

Synthese natürlicher und modifizierter Substrate von Glycosyltransferasen

Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

Tomas Piernitzki

vorgelegt dem Fachbereich Chemie
der Universität Hamburg

Hamburg 2018

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Organische Chemie an der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Prof. Dr. Chris Meier in der Zeit von Januar 2014 bis Dezember 2018 angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Chris Meier

2. Gutachter: Prof. Dr. J. Thiem

Datum der Disputation: 08.03.2019

„Wer A sagt, der muss nicht B sagen.
Er kann auch erkennen, dass A falsch war.“

Bertolt Brecht

Publikationsliste

Artikel

K. Seelhorst, T. Piernitzki, N. Lunau, C. Meier, U. Hahn, Synthesis and Analysis of Potential α 1,3-Fucosyltransferase Inhibitors. *Bioorganic Med. Chem.* **2014**, 22, 6430–6437.

Vortrag

T. Piernitzki, C. Meier, Synthesis of Photoactivatable Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses, *7th Baltic Meeting on Microbial Carbohydrates*, **2016**, Güstrow.

Posterbeiträge

T. Piernitzki, M. Bärenfänger, K. Seelhorst, U. Hahn, B. Meyer, C. Meier, Synthesis and Analysis of Guanosinediphosphate- β -L-fucose Analogues as Potential Irreversible Human Fucosyltransferase IX Inhibitors, *18th European Carbohydrate Symposium*, **2015**, Moskau.

T. Piernitzki, F. Bönisch, U. Rabausch, C. Meier, Synthesis of dTDP- β -L-Rhamnose and its α -Anomer for the Analysis of a Novel Bacterial Glycosyltransferase, *19th European Carbohydrate Symposium*, **2017**, Barcelona.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen und Symbole	I
Zusammenfassung	V
Abstract	VIII

Teil I: Synthese von potentiellen irreversiblen und reversiblen Inhibitoren der humanen Fucosyltransferase IX

1 Einleitung.....	3
2 Kenntnisstand	6
2.1 Fucosylierung.....	6
2.2 Humane Fucosyltransferase IX	9
2.3 Untersuchung von Fucosyltransferasen mittels modifizierten GDP-Fucose-Derivaten	10
2.4 Einsatz von photoaktivierbaren Substratanaloga zur Untersuchung von Enzymen.....	14
2.5 Fucosyltransferase-Inhibitoren	18
3 Aufgabenstellung.....	21
4 Resultate und Diskussion	24
4.1 Darstellung potentieller irreversibler hFucT IX Inhibitoren.....	24
4.1.1 Strukturvorhersage der hFucT IX mittels Homologiemodellierung	24
4.1.2 Synthese photoaktivierbarer GDP- β -L-Fucose-Derivate	27
4.2 Darstellung eines C-1-Phosphonat-Analogons von GDP-Fucose	78
4.2.1 Synthese von β -L-Arabinosylmethylphosphonat 103 und seiner acetylierten Form 105	81
4.2.2 Versuch der Synthese von Guanosindiphosphat-C- β -L-Arabinose 25	90

Teil II: Synthese von TDP- β -L-Rhamnose und seinem α -Anomer zur Untersuchung einer neuartigen bakteriellen Glycosyltransferase

5 Einleitung.....	96
6 Kenntnisstand	97
6.1 Flavonoid modifizierende Enzyme.....	97
6.2 Bakterielle Glycosyltransferase C (GtfC)	98
6.3 Stereoselektive Synthese von β -Rhamnopyranosiden.....	99

6.4	Chemische Synthese von NDP-Zuckern	102
6.5	Gewinnung von Thymidindiphosphat- β -L-Rhamnose β-132	106
7	Aufgabenstellung	109
8	Resultate und Diskussion	111
8.1	Darstellung von TDP- α -L-Rhamnose α-132 und TDP- β -L-Rhamnose β-132	111
8.2	Synthese der erforderlichen Kupplungsbausteine: Die <i>cycloSal</i> -Triester 148 und 149 , die Glycopyranosylphosphate α-150 und β-150 sowie ihre deacetylierten Formen α-146 und β-146	113
8.3	Synthese von TDP- α -L-Rhamnose α-132 und TDP- β -L-Rhamnose β-132	129
8.4	Fazit	140
8.5	<i>In vitro</i> Aktivitätsassay zum Nachweis der Umsetzung durch GtfC	141
9	Experimenteller Teil	142
9.1	Allgemeines.....	142
9.1.1	Edukte und Reagenzien	142
9.1.2	Lösungsmittel	142
9.1.3	Chromatographie	144
9.1.4	Spektroskopie	146
9.1.5	Spektrometrie.....	147
9.1.6	Sonstige Geräte	147
9.2	Synthesen	148
9.2.1	Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV).....	148
9.2.2	Synthese von <i>cycloSal</i> -Triestern	158
9.2.3	Synthese von Linker-Bausteinen	173
9.2.4	Synthese von Glycosylphosphaten.....	183
9.2.5	Synthese von Glycosylphosphonaten.....	212
9.2.6	Synthese von Nucleosiddiphosphat-Glycopyranosen	223
9.2.7	Versuch der Synthese von Guanosindiphosphat-C- β -L-Arabinose 25	234
9.2.8	Synthese von Guanosinmonophosphat als Triethylammoniumsalz 125	235
10	Literaturverzeichnis	236
Anhang	258

Abkürzungen und Symbole

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
ATP	Adenosintriphosphat
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
bs	breites Singulett (NMR)
Cbz	Benzyloxycarbonyl
CC	<i>Capture compound</i>
CCMS	<i>Capture compound mass spectrometry</i>
CIP	Kontaktionenpaar
COSY	Korrelationsspektroskopie (<i>Correlation spectroscopy</i>)
C _q	quartäres C-Atom
<i>cycloSal</i>	<i>cycloSaligenyl</i>
δ	chemische Verschiebung
d	Dublett (NMR)
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
dd	Doppeldublett (NMR)
ddd	Dreifachdublett (NMR)
dddd	Vierfachdublett (NMR)
dGDP	Desoxyguanosindiphosphat
DIBAL	<i>Diisobutylaluminiumhydrid</i>
DIPEA	<i>Diisopropylethylamin</i>
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMAPA	3-(Dimethylamino)-1-propylamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMF-DMA	<i>N,N</i> -Dimethylformamiddimethylacetal
DMP	Dimethoxypropan

Abkürzungen und Symbole

DMSO	Dimethylsulfoxid
DMTr	4,4'-Dimethoxytrityl
DMTrCl	4,4'-Dimethoxytritylchlorid
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
dq	Dublett vom Quartett (NMR)
dt	Dublett vom Triplet (NMR)
EE	Ethylacetat
ESI	Elektronenspray-Ionisation
Et	Ethyl
FAM	5-Carboxyfluorescein
FCCS	<i>Fluorescence cross-correlation spectroscopy</i>
FITC	Fluorescein/isothiocyanat
FRET	Förster-Resonanz-Energie-Transfer
Fuc	Fucose
FucT	Fucosyltransferase
G	Guanin
GABA	γ -Aminobuttersäure
Gal	Galactose
GDP	Guanosindiphosphat
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
GtfC	Glycosyltransferase C
GMP	Guanosinmonophosphat
GlcNAc	<i>N</i> -Acetylglucosamin
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
GT	Glycosyltransferase
HMBC	Korrelationsspektroskopie (<i>Heteronuclear multiple bond correlation</i>)
<i>hp</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
HPTLC	Hochleistungsdünnschichtchromatographie (<i>High-performance thinlayer chromatography</i>)

Abkürzungen und Symbole

HRMS	hochauflösende Massenspektrometrie (<i>High resolution mass spectrometry</i>)
HSQC	Korrelationsspektroskopie (<i>Heteronuclear single quantum coherence</i>)
HTS	Hochdurchsatz-Screening
<i>i</i> Pr	<i>Isopropyl</i>
IR	Infrarot
<i>J</i>	skalare Kopplung (NMR)
ISC	<i>Intersystem Crossing</i>
kat.	katalytisch
LacNac	<i>N</i> -Acetyllactosamin
Le	Lewis-Epitop
LTBH	Lithiumtriethylborhydrid
<i>M</i>	molare Masse
m	Multipllett (NMR)
MS	Massenspektrometrie
Man	Mannose
Me	Methyl
MEM	Methoxyethoxyethyl
MOM	Methoxymethyl
NDP	Nucleosiddiphosphat
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NMI	<i>N</i> -Methylimidazol
NMP	Nucleosidmonophosphat
NMR	<i>Nuclear magnetic resonance</i>
PE	Petrolether
pH	Negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen-Aktivität
PAL	<i>Photoaffinity labeling</i>
PFP	Pentafluorphenyl
PP _i	Pyrophosphat
q	Quartett (NMR)
qd	Quartett vom Dublett (NMR)

Abkürzungen und Symbole

R_f	<i>Ratio of fronts</i>
Rha	Rhamnose
RP	<i>Reversed phase</i>
Rt	Raumtemperatur
RTK	Rezeptor-Tyrosinkinasen
s	Singulett (NMR)
SG	Schutzgruppe
sLe	Sialyl Lewis-Epitop
Smp	Schmelzpunkt
SSIP	solvatgetrenntes Ionenpaar
STD-NMR	Sättigungstransfer-Differenz-NMR
sx	Sextett (NMR)
T	Thymin
t	Triplett (NMR)
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
td	Triplett vom Dublett (NMR)
TDP	Thimidindiphosphat
TES	Triethylsilyl
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyran
TIDPS	1,3-(1,1,3,3-Tetraisopropylidisiloxanylidin)
TMP	Thyminmonophosphat
TMS	Trimethylsilyl
Ts	Tosyl
TTP	Thymintriphosphat
UDP	Uridindiphosphat
UV	Ultraviolett
TFA	Trifluoressigsäure
VEGFR	<i>Vascular endothelial growth factor receptor</i>

Zusammenfassung

Teil I: Synthese von potentiellen irreversiblen und reversiblen Inhibitoren der humanen Fucosyltransferase IX

Die Glycosylierung von Proteinen stellt aufgrund der großen strukturellen Vielfalt und Heterogenität der Kohlenhydrate die komplexeste posttranslationale Modifikation dar.^[1,2] Viele physiologische und pathologische Prozesse, wie Entzündungen, bakterielle und virale Infektionen, Tumormetastasierungen oder genetische Störungen, stehen in einem engen Zusammenhang mit fucosylierten Glycokonjugaten.^[3,4] Eine der vielen bereits bekannten Fucosyltransferasen ist die humane Fucosyltransferase IX (hFucT IX), welche den letzten Schritt in der Biosynthese von Lewis^X-Epitopen katalysiert.^[5] Im Hinblick auf die Entwicklung potenter Inhibitoren gilt der Strukturaufklärung dieses Enzyms ein besonderes Interesse.

Das erste Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung einer Syntheseroute zur Darstellung verschiedener photoaktivierbarer Arylazid-modifizierter Guanosindiphosphat- β -L-Fucose-Analoga als potentielle irreversible Inhibitoren der hFucT IX. Die Funktionalisierung des natürlichen Substrates sollte dabei durch die Einführung von Arylaziden an der C-6-Position der Fucose-Einheit unter Verwendung verschiedener Linker-Längen erfolgen. Die Linkerlängen sollten basierend auf den Ergebnissen einer durchzuführenden Homologiemodellierung der Bindetasche der hFucT IX ausgewählt werden. Solche Verbindungen könnten nach einer Bestrahlung mit UV-Licht eine kovalente Bindung zum Enzym bilden und einen möglichen neuen Ansatz für eine Co-Kristallisation darstellen. Neben ersten Photolysetests und der Vorstellung eines analytischen Konzeptes für eine enzymatische Anwendung sollten diese Verbindungen zusätzlich auf eine kompetitive Inhibition der hFucT IX untersucht werden.

Durch die Weiterentwicklung der Syntheseroute von *N. Lunau*^[6] zur Darstellung von ATTO 550-GDP- β -L-Fucose konnten erfolgreich drei verschiedene Arylazid-modifizierte GDP- β -L-Fucose-Analoga mit Linkerlängen von keiner, zwei und zehn Methylen-Einheiten und mit Ausbeuten von 29%, 42% bzw. in quantitativer Ausbeute im finalen Kupplungsschritt synthetisiert werden. Im Rahmen der Darstellung der benötigten synthetischen Bausteine konnte zusätzlich eine neuartige effiziente Synthese von L-Galactose etabliert und die selektive 5'-Deacetylierung des peracetylierten Guanosins optimiert werden. Neben ersten Photolysetests erfolgte die Präsentation eines analytischen Konzeptes zur Untersuchung der kovalenten Bindungseigenschaften dieser photoaktivierbaren Verbindungen. Schließlich konnte in einem von *S. Albers* aus der Arbeitsgruppe von *Prof. Z. Ignatova*, Universität

Hamburg, durchgeführten Inhibitionsassay gezeigt werden, dass es sich bei der Zielverbindung mit dem längsten Arylazid-Linker mit einem IC_{50} -Wert von $11 \mu\text{M}$ um einen potenten kompetitiven Inhibitor der hFucT IX handelt. Für die Zielverbindung mit dem kürzesten Linker konnte hingegen ein IC_{50} -Wert von $45 \mu\text{M}$ bestimmt werden. Neben der hier antizipierten Funktion als photoaktivierbare irreversible Inhibitoren können diese Strukturen ebenfalls als Ausgangspunkt für die Entwicklung von potenten kompetitiven Inhibitoren für die hFucT IX oder auch anderer Fucosyltransferase eingesetzt werden.

Darüber hinaus war im Rahmen dieser Thematik ein weiteres Ziel die Entwicklung einer Strategie zur Synthese eines C-1-Phosphonat-Analogons des natürlichen Donorsubstrates GDP- β -L-Fucose als potentieller kompetitiver Inhibitor der hFucT IX. Die strukturellen Unterschiede zur GDP- β -L-Fucose sollten dabei der Austausch des an der glycosidischen Bindung beteiligten O-Atoms durch eine Methylengruppe sowie der Verzicht auf die Methyl-Gruppe der Fucose sein. Ausgehend von der preiswert zugänglichen Ausgangsverbindung D-Mannose konnte eine 10-stufige Syntheseroute zur Darstellung eines demethylierten C-1-Phosphonat-Analogons von L-Fucose (β -L-Arabinosylmethylphosphonat) in einer Gesamtausbeute von 16% entwickelt werden. Die entsprechende acetylierte Form dieser Verbindung wurde über neun Stufen in einer Gesamtausbeute von 21% erhalten. Beim Einsatz dieser Phosphonate in *cycloSal*-Kupplungsreaktionen zur Darstellung der gewünschten Zielverbindung ließ sich ausschließlich das Nebenprodukt Guanosinmonophosphat isolieren, weswegen diese Umsetzung in weiterführenden Arbeiten noch optimiert werden muss.

Teil II: Synthese von TDP- β -L-Rhamnose und seinem α -Anomer zur Untersuchung einer neuartigen bakteriellen Glycosyltransferase

Flavonoide zählen zu den Polyphenolen und sind sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, deren chemisches Grundgerüst sich vom 2-Phenylchroman ableitet.^[7,8] Als fester Bestandteil der täglichen Ernährung des Menschen liegt ihre Bedeutung in ihrer antioxidativen Wirkung, der Funktion als Radikalfänger sowie in zahlreichen weiteren gesundheitsfördernden Effekten.^[9] Die Glycosylierung von Flavonoiden kann trotz ihres pflanzlichen Ursprungs durch bestimmte bakterielle Glycosyltransferasen katalysiert werden.^[10] Eine 2013 von *Rabausch et al.* entdeckte neuartige bakterielle GT ist die Glycosyltransferase C (GtfC), welche unter anderem das 3-O- α -L-Rhamnosid von Quercetin bildet und den NDP-Zucker TDP- β -L-Rhamnose neben anderen als Donor-Substrat nutzt.^[11] Für eine detaillierte Untersuchung der Substrateigenschaften sowie diverser kinetischer Parameter des Enzyms ist ein effizienter synthetischer Zugang zur Substanzklasse der NDP-Zucker erforderlich, wie ihn die *cycloSal*-Methode darstellt.^[12-14]

Die Erarbeitung eines synthetischen Zugangs zu beiden Anomeren von Thymidindiphosphat-L-Rhamnose, welche über die *cycloSal*-Methode bisher noch nicht dargestellt wurden, war das zweite Ziel dieser Arbeit. Aufgrund der konfigurationsbedingten nicht trivialen α - und β -Rhamnosidierung sollte ein Fokus dieser Arbeit auf der Darstellung beider Anomere der benötigten Zucker-Phosphate liegen. Beide potentiellen Substrate der GtfC wurden von *Dr. F. Bönisch* aus der Arbeitsgruppe von *Dr. U. Rabausch* am Biozentrum Klein Flottbek im Rahmen von *in vitro* Aktivitätsassays eingesetzt. Zudem wurde vor allem das β -Anomer als bereits bekanntes Donor-Substrat zur Bestimmung kinetischer Parameter dieser Glycosyltransferase eingesetzt.

Neben dem bereits bekannten acetylgeschützten *cycloSal*-Triester von Thymidin wurde erstmals ein mit Cbz-Schutzgruppen geschützter Triester erfolgreich dargestellt. Die benötigten beiden Anomere der Rhamnosylphosphate konnten sowohl in ihrer acetylierten als auch entschützten Form anomerenrein erhalten werden und die jeweilige Konfiguration am anomeren Zentrum konnte mittels nicht entkoppelter ^{13}C - sowie über NOESY-NMR-Spektren bestätigt werden. Die beiden Zielverbindungen konnten mit der *cycloSal*-Methode unter Verwendung beider *cycloSal*-Triester in Ausbeuten zwischen 31% (β -Anomer) und 80% (α -Anomer) erfolgreich dargestellt werden. Im Fall des β -Anomers entstand unter Verwendung des acetylgeschützten Triesters bei der durchgeführten basischen Deacetylierung das cyclische β -L-Rhamnopyranosyl-1,2-phosphat als dominantes Produkt. Durch den Einsatz des neuartigen Cbz-Triesters in Kupplungsreaktionen, gefolgt von einer milden Abspaltung der Cbz-Schutzgruppe mittels Transfer-Hydrierung, konnte die Bildung des Nebenproduktes verhindert werden. Mithilfe eines *in vitro* Aktivitätsassays wurde von *Dr. F. Bönisch* bestätigt, dass es sich bei Thymidindiphosphat- β -L-Rhamnose um ein Donorsubstrat der GtfC handelt, während das α -Anomer von dem Enzym nicht akzeptiert wird.

Abstract

Part I: Synthesis of potential irreversible and reversible inhibitors of human fucosyltransferase IX

Due to the structural diversity of carbohydrates protein glycosylation represents the most complex type of posttranslational modification.^[1,2] Many physiological and pathological processes are closely related to fucosylated glycoconjugates.^[3,4] Among the many known fucosyltransferases human fucosyltransferase IX (hFucT IX) is responsible for the last catalytic step in the biosynthesis of Lewis^X epitopes.^[5] With regard to the development of potent inhibitors structure elucidation of this enzyme is of particular interest.

The first aim of this thesis was to develop of a synthetic route for the preparation of different photoactivatable arylazide modified GDP- β -L-fucose analogues as potential irreversible hFucT IX inhibitors. The functionalization of the natural substrate should be achieved by introducing arylazide groups at the C-6-position of the fucose residue using different linker lengths. The linker length should be chosen based on the results of a homology modeling of the hFucT IX binding site. Via a covalent linkage to the enzyme triggered by UV radiation such photoactivatable compounds could provide a new approach for co-crystallization. Besides performing the first photolysis experiments and presenting an analytical concept for an enzymatic application, these compounds should be evaluated as competitive hFucT IX inhibitors.

By further developing the synthetic route of *N. Lunau*^[6] for the synthesis of an ATTO 550 labeled GDP-fucose, the successful synthesis of three different arylazide modified GDP- β -L-fucose analogues with none, two and ten methylene moieties as linker lengths could be achieved in yields of 29%, 42% and in quantitative yield for the final coupling step, respectively. During the preparation of the required building blocks a novel efficient synthesis of L-galactose was established and the selective 5'-deacetylation of peracetylated guanosine was further optimized. Besides the first photolysis experiments an analytical concept to investigate the covalent binding properties of these photoactivatable compounds was presented. Finally, an inhibitory assay performed by *S. Albers* from the working group of *Prof. Z. Ignatova*, University of Hamburg, revealed that the target compound containing the longest linker is a potent hFucT IX inhibitor with an IC₅₀ value of 11 μ M. The target compound with the shortest linker showed an IC₅₀ value of 45 μ M. In addition to their anticipated function as photoactivatable irreversible inhibitors these structures could provide a starting point for an inhibitor design for hFucT as well as other fucosyltransferases.

A further aim was to develop a strategy for the synthesis of a C-1-phosphonate GDP- β -L-fucose donor substrate analogue as a potential competitive hFucT IX inhibitor. The structural differences to the natural substrate should be the exchange of the O-atom involved in the glycosidic linkage to fucose by a methylene group as well as the omission of the methyl group in the fucose residue.

Starting with D-mannose, a low-priced raw material, a synthetic route containing 10 steps for the preparation of a demethylated C-1-phosphonate analogue of L-fucose in an overall yield of 16% was developed. The corresponding acetylated compound was synthesized in an overall yield of 21%. Using both derivatives in *cycloSal* coupling reactions to obtain the desired target compound only GMP as a side product could be isolated, leading to a need for optimization in further studies.

Part II: Synthesis of TDP- β -L-rhamnose and its α -anomer for the analysis of a novel bacterial glycosyltransferase

Flavonoids belong to the polyphenols and are secondary plant ingredients, which are chemically derived from the structure of 2-phenyl chromane.^[7,8] As an integral part of human diet their importance lies in their antioxidative and radical scavenging nature. In addition, they have numerous further beneficial effects on human health.^[9] Despite of their plant origin flavonoid glycosylation can be catalyzed by bacterial glycosyltransferases (GTs).^[10] Glycosyltransferase C (GtfC) represents a novel bacterial GT recently discovered by *Rabausch et al.* which is able to synthesize the 3-O- α -L-rhamnoside of quercetin, using the NDP sugar TDP- β -L-rhamnose amongst others as a donor.^[11] For a detailed investigation of the enzyme's substrate properties and kinetic parameters an efficient synthetic way to obtain NDP sugars, such as the *cycloSal* method, is required.^[12-14]

The second aim of this thesis was the development of a synthetic access to both anomers of TDP-L-rhamnose. Due to the non-trivial synthesis of α - and β -rhamnosides one focus of this thesis should be to synthesize both required sugar phosphate anomers. Both potential substrates of GtfC should be tested by *Dr. F. Bönisch* from the working group of *Dr. U. Rabausch* at the Biozentrum Klein Flottbek in *in vitro* activity assays. The β -anomer should help to determine the kinetic parameters of this glycosyltransferase.

Besides the already well-known acetylated *cycloSal* triester of thymidine for the first time a novel *cycloSal* triester alternatively protected with a Cbz-group was successfully prepared. The required rhamnosyl phosphate anomers could be obtained anomerically pure in both their acetylated and unprotected form. The right anomeric configuration was confirmed by coupled ¹³C-NMR as well as NOESY NMR analysis. Applying the *cycloSal* method both target

Abstract

compounds were successfully synthesized by using both *cycloSal* triesters in yields between 31% and 80%. In the case of the β -anomer, while using the acetylated *cycloSal* triester, formation of the cyclic β -L-rhamnopyranosyl 1,2-phosphate as the main product occurred during the final deprotection under basic conditions. This side product formation could be bypassed using the novel Cbz-triester in coupling reactions with a subsequent removal of the Cbz-group by transfer hydrogenation. Applying an *in vitro* activity assay TDP- β -L-rhamnose was confirmed by *Dr. F. Bönisch* as a GtfC substrate while the α -anomer was not accepted by the enzyme.

Teil I

**Synthese von potentiellen irreversiblen und reversiblen
Inhibitoren der humanen Fucosyltransferase IX**

1 Einleitung

Kohlenhydrate gehören neben den Proteinen, Nucleinsäuren und Lipiden zu den vier Hauptklassen von Biopolymeren und repräsentieren den größten Teil der organischen Materie. Neben ihrer Bedeutung als Energiespeicher, Stoffwechsel-Intermediate oder als Bestandteile von Nucleinsäuren spielen sie eine essentielle Rolle in biologischen Prozessen wie der Zell-Zell-Erkennung, Zell-Adhäsion, der Signaltransduktion oder der Immunantwort.^[1,2] Kohlenhydrate können u.a. durch Sulfatierung, Phosphorylierung oder Methylierung zusätzlich modifiziert sein, was ihre ohnehin schon große strukturelle Diversität vervielfacht. Neben dem Vorkommen als reine Kohlenhydrate in Form von Mono-, Oligo- oder Polysacchariden liegen sie oftmals als Konjugate mit anderen Biomolekülen, z.B. Lipiden, vor.^[15]

Bei der Glycosylierung handelt es sich um einen enzymatischen Vorgang, bei dem Saccharide über eine glycosidische Bindung kovalent mit anderen Sacchariden, Proteinen oder Lipiden verknüpft werden.^[16,17] Im Fall der Proteine stellt sie aufgrund der großen strukturellen Vielfalt und Heterogenität der Kohlenhydrate die komplexeste posttranslationale Modifikation dar. Glycokonjugate können dabei in verschiedenen Formen auftreten. Die meisten Glycoproteine treten in Form von *N*-Glycanen auf und tragen verschiedene verzweigte Oligosaccharide über eine *N*-glycosidische Bindung an Asparagin-Resten. Bei den seltener vorkommenden *O*-glycosylierten Proteinen sind die Saccharide über eine *O*-glycosidische Bindung mit der Hydroxylgruppe von Serin- oder Threonin-Resten verknüpft.^[18,19] Besteht eine *O*-glycosidische Bindung zwischen Kohlenhydraten und Lipidmolekülen, spricht man von Glycolipiden. Als Glycosphingolipide stellen diese z.B. die Hauptkomponente der äußeren Plasmamembran von Zellen dar. Sind an der Oberfläche solcher Membranen Proteine verankert, geschieht dies über eine kovalente Bindung an einen Glycosylphosphatidylinositol(GPI)-Anker, welcher sich in der Membran befindet.^[20]

Die Synthese der *N*-glycosidisch verknüpften Glycane verläuft sowohl am endoplasmatischen Retikulum als auch im Golgi-Apparat. Nach der Synthese der inneren Kernregion der Oligosaccharidkette erfolgt die fortlaufende Verlängerung der Kette durch spezifische Glycosyltransferasen.^[21] Diese Enzyme katalysieren den Transfer einer Glycosyl-Einheit von einem energiereichen Donor (in den meisten Fällen ein NDP-Zucker) auf einen Akzeptor, bei dem es sich um ein Glycon oder ein Aglycon, z.B. ein Lipid, Protein oder ein anderes kleines Molekül, handeln kann.^[22] NDP-Zucker-abhängige GTs werden auch als *Leloir*-Glycosyltransferasen bezeichnet, während *Nicht-Leloir*-Glycosyltransferasen typischerweise Glycosylphosphate als Donoren nutzen.^[23,24] Die Säugetier-GTs nutzen dabei eine relativ geringe Anzahl unterschiedlicher Zuckernucleotide als Glycosyldonoren. Die Übertragung der

Glycosyleinheit kann dabei entweder unter Inversion oder Retention der Konfiguration am anomeren Zentrum des transferierten Monosaccharids erfolgen.^[25] Glycosyltransferasen gelten als hochspezifisch bezüglich ihrer Substrate und weisen eine ausgeprägte Regio- und Stereospezifität der katalysierten Transglycosylierungsreaktion auf.^[26]

Eine veränderte Aktivität dieser Enzyme und das damit einhergehende Auftreten unnatürlicher Glycan-Strukturen ist oft eng verknüpft mit diversen Krankheiten, wie Infektionen,^[27] Entzündungen^[28,29] und Krebs.^[29] Typischerweise ist in Krebszellen eine Abweichung von den natürlichen Glycosylierungswegen zu finden, was z.B. auf eine Über- oder Unterexpression von Glycosyltransferasen,^[30–33] eine Dysregulation von Chaperonen^[34,35] oder eine alternative Glycosidase-Aktivität zurückzuführen ist.^[36] Abb. 1 zeigt eine Übersicht an verschiedenen veränderten Glycan-Strukturen und ihre Rolle in der Tumorentwicklung und -progression. Beispielsweise beeinträchtigt eine Modifizierung von E-Cadherinen auf Epithelzellen mit β 1,6-Acetylglucosamin(GlcNAc)-verzweigten *N*-Glycanen durch eine erhöhte Aktivität der *N*-Acetylglucosaminyltransferase V (GnT V) die Zell-Zell-Adhäsion und fördert die Tumordinvasion.^[37] Bei der Tumorzellmigration zeigen Integrine, die für die Wechselwirkungen mit anderen Zellen und der extrazellulären Matrix verantwortlich sind, sowohl in ihren *O*- als auch *N*-verknüpften Glycanen veränderte Strukturen.^[38] Auch eine fehlerhafte Glycosylierung von Rezeptor-Tyrosinkinase (RTK) kann zu einer veränderten intrazellulären Signalgebung mit einer verstärkten Zellproliferation führen. So hat im Fall des *Vascular endothelial growth factor receptor* (VEGFR) eine anormale Glycosylierung Einfluss auf die Wechselwirkung mit Galectinen und wird mit der Tumorangio-genese in Verbindung gebracht.^[39] Schließlich dienen die Tumor-assoziierten Antigene Sialyl Lewis^X und Sialyl Lewis^A als Liganden für auf Endothelzellen exprimierte E-Selektine, was konsequenterweise die Krebszellenadhäsion und Metastasierung fördert.^[40]

Einleitung Teil I

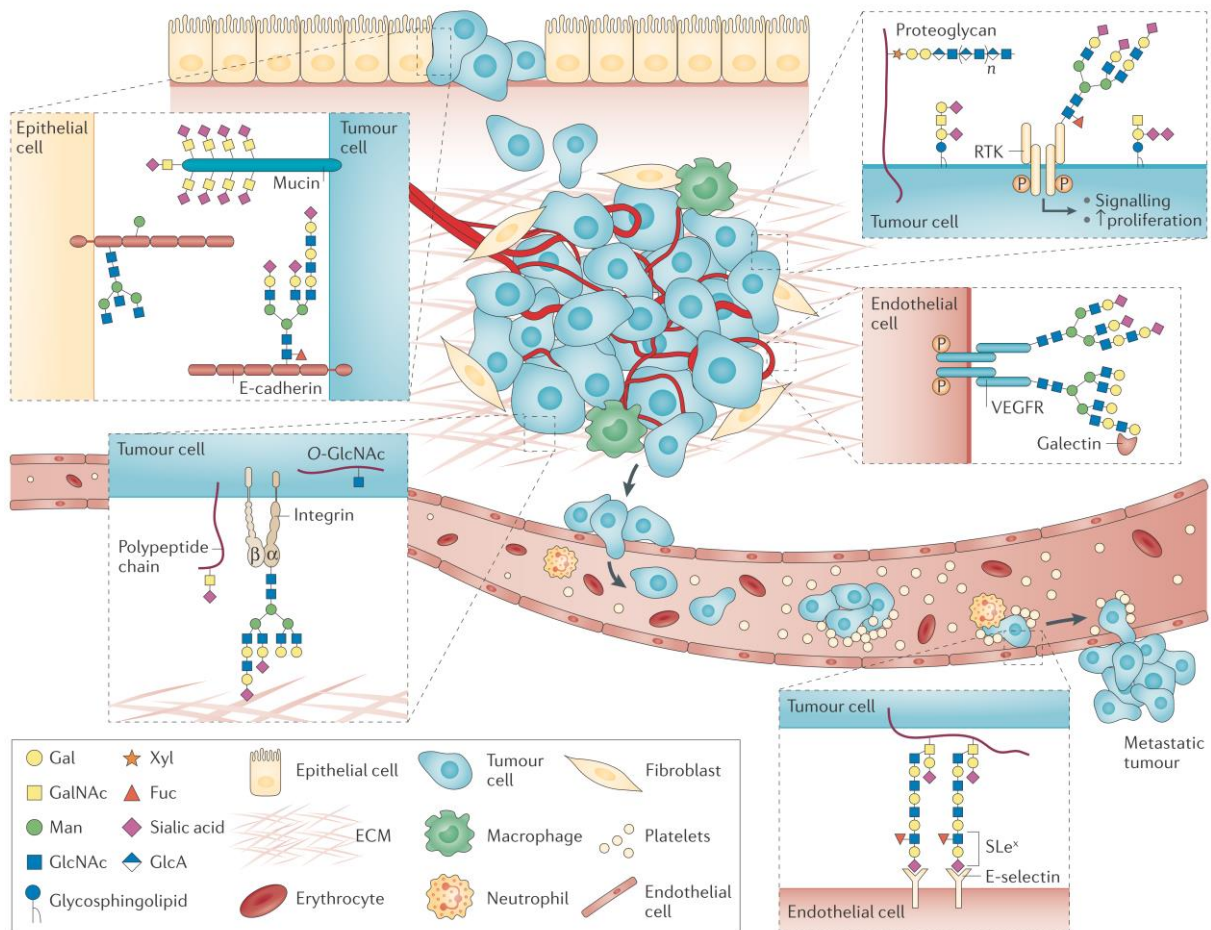


Abb. 1: Rolle von verschiedenen Glycan-Strukturen in der Tumorentwicklung und -progression.^[41]

GTs repräsentieren somit wichtige potentielle Targets bei der Entwicklung von Inhibitoren, da die entsprechenden Wirkstoffe pathologischen Prozessen entgegenwirken könnten und folglich therapeutisch nutzbar wären. Da die Strukturen, die Substrateigenschaften und die Reaktionsmechanismen vieler GTs bis heute noch nicht ausreichend untersucht sind, besteht großes Interesse an der Erforschung effektiver Synthesen von Substratanaloga zur Etablierung neuer biochemischer Assays und zum Einsatz als Hilfsmittel zur Strukturaufklärung dieser Enzyme.

2 Kenntnisstand

2.1 Fucosylierung

L-Fucose-enhaltende Glycokonjugate sind essentiell für eine große Anzahl von physiologischen und pathologischen Prozessen, wie bei Entzündungen, bakteriellen und viralen Infektionen, Tumormetastasierungen oder genetischen Störungen.^[3,4] Fucosylierungen stellen oftmals den letzten Schritt in der Biosynthese von Oligosacchariden und Glycokonjugaten dar, weshalb Fucose-Einheiten oft an terminaler Position solcher Glycane zu finden sind. Hierzu zählen Strukturen wie die Antigene Lewis^a, Sialyl-Lewis^a, Lewis^x sowie Sialyl-Lewis^x (Le^a, sLe^a, Le^x, sLe^x). Eine besondere physiologische Bedeutung des Tetrasaccharids Sialyl-Lewis^x liegt z.B. in dem vermehrten Auftreten auf der Oberfläche von Leukocyten und der damit verbundenen Steuerung der Wechselwirkung dieser mit den Selektinen von Endothelzellen bei der Leukozytenmigration.^[42,43] Ein erhöhtes Auftreten von Lewis-Antigenen an Zelloberflächen ist mit Tumorwachstum und Metastasierung assoziiert, weshalb diese Strukturen als Tumormarker angesehen werden.^[44–47] So kann eine Überproduktion von sLe^x in den bösartigen Tumorgeweben in der Bauchspeicheldrüse, der Brust, des Darmes oder der Lunge beobachtet werden.^[29] Insofern besteht ein besonderes Interesse in der Erforschung der an der Bildung dieser Glycane beteiligten Enzyme, den Fucosyltransferasen, da eine entsprechende Inhibition einen möglichen therapeutischen Ansatz bieten könnte.^[6]

Fucosyltransferasen (FucTs) repräsentieren eine wichtige Untergruppe von invertierenden GTs. Diese Enzyme katalysieren den Transfer einer L-Fucose-Einheit aus Guanosindiphosphat- β -L-Fucose (GDP- β -L-Fucose) auf einen Akzeptor unter Bildung einer α 1,2-, α 1,3/4-, α 1,6-glycosidischen Bindung oder eines fucosylierten Serin- bzw. Threonin-Restes.^[48] Entsprechend dieser Verknüpfungsarten teilt man die FucTs in die vier Subfamilien α 1,2-, α 1,3/4-, α 1,6-FucTs und O-FucTs ein, welche sich ebenso in ihren Fucosylierungsstellen unterscheiden (Abb. 2).

Von den insgesamt 13 bekannten humanen Fucosyltransferasen sind zwei keine Transmembranproteine, sondern liegen in löslicher Form vor. Diese beiden O-FucTs katalysieren die Fucose-Übertragung auf Serin- und Threonin-Reste bestimmte Proteine unter Bildung von O-Glycosiden.^[49,50] Die Fucosyltransferasen hFucT I und hFucT II übertragen Fucose-Reste auf die Galactose-Einheit terminaler *N*-Acetyllactosamin-Reste (LacNAc) unter Bildung von α 1,2-Verknüpfungen. Diese beiden Enzyme sind für die Synthese der Blutgruppenantigene A, B und H verantwortlich.^[51]

α 1,6-Fucosylierungen, welche auch als Kern-Fucosylierungen bekannt sind, werden ausschließlich von der hFucT VIII katalysiert und erfolgen an der innersten *N*-Acetylglucosamin-Einheit (GlcNAc) der Kernstruktur Asparagin-verknüpfter Oligosaccharide (*N*-Glycane).^[52] Vor allem bei der Proteinfaltung, -stabilität und -sortierung spielen diese Modifikationen eine wichtige Rolle.^[53]

Die Fucosyltransferasen hFucT III-VII sowie die hFucT IX gehören zu den α 1,3-Fucosyltransferasen und sind für den letzten Schritt in der Synthese der Lewis-Antigene verantwortlich.^[54-57] Unter ihnen besitzen die hFucT III und V zusätzlich die Fähigkeit zur Katalyse von α 1,4-Fucosylierungen. Während die Fucosylierung durch die hFucT V nur an der inneren GlcNAc-Einheit der Poly-LacNAc-Kette erfolgt, kann dies bei hFucT III, IV und VI an beliebigen GlcNAc-Einheiten dieser Kette erfolgen. Zusätzlich ist bei einigen FucTs, wie der hFucT VII oder IX, der genaue Ort der Fucosylierung vom Sialyierungsgrad des Oligosaccharids abhängig. So erfolgt der Fucosyltransfer der hFucT IX bei einem sialylierten Akzeptor auf die innere GlcNAc-Einheit der Poly-LacNAc-Kette, während er im nicht-sialylierten Fall am Terminus dieser Kette stattfindet.^[58]

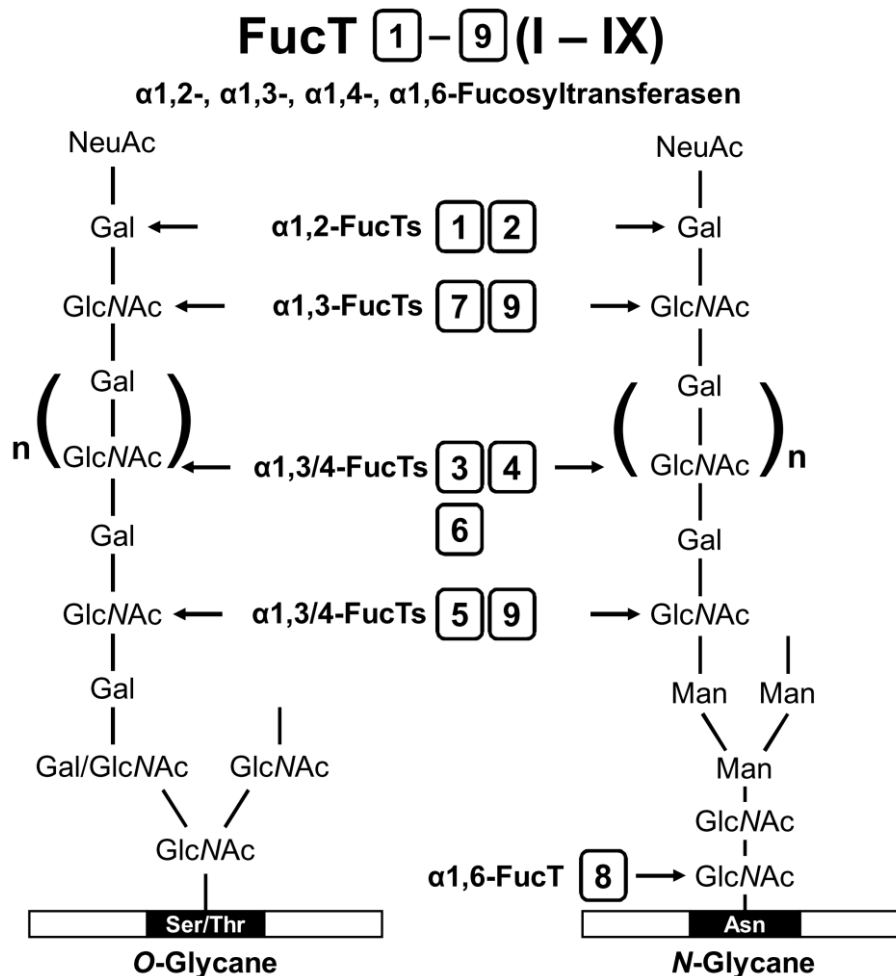


Abb. 2: Übersicht über die Fucosylierungsstellen der hFucTs I-IX (bearbeitet nach *Tu et al.*).^[48]

Über die Akzeptoreigenschaften und Verknüpfungsarten der relativ neu entdeckten Fucosyltransferasen FucT X und FucT XI ist noch wenig bekannt. Vermutlich zählen sie zur Subfamilie der α 1,3-Fucosyltransferasen.^[59]

Bis heute sind nur sehr wenige Kristallstrukturen von humanen Fucosyltransferasen aufgeklärt worden.^[60] Neben den Strukturen der beiden humanen O-Fucosyltransferasen 1 und 2^[49,50] wurde von den N-glycosylierenden Fucosyltransferasen lediglich die von der hFucT VIII 2007 von *Ihara et al.* mit einer Auflösung von 2.6 Å ohne zusätzlichen Liganden erhalten.^[61] 2012 konnte anhand dieser Struktur von *Kötzler et al.* mithilfe von Docking-Studien eine detaillierte Wechselwirkung des Donor-Substrates mit dem aktiven Zentrum sowie mittels Sättigungstransfer-Differenz-NMR-Spektroskopie (STD-NMR) das Bindungsepitop dieser Struktur ermittelt werden.^[62] Die *Helicobacter pylori* Fucosyltransferase (*hpFucT*) stellt bis heute die einzige α 1,3-FucT dar, deren Struktur bekannt ist.^[60] *Sun et al.* haben dabei sowohl Strukturen im Komplex mit GDP und GDP- β -L-Fucose als auch ohne Liganden erhalten.^[63] Anhand der Kristallstruktur und der darin positionierten Akzeptor- und Donorsubstrate, konnte ein Reaktionsmechanismus abgeleitet werden, der dem für die hFucT V von *Murray et al.* vorgeschlagenen ähnelt (Abb. 3).^[63,64]

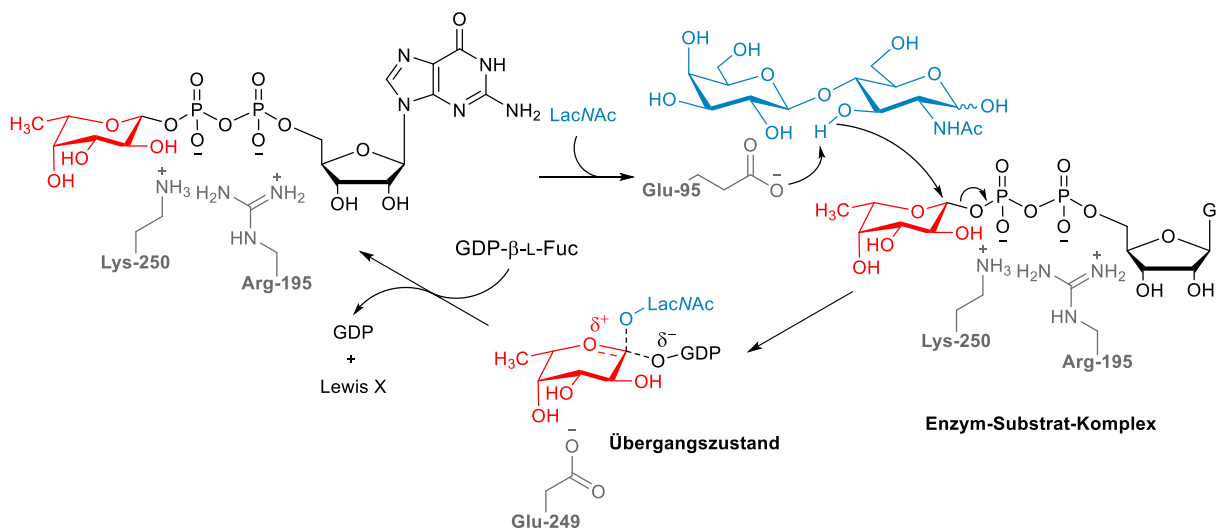


Abb. 3: Vorgeschlagener Mechanismus der von der *hpFucT* katalysierten Reaktion (bearbeitet nach *Sun et al.*).^[63]

Hiernach wird die katalysierte Reaktion durch eine Erhöhung der Acidität der C-3-Hydroxylgruppe der N-Acetylglucosamin-Einheit des Akzeptors durch Glu-95 eingeleitet. Dieses wirkt als Base und deprotoniert diese Hydroxylgruppe, wodurch es zu einem nucleophilen Angriff auf das anomere Zentrum der Fucose-Einheit kommt. Es erfolgt die Bildung einer neuen glycosidischen Bindung unter Inversion der Konfiguration und unter gleichzeitigem Austritt von GDP als Nebenprodukt, welches zusammen mit dem entstandenen

Lewis^X-Trisaccharid die Bindetasche verlassen kann. Die negativen Ladungen der Pyrophosphat-Einheit des Donors werden von den positiv geladenen Aminosäureresten von Lys-250 und Arg-195 stabilisiert, was auch den Bruch der glycosidischen Bindung zur Fucose erleichtert. Schließlich kann die wahrscheinliche partielle positive Ladung der Fucose im Übergangszustand teilweise durch das Glu-249-Anion stabilisiert werden.^[63]

2.2 Humane Fucosyltransferase IX

Bei der humanen Fucosyltransferase IX (hFucT IX) handelt es sich um ein hoch konserviertes und hauptsächlich im Zentralnervensystem exprimiertes Enzym der α 1,3-FucT-Familie.^[5] Dieses katalysiert den Transfer einer Fucose-Einheit vom aktivierten Donor GDP- β -L-Fucose auf eine terminale *N*-Acetylglucosamin-Einheit in Polylactosamin-Ketten. Diese Übertragung stellt den letzten Glycosylierungsschritt in der Biosynthese von Lewis^X-Epitopen dar, an deren Bildung im Gehirn dieses Enzym wahrscheinlich am stärksten beteiligt ist.^[65] Die hFucT IX tritt hauptsächlich im Golgi-Apparat und dem *trans*-Golgi-Netzwerk^[66] auf und setzt sich, wie alle bekannten humanen α 1,3-FucTs, aus einem kurzen cytoplasmatischen N-Terminus, einer Transmembrandomäne und aus einem in das Golgi-Lumen weisenden C-Terminus zusammen, der die katalytische Domäne enthält (Abb. 4).^[67]

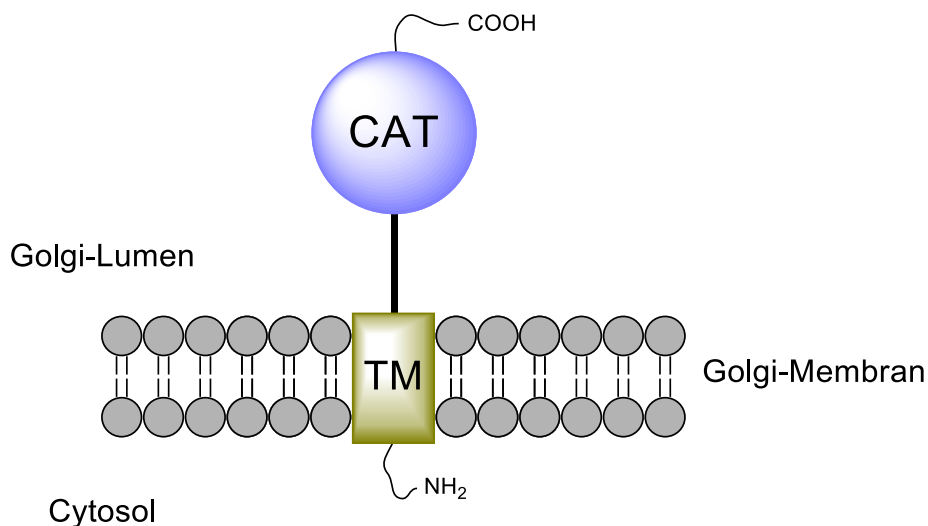


Abb. 4: Schematische Struktur von α 1,3-FucTs (TM: Transmembrandomäne; CAT: Katalytische Domäne).^[67]

Eine Methode zur Gewinnung großer Mengen einer löslichen rekombinanten Variante der hFucT IX wurde von *Stacke et al.* unter Verwendung eines Baculovirus-Expressionssystems in Insektenzellen entwickelt.^[68] Wichtige Enzymeigenschaften, wie das Temperatur- und pH-Optimum, sowie enzymkinetische Faktoren, wie die spezifische Aktivität und die Michaeliskonstante, konnten in Folgearbeiten von *C. Stacke* ermittelt werden.^[69]

Der genaue Reaktionsmechanismus der hFucT IX ist bis heute noch nicht bekannt. Eine Abhängigkeit der katalysierten Reaktion von zweiwertigen Metallkationen, wie sie bei anderen α 1,3-FucTs auftritt, konnte ausgeschlossen werden.^[69] Von *Seelhorst et al.* wurde über die unterschiedlich stark ausgeprägte Relevanz der drei vermeintlichen *N*-Glycosylierungsstellen in der Sequenz der hFucT IX für die vollständige Aktivität des Enzyms berichtet.^[70] Glycosylierte Proteine gelten oft aufgrund der Heterogenität der Zucker-Strukturen als schwierig zu kristallisieren, was erst nach der Abspaltung der entsprechenden Glycostrukturen gelingt. Sind diese jedoch, wie im Fall der hFucT IX, für ihre enzymatische Aktivität notwendig, würden solche Kristallstrukturen nicht den gewünschten nativen Zustand wiedergeben. Dies könnte ein möglicher Grund für die bis heute nicht gelungene Kristallisation der hFucT IX sein. Es gibt jedoch auch Beispiele für eine gelungene Kristallisation von glycosylierten Proteinen, wie die Glutamatcarboxypeptidase II.^[71]

2.3 Untersuchung von Fucosyltransferasen mittels modifizierten GDP-Fucose-Derivaten

Da sowohl ein verändertes Vorkommen bestimmter Glycan-Strukturen als auch Abweichungen von ihren natürlichen Mustern in einem direkten Zusammenhang mit diversen Erkrankungen stehen, besteht ein großes Interesse an der Erforschung der an diesen Prozessen beteiligten Enzymen. Sowohl für strukturelle und funktionelle Untersuchungen von GTs als auch für die Verfolgung der durch sie katalysierten Prozesse stellt die Entwicklung geeigneter biochemischer Assays eine wichtige Voraussetzung dar. Ein breites Spektrum an analytischen Methoden wurde bereits eingesetzt, um die GT-Aktivität während der Enzymreinigung, für mechanistische Studien oder im Rahmen von Hochdurchsatz-Screenings (engl. *High-throughput-screening*, HTS) zu beobachten.^[72] In vielen entwickelten biochemischen GT-Assays kommt es dabei zum Einsatz von natürlichen und modifizierten Substratanaloga. In den hier nachfolgend vorgestellten Beispielen für FucT-Assays sind das verschiedene an der C-6-Position der Fucose-Einheit modifizierte GDP-Fucose-Derivate.^[6,73,74] Es ist bekannt, dass besonders Fucosyltransferasen eine ausgeprägte Toleranz gegenüber strukturellen Änderungen an dieser Position des natürlichen Donor-Substrates besitzen und die entsprechenden Analoga als Substrate akzeptieren können.^[73]

Von *Maeda et al.* wurde ein Fluoreszenz-basierter Assay unter Ausnutzung des Förster-Resonanzenergietransfers (FRET) zur direkten und kontinuierlichen *in vitro* Untersuchung der durch Fucosyltransferasen katalysierten Reaktion sowie das Screening von Inhibitoren entwickelt. Dabei wurden als FRET-Paar eine Naphthyl-modifizierte GDP- β -L-Fucose **1** und ein mit einem Dansyl-Chromophor versehenes Sialyl- α -2,3-LacNAc-Derivat **2** als Akzeptor-

substrat verwendet (Abb. 5). Während der Umsetzung der Substrate konnte über die Anregung des Naphthyl-Chromophors mit Licht einer Wellenlänge von 280 nm die Emission des zweiten Fluorophors bei einer Wellenlänge von 540 nm gemessen und die Reaktion für die rekombinanten humanen Fucosyltransferasen VI und VIII erfolgreich verfolgt werden. Außerdem konnte mit Hilfe dieses Assays ein micromolarer Inhibitor der hFuc VI identifiziert werden.^[73]

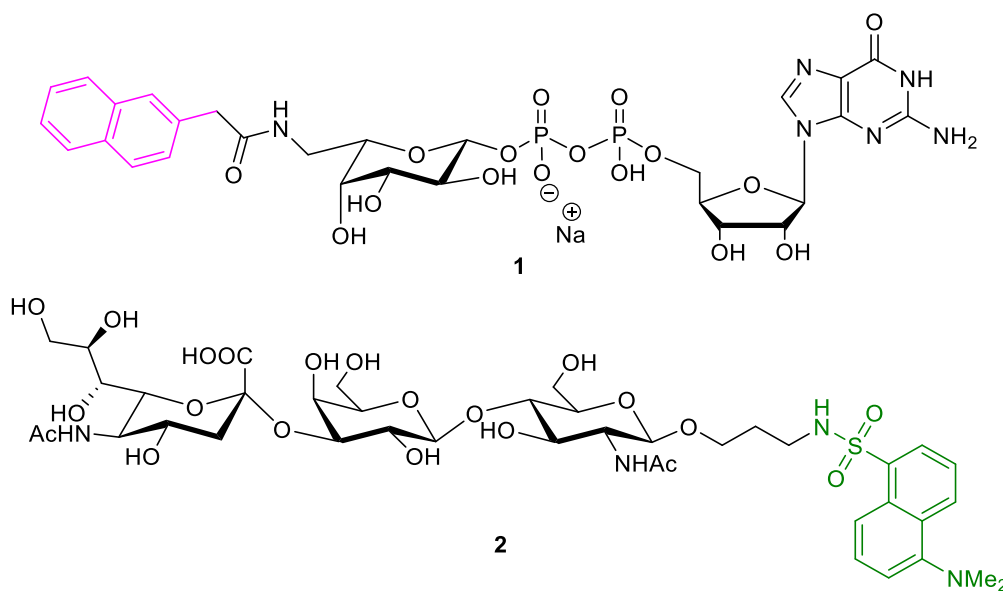


Abb. 5: Strukturen der von *Maeda et al.* eingesetzten Substrat-Analoga **1** und **2**.^[73]

In Anlehnung an den Ansatz von *Maeda et al.* wurde von *Lunau et al.* basierend auf fluoreszenzmarkierten Substraten eine Möglichkeit zur Verfolgung der Aktivität der hFucT IX entwickelt (Abb. 7).^[6,73] Es wurden dazu die mit zwei unterschiedlichen ATTO-Farbstoffen gelabelten Substrate dieses Enzyms synthetisiert. *N. Lunau* hat im Rahmen ihrer Dissertation die ATTO 550-markierte GDP- β -L-Fucose **3** dargestellt, welche an der C-6-Position der Fucose-Einheit über eine Amidbindung mit dem Farbstoff verknüpft ist. Das entsprechende Akzeptorsubstrat wurde in Form der beiden ATTO 647N-modifizierten LacNAc-Derivate **4a,b** eingesetzt.^[6]

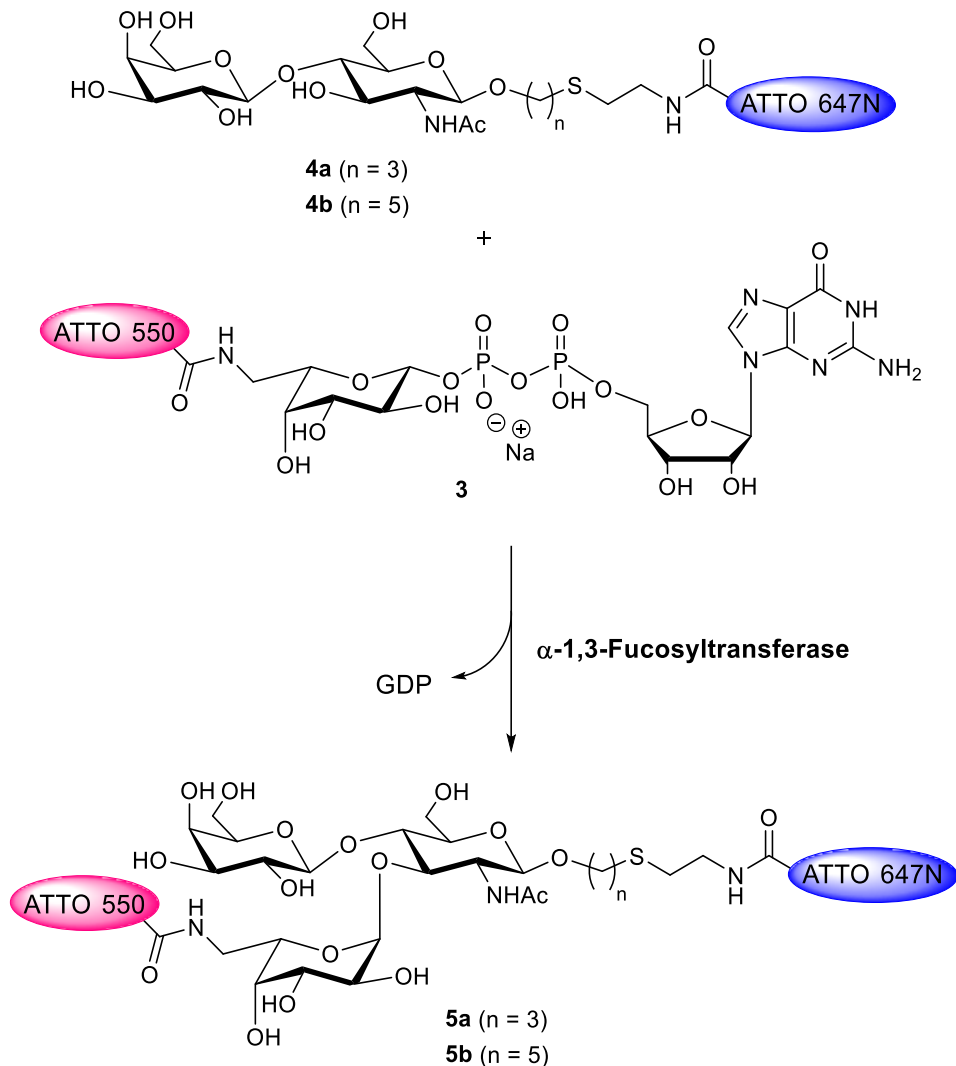


Abb. 6: α 1,3-FucT-katalysierte Bildung des zweifach fluoreszenzmarkierten Lewis^X-Derivates **5a,b**.^[6]

Die enzymatische Umsetzung dieser Verbindung zum zweifach gelabelten Lewis^X-Derivat **5a,b** konnte über Hochleistungsdünnschichtchromatographie (engl. *High-performance thin-layer chromatography*, HPTLC) gekoppelt mit einer massenspektrometrischen Detektion analysiert und mittels Fluoreszenz-Kreuzkorrelations-Spektroskopie (engl. *Fluorescence cross-correlation spectroscopy*, FCCS) verfolgt werden. Beide fluoreszenzmarkierten Verbindungen **3** und **4a,b** wurden dabei von einer rekombinanten hFucT IX und von der *Helicobacter pylori* α 1,3-FucT als Substrate akzeptiert. Außerdem wurde durch die Messung von Fluoreszenz-Emissionsscans in Gegenwart der hFucT versucht, während der Reaktion einen möglichen FRET-Effekt zwischen ATTO 550 und ATTO 647N zu messen. Die erwartete Abnahme der Emission von ATTO 550 konnte dabei tatsächlich beobachtet werden, während die erwartete Zunahme der Emission von ATTO 647N ausblieb. Analoge Versuche mit der *Helicobacter pylori* α 1,3-FucT haben ähnliche Resultate geliefert, was zu der Vermutung

fürte, dass die beiden ATTO-Fluorophore im gebildeten Trisaccharid einen Abstand von mehr als 10 nm besitzen.^[6]

Ein weiterer Ansatz zur Untersuchung von Fucosyltransferasen mit verschiedenen fluoreszenzmarkierten NDP- β -L-Fucose-Analoga wurde von *Seelhorst* und *Pahnke* vorgestellt. *K. Pahnke* konnte hierbei erfolgreich ein mit dem Fluoreszenzfarbstoff Fluorescein-isothiocyanat (FITC) GDP- β -L-Fucose-Derivat **6** sowie jeweils ein Triazol-verbrücktes 5-Carboxyfluorescein(FAM)-Analogon von Uridindiphosphat(UDP)- sowie GDP- β -L-Fucose (**7** und **8**) synthetisieren und diese zusammen mit der ATTO 550-markierte GDP- β -L-Fucose **3** von *N. Lunau* in Fucosyltransferase-Studien einsetzen (Abb. 7). Diese vier Donorsubstrat-Analoga übertrugen mithilfe von vier verschiedenen Fucosyltransferasen (hFucT V, VII und IX sowie die *Helicobacter pylori* α 1,3-FucT) die fluoreszenzmarkierten Fucosereste in unterschiedlichem Maße auf die Glycoproteine gp130, Fetuin und Asialofetuin. Die Analyse der Markierungsreaktionen erfolgte mittels in-Gel Fluoreszenzdetektion und Fluoreszenz-Polarisation.^[74]

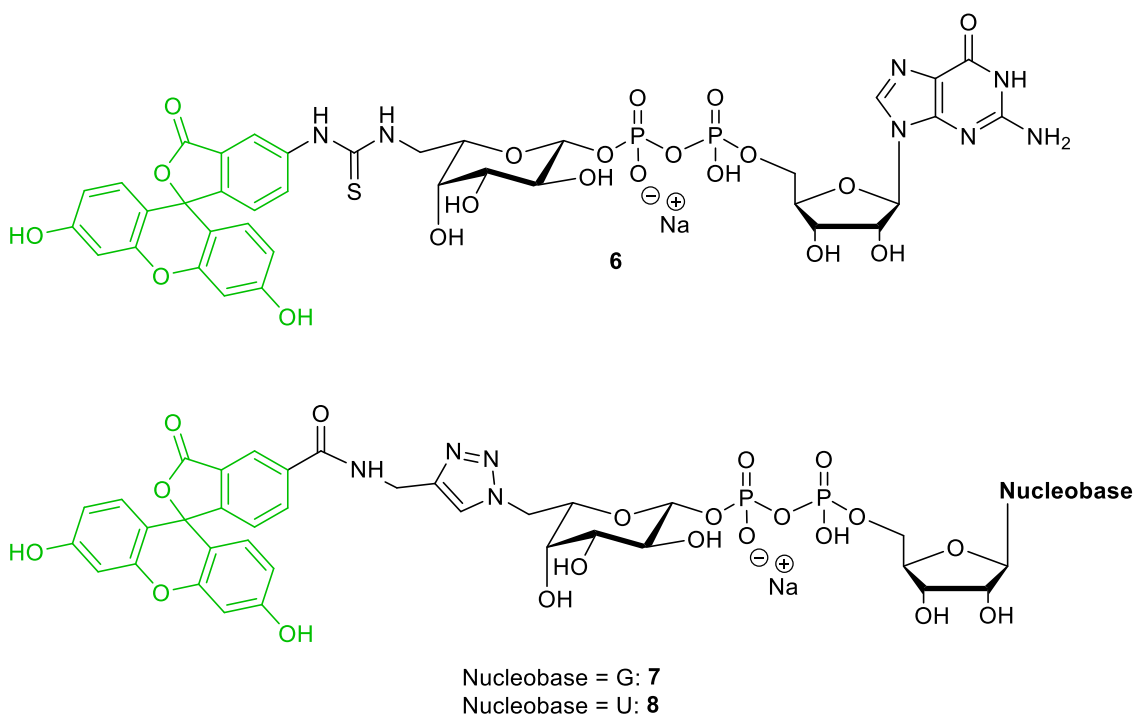


Abb. 7: FITC-markierte GDP- β -L-Fucose **6** sowie FAM-Triazol-modifizierte NDP- β -L-Fucose-Derivate **7** und **8** zur Markierung von Glycoproteinen.^[74]

Neben fluoreszenzmarkierten Substraten als Tools zur Untersuchung von Enzymen stellen die Photoaffinitätsmarkierungen (*photoaffinity labeling*, PAL) einen konzeptionell anderen Ansatz zur Erforschung von Proteinen und Enzymen dar und dies soll im Folgenden vorgestellt werden.

2.4 Einsatz von photoaktivierbaren Substratanaloga zur Untersuchung von Enzymen

Die Grundidee des PAL ist die UV-Licht-aktivierte Vernetzung eines kleinen Moleküls mit einem zu untersuchenden Makromolekül durch eine kovalente Bindung. Die Anfänge dieser biochemischen Methode gehen auf die Arbeiten von *Westheimer et al.* 1962 über die Photolyse von Diazoverbindungen und ihre Fähigkeit, die Bindungstaschen von Enzymen zu markieren, zurück.^[75,76] Bis heute erfolgte eine stetige Optimierung dieses Ansatzes. Die verwendeten Moleküle besitzen einerseits die Struktur eines natürlichen Liganden des zu untersuchenden Proteins, andererseits enthalten sie zusätzlich eine photolabile Gruppe, die nach einer Aktivierung eine kovalente Bindung zum Protein herstellen kann. Schließlich können diese Verbindungen zusätzlich mit einer *tag*-Einheit versehen werden, um das selektive Isolieren der gebundenen Proteine zu ermöglichen. Dies hat zur Folge, dass das analysierte Protein bei dieser Methode nicht gereinigt sein muss, sondern sich auch im Gemisch mit anderen Proteinen befinden kann, was dies zu einem attraktiven Ansatz zur Erforschung ganzer Proteome macht.^[77,78]

Inzwischen haben sich mehrere photoaktivierbare Gruppen für den biochemischen Einsatz etabliert. Neben den erforderlichen photophysikalischen Eigenschaften, wie eine große Anregungswellenlänge und Vernetzungseffizienz, müssen diese Gruppen zusätzliche Anforderungen erfüllen. Um die Wechselwirkung des Liganden mit dem zu untersuchenden Protein nicht zu beeinflussen, dürfen diese Gruppen nicht zu sterisch anspruchsvoll sein. Des Weiteren müssen sie in ihrer inaktiven Form zu allen funktionellen Gruppen des Proteins und der Messumgebung bioorthogonal sein. Abb. 8 zeigt die heute üblicherweise genutzten Arten von photoaktivierbaren Gruppen.^[79]

Benzophenon wird durch relativ langwelliges Licht (350-365 nm) unter Bildung eines Diradikals aktiviert, was vorteilhaft bei möglichen *in vivo* Anwendungen sein kann. Die gebildete reaktive Spezies kann mit benachbarten C-H-Bindungen unter Bildung von kovalenten Addukten reagieren.^[80] Bei der Bildung des Benzophenon-Diradikals handelt es sich im Gegensatz zu den weiteren vorgestellten Gruppen um einen reversiblen Vorgang. Bei Abwesenheit geeigneter C-H-Bindungen reagiert dieses nach 120 μ s zurück zum Ausgangszustand und kann erneut aktiviert werden. Dadurch kann beim Einsatz von Benzophenon-Derivaten eine hohe Bindungseffizienz erreicht werden.^[80] Verglichen mit anderen Gruppen gilt Benzophenon als relativ selektiv, da es bevorzugt an das Schwefelatom von Methionin-Resten bindet.^[81]

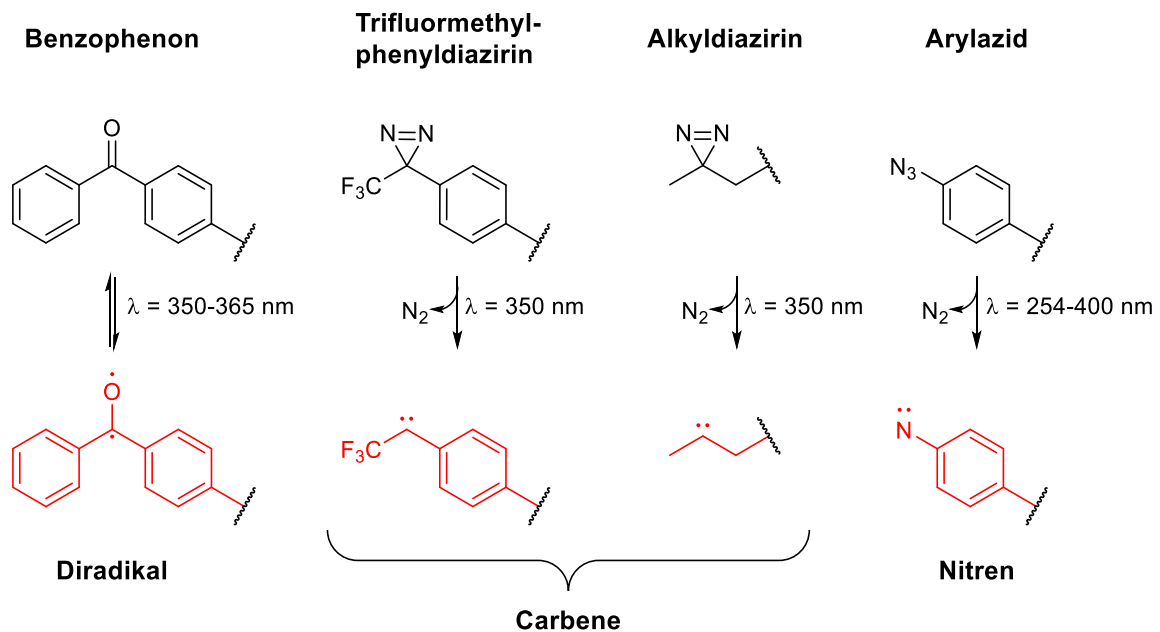


Abb. 8: Darstellung von vier häufig genutzten photoaktivierbaren Gruppen. Die unmittelbar entstehenden Photolyseprodukte sind rot dargestellt.^[79]

Sowohl Trifluormethylphenyl- als auch Alkyldiazirine können mit Licht einer Wellenlänge von 350 nm durch Abspaltung von Stickstoff und unter Bildung eines Carbens aktiviert werden.^[82] Carbene stellen hochreaktive Crosslinker dar, welche in jede benachbarte C-H- sowie Heteroatom-H-Bindung unter Bildung kovalenter Addukte inserieren können.^[83] Sowohl die relativ geringen Halbwertszeiten im Bereich von wenigen Nanosekunden als auch die mögliche schnelle Reaktion mit Wasser können bei der Anwendung zu einer geringen Vernetzungseffizienz führen.^[83,84]

Analog zu der Gruppe der Diazirine kommt es bei Arylaziden bei einer Photoaktivierung mit teilweise relativ energiereichem Licht (254-400 nm) zur Abspaltung eines N_2 -Moleküls unter Bildung eines Nitrens, welches in diesem Fall die reaktive Spezies darstellt. Das gebildete Nitren besitzt eine Halbwertszeit von bis zu 100 μs und kann schnell kovalente Addukte durch Insertion in benachbarte C-H- sowie Heteroatom-H-Bindung bilden.^[79] Fehlen solche strukturellen Einheiten in unmittelbarer Nähe, kann das zunächst entstandene Singulett-Nitren **9** unterschiedliche Folgereaktionen eingehen, welche in Abb. 9 am Beispiel von Azidbenzol **10** gezeigt sind. So kann das primär entstandene Singulett-Nitren **9** durch eine Ringerweiterung über das 2*H*-Azirin **11** zum Didehydroazepin **12** reagieren, welches wiederum von verschiedenen Nucleophilen unter Bildung einer kovalenten Bindung abgefangen werden kann. Alternativ kann aus **9** mittels *Intersystem crossing* (ISC) das entsprechende Triplett-Nitren **15** entstehen und dieses weiter zur Diazo-Verbindung **16** dimerisieren.^[85-87]

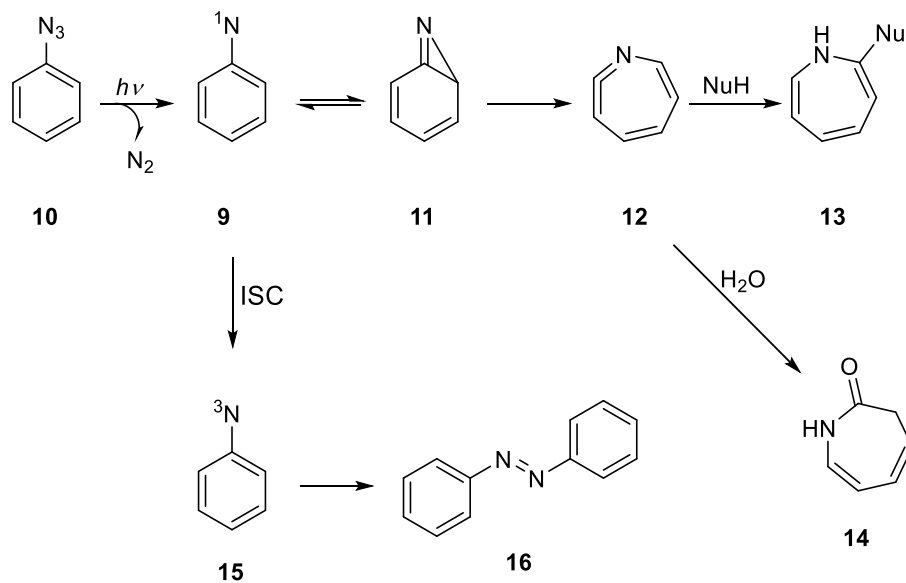


Abb. 9: Produkte der Photolyse von Arylaziden.^[85]

Arylazide wurden bereits vielfältig als Crosslinker für biochemische Zwecke verwendet.^[88–91] So wurde z.B. 2010 von *Suwal et al.* eine phosphorylierungsabhängige Kinase-Substrat-Crosslink-Strategie zur Identifizierung von zellulären Kinase-Substraten vorgestellt (Abb. 10).^[89] Aufbauend auf der Erkenntnis, dass zelluläre Kinasen eine Modifikation an der γ -Phosphatgruppe des natürlichen Co-Substrates Adenosintriphosphat (ATP) tolerieren, wurde dieses synthetisch über einen hydrophilen Linker mit einer Arylazid-Einheit verbunden. Bei einer mit dem ADP-Derivat **17** erfolgenden Phosphorylierung eines Proteins kann bei gleichzeitiger UV-Aktivierung neben der Übertragung der modifizierten γ -Phosphatgruppe auf das Substrat-Protein zusätzlich eine kovalente Bindung zwischen Kinase und Substrat entstehen. Die Identifizierung des kovalenten Adduktes soll unter Verwendung traditioneller Gel-Elektrophorese und mittels Western Blot erfolgen. *Suwal et al.* konnten diese Strategie bereits erfolgreich mit Serin, Threonin und Tyrosin enthaltenden Peptid-Substraten testen.^[89]

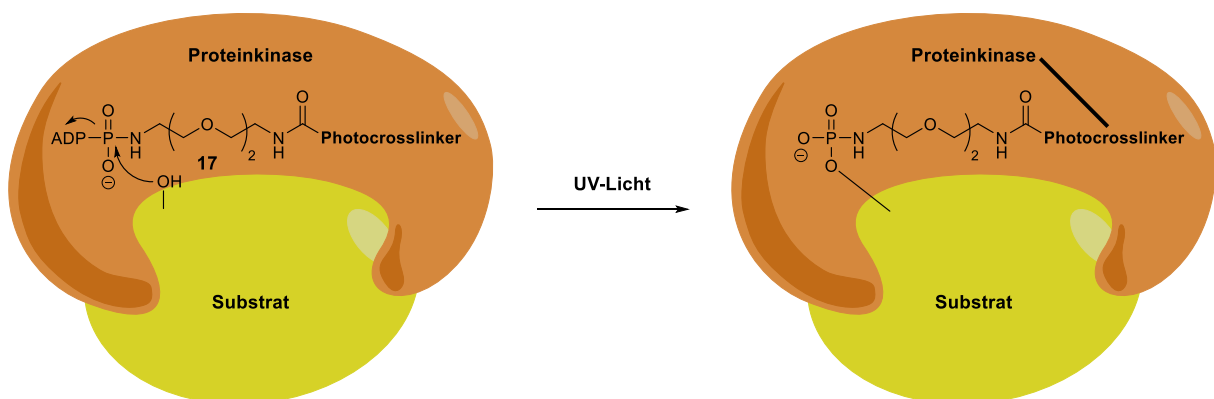


Abb. 10: Schematische Darstellung der kovalenten Verknüpfung einer Proteinkinase an ihr Substrat-Protein nach erfolgter Phosphorylierung und UV-Aktivierung (bearbeitet nach *Suwal et al.*).^[89]

Ein anderer Einsatz von Substrat-Analoga mit photoaktivierbaren Gruppen wie Arylaziden fällt in den Bereich der Proteomik. Mit dem von *H. Köster* entwickelten Konzept der *Capture compound mass spectrometry* (CCMS) kann eine selektive und funktionale Isolierung und Analyse von Zielproteinen direkt aus komplexen biologischen Proben mittels kleiner, trifunktionaler Moleküle, den sogenannten *Capture compounds* (CCs) erfolgen.^[92] Neben einer Selektivitätsfunktion, welche strukturell den natürlichen Liganden der gesuchten Proteine entspricht und für eine affinitätsbasierte Interaktion mit dem Protein sorgen soll, besitzen CCs zusätzlich eine photoaktivierbare Gruppe (Arylazide oder Diazirine) sowie eine Sortierfunktion in Form eines Biotin-Restes (Abb. 11).^[92] Bis auf die unterschiedlichen Selektivitätsfunktionen besitzen die CCs einen identischen Aufbau, deren Kern eine auf Asparagin zurückzuführende dreiarmlige Struktur darstellt. Diese ist über drei Amid-Bindungen mit den drei beschriebenen funktionellen Einheiten verbunden, wobei der Biotin-Rest über einen Linker distanziert vorliegt.^[92]

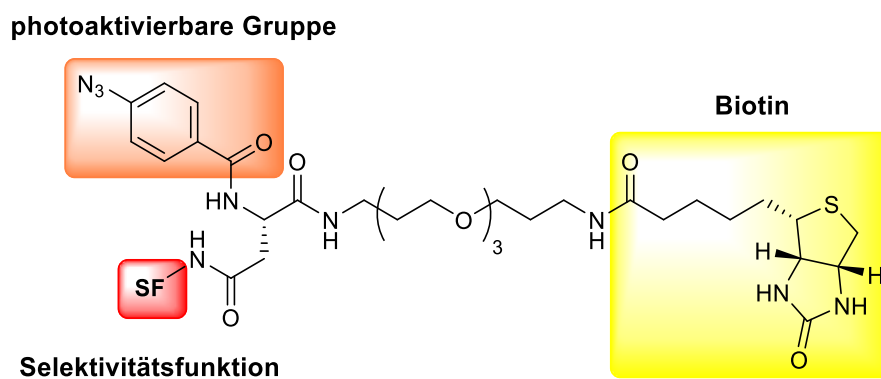


Abb. 11: Darstellung der Grundstruktur aller *Capture compounds* beispielhaft mit einem Arylazid als Reaktivitätsfunktion.^[92]

Ein typisches CCMS-Experiment startet mit der Zugabe der CC zu einem komplexen Zelllysate gefolgt von einer Photoaktivierung mit dem Ziel, eine kovalente Bindung mit dem Zielprotein herzustellen, welches im Idealfall mit der Selektivitätsfunktion interagiert (Abb. 12). Eine darauffolgende Zugabe mit Streptavidin beschichteter Magnetbeads ermöglicht nach diversen Waschschritten die Isolierung der Konjugate. Die abschließende Analyse kann mittels SDS-PAGE und/oder massenspektrometrisch erfolgen.^[92]

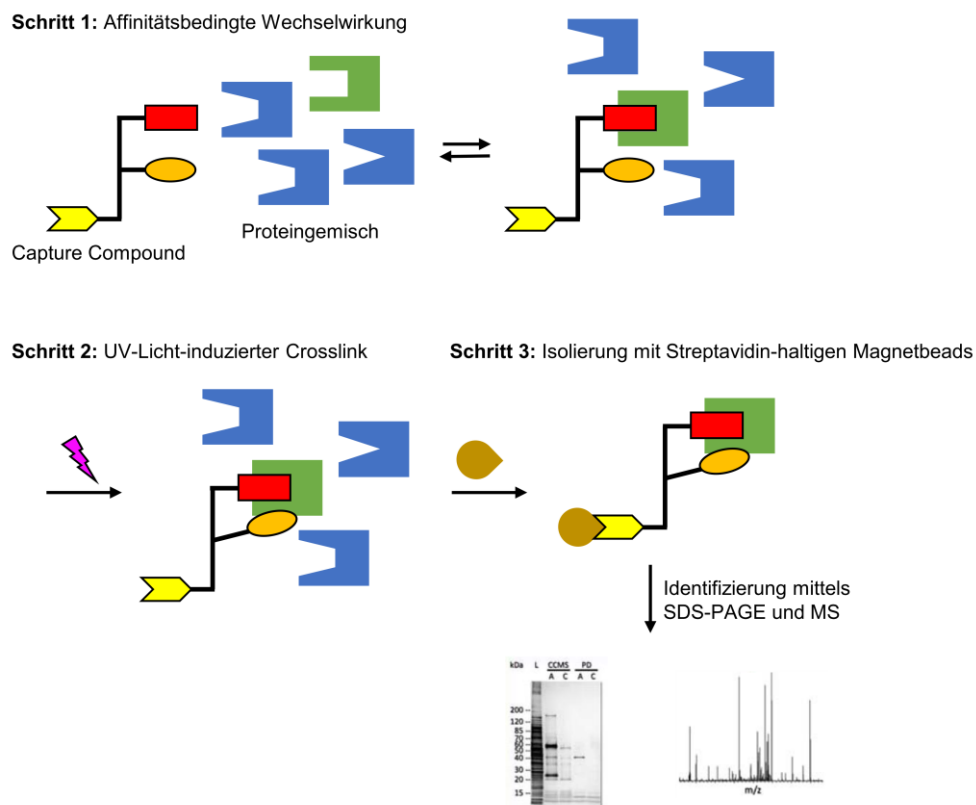


Abb. 12: Schematische Darstellung der CCMS (bearbeitet nach *Michaelis et al.*).^[93]

Mithilfe von CCs konnten mit dieser Methode bereits unterschiedliche Proteine, z.B. Methyltransferasen oder cAMP bindende Proteine isoliert und analysiert werden.^[91,94] Auch konnte mittels CCMS mit der Ribosyldihyronicotinamid Dehydrogenase ein neues Target-Enzym für den bereits als Antikoagulans zugelassenen Thrombin-Inhibitor Dabigatran gefunden werden.^[93]

Weiterhin können über den Bereich der Photoaffinitätsmarkierungen hinaus kovalente Bindungen zwischen Liganden und Enzymen zur Strukturaufklärung mittels Kristallstrukturanalyse genutzt werden.^[95,96]

2.5 Fucosyltransferase-Inhibitoren

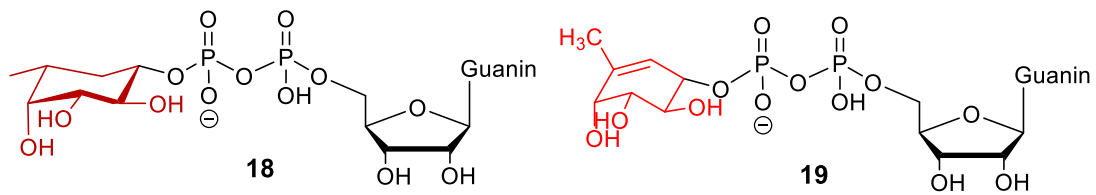
Auch ohne die genaue Kenntnis über die Strukturen von den meisten Fucosyltransferasen wurde bis heute intensiv an FucT-Inhibitoren geforscht. Trotz eines nicht möglichen strukturbasierten Inhibitor-Designs existieren dennoch unterschiedliche Strategien zum Auffinden potenter kompetitiver Inhibitoren. Ansatzpunkte stellen dabei oft die wenigen Informationen bereits erfolgreich kristallisierter FucTs und der damit abgeleiteten Vorstellungen von den Reaktionsmechanismen der katalysierten Fucose-Übertragung dar.^[64] So ist ein beliebter Ansatz für ein Inhibitor-Design von Glycosyltransferasen die Synthese von

Donor- oder Akzeptorsubstratmimetika und die Darstellung von Übergangszustandsanaloga.^[97]

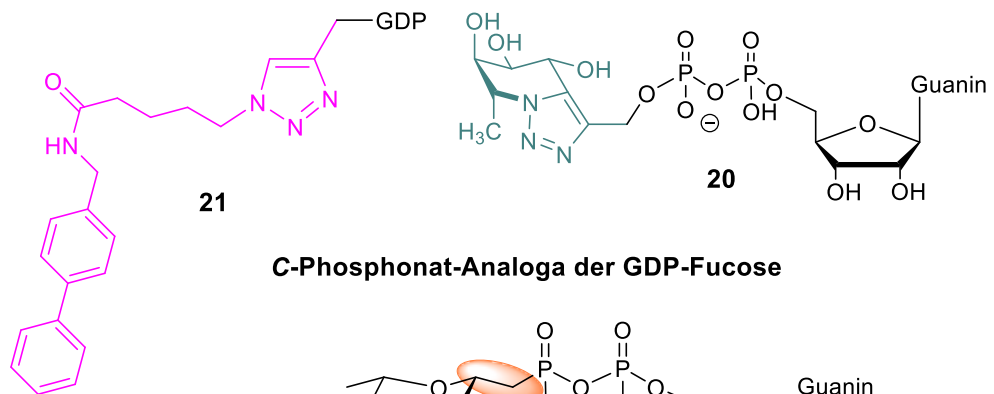
Abb. 13 zeigt eine Übersicht einiger bereits erfolgreich synthetisierter potenter Inhibitoren von Fucosyltransferasen mit strukturell unterschiedlichen Ansätzen. Bei allen dargestellten Verbindungen handelt es sich jedoch um Donor-Substratanaloga und allen ist als Strukturelement die GDP-Einheit gemein, was mit der bekannten hohen Bindungsaffinität dieser Teilstruktur mit den FucTs zusammenhängt. Die beiden von *Cai et al.* dargestellten Verbindungen **18** und **19** stellen die ersten beiden bekannten carbocyclischen Analoga von GDP- β -L-Fucose dar.^[98] Gegenüber einer humanen α 1,3/4-FucT zeigen beide Strukturen einen größeren inhibitorischen Effekt als GDP, wobei das Cyclohexen-Derivat **19** als Übergangszustandsanalogon sogar stärker als GDP- β -L-Fucose inhibiert.^[98] Eine ähnliche Konformation erhält die Fucose-Einheit in Verbindung **20** durch den angeknüpfte Triazol-Ring. Für diese Verbindung konnten gegenüber der hFucT V und hFucT VI Inhibitionskonstanten von 8 bzw. 13 μ M gemessen werden.^[99] Den bis heute potentesten FucT-Inhibitor mit einer Inhibitionskonstante im nanomolaren Bereich gegenüber der FucT VI stellt das vor *Lee et al.* synthetisierte GDP-Triazol **21** dar, welches beim Screening einer Substanzbibliothek verschiedener Triazol-Derivate identifiziert wurde.^[100]

Ein in der Synthese von NDP-Zucker-Analoga populärer Ansatz ist die Darstellung von C-1-Phosphonat-Derivaten unter Verzicht auf die glycosidische Bindung zur übertragbaren Zucker-Einheit,^[101–104] wodurch diese Verbindungen zu den Mimetika der Pyrophosphatbrücke gezählt werden.^[101,105] Neben einer erhöhten Stabilität gegenüber saurer- oder enzymatisch katalysierter Hydrolyse stellt das Ausbleiben der GT-vermittelten Transglycosylierungsreaktion ein wichtiges Merkmal dieser Verbindungen dar.^[106] Von *Luengo et al.* wurde ein isosterisches C-1-Phosphonat-Analogon **22** der GDP- β -L-Fucose vorgestellt, bei dem die glycosidische Bindung zwischen dem β -Phosphat und der Fucose-Einheit durch eine Methylen-Gruppe ersetzt wurde.^[107] Ein bewusster Austausch des Sauerstoffatoms gegen eine längere Ethylen-Einheit in einer α -analogen Konfiguration wurde für denselben NDP-Zucker zur Darstellung eines nicht-isosterischen Analogons **23** von *Vidal et al.* ausgewählt.^[108] Es wird angenommen, dass diese Modifikation die Verlängerung der C-O-Bindung während eines möglichen S_N2 -artigen Überzustandes des vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus für invertierende GTs imitiert.^[97]

Carbocyclische Analoga der GDP-Fucose



Triazol-modifizierte Donorsubstrat-Analoga



C-Phosphonat-Analoga der GDP-Fucose

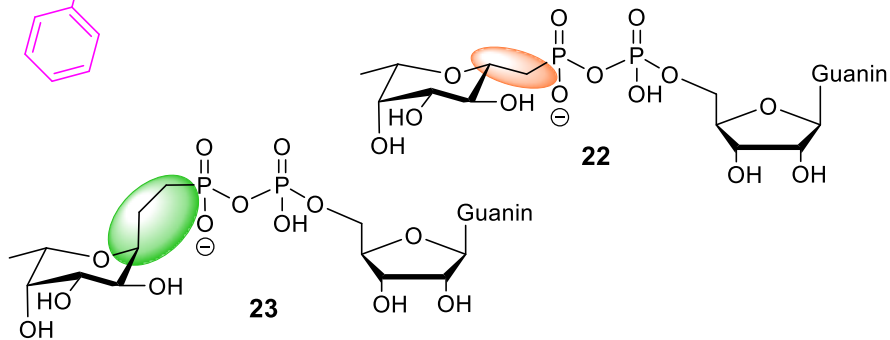


Abb. 13: Beispiele verschiedener potenter FucT-Inhibitoren.^[98–100,107,108]

Diese Beispiele zeigen, dass für die Synthese solcher Inhibitoren ein effizienter synthetischer Zugang zu den generellen Nucleosiddiphosphat-Zucker-Strukturen (NDP-Zucker-Strukturen) wesentlich ist. Nähere Informationen zur NDP-Zucker-Synthese finden sich in Teil II dieser Arbeit (siehe 6.4).

3 Aufgabenstellung

Fucosylierungen stellen oft den letzten Schritt im Rahmen der Biosynthese vieler wichtiger Saccharide, z.B. der Lewis-Antigene, dar. Solche fucosylierten Glycanstrukturen spielen eine zentrale Rolle in physiologischen Prozessen, wie der Zell-Zell-Erkennung, der Zell-Adhesion oder bei der Immunantwort.^[109] Eine Überexpression der an ihrer Synthese beteiligten Fucosyltransferasen und das damit einhergehende veränderte Vorkommen dieser Glycan-Strukturen wird oft mit dem Auftreten diverser Krankheiten (Infektionen, Entzündungen und Krebs) in Verbindung gebracht. Fucosyltransferasen repräsentieren somit wichtige potentielle Targets bei der Entwicklung von Inhibitoren, da die entsprechenden Wirkstoffe pathologischen Prozessen entgegenwirken könnten und folglich therapeutisch nutzbar wären. Dazu muss jedoch die genaue Struktur und Funktionsweise dieser Enzyme besser verstanden werden. Bis heute sind nur sehr wenige Kristallstrukturen von Fucosyltransferasen gelöst worden, von denen die meisten O-Fucosyltransferasen darstellen.^[110] Die *Helicobacter pylori* Fucosyltransferase ist dabei die einzige α 1,3-FucT, deren Struktur bekannt ist.^[63] Deswegen ist bei diesen Enzymen ein strukturbasiertes Inhibitor-Design kaum denkbar und mechanistische Untersuchungen sind mit besonderen Schwierigkeiten verbunden.

Ein Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung einer Syntheseroute zur Darstellung von photoaktivierbaren Guanosindiphosphat- β -L-Fucose-Analoga als potentielle irreversible Inhibitoren der hFucT IX, was in Anlehnung an die von *N. Lunau* erarbeitete Syntheseroute erfolgen sollte (Abb. 14).^[111]

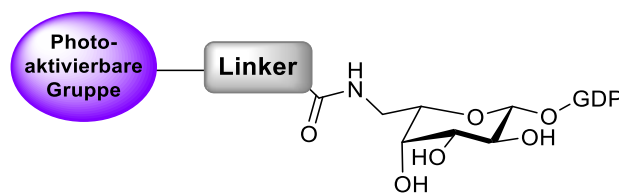


Abb. 14: Zu synthetisierende photoaktivierbare Guanosindiphosphat- β -L-Fucose-Analoga.

Dabei sollte bei den Zielverbindungen bewusst die natürliche Struktur des Donor-Substrates (die GDP- β -L-Fucose-Einheit) gewahrt werden und die Modifikation an der C-6-Position des Zuckers erfolgen, da bereits aus vorherigen Arbeiten bekannt ist, dass die humane Fucosyltransferase IX strukturelle Änderungen an dieser Position toleriert und die entsprechenden Analoga als Substrate akzeptieren kann. Im Hinblick auf eine unspezifische kovalente Bindung der photoaktivierbaren Gruppe zum Enzym außerhalb des aktiven Zentrums in der Peripherie des Proteins sollten unterschiedliche Linker-Längen getestet werden.

Der erhoffte Wirkmechanismus solcher Verbindungen ist die Ausbildung einer kovalenten Bindung außerhalb des aktiven Zentrums, verbunden mit einer Erhöhung der durchschnittlichen Verweildauer der natürlichen Einheit des Substrates in der Bindetasche des Enzyms. Die dargestellten Verbindungen sollten auf ihre Photolabilität untersucht werden und ein geeignetes analytisches Konzept zur Anwendung am Enzym erarbeitet werden. Solche kovalent gebundenen natürlichen Substrate könnten ein möglicher neuer Ansatz für eine Co-Kristallisation von Fucosyltransferasen zur Strukturaufklärung sein.

Zusätzlich sollten die dargestellten Verbindungen in Inhibitionsassays von *S. Albers* aus der Arbeitsgruppe von *Prof. Z. Ignatova* nach einem von *K. Seelhorst* aus der Arbeitsgruppe von *Prof. U. Hahn* entwickelten Durchführungsprotokoll auf ihre Eigenschaften als kompetitive Inhibitoren untersucht werden.^[112]

Da auch der Einsatz von potenten kompetitiven Inhibitoren förderlich bei der Untersuchung der entsprechenden Fucosyltransferasen und der Bedeutung der von ihnen synthetisierten fucosylierten Glycane sein kann, war ein weiteres Ziel dieser Arbeit die Synthese eines C-1-Phosphonat-Analogons von Guanosindiphosphat- β -L-Fucose **24** (Abb. 15). Dieses sollte im Vergleich zum natürlichen Substrat keine O-glycosidische Bindung zur Verbindung der Pyrophosphat-Brücke mit dem anomeren Zentrum tragen. Stattdessen sollte sich an dieser Stelle des Moleküls ein C-Phosphonat mit einer Methylene-Gruppe als Verbindungseinheit befinden. Diese Modifikation sollte die Stabilität des Analogons **24** gegenüber einer enzymatisch- oder säurekatalysierten Hydrolyse im Vergleich zum natürlichen Substrat erhöhen. Auch die hier darzustellende Verbindung sollte im Anschluss in einem Inhibitionsassay als potentieller Inhibitor der hFucT IX getestet werden.

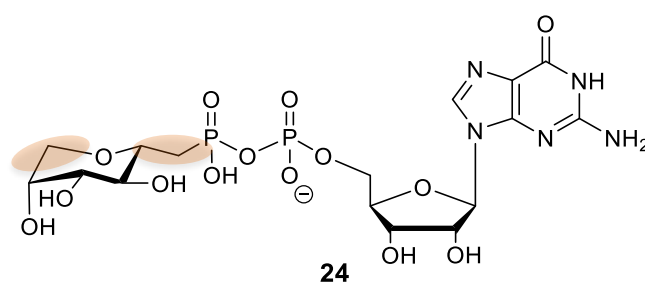


Abb. 15: Zu synthetisierendes C-1-Phosphonat-Analogon **24** von GDP- β -L-Fucose.

Die in Abb. 15 markierte zweite Modifikation im Vergleich zum natürlichen Substrat ist das Fehlen einer Methylgruppe an der C-5-Position der ursprünglichen Zucker-Einheit. Eine entsprechende Verbindung, die diese Methylgruppe enthält, ist bereits bekannt.^[107] Somit sollte hier nicht nur eine neuartige Verbindung als potentieller kompetitiver Inhibitor entstehen. Vielmehr könnten beide Verbindungen zu einem Vergleich ihrer Affinität herangezogen

werden, um zu bestätigen, dass diese Methylgruppe relativ wenig Bindungsenergie in der Bindetasche des Enzyms liefert.

4 Resultate und Diskussion

4.1 Darstellung potentieller irreversibler hFucT IX Inhibitoren

Fucosyltransferasen katalysieren die Übertragung einer L-Fucose-Einheit auf geeignete Akzeptormoleküle unter Bildung fucosylierter Oligosaccharide. Solche Glycane sind an zahlreichen biologischen und pathologischen Prozessen beteiligt. Dies macht Untersuchung von Struktur und Eigenschaften der sie bildenden Fucosyltransferasen zu einem bedeutenden Forschungsgebiet.^[48,109]

Bis heute sind nur sehr wenige Kristallstrukturen von Fucosyltransferasen gelöst worden.^[18] Die *Helicobacter pylori* Fucosyltransferase stellt dabei die einzige α 1,3-FucT dar, deren Struktur bekannt ist.^[63] Es konnten bereits verschiedene modifizierte Akzeptor- und Donorsubstrate, z.B. mit einer Fluoreszenzmarkierung, erfolgreich zur Untersuchung von verschiedenen Fucosyltransferasen genutzt werden.^[6,113] Durch die Verwendung von photoaktivierbaren Substraten, die im Stande sind, unspezifische kovalente Bindungen zum Enzym auszubilden, könnten sich neue Möglichkeiten hinsichtlich einer Co-Kristallisation des Enzyms ergeben.

4.1.1 Strukturvorhersage der hFucT IX mittels Homologiemodellierung

Eine Strukturaufklärung der hFucT IX mittels Kristallstrukturanalyse blieb bis heute erfolglos. Dieses Enzym verfügt über drei vermeintliche N-Glycosylierungsstellen, welche in unterschiedlichem Umfang einen Einfluss auf die Enzymaktivität haben. Vermutlich ist diese stark ausgeprägte Proteinglycosylierung ein wichtiger Grund für eine bisher nicht gelungene Kristallisation der hFucTX.

Um dennoch eine Idee von der Struktur des aktiven Zentrums der hFucT IX zu erhalten, wurde von *C. Fohrmann* aus unserem Arbeitskreis in Zusammenarbeit mit *Prof. Dr. Johannes Kirchmair* aus dem Zentrum für Bioinformatik der Universität Hamburg eine Vorhersage dieser Struktur mittels einer Homologiemodellierung durchgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse sollten unterstützend bei der Planung der Linkerlänge der zu synthetisierenden GDP- β -L-Fucose-Analoga dienen.

Als Referenzenzym diente hier die *Helicobacter pylori* Fucosyltransferase (*hpFucT*), welche die einzige α 1,3-FucT ist, deren Struktur bekannt ist.^[63] Zwischen den Primärstrukturen beider Enzyme besteht lediglich eine Homologie von 14%, was für eine aussagekräftige Homologiemodellierung nicht ausreichend wäre.^[114] Da jedoch beide Enzyme die Bildung einer α -1,3-Bindung zur L-Fucose-Einheit katalysieren und von einem ähnlichen Reaktionsmechanismus ausgegangen wird, wurde dennoch eine Homologiemodellierung

durchgeführt. Diese erfolgte mit dem PRIME *Structure Preparation Wizard* in MAESTRO anhand der Kristallstruktur 2NZY. Das Sequenzalignment erfolgte dabei mittels der Clustal W Alignment Methode und die Modellbildung *knowledge-based*.

In Abb. 16 ist die Struktur der *hpFucT* zusammen mit dem Donor-Substrat **25** an der entsprechenden Ligandenbindestelle als Bändermodell gezeigt. Die Bereiche der Aminosäuresequenz sind dabei farblich in drei Bereiche unterteilt. Während die roten Markierungen die Seitenketten zeigen, die identisch mit den Seitenketten aus der Sequenz der *hFucT IX* sind, präsentieren die gelben Bereiche sich unterscheidende Aminosäuren, die jedoch strukturell ähnlich sind, sodass eine identische Sekundärstruktur möglich ist. Bei den weißen Bereichen handelt es sich um Aminosäuren, die sich strukturell stark unterscheiden und vermutlich keine identische Sekundärstruktur ergeben. Die großen Unterschiede in den Resten machen deutlich, dass die Gesamtstruktur der *hFucT IX* nicht mittels Homologiemodellierung vorhergesagt werden kann. Die roten Bereiche zeigen jedoch, dass die Bindungsstelle des Substrats konserviert zu sein scheint, was für diesen Bereich eine Strukturvorhersage zulässt.



Abb. 16: Struktur der *hpFucT* mit dem Donor-Substrat **25** als Bändermodell. Die Einfärbung der Seitenketten erfolgte gemäß ihrer Übereinstimmung mit den Seitenketten der *hFucT IX*.

Abb. 17 zeigt eine detaillierte Darstellung der Bindestelle des Liganden im aktiven Zentrum des Homologiemodells der hFucT IX. Mit gestrichelten Linien sind dabei die Salzbrücken (lila) und die Wasserstoff-Brücken (gelb) zwischen dem Liganden und den Aminosäureresten eingezeichnet. Zu erkennen sind einerseits die Salzbrücken der geladenen Pyrophosphat-Einheit zu den Aminosäureresten Lys218 und Arg164. Andererseits gehen von der Pyrophosphat-Brücke und der Nucleosideinheit zahlreiche Wasserstoff-Brücken aus. Von der Zuckereinheit konnten hingegen keine solche Bindungen in diesem Modell erfasst werden. Dies ist nicht verwunderlich, da bereits gezeigt werden konnte, dass der Hauptanteil der Bindungsenergie während der enzymatischen Reaktion von Fucosyltransferasen auf die Wechselwirkung des Enzyms mit der GDP-Einheit des Substrates zurückzuführen ist.^[100] Die Methyl-Gruppe der Fucose ragt in einen Bereich hinein, in dem sich in unmittelbarer Nähe keine Seitenketten des aktiven Zentrums befinden. Dies würde im Einklang mit der Beobachtung stehen, dass die hFucT IX Substrat-Analoga mit Modifikationen an dieser Position als Substrate akzeptiert.^[6,74]

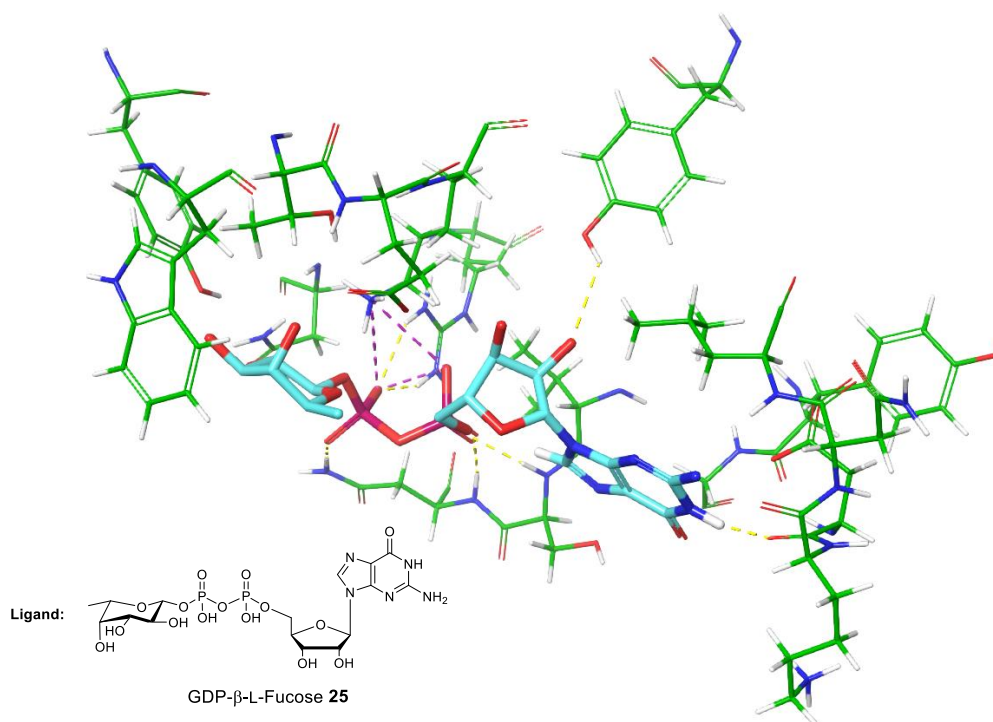


Abb. 17: Darstellung der Wasserstoffbrücken zwischen dem Liganden GDP-β-L-Fucose **25** und einigen Aminosäuren des aktiven Zentrums des Homologiemodells der hFucT IX.

Es wurde zusätzlich eine Evaluation unterschiedlich langer Linker für die in dieser Arbeit zu synthetisierenden Analoga des natürlichen Donor-Substrates **25** durch das Docken dieser Verbindungen an die entsprechende Ligandenbindungstelle durchgeführt (hier nicht gezeigt).

Untersucht wurden dabei ausschließlich Alkylketten zur Verbindung der photoaktivierbaren Gruppe mit der GDP-Fucose-Einheit. Eine Alkylkette mit einer Länge von 11 Methylen-Einheiten schien demnach lang genug zu sein, um gerade aus dem aktiven Zentrum herausragen zu können und eine unspezifische kovalente Bindung der photolabilen Gruppe in der Peripherie des Enzyms zu ermöglichen. Bei den nachfolgenden Synthesearbeiten sollte diese Linker-Länge von 11 Methylen-Einheiten die längste darstellen, die synthetisch verwendet wurde. Zum Vergleich sollten zusätzlich einige kürzere Linker erprobt werden. Durch die hohe Sequenzidentität im Bereich des aktiven Zentrums ist die hier beschriebene Struktur der Bindetasche der hFucT IX als vertrauenswürdig einzuschätzen und liefert somit einen ersten Eindruck der Interaktion mit dem Substrat.

4.1.2 Synthese photoaktivierbarer GDP- β -L-Fucose-Derivate

Für die Synthese der Arylazid-modifizierten GDP-Fucose-Derivate **26-30** sollte auf die in dieser Arbeitsgruppe entwickelte und etablierte *cycloSal*-Methode zurückgegriffen werden. Diese Methode zeichnet sich nicht nur durch gute bis sehr gute Ausbeuten und die Anomerenreinheit der Produkte aus, sondern ebenso durch eine vielseitige Anwendbarkeit.^[12-14] Durch diese Methode konnten bereits von *N. Lunau* und *K. Pahnke* verschiedene an der C-6-Position der L-Fucose-Einheit modifizierte NDP-Fucose-Derivate dargestellt werden.^[6,74,111,115]

In Abb. 18 ist die von *N. Lunau* entwickelte Synthesestrategie zur Darstellung der ATTO 550-markierten Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose **31** gezeigt. Der zentrale Punkt dieser Route ist die hier entwickelte 7-stufige Synthese zur Darstellung des Azid-modifizierten Zuckerphosphats **32**, welches ein wichtiger Synthesebaustein der Gesamtroute ist und in einer Gesamtausbeute von 9% dargestellt wurde.^[6,111] Ausgehend von L-Galactono-1,4-lacton **33** erfolgte hier die reduktive Darstellung von L-Galactose **34** und einer direkt nachfolgenden Einführung von *Isopropyliden*-Acetalen zur Darstellung der wichtigen Zwischenstufe **35**. Nach der Einführung einer Tosylgruppe an der C-6-Hydroxylgruppe wurde das Tosylat **36** über eine Substitution in das entsprechende Azid **37** überführt. Im Anschluss erfolgte mit der Darstellung der Verbindung **38** ein Austausch der Schutzgruppen von *Isopropyliden*-Acetalen zu Acetylgruppen. Diese Verbindung diente als Edukt für die darauffolgende stereoselektive Bromierung an der anomeren Position. Abschließend erfolgte die Synthese des gewünschten β -Galactopyranosylphosphats **32**. Im Vergleich zu zuvor publizierten Syntheserouten für diese Verbindung konnte von *N. Lunau* eine deutliche Reduktion der Syntheseschritte erreicht werden.^[73] Im Kupplungsschritt mittels der *cycloSal*-Methode durch Umsetzung mit dem *cycloSal*-Triester **40** zum Azid-substituierten GDP-

Fucose-Derivat **41** konnte eine Ausbeute von 41% über zwei Schritte erzielt werden. Von *Maeda et al.* konnte die gleiche Verbindung **41** durch Umsetzung des entsprechenden GMP-Morpholidats nur in einer Ausbeute von 11% dargestellt werden.^[73] Im Anschluss wurde die Azid-Verbindung **41** unter hydrogenolytischen Bedingungen zum Amin **42** reduziert.

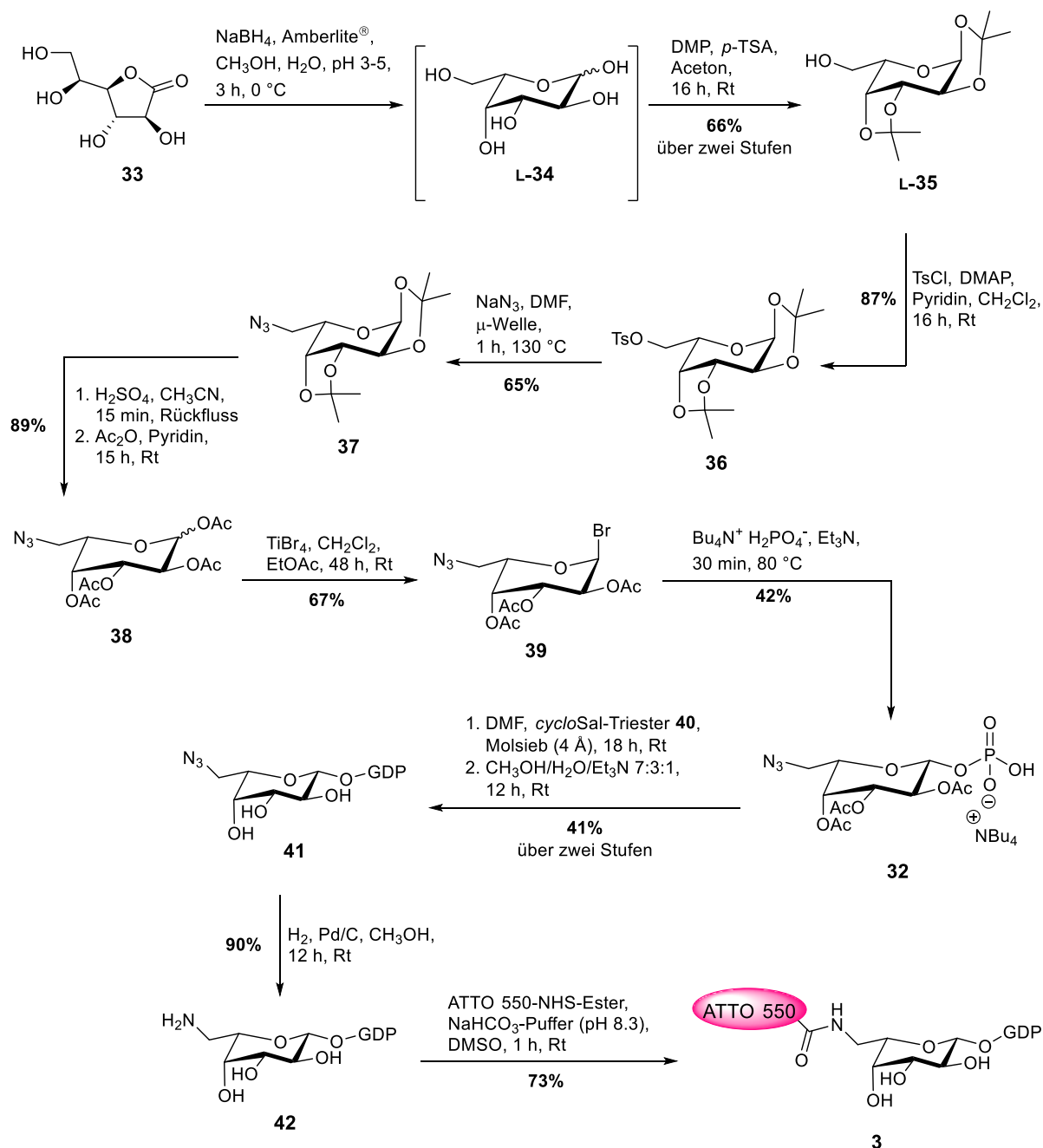


Abb. 18: Syntheseroute von *N. Lunau* zur Darstellung ATTO 550-markierter Guanosindiphosphat-6-amino-6-deoxy- β -L-Galactose **3**.^[6,111]

Sowohl die dargestellte Azid-substituierte Verbindung **39** als auch das Amin-substituierte Derivat **42** bieten sehr gute Möglichkeiten zur Einführung von Modifikationen an der C-6-Position der Zuckereinheit. Bei *N. Lunau* erfolgte hierbei die Kupplung des Amins **42** mit dem Fluoreszenzfarbstoff ATTO 550 in seiner NHS-Ester-Form in einer Ausbeute von 73%. Auch *K. Pahnke* hat aus diesen Gründen auf die von *N. Lunau* entwickelte Route zur Synthese verschiedener fluoreszenzmarkierter NDP-Fucose-Derivate zurückgegriffen.^[115] Da auch bei *K. Pahnke* eine Modifikation an der C-6-Position der Zucker-Einheit erfolgen sollte, eignete sich die Syntheseroute von *N. Lunau* auch hier zur Einführung der gewünschten photolabilen Gruppe an dieser Stelle des Moleküls und sollte als Ausgangspunkt für die Synthese der Arylazid-modifizierten GDP-Fucose-Derivate **26-30** dienen.

Als photolabile Gruppe sollte in den Zielverbindungen eine Arylazid-Gruppe dienen und im Laufe der Synthesen mit unterschiedlichen Linker-Längen an der Methylgruppe der Fucose eingeführt werden. In der Vergangenheit haben sich mehrere photoaktivierbare funktionelle Gruppen etabliert, die für eine biochemische Anwendung geeignet sind.^[79] Um eine kovalente Bindung zwischen einem kleinen Molekül und einem Protein realisieren zu können, müssen bestimmte Bedingungen erfüllt sein. So darf z.B. die eingesetzte photolabile Gruppe nicht zu groß und sterisch anspruchsvoll sein, da es sonst zur Beeinflussung der untersuchten Ligand-Protein-Wechselwirkung kommen kann, wodurch die entsprechenden Ergebnisse nur bedingt aussagekräftig wären. Zudem sollten diese Gruppen gegenüber den verschiedenen in Proteinen vorkommenden funktionellen Gruppen inert sein. Des Weiteren darf bei den Bestrahlungsversuchen die Aktivierungswellenlänge des verwendeten UV-Lichts nicht zu kurzweilig sein, da es sonst zur Schädigung des Proteins oder zum Auftreten von Innerfiltereffekten kommen kann. Eine Aktivierungswellenlänge von > 300 nm gilt deswegen als wünschenswert.^[79] Die Arylazide als photolabile Einheit erfüllen diese Bedingungen ausreichend und sind zudem synthetisch relativ einfach darzustellen. Innerhalb des relativ breiten Wellenlängenbereiches für ihre Aktivierung (254 - 400 nm) treten die längerwelligen Aktivierungswellenlängen zwar nur bei zusätzlich substituierten Arylaziden auf. Jedoch besitzen Arylazide den Vorteil, dass nach einer UV-Aktivierung und Bildung des entsprechenden Nitrens als aktive Spezies neben einer C-H-Insertion auch eine Insertion in X-H-Bindungen möglich ist. Dies kann bei einer Verwendung in biochemischen Systemen zu einer besseren Ausbeute an kovalenter Vernetzung führen.^[79]

In Abb. 19 ist das Retrosyntheschema zur Darstellung der Arylazid-modifizierten GDP-Fucose-Derivate **26-30** gezeigt. Die Zielverbindungen sollten durch Umsetzung des Amin-modifizierten GDP-Fucose-Derivats **42** mit verschiedenen Linker-Molekülen in Form ihrer Aktiv-Ester (NHS- oder Pentafluorphenylester) unter Ausbildung einer Amidbindung erfolgen.

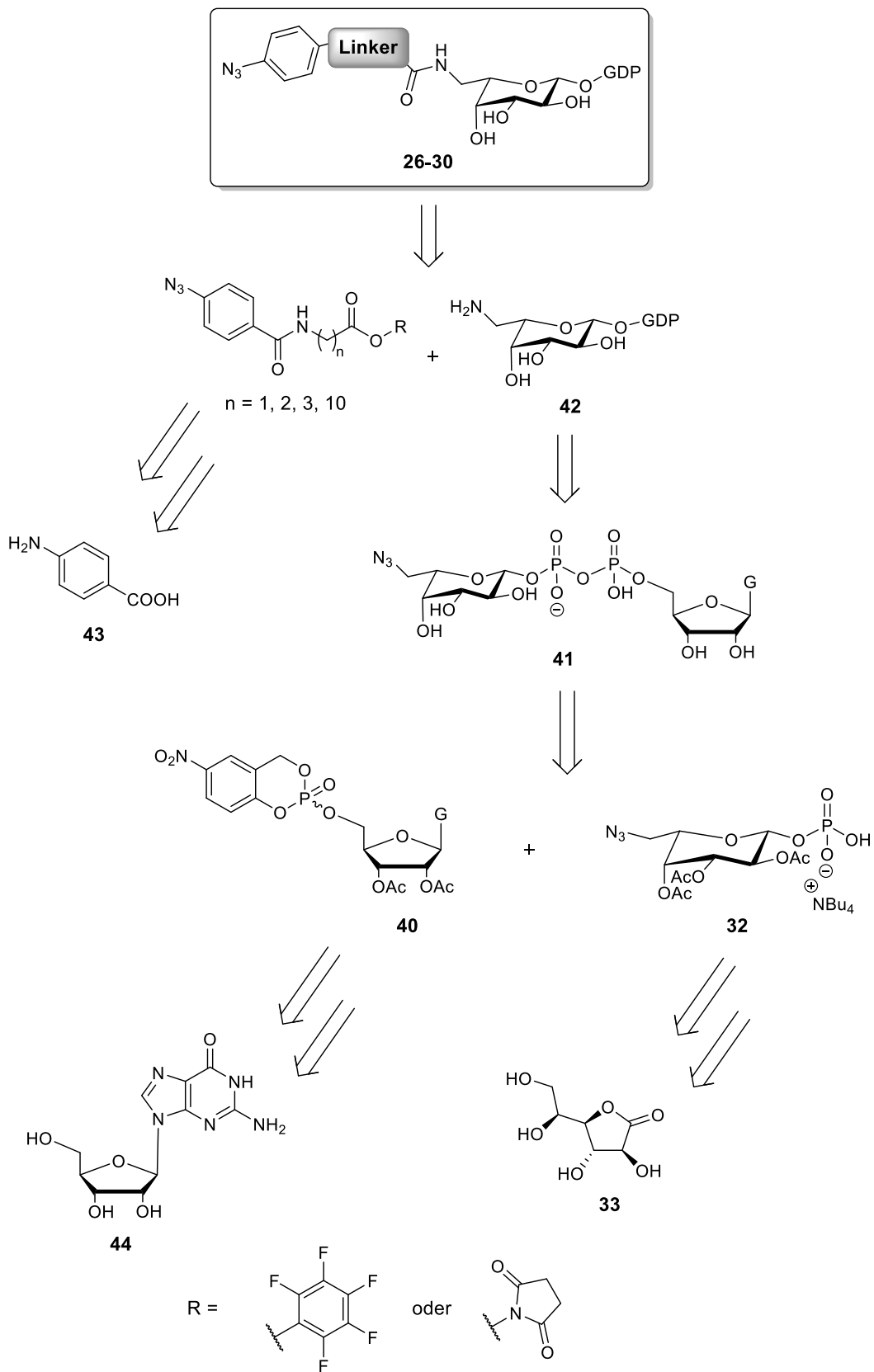


Abb. 19: Retrosyntheseschema zur Darstellung der Arylazid-modifizierten GDP-Fucose-Derivate **26-30**.

Die entsprechenden Aktivester der Linker sollten über mehrere analoge Kupplungsreaktionen mit unterschiedlich langen Aminosäuren gebildet werden, wobei von 4-Aminobenzoesäure **43** mit einem Austausch der Aminogruppe gegen eine Azidgruppe ausgegangen werden sollte. Für die Kupplungsreaktionen zur Darstellung der Linker sollten unterschiedlich lange Aminosäuren ausgewählt werden, wobei vor allem die längste Kette anhand der Ergebnisse des durchgeführten Homologiemodellings ausgewählt wurde.

Das Amin-Derivat **42** sollte mittels Hydrogenolyse des Azid-substituierten GDP-Zuckers **41** erhalten werden, welcher wiederum mithilfe der *cycloSal*-Methode über eine Kupplungsreaktion des Azid-modifizierten β -Galactopyranosylphosphats **32** und des entsprechenden *cycloSal*-Triesters **40** darzustellen sein sollte. Als Grundlage für die Synthese des β -Galactopyranosylphosphats **32**, welches in einer mehrstufigen Syntheseroute aus L-Galactono-1,4-lacton **33** dargestellt werden sollte, diente die von *N. Lunau* entwickelte Syntheseroute (Abb. 18).^[6,111] Die Synthese des Guanosin-*cycloSal*-Triesters **40** sollte nach der in unserem Arbeitskreis entwickelten und etablierten *cycloSal*-Methode ausgehend von Guanosin **44** erfolgen. Zusätzlich sollte die Synthese eines neuartigen Cbz-geschützten *cycloSal*-Triesters **45** erprobt werden.

4.1.2.1 Synthese der erforderlichen Kupplungsbausteine: Die *cycloSal*-Triester **40 und **45**, das 6-Azid-modifizierte L-Galactosephosphat **32** sowie aktivierte Linker-Moleküle**

Da die Umsetzungen zu den *cycloSal*-Triestern **40** und **45** regioselektiv an der 5'-Position erfolgen sollte, musste das Nucleosid in beiden Fällen zuvor selektiv geschützt werden. Ein Cbz-geschützter Triester wurden bisher noch nicht synthetisiert, sodass hierfür zunächst geeignete Schutzgruppen zur selektiven Blockierung erprobt werden mussten. Für die Darstellung von acetylgeschützten Triestern erfolgt dies für die meisten Nucleoside nach einer Standard-Prozedur, bei der zunächst die 5'-Position TBDMS-geschützt und die verbleibenden reaktiven funktionellen Gruppen acetyliert werden. Eine selektive Entschützung des Silylethers liefert dann das 5'-OH-freie Nucleosid für die Synthese des Triesters.^[12,13,116–118] *T. Zismann* konnte jedoch zeigen, dass diese Strategie nicht auf Guanosin anwendbar ist. Bei der Spaltung der Silylgruppe, sowohl mittels Triethylamintrihydrofluorid (gepuffert mit Triethylamin) als auch mit Tetrabutylammoniumfluorid (gepuffert mit Essigsäure), kam es ebenfalls zu einer Abspaltung der Acetylenschutzgruppen.^[119] Aus diesem Grund erfolgte in dieser Arbeit zunächst eine vollständige Acetylierung von Guanosin **44** mit Essigsäureanhydrid unter basischen Bedingungen nach *Panero et al.* (Abb. 20).^[120] Aufgrund mehrfacher säulen-chromatographischer Reinigungen konnte das peracetylierte Produkt **46** nur mit einer

Ausbeute von 39% erhalten werden. *K. Pahnke* konnte beobachten, dass sich das Produkt nach der wässrigen Aufarbeitung ebenfalls in der wässrigen Phase befindet und aus dieser nicht wieder extrahiert werden kann.^[115] Dies ist auch hier der Hauptgrund für die mäßige Ausbeute. Da sich die Abtrennung von unterschiedlichen nicht vollständig acetylierten Nebenprodukten als sehr schwierig herausstellte, wurden hier zusätzlich mehrere Mischfraktionen isoliert.

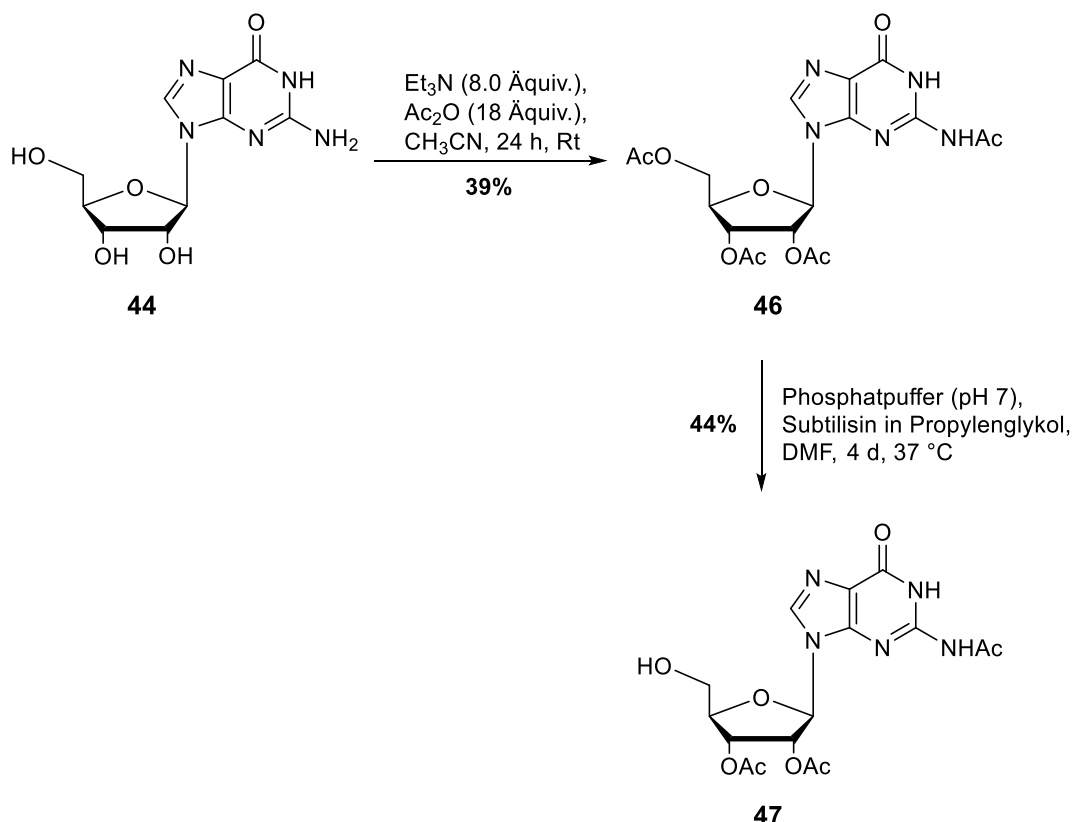


Abb. 20: Synthese von *N*²-Acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosin **47**.

Die Darstellung von *N*²-Acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosin **47** erfolgte nach einem von *H. K. Singh et al.* entwickelten Syntheseprotokoll.^[121] In mehreren kleinen Ans\u00e4tzen wurde das peracetylierte Guanosin **46** in Phosphat-Puffer (pH = 7.0) mit der im Propylenglykol gel\u00f6sten Protease Subtilisin versetzt und 4 Tage bei 37 °C ger\u00fchrt. Eine vollst\u00e4ndige Umsetzung des Eduktes konnte nicht erreicht werden und es bildeten sich neben dem gew\u00fcnschten Produkt **47** mehrere unselektiv deacetylierte Nebenprodukte. Nach einer aufw\u00e4ndigen Abtrennung des Enzyms und des Propylenglykols wurde das Produkt **47** nach einer langwierigen, mehrfachen s\u00e4ulenchromatographischen Reinigung mit einer Ausbeute von 44% erhalten. Diese Aspekte und die Tatsache, dass diese enzymatisch-katalysierte Umsetzung auf Ansatzgr\u00f6\u00dfen von maximal 400 mg beschr\u00e4nkt ist, wurden bereits von *N. Lunau* als entscheidene Nachteile dieser Methode beschrieben.^[111]

Als eine alternative Schutzgruppenstrategie sollte die 5'-Position des Guanosins **44** mit einer Dimethoxytrityl-Schutzgruppe versehen werden, während die restlichen Hydroxylgruppen acetyliert und die Aminogruppe Dimethylformamidin-geschützt vorliegen sollte. Eine drauffolgende schnelle selektive Spaltung des Ethers unter sauren Bedingungen würde dabei einen geeigneten Baustein für die Synthese eines *cycloSal*-Triestern liefern.^[122–124]

Es wurde zunächst Guanosin **44** mit Dimethylformamid-Dimethylacetal bei Raumtemperatur in Methanol nach einer Vorschrift von *Gaffney et al.* umgesetzt.^[125] *N*²-Dimethylformamidinguanosin **48** konnte nach Filtration und mehreren Waschschritten ohne chromatographische Reinigung in einer guten Ausbeute von 76% isoliert werden. In einem zweiten Schritt wurde versucht in direkter Abfolge die 5'-Position mit Dimethoxytritylchlorid (DMTrCl) umzusetzen und die 2'- und 3'-Positionen zu acetylieren.^[126] Während dünnschichtchromatographisch eine vollständige Umsetzung mit DMTrCl beobachtet werden konnte, kam es beim Acetylierungsschritt nicht zur Bildung des gewünschten Produktes. Eine mögliche Alternative wäre die chromatographische Reinigung des intermediär entstehenden *N*²-Dimethylformamidin-5'-*O*-(4,4'-dimethoxytrityl)guanosins mit einer Acetylierung im Folgeschritt. Des Weiteren könnte zur Blockierung der 5'-Position eine weniger reaktive Schutzgruppe wie z.B. die Monomethoxytrityl-Gruppe verwendet werden, was eine Isolierung der Zwischenstufe erleichtern könnte.^[124,127]

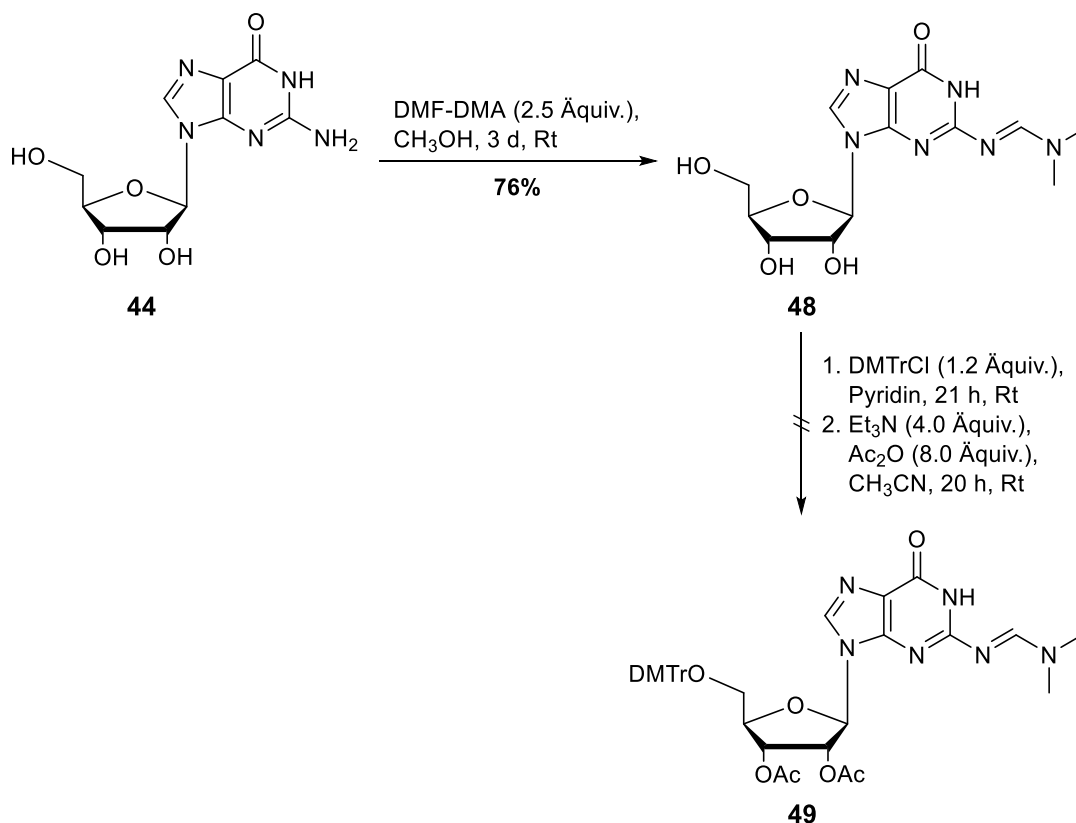


Abb. 21: Versuch der Synthese von 2',3'-Di-O-Acetyl-*N*²-Dimethylformamidin-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)guanosin **49**.

Zusätzlich wurde eine bereits von *T. Zismann* erprobte Alternative zur Darstellung von **47** nach dem Syntheseprotokoll von *Ren et al.* erneut aufgegriffen.^[128] Hierbei soll im Fall des peracetylierten Guanosins **46** die selektive 5'-Deacetylierung mit einer 1%igen Lösung von Iod in Methanol bei 67 °C in einem geschlossenen System erfolgen. *T. Zismann* konnte bereits feststellen, dass sich das Syntheseprotokoll von *Ren et al.* nicht reproduzieren ließ. Die Erprobung unterschiedlicher Reaktionsbedingungen in einer mikrowellenunterstützten Durchführung führte zu einer Isolierung von **47** nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von lediglich 4% bei einer scheinbar quantitativen Umsetzung des Eduktes zu **47** nach 20 min bei 120 °C.^[119]

Als weitere Alternative wurde diese Reaktion analog zu *Ren et al.* in einem offenen System bei 67 °C durchgeführt, um den Einfluss des Umgebungsdruckes zu untersuchen. Dünnschichtchromatographisch konnte bei einer Reaktionszeit von 24 h ein Umsatz von etwa 50% beobachtet werden und nach säulenchromatographischer Reinigung wurde **47** in einer geringen Ausbeute von 16% isoliert (Abb. 22). Trotz der etwas höheren erzielten Ausbeute bleibt die Durchführung gemäß *Ren et al.* als nicht reproduzierbar einzustufen.

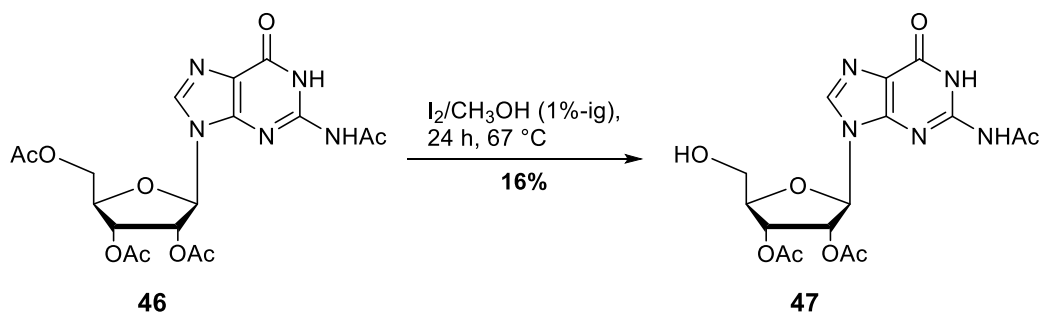


Abb. 22: Synthese von *N*²-Acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosin **47** (in Anlehnung an *Ren et al.*).^[128]

Schließlich wurde die selektive Deacetylierung von **46** an der 5'-Position in Anlehnung an eine von *S. K. Singh et al.* entwickelte chemoenzymatische Methode unter Verwendung des Enzyms Novozym[®] 435 erprobt. *S. K. Singh et al.* konnten beobachten, dass diese auf Polyacrylat immobilisierte *Candida antarctica* Lipase B verschiedene Isomerengemische aus *N*-9- und *N*-7-Guanin-Nucleosiden trennen konnte, indem eine regioselektive 5'-*O*-Deacetylierung bevorzugt am jeweiligen *N*-9-Isomer erfolgte (Abb. 23).^[129]

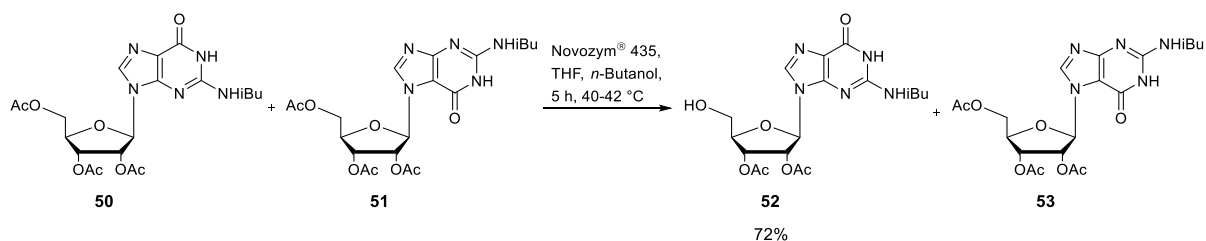


Abb. 23: Novozym[®] 435 katalysierte 5'-*O*-Deacetylierung zur Trennung von *N*-9- und *N*-7-Guanosin-Derivaten.^[129]

In einer typischen Reaktionsdurchführung wurden Lösungen von *N*-9/*N*-7-Nucleosidgemischen in THF mit dem festphasengebundenen Enzym und einer geringen Menge an *n*-Butanol (als Acetyl-Akzeptor) versetzt und für mehrere Stunden im Thermomixer inkubiert.

Dieses Enzym sollte für die regioselektive Deacetylierung von **46**, ebenfalls einem *N*-9-Guanosin-Derivat, eingesetzt werden. **46** unterscheidet sich strukturell geringfügig vom publizierten Substrat und sollte hier auch nicht im Gemisch mit einem *N*-7-Isomer eingesetzt werden. Dazu musste zunächst ein passendes Enzym-Substrat-Verhältnis gefunden werden (Tab. 1). Hierbei sollte in möglichst kurzer Zeit ein möglichst großer Umsatz des Eduktes erfolgen, ohne dass dabei nennenswerte Mengen an unterschiedlich deacetylierten Nebenprodukten entstehen. Für jede der aufgeführten Varianten wurde der Umsatz über 5 h bei 37 °C im Thermomixer dünnschichtchromatographisch verfolgt.

Tab. 1: Untersuchte Substrat-Enzym-Verhältnisse für die selektive Deacetylierung von **46**.

Variante	Substrat-Enzym-Verhältnis (w/w)
1	1 : 1
2	1 : 0.5
3	1 : 0.25
4	1 : 0.1

Bei allen vier Varianten konnte bereits nach 2 h die Entstehung von Nebenprodukten beobachtet werden. Diese sind vermutlich mehrfach deacetylierte Formen des eingesetzten Eduktes. Bei Variante 1 war bereits ein nach einer Stunde ein Umsatz von ca. 50% zu erkennen. Dieser ist jedoch nach weiteren 4 h Reaktionszeit nur noch geringfügig angestiegen. Bei den Varianten 2 bis 4 war selbst nach 5 h Reaktionszeit der Umsatz deutlich unter 50%. Ein Substrat-Enzym-Verhältnis von 1:1 (w/w) mit einer Reaktionszeit von 4-5 h scheint somit ein guter Richtwert für die Durchführung dieser Reaktion zu sein.

Das gewünschte deacetylierte Produkt **47** konnte auf diese Weise nach einer säulenchromatographischen Reinigung mit einer Ausbeute von 53% erhalten werden (Abb. 24).

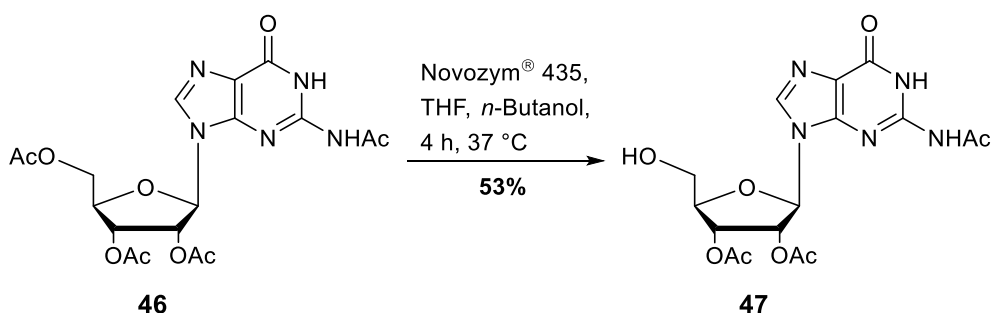


Abb. 24: Novozym® 435 katalysierte selektive 5'-O-Deacetylierung von **46**.

Ein möglicher Grund für das vorzeitige, aber geringfügige Auftreten von mehrfach deacetylierten Nebenprodukten könnte die Acetyl-Schutzgruppe an der Aminofunktion sein. Im Gegensatz zu den von *S. K. Singh et al.* publizierten *N*²-Isobutanoyl-Derivaten weist die *N*-Acetylgruppe eine geringere Stabilität auf könnte zudem durch ihre geringere Größe die Selektivität des Enzyms beeinflussen.

Der wichtigste Vorteil der Novozym® 435-katalysierten 5'-O-Deacetylierung von **46** ist die sehr einfache Aufarbeitung der Reaktionsansätze mittels Filtration des Enzyms und Entfernen der

Lösungsmittel. Im Gegensatz zur Subtilisin-katalysierten Variante sind hier keine schwer abtrennbaren Lösungsmittel vorhanden und es ist nur eine säulenchromatographische Reinigung nötig. Zudem sind wichtige Vorteile von Novozym® 435, dass es in verschiedenen organischen Lösungsmitteln, unter wasserfreien Bedingungen sowie für industriell relevante Ansatzgrößen eingesetzt werden kann. Nach Gebrauch kann das Enzym zudem 5-10 Mal ohne Aktivitätsverlust recycelt werden.^[130] Ein entscheidender Nachteil ist das relativ kleine Substrat-Enzym-Verhältnis, was zum Verbrauch großer Mengen des Enzyms führen kann.

Für diesen Reaktionsschritt ist der Einsatz von Novozym® 435 dem von Subtilisin daher vorzuziehen. Eine weitere Optimierung der Reaktionsbedingungen sowie der Ansatzgrößen ist jedoch notwendig, um den Umsatz und somit die Ausbeute zu maximieren. Vor allem ein größeres Substrat-Enzym-Verhältnis würde sich bei größeren Reaktionsansätzen aus ökonomischer Sicht auszahlen.

Für die Darstellung des neuartigen, Cbz-geschützten *cycloSal*-Triesters **45**, war es zunächst notwendig, selektiv geschütztes 2',3'-Di-O-benzyloxycarbonylguanosin **54** zu synthetisieren. Im ersten Schritt wurde Guanosin **44** unter basischen Bedingungen an der 5'-Position mit TBDMS-Cl in DMF nach einem Protokoll von *Beigelmann et al.* umgesetzt.^[131] Aufgrund der schlechten Löslichkeit des Nucleosids musste jedoch eine erheblich größere Menge an Lösungsmittel verwendet werden. Nach einer säulenchromatographischen Reinigung konnte das mit Eiswasser aus der Reaktionslösung gefällte Rohprodukt mit einer sehr guten Ausbeute von 96% erhalten werden. Das 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)guanosin **55** sollte im nachfolgenden Schritt an der 2'- und 3'-Position Cbz-geschützt werden. Unter Verwendung einer Standard-Prozedur, bei der das jeweilige Nucleosid unter basischen Bedingungen mit Benzyloxycarbonylchlorid in Dichlormethan umgesetzt wird, konnte nach einer Reaktionszeit von drei Tagen das gewünschte Produkt in einer moderaten Ausbeute von 40% erhalten werden (Abb. 26).^[132] Ein effizienteres Reagenz zur Übertragung der Cbz-Gruppe ist 1-Benzyloxycarbonyl-3-ethylimidazoliumtetrafluoroborat **56** (Rapoport's Reagenz, Abb. 25).^[133] Dieses wird üblicherweise eingesetzt, um z.B. die Amino-Gruppe von Adenosin zu schützen, was mit Standard-Methoden nur mit geringen Ausbeuten gelingt.^[134] Jedoch ist das Rapoport's Reagenz **56** relativ instabil, nicht kommerziell erhältlich und muss vor jedem Einsatz in einer zweistufigen Synthese frisch hergestellt werden.^[135] Eine praktische Alternative zur effizienten Übertragung der Cbz-Gruppe wurde von *Cho et al.* vorgeschlagen. Der Einsatz von *N*-Methylimidazol (NMI) als Base führte bei dieser Reaktion zu einer drastischen Ausbeuteverbesserung und es wurde postuliert, dass dies auf die intermediäre Bildung von 1-Benzyloxycarbonyl-3-methylimidazoliumchlorid **57** zurückzuführen ist, was strukturell dem Rapoport's Reagenz **56** ähnelt (Abb. 25).^[136]



Abb. 25: 1-Benzylloxycarbonyl-3-ethylimidazoliumtetrafluoroborat **56** (Rapoport's Reagenz) und 1-Benzylloxycarbonyl-3-methylimidazoliumchlorid **57**.

Mit der Methode von *Cho et al.* konnte 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2',3'-di-O-benzyloxycarbonylguanosin **54** in einer wesentlich höheren Ausbeute von 84% erhalten werden unter gleichzeitiger Herabsetzung der Reaktionszeit auf 16 h (Abb. 26). Gemäß der Literaturbeschreibung blieb auch bei dieser zweiten, effizienteren Variante der Cbz-Schützung die Acylierung der *exo-N²*-Gruppe aufgrund der zu geringen Nucleophilie dieser Position aus.^[136] Die darauffolgende Abspaltung der TBDMS-Gruppe wurde nach einem Syntheseprotokoll von *Khan et al.* durchgeführt.^[137] Die Verbindung **54** wurde hierbei in trockenem Methanol mit einer katalytischen Menge Acetylchlorid umgesetzt. Nach einer Reaktionszeit von 24 h konnte das Derivat **58** nach einer säulenchromatographischen Reinigung in einer Ausbeute von 79% erhalten werden.

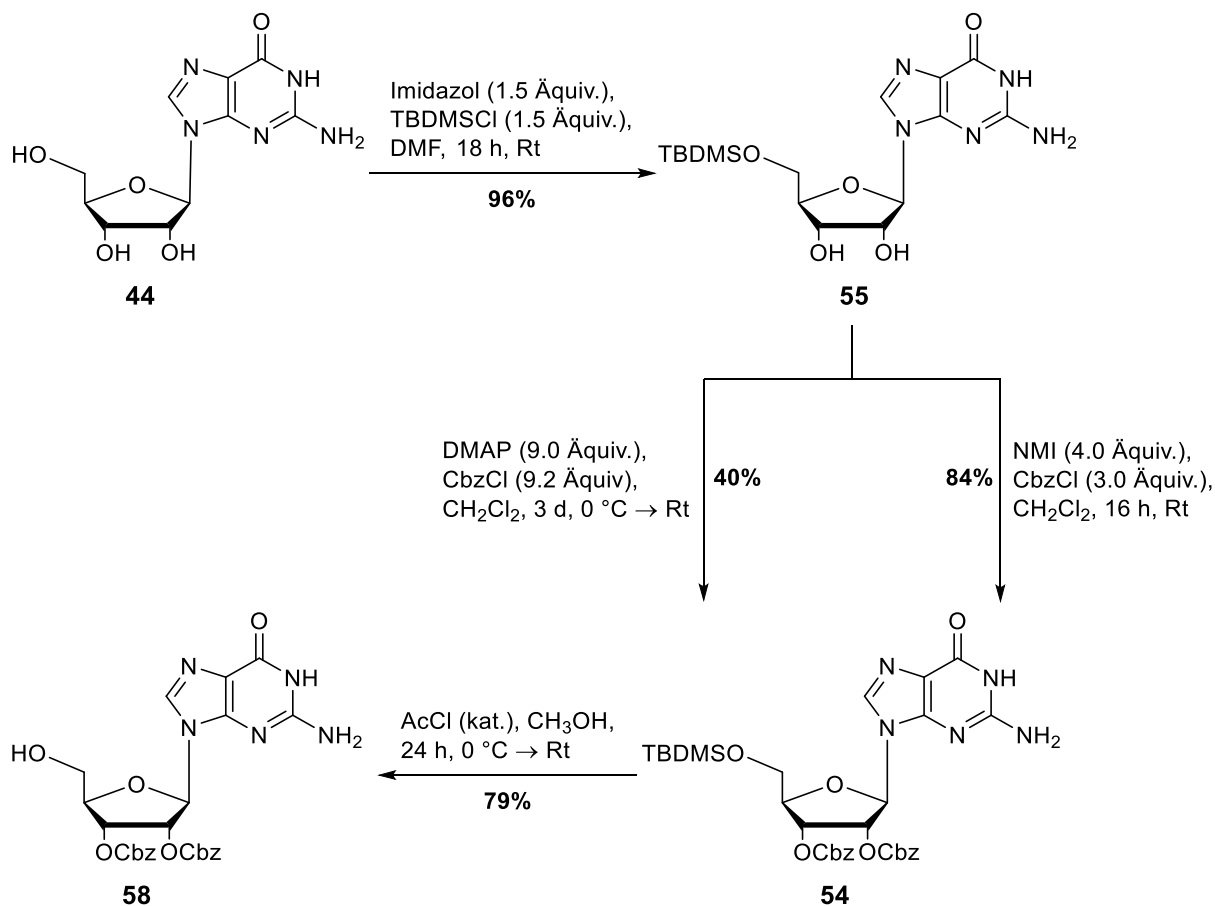


Abb. 26: Synthese von 2',3'-Di-O-benzyloxycarbonylguanosin **58**.

Die Synthese der benötigten *cycloSal*-Triester **40** und **45** erfolgte über die Umsetzung der beiden selektiv blockierten Guanosin-Derivate **47** und **58** mit 5-Nitro-*cycloSal*igenylchlorphosphit **59**.^[138,139] Das Chlorphosphit **59** wurde über ein in unserem Arbeitskreis etabliertes Syntheseprotokoll ausgehend von 5-Nitrosalicylaldehyd **60** dargestellt.^[138–140] Dieses wurde zunächst mit Natriumborhydrid in Ethanol reduziert. Der entstandene 5-Nitrosalicylalkohol **61** konnte nach Umkristallisation und Gefriertrocknung in einer Ausbeute von 57% erhalten werden. Die nachfolgende Umsetzung mit Phosphortrichlorid in Diethylether erfolgte unter Feuchtigkeitsausschluss und lieferte nach Aufarbeitung ein farbloses Öl, welches nach Lagerung bei -20 °C zu einem gelblichen Feststoff erstarrte, in einer Rohausbeute von 74% (Abb. 27). Durch die langsame Zugabe von Pyridin zur Reaktionslösung wurde der bei der Reaktion entstehende Chlorwasserstoff in Form von festem Pyridiniumchlorid abgefangen, welches mittels Schlenk-Filtration entfernt wurde. NMR-spektroskopisch konnte eine hohe Reinheit des Produktes mit nur einer geringfügigen Verunreinigung mit nicht abgetrenntem Pyridiniumchlorid festgestellt werden. Aus diesem Grund und angesichts der hohen Empfindlichkeit gegenüber Feuchtigkeit wurde auf eine

Reinigung verzichtet und das 5-Nitro-*cyclo*Saligenylchlorphosphit **59** für die darauffolgenden Synthesen als Rohprodukt eingesetzt.^[138,139]

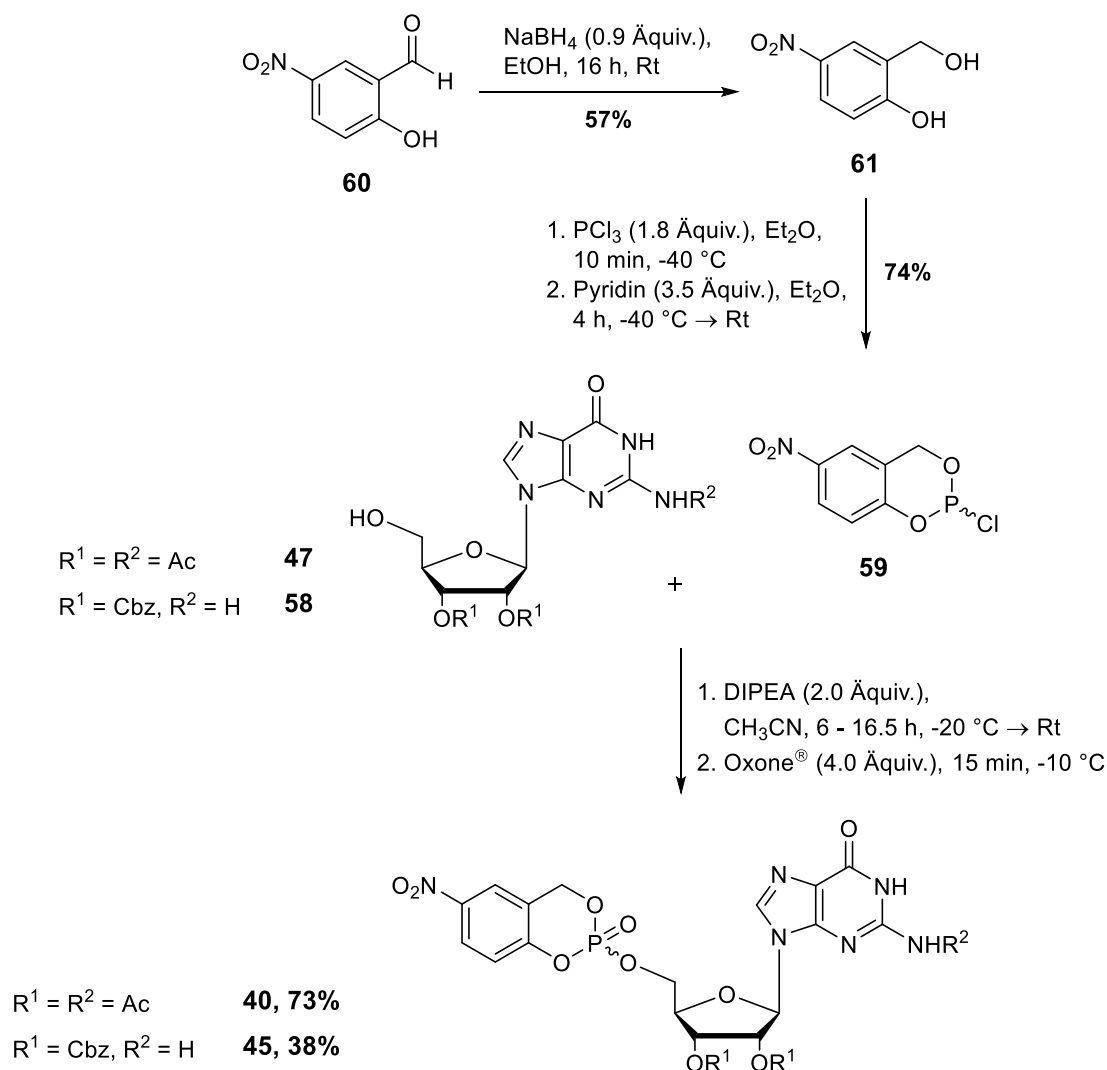


Abb. 27: Synthese der *cyclo*Sal-Triester **40** und **45** jeweils als Diastereomergemisch.

In jeweils einer zweistufigen Reaktionssequenz, die als *one-pot*-Reaktionen durchgef\u00fchrt wurden, erfolgte die Umsetzung der selektiv gesch\u00fctzten Nucleoside **47** und **58** mit dem Chlorphosphit **59**. Die dadurch zun\u00e4chst entstandenen Phosphitriester wurden im Anschluss durch die Zugabe von Oxone^{\u2122} *in situ* zu den Phosphatresten **40** und **45** oxidiert. Im Fall des acetylgesch\u00fctzten *cyclo*Sal-Triesters **40** wies das Rohprodukt, welches mit einer Rohausbeute von 73% als Diastereomergemisch erhalten wurde, bereits eine hohe Reinheit auf. Auf eine s\u00e4ulenchromatographische Reinigung wurde aufgrund der hohen Reaktivit\u00e4t des Produktes verzichtet. Die Synthese des Cbz-gesch\u00fctzten *cyclo*Sal-Triesters **45** verlief analog zu der von **40**. Zwei wichtige Unterschiede waren jedoch, dass zum L\u00f6sen des Cbz-gesch\u00fctzten Nucleosids **58** eine gr\u00f6\u00dfere Menge Acetonitril n\u00f6tig war und auch die Reaktionszeit bis zur

vollständigen Umsetzung des Eduktes war mit fast 17 h deutlich höher. Im ^{31}P -NMR-Spektrum des nach der Aufarbeitung erhaltenen Rohproduktes konnten neben den beiden erwarteten Singulets des Diastereomerengemisches von **45** zusätzlich vier weitere Signale zwischen 3.2 und -6.2 ppm detektiert werden. Diese nicht identifizierbaren Nebenprodukte konnten mit einer säulenchromatographischen Reinigung abgetrennt und das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 38% isoliert werden. Es konnte hier erstmalig ein *cycloSal*-Triester mit alternativen Schutzgruppen und zusätzlich nicht geschützter N^2 -Position synthetisiert werden. Die für *cycloSal*-Triester typischen Verschiebungen von -10.3 und -10.7 ppm für **40** sowie -9.7 und -10.0 ppm für **45** in den ^{31}P -NMR-Spektren konnten in beiden Fällen beobachtet werden. In Abb. 28 ist das ^{31}P -NMR-Spektrum des neuartigen Cbz-geschützten Triesters **45** gezeigt.

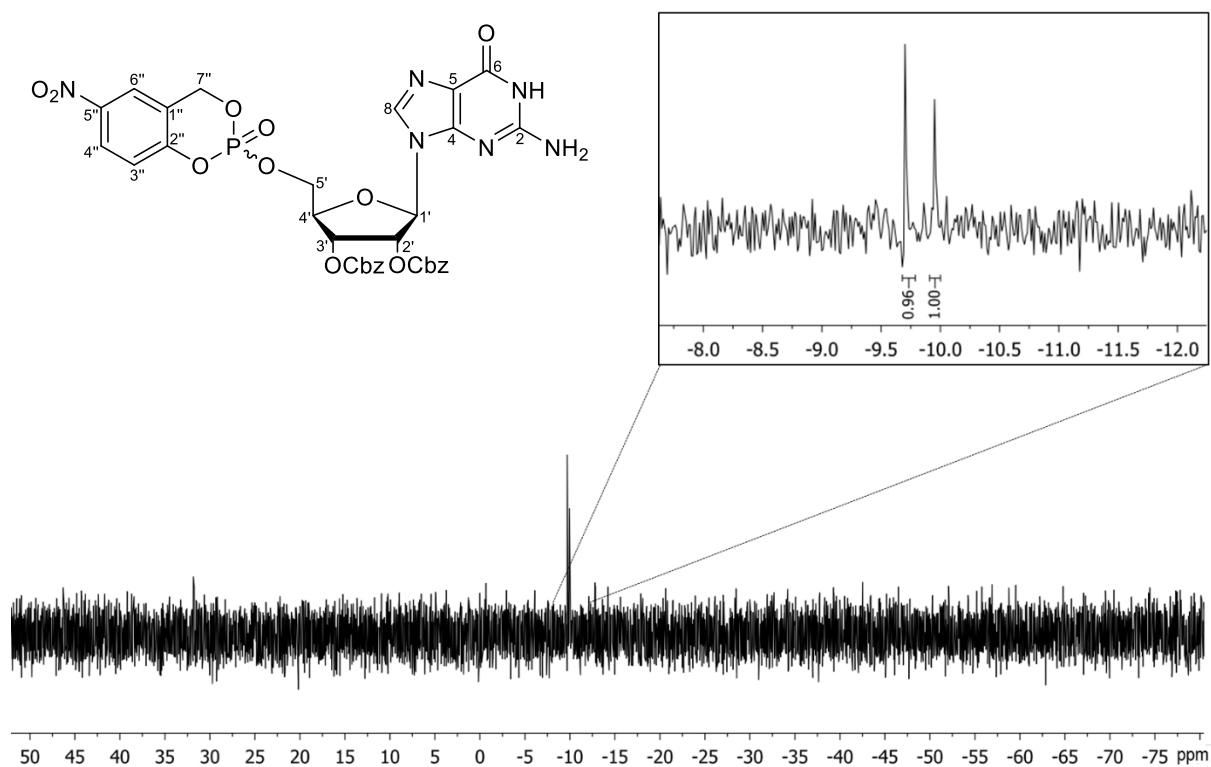


Abb. 28: ^{31}P -NMR-Spektrum des Cbz-geschützten Triesters **45** (DMSO- d_6 , 203 MHz, entkoppelt).

Es ist anzunehmen, dass die freie Aminogruppe an der Nucleobase die Löslichkeit von **58** im Vergleich zum acetylgeschützten Nucleosid **47** herabsetzt und trotz der relativ schwachen Nucleophilie für die Bildung diverser Nebenprodukte verantwortlich sein kann. Die erheblich längere Reaktionszeit bei der Bildung von **45** deutet auf eine geringere Reaktivität des Cbz-geschützten Nucleosids hin, was noch ein zusätzlicher Grund für die geringere Ausbeute sein kann. Ein wichtiger synthetischer Vorteil bei der Syntheseroute zum Cbz-geschützten

cycloSal-Triester ist jedoch, dass hier das erforderliche selektiv blockierte Guanosin **58** in guten bis sehr guten Ausbeuten ohne Reinigungsprobleme darzustellen ist.

Die Darstellung von 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-azid-6-desoxy- β -L-galactopyranosylphosphat **32** wurde in Anlehnung an die von *N. Lunau* entwickelte Syntheseroute durchgeführt.^[111] Ausgehend von L-Galactono-1,4-lacton **33** war dabei der erste Schritt die Synthese der wichtigen Vorstufe 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -L-galactopyranose **L-35** über zwei Stufen nach einem Syntheseprotokoll von *Bock et al.*^[141] Verbindung **33** wurde hierbei in einem Methanol/Wasser-Gemisch gelöst und durch die portionsweise Zugabe von Natriumborhydrid reduziert. Die Zugabe von Amberlite[®] diente dazu, den pH-Wert der Reaktionslösung zwischen 3 und 5 zu halten, um die Nebenproduktbildung durch eine weitere Reduktion zu minimieren. Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung mit 2,2-Dimethoxypropan (DMP) und einer katalytischen Menge *para*-Toluolsulfonsäure (*p*-TSA) zu Verbindung **L-35** umgesetzt. Wie von *K. Pahnke* beobachtet, kam es während der Reduktion des L-Galactono-1,4-lactons **33** auch hier zu der bereits literaturbekannten Bildung eines Nebenproduktes.^[115,142] Bedingt durch eine Überreduktion lag für die darauffolgende *Isopropyliden*-Schützung ein Gemisch aus L-Galactopyranose **L-34** und L-Galactitol vor. Dies resultierte in der Bildung mehrerer Produkte mit sehr ähnlichen Retentionseigenschaften. Nach mehrfachen säulenchromatographischen Reinigungen konnte 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -L-galactopyranose **L-35** nicht in reiner Form erhalten werden. Es wurde folglich eine Tosylierung des Rohproduktes von **L-35** mit *para*-Toluolsulfonylchlorid (*p*-TsCl) und 4-(Dimethylamino)pyridin (DMAP) in Pyridin durchgeführt. Auch hier hat sich die säulenchromatographische Reinigung als sehr aufwändig aufgrund mehrerer tosylierter Nebenprodukte mit ähnlichen *R_f*-Werten erwiesen. Nach mehreren Reinigungsschritten konnte schließlich **36** in einer geringen Ausbeute von 11% über drei Stufen erhalten werden.

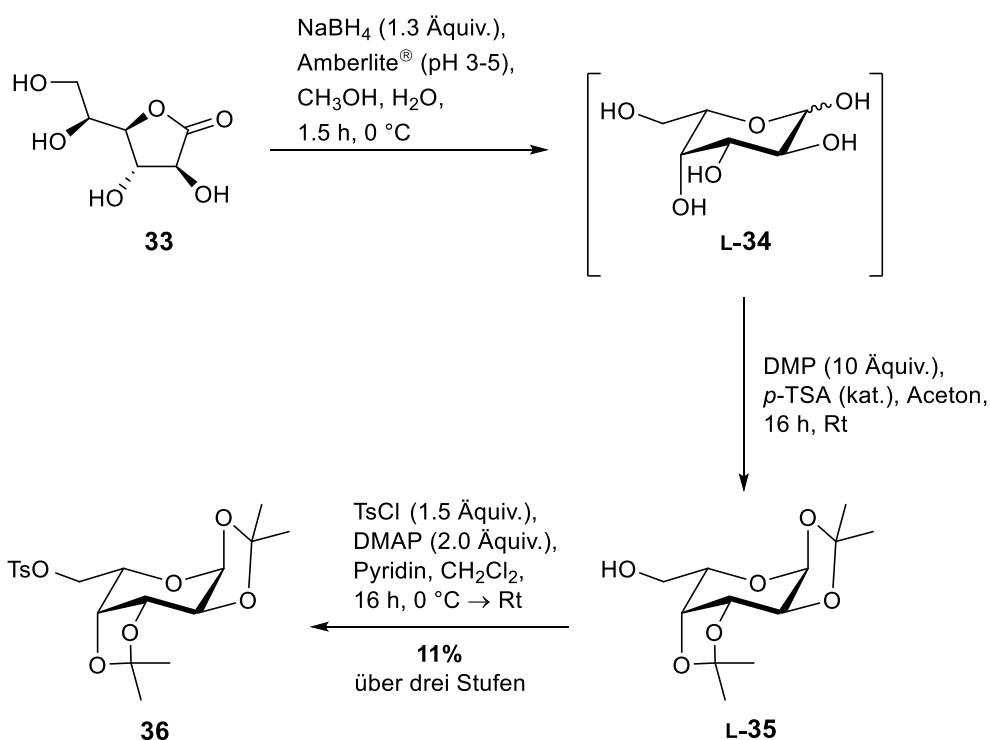


Abb. 29: Synthese von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-*para*-toluolsulfonyl- α -L-galactopyranose **36** über drei Stufen.

Aufgrund der wenig zufriedenstellenden Durchführbarkeit und Ausbeute dieser Teilroute sollte alternativ dazu die Reproduzierbarkeit der bereits vorgestellten Syntheserouten zur Darstellung von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden- α -L-galactopyranose **L-35** nach *Doboszewski et al.*^[143] bzw. L-Galactopyranose **L-34** nach *Orij et al.*^[144] überprüft werden. Beide Routen gehen dabei von der preiswerten Ausgangsverbindung D-Galactopyranose **D-34** bzw. der Isopropyliden-geschützten Variante **D-35** aus und werden als sehr effizient und einfach beschrieben.

Gemäß dem Syntheseprotokoll von *Doboszewski et al.* erfolgte im ersten Schritt die Einführung einer Benzylschutzgruppe an der C-6-Position der Isopropyliden-geschützten D-Galactopyranose **D-35** durch die Umsetzung mit Benzylbromid und Kaliumhydroxid als Base (Abb. 30). Die Reaktion erfolgte in einem Gemisch aus Toluol und Wasser, wobei Tetrabutylammoniumhydrogensulfat als Phasentransferkatalysator diente. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das Produkt **60** in einer sehr guten Ausbeute von 94% erhalten werden, was der publizierten Ausbeute entspricht.^[143]

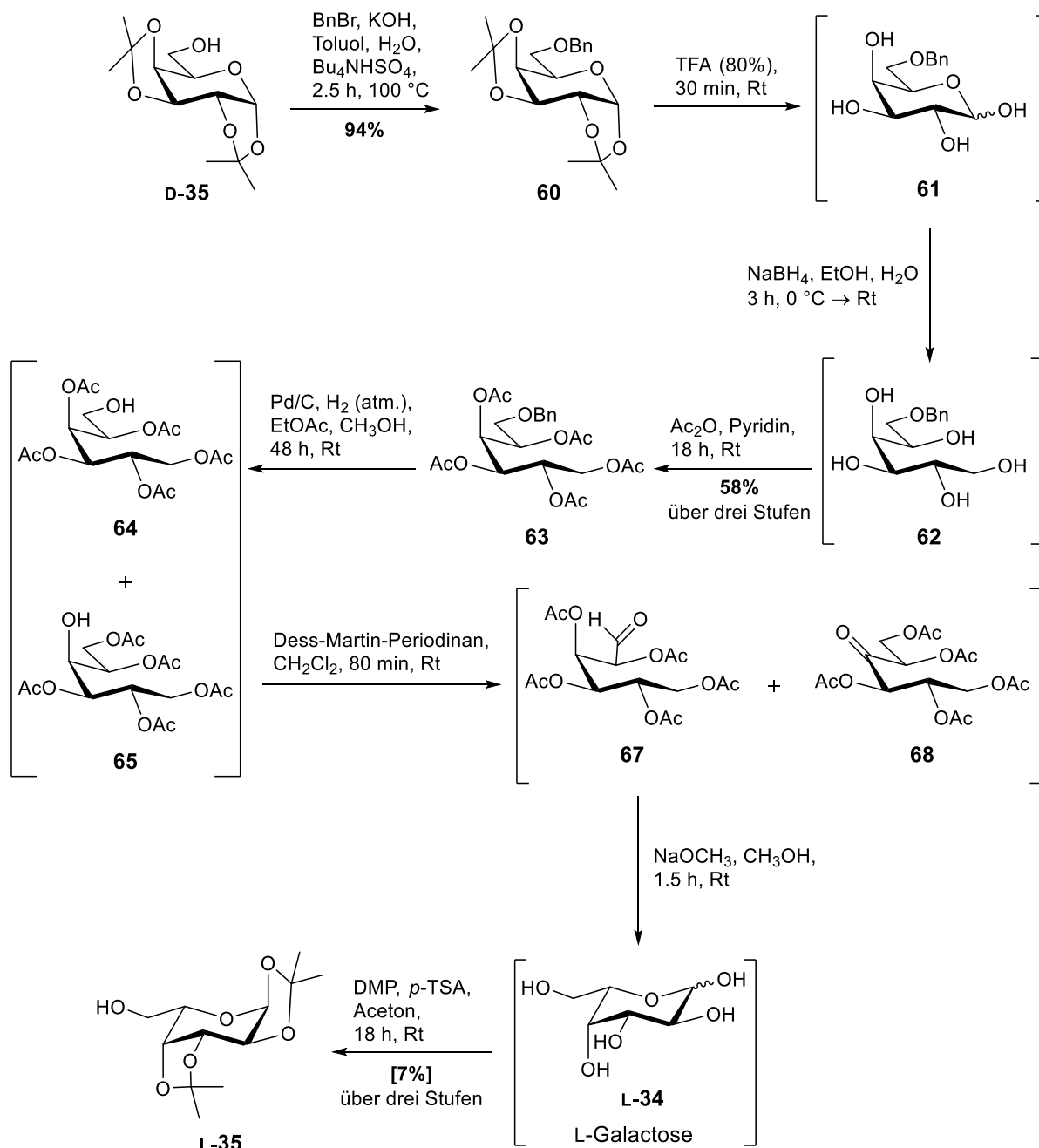


Abb. 30: Versuch der Synthese von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden- α -L-galactopyranose **L-34** nach Doboszewski et al.^[143]

Die darauffolgende Abspaltung der Isopropyliden-Schutzgruppen wurde mittels saurer Hydrolyse unter Verwendung von 80%iger Trifluoressigsäure (TFA) durchgeführt. Nach 30 min konnte dünnschichtchromatographisch kein Edukt mehr nachgewiesen werden und das Rohprodukt nach Neutralisation und Aufarbeitung ohne weitere Reinigungsschritte für die darauffolgende Umsetzung verwendet werden. Die Reduktion der 6-O-Benzyl-geschützten D-Galactopyranose **61** erfolgte mittels Natriumborhydrid in einem Gemisch aus Ethanol und Wasser. Die Reaktion konnte nach 3 Stunden Reaktionszeit durch die Zugabe von verdünnter

Essigsäure beendet und im Anschluss neutralisiert werden. Die zusätzliche mehrfache Coevaporation mit Methanol diente der Entfernung der als Nebenprodukt entstandenen Boran-Verbindungen. Das erhaltene 6-O-Benzyl-D-galaktit **62** wurde ohne weitere Reinigung einer Acetylschätzung aller freier OH-Gruppen unterzogen. Dies erfolgte durch Reaktion mit Essigsäureanhydrid unter Verwendung von DMAP als Katalysator. Nach 18 Stunden Reaktionszeit konnte dünn-schichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz, jedoch auch die Bildung mehrerer Nebenprodukte beobachtet werden. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das vollständig geschützte D-Galaktit **63** mit einer Ausbeute von 58% über drei Stufen erhalten werden. Auch diese Ausbeute lag in dem von *Doboszewski et al.* publizierten Bereich (54%).^[143]

Die Abspaltung der Benzylschutzgruppe erfolgte durch Hydrogenolyse, wobei als Katalysator Palladium auf Aktivkohle verwendet wurde. Im Gegensatz zu dem von *Doboszewski et al.* verwendeten Platindioxid sollte hier keine Hydrierung des Benzolringes erfolgen. Diese führte in der publizierten Synthese zu einem Cyclohexylmethylether als Nebenprodukt mit einem erheblichen Anteil von 25%.^[143] Zudem wurde die Reaktion nicht bei 3.1 bar in 3 Stunden, sondern bei leichtem H₂-Überdruck über 1-2 Tage durchgeführt. Anders als bei *Doboszewski et al.* konnte nach der Aufarbeitung die gewünschte 6-OH-freie Verbindung als einziges Produkt nicht erhalten werden, was wahrscheinlich an einer möglichen Acetylgruppenwanderung lag. Umesterungen von Acetylgruppen sind literaturbekannt und führen oft zu Problemen.^[145] Solche Wanderungen können in sauren, basischen oder neutralen Medien stattfinden, kommen in acyclischen oder cyclischen Verbindungen vor und können sowohl intra- als auch intermolekular ablaufen.^[146–150] In der Arbeit von *Doboszewski et al.* wurde beschrieben, dass diese bei der Darstellung von **64** nach der hier aufgegriffenen Route nicht beobachtet werden konnte, jedoch in einer alternativen Route. Die Acetylgruppenwanderung ist im Reaktionsschema in Abb. 31 abgebildet und kann über einen sechsgliedrigen, cyclischen Übergangszustand stattfinden.^[143,145] Sie führt zu der Verbindung 1,2,3,5,6-Penta-O-acetyl-D-galaktit **65**, die im ¹H-NMR-Spektrum mit Hilfe von Vergleichsdaten identifiziert werden konnte. Es ist auch eine weitere Acetylgruppenwanderung zum Produkt **66** mit einer freien Hydroxylgruppe an der C-2-Position denkbar.

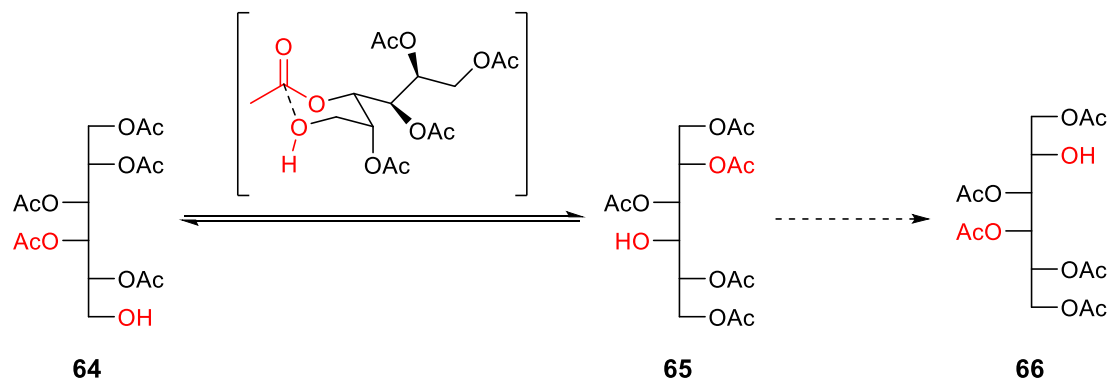


Abb. 31: Bildung von 1,2,3,5,6-Penta-O-acetyl-D-galaktit **65** über einen möglichen sechsgliedrigen, cyclischen Übergangszustand nach *Doboszewski et al.*^[143]

Das gewünschte Produkt konnte nach säulenchromatographischer Reinigung nicht sauber erhalten werden. Stattdessen konnte nach der Reinigung ein erhöhter Anteil des Nebenproduktes **65** festgestellt werden. Acetylgruppenwanderungen sind sowohl säuren- als auch basenkatalysiert, was durch die sauren Eigenschaften des Kieselgels zusätzlich bei säulenchromatographischen Reinigungen ein Problem darstellt. Anhand der Signalintensitäten im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum konnte der Anteil des Nebenproduktes **65** im Rohprodukt auf 20% bestimmt werden. Bezogen auf das Edukt **63** ergibt sich eine Ausbeute von 56% für das gewünschte Produkt **64**, welches unisoliert als Gemisch mit **65** vorlag. Die Ausbeute liegt im Bereich der von *Doboszewski et al.* publizierten.^[143]

Die Oxidation der Hydroxylgruppe an der C-6-Position von **64** soll die Nummerierung der C-Atome im Produkt **67** gemäß der IUPAC-Nomenklatur umkehren, sodass die entstehende Carbonylgruppe zur C-1-Position wird.^[151] Als Edukt wurde hier das zuvor erhaltene Gemisch aus **64** und **65** verwendet, wodurch neben dem gewünschten Produkt **67** auch das Keton **68** als Nebenprodukt zu erwarten war. Die Oxidation wurde mit Dess-Martin-Periodinan in Dichlormethan bei Raumtemperatur durchgeführt. Aufgrund der sehr geringen Substanzmenge von wenigen Milligramm wurde nach der Aufarbeitung auf eine Reinigung verzichtet. Die gewünschte Verbindung **67** konnte jedoch im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum anhand von Vergleichsdaten^[152] identifiziert werden, wobei Überlagerungen mit zusätzlichen Signalen zu beobachten waren, die vermutlich von dem Keton **68** stammen. Massenspektrometrisch konnte das Natriumaddukt der erwarteten Masse als Hauptpeak detektiert werden, was auf **67** als auch auf das Nebenprodukt **68** zutrifft. Das erhaltene Produktgemisch wurde anschließend nach *Zemplén* mit Natriummethanolat in Methanol deacetyliert und schließlich einer *Isopropylidenschützung* unterzogen.^[153] Das deacetylierte Rohprodukt wurde dabei in Aceton gelöst und mit DMP unter Zusatz von *para*-Toluolsulfonsäure umgesetzt. Nach vollständiger Umsetzung konnte das gewünschte Produkt **L-35**, neben weiteren Verbindungen, durch einen

Vergleich des R_f -Wertes mit seinem D-Enantiomer dünnschichtchromatographisch detektiert werden. Es konnte zudem sowohl im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Rohgemisches als auch massenspektrometrisch detektiert werden. Von einer weiteren Reinigung wurde angesichts der geringen Substanzmenge von wenigen Milligramm abgesehen.

Die Ergebnisse von *Doboszewski et al.* konnten bis zur Debenzylierung zur Darstellung der selektiv geschützten Verbindung **63** gut reproduziert werden. Eine von *Doboszewski et al.* selbst bei der säulenchromatographischen Reinigung von Verbindung **64** nicht beobachtete Acetylgruppenwanderung führte zu dem nicht abtrennbaren Nebenprodukt **65**.

Ausgehend von Verbindung **62** wurden zusätzlich zwei Varianten einer alternativen Schutzgruppenstrategie erprobt. Um die beobachtete Acetylgruppenwanderung zu umgehen, sollten die freien Hydroxylgruppen von **62** als Silylether geschützt werden (Abb. 32). Diese sollten während der Reaktionsbedingungen bei der Debenzylierung nicht abgespalten werden.^[154] Zunächst wurde versucht, *tert*-Butyldimethylsilylether als Schutzgruppen zu verwenden. Es wurde dabei ein Syntheseprotokoll von *de Talancé et al.* verwendet, welches zur TBDMS-Schätzung mehrerer Hydroxylgruppen in einem Molekül geeignet ist.^[155] Hierbei wurde das 6-O-Benzyl-D-galaktit **62** mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid unter Zusatz von Imidazol als Aktivator bei 70 °C in DMF versucht umzusetzen. Da bei diesem Versuch dünnschichtchromatographisch kein Umsatz beobachtet werden konnte, wurde die Reaktion zusätzlich bei Raumtemperatur in Pyridin und ohne Imidazol durchgeführt.^[118] Das Lösungsmittel diente hier gleichzeitig als Base, um den entstehenden Chlorwasserstoff als Pyridiniumchlorid zu binden. Nach zwei Tagen konnte eine vollständige Umsetzung beobachtet werden. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte jedoch lediglich ein Isomerengemisch aus mehreren dreifach silylierten Produkten isoliert werden, was sowohl aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum als auch aus dem gemessenen ESI-Massenspektrum hervorging. Vermutlich ist die sterische Hinderung der *tert*-Butyldimethylsilylgruppen bei einer zunehmenden Silylierung des Eduktes **62** der Hauptgrund für die unvollständig ablaufende Umsetzung.

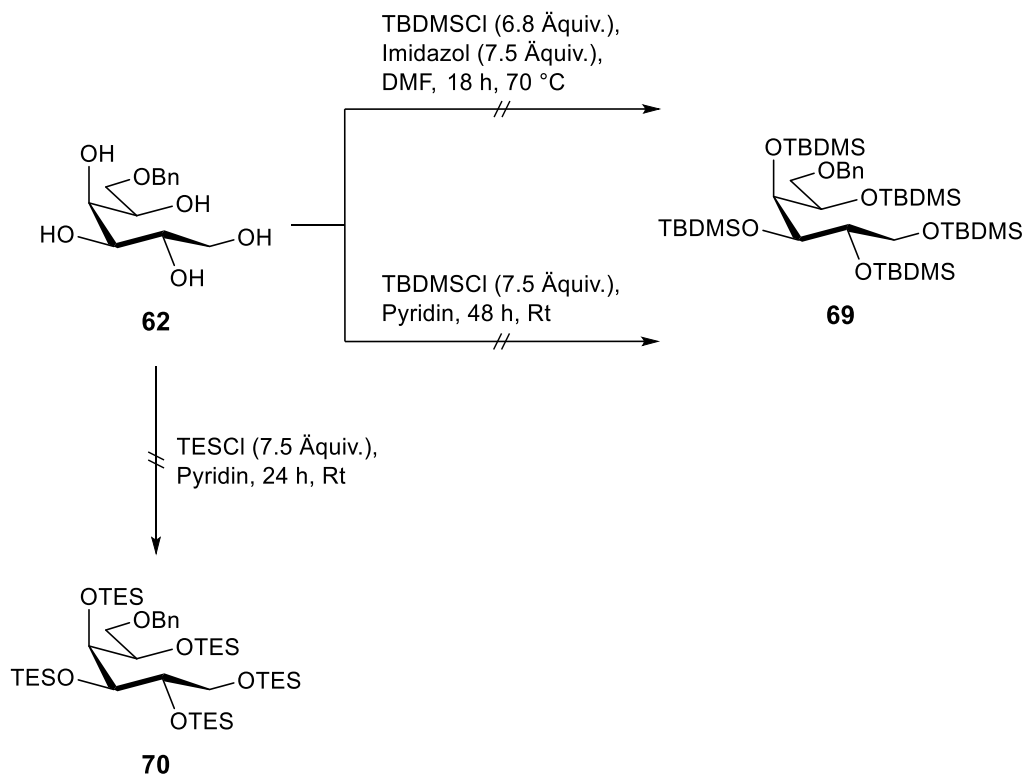


Abb. 32: Versuch der Synthese der Silylether-geschützten Derivate **69** und **70** ausgehend von **62**.

Schließlich sollte mit Triethylsilylchlorid (TESCI) eine weitere, sterisch weniger anspruchsvolle Silylether-Schutzgruppe verwendet werden. Das 6-O-Benzyl-D-galaktit **62** wurde hierzu mit TESCI in Pyridin bei Raumtemperatur umgesetzt. Nach 24 Stunden war ein vollständiger Umsatz zu beobachten und das Rohprodukt wurde mittels Extraktion isoliert. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt jedoch nicht isoliert werden. Die stattdessen isolierten Verbindungen konnten weder NMR-spektroskopisch noch massenspektrometrisch identifiziert werden. Die verglichen mit *tert*-Butyldimethylsilylethern deutlich höhere Labilität der TES-Schutzgruppen gegenüber basischen als auch sauren Bedingungen könnte ein Grund für die im Verlauf der Säulenchromatographie zunehmende Anzahl an Nebenprodukten sein. So ist die Stabilität eines TBDMS-Ethers gegenüber basischer und saurer Hydrolyse etwa 200-fach höher als die eines TES-Ethers.^[156] Beide erprobten alternativen Schutzgruppen-Strategien führten somit nicht zum gewünschten Erfolg.

Die zweite Syntheseroute, deren Reproduzierbarkeit überprüft werden sollte, war die Darstellung von L-Galactopyranose **L-34** ausgehend von D-Galactopyranose **D-34** nach einem Syntheseprotokoll von *Orii et al.*^[144] Der erste Schritt dieser Route war die Schützung der primären Hydroxylgruppe am C-6-Atom des Eduktes **D-34** mit Tritylchlorid, wobei dieses als Unterschusskomponente eingesetzt wurde (Abb. 33). Nach der vollständigen Umsetzung des Tritylchlorids und Abtrennung des entstandenen Pyridiniumchlorids mittels Extraktion, wurde

die als Rohprodukt erhaltene 6-O-Trityl-D-Galactopyranose **71** für die darauffolgende Reaktion verwendet. Durch eine Reduktion des C-1-Atoms mit Natriumborhydrid in Methanol wurde das offenkettige Galaktit-Derivat **72** dargestellt. Nach einer Reaktionszeit von 4 Stunden wurde die Reaktion durch Zugabe von Essigsäure beendet. Das Rohprodukt wurde mit Salzsäure gefällt und gewaschen.

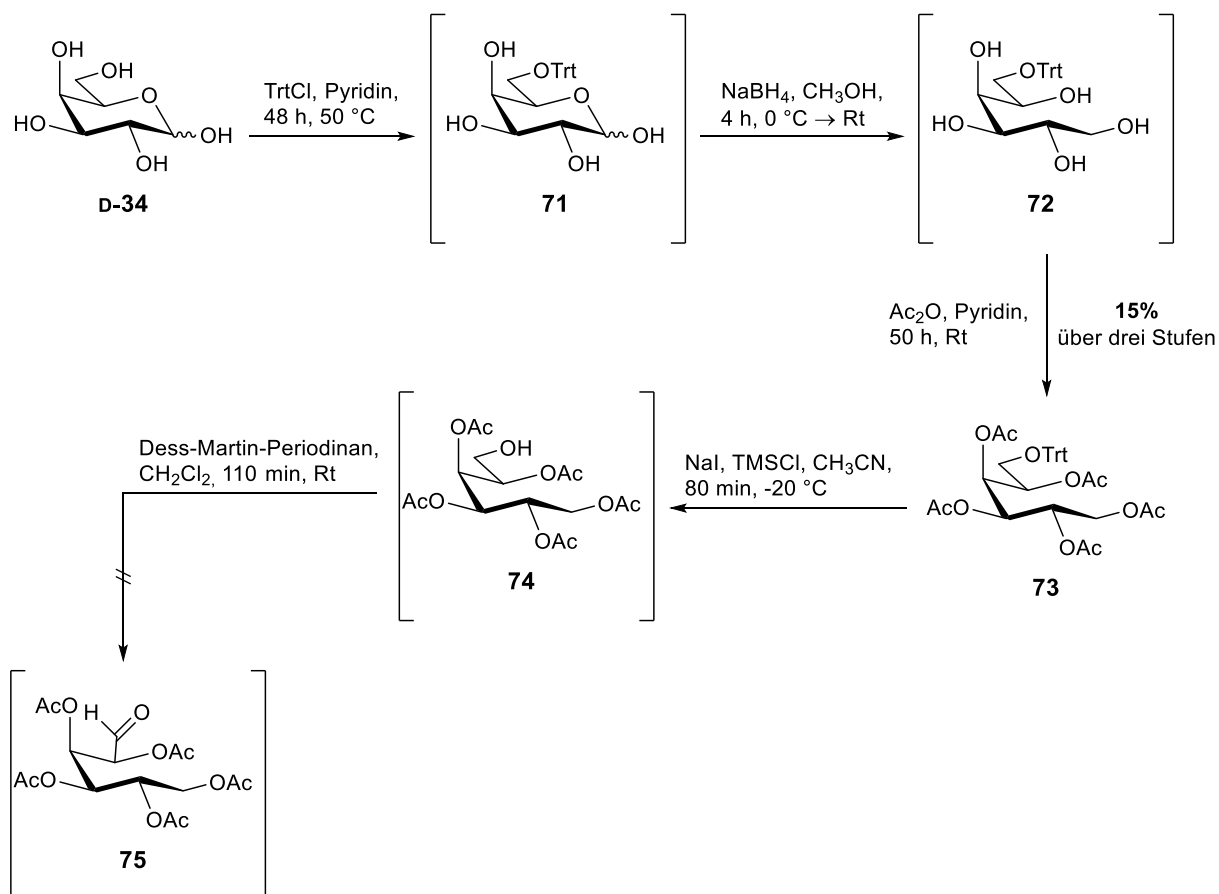


Abb. 33: Versuch der Synthese von L-Galactopyranose nach *Orii et al.*^[144]

Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne eine weitere Isolierung des Galaktits **72** mit Essigsäureanhydrid in Pyridin umgesetzt, wodurch die vollständig acetylierte Verbindung **73** erhalten wurde. Das Rohprodukt wurde mittels Umkristallisation aus einem Ethanol/Petrolether-Gemisch zu reinigen versucht. Im Gegensatz zu *Orii et al.* fand hier jedoch keine Kristallisation statt, weshalb alternativ eine säulenchromatographische Reinigung durchgeführt wurde. Auf diese Weise konnte, bezogen auf die Unterschusskomponente Tritylchlorid, 1,2,3,4,5-Penta-O-acetyl-6-O-trityl-D-galaktit **73** über drei Stufen in einer Ausbeute von 15% erhalten werden. Verglichen mit der Ausbeute von *Orii et al.* ist dieser Wert deutlich geringer (Literaturwert: 33%).^[144] Grund hierfür könnte sein, dass eine andere Reinigungsmethode mit möglicherweise größerem Produktverlust erfolgte. So war nach der säulenchromatographischen Reinigung noch eine Mischfraktion vorhanden.

Um die Tritylschutzgruppe abzuspalten, wurde das 1,2,3,4,5-Penta-O-acetyl-6-O-trityl-D-galaktit **73** mit Trimethylsilylchlorid (TMSCl) und Natriumiodid in Aceton umgesetzt. Das *in situ* entstehende Trimethylsilyliodid (TMSI) ist eine stärkere Lewis-Säure als TMSCl und sollte vom C-6-Sauerstoffatom nucleophil angegriffen werden.^[157] Nachdem die Reaktion vollständig beendet war, wurde der entstandene Silylether durch wässrige Hydrolyse in den entsprechenden Alkohol überführt und mittels Extraktion isoliert. NMR-spektroskopisch konnte beobachtet werden, dass es hier, analog zur entsprechenden Stufe in der Route von *Doboszewski et al.*, zu einer Acetylgruppenwanderung kam und das Rohprodukt hauptsächlich aus dem Nebenprodukt **65** bestand. Das Rohprodukt wurde dennoch für die darauffolgende Oxidationsreaktion verwendet. Diese wurde mittels Dess-Martin-Periodinan in Dichlormethan durchgeführt. Wie erwartet, konnte ¹H-NMR-spektroskopisch das gewünschte Produkt **75** nicht nachgewiesen werden. Da jedoch massenspektrometrisch eine Verbindung mit der erwarteten Masse detektiert wurde, handelt es sich wahrscheinlich um das Reaktionsprodukt der Oxidation des sekundären Alkohols **65**. Auch bei dieser Syntheseroute machte damit die Acetylgruppenwanderung eine Reproduktion der publizierten Ergebnisse unmöglich.

Es wurde folglich versucht die anfänglich gewählte, von *N. Lunau* entwickelte, Syntheseroute hinsichtlich der Darstellung von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden- α -L-galactopyranose **L-35** zu variieren, um die Problematik der Überreduktion des Lactons **33** mit den damit verbundenen Reinigungsproblemen der Folgestufen zu minimieren. Eine solche Optimierung gelang *K. Pahnke* durch die Einführung einer vollständigen Acetylierung der Hydroxylgruppen als Zwischenschritt nach der erfolgten Reduktion (Abb. 34). Auf der Route von *N. Lunau* kam es vor allem bei der Isopropyliden-Schützung des Rohproduktes von L-Galactopyranose **L-34** zu der Bildung diverser Nebenprodukte. Dies konnte durch den Erhalt der peracetylierten L-Galactose **76** nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 56% über zwei Stufen umgangen werden. Die Acetylgruppen konnten im Anschluss unter basischen Bedingungen entfernt und die erhaltene L-Galactose **L-34** danach einer Isopropyliden-Schützung unterzogen werden, wobei das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 59% über diese zwei Stufen erhalten wurde.^[115]

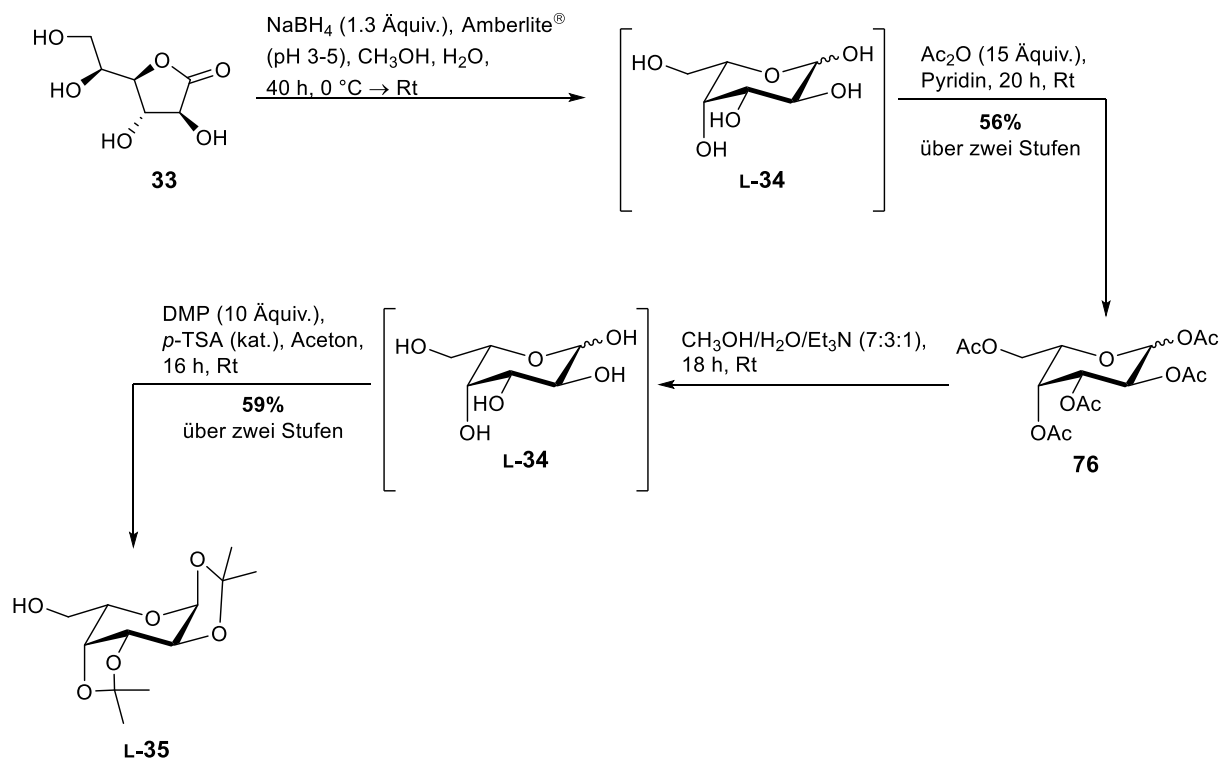


Abb. 34: Modifizierte Syntheseroute von *K. Pahnke* zur Darstellung von 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -L-galactopyranose **L-35**.^[115]

Der hier gewählte Ansatz zur Variation der Route von *N. Lunau* zielte hingegen auf die Reduktion des L-Galactono-1,4-lactons **33** ab, da eine hier auftretende Überreduktion der Ausgangspunkt der beschriebenen Nebenproduktbildung und Reinigungsproblematik darstellt. Ziel war es dabei, ein mildes Reduktionsmittel zu finden, das das Lacton **33** selektiv nur zum Aldehyd bzw. zum Halbacetal zu reduzieren vermochte. Eine weitere Reduktion zum Polyalkohol sollte möglichst nicht stattfinden. Ein mildes Reduktionsmittel, das diese Eigenschaften besitzt und typischerweise zur Reduktion von Estern oder Nitrilen zu Aldehyden eingesetzt wird, ist Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAL). Dieses sollte anstelle von Natriumborhydrid für die Reduktion des Lactons **33** eingesetzt werden. Im Gegensatz zur Route von *N. Lunau* konnte diese jedoch nicht ohne Einsatz von Schutzgruppen und somit zusätzlicher Syntheseschritte durchgeführt werden. Dies liegt einerseits an der heftigen Reaktion von DIBAL mit Wasser, weswegen nicht im wässrigen Milieu gearbeitet werden konnte.^[158] Eine Reduktion in DMF, einem der wenigen organischen Lösungsmittel, in dem das L-Galactono-1,4-lacton **33** löslich ist, konnte ebenso nicht erfolgen. Es ist bekannt, dass DIBAL bereits bei Reaktionstemperaturen von 0 °C substituierte Carbonsäureamide zu den entsprechenden Aldehyden reduzieren kann.^[159] Um die Lipophilie des Lactons **33** zu erhöhen und somit eine Reduktion mit DIBAL zu ermöglichen, sollten die vier Hydroxylgruppen von Verbindung **33** partiell oder vollständig mit einer Schutzgruppe versehen werden. Neben einer

einfachen und effektiven Einführung bzw. Abspaltung war die Stabilität gegenüber den Reaktionsbedingungen einer Reduktion mit DIBAL das Hauptkriterium für die Auswahl. Abb. 35 zeigt eine Übersicht der für diesen Zweck erprobten Schutzgruppen. Es wurden dabei Schutzgruppen aus der Stoffklasse der Ether (**a**: Benzyl-Ether, **b**: Methoxymethyl(MOM)-Ether, **c**: Methoxyethoxyethyl(MEM)-Ether, **d**: Tetrahydropyranyl(THP)-Ether), Carbamate (**e**: Benzyloxycarbonyl-Gruppe), Silylether (**f**: 1,3-(1,1,3,3-Tetra*is*propyldisiloxanyliden)(TIPDS)-Ether), **g**: *tert*-Butyldimethylsilyl(TBDMS)-Ether) sowie Acetale (**h**: *Isopropyliden*-Acetale) ausgewählt.^[160]

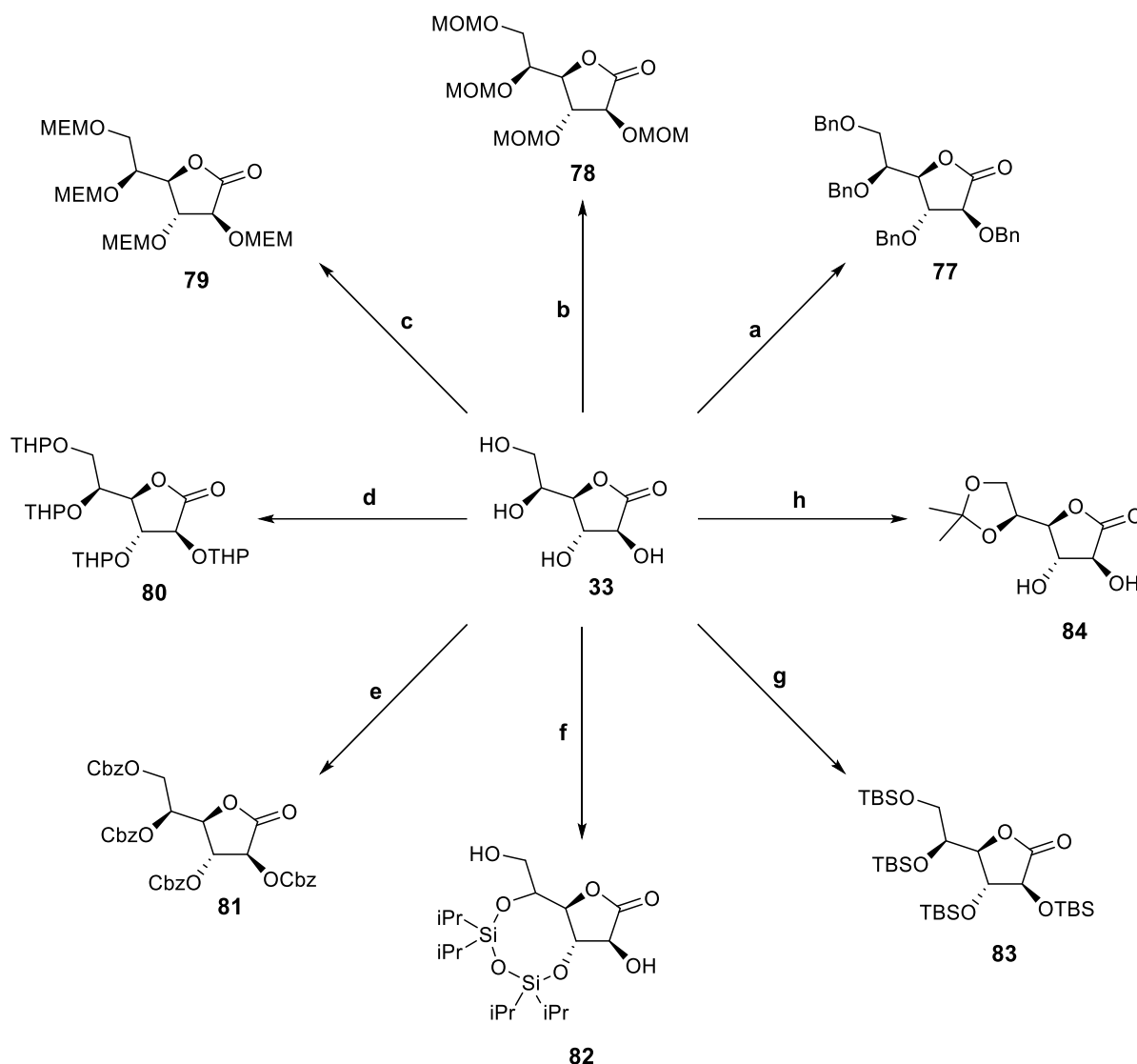


Abb. 35: Übersicht der erprobten Schutzgruppen zur Steigerung der Lipophilie von L-Galactono-1,4-lacton **33**.

Aus Tab. 2 (S. 54) lassen sich die verwendeten Reaktionsbedingungen zur Einführung der unterschiedlichen Schutzgruppen entnehmen. Eine Benzylisierung des Lactons **33** unter Standardbedingungen durch eine Reaktion mit Benzylchlorid oder -bromid in der Gegenwart

einer starken Base wie Kaliumhydroxid oder Natriumhydrid konnte hier nicht durchgeführt werden, da solche stark basischen Bedingungen bei Aldonolactonen stattdessen zu Isomerisierungs- und Eliminierungsreaktionen führen würden.^[161] Stattdessen wurde das Edukt **33** mit Benzyltrichloracetimidat in der Gegenwart von Trifluormethansulfonsäure unter leicht sauren Bedingungen nach einer Vorschrift von *Jensen et al.* in Dioxan umgesetzt.^[161] Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt **77** NMR-spektroskopisch nicht nachgewiesen werden. In einer der isolierten Fraktionen ließ sich **77** jedoch massenspektrometrisch nachweisen. Ein trübes Reaktionsgemisch deutete darauf hin, dass hier möglicherweise nur ein sehr geringer Teil des Lactons **33** in Dioxan löslich war.

Die Versuche der Darstellung der entsprechenden MEM- bzw. MOM-Ether von **33** nach Standardverfahren^[162,163] unter basischen Bedingungen scheiterten wahrscheinlich an der möglichen Isomerisierung und Eliminierung des Lactons **33**. Die Umsetzung zum THP-Ether **80** nach *Bernady et al.*^[164], die zwar unter leicht sauren Bedingungen stattfand, war ebenfalls aufgrund eines Löslichkeitsproblems nicht zufriedenstellend. Das gewünschte Produkt **80** konnte lediglich im ESI-Massenspektrum nachgewiesen werden. Auch die bereits für das Guanosin-Derivat **55** erfolgreich eingesetzte effiziente Übertragung der Cbz-Gruppe auf freie Hydroxylgruppen nach *Cho et al.* konnte möglicherweise durch die Gegenwart der Base NMI nicht das gewünschte Produkt **81** liefern.^[136] Eine sowohl in der Kohlenhydrat- als auch in der Nucleosid-Chemie verwendete Schutzgruppe für 1,3-Diole ist die 1,3-(1,1,3,3-Tetraisopropyl-disiloxanyliden)-Gruppe (Markiewicz-Gruppe).^[165] Unter Verwendung einer von *Thiem et al.* eingesetzten Synthesevorschrift konnte das gewünschte Produkt nach der Aufarbeitung jedoch auch nicht erhalten werden.^[166]

Die TBDMS-Schützung des Lactons **33** sollte unter Verwendung des Syntheseprotokolls von *de Talancé et al.* durchgeführt werden, welches bereits für analoge Reaktionen mit Aldonolactonen eingesetzt wurde.^[155] Hierbei wurde **33** mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid unter Zusatz von Imidazol als Aktivator bei 70 °C in DMF umgesetzt. Nach mehrfacher Coevaporation mit Toluol und mit CH₂Cl₂ und extensiver Trocknung im Hochvakuum konnte das 2,3,5,6-Tetrakis-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-L-galactono-1,4-lacton **83** in einer sehr guten Ausbeute von 96% erhalten werden, wobei eine säulenchromatographische Reinigung nicht notwendig war. Schließlich sollte auch eine *Isopropyliden*-Schützung des Lactons **33** unter Standardbedingungen erfolgen.^[167] Die Reaktion wurde in Aceton unter Zusatz einer katalytischen Menge konzentrierter Schwefelsäure durchgeführt. Nach einer Reaktionszeit von einer Stunde konnte das Produkt **84** nach der Aufarbeitung ebenfalls in einer sehr guten Ausbeute von 97% isoliert werden. Auch hier war eine Reinigung des Rohproduktes nicht erforderlich. Aufgrund der *trans*-Stellung der Hydroxylgruppen an dem C-1- und C-2-Atom

konnte lediglich eine Mono-*isopropyliden*-Schützung an den beiden exocyclischen Hydroxylgruppen beobachtet werden.

Tab. 2: Übersicht der verwendeten Bedingungen zur Einführung unterschiedlicher Schutzgruppen für L-Galactono-1,4-lacton **33**.

Variante	Schutzgruppe	Bedingungen	Resultat bzw. Ausbeute
a	Benzyl-	Benzyltrichloracetimidat, CF ₃ SO ₃ H, Dioxan, 20 h, Rt ^[161]	Produkt nur massenspektrometrisch detektiert
b	Methoxymethyl-	MOMBr, DIPEA, CH ₂ Cl ₂ , 6 h, 0 °C ^[162]	Produkt nicht erhalten
c	Methoxyethoxyethyl-	MEMCI, DIPEA, CH ₂ Cl ₂ , 19 h, 0 °C → Rt ^[163]	Produkt nicht erhalten
d	Tetrahydropyranyl-	DHP, <i>p</i> -TSA, CH ₂ Cl ₂ , 15 h, Rt ^[164]	Produkt nur massenspektrometrisch detektiert
e	Benzyloxycarbonyl-	CbzCl, NMI, CH ₂ Cl ₂ , 8 h, 0 °C → Rt ^[136]	Produkt nicht erhalten
f	1,3-(1,1,3,3-Tetraisopropyl-disiloxanylidene)-	TIPDSCl ₂ , Pyridin, 14 h, -15 °C → Rt ^[166]	Produkt nicht erhalten
g	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-	TBDMS-Cl, Imidazol, DMF, 17 h, 70 °C ^[155]	96%
h	<i>Isopropyliden</i> -	Aceton, H ₂ SO ₄ (kat.), 1 h, Rt ^[167]	97%

Beide erfolgreich synthetisierten Lacton-Derivate **83** und **84** wurden im nächsten Schritt einer Reduktion mit DIBAL unterzogen. Bei beiden Umsetzungen war dabei zu beachten, dass ein unpolares Lösungsmittel wie Dichlormethan eingesetzt wurde. In unpolaren Lösungsmitteln bleibt die DIBAL-Reduktion auf der Stufe des zunächst gebildeten tetraedrischen Intermediats stehen. Erst eine wässrige Aufarbeitung überführt dieses protolytisch in das gewünschte Halbacetal. In einem polaren Lösungsmittel kann das Tetraeder-Intermediat durch eine Interaktion mit diesem destabilisiert werden und schnell zerfallen. Das entstehende Halbacetal könnte dann von dem überschüssigen DIBAL zum Alkohol umgesetzt werden, was zu vermeiden ist.^[168]

Die Reduktion des *Isopropyliden*-geschützten Lactons **84** erfolgte in Dichlormethan bei -78 °C durch eine tropfenweise Zugabe einer DIBAL-Lösung in Toluol (1.5 M) angelehnt an ein

Syntheseprotokoll von *Bkassiny et al.*^[169] Nach vollständiger Umsetzung erfolgte die wässrige Aufarbeitung durch Zugabe von Methanol und einer gesättigten Kaliumnatriumtartrat-Lösung, um die entstehenden Aluminium-Salze zu binden und eine Emulsionsbildung zu verhindern. Da nach mehreren Versuchen eine Isolierung des Halbacetals nach säulenchromatographischer Reinigung nicht erfolgreich war, wurde dieses in einem weiteren Versuch einer sich direkt anschließenden Abspaltung der *Isopropyliden*-Gruppe unter leicht sauren Bedingungen unterzogen. Nach einer automatisierten Umkehrphasenchromatographie konnte hierbei L-Galactopyranose **L-34** erfolgreich in einer guten Ausbeute von 56% erhalten werden (Abb. 36). Die Reduktion des TBDMS-geschützten Lactons **83** erfolgte in gleicher Weise wie die des *Isopropyliden*-geschützten Lactons **84**. Es konnte hier jedoch das gebildete TBDMS-geschützte Halbacetal **85** nach säulenchromatographischer Reinigung in einer guten Ausbeute von 84% erhalten werden. Als alternatives Reduktionsmittel wurde für diese Reduktion zusätzlich Lithiumtriethylborhydrid (LTBH, Super-Hydride[®]) verwendet, welches von *Gonzalez et al.* als besonders geeignet zur Reduktion von Zucker-Lactonen beschrieben wurde.^[170] Gemäß einer entsprechenden Synthesevorschrift wurde die Reaktion bei 0 °C in Dichlormethan durch tropfenweise Zugabe einer LTBH-Lösung in THF (1 M) zum gelösten Lacton **83** durchgeführt. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde das Produkt in einer Ausbeute von 62% erhalten, was im Größenbereich der publizierten Ausbeuten lag, jedoch die Ausbeute der DIBAL-Reduktion nicht überbot. Aufgrund eines ähnlichen synthetischen Aufwandes ist hier daher die Reduktion mit DIBAL vorzuziehen.

Als ein weiterer alternativer, hier nicht durchgeführter, Weg der Lacton-Reduktion könnte ebenso eine von *Binch et al.* publizierte Variante erprobt und verglichen werden. Als Reduktionsmittel wird hier das *in situ* hergestellte Disiamylboran (DIIAMB) verwendet, welches im Stande ist, acetylgeschützte Lactone ohne Verlust ihrer Schutzgruppen zum Halbacetal zu reduzieren.^[142]

Das erfolgreich dargestellte TBDMS-Halbacetal **85** sollte im nächsten Schritt einer sauer katalysierten Abspaltung der TBDMS-Gruppen unterzogen werden. **85** wurde dabei mit einer 0.5%igen HCl-Lösung in Ethanol versetzt und bis zur vollständigen Abspaltung bei Raumtemperatur gerührt und dann neutralisiert.^[171] Nach Entfernung aller Lösungsmittel wurde das Rohprodukt nach einer von *Isbell et al.* vorgestellten Kristallisationsmethode gereinigt.^[172] Hierbei wurde das Rohprodukt in einer geringen Menge Wasser und Methanol gelöst und die Lösung dann bis zu einer beginnenden Trübung mit *iso*-Propanol versetzt. Nach einer auf diese Weise über mehrere Tage erfolgter Kristallisation konnte das gewünschte Produkt in einer sehr guten Ausbeute von 97% erhalten werden. Bei beiden erfolgreichen Darstellungen von L-Galactose **L-34** entsprachen alle analytischen Daten den literaturbekannten Daten für diese Substanz.^[173,174] Neben der Messung des erwarteten

spezifischen Drehwinkels konnte erfreulicherweise auch mittels Röntgenkristallstrukturanalyse bestätigt werden, dass es sich um das richtige Enantiomer dieses Zuckers handelt. Hierbei wurden sowohl Einkristalle der synthetisierten L-Galactose als auch von erworbener D-Galactose vermessen.

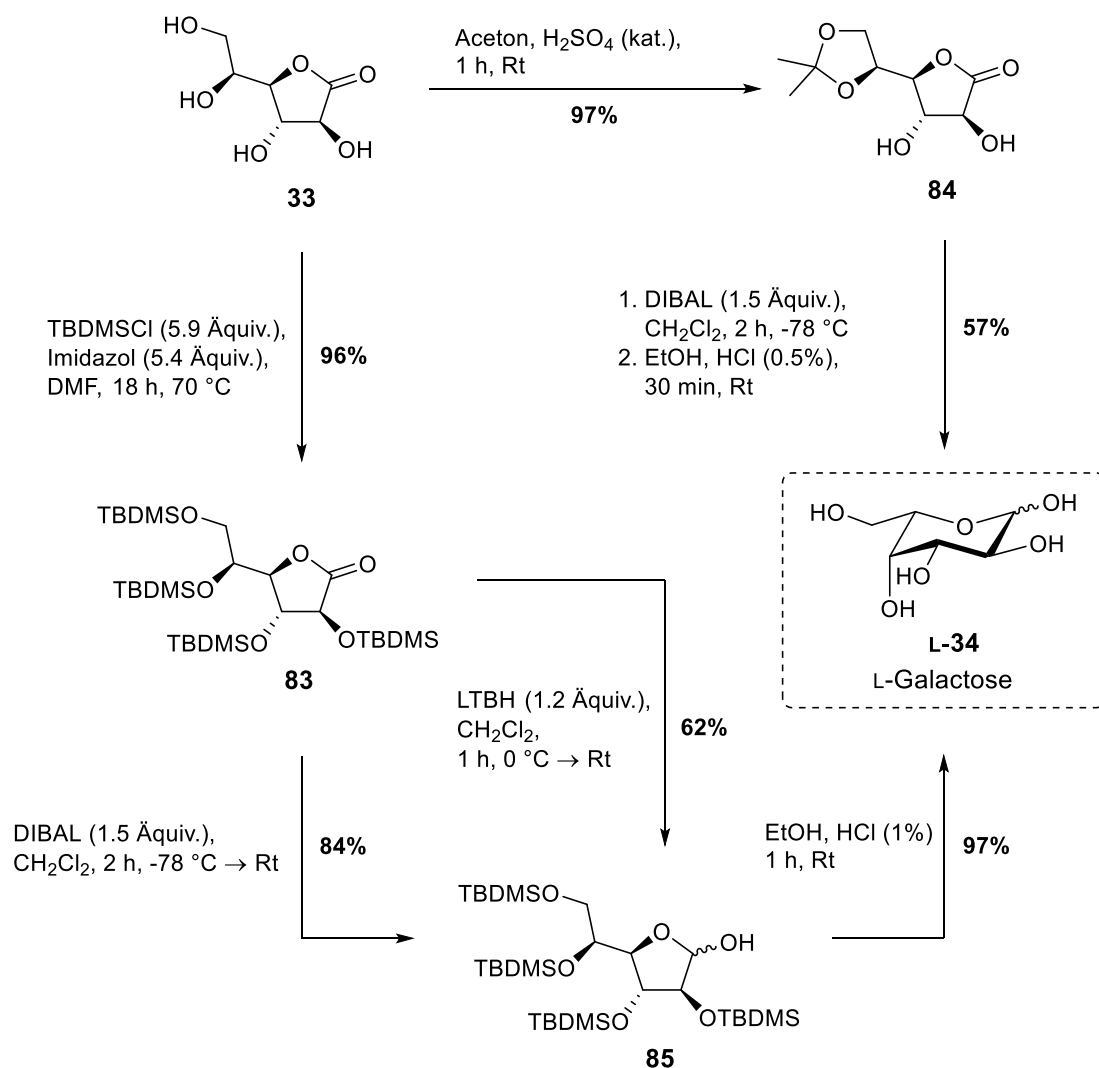


Abb. 36: Syntheserouten zur Darstellung von L-Galactopyranose L-34.

Es kann zusammengefasst werden, dass hier eine effiziente und schnelle Syntheseroute entwickelt wurde, um aus L-Galactono-1,4-lacton **33** L-Galactose **L-34** in hoher Ausbeute und Reinheit herzustellen. Besonders die Variante über das TBDMS-geschützte Lacton **83** bietet dabei eine attraktive Alternative zu den bis dato wenigen publizierten L-Galactose-Synthesemethoden. Diese kann problemlos für alle Zwischenschritte im Multigramm-Maßstab durchgeführt werden.

Die bereits aus der Syntheseroute von *N. Lunau* bekannte wichtige Zwischenstufe 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden- α -L-galactopyranose **L-35** konnte nun über eine klassisch durchgeführte,

säurekatalysierte *Isopropyliden*-Schützung von L-Galactose **L-34** in Aceton mit einer Ausbeute von 70% erhalten werden (Abb. 37).^[175] Ausgehend vom *Isopropyliden*-geschützten Lacton **84** wurde als eine zusätzliche Variante eine Reduktion mit DIBAL in THF, gefolgt von einer säurekatalysierten Abspaltung des Acetals und einer direkten *Isopropyliden*-Schützung der L-Galactose **L-34** aus dem Rohgemisch durchgeführt. Nach einer säulenchromatographischen Reinigung wurde das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 25% über diese drei Reaktionsschritte erhalten.

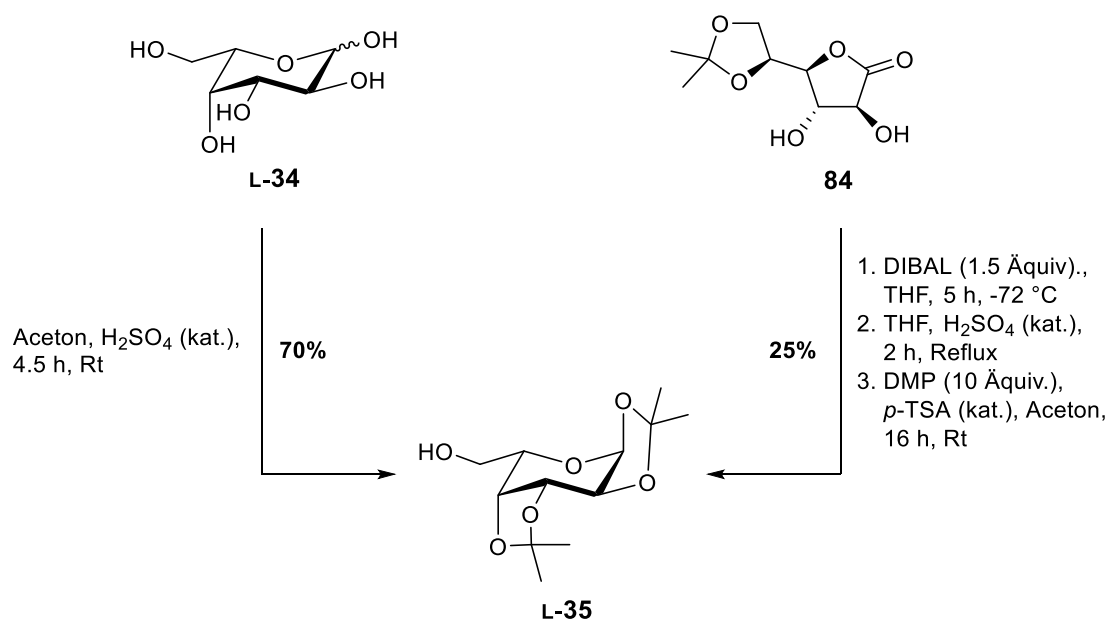


Abb. 37: Darstellung von 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -L-galactopyranose **L-35**.

Unter den hier vorgestellten Möglichkeiten zur Darstellung von 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -L-galactopyranose **L-35** mit dem Lacton **33** als Ausgangsverbindung konnte als höchste Ausbeute über vier Stufen ein Wert von 55% erreicht werden. Verglichen mit der ursprünglichen Route von *N. Lunau* (66% über zwei Stufen)^[111] und der modifizierten Variante von *K. Pahnke* (33% über vier Stufen)^[115] liegt dieser Wert in einem ähnlichen Größenbereich. Der Vorteil gegenüber diesen beiden Routen ist der Verzicht auf eine Reduktion von L-Galactono-1,4-lacton **33** mit Natriumborhydrid zugunsten einer milden Reduktion mit DIBAL ohne das Auftreten unerwünschter Nebenprodukte. Des Weiteren kann mit der hier erarbeiteten Route L-Galactose **L-34** als wichtiger synthetischer Ausgangsstoff in großen Mengen dargestellt werden, wobei auch die von *K. Pahnke*^[115] modifizierte Route mit einem zusätzlichen Reinigungsschritt eine potentiell attraktive Synthesemethode für L-Galactose **L-34** darstellen könnte.

Die weiteren Syntheseschritte zur Darstellung des β -Glycosyl-1-phosphats **32** erfolgte gemäß der von *N. Lunau* entwickelten Route (Abb. 38).^[111] Um an der C-6-Position der 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- α -L-galactopyranose **L-35** eine Azidgruppe mittels Substitution einzuführen, musste die 6-OH-Gruppe zunächst in eine bessere Austrittsgruppe umgesetzt werden. Hierzu wurde **L-35** mit *para*-Toluolsulfonsäurechlorid unter Zusatz von DMAP in Pyridin umgesetzt und nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das entsprechende Tosylat **36** in quantitativer Ausbeute erhalten werden. Über eine S_N -Reaktion erfolgte im nächsten Schritt der Austausch der Tosylgruppe gegen eine Azidgruppe. Das Tosylat **36** wurde hierzu mikrowellenunterstützt mit Natriumazid in DMF umgesetzt. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung konnte das Azid-substituierte Derivat **37** in einer Ausbeute von 70% erhalten werden. Zusätzlich konnte IR-spektroskopisch anhand der typischen Bande der Valenzschwingung organischer Azide bei 2100 cm^{-1} die erfolgreiche Einführung der Azid-Gruppe gezeigt werden.

Im darauffolgenden Schritt wurden die *Isopropyliden*-Schutzgruppen gegen Acetylgruppen ausgetauscht. Die Spaltung der Acetale wurde dabei säurekatalysiert unter wässrigen Bedingungen durchgeführt. Dazu wurde das Reaktionsgemisch für 15 min bis zur vollständigen Spaltung zum Sieden erhitzt. Die sich anschließende Acetylierung aller Hydroxylgruppen erfolgte unter Standardbedingungen mit Essigsäureanhydrid in Pyridin. Das Produkt **38** wurde nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 97% erhalten. Die Darstellung des α -L-Glycosylbromids **39** erfolgte nach einem Syntheseprotokoll von *Srivastara et al.*^[176] Als Bromierungsreagenz wurde Titan(IV)-bromid verwendet und das acetylgeschützte Derivat **38** in einem Gemisch aus Dichlormethan und Ethylacetat damit umgesetzt. Das α -selektiv gebildete Produkt **39** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 48% erhalten werden. Eine α -Glycosylbromid-Synthese nach Standardbedingungen mit einer Bromwasserstoffsäure-Lösung war aufgrund einer sonst auftretenden zusätzlichen Substitution der Azidgruppe hier nicht möglich.^[111]

Schließlich erfolgte als letzter Schritt eine Phosphorylierung am anomeren Kohlenstoffatom des Bromids **39**. Als Phosphorylierungsreagenz diente dabei Tetrabutylammoniumphosphat und die Reaktion erfolgte in Acetonitril bei $80\text{ }^\circ\text{C}$ mit einer Kontrolle der Stereochemie, wobei die Bildung des kinetisch bevorzugten β -Anomers erfolgte. Nach einer säulenchromatographischen Reinigung wurde das 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-azid-6-desoxy- β -L-galactopyranosylphosphat **32** in einer Ausbeute von 51% isoliert. Ein gewisser Ausbeuteverlust ist auf die hygroskopischen Eigenschaften des zur Phosphorylierung eingesetzten Phosphatsalzes zurückzuführen. Die dadurch vorhandene Feuchtigkeit in der

Reaktionslösung kann vermutlich zu einer teilweisen hydrolytischen Spaltung des eingesetzten Zucker-Bromids **39** als Nebenreaktion geführt haben.

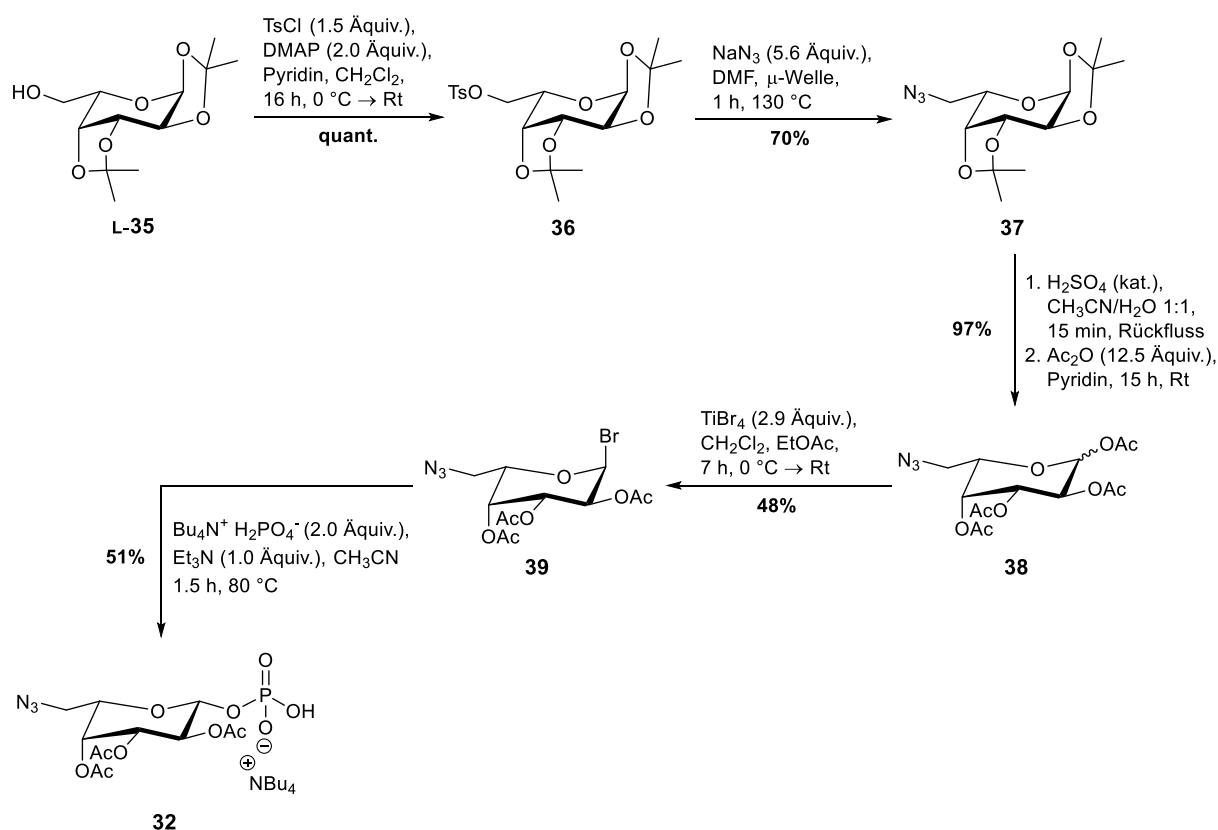


Abb. 38: Synthese des β -Glycosyl-1-phosphats **32** als zweiten Baustein zur Darstellung der Zielverbindungen.

Ähnlich wie bei *K. Pahnke* war bei der Darstellung von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azid-6-desoxy- β -L-galactopyranosylphosphat **32** eine Modifikation der ersten Schritte der Route von *N. Lunau* erforderlich, um eine Nebenproduktbildung zu verhindern. Diese Modifikation beinhaltete die Einführung zweier zusätzlicher Syntheseschritte, eine alternative Lacton-Reduktion mit DIBAL sowie die Möglichkeit der Synthese von L-Galactose **L-34** im Multigramm-Maßstab.

Neben den beiden Triestern **40** und **45** konnte somit ein weiterer Baustein zur Darstellung der Arylazid-modifizierten GDP- β -L-Fucose-Analoga **26-30** erfolgreich dargestellt werden. Dies erfolgte ausgehend von L-Galactono-1,4-lacton **33** in einer Gesamtausbeute von 9.1%, was in einem vergleichbaren Bereich zu den erreichten Ausbeuten von *N. Lunau* und *K. Pahnke* liegt.^[111,115]

Schließlich sollten als dritter Baustein-Typ verschiedene Arylazid-modifizierte Linker-Verbindungen in Form von Aktivestern synthetisiert werden, um im abschließenden Teil der Syntheseroute für eine entsprechende Modifikation an der C-6-Position von GDP-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose **42** zu dienen.

Die für die Linker-Synthesen benötigte Verbindung 4-Azidbenzoesäure **86** wurde zunächst aus 4-Aminobenzoessäure **43** durch eine Diazotierung mit einer anschließenden Substitution dargestellt (Abb. 39). Das Diazonium-Salz wurde dabei mit Natriumnitrit und verdünnter Salzsäure erzeugt. Dieses wurde in einem zweiten Schritt mit einer Natriumazid-Lösung versetzt, wobei das Produkt als Schaum vorlag und in einer sehr guten Ausbeute von 90% isoliert werden konnte.^[177] Eine sich anschließende Umsetzung des erhaltenen Benzoesäure-Derivats **86** mit *N,N*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) in THF lieferte *N*-(4-Azidbenzoyloxy)succinimid **87** nach einer Umkristallisation aus 2-Propanol in einer Ausbeute von 90%.^[178] Der NHS-Ester **87** sollte nicht nur als Ausgangspunkt für die Darstellung der längerkettigen Arylazid-Linker dienen, sondern konnte direkt als Aktivester für die spätere Kupplung mit GDP-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose **42** verwendet werden.

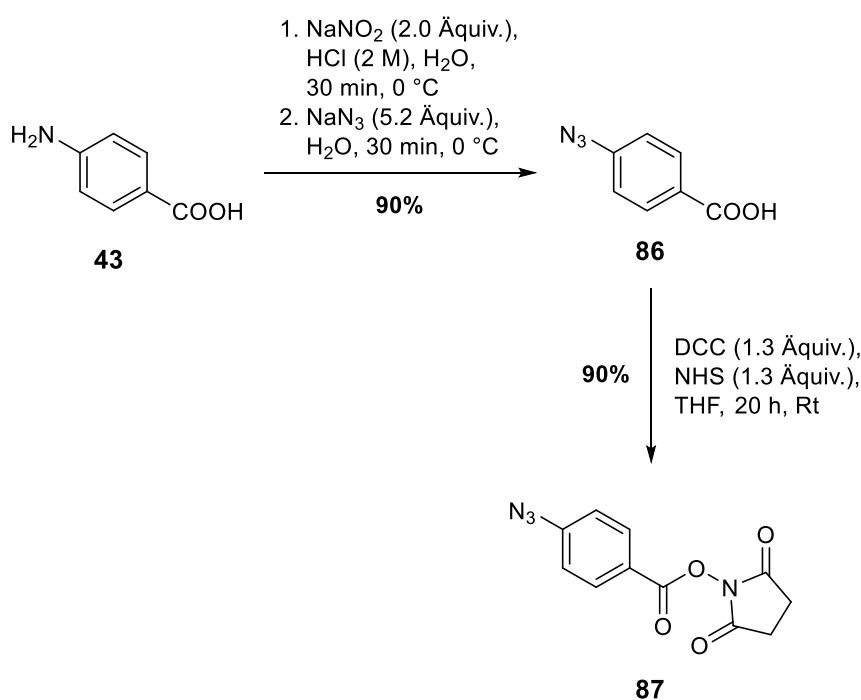


Abb. 39: Synthese von *N*-(4-Azidbenzoyloxy)succinimid **87**.

Bevor der NHS-Ester für weitere Kupplungen eingesetzt wurde, wurde eine von 4-Aminophenol **88** ausgehende alternative Möglichkeit zur Darstellung langkettiger Arylazid-Linker erprobt. Diese sollten die aromatische Einheit über eine Esterbindung statt einer Amidbindung mit der Alkylkette verbunden haben.

Das 4-Azidphenol **89** sollte analog zur entsprechenden Benzoesäure **86** mittels Diazotierung und anschließender Substitution ausgehend von 4-Aminophenol **88** dargestellt werden (Abb. 40).^[177] Das gewünschte Produkt **89** konnte in einer sehr guten Ausbeute von 90% in Form einer tiefbraunen Flüssigkeit erhalten werden. Jedoch erfolgte mit der Zeit eine Zersetzung

des Produktes **89** zu einem braunen Feststoff, welcher weder im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum noch massenspektrometrisch identifiziert werden konnte.

In Anlehnung an eine literaturbekannte Synthese^[179] sollte aus dem dargestellten Vorläufer **89** durch eine Reaktion mit Sebacinsäuredichlorid der entsprechenden Monoester **90** erhalten werden. Nach einer vollständigen Umsetzung und darauffolgender säulenchromatographischer Reinigung wurde ein Stoffgemisch aus dem Monoester **90** und Sebacinsäure erhalten. Aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum konnte eine Reinheit von 72% bestimmt werden. Hieraus ergibt sich eine Ausbeute von 27% innerhalb dieses Gemisches. Die Verunreinigung mit Sebacinsäure nach säulenchromatographischer Reinigung trotz deutlich unterschiedlicher R_f -Werte beider Verbindungen deutet auf eine Zersetzung des Produktes hin. Somit erwies sich diese alternative Route als nicht umsetzbar.

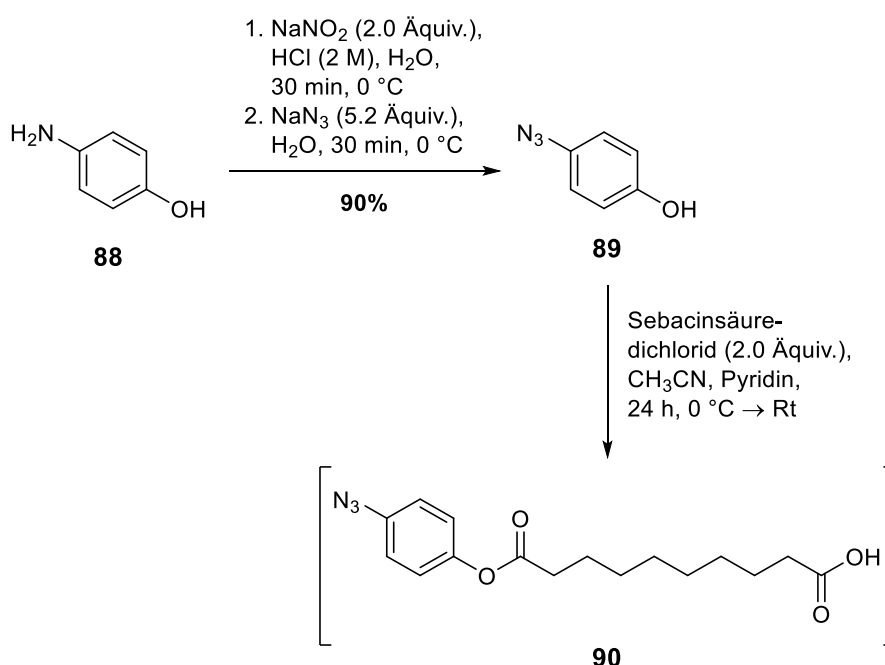


Abb. 40: Versuch der Synthese von Sebacinsäure-mono(4-azidphenyl)ester **90**.

Für die Synthese der übrigen Arylazid-modifizierten Linker-Moleküle sollte der NHS-Ester **87** mit unterschiedlich langen Aminosäuren unter basischen Bedingungen umgesetzt werden. Anhand der Kupplung mit der Aminosäure Glycin sollten zuerst passende Reaktionsbedingungen für diese Umsetzung gefunden werden. Der große Unterschied in der Löslichkeit der beiden eingesetzten Edukte stellte hierbei die größte Schwierigkeit dar. Zunächst wurde die Reaktion in Pyridin bei Raumtemperatur durchgeführt, wobei dieses sowohl als Lösungsmittel als auch als Base dienen sollte. Nach 24 Stunden konnte dünnschichtchromatographisch keine Umsetzung festgestellt werden. Dies liegt vermutlich an der ungenügenden Löslichkeit des Glycins in Pyridin. Anhand dieser Schlussfolgerung wurde

versucht, durch die Variation von Lösungsmittel, Base und Temperatur passende Reaktionsbedingungen zu finden (Tab. 3).

Tab. 3: Ergebnisse der Syntheseversuche zur Darstellung von 2-(4-Azidbenzoylamino)essigsäure **91**.

Ansatz	Lösungsmittel	Base	Temperatur	Reaktionszeit [h]	Ausbeute
1	Pyridin	Pyridin	Rt	24	-
2	CH ₃ OH	DIPEA	Rt	24	-
3	CH ₃ CN	DIPEA	Rt	48	-
4	DMSO	NaHCO ₃	Rt	24	-
5	Dioxan/H ₂ O	NaHCO ₃	Reflux	24	-
6	Dioxan/H ₂ O	NaHCO ₃	0 °C → Rt	24	49%

Der zweite Ansatz erfolgte in Methanol, wobei als Base hier Diisopropylethylamin verwendet wurde. Wie im ersten Ansatz löste sich das Glycin nicht vollständig. Nach vollständiger Aufarbeitung konnte im ¹H-NMR-Spektrum des Rohgemisches kein Produkt identifiziert werden. Daraufhin wurde Acetonitril als Lösungsmittel gewählt, wobei als Base ebenfalls Diisopropylethylamin verwendet wurde. Auch hier löste sich das Glycin nicht vollständig. Im ¹H-NMR-Spektrum des Rohgemisches konnte kein Produkt identifiziert werden. Anschließend wurde Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel ausgewählt. In diesem Fall diente eine Natriumhydrogencarbonat-Lösung (0.1 M) als Base. Hierbei löste sich das Glycin nach vermehrter Zugabe von DMSO vollständig. Jedoch konnte auch bei diesem Ansatz im ¹H-NMR-Spektrum des Rohgemisches kein Produkt identifiziert werden. Der fünfte Ansatz erfolgte in Anlehnung an ein Syntheseprotokoll für die Kupplung einer längerkettigen Aminosäure in einem 1,4-Dioxan/H₂O/NaHCO₃-Gemisch, in dem sich die Edukte vollständig lösten. Nach erfolgter Extraktion konnte im ¹H-NMR-Spektrum des Rohproduktes Verbindung **91** identifiziert werden. Aufgrund der starken Verunreinigung konnte das Produkt **91** jedoch nach säulenchromatographischer Reinigung nicht erhalten werden. Ansatz sechs basierte auf einem weiteren literaturbekannten Syntheseprotokoll. Dieser erfolgte ebenfalls in einem 1,4-Dioxan/H₂O-Gemisch mit Natriumhydrogencarbonat als Base. Jedoch erfolgte in diesem Fall die Zugabe des NHS-Ester **87** bei 0 °C (Abb. 41). Hierbei konnte 2-(4-Azidbenzoylamino)essigsäure **91** in einer moderaten Ausbeute von 49% aus der Reaktionslösung gefällt und isoliert werden. Der Vergleich zu Ansatz 5 lässt die Vermutung

zu, dass das Edukt **87** und/oder das Produkt **91** bei höheren Temperaturen hydrolysiert werden.

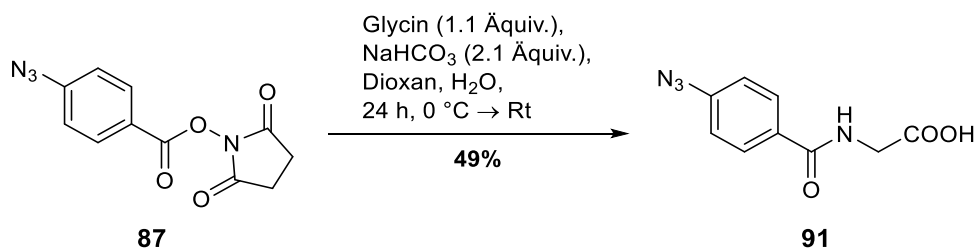


Abb. 41: Synthese von 2-(4-Azidbenzoylamino)essigsäure **91**.

Aufbauend auf den gefundenen Bedingungen für die Synthese von 2-(4-Azidbenzoylamino)essigsäure **91** sollte die Methode nun auf längerkettige Aminosäuren übertragen werden (Abb. 42). Als nächstes wurde eine Kupplung des NHS-Esters **87** mit β -Alanin unter identischen Bedingungen durchgeführt. Das Produkt 3-(4-Azidbenzoylamino)propansäure **92** konnte auf diesem Wege mit einer guten Ausbeute von 81% isoliert werden. Analog dazu erfolgte auch die Kupplung mit γ -Aminobuttersäure (GABA), wobei das entsprechende Produkt **93** mit einer sehr guten Ausbeute von 93% erhalten werden konnte. Schließlich wurde versucht mit 11-Aminoundecansäure eine deutlich längere Aminosäure mit dem NHS-Ester **87** zu verknüpfen. Aufgrund der schlechteren Löslichkeit der Aminosäure musste die Menge an Lösungsmitteln angepasst und die Reaktionstemperatur auf 60 °C erhöht werden. Nach diesen Modifikationen konnte das Produkt 11-(4-Azidbenzoylamino)undecansäure **94** in einer exzellenten Ausbeute von 97% isoliert werden. Der hier deutliche Trend der Ausbeutezunahme mit länger werdender Alkylkette der eingesetzten Aminosäure könnte mit der zunehmenden Nucleophilie und somit Reaktivität der Aminogruppe unter diesen Bedingungen zusammenhängen. Einzig die vergleichsweise sehr geringe Ausbeute der Kupplung der Aminosäure Glycin passt nicht zur erwarteten Nucleophilie, die vergleichbar mit der Nucleophilie von GABA sein sollte.^[180]

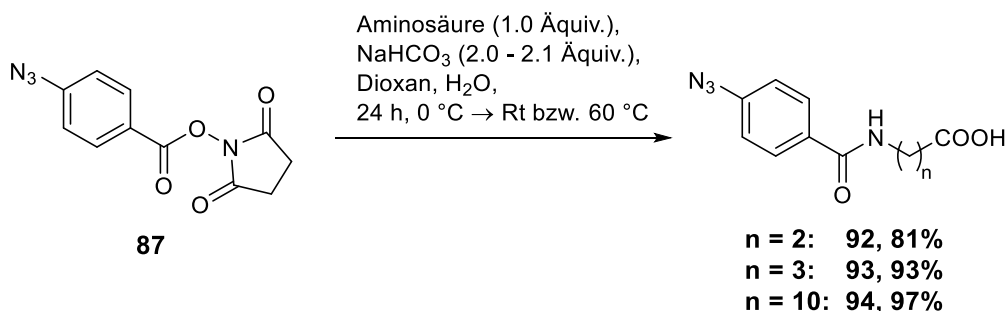


Abb. 42: Synthese der Arylazid-modifizierten Carbonsäure-Derivate **92-94**. Als Aminosäuren wurden β -Alanin ($n = 2$), γ -Aminobuttersäure ($n = 3$) sowie 11-Aminoundecansäure ($n = 10$) verwendet.

Nach der erfolgreichen Synthese der vier verschiedenen Arylazid-Linker **91-94** mit Amidbindungen sollten diese durch die Veresterung ihrer freien Säurefunktion in eine aktivierte Form überführt werden. Analog zur Synthese des NHS-Esters **87** wurden auch diese vier Linker in ihre entsprechenden NHS-Ester in Anlehnung an *Chen et al.*^[178] bzw. *Arrendale et al.*^[181] umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde einzig das Succinimidyl-2-(4-azidbenzoylamin)acetat **95** ($n = 1$) in einer geringen Ausbeute von 34% erhalten, während die Ausbeuten der restlichen drei NHS-Ester **96-98** im Bereich von 81% bis 97% lagen (Abb. 43). Die geringe Ausbeute von **95** kann möglicherweise das Resultat einer bereits während Umsetzung einsetzenden hydrolytischen Spaltung des NHS-Esters **95** durch nicht absolut wasserfreie Bedingungen sein.

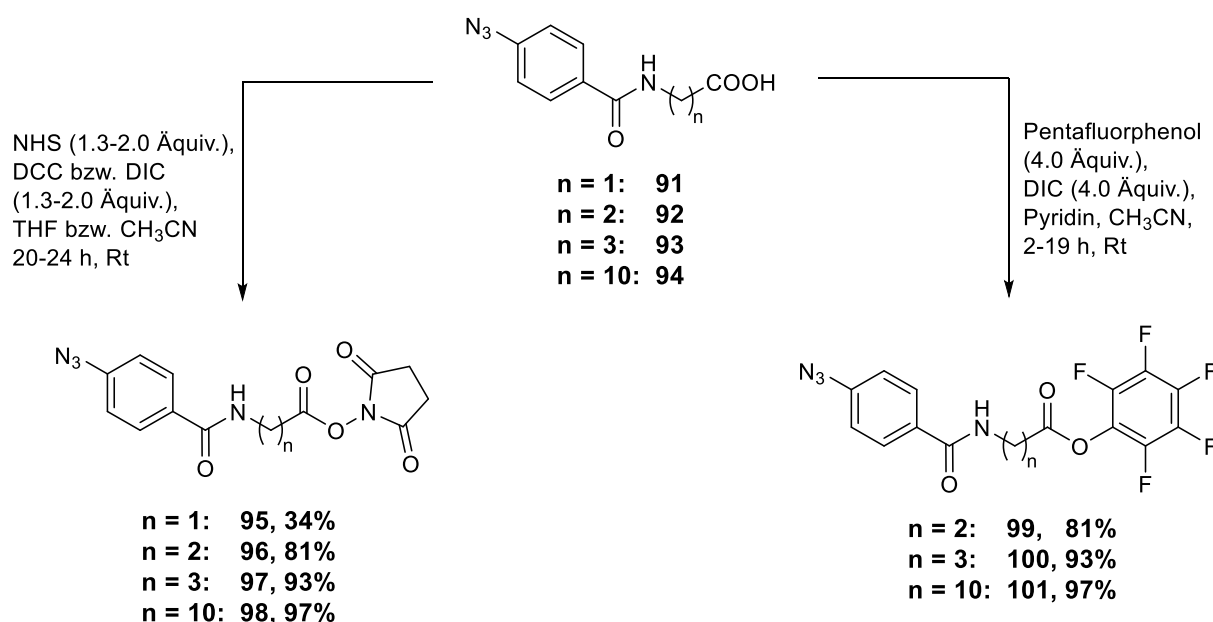


Abb. 43: Synthese der aktivierten Arylazid-Linker in Form von NHS- bzw. Pentafluorphenylestern.

Die längerkettigen ($n = 2, 3, 10$) NHS-Ester **96-98** haben sich jedoch als unbeständig erwiesen. Nach längerer Lagerung bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ und mehrmaligem Erwärmen auf Raumtemperatur zur Entnahme konnte $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch eine Zersetzung der Aktivester beobachtet werden. Außerdem ist bekannt, dass die Halbwertszeit von NHS-Estern in wässrigen Bedingungen sehr stark mit dem pH-Wert und der Temperatur schwankt. So soll die Halbwertszeit bereits bei pH 8.6 und $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ nur 10 min betragen.^[182-184] Aus diesem Grund wurde für diese Linker-Längen als alternative Route die Aktivierung ihrer Säurefunktion als Pentafluorphenylester ausgewählt. Pentafluorphenyl(PFP)-Ester sind dafür bekannt eine ähnliche Reaktivität gegenüber Aminen zu haben wie die entsprechenden NHS-Ester. Gleichzeitig sollen PFP-Ester in den meisten Fällen eine deutlich größere Stabilität gegenüber einer Hydrolyse unter wässrigen Bedingungen aufweisen.^[185] Folglich wurden die

längerkettigen Arylazid-Linker **92-94** unter Verwendung einer Synthesevorschrift von *Ślószarczyk et al.* mit Pentafluorphenol und Diisopropylcarbodiimid in einem Gemisch von Pyridin und Acetonitril zu den entsprechenden PFP-Estern **99-101** umgesetzt.^[179] Nach säulenchromatographischer Reinigung konnten diese drei Aktivester in sehr guten Ausbeuten von 81% bis 97% isoliert werden. Da bei den PFP-Estern erfreulicherweise mit der Zeit keine Zersetzung beobachtet werden konnte, sollten für diese Linker-Längen in den späteren Kupplungen mit GDP-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose **42** die PFP-Ester bevorzugt verwendet werden. Es konnten schließlich alle gewünschten Arylazid-Linker in Form ihrer Aktivester in guten bis sehr guten Ausbeuten dargestellt werden. Somit standen nun alle drei Arten von Bausteinen zur Verfügung, die für die Synthese der Zielverbindungen **26-30** benötigt wurden.

Zusätzlich zur vorgesehenen Route zur Darstellung der Zielverbindungen **26-30**, bei der die Kupplung mit den Arylazid-Linkern als letzter Schritt erfolgen sollte, wurde hier eine alternative Synthesereihenfolge erprobt. Hierbei sollte eine Kupplung mit der Arylazid-Einheit noch vor der Synthese des β -Glycosylphosphats **32** und ausschließlich an der Glycosyleinheit erfolgen. Die Phosphorylierung sollte erst im Anschluss stattfinden.

Ausgehend von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azid-6-desoxy-L-Galactopyranose **38** erfolgte zuerst eine Reduktion der Azid-Gruppe mit Wasserstoff und Palladiumhydroxid auf Aktivkohle als Katalysator. Eine direkt im Anschluss durchgeführte Deacetylierung nach *Zemplén* lieferte die vollständig entschützte Verbindung **102**, welche ohne weitere Reinigung für die darauffolgenden Syntheseschritte eingesetzt wurde.^[153] Anschließend wurde das deacetylierte Produkt **102** mit *N*-(4-Azidbenzoyloxy)succinimid **87** in einem Gemisch aus DMSO und Natriumhydrogencarbonat-Lösung (0.1 M) umgesetzt. Die sich nach der Aufarbeitung anschließende Acetylierung zu 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-(4-azidbenzoylamino)-6-desoxy-L-Galactopyranose **103** erfolgte unter Standardbedingungen (Abb. 44). Die Reinigung erwies sich aufgrund der hohen Polarität von Verbindung **103** als problematisch. Es wurde eine säulenchromatographische Reinigung mit Petrolether/Ethylacetat (1:1 v/v und 1:2 v/v), nur mit Ethylacetat und Dichlormethan/Methanol (19:1 v/v, 9:1 v/v und 5:1 v/v) als Eluentengemische durchgeführt. Dabei kam es zur Elution diverser Verunreinigungen, jedoch nicht des gewünschten Produktes **103**. Verbindung **103** konnte erst mit dem sehr polaren Lösungsmittelgemisch Acetonitril/Wasser (5:1 v/v) von der verwendeten Säule eluiert und in einer sehr geringen Ausbeute von nur 8% über zwei Stufen isoliert werden. ¹H-NMR-spektroskopisch wurde ausschließlich das β -Anomer beobachtet.

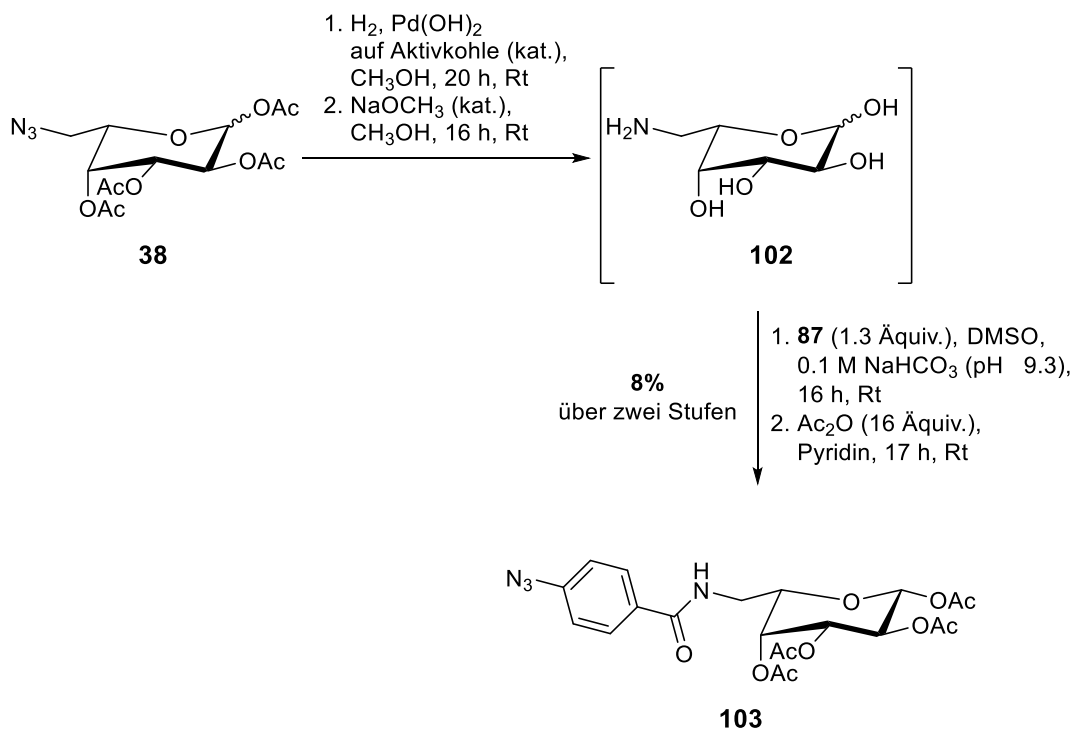


Abb. 44: Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-(4-azidbenzoylamino)-6-desoxy-L-galactopyranose **103**.

Aufgrund der hier auftretenden Schwierigkeiten in der Durchführung und Reinigung wurde diese Route nicht weiterverfolgt. Es sollten somit nun alle Bausteine gemäß der hier vorgesehenen Route zu den Zielverbindungen verknüpft werden.

4.1.2.2 Synthese von Arylazid-modifizierten GDP- β -L-Fucose-Analoga

Nachdem die für die Synthese der Zielverbindungen benötigten Bausteine erfolgreich synthetisiert werden konnten, sollte zunächst die Darstellung des Amin-modifizierten GDP- β -L-Fucose-Derivats **42** erfolgen. Im Anschluss sollten die Kupplungsreaktionen mit den aktivierten Linker-Molekülen stattfinden.

Für die NDP-Zucker-Synthesen nach der *cycloSal*-Methode wurden zuvor die beiden unterschiedlichen *cycloSal*-Triester **40** und **45** dargestellt. Eine Anwendung des neuartigen, Cbz-geschützten Triesters **45** machte die Verwendung eines Nucleophils als Reaktionspartner notwendig, welches entweder auch über hydrogenolytisch abspaltbare Schutzgruppen verfügt oder als ungeschütztes Zucker-Phosphat verwendet wird. Es wurde hier mehrfach eine Deacetylierung des dargestellten Zucker-Phosphats **32** durchgeführt. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt jedoch nicht isoliert werden, weswegen die NDP-Zucker-Synthesen hier ausschließlich mit dem Acetylgeschützten Triester **40** durchgeführt wurden.

Die Synthese der Azid-modifizierte GDP- β -L-Fucose **41** erfolgte über zwei Stufen nach einem etablierten Syntheseprotokoll (Abb. 45).^[12,13] Im ersten Schritt erfolgte dabei unter wasserfreien Bedingungen die Kupplung des *cyclo*Sal-Triesters **40** mit dem Azid-modifizierten Zucker-Phosphat **32** in DMF zu dem entsprechenden vollständig acetylierten NDP-Zucker. Nach der Aufarbeitung des Rohproduktes erfolgte im Anschluss daran unter basischen Bedingungen die vollständige Deacetylierung des gewünschten Produktes **41**, welche in einem Gemisch aus CH₃OH/H₂O/Et₃N durchgeführt wurde.

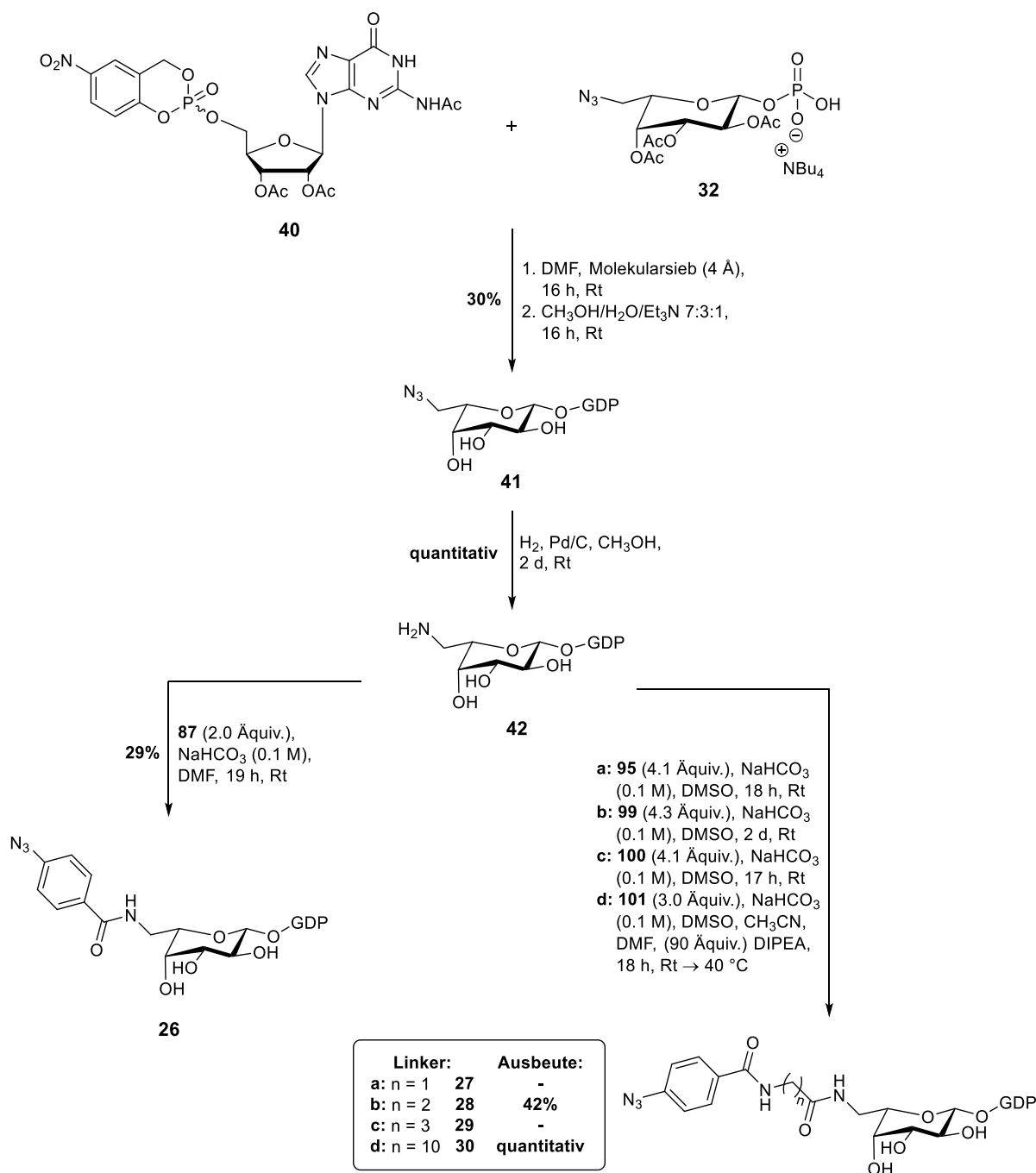


Abb. 45: Synthese der Arylazid-modifizierten GDP- β -L-Fucose-Analoga **26**, **28** und **30**.

Das Azid-modifizierte GDP- β -L-Fucose-Derivat **41** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung in einer moderaten Ausbeute von 30% als Natriumsalz dargestellt werden. Diese lag im Größenbereich der Ausbeuten von anderen zuvor über diese Methode dargestellten GDP-Zuckern.^[6,12,13] Im darauffolgenden Schritt wurde die Azid-Gruppe zur Amino-Gruppe in CH₃OH hydriert, wobei Pd/C als Katalysator diente. Die relativ lange Reaktionszeit von zwei Tagen könnte mit der ausgebliebenen Zugabe von Triethylamin zur Reaktionslösung zusammenhängen. Nach Aufarbeitung mittels Filtration und säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Amin-modifizierte GDP- β -L-Fucose-Derivat **42** in einer quantitativen Ausbeute erhalten werden. Dieser NDP-Zucker sollte als Ausgangspunkt für die Kupplungsreaktionen mit den verschiedenen aktivierten Linker-Molekülen zur Darstellung der Zielverbindungen **26-30** dienen.

Es wurde zunächst die Zielverbindung **26** mit der kürzesten Linker-Modifikation dargestellt. Hierzu erfolgte eine Kupplungsreaktion zwischen dem Amin-funktionalisierten GDP-Zucker **42** und dem NHS-Ester **87** unter leicht basischen Bedingungen in einem Gemisch aus einer Natriumhydrogencarbonat-Lösung (0.1 M) und DMF. Dazu wurde eine Lösung des NHS-Esters **87** in DMF langsam zur wässrigen Lösung des GDP-Zuckers **42** getropft und bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung von **42** und Aufarbeitung der Reaktionslösung wurde das Rohgemisch zwei Mal einer automatisierten Umkehrphasenchromatographie unterzogen. Das gewünschte Produkt **26** konnte in einer moderaten Ausbeute von 29% erhalten werden.

In analoger Weise sollte anschließend die Darstellung der Derivate mit den längeren Linkern **27-30** erfolgen. Für die Synthese von **27** ($n = 1$) wurde dabei Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose **42** und der NHS-Ester des entsprechenden Linkers **95** eingesetzt und die Reaktion in einem Gemisch aus einer Natriumhydrogencarbonat-Lösung (0.1 M) und DMSO durchgeführt. Es konnte hierbei dünnschichtchromatographisch kein Umsatz beobachtet werden. Möglicherweise waren die gewählten wässrigen Bedingungen zu basisch, sodass eine mögliche Hydrolyse des NHS-Esters **95** hier schneller war als die Kupplungsrate der Reaktion mit dem Amin **42**. Aus diesem Grund und da es bei den länger-kettigen NHS-Estern **96-98** zu der bereits beschriebenen Zersetzung während der Lagerung kam, sollten die weiteren Kupplungsreaktionen ausschließlich mit den ebenfalls dargestellten PFP-Estern **99-101** erfolgen.

Für die Darstellung von **28** ($n = 2$) wurde Pentafluorphenyl-3-(4-azidbenzoylamin)propionat **99** in DMSO gelöst und langsam zu einer basischen wässrigen Lösung von **42** getropft. Die Reaktionszeit betrug 2 Tage und es konnte ein vollständiger Umsatz detektiert werden. Nach Aufarbeitung und zweimaliger säulenchromatographischer Reinigung konnte die zweite Zielverbindung **28** in einer Ausbeute von 42% erfolgreich dargestellt werden. Eine mögliche

Optimierung der Reaktionsführung könnte eine leichte Erhöhung der Reaktionstemperatur sein, um die Kupplungsrate zu erhöhen und somit die Reaktionszeit von 2 Tagen zu senken. Die Umsetzung von Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose **42** mit Pentafluorphenyl-4-(4-azidbenzoylamin)butyrat **100** zur Zielverbindung **29** ($n = 3$) sollte analog zur vorhergehenden Zielverbindung erfolgen. Im Gegensatz zu diesem Ansatz konnte hier jedoch dünnschichtchromatographisch kein Umsatz detektiert werden. Da auch die Reaktionslösung im Vergleich etwas trüber war, führte vermutlich die zunehmende Kettenlänge des Aktivesters zu einer Abnahme der Löslichkeit und somit der Reaktivität in diesem Lösungsmittelgemisch. Eine Variation der Lösungsmittelvolumina sowie der Reaktionstemperatur bei zukünftigen Wiederholungen dieser Umsetzung sollten ein Ansatzpunkt für eine Optimierung sein.

Eine ähnliche Beobachtung konnte bei der Reaktion des PFP-Esters **101** mit dem Amin **42** zur Darstellung des Derivats **30** ($n = 10$) gemacht werden. Eine noch schlechtere Löslichkeit des hier verwendeten PFP-Esters **101** ließ einen Reaktionsumsatz nach 11 h Rühren bei Raumtemperatur ausbleiben. Es erfolgte nacheinander eine geringfügige Verdünnung der Reaktionslösung sowie eine Zugabe geringer Mengen von CH_3CN und DMF, was die Löslichkeit etwas verbesserte. Jedoch konnte nach weiteren 2 h bei Raumtemperatur erneut dünnschichtchromatographisch kein Umsatz beobachtet werden. Erst ein Erwärmen der Reaktionslösung auf $40\text{ }^\circ\text{C}$ ließ nach 3 h zusätzlicher Reaktionszeit einen geringen Umsatz erkennen. Schließlich führte die Zugabe von etwa 90 Äquivalenten DIPEA und weiteren 4 h Reaktionszeit bei $40\text{ }^\circ\text{C}$ zu einer vollständigen Umsetzung der Unterschusskomponente Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose **42**. Nach Aufarbeitung und zweifacher automatisierter Umkehrphasenchromatographie konnte die gewünschte Zielverbindung **30** in einer exzellenten quantitativen Ausbeute als Natriumsalz erhalten werden. Aufgrund des Mangels an Ausgangsverbindung konnte diese Kupplung nicht reproduziert werden. Da jedoch viele Faktoren zeitgleich variiert wurden, wäre im Rahmen möglicher Optimierungsarbeiten zu eruieren, welcher Faktor letztendlich zu einer stattfindenden Kupplung geführt hat. Vermutlich war dies die deutlich sichtbare bessere Löslichkeit nach Zugabe von DMF und die leichte Temperaturerhöhung.

Die erfolgreiche Synthese der drei Zielverbindungen konnte sowohl NMR-spektroskopisch als auch massenspektrometrisch nachgewiesen werden. In Abb. 46 und Abb. 47 sind exemplarisch für die Zielverbindung mit dem längsten eingeführten Linker **30**, das ^1H - sowie das ^{31}P -NMR-Spektrum gezeigt. Im letzteren sind bei einer Verschiebung von etwa -12.0 ppm die für eine Pyrophosphat-Einheit typischen zwei Dubletts zu erkennen.

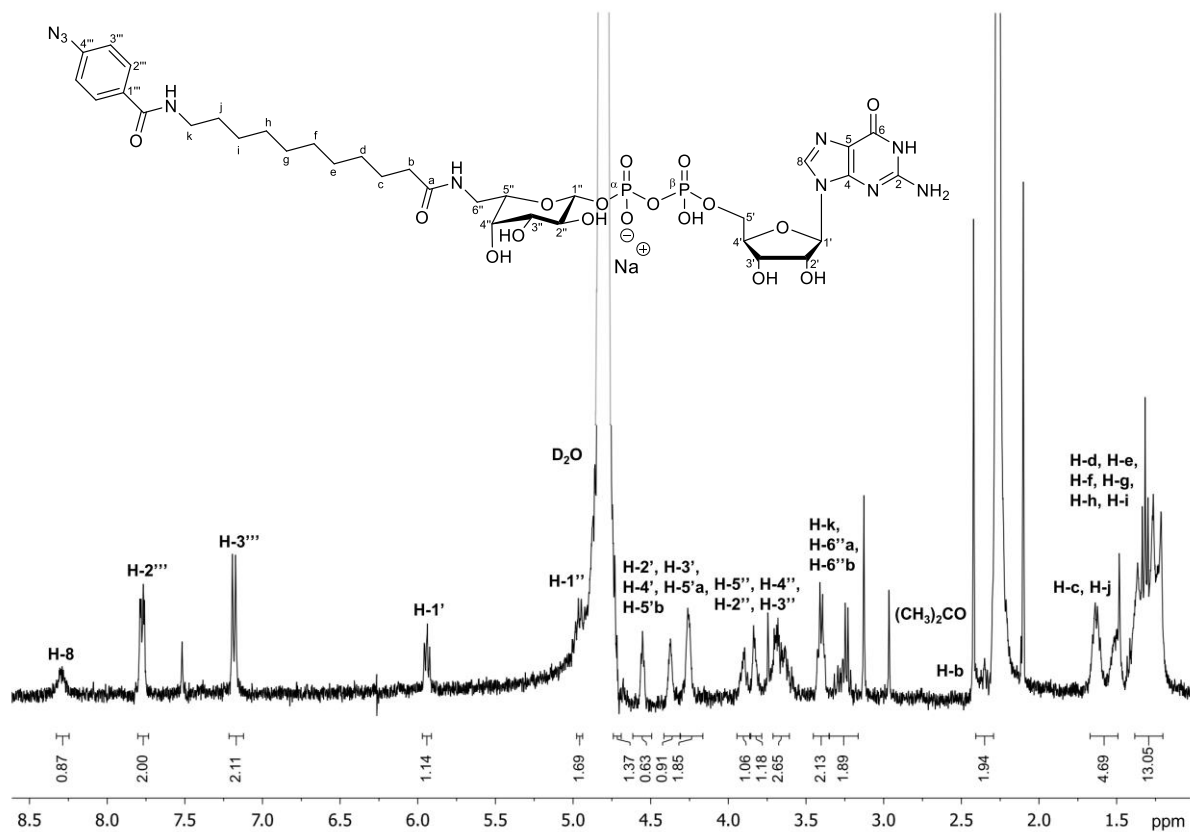


Abb. 46: ^1H -NMR-Spektrum der Zielverbindung **30** mit dem C11-Linker (D_2O , 600 MHz).

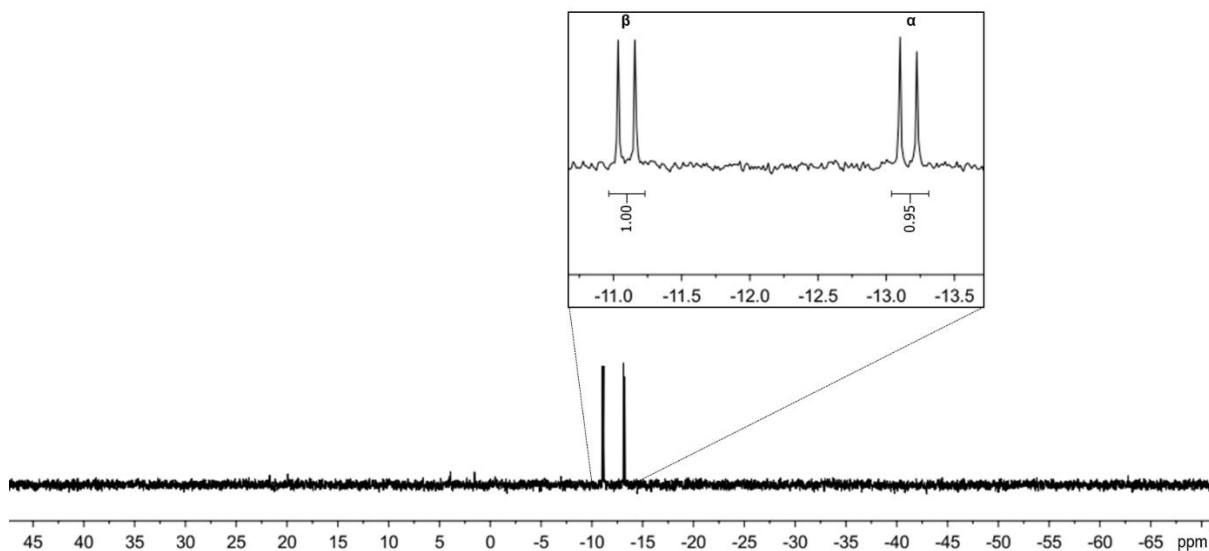


Abb. 47: ^{31}P -NMR-Spektrum der Zielverbindung **30** mit dem C11-Linker (D_2O , 243 MHz).

Abb. 48 zeigt ebenfalls für die Verbindung **30** das gemessene HR-ESI-MS-Spektrum. Die gefundene Masse von 931.2803 konnte als $[\text{M}-\text{H}]^-$ dem Zielmolekül **30** zugeordnet werden.

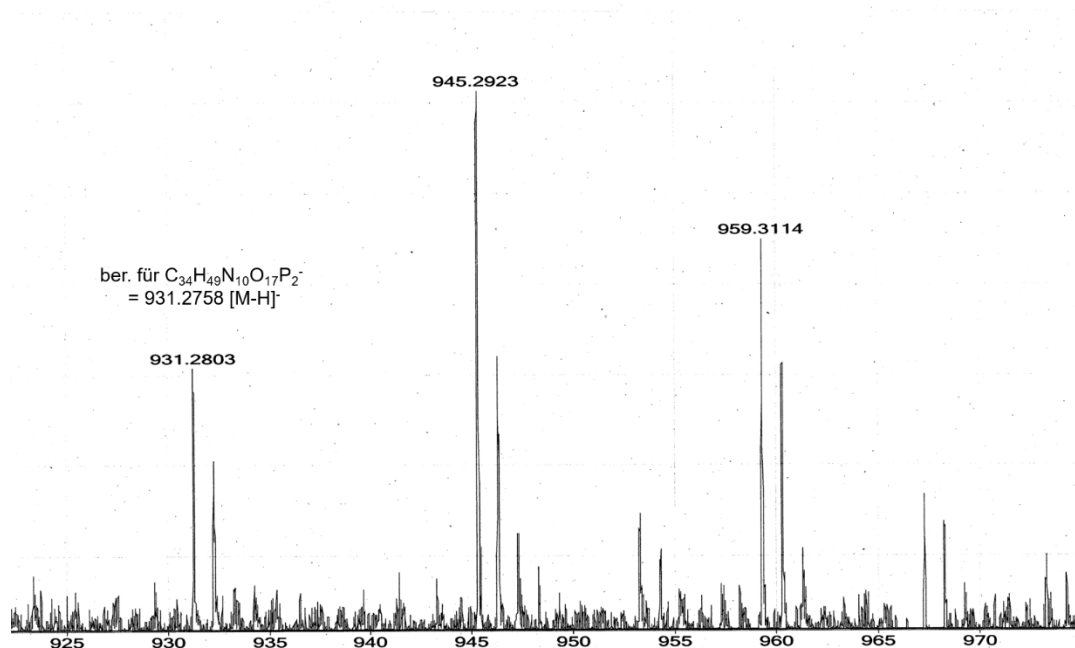


Abb. 48: HR-ESI-MS-Spektrum von Zielverbindung **30**.

Abschließend sollte die Zielverbindung **30** einer Untersuchung ihrer Photolabilität mittels UV/VIS-Spektroskopie unterzogen werden. Hierzu wurde zunächst ein UV-Absorptionsspektrum dieser Verbindung aufgezeichnet (Abb. 49). Das Absorptionsmaximum der Guanosineinheit, welches hier bei 257 nm liegt, überlagert sich deutlich mit dem Maximum der Arylazid-Einheit bei etwa 270 nm. Aus diesem Grund sollte die Photolabilität dieser Einheit hier ausschließlich mit dem Linker-Molekül **94** untersucht werden.

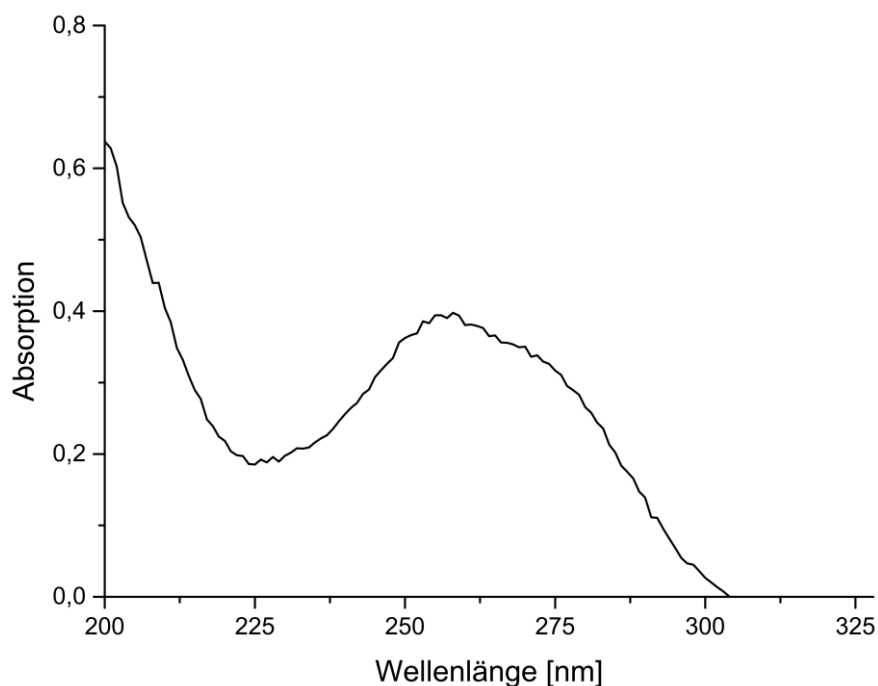


Abb. 49: UV-Absorptionsspektrum der der Zielverbindung **30** (30 μ M in H_2O).

Es wurde hierzu eine methanolische Lösung dieser Verbindung (30 μM) zunächst ohne UV-Bestrahlung vermessen und die Probe anschließend einer 20 min andauernden Bestrahlung mit UV-Licht der Wellenlänge 360 nm unterzogen. Nach sechs unterschiedlichen Bestrahlungszeiten wurde von der Probe jeweils erneut ein UV-Absorptionsspektrum gemessen. Die Überlagerung aller erhaltenen Spektren ist in Abb. 50 dargestellt. Für die nicht bestrahlte Probe kann den erhaltenen Daten ein Absorptionsmaximum von 268 nm entnommen werden. Es kann beobachtet werden, dass bereits nach einer Bestrahlungszeit von 5 min eine deutliche Abnahme der Intensität des Absorptionsmaximums der Arylazid-Einheit erfolgte. Eine Verschiebung des Absorptionsmaximums lässt sich jedoch nicht verzeichnen. Da sich ab einer Bestrahlungszeit von 15 min die Intensität des Absorptionsmaximums nicht mehr deutlich veränderte, könnte dies als eine geeignete Bestrahlungszeit für den Einsatz der Verbindung **30** an der hFucT IX betrachtet werden, um eine möglichst effektive kovalente Verknüpfung an das Enzym mit einer minimalen Beeinflussung der Enzymstruktur zu erreichen.

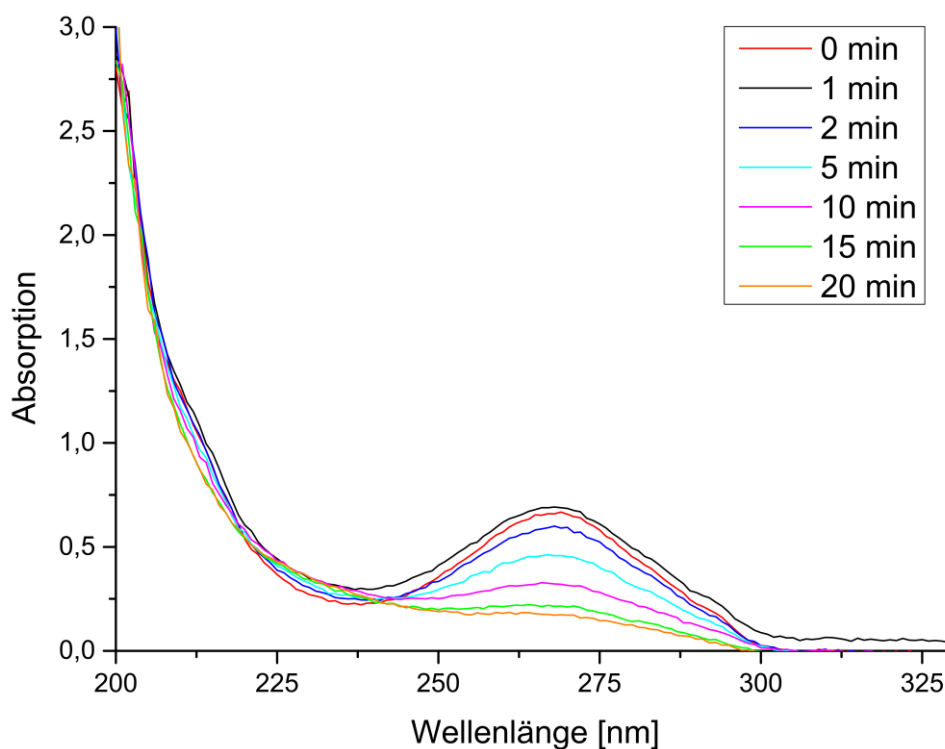


Abb. 50: UV-Absorptionsspektren des Linker-Moleküls **94** nach unterschiedlichen Bestrahlungszeiten (30 μM in Methanol).

4.1.2.3 Fazit der Syntheseroute

Es wurden zunächst die für die Synthese der Zielverbindungen benötigten drei verschiedenen Bausteine synthetisiert. Die Darstellung des Azid-modifizierten Zuckerphosphats **32**, welches

als Nucleophil für die *cycloSal*-Kupplung diente, erfolgte angelehnt an eine von *N. Lunau* entwickelte Syntheseroute.^[111] Im Rahmen der Optimierung der problematischen ersten Stufe dieser Route durch die Durchführung einer alternativen Reduktion des Lactons **33**, wurde in dieser Arbeit eine kurze und variable Synthesemethode zur effektiven Darstellung von L-Galactopyranose **L-34** entwickelt.

Neben der erfolgreichen Darstellung des *cycloSal*-Triesters **40** konnte im Rahmen dieser Arbeit ein neuartiger, Cbz-geschützter *cycloSal*-Triester **45** synthetisiert werden. Aufgrund der in diesem Fall besser geeigneten Schutzgruppen wurde für die GDP-Zucker-Synthese jedoch lediglich der Triester **40** verwendet.

Alle benötigten Linker-Bausteine konnten in guten bis sehr guten Ausbeuten als Aktivester in Form von NHS- sowie PFP-Estern ausgehend von 4-Azidbenzoesäure **86** dargestellt werden. Sowohl im Hinblick auf ihre Lagerung als auch im Rahmen der darauffolgenden Kupplungsreaktionen unter wässrigen, basischen Bedingungen haben sich die PFP-Ester als Mittel der Wahl herausgestellt.

Über die Kupplung der aktivierten Linker-Moleküle mit dem Amin-funktionalisierten GDP-Zucker **42** konnten erfolgreich die drei Zielverbindungen **26**, **28** und **30** dargestellt werden. Bei diesen Syntheseschritten haben sich die Hydrolyselabilität der NHS-Ester sowie die Löslichkeit der aktivierten Linke als Probleme herausgestellt, wodurch nicht alle vorgesehenen Zielverbindungen erhalten wurden.

Anhand des Linker-Moleküls **94** konnte mithilfe von UV-Bestrahlungsversuchen und Messungen der Absorptionseigenschaften gezeigt werden, dass der gewünschte UV-induzierte Zerfall der Arylazid-Einheit stattfindet und die Zielverbindungen wahrscheinlich für eine photoaktivierbare kovalente Verknüpfung an die humane Fucosyltransferase IX geeignet sind.

Die synthetisierten Zielverbindungen standen nun für erste Inhibitionsstudien an einer rekombinanten humanen Fucosyltransferase IX zur Verfügung.

4.1.2.4 Inhibitionsassays

Die dargestellten Verbindungen sollten nun auf ihre potentielle kompetitive Hemmung der humanen Fucosyltransferase IX untersucht werden. Aus organisatorischen Gründen konnte diese Assays ausschließlich mit den Verbindungen **26** und **30** durchgeführt werden.

Die Inhibitionsassays wurden von *S. Albers* aus der Arbeitsgruppe von *Prof. Z. Ignatova* nach einem von *K. Seelhorst* aus der Arbeitsgruppe von *Prof. U. Hahn* entwickelten Durchführungsprotokoll an der Universität Hamburg durchgeführt.^[186] Daher wird hier nur kurz auf die Assay-Bedingungen und die genaue Durchführung eingegangen und vielmehr die erhaltenen Ergebnisse diskutiert.

Die Aktivitätsanalyse der hier verwendeten rekombinanten hFucT IX wurde unter Verwendung von radioaktiv markierter GDP-Fucose und der natürlichen GDP-Fucose als Donor- und *N*-Acetyllactosamin als Akzeptor-Substrat sowie in Gegenwart eines der potentiellen Inhibitoren durchgeführt. Die Messungen wurden für verschiedene Inhibitorkonzentrationen von 0 μM bis 400 μM durchgeführt. Die Auswertung erfolgte über die Bestimmung der Menge des radioaktiv markierten Trisaccharids als Produkt der enzymatischen Reaktion mittels eines Flüssigszintillationszählers mit Rückschluss auf die inhibitorische Wirkung von **26** und **30**.

In Abb. 51 und Abb. 52 sind die beiden linear dargestellten Konzentrations-Inhibitionskurven für die beiden Verbindungen **26** und **30** dargestellt. Beide Verbindungen zeigen eine deutliche inhibitorische Wirkung gegenüber einer rekombinanten hFucT IX. Aus der angepassten Inhibitionskurve konnte für **26** eine mittlere inhibitorische Konzentration (IC_{50}) von 45 μM erhalten werden. Für Verbindung **30** ergab sich hingegen ein IC_{50} -Wert von 11 μM .

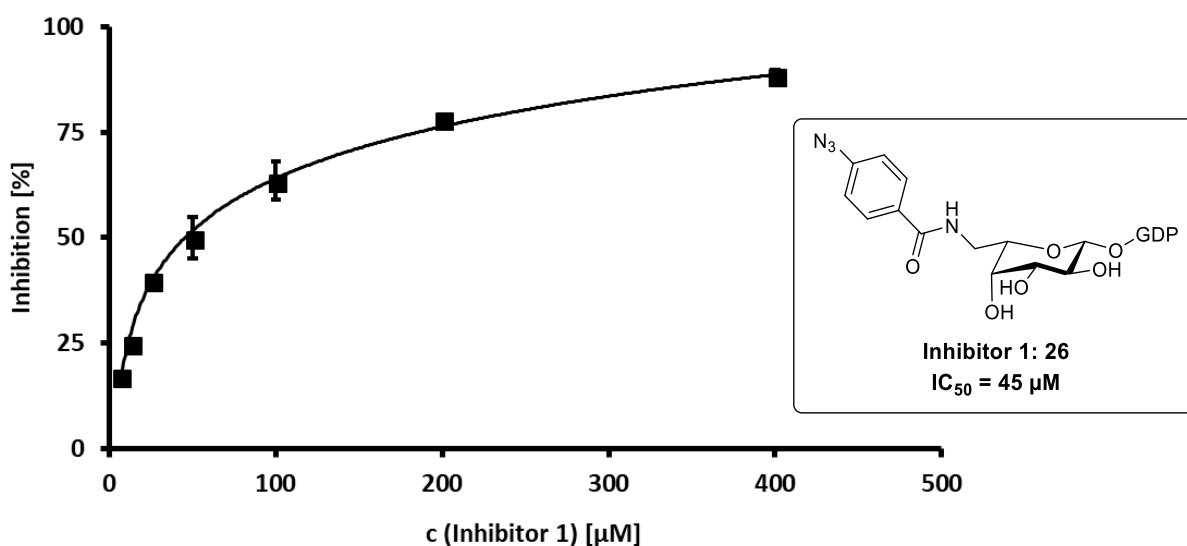


Abb. 51: Konzentrations-Inhibitionskurve für Guanosindiphosphat-6-(4-azidbenzoylamino)-6-desoxy- β -L-Galactose **26**.

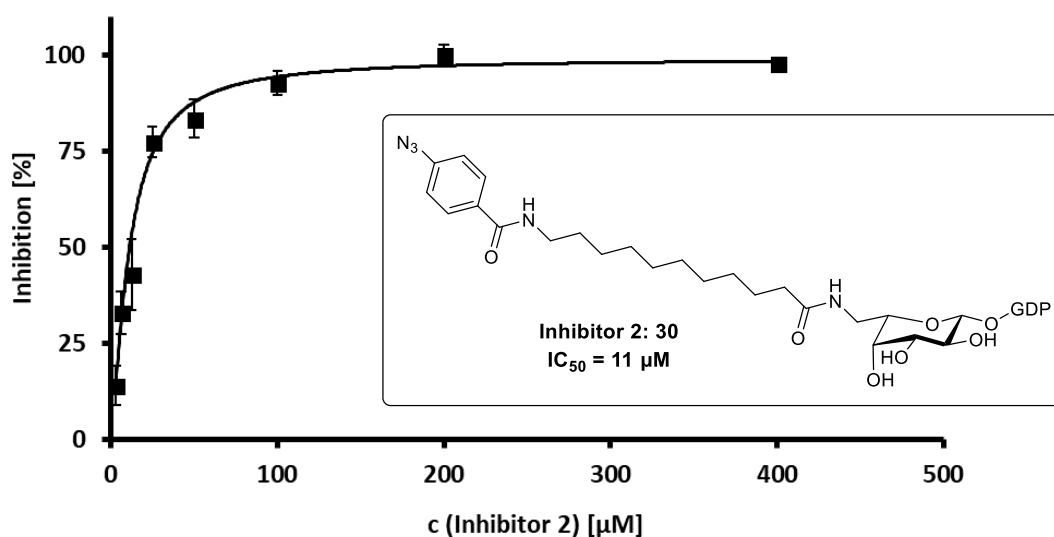


Abb. 52: Konzentrations-Inhibitionskurve für Guanosindiphosphat-6-(11-(4-azidbenzoylamino)-undecanoylamino-6-desoxy- β -L-Galactose **30**.

Von den bereits bekannten FucT-Inhibitoren haben die wenigsten Strukturen Inhibitionskonstanten unterhalb des niedrigen mikromolaren Bereiches.^[48] Der einzige bisher bekannte FucT-Inhibitor, der im nanomolaren Bereich inhibiert, wurde von *Lee et al.* in einer mittels „Click-Chemie“ dargestellten Verbindungsbibliothek gefunden.^[100] Fucosyltransferasen besitzen relative geringe Bindungsaffinitäten im mikro- bis millimolaren Bereich gegenüber ihren Substraten. Berücksichtigt man dies, handelt es sich bei den Verbindungen **26** und **30** um gute bis sehr gute FucT-Inhibitoren.

Neben den IC_{50} -Werten diverser Triazol-modifizierter GDP-Fucose-Analoga, die alle nicht kleiner als 134 μ M waren, sind aus früheren Kooperationen mit *K. Seelhorst* inhibitorische Daten für die kleinen Moleküle GDP, GTP und Desoxyguanosindiphosphat (dGDP) sowie für Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose **42** bekannt (Tab. 4).^[186]

Tab. 4: IC_{50} - und K_i -Werte ausgewählter hFucT IX Inhibitoren.

Verbindung	IC_{50} [μ M]	K_i [μ M]
GDP	59	77.9 ± 8.14
GTP	94	80.7 ± 30.7
dGDP	49	50.3 ± 10.5
42	104	102 ± 17.3

Während **26** mit 45 μM eine vergleichbare Inhibition wie GDP und dGDP zeigt, ist **30** mit 11 μM ein deutlich potenterer Inhibitor. Zukünftige Untersuchungen dieser Inhibitoren könnten zeigen, ob Unterschiede in der inhibitorischen Wirkung gegenüber verschiedenen FucTs bestehen.

Das Fazit dieser Untersuchungen ist, dass beide Verbindungen eine rekombinante Form der hFucTX zu inhibieren vermögen. Dass die Zielverbindung **30** mit dem längsten Arylazid-Linker das Enzym am stärksten inhibiert, spricht dafür, dass die natürliche GDP-Fucose-Grundstruktur wahrscheinlich das aktive Zentrum belegt und von der langen Kette nicht gestört wird. Eine Verifizierung dieser Annahme könnte in Zukunft NMR-spektroskopisch untersucht werden. So bietet z.B. die STD-NMR-Spektroskopie die Möglichkeit neben einer zusätzlichen Bestimmung von kinetischen Parametern des Bindungsprozesses ebenso das Bindungsepitop des getesteten Liganden zu bestimmen.^[187] Auf diese Weise könnte mit einer wesentlich höheren Sicherheit behauptet werden, dass es sich um eine kompetitive Hemmung handelt und keine z.B. allosterischen Effekte für einen möglichen Aktivitätsverlust des Enzyms verantwortlich sind. Die lange Alkylkette kann, ob in gestreckter oder geknäulter Form, vor allem über hydrophobe Wechselwirkungen die Bindung zum Enzym stärken. Es besteht die Möglichkeit, dass die lange Kette, wie es das erhaltene Homologie-Modelling vermuten ließ, aus dem aktiven Zentrum herausragen und die Peripherie des Enzyms für eine kovalente Bindung außerhalb des aktiven Zentrums erreichen kann.

Neben der hier antizipierten Funktion als photoaktivierbare irreversible Inhibitoren können diese Strukturen ebenfalls als Ausgangspunkt für die Entwicklung von potenten kompetitiven Inhibitoren für die hFucT IX oder auch anderer Fucosyltransferase eingesetzt werden.

4.1.2.5 Analytisches Konzept zur Untersuchung einer photoaktivierbaren kovalenten Enzym-Substrat-Bindung

Bei den dargestellten Arylazid-modifizierten GDP-Fucose-Analoga **26**, **28** und **30** handelt es sich um potentielle photoaktivierbare irreversible Inhibitoren der hFucT IX. Im Hinblick auf eine Anwendung dieser Verbindung zur Untersuchung dieser Fucosyltransferase soll hier ein mögliches analytisches Konzept zur Untersuchung der kovalenten Bindungseigenschaften dieser Strukturen vorgestellt werden.

Das Ziel der Untersuchung soll die Bestätigung einer kovalenten Bindung der synthetisierten Arylazid-haltigen Verbindungen nach einer Photoaktivierung mittels UV-Licht an die humane Fucosyltransferase IX sowie eine Untersuchung der Effizienz dieser Bindung sein. Darüber hinaus ist eine Identifikation der in diese unspezifische Bindung involvierten Aminosäure-Reste des Enzyms wünschenswert. Nach einer Inkubation der Proteinlösung mit einem der

potentiellen Inhibitoren soll nach einer geeigneten Inkubationszeit eine Bestrahlung der Reaktionslösung mit UV-Licht einer Wellenlänge von 254 bis 400 nm erfolgen (Abb. 53). Für eine Optimierung der Bestrahlungszeit lässt sich der aus den durchgeführten Zerfallsversuchen ermittelte Wert von 15 min als Startwert heranziehen. Weitere variable Parameter, die im Hinblick auf die Bindungseffizienz optimiert werden können, sind die Wellenlänge des verwendeten UV-Lichts, die Inhibitor-Konzentration sowie die Temperatur. Nach einer solchen Inkubation und Bestrahlung soll eine Analyse des potentiell kovalent markierten Proteins erfolgen. Dies soll einerseits massenspektrometrisch über zwei grundlegend unterschiedliche Ansätze erprobt werden. Eine erste Möglichkeit ist eine massenspektrometrische Analyse des intakten Proteins mittels LC-ESI-MS oder MALDI-TOF. Andererseits kann zunächst ein proteolytischer Verdau mittels Trypsin des bestrahlten Enzyms durchgeführt werden und eine Analyse der erhaltenen Peptide mittels LC-ESI-MS oder MALDI-TOF erst im Nachhinein erfolgen. In beiden Varianten wäre das Ziel die Detektion geeigneter Massenshifts, die der Masse des getesteten Inhibitors entsprechen und somit eine entsprechende kovalente Bindung bestätigen würden.

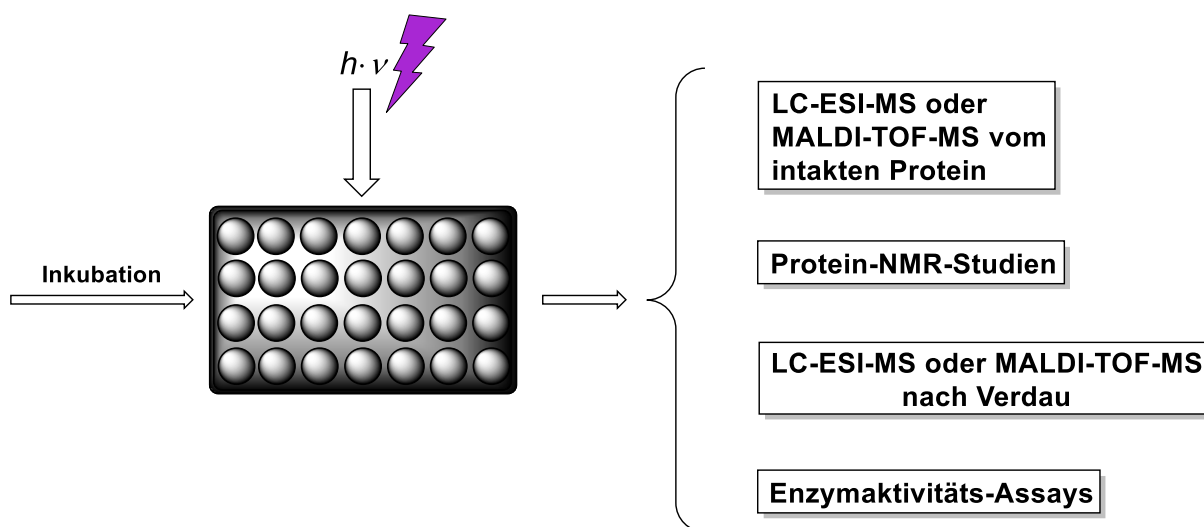


Abb. 53: Schematische Darstellung des vorgeschlagenen analytischen Konzepts zur Untersuchung der Bindungseigenschaften photoaktivierbarer Inhibitoren.

Eine erfolgreiche massenspektrometrische Analyse des intakten Enzyms bzw. seiner Fragmente nach einem tryptischen Verdau ist hierbei eine wichtige Voraussetzung. Dies bezüglich wurden bereits erste Untersuchungen zur LC-ESI-MS-Messung der gesamten hier verwendeten rekombinanten hFucT IX von *M. Bärenfänger* aus der Arbeitsgruppe von *Prof. B. Meyer* an der Universität Hamburg durchgeführt. Neben einer Korrektur der bisher angenommenen Masse von 41 kDa^[188] um ca. 4 kDa (gemessener Wert: 44.8 kDa) war die wichtigste Erkenntnis, dass die Glycosylierung der hFucT IX an den drei potentiellen

Glycosylierungsstellen zu einer sehr breiten Verteilung der Masse des Enzyms mit entsprechend geringer Auflösung führt. Hierdurch wird eine Identifizierung des gewünschten Massenzuwachses durch die kovalente Bindung des Inhibitors erschwert. Unter Beachtung dieser ersten Ergebnisse ist eine Fokussierung auf die zweite vorgeschlagene massenspektrometrische Analysenmethode sinnvoll, da hierbei Peptide mit kleineren Massen detektiert werden und des Weiteren eine Aussage über die Position der kovalenten Bindung der Arylazid-Verbindungen zum Protein getroffen werden kann.

Unter der Verwendung eines geeigneten Lösungsmittels wie Deuteriumoxid und geeigneter Messbedingungen könnte die NMR-Spektroskopie als Methode zur Quantifizierung der nicht kovalenten Ligand-Protein-Interaktionen herangezogen werden. Schließlich soll mittels enzymatischer Aktivitätsassays ermittelt werden, ob die UV-Bestrahlung dieser Versuche einen Einfluss auf die Aktivität der hFucT IX haben.

4.2 Darstellung eines C-1-Phosphonat-Analogons von GDP-Fucose

Glycosyltransferasen übertragen aktivierte Monosaccharide (meistens in Form von NDP-Zuckern) auf eine freie OH-Gruppe geeigneter Akzeptor-Moleküle unter Bildung von Oligosacchariden. Diese besitzen in Organismen eine Vielzahl von Aufgaben und können wie im Fall der finalen Fucosylierung durch Fucosyltransferasen auch eine pathogene Relevanz haben. Eine kompetitive Inhibition von Fucosyltransferasen durch Donor-Mimetika ist dabei von besonderem Interesse im Hinblick auf die Untersuchung der Rolle solcher Glycane.^[189] Ein bekannter Ansatz ist die Darstellung von Derivaten der entsprechenden Donor-Substrate, die einen Glycosyltransfer durch das Enzym nicht zulassen. Hierfür stellen sogenannte C-1-Phosphonat-Analoga eine beliebte Substanzklasse dar^[189,190] Im Vergleich zu den natürlichen O-Glycosiden sollten solche Analoga durch die Einführung z.B. einer Methylengruppe anstelle der O-glycosidische Bindung eine höhere Stabilität gegenüber säure- und enzym-katalysierter Hydrolyse aufweisen.^[108]

Für die Synthese von Guanosindiphosphat-C- β -L-Arabinose **24**, einem C-1-Phosphonat-Analogon von GDP- β -L-Fucose **25** mit fehlender Methylgruppe an der C-5-Position, sollte ebenfalls auf die in dieser Arbeitsgruppe entwickelte und etablierte *cycloSal*-Methode zurückgegriffen werden.^[12] Während die Darstellung des *cycloSal*-Triesters **40** durch Umsetzung von 5-Nitro-*cycloSal*-chlorphosphit **59** und dem selektiv acetylierten Guanosin **47** bereits ausführlich erprobt und optimiert wurde, sollte ein zentraler Punkt der gesamten Synthese die Entwicklung einer Syntheseroute zur Darstellung geeigneter C-1-Phosphonat-Analoga sein, die als Nucleophile in den entsprechenden *cycloSal*-Kupplungen eingesetzt

werden sollten. Die Konfiguration der vier Stereozentren des gewünschten C-1-Phosphonat-Analogons von L-Fucose **102** sollten dabei identisch sein mit den entsprechenden Konfigurationen von L-Fucose **103** als β -Anomer. Abb. 54 kann entnommen werden, dass alle Stereozentren der Glycopyranose D-Mannose **104**, bis auf das anomere C-Atom, in ihrer Konfiguration ebenso denen des C-1-Phosphonats **102** entsprechen (grün hervorgehoben). Dies wird besonders deutlich nach einer C_2 -Symmetrieoperation von D-Mannose **104**. Der Grundgedanke für die Entwicklung einer passenden Syntheseroute für die Darstellung von **102** ist, dass diese mit D-Mannose **104** starten sollte und sowohl eine Umwandlung des anomeren Zentrums zu einer Methylengruppe als auch einen Austausch der C-5-Hydroxylgruppe zum gewünschten C-Phosphonat beinhalten sollte. Diese Strategie soll die Vorteile bieten, dass es im Laufe der Synthesen zu keinem Aufbau neuer Stereozentren kommen muss und die relevanten Stereozentren der Ausgangsverbindung über die ganze Route erhalten bleiben. Des Weiteren würde im Rahmen einer solchen Route ebenso ein stereoselektiver Aufbau der benötigten C-C-Bindung an der C-1-Position der L-Arabinose nicht benötigt werden.

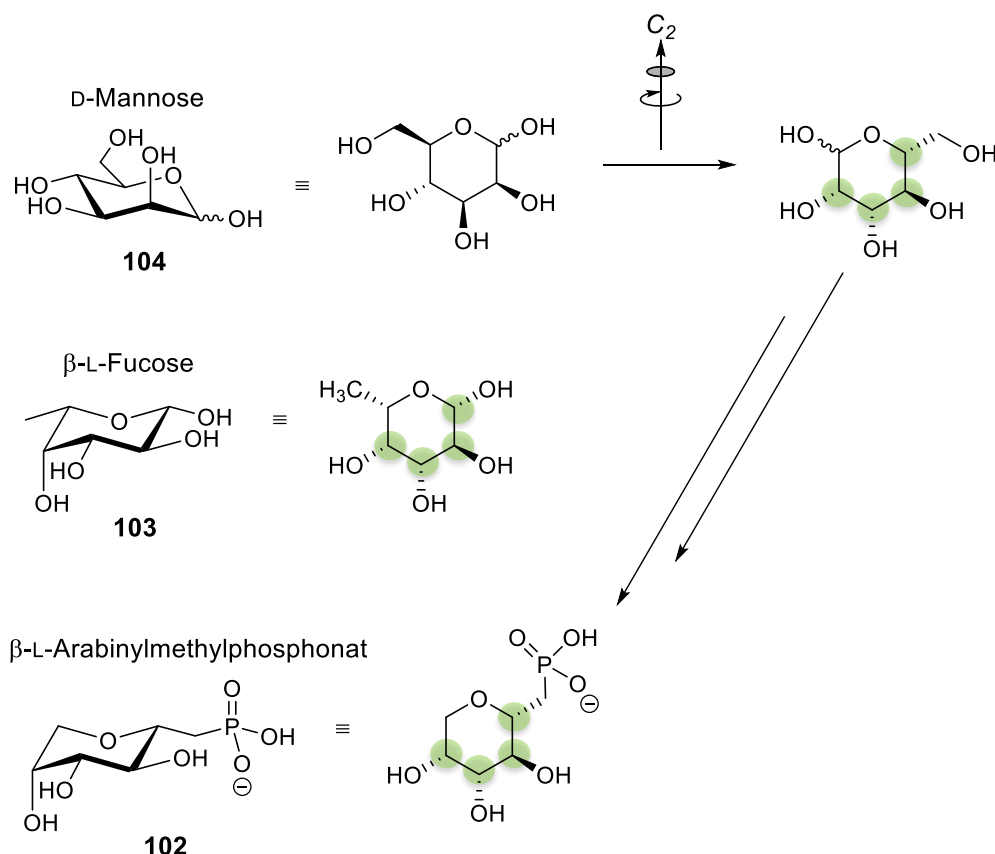


Abb. 54: Vergleich der Stereozentren von D-Mannose **104** und β -L-Fucose **103** als Ausgangspunkt für die Synthese des benötigten C-1-Phosphonats **102** (*grün*: einander entsprechende Konfigurationen beider Glycopyranosen **103** und **104**).

In Abb. 55 ist das Retrosyntheseschema zur Darstellung des gewünschten C-1-Phosphonat-Analogons **25** gezeigt. Die Zielverbindung **25** sollte durch eine Kupplungsreaktion des acetylierten C-1-Phosphonats **105** und des entsprechenden *cyclo*Sal-Triesters **40** erfolgen. Die Synthese des Guanosin-*cyclo*Sal-Triesters **40** sollte dabei erneut nach der in diesem Arbeitskreis entwickelten und etablierten *cyclo*Sal-Methode ausgehend von Guanosin **44** durchgeführt werden.

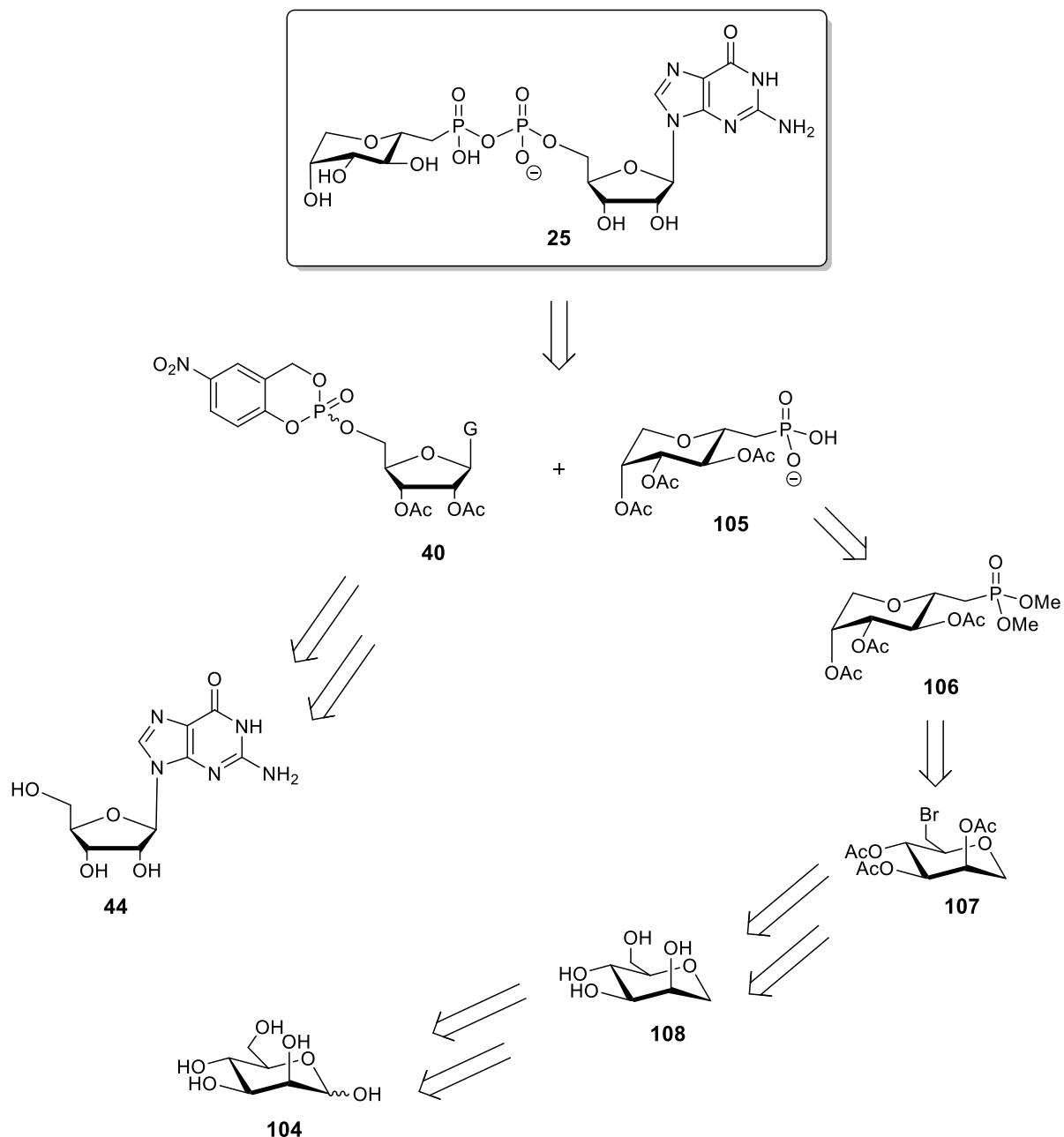


Abb. 55: Retrosyntheseschema zur Darstellung des C-1-Phosphonat-Analogons **25** von GDP- β -L-Fucose.

Die Synthese des als Nucleophil zu dienenden (2,3,4-Tri-O-acetyl- β -L-arabinosyl)methylphosphonats **105** sollte über eine Umsetzung des entsprechenden Dimethylphosphonats **106** mit einer Lewis-Säure und der darauffolgenden hydrolytischen Spaltung des Intermediats zur freien Phosphonsäure **105** erfolgen. Mittels einer Arbuzov-Reaktion sollte der Phosphonsäuredimethylester **106** aus seinem Brom-substituierten Vorläufer **107** erhalten werden. Dieser sollte wiederum über eine dreistufige Synthese, die eine Tosylierung an der C-6-Position, eine vollständige Acetylierung sowie einen Austausch der Tosylgruppe gegen einen Brom-Substituenten enthalten sollte, ausgehend von 1,5-Anhydro-D-mannitol **108** zugänglich sein. Verbindung **107** sollte mittels Deacetylierung aus 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1,5-anhydro-D-mannitol **108** erhalten werden, wobei dieses das Reaktionsprodukt einer radikalischen Dehalogenierung des entsprechenden α -Bromids **109** mit Tributylzinnhydrid sein sollte. Das hierfür benötigte α -Mannosylbromid **109** sollte, ausgehend von D-Mannopyranose **104** nach erfolgter kompletten Acetylierung unter basischen Bedingungen über die Königs-Knorr-Methode erhalten werden.

4.2.1 Synthese von β -L-Arabinosylmethylphosphonat **103** und seiner acetylierten Form **105**

Ausgehend von D-Mannose **104** sollte die Darstellung von (2,3,4-Tri-O-acetyl- β -L-arabinosyl)methylphosphonat **105** in einer 9-stufigen Syntheseroute erfolgen. Dieser Baustein sollte als Nucleophil für die folgende *cycloSal*-Kupplung mit dem acetylgeschützten Guanosin-*cycloSal*-Triester **40** dienen. Zusätzlich sollte dieses C-1-Phosphonat in seiner ungeschützten Form dargestellt werden, um ebenso eine *cycloSal*-Kupplung mit dem neuartigen Cbz-geschützten *cycloSal*-Triester **45** zu erproben.

Es wurde zunächst eine vollständige Acetylierung von D-Mannose **104** durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin durchgeführt, wobei das gewünschte Produkt in einer quantitativen Ausbeute erhalten wurde (Abb. 56). Für die darauffolgende stereoselektive Bromierung der anomeren Position von Verbindung **110** wurde auf ein Syntheseprotokoll von *Hunsen et al.* zurückgegriffen.^[191] Es erfolgte eine Umsetzung des Eduktes mit Acetylbromid und Methanol unter trockenen Bedingungen, wobei der benötigte Bromwasserstoff *in situ* erzeugt wurde. Das 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannosylbromid **109** konnte mit dieser milden und effizienten Methode in einer exzellenten quantitativen Ausbeute erhalten werden. Im Gegensatz zur klassischen Methode, bei der der peracetylierte Zucker mit einer Bromwasserstoffsäure-Lösung in Eisessig unter Lichtausschluss umgesetzt wird,^[192] liefert diese Methode höhere Ausbeuten unter gleichzeitigem Ausbleiben einer potentiellen HBr-Exposition. Glycosylbromide gelten als sehr hydrolyseempfindlich und zerfallen bei

Anwesenheit von Feuchtigkeit in das entsprechende Saccharid und Bromwasserstoffsäure, wodurch dieser Prozess zusätzlich beschleunigt wird.^[193] Aufgrund dieser Unbeständigkeit und der hohen Reinheit der Rohprodukte, wurde das dargestellte Bromid **109** ohne säulenchromatographische Reinigung zeitnah in den darauffolgenden Synthesen umgesetzt. Die Darstellung einer Methylengruppe an der anomeren Position, welche im Zielmolekül die C-5-Position repräsentieren soll, wurde mittels einer nach einem radikalischen Mechanismus verlaufenden reduktiven Dehalogenierung erreicht. Hierbei wurde AIBN als Initiator und Tributylzinnhydrid als reduktive Spezies verwendet. Die Synthese erfolgte in Anlehnung an eine von *Knudsen et al.* publizierte Synthesevorschrift, wobei in diesem Fall das Lösungsmittel Benzol gegen Toluol ausgetauscht wurde.^[194] Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das dehalogenierte Mannitol-Derivat **111** in einer Ausbeute von 64% erhalten werden (Abb. 56). Die publizierte Ausbeute von nahezu 90% für ein Phenol-Derivat als Edukt konnte hier jedoch nicht reproduziert werden. Ein möglicher Grund könnte die abweichende Eduktstoffklasse sein.

Die darauffolgende vollständige Deacetylierung von **111** wurde unter *Zemplén*-Bedingungen durchgeführt.^[153] Nach einer säulenchromatographischen Reinigung konnte 1,5-Anhydro-D-mannitol **108** in einer sehr guten Ausbeute von 97% erhalten werden.

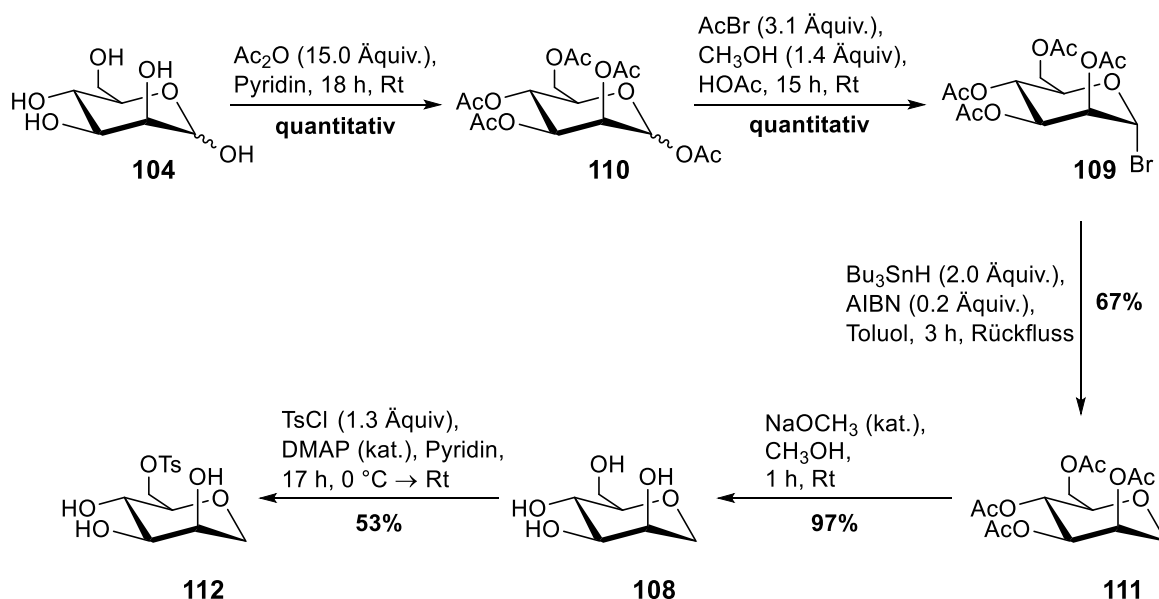


Abb. 56: Darstellung von 6-*O*-*para*-Toluolsulfonyl-1,5-anhydro-D-mannitol **112** ausgehend von D-Mannose **104**.

1,5-Anhydro-D-mannitol **108** sollte nun regioselektiv an der primären Hydroxylgruppe tosyliert werden. Dieses wurde hierzu mit Tosylchlorid in der Gegenwart einer katalytischen Menge DMAP in Pyridin nach einer Synthesevorschrift von *La Ferla et al.* umgesetzt (Abb. 57).^[195] In mehreren Ansätzen konnte hier dünnschichtchromatographisch kein vollständiger Umsatz

beobachtet werden und ab einer Reaktionszeit von etwa 15 h konnte kein weiterer Fortschritt der Reaktion festgestellt werden. In allen Ansätzen konnte nach einer säulenchromatographischen Reinigung lediglich eine moderate Ausbeute von ca. 50% erhalten werden. Eine zuvor getestete Vorschrift nach *Witczak et al.*, die sich durch das Weglassen von DMAP unterschied,^[196] brachte Ausbeuten, die etwas kleiner waren, was zeigt dass der DMAP-Zusatz nur einen geringen Effekt auf den Umsatz hatte. Beiden Vorschriften ist gemein, dass sie für zu **108** analoge Glucitol-Derivate publiziert sind und Ausbeuten von bis zu 85% angeben.^[195,196] Womöglich sind sterische Effekte ein Grund für den ausbleibenden vollständigen Umsatz, da der einzige Unterschied zum publizierten Substrat in der axialen Stellung der Hydroxylgruppe an der C-2-Position im hier eingesetzten 1,5-Anhydro-D-mannitol **108** liegt. Für eine zukünftig mögliche Optimierung der Ausbeute könnten noch weitere, alternative Möglichkeiten zur Einführung einer Tosylgruppe an einer primären Hydroxylgruppe herangezogen werden. So wurde z.B. von *Gerspacher et al.* eine Tosylierungsreaktion mit *N*-Methyltosylimidazol Triflat in Gegenwart von *N*-Methylimidazol publiziert.^[197] Allerdings konnte hier bei mehreren freien OH-Gruppen zu einem gewissen Grad auch eine Mehrfachtosylierung beobachtet werden. Nach *Hartung et al.* kann für eine Tosylierung mit *p*-Toluolsulfonylchlorid auch 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO) als Base eingesetzt werden, was eine weitere Alternative darstellt.^[198]

Im Hinblick auf die Möglichkeit einer *cycloSal*-Kupplung unter Verwendung des neuartigen Cbz-geschützten *cycloSal*-Triesters **45**, sollte das tosylierte Derivat **112** zunächst einer Benzyl-Schätzung unterzogen werden, um nach erfolgter Phosphonat-Synthese und hydrogenolytischer Abspaltung das ungeschützte Phosphonat zu liefern. Benzyl-Gruppen sind zudem bei der Synthese von C-1-Phosphonat-Analoga von Kohlenhydraten die gebräuchlichsten Schutzgruppen.^[101,103]

Zuerst wurde die Einführung der Benzylgruppen nach einer Standardmethode erprobt (Abb. 57).^[199] Hierzu wurde das Tosylat **112** zur Deprotonierung der OH-Gruppen mit Natriumhydrid in DMF umgesetzt. Im Anschluss erfolgte zur Bildung der Benzylether eine Reaktion mit Benzylbromid. Dünnschichtchromatographisch konnte nach 16 h ein vollständiger Umsatz des Eduktes beobachtet werden. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Produkt jedoch nicht erhalten werden.

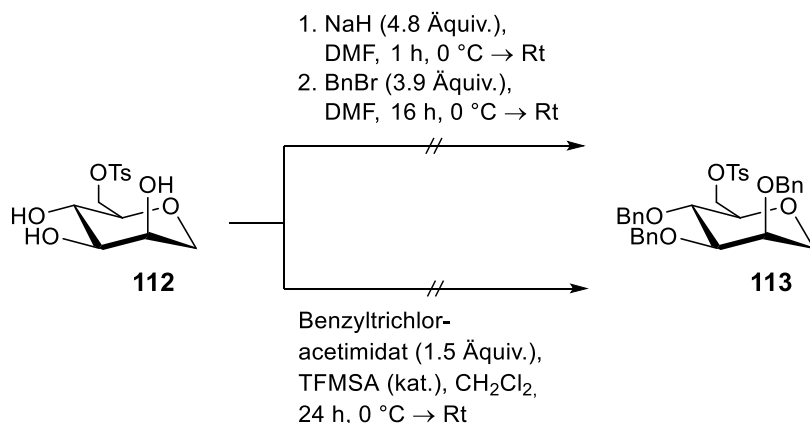


Abb. 57: Versuch der Synthese von 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-O-*para*-toluolsulfonyl-1,5-anhydro-D-mannitol **113**.

Es konnte stattdessen ein Produktgemisch isoliert werden, dessen massenspektrometrische Untersuchung auf ein Gemisch der in Abb. 58 dargestellten Olefine hindeutet.

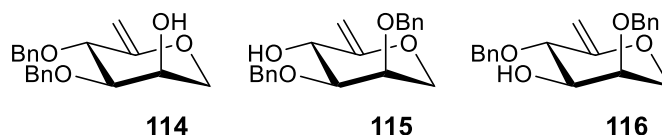


Abb. 58: Mögliche Nebenprodukte beim Versuch der Darstellung von **113**.

Abb. 59 zeigt das erhaltene ESI-MS-Spektrum und die den vorgeschlagenen Nebenprodukten **114-116** entsprechende gemessene Masse. Durch die stark basischen Bedingungen im ersten Reaktionsschritt kam es wahrscheinlich zu einer Eliminierung der Tosylgruppe unter Bildung einer exocyclischen Doppelbindung, wobei die restlichen OH-Gruppen vermutlich zwei Mal benzyliert wurden. Auch NMR-spektroskopisch konnte sowohl die Anwesenheit von Benzylgruppen als auch olefinischer Protonen gezeigt werden. Da ein Produktgemisch eluiert wurde, konnte hier NMR-spektroskopisch keine eindeutige Strukturermittlung erfolgen.

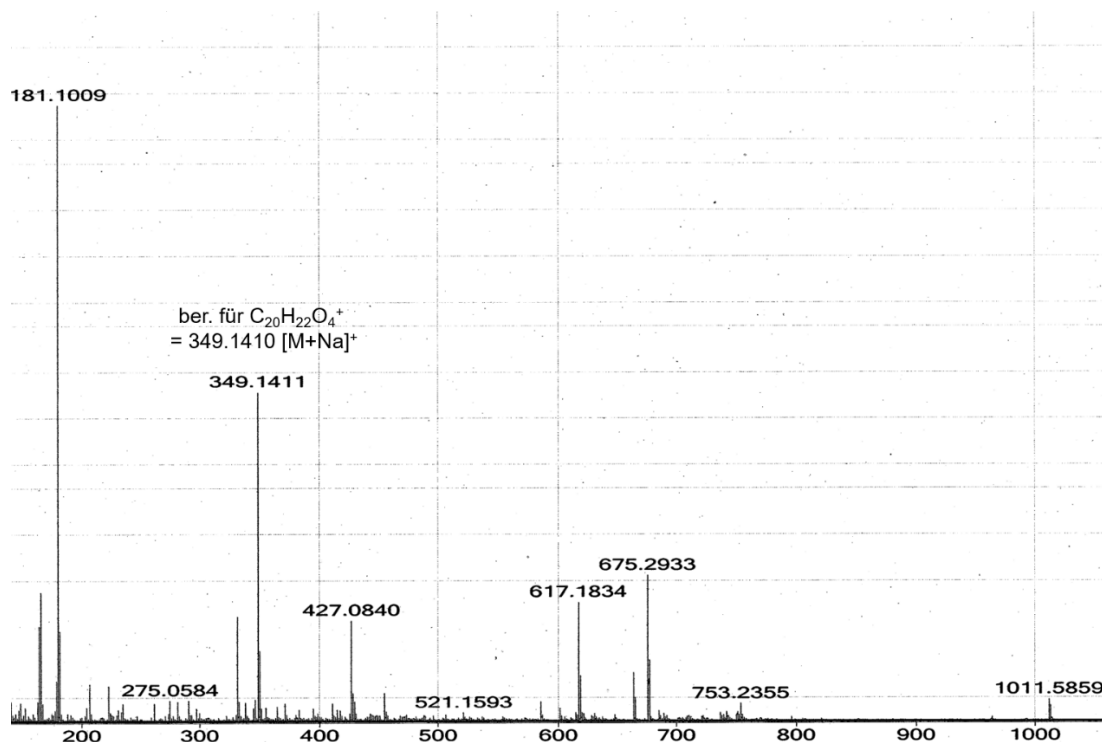


Abb. 59: HR-ESI⁺-MS-Spektrum des erhaltenen Nebenproduktgemisches beim Versuch der Benzylierung von **112**.

Aufgrund der stark unterschiedlichen pKs-Werte der OH-Gruppen und der C-H-Bindung an der C-5-Position kann angenommen werden, dass die Deprotonierung der OH-Gruppen zuerst erfolgen sollte. Aus diesem Grund wäre eine Reduktion der verwendeten Menge an Natriumhydrid auf 3.0 Äquivalente eine Möglichkeit zur Optimierung der Reaktion. Allerdings sollte beachtet werden, dass die axiale Stellung der OH-Gruppe an der C-2-Position und die damit verbundene sterische Hinderung durch die Nähe der räumlich anspruchsvollen Tosylgruppe eine Deprotonierung an dieser Position verlangsamen könnte. Im Vergleich hierzu wäre das H-Atom an der C-5-Position durch seine axiale Stellung leichter zugänglich und mit einer entsprechenden Konformation der Tosylgruppe für eine E2-Eliminierung prädestiniert.

Es wurde folglich eine Methode ausgewählt, die in dieser Arbeit bereits zur Benzylschätzung des Lactons **33** unter leicht sauren Bedingungen erprobt wurde. Es wurde hierzu eine von *Eckenberg et al.* für diese Zwecke publizierte Prozedur verwendet.^[200] Die Umsetzung des Tosylats erfolgte in Dichlormethan mit Benzyltrichloracetimidat in der Gegenwart von Trifluormethansulfonsäure. Dünnschichtchromatographisch konnte hier jedoch keine eindeutige Umsetzung des Eduktes **112** beobachtet werden. Da auch hier, ähnlich wie bei der Benzylierung des Lactons **33**, die Reaktionslösung trüb war, löste sich wahrscheinlich nur ein geringer Teil des Eduktes **112** in Dichlormethan. Nach einer durchgeführten

säulenchromatographischen Reinigung konnte das gewünschte Produkt nicht erhalten werden.

Ausgehend vom Tosylat **112** sollten anschließend gemäß der geplanten Syntheseroute die drei OH-Gruppen acetyliert werden. Vor der Durchführung dieser und der restlichen Stufen bis zum Phosphonat **105** erfolgte jedoch eine Erprobung und ggf. Optimierung der Reaktionsbedingungen mit dem zur Verfügung gestellten Testsubstrat 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-*para*-toluolsulfonyl- β -D-glucoopyranose **117** (Abb. 60).

In einer mikrowellenunterstützten S_N2 -Reaktion erfolgte zunächst der Austausch der Tosylgruppe an der C-6-Position von **117** gegen ein Brom-Atom. Die Umsetzung erfolgte nach einem Syntheseprotokoll von *Kong et al.* mit Lithiumbromid in DMF,^[201] wobei bereits nach einer Reaktionszeit von einer Stunde ein kompletter Umsatz des Eduktes **117** beobachtet werden konnte. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung konnte das gewünschte Derivat **118** in einer exzellenten quantitativen Ausbeute erhalten werden.

Alkylhalogenide stellen wichtige Vorläufer für die Arbuzov-Reaktion zur Darstellung von C-Phosphonaten dar. Bei der Umsetzung mit einem Trialkylphosphit (i. d. R. Triethyl- und Trimethylphosphit) kommt es dabei im ersten Reaktionsschritt zu einem nucleophilen Angriff des Phosphor-Atoms auf das elektrophile C-Atom des Alkylhalogenids gefolgt von einer Dealkylierung des resultierenden Trialkoxyphosphoniumsalzes durch das entstandene Halogenid-Ion.^[202] Da diese Reaktionen in dem entsprechenden Trialkylphosphit als Lösungsmittel und unter Rückfluss erfolgen, wurden aufgrund des niedrigeren Siedepunktes und der etwas einfacheren Entfernung im Ölpumpenvakuum diese Reaktionen mit Trimethylphosphit ($P(OCH_3)_3$) durchgeführt.

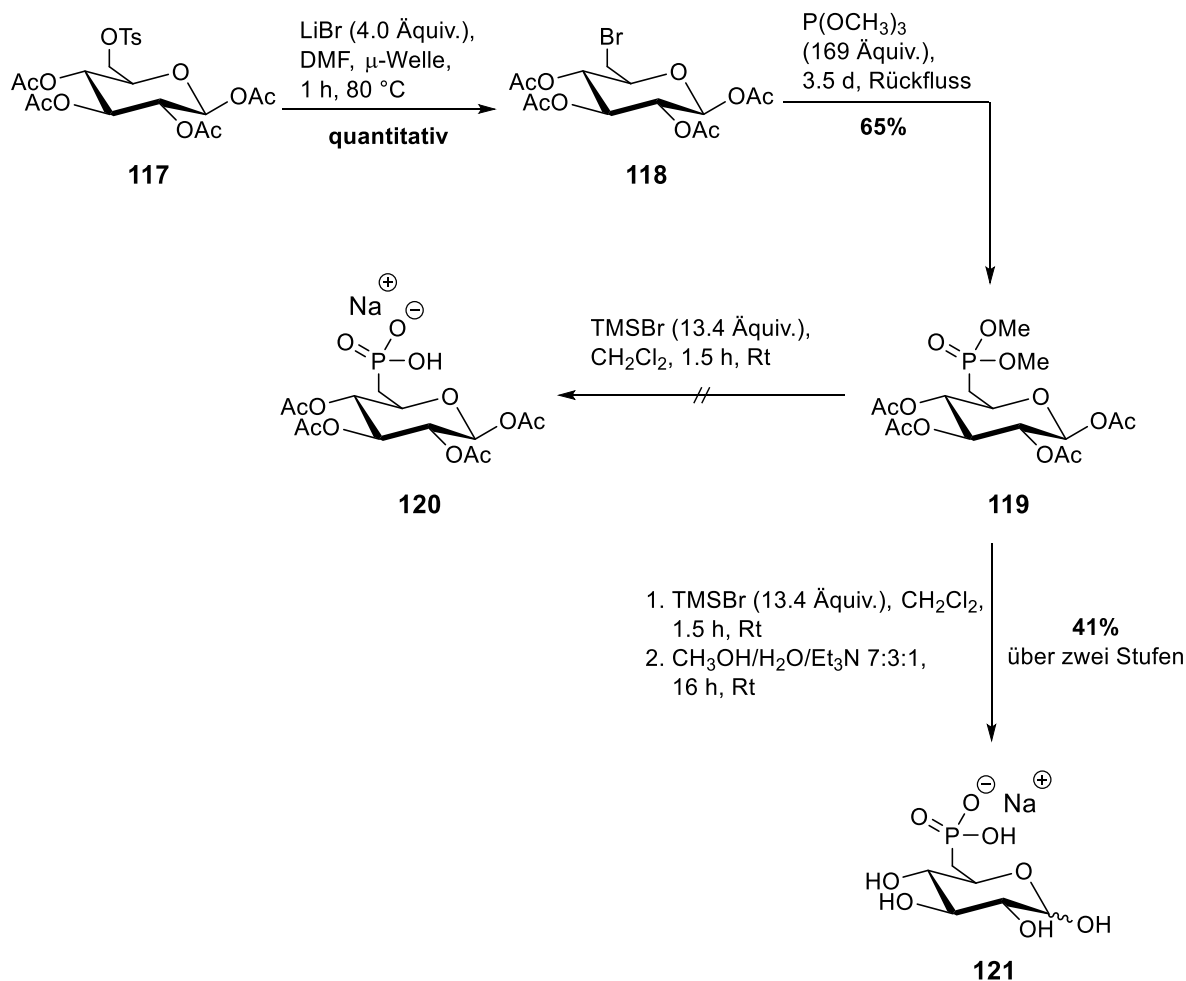


Abb. 60: Synthese von 6-Desoxy-β-D-glucopyranosyl-6-phosphonat **121**.

Nach einer Vorschrift von *Garneau et al.*, in der ebenfalls C-1-Phosphonat-Synthesen mit acetylgeschützten Derivaten erfolgten, wurde das Bromid **118** in P(OCH₃)₃ und für mehrere Tage unter Rückfluss erhitzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde das gewünschte C-1-Phosphonat in einer Ausbeute von 65% β-anomerenrein erhalten. Sowohl über die im ³¹P-NMR-Spektrum detektierte chemische Verschiebung des erwarteten Singulett von 28.4 ppm als auch über die Größe der Kopplung des C-6-Atoms mit dem Phosphor-Atom im ¹³C-NMR-Spektrum (¹J_{C,P} = 145 Hz) konnte die erfolgreiche Darstellung des Phosphonats **119** belegt werden.

Um das Phosphonat als Nucleophil in einer *cycloSal*-Kupplung einsetzen zu können, ist es nötig, das zunächst dargestellte Dimethylphosphonat zu entschützen, um die entsprechende Phosphonsäure zu erhalten. Dies kann durch die Reaktion des Phosphonatediesters mit Lewis-Säuren wie z.B. Trimethylsilylhalogeniden und einer darauffolgenden Hydrolyse der intermediär gebildeten TMS-Ester-Intermediate erfolgen.^[203,204] Zu diesem Zweck wurde erneut auf das Syntheseprotokoll von *Garneau et al.* zurückgegriffen.^[203] Eine Lösung des

acetylgeschützten Phosphonats **119** in Dichlormethan wurde tropfenweise mit Trimethylsilylbromid (TMSBr) versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Dünnschichtchromatographisch konnte eine vollständige Umsetzung zu nur einem Produkt beobachtet werden. Nach erfolgter Aufarbeitung und durchgeführter Hydrolyse des Intermediates konnte nach säulenchromatographischer Reinigung das gewünschte Produkt **120** nicht erhalten werden. Es konnte jedoch ein Gemisch aus einfach und zweifach deacetylierten Formen des gewünschten Produktes isoliert werden. Eine solche Deacetylierung des Produktes, die vermutlich während des Hydrolyseschrittes stattfand, wurde von *Garneau et al.* nicht beschrieben. Ein möglicher Grund für die dennoch hier erfolgte Beobachtung könnte die Bildung von Bromwasserstoffsäure durch die Reaktion einer Restmenge an TMSBr und dem zur Hydrolyse zugesetztem Wasser sein. Zudem konnte während der Hydrolyse ein pH-Wert von etwa 1 ermittelt werden. Da laut Vorschrift eine relativ große Menge an Reagenz einzusetzen war, könnte die Trocknungszeit im Ölpumpenvakuum zur vollständigen Entfernung des TMSBr nicht ausgereicht haben. Vor allem die darauffolgende Einengung der Lösung mit gleichzeitiger Konzentrationssteigerung der Säure kann die Deacetylierung beschleunigt haben. Eine Optimierung dieses Problems wurde im Rahmen der eigentlich vorgesehenen Syntheseroute durchgeführt.

Das erhaltene Produktgemisch wurde daraufhin unter basischen Bedingungen vollständig deacetyliert und säulenchromatographisch gereinigt. Das entschützte C-Phosphonat **121** konnte als Gemisch beider Anomere in einer Ausbeute von 41% über zwei Stufen erhalten werden. Im ^{31}P -NMR-Spektrum lieferten beide Anomere jeweils ein Singulett im erwarteten Verschiebungsbereich von etwa 20 ppm. Aufgrund der fehlenden Anomerenreinheit wurde auf eine Erprobung der *cycloSal*-Kupplung mit diesem C-Phosphonat verzichtet.

Es konnten nun alle Erkenntnisse dieser Reaktionen auf die mit dem Tosyl-Derivat **112** fortlaufende Syntheseroute zur Darstellung der Verbindungen **105** und **102** angewandt werden.

In einer Ausbeute von 93% nach säulenchromatographischer Reinigung konnte die vollständige Acetylierung des Tosyl-Derivats **112** durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin erreicht werden (Abb. 61). Analog zu den durchgeführten Testreaktionen erfolgte daraufhin die Einführung des Brom-Substituenten an der C-6-Position durch Umsetzung mit Lithiumbromid in einer mikrowellenunterstützten Durchführung. Nach Aufarbeitung und Reinigung konnte die gewünschte Verbindung **123** in einer Ausbeute von 87% dargestellt werden.

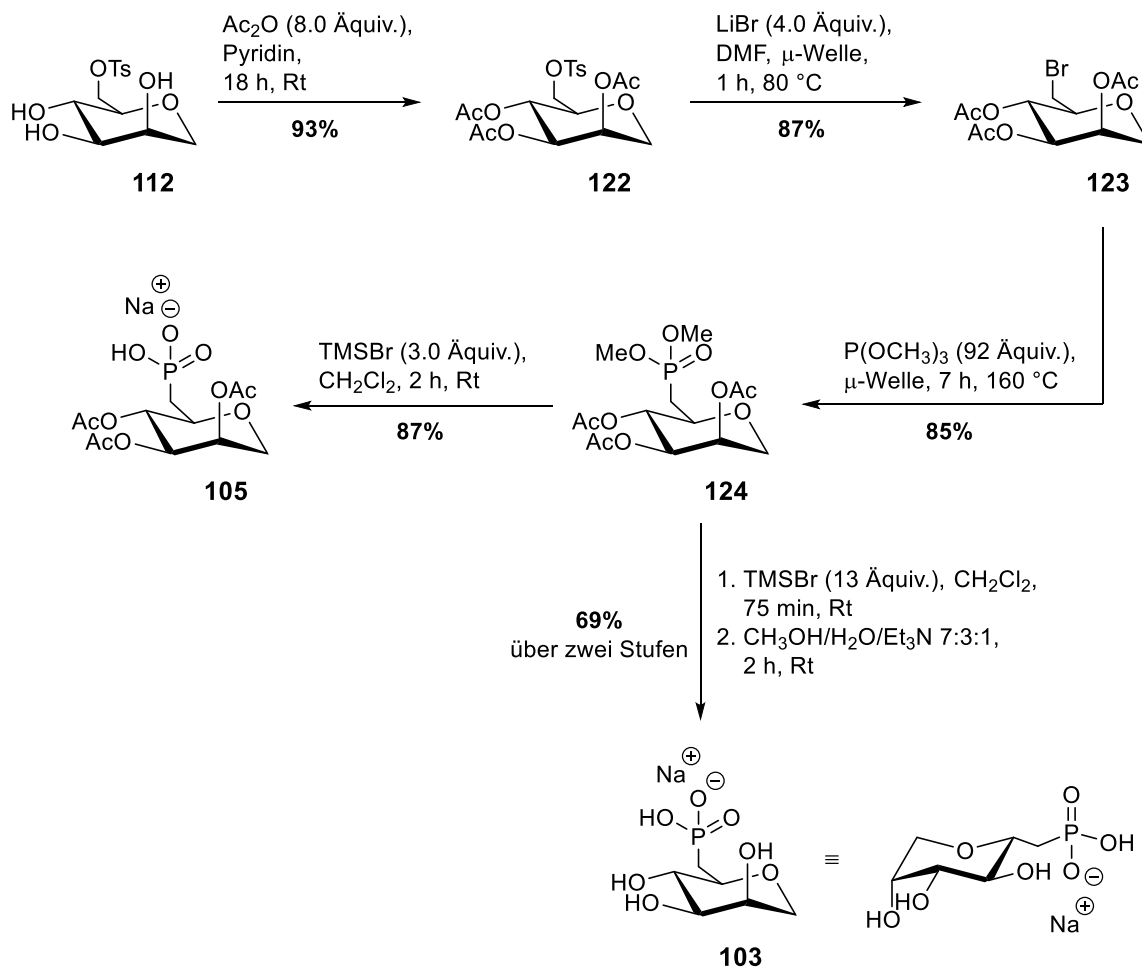


Abb. 61: Synthese von (2,3,4-Tri-O-acetyl-β-L-arabinosyl)methylphosphonat **105** und β-L-Arabinosylmethylphosphonat **102**.

Auch hier konnte das Brom-Derivat **123** als Ausgangsstoff für eine Umsetzung mit $\text{P}(\text{OCH}_3)_3$ in einer Arbuzov-Reaktion dienen, um die gewünschte P-C-Bindung des Phosphonats **124** zu generieren. Im Gegensatz zu den Testreaktionen wurde diese Phosphonat-Synthese in einer Mikrowelle durchgeführt und dadurch optimiert. Die eingesetzte Menge an Trimethylphosphit wurde um fast die Hälfte reduziert und die Reaktionszeit von 3.5 Tagen auf nur 7 h drastisch herabgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung konnte das Dimethylphosphonat **124** in einer guten Ausbeute von 85% erhalten werden. Die im ^{31}P -NMR-Spektrum detektierte chemische Verschiebung von 33.1 ppm des erwarteten Singulets war im Einklang mit der entsprechenden Testreaktion.

Aufgrund der Problematik bei der Entschützung des Dimethylphosphonats **124** im Rahmen der Testreaktionen wurde zunächst als Alternative eine von *Veleti et al.* publizierte Synthesevorschrift verwendet.^[205] Der Unterschied zur Durchführung von *Garneau et al.* bestand in einer alternativen Hydrolyse ohne zuvor die Reaktionslösung einzuengen. Jedoch konnte auch hier das gewünschte Produkt **105** nicht erhalten werden. Es konnte erneut ein

Gemisch aus einfach und zweifach deacetylierten Formen des gewünschten Produktes erhalten werden. Konsequenterweise wurde auch hier das Gemisch unter basischen Bedingungen vollständig deacetyliert und säulenchromatographisch gereinigt, wobei der C-1-Phosphonat-Baustein **103** in einer Ausbeute von 69% über zwei Stufen erhalten wurde. Schließlich erfolgte eine Anpassung der Synthesevorschrift von *Veleti et al.*,^[205] um die ungewünschte Deacetylierung zu unterbinden. Neben dem Einsatz von nur 2.5 Äquivalenten statt 13 Äquivalenten TMSBr wurde nach Ablauf der primären Reaktion des Phosphonats die Reaktionslösung gekühlt und tropfenweise mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung (8%ig) neutralisiert. Erst danach wurde zur Vervollständigung der Hydrolyse weiteres Wasser hinzugefügt. Durch diese Modifikationen konnte erfreulicherweise das gewünschte C-1-Phosphonat **105** nach einer säulenchromatographischen Reinigung in einer guten Ausbeute von 87% erhalten werden.

Ausgehend von D-Mannose **104** konnten hier erfolgreich die beiden C-1-Phosphonat-Analoga von L-Fucose **103** und **105** dargestellt werden. Da die ebenso benötigten Guanosin-*cycloSal*-Triester **40** und **45** in vorhergehenden Synthesen im Rahmen dieser Arbeit bereits erhalten wurden, standen somit nun alle vier für die *cycloSal*-Kupplungen zur Darstellung von Guanosindiphosphat-C- β -L-Arabinose **25** benötigten Bausteine zur Verfügung.

4.2.2 Versuch der Synthese von Guanosindiphosphat-C- β -L-Arabinose **25**

Die Darstellung der Zielverbindung Guanosindiphosphat-C- β -L-Arabinose **25** sollte auf zwei unterschiedlichen Wegen erprobt werden. Zunächst wurde versucht, das ungeschützte C-1-Phosphonat **103** mit dem neuartigen Cbz-geschützten Guanosin-*cycloSal*-Triester **45** in einer Kupplungsreaktion unter wasserfreien Bedingungen in einem Gemisch aus Acetonitril und DMF umzusetzen (Abb. 62). Das C-1-Phosphonat **103** wurde dabei im leichten Überschuss (1.1 Äquivalente) als Tetrabutylammonium-Salz eingesetzt, um die Löslichkeit des Eduktes zu steigern. Eine dünnschichtchromatographische Verfolgung der Reaktion erwies sich aufgrund einer starken Verteilung des Reaktionsgemisches auf der Kieselgelplatte als problematisch und war somit nicht sehr aussagekräftig. Da jedoch nach 16 h Reaktionszeit der zum Triester **45** gehörende Spot nicht mehr präsent war, wurde mit der Aufarbeitung und der sich anschließenden Abspaltung der Cbz-Schutzgruppen fortgefahren. Diese wurde als katalytische Transfer-Hydrierung unter Einsatz von 1,4-Cyclohexadiene als H₂-Quelle und Pd/C als Katalysator nach einer Vorschrift von *Cho et al.* durchgeführt.^[136] Auch hier war eine dünnschichtchromatographische Verfolgung kaum realisierbar und die Entschützung wurde nach 4 Tagen Reaktionszeit abgebrochen. Nachdem das Rohgemisch einer automatisierten Umkehrphasenchromatographie unterzogen wurde, konnte das gewünschte Produkt nicht

detektiert werden. Im ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohproduktes konnten neben diversen nicht zuzuordnenden Signalen ein dominantes Singulett bei einer chemischen Verschiebung von 20.8 ppm detektiert werden, was auf das eingesetzte C-1-Phosphonat **103** hindeutet. Da die bei der Reaktion zum Triester **45** zugetropfte Lösung des Phosphonats **103** noch etwas trüb war, liegt die Vermutung nahe, dass eine immer noch zu schlechte Löslichkeit dieser Komponente für die misslungene Kupplung verantwortlich war. In zukünftigen Optimierungsversuchen zur Steigerung der Löslichkeit könnten z.B. alternative Schutzgruppen am C-1-Phosphonat **103** erprobt werden, die mit den Abspaltbedingungen der Cbz-Gruppen konform sind.

Anschließend wurde versucht, die Zielverbindung **25** über eine Kupplung von (2,3,4-Tri-O-acetyl- β -L-arabinosyl)methylphosphonat **105** mit dem acetylgeschützten Guanosin-*cycloSal*-Triester **40** zu erhalten. Die Reaktion wurde dabei unter wasserfreien Bedingungen in DMF nach einem etablierten Syntheseprotokoll durchgeführt (Abb. 62), wobei auch hier das C-1-Phosphonat **105** in leichtem Überschuss eingesetzt wurde. Dünnschichtchromatographisch konnte nach 16 h ein vollständiger Umsatz des Triesters **40** beobachtet werden. Nach der Aufarbeitung des Rohproduktes erfolgte im Anschluss daran unter basischen Bedingungen die vollständige Deacetylierung, welche in einem Gemisch aus $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{Et}_3\text{N}$ durchgeführt wurde. Die dünnschichtchromatographische Verfolgung für diesen Schritt war nicht sehr eindeutig, sodass die Reaktion erst nach 17 h abgebrochen und aufgearbeitet wurde. Bereits im ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches war ersichtlich, dass das gewünschte Produkt wahrscheinlich nicht entstanden ist. Neben zwei nicht zuzuordnenden Singuletts, die bei einer chemischen Verschiebung von 36.1 ppm und 34.3 ppm detektiert wurden, konnte bei einer chemischen Verschiebung von 26.2 ppm ein weiteres Singulett detektiert werden, was möglicherweise auf das eingesetzte C-1-Phosphonat **103** in deacetylierter Form hinweist. Desweiteren konnten um den Bereich von 0 ppm diverse, breite Singuletts beobachtet werden. Nach einer dennoch durchgeführten automatisierten Umkehrphasenchromatographie konnte in einer der Fraktionen Guanosinmonophosphat (GMP) **125** als ein Nebenprodukt in einer Ausbeute von 28% isoliert werden. Im ^{31}P -NMR-Spektrum konnte ein Singulett bei einer chemischen Verschiebung von 0.25 ppm beobachtet werden. Diese Beobachtung zusammen mit der Erkenntnis aus dem ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches lassen nicht genau darauf schließen, ob bereits die Kupplungsreaktion nicht wie gewünscht abläuft und es stattdessen lediglich zu einer Abspaltung der *cycloSal*-Maske des Triesters **40** kommt oder ob möglicherweise die lange Reaktionszeit der Entschützung zu einer hydrolytischen Spaltung der Anhydridbindung gekommen sein könnte.

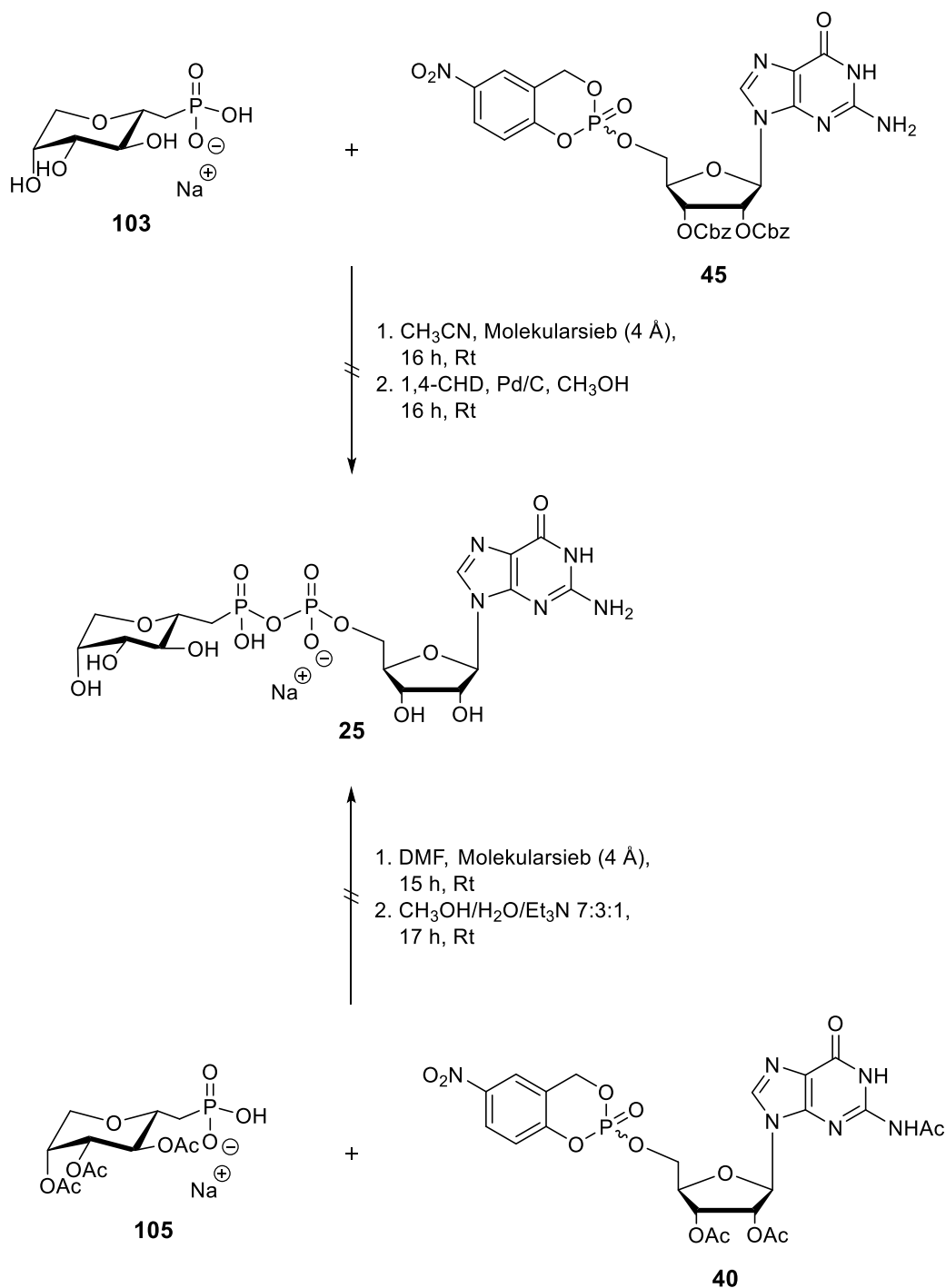


Abb. 62: Versuch der Synthese von Guanosindiphosphat-C-β-L-Arabinose **25**.

Eine mögliche Optimierungsarbeit könnte damit beginnen, eine NMR-spektroskopische Verfolgung beider Reaktionsschritte durchzuführen. Für eine Optimierung des Kupplungsschrittes könnten Parameter wie das Gegenion des eingesetzten C-1-Phosphonats **105**, das Lösungsmittel oder die Reaktionstemperatur zur Steigerung der Reaktivität variiert werden. Dass analoge Kupplungsreaktionen generell realisierbar sind, konnte von *Luengo et al.* für das entsprechende ungeschützte C-1-Phosphonat-Analogon der L-Fucose **22** in einer

7 Tage andauernden Kupplungsreaktion in Pyridin mit dem entsprechenden Guanosin-5'-monophosphomorpholidat nach der Methode von *Moffatt* und *Khorana* gezeigt werden.^[7,107,206] Dies sollte im Rahmen der hohen Variabilität der *cycloSal*-Methode ebenso realisierbar sein.

Es konnte im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich eine 10-stufige Syntheseroute zur Darstellung eines demethylierten C-1-Phosphonat-Analogons von L-Fucose **103** (β -L-Arabinosylmethylphosphonat **103**) ausgehend von der kommerziell preiswert zugänglichen Ausgangsverbindung D-Mannose **104** in einer Gesamtausbeute von 16% entwickelt werden. Die entsprechende acetylierte Form **105** wurde über 9 Stufen in einer Gesamtausbeute von 21% erhalten.

Die Kupplungsreaktion zur Darstellung von Guanosindiphosphat-C- β -L-Arabinose **25** unter Anwendung der *cycloSal*-Methode lieferte nicht das gewünschte Produkt und bedarf noch weiterer Optimierungsarbeit.

Teil II

**Synthese von TDP- β -L-Rhamnose und seinem α -Anomer
zur Untersuchung einer neuartigen bakteriellen
Glycosyltransferase**

5 Einleitung

Polyphenole stellen eine häufig vorkommende Gruppe von pflanzlichen Metaboliten dar und sind ein fester Bestandteil der menschlichen Ernährung. Zu dieser Substanzklasse werden auch die Flavonoide gezählt. Bei diesen Verbindungen handelt es sich um sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, die biosynthetisch über den Shikimisäureweg gebildet werden. Ihr chemisches Grundgerüst ist das 2-Phenylchroman **126** (Abb. 63), ein Phenylbenzopyran, von dem sich je nach Oxidationsgrad der Kohlenstoffatome C-2, C-3 und C-4 die einzelnen Flavonoid-Untergruppen ableiten.^[8,207] Die entsprechenden Kohlenstoffgerüste können zudem vielfältig hydroxyliert sein. Ihre große strukturelle Vielfalt ergibt sich zudem über unterschiedliche sekundäre Modifikationen wie z.B. Acylierung, Methylierung, Phosphorylierung, Sulfatierung oder Glycosylierung.^[8] Ein bekanntes zur Untergruppe der Flavonole zählendes Flavonoid ist das Quercetin **127**, welches vor allem in Form seiner verschiedenen Glycoside vorkommt (Abb. 63).^[9]

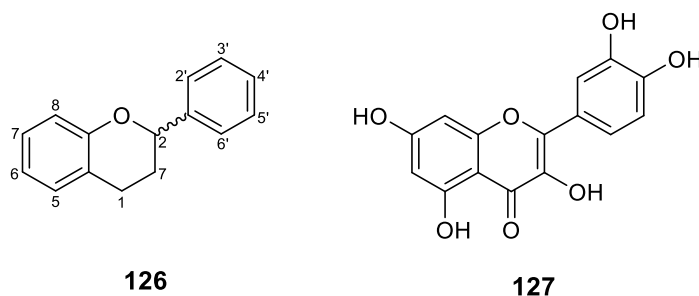


Abb. 63: Flavonoidgrundgerüst von 2-Phenylchroman **126** und die Struktur des Flavonols Quercetin **127**.

Flavonoide sind als in Obst und Gemüse natürlich vorkommende Substanzen ein Bestandteil der täglichen Ernährung des Menschen. Neben ihrer antioxidativen Wirkung und ihrer Funktion als Radikalfänger sind sie für diverse gesundheitsfördernde Effekte bekannt.^[208] Des Weiteren können Flavonoide antiallergene, antibakterielle, antivirale, antifungale, entzündungshemmende, schmerzstillende und sogar krebsvorbeugende Wirkungen haben.^[8,209,210] Aus diesem Grund besteht sowohl in der Kosmetik- und Pharmaindustrie als auch bei der Herstellung funktioneller Lebensmittel eine wachsende Nachfrage nach bestimmten Flavonoiden. Sowohl die Isolierung von Flavonoiden im Pflanzenreich aufgrund der limitierten vorkommenden Menge, als auch eine regiospezifische chemische Modifikation dieser Verbindungen durch die komplexe Struktur erweisen sich als schwierig. Aus diesem Grund besteht ein Fokus in der Erforschung von enzymatisch katalysierten Modifikationen von Flavonoiden.^[211–213]

6 Kenntnisstand

6.1 Flavonoid modifizierende Enzyme

Um die synthetischen Schwierigkeiten der chemischen Modifikation von Flavonoiden zu umgehen, besteht ein großes Forschungsinteresse an Flavonoid-modifizierenden Enzymen, welche eine regio- und stereospezifische Umsetzung dieser Verbindungen ermöglichen.^[214] Besonders attraktiv ist in dieser Hinsicht die spezifische Glycosylierung von Flavonoiden, welche mit einer starken Einflussnahme auf die Wasserlöslichkeit, Bioaktivität und Bioverfügbarkeit einhergeht.^[215,216] Die entsprechende Übertragungsreaktion wird durch spezielle Glycosyltransferasen (GTs) katalysiert, die die jeweiligen Flavonoide als Akzeptorsubstrate umsetzen und die Glycosyleinheit von einem aktivierten Donor-Molekül (meistens NDP-Zucker) stereo- und regiospezifisch übertragen. Solche GTs, die für die Glycosylierung von kleinen lipophilen Molekülen verantwortlich sind, zählen zur GT1 Familie, welche eine von mittlerweile mehr als 94 bekannten GT-Familien darstellt.^[217,218] Neben den erwähnten Donorsubstrat-Eigenschaften besitzen GTs dieser Familie stets eine GT-B-Faltung^[25] und invertieren als *Leloir*-GTs die anomere Konfiguration der übertragenden Zucker-Einheit.^[22,219]

Bis heute ist eine enorme Vielfalt an glycosylierten Flavonoiden identifiziert worden. Allein von Quercetin, welches zu den Flavonolen gehört, sind etwa 300 verschiedene Glycoside bekannt.^[220] Flavonoide dieser Untergruppe kommen in großer Menge (2-5% der Trockenmasse) im Blütenstaub vieler Pflanzenarten vor. So sind im Blütenstaub von Petunien die Hauptkomponenten der Flavonoide die 3-O-Glycoside der Flavonole Kaempferol **128** und Quercetin **127**, während im Blütenstaub des Maises mindestens 10 verschiedene Glycoside der Flavanole Quercetin **127**, Kaempferol **128** sowie Isorhamnetin **129** zu finden sind (Abb. 64).^[221] In bitteren Zitrusfrüchten wie der Grapefruit sind glycosylierte Flavanone für das Empfinden der Bitterkeit verantwortlich. Diese ist z.B. im Fall des Naringenin-7-O-glucosids von der Position der zusätzlichen Rhamnosylierung abhängig. Ist die 2-OH-Position der Glucose-Einheit rhamnosyliert, vermittelt die resultierende Verbindung Naringin **130** einen bitteren Geschmackseindruck. Erfolgt die Rhamnosylierung hingegen an der 6-OH-Position, ist das gebildete Diglycosid Narirutin **131** geschmacklos. Dabei wurde die für die 2-OH-Rhamnosylierung verantwortliche GT erst 2004 von *Frydman et al.* identifiziert, gereinigt und in ihrer Aktivität bestätigt.^[10]

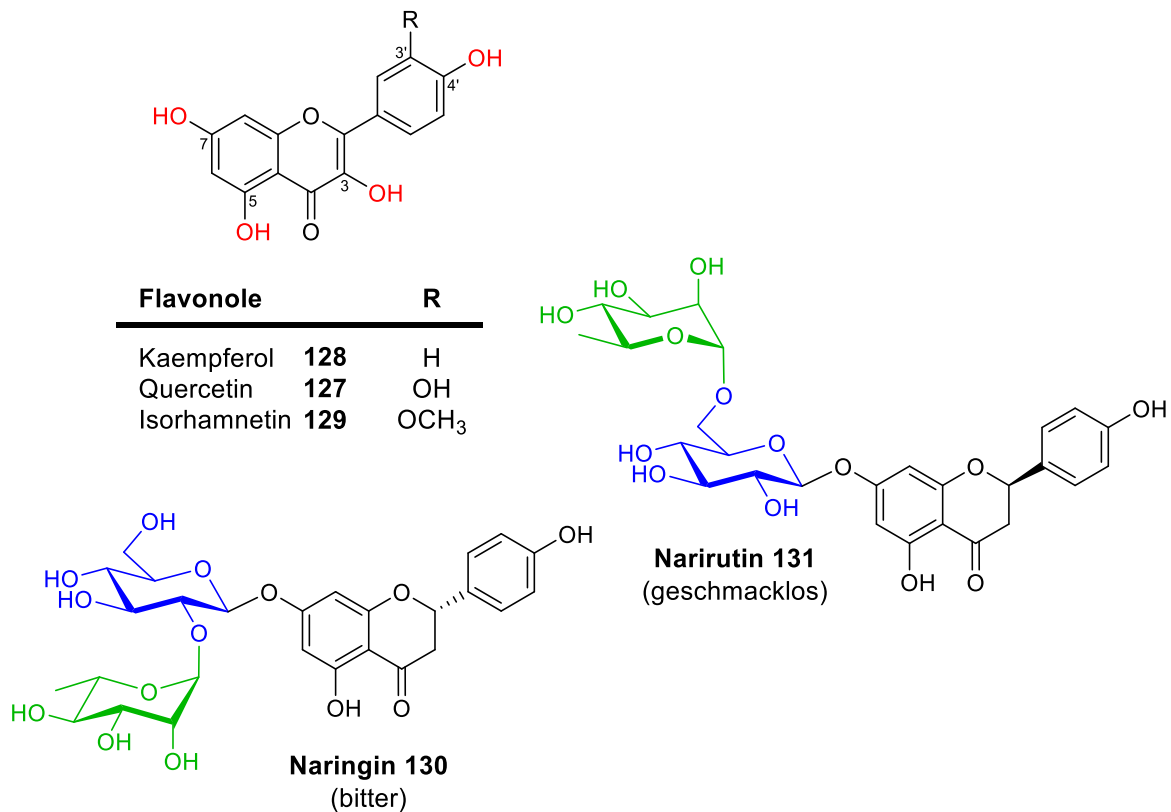


Abb. 64: Struktur einiger Flavonole mit ihren bevorzugten Glycosylierungsstellen (rot) sowie zwei bekannte glycosylierte Naringenin-Diglycoside **130** und **131** aus der Grapefruit.^[218]

Obwohl es sich bei den Flavonoiden um pflanzliche Sekundärstoffe handelt, wurde bereits Anfang der achtziger Jahre von *Rao et al.* in einem *Bacillus cereus* Stamm die Fähigkeit von Bakterien Flavonoide zu glycosylieren gezeigt.^[222] Bis heute wurden jedoch nur wenige weitere Flavonoid-modifizierende Glycosyltransferasen prokaryotischen Ursprungs identifiziert und charakterisiert. Denjenigen GTs, die aus *B. cereus*, *Xanthomonas campestris* und *Streptomyces* spp. bekannt sind, wird dabei eine Rolle in der Detoxifizierung von Xenobiotika zugeschrieben.^[223–225]

6.2 Bakterielle Glycosyltransferase C (GtfC)

Ein 2013 von *Rabausch et al.* entdecktes Beispiel für eine neuartige bakterielle GT ist die Glycosyltransferase C (GtfC, GenBank-Nummer: AGH18139). Diese wurde mithilfe eines funktionellen Screenings einer metagenomischen Bibliothek basierend auf Hochleistungs-dünnschichtchromatographie (HPTLC) entdeckt und bereits einleitend charakterisiert.^[11]

GtfC ist eine *Leloir*-Glycosyltransferase, die zur GT1 Klasse zählt und lässt sich anhand phylogenetischer Analyse dem Phylum *Bacteroidetes* zuordnen. Die GtfC umfasst 469 Aminosäuren und besitzt ein Molekulargewicht von ca. 55 kDa. In der Aminosäuresequenz

dieses Enzyms konnte durch Vergleich mit bekannten Sequenzen homologer Enzyme ein neues Bindemotiv für die Interaktion mit der Phosphatbrücke des Donorsubstrates identifiziert werden. Da dieses mit keinen der bekannten konservierten Motive korreliert, könnte die GtfC zu einer neuartigen Enzymklasse gehören. Unterstrichen wird diese Vermutung ebenfalls durch eine relativ geringe Sequenzhomologie zu bekannten Glycosyltransferasen.^[11]

Rabausch et al. haben mithilfe von Aktivitätsassays und HPLC-ESI-MS-Analysen vermutet, dass das Enzym TDP-aktivierte Glycosyl-Einheiten übertragen kann und den seltenen NDP-Zucker TDP- β -L-Rhamnose **β -132** neben anderen als Donor-Substrat nutzen könnte. Ebenfalls konnten auf diese Weise diverse Flavonoide, wie z.B. das Flavonol Quercetin **127** oder das Flavanon Naringenin **133**, als Akzeptor-Substrate dieser Glycosyltransferase identifiziert werden. Beispielsweise kann die GtfC unter Verwendung unterschiedlicher Donorsubstrate sowohl das 3-O- β -D-Glucosid (Isoquercitrin **134**) als auch das 3-O- α -L-Rhamnosid (Quercitrin **133**) von Quercetin **127** bilden (Abb. 65).^[11]

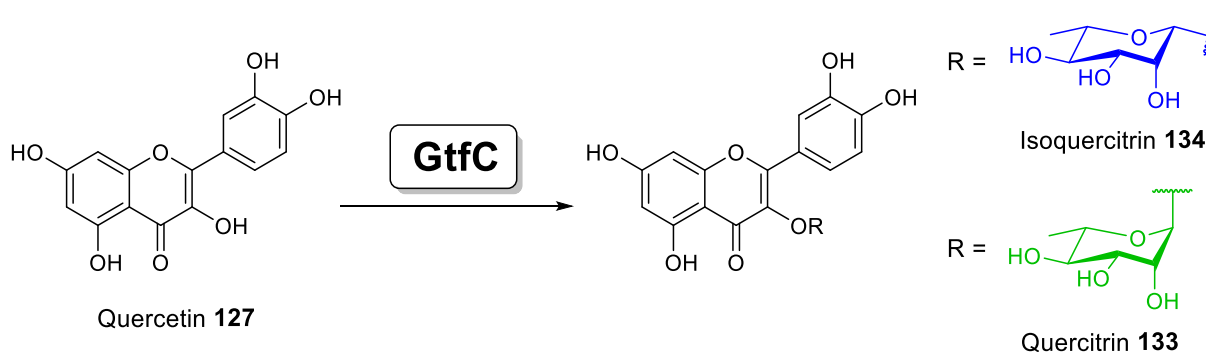


Abb. 65: Vorgeschlagener Glycosyltransfer auf die 3-OH-Position von Quercetin **127** durch die GtfC unter Bildung von Isoquercitrin **134** und Quercitrin **133**.

Eine Enzymcharakterisierung von GtfC könnte bei der enzymatischen Darstellung seltener und neuartiger Naturstoffe von großem Nutzen sein. Da für entsprechende Aktivitätsassays relativ große Mengen des vom Enzym umgesetzten Donor-Substrates benötigt werden, ist ein synthetischer Zugang sowohl zu β -Rhamnosiden als auch den entsprechenden NDP-Zuckern von großer Bedeutung. Auf beide Aspekte soll in den folgenden Abschnitten eingegangen werden.

6.3 Stereoselektive Synthese von β -Rhamnopyranosiden

6-Desoxyhexosen stellen neben 2-Desoxy-D-ribose die am häufigsten natürlich vorkommenden Desoxyzucker dar.^[226] Innerhalb dieser Klasse stellt L-Rhamnose **L-135**, in einem viel geringeren Umfang auch D-Rhamnose **D-135**, das am stärksten verbreitete Monosaccharid dar (Abb. 66).^[226] Dabei sind β -verknüpfte Rhamnopyranoside eine wichtige

strukturelle Einheit vieler natürlich vorkommender Oligosaccharide, z.B. der bakteriellen Kapsel-Polysaccharide.^[227,228] Da es sich bei diesen Verbindungen um bedeutungsvolle Zielstrukturen chemischer Synthesen handelt, besteht ein großer Bedarf an stereoselektiven Methoden zur β -Rhamnosylierung.

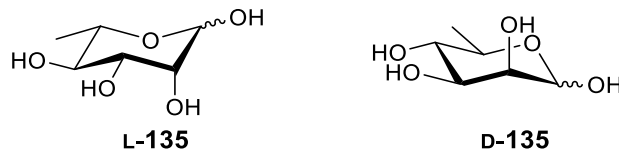


Abb. 66: Strukturen von L- und D-Rhamnose (L-135 und D-135).

Analog zur β -Mannosylierung stellt die stereokontrollierte β -L-Rhamnosylierung eine synthetische Herausforderung dar, was einerseits durch den anomeren Effekt und andererseits durch die sterische Abstoßung des axialen C-2-Substituenten am Rhamnosyl-Donor mit einem sich annähernden Nucleophil begründet ist.^[229,230] Beide Faktoren favorisieren die Bildung einer α -glycosidischen Bindung gegenüber der β -Form mit einer 1,2-*cis*-Konfiguration.

Die bis heute gültige Vorstellung des Mechanismus der homogenen Glycosylierungsreaktion geht auf die Arbeiten von *Lemieux et al.* 1975 zurück. Hierbei wird nach Zugabe eines entsprechenden Promotors die Bildung eines Gleichgewichtes zweier reaktiver Intermediate in Form eines Kontaktionenpaares (CIP) und eines solvatgetrennten Ionenpaares (SSIP) angenommen.^[231] Weitere Studien führten zur der detaillierten Vorstellung, dass bei dieser Reaktion ein Gleichgewicht zwischen einem kovalenten Donor, einem CIP sowie einem SSIP besteht (Abb. 67) und der selektive Ausgang der Glycosylierungsreaktion von der Lage des Gleichgewichtes dirigiert wird.^[232–234] Der Angriff des eingesetzten Akzeptors auf den kovalenten Donor hat dabei eine β -Selektivität zur Folge, was durch eine entsprechende Stabilisierung dieses Intermediates bevorzugt wird. Eine α -Selektivität rührt hingegen auf dem Akzeptorangriff auf das SSIP her. Eine Verschiebung des Gleichgewichtes zu dieser Seite wird entsprechend durch eine Stabilisierung des Oxocarbeniumions erreicht.

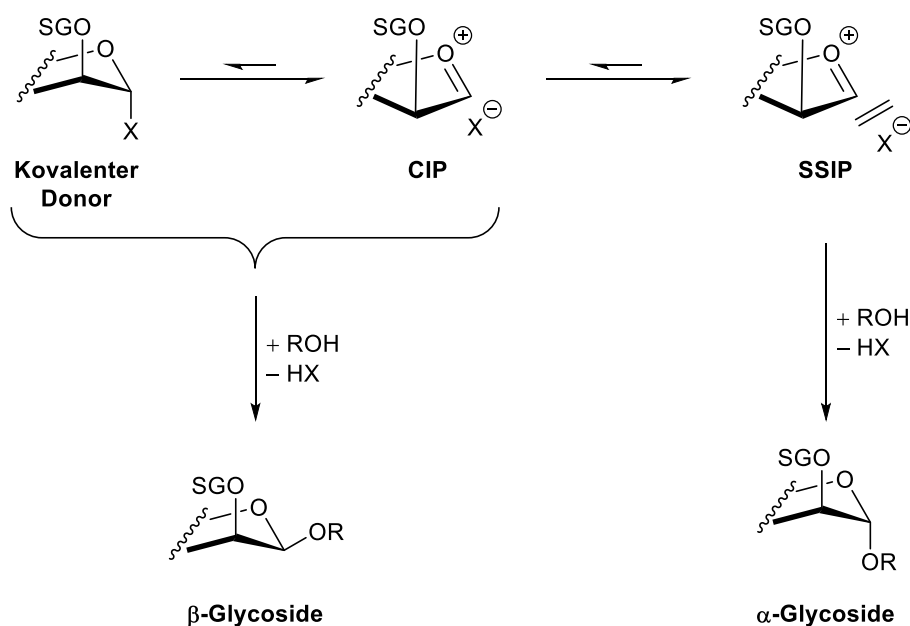


Abb. 67: Allgemeiner Mechanismus der homogenen Glycosylierungsreaktion.^[235]

Bis heute sind nur sehr wenige Rhamnosyl-Donoren für eine β -selektive Glycosylierung vorgestellt worden, von denen Abb. 68 die drei relevantesten darstellt. In Verbindung mit nicht löslichen Silber-basierten Promotoren liefern sowohl das 2,3-O-Carbonat-geschützte **136**^[236] als auch das 2,3-O-Alkyliden-geschützte α -Rhamnopyranosylbromid **137**^[237] β -Rhamnoside als Glycosylierungsprodukte. Von *Yamada et al.* wurde eine β -selektive Rhamnosylierung unter Einsatz des Trichloracetimidatdonors **138** in der 4C_1 -Konformation entwickelt.^[238] Trotz einer guten β -Selektivität entstehen bei dieser Methode immer auch signifikante Mengen des α -Anomers.

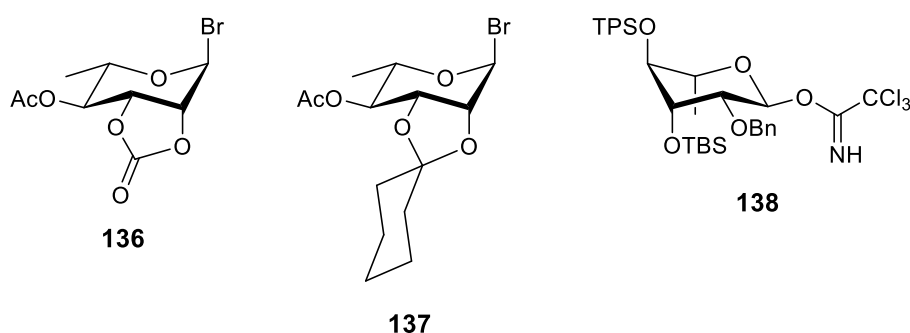


Abb. 68: Strukturen der β -selektiven Rhamnopyranosyl-Donoren **136**, **137** und **138**.^[236–238]

Die Entwicklung einer stereoselektiven Methode zur Darstellung von β -Rhamnopyranosylphosphaten gelang 1992 *Sabesan et al.* (Abb. 69).^[239] Die selektive Phosphorylierung erfolgt hierbei durch die Umsetzung der 1-OH-freien Rhamnose **139** mit Diphenylchlorophosphat in der Gegenwart von 4-(Dimethylamino)-pyridin (DMAP) in

Dichlormethan bei Raumtemperatur. Sowohl die Reaktionstemperatur als auch die extrem langsame Zugabe des Phosphorylierungsreagenzes haben eine bevorzugte Bildung des β -Anomers **β -140** zur Folge, welches hier das kinetische Produkt darstellt ($\alpha:\beta \approx 1:4$).^[239]

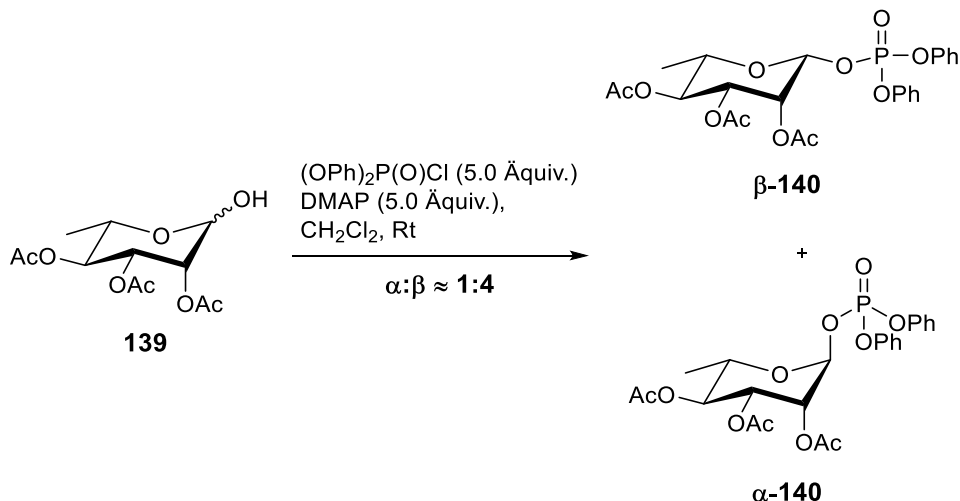


Abb. 69: Stereoselektive Phosphorylierung der selektiv deacetylierten L-Rhamnose **135** nach Sabesan *et al.*^[239]

Auf diese Weise sind nach chromatographischer Reinigung beide Anomere der entsprechenden Zucker-Phosphate zugänglich, was im Hinblick auf eine anomerenreine Darstellung von NDP-Zuckern von außerordentlicher Bedeutung ist.

6.4 Chemische Synthese von NDP-Zuckern

Bei Nucleosiddiphosphat-Zuckern (NDP-Zuckern) handelt es sich um eine Substanzklasse, die eine aktivierte Form von Monosacchariden darstellt, welche über eine energiereiche Pyrophosphatbrücke mit den entsprechenden Nucleosiden verbunden sind. Diese Verbindungen stellen Donor-Substrate von GTs bei Glycosylierungsreaktionen dar.^[22] Die Vielfalt der natürlich vorkommenden NDP-Zucker variiert je nach Ursprungsorganismus und ist im Fall bakterieller Glycosyltransferasen am größten.^[240]

Ein effizienter Zugang zu dieser Substanzklasse ist aus mehreren Gründen von besonderem Interesse. So können beispielweise modifizierte NDP-Zucker als Donor-Substrat-Analoga potentielle Inhibitoren für Glycosyltransferasen darstellen.^[186] Weiterhin können natürliche NDP-Zucker oder ihre Strukturanaloga als Werkzeuge in Assays zur Untersuchung von Glycosyltransferasen oder von Glycosylierungsmustern und -orten eingesetzt werden.^[6,74] Es wurden bereits mehrere enzymatische Methoden zur Synthese von NDP-Zuckern entwickelt. Neben der Substratspezifität der eingesetzten Enzyme sind die Regio- und Stereospezifität sowie der Verzicht auf Schutzgruppen kennzeichnende Vorteile dieser Synthesemethoden.

Die Verwendung verschiedener, oftmals teurer Enzyme, ihre begrenzte Verfügbarkeit, eine relativ geringe Ausbeute der dargestellten NDP-Zucker sowie eine Limitierung dieser Synthesewege auf natürlich vorkommende NDP-Zucker sind entscheidende Nachteile dieser Methoden, was einen großen Bedarf an chemischen Synthesemethoden von NDP-zuckern und ihrer Analoga zur Folge hat.

Die chemische Synthese von NDP-Zuckern kann dabei mittels zweier unterschiedlicher Synthesestrategien erfolgen. Wie in Abb. 70 anhand der Grundstruktur dieser Verbindungsklasse gezeigt ist, kann die Knüpfung beider Bausteine einerseits über einen nucleophilen Angriff der terminalen Phosphatgruppe eines Nucleosiddiphosphat-Bausteins auf einen aktivierten Glycosyldonor erfolgen (Strategie A). Andererseits ist die Darstellung dieser Verbindungen über den nucleophilen Angriff eines Zuckerphosphats auf ein aktiviertes Nucleosidmonophosphat möglich (Strategie B).^[241]

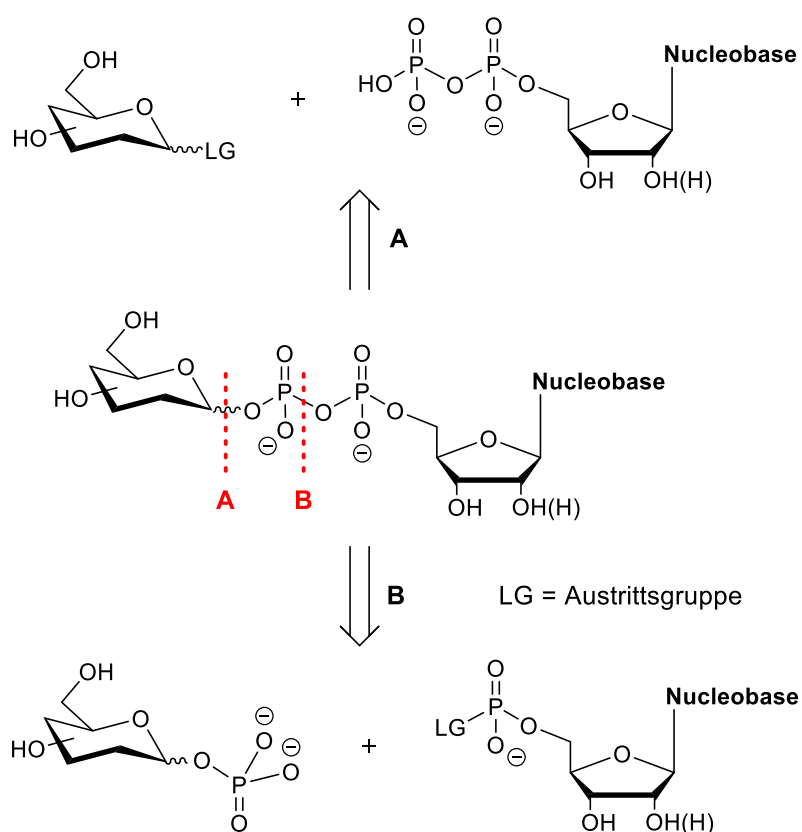


Abb. 70: Allgemeine Synthesestrategien zur Darstellung von NDP-Zuckern.^[241]

Sowohl für den Syntheseweg über die Strategie A als auch über die Strategie B sind bereits mehrere Methoden entwickelt und publiziert worden.^[23,242-250] Bezogen auf Aspekte wie Ausbeute, Stereoselektivität und eine vielfältige Anwendbarkeit haben sich die Methoden der Strategie B als die effektiveren herausgestellt, weswegen ihnen mehr Bedeutung

zugeschrieben wird. Aus diesem Grund sollen hier lediglich die bedeutendsten Methoden dieser Strategie dargestellt werden.

Eine 1958 publizierte und häufig eingesetzte Methode zur Darstellung von NDP-Zuckern ist die von *Moffatt* und *Khorana*, welche bis heute als der klassische Zugang zu dieser Stoffklasse gilt (Abb. 71).^[246] Hierbei erfolgt die Aktivierung des Nucleosidmonophosphats (NMP) in der P(V)-Stufe als Morpholidat und in Form seines *N,N'*-Dicyclohexylcarboxamidiniumsalzes und die Kupplung dieses Bausteins mit einem anomenreinen Zuckerphosphat. Zur Vermeidung einer hydrolytischen Zersetzung des eingesetzten Phosphormorpholidates während der Kupplung ist eine Durchführung unter Ausschluss der Feuchtigkeit zwingend erforderlich.^[7,246,249,251–253] Bedingt durch die hohe Polarität beider Reaktionspartner stellt bei dieser Methode die Wahl eines geeigneten Reaktionsmediums eine Herausforderung dar. Auch die relativ langen Reaktionszeiten von mehreren Tagen führen bei vielen Kupplungen zur Nebenproduktbildung oder teilweise zur Hydrolyse des gewünschten Produktes. Die Ausbeuten der entsprechenden Produkte zeigen dabei eine starke Streuung im Bereich von 15% bis 90% und sind zudem schwierig zu reproduzieren.^[206,241]

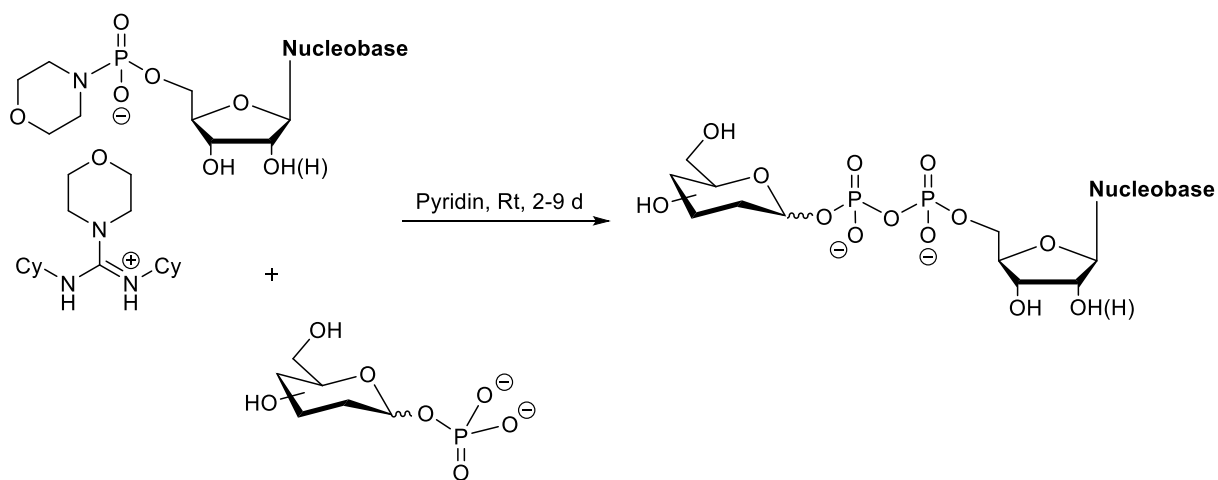


Abb. 71: Darstellung von NDP-Zuckern mit der Phosphormorpholidat-Methode nach *Moffatt* und *Khorana*.^[246]

Im Jahr 1997 haben *Wittmann* und *Wong* eine Methode zur Darstellung von NDP-Zuckern vorgestellt, die als eine Erweiterung der Methode von *Moffatt* und *Khorana* anzusehen ist.^[247] Bei dieser Variante wird zusätzlich 1*H*-Tetrazol als Aktivator verwendet, was eine Reduktion der Reaktionszeit auf 2 Tage und Ausbeuten von bis zu 91% zur Folge hat. Jedoch sind die Ergebnisse dieser Methode ebenfalls schwierig zu reproduzieren und in einigen Fällen führt die Bildung von Nebenprodukten wie NMP oder NMP-Dimeren zu einem Absinken der Ausbeuten auf etwa 30%.

Bei dem von *van der Marel et al.* 2008 vorgeschlagenen Ansatz zur Synthese von NDP-Zuckern handelt es sich um eine Möglichkeit zur Synthese dieser Verbindungen unter Verwendung von P(III)-Verbindungen (Abb. 72)^[248] Hierbei erfolgt zunächst eine Kupplungsreaktion zwischen einem 5'-Nucleosylphosphoramidit mit einem anomenreinen Glycopyranosylphosphat unter Verwendung von Dicyanoimidazol als Aktivator. Eine direkt im Anschluss durchgeführte *in situ* Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid zum Phosphat liefert die entsprechenden NDP-Zuckern in Reaktionszeiten von etwa 1 h. Diese vergleichsweise sehr geringe Reaktionszeit könnte im Hinblick auf mögliche Nebenreaktionen als ein Vorteil angesehen werden. Die Darstellung oxidationsempfindlicher NDP-Zucker könnte sich jedoch mit dieser Methode als problematisch erweisen.

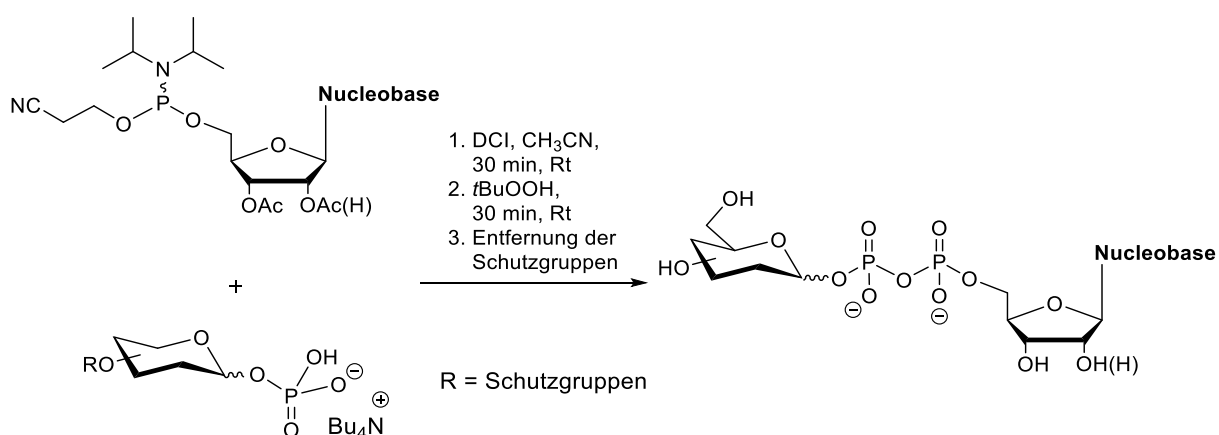


Abb. 72: Phosphoramidit-Methode zur Darstellung von NDP-Zuckern nach *van der Marel et al.*^[248]

2008 wurde von *Wendicke et al.* ein weiterer synthetischer Zugang zu NDP-Zuckern vorgestellt.^[242] Es handelt sich hierbei um eine Erweiterung der 1996 von *C. Meier* entwickelten *cycloSal*-Technik, welche ursprünglich als Prodrug-Konzept zur intrazellulären Freisetzung biologisch aktiver Nucleosidmonophosphate entwickelt und bereits für eine Vielzahl antiviral aktiver Nucleosid-Analoga erfolgreich angewandt wurde.^[254] NDP-Zucker können mit dieser Methode über den Einsatz von aktivierten NMP-Bausteinen in Form von *cycloSal*-Triestern durch die Umsetzung mit acetylgeschützten, anomenreinen Glycopyranosylphosphaten erhalten werden.

Die Kupplungsreaktion wird initiiert durch den nucleophilen Angriff eines Zucker-Phosphats auf das Phosphor-Atom des *cycloSal*-Triesters gefolgt von einer sehr selektiven Abspaltung der aromatischen Einheit bedingt durch die verschiedenen Reaktivitäten der Phenyl-, Benzyl- und Alkylphosphatesterbindung (Abb. 73). Dabei kommt es zunächst zur Spaltung des Phenylphosphatesters unter Bildung eines mesomeriestabilisierten (2-Hydroxybenzyl)-phosphatdiesters, wobei im aromatischen System aus einem schwachen Donorsubstituenten

mit einem Phenolat-Anion ein starker Donorsubstituent entsteht. Im Folgeschritt kommt es zum spontanen Bruch der benzylichen C-O-Bindung und zur Freisetzung des Chinonmethids, welches durch die Reaktion mit Wasser zum entsprechenden Salicylalkohol-Derivat reagiert. Im selben Schritt kommt es zur Abspaltung des gewünschten NDP-Zuckers. Da bei dieser Synthesemethode eine schnelle Umsetzung der *cycloSal*-Triester erwünscht ist, enthalten die verwendeten aromatischen Masken an der C-5-Position bevorzugt Akzeptorsubstituenten wie Nitro- oder Chlorsubstituenten.^[242]

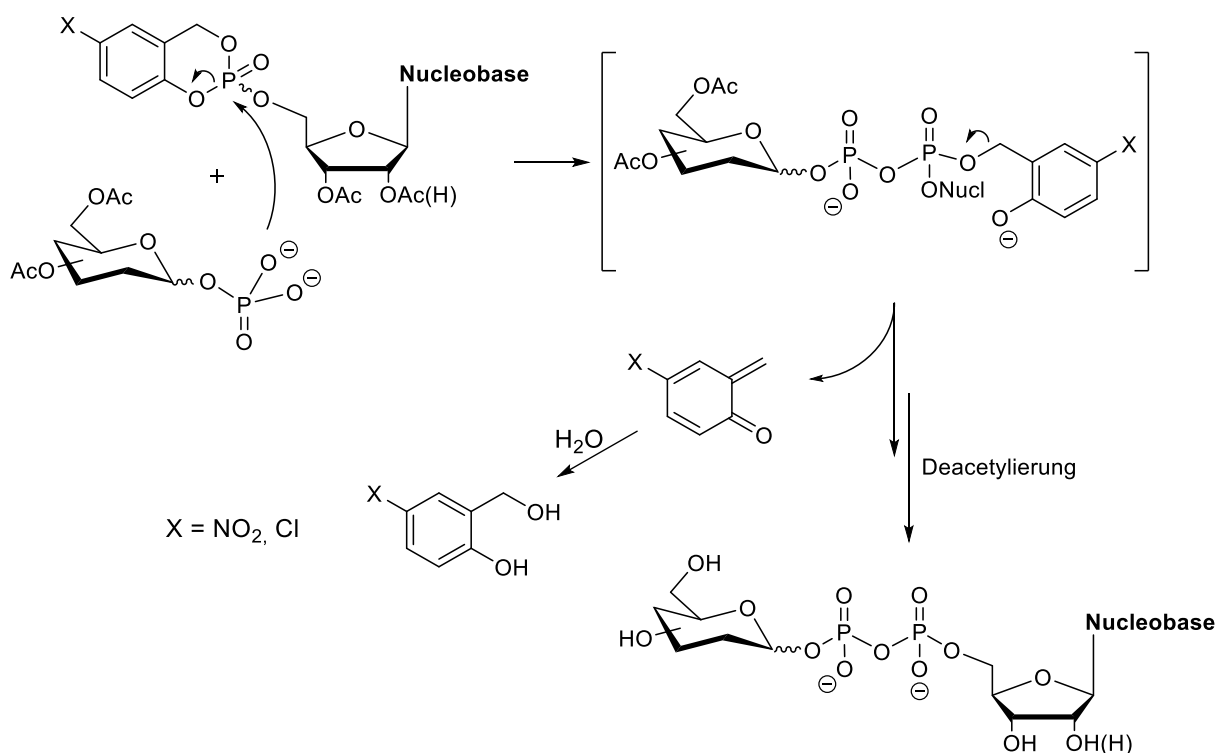


Abb. 73: Allgemeiner Reaktionsmechanismus zur Darstellung von NDP-Zuckern nach der *cycloSal*-Methode.^[242]

Mit der von S. Wendicke, S. Warnecke und S. Wolf vorgestellten Synthesemethode sind nach diversen Optimierungen NDP-Zucker-Synthesen mit Ausbeuten von bis zu 88% möglich, abhängig von den eingesetzten Zucker-Phosphaten und Nucleosiden.^[12-14] Die breite Anwendbarkeit dieser Methode zeigt sowohl der erfolgreiche Einsatz vieler unnatürlicher Zucker-Phosphate als Nucleophile als auch die Möglichkeit auch Nucleosidmonophosphat-Zucker (NMP-Zucker) darstellen zu können.^[14,186,255]

6.5 Gewinnung von Thymidindiphosphat- β -L-Rhamnose β -132

Im Vergleich zu GTs in Säugetieren nutzen die bakteriellen GTs für Glycosylierungen eine große Vielfalt an NDP-Zuckern als Donor-Substrate. TDP- β -L-Rhamnose **β -132** ist die Vorläufer-Verbindung zur Bildung L-Rhamnose-enthaltender Strukturen, welche häufig auf den

Zelloberflächen Gram-negativer Bakterien zu finden sind.^[226] Die bakterielle Biosynthese von TDP- β -L-Rhamnose **β -132** umfasst vier enzymatische Transformationen und beginnt mit α -D-Glucose-1-phosphat **141**, welches zunächst durch TTP aktiviert und anschließend zu TDP-4-dehydro-6-desoxy- α -D-Glucose **142** umgesetzt wird. Dieser erste Schritt wird durch das Enzym RmlA, eine Thymidyltransferase, katalysiert. Die Oxidation der Hydroxylgruppe an der C-4-Position im zweiten Schritt erfolgt durch die Dehydratase RmlB. Anschließend erfolgt durch RmlC die Umsetzung von **143** zu TDP-4-dehydro- β -L-Rhamnose **144**, welches im finalen Schritt durch die TDP-4-dehydrorhamnose-Reduktase zu **β -132** umgesetzt wird.^[256]

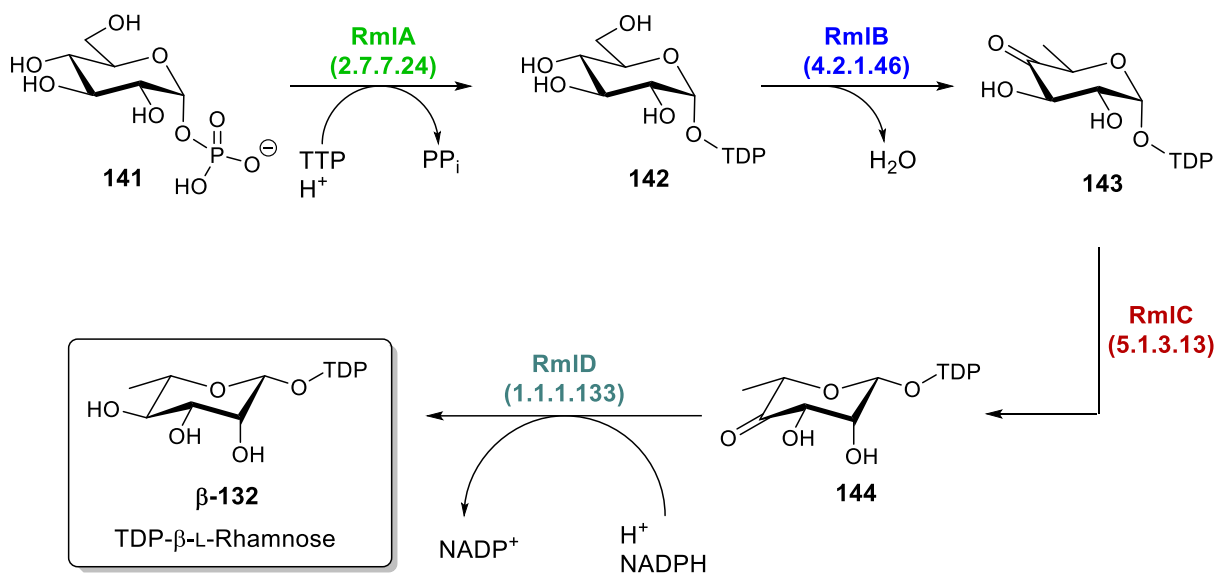


Abb. 74: Schematische Darstellung der bakteriellen Biosynthese von TDP- β -L-Rhamnose **β -132** (bearbeitet nach *Giraud et al.*).^[256]

Melo et al. konnten zeigen, dass TDP- β -L-Rhamnose **β -132** das Enzym RmlA sowohl kompetitiv als auch nicht-kompetitiv inhibiert und auf diese Weise die bakterielle Rhamnose-Produktion reguliert.^[257] Von *Blankenfeldt et al.* konnte die Struktur für RmlA aus *Pseudomonas aeruginosa* aufgeklärt und das Enzym mit **β -132** als Komplex co-kristallisiert werden.^[258] Diese Ergebnisse bieten somit eine Grundlage für die Erforschung von Wirkstoffen gegen Bakterien, in denen L-Rhamnose-haltige Antigene in einem pathogenen Kontext stehen^[259] und demonstrieren, wie relevant ein verlässlicher Zugang zu NDP-Zuckern wie **β -132** sein kann. Jedoch handelt es sich bei den meisten literaturbekannten Synthesen dieser Verbindung um aufwändige und teure multienzymatische Methoden.^[260,261] Wenige Anbieter, z.B. die Firma Carbosynth, bieten **β -132** als Dinatrium-Salz zu einem Preis von 111.35 €/mg an.^[262]

Bis heute sind nahezu keine Ansätze zur chemischen Synthese von Thymidindiphosphat- β -L-Rhamnose **β -132** publiziert worden. Einzig die Gruppe um *Zhao et al.* hat im Rahmen eines Vergleichs mehrerer Synthesemethoden von NDP-Zuckern drei verschiedene Wege zur

Synthese von TDP- β -L-Rhamnose **β -132** gezeigt und die Unterschiede diskutiert (Abb. 75).^[240] Als neuer Syntheseweg wurde hierbei die TMP-Imidazolid-Methode vorgestellt, bei der zunächst in einer one-pot-Reaktion, durch die Umsetzung von Thymidinmonophosphat (TMP) **145** als Triethylammoniumsalz mit 1,1'-Carbonyldiimidazol, das entsprechende TMP-Imidazolid erzeugt und direkt im Anschluss mit dem ungeschützten Rhamnopyranosyl- β -phosphat **β -146** über 48 h gekuppelt wird (Methode I). Die hier erreichte Ausbeute des NDP-Zuckers **β -132** betrug 76%. Zum Vergleich wurde **β -132** einerseits über die Morpholidat-Methode nach *Moffat et al.* durch die Umsetzung von kommerziell erhältlichem TMP-Morpholidat mit dem β -Phosphat **β -146** (Methode II) und andererseits über die Reaktion von TDP mit 2,3,4-Tri-O-benzyl-L-rhamnopyranosylbormid **147** (Methode III) der gewünschte NDP-Zucker **β -132** in einer Ausbeute von 75% bzw. 18% erhalten.^[7,243,263] Trotz der ähnlichen Ausbeute zur Morpholidat-Methode wird aufgrund der größeren Flexibilität unterschiedlicher Reaktionsparameter die TMP-Imidazolid-Methode als die beste dieser drei gewertet.^[240] Eine chemische Synthese des α -Anomers **α -132** ist bis heute nicht in der Literatur beschrieben.

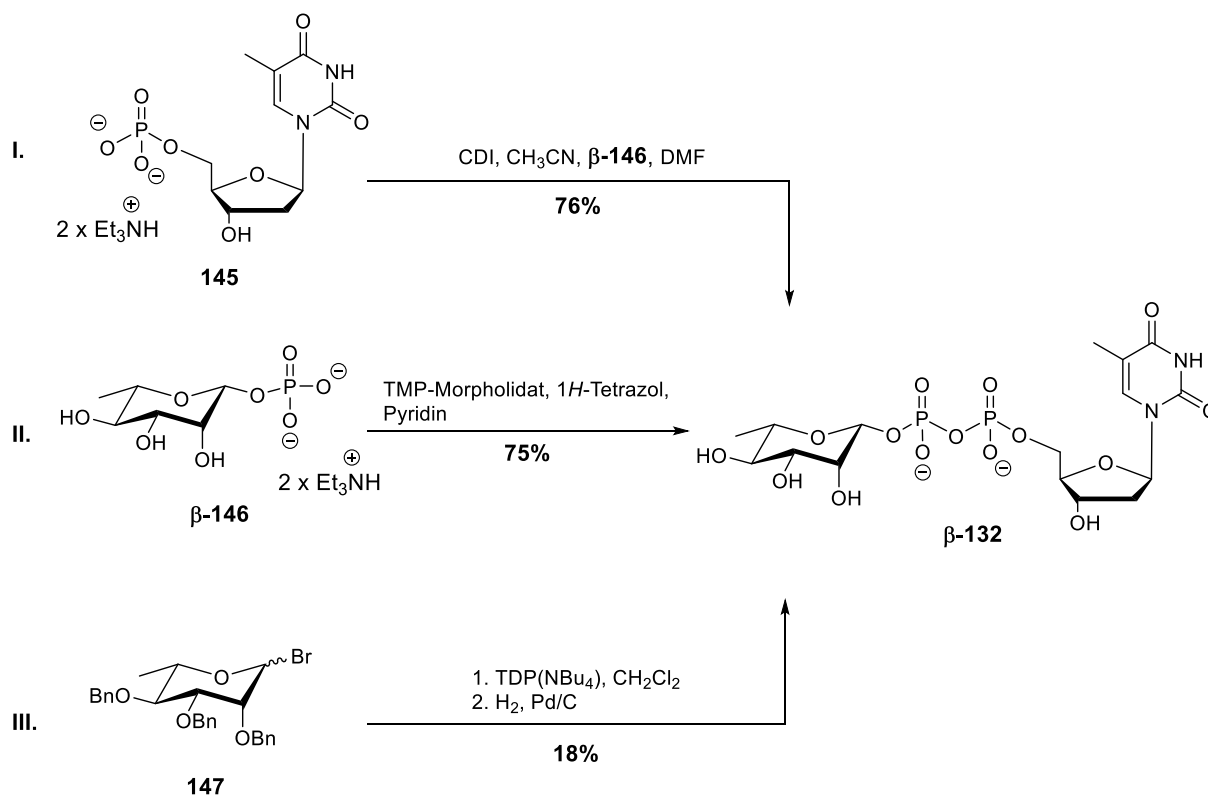


Abb. 75: Vergleich der Syntheserouten zur Darstellung von TDP- β -L-Rhamnose **β -132** nach *Zhao et al.*^[240]

7 Aufgabenstellung

Glycosyltransferasen katalysieren die Bildung von glycosidischen Bindung unter Übertragung einer Zucker-Einheit von einem aktivierten Donor-Substrat (meistens NDP-Zucker) auf ein Akzeptor-Substrat (Glykon oder Aglykon).^[22] Dabei spielen sie eine wesentliche Rolle in den Biosynthesewegen von Oligo- und Polysacchariden, sowie bei der Glycosylierung von Proteinen oder der Synthese wichtiger Naturstoffe in Bakterien oder Eukaryoten.^[22] Die vor Kurzem um die Arbeitsgruppe von *Dr. U. Rabausch* in einer metagenomischen Bibliothek entdeckte Glycosyltransferase C (GtfC) ist ein Beispiel für eine bakterielle Glycosyltransferase, die den seltenen NDP-Zucker Thymidindiphosphat- β -L-Rhamnose **β -132** als Co-Substrat verwendet, um diverse bereits identifizierte Flavonoide zu glycosylieren.^[11] Zur Untersuchung und Charakterisierung der Eigenschaften von Glycosyltransferasen, wie z.B. ihres Substratspektrums oder ihrer kinetischen Parameter, ist ein verlässlicher synthetischer Zugang zu einer Vielzahl an NDP-Zuckern bedeutsam.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war die Erarbeitung eines synthetischen Zugangs zu beiden Anomeren von Thymidindiphosphat-L-Rhamnose **α -132** und **β -132**, zwei NDP-Zuckern, die bisher über die hier etablierte *cycloSal*-Methode noch nicht dargestellt wurden (Abb. 76).

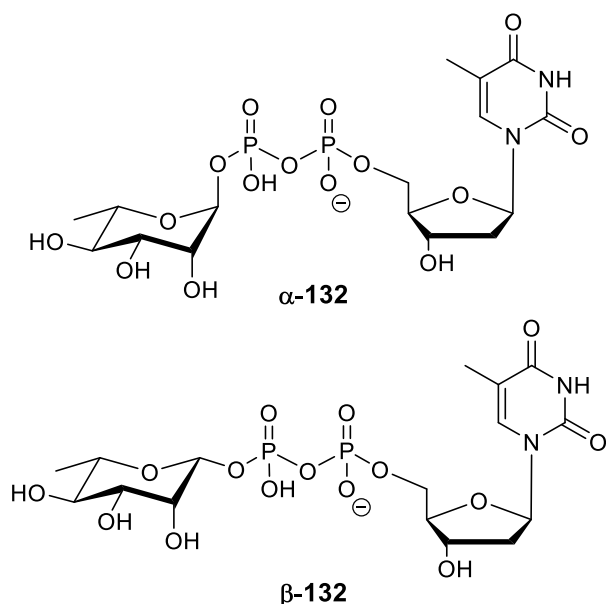


Abb. 76: Zu synthetisierende NDP-Zucker TDP- α -L-Rhamnose **α -132** und TDP- β -L-Rhamnose **β -132**.

Da die stereoselektive Darstellung von α - und β -L-Rhamnosiden aufgrund der relativen Konfiguration der OH-Gruppen an den Positionen C-1- und C-2 nicht trivial ist, soll ein Fokus dieser Arbeit auf der Darstellung beider Anomere der benötigten Zucker-Phosphate liegen. Andererseits soll hier auch die Erarbeitung einer neuartigen Variante der *cycloSal*-Kupplungen

erfolgen. Beide potentiellen Substrate der GtfC sollten von *Dr. F. Bönisch* aus der Arbeitsgruppe von *Dr. U. Rabausch* am Biozentrum Klein Flottbek im Rahmen von *in vitro* Aktivitätsassays eingesetzt werden. Zudem sollte vor allem das β -Anomer **β -132**, welches bereits als Substrat der GtfC bestätigt wurde, zur Bestimmung kinetischer Parameter dieser Glycosyltransferase dienen.

8 Resultate und Diskussion

Glycosyltransferasen nutzen zur Übertragung einer Glycosyl-Einheit auf einen geeigneten Akzeptor in den meisten Fällen Nucleosiddiphosphat-Zucker (NDP-Zucker) als aktivierte Donorsubstrate. Diese variieren dabei stark in der Art des Zuckers und des Nucleosids. Da die aus biologischen Systemen isolierten Mengen der entsprechenden NDP-Zuckern oft sehr gering sind, ist ein zuverlässiger synthetischer Zugang zu anomenreinen Produkten dieser Stoffklasse, wie ihn die *cycloSal*-Methode bietet, z.B. für den Einsatz zur Untersuchung der Substrateigenschaften von Glycosyltransferasen, sehr relevant.^[12] Konfigurationsbedingt stellt die Synthese anomenreiner Glycopyranosylphosphate bei Monosacchariden wie D-Mannose **104** und L-Rhamnose **L-135** eine synthetische Herausforderung dar.

8.1 Darstellung von TDP- α -L-Rhamnose α -132 und TDP- β -L-Rhamnose β -132

Die Darstellung der beiden Anomere von TDP-L-Rhamnose β -132 sollte unter Verwendung des in dieser Arbeitsgruppe entwickelten Methode zur Synthese von NDP-Zuckern erfolgen.^[12] Ein wesentlicher synthetischer Aspekt der hier verfolgten Syntheseroute sollte die nicht triviale stereoselektive Phosphorylierung von L-Rhamnose **L-135** sein, um geeignete Nucleophile für die *cycloSal*-Kupplungen zu erhalten. Diese sollte hier nach einer Synthesemethode von *Sabesan et al.* erfolgen.^[239] Die Darstellung der beiden benötigten *cycloSal*-Triester **148** und **149** sollte hingegen einerseits nach einer bereits ausführlich erprobten und optimierten Route^[140,264] und einerseits nach einer in dieser Arbeit entwickelten Synthese im Fall des Cbz-geschützten Triesters erfolgen. In Abb. 77 ist das Retrosyntheseschema zur Darstellung von TDP- α -L-Rhamnose α -132 und TDP- β -L-Rhamnose β -132 dargestellt.

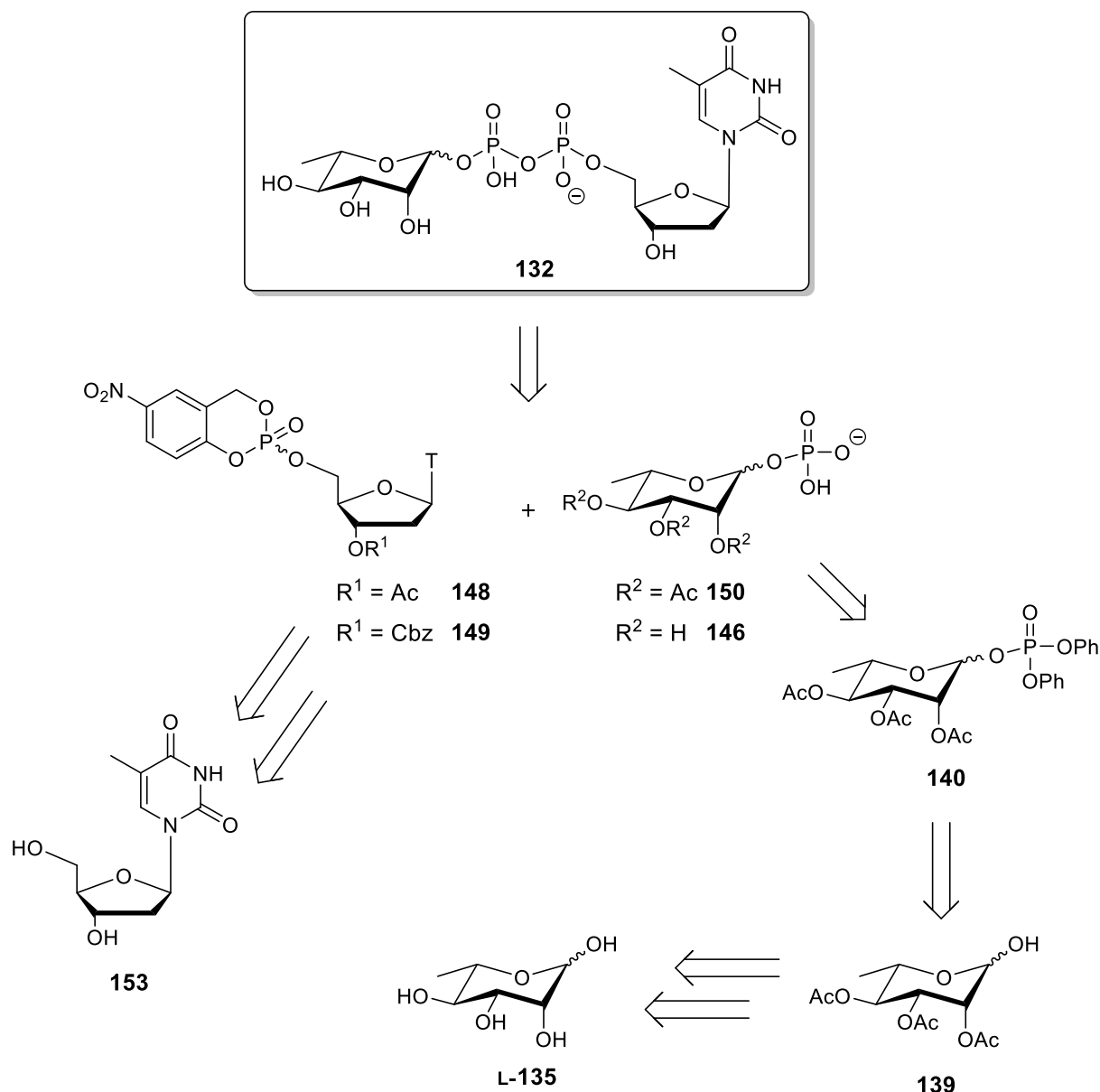


Abb. 77: Retrosyntheseschema zur Darstellung beider Anomere von TDP-L-Rhamnose α -132 und β -132.

Beide Zielverbindungen α -132 und β -132 sollten durch *cycloSal*-Kupplungen der entsprechenden geschützten und ungeschützten L-Rhamnopyranosylphosphate α -150 und β -150 sowie α -146 und β -146 mit den beiden *cycloSal*-Triestern 148 und 149 dargestellt werden. Der acetylgeschützte Triester 148 sollte durch Umsetzung von 5-Nitro-*cycloSal*-chlorphosphit 59 und dem selektiv an der 3'-Position acetylierten Thymidin 151 erhalten werden. Das entsprechend selektiv Cbz-geschütztes Thymidin-Derivat 152 sollte auf analoge Weise den neuartigen Cbz-geschützten Triester 149 ergeben. Die selektiv geschützten Thymidin-Derivate 151 und 152 sollten in wenigen Reaktionsschritten aus Thymidin 153 erhältlich sein.

Beide Anomere der ungeschützten L-Rhamnopyranosylphosphate α -146 und β -146 sollten aus den beiden ebenfalls als Kupplungspartner einzusetzenden acetylierten Vorstufen α -150 und β -150 erhalten werden. Diese wiederum sollten nach hydrogenolytischer Spaltung der Phenylgruppen aus den beiden Phosphat-Triestern α -140 sowie β -140 dargestellt werden. Die stereoselektive Phosphorylierung nach *Sabesan et al.* durch Umsetzung des an der anomeren Position deacetylierten L-Rhamnose-Derivats **139** mit Diphenylchlorphosphat sollte den Zugang zu beiden Phosphat-Triestern α -140 und β -140 ermöglichen. Aus L-Rhamnose **L-135** sollte das selektiv entschützte Derivat **139** über zwei Stufen zugänglich sein.

8.2 Synthese der erforderlichen Kupplungsbausteine: Die *cycloSal*-Triester **148** und **149**, die Glycopyranosylphosphate α -150 und β -150 sowie ihre deacetylierten Formen α -146 und β -146

Die NDP-Zucker TDP- α -L-Rhamnose α -132 und TDP- β -L-Rhamnose β -132 sollten mittels der *cycloSal*-Methode dargestellt werden. Zu diesem Zweck wurde einerseits ein geeigneter Thymidin-*cycloSal*-Triester sowie ein entsprechendes anomerenreines Glycopyranosyl-Phosphat, das als Nucleophil in den Kupplungsreaktionen dienen sollte, benötigt.

Die Reaktionen zur Darstellung der beiden *cycloSal*-Triester **148** und **149** sollten regioselektiv an der 5'-Position erfolgen, weswegen zunächst die beiden selektiv geschützten Thymidin-Derivate **151** und **152** zu synthetisieren waren.

Die Synthese des 3'-acetylgeschützten Thymidin-*cycloSal*-Triesters **148** wurde mithilfe der im Arbeitskreis etablierten Methode durchgeführt.^[140,264] Um das 5'-OH-freie Nucleosid **151** zu erhalten, wurde ausgehend von Thymidin in einer *one-pot*-Reaktion zuerst die 5'-Position mit einer TBDMS-Gruppe durch Umsetzung mit TBDMS-Cl in Pyridin versehen und die 3'-OH-Gruppe im darauffolgenden Reaktionsschritt acetyliert. 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-acetylthymidin **154** konnte nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 79% erhalten werden (Abb. 78). Die anschließende Abspaltung des Silylethers erfolgte durch Umsetzung von **154** mit TBAF in THF, wodurch das selektiv geschützte Thymidin-Derivat **151** in einer guten Ausbeute von 80% erhalten wurde.

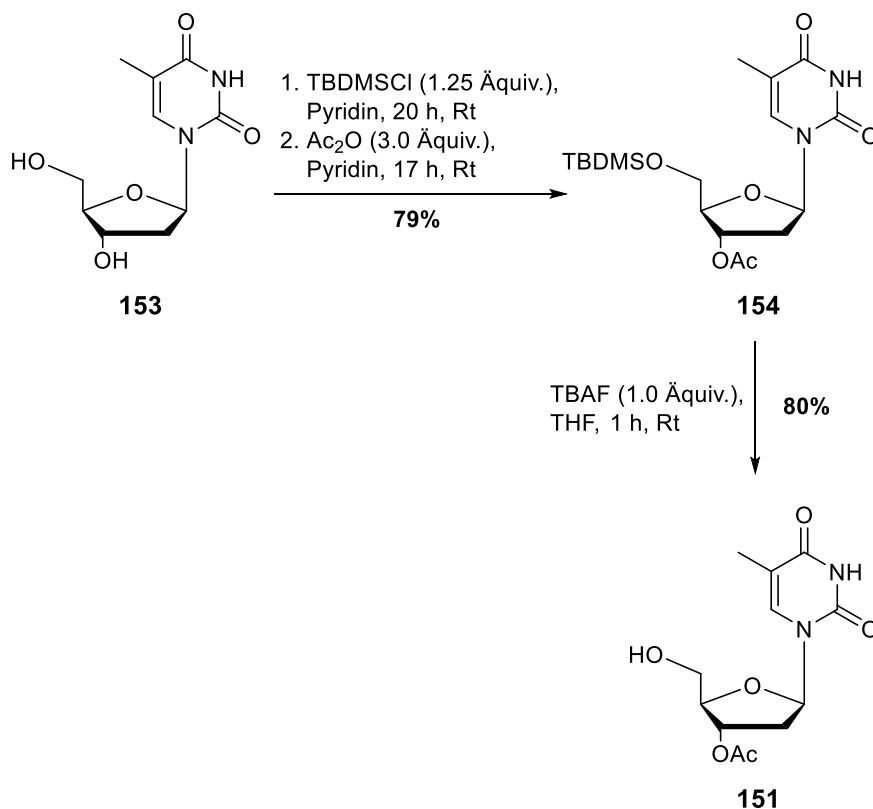


Abb. 78: Synthese von 3'-O-Acetylthymidin **151**.

Für die Darstellung des neuartigen, Cbz-geschützten Thymidin-*cyclo*Sal-Triesters **149** wurde auf eine bereits für die erfolgreiche Synthese des entsprechenden Guanosin-Analogons **45** ausgewählte Synthesestrategie zurückgegriffen. Auch hier musste zunächst das entsprechende selektiv geschützte 3'-O-Benzoyloxycarbonylthymidin **155** dargestellt werden. Ausgehend von Thymidin wurde erneut unter Standardbedingungen eine TBDMS-Schätzung der primären OH-Gruppe durchgeführt und das einfach geschützte Produkt **156** nach einer säulenchromatographischen Reinigung in einer guten Ausbeute von 80% erhalten (Abb. 79). Die Einführung der Cbz-Schutzgruppe an der 3'-Position erfolgte, wie zunächst beim Guanosin getestet, nach einem Syntheseprotokoll von *Johnson et al.* durch Umsetzung mit Benzoyloxycarbonylchlorid in der Gegenwart von DMAP in Dichlormethan.^[132] Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung wurde das gewünschte Produkt **157** in einer sehr guten Ausbeute von 84% erhalten.

Die abschließende Spaltung des Silylethers von **157** zur Darstellung des erforderlichen selektiv geschützten Thymidins **155** erfolgte zunächst unter Standardbedingungen durch die Umsetzung mit TBAF in THF. 3'-O-Benzoyloxycarbonylthymidin **155** konnte so mit einer Ausbeute von 75% erhalten werden. Als eine alternative Möglichkeit zur Abspaltung der TBDMS-Gruppe von **157** wurde ein Syntheseprotokoll nach *Khan et al.* angewandt, welches schon für das Guanosin-Derivat **54** zum Einsatz kam.^[137] Hierbei sollte das Edukt unter

Verwendung einer katalytischen Menge Acetylchlorid in trockenem Methanol in einer sehr effizienten, milden und selektiven Reaktion, die eine einfache Aufarbeitung erlaubt, umgesetzt werden. Tatsächlich konnte unter Verwendung dieser Vorschrift nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung eine Ausbeutesteigerung von 75% auf 97% erreicht werden. Aus diesem Grund und dem damit verbundenen Verzicht auf fluorid-haltige Reagenzien ist bei diesem Substrat die Methode von *Khan et al.* vorzuziehen.^[137]

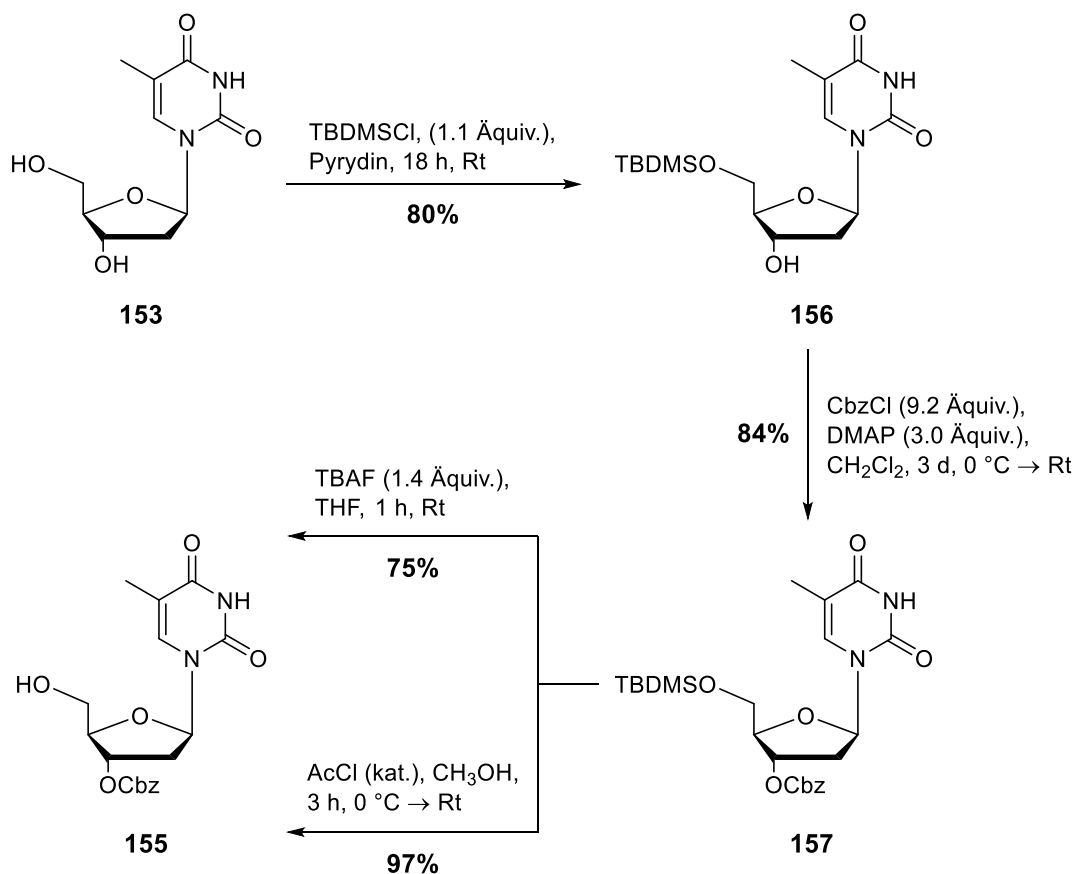


Abb. 79: 3'-O-Benzyloxycarbonylthymidin **155**.

Anders als beim entsprechenden Cbz-geschützten Guanosin-Analogon **45** ist in diesem Fall eine schnelle und milde hydrogenolytische Abspaltung der Cbz-Schutzgruppe im finalen Schritt der Syntheseroute aufgrund der möglichen Reduktion der Nucleobase umso wichtiger. Solche Nebenreaktionen bei der Hydrogenolyse entsprechender Schutzgruppen an Nucleosiden mit Pyrimidin-Basen sind literaturbekannt und können zu erheblichen Reinigungsproblemen führen. So konnte die Gruppe um *Johnson et al.* bei der hydrogenolytischen Entschützung von 2',3'-Di-O-benzyloxycarbonyluridin **158** bei der Darstellung von **159** mit Pd/C als Katalysator bereits nach einer Reaktionszeit von 90 min das Auftreten des an der Nucleobase reduzierten Nebenproduktes **160** NMR-spektroskopisch nachweisen (Abb. 80).^[132]

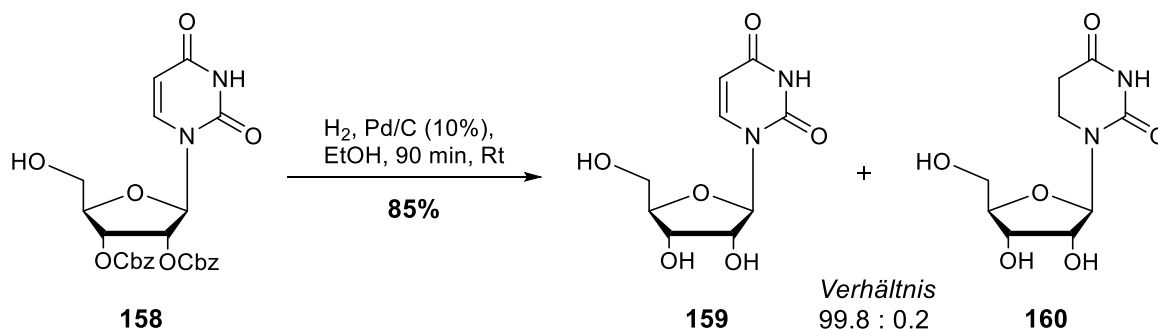


Abb. 80: Von *Johnson et al.* beobachtete geringfügige Reduktion (0.2%) der Nucleobase bei der hydrogenolytischen Entschützung von **158**.^[132]

Aus diesem Grund wurden unter Verwendung von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-benzyloxycarbonylthymidin **157** als Testsubstrat bereits hier die Bedingungen für eine katalytische Transfer-Hydrierung zur Abspaltung der Cbz-Gruppe erprobt. Es wurde hierbei ein Syntheseprotokoll nach *Cho et al.* unter Verwendung von 1,4-Cyclohexadiene im großen Überschuss zur *in situ* Erzeugung von H₂ und Pd/C als Katalysator verwendet.^[136] Nach einer Reaktionszeit von 100 min bei Raumtemperatur und säulenchromatographischer Reinigung konnte das entschützte Nucleosid **156** in einer guten Ausbeute von 89% erhalten werden (Abb. **81**). NMR-spektroskopisch konnte keine Nebenproduktbildung durch eine Reduktion der Nucleobase beobachtet werden. Die hier getesteten Reaktionsbedingungen sollten bei einer späteren Cbz-Spaltung zur Darstellung der Zielverbindung verwendet werden.

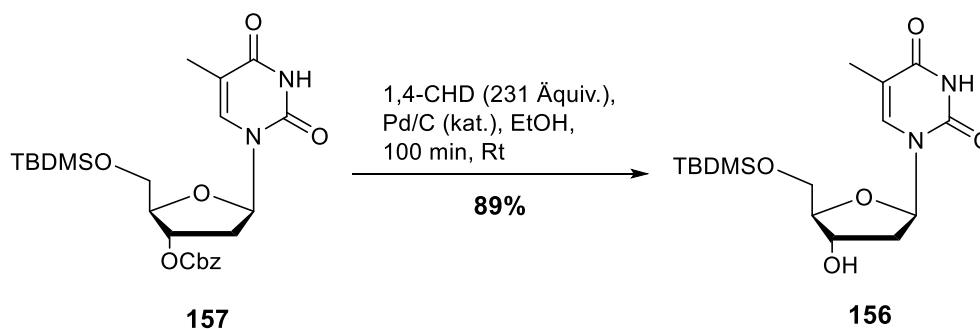


Abb. 81: Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)thymidin **156** mittels Transfer-Hydrierung.

Analog zu der Synthese der beiden Guanosin-*cycloSal*-Triester **40** und **45** erfolgte die Darstellung der Thymidin-Triester **148** und **149** ebenfalls durch die Umsetzung der selektiv geschützten Nucleoside **151** und **155** mit dem bereits zuvor erhaltenem 5-Nitro-*cycloSal*igenylchlorphosphit **59** in einer zweistufigen Reaktionssequenz (Abb. **82**).^[138,139] Die Phosphatriester **148** und **149** wurden dabei nach einer *in situ* Oxidation der zunächst entstandenen Phosphitriester mit Oxone[®] erhalten. In beiden Fällen wiesen die Rohprodukte, die als Diastereomeregemische erhalten wurden, eine ausreichend hohe Reinheit auf, sodass auf eine säulenchromatographische Reinigung verzichtet werden konnte. Bei gleicher

Durchführung beider Synthesen konnte im Fall des neuartigen, Cbz-geschützten Triesters **149** eine vollständige Umsetzung bereits nach einer Reaktionszeit von 2 h beobachtet werden, während dies beim acetylgeschützten Triester **148** nach 5 h der Fall war. Verglichen mit den Synthesen der entsprechenden Guanosin-Triester **45** ist dies somit ein entgegengesetzter Trend, was möglicherweise mit der nicht vorhandenen ungeschützten Amino-Gruppe an der Nucleobase zusammenhängt. Während der acetylgeschützte Thymidin-Triester **148** in einer Rohausbeute von 68% erhalten wurde, gelang die Darstellung des Cbz-geschützten Triesters **149** in einer sehr guten Rohausbeute von 95%.

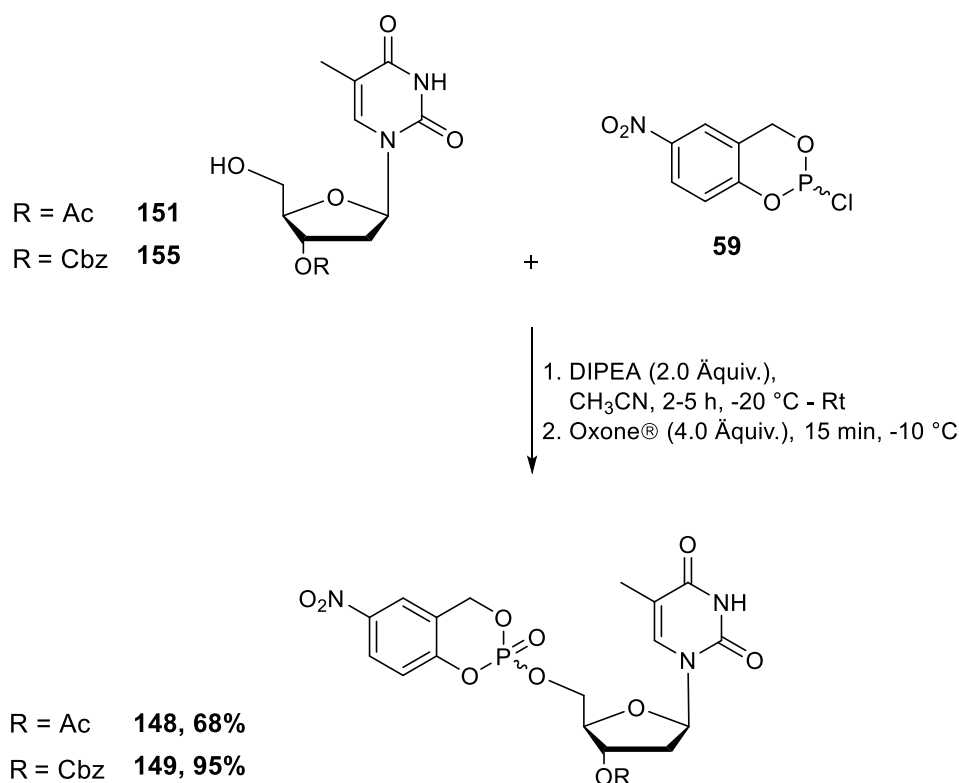


Abb. 82: Synthese der beiden *cycloSal*-Triester **148** und **149**.

Neben 5-Nitro-*cycloSal*-2',3'-di-O-benzyloxycarbonylguanosinmonophosphat **45** konnte im Rahmen dieser Arbeit erstmalig ein zweiter alternativ geschützter *cycloSal*-Triester **149** erfolgreich dargestellt werden. Im ³¹P-NMR-Spektrum konnten die für *cycloSal*-Triester typischen chemischen Verschiebungen von -10.0 und -11.0 ppm beobachtet werden (Abb. 83).

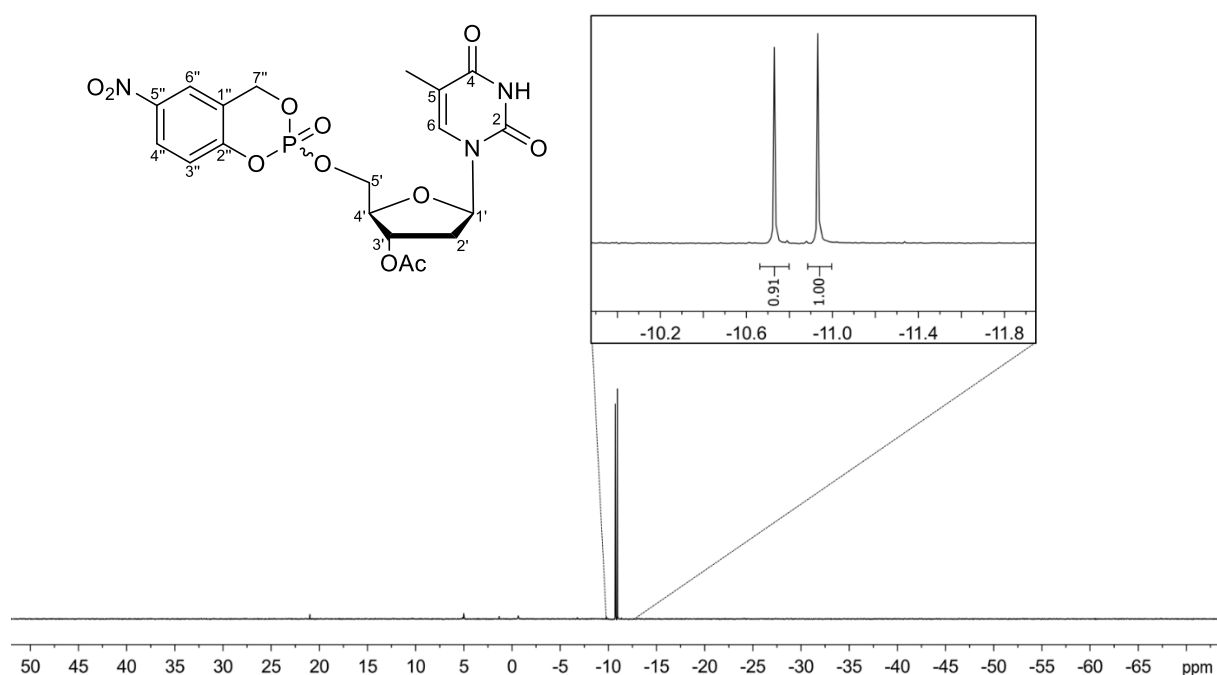


Abb. 83: ^{31}P -NMR-Spektrum des Cbz-geschützten Triesters **149** ($\text{DMSO-}d_6$, 162 MHz, entkoppelt).

Ausgehend von L-Rhamnose **L-135** sollte die Darstellung der entsprechenden acetylgeschützten (α -**150** und β -**150**) bzw. ungeschützten L-Rhamnopyranosylphosphate α -**146** und β -**146** in einer 4- bzw. 5-stufigen Syntheseroute nach einem Protokoll von *Sabesan et al.* erfolgen.^[239] Diese Bausteine sollten als Nucleophile in den vorgesehenen Kupplungsreaktionen mit den dargestellten *cycloSal*-Triestern **148** und **149** dienen. *Sabesan et al.* haben unter anderem für D-Mannose **104** und für L-Rhamnose **L-135** eine synthetische Methode zur stereoselektiven Phosphorylierung dieser Monosaccharide entwickelt, wobei mit der Wahl der Reaktionsbedingungen eine Steuerung der Anomerenanreicherung möglich ist.^[239]

Die Reaktionsbedingungen dieser stereokontrollierten Phosphorylierung sollten zunächst an D-Mannose **104** erprobt werden. Ausgegangen wurde hierbei von der bereits synthetisierten, peracetylierten D-Mannose **110**. Die Deacetylierung an der anomeren Position wurde nach einer von *Andersen et al.* entwickelten Methode durchgeführt.^[265] Hierbei wurde **110** mit 3-(Dimethylamino)-1-propylamin (DMAPA) in THF bei Raumtemperatur umgesetzt (Abb. 84). Dünnschichtchromatographisch war eine vollständige Umsetzung bereits nach einer Reaktionszeit von 1.5 h zu beobachten. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde das 1-O-entschützte Derivat **158** in einer Ausbeute von 75% erhalten. Im Vergleich zu der klassischen Methode zur selektiven anomeren Deacetylierung unter Einsatz von

Hydraziniumacetat in DMF bietet das Syntheseprotokoll von *Andersen et al.* neben dem Verzicht auf diese toxischen Verbindungen die Vorteile einer einfachen Aufarbeitung mittels saurer Extraktion, in den meisten Fällen eine nicht notwendige Reinigung des Rohproduktes sowie hohe Ausbeuten im Multigramm-Maßstab auch bei nicht trockener Reaktionsführung.^[265]

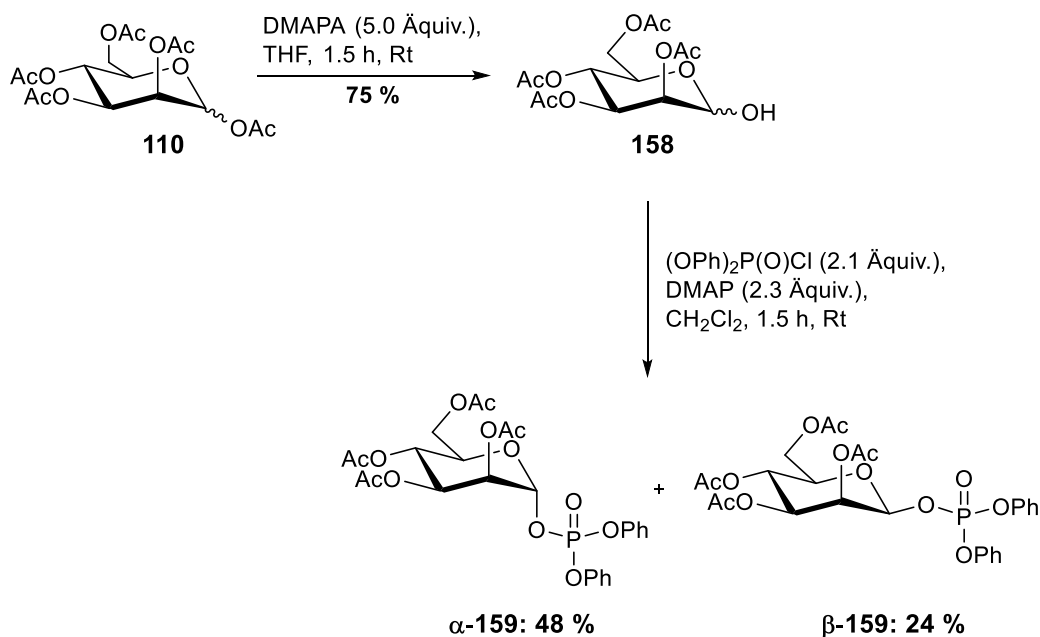


Abb. 84: Synthese von Diphenyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α - und β -D-mannopyranosyl)phosphat α - und β -159.

Im n\u00e4chsten Reaktionsschritt wurde 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannose **158** nach der Methode von *Sabesan et al.* mit Diphenylphosphorylchlorid in der Gegenwart von DMAP in Dichlormethan umgesetzt.^[239] Hierbei wurde das Phosphorylierungsreagenz bei Raumtemperatur in einer sehr niedrigen Geschwindigkeit binnen 1 h zur Reaktionsl\u00f6sung hinzugegeben werden, um die Bildung des β -Phosphat-Triesters **\u03b2-159** als kinetisches Produkt zu bevorzugen. Nach vollst\u00e4ndiger Umsetzung und Aufarbeitung konnten beide Anomere in einem Verh\u00e4ltnis von α : β \approx 2:3 im Rohprodukt erhalten werden. Mit lediglich einer sich anschließenden säulenchromatographischen Reinigung wurden beide Verbindungen getrennt und in Ausbeuten von 48% (**\u03b1-159**) bzw. 24% (**\u03b2-159**) isoliert. Dass das Anomerenverh\u00e4ltnis im Rohprodukt nicht derartig zugunsten der β -Form **\u03b2-159** ausfiel, wie publiziert (α : β \approx 1:4)^[239], k\u00f6nnte daran liegen, dass die manuelle Zugabe des Diphenylphosphorylchlorid zu ungleichm\u00e4\u00dfig war und durch kurzzeitige h\u00f6here Konzentrationen des Reagenzes die Bildung der α -Form **\u03b1-159** bevorzugt wurde.

Zwar wurde von *Sabesan et al.* beobachtet, dass die β -Phosphat-Triester von D-Mannose und L-Rhamnose **\u03b2-159** und **\u03b2-140** bei Raumtemperatur sehr stabil seien.^[239] Von *Li et al.* wird

jedoch beschrieben, dass gerade diese Anomere eine limitierte Stabilität bei Raumtemperatur aufweisen und vor allem bei längerer Einwirkung von Kieselgel zur partiellen Zersetzung neigen.^[266] Dies könnte ein Grund dafür sein, dass die isolierte Ausbeute von **β -159** nur halb so groß war wie die von **α -159**.

Im Anschluss an die Phosphorylierung sollten die in den gebildeten Phosphat-Triestern **α -159** und **β -159** enthaltenen Phenylgruppen hydrogenolytisch mit Platin(IV)-oxid als Katalysator entfernt werden.^[267] In beiden Fällen konnte nach einer Reaktionszeit von 3 bzw. 7 Tagen dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz beobachtet werden (Abb. 85).

Während das auf diese Weise dargestellte β -Phosphat **β -160** bereits im ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohproduktes eine hohe Reinheit aufwies und nach einem Reinigungsschritt in quantitativer Ausbeute erhalten wurde, konnten im Fall von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosylphosphat **α -160** im ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohproduktes neben dem zum gewünschten Produkt gehörenden Singulett bei einer chemischen Verschiebung von etwa 0 ppm noch eine Reihe weiterer Signale detektiert, die nicht zugeordnet werden konnten. Nach einer säulenchromatographische Reinigung konnte das α -Phosphat **α -160** nicht isoliert werden.

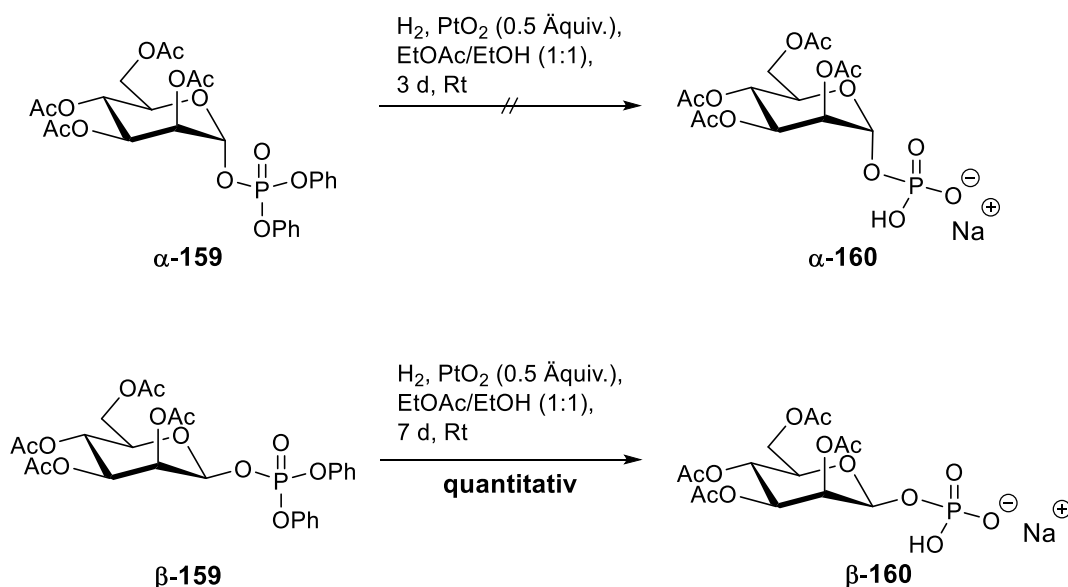


Abb. 85: Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-mannopyranosylphosphat **β -160** und Versuch der Synthese des entsprechenden α -Anomers **α -160**.

Die an D-Mannose **104** erprobten Bedingungen zur selektiven Phosphorylierung erprobten Reaktionsbedingungen sollten in den Folgeschritten auf die Glycopyranose L-Rhamnose **L-135** angewandt werden, um die für die *cycloSal*-Kupplungen geeigneten Bausteine zur Darstellung der beiden Zielverbindungen **α -132** und **β -132** zu erhalten.

Als erster Schritt erfolgte zunächst eine vollständige Acetylierung von L-Rhamnose **L-135** unter Standardbedingungen durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin (Abb. 86). Die peracetylierte L-Rhamnose **161** konnte in einer Ausbeute von 93% erhalten werden. Für die anschließende Deacetylierung von **161** an der anomeren Position wurde hier ebenfalls auf das Syntheseprotokoll von *Andersen et al.* zurückgegriffen.^[265] Bei der Umsetzung mit DMAPA in THF bei Raumtemperatur konnte dünnenschichtchromatographisch bereits nach 1.5 h eine vollständige Umsetzung beobachtet werden. Im Vergleich zum D-Mannose-Derivat **158** konnte hier nach säulenchromatographischer Reinigung eine noch höhere Ausbeute von 96% erzielt werden.

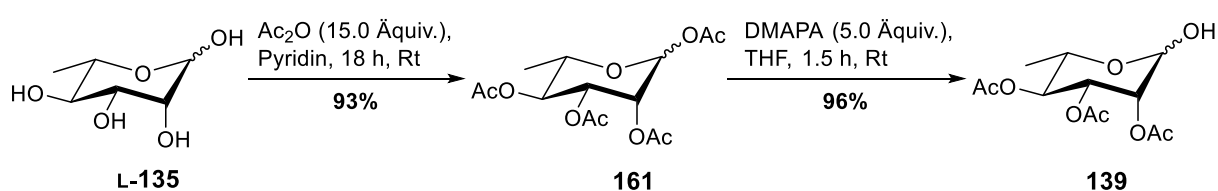


Abb. 86: Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-L-rhamnose **139**.

Parallel zu der vorgesehenen Phosphorylierung von L-Rhamnose **L-135** nach *Sabesan et al.*^[239] wurde dieses Mal auch als Gegenbeispiel die Umsetzung des entsprechenden α -L-Rhamnosylbromids **162** mit Tetrabutylammoniumphosphat als Phosphorylierungsreagenz erprobt. Von dieser Methode wurde aufgrund des fehlenden Nachbargruppeneffektes der Acetylgruppe an der C-2-Position keine β -Selektivität erwartet. Mit einer geeigneten säulenchromatographischen Reinigung sollten jedoch beide Anomere isoliert werden.

Die stereoselektive Bromierung der peracetylierten L-Rhamnose **161** erfolgte nach *Hunsen et al.* durch Umsetzung mit Acetylbromid in trockenem Methanol (Abb. 87).^[191] Das gewünschte 2,3,4-Tri-O-acetyl- α -L-rhamnosylbromid **162** konnte in quantitativer Ausbeute erhalten und ohne säulenchromatographische Reinigung als Rohprodukt eingesetzt werden. Bei der darauffolgenden Umsetzung des α -Bromids **162** mit Tetrabutylammoniumphosphat in Acetonitril bei 80 °C konnte nach einer Reaktionszeit von 2 h ein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Im ³¹P-NMR-Spektrum konnte für das Rohprodukt erwartungsgemäß ein Anomerenverhältnis von Verhältnis von α : β \approx 1:1 beobachtet werden. Nach mehreren säulenchromatographischen Reinigungen konnten beide Anomere jedoch nicht voneinander getrennt werden. Das gewünschte Produkt **150** konnte als Anomerenmischung in einer Ausbeute von 68% erhalten werden.

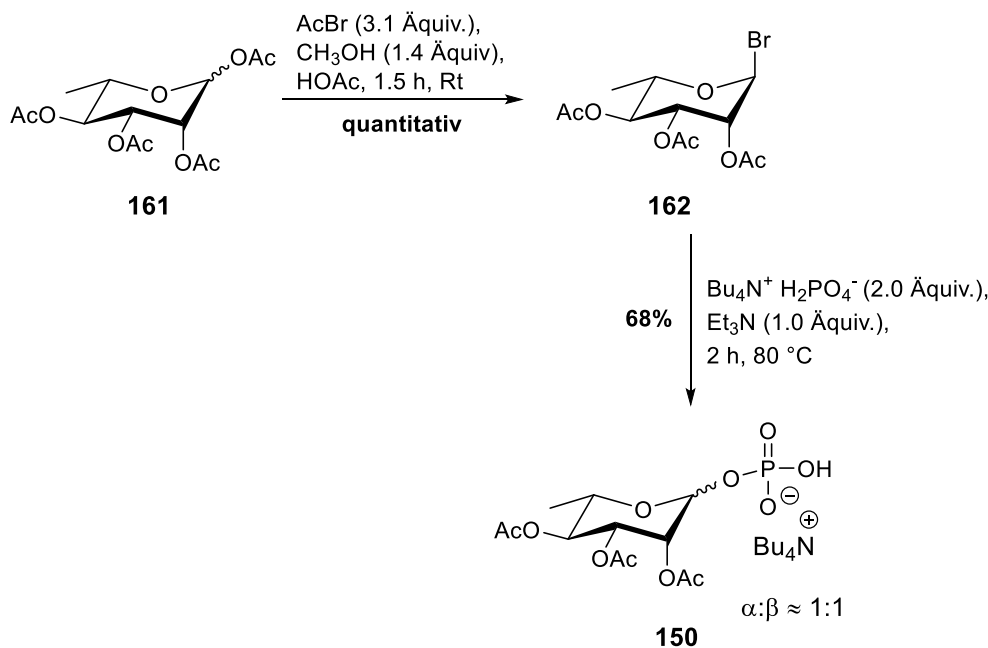


Abb. 87: Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-L-rhamnopyranosylphosphat **150** als Anomerengemisch.

Ausgehend von der zuvor dargestellten 2,3,4-Tri-O-acetyl-L-rhamnose **139** wurde nachfolgend die Phosphorylierung nach der Vorschrift von *Sabesan et al.* durchgeführt.^[239] Analog zur Darstellung der beiden D-Mannose-Derivate **α-159** und **β-159** wurde **139** mit Diphenylphosphorylchlorid in der Gegenwart von DMAP in Dichlormethan umgesetzt (Abb. 88). Auch hier erfolgte die Zugabe des Reagenzes bei Raumtemperatur in einer sehr niedrigen Geschwindigkeit über einen Zeitraum von einer Stunde zur Reaktionslösung. Eine vollständige Umsetzung konnte dünnschichtchromatographisch nach 1.5 h beobachtet werden und das Rohprodukt lieferte ein Anomerenverhältnis von $\alpha:\beta \approx 2:3$, was hier ebenfalls nicht den publizierten Überschuss an β -Anomer ergab ($\alpha:\beta \approx 1:4$).^[239] Bei der säulenchromatographischen Reinigung wurde beobachtet, dass beide Anomere der dargestellten Phosphat-Triester **α-140** und **β-140** nahezu identische R_F-Werte aufweisen, sodass nach einer ersten Reinigung noch keine Anomerenreinheit erreicht werden konnte. Allerdings konnte nach der ersten Reinigung bereits ein erheblicher Verlust der Gesamtausbeute im Bezug auf die Menge des Rohproduktes beobachtet werden. Weiterhin konnten nach der zweiten Reinigung der isolierten Produktfraktionen die gewünschten Produkthanomere **α-140** und **β-140** nicht mehr isoliert werden. Stattdessen wurden vermutlich Zersetzungsprodukte isoliert, die NMR-spektroskopisch nicht identifiziert werden konnten. Diese Beobachtungen bei der Säulenchromatographie konnten anhand mehrerer Wiederholungen des Reaktionsansatzes reproduziert werden. Erst durch eine Optimierung der Reinigung durch eine verkürzte Laufstrecke, eine stark verkürzte Reinigungszeit und die Beschränkung auf nur einen Reinigungsschritt konnten beide Anomere in einer Ausbeute von 16% (**β-140**) bzw. 44%

(α -140) isoliert werden. Eine dünnschichtchromatographische Unterscheidung beider Anomere während der Reinigung gelang durch geringfügig andersfarbige Anfärbung der Substanzen mit 10%iger Schwefelsäure. Anhand des entgegengesetzten Anomerenverhältnisses zum Rohprodukt kann vermutet werden, dass das β -Anomer **β -140** während der Säulenchromatographie stärker zur Zersetzung neigt.

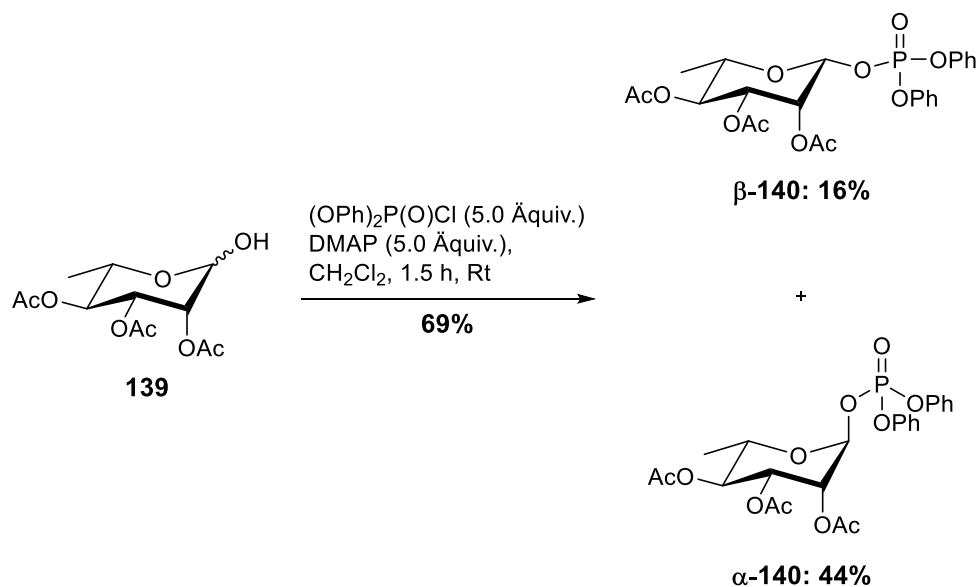


Abb. 88: Synthese von Diphenyl-(2,3,4-tri-O-acetyl- α - und β -L-rhamnopyranosyl)phosphat α - und **β -140**.

Eine hohe β -Selektivität war im Fall dieser Reaktion wünschenswert, da davon ausgegangen wird, dass von den beiden darzustellenden Anomeren von TDP-L-Rhamnose α -132 und **β -132** ausschließlich die β -Form ein Substrat der Glycosyltransferase GtfC sei. Da das von *Sabesan et al.* beschriebene Anomerenverhältnis nicht reproduziert werden konnte, sollten zusätzlich durch die Variation einiger Parameter des Syntheseprotokolls die Einflüsse auf dieses Verhältnis untersucht werden. Es wurden dabei die Reaktionstemperatur, die Reaktionszeit sowie die Verdünnung des Eduktes und des Phosphorylierungsreagenzes variiert. In Tab. 5 sind die resultierenden Anomerenverhältnisse für die erprobten Ansätze dargestellt, welche jeweils aus den ^{31}P -NMR-Spektren der Rohprodukte ermittelt wurden.

Tab. 5: Variation diverser Reaktionsparameter zur Veränderung des Anomerenverhältnisses im Rohprodukt.

Variante	Temperatur	Zeit [min]	Verdünnungsfaktor		Anomerenverhältnis (α : β)
			Edukt	P-Reagenz	
1	Rt	105	1	1	1:2
2	0 °C	105	1	1	2:1
3	-13 °C	100	1	1	10:1
4	Rt	90	2	2	1:1
5	37 °C	105	1	1	3:2
6	Rt	60	1	2	5:1
7	Rt	165	1	1	1:1

An den Reaktionsansätzen 1 bis 3 lässt sich erkennen, dass eine Verringerung der Reaktionstemperatur von Raumtemperatur über 0 °C bis hin zu -13 °C sukzessive den Anteil des α -Anomers **α -140** im Rohprodukt steigert (α : β \approx 10:1 für Variante 3). Dieser Trend wurde ebenfalls von *Sabesan et al.* beschrieben.^[239] Auch eine Erhöhung der Temperatur auf 37 °C hatte eine Bevorzugung der Bildung des α -Anomers **α -140** zur Folge (Variante 5). Eine Verdünnung sowohl der Eduktlösung als auch der Lösung des Phosphorylierungsreagenzes um den Faktor 2 (Variante 4) im Vergleich zum verwendeten Syntheseprotokoll führte zum Verlust der Selektivität und beide Anomere wurden zu gleichen Teilen erhalten. Wurde hingegen nur die Lösung des Phosphorylierungsreagenzes um den Faktor 2 verdünnt (Variante 6), kam es erneut zu einer drastischen Verschiebung des Anomerenverhältnisses zum α -Anomers **α -140**. Schließlich konnte bei der Verlängerung der Reaktionszeit auf 165 min ebenfalls ein Verlust der Selektivität beobachtet werden (Variante 7). Zusammengefasst konnte die zunächst erreichte β -Selektivität durch die Variation diverser Parameter nicht gesteigert werden. Vielmehr könnte eine noch zu schnelle und ungleichmäßige Zugabe des Phosphorylierungsreagenzes der Grund dafür sein, dass die publizierte β -Selektivität nicht reproduziert werden konnte. Dies könnte zukünftig durch eine noch langsamere, gleichmäßigere und automatisierte Zugabe, z.B. mittels einer Spritzenpumpe, optimiert werden. *Sabesan et al.* konnten ebenfalls beobachten, dass die Wahl der Schutzgruppen einen deutlichen Einfluss auf die Stabilität der Phosphat-Triester haben kann. So wurde speziell für die entsprechenden β -Phosphattriester der Glycopyranosen D-Glucose und D-Galactose ein solcher Effekt beim Austausch der Acetylgruppen gegen Benzoylgruppen

beobachtet.^[239] Gleichzeitig ging dieser Austausch mit einer schlechteren Selektivität der zuzugehenden Phosphorylierungen einher. Ein solcher Einsatz alternativer Schutzgruppen könnte die Stabilität der zu synthetisierenden Phosphat-Triester **140** von L-Rhamnose verbessern.

Aufgrund der beobachteten Labilität der Diphenylphosphate **α -140** und **β -140** wurden diese zeitnah zu den entsprechenden entschützten Phosphat-Salzen **α -150** und **β -150** umgesetzt. Die Entfernung der Phenylgruppen erfolgte hier analog zu den D-Mannose-Derivaten **α -159** und **β -159** hydrogenolytisch mit Platin(IV)-oxid als Katalysator (Abb. 89). Sowohl im Fall von Diphenyl-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)phosphat **α -140** als auch beim entsprechenden β -Anomer **β -140** konnte nach einer Reaktionszeit von 3 Tagen dünnschichtchromatographisch eine vollständige Umsetzung der Edukte beobachtet werden. Nach entsprechender Aufarbeitung und chromatographischer Reinigung konnten die gewünschten Produkte in einer Ausbeute von 63% (**α -150**) bzw. 46% (**β -150**) erhalten werden. Es ist nicht auszuschließen, dass eine teilweise während der Umsetzung stattfindende Zersetzung der eingesetzten Phosphat-Triester **α -140** und **β -140** ein Grund für die moderaten Ausbeuten sein kann. Auch eine schwierige Produktdetektion während des Reinigungsschrittes lässt sich als möglicher Grund für den Ausbeuteverlust angeben, da das Zielprodukt **150** keine UV-Aktivität aufweist.

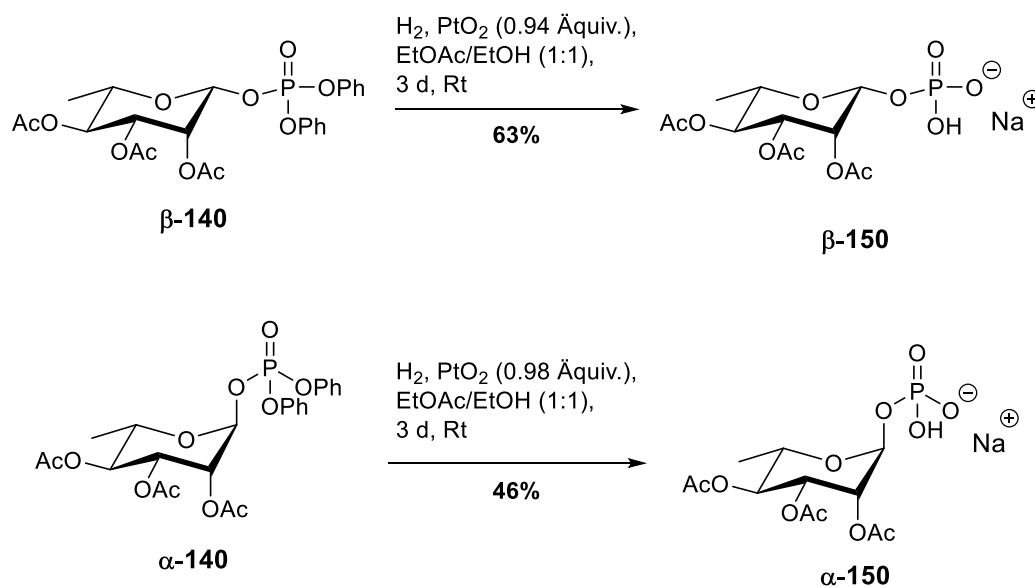


Abb. 89: Synthese beider Anomere von 2,3,4-Tri-O-acetyl-L-rhamnopyranosylphosphat **α -** und **β -150**.

Um rückblickend die angenommene Konfiguration der säulenchromatographisch isolierten, labilen Phosphat-Triester **α -140** und **β -140** zu bestätigen, sollte anhand der aus ihnen dargestellten stabileren Phosphat-Salze **α -150** und **β -150** eine NMR-spektroskopische

Überprüfung ihrer anomeren Konfiguration erfolgen. Eine für viele Monosaccharide typische Methode zur NMR-spektroskopischen Unterscheidung beider Anomere durch den Vergleich der vicinalen ^1H - ^1H -Kopplungskonstanten zwischen den Protonen H-1 und H-2 konnte hier aufgrund der fehlend und charakteristisch großen *axial-axial*-Kopplung nicht angewandt werden. Zudem sind die entsprechenden Kopplungskonstanten der Zuckerphosphate α -150 und β -150 mit 7.8 Hz und 8.7 Hz sehr ähnlich. Stattdessen konnte die anomere Konfiguration der hier dargestellten L-Rhamnoside α -150 und β -150 einerseits über die Größe der ^{13}C - ^1H -Kopplungskonstante ($^1J_{\text{C,H}}$) am anomeren Zentrum und andererseits über die Aufnahme von NOESY-Spektren bestätigt werden.

Zur Bestimmung der anomeren Konfiguration von Pyranosen in der $^4\text{C}_1$ -Konformation ist die geminale ^{13}C - ^1H -Kopplung an der anomeren Position ein verlässliches Kriterium. Für D-Zucker in dieser Konformation besitzt das α -Anomer mit seiner β -äquatorialen C-H-Bindung einen $^1J_{\text{C,H}}$ -Wert von 170 Hz und somit einen um 10 Hz größeren Wert als das β -Anomer, während es sich für L-Zucker entgegengesetzt verhält.^[268] Für das vermeintliche α -Phosphat α -150 konnte im nicht entkoppelten ^{13}C -NMR-Spektrum eine ^{13}C - ^1H -Kopplungskonstante von 173 Hz bestimmt werden, während das vermutete β -Phosphat β -150 einen Wert von 163 Hz lieferte (Abb. 90). Da L-Rhamnose L-135 bevorzugt in der $^1\text{C}_4$ -Konformation vorliegt, bestätigen diese Ergebnisse zuvor gemachte Annahme der anomeren Konfiguration.

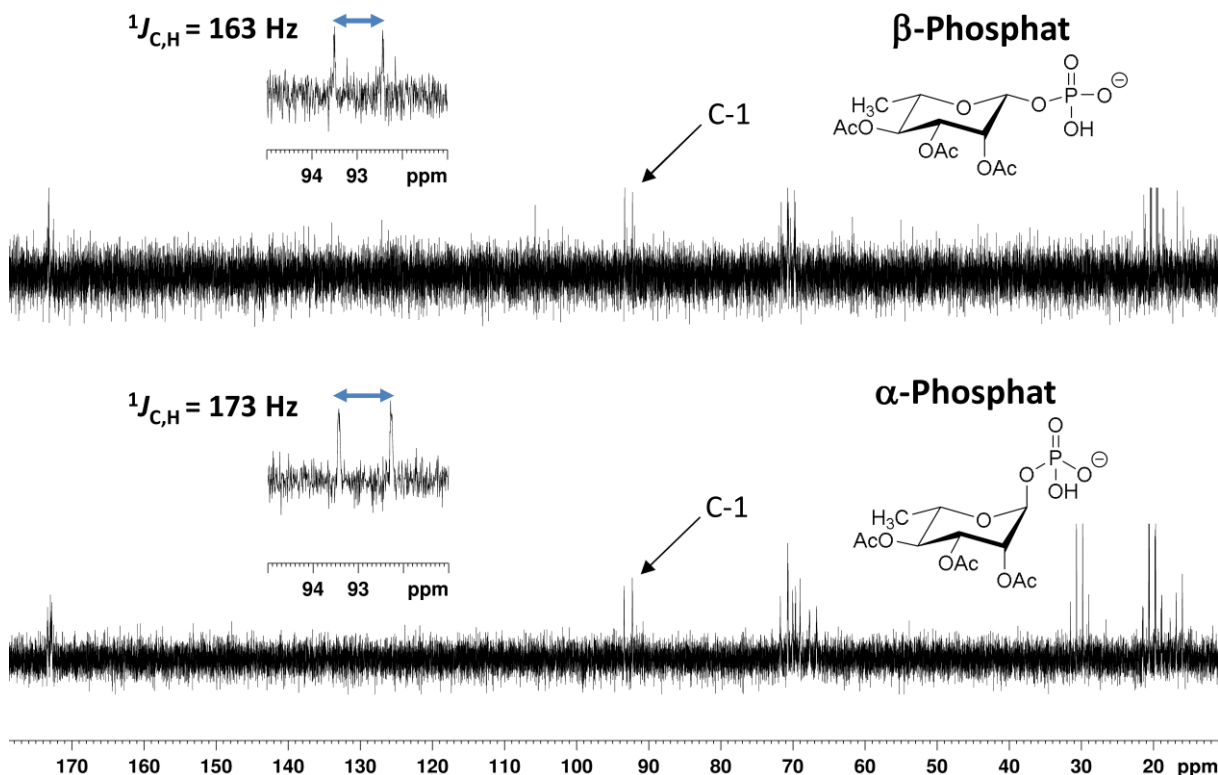


Abb. 90: Nicht entkoppelte ^{13}C -NMR-Spektren zur Bestätigung der anomeren Konfiguration von α -150 und β -150 (D_2O , 151 MHz).

Eine zusätzliche Bestätigung gelang über die Aufnahme von NOESY-Spektren beider Anomere (Abb. 91 und Abb. 92). Unter der Annahme einer 1C_4 -Konformation für beide untersuchten L-Rhamnose-Derivate α -150 und β -150 wurde bei beiden Anomeren ein NOE-Effekt zwischen dem Proton H-5, der Methylgruppe als auch dem Proton H-3 erwartet. Die entsprechenden Kreuzpeaks konnten in den NOESY-Spektren beobachtet werden und sind in Abb. 91 und Abb. 92 markiert. Für das β -Anomer β -150 konnte zusätzlich ein Kreuzpeak für den NOE-Effekt zwischen den Protonen H-5 und H-1 beobachtet werden, welcher beim α -Anomer α -150 fehlt.

Die korrekte anomere Konfiguration der untersuchten L-Rhanopyranosylphosphate α -150 und β -150 konnte somit mithilfe zweier NMR-Methoden unabhängig voneinander erfolgreich bestätigt werden.

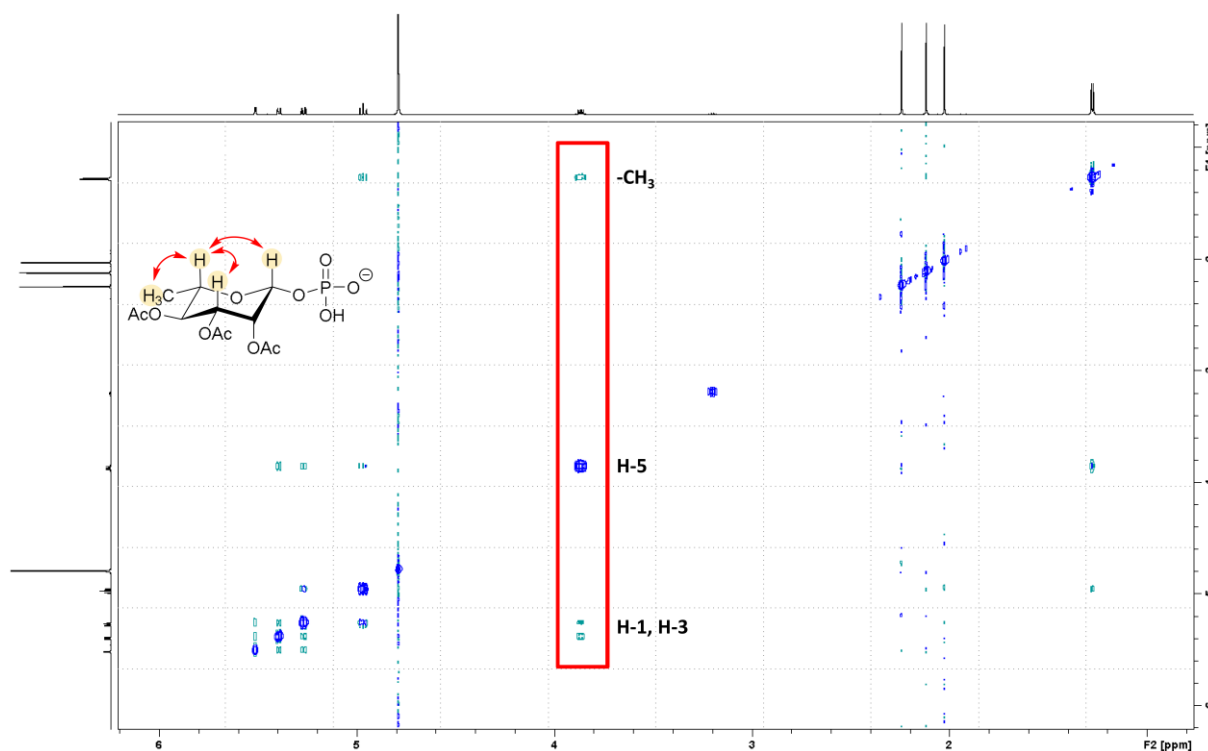


Abb. 91: NOESY-Spektrum von 2,3,4-Tri-O-acetyl- β -L-rhamnopyranosylphosphat β -150.

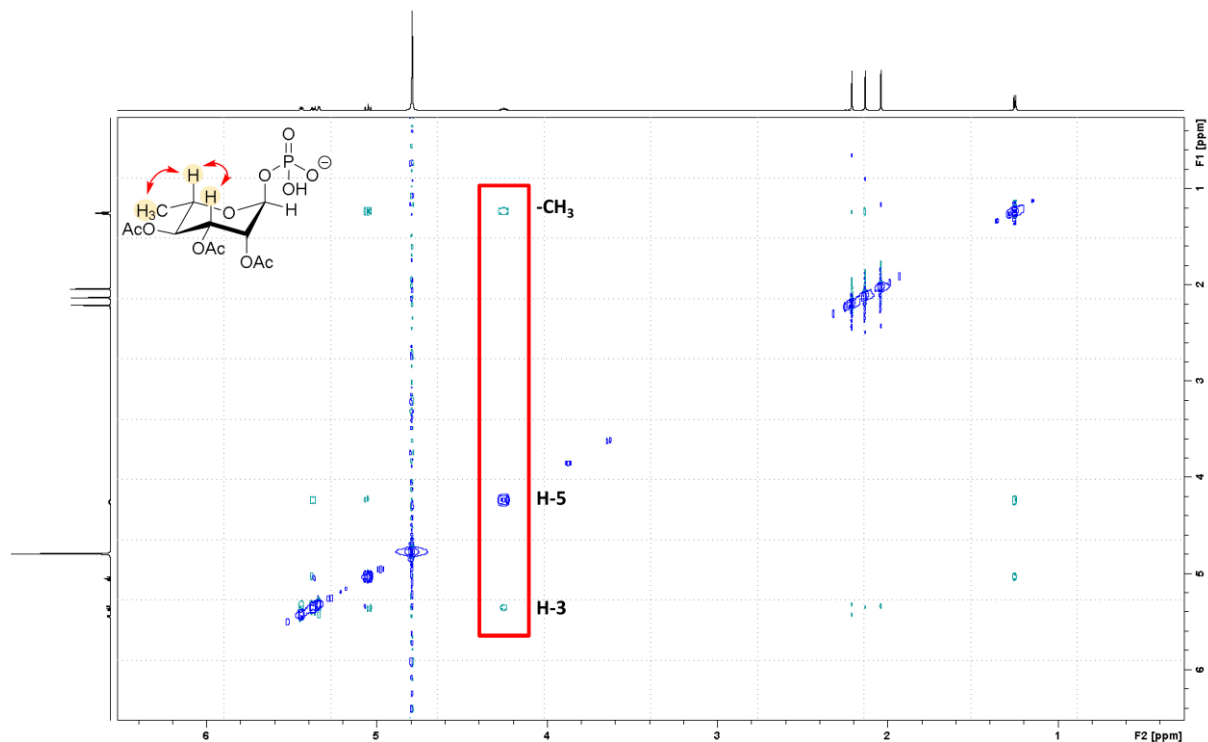


Abb. 92: NOESY-Spektrum von 2,3,4-Tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosylphosphat α -150.

Abschließend wurden die acetylgeschützten L-Rhamnopyranosylphosphate α -150 und β -150 unter basischen Bedingungen mit Triethylamin in einem CH₃OH/H₂O-Gemisch deacetyliert (Abb. 93). Für beide Edukte α -150 und β -150 konnte nach einer Reaktionszeit von 20 bzw. 24 h eine vollständige Umsetzung beobachtet werden. Nach Aufarbeitung und jeweils einer automatisierten Umkehrphasenchromatographie konnten die gewünschten entschützten Phosphat-Salze in quantitativer Ausbeute (β -146) bzw. in einer Ausbeute von (α -146) 55% erhalten werden.

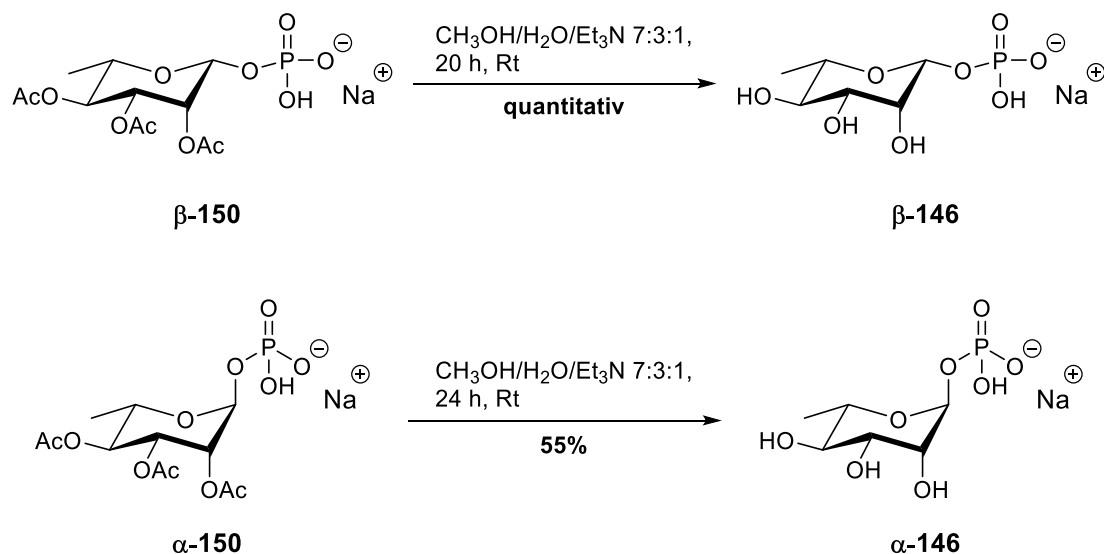


Abb. 93: Synthese beider Anomere von L-Rhamnopyranosylphosphat α - und β -146.

Ein möglicher Grund für die deutlich niedrigere Ausbeute bei der Deacetylierung von α -150 im Vergleich zu β -150 könnte die bei diesem Ansatz beobachtbare schwierigere dünnschichtchromatographische Detektion des Produktes nach der automatisierten Umkehrphasenchromatographie sein, was sich durch eine weniger intensive Anfärbung der Substanz zeigte.

Neben den synthetisierten *cycloSal*-Triestern **148** und **149** standen mit den erfolgreich dargestellten vier Rhamnopyranosylphosphaten α -150, β -150, α -146 und β -146 alle Bausteine bereit, die für die finalen Kupplungsreaktionen zur Darstellung der beiden Zielverbindungen α -132 und β -132 benötigt wurden.

8.3 Synthese von TDP- α -L-Rhamnose α -132 und TDP- β -L-Rhamnose β -132

Für die Darstellung beider Zielverbindungen TDP- α -L-Rhamnose α -132 und TDP- β -L-Rhamnose β -132 standen zwei verschiedene Synthesewege zur Verfügung. Einerseits sollten die beiden acetylgeschützten L-Rhamnosephosphate α -150 und β -150 als Nucleophile in entsprechenden Kupplungsreaktionen mit dem *cycloSal*-Triester **148** eingesetzt werden. Dabei sollten die Zielverbindungen nach einer finalen basischen Abspaltung der Acetylgruppen erhalten werden. Der zweite Syntheseweg sollte aus Kupplungsreaktionen einer der beiden ungeschützten L-Rhamnosephosphate α -146 und β -146 mit dem neuartigen Cbz-geschützten *cycloSal*-Triester **149** bestehen. Die Cbz-Gruppe sollte im Anschluss hydrogenolytisch abgespalten werden.

Es sollte zunächst TDP- β -L-Rhamnose **β -132** nach dem im Arbeitskreis etablierten Syntheseprotokoll in einer zweistufigen Reaktion dargestellt werden (Abb. 94). Dabei erfolgte die *cycloSal*-Kupplung des acetylgeschützten β -Phosphats **β -150** mit dem Triester **148** unter wasserfreien Bedingungen in DMF. Nach vollständiger Umsetzung und entsprechender Aufarbeitung wurde der entsprechende vollständig acetylierte NDP-Zucker unter basischen Bedingungen in einem Gemisch aus CH₃OH/H₂O/Et₃N deacetyliert. Nach mehreren Reinigungsschritten mittels automatisierten Umkehrphasenchromatographie konnte die gewünschte Zielverbindung **β -132** in einer relativ geringen Ausbeute von 33% isoliert werden. In Abb. 95 ist das ¹H-NMR-Spektrum der TDP- β -L-Rhamnose **β -132** dargestellt. Im ³¹P-NMR-Spektrum konnten die erwarteten beiden Dubletts bei einer chemischen Verschiebung von etwa -12 ppm detektiert werden (Abb. 96).

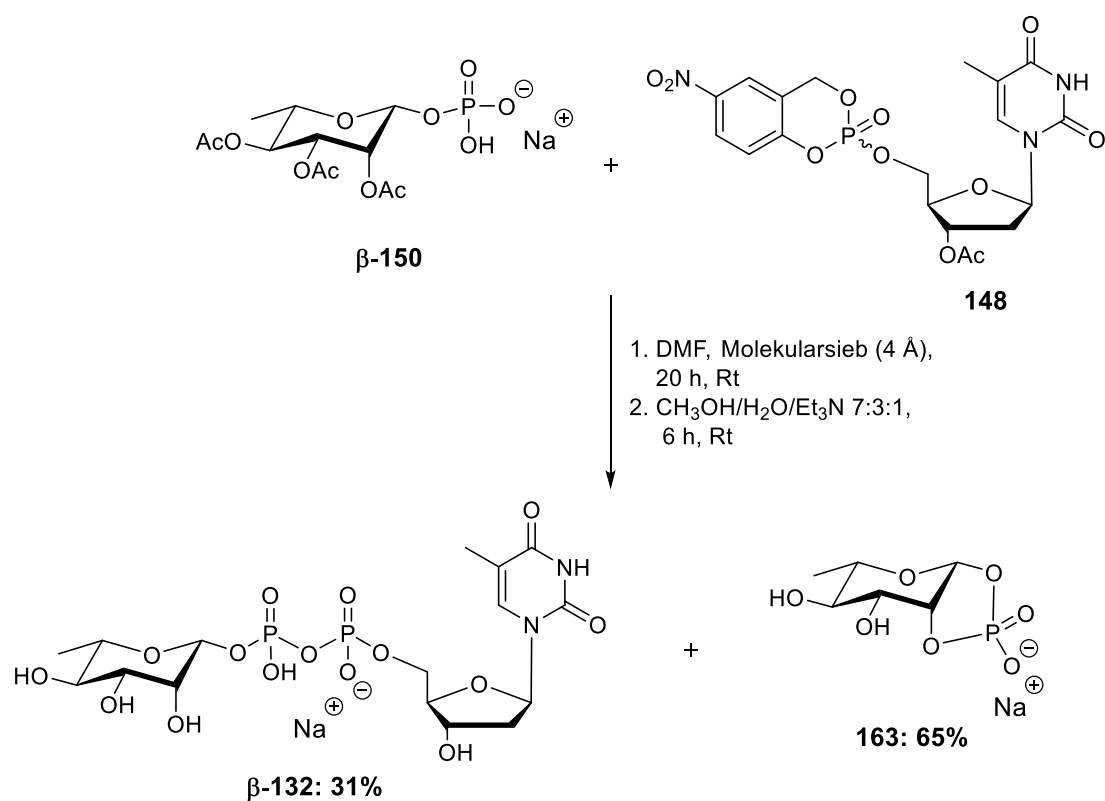


Abb. 94: Synthese von TDP- β -L-Rhamnose **β -132**.

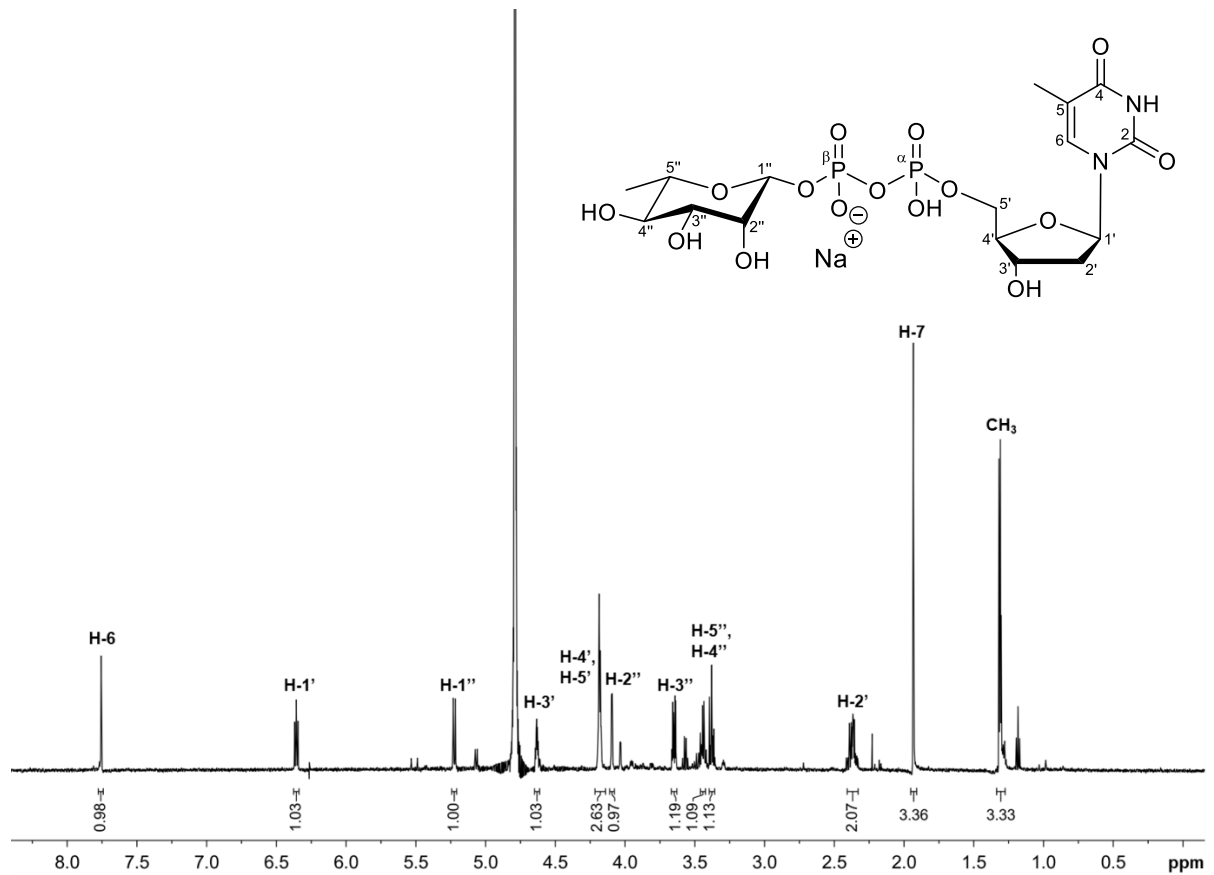


Abb. 95: ¹H-NMR-Spektrum der TDP-β-L-Rhamnose β-132 (D₂O, 600 MHz).

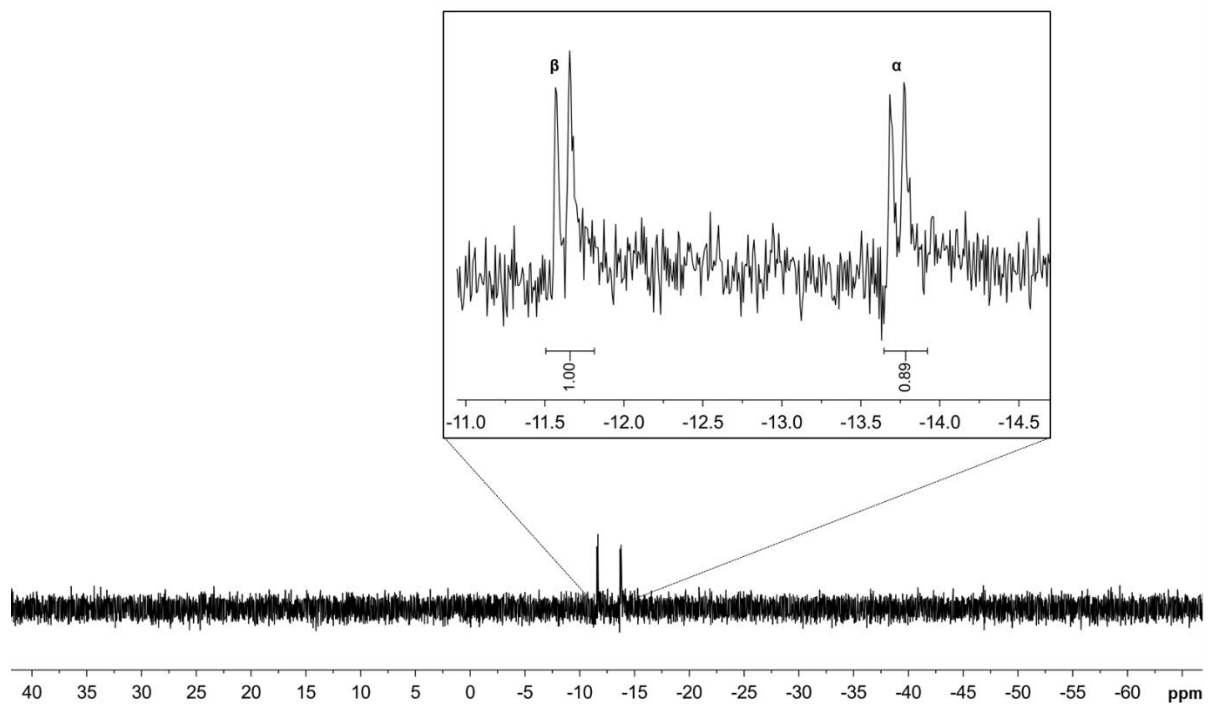


Abb. 96: ³¹P-NMR-Spektrum der TDP-β-L-Rhamnose β-132 (D₂O, 243 MHz).

Zusätzlich konnte ein zunächst noch unbekanntes Phosphor-haltiges Nebenprodukt erhalten werden, welches im ^{31}P -NMR-Spektrum ein Signal mit der chemischen Verschiebung von 16.9 ppm lieferte (Abb. 98). Dieses konnte bereits nach der basischen Entschützung im ^{31}P -NMR-Spektrum neben den beiden für die Zielverbindungen typischen Dubletts bei einer chemischen Verschiebung von -11.61 ppm und -13.73 ppm beobachtet werden. Im ^1H -NMR-Spektrum dieser Verbindung konnten alle Protonen der ungeschützten L-Rhamnose **L-135** identifiziert werden mit dem Unterschied, dass das Signal für das Proton H-1 statt als Dublett aufzutreten eine starke Aufspaltung zu einem Doppeldublett zeigte (Abb. 97). Bei der größeren der beiden Kopplungskonstanten wurde mit einer Größe von 24.9 Hz auf eine $^3J_{\text{H,P}}$ -Kopplung zum Phosphor-Atom einer angrenzenden Phosphat-Gruppe geschlossen. Sowohl diese Kopplungskonstante als auch die chemische Verschiebung des entsprechenden Singulett im ^{31}P -NMR-Spektrum (Abb. 98) ließen vermuten, dass es bei der basischen Entschützung zur Bildung von β -L-Rhamnopyranosyl-1,2-phosphat **163** gekommen ist.

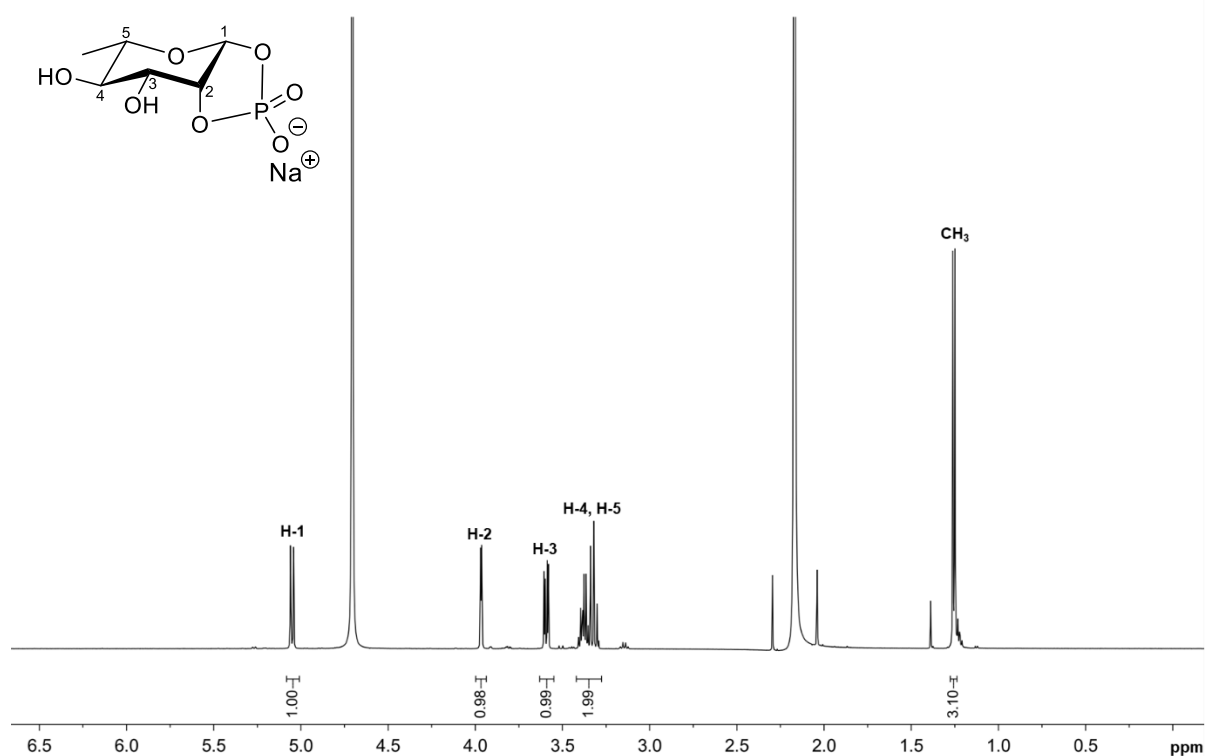


Abb. 97: ^1H -NMR-Spektrum von β -L-Rhamnopyranosyl-1,2-phosphat **163** (D_2O , 600 MHz).

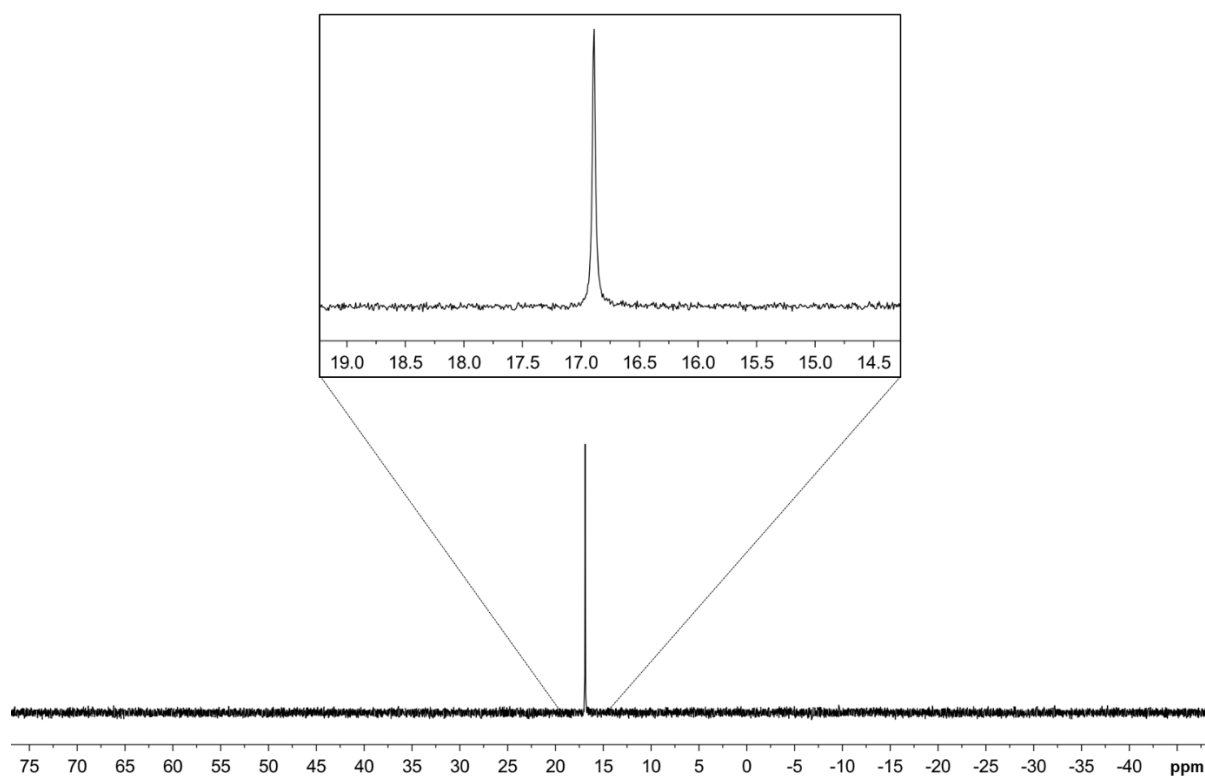


Abb. 98: ^{31}P -NMR-Spektrum von β -L-Rhamnopyranosyl-1,2-phosphat **163** (D_2O , 600 MHz).

Ein Literaturvergleich mit den Daten des analogen β -D-Mannopyranosyl-1,2-phosphats unterstützt diese Vermutung.^[269] Auch die Beobachtung der $^2J_{\text{C,P}}$ - bzw. $^3J_{\text{C,P}}$ -Kopplungskonstanten (2.5 Hz und 10.0 Hz) für die C-Atome C-2 und C-3 im ^1H -entkoppelten ^{13}C -NMR-Spektrum war dabei mit den Vergleichsdaten konform. Schließlich konnte massenspektrometrisch im ESI-Spektrum mit der gefundenen einfach negativ geladenen Masse von m/z $[\text{M-H}]^- = 225.0173$ die Bildung dieses Nebenproduktes verifiziert werden (Abb. 99). Ein entsprechendes nicht-cyclisiertes Glycosylphosphat hätte eine hier nicht beobachtete um 18 g/mol größere Masse.

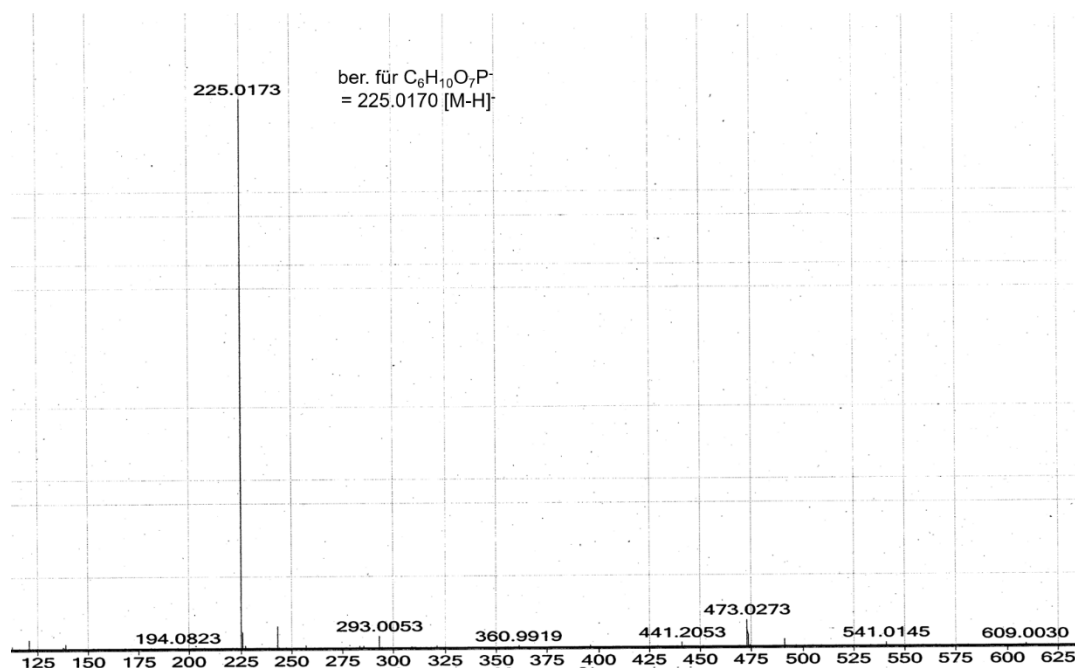


Abb. 99: HR-ESI-MS-Spektrum von β -L-Rhamnopyranosyl-1,2-phosphat **163**.

Nach einer Lagerung einer Lösung von TDP- β -L-Rhamnose **β -132** in D_2O über einen Zeitraum von 7 Tagen bei Raumtemperatur konnte NMR-spektroskopisch kein Zerfall der Zielverbindung beobachtet werden, was ebenfalls dafür spricht, dass die Bildung des 1,2-Cyclophosphats **163** unter den Entschützungsbedingungen stattfand.

Die Entstehung von verschiedenen Cyclophosphaten als Nebenprodukte bei der NDP-Zucker-Synthese konnte in dieser Arbeitsgruppe schon mehrfach unter Einsatz anderer Glycosylphosphate beobachtet werden. So konnte z.B. *V. Tonn* im Rahmen einer Festphasen-gebundenen Synthese von TDP- α -D-Glucose das α -D-Glucopyranosyl-1,2-phosphat als Nebenprodukt mit einem Singulett im ^{31}P -NMR-Spektrum bei $\delta = 10.7$ ppm nach der finalen Entschützung isolieren und charakterisieren.^[270]

Auch *N. Lunau* konnte bei der Darstellung von TDP-6-desoxy- α -L-Altrose beobachten, dass als bevorzugtes Produkt das entsprechende 6-Desoxy- α -L-altropyranosyl-1,3-cyclophosphat mit einem Singulett im ^{31}P -NMR-Spektrum bei $\delta = 14.5$ ppm gebildet wird.

Des Weiteren ist die Entstehung von Cyclophosphaten durch die Spaltung von NDP-Zuckern unter basischen Bedingungen bereits literaturbekannt.^[253,271–273] Von *Zamyatina et al.* konnte beispielsweise bei der Deacetylierung von ADP-2,3,5,6,7-penta-O-acetyl-L-glycero- β -D-mannoheptopyranose **164** unter vergleichbaren basischen Bedingungen, wie sie hier eingesetzt wurden, die Entstehung des 1,2-cyclischen Phosphats **165** beobachtet werden (Abb. 100).^[253] Dieses wies im ^{31}P -NMR-Spektrum ein Signal bei einer chemischen Verschiebung von 17.8 ppm auf.

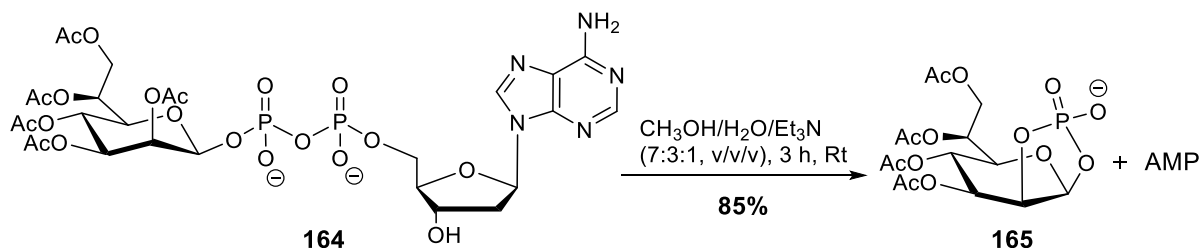


Abb. 100: Bildung eines 1,2-Cyclophosphats **165** aus einem NDP-Zucker **164** unter basischen Bedingungen nach *Zamyatina et al.*^[253]

Für die Spaltung der Pyrophosphatgruppe mit der einhergehenden Ausbildung eines cyclischen Phosphats wird ein S_N2 -artiger Mechanismus angenommen, bei dem ein nucleophiler Angriff einer geeigneten Hydroxylgruppe der Glycosyleinheit auf das β -Phosphoratom erfolgt, wobei das entsprechende Nucleosidmonophosphat als zweites Spaltprodukt entsteht.^[253]

Allen genannten Beispielen ist die relative Konfiguration beider an der Bildung der cyclischen Phosphat-Gruppe beteiligten Hydroxylgruppen gemeinsam. Diese weisen in allen Fällen eine *syn*-Konfiguration auf, was die Bildung von fünf- oder sechsgliedrigen cyclischen Phosphaten unter Spaltung der Pyrophosphatbrücke bevorzugt. Eine große Zahl von NDP-Zuckern konnte nach dem von *S. Wolf* entwickelten Syntheseprotokoll trotz der abschließenden Deacetylierung unter stark basischen Bedingungen erfolgreich dargestellt werden.^[12–14] Es konnten dabei nur in vereinzelten Fällen eine Spaltung der Pyrophosphatbrücke im geringen Umfang beobachtet werden.^[270]

Im Anschluss wurde mit dem ungeschützten β -Phosphat **β -146** eine *cycloSal*-Kupplung mit dem Cbz-geschützten Thymidin-Triester **149** erprobt (Abb. 101). Hierbei erfolgte analog zur vorhergehenden Synthese unter wasserfreien Bedingungen eine langsame Zugabe des Triesters **149** zur Lösung des Phosphats in DMF und etwas DMSO. Nach einer Reaktionszeit von 20 h konnte eine vollständige Umsetzung beobachtet und das Gemisch aufgearbeitet werden. Das zunächst erhaltene Rohprodukt wurde auch bei diesem Ansatz ohne Reinigung unter Verwendung der zuvor mit dem Testsubstrat **157** erprobten Reaktionsbedingungen mittels Transfer-Hydrierung geschützt. Unter Einsatz von 1,4-Cyclohexadien als Wasserstoff-Quelle und Pd/C als Katalysator wurde die Reaktion nach 3 d beendet.

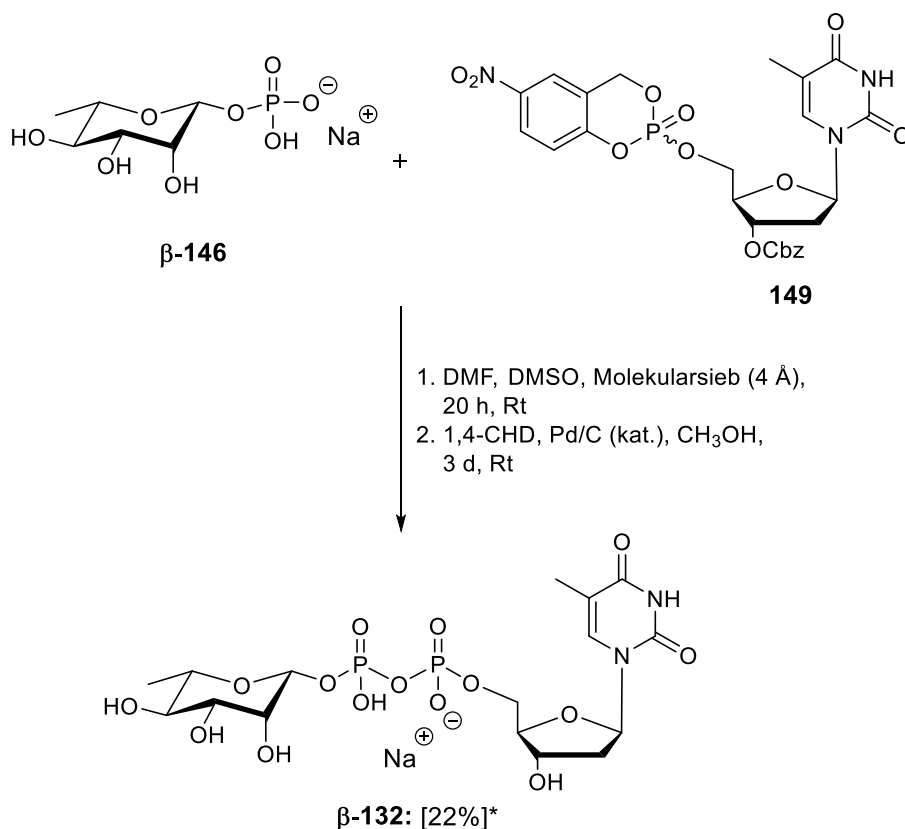


Abb. 101: Synthese von TDP- β -L-Rhamnose $\beta\text{-132}$ ausgehend von $\beta\text{-146}$ und **149** (*kontaminiert mit TMP).

Bereits im ^{31}P -NMR-Spektrum des Rohgemisches konnten neben den für das Produkt erwarteten beiden Dubletts mit $\delta = -11.72$ ppm und -13.97 ppm zwei weitere Singulett bei einer chemischen Verschiebung von 3.86 ppm und etwa 0.7 ppm detektiert werden. Letztere wiesen Intensitätsverhältnis von nahezu 1:1 auf, was auf nicht umgesetztes β -L-Rhamnopyranosylphosphat $\beta\text{-146}$ sowie Thymidinmonophosphat (TMP) als Hydrolyseprodukt des eingesetzten Triesters **149** hindeutete. Dies wurde zusätzlich durch Literaturdaten bestätigt. Es konnte keine Bildung des 1,2-Cyclophosphats **163** bestätigt werden. Nach einer ersten automatisierten Umkehrphasenchromatographie konnte das entstandene TMP aufgrund nahezu identischem Retentionsverhalten wie die Zielverbindung $\beta\text{-132}$ nicht entfernt werden. Dies gelang auch nicht durch weitere Chromatographien mit variierenden Reinigungsbedingungen. Auch mit einer abschließend durchgeführten Größenausschlusschromatographie konnte die Zielverbindung $\beta\text{-132}$ nicht von der Kontamination durch TMP befreit werden und dadurch in diesem 1:1-Gemisch lediglich in einer geringen Ausbeute von 22% erhalten werden.

Für die folgende Synthese von TDP- α -L-Rhamnose $\alpha\text{-132}$ wurde sich auf die Verwendung des Cbz-geschützten Thymidin-Triesters **149** beschränkt, welcher in einer entsprechenden

Kupplungsreaktion mit α -L-Rhamnopyranosylphosphat **α -146** umgesetzt werden sollte (Abb. 102). Die Reaktion wurde zunächst analog den beiden Ansätzen zur Darstellung von TDP- β -L-Rhamnose **β -132** in einer zweistufigen Reaktionssequenz durchgeführt. Nach erfolgreicher Kupplungsreaktion und einer direkt im Anschluss durchgeführten Entschützung konnte die gewünschte Zielverbindung nach zweifacher Umkehrphasenchromatographie in einer sehr guten Ausbeute von 80% isoliert werden. In einer alternativen Durchführung wurde das Cbz-geschützte NDP-Zucker-Intermediat chromatographisch gereinigt, bevor die Entschützung durchgeföhrt wurde. Zwar konnte die Zielverbindung **α -132** auf diese Weise mit nur einem Reinigungsschritt erhalten werden, jedoch gelang die Isolierung dieser Verbindung mit einer Ausbeute von nur 45% über zwei Stufen. Die erste Variante wäre hier somit zu bevorzugen.

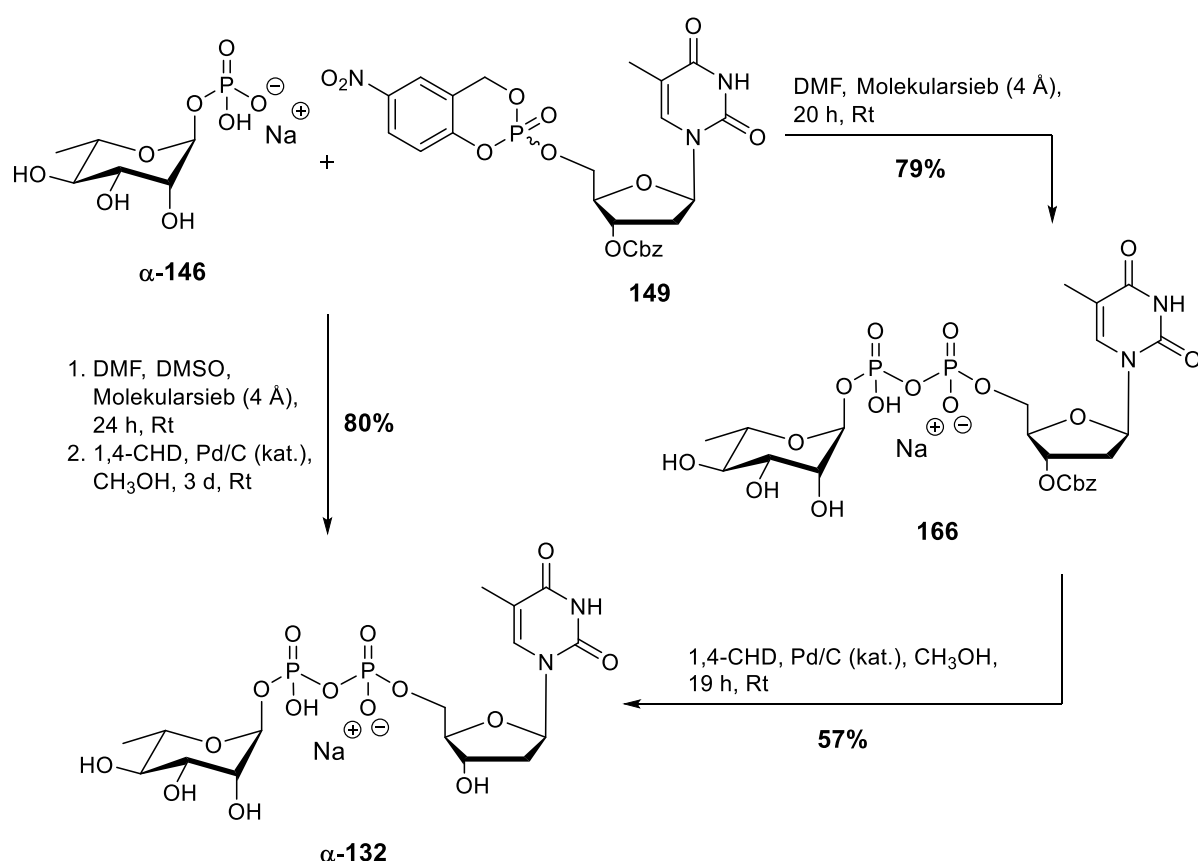


Abb. 102: Synthese von TDP- α -L-Rhamnose **α -132** ausgehend von **α -146** und **149**.

Abb. 103 und Abb. 104 zeigen für das Cbz-Derivat **166** sowie für **α -132** die im ³¹P-NMR-Spektrum für NDP-Zucker typischen Dubletts mit einer chemischen Verschiebung von $\delta = -11.88$ ppm und -13.96 ppm für **166** sowie $\delta = -11.72$ ppm und -13.97 ppm für **α -132**. In Abb. 105 ist zusätzlich das HR-ESI-MS-Spektrum des Cbz-Derivats **166** gezeigt.

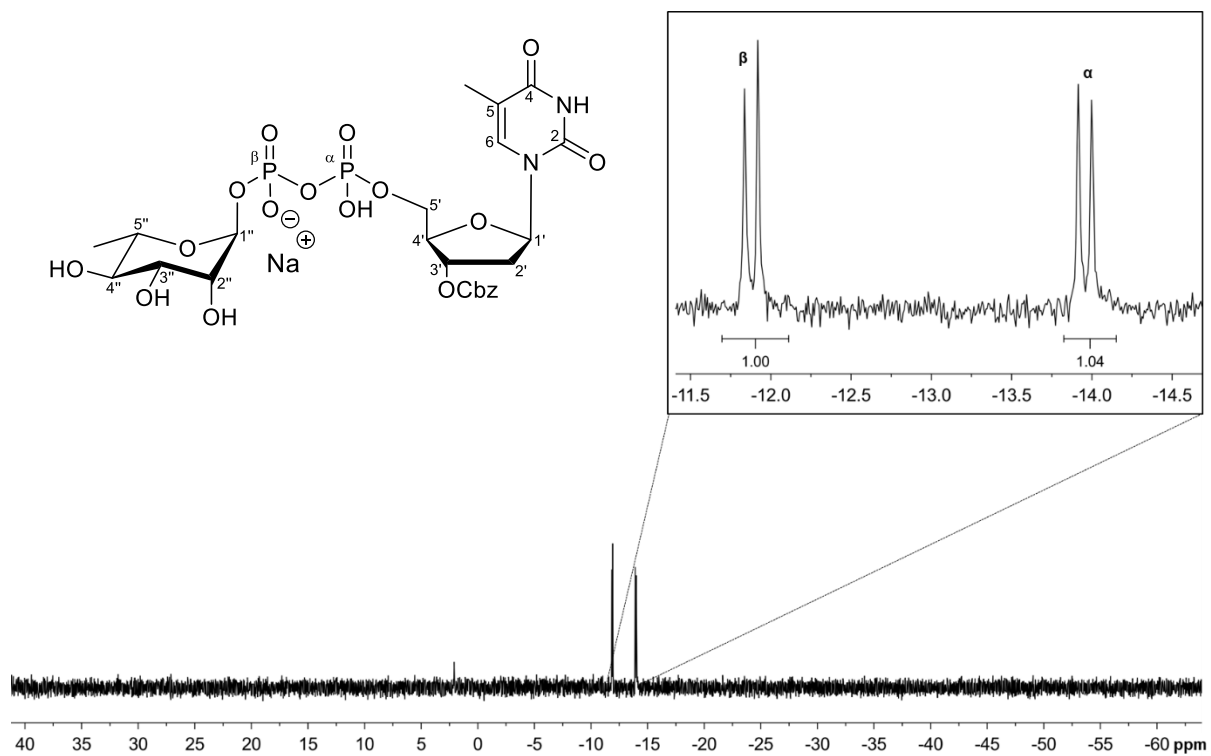


Abb. 103: ^{31}P -NMR-Spektrum der Cbz-geschützten TDP- α -L-Rhamnose **166** (D_2O , 243 MHz).

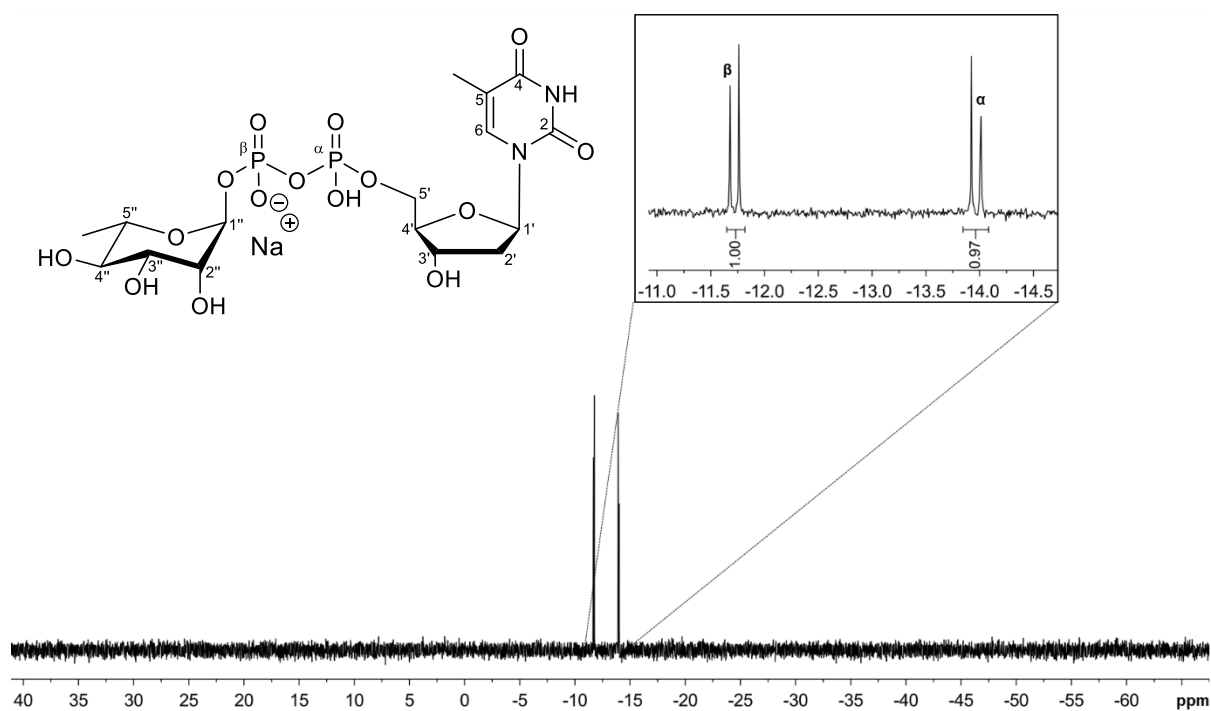


Abb. 104: ^{31}P -NMR-Spektrum der TDP- α -L-Rhamnose α -**132** (D_2O , 243 MHz).

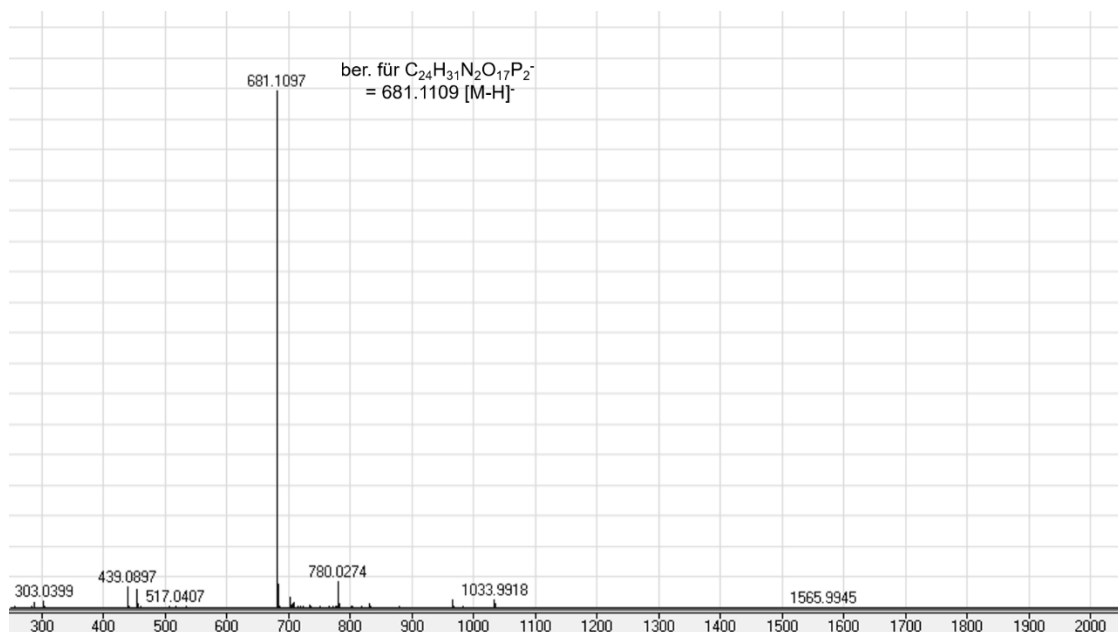


Abb. 105: HR-ESI-MS-Spektrum der Cbz-geschützten TDP- α -L-Rhamnose **166**.

Da in beiden Varianten eine Bildung von TMP als Nebenprodukt nicht beobachtet werden konnte, ist davon auszugehen, dass das α -L-Rhamnopyranosylphosphat **α -146** eine höhere Reaktivität bei dieser Reaktion besitzt als das entsprechende β -Anomer **β -146**. Auch massenspektrometrisch konnten beide NDP-Zucker erfolgreich nachgewiesen werden, was in Abb. 106 exemplarisch am α -Anomer **α -132** gezeigt ist.

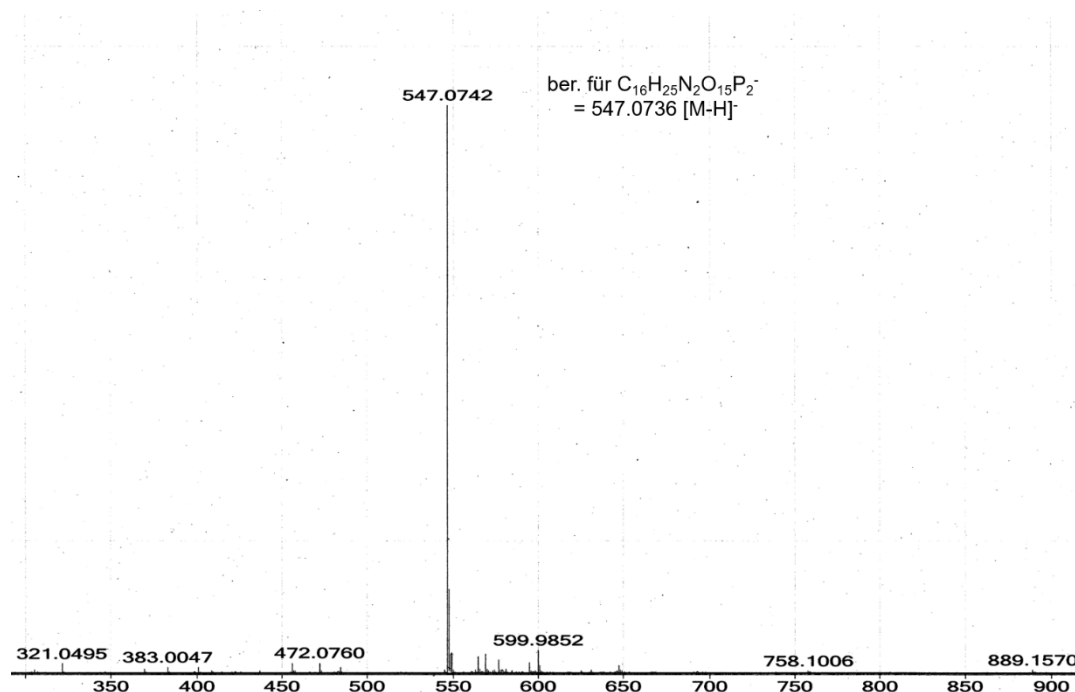


Abb. 106: HR-ESI-MS-Spektrum von TDP- α -L-Rhamnose **α -132**.

8.4 Fazit

Mittels der Kombination zweier unterschiedlicher Synthesewege konnten hier erstmals erfolgreich über die *cycloSal*-Methode zwei NDP-Zucker (α -**132** und β -**132**) synthetisiert werden, die L-Rhamnose als Glycosyleinheit enthielten.

Im Fall von β -**132** gelang dies einerseits durch eine klassische *cycloSal*-Kupplung des acetylgeschützten β -Phosphats β -**150** mit dem Triester **148** in einer Ausbeute von 31%. Bei der dazugehörigen basischen Deacetylierung kam es jedoch zur Bildung wesentlicher Mengen an β -L-Rhamnopyranosyl-1,2-cyclophosphat **163**, welches ebenfalls isoliert und charakterisiert werden konnte. Mithilfe der neuartigen *cycloSal*-Kupplung zwischen β -**146** und dem Cbz-geschützten Triester **149** gelang es, diese Nebenproduktbildung zu umgehen. Die Zielverbindung konnte allerdings nicht von einer Kontamination durch TMP befreit werden, welches hier als wahrscheinliches Hydrolyseprodukt von **149** auftrat. Verglichen mit der von *Zhao et al.* publizierten TMP-Imidazolid-Methode zur Darstellung von β -**132** konnte hier eine wesentlich niedrigere Ausbeute erreicht werden.^[240] Die *cycloSal*-Methode bietet jedoch den Vorteil, dass die aktivierte Form des eingesetzten Nucleosid-Monophosphats nicht unmittelbar vor der Kupplung hergestellt werden muss und lagerungsfähig ist. Eine Optimierung des Reaktionsumsatzes sowie der Reinigungsbedingungen zur Abtrennung des als Nebenprodukt entstehenden TMP könnte den Ausbeuteunterschied beider Methoden deutlich verringern.

TDP- α -L-Rhamnose α -**132** konnte hier ausschließlich unter Verwendung des Cbz-geschützten Triesters **149** in zwei verschiedenen Varianten erfolgreich synthetisiert werden. Eine Synthese dieses NDP-Zucker war bisher noch nicht in der Literatur beschrieben worden. Angelehnt an die klassische *cycloSal*-Kupplung erfolgte einerseits die hydrogenolytische Abspaltung der Cbz-Gruppe direkt im Anschluss an den Kupplungsschritt, wobei α -**132** in 80% Ausbeute erhalten wurde. Andererseits wurde α -**132** unter Hinzunahme einer Reinigung des Cbz-geschützten NDP-Zuckers **166** in einer Ausbeute von 45% über zwei Stufen erhalten. Eine Reinigung der Cbz-geschützten Zwischenstufe sollte zukünftig auch im Rahmen der Darstellung von TDP- β -L-Rhamnose β -**132** im Hinblick auf eine effektivere Abtrennung der entstehenden Thymidinmonophosphats getestet werden.

Mit Hilfe des neuartigen Triesters **149** konnten hier erste Versuche einer neuen Synthesevariante der *cycloSal*-Methode entwickelt werden. Diese stellt eine geeignete Alternative für verwendete Glycosyleinheiten dar, bei denen es bei der klassischen Methode während der basisch katalysierten Deacetylierung zur Bildung von Cyclophosphaten kommt. Die Synthese von TDP- β -L-Rhamnose β -**132** zeigte jedoch, dass hier noch Optimierungsbedarf im Hinblick auf die Reaktivität der eingesetzten ungeschützten Phosphate durch z.B. andere Gegenionen oder alternative Schutzgruppenstrategien besteht.

8.5 *In vitro* Aktivitätsassay zum Nachweis der Umsetzung durch GtfC

Mithilfe eines *in vitro* Aktivitätsassays wurde von *Dr. F. Bönisch* aus der Arbeitsgruppe von *Dr. U. Rabausch* am Biozentrum Klein Flottbek getestet, ob es sich bei den beiden dargestellten NDP-Zuckern um Co-Substrate der GtfC handelt und es zu einer Glycosylierung des Flavanons Naringenin als Akzeptor-Substrat kommt. Die mittels heterologer Expression in *E. coli* erhaltene GtfC wurde dabei direkt nach dem Zellaufschluss im Assay eingesetzt. Dieser Zellextrakt wurde in den Assays mit einer 300 μ M Lösung des jeweiligen NDP-Zuckers sowie mit einer 300 μ M Naringenin-Lösung gemischt und in einem gepufferten System bei 28 °C inkubiert. Bei der durchgeführten Auswertung mittels Hochleistungsdünnschichtchromatographie (HPTLC) und LC-MS konnte qualitativ gezeigt werden, dass es zu einer Glycosylierung von Naringenin gekommen ist und es sich bei TDP- β -L-Rhamnose **β -132** um ein Co-Substrat der GtfC handelt, während es mit dem α -Anomer **α -132** zu keiner Umsetzung kommt. Mit dem in dieser Arbeit entwickelten, jedoch noch optimierbaren, synthetischen Zugang zu diesem Enzym-Substrat könnten zukünftig Charakterisierungen von entsprechenden neuartigen Glycosyltransferasen erleichtert werden.

9 Experimenteller Teil

9.1 Allgemeines

9.1.1 Edukte und Reagenzien

Die Edukte und Reagenzien wurden von den Firmen Acros Organics, Alfa Aesar, Fluka, Grüssing GmbH, Sigma-Aldrich, TCI, Carl Roth, AppliChem, VWR und Riedel-de Haën in Synthesequalität bezogen und, ausgenommen der folgenden Chemikalien, ohne weiter Reinigung in der Synthese eingesetzt.

N,N-Diisopropylethylamin: $C_8H_{19}N$; Sdp: 127 °C; mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet, bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert und unter Lichtausschluss gelagert und unter Inertgas gelagert.

Phosphor-(III)-chlorid: PCl_3 ; Sdp: 76 °C; unter Stickstoff destilliert.

1-Methylimidazol: $C_4H_6N_2$; Sdp: 198 °C; unter Stickstoff destilliert und über Intertgas gelagert.

Triethylamin: $C_6H_{15}N$; Sdp: 89 °C; mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid getrocknet, bei Normaldruck unter Stickstoff destilliert und unter Lichtausschluss und unter Stickstoff gelagert.

Trimethylphosphit: $C_3H_9O_3P$; Sdp: 111 °C; unter Stickstoff destilliert und über Inertgas gelagert.

9.1.2 Lösungsmittel

Die folgenden Lösungsmittel wurden in technischer Qualität bezogen und vor der Verwendung unter Normaldruck destilliert: Dichlormethan, Ethylacetat, Methanol und Petrolether 50-70. Diethylether wurde ebenfalls in technischer Qualität bezogen und vor der Verwendung bei 900 mbar destilliert und über KOH gelagert. Das auch in technischer Qualität bezogene Aceton wurde vor der Verwendung bei 450 mbar destilliert.

Für die NMR-Spektroskopie wurden deuterierte Lösungsmittel von euriso-top und Deutero verwendet. Hydrolyselabile und oxidationsempfindliche Substanzen wurden mit über Molsieb

gelagertem, deuteriertem Chloroform vermessen. Für die Vermessung von säurelabilen Substanzen wurde das deuterierte Chloroform zuvor über basisches Aluminiumoxid filtriert.

9.1.2.1 Absolute Lösungsmittel

Aceton: C_3H_6O ; Sdp: 56 °C; wurde von Acros Organics (max. 0.005% H_2O) über Molsieb bezogen.

Acetonitril: C_2H_3N ; Sdp: 81 °C; wurde i) mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid erhitzt, bei Normaldruck unter Inertgas destilliert und über Molsieb (0.3 nm) gelagert oder ii) über eine Lösungsmitteltrocknungsanlage, MB-SPS-800 von der Firma M. Braun Inertgas-Systeme GmbH, absolutiert und über Molsieb (0.3 nm) gelagert. Es wurde hierbei Acetonitril - CHROMASOLV[®] von Sigma-Aldrich verwendet.

Dichlormethan: CH_2Cl_2 ; Sdp: 40 °C; wurde i) mehrere Tage unter Rückfluss über Calciumhydrid erhitzt, bei Normaldruck unter Inertgas destilliert und über Molsieb (0.4 nm) gelagert oder ii) über eine Lösungsmitteltrocknungsanlage, MB-SPS-800 von der Firma M. Braun Inertgas-Systeme GmbH, absolutiert und über Molsieb (0.4 nm) gelagert. Es wurde hierbei Dichlormethan - CHROMASOLV[®] mit Amylen als Stabilisator von Sigma-Aldrich verwendet.

Diethylether: $C_4H_{10}O$; Sdp: 34 °C; wurde i) mehrere Tage unter Rückfluss über Natrium erhitzt, bei Normaldruck unter Inertgas destilliert und über Molsieb (0.4 nm) gelagert oder ii) über eine Lösungsmitteltrocknungsanlage, MB-SPS-800 von der Firma M. Braun Inertgas-Systeme GmbH, absolutiert und über Molsieb (0.4 nm) gelagert. Es wurde hierbei Diethylether, ACS reagent, von Sigma-Aldrich verwendet.

N,N-Dimethylformamid: C_3H_7NO ; Sdp: 153 °C; wurde von Acros Organics (max. 0.005% H_2O) über Molsieb bezogen.

Dimethylsulfoxid: C_2H_6OS ; Sdp: 189 °C; wurde von Acros Organics (max. 0.005% H_2O) über Molsieb bezogen.

Ethanol:	C_2H_6O ; Sdp: 78 °C; wurde von Acros Organics (max. 0.005% H_2O) über Molsieb bezogen.
Ethylacetat:	$C_4H_8O_2$; Sdp: 77 °C; wurde von Fluka (max. 0.005% H_2O) über Molsieb bezogen.
Methanol:	CH_4O ; Sdp: 65 °C; wurde von Acros Organics (max. 0.005% H_2O) über Molsieb bezogen.
Pyridin:	C_5H_5N ; Sdp: 115 °C; wurde i) von Acros Organics (max. 0.005% H_2O) über Molsieb bezogen oder ii) über eine Lösungsmitteltrocknungsanlage, MB-SPS-800 von der Firma M. Braun Inertgas-Systeme GmbH, absolutiert und über Molsieb (0.4 nm) gelagert. Es wurde hierbei Pyridin, ACS reagent, von Sigma-Aldrich verwendet.
Tetrahydrofuran:	C_4H_8O ; Sdp: 66 °C; wurde i) mehrere Tage unter Rückfluss über Kalium erhitzt, bei Normaldruck unter Inertgas destilliert und über Molsieb (0.4 nm) gelagert oder ii) über eine Lösungsmitteltrocknungsanlage, MB-SPS-800 von der Firma M. Braun Inertgas-Systeme GmbH, absolutiert und über Molsieb (0.4 nm) gelagert. Es wurde hierbei Tetrahydrofuran - CHROMASOLV® plus von Sigma-Aldrich verwendet.
Toluol:	C_7H_8 ; Sdp: 111 °C; wurde von Acros Organics (max. 0.005% H_2O) über Molsieb bezogen.

9.1.3 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumfolien mit Fluoreszenzindikator (DC-Fertigfolien ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄; Schichtdicke 0.2 mm) der Firma Macherey-Nagel oder der Firma Merck (ALUGRAM Xtra SIL G/UV₂₅₄; Schichtdicke 0.2 mm) verwendet. Die Laufstrecke der Substanzen betrug 5 – 6 cm. Alle R_f -Werte wurden bei Kammersättigung ermittelt. Die Detektion der UV-aktiven Substanzen erfolgte mit einer UV-Lampe der Firma Herolab bei einer Wellenlänge von 254 nm. Ebenfalls erfolgte die Detektion aller Substanzen durch Eintauchen in 10%ige Schwefelsäure oder in ein Vanillin-Färbereagens (15 g Vanillin gelöst in 250 mL Ethanol und 2.5 mL konzentrierter

Schwefelsäure, Lagerung bei 4 °C) und anschließender Wärmebehandlung. Freie Amine und Carbonsäuren wurden durch Benetzen mit einer Bromkresolgrün-Lösung (80 mg Bromkresolgrün gelöst in 200 mL Ethanol und solange mit Natronlauge (0.1 M) versetzt, bis ein Farbumschlag von grün nach blau erfolgte) detektiert. Phosphathaltige Substanzen konnten mit einer Ammoniummolybdat-Färbelösung (1 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ gelöst in 7 mL halbkonzentrierter Salpetersäure und 13 mL H_2O , Lagerung bei 4 °C) und darauffolgender Befeuchtung mit einer Zinn(II)-chlorid-Lösung (0.1 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ gelöst in 20 mL Salzsäure (0.5 M)) visualisiert werden.

Präparative Säulenchromatographie

Für säulenchromatographische Trennungen wurde MN Kieselgel 60 M der Firma Macherey-Nagel (Korngröße: 40-63 μm , 230-400 mesh ASTM) verwendet.

Umkehrphasenchromatographie

Für die Umkehrphasenchromatographie wurde LiChroprep RP-18 (40-63 μm) der Firma Merck verwendet.

Ionenaustausch an DOWEX-NH₄⁺

Das Ionenaustauscherharz Dowex 50W-X8 H⁺, 50-100 mesh, der Firma Sigma-Aldrich wurde zum Austausch der Kationen auf H⁺-Ionen mit dem 5-fachen Säulenvolumen einer 1 M Salzsäurelösung gespült. Anschließend wurde mit Reinstwasser gespült, bis ein neutraler pH-Wert erreicht war. Die entsprechende Verbindung wurde in Reinstwasser oder Reinstwasser/Acetonitril 7:3 v/v aufgetragen und mit dem entsprechenden Laufmittel von der Säule eluiert. Zur Regeneration wurde wieder mit Salzsäurelösung gespült.

Automatisierte Normal phase-(NP)/Reversed phase-(RP-)Chromatographie

Sowohl für Normal- als auch für Umkehrphasenchromatographie (RP-18) wurde der automatisierte puriFlash[®]430 der Firma Interchim mit UV-Detektor verwendet. Für Normalphasentrennungen wurden self-packed Kartuschen eingesetzt, die mit Macherey-Nagel Kieselgel 60 M (siehe Säulenchromatographie) befüllt wurden. Für die RP-18-Chromatographie wurden Säulen von Macherey-Nagel (Chromabond[®] Flash RS 40 C₁₈ ec) verwendet.

HPLC gekoppelt mit Massenspektrometrie

Die HPLC-MS-Analysen wurden an einer Dionex Ultimate 3000 UPLC (UHPLC) gekoppelt mit einem Bruker maXis ESI-Q-TOF (Software Bruker Data Analysis 4.2) durchgeführt. Es wurde eine Säule der Firma Agilent Poroshell (120 EC-C18 2.7 μm , 4.6 x 50 mm) verwendet. Als Laufmittel wurde Acetonitril von VWR (HPLC grade) sowie Milli-Q-Wasser (s. S. 147 Wasseraufbereitungsanlage) mit einem Zusatz von 0.1% Ameisensäure verwendet.

9.1.4 Spektroskopie

Kernresonanzspektroskopie (Nuclear magnetic resonance, NMR)

Die NMR-Spektren wurden in der NMR-Abteilung des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg unter der Leitung von Dr. Thomas Hackl und Dr. Young-Joo Lee aufgenommen.

Die Messung erfolgte an den folgenden Geräten der Firma Bruker: Avance I 400 MHz Spektrometer, Avance II 400 MHz Spektrometer, DRX 500 MHz Spektrometer und Avance III HD 600 MHz Spektrometer.

Die Kalibrierung zur Ermittlung der chemischen Verschiebungen der Signale ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) erfolgte mithilfe der Lösungsmittelsignale [CHCl_3 7.26/77.16 (in CDCl_3); DMSO 2.50/39.52 (in $\text{DMSO-}d_6$), CH_3OH 3.31/49.00 (in CD_3OD), H_2O 4.79 (in D_2O)]. Bei ^{13}C -Aufnahmen in D_2O wurde keine Kalibrierung durchgeführt. Die Verschiebungen der ^{31}P -NMR-Signale wurden gegen einen externen Standard (85%ige Phosphorsäure) angegeben. Bei der Messung der ^{19}F -NMR-Spektren wurden die Signale gegen Trichlorfluormethan als externen Standard angegeben. Für die Zuordnung der Signale wurden $^1\text{H}, ^1\text{H}$ - sowie $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -Korrelationsspektren (H,H-COSY, HSQC und HMBC) aufgenommen. Die NMR-Spektren wurden, soweit möglich, als Spektren 1. Ordnung ausgewertet.

Infrarotspektroskopie (IR)

Die IR-Spektren wurden an einem ALPHA Platinum ATR-IR-Spektrometer der Firma Bruker aufgenommen. Die Messungen erfolgten in einem Messbereich von 400 - 4000 cm^{-1} .

UV/VIS-Spektroskopie

Die UV-Messungen wurden an einem Cary 300 Bio UV/VIS-Spektralphotometer der Firma Varian durchgeführt.

9.1.5 Spektrometrie

Massenspektrometrie (MS)

Die Massenspektren wurden in der Massenspektrometrie-Abteilung des Fachbereichs Chemie der MIN-Fakultät der Universität Hamburg unter der Leitung von Dr. Maria Riedner aufgenommen.

Die EI-Massenspektren wurden an einem VG 70S EI doppelt fokussierenden Sektorfeldmassenspektrometer der Firma VG Analytical gemessen.

Die Messung der hochaufgelösten (HR: *High resolution*) ESI-Massenspektren im positiven und negativen Modus erfolgte an einem Agilent 6224 ESI-TOF-Massenspektrometer der Firma Agilent Technologies.

Die MALDI-Messungen wurden an einem Bruker UltrafleXtreme™ MALDI-TOF-TOF-Spektrometer durchgeführt, wobei 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) als Matrix diente.

Polarimetrie

Die Drehwerte der anomerereinen Zucker und von Nucleosid-Derivaten wurden an einem Optronic Polarimeter der Firma Krüss gemessen. Die Messungen erfolgten zwischen bei 20 bis 25 °C, einer Wellenlänge von 589 nm und einer Küvettenlänge von 1 dm.

9.1.6 Sonstige Geräte

Gefriertrocknungsanlage

Die Trocknung von wässrigen Lösungen erfolgte an einer Gefriertrocknungsanlage Alpha 2-4 LDplus mit einem vertikalen Trockenrechen (121224) der Firma Christ verwendet.

Mikrowelle

Für mikrowellenunterstützte Reaktionen wurde eine Discover BenchMate Mikrowelle der Firma CEM eingesetzt. Es wurde dabei sowohl im „*open vessel*“- als auch im „*closed vessel*“-Modus gearbeitet.

Wasseraufbereitungsanlage

Reinstwasser (Milli-Q) wurde durch ein arium® pro UV-Reinstwassersystem der Firma Sartorius gewonnen.

Schmelzpunktbestimmung

Für die Ermittlung der Schmelzpunkte wurde ein Schmelzpunkt-Messgerät IA 9200 Schmelzpunktbestimmungsgerät der Firma Electrothermal verwendet.

pH-Messgerät

Zum Einstellen des pH-Wertes wurde das pH-Messgerät ProLab 3000 der Firma Schott verwendet.

Thermomixer

Zur Durchführung von enzymatisch katalysierten Deacetylierungsreaktionen wurde ein Thermomixer TS basic der Firma CellMedia verwendet.

Zentrifuge

Es wurde eine Zentrifuge Heraeus Primo R Centrifuge der Firma Themro Scientific bei Raumtemperatur und 8000 u/min verwendet.

UV-Lampe

Zur Bestrahlung von UV-aktivierbaren Verbindungen wurde eine UV-Lampe PH PL-L 18W/10/4P (18 W) der Firma Philips mit einem Wellenlängenbereich von 320-390 nm und einem Wellenlängenmaximum von 360 nm verwendet.

9.2 Synthesen

9.2.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

AAV 1: Acetylierung von Glycopyranosen

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Die zu acetylierende Verbindung (1.0 Äquiv.) wurde zunächst in abs. Pyridin gelöst, mit 3.0 Äquivalenten (pro Hydroxy- bzw. Aminogruppe) Essigsäureanhydrid versetzt und das Reaktionsgemisch für ca. 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionskontrolle erfolgte dünnschichtchromatographisch mit. Nach der vollständigen Umsetzung des Eduktes wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und anschließend mehrfach mit Toluol codestilliert bis kein Pyridin mehr vorhanden war. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und mehrfach mit H₂O und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel anschließend im Vakuum entfernt.

AAV 2: Vollständige Deacetylierung von Hydroxylgruppen

Variante I: Deacetylierung von Hydroxylgruppen nach Zemplén (AAV 2.1)

Die zu deacetylierende Verbindung wurde in abs. CH₃OH gelöst und mit einer katalytischen Menge an Natrium versetzt. Die Reaktionslösung wurde für ca. 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes wurde die Lösung durch portionsweise Ionentauscher-Zugabe (Amberlite® IR 120+ (H⁺)) neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde je nach Polarität des Produktes entweder säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₃CN/H₂O 5:1 v/v als Eluent oder mittels automatisierter Umkehrphasenchromatographie (RP-18) mit H₂O und einem CH₃CN-Gradienten (0-100%) gereinigt.

Variante II: Deacetylierung von Hydroxylgruppen in einem Gemisch aus CH₃OH/H₂O/Triethylamin 7:3:1 v/v/v (AAV 2.2)

Die zu deacetylierende Verbindung wurde in CH₃OH/H₂O/Et₃N 7:3:1 v/v/v aufgenommen und für 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes wurde das Lösungsmittelgemisch unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde je nach Polarität des Produktes entweder säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₃CN/H₂O 5:1 v/v als Eluent oder mittels automatisierter Umkehrphasenchromatographie (RP-18) mit H₂O und einem CH₃CN-Gradienten (0-100%) gereinigt.

AAV 3: Selektive Deacetylierung an der anomeren Position peracetylierter Zucker

Der jeweilige peracetylierte Zucker (1.0 Äquiv.) wurde in THF gelöst und mit 5.0 Äquiv. 3-Aminopropyldimethylamin versetzt. Die Reaktionslösung wurde 1-2 h bei Raumtemperatur gerührt und nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle: PE/EE 1:2 v/v) jeweils zwei Mal mit 1 M Salzsäure und ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 2:1 v/v als Eluent gereinigt.

AAV 4: Darstellung von α -Glycosylbromiden

Variante I: Darstellung von α -Glycosylbromiden durch Umsetzung mit Acetylbromid und Methanol (AAV: 4.1)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas und unter Lichtausschluss durchgeführt. Der entsprechende peracetylierte Zucker (1.0 Äquiv.) wurde in Essigsäure gelöst und anschließend mit 3.1 Äquiv. Acetylbromid und 1.2 Äquiv. abs. CH_3OH versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 1.5 bis 5 h bei Raumtemperatur gerührt nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin) mit CH_2Cl_2 verdünnt. Nach dreimaligem Waschen mit eiskaltem H_2O wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt konnte entweder ohne weitere Reinigung eingesetzt werden oder es wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:3 v/v und 0.1% Triethylamin als Eluent gereinigt.

Variante II: Darstellung von α -Glycosylbromiden mit Titanetetrabromid (AAV 2.1)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas und unter Lichtausschluss durchgeführt. Der entsprechende peracetylierte Zucker (1.0 Äquiv.) wurde in einem Gemisch aus abs. CH_2Cl_2 und abs. Ethylacetat (9:1 v/v) gelöst und bei 0 °C portionsweise mit 3.0 Äquiv. Titan(IV)-bromid versetzt. Die Reaktionslösung wurde bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin). Im Anschluss wurde die Lösung mit Natriumacetat neutralisiert und weitere 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Suspension in CH_2Cl_2 aufgenommen und fünf Mal mit eiskaltem H_2O gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die säulenchromatographische Reinigung erfolgte an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin als Eluent.

AAV 5: Stereoselektive Synthese von Diphenylmannopyranosyl- und rhamnopyranosylphosphaten

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden zunächst 1.0 Äquiv. des 1-OH-freien Rhamnose- oder Mannose-Derivats sowie 5.0 Äquiv. 4-(Dimethylamino)pyridin für 1 h im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann in abs. CH_2Cl_2 (3 mL pro mmol Zucker) gelöst. Anschließend erfolgte die sehr langsame Zugabe von 5.0 Äquiv. Diphenylchlorphosphat. Die Reaktionslösung wurde für 2-4 h bei Raumtemperatur gerührt und bei vollständigem Umsatz des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 1:2 v/v und 0.1% Triethylamin)

mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt und der Reaktionsansatz vier Mal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Pentan und einem EE-Gradienten (Pentan/EE 9:1 v/v \rightarrow 8:3 v/v \rightarrow 2:1 v/v \rightarrow 1:1 v/v) und 0.1% Triethylamin als Eluent gereinigt.

AAV 6: Spaltung von Diphenylmannopyranosyl- und rhamnopyranosylphosphaten

Das zu spaltende Diphenylphosphat wurde in einem Gemisch von abs. EE und abs. Ethanol (1:1 v/v) gelöst und mit einer Spatelspitze Platin(IV)-oxid versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 3 bis 4 Tage bei leichtem H_2 -Überdruck so lange bei Raumtemperatur gerührt, bis dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz des Eduktes festzustellen war (DC-Kontrolle: $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 60:35:6 v/v/v). Anschließend wurde der Reaktionsansatz über Celite[®] filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 5:1 v/v als Eluent gereinigt.

AAV 7: Synthese von Arylazid-Linkern

Es wurden 1.0-1.1 Äquiv. der jeweiligen Aminosäure und 2.1 Äquiv. Natriumhydrogencarbonat in H_2O gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 1.1 Äquiv. *N*-(4-Azidbenzoyloxy)succinimid **87** in 1,4-Dioxan gelöst und dann langsam zur Aminosäure-Lösung hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 24 h bei Raumtemperatur gerührt und nach vollständiger Umsetzung der Aminosäure (DC-Kontrolle: $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 1:1 v/v oder $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 5:1 v/v) auf 1/5 ihres Volumens eingeeengt. Anschließend wurde mit kalter 1 M Salzsäure ein pH-Wert von 2.5 eingestellt, der Niederschlag filtriert und für 24 h im Ölpumpenvakuum getrocknet. Das Produkt konnte ohne weitere Reinigung eingesetzt werden.

AAV 8: Synthese von NHS-Estern

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquiv. der zu veresternden Carbonsäure, 1.3 Äquiv. Dicyclohexylcarbodiimid und 1.3 Äquiv. *N*-Hydroxysuccinimid in abs. CH_3CN gelöst. Die Reaktionslösung wurde für ca. 20 h bei Raumtemperatur gerührt und nach vollständiger Umsetzung der Carbonsäure (DC-Kontrolle: Toluol/EE 4:1 v/v oder PE/EE 1:2 bis 1:4 v/v) der sich gebildete Niederschlag abfiltriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt entweder in 2-Propanol umkristallisiert oder säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE und einem EE-Gradienten (PE/EE 4:1 v/v \rightarrow EE) als Eluent gereinigt.

AAV 9: Synthese von Pentafluorphenylestern

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquiv. der zu veresternden Carbonsäure zunächst für 15 min im Vakuum getrocknet und in abs. CH₃CN (30 mL pro mmol Carbonsäure) und abs. Pyridin (3.4 mL pro mmol Carbonsäure) gelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe von 4.0 Äquiv. Pentafluorphenol und 4.0 Äquiv. Diisopropylcarbodiimid. Die Reaktionslösung wurde für ca. 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung der Carbonsäure (DC-Kontrolle: PE/EE 4:1 v/v) wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE und einem EE-Gradienten (PE/EE 4:1 v/v → EE) als Eluent gereinigt.

AAV 10: Synthese von vollständig geschützten Nucleosiden

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquiv. des entsprechenden Nucleosids zunächst drei Mal mit abs. Pyridin coevaporiert und anschließend in abs. Pyridin (4.5 mL pro mmol Nucleosid) suspendiert. Anschließend wurden 1.3 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid hinzugegeben und der Reaktionsansatz für ca. 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt (CH₂Cl₂/CH₃OH 7:4 v/v) verfolgt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes wurde Essigsäureanhydrid (3.0 Äquiv. pro Hydroxyl- oder Aminogruppe) hinzugegeben und die Reaktionslösung für weitere 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v) wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und daraufhin der Rückstand drei Mal mit Toluol und danach mit CH₂Cl₂ coevaporiert. Der Rückstand wurde in CH₂Cl₂ aufgenommen und zwei Mal mit H₂O und anschließend zwei Mal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 3:2 v/v als Eluent gereinigt.

AAV 11: Selektive Synthese von *tert*-Butyldimethylsilylethern an der 5'-Position von Nucleosiden

Variante I (AAV 11.1)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquiv. des entsprechenden Nucleosids zunächst drei Mal mit abs. Pyridin coevaporiert und anschließend in abs. Pyridin (4.5 mL pro mmol Nucleosid) suspendiert. Anschließend wurden 1.1 Äquiv. *tert*-

Butyldimethylsilylchlorid hinzugegeben und der Reaktionsansatz für ca. 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1 v/v) verfolgt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes wurde die Reaktionslösung mit CH_3OH (5-fache Menge des Reaktionsvolumens) und das Lösungsmittelgemisch unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde drei Mal mit Toluol und danach mit CH_2Cl_2 coevaporiert. Anschließend wurde der Rückstand in CH_2Cl_2 aufgenommen und zwei Mal mit H_2O gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde zwei Mal säulenchromatographisch an Kieselgel mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1 v/v als Eluent gereinigt.

Variante II (AAV 11.2)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquiv. des entsprechenden Nucleosids zunächst für 1 h im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann in abs. DMF (7 mL pro mmol Nucleosid) suspendiert. Anschließend erfolgte nacheinander die portionsweise Zugabe von 2.0 Äquiv. Imidazol und 2.0 Äquiv. *tert*-Butyldimethylsilylchlorid. Die Reaktionslösung wurde für ca. 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes (DC-Kontrolle: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 5:1 v/v) wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt und durch die Zugabe von Eiswasser (5-fache Menge des Reaktionsvolumens) ein farbloser Feststoff gefällt. Zur vollständigen Fällung wurde das Gemisch für 3 h auf -10 bis -20 °C gekühlt und im Anschluss filtriert. Nach einer intensiven Trocknung des Rohproduktes im Ölpumpenvakuum wurde dieses säulenchromatographisch an Kieselgel mit $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 5:1 v/v als Eluent gereinigt, wobei die Beladung über einen „dry-load“ mit Kieselgel erfolgte.

AAV 12: Spaltung von *tert*-Butyldimethylsilylethern

Variante I: Entschützung mit TBAF (AAV 12.1)

Es wurden 1.0 Äquiv. des zu spaltenden Silylethers in THF gelöst und anschließend mit 1.5 Äquiv. TBAF (1 M in THF) versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1 v/v) wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH_2Cl_2 und einem CH_3OH -Gradienten (0-10%) gereinigt.

Variante II: Entschützung mit AcCl (AAV 12.2)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquiv des zu spaltenden Silylethers zunächst für 1 h im Hochvakuum getrocknet und dann mit abs. CH₃OH versetzt. Die Suspension wurde solange bei 40 °C gerührt, bis sich das Edukt vollständig gelöst hat. Anschließend wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt und mit einer katalytischen Menge Acetylchlorid versetzt. Die Reaktionslösung wurde für ca. 3 h bei Raumtemperatur gerührt und nach vollständigem Umsatz des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v) mit CH₂Cl₂ verdünnt (5-fache Menge des Reaktionsvolumens). Die Lösung wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und anschließend drei Mal mit H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₂Cl₂ und einem CH₃OH-Gradienten (0-3%) als Eluent gereinigt.

Variante III: Entschützung mit einer HCl-Lösung in Ethanol

Es wurden 1.0 Äquiv. des zu spaltenden Silylethers in Ethanol gelöst (14 mL pro mmol Edukt) und mit einer geringen Menge konzentrierter Salzsäure versetzt. Die Reaktionslösung wurde für ca. 19 h bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) gerührt und anschließend mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert. Das Lösungsmittelgemisch wurde dann unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in EE und H₂O aufgenommen. Die organische Phase wurde zusätzlich drei Mal mit H₂O gewaschen. Das H₂O der vereinigten wässrigen Phasen wurde schließlich unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in wenig H₂O aufgenommen, bei 40 °C gelöst und mit der 5-fachen Menge an CH₃OH versetzt. Es wurde anschließend so lange langsam *iso*-Propanol hinzugegeben bis eine Trübung einsetzte. Der Ansatz wurde für 24 h bei 4 °C gelagert, der Feststoff abfiltriert und schließlich für 24 °C im Hochvakuum getrocknet.

AAV 13: Synthese von O-benzyloxycarbonyl-geschützten Nucleosiden

Variante I (AAV 13.1)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquiv des jeweiligen Nucleosids mit 3.0 Äquiv. 4-(Dimethylamino)pyridin zunächst für 15 min im Hochvakuum getrocknet und dann in abs. CH₂Cl₂ gelöst. Es wurde auf 0 °C gekühlt und langsam mit 3.0 Äquiv. Benzyloxycarbonylchlorid versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 3 Tage bei Raumtemperatur gerührt und nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-

Kontrolle: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1 v/v) mit CH_2Cl_2 (5-fache Menge des Reaktionsvolumens) verdünnt. Es wurde zwei Mal mit 2 M Salzsäure und ein Mal mit H_2O gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH_2Cl_2 und einem CH_3OH -Gradienten (0-5%) als Eluent gereinigt.

Variante II (AAV 13.2)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquiv. des jeweiligen Nucleosids zunächst für 1 h im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann mit abs. CH_2Cl_2 (20 mL pro mmol Nucleosid) versetzt. Die Suspension wurde solange bei 40 °C gerührt, bis sich das Edukt vollständig gelöst hat. Anschließend erfolgte nacheinander die portionsweise Zugabe von 4.0 Äquiv. 1-Methylimidazol und 3.0 Äquiv. Benzyloxycarbonylchlorid. Die Reaktionslösung wurde für ca. 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Bei vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 9:1 v/v) wurde mit CH_2Cl_2 (5-fache Menge des Reaktionsvolumens) verdünnt und die Lösung jeweils zwei Mal mit kalter 0.5 M Salzsäure, H_2O und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH_2Cl_2 und einem CH_3OH -Gradienten (3-5%) als Eluent gereinigt.

AAV 14: Spaltung von O-Benzoyloxycarbonyl-Gruppen mittels Transfer-Hydrierung

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquiv. des zu spaltenden Carbamats zunächst für 30 min im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann in abs. Ethanol oder abs. CH_3OH gelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe eines Überschusses an 1,4-Cyclohexadien (ca. 200 Äquiv.) sowie je nach Ansatzgröße einer bis drei Spatelspitzen des ebenfalls zuvor im Ölpumpenvakuum getrockneten Pd/C (10%ig). Der Reaktionsansatz wurde so lange bei Raumtemperatur gerührt, bis dünnschichtchromatographisch ein vollständiger Umsatz des Eduktes festzustellen war (DC-Kontrolle: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1 v/v). Dann wurde der Reaktionsansatz zur Entfernung des Katalysators über Celite[®] mittels eines Spritzenfilters filtriert und das Lösungsmittel des Filtrats unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde je nach Polarität des Produktes entweder säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH_2Cl_2 und einem CH_3OH -Gradienten (3-10%) als Eluent oder mittels automatisierter Umkehrphasenchromatographie (RP-18) mit H_2O und einem CH_3CN -Gradienten (0-100%) gereinigt.

AAV 15: Darstellung von *cycloSal*-Triestern

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurde 1.0 Äquiv. des zu veresternden Nucleosids zusammen mit aktiviertem Molsieb (0.3 nm) zunächst für 2 h im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann in abs. CH₃CN gelöst. Die Lösung wurde auf -20 °C gekühlt, mit 2.0 Äquiv. DIPEA versetzt und bei dieser Temperatur für 30 min gerührt. Anschließend wurden 2.0 Äquiv. 5-Nitro-*cycloSal*igenylchlorphosphit **59** gelöst in abs. CH₃CN langsam zum Reaktionsgemisch getropft und der Ansatz bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Umsetzung des Nucleosids gerührt. Die Reaktionskontrolle erfolgte dünnschichtchromatographisch mit CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v. Danach wurde der Ansatz auf -10 °C gekühlt und zur Oxidation der Phosphor(III)-Verbindung mit 4.0 Äquiv. Oxone® gelöst in wenig kaltem H₂O versetzt. Die erhaltene Suspension wurde für 15 min bei dieser Temperatur gerührt, danach mit EE verdünnt und zwei Mal mit kaltem H₂O gewaschen. Zusätzlich wurde die wässrige Phase zwei Mal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in CH₂Cl₂ aufgenommen und unlösliche Bestandteile wurden durch Filtration entfernt. Das Lösungsmittel wurde daraufhin erneut unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt konnte entweder ohne weitere Reinigung verwendet werden oder es wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v und 0.5% Essigsäure gereinigt.

AAV 16: Synthese von Nucleosiddiphosphat-Glycopyranosen nach der *cycloSal*-MethodeVariante I: mit acetylgeschützten Triestern (AAV 16.1)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden sowohl 1.1-2.0 Äquiv. des jeweiligen hygroskopischen acetylgeschützten Glycosylphosphates als auch 1.0 Äquiv. des acetylgeschützten *cycloSal*-Nucleosidmonophosphates für ca. 16 h im Ölpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wurde das Glycosylphosphat in wenig abs. DMF gelöst und für 3 h über aktiviertem Molsieb (0.4 nm) gerührt. Das *cycloSal*-Nucleosidmonophosphat wurde ebenfalls in wenig abs. DMF gelöst und langsam zu der Lösung des Glycosylphosphats getropft, wobei sich das Reaktionsgemisch gelb färbte. Es wurde für ca. 20 h bis zur vollständigen Umsetzung (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v) bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in H₂O aufgenommen, gefriergetrocknet und anschließend zur Abspaltung der Acetylschutzgruppen

in CH₃OH/H₂O/Et₃N 7:3:1 v/v/v aufgenommen und für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle: *iso*-Propanol/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) wurde das Lösungsmittelgemisch unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in H₂O aufgenommen und erneut gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde entweder säulenchromatographisch an RP-18 Kieselgel oder mittels automatisierter Umkehrphasenchromatographie (RP-18) jeweils mit H₂O und einem CH₃CN-Gradienten (0-100%) gereinigt.

Variante II: mit *O*-benzyloxycarbonyl-geschützten Triestern (AAV 16.2)

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden sowohl 1.2-1.3 Äquiv. des jeweiligen hygroskopischen Glycosylphosphates als auch 1.0 Äquiv. des *O*-benzyloxycarbonyl-geschützten *cycloSal*-Nucleosidmonophosphates für ca. 16 h im Ölpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wurde das Glycosylphosphat in wenig abs. DMF gelöst und für 3 h über aktiviertem Molsieb (0.4 nm) gerührt. Das *cycloSal*-Nucleosidmonophosphat wurde ebenfalls in wenig abs. DMF gelöst und langsam zu der Lösung des Glycosylphosphats getropft, wobei sich das Reaktionsgemisch gelb färbte. Es wurde für ca. 20 h bis zur vollständigen Umsetzung (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v) bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in H₂O aufgenommen, gefriergetrocknet und anschließend zur Spaltung der *O*-Benzyloxycarbonyl-Gruppen nach **AAV 14** umgesetzt.

AAV 17: Bromierung von *para*-Toluolsulfonsäureestern

Es wurden 1.0 Äquiv. der zu bromierenden Verbindung in abs. DMF gelöst und mit 4.0 Äquiv. Lithiumbromid versetzt. Der Reaktionsansatz wurde mit Hilfe eines Mikrowellenreaktors bei 150 W und 80 °C („*closed vessel*“-Modus) zum Sieden erhitzt und für 1 h gerührt. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle: PE/EE 1:2 v/v) wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen. Anschließend wurde zwei Mal mit H₂O und ein Mal mit ges. Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent gereinigt.

AAV 18: Darstellung von Dimethylphosphonaten mittels Arbuzov-Reaktion

Die entsprechende Brom-substituierte Verbindung wurde in Trimethylphosphit gelöst und mit Hilfe eines Mikrowellenreaktors bei 150 W und 160 °C („closed vessel“-Modus) zum Sieden erhitzt und für 5 h gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v) wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel zunächst mit PE und einem EE-Gradienten (PE/EE 1:3 v/v → 1:5 v/v → EE), dann mit EE und einem CH₃OH-Gradienten (0-5%) als Eluent gereinigt.

AAV 19: Entschützung von Dimethylphosphonaten

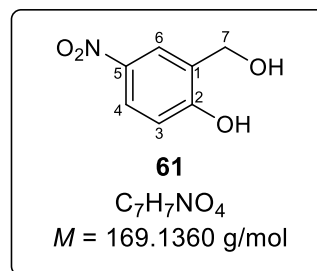
Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0 Äquiv. des entsprechenden Dimethylphosphonats in abs. CH₂Cl₂ gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 3.0 Äquiv. Trimethylsilylbromid hinzugegeben und die Reaktionslösung für ca. 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v) wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt und durch tropfenweise Zugabe von eiskalter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (8%ig) neutralisiert. Die Reaktionslösung wurde anschließend mit H₂O verdünnt und für weitere 15 min bei Raumtemperatur stark gerührt. Die Lösungsmittel wurden schließlich unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₃CN/H₂O 5:1 v/v als Eluent gereinigt.

9.2.2 Synthese von *cycloSal*-Triestern

9.2.2.1 Synthese von 5-Nitrosalicylalkohol 61

Es wurden 6.00 g (35.9 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-Nitrosalicylaldehyd **60** in 180 mL abs. Ethanol gelöst und portionsweise mit 1.215 g (32.14 mmol, 0.9 Äquiv.) Natriumborhydrid versetzt. Die Lösung wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt und die Vollständigkeit der Reaktion dünnschichtchromatographisch (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v) verfolgt. Anschließend wurde die Lösung mit 4 mL H₂O verdünnt und mit so viel konzentrierter Salzsäure versetzt, bis ein Farbumschlag von rot nach gelb erfolgte. Danach wurde der Niederschlag filtriert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit CH₃OH coevaporiert. Schließlich erfolgte die Umkristallisation aus H₂O mit anschließender Gefriertrocknung.

Ausbeute: 3.43 g (20.3 mmol, 57%) eines gelben Feststoffes; **R_f-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v): 0.89.



¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 11.09 (s, 1H, OH-Phenol), 8.21 (d, ⁴J_{H,H} = 3.0 Hz, 1H, H-6), 8.02 (dd, ³J_{H,H} = 8.9 Hz, ⁴J_{H,H} = 3.0 Hz, 1H, H-4), 6.93 (d, ³J_{H,H} = 8.9 Hz, 1H, H-3), 5.35 (s, 1H, OH-Benzyl), 4.51 (s, 2H, H-7).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 160.5 (C-2), 139.6 (C-5), 130.3 (C-1), 124.0 (C-4), 122.7 (C-6), 114.7 (C-3), 57.4 (C-7).

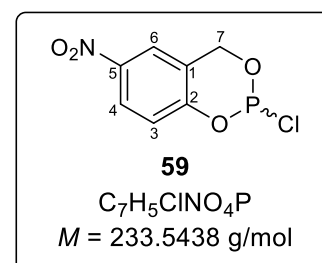
MS (EI, *m/z*): ber. für [M]: 169; gef.: 169 (M, 20%), 151 (100), 123 (23), 121 (17), 93 (13), 79 (22), 65 (26), 57 (37), 51 (21).

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3457, 3080, 1592, 1490, 1329, 821, 756, 702.

9.2.2.2 Synthese von 5-Nitrosaligenylchlorphosphit 59

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.51 g (8.90 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-Nitrosalicylalkohol **61** zunächst zwei Mal mit je 2 mL CH₃CN coevaporiert und anschließend eine Stunde im Ölpumpenvakuum getrocknet. **61** wurde anschließend in 80 mL abs. Diethylether gelöst und auf -40 °C gekühlt. Innerhalb von 10 min wurden zu dieser Lösung 1.39 mL (15.9 mmol, 1.8 Äquiv.) Phosphortrichlorid getropft. Daraufhin wurden ebenfalls bei -40 °C 1.41 mL (17.5 mmol, 3.5 Äquiv.) abs. Pyridin in 20 mL Diethylether gelöst und über einen Zeitraum von 2 h zugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde das Reaktionsgemisch für weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt und zur quantitativen Fällung des sich gebildeten Pyridiniumchlorids dann für 16 h bei -26 °C gelagert. Schließlich wurde eine Filtration unter N₂-Atmosphäre durchgeführt und das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Das als Rohprodukt erhaltene 5-Nitrosaligenylchlorphosphit **59** wurde ohne weitere Reinigung für die weiteren Synthesen eingesetzt.

Ausbeute: 1.544 g (6.610 mmol, 74%, davon 8% Verunreinigung durch Pyridiniumchlorid) eines gelblichen Öls (nach längerer Lagerung bei -20 °C Erstarrung zu einem gelblichen Feststoff) als Gemisch zweier Enantiomere (Rohprodukt); **R_f-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v): 0.62.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.17 (dd, ³J_{H,H} = 9.0 Hz, ⁴J_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-4), 7.98 (d, ⁴J_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-6), 7.13 (d, ³J_{H,H} = 9.0 Hz, 1H, H-3), 5.52 (dd, ²J_{H,H} = 14.5 Hz, ³J_{HP} = 2.1 Hz, 1H, H-7a), 5.14 (dd, ²J_{H,H} = 14.5 Hz, ³J_{HP} = 9.7 Hz, 1H, H-7b).

$^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 139.3.

9.2.2.3 Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-acetylthymidin **154**

Die Reaktion wurde nach **AAV 10** durchgeführt. Es wurden 102.1 mg (0.4217 mmol, 1.0 Äquiv.) Thymidin **153**, 1.9 mL abs. Pyridin, 79.6 mg (0.528 mmol, 1.25 Äquiv.) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 20 h. Die Acetylierung erfolgte durch die Zugabe von 0.15 mL (1.6 mmol, 3.0 Äquiv.) Essigsäureanhydrid. Mit einer Reaktionszeit von 16.5 h.

Ausbeute: 133 mg (0.334 mmol, 79%) eines hellgelben Feststoffes; **R_f-Wert** ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1 v/v) 0.51; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -36.0 ° ($c = 0.05$, CH_2Cl_2); **Schmelzpunkt:** 116.2 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.97 (s, 1H, NH), 7.54 (d, $^4J_{\text{H,H}} = 1.3$ Hz, 1H, H-6), 6.35 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 9.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.3$ Hz, 1H, H-1'), 5.25 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.1$ Hz, 1H, H-3'), 4.10 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 1.7$ Hz, 1H, H-4'), 3.91 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 2.1$ Hz, 2H, H-5'), 2.46 – 2.32 (m, 1H, H-2'a), 2.16 – 2.11 (m, 1H, H-2'b), 2.10 (s, 3H, Acetyl- CH_3), 1.93 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 1.3$ Hz, 3H, H-7), 0.94 (s, 9H, $^t\text{Bu-CH}_3$), 0.14 (s, 6H, Silyl- CH_3).

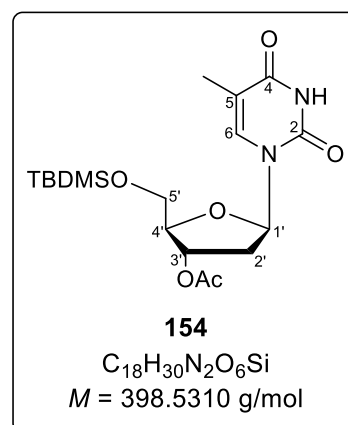
$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 170.8 (C=O), 163.4 (C-4), 150.2 (C-2), 135.2 (C-6), 111.3 (C-5), 85.5 (C-4'), 84.9 (C-1'), 75.5 (C-3'), 63.8 (C-5'), 38.2 (C-2'), 26.1 ($^t\text{Bu-CH}_3$), 21.2 (Acetyl- CH_3), 18.5 ($^t\text{Bu-C}_q$), 12.6 (C-7), -5.4 (Silyl- CH_3).

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 421.1762 [M+Na]⁺, gef.: 421.1782 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2954, 2857, 1740, 1690, 1466, 1238, 1128, 834.

9.2.2.4 Synthese von 3'-O-Acetylthymidin **151**

Die Reaktion wurde nach **AAV 12.1** durchgeführt. Es wurden 104.0 mg (0.2544 mmol, 1.0 Äquiv.) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-acetylthymidin **154**, 10 mL abs. THF sowie 0.38 mL (0.38 mmol, 1.5 Äquiv.) TBAF (1 M in THF) eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 1 h.



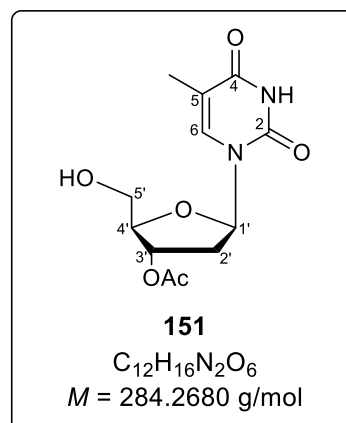
Ausbeute: 58.0 mg (0.204 mmol, 80%) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v) 0.59; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -78.7 ° (*c* = 0.31, CH₃OH); **Schmelzpunkt:** 178.3 °C.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 9.30 (s, 1H, NH), 7.51 (d, ⁴*J*_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-6), 6.25 (dd, ³*J*_{H,H} = 8.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 6.0 Hz, 1H, H-1'), 5.34 (dt, ³*J*_{H,H} = 6.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-3'), 4.09 (d, ³*J*_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-4'), 4.00 – 3.79 (m, 2H, H-5'), 2.65 – 2.26 (m, 2H, H-2'), 2.10 (s, 3H, Acetyl-CH₃), 1.91 (d, ³*J*_{H,H} = 1.2 Hz, 3H, H-7).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.9 (C=O), 163.9 (C-4), 150.6 (C-2), 136.4 (C-6), 111.5 (C-5), 86.1 (C-1'), 85.2 (C-4'), 74.8 (C-3'), 62.7 (C-5'), 37.3 (C-2'), 21.1 (Acetyl-CH₃), 12.7 (C-7).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 307.0901 [M+Na]⁺, gef.: 307.0906 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3436, 3055, 2929, 1683, 1471, 1235, 1102.

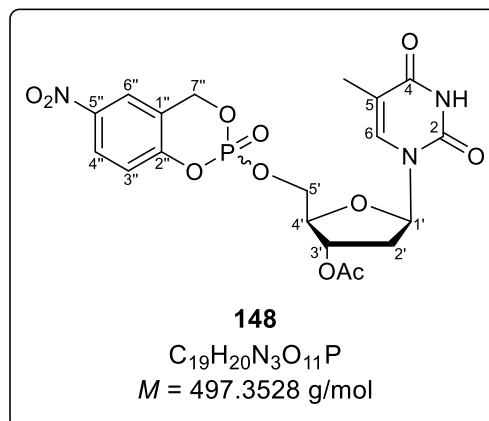


9.2.2.5 Synthese von 5-Nitro-cycloSal-3'-O-acetylthymidinmonophosphat **148**

Die Reaktion wurde nach **AAV 15** durchgeführt. Es wurden 211 mg (0.742 mmol, 1.0 Äquiv.) 3'-O-Acetylthymidin **151** gelöst in 21 mL abs. CH₃CN mit 310 μ L (1.82 mmol, 2.5 Äquiv.) DIPEA und 347 mg (1.49 mmol, 2.0 Äquiv.) 5-Nitrosaligenylchlorphosphit **59** gelöst in 21 mL abs. CH₃CN eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 h. Die Oxidation erfolgte durch die Zugabe von 0.452 g (2.97 mmol, 4.0 Äquiv.) Oxone[®] suspendiert in 4 mL H₂O bei -10 °C mit einer Reaktionszeit von 15 min.

Ausbeute: 251 mg (0.505 mmol, 68%, bezogen auf das Rohprodukt) eines hellgelben Feststoffes als Diastereomerenmischung (1:1); **R_F-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v): 0.69.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 11.35 (s, 2x 1H, 2x NH), 8.33 – 8.29 (m, 2x 1H, 2x H-6), 8.27 – 8.20 (m, 2x 1H, 2x H-4''), 7.50 (d, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-6''), 7.47 (d, ⁴*J*_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-6''), 7.39 (d, ³*J*_{H,H} = 9.0 Hz, 1H, H-3''), 7.37 (d, ³*J*_{H,H} = 9.0 Hz, 1H, H-3''), 6.21 – 6.05 (m, 2x 1H, 2x H-1'), 5.72 – 5.48 (m, 2x 2H, 2x H-7''), 5.22 – 5.13 (m, 2x 1H, 2x H-3'), 4.52 – 4.35 (m, 2x 1H, 2x H-5'), 4.22



– 4.13 (m, 2x 1H, 2x H-4'), 2.43 – 2.31 (m, 2x 2H, 2x H-2'), 2.05 (s, 3H, Acetyl-CH₃), 2.04 (s, 3H, Acetyl-CH₃), 1.76 (d, ³J_{H,H} = 1.1 Hz, 3H, H-7), 1.73 (d, ³J_{H,H} = 1.2 Hz, 3H, H-7).

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 170.0 (2x C=O), 163.6 (2x C-4), 154.0 (2x C-5''), 150.4 (2x C-2), 143.5 (2x C-2''), 135.8 (2x C-6), 125.5, 125.4 (2x C-4''), 122.5 (2x C-6''), 119.7 (2x C-3''), 109.9 (2x C-5), 84.2 (2x C-1'), 81.4 (d, ³J_{C,P} = 7.8 Hz, 2x C-4'), 81.3 (2x C-3'), 68.0 (d, ²J_{C,P} = 6.6 Hz, 2x C-7''), 67.9, 67.8 (2x d, ²J_{C,P} = 7.5 Hz, 2x C-5'), 35.5, 35.4 (2x C-2'), 20.7 (2x Acetyl-CH₃), 12.0 (2x H-7).

³¹P-NMR (162 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = -10.71, -10.91.

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 520.0728 [M+Na]⁺, gef.: 520.0733 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3079, 2820, 1529, 1250, 1030, 939.

9.2.2.6 Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)thymidin 156

Variante I:

Die Reaktion wurde nach **AAV 11.1** durchgeführt. Es wurden 4.9934 g (20.614 mmol, 1.0 Äquiv.) Thymidin **153**, 28 mL abs. Pyridin sowie 3.4026 g (22.576 mmol, 1.1 Äquiv.) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 14 h.

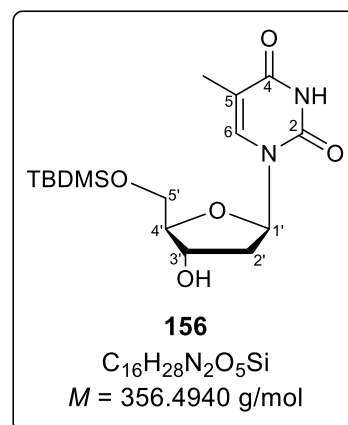
Ausbeute: 5.8809 g (16.490 mmol, 80%) eines farblosen Feststoffes.

Variante II:

Die Reaktion wurde nach **AAV 14** durchgeführt. Es wurden 23.4 mg (47.7 μmol, 1.0 Äquiv.) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-benzyloxycarbonylthymidin **157**, 3 mL abs. Ethanol, 1.0 mL (11 mmol, 231 Äquiv.) 1,4-Cyclohexadien sowie eine Spatelspitze Pd/C eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 100 min.

Ausbeute: 15.1 mg (42.4 μmol, 89%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v) 0.56; **Drehwert:** [α]_{589 nm}²⁵: -26.7 ° (*c* = 0.10, CH₃OH); **Schmelzpunkt:** 200.5 °C.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.80 (s, 1H, NH), 7.51 (d, ⁴J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-6), 6.37 (dd, ³J_{H,H} = 8.2 Hz, ³J_{H,H} = 5.7 Hz, 1H, H-1'), 4.46 (dt, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, ³J_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-3'), 4.04 (q, ³J_{H,H} = 2.6 Hz, 1H, H-4'), 3.89 (dd, ³J_{H,H} = 11.6 Hz, ³J_{H,H} = 2.8 Hz, 1H, H-5'a), 3.83 (dd, ³J_{H,H} = 11.6 Hz, ³J_{H,H} = 2.8 Hz, 1H, H-5'b), 2.37 (ddd, ²J_{H,H} = 13.4 Hz, ³J_{H,H} = 5.8 Hz, ³J_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-2'a), 2.10 (ddd, ²J_{H,H} =



13.7 Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 8.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.9$ Hz, 1H, H-2'b), 1.91 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 1.2$ Hz, 3H, H-7), 0.92 (s, 9H, $^t\text{Bu-CH}_3$), 0.11 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 4.0$ Hz, 6H, Silyl- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 163.8 (C-4), 150.5 (C-2), 135.6 (C-6), 111.1 (C-5), 87.3 (C-4'), 85.1 (C-1'), 72.8 (C-3'), 63.7 (C-5'), 41.3 (C-2'), 26.1 ($^t\text{Bu-CH}_3$), 18.5 ($^t\text{Bu-C}_q$), 12.7 (C-7), -5.2 (Silyl- CH_3).

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 379.1659 [M+Na]⁺, gef.: 379.1675 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3477, 3046, 2952, 2928, 2856, 1697, 1666, 1471, 1256, 1121, 833.

9.2.2.7 Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-benzyloxy-carbonylthymidin **157**

Die Reaktion wurde nach **AAV 13.1** durchgeführt. Es wurden 101.5 mg (0.2847 mmol, 1.0 Äquiv.) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)thymidin **156**, 105.1 mg (0.8603 mmol, 3.0 Äquiv.) DMAP, 3.3 mL abs. CH_2Cl_2 sowie 0.13 mL (0.91 mmol, 9.2 Äquiv.) Benzyloxycarbonylchlorid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 3 d.

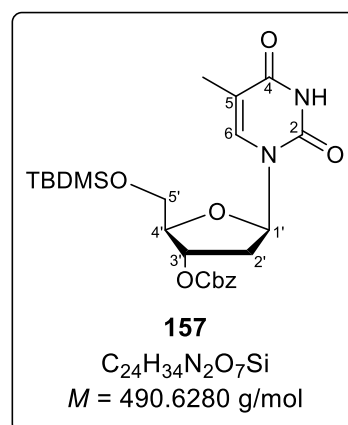
Ausbeute: 113.9 mg (0.2322 mmol, 82%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 19:1 v/v) 0.66; **Drehwert**: $[\alpha]_{589}^{25} = +37.9^\circ$ ($c = 0.19$, CH_2Cl_2); **Schmelzpunkt**: 142.2 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 8.79 (s, 1H, NH), 7.52 (d, $^4J_{\text{H,H}} = 1.3$ Hz, 1H, H-6), 7.45 – 7.29 (m, 5H, H_{aryl}), 6.36 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 9.2$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.2$ Hz, 1H, H-1'), 5.17 (s, 3H, Cbz- CH_2 , H-3'), 4.19 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 1.6$ Hz, 1H, H-4'), 4.05 – 3.82 (m, 2H, H-5'), 2.50 (ddd, $^2J_{\text{H,H}} = 13.9$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 5.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 1.0$ Hz, 1H, H-2'a), 2.12 (ddd, $^2J_{\text{H,H}} = 13.9$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 9.3$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 6.0$ Hz, 1H, H-2'b), 1.92 (d, $^4J_{\text{H,H}} = 1.2$ Hz, 3H, H-7), 0.92 (s, 9H, $^t\text{Bu-CH}_3$), 0.13 (s, 6H, Silyl- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 163.8 (C-4), 154.6 (C=O), 150.3 (C-2), 135.1, 128.9, 128.8, 128.5 (CH_{aryl}), 111.3 (Cbz- C_q), 85.1 (C-4'), 84.8 (C-1'), 79.0 (C-3'), 70.2 (Cbz- CH_2), 63.8 (C-5'), 38.3 (C-2'), 26.1 ($^t\text{Bu-CH}_3$), 18.4 ($^t\text{Bu-C}_q$), 12.6 (C-7), -5.4 (Silyl- CH_3).

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 491.6353 [M+H]⁺, gef.: 491.2212 [M+H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3064, 2953, 2929, 2857, 1688, 1463, 1251, 1124, 832.



9.2.2.8 Synthese von 3'-O-Benzoyloxycarbonylthymidin 155

Variante I:

Die Reaktion wurde nach **AAV 12.1** durchgeführt. Es wurden 49.3 mg (0.101 mmol, 1.0 Äquiv.) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-benzyloxycarbonylthymidin **157**, 1.25 mL abs. THF sowie 0.14 mL (0.14 mmol, 1.4 Äquiv.) TBAF (1 M in THF) eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 1 h.

Ausbeute: 28.6 mg (0.0760 mmol, 75%) eines farblosen Feststoffes.

Variante II:

Die Reaktion wurde nach **AAV 12.2** durchgeführt. Es wurden 22.7 mg (0.0463 mmol, 1.0 Äquiv.) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-3'-O-benzyloxycarbonylthymidin **157**, 2.5 mL abs. CH₃OH sowie eine katalytische Menge Acetylchlorid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 3 h.

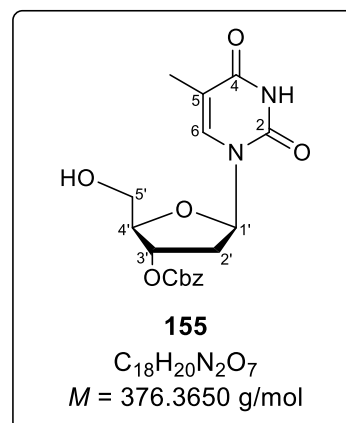
Ausbeute: 16.9 mg (0.0449 mmol, 97%) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v) 0.34; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -189.5 ° (*c* = 0.11, CH₂Cl₂); **Schmelzpunkt:** 82.2 °C.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.84 (s, 1H, NH), 7.43 (d, ⁴J_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-6), 7.41 – 7.32 (m, 5H, H_{aryl}), 6.17 (dd, ³J_{H,H} = 8.5 Hz, ³J_{H,H} = 5.9 Hz, 1H, H-1'), 5.30 (dt, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-3'), 5.18 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.18 (q, ³J_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-4'), 3.91 (qd, ³J_{H,H} = 11.9 Hz, ³J_{H,H} = 2.6 Hz, 2H, H-5'), 2.52 (ddd, ²J_{H,H} = 14.7 Hz, ³J_{H,H} = 8.5 Hz, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-2'a), 2.43 (ddd, ²J_{H,H} = 14.2 Hz, ³J_{H,H} = 5.9 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-2'b), 1.91 (d, ⁴J_{H,H} = 1.1 Hz, 3H, H-7).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 163.8 (C-4), 154.6 (C=O), 150.5 (C-2), 136.8 (C-6), 134.8 (C_{q,aryl}), 128.9, 128.8, 128.6 (CH_{aryl}), 111.5 (C-5), 86.9 (C-1'), 85.0 (C-4'), 78.4 (C-3'), 70.3 (Cbz-CH₂), 62.7 (C-5'), 37.2 (C-2'), 12.7 (C-7).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 399.1163 [M+Na]⁺, gef.: 399.1171 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3428, 3060, 2925, 2853, 1742, 1682, 1262, 1099.



9.2.2.9 Synthese von 5-Nitro-cycloSal-3'-O-benzyloxycarbonylthymidin-monophosphat 149

Die Reaktion wurde nach **AAV 15** durchgeführt. Es wurden 85.9 mg (0.228 mmol, 1.0 Äquiv.) 3'-O-Benzoyloxycarbonylthymidin **155** gelöst in 7 mL abs. CH₃CN mit 78 µL (0.45 mmol,

2.0 Äquiv.) DIPEA und 107.2 mg (0.4590 mmol, 2.0 Äquiv.) 5-Nitrosaligenylchlorphosphit **59** gelöst in 6 mL abs. CH₃CN eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 2 h. Die Oxidation erfolgte durch die Zugabe von 139.3 mg (0.9155 mmol, 4.0 Äquiv.) Oxone[®] suspendiert in 1 mL H₂O bei -10 °C mit einer Reaktionszeit von 15 min.

Ausbeute: 0.127 g (0.216 mmol, 95%, bezogen auf das Rohprodukt) eines hellgelben, kristallinen Feststoffes als Diastereomergemisch (1:1); **R_f-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v): 0.63.

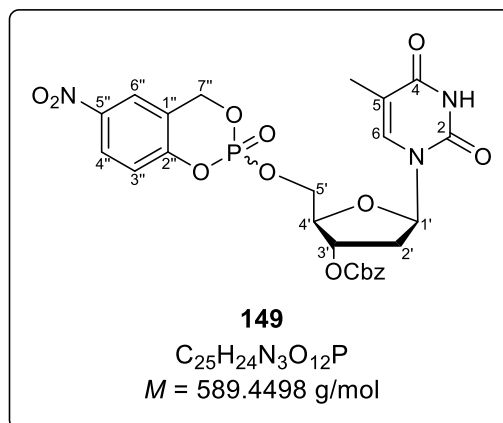
¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 11.36 (s, 1H, NH), 11.35 (s, 1H, NH), 8.32 – 8.27 (m, 2x 1H, 2x H-6), 8.26 – 8.20 (m, 2x 1H, 2x H-4''), 7.50 (d, ⁴J_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-6''), 7.47 (d, ⁴J_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-6''), 7.43 – 7.30 (m, 2x 6H, 2x H-3'', Cbz-H_{aryl}), 6.17 – 6.08 (m, 2x 1H, 2x H-1'), 5.71 – 5.52 (m, 2x 2H, 2x H-7''), 5.19 – 5.13 (m, 2x 3H, 2x H-3', 2x Cbz-CH₂), 4.52 – 4.37 (m, 2x 1H, 2x H-5'), 4.27 – 4.22 (m, 2x 1H, 2x H-4'), 2.47 – 2.31 (m, 2x 2H, 2x H-2'), 1.75 (d, ³J_{H,H} = 1.2 Hz, 3H, H-7), 1.73 (d, ³J_{H,H} = 1.2 Hz, 3H, H-7).

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 169.9 (2x C=O), 164.0, 163.6 (2x C-4), 153.9 (2x C-5''), 153.6, 150.3 (2x C-2), 143.5, 135.9 (2x C-6''), 135.1 (2x C-3''), 128.5, 128.5, 128.3, 128.2 (Cbz-C_{aryl}), 125.5, 125.4 (2x C-4''), 122.5 (2x C-6), 122.3, 122.2 (2x d, ³J_{C,P} = 4.6 Hz, C-1''), 119.7, 119.6 (2x d, ³J_{C,P} = 5.5 Hz, 2x C-3''), 109.9 (2x C-5), 84.3 (2x C-1'), 81.2, 81.1 (2x d, ³J_{C,P} = 7.4 Hz, C-4'), 76.9 (2x C-3'), 69.4 (d, 2x Cbz-CH₂), 68.1 (d, ²J_{C,P} = 7.5 Hz, 2x C-7''), 67.9, 67.8 (2x d, ²J_{C,P} = 7.0 Hz, 2x C-5'), 35.5, 35.4 (C-2'), 12.0 (2x C-7).

³¹P-NMR (162 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = -10.73, -10.93.

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 590.1170 [M+Na]⁺, gef.: 590.1191 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3167, 3080, 2957, 2874, 1655, 1342, 752, 593.



9.2.2.10 Synthese von *N*²-Dimethylformamidinganosin **48**

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 0.5074 g (1.791 mmol, 1.0 Äquiv.) Guanosin **44** zunächst für 1 h im Ölpumpenvakuum getrocknet und anschließend mit 7.2 mL abs. CH₃OH versetzt. Zu der erhaltenen Suspension wurden 0.60 mL (4.5 mmol, 2.5 Äquiv.) DMF-DMA zugegeben und es wurde für 3 d bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 4:1 v/v). Nach vollständiger Umsetzung des Nucleosids wurde der entstandene Feststoff abfiltriert und zunächst 16 h an der Luft, dann 16 h im

Ölpumpenvakuum getrocknet. Das Produkt konnte ohne weitere Reinigung verwendet werden.

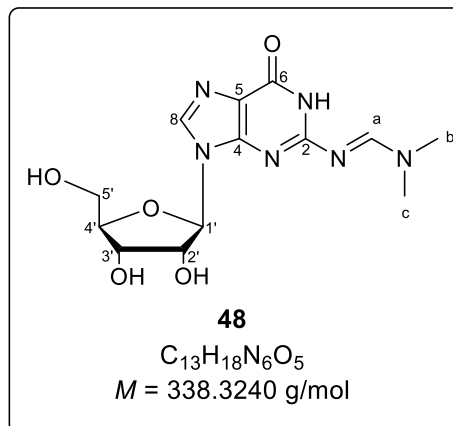
Ausbeute: 0.4629 g (1.368 mmol, 76%) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 4:1 v/v): 0.29; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -32.4 ° (c = 0.15, H₂O); **Schmelzpunkt:** 250.0 °C (Zersetzung).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 11.34 (s, 1H, NH), 8.53 (s, 1H, H-a), 8.04 (s, 1H, H-8), 5.79 (d, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 1H, H-1'), 5.54 – 5.35 (m, 1H, 2'-OH), 5.19 (d, ³J_{H,H} = 4.4 Hz, 1H, 3'-OH), 5.03 (t, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, 1H, 5'-OH), 4.48 (q, ³J_{H,H} = 5.2 Hz, 1H, H-2'), 4.22 – 4.03 (m, 1H, H-3'), 3.90 (q, ³J_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, H-4'), 3.63 (dt, ³J_{H,H} = 11.9 Hz, ³J_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5'a), 3.54 (ddd, ³J_{H,H} = 12.0 Hz, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, ³J_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-5'b), 3.15 (s, 3H, H-b), 3.03 (s, 3H, H-c).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 158.0 (C-a), 157.6 (C-6), 157.3 (C-2), 150.0 (C-4), 137.0 (C-8), 119.8 (C-5), 86.7 (C-1'), 85.4 (C-4'), 73.8 (C-2'), 70.5 (C-3'), 61.5 (C-5'), 40.7 (C-b), 34.7 (C-c).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 339.1411 [M+Na]⁺, gef.: 339.1404 [M+Na]⁺.

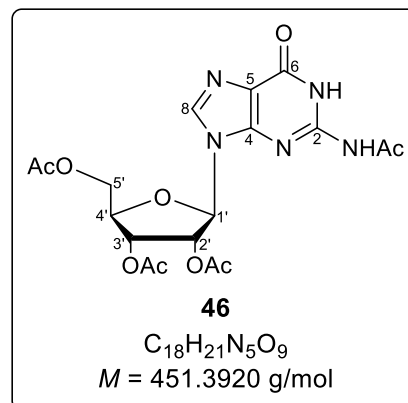
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3365, 3307, 3100, 2913, 1679, 1633, 1520, 1049, 556.



9.2.2.11 Synthese von N²-Acetyl-2',3',5'-tri-O-acetylguanosin 46

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 4.99 g (21.0 mmol, 1.0 Äquiv.) Guanosin **44** in 71 mL abs. CH₃CN sowie 23.8 mL (172 mmol, 8 Äquiv.) abs. Triethylamin gelöst und anschließend mit 35.7 mL (377 mmol, 18 Äquiv.) Essigsäureanhydrid versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 30 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch mit EE/CH₃OH 9:1 v/v als Eluent überprüft. Bei vollständiger Umsetzung des Eduktes wurden die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und die Lösung drei Mal mit H₂O gewaschen und zwei Mal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel mit EE/CH₃OH 9:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 3.65 g (8.09 mmol, 39%) eines orangen Feststoffes; **R_T-Wert** (EE/CH₃OH 9:1 v/v): 0.41; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -52.1 ° (c = 0.22, CH₂Cl₂); **Schmelzpunkt:** 63.5 °C.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 11.96 (s, 1H, NH), 9.17 (s, 1H, NH-Acetyl), 7.72 (s, 1H, H-8), 5.96-5.88 (m, 2H, H-1', H-2'), 5.72 (t, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, 1H, H-3'), 4.57 (dd, ²J_{H,H} = 11.4 Hz, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, 1H, H-5'), 4.46-4.41 (m, 1H, H-4'), 4.38 (dd, ²J_{H,H} = 11.4 Hz, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-5'), 2.32, 2.15, 2.09, 2.09 (je s, je 3H, je CH₃-Acetyl).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 172.3, 171.4, 169.8, 169.5 (C_q-Acetyl), 155.6 (C-6), 147.8 (C-4), 147.7 (C-2), 138.6 (C-8), 122.6 (C-5), 87.6 (C-1'), 80.2 (C-4'), 73.0 (C-2'), 71.1 (C-3'), 63.3 (C-5'), 24.3, 20.9, 20.6, 20.5 (CH₃-Acetyl).

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 474.1231 [M+Na]⁺, gef.: 474.1231 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2925, 1745, 1682, 1611, 1561, 1373, 1226, 1043.

9.2.2.12 Synthese von N²-Acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosin **47**

Variante I:

In acht Ansätzen wurden je 400 mg (7.09 mmol) N²-Acetyl-2',3',5'-tri-O-acetylguanosin **46** in je 1 mL DMF und 4 mL Phosphatpuffer (pH = 7.0) gelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe von je 0.9 mL des in Propylenglycol gelösten Enzyms Subtilisin (91.0 mg/mL). Die Lösungen wurden vier Tage bei 37 °C gerührt und anschließend auf Raumtemperatur gekühlt. Anschließend wurden je 4 mL CH₃OH zugegeben und nach 30 min der farblose Niederschlag durch Zentrifugation und anschließendes Dekantieren entfernt. Die Lösungen wurden vereinigt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, wobei ein dickflüssiges, dunkelbraunes Öl zurückblieb. Dieses wurde in 15 mL EE aufgenommen, nach Zugabe von 15 mL CH₃OH erneut zentrifugiert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde mehrfach säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₂Cl₂ und einem CH₃OH-Gradienten (0-5%) als Eluent gereinigt. Nach Entfernung des Lösungsmittels mit Hilfe eines Rotationsverdampfers und nachfolgender Gefriertrocknung wurde das reine Produkt als farbloser Feststoff erhalten. Des Weiteren konnte das Edukt als farbloser Feststoff reisoliert werden.

Ausbeute: 1.28 g (3.14 mmol, 44%) eines farblosen Feststoffes.

Variante II:

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 124.5 mg (0.2758 mmol, 1.0 Äquiv.) *N*²-Acetyl-2',3',5'-tri-*O*-acetylguanodin **46** zunächst für 30 min im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann mit 20 mL einer Iod-Lösung (1%ig m/v in CH₃OH) versetzt. Die Lösung wurde für 24 h bei 67 °C gerührt. Beim erstmaligen Auftreten von Nebenprodukten (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v) wurde die Reaktion durch die Zugabe von Natriumthiosulfat gestoppt. Die entfärbte Lösung wurde für 15 min bei Raumtemperatur gerührt, filtriert und das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Der Rückstand wurde anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₂Cl₂ und einem CH₃OH-Gradienten (0-5%) als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 18.1 mg (44.1 µmol, 16%) eines farblosen Feststoffes.

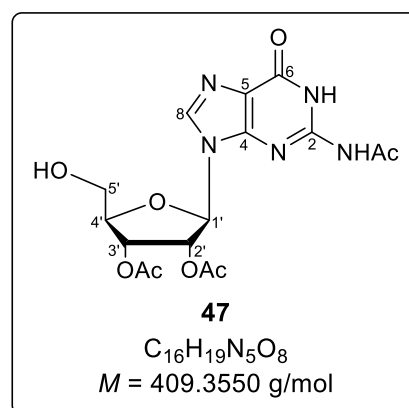
Variante III:

Es wurden 21.4 mg (0.0474 mmol) *N*²-Acetyl-2',3',5'-tri-*O*-acetylguanodin **46** in 1.5 mL THF gelöst und mit dem Enzym Novozym[®] 435 (Substrat-Enzym-Verhältnis: 1:1 w/w) versetzt. Nach der Zugabe einer geringen Menge *n*-Butanol wurde der Reaktionsansatz für 4 h bei 37 °C im Thermomixer inkubiert (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v). Die Reaktion wurde gestoppt indem das immobilisierte Enzym abfiltriert wurde. Die Lösungsmittel wurden anschließend im Ölpumpenvakuum entfernt und das Rohprodukt mittels automatisierter Normalphasenchromatographie mit CH₂Cl₂ und einem CH₃OH-Gradienten (0-3%) gereinigt.

Ausbeute: 10.3 mg (25.0 µmol, 53%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v): 0.44; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -44.5 ° (c = 0.2, CH₂Cl₂); **Schmelzpunkt:** 74.3 °C.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 12.18 (s, 1H, NH), 9.66 (s, 1H, NH-Acetyl), 7.71 (s, 1H, H-8), 5.97 (t, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, 1H, H-2'), 5.90 (d, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 1H, H-1'), 5.66 (dd, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-3'), 4.80 (d, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, 1H, -OH), 4.29 (d, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-4'), 3.96 (dd, ²J_{H,H} = 12.7 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-5'), 3.81 (t, ²J_{H,H} = 11.5 Hz, 1H, H-5'), 2.31, 2.14, 2.03 (je s, je 3H, je CH₃-Acetyl).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 172.6, 170.0, 169.4 (C_q-Acetyl), 155.3 (C-6), 148.1 (C-2), 147.2 (C-4), 122.9 (C-5), 87.8 (C-1'), 84.6 (C-4'), 72.2 (C-2'), 71.6 (C-3'), 62.2 (C-5'), 24.5 (NH-CH₃-Acetyl), 20.8, 20.5 (CH₃-Acetyl).



HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 432.1126 [M+Na]⁺, gef.: 432.1126 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3158, 1747, 1680, 1610, 1560, 1403, 1373, 1242, 1042.

9.2.2.13 Synthese von 5-Nitro-cycloSal-N⁶-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosi- monophosphat **40**

Die Reaktion wurde nach **AAV 15** durchgeführt. Es wurden 182 mg (0.445 mmol, 1.0 Äquiv.) N⁶-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosi-**47** gelöst in 7.5 mL abs. CH₃CN mit 173 μ L (1.02 mmol, 2.3 Äquiv.) DIPEA und 208 mg (0.891 mmol, 2.0 Äquiv.) 5-Nitrosaligenylchlorphosphit **59** gelöst in 3 mL abs. CH₃CN eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 6 h. Die Oxidation erfolgte durch die Zugabe von 0.547 g (1.78 mmol, 4.0 Äquiv.) Oxone[®] suspendiert in 4 mL H₂O bei -10 °C mit einer Reaktionszeit von 15 min.

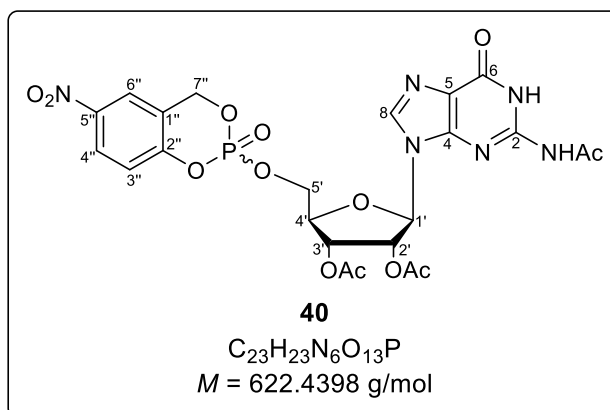
Ausbeute: 202.3 mg (0.3250 mmol, 73%, bezogen auf das Rohprodukt) eines gelben Feststoffes als Diastereomerengemisch (1:1); **R_r-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v): 0.47.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 12.17 (s, 2H, 2 x NH), 10.45 (s, 2H, 2 x NH-Acetyl), 8.28 (dd, ³J_{H,H} = 9.3 Hz, ⁴J_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-4''), 8.24 (dd, ³J_{H,H} = 8.9 Hz, ⁴J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-4''), 8.10 (d, ⁴J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-6''), 8.08 (d, ⁴J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-6''), 7.68 (s, 2H, 2 x H-8), 7.32 (d, ³J_{H,H} = 9.1 Hz, 1H, H-3''), 7.14 (d, ³J_{H,H} = 9.1 Hz, 1H, H-3''), 6.10 – 6.00 (m, 2H, 2 x H-2'), 5.93 (dd, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, ⁴J_{H,H} = 4.3 Hz, 2 x H-1'), 5.73 – 5.68 (m, 2H, 2 x H-3'), 5.56 (d, ²J_{H,H} = 13.6 Hz, 2H, H-7''), 5.46 (dd, ²J_{H,H} = 14.0 Hz, ³J_{HP} = 3.3 Hz, 2H, H-7''), 4.84 – 4.75 (m, 2H, 2 x H-5'a), 4.64 – 4.57 (m, 1H, H-5'b), 4.55 – 4.48 (m, 1H, H-5'b), 4.43 – 4.38 (m, 2H, 2 x H-4'), 2.25, 2.24, 2.15, 2.15 (je s, je 3H, je CH₃-Acetyl), 2.06 (s, 6H, 2 x CH₃-Acetyl).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 173.1, 169.9, 169.9, 169.5, 169.4 (C_q-Acetyl), 155.7 (C-6), 148.1, 148.0 (2 x C-2), 147.9 (C-4), 126.12, 126.05 (2 x C-4''), 123.0, 122.9 (2 x C-5), 121.9, 121.9 (2 x C-6''), 120.1, 119.9 (2 x C-3''), 88.0, 87.9 (2 x C-1'), 81.2, 81.1 (2 x C-4'), 72.0, 71.8 (2 x C-2'), 71.2, 71.1 (2 x C-3'), 68.3, 68.2 (2 x C-7''), 67.9, 67.8 (2 x C-5'), 24.2, 20.7, 20.5 (CH₃-Acetyl).

³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -10.33, -10.70.

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 623.1133 [M+H]⁺, gef.: 623.1137 [M+H]⁺.



IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 1678, 1526, 1339, 1230, 1027, 937, 724, 436.

9.2.2.14 Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)guanosin 55

Die Reaktion wurde nach **AAV 11.2** durchgeführt. Es wurden 1.0086 g (3.5609 mmol, 1.0 Äquiv.) Guanosin **44**, 96 mL abs. DMF, 0.3716 g (5.459 mmol, 1.5 Äquiv.) Imidazol und 0.8044 g (5.337 mmol, 1.5 Äquiv.) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 18 h.

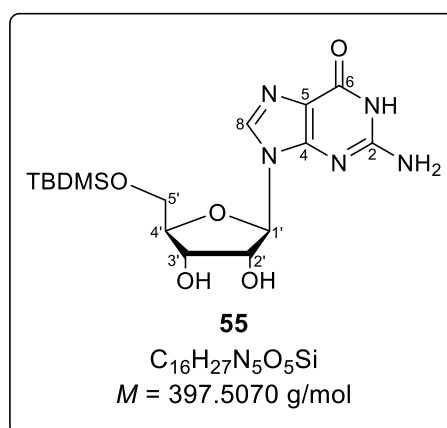
Ausbeute: 1.3563 g (3.4112 mmol, 96%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.58; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -97.8 ° (*c* = 0.05, CH₃OH); **Schmelzpunkt:** 199.2 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 10.63 (s, NH) 7.84 (s, 1H, H-8), 6.49 (s, 2H, NH₂), 5.70 (d, ³*J*_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-1'), 5.47 (d, ³*J*_{H,H} = 5.6 Hz, 1H, 2'-OH), 5.24 – 5.01 (m, 1H, 3'-OH), 4.33 (d, ³*J*_{H,H} = 4.9 Hz, 1H, H-2'), 4.09 (d, ³*J*_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-3'), 3.89 (q, ³*J*_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-4'), 3.80 (dd, ³*J*_{H,H} = 11.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.7 Hz, 1H, H-5'a), 3.72 (dd, ³*J*_{H,H} = 11.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, H-5'b), 0.88 (s, 9H, ^tBu-CH₃), 0.05 (s, 6H, Silyl-CH₃).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 156.7 (C-6), 153.7 (C-2), 151.3 (C-4), 134.8 (C-8), 116.6 (C-5), 86.2 (C-1'), 84.3 (C-4'), 73.8 (C-2'), 70.0 (C-3'), 63.0 (C-5'), 25.8 (^tBu-CH₃), 18.0 (^tBu-C_q), -5.4 (Silyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 398.1854 [M+H]⁺, gef.: 398.1884 [M+H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3367, 3049, 2970, 2875, 1685, 1414, 1199, 736.



9.2.2.15 Synthese von 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2',3'-di-O-benzyloxy-carbonylguanosin 54

Variante I:

Die Reaktion wurde nach **AAV 13.1** durchgeführt. Es wurden 15.1 mg (0.0380 mmol, 1.0 Äquiv.) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)guanosin **55**, 41.1 mg (0.336 mmol, 9.0 Äquiv.) DMAP, 8 mL abs. CH₂Cl₂ sowie 50 μ L (0.94 mmol, 9.2 Äquiv.) Benzyloxycarbonylchlorid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 3 d.

Ausbeute: 10.1 mg (0.0152 mmol, 40%) eines farblosen Feststoffes.

Variante II:

Die Reaktion wurde nach **AAV 13.2** durchgeführt. Es wurden 202.0 mg (0.5082 mmol, 1.0 Äquiv.) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)guanosin **55**, 0.16 mL (2.0 mmol, 4.0 Äquiv.) *N*-Methylimidazol, 10.0 mL abs. CH₂Cl₂ sowie 0.22 mL (1.5 mmol, 3.0 Äquiv.) Benzyloxycarbonylchlorid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16 h.

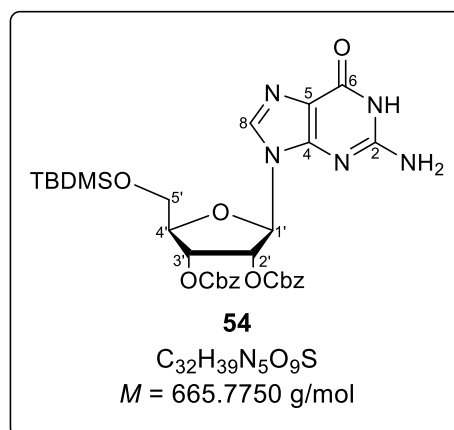
Ausbeute: 0.2830 g (0.4251 mmol, 84%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.58; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -61.6 ° (*c* = 0.59, CH₃OH); **Schmelzpunkt:** 168.4 °C.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 10.72 (s, 1H, NH), 7.84 (s, 1H, H-8), 7.49 – 7.22 (m, 10H, H_{aryl}), 6.55 (s, 2H, NH₂), 5.99 (d, ³*J*_{H,H} = 7.1 Hz, 1H, H-1'), 5.68 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.2 Hz, 1H, H-2'), 5.40 (dd, ³*J*_{H,H} = 5.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-3'), 5.22 – 5.03 (m, 4H, 2x Cbz-CH₂), 4.29 (td, ³*J*_{H,H} = 3.6 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-4'), 3.87 (d, ³*J*_{H,H} = 3.7 Hz, 2H, H-5'), 0.89 (s, 9H, ^tBu-CH₃), 0.084 (s, 3H, Silyl-CH₃), 0.079 (s, 3H, Silyl-CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 156.1 (C-6), 154.1 (C-2), 153.5, 153.1 (2x C=O), 151.3 (C-4), 134.9 (C-8), 134.8, 134.3 (C_{q,aryl}), 128.6, 128.5, 128.5, 128.5, 128.3, 128.2 (CH_{aryl}), 82.9 (C-1'), 82.3 (C-4'), 76.1 (C-2'), 74.6 (C-3'), 71.4, 69.8, 69.6 (2x Cbz-CH₂), 62.7 (C-5'), 25.7 (^tBu-CH₃), 17.9 (^tBu-C_q), -5.6 (Silyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 666.2595 [M+H]⁺, gef.: 666.2622 [M+H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3109, 2926, 2748, 1754, 1691, 1274, 812.



9.2.2.16 Synthese von 2',3'-Di-O-benzyloxycarbonylguanosin **58**

Die Reaktion wurde nach **AAV 12.2** durchgeführt. Es wurden 1.7135 g (2.5737 mmol, 1.0 Äquiv.) 5'-O-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-2',3'-di-O-benzyloxycarbonylguanosin **54**, 68 mL abs. CH₃OH sowie eine katalytische Menge Acetylchlorid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h.

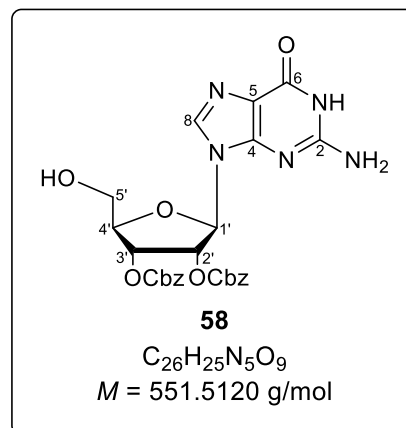
Ausbeute: 1.1205 g (2.0317 mmol, 79%) eines farblosen, kristallinen Feststoffes; **R_f-Wert** (EE/CH₃OH 7:3 v/v) 0.69; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -25.5 ° (c = 0.28, CH₃OH); **Schmelzpunkt:** 175.3 °C.

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 10.70 (s, 1H, NH), 7.99 (s, 1H, H-8), 7.45 – 7.21 (m, 10H, H_{aryl}), 6.52 (s, 2H, NH₂), 5.99 (d, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 1H, H-1'), 5.72 (dd, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, 1H, H-2'), 5.44 (t, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, 1H, 5'-OH), 5.42 (dd, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-3'), 5.25 – 5.00 (m, 4H, 2x Cbz-CH₂), 4.26 (td, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-4'), 3.68 (qdd, ²J_{H,H} = 12.0 Hz, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, 2H, H-5').

¹³C-NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 156.6 (C-6), 154.0 (C-2), 153.5, 153.0 (2x C=O), 151.2 (C-4), 135.2 (C-8), 134.9, 134.8 (C_{q,aryl}), 128.6, 128.5, 128.5, 128.4, 128.3, 128.1 (CH_{aryl}), 83.1 (C-1', C-4'), 76.0 (C-2'), 75.1 (C-3'), 69.8, 69.6 (2x Cbz-CH₂), 60.9 (C-5').

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 552.1736 [M+H]⁺, gef.: 552.1744 [M+H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3425, 3119, 2927, 1752, 1695, 1277, 813.

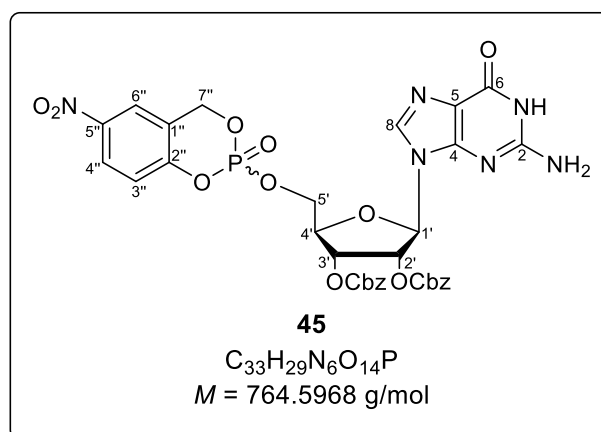


9.2.2.17 Synthese von 5-Nitro-cycloSal-2',3'-di-O-benzyloxycarbonyl-guanosinmonophosphat 45

Die Reaktion wurde nach **AAV 15** durchgeführt. Es wurden 57.5 mg (0.104 mmol, 1.0 Äquiv.) 2',3'-Di-O-benzyloxycarbonylguanosin **58** gelöst in 9 mL abs. CH₃CN mit 35.4 μL (0.208 mmol, 2.0 Äquiv.) DIPEA und 48.5 mg (0.208 mmol, 2.0 Äquiv.) 5-Nitrosaligenylchlorphosphit **59** gelöst in 1.7 mL abs. CH₃CN eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16.5 h. Die Oxidation erfolgte durch die Zugabe von 63.3 mg (0.416 mmol, 4.0 Äquiv.) Oxone[®] suspendiert in 0.5 mL H₂O bei -10 °C mit einer Reaktionszeit von 15 min.

Ausbeute: 30.2 mg (0.0395 mmol, 38%, bezogen auf das Rohprodukt) eines gelben Feststoffes als Diastereomeregemisch (1:1); **R_f-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v): 0.48.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 10.71 (s, 1H, NH), 10.70 (s, 1H, NH), 8.28 – 8.21 (m, 2H, 2x H-4''), 8.20 – 8.11 (m, 2H, 2x H-6''), 8.10 – 7.99 (m, 2H, 2x H-3''), 7.85



(s, 1H, H-8), 7.83 (s, 1H, H-8), 7.39 – 7.28 (m, 20H, Cbz-H_{aryl}), 6.49 (s, 4H, 2x NH₂), 6.03 (dd, ³J_{H,H} = 8.9 Hz, ³J_{H,H} = 5.9 Hz, 2H, H-1'), 5.68 – 5.59 (m, 2H, 2x H-3'), 5.59 – 5.46 (m, 6H, 2x H-2', 2x H-7''), 5.20 – 5.06 (m, 8H, 4x Cbz-CH₂), 4.59 – 4.49 (m, 4H, 2x H-5'), 4.48 – 4.40 (m, 2H, 2x H-4').

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 156.5, 156.5 (2x C-6), 153.9, 153.8 (2x C-2), 153.4, 153.3, 153.0 (4x C=O), 150.9, 150.8 (2x C-4), 143.5, 143.4 (2x C-2''), 135.7 (2x C-8) 134.9, 134.8, 134.7 (4x Cbz-C_q), 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1 (20x Cbz-CH_{aryl}), 125.4, 125.3 (2x C-4''), 122.6, 122.4 (2x C-6''), 119.5 (2x C-3'') 116.8 (2x C-5), 84.2 (2x C-1'), 79.4 (d, ³J_{C,P} = 5.6 Hz, 2x C-4'), 75.2 (2x C-2'), 73.4 (2x C-3'), 69.8, 69.7 (4x Cbz-CH₂), 68.1, 67.9 (2x d, ²J_{C,P} = 7.4 Hz, 2x C-7''), 67.8 (d, ²J_{C,P} = 7.4 Hz, 2x C-5').

³¹P-NMR (203 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = -9.70, -9.95.

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 765.1552 [M+H]⁺, gef.: 765.1574 [M+H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3118, 2923, 2853, 1753, 1688, 1338, 1274, 1030, 782, 697.

Anmerkung: Die ¹³C-Signale des C-1''- und des C-5''-Atoms konnten nicht identifiziert werden.

9.2.3 Synthese von Linker-Bausteinen

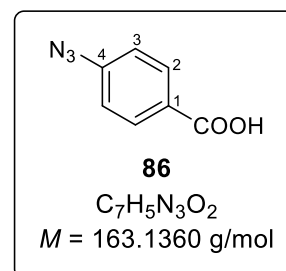
9.2.3.1 Synthese von 4-Azidbenzoesäure **86**

Es wurden 3.06 g (22.3 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-Aminobenzoesäure **43** in 90 mL 2 M Salzsäure und 45 mL H₂O gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 2.82 g (40.9 mmol, 2.0 Äquiv.) Natriumnitrit gelöst in 45 mL H₂O so hinzugegeben, dass die Temperatur der Lösung 3 °C nicht überschritt. Nach beendeter Zugabe wurde die Lösung für weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurden 7.52 g (115 mmol, 5.2 Äquiv.) Natriumazid gelöst in 45 mL H₂O zugegeben, wobei es zu einer Schaumbildung kam. Zur quantitativen Fällung wurde die Reaktionslösung für 16 h im bei 4 °C gelagert. Anschließend wurde das Produkt filtriert und für 24 h im Ölpumpenvakuum getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung für die weiteren Synthesen eingesetzt.

Ausbeute: 3.26 g (20.0 mmol, 90%) eines hellbraunen Feststoffs;
R_r-Wert (Toluol/EE 4:1 v/v) 0.56.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 12.95 (s, 1H, COOH), 8.28 – 7.79 (m, 2H, H-2), 7.37 – 7.15 (m, 2H, H-3).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 166.5 (COOH), 143.9 (C-4) 131.2 (C-1), 127.3 (C-2), 119.2 (C-3).



MS (EI, m/z): ber. für [M]: 163; gef.: 163 (M, 46%), 135 (100), 117 (25), 89 (29) 64 (67).

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3502, 3003, 2811, 2540, 2102, 1674, 1600, 1424, 1316, 934, 765, 532.

9.2.3.2 Synthese von 4-Azidphenol **89**

Es wurden 22.48 g (22.7 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-Aminophenol **88** in 45 mL H_2O und 90 mL 2 M Salzsäure gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 2.84 g (41.2 mmol, 1.8 Äquiv.) Natriumnitrit gelöst in 45 mL H_2O so hinzugegeben, dass eine Temperatur von 3 °C nicht überschritten wurde. Nachdem 30 min bei 0 °C gerührt wurde, wurden 7.532 g (115.9 mmol, 5.1 Äquiv.) Natriumazid gelöst in 45 mL H_2O langsam hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde die Lösung drei Mal mit EE extrahiert, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung für weitere Synthesen eingesetzt werden.

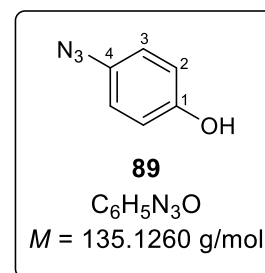
Ausbeute: 2.751 g (20.36 mmol, 90%) einer tiefbraunen, stark viskosen Flüssigkeit; **R_f-Wert** (Hexan/EE 5:1 v/v) 0.40.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 10.80 (s, 1H, -OH), 6.94 – 6.89 (m, 2H, H-3), 6.85 – 6.80 (m, 2H, H-2).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 158.6 (C-1), 136.7 (C-2), 124.2 (C-3), 115.8 (C-4).

MS (EI, m/z): ber. für [M]: 135; gefunden: 135 (M, 18%), 107 (60), 107 (89), 79 (33), 52 (100).

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3379, 3033, 2110, 2067, 1509, 1369, 1289, 1233, 1105.

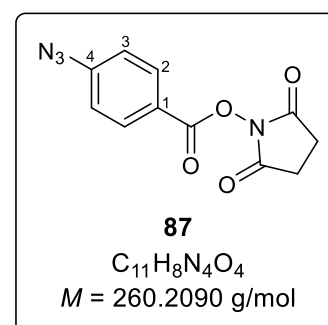


9.2.3.3 Synthese von *N*-(4-Azidbenzoyloxy)succinimid **87**

Die Reaktion wurde nach **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 1.00 g (6.13 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-Azidbenzoesäure **86**, 1.68 g (8.13 mmol, 1.3 Äquiv.) Dicyclohexylcarbodiimid, 0.904 g (7.89 mmol, 1.3 Äquiv.) *N*-Hydroxysuccinimid und 40 mL abs. THF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 15 h.

Ausbeute: 1.44 g (5.52 mmol, 90%) hellorangener, nadelförmiger Kristalle; **R_f-Wert** (PE/EE 1:1 v/v) 0.65; **Schmelzpunkt**: 167 °C.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 8.15 – 8.10 (m, 2H, H-2), 7.15 – 7.10 (m, 2H, H-3), 2.91 (s, 4H, 2x CH_2).



¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 169.3 (2x C(O)N), 161.2 (C(O)O) 147.1 (C-4), 132,7 (C-1), 121.5 (C-2), 119.4 (C-3), 25.8 (2x CH₂).

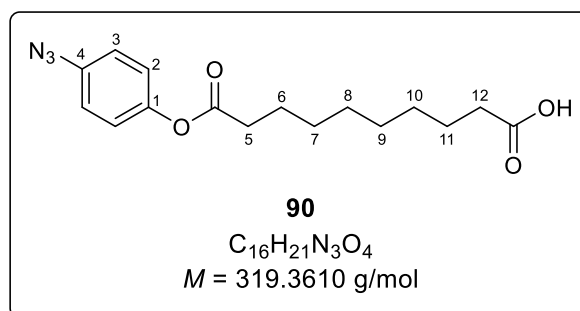
HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 283.0449 [M+Na]⁺, gef.: 283.0448 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3096, 3075, 2989, 2414, 2127, 2095, 1734, 1597, 1289, 994, 850, 651.

9.2.3.4 Synthese von Sebacinsäure-mono(4-azidphenyl)ester **90**

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 2.12 mL (10.0 mmol, 2.0 Äquiv.) Sebacinsäuredichlorid in 50 mL abs. CH₃CN gelöst und auf 0 °C gelöst. Anschließend erfolgte die langsame Zugabe von 0.4 mL abs. Pyridin gelöst in 10 mL abs. CH₃CN. Bei Raumtemperatur wurden anschließend 679 mg (5.03 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-Azidphenol **89** gelöst in 5 mL abs. CH₃CN zur Reaktionslösung langsam hinzugegeben. Es wurde für etwa 3 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei die Reaktion dünnschichtchromatographisch mit CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v verfolgt wurde. Danach wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in EE aufgenommen und je zwei Mal mit 1 M Salzsäure und H₂O gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE und einem EE-Gradienten (PE/EE 4:1 v/v → PE/EE 1:1 v/v) gereinigt.

Es wurden 1.195 g eines braunen Feststoffs erhalten, welcher aus einer Mischung des gewünschten Produktes und Sebacinsäure bestand. Aus dem ¹H-NMR-Spektrum wurde eine Reinheit von 72% bestimmt.



¹H-NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄): δ [ppm] = 8.15 – 8.10 (m, 2H, H-2), 7.16 – 7.10 (m, 2H, H-3), 2.57 (t, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, 2H, H-5), 2.33 – 2.26 (m, 2H, H-12), 1.76 – 1.69 (m, 2H, H-6), 1.65 – 1.57 (m, 2H, H-11), 1.45 – 1.33 (m, 8H, H-7, H-8, H-9, H-10).

¹³C-NMR (101 MHz, Methanol-*d*₄): δ [ppm] = 179.6, 179.5 (2x C=O), 141.3 (C-1), 130.2 (C-4), 123.1 (C-2), 120.0 (C-3), 34.4, 34.1, 29.2, 29.1, 24.1 (C-5, C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-11, C-12).

MS (ESI⁺; *m/z*): berechnet für C₁₆H₂₁N₃NaO₄⁺ [M+Na]⁺: 342.1430, gefunden: 342.1423.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3391, 2922, 2855, 2256, 2112, 1754, 1627, 995.

9.2.3.5 Synthese von 2-(4-Azidbenzoylamino)essigsäure **91**

Die Durchführung erfolgte nach **AAV 7**. Es wurden 79.2 mg (1.05 mmol, 1.1 Äquiv.) Glycin, 177 mg Natriumhydrogencarbonat (2.10 mmol, 2.10 Äquiv.) gelöst in 4.4 mL H₂O sowie 262 mg (1.00 mmol, 1.0 Äquiv.) *N*-(4-Azidobenzoyloxy)succinimid **87** gelöst in 8.4 mL 1,4-Dioxan eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h.

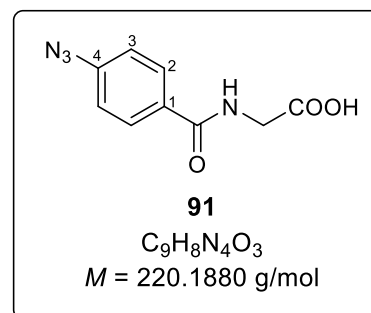
Ausbeute: 107 mg (0.486 mmol, 49%) eines gelben Feststoffs; **R_f-Wert** (CHCl₃/CH₃OH 1:1 v/v) 0.35; **Schmelzpunkt:** 131 °C.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8.79 (t, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, 1H, NH), 7.94 – 7.89 (m, 2H, H-2), 7.24 – 7.19 (m, 2H, H-3), 3.89 (d, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, 2H, CH₂).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 171.3 (COOH), 165.4 (C(O)NH), 142.4 (C-1), 130.5 (C-4), 129.1 (C-2), 119.0 (C-3), 41.4 (CH₂).

HRMS (ESI⁻, *m/z*): ber.: 219.0524 [M-H]⁻, gef.: 219.0516 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3305, 3057, 2934, 2423, 2122, 1715, 1633, 1603, 1415, 1220.



9.2.3.6 Synthese von 3-(4-Azidbenzoylamino)propansäure **92**

Die Durchführung erfolgte nach **AAV 7**. Es wurden 91.6 mg (1.03 mmol, 1.0 Äquiv.) β-Alanin, 178 mg Natriumhydrogencarbonat (2.10 mmol, 2.10 Äquiv.) gelöst in 4.4 mL H₂O sowie 260 mg (1.00 mmol, 1.0 Äquiv.) *N*-(4-Azidobenzoyloxy)succinimid **87** gelöst in 8.4 mL 1,4-Dioxan eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h.

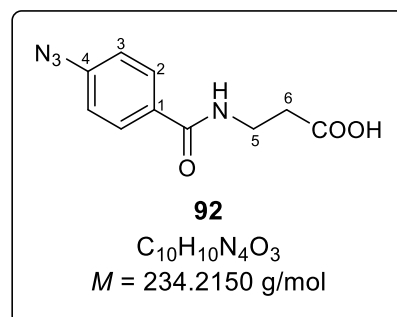
Ausbeute: 191 mg (0.816 mmol, 81%) eines gelben Feststoffs; **R_f-Wert** (CHCl₃/CH₃OH 1:1 v/v) 0.51; **Schmelzpunkt:** 152 °C.

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄): δ [ppm] = 7.85 – 7.83 (m, 2H, H-2), 7.15 – 7.13 (m, 2H, H-3), 3.62 (t, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, 2H, H-5), 2.63 (t, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, 2H, H-6).

¹³C-NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄): δ [ppm] = 174.1 (COOH), 167.8 (C(O)NH), 144.9 (C-1), 132.1 (C-4), 130.2 (C-2), 120.0 (C-3), 37.1 (C-5), 34.7 (C-6).

HRMS (ESI⁻, *m/z*): ber.: 233.0680 [M-H]⁻, gef.: 233.0681 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3298, 3033, 2904, 2628, 2412, 2258, 2127, 1602, 1418.



9.2.3.7 Synthese von 4-(4-Azidbenzoylamino)buttersäure **93**

Die Durchführung erfolgte nach **AAV 7**. Es wurden 105 mg (1.00 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-Aminobuttersäure, 179 mg Natriumhydrogencarbonat (2.10 mmol, 2.10 Äquiv.) gelöst in 4.4 mL H₂O sowie 260 mg (1.00 mmol, 1.0 Äquiv.) *N*-(4-Azidobenzoyloxy)succinimid **87** gelöst in 8.4 mL 1,4-Dioxan eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h.

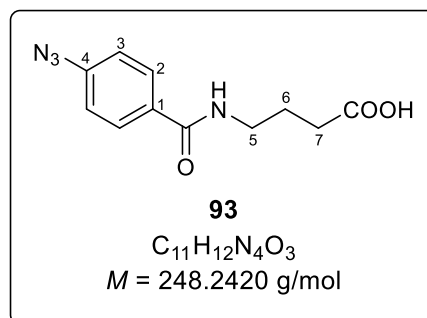
Ausbeute: 231 mg (0.931 mmol, 93%) eines gelben Feststoffs; **R_f-Wert** (CHCl₃/CH₃OH 1:1 v/v) 0.65; **Schmelzpunkt:** 132 °C.

¹H-NMR (600 MHz, Methanol-*d*₄): δ [ppm] = 7.86 – 7.84 (m, 2H, H-2), 7.16 – 7.13 (m, 2H, H-3), 3.42 (t, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, 2H, H-5), 2.38 (t, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, 2H, H-7), 1.93 – 1.89 (m, 2H, H-6).

¹³C-NMR (151 MHz, Methanol-*d*₄): δ [ppm] = 176.0 (COOH), 167.9 (C(O)NH), 143.6 (C-1), 130.2 (C-4), 128.2 (C-2), 120.0 (C-3), 40.5 (C-5), 32.5 (C-7), 25.9 (C-6).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 271.0802 [M+Na]⁺, gef.: 271.0815 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3307, 3067, 2936, 2409, 2254, 2119, 1706, 1602, 1498, 1281.

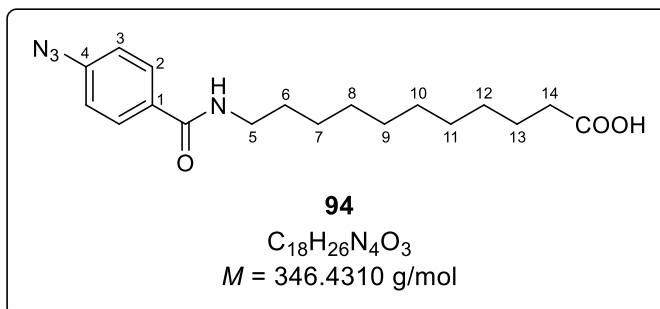


9.2.3.8 Synthese von 11-(4-Azidbenzoylamino)undecansäure **94**

Die Durchführung erfolgte nach **AAV 7**. Es wurden 213 mg (1.06 mmol, 1.0 Äquiv.) 11-Aminoundecansäure, 171 mg Natriumhydrogencarbonat (2.04 mmol, 2.0 Äquiv.) gelöst in 4.4 mL H₂O sowie 261 mg (1.00 mmol, 1.0 Äquiv.) *N*-(4-Azidobenzoyloxy)succinimid **87** gelöst in 8.4 mL 1,4-Dioxan eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h und es wurde bei 60 °C gerührt.

Ausbeute: 330 mg (0.970 mmol, 97%) eines gelben Feststoffs; **R_f-Wert** (PE/EE 100:1 v/v) 0.13; **Schmelzpunkt:** 109 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 7.86 – 7.83 (m, 2H, H-2), 7.16 – 7.12 (m, 2H, H-3), 3.36 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.1$ Hz, 2H, H-5), 2.32 – 2.25 (m, 2H, H-14), 1.65 – 1.55 (m, 4H, H-6, H-13), 1.40 – 1.31 (m, 12H, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12).



$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, Methanol- d_4): δ [ppm] = 176.2 (COOH), 167.8 (C(O)NH), 143.3 (C-1), 131.1 (C-4), 128.9 (C-2), 120.2 (C-3), 41.1 (C-5), 34.9 (C-14), 30.6, 30.5, 30.5, 30.4, 30.4, 30.2, 28.1, 26.1 (C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-11, C-12, C-13).

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 347.2078 [M+H]⁺, gef.: 347.2062 [M+H]⁺.

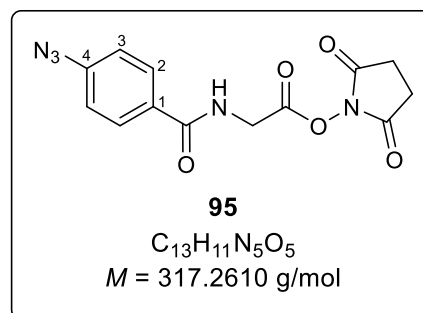
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3329, 2920, 2850, 2408, 2123, 1711, 1627, 1283.

9.2.3.9 Synthese von Succinimidyl-2-(4-azidbenzoylamino)acetat 95

Die Reaktion wurde nach **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 59.2 mg (0.269 mmol, 1.0 Äquiv.) 2-(4-Azidbenzoylamino)essigsäure **91**, 81 μL (0.52 mmol, 2.0 Äquiv.) Diisopropylcarbodiimid, 60.9 mg (0.529 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*-Hydroxysuccinimid und 2 mL abs. THF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h.

Ausbeute: 28.8 mg (0.0908 mmol, 34%) eines beigen Feststoffs; **R_f-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 1:1 v/v) 0.85; **Schmelzpunkt:** 99.6 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.88 – 7.74 (m, 2H, H-2), 7.10 – 7.05 (m, 2H, H-3), 6.66 (bs, 1H, NH), 4.24 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 4.7$ Hz, 2H, CH₂), 3.81 (s, 4H, 2x Succinimidyl-CH₂).



$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.6 (C(O)O), 170.7 (2x C(O)N), 166.6 (C(O)NH), 143.9 (C-1), 142.2, 140.5, 138.7, 137.2 (PFP-C_q), 130.2 (C-4), 129.0 (C-2), 119.2 (C-3), 41.9 (2x Succinimidyl-CH₂), 41.8 (CH₂).

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 317.0760 [M+Na]⁺, gef.: 317.0913 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3340, 2957, 2118, 1741, 1643, 1604, 1284, 1211, 848.

9.2.3.10 Synthese von Succinimidyl-3-(4-azidbenzoylamino)propionat 96

Die Reaktion wurde nach **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 63.3 mg (0.270 mmol, 1.0 Äquiv.) 3-(4-Azidbenzoylamino)propansäure **92**, 81 μL (0.52 mmol, 2.0 Äquiv.) Diisopropyl-

carbodiimid, 59.8 mg (0.520 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*-Hydroxysuccinimid und 2 mL abs. THF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h.

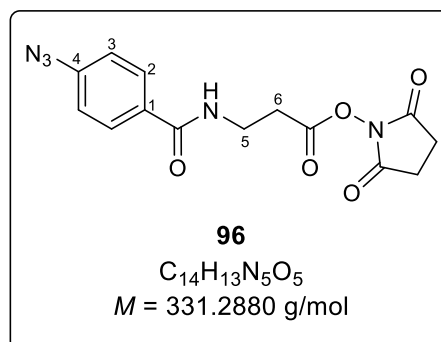
Ausbeute: 83.5 mg (0.252 mmol, 93%) eines farblosen Feststoffs; **R_f-Wert** (PE/EE 1:2 v/v) 0.47; **Schmelzpunkt:** 150.0 °C (Zersetzung).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8.68 (t, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, 1H, NH), 7.97 – 7.78 (m, 2H, H-2), 7.30 – 7.09 (m, 2H, H-3), 3.72 – 3.58 (m, 2H, H-5), 2.99 (t, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, 2H, H-6), 2.81 (s, 4H, 2x CH₂).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 170.1 (2x C(O)N), 167.4 (C(O)O), 165.6 (C(O)NH), 142.4 (C-1), 130.7 (C-4), 129.1 (C-2), 118.9 (C-3), 35.1 (C-5), 30.4 (C-6), 25.5 (2x CH₂).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 354.0809 [M+Na]⁺, gef.: 354.0825 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3092, 3044, 2949, 2813, 1705, 1570, 1045, 719.



9.2.3.11 Synthese von Succinimidyl-4-(4-azidobenzoylamino)butyrat 97

Die Reaktion wurde nach **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 62.0 mg (0.250 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-(4-Azidobenzoylamino)buttersäure **93**, 69 mg (0.33 mmol, 1.3 Äquiv.) Dicyclohexylcarbodiimid, 39 mg (0.34 mmol, 1.3 Äquiv.) *N*-Hydroxysuccinimid und 3.5 mL abs. CH₃CN eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 20 h.

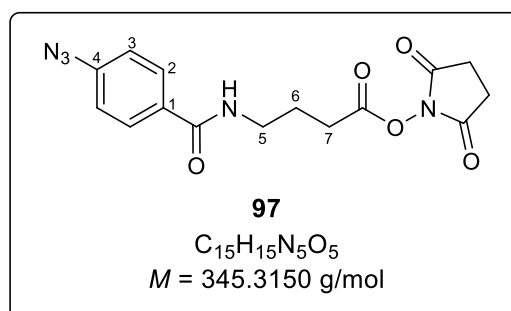
Ausbeute: 29.0 mg (8.00 μmol, 32%) eines gelben Feststoffs; **R_f-Wert** (PE/EE 1:2 v/v) 0.36; **Schmelzpunkt:** 145.3 °C.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.79 – 7.76 (m, 2H, H-2), 7.06 – 7.02 (m, 2H, H-3), 6.69 (s, 1H, NH), 3.56 – 3.51 (m, 2H, H-5), 2.84 (s, 4H, 2x CH₂), 2.71 (t, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, 2H, H-7), 2.12 – 2.06 (m, 2H, H-6).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 169.4 (2x C(O)N), 168.5 (C(O)O), 166.9 (C(O)NH), 143.3 (C-1), 130.8 (C-4), 128.9 (C-2), 119.0 (C-3), 38.8 (C-5), 28.5 (C-7), 25.6 (2x CH₂), 24.4 (C-6).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 368.0971 [M+Na]⁺, gef.: 368.0970 [M+Na]⁺.

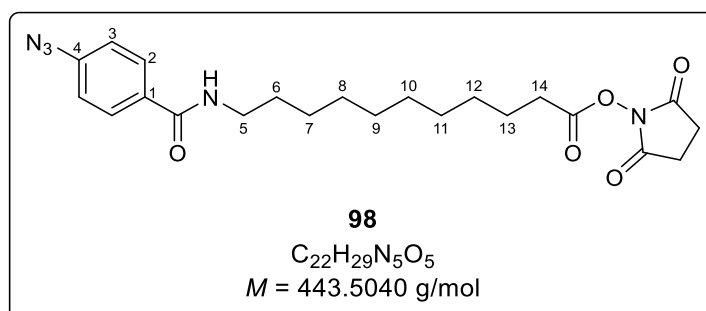
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3338, 2967, 2928, 2873, 2121, 1735, 1567, 1167, 632.



9.2.3.12 Synthese von Succinimidyl-11-(4-azidbenzoylamin)undecanat **98**

Die Reaktion wurde nach **AAV 8** durchgeführt. Es wurden 116.3 mg (0.3357 mmol, 1.0 Äquiv.) 11-(4-Azidbenzoylamino)undecansäure **94**, 140.1 mg (0.6790 mmol, 2.0 Äquiv.) Dicyclohexylcarbodiimid, 82.7 mg (0.529 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*-Hydroxysuccinimid und 13 mL abs. CH₃CN eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 22 h.

Ausbeute: 69.1 mg (0.156 mmol, 47%) eines gelben Feststoffs; **R_f-Wert** (PE/EE 1:1 v/v) 0.46; **Schmelzpunkt:** 80.6 °C.



¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 8.44 (t, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, 1H, NH), 8.07 – 7.84 (m, 2H, H-2), 7.39 – 7.04 (m, 2H, H-3), 3.57 (s, 4H, 2x Succinimidyl-CH₂), 3.28 – 3.11 (m, 2H, H-5), 2.27 (t, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 2H, H-14), 1.49 (m, 4H, H-6, H-13), 1.35 – 1.08 (m, 12H, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 173.4 (C(O)O), 165.0 (C(O)NH), 142.0 (C-1), 131.3 (C-4), 129.0 (C-2), 118.8 (C-3), 51.2 (C-5), 33.3 (C-14), 29.1, 28.9, 28.8, 28.7, 28.7, 28.5, 26.5 (C-6, C-7, C-8, C-9, C-10, C-11, C-12), 24.4 (C-13).

Anmerkung: Das ¹³C-NMR-Signal der Succinimidyl-Carbonylgruppen konnte nicht identifiziert werden.

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 444.2241 [M+H]⁺, gef.: 444.2260 [M+H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2929, 2853, 2124, 1739, 1626, 1285, 1206, 1069.

9.2.3.13 Synthese von Pentafluorphenyl-3-(4-azidbenzoylamin)propionat **99**

Die Reaktion wurde nach **AAV 9** durchgeführt. Es wurden 52.0 mg (0.222 mmol, 1.0 Äquiv.) 3-(4-Azidbenzoylamino)propansäure **92**, 93.4 μL (0.888 mmol, 4.0 Äquiv.) Pentafluorphenol, 137.5 μL (0.888 mmol, 4.0 Äquiv.) Diisopropylcarbodiimid, 6.75 mL abs. CH₃CN eingesetzt sowie 0.75 mL abs. Pyridin eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 19 h.

Ausbeute: 79.0 mg (0.197 mmol, 89%)
beigefarbener Kristalle; **R_f-Wert** (CH₂Cl₂/CH₃OH 1:1 v/v) 0.85; **Schmelzpunkt:** 99.6 °C.

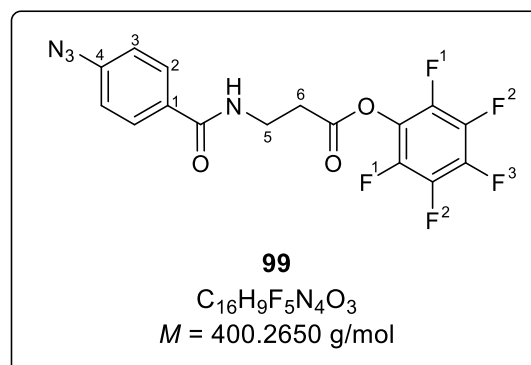
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.78 – 7.73 (m, 2H, H-2), 7.11 – 7.03 (m, 2H, H-3), 6.64 (t, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 1H, NH), 3.85 (q, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 2H, H-5), 3.07 (t, ³J_{H,H} = 5.9 Hz, 1H, H-6).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 169.0 (C(O)O), 166.8 (C(O)NH), 143.9 (C-1), 142.0, 140.3, 138.9, 137.4 (6x PFP-C_q), 130.5 (C-4), 128.8 (C-2), 119.3 (C-3), 35.4 (C-5), 33.6 (C-6).

¹⁹F-NMR (565 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -152.59 (d, ³J_{F,F} = 17.5 Hz, 2F, F-1), -157.09 – -157.68 (m, 1F, F-3), -161.65 – -162.09 (m, 2F, F-2).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 401.0668 [M+H]⁺, gef.: 401.0680 [M+H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3307, 2929, 2122, 1785, 1519, 1283, 1106, 995.



9.2.3.14 Synthese von Pentafluorphenyl-4-(4-azidbenzoylamino)butyrat 100

Die Reaktion wurde nach **AAV 9** durchgeführt. Es wurden 63 mg (0.25 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-(4-Azidbenzoylamino)buttersäure **93**, 105 μ L (1.00 mmol, 4.0 Äquiv.) Pentafluorphenol, 155 μ L (1.00 mmol, 4.0 Äquiv.) Diisopropylcarbodiimid, 2.25 mL abs. CH₃CN eingesetzt sowie 0.25 mL abs. Pyridin eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 2 h.

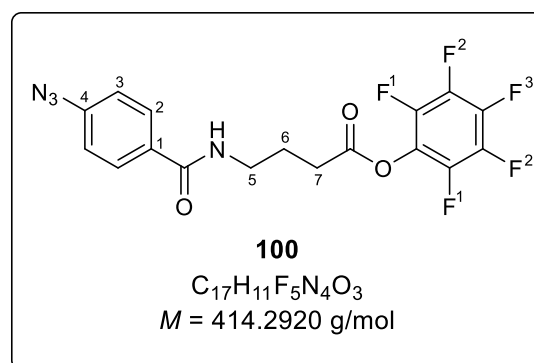
Ausbeute: 100.0 mg (0.2414 mmol, 97%) eines beigen Feststoffs; **R_f-Wert** (PE/EE 4:1 v/v) 0.65; **Schmelzpunkt:** 135 °C.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.83 – 7.76 (m, 2H, H-2), 7.08 – 7.06 (m, 2H, H-3), 6.31 (s, 1H, NH), 3.62 – 3.57 (m, 2H, H-9), 2.81 (t, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, 2H, H-7), 2.17 – 2.08 (m, 2H, H-8).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 169.7 (C(O)O), 166.6 (C(O)NH), 143.6 (C-1), 141.8, 140.3, 138.7, 137.0 (6x PFP-C_q), 131.0 (C-4), 128.9 (C-2), 119.2 (C-3), 39.5 (C-5), 31.1 (C-7), 24.8 (C-6).

¹⁹F-NMR (188 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -152.5 – -152.6 (m, 2F, F-1), -157.5 (t, ³J_{F,F} = 21.7 Hz, 1F, F-3), -161.8 – -162.0 (m, 2F, F-2).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 415.0830 [M+H]⁺, gef.: 415.0833 [M+H]⁺.

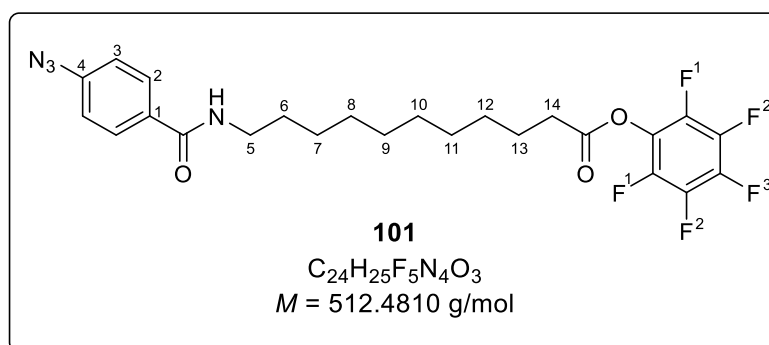


IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3279, 3101, 2978, 2867, 2130, 1792, 1632, 1516, 1001.

9.2.3.15 Synthese von Pentafluorphenyl-11-(4-azidbenzoylamin)undecanat **101**

Die Reaktion wurde nach **AAV 9** durchgeführt. Es wurden 74.6 mg (0.215 mmol, 1.0 Äquiv.) 11-(4-Azidbenzoylamino)undecansäure **94**, 90 μ L (0.68 mmol, 4.0 Äquiv.) Pentafluorphenol, 133 μ L (0.860 mmol, 4.0 Äquiv.) Diisopropylcarbodiimid, 6.75 mL abs. CH₃CN sowie 0.75 mL abs. Pyridin eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16 h.

Ausbeute: 95.3 mg (0.186 mmol, 87%) eines beigen Feststoffs; **R_f-Wert** (PE/EE 4:1 v/v) 0.37; **Schmelzpunkt:** 76.5 °C.



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 8.01 – 7.67 (m, 2H, H-2), 7.17 – 6.96 (m, 2H, H-3), 6.10 (t, ³J_{H,H} = 5.7 Hz, 1H, NH), 3.44 (td, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, ³J_{H,H} = 5.7 Hz, 2H, H-5), 2.65 (t, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 2H, H-14), 1.84 – 1.67 (m, 2H, H-13), 1.66 – 1.54 (m, 2H, H-6), 1.48 – 1.28 (m, 12H, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 169.7 (C(O)O), 166.7 (C(O)NH), 143.4 (C-1), 131.4 (C-4), 128.7 (C-2), 119.1 (C-3), 40.3 (C-5), 33.5 (C-14), 29.8 (C-6), 29.5, 29.4, 29.4, 29.2, 29.0, 27.1 (C-7, C-8, C-9, C-10, C-11, C-12), 24.9 (C-13).

¹⁹F-NMR (565 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -152.88 (d, ³J_{F,F} = 20.1 Hz, 2F, F-1), -158.26 (t, ³J_{F,F} = 21.7 Hz, 1F, F-3), -162.39 – -162.60 (m, 2F, F-2).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 513.1920 [M+H]⁺, gef.: 513.1926 [M+H]⁺.

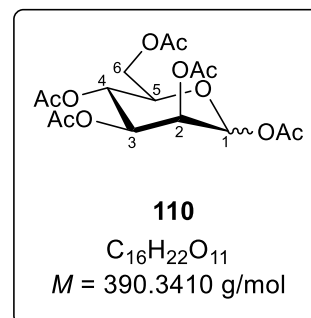
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3347, 2919, 2849, 2121, 1782, 1517, 1277, 989.

9.2.4 Synthese von Glycosylphosphaten

9.2.4.1 Synthese von 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-mannose **110**

Die Reaktion wurde nach **AAV 1** durchgeführt. Es wurden 4.0071 g (22.242 mmol, 1.0 Äquiv.) D-Mannose **104**, 72.0 mL Pyridin und 32.0 mL (339 mmol, 15 Äquiv.) Essigsäureanhydrid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16 h.

Ausbeute: 8.6497 g (22.159 mmol, quantitativ) eines gelblichen, zähflüssigen Öls; **R_f-Wert** (PE/EE 1:2 v/v) 0.79; **Anomerenverhältnis:** $\alpha:\beta \approx 1:4$.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **α -Anomer** 5.85 (d, $^3J_{H,H} = 1.3$ Hz, 1H, H-1), 5.47 (dd, $^3J_{H,H} = 3.3$ Hz, $^3J_{H,H} = 1.2$ Hz, 1H, H-2), 5.29 (t, $^3J_{H,H} = 4.9$ Hz, 1H, H-4), 5.12 (dd, $^3J_{H,H} = 9.9$ Hz, $^3J_{H,H} = 3.3$ Hz, 1H, H-3), 4.33 – 4.28 (m, 1H, H-5), 4.17 – 4.05 (m, 1H, H-6a), 3.79 (ddd, $^2J_{H,H} = 9.9$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.4$ Hz, $^3J_{H,H} = 2.4$ Hz, 1H, H-6b), 2.16, 2.15, 2.08, 2.04, 1.99 (5x s, 5x 3H, 5x Acetyl-CH₃). **β -Anomer** 6.07 (d, $^3J_{H,H} = 2.0$ Hz, 1H, H-1), 5.36 – 5.30 (m, 2H, H-3, H-5), 5.27 – 5.22 (m, 1H, H-2), 4.27 (dd, $^3J_{H,H} = 12.3$, 4.9 Hz, 1H, H-6a), 4.09 (dd, $^3J_{H,H} = 12.4$, 2.4 Hz, 1H, H-6b) 4.06 – 3.99 (m, 1H, H-4), 2.16, 2.15, 2.08, 2.04, 1.99 (5x s, 5x 3H, 5x Acetyl-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **α -Anomer** 170.6, 170.2, 169.8, 169.5, 168.3 (5x C=O), 90.4 (C-1), 73.3 (C-3), 70.6 (C-4), 68.2 (C-3), 65.4 (C-5), 62.1 (C-6), 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, 20.5 (5x Acetyl-CH₃)., **β -Anomer** 170.7, 170.1, 169.8, 169.6, 168.2 (5x C_q-Acetyl), 90.7 (C-1), 70.7 (C-4), 68.9 (C-3), 68.5 (C-2), 65.7 (C-5), 62.2 (C-6), 21.0, 20.9, 20.8, 20.8, 20.7 (5x Acetyl-CH₃).

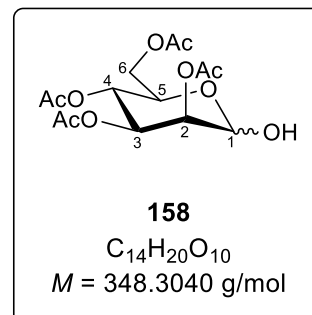
HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 413.1054 [M+Na]⁺, gef.: 413.1061 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2955, 2922, 2852, 1742, 1368, 1210, 600.

9.2.4.2 Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannose 158

Die Reaktion wurde nach **AAV 3** durchgeführt. Es wurden 133.4 mg (0.3418 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-mannose **110**, 2.0 mL THF und 0.21 mL (1.7 mmol, 5.0 Äquiv.) DMAPA eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 1 h.

Ausbeute: 89.0 mg (0.256 mmol, 75%) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (PE/EE 1:1 v/v) 0.22; **Anomerenverhältnis:** α : β \approx 25:1.



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **α -Anomer** 5.42 (dd, ³J_{H,H} = 10.1 Hz, ⁴J_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-3), 5.33 – 5.26 (m, 2H, H-2, H-4), 5.26 – 5.24 (m, 1H, H-1), 4.30 – 4.21 (m, 2H, H-5, H-6a), 4.18 – 4.11 (m, 1H, H-6b), 3.33 (d, ³J_{H,H} = 4.1 Hz, 1H, -OH), 2.16, 2.11, 2.05, 2.00 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl-CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **α -Anomer** 170.9, 170.3, 170.1, 169.9 (4x C=O), 92.4 (C-1), 70.1 (C-4), 68.9 (C-3), 68.7 (C-5), 66.3 (C-2), 62.7 (C-6), 21.1, 20.9, 20.9, 20.8 (Acetyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 371.0949 [M+Na]⁺, gef.: 371.0956 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3466, 2960, 1743, 1370, 1221, 1049, 600.

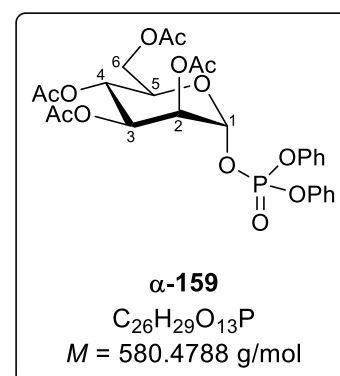
9.2.4.3 Synthese von Diphenyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α - und - β -D-mannopyranosyl)phosphat α - und β -159

Die Reaktion wurde nach **AAV 5** durchgeführt. Es wurden 101.0 mg (0.2900 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-D-mannose **158**, 81.3 mg (0.665 mmol, 2.3 Äquiv.) DMAP gelöst in 2 mL abs. CH₂Cl₂ sowie 0.125 mL (0.603 mmol, 2.1 Äquiv.) Diphenylchlorphosphat gelöst in 1.5 mL abs. CH₂Cl₂ eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 1.5 h.

α -Anomer:

Ausbeute: 80.9 mg (0.139 mmol, 48%) eines hellrosa Öls; **R_F-Wert** (PE/EE 1:1 v/v) 0.39; **Drehwert:** [α]_{589 nm}²⁵: +42.1 ° (c = 0.14, CH₂Cl₂).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.44 – 7.32 (m, 4H, -OPh_{meta}), 7.30 – 7.18 (m, 6H, -OPh), 5.87 (dd, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-1), 5.42 – 5.26 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 4.19 (dd,



$^2J_{H,H} = 12.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 4.8$ Hz, 1H, H-6a), 4.08 (ddd, $^3J_{H,H} = 9.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 4.8$ Hz, $^3J_{H,H} = 2.2$ Hz, 1H, H-5), 3.92 (dd, $^2J_{H,H} = 12.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 2.3$ Hz, 1H, H-6b), 2.16, 2.05, 2.01, 1.99 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl-CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.7, 170.0, 169.8, 169.8 (4x C=O), 150.2, 150.2 (2x C_{q-Ar}), 130.2, 130.1 (4x C_{meta}), 126.4, 125.9 (2x C_{para}), 120.4 (d, $^3J_{C,P} = 4.6$ Hz, 2x C_{ortho}), 120.2 (d, $^3J_{C,P} = 5.1$ Hz, 2x C_{ortho}), 96.2 (C-1), 70.9 (C-5), 68.8 (C-3), 68.3 (C-2), 65.3 (C-4), 61.8 (C-6), 20.9, 20.8, 20.7, 20.7 (4x Acetyl-CH₃).

$^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -14.22.

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 603.1238 [M+Na]⁺, gef.: 603.1253 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2926, 1753, 1654, 1488, 1226, 1088, 1069, 921.

β -Anomer:

Ausbeute: 39.8 mg (0.0696 mmol, 24%) eines hellrosa Öls;
R_f-Wert (PE/EE 1:1 v/v) 0.37; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25} = +3.7^\circ$ ($c = 0.08$, CH₂Cl₂).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.38 – 7.31 (m, 4H, -OPh_{meta}), 7.29 – 7.25 (m, 2H, -OPh_{ortho}), 7.21 (dt, $^3J_{H,H} = 7.5$ Hz, $^4J_{H,H} = 1.1$ Hz, 2H, -OPh_{para}), 7.18 – 7.14 (m, 2H, -OPh_{ortho})

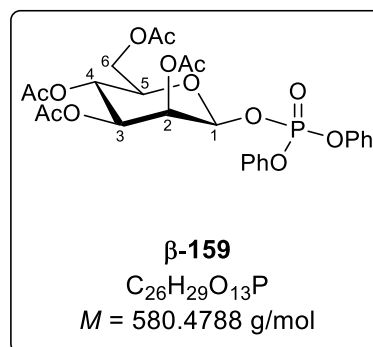
5.60 (dd, $^3J_{H,H} = 7.3$ Hz, $^4J_{H,H} = 1.4$ Hz, 1H, H-1), 5.49 (dd, $^3J_{H,H} = 3.4$ Hz, $^4J_{H,H} = 1.3$ Hz, 1H, H-2), 5.26 (t, $^3J_{H,H} = 9.6$ Hz, 1H, H-4), 5.07 (dd, $^3J_{H,H} = 9.7$ Hz, $^4J_{H,H} = 3.3$ Hz, 1H, H-3), 4.27 (dd, $^2J_{H,H} = 12.3$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.5$ Hz, 1H, H-6a), 4.12 (dd, $^3J_{H,H} = 12.3$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.5$ Hz, 1H, H-5), 3.78 (ddd, $^3J_{H,H} = 9.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 2.8$ Hz, 1H, H-6b), 2.10, 2.05, 2.05, 1.99 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl-CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.7, 170.0, 169.9, 169.7 (4x C=O), 150.2, 150.2 (2x C_{q-Ar}), 130.0, 129.8 (4x C_{meta}), 126.0, 125.8 (2x C_{para}), 120.6 (d, $^3J_{C,P} = 4.5$ Hz, 2x C_{ortho}), 120.4 (d, $^3J_{C,P} = 4.7$ Hz, 2x C_{ortho}), 94.9 (d, $^3J_{C,P} = 4.6$ Hz, C-1), 73.3 (C-5), 70.3 (C-3), 68.2 (C-2), 65.5 (C-4), 62.2 (C-6), 20.8, 20.8, 20.8, 20.7 (4x Acetyl-CH₃).

$^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -13.86.

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 603.1238 [M+Na]⁺, gef.: 603.1231 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2926, 1654, 1591, 1203, 1088, 1069, 921, 690.



9.2.4.4 Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-mannopyranosylphosphat als Natriumsalz β -160

Die Reaktion wurde nach **AAV 6** durchgeführt. Es wurden 32.3 mg (0.0556 mmol, 1.0 Äquiv.) Diphenyl-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-mannopyranosyl)phosphat **β -159**, 1 mL abs. EE, 1 mL abs. Ethanol und 6.4 mg (0.028 mmol, 0.5 Äquiv.) Platin(IV)-oxid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 7 d.

Ausbeute: 24.8 mg (0.0551 mmol, quantitativ) eines farblosen Feststoffes; **R_f -Wert** (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.31;

Anomerenverhältnis: β -anomerenrein; **Drehwert:**

$[\alpha]_{589}^{25}$: -176.7 ° ($c = 0.18$, CH₂Cl₂).

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 5.63 (d, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, 1H, H-2), 5.52 (dd, ³J_{H,H} = 9.2 Hz, ³J_{H,H} = 1.1 Hz, 1H, H-1), 5.46 (dd, ³J_{H,H} = 10.0 Hz, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, 1H, H-

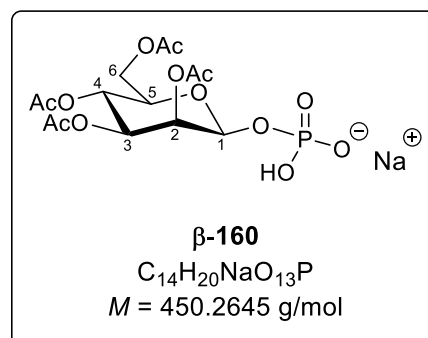
3), 5.33 (t, ³J_{H,H} = 10.1 Hz, 1H, H-4), 4.55 (dd, ²J_{H,H} = 12.6 Hz, ³J_{H,H} = 3.6 Hz, 1H, H-6a), 4.34 (dd, ²J_{H,H} = 12.6 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-6b), 4.16 (ddd, ³J_{H,H} = 10.0 Hz, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, ³J_{H,H} = 2.2 Hz, 1H, H-5), 2.37, 2.25, 2.21, 2.14 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl-CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 172.4, 171.9, 171.8, 171.2 (4x C=O), 91.8 (d, ²J_{C,P} = 3.1 Hz, C-1), 70.2 (C-5), 70.0 (C-3), 69.1 (d, ³J_{C,P} = 6.1 Hz, C-2), 64.2 (C-4), 60.2 (C-6) 18.8, 18.7, 18.6, 18.4 (4x Acetyl-CH₃).

³¹P-NMR (243 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -0.58.

HRMS (ESI⁻, m/z): ber.: 427.0647 [M-H]⁻, gef.: 427.0645 [M-H]⁻.

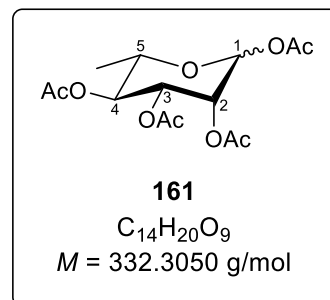
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3284, 2929, 1740, 1499, 1259, 1222, 797.



9.2.4.5 Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-L-rhamnose 161

Die Reaktion wurde nach **AAV 1** durchgeführt. Es wurden 591.1 mg (3.601 mmol, 1.0 Äquiv.) L-Rhamnose L-**135**, 15.0 mL Pyridin und 4.1 mL (43 mmol, 12 Äquiv.) Essigsäureanhydrid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 17 h.

Ausbeute: 1.1144 g (3.3535 mmol, 93%) eines gelblichen, zähflüssigen Öls; **R_f-Wert** (PE/EE 1:2 v/v) 0.83; **Anomerenverhältnis:** α:β ≈ 1:3.6.



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **α-Anomer** 5.83 (d, ³J_{H,H} = 1.1 Hz, 1H, H-1), 5.51 – 5.45 (m, 1H, H-2), 5.30 (dd, ³J_{H,H} = 10.1 Hz, ³J_{H,H} = 3.6 Hz, 1H, H-4), 5.09 – 5.06 (m, 1H, H-3), 3.71 – 3.62 (m, 1H, H-5), 2.21, 2.10, 2.06, 2.00 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl-CH₃), 1.29 (d, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 3H, -CH₃), **β-Anomer** 6.01 (d, ³J_{H,H} = 1.8 Hz, 1H, H-1), 5.30 (dd, ³J_{H,H} = 10.1 Hz, ³J_{H,H} = 3.6 Hz, 1H, H-3), 5.25 (dd, ³J_{H,H} = 3.6 Hz, ³J_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-2), 5.12 (t, ³J_{H,H} = 10.0 Hz, 1H, H-4), 3.94 (dq, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-5), 2.17, 2.16, 2.06, 2.00 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl-CH₃), 1.24 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, -CH₃).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **α-Anomer** 170.2, 170.0, 170.0, 168.5 (4x C=O), 90.5 (C-1), 71.7 (C-5), 70.9 (C-3), 70.4 (C-4), 68.7 (C-2), 21.1, 20.9, 20.9, 20.8 (4x Acetyl-CH₃), 17.5 (-CH₃), **β-Anomer** 170.2, 170.0, 170.0, 168.5 (4x C=O), 90.8 (C-1), 70.6 (C-4), 68.9 (C-3), 68.9 (C-2), 68.8 (C-5), 21.1, 20.9, 20.9, 20.8 (4x Acetyl-CH₃), 17.6 (-CH₃).

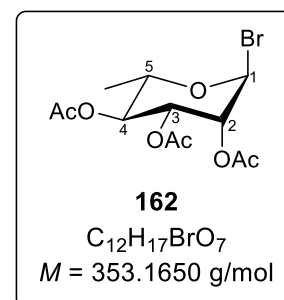
HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 355.1000 [M+Na]⁺, gef.: 355.0994 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2985, 2924, 2853, 1744, 1368, 1213, 1026, 600.

9.2.4.6 Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-α-L-rhamnosylbromid 162

Die Reaktion wurde nach **AAV 4.1** durchgeführt. Es wurden 1.7001 g (5.1191 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-L-rhamnose **161**, 18.2 mL Essigsäure, 1.1 mL (15 mmol, 2.9 Äquiv.) Acetylbromid und 0.25 mL (6.16 mmol, 1.2 Äquiv.) CH₃OH eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 1.5 h.

Ausbeute: 1.7976 g (5.1066 mmol, quantitativ) eines gelblichen Öls; **R_f-Wert** (PE/EE 1:1 v/v) 0.75; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_{589 nm}²⁵: -176.7 ° (c = 0.18, CH₂Cl₂).



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.26 (dd, ³J_{H,H} = 1.6 Hz, ⁴J_{H,H} = 0.7 Hz, 1H, H-1), 5.67 (dd, ³J_{H,H} = 10.2 Hz, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-3), 5.45 (dd, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, ³J_{H,H} = 1.6 Hz, 1H, H-2), 5.16 (t, ³J_{H,H} = 10.0 Hz, 1H, H-4), 4.11 (dq, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, ²J_{H,H} = 0.8 Hz, 1H, H-5), 2.16, 2.08, 2.00 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃), 1.28 (d, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.0, 169.9, 169.8 (3x C=O), 83.8 (C-1), 72.6 (C-2), 71.3 (C-5), 70.5 (C-4), 68.1 (C-3), 20.9, 20.9, 20.8 (3x Acetyl-CH₃), 17.12 (-CH₃).

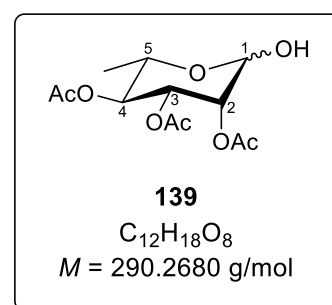
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2940, 2854, 1749, 1312, 1219, 1711, 779.

Anmerkung: Aufgrund der Instabilität des Produktes konnte dieses massenspektrometrisch nicht detektiert werden.

9.2.4.7 Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-L-rhamnose **139**

Die Reaktion wurde nach **AAV 3** durchgeführt. Es wurden 1.2753 g (3.8378 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-L-rhamnose **161**, 20.0 mL THF und 2.4 mL (19 mmol, 5.0 Äquiv.) DMAPA eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 1.5 h.

Ausbeute: 1.0702 (3.6869 mmol, 96%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (PE/EE 1:2 v/v) 0.55; **Anomerenverhältnis:** α : β \approx 1:4.



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **β -Anomer** 5.37 (dd, ³J_{H,H} = 10.1 Hz, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-3), 5.27 (dd, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-2), 5.16 (dd, ³J_{H,H} = 3.8 Hz, ³J_{H,H} = 1.8 Hz, 1H, H-1), 5.08 (t, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, 1H, H-4), 4.13 (dq, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, 6.2 Hz, 1H, H-5), 3.05 (d, ³J_{HH} = 3.9 Hz, 1H, -OH), 2.15, 2.05, 1.99 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃), 1.22 (d, ³J_{HH} = 6.3 Hz, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **β -Anomer** 170.4, 170.2, 170.2 (3x C=O), 92.3 (C-1), 71.3 (C-4), 70.3 (C-2), 68.9 (C-3), 66.6 (C-5), 21.1, 21.0, 20.9 (3x Acetyl-CH₃), 17.6 (-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 313.0894 [M+Na]⁺, gef.: 313.0894 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3435, 2924, 2853, 1743, 1371, 1220, 1050, 601.

9.2.4.8 Synthese von Diphenyl-(2,3,4-tri-O-acetyl- α - und - β -L-rhamno-pyranosyl)phosphat α - und β -140

Die Reaktion wurde nach **AAV 5** durchgeführt. Es wurden 202.6 mg (0.6980 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,4-Tri-O-acetyl-L-rhamnose **139**, 427.3 mg (3.490 mmol, 5.0 Äquiv.) DMAP gelöst in 10 mL abs. CH₂Cl₂ sowie 0.73 mL (3.52 mmol, 5.0 Äquiv.) Diphenylchlorphosphat gelöst in 12 mL abs. CH₂Cl₂ eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 4 h.

α -Anomer:

Ausbeute: 161.7 mg (0.3095 mmol, 44%) eines farblosen Öls;

R_F-Wert (PE/EE 1:2 v/v) 0.82; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -3.6 ° ($c = 0.42$, CH₂Cl₂).

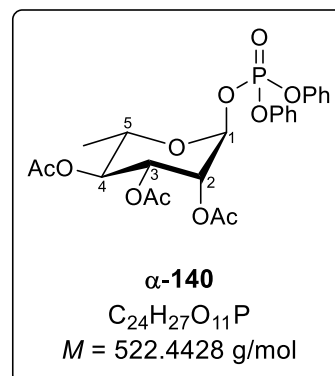
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.44 – 7.36 (m, 4H, -OPh_{meta}), 7.32 – 7.27 (m, 4H, -OPh_{ortho}), 7.27 – 7.22 (m, 2H, -OPh_{para}), 5.82 (dd, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.6 Hz, 1H, H-1), 5.38 – 5.31 (m, 2H, H-2, H-3), 5.16 – 5.09 (m, 1H, H-4), 3.98 (dq, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, 1H, H-5), 2.17, 2.08, 2.03 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃), 1.14 (s, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.0, 169.9, 169.7, (3x C=O), 150.5 (2x C_{q-Ar}), 130.1, 130.0 (4x C_{meta}), 125.9, 125.8 (2x C_{para}), 120.4 (d, ³J_{C,P} = 5.4 Hz, 2x C_{ortho}), 120.2 (d, ³J_{C,P} = 4.4 Hz, 2x C_{ortho}), 96.4 (d, ²J_{C,P} = 5.4 Hz, C-1), 70.3 (C-4), 69.1 (C-2), 69.0 (C-5), 68.3 (C-3), 20.9, 20.9, 20.8 (4x Acetyl-CH₃), 17.3 (-CH₃).

³¹P-NMR (243 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -14.10.

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 545.1183 [M+Na]⁺, gef.: 545.1190 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2984, 2939, 1746, 1488, 1214, 942, 688.


 β -Anomer:

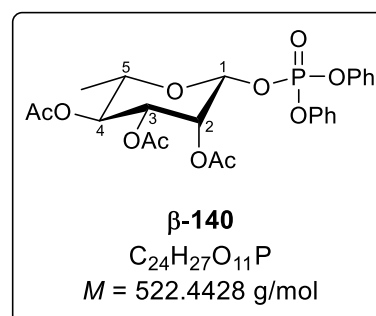
Ausbeute: 58.9 mg (0.1127 mmol, 16%) eines farblosen Öls;

R_F-Wert (PE/EE 1:2 v/v) 0.82.

¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.37 – 7.31 (m, 4H, -OPh_{meta}), 7.28 – 7.23 (m, 2H, -OPh_{ortho}), 7.21 (t, ³J_{H,H} = 7.5 Hz, 2H, -OPh_{para}), 7.16 (d, ³J_{H,H} = 7.5 Hz, 2H, -OPh_{ortho}), 5.54 (dd, ³J_{H,H} = 7.0 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-1), 5.48 (d, ³J_{H,H} = 3.1 Hz, 1H, H-2), 5.06 (t, ³J_{H,H} = 9.7 Hz, 1H, H-4), 5.00 (dd, ³J_{H,H} = 10.0 Hz, ⁴J_{H,H} = 3.3 Hz, 1H, H-3), 3.62 (dq, ³J_{H,H} = 9.4 Hz, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-5), 2.11, 2.05, 1.98 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃), 1.24 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.1, 170.0, 170.0 (3x C=O), 150.1 (2x C_{q-Ar}), 130.0, 129.8 (4x C_{meta}), 126.0, 125.7 (2x C_{para}), 120.6, 120.4 (4x C_{ortho}), 94.9 (d, ²J_{C,P} = 4.5 Hz, C-1), 71.6 (C-5), 70.5 (C-3), 70.0 (C-4), 68.6 (d, ³J_{C,P} = 4.5 Hz, C-2), 20.9, 20.8, 20.7 (3x Acetyl-CH₃), 17.4 (-CH₃).

³¹P-NMR (243 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -13.74.



HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 545.1183 [M+Na]⁺, gef.: 545.1171 [M+Na]⁺.

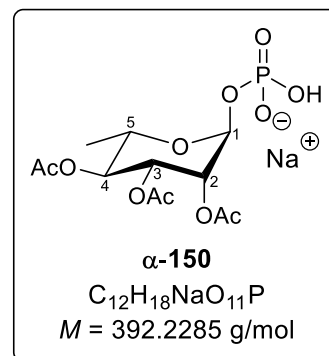
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3075, 2924, 1751, 1489, 1370, 1219, 1054, 954.

Anmerkung: Aufgrund einer geringen Verunreinigung mit dem α -Anomer wurde auf eine Bestimmung des Drehwertes verzichtet.

9.2.4.9 Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosylphosphat als Natriumsalz α -150

Die Reaktion wurde nach **AAV 6** durchgeführt. Es wurden 42.9 mg (0.0821 mmol, 1.0 Äquiv.) Diphenyl-(2,3,4-tri-O-acetyl- α -L-rhamnopyranosyl)phosphat **α -140**, 5 mL abs. EE, 5 mL abs. Ethanol und 18.2 mg (0.0801 mmol, 0.98 Äquiv.) Platin(IV)-oxid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 4 d.

Ausbeute: 12.4 mg (0.0377 mmol, 46%) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.37; **Anomerenverhältnis**: α -anomerenrein; **Drehwert**: $[\alpha]_{589}^{25}$: -30.0 ° (*c* = 0.43, H₂O).



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 5.46 (dd, ³J_{H,H} = 7.8 Hz, ⁴J_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-1), 5.40 (dd, ³J_{H,H} = 10.1 Hz, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, 1H, H-3), 5.36 (dd, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, ³J_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-2), 5.07 (t, ³J_{H,H} = 10.0 Hz, 1H, H-4), 4.28 (dq, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-5), 2.23, 2.16, 2.06 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃), 1.28 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 173.4, 173.0, 172.8 (3x C=O), 92.8 (d, ²J_{C,P} = 4.7 Hz, C-1), 71.3 (C-4), 70.3 (d, ³J_{C,P} = 10.0 Hz, C-1), 69.6 (C-3), 67.1 (C-5), 20.2, 20.2, 20.1 (3x Acetyl-CH₃), 16.4 (-CH₃).

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = -1.73.

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 393.0557 [M+Na]⁺, gef.: 393.0562 [M+Na]⁺.

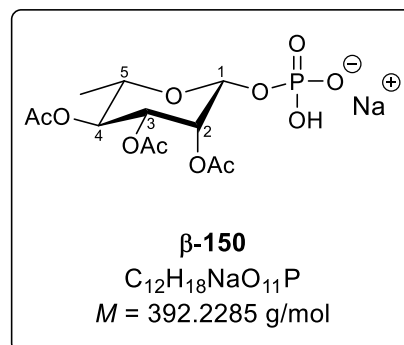
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3421, 3285, 2940, 2924, 2853, 1676, 1536, 1242, 781.

9.2.4.10 Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl- β -L-rhamnopyranosylphosphat als Natriumsalz β -150

Die Reaktion wurde nach **AAV 6** durchgeführt. Es wurden 55.0 mg (0.105 mmol, 1.0 Äquiv.) Diphenyl-(2,3,4-tri-O-acetyl- β -L-rhamnopyranosyl)phosphat **β -140**, 5 mL abs. EE, 5 mL abs.

Ethanol und 22.4 mg (0.0986 mmol, 0.94 Äquiv.) Platin(IV)-oxid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 3 d.

Ausbeute: 17.4 mg (0.0529 mmol, 50%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.29; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: 85.8 ° (c = 0.40, H₂O).



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 5.55 (d, ³J_{H,H} = 3.2 Hz, 1H, H-2), 5.43 (dd, ³J_{H,H} = 8.7 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.1 Hz, 1H, H-1), 5.30 (dd, ³J_{H,H} = 10.0 Hz, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, 1H, H-3), 5.00 (t, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, 1H, H-4), 3.90 (dq, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-5), 2.27, 2.15, 2.05 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃), 1.31 (d, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 173.4, 173.3, 172.7 (3x C=O), 93.0 (d, ²J_{C,P} = 3.3 Hz, C-1), 71.3 (C-3), 71.1 (C-4), 70.5 (C-5), 70.3 (d, ³J_{C,P} = 6.4 Hz, C-2), 70.3, 20.2, 20.1, 20.0 (3x Acetyl-CH₃), 16.5 (-CH₃).

³¹P-NMR (162 MHz, D₂O): δ [ppm] = -1.80.

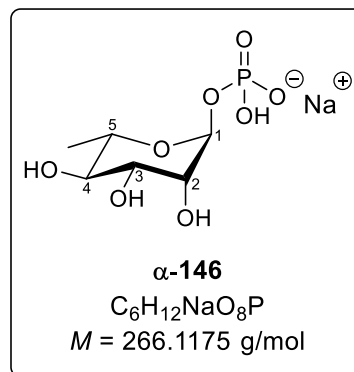
HRMS (ESI⁻, m/z): ber.: 369.0592 [M-H]⁻, gef.: 369.0584 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3244, 2985, 2940, 1740, 1370, 1221, 1033, 913, 501.

9.2.4.11 Synthese von α-L-Rhamnopyranosylphosphat als Natriumsalz α-146

Die Reaktion wurde nach **AAV 2.2** durchgeführt. Es wurden 8.0 mg (0.022 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,4-Tri-O-acetyl-α-L-rhamnopyranosylphosphat **α-150** und 3 mL des Gemisches aus CH₃OH, H₂O und Triethylamin (7:3:1 v/v/v) eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h.

Ausbeute: 3.1 mg (0.012 mmol, 55%) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.16; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -22.6 ° (*c* = 0.31, H₂O).



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 5.35 (dd, ³J_{H,H} = 7.6 Hz, ⁴J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-1), 4.00 (dd, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, ³J_{H,H} = 1.8 Hz, 1H, H-2), 3.95 – 3.87 (m, 2H, H-3, H-5), 3.46 (t, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, 1H, H-4), 1.31 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 95.6 (d, ²J_{C,P} = 5.2 Hz, C-1), 72.1 (C-4), 70.7 (d, ³J_{C,P} = 8.7 Hz, C-2), 69.7 (C-3), 69.3 (C-5), 16.8 (-CH₃).

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = -1.57.

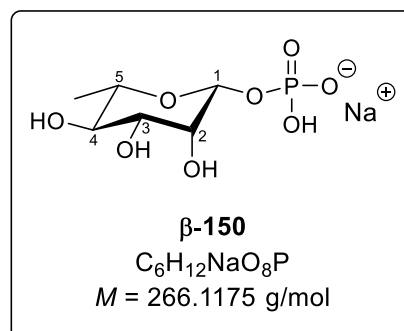
HRMS (ESI⁻, *m/z*): ber.: 243.0275 [M-H]⁻, gef.: 243.0269 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3078, 2949, 2917, 1459, 1375, 779.

9.2.4.12 Synthese von β-L-Rhamnopyranosylphosphat als Natriumsalz β-146

Die Reaktion wurde nach **AAV 2.2** durchgeführt. Es wurden 16.1 mg (0.0410 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-β-L-rhamnopyranosylphosphat **β-150** und 3 mL des Gemisches aus CH₃OH, H₂O und Triethylamin (7:3:1 v/v/v) eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 20 h.

Ausbeute: 11.0 mg (0.0410 mmol, quantitativ) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.18; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: +8.1 ° (*c* = 0.51, H₂O).



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 5.31 (dd, ³J_{H,H} = 8.1 Hz, ⁴J_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-1), 3.99 (dd, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, ³J_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-2), 3.97 – 3.85 (m, 2H, H-3, H-5), 3.44 (t, ³J_{H,H} = 9.7 Hz, 1H, H-4), 1.30 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 95.2 (d, ²J_{C,P} = 4.4 Hz, C-1), 72.3 (C-4), 71.0 (d, ³J_{C,P} = 7.7 Hz, C-2), 69.8 (C-3), 68.9 (C-5), 16.9 (-CH₃).

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = 0.42.

HRMS (ESI⁻, *m/z*): ber.: 243.0275 [M-H]⁻, gef.: 243.0278 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3198, 2937, 1357, 1104, 1064, 955.

9.2.4.13 Synthese von 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-benzyl- α -D-galactopyranose **60**

Zu einer Lösung aus 1.00 g (3.84 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden- α -D-galactopyranose **D-35** in 5 mL Toluol wurden 1.45 g (25.8 mmol, 6.7 Äquiv.) Kaliumhydroxid (gemörsert über Petrolether) hinzugegeben. Anschließend wurde das Gemisch mit 0.8 mL (6.7 mmol, 1.8 Äquiv.) Benzylbromid sowie 25 mg (0.074 mmol, 0.02 Äquiv.) Tetrabutylammoniumhydrogensulfat versetzt und für 30 min bei 100 °C gerührt. Danach wurden 1.5 mL H₂O hinzugegeben und der Reaktionsansatz weitere 2 h bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 3:1 v/v) bei 100 °C gerührt. Die organische Phase wurde ein Mal mit Salzsäure (1 M) sowie zwei Mal mit H₂O gewaschen, dann über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Da Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 2:1 v/v als Eluent gereinigt.

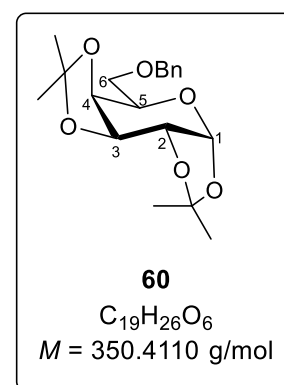
Ausbeute: 1.26 g (3.60 mmol, 94%) eines gelben Öls; **R_f-Wert** (PE/EE 3:1 v/v) 0.50; **Anomerenverhältnis:** α -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -46.1 ° ($c = 0.76$, CH₂Cl₂).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.38 – 7.32 (m, 5H, H_{aryl}), 5.55 (d, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-1), 4.64 (d, ²J_{H,H} = 12.1 Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.60 (dd, ³J_{H,H} = 7.8 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-3), 4.56 (d, ²J_{H,H} = 12.1 Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.31 (dd, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, ³J_{H,H} = 2.4 Hz, 1H, H-2), 4.28 (dd, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-4), 4.01 (td, ³J_{H,H} = 6.3 Hz, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-5), 3.70 (dd, ²J_{H,H} = 10.1 Hz, ³J_{H,H} = 5.9 Hz, 1H, H-6a), 3.64 (dd, ²J_{H,H} = 10.1 Hz, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, 1H, H-6b), 1.54, 1.45, 1.34, 1.34 (4x s, 4x 3H, 4x Isopropyliden-CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 138.5 (C_{q,aryl}), 128.5 (CH_{aryl}), 127.9 (CH_{aryl}), 127.7 (CH_{aryl}), 109.4 (Isopropyliden-C_q), 108.69 (Isopropyliden-C_q), 96.5 (C-1), 73.5 (Bn-CH₂), 71.3 (C-4), 70.8 (C-3), 70.8 (C-2), 69.0 (C-6), 67.0 (C-5), 26.25, 26.14, 25.10, 24.59 (4x Isopropyliden-CH₃).

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 373.1672 [M+Na]⁺, gef.: 373.1615 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3028, 2989, 2929, 1461, 1379, 1258, 1064, 936, 896, 639.



9.2.4.14 Synthese von 6-O-Benzyl-D-galactopyranose **61**

Es wurden 2.45 g (6.98 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2;3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-benzyl- α -D-galactopyranose **60** mit 42 mL Trifluoressigsäure (80%ig) versetzt und für 15 min bis zur

vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 4:1 v/v) bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der getrocknete Rückstand in 20 mL H₂O aufgenommen. Die Lösung wurde durch Zugabe von gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung für die folgende Synthese verwendet.

R_F-Wert (CH₂Cl₂/CH₃OH 4:1 v/v) 0.40.

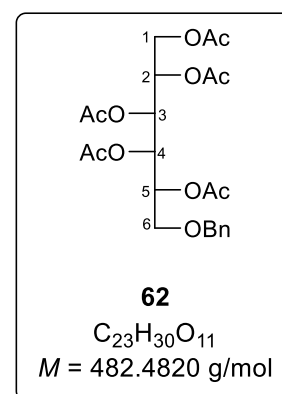
9.2.4.15 Synthese von 1,2,3,4,5-Penta-O-acetyl-6-O-benzyl-D-galactit **62**

Es wurde das unter 9.2.4.14 erhaltene Rohprodukt in 23 mL einer Mischung aus Ethanol und H₂O (2:7, v/v) gelöst und bei 0 °C und Rühren portionsweise mit 294 mg (7.78 mmol, 1.1 Äquiv.) Natriumborhydrid versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurden weitere 151 mg (4.00 mmol, 0.6 Äquiv.) Natriumborhydrid zugegeben. Es wurde für 1 h bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 4:1 v/v) bei Raumtemperatur weitergerührt und dann mit so viel Essigsäure (1 M) versetzt, bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Die Lösung wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und die Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Der Rückstand wurde vier Mal CH₃OH coevaporiert. Das Rohprodukt, ein farbloser Sirup, wurde daraufhin gemäß **AAV 1** acetyliert und schließlich säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 2:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 1.94 g (4.02 mmol, 58% über 3 Stufen) eines farblosen Öls; **R_F-Wert** (PE/EE 2:1 v/v) 0.30; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: +15.1 ° (c = 0.34, CH₂Cl₂).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.37 – 7.26 (m, 5H, H_{aryl}), 5.41 (dd, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-2), 5.34 (dd, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-3), 5.31 – 5.22 (m, 2H, H-4, H-5), 4.49 (d, ²J_{H,H} = 11.8 Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.42 (d, ²J_{H,H} = 11.7 Hz, 1H, Bn-CH₂), 4.27 (dd, ²J_{H,H} = 11.7 Hz, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, 1H, H-6a), 3.84 (dd, ²J_{H,H} = 11.7 Hz, ³J_{H,H} = 7.5 Hz, 1H, H-6b), 3.45 (d, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 2H, H-1a,b), 2.10, 2.08, 2.06, 2.03, 2.01 (5x s, 5x 3H, 5x Acetyl-CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.5, 170.0, 169.9 (5x C=O), 137.7 (C_{q,aryl}), 128.5, 128.0, 128.0 (CH_{aryl}), 73.6 (Bn-CH₂), 68.5 (C-5), 68.5 (C-1), 67.9 (C-2), 67.9 (C-4), 67.8 (C-3), 62.4 (C-6), 21.0, 20.9, 20.8 (3x Acetyl-CH₃).



HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 505.1680 [M+Na]⁺, gef.: 505.1687 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3031, 2925, 2849, 1743, 1462, 1214, 1024, 813.

9.2.4.16 Synthese von 1,2,3,4,5-Penta-O-acetyl-D-galactit **64**

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 49.1 mg (102 μ mol, 1.0 Äquiv) 1,2,3,4,5-Penta-O-acetyl-6-O-benzyl-D-galactit **63** wurden in 1 mL abs. EE und 1 mL abs. CH₃OH gelöst. Es wurden eine Spatelspitze Pd/C (10%ig) hinzugefügt und die Suspension bei leichtem H₂-Überdruck für 3 Tage bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 3:4 v/v) bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsansatz wurde anschließend einer Filtration über Kieselgur unterzogen und das Filtrat über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt mehrfach säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE und einem EE-Gradienten (PE/EE 2:1 → 1:1 v/v) gereinigt. Das Produkt konnte aufgrund nahezu identischer R_F-Werte nicht von dem als Nebenprodukt entstandenem 1,2,3,5,6-Penta-O-acetyl-D-galactit **65** abgetrennt werden und wurde ohne weitere Reinigungsschritte in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Anmerkung: Die folgende NMR-spektroskopische Charakterisierung beider Komponenten sowie die Angabe ihrer Ausbeuten erfolgte anhand des ¹H- sowie des H,H-COSY-NMR-Spektrums des Gemisches.

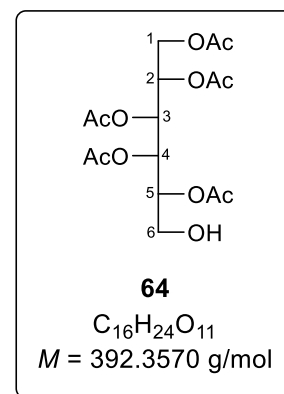
Rohausbeute: 27.6 mg eines farblosen Feststoffes.

Hauptprodukt: 1,2,3,4,5-Penta-O-acetyl-D-galactit **64**

Ausbeute: 22.1 mg (0.0563 mmol, 56%); **R_F-Wert** (PE/EE 3:4 v/v) 0.32.

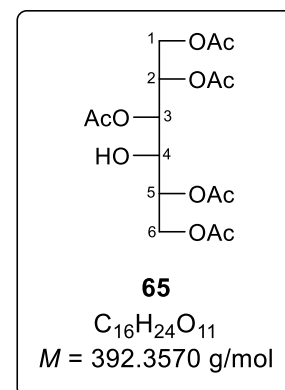
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.26 (dd, ³J_{H,H} = 10.2 Hz, ³J_{H,H} = 1.7 Hz, 1H, H-3), 5.17 (ddd, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, ³J_{H,H} = 1.8 Hz, 1H, H-2), 5.11 (dd, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, ³J_{H,H} = 1.8 Hz, 1H, H-4), 5.03 (ddd, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, ³J_{H,H} = 1.6 Hz, 1H, H-5), 4.16 – 4.09 (m, 1H, H-1a), 3.86 (dd, ²J_{H,H} = 11.7 Hz, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, 1H, H-1b), 3.58 (dd, ²J_{H,H} = 11.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, 1H, H-6a), 3.37 (dd, ²J_{H,H} = 11.8 Hz, ³J_{H,H} = 8.2 Hz, 1H, H-6b), 2.16, 2.11, 2.08, 2.08, 2.03 (5x s, 5x 3H, 5x Acetyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 415.1216 [M+Na]⁺, gef.: 415.1214 [M+Na]⁺.



Nebenprodukt: 1,2,3,5,6-Penta-O-acetyl-D-galactit 65
Ausbeute: 5.5 mg (0.014 mmol, 14%); **R_F-Wert** (PE/EE 3:4 v/v) 0.32.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.46 (ddd, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, ³J_{H,H} = 1.7 Hz, 1H, H-2), 5.17 (ddd, ³J_{H,H} = 7.8 Hz, ³J_{H,H} = 4.8 Hz, ³J_{H,H} = 1.7 Hz, 1H, H-5), 5.10 (dd, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, ³J_{H,H} = 1.7 Hz, 1H, H-3), 4.42 (dd, ²J_{H,H} = 11.7 Hz, ³J_{H,H} = 4.7 Hz, 1H, H-6a), 4.23 (dd, ²J_{H,H} = 11.8 Hz, ³J_{H,H} = 4.5 Hz, 1H, H-1a), 4.15 (dd, ²J_{H,H} = 11.7 Hz, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, 1H, H-6b), 4.03 (dd, ²J_{H,H} = 11.8 Hz, ³J_{H,H} = 7.8 Hz, 1H, H-1b), 3.72 (ddd, ³J_{H,H} = 8.7 Hz, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, ³J_{H,H} = 1.7 Hz, 1H, H-4). 2.19, 2.10, 2.07, 2.04, 2.02 (5x s, 5x 3H, Acetyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 415.1216 [M+Na]⁺, gef.: 415.1214 [M+Na]⁺.

9.2.4.17 Synthese von 2,3,4,5,6-Penta-O-acetyl-L-galactose 67

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 22.1 mg (56.2 μmol, 1.0 Äquiv.) 1,2,3,4,5-Penta-O-acetyl-D-galactit **64** (verunreinigt mit 5.5 mg 1,2,3,5,6-Penta-O-acetyl-D-galactit **65**) wurden in 1 mL abs. CH₂Cl₂ gelöst und mit 46.0 mg (108 μmol, 1.9 Äquiv.) Dess-Martin-Periodinan versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 3:4 v/v) bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden je 1 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat- und Natriumthiosulfat-Lösung hinzugefügt und die Lösung für weitere 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden 25 mL CH₂Cl₂ zugegeben und die organische Phase zwei Mal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die wässrige Phase wurde zwei Mal mit CH₂Cl₂ extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE und einem EE-Gradienten (PE/EE 2:1 → 1:1 v/v) gereinigt. Das Produkt konnte aufgrund identischer R_F-Werte nicht von einem alternativen Oxidationsprodukt abgetrennt werden und wurde ohne weitere Reinigungsschritte für die darauffolgende Synthese verwendet (siehe 9.2.4.25, Variante I).

Anmerkung: Die folgende NMR-spektroskopische Charakterisierung erfolgte anhand des ¹H- sowie des H,H-COSY-NMR-Spektrums des erhaltenen Gemisches.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 9.45 (s, 1H, H-1), 5.64 (dd, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-3), 5.50 (dd, ³J_{H,H} = 9.3 Hz, ³J_{H,H} = 2.8 Hz, 1H, H-4), 5.36 (ddd, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-5), 5.26 (d, ³J_{H,H} = 1.8 Hz, 1H, H-2), 4.28 (dd, ²J_{H,H} = 11.6 Hz,

$^3J_{H,H} = 5.3$ Hz, 1H, H-6a), 3.90 (dd, $^2J_{H,H} = 11.6$ Hz, $^3J_{H,H} = 7.4$ Hz, 1H, H-6b), 2.21, 2.12, 2.11, 2.04, 2.04 (5x s, 5x 3H, 5x Acetyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 413.1054 [M+Na]⁺, gef.: 413.1061 [M+Na]⁺.

9.2.4.18 Synthese von 6-O-Trityl-D-galactopyranose 71

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.0048 g (5.5773 mmol, 1.5 Äquiv.) D-Galactose **D-34** in 10 mL abs. Pyridin suspendiert. Anschließend wurden 1.0360 g (3.7162 mmol, 1.0 Äquiv.) Tritylchlorid hinzugefügt und die Reaktionslösung für 48 Stunden bei 50 °C gerührt. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v) wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Der Rückstand wurde zunächst mehrfach mit Toluol coevaporiert, danach in 1-Butanol gelöst und die Lösung je zwei Mal mit H₂O und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Schließlich wurde der Rückstand mit CH₃OH coevaporiert.

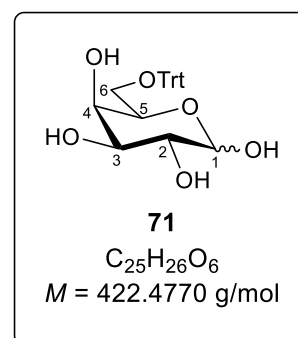
Ausbeute: 1.5116 g (3.5778 mmol, 96%) eines hellbraunen Feststoffes; **R_f-Wert** (PE/EE 4:1 v/v) 0.72; **Anomerenverhältnis:** α:β ≈ 1:3.

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = **β-Anomer** 7.50 – 7.20 (m, 15H, H_{aryl}), 4.38 (d, $^3J_{H,H} = 7.5$ Hz, 1H, H-1), 3.80 (q, $^3J_{H,H} = 1.2$ Hz, 1H, H-5), 3.68 (dd, $^3J_{H,H} = 10.0$ Hz, $^3J_{H,H} = 3.8$ Hz, 1H, H-3), 3.44 – 3.38 (m, 2H, H-4, H-2), 3.33 – 3.24 (m, 2H, H-6). **α-Anomer** 7.50 – 7.20 (m, 15H, H_{aryl}), 5.10 (d, $^3J_{H,H} = 3.7$ Hz, 1H, H-1), 4.13 (t, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, 1H, H-4), 3.89 (dd, $^3J_{H,H} = 3.1$ Hz, $^3J_{H,H} = 1.2$ Hz, 1H, H-3), 3.74 (dd, $^3J_{H,H} = 10.2$ Hz, $^3J_{H,H} = 3.2$ Hz, 1H, H-2), 3.56 – 3.46 (m, 1H, H-5), 3.41 – 3.32 (m, 2H, H-6).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **β-Anomer** 145.4 (3x C_{q,aryl}), 129.9, 128.7, 128.1 (5x CH_{aryl}), 98.7 (C-1), 88.1 (Trityl-C_q), 75.3 (C-5), 73.8 (C-3), 71.3 (C-2), 70.4 (C-4), 64.4 (C-6). **α-Anomer** 145.4 (3x C_{q,aryl}), 129.9, 128.8, 128.1 (5x CH_{aryl}), 94.2 (C-1), 88.0 (Trityl-C_q), 71.4 (C-3), 71.3 (C-2), 70.7 (C-5), 70.5 (C-4), 64.5 (C-6).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 445.1622 [M+Na]⁺, gef.: 445.1631 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3351, 3086, 3058, 2931, 1692, 1076, 703.



9.2.4.19 Synthese von 6-O-Trityl-D-galactit 72

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 1.4982 g (3.5294 mmol, 1.00 Äquiv.) 6-O-Trityl-D-Galactose **71** in 12 mL abs. CH₃OH gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 0.1565 g (4.137 mmol, 1.2 Äquiv.) Natriumborhydrid über einen Zeitraum von 15 Minuten portionsweise hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt, danach mit weiteren 0.1461 g (3.862 mmol, 1.1 Äquiv.) Natriumborhydrid versetzt und dann weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde zu der trüben Reaktionslösung solange Essigsäure (10%ig in CH₃OH) zugetropft bis sich eine klare Lösung bildete. Daraufhin wurden 20 mL Salzsäure (50 mM) zugetropft, der entstandene Feststoff filtriert und dieser fünf Mal mit je 20 mL Salzsäure (50 mM) sowie drei Mal mit je 60 mL H₂O gewaschen. Anschließend wurde das Rohprodukt in CH₃OH gelöst und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der klebrige, hellbraune Feststoff wurde ohne weitere Reinigung für die nächste Synthese verwendet.

R_r-Wert (PE/EE 4:1 v/v) 0.53.

9.2.4.20 Synthese von 1,2,3,4,5-Penta-O-acetyl-6-O-trityl-D-galactit 73

Es wurde das unter 9.2.4.19 erhaltene Rohprodukt in 8.0 mL abs. Pyridin gelöst und mit 4.0 mL (42 mmol, 11.9 Äquiv.) Essigsäureanhydrid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v) wurde die Lösung auf 0 °C gekühlt und es wurden vorsichtig 10 mL CH₃OH zugegeben. Danach wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt, der Rückstand mehrfach mit Toluol coevaporiert und in Ethylacetat aufgenommen. Die Lösung wurde jeweils zwei Mal mit Salzsäure (1 M), gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE und einem EE-Gradienten (PE/EE 4:1 v/v → 3:1 v/v → 2:1 v/v) als Eluent gereinigt.

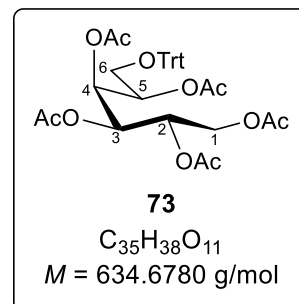
Ausbeute: 376.6 mg (0.5851 mmol, 17% über zwei Stufen) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (PE/EE 2:1 v/v) 0.43.

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 7.41 – 7.18 (m, 15H, H_{aryl}), 5.39 (dd, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-4), 5.32 – 5.26 (m, 2H, H-5, H-3), 5.17 – 5.14 (m, 1H, H-2), 4.22 (dd, ²J_{H,H} = 11.6 Hz, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-1a), 3.81 (dd, ²J_{H,H} = 11.6 Hz, ³J_{H,H} = 7.5 Hz, 1H, H-1b), 3.08 (dd, ²J_{H,H} = 9.5 Hz, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, 1H, H-6a), 2.97 (dd, ²J_{H,H} = 9.5 Hz, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, 1H, H-6b), 2.10 (s, 3 H, CH₃CO), 2.05 (s, 3 H, CH₃CO), 2.04 (s, 3 H, CH₃CO), 1.97 (s, 3 H, CH₃CO), 1.78 (5x s, 5x 3H, 5x Acetyl-CH₃).

¹³C-NMR (126 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 170.6, 170.4, 170.4, 170.0, 169.4 (5x C=O), 143.5 (C-8), 128.8 (6x CH_{ar}), 128.0 (CH_{ar}), 127.3 (CH_{ar}), 87.2 (C-7), 69.0 (C-6), 68.0 (C-1), 67.8 (C-4), 67.7 (C-3), 62.3 (C-2), 61.7 (C-5), 21.0, 20.9, 20.8, 20.8, 20.5 (5x Acetyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 657.2312 [M+Na]⁺, gef.: 657.2316 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3059, 3024, 1747, 1212, 706.

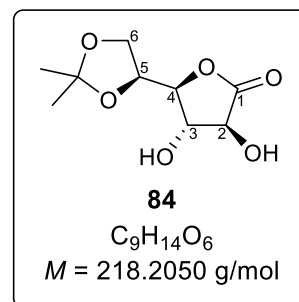


9.2.4.21 Synthese von 5,6-/isopropyliden-L-galactono-1,4-lacton **84**

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden zunächst 0.3866 g (2.170 mmol, 1.0 Äquiv.) L-Galactono-1,4-lacton **33** für 30 min im Ölpumpenvakuum getrocknet. Anschließend wurden 15.5 mL abs. Aceton hinzugegeben und die Suspension 30 min über aktiviertem Molsieb (0.4 nm) gerührt. Die Suspension wurde dann mit wenigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt und 60 min bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 1:4 v/v) bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde die Lösung mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und über Celite[®] filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung eingesetzt werden.

Ausbeute: 0.4581 g (2.100 mmol, 97%) eines farblosen Öls; **R_f-Wert** (PE/EE 1:4 v/v) 0.42; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: +60.4 ° (c = 0.76, H₂O).

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 6.11 (d, ³J_{H,H} = 6.8 Hz, 1H, 2-OH), 5.99 (d, ³J_{H,H} = 6.0 Hz, 1H, 3-OH), 4.30 – 4.17 (m, 2H, H-2, H-5), 4.08 – 4.00 (m, 2H, H-4, H-6a), 3.95 (td, ³J_{H,H} = 8.6 Hz, ³J_{H,H} = 5.9 Hz, 1H, H-3), 3.82 (dd, ³J_{H,H} = 8.5 Hz, ³J_{H,H} = 6.6 Hz, 1H, H-6b), 1.31 (s, 3H, Isopropyliden-CH₃), 1.29 (s, 3H, Isopropyliden-CH₃).



$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ [ppm] = 174.2 (C-1), 108.8 (*Isopropyliden-C_q*), 79.0 (C-4), 74.2 (C-5), 73.6 (C-3), 73.6 (C-2), 64.5 (C-6), 26.1 (*Isopropyliden-CH₃*), 25.5 (*Isopropyliden-CH₃*).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 219.0863 [M+H]⁺, gef.: 219.0870 [M+H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3410, 2988, 2925, 1776, 1375, 1216, 1136, 1067, 824.

9.2.4.22 Synthese von 2,3,5,6-Tetrakis-O-(*tert*-butyldimethylsilyl)-L-galactono-1,4-lacton **83**

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden zunächst 9.2777 g (52.081 mmol, 1.0 Äquiv.) L-Galactono-1,4-lacton **33** für 30 min im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann in 75 mL abs. DMF gelöst. Anschließend wurden nacheinander 46.4754 g (308.356 mmol, 5.9 Äquiv.) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid und 19.0604 g (279.971 mmol, 5.4 Äquiv.) Imidazol hinzugegeben und die Reaktionslösung für 16 h bei 70 °C gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/ CH_2Cl_2 1:1 v/v) wurde die Lösung mit Diethylether verdünnt und drei Mal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die wässrige Phase wurde drei Mal mit Diethylether extrahiert, die organischen Phasen vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mehrfach zunächst mit Toluol und dann mit CH_2Cl_2 coevaporiert. Das Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung eingesetzt werden.

Ausbeute: 33.013 g (52.039 mmol, quantitativ) eines farblosen, wachsartigen Feststoffes; **R_f-Wert** (PE/ CH_2Cl_2 1:1 v/v) 0.63;

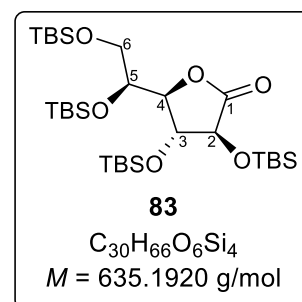
Drehwert: $[\alpha]_{589}^{25}$: +0.2 ° (*c* = 1.23, CH_2Cl_2).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 4.41 (t, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.0 Hz, 1H, H-3), 4.34 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.2 Hz, 1H, H-2), 4.31 (dd, $^3J_{\text{H,H}}$ = 5.8 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 1.6 Hz, 1H, H-4), 3.81 (ddd, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.8 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 5.8 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 1.6 Hz, 1H, H-5), 3.71 – 3.58 (m, 2H, H-6a, H-6b), 0.92 (s, 8H), 0.89 (s, 10H), 0.89 (s, 9H), 0.87 (4x s, 4x 9H, 4x *t*Bu- CH_3), 0.20, 0.14, 0.12, 0.11, 0.11, 0.08, 0.06, 0.06 (8x s, 8x 3H, 8x Silyl- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 173.7 (C-1), 81.8 (C-4), 77.1 (C-2), 75.8 (C-3), 71.7 (C-5), 63.3 (C-6), 26.0, 25.9, 25.9, 25.8 (12x *t*Bu- CH_3), 18.4, 18.3, 18.3, 18.0 (4x *t*Bu- C_q), -3.3, -3.9, -4.0, -4.1, -4.5, -4.7, -5.3, -5.3 (8x Silyl- CH_3).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 635.4009 [M+H]⁺, gef.: 635.4009 [M+H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2953, 2929, 2886, 2857, 1799, 1252, 833, 775.



9.2.4.23 Synthese von 2,3,5,6-Tetrakis-O-(*tert*-butyldimethylsilyl)-L-galactofuranose **85**

Variante I:

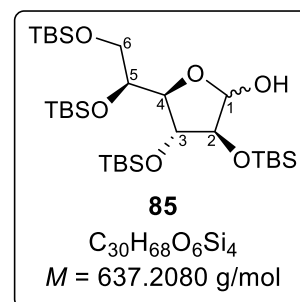
Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 128.7 mg (0.2026 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,5,6-Tetrakis-O-(*tert*-butyldimethylsilyl)-L-galactono-1,4-lacton **83** wurden in 5 mL abs. CH₂Cl₂ gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 0.25 mL (0.25 mmol, 1.2 Äquiv.) LTBH (1 M in THF) langsam hinzugegeben und der Reaktionsansatz für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/CH₂Cl₂ 1:1, v/v) wurde die Reaktion durch die langsame Zugabe von 1 mL CH₃OH gestoppt und 15 min gerührt. Nach Zugabe von 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung wurde die wässrige Phase drei Mal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE und einem CH₂Cl₂-Gradienten (PE/CH₂Cl₂ 4:1 v/v → 3:1 v/v → 2:1 v/v) als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 79.6 mg (0.125 mmol, 62%) eines farblosen, wachsartigen Feststoffes.

Variante II:

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. 12.0608 g (18.9876 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,5,6-Tetrakis-O-(*tert*-butyldimethylsilyl)-L-galactono-1,4-lacton **83** wurden in 50 mL abs. CH₂Cl₂ gelöst und die Lösung auf -78 °C gekühlt. Anschließend wurden 19.0 mL (0.0285 mol, 1.5 Äquiv.) DIBAL (1.5 M in Toluol) langsam hinzugegeben und der Reaktionsansatz für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/CH₂Cl₂ 1:1, v/v) wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt, langsam mit 50 mL CH₃OH versetzt und weitere 30 min bei 0 °C gerührt. Danach wurden der Lösung bei Raumtemperatur 50 mL gesättigter Kaliumnatriumtartrat-Lösung hinzugefügt und die Lösung für 19 h stark gerührt. Nach erfolgter Phasentrennung wurde die organische Phase zwei Mal mit H₂O gewaschen und die wässrige Phase drei Mal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE und einem CH₂Cl₂-Gradienten (PE/CH₂Cl₂ 4:1 v/v → 2:1 v/v → 1:1 v/v) als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 10.2048 g (16.0349 mmol, 84%) eines farblosen, wachsartigen Feststoffes; **R_f-Wert** (PE/CH₂Cl₂ 1:1 v/v) 0.29; **Diastereomerenverhältnis:** 1:1.



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.11 – 5.01 (m, 2H, 2x H-1), 4.22 – 4.17 (m, 2H, 2x H-3), 4.09 (dd, ³J_{H,H} = 8.1 Hz, ³J_{H,H} = 1.3 Hz, 1H, H-4), 4.05 – 3.99 (m, 2H, 2x H-2), 3.97 (d, ³J_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-4), 3.85 (d, ³J_{H,H} = 11.7 Hz, 1H, 1-OH), 3.77 (ddd, ³J_{H,H} = 8.1 Hz, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, ³J_{H,H} = 4.6 Hz, 1H, H-5), 3.74 – 3.68 (m, 2H, H-5, H-6), 3.66 (dd, ²J_{H,H} = 10.7 Hz, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, 1H, H-6), 3.62 – 3.55 (m, 2H, 2x H-6), 3.51 (d, ³J_{H,H} = 11.1 Hz, 1H, 1-OH) 0.93, 0.91, 0.90, 0.90, 0.89, 0.88 (6x s, 2x 36H, 24x ^tBu-CH₃), 0.18, 0.16, 0.13, 0.12, 0.12, 0.11, 0.10, 0.09, 0.07, 0.06, 0.06 (11x s, 2x 24H, 16x Silyl-CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 103.5 (C-1), 97.3 (C-1), 90.1 (C-4), 84.3 (C-2), 82.1 (C-4), 81.8 (C-2), 78.3 (C-3), 77.8 (C-3), 74.0 (C-5), 73.6 (C-5), 66.4, 64.0 (2x C-6), 26.3, 26.2, 26.1, 26.1, 26.0, 25.8, 25.8 (24x ^tBu-CH₃), 18.4, 18.2, 18.0 (8x ^tBu-C_q), -3.8, -4.0, -4.1, -4.1, -4.2, -4.3, -4.5, -4.6, -4.6, -4.6, -4.7, -5.0, -5.1, -5.2 (16x Silyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 659.3985 [M+Na]⁺, gef.: 659.3986 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3429, 2953, 2929, 2886, 2857, 1472, 1252, 1099, 833, 755.

9.2.4.24 Synthese von L-Galactose L-34

Variante I:

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden zunächst 47.2 mg (0.216 mmol, 1.0 Äquiv.) 5,6-/isopropyliden-L-galactono-1,4-lacton **84** für 3 h im Ölpumpenvakuum getrocknet und anschließend in 15 mL abs. CH₂Cl₂ gelöst. Die Lösung wurde auf -78 °C gekühlt, tropfenweise mit 0.22 mL (0.324 mmol, 1.5 Äquiv.) DIBAL (1.5 M in Toluol) versetzt und für 2 h bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes gerührt (DC-Kontrolle: CH₃CN/H₂O 5:1 v/v). Es wurden dann 10 mL CH₃OH sowie 40 mL gesättigte Kaliumnatriumtartrat-Lösung hinzugegeben und die Lösung für 3 h bei Raumtemperatur stark gerührt. Die klar gewordene Lösung wurde im Anschluss mit 100 mL EE versetzt und weitere 3 h bei Raumtemperatur stark gerührt. Danach wurde die wässrige Phase zwei Mal mit EE extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 10 mL HCl-Lösung (0.5%ig in Ethanol) aufgenommen. Es wurde für 30 min bei Raumtemperatur gerührt und nach vollständigem Umsatz (DC-Kontrolle: CH₃CN/H₂O 5:1, v/v) mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert. Die Lösungsmittel wurden im

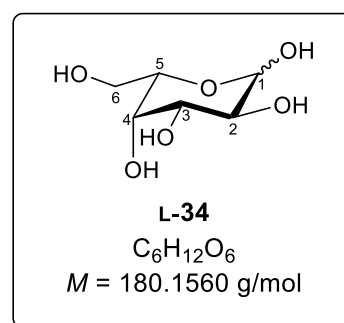
Ölpumpenvakuum entfernt und das Rohprodukt mittels automatisierter Umkehrphasenchromatographie (RP-18) mit H₂O und einem CH₃CN-Gradienten (0-100%) als Eluenten gereinigt.

Ausbeute: 22.3 mg (0.124 mmol, 57% über zwei Stufen) eines farblosen Feststoffes.

Variante II:

Die Reaktion wurde nach **AAV 12.3** durchgeführt. Es wurden 0.0529 g (0.0830 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,5,6-Tetrakis-*O*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-L-galactofuranose **83**, 4 mL Ethanol und eine katalytische Menge konzentrierter Salzsäure eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16.5 h.

Ausbeute: 14.5 mg (0.0805 mmol, 97%) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.21; **Anomerenverhältnis:** α:β ≈ 2:1, **Drehwert:** [α]_{589 nm}²⁵: -83.0 ° (c = 0.50, H₂O); **Schmelzpunkt:** 163.0 °C, **Anomerenverhältnis:** α:β ≈ 2:1.



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = **β-Anomer** 4.64 (d, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, 1H, H-1), 3.99 (d, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-4), 3.88 – 3.74 (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), 3.71 (dd, ³J_{H,H} = 10.0 Hz, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, 1H, H-3), 3.54 (dd, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, 1H, H-2), **α-Anomer** 5.32 (d, ³J_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, H-1), 4.17 – 4.12 (m, 1H, H-5), 4.07 – 4.02 (m, 1H, H-4), 3.91 (dd, ³J_{H,H} = 10.4 Hz, 3.3 Hz, 1H, H-3), 3.88 – 3.75 (m, 3H, H-2, H-6a, H-6b).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = **β-Anomer** 96.5 (C-1), 75.2 (C-5), 72.8 (C-3), 71.9 (C-2), 68.8 (C-4), 61.0 (C-6), **α-Anomer** 92.3 (C-1), 70.5 (C-5), 69.4 (C-4), 69.2 (C-3), 68.4 (C-2), 61.2 (C-6).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 203.0526 [M+Na]⁺, gef.: 203.0529 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3276, 2901, 1647, 1408, 1036, 781.

9.2.4.25 Synthese von 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden-α-L-galactopyranose L-35

Variante I:

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurde das unter 9.2.4.17 erhaltene Rohprodukt zunächst gemäß **AAV 2.1** deacetyliert. Dabei wurden 10 mL abs. CH₃OH eingesetzt und die Reaktionszeit betrug 1.5 h.

Der erhaltene Rückstand wurde ohne weitere Reinigung in 1 mL abs. Aceton aufgenommen und mit 90 μL (0.65 mmol, 11.6 Äquiv.) Dimethoxypropan sowie einer katalytischen Menge

p-Toluolsulfonsäure versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 16 h bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v) bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert. Danach wurden die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in EE aufgenommen und die Lösung zwei Mal mit H₂O gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden zwei Mal mit EE extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin als Eluent gereinigt. Das gewünschte Produkt konnte nicht erhalten werden und wurde NMR-spektroskopisch lediglich im Rohprodukt nachgewiesen.

Variante II:

Es wurden 8.48 g (47.5 mmol, 1.0 Äquiv.) L-Galactono-1,4-lacton **33** in 60 mL CH₃OH und 200 mL H₂O gelöst und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurden 60 mL Amberlite® IR 120+ (H⁺) gegeben und anschließend 2.24 g (59.3 mmol, 1.3 Äquiv) Natriumborhydrid portionsweise hinzugegeben, sodass der pH-Wert zwischen 3 und 5 blieb (pH-Meter-Kontrolle). Anschließend wurde die Reaktionslösung für 1.5 h bei 0 °C bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 7:3 v/v) gerührt. Es wurde filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Zur vollständigen Entfernung der entstandenen Boronsäure wurde das erhaltene Öl drei Mal in je 40 mL CH₃OH gelöst und das Lösungsmittel anschließend wieder entfernt. Die erhaltene L-Galactose **L-34** wurde anschließend ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde hierzu in 52 mL destilliertem Aceton und 58 mL (0.47 mol) Dimethoxypropan suspendiert und anschließend mit 1.66 g (9.62 mmol, 0.2 Äquiv.) *p*-Toluolsulfonsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 18 h bis zum vollständigen Umsatz (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v) bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt in EE aufgenommen. Anschließend wurde zwei Mal mit H₂O gewaschen und die wässrige Phase zwei Mal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin als Eluenten gereinigt. Eine geringfügige Verunreinigung mit gleichem R_F-Wert wie das Produkt konnte hierbei nicht abgetrennt werden.

Ausbeute: 9.0 g (35 mmol, [73%]) eines hellgelben Öls.

Variante III:

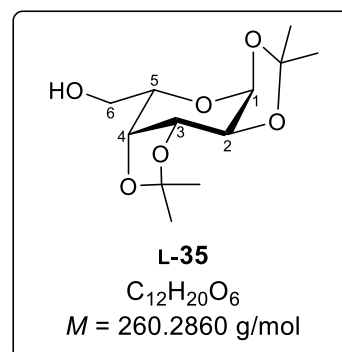
Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 42.6 mg (0.195 mmol, 1.0 Äquiv.) 5,6-Isopropyliden-L-galactono-1,4-lacton **84** für 1 h im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann in 2 mL abs. THF gelöst. Die Lösung wurde auf -72 °C gekühlt, tropfenweise mit 0.48 mL (0.33 mmol, 1.7 Äquiv.) DIBAL (1.5 M in Toluol) versetzt und für 5 h bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes gerührt (DC-Kontrolle: EE). Anschließend wurden langsam 4 mL CH₃OH hinzugegeben und die Lösung für weitere 30 min bei -72 °C gerührt bis die Gasentwicklung aufhörte. Danach wurden der Lösung bei Raumtemperatur langsam 5 mL 1.5 M H₂SO₄ hinzugefügt und die Reaktionslösung für 2 h bis zur vollständigen Umsetzung des Zwischenproduktes unter Rückfluss erhitzt (DC-Kontrolle: EE). Es wurde dann mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und die Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wurde in 10 mL Aceton suspendiert und mit 0.48 mL (3.9 mmol, 20 Äquiv.) DMP sowie mit 13.7 mg (0.0800 mmol, 0.4 Äquiv.) *p*-Toluolsulfonsäure versetzt. Es wurde für 40 h bei Raumtemperatur gerührt und nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v) die Reaktionslösung erneut mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 12.7 mg (0.0488 mmol, 25%) eines farblosen Öls.

Variante IV:

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 41.8 mg (0.161 mmol, 1.0 Äquiv.) L-Galactose **L-34** zunächst für 30 min im Ölpumpenvakuum getrocknet, anschließend in 10 mL abs. Aceton suspendiert und mit einer katalytischen Menge konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 4.5 h bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin). Dann wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert und die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in EE aufgenommen und drei Mal mit H₂O gewaschen. Die wässrige Phase wurde drei Mal mit EE extrahiert und die organischen Phasen vereint. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 18.9 mg (0.0726 mmol, 45%) eines farblosen Öls;
R_F-Wert (PE/EE 1:1 v/v) 0.41; **Anomerenverhältnis:** α-
 anomerenrein, **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: +49.3 ° (c = 1.70, CH₂Cl₂).



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.56 (d, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-1), 4.60 (dd, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-3), 4.33 (dd, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-2), 4.26 (dd, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, ³J_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-4), 3.87 – 3.84 (m, 2H, H-5, H-6a), 3.73 (dd, ²J_{H,H} = 10.4 Hz, ³J_{H,H} = 3.0 Hz, 1H, H-6b), 1.53, 1.45, (2x s, 2x 3H, 2x *Isopropyliden-CH*₃), 1.33 (s, 6H, 2x *Isopropyliden-CH*₃).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 109.6, 108.8 (2x *Isopropyliden-C*_q) 96.4 (C-1), 71.8 (C-4), 70.9 (C-2), 70.7 (C-3), 68.2 (C-5), 62.5 (C-6), 26.2, 26.1, 25.1, 24.4 (4x *Isopropyliden-CH*₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 283.1158 [M+Na]⁺, gef.: 283.1152 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3451, 2987, 2935, 1457, 1381, 1254, 1067, 918, 898, 648, 512.

9.2.4.26 Synthese von 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-*para*-toluolsulfonyl-α-L-galactopyranose 36

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 0.4714 g (1.811 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2:3,4-Di-O-*isopropyliden-α-L-galactopyranose* **L-35** in 8 mL abs. Pyridin gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden nacheinander 0.4434 g (3.629 mmol, 2.0 Äquiv.) DMAP und 0.5188 g (2.721 mmol, 1.5 Äquiv.) *para*-Toluolsulfonylchlorid hinzugegeben und die Reaktionslösung für 15.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: Toluol/EE 3:1 v/v) wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand dann in einem Gemisch aus EE und H₂O (1:1 v/v) aufgenommen. Das Gemisch wurde je ein Mal mit 0.5 M Schwefelsäure, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/EE 3:1 v/v als Eluent gereinigt.

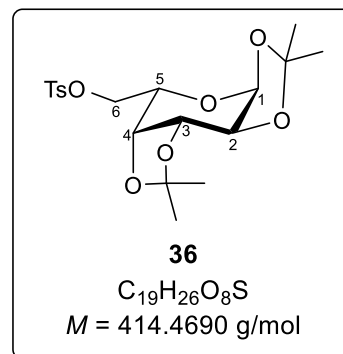
Ausbeute: 682.1 mg (1.515 mmol, 84%) eines farblosen Öls; **R_f-Wert** (Toluol/EE 3:1 v/v) 0.58; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein, **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: +84.2 ° (*c* = 0.78, CH₂Cl₂).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.80 (d, ³J_{H,H} = 8.2 Hz, 2H, CH_{aryl}), 7.33 (d, ³J_{H,H} = 8.0 Hz, 2H, CH_{aryl}), 5.45 (d, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-1), 4.58 (dd, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-3), 4.29 (dd, ³J_{H,H} = 4.9 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-2), 4.24 – 4.16 (m, 2H, H-4, H-6a), 4.13 – 4.00 (m, 2H, H-5, H-6b), 2.44 (s, 3H, Ts-CH₃), 1.50, 1.34, 1.31, 1.28 (4x s, 4x 3H, 4x *Isopropyliden*-CH₃).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 144.9 (Ts-C_q), 133.0, 129.9, 129.2, 128.3 (4x CH_{aryl}), 109.7, 109.1 (2x *Isopropyliden*-C_q), 96.3 (C-1), 70.7 (C-3), 70.5 (C-2), 70.5 (C-4), 68.3 (C-6), 66.0 (C-5), 26.1, 26.0, 25.1, 24.5 (4x *Isopropyliden*-CH₃), 21.8 (Ts-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 437.1241 [M+Na]⁺, gef.: 437.1227 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2971, 2924, 1451, 1254, 1176, 1071, 902, 665, 554, 516.



9.2.4.27 Synthese von 6-Azid-6-desoxy-1,2:3,4-di-O-isopropyliden-α-L-galactopyranose 37

Es wurden 604.0 mg (1.457 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2:3,4-Di-O-isopropyliden-6-O-*para*-toluolsulfonyl-α-L-galactopyranose **36** in 10 mL abs. DMF gelöst, mit 531.4 mg (8.174 mmol, 5.6 Äquiv.) Natriumazid versetzt und mit Hilfe eines Mikrowellenreaktors bei 150 W und 130 °C („*open vessel*“-Modus) für 5 h zum Sieden erhitzt und gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 2:1 v/v) wurde die Reaktionslösung mit EE verdünnt und jeweils zwei Mal mit H₂O und mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 2:1 v/v und 0.1% Triethylamin als Eluent gereinigt.

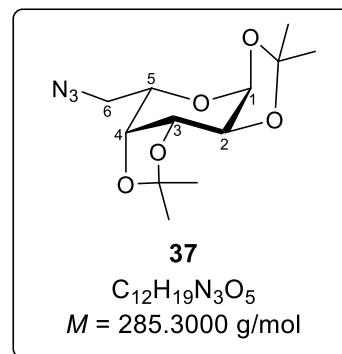
Ausbeute: 352.5 mg (1.236 mmol, 85%) eines farblosen Öls; **R_f-Wert** (PE/EE 2:1 v/v) 0.57; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein, **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: +83.0 ° (*c* = 0.23, CH₂Cl₂).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.54 (d, ³*J*_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-1), 4.62 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-3), 4.33 (dd, ³*J*_{H,H} = 5.0 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.5 Hz, 1H, H-2), 4.19 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-4), 3.91 (ddd, ³*J*_{H,H} = 7.5 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.3 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-5), 3.50 (dd, ²*J*_{H,H} = 12.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 7.9 Hz, 1H, H-6a), 3.36 (dd, ²*J*_{H,H} = 12.8 Hz, ³*J*_{H,H} = 5.3 Hz, 1H, H-6b), 1.54, 1.45, 1.34, 1.33 (4xs, 4x 3H, 4x *Isopropyliden-CH*₃).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 109.8, 108.9 (2x *Isopropyliden-C*_q), 96.5 (C-1), 71.3 (C-3), 70.9 (C-2), 70.5 (C-4), 67.1 (C-5), 50.8 (C-6), 26.2, 26.1, 25.0, 24.6 (4x *Isopropyliden-CH*₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 308.1217 [M+Na]⁺, gef.: 308.1222 [M+Na]⁺.

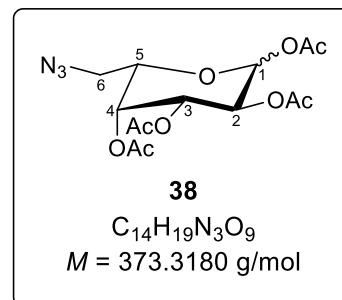
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2987, 2935, 2100, 1373, 1209, 1066, 1004, 891, 511.



9.2.4.28 Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azid-6-desoxy-L-galactopyranose 38

Es wurden 251.4 mg (0.8811 mmol, 1.0 Äquiv.) 6-Azid-6-desoxy-1,2:3,4-di-O-*isopropyliden-α-L-galactopyranose* **37** in 4 mL eines Gemisches aus CH₃CN und H₂O (1:1, v/v) aufgenommen und mit einer katalytischen Menge konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 3 h unter Rückfluss erhitzt und nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 9:1 v/v) mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert. Anschließend wurde das Lösungsmittelgemisch im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand in 3.7 mL abs. Pyridin aufgenommen. Die Suspension wurde mit 1.0 mL (11 mmol, 12.5 Äquiv.) Essigsäureanhydrid versetzt und 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v) wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand mehrfach mit Toluol coevaporiert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 319.5 mg (0.8558 mmol, 97% über zwei Stufen) eines hellgelben Öls; **R_r-Wert** (PE/EE 2:1 v/v) 0.22; **Anomerenverhältnis:** α:β ≈ 1:0.7.



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = **α-Anomer:** 6.39 (t, ³J_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-1), 5.48 (d, ³J_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-4), 5.35 – 5.31 (m, 2H, H-2, H-3), 4.23 (ddd, ³J_{H,H} = 7.1 Hz, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, ³J_{H,H} = 1.3 Hz, 1H, H-5), 3.44 (dd, ²J_{H,H} = 12.8 Hz, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 1H, H-6a), 3.22 (ddd, ²J_{H,H} = 12.8 Hz, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, ³J_{H,H} = 2.3 Hz, 1H, H-6b), 2.18, 2.12, 2.04, 1.99 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl-CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = **α-Anomer:** 170.2, 170.0, 169.5, 169.0 (4x C=O), 89.8 (C-1), 70.3 (C-5), 68.3 (C-4), 67.5 (C-3), 66.5 (C-2), 50.4 (C-6), 21.2, 20.9, 20.8, 20.7 8 (4x Acetyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 396.1013 [M+Na]⁺, gef.: 396. 1017 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2922, 2852, 2107, 1750, 1612, 1372, 1221, 1069.

9.2.4.29 Versuch der Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-amino-6-desoxy-L-galactopyranose 102

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 98.2 mg (0.263 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azido-6-desoxy-L-galactopyranose **38** in 5 mL abs. CH₃OH gelöst, mit einer Spatelspitze Pd(OH)₂ (20 wt. % Pd) auf Aktivkohle versetzt und der Reaktionsansatz unter leichtem H₂-Überdruck für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes wurde der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit Toluol/EE 3:1 v/v als Eluent gereinigt.

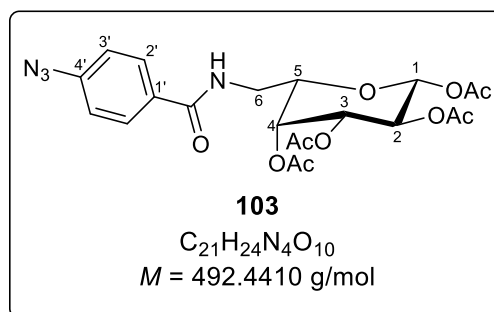
Das gewünschte Produkt konnte nicht erhalten werden. Es konnte jedoch ein Gemisch aus unterschiedlich stark deacetylierten Formen des gewünschten Produktes erhalten werden. Dieses wurde ohne weitere Reinigung für die nachfolgende Synthese eingesetzt (s. 9.2.4.30).

9.2.4.30 Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-(4-azidbenzoylamino)-6-desoxy-L-galactopyranose 103

Es wurde das unter 9.2.4.29 erhaltene Produktgemisch zunächst gemäß **AAV 2.1** vollständig deacetyliert. Es wurden dabei 2 mL CH₃OH und eine katalytische Menge Natrium verwendet. Die Reaktionszeit betrug 16 h. Der erhaltene Rückstand (12.9 mg, 0.072 mmol, 1.0 Äquiv.)

wurde in 2 mL einer 0.1 M Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und mit 24.3 mg (0.0934 mmol, 1.3 Äquiv.) *N*-(4-Azidbenzoyloxy)succinimid **87**, gelöst in 1 mL DMSO, versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 16 h bis zur vollständigen Umsetzung (DC-Kontrolle: *i*PrOH/NH₄OAc (1 M)) bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand gemäß **AAV 1** acetyliert. Es wurden dabei 2 mL abs. Pyridin und 0.11 mL (1.1 mmol, 16 Äquiv.) Essigsäureanhydrid verwendet. Die Reaktionszeit betrug 16 h. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel zunächst mit PE und einem EE-Gradienten (PE/EE 1:1 v/v → 1:2 v/v → EE), dann mit CH₂Cl₂ und einem CH₃OH-Gradienten (CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v → 9:1 v/v → 7:3 v/v) als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 10.4 mg (0.0211 mmol, 8% über zwei Stufen) eines orangenen Feststoffes; **R_f-Wert** (PE/EE 1:1 v/v) 0.29; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein.



¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = **β-Anomer:**

8.73 (s, NH), 7.86 (d, ³J_{H,H} = 8.4 Hz, 2H, H_{aryl}), 7.17

(d, ³J_{H,H} = 8.4 Hz, 2H, H_{aryl}), 5.32 (t, ³J_{H,H} = 9.5 Hz, 1H, H-3), 5.15 (d, ³J_{H,H} = 8.8 Hz, 1H, H-1), 4.98 (t, ³J_{H,H} = 9.5 Hz, 1H, H-4), 4.82 (t, ³J_{H,H} = 9.5 Hz, 1H, H-2), 4.19 – 4.04 (m, 1H, H-5), 3.61 – 3.48 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2.03, 2.02, 1.99, 1.95 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl-CH₃).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = **β-Anomer:** 169.6, 169.4, 169.0, 168.9 (4x C=O), 165.2 (C(O)NH), 142.6 (C-4'), 130.3 (C-1'), 128.9 (C-2'), 118.9 (C-3'), 91.3 (C-1), 69.8 (C-5), 68.2 (C-4), 67.2 (C-3), 66.4 (C-2), 50.2 (C-6), 21.1, 20.8, 20.9, 20.4 (4x Acetyl-CH₃).

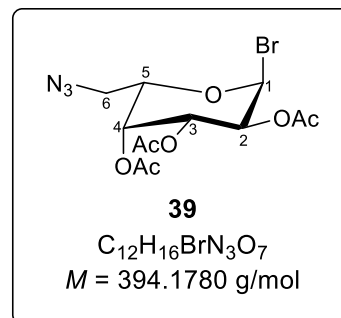
Anmerkung: Das erhaltene Produkt konnte massenspektrometrisch nicht detektiert werden.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3351, 2925, 2121, 1753, 1603, 1366, 1231, 835, 598.

9.2.4.31 Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azid-6-desoxy-α-L-galactopyranosylbromid **39**

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 4.2** durchgeführt. Es wurden 0.2798 g (0.7495 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-azid-6-desoxy-L-galactopyranose **38**, 9 mL abs. CH₂Cl₂, 1 mL abs. EE und 0.8030 g (2.185 mmol, 2.9 Äquiv.) Titan(IV)bromid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 7 h.

Ausbeute: 140.9 mg (0.357 mmol, 48%) eines hellgelben Öls;
R_F-Wert (PE/EE 1:1 v/v) 0.62; **Anomerenverhältnis:** α-
 anomerenrein, **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -175.8 ° (*c* = 0.10, CH₂Cl₂).



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃ δ [ppm] = 6.71 (d, ³J_{H,H} = 4.0 Hz, 1H, H-1), 5.49 (dd, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, ³J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-4), 5.39 (dd, ³J_{H,H} = 10.6 Hz, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, 1H, H-3), 5.05 (dd, ³J_{H,H} = 10.6 Hz, 4.0 Hz, 1H, H-2), 4.47 – 4.32 (m, 1H, H-5), 3.49 (dd, ²J_{H,H} = 13.0 Hz, ³J_{H,H} = 7.5 Hz, 1H, H-6a), 3.29 (dd, ²J_{H,H} = 13.0 Hz, ³J_{H,H} = 5.2 Hz, 1H, H-6b), 2.17, 2.11, 2.01 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 88.0 (C-1), 72.4 (C-5), 68.1 (C-3), 67.8 (C-2), 50.1 (C-4), 31.1 (C-6), 20.9, 20.7, 20.7 (3x Acetyl-CH₃).

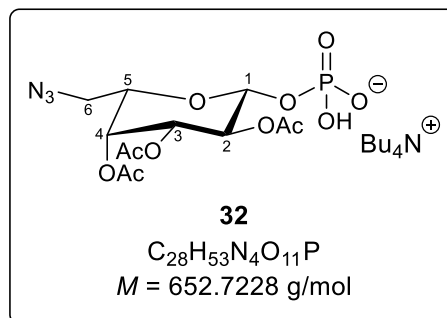
HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 416.0064 [M+Na]⁺, gef.: 416.0063 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2928, 2855, 2102, 1744, 1370, 1211, 1073, 543.

9.2.4.32 Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azid-6-desoxy-β-L-galactopyranosylphosphat als Tetrabutylammoniumsalz 32

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 133.1 mg (0.3377 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-azid-6-desoxy-α-L-galactopyranosylbromid **39** zunächst für 3 h im Ölpumpenvakuum getrocknet, anschließend in 1 mL abs. Toluol gelöst und mit 47 μL (0.34 mmol, 1.0 Äquiv.) abs. Triethylamin versetzt. In einem zweiten Kolben wurden 0.2351 g (0.6926 mmol, 2.1 Äquiv.) Tetrabutylammoniumdihydrogenphosphat für 30 min im Ölpumpenvakuum getrocknet und in 2 mL abs. CH₃CN gelöst. Diese Lösung wurde für 45 min unter aktiviertem Molsieb (0.3 nm) gerührt und im Anschluss tropfenweise mit der Lösung des α-Glycosylbromids **39** versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 90 min bei 80 °C gerührt und nach vollständigem Umsatz des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v und 0.1% Triethylamin) die Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₃CN/H₂O 5:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 112.3 mg (0.1720 mmol, 51%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.62; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein, **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -19.2 ° (c = 0.31, H₂O).



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 5.50 (dd, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, ³J_{H,H} = 1.0 Hz, 1H, H-4), 5.30 (dd, ³J_{H,H} = 10.4 Hz, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-3), 5.28 – 5.26 (m, 1H, H-1), 5.17 (dd, ³J_{H,H} = 10.4 Hz, ³J_{H,H} = 7.9 Hz, 1H, H-2), 4.20 (ddd, ³J_{H,H} = 7.5 Hz, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, ³J_{H,H} = 1.1 Hz, 1H, H-5), 3.64 (dd, ²J_{H,H} = 13.1 Hz, ³J_{H,H} = 7.5 Hz, 1H, H-6a), 3.48 (dd, ²J_{H,H} = 13.1 Hz, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, 1H, H-6b), 3.29 – 3.17 (m, 8H, (N((CH₂)₃CH₃)₄)⁺), 2.27, 2.17, 2.05 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃), 1.73 – 1.61 (m, 8H, (N((CH₂)₃CH₃)₄)⁺), 1.39 (sx, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 8H, (N((CH₂)₃CH₃)₄)⁺), 0.97 (t, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 12H, (N((CH₂)₃CH₃)₄)⁺).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 173.3, 173.1, 172.7 (3x C=O), 95.4 (d, ²J_{C,P} = 4.4 Hz, C-1), 72.0 (C-5), 71.0 (C-3), 70.0 (d, ³J_{C,P} = XX Hz, C-2), 68.3 (C-4) 58.1, 58.1, 58.1 (3x ((N((CH₂)₃CH₃)₄)⁺), 49.7 (C-6), 23.1 ((N((CH₂)₃CH₃)₄)⁺), 20.3, 20.0, 20.0, 19.1..

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = -1.75.

HRMS (ESI, m/z): ber.: 410.0606 [M-H]⁻, gef.: 410.0601 [M-H]⁻.

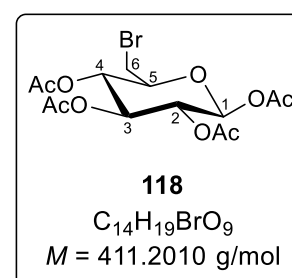
IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3389, 2959, 2874, 2107, 1488, 1381, 1064, 930, 525.

9.2.5 Synthese von Glycosylphosphonaten

9.2.5.1 Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-brom-β-D-glucopyranose 118

Die Reaktion wurde nach **AAV 17** durchgeführt. Es wurden 396.1 mg (0.7883 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-O-*para*-toluolsulfonyl-β-D-glucopyranose **117**, 274.0 mg (3.155 mmol, 4.0 Äquiv.) Lithiumbromid und 4 mL abs. DMF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 1 h.

Ausbeute: 322.8 mg (0.7850 mmol, quantitativ) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (PE/EE 1:2 v/v) 0.81; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: 94.5 ° (c = 0.39, CH₂Cl₂); **Schmelzpunkt:** 116.6 °C.



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.74 (d, ³J_{H,H} = 8.2 Hz, 1H, H-1), 5.25 (t, ³J_{H,H} = 9.3 Hz, 1H, H-3), 5.19 – 5.03 (m, 2H, H-2, H-4), 3.85 (ddd, ³J_{H,H} = 9.7 Hz, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, ³J_{H,H} = 2.9 Hz, 1H, H-5), 3.51 (dd, ²J_{H,H} = 11.6 Hz, ³J_{H,H} = 2.9 Hz, 1H, H-6a), 3.38

(dd, $^2J_{H,H} = 11.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 5.6$ Hz, 1H, H-6b), 2.12, 2.05, 2.03, 2.01 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl-CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.2, 169.4, 169.3, 169.0 (4x C=O), 91.6 (C-1), 73.6 (C-5), 72.8 (C-3), 70.5 (C-4), 70.3 (C-2), 30.3 (C-6), 20.9, 20.8, 20.7, 20.7 (4x Acetyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 433.0104 [M+Na]⁺, gef.: 433.0101 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2926, 1754, 1369, 1212, 1074, 1037, 913.

9.2.5.2 Synthese von 6-Dimethyl-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-6-desoxy- β -D-glucopyranosyl)phosphonat **119**

Variante I:

Die Reaktion wurde nach **AAV 18** durchgeführt. Es wurden 10.5 mg (0.0255 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-brom- β -D-glucopyranose **118** und 1.0 mL (8.5 mmol, 333 Äquiv.) Trimethylphosphit eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 5 h.

Ausbeute: 4.5 mg (0.010 mmol, 39%) eines farblosen Feststoffes.

Variante II:

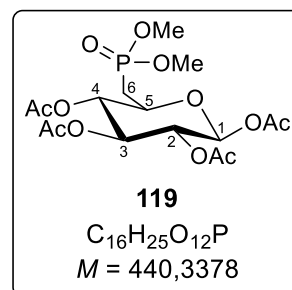
Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 82.7 mg (0.201 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-brom- β -D-glucopyranose **118** zunächst für 30 min im Ölpumpenvakuum getrocknet und anschließend in 4.0 mL (34 mmol, 169 Äquiv.) Trimethylphosphit gelöst. Die Reaktionslösung wurde für 3.5 d unter Rückfluss erhitzt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v) wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch an Kieselgel zunächst mit PE und einem EE-Gradienten (PE/EE 1:2 v/v \rightarrow 1:4 v/v \rightarrow EE), dann mit EE und einem CH₃OH-Gradienten (0-2%) als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 57.1 mg (0.103 mmol, 65%) eines farblosen Feststoffes;

R_f -Wert (EE) 0.27; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein;

Drehwert: $[\alpha]_{589}^{25}$: 18.4 ° ($c = 0.19$, CH₂Cl₂); **Schmelzpunkt:** 93.5 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.74 (d, $^3J_{H,H} = 8.2$ Hz, 1H, H-1), 5.21 (t, $^3J_{H,H} = 9.4$ Hz, 1H, H-3), 5.11 (dd, $^3J_{H,H} = 9.6$ Hz, $^3J_{H,H} = 8.3$ Hz, 1H, H-2), 4.92 (t, $^3J_{H,H} = 9.5$ Hz, 1H, H-4), 4.01 (dddd, $^3J_{H,P} = 11.9$ Hz, $^3J_{H,H} = 9.8$ Hz, $^3J_{H,H} = 7.3$ Hz, $^3J_{H,H} = 4.8$ Hz, 1H, H-5), 3.72 (d, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, 3H, -CH₃), 3.70 (d, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, 3H, -CH₃), 2.09 (s, 3H, Acetyl-CH₃), 2.06 – 1.99 (m, 11H, H-6a, H-6b, 3x Acetyl-CH₃).



¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.1, 169.8, 169.4, 168.8 (4x C=O), 91.7 (C-1), 72.7 (d, ⁴J_{C,P} = 2.9 Hz, C-3), 72.0 (d, ³J_{C,P} = 14.4 Hz, C-4), 70.5 (C-2), 70.3 (d, ²J_{C,P} = 5.7 Hz, C-5), 53.0 (d, ²J_{C,P} = 6.6 Hz, POCH₃), 52.6 (d, ²J_{C,P} = 6.6 Hz, POCH₃), 28.3 (d, ¹J_{C,P} = 144.9 Hz, C-6), 20.8, 20.7 (4x Acetyl-CH₃).

³¹P-NMR (243 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.4.

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 463.0976 [M+Na]⁺, gef.: 463.0994 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2958, 2926, 2854, 1754, 1370, 1213, 1035, 848, 821.

9.2.5.3 Versuch der Synthese von 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl-6-desoxy-β-D-glucopyranosyl-6-phosphonat als Natriumsalz 120

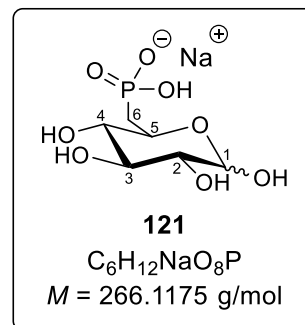
Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 54.5 mg (0.124 mmol, 1.0 Äquiv.) 6-Dimethyl-(1,2,3,4-tetra-O-acetyl-6-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-phosphonat **119** in 2.5 mL abs. CH₂Cl₂ gelöst und anschließend tropfenweise mit 207 µL (1.66 mmol, 13.4 Äquiv.) Trimethylsilylbromid versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v) im Ölpumpenvakuum entfernt. Der Rückstand wurde daraufhin in 3 mL Aceton aufgenommen, mit 50 µL H₂O versetzt und für 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Schließlich wurden die Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₃CN/H₂O 5:1 v/v als Eluent gereinigt.

Das gewünschte Produkt konnte nicht erhalten werden. Es konnte jedoch ein Gemisch aus einfach und zweifach deacetylierten Formen des gewünschten Produktes erhalten werden. Dieses wurde ohne weitere Reinigung für die nachfolgende Synthese eingesetzt (s. 9.2.5.4).

9.2.5.4 Synthese von 6-Desoxy-β-D-glucopyranosyl-6-phosphonat als Natriumsalz 121

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 2.2** durchgeführt. Es wurde das unter 9.2.5.3 erhaltene Produktgemisch und 2 mL des Gemisches aus CH₃OH, H₂O und Triethylamin (7:3:1 v/v/v) eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16 h.

Ausbeute: 13.4 mg (0.0504 mmol, 41%, über 2 Stufen) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.05; **Anomerenverhältnis:** α:β ≈ 1:2.3.



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **β-Anomer** 4.67 (d, ³J_{H,H} = 8.0 Hz, 1H, H-1), 3.66 (ddt, ³J_{H,H} = 9.4 Hz, ³J_{H,H} = 8.3 Hz, ³J_{H,H} = 6.5 Hz, 1H, H-5), 3.49 (t, ³J_{H,H} = 9.2 Hz, 1H, H-3), 3.33 – 3.23 (m, 2H, H-2, H-4), 2.01 (dddd, ²J_{H,P} = 17.5 Hz, ²J_{H,H} = 14.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, ³J_{H,H} = 3.6 Hz, 1H, H-6a), 1.90 – 1.75 (m, 1H, H-6b), **α-Anomer** 5.20 (d, ³J_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, H-1), 4.12 – 4.01 (m, 1H, H-5), 3.72 (t, ³J_{H,H} = 9.4 Hz, 1H, H-3), 3.56 (dd, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, ³J_{H,H} = 3.8 Hz, 1H, H-2), 3.33 – 3.24 (m, 1H, H-4), 2.01 (dddd, ²J_{H,P} = 17.5 Hz, ²J_{H,H} = 14.8 Hz, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, ³J_{H,H} = 3.6 Hz, 1H, H-6a), 1.91 – 1.74 (m, 1H, H-6b).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **β-Anomer** 95.7 (C-1), 75.7 (C-3), 75.0 (d, ³J_{C,P} = 7.7 Hz, C-4) 74.2 (C-2), 72.7 (C-5), 32.94 (d, ¹J_{C,P} = 129.6 Hz, C-6), **α-Anomer** 91.9 (C-1), 75.2 (d, ³J_{C,P} = 8.4 Hz, C-4), 72.6 (C-3), 71.6 (C-2), 68.1 (C-5), 32.7 (d, ¹J_{C,P} = 130.3 Hz, C-6).

³¹P-NMR (243 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = **β-Anomer** 18.70, **α-Anomer** 19.30.

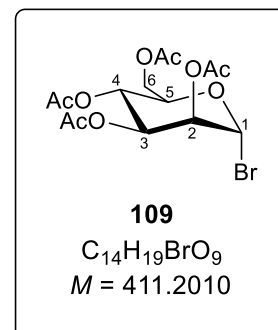
HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 243.0275 [M-H]⁺, gef.: 243.0198 [M-H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3359, 2948, 2912, 2847, 1655, 1369, 1106, 986.

9.2.5.5 Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-mannosylbromid 109

Die Reaktion wurde nach **AAV 4.1** durchgeführt. Es wurden 1.7958 g (4.6006 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-D-mannose **110**, 18.5 mL Essigsäure, 1.1 mL (15 mmol, 3.1 Äquiv.) Acetylbromid und 0.25 mL (6.2 mmol, 1.4 Äquiv.) CH₃OH eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 19 h.

Ausbeute: 1.8910 g (4.5987 mmol, quantitativ) eines gelben Öls; **R_f-Wert** (PE/EE 1:1 v/v) 0.58; **Anomerenverhältnis:** α-anomerenrein; **Drehwert:** [α]_{589 nm}²⁵: 131.6 ° (*c* = 0.90, CH₂Cl₂).



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 6.29 (d, ³J_{H,H} = 1.4 Hz, 1H, H-1), 5.71 (dd, ³J_{H,H} = 10.1 Hz, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-3), 5.44 (dd, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, ³J_{H,H} = 1.6 Hz, 1H, H-2), 5.37 (t, ³J_{H,H} = 10.2 Hz, 1H, H-4), 4.33 (dd, ²J_{H,H} = 12.5 Hz, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, 1H, H-6a), 4.22 (ddd, ³J_{H,H} = 10.3 Hz, ³J_{H,H} = 5.0 Hz, ³J_{H,H} = 2.2 Hz, 1H, H-5), 4.14 (dd, ²J_{H,H} = 12.6 Hz, ³J_{H,H} = 2.2 Hz, 1H, H-6b), 2.17, 2.17, 2.07, 2.01 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl-CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 170.6, 169.8, 169.7, 169.7 (4x C=O), 83.2 (C-1), 73.0 (C-5), 72.3 (C-2), 68.1 (C-3), 65.5 (C-4), 61.6 (C-6), 20.9, 20.8, 20.8, 20.7 (4x Acetyl- CH_3).

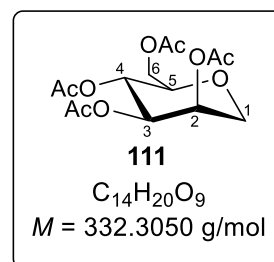
HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 433.0104 [M+Na]⁺, gef.: 433.0106 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2959, 1743, 1368, 1211, 1047, 732.

9.2.5.6 Synthese von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1,5-anhydro-D-mannitol 111

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 72.20 mg (0.1877 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-mannosylbromid **110** in 6 mL abs. Toluol gelöst und die Lösung nacheinander mit 5.6 mg (0.034 mmol, 0.2 Äquiv.) AIBN und 100 μL (0.375 mmol, 2.0 Äquiv.) Tributylzinnhydrid versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 3 h unter Rückfluss erhitzt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1 v/v) wurde die Reaktionslösung drei Mal mit H_2O gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 42.0 mg (0.126 mmol, 67%) eines farblosen Öls; **R_f-Wert** (PE/EE 1:1 v/v) 0.31; **Drehwert**: $[\alpha]_{589}^{25}$: -41.9° ($c = 0.513$, CH_2Cl_2).



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 5.33 – 5.30 (m, 1H, H-2), 5.30 – 5.24 (m, 1H, H-4), 5.05 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 10.0 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 3.6 \text{ Hz}$, 1H, H-3), 4.24 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.3 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 5.6 \text{ Hz}$, 1H, H-6a), 4.13 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 12.3 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 2.4 \text{ Hz}$, 1H, H-6b), 4.06 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 13.2 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 2.1 \text{ Hz}$, 1H, H-1a), 3.67 (dd, $^2J_{\text{H,H}} = 13.4 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 1.2 \text{ Hz}$, 1H, H-1b), 3.59 (ddd, $^3J_{\text{H,H}} = 9.8 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 5.6 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 2.3 \text{ Hz}$, 1H, H-5), 2.16, 2.10, 2.04, 2.00 (4x s, 4x 3H, 4x Acetyl- CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 170.8, 170.5, 170.3, 169.8 (4x C=O), 76.9 (C-5), 71.8 (C-3), 68.8 (C-2), 68.3 (C-1), 66.3 (C-4), 62.9 (C-6), 21.1, 20.9, 20.8, 20.8 (4x Acetyl- CH_3).

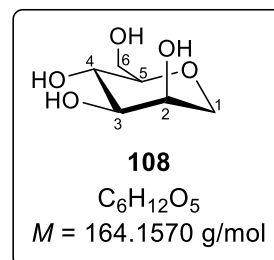
HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 355.1000 [M+Na]⁺, gef.: 355.1004 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 2939, 2855, 1682, 1538, 1239, 781.

9.2.5.7 Synthese von 1,5-Anhydro-D-mannitol **108**

Die Reaktion wurde nach **AAV 2.1** durchgeführt. Es wurden 620.2 mg (1.866 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1,5-anhydro-D-mannitol **111**, 10 mL CH₃OH und eine katalytische Menge Natrium verwendet. Die Reaktionszeit betrug 1 h.

Ausbeute: 296.7 mg (1.807 mmol, 97%) eines farblosen Feststoffes;
R_F-Wert (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.26; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -39.8 ° (c = 0.56, CH₂Cl₂).



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 4.01 (ddd, $^3J_{H,H} = 3.3$ Hz, $^3J_{H,H} = 2.0$ Hz, $^3J_{H,H} = 1.1$ Hz, 1H, H-2), 3.95 (dd, $^2J_{H,H} = 12.7$ Hz, $^3J_{H,H} = 2.1$ Hz, 1H, H-1a), 3.92 (dd, $^2J_{H,H} = 12.2$ Hz, $^3J_{H,H} = 2.3$ Hz, 1H, H-6a), 3.72 (dd, $^2J_{H,H} = 12.2$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.6$ Hz, 1H, H-6b), 3.69 – 3.65 (m, 2H, H-2, H-1b, H-3), 3.62 (t, $^3J_{H,H} = 9.6$ Hz, 1H, H-4), 3.32 (ddd, $^3J_{H,H} = 9.2$ Hz, $^3J_{H,H} = 6.5$ Hz, $^3J_{H,H} = 2.3$ Hz, 1H, H-5).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 80.5 (C-5), 73.5 (C-3), 69.8 (C-1), 69.1 (C-2), 67.3 (C-4), 61.2 (C-6).

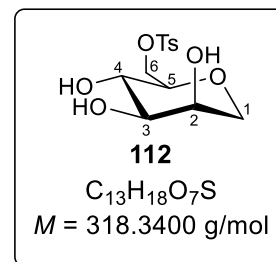
HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 187.0577 [M+Na]⁺, gef.: 187.0572 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3345, 2921, 1406, 1093, 1053.

9.2.5.8 Synthese von 6-O-*para*-Toluolsulfonyl-1,5-anhydro-D-mannitol **112**

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 42.8 mg (0.261 mmol, 1.0 Äquiv.) 1,5-anhydro-D-mannitol **108** für 15 min im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann in 1.5 mL abs. Pyridin gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und portionsweise zunächst mit 65.5 mg (0.344 mmol, 1.3 Äquiv.) *para*-Toluolsulfonylchlorid und dann mit einer Spatelspitze DMAP versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 16.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach ausbleibender weiterer Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit EE/CH₃OH 9:1 v/v als Eluent gereinigt.

Ausbeute: 44.1 mg (0.139 mmol, 53%) eines farblosen Feststoffes;
R_f-Wert (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.70; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -23.6 ° (c = 0.39, CH₃OH).



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 7.85 – 7.81 (m, 2H, H_{aryl}), 7.49 – 7.45 (m, 2H, H_{aryl}), 4.37 (dd, ²J_{H,H} = 10.6 Hz, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-6a), 4.14 (dd, ²J_{H,H} = 10.6 Hz, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, 1H, H-6b), 3.86 (dd, ²J_{H,H} = 12.4 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-1a), 3.84 – 3.83 (m, 1H, H-3), 3.53 – 3.49 (m, 2H, H-1b, H-4), 3.46 (dd, ³J_{H,H} = 9.2 Hz, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, 1H, H-2), 3.31 (ddd, ³J_{H,H} = 9.5 Hz, ³J_{H,H} = 6.9 Hz, ³J_{H,H} = 1.9 Hz, 1H, H-5), 2.49 (s, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 146.4 (C_{q,aryl}), 134.3 (C_{q,aryl}), 131.0 (CH_{aryl}), 129.1 (CH_{aryl}), 79.7 (C-5), 75.6 (C-2), 71.4 (C-6), 71.2 (C-1), 70.6 (C-3), 68.6 (C-4), 21.6 (-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 341.0665 [M+Na]⁺, gef.: 341.0672 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3381, 2921, 1401, 1174, 1095, 670, 554.

9.2.5.9 Versuch der Synthese von 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-O-*para*-Toluolsulfonyl-1,5-anhydro-D-mannitol 113

Variante I:

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 14.0 mg (44.0 μ mol, 1.0 Äquiv.) 6-O-*para*-Toluolsulfonyl-1,5-anhydro-D-mannitol **112** für 1 h im Ölpumpenvakuum getrocknet und dann in 2.5 mL abs. DMF gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt, mit 8.5 mg (0.21 mmol, 4.8 Äquiv.) Natriumhydrid versetzt und 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend erfolgte bei 0 °C die Zugabe von 20 μ L (0.17 mmol, 3.9 Äquiv.) Benzylbromid. Die Reaktionslösung wurde bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) für 17 h bei Raumtemperatur gerührt. Zum Abbruch der Reaktion wurde bei 0 °C unter Rühren tropfenweise CH₃OH hinzugegeben. Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum entfernt, der erhaltene Rückstand in EE aufgenommen und drei Mal mit H₂O gewaschen. Die wässrige Phase wurde drei Mal mit EE extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE/EE 1:1 v/v als Eluent gereinigt. Das gewünschte Produkt wurde nicht erhalten.

Variante II:

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 8.5 mg (0.027 mmol, 1.0 Äquiv.) 6-O-*para*-Toluolsulfonyl-1,5-anhydro-D-mannitol **112** für 1 h im Ölpumpenvakuum

getrocknet und dann in 2 mL abs. CH₂Cl₂ gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und nacheinander mit 22.2 µL (0.120 mmol, 4.5 Äquiv.) Benzyl-2,2,2-trichloracetimidat und Trifluormethansulfonsäure versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 24 h bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand in einem Gemisch aus PE und Diethylether (6:1 v/v) aufgenommen und über wenig Kieselgel filtriert. Die Lösungsmittel wurden unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit PE und einem CH₂Cl₂-Gradienten (1:2 v/v → 1:3 v/v) als Eluent gereinigt. Das gewünschte Produkt wurde nicht erhalten.

9.2.5.10 Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-*para*-toluolsulfonyl-1,5-anhydro-D-mannitol **122**

Die Reaktion wurde nach **AAV 1** durchgeführt. Es wurden 38.8 mg (0.122 mmol, 1.0 Äquiv.) 6-O-*para*-Toluolsulfonyl-1,5-anhydro-D-mannitol **112**, 3 mL abs. Pyridin und 0.1 mL (1 mmol, 8 Äquiv.) Essigsäureanhydrid verwendet. Die Reaktionszeit betrug 16 h.

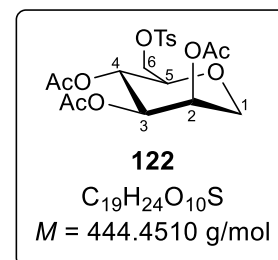
Ausbeute: 50.5 mg (0.144 mmol, 93%) eines farblosen Öls; **R_f-Wert** (PE/EE 2:1 v/v) 0.5; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: 37.4 ° (*c* = 0.38, CH₂Cl₂).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 7.86 – 7.72 (m, 2H, H_{aryl}), 7.34 (d, ³J_{H,H} = 8.1 Hz, 2H, H_{aryl}), 5.26 (dt, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, ³J_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-2), 5.14 (t, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, 1H, H-4), 5.01 (dd, ³J_{H,H} = 10.0 Hz, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, 1H, H-3), 4.13 – 4.03 (m, 2H, H-6a, H-6b), 3.97 (dd, ²J_{H,H} = 13.2 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-1a), 3.65 – 3.48 (m, 2H, H-1b H-5), 2.45 (s, 3H, -CH₃), 2.12, 2.01, 1.99 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.5, 170.2, 169.9 (3x C=O), 145.2 (C_{q,aryl}), 132.8 (C_{q,aryl}), 130.0 (CH_{aryl}), 128.2 (CH_{aryl}), 76.6 (C-5), 71.6 (C-3), 68.6 (C-2), 68.5 (C-6), 68.1 (C-1), 66.5 (C-4), 21.8 (-CH₃), 21.1, 20.8, 20.8 (3x Acetyl-CH₃).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 467.0982 [M+Na]⁺, gef.: 467.0965 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3382, 2959, 2927, 2866, 1743, 1218, 1137, 935.

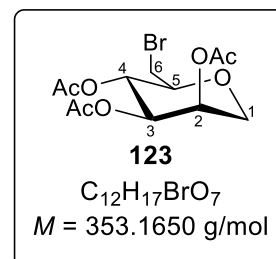


9.2.5.11 Synthese von 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-brom-6-desoxy-1,5-anhydro-D-mannitol **123**

Die Reaktion wurde nach **AAV 17** durchgeführt. Es wurden 126.5 mg (0.2846 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-*para*-toluolsulfonyl-1,5-anhydro-D-mannitol **122**, 99.9 mg

(1.15 mmol, 4.0 Äquiv.) Lithiumbromid und 4 mL abs. DMF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 1 h.

Ausbeute: 87.3 mg (0.247 mmol, 87%) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (PE/EE 1:1 v/v) 0.56; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -4.2 ° (*c* = 0.29, CH₂Cl₂); **Schmelzpunkt:** 80.3 °C.



¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.30 (dt, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, ³J_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-2), 5.21 (t, ³J_{H,H} = 9.7 Hz, 1H, H-4), 5.05 (dd, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, 1H, H-3), 4.09 (dd, ²J_{H,H} = 13.2 Hz, ³J_{H,H} = 2.2 Hz, 1H, H-1a), 3.69 (dd, ²J_{H,H} = 13.2 Hz, ³J_{H,H} = 1.2 Hz, 1H, H-1b), 3.59 (ddd, ³J_{H,H} = 9.7 Hz, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, ³J_{H,H} = 2.7 Hz, 1H, H-5), 3.46 (dd, ²J_{H,H} = 11.3 Hz, ³J_{H,H} = 2.6 Hz, 1H, H-6a), 3.39 (dd, ²J_{H,H} = 11.3 Hz, ³J_{H,H} = 7.2 Hz, 1H, H-6b), 2.15, 2.07, 2.00 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.5, 170.3, 169.8 (3x C=O), 78.2 (C-5), 71.6 (C-3), 68.8 (C-4), 68.7 (C-2), 68.1 (C-1), 31.3 (C-6), 21.1, 20.9, 20.8 (3x Acetyl-CH₃).

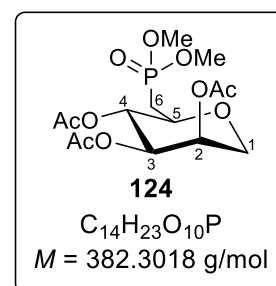
HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 375.0050 [M+Na]⁺, gef.: 375.0048 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2956, 2856, 1741, 1371, 1218, 1077, 937.

9.2.5.12 Synthese von Dimethyl-(2,3,4-tri-O-acetyl- β -L-arabinosyl)methylphosphonat **124**

Die Reaktion wurde nach **AAV 18** durchgeführt. Es wurden 65.1 mg (0.184 mmol, 1.0 Äquiv.) 2,3,4-Tri-O-acetyl-6-brom-6-desoxy-1,5-anhydro-D-mannitol **123** und 2.0 mL (17 mmol, 92 Äquiv.) Trimethylphosphit eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 7 h.

Ausbeute: 59.8 mg (0.156 mmol, 85%) eines farblosen Öls; **R_F-Wert** (EE/CH₃OH 9:1 v/v) 0.46; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -22.9 ° (*c* = 0.63, CH₂Cl₂).



¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5.25 (dt, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, ³J_{H,H} = 1.5 Hz, 1H, H-2), 5.05 (t, ³J_{H,H} = 9.7 Hz, 1H, H-4), 4.95 (dd, ³J_{H,H} = 10.0 Hz, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-3), 3.96 (dd, ³J_{H,H} = 13.2 Hz, ³J_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-1a), 3.77 – 3.61 (m, 8H, H-1b, H-5, 2x -CH₃), 2.14 – 1.91 (m, 11H, 3x Acetyl-CH₃, H-6a, H-6b).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 170.3, 170.0, 170.0 (3x C=O), 74.11 (d, ²J_{C,P} = 5.4 Hz, C-5), 71.48 (d, ⁴J_{C,P} = 3.4 Hz, C-3), 69.86 (d, ³J_{C,P} = 16.2 Hz, C-4), 68.7 (C-2), 68.0 (C-1), 52.86

(d, $^2J_{C,P} = 6.0$ Hz, POCH₃), 52.20 (d, $^2J_{C,P} = 6.6$ Hz, POCH₃), 28.43 (d, $^2J_{C,P} = 144.7$ Hz, C-6), 21.0, 20.8, 20.6 (3x Acetyl-CH₃).

$^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 30.11.

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 383.1102 [M+H]⁺, gef.: 383.1115 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3456, 2958, 1743, 1372, 1223, 1028, 817.

9.2.5.13 Synthese von (2,3,4-Tri-O-acetyl- β -L-arabinosyl)methylphosphonat als Natriumsalz 105

Variante I:

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 15.6 mg (0.0408 mmol, 1.0 Äquiv.) Dimethyl-(2,3,4-tri-O-acetyl- β -L-arabinosyl)methylphosphonat **124** in 2.5 mL abs. CH₂Cl₂ gelöst und anschließend tropfenweise mit 70 μ L (0.53 mmol, 13 Äquiv.) Trimethylsilylbromid versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 75 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/CH₃OH 19:1 v/v) wurden 2 mL eines Gemisches aus CH₃OH und H₂O (1:1 v/v) hinzugegeben und das Gemisch für 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden die Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit CH₃CN/H₂O 5:1 v/v als Eluent gereinigt.

Das gewünschte Produkt konnte nicht erhalten werden. Es konnte jedoch ein Gemisch aus einfach und zweifach deacetylierten Formen des gewünschten Produktes erhalten werden. Dieses wurde ohne weitere Reinigung für die nachfolgende Synthese eingesetzt (s. 9.2.5.14).

Variante II:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 19** durchgeführt. Es wurden 26.4 mg (0.0691 mmol, 1.0 Äquiv.) Dimethyl-(2,3,4-tri-O-acetyl- β -L-arabinosyl)methylphosphonat **124**, 3 mL abs. CH₂Cl₂ und 36.8 μ L (0.207 mmol, 3.0 Äquiv.) Trimethylsilylbromid eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 2 h.

Ausbeute: 87.3 mg (0.247 mmol, 87%) eines farblosen Feststoffes;
R_F-Wert (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.22; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -21.6 ° (*c* = 0.53, CH₂Cl₂).

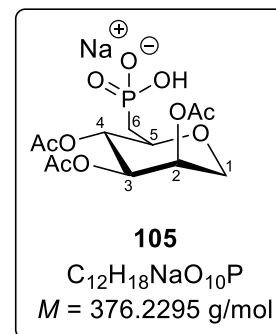
¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 5.43 – 5.36 (m, 1H, H-2), 5.21 (dd, ³*J*_{H,H} = 9.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-3), 5.03 (t, ³*J*_{H,H} = 9.7 Hz, 1H, H-4), 4.03 (dd, ³*J*_{H,H} = 13.5 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-1a), 3.91 – 3.78 (m, 2H, H-1b, H-5), 2.20, 2.13, 2.03 (3x s, 3x 3H, 3x Acetyl-CH₃), 1.89 – 1.75 (m, 2H, H-6a, H-6b).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 173.3, 173.3, 172.9 (3x C=O), 74.64 (d, ²*J*_{C,P} = 5.1 Hz, C-5), 72.23 (d, ⁴*J*_{C,P} = 2.8 Hz, C-3), 70.69 (d, ³*J*_{C,P} = 15.0 Hz, C-4), 69.51 (d, ⁵*J*_{C,P} = 2.6 Hz, C-2), 67.4 (C-1), 28.3 (d, ²*J*_{C,P} = 126.2 Hz, C-6), 20.3, 20.1 (3x Acetyl-CH₃).

³¹P-NMR (162 MHz, D₂O): δ [ppm] = 23.53.

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 377.0608 [M+Na]⁺, gef.: 377.0614 [M+Na]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3401, 2953, 2873, 1756, 1578, 1372, 1219, 1039, 813.



9.2.5.14 Synthese von β -L-Arabinosylmethylphosphonat als Natriumsalz 103

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 2.2** durchgeführt. Es wurde das unter 9.2.5.13 (Variante I) erhaltene Produktgemisch und 2 mL des Gemisches aus CH₃OH, H₂O und Triethylamin (7:3:1 v/v/v) eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 2 h.

Ausbeute: 7.5 mg (0.038 mmol, 69%, über 2 Stufen) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.11; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -22.5 ° (*c* = 0.36, H₂O).

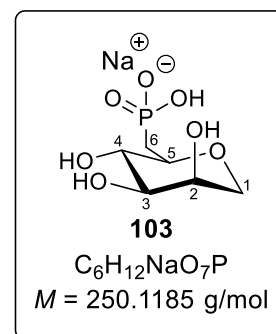
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.98 (ddd, ³*J*_{H,H} = 3.4 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.1 Hz, ³*J*_{H,H} = 1.1 Hz, 1H, H-2), 3.90 (dd, ²*J*_{H,H} = 12.9 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-1a), 3.69 – 3.61 (m, 2H, H-3, H-1b), 3.54 – 3.44 (m, 2H, H-4, H-5), 2.13 – 2.01 (m, 1H, H-6a), 1.90 – 1.77 (m, 1H, H-6b).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 77.1 (d, ²*J*_{C,P} = 2.2 Hz, C-5), 73.4 (C-3), 72.2 (d, ³*J*_{C,P} = 9.3 Hz, C-4), 69.7 (C-1), 69.0 (C-2), 32.6 (d, ¹*J*_{C,P} = 133.3 Hz, C-6).

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = 19.94.

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 229.0472 [M+H]⁺, gef.: 229.0474 [M+H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3353, 2950, 2916, 2838, 1656, 1456, 1376, 1102, 973.

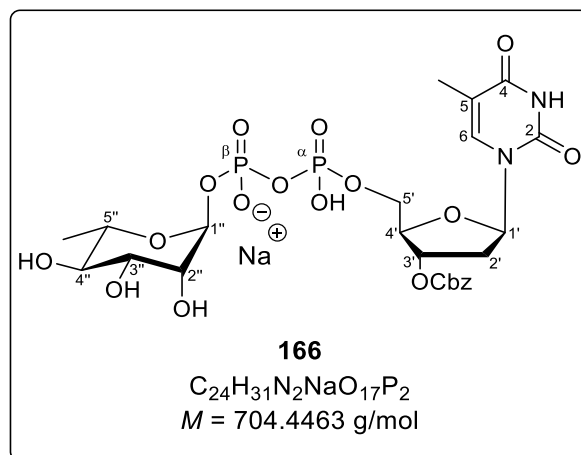


9.2.6 Synthese von Nucleosiddiphosphat-Glycopyranosen

9.2.6.1 Synthese von 3'-O-Benzoyloxycarbonyldesoxythymidindiphosphat- α -L-rhamnose als Natriumsalz 166

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 16.2** durchgeführt, jedoch wurde auf die anschließende Spaltung der Benzoyloxycarbonyl-Gruppe verzichtet. Es wurden 9.6 mg (0.032 mmol, 1.3 Äquiv.) α -L-Rhamnopyranosylphosphat als Natriumsalz **α -146** in 2.5 mL abs. DMF sowie 14.5 mg (0.025 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-Nitro-cycloSal-3'-O-benzoyloxycarbonylthymidinmonophosphat **149** in 2.5 mL abs. DMF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 20 h.

Ausbeute: 14.0 mg (0.0199 mmol, 79%) eines hellgelben Feststoffes; **R_f-Wert** (/PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.63; **Anomerenverhältnis:** α -anomerenrein.



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 7.82 (d, ⁴J_{H,H} = 1.3 Hz, 1H, H-6), 7.52 – 7.43 (m, 5H, H_{aryl}), 6.37 (dd, ³J_{H,H} = 9.0 Hz, ³J_{H,H} = 5.9 Hz, 1H, H-1'), 5.46 (dd, ³J_{H,H} = 7.7 Hz, ⁴J_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-1''), 5.43 (dt, ³J_{H,H} = 5.5 Hz, ³J_{H,H} = 1.6 Hz, 1H, H-3'), 5.28 (s, 2H, Cbz-CH₂), 4.27 – 4.19 (m, 3H, H-4', H-5'), 4.06 (dd, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, ³J_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-2''), 3.95 – 3.91 (m, 1H, H-5''), 3.90 (dd, ³J_{H,H} = 9.9 Hz, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-3''), 3.45 (t, ³J_{H,H} = 9.8 Hz, 1H, H-4''), 2.57 – 2.46 (m, 2H, H-2'), 1.96 (d, ⁴J_{H,H} = 1.2 Hz, 3H, H-7), 1.30 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 166.5 (C-4), 154.7 (C=O), 151.8 (C-2), 137.2 (C-6), 134.9 (C_{q,aryl}), 128.8 (5x CH_{aryl}), 112.0 (C-5), 96.2 (C-1''), 84.8 (C-1'), 83.0 (C-4'), 79.3 (C-3'), 72.2 (C-4''), 70.1 (Cbz-CH₂), 70.3 (C-2''), 69.7 (C-3'', C-5''), 65.7 (C-5'), 36.3 (C-2'), 16.8 (-CH₃), 11.6 (C-7).

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = -11.88 (d, ²J_{P,P} = 20.0 Hz, P_β), -13.96 (d, ²J_{P,P} = 20.3 Hz, P_α).

HRMS (ESI⁻, *m/z*): ber.: 681.1109 [M-H]⁻, gef.: 681.1097 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2963, 2858, 1738, 1368, 1217, 1047, 736, 601.

9.2.6.2 Synthese von Thymidindiphosphat- α -L-Rhamnose als Natriumsalz α -132

Variante I:

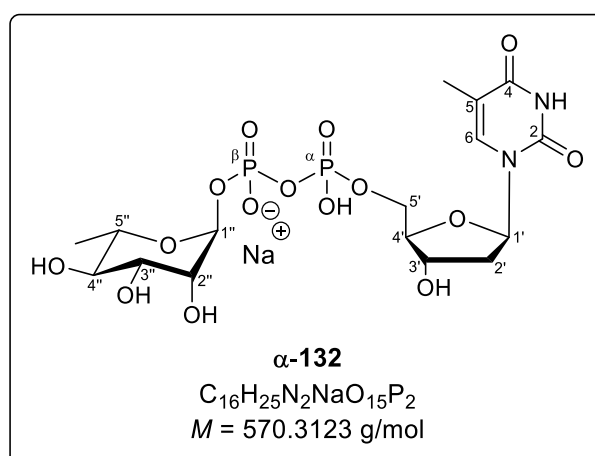
Die Reaktion wurde gemäß **AAV 14** durchgeführt. Es wurden 4.6 mg (6.5 μ mol, 1.0 Äquiv.) 3'-O-benzyloxycarbonylthymidindiphosphat- α -L-Rhamnose als Natriumsalz **166**, 2 mL abs. CH₃OH, 1.7 mL 1,4-Cyclohexadien und 3.8 mg Pd/C (10%ig) eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 19 h.

Ausbeute: 2.1 mg (3.7 μ mol, 57%) eines farblosen Feststoffes.

Variante II:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 16.2** durchgeführt. Es wurden 6.2 mg (0.023 mmol, 1.2 Äquiv.) α -L-Rhamnopyranosylphosphat als Natriumsalz **α -146** in 2.5 mL abs. DMF und 0.1 mL abs. DMSO sowie 11.3 mg 0.0192 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-Nitro-*cycloSal*-3'-O-benzyloxycarbonylthymidinmonophosphat **149** in 2.5 mL abs. DMF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 20 h. Die darauffolgende Entschützung erfolgte mit 5 mL abs. CH₃OH, 2.0 mL 1,4-Cyclohexadien und 15.6 mg Pd/C (10%ig). Die Reaktionszeit betrug 3 d.

Ausbeute: 8.8 mg (0.020 mmol, 80%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.13; **Anomerenverhältnis:** α -anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -4.5 ° (*c* = 0.07, H₂O).



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 7.79 (d, ⁴*J*_{H,H} = 1.3 Hz, 1H, H-6), 6.38 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-1'), 5.45 (dd, ³*J*_{H,H} = 7.7 Hz, ³*J*_{H,H} = 2.0 Hz, 1H, H-1''), 4.65 (dt, ³*J*_{H,H} =

6.2 Hz, $^3J_{H,H} = 3.2$ Hz, 1H, H-3'), 4.22 – 4.18 (m, 3H, H-4', H-5'), 4.06 (dd, $^3J_{H,H} = 3.4$ Hz, $^3J_{H,H} = 2.0$ Hz, 1H, H-2''), 3.95 – 3.92 (m, 1H, H-5''), 3.90 (dd, $^3J_{H,H} = 9.9$ Hz, $^3J_{H,H} = 3.4$ Hz, 2H, H-3''), 3.46 (t, $^3J_{H,H} = 9.7$ Hz, 1H, H-4''), 2.42 – 2.38 (m, 2H, H-2'), 1.96 (d, $^4J_{H,H} = 1.2$ Hz, 3H, H-7), 1.31 (d, $^3J_{H,H} = 6.3$ Hz, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 166.7 (C-4), 137.4 (C-6), 111.8 (C-5), 96.2 (C-1''), 85.6 (C-4'), 84.9 (C-1'), 72.2 (C-4''), 71.2 (C-3'), 70.4 (C-2''), 69.6 (C-3'', C-5''), 65.2 (C-5'), 38.6 (C-2'), 16.6 (-CH₃), 11.7 (C-7).

Anmerkung: Das ¹³C-Signal des C-2- konnte nicht identifiziert werden.

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = -11.72 (d, $^2J_{P,P} = 20.3$ Hz, P_β), -13.97 (d, $^2J_{P,P} = 21.7$ Hz, P_α).

HRMS (ESI⁺, *m/z*): ber.: 547.0736 [M-H]⁺, gef.: 547.0742 [M-H]⁺.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 2950, 2916, 2838, 1456, 1376, 973, 842.

9.2.6.3 Synthese von Thymidindiphosphat-β-L-Rhamnose als Natriumsalz β-132

Variante I:

Die Reaktion wurde nach **AAV 16.1** durchgeführt. Es wurden 31.4 mg (0.0769 mmol, 2.0 Äquiv.) 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-β-L-rhamnopyranosylphosphat als Natriumsalz **β-150** in 2.5 mL abs. DMF und 19.3 mg (0.0384 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-Nitro-*cycloSal*-3'-*O*-acetylthymidinmonophosphat **148** in 2.5 mL abs. DMF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 20 h. Die Deacetylierung erfolgte mit 5 mL des Gemisches aus CH₃OH, H₂O und Triethylamin (7:3:1 v/v/v) und einer Reaktionszeit von 20 h.

Bei dieser Synthese kam es neben der Bildung des gewünschten Produktes **β-132** zur Bildung von β-L-Rhamnopyranosyl-1,2-phosphat **163** als Nebenprodukt.

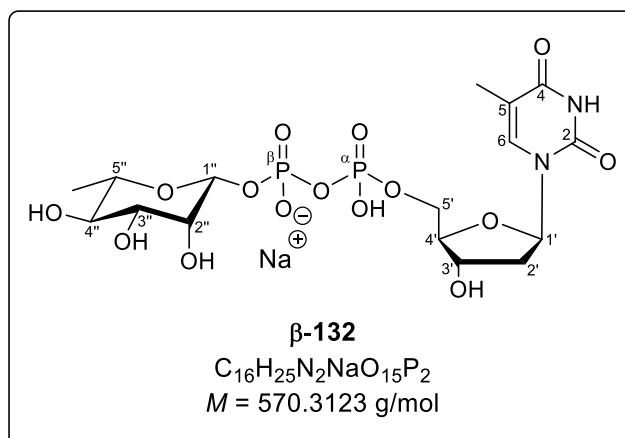
Ausbeute: 7.1 mg (0.012 mmol, 31%) eines farblosen Feststoffes.

Variante II:

Die Reaktion wurde gemäß **AAV 16.2** durchgeführt. Es wurden 10.1 mg (0.0368 mmol, 1.2 Äquiv.) β-L-Rhamnopyranosylphosphat als Natriumsalz **β-146** in 4.0 mL abs. DMF und 0.05 mL abs. DMSO sowie 11.3 mg 0.0192 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-Nitro-*cycloSal*-3'-*O*-benzyloxycarbonylthymidinmonophosphat **149** in 2.5 mL abs. DMF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 24 h. Die darauffolgende Entschützung erfolgte mit 5 mL abs. CH₃OH, 2.0 mL 1,4-Cyclohexadien und 19.9 mg Pd/C (10%ig). Die Reaktionszeit betrug 3 d.

Bei dieser Synthese kam es neben der Bildung des gewünschten Produktes **β -132** zur Bildung von Thymidinmonophosphat als Nebenprodukt, welches aufgrund eines identischen R_f -Wertes nicht abgetrennt werden konnte.

Ausbeute: 8.8 mg (0.0199 mmol, [22%]) eines farblosen Feststoffes; **R_f -Wert** (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.14; **Anomerenverhältnis:** β -anomerenrein.



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 7.76 (d, $^4J_{\text{H,H}} = 1.4 \text{ Hz}$, 1H, H-6), 6.36 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 6.4 \text{ Hz}$, 1H, H-1'), 5.22 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 8.8 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 1.0 \text{ Hz}$, 1H, H-1''), 4.63 (dt, $^3J_{\text{H,H}} = 6.1 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 3.1 \text{ Hz}$, 1H, H-3'), 4.21 – 4.14 (m, 3H, H-4', H-5'), 4.09 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 3.3 \text{ Hz}$, 1H, H-2''), 3.65 (dt, $^3J_{\text{H,H}} = 9.6 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 3.7 \text{ Hz}$, 1H, H-3''), 3.48 – 3.41 (m, 1H, H-5''), 3.40 – 3.35 (m, 1H, H-4''), 2.43 – 2.29 (m, 2H, H-2'), 1.93 (d, $^4J_{\text{H,H}} = 1.2 \text{ Hz}$, 3H, H-7), 1.31 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.1 \text{ Hz}$, 3H, -CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 166.4 (C-4), 137.5 (C-6), 111.6 (C-5), 95.3 (C-1''), 85.4 (C-4'), 84.8 (C-1'), 72.3 (C-4''), 71.4 (C-3'), 71.0 (C-2''), 69.8 (C-3''), 68.7 (C-5''), 65.3 (C-5'), 38.5 (C-2'), 16.8 (-CH₃), 11.8 (C-7).

$^{31}\text{P-NMR}$ (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = -11.61 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 21.0 \text{ Hz}$, P _{β}), -13.73 (d, $^2J_{\text{P,P}} = 20.8 \text{ Hz}$, P _{α}).

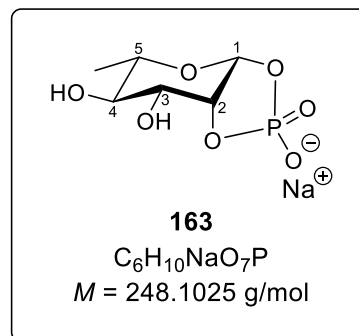
HRMS (ESI⁻, m/z): ber.: 547.0736 [M-H]⁻, gef.: 547.0740 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3303, 2925, 1665, 1370, 1053, 832.

9.2.6.4 Synthese von β -L-Rhamnopyranosyl-1,2-phosphat als Natriumsalz **163**

β -L-Rhamnopyranosyl-1,2-phosphat **163** wurde bei der Synthese von TDP- β -L-Rhamnose **β -132** nach **AAV 16.1** als Nebenprodukt isoliert.

Ausbeute: 6.4 mg (0.025 mmol, 65%) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.25; **Anomerenverhältnis:** β-anomerenrein; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: +15.2 ° (*c* = 0.23, H₂O).



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 5.53 (dd, ³J_{H,P} = 24.9 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-1), 4.65 – 4.62 (m, 1H, H-2), 3.83 (ddd, ³J_{H,H} = 9.3 Hz, ³J_{H,H} = 4.0 Hz, ³J_{H,H} = 2.2 Hz, 1H, H-3), 3.54 – 3.47 (m, 2H, H-4, H-5), 1.33 (d, ³J_{H,H} = 5.8 Hz, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 96.1 (C-1), 78.3 (d, ²J_{C,P} = 2.5 Hz, C-2), 71.0 (C-4), 70.9 (C-5), 70.8 (d, ³J_{C,P} = 10.0 Hz, C-3), 16.4 (-CH₃).

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = 16.89.

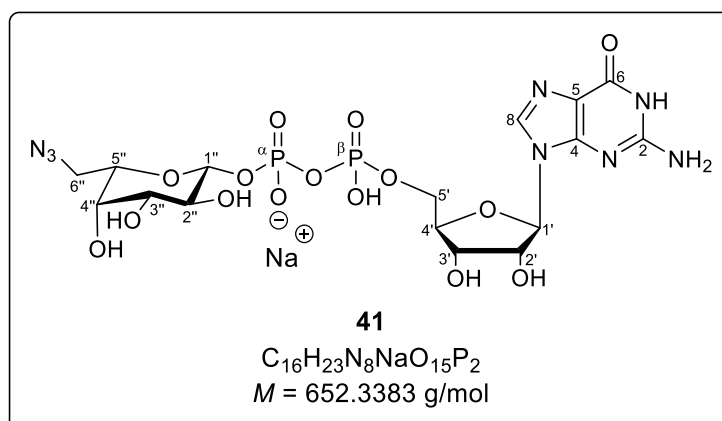
HRMS (ESI⁻, *m/z*): ber.: 225.0170 [M-H]⁻, gef.: 225.0173 [M-H]⁻G

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3255, 2943, 1663, 1227, 1041, 844.

9.2.6.5 Synthese von Guanosindiphosphat-6-azid-6-desoxy-β-L-Galactose als Natriumsalz 41

Die Reaktion wurde nach **AAV 16.1** durchgeführt. Es wurden dabei 120.6 mg (0.1960 mmol, 2.0 Äquiv.) 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-azid-6-desoxy-β-L-galactopyranosylphosphat in Form eines Tetrabutylammoniumsalzes (0.83 Bu₄N⁺) **32** in 2.0 mL abs. DMF und 61.4 mg (0.0986 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-Nitro-*cycloSal-N*²-acetyl-2',3'-di-*O*-acetylguanosinmonophosphat **40** in 2.5 mL abs. DMF eingesetzt. Die Reaktionszeit betrug 16 h. Die Deacetylierung erfolgte mit 6 mL des Gemisches aus CH₃OH, H₂O und Triethylamin (7:3:1 v/v/v) und einer Reaktionszeit von 16 h.

Ausbeute: 19.4 mg (0.0297 mmol, 30%) eines farblosen Feststoffes; **R_F-Wert** (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.51; **Drehwert:** $[\alpha]_{589\text{ nm}}^{25}$: -9.2 ° (*c* = 0.23, H₂O).



¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 8.09 (s, 1H, H-8), 5.96 (d, $^3J_{H,H} = 6.4$ Hz, 1H, H-1'), 5.04 – 4.91 (m, 1H, H-1''), 4.82 – 4.79 (m, 1H, H-2'), 4.55 (dd, $^3J_{H,H} = 5.3$ Hz, $^3J_{H,H} = 3.1$ Hz, 1H, H-3'), 4.38 (t, $^3J_{H,H} = 3.0$ Hz, 1H, H-4'), 4.29 – 4.16 (m, 2H, H-5'a, H-5'b), 3.91 – 3.85 (m, 1H, H-4''), 3.76 (t, $^3J_{H,H} = 6.7$ Hz, 1H, H-5''), 3.71 – 3.57 (m, 2H, H-2'', H-3''), 3.57 – 3.37 (m, 2H, H-6''a, H-6''b).

¹³C-NMR (101 MHz, D₂O): δ [ppm] = 151.9 (C-4), 137.8 (C-8), 116.4 (C-5), 98.5 (d, $^2J_{C,P} = 5.7$ Hz, C-1''), 86.8 (C-1'), 83.9 (d, $^3J_{C,P} = 9.3$ Hz, C-4'), 73.8 (C-5''), 73.5 (C-2'), 72.3 (C-3''), 71.2 (d, $^3J_{C,P} = 5.7$ Hz, C-2''), 70.6 (C-3'), 68.5 (C-4''), 65.3 (d, $^2J_{C,P} = 6.2$ Hz, C-5'), 50.3 (C-6'').

Anmerkung: Die ¹³C-Signale des C-2- und des C-6-Atoms konnten nicht identifiziert werden.

³¹P-NMR (162 MHz, D₂O): δ [ppm] = -11.17 (d, $^3J_{P,P} = 19.6$ Hz, P _{β}), -13.19 (d, $^3J_{P,P} = 20.0$ Hz, P _{α}).

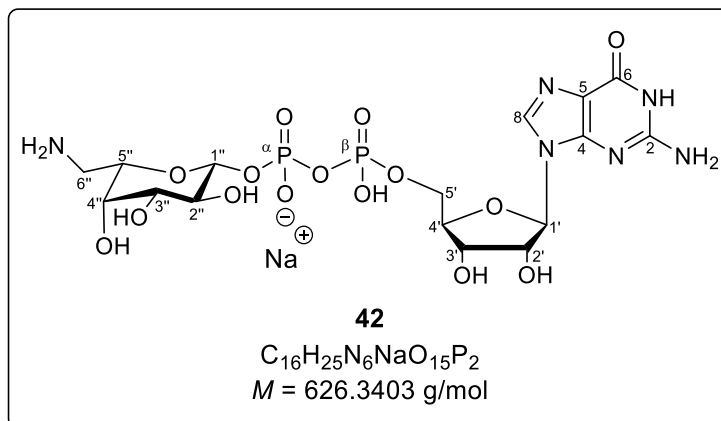
HRMS (ESI⁻, *m/z*): ber.: 629.0764 [M-H]⁻, gef.: 629.0756 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3365, 2951, 2918, 2107, 1694, 1456, 1376, 1238, 1061.

9.2.6.6 Synthese von Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose als Natriumsalz 42

Die Reaktion wurde unter Stickstoff als Inertgas durchgeführt. Es wurden 8.7 mg (0.013 mmol, 1.0 Äquiv.) Guanosindiphosphat-6-azid-6-desoxy- β -L-Galactose als Natriumsalz **41** in 3 mL abs. CH₃OH gelöst und mit einer katalytischen Menge Pd/C (10%ig) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde dann unter leichtem H₂-Überdruck für 2 d bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle: *i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) gerührt. Anschließend wurde der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach anschließender intensiver Trocknung im Ölpumpenvakuum konnte das Rohprodukt ohne weitere Reinigung für die nachfolgenden Synthesen verwendet werden.

Ausbeute: 8.2 mg (0.013 mmol, quantitativ) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.33.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): δ [ppm] = 8.04 (s, 1H, H-8), 5.98 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 6.3 \text{ Hz}$, 1H, H-1'), 4.93 – 4.91 (m, 1H, H-1''), 4.75 – 4.73 (m, 1H, H-2'), 4.48 (dd, $^3J_{\text{H,H}} = 5.3 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 3.3 \text{ Hz}$, 1H, H-3'), 4.32 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 2.9 \text{ Hz}$, 1H, H-4'), 4.21 – 4.13 (m, 2H, H-5'a, H-5'b), 3.91 – 3.88 (m, 1H, H-5''), 3.84 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 3.2 \text{ Hz}$, 1H, H-4''), 3.65 – 3.57 (m, 2H, H-2'', H-3''), 3.26 (dd, 1H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.2 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 2.3 \text{ Hz}$, H-6''a), 3.19 (dd, 1H, $^2J_{\text{H,H}} = 13.5 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H,H}} = 3.1 \text{ Hz}$, H-6''b).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, D_2O): δ [ppm] = 151.8 (C-4), 137.6 (C-8), 116.2 (C-5), 98.4 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 6.9 \text{ Hz}$, C-1''), 86.7 (C-1'), 83.8 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 9.4 \text{ Hz}$, C-4'), 73.8 (C-2'), 72.2 (C-2'), 72.0 (C-3''), 71.6 (C-5''), 71.0 (d, $^3J_{\text{C,P}} = 8.3 \text{ Hz}$, C-2''), 70.6 (C-3'), 68.7 (C-4''), 65.3 (d, $^2J_{\text{C,P}} = 6.3 \text{ Hz}$, C-5'), 40.2 (C-6'').

Anmerkung: Die ^{13}C -Signale des C-2- und des C-6-Atoms konnten nicht identifiziert werden.

$^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, D_2O): δ [ppm] = -11.48 (d, $^3J_{\text{P,P}} = 21.3 \text{ Hz}$, P_β), -13.19 (d, $^3J_{\text{P,P}} = 20.7 \text{ Hz}$, P_α).

HRMS (ESI⁺, m/z): ber.: 603.0859 [M-H]⁺, gef.: 603.0863 [M-H]⁺.

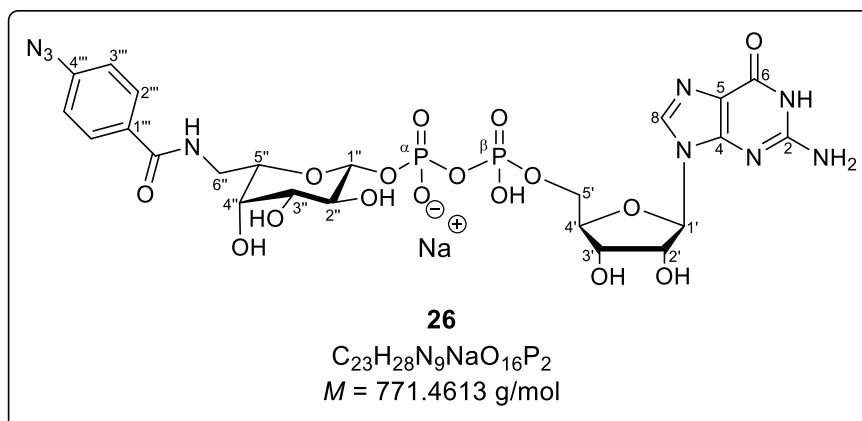
IR: $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}] = 3121, 1695, 1545, 1229, 1062, 823, 685.

9.2.6.7 Synthese von Guanosindiphosphat-6-(4-azidbenzoylamino)-6-desoxy- β -L-Galactose als Natriumsalz **26**

Es wurden zunächst in zwei separaten Kolben 9.0 mg (0.014 mmol, 1.0 Äquiv.) Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose als Natriumsalz **42** in 0.5 mL 100 mM Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und 7.3 mg (0.0280 mmol, 2.0 Äquiv.) *N*-(4-Azidbenzoyloxy)succinimid **87** in 0.5 mL abs. DMF gelöst. Die NHS-Ester-Lösung wurde anschließend langsam zur anderen Lösung hinzugegossen und das Reaktionsgemisch für 19 h bis zur vollständigen Umsetzung von **42** bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle: $i\text{PrOH}/\text{NH}_4\text{OAc}$ (1 M) 2:1 v/v). Die Lösungsmittel wurden danach im Ölpumpenvakuum entfernt

und das Rohprodukt zwei Mal mittels automatisierter Umkehrphasenchromatographie (RP-18) mit H₂O und einem CH₃CN-Gradienten (0-100%) als Eluenten gereinigt.

Ausbeute: 3.1 mg (4.0 μmol, 29%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (iPrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.39.



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 8.03 (s, 1H, H-8), 7.95 – 7.90 (m, 2H, H-2'''), 7.25 – 7.19 (m, 2H, H-3'''), 5.96 (d, ³J_{H,H} = 6.4 Hz, 1H, H-1'), 4.94 – 4.91 (m, 1H, H-1''), 4.75 – 4.72 (m, 1H, H-2'), 4.49 (dd, ³J_{H,H} = 5.2 Hz, ³J_{H,H} = 3.1 Hz, 1H, H-3'), 4.30 (t, ³J_{H,H} = 3.1 Hz, 1H, H-4'), 4.23 – 4.15 (m, 2H, H-5'a, H-5'b), 3.90 – 3.88 (m, 1H, H-5''), 3.83 (d, ³J_{H,H} = 3.2 Hz, 1H, H-4''), 3.67 – 3.55 (m, 2H, H-2'', H-3''), 3.21 (dd, 1H, ²J_{H,H} = 12.5 Hz, ³J_{H,H} = 2.5 Hz, H-6''a), 3.14 (dd, 1H, ²J_{H,H} = 12.9 Hz, ³J_{H,H} = 3.2 Hz, H-6''b).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 163.4 (C(O)NH), 142.5 (C-1'''), 130.3 (C-4'''), 129.2 (C-2'''), 118.9 (C-3'''), 151.6 (C-4), 137.5 (C-8), 116.1 (C-5), 98.2 (d, ²J_{C,P} = 6.9 Hz, C-1'), 86.5 (C-1'), 83.9 (d, ³J_{C,P} = 9.4 Hz, C-4'), 73.4 (C-2'), 72.1 (C-2'), 71.9 (C-3''), 71.6 (C-5''), 71.1 (d, ³J_{C,P} = 8.4 Hz, C-2''), 70.4 (C-3'), 68.4 (C-4''), 65.1 (d, ²J_{C,P} = 6.1 Hz, C-5'), 38.4 (C-6'').

Anmerkung: Die ¹³C-Signale des C-2- und des C-6-Atoms konnten nicht identifiziert werden.

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = -10.24 (d, ³J_{P,P} = 19.4 Hz, P_β), -13.28 (d, ³J_{P,P} = 19.7 Hz, P_α).

HRMS (ESI⁻, *m/z*): ber.: 748.1140 [M-H]⁻, gef.: 748.1093 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3340, 2931, 2849, 2109, 1676, 1576, 1085, 938.

9.2.6.8 Versuch der Synthese von Guanosindiphosphat-6-(2-(4-azidbenzoylamino)-ethanoylamino-6-desoxy-β-L-Galactose 27

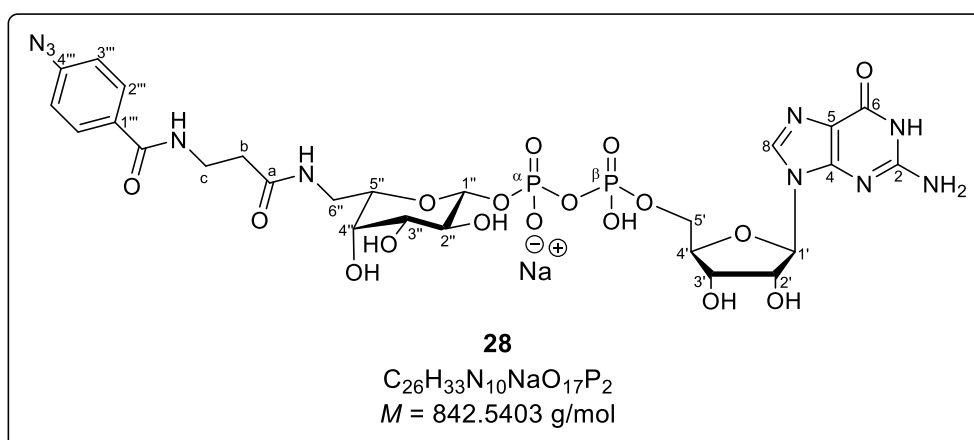
Es wurden zunächst in zwei separaten Kolben 4.3 mg (6.9 μmol, 1.0 Äquiv.) Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy-β-L-Galactose als Natriumsalz **42** in 0.5 mL 100 mM

Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und 8.9 mg (0.028 mmol, 4.1 Äquiv.) Succinimidyl-2-(4-azidbenzoylamin)acetat **95** in 0.2 mL abs. DMSO gelöst. Die NHS-Ester-Lösung wurde anschließend langsam zur anderen Lösung hinzuge tropft und das Reaktionsgemisch für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Dünnschichtchromatographisch konnte keine Umsetzung beobachtet werden (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v). Die Lösungsmittel wurden danach im Ölpumpenvakuum entfernt und das Rohgemisch mittels automatisierter Umkehrphasenchromatographie (RP-18) mit H₂O und einem CH₃CN-Gradienten (0-100%) als Eluenten gereinigt. Das gewünschte Produkt **27** konnte nicht erhalten werden.

9.2.6.9 Synthese von Guanosindiphosphat-6-(3-(4-azidbenzoylamino)-propanoylamino-6-desoxy-β-L-Galactose als Natriumsalz **28**

Es wurden zunächst in zwei separaten Kolben 4.1 mg (6.5 μmol, 1.0 Äquiv.) Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy-β-L-Galactose als Natriumsalz **42** in 0.5 mL 100 mM Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und 11.2 mg (0.028 mmol, 4.3 Äquiv.) Pentafluorphenyl-3-(4-azidbenzoylamin)propionat **99** in 0.2 mL abs. DMSO gelöst. Die PFP-Ester-Lösung wurde anschließend langsam zur anderen Lösung hinzuge tropft und das Reaktionsgemisch für 2 d bis zur vollständigen Umsetzung von **42** bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle: *i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v). Die Lösungsmittel wurden danach im Ölpumpenvakuum entfernt und das Rohprodukt zwei Mal mittels automatisierter Umkehrphasenchromatographie (RP-18) mit H₂O und einem CH₃CN-Gradienten (0-100%) als Eluenten gereinigt.

Ausbeute: 2.3 mg (2.7 μmol, 42%) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.39.



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 8.05 (s, 1H, H-8), 7.96 – 7.89 (m, 2H, H-2'''), 7.22 – 7.17 (m, 2H, H-3'''), 5.98 (d, ³J_{H,H} = 6.2 Hz, 1H, H-1'), 4.96 – 4.92 (m, 1H, H-1''), 4.76 – 4.72 (m, 1H, H-2'), 4.53 (dd, ³J_{H,H} = 5.4 Hz, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, 1H, H-3'), 4.26 (t, ³J_{H,H} = 2.9 Hz, 1H, H-4'), 4.22 – 4.16 (m, 2H, H-5'a, H-5'b), 3.92 – 3.88 (m, 1H, H-5''), 3.78 (d, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, 1H, H-4''), 3.66 – 3.57 (m, 4H, H-2'', H-3'', H-c), 3.18 (dd, 1H, ²J_{H,H} = 12.9 Hz, ³J_{H,H} = 2.2 Hz, H-6'a), 3.12 (dd, 1H, ²J_{H,H} = 12.6 Hz, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, H-6''b), 2.65 (t, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, 2H, H-b).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 162.3 (C(O)NH), 155.1 (C-6), 142.4 (C-1'''), 130.6 (C-4'''), 129.6 (C-2'''), 118.5 (C-3'''), 152.0 (C-4), 137.7 (C-8), 116.3 (C-5), 97.9 (d, ²J_{C,P} = 7.2 Hz, C-1''), 86.2 (C-1'), 84.2 (d, ³J_{C,P} = 9.6 Hz, C-4'), 73.1 (C-2'), 72.3 (C-2'), 72.2 (C-3'''), 71.4 (C-5''), 71.5 (d, ³J_{C,P} = 7.9 Hz, C-2''), 70.6 (C-3'), 68.2 (C-4''), 65.4 (d, ²J_{C,P} = 5.8 Hz, C-5'), 37.6 (C-6''), 37.3 (C-c), 34.3 (C-b).

Anmerkung: Das ¹³C-Signal des C-2-Atoms konnte nicht identifiziert werden.

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = -10.95 (d, ³J_{P,P} = 19.5 Hz, P_β), -13.05 (d, ³J_{P,P} = 19.6 Hz, P_α).

HRMS (ESI⁻, *m/z*): ber.: 819.1506 [M-H]⁻, gef.: 819.1523 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3352, 2918, 2895, 2123, 1646, 1512, 1456, 1085, 923.

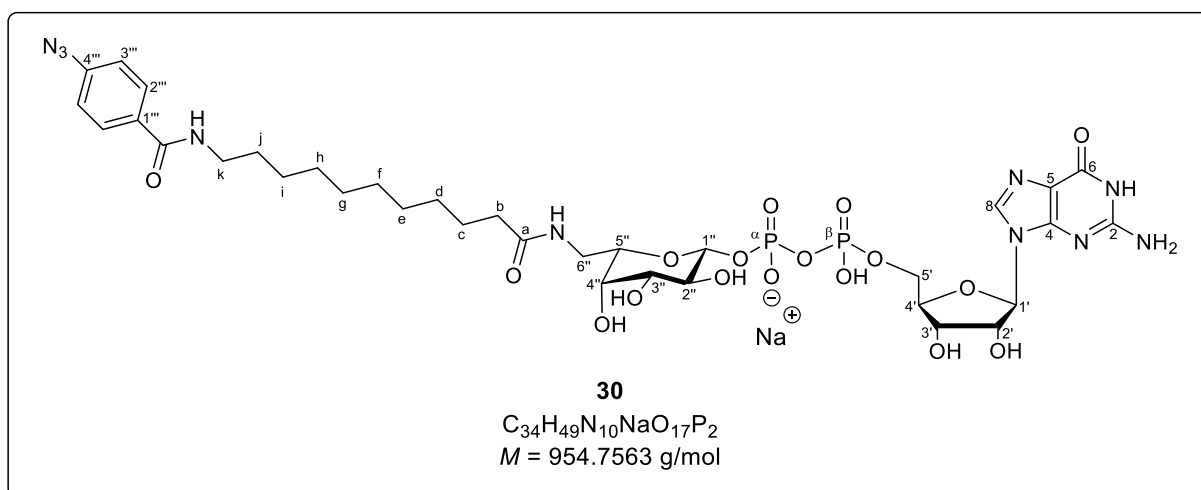
9.2.6.10 Versuch der Synthese von Guanosindiphosphat-6-(4-(4-azidbenzoylamino)-butanoylamino-6-desoxy-β-L-Galactose 29

Es wurden zunächst in zwei separaten Kolben 3.7 mg (5.9 μmol, 1.0 Äquiv.) Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy-β-L-Galactose als Natriumsalz **42** in 0.5 mL 100 mM Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und 9.9 mg (0.024 mmol, 4.1 Äquiv.) Pentafluorphenyl-4-(4-azidbenzoylamino)butyrat **100** in 0.2 mL abs. DMSO gelöst. Die PFP-Ester-Lösung wurde anschließend langsam zur anderen Lösung hinzugegossen und das Reaktionsgemisch für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Dünnschichtchromatographisch konnte eine Umsetzung nicht beobachtet werden (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v). Die Lösungsmittel wurden danach im Ölpumpenvakuum entfernt und das Rohgemisch mittels automatisierter Umkehrphasenchromatographie (RP-18) mit H₂O und einem CH₃CN-Gradienten (0-100%) als Eluenten gereinigt. Die gewünschte Verbindung **29** konnte nicht isoliert werden.

9.2.6.11 Synthese von Guanosindiphosphat-6-(11-(4-azidbenzoylamino)-undecanoylamino-6-desoxy- β -L-Galactose als Natriumsalz **30**

Es wurden zunächst in zwei separaten Kolben 5.2 mg (6.5 μ mol, 1.0 Äquiv.) Guanosindiphosphat-6-amino-6-desoxy- β -L-Galactose als Natriumsalz **42** in 1.0 mL 0.1 M Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und 10.0 mg (19.5 μ mol, 3.0 Äquiv.) Pentafluorphenyl-11-(4-azidbenzoylamin)undecanat **101** in 0.4 mL DMSO gelöst. Die Pentafluorphenylester-Lösung wurde anschließend langsam zur anderen Lösung hinzuge tropft und das Reaktionsgemisch für 11 h bei Raumtemperatur gerührt. Aufgrund von schlechter Löslichkeit beider Komponenten im verwendeten Lösungsmittelgemisch wurden dem Gemisch nacheinander 1 mL DMSO, 0.25 mL CH₃CN sowie 1 mL DMF hinzugegeben und die Lösung für 3 h bei 40 °C gerührt. Zur Steigerung des Umsatzes (DC-Kontrolle: CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) erfolgte schließlich die Zugabe von weiteren 6.7 mg (13 μ mol, 2.0 Äquiv.) Pentafluorphenyl-11-(4-azidbenzoylamin)undecanat **101** sowie von 100 μ L (0.588 mmol, 90.5 Äquiv.) DIPEA. Es wurde für weiter 4 h bei 40 °C gerührt und die Lösungsmittel anschließend im Ölpumpenvakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde zwei Mal mittels automatisierter Umkehrphasenchromatographie (RP-18) mit H₂O und einem CH₃CN-Gradienten (0-100%) als Eluenten gereinigt.

Ausbeute: 6.2 mg (6.5 μ mol, quantitativ) eines farblosen Feststoffes; **R_f-Wert** (CH₃CN/H₂O 5:1 v/v) 0.18.



¹H-NMR (600 MHz, D₂O): δ [ppm] = 8.29 (s, 1H, H-8), 7.83 – 7.72 (m, 2H, H-2'''), 7.18 (d, ³J_{H,H} = 8.2 Hz, 2H, H-3'''), 5.94 (t, ³J_{H,H} = 6.7 Hz, 1H, H-1'), 4.95 – 4.91 (m, 1H, H-1''), 4.76 – 4.73 (m, 1H, H-2'), 4.59 – 4.54 (m, 1H, H-3'), 4.42 – 4.33 (m, 1H, H-4'), 4.29 – 4.22 (m, 2H, H-5'a, H-5'b), 3.92 – 3.87 (m, 1H, H-5''), 3.86 – 3.80 (m, 1H, H-4''), 3.73 – 3.57 (m, 2H, H-2'', H-3''),

3.45 – 3.35 (m, 2H, H-k), 3.33 – 3.20 (m, 2H, H-6''a, H-6''b), 2.38 – 2.32 (m, 2H, H-b), 1.68 – 1.44 (m, 4H, H-c, H-j), 1.44 – 1.13 (m, 12H, H-d, H-e, H-f, H-g, H-h, H-i).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 162.9 (C-a), 142.7 (C-1'''), 130.1 (C-4'''), 129.4 (C-2'''), 119.2 (C-3'''), 151.4 (C-4), 137.2 (C-8), 116.4 (C-5), 97.8 (C-1''), 86.1 (C-1'), 83.7 (C-4'), 73.6 (C-2'), 72.4 (C-2'), 72.3 (C-3''), 71.4 (C-5''), 71.3 (C-2''), 70.4 (C-3'), 68.4 (C-4''), 65.5 (C-5'), 41.1 (C-k), 38.8 (C-6''), 34.9 (C-b), 30.6, 30.5, 30.5, 30.4, 30.4, 30.2, 28.1, 26.1 (C-c, C-d, C-e, C-f, C-g, C-h, C-i, C-j).

Anmerkung: Die ¹³C-Signale des C-2- und des C-6-Atoms konnten nicht identifiziert werden.

³¹P-NMR (243 MHz, D₂O): δ [ppm] = -11.11 (d, ³J_{P,P} = 19.8 Hz, P_β), -13.16 (d, ³J_{P,P} = 19.9 Hz, P_α).

HRMS (ESI⁻, m/z): ber.: 931.2758 [M-H]⁻, gef.: 931.2923 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3347, 2926, 2853, 2118, 1633, 1572, 1413, 1094, 950.

9.2.7 Versuch der Synthese von Guanosindiphosphat-C-β-L-Arabinose 25

Variante I:

Die Reaktion wurde nach **AAV 16.1** durchgeführt. Es wurden 15.7 mg (0.0417 mmol, 1.1 Äquiv.) (2,3,4-Tri-O-acetyl-β-L-arabinosyl)methylphosphonat als Natriumsalz **105** in 2 mL DMF abs. und 23.7 mg (0.0381 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-Nitro-cycloSal-N⁶-acetyl-2',3'-di-O-acetylguanosinmonophosphat **40** in 1.5 mL abs. DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 14.5 h. Die Deacetylierung erfolgte mit 3 mL des Gemisches aus CH₃OH, H₂O und Triethylamin (7:3:1 v/v/v) und einer Reaktionszeit von 19 h.

Das gewünschte Produkt konnte nicht erhalten werden.

Variante II:

Die Reaktion wurde nach **AAV 16.1** durchgeführt. Es wurden 20.8 mg (0.0553, 1.1 Äquiv.) β-L-Arabinosylmethylphosphonat als Tetrabutylammoniumsalz **103** in 3 mL DMF abs. und 31.0 mg (0.0498 mmol, 1.0 Äquiv.) 5-Nitro-cycloSal-2',3'-di-O-benzyloxycarbonylguanosinmonophosphat **45** in 3 mL abs. DMF verwendet. Die Reaktionszeit betrug 20.5 h. Die Deacetylierung erfolgte mit 3 mL des Gemisches aus CH₃OH, H₂O und Triethylamin (7:3:1 v/v/v) und einer Reaktionszeit von 17 h.

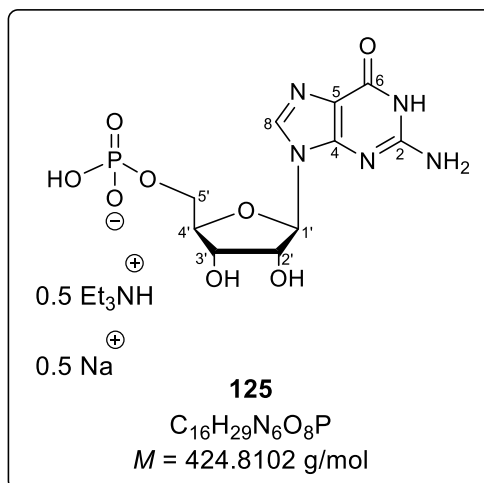
Das gewünschte Produkt konnte nicht erhalten werden.

9.2.8 Synthese von Guanosinmonophosphat als Triethylammoniumsalz 125

Guanosinmonophosphat als Triethylammoniumsalz **125** wurde beim Versuch der Synthese von Guanosindiphosphat-C- β -L-Arabinose **25** nach **AAV 16.1** isoliert.

Ausbeute: 4.6 mg (0.011 mmol, 28%) eines hellgelben Feststoffes; **R_F-Wert** (*i*PrOH/NH₄OAc (1 M) 2:1 v/v) 0.38; **Drehwert:** $[\alpha]_{589}^{25}$: -55.6 ° (*c* = 0.05, H₂O); **Schmelzpunkt:** 195 °C (Zersetzung).

Anmerkung: Zur Vereinfachung wurde die Summenformel für ein Triethylammonium-Gegenion angegeben. Für die Berechnung des Molekulargewichtes wurde beachtet, dass tatsächlich 0.5 vorliegen. Für die fehlenden 0.5 Gegenionen wurden Natrium-Kationen angenommen.



¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ [ppm] = 8.12 (s, 1H, H-8), 5.93 (d, ³J_{H,H} = 6.1 Hz, 1H, H-1'), 4.73 (t, ³J_{H,H} = 5.6 Hz, 1H, H-2'), 4.46 (dd, ³J_{H,H} = 5.2 Hz, ³J_{H,H} = 3.4 Hz, 1H, H-3'), 4.33 (dd, ³J_{H,H} = 3.5 Hz, ³J_{H,H} = 2.1 Hz, 1H, H-4'), 4.10 (ddd, ³J_{H,H} = 5.1 Hz, ³J_{H,H} = 3.3 Hz, ³J_{H,H} = 1.3 Hz, 2H, H-5'), 3.19 (q, ³J_{H,H} = 7.4 Hz, 3H, NH(CH₂CH₃)₃⁺), 1.26 (t, ³J_{H,H} = 7.3 Hz, 5H, NH(CH₂CH₃)₃⁺).

¹³C-NMR (151 MHz, D₂O): δ [ppm] = 152.3 (C-4), 137.7 (C-8), 86.8 (C-1'), 73.7 (C-2'), 70.4 (C-3'), 83.9 (C-4'), 64.5 (d, ²J_{C,P} = 7.3 Hz, C-5'), 46.6 (NH(CH₂CH₃)₃⁺), 8.2 (NH(CH₂CH₃)₃⁺).

³¹P-NMR (162 MHz, D₂O): δ [ppm] = 0.25.

HRMS (ESI, *m/z*): ber.: 362.0507 [M-H]⁻, gef.: 362.0503 [M-H]⁻.

IR: $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹] = 3461, 3119, 3048, 1675, 1586, 1033, 794.

Anmerkung: Die ¹³C-Signale des C-5- und des C-6-Atoms konnten nicht identifiziert werden.

10 Literaturverzeichnis

- [1] Wong, C.-H., Halcomb, R. L., Ichikawa, Y., Kajimoto, T., Enzymes in Organic Synthesis: Application to the Problems of Carbohydrate Recognition (Part 1) *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 412–432.
- [2] Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L., *Biochemie*, 5th ed.; Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg/Berlin, 2003.
- [3] Staudacher, E., März, L., Strict order of (Fuc to Asn-linked GlcNAc) fucosyltransferases forming core-difucosylated structures *Glycoconj. J.* **1998**, *15*, 355–360.
- [4] Becker, D. J., Lowe, J. B., Fucose: Biosynthesis and biological function in mammals *Glycobiology* **2003**, *13*, 41R–53R.
- [5] Kaneko, M., Kudo, T., Iwasaki, H., Ikehara, Y., Nishihara, S., Nakagawa, S., Sasaki, K., Shiina, T., Inoko, H., Saitou, N., Narimatsu, H., Alpha1,3-fucosyltransferase IX (Fuc-TIX) is very highly conserved between human and mouse; molecular cloning, characterization and tissue distribution of human Fuc-TIX. *FEBS Lett.* **1999**, *452*, 237–242.
- [6] Lunau, N., Seelhorst, K., Kahl, S., Tscherch, K., Stacke, C., Rohn, S., Thiem, J., Hahn, U., Meier, C., Fluorescently labeled substrates for monitoring α 1,3- fucosyltransferase IX activity *Chem. - A Eur. J.* **2013**, *19*, 17379–17390.
- [7] Moffatt, J. G., Khorana, H. G., Nucleoside Polyphosphates. X. The Synthesis and Some Reactions of Nucleoside-5' Phosphoromorpholidates and Related Compounds. Improved Methods for the Preparation of Nucleoside-5' Polyphosphates *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 649–658.
- [8] Ververidis, F., Trantas, E., Douglas, C., Vollmer, G., Kretzschmar, G., Panopoulos, N., Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health *Biotechnol. J.* **2007**, *2*, 1214–1234.
- [9] Herrmann, K., Flavonols and flavones in food plants: a review *J. Food Technol.* **1976**, *11*, 433–448.
- [10] Frydman, A., Weisshaus, O., Bar-Peled, M., Huhman, D. V., Sumner, L. W., Marin, F. R., Lewinsohn, E., Fluhr, R., Gressel, J., Eyal, Y., Citrus fruit bitter flavors: Isolation and functional characterization of the gene *Cm1,2RhaT* encoding a 1,2 rhamnosyltransferase, a key enzyme in the biosynthesis of the bitter flavonoids of citrus

- Plant J.* **2004**, *40*, 88–100.
- [11] Rabausch, U., Juergensen, J., Ilmberger, N., Böhnke, S., Fischer, S., Schubach, B., Schulte, M., Streit, W. V., Functional screening of metagenome and genome libraries for detection of novel flavonoid-modifying enzymes *Appl. Environ. Microbiol.* **2013**, *79*, 4551–4563.
- [12] Wolf, S., Zismann, T., Lunau, N., Meier, C., Reliable synthesis of various nucleoside diphosphate glycopyranoses *Chem. - A Eur. J.* **2009**, *15*, 7656–7664.
- [13] Wolf, S., Zismann, T., Lunau, N., Warnecke, S., Wendicke, S., Meier, C., A convenient synthesis of nucleoside diphosphate glycopyranoses and other polyphosphorylated bioconjugates *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 63–75.
- [14] Wolf, S., Berrio, R. M., Meier, C., Synthesis of nonnatural nucleoside diphosphate sugars *European J. Org. Chem.* **2011**, No. 31, 6304–6313.
- [15] Lindhorst, T. K., *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 1st ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH: Weinheim, 2007.
- [16] Fuster, M. M., Esko, J. D., The sweet and sour of cancer: Glycans as novel therapeutic targets *Nat. Rev. Cancer* **2005**, *5*, 526–542.
- [17] Moremen, K. W., Tiemeyer, M., Nairn, A. V., Vertebrate protein glycosylation: Diversity, synthesis and function *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2012**, *13*, 448–462.
- [18] Bennett, E. P., Mandel, U., Clausen, H., Gerken, T. A., Fritz, T. A., Tabak, L. A., Control of mucin-type O-glycosylation: A classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family *Glycobiology* **2012**, *22*, 736–756.
- [19] Clausen, H., Bennett, E. P., A family of UDP-GalNAc: polypeptide *N*-acetylgalactosaminyl-transferases control the initiation of mucin-type O-Glycosylation *Glycobiology* **1996**, *6*, 635–646.
- [20] Paulick, M. G., Bertozzi, C. R., The glycosylphosphatidylinositol anchor: A complex membrane-anchoring structure for proteins *Biochemistry* **2008**, *47*, 6991–7000.
- [21] Schwarz, F., Aebi, M., Mechanisms and principles of N-linked protein glycosylation *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2011**, *21*, 576–582.
- [22] Lairson, L. L., Henrissat, B., Davies, G. J., Withers, S. G., Glycosyltransferases: Structures, Functions, and Mechanisms *Annu. Rev. Biochem.* **2008**, *77*, 521–555.
- [23] Wong, C., Halcomb, R. L., Ichikawa, Y., Kajimoto, T., Enzymes in Organic Synthesis: Application to the Problems of Carbohydrate Recognition (Part 2) *Angew. Chem. Int.*

- Ed.* **1995**, *34*, 521–546.
- [24] Leloir, L. F., Two Decades of Research on the Biosynthesis of Saccharides *Science (80-)*. **1971**, *172*, 1299–1303.
- [25] Breton, C., Šnajdrová, L., Jeanneau, C., Koča, J., Imberty, A., Structures and mechanisms of glycosyltransferases *Glycobiology* **2006**, *16*, 29–37.
- [26] Paulson, J. C., Colley, K. J., Glycosyltransferases. Structure, localization, and control of cell type-specific glycosylation *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 17615–17618.
- [27] Imberty, A., Varrot, A., Microbial recognition of human cell surface glycoconjugates *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2008**, *18*, 567–576.
- [28] Marth, J. D., Grewal, P. K., Mammalian glycosylation in immunity *Nat. Rev. Immunol.* **2008**, *8*, 874–887.
- [29] Dube, D. H., Bertozzi, C. R., Glycans in cancer and inflammation - Potential for therapeutics and diagnostics *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 477–488.
- [30] Kannagi, R., Yin, J., Miyazaki, K., Izawa, M., Current relevance of incomplete synthesis and neo-synthesis for cancer-associated alteration of carbohydrate determinants-Hakomori's concepts revisited *Biochim. Biophys. Acta* **2008**, *1780*, 525–531.
- [31] Buckhaults, P., Chen, L., Fregien, N., Pierce, M., Transcriptional Regulation of *N*-Acetylglucosaminyltransferase V by the *src* Oncogene *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 19575–19581.
- [32] Hatano, K., Miyamoto, Y., Nonomura, N., Kaneda, Y., Expression of gangliosides, GD1a, and sialyl paragloboside is regulated by NF- κ B-dependent transcriptional control of α 2,3-sialyltransferase I, II, and VI in human castration-resistant prostate cancer cells *Int. J. Cancer* **2011**, *129*, 1838–1847.
- [33] Pinho, S. S., Oliveira, P., Cabral, J., Carvalho, S., Huntsman, D., Gärtner, F., Seruca, R., Reis, C. A., Oliveira, C., Loss and recovery of *Mgat3* and GnT-III mediated E-cadherin N-glycosylation is a mechanism involved in epithelial-mesenchymal-epithelial transitions *PLoS One* **2012**, *7*, 1–9.
- [34] Schietinger, A., Philip, M., Yoshida, B. A., Azadi, P., Liu, H., Meredith, S. C., Schreiber, H., A Mutant Chaperone Converts a Wild-Type Protein into a Tumor-Specific Antigen *Science (80-)*. **2006**, *314*, 304–308.
- [35] Aryal, R. P., Ju, T., Cummings, R. D., The endoplasmic reticulum chaperone cosmc directly promotes *in vitro* folding of T-synthase *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 2456–2462.

- [36] Kakugawa, Y., Wada, T., Yamaguchi, K., Yamanami, H., Ouchi, K., Sato, I., Miyagi, T., Up-regulation of plasma membrane-associated ganglioside sialidase (Neu3) in human colon cancer and its involvement in apoptosis suppression *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99*, 10718–10723.
- [37] Pinho, S. S., Figueiredo, J., Cabral, J., Carvalho, S., Dourado, J., Magalhães, A., Gärtner, F., Mendonça, A. M., Isaji, T., Gu, J., Carneiro, F., Seruca, R., Taniguchi, N., Reis, C. A., E-cadherin and adherens-junctions stability in gastric carcinoma: Functional implications of glycosyltransferases involving N-glycan branching biosynthesis, N-acetylglucosaminyltransferases III and v *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, *1830*, 2690–2700.
- [38] Zhao, Y., Sato, Y., Isaji, T., Fukuda, T., Matsumoto, A., Miyoshi, E., Gu, J., Taniguchi, N., Branched N-glycans regulate the biological functions of integrins and cadherins *FEBS J.* **2008**, *275*, 1939–1948.
- [39] Croci, D. O., Cerliani, J. P., Dalotto-Moreno, T., Méndez-Huergo, S. P., Mascanfroni, I. D., Dergan-Dylon, S., Toscano, M. A., Caramelo, J. J., García-Vallejo, J. J., Ouyang, J., Mesri, E. A., Junttila, M. R., Bais, C., Shipp, M. A., Salatino, M., Rabinovich, G. A., Glycosylation-dependent lectin-receptor interactions preserve angiogenesis in anti-VEGF refractory tumors *Cell* **2014**, *156*, 744–758.
- [40] Rosen, S. D., Bertozzi, C. R., The selectins and their ligands *Curr. Opin. Cell Biol.* **1994**, *6*, 663–673.
- [41] Pinho, S. S., Reis, C. A., Glycosylation in cancer: Mechanisms and clinical implications *Nat. Rev. Cancer* **2015**, *15*, 540–555.
- [42] Lowe, J. B., Stoolman, L. M., Nair, R. P., Larsen, R. D., Behrend, T. L., Marks, R. M., A transfected human fucosyltransferase cDNA determines biosynthesis of oligosaccharide ligand(s) for endothelial-leukocyte adhesion molecule I *Biochem. Soc. Trans.* **1991**, *19*, 649–653.
- [43] Larkin, M., Ahern, T. J., Stoll, M. S., Shaffer, M., Sako, D., O'Brien, J., Yuen, C.-T., Lawson, A. M., Childs, R. A., Barone, K. M., Langer-Safer, P. R., Hasegawa, A., Kiso, M., Larsen, G. R., Feizi, T., Spectrum of sialylated and nonsialylated fuco-oligosaccharides bound by the endothelial-leukocyte adhesion molecule E-selectin. Dependence of the carbohydrate binding activity on E-selectin density *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 13661–13668.
- [44] Miyoshi, E., Moriwaki, K., Nakagawa, T., Biological function of fucosylation in cancer

- biology *J. Biochem.* **2008**, *143*, 725–729.
- [45] Weston, B. W., Hiller, K. M., Mayben, J. P., Manousos, G. A., Bendt, K. M., Liu, R., Cusack Jr., J. C., Expression of human $\alpha(1,3)$ fucosyltransferase antisense sequences inhibits selectin-mediated adhesion and liver metastasis of colon carcinoma cells *Cancer Res.* **1999**, *59*, 2127–2135.
- [46] Sell, S., Cancer-associated carbohydrates identified by monoclonal antibodies *Hum. Pathol.* **1990**, *21*, 1003–1019.
- [47] Taylor-Papadimitriou, J., Epenetos, A., Exploiting altered glycosylation patterns in cancer: Progress and challenges in diagnosis and therapy *Trends Biotechnol.* **1994**, *12*, 227–233.
- [48] Tu, Z., Lin, Y.-N., Lin, C.-H., Development of fucosyltransferase and fucosidase inhibitors *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4459.
- [49] McMillan, B. J., Zimmerman, B., Egan, E. D., Lofgren, M., Xu, X., Hesser, A., Blacklow, S. C., Structure of human POFUT1, its requirement in ligand-independent oncogenic Notch signaling, and functional effects of Dowling-Degos mutations *Glycobiology* **2017**, *27*, 777–786.
- [50] Chen, C. I., Keusch, J. J., Klein, D., Hess, D., Hofsteenge, J., Gut, H., Structure of human POFUT2: insights into thrombospondin type 1 repeat fold and O-fucosylation *EMBO J.* **2012**, *31*, 3183–3197.
- [51] Mollicone, R., Cailleau, A., Oriol, R., Molecular genetics of H, Se, Lewis and other fucosyltransferase genes *Transfus. Clin. Biol.* **1995**, *2*, 235–242.
- [52] Yanagidani, S., Uozumi, N., Ihara, Y., Miyoshi, E., Yamaguchi, N., Taniguchi, N., Purification and cDNA Cloning of GDP-L-Fuc: N-Acetyl- β -D-Glucosaminide: α 1-6 Fucosyltransferase (α 1-6 FucT) from Human Gastric Cancer MKN45 Cells *J. Biochem.* **1997**, *121*, 626–632.
- [53] Wyss, D. F., Choi, J. S., Li, J., Knoppers, M. H., Willis, K. J., Arulanandam, A. R. N., Smolyar, A., Reinherz, E. L., Wagner, G., Conformation and function of the N-linked glycan in the adhesion domain of human CD2. *Science (80-)*. **1995**, *269*, 1273–1278.
- [54] Prieels, J. P., Monnom, D., Dolmans, M., Beyer, T. A., Hill, R. L., Co-purification of the lewis blood group N-acetylglucosaminide α 1 \rightarrow 4 fucosyltransferase and an N-acetylglucosaminide α 1 \rightarrow 3 fucosyltransferase from human milk *J. Biol. Chem.* **1981**, *256*, 10456.

- [55] Mollicone, R., Gibaud, A., Francois, A., Ratcliffe, M., Oriol, R., Acceptor specificity and tissue distribution of three human α -3-fucosyltransferases *Eur J Biochem* **1990**, *191*, 169–176.
- [56] Weston, B. W., Smith, P. L., Kelly, R. J., Lowenii, J. B., Molecular Cloning of a Fourth Member of a Human α (1,3)Fucosyltransferase Gene Family *Oligonucleotides* **1992**, *267*, 24575–24584.
- [57] Sasaki, K., Kurata, K., Funayama, K., Nagata, M., Watanabe, E., Ohta, S., Hanai, N., Nishi, T., Expression cloning of a novel α 1,3-fucosyltransferase that is involved in biosynthesis of the sialyl Lewis x carbohydrate determinants in leukocytes. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 14730–14737.
- [58] Toivonen, S., Nishihara, S., Narimatsu, H., Renkonen, O., Renkonen, R., Fuc-TIX: a versatile α 1,3-fucosyltransferase with a distinct acceptor- and site-specificity profile *Glycobiology* **2002**, *12*, 361–368.
- [59] Mollicone, R., Moore, S. E. H., Bovin, N., Garcia-Rosasco, M., Candelier, J. J., Martinez-Duncker, I., Oriol, R., Activity, splice variants, conserved peptide motifs, and phylogeny of two New α 1,3-fucosyltransferase families (FUT10 and FUT11) *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 4723–4738.
- [60] Protein Data Bank <https://www.rcsb.org/> (letzter Zugriff: 18.07.2018).
- [61] Ihara, H., Ikeda, Y., Toma, S., Wang, X., Suzuki, T., Gu, J., Miyoshi, E., Tsukihara, T., Honke, K., Crystal structure of mammalian α 1,6-fucosyltransferase, FUT8 *Glycobiology* **2007**, *17*, 455–466.
- [62] Kötzler, M. P., Blank, S., Bantleon, F. I., Spillner, E., Meyer, B., Donor substrate binding and enzymatic mechanism of human core α 1,6-fucosyltransferase (FUT8) *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, *1820*, 1915–1925.
- [63] Sun, H. Y., Lin, S. W., Ko, T. P., Pan, J. F., Liu, C. L., Lin, C. N., Wang, A. H. J., Lin, C. H., Structure and mechanism of Helicobacter pylori fucosyltransferase: A basis for lipopolysaccharide variation and inhibitor design *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 9973–9982.
- [64] Murray, B. W., Wittmann, V., Burkart, M. D., Hung, S. C., Wong, C. H., Mechanism of human α -1,3-fucosyltransferase V: Glycosidic cleavage occurs prior to nucleophilic attack *Biochemistry* **1997**, *36*, 823–831.
- [65] Nishihara, S., Iwasaki, H., Nakajima, K., Togayachi, A., Ikehara, Y., Kudo, T., Kushi, Y., Furuya, A., Shitara, K., Narimatsu, H., α 1,3-Fucosyltransferase IX (Fut9) determines Lewis X expression in brain *Glycobiology* **2003**, *13*, 445–455.

- [66] Brito, C., Gouveia, R., Costa, J., Stable expression of an active soluble recombinant form of human fucosyltransferase IX in *Spodoptera frugiperda* Sf9 cells *Biotechnol. Lett.* **2007**, *29*, 1623–1630.
- [67] Ma, B., Wang, G., Palcic, M. M., Hazes, B., Taylor, D. E., C-terminal amino acids of *Helicobacter pylori* α 1,3/4 fucosyltransferases determine Type I and Type II transfer *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 21893–21900.
- [68] Stacke, C., Ziegelmüller, P., Hahn, U., Comparison of expression systems for human fucosyltransferase IX *Eur. J. Cell Biol.* **2010**, *89*, 35–38.
- [69] Stacke, C., Human fucosyltransferase IX : Production, purification and characterisation, Dissertation, Universität Hamburg, 2010.
- [70] Seelhorst, K., Stacke, C., Ziegelmüller, P., Hahn, U., N-Glycosylations of human α 1,3-fucosyltransferase IX are required for full enzyme activity. *Glycobiology* **2013**, *23*, 559–567.
- [71] Mesters, J. R., Hilgenfeld, R., Protein Glycosylation , Sweet to Crystal Growth? *Cryst. Growth Des.* **2007**, *11*, 18–20.
- [72] Wagner, G. K., Pesnot, T., Glycosyltransferases and their assays *ChemBioChem* **2010**, *11*, 1939–1949.
- [73] Maeda, T., Nishimura, S.-I., FRET-based direct and continuous monitoring of human fucosyltransferases activity: an efficient synthesis of versatile GDP-L-fucose derivatives from abundant D-galactose. *Chemistry* **2008**, *14*, 478–487.
- [74] Seelhorst, K., Pahnke, K., Meier, C., Hahn, U., Tagging Glycoproteins with Fluorescently Labeled GDP-Fucoses by Using α 1,3-Fucosyltransferases *ChemBioChem* **2015**, *16*, 1919–1924.
- [75] Edward, A. S., Thornton, E. R., Westheimer, F. H., The Photolysis of Diacetylchymotrypsin *J. Biol. Chem.* **1962**, *237*, 3006–3008.
- [76] Vaughan, R. J., Westheimer, F. H., A Method for Marking the Hydrophobic Binding Sites of Enzymes. An Insertion into the Methyl Group of an Alanine Residue of Trypsin *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 217–218.
- [77] Robinette, D., Neamati, N., Tomer, K. B., Borchers, C. H., Photoaffinity labeling combined with mass spectrometric approaches as a tool for structural proteomics *Expert Rev. Proteomics* **2006**, *3*, 399–408.
- [78] Kotzyba-Hilbert, F., Kapfer, I., Goeldner, M., Recent trends in photoaffinity labeling

- Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 1296–1312.
- [79] Tanaka, Y., Bond, M. R., Kohler, J. J., Photocrosslinkers illuminate interactions in living cells *Mol. Biosyst.* **2008**, *4*, 473.
- [80] Dormán, G., Prestwich, G. D., Benzophenone Photophores in Biochemistry *Biochemistry* **1994**, *33*, 5661–5673.
- [81] Wittelsberger, A., Thomas, B. E., Mierke, D. F., Rosenblatt, M., Methionine acts as a “magnet” in photoaffinity crosslinking experiments *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 1872–1876.
- [82] Blencowe, A., Hayes, W., Development and application of diazirines in biological and synthetic macromolecular systems *Soft Matter* **2005**, *1*, 178–205.
- [83] Bayley, H., *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology: Photogenerated Reagents in Biochemistry and Molecular Biology*, Elsevier: Amsterdam, New York, Oxford, 1983.
- [84] Brunner, J., Senn, H., Richards, F. M., 3-Trifluoromethyl-3-phenyldiazirine. A new carbene generating group for photolabeling reagents. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 3313–3318.
- [85] Bou-Hamdan, F. R., Lévesque, F., O'Brien, A. G., Seeberger, P. H., Continuous flow photolysis of aryl azides: Preparation of 3*H*-azepinones *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 1124–1129.
- [86] Knowles, J. R., Photogenerated Reagents for Biological Receptor-Site Labeling *Acc. Chem. Res.* **1972**, *5*, 155–160.
- [87] Albini, A., Bettinetti, G., Minoli, G., Reactivity of singlet and triplet arylnitrenes: Temperature-dependent photodecomposition of 1-(2-azidophenyl)-3,5-dimethylpyrazole *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7308–7315.
- [88] Luchansky, S. J., Goon, S., Bertozzi, C. R., Expanding the diversity of unnatural cell-surface sialic acids *ChemBioChem* **2004**, *5*, 371–374.
- [89] Suwal, S., Pflum, M. K. H., Phosphorylation-dependent kinase-substrate cross-linking *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1627–1630.
- [90] Fleet, G. W. J., Porter, R. R., Knowles, J. R., Affinity labelling of antibodies with aryl nitrene as reactive group *Nature* **1969**, *224*, 511–512.
- [91] Dalhoff, C., Hüben, M., Lenz, T., Poot, P., Nordhoff, E., Köster, H., Weinhold, E., Synthesis of S-adenosyl-L-homocysteine capture compounds for selective photoinduced isolation of methyltransferases *ChemBiochem* **2010**, *11*, 256–265.

- [92] Köster, H., Little, D. P., Luan, P., Muller, R., Siddiqi, S. M., Marappan, S., Yip, P., Capture Compound Mass Spectrometry: A Technology for the Investigation of Small Molecule Protein Interactions *Assay Drug Dev. Technol.* **2007**, *5*, 381–390.
- [93] Michaelis, S., Marais, A., Schrey, A. K., Graebner, O. Y., Schaudt, C., Sefkow, M., Kroll, F., Dreger, M., Glinski, M., Koester, H., Metternich, R., Fischer, J. J., Dabigatran and dabigatran ethyl ester: potent inhibitors of ribosyldihydronicotinamide dehydrogenase (NQO2). *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 3934–3944.
- [94] Luo, Y., Blex, C., Baessler, O., Glinski, M., Dreger, M., Sefkow, M., Köster, H., The cAMP capture compound mass spectrometry as a novel tool for targeting cAMP-binding proteins: from protein kinase A to potassium/sodium hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels. *Mol. Cell. Proteomics* **2009**, *8*, 2843–2856.
- [95] Paetzel, M., Dalbey, R. E., Strynadka, N. C., Crystal structure of a bacterial signal peptidase in complex with a β -lactam inhibitor *Nature* **1998**, *396*, 186–190.
- [96] Huang, H., Structure of a Covalently Trapped Catalytic Complex of HIV-1 Reverse Transcriptase: Implications for Drug Resistance *Science (80-)*. **1998**, *282*, 1669–1675.
- [97] Jung, K., Schmidt, R. R., Glycosyltransferase Inhibitors. In *Carbohydrate-Based Drug Discovery*; Wong, C.-H., Ed.; WILEY-VCH Verlag GmbH: Weinheim, 2003.
- [98] Cai, S., Stroud, M. R., Hakomori, S., Toyokuni, T., Synthesis of Carbocyclic Analogues of Guanosine 5'-(β -L-Fucopyranosyl diphosphate) (GDP-Fucose) as Potential Inhibitors of Fucosyltransferases *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6693–6696.
- [99] Mitchell, M. L., Tian, F., Lee, L. V., Wong, C. H., Synthesis and evaluation of transition-state analogue inhibitors of α -1,3-fucosyltransferase *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 3041–3044.
- [100] L. V. Lee, L. Mitchell, S. Huang, Fokin, V. V., K. Barry Sharpless, A., Wong, C.-H., A Potent and Highly Selective Inhibitor of Human α -1,3-Fucosyltransferase via Click Chemistry *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9588–9589.
- [101] Schäfer, A., Thiem, J., Synthesis of Novel Donor Mimetics of UDP-Gal, UDP-GlcNac, and UDP-GalNac as Potential Transferase Inhibitors *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 24–29.
- [102] Kovensky, J., Mcneil, M., Sinay, P., D-Galactofuranosylphosphonates. First Synthesis of UDP-C-D-galactofuranose **1999**, No. 4, 6202–6205.
- [103] Chang, R., Vo, T. T., Finney, N. S., Synthesis of the C1-phosphonate analog of UDP-GlcNac *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1998–2004.

- [104] Hajduch, J., Nam, G., Kim, E. J., Fröhlich, R., Hanover, J. A., Kirk, K. L., A convenient synthesis of the C-1-phosphonate analogue of UDP-GlcNAc and its evaluation as an inhibitor of O-linked GlcNAc transferase (OGT) *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 189–195.
- [105] Schmidt, R. R., Frische, K., A new galactosyltransferase inhibitor *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 1747–1750.
- [106] Levy, D. E., Tang, C., *The Chemistry of C-Glycosides*, 1st ed.; Elsevier Ltd: Exeter, 1995.
- [107] Luengo, J. I., Gleason, J. G., Synthesis of C-fucopyranosyl analogs of GDP-L-fucose as inhibitors of fucosyltransferases *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6911–6914.
- [108] Vidal, S., Bruyère, I., Malleron, A., Augé, C., Praly, J. P., Non-isosteric C-glycosyl analogues of natural nucleotide diphosphate sugars as glycosyltransferase inhibitors *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 7293–7301.
- [109] Christiansen, M. N., Chik, J., Lee, L., Anugraham, M., Abrahams, J. L., Packer, N. H., Cell surface protein glycosylation in cancer *Proteomics* **2014**, *14*, 525–546.
- [110] RCSB Protein Data Bank <http://www.rcsb.org> (letzter Zugriff: 03.05.2018).
- [111] Lunau, N., Synthese seltener und funktionalisierter Nucleosiddiphosphat-Zucker, Dissertation, Universität Hamburg, 2012.
- [112] Seelhorst, K., α -1,3-Fucosyltransferasen - Analyse konservierter Motive, Fluoreszenz-basierte Aktivitätsassays und Inhibitorstudien, Dissertation, Universität Hamburg, 2014.
- [113] Seelhorst, K., Pahnke, K., Meier, C., Hahn, U., Tagging Glycoproteins with Fluorescently Labeled GDP-Fucoses by Using α 1,3-Fucosyltransferases *ChemBioChem* **2015**, *16*, 1919–1924.
- [114] Chung, S. Y., Subbiah, S., A structural explanation for the twilight zone of protein sequence homology *Structure* **1996**, *4*, 1123–1127.
- [115] Pahnke, K., Synthese funktionalisierter Zuckernucleotide und deren Anwendbarkeit als biologische Tools, Dissertation, Universität Hamburg, 2017.
- [116] Ogilvie, K. K., Iwacha, D. J., Use of the tert-Butyldimethylsilyl Group for Protecting the Hydroxyl Functions of Nucleosides *Tetrahedron Lett.* **1973**, *4*, 317–319.
- [117] Pirrung, M. C., Shuey, S. W., Lever, D. C., Fallon, L., A convenient procedure for the deprotection of silylated nucleosides and nucleotides using triethylamine trihydrofluoride *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 1345–1346.

- [118] Corey, E. J., Venkateswarlu, A., Protection of Hydroxyl Groups as tert-Butyldimethylsilyl Derivatives *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190–6191.
- [119] Zismann, T., Synthese von Nucleosiddiphosphatglycosiden basierend auf acceptorsubstituierten *cycloSal*-Nucleosidmonophosphateestern, Universität Hamburg, 2011.
- [120] Panero, J., Trelles, J., Rodano, V., Iglesias, L. E., Lewkowicz, E. S., Iribarren, A. M., Microbial hydrolysis of acetylated nucleosides *Biotechnol. Lett.* **2006**, *28*, 1077–1081.
- [121] Singh, H. K., Cote, G. L., Sikors, R. S., Enzymatic regioselective deacylation of 2',3',5'-tri-O-acylribonucleosides: Enzymatic synthesis of 2',3'-di-O-acylribonucleosides *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 5201–5204.
- [122] Smith, M., Rammler, D. H., Goldberg, I. H., Khorana, H. G., Studies on Polynucleotides. XIV. Specific Synthesis of the C3'-C5' Interribonucleotide Linkage. Syntheses of Uridyl-(3'→5')-Uridine and Uridyl-(3'→5')-Adenosine *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 430–440.
- [123] Toste, D., McNulty, J., Still, I. W. J., Formamidinium as a versatile protecting group for primary amines: A mild procedure for hydrolytic removal *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 1617–1624.
- [124] Greene, T. W., Wuts, P., *Protective Groups in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1999; p 105.
- [125] Gaffney, B. L., Jones, R. A., Synthesis of c-di-GMP analogs with thiourea, urea, carbodiimide, and guanidinium linkages *Org. Lett.* **2014**, *16*, 158–161.
- [126] Wahlstrom, J. L., Ronald, R. C., Detritylation of Ethers Using Iodine-Alcohol Reagents: An Acid-Catalyzed Reaction. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6021–6022.
- [127] Greene, T. W., Wuts, P., *Protective Groups in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1999; p 711.
- [128] Ren, B., Cai, L., Zhang, L. R., Yang, Z. J., Zhang, L. H., Selective deacetylation using iodine-methanol reagent in fully acetylated nucleosides *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8083–8086.
- [129] Singh, S. K., Sharma, V. K., Olsen, C. E., Wengel, J., Parmar, V. S., Prasad, A. K., Biocatalytic separation of *N*-7/*N*-9 guanine nucleosides *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 7932–7935.
- [130] Enzymes for Biocatalysis www.novozymes.com (letzter Zugriff: 16.06.2018).

- [131] Beigelmann, L., Deval, J., Smith, D. B., Wang, G., Rajwanshi, V. K., Azido nucleosides and nucleotide analogs. US Patent 20120070415 A1, 2012.
- [132] Johnson, D. C., Widlanski, T. S., Facile Deprotection of O-Cbz-Protected Nucleosides by Hydrogenolysis: An Alternative to O-Benzyl Ether-Protected Nucleosides *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4643–4646.
- [133] Watkins, B. E., Kiely, J. S., Rapoport, H., Synthesis of Oligodeoxyribonucleotides Using N-Benzyloxycarbonyl-Blocked Nucleosides *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5702–5708.
- [134] Sumita, Y., Shirato, M., Ueno, Y., Matsuda, A., Shuto, S., Nucleosides and Nucleotides. 192. Toward the Total Synthesis of Cyclic ADP-Carbocyclic-Ribose. Formation of the Intramolecular Pyrophosphate Linkage by a Conformation-Restriction Strategy in a Syn-form Using a Halogen Substitution at the 8-Position of the *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2000**, *19*, 175–187.
- [135] Komiyama, M., Aiba, Y., Ishizuka, T., Sumaoka, J., Solid-phase synthesis of pseudo-complementary peptide nucleic acids *Nat. Protoc.* **2008**, *3*, 646–654.
- [136] Cho, J. H., Coats, S. J., Schinazi, R. F., Efficient Synthesis of Exo- N-carbamoyl Nucleosides: Application to the Synthesis of Phosphoramidate Prodrugs *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2488–2491.
- [137] Khan, A. T., Mondal, E., A Highly Efficient and Useful Synthetic Protocol for the Cleavage of *tert*-Butyldimethylsilyl (TBS) Ethers Using a Catalytic Amount of Acetyl Chloride in Dry Methanol *Synlett* **2003**, *5*, 694–698.
- [138] Warnecke, S., Meier, C., Synthesis of nucleoside di- and triphosphates and dinucleoside polyphosphates with cyclosal-nucleotides *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3024–3030.
- [139] Meier, C., Knispel, T., De Clercq, E., Balzarini, J., *CycloSal*-pronucleotides of 2',3'-dideoxyadenosine and 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydroadenosine: Synthesis and antiviral evaluation of a highly efficient nucleotide delivery system *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1604–1614.
- [140] Warnecke, S., Neue Synthese phosphorylierter Biokonjugate aus cycloSal-aktivierten Nucleotiden, Dissertation, Universität Hamburg, 2010.
- [141] Bock, K., Lundt, I., Pedersen, C., The Preparation of Some Bromodeoxy- and Deoxyhexoses From Bromodeoxyaldonic Acids *Carbohydr. Res.* **1981**, *90*, 7–16.
- [142] Binch, H., Stangier, K., Thiem, J., Chemical synthesis of GDP-L-galactose and analogues *Carbohydr. Res.* **1998**, *306*, 409–419.

- [143] Doboszewski, B., Herdewijn, P., 1,2;3,4-Di-O-isopropylidene-L-galactose synthesis from its D-enantiomer *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 2253–2256.
- [144] Orii, R., Izumi, M., Kajihara, Y., Okamoto, R., Efficient synthesis of L-galactose from D-galactose *J. Carbohydr. Chem.* **2015**, *34*, 560–566.
- [145] Jarowicki, K., Kocienski, P., Protecting Groups *Contemp. Org. Synth.* **1997**, *4*, 454–492.
- [146] Car, Ž., Petrović, V., Tomić, S., Synthesis and enzymic hydrolysis of acylated adenosine derivatives *J. Carbohydr. Chem.* **2006**, *25*, 713–723.
- [147] Chevallier, O. P., Migaud, M. E., Investigation of acetyl migrations in furanosides *Beilstein J. Org. Chem.* **2006**, *2*.
- [148] Angyal, S. J., Melrose, G. J. H., Cyclitols. Part XVIII. Acetyl Migration: Equilibrium between Axial and Equatorial Acetates *J. Chem. Soc.* **1965**, 6494–6500.
- [149] Stamatov, S. D., Stawinski, J., Regioselective and stereospecific acylation across oxirane- and silyloxy systems as a novel strategy to the synthesis of enantiomerically pure mono-, di- and triglycerides *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3787–3800.
- [150] Stamatov, S. D., Stawinski, J., O-Silylated C3-halohydrins as a novel class of protected building blocks for total, regio- and stereocontrolled synthesis of glycerolipid frameworks *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 463–477.
- [151] Horton, D., Nomenclature of Carbohydrates *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1997**, *52*, 44–177.
- [152] González, F. S., Baer, H. H., Synthesis of L-gulose, L-galactose, and their acetylated *aldehydo* forms from 6-S-phenyl-6-thio-D-hexoses *Carbohydr. Res.* **1990**, *202*, 33–47.
- [153] Zemplén, G., Kunz, A., Studien über Amygdalin: Synthese des natürlichen l-Amygdalins. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1924**, *57*, 1357–1359.
- [154] Heathcock, C. H., Ratcliffe, R., Stereoselective total synthesis of the guaiazulenic sesquiterpenoids α -bulnesene and bulnesol *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 1746–1757.
- [155] De Talancé, V. L., Thiery, E., Eppe, G., Bkassiny, S. El, Mortier, J., Vincent, S. P., A simple synthesis of D-galactono-1,4-lactone and key building blocks for the preparation of galactofuranosides *J. Carbohydr. Chem.* **2011**, *30*, 605–617.
- [156] Greene, T. W., Wuts, P., *Protective Groups in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1999; pp 113–114.
- [157] Olah, G. A., Narang, S. C., Gupta, B. G. B., Malhotra, R., Synthetic methods and

- reactions. 62. Transformations with chlorotrimethylsilane/sodium iodide, a convenient in situ iodotrimethylsilane reagent *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1247–1251.
- [158] Galatsis, P., Sollogoub, M., Sinay, P., Diisobutylaluminum Hydride *Encycl. Reagents Org. Synth.* **2008**, 1–6.
- [159] L.I. Zakharkin and I.M. Khorlin, Reduction of substituted amides of acids to aldehydes and mines by means of diisobutylaluminum hydride *Izv. Akad. Nauk SSSR. Otd. Khim. Nauk* **1959**, 2046–2050.
- [160] Greene, T. W., Wuts, P., *Protective Groups in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1999; pp 708–719.
- [161] Jensen, H. S., Limberg, G., Pedersen, C., Benzylolation of aldonolactones with benzyl trichloroacetimidate *Carbohydr. Res.* **1997**, *302*, 109–112.
- [162] Stork, G., Takahashi, T., Chiral Synthesis of Prostaglandins (PGE₁) from D-Glyceraldehyd *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 1275–1276.
- [163] Kirsch, S. F., Bach, T., Diastereoselective reactions at enantiomerically pure, sterically congested cyclohexanes as an entry to wailupemycins A and B: Total synthesis of (+)-wailupemycin B *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 7007–7023.
- [164] Bernady, K. F., Floyd, M. B., Poletto, J. F., Weiss, M. J., Synthesis of Prostaglandins via Conjugate Addition of Lithium trans-1-Alkenyltrialkylalanate Reagents. A Novel Reagent for Conjugate 1,4-Additions *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1438–1447.
- [165] Markiewicz, W. T., Wiewiórowski, M., A new type of silyl protecting groups in nucleoside chemistry *Nucleic Acids Res.* **1978**, *1*, 185–188.
- [166] Thiem, J., Duckstein, V., Prahst, A., Matzke, M., Synthesen von Methyl-4-O-(β-D-curacosyl)-α-D-curamicosid, dem Glycosid der Disaccharideinheit E-F von Flambamycin und Isomeren *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 289–295.
- [167] Xia, J., Hui, Y., A convenient method for highly selective deprotection of benzylidene acetals from sugars *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 881–886.
- [168] Brückner, R., *Reaktionsmechanismen*; Spektrum Akademischer Verlag: München, 2004; p 788.
- [169] El Bkassiny, S., N'Go, I., Sevrain, C. M., Tikad, A., Vincent, S. P., Synthesis of a novel UDP-carbasugar as UDP-galactopyranose mutase inhibitor *Org. Lett.* **2014**, *16*, 2462–2465.
- [170] Gonzalez, C., Kavooosi, S., Sanchez, A., Wnuk, S. F., Reduction of sugar lactones to

- hemiacetals with lithium triethylborohydride *Carbohydr. Res.* **2016**, *432*, 17–22.
- [171] Wetter, H., Oertle, K., Thexyldimethylsilyl chloride, an easily accessible reagent for the protection of alcohols *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 5515–5518.
- [172] Isbell, H. S., Frush, H., Holt, N. B., Synthesis of D-galactose-1-C¹⁴ and D-talose-1-C¹⁴ *J. Res. Natl. Bur. Stand.* **1954**, *53*, 217–220.
- [173] Biological Magnetic Resonance Data Bank www.bmrb.wisc.edu/ (letzter Zugriff: 04.02.2018).
- [174] Nunn, J. R., Holdt, M. M., Red-seaweed Polysaccharides. Part II. *Porphyra capensis* and the Separation of D- and L-Galactose by Crystallisation *J. Chem. Soc.* **1967**, 1094–1097.
- [175] De Belder, A. N., Cyclic Acetals of the Aldoles and Aldosides *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1965**, *20*, 219–302.
- [176] Srivastava, G., Kaur, K. J., Hindsgaul, O., Palcic, M. M., Enzymatic transfer of a preassembled trisaccharide antigen to cell surfaces using a fucosyltransferase *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 22356–22361.
- [177] Ganivada, M. N., Rao N, V., Dinda, H., Kumar, P., Das Sarma, J., Shunmugam, R., Biodegradable magnetic nanocarrier for stimuli responsive drug release *Macromolecules* **2014**, *47*, 2703–2711.
- [178] Chen, G., Kawazoe, N., Fan, Y., Ito, Y., Tateishi, T., Grid pattern of nanothick microgel network *Langmuir* **2007**, *23*, 5864–5867.
- [179] Ślósarczyk, A. T., Ramapanicker, R., Norberg, T., Baltzer, L., Mixed pentafluorophenyl and *o*-fluorophenyl esters of aliphatic dicarboxylic acids: efficient tools for peptide and protein conjugation *RSC Adv.* **2012**, *2*, 908–914.
- [180] Brotzel, F., Mayr, H., Nucleophilicities of amino acids and peptides *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 3814.
- [181] Arrendale, A., Kim, K., Choi, J. Y., Li, W., Geahlen, R. L., Borch, R. F., Synthesis of a phosphoserine mimetic prodrug with potent 14-3-3 protein inhibitory activity *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 764–771.
- [182] Lomant, A. J., Fairbanks, G., Chemical probes of extended biological structures: Synthesis and properties of the cleavable protein cross-linking reagent [³⁵S]dithiobis(succinimidyl propionate) *J. Mol. Biol.* **1976**, *104*, 243–261.
- [183] Staros, J. V., Membrane-Impermeant Cross-Linking Reagents: Probes of the Structure

- and Dynamics of Membrane Proteins *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21*, 435–441.
- [184] Cuatrecasas, P., Parikh, I., Adsorbents for Affinity Chromatography. Use of *N*-Hydroxysuccinimide Esters of Agarose *Biochemistry* **1972**, *11*, 2291–2299.
- [185] Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*; Elsevier Ltd: Oxford, 2013; p 238.
- [186] Seelhorst, K., Piernitzki, T., Lunau, N., Meier, C., Hahn, U., Synthesis and analysis of potential α 1,3-fucosyltransferase inhibitors *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 6430–6437.
- [187] Mayer, M., Meyer, B., Characterization of ligand binding by saturation transfer difference NMR spectroscopy *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1784–1788.
- [188] Seelhorst, K., Stacke, C., Ziegelmüller, P., Hahn, U., N-Glycosylations of human α 1,3-fucosyltransferase IX are required for full enzyme activity *Glycobiology* **2013**, *23*, 559–567.
- [189] Compain, P., Martin, O. R., Carbohydrate mimetics-based glycosyltransferase inhibitors *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 3077–3092.
- [190] Descroix, K., Wagner, G. K., The first C-glycosidic analogue of a novel galactosyltransferase inhibitor *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 1855–1863.
- [191] Hunsen, M., Long, D. A., D'Ardenne, C. R., Smith, A. L., Mild one-pot preparation of glycosyl bromides *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 2670–2674.
- [192] Fischer, E., Notiz über die Acetohalogen-glucosen und die *p*-Bromphenylosazone von Maltose und Melibiose *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1911**, *44*, 1898–1904.
- [193] Lehmann, J., *Chemie der Kohlenhydrate*; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1976; p 100.
- [194] Knudsen, M. M., Kalashnyk, N., Masini, F., Cramer, J. R., Lægsgaard, E., Besenbacher, F., Linderoth, T. R., Gothelf, K. V., Controlling chiral organization of molecular rods on Au(111) by molecular design *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 4896–4905.
- [195] La Ferla, B., Spinosa, V., D'Orazio, G., Palazzo, M., Balsari, A., Foppoli, A. A., Rumio, C., Nicotra, F., Dansyl C-glucoside as a novel agent against endotoxic shock *ChemMedChem* **2010**, *5*, 1677–1680.
- [196] Witczak, Z. J., Whistler, R. L., Synthesis of Some Derivatives of 6-Amino-1,5-anhydro-6-deoxy-D-glucitol and 2-Amino-1,5-anhydro-2-deoxy-D-glucitol *Carbohydr. Res.* **1986**, *150*, 121–131.
- [197] Gerspacher, M., Rapoport, H., 2-Amino-2-deoxyhexoses as Chiral Educdts for Hydroxylated Indolizidines. Synthesis of (+)-Castanospermine and (+)-6-

- Epicastanospermine *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 3700–3706.
- [198] Hartung, J., Hünig, S., Kneuer, R., Schwarz, M., Hermann, W., 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane (DABCO) — An Efficient Reagent in the Synthesis of Alkyl Tosylates or Sulfenates *Synthesis* **1997**, *12*, 1433–1438.
- [199] Kocieński, P., *Protecting Groups*, 3rd ed.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 2005.
- [200] Eckenberg, P., Groth, U., Huhn, T., Richter, N., Schmeck, C., A useful application of benzyl trichloroacetimidate for the benzylation of alcohols *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1619–1624.
- [201] Kong, D. C. M., Itzstein, M., The chemoenzymatic synthesis of 9-substituted acids *Carbohydr. Res.* **1998**, *305*, 323–329.
- [202] Brückner, R., *Reaktionsmechanismen*; Spektrum Akademischer Verlag: München, 2004; pp 469–470.
- [203] Garneau, S., Qiao, L., Chen, L., Walker, S., Vederas, J. C., Synthesis of mono- and disaccharide analogs of moenomycin and lipid II for inhibition of transglycosylase activity of penicillin-binding protein 1b *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 6473–6494.
- [204] Gutierrez, A. J., Prisbe, E. J., Rohloff, J. C., Dealkylation of phosphonate esters with chlorotrimethylsilane *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2001**, *20*, 1299–1302.
- [205] Veleti, S. K., Lindenberger, J. J., Ronning, D. R., Sucheck, S. J., Synthesis of a C-phosphonate mimic of maltose-1-phosphate and inhibition studies on *Mycobacterium tuberculosis* GlgE *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 1404–1411.
- [206] Moffatt, J. G., Sugar nucleotide synthesis by the phosphoromorpholidate procedure *Meth. Enzym.* **1966**, *8*, 136–142.
- [207] Bravo, L., Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance *Nutr. Rev.* **2009**, *56*, 317–333.
- [208] Ross, J. A., Kasum, C. M., Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety *Annu. Rev. Nutr.* **2002**, *22*, 19–34.
- [209] Ververidis, F., Trantas, E., Douglas, C., Vollmer, G., Kretzschmar, G., Panopoulos, N., Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part II: Reconstruction of multienzyme pathways in plants and microbes *Biotechnol. J.* **2007**, *2*, 1235–1249.
- [210] Le Marchand, L., Cancer preventive effects of flavonoids—a review *Biomed. Pharmacother.* **2002**, *56*, 296–301.

- [211] Schütz, K., Muks, E., Carle, R., Schieber, A., Quantitative determination of phenolic compounds in artichoke-based dietary supplements and pharmaceuticals by high-performance liquid chromatography *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 8812–8817.
- [212] Wang, M. F., Liang, C. P., Wu, Q. L., Simon, J. E., Ho, C. T., Instrumental analysis of popular botanical products in the U.S. market. In *Herbs: Challenges in Chemistry and Biology*; 2006; pp 39–54.
- [213] Leonard, E., Yan, Y., Fowler, Z. L., Li, Z., Lim, C.-G., Lim, K.-H., Koffas, M. A. G., Strain Improvement of Recombinant *Escherichia coli* for Efficient Production of Plant Flavonoids *Mol. Pharm.* **2008**, *5*, 257–265.
- [214] Das, S., Rosazza, J. P. N., Microbial and enzymatic transformations of flavonoids *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 499–508.
- [215] Graefe, E. U., Wittig, J., Mueller, S., Riethling, A. K., Uehleke, B., Drewelow, B., Pforte, H., Jacobasch, G., Derendorf, H., Veit, M., Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans *J. Clin. Pharmacol.* **2001**, *41*, 492–499.
- [216] Kren, V., Martínková, L., Glycosides in medicine: “The role of glycosidic residue in biological activity” *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 1303–1328.
- [217] Coutinho, P. M., Deleury, E., Davies, G. J., Henrissat, B., An evolving hierarchical family classification for glycosyltransferases *J. Mol. Biol.* **2003**, *328*, 307–317.
- [218] Bowles, D., Lim, E.-K., Poppenberger, B., Vaistij, F. E., Glycosyltransferases of Lipophilic Small Molecules *Annu. Rev. Plant Biol.* **2006**, *57*, 567–597.
- [219] Mackenzie, P. I., Owens, I. S., Burchell, B., Bock, K. W., Bairoch, A., Bélanger, A., Fournel-Gigleux, S., Green, M., Hum, D. W., Iyanagi, T., et al., The UDP glycosyltransferase gene superfamily: recommended nomenclature update based on evolutionary divergence *Pharmacogenetics* **1997**, *7*, 255–269.
- [220] Erlund, I., Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology *Nutr. Res.* **2004**, *24*, 851–874.
- [221] Ceska, O., Styles, E. D., Flavonoids from *Zea mays* pollen *Phytochemistry* **1984**, *23*, 1822–1823.
- [222] Rao, K. V., Weisner, N. T., Microbial transformation of quercetin by *Bacillus cereus* *Appl. Environ. Microbiol.* **1981**, *42*, 450–452.
- [223] Hyung Ko, J., Gyu Kim, B., Joong-Hoon, A., Glycosylation of flavonoids with a glycosyltransferase from *Bacillus cereus* *FEMS Microbiol. Lett.* **2006**, *258*, 263–268.

- [224] Kim, J. H., Kim, B. G., Kim, J. A., Park, Y., Lee, Y. J., Lim, Y., Ahn, J. H., Glycosylation of Flavonoids with *E. coli* Expressing Glycosyltransferase from *Xanthomonas campestris* *J. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *17*, 539–542.
- [225] Yang, M., Proctor, M. R., Bolam, D. N., Errey, J. C., Field, R. A., Gilbert, H. J., Davis, B. G., Probing the breadth of macrolide glycosyltransferases: In vitro remodeling of a polyketide antibiotic creates active bacterial uptake and enhances potency *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9336–9337.
- [226] Liu, H., Thorson, J. S., Pathways and Mechanisms in the Biogenesis of Novel Deoxysugars by Bacteria *Annu. Rev. Microbiol.* **1994**, *48*, 223–256.
- [227] Kenne, L., Lindberg, B., Svensson, S., The structure of capsular polysaccharide of the pneumococcus type II *Carbohydr. Res.* **1975**, *40*, 69–75.
- [228] Mistou, M. Y., Sutcliffe, I. C., Van Sorge, N. M., Bacterial glycobiology: Rhamnose-containing cell wall polysaccharides in gram-positive bacteria *FEMS Microbiol. Rev.* **2016**, *40*, 464–479.
- [229] Pozgay, V., Stereoselective Synthesis of β -Mannosides. In *Carbohydrates in Chemistry and Biology*; WILEY-VCH Verlag GmbH: Weinheim, 2000; pp 319–343.
- [230] Gridley, J. J., Osborn, H. M. I., Recent advances in the construction of β -D-mannose and β -D-mannosamine linkages *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, No. 10, 1471–1491.
- [231] Lemieux, R. U., Hendriks, K. B., Stick, R. V., James, K., Halide Ion Catalyzed Glycosidation Reactions. Syntheses of α -Linked Disaccharides *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4056–4062.
- [232] Crich, D., Cai, W., Chemistry of 4,6-O-benzylidene-D-glycopyranosyl triflates: Contrasting behavior between the gluco and manno series *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4926–4930.
- [233] Crich, D., Sun, S., Are glycosyl triflates intermediates in the sulfoxide glycosylation method? A chemical and ^1H , ^{13}C , and ^{19}F NMR spectroscopic investigation *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11217–11223.
- [234] Crich, D., Chandrasekera, N. S., Mechanism of 4,6-O-benzylidene-directed β -mannosylation as determined by α -deuterium kinetic isotope effects *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5386–5389.
- [235] Crich, D., Mechanism of a chemical glycosylation reaction *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*,

- 1144–1153.
- [236] Backinowsky, L. V., Balan, N. F., Shashkov, A. S., Kochetkov, N. K., Synthesis and ^{13}C -N.M.R. Spectra of β -L-Rhamnopyranosides *Carbohydr. Res.* **1980**, *84*, 225–235.
- [237] Iversen, T., Bundle, D. R., A new and efficient synthesis of β -l-rhamnopyranosides *Carbohydr. Res.* **1980**, *84*, c13–c15.
- [238] Ikeda, T., Yamada, H., β -Selective O-rhamnosylation with a rhamnosyl trichloroacetimidate that has the $^4\text{C}_1$ conformation *Carbohydr. Res.* **2000**, *329*, 889–893.
- [239] Sabesan, S., Neira, S., Synthesis of glycosyl phosphates and azides *Carbohydr. Res.* **1992**, *223*, 169–185.
- [240] Zhao, Y., Thorson, J. S., A methodological comparison: The advantage of phosphorimidates in expanding the sugar nucleotide repertoire *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7568–7572.
- [241] Wagner, G. K., Pesnot, T., Field, R. A., A survey of chemical methods for sugar-nucleotide synthesis *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 1172–1194.
- [242] Wendicke, S., Warnecke, S., Meier, C., Efficient Synthesis of Nucleoside Diphosphate Glycopyranoses *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1500–1502.
- [243] Arlt, M., Hindsgaul, O., Rapid Chemical Synthesis of Sugar Nucleotides in a Form Suitable for Enzymatic Oligosaccharide Synthesis *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 14–15.
- [244] Peltier, P., Daniellou, R., Nugier-chauvin, C., Versatile Synthesis of Rare Nucleotide Furanoses *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5227–5230.
- [245] Timmons, S. C., Jakeman, D. L., Stereoselective chemical synthesis of sugar nucleotides via direct displacement of acylated glycosyl bromides *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1227–1230.
- [246] Moffatt, J. G., Khorana, H. G., Nucleoside Polyphosphates. VIII. New and Improved Syntheses of Uridine Diphosphate Glucose and Flavin Adenine Dinucleotide Using Nucleoside-5' Phosphoramidates *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 3756–3761.
- [247] Wittmann, V., Wong, C. H., 1*H*-tetrazole as catalyst in phosphomorpholidate coupling reactions: Efficient synthesis of GDP-fucose, GDP-mannose, and UDP-galactose *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2144–2147.
- [248] Gold, H., Van Delft, P., Meeuwenoord, N., Codée, J. D. C., Filippov, D. V., Eggink, G., Overkleeft, H. S., Van Der Marel, G. A., Synthesis of sugar nucleotides by application of phosphoramidites *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 9458–9460.








- [249] Reck, F., Marmor, S., Wuonola, M. A., Inhibitors of the Bacterial Cell Wall Biosynthesis Enzyme MurC *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1451–1454.
- [250] Stiller, R., Thiem, J., Enzymatic Synthesis of β -L-Fucose-1-phosphate and GDP-fucose *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 467–471.
- [251] Chapeau, M., Frey, P. A., Synthesis of UDP-4-deoxy-4-fluoroglucose and UDP-4-deoxy-4-fluorogalactose and Their Interactions with Enzymes of Nucleotide Sugar Metabolism *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6994–6998.
- [252] Lazarevic, D., Thiem, J., Syntheses of unnatural N-substituted UDP-galactosamines as alternative substrates for *N*-acetylgalactosaminyl transferases *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 2187–2194.
- [253] Zamyatina, A., Gronow, S., Puchberger, M., Graziani, A., Hofinger, A., Kosma, P., Efficient chemical synthesis of both anomers of ADP L-glycero- and D-glycero-D-manno-heptopyranose *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 2571–2589.
- [254] Meier, C., *CycloSal* Phosphates as Chemical Trojan Horses for Intracellular Nucleotide and Glycosylmonophosphate Delivery – Chemistry Meets Biology *European J. Org. Chem.* **2006**, 1081–1102.
- [255] Wolf, S., Warnecke, S., Ehrig, J., Freiburger, F., Gerardy-Schahn, R., Meier, C., Chemical synthesis and enzymatic testing of CMP-sialic acid derivatives. *Chembiochem* **2012**, *13*, 2605–2615.
- [256] Giraud, M. F., Naismith, J. H., The rhamnose pathway *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2000**, *10*, 687–696.
- [257] Melo, A., Glaser, L., The Nucleotide Specificity and Feedback Control of Thymidine *J. Biol. Chem.* **1965**, *240*, 398–405.
- [258] Blankenfeldt, W., Asuncion, M., Lam, J. S., Naismith, J. H., The structural basis of the catalytic mechanism and regulation of glucose-1-phosphate thymidyltransferase (RmlA) *Eur. Mol. Biol. Organ. J.* **2000**, *19*, 6652–6663.
- [259] McNeil, M., Daffe, M., Brennan, J., Evidence for the Nature of the Link between Arabinogalactan and Peptidoglycan of Mycobacterial Cell Walls *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 18200–18206.
- [260] Marumo, K., Lindqvist, L., Verma, N., Weintraub, A., Reeves, P. R., Lindberg, A. A., Enzymatic synthesis and isolation of thymidine diphosphate-6-deoxy-D-xylo-4-hexulose and thymidine diphosphate-L-rhamnose *Eur. J. Biochem.* **1992**, *204*, 539–545.

- [261] Kang, Y. B., Yang, Y. H., Lee, K. W., Lee, S. G., Sohng, J. K., Lee, H. C., Liou, K., Kim, B. G., Preparative synthesis of dTDP-L-rhamnose through combined enzymatic pathways *Biotechnol. Bioeng.* **2006**, *93*, 21–27.
- [262] Carbosynth www.carbosynth.com (letzter Zugriff: 29.06.2018).
- [263] Moffatt, J. G., Khorana, H. G., The Total Synthesis of Coenzyme A *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 1265.
- [264] Wendicke, S., Neue Synthese von Nucleosiddiphosphatpyranosen mit Hilfe von cycloSal-aktivierten Phosphatdonatoren, Dissertation, Universität Hamburg, 2007.
- [265] Andersen, S. M., Heuckendorff, M., Jensen, H. H., 3-(Dimethylamino)-1-propylamine: A cheap and versatile reagent for removal of byproducts in carbohydrate chemistry *Org. Lett.* **2015**, *17*, 944–947.
- [266] Roy, R., Vidal, S., *Carbohydrate Chemistry*, 1st ed.; CRC Press Taylor & Francis Group: Boca Raton, 2015.
- [267] Armitage, J. B., Jones, R. H., Whiting, M. C., Researches on acetylenic compounds. Part XXVIII. A new Route to Diacetylene and its Symmetrical Derivatives *J. Chem. Soc.* **1951**, 44–47.
- [268] Bock, K., Pedersen, C., Determination of one-bond carbon-proton coupling constants through ^{13}C -satellites in ^1H -n.m.r. spectra *Carbohydr. Res.* **1985**, *145*.
- [269] O'Connor, J. V., Nunez, H. A., Barker, R., α - and β -Glycopyranosyl Phosphates and 1,2-Phosphates. Assignments of Conformations in Solution by ^{13}C and ^1H NMR *Biochemistry* **1979**, *18*, 500–507.
- [270] Tonn, V. C., Festphasen-gebundene cycloSal-Nucleotide zur Synthese phosphorylierter Biomoleküle, Dissertation, Universität Hamburg, 2011.
- [271] Tagliabracci, V. S., Heiss, C., Karthik, C., Contreras, C. J., Glushka, J., Ishihara, M., Azadi, P., Hurley, T. D., Depaoli, A. A., Roach, P. J., Phosphate Incorporation During Glycogen Synthesis and Lafora Disease *Cell* **2011**, *13*, 274–282.
- [272] Kajihara, Y., Nishigaki, S., Hanzawa, D., Nakanishi, G., Okamoto, R., Yamamoto, N., Unique self-anhydride formation in the degradation of cytidine-5'-monophosphosialic acid (CMP-Neu5Ac) and cytidine-5'-diphosphosialic acid (CDP-Neu5Ac) and its application in CMP-sialic acid analogue synthesis *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 7645–7655.
- [273] Huhta, E., Parjanen, A., Mikkola, S., A kinetic study on the chemical cleavage of nucleoside diphosphate sugars *Carbohydr. Res.* **2010**, *345*, 696–703.









Anhang

Gefahrstoffverzeichnis










In der folgenden Tabelle sind Verbindungen, Reagenzien und Lösungsmittel aufgelistet, die im Rahmen dieser Promotion verwendet wurden. Eingestuft sind diese Gefahrstoffe nach GHS (CLP Verordnung 1272/2008/EG) und die entsprechenden Gefahrensymbole sowie die H- und P-Sätze sind aufgelistet. Die Stoffe, für die bisher keine bekannte Einstufung existiert, sind als gefährlich einzustufen. Es ist unbedingt zu vermeiden, sich oder andere Personen mit diesen Substanzen zu kontaminieren und diese Stoffe in die Umwelt einzubringen.

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
Aceton		225-319-336-EUH066	210-233-305+351+338
Acetonitril		225-302/312/332	210-305+351+338- 403+235
Acetylbromid		290-314-EUH014	280-301+310- 305+351+338
Acetylchlorid		225-302-314-EU014	210-280-305+351+338- 310
β -Alanin		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Amberlite® IR 120+ (H ⁺)		319	280-305+351+338- 337+313
4-Aminobenzoessäure		315-319-335	261-280-304+340- 305+351+338-405-501
4-Aminobuttersäure		315-319-335	261-305+351+338













Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
4-Aminophenol		302+332-341-410	273-281-501
3-Aminopropyl- dimethylamin		226-302+312-314- 317-335	210-303+361+353- 304+340+310- 305+351+338-333+313- 403+235
11-Amino- undecansäure		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Ammoniumacetat		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Ammoniumchlorid		302-319	305+351+338
Ammoniummolybdat Tetrahydrat		302-315-319-335	261-305+351+338- 302+352-321-405-501
p-Anisaldehyd		302	280
4-Azidbenzoesäure		228-315-319	210-240-264-280- 302+352+332+313+362 +364- 305+351+338+337+313
Benzylbromid		319-335-315	305+351+338-302+352
Benzoyloxycarbonyl- chlorid		330-314-335-350-410	201-273-280- 301+330+331- 305+351+338-308+310









Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
Benzyl-2,2,2-trichloracetimidat		302-315-319-335	261-305+351+338
Bromkresolgrün	–	315-319-335	261-264-271-280-302+352-304+340-305+351+338-312-321-332+313-337+313-362-403+233-405-501
1-Butanol		226-302-315-318+335+336	210-280-301+312+330-304+340+312-305+351+338+310-403+235
<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid		228-314	210-280-305+351+338-310
Calciumhydrid		260	402+404
Celite®		319-335	261-305+351+338
1,4-Cyclohexadien		225-340-350-373	201-210-308+313
Dess-Martin-Periodinan		272-302-312-315-319-332-335	220-261-280-305+351+338
Deuteriumoxid		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Deuteriochloroform		302-315-351-373	302+352-314
DIBAL (1.5 M in Toluol)		225-250-261-304-314-336-361d-373	210-222-231+232-261-280-422





Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
Dichlormethan		351	281-308+313
1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropyl-disiloxan		314	280-305+351+338-310
<i>N,N</i> -Dicyclohexyl-carbodiimid		302-311-317-318	280-302+352-305+351+338-309+310
Diethylether		224-302-336- EUH019-EUH066	210-240-403+235
Dihydropyran		225-332-315-319- EUH019	210-302+352-305+351+338-403+235
2,5-Dihydroxy-benzoesäure		302-315-319-335	261-305+351+338
Diisopropyl-carbodiimid	 	226-315-317-318- 330-334-335	260-280-284-305+351+338-310
<i>N,N</i> -Diisopropyl-ethylamin	 	225-302-314-412	210-233-240-241-242-243-260-264-273-280-301+312-301+330+331-303+361+353-304+340
2,2-Dimethoxypropan		225-319	210-305+351+338-403+235
4-(Dimethylamino)-pyridin		301-310-315-319-335	261-262-264-280-301+310-302+350-304+340-305+351+338-321-330-332+313-337+313-361

Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
<i>N,N</i> -Dimethyl- formamid		360D-226-332-312- 319	201-302+352- 305+351+338-308+313
<i>N,N</i> - Dimethylformamid- Dimethylacetal		225-302-315-319-335	210-261-305+351+338
Dimethylsulfoxid		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Dimethylsulfoxid- <i>d</i> ₆		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
1,4-Dioxan		225-351-319-335- EU019-EU066	210-281-305+351+338- 308+313
Diphenylchlor- phosphat		314	280-305+351+338-310
Essigsäure		226-314	280-301+330+331- 307+310-305+351+338
Essigsäureanhydrid		226-332-302-314-335	280-301+330+331- 305+351+338-309+310
Ethanol		225	210
Ethylacetat		225-319-336-EUH066	210-240-305+351+338
L-Galactono-1,4- lacton		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	

Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
D-Galactose		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
L-Galactose		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Glycin		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Guanosin		301	301+310
<i>N</i> -Hydroxysuccinimid		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Imidazol		301-314-361	260-281-303+361+353- 301+330+331- 305+351+338
Iod		332-312-400	273-302+352
1,2;3,4-Di-O- <i>isopropyliden</i> - α -D- galactopyranose		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Kaliumhydroxid		302-314	260-264-280- 301+310+331- 303+361+353-304+340- 305+351+338-310-321
Kaliumnatriumtartrat		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Kieselgel	–	–	260










Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
Lithiumbromid		302-315-319-317	280-305+351+338
Lithiumtriethyl- borhydrid (1 M in THF)		225-260-302-314- 335-351	210-231+232-280- 370+378-402+404- 403+235
D-Mannose		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Methanol		225-301-311-331-370	210-233-280-302+352- 309+310
Methanol- <i>d</i> ₄		225-301-311-331- 315-319-370	210-260-280-301+310- 305+351+338-311
(2-Methoxyethoxy)- methylchlorid		226-315-319-350-335	210-201-303+361+353- 305+351+338-405-501
Methoxymethyl- bromid		226-312+332-315- 319-335-351	261-280-305+351+338
1-Methylimidazol		312-302-314	280-305+351+338
Natrium		260-314-EUH014	280-301+330+331- 305+351+338-309+310- 370+378-422









Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
Natriumacetat		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Natriumazid		300-410-EUH032	273-309+310
Natriumborhydrid		260-301-311-330-314	231-232-301+310- 303+361+353-320-330
Natriumchlorid		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Natriumhydrid		260	223-231+232-280- 335+334-370+378
Natriumhydrogen- carbonat		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Natriumhydroxid		314-290	280-301+330+331- 309+310-305+351+338
Natriumiodid		315-319-400	305+351+338
Natriumnitrit		27-301-319-400	220-273-301+310- 305+351+338
Natriumsulfat		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Natriumthiosulfat		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	










Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
5-Nitrosalicylaldehyd		315-319	264-280-302+352- 305+351+338-321- 332+313-337+313-362
Novozym [®] 435		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Oxone [®]		314	260-280-303+361+353- 304+340+310- 305+351+338
Palladium/Kohle (10%ig)		228	210-240-241-280
Palladium(II)- hydroxid/Kohle		315-319-335	261-271-280
Pentafluorphenol		302-312	302-352
Pentan		225-336-304-411- EUH066	273-301+310-331- 403+235
Petrolether 50-70		225-304-315-336- 361f-373-411	210-233-240-273-281- 301+310-304+340- 308+313-331-403+235
Phosphor(III)-chlorid		290-314	280-303+361+353- 301+330+331- 305+351+338-309-310
Platin(IV)-oxid		272-319	220-305+351+338










Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
2-Propanol		225-319-336	210-233-240-241-242- 243-264-280- 303+361+353- 305+351+338-337+313- 370+378-403+235
Pyridin		225-302-312-332	210-233-302+352
L-Rhamnose		Kein gefährliches Produkt im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008	
Salzsäure (37%)		314-335-290	234-260-303+361+353- 304+340-309+311- 305+351+338-501
Schwefelsäure (konz.)		290-314	280-301+330+331- 305+351+338-309-310
Sebacinsäuredichlorid		302-314-335	280-301+330+331- 309+310
Subtilisin (Propylenglycol- Lösung)		315-318-334-335	261-280-305+351+338- 342+311
Tetrabutylammonium- dihydrogenphosphat		302-315-319	264-270-280-301+312- 302+352-305+351+338- 321-330+313-337+313- 362-501
Tetrabutylammonium- hydrogensulfat		302-315-319-335	261-305+351+338


Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
Tetrabutyl- ammoniumfluorid (1 M in THF)		EU019-314	260-264-280- 301+330+331- 303+361+353-304+340- 305+351+338-310-321- 405
Tetrahydrofuran		225-319-335-351- EUH019	210-233-243- 305+351+338
Thymidin		315-319-335-341	261-280-281-302+352- 305+351+338
Titan(IV)-bromid		314	280-35+351+338-310
Toluol		225-361d-304-373- 315-336	210-301+310-331- 302+352
<i>para</i> -Toluol- sulfonsäure		315-319-335	261-280-305+351+338- 321-405-501
<i>para</i> -Toluol- sulfonylchlorid		290-315-317-318	2580-302+352- 305+351+338-313
Tributylzinnhydrid		301-312-315-319- 360FD-372-410	273-302+352- 305+351+338-309+310
Trifluormethan- sulfonsäure		290-302-314-335	280-310-305+351+338- 303+361+353-304+340- 301+330+331

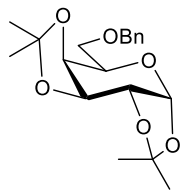
Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
Triethylamin		225-331-311-302-314	210-280-303+361+353-305+351+338-309-312
Triethylsilylchlorid		226-301-314	280-301+310-305+351+338-310
Trifluoressigsäure (80%)		314-332-412	260-264-273-280-301+330+331-303+361+353-304+340-305+351+338-310-321-405-501
Trimethylphosphit		226-280-315-318-335	261-280-305+351+338
Trimethylsilylbromid		226-314	280-305+338-310
Trimethylsilylchlorid		225-301+331-312-314	210-261-280-301+310-305+351+338-310
Tritylchlorid		314	280-305+351+338-310
Vanillin		319	305+351+338
Wasserstoff		220-280	210-377-381-403

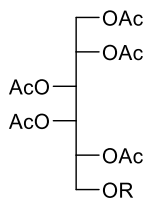
Anhang

Substanz	Gefahren- piktogramm	Gefahrenhinweise H-Sätze	Sicherheitshinweise P-Sätze
Zinn(II)-chlorid		290-302-332-314- 317-335-373-412	304+340-280- 301+330+331- 303+361+353- 305+351+338-310

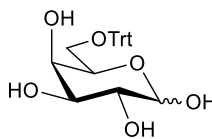
Verbindungsübersicht Teil I



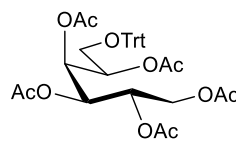
60



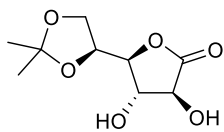
R = Bn 63
R = H 64



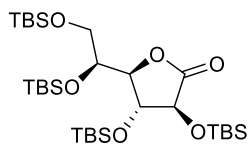
71



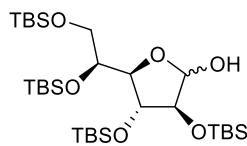
73



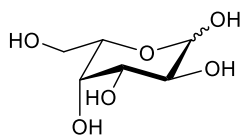
84



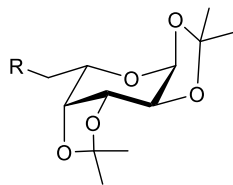
83



85



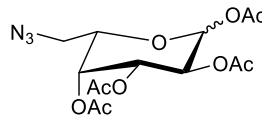
L-34



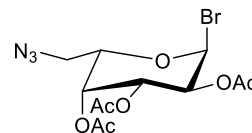
R = OH L-35

R = OTs 36

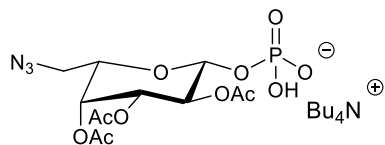
R = N₃ 37



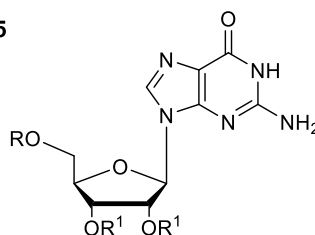
38



39



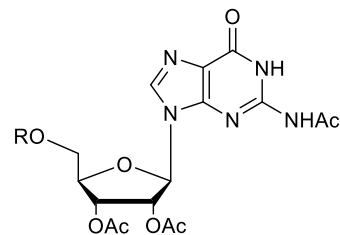
32



R = TBDMS R¹ = H 55

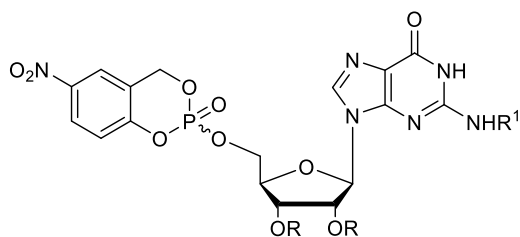
R = TBDMS R¹ = Cbz 54

R = H R¹ = Cbz 58



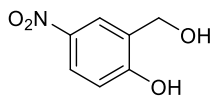
R = Ac 46

R = H 47

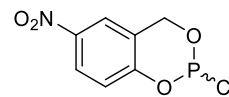


R = R¹ = Ac 40

R = Cbz R¹ = H 45

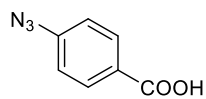


61

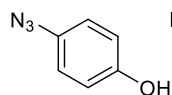


59

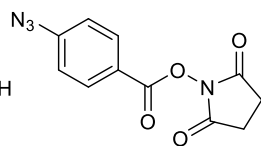
Anhang



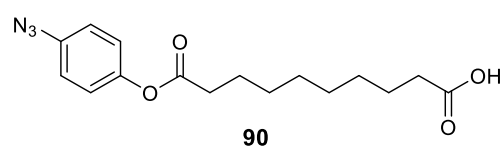
86



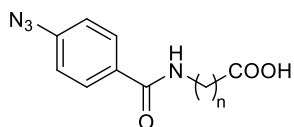
89



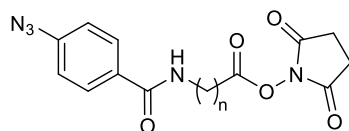
87



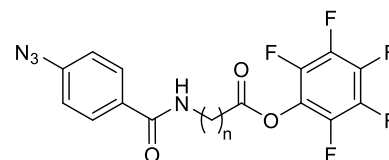
90



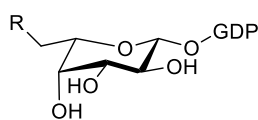
n = 1: 91
n = 2: 92
n = 3: 93
n = 10: 94



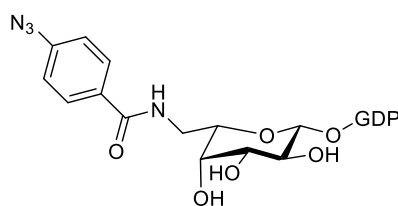
n = 1: 95
n = 2: 96
n = 3: 97
n = 10: 98



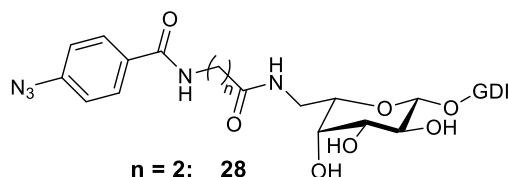
n = 2: 99
n = 3: 100
n = 10: 101



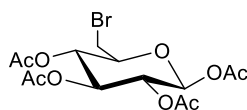
R = N₃ 41
R = NH₂ 42



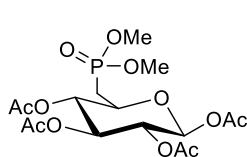
26



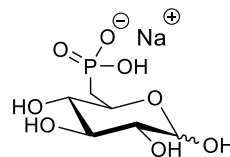
n = 2: 28
n = 10: 30



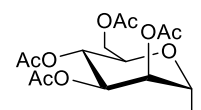
118



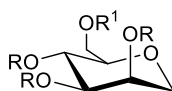
119



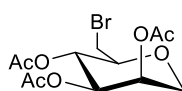
121



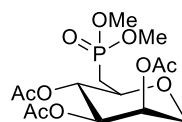
109



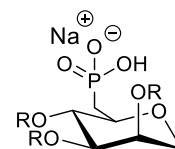
R = R' = Ac 111
R = R' = H 108
R = H R' = Ts 112
R = Ac R' = Ts 122



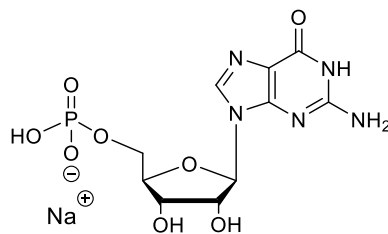
123



124

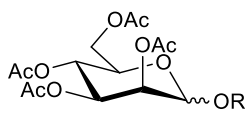
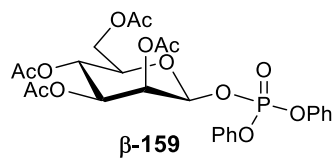
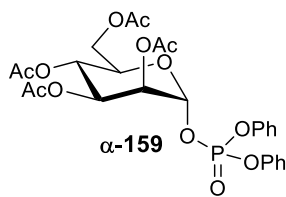
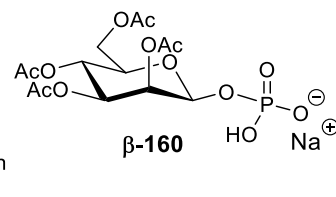
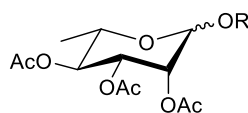
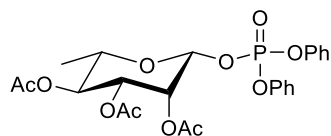
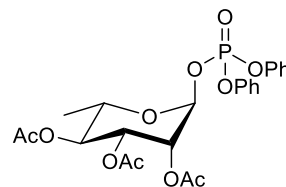
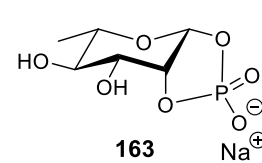
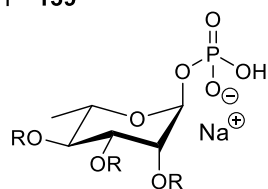
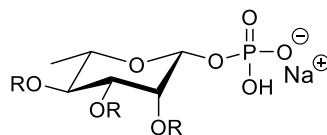
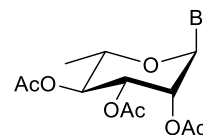
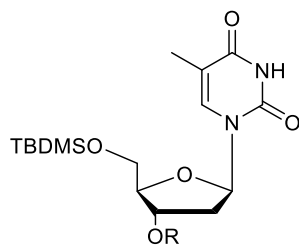
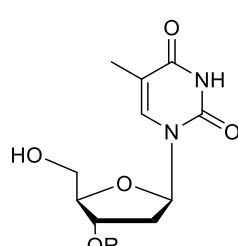
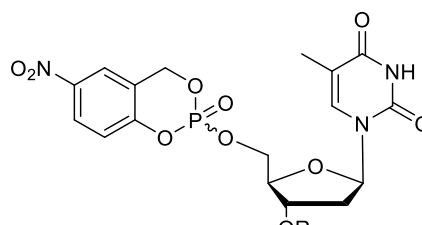
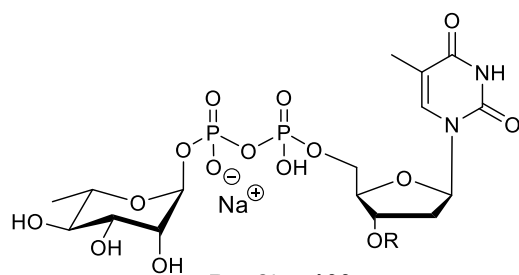
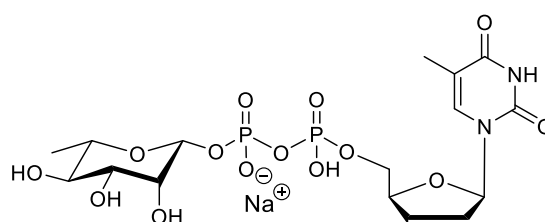


R = Ac 105
R = H 103



125

Verbindungsübersicht Teil II

R = Ac **110**R = H **158** β -**159** α -**159** β -**160**R = Ac **161**R = H **139** β -**140** α -**140****163**R = Ac α -**150**R = H α -**146**R = Ac β -**150**R = H β -**146****162**R = Ac **154**R = H **156**R = Cbz **157**R = Ac **151**R = Cbz **155**R = Ac **148**R = Cbz **149**R = Cbz **166**R = H α -**132** β -**132**

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Chris Meier für die mehrjährige Betreuung meiner Arbeit, die interessante Themenstellung mit dem wissenschaftlichen Freiraum bei ihrer Bearbeitung sowie die hervorragenden Arbeitsbedingungen.

Herrn Prof. Dr. Joachim Thiem danke ich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens. Herrn Prof. Dr. Ralph Holl und Herrn Prof. Dr. Wolfgang Maison danke ich für die Teilnahme am Disputationskolloquium.

Bei meinen Kooperationspartnern aus den Arbeitsgruppen von Prof. Dr. Ulrich Hahn und Dr. Ulrich Rabausch möchte ich mich für die sehr gute und erfolgreiche Zusammenarbeit bedanken. Besonders hervorzuheben sind dabei Dr. Kathrin Seelhorst sowie Dr. Friederike Bönisch, die mir bei biochemischen Fragestellungen stets sehr behilflich waren. Des Weiteren möchte ich Conny Fohrmann und Melissa Bärenfänger für die große Unterstützung beim bioinformatischen und analytischen Teil meiner Arbeit danken. Allen Mitgliedern der NMR- und MS-Abteilung danke ich für die Durchführung unzähliger Experimente.

Allen ehemaligen und aktuellen Mitgliedern des Arbeitskreises Meier danke ich für die ausgezeichnete Arbeitsatmosphäre und schöne Zeit. Insbesondere danke ich Dr. Katharina Pahnke und Dr. Johanna Huchting für die fachlichen Anregungen und die Hilfsbereitschaft. Für die tatkräftige Unterstützung bei den praktischen Arbeiten danke ich den ISP-Praktikanten, meinem Bachelor-Schützling Patrick Sakrausky sowie den Forschungspraktikanten Tom Seddig, Franz Heinemann sowie Tilman Eckert.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Laborpartnerin und guten Freundin Katharina Pfaff. Die vielen fachlichen und nicht fachlichen Diskussionen, die oftmals zeremoniellen Tee-Pausen oder die musikalischen Eskalationen haben die Laborzeit noch angenehmer und schneller vergehen lassen. Im 4. Stock waren wir zurecht die Pfeiler von Old Bailey! Auch den Marschierern danke ich für die amüsanten und sättigenden Treffen Woche für Woche.

Für die fachliche und kritische Durchsicht dieser Arbeit möchte ich mich bei Nils Jeschick bedanken. Mein Dank für die ebenso kritische Prüfung der Rechtschreibung und Grammatik gilt Dr. Jens-Oliver Bock.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern für die unaufhörliche Unterstützung und den moralischen Beistand.

Eidesstaatliche Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, die vorliegende Dissertation „Synthese natürlicher und modifizierter Substrate von Glycosyltransferase“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt zu haben. Die eingereichte schriftliche Fassung entspricht der auf dem elektronischen Speichermedium. Ich versichere, dass diese Dissertation nicht in einem früheren Promotionsverfahren eingereicht wurde.

Ort, Datum

Tomas Piernitzki, M. Sc.