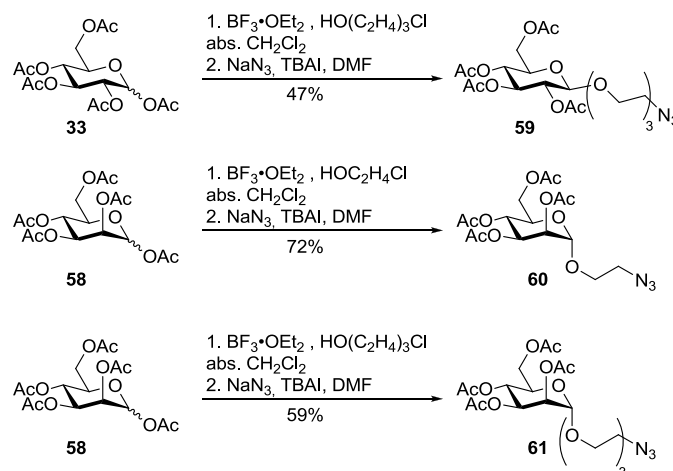


Schema 24 Glycosylierung von Chlorethanol. **LS:** Silbertrifluoracetat,  $\text{SnCl}_4$ , 62%;  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ , 56%.

Als Ausgangspunkt wurden literaturbekannte Syntheseprotokolle gewählt, welche von peracetylierten Zuckerbausteinen als einfachen Startmaterialien ausgehen (Schema 24).<sup>176,177</sup> Die Reaktionszeit mit Silbertrifluoracetat war kürzer und lieferte bessere Ausbeuten. Der Nachteil dieses Protokolls war, dass die Reaktionslösung, aufgrund der verwendeten Silbersalze, vor Licht zu schützen war und das verwendete Silbersalz vergleichsweise teuer ist. Die zweite Möglichkeit stellt eine Glycosylierung mit  $\text{BF}_3$  als Diethyletheratkomplex dar. Diese Vorgehensweise war einfacher und kostengünstiger, jedoch empfindlicher gegenüber Feuchtigkeit. Dieses Problem konnte durch die Verwendung von 4 Å Molekularsieb in der Reaktion gelöst werden. Diese Vorgehensweise wurde auch bei den anderen Glycosiden angewandt. Auf komplexere Strategien, die beispielsweise ein Trichloracetimidat als reaktiveren Donor einsetzen, wurde aufgrund des Syntheseaufwands nicht

#### 4. Resultate und Diskussion

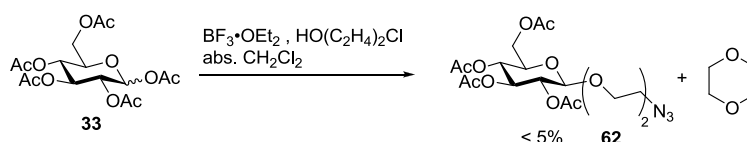
zurückgegriffen. Des Weiteren stellte die Ausbeute in diesem Schritt nicht den limitierenden Faktor in der Synthese der gewünschten Glycokonjugaten dar.



Schema 25 Synthese der Glucoside **57**, **59** und Mannoside **60**, **61**.

In Schema 25 ist die Synthese weiterer Glycoside mit Linker dargestellt, welche analog synthetisiert wurden. Dadurch, dass  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  in Kombination mit Acetylschutzgruppen eingesetzt wurde, wurde sowohl bei Glucose als auch bei Mannose der dirigierende Effekt der Nachbargruppen ausgenutzt. Dementsprechend konnte bei Glucose das  $\beta$ -Anomer und bei Mannose das  $\alpha$ -Anomer erhalten werden, obwohl bei beiden ein Gemisch aus  $\alpha/\beta$ -acetyliertem Zucker eingesetzt wurde.

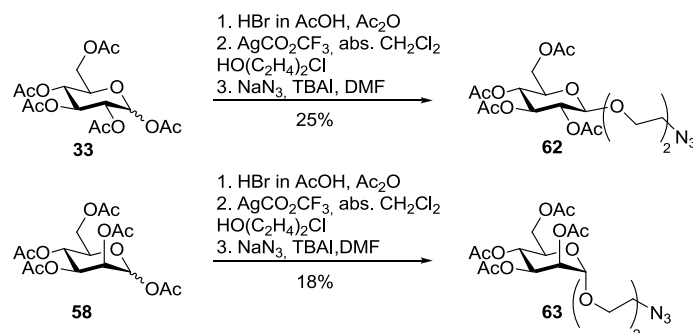
Ein weiterer Versuch, Derivate mit mittleren Linkerlängen (also zwei Ethylenglycolbausteinen) nach Literaturbedingungen darzustellen, gelang nur in Spuren. Unter den lewis-sauren Reaktionsbedingungen läuft die Bildung von 1,4-Dioxan als Konkurrenzreaktion ab (Schema 26).



Schema 26 Misslungener Weg zur Synthese von **62**.

Aus diesem Grund wurde versucht, Verbindungen mit dieser Spacerlänge über eine andere Methode herzustellen. Wie aus den durchgeführten Synthesen klar wird, sollte es eine einfache Methode sein, mit weniger Syntheseaufwand, die am besten direkt aus den peracetylierten Zuckervorläufern zu realisieren ist. Eine Möglichkeit stellt die bereits in den Vorversuchen verwendete Königs-Knorr-Glycosylierung<sup>178,179</sup> ausgehend von den Zuckerbromiden (Schema 27) dar. Diese konnten einfach von den peracetylierten Zuckern mit HBr in Essigsäure hergestellt und ohne weitere Reinigung eingesetzt werden.

#### 4. Resultate und Diskussion



Schema 27 Glycosylierung nach Königs-Knorr Methode führten zu Verbindung **62** und **63**.

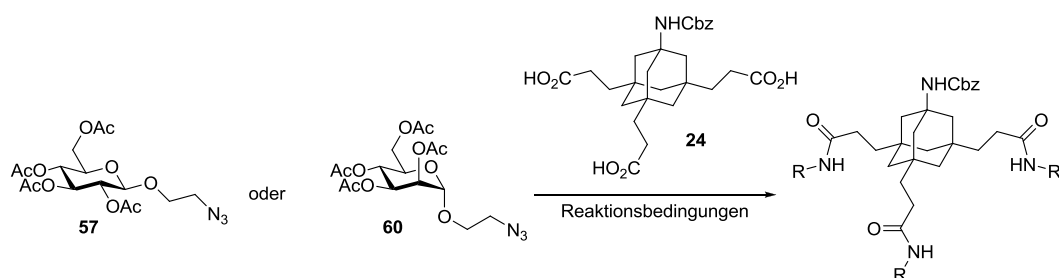
Die Ausbeuten waren schlechter als bei der direkten Methode mit BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> und konnten nur mit einem großen Überschuss an Alkohol erreicht werden.

Mit den erhaltenen Zuckerderivaten **57**, **59** - **60** sollten nun Glykokonjugate aufgebaut werden. Als Grundgerüst wurde die *N*-Cbz geschützte Aminotricarbonsäure **24** verwendet, da diese die vielversprechendsten Ergebnisse lieferte.

Erste Versuche wurden mit den Glycosiden **57** und **60** durchgeführt. Zunächst sollte das Azid unter hydrogenolytischen Bedingungen zu dem entsprechenden Amin reduziert werden, welches ohne weitere Reinigung direkt mit der Tricarbonsäure umgesetzt wurden. Es wurden zunächst die Standardkupplungsbedingungen gewählt (HATU, DIPEA), welche bei bisherigen Zuckerderivaten erfolgreich waren. In diesem Fall konnte lediglich bei der Reaktion von **57** mit **24** das gewünschte Glykokonjugate in schlechten Ausbeuten erhalten werden. Die chromatografische Reinigung dieses Reaktionsgemisches war ebenfalls komplex und aufwändig. Als Nebenprodukt dieses ersten Versuchs konnte das korrespondierende *N*-acetylierte und das einfach *O*-deacetylierte Zuckerderivat isoliert werden. Es wurde eine Acetylgruppenwanderung beobachtet, die selbst bei sorgfältiger Einstellung des pH-Wertes während der Kupplungsreaktion nicht unterbunden werden konnte. Aus diesem Grund wurden verschiedene Kupplungsreagenzien getestet. Wie in Tabelle 2 gezeigt ist, wurden diverse Standardprotokolle mit dem Ziel ausprobiert, die Ausbeute zu maximieren und die Reinigung so einfach wie möglich zu halten.

## 4. Resultate und Diskussion

Tabelle 2 Optimierung der Kupplungsbedingungen der Peptidkupplung zur Darstellung der Trimeren Glycokonjugate.



|   | Azid | Bedingungen                                                                                                                                                             | Bemerkung                                                            | Ausbeute               |
|---|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------------|
| 1 | 57   | 1. H <sub>2</sub> , Pd/C, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , Rt<br>2. 24, HATU, DIPEA, DMF,<br>0 °C → Rt, 72 h                                                           | Acetylgruppenwanderung auf<br>freies Amin                            | 31% +<br>Nebenprodukte |
| 2 | 57   | 1. H <sub>2</sub> , Pd/C, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , AcOH<br>Rt, dann 0.1 M HCl evap.<br>2. 24, HATU, DIPEA, DMF,<br>0 °C → Rt, 72 h                             | Acetylgruppenwanderung auf<br>freies Amin                            | 27% +<br>Nebenprodukte |
| 3 | 57   | 1. H <sub>2</sub> , Pd/C, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , AcOH,<br>Rt, dann 0.1 M HCl evap.<br>2. 24, EDC HCl, HOBT,<br>NEt <sub>3</sub> , abs THF, 0°C → Rt,<br>72 h | mono-, di- und trimere-<br>Kupplungsprodukte per MS<br>identifiziert | -                      |
| 4 | 57   | 1. H <sub>2</sub> , Pd/C, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , Rt<br>2. 24, EDC·HCl, HOBT,<br>NEt <sub>3</sub> , DMF, 0°C → Rt, 48 h                                       | mono-, di- und trimere-<br>Kupplungsprodukte per MS<br>identifiziert | -                      |

#### 4. Resultate und Diskussion

|          |           |                                                                                                                                                  |                                                                                                               |     |
|----------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>5</b> | <b>57</b> | 1. H <sub>2</sub> , Pd/C, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , Rt<br>2. <b>24</b> , DCC, DMAP, NEt <sub>3</sub> , DMF, 0 °C → Rt, 96 h              | mono-, di- und trimere-Kupplungsprodukte per MS identifiziert, schlechter Umsatz                              | -   |
| <b>6</b> | <b>57</b> | 1. NaOMe, MeOH, Rt<br>2. H <sub>2</sub> , Pd/C, MeOH, Rt<br>3. <b>24</b> , HATU, DIPEA, DMF, 0 °C → 45 °C, 24 h<br>4. Ac <sub>2</sub> O, Pyridin | Reaktionslösung bis zur Trockene eingengt, anschließend acetyliert                                            | 55% |
| <b>7</b> | <b>60</b> | 1. NaOMe, MeOH, Rt<br>2. H <sub>2</sub> , Pd/C, MeOH, Rt<br>3. <b>24</b> , HATU, DIPEA, DMF, 0 °C → 45 °C, 48 h<br>4. Ac <sub>2</sub> O, Pyridin | Reaktionslösung bis zur Trockene eingengt, anschließend acetyliert                                            | 57% |
| <b>8</b> | <b>60</b> | 1. NaOMe, MeOH, Rt<br>2. H <sub>2</sub> , Pd/C, MeOH, Rt<br>3. <b>24</b> , HBTU, DIPEA, DMF, 0 °C → 45 °C, 48 h<br>4. Ac <sub>2</sub> O, Pyridin | Reaktionslösung bis zur Trockene eingengt, in EtOAc aufgenommen, wässrig gewaschen, eingengt, dann acetyliert | 68% |

Die Reduktion des Azids zum Amin wurde ebenfalls im Säuren untersucht (Eintrag 2). Diese Reduktion erfolgte schneller, konnte jedoch nicht das Problem der Acetylgruppenwanderung lösen. Daraus geht hervor, dass die Wanderung während der Kupplung stattfindet, und nicht während der Reduktion des Azids zum Amin. Aufgrund dessen wurden andere Kupplungsmethoden verwendet. Ein Verfahren, das bei anderen Admantanderivaten bereits breite Anwendung gefunden hat, war die Verwendung von EDC/HOBt (Eintrag 3 und 4). Diese Reagenzienkombination führte zu unvollständigen Kupplungen und stellte somit keine Alternative zur HATU-Methode dar, da die Trennung von mono-, di- und trimerem-Kupplungsprodukt sehr komplex ist.<sup>180</sup> Eine Variation des Lösungsmittels erbrachte keine Lösung des Problems. Darüber hinaus wurde die Reaktion mit DCC/DMAP versucht (Eintrag 5), was jedoch ähnliche Ergebnisse erbrachte.

Daher war es unvermeidbar, die Acetylgruppen zuvor abzuspalten, und direkt nach der Kupplungsreaktion die gesamte Reaktionslösung zu acetylieren. Diese Strategie lieferte mit der bereits etablierten HATU Kupplung gute Ausbeuten des gewünschten trimeren-Kupplungsproduktes (Eintrag 6 und 7). Die resultierende Lösung konnte chromatografisch gereinigt werden. Da es sich um

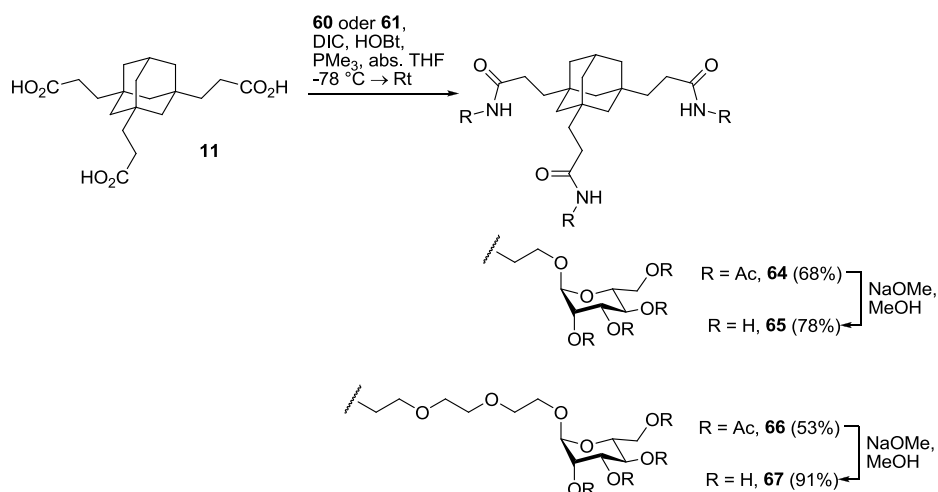
#### 4. Resultate und Diskussion

sehr polare Verbindungen handelt, musste für die Säulenchromatografie an Kieselgel auf Eluentengemische von EtOAc und EtOH zurückgegriffen werden, welche die verbleibenden Reste des Kupplungsreagenzes HATU ebenso mit eluierten. Es konnte keine gute Trennung erreicht werden, sodass die Produktfraktionen am Ende erneut mit wässriger Hydrogencarbonat-Lösung gewaschen wurden, um letzte Reste von HATU und daraus entstehendem HOAt zu entfernen. Eine Lösung dieses Problems konnte durch die Verwendung von HBTU erreicht werden (Eintrag 8), welches sich im Anschluss an die Kupplung, vor der Acetylierung, durch wässrige Aufarbeitung rückstandslos entfernen ließ. Die Ausbeute konnte so leicht verbessert werden.

Basierend auf diesen Ergebnissen ist die Kupplungseffizienz nicht unbedingt vom Grundgerüst abhängig, da in der Dissertation von Elisa Franzmann, welche Catecholderivate über Peptidkupplung mit **24** verknüpfte, eine EDC/HOBt Kupplung die besten Resultate lieferte.<sup>180</sup> Nadine Pannier berichtet in ihrer Dissertation von einer HBTU Kupplung zur Verknüpfung von Diaminen, welche in THF durchgeführt wurde und so die besten Kupplungsergebnisse lieferte.<sup>160</sup> Aljona Dell, welche sich in ihrer Diplomarbeit mit der Aminosäurekupplung an Adamantylgrundgerüste beschäftigte, berichtet über fortwährende Probleme bei der Trennung von di- und trimeren Kupplungsprodukten bei HBTU vermittelten Reaktionen.<sup>181</sup> Ebenso sind Aktivesterkupplungen mit *N*-Hydroxysuccinimid-Estern in DMSO in der Literatur zu finden, welche zuvor isoliert und gereinigt wurden.<sup>127,180</sup>

Aufgrund der Rückschläge durch Acetylgruppenwanderung wurden auch andere Methoden zur Bildung der Amidbindung getestet. Eine davon war die *in situ* Reduktion des Azids zum Amin mit direkter Kupplung mittels Kupplungsreagenz. Die sogenannte Staudinger-Ligation stellt ein probates Mittel dar, um die synthetisierten Azide direkt mit den Tricarbonsäuren umzusetzen. In der Literatur wurde diese Methode zum Aufbau von tripodalen Glykokonjugaten verwendet.<sup>141</sup> Dadurch, dass kein freies Amin zuvor gebildet werden muss, ist weniger bzw. gar keine Acetylgruppenwanderung zu erwarten. Zunächst sollte die einfache Tricarbonsäure **11** getestet werden, um evtl. Nebenreaktionen mit dem Carbamat der *N*-Cbz Gruppe zu vermeiden. Diese einfachen Glykokonjugate stellten wichtige Strukturen für weitere Assays dar (Schema 28).

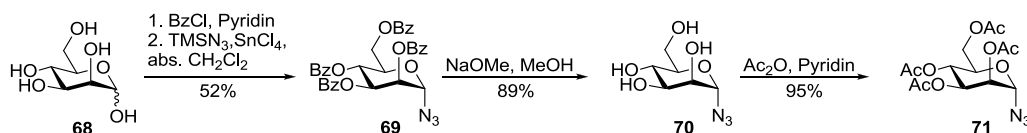
#### 4. Resultate und Diskussion



Schema 28 Darstellung der Glycokonjugate **64** und **66** via Staudinger-Ligation.

Die Reaktionsführung war bei dieser Reaktion weitaus aufwändiger als bei der Peptidkupplung. Das Temperaturprogramm musste zwingend eingehalten werden. Ebenso musste die Zugabe der Trimethylphosphan-Lösung sehr langsam geschehen. Darüber hinaus ist dieses Reagenz teuer und hydrolyseempfindlich. Generell ist bei dieser Reaktion darauf zu achten, dass strikt unter Schlenk-Bedingungen und unter Wasserausschluss gearbeitet wird, da sonst kein Produkt erhalten wird. Die anschließende chromatografische Reinigung wird teilweise durch das entstehende Phosphanoxid gestört. Die Ausbeuten bei dieser Reaktion mit 68% für **64** und 53% für **66** sind vergleichbar mit denen der zuvor optimierten Peptidkupplungs-Methode mit anschließender Schutzgruppenchemie. Nachdem die ersten Versuche mit guten Ausbeuten verliefen, wurde die Darstellung über das anomere Zentrum verknüpfter Glycokonjugate versucht. Zu diesem Zweck wurde zunächst nach der in der Literatur bekannten Methode von Paulsen das Mannosylazid **71** synthetisiert.<sup>182</sup>

Ausgehend von Mannose wird zunächst mit Benzoylchlorid in Pyridin benzyliert um anschließend die pentabenzoylierte Mannose mit Trimethylsilylazid und Zinn(IV)chlorid in abs. Dichlormethan umzusetzen (Schema 29). Das erhaltene Azid **69** wurde anschließend entschützt und wieder mit Essigsäureanhydrid in Pyridin mit Acetylenschutzgruppen geschützt.

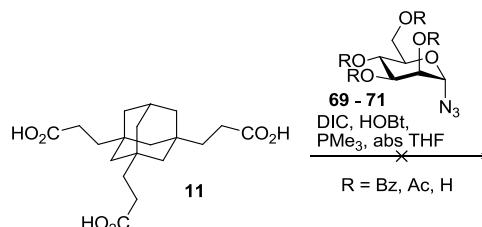


Schema 29 Darstellung der Mannosylazide **69**, **70** und **71**.

Mit den Verbindungen **69**, **70** und **71** wurden Staudinger-Ligationen unter den erwähnten Bedingungen durchgeführt, was jedoch auch nach mehrmaligen Versuchen kein Produkt lieferte (Schema 30). Lindhorst *et al.* synthetisierte Moleküle mit ähnlichem sterischen Anspruch.<sup>141</sup> Auch der Wechsel der Schutzgruppe von Benzoyl- auf Acetyl- oder der Versuch mit freien Hydroxylgruppen

#### 4. Resultate und Diskussion

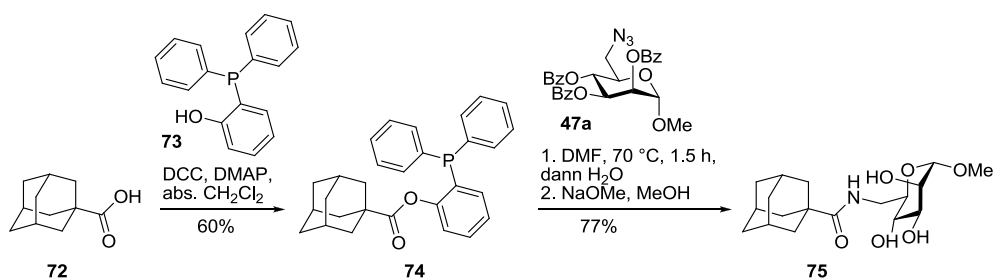
hatte keinen Effekt. Bei den acetylierten Zuckern konnte jedoch ohne Zweifel eine Acetylgruppenwanderung festgestellt und das Produkt dieser isoliert werden. Da verschiedene Chargen der kommerziell erworbenen  $\text{PMe}_3$ -Lösung in THF verwendet wurden, konnte auch ausgeschlossen werden, dass diese auf Grund von Oxidation inaktiv war.



Schema 30 Misslungener Versuch der Staudingerreaktion mit **11**.

Aufgrund der Schwierigkeiten bei der Reaktionsführung und der Empfindlichkeit der Reagenzien ist diese Methode zwar grundsätzlich nützlich, stellt aber im weiteren Verlauf dieser Arbeit nicht das Mittel der Wahl zur Synthese der  $\text{AB}_3$ -Glykokonjugate auf Basis von Adamantan dar.

Eine weitere Option zur Durchführung von Staudinger-Ligationen wäre die Präorganisation der Acylverbindung am reduzierenden Phosphoratom. Dies wird meistens durch Veresterung mit Diphenylphosphinophenol realisiert, um im weiteren Verlauf die Acylkomponente auf das Amin zu übertragen. Diese Reaktionen wurden in der Literatur bereits verwendet, um Glycosylazide direkt mit Aminosäuren zu funktionalisieren und um zu den gewünschten *N*-Glycosiden zu kommen.<sup>183,184</sup> Um zu testen, ob diese Reaktionsfolge zum Aufbau von tripodalen Glykokonjugaten nützlich ist, wurde zunächst die kommerziell erwerbliche Adamantancarbonsäure **72** verwendet. Diese besitzt auf Grund der Nähe zum Adamantankern einen größeren sterischen Anspruch als die bisher verwendete Tricarbonsäure **11**. Der Gedanke war, dass die Monocarbonsäure **72** schwieriger zu verestern sein sollte als **11** und somit anhand dieser Modellverbindung klar wird, ob es sinnvoll ist, diesen Weg weiter zu verfolgen. Anschließend wurde das bereits synthetisierte Azid **47a** verwendet um das Amid zu generieren (Schema 31).

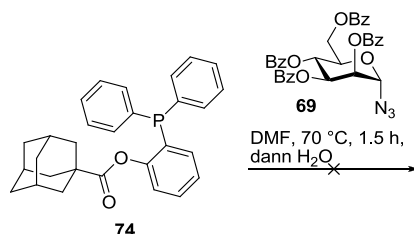


Schema 31 Staudinger-Ligation mit vorgebildetem Ester **74**.

Zunächst wurde der Ester **74** mittels DCC/DMAP dargestellt. Die Reaktion verlief problemlos und nach chromatografischer Reinigung konnte der Ester in guten Ausbeuten von 60% erhalten werden

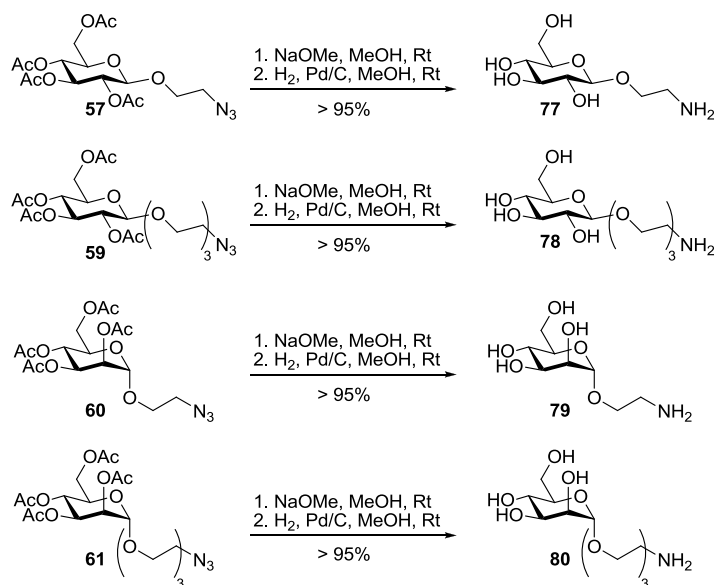
#### 4. Resultate und Diskussion

(Schema 31). Nach einiger Zeit an der Luft konnte das Oxidationsprodukt spektroskopisch detektiert werden. Die Folgereaktion mit Azid **47a** verlief ebenfalls gut, die Benzoylschutzgruppen mussten jedoch zur Reinigung abgespalten werden, da sonst eine chromatografische Trennung sehr schwierig wäre. In dieser Reaktion wurde viel Triphenylphosphanoxid erzeugt, welches die Reinigung erschwerte. Diese Methode zur Bildung von Amiden kann in manchen Fällen sinnvoll sein, für die Synthese von trimeren Glycokonjugaten eignete sie sich aber weniger, da durch die Polarität der erhaltenen Verbindungen eine Trennung an Kieselgel unmöglich erschien. Allerdings ist es prinzipiell möglich, sterisch anspruchsvolle Carbonsäuren auf diese Art zu funktionalisieren. Die sterische Hinderung des Amins beeinflusst diese Art von Reaktionen, sodass bei der Umsetzung des Esters **74** mit dem Azid **69** kein Umsatz festgestellt werden konnte. Es konnte lediglich die Oxidation des Phosphans zum Phosphanoxid detektiert werden.



Schema 32 Versuch der Staudinger-Ligation mittels vorgebildetem Ester **74**.<sup>184</sup>

Im Weiteren wurde die Reaktionskaskade bestehend aus *O*-Deacetylierung, Reduktion des Azids, Peptidkupplung mittels HBTU/DIPEA in DMF und Acetylierung mit anschließender Säulenchromatografie an Kieselgel für die Synthese der Glycokonjugate mit unterschiedlicher Linkerlänge angewendet.

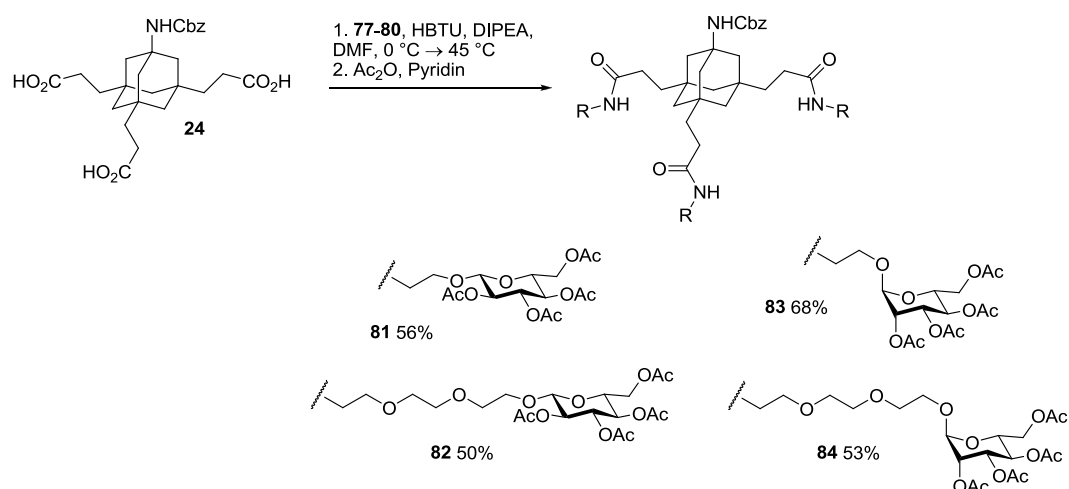


Schema 33 Entschützung und Reduktion der Glycoside.

#### 4. Resultate und Diskussion

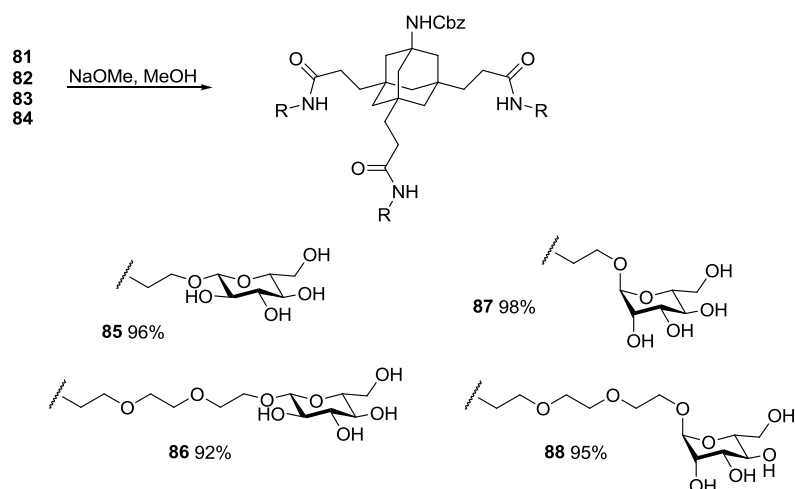
Zunächst wurden die entsprechenden Mengen an Glycosid entschützt und anschließend hydrogenolytisch zum Amin reduziert (Schema 33). Dies gelang bei allen Beispielen in nahezu quantitativen Ausbeuten, sodass die Produkte **77-80** ohne weitere Reinigung in der folgenden Peptidkupplung eingesetzt werden konnten.

Die Peptidkupplungen wurden mit HBTU/DIPEA durchgeführt (Schema 34). Nach Beendigung der Reaktion wurden durch wässrige Aufarbeitung die Nebenprodukte entfernt. Die darauf folgende Acetylierung verlief in allen Fällen ohne Probleme. Die Reinigung wurde mit Mischungen aus EtOAc und EtOH durchgeführt, da die Reaktionsprodukte eine sehr hohe Polarität aufwiesen und nur schwer von Kieselgel eluiert werden konnte.



Schema 34 Darstellung der Glycokonjugate **81-84** durch Peptidkupplung.

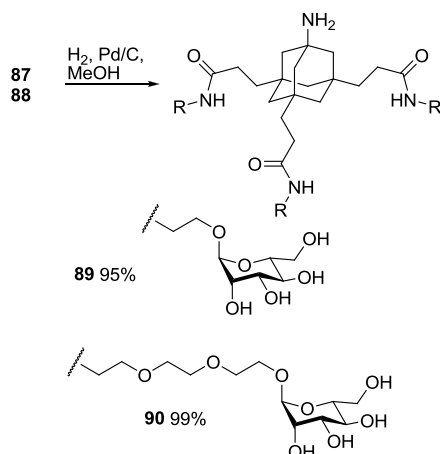
Im Weiteren wurden die erhaltenen Glycokonjugate nach der Methode von Zemplén<sup>168</sup> entschützt, um die freien Hydroxylgruppen zu erhalten (Schema 35).



Schema 35 Acetylentzündung nach Zemplén zur Darstellung von **85-88**.

#### 4. Resultate und Diskussion

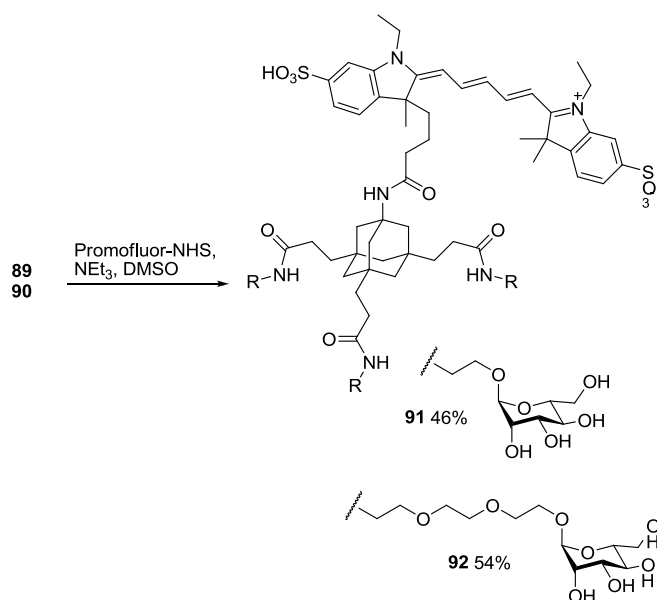
Im Hinblick auf die Assays, welche im folgenden Kapitel genauer beschrieben werden sollen, wurde auch bei den Mannosylderivaten die *N*-Cbz Schutzgruppe entfernt. Dies wurde unter hydrogenolytischen Bedingungen mit Pd/C realisiert und konnte in guten Ausbeuten durchgeführt werden, um die Amine **89** und **90** zu erhalten (Schema 36).



Schema 36 Spaltung der *N*-Cbz Schutzgruppen führt zu Amin **89** und **90**

Die ungeschützten Glycokonjugate wurden nun mit einem Effektor konjugiert, um in einem geeigneten Assay auf ihre Affinität gegenüber Lektinen getestet zu werden.

Da es für die im Folgenden beschriebenen Anwendungen sinnvoll ist, einen Marker einzuführen wurde an das freie Amin der Glycokonjugate **89** und **90** ein Fluoreszenzfarbstoff gekuppelt (Schema 37).



Schema 37 Aktivesterkupplung mit Promofluor-647 Fluoreszenzfarbstoff.

#### 4. Resultate und Diskussion

Die Kupplung des Fluoreszenzfarbstoffs Promofluor-647<sup>XIV</sup> wurde mittels Aktivesterkupplung in trockenem DMSO durchgeführt. Aus vorhergehenden Arbeiten von Nadine Pannier und Dorith Claes war bekannt, dass diese Funktionalisierung des Brückenkopfamins problematisch ist und in schlechten Ausbeuten verläuft.<sup>127,165,185</sup> Da bereits bei Verbindung **23** und **53** festgestellt wurde, dass die NHS-Ester-Kupplung an dieser Position besser verläuft, wenn in trockenem DMSO gearbeitet wird, anstatt in trockenem DMF, wurde auch diesmal auf diese Prozedur zurückgegriffen. Nachdem massenspektrometrisch festgestellt wurde, dass die Reaktion beendet ist, wurden die Reaktionslösungen gefriergetrocknet und der erhaltene blaue Feststoff *via* RP-HPLC gereinigt.

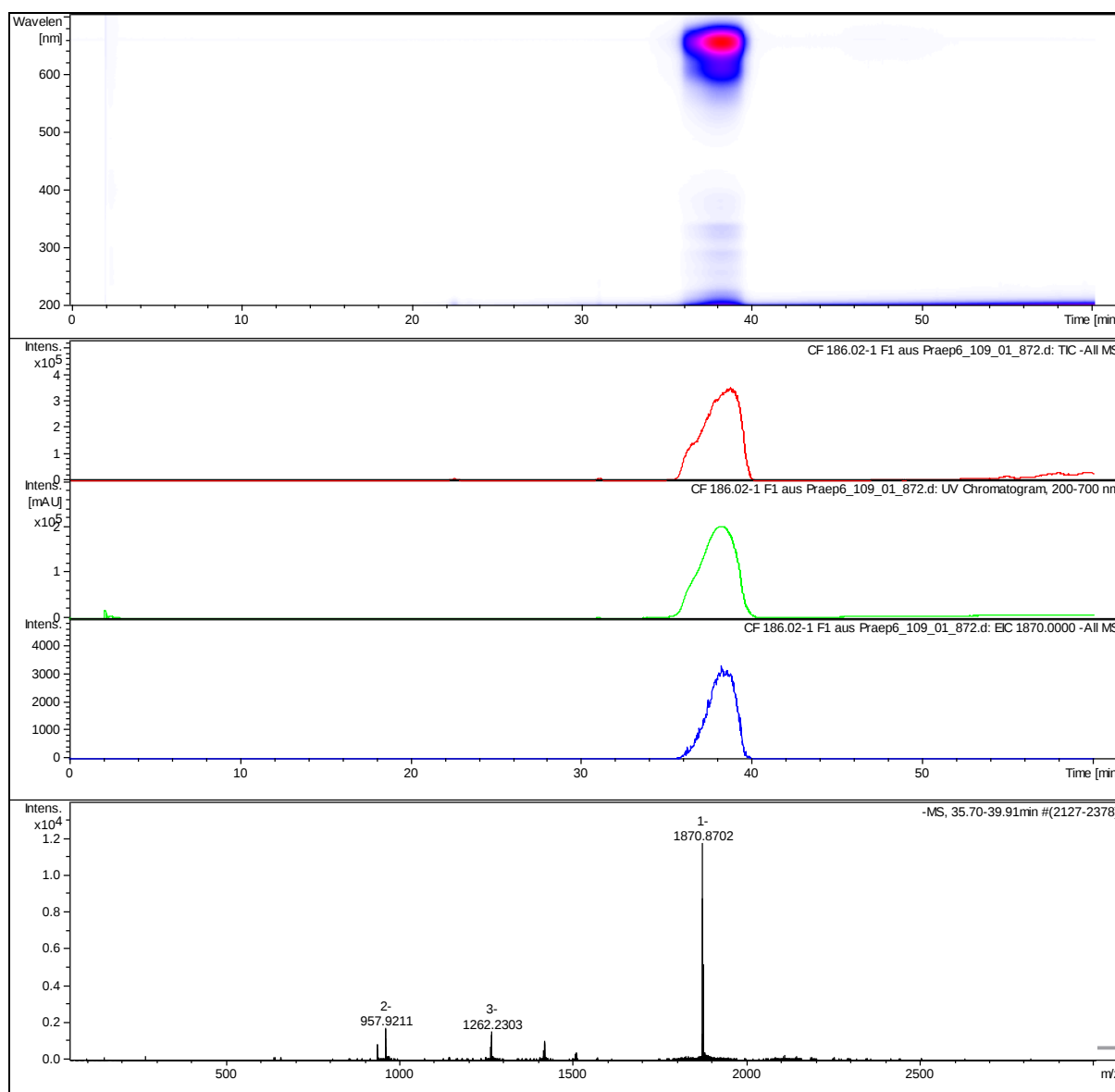


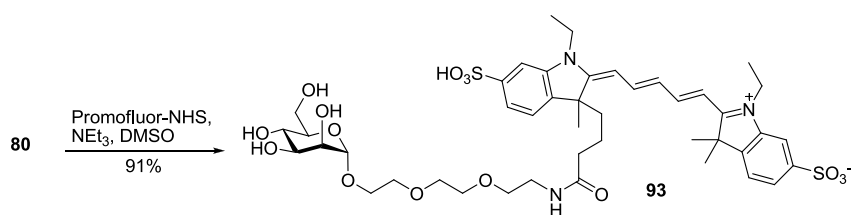
Abbildung 20 LC-MS-Chromatogramm von Verbindung **92** nach der präparativen HPLC. Oben: DAD-Chromatogramm, Mitte: TIC, UV-Chromatogramm von 200-700 nm, EIC des  $m/z$  1870.0; Unten: Massenspektrum von 35.7 - 39.9 min.

<sup>XIV</sup> Der kommerziell erhältliche Fluoreszenzfarbstoff „PromoFluor-647“ von PromoKine besitzt eine Absorptionswellenlänge von 653 nm und eine Emissionswellenlänge von 672 nm. Er wurde als NHS-Ester gekauft und ohne weitere Modifikationen eingesetzt.

## 4. Resultate und Diskussion

Die Reinigung verlief aufgrund der Fluoreszenzmarkierung einfach und die Produkte konnten gut von dem verbleibenden NHS-Promofluor-647 und dem Hydrolyseprodukt HO-Promofluor-647 (also eine freie Carboxylgruppe) getrennt werden (Abbildung 20). Exemplarisch findet sich in Abbildung 20 ein LC-MS-Lauf der gereinigten Substanz **92** (RP-8, A = MeOH, B= H<sub>2</sub>O, 5% A 5 min halten, dann auf 95% A in 45 min, dann 95% A für 10 min, 0.25 mL/min). Im DAD-Chromatogramm befindet sich das Absorptionsmaximum bei ca. 647 nm, wie es bei dem Farbstoff zu erwarten war. In der Mitte befindet sich das Total-Ion-Chromatogramm (TIC), welches die Anzahl aller Ionen, die auf dem MS-Detektor treffen, beschreibt, das UV-Chromatogramm von 200-700 nm und das *Extracted-Ion-Chromatogramm* des Masse zu Ladungsverhältnisses von  $1870.0 \pm 0.5 m/z$ . Im unteren Bereich sind die  $m/z$  Verhältnisse zu sehen, wobei die Ladung indiziert ist.

Die Ausbeuten sind bei dieser Reaktion nicht zufriedenstellend. Zwar konnten bessere Ausbeuten als bei den Boronolektinen von Claes erreicht werden,<sup>185</sup> dennoch bedarf diese Reaktion noch einer Optimierung. Eine mögliche Erklärung könnte in der Qualität des NHS-Esters des Farbstoffs liegen. Dieser wurde nicht weiter überprüft und könnte ggf. zum Teil hydrolysiert vorliegen. Des Weiteren ist der sterische Anspruch der Adamantyllderivate am Brückenkopf-Amin sehr hoch, was ebenfalls zu einer langsameren Reaktion und schlechteren Ausbeute führen wird. Diese Vermutung legt auch die Synthese des fluoreszenzmarkierten Mannosylderivates **93** dar, welches in gleicher Weise synthetisiert und gereinigt wurde (Schema 38). Dieses Amin ist sterisch weitaus weniger anspruchsvoll und konnte nach präparativer HPLC-Reinigung in einer Ausbeute von 91% erhalten werden.



Schema 38 Fluoreszenzmarkierung des Mannosylderivates **93**.

### 4.1.5 Sialinsäure-Konjugate

Sialinsäuren stellen in der Natur wichtige Bausteine von komplexen Oligosacchariden dar. Sie kommen in den meisten aller Eukaryonten vor, was ihre Wichtigkeit in vielen biochemischen Erkennungsprozessen unterstreicht.<sup>186</sup> Zumeist kommen Sialinsäuren als endständiges Monosaccharid von Oligosacchariden vor, welches durch spezielle Enzyme, den Sialidasen, abgespalten werden kann. Insbesondere bei viralen Infektionen spielen Sialinsäuren eine wichtige Rolle.<sup>187</sup> Der prominenteste Vertreter dieser Gruppe von Monosacchariden ist die *N*-

#### 4. Resultate und Diskussion

Acetylneuraminsäure (Neu5Ac **95**, Schema 39). Aufgrund der Tatsache, dass Sialinsäuren den „sichtbarsten“ Teil der Glycocalyx darstellen, soll diese Substanzklasse durch Multimerisierung an dem bekannten Adamantylkern untersucht werden. Chemisch stellt diese Verbindung jedoch eine Neuerung dar, da die zusätzliche Carbonsäurefunktion im Zuckermolekül weitere Schutzgruppen erfordert, und zu Beginn der Synthese noch nicht klar war, ob die Kupplung mittels Standardmethodik durchgeführt werden kann (Abbildung 21). Das trimere Sialinsäurekonjugat stellt eine Modellsubstanz dar, mit der die Anwendbarkeit von Adamantan basierten Grundgerüsten über einfache Monosaccharide hinaus demonstriert werden soll.

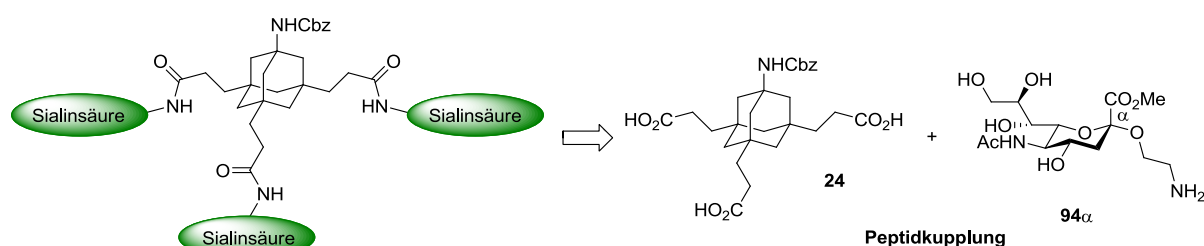
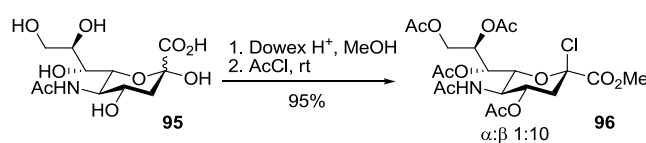


Abbildung 21 Retrosyntheschema der Sialinsäure-Konjugate.

Zunächst wurde die kommerziell erhältliche Neu5Ac **95** durch Literatur bekannte Methoden in den Methylester überführt (Schema 39).<sup>188,189</sup> Der Methylester konnte direkt mit Acetylchlorid umgesetzt werden. Das erhaltene Chlorid **96** wurde in sehr guten Ausbeuten und in einem Anomerenverhältnis  $\alpha:\beta$  von 1:10 erhalten. Anschließend sollte der Spacer angebracht werden, wobei das Chlorid als Donor eingesetzt wurde. Zur Konjugation an das Grundgerüst sollte ein Amin zur Ausbildung einer Peptidbindung realisiert werden, damit die bisherige Strategie zum Aufbau der Glykokonjugate Anwendung finden kann.



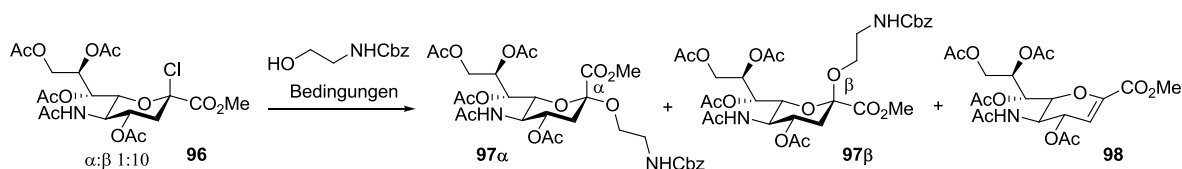
Schema 39 Darstellung von **96**.

Die natürlichen Rezeptoren für Sialinsäure, die sog. Siglecs (*sialic acid binding Ig-like lectins*), erkennen lediglich die  $\alpha$ -Anomere.<sup>190</sup> Auch die Hämagglutinine<sup>187,191,192</sup> und die E-Selectine<sup>193,194</sup>, welche beide Sialinsäuren binden, haben eine erhöhte Affinität gegenüber den  $\alpha$ -Anomeren. Die  $\beta$ -Form spielt in den meisten Organismen eine untergeordnete Rolle. Aus diesem Grund ist es besonders wichtig, die Linkerverknüpfung bereits  $\alpha$ -selektiv durchzuführen. Zu diesem Thema gab es in der Literatur bekannte Synthesen, welche durch die Verwendung von  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  in abs.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  selektiv und in guten Ausbeuten zum  $\alpha$ -Anomer führten.<sup>195</sup>

#### 4. Resultate und Diskussion

Diese Ergebnisse konnten allerdings nicht reproduziert werden. Durch die Verwendung von  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  konnte lediglich eine Mischung aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomer sowie das Eliminierungsprodukt **98** erhalten werden (Tabelle 3). Diese Verbindungen konnte nicht säulenchromatografisch an Kieselgel getrennt werden, weswegen im Weiteren andere Kombinationen aus Lösungsmittel und Aktivator (Silberquelle oder Zinkquelle) getestet wurden, um die Selektivität in Richtung  $97\alpha$  zu erhöhen.

Tabelle 3 Verschiedene Bedingungen zur Glycosylierung von *N*-Cbz-Aminoethanol nach Königs-Knorr.

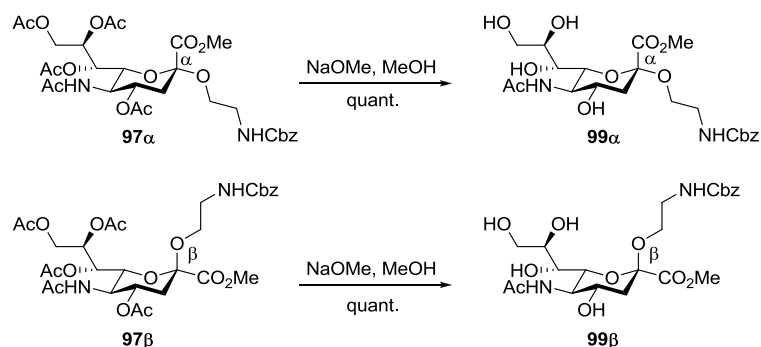


|   | Bedingungen                                                      | Ausbeute | Verhältnisse der Produkte<br>$\alpha/\beta/\text{Alken}/\text{Edukt}$ |
|---|------------------------------------------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------------|
| 1 | $\text{Ag}_2\text{CO}_3$ , abs $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , MS 4 Å | 59%      | 2:1:2:1                                                               |
| 2 | $\text{AgOTf}$ , abs MeCN, MS 3 Å                                | 74%      | 2:3:1:0                                                               |
| 3 | $\text{AgOTf}$ , abs $\text{C}_6\text{H}_6$ , MS 4 Å             | 76%      | 3:2:0:0                                                               |
| 4 | $\text{Ag-Salicylat}$ , abs. $\text{C}_6\text{H}_6$ , MS 4 Å     | 55%      | 2:1:0:0                                                               |
| 5 | $\text{Ag}_2\text{O}$ , abs $\text{C}_6\text{H}_6$ , MS 4 Å      | -        | Edukt reisoliert/ teilweise Hydrolyse                                 |
| 6 | $\text{ZnBr}_2$ , abs. $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , MS 4 Å         | -        | Edukt reisoliert/ teilweise Hydrolyse                                 |
| 7 | $\text{ZnBr}_2$ , abs. MeCN, MS 3 Å                              | -        | Edukt reisoliert/ teilweise Hydrolyse                                 |
| 8 | $\text{Ag-Zeolith}$ , abs. $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , MS 4 Å     | -        | Edukt reisoliert/ teilweise Hydrolyse                                 |

In dieser Studie wurde keine Methode gefunden, die ausschließlich das  $\alpha$ -Anomer ergibt. Da jedoch signifikante Mengen an Mischfraktionen entstanden, mussten geeignete Trennmethode gefunden werden. Die einzelnen Anomere konnten durch die Verwendung von RP-HPLC (RP-8, 40% MeCN in  $\text{H}_2\text{O}$ , 20 min, Detektion bei 254 nm) isoliert werden. Bei der präparativen Trennung konnte keine Basislinientrennung erreicht werden, trotzdem konnten mittels Fraktionierung die Anomere getrennt und NMR-spektroskopisch charakterisiert werden.

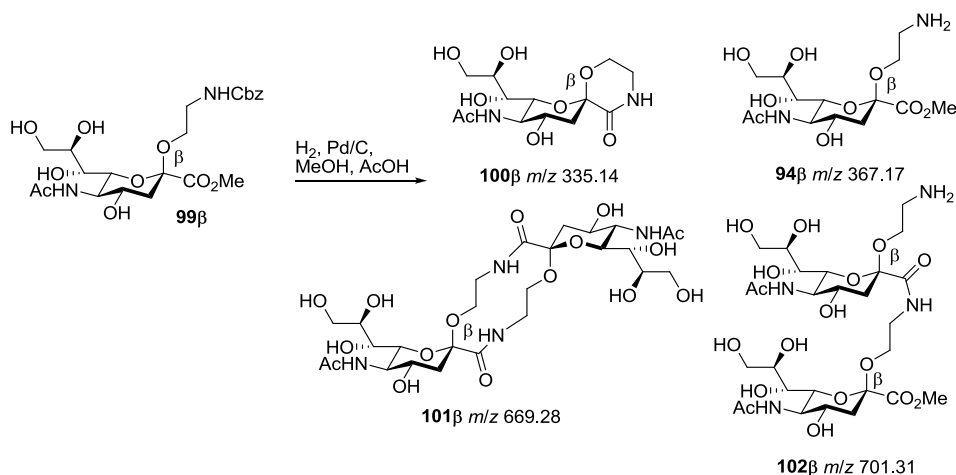
#### 4. Resultate und Diskussion

Für die Kupplung des Sialinsäurederivates **94α** mit dem Grundgerüst **24** mussten nun lediglich die Schutzgruppen entfernt werden. Die Entschützung der Acetylgruppen verlief unter Standardbedingungen und mit sehr guten Ausbeuten zu den Produkten **99α** und **99β** (Schema 40).



Schema 40 Entschützung der acetylierten Sialinsäurederivate zu **99α/β**.

Anschließend sollte unter hydrogenolytischen Bedingungen die *N*-Cbz-Gruppe gespalten werden. Jedoch konnten nur Cyclisierungs- und Multimerisierungsprodukte massenspektrometrisch detektiert werden (Schema 41).



Schema 41 Spaltung der *N*-Cbz Gruppe mit  $H_2$ , Pd/C. Die angegebenen  $m/z$  Verhältnisse sind inklusive  $H^+$  angegeben. Es ist nur eine Auswahl der möglichen Produkte angegeben, es wurden auch höhere Multimere und Zyklen detektiert.

Dabei konnten hier die monomere **94β** und **100β**, wie auch die Dimere **101β** und **102β** nachgewiesen werden (Abbildung 22), wobei das Signal des gewünschten Produktes **94β** nach einiger Zeit verschwand. Da aufgrund der Vielfalt und Komplexität des Reaktionsgemischs eine chromatografische Reinigung ausgeschlossen wurde, konnten diese Produkte nicht isoliert werden. Diese Nebenreaktionen konnten auch durch Zugabe von Säure nicht unterbunden werden.

#### 4. Resultate und Diskussion

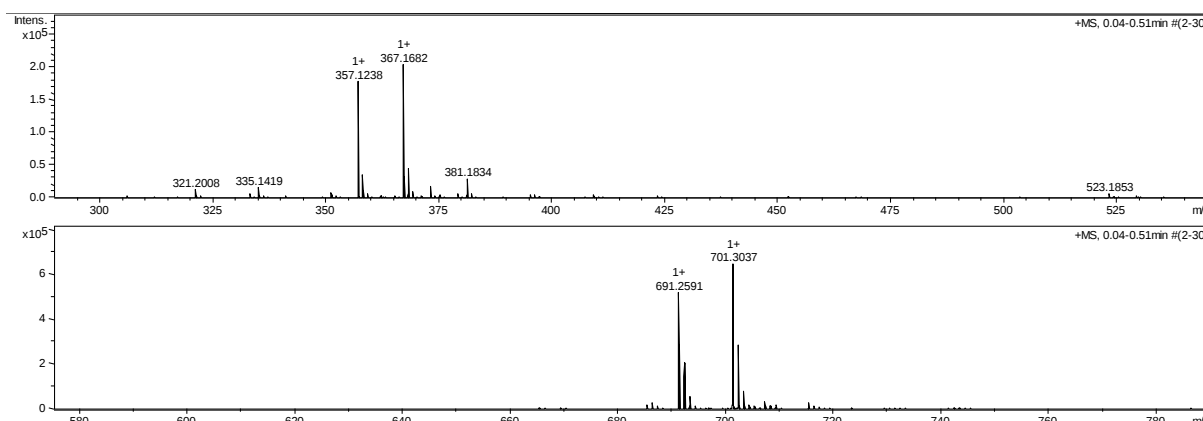
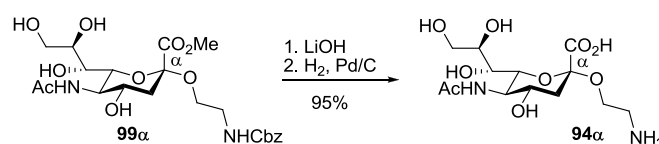


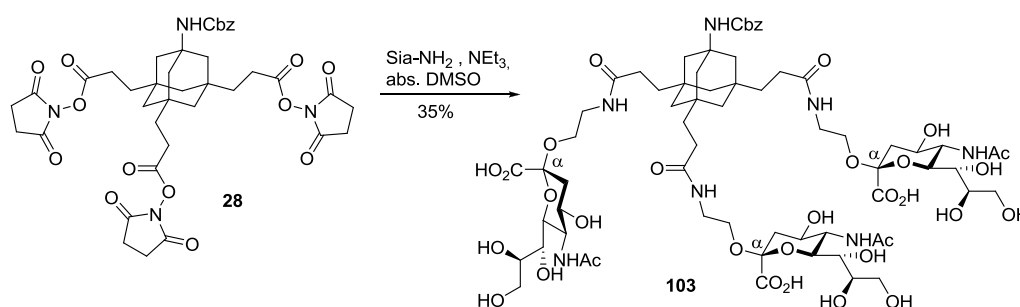
Abbildung 22 Ausschnitt aus dem Massenspektrum aus der Reaktionslösung aus Schema 41.

Um die Cyclisierungen zu verhindern, wurde der Methylester mit LiOH verseift und anschließend die *N*-Cbz-Gruppe gespalten (Schema 42). In diesem Fall konnte **94α** in guten Ausbeuten isoliert werden.



Schema 42 Entschützung von **99α** zu **94α**.

Das resultierende Sialinsäurederivat **94α** besitzt neben dem gewünschten Amin zur Kupplung eine freie Carbonsäuregruppe, was zu Problemen bei einer direkten Kupplung *via* HBTU führen würde. Eine Möglichkeit, die bisher aufgrund der schlechteren Ausbeuten vernachlässigt wurde, ist die Kupplung mittels NHS-Ester **28**, welcher in einem separaten Schritt hergestellt wurde (Schema 10). Diese Methodik wurde folglich auch angewandt und führte in abs. DMSO zum trimeren Sialosid **103** (Schema 43).



Schema 43 NHS-Ester Kupplung zum Trimeren-Sialosid **103**.

Die chromatografische Reinigung gelang an RP18 Kieselgel mittels Flash-Chromatografie. Die moderate Ausbeute von 35% ist verglichen mit HBTU-Kupplungen schlecht. Da allerdings bei diesem Molekül die Dichte an Funktionalitäten hoch ist, kamen lediglich Methoden in Frage, bei denen die Carbonsäure vorher in einer separaten Reaktion aktiviert wurde. Aus diesem Grund kann man

#### 4. Resultate und Diskussion

dennoch von einem Erfolg sprechen, da auch weitere Entschützungs-schritte entfallen, wie sie bei den trimeren Glucosiden oder Mannosiden der Fall waren.

## 4.2 Kohlenhydrat-Lektin Assays

Der zweite Teil dieser Dissertation bestand darin, die synthetisierten Glykokonjugate in geeigneten Assays auf ihre Affinität gegenüber Lektinen zu untersuchen. Dabei sollte ebenfalls untersucht werden, ob ein Multivalenzeffekt der Trimeren gegenüber den Monomeren zu beobachten ist.

Bindungskonstanten können auf verschiedenen Wegen und mit diversen Assaymethoden ermittelt werden. Generell gilt es dabei zu beachten, dass es sich um schwache Kohlenhydrat-Lektin Wechselwirkungen handelt und der Assay entsprechend sensitiv sein muss. Auf diese Eigenschaft der Messmethoden wird später noch genauer eingegangen.

Als Lektin wurde zunächst ConA verwendet (Abbildung 23). Das ConA-Monomer ist ein 26 kDa Protein mit einer CRD. Bei niedrigerem pH-Wert ( $\text{pH} < 5.5$ ) liegt es in wässrigen Lösungen als Dimer vor. Bei höherem pH-Wert ( $\text{pH} > 5.5$ ) bilden sich aus diesen Dimeren Tetramere. ConA ist ein gut untersuchtes Lektin mit zahlreichen Kristallstrukturen. Es wird häufig als Standard-Bindungspartner für Glykokonjugate verwendet und bietet deswegen gute Vergleichbarkeit mit anderen Glycanstrukturen und Assaydesigns.

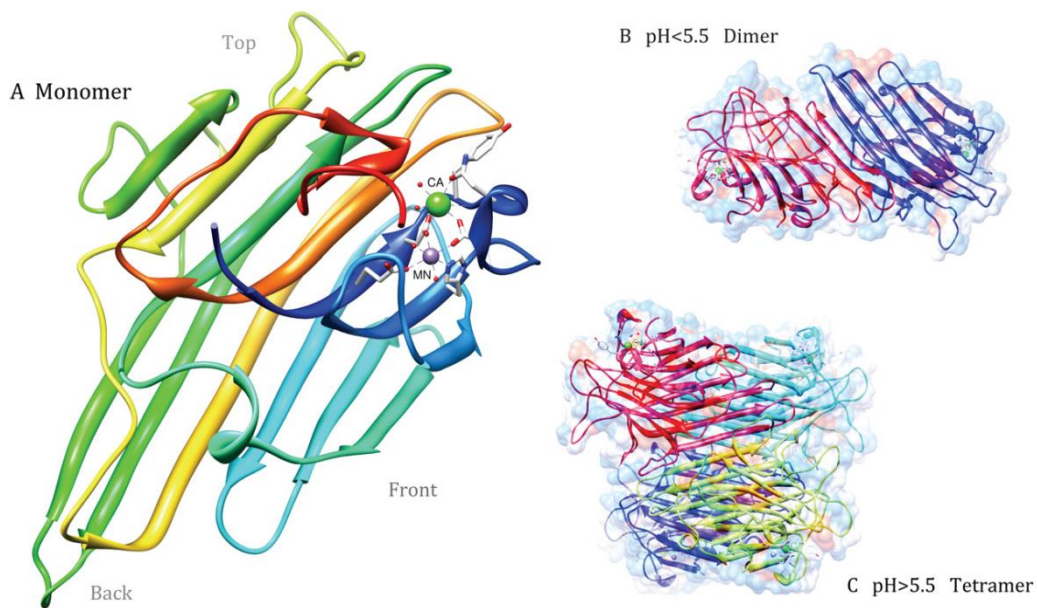


Abbildung 23 Röntgenstruktur von ConA. A) Monomere Struktur, CRD durch  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Mn}^{2+}$  markiert. B) Dimere Struktur bei  $\text{pH} < 5.5$ . C) Tetramere Strukturen bei  $\text{pH} > 5.5$ .<sup>196</sup>

ConA ist bekannt dafür, dass es  $\alpha$ -Pyranosen wie zum Beispiel Mannose oder Glucose bindet.<sup>44</sup>

Es wurden zwei verschiedene Assays ausgewählt, um die Bindungseigenschaften zu untersuchen. Zum einen ein STD-NMR Assay (*saturation transfer difference*), welcher Rückschlüsse auf die Bindungsverhältnisse in Lösung ( $K_D$ -Werte) geben soll. Zusätzlich liefert STD-NMR das Bindungsepitop auf Ligandseite und gibt so Informationen über den Bindungsmodus. Diese Informationen sind mit

## 4. Resultate und Diskussion

anderen Verfahren zur Bestimmung der Bindungskonstante, wie z.B. Rückstreuungs-Interferometrie (BSI)<sup>197</sup> oder Isothermen Titrationskalorimetrie (ITC)<sup>198,199</sup> nicht zugänglich. Zum anderen wurde in Kooperation mit Elisabeth Memmel (AG Seibel, Universität Würzburg)) ein Fluoreszenzassay entwickelt, welcher durch die Immobilisierung des Lektins oder des Glycokonjugats auf einem festen Träger sensitiv für Multivalenzeffekte sein sollte.<sup>xv</sup>

### 4.2.1 Evaluation der Bindungseigenschaften in Lösung: Das STD NMR-Experiment

STD-NMR ist eine NMR-Methode welche zur Identifikation und Quantifizierung von Ligand-Protein Interaktionen dient. Mittels dieser NMR-Methode können sowohl Liganden für bestimmte Proteine aus einer Bibliothek gefunden werden, als auch die genaue Bindung bekannter Liganden mit Proteinen, im Hinblick auf Bindungskonstanten und Bindungs epitope, untersucht werden. Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist, dass sie keinerlei Reporter-Moleküle oder anderer Markierung bedarf. So können Interaktionen mit Farbstoffmolekülen ausgeschlossen werden, die bei Fluoreszenz-basierten Assays die Bindung verfälschen können.

Zuerst wurde diese Methode von Mayer und Meyer angewandt, um aus einem komplexen Gemisch an Sacchariden den Bindungspartner von Weizenkeim-Lektin (WGA) zu ermitteln.<sup>200</sup>

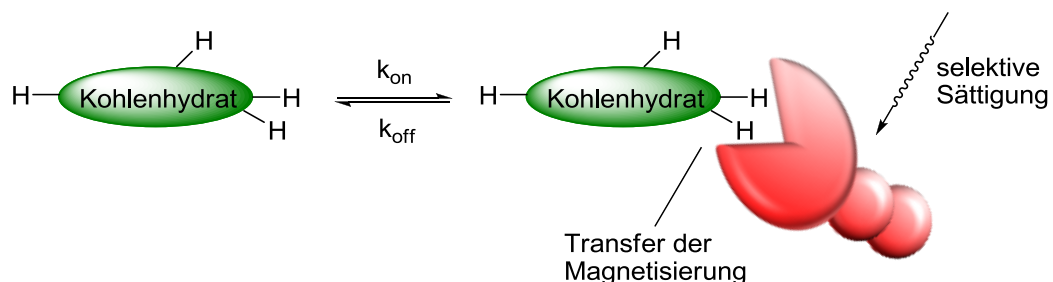


Abbildung 24 Prinzip des STD NMR-Experiments. Durch Anwendung eines selektiven Sättigungspulses wird die Protein-Magnetisierung gesättigt und somit die Signale des Proteins im Spektrum abgeschwächt. Durch die räumliche Nähe eines gebundenen Liganden kann diese Magnetisierung, also die Abschwächung der Signale im Spektrum, auf die nahen Protonen übertragen werden (*on resonance* Spektrum). Wird ein weiteres Spektrum gemessen, bei dem der Sättigungspuls weit außerhalb des Messbereichs (bei ca. +40 ppm) ohne diese Vorsättigung (*off resonance* Spektrum) liegt und die Differenz von beiden gebildet (STD-Spektrum), können Rückschlüsse auf die Wechselwirkungen zwischen Protein und Ligand gezogen werden. Dies ist im STD-Spektrum dann auch visuell sichtbar, da dort nur diejenigen Protonen zu sehen sind, welche einen Sättigungstransfer erfahren haben.

Bei dem STD-Experiment (*saturation transfer difference*) handelt es sich um ein Differenzexperiment, welches auf zwei separat aufgenommenen Spektren basiert (Abbildung 24). Die Probe besteht aus

<sup>xv</sup> Generell ist ein STD-NMR auch sensitiv für multivalente Wechselwirkungen. Sollen aber vor allem intermolekulare, multivalente Wechselwirkungen detektiert werden, so ist dies aufgrund des Assaydesigns nur durch einen festen Träger möglich.

#### 4. Resultate und Diskussion

einem Protein, welches idealerweise eine Molmasse größer 10 kDa aufweist, und einem niedermolekularen Liganden. Dieses Experiment macht sich den Mechanismus der Spin-Diffusion zu Nutze, welcher bei großen Molekülen auftritt (Spin-Diffusions-Limit). Zunächst wird mit einem Sättigungspuls die Protein-Magnetisierung gesättigt. Dies geschieht bei Frequenzen, bei denen ausschließlich Proteinsignale erwartet werden, typischerweise um -1 ppm (Abbildung 24). Durch die räumliche Nähe des gebundenen Liganden, welcher im Überschuss vorliegt, wird die Sättigung vom Protein auf den Liganden übertragen; Die Sättigung wird nach Dissoziation vom Protein auf den freien Liganden nur langsam abgebaut und kann so detektiert werden (*on-resonance* Spektrum). Beim zweiten Spektrum liegt der Sättigungspuls außerhalb des Messbereichs. Die Einstrahlung ist wichtig um denselben Energieeintrag in die Probe zu haben und so Temperatureffekte zu vermindern. Es findet deshalb keine Sättigung des Proteins statt (*off-resonance* Spektrum). Die Differenz zwischen Off- und On-Resonanz Spektrum ergibt das STD-Spektrum (STD-Spektrum). Mit diesem können dann die Protonen des Liganden, welche mit dem Protein wechselwirken, identifiziert werden. Wird diese Messung mit unterschiedlichen Konzentrationen des Liganden durchgeführt, lässt sich durch die Auswertung der unterschiedlichen STD-Signale die Bindungskonstante des Liganden zum Protein ermitteln.<sup>200-206</sup>

Die Vorteile der STD-Methodik sind folgende:

- Es werden nur geringe Mengen des Lektins zur Messung benötigt (ca. 5 µmol).
- Weder das Protein noch der Ligand müssen in irgendeiner Art und Weise markiert sein. Das Experiment bildet somit die reine Interaktion von Ligand und Protein, welche nicht durch Farbstoffe oder andere Markierungen verändert wird, ab.
- Es können Bindungskonstanten ermittelt werden.
- Es können Bindungsepitope bestimmt werden, welche Rückschlüsse auf die Art der Wechselwirkung des Proteins mit dem Liganden zulassen.

Aus einer STD-Titrationsreihe lässt sich aus den relativen STD-Prozenten  $[(I_0 - I_{sat})/I_0]$  und den bekannten Ligandkonzentrationen der STD-Amplifikationsfaktor STD-Ampl. berechnen.

$$STD_{Amp.} = \frac{I_0 - I_{sat}}{I_0} \cdot \frac{[L]_{total}}{[P]_{total}} \quad (6)$$

Variablen:  $STD_{Amp.}$  = STD-Amplifikationsfaktor,  $I_0$  = Signalintensität des *off-resonance*-Spektrums,  $I_{sat}$  = Signalintensität des *on-resonance*-Spektrums,  $[L]_{total}$  = Gesamtkonzentration des Liganden,  $[P]_{total}$  = Gesamtkonzentration des Proteins.

Für die Annahme, dass ein one-site-binding Modell vorliegt, ergibt sich daraus folgender Zusammenhang (Gleichung 7), welcher zur Berechnung der Bindungskonstanten  $K_{D,sol}$  verwendet wurde:

#### 4. Resultate und Diskussion

$$STD_{Amp.} = \frac{STD_{Amp.max} \cdot [L]}{K_{D,sol} + [L]} \quad (7)$$

Variablen:  $STD_{Amp.}$  = STD-Amplifikationsfaktor,  $[L]$  = Konzentration des Liganden,  $STD_{Amp.max}$  = Gleichgewichtswert bei unendlich hoher Verdünnung,  $K_{D,sol}$  = Bindungskonstante in Lösung.

Weitere Effekte, die sich auf die  $K_D$ -Werte auswirken können, wie beispielsweise die Dissoziationsraten der wechselwirkenden Moleküle, sollen an dieser Stelle nicht diskutiert und berücksichtigt werden.<sup>207</sup>

Um diese Methodik für das Modellsystem ConA zu evaluieren und zu optimieren, wurde zunächst die Bindung von  $\alpha$ -Methylmannosid ( $\alpha$ -MeMan) untersucht.<sup>xvi</sup> ConA ist ein Lektin, welches zur Bindung seiner Liganden sowohl  $Ca^{2+}$  als auch  $Mn^{2+}$  benötigt. Dies ist im Zusammenhang mit NMR-Experimenten problematisch, da  $Mn^{2+}$  paramagnetisch ist. Aus diesem Grund wurden zunächst Versuche mit  $Mg^{2+}$  durchgeführt, um den Einfluss des Metallions auf die Bindung der Kohlenhydrate zu beobachten. In anderen Arbeiten wurde diese Substitution nicht durchgeführt, was zu signifikanter Signalverbreiterung führte.<sup>208</sup>

Aus ersten STD-Experimenten konnte darauf geschlossen werden, dass die Substitution der Metallionen keinen großen Einfluss auf die Bindung des bekannten Liganden  $\alpha$ -MeMan hat, da dieser vergleichbare Bindungskonstanten ( $184 \pm 91 \mu M$ ) wie in anderen Studien (ITC:  $K_{D,sol} = 120 - 130 \mu M$ <sup>209</sup>) zeigte (Abbildung 25).

---

<sup>xvi</sup> Die NMR-Experimente wurden in Kooperation mit Moritz Fölsing der AG Hackl in Hamburg durchgeführt. Die Optimierung der NMR-Experimente wurde von Moritz Fölsing durchgeführt und werden im Detail im Rahmen seiner Dissertation diskutiert.

#### 4. Resultate und Diskussion

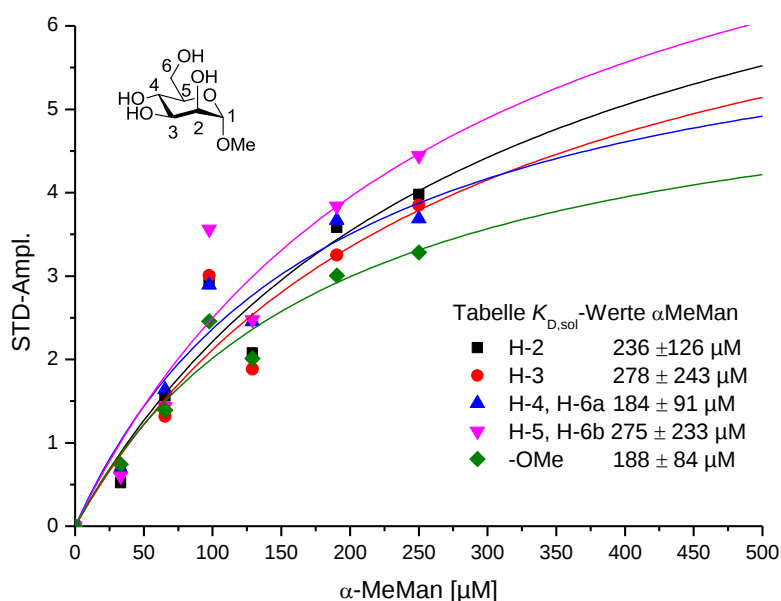


Abbildung 25 Bestimmung der Bindungskonstanten von ConA zu  $\alpha$ -MeMan (5  $\mu$ M ConA in Acetatpuffer mit  $MgCl_2$ ,  $CaCl_2$ , pH = 4.5), Tabelle mit  $K_{D,sol}$ -Werten zu jedem Signal im Protonenspektrum. Die Bindungskonstanten wurden durch eine Langmuir-Isotherme als Ausgleichkurve der STD-Amplifikationsfaktoren erhalten

Durch ein STD-Titrationsexperiment, bei dem unterschiedliche Konzentrationen von  $\alpha$ -MeMan in Gegenwart von ConA gemessen wurden, konnte eine Dissoziationskonstante  $K_{D,sol}$  von 180 – 280  $\mu$ M (Abbildung 25) ermittelt werden. Dieser Wert stimmt mit den Literaturdaten anderer Messmethoden (SPR:  $K_{D,sol} = 100 - 200 \mu M^{210}$ ; ITC:  $K_{D,sol} = 120 - 130 \mu M^{209}$ ) recht gut überein. Dabei muss berücksichtigt werden, dass die STD-Methode generell zu etwas erhöhten Bindungskonstanten führt (wegen genereller NMR-Parameter).<sup>211,212</sup> Die Dissoziationskonstanten für die einzelnen Protonen sind in der Tabelle in Abbildung 25 aufgeführt. Die  $K_D$ -Werte für die Protonen H-4 und H6a, sowie H5 und H-6b konnten im NMR-Spektrum nicht aufgelöst werden und stellen somit nur durchschnittliche  $K_D$ -Werte der beiden Protonensignale dar. Der Unterschied der  $K_D$ -Werte von Protonen am gleichen Liganden lässt sich durch eine verstärkte Interaktion mancher Protonen des Liganden mit dem Protein (z.B. durch räumliche Nähe oder unterschiedlicher Sättigungseffizienz) erklären.

Im Allgemeinen wird der kleinste gemessene  $K_{D,sol}$  Werte als die tatsächliche Bindungskonstante angegeben.<sup>206</sup> Da im Folgenden ein Vergleich zwischen dem bekannten Liganden  $\alpha$ -MeMan und den beiden synthetisierten trimeren Liganden **65** und **67** erfolgen soll (Abbildung 26), wird in diesem Fall ein Signal gewählt, welches in allen Strukturen gut aufgelöst wird. Dies war für alle getesteten Strukturen das Signal des H-2, das zudem in allen Verbindungen den größten Sättigungseffekt aufwies.

#### 4. Resultate und Diskussion

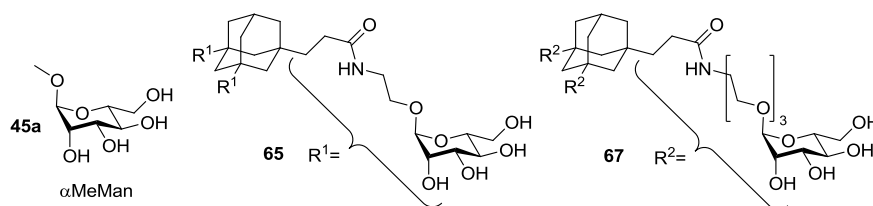


Abbildung 26 Liganden, die mit dem STD-NMR-Experiment auf ihre Bindungseigenschaften gegenüber ConA untersucht wurden.

Die STD-Spektren der beiden Verbindungen zeigten sowohl spezifische Interaktionen mit dem Protein (am Kohlenhydratepitop) als auch unspezifische STD-Signale, die von Protonen des Adamantyl-Gerüsts verursacht werden (Abbildung 27).

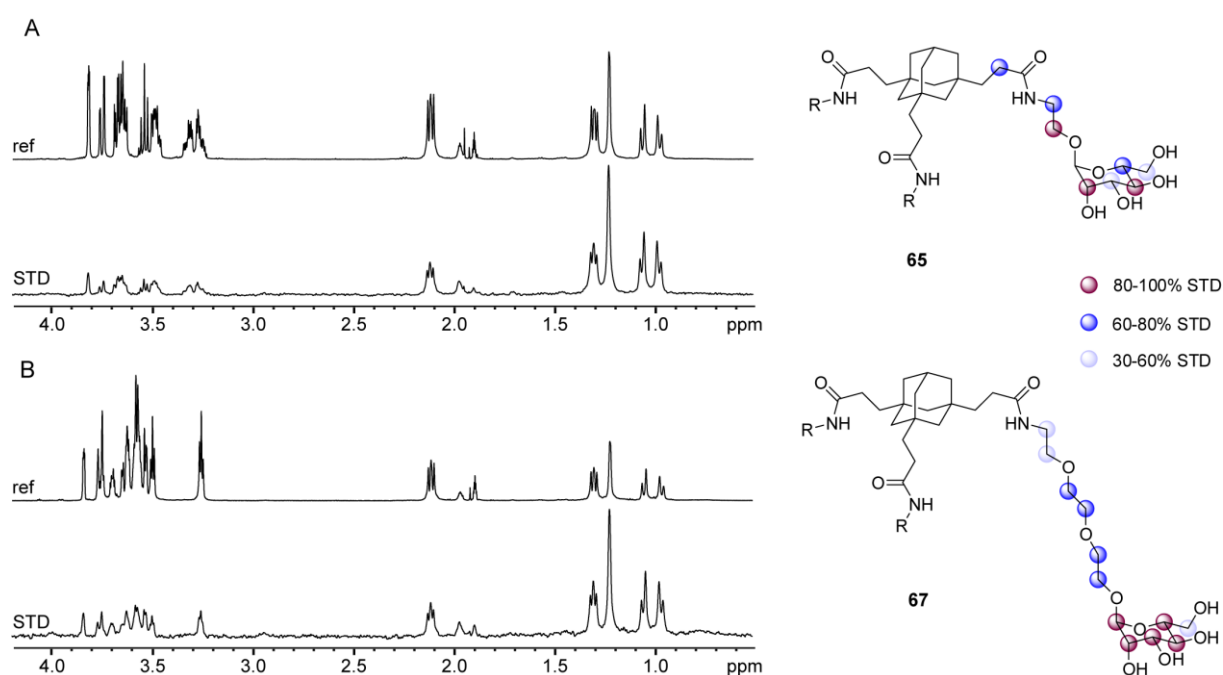


Abbildung 27 STD-Spektren von Verbindung A) **65** und B) **67** inklusive Epitopemarkierungen anhand der STD-Effekte (nur Linker und Kohlenhydrateil berücksichtigt), 600 MHz STD-Spektrum, gemessen in 50 mM NaOAc-Puffer (deuteriert), pH = 4.7.

Bei diesem Spektrum ist ebenso zu beachten, dass die beiden Linker in **65** und **67** zum Teil an der Bindung beteiligt sind. Die  $K_{D,sol}$  Werte wurden in gleicher Weise wie bei  $\alpha$ -MeMan, durch nicht-lineare Regression nach dem one-site-binding Modell<sup>213</sup> mit Gleichung 6 erhalten (Abbildung 28).

## 4. Resultate und Diskussion

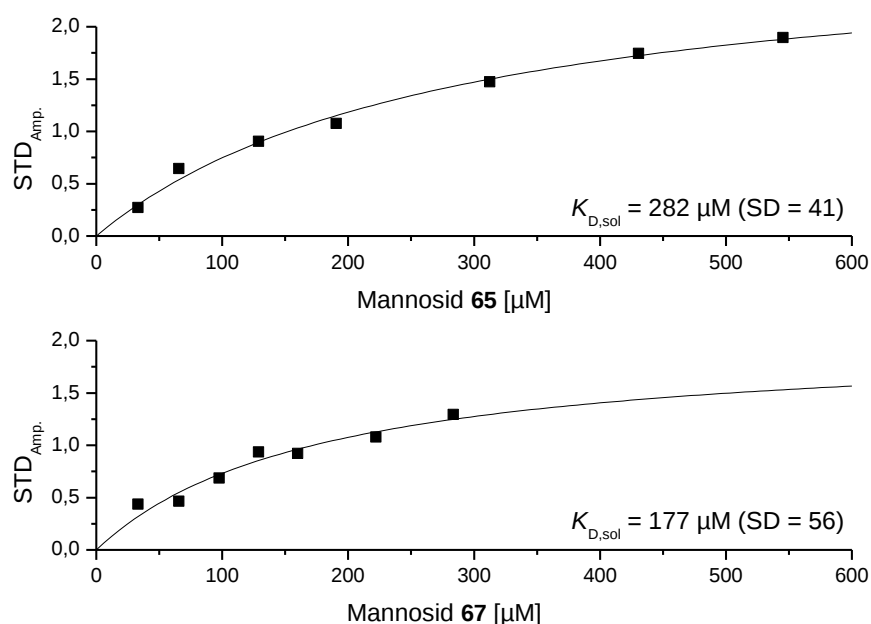


Abbildung 28 Bestimmung der  $K_{D,sol}$  Werte für die Trimere **65** und **67**

An dieser Stelle fällt auf, dass alle Mannosylderivate in derselben Größenordnung binden, was nicht überraschend war. Es ist auch kein multivalenter Bindungsmodus wahrscheinlich, da die Konjugate zu klein sind, um mit mehreren ConA-Bindungsdomänen Wechselwirkungen auszubilden. Verblüffend war wiederum der Befund, dass **67**, mit längerem Linker, bessere Bindungseigenschaften ( $K_{D,sol}$  (**67**) =  $177 \pm 56 \mu\text{M}$ ) aufweist, als Verbindung **65**, mit kürzerem Linker ( $K_{D,sol}$  (**65**) =  $282 \pm 41 \mu\text{M}$ ). Aus der Auswertung der individuellen STD-Signale (sog. *epitope mapping*) geht hervor, dass die Interaktion der Protonen in **67** mit ConA mit der Entfernung vom Zucker abnimmt und an der Amidstruktur nahezu komplett zum Erliegen kommt (vgl. Abbildung 27). Diesem Befund sollte noch mit weiteren Studien auf den Grund gegangen werden, nicht zuletzt um sicher zu stellen, dass der Bindungsmodus bei allen drei Mannosylderivaten der gleiche ist. Aus diesem Grund wurden einfache Modelling-Experimente durchgeführt, um eine bessere Vorstellung von der Bindung der Liganden zu ConA zu erhalten.

### 4.2.1.1 Unterstützende Studien zur Aufklärung des Bindungsmodus

Durch das STD-Experiment ist es neben der Bestimmung der Bindungskonstanten auch möglich, ein genaues Bild der Interaktionen des Proteins mit dem Liganden zu bekommen. Wie bereits in Abbildung 27 zu sehen, ist die Wechselwirkung am Kohlenhydratepitop stärker als am Linkermolekül oder am Adamantyl-Grundgerüst. An dieser Stelle kann angenommen werden, dass der Bindungsmodus der drei Liganden **45a**, **65** und **67** vergleichbar ist. Das heißt, dass diese Liganden an dergleichen Stelle an das Protein binden und nahezu dieselbe Konformation aufweisen.

#### 4. Resultate und Diskussion

Um ein genaueres Bild von der Bindungssituation zu bekommen, wurden Dockingstudien durchgeführt, welche eine noch bessere Visualisierung der Protein-Ligand Interaktionen ermöglichen.<sup>xvii</sup> Die Dockingstudien wurden mit Hilfe der Software Glide durchgeführt. Bei der Auswahl der Proteinstruktur aus der Proteindatenbank PDB wurde darauf geachtet, dass es sich um dasselbe Protein aus dem gleichen Organismus wie die in den Bindungsexperimenten handelt (*Concanavalin A* aus *Canavalia ensiformis*). Es wurde die Struktur ausgewählt, welche die beste Auflösung aufwies (PDB-Eintrag 1I3H, Auflösung: 1.2 Å).<sup>214</sup>

Bei dem kokristallisierten Liganden handelt es sich um  $\alpha$ 1-2 Mannobiose (Man-( $\alpha$ 1-2)Man, Abbildung 29). Dieser interagiert nahezu ausschließlich über die terminale Mannosyleinheit mit dem Lektin. Dies entspricht den Erwartungen für ConA, welches bekannt dafür ist, terminale Mannosylreste zu binden. Die ersten Dockingexperimente wurden mit  $\alpha$ MeMan durchgeführt, um herauszufinden, ob eine dem nativen Liganden ähnliche Bindungspose unter den verwendeten Einstellungen eingenommen wird. Es konnten exakt dieselben Interaktionen zwischen Protein und Ligand gefunden werden, wie bereits bei  $\alpha$ 1-2 Mannobiose (vgl. Abbildung 29).

Nachfolgend mussten die trimeren Strukturen **65** und **67** auf Grund von Programmlimitierung in der Handhabung von frei rotierbaren Bindungen während des Dockingprozesses auf monomere Analoga (mono-**65** und mono-**67**) reduziert werden. Die Resultate zeigen, dass auch hier die Interaktion mit dem Protein von den Mannosylresten ausgeht und die Bindungsposen nahezu identisch sind (Abbildung 29). Diese Ergebnisse sind konsistent mit den Resultaten aus den STD-Experimenten und bestätigen die postulierte Ähnlichkeit der Bindungskonformationen der trimeren Glycokonjugate im Vergleich zu dem bekannten Liganden  $\alpha$ MeMan.

---

<sup>xvii</sup> Die Dockingstudien wurden in Kooperation mit Bernhard Poll durchgeführt.

#### 4. Resultate und Diskussion

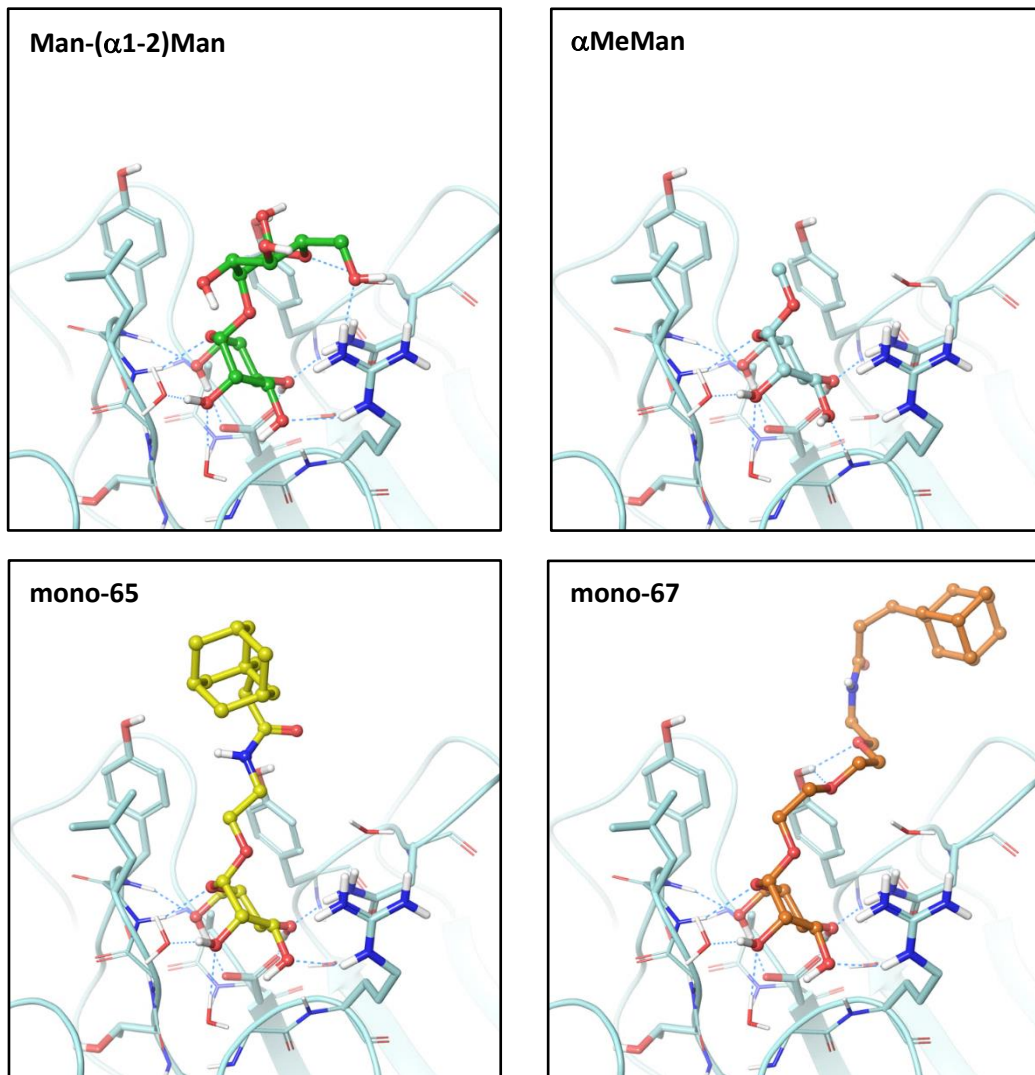


Abbildung 29 Struktur des kokristallisierten Liganden  $\alpha$ 1-2 Mannobiose und Dockingergebnisse der Mannosederivate  $\alpha$ MeMan, mono-65 und mono-67.

Diese Ergebnisse erklären auch, wieso alle Liganden mit einer vergleichbaren Affinität an ConA binden.

## 4. Resultate und Diskussion

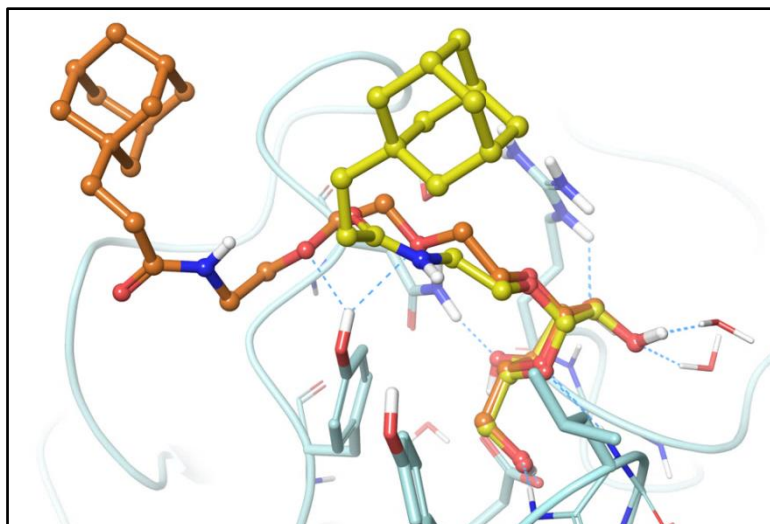


Abbildung 30 Vergleich der Dockingposen von mono-**65** und mono-**67**.

Bei genauerer Betrachtung der Dockingposen von mono-**65** und mono-**67** fällt noch ein weiteres Detail ins Auge (Abbildung 30). Im STD-Experiment konnte schon eine leicht stärkere Bindung ( $K_{D,sol}$  (**65**) = 282  $\mu\text{M}$  und  $K_{D,sol}$  (**67**) = 177  $\mu\text{M}$ ) des Derivats mit längerem Linker gegenüber dem mit dem kürzeren Linker beobachtet werden. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung könnten zwei potentielle Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Sauerstoffen des Ethylenglycol-Linkers und der Hydroxyfunktion einer nahe der Bindungsdomäne zum Zuckerepitop liegenden Tyrosinseitenkette sein. Diese Interaktionen sind bei dem Derivat mit kürzerem Linker nicht möglich. Dies könnte ein erstes Indiz sein, wieso **67** eine stärkere Bindung zu ConA aufweist als **65**.

### 4.2.2 Evaluierung der Bindungseigenschaften auf einer Oberfläche: Der Oberflächenassay

Als zweite Plattform, welche auch für Multivalenzeffekte sensitiv sein sollte, wurde ein Oberflächen-basierter Assay gewählt. Diese Herangehensweise ist in dem Forschungsfeld der Kohlenhydrat-Lektin Wechselwirkungen verbreitet. Es gibt eine Vielzahl möglicher Anwendungen, angefangen bei der Identifizierung von Lektinen aus komplexen biologischen Proben bis hin zu Hochdurchsatz-Screening von Substanzbibliotheken gegenüber Lektinen, um aktive Substanzen zu finden.<sup>215</sup> Dabei besitzen Oberflächen-basierte Verfahren den Vorteil, schnell Spezifität und Affinität gegenüber den getesteten Lektinen zu bestimmen.

#### 4.2.2.1 Kohlenhydratarray: Fluoreszenzassay gegenüber ConA

Aufgrund der Beschaffenheit der dargestellten Glykokonjugate sollte der Oberflächenassay sensitiv für eventuelle Multivalenzeffekte sein. Hierfür sollte zunächst ein Glycoarray erstellt werden, bei dem die Kohlenhydratderivate kovalent auf der Oberfläche eines Glaschips gebunden wurden, und im Anschluss mit fluoreszierenden Lektinen inkubiert und mittels Plate-Reader ausgelesen wurden. Dieses Assaydesign wurde bereits zuvor in der Arbeitsgruppe von Prof. Maison in Kooperation mit

#### 4. Resultate und Diskussion

der Arbeitsgruppe von Prof. Seibel angewandt, um Lektinmimetika auf ihrer Zuckerspezifität zu untersuchen.<sup>XVIII216</sup>

Die Immobilisierung erfolgte auf Glaschips, welche mit einem NHS-Aktivester funktionalisiert waren. Die verbleibenden NHS-Ester Gruppen wurden in einem zweiten Schritt mit Ethanolamin deaktiviert, sodass keine reaktiven Gruppen auf der Oberfläche verbleiben, welche die Messung durch Wechselwirkungen mit funktionellen Gruppen des Lektins oder des Liganden verfälschen würden. Anschließend wurde mit Fluoreszenz-markierten Lektinen inkubiert. Nach dem Waschen der ungebundenen Lektine und Trocknung in der Zentrifuge erfolgt die Detektion mit einem Microarrayreader (Abbildung 31).

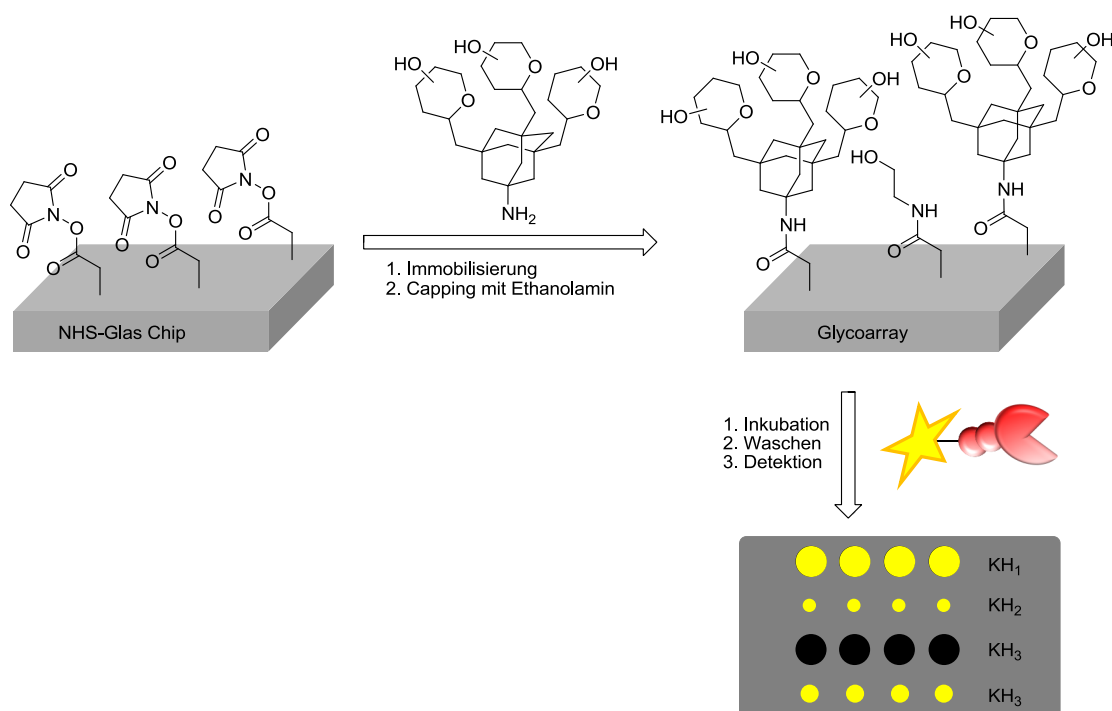


Abbildung 31 Schematischer Ablauf der Oberflächenassays mit immobilisierter Kohlenhydratkomponente: Zuerst erfolgte die Immobilisierung der Amino-Funktionalisierten Kohlenhydratderivate. Die Oberfläche wurde in einem zweiten Schritt mit Ethanolamin gesättigt. Im Anschluss wurde mit einem fluoreszenzmarkierten Lektin inkubiert. Nachdem ungebundene Lektine durch Waschschrte entfernt wurden, wurde die Fluoreszenzintensität mit einem Microarrayreader ausgelesen.

Zur ersten Orientierung wurden die Verbindungen **104**, **89** und **90** auf einen Glaschip immobilisiert und mit einem kommerziell erwerblichen Alexa-647 markierten ConA inkubiert (Abbildung 32). Es ist zu erkennen, dass alle Derivate eine Bindung zu ConA zeigen. Aufgrund des Assaydesigns (Glycoarray) ist es jedoch schwer, weitere Schlüsse aus diesen ersten Experimenten zu ziehen.

<sup>XVIII</sup> Die Oberflächenassays wurden in Kooperation mit Elisabeth Memmel aus der AG Seibel in Würzburg durchgeführt.

## 4. Resultate und Diskussion

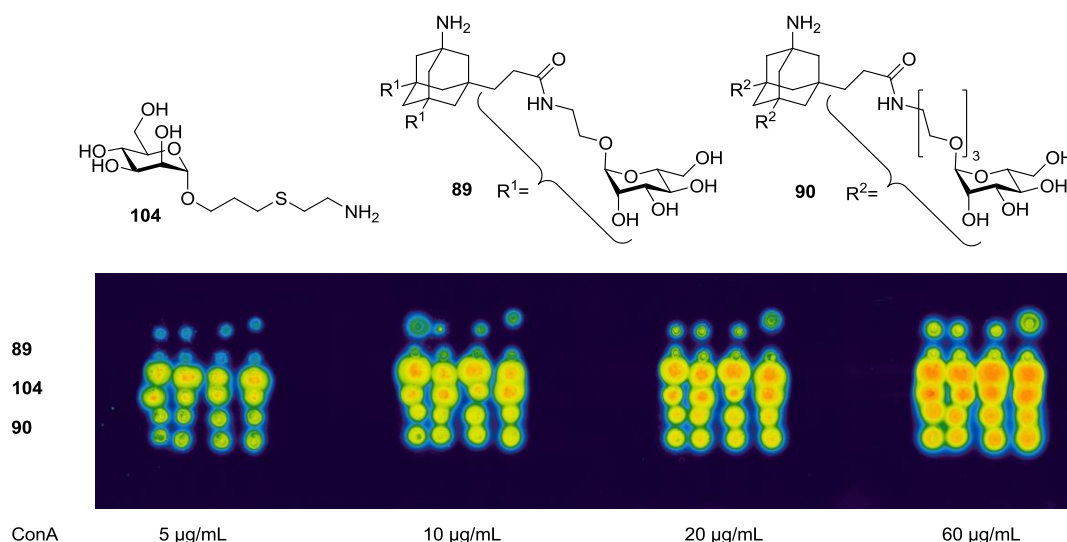


Abbildung 32 Qualitativer Fluoreszenzassay: Waagerecht finden sich immer dieselben Kohlenhydrate (Bild oben), welche aus einer Lösung (1 mM) immobilisiert wurden (je acht Spots pro Kohlenhydrat). Die unterschiedlichen Blöcke stellen verschiedene Konzentrationen des Alexa647 markierten ConA dar, mit dem inkubiert wurde. Die Konzentration erhöht sich pro Block von links nach rechts. Zur Detektion wurde der Glaschip bei einer Wellenlänge von 635 nm und bei  $670 \pm 20$  nm ausgelesen. In der Falschfarbendarstellung repräsentiert orange die größte Fluoreszenzintensität.

Es ist schwer, die Substanzen untereinander zu vergleichen, da keinerlei Aussagen über die Oberflächenbelegung der Chips oder die genaue Stöchiometrie auf der Oberfläche möglich sind. Aus diesen Gründen kann auch keine Aussage über multivalente Bindungsmodi getroffen werden, da auch das monomere Derivat **104** auf der Oberfläche des Chips multivalent vorliegt.

### 4.2.2.2 Lektinarray: Fluoreszenzassay und Lektin-Screening

Um Multivalenzeffekte zu visualisieren, wurde eine umgekehrte Anordnung von Ligand und Lektin gewählt, um so Unterschiede in der Bindung der trimeren Derivate **91** und **92** gegenüber dem monomeren Derivat **93** sichtbar zu machen (Abbildung 33).<sup>xix</sup>

Zunächst wurde ein qualitativer Assay durchgeführt. Hierfür mussten die Bedingungen zur Immobilisierung der Lektine optimiert werden, damit sichergestellt ist, dass die Proteine auf der Oberfläche gebunden werden. Die Bindung erfolgte über Amine in den Seitenketten des Proteins (z.B. Lysin). Nachdem dies anhand von ConA optimiert wurde, konnte ein qualitatives Screening durchgeführt werden. Dies zeigt sowohl die einfache Anwendbarkeit dieser Methodik, als auch die Notwendigkeit einer nennenswerten Affinität von Ligand zu Lektin. Schwache Binder werden bei diesem Assay nicht berücksichtigt, da diese bei den Waschschritten nach der Inkubation weggespült werden. Die resultierende Fluoreszenzintensität ist zu gering, um eine verlässliche Aussage zu

<sup>xix</sup> Die Optimierung der Immobilisierung der Lektine wurde durch Elisabeth Memmel von der AG Seibel in Würzburg durchgeführt.

#### 4. Resultate und Diskussion

treffen. Für dieses Screening wurden ConA und drei weitere Lektine, *Lens culinaris* Lektin (LcH), *Pisum sativum* Lektin (PSA) und *Galanthus nivalis* Lektin (GNA), immobilisiert und auf ihre Affinität gegenüber den Mannosylderivaten **91** und **92** untersucht. Diese Lektine wurden ausgewählt, da sie bekannte Binder von Mannosyl-Resten sind, aber eine unterschiedliche strukturelle Selektivität im Hinblick auf die Anordnung der Mannosyl-Reste aufweisen.<sup>44</sup>

Es wurden die verschiedenen Lektine aus unterschiedlich konzentrierten Stammlösungen (50, 100, 250, 500 µg/mL) immobilisiert, die Oberfläche mit Ethanolamin desaktiviert und anschließend mit den Fluoreszenz-markierten Derivaten **91**, **92** und **93** inkubiert. Nach Waschschritten mit PBST/PBS-Puffer und Wasser wurde das Fluoreszenzsignal mit einem Microarrayreader ausgelesen (Abbildung 33).

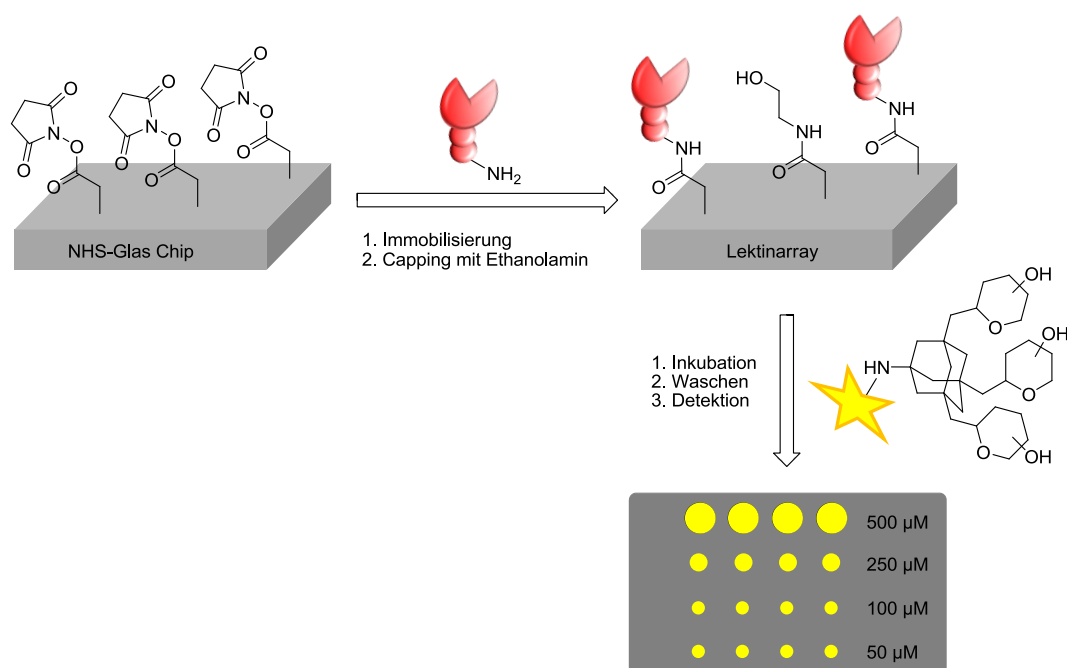


Abbildung 33 Schematischer Ablauf der Oberflächenassays mit immobilisierter Lektinkomponente: Zuerst erfolgte die Immobilisierung der Lektine. Die Oberfläche wurde in einem zweiten Schritt mit Ethanolamin gesättigt. Im Anschluss wurde mit einem fluoreszenzmarkierten Kohlenhydrat inkubiert. Nachdem ungebundene Kohlenhydrate durch Waschschriffe entfernt wurden, wurde die Fluoreszenzintensität mit einem Microarrayreader ausgelesen.

Das Monomer **93** bindet schwach an die Lektine und die resultierende Fluoreszenz ist dementsprechend zu gering, um ein auswertbares Ergebnis zu erzielen (Abbildung 34). Dieser Test mit **93** kann somit als außerhalb des Detektionslimits (LOD) angesehen werden und verdeutlicht, dass lediglich hinreichend starke Binder mit dieser Methode identifiziert und die Bindung quantifiziert werden kann.

#### 4. Resultate und Diskussion

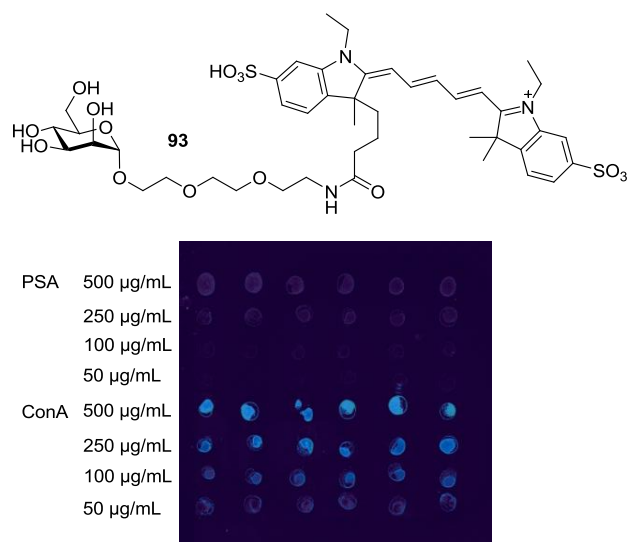


Abbildung 34 Fluoreszenzbild von ConA und PSA nach Inkubation mit einer 50 µM-Lösung **93** (6-fach Bestimmung).

Dieser Test wurde zudem mit höheren Konzentrationen an Ligand durchgeführt, was aufgrund des schlechten Signals-zu-Rausch-Verhältnisses keine Verbesserung darstellte.

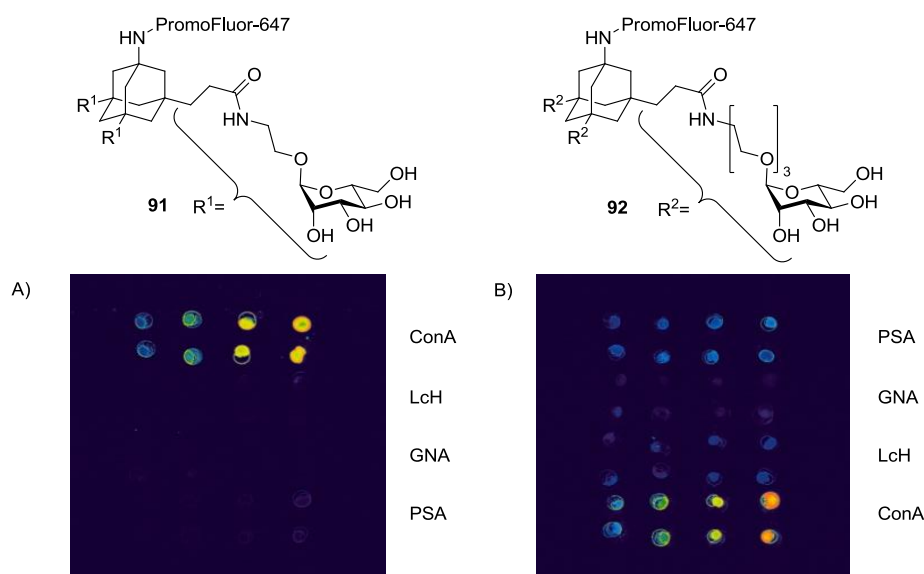


Abbildung 35 Fluoreszenzbild des Lektinscreenings: A) Inkubation mit einer 0.1 µM Lösung von **91**, von links nach rechts: 50, 100, 250, 500 µg/mL Lektin immobilisiert. B) Inkubation mit einer 0.1 µM Lösung von **92**, von links nach rechts: 50, 100, 250, 500 µg/mL Lektin immobilisiert. Jeweils zweifach Bestimmung.

Bei den Trimeren lässt sich ein deutlich besseres Signal-zu-Rausch-Verhältnis abbilden (Abbildung 35). Wie bei dem Glycoarray zuvor kann man bereits optisch erkennen, dass beide trimeren Verbindungen **91** und **92** stärker an ConA binden als der monovalente Ligand **93**. Ebenso kann man sehen, dass die anderen Lektine schwächer gebunden werden als ConA. Aufgrund der unterschiedlichen Spezifitäten der Lektine wurde wie erwartet ConA, welches von den getesteten

## 4. Resultate und Diskussion

Lektinen am besten an kleine, endständige Mannosyl-Einheiten bindet, gebunden. PSA und LcH binden beide gut an *N*-Glycane, welche eine Kern-Fucosylierung enthalten. Dass diese Lektine endständige Mannosyl-Einheiten schwächer binden als ConA, ist in der Literatur bekannt.<sup>213,217</sup>

Um die Bindungseigenschaften der trimeren Mannoside **91** und **92** zu evaluieren, wurde für die quantitativen Assays ConA als verlässlicher Bindungspartner ausgewählt. Zusätzlich wurden auch PSA und LcH getestet, wobei diese Ergebnisse gesondert einzuordnen sind, da die Experimente am Detektionslimit der Methode durchgeführt wurden. Das Monomer **93** wurde bei diesen Tests nicht verwendet, da bei den qualitativen Tests gezeigt wurde, dass sich die Bindungsstärke außerhalb des messbaren Bereiches befindet.

### 4.2.2.3 Lektinarray: Fluoreszenzassay zur Bestimmung der Bindungskonstanten

Bei der quantitativen Bestimmung der Bindungsstärke mittels Lektinarray wurden die Lektine aus unterschiedlich konzentrierten Lösungen immobilisiert und mit unterschiedlich konzentrierten Lösungen an Fluoreszenz-markiertem Glycokonjugat inkubiert, gewaschen und detektiert. Es wurden jeweils sechsfach Bestimmungen durchgeführt. Die ausgelesene Fluoreszenzintensität wurde dann gegen die Konzentration aufgetragen und mit Gleichung 8 eine Ausgleichskurve nach dem *one-site-binding* Modell<sup>213</sup> erstellt (Abbildung 36)<sup>213</sup>.

$$F = \frac{F_{max} [c]}{[c] + K_{D,surf}} \quad (8)$$

In Abbildung 36 ist die graphische Auswertung der Messungen für das trimere Mannosid **92** und ConA dargestellt. Die  $K_{D,surf}$ -Werte, die durch die Ausgleichskurve ermittelt wurden, sind jeweils inklusive des Standardfehlers im Graph dargestellt. Bei näherer Betrachtung wird an diesem Beispiel deutlich, dass die Beladung der Chips (50, 100, 250 500 µg/mL), keinen Einfluss auf die  $K_{D,surf}$ -Werte hat. Diese liegen alle im Bereich von 0.41 - 0.65 µM. Ebenso ist der jeweilige Fehler klein und die Qualität der Messpunkte hoch, was eine gute Korrelation der Ausgleichskurve zur Folge hat. Diese Qualität der Messung ist nicht bei allen gemessenen Kombinationen gewährleistet (**91** und **92** gegenüber ConA, PSA und LcH). Es gab teilweise Schwierigkeiten bei der Auswertung der Messwerte, da die Schwankung der Fluoreszenzmesswerte, die unvermeidlich bei manuellem Spotting auftreten, die Reproduzierbarkeit verringerten. Es wurde bei der Auswertung der  $K_{D,surf}$ -Werte darauf geachtet, dass die Qualität der Messpunkte ein hohes Maß erreichte und die resultierende Ausgleichskurve genügend Messwerte im „wichtigen“ Bereich der Krümmung hatte. Aus diesem Grund ist die verwendete Oberflächenbeladung immer mit dem jeweiligen  $K_{D,surf}$ -Wert angegeben. Im Falle einer nicht eindeutigen Auswertung wurde immer der größere  $K_{D,surf}$ -Wert angegeben.

## 4. Resultate und Diskussion

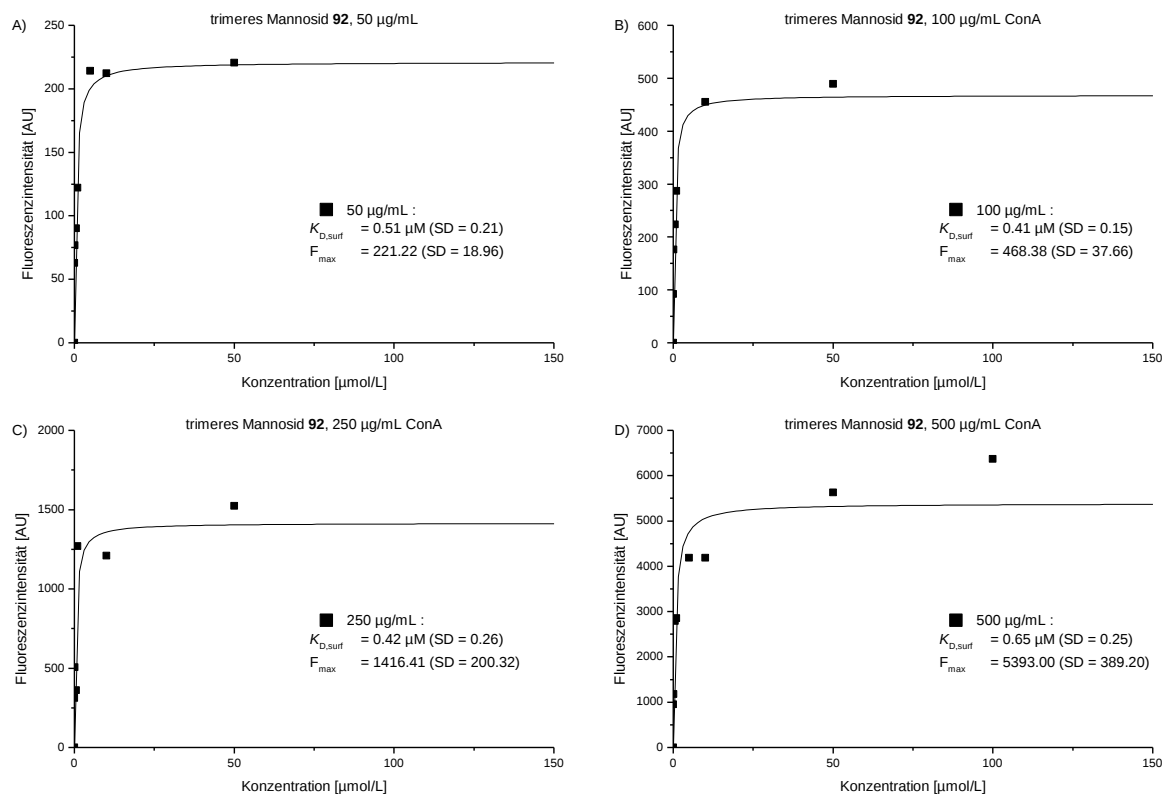


Abbildung 36 Graphen der quantitativen Analyse der Bindungseigenschaften von **92** zu ConA.

Da, wie an diesem exemplarischen Beispiel gezeigt wurde, die Oberflächenbeladung keinen Einfluss auf die Bindungskonstante zu haben scheint, können die erhaltenen  $K_{D,surf}$ -Werte auch unabhängig von diesem Parameter verglichen werden. Die monomere Vergleichssubstanz **93** wies zu schwache Bindungen gegenüber den Lektinen auf und konnte nicht ausgewertet werden.

Tabelle 4 Bindungskonstanten ( $K_{D,surf}$ ) für Glycokonjugate **91**, **92** und **93** gegenüber den Lektinen ConA, PSA und LcH.

| Mannosid  | $K_{D,surf}$ [μM] ConA | $K_{D,surf}$ [μM] PSA   | $K_{D,surf}$ [μM] LcH |
|-----------|------------------------|-------------------------|-----------------------|
| <b>93</b> | -                      | -                       | -                     |
| <b>91</b> | $9.04 \pm 6.41^{[a]}$  | $23.36 \pm 12.54^{[a]}$ | -                     |
| <b>92</b> | $0.51 \pm 0.23^{[a]}$  | $1.80 \pm 0.96^{[b]}$   | $4.00 \pm 1.55^{[b]}$ |

Die Bindungskonstanten wurden durch eine Langmuir-Isotherme als Ausgleichskurve der Fluoreszenzdaten des Arrays erhalten. A) Es wurde die Messung bei der Lektinkonzentration 50 μg/mL ausgewertet. B) Es wurde die Messung bei der Lektinkonzentration 500 μg/mL ausgewertet.

In Abbildung 37 sind vergleichend die ausgewerteten Graphen für alle Verbindungen und Lektine dargestellt.

#### 4. Resultate und Diskussion

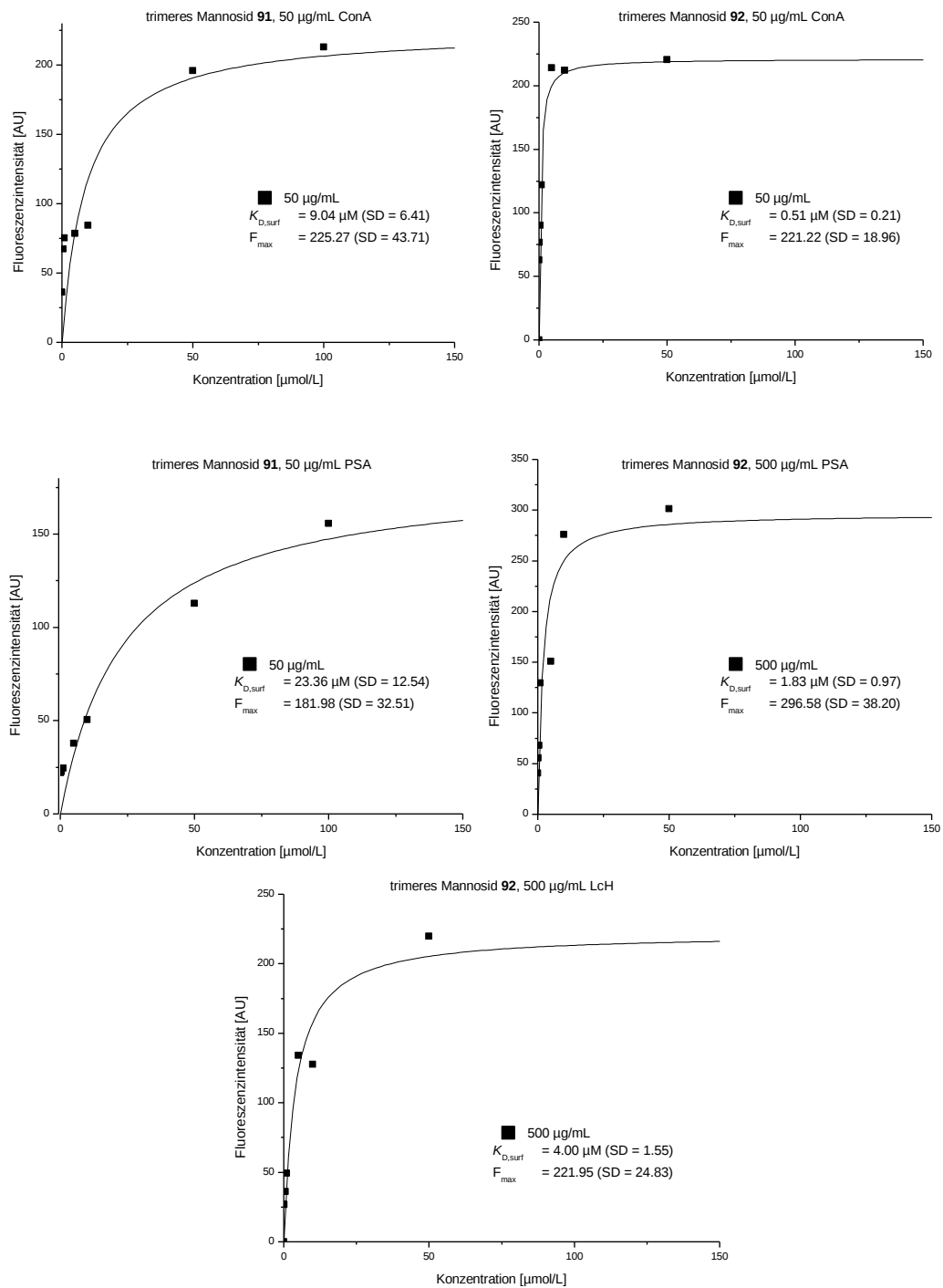


Abbildung 37 Graphen zu den bestimmten Bindungskonstanten.

Auffällig ist, dass die absolute Fluoreszenzintensität bei einer schwachen Bindung, wie zum Beispiel bei Verbindung **92** gegenüber dem Lektin LcH sehr schwach ausgeprägt ist und sich am Rande dessen bewegt, was noch auswertbar ist. Generell lässt sich sagen, dass die Datenpunkte, auch wenn sie durch den Spotting-Prozess fehlerbehaftet sind, alle recht gut durch die Ausgleichskurve

#### 4. Resultate und Diskussion

repräsentiert werden. Die Streuung fällt hierbei geringer aus, als bei vergleichbaren vorangegangenen Messungen.<sup>216</sup>

Der Unterschied der erhaltenen  $K_D$ -Werte, die mit den unterschiedlichen Methoden ermittelt wurden, ist beachtlich. Eine mögliche Erklärung kann die Multimerisierung der Lektine sein. Unter den Messbedingungen der STD-Experimente liegt ConA als Dimer vor (Acetatpuffer, pH 4.7), und besitzt somit zwei Bindungsdomänen. Bei der Immobilisierung mit PBS-Puffer (pH 7.4) liegen Tetramere mit vier Bindungsdomänen vor. Wie bereits diskutiert, war es nicht möglich, die Lösungsexperimente unter denselben Pufferbedingungen (pH-Wert, Konzentration) durchzuführen. Da für MeMan kein Unterschied in den Bindungskonstanten im Vergleich zu anderen Messmethoden verzeichnet werden konnte ( $K_{D,sol}$  (STD) = 200  $\mu$ M,  $K_{D,sol}$  (ITC) = 120 – 130  $\mu$ M,  $K_{D,sol}$  (SPR) = 100 – 200  $\mu$ M), wurde dieser Unterschied hingenommen. Generell sind die Bindungseigenschaften von Lektinen unabhängig vom pH-Wert. Was allerdings schwierig zu trennen ist, ist der Effekt auf die Erkennung von größeren Glykokonjugaten, da Lektine als „pattern-recognition“ Rezeptoren bekannt dafür sind, Muster zu erkennen. Ein weiterer Grund für die erhöhte Bindungsaffinität auf den Chips könnte die Architektur der Oberfläche sein. Da die synthetisierten Glykokonjugate mit einem Abstand von unter 2 nm zwischen zwei der drei Kohlenhydratreste zu klein sind, um mehrere CRD's von ConA auf einmal zu binden, kann als einzige multivalente Bindungsmechanismen die statistische Rückbindung in Frage kommen. Damit ist der Vorgang gemeint, dass der Ligand, sobald er nichtmehr vom Rezeptor gebunden wird, bereits zwei weitere potentiell zu bindende Saccharidstrukturen in der Nähe der CRD platziert hat. Diese räumliche Nähe begünstigt eine weitere Bindung, was sich in einer festeren Bindung, also einem kleineren  $K_D$ -Wert, niederschlägt. Dies wird jedoch nur bei dem Oberflächenassay deutlich, da hier die lokale Konzentration an Bindungsstellen im Vergleich zu dem in Lösung stattfindenden STD-NMR drastisch erhöht ist. Darüber hinaus gibt es auch Unterschiede in der Solvatisierung beim Vergleich von Oberfläche und Lösung.

Im Gegensatz zu den  $K_{D,sol}$ -Werten, die in Lösung bestimmt wurden, wird bei der Oberflächen gestützten Messung keine „getrennte“ Rezeptor-Ligand Paarung gemessen, sondern vielmehr eine Proteinoberfläche gegenüber Liganden in Lösung (oder im Falle von Glycoarray eine Kohlenhydratoberfläche gegenüber einzelnen Lektinen in Lösung). Dies ist ein Ansatz, der dem natürlichen Vorbild, nämlich einer Zelloberfläche, näher kommt als die Messungen in Lösung. Dennoch ist es ein artifizielles Konstrukt, da in natürlichem Umfeld weder einzig und allein ein Lektin auf der Oberfläche exprimiert wird, noch die Lektine „fest“ an ihrem Platz verankert sind. Darüber hinaus besitzt dieser Ansatz auch den Nachteil, dass schwache Binder, wie das monomere Mannosederivat **93**, nicht gemessen werden können. Dennoch stellt diese Assay-Technologie einen wichtigen Schritt zum Verständnis des Glycocodes dar. Sie besitzt die Fähigkeit, die komplexen und

#### 4. Resultate und Diskussion

heterogenen biologischen Oberflächen vereinfacht darzustellen und gezielt bestimmte Interaktionen zu charakterisieren. Ebenso ist es eine schnelle und einfache Methode zur Evaluation von Substanzbibliotheken gegenüber Lektinen, welche nicht durch eine Farbstoffmarkierung oder andere Reportermoleküle chemisch verändert werden müssen.

## 5 Zusammenfassung

Ziel dieser Doktorarbeit war die Synthese und Evaluierung von Glycokonjugaten auf Basis von Adamantan.

Basierend auf den bekannten Syntheserouten zu AB<sub>3</sub>-Adamantylgrundgerüsten wurde eine effiziente Methode entwickelt, welche die Aminotricarbonsäure **11** in einer einfachen Reaktionssequenz in Mengen von ca. 100 g zugänglich machte. Ausgehend von den Tricarbonsäuren konnten über eine Peptidkupplung Glycokonjugate mit verschiedenen Monosaccharidbausteinen dargestellt werden (Abbildung 38).

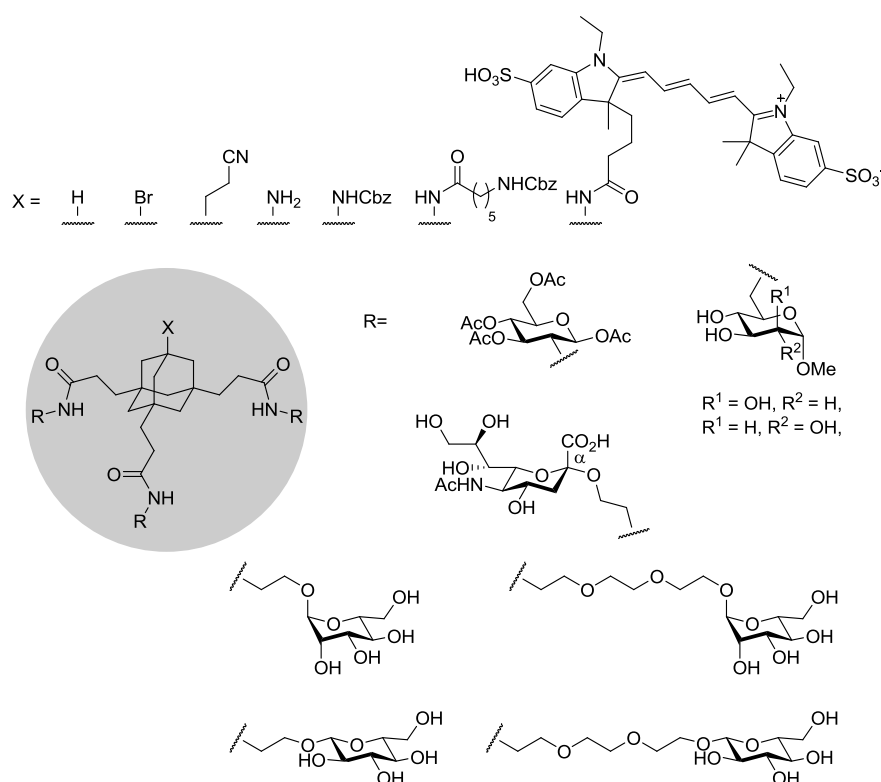


Abbildung 38 Diverse Glycokonjugate, die in dieser Arbeit synthetisiert wurden.

Es erwiesen sich vor allem die Kupplung der ungeschützten Kohlenhydratbausteine mittels HATU oder HBTU mit den Tricarbonsäuren als robuste Reaktionen mit Ausbeuten von 45 - 81%. Durch Staudinger-Kupplungen konnten auch geschützte Derivate in Ausbeuten von 53 - 68% synthetisiert werden. An verschiedenen Modellverbindungen konnte die breite Anwendbarkeit der AB<sub>3</sub>-basierten Adamantyl-Glycokonjugate demonstriert werden. Es hat sich gezeigt, dass die vierte Brückenkopfposition mittels Peptidkupplungschemie weiterhin adressierbar bleibt und dort beispielsweise Linker, eine Feste-Phase oder Farbstoffe angebracht werden können.

Im Anschluss an die Synthese der Glycokonjugate wurde ihre Aktivität gegenüber Lektinen in zwei speziell dafür entwickelten Assays bestimmt. Es wurde dabei darauf geachtet, dass die neu

## 5. Zusammenfassung

entwickelten Assaykonzepte vergleichbar zu literaturbekannten Methoden in diesem Bereich waren. Aus diesem Grund wurde das Lektin ConA für die Assays ausgewählt, da es ein sehr gut untersuchtes Lektin ist und häufig als Referenz verwendet wird.

Mit STD-NMR- Experimenten wurden die Bindungskonstanten von **65** und **67** gegenüber dem Lektin ConA bestimmt ( $K_{D,sol}$  (**65**) = 282  $\mu$ M und  $K_{D,sol}$  (**67**) = 177  $\mu$ M). Auf Basis dieser Experimente konnten Rückschlüsse auf den Bindungsmodus gezogen werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Bindung der trimeren Glycokonjugate **65** und **67** wahrscheinlich in gleicher Weise, wie die des bekannten Liganden  $\alpha$ MeMan geschieht. Diese Experimente wurden mit Dockingexperimenten untermauert und lieferten eine gute Visualisierung der experimentellen Ergebnisse. Ebenso konnte dort eine Interaktion des Linkers mit dem Protein gesehen werden, was ein Indiz für die bessere Bindung von **92** zu ConA liefert.

Der zweite Assay, ein Oberflächen-gestützter Fluoreszenzassay, zeigte dabei Sensitivität gegenüber Multivalenzeffekten. Mit den Verbindungen **91** und **92**, welche zuvor mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert wurden, konnte zunächst ein Lektinscreening durchgeführt werden. Hier wurde eine klare Präferenz für das Lektin ConA festgestellt. PSA und LcH zeigten im Vergleich deutlich höhere Bindungskonstanten gegenüber den getesteten trimeren Glycokonjugaten **91** und **92**. An das Lektin GNA wurde nicht gebunden.

Weiterhin konnte anhand dieses Assays Bindungskonstanten bestimmt werden. Für die trimeren Glycokonjugate **91** und **92** konnten Bindungskonstanten gemessen werden (ConA:  $K_{D,surf}$  (**91**) =  $9.04 \pm 6.41$   $\mu$ M,  $K_{D,surf}$  (**92**) =  $0.52 \pm 0.23$   $\mu$ M; PSA:  $K_{D,surf}$  (**91**) =  $23.36 \pm 12.54$   $\mu$ M,  $K_{D,surf}$  (**92**) =  $1.80 \pm 0.96$   $\mu$ M; LcH:  $K_{D,surf}$  (**92**) =  $4.00 \pm 1.55$   $\mu$ M). Die Bindungskonstante des monovalenten Liganden **93**, welcher vergleichbar mit dem im STD-Experiment eingesetzten  $\alpha$ MeMan war, konnte in diesem Assay nicht detektiert werden. Die Bindung zu ConA war zu schwach, sodass nach den Waschvorgängen kein Signal mehr detektiert werden konnte. Dies bestätigt die Annahme, dass der Oberflächenassay ermöglicht, Rückschlüsse auf die multivalenten Bindungsmoden der trimeren Glycokonjugate zu ziehen.

## 6 Summary

The aim of this thesis was the synthesis and evaluation of glycoconjugates based on adamantane.

Based on the known synthetic route for AB<sub>3</sub>-adamantyl scaffolds an efficient synthesis for the adamantyl-tricarboxylic acid on large scale (ca. 100g) was developed.

Peptide coupling reactions were used for the synthesis of glycoconjugates with different monosaccharide derivatives.

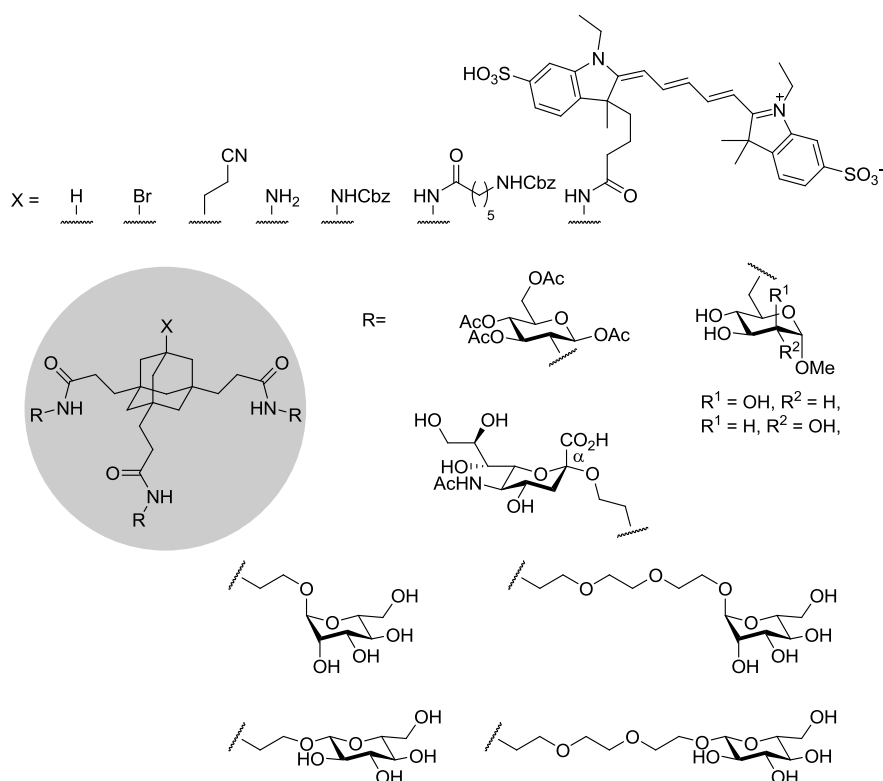


Abbildung 39 Synthesized glycoconjugates in this work.

For unprotected carbohydrate derivatives the couplings with HATU or HBTU and the tricarboxylic acid were achieved in yields between 45 – 81%. With use of the Staudinger-coupling protected carbohydrate derivatives could be synthesized as well in yields of 53 – 68%. With various model compounds the broad applicability of the AB<sub>3</sub>-based adamantyl glycoconjugates could be demonstrated. The fourth bridgehead position remains addressable with peptide coupling chemistry for the attachment of linkers, e.g. a solid phase or a dye.

The next step was the evaluation of the synthetic glycoconjugates as natural binders of carbohydrates in two new developed assays. The developed assays should be comparable with literature known methods. For this reason, the lectin ConA was selected for the assay, since it is a very well-studied lectin in the literature.

## 6. Summary

With an STD-NMR-experiment the binding constants of **65** and **67** with the lectin ConA were determined ( $K_{D,sol}$  (**65**) = 282  $\mu$ M und  $K_{D,sol}$  (**67**) = 177  $\mu$ M). This experiment was also used to obtain experimental data regarding the interaction of the lectin with the ligand and the binding mode. It could be shown that the binding of the trimeric glycoconjugates **65** and **67** will likely happen in the same manner as that of the known ligands  $\alpha$ MeMan. These experiments were supported with docking experiments and provided good visualization of the experimental results. Likewise, there could be seen an interaction of the linker with the protein, providing a first hint for the better binding of **92** to ConA.

The second assay, a surface based fluorescence assay showed sensitivity towards multivalency. With the compounds **91** and **92**, which have been previously labeled with a fluorescent dye, a lectin screening could be performed. A clear preference for the lectin ConA was detected. PSA and LCH showed significantly poorer binding constants compared to the tested trimeric glycoconjugates **91** and **92**. The lectin GNA was not bound.

For the trimeric glycoconjugates **91** and **92** binding constants could be measured (ConA:  $K_{D,surf}$  (**91**) =  $9.04 \pm 6.41$   $\mu$ M,  $K_{D,surf}$  (**92**) =  $0.52 \pm 0.23$   $\mu$ M; PSA:  $K_{D,surf}$  (**91**) =  $23.36 \pm 12.54$   $\mu$ M,  $K_{D,surf}$  (**92**) =  $1.80 \pm 0.96$   $\mu$ M; LcH:  $K_{D,surf}$  (**92**) =  $4.00 \pm 1.55$   $\mu$ M). The binding constant of the monovalent ligand **93**, which was comparable to that used in  $\alpha$ MeMan STD experiment, could not be detected in this assay. The binding to ConA was too weak. After washing steps, no signal could be detected. This confirms the assumption that the surface assay is able to show the multivalent binding modes (statistically rebinding) of the trimeric glycoconjugates.

## 7 Ausblick

Die in dieser Arbeit synthetisierten Glycokonjugate haben sich als vielversprechende Substanzen zur Bindung an Lektine erwiesen. Ebenso konnten in den neu entwickelten Assays vielseitige Informationen zur deren Bindung an Lektine gewonnen werden.

Um weitere Informationen über die Bindung der synthetisierten Glycokonjugate zu erhalten, könnte das Lektinscreening ausgeweitet werden und eine größere Anzahl an verschiedenen Lektinen hinsichtlich ihrer Aktivität gegenüber den Glyco- und Mannosiden getestet werden. Wenn Aktivität gefunden wurde, sollten diese Treffer mittels STD-NMR untersucht werden, um genauere Informationen über die Bindung von Ligand und Lektin zu erhalten. Insbesondere die Sialoside spielen hier eine interessante Rolle, da bekannt ist, dass multivalente Sialinsäurekonjugate antivirale Eigenschaften aufweisen.

Um mehr Informationen über die multivalenten Wechselwirkungen zwischen Lektinen, als pattern-recognition-Rezeptoren, und synthetischen Glycokonjugaten zu erlangen, sollten neue Glycokonjugate synthetisiert werden, welche einen längeren Linker besitzen und somit auch die mutlimeren Formen der Lektine zu adressieren. Hier kommt es zu Distanzen von 50 Å und mehr, sodass für eine Vernetzung von mehreren Bindungsdomänen sehr viel längere Ethylenglycol-Linker nötig sind. Auch über ein neues Linkerdesign könnte in diesem Zusammenhang nachgedacht werden. Es würde sich anbieten mehrere kleine Ethylenglycoleinheiten mittels Huisgen-Cycloaddition zu verknüpfen, um definierte Längen zu erhalten, welche dann über Peptidkupplungschemie am Adamantylgrundgerüst angebracht werden könnten.

Um das Konzept der synthetischen Oligosaccharidmimetika weiter voran zu treiben, sind in dieser Arbeit bereits grundlegende Techniken etabliert worden. Wie bereits zuvor erwähnt, unterliegen natürliche Oligosaccharide gewissen biologischen Schwankungen. Diese biologische Diversität kann bisher nur schwer abgebildet werden. Es wäre denkbar, anhand von STD-Daten und Modelling Experimenten die interagierenden Epitope eines Oligosaccharids mit dem entsprechenden Lektin zu identifizieren. In einem zweiten Schritt könnten die interagierenden Teile über ein Adamantylgrundgerüst arrangiert werden. Dies würde zu heterogenen Glycokonjugaten führen, welche bisher so nicht dargestellt wurden. Adamantan als Grundgerüst für solche Verbindungen wäre aus dem Grund des vierten Brückenkopfes sehr geeignet, da sich so die heterogenen Neoglycokonjugate auf einer Oberfläche oder einer Membran immobilisieren lassen. Dies könnte die Heterogenität der Glycocalyx noch besser abbilden als es mit homogenen Glycokonjugaten, wie sie hier vorgestellt wurden, möglich ist.

## 8 Experimenteller Teil

### 8.1 Arbeitstechnik

Die Durchführung luftempfindlicher Reaktionen geschah unter Verwendung der Schlenktechnik mit Stickstoff (5.0, Air Liquide GmbH, Stade) als Schutzgas. Dabei wurden ausgeheizte Glasgeräte und absolutierte Lösungsmittel verwendet, die nach Literaturmethoden gewonnen wurden.<sup>218</sup>

Die verwendeten Chemikalien stammten von den Firmen Aldrich, Fluka, Sigma, Merck und Lancaster. Die Qualität entsprach entweder „zur Synthese“ oder „*per analysis*“. Es erfolgte keine weitere Reinigung dieser Chemikalien.

### 8.2 Dockingmethoden

Die Modellierung-Berechnungen wurden mit der Software Schrödinger Suite 2014 durchgeführt.

### 8.3 Kohlenhydratassays

Die Glaschips wurden in einer Multifuge 1 L-R der Firma Heraeus, Hanau, mit einem Einsatz für 50 mL Falcons zentrifugiert. Die Intensitäten der Fluoreszenz wurden mit einem GenePix Personal 4100 A der Firma Axon Instruments/Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, ausgelesen und mit GenePix Pro 4.1 ausgewertet.

### 8.4 Chromatographie

#### 8.4.1 Säulenchromatographie

Bei der säulenchromatografischen Reinigung wurde als Trennmittel Kieselgel der Firma Macherey und Nagel GmbH & Co. KG, Düren, oder der Firma Merck KGaA, Darmstadt, mit einer Korngröße von 60-200 µm verwendet. Es kam vereinzelt zur Verwendung von Polygoprep® 100-50C<sub>18</sub> Kieselgel der Firma Macherey und Nagel GmbH & Co. KG, Düren. Die Reinigung erfolgte entweder isokratisch oder mit einem Gradienten.

Der Reaktionsverlauf der durchgeführten Reaktionen wurde mittels Dünnschichtchromatographie und/ oder Massenspektrometrie verfolgt. Für die Dünnschichtchromatographie wurden Fluorophor-beschichtete Kieselgelplatten (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) der Firma Macherey und Nagel GmbH & Co. KG, Düren, oder der Firma Merck KGaA, Darmstadt, genutzt. Die Detektion erfolgte durch UV-Licht (254 nm) oder Färbereagenzien. Zum Anfärben wurden folgende Reagenzien verwendet:

|            |                                                                                                               |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cersulfat: | 5 g Ammoniummolybdat, 0.1 g Cer(IV)sulfat, 90 mL H <sub>2</sub> O, 10 mL konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## 8. Experimenteller Teil

Schwefelsäure: 10% konz. Schwefelsäure in Ethanol

### 8.4.2 HPLC

Die semipräparative Chromatographie erfolgte an einer VWR Hitachi LaChrom Elite Anlage der Firma VWR International GmbH, Darmstadt (UV-Detektor (L-2400), einem Pumpensystem (L-2130) und einem Teledyne ISCO Foxy R1 Probensammler). Bei der Trennung fluoreszierender Verbindungen erfolgte die Detektion neben dem UV-Detektor (L-2400) mit einem Fluoreszenzdetektor (L2480).

Zur semipräparativen Trennung wurden folgende Säulen der Firma Macherey und Nagel GmbH & Co. KG, Düren, verwendet:

RP-18 (Nucleodur, VP 250x10 mm ID, Partikelgröße 5  $\mu\text{m}$ )

RP-8 (Nucleodur, VP 250x10 mm ID, Partikelgröße 5  $\mu\text{m}$ )

## 8.5 Analytik

### 8.5.1 Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden in einem Schmelzpunkt Messgerät der Firma A. Krüss Optronic, Germany, bestimmt.

### 8.5.2 NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektren wurden an einem Avance II 200 MHz „Microbay“ (AV 200) und einem Avance I 400 MHz (AV 400) und einem DRX 500 MHz (AV 500) und einem Avance III HD 600 MHz (AV 600) der Firma Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten bei Raumtemperatur aufgenommen. Zur vollständigen Charakterisierung einiger Substanzen wurden zweidimensionale NMR-Messungen vorgenommen ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY, HMBC, HMQC, APT und NOESY). Die chemischen Verschiebungen sind als dimensionslose  $\delta$  in ppm angegeben. Für die Signalmultiplizitäten wurden die Abkürzungen s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, quart = Quartett, quin = Quintett, m = Multiplett und br = breites Signal verwendet. Die Kalibrierung erfolgte über Lösungsmittelsignale, wobei für die Verschiebungen Literaturwerte benutzt wurden.<sup>219</sup> Die NMR Nummerierung der Produkte kann von der IUPAC Nomenklatur abweichen.

### 8.5.3 Massenspektrometrie

Die Massenspektren sind mit einem micrOTOF-Q der Firma Bruker Daltonics aufgenommen worden. Die Kalibrierung der Hochauflösung wurde durch einen Natriumformiat Standard vorgenommen.

## 8. Experimenteller Teil

Für LC-MS Messungen wurde das Massenspektrometer an eine VWR Hitachi LaChrom Elite der Firma VWR International GmbH, Darmstadt, gekoppelt (Pumpensystem (L-2130), Diode Array Detector (L-2455), Autosampler (L-2200)). Dabei wurden analytische Säulen der Firma Macherey und Nagel GmbH & Co. KG, Düren, verwendet:

RP-18 (Nucleodur, EC 150x2 mm ID, Partikelgröße 5 µm)

RP-8 (Nucleodur, EC 150x2 mm ID, Partikelgröße 5 µm)

### 8.6 Synthesen

#### 8.6.1 Synthesen bekannter Verbindungen

Folgende Substanzen wurden nach in der Literatur beschriebenen Verfahren und in vergleichbaren Ansatzgrößen dargestellt:

**20**<sup>220</sup>, **22**<sup>221</sup>, **36**<sup>8</sup>, **37**<sup>8</sup>, **42-43**<sup>174</sup>, **46-48**<sup>222</sup>, **57-63**<sup>223</sup>, **69-71**<sup>182</sup>, **73**<sup>184,224</sup>.

Des Weiteren ist im experimentellen Teil indiziert, wenn bereits spektroskopische Daten vorhanden waren. In diesem Fall wurde die Vorschrift verändert oder neue spektroskopische Daten erlangt.

#### 8.6.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften

##### 8.6.2.1 Acetylierung mit Ac<sub>2</sub>O in Pyridin AAV 1

Das ungeschützte Zuckerderivat wurde in Pyridin gelöst. Es wurde langsam unter Eiskühlung Ac<sub>2</sub>O hinzugetropft (10 Äq. pro OH-Funktion welche geschützt werden sollte). Das Eisbad wurde entfernt und die Reaktionslösung bis zur vollständigen Acetylierung bei Raumtemperatur rühren gelassen (TLC-Kontrolle). Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und drei Mal mit Toluol codestilliert.

##### 8.6.2.2 Acetat-Entschüttung nach Zemplén<sup>168</sup> AAV 2

Das acetylierte Zuckerderivat wurde in abs. MeOH gelöst. Es wurde frisch bereitete ca. 6 M NaOMe-Lsg. hinzugetropft, bis sich ein pH-Wert von ca. 11 eingestellt hat. Die Reaktionslösung wurde bis zum vollständigen Verschwinden des Edukts bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Ggf. wurde nach 24 h der pH-Wert kontrolliert und nochmal NaOMe-Lsg. nachgegeben. Die Reaktionslösung wurde anschließend mit einem stark sauren Ionentauscher (Levatit Monoplus S1200 oder Amberlite IR120) neutralisiert, der Ionentauscher abfiltriert und die Lösung unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeeengt. Soweit nicht anders angegeben, wurde das Produkt ohne weitere Reinigung weiter eingesetzt.

##### 8.6.2.3 Dreifach Peptidkupplungen mit HATU/ DIPEA: AAV 3

0.2 mmol des Adamantanderivates wurden in ca. 5 mL wasserfreiem DMF gelöst. Es wurden 4.5 Äq. (0.9 mmol) HATU zugegeben, auf 0 °C gekühlt und 160 µL (0.9 mmol, 4.5 Äq.) DIPEA hinzugefügt. Falls das Zuckerderivat als Hydrochlorid vorlag wurde eine zweite Lösung aus 0.9 mmol (4.5 Äq.) des Zuckerderivates und 160 µL (0.9 mmol, 4.5 Äq.) DIPEA in ca. 5 mL wasserfreiem DMF erstellt, welche bei 0 °C zur ersten hinzugetropft wurde, wenn es als Amin vorhanden war, wurde es gelöst in DMF hinzugetropft. Die resultierende Lösung wurde über 4 h auf RT erwärmt und dann für 48 h, soweit nicht anders angegeben, gerührt. Die Reaktionslösung wurde unter vermindertem Druck bis zur

Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in EtOAc aufgenommen und je drei Mal mit ges. wässriger  $\text{KHSO}_4$ -Lsg., ges. wässriger  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg. und ges. wässriger NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Bei Bedarf wurde das Rohprodukt säulenchromatografisch mit dem angegebenen Laufmittel gereinigt.

### 8.6.2.4 Dreifach Peptidkupplung mit anschließender Acetylierung AAV4

3.6 Äq. des Glycanazids wurden in MeOH gelöst und mit 50 mg 10% Pd/C in einer Wasserstoffatmosphäre für 4 h bei RT bei 1 bar gerührt. Die Reaktionslösung wurde filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt.

1 Äq. der Adamantancarbonsäure **24** und 3.6 Äq. HBTU oder HATU wurden in trockenem DMF gelöst und bei 0 °C mit 3.6 Äq. DIPEA versetzt. Die Lösung wurde für 30 min bei dieser Temperatur gerührt, anschließend wurde das zuvor dargestellte Amin gelöst in trockenem DMF zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für weitere 30 min bei 0 °C, für 1 h bei RT und für 47 h bei 50 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum eingengt, in  $\text{H}_2\text{O}$  aufgenommen und drei Mal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gewaschen. Die wässrige Phase wurde erneut eingengt und das erhaltene Öl in ca. 12 mL einer Lösung aus Pyridin/  $\text{Ac}_2\text{O}$  2:1 gelöst und 24 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in EtOAc aufgenommen, je dreimal mit ges. wässriger  $\text{KHSO}_4$ , ges. wässriger  $\text{NaHCO}_3$  und ges. wässriger NaCl gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wurde mit den angegebenen Laufmitteln säulenchromatografisch gereinigt.

### 8.6.2.5 Azidkupplung mit Staudinger-Reduktion AAV5

1 Äq. Adamantantricarbonsäure **11**, 3 Äq. HOBt und 9 Äq. des Glycanazids wurde 1 h bei RT im Vakuum getrocknet. Anschließend wurde in 20 ml abs. THF aufgenommen und tropfenweise 3 Äq. DIC hinzugefügt. Die Lösung wurde für 30 min bei RT gerührt, auf -78 °C gekühlt und 9 Äq. einer 1 M  $\text{PMe}_3$ -Lösung in THF hinzugegetropft. Die Lösung wurde für 1 h bei dieser Temperatur gerührt und dann auf RT erwärmt und bis zum Ende (TLC- Kontrolle) auf dieser Temperatur belassen. Zum Beenden der Reaktion wurden 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$  hinzugefügt und die wässrige Phase dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wurde mit den angegebenen Laufmitteln säulenchromatografisch gereinigt.

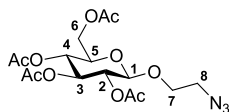
### 8.6.2.6 Fluoreszenzmarkierung AAV6

1 Äq. des Amins wurden in abs. DMSO (0.50 mL) gelöst und mit 2 Äq.  $\text{NEt}_3$  (c = 100 mM-Lsg. in abs. DMSO) versetzt. 1 Äq. PromoFluor-647 als NHS-Ester (c = 13 mM in abs. DMSO) wurde bei RT

## 8. Experimenteller Teil

hinzugegeben und unter Lichtausschluss für 18 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde durch Gefriertrocknung entfernt und das Rohprodukt chromatografisch gereinigt.

## 8.6.3 Synthese der Zuckerliganden

**2'-Azidoethyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosid **57****<sup>225</sup>Methode A<sup>225</sup>:

Es wurde eine Lösung aus 5 g (12.8 mmol, 1 Äq.) Glucosepentaacetat, 4.2 g (19.2 mmol, 1.5 Äq.) Silbertrifluoracetat und 1.3 mL (19.2 mmol, 1.5 Äq.) Chlorethanol in 150 mL dest. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> erstellt. Zu dieser wurden 38.4 mL (38.4 mmol, 3 Äq.) einer SnCl<sub>4</sub> Lösung in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> über einen Zeitraum von 90 min hinzuge tropft. Die Reaktionslösung wurde unter Lichtausschluss weitere 90 min bei RT gerührt und anschließend auf 600 mL gesättigte wässrige NaHCO<sub>3</sub>-Lsg. geschüttet und weitere 20 min gerührt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige noch zweimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lsg., Wasser und einmal mit gesättigter wässriger NaCl-Lsg. gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Es wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet und der gelbliche Feststoff in 80 mL abs. DMF gelöst. Zu dieser Lösung wurden 4.30 g (66.3 mmol, 5 Äq.) NaN<sub>3</sub> und 0.49 g (1.3 mmol, 0.1 Äq.) Tetrabutylammoniumiodid gegeben und die Suspension für 20 h bei 75 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert, der verbliebene Rückstand in EtOAc aufgenommen, filtriert und das Filtrat zweimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lsg., zweimal mit dest. H<sub>2</sub>O und einmal mit ges. wässriger NaCl-Lsg. gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Der resultierende Feststoff wurde säulenchromatografisch (Laufmittel Petrolether/EtOAc 1:1) gereinigt. Es konnten 3.3 g (7.9 mmol, 62%) **57** als farbloser Feststoff erhalten werden.

Methode B:

Es wurden 6.750 g (17.3 mmol, 1 Äq.) Glucosepentaacetat, 1.75 mL (2.101 g, 25.9 mmol, 1.5 Äq.) Chlorethanol in 50 mL abs. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und unter Eiskühlung 11.0 mL (86.5 mmol, 5 Äq.) BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O hinzuge tropft. Die Reaktionslösung wurde für 1 h bei 0 °C gerührt und anschließend 22 h bei RT. Die Reaktionslösung wurde je dreimal mit kaltem Wasser, gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lsg und gesättigter wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in 70 mL abs. DMF aufgenommen und mit 5.610 g (86.5 mmol) NaN<sub>3</sub> und 0.639 g (1.70 mmol) Tetrabutylammoniumiodid versetzt. Die Suspension wurde für 21 h bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert, der verbliebene Rückstand in EtOAc aufgenommen, filtriert und das Filtrat zweimal mit gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lsg., zweimal mit dest. H<sub>2</sub>O und einmal mit gesättigter wässriger NaCl-Lsg.

## 8. Experimenteller Teil

gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Der resultierende Feststoff wurde säulenchromatografisch an Kieselgel (Laufmittel Petrolether/EtOAc 1:1) gereinigt. Es konnten 4.052 g (9.70 mmol, 56%) **57** als farbloser Schaum erhalten werden.

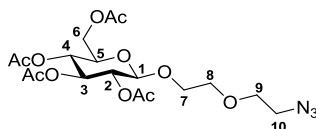
$R_f$ : 0.60 (PE/EtOAc 1:1, Schwefelsäure);

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.26 (t, 1H,  $^3J = 9.5$  Hz, 3-H), 5.04 (t, 1H,  $^3J = 9.6$  Hz, 4-H), 4.92 (dd, 1H,  $^3J = 9.6$  Hz,  $^3J = 7.8$  Hz, 2-H), 4.76 (d, 1H,  $^3J = 8.0$  Hz, 1-H), 4.27 (dd, 1H,  $^3J = 12.4$  Hz,  $^3J = 4.5$  Hz, 6a-H), 4.16 (dd, 1H,  $^3J = 12.4$  Hz,  $^3J = 2.5$  Hz, 6b-H), 4.00 (ddd, 1H,  $^3J = 10.9$  Hz,  $^3J = 5.5$  Hz,  $^3J = 3.5$  Hz, 7a-H), 3.89 (ddd, 1H,  $^3J = 10.0$  Hz,  $^3J = 4.7$  Hz,  $^3J = 2.4$  Hz, 5-H), 3.72 (ddd, 1H,  $^3J = 10.9$  Hz,  $^3J = 7.8$  Hz,  $^3J = 3.3$  Hz, 7b-H), 3.49 – 3.43 (m, 1H, 8a-H), 3.35 – 3.32 (m, 1H, 8b-H), 2.06 (s, 3H,  $-\text{OCOCH}_3$ ), 2.02 (s, 3H,  $-\text{OCOCH}_3$ ), 2.01 (s, 3H,  $-\text{OCOCH}_3$ ), 1.97 (s, 3H,  $-\text{OCOCH}_3$ );

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 172.3, 171.6, 171.2, 171.2 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 101.7 (C1), 74.3 (C3), 72.9 (C5), 72.8 (C2), 69.9 (C7), 69.8 (C4), 63.0 (C6), 51.7 (C8), 20.7, 20.6, 20.5, 20.5 ( $\text{OCOCH}_3$ );

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>225</sup>

### 2'-(2'-Azidoethoxy)ethyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosid **62**<sup>226</sup>



Es wurde eine Lösung aus 4.11 g (10 mmol) Acetobromglucose, 3.31 g (15 mmol, 1.5 Äq.) Silbertrifluoracetat und 2.1 mL (2.49 g, 20 mmol, 2 Äq.) Chloroethoxyethanol in 150 mL dest.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  erstellt. Die Reaktionslösung wurde unter Lichtausschluss 75 min bei RT gerührt. Anschließend wurde auf 300 mL gesättigte wässrige  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg. geschüttet und weitere 20 min gerührt (pH ca. 8). Die Phasen wurden getrennt und die wässrige noch zweimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit gesättigter wässriger  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg., Wasser und einmal mit gesättigter wässriger  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Es wurde im Hochvakuum getrocknet und das gelbliche Öl in 80 mL anhydr. DMF gelöst. Zu dieser Lösung wurden 3.25 g (50 mmol, 5 Äq.)  $\text{NaN}_3$  und 0.37 g (1 mmol, 0.1 Äq.) Tetrabutylammoniumiodid gegeben und die Suspension für 48 h bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert, der verbliebene Rückstand in EtOAc aufgenommen, filtriert und das Filtrat zweimal mit gesättigter wässriger  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg., zweimal mit dest.  $\text{H}_2\text{O}$  und einmal mit gesättigter wässriger  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Der resultierende

## 8. Experimenteller Teil

Feststoff wurde säulenchromatografisch (Laufmittel Petrolether/EtOAc 1:1) gereinigt. Es konnten 1.1g (2.4 mmol, 25%) als farbloses Öl erhalten werden.

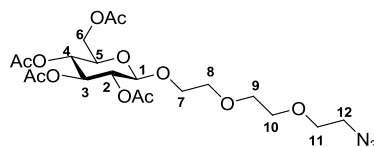
$R_f$ : 0.27 (PE/EtOAc 1:1, Schwefelsäure);

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.20 (t, 1H,  $^3J = 9.4$  Hz, 3-H), 5.08 (t, 1H,  $^3J = 9.7$  Hz, 4-H), 4.99 (dd, 1H,  $^3J = 9.4$  Hz,  $^3J = 8.0$  Hz, 2-H), 4.61 (d, 1H,  $^3J = 8.0$  Hz, 1-H), 4.25 (dd, 1H,  $^3J = 12.3$  Hz,  $^3J = 4.7$  Hz, 6a-H), 4.13 (dd, 1H,  $^3J = 12.3$  Hz,  $^3J = 2.3$  Hz, 6b-H), 3.94 (td, 1H,  $^3J = 11.2$  Hz,  $^3J = 4.2$  Hz, 7a-H), 3.77 – 3.60 (m, 6H, 5-H, 7b-H, 8-H, 9-H), 3.40 (t, 1H,  $^3J = 4.9$  Hz, 10a-H), 3.36 (dt, 1H,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^3J = 1.3$  Hz, 10b-H), 2.08, 2.04, 2.01, 1.99 (s, je 3H,  $\text{OCOCH}_3$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 170.8, 170.4, 169.6, 169.5 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 101.0 (C1), 73.0 (C3), 72.5, 71.9 (C5), 71.4 (C2), 70.5 (C8/9), 70.3 (C8/9), 69.2 (C7), 68.6 (C4), 62.1 (C6), 50.9 (C10), 20.9, 20.8, 20.7, 20.7 ( $\text{OCOCH}_3$ );

C8 und C9 können nicht eindeutig zugeordnet werden.

### 2'-[2''-(2'''-Azidoethoxy)ethoxy]ethyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosid **59**<sup>227</sup>



7.42 g (19 mmol) Glucosepentaacetat und 4.15 mL (4.81 g, 28.5 mmol, 1.5 Äq.) 2-[2-(2-Chloroethoxy)ethoxy]ethanol wurden in 50 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst, für 1 h bei RT mit 4 Å MS gerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt. Mittels Tropftrichter wurde über einen Zeitraum von 1 h langsam 12 mL (95 mmol, 5 Äq.)  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  zugetropft, auf RT erwärmt und für 18 h bei dieser Temperatur gerührt. Das Molekularsieb wurde abfiltriert und die Reaktionslösung je dreimal mit kaltem Wasser und ges. wässriger  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in DMF gelöst, mit 6.18 g (95 mmol, 5 Äq.)  $\text{NaN}_3$  und 0.14 g (0.38 mmol, 0.02 Äq) TBAI versetzt und bei 65 °C für 60 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum aufkonzentriert, in EtOAc aufgenommen, filtriert und drei Mal mit ges. wässriger  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (PE/EtOAc 1:1) an Kieselgel gereinigt. Es wurden 4.51 g (8.93 mmol, 47%) des Azids **59** als farbloses Öl isoliert werden.

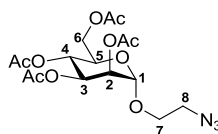
$R_f$ : 0.29 (PE/EtOAc 1:1, Schwefelsäure);

## 8. Experimenteller Teil

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 5.25 (t, 1H,  $^3J$  = 9.5 Hz, 3-H), 5.02 (t, 1H,  $^3J$  = 9.5 Hz, 4-H), 4.89 (dd, 1H,  $^3J$  = 9.5 Hz,  $^3J$  = 7.8 Hz, 2-H), 4.75 (d, 1H,  $^3J$  = 7.8 Hz, 1-H), 4.28 (dd, 1H,  $^3J$  = 12.0 Hz,  $^3J$  = 4.6 Hz, 6a-H), 4.14 (dd, 1H,  $^3J$  = 12.0 Hz,  $^3J$  = 2.5 Hz, 6b-H), 3.95 – 3.84 (m, 2H, 7a-H, 5-H), 3.79 – 3.72 (m, 1H, 7b-H), 3.70 – 3.62 (m, 8H, 8-H, 9-H, 10-H, 11-H), 3.39 (t, 2H,  $^3J$  = 4.6 Hz, 12-H), 2.06 (s, 3H, -OCOCH<sub>3</sub>), 2.03 (s, 3H, -OCOCH<sub>3</sub>), 2.01 (s, 3H, -OCOCH<sub>3</sub>), 1.97 (s, 3H, -OCOCH<sub>3</sub>);

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>227</sup>

### 2'-Azidoethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid **60**<sup>100,228</sup>



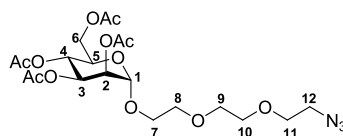
22.67 g (58,1 mmol) Mannosepentaacetat und 5.85 mL (7.0 g, 87.2 mmol, 1.5 Äq.) 2-Chloroethanol wurden in 100 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und auf 0 °C gekühlt. Mittels Tropftrichter wurde über einen Zeitraum von 1 h langsam 37 mL (290 mmol, 5 Äq.) BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O zugetropft, auf RT erwärmt und für 22 h bei dieser Temperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde je dreimal mit kaltem Wasser und ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lsg gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, Filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in DMF gelöst, mit 18.85 g (290 mmol, 5 Äq.) NaN<sub>3</sub> und 0.44 g (1.2 mmol, 0.02 Äq) TBAI versetzt und bei 65 °C für 24 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum aufkonzentriert, in EtOAc aufgenommen, filtriert und dreimal mit ges. wässriger NaCl-Lsg. gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (PE/EtOAc 2:1) an Kieselgel gereinigt. Es wurden 17.45 g (41.8 mmol, 72%) des Azids **60** als farbloses Öl isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 5.30 -5.23 (m, 3H, 2-H, 3-H, 4-H), 4.91 (d, 1H,  $^3J$  = 1.0 Hz, 1-H), 4.25 (dd, 1H,  $^3J$  = 11.9 Hz,  $^3J$  = 5.1 Hz, 6a-H), 4.14 (dd, 1H,  $^3J$  = 12.0 Hz,  $^2J$  = 2.3 Hz, 6b-H), 4.11 – 4.07 (m, 1H, 5-H), 3.92 – 3.88 (m, 1H, 7a-H), 3.73 – 3.69 (m, 1H, 7b-H), 3.55 – 3.44 (m, 2H, 8-H), 2.14, 2.07, 2.05, 1.96 (br s, je 3H, OCOCH<sub>3</sub>);

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>100,228</sup>

## 8. Experimenteller Teil

### 2'-[2''-(2'''-Azidoethoxy)ethoxy]ethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid **61**<sup>229</sup>



7.42 g (19 mmol) Mannosepentaacetat und 4.15 mL (4.81 g, 28.5 mmol, 1.5 Äq.) 2-[2-(2-Chloroethoxy)ethoxy]ethanol wurden in 40 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und auf 0 °C gekühlt. Mittels Tropftrichter wurde über einen Zeitraum von 1 h langsam 12 mL (95 mmol, 5 Äq.) BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O zugetropft, auf RT erwärmt und für 23 h bei dieser Temperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde je dreimal mit kaltem Wasser und ges. wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lsg gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, Filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in DMF gelöst, mit 6.18 g (95 mmol, 5 Äq.) NaN<sub>3</sub> und 0.14 g (0.38 mmol, 0.02 Äq) TBAI versetzt und bei 65 °C für 60 h gerührt. Die Reaktionslösung wurde im Vakuum aufkonzentriert, in EtOAc aufgenommen, filtriert und drei Mal mit gesättigter wässriger NaCl-Lsg. gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (PE/EtOAc 1:1) an Kieselgel gereinigt. Es wurden 5.66 g (11.2 mmol, 59%) des Azids als farbloses Öl isoliert werden.

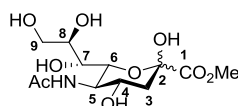
**R<sub>f</sub>**: 0.42 (PE/EtOAc 1:1, Schwefelsäure);

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 5.30 – 5.22 (m, 3H, 2-H, 3-H, 4-H), 4.90 (br s, 1H, 1-H), 4.25 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 12.7 Hz, <sup>3</sup>J = 5.4 Hz, 6a-H), 4.14 - 4.08 (m, 2H, 6b-H, 5-H), 3.88 – 3.83 (m, 1H, 7a-H), 3.73 – 3.66 (m, 9H, 7b-H, 8-H, 9-H, 10-H, 11-H), 3.39 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 4.5 Hz, 12-H), 2.14, 2.07, 2.04, 1.96 (br s, je 3H, -OCOCH<sub>3</sub>);

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 172.4, 171.6, 171.6, 171.5 (OCOCH<sub>3</sub>), 98.9 (C1), 71.8 (linker C), 71.5 (linker C), 71.2 (linker C), 71.2 (linker C), 70.8 (Zucker C), 70.7 (Zucker C), 69.8 (C5), 68.4 (C7), 67.3 (Zucker C), 63.6 (C6), 51.8 (C12), 20.7, 20.6, 20.6, 20.6 (-OCOCH<sub>3</sub>);

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>229</sup>

### Methyl-(5-acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)onat<sup>195,230</sup>



5.050 g (16.3 mmol) Neu5Ac **95** wurden in 100 mL abs. MeOH suspendiert und mit 5.092 g Dowex 50X8 versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 23 h bei RT gerührt und filtriert. Der Filterkuchen wurde abermals mit 50 ml abs. MeOH für 2 h gerührt, abermals filtriert und die methanolischen

## 8. Experimenteller Teil

Phasen im Vakuum bis zur Trockene eingengt. Es konnten 4.901 g (15.2 mmol, 93%) des Methylesters als farbloser Feststoff isoliert werden. Es handelt sich um eine  $\alpha/\beta$  Mischung (ca. 1:10, aus NMR bestimmt) welche ohne weitere Reinigung weiter eingesetzt wurde.

**R<sub>f</sub>**: 0.40 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, v/v 3:1, Schwefelsäure);

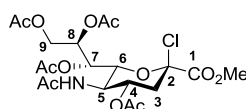
$\beta$ -Anomer:

**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 4.04 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 11.4 Hz, <sup>3</sup>J = 10.3 Hz, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, 4-H), 4.00 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 10.4 Hz, <sup>3</sup>J = 1.4 Hz, 6-H), 3.83 – 3.79 (m, 2H, 5-H, 9a-H), 3.78 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.70 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.2 Hz, <sup>3</sup>J = 5.8 Hz, <sup>3</sup>J = 2.9 Hz, 8-H), 3.62 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 11.3 Hz, <sup>3</sup>J = 5.7 Hz, 9b-H), 3.48 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 9.2 Hz, <sup>3</sup>J = 1.4 Hz, 7-H), 2.22 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 12.9 Hz, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, 3-H<sub>eq</sub>), 2.02 (s, 3H, -CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.89 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 12.9 Hz, <sup>3</sup>J = 11.4 Hz, 3-H<sub>ax</sub>);

**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 175.1 (C1), 171.8 (-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 96.7 (C2), 72.1 (C6), 71.6 (C8), 70.2 (C7), 67.9 (C4), 64.8 (C9), 54.3 (C5), 53.1 (-OCH<sub>3</sub>), 40.7 (C3), 22.6 (-CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>);

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>195</sup>

### Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-2,3,5-tridesoxy- $\beta$ -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylchlorid)onat **96**<sup>195</sup>



4.000 g (12.4 mmol) Methyl-(5-acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)onat wurden in 60 ml (54.5 g, 695 mmol) Acetylchlorid suspendiert und für 20 h bei RT gerührt. Das überschüssige Acetylchlorid wurde im Vakuum entfernt und der erhaltene Schaum dreimal mit Toluol codestilliert. Es konnten 6.323 g (12.4 mmol, quant.) **96** als farbloser Schaum isoliert werden. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung weiterverwendet.

**R<sub>f</sub>**: 0.41 (EtOAc, Schwefelsäure);

**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.53 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 10.3 Hz, -NHCOCH<sub>3</sub>), 5.47 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 6.9 Hz, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, 7-H), 5.39 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 11.1 Hz, <sup>3</sup>J = 10.5 Hz, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, 4-H), 5.17 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 6.7 Hz, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, 8-H), 4.42 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 12.5 Hz, <sup>3</sup>J = 2.6 Hz, 9a-H), 4.35 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 10.7 Hz, <sup>3</sup>J = 2.3 Hz, 6-H), 4.20 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 10.7 Hz, <sup>3</sup>J = 10.5 Hz, <sup>3</sup>J = 10.3 Hz, 5-H), 4.06 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 12.5 Hz, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, 9b-H), 3.87 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 2.78 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 13.9 Hz, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, 3-H<sub>eq</sub>), 2.27 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 13.9 Hz, <sup>3</sup>J = 11.1 Hz, 3-H<sub>ax</sub>), 2.12, 2.07, 2.05, 2.04 (br s, je 3H, -OCOCH<sub>3</sub>), 1.90 (s, 3H, -NHCOCH<sub>3</sub>);

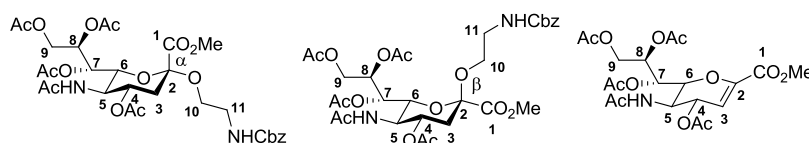
## 8. Experimenteller Teil

**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 171.1, 170.8, 170.5, 170.1, 169.8 ( $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$ ) 165.8 (C1), 96.7 (C2), 74.0 (C6), 70.1 (C8), 68.9 (C4), 67.0 (C7), 62.2 (C9), 53.9 ( $-\text{OCH}_3$ ), 48.9 (C5), 40.8 (C3), 23.3 ( $-\text{NHCOCH}_3$ ), 21.1, 21.0, 20.9, 20.9 ( $-\text{OCOCH}_3$ ),

Die Spektren enthalten noch Toluol, welches nicht vollständig entfernt wurde, dies wurde bei der Ausbeute berücksichtigt.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>195</sup>

### Darstellung der Sialoside **97 $\alpha$** , **97 $\beta$** und **98**



#### Methode A:

2.206 g (4.3 mmol, 1 Äq.) **96** und 2.104 g (10.75 mmol, 2.5 Äq.) *N*-Cbz-Ethanolamin wurden in abs. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und mit 4 Å MS für 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurden 2.379 g (8.6 mmol, 2 Äq.) Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> hinzugegeben und unter Lichtausschluss 20 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde über Celite filtriert und im Vakuum bis zur Trockene eingengt. Das erhaltene Öl wurde säulenchromatografisch (EtOAc/ PE, v/v 4:1) an Kieselgel gereinigt. Es konnten 2.238 g als farblosen Feststoff erhalten werden. Aus dieser Fraktion wurden 738 mg (33% des Rohprodukts) per HPLC (RP-8, 40% MeCN in H<sub>2</sub>O, 5 mL/min, 260 nm) gereinigt. Es konnten 254 mg (0.380 mmol, 9%) **97 $\alpha$** , 191 mg (0.286 mmol, 7%) **97 $\beta$**  und 70 mg (0.148 mmol, 3%) **98** jeweils als farbloser Schaum isoliert werden.

#### Methode B:

1.683 g (3.3 mmol, 1 Äq.) **96** und 1.600 g (8.2 mmol, 2.5 Äq.) *N*-Cbz-Ethanolamin wurden in abs. Benzol gelöst und mit 4 Å MS für 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurden 1.711 g (6.6 mmol, 2 Äq.) AgOTf hinzugegeben und unter Lichtausschluss 22 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde über Celite filtriert und im Vakuum bis zur Trockene eingengt. Das erhaltene Öl wurde säulenchromatografisch (EtOAc/ PE, v/v 4:1) an Kieselgel gereinigt. Es konnten 1.67 g (2.5 mmol, 76%) einer Mischfraktion aus den Anomeren **97 $\alpha$**  und **97 $\beta$**  isoliert werden. Das Verhältnis von  $\alpha/\beta$  1.5:1 wurde per NMR aus der Mischfraktion bestimmt.

**Methyl-5-acetamido-2-*O*-(2-benzylloxycarbonylaminoethyl)-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosonat **97 $\alpha$** :**

## 8. Experimenteller Teil

**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 7.36 – 7.28 (m, 5H, aryl-H), 5.35 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 8.7 Hz, <sup>3</sup>J = 5.9 Hz, <sup>3</sup>J = 2.5 Hz, 8-H), 5.31 – 5.27 (m, 2H, 7-H, -NHAc), 5.20 (br s, 1H, -NHCBz), 5.10 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, benzyl-H), 5.07 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, benzyl-H), 4.84 (ddd, 1H, <sup>3</sup>J = 12.3 Hz, <sup>3</sup>J = 10.6 Hz, <sup>3</sup>J = 4.6 Hz, 4-H), 4.27 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, <sup>3</sup>J = 2.0 Hz, 9a-H), 4.14 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 10.8 Hz, <sup>3</sup>J = 2.2 Hz, 6-H), 4.07 – 4.00 (m, 2H, 5-H, 9b-H), 3.81 – 3.77 (m, 1H, 10a-H), 3.75 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.44 – 3.32 (m, 3H, 10b-H, 11-H), 2.54 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 12.9 Hz, <sup>3</sup>J = 4.6 Hz, 3-H<sub>eq</sub>), 2.12, 2.05, 2.01, 2.01 (s, je 3H, -OCOCH<sub>3</sub>), 1.92 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 12.9 Hz, <sup>3</sup>J = 12.3 Hz, 3-H<sub>ax</sub>), 1.86 (s, 3H, -NHCOCH<sub>3</sub>);

**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 171.0 (-OCOCH<sub>3</sub>), 170.8 (-OCOCH<sub>3</sub>), 170.3 (-NHCOCH<sub>3</sub>), 170.2 (-OCOCH<sub>3</sub>), 170.1 (-OCOCH<sub>3</sub>), 168.5 (C1), 156.4 (-NHCO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph), 136.7 (aryl-C<sub>q</sub>), 128.6 (aryl-C), 128.3 (aryl-C), 128.3 (aryl-C), 98.9 (C2), 72.8 (C6), 69.0 (C4), 68.6 (C8), 67.3 (C7), 66.8 (-NHCO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph), 64.3 (C10), 62.5 (C9), 53.0 (-OCH<sub>3</sub>), 49.5 (C5), 41.0 (C11), 38.0 (C3), 23.3 (-NHCOCH<sub>3</sub>), 21.2, 20.9, 20.9, 20.8 (-OCOCH<sub>3</sub>);

**MS (ESI) *m/z* (%):** 669.3 (100%) [M+H]<sup>+</sup>

**HPLC:** Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 40% MeCN in H<sub>2</sub>O, 5 mL/min, 260 nm, *t<sub>R</sub>* = 12.0 min

**Methyl-5-acetamido-2-O-(2-benzoyloxycarbonylaminoethyl)-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosonat 97 $\beta$ :**

**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 7.37 – 7.27 (m, 5H, aryl-H), 6.39 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 9.2 Hz, -NHCOCH<sub>3</sub>), 5.61 (br s, 1H, -NHCBz), 5.35 (br s, 1H, 7-H), 5.23 – 5.06 (m, 4H, 4-H, 8-H, benzyl-H), 4.76 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, 9a-H), 4.05 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 12.4 Hz, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, 9b-H), 4.02 – 3.97 (m, 2H, 5-H, 6-H), 3.75 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3.59 – 3.54 (m, 1H, 10a-H), 3.47 – 3.32 (m, 3H, 10b-H, 11-H), 2.41 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 12.8 Hz, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 3-H<sub>eq</sub>), 2.11, 2.02, 1.99, 1.98 (s, je 3H, -OCOCH<sub>3</sub>), 1.85 – 1.79 (m, 4H, 3-H<sub>ax</sub>, -NHCOCH<sub>3</sub>);

**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 171.1 (-OCOCH<sub>3</sub>), 171.0 (-OCOCH<sub>3</sub>), 170.9 (-OCOCH<sub>3</sub>), 170.8 (-OCOCH<sub>3</sub>), 170.4 (-OCOCH<sub>3</sub>), 167.6 (C1), 156.8 (-NHCO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph, HMBC), 136.5 (aryl-C<sub>q</sub>), 128.6 (aryl-C), 128.2 (aryl-C), 182.2 (aryl-C), 98.7 (C2), 72.3 (C8), 71.8 (C6), 68.9 (C4), 68.7 (C7), 67.0 (-NHCO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph), 63.3 (C10), 62.6 (C9), 52.9 (-OCH<sub>3</sub>), 48.8 (C5), 40.7 (C11), 37.2 (C3), 22.9 (-NHCOCH<sub>3</sub>), 21.0, 21.0, 20.8, 20.8 (-OCOCH<sub>3</sub>);

**MS (ESI) *m/z* (%):** 669.3 (100%) [M+H]<sup>+</sup>, 1359.5 (85%) [2M+Na]<sup>+</sup>

**HPLC:** Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 40% MeCN in H<sub>2</sub>O, 5 mL/min, 260 nm, *t<sub>R</sub>* = 13.4 min

**Methyl-5-acetamido-2,6-anhydro-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galactonon-2-enonat 98:**

**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.99 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, 3-H), 5.72 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, -NHAc), 5.51 – 5.46 (m, 2H, 4-H, 7-H), 5.36 – 5.32 (m, 8-H), 4.61 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, <sup>3</sup>J = 3.2 Hz, 9a-H), 4.41 –

## 8. Experimenteller Teil

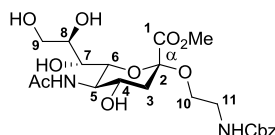
4.35 (m, 2H, 5-H, 6-H), 4.18 (dd, 1H,  $^2J = 12.3$  Hz,  $^3J = 7.0$  Hz, 9b-H), 3.79 (s, 3H,  $-\text{OCH}_3$ ), 2.11, 2.06, 2.05, 2.04 (s, je 3H,  $-\text{OCOCH}_3$ ), 1.91 (s, 3H,  $-\text{NHCOCH}_3$ );

**$^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 170.9, 170.7, 170.3, 170.2, 170.2 ( $-\text{OCOCH}_3, -\text{NHCOCH}_3$ ), 161.7 (C1), 145.2 (C2), 108.0 (C3), 76.7 (C6), 70.7 (C8), 67.9 (C4 o. C7), 67.8 (C4 o. C7), 62.0 (C9), 52.7 ( $-\text{OCH}_3$ ), 46.7 (C5), 23.3 ( $-\text{NHCOCH}_3$ ), 21.0, 21.0, 20.8, 20.8 ( $-\text{OCOCH}_3$ );

**MS (ESI)  $m/z$  (%):** 496.1 (100%)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,

**HPLC:** Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu\text{m}$  Partikel, 40% MeCN in  $\text{H}_2\text{O}$ , 5 mL/min, 260 nm,  $t_R = 5.2$  min

### Methyl-5-acetamido-2-*O*-(2'-benzyloxycarbonylaminoethyl)-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosonat **99 $\alpha$**



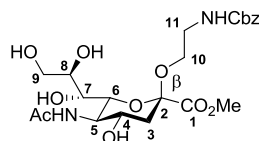
250 mg (0.37 mmol) des geschützten Sialinsäurederivates **97 $\alpha$**  wurde nach AAV 2 umgesetzt. Es konnten 184 mg (0.37 mmol, quant.) des deacetylierten Produkts **99 $\alpha$**  als farbloser Schaum erhalten werde.

**$^1\text{H}$ -NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.41 – 7.29 (m, 5H, aryl-H), 5.11 (d, 1H,  $^2J = 12.7$  Hz, benzyl- $\text{H}_a$ ), 5.08 (d, 1H,  $^2J = 12.7$  Hz, benzyl- $\text{H}_b$ ), 3.88 – 3.77 (m, 7H, 5-H, 9a-H, 8-H, 10a-H,  $-\text{OMe}$ ), 3.69 – 3.64 (m, 2H, 4-H, 9b-H), 3.62 (bd, 1H,  $J = 10.5$  Hz, 6-H), 3.55-3.50 (m, 2H, 7-H, 10b-H), 3.30 (t, 2H,  $^3J = 5.5$  Hz, 11-H), 2.70 (dd, 1H,  $^2J = 12.9$  Hz,  $^3J = 4.5$  Hz, 3- $\text{H}_{\text{eq}}$ ), 2.02 (s, 3H,  $-\text{NHCOCH}_3$ ), 1.77 (dd, 1H,  $^2J = 12.9$  Hz,  $^3J = 12.4$  Hz, 3- $\text{H}_{\text{ax}}$ );

**$^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 175.2 ( $-\text{NHCOCH}_3$ ), 170.9 (C1), 158.9 ( $-\text{NHCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 138.3 (aryl- $\text{C}_q$ ), 129.5 (aryl-C), 129.0 (aryl-C), 128.8 (aryl-C), 100.3 (C2), 74.9 (C6), 72.3 (C8), 70.1 (C7), 68.5 (C4), 67.4 ( $-\text{NHCO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 64.7 (C9), 64.3 (C10), 53.8 (C5), 53.4 ( $-\text{OCH}_3$ ), 41.9 (C11), 41.6 (C3), 22.7 ( $-\text{NHCOCH}_3$ );

**MS (ESI)  $m/z$  (%):** 523.2 (100%)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ,

**Methyl-5-acetamido -2-O-(2'-benzyloxycarbonylaminoethyl)-3,5- dideoxy-D-glycero-β-D-galacto-2-nonulopyranosonat 99β**



190 mg (0.28 mmol) des geschützten Sialinsäurederivates **97β** wurde nach AAV 2 umgesetzt. Es konnten 142 mg (0.28 mmol, quant.) des deacetylierten Produkts **99β** als farbloser Schaum erhalten werde.

**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD):** δ [ppm] = 7.41 – 7.30 (m, 5H, aryl-H), 5.11 (s, 2H, benzyl-H), 4.09 – 4.03 (m, 1H, 4-H), 3.91- 3.80 (m, 5H, 5-H, 6-H, 8-H, 9a-H, 10a-H), 3.79 (s, 3H, -OMe), 3.67 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 11.6 Hz, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, 9b-H), 3.53 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 7-H), 3.40 – 3.28 (m, 3H, 10b-H, 11-H), 2.42 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 13.0 Hz, <sup>3</sup>J = 5.0 Hz, 3-H<sub>eq</sub>), 2.02 (s, 3H, -NHCOCH<sub>3</sub>), 1.68 (dd, 1H, <sup>2</sup>J = 13.0 Hz, <sup>3</sup>J = 12.0 Hz, 3-H<sub>ax</sub>);

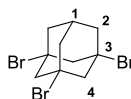
**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD):** δ [ppm] = 174.8 (-NCOCH<sub>3</sub>), 170.7 (C1), 158.9 (-NHCO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph), 138.3 (aryl-C<sub>q</sub>), 129.5 (aryl-C), 129.0 (aryl-C), 128.9 (aryl-C), 100.1 (C2), 72.5 (C6), 71.4 (C8), 70.1 (C7), 67.7 (C4), 67.5 (-NHCO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph), 65.3 (C9), 63.6 (C10), 53.8 (C5), 53.2 (-OCH<sub>3</sub>), 41.7 (C11), 41.5 (C3), 22.7 (-NHCOCH<sub>3</sub>);

**MS (ESI) m/z (%):** 523.2 (100%) [M+Na]<sup>+</sup>, 1023.4 (95%) [2M+Na]<sup>+</sup>

## 8.6.4 Synthese der Grundgerüste

### 8.6.4.1 Adamantanderivate

#### 1,3,5-Tribromadamantan **8**<sup>231</sup>



Eine Suspension aus 22.5 g Eisen (0.40 mol) und 250 mL Brom (5.0 mol) wurde 30 min. bei RT gerührt. Anschließend wurde die Suspension auf 0 °C gekühlt und innerhalb 1.5 h 68.1 g Adamantan (0.5 mol) hinzugegeben. Dabei entstehendes HBr wurde in eine mit NaOH-Lösung gefüllte Waschflasche geleitet. Es wurde zuerst 30 min bei 0 °C und anschließend 30 min bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde für 22 h unter Rückfluss erhitzt und nach Abkühlen auf Eiswasser gegeben. Überschüssiges Brom wurde durch Zugabe von gesättigter Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>-Lösung reduziert. Die wässrige Phase wurde drei Mal mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde aus Methanol umkristallisiert und

## 8. Experimenteller Teil

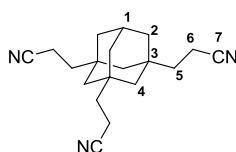
es wurden 158.5 g (0.43 mol) **8** als hellbraune Kristalle erhalten. Das entspricht einer Ausbeute von 85 %.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 2.78 (s, 6H, 4-H), 2.36 (sep, 1H, <sup>3</sup>*J* = 3.2 Hz, 4-H), 2.24 (d, 6H, <sup>3</sup>*J* = 3.2 Hz, 2-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 58.3 (C3), 57.0 (C4), 45.1 (C2), 36.5 (C1).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>231</sup>

### 1,3,5-Tris-(2'-cyanoethyl)-adamantan **10**<sup>232</sup>



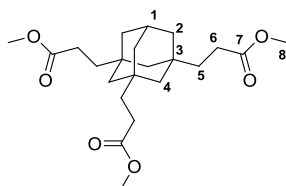
Es wurden 50.5 g (135 mmol) 1,3,5-Tribromadamantan **8**, 75 mL (1770 mmol) Acrylnitril, 150 mL (469 mmol) Bu<sub>3</sub>SnH und 4.37 g (27 mmol) AIBN in 300 mL Toluol gelöst. Die Reaktionslösung wurde für 3 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wurde die Reaktionslösung auf ca. 200g Kieselgel aufrotiert und anschließend säulenchromatografisch (Hexan/ EtOAc 8:2 → 2:8) gereinigt. Es wurden 25.4 g (86 mmol, 64%) Tris(2-carboxyethyl)adamantan **10** als farblosen Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 2.29 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 7.9 Hz, 6-H), 2.21 (sep, 1H, <sup>3</sup>*J* = 3.1 Hz, 2-H), 1.56 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 7.9 Hz, 5-H), 1.39 (d, 6H, <sup>3</sup>*J* = 3.1 Hz, 11-H), 1.23 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 11.9 Hz, 4a-H), 1.13 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 11.9 Hz, 4a-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 120.4 (C7), 45.5 (C4), 42.0 (C2), 40.1 (C5), 33.7 (C3), 28.7 (C1), 11.3 (C6).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>232</sup>

### 1,3,5-Tris-(methoxycarbonylethyl)-adamantan **15**<sup>159</sup>



Es wurden 1.12 g (3 mmol) 1,3,5-Tribromadamantan **8**, 1.6 mL (18 mmol) Acrylnitril, 2.9 mL (10.8 mmol) Bu<sub>3</sub>SnH und 25 mg (0.45 mmol) AIBN in 10 mL Toluol gelöst. Die Reaktionslösung wurde für 3 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wurde die Reaktionslösung über Nacht mit 5% iger,

## 8. Experimenteller Teil

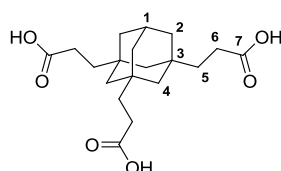
wässriger KF Lösung gerührt. Die wässrige Phase wurde 3-mal mit Et<sub>2</sub>O extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit ges. wässriger NaCl Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (PE/ EtOAc 9:1 →5:5) gereinigt. Es wurden 355 mg (0.9 mmol) **15** als farbloses Öl erhalten, das entspricht einer Ausbeute von 30%. Die Reinigung des Dimers wurde bei diesem Experiment nicht durchgeführt, ist aber Grundsätzlich möglich.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 3.65 (s, 9H, 7-H), 2.17 -2.18 (m, 1H, 1-H), 2.18 – 2.15 (m, 6H, 5-H), 1.73 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.9 Hz, 4a-H), 1.66 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 13.0 Hz, 4b-H);

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>159</sup>

### 8.6.4.2 Carbonsäuren

#### 1,3,5-Tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **11**<sup>157</sup>



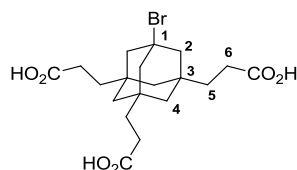
25.4 g (86 mmol) **10** wurden in 150 mL konz. Salzsäure und 25 mL H<sub>2</sub>O suspendiert und für 42 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde auf Eiswasser gegossen, das Produkt abfiltriert und mit H<sub>2</sub>O gewaschen. Es wurden 29.1 g (83 mmol, quantitativ) der farblosen Carbonsäure **11** erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ [ppm] = 1.93-1.97 (m, 6H, 6-H), 1.68-1.71 (m, 1H, 1-H), 1.18- 1.22 (m, 6H, 5-H), 1.14 (m, 6H, 2-H), 0.98 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 4a-H), 0.90 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 11.8 Hz, 4b-H); **<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ [ppm] = 185.4 (C7), 46.1 (C4), 40.9 (C2), 40.3 (C5), 33.4 (C3), 32.0 (C6), 29.5 (C1).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>157</sup>

## 8. Experimenteller Teil

### 1-Brom-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **16**<sup>157</sup>



#### Methode A:

0.574 g (1.63 mmol) **11** wurden in 10 mL Brom für 42 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde auf Eis/ ges.  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  Lösung gegossen und das überschüssige Brom bis zur Entfärbung reduziert. Die Lösung wurde dreimal mit EtOAc extrahiert, die organischen Phasen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingeeengt.

Das Rohprodukt wurde aus MeCN umkristallisiert um 690 mg (1.60 mmol, 96 %) der beigen Carbonsäure **16** zu erhalten

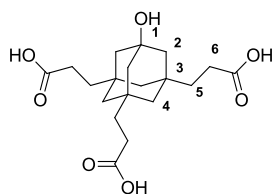
#### Methode B:

2.1 g (6.0 mmol) **11** wurden unter Eiskühlung in 20 mL Brom gelöst. Es wurde langsam 1.64 g (29 mmol) Eisenpulver hinzugefügt und für weitere 2 h bei 0 °C, dann für 14 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Eis/ ges.  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  Lösung gegossen und das überschüssige Brom bis zur Entfärbung reduziert. Die Lösung wurde dreimal mit EtOAc extrahiert, die organischen Phasen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingeeengt. Das Rohprodukt wurde 10 min in siedendem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gerührt und anschließend filtriert. Es konnten 2.07 g (4.8 mmol, 80%) **16** als gelblicher Feststoff isoliert werden.

**$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):**  $\delta$  [ppm] = 12.02 (s, 3H,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ), 2.17 (t, 6H,  $^3J = 8.2$  Hz, 6-H), 1.91 (s, 6H, 2-H), 1.40 (t, 6H,  $^3J = 8.2$  Hz, 5-H), 1.16 (d, 3H,  $^2J = 11.7$  Hz, 4a-H), 1.07 (d, 3H,  $^2J = 12.2$  Hz, 4b-H);

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):**  $\delta$  [ppm] = 174.9 ( $-\text{CO}_2\text{H}$ ), 68.2 (C1), 52.0 (C2), 43.4 (C4), 37.5 (C5), 36.9 (C3), 27.7 (C6).

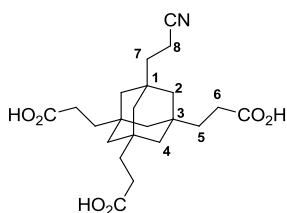
Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>157</sup>

**1-Hydroxy-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **17****

180 mg (0.51 mmol) Tricarbonsäure **11** wurde unter Eiskühlung in 10 mL Brom gelöst. Es wurden langsam 28 mg (0.50 mmol) Eisenpulver hinzugefügt und für weitere 2 h bei 0 °C, dann für weitere 16 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf Eis/ ges. Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>-Lösung gegossen und das überschüssige Brom bis zur Entfärbung reduziert. Die Lösung wurde mit NaOH-Plättchen auf pH 14 gebracht und für 2 h bei RT gerührt. Die Lösung wurde dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gewaschen, mit 2 M HCl auf pH 2 angesäuert und dreimal mit EtOAc extrahiert, die organischen Phasen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingeeengt. Es konnten 166 mg (0.45 mmol, 88%) **17** als farbloser Feststoff isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 11.96 (s, 3H, -CO<sub>2</sub>H), 2.14 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, 6-H), 1.38 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 8.2 Hz, 5-H), 1.18 (s, 6H, 5-H), 1.01 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.0 Hz, 4a-H), 0.95 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.0 Hz, 4b-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 175.0 (CO<sub>2</sub>H), 68.2 (C1), 48.5 (C2), 44.7 (C4), 37.3 (C5), 35.4 (C3), 28.0 (C6).

**1-(2-Cyanoethyl)-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **18**<sup>164</sup>**

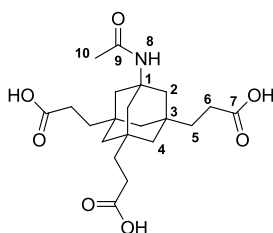
380 mg (0.88 mmol, 1 Äq.) des Bromids **16**, 350  $\mu$ l (384 mg, 1.32 mmol, 1.5 Äq.) Bu<sub>3</sub>SnH, 120  $\mu$ l (93 mg, 1.76 mmol, 2 Äq.) Acrylnitril und 30 mg (0.18 mmol, 0.2 Äq.) AIBN wurden in 10 mL Dioxan gelöst und 3 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde auf RT abgekühlt, 10 mL dest. H<sub>2</sub>O hinzugefügt und im Vakuum bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde in 10 mL 2 M Natronlauge aufgenommen, dreimal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, die wässrige Phase auf pH 1 angesäuert und dreimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingeeengt. Es konnten 318 mg (0.79 mmol, 90%) des Nitrils **18** als bräunlichen Feststoff erhalten werden.

## 8. Experimenteller Teil

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 11.96 (s, 3H, CO<sub>2</sub>H), 2.42 (t, 2H, <sup>3</sup>*J* = 7.9 Hz, 8-H), 2.15 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 8.4 Hz, 6-H), 1.42 (t, 2H, <sup>3</sup>*J* = 7.9 Hz, 7-H), 1.36 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 8.1 Hz, 5-H), 1.01 (d, 12H, <sup>2</sup>*J* = 9.5 Hz, 4-H, 2-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 175.2 (CO<sub>2</sub>H), 121.7 (CN), 44.9 (C2), 44.5 (C4), 38.0 (C5), 37.8 (C7), 33.8 (C3), 33.5 (C1), 27.8 (C6), 10.4 (C8).

### 1-Acetylamino-3,5,7-Tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **12**<sup>157</sup>



#### Methode A:

1.057 g (3mmol) der Tricarbonsäure **11** wurden in 5 ml konz. Salpetersäure suspendiert. Unter Eiskühlung wurden 10 ml konz. Schwefelsäure hinzugefügt und für 10 min bei dieser Temperatur gerührt. Tropfenweise wurden 3 ml 30%iges Oleum hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde für 1 h bei 0 °C und anschließend für 3 h bei RT gerührt. Es wurde abermals auf 0 °C gekühlt und 3 ml MeCN hinzugegeben. Die Lösung wurde 10 min bei 0 °C und weitere 3 h bei RT gerührt. Die Reaktion wurde gekühlt und drei Mal mit EtOAc extrahiert. Die organischen Phasen wurden bis zur Trockene eingengt, das resultierende Öl in 1 M Natronlauge aufgenommen und für 1 h bei RT gerührt. Es wurde mit konz. Salzsäure auf pH 1 angesäuert und dreimal mit EtOAc extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Es konnten 720 mg (1.76 mmol, 56%) **12** als gelblichen Feststoff isoliert werden.

#### Methode B:

6.35 g (18.2 mmol) **11**, 3.6 mL Acetonitril (68.9 mmol) und 2.6 mL H<sub>2</sub>O (144.8 mmol) wurden auf 0 °C gekühlt und 18.1 mL Brom (353.1 mmol) hinzutropft. Die Reaktionslösung wurde für 16 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wurde die resultierende Reaktionslösung auf Eis / HCl – Lösung geschüttet und durch Zugabe von Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> überschüssiges Brom reduziert. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit 2 M HCl gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde aus Acetonitril umkristallisiert. Es konnten 4.74 g (11.6 mmol, 64%) **12** als farbloser Feststoff isoliert werden.

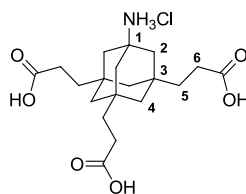
## 8. Experimenteller Teil

**<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 11.98 (br s, 3H, 7-H), 7.37 (s, 1H, 8-H), 2.14 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 6-H), 1.72 (s, 6H, 10-H), 1.50 (s, 6H, 2-H), 1.37 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, 5-H), 1.05 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.9 Hz, 4a-H), 0.99 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.9 Hz, 4b-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (50 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 175.1 (C7), 168.7 (C9), 52.7 (C1), 44.7 (C4), 44.4 (C2), 37.5 (C5), 34.3 (C3), 27.9 (C6), 23.8 (C10).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>157</sup>

### 1-Amino-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan Hydrochlorid **13**<sup>157</sup>



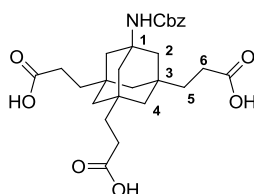
18.21 g (44.5 mmol) der acetylierten Säure **12** wurde in 150 mL H<sub>2</sub>O und 30 mL konz. HCl gelöst und 24 h unter Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wurde unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingengt, der erhaltene Rückstand in EtOAc suspendiert und drei Mal mit H<sub>2</sub>O extrahiert. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden bis zur Trockene eingengt. Es wurden 16.18 g (40.1 mmol, 90%) des Hydrochlorids **13** als gelblicher Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  [ppm] = 2.40 – 2.33 (m, 6H, 6-H), 1.60 – 1.53 (m, 6H, 5-H), 1.51 (s, 6H, 2-H), 1.20 (s, 6H, 4-H)

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  [ppm] = 179.2 (-CO<sub>2</sub>H), 53.8 (C1), 43.1 (C4), 43.1 (C2), 36.4 (C5), 34.6 (C3), 27.8 (C6)

Die spektroskopische Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>157</sup>

### 1-N-Cbz-3,5,7-Tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **24**<sup>129</sup>



1.61 g (4 mmol) des Hydrochlorids **13** und 4.24 g (40 mmol) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> wurde in 30 mL H<sub>2</sub>O/Aceton (v/v 1:1) suspendiert. Es wurden langsam unter Eiskühlung 860  $\mu$ L (60 mmol) Cbz-Cl hinzugetropft. Die Reaktionslösung wurde weitere 2 h bei 0 °C und anschließend über Nacht bei RT gerührt. Das Aceton

## 8. Experimenteller Teil

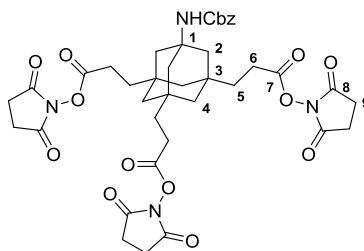
wurde destillativ entfernt und die basische wässrige Phase zweimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gewaschen, mit 2 M Salzsäure auf pH 2 angesäuert und dreimal mit  $\text{Et}_2\text{O}$  extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet das Lösungsmittel entfernt. Es wurden 1.460 g (2.9 mmol, 73%) des geschützten Amins **24** als farbloser, hygroskopischer Feststoff erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):**  $\delta$  [ppm] = 12.01 (s, 3H,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ), 7.39 – 7.28 (m, 5H, aryl-H), 4.95 (s, 2H, benzyl-H), 2.14 (br t, 6H,  $^3J = 8.1$  Hz, 6-H), 1.46 (s, 6H, 2-H), 1.38 (br t, 6H,  $^3J = 8.1$  Hz, 5-H), 1.07 – 0.96 (br s, 6H, 4-H)

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):**  $\delta$  [ppm] = 175.0 ( $-\text{CO}_2\text{H}$ ), 154.2 ( $-\text{NHCOCH}_2\text{Ph}$ , HSQC), 137.3 (aryl-C,  $\text{C}_q$ ), 128.4 (aryl-C), 127.8 (aryl-C), 127.7 (aryl-C), 64.6 (benzyl-C), 52.0 (C1), 44.5 (C4), 44.5 (C2), 37.5 (C5), 34.3 (C3), 27.9 (C6)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>129</sup>

### 1-N-Cbz-3,5,7-Tris-[2-NHS-(carboxyethyl)]-adamantan **28**



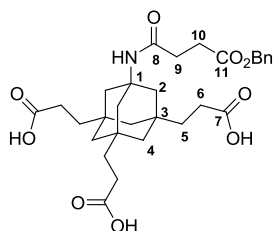
510 mg (1 mmol) der Säure **24**, 868 mg (4.5 mmol, 4.5 Äq.) EDC·HCl und 520 mg (4.5 mmol, 4.5 Äq.) NHS-OH wurden in abs. DMF gelöst und für 12 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in EtOAc aufgenommen, dreimal mit dest.  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Es konnten 729 mg (0.92 mmol, 92%) des Aktivesters **28** als gelblicher Feststoff erhalten werden.

Eine analytische Menge wurde aus 2-Propanol kristallisiert.

**$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.39 – 7.29 (m, 5H, aryl-H), 5.04 (s, 2H, benzyl-H), 4.87 (s, 1H,  $-\text{NH}-$ ), 2.82 (br s, 12H, 9-H), 2.60 (t, 6H,  $^3J = 7.6$  Hz, 6-H), 1.70 (t, 6H,  $^3J = 7.6$  Hz, 5-H), 1.64 (s, 6H, 2-H), 1.22 (d, 3H,  $^2J = 12.0$  Hz, 4a-H), 1.14 (d, 3H,  $^2J = 12.0$  Hz, 4b-H);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 169.3 (C7), 169.2 (C8), 154.8 ( $-\text{NHCOO}-$ , HMBC), 136.9 (aryl-C $_q$ , HMBC), 128.7 (aryl-C), 128.2 (aryl-C), 128.2 (aryl-C), 66.3 ( $-\text{NHCOOCH}_2-$ , HSQC), 52.7 (C1), 44.8 (C4), 44.8 (C2), 36.8 (C5), 35.2 (C3), 25.7 (C9), 25.3 (C6);-

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_{14}$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> 793.2927, gefunden 793.2925, ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup> 815.2746, gefunden 815.2750

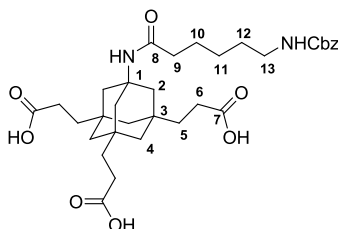
**1-[4'-(*O*-Bn)-Butanoyl]-amino-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **21****<sup>164</sup>

Es wurden 314 mg (0.78 mmol) des Ammoniumchlorids **13**, 290 mg (0.95 mmol) des Aktivesters **20** und 225  $\mu$ l (1.6 mmol)  $\text{NEt}_3$  in ca. 5 ml DMSO gelöst. Die Reaktionslösung wurde für 72 h bei RT gerührt und anschließend unter vermindertem Druck aufkonzentriert. Das Rohprodukt wurde in 5 %iger  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg aufgenommen, drei-mal mit EtOAc gewaschen, mit 1 M Salzsäure auf pH 1 angesäuert und drei Mal mit EtOAc extrahiert. Es konnten 290 mg (0.50 mmol, 67%) eines farblosen Feststoffs **21** isoliert werden. Es handelt sich um eine sehr hygroskopische Substanz, was die Analytik einschränkte.

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.29 (m, 5H, aryl-H), 5.12 (s, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 2.62 (t, 2H,  $^3J = 6.5$  Hz, 10-H), 2.44 (t, 2H,  $^3J = 6.6$  Hz, 9-H), 2.25 (t, 6H,  $^3J = 8.0$  Hz, 6-H), 1.58 (s, 6H, 2-H), 1.15 (d, 3H,  $^2J = 12.1$  Hz, 4a-H), 1.09 (d, 3H,  $^2J = 12.1$  Hz, 4b-H);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 178.2 (C7), 174.2 (C8), 173.5 (C11), 137.6 (aryl C, HMBC), 129.6, 129.2, 129.1 (aryl C), 67.4 ( $-\text{OCH}_2\text{Ph}$ ), 54.8 (C1), 46.2 (C4), 45.5 (C2), 39.0 (C5), 35.8 (C3), 32.2 (C9), 30.6 (C6), 29.1 (C10);

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{NO}_9$  ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> 558.2698, gefunden 558.2689

**1-[(*N*-Cbz)-aminocaproyl]-amino-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan **23****<sup>164</sup>

Es wurden 1.26 g (3.12 mmol) des Ammoniumchlorids **13** und 1.69 g (4.68 mmol, 1.5 Äq.) des NHS-Esters **22** in destilliertem DMSO gelöst und mit 1.70 mL (1.26 g, 12.48 mmol, 4 Äq.) Triethylamin versetzt. Nach 72 h rühren bei RT wurde das Lösungsmittel destillativ entfernt und der erhaltene Rückstand in gesättigter wässriger  $\text{NaHCO}_3$ -Lsg. aufgenommen. Die wässrige Phase wurde zweimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gewaschen, anschließend mit 2 M Salzsäure auf pH 1 angesäuert und dreimal mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

## 8. Experimenteller Teil

und zweimal mit EtOAc extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingeeengt. Es konnten 1.30 g (2.10 mmol, 68%) als farbloses Lyophyllisat **23** isoliert werden. Es handelt sich um eine sehr hygroskopische Substanz, was die Analytik einschränkte.

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.34 – 7.27 (m, 5H, aryl-H), 5.07 (s, 2H, benzyl-H), 3.11 (t, 2H,  $^3J = 7.0$  Hz, 13-H), 2.27 (m, 6H, 6-H), 2.10 (t, 2H,  $^3J = 7.5$  Hz, 9-H), 1.66 – 1.45 (m, 16H, 2-H, 5-H, 10-H, 12-H), 1.38 – 1.28 (m, 2H, 11-H), 1.17 (d, 3H,  $^2J = 12.2$  Hz, 4a-H), 1.11 (d, 3H,  $^2J = 12.2$  Hz, 4b-H);

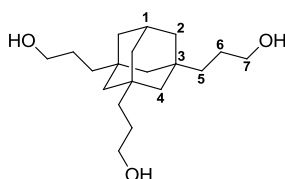
**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 178.2 (C7), 175.7 (C8), 159.0 (-CNHCO-), 129.5, 128.9, 128.7 (aryl C), 67.3 (benzyl-C), 54.8 (C1), 46.3 (C4), 45.6 (C2), 41.6 (C13), 39.0 (C5), 37.8 (C9), 35.9 (C3), 30.6 (C6), 29.0 (12-C), 27.3 (11-C), 26.7 (10-C),

**IR (Film, THF):**  $\nu$  2974, 2860, 1724, 1460, 1070, 910  $\text{cm}^{-1}$ ;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_9$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  615.3276, gefunden 615.3273

### 8.6.4.3 Alkohole

**1,3,5-Tris-(3-hydroxypropyl)-adamantan **29**** [ENREF 159](#)<sup>159</sup>



Methode A:

Es wurden 704 mg (2.00 mmol) der Trisäure **11** in 20 mL abs. THF suspendiert, bei 0 °C 20 mL (20 mmol) 1 M  $\text{BH}_3$ -THF langsam hinzugegeben und die Reaktionslösung für 72 h bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Reaktionsgemisch viermal mit je 20 mL EtOAc extrahiert, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingeeengt. Der Feststoff wurde anschließend in heißem EtOH aufgenommen, heiß filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingeeengt. Es wurden 385 mg (1.24 mmol, 62%) **29** als farblosen Feststoff erhalten.

Methode B:

Es wurden 250 mg (0.570 mmol) des Triacetats **30** wurden nach AAV2 umgesetzt. Es wurden 168 mg (0.540 mmol, 94%) eines farblosen, kristallinen Feststoffes **29** erhalten.

**$R_f$ :** 0.23 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9:1, Schwefelsäure);

## 8. Experimenteller Teil

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 3.54 (t, 6H,  $^3J$  = 6.81 Hz, 7-H), 2.12-2.10 (m, 1H, 1-H), 1.57-1.49 (m, 6H, 6-H), 1.42 (d, 6H,  $^3J$  = 2.32 Hz, 2-H), 1.26-1.14 (m, 12H, 4-H, 5-H);

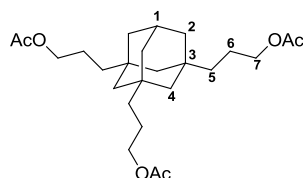
**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 64.0 (C7), 48.3 (C4), 42.8 (C2), 41.2 (C5), 34.4 (C3), 31.1 (C1), 27.0 (C6);

**IR (KBr):**  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 3285, 2899, 2841, 1456, 1354, 1055, 1009;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_3$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  333.2400, gefunden 333.2399.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit denen der Literatur überein.<sup>159</sup>

### 1,3,5-Tris-(3-acetoxypentyl)-adamantan **30**



Es wurden 385 mg (1.23 mmol) des Trialkohols (**29**) nach AAV1 umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatografisch gereinigt ( $\text{SiO}_2$ , PE:EtOAc = 4:1  $\rightarrow$  2:1). Es wurden 255 mg (0.58 mmol, 47%) eines farblosen Feststoffes erhalten.

**$R_f$ :** 0.38 (PE/EtOAc 3:1, Cersulfat);

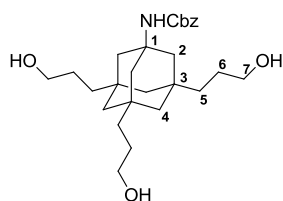
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 3.99 (t, 6H,  $^3J$  = 6.78 Hz, 7-H), 2.06 (m, 1H, 1-H), 2.02 (s, 9H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.58-1.53 (m, 6H, 6-H), 1.30 (s, 6H, 2-H), 1.14-1.04 (m, 12H, 5-H, 4-H);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 171.3 (C8), 65.5 (C7), 46.9 (C4), 41.5 (C2), 39.9 (C5), 33.5 (C3), 29.4 (C1), 22.2 (C6), 21.1 (C9);

**IR (Film, THF):**  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2974, 2860, 1724, 1458, 1182, 1069, 910;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_6$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  459.2717, gefunden 459.2736.

### 1-N-Cbz-3,5,7-Tris-(3-hydroxypentyl)-adamantan **31**



## 8. Experimenteller Teil

Es wurden 870 mg (1.73 mmol, 1 Äq.) **24** in 25 mL abs. THF gelöst und bei 0 °C 16 mL (16 mmol, 9 Äq.) 1 M BH<sub>3</sub>·THF langsam hinzutropft. Die Reaktionslösung wurde 19 h bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde der Suspension ein Gemisch aus 10 mL dest. H<sub>2</sub>O sowie 10 mL THF langsam hinzutropft. Das farblose Reaktionsgemisch wurde zweimal mit je 10 mL einer gesättigten, wässrigen Lösung von NaHCO<sub>3</sub> gewaschen, die organische Phase über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingeeengt. Zur vollständigen Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand anschließend gefriergetrocknet. Es wurden 680 mg (1.48 mmol, 86%) **31** als farblosen, kristallinen Feststoff erhalten.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 7.38-7.31 (m, 5H, aryl.-H), 5.04 (s, 2H, 10-H), 3.54 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 6.59 Hz, 7-H), 1.62 (s, 6H, 2-H), 1.57-1.50 (m, 6H, 6-H), 1.27-1.21 (m, 9H, 5-H, 4a-H), 1.15 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.08 Hz, 4b-H);

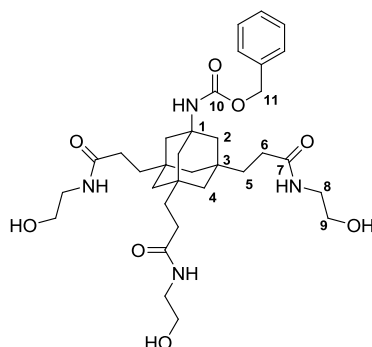
**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 129.4 (C13), 128.8 (C14), 128.7 (C12), 66.7 (C10), 63.8 (C7), 53.9 (C1), 47.3 (C4), 46.6 (C2), 40.5 (C5), 36.0 (C3), 27.1 (C6);

**IR (KBr):**  $\nu$  [cm<sup>-1</sup>] = 3418, 3065, 2932, 2847, 1695, 1535, 1449, 1350, 1234, 1119, 1055;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für C<sub>27</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>5</sub> (M+Na)<sup>+</sup> 482.2877, gefunden 482.2879.

### 8.6.4.4 Kupplungsprodukte

#### 1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2'-hydroxyethyl-amido]-ethyl]-adamantan **27**<sup>164</sup>



100 mg (0.2 mmol, 1 Äq.) der Adamantantricarbonsäure **24** und 274 mg (0.72 mmol, 3.6 Äq.) HATU wurden in ca. 5 ml wasserfreiem DMF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurden 100  $\mu$ L (74 mg, 0.72 mmol, 3.6 Äq.) DIPEA zugegeben und weitere 20 min bei 0 °C gerührt. Zu dieser Lösung wurden 45  $\mu$ L (44 mg, 0.72 mmol, 3.6 Äq.) Ethanolamin hinzugegeben und nach weiteren 10 min rühren bei 0 °C langsam auf RT erwärmt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde in H<sub>2</sub>O aufgenommen und drei Mal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

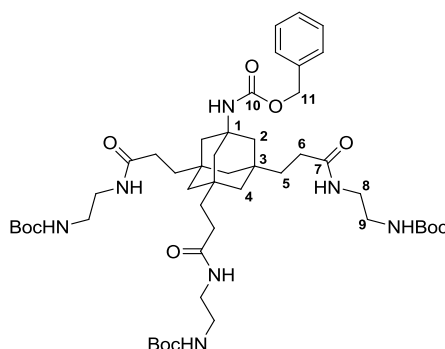
## 8. Experimenteller Teil

gewaschen und die wässrige Phase bis zur Trockene eingengt. Es konnte **27** (63 mg, 0.10 mmol, 49%) als farbloser Feststoff erhalten werden.

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 7.28 – 7.23 (m, 5H, aryl-H), 4.96 (s, 2H, 11-H), 3.56 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 5.3 Hz, 9-H), 3.30 – 3.24 (m, 6H, 8-H), 2.12 (m, 6H, 6-H), 1.48 – 1.39 (m, 12H, 5-H, 2-H), 1.06 – 0.96 (m, 6H, 4-H);

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für C<sub>33</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> (M+H)<sup>+</sup> 653.3521, gefunden 653.3520

### 1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2'-*N*-Boc-aminoethyl-amido]-ethyl]-adamantan **25**



208 mg (0.41 mmol) der Adamantantricarbonsäure **24** und 536 mg (1.4 mmol, 3.4 Äq.) HATU wurden in ca. 5 ml wasserfreiem DMF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurden 250  $\mu$ L (185 mg, 1.43 mmol, 3.5 Äq.) DIPEA zugegeben und weitere 20 min bei 0 °C gerührt. Zu dieser Lösung wurden 210  $\mu$ L (212 mg, 1.33 mmol, 3.24 Äq.) *N*-Boc-Ethylendiamin hinzugegeben und nach weiteren 10 min rühren bei 0 °C langsam auf RT erwärmt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in EtOAc aufgenommen und je drei Mal mit ges. wässriger KHSO<sub>4</sub><sup>-</sup>, NaHCO<sub>3</sub><sup>-</sup> und NaCl-Lsg. gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und bis zur Trockene eingengt. Es konnte **25** (345 mg, 0.37 mmol, 91%) als gelbliches Glas isoliert werden.

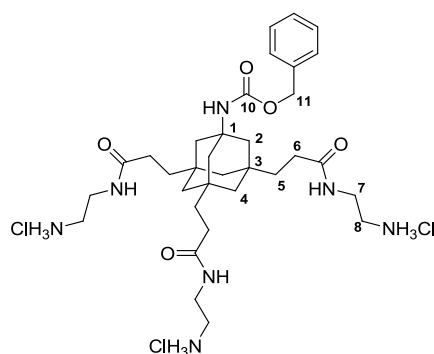
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 7.36 – 7.29 (m, 5H, aryl.-H), 5.00 (s, 2H, 11-H), 3.33 – 3.32 (m, 6H, 8-H), 3.23 (s, 6H, 9-H), 2.11 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 7.5 Hz, 6-H), 1.54 – 1.53 (m, 12H, 2-H, 5-H), 1.43 (s, 27H, -CH<sub>3</sub>), 1.11 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 4a-H), 1.04 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 4b-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 174.4 (C7), 157.0 (C10), 136.8 (C<sub>q</sub>aryl), 128.7 (Caryl), 128.2 (Caryl), 128.1 (Caryl), 79.7 (-COOC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 66.1 (C11), 52.9 (C1), 45.3 (C4), 45.0 (C2), 40.6 (C8), 40.6 (C9), 38.2 (C5), 35.2 (C3), 30.3 (C6), 28.6 (-CH<sub>3</sub>);

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für C<sub>48</sub>H<sub>78</sub>N<sub>7</sub>O<sub>11</sub> (M+H)<sup>+</sup> 928.5754, gefunden 928.5759

## 8. Experimenteller Teil

### 1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2'-aminoethyl-amido]-ethyl]-adamantan Hydrochlorid **26**<sup>164</sup>



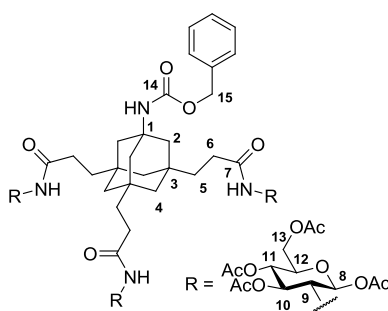
Es wurden 340 mg (0.36 mmol) des Boc- geschützten Amins **25** wurden in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/TFA 4:1 bei 0°C gelöst und für 2h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und 3-mal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> coevaporiert. Anschließend wurde der erhaltene Feststoff mit 1 M HCl-Lsg. lyophilisiert. Es konnte **26** (250 mg, 0.34 mmol, 94%) als gelblicher Feststoff isoliert werden.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.30 (m, 5H, aryl H), 5.01 (s, 2H, 11-H), 3.45 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 6.3 Hz, 7-H), 3.06 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 6.3 Hz, 8-H), 2.27 – 2.23 (m, 6H, 6-H), 1.60 (s, 6H, 2-H), 1.54 – 1.51 (m, 6H, 5-H), 1.21 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.0 Hz, 4a-H), 1.13 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.0 Hz, 4b-H);

**MS (ESI) *m/z* (%)**: 210.2 (100%) [*M*+3H]<sup>3+</sup>

#### 8.6.5 Synthesen der Glucosaminderivate

### 1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2'-desoxy-1',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranos-2'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan **44**



100 mg (0.2 mmol) des Cbz geschützten Grundgerüsts **24** wurden nach AAV 3 mit 342 mg (0.9 mmol, 4.5 Äq.) HATU, 320  $\mu$ L (1.8mmol, 9 Äq.) DIPEA und 345 mg (0.9 mmol, 4.5 Äq.) des geschützten Zuckerderivates **43** umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (Laufmittel EtOAc) gereinigt. Es konnten 238 mg (0.16 mmol) des Glycokonjugats **44** als farbloses Lyophilisat isoliert werden. Das entspricht einer Ausbeute von 78%.

## 8. Experimenteller Teil

$[\alpha]_D = +20.2$  ( $c = 2.3$ , MeOH);

$R_f$ : 0.44 (EtOAc, Schwefelsäure);

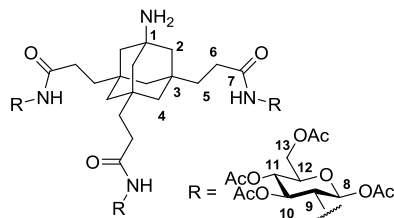
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.36 – 7.26 (m, 5H, aryl. H), 5.79 (d, 3H,  $^3J = 8.6$  Hz, 8-H), 5.28 (t, 3H,  $^3J = 10.5$  Hz, 10-H), 5.06 – 4.99 (m, 5H, 11-H, 15-H), 4.28 (dd, 3H,  $^3J = 12.6$  Hz,  $^2J = 4.1$  Hz, 13a-H), 4.13 (d, 3H,  $^3J = 12.6$  Hz, 13b-H), 4.01 (dd, 3H,  $^3J = 9.2$  Hz, 9-H), 3.92 (dd, 3H,  $^3J = 8.3$  Hz,  $^3J = 2.4$  Hz, 12-H), 2.13 – 2.08 (m, 6H, 6-H), 2.07 2.05 2.02 1.98 (s, je 9H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.55 (s, 6H, 2-H), 1.44 – 1.38 (m, 6H, 5-H), 1.15 (d, 3H,  $^2J = 11.9$  Hz, 4a-H), 1.06 (d, 3H,  $^2J = 11.9$  Hz, 4b-H),

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.0 (C14), 172.3, 171.7, 171.2, 170.6 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 155.5 (C14, HMBC), 136.6 (aryl C, HMBC), 129.5, 128.9, 128.8 (aryl C), 93.3 (C8), 73.8 (C10), 73.8 (C12), 69.7 (C11), 66.4 (C15, HSQC), 63.0 (C13), 54.2 (C9), 53.7 (C1), 46.3 (C4), 45.8 (C2), 40.3 (C5), 36.0 (C3), 31.4 (C6), 20.7, 20.7, 20.6, 20.6 ( $\text{OCOCH}_3$ );

**IR (KBr):**  $\nu$  2920, 1751, 1670, 1527, 1369, 1226, 1076, 1039, 848  $\text{cm}^{-1}$ ;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{69}\text{H}_{92}\text{N}_4\text{O}_{32}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1511.5592, gefunden 1511.5591

### 1-Amino-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2'-desoxy-1',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranos-2'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 52



90 mg (0.06 mmol) des Cbz-geschützten Amins **44** wurden in 10 ml EtOAc gelöst, es wurden 50  $\mu\text{l}$  AcOH und eine Spatelspitze 10% Pd/C hinzugefügt. Die Suspension wurde unter mehrmaligem erneuern der  $\text{H}_2$ -Atmosphäre für 72h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck bis zur Trockene eingengt. Es konnte **52** (76 mg, 0.056 mmol, 93%) als orangenes Öl erhalten werden.

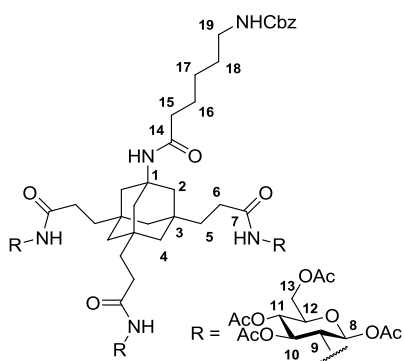
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.81 (d, 3H,  $^3J = 9.3$  Hz, 8-H), 5.30 (t, 3H,  $^3J = 10.7$  Hz, 10-H), 5.03 (t, 3H,  $^3J = 9.6$  Hz, 11-H), 4.28 (dd, 3H,  $^3J = 12.4$  Hz,  $^2J = 4.5$  Hz, 13a-H), 4.11 (dd, 3H,  $^3J = 12.4$  Hz,  $^2J = 2.3$  Hz, 13b-H), 4.06 – 4.00 (m, 3H, 9-H), 3.92 (qd, 3H,  $^3J = 10.1$  Hz,  $^3J = 2.2$  Hz, 12-H), 2.14 – 2.09 (m, 6H, 6-H), 2.07, 2.05, 2.02, 1.98 (s, je 9H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.50 – 1.44 (m, 12H, 2-H, 5-H), 1.17 (br s, 6H, 4-H),

## 8. Experimenteller Teil

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 176.6 (C7), 172.3, 171.7, 171.2, 170.6 ( $-\text{O}\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$ ), 93.3 (C8), 73.8 (C10), 73.8 (C12), 69.6 (C11), 62.9 (C13), 54.4 (C9), 53.4 (C1, HMBC), 45.3 (C4), 45.0 (C2), 39.7 (C5), 36.3 (C3), 31.2 (C6), 22.3, 20.7, 20.6, 20.6 ( $-\text{O}\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$ )

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{61}\text{H}_{86}\text{N}_4\text{O}_{30}$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$  1355.5400, gefunden 1355.5396

### 1-[(*N*-Cbz)-Aminocaproyl]-amino-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2'-desoxy-1',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranos-2'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan **53**



#### Methode A:

Es wurden 19 mg (0.067 mmol, 1.2 Äq.) *N*-Cbz-AHX-OH und 25 mg (0.067 mmol, 1.2 Äq.) HATU in trockenem DMF gelöst und unter Eiskühlung mit 12  $\mu\text{l}$  (9 mg, 0.067 mmol, 1.2 Äq.) DIPEA versetzt. Nach 10 min wurde das Ammoniumchlorid **52** (76 mg, 0.056 mmol, 1 Äq.) gelöst in trockenem DMF mit 12  $\mu\text{l}$  (9 mg, 0.067 mmol, 1.2 Äq.) DIPEA zur erste Lösung hinzugetropft. Die Reaktionslösung wurde langsam auf RT erwärmt und für 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in EtOAc aufgenommen und je 3-mal mit ges. wässriger  $\text{KHSO}_4$ -Lsg. und ges. wässriger NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (Laufmittel EtOAc) gereinigt. Es konnte **53** (28 mg, 0.02 mmol, 31%) als farbloses Lyophilisat isoliert werden.

#### Methode B:

Es wurden 285 mg (0.46 mmol) der Säure **23**, 787 mg (2.07 mmol, 4.5 Äq.) HATU und 360  $\mu\text{l}$  (267 mg, 2.07 mmol, 4.5 Äq.) DIPEA mit 794 mg (2.07 mmol, 4.5 Äq.) des Glucosaminderivats **43** und 360  $\mu\text{l}$  (267 mg, 2.07 mmol, 4.5 Äq.) DIPEA nach AAV 3 umgesetzt.

Anschließend wurde das Rohprodukt säulenchromatografisch (Laufmittel EtOAc) über einem Kieselgelpad gereinigt. Es konnte **53** (303 mg, 0.19 mmol, 41 %) als gelbliches Glas isoliert werden.

$[\alpha]_{\text{D}} = +36.8$  ( $c = 2.0$ , MeOH);

## 8. Experimenteller Teil

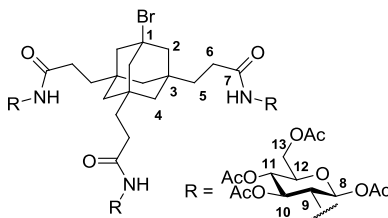
**R<sub>f</sub>**: 0.1 (EtOAc, Schwefelsäure);

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 7.38 – 7.27 (m, 5H, aryl-H), 5.79 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 8-H), 5.49 (br s, 2H, 1NH-H, NHCbz-H), 5.28 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 9.9 Hz, 10-H), 5.08 (s, 2H, -COCH<sub>2</sub>-Ph-H), 4.99 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 9.9 Hz, 11-H), 4.28 (dd, 3H, <sup>3</sup>J = 12.5 Hz, <sup>2</sup>J = 3.7 Hz, 13a-H), 4.13 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 12.1 Hz, 13b-H), 4.01 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 9-H), 3.91 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz, 12-H), 3.11 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6.3 Hz, 19-H), 2.13 – 2.09 (m, 8H, 6-H, 15-H), 2.07 2.05 2.01 1.98 (s, je 9H, OCOCH<sub>3</sub>), 1.61 (s, 6H, 2-H), 1.50 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 16-H), 1.44 – 1.28 (m, 8H, 5-H, 17-H), 1.24 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.0 Hz, 18-H), 1.15 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 4a-H), 1.06 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 4b-H),

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 177.0 (C7), 175.6 (HMBC) 172.3, 171.7, 171.2, 170.6 (OCOCH<sub>3</sub>), 158.9 (-NHCOCH<sub>2</sub>-, HMBC), 138.0 (aryl C, HMBC), 129.5, 128.9 128.7 (aryl C), 93.3 (C8), 73.8 (C10), 73.8 (C12), 69.7 (C11), 67.3 (-NHCOCH<sub>2</sub>-), 63.0 (C13), 54.7 (aliph C), 54.2(C9), 53.7 (C1, HMBC), 46.3 (C4), 45.5 (C2), 41.7 (C15), 40.3 (C5), 37.8 (aliph C), 36.0 (C3), 31.4 (C6), 27.1 (aliph C), 26.8 (aliph C), 20.7, 20.7, 20.6, 20.6 (OCOCH<sub>3</sub>);

**HRMS (ESI):** *m/z* berechnet für C<sub>75</sub>H<sub>103</sub>N<sub>5</sub>O<sub>33</sub> (M+Na)<sup>+</sup> 1625.6506, gefunden 1625.6529; C<sub>75</sub>H<sub>103</sub>N<sub>5</sub>O<sub>33</sub> (M+2Na)<sup>2+</sup> 824.3199, gefunden 824.3206

### 1-Brom-3,5,7-tris-[2-[N-(2'-desoxy-1',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranos-2'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan **54**



223 mg (0.5 mmol, 1 Äq.) des Adamantylbromids **16**, 864 mg (2.25 mmol, 4.5 Äq.) HATU, 780  $\mu$ L (4.5 mmol, 9 Äq.) DIPEA und 871 mg (2.25 mmol, 4.5 Äq.) des Ammoniumchlorids **43** wurden nach AAV 3 umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (Laufmittel PE/ EtOAc 1:4  $\rightarrow$  PE/ EtOAc 0:1) gereinigt. Es konnten 410 mg (0.29 mmol, 58%) des Bromids **54** als gelblicher Schaum erhalten werden.

$[\alpha]_D = +26.1$  (c = 1.6, MeOH);

**R<sub>f</sub>**: 0.36 (EtOAc, Schwefelsäure);

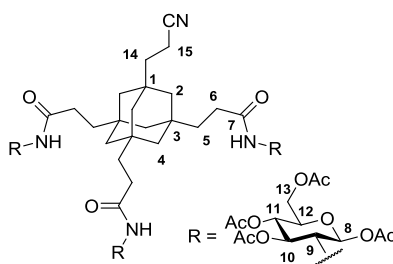
## 8. Experimenteller Teil

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.68 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 8-H), 5.19 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 10.1 Hz, 10-H), 5.11 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 11-H), 4.30 – 4.21 (m, 6H, 13a-H, 9-H), 4.14 – 4.10 (m, 3H, 13b-H), 3.85 – 3.81 (m, 3H, 12-H), 2.10, 2.07 (s, je 9H, OCOCH<sub>3</sub>), 2.05 – 2.01 (m, 21H, 2x OCOCH<sub>3</sub>, 6a-H), 1.91 – 1.83 (m, 6H, 2-H), 1.54 – 1.46 (m, 3H, 6b-H), 1.35 – 1.28 (m, 6H, 5-H), 1.12 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 11.9 Hz, 4a-H), 1.01 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.5 Hz, 4b-H),

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.3 (C7), 171.6, 170.8, 169.7, 169.4 (OCOCH<sub>3</sub>), 92.6 (C8), 73.0 (C10), 73.0 (C12), 68.0 (C11), 63.6 (C1), 61.9 (C13), 52.8 (C9), 52.3 (C4), 44.3 (C2), 38.4 (C5), 37.7 (C3), 30.5 (C6), 21.1, 21.0, 20.8, 20.7 (OCOCH<sub>3</sub>);

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für C<sub>61</sub>H<sub>84</sub>N<sub>3</sub>O<sub>30</sub>Br (M+Na)<sup>+</sup> 1442.4214, gefunden 1442.4298; (M+2Na)<sup>2+</sup> 732.7053, gefunden 732.7058;

### 1-(2-Cyanoethyl)-3,5,7-tris-[2-[N-(2'-desoxy-1',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranos-2'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 55



300 mg (0.74 mmol) des Nitrils **18** wurden nach AAV 3 mit 1.25 g (3.33 mmol, 4.5 Äq.) HATU, 1.06 mL (6.66 mmol, 9 Äq.) DIPEA und 1.28 g (3.33 mmol, 4.5 Äq.) des geschützten Zuckerderivates **43** umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (Laufmittel EtOAc) gereinigt. Es konnten 800 mg (0.57 mmol, 78%) des Glycokonjugats **55** als farbloses Lyophilisat isoliert werden.

$[\alpha]_D = +25.4$  (c = 2.1, MeOH);

$R_f$ : 0.30 (EtOAc, Schwefelsäure);

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 5.79 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 8.8 Hz, 8-H), 5.29 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 9.3 Hz, 10-H), 5.03 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, 11-H), 4.29 (dd, 3H, <sup>3</sup>J = 12.5 Hz, <sup>3</sup>J = 4.6 Hz, 13a-H), 4.14- 4.01 (m, 6H, 13b-H, 9-H), 3.92 (qd, 3H, <sup>3</sup>J = 10.0 Hz, <sup>3</sup>J = 2.2 Hz, 12-H), 2.41 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 15-H), 2.13 – 2.09 (m, 6H, 6-H), 2.07, 2.05, 2.02, 1.99 (br s, je 9H, OCOCH<sub>3</sub>), 1.54 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7.8 Hz, 14-H), 1.42 – 1.35 (m, 6H, 5-H), 1.10 (d, 12H, <sup>2</sup>J = 12.5 Hz, 4-H, 2-H)

## 8. Experimenteller Teil

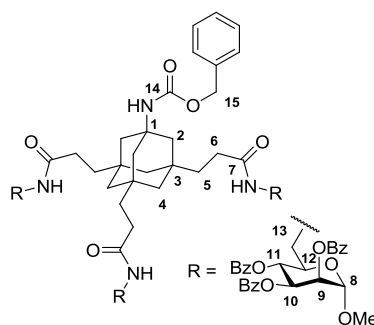
**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.1 (C7), 172.3, 171.7, 171.2, 170.6 ( $\text{O}\text{C}\text{OCH}_3$ ), 122.1 (-CN), 93.3 (C8), 73.8 (C10 oder 12), 73.8 (C12 oder 10), 69.8 (C11), 62.9 (C13), 54.2 (C9), 46.6 (C4), 46.1 (C2), 40.6 (C5), 39.7 (C14), 35.4 (C1), 35.1 (C3), 31.3 (C6), 20.7, 20.7, 20.6, 20.6 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 11.5 (C15);

**IR (KBr):**  $\nu$  2916, 2499, 1751, 1647, 1541, 1429, 1369, 1223, 1076, 1041, 904, 848  $\text{cm}^{-1}$ ;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{64}\text{H}_{88}\text{N}_4\text{O}_{30}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^{+}$  1415.5376, gefunden 1415.5374, ( $\text{M}+2\text{Na}$ ) $^{2+}$  719.2634, gefunden 719.2653.

### 8.6.6 Synthese der Glucose und Mannose 6-desoxy Verbindungen

**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2',3',4'-tri-*O*-benzoyl-6'-desoxy-1'-*O*-methyl- $\alpha$ -D-mannopyranos-6'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 50a**



115 mg (0.23 mmol) des Cbz geschützten Grundgerüsts **24** wurden nach AAV 3 mit 367 mg (0.97 mmol, 4.2 Äq.) HATU, 170  $\mu\text{l}$  (1.0 mmol, 4.2 Äq.) DIPEA und 490 mg (0.97 mmol, 4.2 Äq.) des geschützten Zuckerderivates **49a** umgesetzt.

Das Zuckerderivat wurde zuvor mit 10% Pd/C in einer  $\text{H}_2$ -Atmosphäre in MeOH vom Azid zum Amin reduziert. Die Reaktion wurde per DC verfolgt und ohne weitere Analytik eingesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (Laufmittel EtOAc/ PE, 4:1) gereinigt. Es konnten 274 mg (0.14 mmol, 61%) des Glykokonjugats **50a** als farbloses Lyophilisat isoliert werden.

$[\alpha]_{\text{D}} = -80.3$  ( $c = 1.3$ ,  $\text{CHCl}_3$ );

$R_f$ : 0.29 (EtOAc/PE 4:1, Schwefelsäure/ UV);

**$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 8.07 (dd, 6H,  $^3J = 8.3$  Hz,  $^2J = 1.3$  Hz, aryl Bz-H), 7.96 (dd, 6H,  $^3J = 8.3$  Hz,  $^2J = 1.3$  Hz, aryl Bz-H), 7.81 (dd, 6H,  $^3J = 8.3$  Hz,  $^2J = 1.3$  Hz, aryl Bz-H), 7.64 – 7.59 (m, 3H, aryl Bz-H), 7.52 – 7.45 (m, 9H, aryl Bz-H), 7.41 – 7.33 (m, 14H, arom Bz-H, aryl Z-H), 7.26 – 7.22 (m, 6H, aryl Bz-H), 6.03 (br s, 3H, NH-7), 5.87 (dd, 3H,  $^3J = 9.9$  Hz,  $^2J = 3.4$  Hz, 10-H), 5.72 (t, 3H,  $^3J = 10.3$  Hz, 11-H), 5.63 – 5.62 (m, 3H, 9-H), 5.03 (s, 2H, 15-H), 4.96 (d, 3H,  $^3J = 1.5$  Hz, 8-H), 4.18 – 4.15 (m, 3H, 12-H),

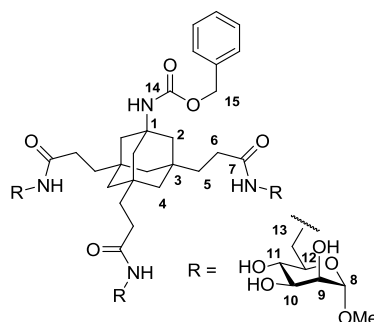
## 8. Experimenteller Teil

3.92 – 3.86 (m, 3H, 13a-H), 3.50 (s, 9H, -OCH<sub>3</sub>), 3.34 – 3.27 (m, 3H, 13b-H), 2.14 – 2.11 (m, 6H, 6-H), 1.56 – 1.48 (m, 12H, 2-H, 5-H), 1.11 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 4a-H), 0.99 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 4b-H)

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 173.2 (C7), 166.3, 165.5, 165.5 (-O<sub>2</sub>COPH), 162.4 (C14, HMBC), 136.7, 133.8, 133.7, 133.3, 130.0, 129.9, 129.8, 129.5, 129.2, 129.0, 128.8, 128.7, 128.6, 128.4, 128.3, 128.2 (aryl C), 98.6 (C8), 70.8 (C9), 69.8 (C10), 69.1 (C12), 68.4 (C11), 66.3 (C15, HSQC), 55.7 (-OCH<sub>3</sub>), 52.9 (C1, HMBC), 45.6 (C4, HSQC), 45.1 (C2, HSQC), 40.0 (C13), 38.2 (C5), 35.0 (C3), 30.5 (C6);

**HRMS (ESI):** *m/z* berechnet für C<sub>111</sub>H<sub>110</sub>N<sub>4</sub>O<sub>29</sub> (M+Na)<sup>+</sup> 1986.7187, gefunden 1986.7180.

### 1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(6'-desoxy-1'-*O*-methyl-α-D-mannopyranos-6'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 51a



205 mg (0.10 mmol) des geschützten Mannosederivates **50a** wurden nach AAV 2 umgesetzt.

Der Rückstand wurde in H<sub>2</sub>O aufgenommen und drei Mal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gewaschen. Die wässrige Phase wurde bis zur Trockene eingengt. Es konnten 107 mg (0.10 mmol, 95%) des debezoyliertem Produkts **51a** als farbloser Schaum erhalten werden.

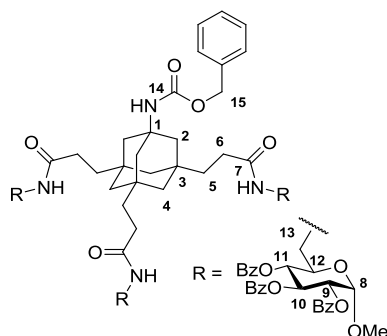
[α]<sub>D</sub> = 42.6 (c = 1.9, MeOH);

**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD):** δ [ppm] = 7.35 – 7.26 (m, 5H, aryl-H), 5.00 (s, 2H, 15-H), 4.62 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 1.4 Hz, 8-H), 3.80 (dd, 3H, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, <sup>3</sup>J = 1.6 Hz, 9-H), 3.66 (dd, 3H, <sup>3</sup>J = 8.3 Hz, <sup>3</sup>J = 3.5 Hz, 10-H), 3.54 – 3.45 (m, 12H, 11-H, 12-H, 13-H), 3.35 (s, 9H, -OCH<sub>3</sub>), 2.29 – 2.17 (m, 6H, 6-H), 1.59 (s, 6H, 2-H), 1.56 – 1.47 (m, 6H, 5-H), 1.19 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 4a-H), 1.12 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.2 Hz, 4b-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD):** δ [ppm] = 177.4 (C7), 156.6 (C14, HMBC), 138.2 (aryl. C, HMBC), 129.4, 128.9, 128.8 (aryl C), 102.8 (C8), 72.4 (C11), 72.2 (C10), 72.0 (C9), 69.4 (C12), 66.7 (C15, HSQC), 55.3 (-OCH<sub>3</sub>), 53.7 (C1, HMBC), 46.4 (C4), 46.0 (C2), 41.3 (C13), 40.0 (C5), 36.2 (C3), 31.0 (C6);

**HRMS (ESI):** *m/z* berechnet für C<sub>48</sub>H<sub>74</sub>N<sub>4</sub>O<sub>20</sub> (M+Na)<sup>+</sup> 1049.4789, gefunden 1049.4966, (M+2Na)<sup>2+</sup> 536.2340, gefunden 536.2340.

**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2',3',4'-tri-*O*-benzoyl-6'-desoxy-1'-*O*-methyl- $\alpha$ -D-glucopyranos-6'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan **50b****



138 mg (0.28 mmol) des Cbz-geschützten Grundgerüsts **24** wurden nach AAV 3 mit 369 mg (0.97 mmol, 4.2 Äq.) HATU, 170  $\mu$ L (1.0 mmol, 4.2 Äq.) DIPEA und 505 mg (1.0 mmol, 4.2 Äq.) des geschützten Zuckerderivates **49b** umgesetzt.

Das Zuckerderivat wurde zuvor mit 10% Pd/C in einer H<sub>2</sub>-Atmosphäre in MeOH vom Azid zum Amin reduziert. Die Reaktion wurde per DC verfolgt und ohne weitere Analytik eingesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (Laufmittel EtOAc/ PE, 4:1) gereinigt. Es konnten 166 mg (0.085 mmol, 30%) des Glycokonjugats **50b** als weißes Lyophilisat isoliert werden.

$[\alpha]_D = -66.4$  ( $c = 2.1$ , CHCl<sub>3</sub>);

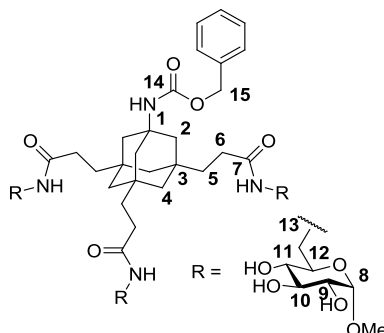
**R<sub>f</sub>**: 0.13 (EtOAc/PE 4:1, Schwefelsäure/ UV);

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 7.97 (t, 12H, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, aryl Bz-H), 7.86 (d, 6H, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, aryl Bz-H), 7.51 (dt, 6H, <sup>3</sup>*J* = 7.5 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.3 Hz, aryl Bz-H), 7.41 – 7.25 (m, 26H, aryl Bz-H, aryl Cbz-H), 6.15 (t, 3H, <sup>3</sup>*J* = 9.7 Hz, 10-H), 6.07 (t, 3H, <sup>3</sup>*J* = 5.3 Hz, 7-NH), 5.40 (t, 3H, <sup>3</sup>*J* = 9.7 Hz, 11-H), 5.26 (dd, 3H, <sup>3</sup>*J* = 10.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 3.5 Hz, 9-H), 5.21 (d, 3H, <sup>3</sup>*J* = 3.5 Hz, 8-H), 5.03 – 5.02 (m, 2H, 15-H), 4.83 (s, 1H, 14-NH), 4.19 – 4.15 (m, 3H, 12-H), 3.90 – 3.82 (m, 3H, 13a-H), 3.46 (s, 9H, OMe-H), 3.30 – 3.23 (m, 3H, 13b-H), 2.21 (t, 6H, <sup>3</sup>*J* = 7.0 Hz, 6-H), 1.64 – 1.53 (m, 12H, 2-H, 5-H), 1.21 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.3 Hz, 4a-H), 1.10 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.2 Hz, 4b-H),

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.3 (C7), 166.03, 166.0, 165.8 (-OCOPh), 154.7 (C14), 136.7, 133.7, 133.5, 133.2, 130.1, 130.1, 129.7, 129.3, 129.1, 128.9, 128.6, 128.6, 128.5, 128.4, 128.1, 128.1 (aryl C), 97.1 (C8), 72.2 (C9), 70.5 (C11), 70.3 (C10), 68.1 (C12), 66.2 (C15), 55.8 (-OCH<sub>3</sub>), 52.9 (C1), 45.5 (C4), 45.2 (C2), 39.5 (C13), 38.2 (C5), 35.1 (C3), 30.6 (C6);

**HRMS (ESI):** *m/z* berechnet für C<sub>111</sub>H<sub>110</sub>N<sub>4</sub>O<sub>29</sub> (M+Na)<sup>+</sup> 1986.7187, gefunden 1986.7124.

**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(6'-desoxy-1'-*O*-methyl- $\alpha$ -D-glucopyranos-6'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan  
51b**



109 mg (0.055 mmol) des geschützten Glucosederivates **50b** wurden nach AAV 2 umgesetzt.

Der Rückstand wurde in H<sub>2</sub>O aufgenommen und drei Mal mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gewaschen. Die wässrige Phase wurde bis zur Trockene eingeeengt. Es konnten 56 mg (0.055 mmol, quant.) des debezoyliertem Produkts **51b** als farbloser Schaum erhalten werden.

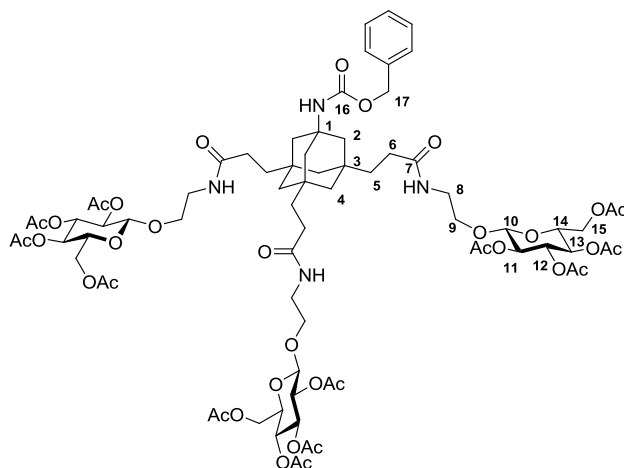
$[\alpha]_D = -8.4$  ( $c = 0.9$ , CHCl<sub>3</sub>);

**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.27 (m, 5H, aryl-H), 5.01 (s, 2H, 15-H), 4.66 (d, 3H, <sup>3</sup>*J* = 3.72 Hz, 8-H), 3.60 (t, 3H, <sup>3</sup>*J* = 9.2 Hz, 10-H), 3.57 – 3.52 (m, 6H, 12-H, 13a-H), 3.43 – 3.37 (m, 15H, 9-H, 13b-H, -OCH<sub>3</sub>), 3.11 (t, 3H, <sup>3</sup>*J* = 9.4 Hz, 11-H), 2.24 – 2.18 (m, 6H, 6-H), 1.58 (s, 6H, 2-H), 1.54 – 1.48 (m, 6H, 5-H), 1.18 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 4a-H), 1.11 (d, 3H, <sup>2</sup>*J* = 12.1 Hz, 4b-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 177.4 (C7), 156.8 (C14, HMBC), 138.8 (aryl C, HMBC), 129.4, 128.9, 128.7 (aryl C), 101.3 (C8), 74.7 (C10), 73.6 (C9), 73.1 (C11), 71.7 (C12), 66.8 (C15, HSQC), 55.6 (-OCH<sub>3</sub>), 53.7 (C1, HMBC), 46.4 (C4), 46.0 (C2), 41.5 (C13), 40.1 (C5), 36.2 (C3), 31.0 (C6);

**HRMS (ESI):** *m/z* berechnet für C<sub>48</sub>H<sub>74</sub>N<sub>4</sub>O<sub>20</sub> (M+Na)<sup>+</sup> 1049.4789, gefunden 1049.4838, (M+2Na)<sup>2+</sup> 536.2340, gefunden 536.2367

## 8.6.7 Synthesen der Glucosederivate

1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2'-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan **81**

490 mg (2.0 mmol) des Azids **57**, 226 mg (0.45 mmol) Adamantantricarbonsäure **24**, 608 mg (1.60 mmol) HATU und 270  $\mu$ L (1.6 mmol) DIPEA wurden nach AAV4 umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (EtOAc/EtOH 1:0  $\rightarrow$  EtOAc/ EtOH 19:1) gereinigt. Es konnten 400 mg (0.25 mmol, 56%) des Glucosids **81** als gelblicher Schaum erhalten werden.

$[\alpha]_D = -15.0$  ( $c = 2.2$ , MeOH);

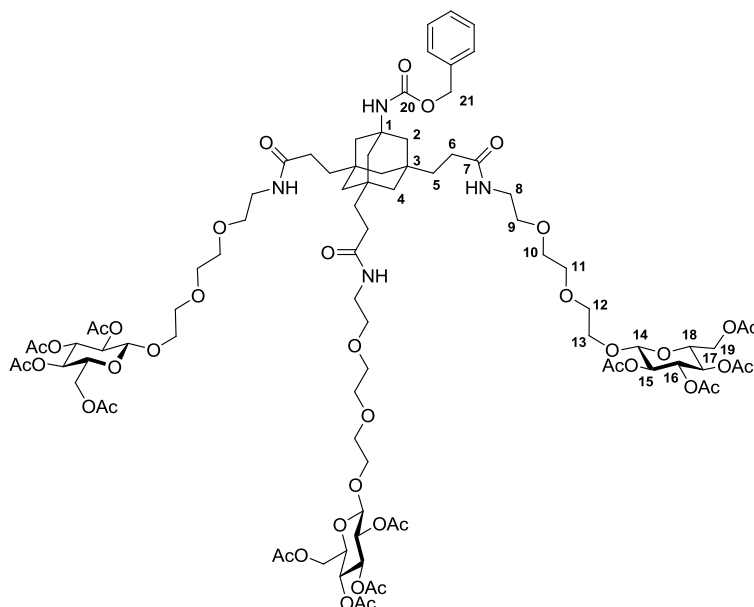
$R_f$ : 0.29 (5% EtOH in EtOAc, Schwefelsäure);

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.29 (m, 5H, aryl H), 5.25 (t, 3H,  $^3J = 9.0$  Hz, 12-H), 5.08 – 5.01 (m, 5H, 13-H, 17-H), 4.92 – 4.88 (m, 3H, 11-H), 4.70 (d, 3H,  $^3J = 8.2$  Hz, 10-H), 4.29 (dd, 3H,  $^2J = 12.4$  Hz,  $^3J = 4.8$  Hz, 15a-H), 4.15 (dd, 3H,  $^3J = 12.4$  Hz,  $^2J = 2.2$  Hz, 15b-H), 3.88 (qd, 3H,  $^3J = 10.0$  Hz,  $^2J = 2.2$  Hz, 14-H), 3.85 – 3.81 (m, 3H, 9a-H), 3.70 – 3.65 (m, 3H, 9b-H), 3.40 – 3.33 (m, 6H, 8-H), 2.21 (br t, 6H,  $^3J = 7.7$  Hz, 6-H), 2.06, 2.03, 2.01, 1.97 (br s, je 9H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.59 (br s, 6H, 2-H), 1.51 – 1.48 (m, 6H, 5-H), 1.19 (d, 3H,  $^2J = 11.9$  Hz, 4a-H), 1.10 (d, 3H,  $^2J = 11.9$  Hz, 4b-H);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 176.7 (C7), 171.7, 171.6, 171.3, 171.2 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 156.8 (C16, HMBC), 138.9 (aryl C, HMBC), 129.5, 128.9, 128.8 (aryl C), 101.8 (C10), 74.3 (C12), 72.9 (C14 oder C11), 72.8 (C11 oder C14), 69.8 (C13), 69.4 (C9), 66.7 (C17), 63.2 (C15), 53.7 (C1), 46.5 (C4), 45.9 (C2), 40.5 (C5), 39.9 (C8), 36.2 (C3), 31.1 (C6), 20.8, 20.8, 20.7, 20.6 ( $\text{OCOCH}_3$ ); Einige Signale ergeben sich aus dem HSQC bzw. HMBC Spektrum und sind im  $^{13}\text{C}$  nicht enthalten.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{75}\text{H}_{104}\text{N}_4\text{O}_{35}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1643.6373, gefunden 1643.6404;  $\text{C}_{75}\text{H}_{104}\text{N}_4\text{O}_{35}$  ( $\text{M}+2\text{Na}$ ) $^{2+}$  833.3133, gefunden 833.3140

**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2''-(2'''-[2''''-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan **82****



650 mg (1.9 mmol) des Azids **59**, 150 mg (0.3 mmol) Adamantantricarbonsäure **24**, 494 mg (1.30 mmol) HBTU und 215  $\mu$ L (1.3 mmol) DIPEA wurden nach AAV4 umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (EtOAc/EtOH 9:1  $\rightarrow$  EtOAc/ EtOH 8:2) gereinigt. Die Produktfraktionen wurden anschließend nochmals je zweimal mit gesättigter, wässriger NaHCO<sub>3</sub> und gesättigter, wässriger NaCl-Lsg gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Filtrat bis zur Trockene eingengt. Es konnten 284 mg (mmol, 50%) des Glucosids **82** als gelblicher Schaum erhalten werden.

$[\alpha]_D = -16.3$  ( $c = 2.1$ , MeOH);

$R_f$ : 0.22 (20% EtOH in EtOAc, Schwefelsäure);

**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 7.41 - 7.33 (m, 5H, aryl H), 5.30 (t, 3H, <sup>3</sup> $J$  = 9.3 Hz, 16-H), 5.09 – 5.05 (m, 5H, 17-H, 21-H), 4.94 (t, 3H, <sup>3</sup> $J$  = 9.0 Hz, 15-H), 4.79 (d, 3H, <sup>3</sup> $J$  = 7.9 Hz, 14-H), 4.33 (dd, 3H, <sup>3</sup> $J$  = 12.2 Hz, <sup>2</sup> $J$  = 4.3 Hz, 19a-H), 4.19 (br d, 3H, <sup>3</sup> $J$  = 12.2 Hz, 19b-H), 4.00 – 3.95 (m, 3H, 13a-H), 3.94 – 3.90 (m, 3H, 18-H), 3.81 – 3.77 (m, 3H, 13b-H), 3.71 – 3.63 (m, 18H, 10-H, 11-H, 12-H), 3.58 (t, 6H, <sup>3</sup> $J$  = 5.4 Hz, 9-H), 3.41 – 3.37 (m, 6H, 8-H), 2.24 (br t, 6H, <sup>3</sup> $J$  = 8.0 Hz, 6-H), 2.10, 2.07, 2.05, 2.01 (s, je 9H, OCOCH<sub>3</sub>), 1.65 (s, 6H, 2-H), 1.56 (br t, 6H, <sup>3</sup> $J$  = 8.0 Hz, 5-H), 1.26 (d, 3H, <sup>2</sup> $J$  = 11.6 Hz, 4a-H), 1.17 (d, 3H, <sup>2</sup> $J$  = 11.6 Hz, 4b-H)

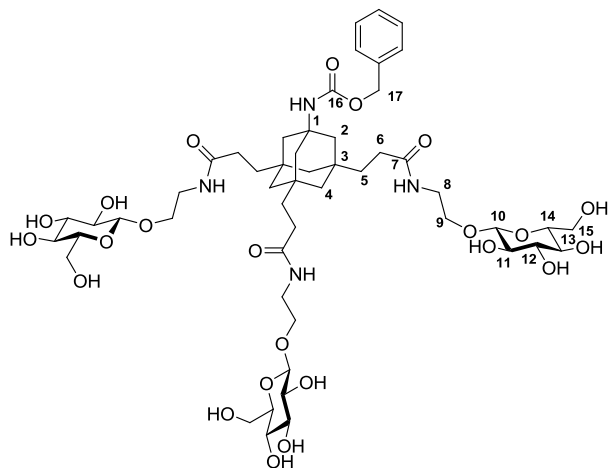
**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD):**  $\delta$  [ppm] = 176.7 (C7), 172.3, 171.6, 171.2, 171.2 (OCOCH<sub>3</sub>), 156.3 (C20, HMBC), 138.7 (aryl Cq), 129.5, 128.9, 128.8 (aryl C), 101.9 (C14), 74.3 (C16), 72.9 (C15 oder C18), 72.9 (C15 oder C18), 71.6 (linker C), 71.3 (linker C), 71.3 (linker C), 70.6 (C9), 70.3 (C13), 69.9 (C17), 66.7

## 8. Experimenteller Teil

(C21, HSQC), 63.1 (C19), 53.8 (C1), 46.5 (C4), 46.0 (C2), 40.4 (C8), 40.0 (C5), 36.2 (C3), 31.1 (C6), 20.8, 20.7, 20.6 20.6 (je  $\text{OCOCH}_3$ );

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{87}\text{H}_{128}\text{N}_4\text{O}_{41}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup> 1908.7979, gefunden 1908.7943;  $\text{C}_{87}\text{H}_{128}\text{N}_4\text{O}_{41}$  ( $\text{M}+2\text{Na}$ )<sup>2+</sup> 965.3919, gefunden 965.3926;  $\text{C}_{87}\text{H}_{128}\text{N}_4\text{O}_{41}$  ( $\text{M}+3\text{Na}$ )<sup>3+</sup> 651.5921, gefunden 651.5945.

### 1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2'-(β-D-glucopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan **85**



373 mg (0.23 mmol) des geschützten Glucosederivates **81** wurden nach AAV 2 umgesetzt. Es konnten 245 mg (0.22 mmol, 96%) des deacetylierten Produkts **85** als farbloser Schaum erhalten werden.

$[\alpha]_{\text{D}} = -2.4$  ( $c = 1.5$ , MeOH);

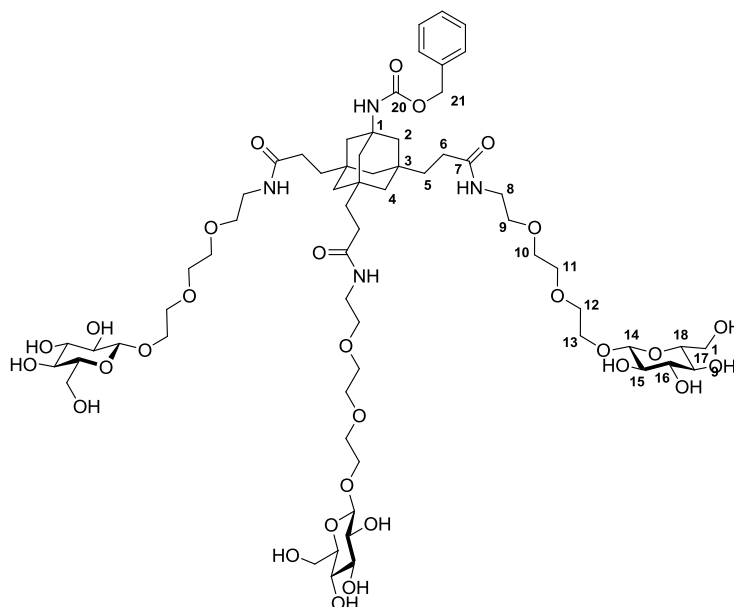
**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD/ D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  [ppm] = 7.39 – 7.30 (m, 5H, aryl-H), 5.04 (s, 2H, 17-H), 4.32 (d, 3H, <sup>3</sup> $J$  = 7.8 Hz, 10-H), 3.96 – 3.89 (m, 6H, 9a-H, 15a-H), 3.72 – 3.67 (m, 6H, 9b-H, 15b-H), 3.52 – 3.46 (m, 3H, 8a-H), 3.42 – 3.39 (m, 6H, 12-H, 8b-H), 3.33 – 3.31 (m, 6H, 13-H, 14-H), 3.24 (t, 3H, <sup>3</sup> $J$  = 7.9 Hz, 11-H), 2.23 (bt, 6H, <sup>3</sup> $J$  = 9.1 Hz, 6-H), 1.62 (s, 6H, 2-H), 1.55 (dd, 6H, <sup>3</sup> $J$  = 10.0, <sup>3</sup> $J$  = 6.7, 5-H), 1.23 (d, 3H, <sup>2</sup> $J$  = 12.0 Hz, 4a-H), 1.15 (d, 3H, <sup>2</sup> $J$  = 12.0 Hz, 4b-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD/ D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  [ppm] = 176.9 (C7), 157.0 (C16, HSQC), 138.6 (HMBC), 129.5, 128.9, 128.8 (aryl C), 104.5 (C10), 78.0 (C12), 78.0 (C13 o. 14), 75.1 (C11), 71.6 (C13 o. 14), 69.7 (C9), 66.7 (C17, HSQC), 62.7 (C15), 53.8 (C1), 46.5 (C4), 46.0 (C2), 40.7 (C8), 39.9 (C5), 36.2 (C3), 31.1 (C6)

**IR (KBr):**  $\nu$  3397, 2920, 2854, 1637, 1544, 1076, 1037 cm<sup>-1</sup>;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{51}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{O}_{23}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup> 1139.5106, gefunden 1139.5128;  $\text{C}_{51}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{O}_{23}$  ( $\text{M}+2\text{Na}$ )<sup>2+</sup> 581.2499, gefunden 581.2458.

**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2'-(2''-[2'''-(β-D-glucopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan **86****



280 mg (0.15 mmol) des geschützten Glucosederivates **82** wurden nach AAV 2 umgesetzt. Es konnten 198 mg (0.14 mmol, 93%) des deacetylierten Produkts **86** als gelblicher Schaum erhalten werden.

$[\alpha]_D = -12.2$  ( $c = 3.0$ , MeOH);

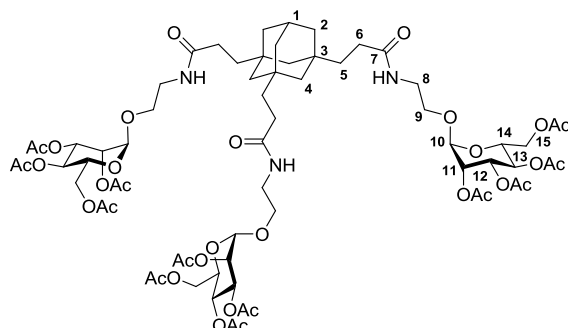
**$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.40 – 7.31 (m, 5H, aryl-H), 5.05 (s, 2H, 21-H), 4.36 (d, 3H,  $^3J = 7.8$  Hz, 14-H), 4.08 – 4.05 (m, 3H, 13a-H), 3.91 (d, 3H,  $^3J = 12.3$  Hz, 19a-H), 3.81 – 3.76 (m, 3H, 13b-H), 3.76 – 3.65 (m, 21H, 19b-H, 10-H, 11-H, 12-H), 3.58 (t, 6H,  $^3J = 5.8$  Hz, 9-H), 3.43 – 3.40 (m, 9H, 8-H, 16-H), 3.34 – 3.31 (m, 6H, 17-H, 18-H), 3.26 (t, 3H,  $^3J = 8.4$  Hz, 15-H), 2.24 (t, 6H,  $^3J = 7.8$  Hz, 6-H), 1.64 (s, 6H, 2-H), 1.55 (br t, 6H,  $^3J = 7.8$  Hz, 5-H), 1.24 (d, 3H,  $^2J = 11.9$  Hz, 4a-H), 1.16 (d, 3H,  $^2J = 12.0$  Hz, 4b-H);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 176.8 (C7), 156.8 (C20, HMBC), 138.5 (HMBC), 129.5, 128.9, 128.8, (aryl C), 104.5 (C14), 78.0 (C17 o. C18 o. C12), 78.0 (C17 o. C18 o. C12), 75.1 (C15), 71.7 (linker C), 71.5 (C17 o. C18), 71.5 (linker C), 71.1 (linker C), 70.6 (C9), 69.6 (linker C), 66.7 (C21, HSQC), 62.8 (C19), 53.8 (C1), 46.5 (C4), 46.0 (C2), 40.4 (C8), 40.0 (C5), 36.2 (C3), 31.1 (C6); Einige Signale ergeben sich aus dem HSQC bzw. HMBC Spektrum und sind im  $^{13}\text{C}$  nicht enthalten.

**IR (KBr):**  $\nu$  3408, 2924, 1637, 1544, 1132, 1059  $\text{cm}^{-1}$ ;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{51}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{O}_{23}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1403.6678, gefunden 1403.6612; ( $\text{M}+2\text{Na}$ ) $^{2+}$  713.3285, gefunden 713.3311.

## 8.6.8 Synthesen der Mannosederivate

**3,5,7-Tris-[2-[N-(2''-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan **64****

165 mg (0.47 mmol, 1 Äq.) Adamantantricarbonsäure **11**, 215 mg (1.4 mmol, 3 Äq.) HOBt Hydrat, 1.17 g (4.2 mmol, 9 Äq.) Azid **60**, 160  $\mu$ L (1.48 mmol, 3 Äq.) DIC und 4.8 mL (4.2 mmol, 9 Äq.) 1 M  $\text{PMe}_3$ -Lösung in THF wurden nach AAV 5 umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (EtOAc/ EtOH 1:0  $\rightarrow$  9:1) an Kieselgel gereinigt. Es konnten 303 mg (0.21 mmol, 67%) des Mannosids **64** als farbloses Öl erhalten werden.

$[\alpha]_{\text{D}} = +28.1$  ( $c = 3.1$ , MeOH);

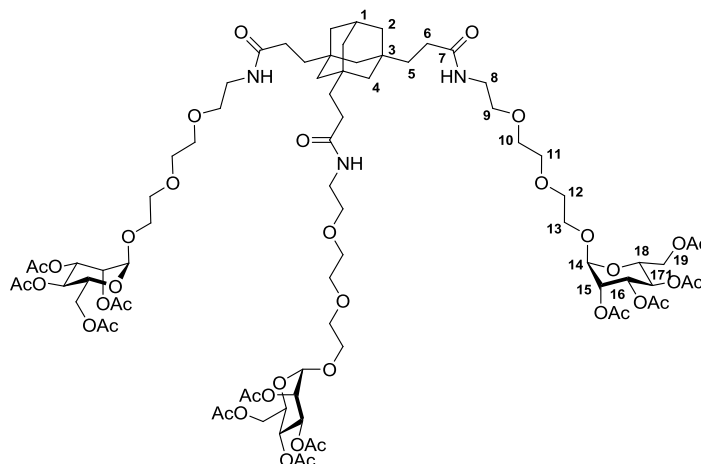
$R_f$ : 0.44 (10% EtOH in EtOAc, Schwefelsäure);

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.32 – 5.20 (m, 9H, 11-H, 12-H, 13-H), 4.85 (d, 3H,  $^3J = 1.5$  Hz, 10-H), 4.25 (dd, 3H,  $^3J = 12.4$  Hz,  $^3J = 5.3$  Hz, 15a-H), 4.14 – 4.07 (m, 3H, 15b-H), 4.03 (qd, 3H,  $^3J = 9.5$  Hz,  $^3J = 5.3$  Hz, 14-H), 3.82 – 3.75 (m, 3H, 9a-H), 3.60 – 3.53 (m, 3H, 9b-H), 3.41 (t, 3H,  $^3J = 5.3$  Hz, 8-H), 2.23 – 2.16 (m, 6H, 6-H), 2.14 (s, 9H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2.10 (s, 1H, 1-H), 2.07, 2.05, 1.97 (s, je 9H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.49 – 1.42 (m, 6H, 5-H), 1.39 (s, 6H, 2-H), 1.23 (d, 3H,  $^2J = 12.3$  Hz, 4a-H), 1.14 (d, 3H,  $^2J = 12.3$  Hz, 4b-H);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.2 (C7), 172.4, 171.6, 171.6, 171.5 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 98.9 (C10), 70.8, 70.7, 70.0 (C14), 67.7 (C9), 67.3, 63.6 (C15), 47.5 (C4), 42.1 (C2), 41.9 (C5), 40.2 (C8), 34.7 (C3), 31.1 (C6), 30.8 (C1), 20.7, 20.7, 20.7, 20.6 ( $\text{OCOCH}_3$ );

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{67}\text{H}_{97}\text{N}_3\text{O}_{33}$  ( $\text{M}^+ \text{Na}^+$ ) 1494.5897, gefunden 1494.6119; ( $\text{M}+2\text{Na}$ ) $^{2+}$  758.7894, gefunden 758.7895.

**3,5,7-Tris-[2-[N-(2''-(2'''-[2''''-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan 66**



109 mg (0.31 mmol, 1 Äq.) Adamantantricarbonsäure **11**, 142 mg (0.93 mmol, 3 Äq.) HOBt Hydrat, 952 mg (1.88 mmol, 9 Äq.) Azid **61**, 145  $\mu$ L (0.93 mmol, 3 Äq.) DIC und 3.20 mL (2.79 mmol, 9 Äq.) 1 M  $\text{PMe}_3$ -Lösung in THF wurden nach AAV 5 umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (EtOAc/ EtOH 1:0  $\rightarrow$  17:3) an Kieselgel gereinigt. Es konnten 282 mg (0.16 mmol, 52%) des Mannosids **66** als oranges Öl erhalten werden.

$[\alpha]_D = +13.1$  ( $c = 2.8$ , MeOH);

$R_f$ : 0.06 (10% EtOH in EtOAc, Schwefelsäure);

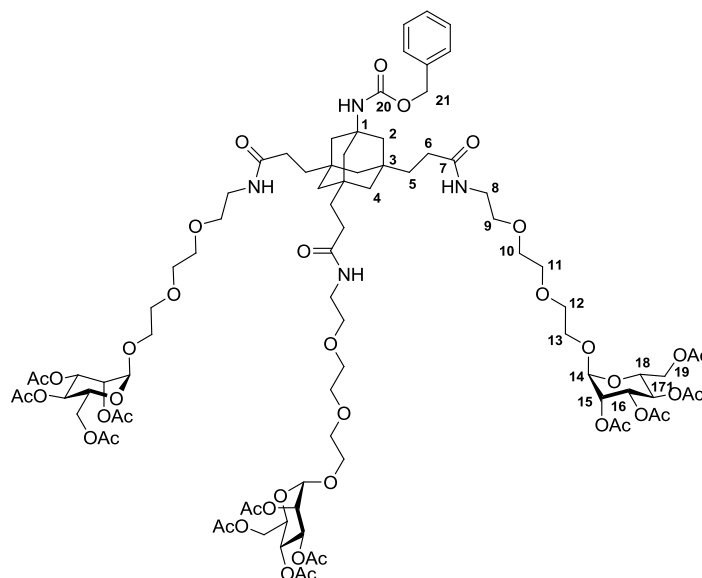
**$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.30 – 5.23 (m, 9H, 15-H, 16-H, 17-H), 4.90 (d, 3H,  $^3J = 1.2$  Hz, 14-H), 4.25 (dd, 3H,  $^3J = 12.3$  Hz,  $^3J = 5.1$  Hz, 19a-H), 4.14 – 4.10 (m, 6H, 19b-H, 18-H), 3.89 – 3.84 (m, 3H, 13a-H), 3.73 – 3.70 (m, 9H, 13b-H, Linker-H), 3.69 – 3.66 (m, 6H, Linker-H), 3.63 (t, 3H,  $^3J = 4.5$  Hz, Linker-H), 3.55 (t, 6H,  $^3J = 5.6$  Hz, 9-H), 3.38 – 3.34 (m, 6H, 8-H), 2.20 – 2.16 (m, 6H, 6-H), 2.14 (s, 9H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 2.10 (s, 1H, 1-H), 2.07, 2.05, 1.96 (s, je 9H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.47 – 1.42 (m, 6H, 5-H), 1.39 (s, 6H, 2-H), 1.22 (d, 3H,  $^2J = 12.1$  Hz, 4a-H), 1.13 (d, 3H,  $^2J = 12.1$  Hz, 4b-H);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (1500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.0 (C7), 172.3, 171.6, 171.5, 171.5 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 99.0 (C10), 71.6 (C Linker), 71.3 (C Linker), 71.2 (C Linker), 70.8 (C Zucker), 70.7 (C Zucker), 70.7 (C9), 69.8 (C18), 68.4 (C13), 67.3 (C Zucker), 63.6 (C19), 47.5 (C4), 42.1 (C2), 40.7 (C5), 40.4 (C8), 34.7 (C3), 31.0 (C6), 30.8 (C1), 20.7, 20.7, 20.7, 20.6 ( $\text{OCOCH}_3$ );

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{79}\text{H}_{121}\text{N}_3\text{O}_{39}$  ( $\text{M}^+ \text{Na}^+$ )<sup>+</sup> 1758.7469, gefunden 1758.7163; ( $\text{M}^+ \text{H}^+$ )<sup>+</sup> 1736.7645, gefunden 1736.7343.



**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2''-(2'''-[2''''-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan **84****



473 mg (1.4 mmol) des Azids **61**, 150 mg (0.29 mmol) Tricarbonsäure **24**, 494 mg (1.3 mmol) HBTU und 215  $\mu$ L (1.3 mmol) DIPEA wurden nach AAV 4 umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (EtOAc/EtOH 19:1  $\rightarrow$  8:2) gereinigt. Es konnten 290 mg (0.15 mmol, 53%) des Mannosids **84** als gelblicher Schaum erhalten werden.

$[\alpha]_D = +21.6$  ( $c = 2.3$ , MeOH);

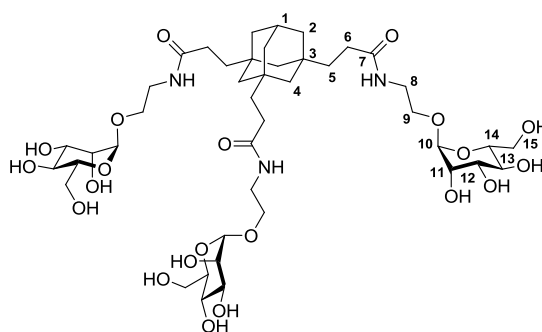
$R_f$ : 0.12 (10% EtOH in EtOAc, Schwefelsäure);

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.29 (m, 5H, aryl H), 5.30 – 5.23 (m, 9H, 15-H, 16-H, 17-H), 5.01 (s, 2H, 21-H), 4.90 (d, 3H,  $^3J = 0.9$  Hz, 14-H), 4.24 (dd, 3H,  $^3J = 12.4$  Hz,  $^3J = 5.1$  Hz, 19a-H), 4.15 – 4.10 (m, 6H, 19b-H, 18-H), 3.87 – 3.82 (m, 3H, 13a-H), 3.73 – 3.61 (m, 21H, 9-H, 10-H, 11-H, 13b-H), 3.55 (t, 6H,  $^3J = 5.4$  Hz, 12-H), 3.38 – 3.34 (m, 6H, 8-H), 2.21 – 2.17 (m, 6H, 6-H), 2.13, 2.06, 2.04, 1.96 (s, je 9H,  $\text{OCOCH}_3$ ), 1.59 (s, 6H, 2-H), 1.51 (br t, 6H,  $^3J = 8.6$  Hz, 5-H), 1.21 (d, 3H,  $^2J = 12.2$  Hz, 4a-H), 1.11 (d, 3H,  $^2J = 12.2$  Hz, 4b-H);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 176.7 (C7), 172.4, 171.6, 171.5, 171.5 ( $\text{OCOCH}_3$ ), 156.7 (C20, HMBC), 138.0 (aryl  $\text{C}_q$ , HMBC), 129.5, 128.9, 128.8, (aryl C), 99.0 (C14), 71.6 (linker C), 71.3 (linker C), 71.2 (Zucker C), 70.8 (C12), 70.7 (Zucker C), 70.6 (C9), 69.8 (C18), 68.3 (C13), 67.3 (C16), 66.6 (C21, HSQC), 63.6 (C19), 53.6 (C1), 46.5 (C4), 45.9 (C2), 40.4 (C5), 40.0 (C8), 36.2 (C3), 31.1 (C6), 20.7, 20.7, 20.6 ( $\text{OCOCH}_3$ );

**IR (KBr):**  $\nu$  2924, 1749, 1653, 1543, 1371, 1227, 1136, 1085, 1049, 979  $\text{cm}^{-1}$ ;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{87}\text{H}_{128}\text{N}_4\text{O}_{41}$  ( $M+2\text{Na}$ ) $^{2+}$  965.8936, gefunden 965.8968

**3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2'-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan **65****

272 mg (0.185 mmol) des geschützten Mannosederivates **64** wurden nach AAV 2 umgesetzt. Es konnten 140 mg (0.145 mmol, 78%) des deacetylierten Produkts **65** als farbloser Schaum erhalten werden.

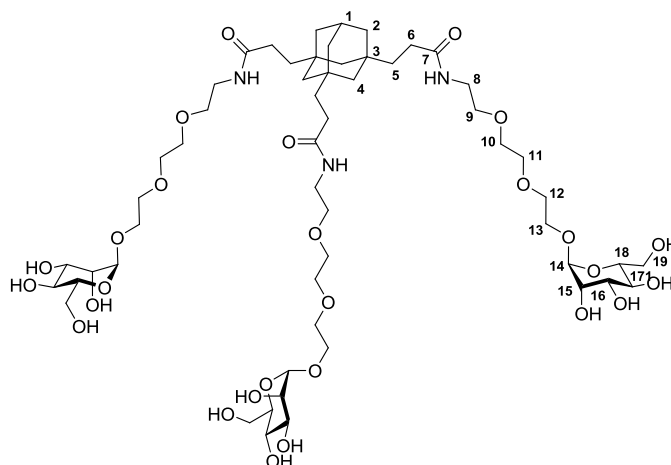
$[\alpha]_D = +11.7$  ( $c = 1.6$ , MeOH);

**$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 4.77 (d, 3H,  $^3J = 1.2$  Hz, 10-H), 3.84 (dd, 3H,  $^3J = 11.7$  Hz,  $^3J = 2.2$  Hz, 15a-H), 3.82 – 3.81 (m, 3H, 11-H), 3.77 – 3.73 (m, 3H, 9a-H), 3.73 – 3.69 (m, 6H, 15b-H, 12-H), 3.61 (dd, 3H,  $^3J = 9.5$  Hz,  $^3J = 9.5$  Hz, 13-H), 3.56 – 3.52 (m, 6H, 14-H, 9b-H), 3.44 – 3.39 (m, 3H, 8a-H), 3.37 – 3.33 (m, 3H, 8b-H), 2.20 – 2.16 (m, 6H, 6-H), 2.10 (sep, 1H,  $^3J = 2.7$  Hz, 1-H), 1.44 (dd, 6H,  $^3J = 10.3$  Hz,  $^3J = 6.3$  Hz, 5-H), 1.38 (s, 6H, 2-H), 1.21 (d, 3H,  $^2J = 11.9$  Hz, 4a-H), 1.16 (d, 3H,  $^2J = 11.9$  Hz, 4b-H)

**$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.3 (C6), 101.6 (C10), 74.7 (C14), 72.6 (C12), 72.1 (C11), 68.6 (C13), 67.2 (C9), 62.9 (C15), 47.4 (C4), 42.1 (C2), 40.8 (C5), 40.3 (C8), 34.7 (C3), 31.0 (C6), 30.8 (C1);

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{51}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{O}_{23}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1139.51056, gefunden 1139.5282;  $\text{C}_{51}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{O}_{23}$  ( $\text{M}+2\text{Na}$ ) $^{2+}$  581.2499, gefunden 581.2402.

**3,5,7-Tris-[2-[N-(2''-(2'''-[2''''-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan 67**



186 mg (0.11 mmol) des geschützten Mannosederivates **66** wurden nach AAV 2 umgesetzt. Es konnten 121 mg (0.10 mmol, 91%) des deacetylierten Produkts **67** als farbloser Schaum erhalten werden.

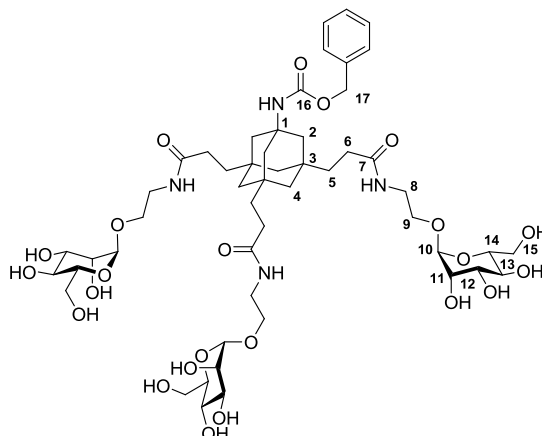
$[\alpha]_D = +5.0$  ( $c = 1.3$ , MeOH);

**$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 4.81 (d, 3H,  $^3J = 1.4$  Hz, 14-H), 3.87 – 3.81 (m, 9H, 19a-H, 13a-H, 15-H), 3.73 – 3.56 (m, 33H, 19b-H, 13b-H, 10-H, 11-H, 12-H, 16-H, 17-H, 18-H), 3.54 (t, 3H,  $^3J = 5.4$  Hz, 9-H), 3.35 (t, 3H,  $^3J = 5.4$  Hz, 8-H), 2.21 - 2.16 (m, 6H, 6-H), 2.10 (br s, 1H, 1-H), 1.47 - 1.43 (m, 6H, 5-H), 1.39 (s, 6H, 2-H), 1.21 (d, 3H,  $^2J = 12.2$  Hz, 4a-H), 1.14 (d, 3H,  $^2J = 12.2$  Hz, 4b-H)

**$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.2 (C6), 101.8 (C14), 74.7 (C-Zucker), 72.6 (C-Zucker), 72.1 (C15), 71.6 (C-Linker), 71.4 (C-Linker), 71.3 (C-Linker), 70.7 (C9), 68.7 (C17), 67.7 (C13), 63.0 (C19), 47.4 (C4), 42.2 (C2), 40.7 (C5), 40.5 (C8), 34.7 (C3), 31.0 (C6), 30.8 (C1);

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{55}\text{H}_{96}\text{DN}_3\text{O}_{27}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1255.6264, gefunden 1255.6278; ( $\text{M}+2\text{Na}$ ) $^{2+}$  639.3078, gefunden 639.3069. Die HRMS Analytik wurde aus der NMR Probe durchgeführt und enthält somit ausgetauschte Deuteriumatome. Es wurden nur die größten Signale angegeben.

**1-*N*-Cbz-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2''-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan 87**



369 mg (0.23 mmol) des geschützten Mannosederivates **83** wurden nach AAV 2 umgesetzt. Es konnten 239 mg (0.22 mmol, quant.) des deacetylierten Produkts **87** als farbloser Schaum erhalten werden.

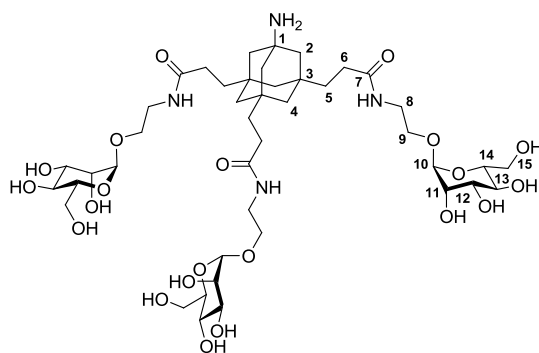
$[\alpha]_D = +31.4$  ( $c = 1.4$ , MeOH);

**$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.27 (m, 5H, aryl H), 5.01 (s, 2H, 17-H), 4.77 (d, 3H,  $^3J = 1.6$  Hz, 10-H), 3.84 (dd, 3H,  $^3J = 11.7$  Hz,  $^3J = 2.3$  Hz, 15a-H), 3.82 (dd, 3H,  $^3J = 3.3$  Hz,  $^3J = 1.8$  Hz, 11-H), 3.87 – 3.73 (m, 3H, 9a-H), 3.72 – 3.69 (m, 6H, 12-H, 15b-H), 3.61 (t, 3H,  $^3J = 9.7$  Hz, 13-H), 3.56 – 3.51 (m, 6H, 14-H, 9b-H), 3.44 – 3.39 (m, 3H, 8a-H), 3.37 – 3.33 (m, 3H, 8b-H), 2.19 (t, 6H,  $^3J = 9.0$  Hz, 6-H), 1.59 (s, 6H, 2-H), 1.51 (dd, 6H,  $^3J = 10.8$  Hz,  $^3J = 6.3$  Hz, 5-H), 1.20 (d, 3H,  $^2J = 12.1$  Hz, 4a-H), 1.12 (d, 3H,  $^2J = 12.1$  Hz, 4b-H);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.0 (C7), 156.1 (C16, HMBC), 138.5 (aryl  $\text{C}_q$ , HMBC), 129.5, 128.9, 128.8 (aryl C), 101.7 (C10), 74.8 (C14), 72.6 (C12), 72.1 (C11), 68.7 (C9), 67.2 (C13), 66.7 (C17, HSQC), 63.0 (C15), 53.8 (C1, HMBC), 46.4 (C4), 46.0 (C2), 40.3 (C5), 40.1 (C8), 36.2 (C3), 31.1 (C6);

**IR (KBr):**  $\nu$  3408, 2924, 1637, 1544, 1132, 1059  $\text{cm}^{-1}$ ;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{51}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{O}_{23}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ ) $^+$  1139.51056, gefunden 1139.5282;  $\text{C}_{51}\text{H}_{80}\text{N}_4\text{O}_{23}$  ( $\text{M}+2\text{Na}$ ) $^{2+}$  581.2499, gefunden 581.2402.

**1-Amino-3,5,7-tris-[2-[N-(2'-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan **89****

220 mg (0.2 mmol) der Cbz-geschützten Verbindung **87** wurden in MeOH gelöst, mit 25 mg 10% Pd/C versetzt und für 96 h bei RT in einer H<sub>2</sub>-Atmosphäre gerührt. Der Fortschritt der Reaktion wurde mittels ESI-MS überprüft. Die Reaktionslösung wurde filtriert und bis zur Trockene eingeeengt. Es konnten 190 mg (0.19 mmol, 95%) als farblores Lyophilisat **89** erhalten werden.

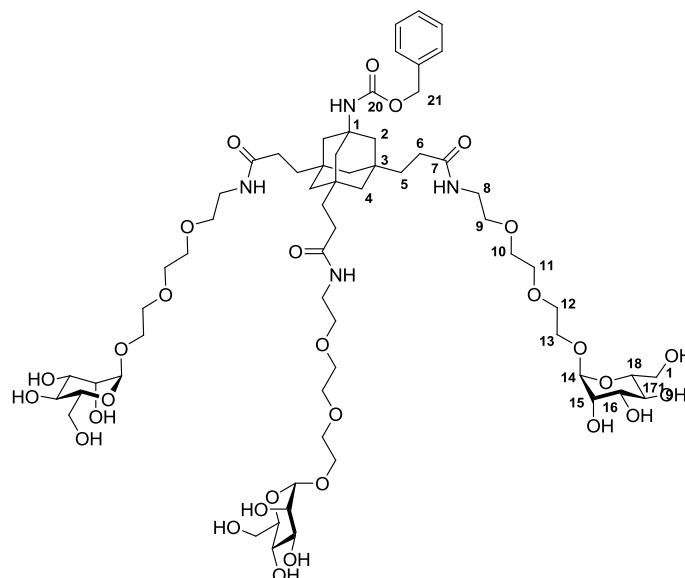
**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD/ D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  [ppm] = 4.80 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 1.5 Hz, 10-H), 3.86 – 3.82 (m, 6H, 15a-H, 11-H), 3.78 – 3.71 (m, 9H, 9a-H, 12-H, 15b-H), 3.64 (t, 3H, <sup>3</sup>J = 9.5 Hz, 13-H), 3.57 – 3.53 (m, 6H, 14-H, 9b-H), 3.45 – 3.40 (m, 3H, 8a-H), 3.39 – 3.35 (m, 3H, 8b-H), 2.22 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, 6-H), 1.56 (dd, 6H, <sup>3</sup>J = 9.8 Hz, <sup>3</sup>J = 6.1 Hz, 5-H), 1.51 (s, 6H, 2-H), 1.22 (s, 6H, 4-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD/D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  [ppm] = 177.1 (C6), 101.3 (C10), 74.5 (C14), 72.3 (C12), 71.8 (C11), 68.3 (C9), 67.1 (C13), 62.6 (C15), 54.7 (C1), 45.1 (C4), 44.8 (C2), 40.3 (C5), 39.4 (C8), 36.3 (C3), 30.9 (C6), Im <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C NMR befindet sich noch je ein zusätzliches Signal welches auf die partielle Bildung eines Ammoniumacetats hinweist (1.91 (s), 24.1 (C)).

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für C<sub>43</sub>H<sub>74</sub>N<sub>4</sub>O<sub>21</sub> (M+H)<sup>+</sup> 983.4918, gefunden 983.4823; C<sub>43</sub>H<sub>74</sub>N<sub>4</sub>O<sub>21</sub> (M+2Na)<sup>2+</sup> 514.2315, gefunden 514.2262.

## 8. Experimenteller Teil

### 1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2''-(2'''-[2''''-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan **88**



207 mg (0.11 mmol) des geschützten Mannosederivates **84** wurden nach AAV 2 umgesetzt. Es konnten 150 mg (0.11 mmol, 99%) des deacetylierten Produkts **88** als farbloser Schaum erhalten werden.

$[\alpha]_D = +17.1$  ( $c = 1.0$ , MeOH);

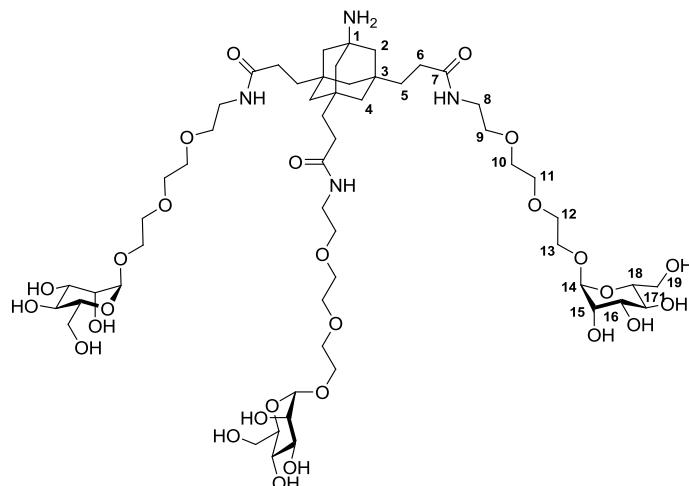
**$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.36 – 7.27 (m, 5H, aryl H), 5.01 (s, 2H, 17-H), 4.82 (d, 3H,  $^3J = 1.4$  Hz, 14-H), 3.87 – 3.82 (m, 9H, linker-H, 19a-H, 15-H), 3.73 – 3.69 (m, 6H, 19b-H, 16-H), 3.68 (t, 6H,  $^3J = 4.1$  Hz, linker-H), 3.66 – 3.63 (m, 9H, linker-H, 13a-H), 3.63 – 3.57 (m, 15H, 13b-H, 5-H, 4-H, linker-H), 3.54 (t, 6H,  $^3J = 5.4$  Hz, linker-H), 3.37 – 3.33 (m, 6H, 8-H), 2.20 (br t, 6H,  $^3J = 8.8$  Hz, 6-H), 1.59 (s, 6H, 2-H), 1.51 (br t, 6H,  $^3J = 8.8$  Hz, 5-H), 1.20 (d, 3H,  $^2J = 12.0$  Hz, 4a-H), 1.12 (d, 3H,  $^2J = 12.0$  Hz, 4b-H); wurde auf  $\text{H}_2\text{O} = 4.78$  ppm kalibriert

**$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 176.9 (C7), 156.6 (C20, HMBC), 138.5 (aryl C<sub>q</sub>, HMBC), 129.5, 128.9, 128.8 (aryl C), 101.8 (C14), 74.7 (C18), 72.6 (C16), 72.1 (C15), 71.6, 71.4, 71.3, 70.6 (linker C), 68.7 (C13), 67.7 (C17), 66.7 (C21, HSQC), 63.0 (C19), 53.8 (C1), 46.5 (C4), 46.0 (C2), 40.5 (C5), 40.0 (C8), 36.2 (C3), 31.1 (C6);

**IR (KBr):**  $\nu$  3418, 2922, 1645, 1543, 1134, 1062  $\text{cm}^{-1}$ ;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{63}\text{H}_{104}\text{N}_4\text{O}_{29}$  ( $\text{M}+\text{Na}$ )<sup>+</sup> 1403.6678, gefunden 1403.6736;  $\text{C}_{63}\text{H}_{104}\text{N}_4\text{O}_{29}$  ( $\text{M}+2\text{Na}$ )<sup>2+</sup> 713.3285, gefunden 713.3651.

**1-Amino-3,5,7-tris-[2-[N-(2''-(2'''-[2''''-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan **90****



139 mg (0.10 mmol) der Cbz-geschützten Verbindung **88** wurden in MeOH gelöst, mit 25 mg 10% Pd/C versetzt und für 96 h bei RT in einer H<sub>2</sub>-Atmosphäre gerührt. Der Fortschritt der Reaktion wurde mittels ESI-MS überprüft. Die Reaktionslösung wurde filtriert und bis zur Trockene eingeeengt. Es konnten 123 mg (0.10 mmol, 99%) als farblores Lyophilisat **90** erhalten werden.

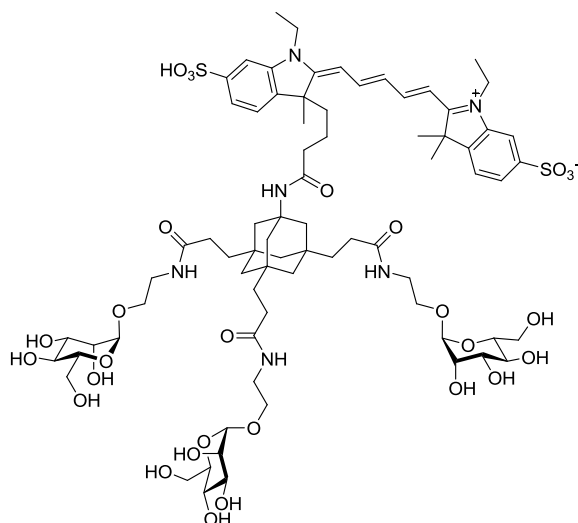
**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD/ D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  [ppm] = 4.85 (d, 3H, <sup>3</sup>J = 1.0 Hz, 14-H), 3.90 – 3.85 (m, 9H, 13a-H, 15-H, 19a-H), 3.77 – 3.60 (m, 33H, 10-H, 11-H, 12-H, 13b-H, 16-H, 17-H, 18-H, 19b-H), 3.58 (t, 6H, <sup>3</sup>J = 5.5 Hz, 9-H), 3.40 – 3.38 (m, 6H, 8-H), 2.25 – 2.23 (m, 6H, 6-H), 1.60 – 1.56 (m, 6H, 5-H), 1.46 (s, 6H, 2-H), 1.23 (s, 6H, 4-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD/ D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  [ppm] = 176.6 (C7), 101.8 (C14), 74.6, 72.6, 72.1 (C15), 71.6, 71.4, 71.3, 70.6, 68.7, 67.7 (13), 62.9 (C19), 53.3 (C1), 46.6 (C4), 45.8 (C2), 40.5 (C5), 39.6 (C8), 36.5 (C3), 31.0 (C6);

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für C<sub>55</sub>H<sub>98</sub>N<sub>4</sub>O<sub>27</sub> (M+H)<sup>+</sup> 1247.6491, gefunden 1247.6635; C<sub>55</sub>H<sub>98</sub>N<sub>4</sub>O<sub>27</sub> (M+Na+H)<sup>2+</sup> 635.3192, gefunden 635.3368.



**1-*N*-Promofluor647-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2'-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan**  
**91**



2.6 mg (2.6  $\mu$ mol, 1 Äq.) des Amins **89**, 50  $\mu$ L  $\text{NEt}_3$ -Lsg (5  $\mu$ mol,  $c = 100$  mm in DMSO) und 200  $\mu$ L Promofluor647-NHS Ester ( $c = 13$  mM, 2.6  $\mu$ mol, 2 mg) wurden nach AAV 6 umgesetzt.

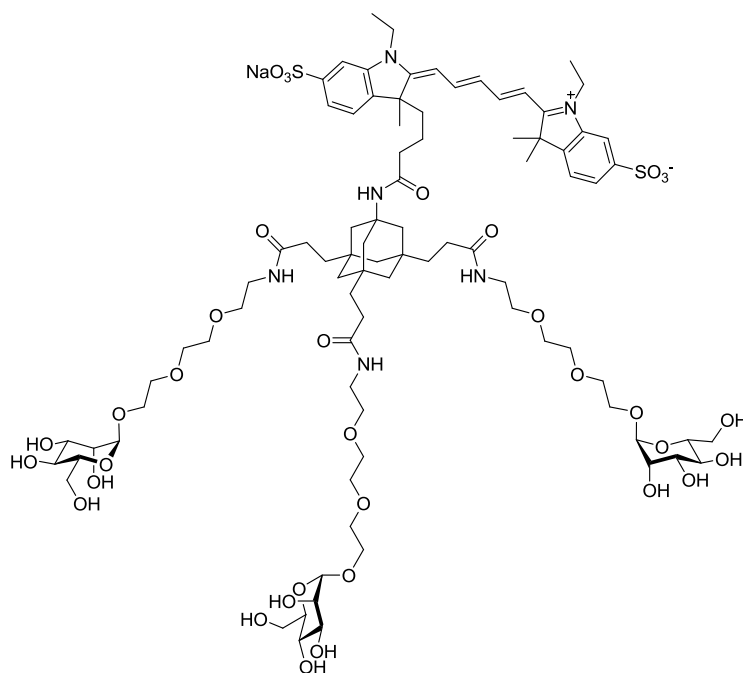
Nach der chromatografischen Reinigung (RP-8, A = MeCN, B =  $\text{H}_2\text{O}$ , 20% A auf 30% A in 20 min, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm) wurde **91** (2.0 mg, 1.2  $\mu$ mol, 46%) als blaues Lyophyllisat erhalten.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{75}\text{H}_{110}\text{N}_6\text{O}_{28}\text{S}_2$  ( $\text{M}-2\text{H}$ ) $^{2-}$  802.3321, gefunden 802.3341; ( $3\text{M}-3\text{H}$ ) $^{3-}$  1606.6751, gefunden 1606.6843.

**HPLC:** Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, A = MeCN, B =  $\text{H}_2\text{O}$ , 20% A auf 30% A in 20 min, 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm,  $t_R = 6.0$  min.

## 8. Experimenteller Teil

### 1-*N*-Promofluor647-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2''-(2'''-[2''''-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan **92**



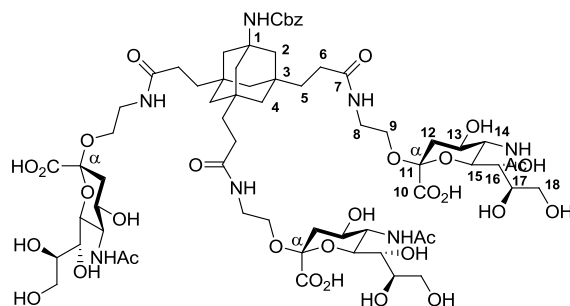
4.9 mg (3.9  $\mu$ mol, 1Äq.) des Amins **90**, 80  $\mu$ L  $\text{NEt}_3$ -Lsg (8  $\mu$ mol,  $c = 100$  mM in DMSO) und 300  $\mu$ L Promofluor647-NHS Ester ( $c = 13$  mM, 3.9  $\mu$ mol, 3 mg) wurden nach AAV 6 umgesetzt.

Nach der chromatografischen Reinigung (RP-8, 20% MeCN in  $\text{H}_2\text{O}$ , 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm) wurde **92** (3.9 mg, 2.1  $\mu$ mol, 54%) als blauer Feststoff erhalten.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{87}\text{H}_{134}\text{N}_6\text{O}_{34}\text{S}_2$   $[\text{M}-\text{H}]^-$  1870.8331 gefunden 1870.8467;  $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$  934.9123, gefunden 934.9151;  $[\text{M}+\text{HCO}_2-\text{H}]^{2-}$  957.9120 gefunden 957.9186

**HPLC:** Nucleodur RP-8, 10x250 mm ID, 5  $\mu$ m Partikel, 20% MeCN in  $\text{H}_2\text{O}$ , 3 mL/min, 250 nm, Ex = 657 nm, Em = 672 nm,  $t_R = 5.7$  min.

## 8.6.10 Darstellung der Sialinsäurekonjugate

**1-N-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[N-(5-acetamido-2'-O-(aminoethyl)-3',5'-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2'-nonulopyranosyl)-amido]-ethyl]-adamantan 103**

166 mg (0.33 mmol, 3.5 Äq) des geschützten Sialinsäurederivates **99 $\alpha$**  wurden in 5 ml H<sub>2</sub>O/MeOH 1:4 gelöst und mit 26 mg (1.1 mmol) LiOH versetzt. Die Lösung wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt, mit Amberlite IR-120 neutralisiert und nach Filtration das Lösungsmittel mittels Gefriertrocknung entfernt. Das Lyophilisat wurde in MeOH/H<sub>2</sub>O 1:1 gelöst und mit 10 mg Pd/C versetzt und in einer H<sub>2</sub>-Atmosphäre 24 h hydriert. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und das Rohprodukt in abs. DMSO gelöst und mit 50  $\mu$ L (0.36 mmol) NEt<sub>3</sub> versetzt. Zu dieser Lösung wurden 75 mg (0.095 mmol, 1Äq.) des NHS-Esters **28** gegeben und bei RT für 48 h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Lösungsmittel *in vacuo* entfernt und säulenchromatografisch (RP-18 Kieselgel, H<sub>2</sub>O/MeCN 1:0  $\rightarrow$  0:1) gereinigt. Es konnte **103** (37 mg, 0.03mmol, 35%) als farbloser Feststoff erhalten werden.

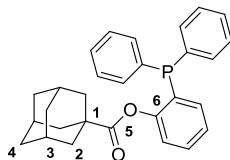
**<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  [ppm] = 7.47 – 7.37 (m, 5H, aryl H), 5.07 (s, 2H, benzyl H), 3.89 – 3.78 (m, 12H, 18-H, 16-H, 14-H), 3.72 – 3.66 (m, 6H, 13-H, 17-H), 3.64 (td, 3H, <sup>2</sup>J = 10.1 Hz, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, 9a-H), 3.58 (br d, 3H, <sup>3</sup>J = 9.2 Hz, 15-H), 3.51 (td, 3H, <sup>2</sup>J = 10.1 Hz, <sup>3</sup>J = 5.1 Hz, 9b-H), 3.36 – 3.31 (m, 6H, 8-H), 2.73 (dd, 3H, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, <sup>3</sup>J = 4.8 Hz, 12-H<sub>eq</sub>), 2.22 (br s, 6H, 6-H), 2.03 (s, 9H, -NHCOCH<sub>3</sub>), 1.68 (dd, 3H, <sup>2</sup>J = 12.3 Hz, <sup>3</sup>J = 12.3 Hz, 12-H<sub>ax</sub>), 1.54 (s, 6H, 2-H), 1.49 (br s, 6H, 5-H), 1.17 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.0 Hz, 4a-H), 1.11 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.0 Hz, 4b-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, D<sub>2</sub>O):**  $\delta$  [ppm] = 177.8 (C7), 175.1 (-NHCOCH<sub>3</sub>), 173.6 (C10), 136.7 (aryl C<sub>q</sub>), 128.8, 128.2, 127.6 (aryl C), 100.5 (C11), 72.6 (C17), 71.6 (C16), 68.2 (C15), 68.2 (C13), 66.3 (benzyl C, HSQC), 62.64 (C9/C18), 62.61 (C18), 52.9 (C1, HPMC), 51.9 (C14), 44.3 (C4), 44.1 (C2), 40.2 (C12), 39.4 (C8), 38.4 (C5), 34.6 (C3), 30.0 (C6), 22.0 (-NHCOCH<sub>3</sub>);

Aufgrund von dynamischen Effekten befindet sich kein Kohlenstoffsignal der Cbz-Gruppe (C<sub>q</sub>) im C-NMR.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für C<sub>66</sub>H<sub>101</sub>N<sub>7</sub>O<sub>32</sub> (M+H)<sup>+</sup> 1504.6564, gefunden 1504.6535; C<sub>66</sub>H<sub>101</sub>N<sub>7</sub>O<sub>32</sub> (M+2Na)<sup>2+</sup> 774.8138, gefunden 774.8162.

## 8.6.11 Staudinger Reaktion mittels Diphenylphosphinophenol

1-Adamantancarbonsäure-diphenylphosphinophenol-ester **74**

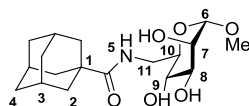
278 mg (1 mmol, 1Äq.) Diphenylphosphinophenol **73**, 258 mg (1.25 mmol, 1.25 Äq.) DCC, 12 mg (0.1 mmol, 0.1 Äq.) DMAP und 225 mg (1.25 mmol, 1.25 Äq.) Adamantancarbonsäure wurden in trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst und über Nacht bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde bis zur Trockene eingengt und säulenchromatografisch (PE/EtOAc 30:1  $\rightarrow$  20:1) gereinigt. Es konnte **74** (246 mg, 0.6 mmol, 60%) als farbloser Feststoff erhalten werden.

**R<sub>f</sub>**: 0.56 (PE/ EtOAc 19:1, Schwefelsäure);

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>)**:  $\delta$  [ppm] = 7.41 – 7.35 (m, 4H, aryl H), 7.23 – 7.19 (m, 1H, aryl H), 7.09 – 7.02 (m, 7H, aryl H), 6.95 – 6.90 (m, 1H, aryl H), 6.83 – 6.78 (m, 1H, aryl H), 1.97 (d, 6H,  $^3J = 2.8$  Hz, 2-H), 1.82 (br s, 3H, 3-H), 1.53 (t, 6H,  $^3J = 2.8$  Hz, 4-H);

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>)**:  $\delta$  [ppm] = 174.9 (C5), 154.2 (d,  $J = 18$  Hz, C6), 136.8 (d,  $J = 12$  Hz, aryl C), 134.5 (d,  $J = 20$  Hz, aryl C), 134.1, 130.8, 130.0, 129.0, 128.9 (d,  $J = 7$  Hz, aryl C), 126.0, 123.0, 41.5 (C1), 38.9 (C2), 36.7 (C4), 28.3 (C3);

**<sup>31</sup>P-NMR (100 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>)**:  $\delta$  [ppm] = -16.2 (P), 24.5 (P=O) des entsprechenden Phosphanoxids.

1-O-Methyl-6-amido-adamantyl-6-desoxy- $\alpha$ -D-mannopyranosid **75**

174 mg (0.32 mmol, 1.3 Äq.) des Azid **47a** wurde in 5 mL trockenem DMF gelöst und anschließend 105 mg (0.24 mmol, 1 Äq.) **74** zugegeben und bei 70 °C für 4 h rühren gelassen. Anschließend wurden 1.5 mL H<sub>2</sub>O hinzugegeben und für weitere 4 h bei RT rühren gelassen (DC Kontrolle).

Die Reaktionslösung wurde bis zur Trockene eingengt und der verbleibende Rückstand in trockenem MeOH aufgenommen und nach AAV 2 debenzoyliert. Der Rückstand wurde säulenchromatografisch (EtOAc/ MeOH 9:1) gereinigt um **75** (61 mg, 0.2 mmol, 72%) als farblosen Feststoff zu erhalten.

**R<sub>f</sub>**: 0.48 (EtOAc/ MeOH 9:1, Schwefelsäure);

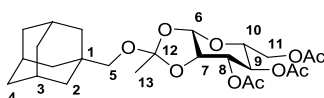
## 8. Experimenteller Teil

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):**  $\delta$  [ppm] = 4.65 (d, 1H,  $^3J = 1.5$  Hz, 6-H), 3.84 – 3.44 (m, 6H, Zucker H), 3.38 (s, 3H, OMe), 2.09 – 2.04 (m, 3H, 3-H), 1.93 (d, 6H,  $^3J = 2.6$  Hz, 2-H), 1.83 (d, 3H,  $^2J = 12.4$  Hz, 4a-H), 1.78 (d, 3H,  $^2J = 12.4$  Hz, 4b-H); Das NMR enthält noch Spuren der Reaktionsprodukte sodass das  $^{13}\text{C-NMR}$  nicht zweifelsfrei auszuwerten ist.

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_6$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) 356.2068, gefunden 356.2070.

### 8.6.12 Synthese der Glykokonjugate *via* Glycosylierungschemie

#### 1-[3',4',6'-Tri-*O*-acetyl-1',2'-*O*-(ethylidene)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-oxymethyl]-adamantan **39**



Es wurden 0.20 g (0.41 mmol, 1.1 Äq.) des Mannosyltrichloracetimidats **37** sowie 60 mg (0.36 mmol, 1 Äq.) 1-Adamantanmethanol **32** in 10 mL abs. THF gelöst und bei 0 °C mit 2.5  $\mu\text{L}$  (0.014 mmol, 0.04 Äq) TMSOTf versetzt. Nach 24 h Reaktionszeit wurde das farblose Reaktionsgemisch mit 10 mL dest.  $\text{H}_2\text{O}$  versetzt und anschließend säulenchromatografisch (PE:EtOAc = 2:1  $\rightarrow$  1:1) gereinigt. Es wurden 132 mg (0.270 mmol, 74%) eines farblosen Feststoffes **39** erhalten.

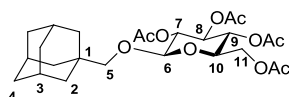
**$R_f$ :** 0.71 (PE/EtOAc 1:1, Schwefelsäure);

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.46 (d, 1H,  $^3J = 2.72$  Hz, 6-H), 5.29-5.24 (m, 1H, 9-H), 5.16-5.13 (dd, 1H,  $^3J = 3.96$  Hz,  $^2J = 13.91$  Hz, 8-H), 4.57-4.56 (m, 1H, 7-H), 4.26 (dd, 1H,  $^3J = 5.15$  Hz,  $^2J = 17.26$  Hz, 11a-H), 4.15 (dd, 1H,  $^3J = 2.82$  Hz,  $^2J = 15.00$  Hz, 11b-H), 3.71-3.66 (m, 1H, 10-H), 3.02 (q, 2H,  $3J = 8.60$  Hz, 5-H), 2.11 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-}$ ), 2.05 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-}$ ), 2.03 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COO-}$ ), 1.93 (br s, 3H, 2-H), 1.71 (s, 3H, 13-H), 1.67-1.59 (m, 6H, 3-H), 1.47 (d, 6H,  $^3J = 2.13$  Hz, 1-H);

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 170.8, 170.5, 169.6 ( $-\text{OCOCH}_3$ ), 124.3 (C12), 97.5 (C6), 76.1 (C7), 73.2 (C5), 71.2 (C8), 70.6 (C10), 65.8 (C9), 62.7 (C11), 39.6 (C1), 37.2 (C3), 33.3 (C4), 28.3 (C2), 24.2 (C13), 20.9, 20.8, 20.8 ( $-\text{OCOCH}_3$ );

**IR (KBr):**  $\nu$  [ $\text{cm}^{-1}$ ] = 2914, 1748, 1616, 1452, 1236, 1055;

**HRMS (ESI):**  $m/z$  berechnet für  $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_{10}$  ( $\text{M}+\text{Na}^+$ ) 519.2190, gefunden 519.2209.

**1-[2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl-oxymethyl]-adamantan **34****

Koenigs-Knorr Methode:

202 mg (1.2 mmol) Adamantanmethanol **32** wurde in 5 mL trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und mit aktiviertem 3 Å Molekularsieb 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde 738 mg (1.8 mmol) Acetobromglucose **35** und 633 mg Ag<sub>2</sub>O hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 72 h bei RT unter Lichtausschluss gerührt und anschließend über Celite filtriert. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatografisch über Kieselgel (Laufmittel PE/ EtOAc 9:1 bis 7:3) gereinigt. Es konnten 90 mg als Mischfraktion erhalten werden. Bei dieser Mischfraktion handelt es sich um ein 1:3 Gemisch von nicht umgesetzter Acetobromglucose **35** und dem gewünschten Produkt **34**.

Trichloracetimidat-Methode:

83 mg (0.5 mmol, 1 Äq.) Adamantanmethanol **32** und 278 mg (0.56 mmol, 1.12 Äq.) Glucosetetraacetat-Trichloracetimidat **36** wurden mit ca. 500 mg aktiviertem Molekularsieb 4 Å für 1.5 h unter N<sub>2</sub> bei RT gerührt. Dann wurde 10 µL (11 mg, 0.05 mmol, 0.1 Äq.) TMSOTf unter Eiskühlung hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde weitere 45 min bei 0 °C gerührt, dann langsam auf RT erwärmt und über Nacht bei RT gerührt. Zur Reaktionslösung wurden 700 mg festes NaHCO<sub>3</sub> gegeben und 10 min bei RT gerührt. Die Feststoffe wurden abfiltriert und die Lösung bis zur Trockene eingengt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatografisch (Laufmittel PE/ EtOAc 3:1 → 3:2) an Kieselgel gereinigt. Es konnten 68 mg (0.14 mmol, 27%) als farbloser Feststoff **34** isoliert werden.

**R<sub>f</sub>**: 0.58 (PE/ EtOAc 3:2, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in EtOH);

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 5.20 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 8-H), 5.08 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 9.6 Hz, 9-H), 5.01 (t, 1H, <sup>3</sup>J = 8.9 Hz, 7-H), 4.42 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, 6-H), 4.25 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 7.9 Hz, <sup>3</sup>J = 4.6 Hz, 11a-H), 4.15 – 4.10 (m, 1H, 11b-H), 3.69 – 3.64 (m, 1H, 10-H), 3.49 (d, 1H, <sup>2</sup>J = 9.3 Hz, 5a-H), 2.97, (d, 1H, <sup>2</sup>J = 9.3 Hz, 5b-H), 2.09, 2.05, 2.02, 2.01 (s, je 3H, -OCOCH<sub>3</sub>), 1.95 (s, 3H, 3-H), 1.71 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.5 Hz, 4a-H), 1.61 (d, 3H, <sup>2</sup>J = 12.5 Hz, 4b-H), 1.48 (s, 6H, 2-H) ;

**<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 173.4, 170.9, 170.5, 169.6 (-OCOCH<sub>3</sub>), 102.0 (C6), 81.1 (C5), 72.9 (C8), 71.8 (C10), 71.5 (C7), 68.7 (C9), 62.2 (C11), 39.4 (C2), 37.2 (C4), 34.1 (C1), 28.2 (C3), 20.9, 20.9, 20.8, 20.8 (-OCOCH<sub>3</sub>).

Das NMR enthält noch Spuren der Reaktionsprodukte.

**HRMS (ESI):** *m/z* berechnet für C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>O<sub>10</sub> (M+H)<sup>+</sup> 497.2381, gefunden 497.2317.

### 8.7 Durchführung der Assays

#### 8.7.1 STD-NMR Assay

Die STD-Experimente wurden von Moritz Fölsing, AG Hackl der Universität Hamburg, durchgeführt.

Alle STD-Experimente wurden an einem Bruker Avance III HD 600 (14.09 T,  $\nu_L(1H) = 600.13$  MHz, 5 mm BB Smartprobe) Spektrometer aufgenommen.

Acetat Puffer: 50 mM NaOAc- $d_3$ , 1 mM  $MgCl_2$ , 1 mM  $CaCl_2$  in  $D_2O$ , pH 4.5

Der On-Resonanz Puls wurde bei -600 Hz und der Off-Resonanz Puls bei 40000 Hz gesetzt. Die Vorsättigung wurde von einer Anzahl von  $90^\circ$  Gauss-Pulsen mit je 50 ms Länge erreicht. Die gesamte Sättigungszeit betrug 2 s und hatte eine Pulsstärke von 20 dB (-dBW Skala). Die Spektren wurden mit einer Spektralen Weite von 8400 Hz, 64k Datenpunkte in der Zeit-Domäne und zwei Transienten mittels pseudo-2D Bruker Standard Puls Sequenz (stdiffesgp.3) aufgenommen. Das HDO Restsignal wurde mittels *excitation sculpting* Sequenz unter Anwendung eines selektiven 2 ms  $180^\circ$   $squa100.100$ -Inversionspulses unterdrückt. Es wurde ein Relaxationsdelay von 2 s verwendet. Zur Unterdrückung der Protein-Hintergrundsignale wurde ein T1p-Filter mit einer Feldstärke von 11.5 kHz und einer Dauer von 50 ms verwendet. Jedes Experiment wurde mit 1024 Scans durchgeführt. Die FIDs des On- und Off-Resonanz Spektrum wurden getrennt voneinander prozessiert. Das Differenzspektrum wurde durch Subtraktion des On- Resonanz FIDs vom Off-Resonanz-FIDs erhalten. Jede Titration wurde mit einer Konzentration von 5  $\mu M$  ConA und 35  $\mu M$  Ligand begonnen und endete mit einer maximalen Ligandenkonzentration von 600  $\mu M$ .

#### 8.7.2 Molecular Modelling

Die Molecular Modelling Studien wurden von Bernhard Poll, AG Lemke der Universität Hamburg, durchgeführt.

Die Berechnungen wurden mit der Schrödinger 2014 Molecular Modelling Suite durchgeführt. Die 3D-Struktur der monovalenten Liganden mono-**65** und mono-**67** wurde mit der Software Schrödinger Maestro v9.8 erstellt. Die Strukturen wurden für das Docking mit der Software LigPrep v3.0 (default Parameter, Protonierung bei pH 7 und Minimierung mit OPLS2005 Kraftfeld) vorbereitet. Die Protein Struktur (PDB ID: 1I3H) wurde von der Brookhaven Protein Databank ([www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb)) erhalten und mit dem Protein Preparation Wizard (PrepWizar)- Arbeitsablauf von Maestro für das Docking vorbereitet. Wassermoleküle, welche weiter als 5 Å vom Liganden entfernt waren, wurden entfernt. Die Seitenkette von Arg228 wurde geflippt, sodass sie zu dem natürlichen Liganden zeigte. Die Wasserstoffbrückenbindungen wurden optimiert und minimiert (OPLS2005 Kraftfeld, nur Wasserstoffe). Die Rezeptoren-Grids wurden mit default Einstellungen mit dem cokristallisierten

Liganden als Zentrum erstellt. Das Docking wurde mit dem Standard Precision (SP) Modus von Glide 6.3 durchgeführt (Maximalanzahl an Posen: 20, Post-Docking Minimierung). Die Dockingposen wurden anhand der Resultate der STD-NMR-Experimente ausgewählt.

### 8.7.3 Fluoreszenzassay

Die Fluoreszenzassays wurden von Elisabeth Memmel, AG Seibel der Universität Würzburg, durchgeführt.

#### 8.7.3.1 Kohlenhydratarray

Es wurde eine 1 mM Lösung der Glykokonjugate mit freiem Amin **89**, **90** und **104** in einem Print-Puffer (150 mM Phosphat, pH 8.5, mit 0.01 % Tween-20) erstellt. Diese Lösung wurde auf NHS-aktivierte Glas-Chips aufgetragen. Die Immobilisierung geschah über Nacht in einer gesättigten NaCl-Kammer. Anschließend wurde mit H<sub>2</sub>O gewaschen und mit Blocking-Puffer (100 mM Borat, pH 8.5, mit 25 mM Ethanolamin) unter leichtem Schütteln 1 h inkubiert. Die Chips wurden gewaschen (2x PBST, pH 7.5, mit 0.05 % Tween-20; 1x PBS, 1x H<sub>2</sub>O) und in einer Zentrifuge (2000 min<sup>-1</sup>, 3 min) getrocknet. Die Platte wurde in 16 Subarrays geteilt und mit unterschiedlichen Konzentrationen (5-80 µg/ml; 75 µl pro Subarray) von ConA-Alexa647 für 1h inkubiert. Der Chip wurde gewaschen und getrocknet und anschließend die Fluoreszenz mit einem Fluoreszenzreader bei einer Anregungswellenlänge von 635 nm und einer Detektionswellenlänge von 670±20 nm ausgelesen. Zur Auswertung der Fluoreszenzsignale wurde die Software GenePix Pro 4.1 verwendet.

#### 8.7.3.2 Qualitativer Lektin-Microarray

Die Lektine ConA, PSA, LcH und GNA wurden in unterschiedlichen Konzentrationen (50, 100, 250 und 500 µg/ml) in Protein Print-Puffer (PBS, pH 7.5, mit 1 mM MnCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> und Mannose) gelöst. Diese Lösung wurde auf die NHS-aktivierten Glas-Chips aufgetragen. Der Array wurde für 1h in einer gesättigten NaCl Kammer inkubiert, mit PBS-Puffer gewaschen und mit Blocking-Puffer inkubiert. Anschließend wurden die Chips gewaschen (3x PBST, 1x PBS), in Subarrays unterteilt und mit den fluoreszierenden Glykokonjugaten **91**, **92** und **93** (gelöst in versch. Konzentrationen 0.1-10 µM in PBST mit 1 mM MnCl<sub>2</sub> und CaCl<sub>2</sub>; 75 µl pro Subarray) für 1h inkubiert. Anschließend wurde gewaschen (PBST, PBS, H<sub>2</sub>O), getrocknet und die Fluoreszenz ausgelesen.

#### 8.7.3.3 Quantitativer Lektin-Microarray

Die  $K_{D,surf}$  Werte wurden für ConA, PSA und LcH bestimmt. Die Lektine wurden aus Print-Puffer mit vier unterschiedlichen Konzentrationen (50, 100, 250 und 500 µg/ml) in sechsfacher Kopie auf den NHS-aktivierten Glas-Chip aufgetragen. Es wurde mit **92** und **93** in acht verschiedenen Konzentrationen (50 nM, 100 nM, 500 nM, 1 µM, 5 µM, 10 µM, 50 µM und 100 µM; 75 µl pro Subarray) inkubiert und wie

## 8. Experimenteller Teil

zuvor beschrieben gewaschen und die Fluoreszenzintensität ausgelesen. Die Datenpunkte wurden mit der Software OriginPro 9.0G ausgewertet.

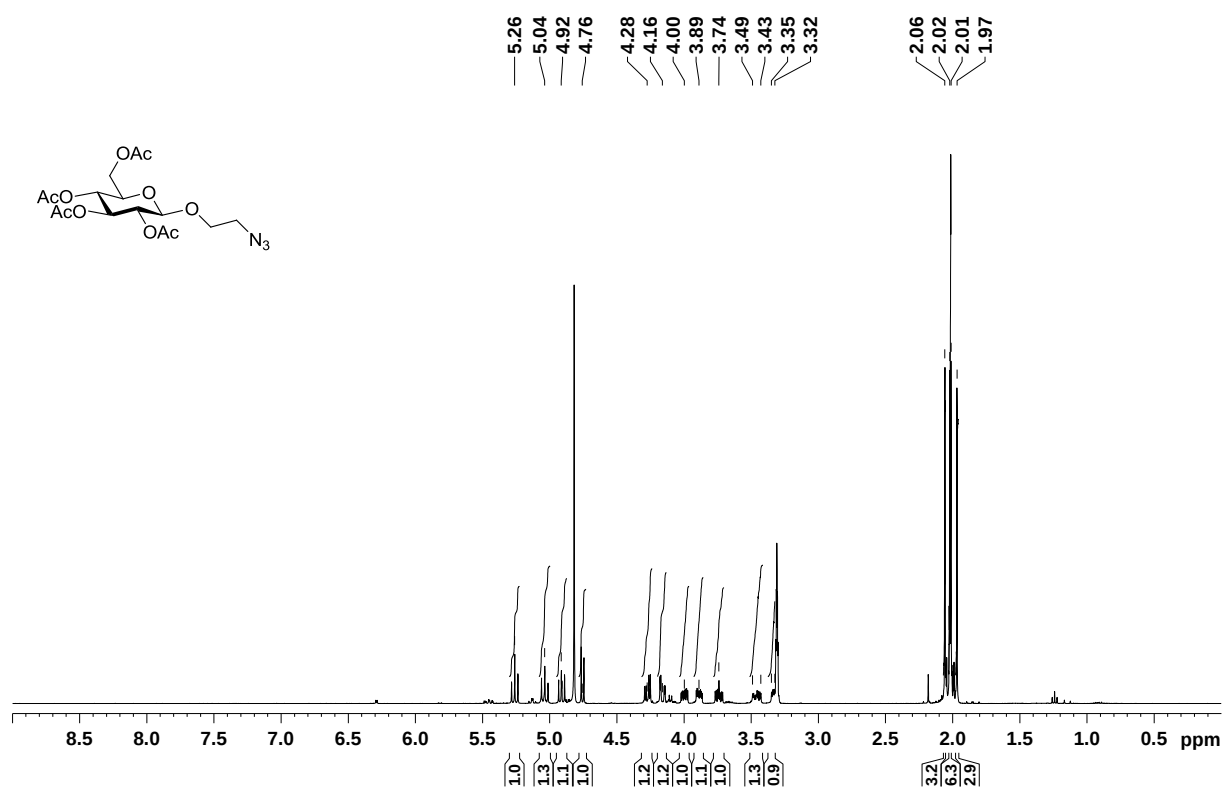
## 9 Anhang

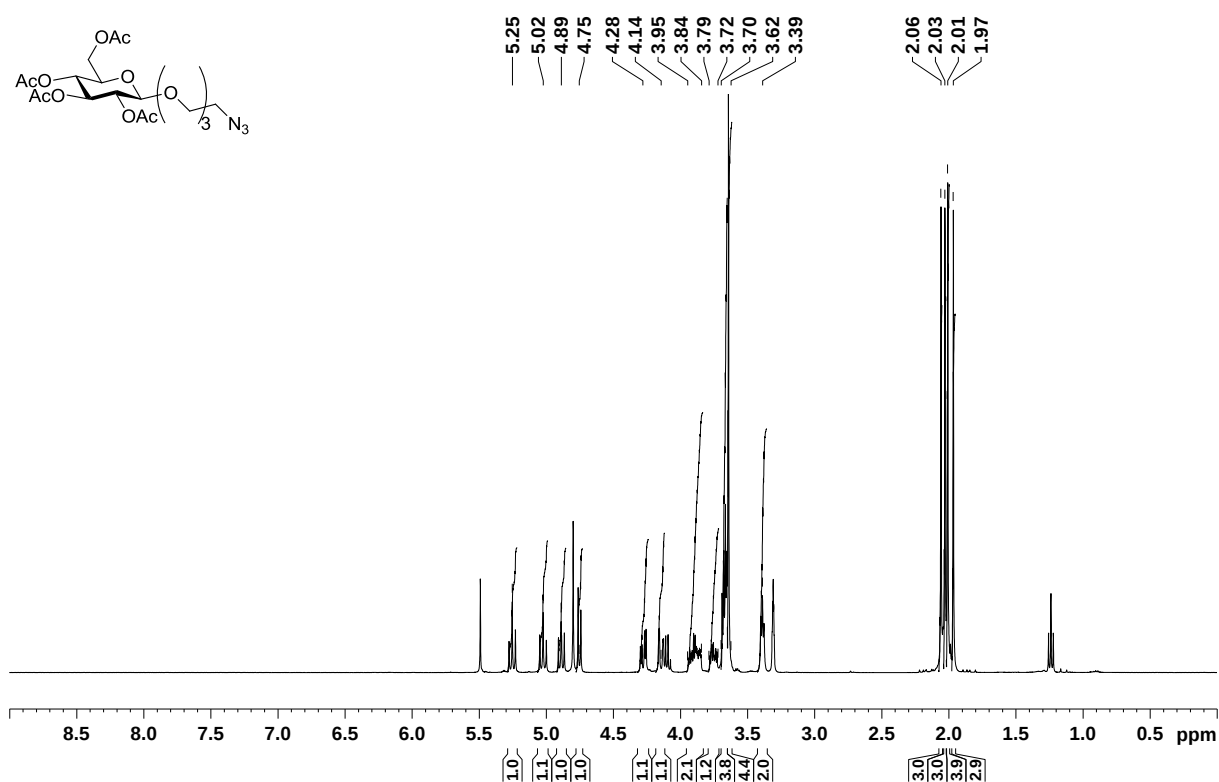
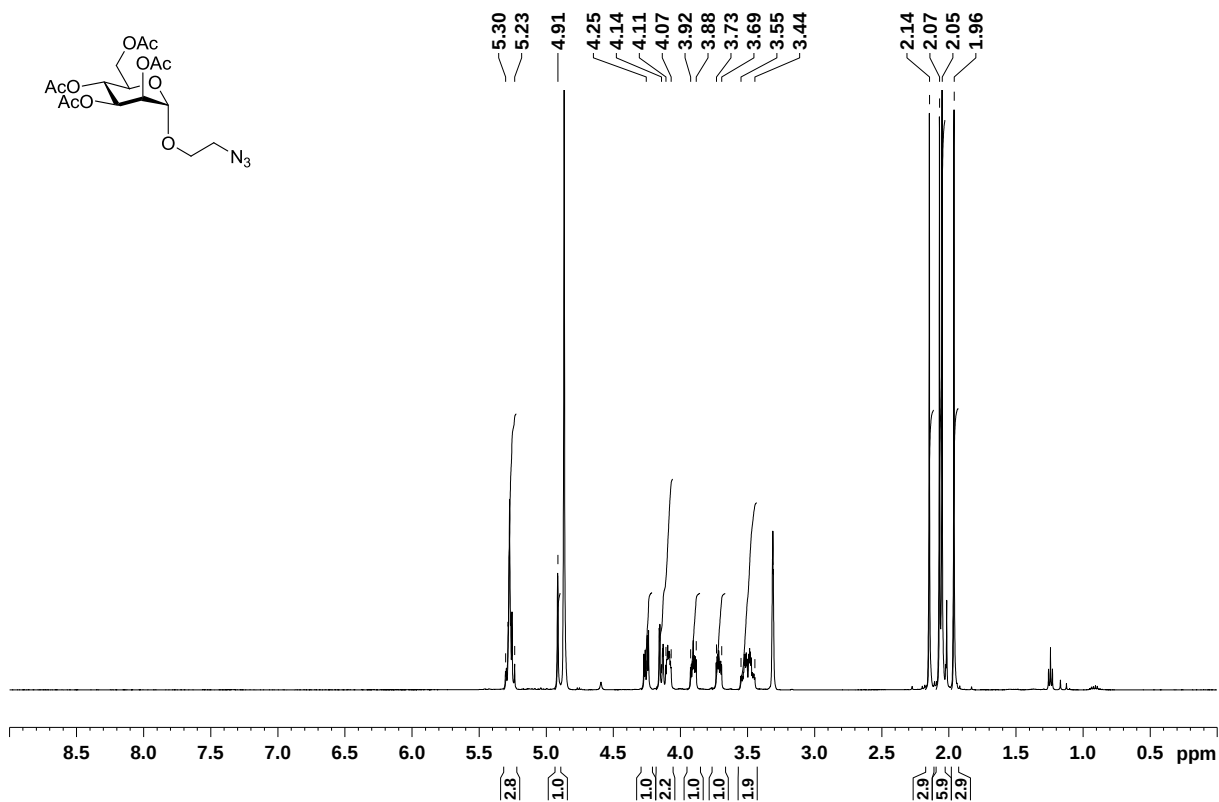
### 9.1 NMR und LC-MS Spektren

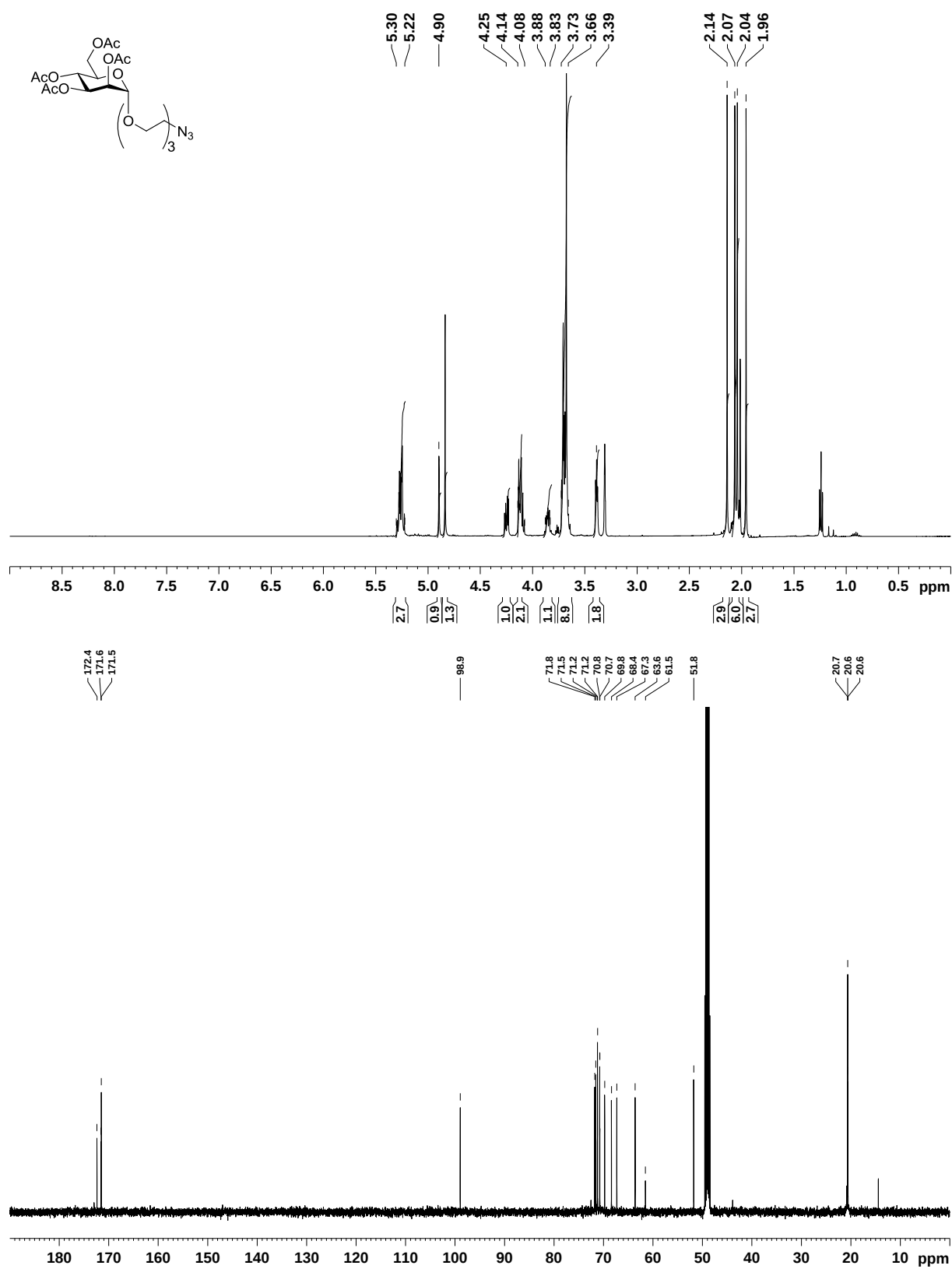
Im Spektrenanhang finden sich generell Spektren von neuen Verbindungen. Es sind auch vereinzelt bekannte Verbindungen zu finden, beispielsweise die der Zuckerliganden. Dies vereinfacht die Analyse der komplexeren Spektren der trimeren Glykokonjugate.

#### 9.1.1 Synthese der Zuckerliganden

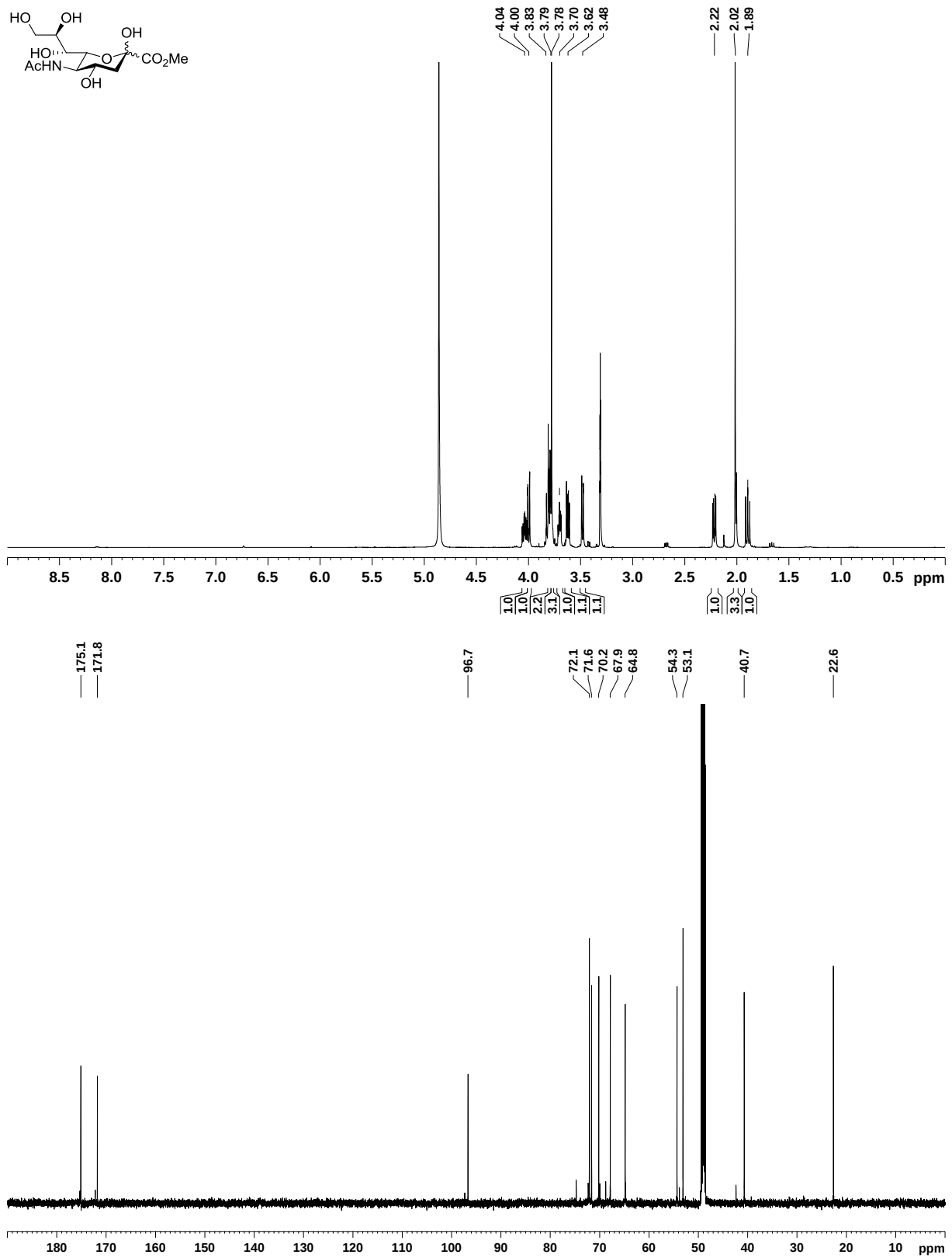
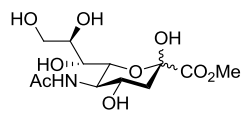
##### 2-Azidoethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosid 57



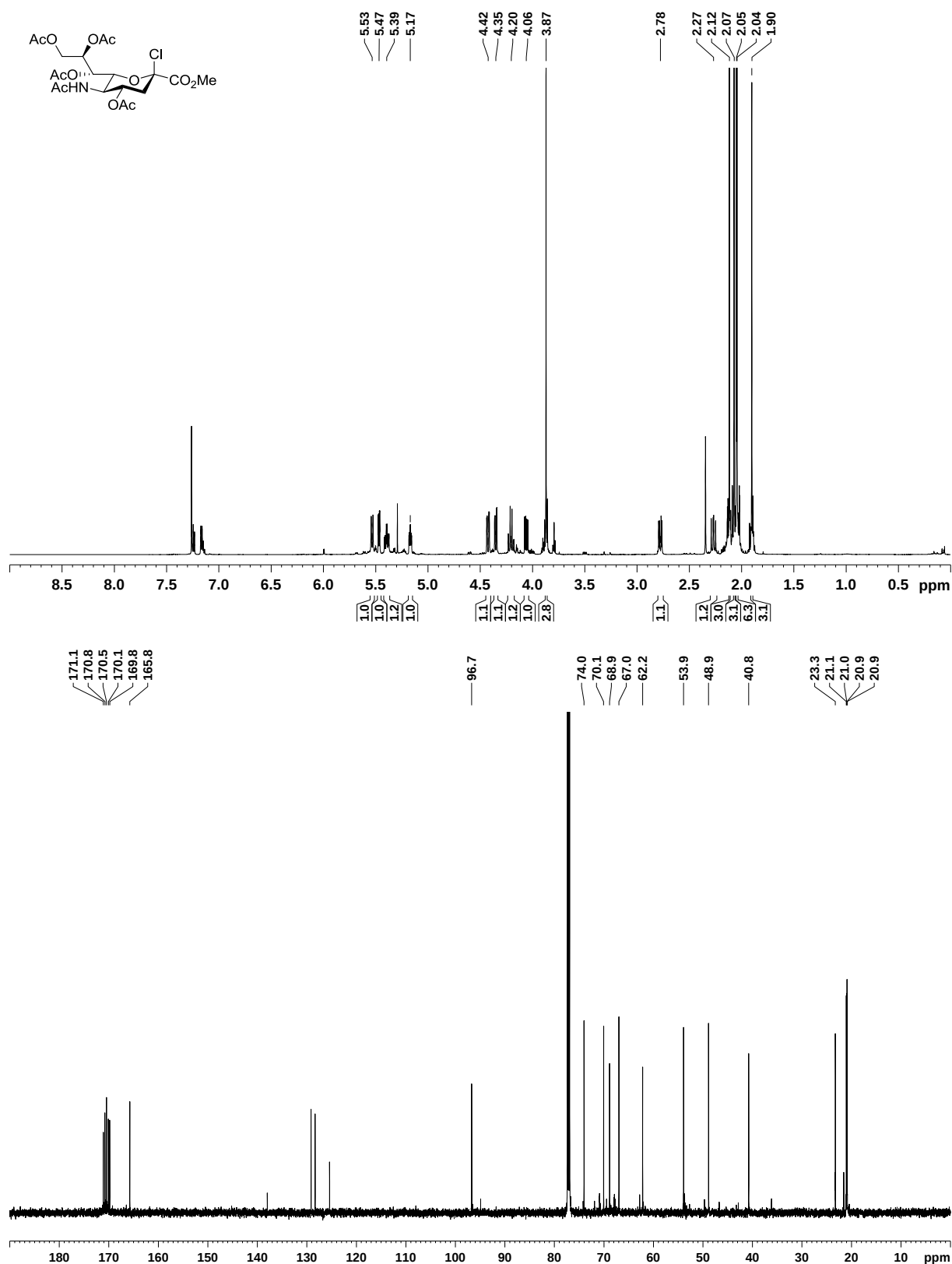
2-[2-(2-Azidoethoxy)ethoxy]ethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosid 592-Azidoethyl 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid 60

2-[2-(2-Azidoethoxy)ethoxy]ethyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid 61

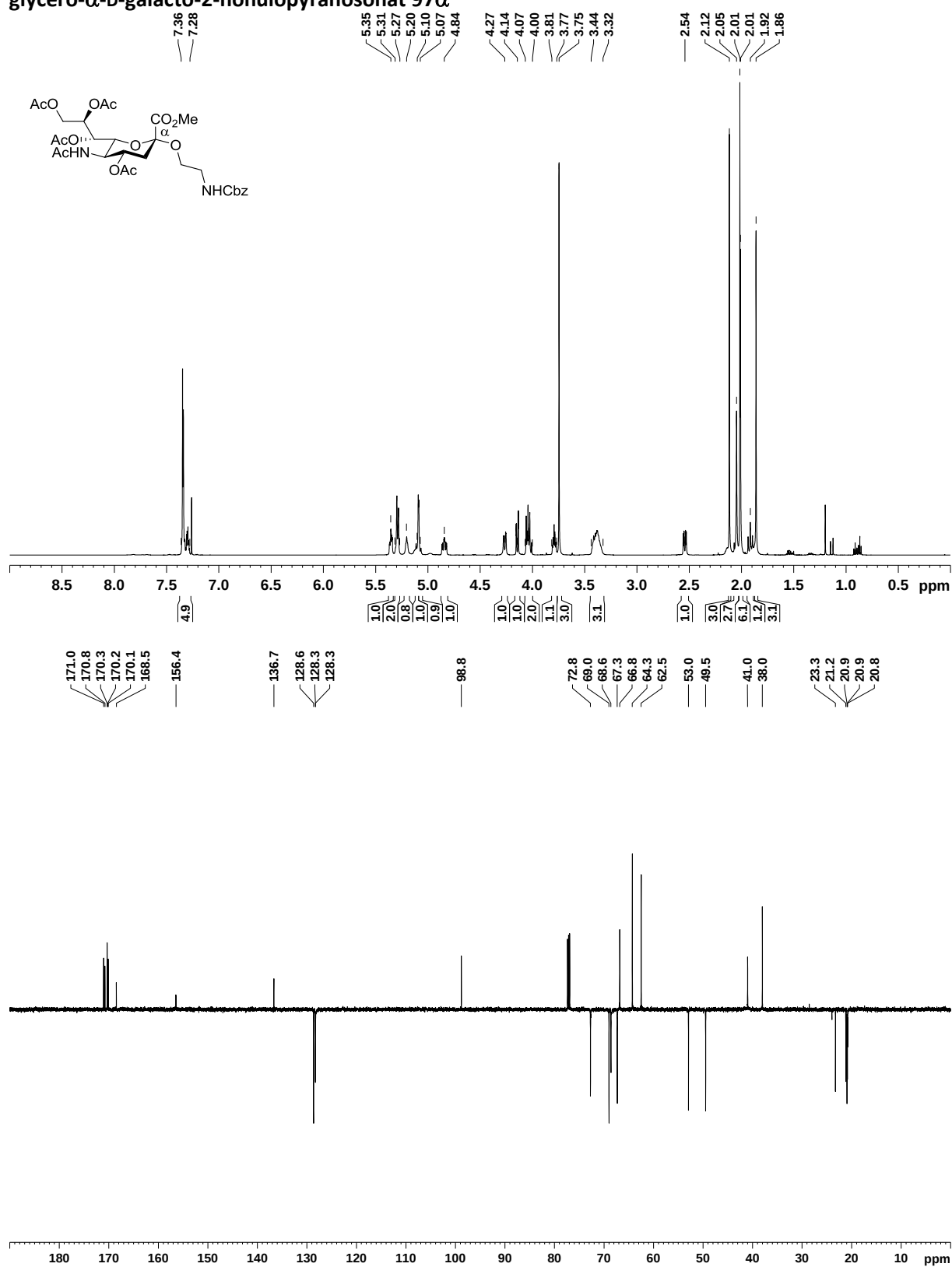
## Methyl-(5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)onat



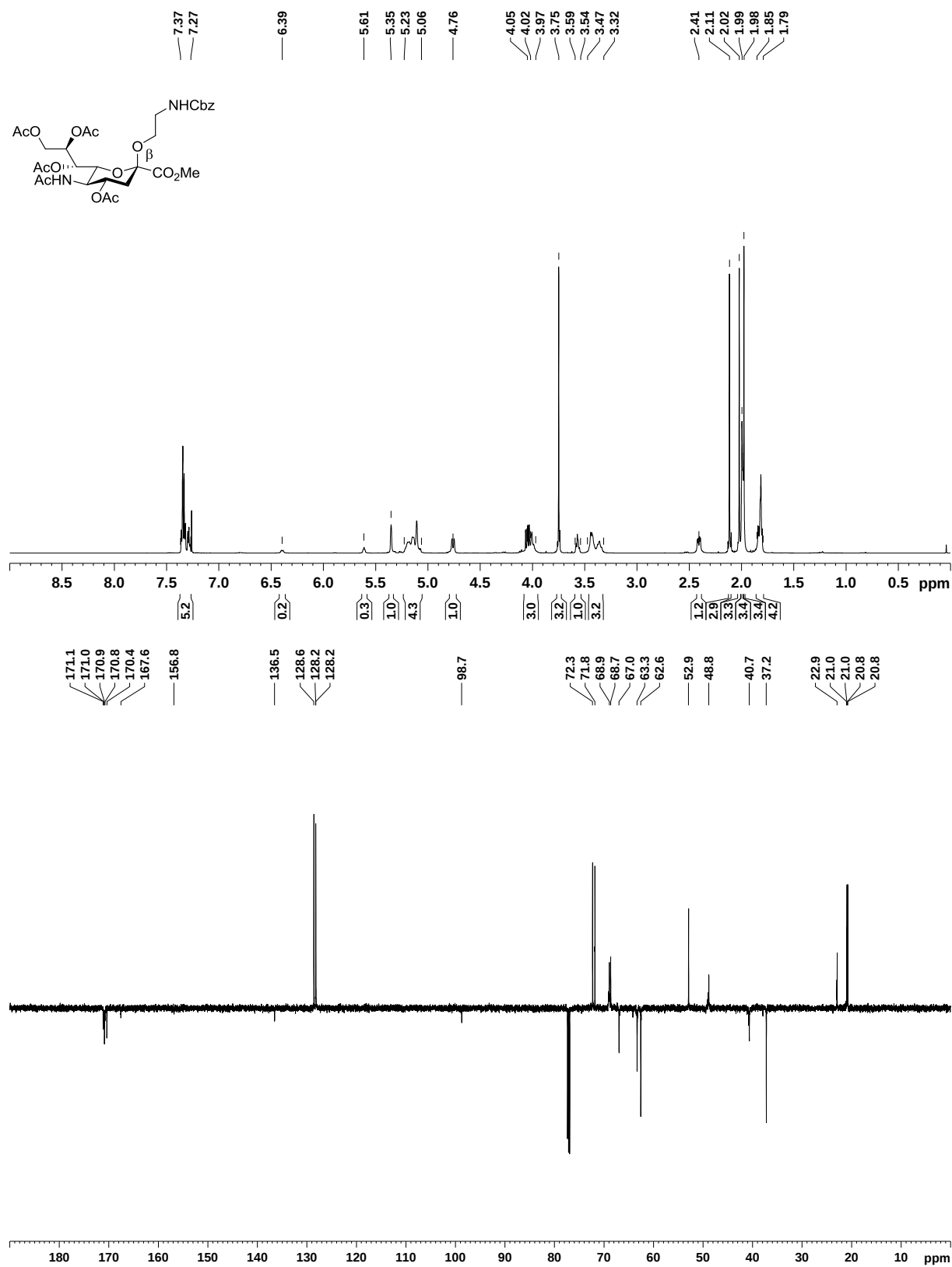
**Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2,3,5-tridesoxy- $\beta$ -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylchlorid)onat 96**



**Methyl-5-acetamido-2-*O*-(2-benzoyloxycarbonylaminoethyl)-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosonat 97 $\alpha$**

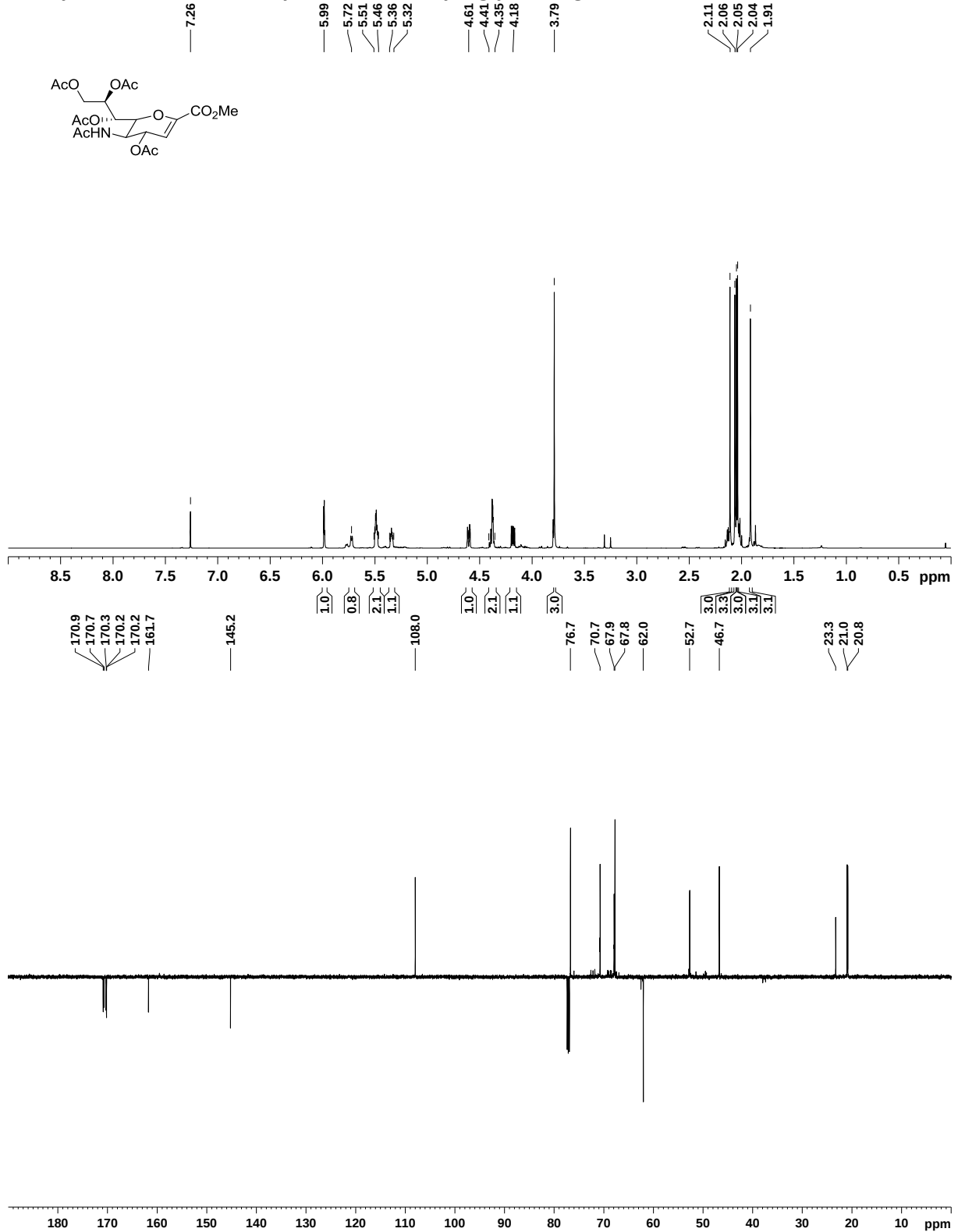


**Methyl-5-acetamido-2-*O*-(2-benzoyloxycarbonylaminoethyl)-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosonate 97 $\beta$**

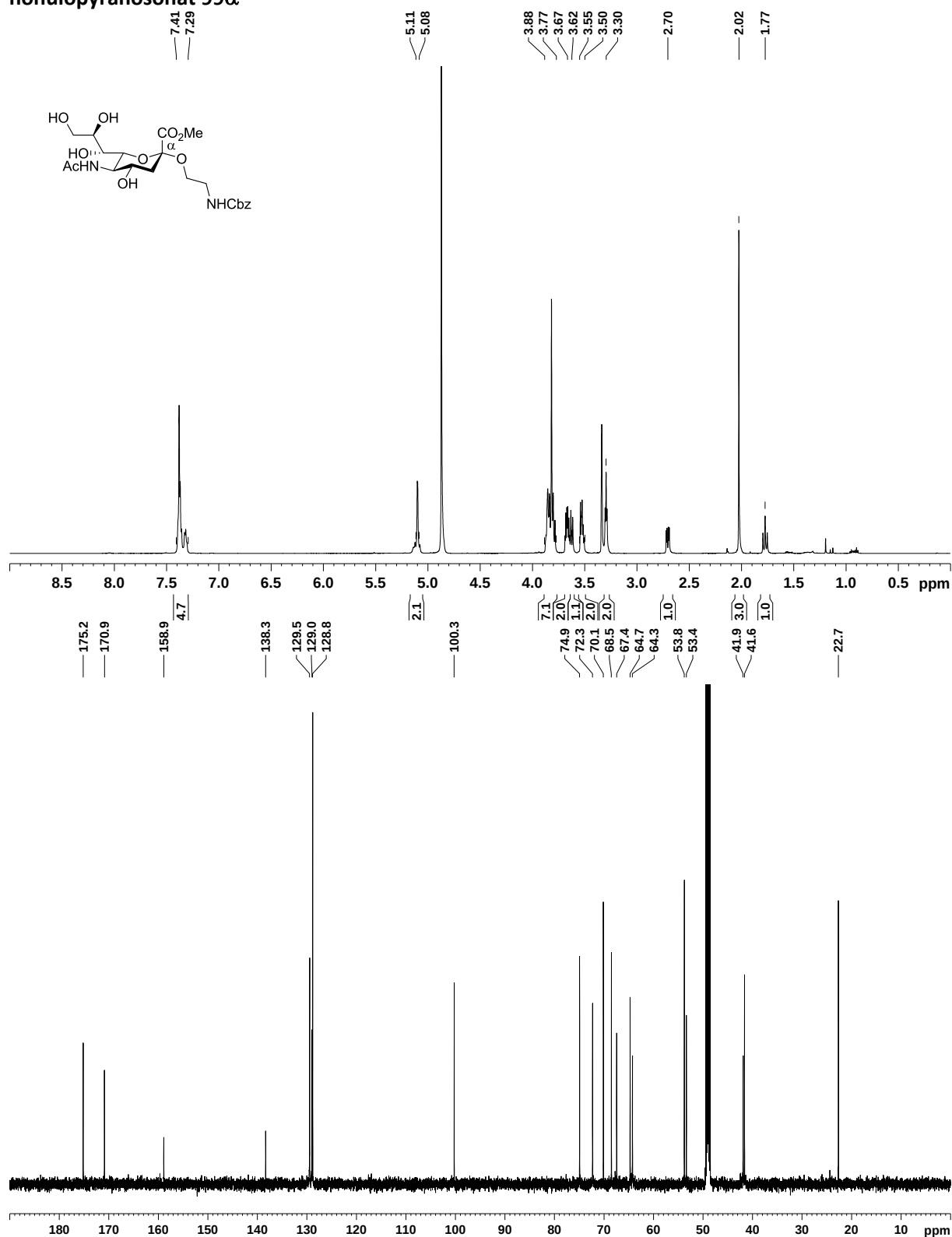


# 9. Anhang

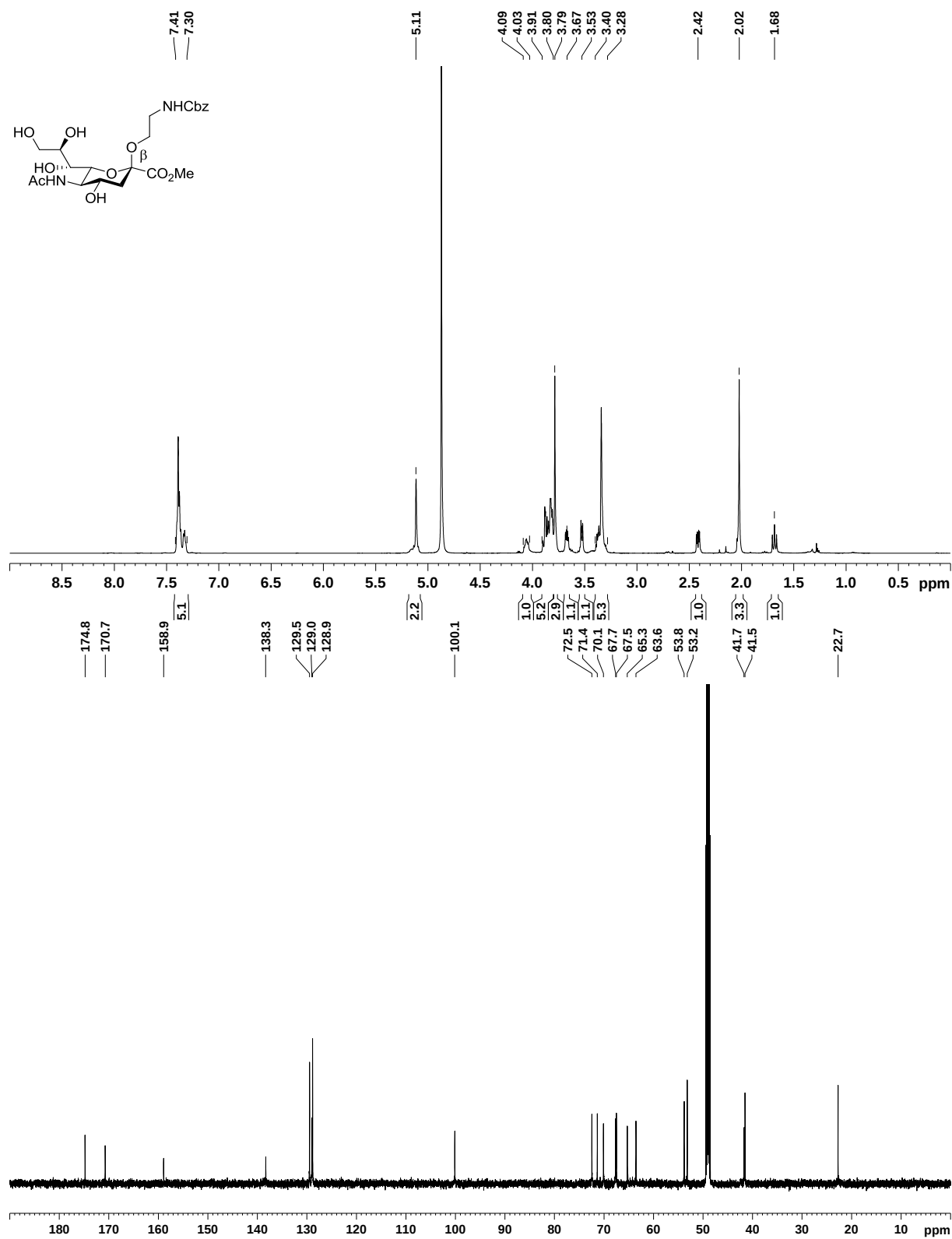
## Methyl-5-acetamido-2,6-anhydro-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galactonon-2-enonat 98



**Methyl-5-acetamido-2-*O*-(2-benzoyloxycarbonylaminoethyl)-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosonat 99 $\alpha$**

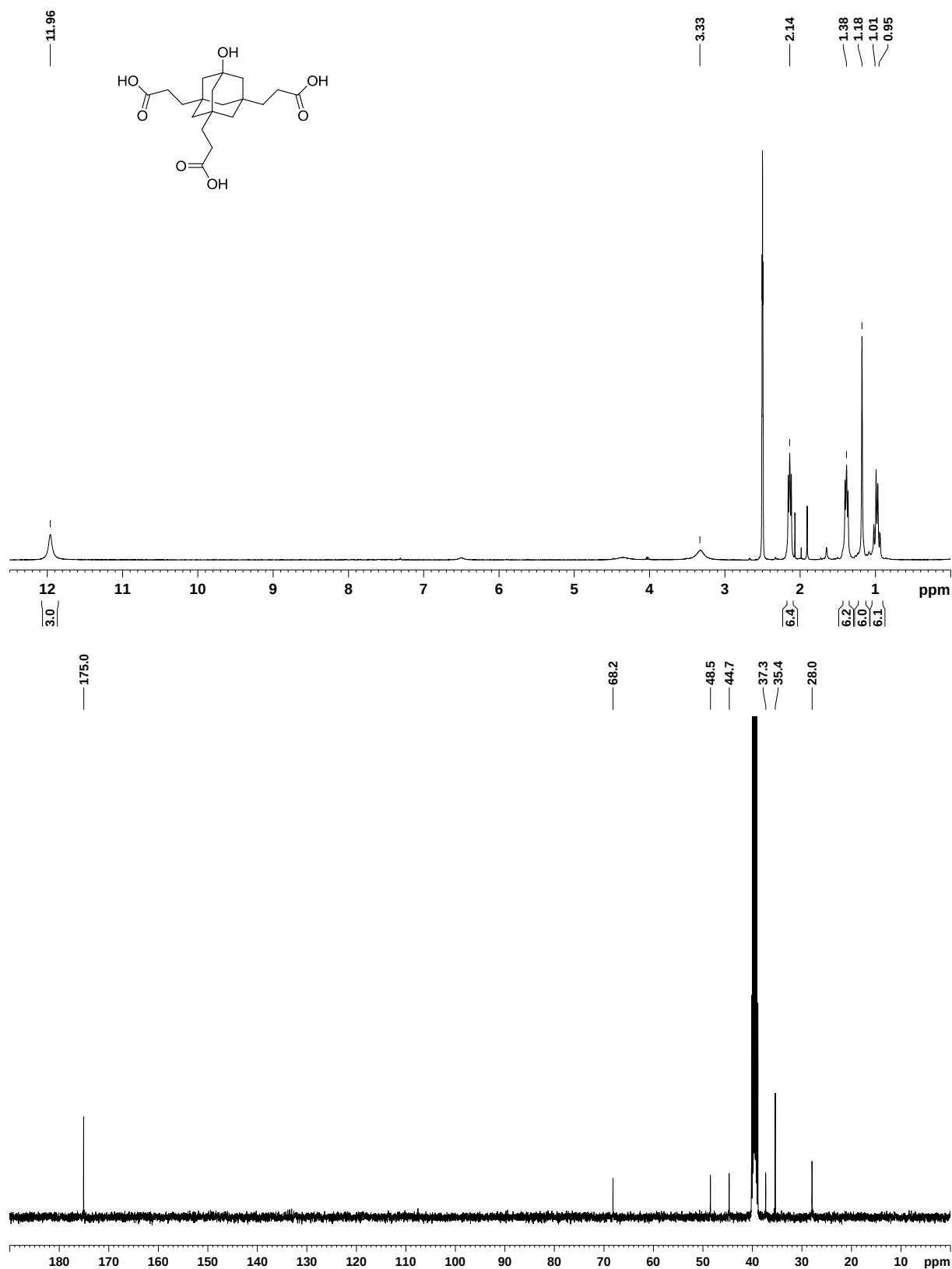


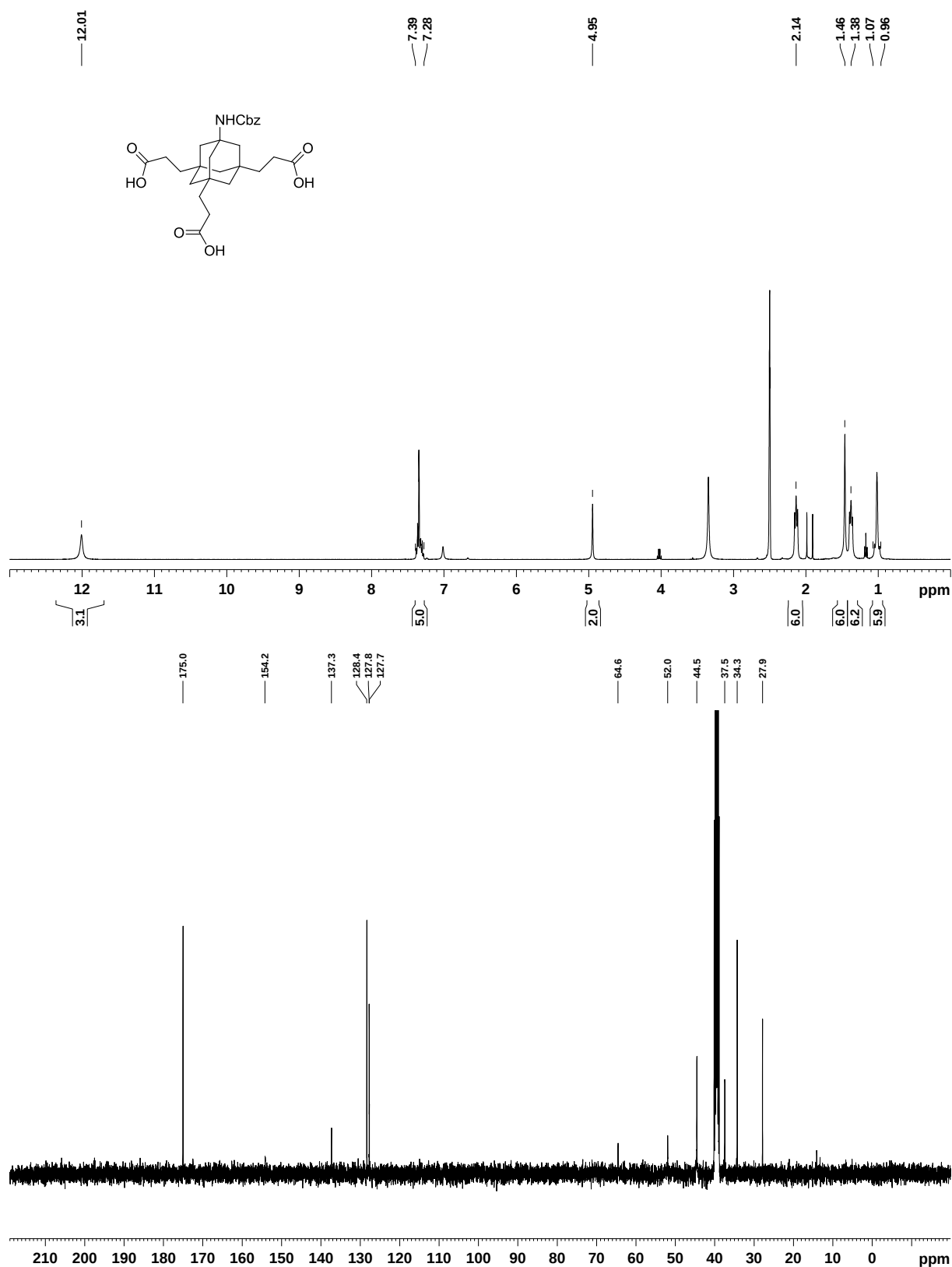
**Methyl-5-acetamido-2-*O*-(2-benzoyloxycarbonylaminoethyl)-3,5-dideoxy- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosonat 99 $\beta$**

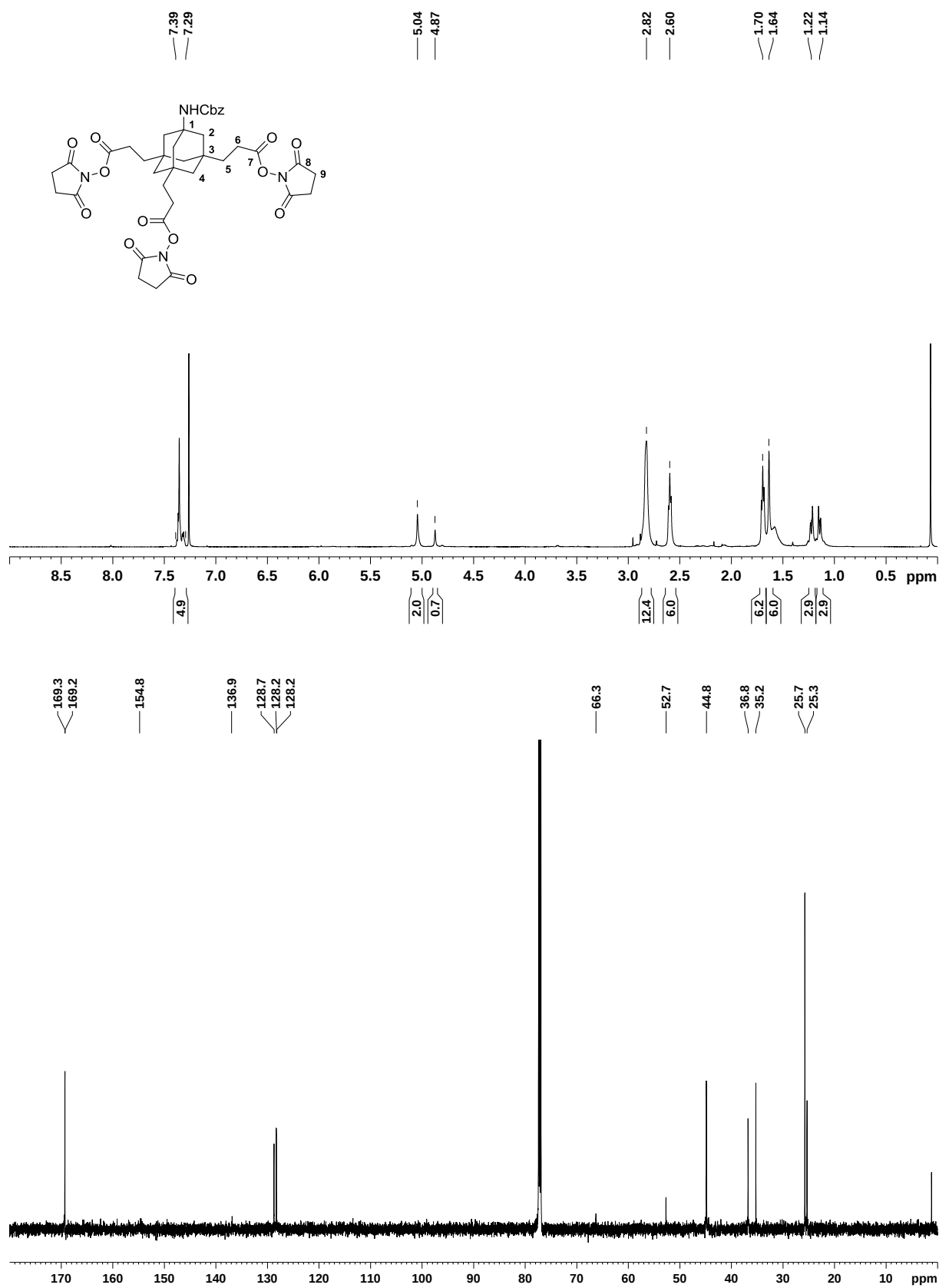


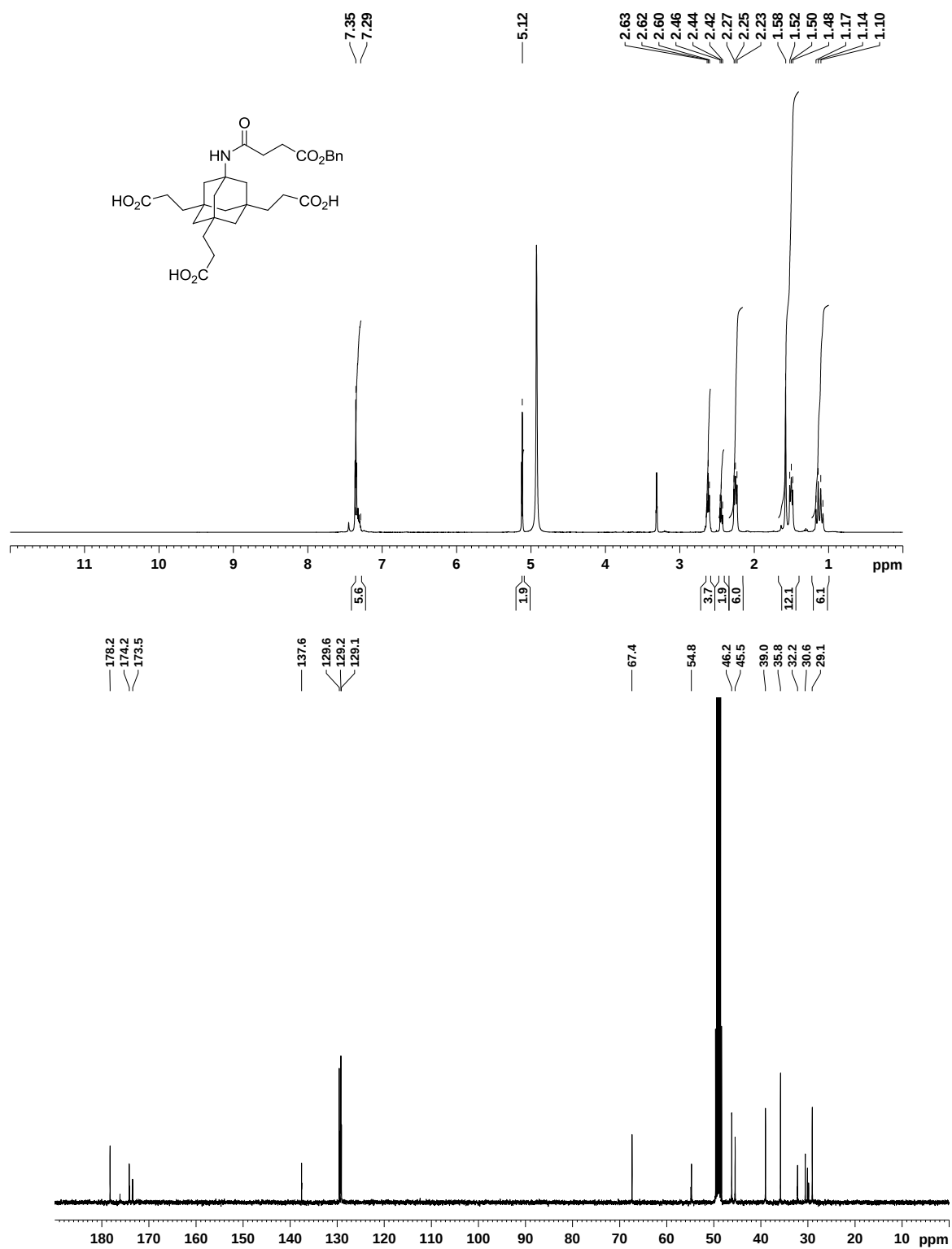
## 9.1.2 Synthese der Grundgerüste

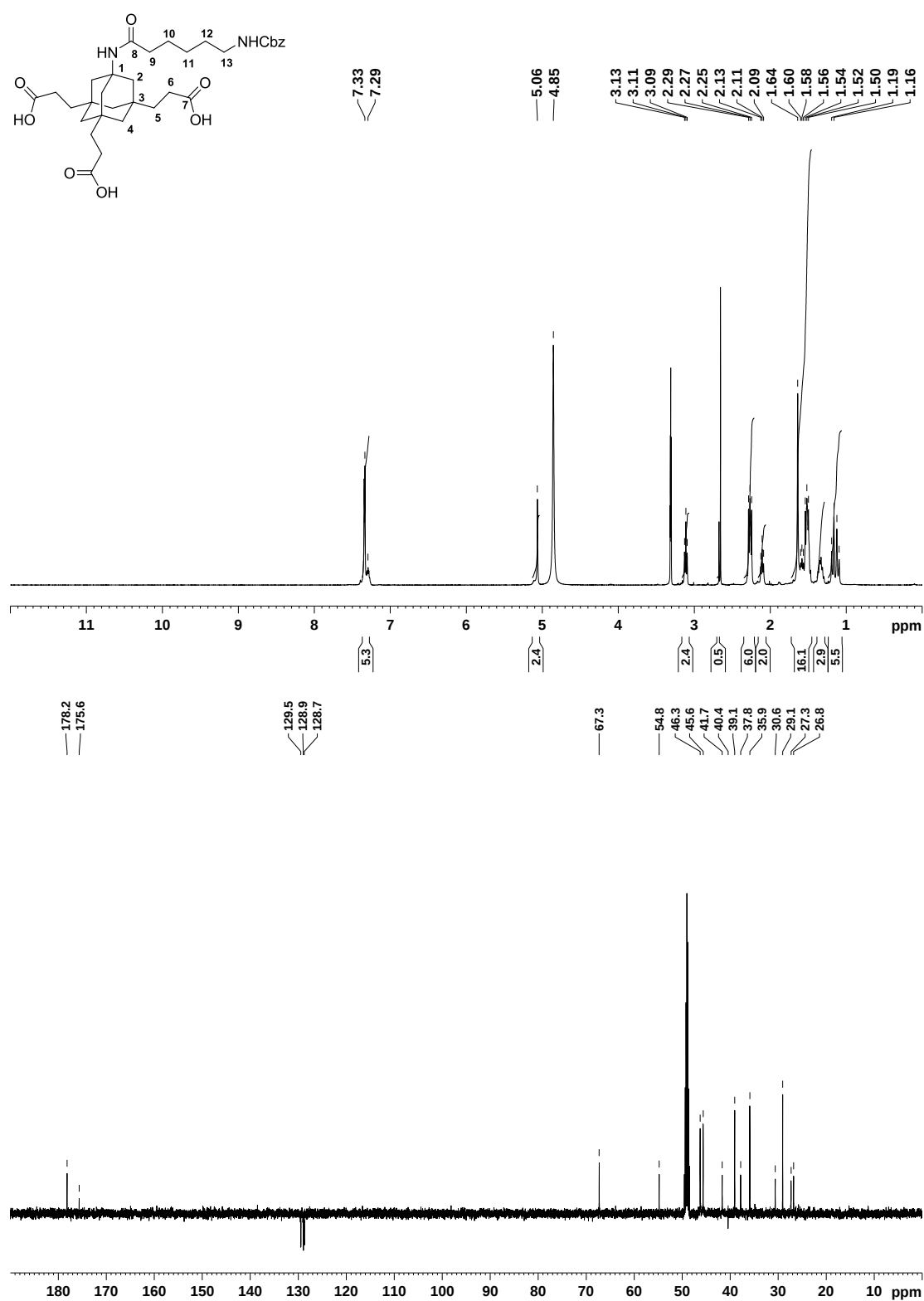
## 1-Hydroxy-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan 17



**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-(2-carboxyethyl)-adamantan 24**

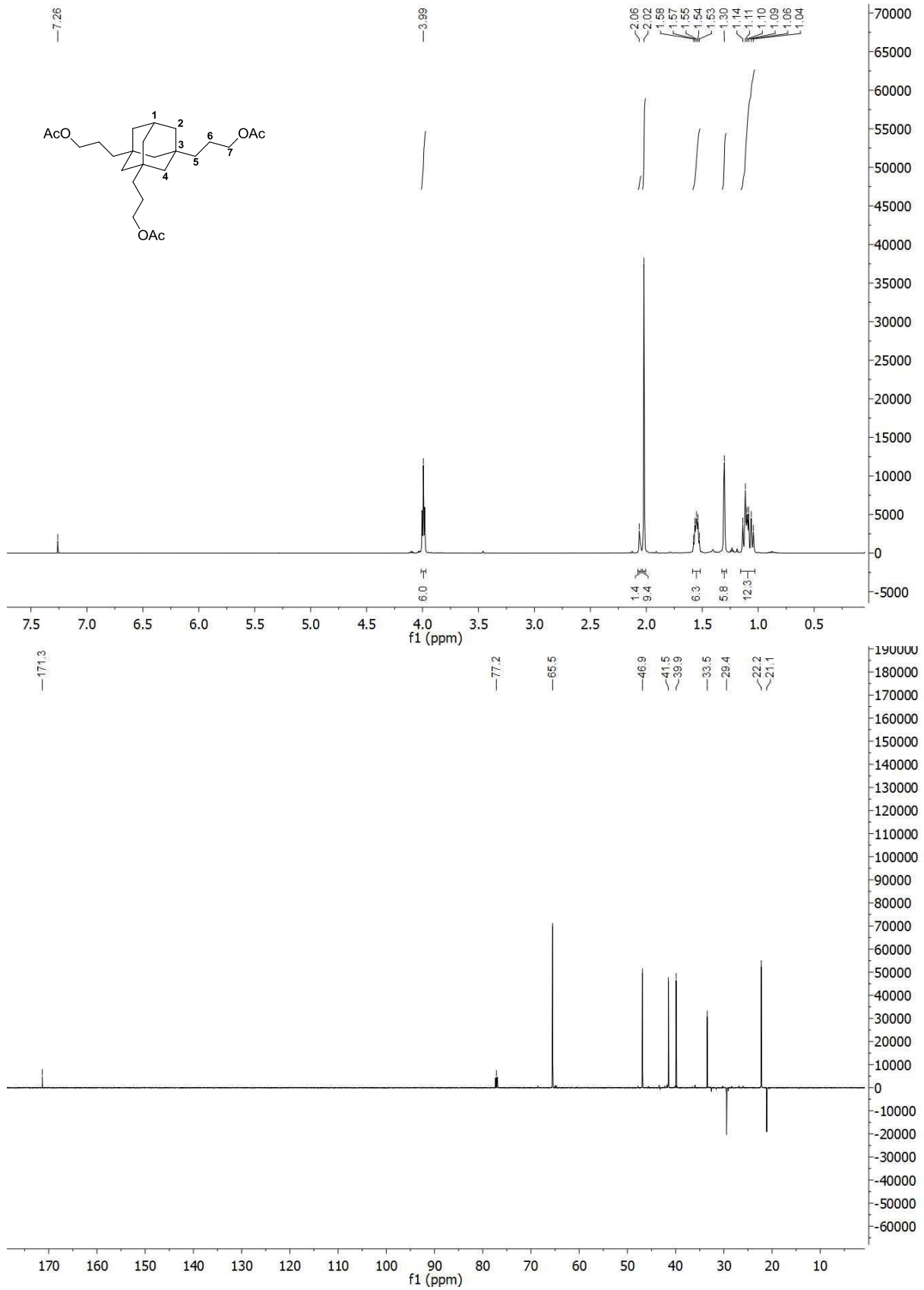
1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-NHS-(carboxyethyl)]-adamantan 28

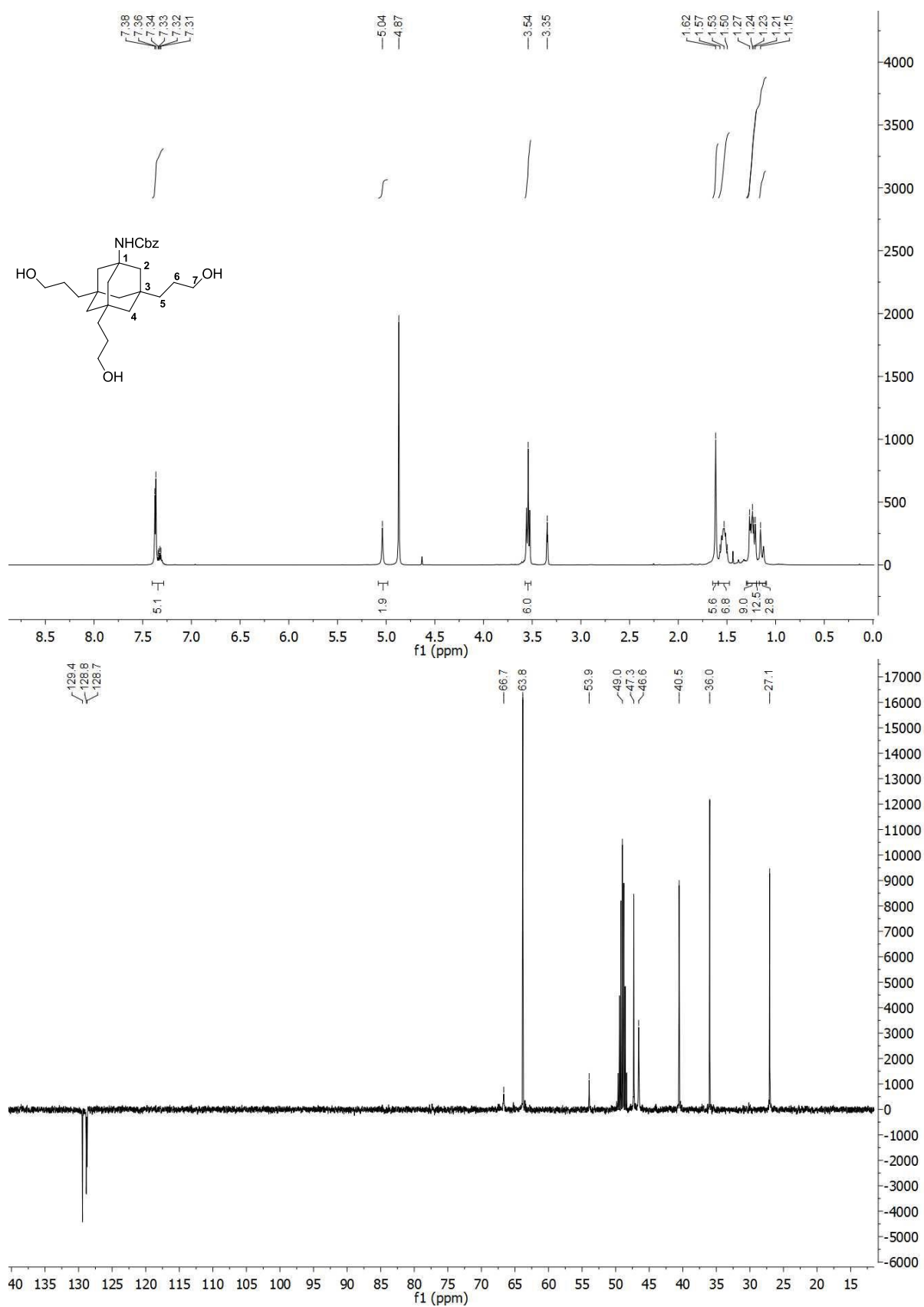
1-[4'-(*O*-Bn)-Butanoyl]-amino-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan 21

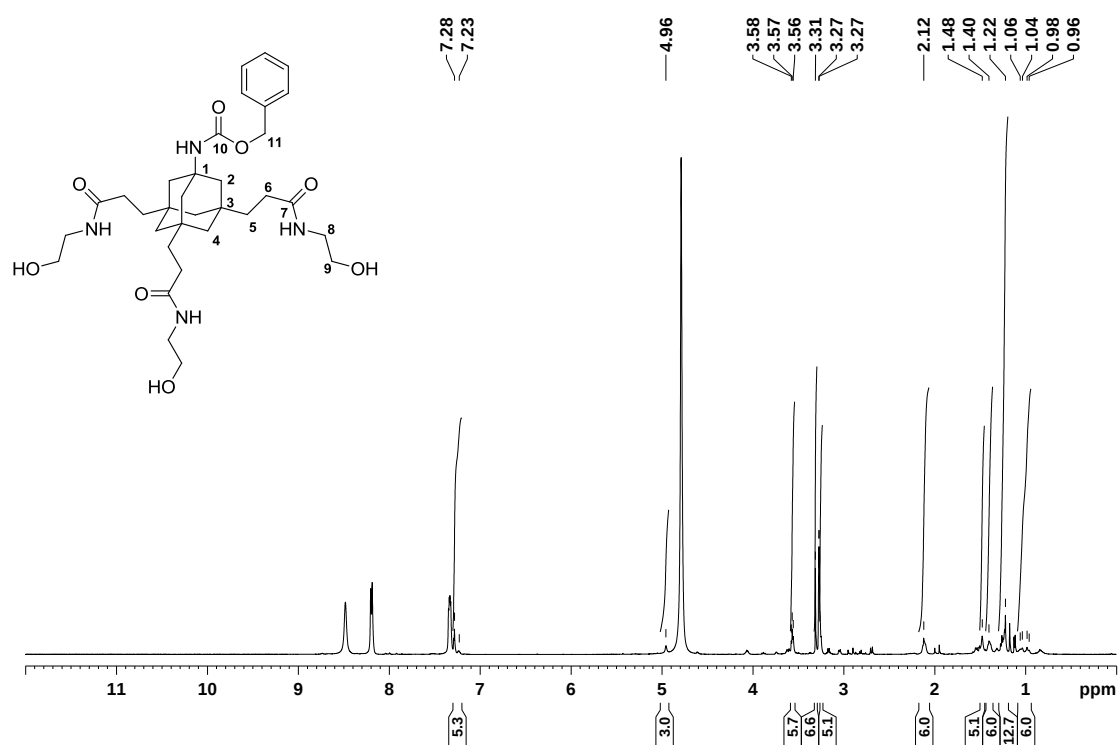
1-[(*N*-Cbz)-aminocaproyl]-amino-3,5,7-tris-(2-carboxyethyl)-adamantan 23

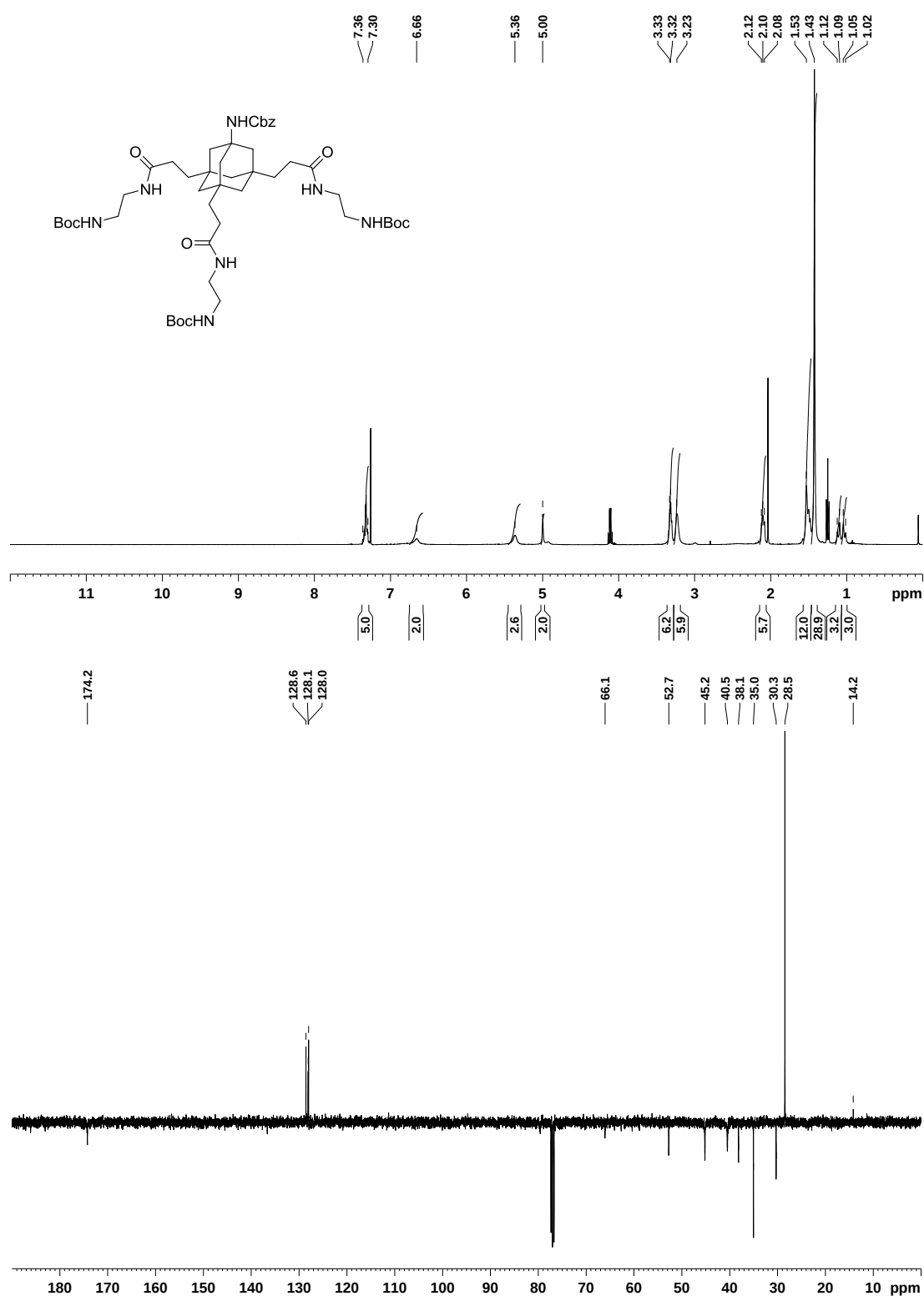
# 9. Anhang

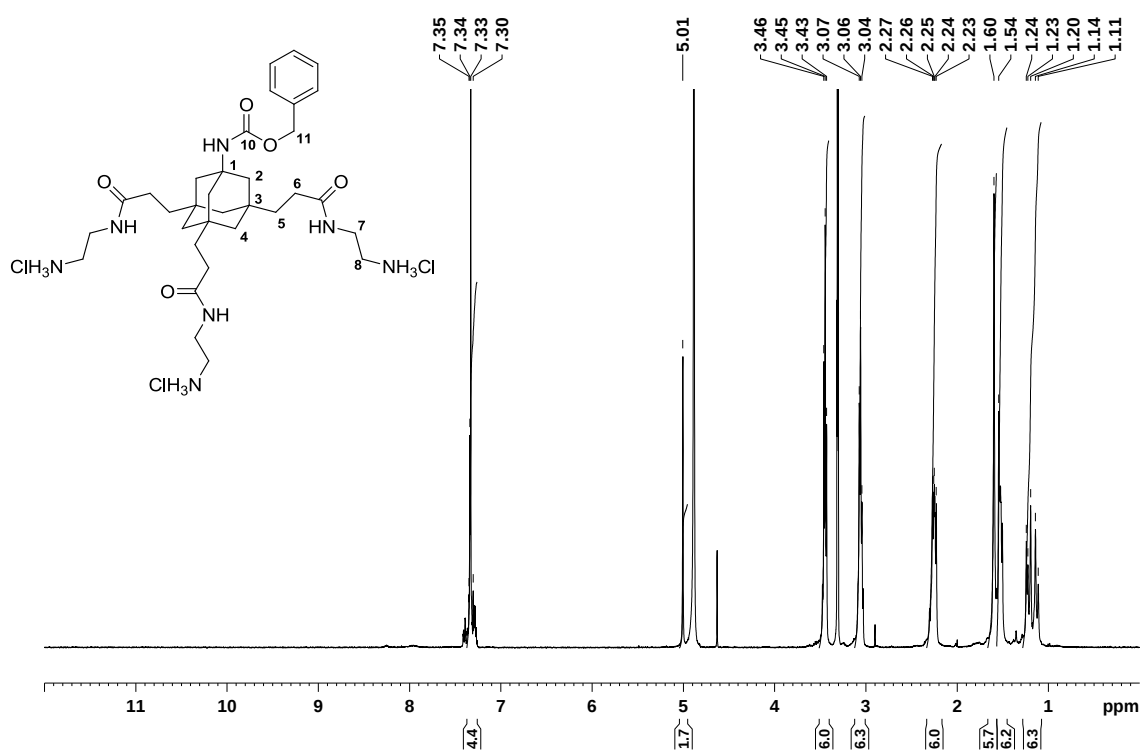
## 1,3,5-Tris-(3-acetoxypropyl)-adamantan 30



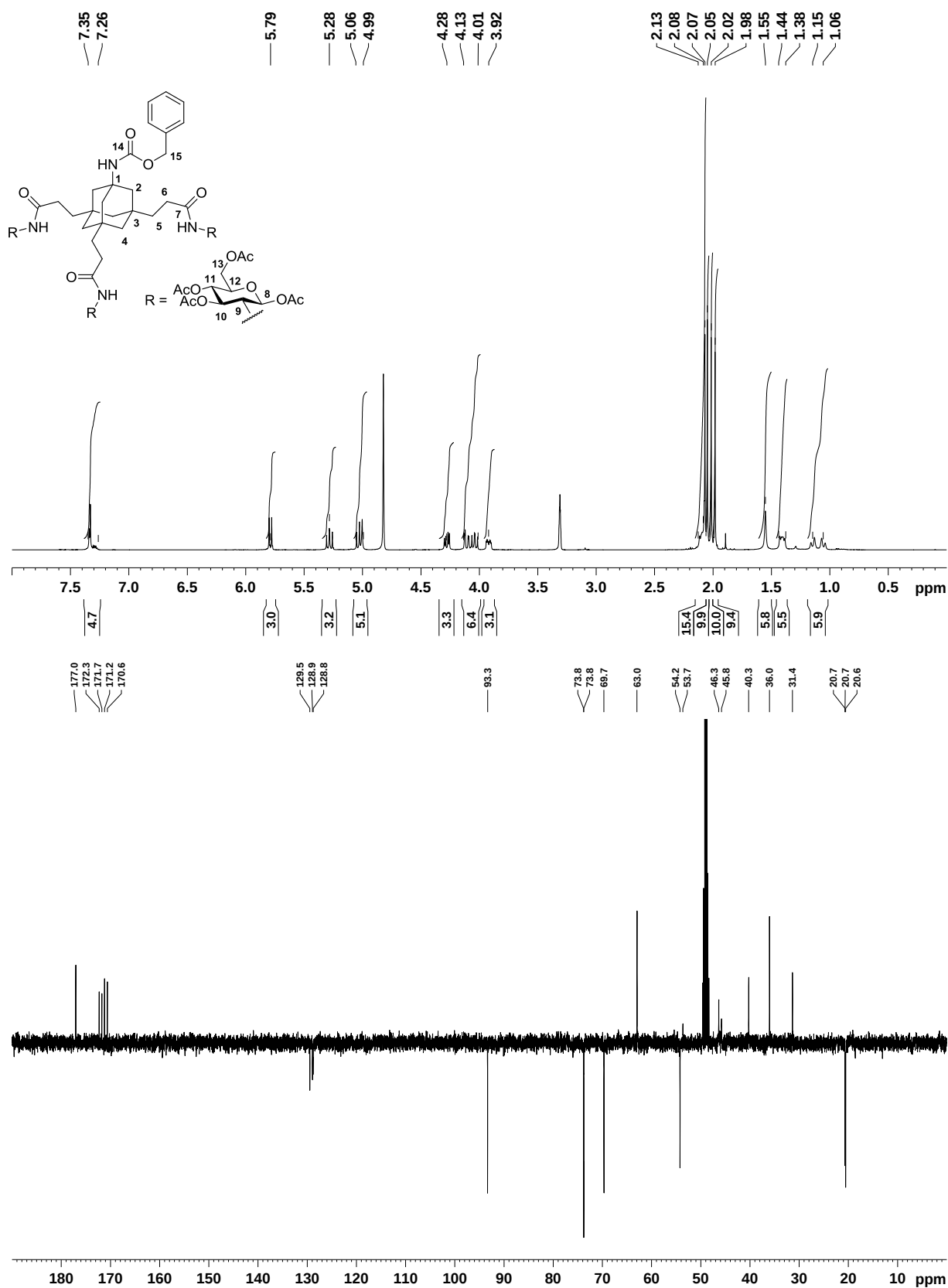
1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-(3-hydroxypropyl)-adamantan 31

**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2'-hydroxyethyl-amido]-ethyl]-adamantan 27**

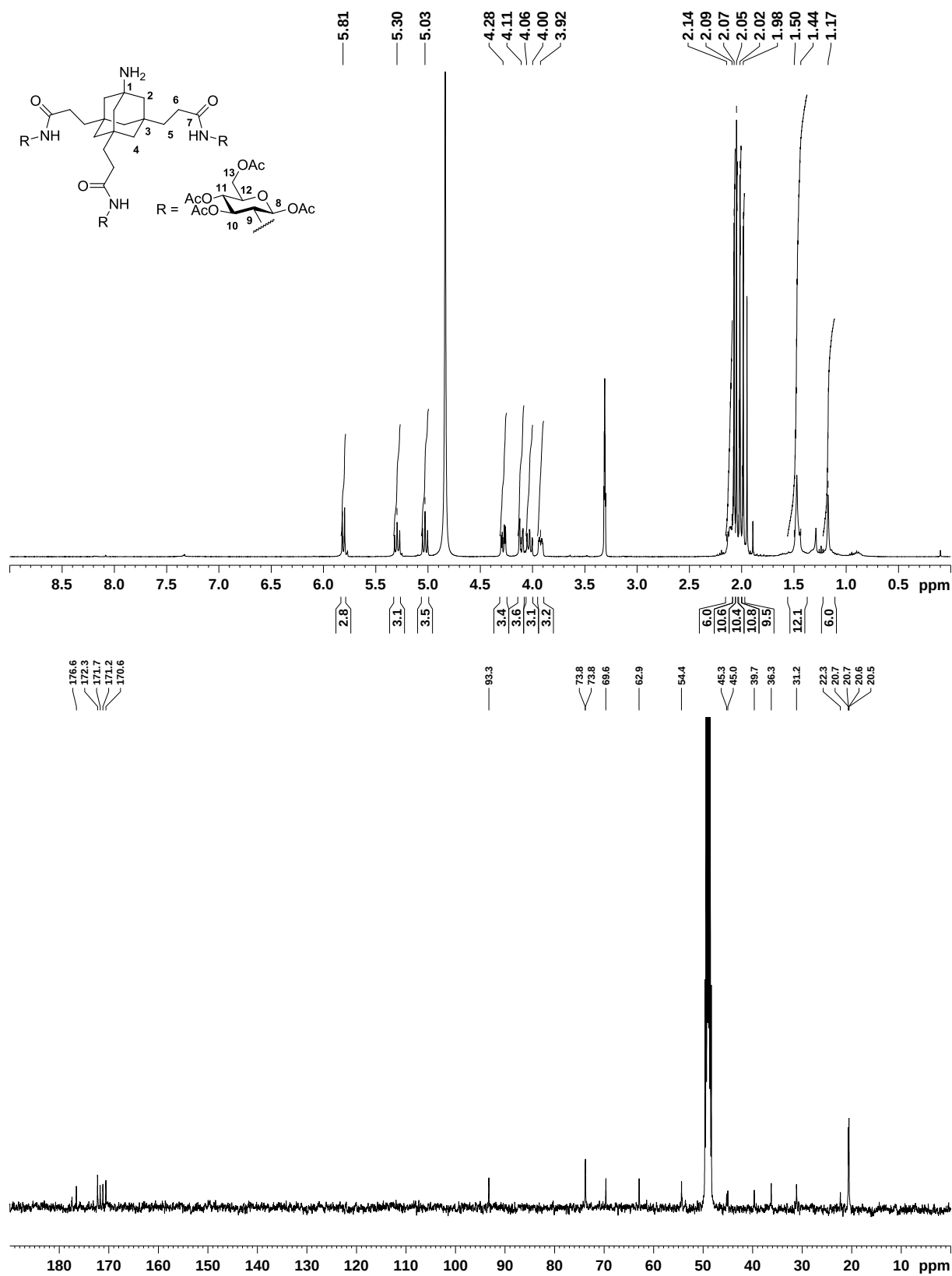
1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2'-*N*-Boc-aminoethyl-amido]-ethyl]-adamantan 25

**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2'-aminoethyl-amido]-ethyl]-adamantan Hydrochlorid 26**

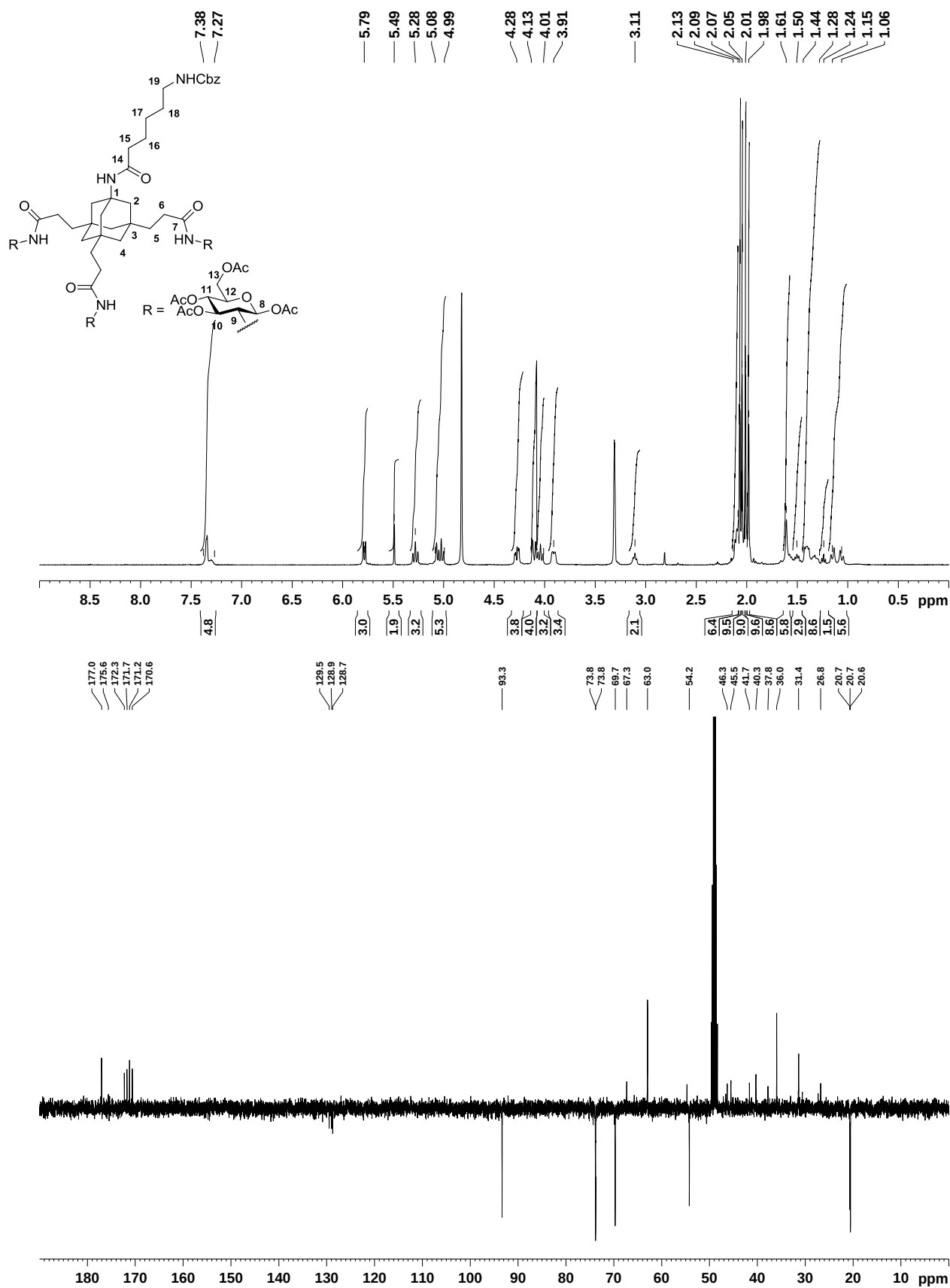
## 9.1.3 Synthese der Glucosaminderivate

1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2'-desoxy-1',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranos-2'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 44

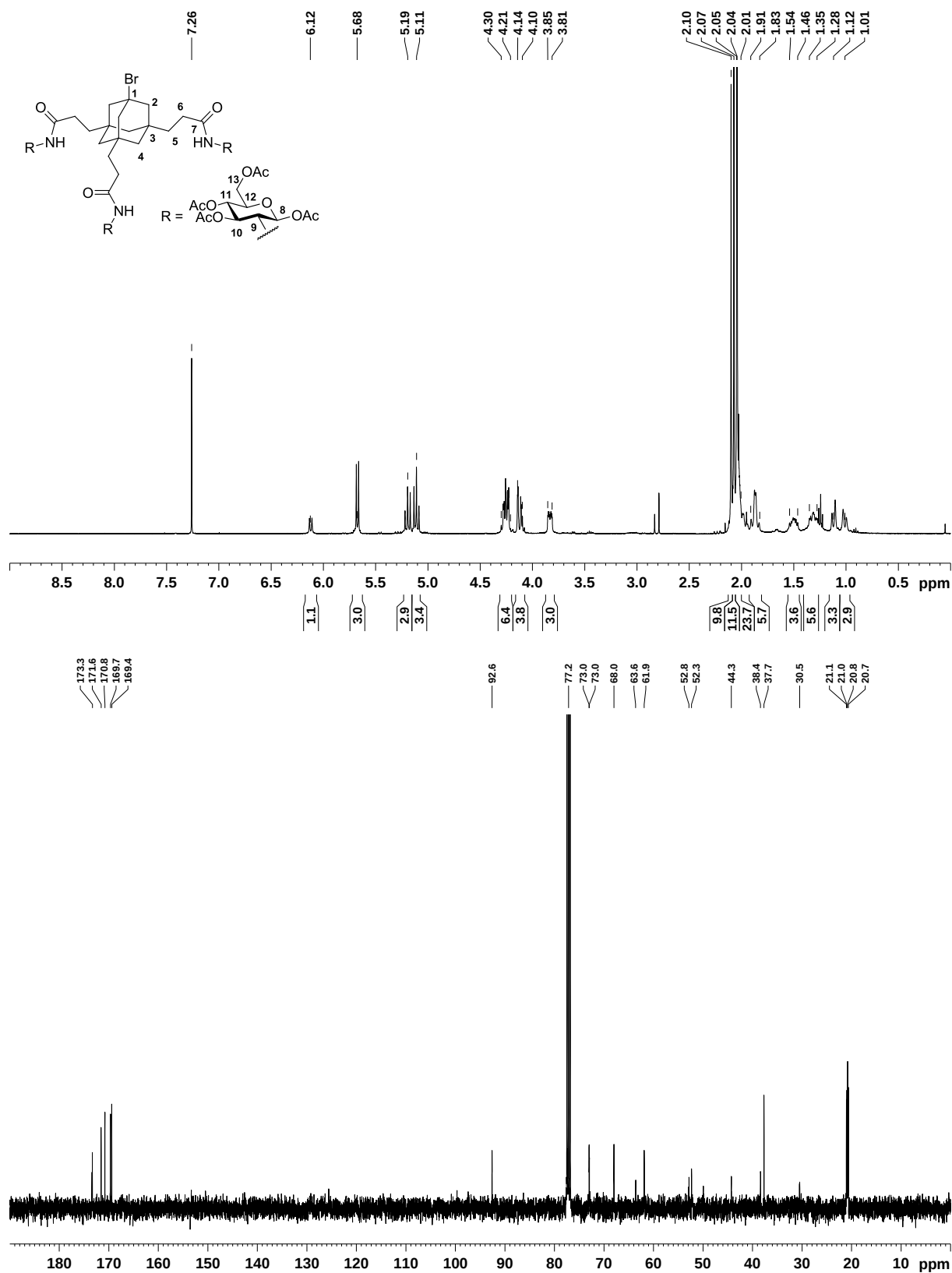
**1-Amino-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2'-desoxy-1',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranos-2'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 52**



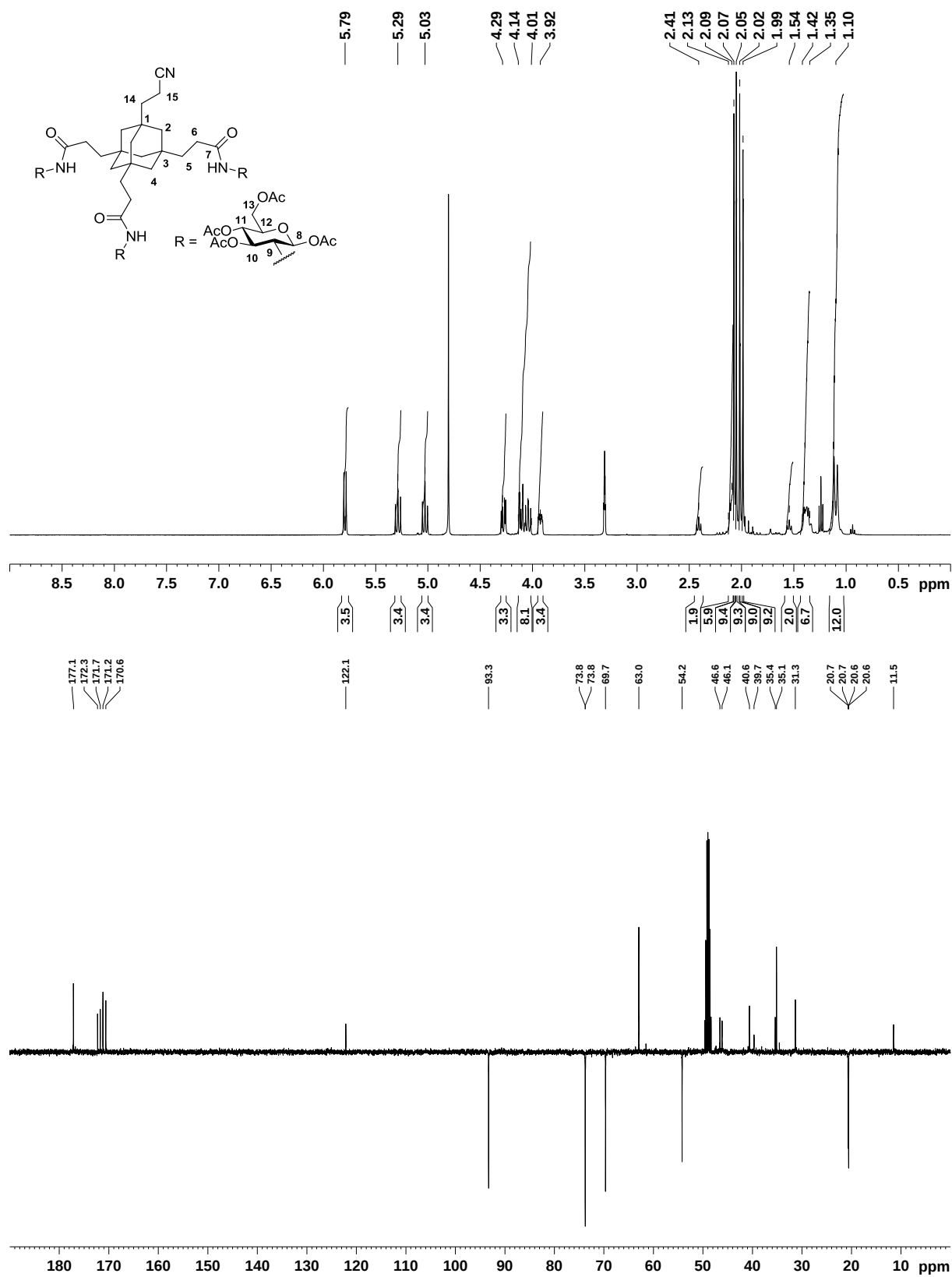
**1-[(*N*-Cbz)-Aminocaproyl]-amino-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2'-desoxy-1',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranos-2'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 53**



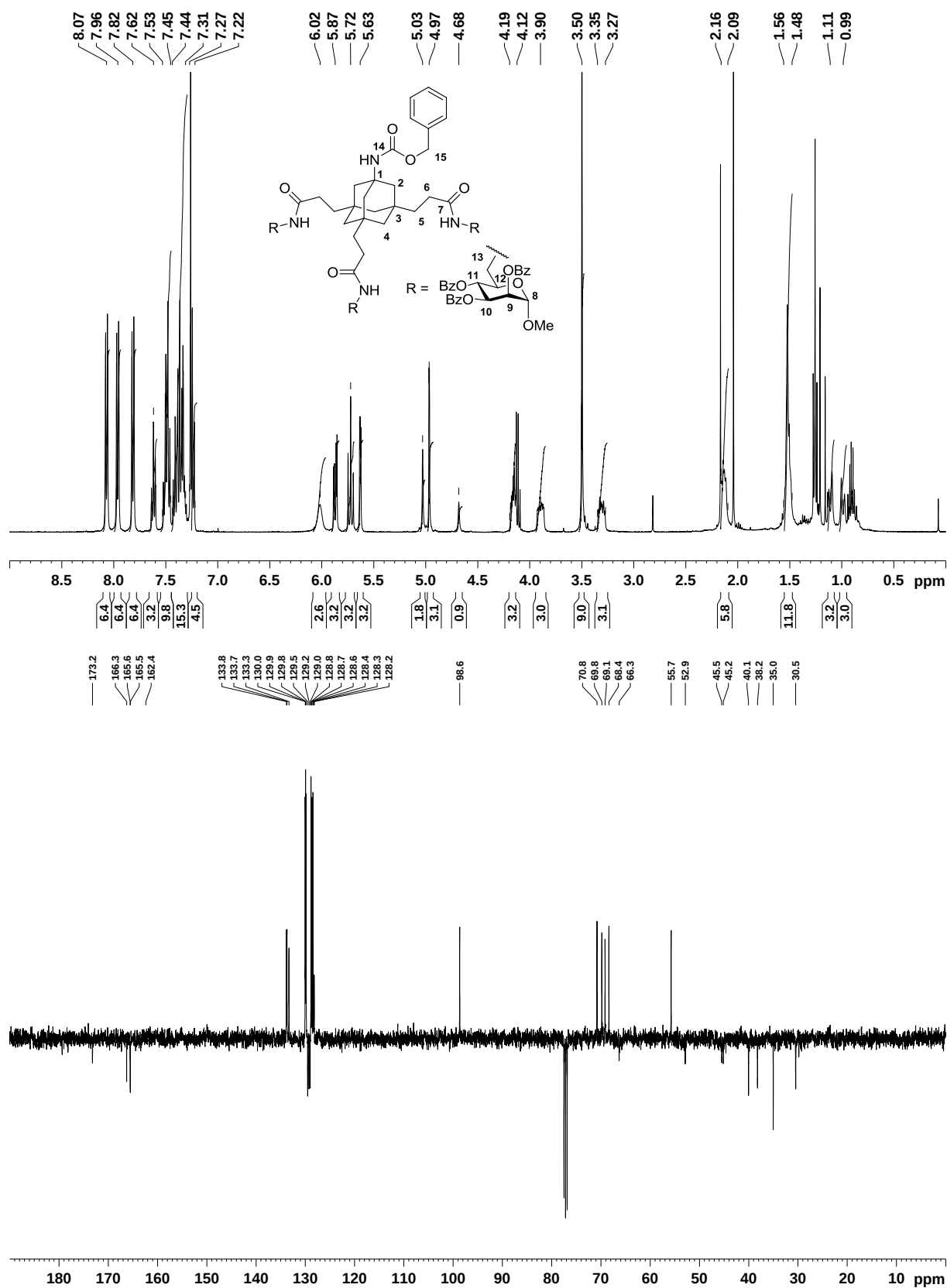
**1-Brom-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2'-desoxy-1',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranos-2'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 54**



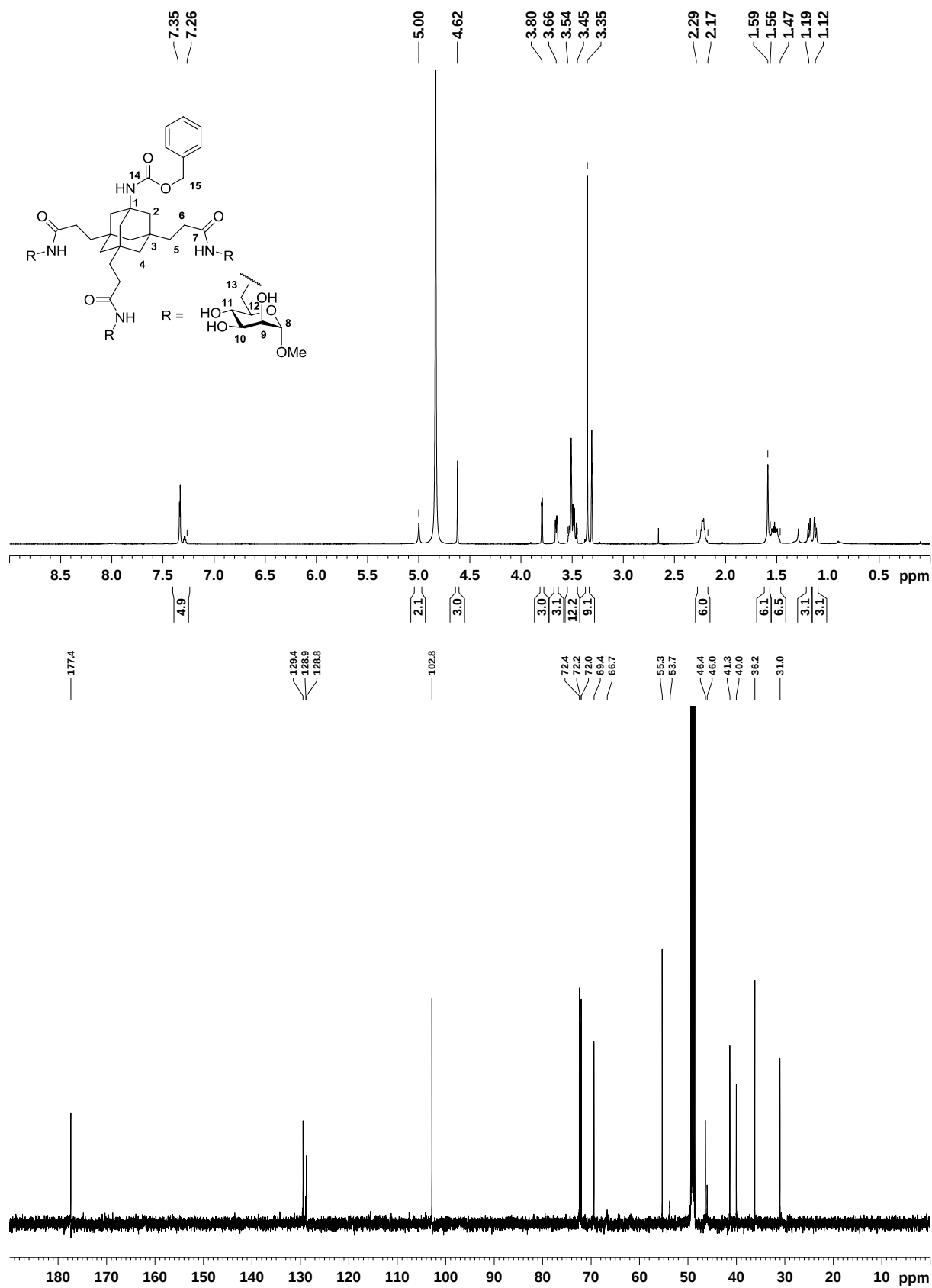
**1-(2-Cyanoethyl)-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2'-desoxy-1',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranos-2'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 55**



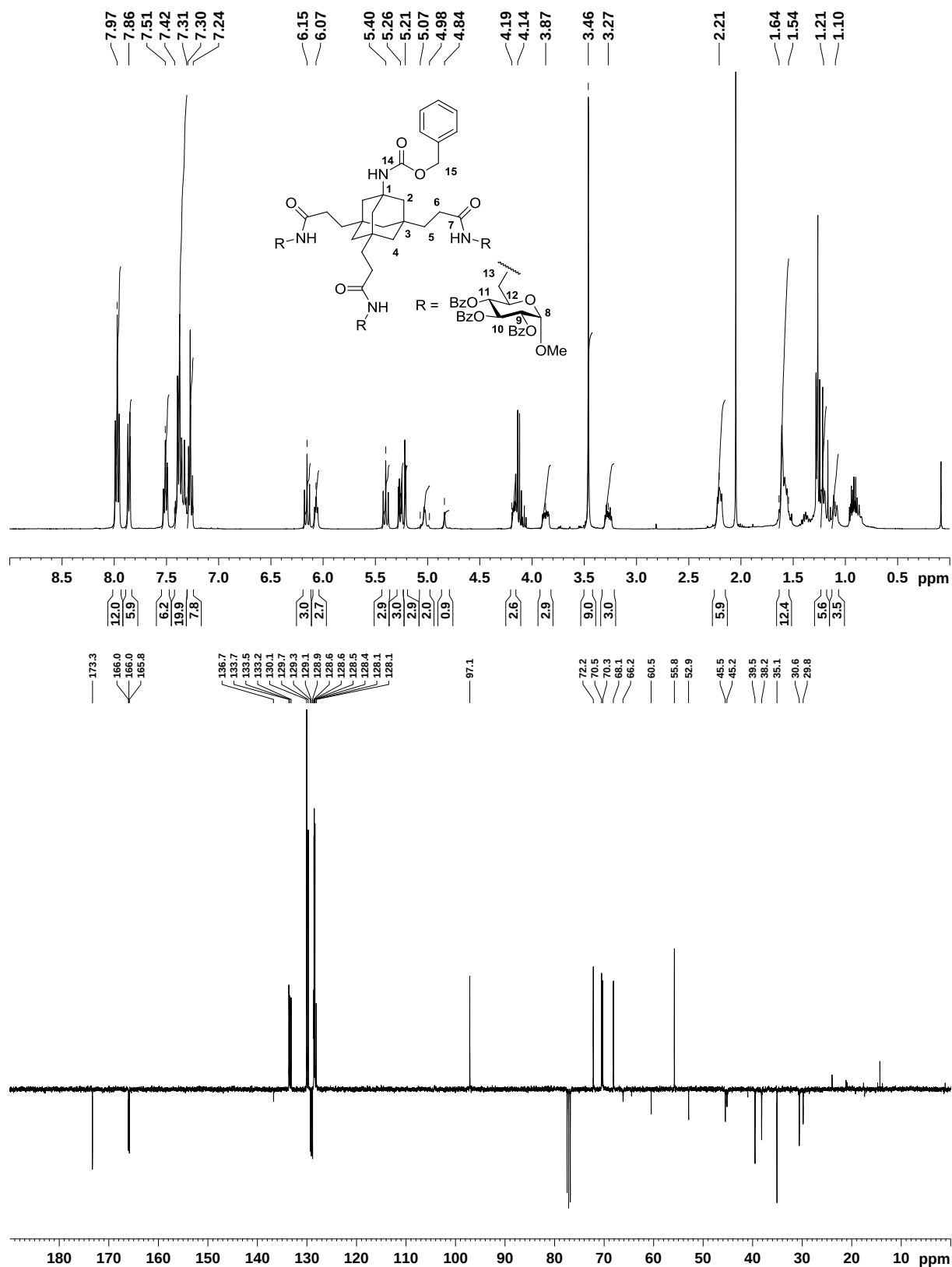
## 9.1.4 Synthese der Glucose und Mannose 6-desoxy Verbindungen

1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2',3',4'-tri-*O*-benzoyl-6'-desoxy-1'-*O*-methyl- $\alpha$ -D-mannopyranos-6'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 50a

**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(6'-desoxy-1'-*O*-methyl- $\alpha$ -D-mannopyranos-6'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 51a**

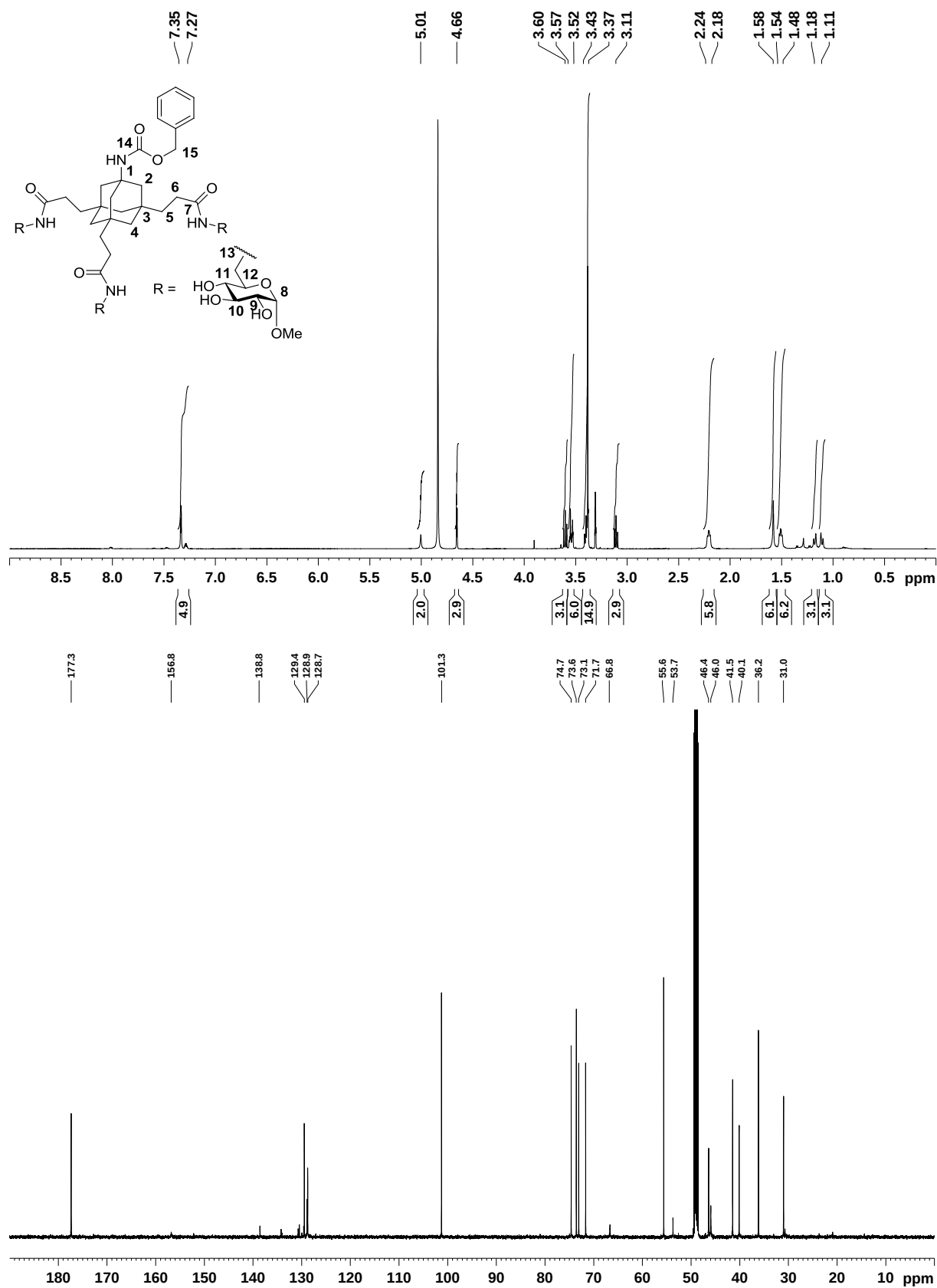


**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2',3',4'-tri-*O*-benzoyl-6'-desoxy-1'-*O*-methyl- $\alpha$ -D-glucopyranos-6'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan 50b**



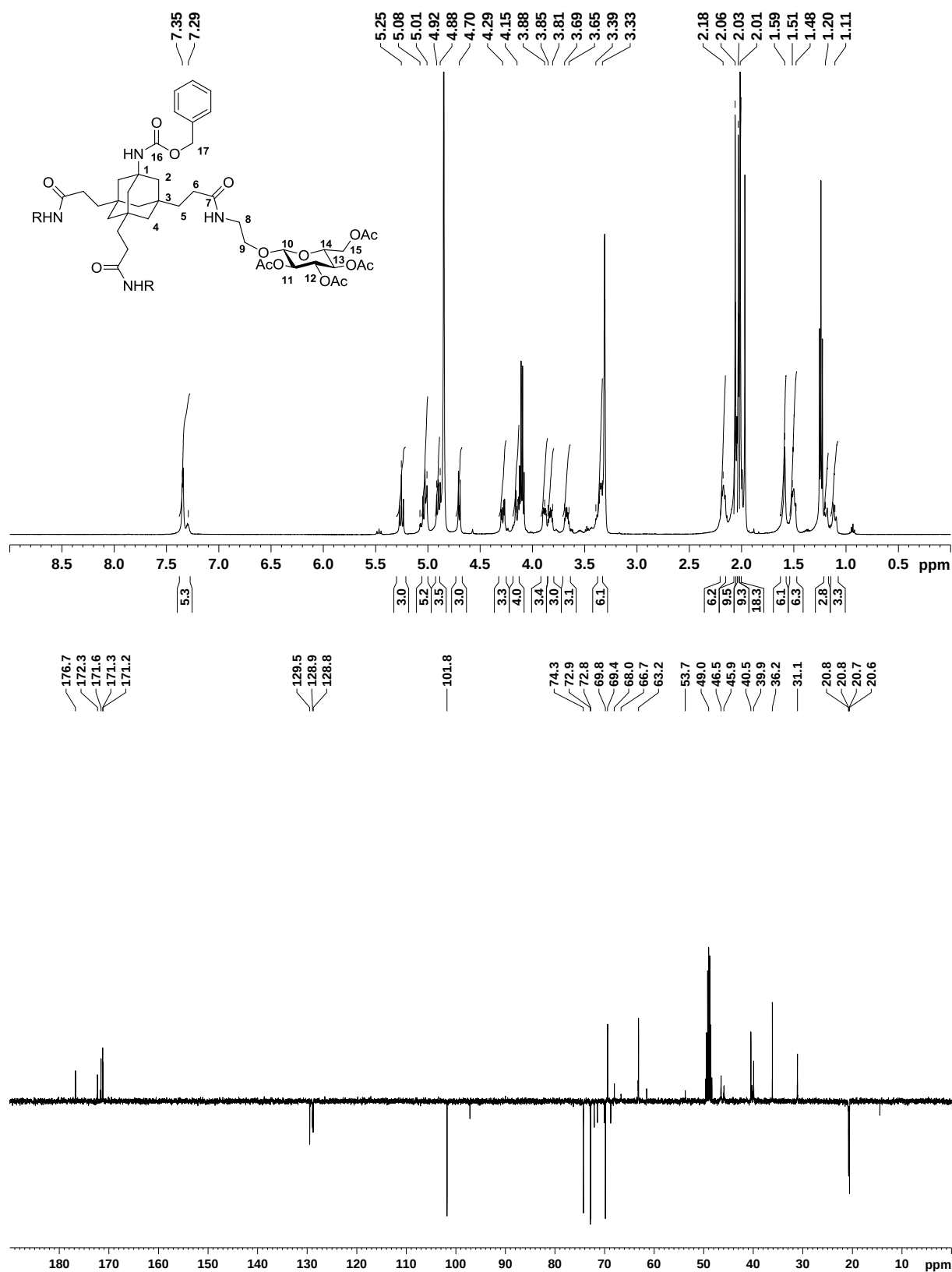
1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(6'-desoxy-1'-*O*-methyl- $\alpha$ -D-glucopyranos-6'-yl)-amido]-ethyl]-adamantan

51b

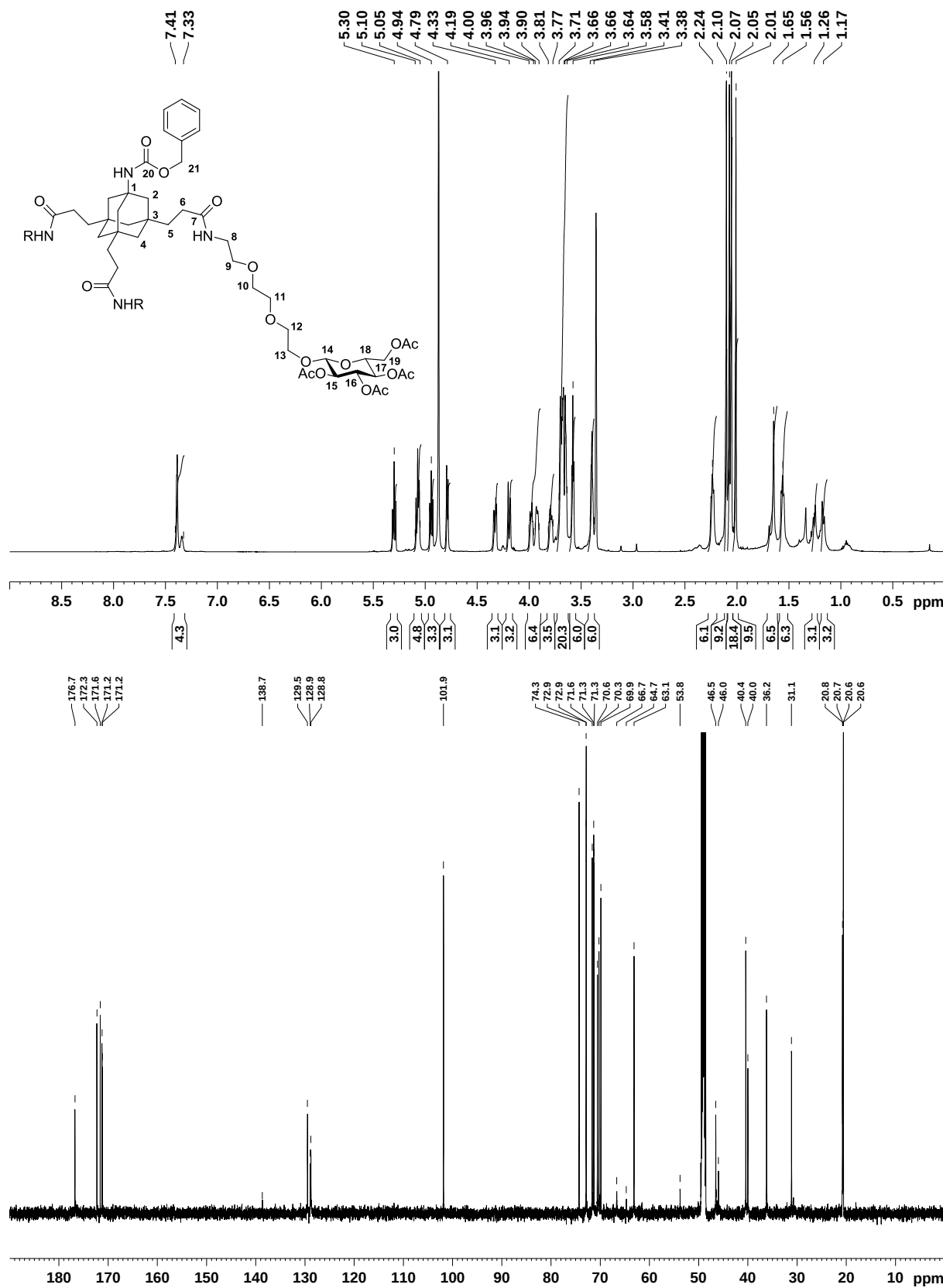


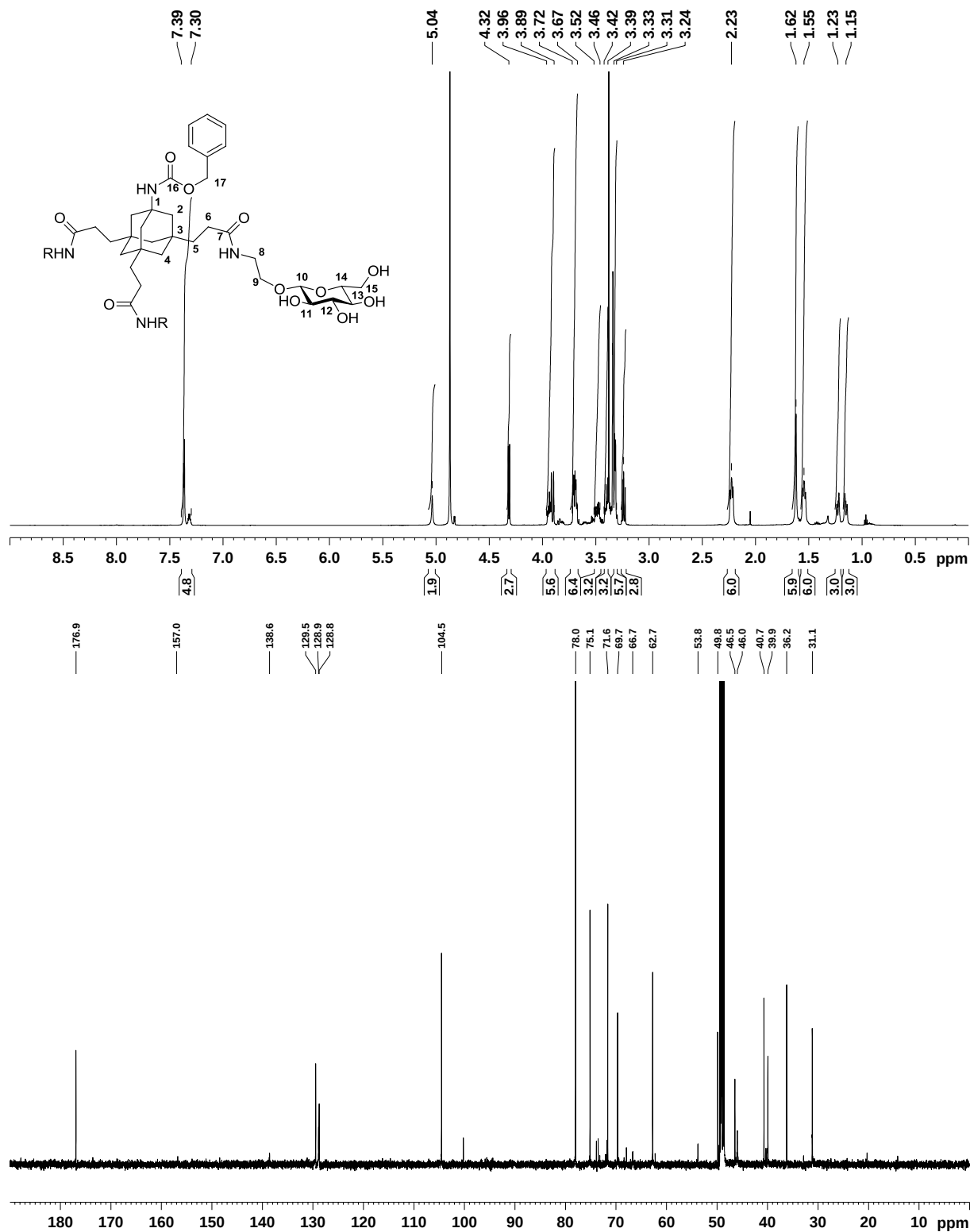
## 9.1.5 Synthese der Glucosederivate

1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2'-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan 81

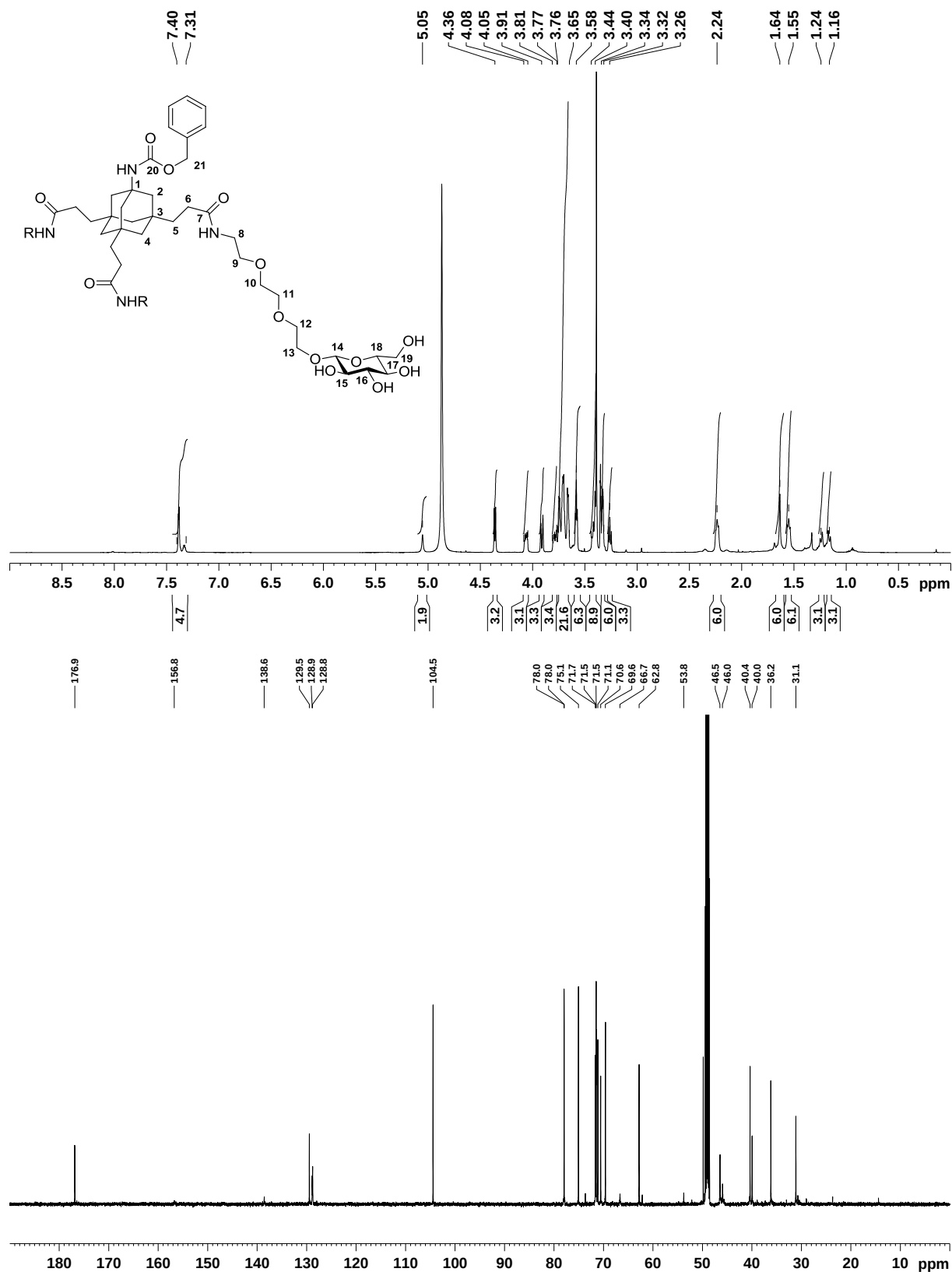


**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2''-(2'''-[2''''-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan 82**

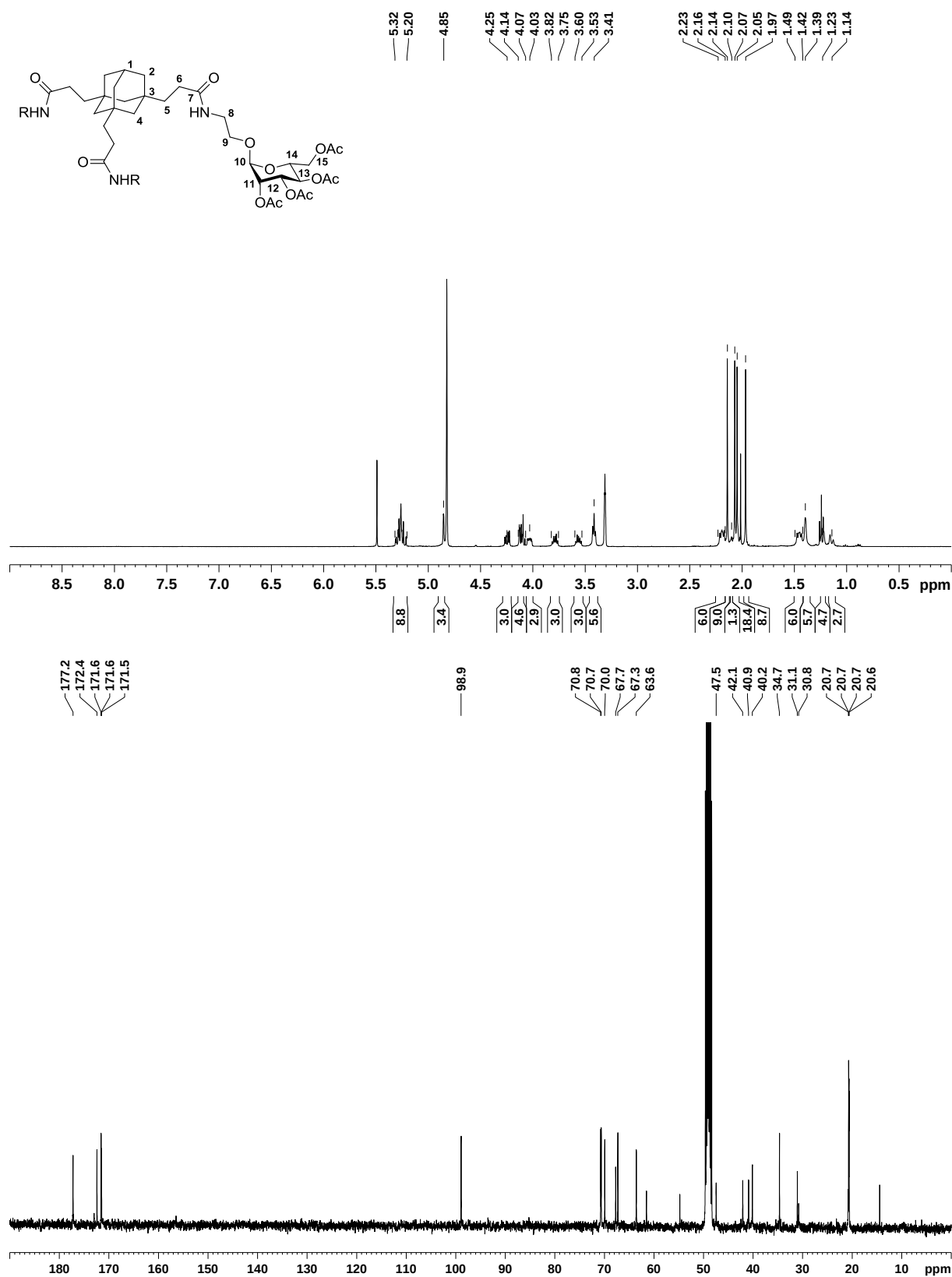


1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2'-( $\beta$ -D-glucopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan 85

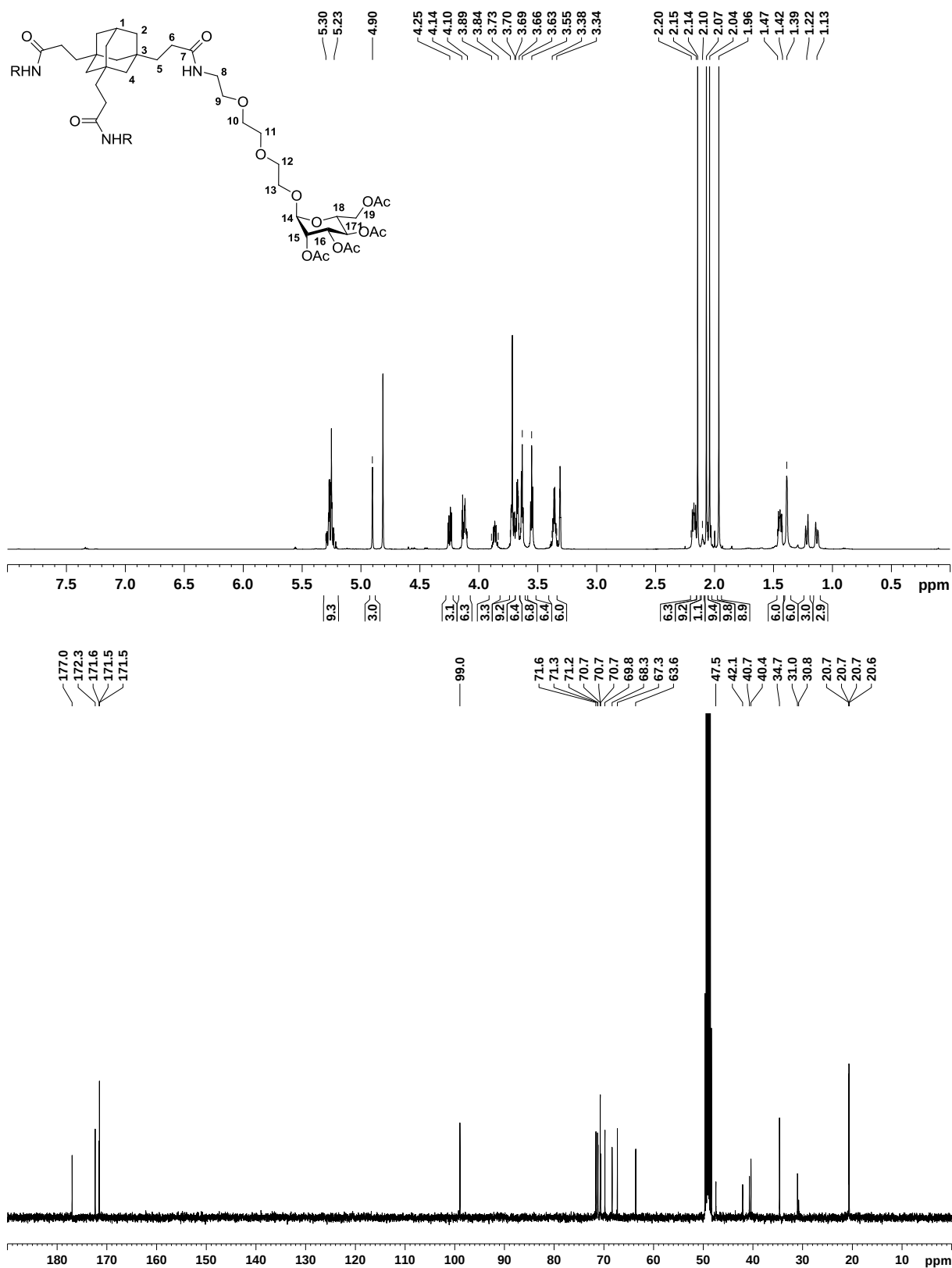
**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2'-(2''-[2'''-(β-D-glucopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan 86**



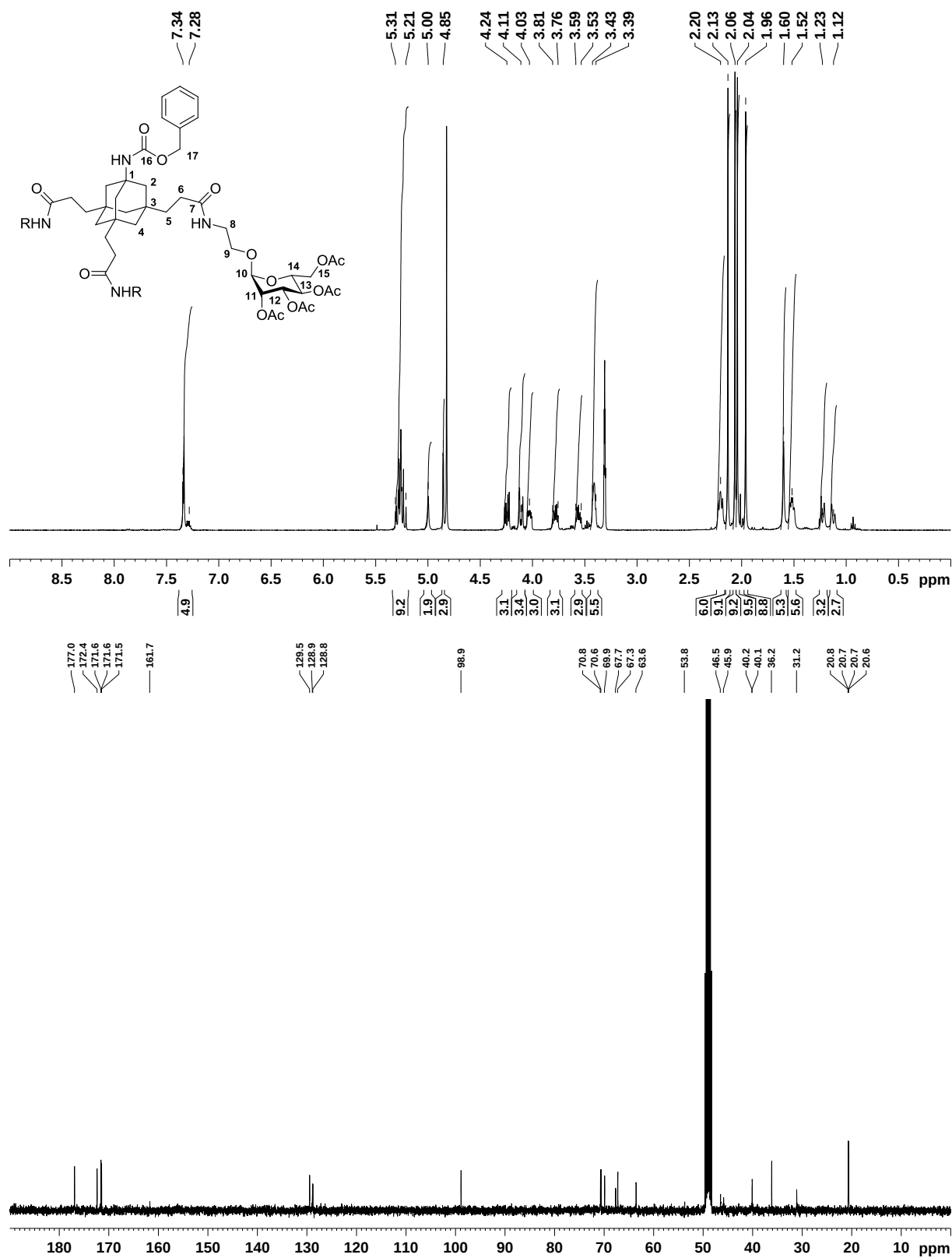
## 9.1.6 Synthese der Mannosederivate

3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2''-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan 64

**3,5,7-Tris-[2-[N-(2''-(2'''-[2''''-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan 66**

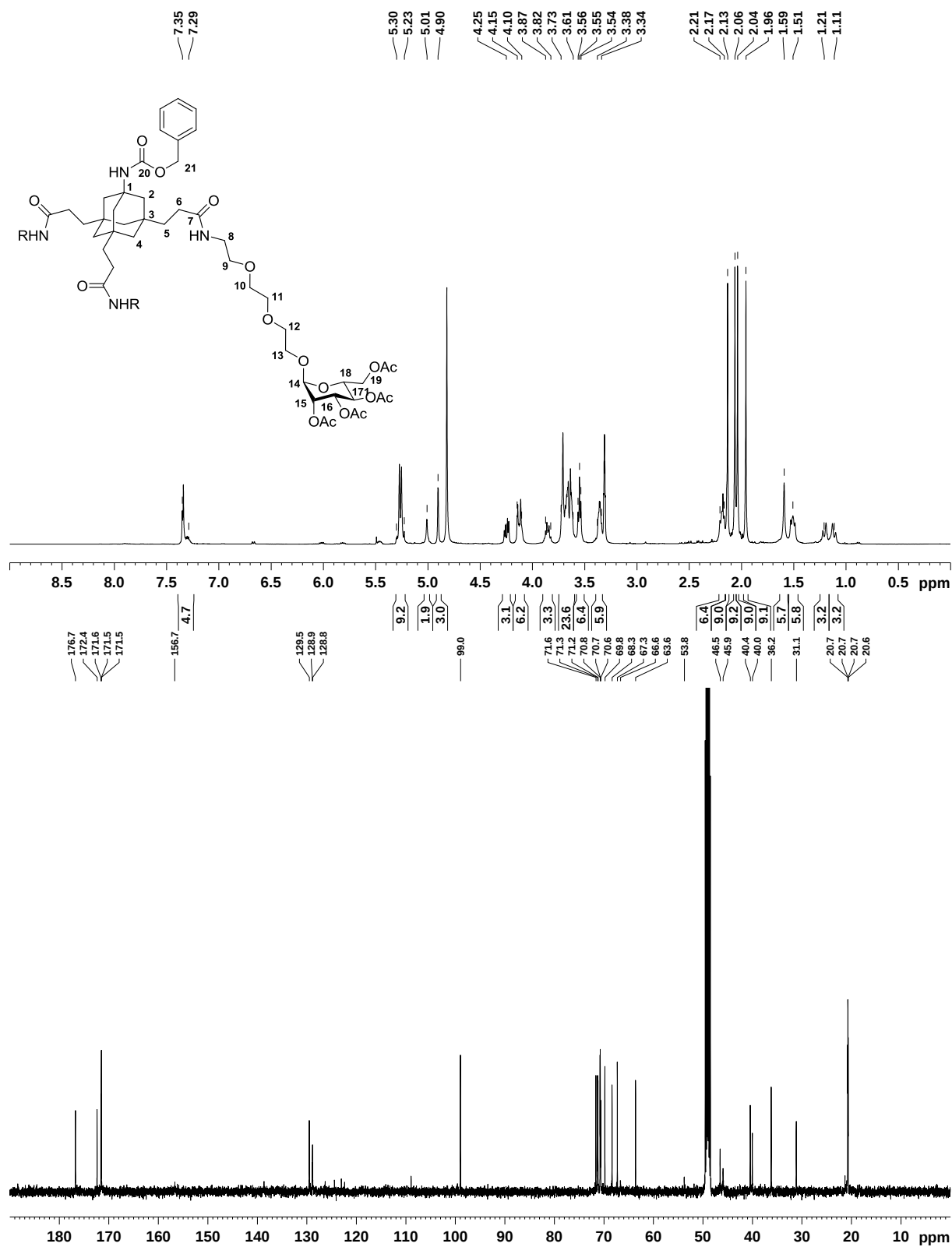


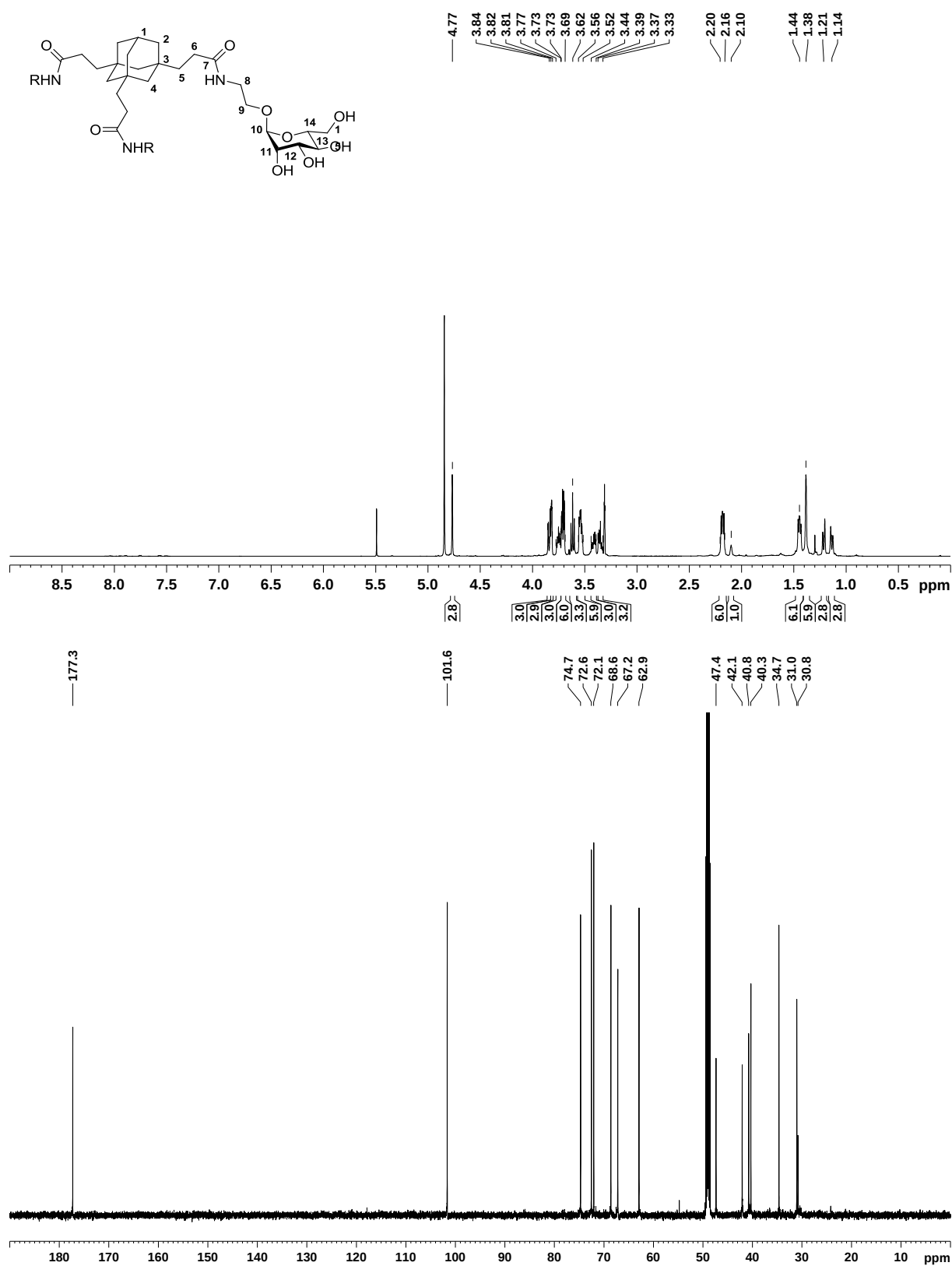
**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2''-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan 87**



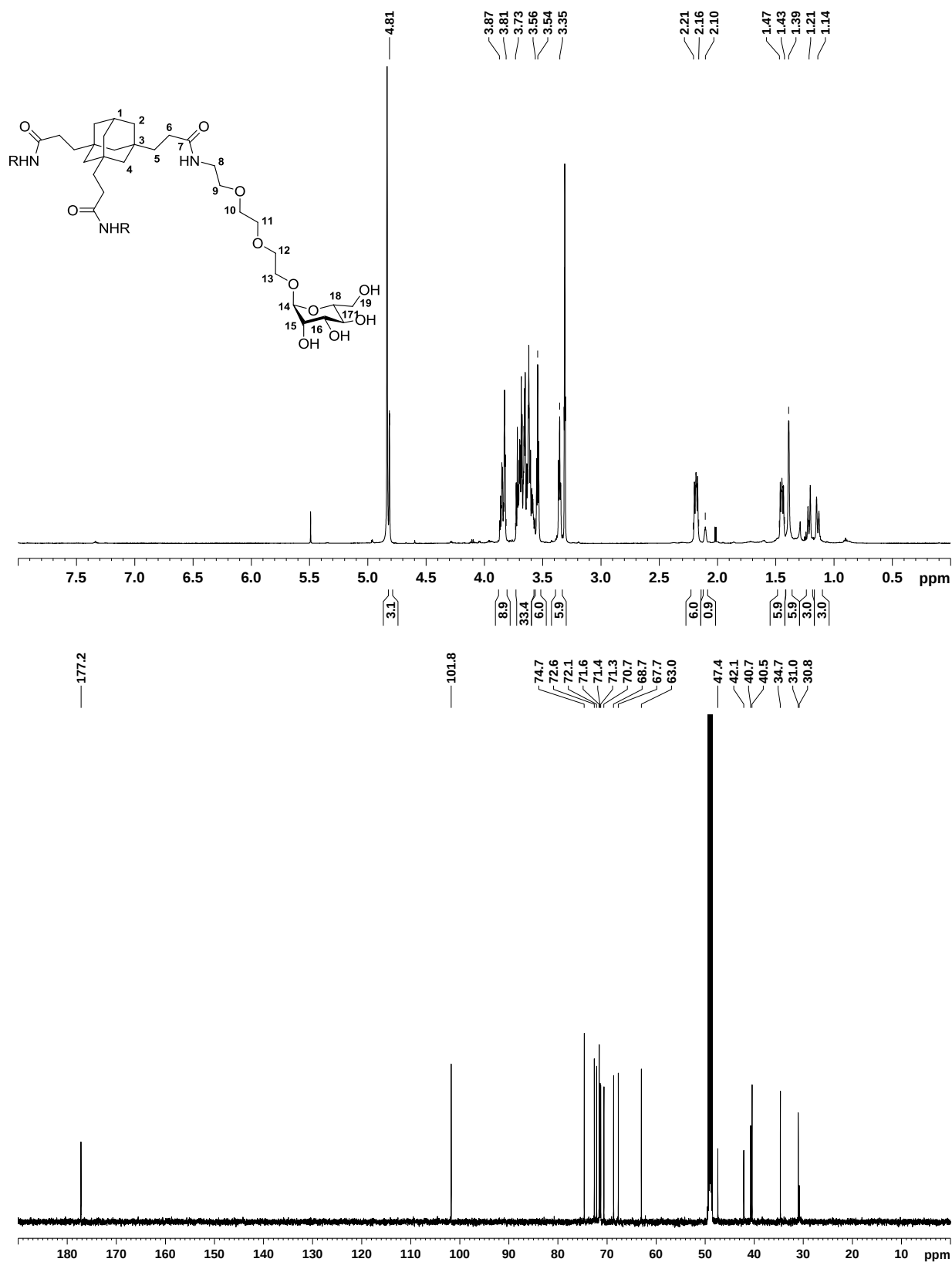
# 9. Anhang

## 1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2''-[2'''-[2''''-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan 84

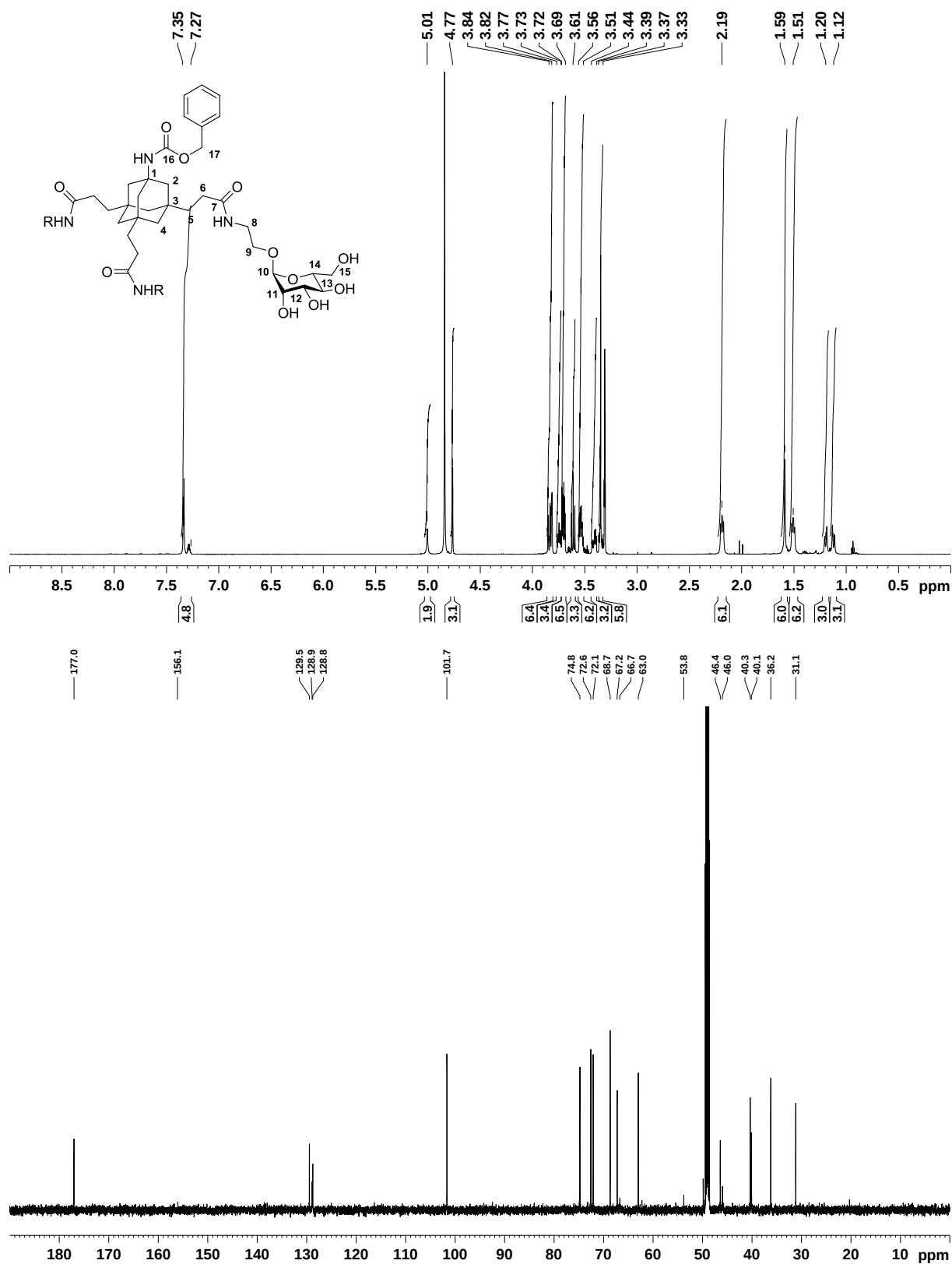


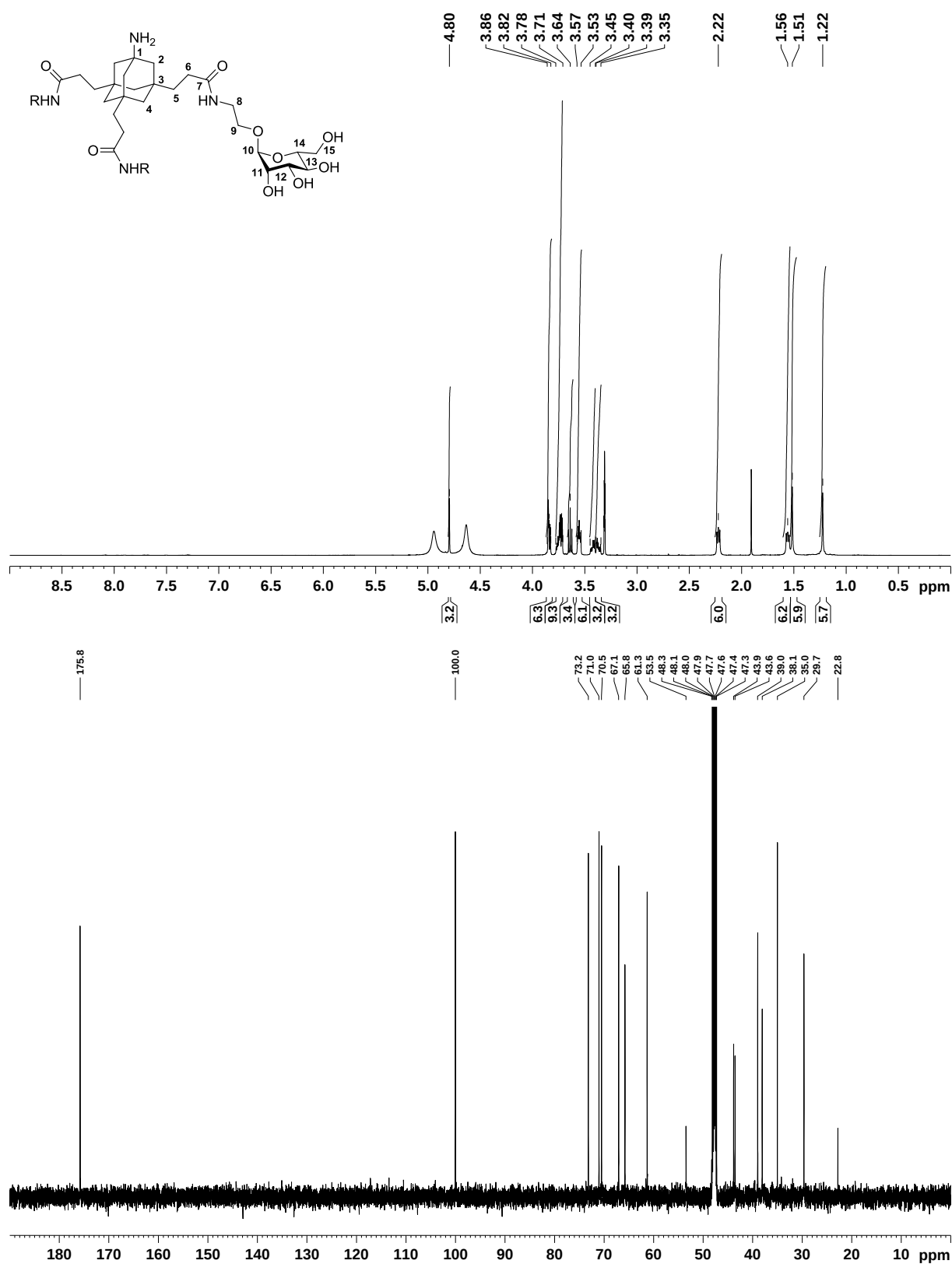
3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2'-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan 65

**3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2''-(2'''-[2''''-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan 67**

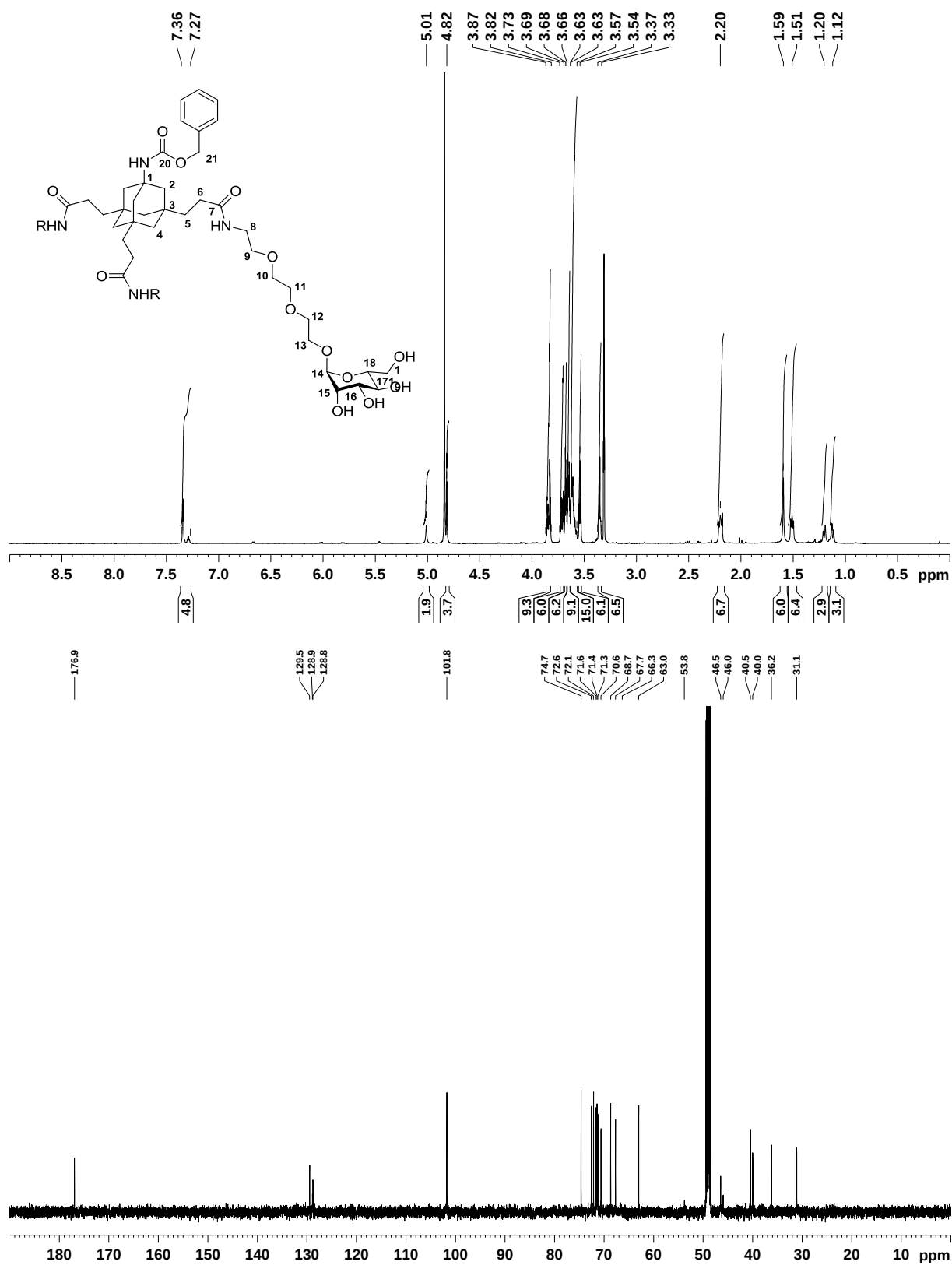


**1-*N*-Cbz-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2''-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan 87**

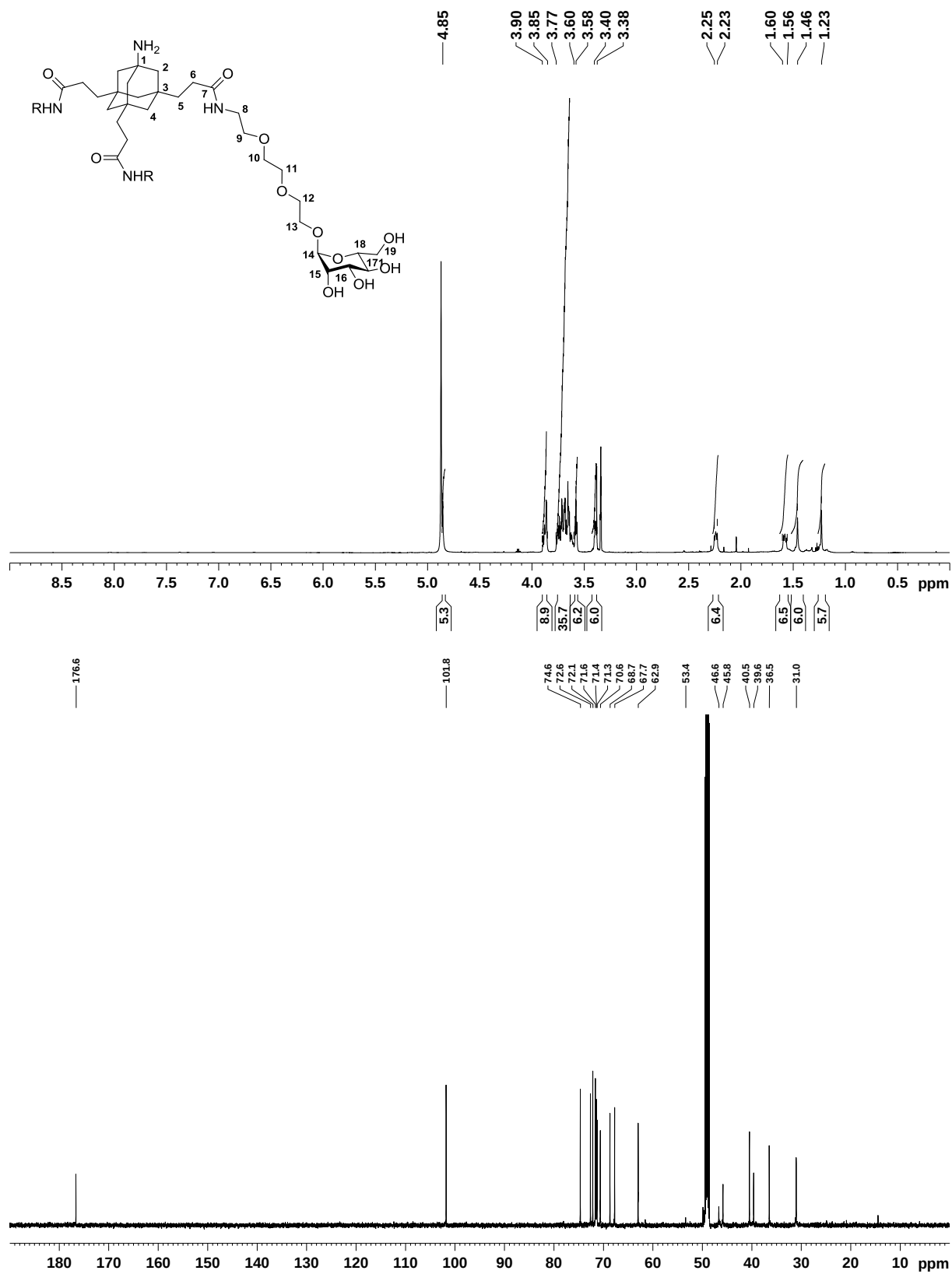


1-Amino-3,5,7-tris-[2-[N-(2'-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan 89

**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(2''-(2'''-[2''''-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan 88**



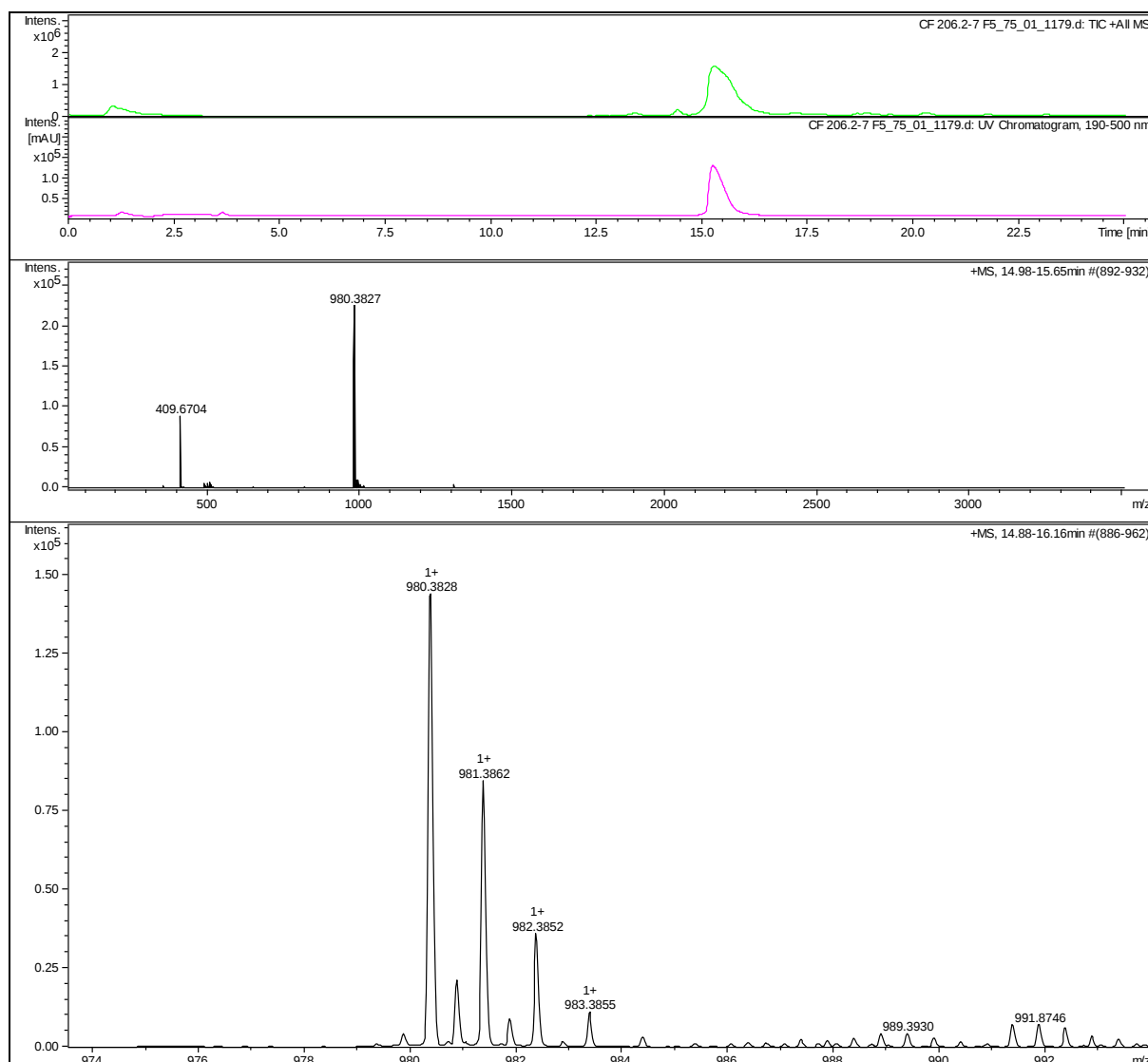
**1-Amino-3,5,7-tris-[2-[N-(2''-(2'''-[2''''-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan 90**



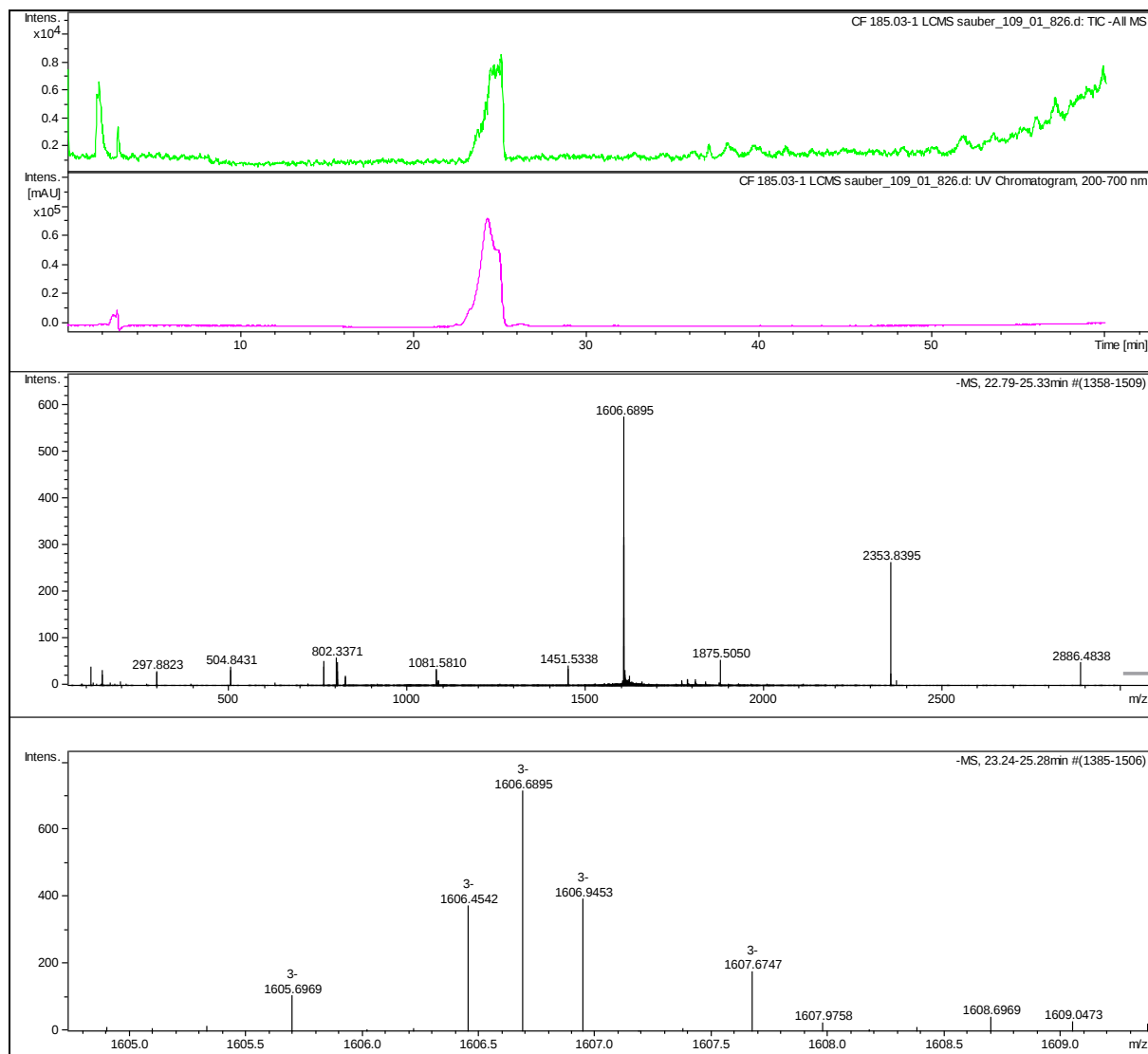
## 9.1.7 Darstellung der Fluoreszenz markierten Mannosederivate

2-[2-(2-Promofluor647-amido-ethoxy)ethoxy]ethyl-2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-mannopyranosid

93

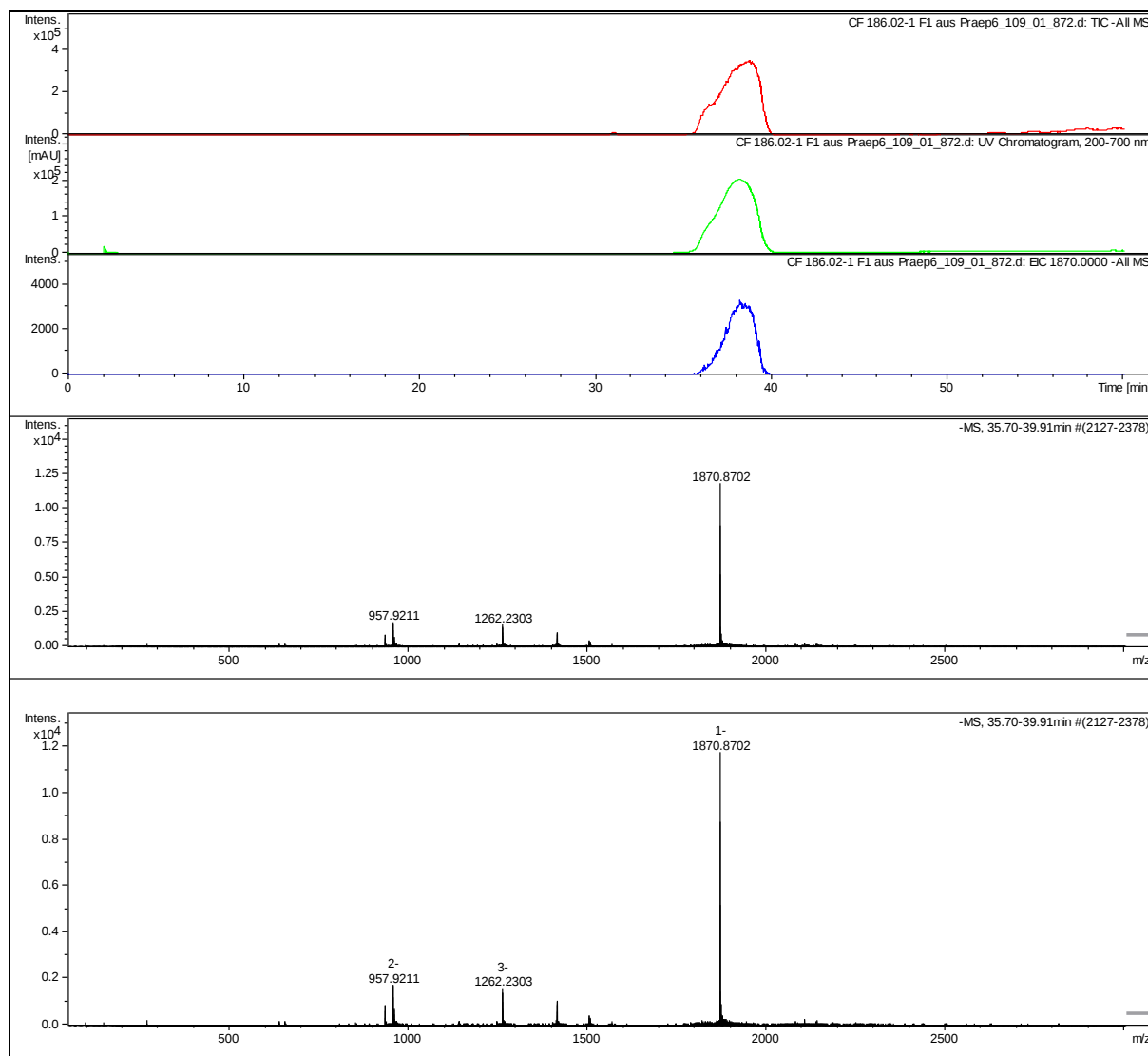


**HPLC:** Nucleodur RP-18, EC 2x150 mm, 5  $\mu$ m Partikel, A = MeCN mit 0.05% FA, B = H<sub>2</sub>O mit 0.05% FA, 5% A 2 min halten dann auf 95% A in 20 min, dann 95% A für 3 min, 0.25 mL/min,  $t_R$  = 15.3 min.

**1-*N*-Promofluor647-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2'-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)-ethyl)-amido]-ethyl]-adamantan****91**

**HPLC:** Nucleodur RP-8, EC 2x150 mm, 5  $\mu$ m Partikel, A = MeCN, B= H<sub>2</sub>O, 5% A 5 min halten dann auf 95% A in 45 min, dann 95% A für 10 min, 0.25 mL/min,  $t_R$  = 22.8 min.

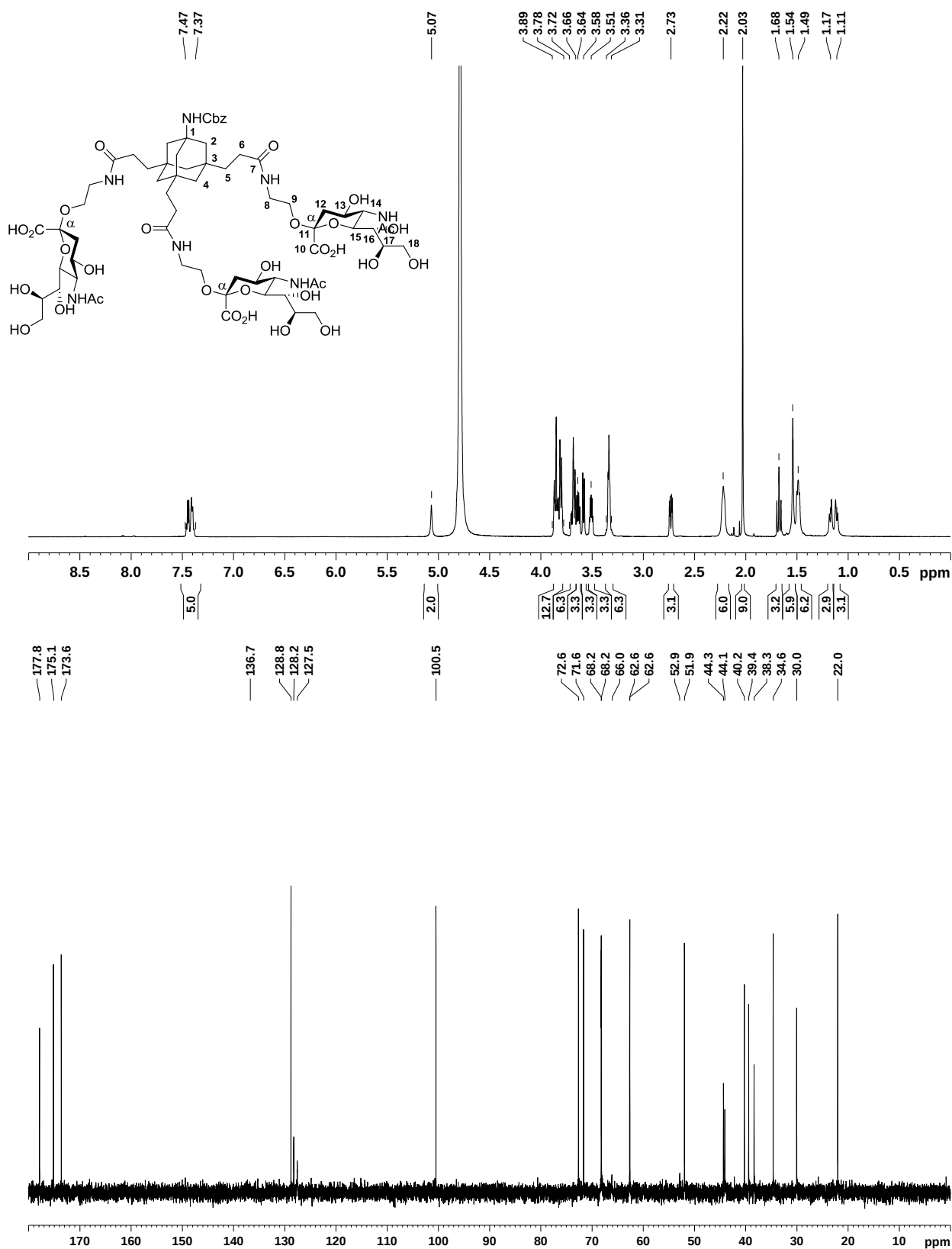
**1-*N*-Promofluor647-3,5,7-tris-[2-[*N*-(2''-(2'''-[2''''-( $\alpha$ -D-mannopyranosyloxy)]-ethoxy)-ethoxy)-ethyl]-amido-ethyl]-adamantan 92**



**HPLC:** Nucleodur RP-8, EC 2x150 mm, 5  $\mu$ m Partikel,, A = MeOH, B= H<sub>2</sub>O, 5% A 5 min halten dann auf 95% A in 45 min, dann 95% A für 10 min, 0.25 mL/min,  $t_R$  = 37.9 min.

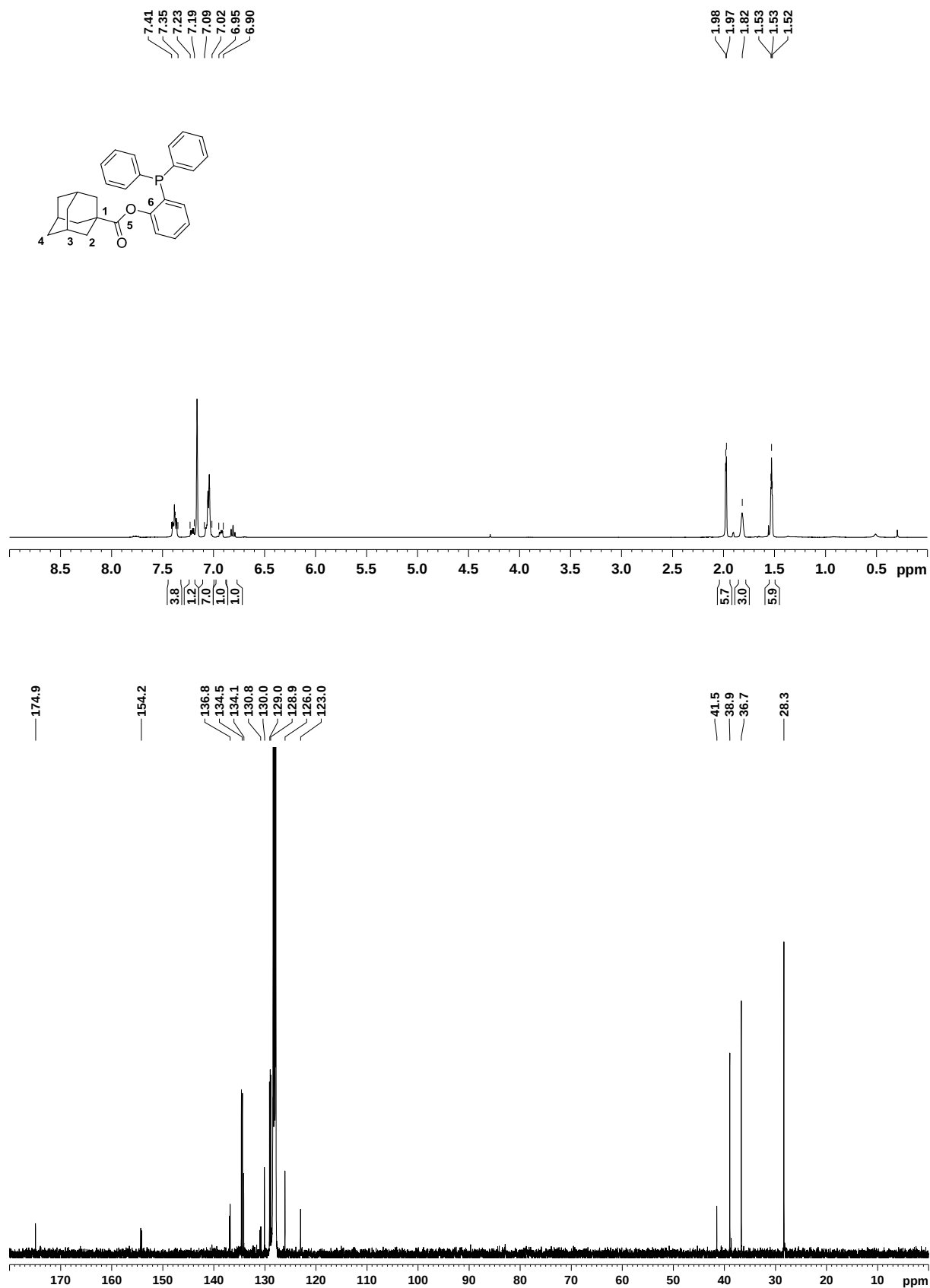
## 9.1.8 Darstellung der Sialinsäurekonjugate

**1-*N*-Cbz-3,5,7-Tris-[2-[*N*-(5-acetamido-2'-*O*-(aminoethyl)-3',5'-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2'-nonulopyranosyl)-amido]-ethyl]-adamantan 103**

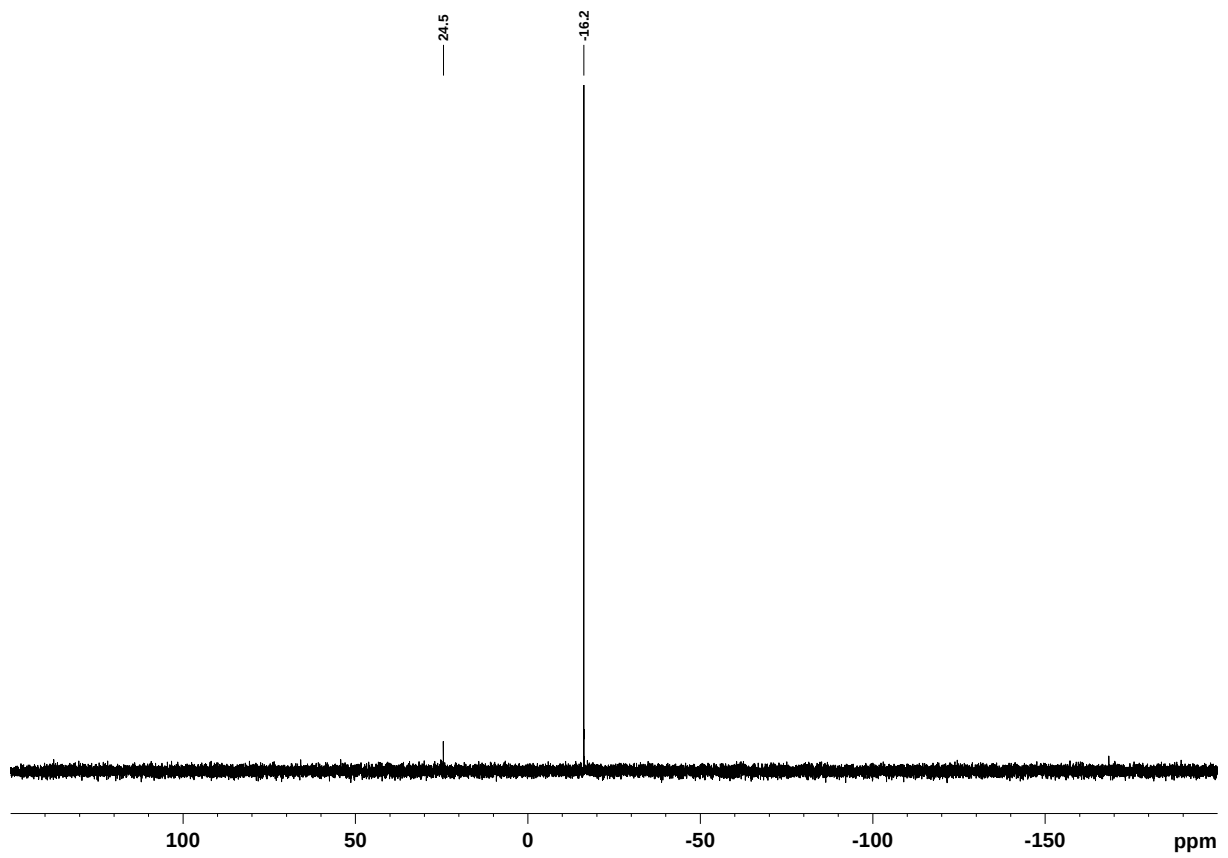


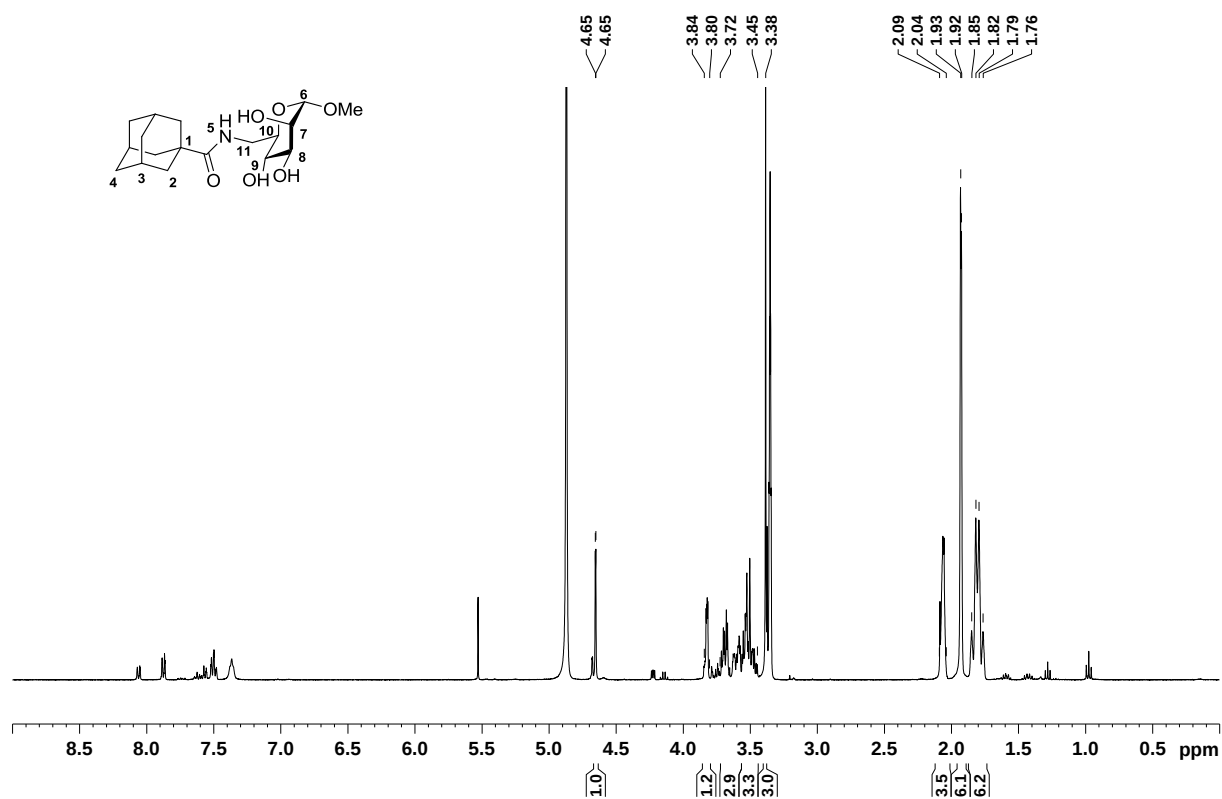
## 9.1.9 Staudinger Reaktion mittels Diphenylphosphinophenol

## 1-Adamantancarbonsäure-diphenylphosphinophenol-ester 74

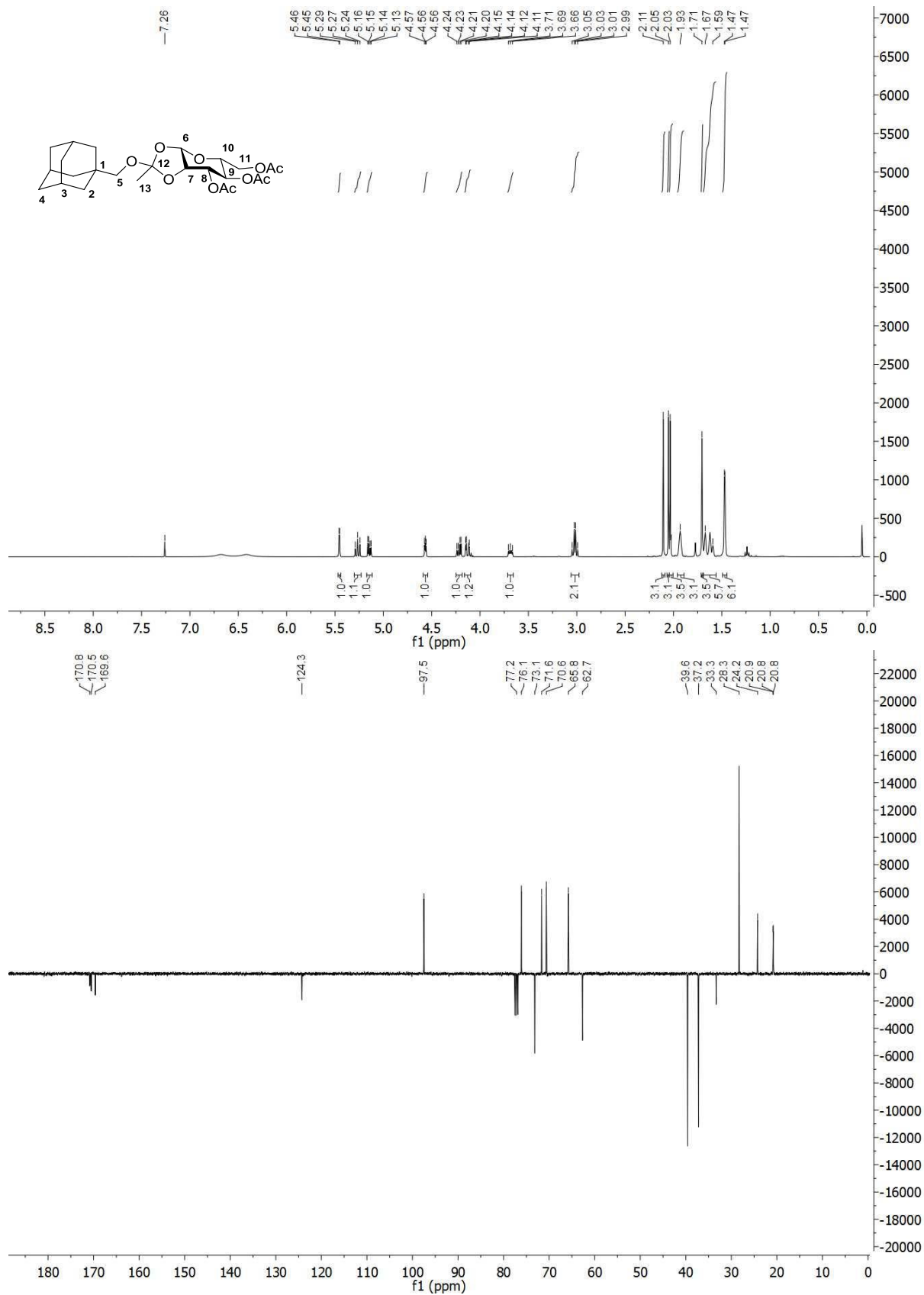


## 9. Anhang



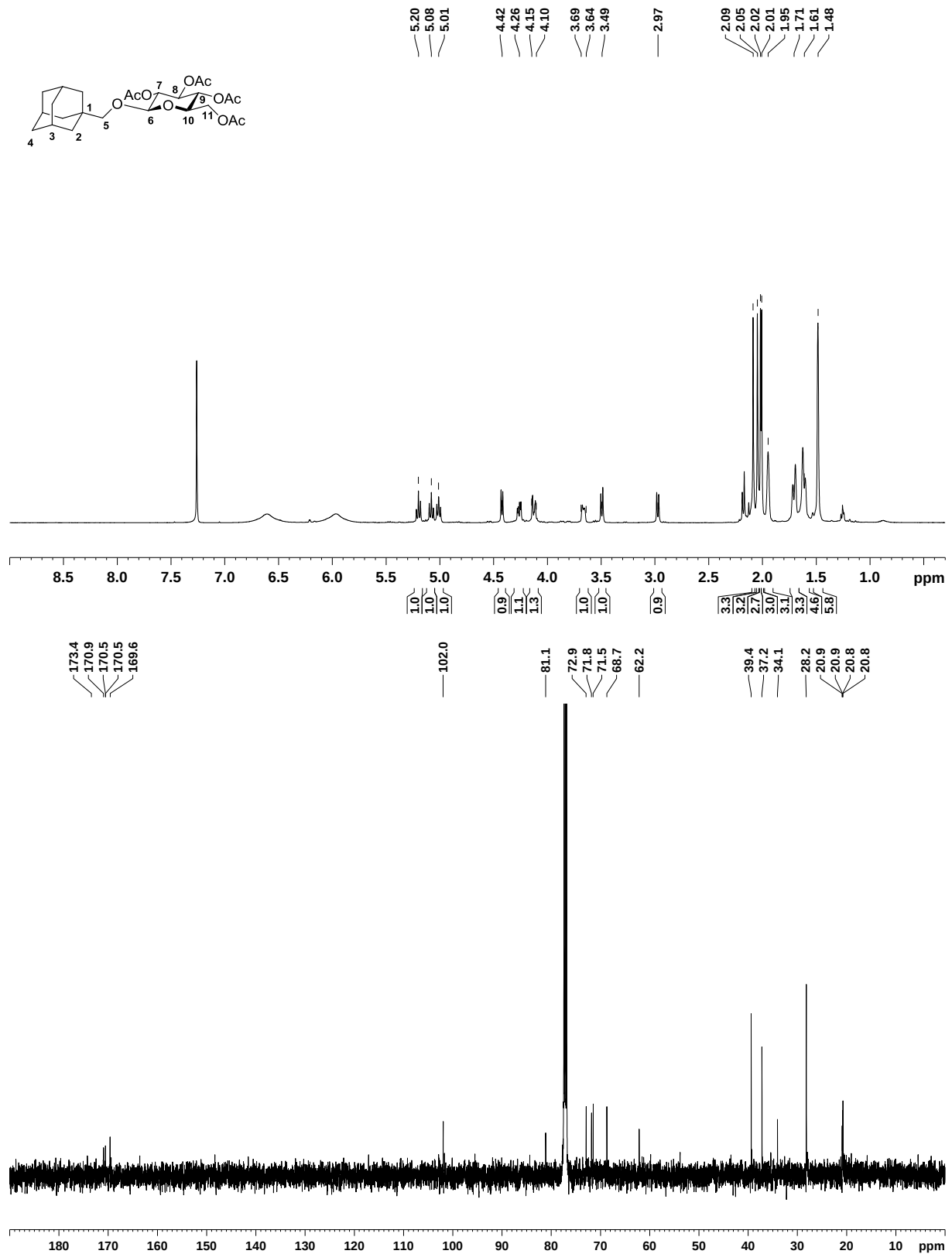
**1-O-Methyl-6-amido-adamantyl-6-deoxy- $\alpha$ -D-mannopyranosid 75**

## 9.1.10 Synthese der Glykokonjugate via Glycosylierungschemie

1-[3',4',6'-Tri-*O*-acetyl-1',2'-*O*-(ethylidene)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-oxymethyl]-adamantan 39

# 9. Anhang

## 1-[2',3',4',6'-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-oxymethyl]-adamantan 34



## 9.2 Gefahrstoffverzeichnis

| Gefahrstoff                       | GHS<br>Kennzeichnung         | H-Sätze                                             | P-Sätze                                         |
|-----------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Aceton                            | Gefahr 02, 07                | 225-319-336                                         | 210-261-305+351+338                             |
| Acetonitril                       | Gefahr 02, 07                | 225-302+312+319-332                                 | 210-280-305+351+338                             |
| Acetylchlorid                     | Gefahr 02, 05,<br>07         | 225-302-314                                         | 210-280-305+351+338-<br>310                     |
| Acrylnitril                       | Gefahr 02, 05,<br>06, 08, 09 | 225-301+311+331-315-<br>317-318-335-350-361-<br>411 | 201-210-261-273-280-<br>301+310                 |
| Ag <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>   | Warnung 07                   | 315-319-335                                         | 261-305+351+338                                 |
| AgOTf                             | Warnung 07                   | 315-319-335                                         | 261-305+351+338                                 |
| AIBN                              | Gefahr 02, 07                | 242-302+332-412                                     | 273                                             |
| AlCl <sub>3</sub>                 | Gefahr 05, 08                | 314-372-373                                         | 280-305+351+338-310                             |
| Amberlite                         | Warnung 07                   | 319                                                 | 305+351+338                                     |
| Ameisensäure                      | Gefahr 02, 05                | 226-314                                             | 280-305+351+338-310                             |
| Benzol                            | Gefahr 02, 07,<br>08         | 225-304-315-319-340-<br>350-372                     | 201-210-301+310-<br>305+351+338-308+313-<br>331 |
| Benzylchlorformiat                | Gefahr 05, 07,<br>08, 09     | 314-335-350-410                                     | 201-261-273-280-<br>305+351+338-310             |
| Bernsteinsäureanhydrid            | Warnung 07                   | 302-319-335                                         | 261-305+351+338                                 |
| BF <sub>3</sub> ·OEt <sub>2</sub> | Gefahr 02, 05,<br>06, 08     | 226-302-314-330-372                                 | 260-280-284-<br>305+351+338-310                 |
| BH <sub>3</sub> ·THF              | Gefahr 02, 05,<br>07, 08     | 225-260-302-315-318-<br>335-351                     | 210-223-231+232-261-<br>370+378-422             |
| Brom                              | Gefahr 05, 06,<br>09         | 314-330-400                                         | 260-273-280-284-<br>305+351+338-310             |
| Brombenzol                        | Warnung 02, 07,<br>09        | 226-315-411                                         | 273                                             |
| Celite                            | Achtung 07                   | 319-335                                             | 261-305+351+338                                 |
| Cer(IV)sulfat                     | Gefahr 07                    | 315-319-335                                         | 261-305+351+338                                 |

## 9. Anhang

|                                     |                       |                             |                                         |
|-------------------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------------------|
| 2-Chloroethanol                     | Gefahr 02, 06         | 226-300-+310+330            | 260-264-280-284-301+310-302-350         |
| 2-(2-Chloroethoxyethanol            | Gefahr 05, 07         | 315-318-335                 | 261-280-305+351+P338                    |
| 2-[2-(2-Chloroethoxy)ethoxy]ethanol | Warnung 07            | 315-319-335                 | 261-305+351+338                         |
| DIC                                 | Gefahr 02, 05, 06, 08 | 226-315-317-318-330-334-335 | 260-280-284-305+351+338-310             |
| 1,2-Dichlorethan                    | Gefahr 02, 06, 08     | 225-350-302-319-335-315     | 201-210-261-305+351+338-311             |
| Dichlormethan                       | Achtung 07, 08        | 315-319-335-336-351-373     | 261-281-305+351+338                     |
| Diethylether                        | Gefahr 02, 07         | 224-302-336                 | 210-261                                 |
| 1,4-Dioxan                          | Gefahr 02, 07, 08     | 225-319-335-351             | 210-261-281-305+351+338                 |
| Di-tert-butyldicarbonat             | Gefahr 02, 06         | 226-315-317-319-330-335     | 260-280-284-305+351+338-310             |
| DMAP                                | Gefahr 06             | 301-310-315-319-335         | 261-280-301+310-302+350-305+351+338-310 |
| Dowex 50X8                          | Warnung 07            | 315-319-335                 | 261-305+351+338                         |
| EDTA                                | Warnung               | 319                         | 305+351+338                             |
| Essigsäure                          | Gefahr 02, 05         | 226-314                     | 280-305+351+338-310                     |
| Ethanol                             | Gefahr 02             | 225                         | 210                                     |
| Ethanolamin                         | Gefahr 05, 07         | 302+H312+H332-314-412       | 273-280-305+351+338-310                 |
| Ethylacetat                         | Gefahr 02, 07         | 225-319-336                 | 210-261-305+351+338                     |
| Ethylendiamin                       | Gefahr 02, 05, 06, 08 | 226-302-312-314-317-334-412 | 261-280-305+351+338-310                 |
| Fluorbenzol                         | Gefahr 02, 07         | 225-319-412                 | 210-273-305+351+338                     |
| HATU                                | Gefahr 02, 07         | 228-315-319-335             | 210-261-305+351+338                     |
| HBTU                                | Warnung 07            | 315-319-335                 | 261-305+351+338                         |

## 9. Anhang

|                                                                                     |                      |                                          |                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------|-------------------------------------|
| HOBt                                                                                | Gefahr 02            | 228                                      | 210                                 |
| (2-Hydroxyphenyl)-<br>diphenylphosphan                                              | Warnung 07           | 315-319-335-413                          | 261-305+351+338                     |
| Kaliumcarbonat                                                                      | Achtung 07           | 302-315-319-335                          | 261-305+351+338                     |
| Kaliumhydrogensulfat                                                                | Gefahr 05, 07        | 314-335                                  | 261-280-305+351+338-<br>310         |
| Lithiumhydroxid                                                                     | Gefahr 05, 07        | 302-314                                  | 280-305+351+338-310                 |
| Methanol                                                                            | Gefahr 02, 06,<br>08 | 225-301+311+331-370                      | 210-260-280-301+310-<br>311         |
| Methylacrylat                                                                       | Gefahr 02, 06        | 225-302+312-315-317-<br>319-331-335-412  | 210-261-273-280-<br>305+351+338-311 |
| Molekularsieb                                                                       | Warnung 07           | 315-319-335                              | 261-305+351+338                     |
| Molybdato-phosphorsäure                                                             | Gefahr 03, 05        | 272-314                                  | 220-280-305+351+338-<br>310         |
| <i>N,N</i> -Diisopropylethylamin                                                    | Gefahr 02, 05,<br>06 | 225-302-318-331-335                      | 210-261-280-305-<br>+351+338-311    |
| <i>N,N</i> -Dimethylformamid                                                        | Gefahr 02, 07,<br>08 | 226-312+332-319-360D                     | 201-280-305+351+338-<br>308+313     |
| Natriumazid                                                                         | Gefahr 06, 09        | 300-410                                  | 264-273-301+310-501                 |
| Natriumcarbonat                                                                     | Achtung 07           | 319                                      | 305+351+338                         |
| Natriumhydroxid                                                                     | Gefahr 05            | 290-314                                  | 280-305+351+338-310                 |
| Natriummethanolat                                                                   | Gefahr 02, 05,<br>07 | 251-302-314                              | 235+410-280-<br>305+351+338-310     |
| <i>N</i> -Boc-Ethylendiamin                                                         | Gefahr 05            | 314                                      | 280-305+351+338-310                 |
| <i>n</i> -Butyllithium                                                              | Gefahr 02, 05,<br>07 | 225-250-261-304-314-<br>336-361f-373-411 | 210-222-231+232-261-<br>273-422     |
| <i>N</i> -Cbz-Aminohexansäure                                                       | Warnung 07           | 315-319-335                              | 261-305+351+338                     |
| <i>N</i> -Cbz-Ethanolamin                                                           | Warnung 07           | 315-319-335                              | 261-305+351+338                     |
| <i>N</i> -Ethyl- <i>N'</i> -(3-<br>dimethylaminopropyl)<br>carbodiimid hydrochlorid | Gefahr 05, 07        | 315-318-335                              | 261-280-305+351+338                 |
| <i>n</i> -Hexan                                                                     | Gefahr 02, 07,       | 225-304-315-336-361f-                    | 210-261-273-281-                    |

## 9. Anhang

|                            |                       |                                 |                                     |
|----------------------------|-----------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
|                            | 08, 09                | 373-411                         | 301+310-331                         |
| Ninhydrin                  | Achtung 07            | 302-315-319-335                 | 261-305+351+338                     |
| Oleum, 65%                 | Gefahr 05, 07         | 314-335                         | 261-280-305+351+338-310             |
| Periodsäure                | Gefahr 03, 05         | 272-314                         | 220-280-305+351+338-310             |
| Petrolether 50-70          | Gefahr 02, 07, 08, 09 | 225-304-315-336-361f-373-411    | 210-261-273-281-301+310-331         |
| Phenol                     | Gefahr 05, 06, 08, 09 | 301+311+331-314-341-373-411     | 261-273-280-301+310-305+351+338-310 |
| Phenylmagnesiumbromid      | Gefahr 02, 05, 07, 08 | 225-314-335-351                 | 210-261-280-305+351+338-310         |
| PromoFluor-647 (NHS-Ester) | Achtung 05            | R 41                            | S22-S26-S39                         |
| 2-Propanol                 | Gefahr 02, 07         | 225-319-336                     | 210-261-305+351+338                 |
| PtO <sub>2</sub>           | Gefahr 03, 07         | 272-319                         | 220-305+351+338                     |
| <i>p</i> -TsCl             | Gefahr 05             | 315-318                         | 280-305+351+338                     |
| Pyridin                    | Gefahr 02, 07         | 225-302+312+332-315-319         | 210-280-305+351+338                 |
| RuCl <sub>3</sub>          | Gefahr 05             | 314                             | 280-305+351+338-310                 |
| Salzsäure                  | Gefahr 05, 07         | 290-314-335                     | 261-280-305+351+338-310             |
| Schwefelsäure              | Gefahr 05             | 290-310                         | 280-305+351+338-310                 |
| Silbertrifluoroacetat      | Warnung 07            | 315-319                         | 305+351+338                         |
| SnCl <sub>4</sub>          | Gefahr 05, 07         | 314-335-412                     | 261-273-280-305+351+338-310         |
| <i>tert</i> -Butanol       | Gefahr 02, 07         | 225-319-332-335                 | 210-261-305+351+338                 |
| Tetrabromkohlenstoff       | Achtung 05, 07        | 302-315-318-335                 | 261-280-305+351+338                 |
| Tetrabutylammoniumbromid   | Achtung 07            | 315-319-335                     | 261-305+351+338                     |
| Tetrabutylammoniumiodid    | Achtung 07            | 302-315-319-335                 | 261-305+351+338                     |
| Tetrachlorkohlenstoff      | Gefahr 06, 08         | 301+311+331-317-351-372-412-420 | 261-273-280-301+310-311             |

## 9. Anhang

|                     |                       |                                           |                                     |
|---------------------|-----------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------|
| Tetrahydrofuran     | Gefahr 02, 07, 08     | 225-319-335-351                           | 210-261-281-305+351+338             |
| TMS-Diazomethan     | Gefahr 02, 06, 08, 09 | R-Sätze: 45-11-26-38-39/26-51/53-62-65-67 | S-Sätze: 53-28-36/37-45-61-62       |
| TMSOTf              | Gefahr 02, 05         | 226-314                                   | 280-305+351+338-310                 |
| Toluol              | Gefahr 02, 07, 08     | 225-304-315-336-361d-373                  | 210-261-281-301+310-331             |
| Tributylzinnhydrid  | Gefahr 02, 06, 08, 09 | 226-301-312-315-319-372-410               | 273-280-301+310-305+351+338-314-501 |
| Trichloracetonitril | Gefahr 06, 09         | 301-311-331-411                           | 261-273-280-301+310-311             |
| Trichlormethan      | Achtung 06, 08        | 302-315-319-331-336-351-361d-372          | 261-281-305+351+338-311             |
| Triethylamin        | Gefahr 02, 05, 06     | 225-302-311+331-314-335                   | 210-261-280-305+351+338-310         |
| Trifluoressigsäure  | Gefahr 05, 07         | 314-332-412                               | 273-280-305+351+338-310             |
| Trimethylphosphan   | Gefahr 02, 07         | 225-315-319-335                           | 210-261-305+351+338                 |

## 10 Literatur

- (1) Lindhorst, T. K. *Chem. Unserer Zeit* **2000**, 34, 38.
- (2) Sharon, N.; Lis, H. *Mol. Cell. Biochem.* **1982**, 42, 167.
- (3) Dube, D. H.; Bertozzi, C. R. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, 4, 477.
- (4) Gabius, H. J. *Naturwissenschaften* **2000**, 87, 108.
- (5) Varki, A.; Chrispeels, M. J. *Essentials of Glycobiology*; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999.
- (6) Dwek, R. A.; Butters, T. D. *Chem. Rev.* **2002**, 102, 283.
- (7) Rudd, P. M.; Elliott, T.; Cresswell, P.; Wilson, I. A.; Dwek, R. A. *Science* **2001**, 291, 2370.
- (8) Lindhorst, T. K. *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*; 2 ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2007.
- (9) Gupta, G.; Surolia, A. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2012**, 749, 1.
- (10) Turnbull, J. E.; Field, R. A. *Nat. Chem. Biol.* **2007**, 3, 74.
- (11) Morelle, W.; Faid, V.; Chirat, F.; Michalski, J.-C. In *Glycomics: Methods and Protocols*; Packer, N. H., Karlsson, N. G., Eds. 2009; Vol. 534, p 5.
- (12) Robbe, C.; Michalski, J.-C.; Capon, C. In *Methods in Molecular Biology*; Brockhausen, I., Ed. 2006; Vol. 347, p 109.
- (13) Dwek, R. A. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 683.
- (14) Chappell, D.; Jacob, M.; Hofmann-Kiefer, K.; Rehm, M.; Welsch, U.; Conzen, P.; Becker, B. F. *Cardiovasc. Res.* **2009**, 83, 388.
- (15) Mager, M. D.; LaPointe, V.; Stevens, M. M. *Nature Chem.* **2011**, 3, 582.
- (16) Roseman, S. J. *Biol. Chem.* **2001**, 276, 41527.
- (17) Reitsma, S.; Slaaf, D. W.; Vink, H.; van Zandvoort, M.; Egbrink, M. *Pflug. Arch. Eur. J. Phy.* **2007**, 454, 345.
- (18) Becker, B. F.; Chappell, D.; Bruegger, D.; Annecke, T.; Jacob, M. *Cardiovasc. Res.* **2010**, 87, 300.
- (19) Hynes, R. O. *Science* **2009**, 326, 1216.
- (20) Ho, S. B.; Kim, Y. S. *Semin. Cancer Biol.* **1991**, 2, 389.
- (21) Hilkens, J.; Ligtenberg, M. J. L.; Vos, H. L.; Litvinov, S. V. *Trends Biochem. Sci.* **1992**, 17, 359.
- (22) Fassel, T. A.; Edmiston, C. E. *Biotech. Histochem.* **1999**, 74, 194.
- (23) Rademacher, T. W.; Parekh, R. B.; Dwek, R. A. *Annu. Rev. Biochem.* **1988**, 57, 785.
- (24) Dabelsteen, E. J. *Pathol.* **1996**, 179, 358.
- (25) Kopitz, J. In *Glycosciences*; Wiley-VCH Verlag GmbH: 2008, p 163.
- (26) Wennekes, T.; van den Berg, R. J. B. H. N.; Boot, R. G.; van der Marel, G. A.; Overkleeft, H. S.; Aerts, J. M. F. G. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, 48, 8848; *Angew. Chem.* **2009**, 121, 9006.
- (27) Butters, T. D.; Dwek, R. A.; Platt, F. M. *Chem. Rev.* **2000**, 100, 4683.
- (28) Heifetz, A.; Watson, C.; Johnson, A. R.; Roberts, M. K. J. *Biol. Chem.* **1982**, 257, 13581.
- (29) Gerz, M.; Matter, H.; Kessler, H. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1994**, 43, 248.

## 10. Literatur

- (30) Michael, K.; Wittmann, V.; Konig, W.; Sandow, J.; Kessler, H. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1996**, *48*, 59.
- (31) Eckert, V.; Gerold, P.; Schwarz, R. T. In *Glycosciences*; Wiley-VCH Verlag GmbH: 2008, p 223.
- (32) Cross, G. A. M. *Annu. Rev. Immunol.* **1990**, *8*, 83.
- (33) Hollingsworth, M. A.; Swanson, B. J. *Nat. Rev. Cancer* **2004**, *4*, 45.
- (34) Sharon, N.; Lis, H. In *Glycosciences*; Wiley-VCH Verlag GmbH: 2008, p 133.
- (35) Lis, H.; Sharon, N. *Eur. J. Biochem.* **1993**, *218*, 1.
- (36) Watkins, W. M. *Beitr. Infus.* **2001**, *11*, 243.
- (37) Morgan, W. T. J.; Watkins, W. M. *Glycoconjugate J.* **2000**, *17*, 501.
- (38) Meezan, E.; Wu, H. C.; Black, P. H.; Robbins, P. W. *Biochemistry* **1969**, *8*, 2518.
- (39) Kim, Y. J.; Varki, A. *Glycoconjugate J.* **1997**, *14*, 569.
- (40) Ghazarian, H.; Idoni, B.; Oppenheimer, S. B. *Acta Histochem.* **2011**, *113*, 236.
- (41) Bertozzi, C. R.; Kiessling, L. L. *Science* **2001**, *291*, 2357.
- (42) Danishefsky, S. J.; Allen, J. R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 836; *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 882.
- (43) Berzi, A.; Reina, J. J.; Ottria, R.; Sutkeviciute, I.; Antonazzo, P.; Sanchez-Navarro, M.; Chabrol, E.; Biasin, M.; Trabattoni, D.; Cetin, I.; Rojo, J.; Fieschi, F.; Bernardi, A.; Clerici, M. *Aids* **2012**, *26*, 127.
- (44) Lis, H.; Sharon, N. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 637.
- (45) Schneider, H.-J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 3924; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3982.
- (46) Dodd, R. B.; Drickamer, K. *Glycobiology* **2001**, *11*, 71R.
- (47) Nieuwdorp, M.; Meuwese, M. C.; Vink, H.; Hoekstra, J. B. L.; Kastelein, J. J. P.; Stroes, E. S. G. *Curr. Opin. Lipidol.* **2005**, *16*, 507.
- (48) Lee, Y. C.; Lee, R. T. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321.
- (49) Park, E. I.; Mi, Y.; Unverzagt, C.; Gabius, H.-J.; Baenziger, J. U. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2005**, *102*, 17125.
- (50) Mammen, M.; Choi, S. K.; Whitesides, G. M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, *37*, 2755; *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908.
- (51) Killick, K. E.; Ní Cheallaigh, C.; O'Farrelly, C.; Hokamp, K.; MacHugh, D. E.; Harris, J. *Cell. Microbiol.* **2013**, *15*, 1484.
- (52) van den Berg, L. M.; Gringhuis, S. I.; Geijtenbeek, T. B. H.; Annals, N. Y. A. S. In *Glycobiology of the Immune Response 2012*; Vol. 1253, p 149.
- (53) Wright, J. R. *Nat. Rev. Immunol.* **2005**, *5*, 58.
- (54) Takahashi, K.; Ezekowitz, R. A. B. *Clin. Infect. Dis.* **2005**, *41*, S440.
- (55) van Kooyk, Y.; Rabinovich, G. A. *Nat. Immunol.* **2008**, *9*, 593.
- (56) Rabinovich, G. A.; van Kooyk, Y.; Cobb, B. A.; Annals, N. Y. A. S. In *Glycobiology of the Immune Response 2012*; Vol. 1253, p 1.
- (57) Weis, W. I.; Drickamer, K. *Structure* **1994**, *2*, 1227.
- (58) Mandal, D. K.; Brewer, C. F. *Biochemistry* **1993**, *32*, 5116.
- (59) Snyder, G. A.; Colonna, M.; Sun, P. D. *J. Mol. Biol.* **2005**, *347*, 979.

- (60) Feinberg, H.; Guo, Y.; Mitchell, D. A.; Drickamer, K.; Weis, W. I. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 1327.
- (61) Dam, T. K.; Brewer, C. F. *Glycobiology* **2010**, *20*, 270.
- (62) Gordon, S. *Cell* **2002**, *111*, 927.
- (63) Takeuchi, O.; Akira, S. *Cell* **2010**, *140*, 805.
- (64) Weis, W. I.; Drickamer, K. *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, *65*, 441.
- (65) Fasting, C.; Schalley, C. A.; Weber, M.; Seitz, O.; Hecht, S.; Koksche, B.; Dervede, J.; Graf, C.; Knapp, E.-W.; Haag, R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, *51*, 10472; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 10622.
- (66) Cairo, C. W.; Gestwicki, J. E.; Kanai, M.; Kiessling, L. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1615.
- (67) Baldini, L.; Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 254.
- (68) Jencks, W. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1981**, *78*, 4046.
- (69) Kitov, P. I.; Bundle, D. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 16271.
- (70) Ciaccio, C.; Coletta, A.; De Sanctis, G.; Marini, S.; Coletta, M. *IUBMB Life* **2008**, *60*, 112.
- (71) De Rosa, M. C.; Alinovi, C. C.; Galtieri, A.; Russo, A.; Giardina, B. *IUBMB Life* **2008**, *60*, 87.
- (72) Ho, C.; Yuan, Y. In *eLS*; John Wiley & Sons, Ltd: 2001.
- (73) Kiessling, L. L.; Gestwicki, J. E.; Strong, L. E. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 2348; *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2408.
- (74) Sisui, C.; Baron, A. J.; Branderhorst, H. M.; Connell, S. D.; Weijers, C. A. G. M.; de Vries, R.; Hayes, E. D.; Pukin, A. V.; Gilbert, M.; Pieters, R. J.; Zuilhof, H.; Visser, G. M.; Turnbull, W. B. *ChemBioChem* **2009**, *10*, 329.
- (75) Mulder, A.; Huskens, J.; Reinhoudt, D. N. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3409.
- (76) Pavan, G. M.; Danani, A.; Pricl, S.; Smith, D. K. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9686.
- (77) Badjić, J. D.; Nelson, A.; Cantrill, S. J.; Turnbull, W. B.; Stoddart, J. F. *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 723.
- (78) Hunter, C. A.; Anderson, H. L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 7488; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7624.
- (79) Seeberger, P. H. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 19.
- (80) Hsu, C.-H.; Hung, S.-C.; Wu, C.-Y.; Wong, C.-H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 11872; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 12076.
- (81) Bennett, C. S. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 1686.
- (82) Vonitzstein, M.; Wu, W. Y.; Kok, G. B.; Pegg, M. S.; Dyason, J. C.; Jin, B.; Phan, T. V.; Smythe, M. L.; White, H. F.; Oliver, S. W.; Colman, P. M.; Varghese, J. N.; Ryan, D. M.; Woods, J. M.; Bethell, R. C.; Hotham, V. J.; Cameron, J. M.; Penn, C. R. *Nature* **1993**, *363*, 418.
- (83) Kim, C. U.; Lew, W.; Williams, M. A.; Liu, H. T.; Zhang, L. J.; Swaminathan, S.; Bischofberger, N.; Chen, M. S.; Mendel, D. B.; Tai, C. Y.; Laver, W. G.; Stevens, R. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 681.
- (84) Chen, X. L.; Zheng, Y. G.; Shen, Y. C. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 109.
- (85) Campbell, L. K.; Baker, D. E.; Campbell, R. K. *Ann. Pharmacother.* **2000**, *34*, 1291.
- (86) Truscheit, E.; Frommer, W.; Junge, B.; Muller, L.; Schmidt, D. D.; Wingender, W. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1981**, *20*, 744; *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 738.

- (87) Li, X.; Shah, A.; Franklin, P.; Merolli, R.; Bradley, J.; Busconi, B. *J. Orthop. Surg. Res.* **2008**, *3*, 43.
- (88) Ernst, B.; Magnani, J. L. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2009**, *8*, 661.
- (89) Astronomo, R. D.; Burton, D. R. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010**, *9*, 308.
- (90) Verez-Bencomo, V.; Fernandez-Santana, V.; Hardy, E.; Toledo, M. E.; Rodriguez, M. C.; Heynngnezz, L.; Rodriguez, A.; Baly, A.; Herrera, L.; Izquierdo, M.; Villar, A.; Valdes, Y.; Cosme, K.; Deler, M. L.; Montane, M.; Garcia, E.; Ramos, A.; Aguilar, A.; Medina, E.; Torano, G.; Sosa, I.; Hernandez, I.; Martinez, R.; Muzachio, A.; Carmenates, A.; Costa, L.; Cardoso, F.; Campa, C.; Diaz, M.; Roy, R. *Science* **2004**, *305*, 522.
- (91) Morelli, L.; Poletti, L.; Lay, L. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 5723.
- (92) Deniaud, D.; Julienne, K.; Gouin, S. G. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 966.
- (93) Ting, S. R. S.; Chen, G.; Stenzel, M. H. *Polym. Chem.* **2010**, *1*, 1392.
- (94) Sigal, G. B.; Mammen, M.; Dahmann, G.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3789.
- (95) Disney, M. D.; Zheng, J.; Swager, T. M.; Seeberger, P. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13343.
- (96) Kamitakahara, H.; Suzuki, T.; Nishigori, N.; Suzuki, Y.; Kanie, O.; Wong, C. H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, *37*, 1524; *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1607
- (97) Kanai, M.; Mortell, K. H.; Kiessling, L. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9931.
- (98) De la Fuente, J. M.; Penades, S. *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2006**, *1760*, 636.
- (99) Martinez-Avila, O.; Hijazi, K.; Marradi, M.; Clavel, C.; Campion, C.; Kelly, C.; Penades, S. *Chem.-Eur. J.* **2009**, *15*, 9874.
- (100) Gu, L.; Luo, P. G.; Wang, H.; Meziani, M. J.; Lin, Y.; Veca, L. M.; Cao, L.; Lu, F.; Wang, X.; Quinn, R. A.; Wang, W.; Zhang, P.; Lacher, S.; Sun, Y.-P. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2408.
- (101) Gu, L. R.; Elkin, T.; Jiang, X. P.; Li, H. P.; Lin, Y.; Qu, L. W.; Tzeng, T. R. J.; Joseph, R.; Sun, Y. P. *Chem. Commun.* **2005**, 874.
- (102) Lim, Y.-b.; Lee, M. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 401.
- (103) Mueller, M. K.; Brunsveld, L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 2921; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 2965
- (104) Bernardi, A.; Jimenez-Barbero, J.; Casnati, A.; De Castro, C.; Darbre, T.; Fieschi, F.; Finne, J.; Funken, H.; Jaeger, K.-E.; Lahmann, M.; Lindhorst, T. K.; Marradi, M.; Messner, P.; Molinaro, A.; Murphy, P. V.; Nativi, C.; Oscarson, S.; Penades, S.; Peri, F.; Pieters, R. J.; Renaudet, O.; Reymond, J.-L.; Richichi, B.; Rojo, J.; Sansone, F.; Schaffer, C.; Turnbull, W. B.; Velasco-Torrijos, T.; Vidal, S.; Vincent, S.; Wennekes, T.; Zuilhof, H.; Imberty, A. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4709.
- (105) Roglin, L.; Lempens, E. H. M.; Meijer, E. W. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 102; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 106.
- (106) Sebestik, J.; Niederhafner, P.; Jezek, J. *Amino Acids* **2011**, *40*, 301.
- (107) Pieters, R. J. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2013.
- (108) Wittmann, V.; Pieters, R. J. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4492.
- (109) Lindhorst, T. K.; Kieburg, C. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1953; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2083.
- (110) Lindhorst, T. K.; Kieburg, C.; Krallmann-Wenzel, U. *Glycoconjugate J.* **1998**, *15*, 605.

- (111) Perez-Balderas, F.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernandez-Mateo, F.; Isac-García, J.; Santoyo-Gonzalez, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 2009, 2441.
- (112) Ortega-Muñoz, M.; Perez-Balderas, F.; Morales-Sanfrutos, J.; Hernandez-Mateo, F.; Isac-García, J.; Santoyo-Gonzalez, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 2009, 2454.
- (113) Kotter, S.; Krallmann-Wenzel, U.; Ehlers, S.; K. Lindhorst, T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 2193.
- (114) Lindhorst, T. K.; Kotter, S.; Krallmann-Wenzel, U.; Ehlers, S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 823.
- (115) Dubber, M.; Sperling, O.; Lindhorst, T. K. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 3901.
- (116) Kitov, P. I.; Sadowska, J. M.; Mulvey, G.; Armstrong, G. D.; Ling, H.; Pannu, N. S.; Read, R. J.; Bundle, D. R. *Nature* **2000**, 403, 669.
- (117) Mintzer, M. A.; Grinstaff, M. W. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 173.
- (118) Chabre, Y. M.; Roy, R. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 4657.
- (119) Andre, S.; Sansone, F.; Kaltner, H.; Casnati, A.; Kopitz, J.; Gabius, H.-J.; Ungaro, R. *ChemBioChem* **2008**, 9, 1649.
- (120) Mellet, C. O.; Defaye, J.; Fernandez, J. M. G. *Chem.-Eur. J.* **2002**, 8, 1982.
- (121) Martinez, A.; Ortiz Mellet, C.; Garcia Fernandez, J. M. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 4746.
- (122) Rodriguez-Lavado, J.; de la Mata, M.; Jimenez-Blanco, J. L.; Garcia-Moreno, M. I.; Benito, J. M.; Diaz-Quintana, A.; Sanchez-Alcazar, J. A.; Higaki, K.; Nanba, E.; Ohno, K.; Suzuki, Y.; Ortiz Mellet, C.; Garcia Fernandez, J. M. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 2289.
- (123) Renaudet, O.; Dumy, P. *Org. Lett.* **2003**, 5, 243.
- (124) Dulery, V.; Renaudet, O.; Wilczewski, M.; Van der Heyden, A.; Labbe, P.; Dumy, P. *J. Comb. Chem.* **2008**, 10, 368.
- (125) Jimenez Blanco, J. L.; Ortiz Mellet, C.; Garcia Fernandez, J. M. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 4518.
- (126) Misra, P.; Humblet, V.; Pannier, N.; Maison, W.; Frangioni, J. V. *J. Nucl. Med.* **2007**, 48, 1379.
- (127) Humblet, V.; Misra, P.; Bhushan, K. R.; Nasr, K.; Ko, Y. S.; Tsukamoto, T.; Pannier, N.; Frangioni, J. V.; Maison, W. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 544.
- (128) Pavet, V.; Beyrath, J.; Pardin, C.; Morizot, A.; Lechner, M. C.; Briand, J. P.; Wendland, M.; Maison, W.; Fournel, S.; Micheau, O.; Guichard, G.; Gronemeyer, H. *Cancer Res.* **2010**, 70, 1101.
- (129) Franzmann, E.; Khalil, F.; Weidmann, C.; Schröder, M.; Rohnke, M.; Janek, J.; Smarsly, B. M.; Maison, W. *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 8596.
- (130) Khalil, F.; Franzmann, E.; Ramcke, J.; Dakischew, O.; Lips, K. S.; Reinhardt, A.; Heisig, P.; Maison, W. *Colloid. Surface. B* **2014**, 117, 185.
- (131) McKay, M. J.; Nguyen, H. M. *Carbohydr. Res.* **2014**, 385, 18.
- (132) Ichikawa, Y.; Matsukawa, Y.; Isobe, M. *Synlett* **2004**, 1019.
- (133) Maierhofer, C.; Rohmer, K.; Wittmann, V. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 7661.
- (134) Andre, S.; Specker, D.; Bovin, N. V.; Lensch, M.; Kaltner, H.; Gabius, H.-J.; Wittmann, V. *Bioconjugate Chem.* **2009**, 20, 1716.
- (135) Schwefel, D.; Maierhofer, C.; Beck, J. G.; Seeberger, S.; Diederichs, K.; Moeller, H. M.; Welte, W.; Wittmann, V. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 8704.

- (136) Beckmann, H. S. G.; Moeller, H. M.; Wittmann, V. *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, *8*, 819.
- (137) Cecioni, S.; Faure, S.; Darbost, U.; Bonnamour, I.; Parrot-Lopez, H.; Roy, O.; Tallefumier, C.; Wimmerova, M.; Praly, J. P.; Imbert, A.; Vidal, S. *Chem.-Eur. J.* **2011**, *17*, 2146.
- (138) Kleinert, M.; Rockendorf, N.; Lindhorst, T. K. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3931.
- (139) Patel, A.; Lindhorst, T. K. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1657.
- (140) Shaikh, H. A.; Sonnichsen, F. D.; Lindhorst, T. K. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1665.
- (141) Schierholt, A.; Shaikh, H. A.; Schmidt-Lassen, J.; Lindhorst, T. K. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 3783.
- (142) Gening, M. L.; Titov, D. V.; Cecioni, S.; Audfray, A.; Gerbst, A. G.; Tsvetkov, Y. E.; Krylov, V. B.; Imbert, A.; Nifantiev, N. E.; Vidal, S. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 9272.
- (143) Singh, Y.; Renaudet, O.; Defrancq, E.; Dumy, P. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1359.
- (144) Ulrich, S.; Boturyn, D.; Marra, A.; Renaudet, O.; Dumy, P. *Chem.-Eur. J.* **2014**, *20*, 34.
- (145) Ramström, O.; Lohmann, S.; Bunyapaiboonsri, T.; Lehn, J.-M. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1711.
- (146) Beckmann, H. S. G.; Niederwieser, A.; Wiessler, M.; Wittmann, V. *Chem.-Eur. J.* **2012**, *18*, 6548.
- (147) Spaete, A.-K.; Basskamp, H.; Niederwieser, A.; Scharf, V. F.; Marx, A.; Wittmann, V. *Bioconjugate Chem.* **2014**, *25*, 147.
- (148) Löw, N. L.; Dzyuba, E. V.; Brusilowskij, B.; Franzmann, E.; Maison, W.; Schalley, C. A. *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, *8*, 234.
- (149) Newkome, G. R.; Nayak, A.; Behera, R. K.; Moorefield, C. N.; Baker, G. R. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 358.
- (150) Menger, F. M.; Migulin, V. A. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8916.
- (151) Senchyk, G. A.; Lysenko, A. B.; Boldog, I.; Rusanov, E. B.; Chernega, A. N.; Krautscheid, H.; Domasevitch, K. V. *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 8675.
- (152) Kitagawa, T.; Idomoto, Y.; Matsubara, H.; Hobara, D.; Kakiuchi, T.; Okazaki, T.; Komatsu, K. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1362.
- (153) Li, Q.; Rukavishnikov, A. V.; Petukhov, P. A.; Zaikova, T. O.; Jin, C.; Keana, J. F. W. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4862.
- (154) Li, Q.; Jin, C.; Petukhov, P. A.; Rukavishnikov, A. V.; Zaikova, T. O.; Phadke, A.; LaMunyon, D. H.; Lee, M. D.; Keana, J. F. W. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1010.
- (155) Collins, K. C.; Janda, K. D. *Bioconjugate Chem.* **2014**, *25*, 593.
- (156) Grillaud, M.; Russier, J.; Bianco, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *136*, 810.
- (157) Maison, W.; Frangioni, J. V.; Pannier, N. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4567.
- (158) Nasr, K.; Pannier, N.; Frangioni, J. V.; Maison, W. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 1056.
- (159) Pannier, N.; Maison, W. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 1278.
- (160) Pannier, N. Doktorarbeit, Universität Giessen, 2008.
- (161) Pannier, N. Doktorarbeit, Universität Gießen, 2008.
- (162) Wanka, L.; Cabrele, C.; Vanejews, M.; Schreiner, P. R. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, *2007*, 1474.
- (163) Michaudel, Q.; Thevenet, D.; Baran, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 2547.
- (164) Fleck, C.; Franzmann, E.; Claes, D.; Rickert, A.; Maison, W. *Synthesis* **2013**, *45*, 1452.

- (165) Claes, D.; Holzapfel, M.; Clausen, N.; Maison, W. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, n/a.
- (166) Maison, W.; Khalil, F.; Franzmann, E.; Justus-Liebig-Universitaet Giessen, Germany . 2012, p 43pp.; Chemical Indexing Equivalent to 156:339031 (EP).
- (167) Maison, W.; Khalil, F.; Franzmann, E.; Justus-Liebig-Universitaet Giessen, Germany . 2012, p 13pp.; Chemical Indexing Equivalent to 156:337449 (WO).
- (168) Zemplén, G.; Pacsu, E. *Ber. dtsch. chem. Ges.* **1929**, 62, 1613.
- (169) Koenigs, W.; Knorr, E. *Ber. dtsch. chem. Ges.* **1901**, 34, 957.
- (170) Paulsen, H. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1982**, 21, 155; *Angew. Chem.* **1982**, 94, 184 .
- (171) Schmidt, R. R. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 212; *Angew. Chem.* **1986**, 98, 213.
- (172) Mootoo, D. R.; Konradsson, P.; Udodong, U.; Fraserreid, B. J. *Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 5583.
- (173) El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Rev.* **2011**, 111, 6557.
- (174) Silva, D. J.; Wang, H.; Allanson, N. M.; Jain, R. K.; Sofia, M. J. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 5926.
- (175) Dubber, M. Doktorarbeit, Universität Hamburg, 2001.
- (176) Chernyak, A. Y.; Sharma, G. V. M.; Kononov, L. O.; Krishna, P. R.; Levinsky, A. B.; Kochetkov, N. K.; Rama Rao, A. V. *Carbohydr. Res.* **1992**, 223, 303.
- (177) Kieburg, C.; Sadalapure, K.; Lindhorst, Thisbe K. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2000, 2035.
- (178) Fischer, E. *Ber. dtsch. chem. Ges.* **1893**, 26, 2400.
- (179) Fischer, E.; Oetker, R. *Ber. dtsch. chem. Ges.* **1913**, 46, 4029.
- (180) Franzmann, E. Doktorarbeit, Universität Gießen, 2013.
- (181) Dell, A. Diplomarbeit, Universität Gießen, 2009.
- (182) Györgydeák, Z.; Paulsen, H. *Liebigs Ann. Chem.* **1977**, 1977, 1987.
- (183) Maunier, V.; Boullanger, P.; Lafont, D. J. *Carbohydr. Chem.* **1997**, 16, 231.
- (184) Bianchi, A.; Bernardi, A. J. *Org. Chem.* **2006**, 71, 4565.
- (185) Claes, D. Doktorarbeit, Universität Hamburg, 2013.
- (186) Varki, A. *Glycoconjugate J.* **2009**, 26, 231.
- (187) Varki, A. *Nature* **2007**, 446, 1023.
- (188) Paulsen, H.; Matschulat, P. *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 1991, 487.
- (189) Wolf, S.; Warnecke, S.; Ehrlich, J.; Freiburger, F.; Gerardy-Schahn, R.; Meier, C. *ChemBioChem* **2012**, 13, 2605.
- (190) Kelm, S.; Brossmer, R.; Isecke, R.; Gross, H. J.; Strenge, K.; Schauer, R. *Eur. J. Biochem.* **1998**, 255, 663.
- (191) Hidari, K. I. P. J.; Shimada, S.; Suzuki, Y.; Suzuki, T. *Glycoconjugate J.* **2007**, 24, 583.
- (192) Shinya, K.; Ebina, M.; Yamada, S.; Ono, M.; Kasai, N.; Kawaoka, Y. *Nature* **2006**, 440, 435.
- (193) Tyrrell, D.; James, P.; Rao, N.; Foxall, C.; Abbas, S.; Dasgupta, F.; Nashed, M.; Hasegawa, A.; Kiso, M.; Asa, D.; Kidd, J.; Brandley, B. K. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1991**, 88, 10372.
- (194) Yoshida, M.; Uchimura, A.; Kiso, M.; Hasegawa, A. *Glycoconjugate J.* **1993**, 10, 3.
- (195) Šardžík, R.; Noble, G. T.; Weissenborn, M. J.; Martin, A.; Webb, S. J.; Flitsch, S. L. *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, 6, 699.

- (196) Li, W.-w.; Yu, J.-y.; Xu, H.-l.; Bao, J.-k. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2011**, *414*, 282.
- (197) Olmsted, I. R.; Kussrow, A.; Bornhop, D. J. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 10817.
- (198) Dam, T. K.; Brewer, C. F. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 387.
- (199) Jayaraman, N. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 3463.
- (200) Mayer, M.; Meyer, B. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 1784; *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1902.
- (201) Ribeiro, J. P.; André, S.; Cañada, F. J.; Gabius, H.-J.; Butera, A. P.; Alves, R. J.; Jiménez-Barbero, J. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 415.
- (202) Ponader, D.; Maffre, P.; Aretz, J.; Pussak, D.; Ninnemann, N. M.; Schmidt, S.; Seeberger, P. H.; Rademacher, C.; Nienhaus, G. U.; Hartmann, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 2008.
- (203) Wagstaff, J. L.; Taylor, S. L.; Howard, M. J. *Mol. Biosyst.* **2013**, *9*, 571.
- (204) Xia, Y.; Zhu, Q.; Jun, K.-Y.; Wang, J.; Gao, X. *Magn. Reson. Chem.* **2010**, *48*, 918.
- (205) Calle, L. P.; Canada, F. J.; Jimenez-Barbero, J. *Nat. Prod. Rep.* **2011**, *28*, 1118.
- (206) Meyer, B.; Peters, T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 864; *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1902.
- (207) Mayer, M.; Meyer, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6108.
- (208) Castro, S.; Duff, M.; Snyder, N. L.; Morton, M.; Kumar, C. V.; Peczu, M. W. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3869.
- (209) Mandal, D. K.; Kishore, N.; Brewer, C. F. *Biochemistry* **1994**, *33*, 1149.
- (210) Munoz, E. M.; Correa, J.; Fernandez-Megia, E.; Riguera, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 17765.
- (211) Angulo, J.; Enriquez-Navas, P. M.; Nieto, P. M. *Chem.-Eur. J.* **2010**, *16*, 7803.
- (212) Lukzen, N.; Moeller, H. M. *Appl. Magn. Reson.* **2011**, *41*, 325.
- (213) Liang, P.-H.; Wang, S.-K.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11177.
- (214) Sanders, D. A. R.; Moothoo, D. N.; Raftery, J.; Howard, A. J.; Helliwell, J. R.; Naismith, J. H. *J. Mol. Biol.* **2001**, *310*, 875.
- (215) Laurent, N.; Voglmeir, J.; Flitsch, S. L. *Chem. Commun.* **2008**, 4400.
- (216) Claes, D.; Memmel, E.; Holzapfel, M.; Seibel, J.; Maison, W. *ChemBioChem* **2014**, *15*, 2450.
- (217) Gabius, H. J.; Siebert, H. C.; Andre, S.; Jimenez-Barbero, J.; Rudiger, H. *ChemBioChem* **2004**, *5*, 740.
- (218) Riddick, J. A.; Bunger, W. B. *Organic solvents: physical properties and methods of purification*; 3 ed.; Wiley: New York, 1970.
- (219) Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512.
- (220) Sharma, S. K.; Miller, M. J.; Payne, S. M. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 357.
- (221) Leonard, N. M.; Brunckova, J. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 9169.
- (222) Kötter, S. Doktorarbeit, Universität Hamburg, 2000.
- (223) Cecioni, S.; Praly, J.-P.; Matthews, S. E.; Wimmerová, M.; Imberty, A.; Vidal, S. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 6250.
- (224) Nisic, F.; Speciale, G.; Bernardi, A. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 6895.
- (225) Yu, K.; Kizhakkedathu, J. N. *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 3073.
- (226) Reeh, P.; de Mendoza, J. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 5259.

## 10. Literatur

- (227) Sanki, A. K.; Mahal, L. K. *Synlett* **2006**, 455.
- (228) Appeldoorn, C. C. M.; Joosten, J. A. F.; Ait el Maate, F.; Dobrindt, U.; Hacker, J.; Liskamp, R. M. J.; Khan, A. S.; Pieters, R. J. *Tetrahedron: Asymmetr.* **2005**, *16*, 361.
- (229) Deng, L.; Norberg, O.; Uppalapati, S.; Yan, M.; Ramstrom, O. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 3188.
- (230) Ogura, H.; Furuhashi, K.; Itoh, M.; Shitori, Y. *Carbohydr. Res.* **1986**, *158*, 37.
- (231) Delimarsky, R. E.; Rodionov, V. N.; Yurchenko, A. G. *Ukr. Khim. Zh.* **1988**, *54*, 437.
- (232) Ohno, M.; Ishizaki, K.; Eguchi, S. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1285.

## Lebenslauf



# Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

**„Synthese und Evaluierung von Glykokonjugaten auf Basis von Adamantan“**

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt zu haben. Ich versichere, dass diese Dissertation nicht in einem früheren Promotionsverfahren eingereicht wurde.

---

Hamburg, den

Unterschrift