

# **Selektive Funktionalisierung von Ketoheptosen zur medizinischen Anwendung**

**sowie**

# **Neue Methoden zur Darstellung von Glucuronsäure**

**Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades

Fachbereich Chemie

Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften

Universität Hamburg

vorgelegt von

**Anna Jacobsen, M. Sc.**

aus Oldenburg i. H.

Hamburg

2016



1. Gutachter: Prof. Dr. Joachim Thiem

2. Gutachter: Prof. Dr. Bernd Meyer

Tag der Disputation: 01.04. 2016



Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Januar 2012 bis Dezember 2015 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. J. Thiem am Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.



**Für meine Familie**





## Abkürzungsverzeichnis

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
Ac	Acetyl
AcOH	Essigsäure
Ac <sub>2</sub> O	Essigsäureanhydrid
ADP	Adenosindiphosphat
All	Allyl
AP/ALP	alkalische Phosphatase
ar	aromatisch
ATP	Adenosintriphosphat
BAP	alkalische Phosphatase aus <i>Escherichia coli</i> ( <i>bacterial alkaline phosphatase</i> )
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
BnBr	Benzylbromid
c	Konzentration
CDI	Carbonyldiimidazol
CIAP	alkalische Phosphatase aus Kälberdarm ( <i>calf intestinal alkaline phosphatase</i> )
ConA	Concanavalin A
Cp	Cyclopentadienyl
COSY	<i>correlated spectroscopy</i>
d	Dublett
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
DAST	Diethylaminoschwefeltrifluorid
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett eines Dubletts
ddd	Dublett eines Dubletts eines Dubletts
DE	Diethylether
DM	Diabetes mellitus
DMDO	Dimethyldioxiran
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid

DMP	Dimethoxypropan
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DSC	<i>N,N'</i> -Disuccinimidylcarbonat
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EE	Ethylacetat
eq	Äquivalente
ESI	Elektronenspray-Ionisation
EtOH	Ethanol
FDG	2-Desoxy-2-fluor-glucose
G-6-P	Glucose-6-phosphat
gef.	gefunden
GK	Glucokinase
Glc	Glucose
GLUT	Glucosetransporter
HEPES	2-[4-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-1-yl]-ethansulfonsäure
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HRMS	<i>high resolution mass spectroscopy</i>
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>
IDCP	Iodoniumdicollidinperchlorat
IDDM	<i>insulin-dependend diabetes mellitus</i>
<i>J</i>	skalare Kopplungskonstante
Kat.	Katalysator/ katalytisch
konz.	konzentriert
LIST	ligand-induced slow transaction model
m	Multipllett
Me	Methanol
MeCN	Acetonitril
MeOD	deuteriertes Methanol
MeOH	Methanol
MH	<i>manno</i> -Heptulose
MRI	<i>magnetic resonance imaging</i>
Ms	Mesyl
NaOAc	Natriumacetat

NaOMe	Natriummethanolat
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NIDDM	<i>non-insulin-dependend diabetes mellitus</i>
NMO	<i>N</i> -Methylmorpholin- <i>N</i> -oxid
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
NP	Nanopartikel
MODY-2	<i>maturity onset diabetes of the young</i>
PE	Petrolether
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
Ph	Phenyl
PHHI	<i>persistent hyperinsulinemic hyperglycaemia in infants</i>
PI- <i>b</i> -PEG	Polyisopren- <i>block</i> -Polyethylenglycol
PNDM	<i>permanent neonatal diabetes mellitus</i>
quant.	quantitativ
QD	<i>quantum dot</i>
RNA	Ribonucleinsäure
RT	Raumtemperatur
RU	<i>response units</i>
s	Singulett
SAP	Alkalische Phosphatase aus Garnelen ( <i>Shrimp alkaline phosphatase</i> )
Smp.	Schmelzpunkt
SPR	<i>surface plasmon resonance spectroscopy</i>
STZ	Streptozotocin
t	Triplett
<sup>3</sup> BuOH	<i>tert</i> -Butanol
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
UDP	Uridindiphosphat
UTP	Uridintriphosphat



## Inhaltsverzeichnis

I.	Selektive Funktionalisierung von Ketoheptosen.....	1
1.	Einleitung.....	1
1.1.	Kohlenhydrate.....	1
1.2.	Ketoheptosen.....	2
1.3.	Diabetes mellitus.....	4
2.	Kenntnisstand.....	8
2.1.	Synthese von Ketoheptosen.....	8
2.2.	Diabetogene Eigenschaften der Ketoheptosen.....	15
2.2.1.	Glucokinase.....	15
2.2.2.	Inhibition der Glucokinase durch Ketoheptosen.....	18
2.3.	Nicht- invasive Bildgebungsverfahren.....	22
2.4.	Glycofunktionalisierung von Nanomaterialien.....	24
3.	Zielsetzung.....	26
4.	Resultate und Diskussion.....	27
4.1.	Synthese von 3-Amino-manno-heptulose.....	27
4.2.	Farbstoffkopplung.....	33
4.3.	Synthese von 3-Fluor-manno-heptulose.....	38
4.4.	Synthese von Tosyl-manno-heptulose.....	40
4.5.	SPR-Messungen von glycofunktionalisierten Nanopartikeln.....	42
4.5.1.	Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie.....	42
4.5.2.	Concanavalin A.....	45
4.5.3.	Synthese von Nanopartikeln.....	46
4.5.4.	Funktionalisierung der Nanopartikel mit Kohlenhydraten.....	46
4.5.5.	SPR-Messungen.....	50
II.	Neue Synthesen von Glucuronsäure.....	54
1.	Einleitung.....	54
1.1.	Glucuronsäure.....	54
2.	Kenntnisstand.....	56
2.1.	Literatur-bekannte Synthesen von Glucuronsäure.....	56

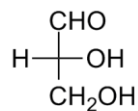
2.2.	Technische Herstellung von Glucuronsäure.....	60
2.3.	Glucose-1-phosphat und Alkalische Phosphatase .....	61
2.4.	Thioglucosid .....	62
3.	Zielsetzung .....	63
4.	Resultate und Diskussion .....	64
4.1.	Darstellung der Vorläuferverbindungen.....	64
4.2.	Schutzgruppenabspaltung.....	67
4.3.	Oxidationen .....	68
4.3.1.	Jones-Oxidation.....	68
4.3.2.	TEMPO-Oxidation.....	68
4.3.3.	Platin-katalysierte Oxidationen .....	69
4.4.	Schutzgruppenabspaltung der oxidierten Produkte.....	71
III.	Zusammenfassung .....	73
IV.	Summary .....	75
V.	Experimenteller Teil .....	77
1.	Allgemeine Arbeitsmethoden.....	77
2.	Allgemeine Arbeitsvorschriften .....	80
3.	Spezielle Arbeitsvorschriften .....	82
VI.	Sicherheitsdaten.....	110
VII.	Literatur .....	117
VIII.	Anhang .....	I

# I. Selektive Funktionalisierung von Ketoheptosen

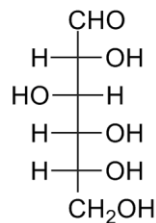
## 1. Einleitung

### 1.1. Kohlenhydrate

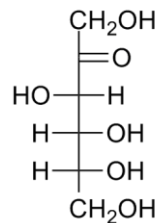
Neben den Proteinen, Nucleinsäuren und Lipiden gehören die Kohlenhydrate zu den vier wichtigsten Naturstoffklassen. Schätzungsweise werden allein durch Photosynthese weltweit jedes Jahr 200 Milliarden Tonnen Kohlenhydrate gebildet.<sup>[1,2]</sup> Aufgrund dessen zählt z.B. Cellulose zu den häufigsten organischen Verbindungen.<sup>[1,2]</sup> Im lebenden Organismus übernehmen Kohlenhydrate unterschiedlichste Funktionen vom Energiespeicher bzw. -quelle bis hin zum Baustoff für Zellwände, z.B. Cellulose.<sup>[1]</sup> Sie bilden außerdem in Form von D-Ribose bzw. Desoxyribose das Gerüst der RNA bzw. DNA und lassen sich in Form von Glycolipiden und -peptiden auf der Zellmembran finden, wo sie unter anderem die Zell-Zell-Erkennung und den zellulären Transport steuern.<sup>[3]</sup> Durch die vielseitigen Verknüpfungsmöglichkeiten von Oligo- und Polysacchariden untereinander und mit Konjugaten entsteht eine große Vielfalt an Kohlenhydraten und Konjugaten, welche durch spezifische Erkennungsmechanismen erkannt werden und unterschiedliche Funktionen im Organismus haben.



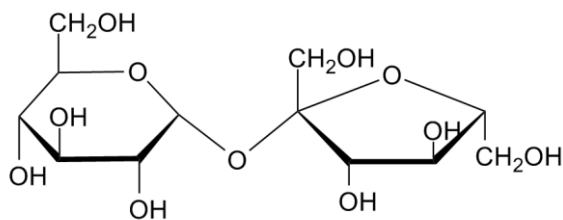
D-Glycerinaldehyd (1)



D-Glucose (2)



D-Fructose (3)



Saccharose (4)

Abbildung 1. Strukturen einiger bekannter Zucker.

Im Allgemeinen handelt es sich bei Kohlenhydraten um unterschiedlich langkettige, partiell oxidierte, mehrwertige Alkohole mit der Summenformel  $C_nH_{2n}O_n$ , die sowohl in der D- als auch der L-Form vorliegen können. Es wird außerdem zwischen Aldosen und Ketosen unterschieden. Alle Monosaccharide der D-Reihe lassen sich dabei durch schrittweise Kettenverlängerung aus dem C-3 Kohlenhydrat D-Glycerinaldehyd (1) darstellen. Die bekanntesten Monosaccharide sind sicherlich die Aldohexose D-Glucose (2), auch bekannt als Traubenzucker, und die Ketohehexose D-Fructose (3), der Fruchtzucker. Aus diesen Monosacchariden können über verschiedene glycosidische Bindungen Di-, Oligo- und Polysaccharide entstehen. So ist z.B. der uns bekannte Haushaltszucker das Disaccharid Saccharose (4), in dem  $\alpha$ -D-Glucose und  $\beta$ -D-Fructose über eine 1,2-glycosidische Bindung verknüpft sind (Abb.1).

## 1.2. Ketoheptosen

Heptosen sind Monosaccharide aus der Reihe der Ketosen mit einem Gerüst aus sieben Kohlenstoffatomen und der allgemeinen Summenformel  $C_7H_{14}O_7$ . Durch einfache Kettenverlängerung der 16 bekannten Aldohexosen können 32 Aldoheptosen und 16 Ketoheptosen entstehen.

Für die Benennung der Ketoheptosen werden zur Einfachheit halber Trivialnamen verwendet, die sich von den entsprechend konfigurierten Aldohexosen ableiten. So wird beispielsweise die sich von der D-Mannose (5) ableitende Ketoheptose als D-*manno*-Heptulose (6) bezeichnet. Der durch verschiedene Präfixe richtig definierte Name wäre aber D-*glycero*-D-*lyxo*-Hept-2-ulose (6). Für die sich von der D-Glucose (2) ableitende D-*gluco*-Heptulose (7) wäre es D-*glycero*-D-*xylo*-Hept-2-ulose (7) (Abb.2).<sup>[4,5]</sup>



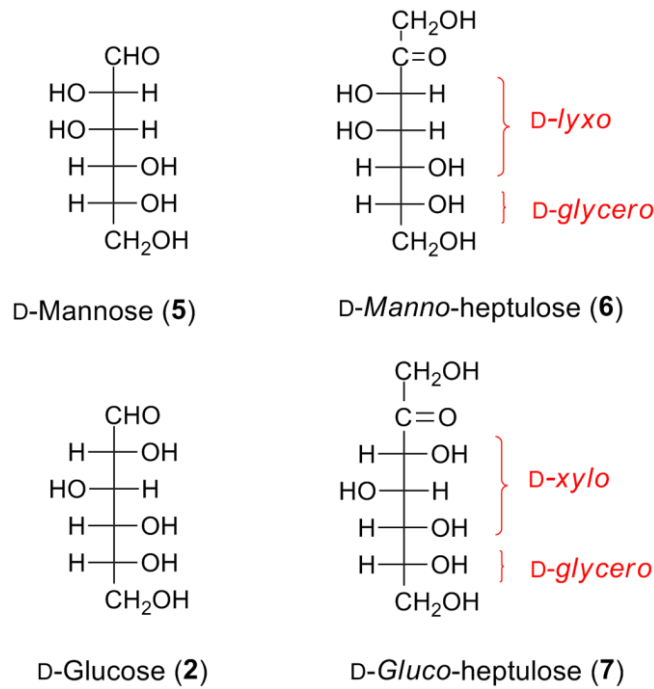


Abbildung 2. Beispiele für Struktur und Benennung der Ketoheptosen.

Heptosen kommen in der Natur nur sehr selten vor. Die erste freie in der Natur gefundene Heptose war die *D-Manno*-heptulose (6), welche erstmals 1917 von LaForge aus der Avocado isoliert wurde.<sup>[6]</sup> Sie kommt hier mit einer Menge von ca. 3 g pro 100 g Frucht am häufigsten vor.<sup>[7]</sup> Außerdem aus der Avocado isoliert wurden *D-Talo*- und *D-Allo*-heptulose.<sup>[7]</sup> Des Weiteren wurden *D-Manno*- (6) und *D-Allo*-heptulose neben weiteren Aldo- und Ketoheptosen in der *Primula officinalis Jacq.* nachgewiesen.<sup>[8]</sup> Als Zwischenprodukt im Pentosephosphatweg tritt *D-altra*-Heptulose, auch als *D-Sedo*heptulose bezeichnet, in Form der an C7 phosphorylierten Verbindung (8) auf. Dabei wird durch die Transketolase ein C<sub>2</sub>-Fragment von *D-Xylulose*-5-phosphat (9) auf *D-Ribose*-5-phosphat (10) übertragen. Als Produkte entstehen *D-Sedo*heptulose-7-phosphat (8) und Glycerinaldehyd-3-phosphat (11)(Abb.3).<sup>[9]</sup>

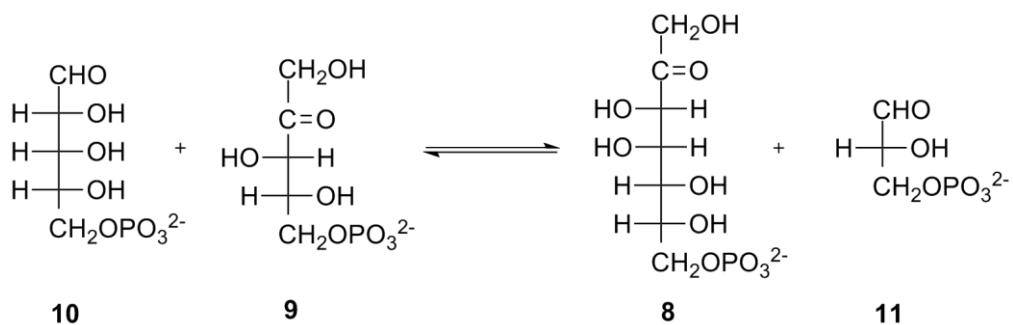


Abbildung 3. Pentosephosphatweg.

### 1.3. Diabetes mellitus

Unter Diabetes mellitus (DM) sind einige Stoffwechselerkrankungen zusammen gefasst, welche durch eine Über- bzw. Unterzuckerung des Blutes gekennzeichnet sind. Ausgelöst werden diese durch eine beeinträchtigte bis fehlende Insulinproduktion oder eine Insulinresistenz. Ein DM liegt definitionsgemäß dann vor, wenn die Konzentration des Nüchternblutzuckers bei Betroffenen  $\geq 7$  mmol/L beträgt. Dieser Wert sollte bei gesunden Menschen im  $< 6.1$  mmol/L sein. Die Diagnose erfolgt über die Bestimmung der Glucosekonzentration im Blut im nüchternen Zustand oder nach oraler Gabe von 75 g Glucose (Glucose-Toleranztest).<sup>[10]</sup>

Die Hormone Insulin und Glucagon spielen eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung des Glucosespiegels im Blut. Wird der Schwellenwert von 5 mM überschritten, kommt es in der Bauchspeicheldrüse zur Ausschüttung von Insulin. Dieses regt die Speicherung von Glucose in Form von Glycogen in den Fett- und Muskelzellen an und führt so zu einer Senkung der Blutzuckerkonzentration. Bei Unterschreitung des Schwellenwertes wird durch Ausschüttung von Glucagon das Glycogen wieder zu Glucose abgebaut.

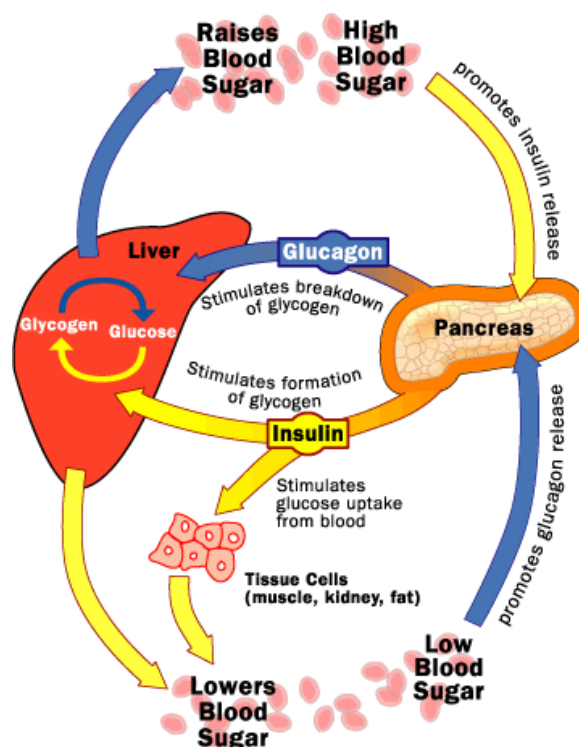


Abbildung 4. Glucosekreislauf.<sup>[11]</sup>

Weltweit leiden 9% der Erwachsenen über 18 Jahren an einem Typ des DM (2014). Im Jahr 2012 starben 1.5 Millionen Menschen durch DM, eine noch größere Anzahl aber wohl an den Folgeerkrankungen. 80% dieser Todesfälle ereignen sich in Ländern mit niedrigem bis mittlerem Einkommen. Die möglichen Folgeerkrankungen eines DM reichen von Schädigungen des Herzens bis zu Beeinträchtigungen der Augen und Nerven. Etwa die Hälfte aller an Diabetes leidenden Menschen stirbt durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen wie Herzleiden und Schlaganfall. Durch Schädigungen der Nerven steigt das Risiko für Geschwüre und Infektionen, wobei häufig sogar Amputationen von Extremitäten notwendig werden. Außerdem steigt das Risiko für diabetische Retinopathie, was zur Erblindung führen kann. Des Weiteren ist Diabetes einer der Hauptgründe für Nierenversagen. Insgesamt ist das Sterbensrisiko eines an Diabetes erkrankten Menschen etwa doppelt so hoch wie bei gesunden Menschen.<sup>[12]</sup>

Da unter Diabetes mellitus verschiedene Anomalitäten des Blutzuckers zusammengefasst sind und diese durch unterschiedliche Ursachen ausgelöst werden können, werden verschiedene Typen von Diabetes mellitus unterschieden. Die häufigsten sind Typ-I- und Typ-II-Diabetes. Außerdem sind noch Typ-III-, Typ-IV- und Schwangerschaftsdiabetes bekannt. Auf einige dieser Typen, deren Auslöser und Behandlungsmöglichkeiten soll nun kurz eingegangen werden.

### **Typ-I-Diabetes**

Von diesem sind etwa 5-10% aller Diabetes Patienten betroffen. Aufgrund einer Autoimmunreaktion werden dabei nahezu alle  $\beta$ -Zellen in den Langerhans-Inseln zerstört. Es handelt sich dabei also um eine Autoimmunerkrankung, welche meist schon im frühen Kindesalter oder bei jungen Erwachsenen auftritt. Auslöser, Mechanismus und die hohe Selektivität für  $\beta$ -Zellen sind bisher allerdings nicht geklärt. Aufgrund dessen ist eine Heilung ausgeschlossen, es können nur die Symptome therapiert werden. Dafür sind die Betroffenen auf eine lebenslange künstliche Zufuhr von Insulin angewiesen, da durch die Zerstörung der  $\beta$ -Zellen ein absoluter Insulinmangel vorliegt.<sup>[12]</sup> Früher war dieser Typus daher auch als insulinabhängiger DM bekannt (IDDM, *insulin-dependent diabetes mellitus*).

Die Symptome sind meist relativ unspezifisch und können plötzlich auftreten. Sie umfassen einen verstärkten Harndrang und Durst, sowie Hunger, Gewichtsverlust, Sehverlust und Erschöpfung.<sup>[12]</sup>

## Typ-II-Diabetes

Etwa 90% aller Diabetes Patienten sind vom nicht-insulinabhängigen Diabetes mellitus (*non-insulin-dependent diabetes mellitus*, NIDDM), betroffen, welcher auch als Typ-II-Diabetes klassifiziert wird. Die Betroffenen leiden unter Insulinresistenz, das heißt die Leber-, Fett- und Muskelzellen sind nicht mehr in der Lage, das von den  $\beta$ -Zellen ausgeschüttete Insulin effektiv zu nutzen. Infolgedessen erhöht sich die Insulinproduktion in der Bauchspeicheldrüse.<sup>[12]</sup> Diese Überbelastung führt dazu, dass die Fähigkeit der Insulinproduktion verloren geht. So kommt es zusätzlich zu einem Insulinmangel. Auch alternative Insulinsekretatoga vermögen bei einem Typ-II-Diabetes nicht eine normale Insulinsekretion herbeizuführen.

Meist sind von diesem Typ ältere Menschen betroffen. Nicht selten wird die Erkrankung begleitet von Adipositas, einer familiären Vorgeschichte, gestörtem Glucosemetabolismus und Bewegungsarmut.

Ein wichtiger Faktor ist auch hier die Zerstörung der  $\beta$ -Zell-Masse (BCM) durch Gluco- und Lipotoxizität. Zum Zeitpunkt der Diagnose sind meist schon 50% der BCM zerstört.<sup>[13]</sup> Durch die steigende Glucosekonzentration verbunden mit der gestörten Aufnahmefähigkeit der Leber- und Muskelzellen kommt es in den  $\beta$ -Zellen zur Bildung von Radikalen und somit zur Apoptose der Zellen (Gucotoxizität).<sup>[13]</sup> Bei Patienten mit Adipositas werden durch das zusätzliche Fettgewebe große Mengen nicht veresterter Fettsäuren (NEFAs, *non-esterified fatty acids*) freigesetzt. Diese sind in geringen Mengen essentiell für die Funktion der  $\beta$ -Zellen, größere Mengen und längere Exposition führt jedoch zu einem Verlust der Funktion (Lipotoxizität).<sup>[14]</sup> In Kombination von Adipositas und Hyperglycämie kann auch von einer Glucolipotoxizität gesprochen werden. So ist bei vielen Adipositas Patienten eine hohe Insulinresistenz bei nur relativ geringem Verlust der BCM zu beobachten.<sup>[13]</sup> Des Weiteren wird als Begleiterscheinung oft eine um bis zu 50% reduzierte Glucoseaufnahme in den Fett- und Muskelzellen beobachtet. Verantwortlich hierfür ist zu 90% der Glucosetransporter 4 (GLUT 4). Durch Stimulation mit Insulin und körperliches Training kann hier eine Steigerung der Expression und Migration in die Plasmamembran erreicht und so der Glucosetransport erhöht werden.<sup>[15,16]</sup> Daher wird neben einer Insulintherapie häufig auch eine Gewichtsabnahme mit körperlicher Bewegung zur Behandlung eingesetzt.

## Typ-III-Diabetes

Ein Typ-III-Diabetes wird durch Mutationen im codierenden Gen der Glucokinase (GK) ausgelöst. Dieses Enzym dient als Glucosesensor im Pankreas. Bislang konnten über 250 dieser Mutationen gefunden werden. Diese können verschiedene Auswirkungen auf die

Aktivität des Enzyms haben. So kann es zu einer Aktivitätssteigerung oder zu einer Aktivitätssenkung kommen. Von diesem Typ sind ungefähr 1–5% aller Diabetespatienten betroffen.

Aus einer Erniedrigung der GK-Aktivität resultiert eine Hyperglycämie, welche in zwei Formen auftreten kann. Eine leicht erhöhte Blutglucosekonzentration und milde Hyperglycämie wird als MODY-2 (*maturity onset diabetes of the young*) bezeichnet. Die Begleiterscheinungen sind meist auch ein beeinträchtigter Leberstoffwechsel und eine gestörte Funktion der  $\beta$ -Zellen. Die Diagnose erfolgt oft vor dem 25. Lebensjahr und die Behandlung verläuft analog einer Typ-II-Diabetes. In einigen Fällen kann der Körper die leicht verlaufende Krankheit tolerieren, so dass keine Therapie nötig ist.

Führt die Aktivitätssenkung durch Mutation zu einer permanenten, schwerwiegenden, von Geburt an bestehenden Hyperglycämie, spricht man von PNDM (*permanent neonatal diabetes mellitus*). Die Diagnose erfolgt hier bereits im Säuglingsalter und führt zu einer lebenslang notwendigen Insulintherapie.

Aus einer Steigerung der GK-Aktivität resultiert eine Hypoglycämie mit erniedrigter Blutglucosekonzentration (PHHI, *persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infants*). Wird das Gehirn dauerhaft mit Energie aus Glucose unterversorgt, kann dies zu einem hypoglycämischen Koma oder sogar Gehirnschäden führen. Diese Mutationen liegen meist in der allosterischen Bindungstasche der GK für Aktivatoren. Die Therapie erfolgt durch Medikation mit Inhibitoren der Insulinsekretion.

## 2. Kenntnisstand

### 2.1. Synthese von Ketoheptosen

Da Ketoheptosen in der Natur nur selten vorkommen, wird die Synthese dieser Naturstoffe seit mehreren Jahrzehnten untersucht. Die Darstellung kann dabei über zwei verschiedene Ansätze erfolgen, die Umlagerung und die Kettenverlängerung.

#### Umlagerungen

Bereits 1930 gelang der Arbeitsgruppe um *Austin* die Synthese von D-*gluco*-Heptulose **7** durch die Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein Umlagerung<sup>[17]</sup> aus  $\alpha$ -D-*gluco*-Heptose **12** in alkalischer Lösung (Abb.5).<sup>[18]</sup>

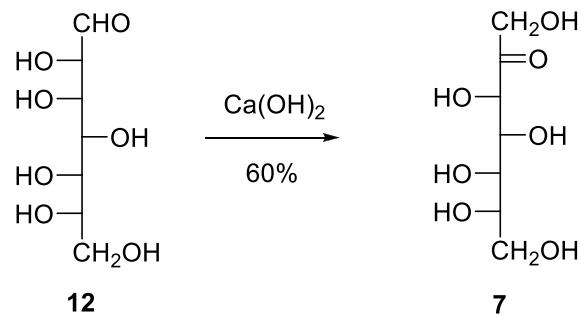


Abbildung 5. Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein Umlagerung.

Später konnten *Wrodnigg et al.* durch Amadori Umlagerungen das 1-Aminoderivat **14** der D-*gluco*-Heptulose (**7**) darstellen.<sup>[19]</sup> Die Amadori Umlagerung ist der erste Schritt der Maillard Reaktion und führt zu 1-Amino-1-desoxy-ketosen.<sup>[20]</sup> Die kommerziell erhältliche D-*glycero*-D-*gulo*-Heptose (**13**) wurde mit einem Amin, z.B. Dibenzylamin, und Essigsäure oder Triethylamin in Ethanol versetzt. Dabei wurde das reine  $\alpha$ -Anomer der 1-Aminoderivate **14** in guten bis sehr guten Ausbeuten erhalten (Abb. 6).<sup>[19]</sup>

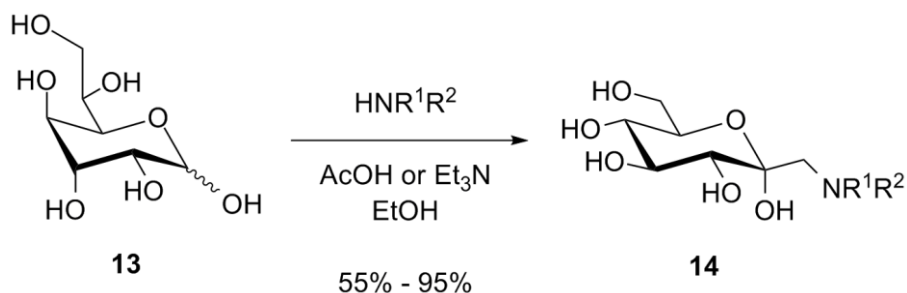


Abbildung 6. Amadori Umlagerung von D-glycero-D-gulo-Heptose (13).

Neben den schon erwähnten Umlagerungsreaktionen sei noch die Bilik Umlagerung erwähnt.<sup>[21]</sup> Mithilfe dieser konnten *Hricoviniá et al.* sowohl D-gluco- als auch D-manno-Heptulose erhalten. 2-C-(Hydroxymethyl)-D-mannose und -glucose wurden mit einer wässrigen Lösung von Molybdänsäure versetzt, was in Umlagerungen zu den entsprechenden Heptulosen resultierte.<sup>[22]</sup>

### Kettenverlängerungen

Bei den durch Kettenverlängerungen in der Vergangenheit synthetisierten Ketoheptosen lassen sich auch wieder zwei Varianten unterscheiden. Zum einen direkte Additionsreaktionen an z.B. Nitrozucker, zum anderen Additionsreaktionen an Doppelbindungen außerhalb des Ringes, z.B. über Lactone oder Enolether.

Über eine Henry-Reaktion versuchten *Aebischer et al.* Aldehyde an Nitrozucker zu addieren. Dazu wurde 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-1-desoxy-1-nitro-D-glucopyranose (15) unter basischen Bedingungen mit Formaldehyd versetzt. Das dabei entstandene Additionsprodukt reagierte dann *in situ* weiter zum benzylgeschützten  $\alpha$ -D-Gluco-heptulose-Derivat 16 (Abb.7).<sup>[23]</sup>

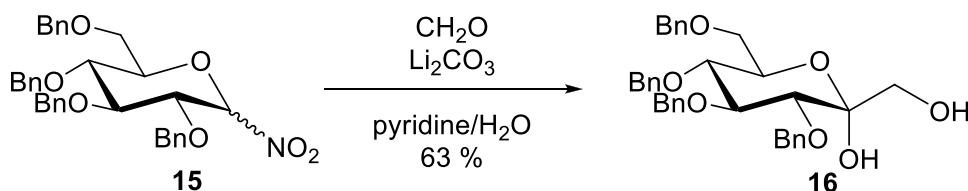


Abbildung 7. Henry-Reaktion von 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-1-desoxy-1-nitro-D-glucopyranose (15).

Ebenfalls über einen Nitrozucker konnten *Baumberger et al.* ein Derivat der 3-Azido-mannoheptulose synthetisieren. Dazu wurde das Glucal der 1-Nitro-glucose **17** verwendet und zunächst mit Lithiumazid und Formaldehyd versetzt. Aus dieser Reaktion erfolgte die Addition des Azids an die innercyclische Doppelbindung und ergab **18**, welches aber aufgrund der Reversibilität der Reaktion nicht zur Heptulose **19** verlängert werden konnte. Stattdessen ließ sich das Glucal **17** in die Heptulose **19** überführen, indem die Azidaddition und die Henry-Reaktion in einem Schritt kombiniert wurden (Abb.8).<sup>[24]</sup>

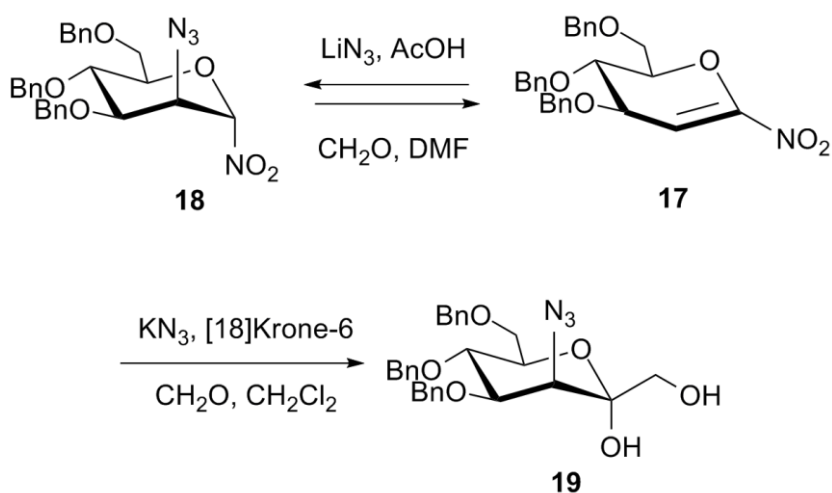


Abbildung 8. Umsetzung des Glucals **17** mittels Azidaddition und Henry-Reaktion nach *Baumberger et al.*

In neuerer Zeit wurde für die Synthese der Ketoheptosen häufig der Weg über die Zwischenstufe eines exocyclischen Glycals gewählt. Die exocyclische Doppelbindung bietet eine Vielzahl an Reaktionsmöglichkeiten um Ketoheptosen und deren Derivate darzustellen. Und auch für die Synthese dieser Verbindungen stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung. Diese umfassen sowohl die Wittig- als die Julia-Olefinierung, sigmatrope Umlagerungen und Additionsreaktionen an Lactone. Besonders interessant ist die Methylierung von Lactonen mit dem Tebbe (**20**)- oder dem Petasis-Reagenz (**21**) (Abb.9).



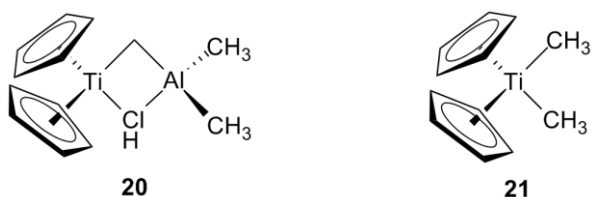
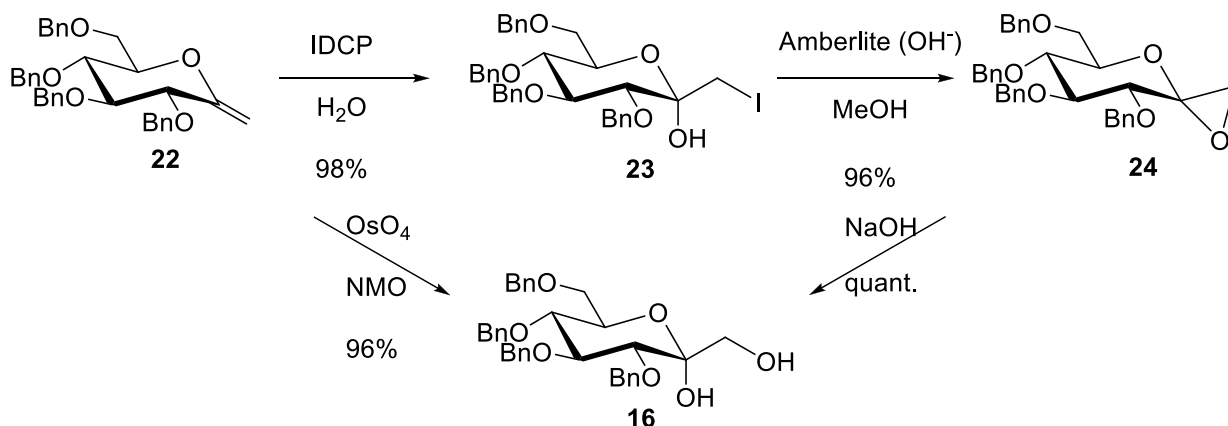


Abbildung 9. Tebbe- (20) und Petasis-Reagenz (21).

Als erstes gingen *Noort et al.* den Weg über einen exocyclischen Enolether. Dieser wurde mit Iodonium *sym*-dicollidinperchlorat (IDCP) umgesetzt, woraus das Iodmethyl-Derivat **23** erhalten wurde. Durch Überführung in das Epoxid **24** und anschließende Öffnung konnte das benzylgeschützte *Gluco*-heptulose Derivat **16** erhalten werden. Allerdings ließ sich dieses auch durch Umsetzung des Exoglycals **22** mit NMO und Osmiumtetroxid erhalten (Abb.10).<sup>[25]</sup>

Abbildung 10. Umsetzung des Exoglycals **22** zur Heptulose **16**.

Auch *Nicotra et al.* stellten aus dem Exoglycal **22** ein Epoxid **25** dar. Dieses setzten sie mit verschiedenen Lewis-Säuren und Nucleophilen um, was zu einem nucleophilen Angriff an C-2 führte und 2-substituierte Derivate **26** der *Gluco*-heptulose ergab. Wurde das Epoxid aber mit negativ geladenen Nucleophilen, wie Bu<sub>4</sub>NCN, umgesetzt, wurden die 1-substituierten Derivate **27** erhalten (Abb.11).<sup>[26]</sup>

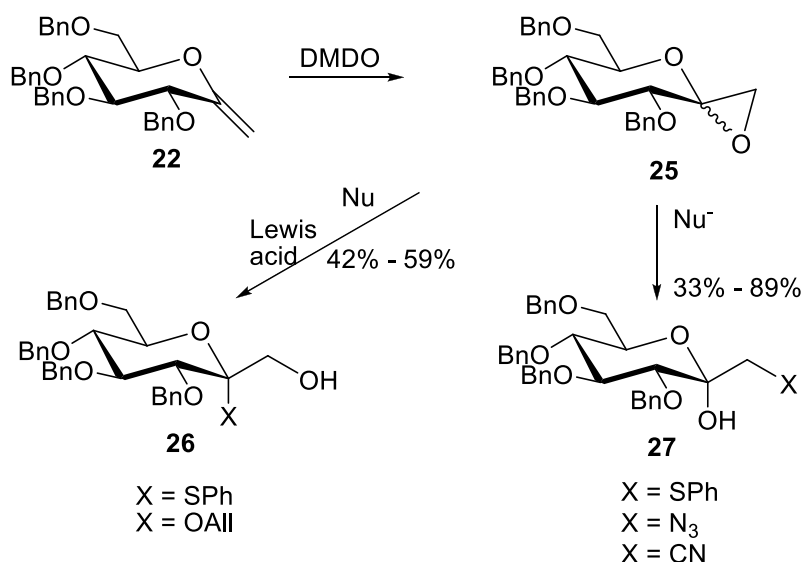


Abbildung 11. Umsetzung des Exoglycals 22 zum Epoxid, und dessen Umsetzung mit verschiedenen Nucleophilen.

Ein neuer und universell anwendbarer Syntheseweg für die Darstellung von Ketoheptosen wurde 2011 von der Arbeitsgruppe *Thiem* entwickelt. Dieser geht über sieben Stufen und erreicht Ausbeuten bis zu 60%. Angefangen bei der entsprechenden Aldohexose wird über das Thioglycosid ein Schutzgruppentausch ausgeführt. Nach Hydrolyse und Oxidation zum Lacton kann dann die Kettenverlängerung mit dem Petasis-Reagenz zum Exoglycal durchgeführt werden. Dieses wird nach Sharpless bishydroxyliert und entschützt, um die freie Ketoheptose zu erhalten (Abb.12).<sup>[27]</sup>

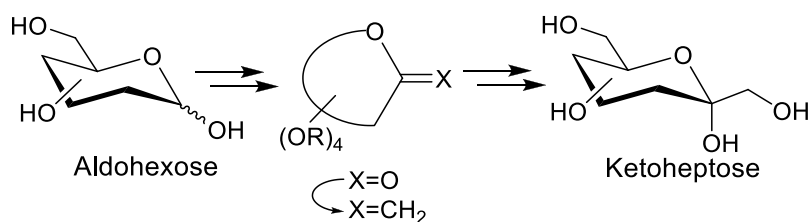


Abbildung 12. Universelle Synthese von Ketoheptosen ausgehend von entsprechenden Aldohexosen.

Von dieser Route ausgehend war es dann auch möglich verschiedene funktionalisierte Derivate der Ketoheptosen darzustellen. Von besonderem Interesse sind hierbei, auch im Hinblick auf mögliche medizinische Anwendungen, die Fluor- und Amino-Derivate.

So konnten beispielsweise sowohl verschiedene Mono- als auch Difluor-Derivate der Ketoheptosen dargestellt werden.<sup>[28,29]</sup> Für die Einführung des Fluors wurden dabei zwei verschiedene Methoden genutzt, Addition an eine Doppelbindung bzw. nucleophile Substitution, wozu hier auf jeweils ein Beispiel näher eingegangen werden soll.

Die Addition des Fluors an eine Doppelbindung kann z.B. an dem bereits erwähnten exocyclischen Glycal stattfinden. Dafür wurde **28** mit Selectfluor in DMF und Wasser umgesetzt. Selectfluor generiert ein elektrophiles Fluor-Kation, welches dann in einer *syn*-Addition an das Olefin bindet. Im Beispiel entsteht dadurch das 1-Fluor-Derivat der *manno*-Heptulose **30** (Abb. 13).<sup>[28]</sup>

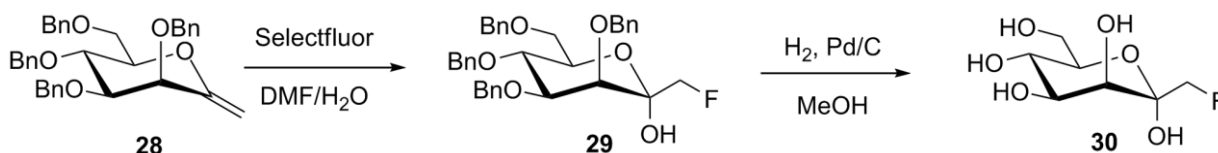


Abbildung 13. Darstellung von 1-Desoxy-1-fluor-*manno*-heptulose (**30**).

Für die nucleophile Substitution einer Hydroxylgruppe durch ein Fluorid-Anion wurde das Reagenz DAST verwendet.<sup>[28]</sup> Dieses Reagenz überführt die Hydroxygruppe *in situ* in eine geeignete Austrittsgruppe, so dass die Substitution an der selektiv ungeschützten Hydroxygruppe in einem Schritt erfolgen konnte und das Fluor-Derivat **32** der Mannose erhalten wurde.<sup>[28]</sup> Die nächsten Schritte beinhalten wieder die zuvor erwähnten Umsetzungen über einen Schutzgruppenwechsel zum Exoglycal **33** und schließlich die Bishydroxylierung und Entschützung zur freien Fluor-ketoheptose **34** (Abb.14).<sup>[28]</sup>

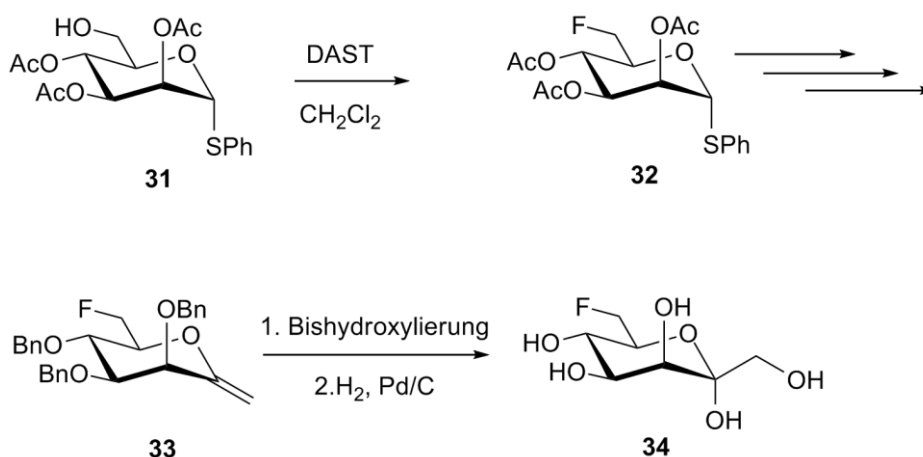


Abbildung 14. Darstellung von 7-Desoxy-7-fluor-*manno*-heptulose (34).

Auch Aminoderivate der Ketoheptosen konnten durch Anpassung der oben beschriebenen Route dargestellt werden.<sup>[30]</sup> Im Folgenden soll kurz auf die Synthese der 1- und 3-Aminoderivate der *gluco*-Heptulose eingegangen werden.

Das bereits bekannte Glycal **22** wurde nach der Bishydroxylierung zu **16** an C-1 mesyliert, worauf die Substitution mit einem Azid **35** ergab. Anschließend erfolgte die Reduktion des Azids zum Amin mit gleichzeitiger Entschützung der Hydroxygruppen durch Hydrierung in Essigsäure und Wasser zu 1-Amino-1-desoxy-*gluco*-heptulose (**36**) (Abb.15).<sup>[30]</sup>

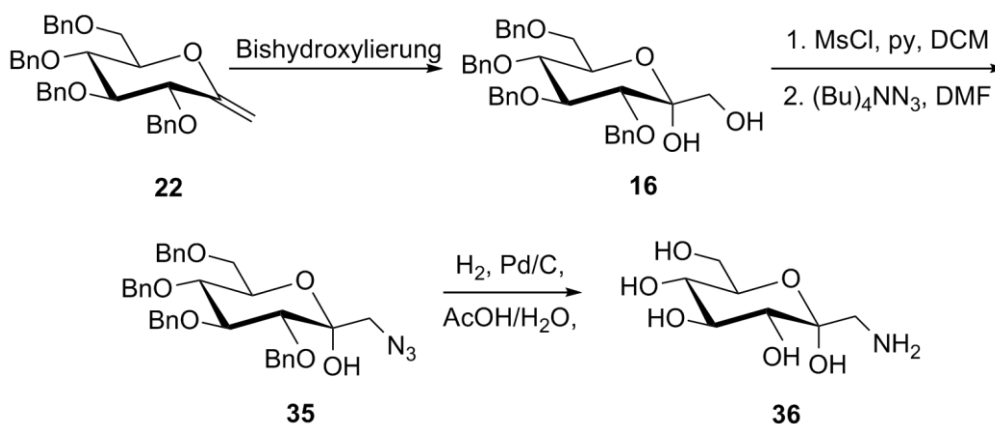


Abbildung 15. Darstellung von 1-Amino-1-desoxy-*gluco*-heptulose (36).

Die Einführung der Aminofunktion an C-3 der Ketoheptose gestaltete sich etwas schwieriger, konnte aber für die *gluco*-Heptulose realisiert werden. Dazu wurde ausgehend von D-Glucosamin-hydrochlorid in mehreren Schritten ein an C-2 selektiv durch Phthalsäure geschütztes Gluconolacton **37** dargestellt. Die anschließende Kettenverlängerung mittels Petasis-Reagenz (**21**) führte zum Exoglycal **38**. Hierbei wurden trotz des Risikos der Methylierung der beiden Carbonylfunktionen der Phthalsäure nur geringe Mengen dieses Nebenproduktes erhalten (Abb.16).<sup>[30]</sup>

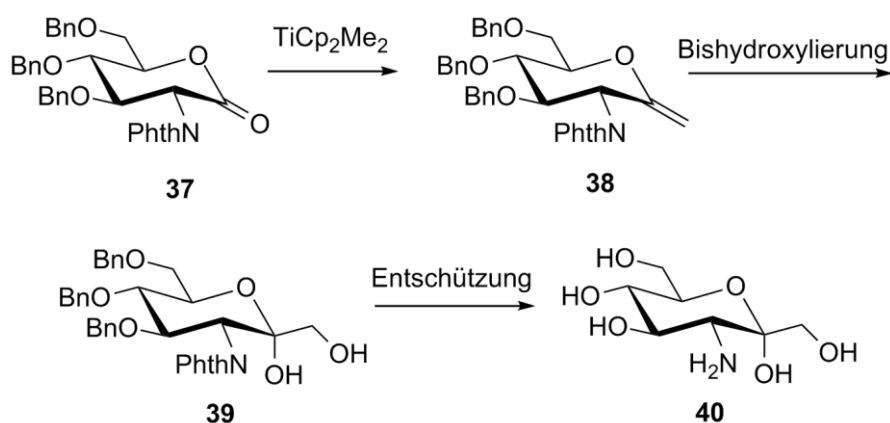
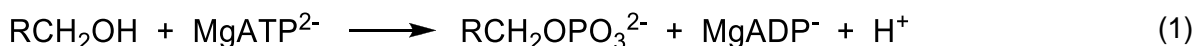


Abbildung 16. Darstellung von 3-Amino-3-desoxy-*gluco*-heptulose (**40**).

## 2.2. Diabetogene Eigenschaften der Ketoheptosen

### 2.2.1. Glucokinase

Hexokinasen katalysieren die Phosphorylierung von Hexosen mit  $\text{MgATP}^{2-}$  als Cofaktor. Tritt also D-Glucose in die Zelle ein, wird es durch eine Hexokinase an der 6-Position phosphoryliert.<sup>[31]</sup>



Durch die entstehende negative Ladung kann es nicht mehr aus der Zelle austreten und wird so in der Zelle angereichert und metabolisiert. Die Phosphorylierung von D-Glucose zu D-Glucose-6-Phosphat ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Glycolyse. Der Abbau zu Pyruvat führt zur Bindung von ATP und damit zur Schließung der ATP-sensitiven  $\text{K}^+$ -Kanäle. Durch die folgende Depolarisation der Plasmamembran und Öffnung der  $\text{Ca}^+$ -Kanäle wird die Insulinsekretion veranlasst.

Es existieren insgesamt vier Hexokinasen, I bis IV, die sich wiederum in Größe, Struktur und Substrataffinität unterscheiden. Während die Hexokinasen I bis III jeweils eine Masse von 100 kDa aufweisen, ist die Hexokinase IV nur etwa 50 kDa schwer.<sup>[32]</sup> Letztere wird auch Glucokinase (GK) genannt und in den Leberzellen und  $\beta$ -Zellen des Pankreas exprimiert. Des Weiteren wird die GK im Gegensatz zu den übrigen Hexokinasen nicht durch das Katalyseprodukt inhibiert (Feedback-Inhibition). Weitere Unterschiede lassen sich an den Substrataffinitäten festmachen. Während die Hexokinasen I-III eine mit einem  $K_m$ -Wert von ca. 20-150  $\mu$ M relativ hohe Affinitäten für die Substrate aufweisen, bindet die GK ihre Substrate mit geringerer Affinität (Tab. 1).<sup>[32]</sup> Durch diese geringere Affinität der GK für die D-Glucose wird sichergestellt, dass zunächst das Gehirn und die Muskeln mit D-Glucose versorgt werden, bevor sie in der Leber in Form von Glycogen zur Energiespeicherung dient.

**Tabelle 1. Substrate der Glucokinase mit Affinitäten und Bindungsenergie.<sup>[32]</sup>**

<b>Substrat</b>	<b><math>K_m</math> (mM)</b>	<b>Bindungsenergie (kcal/mol)</b>
Glucose (2)	6.03	- 76.05
Mannose (5)	4.35	- 75.46
2-Desoxyglucose	18.00	- 62.73
Fructose (3)	240.00	- 45.57
Glucosamin	61.00	- 65.99

In Tab. 1 sind die Substrataffinitäten und Bindungsenergien für einige Substrate der Glucokinase gezeigt. Dabei fällt auf, dass die Orientierung der Hydroxy-Gruppe an Position 2 eine untergeordnete Rolle zu spielen scheint, da sowohl Mannose als auch Glucose ähnliche  $K_m$ -Werte und Bindungsenergien aufweisen. Da aber z.B. D-Galactose und D-Allose keine Substrate der Glucokinase sind, lässt sich schlussfolgern, dass die Orientierung der Hydroxy-Gruppen an 3 und 4 eine entscheidende Rolle spielt.

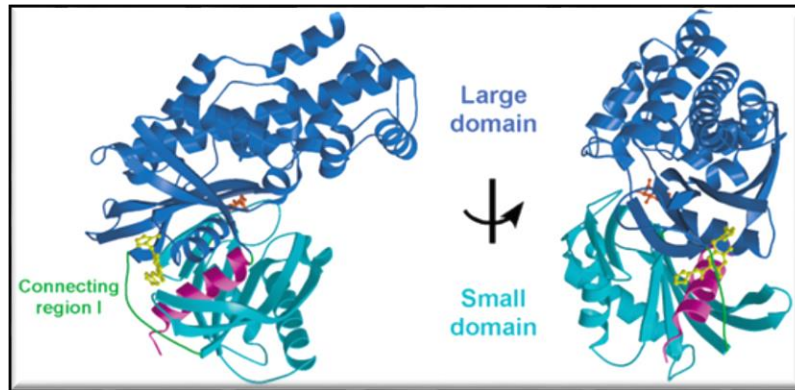


Abbildung 17. Modell der Glucokinase.<sup>[33]</sup>

Die Glucokinase besteht aus zwei Domänen, der *small* und der *large domain*, welche durch *connecting regions* verbunden sind (Abb.17). Durch Untersuchungen der Kristallstruktur der Glucokinase konnte gezeigt werden, dass diese in drei Konformationen abhängig von der Substratkonzentration vorliegen kann (Abb.18).<sup>[33]</sup>

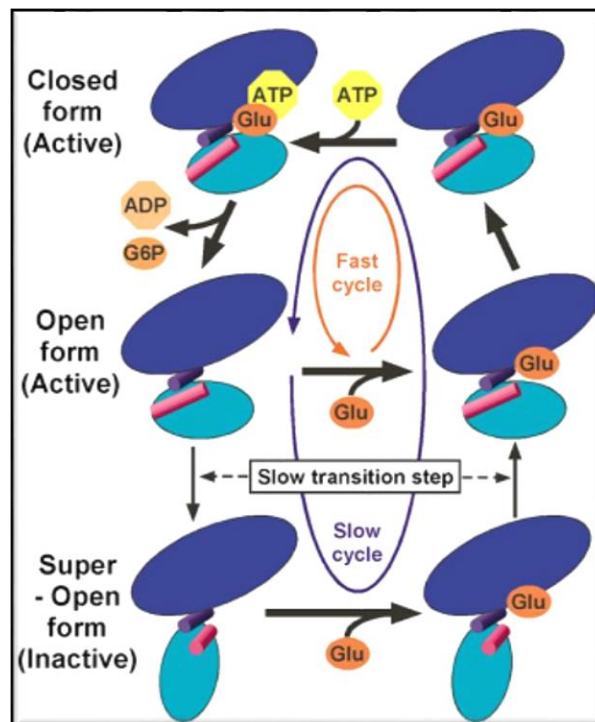


Abbildung 18. Katalysezyklus der Glucokinase.<sup>[33]</sup>

Der Katalysezyklus der Glucokinase wird durch das *mnemonical-Modell* und das LIST-Modell (*ligand-induced slow transaction model*) beschrieben. Demnach liegt das Enzym in verschiedenen Konformationen abhängig von der Substratkonformation vor. Bei Abwesenheit des Substrats dominiert die *super-open form* mit niedriger Affinität. In Gegenwart des Substrats überwiegt die *closed form* mit hoher Substrataffinität. Durch Bindung des Substrats an die *super-open form* erfolgt der Übergang in die *open form*. Dies ist der langsame, geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Katalyse. Der anschließende Übergang in die *closed form*, in welcher die Katalyse stattfindet, verläuft schneller. Nach Freisetzung der Katalyseprodukte geht die GK wieder in die *open form* über. Da der Übergang zur *super-open form* nur langsam verläuft, kann wieder ein Substrat binden und den schnellen Katalysezyklus durchlaufen (Abb.18).<sup>[33]</sup>

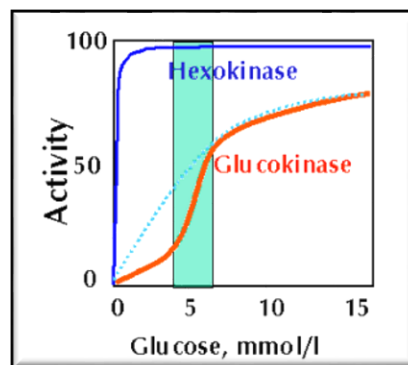


Abbildung 19. Vergleich der Sättigungskurven der Hexokinase und der Glucokinase für das Substrat Glucose.<sup>[34]</sup>

Die Hexokinase I-III liegen nicht in einer *super-open form* vor, durchlaufen also nur einen schnellen Katalysezyklus mit hoher Affinität. Dies erklärt die geringere Affinität der GK für ihre Substrate verglichen mit den Hexokinase I-III und die sigmoidale Sättigungskurve der GK für Glucose im Gegensatz zu der hyperbolisch verlaufenden der Hexokinase I-III (Abb.19).<sup>[33]</sup>

### 2.2.2. Inhibition der Glucokinase durch Ketoheptosen

Bereits 1936 wurde festgestellt, dass die Gabe von D-manno-Heptulose (6) in Kaninchen zu einer Erhöhung einer garfähigen, reduzierenden Komponente im Blutzucker führt.<sup>[35]</sup> 1957 wurde dies durch Simon und Kraicer bestätigt und festgestellt, dass es sich bei dieser Substanz um D-Glucose handelt.<sup>[36,37]</sup> In weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Erhöhung des Blutzuckers durch eine gehemmte Insulinsekretion verursacht wurde.



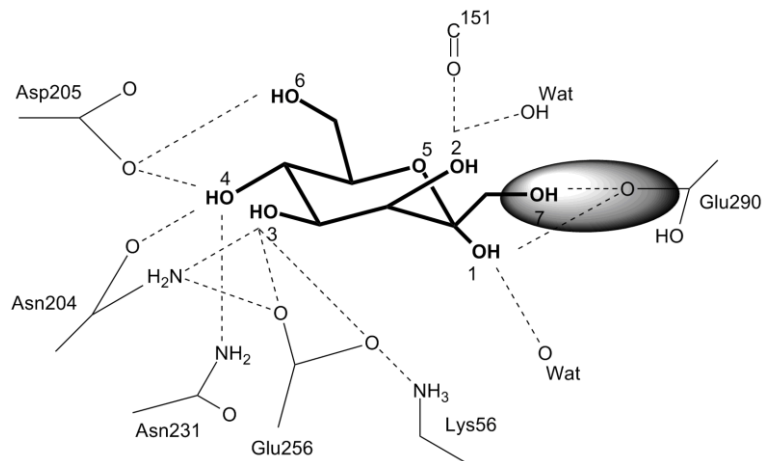
Dies wiederum wird durch die Inhibition der Phosphorylierung von Glucose ausgelöst. D-*Manno*-heptulose muss also eine oder mehrere Hexokinasen inhibieren, welche die Phosphorylierung von D-Glucose katalysieren.<sup>[32,38]</sup>

Durch Untersuchungen anderer Ketoheptosen wurden zwei weitere mit diabetogenen Eigenschaften gefunden, D-*gluco*-Heptulose und L-*galacto*-Heptulose.<sup>[39,40]</sup> Für die Aufklärung des Mechanismus der GK-Inhibition durch die diabetogenen Ketoheptosen wurden Messungen der intrinsischen Tryptophan-Fluoreszenz verschiedener Substrate und Inhibitoren durchgeführt. Außerdem wurden durch *molecular modeling* Bindungsaffinitäten und –energien berechnet (Tab.2).

**Tabelle 2. Fluoreszenz-Verstärkung und Bindungsenergien einiger Substrate für die Glucokinase.<sup>[32]</sup>**

<b>Zucker</b>	<b>Fluoreszenz-Verstärkung (%)</b>	<b>Bindungsenergie (kcal/mol)</b>
Glucose	131.6	-76.05
Mannose (1)	132.9	-75.46
Mannoheptulose (2)	120.0	-81.90

Da die Fluoreszenz-Verstärkung für die Substrate Glucose und Mannose in der gleichen Größenordnung liegen wie für Mannoheptulose, kann davon ausgegangen werden, dass die Bindung der Inhibitoren nach dem gleichen Mechanismus verläuft wie für die Substrate. Es wird also auch hier eine ähnliche Konformationsänderung vollzogen. Dabei konkurrieren Substrat und Inhibitor um die Bindungsstelle am Enzym. Es handelt sich also um einen kompetitiven Inhibitionsmechanismus, der bei höheren Glucosekonzentrationen reversibel ist. Die Bindung von D-*manno*-Heptulose ist aber gegenüber D-Glucose bevorzugt. Dies liegt vor allem an einer zusätzlichen Wasserstoffbrückenbindung über die zusätzliche OH-Gruppe der D-*manno*-Heptulose (Abb.20).<sup>[32]</sup>



**Abbildung 20. Bindung von Mannoheptulose an die Glucokinase. Hervorgehoben die zusätzliche Wasserstoffbrückenbindung.<sup>[32]</sup>**

Dies bestätigt auch die höhere Bindungsenergie der Glucokinase für *D-manno*-Heptulose (-81.9 kcal/mol) gegenüber *D*-Glucose (76.05 kcal/mol) und *D*-Mannose (75.46 kcal/mol) (Tab.2).<sup>[32]</sup>

Auf Grundlage des Katalysemechanismus und des *mnemonic models* wurde ein Mechanismus der Inhibition der GK durch *D-manno*-Heptulose postuliert (Abb.21). im sogenannten *Glucokinase switch* bindet die Ketoheptose nach Freisetzung der Katalyseprodukte Glucose-6-phosphat und ADP an die *closed form* der Glucokinase (*switch on*). So wird eine Konformationsänderung in die *super-open form* (*switch off*) verhindert. Durch die stärkere Bindung des Inhibitors an das Enzym kommt es erst bei hohen Glucosekonzentrationen wieder zu einer Bindung von Glucose. Demzufolge wird durch den Inhibitor die Glucosekonzentration im Blut erhöht und die Insulinsekretion verhindert.<sup>[41]</sup>

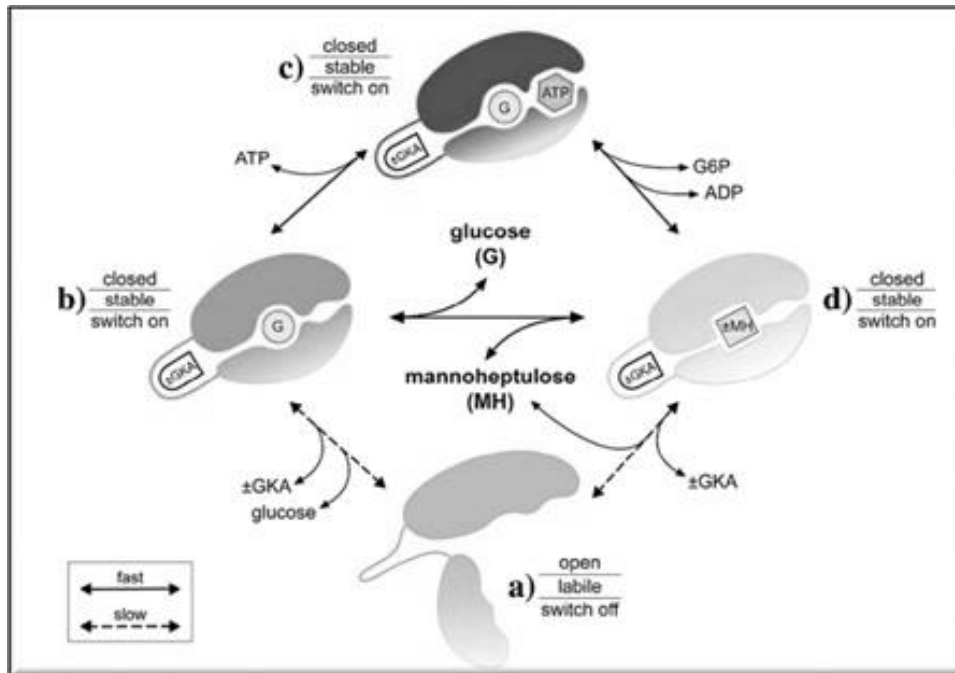


Abbildung 21. Modell des Glucokinase switch.<sup>[41]</sup>

### 2.2.3. Glucosetransporter

Ein wichtiger Bestandteil der Metabolisierung von Glucose ist ihre Aufnahme in die jeweilige Zelle. In tierischen Zellen wird die Aufnahme durch die Plasmamembran von verschiedenen Glucosetransportern (GLUT1 bis GLUT5) vermittelt. Die Transportproteine bestehen im Durchschnitt aus ca. 500 Aminosäuren und 12 Transmembransegmenten.<sup>[1,15,42]</sup>

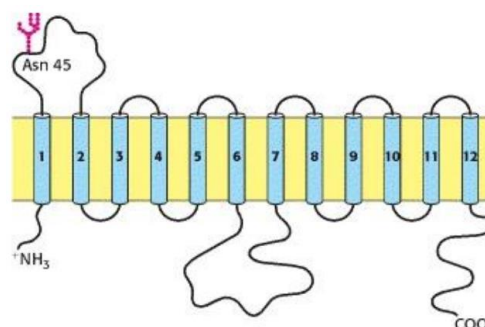


Abbildung 22. Modell eines Glucosetransporters.<sup>[43]</sup>

Die verschiedenen Transporter werden meist spezifisch in Zellen unterschiedlicher Organe exprimiert. GLUT1 und GLUT3 kommen aber auf fast allen Zellen der Säugetiere vor und transportieren kontinuierlich Glucose mit einem  $K_M$ -Wert von 5 mM bzw. 1 mM in die Zellen.<sup>[44]</sup> GLUT2 wird hauptsächlich in Leberzellen und  $\beta$ -Zellen in der Bauchspeicheldrüse exprimiert. Dieser Transporter ist mit einem  $K_M$ -Wert von 11 mM fast komplett durchlässig für Glucose, so dass die Glucosekonzentrationen innerhalb und außerhalb der Zellen in etwa übereinstimmen.<sup>[44]</sup> Durch die so mögliche Messung des Glucosespiegels wird die Insulinsekretion reguliert und die Speicherung von Glucose als Glycogen oder in den Fettzellen veranlasst. Auf den Muskel- und Fettzellen wird der insulinabhängige GLUT4 exprimiert.<sup>[44]</sup> Die Insulinsekretion führt zu einer deutlichen Erhöhung des Glucosetransports. Der als GLUT5 bezeichnete Transporter wird im Wesentlichen im Darm exprimiert und transportiert anstelle von Glucose ausschließlich Fructose.<sup>[44]</sup>

### **2.3. Nicht- invasive Bildgebungsverfahren**

Um eine Diabetes früher diagnostizieren zu können oder Informationen über die Entstehung und Entwicklung eines DM zu erhalten, ist es von Interesse die  $\beta$ -Zell-Masse (BCM,  *$\beta$ -cell mass*) quantitativ *in vivo* bestimmen zu können. Dies ist bislang nicht möglich, da nur indirekte Testverfahren, wie der Glucose-Toleranztest und die Messung der Insulin-Produktion, zur Diagnose zur Verfügung stehen. Die Diagnose durch diese Testverfahren kann aber erst erfolgen, wenn die BCM schon stark reduziert bzw. die Dysfunktion der  $\beta$ -Zellen weit fortgeschritten ist. Außerdem kann dadurch keine Unterscheidung von anatomischen oder funktionellen Dysfunktionen der  $\beta$ -Zellen erfolgen. Des Weiteren ist die Bauchspeicheldrüse nicht für eine Biopsie geeignet, weshalb histologische Daten nur über eine Autopsie abgeschätzt werden können.

Da die BCM nur etwa 1% der Masse der Bauchspeicheldrüse ausmacht,<sup>[45]</sup> ist eine Quantifizierung sehr schwierig. Dennoch bieten nicht-invasive Bildgebungsverfahren eine Möglichkeit. Die Markierung der BCM sollte mit Materialien erfolgen, welche mit den üblichen medizinischen Bildgebungsverfahren, wie beispielsweise Magnetresonanztomographie (MRT) detektierbar sind.

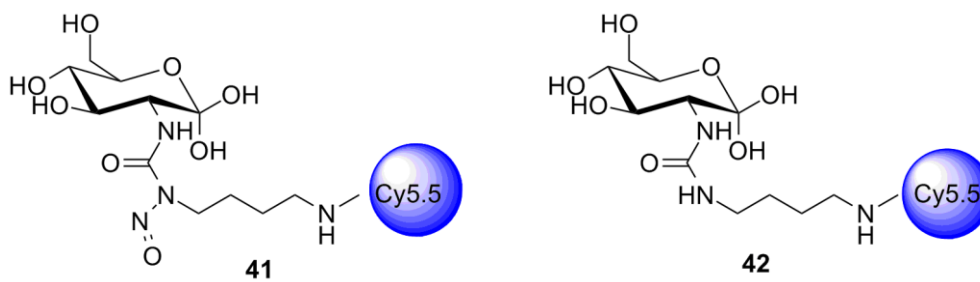


Abbildung 23. Getestete fluoreszenzmarkierte Analoga des Streptozotocins.<sup>[46]</sup>

Der Arbeitsgruppe um Moore ist es bereits gelungen  $\beta$ -Zellen *in vitro* mit fluoreszenzmarkierten Analoga **41**, **42** des Streptozotocins (STZ) (Abb. 23) zu markieren (Abb. 24).<sup>[46]</sup> STZ ist eine diabetogene Verbindung, die unter anderem in Tierversuchen zur Erzeugung von Diabetes eingesetzt wird. Sie wird selektiv durch den Glucosetransporter GLUT2 in die  $\beta$ -Zellen aufgenommen.

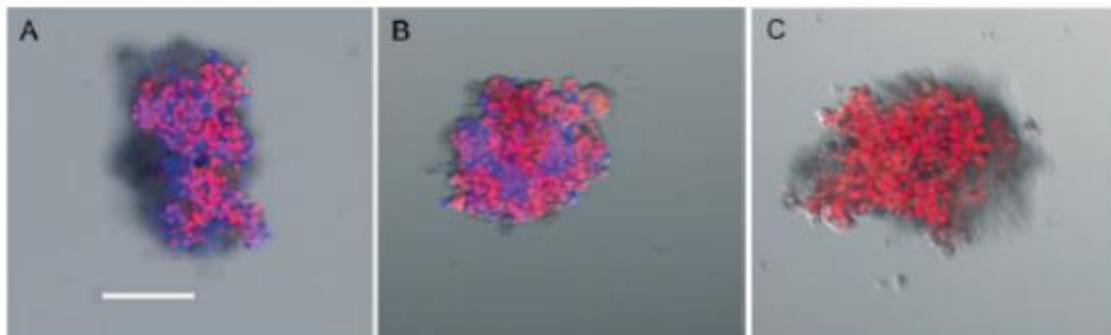


Abbildung 24. *In vitro* Markierung von  $\beta$ -Zellen.<sup>[46]</sup>

So konnten 93% bzw. 96% der  $\beta$ -Zellen *in vitro* markiert (Abb. 24, A und B), im Gegensatz dazu wurden nur 19% bzw. 33% der Kontrollzellen (Abb. 24, C) markiert.

Diesem Ansatz folgend könnten auch entsprechende Analoga der D-manno-Heptulose zur Markierung der BCM verwendet werden. Wie STZ wird dieses selektiv durch den GLUT2 in die  $\beta$ -Zellen aufgenommen und dort angereichert, da keine Verstoffwechslung erfolgt. Um die Mannoheptulose detektierbar zu machen muss eine Verknüpfung mit Fluoreszenzmarkern erfolgen. Dies können beispielsweise Farbstoffe, wie bei den STZ Analoga **41**, **42**, oder auch geeignete Nanopartikel (NP) sein.

## 2.4. Glycofunktionalisierung von Nanomaterialien

Wie im vorigen Abschnitt erwähnt, können auch Nanopartikel als Fluoreszenzmarker für bestimmte diagnostische Methoden verwendet werden. Nanopartikel bewegen sich im Größenbereich von 1-100 nm und können sich, z.B. aufgrund des Größenquantisierungseffektes, in den physikalischen Eigenschaften erheblich von denen des *bulk* Materials unterscheiden. In der Krebsdiagnostik und -therapie werden bereits superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel, beispielsweise als Kontrastmittel im MRT, eingesetzt. Als Fluoreszenzmarker sind jedoch Quantum dots (QDs) aus z.B. Cadmiumselenid (CdSe), Cadmiumsulfid (CdS) und Zinksulfid (ZnS), sogenannte core/shell/shell-Partikel, aufgrund ihrer optischen Eigenschaften besonders interessant.

Um Quantendots für Anwendungen und Experimente in biologischen Systemen nutzen zu können, müssen diese in wässriges Medium überführt werden. Dazu werden die NPs mit einem amphiphilen Diblockcopolymer (PI-*b*-PEG) unter Bildung von Mizellen verkapselt. Die Polymerhülle ermöglicht es außerdem, die Toxizität soweit herunter zusetzen, dass die NP für medizinische Anwendungen geeignet sind. Diese Polymere können mit Affinitätsmolekülen, wie DNA oder Sacchariden verknüpft werden.<sup>[47,48]</sup> Dadurch können die erhaltenen Nanocontainer zielgerichtet an spezifische Wirkorte transportiert werden bzw. an spezifische Strukturen binden (Abb.25).

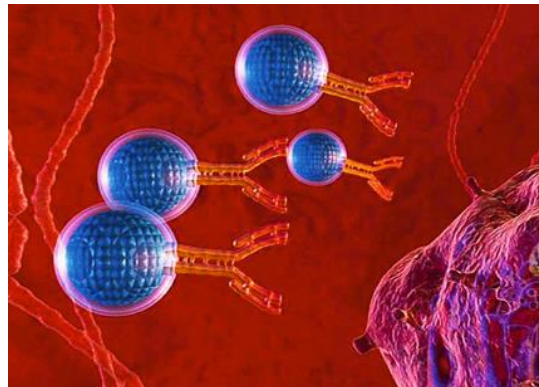


Abbildung 25. Simuliertes Modell des Transports funktionalisierter Nanocontainer an spezifische Wirkorte.<sup>[49]</sup>

Für die Funktionalisierung des Polymers gibt es zwei Möglichkeiten, entweder vor (*pre-assembly*) oder nach (*post-assembly*) der Verkapselung der QDs (Abb.26). Die Verknüpfung findet über funktionelle Endgruppen des Polymers statt. Bei der Herstellung des Polymers entsteht eine Hydroxygruppe pro Polymer, welche dann in verschiedene funktionelle Gruppen

(Amine, Carboxyl, Alkine, Aldehyde) umgewandelt werden kann.<sup>[47,48]</sup> Dies ermöglicht wiederum ein breites Spektrum an Verknüpfungen mit den Affinitätsmolekülen über diverse Kopplungsreaktionen (CDI, Click-Chemie, EDC/NHS). Die *pre-assembly* Funktionalisierung hat gegenüber der *post-assembly* Funktionalisierung einige Vorteile. Die Reinigung der funktionalisierten Polymere und auch die eventuell nötige Entschützung der Affinitätsmoleküle sind erleichtert. Durch die *pre-assembly* Funktionalisierung wird außerdem die Charakterisierung mittels NMR möglich, und es lässt sich der Grad der Funktionalisierung der Nanocontainer durch verschiedene Abmischungen festlegen.

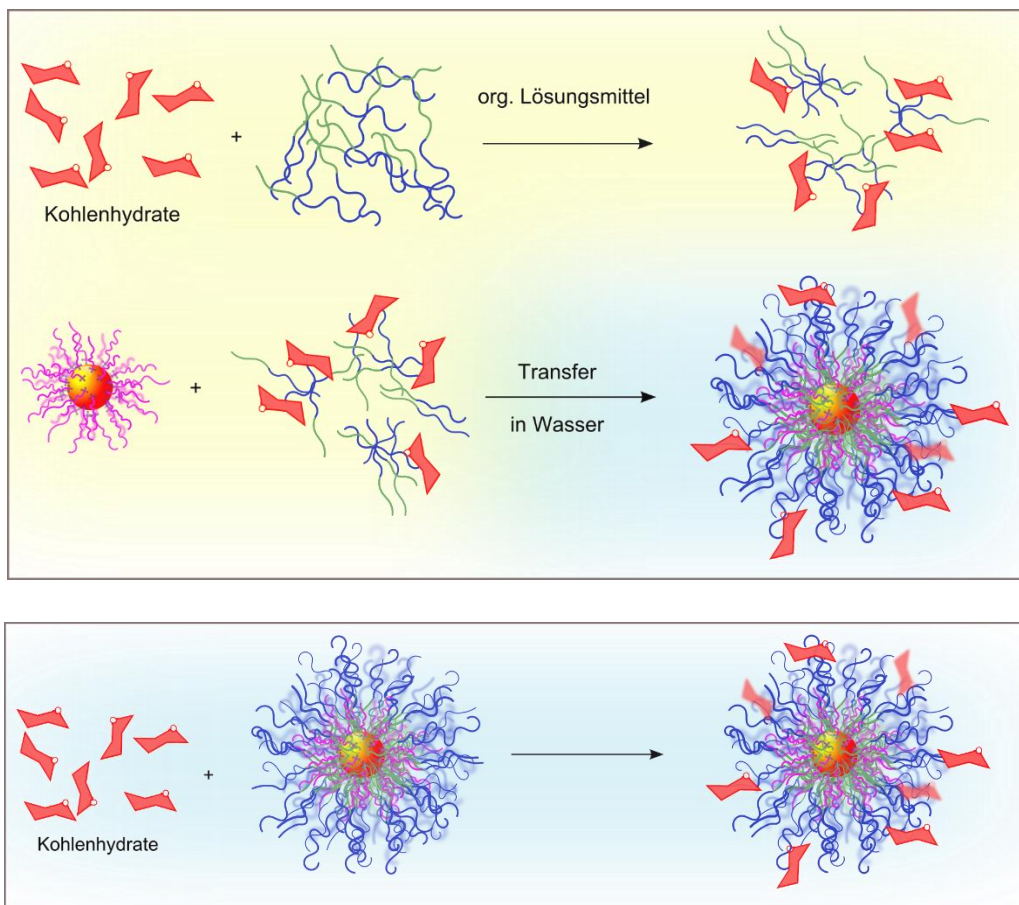


Abbildung 26. *Pre-* (oben) und *post-* (unten) *assembly* Funktionalisierung von Nanopartikeln.<sup>[50]</sup>

### 3. Zielsetzung

Wie aus den vorherigen Kapiteln ersichtlich spielen Kohlenhydrate eine entscheidende Rolle in der medizinischen Geschichte, Gegenwart und Zukunft. Diabetogene Ketoheptosen und deren vielfältige Derivate stellen potenziell wichtige Instrumente für die molekulare Bildgebung von  $\beta$ -Zellen dar. Die selektive Aufnahme in die  $\beta$ -Zellen durch den GLUT2 und die damit verbundene Anreicherung prädestiniert diese Stoffe geradezu für diese wichtige Aufgabe.

Durch die von D. Waschke ausgearbeitete Syntheseroute<sup>[27]</sup> sind einfache unfunktionalisierte Ketoheptosen synthetisch zugänglich. Unter Zuhilfenahme dieser Route und geeigneter Modifikationen im Syntheseweg sind auch Derivate der Ketoheptosen synthetisierbar.

Ziel des ersten Teils dieser Arbeit ist also die Synthese und Charakterisierung verschiedener funktionalisierter Ketoheptosen. Im Vordergrund steht dabei die Synthese eines 3-Amino-Derivates analog der fluoreszenzmarkierten STZ-Analoga **41** und **42** (Abb.23). Des Weiteren sollte die Markierung einer Ketoheptose mit einem Fluoreszenzfarbstoff erfolgen, welches sowohl für *in vitro* als auch *in vivo* Tests zur Visualisierung von  $\beta$ -Zellen verwendet werden sollte. Da die Visualisierung auch mit Hilfe von QDs vorstellbar ist, sollten verschiedene glycofunktionalisierte Nanopartikel auf die Bindung an Lectine untersucht werden.

Eine weitere Möglichkeit der Visualisierung menschlichen Gewebes bieten fluorierte Monosaccharide. Zum einen wird bereits [<sup>18</sup>F]FDG als PET Tracer in der Krebsdiagnostik eingesetzt, zum anderen ist auch eine Verwendung von [<sup>19</sup>F]-Derivaten in der MRT Technologie vorstellbar. Es sollte deshalb eine 3-[<sup>19</sup>F]Fluoro-*manno*-heptulose synthetisiert und für biologische MRT Studien zur Verfügung gestellt werden, sowie ein Tosylderivat der *manno*-Heptulose zur Weiterverarbeitung zum [<sup>18</sup>F]-Derivat.



## 4. Resultate und Diskussion

### 4.1. Synthese von 3-Amino-manno-heptulose

Wie bereits beschrieben, kann für die Synthese verschieden funktionalisierter Ketoheptosen die von Waschke<sup>[27,51]</sup> erarbeitete Syntheseroute (Abb. 12) genutzt und an geeigneter Stelle modifiziert werden. Verschiedene Derivate der *manno*- und *gluco*-Heptulose sind bereits beschrieben worden.<sup>[28,29]</sup> Darunter auch die Synthese von 3-Amino-*gluco*-heptulose (**40**) von Leshch.<sup>[52]</sup> Die Synthese von 3-Amino-*manno*-heptulose konnte jedoch noch nicht erfolgreich durchgeführt werden.

In seiner Dissertation hat auch Waschke<sup>[51]</sup> bereits versucht 3-Amino-*manno*-heptulose darzustellen. Dabei wurden einige Teile der selbst erarbeiteten Syntheseroute zur universellen Darstellung von Ketoheptosen übernommen. Ausgehend von Methyl- $\alpha$ -glucopyranosid (**43**) wurde mit BADMA das 4,6-Benzylidenacetal **44** erhalten.<sup>[53]</sup> Anschließend folgte die Umsetzung zum Triflat **45** an C-2 und nucleophile Substitution mit Natriumazid zum 2-Azidoderivat **46** der Mannose. Während der Substitution mit Natriumazid erfolgt eine Konfigurationsumkehr an C-2 vom Gluco- zum Mannopyranosid.<sup>[54]</sup> Die Spaltung des Benzylidenacetals unter Acetolyse lieferte daraus das Tetraacetat **47**, welches zum Thioglycosid glycosyliert werden konnte. Gemäß der Syntheseroute folgte nun die Deacetylierung<sup>[55]</sup> und Benzylierung<sup>[56]</sup> mit anschließender Hydrolyse des Thioglycosids. Nach der Oxidation<sup>[57]</sup> zum Lacton **48** konnte jedoch keine Methylierung durchgeführt werden. Es konnte durch Vergleiche mit entsprechender Literatur davon ausgegangen werden, dass das Titanocen-Derivat zur Methylierung (Dimethyltitanocen) mit dem Azid reagiert hat (Abb.27).<sup>[58,59]</sup>

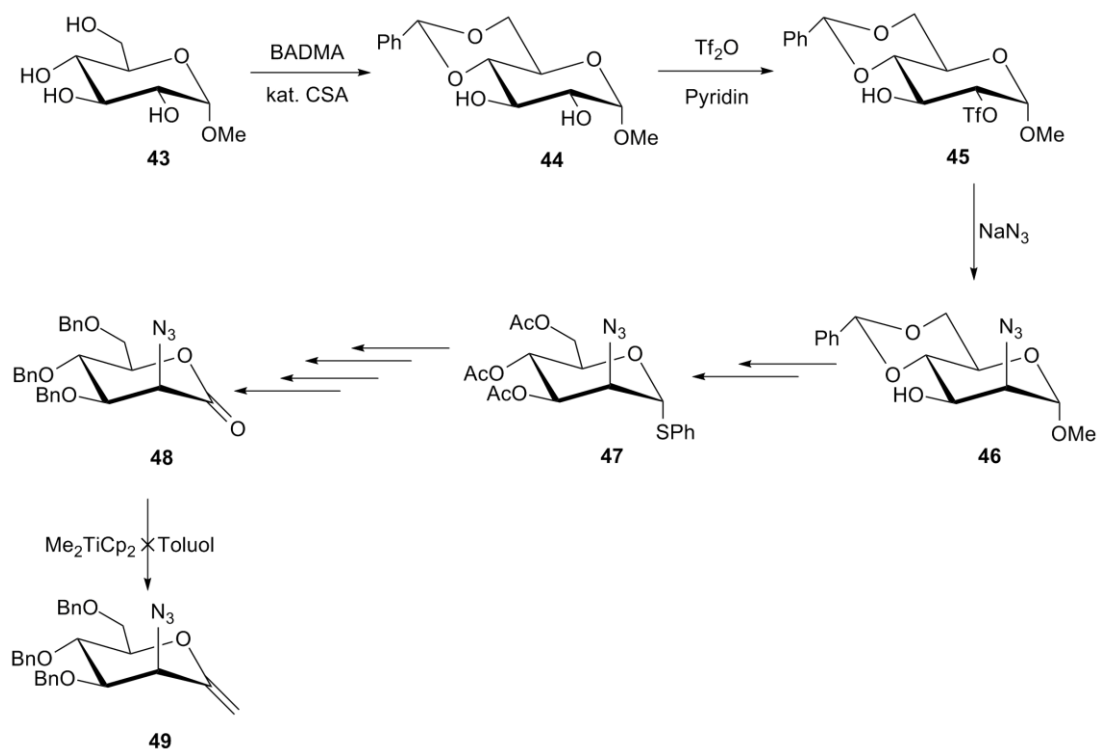


Abbildung 27. Versuch der Synthese von 3-Amino-manno-heptulose.

Aufgrund der Inkompatibilität von Titanocen-Verbindungen und Aziden wurde dann versucht das Azid zum Amin zu reduzieren, entsprechend zu schützen und anschließend die Methylierung durchzuführen. Dazu wurde wie oben beschrieben eine Azidfunktion an C-2 des Mannosederivates **50** eingeführt, und die üblichen Schritte der Glycosylierung zum Thioglycosid mit anschließendem Schutzgruppentausch durchgeführt. Die Reduktion des Azids **50** zum Amin **51** erfolgte mittels Staudinger-Reaktion mit Triphenylphosphin in THF und Wasser<sup>[60]</sup> mit 78% Ausbeute. Um die Aminofunktion im weiteren Verlauf der Synthese zu schützen wurde eine SES-Schutzgruppe (2-(Trimethylsilyl)ethansulfonyl) eingeführt (Abb.28).

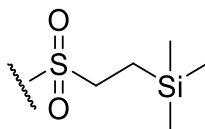


Abbildung 28. SES = 2-(Trimethylsilyl)ethansulfonyl.

Diese Schutzgruppe weist keine Carbonylfunktionen auf, die methyleniert werden könnten, und ist relativ oxidationsstabil (Abb.28). Außerdem könnte eine Entschützung unter relativ milden Bedingungen mit Cäsiumfluorid oder TBAF in DMF durchgeführt werden.<sup>[61]</sup> Die Einführung der Gruppe als Sulfonamid **52** erfolgte in Pyridin<sup>[62]</sup> mit 55% Ausbeute. Die

folgenden Schritte der Thioglucosid-Hydrolyse und Oxidation zum Lacton **53** konnten mit sehr guten Ausbeuten (90% bzw. 99%) realisiert werden (Abb.29).

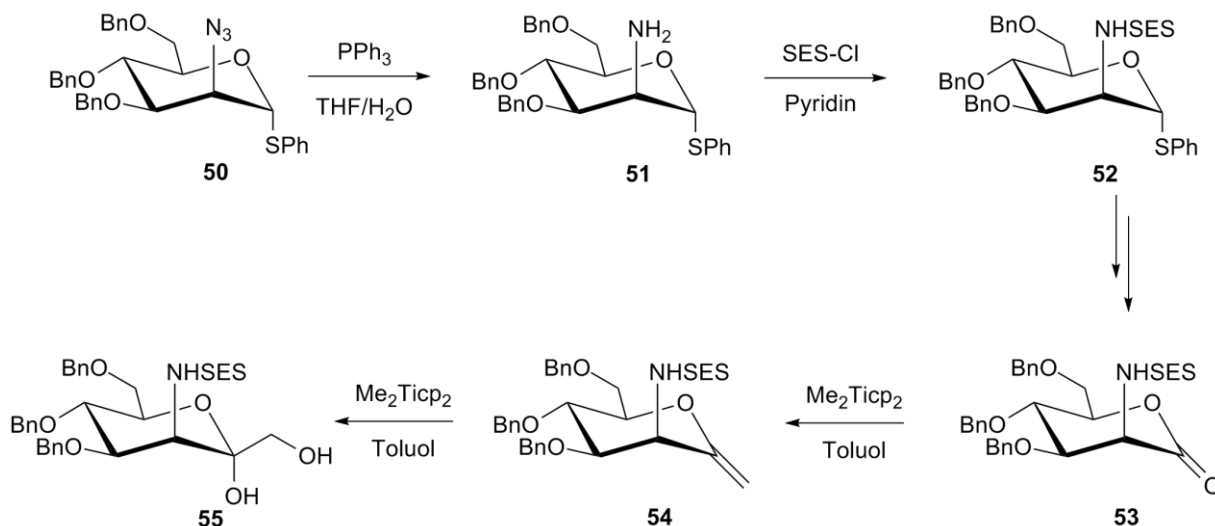


Abbildung 29. Darstellung von SES-geschütztem Derivat **55** der 3-Amino-manno-heptulose.

Jedoch erwies sich auch hier die Methylierung mit dem Petasis-Reagenz als schwierig. Es konnte zwar das Exoglycal **54** in 13% Ausbeute isoliert werden, aber es ist davon auszugehen, dass auch hier eine Reaktion zwischen dem Sulfonamid und dem Titan-Komplex stattgefunden hat. Dennoch konnte eine anschließende Bishydroxylierung<sup>[25,63–65]</sup> durchgeführt werden, bei der in mäßiger Ausbeute von 24% erstmals das Derivat **55** der 3-Amino-manno-heptulose synthetisiert werden konnte.

Da durch diese Versuche die Einführung der Aminogruppe vor der Kettenverlängerung als wenig effektiv erschien, wurde der Versuch unternommen, die Aminogruppe erst nach der Kettenverlängerung mit dem Petasis-Reagenz einzuführen. Dies bedeutet allerdings eine aufwendigere Schutzgruppenchemie und damit verbunden mehr Syntheseschritte, um die Position C-3 nach der Kettenverlängerung und Bishydroxylierung selektiv funktionalisieren zu können.

In einem ersten Schritt musste deshalb zunächst eine geeignete Schutzgruppenchemie für die selektive Schützung an C-2 des Ausgangsmaterials D-Glucose gefunden werden. Dazu wurde Glucose peracetyliert und anschließend mit Bromwasserstoff in Eisessig das Bromid **56** erzeugt. Nach Umsetzung mit Methanol und Tetrabutylammoniumbromid in Acetonitril wurde der Orthoester **57** erhalten. Dieser wurde dann durch Deacetylierung und anschließende Benzylierung einem Schutzgruppenaustausch zum Derivat **58** unterzogen (Abb. 30).

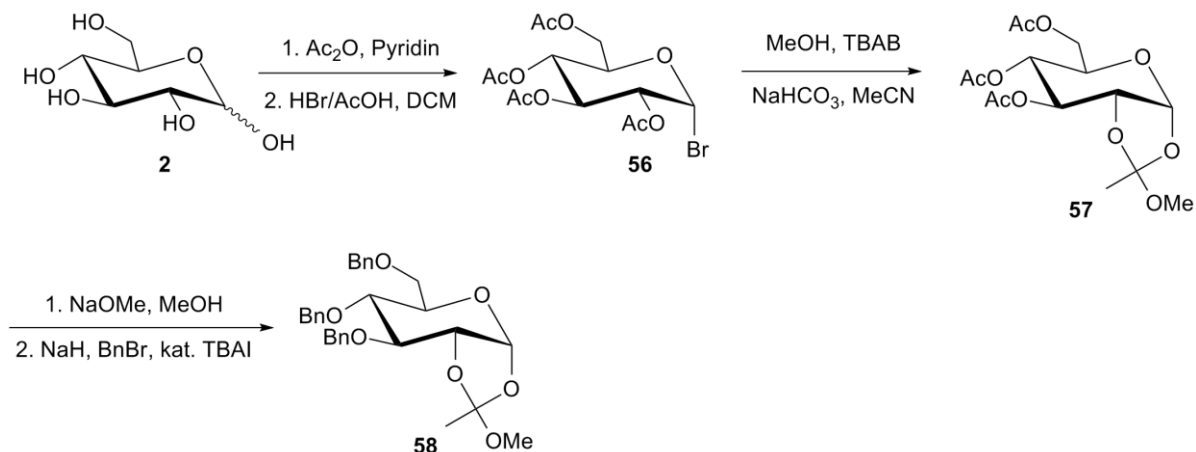


Abbildung 30. Synthese des benzylgeschützten Orthoesters 58.

Die Öffnung des Orthoesters mit Essigsäure sollte eine Möglichkeit bieten C-2 als freie Hydroxygruppe zu erhalten und gleichzeitig am freien anomeren Kohlenstoff die sich anschließende Oxidation durchführen zu können. Zwar wurde auch die 3,4,6-Tri-O-benzyl-glucose **60** erhalten, jedoch ließ sich damit keine Swern-ähnliche Oxidation mit DMSO und Essigsäureanhydrid durchführen. In einem zweiten Versuch konnte der Orthoester auch in einem Essigsäure/Wasser-Gemisch gespalten werden. Vorteil war hier die gleichzeitige Acetylierung an C-2, so dass nur die freie anomere Hydroxygruppe für die Oxidation zur Verfügung stand. So ließ sich das Lacton **61** mit der selektiv geschützten C-2 Position in guten Ausbeuten darstellen (Abb.31).

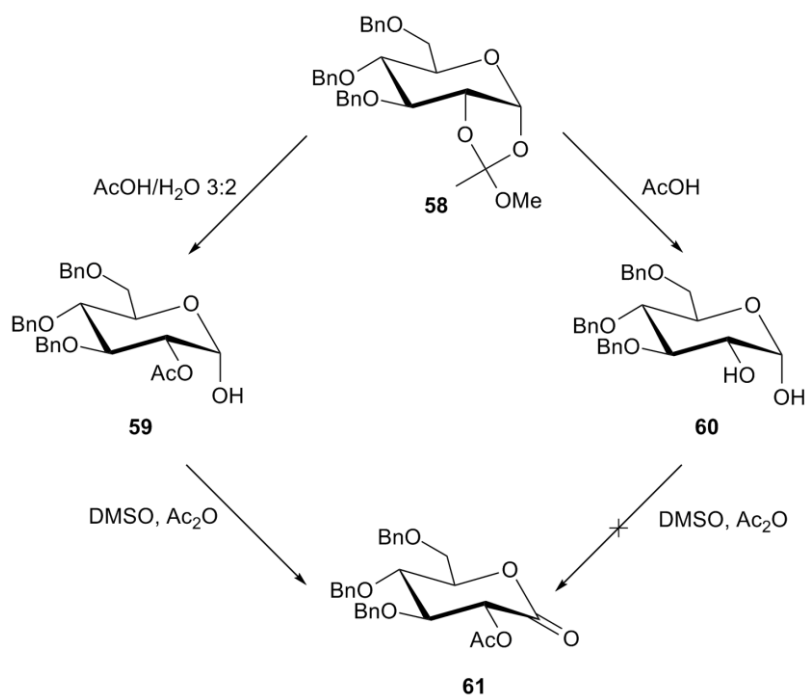


Abbildung 31. Abspaltung des Orthoesters und Oxidation zum Lacton 61.

Das Lacton **61** konnte dann wie gewohnt mit dem Petasis-Reagenz in Toluol mit einer Ausbeute von 35% zum Exoglucal **62** umgesetzt werden. Im Anschluss wurde die Bishydroxylierung mit gleichzeitiger Deacetylierung durchgeführt und 4,5,7-Tri-O-benzyl-D-*gluco*-heptulose **63** in guten Ausbeuten erhalten (Abb. 32)

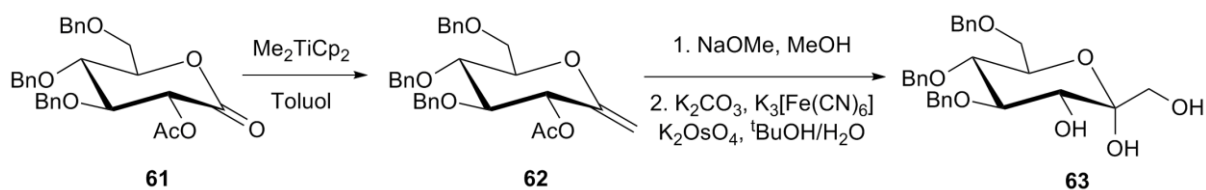


Abbildung 32. Darstellung des *gluco*-Heptulose-Derivats **63**.

Die freien Hydroxygruppen an C1 und C-2 wurden für die Einführung des Amins als 1,2-Isopropyliden-Derivat **64** geschützt und an Position C-3 ein Triflat eingeführt. Bei dessen Umsetzung mit Tetrabutylammoniumazid bildet sich unter Konfigurationsumkehr das Azid **65** (Abb.33).

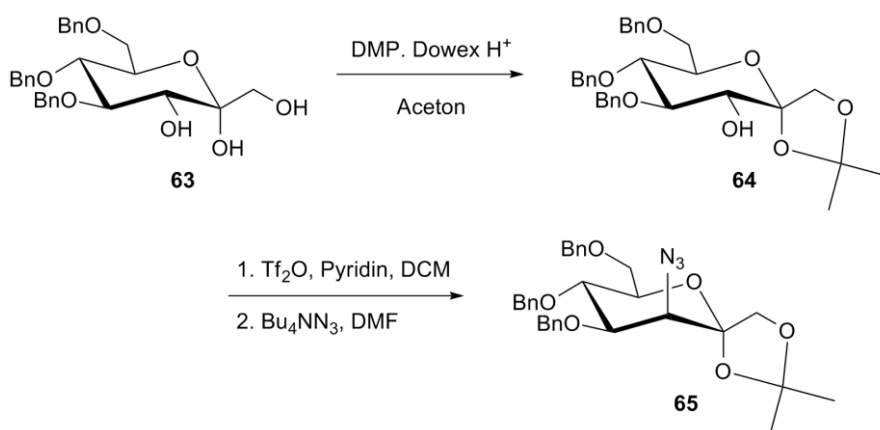


Abbildung 33. Darstellung der Azido-*manno*-heptulose **65**.

In einem letzten Schritt wurde das Azid selektiv mit Palladium/Kohle und Wasserstoff in Pyridin zum 3-Aminoderivat **66** der *manno*-Heptulose hydriert (Abb.34).

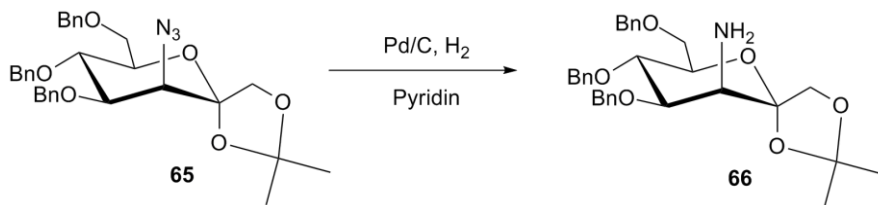


Abbildung 34. Reduktion des Azids **65** zum 3-Aminoderivat **66** der *manno*-Heptulose.

Darüber hinaus wurde das Amino-Derivat **66** anschließend an der Aminofunktion mit einem dem STZ ähnlichen Linker (**67**) gekoppelt, um es auch in der molekularen Bildgebung einsetzen zu können. An diesen Linker könnten für nachfolgende Untersuchungen detektierbare Marker, wie Farbstoffe oder Quantendots gekoppelt werden. Der Linker wurde ausgehend von **67** mit *N,N'*-Disuccinimidylcarbonat (DSC) in den aktiven NHS-Ester **68** überführt (Abb. 35).

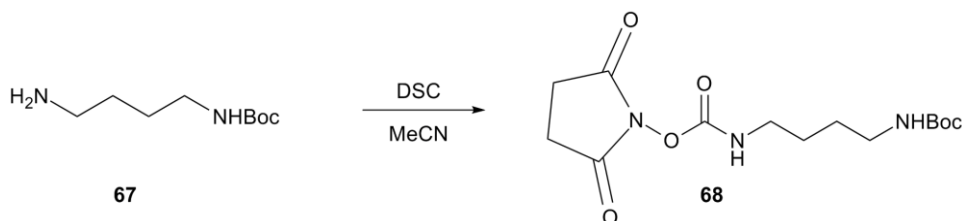


Abbildung 35. Darstellung des NHS-Esters **68**.

Die Kopplung wurde in Acetonitril mit einer Ausbeute von 74% durchgeführt. Die so erhaltene Verbindung **69** wurde anschließend durch Hydrierung der Benzylether zu **70** umgesetzt (Abb. 36).

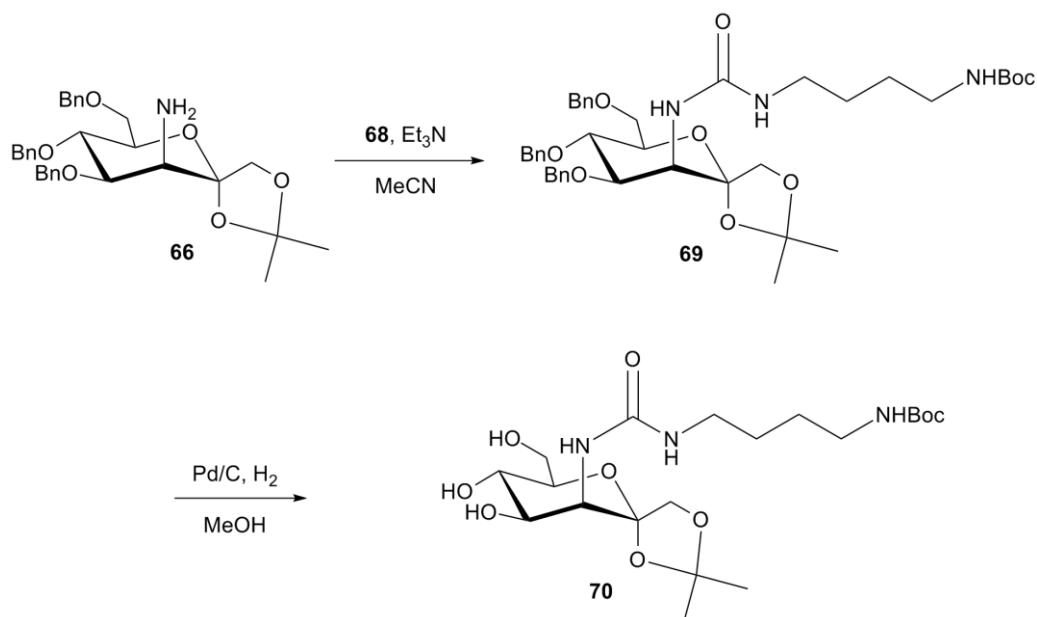


Abbildung 36. Darstellung des STZ-Derivates 70 der 3-Amino-manno-heptulose 66.

## 4.2. Farbstoffkopplung

Wie bereits erwähnt, ist es gelungen,  $\beta$ -Zellen *in vitro* mit fluoreszenzmarkierten Analoga des STZ zu markieren (s. Abschnitt 2.3.). Da STZ ein Substrat des GLUT2 darstellt, können auch davon abgeleitete Derivate durch diesen Transporter in  $\beta$ -Zellen aufgenommen werden. Daher war es von Interesse, ob auch entsprechend fluoreszenzmarkierte Derivate der Ketoheptosen eine Visualisierung von  $\beta$ -Zellen erlauben.

Zur Darstellung dieses Derivats wurde 4-Azidobutanol (**73**) als Spacer verwendet. Dieser ließ sich in drei Schritten ausgehend von Tetrahydrofuran in einer Gesamtausbeute von 36 % darstellen (Abb. 37).

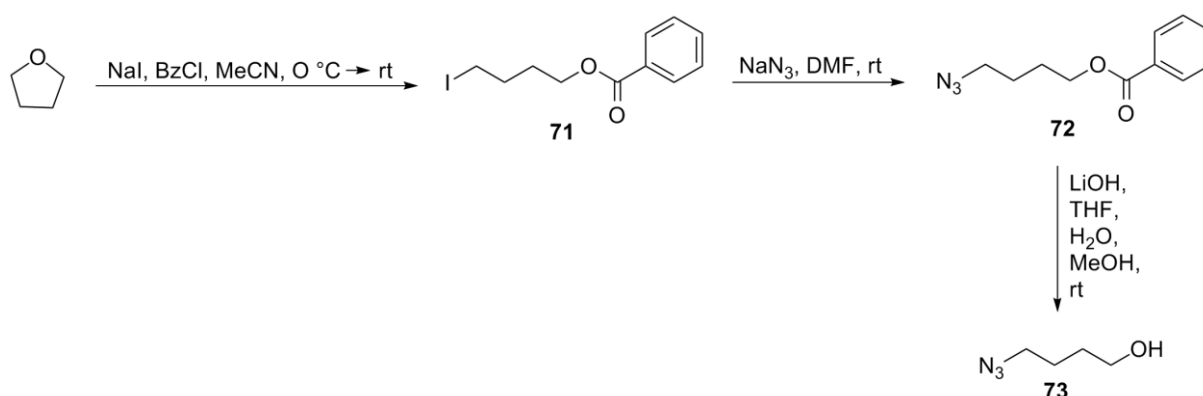
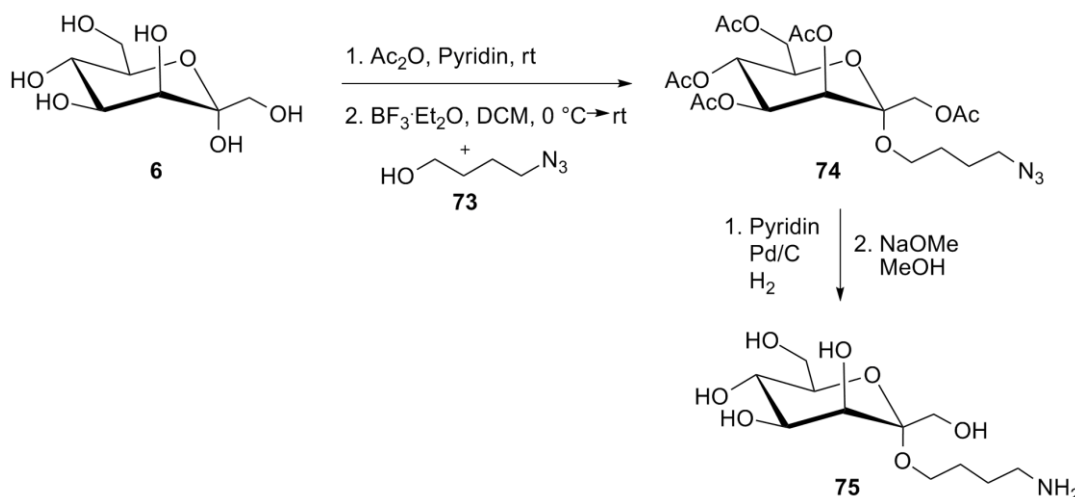


Abbildung 37. Darstellung des Azid-Spacers 4-Azidobutanol (73).

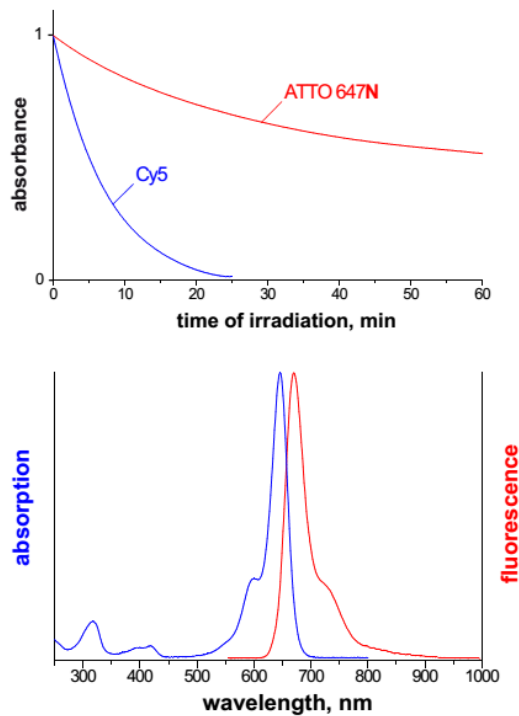
Das zur Kopplung mit dem Farbstoff benötigte Heptulosid **75** wurde ausgehend von D-*manno*-Heptulose (**6**) in drei Schritten synthetisiert. Nach der Peracetylierung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin erfolgte die Lewis-saure Glycosylierung mit Bortrifluorid-diethyletherat und dem 4-Azidobutanol (**73**). Anschließend erfolgte durch Hydrierung mit Palladium/Kohle unter Wasserstoffatmosphäre in Pyridin die Reduktion des Azids zum Amin und gleichzeitig die Abspaltung der Acetylschutzgruppen (Abb. 38).

Abbildung 38. Darstellung des *manno*-Heptulosids **75**.

Dieses freie Aminoderivat **75** der *manno*-Heptulose konnte dann mit einem Fluoreszenzfarbstoff **72** gekoppelt werden. Dieser Farbstoff wird kommerziell von der Firma ATTO-TEC GmbH unter dem Namen ATTO 647N vertrieben und unter anderem in Form eines NHS-Esters (**76**) geliefert.<sup>[66]</sup> Diese reaktive Form kann dann mit Aminen in einer



Kopplungsreaktion reagieren, womit z.B. auch Proteine fluoreszenzmarkiert werden können. Der Farbstoff absorbiert im roten Bereich ( $\lambda_{\text{abs}} = 644 \text{ nm}$ ) und die Emissionswellenlänge liegt bei  $\lambda_{\text{fl}} = 669 \text{ nm}$  (Abb. 39).<sup>[66]</sup>



**Abbildung 39. Vergleich der Stabilität von Cy5 mit ATTO 647N (oben) und Absorptions- und Emissionspektrum von ATTO 647N (unten).<sup>[66]</sup>**

Der NHS-Ester des Farbstoffs wurde daher mit dem Heptulosid **75** gekoppelt. Dazu wurde ein Überschuss an **75** in DMSO gelöst und mit dem Farbstoff versetzt (Abb.40). Aufgrund der Photolabilität des Farbstoffes mussten sowohl die Reaktion als auch die Aufarbeitung und Reinigung unter Lichtausschluss durchgeführt werden.

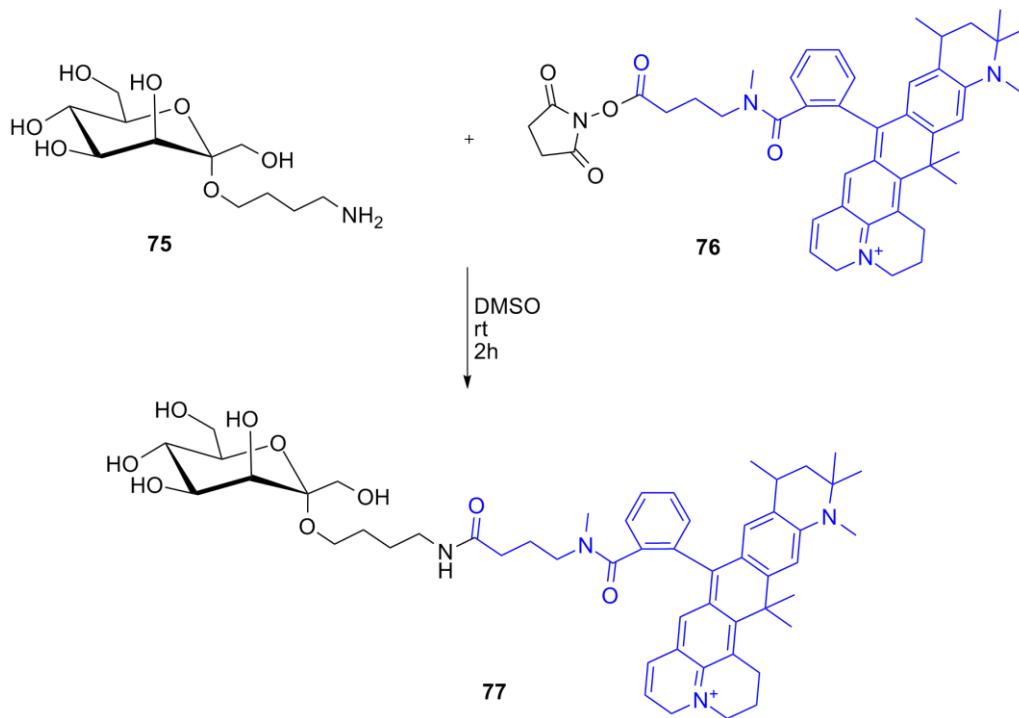


Abbildung 40. Darstellung des Attoheptulosids 77. (Blau = ATTO 647N)

Das markierte Heptulosid **77** wurde am Karolinska Institut in Stockholm in der Gruppe von Prof. Dr. Per-Olof Berggren von Dr. Erwin Ilegems auf die Visualisierung von  $\beta$ -Zellen untersucht. Zunächst wurden Inselzellen von Mäusen *in vitro* mit verschiedenen Konzentrationen des Heptulosids behandelt. In Abb. 39 sind die markierten Zellen unter einem Mikroskop zu sehen. Des Weiteren ist zu erkennen, dass bereits geringe Konzentrationen von 50  $\mu\text{M}$  ausreichen, um die  $\beta$ -Zellen sichtbar zu machen.<sup>[67]</sup>

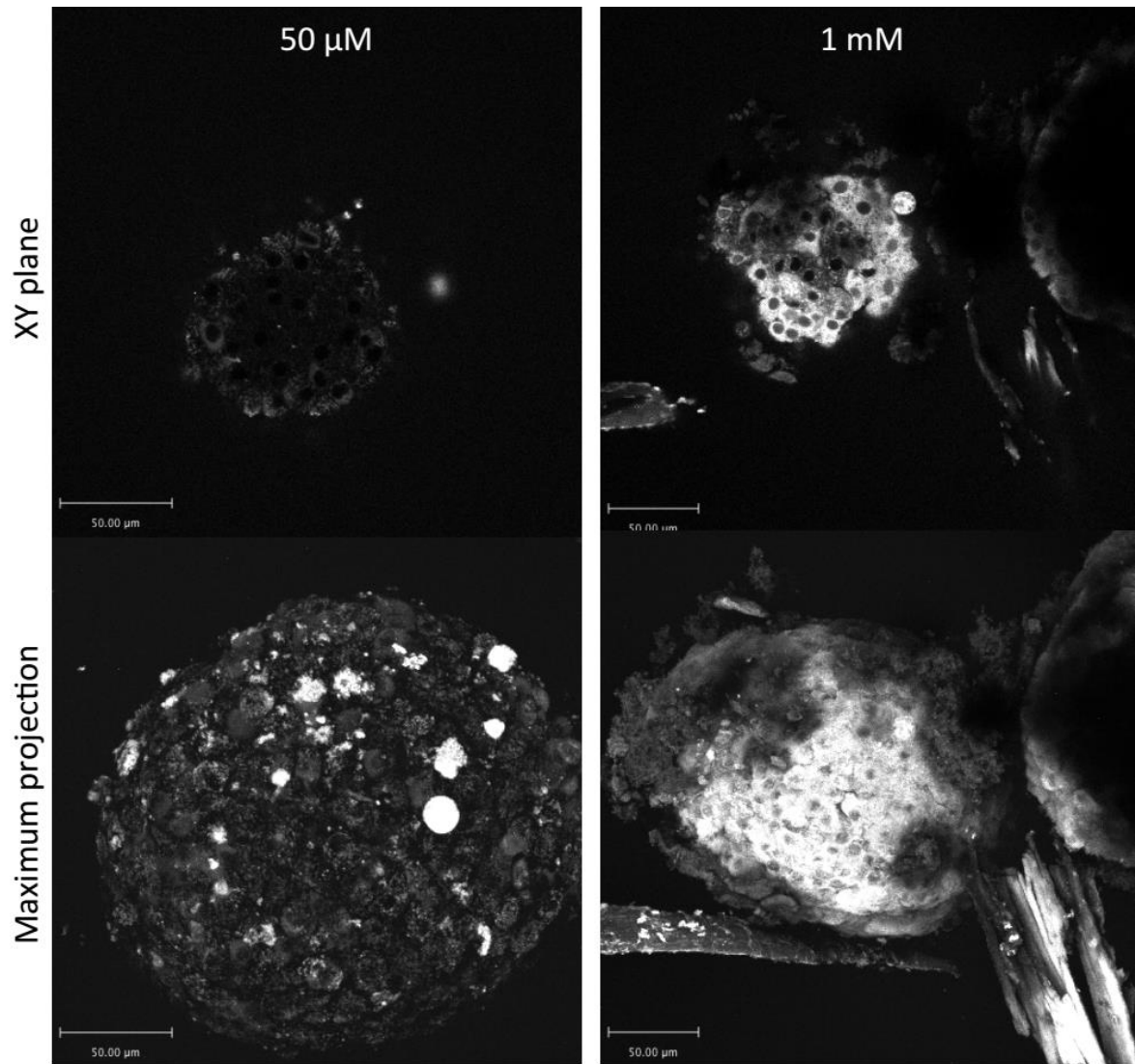
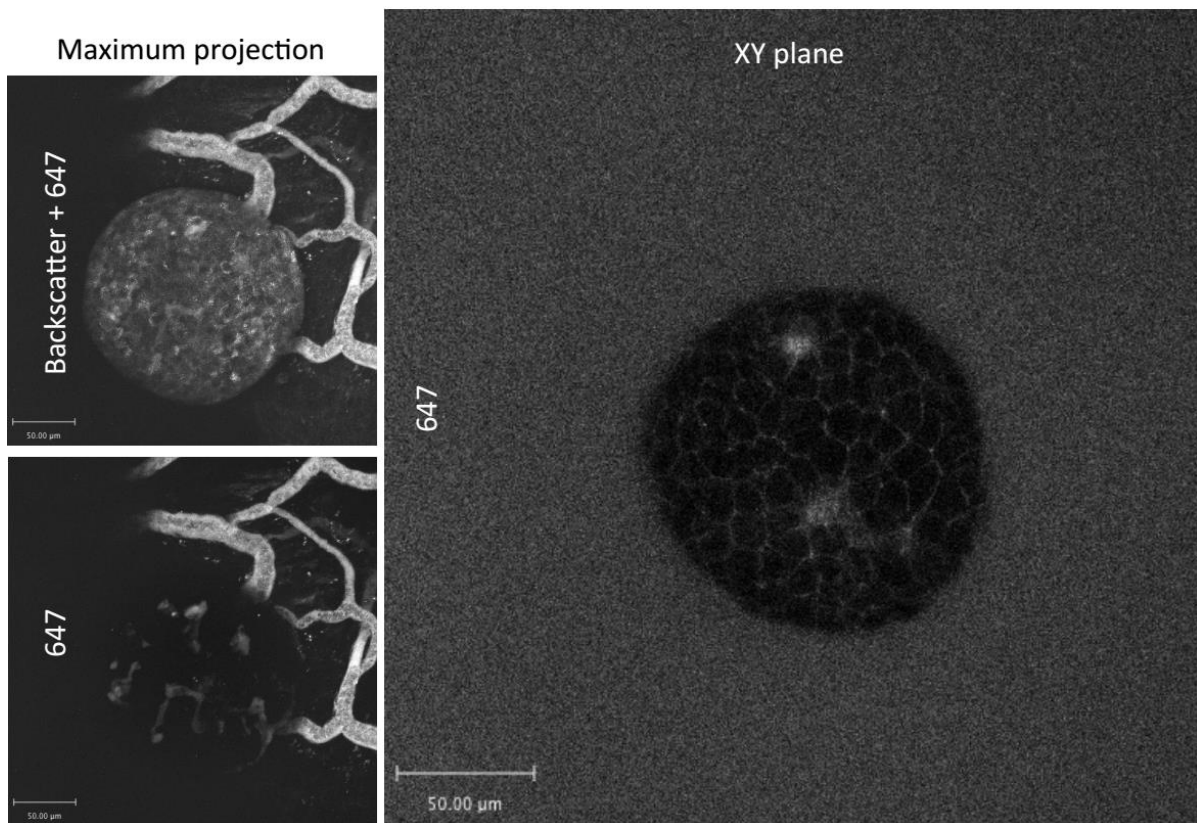


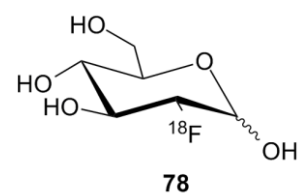
Abbildung 41. *in vitro* mit 77 markierte Inselzellen der Mäuse.

Anschließend wurden *in vivo*-Tests durchgeführt. Auch hier konnten erfolgreich  $\beta$ -Zellen in Mäusen visualisiert werden (Abb. 41/42.), wobei deutliche, sehr vielversprechende Signale zu erkennen sind.<sup>[67]</sup>

Abbildung 42. *in vivo* mit 73 visualisierte Inselzellen in Mäusen.

### 4.3. Synthese von 3-Fluor-manno-heptulose

Neben den Aminoderivaten der Ketoheptosen, spielen auch die Fluor-Derivate eine wichtige Rolle in der medizinischen Forschung und Diagnostik. In der Krebsdiagnostik wird als wichtigster Tracer  $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$  (2-Desoxy-2- $[^{18}\text{F}]$ -fluor-D-glucose) (**78**) (Abb. 43) in der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) eingesetzt. Dieser Tracer wurde erstmals 1977 von Ido et al.<sup>[68]</sup> synthetisiert und wird wegen seiner Ähnlichkeit zu Glucose wie dieses von den Zellen aufgenommen. Auch die Phosphorylierung durch Hexokinasen findet statt, jedoch erfolgt keine Metabolisierung wie bei wie Glucose, wodurch sich  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  (**78**) im Gewebe anreichert.<sup>[69]</sup> Durch den hohen Energiebedarf von Tumorzellen haben diese einen erhöhten Energiebedarf und nehmen mehr Glucose bzw. den Tracer auf und erlauben so die Visualisierung im PET.<sup>[70]</sup>

Abbildung 43. Struktur von  $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  (**74**).

Aber auch im MRT lassen sich Fluoratome detektieren. Normalerweise können im MRT Veränderungen des Wassergehaltes im Organismus von gesundem und erkranktem Gewebe durch den  $^1\text{H}$ -Kern detektiert werden. Aufgrund der Tatsache, dass  $^{19}\text{F}$  im Organismus kaum natürlich vorkommt und es eine natürliche Häufigkeit von 100% hat, kann es auch im MRT mit hoher Empfindlichkeit detektiert werden. So können fluorierte Substanzen wie beispielsweise 3-Fluor-*manno*-heptulose (**84**) im tierischen und menschlichen Organismus verfolgt werden.

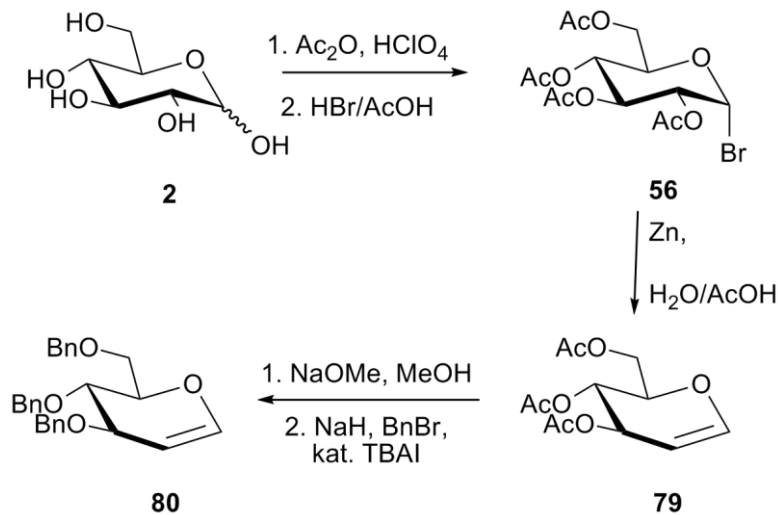


Abbildung 44. Darstellung des Glucals **80** aus Glucose (**2**).

Die Synthese dieser Substanz geht aus von Glucose (**2**), die nach Peracetylierung zum Glycosylbromid **56** umgesetzt wird. Daraus wird das Glucal **79** durch reduktive Eliminierung mit Zink in Essigsäure erhalten. Nach dem Schutzgruppentausch durch Deacetylierung mit anschließender Benzylierung wurde das Glucal **80** gewonnen (Abb.44).

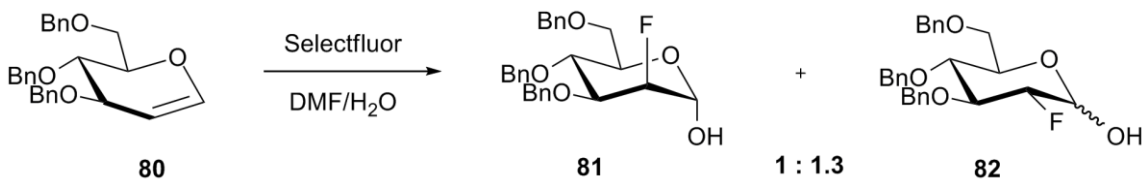


Abbildung 45. Fluorierung des Glucals **80** mit Selectfluor.

Dieses Glucal **80** konnte nun mit Selectfluor zu den Epimeren 2-Desoxy-2-fluor-3,4,6-tri-O-benzyl- $\alpha$ -D-mannopyranose (**81**) und -D-glucopyranose (**82**) fluoriert werden, die säulenchromatographisch getrennt werden konnten (Abb.45).

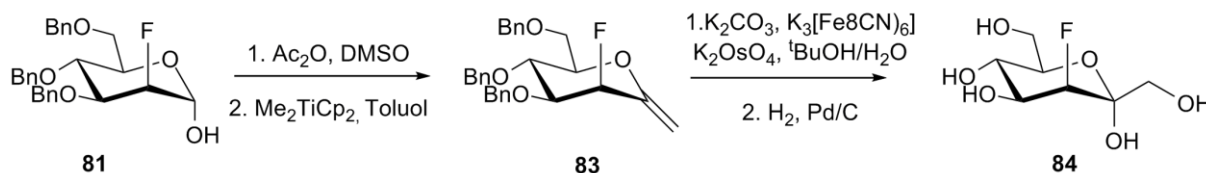


Abbildung 46. Darstellung von 3-Fluor-manno-heptulose (**84**).

Mit der Mannopyranose **81** konnte nun die Oxidation und anschließende Methylenierung zum Exoglycal **83** erfolgreich durchgeführt werden. Die Bishydroxylierung nach Sharpless verlief ebenso erfolgreich wie die Spaltung der Benzylether zum gewünschten Produkt 3-Desoxy-3-fluor-D-manno-heptulose (**84**) (Abb.46).

Das Produkt wurde dem Kooperationspartner für biologische Untersuchungen, deren Ergebnisse noch ausstehen, zur Verfügung gestellt.

#### 4.4. Synthese von Tosyl-manno-heptulose

Eine weitere Möglichkeit zur Darstellung von Fluor-Derivaten der Ketoheptosen besteht in der Substitution einer Tosyl-Gruppe. Dieser Weg ist dann relevant, wenn die Tosyl-Gruppe durch radioaktives [ $^{18}\text{F}$ ] substituiert werden soll, um z.B. als PET-Tracer eingesetzt zu werden.

Für die Darstellung der Tosylderivate wurde zunächst *manno*-Heptulose (**6**) in sieben Schritten aus Mannose (**2**) in guter Ausbeute synthetisiert (Abb.47).

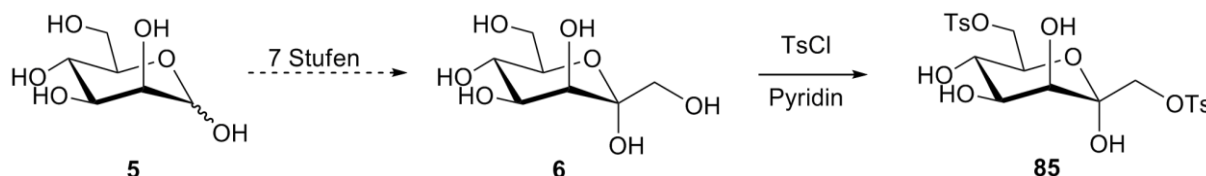
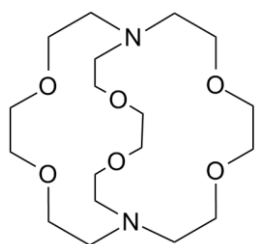


Abbildung 47. Darstellung der tosylierten *manno*-Heptulose **85** aus Mannose (**5**) über *manno*-Heptulose (**6**).

Die Substitution der Tosylgruppen durch [ $^{18}\text{F}$ ] sollte unter Verwendung eines Kryptanden vorgenommen werden. Kryptanden sind polycyclische multidentate



86

Abbildung 48. Struktur von Kryptofix 2.2.2 (86).

Liganden, die verschiedene Kationen binden können.<sup>[71]</sup> Sie sind mit Kronenethern vergleichbar, weisen jedoch eine bessere Selektivität und Bindungsstärke gegenüber den jeweiligen Kationen auf.<sup>[72]</sup> Kommerziell sind Kryptanden unter dem Namen Kryptofix erhältlich. In diesem Fall wurde Kryptofix 2.2.2 (**86**, 1,10-Diaza-4,7,13,16,21,24-hexaoxabicyclo[8.8.8]hexacosan) verwendet (Abb.48). Die Reaktion sollte mit einer [ $^{18}\text{F}$ ]-Quelle, Kaliumcarbonat und Kryptofix 2.2.2 in Acetonitril stattfinden (Abb. 49).

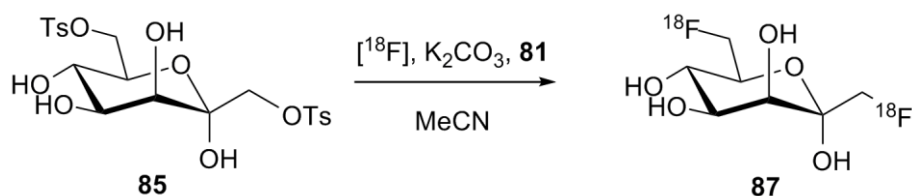


Abbildung 49. Mögliche radioaktive Markierung von *manno*-Heptulose durch Substitution der Tosylgruppen mit [ $^{18}\text{F}$ ].

Dieses sollte im Vorfeld auch einmal mit der „kalten“ Substanz, also [ $^{19}\text{F}$ ] durchgeführt werden, um die Machbarkeit zu beweisen und die angegebenen Bedingungen zu überprüfen. Natürlich können die Bedingungen nicht exakt nachempfunden werden, da weder mit radioaktiven Materialien gearbeitet wurde, noch dieses erst unmittelbar vor der Reaktion erzeugt werden musste, sondern als Fluorquelle normales Kaliumfluorid eingesetzt werden konnte (Abb.50).

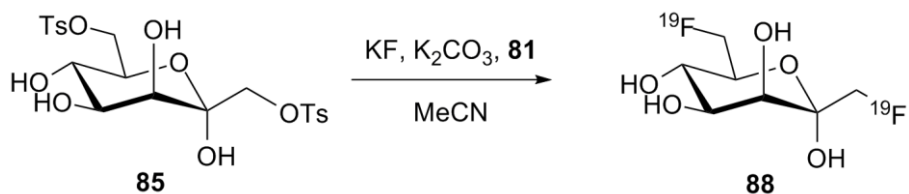


Abbildung 50. „Kalte“ Fluorierung von 85.

So konnte in einem Vorversuch die Umsetzung von **85** mit Kaliumfluorid und Kryptofix 2.2.2 erfolgreich bewiesen werden (Abb. 50). Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch überwacht, und nach bereits 10 Minuten konnte ein vollständiger Umsatz beobachtet werden.

Leider liegen bis zum jetzigen Zeitpunkt keine Ergebnisse über eine Umsetzung mit der „heißen“ Substanz vom Kooperationspartner vor.

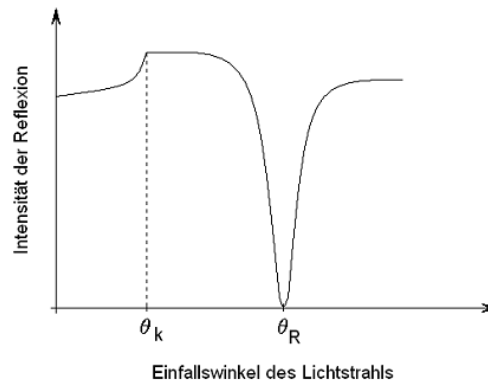
## **4.5. SPR-Messungen von glycofunktionalisierten Nanopartikeln**

### **4.5.1. Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie**

Die Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie (SPR, *surface plasmon resonance spectroscopy*) ist eine optische Methode, welche Bindungsstudien in einem fließenden System unter Echtzeitverfolgung ermöglicht. Dabei werden die Adsorptionsvorgänge an Metalloberflächen beobachtet. Das dieser Technik zugrunde liegende physikalische Prinzip wurde erstmals 1959 von Turbadar<sup>[73]</sup> beschrieben und von Otto<sup>[74,75]</sup> und Kretschmann<sup>[76]</sup> später weiterentwickelt, bis Anfang der 1990er von der schwedische Firma *BIACORE* daraus ein kommerzielles System zur Messung von biologischen Erkennungsprozessen entwickelt wurde.<sup>[77]</sup>

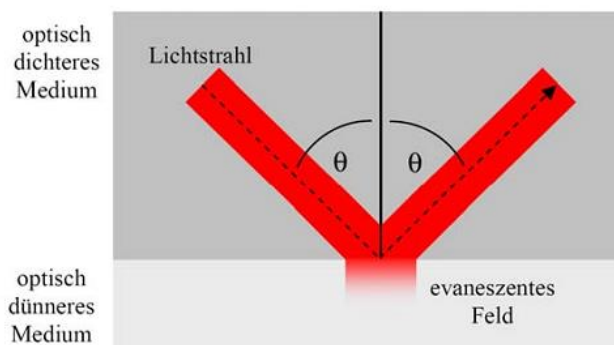
Das Prinzip beruht auf der Totalreflexion beim Übergang von Licht aus einem optisch dichteren Medium (z.B. Glas) in ein optisch dünneres Medium (z.B. Wasser) oberhalb eines kritischen Winkels  $\theta_K$ . Die Einfallintensität entspricht hierbei der Austrittintensität. Außerdem wird durch diese elektromagnetische Welle im optisch dünneren Medium ein evaneszentes elektrisches Feld erzeugt. Ist das optisch dichtere Medium, in diesem Fall Glas, jedoch mit einer Schicht eines Edelmetalls überzogen, werden sogenannte Oberflächenplasma-Schwingungen angeregt. Dies sind Schwingungen der Elektronen elektrischer Leiter um die positiv geladenen Atomrümpfe an der Oberfläche des Metalls. Die für die SPR Messungen relevanten Oberflächenplasmonen sind die Quanten dieser Oberflächenplasma-Schwingungen. Zwischen den Oberflächenplasma-Schwingungen und dem evaneszenten elektrischen Feld des totalreflektierten Lichts tritt Interferenz auf. Aufgrund dieser Interferenz erfolgt eine Abschwächung der Reflexion. Beim Resonanzwinkel  $\theta_R$  ist die Reflexion am geringsten (Abb. 51).<sup>[78]</sup>





**Abbildung 51. Reflexionskurve des Lichts. Ab dem kritischen Winkel  $\theta_k$  tritt Totalreflexion auf. Bei dem Resonanzwinkel  $\theta_R$  ist die Resonanz am größten.**

Das evaneszente elektrische Feld reicht nun in das optisch dünnere Medium hinein (Abb. 52). Die Eindringtiefe ist sowohl abhängig von der Wellenlänge und dem Einfallswinkel des Lichts als auch von den Brechungsindices der Medien. Also wird der Resonanzwinkel  $\theta_R$  bei gleichbleibendem Brechungsindex nur von Veränderungen an der Oberfläche des metallischen Mediums beeinflusst.<sup>[78]</sup>



**Abbildung 52. Evaneszentes elektrisches Feld.**

In dem von BIACORE kommerziell erhältlichen System wird dieses Prinzip genutzt um SPR-Messungen von biologischen Zusammenhängen durchzuführen. Dafür werden Sensorchips verwendet, die aus einem Glaträger bestehen und mit einer 50 nm dünnen Goldschicht überzogen sind. Diese Goldschicht wiederum ist über Thiolanker mit einer mit geeigneten funktionellen Gruppen terminierten Matrix beschichtet.<sup>[79]</sup> Die Immobilisierung des zu untersuchenden Liganden erfolgt über verschiedene chemische Methoden, z.B. die Aktivierung von Carboxylgruppen als NHS-Ester, auf der funktionalisierten Matrix. Kommerziell erhältlich sind neben den Carboxy-terminierten Matrices (CM3 – CM5;

Immobilisierung von Aminen) auch mit Streptavidin (SA; Biotin-Affinitätsimmobilisierung), Nitrilotriessigsäure (NTA; Zn<sup>2+</sup>-Polyhistidin-(His-Tag)-Immobilisierung) und mit langkettigen Alkylthiolen (HPA; Lipophile Einbettungsimmobilisierung) terminierte Matrices, sowie unbeschichtete Goldoberflächen.<sup>[80]</sup>

Eine Pufferlösung des Analyten, das optisch dünnere Medium, wird in einer Flusszelle über den Sensorchip geleitet und mit einer unbelegten Referenzzelle verglichen. Dabei werden die Messungen mit Unterstützung durch eine Software automatisch gesteuert und durchgeführt und am Ende ein Differenz-Sensorgramm erhalten (Abb. 53). In der Flusszelle wird das Licht einer LED mit der Wellenlänge 800 nm auf der Sensoroberfläche totalreflektiert und die Eindringtiefe des evaneszenten elektrischen Feldes beträgt etwa 150 nm.<sup>[81]</sup>

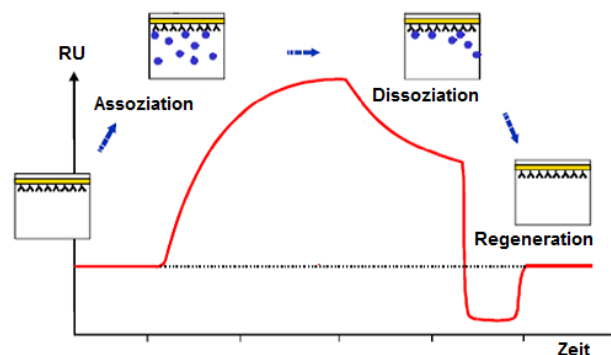


Abbildung 53. Typischer Verlauf einer SPR-Messung.

Durch Bindung des durchfließenden Analyten auf der Sensoroberfläche (Assoziation) ändert sich der Brechungsindex, was zur Folge hat, dass sich der Resonanzwinkel  $\theta_R$  verschiebt. Diese Änderung wird detektiert und in RU (*response units*) aufgezeichnet. Eine Verschiebung des Resonanzwinkels  $\theta_R$  um 1° entspricht 10 000 RU.<sup>[82]</sup> Nach dem Erreichen eines Gleichgewichts von Assoziation und Dissoziation wird die Flusszelle zur vollständigen Dissoziation mit einem Puffer gespült und zur Regeneration gewaschen (Abb. 53).

Zu den großen Vorteilen dieser Methode zählt, dass selbst schwache Wechselwirkungen ( $K_D > 0.1$  mM) gemessen werden können.<sup>[83]</sup> Dadurch ist es möglich Kohlenhydrat-Wechselwirkungen sowohl mit Proteinen als auch mit Lectinen zu untersuchen.<sup>[84]</sup>

#### 4.5.2. Concanavalin A

Concanavalin A (Con A) gehört zur Gruppe der Lectine. Dies sind Kohlenhydrat-bindende Proteine, die aber keine Enzyme oder Antikörper sind. Lectine kommen in den meisten Organismen vor und übernehmen verschiedene biologische Aufgaben.

Con A ist ein aus der Jack-Bohne (Schwertbohne, *Canavalia ensiformis*) stammendes hämaglutinierendes Lectin. Es ist das erste in reiner Form isolierte Lectin überhaupt (1919, Sumner).<sup>[85]</sup> Sumner konnte auch 1936 die Kristallisation durchführen und die Kohlenhydratspezifität belegen.<sup>[86]</sup> Außerdem wurde die gesamte dreidimensionale Struktur von Con A durch Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt (Abb. 54).<sup>[87,88]</sup>



Abbildung 54. Kristallstruktur von Con A.

Die höchste Affinität weist Con A zu D-Mannose und dessen  $\alpha$ -Glycosiden auf, wobei die Affinität am höchsten ist, wenn sich der Mannose-Rest in Oligo- und Polysacchariden am nicht reduzierenden Ende befindet. Aber auch innere Mannoseeinheiten werden von Con A erkannt. Mit geringerer Affinität werden auch terminale D-Glucose und D-N-Acetylglucosamin-Reste gebunden.<sup>[89]</sup> Die Struktur und das Gesamtgewicht von Con A sind abhängig vom pH-Wert. So liegt es bei einem neutralen pH-Wert als tetraedrisches Tetramer, bestehend aus vier nicht kovalent gebundenen Untereinheiten, vor. Das Tetramer hat einen ungefähren Durchmesser von 8 nm und eine Entfernung der Bindungsstellen von ungefähr 6.5 nm.<sup>[90,91]</sup> Bei saurem pH unter 5.6 erfolgt eine Dissoziation zum Dimer.<sup>[90]</sup> Jede Untereinheit hat eine Masse von 26.5 kDa und eine Kohlenhydratbindungsstelle, die jeweils noch ein  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{Mn}^{2+}$ -Ion besitzen. Con A ist also ein Metalloprotein und verliert bei Demetallierung seine Aktivität.<sup>[92]</sup>

#### **4.5.3. Synthese von Nanopartikeln**

Für die Synthese von Nanopartikeln gibt es grundsätzlich zwei etablierte Verfahren, *Bottom-up* und *Top-down*. Das *Bottom-up*-Verfahren bietet im Gegensatz zum *Top-down*-Verfahren eine bessere Kontrolle über Form und Größe der synthetisierten NPs. Bei diesem Verfahren bilden sich die Nanopartikel aus *precursor*-Verbindungen. Um eine möglichst monodisperse Größenverteilung der NPs zu erhalten, müssen Nukleations- und Wachstumsphase klar getrennt ablaufen. Diese Trennung wird durch die *hot-injection*-Methode nach Murray et al.<sup>[93]</sup> erreicht.

Die in diesen Messungen verwendeten Nanopartikel bestehen aus einem Cadmiumselenid-Kern mit zwei Schalen aus Cadmiumsulfid und Zinksulfid (CdSe/CdS/ZnS core/shell/shell). Die Partikel wurden nach dem *bottom-up* Verfahren nach Talapin et al. in einem Gemisch aus Hexadecylamin (HDA), Trioctylphosphinoxid (TOPO) und Trioctylphosphin (TOP) hergestellt.<sup>[94]</sup> Als *precursor*-Verbindungen wurden Cadmiumacetat, Schwefelwasserstoff, Trioctylphosphinselenid (TOPSe) und Zinkacetat verwendet. Durch die Synthese sind auf der Oberfläche der Partikel Phosphat-Liganden verankert, die gegen Polyisoprenketten ausgetauscht werden. Diese tragen als Ankergruppen drei Aminogruppen und dienen in der späteren Verkapselung zur Stabilisierung der NP durch radikalische Quervernetzung.

Die Partikel wurden von der *CAN GmbH* zur Verfügung gestellt.

#### **4.5.4. Funktionalisierung der Nanopartikel mit Kohlenhydraten**

Die Funktionalisierung der Nanopartikel mit Kohlenhydraten wurde nach dem *pre-assembly* Verfahren durchgeführt. Zunächst wird also das Polymer mit dem Zucker verknüpft, um dann mit dem funktionalisierten Polymer die QDs in Wasser zu verkapseln. Zur Verknüpfung des Zuckers mit dem Polymer wird die sogenannte Click-Chemie eingesetzt. Diese wurde 2001 gleichzeitig von Meldal et al.<sup>[95]</sup> und Sharpless et al.<sup>[96]</sup> begründet und dient der schnellen, zielgerichteten Synthese von Zielmolekülen aus kleineren Untereinheiten. Unter Click-Chemie sind viele Reaktionen zusammengefasst, die bestimmte Voraussetzungen, wie beispielsweise Stereospezifität und einfache Abtrennung der Nebenprodukte, erfüllen.

Zu diesen Reaktionen gehört auch die hier angewendete Kupfer-katalysierte Huisgen-Reaktion. Dabei werden Azide und Alkine in einer 1,3-dipolaren Cycloaddition zu Triazolen umgesetzt (Abb.55). Als 1,3-dipolare Verbindung kamen eine mit einer Azid-Funktion ausgestattete *manno*-Heptulose (**6**) und als Dipolarophil ein Polymer mit endständiger Alkinfunktion **89** zur Anwendung.

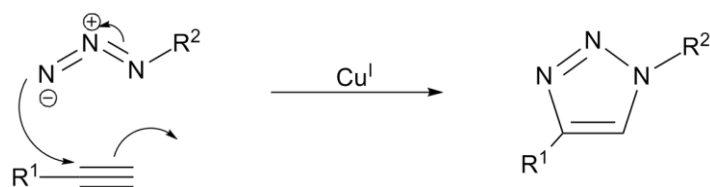


Abbildung 55. Mechanismus der Cu<sup>I</sup>-katalysierten Huisgen-Reaktion.

Als Polymer wurde ein Diblockcopolymer aus Polyisopren und Polyethylenoxid (PI-*b*-PEO) **89** verwendet (Abb. 56). Durch diese Zusammensetzung erhält es einen amphiphilen Charakter. In Wasser kommt es daher ab einer bestimmten Konzentration (*cmc*, *critical micelle concentration*) zu einer Mizellenbildung, indem die hydrophoben PI-Anteile von den hydrophilen PEO-Anteilen nach innen abgeschirmt werden. Die Polymere wurden von Johannes Ostermann aus dem Arbeitskreis Weller der Universität Hamburg zur Verfügung gestellt.

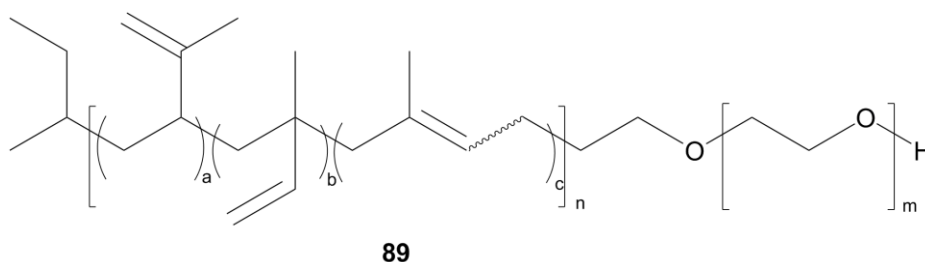


Abbildung 56. Struktur vom Poly(isopren-*block*-ethylenoxid) Diblockcopolymer (PI-*b*-PEG) **89**.

Die Darstellung des Polymers fand durch lebende anionische Polymerisation statt. Zum Kettenabbruch wurde Propargylbromid verwendet. Dies erlaubt die Einführung einer endständigen Alkinfunktion, welche für die anschließende Huisgen-Reaktion mit dem jeweiligen Azido-Zucker notwendig ist.

Für die Funktionalisierung wurden ein Derivat der *manno*-Heptulose (**74**) und ein STZ-Derivat (**90**) verwendet. (Abb. 57).

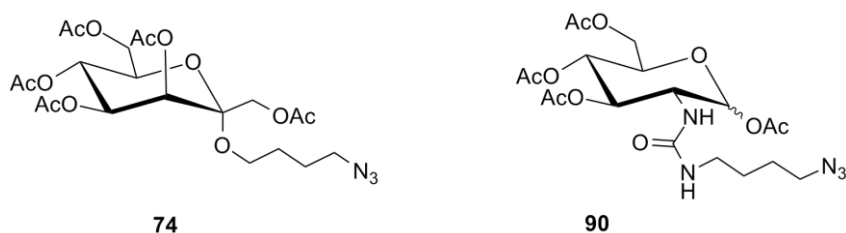


Abbildung 57. Zur Funktionalisierung der Nanopartikel genutzte Saccharide.

Das Heptulose-Derivat **74** wurde ausgehend von *D-manno*-Heptulose in zwei Schritten dargestellt (s. Abb. 38). Anschließend erfolgte die Kupfer-katalysierte Huisgen Reaktion mit dem Polymer **91** in Gegenwart von Kupfer(I)iodid und DABCO als Base in Chloroform. Das entstandene Produkt wurde dann noch durch Zemplén-Deacetylierung zu **92** entschützt (Abb. 58), und dieses zum NP **93** umgesetzt. Entsprechend erfolgte die Funktionalisierung mit dem STZ-Derivat **90** zum NP **94** (Abb. 59).

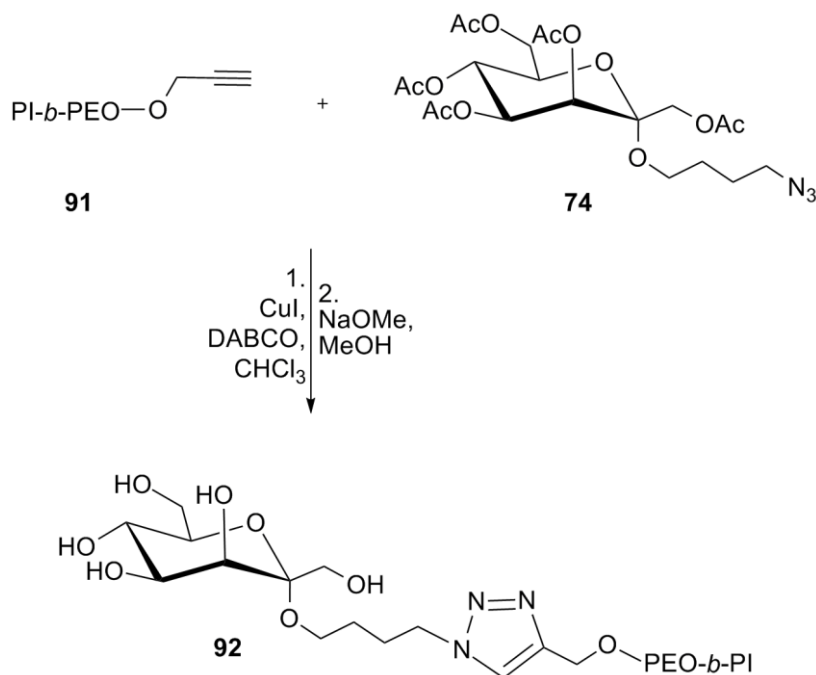


Abbildung 58. Kupplung des Heptulosids **74** mit dem Polymer **91** durch Kupfer-katalysierte Huisgen-Reaktion.

Für die Verkapselung der NPs mit dem funktionalisierten Polymer und Gewährleistung der Stabilität in Wasser wurden die Phosphat-Liganden auf den zuvor synthetisierten NPs

zunächst durch 2,2'-Diaminodiethylamin-*block*-polyisopren (PI-N<sub>3</sub>) ausgetauscht. Anschließend wurde das funktionalisierte Polymer zusammen mit den NPs und einem Radikalstarter (AIBN) in THF aufgenommen und mit Wasser gemischt. Durch die Überführung in Wasser bildet das Polymer eine mizellare Hülle um den NP. Zur Stabilisierung dieser Mizellen wurde abschließend noch durch AIBN eine Quervernetzung der PI-N<sub>3</sub>-Liganden eingeleitet. Die Funktionalisierungen und Verkapselungen, ebenso wie die anschließenden SPR-Messungen fanden in Zusammenarbeit mit Anna-M. Kreuziger aus dem Arbeitskreis Weller statt.

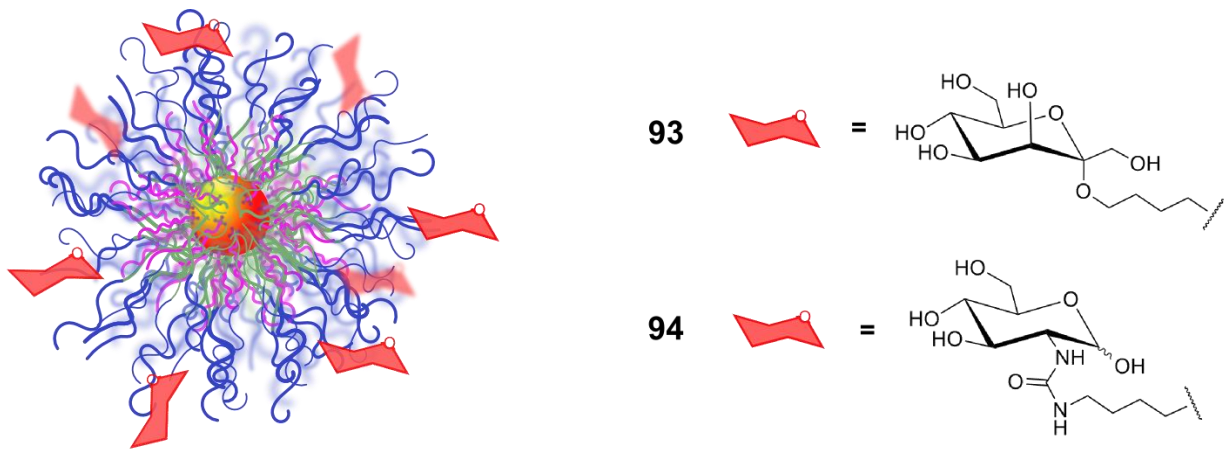


Abbildung 59. Glycofunktionalisierte Nanopartikel 93 und 94.

In Abb. 60 sind beispielhafte TEM-Aufnahmen der verkapselten CdSe/CdS/ZnS QDs zusehen, einmal ohne Funktionalisierung des Polymers (A) und einmal mit funktionalisiertem Polymer (B). In den Aufnahmen ist eine monodisperse Größenverteilung gut zu erkennen. Die verkapselten, funktionalisierten Konstrukte haben eine Masse von 800 – 1000 kDa.<sup>[48]</sup>

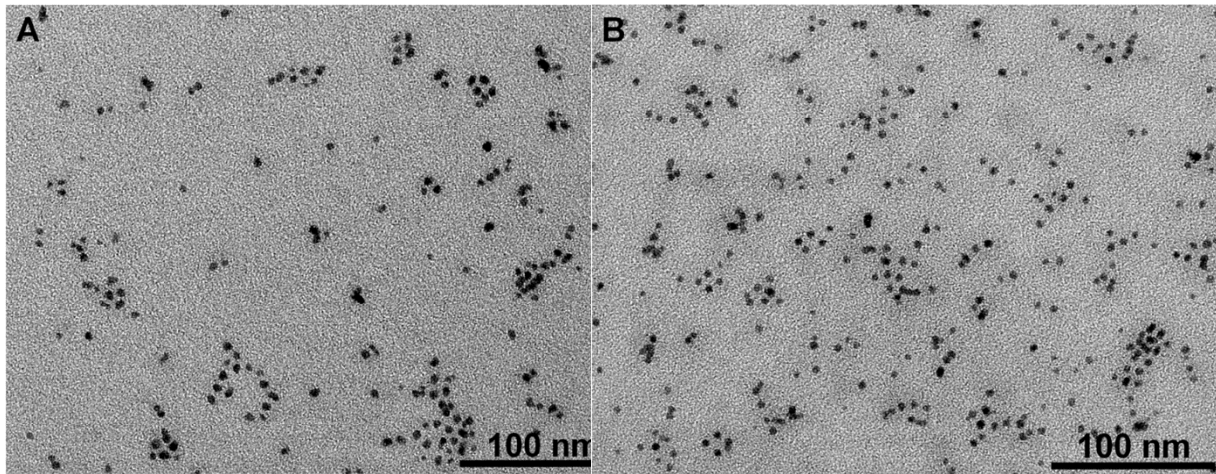


Abbildung 60. TEM-Bilder der mit PI-*b*-PEO (A) und mit einem Zucker(B) verkapselten CdSe/CdS/ZnS QDs.

#### 4.5.5. SPR-Messungen

Es wurde ein *Series S CM5 Sensorchip (carboxymethylated dextran matrix covalently attached to gold surface)* der Firma *GE Healthcare* verwendet. Als Bindungspartner wurde das Lectin Con A (Concanavalin A aus *Canavalia ensiformis*, Schwertbohne, Type VI, Lyophilisat) verwendet. Zur Pufferung wurde ein HEPES Puffer (pH 6.5) benutzt und vor jeder Benutzung filtriert (0.22  $\mu\text{m}$  PTFE Filter, Millipore) und entgast.

Immobilisierung:

Zur Immobilisierung des Lectins auf dem Sensorchip wurde zunächst der *sample channel* durch Injektion einer Lösung aus EDC und NHS (0.1/0.5 M, 198  $\mu\text{L}$ ) aktiviert. Anschließend wurde wiederholt Lectin-Lösung in HEPES Puffer (138  $\mu\text{L}$ , pH 6.5) injiziert. Daraufhin wurden übrige noch aktivierte Carboxylgruppen mit einer Ethanolamin-Lösung (1 M, 139  $\mu\text{L}$ ) blockiert. Die Durchflussrate betrug jeweils 10  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Der Chip wurde zwischen den Messungen in HEPES Puffer (pH 6.5) im Kühlschrank gelagert.

Die Messungen wurden unter Verwendung des *Series S CM5 Sensorchip* auf dem *Biacore T100* Gerät durchgeführt. Von den Analyten wurden Verdünnungsreihen in HEPES Puffer (pH 6.5) angesetzt. Die Analytlösungen wurden über den Chip geleitet und die SPR-Antworten als Differenz zu einer Referenz-Zelle gemessen (Abb. 61/62).



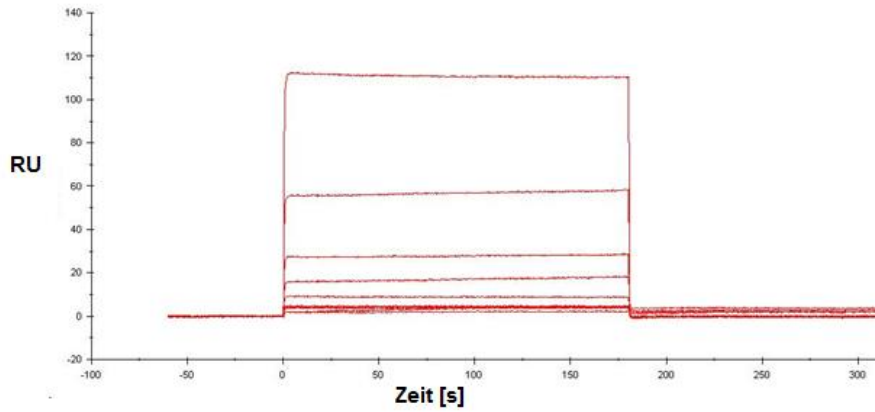


Abbildung 61. SPR-Antwort für Mannose (5).

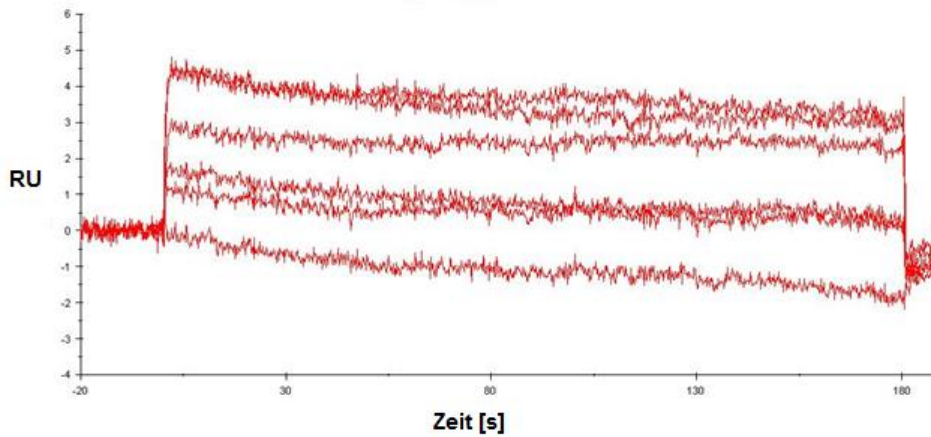
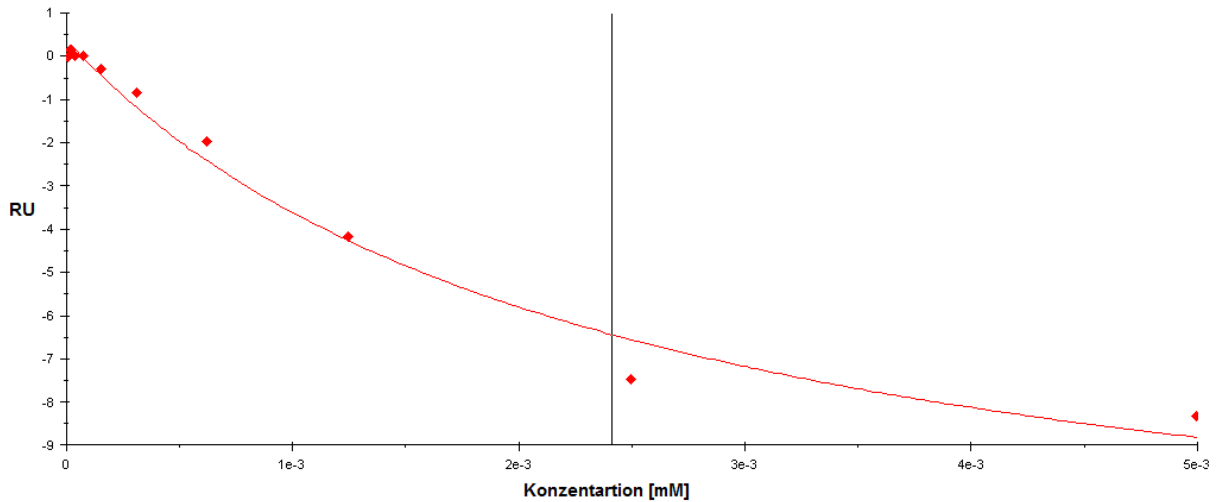
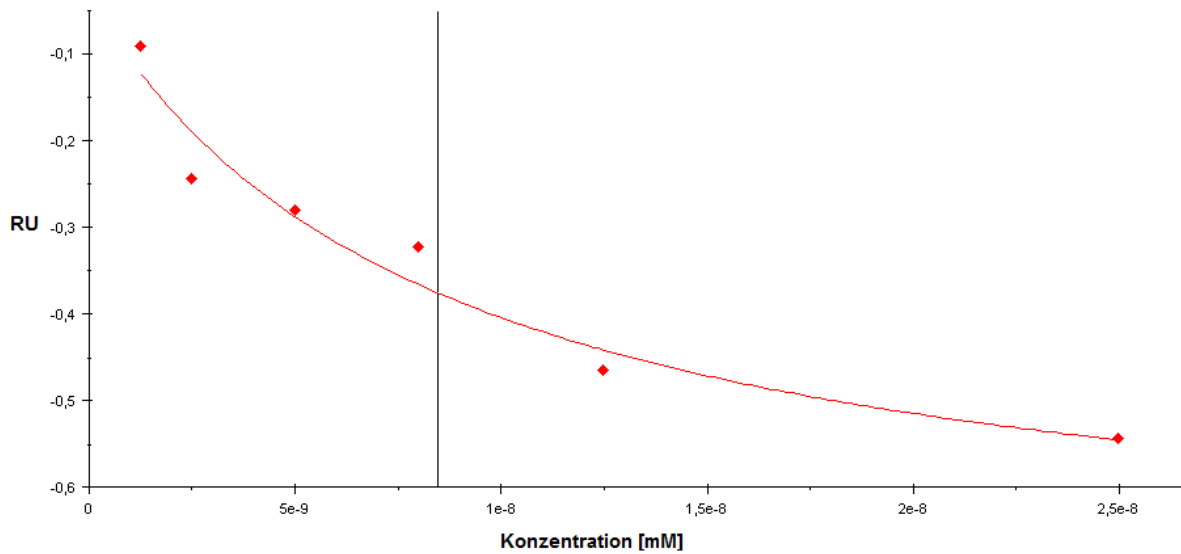


Abbildung 62. SPR-Antwort für das verkapselte *manno*-Heptulose Derivat 93.

Zur Auswertung wurden die SPR-Antworten gegen die Konzentration aufgetragen und gefittet (Abb. 63/64). Aus diesen Kurven-Fits kann mit Hilfe der Auswertungs-Software des Gerätes die thermodynamische Dissoziationskonstante ( $K_D$ ) der Ligand-Lectin-Komplexe berechnet werden.



**Abbildung 63. Kurven-Fit der SPR-Antworten aufgetragen gegen die Konzentrationen der Verdünnungsreihe für Mannose (5).**



**Abbildung 64. Kurven-Fit der SPR-Antworten aufgetragen gegen die Konzentrationen der Verdünnungsreihe des manno-Heptulose Derivat 93.**

Zunächst wurden verschiedene Monosaccharide gemessen. Die  $K_D$ -Werte liegen im einstelligen millimolaren Bereich und entsprechen damit den erwarteten Werten für Kohlenhydrat-Lectin-Wechselwirkungen. Im zweiten Teil wurden verschiedene glycofunktionalisierte Nanokonstrukte vermessen. In Tab. 3 sind die Analyten mit den gemessenen  $K_D$ -Werten aufgeführt.

Tabelle 3. Mittels SPR gemessene  $K_D$ -Werte einzelner Monosaccharide und glycofunktionalisierter NPs.

Analyt	$K_D$ -Wert
Mannose ( <b>5</b> )	$2.4 \pm 0.7$ mM
<i>manno</i> -Heptulose ( <b>6</b> )	0.166 mM
<i>gluco</i> -Heptulose ( <b>7</b> )	Keine Bindung messbar
3-Fluor- <i>manno</i> -heptulose ( <b>84</b> )	$3.4 \pm 2.4$ mM
MH-NP ( <b>93</b> )	$8.5 \pm 6.0$ nM
STZ-NP ( <b>94</b> )	Keine Bindung messbar

Die  $K_D$ -Werte für Mannose (**5**) lagen wie bereits erwähnt im erwarteten einstelligen millimolaren Bereich bei  $2.4 \pm 0.7$  mM. Bei der *manno*-Heptulose (**6**) konnte bereits eine deutlich bessere Bindung (0.166 mM) beobachtet werden. Dies könnte auf die zusätzliche Hydroxygruppe und damit eine stärkere Bindung an das Lectin zurück zu führen sein. Dafür spricht auch, dass bei der 3-Fluor-*manno*-heptulose (**84**), in der eine Hydroxygruppe durch ein Fluor ersetzt ist, wieder ein Anstieg auf einen  $K_D$ -Wert von  $3.4 \pm 2.4$  mM zu beobachten ist. Die beste Bindung wurde jedoch beim Nanokonstrukt MH-NP (**93**), mit einem  $K_D$ -Wert von  $8.5 \pm 6.0$  nM, beobachtet. Hierbei lässt sich der Schluss auf ein multivalentes Bindungsereignis ziehen.

## II. Neue Synthesen von Glucuronsäure

### 1. Einleitung

#### 1.1. Glucuronsäure

Glucuronsäure ist die Uronsäure der Glucose, die an der C-5 Position eine Carboxylgruppe statt einer Hydroxymethylfunktion trägt (Abb. 65).

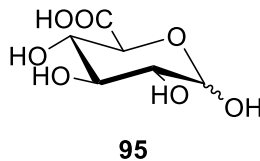


Abbildung 65. Glucuronsäure.

Die Glucuronsäure spielt eine wichtige Rolle im menschlichen Metabolismus. Fremdstoffe im Körper werden durch die Bindung von Glucuronsäure (Glucuronidierung) in wasserlösliche und in der Regel weniger toxische Endprodukte überführt. Dabei wird Glucuronsäure von Uridindiphosphat-Glucuronsäure (UDP-Glucuronsäure) durch Glucuronyltransferasen auf die Fremdstoffe (Phenole, Alkohole, Amine, Amide, Thiole, Carboxylgruppen) übertragen. Glucose-6-phosphat wird hierbei zunächst zu Glucose-1-phosphat (**96**) isomerisiert und anschließend mit Uridintriphosphat zu UDP-Glucose (**97**) umgesetzt. Diese wird durch Oxidation der Hydroxygruppe an C-6 zu UDP-Glucuronsäure (**98**) umgewandelt. Die Glucuronidierung zu **5** findet im endoplasmatischen Retikulum statt und wird durch das Enzym UDP-Glucuronyltransferase katalysiert (Abb.66).

## II. EINLEITUNG

---

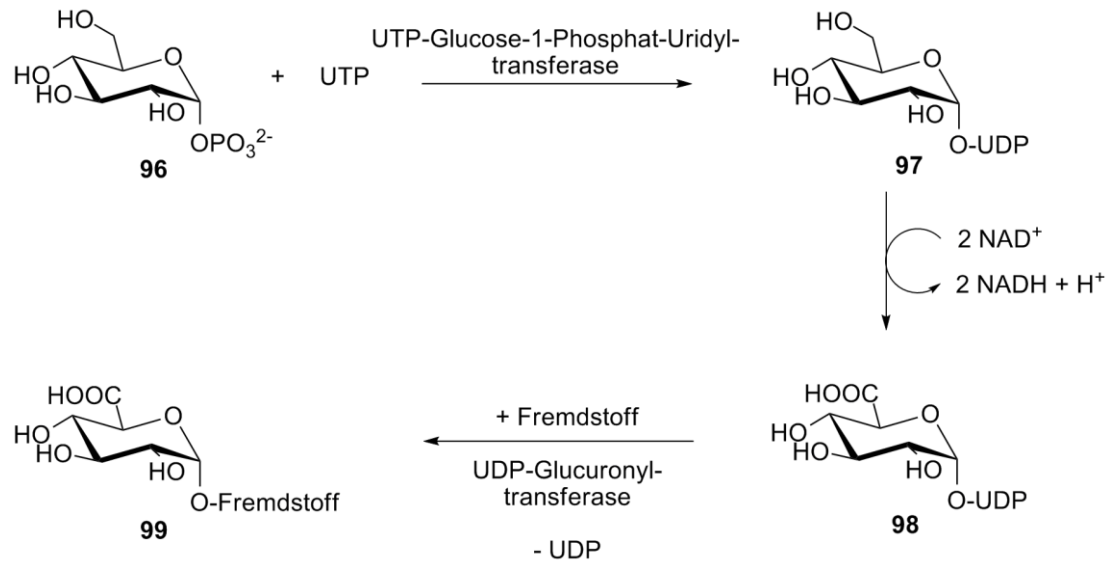


Abbildung 66. Fremdstoffmetabolismus mittels Glucuronidierung.

## 2. Kenntnisstand

### 2.1. Literatur-bekannte Synthesen von Glucuronsäure

In der Literatur gibt es einige beschriebene Synthesen von Glucuronsäure, welche jedoch alle teilweise erhebliche Nachteile wie Nebenreaktionen oder eine aufwendige Schutzgruppenchemie aufweisen. Die meisten in der Literatur beschriebenen Synthesen gehen von Derivaten der D-Glucose aus, die in einem ersten Schritt mindestens selektiv an der anomeren Hydroxyfunktion geschützt werden muss.

Eine der ersten beschriebenen Synthesen eines Glucuronsäure-lactons durch Zerva und Sessler<sup>[97]</sup> von 1933 ist die Oxidation von 1,2-Isopropyliden-3,5-benzylidenglucose mit alkalischer Permanganatlösung. 1939 wurde die Umsetzung von 1,2,3,4-Tetra-O-acetylglucose mit Kaliumpermanganat in Eisessig beschrieben.<sup>□</sup> Durch Verseifung der Acetylschutzgruppen mit Bariumhydroxid konnte hier das Bariumsalz der Glucuronsäure dargestellt werden.

Die erstmals unter Verwendung von Metallkatalysatoren und Sauerstoff beschriebene Oxidation von *Mehlretter et al.* geht von Glucose aus, welche in die 1,2;5,6-Di-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucofuranose (**100**) überführt wird. Aus der Furanose **5** wird dann die 1,2-Mono-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucofuranose (**101**) synthetisiert, welche durch Oxidation unter Platin-Katalyse mit Luft-Sauerstoff in das kristalline Calcium-Salz **102** umgewandelt wird. Das Calcium-Salz **102** wird dann mit Oxalsäure in Wasser bei 90-100 °C zur Glucuronsäure **95** umgesetzt (Abb.67).<sup>[98]</sup>

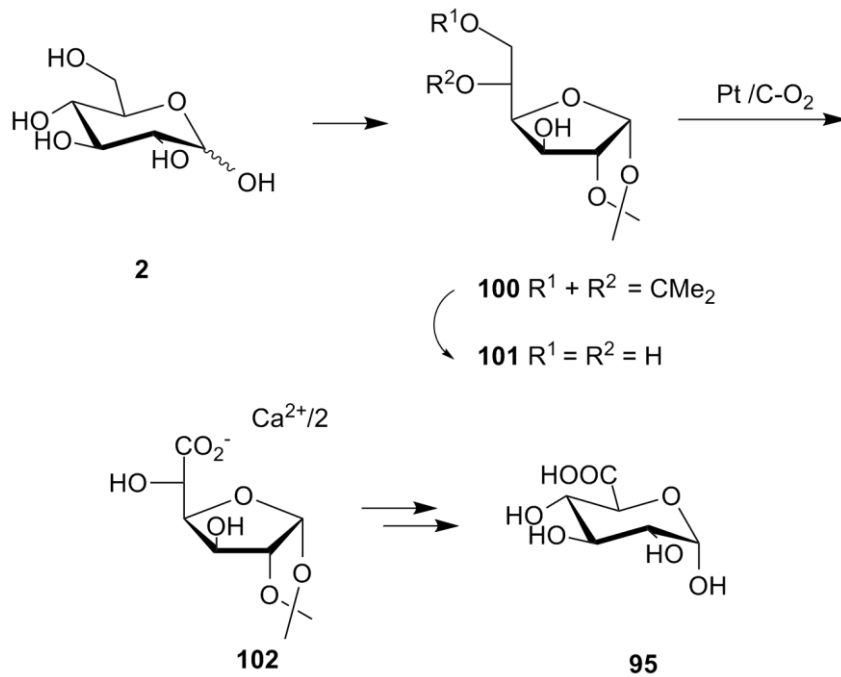


Abbildung 67. Darstellung von Glucuronsäure nach *Mehlretter et al.*<sup>[98]</sup>

Des Weiteren sind Oxidationen von Alkyl- $\alpha$ - und - $\beta$ -D-glucopyranosiden zu entsprechenden Uronsäuren beschrieben (Abb.68). Auch hier wird wieder von Glucose ausgegangen und die Alkylglucoside **103** gebildet, welche dann in verschiedenen Oxidationen zunächst zu den Alkylglucopyranosid-uronsäuren **104** umgesetzt werden. Die Hydrolyse zur freien Glucuronsäure (**95**), kann allerdings nur unter recht rabiaten Bedingungen durchgeführt werden. Vor allem die niedrigen pH-Werte und Hitzebehandlung führen unter starker Bräunung zu zahlreichen Nebenreaktionen, die mit problematischer Reinigung und erheblichen Ausbeuteverlusten verbunden sind.

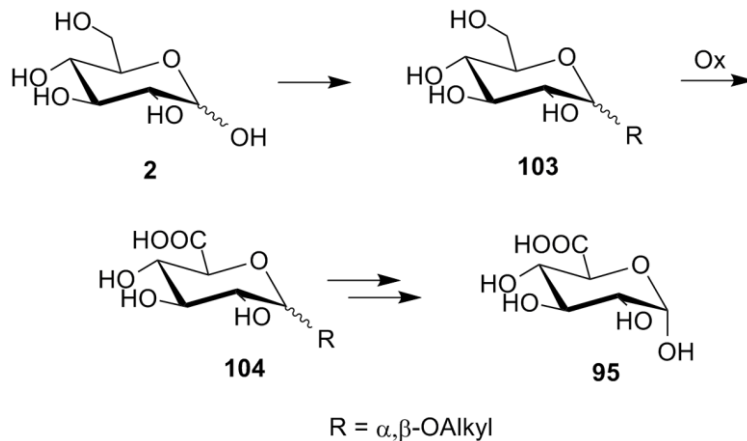
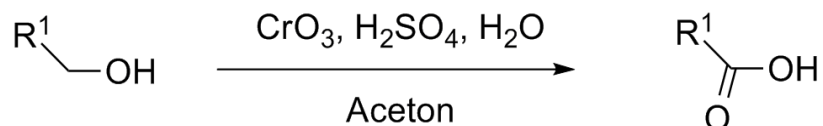


Abbildung 68. Umsetzung von Alkylglucosiden zur Glucuronsäure.

Zu den hier angewendeten Oxidationen zählen neben den Platin-katalysierten Oxidationen auch die Jones-Oxidation mit Chrom(VI)-oxid und Schwefelsäure sowie die TEMPO-Oxidation.

### ***Jones-Oxidation***

Die Jones-Oxidation erlaubt die Umsetzung von primären und sekundären Alkoholen zu Carbonsäuren/Aldehyden bzw. Ketonen. Das hierzu verwendete Jones Reagenz ist eine Lösung von Chromtrioxid oder Natriumdichromat in verdünnter Schwefelsäure und Aceton. *In situ* wird dabei die reaktive Chrom(VI)-säure gebildet, welche mit dem Alkohol einen Chromatester bildet, der wiederum in Gegenwart von Base zur Carbonylverbindung reagiert (Abb.69).<sup>[99]</sup>

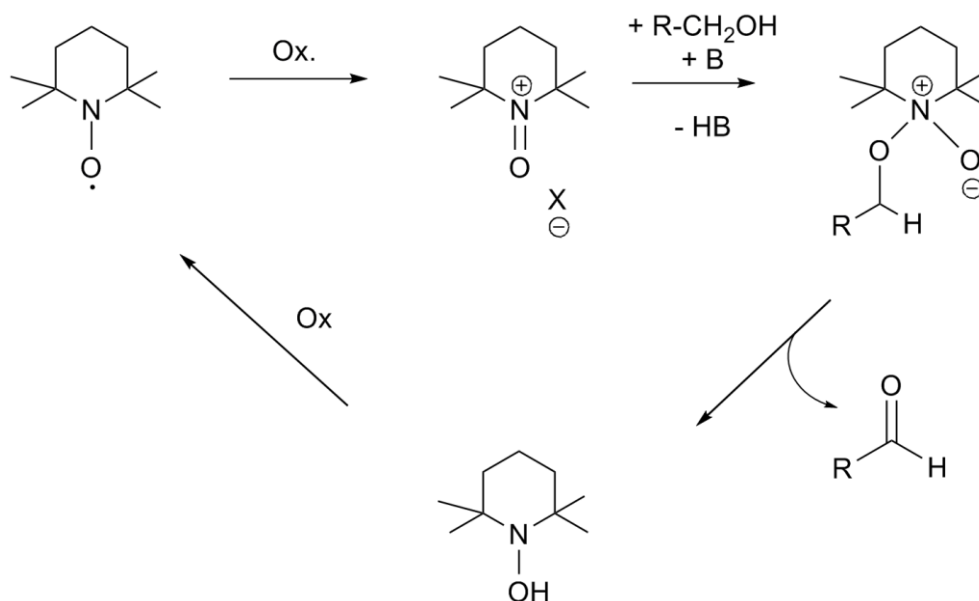


**Abbildung 69. Jones-Oxidation.**

### ***TEMPO-Oxidation***

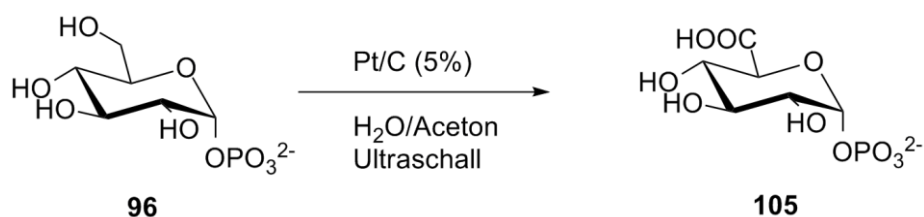
Das TEMPO-Reagenz (2,2,6,6-Tetramethyl-piperidin-1-oxyl) ist ein stabiles Radikal, welches in der Oxidation primärer und sekundärer Alkohole mit Natriumhypochlorit als Katalysator eingesetzt wird. Das Radikal bildet zunächst das reaktive 2,2,6,6-Tetramethyl-1-oxo-piperidiniumion, das den Alkohol dehydriert. Nach Abspaltung des Oxidationsproduktes wird das entstandene Piperinidol wieder zum Radikal oxidiert (Abb.70).<sup>[100]</sup>



Abbildung 70. Oxidationszyklus mit TEMPO.<sup>[100]</sup>

### Platin-katalysierte Oxidation

Bereits 1990 konnte *W. A. Strietholt* in seiner Dissertation (AK Thiem, Universität Münster) Glucose-1-phosphat (**96**) mit einer Ausbeute von 70% zum  $\alpha$ -D-Glucopyranuronsäure-1-phosphat (**105**) oxidieren. Dabei wurde der Adams-Katalysator verwendet und die Reaktionslösung mit Ultraschall angeregt (Abb.71).<sup>[101]</sup>

Abbildung 71. Platin-katalysierte Oxidation von Glucose-1-phosphat mittels Ultraschall.<sup>[101]</sup>

Die bereits beschriebenen Synthesen gehen alle von Monosacchariden aus. Seit Mitte des 20. Jahrhunderts werden aber bereits Versuche unternommen, Glucuronsäure und deren Derivate durch Oxidation und Hydrolyse von Glycosiden und Polysacchariden darzustellen. So wurde von Hardegger und Spitz<sup>[102]</sup> die Oxidation von Methyl-D-glucopyranosid zum Methylglycosid der Glucuronsäure mit Distickstofftetroxid beschrieben. Es gelang jedoch nur

mit geringer Ausbeute und unter rabiaten Bedingungen (90%ige Ameisensäure) die Hydrolyse dieser Verbindungen.<sup>[102]</sup>

Eine 1953 von Heyns und Graefe veröffentlichte Synthese von Glucuronsäure aus Polysacchariden lässt sich in zwei Stufen verwirklichen.<sup>[103]</sup> Als Ausgangsmaterial wurden verschiedene Stärken verwendet, welche mit Salpetersäure oxidiert wurden. Es konnte je nach verwendeter Stärke (Maisquellstärke, Mais-, Reis-, Kartoffelstärke) ein Oxidationsgrad von 45 - 55% zum Uronsäureanhydrid erreicht werden. Durch weitere Versuche stellte sich jedoch heraus, dass nicht die Salpetersäure, sondern das darin teilweise enthaltene Stickstoffdioxid für die Oxidation verantwortlich ist. Die Hydrolyse der oxidierten Stärke gelang mit Salzsäure.

## 2.2. Technische Herstellung von Glucuronsäure

Die technische Herstellung von Glucuronsäure basiert derzeit auf der bereits beschriebenen Oxidation von Stärke mit Distickstofftetroxid. Die Ausbeute beträgt dabei jedoch nur etwa 10%, wobei Reinigung und Abfall der Nebenprodukte eine Belastung für Umwelt darstellen.

Außerdem wurde industriell versucht, eine große Menge (1 Tonne) kommerziell erhältliches Methylglucosid zu oxidieren und nach Hydrolyse des oxidierten Glucosids die freie Glucuronsäure zu erhalten. Während die Oxidation erfolgreich verlief, führte die Hydrolyse mit 6N Salzsäure zu einem Produktgemisch aus dem das Zielprodukt nur teilweise isoliert werden konnte (Abb. 72). Es besteht also die Schwierigkeit, auch bei etablierten Verfahren, diese für eine kommerzielle Nutzung in größeren Mengen durchzuführen (*Up-scaling*).

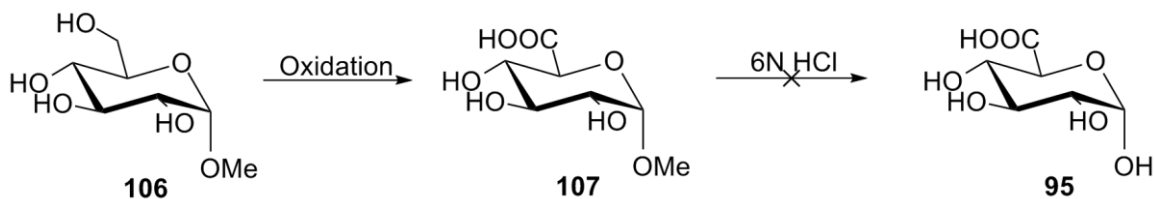
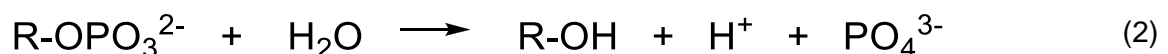


Abbildung 72. Versuch der großtechnischen Herstellung von Glucuronsäure.

### 2.3. Glucose-1-phosphat und Alkalische Phosphatase

$\alpha$ -D-Glucose-1-phosphat kommt in verschiedenen Stoffwechselprozessen im menschlichen Körper vor. So wird es beispielsweise aus Glycogen durch das Enzym Glycogenphosphorylase gebildet. Weiterhin kann es durch Phosphoglucomutase reversibel zu Glucose-6-phosphat isomerisiert werden und steht so für weitere Prozesse zur Verfügung.<sup>[104]</sup> Wie in Abschnitt 1. bereits beschrieben spielt Glucose-1-phosphat (**96**) auch eine wichtige Rolle im Fremdstoffmetabolismus bei der Glucuronidierung. In medizinischen Infusionen dient es als Glucose(Energie)- und Phosphatlieferant. Glucose-1-phosphat (**96**) ist relativ kostengünstig kommerziell erhältlich.<sup>[105]</sup>

Als Alkalische Phosphatase (AP, ALP) (Abb.73) werden Enzyme zur Hydrolyse von Phosphorsäureestern bezeichnet. Wie der Name andeutet liegt das pH-Optimum für diese Enzyme im alkalischen Bereich bei 9.8. Alkalische Phosphatasen kommen in fast allen Lebewesen vor.



Die Anwendungsgebiete erstrecken sich von der Medizin über die Biochemie bis hin zur Milchindustrie. Im Menschen kann ein erhöhter Laborwert auf Krankheiten wie Organschäden, Tumore oder Osteoporose hindeuten.

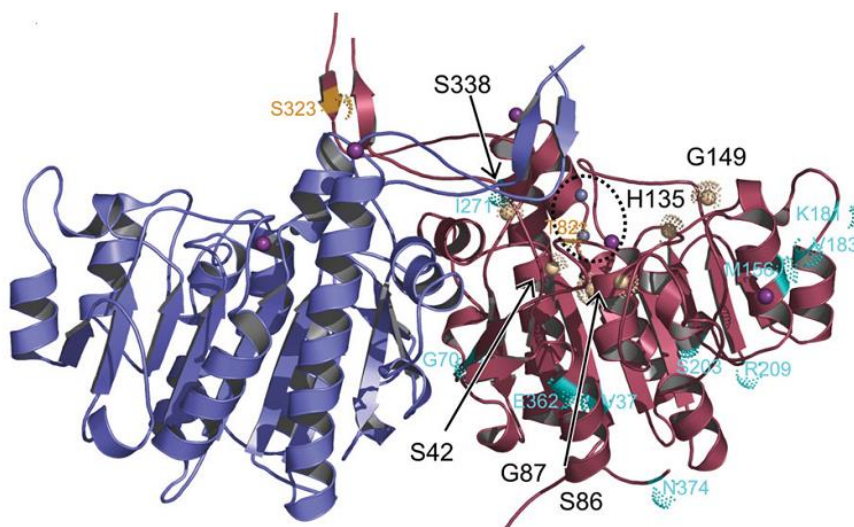


Abbildung 73. Homodimer des Wildtyps TAB5 AP.<sup>[106]</sup>

In der Biochemie wird die AP zum Nachweis von Proteinen, RNA und DNA verwendet. Des Weiteren wird es zur Dephosphorylierung von DNA benutzt. Die gebräuchlichsten AP sind

*Bacterial Alkaline Phosphatase* (BAP) aus *Escherichia coli.*, *Calf Intestinal Alkaline Phosphatase* (CIAP) aus Kälberdarm und *Shrimp Alkaline Phosphatase* (SAP) aus Eismeergarnelen. Über die AP-Aktivität wird in der Milchindustrie die erfolgreiche Pasteurisierung nachgewiesen.

## 2.4. Thioglucosid

Eine weitere Möglichkeit um die Glucose selektiv an der anomeren Hydroxygruppe zu schützen besteht in der Bildung eines Thioglucosids. Am häufigsten wird dabei Thiophenyl als Schutzgruppe verwendet.

Für die Abspaltung der Thioetherschutzgruppe hat sich die Hydrolyse mittels *N*-Bromsuccinimid in wässrigem Aceton bewährt (Abb.74).<sup>[107]</sup>

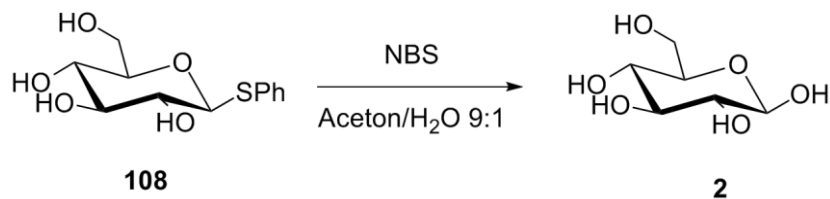


Abbildung 74. Hydrolyse des Phenylthioglucosids.

### **3. Zielsetzung**

Wie bereits erwähnt läuft die derzeitige technische Herstellung von Glucuronsäure wenig umweltfreundlich und mit relativ geringer Ausbeute ab. Das Ziel sollte es daher sein, eine kostengünstige, umweltfreundliche Alternative zu finden. Wichtige zu beachtende Punkte sind kostengünstige oder leicht und sauber herstellbare Ausgangsprodukte, z.B. Glucose, eine saubere Oxidationsmöglichkeit, sowie eine einfache Aufarbeitung.

## 4. Resultate und Diskussion

### 4.1. Darstellung der Vorläuferverbindungen

Für die Oxidationen zur Glucuronsäure sollten verschiedene Glucose-Derivate genutzt werden, welche selektiv am anomeren Zentrum geschützt sind, um hier eine Oxidation zu verhindern. Zum einen das kommerziell erhältliche  $\alpha$ -Glucose-1-phosphat, zum anderen zwei verschiedene Glucoside,  $\alpha/\beta$ -Allylglucosid und das Thioglucosid.

Das  $\alpha$ -Glucose-1-phosphat wurde von der Firma *abcr* erworben. Es ist mit einem Preis von 50€ pro 50 g für den Labormaßstab relativ günstig. Die Herstellung erfolgt enzymatisch mit einer Dextranucrase aus Sucrose (**109**) (Abb. 75). Diese Glucosyltransferase überträgt die Glucose aus der Sucrose auf ein Akzeptormolekül, meistens Dextran.<sup>[108,109]</sup>

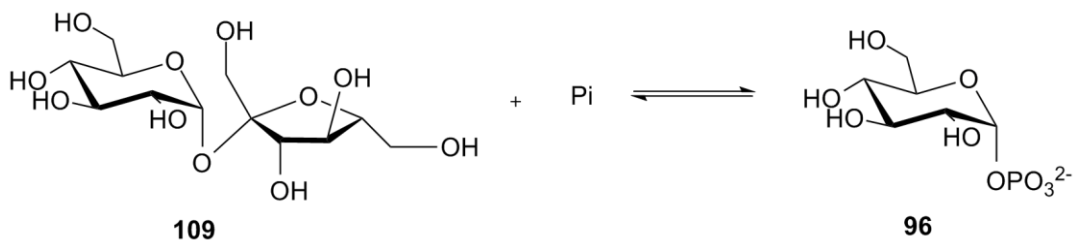


Abbildung 75. Darstellung von 96 aus Sucrose mittels enzymatischer Reaktion.

Die Allylglucoside lassen sich auf zwei Wegen aus Glucose darstellen. Dabei ergibt sich einerseits das  $\beta$ -Anomer **111**, andererseits ein Gemisch aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomer (Abb.76).

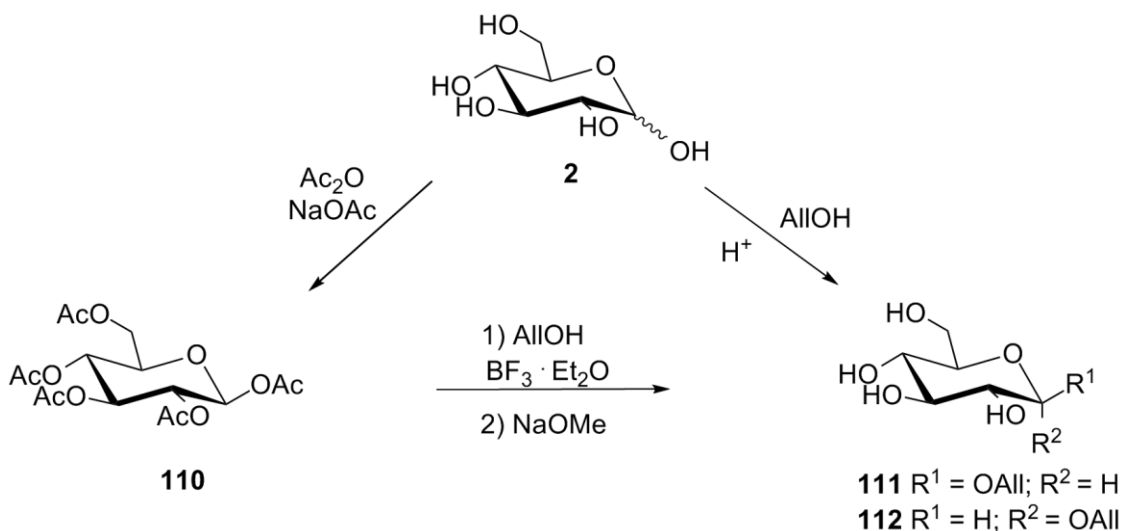


Abbildung 76. Darstellung der Allylglucoside 111 und 112.

Wird Glucose mit Allylalkohol und einer katalytischen Menge konzentrierter Schwefelsäure versetzt wird in einer Fischer-Glycosylierung ein Gemisch aus den beiden Anomeren des Allylglucosids erhalten. Nach Abbruch der Reaktion mit Triethylamin und säulenchromatographisch Abtrennung der Salze konnte eine Ausbeute von bis zu 90% erreicht werden. Das  $\alpha/\beta$ -Verhältnis lag bei 70:30. Von der weiteren Trennung der Anomere wurde abgesehen, um die Bedingungen der Oxidation des Anomerengemisches zu untersuchen.

Zur Darstellung des reinen  $\beta$ -Anomers wurde der Umweg über die durch Acetylierung mit Essigsäureanhydrid und Natriumacetat leicht zugängliche 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose (**110**) genommen. Diese kann mit Allylalkohol und Bortrifluorid-Diethyletherat<sup>[110]</sup> und anschließender Zemplén Deacetylierung mit Natriummethanolat in Methanol<sup>[55]</sup> umgesetzt und das reine  $\beta$ -Anomer **111** in einer Ausbeute von 45% über zwei Stufen erhalten werden (Abb.76).

Ebenfalls über den Umweg des Pentaacetats **110** ist das Thioglucosid **108** darstellbar. Dieses wird ebenfalls in einer  $\text{BF}_3$ -Diethyletherat-Katalyse mit Thiophenol gewonnen.<sup>[110]</sup> Auch wird hier wieder nach Zemplén Deacetylierung<sup>[55]</sup> das reine  $\beta$ -Anomer **108** in einer Ausbeute von 50% über zwei Stufen erhalten (Abb.77).

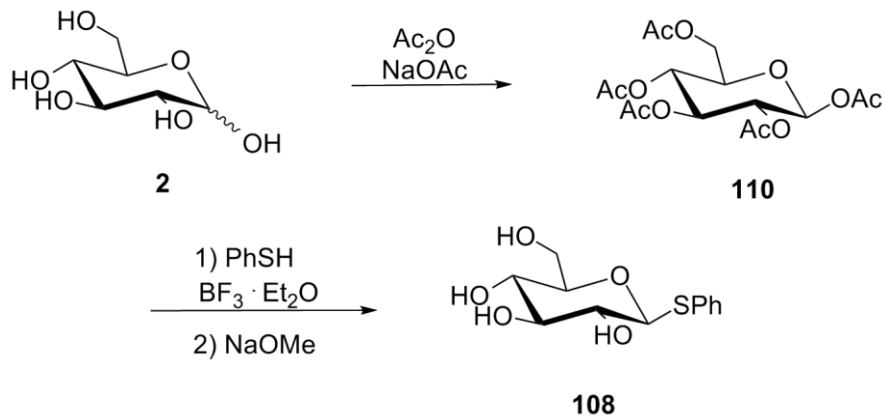


Abbildung 77. Darstellung des Thiophenylglucosids 108.

Von der weiteren Verwendung der Thioglucoside wurde abgesehen. Zum einen ist produktionstechnisch von einer Verwendung von Thiosubstanzen abzusehen. Zum anderen kann bei der Oxidation des Thioglucosids nicht ausgeschlossen werden, dass es zur Bildung von Sulfoxiden oder Sulfonen kommt (Abb.78). Es ist dabei nicht klar, unter welchen Bedingungen oder ob überhaupt eine Abspaltung dieser vom anomeren Zentrum möglich ist.

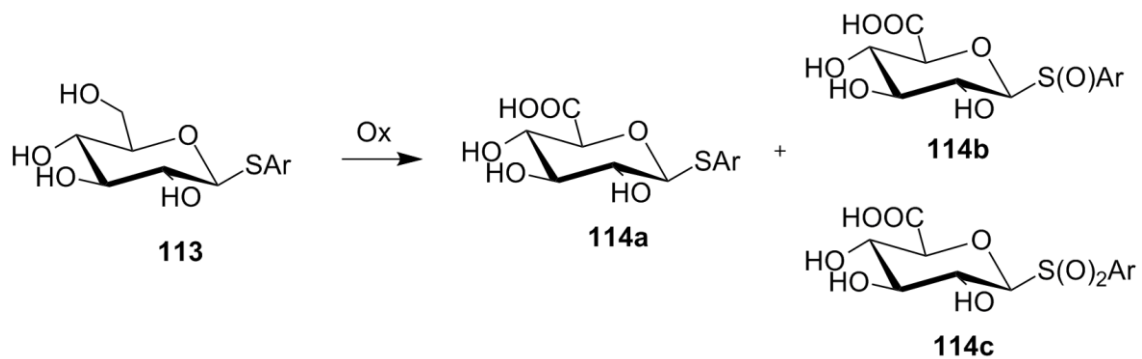


Abbildung 78. Mögliche Oxidationsprodukte eines Arylthioglucosids.



## 4.2. Schutzgruppenabspaltung

Die Abspaltung der Schutzgruppen wurde zunächst an den Vorläuferverbindungen **96**, **111**, und **112** getestet.

Die Phosphatgruppe des  $\alpha$ -D-Glucose-1-phosphats (**96**) wurde in einer enzymatischen Reaktion mit alkalischer Phosphatase erfolgreich durchgeführt.<sup>[111]</sup> Die enzymatische Reaktion wurde bei 37 °C in einem Reaktionspuffer bei pH 9.3 durchgeführt.

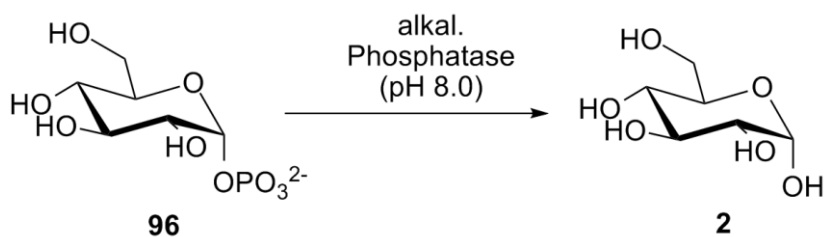


Abbildung 79. Darstellung von Glucose (**2**) zur Überprüfung der enzymatischen Dephosphorylierung.

Die Spaltung der Allylglucoside **111** und **112** wurde zum einen in einer Pd-katalysierten Reaktion in Essigsäure und zum anderen mit einer Titanatverbindung<sup>[112]</sup> getestet. Die Ergebnisse sind in Tab. 4 dargestellt (Abb.80).

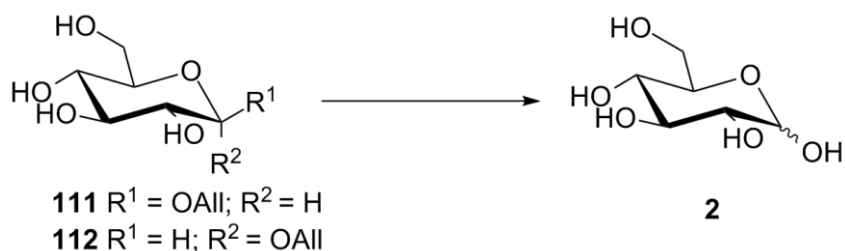


Abbildung 80. Spaltung der Allylglucoside.

Wie in Tabelle 4 zu erkennen ist, stellt sich die Pd-katalysierte Reaktion in Essigsäure als Methode der Wahl dar.

Tabelle 4. Methoden zur Spaltung des Allylglucosids.

Methode	Umsetzung
$\text{PdCl}_2/\text{NaOAc}/\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$	Vollständig
$\text{Ti}(\text{O-}i\text{-Pr})_4/\text{Mg}/\text{Me}_3\text{SiCl}/\text{THF}$	Keine Umsetzung

### 4.3. Oxidationen

#### 4.3.1. Jones-Oxidation

Die Jones-Oxidation mit Chrom(VI)oxid und Schwefelsäure konnte qualitativ erfolgreich durchgeführt werden. Jedoch erwies sich die Trennung des Produkts von den Chromverbindungen als schwierig. Die erfolgreiche Oxidation wurde mittels  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta_{\text{COOH}} = 165.0$  ppm) des Rohproduktes nachgewiesen.

#### 4.3.2. TEMPO-Oxidation

Auch die Oxidation mit TEMPO und NaOCl konnte erfolgreich durchgeführt werden. Jedoch erwies sich auch hier die Trennung des Produkts von den anorganischen Salzen als schwierig. Die erfolgreiche Oxidation wurde mittels  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta_{\text{COOH}} = 165.0$  ppm) des Rohproduktes nachgewiesen.

Diese Oxidationen wurden nur als Beweis der Oxidationsfähigkeiten qualitativ durchgeführt, weshalb die weitere Aufarbeitung und Abspaltung der Schutzgruppen nicht weiter verfolgt wurde.

### 4.3.3. Platin-katalysierte Oxidationen

Für die Platin-katalysierten Verbindungen wurden verschiedene Platinkatalysatoren verwendet:

- Platin(IV) oxid
- 5% Platin auf Aktivkohle
- 4% Palladium + 1% Platin + 5% Wismut auf Aktivkohle
- ESCAT 24 (5% Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)

Zunächst wurde die Oxidation mit Platin(IV)oxid bzw. Pt/C (5%) in Wasser und Kaliumhydrogencarbonat unter Sauerstoffatmosphäre im Ultraschallbad oder unter starkem Rühren durchgeführt. Hierbei konnte jedoch weder dünn-schichtchromatographisch noch NMR-spektroskopisch eine Umsetzung beobachtet werden.

Von der Firma *Südzucker AG* wurden zwei Platin-Katalysatoren (4% Pd + 1% Pt + 5% Bi und ESCAT 24 (5% Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)) zur Verfügung gestellt. Diese wurden jeweils zur Katalyse der Oxidation des Phosphats **96** (Abb.81), des  $\beta$ -Allylglucosids **111** und des Anomerengemisches des Allylglucosids **111** und **112** eingesetzt (Abb.82). In allen Fällen konnte eine erfolgreiche Umsetzung (<sup>13</sup>C-NMR) beobachtet werden.

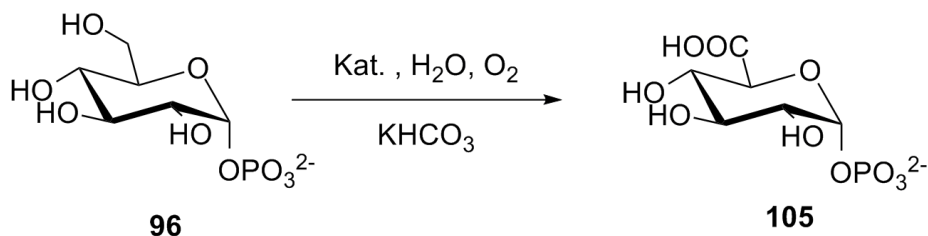


Abbildung 81. Oxidation von Glucose-1-phosphat (**96**).

Die zu oxidierende Substanz wurde in Wasser gelöst und der Katalysator in verschiedenen Konzentrationen zu der Lösung gegeben. Da diese Oxidation nur im Basischen verläuft, wurde mittels eines Titrators mit einer Kaliumhydrogencarbonat-Lösung der pH-Wert konstant bei 9.5 gehalten. Unter geringem Rühren (100 U/min) wurde Sauerstoff eingeleitet und die Reaktionslösung über Nacht rühren gelassen. Nach Filtration und Einengung der Reaktionslösung kann das Produkt durch Zugabe von Ethanol auskristallisiert werden.

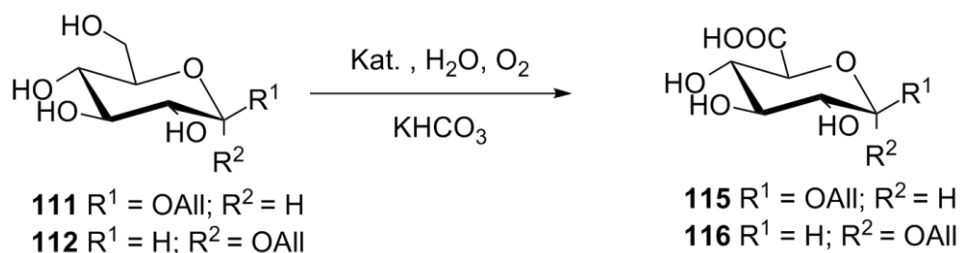


Abbildung 82. Oxidation der Allylglucoside.

Tabelle 5. Oxidationsversuche des Phosphats 96.

Katalysator	Umsetzung
<b>PtO<sub>2</sub></b>	Keine Umsetzung
<b>Pt/C (5%)</b>	Keine Umsetzung
<b>4% Pd + 1% Pt + 5% Bi (10 Gew.-%)</b>	Vollständige Umsetzung
<b>4% Pd + 1% Pt + 5% Bi (1 Gew.-%)</b>	Vollständige Umsetzung
<b>ESCAT 24 (5% Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (10 Gew.-%)</b>	Vollständige Umsetzung
<b>ESCAT 24 (5% Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (1 Gew.-%)</b>	Vollständige Umsetzung

Tabelle 6. Oxidationsversuche des Anomerengemisches der Allylglucoside.

Katalysator	Umsetzung
<b>4% Pd + 1% Pt + 5% Bi (10 Gew.-%)</b>	Vollständige Umsetzung
<b>4% Pd + 1% Pt + 5% Bi (1 Gew.-%)</b>	Vollständige Umsetzung
<b>ESCAT 24 (5% Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (10 Gew.-%)</b>	Vollständige Umsetzung
<b>ESCAT 24 (5% Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (1 Gew.-%)</b>	Vollständige Umsetzung

Die erfolgreiche Oxidation wurde mittels <sup>13</sup>C-NMR nachgewiesen (Abb.83).

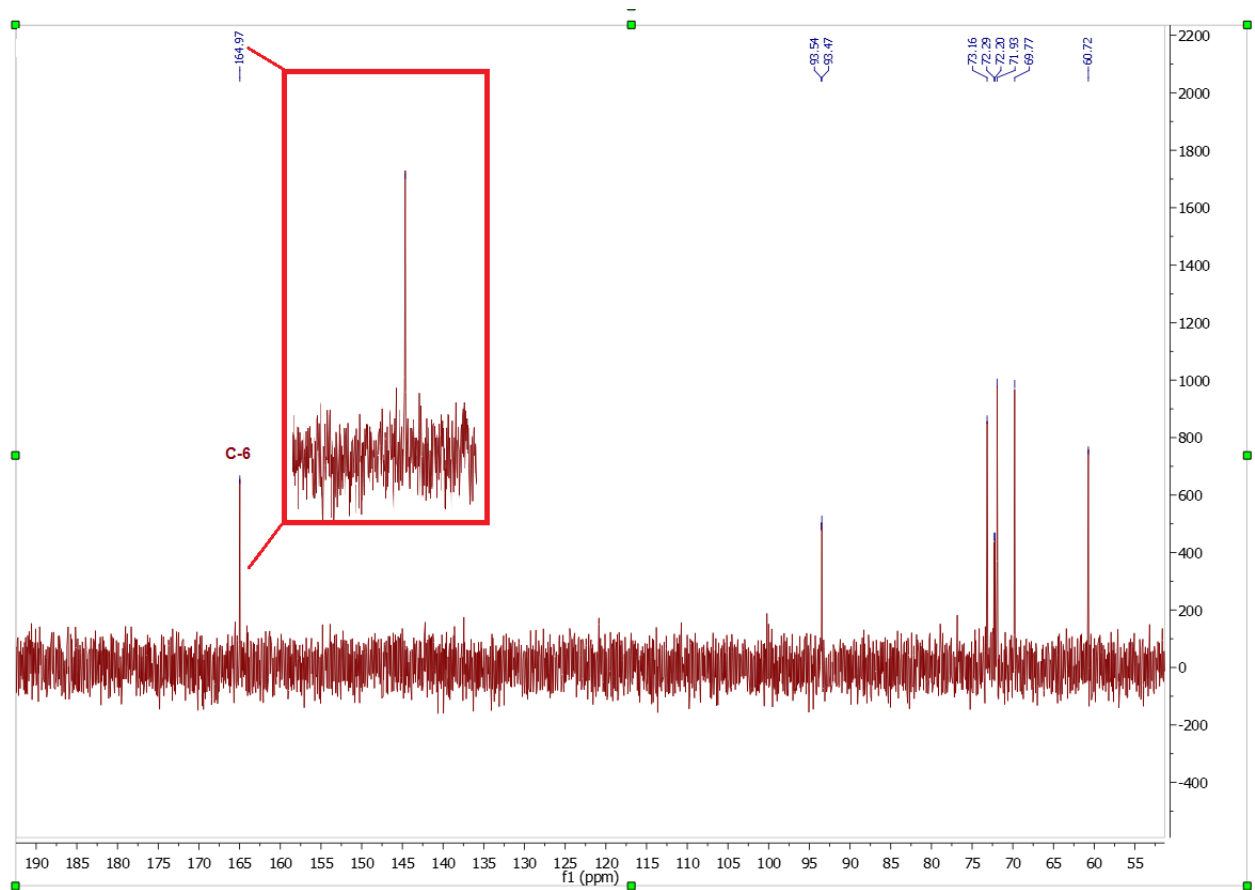


Abbildung 83.  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum einer erfolgreichen Oxidation zu Glucuronsäure. Das Signal bei 164.97 ppm ist dem Carbonylsauerstoff C-6 zu zuordnen.

#### 4.4. Schutzgruppenabspaltung der oxidierten Produkte

Ebenfalls konnte die enzymatische Abspaltung der Phosphatgruppe am Glucuronsäure-Derivat **105** beobachtet werden. Die Reaktion wurde nach einem Protokoll zur Dephosphorylierung des 5'-Endes von DNA durchgeführt.<sup>[113]</sup> Zur Reaktion wurde ein Tris-HCl-Puffer (pH 9.3) verwendet und das jeweilige Phosphat bei 37 °C für 30 Minuten mit dem Enzym umgesetzt.<sup>[113]</sup>

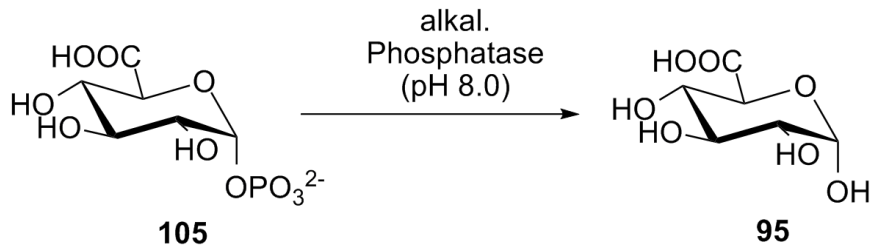


Abbildung 84. Darstellung von Glucuronsäure 95 mittels enzymatischer Desphosphorylierung.

Auch bei der Abspaltung der Allylschutzgruppen an den Verbindungen **115/116** erwies sich die bereits im Vorfeld getestete Reaktion mittels Palladiumdichlorid in Essigsäure und Wasser als Methode der Wahl (Abb. 85).

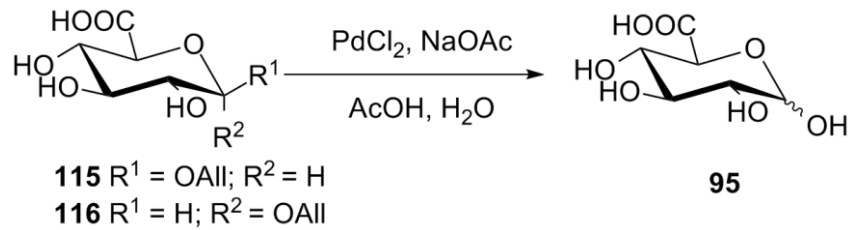


Abbildung 85. Darstellung von Glucuronsäure (95) durch Deallylierung.

### **III. Zusammenfassung**

Im ersten Teil dieser Arbeit geht es um die selektive Funktionalisierung und Möglichkeiten der medizinischen Anwendung von Ketoheptosen. Diese sind Monosaccharide, die in der Natur nur selten vorkommen und teilweise diabetogene Eigenschaften aufweisen. Die Ketoheptosen *D-manno*-Heptulose (**6**), *D-gluco*-Heptulose (**7**) und *L-galacto*-Heptulose sind in der Lage die Insulinsekretion im Organismus durch Inhibition des Enzyms Glucokinase zu senken. Die selektive Aufnahme über GLUT2 in  $\beta$ - und Leberzellen und die Anreicherung in diesen durch eingeschränkte Metabolisierung machen aus diesen Ketoheptosen interessante mögliche Instrumente in der Diabetes-Diagnostik und -Forschung durch Visualisierung der  $\beta$ -Zellen in der molekularen Bildgebung.

Die Synthese von Ketoheptosen läuft günstig nach dem beschriebenen, von Waschke entwickelten Weg ab. Dieser beinhaltet die Oxidation der entsprechenden Aldohexose zum Lacton, eine anschließende Kettenverlängerung an C-1 zum Exoglycal und eine nachfolgende Bishydroxylierung des Glycals. Durch Abwandlungen dieser Syntheseroute ist es möglich die Ketoheptosen selektiv zu funktionalisieren.

Für die Einführung einer Aminofunktion an der C-3-Position der *manno*-Heptulose gibt es die Möglichkeit dieses vor oder nach der Methylierung vorzunehmen. Da eine Azid- sowie eine als Sulfonamid geschützte Aminofunktion mit dem Methylierungsreagenz (**21**, Petasis Reagenz) reagierten, konnte auf diesem Weg keine oder eine nur in geringe Methylierung erreicht werden. Deswegen wurde eine alternative Route entwickelt, in welcher die Einführung der Aminogruppe erst nach der Methylierung mit einer aufwendigen Schutzgruppenchemie durchgeführt wurde. Dadurch konnte erfolgreich ein 3-Amino-Derivat (**66**) der *D-manno*-Heptulose (**6**) synthetisiert werden. Dieses Derivat wurde darüber hinaus mit einem Linker **68** gekoppelt um so die STZ-ähnliche Verbindung **70** erhalten, welche für eine weitere Kopplung mit einem detektierbaren Marker zur Verfügung stehen könnte.

Um die Möglichkeit einer Visualisierung von  $\beta$ -Zellen zu untersuchen, wurde ein *manno*-Heptulose-Derivat (**75**) mit einem Spacer dargestellt und mit dem Fluoreszenzfarbstoff ATTO 647N gekoppelt. Dieses fluoreszenzmarkierte Heptulosid (**77**) konnte anschließend erfolgreich  $\beta$ -Zellen sowohl *in vitro* als auch *in vivo* markieren und sichtbar machen.

Außerdem wurde 3-Desoxy-3-fluor-*manno*-heptulose (**784**) durch Fluorierung mit Selectfluor hergestellt und für biologische Untersuchungen Kooperationspartnern zur Verfügung gestellt.

In einem weiteren Kooperationsprojekt war eine Tosyl-*manno*-heptulose zu synthetisieren, deren anschließende Substitution mit radioaktivem [ $^{18}\text{F}$ ] zu PET-nachweisfähigen Derivaten

führen sollte. Dazu wurde 1,7-Di-O-(4-methylbenzylsulfonyl)-D-*manno*-heptulose (**85**) dargestellt. Vor dem Versuch der radioaktiven Markierung mit [<sup>18</sup>F] (**87**) konnte diese erfolgreich „kalt“ mit [<sup>19</sup>F] (**88**) durchgeführt werden.

Einen weiteren Fluoreszenzmarker stellen Quantendots dar. Diese können mit glycofunktionalisierten Polymeren verkapselt und somit funktionalisiert werden. In Zusammenarbeit mit dem Arbeitskreis Weller wurden verschiedene glycofunktionalisierte Nanopartikel hergestellt und mit anderen Monosacchariden auf ihre Bindung an das Lectin Con A mittels SPR untersucht. Dabei konnte vor allem bei dem MH-NP (**93**) eine deutlich stärkere, auf Multivalenz hindeutende Bindung beobachtet werden.

In einem weiteren Teil der Arbeit lag der Fokus auf neuen Möglichkeiten zur Darstellung von Glucuronsäure. Sie spielt unter anderem eine wichtige Rolle im Metabolismus von Fremdstoffen. Seit Mitte des 20. Jahrhunderts wurden immer wieder Versuche unternommen, Glucuronsäure durch Oxidation verschiedener Ausgangsmaterialien wie Glucose oder Stärke herzustellen. Dies ist jedoch nur bedingt gelungen, und gerade die großtechnische Herstellung stellt ein immer noch Problem dar.

Um Glucose an C-6 oxidieren zu können, muss zunächst das anomere Kohlenstoffatom vor einer Oxidation geschützt werden. Dazu wurden verschieden Vorläuferverbindungen hergestellt [Allyl (**111/112**)- und Thioglucoside (**108**)] bzw. kommerziell erworben [Glucose-1-phosphat (**96**)]. Zur Oxidation wurden verschiedene Möglichkeiten getestet. Die besten Resultate wurden mit den Platin-Katalysatoren ESCAT 24 und 4%Pd+1%Pt+5%Bi erzielt. Die Entschützung erfolgte entweder enzymatisch mit alkalischer Phosphatase [ $\alpha$ -D-Glucopyranosuronsäure-1-phosphat (**105**)] oder durch Deallylierung mit Palladiumchlorid in Wasser/Essigsäure [Allyl- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure (**115/116**)].



## IV. Summary

The first part of this work deals with the selective functionalization of ketoheptoses and their potential in medicinal application. Ketoheptoses are rare monosaccharides in Nature, and some of them have diabetogenic properties. *D-manno*-Heptulose (**6**), *D-gluco*-heptulose (**7**) and *L-galacto*-heptulose are able to decrease the secretion of insulin by inhibition of the enzyme glucokinase. Selective transport into hepatocytes and  $\beta$ -cells by GLUT2 and decreased metabolism leads to accumulation in these cells. Thus making these ketoheptoses interesting components for research and diagnosis of diabetes through visualization of  $\beta$ -cells in molecular imaging.

Ketoheptoses can be synthesized employing the route developed and described by Waschke. The key steps of this route are oxidation of the corresponding aldohexose to the lactone, subsequent chain elongation at C-1 to the exoglycal and bishydroxylation. Modifications of this route allow further selective functionalization.

The implementation of the aminofunction at C-3 can be done prior or post methylenation with the Petasis reagent. Attempts of using an azido or sulfonamide-protected amino function lead to no or very little methylenation due to interactions between the nitrogen and the Petasis reagent. Therefore an alternative route with implementation of the amino function after chain elongation and complex chemistry of protecting groups was developed. This resulted in a successful synthesis of the 3-amino-derivative (**66**) of *D-manno*-heptulose (**6**). Furthermore, the derivative **66** was coupled to spacer **68** to obtain the STZ-analogue **70**. This available material allows for additional couplings with other detectable markers for molecular imaging.

For the visualization of  $\beta$ -cells a *manno*-heptulose-derivative (**75**) with a spacer was synthesized and afterwards coupled with the fluorescence dye ATTO 647N. This fluorescence labelled heptuloside (**77**) was successfully used to mark  $\beta$ -cells both *in vitro* and *in vivo*.

Furthermore 3-deoxy-3-fluoro-*manno*-heptulose (**84**) was synthesized by fluorination with Selectfluor and shipped to cooperation partners for biological testings.

Another cooperative project was the synthesis of ditosyl-*manno*-heptulose for the following substitution with radioactive [ $^{18}\text{F}$ ]. In this case 1,7-di-*O*-(4-methylbenzenesulfonyl)-*D-manno*-heptulose (**85**) was prepared. Before radioactive labelling the substitution reaction was successfully carried out "cold" with [ $^{19}\text{F}$ ] to obtain **88**.

Other fluorescence markers could be quantum dots. These can be encapsulated with glycofunctionalized polymers. In a collaboration with the Weller research group various

glycofunctionalized QDs were prepared and among other monosaccharides tested for their binding to the lectin Con A via SPR. Especially the MH-NP (**93**) showed a high binding affinity which indicates multi valency interactions.

The second part of this work focuses on new pathways for the synthesis of glucuronic acid. Glucuronic acid is the uronic acid of glucose, which among other functions plays a major role in the metabolism of foreign substances. Since the middle of the twentieth century attempts have been made to prepare glucuronic acid by oxidation of several raw materials. This has only been partly successful and especially the large scale production is still difficult.

For the oxidation of glucose at C-6, the anomeric C-1 has to be protected. Several precursor compounds were produced [allyl (**111/112**)- and thioglucosides (**108**)] or purchased [glucose-1-phosphate (**96**)] respectively. For the oxidation different methods were tested. The best results could be achieved with the platinum catalysts ESCAT 24 and 4%Pd+1%Pt+5%Bi. The deprotection was either carried with enzymatic with alkaline phosphatase [ $\alpha$ -D-glucopyranose uronic acid-1-phosphate (**105**)] or by deallylation with palladium chloride in water/acetic acid [allyl- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranosidunronsäure (**115/116**)].

## V. Experimenteller Teil

### 1. Allgemeine Arbeitsmethoden

#### Reaktionsführung:

Reaktionen mit luftempfindlichen Reagenzien wurden unter Schutzgas und Ausschluss von Wasser mittels Schlenk-Technik in ausgeheizter Apparatur und mit absoluten Lösungsmitteln durchgeführt.

Kommerziell erhältliche Reagenzien wurden ohne weitere Reinigung eingesetzt.

#### Absolute Lösungsmittel:

Absolute Lösungsmittel wurden von den Firmen *Fluka* oder *Sigma-Aldrich* bezogen und unter Inertgas entnommen.

#### NMR-Spektroskopie:

Zur Aufnahme der 400 MHz  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren wurden die Geräte AMX400 oder AV400 der Firma *Bruker* verwendet. Für die 500 MHz  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren wurde das Gerät DRX500 der Firma *Bruker* verwendet.

Für die Aufnahmen der 100 MHz  $^{13}\text{C}$ -Spektren wurden die Geräte AMX400 oder AV400 verwendet, für die 125 MHz  $^{13}\text{C}$ -Spektren das Gerät DRX500.

Alle Messungen erfolgten bei 300K.

Die chemische Verschiebung  $\delta$  wird in ppm angegeben und auf das jeweilige Lösungsmittel bezogen,

$^1\text{H}$ -NMR: DMSO- $d_6$ :  $\delta = 2.50$  ppm, Quintett

$^{13}\text{C}$ -NMR: DMSO- $d_6$ :  $\delta = 39.52$  ppm, Septett.

Die Kopplungskonstanten  $J$  werden in Hz angegeben. Zur Wiedergabe der Multiplizitäten werden folgende Abkürzungen verwendet: s für Singulett, d für Dublett, dd für Doppeldublett, t für Triplett, q für Quartett und m für Multipllett.

Die Zuordnung der Signale wurden durch H,H-COSY-, HMQC- und HMBC-Experimente vorgenommen.

**Massenspektrometrie:**

ESI-Massenspektren wurden auf einem Thermo Finnigan MAT 95 XL Massenspektrometer oder einem Agilent-6224-TOF ESI/MS gemessen.

**Polarimetrie:**

Die Bestimmung der Drehwerte erfolgte mit dem Polarimeter P8000 der Firma *Krüss*. Die Messungen erfolgten bei 589 nm (Natrium-D-Linie) in einer 10 cm Küvette bei der jeweils angegebenen Temperatur.

**Dünnschichtchromatographie:**

Es wurden mit Kieselgel 60 beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator der Firma *Machery-Nagel* (ALUGRAM® XTra SIL G/UV<sub>254</sub>, Schichtdicke 0.2 mm, F<sub>254</sub>) verwendet.

Zur Färbung von Kohlenhydraten wurde eine 10%ige ethanolische Schwefelsäure mit anschließender Wärmebehandlung verwendet.

**Präparative Säulenchromatographie:**

Es wurde Kieselgel (230 – 400 mesh ASTM, 0.040 – 0.063 mm, 60 Å) der Firma *Fluka* oder Kieselgel (230 – 400 mesh ASTM, 0.035 – 0.070 mm, 60 Å) der Firma *Acros* verwendet.

**Gefriertrocknung:**

Die Gefriertrocknungen von wässrigen oder wasserhaltigen Lösungen wurden an einer Gefriertrocknungsanlage Alpha 1-4 LD der Firma *Christ* durchgeführt.

### **Automatische Titration zur Oxidation:**

Zur automatischen Titration während der Oxidation wurde ein *Prominent Dulcometer Typ PHD* mit einer pH-Elektrode der Firma *Mettler Toledo* verwendet. Der Soll-pH-Wert wurde auf 9.5 eingestellt.

### **SPR-Messungen:**

HEPES-Puffer:

0.01 M HEPES-Puffer (1L): - 2.38 g HEPES  
- 8.77 g NaCl  
- 0.111 g CaCl<sub>2</sub>  
- 0.126 g MnCl<sub>2</sub>

Der Puffer wurde mit NaOH-Lösung auf den pH 6.5 eingestellt. Die Lösung verfärbte sich leicht gelblich und wurde vor Benutzung filtriert (0.22 µm) und 15 min. im Ultraschallbad entgast.

Methodische Details:

Die SPR-Messungen wurden mit einem BIACORE T100 Gerät durchgeführt. Zur Immobilisierung des Lectins ConA wurde ein kommerziell erhältlicher CM5-Sensor-Chip verwendet. Die Auswertung erfolgte mit der dem Gerät mitgelieferten BIACORE T100 Evaluation Software, Version 1.1.1.

Für die Messungen wurden Volumina von 100 - 250 µL für jede Konzentration benutzt. Für die Monosaccharide wurden Verdünnungsreihen ausgehend von einer 5 mM Lösung im HEPES-Puffer durch 1:1 Verdünnung hergestellt. Die Nanopartikel wurden in geringeren Konzentrationen von 0.83 nM – 0.425 µM verwendet und ausgehend davon die Verdünnungsreihen hergestellt. Um Luftblasen auszuschließen, wurden die Proben vor der Messung kurz zentrifugiert.

*Flow rate:* 10 µL/min

*Contact time:* 180 s

*Dissociation time:* 300 s

Temperatur: 25 °C

Auswertung mit Biacore T100

## **2. Allgemeine Arbeitsvorschriften**

### **AAV 1: Oxidation mit Essigsäureanhydrid und DMSO**

Die zu oxidierende Verbindung (1.0 eq.) wurde in absolutem DMSO gelöst und auf 30 °C erwärmt. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Essigsäureanhydrid (20 eq.) versetzt und bis zur vollständigen Umsetzung bei 30 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser verdünnt und mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat oder Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt.

### **AAV 2: Methylenierung mit Petasis-Reagenz**

Die Reaktion wurde unter Schutzgasatmosphäre und Lichtausschluss durchgeführt. Das Lacton (1.0 eq.) und das frisch hergestellte Petasis-Reagenz (Dimethyltitanocen, 2.2 eq., AAV 5) wurden in absolutem Toluol gelöst und bei 60 – 80 °C für die angegebene Zeit gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt im angegebenen Laufmittelgemisch säulenchromatographisch gereinigt.

### **AAV 3: Bishydroxylierung unter Sharpless-Bedingungen**

Die zu hydroxylierende Verbindung (1 eq.) wurde in einem Gemisch aus *tert*-Butanol und Wasser (1:1, v/v) gelöst und mit Kaliumcarbonat (3 eq.) und Kaliumhexacyanoferrat(III) (3 eq.) versetzt. Zu der Lösung wurde eine katalytische Menge Kaliumosmat-Dihydrat gegeben und für die angegebene Zeit bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung mit Ethylacetat verdünnt und mehrmals mit Wasser gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt.

#### **AAV 4: Dacetylierung unter Zemplén-Bedingungen**

Die zu deacetylierende Verbindung (1.0 eq.) wurde in absolutem Methanol gelöst und mit einer katalytischen Menge 1 M Natriummethanolat-Lösung in absolutem Methanol versetzt. Die Reaktionslösung wurde bei Raumtemperatur bis zum vollständigen Reaktionsumsatz gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung durch Zugabe von Ionentauscher Amberlite® IR-120 H<sup>+</sup> neutralisiert. Die Lösung wurde filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt.

#### **AAV 5: Darstellung des Petasis-Reagenz**

Unter Schutzgasatmosphäre und Lichtausschluss wurde Titanocendichlorid (1.0 eq.) in abs. Diethylether (ca. 4 mL/mol) gelöst. Zu der Lösung wurde bei 0 °C Methyllithium (1.6 M in Diethylether, 2.2 eq.) in abs. Diethylether langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde so viel Eiswasser hinzugegeben bis die Reaktionslösung nicht mehr schäumte. Die wässrige und organische Phase wurden getrennt und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum und unter Lichtausschluss entfernt. Das Produkt ist ein orangefarbener Feststoff.

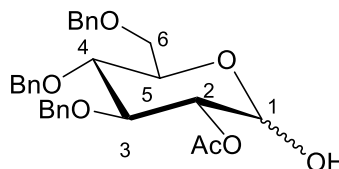
#### **AAV 6: Oxidation Glucuronsäure**

Die zu oxidierende Substanz wurde in Wasser gelöst. Ein Titrator wurde benutzt und mit 1 M Kaliumhydrogencarbonat ein pH Wert von 9.5 eingestellt. Anschließend wurde der Katalysator zugegeben und die Reaktionslösung unter Sauerstoffatmosphäre über Nacht gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung filtriert und das Lösungsmittel entfernt.

### 3. Spezielle Arbeitsvorschriften

#### 3.1. 2-O-Acetyl-3,4,6-tri-O-benzyl-D-glucopyranose (59)

$C_{29}H_{32}O_7$   
492.21 g/mol



Verbindung **58** (1.8 g, 3.6 mmol) wurde in einem Essigsäure/Wasser-Gemisch (3:2 v/v, 20 mL) gelöst und für 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittelgemisch durch Coevaporation mit Toluol entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 2:1).

#### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 1.5 g (3.1 mmol, 86%); farbloses Öl

**ESI-HRMS (m/z):**  $C_{29}H_{32}O_7 [M+Na]^+$

ber.: 515.5468

gef.: 515.2050

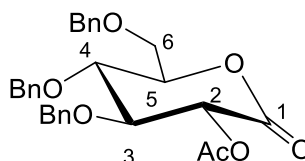
**$^1H$ -NMR** (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.34 – 7.25 (m, 13 H, CH-arom.), 7.22 – 7.20 (m, 2H, CH-arom.), 6.85 (d,  $J_{1,OH} = 4.8$  Hz, 1H, OH), 5.11 (dd,  $J_{OH,1} = 4.8$  Hz,  $J_{1,2} = 4.0$  Hz, 1H, H-1), 4.75 – 4.69 (m, 3H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.59 (d,  $J_{1,2} = 9.1$  Hz, 1H, H-2), 4.54 – 4.48 (m, 3H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.92 – 3.88 (m, 2H, H-3, H-5), 3.67 – 3.58 (m, 2H, H-6a, H-6b), 3.51 (dd,  $^3J = 9.5$  Hz,  $^3J = 10.0$  Hz, 1H, H-4), 2.00 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>).



<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] = 169.9 (COCH<sub>3</sub>), 138.6, 138.2 (C<sub>q</sub>-arom.), 128.2, 128.2, 127.7, 127.6, 127.6, 127.5, 127.4 (CH-arom.), 89.1 (C-1), 79.2 (C-5), 78.0 (C-4), 74.9, 74.0 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.6 (C-2), 72.3 (CH<sub>2</sub>Ph), 69.4 (C-3), 68.8 (C-6), 20.7 (COCH<sub>3</sub>).

### 3.2. 2-O-Acetyl-3,4,6-tri-O-benzyl-D-glucono-1,5-lacton (61)

C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub>  
490.20 g/mol



Es wurden Verbindung **59** (300 mg, 609 μmol), Essigsäureanhydrid (0.4 mL) und DMSO (4 mL) gemäß **AAV 1** umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 2:1).

#### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 208 mg (426 μmol, 70%); farbloses Öl

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{22} = +150.0^\circ$  (c = 0.2, DMSO)

**ESI-HRMS (m/z):** C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub> [M+Na]<sup>+</sup>

ber.: 513.5311

gef.: 513.1898

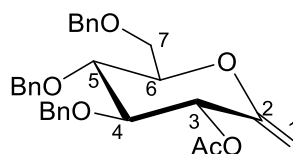
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] = 7.35 – 7.27 (m, 13H, CH-arom.), 7.25 – 7.23 (m, 2H, CH-arom.), 5.41 (d, J<sub>2,3</sub> = 9.1 Hz, 1H, H-2), 4.75 (d, J = 10.9 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.72 (d, J = 12.7

Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.66 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.59 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.57 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.53 – 4.49 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Ph, H-5), 4.16 (dd,  $J_{2,3} = 9.1$  Hz,  $J_{3,4} = 8.5$  Hz, 1H, H-3), 4.06 (dd,  $J_{4,5} = 8.1$  Hz,  $J_{3,4} = 8.4$ , 1H, H-4), 3.71 (d,  $J_{6a,6b} = 3.4$  Hz, 2H, H-6a, H-6b), 2.05 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 166.5 (C-1), 137.8 (Cq-arom.), 128.3, 128.0, 127.8, 127.7, 127.7, 127.6 (CH-arom.), 78.7 (C-3), 78.3 (C-5), 75.3 (C-4), 73.5, 73.4, 72.3 (CH<sub>2</sub>Ph), 71.1 (C-2), 86.3 (C-6), 21.1 (COCH<sub>3</sub>).

### 3.3. 3-O-Acetyl-2,6-anhydro-4,5,7-tri-O-benzyl-1-desoxy-D-gluco-hept-1-enitol (62)

C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub>  
488.22 g/mol



Das Produkt **61** (1.2 g, 2.4 mmol) wurde mit frisch hergestelltem Petasis-Reagenz (1.47 g, 7.07 mmol) in absolutem Toluol (30 mL) nach **AAV 2** umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 Stunden. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 2:1 + 0.5 % Triethylamin).

#### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 0.36 g, 0.74 mmol, 31%); gelbliches Öl

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{22} = +10.2^\circ$  (c = 1.4, CHCl<sub>3</sub>)

**ESI-HRMS (m/z):** C<sub>30</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup>

ber.: 511.5580

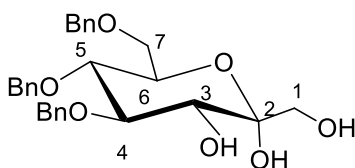
gef.: 511.2412

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] = 7.37 – 7.27 (m, 13H, CH-arom.), 7.20 – 7.17 (m, 2H, CH-arom.), 5.23 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-3) 4.71 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.70 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.69 (s, 1H, H-1a), 4.57 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.56 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.52 (d, *J* = 10.9 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.52 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.38 (dd, *J* = 1.4 Hz, 1H, H-1b), 4.11 – 3.99 (m, 1H, H-6), 3.73 – 3.63 (m, 4H, H-4, H-5, H-7a, H-7b) 2.07 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] = 168.6 (COCH<sub>3</sub>), 152.0 (C-2), 138.1, 137.8 (C<sub>q</sub>-arom.), 128.2, 128.2, 128.2, 128.1, 127.7, 127.7, 127.7, 127.6, 127.5, 127.5, 127.4, 127.3 (CH-arom.), 99.7 (C-1), 85.2 (C-4), 84.7 (C-6), 76.2 (C-5), 75.3, 74.5, 73.6 (CH<sub>2</sub>Ph), 70.6 (C-3), 69.1 (C-7), 21.3 (COCH<sub>3</sub>).

### 3.4. 4,5,7-Tri-O-benzyl-α-D-gluco-hept-2-ulopyranose (63)

C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>7</sub>  
480.21 g/mol



Produkt **62** (360 mg, 0.74 mmol) wurde in absolutem Methanol (10 mL) gelöst und mit einer katalytischen Menge Natriummethanolat versetzt. Die Reaktionslösung wurde 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung wurde Amberlite IR-120 H+ zur Neutralisierung zugegeben, das Reaktionsgemisch filtriert und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand sowie Kaliumhexacyanoferrat(III) (731 mg,

2.22 mmol), Kaliumcarbonat (309 mg, 2.22 mmol) und eine katalytische Menge Kaliumosmat-Dihydrat wurden in einem Gemisch aus *tert*-Butanol/Wasser (8 mL) nach **AAV 3** umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 20 Stunden und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (EE).

### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 250 mg g, (0.52 mmol, 70%); farbloser Schaum

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.35 (EE)

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{26} = +57.0^\circ$  (c = 0.1, CHCl<sub>3</sub>)

**ESI-HRMS (m/z):** C<sub>28</sub>H<sub>32</sub>O<sub>7</sub> [M+Na]<sup>+</sup>

ber.: 503.2040

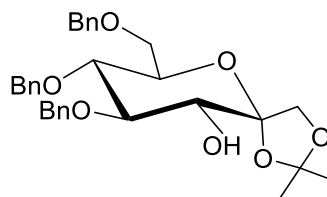
gef.: 503.2048

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] = 7.36 – 7.23 (m, 13 H, CH-arom.), 7.15 – 7.14 (m, 2H, CH-arom.), 5.68 (s, 1H, OH), 4.91 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.83 (d, J<sub>OH,3</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-3), 4.72 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.71 (d, J = 11.6 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), ), 4.67 (dd, J<sub>OH,1b</sub> = 6.0 Hz, J<sub>OH,1a</sub> = 6.6 Hz, 1H, OH), 4.53 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.49 (d, J = 10.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.47 (d, J = 12.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.85 – 3.82 (m, 1H, H-6), 3.64 – 3.58 (m, 2H, H-7a, H-7b), 3.70 (dd, J<sub>4,5</sub> = 9.0 Hz, J<sub>5,6</sub> = 9.3 Hz, 1H, H-5), 3.50-3.44 (m, 3H, H-4 H-1a, H-1b).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ [ppm] = 139.2, 139.1, 139.1, 138.9 (C<sub>q</sub>-arom.), 128.2, 128.0, 128.0, 127.8, 127.6, 127.5, 127.4, 127.4 (CH-arom.), 97.7 (C-2), 80.7 (C-4), 77.8 (C-5), 74.0, 73.8 (CH<sub>2</sub>Ph), 71.2 (C-6), 72.3 (CH<sub>2</sub>Ph), 69.3 (C-7), 69.1 (C-3), 64.9 (C-1).

**3.5. 4,5,7-Tri-O-benzyl-1,2-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-gluco-hept-2-ulopyranose (64)**

$C_{31}H_{36}O_7$   
520.25 g/mol



Verbindung **63** (100 mg, 210  $\mu$ mol) wurde in absolutem Aceton gelöst (15 mL). Anschließend wurden 2,2-Dimethoxypropan (245  $\mu$ L, 2.00 mmol) und DOWEX 50X H<sup>+</sup> (100 mg) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 40 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung wurde filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 2:1 + 0.5 % Triethylamin).

**Analytische Daten und Ausbeute**

**Ausbeute:** 110 mg, (210  $\mu$ mol, quant.); farbloses Öl

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.63 (PE/EE 2:1, v/v)

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{26} = +74.0^\circ$  (c = 0.1, CHCl<sub>3</sub>)

**ESI-HRMS (m/z):**  $C_{31}H_{36}O_7$  [M+Na]<sup>+</sup>

ber.: 543.2353

gef.: 543.2364

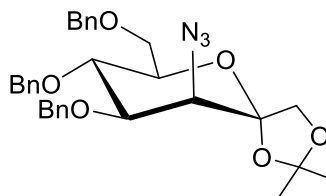
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.37-7.23 (m, 13H, H-arom.), 7.17-7.15 (m, 2H, H-arom.), 5.35 (d,  $J_{OH,3} = 7.8$  Hz, 1H, OH), 4.95 (d,  $J = 11.8$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.73 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.73 (d,  $J = 11.4$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.53 (d,  $J = 12.1$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph),

4.50(d,  $J = 10.8$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.46 (d,  $J = 12.1$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.05 (d,  $J_{1a,1b} = 8.5$  Hz, 1H, **H-1a**), 3.85 (d,  $J_{1a,1b} = 8.5$  Hz, 1H, **H-1b**), 3.79 – 3.74 (m, 1H, **H-6**), 3.65 – 3.58 (m, 3H, **H-4**, **H-7a**, **H-7b**), 3.45 – 3.38 (m, 2H, **H-3**, **H-5**), 1.42 (s, 3H, isopropyl- $\text{CH}_3$ ), 1.36 (s, 3H, isopropyl- $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 139.1, 138.4, 138.3 (**Cq**-arom.), 128.2, 128.2, 128.1, 127.6, 127.5, 127.4, 127.2 (**CH**-arom.), 111.3 (isopropyl-**Cq**), 105.4 (**C-2**), 83.6 (**C-4**), 77.4 (**C-5**), 74.2, 72.9, 72.3 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 71.3 (**C-6**), 70.9 (**C-1**), 70.6 (**C-3**), 68.9 (**C-7**), 27.0 (isopropyl- $\text{CH}_3$ ), 26.2 (isopropyl- $\text{CH}_3$ ).

### 3.6. 3-Azido-4,5,7-tri-O-benzyl-3-deoxy-1,2-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-mannohept-2-ulopyranose (65)

$\text{C}_{31}\text{H}_{35}\text{O}_6$   
545.25 g/mol



Verbindung 64 (106 mg, 204  $\mu\text{mol}$ ) wurde in absolutem Dichlormethan (9 mL) gelöst und anschließend mit Pyridin (32  $\mu\text{L}$ ) versetzt. Bei 0 °C wurde Trifluormethansulfonsäureanhydrid (54.0  $\mu\text{L}$ , 680  $\mu\text{mol}$ ) tropfenweise zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde zwei Stunden bei Raumtemperatur weiter gerührt. Anschließend wurde mit Wasser und Dichlormethan verdünnt und die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wurde nochmals mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung direkt weiter verwendet.

Das Rohprodukt wurde unter Schutzgasatmosphäre in absolutem DMF (8 mL) gelöst und mit Tetrabutylammoniumazid (500 mg, 1.76 mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde dann 24 Stunden bei 60 °C gerührt. Nach vollständiger Umsetzung wurde mit Dichlormethan verdünnt und mehrmals mit Wasser gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurden

über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE 3:1 + 0.5 % Triethylamin).

### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 44.5 mg, (81.5  $\mu$ mol, 40%); farbloses Öl

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.68 (PE/EE 3:1, v/v)

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{26} = +33.3^\circ$  (c = 0.51, CHCl<sub>3</sub>)

**ESI-HRMS (m/z):** C<sub>31</sub>H<sub>35</sub>O<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup>

ber.: 568.3149

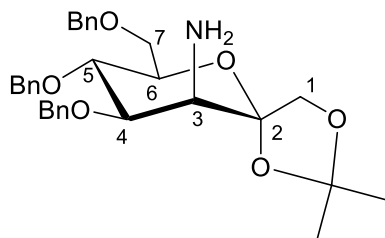
gef.: 568.2454

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.33 - 7.28 (m, 13H, **H**-arom.), 7.20 – 7.18 (m, 2H, **H**-arom.), 4.82 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.79 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.68 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.55 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.52 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.46 (d, *J* = 12.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.46 (d, *J*<sub>3,4</sub> = 3.8 Hz, 1H, **H**-3), 4.08 (d, *J*<sub>1a,1b</sub> = 9.1 Hz, 1H, **H**-1a), 3.97 (dd, *J*<sub>3,4</sub> = 3.8, *J*<sub>4,5</sub> = 4.4 Hz, 1H, **H**-4), 3.93 (d, *J*<sub>1a,1b</sub> = 9.1 Hz, 1H, **H**-1b), 3.70 - 3.67 (m, 2H, **H**-5, **H**-6), 3.62 – 3.57 (m, 2H, **H**-7a, **H**-7b), 1.39 (s, 3H, isopropyl-CH<sub>3</sub>), 1.36 (s, 3H, isopropyl-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 138.3, 138.2, 137.8 (**C**<sub>q</sub>-arom.), 128.3, 128.2, 128.2, 127.7, 127.7, 127.6, 127.5, 127.5, 127.4 (**CH**-arom.), 112.1 (isopropyl-**C**<sub>q</sub>), 103.2 (**C**-2), 80.0 (**C**-4), 74.2 (CH<sub>2</sub>Ph), 73.8 (**C**-5), 72.9 (**C**-1), 72.2 (CH<sub>2</sub>Ph), 72.0 (**C**-6), 70.9 (CH<sub>2</sub>Ph), 68.7 (**C**-7), 61.8 (**C**-3), 26.8 (isopropyl-CH<sub>3</sub>), 26.1 (isopropyl-CH<sub>3</sub>).

**3.7. 3-Amino-4,5,7-tri-O-benzyl-3-desoxy-1,2-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-manno-hept-2-ulopyranose (66)**

$C_{31}H_{37}NO_6$   
519.26 g/mol



Verbindung **65** (15 mg, 28  $\mu$ mol) wurde in Pyridin (4 mL) gelöst und mit Pd/C (38 mg, 5%) versetzt. Die Reaktionslösung wurde unter Sauerstoffatmosphäre 24 Stunden gerührt. Das Gemisch wurde filtriert und das Lösungsmittel durch Coevaporation mit Toluol entfernt.

**Analytische Daten und Ausbeute**

**Ausbeute:** 13 mg, (25  $\mu$ mol, 89%); farbloses Öl

**R<sub>f</sub>-Wert:** 0.36 (PE/EE 1:2, v/v)

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{26} = +11.0^\circ$  (c = 0.1, CHCl<sub>3</sub>)

**ESI-HRMS (m/z):**  $C_{31}H_{37}NO_6$  [M+H]<sup>+</sup>

ber.: 520.3357

gef.: 520.2704

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.39 - 7.36 (m, 2H, C3-NH), 7.33 - 7.25 (m, 13H, H-arom.), 7.20 - 7.18 (m, 2H, H-arom.), 4.78 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.69 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.55 (d, J = 12.2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.52 (d, J = 11.5 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph),

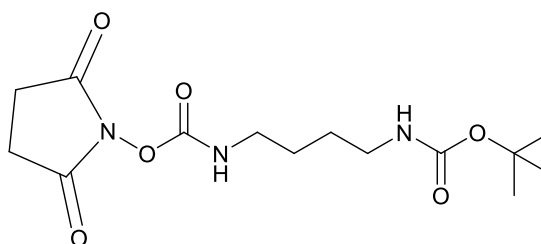


4.48 (d,  $J = 12.2$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.47 (d,  $J = 11.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.00 (d,  $J_{1a,1b} = 9.1$  Hz, 1H, **H-1a**), 3.93 (d,  $J_{1a,1b} = 9.1$  Hz, 1H, **H-1b**), 3.75 - 3.66 (m, 4H, **H-3**, **H-4**, **H-5**, **H-6**), 3.62 - 3.61 (m, 2H, **H-7a**, **H-7b**), 1.40 (s, 3H, isopropyl- $\text{CH}_3$ ), 1.31 (s, 3H, isopropyl- $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 139.1 (**C**<sub>q</sub>-arom.), 128.4, 128.3, 128.2, 127.7, 127.6 (**CH**-arom.), 111.9 (isopropyl-**C**<sub>q</sub>), 74.6 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 73.8 (**C-5**), 73.9 (**C-1**), 72.8 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 72.0 (**C-6**), 70.6 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 69.6 (**C-7**), 27.3 (isopropyl- $\text{CH}_3$ ), 27.0 (isopropyl- $\text{CH}_3$ ).

### 3.8. [4-(2,5-Dioxo-pyrrolidin-1-yloxycarbonylamino)-butyl]- carbaminsäure-tert-butylester (68)

$\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6$   
329.16 g/mol



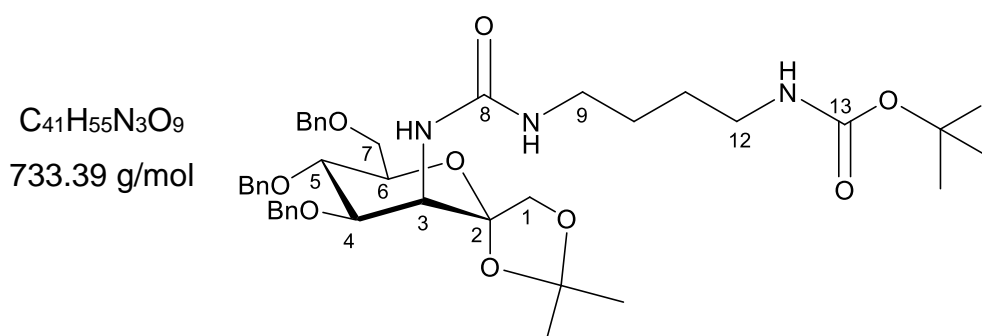
Zu einer Lösung aus *N,N'*-Disuccinimidylcarbonat (100 mg, 390  $\mu\text{mol}$ , 1.2 eq.) in Acetonitril (6 mL) wurde langsam eine Lösung aus Verbindung **67** (62 mg, 330  $\mu\text{mol}$ , 1 eq.) in Acetonitril (2.8 mL) getropft. Die Reaktionslösung wurde 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel anschließend bei vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in Aceton mit Petrolether auskristallisiert.

#### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 71.0 mg (216  $\mu\text{mol}$ , 65%), farbloser Feststoff

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 5.54 (bs, 1H, NH), 4.59 (bs, 1H, NH), 3.30 (dd, *J* = 6.4 Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>), 3.15 (dd, *J* = 6.3 Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>), 2.82 (s, 4H, succinimido), 1.52 - 1.60 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 1.44 (s, 9H, *tert*-butyl).

**3.9. 4,5,7-Tri-*O*-benzyl-3-desoxy-3-(12-*N*-*tert*-butyloxycarbonyl-aminobut-9-yl-ureido)-1,2-isopropyliden- $\alpha$ -*D*-manno-hept-2-ulopyranose (69)**



Die Verbindung **66** (18 mg, 35  $\mu$ mol, 1 eq.) wurde in Acetonitril gelöst und mit dem Linker **68** (11.4 mg, 35  $\mu$ mol, 1 eq.) und Triethylamin (19.2  $\mu$ L, 139  $\mu$ mol, 4 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (EE + 0.5% Et<sub>3</sub>N).

**Analytische Daten und Ausbeute**

**Ausbeute:** 18.7 mg, (25.5  $\mu$ mol, 74%); farbloses Öl

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{22} = -12.9^\circ$  (c = 0.07, CHCl<sub>3</sub>)

**ESI-HRMS (m/z):** C<sub>41</sub>H<sub>55</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub> [M+H]<sup>+</sup>

ber.: 734.8942

gef.: 734.4022

C<sub>31</sub>H<sub>37</sub>NO<sub>6</sub> [M+Na]<sup>+</sup>

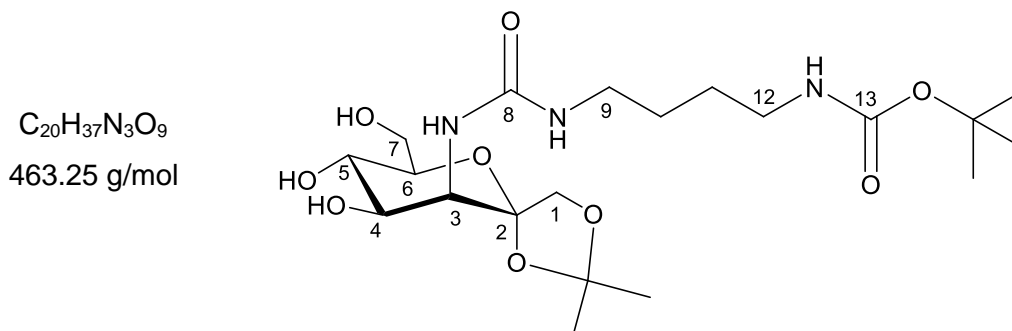
ber.: 756.8744

gef.: 756.3842

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 7.38 – 7.28 (m, 13H, CH-arom.), 7.21 -7.19 (m, 2H, CH-arom.), 5.40 (bs, 1H, NH), 4.91 (d, *J* = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.82 (d, *J* = 11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.70 (bs, 1H, NH), 4.60 (d, *J* = 11.8 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.53 (d, *J* = 10.8 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.52 (bs, 1H, -NH), 4.49 (d, *J* = 10.8 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.48 (d, *J* = 11.8 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.07 - 4.04 (m, 1H, H-3), 3.88 (dd, *J*<sub>x,5</sub> = 9.8 Hz, *J*<sub>x,5</sub> = 10.3 Hz, 1H, H-5), 3.83 (dd, *J*<sub>6,7a</sub> = 3.0 Hz, *J*<sub>7a,7b</sub> = 10.3 Hz, 1H, H-7a), 3.74 (dd, *J*<sub>3,4</sub> = 3.8 Hz, *J*<sub>4,5</sub> = 9.6 Hz, 1H, H-4), 3.67 – 3.63 (m, 1H, H-6), 3.32 – 3.23 (m, 3H, H-1a, H-1b, H-7b), 3.17 – 3.12 (m, 4H, H-9, H-12), 1.63 – 1.52 (m, 4H, H-10, H-11), 1.44 (s, 9H, *tert*-butyl-CH<sub>3</sub>) 1.39 (s, 3H, isopropyl-CH<sub>3</sub>), 1.26 (s, 3H, isopropyl-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 128.6, 128.6, 128.5, 128.1, 128.0, 127.8 (CH-arom.), 75.5, 74.3 (CH<sub>2</sub>Ph), 74.0 (C-3), 73.8 (C-6), 72.9 (C-5), 72.6 (C-7), 71.7 (CH<sub>2</sub>Ph), 66.5 (C-1), 41.2, 40.9 (C-9, C-12), 29.0 (isopropyl-CH<sub>3</sub>), 28.9 (*tert*-butyl-CH<sub>3</sub>), 28.4 (C-10, C-11), 27.7 (isopropyl-CH<sub>3</sub>), C<sub>q</sub> wurden nicht detektiert.

**3.10. 3-Desoxy-3-(12-N-tert-butylloxycarbonyl-aminobut-9-yl-ureido)-1,2-isopropyliden- $\alpha$ -D-manno-hept-2-ulopyranose (70)**



Die Verbindung **69** (18.0 mg, 24.5  $\mu$ mol) wurde in Methanol (5 mL) gelöst. Zu der Lösung wurde eine katalytische Menge Pd/C (10%) addiert und unter Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur 48 Stunden gerührt. Anschließend wurde die Lösung über einen Spritzenfilter (0.45  $\mu$ m) filtriert und das Lösungsmittel entfernt.

**Analytische Daten und Ausbeute**

**Ausbeute:** 10.0 mg, (21.6  $\mu$ mol, 88%); farbloses Öl

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{22} = +5.7^\circ$  (c = 0.07,  $CHCl_3$ )

**ESI-HRMS (m/z):**  $C_{20}H_{37}N_3O_9$  [M+Na]<sup>+</sup>

ber.: 486.2422

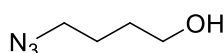
gef.: 486.2429

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  [ppm] = 4.90 – 4.87 (m, 1H, **H-6**), 4.77 – 4.75 (m, 1H, **H-5**), 4.66 (d,  $J_{3,4} = 1.9$  Hz, 1H, **H-3**), 4.48 – 4.46 (m, 1H, **H-4**), 3.92 – 3.90 (m, 2H, **H-7a**, **H-7b**), 3.78 - 3.71

(m, 2H, **H-1a**, **H-1b**), 3.27 – 3.20 (m, 4H, **H-9**, **H-12**), 1.63 (s, 9H, *tert*-butyl-CH<sub>3</sub>), 1.36 (s, 3H, isopropyl-CH<sub>3</sub>), 1.18 (s, 3H, isopropyl-CH<sub>3</sub>).

### 3.11. 4-Azidobutanol (**73**)

C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O  
115.07 g/mol



Der Linker Azidobutanol wurde ausgehend von Tetrahydrofuran in drei Stufen synthetisiert. Dazu wurde Natriumiodid (55.4 g, 0.369 mol, 1 eq.) in THF (30 mL, 0.36 mol, 1 eq.) und Acetonitril (15 mL) gelöst. Bei 0 °C wurde die Lösung mit Benzoylchlorid (43 mL, 0.37 mol, 1 eq.) versetzt und für 24 Stunden bei Raumtemperatur und unter Lichtausschluss gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit Wasser und Diethylether gewaschen und die wässrige Phase noch dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden weiter je einmal mit gesättigter Natriumhydrogensulfat- und Natriumcarbonat-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Als Produkt wurde **67** als ein farbloses Öl (72.5 g, 0.24 mol, 65%) erhalten und im nächsten Schritt vollständig weiter verarbeitet. Dazu wurde **69** (72.5 g, 0.24 mol, 1 eq.) in DMF gelöst und bei 0 °C und unter Lichtausschluss mit Natriumazid (19.4 g, 0.297 mmol, 1 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 24 Stunden gerührt und anschließend mit Diethylether und Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Diethylether extrahiert und die vereinten organischen Phasen bei vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde in *n*-Hexan (100 mL) aufgenommen und mit Wasser und Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Es wurde **68** als farbloses Öl (35.8 g, 0.163 mol, 68%) erhalten und im nächsten Schritt vollständig weiter umgesetzt. Verbindung **68** (35.8 g, 0.163 mol, 1 eq.) wurde in THF (110 mL), Wasser (43 mL) und Methanol (12 mL) gelöst und mit Lithiumhydroxid (8.3 g, 0.20 mol, 1 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 24 Stunden gerührt und anschließend mit Wasser und Diethylether gewaschen. Die wässrige

Phase wurde dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt.

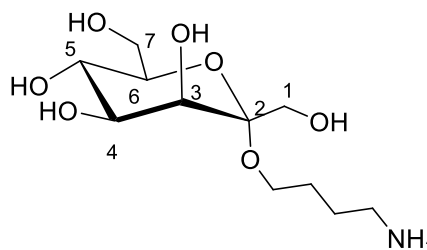
### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 15.6 g (0.135 mol, 83%; 37% über drei Stufen), farbloses Öl

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 3.65 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-OH), 3.31 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>-N<sub>3</sub>), 1.88 (s, 1H, -OH), 1.72 – 1.65 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>).

### 3.12. 2-O-(4-Amino-butyl)- α-D-manno-hept-2-ulopyranose (75)

C<sub>11</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>7</sub>  
281.15 g/mol



Unter Schutzgasatmosphäre wurde Verbindung **74** (15 mg, 29 μmol) in Pyridin (4 mL) gelöst. Dazu wurde Pd/C (5%, 38 mg) gegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht unter H<sub>2</sub>-Atmosphäre gerührt. Nach DC-Kontrolle (PE/EE 3:1) wurde die Reaktionslösung durch einen Spritzenfilter (0.45 μm) filtriert und mit Pyridin gewaschen. Das Lösungsmittel wurde durch Coevaporation mit Toluol entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Das Rohprodukt wurde nach **AAV 4** weiter umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug eine Stunde.

**Analytische Daten und Ausbeute**

**Ausbeute:** 7.6 mg, (27.6  $\mu\text{mol}$ , 95%); farbloses Öl

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{22} = +160.8^\circ$  (c = 0.1, MeOH)

**ESI-HRMS (m/z):**  $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{NO}_7$  [M+Na]<sup>+</sup>

ber.: 304.2903

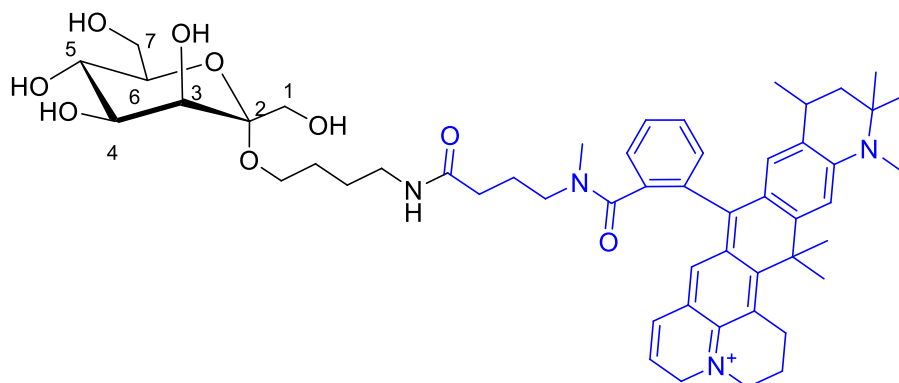
gef.: 304.2148

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, MeOD):  $\delta$  [ppm] = 3.88 – 3.80 (m, 3H, **H-4**, **H-7a**, **H-7b**), 3.76 – 3.72 (m, 1H, **H-5**), 3.69 – 3.64 (m, 2H, **H-3**, **H-6**), 3.58 – 3.55 (m, 1H, **H-1a**), 3.47 – 3.42 (m, 1H, **H-1b**), 2.42 (s, 4H, **H-9**, **H-12**), 2.25 (s, 4H, **H-10**, **H-11**).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, MeOD):  $\delta$  [ppm] = 102.3 (**C-2**), 75.7, 73.0, 71.1, 68.7 (**C-tert**), 63.1, 59.8 (**C-1**, **C-7**), 45.3, 35.7 (**C-9**, **C-12**), 28.4, 26.7 (**C-10**, **C-11**).

**3.13. Attoheptulosid (77)**

$C_{52}H_{69}N_4O_9^+$   
893.51 g/mol



Die Reaktion, Aufarbeitung und Reinigung fanden unter Lichtausschluss satt. Das Produkt **75** (11 mg, 39  $\mu$ mol) wurde in absolutem DMSO (2 mL) gelöst. Zu der Lösung wurde ATTO 647N-NHS (5 mg, 5.9  $\mu$ mol), gelöst in absolutem DMSO (2 mL), gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit bidest. Wasser versetzt und die Lösungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Biogel-P2, bidest. Wasser).

**Analytische Daten**

**ESI-HRMS (m/z):**  $C_{52}H_{69}N_4O_9^+$  [M+H]<sup>+</sup>

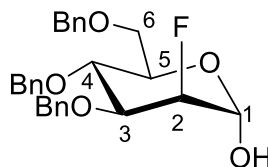
ber.: 909.54

gef.: 908.58



**3.14. 2-Desoxy-2-fluor-3,4,6-tri-O-benzyl- $\alpha$ -D-mannopyranose (81)**

$C_{27}H_{29}FO_5$   
452.20 g/mol



Das Glucal **80** (15 g, 36 mmol, 1 eq.), wurde in DMF (150 mL) gelöst. Zu der Lösung wurde Wasser (150 mL) addiert und das Gemisch mit Selectfluor (25.5 g, 72.0 mmol, 2 eq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit Ethylacetat verdünnt und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgradienten gereinigt (PE/Et<sub>2</sub>O 3:1 → PE/Et<sub>2</sub>O 1:1)

**Analytische Daten und Ausbeute**

**Ausbeute:** 5.0 g (11 mmol, 30%); farbloses Öl

**R<sub>F</sub>-Wert:** 0.38 (PE/Et<sub>2</sub>O 1:1, v/v)

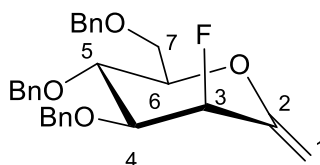
**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{26} = +13.6^\circ$  (c = 1, CHCl<sub>3</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 7.36 – 7.29 (m, 13H, CH-arom.), 7.22 – 7.19 (m, 2H, CH-arom.), 7.00 (dd,  $J_{F,OH} = 1.7$  Hz,  $J_{1,OH} = 4.1$  Hz, 1H, OH), 5.17, ddd,  $J_{1,2} = 1.5$  Hz,  $J_{1,OH} = 4.1$  Hz,  $J_{1,F} = 6.1$  Hz, 1H, H-1), 4.89 (ddd~dd,  $J_{1,2} = 1.7$  Hz,  $J_{2,F} = 52.3$  Hz, 1H, H-2), 4.79 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.75 (d,  $J = 11.9$  Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.63 (d,  $J = 11.3$  Hz, 1H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.54 – 4.44 (m, 3H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.85 (m, 2H, H-3, H-5), 3.68 – 3.59 (m, 3H, H-4, H-6a, H-6b).

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 138.4, 138.3, 138.2 (**C**<sub>q</sub>-arom.), 128.3, 128.2, 127.7, 127.7, 127.6, 127.5, 127.5, 127.5, 127.5 (**CH**-arom.), 90.7 (**C**-1), 86.9 (**C**-2), 78.1 (**C**-3), 75.1 (**C**-4), 74.5, 73.2, 70.6 (**CH**<sub>2</sub>Ph), 70.6 (**C**-5), 69.6 (**C**-6).

### 3.15. 2,6-Anhydro-1,3-dideoxy-3-fluor-4,5,7-tri-O-benzyl-D-mannohept-1-enitol (**83**)

$\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{FO}_4$   
448.20 g/mol



Verbindung **82** (4.4 g, 9.7 mmol, 1 eq.) und Essigsäureanhydrid (18.5 mL, 195 mmol, 20 eq.) wurden in DMSO (150 mL) gemäß **AAV 1** umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 Stunden. Das Rohprodukt (4.1 g, 9.2 mmol, 1 eq.) und Dimethyltitanocen **21** (4.2 g, 20.2 mmol, 2.2 eq.) wurden gemäß **AAV 2** in abs. Toluol (40 mL) umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 Stunden und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE:Et<sub>2</sub>O 4:1 + 0.5% Et<sub>2</sub>O).

#### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 3.2 g (7.1 mmol, 73%); gelbliches Öl

**R<sub>F</sub>-Wert:** 0.45 (PE/Et<sub>2</sub>O 4:1, v/v)

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{26} = +77.6^\circ$  (c = 1,  $\text{CHCl}_3$ )

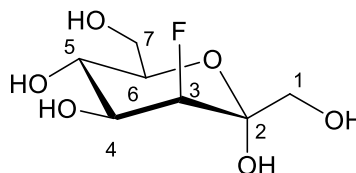
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 7.39 – 7.27 (m, 13H, **CH**-arom.), 7.21 – 7.17 (m, 2H, **CH**-arom.), 5.44 (dd,  $J_{3,F} = 50.1$  Hz,  $J_{2,3} = 2.5$  Hz, 1H, **H**-3), 4.80 (d,  $J = 11.9$  Hz, **CH**<sub>2</sub>Ph), 4.78

(d,  $J = 11.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.73 (s, 2H, **H-1a**, **H-1b**), 4.67 (d,  $J = 11.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.57 (d,  $J = 11.9$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.53 (d,  $J = 11.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.50 (d,  $J = 11.6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.89 – 3.82 (m, 1H, **H-5**), 3.75 – 3.69 (m, 1H, **H-4**), 3.68 (s, 2H, **H-7a**, **H-7b**), 3.65 – 3.61 (m, 1H, **H-6**).

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  [ppm] = 154.6 (**C-2**), 129.0, 128.7, 128.4, 128.1, 128.1 (**CH-arom.**), 100.6 (**C-1**), 86.1 (**C-3**), 79.6 (**C-4**), 78.9 (**C-6**), 73.0 (**C-5**), 68.9 (**C-7**).

### 3.16. 3-Desoxy-3-fluor-D-glycero- $\alpha$ -D-lyxo-hept-2-ulopyranose (**84**)

$\text{C}_7\text{H}_{13}\text{FO}_6$   
212.07 g/mol



Verbindung **83** (1.0 g, 2.2 mmol, 1 eq.) wurde mit Kaliumhexacyanoferrat (2.2 g, 6.6 mmol, 3 eq.), Kaliumcarbonat (0.89 g, 6.6 mmol, 3 eq.) und einer katalytischen Menge Kaliumosmat-Dihydrat in einem *tert*-Butanol/Wasser-Gemisch (10 mL, 1:1) nach **AAV 3** umgesetzt. Die Reaktionszeit betrug 48 Stunden und das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt ( $\text{Et}_2\text{O}$ ). Das Produkt wurde in abs. Methanol gelöst. Zu der Lösung wurde eine katalytische Menge Pd/C (10%) addiert und unter Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur 48 Stunden gerührt. Anschließend wurde die Lösung über einen Spritzenfilter (0.45  $\mu\text{m}$ ) filtriert und das Lösungsmittel entfernt.

#### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 382 mg (1.80 mmol, 82%); farbloses Öl

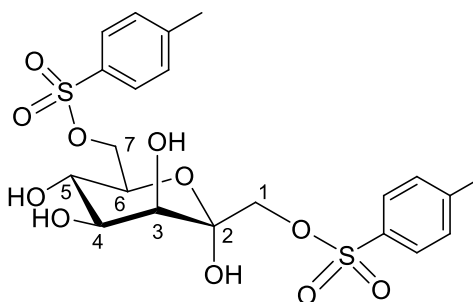
**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{26} = +40.7^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ )

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 4.77 (dd,  $J_{3,F} = 52.4$  Hz,  $J_{3,4} = 2.7$  Hz, 1H, **H-3**), 4.00 (dd,  $J_{3,4} = 2.7$  Hz,  $J_{4,5} = 9.5$  Hz, 1H, **H-4**), 3.89 – 3.72 (m, 4H, **H-1a**, **H-6**, **H-7a**, **H-7b**), 3.76 – 3.73 (m, 1H, **H-5**), 3.65 -3.61 (m, 1H, **H-1b**).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 97.1 (**C-2**), 90.2 (**C-3**), 74.2 (**C-5**), 70.5 (**C-4**), 67.6 (**C-6**), 62.8 (**C-1**), 60.9 (**C-7**).

### 3.17. 1,7-Di-O-(4-methylbenzylsulfonyl)- $\alpha$ -D-manno-heptulose (**85**)

C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>11</sub>S<sub>2</sub>  
518.09 g/mol



*D*-manno-Heptulose (**6**) (10.4 mg, 49.5  $\mu$ mol, 1 eq.) wurde in Pyridin suspendiert und langsam mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (21 mg, 110  $\mu$ mol, 1.2 eq.) in Pyridin versetzt. Die Reaktionslösung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (DCM/MeOH, 15:1, v/v).

#### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 20 mg (38.6  $\mu$ mol, 78%); farbloses Öl

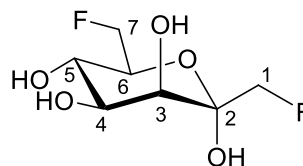
**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{22} = +19.6^\circ$  (c = 1, CHCl<sub>3</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 7.89 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, CH-arom.), 7.74 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, CH-arom.), 7.53 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, CH-arom.), 7.40 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, CH-arom.), 4.45 (dd, *J*<sub>6,7a</sub> = 2.0 Hz, *J*<sub>7a,7b</sub> = 11.2 Hz, 1H, H-7a), 4.37 (dd, *J*<sub>6,7b</sub> = 6.0 Hz, *J*<sub>7a,7b</sub> = 11.2 Hz, 1H, H-7b), 3.93 – 3.92 (m, 2H, H-1a H-5), 3.90 – 3.86 (m, H-1b), 3.74 – 3.72 (m, 1H, H-4), 3.66 – 3.61 (m, 1H, H-6), 3.58 – 3.54 (m, 1H, H-3), 2.47 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, D<sub>2</sub>O): δ [ppm] = 130.2, 129.4, 128.0, 125.4 (CH-arom.), 101.1, 101.0 (C<sub>q</sub>-arom.), 71.7 (C-4), 70.2 (C-6), 69.9 (C-7), 69.7 (C-5), 66.2 (C-3), 44.3 (C-1), 20.8, 20.5 (CH<sub>3</sub>).

### 3.18. 1,7-Dideoxy-1,7-difluor- $\alpha$ -D-manno-hept-2-ulopyranose (**88**)

C<sub>7</sub>H<sub>12</sub>F<sub>2</sub>O<sub>5</sub>  
214.07 g/mol

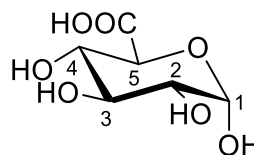


Kaliumcarbonat (2.3 mg, 17  $\mu$ mol), Kaliumfluorid (2 mg, 80  $\mu$ mol, 2.2 eq.) und Kryptofix 2.2.2 (13 mg, 30  $\mu$ mol, 1 eq.) wurden in Acetonitril suspendiert. Verbindung **85** (12.5 mg, 36  $\mu$ mol, 1 eq.) wurde in Acetonitril (0.2 mL) gelöst und zu der Kryptofix-Lösung gegeben. Die Reaktionslösung wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt.

Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch überwacht.

**3.19. Glucuronsäure (95)**

$C_6H_9O_7$   
194.14 g/mol



**Methode A** ausgehend von Allyl- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure (**115/116**):

Es wurden Allyl- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranosiduronsäure (**115/116**) (100 mg, 400  $\mu$ mol und Paladiumdichlorid (50 mg, 280  $\mu$ mol) mit Natriumacetat (30 mg, 370  $\mu$ mol) versetzt. Dazu wurden Wasser (0.1 mL) und Essigsäure (2 mL) hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Filtration der Reaktionslösung wurden die Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt.

**Methode B** ausgehend von  $\alpha$ -D-Glucopyranosuronsäure-1-phosphat (**105**):

Das Enzym alkalische Phosphatase (*CIAP*) (1  $\mu$ L, 18U) wurde in 1x Reaction Buffer (Konzentration: 0.01 U/ $\mu$ L, 1.8 mL) gegeben. Es wurden  $\alpha$ -D-Glucopyranosuronsäure-1-phosphat (**105**) (50 mg, 180  $\mu$ mol) in 40  $\mu$ L Tris-HCl Puffer (40  $\mu$ L) zur Enzymlösung (30  $\mu$ L) gegeben und 30 min bei 37 °C gerührt. Anschließend wurde nochmals ein Aliquot Enzymlösung hinzugegeben und weitere 30 min. gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch (EtOH/MeOH 3:7) verfolgt.

1x Reaction Buffer (pH 9.3): 50 mM Tris-HCl  
1 mM MgCl<sub>2</sub>  
0.1 mM ZnCl<sub>2</sub>  
1 mM Spermidin

**Analytische Daten und Ausbeute**

**Ausbeute:** Methode A: 64 mg (330  $\mu$ mol), 90%, farbloses Öl

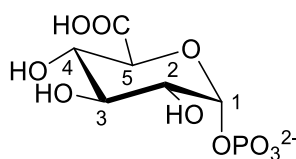
**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{22} = +17.0$  (c = 1, H<sub>2</sub>O).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 4.70 (d,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz, 1H, **H-1**), 4.02 (d,  $J_{4,5} = 9.8$  Hz, 1H, **H-5**), 3.63 – 3.50 (m, 2H, **H-3**, **H-4**), 3.31 (dd,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $J_{2,3} = 8.5$  Hz, 1H, **H-2**).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  [ppm] = 172.6 (**C-6**) 96.0 (**C-1**), 75.2 (**C-5**), 73.6 (**C-2**), 71.4 (**C-4**), 71.2 (**C-3**).

### 3.20. $\alpha$ -D-Glucopyranosuronsäure-1-phosphat (105)

C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>O<sub>10</sub>P<sup>2-</sup>  
272.10 g/mol



Es wurde  $\alpha$ -D-Glucose-1-phosphat (**96**) (1.0 g, 3.8 mmol) nach **AAV 6** umgesetzt. Das Rohprodukt wurde aus Wasser/Ethanol umkristallisiert. Einsatz des Katalysators siehe Tabelle 5.

#### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 870 mg (3.2 mmol), 85%, farbloser Feststoff

**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{22} = +31.4$  (c = 1, H<sub>2</sub>O).

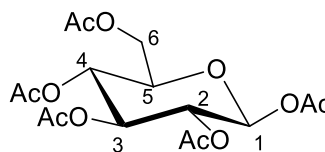
**Smp.:** 144 °C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  [ppm] = 5.54 (dd,  $J_{1,2} = 7.4$  Hz, 1H, **H-1**) 3.96 – 3.71 (m, 2H, **H-3**, **H-4**), 3.48 (dd,  $J_{2,3} = 9.7$  Hz, 1H, **H-2**), 3.39 (dd,  $J = 9.1$  Hz,  $J = 9.2$  Hz, 1H, **H-4**).

$^{13}\text{C-NMR}$  (75 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  [ppm] = 164.3 (**C-6**), 93.5 (**C-1**), 73.2 (**C-3**), 72.3 (**C-5**), 71.9 (**C-2**), 69.8 (**C-4**)

### 3.21. 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose (110)

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$   
390.12 g/mol



Es wurden 30.00 g (166.5 mmol) D-Glucose und 14.75 g (179.8 mmol) Natriumacetat in 200 ml Essigsäureanhydrid suspendiert und auf 90 °C erhitzt. Nach Erreichen der Temperatur wurde das Heizbad entfernt, die Reaktionslösung auf 1L Eiswasser gegeben und 2 Stunden gerührt. Der Niederschlag wurde filtriert und mit Wasser gewaschen. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und wiederum mit Wasser gewaschen. Nach Trocknung über Natriumsulfat und Filtration wurde das Lösungsmittel bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt aus Ethanol umkristallisiert.

#### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 29.3 g, (75.06 mmol, 45%);



**R<sub>r</sub>-Wert:** 0.38 (PE/EE 2:1, v/v)

**Smp.:** 132 °C

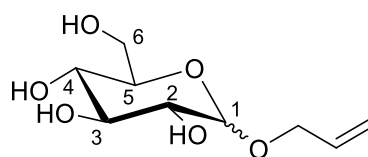
**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{26} = +4.1^\circ$  (c = 1, CHCl<sub>3</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 5.70 (d,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz, 1H, **H-1**), 5.22 (dd,  $J_{2,3} = 9.0$  Hz,  $J_{3,4} = 9.7$  Hz, 1H, **H-3**), 5.13 (dd,  $J_{3,4} = 9.7$  Hz,  $J_{4,5} = 9.7$  Hz, 1H, **H-4**), 5.10 (dd,  $J_{1,2} = 9.0$  Hz,  $J_{2,3} = 9.0$  Hz, 1H, **H-2**), 4.26 (dd,  $J_{6a,6b} = 12.6$  Hz,  $J_{5,6a} = 4.5$  Hz, 1H, **H-6a**), 4.08 (dd,  $J_{6a,6b} = 12.6$  Hz,  $J_{5,6b} = 2.1$  Hz, 1H, **H-6b**), 3.81 (ddd,  $J_{5,6b} = 2.1$  Hz,  $J_{5,6a} = 4.5$  Hz,  $J_{4,5} = 9.7$  Hz, 1H, **H-5**), 2.10 – 2.00 (m, 15H, COCH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ [ppm] = 170.7, 170.2, 169.5, 169.4, 169.1 (COCH<sub>3</sub>), 92.0 (**C-1**), 72.9 (**C-3**), 72.8 (**C-5**), 70.3 (**C-2**), 67.8 (**C-4**), 61.5 (**C-6**), 20.9, 20.8, 20.7, 20.7 (COCH<sub>3</sub>).

### 3.22. Allyl- $\alpha/\beta$ -D-glucoopyranosid (111/112)

C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>O<sub>6</sub>  
220.09 g/mol



#### Methode A:

Zu einer Suspension von 5.0 g (28 mmol) D-Glucose in Allylalkohol (100 mL) wurde eine katalytische Menge konz. Schwefelsäure (96%, ca. 500  $\mu$ L) gegeben. Die Reaktionslösung wurde 4 Stunden bei 80 °C gerührt. Bei Dunkelfärbung der Mixtur wurde die Reaktion durch Zugabe von Triethylamin (2.00 mL) abgebrochen. Das Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (DCM/MeOH 5:1).

**Methode B:**

Unter Schutzgasatmosphäre wurden 5.0 g (13 mmol) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose (**110**) in 20 mL absolutem Dichlormethan gelöst und mit 1.06 mL (15.6 mmol) Allylalkohol versetzt. Bei 0 °C wurden tropfenweise 5.2 mL (48%, 26 mmol) BF<sub>3</sub>·Diethyletherat zugegeben. Die Reaktionslösung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung zweimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt, mit Wasser gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt.

Das Rohprodukt wurde weiter nach **AAV 4** in 50 mL absolutem Methanol umgesetzt.

**Analytische Daten und Ausbeute**

**Ausbeute:** Methode A: 5.5 g (25 mmol), 90%, farbloses Öl

Methode B: 2.1 g (9.5 mmol), 73%, farblose Feststoffe

**$\beta$ -Anomer:**

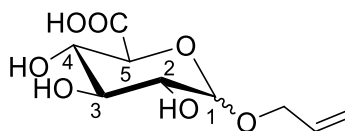
**Drehwert:**  $[\alpha]_D^{22} = +59.0$  (c = 1, H<sub>2</sub>O).

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 5.96 – 8.83 (m, 1H, **H-All**), 5.35 (dd, *J*=17.4, 1.6 Hz, 1H, **H-All**), 5.16 (dd, *J*=10.5, 1.6 Hz, 1H, **H-All**), 4.49 (dd, *J*=12.0, 5.8 Hz, 1H, **H-All**), 4.16 (dd, *J*=12.0 Hz, 5.0 Hz, 1H, **H-All**), 3.95 (ddd, *J*= 13.6, 5.6, 1.6 Hz, 1H, **H-5**), 3.69 – 3.58 (m, 1H, **H-6b**), 3.47 – 3.38 (m, 2H, **H-2**, **H-6b**), 3.23 – 3.04 (m, 2H, **H-3**, **H-4**).

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  [ppm] = 134.9 (**C-All**), 116.3 (**C-All**), 102.1. (**C-All**), 97.9 (**C-All**), 72.3, 72.9, 71.9, 70.4 (**C-2**, **C-3**, **C-4**, **C-5**), 67.1 (**C-All**), 61.0 (**C-6**).

### 3.23. Allyl- $\alpha/\beta$ -D-glucofuranosiduronsäure (115/116)

$C_9H_{14}O_7$   
234.07 g/mol



Es wurde Allyl- $\alpha/\beta$ -D-glucofuranosid (**111/112**) (1.0 g, 4.5 mmol) nach **AAV 6** umgesetzt.  
Einsatz des Katalysators siehe Tabelle 6.

#### Analytische Daten und Ausbeute

**Ausbeute:** 1.0 g (4.2 mmol), 95%, farbloser Feststoff

$^{13}C$ -NMR (75 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta$  [ppm] = 165.5 (**C-6**), 135.0 (**C-All**), 117.4 (**C-All**).

**VI. Sicherheitsdaten**

Substanzname	GHS-Piktogramm	H-Hinweise	P-Hinweise	Carc. Kat.
Aceton	GHS02, GHS07	EUH066, H225, H319, H336	P210, P233, P240, P241, P242, P243, P264, P280, P303+P361+353, P305+P351+P338, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501	-
Acetonitril	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H319, H332	P210, P280, P305+P351+P338	-
Allylalkohol				
Amberlite IR-120	GHS07	H319	P264, P280, P305+P351+P338, P337+P313	
Anisaldehyd	GHS07	H302	P280	
Benzylbromid	GHS07	H315, H319, H335	P261, P264, P280, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P312, P321, P332+P313, P337+P313, P362, P403+P233, P405, P501	-
Bortrifluorid-Diethyletherat	GHS02, GHS05, GHS06, GHS08	H226, H290, H302, H314, H330, H372	P210, P288, P301+P330+P331, P304+P340, P305+P351+P338, P309+P310	-
N-Bromsuccinimid	GHS05, GHS07	H302, H314	P260, P264, P280, P301+P312, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338,	-

VI. SICHERHEITSDATEN

			P316, P351, P338, P501	
<i>tert</i> -Butanol	GHS02, GHS07	H225, H332, H319, H335	P2010, P305+P351+P338, P403+P233	-
Calciumchlorid	GHS07	H319	P305+P351+P338	-
Celite	-	-	-	-
Chloroform	GHS07, GHS08	H302, H315, H350, H373	P201, P202, P260, P264, P280, P281, P301+P312, P302+P352, P308+P313, P321, P330, P332+P313, P362, P405, P501	K 1b, M 2 R2
Chloroform-d <sub>1</sub>	GHS07, GHS08	H302, H315, H350, H373	P201, P202, P260, P264, P280, P281, P301+P312, P302+P352, P308+P313, P321, P330, P332+P313, P362, P405, P501	K 1b, M 2 R2
Chrom(VI)oxid	GHS03, GHS05, GHS06, GHS08, GHS09	H271, H350, H340, H361f, H330, H311, H301, H372, H314, H334, H317, H410	P201, P273, P280, P301+P330+P331, P304+P340, P305+P351+P338, P309+P310	
Con A	GHS08	H317, H334, H361	P261, P280, P342+P311	-
Dichlormethan	GHS08	H351	P201, P202, P281, P308+P313, P405, P501	K 2
Diethylether	GHS02, GHS07	H224, H302, H336+EUH019+E UH066	P210, P240, P403+P235	-
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	GHS07, GHS08	H312, H319, H332, H360D	P201, P202, P261, P264, P280, P281, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338,	R 1b

VI. SICHERHEITSDATEN

			P308+P313, P312, P322, P337+P313	
Dimethylsulfoxid	-	-	-	-
Dimethylsulfoxid-d <sub>6</sub>	-	-	-	-
<i>N,N'</i> -Disuccinimidylcarbonat	GHS06	H301, H315, H319, H335	P261, P301+P310, P305+P351+P338	-
Essigsäure	GHS02, GHS05	H226, H314	P210, P233, P240, P241, P242, P243, P260, P264, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338, P310, P321, P370+P378, P403+P235, P405, P501	-
Essigsäureanhydrid	GHS03, GHS05, GHS07	H226, H302, H314, H332	P210, P233, P240, P241, P242, P243, P260, P264, P280, P301+P312, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338, P310, P321, P370+P378, P403+P235	-
Ethanol	GHS02	H225	P210, P233, P240, P241, P242, P243, P280, P303+P361+P353, P370+P378, P403+P235, P501	-
Ethylacetat	GHS02, GHS07	EUH66, H225, H319, H336	P210, P233, P240, P241, P242, P243, P264, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501	-

VI. SICHERHEITSDATEN

Glucose	-	-	-	-
Glucose-1-phosphat	-	-	-	-
HBr (33%) in Eisessig				
N-Iodsuccinimid	GHS07	H302, H315, H319, H335	P261, P305+P351+P338	-
Kaliumcarbonat	GHS07	H315, H319, H335	P302+P352, P305+P351+P338	-
Kaliumhydrogencarbonat				
Kaliumosmat(VI)-Dihydrat	GHS06	H301, H311, H331	P261, P280, P301+P310+P311	-
Kieselgel	GHS08	H350i	P201, P202, P281, P308+P313, P405, P501	K 1a
Kryptofix 2.2.2	GHS07	H315, H319, H335	P261, P305+P351+P338	
Magnesium	GHS02	H228, H251, H261	P210, P231+P232, P241, P280, P420, P501	-
Magnesiumchlorid	-	-	-	-
Manganchlorid	GHS06	H301, H412	P273, P301+P310	-
Mannose	-	-	-	-
Methanol	GHS02, GHS06, GHS08	H225, H301, H311, H331, H370	P210, P240, P241, P242, P243, P260, P264, P280, P301+P310, P302+P352, P303+P361+P353, P304+P340, P307+P311	-
Methylithium-Lösung (1.6 M in Diethylether)	GHS02, GHS05, GHS07	H225, H250, H260, H302, H314, H336	P210, P222, P223, P231+P232, P370+P378, P422	-
Natriumazid	GHS06, GHS09	H300, H410, EUH032	P273, P309+P310	-
Natriumhydrid	GHS02	H260	P223, P231+P232, P280, P335+P334,	-

VI. SICHERHEITSDATEN

			P370+P378, P402+P404, P501	
Natriumhydrogencarbonat	-	-	-	-
Natriumhydroxid	GHS05	H314	P260, P264, P280, P301+P312, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338, P310, P321, P405, P501	-
Natriumhypochlorit	GHS05, GHS09	EUH031, H314, H400	P260, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P405, P501	-
Natriummethanolat	GHS02, GHS05	EUH014, H251, H314	P235+P410, P260, P264, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338, P310, P321, P405, P407, P420, P501	-
Natriumsulfat	-	-	-	-
Palladium auf Aktivkohle	-	-	-	-
Palladiumdichlorid	GHS07	H315, H317, H319	P280, P302+P352, P305+P351+P338	-
Palladiumhydroxid auf Aktivkohle	-	-	-	-
Petrolether	GHS08, GHS09	EUH066, H304, H336, H411	P273, P301+P310, P331, P391, P405, P501	-
Alkalische Phosphatase	-	-	-	-
Platin auf Aktivkohle	GHS02	H228		
Platin(IV)oxid	GHS03, GHS07	H272, H319	P220, P305+P351+P338	-



VI. SICHERHEITSDATEN

Pyridin	GHS02, GHS07	H225, H302, H312, H332	P210, P233, P240, P241, P242, P243, P261, P264, P280, P301+P312, P302+P352, P303+P361+P353, P304+P340	-
Salzsäure	GHS05, GHS07	H290, H314, H335	P234, P260, P304+P340, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P309+P311, P501	-
Sauerstoff	GHS03, GHS04	H280, H270	P220, P244, P370+P376, P403	-
Schwefelsäure	GHS05	H314, H290	P280, P301+P330+P331, P309+P310, P305+P351+P338	-
Selectfluor	GHS02, GHS05, GHS07	H252, H302, H317, H318, H412	P235+P410, P273, P280, P305+P351+P338	-
Spermidin	GHS05	H314	P280, P305+P351+P338, P310	-
TEMPO	GHS05	H314	P280, P305+P351+P338, P310	-
Tetrabutylammoniumiodid	GHS07	H302, H315, H319, H335	P280 P261, P305+P351+P338, P302+P352, P405, P501	-
Tetrahydrofuran	GHS02, GHS07, GHS08	EUH019, H225, H302, H319, H335, H351	P210, P233, P280, P370+P378, P501	-
Tetraisopropylorthotitanat	GHS02, GHS07	H226, H315, H319, H335	P101, P102, P103, P231, P301+P310, P305+P351+P338, P403+P233, P422, P501	-

VI. SICHERHEITSDATEN

Thiophenol	GHS02, GHS06	H226, H300+H310+H330, H315, H319	P210, P280, P302+P352, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P309+P310	-
Titanocendichlorid	GHS07	H315, H335	P261	-
Toluol	GHS02, GHS08, GHS07	H225, H361d, H304, H373, H315, H336	P210, P301+P310, P331, P302+P352	-
<i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid	GHS05	H315, H318	P280, P305+P351+P338	-
Triethylamin	GHS02, GHS05, GHS06	H225, H331, H311, H302, H314	P210, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310, P312	-
Trifluormethansulfonsäureanhydrid	GHS05, GHS07	H302, H314,	P280, P305, P351, P338, P310	-
Trimethylsilylchlorid	GHS02, GHS05, GHS06	H225, H312, H314, H331, H335	P210, P261, P280, P305+P351+P338, P310	-
Triphenylphosphin	GHS07	H302, H317, H413	P262, P273, P280, P302+P352	-
Wasserstoff	GHS02, GHS04	H220, H280	P210, P377, P381, P403	-
Zinkchlorid	GHS05, GHS07, GHS09	H302, H314, H410	P273, P280, P301+P330+P331, P305+P351+P338, P309+P310	-

## VII. Literatur

- [1] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg/Berlin, **2003**.
- [2] T. K. Lindhorst, *Chem. Unserer Zeit* **2000**, *34*, 38–52.
- [3] J. Lehmann, H. G. Redlich, *Kohlenhydrate*, Wiley-Vch, Stuttgart u.a., **1996**.
- [4] A. D. McNaught, *Carbohydr. Res.* **1997**, *297*, 1–92.
- [5] A. D. McNaught, *Pure Appl. Chem.* **1996**, *68*, 1919–2008.
- [6] F. B. L. Forge, *J. Biol. Chem.* **1917**, *28*, 511–522.
- [7] I. Johansson, N. K. Richtmyer, *Carbohydr. Res.* **1970**, *13*, 461–464.
- [8] R. Begbie, N. K. Richtmyer, *Carbohydr. Res.* **1966**, *2*, 272–288.
- [9] N. J. Kruger, A. von Schaewen, *Curr. Opin. Plant Biol.* **2003**, *6*, 236–246.
- [10] Definition and Diagnosis of Diabetes and intermediate hyperglycamiae, report of a WHO/IDF consultation, **2006**.
- [11] “How Diabetes Works,” can be found under <http://health.howstuffworks.com/diseases-conditions/diabetes/diabetes.htm>, **2015**.
- [12] “WHO | Diabetes programme,” can be found under <http://www.who.int/diabetes/en/>, **2015**.
- [13] S. E. Kahn, R. L. Hull, K. M. Utzschneider, *Nature* **2006**, *444*, 840–846.
- [14] R. L. Dobbins, M. W. Chester, B. E. Stevenson, M. B. Daniels, D. T. Stein, J. D. McGarry, *J. Clin. Invest.* **1998**, *101*, 2370–2376.
- [15] G. W. Gould, G. I. Bell, *Trends Biochem. Sci.* **1990**, *15*, 18–23.
- [16] P. Laurie J. Goodyear, M. Barbara B. Kahn, *Annu. Rev. Med.* **1998**, *49*, 235–261.
- [17] S. J. Angyal, *Top. Curr. Chem.* **2001**, *215*, 1–14.
- [18] W. C. Austin, *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 2106–2112.
- [19] T. M. Wrodnigg, C. Kartusch, C. Illaszewicz, *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 2057–2066.
- [20] T. M. Wrodnigg, B. Eder, *Top. Curr. Chem.* **2001**, *215*, 115–152.
- [21] L. Petrus, M. Petrusová, Z. Hricovíniová, *Top. Curr. Chem.* **2001**, *215*, 15–42.
- [22] Z. Hricovíniová, M. Hricovíni, M. Petrusová, M. Matulová, L. Petrus, *Chem. Pap.* **1998**, *52*, 238–243.
- [23] B. Aebischer, J. H. Bieri, R. Prewo, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 2251–2272.
- [24] F. Baumberger, D. Beer, M. Christen, R. Prewo, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 1191–1204.
- [25] D. Noort, G. H. Veeneman, G.-J. P. H. Boons, G. A. van der Marel, G. J. Mulder, J. H. van Boom, *Synlett* **1990**, 205–206.
- [26] L. Lay, F. Nicotra, L. Panza, G. Russo, *Synlett* **1995**, 167–168.
- [27] D. Waschke, J. Thimm, J. Thiem, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3628–3631.

- [28] D. Waschke, Y. Leshch, J. Thimm, U. Himmelreich, J. Thiem, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 948–959.
- [29] Y. Leshch, D. Waschke, J. Thimm, J. Thiem, *Synthesis* **2011**, 3871–3877.
- [30] Y. Leshch, A. Jacobsen, J. Thimm, J. Thiem, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4948–4951.
- [31] F. M. Matschinsky, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2009**, *8*, 399–416.
- [32] L. Z. Xu, I. T. Weber, R. W. Harrison, M. Gidh-Jain, S. J. Pilakis, *Biochemistry (Mosc.)* **1995**, *34*, 6083–6092.
- [33] K. Kamata, M. Mitsuya, T. Nishimura, J.-I. Eiki, Y. Nagata, *Structure* **2004**, *12*, 429–438.
- [34] Homepage MedBio, can be found under: [http://www.medbio.info/Horn/Time%2034/secretion\\_of\\_insulin\\_and\\_glucagon.htm](http://www.medbio.info/Horn/Time%2034/secretion_of_insulin_and_glucagon.htm), **2009**.
- [35] J. H. Roe, C. S. Hudson, *J. Biol. Chem.* **1936**, *112*, 443–449.
- [36] E. Simon, P. F. Kraicer, *Arch. Biochem. Biophys.* **1957**, *69*, 592–601.
- [37] E. P. Paulsen, L. Richenderfer, P. Winick, *Nature* **1967**, *214*, 276–277.
- [38] H. G. Coore, P. J. Randle, *Biochem J.* **1964**, *91*, 55–59.
- [39] W. Nelkin, *Acta Physiol. Hung.* **1970**, *38*, 401–404.
- [40] W. Nelkin, *Acta Physiol. Chem.* **1972**, *41*, 175–177.
- [41] D. Zelent, H. Najafi, S. Odili, C. Buettger, H. Weik-Collins, C. Li, N. Doliba, J. Grimsby, F. M. Matschinsky, *Biochem. Soc. Trans.* **2005**, *33*, 306–310.
- [42] S. U. Devaskar, M. M. Mueckler, *Pediatr. Res.* **1992**, *31*, 1–13.
- [43] M. Mueckler, C. Caruso, S. A. Baldwin, M. Panico, I. Blench, H. R. Morris, W. J. Allard, G. E. Lienhard, H. F. Lodish, *Science* **1985**, *229*, 941–945.
- [44] A. R. Manolescu, K. Witkowska, A. Kinnaird, T. Cessford, C. Cheeseman, *Physiology* **2007**, *22*, 234–240.
- [45] W. J. Malaisse, K. Louchami, A. Sener, *Nat. Rev. Endocrinol.* **2009**, *5*, 394–400.
- [46] C. Ran, P. Pantazopoulos, Z. Medarova, A. Moore, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8998–9001.
- [47] E. Pöselt, C. Schmidtke, S. Fischer, K. Peldschus, J. Salamon, H. Kloust, H. Tran, A. Pietsch, M. Heine, G. Adam, U. Schumacher, C. Wagener, S. Förster, H. Weller, *ACS Nano* **2012**, *6*, 3346–3355.
- [48] C. Schmidtke, A.-M. Kreuziger, D. Alpers, A. Jacobsen, Y. Leshch, R. Eggers, H. Kloust, H. Tran, J. Ostermann, T. Schotten, J. Thiem, J. Thimm, H. Weller, *Langmuir* **2013**, *29*, 12593–12600.
- [49] Landesexzellenzinitiative Hamburg Forschungscluster und Graduiertenschulen, <https://www.uni-hamburg.de/forschung/forschungsprofil/forschungsverbuende/lexi-u-final.pdf>, **2015**.

- [50] Glycoconjugated amphiphilic polymers for the encapsulation of nanoparticles, Vortrag von A.-M. Kreuziger, 13th Symposium on Saccharides, Bratislava, **2014**.
- [51] D. Waschke, Synthese und Charakterisierung fluorierter Ketoheptosen mit potentieller diabetogener Aktivität, **2011**.
- [52] Y. Leshch, Synthese neuartiger Ketoheptose-Analoga für Anwendungen in Medizin und Diagnostik, **2013**.
- [53] A. V. Demchenko, P. Pornsuriyasak, C. De Meo, *J. Chem. Educ.* **2006**, *83*, 782.
- [54] S. Knapp, A. B. J. Naughton, C. Jaramillo, B. Pipik, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7328–7334.
- [55] G. Zemplén, E. Pacsu, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, *62*, 1613–1614.
- [56] C. Girard, M.-L. Miramon, T. de Solminihac, J. Herscovici, *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1769–1774.
- [57] F. Zhang, A. Vasella, *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 2546–2556.
- [58] Y. Huang, Y. Zhang, Y. Wang, *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 2911–2915.
- [59] T. E. Hanna, I. Keresztes, E. Lobkovsky, W. H. Bernskoetter, P. J. Chirik, *Organometallics* **2004**, *23*, 3448–3458.
- [60] E. Fan, W. Shi, T. L. Lowary, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 2917–2928.
- [61] S. M. Weinreb, D. M. Demko, T. A. Lessen, J. P. Demers, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 2099–2102.
- [62] K. A. Parker, T. L. Mindt, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4265–4268.
- [63] E. N. Jacobsen, I. Marko, W. S. Mungall, G. Schroeder, K. B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1968–1970.
- [64] H. C. Kolb, M. S. VanNieuwenhze, K. B. Sharpless, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2483–2547.
- [65] M. Minato, K. Yamamoto, J. Tsuji, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 766–768.
- [66] “Product Information: ATTO 647N,” can be found under [https://www.attotec.com/fileadmin/user\\_upload/Katalog\\_Flyer\\_Support/ATTO\\_647N.pdf](https://www.attotec.com/fileadmin/user_upload/Katalog_Flyer_Support/ATTO_647N.pdf), **2015**
- [67] E. Ilegems, *Persönliche Korrespondenz*, **n.d.**
- [68] T. Ido, C. N. Wan, J. S. Fowler, A. P. Wolf, *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 2341–2342.
- [69] T. A. Smith, *Nucl. Med. Biol.* **2001**, *28*, 1–4.
- [70] P. Som, H. L. Atkins, D. Bandoypadhyay, J. S. Fowler, R. R. MacGregor, K. Matsui, Z. H. Oster, D. F. Sacker, C. Y. Shiue, H. Turner, C. N. Wan, A. P. Wolf, S. V. Zabinski, *J. Nucl. Med.* **1980**, *21*, 670–675.
- [71] Stereochemistry of Coordination Compounds (Inorganic Chemistry: A Textbook Series) - AbeBooks - Zelewsky, Alexander von: 0471950572,” can be found under <http://www.abebbooks.de/9780471950578/Stereochemistry-Coordination-Compounds-Inorganic-Chemistry-0471950572/plp>, **2016**.

- [72] Comprehensive Supramolecular Chemistry: 11-Volume Set - AbeBooks - Lehn, Jean-Marie; Contributors, Multiple; Atwood, Jerry L.: 0080406106," can be found under <http://www.abebooks.de/9780080406107/Comprehensive-Supramolecular-Chemistry-Volume-Set-0080406106/plp>, **2016**.
- [73] T. Turbadar, *Proc. Phys. Soc.* **1959**, 73, 40.
- [74] A. Otto, *Phys. Stat. Sol. B* **1968**, 26, K99–K101.
- [75] A. Otto, *Z. für Phys.* **1968**, 216, 398–410.
- [76] E. Kretschmann, H. Raether, *Z. Naturforsch. Phys. Sci.* **1968**, 23, 2135–2136.
- [77] U. Jönsson, L. Fägerstam, B. Ivarsson, B. Johnsson, R. Karlsson, K. Lundh, S. Löfås, B. Persson, H. Roos, I. Rönnerberg, *BioTechniques* **1991**, 11, 620–627.
- [78] J. Homola, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 462–493.
- [79] S. Löfås, B. Johnsson, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1990**, 1526–1528.
- [80] *Biacore T100 Sensor Surface Handbook*, Biacore AB, Uppsala, **2003**.
- [81] *Biacore T100 Instrument Handbook*, Biacore AB, Uppsala, **2003**.
- [82] B. T. Houseman, E. S. Gawalt, M. Mrksich, *Langmuir* **2003**, 19, 1522–1531.
- [83] S. Ohlson, M. Strandh, H. Nilshans, *J. Mol. Recognit.* **1997**, 10, 135–138.
- [84] P. Mehta, R. D. Cummings, R. P. McEver, *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 32506–32513.
- [85] J. B. Sumner, *J. Biol. Chem.* **1919**, 37, 137–142.
- [86] J. B. Sumner, S. F. Howell, *J. Bacteriol.* **1936**, 32, 227–237.
- [87] B. B. L. Agrawal, I. J. Goldstein, *Biochem. J.* **1965**, 96, 23C–35C.
- [88] G. M. Edelman, B. A. Cunningham, G. N. Reeke, J. W. Becker, M. J. Waxdal, J. L. Wang, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1972**, 69, 2580–2584.
- [89] J. J. Goldstein, R. D. Poretz, *The Lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine*, Academic Press, Academic Press, Orlando, **1986**.
- [90] J. L. Wang, B. A. Cunningham, G. M. Edelman, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1971**, 68, 1130–1134.
- [91] E. j. Wood, *Biochem. Educ.* **1977**, 5, 39–39.
- [92] B. B. L. Agrawal, I. J. Goldstein, *Can. J. Biochem.* **1968**, 46, 1147–1150.
- [93] C. B. Murray, D. J. Norris, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8706–8715.
- [94] D. V. Talapin, I. Mekis, S. Götzinger, A. Kornowski, O. Benson, H. Weller, *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108, 18826–18831.
- [95] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057–3064.
- [96] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2004–2021.
- [97] L. Zervas, P. Sessler, *Ber. Dtsch. Chem. Ges. B* **1933**, 66, 1326–1329.
- [98] C. L. Mehlretter, B. H. Alexander, R. L. Mellies, C. E. Rist, *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 2424–2427.

- [99] K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones, B. C. L. Weedon, *J. Chem. Soc.* **1946**, 39–45.
- [100] M. Angelin, M. Hermansson, H. Dong, O. Ramström, *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 4323–4326.
- [101] W. A. Strieholt, *Synthese, Charakterisierung und Untersuchung von Polyethern und Polyamiden aus Kohlenhydraten*, Dissertation Universität Münster, **1990**.
- [102] E. Hardegger, D. Spitz, *Helv. Chim. Acta* **1949**, 32, 2165–2170.
- [103] K. Heyns, G. Graefe, *Chem. Ber.* **1953**, 86, 646–650.
- [104] J. Dai, L. Wang, K. N. Allen, P. Radstrom, D. Dunaway-Mariano, *Biochemistry (Mosc.)* **2006**, 45, 7818–7824.
- [105] Abcr, <http://www.abcr.de/shop/de/catalogsearch/advanced/result/?q=glucose-1-phosphat>, **2015**
- [106] D. Koutsoulis, E. Wang, M. Tzanodaskalaki, D. Nikiforaki, A. Deli, G. Feller, P. Heikinheimo, V. Bouriotis, *Protein Eng. Des. Sel.* **2008**, 21, 319–327.
- [107] M. S. Motawia, J. Marcussen, B. L. Moeller, *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, 14, 1279–1294.
- [108] M. Dols, M. Remaud-Simeon, R. M. Willemot, M. Vignon, P. Monsan, *Appl. Environ. Microbiol.* **1998**, 64, 1298–1302.
- [109] W. Soetaert, D. Schwengers, K. Buchholz, E. J. Vandamme, in *Prog. Biotechnol.* (Ed.: B.S. and S.P. Steffen B. Petersen), Elsevier, **1995**, pp. 351–358.
- [110] T. Buskas, P. J. Garegg, P. Konradsson, J.-L. Maloisel, *Tetrahedron Asymmetry* **1994**, 5, 2187–2194.
- [111] Usage information alkaline phosphatase, calf intestinal (CIAP), <https://www.promega.com/~media/files/resources/protocols/product%20information%20sheets/g/alkaline%20phosphatase%20calf%20intestinal%20protocol.pdf>, **2013**.
- [112] M. Ohkubo, S. Mochizuki, T. Sano, Y. Kawaguchi, S. Okamoto, *Org. Lett.* **2007**, 9, 773–776.
- [113] Promega Corporation, Usage information alkaline phosphatase, calf intestinal (CIAP), **2013**.

## VIII. Anhang

### **Lebenslauf**

#### **Persönliche Daten**

**Anna Katherina Jacobsen**, geb. am 01.07.1985 in Oldenburg i.H.

#### **Schulbildung**

1992-1996 Grund- und Hauptschule St. Georgsberg Ratzeburg  
1996-2006 Lauenburgische Gelehrtenschule Ratzeburg  
Abschluss: Abitur

#### **Akademische Ausbildung**

10/2006-12/2009 Studium, B. Sc. Chemie, Universität Hamburg  
Bachelorarbeit an der Universität Hamburg am Institut für Organische Chemie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Joachim Thiem  
Abschluss: B.Sc. Chemie

03/2010-12/2011 Studium M. Sc. Chemie, Universität Hamburg  
Masterarbeit an der Universität Hamburg am Institut für Organische Chemie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Joachim Thiem  
Abschluss: M.Sc. Chemie

09/2010-12/2010 Erasmus-Aufenthalt in der Gruppe von Prof. Dr. Igor Perepichka an der School of Chemistry, Bangor University, Wales

Seit 01/2012 Promotion an der Universität Hamburg am Institut für Organische Chemie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Joachim Thiem

#### **Tätigkeiten**

11/2008-08/2010 Werksstudentin IP Bewertungs AG

01/2012-06/2013 Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Rahmen des Drittmittelprojektes FP7-NMP-228933-VIBRANT

07/2013-12/2013 Wissenschaftliche Mitarbeiterin, Stipendienfinanzierte Forschung im Zusammenarbeit mit der Katholieke Universiteit Leuven



- 01/2014-12/2014      Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Rahmen eines Drittmittelprojektes mit der Südzucker AG
- 08/2013-04/2015      Werksstudentin Metall-Chemie Technologies

## **Publikationen**

### **Posterbeiträge**

*Syntheses of Novel Amino-Ketoheptuloses (PO091)*, Leshch, Y.; Jacobsen, A.; Thimm, J.; Thiem, J.; *26<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium* in Madrid, July 22-27, **2012**.

### **Posterpräsentationen**

*Syntheses of Novel Amino-Ketoheptuloses (P-15)*, Jacobsen, A.; Leshch, Y.; Thiem, J.; *17<sup>th</sup> European Carbohydrate Symposium* in Tel Aviv, July 7-11, **2013**.

### **Vorträge**

*Novel Synthesis of amino deoxy Ketoheptuloses*, Jacobsen, A.; Leshch, Y.; Thiem, J.; *13<sup>th</sup> Bratislava Symposium on Saccharides* in Smolenice Castle, Slovakia, June 22-26, **2014**.

### **Zeitschriftenbeiträge**

*Expedient and Versatile Formation of Novel Amino-deoxy-ketoheptuloses*, Y. Leshch, A. Jacobsen, J. Thimm, J. Thiem, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 4948-4951.

*Glycoconjugated Amphiphilic Polymers via Click-Chemistry for the Encapsulation of Quantum Dots*, C. Schmidtke, A.-M. Kreuziger, D. Alpers, A. Jacobsen, Y. Leshch, R. Eggers, H. Kloust, H. Tran, J. Ostermann, T. Schotten, J. Thiem, J. Thimm, H. Weller, *Langmuir* **2013**, *29*, 12593-12600.

*Contemporary Syntheses of 2-Ketoheptoses and Derivatives*, A. Jacobsen, J. Thiem, *Curr. Org. Chem.* **2014**, *18*, 2833-2841.

## Danksagung

Als erstes möchte ich mich ganz besonders bei Herrn Prof. Dr. Joachim Thiem bedanken, nicht nur für die interessante Aufgabenstellung, fachliche Betreuung und angenehme Arbeitsatmosphäre, sondern auch für seine Geduld und die Hilfe bei Problemen jeglicher Art.

Bei Herrn Prof. Dr. Christian B. W. Stark möchte ich mich für die freundliche Übernahme der offiziellen Betreuung bedanken.

Herrn Prof. Dr. Bernd Meyer danke ich herzlichst für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Bei der Südzucker AG, insbesondere bei Herrn Dr. Alireza Haji Begli und Prof. Dr. Markwart Kunz, bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit.

Des Weiteren danke ich den NMR-Abteilungen in OC und AC unter der Leitung von Dr. Thomas Hackl und Dr. Eckhardt Haupt für die Hilfsbereitschaft und Messungen zahlreicher NMR-Proben, sowie der Massenabteilung um Dr. Maria Riedner für die Messungen der Massenspektren.

Mein besonderer Dank gilt allen (ehemaligen) Mitgliedern des AK Thiem, besonders meinem Laborkollegen Dr. Stephan Böttcher für gute Zusammenarbeit und ein bisschen Ordnung in meinem Chaos in 322 ;). Bei meiner „Laborfamilie“, Dr. Yevgeniy Leshch, Karin Chin und Dr. Julian Thimm, möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit, die Hilfe und Unterstützung und die vielen mehr oder weniger fachlichen Gespräche bei einem (oder mehreren) Sektchen bedanken. Bei Dr. Sebastian Meinke bedanke ich mich für viel fachliche Hilfe bei Fragen und besonders für die Einführung in die SPR-Messungen.

Allen aktiven und ehemaligen Mitgliedern des AK Stark, besonders natürlich Lilia und Kirsten, danke ich für die gute Zusammenarbeit und die gute Arbeitsatmosphäre im dritten Stock.

Beim AK Weller bedanke ich mich für die Bereitstellung von Proben und die gute Zusammenarbeit mit Anna-M. Kreuziger. Ganz besonders auch Danke für die tollen Inkscape-Bilder und deine Freundschaft außerhalb der Uni ☺

Last but not least, gilt mein besonderer Dank meiner Familie (Mama, Papa, Sigg, Marcus, Maike, Julia, Timo, Mika, Lucas und Lina), meinen Freunden (besonders Anna, Olli, Franzi und Flo) und ganz besonders Dino für das Interesse, die Unterstützung in allen Lebenslagen und gelegentliche Ablenkung und Aufmunterung.

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation „*Selektive Funktionalisierung von Ketoheptosen zur medizinischen Anwendung sowie Neue Methoden zur Darstellung von Glucuronsäure*“ selbständig angefertigt und nur die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat. Es handelt sich hierbei um meinen ersten Promotionsversuch.

---

Hamburg, 01.02.2016

Anna Jacobsen