

**Synthese von linearen und cyclischen,
verbrückten Neooligosacchariden**

Vom Fachbereich Chemie
der Universität Hannover

zur Erlangung des Grades
Doktor der Naturwissenschaften

- Dr. rer. nat. -

genehmigte
Dissertation

von

Diplom-Chemikerin Meike Lindner
geboren am 20. Januar 1972 in Osnabrück

2004

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 2000 bis April 2004 unter der Leitung von Prof. Dr. Andreas Kirschning am Institut für Organische Chemie der Universität Hannover angefertigt.

Hannover, im April 2004

Referent: Prof. Dr. A. Kirschning

Koreferent: Prof. Dr. H. Butenschön

Tag der Promotion: 11. Mai 2004

Meiner Familie gewidmet

Zusammenfassung

Meike Lindner

Synthese von linearen und cyclischen, verbrückten Neooligosacchariden

Schlagworte: Aminoglycoside - Kohlenhydrate - Olefinierung - Metathese - Kreuzmetathese - RNA-Bindung

Im Rahmen dieser Dissertation wurden lineare und cyclische Neooligosaccharide durch eine modulare Synthesestrategie dargestellt. Aufbauend auf im Arbeitskreis Kirschning durchgeführte Arbeiten, konnten anomereneine, monomere Glycosidbausteine für verknüpfende Metathesereaktionen bereitgestellt werden. Neben der *de novo* Synthese stellen kommerziell erhältliche Antibiotika eine weitere wichtige Quelle für Zuckergrundgerüste dar. In diesem Zusammenhang sind vor allem das Erythromycin für die L-Cladinose und das D-Desosamin, sowie das Neomycin für das Neamin zu nennen. Durch selektive Isolierung konnten hieraus die genannten Glycoside gewonnen und anschließend modifiziert werden. Die natürlichen und synthetischen Monomere wurden durch Allylierung für Metathesereaktionen vorbereitet. Der Allyllinker konnte entweder in einer Fischer-Glycosid-Synthese, über Transglycosylierung mittels Trialkylsilylierungsmethode oder durch O-Alkylierung eingeführt werden.

Die Metathesereaktionen wurden unter Einsatz verschiedener Katalysatoren, Lösungsmittel und Reaktionstemperaturen optimiert. Durch Dimerisierung konnten unterschiedliche kopf-an-kopf- und schwanz-an-schwanz-verknüpfte Homodimere aus Allylglycosiden dargestellt werden. Ausgehend von dem Homodimer der L-Cladinose wurde durch weitere Allylierung am Schwanzende und anschließende Ringschlussmetathese ein cyclisches Tetramer erhalten.

Des Weiteren konnten zwei verschiedenen Allylglycoside durch eine Kreuzmetathesereaktion zu einem gemischten Dimer verknüpft werden, welches im Folgenden zum linearen Tetramer modifiziert wurde. Zusätzliche Kreuzkupplungen wurden zwischen einem *arabino*-konfigurierten Allyl-3-aminoglycosid und Allylhalogeniden durchgeführt. Der Einsatz dieses Produktes in einer anschließenden O-Alkylierungsreaktion führte zu einem verbrückten Homodimer mit verlängertem Linker.

Die biologischen Eigenschaften von ähnlichen Oligosacchariden wurden mittels Dot-Blot- und Verdauungsexperimenten analysiert. Hierzu wurden die Wechselwirkungen zwischen TAR-RNA, einem mRNA-Fragment des HI-Virus-1, und dem für die Stimulation der kontinuierlichen mRNA-Transkription des HIV-1 verantwortlichen Tat-Protein genutzt. Die Oligosaccharide sollen diese Interaktion inhibieren, indem sie selber an die RNA binden.

Abstract

Meike Lindner

Synthesis of linear and cyclic, spacer-linked neooligosaccharides

Key words: aminoglycosides - carbohydrates - olefination - metathesis - cross metathesis - RNA-binding

During this Ph.D. work linear and cyclic neooligosaccharides were prepared using a modular synthesis strategy. Based on work established in the group of Kirschning, monomeric building blocks for metathesis reactions could be provided. Besides *de novo* synthesis, commercially available antibiotics were important sources for carbohydrate scaffolds. L-Cladinose and D-desosamine could be isolated from erythromycin and neamine from neomycin. After isolation or *de novo* synthesis, all building blocks were modified with allyl substituents to allow metathesis based oligomerisation. In the following the allyl linker could be introduced by Fischer glycosidation, transglycosylation with trialksilylchloride or O-alkylation.

All metathesis conditions were optimised by using various catalysts, solvents and reaction-temperatures. A number of different head-to-head and tail-to-tail linked homodimers were generated by dimerisation. Based on the homodimer of L-cladinose it was possible to create a cyclic tetramer by tail-allylation and subsequent ring closing metathesis.

Furthermore, a mixed glycoside dimer was synthesised by cross metathesis of two different allyl glycosides. This heterodimer was then modified to generate a linear tetramer. In addition, other cross metathesis reactions were accomplished starting with an *arabino* configured allyl 3-aminoglycoside and an allyl halogenide. The cross product was submitted to an O-alkylation reaction to form a dimer with an extended linker.

The biological properties of related oligosaccharides were analyzed by using dot blot and footprinting assays. Here the interaction between TAR RNA, a mRNA fragment of HIV-1, and Tat protein, responsible for stimulation of continuous mRNA transcription of HIV-1, were used. The oligosaccharides should inhibit these interactions by binding to the RNA.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Antibiotika	1
1.1.1	Wirkorte der Antibiotika	2
1.1.2	Resistenz.....	8
1.2	HIV	10
1.2.1	Der HIV-Replikationszyklus	10
1.2.2	Tat/TAR Wechselwirkung	11
1.2.3	Antitermination.....	13
1.2.4	Der Tat/TAR-Antiterminationskomplex als Ansatzpunkt in der antiviralen Therapie	14
2	Zielsetzung	16
3	Synthese von monomeren Bausteinen	19
3.1	Darstellung des per-O-acetylierten L-Rhamnals (43)	19
3.2	Darstellung von Allylglycosidderivaten aus per-O-acetyliertem L-Rhamnal (43)	20
3.3	Darstellung von monomeren Bausteinen aus Erythromycin A	24
3.3.1	Darstellung des Allylglycosidderivates aus L-Cladinose (59)	25
3.3.2	Darstellung des Allylglycosidderivates aus D-Desosamin (61).....	28
3.4	Darstellung des Allylglycosidderivates ausgehend von Neomycin A (76)....	32
3.4.1	Abbau von Neomycinsulfat (78) zum Neaminhydrochlorid (79)	34
3.4.2	Darstellung des Allylglycosidderivates ausgehend vom Neaminhydrochlorid (79)	35
3.4.3	Hydrolyse des Neamin-Derivats 85	38
3.4.4	Isolierung und Modifizierung von 2-Desoxystreptaminhydrochlorid (92).....	39
4	Olefinmetathese	42
4.1	Mechanismus der Metathese	42
4.2	Katalysatoren.....	43
4.3	Metathesearten.....	45
4.4	Ermittlung des <i>E/Z</i> -Verhältnisses	48
4.5	Die Olefinmetathesereaktionen	49
4.5.1	Olefin-Selbst-Metathese, Homodimerisierung.....	50
4.5.1.1	Darstellung von Homodimeren ausgehend von den Allylglycosiden 49 und 57	50

4.5.1.2	Darstellung von linearen Homodimeren ausgehend von den Allylglycosiden 63, 64, 65 und 70	52
4.5.1.3	Darstellung eines cyclischen Homotetramers aus dem Homodimer 111	55
4.5.1.4	Darstellung eines linearen Homodimeren aus dem Allylglycosid 74	56
4.5.2	Kreuzmetathese	58
4.5.2.1	Darstellung eines Heterodimers ausgehend von den Allylglycosiden 49 und 53 bzw. 64	58
4.5.2.2	Darstellung eines Heterotetramers ausgehend von dem Heterodimer 128	62
4.5.2.3	Darstellung eines Heterodimers ausgehend von dem Allylglycosid 49 und einem Allylhalogenid.....	64
4.5.2.4	Versuche zur Darstellung eines Homodimers ausgehend von dem Allylglycosid 83	67
5	Methoden zur Bestimmung biologischer Eigenschaften	71
5.1	Gelelektrophorese	71
5.1.1	Denaturierte Polyacrylamidgele.....	72
5.1.2	RNA.....	72
5.1.3	Proteine	73
5.1.4	Detektion	73
5.1.4.1	Northern Blot	73
5.1.4.2	Indirekte Detektion durch enzymatisch aktivierte Chemoluminiszenz...	74
5.1.5	Filterbindungsassay (Dot-Blot)	75
5.1.6	Verdauungs-Experimente (Footprinting Assays).....	76
5.1.7	„Filterbinding assays“ (Dot-Blot), Bestimmung der Komplexbindungs- konstanten des Aminoglycosides	80
6	Zusammenfassung und Ausblick	84
7.	Experimenteller Teil	89
7.1	Allgemeines	89
7.1.1	Durchführung.....	89
7.1.1.1	Isolierung.....	89
7.1.1.2	Analytik	90
7.2	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3	92
7.2.1	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.1	92
7.2.2	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.2	93
7.2.3	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.3	108

7.2.4	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.3.1	111
7.2.5	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.3.2	119
7.2.6	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.1	126
7.2.6	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.2	127
7.2.7	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.3	132
7.2.8	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.4	135
7.3	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4	138
7.3.1	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.1	138
7.3.2	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.1.2	143
7.3.3	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.1.3	150
7.3.4	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.1.4	154
7.3.5	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.2.1	158
7.3.6	Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.2.3	167
7.3.7	Darstellung der Verbindung aus Kapitel 4.5.2.4	171
8	Experimenteller Teil: Gelelektrophorese	172
8.1	Inaktivierung von RNAsen	172
8.2	Behandlung der RNA.....	172
8.3	Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAGE).....	172
8.4	Northern Blot	174
8.5	Detektion der biotinylierten RNA mit CDP-Star®	174
8.6	Dot Blot.....	176
	Danksagung.....	179
	Lebenslauf	181

Abkürzung

[α]	Drehwert [grad]	[M]	Metallcarbenkomplex
δ	chemische Verschiebung (ppm = 10^{-6})	Me	Methyl
Δ	Rückfluss	min	Minute
Å	Angström	mRNA	messenger RNA
abs.	absolut (wasserfrei)	NMR	Kernmagnetische Resonanz
Ac	Acetyl	ppm	parts per million (10^{-6})
ADMET	acyclische Dienmetathese- Polymerisation	iPr	<i>iso</i> -Propyl
All	Allyl	PE	Petrolether
APS	Ammoniumpersulfat	Piv	Pivaloyl
Äquiv.	Äquivalente	Ph	Phenyl
aq.	wässrig	R	Rest
c	Konzentration (mol/L)	R _f	Retentionsfaktor
CM	Kreuzmetathese	RCM	Ringschlussmetathese
Cy	Cyclohexyl	RNA	Ribonucleinsäure
<i>d</i>	Tag	RNP	Ribonucleoprotein-Komplexe
d	Dublett	ROM	Ringöffnungsmetathese
DC	Dünnschichtchromatographie	ROMP	Ringöffnungsmetathese- Polymerisation
DEPC	Diethylpyrocarbonat	RRE	Rev responsive element
4-DMAP	4-Dimethylaminopyridin	RT	Raumtemperatur
DMF	N,N-Dimethylformamid	s	Singulett
DMSO	Dimethylsulfoxid	TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl
EDTA	<u>E</u> thyl <u>d</u> iamin <u>t</u> etra <u>a</u> cet <u>a</u> t	TBDP	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl
Et	Ethyl	TBE	<u>T</u> ris, <u>B</u> orsäure, <u>E</u> DTA
EE	Essigsäureethylester	TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethylen- diamin
ESI	Elektronenspray-Ionisation	Tfa	Trifluoracetat
EtTfa	Trifluoressigsäureethylester	Tfaa	Trifluoressigsäureanhydrid
ges.	gesättigt	THF	Tetrahydrofuran
h	Stunde	TMSOTf	Trifluormethansulfon- säuretrimethylsilylester
IR	Infrarot	Tris	Tris-(hydroxymethyl)- aminomethan
kat.	katalytisch	ü. N.	über Nacht
LiHMDS	Lithiumhexamethyldisilazid	Z	Benzyloxycarbonyl
m	Multiplett		

1 Einleitung

1.1 Antibiotika

Unter Chemotherapie versteht man im Allgemeinen die Behandlung von Infektions- oder Krebskrankheiten mit chemischen Stoffen. Der erste Beleg erfolgreicher Chemotherapie ist aus dem Gebiet des heutigen Peru bekannt. Dort verwendeten die Indianer die Rinde des Chinarindenbaums für die Behandlung von Malaria. Auch im alten China wurden ähnliche Substanzen benutzt und auch von anderen Naturvölkern ist bekannt, dass Pflanzenbreiumschläge mit antibakteriellen und antifungiziden Substanzen verwendet werden. Die moderne Chemotherapie begann mit der Arbeit von PAUL EHRLICH, der systematisch nach effektiven Mitteln gegen Trypanosomiasis¹ und Syphilis suchte. Es wurde ein Medikament mit antitypanosomalen Effekten (p-Rosanilin (1)) von ihm entwickelt und er erkannte 1909 die Heilwirkung des Arsphenamins (Salversan® (2)) gegenüber den Erregern der Syphilis. Zu dieser Zeit postulierte er auch seine Idee der gezielten und genauen Platzierung des Arzneistoffes ausschließlich am Wirkort mittels einer so genannten „Zauberkegel“, auch als „Magic Bullet“ bekannt. Durch die zielgenaue Platzierung des Arzneistoffs ausschließlich am Wirkort würden Nebenwirkungen im restlichen Körper vermieden. Außerdem können durch lokalisierte Wirkstoffkonzentrationen die zur Therapie notwendige Dosis wesentlich gesenkt werden. Diesen Ansatz des gezielten Heranbringens eines Arzneistoffs an den Wirkort bezeichnet man heute mit dem Begriff „Drug-Targeting“.

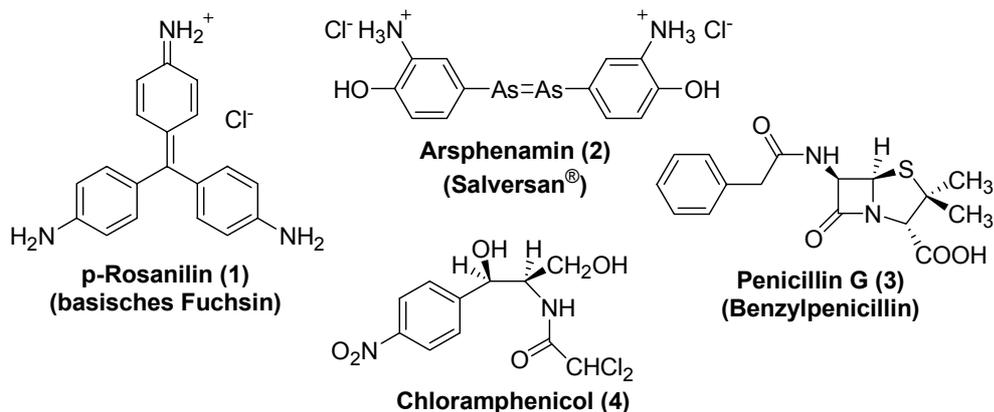


Abbildung 1

¹ Trypanosomiasis: Schlafkrankheit

Das „Magic Bullet“-Konzept war bis zum Jahr 1935 wenig erfolgreich, bis GERHARD DOMAGK die heilende Wirkung von Pronosil[®], einem Vorläufer der Sulfonamide, erkannte. Penicillin G (**3**) wurde von ALEXANDER FLEMING im Jahr 1929 zufällig entdeckt, er konnte aber zunächst die Ausmaße seiner Entdeckung nicht abschätzen. 1939 wurde Penicillin (**3**) von HOWARD FLOREY und seinen Kollegen der Universität von Oxford nochmals isoliert. 1943 fand SELMAN WALKSMAN Streptomycin (**5**) und später Substanzen wie Chloramphenicol (**4**), Tetracycline und Erythromycin.

Seit den 60er-Jahren gab es Verbesserungen bei den Fermentationstechniken und Fortschritte in der medizinischen Chemie, die Synthesen von vielen neuen Chemotherapeutika, basierend auf existierenden Präparaten, erlaubten. Die Entwicklung neuer antibakterieller Mittel schritt sehr schnell voran, aber der Fortschritt von effektiven, nicht-toxischen antifungalen und antiviralen Mitteln stagnierte. Allein Amphotericin B (**6**), 1950 isoliert, hatte einen antifungalen Effekt. Derzeit werden neuere Therapeutika wie Fluconazol (Diflucan[®] (**7**)) weltweit verwendet. Nukleosidanaloga, wie Aciclovir (Zovirax[®] (**8**)) gegen Herpes, haben sich ebenfalls als effektive Therapeutika für ausgewählte virale Infektionen erwiesen.

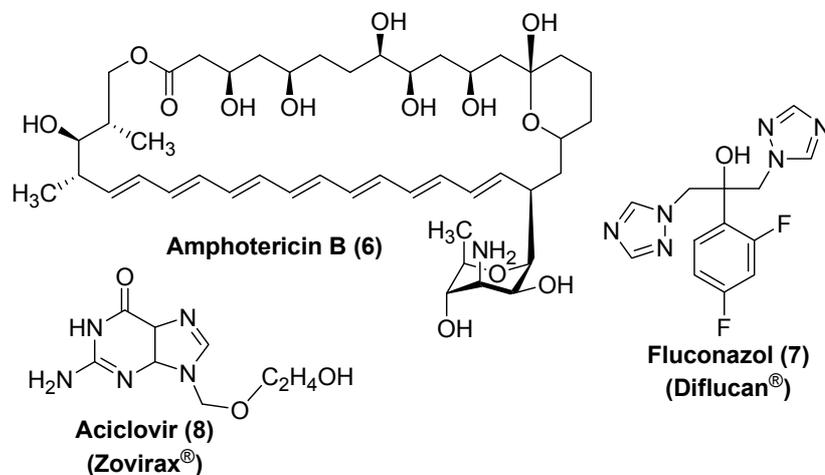


Abbildung 2

1.1.1 Wirkorte der Antibiotika

Antibiotika sind zumeist Stoffe, die von Bakterien oder Pilzen gebildet werden und das Wachstum anderer Organismen beeinflussen. Der Begriff Antibiotika wird heute häufig auch auf synthetische antibakterielle Substanzen angewendet. Die Klassifizierung der Antibiotika erfolgt meist nach ihrem Target und Wirkmechanismus (Abbildung 3).

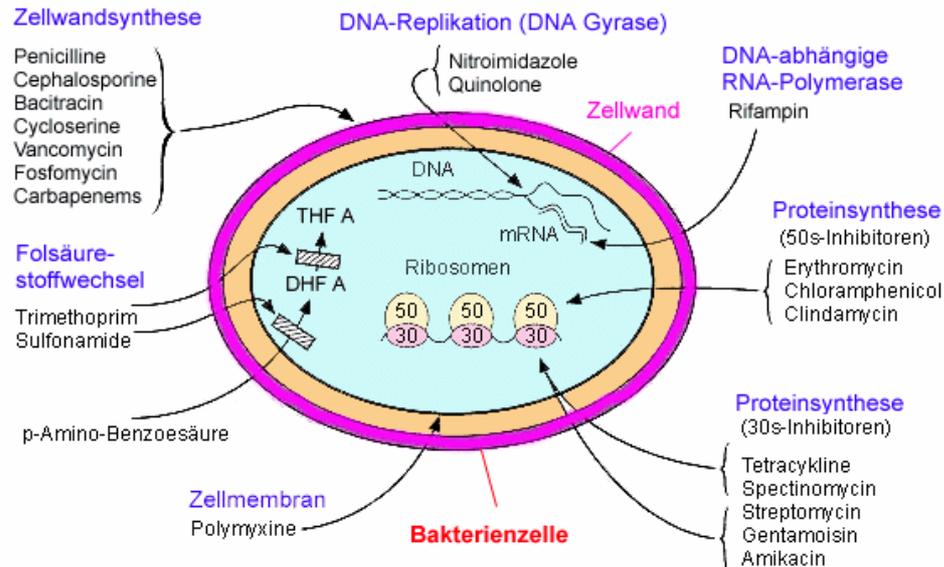


Abbildung 3 Wirkorte der wichtigsten Antibiotika in der Bakterienzelle²

Ein wichtiger Zielprozess für Antibiotika ist die ribosomale Proteinsynthese in Prokaryonten, da die komplexe Struktur der Ribosomen viele Angriffsmöglichkeiten bietet. Die Kristallstruktur der Prokaryonten-Ribosomen konnte erst vor kurzem aufgeklärt werden.³ Die Ribosomen bestehen aus zwei ungleichen Einheiten: Die größere 50S-Untereinheit besteht aus einer 5S- sowie einer 23S-rRNA und 34 Polypeptiden, während sich die kleinere 30S-Untereinheit aus 16S-rRNA und 21 Polypeptiden zusammensetzt.

Die Translation einer mRNA in ein Protein beginnt mit der Bildung des Initiierungskomplexes: In Prokaryonten lagern sich die 30S- und die 50S-Untereinheit des Ribosoms sowie eine Formylmethionin-tRNA um eine mRNA. Das Ribosom verlängert dann das Polypeptid in einem mehrere Schritte beinhaltenden Reaktionskreislauf (Abbildung 4).

² Entnommen www.zum.de/Faecher/Materialien/beck/13/bs13-7.htm (22.09.03) und modifiziert.

³ a) J. H. Cate, M. M. Yusupov, G. Z. Yusupova, T. N. Earnest, H.F. Noller *Science* **1999**, *285*, 2095-2105; b) W. M. Clemons Jr., J.L. .C. May, B. T. Wimbley, J. P. McCutcheon, M. S. Capel, V. Ramakrishnan *Nature* **1999**, *400*, 833-840; c) N. Ban, P. Nissen, J. Hansen, M. Cael, P. B. Moore, T. A. Steitz *Nature* **1999**, *400*, 841-847.

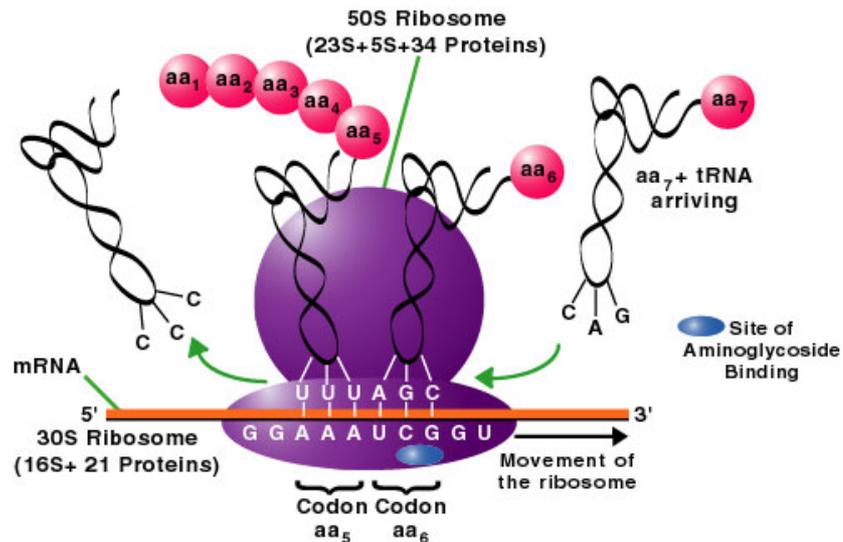


Abbildung 4 Ribosomale Proteinsynthese und die A-Bindungsstelle an der 16S-rRNA für Aminoglycoside⁴

Eine Aminoacyl-tRNA bindet an die A-Stelle⁵ und anschließend wird die wachsende Polypeptidkette von der tRNA in der P-Stelle⁶ auf die Aminoacyl-tRNA in der A-Stelle übertragen. Der Transfer der daraus resultierenden ungeladenen tRNA aus dem Ribosom hinaus und Translokation vervollständigen den Kreislauf.

Das molekulare Ziel von Chloramphenicol (**4**) (Abbildung 1) in diesem Prozess ist z.B. das Enzym *Peptidyltransferase*, welches Aminosäuren in der wachsenden Peptidkette verbindet. Dieses Antibiotikum „friert“ den Prozess der Kettenverlängerung (Elongation) ein und bringt den Bakterienstoffwechsel zu einem abrupten Ende. So ist Chloramphenicol (**4**) ein wichtiges bakteriostatisches⁷ Therapeutikum.

Eine weitere Antibiotikagruppe stellen die Makrolid-Antibiotika dar (Abbildung 5). Es handelt sich um Sekundärmetabolite mit einer Vielzahl unterschiedlicher Strukturen und Aktivitäten. Sie bestehen immer aus dem gleichen Grundgerüst, einem Lacton-Ring, der meist 14 bis 16 Glieder umfasst, und einer oder mehreren Zuckereinheiten, welche häufig wichtig für die Aktivität der Makrolide sind. Sie greifen nicht direkt in den Zyklus der Proteinbiosynthese ein. Vielmehr binden sie an einem spezifischen Bereich der 50S-Untereinheit, dem Peptidyl-Transferase-Ring (PTR), wo sie das Ribosom erst nach einigen Elongationszyklen blockieren. Dies bedeutet, dass ein Ribosom eine Proteinkette mit vier bis sechs Aminosäuren aufbauen kann, bevor die Makrolide die Proteinbiosynthese zum Stillstand bringen.

⁴ T. K. Ritter, C.-H. Wong *Angew. Chem.* **2001**, *133*, 3616-3641.

⁵ A-Stelle (Aminoacyl-Stelle): zweite Bindungsstelle der tRNA im Ribosom.

⁶ P-Stelle (Peptidyl-Stelle): erste Bindungsstelle der tRNA im Ribosom.

⁷ Eigenschaft von Stoffen, die das Wachstum von Bakterien hemmen.

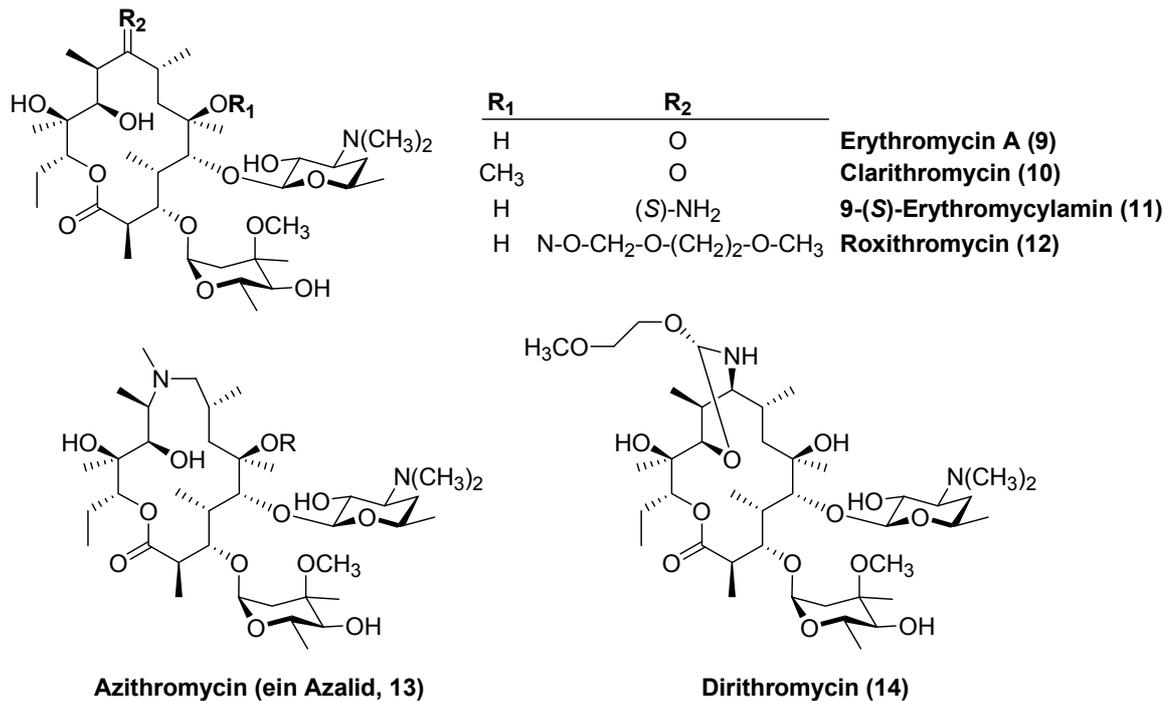


Abbildung 5 Makrolid-Antibiotika

Erythromycin A (**9**) wurde vor fast 50 Jahren entdeckt und wird seit langer Zeit gegen Gram-positive Pathogene eingesetzt, insbesondere bei Patienten mit Allergien auf β -Lactam-Antibiotika. Durch die Einführung von semisynthetischen Erythromycin-A-Derivaten, z. B. 9-(S)-Erythromyclamin (**11**),⁸ wird den Makrolid-Antibiotika wieder mehr Aufmerksamkeit geschenkt. Dirithromycin (**14**)⁹ ist ein 9-N-11-O-Oxazinderivat und wird zu Erythromyclamin (**11**) metabolisiert. Die Aktivität ist *in vitro* mit der der Erythromyclamine vergleichbar, es hat jedoch bessere pharmakokinetische Eigenschaften.¹⁰ Clarithromycin (6-OMe-Erythromycin (**10**))¹¹ so wie Azithromycin (**13**),¹² das erste Azalid, sind in sauren Medien stabiler als ihre Mutterverbindung und können daher auch oral verabreicht werden. Mit Einführung des Azithromycins (**13**) wurde das Anwendungsgebiet der Makrolid-Antibiotika zusätzlich auf die Gram-negativen Pathogene ausgedehnt.

Die Antibiotika der Tetracyclingruppe (**15-20**) (Abbildung 6) werden hingegen aktiv in die Bakterienzelle transportiert und binden dort an der ribosomalen 30S-Untereinheit, so

⁸ C. Miossec-Bartoli, L. Pilatre, P. Peyron, E.-N. N'Diaye, V. Collart-Dutilleul, I. Maridonneau-Parini, A. Diu-Hercend *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1999**, *43*, 2457-2462.

⁹ S. M. Wintermeyer, S. M. Abdel-Rahman, M. C. Nahata *Annals of Pharmacotherapy* **1996**, *30*, 1141-1149.

¹⁰ F. T. Counter, P. W. Ensminger, D. A. Preston, C. Y. E. Wu, J. M. Greene, A. M. Felty-Duckworth, J. W. Paschal, H. A. Kirst *Antimicrob. Agents Chemother.* **1991**, *35*, 1116-1126.

¹¹ P. B. Fernandes, R. Bailer, R. Swanson, C. W. Hanson, E. McDonald, N. Ramer, D. Hardy, N. Shipkowitz *Antimicrob. Agents Chemother.* **1986**, *30*, 865-873.

¹² J. Retsema, A. Girard, W. Schelkly, M. Manousos, M. Anderson, G. Bright, R. Borovoy, L. Brennan, R. Manson *Antimicrob. Agents Chemother.* **1987**, *31*, 1939-1947.

dass eine Bindung zur Aminoacyl-tRNA an die A-Seite unterbunden wird.¹³ Hierdurch wird ein Abbruch der Kettenelongation wie beim Chloramphenicol (4) herbeigeführt. Diese Antibiotika wirken überwiegend bakteriostatisch. Zusätzlich bewirken Tetracycline eine Hemmung der Zellwand-Biosynthese. Tetracycline zeichnen sich durch eine relativ geringe Toxizität gegenüber Säugetieren aus.

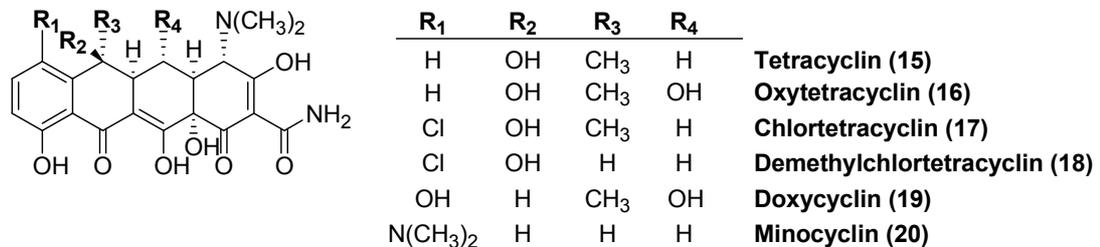


Abbildung 6 Antibiotika der Tetracyclingruppe

Eine weitere Antibiotikagruppe, die Aminoglycosid-Antibiotika, bestehen aus sechsgliedrigen, carbacyclischen Kernen (Aminocyclitolen), die eine Reihe von Zuckersubstituenten tragen (Abbildung 8). Diese zentrale Cyclitol-Einheit ist normalerweise 2-Desoxystreptamin, doch auch andere Aminocyclitole wie Streptidin (Streptomycine), Actinamin (Streptomycine) und Fortamin (Fortimicine) kommen vor.

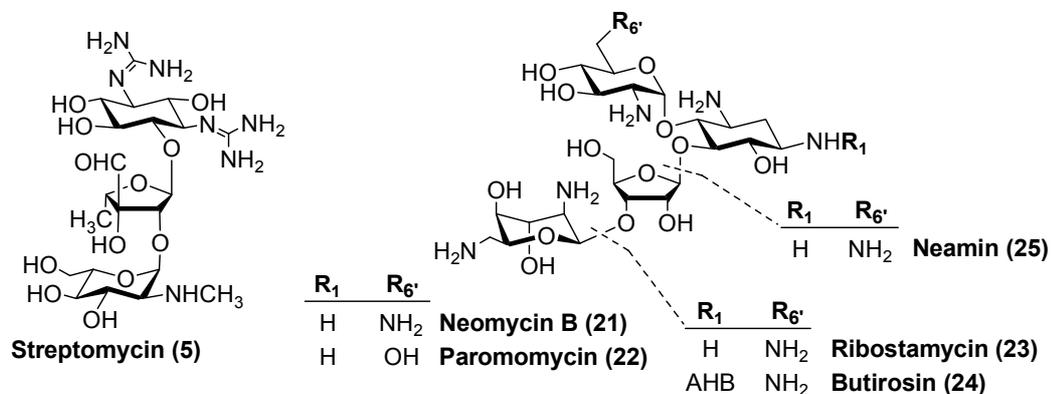


Abbildung 7 Streptomycin und Neomycin-Aminoglycoside (AHB = Aminohydroxybutan)

Die Aminoglycoside werden in der Regel nach ihren Aminozuckersubstituenten klassifiziert. So ist z. B. in der Neomycinfamilie die zentrale 2-Desoxystreptamineinheit mit drei Aminozuckern verbunden, wohingegen Mitglieder der Kanamycin- und Gentamycinfamilien nur zwei Zuckersubstituenten tragen.

¹³ I. Chopra, P. M. Hawkey, M. Hilton J. *Antimicrobial. Chemotherapy* **1992**, 29, 245-277.

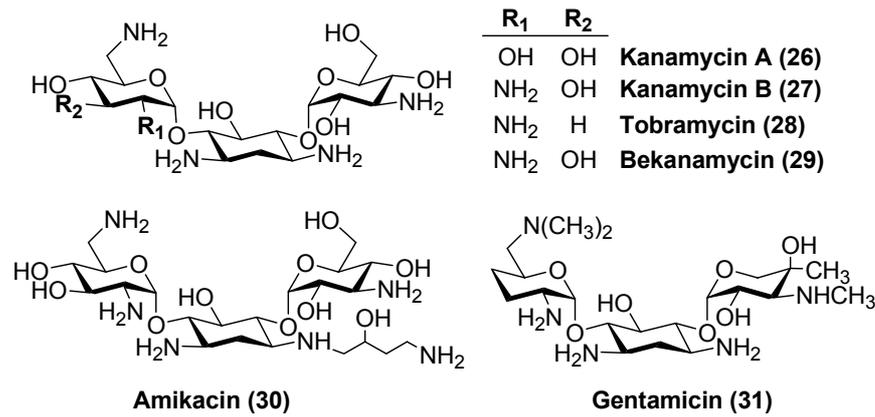


Abbildung 8 4,6-Disubstituierte 2-Desoxystreptamin-Antibiotika

Die Aminoglycosid-Antibiotika hemmen die Translation durch Bindung an die A-Stelle der kleinen ribosomalen 30S-Untereinheit (Abbildung 4). Die Wasserstoffbrückendonoren der Aminoglycoside sind an dem Zuckergerüst so angeordnet, dass sie mit den Nukleotiden der RNA in Wechselwirkung treten können. Diese Bindungen können eine Änderung der RNA-Konformation auslösen und so zur Stabilisierung des Komplexes aus tRNA und A-Stelle führen.¹⁴ Dies verhindert ein wirkungsvolles Korrekturlesen der mRNA, so dass fehlerhafte Proteine entstehen und durch Anhäufung dieser mutierten Membranproteine die Integrität der Bakterienhülle gestört wird. Die Folge ist eine verstärkte Aufnahme von weiteren Aminoglycosiden, die dann zur Zellyse führt.

Limitierend für den Einsatz der Aminoglycosid-Antibiotika sind toxische Nebenwirkungen. Im Vordergrund stehen das nephro-¹⁵ und ototoxische¹⁶ Potential aller Aminoglycoside. Die Nierenschädigungen sind vergleichsweise häufig, aufgrund der Regenerationsfähigkeit des Tubulusepithels¹⁷ jedoch meist reversibel. Die ototoxische Wirkung ist nach einer initial reversiblen Phase bei Fortsetzung der Therapie irreversibel. Die Schädigung kann sowohl die Hörfunktion als auch den Gleichgewichtssinn betreffen.

¹⁴ D. Fourmy, S. Yoshizawa, J. D. Puglisi, *J. Mol. Biol.* **1998**, 277, 333-345.

¹⁵ nephrotoxisch: nierenschädigend

¹⁶ ototoxisch: Schädigung des Ohrs und seiner Funktionen.

¹⁷ Tubulusepithel: Zellen, die die Harnkanäle auskleiden.

1.1.2 Resistenz

Es ist bekannt, dass bakterielle Pathogene Resistenzen gegen Antibiotika entwickeln. Die betroffenen Therapeutika werden nutzlos für die Behandlung von Infektionskrankheiten, die von diesem Pathogen ausgelöst werden. Entwickeln Pathogene Resistenzen, müssen neue Antibiotika gefunden werden, um diese Therapeutika zu ersetzen. Ein Beispiel hierfür ist das natürliche Penicillin, das gegen eine Vielzahl Staphylokokken wirkungslos geworden ist. Ein weiteres Beispiel sind die Tetracycline. Durch Jahrzehnte lange Anwendung und Missbrauch dieser Wirkstoffklasse sind sie wertlos für die Bekämpfung vieler Infektionskrankheiten geworden, obwohl sie einst als „Wundermedikament“ bezeichnet wurden.

Aber es müssen nicht nur neue Wirkstoffe gegen schon bekannte Krankheiten entwickelt werden, eine zusätzliche Herausforderung ist die Entwicklung neuer Medikamente, um neuartige Krankheiten zu bekämpfen. In den letzten 20 Jahren wurden viele „neue“ bakterielle Erkrankungen entdeckt, darunter die Legionärskrankheit, Magengeschwüre oder Borreliose. Ein breites Spektrum an Resistenzen existiert auch in diesen Pathogenen und es ist nur eine Frage der Zeit, bis neue Antibiotika die wenigen wirksamen Therapeutika gegen diese Bakterien ersetzen müssen.

Die Hauptmechanismen für mikrobielle Resistenzen gegen antimikrobielle Substanzen lassen sich in folgende Kategorien einteilen:¹⁸

- Überexpression der Rezeptoren
- Modifizierung des Rezeptors für den jeweiligen Wirkstoff¹⁹
- Abnahme der Menge an Antibiotikum am Rezeptor durch einen modifizierten Zugang oder erhöhten Abtransport des Antibiotikums²⁰
- Zerstörung oder Inaktivierung des Wirkstoffes²¹
- Entwicklung eines alternativen Stoffwechselweges

¹⁸ C. Walsh *Nature* **2000**, *406*, 775-781.

¹⁹ a) D. E. Bussiere, S. W. Muchmore, C. G. Dealwis, G. Schluckebier, V. L. Nienaber, R. P. Edalji, K. A. Walter, U. S. Lador, T. F. Holzman, C. Abad-Zapatero *Biochemistry* **1998**, *37*, 7103-7112; b) T. D. H. Bugg, G. D. Wright, S. Dutke-Malen, M. Arthur, P. Courvalin, C. T. Walsh *Biochemistry* **1991**, *30*, 10408-10415.

²⁰ a) I. T. Paulsen, M. H. Brown, R. A. Skurray *Microbiol. Rev.* **1996**, *60*, 575-608; b) J. T. Ross, E. A. Eady, J. H. Cove, W. J. Cunliffe, S. Baumber, J. C. Wooton *Mol. Microbiol.* **1990**, *4*, 1207-1214.

²¹ a) K. J. Shaw, P. N. Rather, S. R. Hare, R. A. Skurray *Microbiol. Rev.* **1993**, *57*, 136-163; b) W. C. Hon, G. A. McKay, P. R. Thompson, R. M. Sweet, D. S. C. Yang, G. D. Wright, A. M. Berghuis *Cell* **1997**, *89*, 887-895.

Bakterien können nicht nur über einen dieser Mechanismen verfügen, sondern es ist möglich, dass sie mehrere oder alle diese Wege zur Resistenzbildung ausnutzen. Die genetischen Grundlagen für die bakteriellen Resistenzen können sowohl inhärent vorhanden sein oder erworben werden.

Inhärente (natürliche) Resistenz:

Bakterien können von Natur aus resistent gegen Antibiotika sein. So haben z.B. Streptomyceten einige Gene, die verantwortlich für die Resistenz gegen ihre eigenen Antibiotika sind. Gram-negative Bakterien haben andererseits eine äußere Membran, die eine permeable Barriere gegen Antibiotika bildet. Manchen Organismen fehlt auch das Transportsystem für Antibiotika. Es ist aber auch möglich, dass das Target für dieses spezielle Antibiotikum nicht vorhanden ist oder der Mechanismus, die von diesem beeinflusst wird.

Erworbene Resistenz:

Bakterien können Resistenzen gegen Antibiotika entwickeln. Dieser Typus der Resistenz resultiert aus der Veränderung des Bakteriengenoms. Die Bildung von erworbenen Resistenzen wird durch zwei genetische Prozesse in den Bakterien angetrieben:

- Vertikale Evolution: Mutation und Selektion
- Horizontale Evolution: Austausch von Genen zwischen verschiedenen Stämmen und Arten

1.2 HIV

Im Jahr 2003 jährte sich ein Jubiläum der besonderen Art, die Entdeckung des Humanen Immundefizienz Virus (HIV) als Erreger für AIDS²², zum zwanzigsten Mal. HIV wurde 1983 unabhängig von ROBERT GALLO²³ (National Cancer Institut, Bethesda) und von LUC MONTAGNIER²⁴ (Pasteur-Institut, Paris) isoliert und beschrieben. Man unterscheidet HIV-1 und HIV-2, wobei HIV-1 hauptsächlich für die globale Ausbreitung von AIDS verantwortlich ist, da es einen rascheren Krankheitsverlauf verursacht als HIV-2. HIV-2 wurde 1986 entdeckt und ist hauptsächlich in Westafrika verbreitet.²⁵

Nach Angaben der Vereinten Nationen (UNAIDS) und der WHO haben sich bis Ende des Jahres 2002 etwa 42 Millionen Menschen weltweit mit dem HI-Virus infiziert. In dem selben Jahr starben weltweit über 20 Millionen an der Immunschwäche AIDS. Auf der südlichen Hälfte des afrikanischen Kontinents leben nach Angaben der UNAIDS beinahe 70% aller HIV-Infizierten, 600 000 Menschen mit HIV oder AIDS leben in Westeuropa und 1,2 Millionen in Osteuropa und Zentralasien.

1.2.1 Der HIV-Replikationszyklus

HIV ist ein Retrovirus²⁶, das seine genetische Information in Form von einzelsträngiger RNA speichert. Infiziert das Virus eine menschliche Zelle, so muss die virale, genomische RNA zunächst durch das virale Enzym „Reverse Transkriptase“ in doppelsträngige DNA umgewandelt werden (Abbildung 9). Anschließend wird diese DNA durch das ebenfalls viral kodierte Enzym Integrase in das Wirtsgenom eingebaut. Auf bisher nicht geklärte Weise wird nach der Integration des Provirus²⁷ die Transkription der viralen RNA gestartet. Es werden verschiedene gespleißte und ungespleißte mRNAs²⁸ transkribiert, die zur Translation von Proteinen oder Vorläuferproteinen führen. Ungespleißte mRNA dient auch als Genom. Die Viruskomponenten lagern sich schließlich an der Zytoplasmamembran zusammen und es kommt zur Knospung unreifer Viruspartikel an der Zelloberfläche. Danach erfolgt erst die eigentliche Reifung zum infektiösen Viruspartikel durch die Spaltung der Vorläuferproteine mittels viraler Proteasen.

²² AIDS: Acquired Immunodeficiency Syndrom.

²³ R. C. Gallo, P. S. Sarin, E. P. Gelmann *Science* **1983**, 220, 865-867.

²⁴ F. Barre-Sinotssi, J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, L. Montagnier *Science*, **1983**, 220, 868-871.

²⁵ F. Clavel, D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Charmaret, M. A. Rey, M. O. Santos-Ferreira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux *Science* **1986**, 233, 343-346.

²⁶ Retrovirus: Ein Virus, dessen Erbinformation (Genom) als RNA vorliegt.

²⁷ Provirus: Die DNA-Kopie des in die Zelle eingedrungenen RNA-Virus.

²⁸ mRNA: messenger RNA

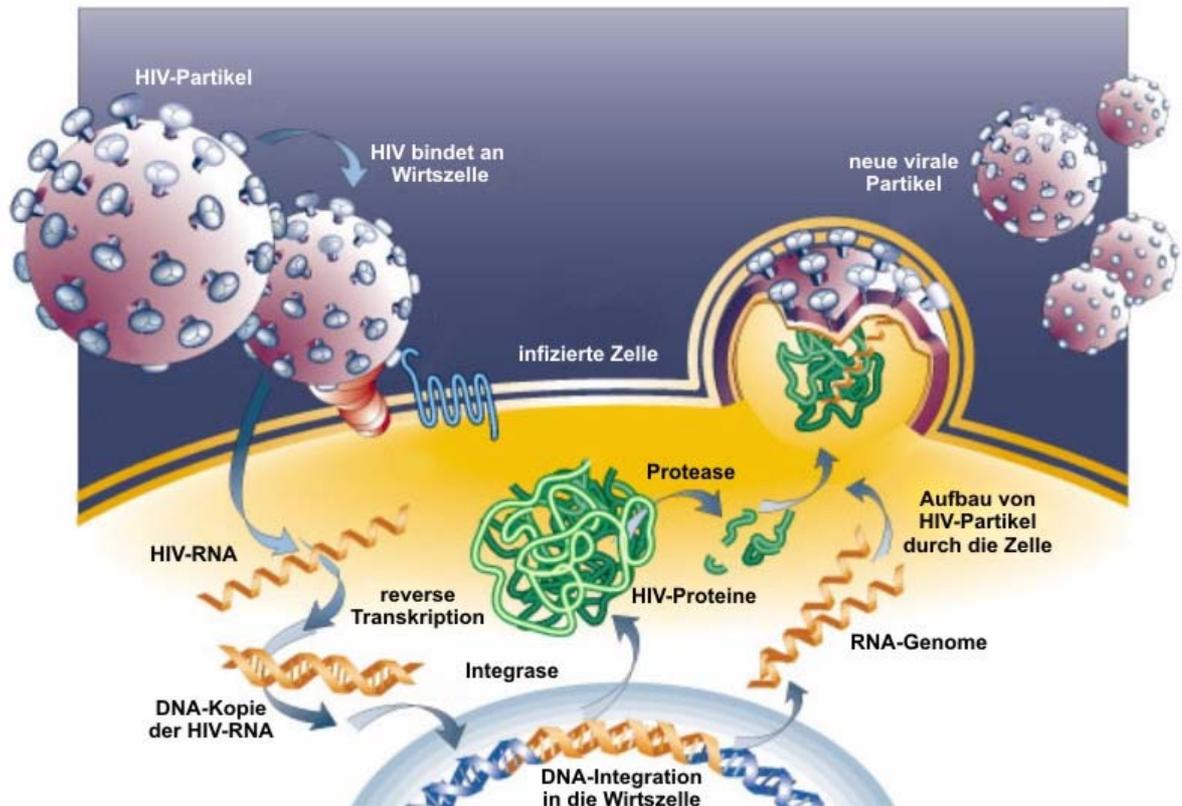


Abbildung 9 HIV-Replikationszyklus²⁹

1.2.2 Tat/TAR Wechselwirkung

Ein interessantes therapeutisches Ziel stellen die Faktoren dar, die an der Regulation der Transkription viraler Gene von HIV beteiligt sind. Bei diesem Retrovirus ist die Expression der viralen RNA und somit die Synthese viraler Proteine streng reguliert. Der Promotor für die Genexpression befindet sich im HIV-LTR³⁰ des integrierten Provirus und ist induzierbar. Neben verschiedenen zellulären Faktoren spielt das virale Protein Tat³¹ bei der Aktivierung der Transkription eine essentielle Rolle.³² Dieses Transkriptions-Transaktivatorprotein wird früh im Lebenszyklus von HIV exprimiert. Im Gegensatz zu den meisten bekannten Transkriptionsaktivatoren bindet Tat nicht an eine DNA, sondern eine RNA-Struktur, der so genannten TAR.³³ Das TAR Element, das am 5'-Ende aller viralen Transkripte liegt, besteht aus 59 Nukleotiden und faltet sich in eine Stamm-Schleife-Struktur (*stem-loop*), die zusätzlich eine Ausbuchtung (*UCU-bulge*) aus nicht gepaarten Nukleotiden besitzt (Abbildung 10).

²⁹ entnommen www.biology.arizona.edu/.../tutorials/AIDS/treatment.html (18.09.2003) und modifiziert

³⁰ LTR: long terminal repeat

³¹ Tat: Transactivation of transcription

³² a) J. Sodroski, R. Patarca, C. Rosen, F. Wong-Staal, W. Haseltine *Science* **1985**, 229, 74-77; b) J. Sodroski, C. R. Rosen, F. Wong-Staal, S. Z. Salahuddin, M. Popovic, S. Arya, R. C. Gallo, W. A. Haseltine *Science* **1985**, 227, 171-173.

³³ TAR: trans-activation response

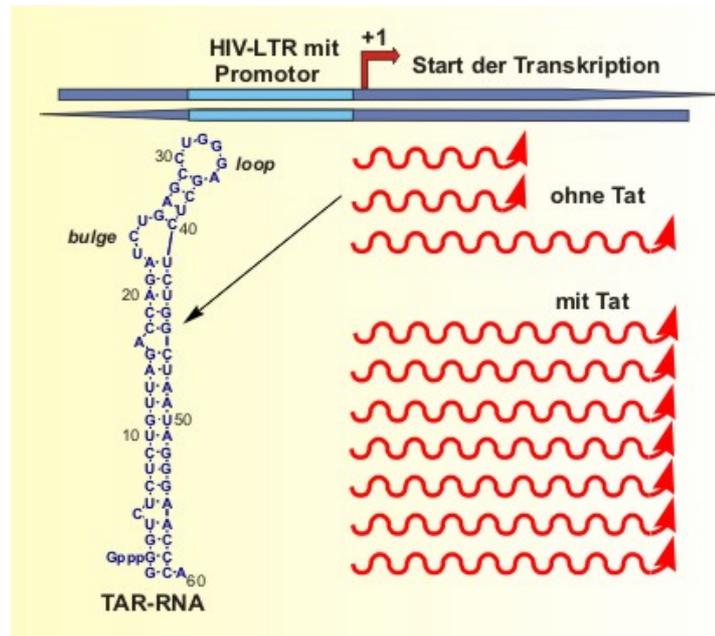


Abbildung 10 Aktivierung der Transkriptionselongation durch Tat am LTR von HIV³⁴ (Die Bindung von Tat an TAR bewirkt die produktive und effiziente Verlängerung der TAR-RNA).

Werden Zellen, die mit HIV infiziert sind, aktiviert, so löst Tat einen positiven Rückkopplungsmechanismus aus, der ein hohes Transkriptionsniveau der viralen RNAs bewirkt (Abbildung 10). In Gegenwart von Tat wird die RNA-Polymerase II aktiviert und kann mit der Transkription fortfahren.

Das Tat-Protein besitzt eine Größe von 86 Aminosäuren und wird in 5 Abschnitte unterteilt (Abbildung 11). Die basische Region enthält ein argininreiches Motiv (RKKRRQRRR), welches wesentlich an der Bindung von Tat an die UCU-Ausbuchtung von TAR beteiligt ist. Durch verschiedene Bindungs- und Deletionsstudien kann gezeigt werden, dass die Region 19-42 der TAR-RNA (Abbildung 10) sowohl notwendig und als auch hinreichend für die Tat-Bindung ist.

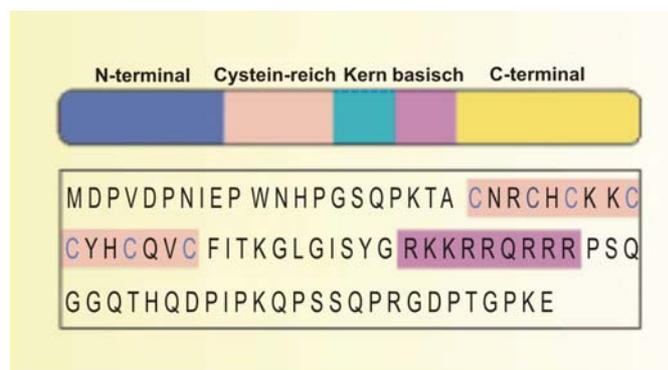


Abbildung 11 Schematische Darstellung des Tat-Proteins³⁴

³⁴ B. Wöhrl *RetroVirus Bulletin* 2 2003.

Die UCU-Ausbuchtung ist für die Affinität und spezifische Bindung von Tat erforderlich, während die Schleifenregion von TAR für die *in vivo* Transaktivierung notwendig ist, jedoch für die direkte Tat/TAR Bindung nicht benötigt wird.³⁵

In Abwesenheit von Tat findet die Genexpression nur auf einem Basisniveau statt bzw. die kurzen Transkripte können nicht mehr weiter verlängert werden. Die Mehrzahl der RNA-Polymerase II-Moleküle, welche die Transkription gestartet haben, bleiben in der Nähe des Promotors „hängen“ (Abbildung 10).³⁶

1.2.3 Antitermination

Die wichtigste Aufgabe von Tat besteht in der Steigerung der Prozessivität³⁷ der RNA-Polymerase II. Zu diesem Zweck rekrutiert es eine Reihe von zellulären Faktoren an den LTR-Promotor und nimmt hauptsächlich auf die Elongation der Transkription Einfluss. Das folgende Modell wird hierzu diskutiert.³⁸

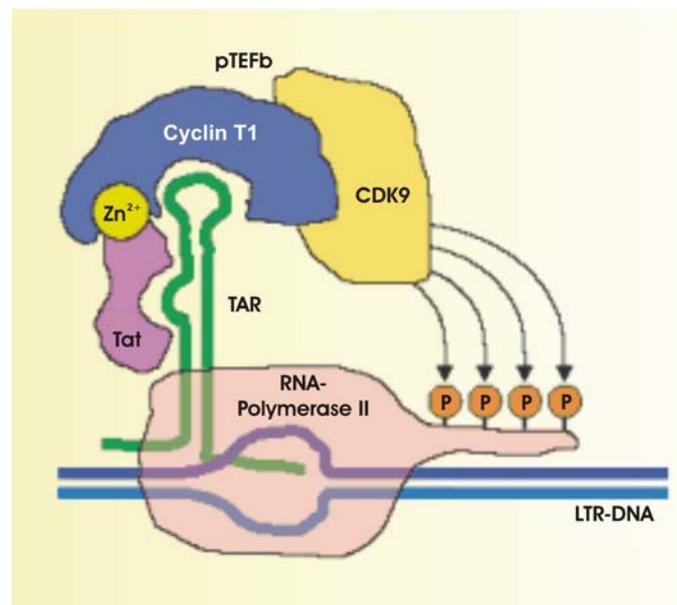


Abbildung 12 Vereinfachte schematische Darstellung des Antiterminationskomplexes³⁴

Durch die Bindung von Tat an die UCU-bulge-Region von TAR kann es den zellulären Transkriptions-Elongationsfaktor pTEFb rekrutieren, der aus den zellulären Proteinen CyclinT1 und der Kinase CDK9 besteht. CyclinT1 bildet mit Tat einen intramolekularen

³⁵ J. Karn *J. Mol. Biol.* **1999**, 293, 235-254.

³⁶ S. Y. Kao, A. F. Calman, P. A. Luciw, B. M. Peterlin *Nature* **1987**, 330, 489-493.

³⁷ Prozessivität: angehängte Nukleotide vor dem Abdissoziieren

³⁸ a) K. A. Jones *Genes Dev.* **1997**, 11, 2593-2596; b) K. Yankulov, D. Bentley *Curr. Biol.* **1998**, 8, R447-R449.

Zinkfinger aus, an dem Cystein und Histidin aus der cysteinreichen Region von Tat und ein Cystein (Cys261) aus dem Tat-TAR-Erkennungsmotiv (TRM) des CyclinT1 beteiligt sind. CyclinT1 kann nun in Gegenwart von Tat an die TAR-Schleifenregion binden.³⁹ Die zweite Untereinheit von pTEFb, die Kinase CDK9, kann nun die C-terminale Domäne (CTD) der RNA-Polimerase II hyperphosphorylieren. Dies bewirkt die Aktivierung der Polymerase und führt zur Elongation des Transkriptes.⁴⁰

1.2.4 Der Tat/TAR-Antiterminationskomplex als Ansatzpunkt in der antiviralen Therapie

Die HIV-Therapie hat viele neue Einblicke in die Pathogenese⁴¹ und die viralen und zellularen Abläufe von HIV-Infektionen gegeben. Die Verabreichung der bekannten antiviralen Therapeutika unterdrückt die HIV-Replikation nicht bei allen Patienten und zusätzlich besteht die Gefahr der Resistenzbildung gegen das HI-Virus bei einer dauerhaften Verabreichung. Eine Langzeittherapie kann im Extremfall sogar toxisch wirken. Diese Tatsachen fordern zur Suche nach neuen Medikamenten und neuen therapeutischen Strategien zur Kontrolle der viralen Replikation heraus.

Wie unter 1.2.2 und 1.2.3 ausgeführt, stellt der Tat/TAR-Antiterminationskomplex ein interessantes therapeutisches Ziel dar, da er für die virale Genexpression essentiell ist. Auch die Aktivierung von integrierten Proviren, die gegen die gängigen Therapeutika resistent sind, kann durch die Hemmung der Transaktivierung verhindert werden.

Es wurden bereits verschiedene Substanzklassen gefunden, die die Tat/TAR-Interaktion zumindest *in vitro* hemmen. Hierbei handelt es sich meist um kleine Moleküle wie z.B. Fluoroquinolin-Derivate,⁴² Neomycin-Antibiotika oder den Inhibitor TF53 (**32**)⁴³ (Abbildung 13). TF53 (**32**) interagiert mit dem Tat-Protein und verhindert so dessen Bindung an die TAR-RNA. Auch Polyamid-Nukleinsäuren (PNAs) oder Peptidomimetika, die z. B. basische, RNA-bindende Regionen von Tat nachahmen, können die Ausbildung des Antiterminationskomplexes unterbinden. Andere PNAs, die gegen die TAR-RNA gerichtet sind, werden über ihre Bindung und die genomische RNA auch in den Viruspartikel aufgenommen. Befällt das so geschädigte Virus eine neue Zelle, so wird die Reverse

³⁹ P. Wie, M. E. Garber, M. S. Fang, W. H. Fischer, K. A. Jones *Cell* **1998**, 92, 451-462.

⁴⁰ Y. Zhu, T. Petery, J. Peng, Y. Ramanathan, N. Marshall, B. Amendt, M. B. Mathews, D. H. Price *Genes Dev.* **1997**, 11, 2622-2632.

⁴¹ Pathogenese: Prozess der Entwicklung einer Krankheit.

⁴² E. De Clerq *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, 1587, 258-275.

⁴³ F. Hamy *Chem. Biol.* **2000**, 7, 669-679.

Transkription behindert, bei der die viralen RNA für die Synthese der doppelsträngigen DNA benötigt wird.⁴⁴

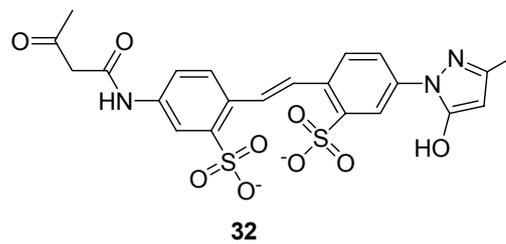


Abbildung 13 Strukturformel des Inhibitors TF 53.⁴³

Im Jahr 2001 wurde erstmalig in *in vivo* Experimenten gezeigt, dass das Einbringen von siRNA⁴⁵ in humanen Zellen zur spezifischen Hemmung von Genen führen kann.⁴⁶ Der genaue Mechanismus ist noch nicht geklärt. Bekannt ist, dass sich die kurzen siRNA-Moleküle mit Hilfe eines Protein-Komplexes spezifisch an die RNA anlagern und es nachfolgend zum Abbau der Ziel-RNA kommt, wodurch das Protein von der Zelle nicht mehr synthetisiert werden kann. Der siRNA-Protein-Komplex wird RNA-Interferenz-induzierter Komplex (RISC)⁴⁷ genannt. Die hohe Spezifität wird dadurch erreicht, dass jedes Gen und somit die dazugehörige RNA-Kopie eine einzigartige Nukleotidsequenz aufweist und siRNA-Moleküle mit gleicher Nukleotidabfolge nur an diese korrespondierende RNA binden können.⁴⁸

Eine weitere Möglichkeit ist die Inhibierung der CyclinT1 Tat- und/oder TAR-Interaktion, da diese Wechselwirkung spezifisch für eine HIV-infizierte Zelle ist. So konnte gezeigt werden, dass mit rekombinanten humanen intrazellulären Antikörpern (Intrabodies), die gegen CyclinT1 gerichtet waren, die CyclinT1-Tat-Wechselwirkung *in vitro* unterbunden werden kann.⁴⁹

⁴⁴ a) A. Arzumanov, A. P. Walsh, V. K. Rajwanshi, R. Kumar, J. Wengel, M. J. Gait *Biochemistry* **2001**, *40*, 14645-14654; b) T. Mayhoo, N. Kaushik, P. K. Pandey, F. Kashanchi, L. Deng, V. N. Pandey *Biochemistry* **2000**, *39* 11532-11539; c) N. Tamilarasu, I. Huq, T. M. Rana *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 971-974; d) N. Tamilarasu, I. Huq, T. M. Rana *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *10*, 505-507.

⁴⁵ siRNA: single interfering RNA (kurze, doppelsträngige RNA-Moleküle mit 21-28 Nukleotiden).

⁴⁶ S. M. Elbashir, J. Harborth, W. Lendeckel, A. Yalcin, K. Weber, T. Tuschl *Nature* **2001**, *411*, 494-498.

⁴⁷ RISC: RNA-induced silencing complex

⁴⁸ G. J. Hannon *Nature* **2002**, *418*, 494-498.

⁴⁹ J. R. Bai, J. H. Sui, R. Y. Zhu, A. S. Tallarico, F. Gennari, D. S. Zhang, W. A. Marasco *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 1433-1442.

2 Zielsetzung

Der Aufbau artifizierender Antibiotika aus verschiedenen relativ leicht zugänglichen Ausgangssubstanzen, wie z.B. Zuckern, bietet sich besonders an, da antiinfektive Wirksamkeiten von existierenden Antibiotika, wie z.B. von dem Anthracyclin-Aminoglycosid-Antibiotikum Daunomycin oder dem Aminoglycosid-Antibiotikum Neomycin, bekannt sind. Wie schon erwähnt (Kapitel 1.1), entfalten protonierbare Polyamine, wie z. B. Aminoglycoside, ihre antibakterielle Wirkung durch Bindung an bakterielle rRNA. Neben der Interaktion mit den prokaryontischen Ribosomen binden Aminoglycoside auch an weitere RNA-Sequenzen. Dazu gehören Ribozyme, das RRE- und das TAR-Element des HIV-Genoms, tRNA und durch *In vitro*-Selektion erhaltene Aptamere.⁵⁰ Aus diesem Grund wurde für biologische Studien als Modellsystem die Inhibierung der TAR-RNA/Tat-Protein-Wechselwirkung des HI-Virus durch RNA-Liganden gewählt, um ihre potentiellen antiviralen Eigenschaften zu bestimmen.

Die Forschung auf dem Gebiet der RNA-bindenden Aminoglycoside konzentriert sich vorwiegend auf die Modifizierung natürlich vorkommender Aminoglycosid-Antibiotika, um vorhandene Resistenzen oder bestehende Toxizitäten zu überwinden. So stellten TOR und GOODMAN guanidierte Aminoglycoside vor (Abbildung 14, **33**), die eine höhere Selektivität gegenüber RRE aufweisen als die Aminovorläufer.⁵¹ Durch Verknüpfung von Neomycin B mit einem Acridinbaustein war es TOR außerdem möglich, die Bindungskonstante für die Wechselwirkung mit RRE vom mikromolaren in den nanomolaren Bereich zu verschieben. In seiner Gruppe wurde zusätzlich die Bindung von Aminoglycosiden an das Hammerhead-Ribozym⁵² und an tRNA studiert. WONG hingegen synthetisiert mittels verschiedener Linker verknüpfte Neamin-Dimere (Abbildung 14, **34**), um so die Bindungsaffinität gegenüber RNA zu erhöhen.⁵³ MOBASHERY modifizierte natürliche Aminoglycosid-Antibiotika mit einer (S)-4-Amino-2-hydroxybutyryl-Seitenkette und inhibierte mit diesen erfolgreich Aminoglycosid-modifizierende Enzyme (Abbildung 14, **35** und **36**).⁵⁴ Aus dem gleichen Antrieb entwickelte er das selbstregenerierende 3'-Oxo-Kanamycin (Abbildung 14, **37**).⁵⁵ CHEN und KIRSCHNING beschäftigten sich jedoch mit

⁵⁰ a) R. Schroeder, C. Waldsich, H. Wank *EMBO J.* **2000**, *19*, 1-9; b) F. Walter, Q. Vicens, E. Westhof *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 694-704.

⁵¹ N. W. Luedtke, T. J. Baker, M. Goodmann, Y. Tor *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12035-12036.

⁵² a) H. Wang, Y. Tor *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 117-120; b) H. Wang, Y. Tor *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8734-8735; c) K. Michael, H. Wang, Y. Tor *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1361-1371.

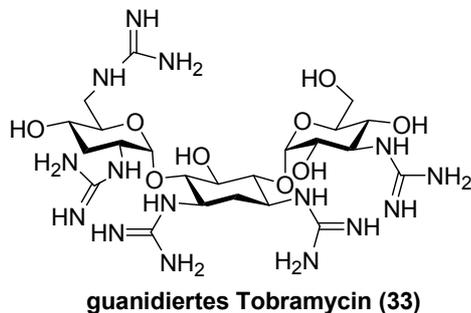
⁵³ S. J. Sucheck, A. L. Wong, K. M. Koeller, D. D. Boehr, K.-A. Draker, P. Sears, G. D. Wright, C.-H. Wong *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5230-5231.

⁵⁴ J. Haddad, L. P. Kotra, B. Llano-Sotelo, C. Kim, E. F. Azucena Jr., M. Liu, S. Vakulenko, C. S. Chow, S. Mobashery, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 3229-3237.

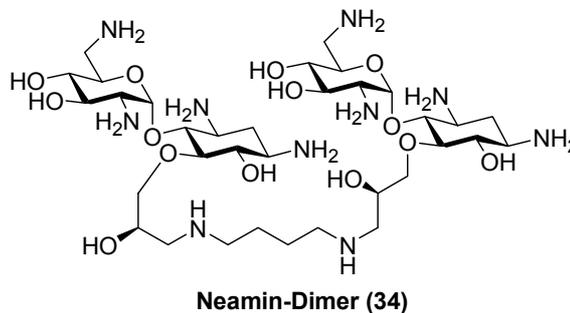
⁵⁵ J. Haddad, S. Vakulenko, S. Mobashery, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11922-11923.

neuartig aufgebauten, linearen und cyclischen Aminoglycosidstrukturen, die über 1,4-Butandiol-Linker miteinander verbunden sind (Abbildung 14, **38** und **39**).⁵⁶

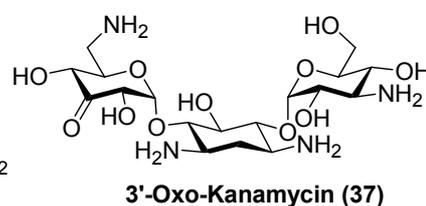
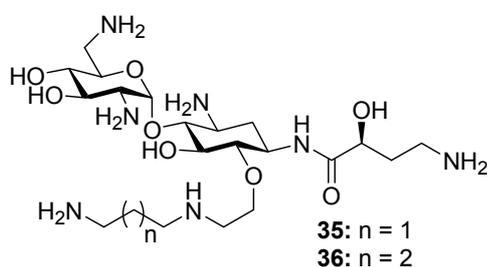
TOR und GOODMAN:



TOR:



MOBASHERY:



CHEN und KIRSCHNING:

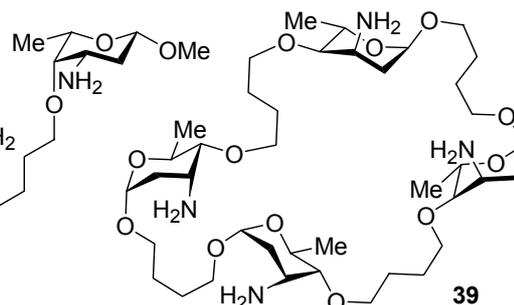
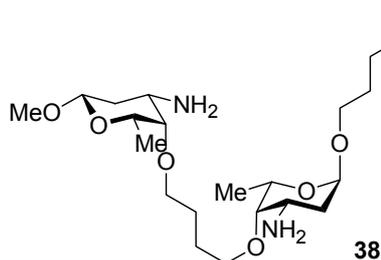


Abbildung 14

Bezugnehmend auf die Dissertation von CHEN⁵⁷ sollen in der vorliegenden Arbeit weitere 1,4-Butandiol-verbrückte lineare und cyclische artifizelle Aminoglycoside, basierend auf natürlichen und synthetischen Kohlehydraten, mittels Metathese synthetisiert werden. Ein besonderes Augenmerk soll hierbei auf der Etablierung der Kreuzmetathesereaktion zur Synthese gemischter Oligosaccharide liegen, um die biologischen Eigenschaften verschiedener monomerer Bausteine kombinieren zu können. Neben linearen Vorläufern werden makrocyclische Repräsentanten der Oligosaccharide als Zielmoleküle anvisiert (Abbildung 15).

⁵⁶ a) A. Kirschning, G.-W. Chen *Synthesis* **2000**, 1133-1137; b) G.-W. Chen, A. Kirschning *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4665-4668; c) G.-W. Chen, A. Kirschning *Chem Eur. J.* **2002**, *8*, 2717-2729; c) A. Kirschning, G.-W. Chen, J. Jaunzems, M. Jesberger, M. Kalesse, M. Lindner *Tetrahedron* **2004**, *60*, 3505-3521.

⁵⁷ G.-W. Chen, Dissertation **2000**, Technische Universität Clausthal.

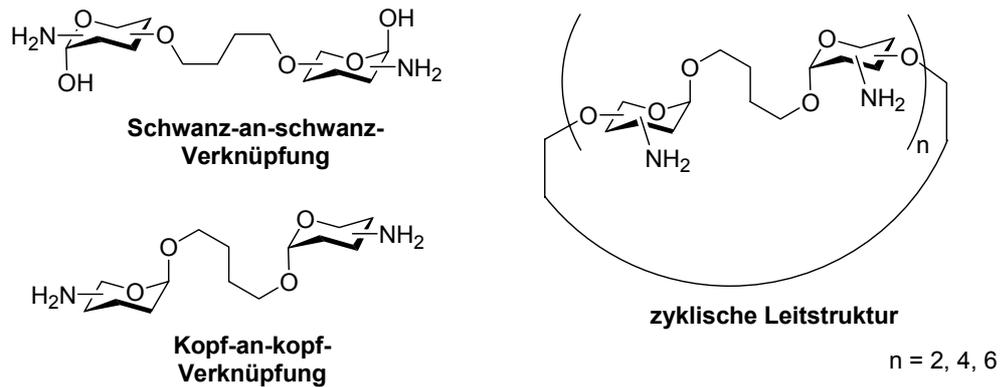


Abbildung 15 Allgemeine Strukturtypen 1,4-Butandiol-verbrückter Oligosaccharide

Zusätzlich zur *de novo* Synthese sollen die kommerziell erhältlichen Antibiotika eine wichtige Bezugsquelle für Zuckergrundgerüste darstellen. Durch selektive Isolierung sollen hieraus verschiedene Bausteine gewonnen und anschließend modifiziert werden.

Schließlich sollen die biologischen Eigenschaften der erhaltenen Verbindungen verifiziert werden. Hierzu sollen Dot-Blot- und Footprint-Analysen unter Verwendung des TAR-RNA-Fragments des HI-Virus I und des Tat-Proteins-Fragments angefertigt werden.

3 Synthese von monomeren Bausteinen

Die lange wenig beachteten Desoxyzucker erhalten seit einiger Zeit wachsende Aufmerksamkeit als essentielle biologische Moleküle. Sie spielen in einer Vielzahl physiologisch signifikanter Reaktionen einschließlich zellulärer Adhäsion, Zell-Zell-Interaktion, Immunantwort, Befruchtung und als Erkennungsziel für Toxine, Antibiotika und Mikroorganismen eine große Rolle.⁵⁸ Eine Vielfalt verschiedener Desoxyzucker sind in Lipopolysacchariden, Glycoproteinen, Glycolipiden und vielen Sekundärmetaboliten zu finden. In vielen Fällen sind diese „ungewöhnlichen“ Zucker unverzichtbar für die Aktivität des Stammoleküls. Modifizierungen dieser Strukturen bzw. der Anordnung der Desoxyzucker lässt eine Veränderung oder sogar eine Steigerung der biologischen Aktivität erwarten.

Unverzichtbar für die sich in dieser Arbeit anschließenden Oligomersynthesen ist das anomerenreine Vorliegen der synthetisierten monomeren Bausteine. Hier muss bemerkt werden, dass Glycosidierungsreaktionen an Desoxyzuckern, insbesondere an 2-Desoxyzuckern, unweigerlich zu Schwierigkeiten führen, da das kontrollierende Element in Form der benachbarten Gruppe an Position 2 fehlt.⁵⁹ Sind ebenfalls keine anderen dirigierenden Effekte im Molekül vorhanden, so wird ein Anomerengemisch erhalten, das chromatographisch getrennt werden muss.

3.1 Darstellung des per-O-acetylierten L-Rhamnals (43)

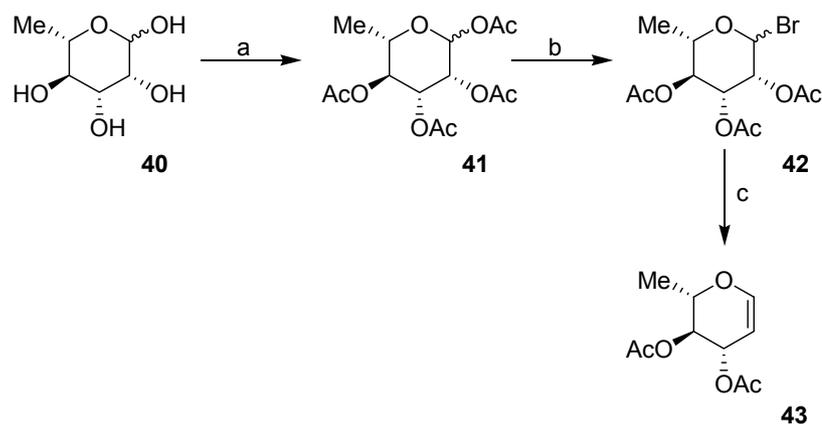
Für die Darstellung von 2-Desoxyglycosiden bieten Glycale einen praktikablen Zugang. Anhand der von REICHENSTEIN 1944 publizierten mehrstufigen Synthese zur Transformation von ungeschützten Zuckern zu Glycalen und der Weiterentwicklung zu einer Eintopfmethode von KOREEDA (1996), kann das per-O-acetylierte L-Rhamnal (**43**) synthetisiert werden.⁶⁰ Der erste Schritt dieser Eintopfmethode beinhaltet die säurekatalysierte per-O-Acetylierung des L-Rhamnals mittels Essigsäureanhydrid (Schema 1). Durch eine spätere Zugabe von Bromwasserstoff in Essigsäure wird das anomere Acetat durch Bromid substituiert. Das Glycosylbromid **42** wird durch Zugabe von Zink einer Reaktion vom REFORMATZKY-Typ zur Bildung einer metallorganischen Verbindung unterworfen.⁶¹

⁵⁸ A. Varki *Glycobiology* **1993**, 3, 97-130.

⁵⁹ A. Kirschning, A. F.-W. Bechthold, J. Rohr *Topics in Current Chemistry* **1997**, 188, 1-84.

⁶⁰ a) B. Iselin, T. Reichenstein *Helv. Chim. Acta* **1944**, 27, 1146-1149; b) B. K. Shull, Z. Wu, M. Koreeda *J. Carbohydrate Chem.* **1996**, 15, 955-964.

⁶¹ a) A. Fürstner *Synthesis* **1989**, 571-590; b) M. W. Rathke *Org. Reactions* **1975**, 22, 423-460.

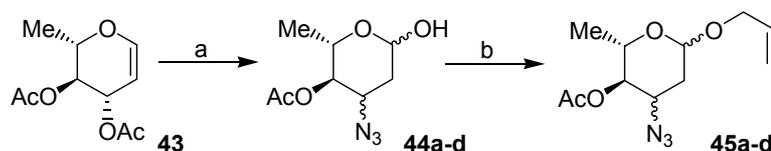


Schema 1 Reagenzien und Bedingungen: a) Ac_2O , $\text{HBr}_{\text{kat.}}$; b) 33%ige HBr/AcOH , $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 12 h, dann NaOAc ; c) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Zn , NaOAc , AcOH , H_2O , 0°C , 2 h (70% über 3 Stufen).

Das Zinkorganyl-Intermediat geht nun sofort eine β -Eliminierung mit dem an C-2 benachbarten Acetat ein. Das per-O-acetylierte L-Rhamninal (**43**) wird in guten Ausbeuten erhalten und kann sowohl durch Kugelrohrdestillation als auch säulenchromatographisch aufgereinigt werden.

3.2 Darstellung von Allylglycosidderivaten aus per-O-acetyliertem L-Rhamninal (**43**)

Wird das dargestellte Glycal **43** mit Natriumazid, Essigsäure und Wasser versetzt und auf 80°C erhitzt, so lässt sich eine Mischung aus vier Diastereomeren isolieren, die sich durch ihre Konfiguration an C-1 und C-3 unterscheidet.

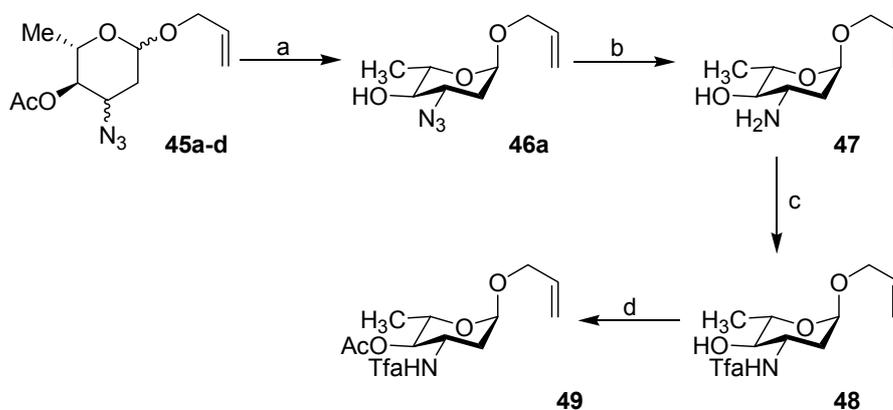


Schema 2 Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$, NaN_3 , 80°C , 3 h; b) Dowex-50 (H^+), Allylalkohol, Δ , 55% über 2 Stufen.

Die anschließende Allylierung erfolgt nach der Methode der Alkoholyse, auch FISCHER-Glycosid-Synthese genannt. Hierbei wird das Monosaccharid in einem Überschuss des entsprechenden Alkohols gelöst, mit wenigen Prozenten Säure versetzt und die Mischung erhitzt.⁶² Die benötigten leicht sauren Bedingungen werden in diesem Fall durch Dowex-50 in der H^+ -Form erzeugt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung kann das Verhältnis der vier Diastereomere bestimmt werden.

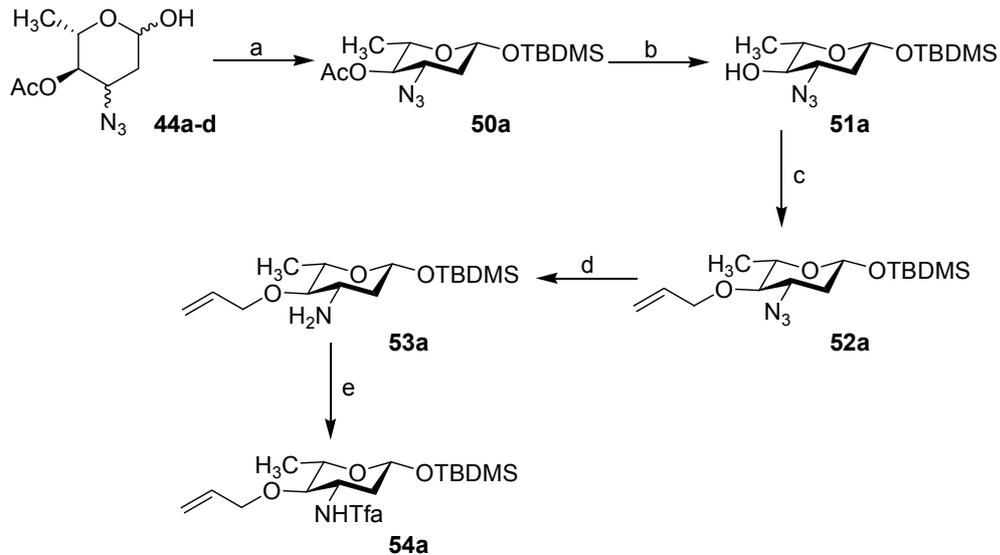
⁶² a) E. Fischer *Chem. Ber.* **1893**, 26, 2400-2412; b) E. Fischer *Chem. Ber.* **1895**, 28, 1145-1167.

Das Diastereomergemisch **45a-d** wird unter Verwendung von Amberlite IRA-900 (OH⁻-Form) an Position 4 deacetyliert (Schema 3) und das Hauptprodukt **46a** diastereomerenrein isoliert. Die Azid-Gruppe an Position 3 von **46a** wird nun mit Hilfe von Lithiumaluminiumhydrid in wasserfreiem Tetrahydrofuran (THF) zur Aminogruppe reduziert. Das entstandene *arabino*-konfigurierte Amin **47** wird ohne weitere Aufreinigung direkt mit Trifluoressigsäureanhydrid in das Trifluoacetatamid **48** überführt. Die anschließende Acetylierung der Position 4 zur Verbindung **49** erfolgt unter Zuhilfenahme von Essigsäureanhydrid in Pyridin oder alternativ durch Verwendung von Essigsäureanhydrid in Dichlormethan mit 4-DMAP als Hilfsbase. Diese 1-O-allylierte Verbindung **49** kann nun in Metathesereaktionen eingesetzt werden.



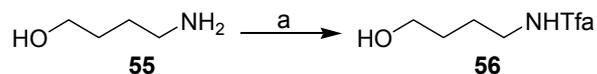
Schema 3 Reagenzien und Bedingungen: a) IRA-900 (OH⁻), MeOH_{abs.}, RT, ü. N. 90%; b) LiAlH₄, THF_{abs.}, 0°C, 30 min, 94%; c) Tfaa, NEt₃, CH₂Cl₂_{abs.}, 0°C, 2 h, 99%; d) Ac₂O, Pyridin_{abs.}; RT, 2 h, 80%; oder Ac₂O, NEt₃, 4-DMAP_{kat.}, CH₂Cl₂_{abs.}, RT, 1 h, 82%.

Um einen 4-O-allylierten Baustein für die Synthese eines tail-to-tail-Dimers zu erhalten, werden die anomeren Zentren des Gemisches **44a-d** mittels *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl) geschützt und das isolierte Hauptprodukt **50a** an Position 4 mit Natriummethanolat in Methanol deacetyliert (Schema 4). Die so vorbereitete Verbindung **50a** kann mit Natriumhydrid zum Alkoholat deprotoniert werden und das Allylbromid nukleophil angreifen.



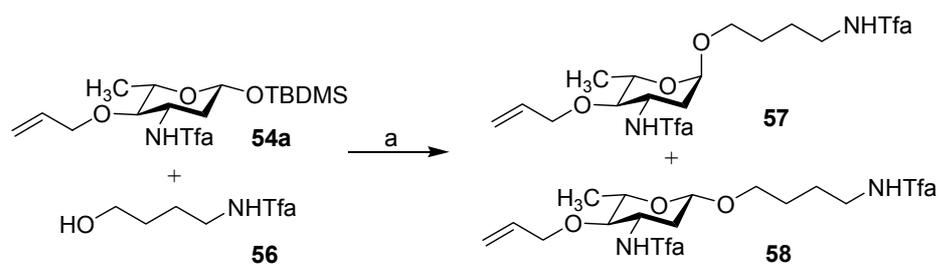
Schema 4 Reagenzien und Bedingungen: a) TBDMSCl, Imidazol, 1,2-Dichlorethan, 0°C → RT, ü. N., 73% (α/β 3:1), **50a** 55%; b) NaOMe; MeOH_{abs.}, RT, 5 h, 70% c) NaH, Allylbromid, THF_{abs.}, RT, ü. N.; d) LiAlH₄, Diethylether, 0°C, 2 h; e) Tfaa, Et₃N, CH₂Cl₂_{abs.}, 0°C, 2 h, 61% (über 3 Stufen).

Das 4-O-allylierte Azid **52a** wird mit Lithiumaluminiumhydrid zum 4-O-Allyl- β -L-Acosamin-Derivat **53a** reduziert und anschließend mit Hilfe von Trifluoressigsäureanhydrid als Trifluoroacetat geschützt (Schema 4). Der so erhaltene Metathesebaustein **54a** soll zu einer Diaminoverbindung modifiziert werden, um durch eine zusätzliche Aminogruppe eine stärkere Bindung an der ausgewiesenen RNA-Struktur zu erhalten. Eine zusätzliche Aminogruppe kann durch eine Transglycosylierungsreaktion an das TBDMS-geschützte anomere Zentrum der Verbindung **54a** substituiert werden. Hierzu wird zunächst die Aminogruppe des 4-Amino-1-butanols (**55**) mit Trifluoressigsäureethylester bzw. -anhydrid geschützt. (Schema 5)



Schema 5 Reagenzien und Bedingungen: a) Tfaa, Et₃N, CH₂Cl₂_{abs.}, 0°C, 2 h, 85%; oder EtTfa, Et₃N, EtOH_{abs.}, 90%.

Der geschützte Alkohol **56** wird anschließend unter Verwendung von Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester (TMSOTf) an das Silyl- β -glycosid **54a** gekoppelt (Schema 6). Es wird ein α/β -Verhältnis von 4:1 erhalten, das chromatographisch getrennt werden kann.



Schema 6 Reagenzien und Bedingungen: a) TMSOTf, CH_2Cl_2 abs., $-70^\circ\text{C} \rightarrow -40^\circ\text{C}$, ü. N., 44%.

3.3 Darstellung von monomeren Bausteinen aus Erythromycin A

Der erste Vertreter der Makrolid-Antibiotika war das 1952 aus dem Stamm *Streptomyces erythreus* isolierte Erythromycin A (**9**).⁶³ Es wurde schnell ein wichtiges Antibiotikum in der klinischen Medizin gegen Gram-positive Bakterien.

Das Antibiotikum Erythromycin besteht aus einem 14-gliedrigen Makrolactam-Ring, dem Erythronolid, einem Aminozucker, dem D-Desosamin (**61**), und einem stickstofffreien Zucker, der L-Cladinose (**59**). Lange Zeit glaubte man, dass die L-Cladinose (**59**) der Kernpunkt für die antimikrobielle Wirksamkeit und die Resistenz-Induzierbarkeit von Erythromycin A sei.⁶⁴

Wie heute bekannt ist, sind die reaktiven bindenden Funktionen ausschließlich am D-Desosamin und an dem Makrolactonring lokalisiert. Die in Abbildung 16 markierten Gruppen vermitteln die Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Makrolid und der entsprechenden Peptidyltransferase.⁶⁵

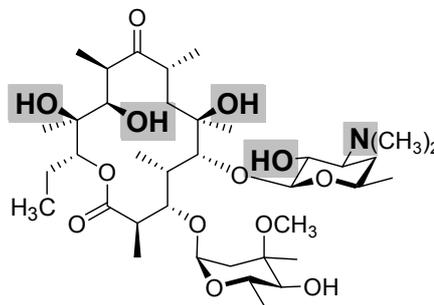


Abbildung 16

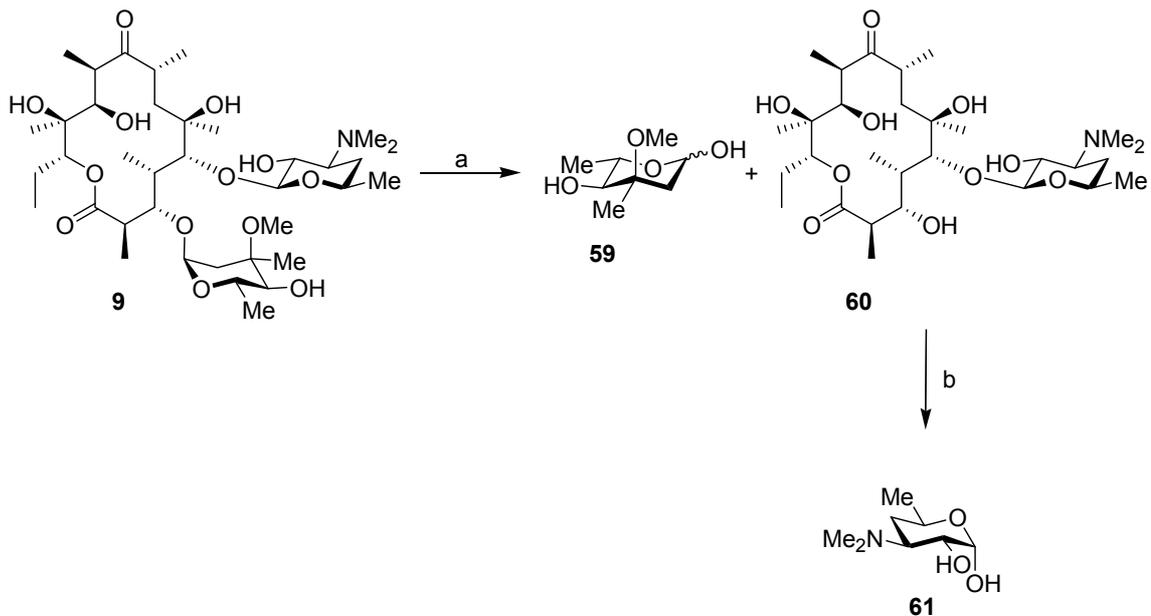
Wie in der Abbildung 16 zu erkennen ist, sind die reaktiven Gruppen der L-Cladinose (**59**) nicht in die Wasserstoffbrücken-Interaktionen involviert. Diese Zuckereinheit trägt demnach nicht zur antibiotischen Wirkung des Erythromycins bei. Einen anderen Hinweis darauf gibt auch eine nahe verwandte Antibiotikagruppe, die Ketolide, welche überhaupt keine L-Cladinoseeinheit besitzen.

⁶³ J. M. McGuire, R. L. Bunch, R.C. Anderson, H. E. Boaz, E.H. Flynn, M. Powell, J. W. Smith *Antibiot. Chemother.* **1952**, 2, 281-283.

⁶⁴ a) A. Bryskier, A. Denis *Macrolide Antibiotics*, Birkhauser Verlag, Basel, **2002**, 97-140; b) P. B. Fernandes, W.R. Baker, L. A. Freiberg, D J. Hardy, E. J. McDonald *Antimicrob. Agent Chemother.* **1989**, 33, 78-81; c) S. Morimoto, Y. Takahashi, Y. Watanabe, S. Omara *J. Antibiot.* **1984**, 37, 187-189; S. Morimoto, Y. Misawa, H. Kondoh, Y. Watanabe, S. Omara *J. Antibiot.* **1990**, 43, 566-569; d) S. Pestka, R. A. Lemahieu *Antimicrob. Agent Chemother.* **1974**, 6, 479-488.

⁶⁵ F. Schünzen, R. Zarivach, J. Harms, A. Bashan, A. Tocilj, R. Albrecht, A. Yonath, F. Frabceschi *Nature* **2001**, 413, 814-821.

Die selektive Isolierung der einzelnen Zuckereinheiten erfolgt nach der 1954 veröffentlichten Vorschrift von FLYNN und GERZON.⁶⁶ Durch saure Hydrolyse (0.75N HCl) des Erythromycins A (**9**) ist es zunächst möglich, nur die L-Cladinose (**59**) von dem Makrolactonring abzuspalten. Die glycosidische Bindung im verbleibenden, so genannten Erythralosamin (**60**), kann durch Hydrolyse mit 6N HCl gespalten und so die zweite Zuckereinheit D-Desosamin (**61**) isoliert werden (Schema 7).



Schema 7 Reagenzien und Bedingungen: a) 0.75N HCl, RT, ü. N., 44%; b) 6N HCl, Δ , 4h, 53%.

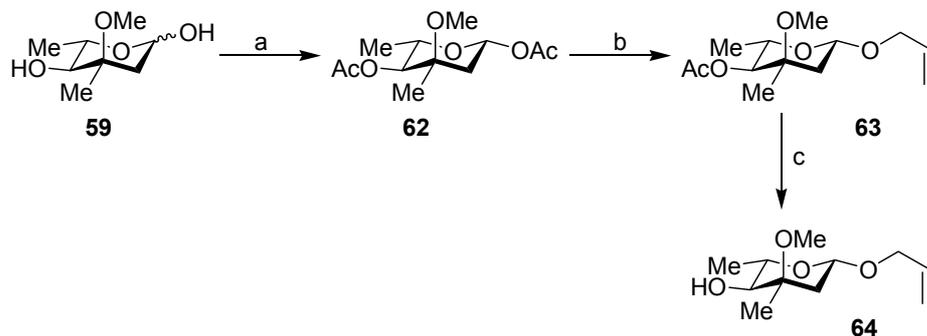
Die so erhaltenen Ausgangssubstanzen, die L-Cladinose (**59**) und das D-Desosamin (**61**), können nun durch Allylierung zu monomeren Bausteinen modifiziert und so für die Bildung von Dimeren vorbereitet werden.

3.3.1 Darstellung des Allylglycosidderivates aus L-Cladinose (**59**)

Die L-Cladinose (**59**) liegt nach der Isolierung aus Erythromycin A (**9**) als Anomerengemisch im Verhältnis $\alpha/\beta = 1:2.7$ vor. Nach Acetylierung dieses Bausteins zur per-O-acetylierten L-Cladinose **62** kann ausschließlich das β -Anomer isoliert werden. Dieses Ergebnis wird sowohl durch die Acetylierung mittels Acetanhydrid in Pyridin als auch mit Acetanhydrid in Dichlormethan unter Zuhilfenahme von 4-DMAP als Base erreicht. In diesem Fall sind das quartäre Zentrum und die Methoxygruppe an Position 3

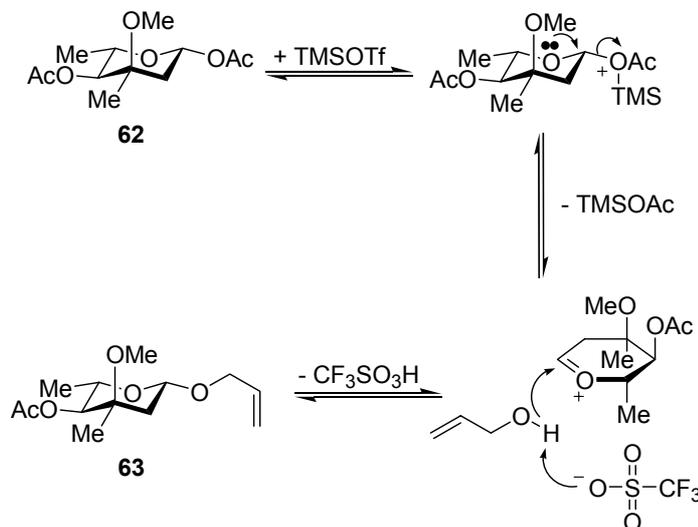
⁶⁶ E. H. Flynn, M. V. Sigal jr., P. F. Wiley, K. Gerzon *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 3121-3131.

die β -dirigierenden Funktionen, so dass der Angriff des Allylalkohols von der α -Seite unterbunden wird.



Schema 8 Reagenzien und Bedingungen: a) Ac_2O , Pyridin_{abs.}; RT, 2 h, 91%; b) Allylalkohol, TMSOTf, -78°C ; c) IRA-900 (OH), $\text{MeOH}_{abs.}$, RT, ü. N., 90%; oder NaOMe; $\text{MeOH}_{abs.}$, RT, 94%;

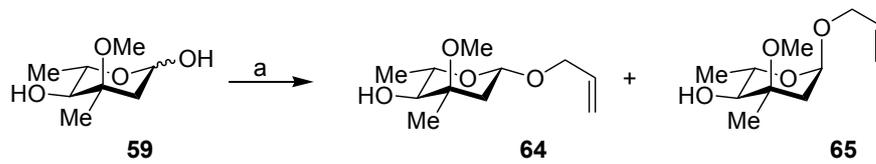
Die Allylierung der per-O-acetylierten L-Cladinose **62** erfolgt durch eine TMSOTf katalysierten Mechanismus wird ein Oxonium-Ion gebildet, das nun sehr leicht von der sterisch nicht gehinderten Seite durch den aktivierten Allylalkohol nukleophil angegriffen werden kann.



Schema 9 Trialkylsilylierungsmethode am Beispiel vom **62**

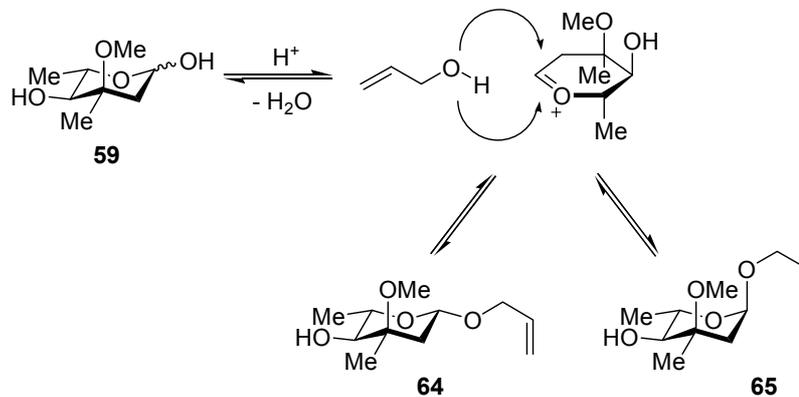
Ein alternativer Weg zur allylierten L-Cladinose **64** ist die Alkoholyse, auch FISCHER-Glycosid-Synthese⁶² genannt (Schema 10). Im Fall der L-Cladinose (**59**) wird eine 1%ige allylalkoholische HCl-Lösung bei Raumtemperatur verwendet. Diese alkoholische HCl-Lösung wird aus wasserfreiem Allylalkohol und der entsprechenden Menge Acetylchlorid hergestellt, da sich *in situ* das Acetylchlorid mit dem Lösungsmittel in

HCl und Acetyllallylester umsetzt. Die erhaltene saure, alkoholische Lösung ist wasserfrei und verhindert auf diese Weise ungewollte Konkurrenzreaktionen.



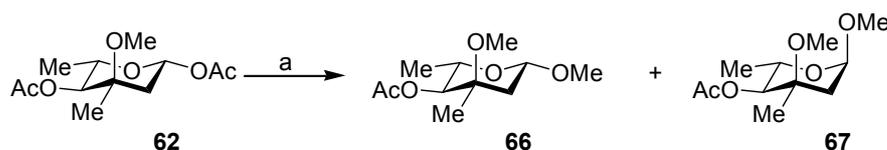
Schema 10 Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{AlIOH}_{\text{abs.}}$, $\text{AcCl}_{\text{kat.}}$, 30 min, RT, 90%.

Bei dieser Reaktion bildet sich, im Gegensatz zur Trialkylsilylierungsmethode, nicht nur ein Diastereomer, sondern ein α/β -Gemisch von $\alpha/\beta = 1:3.5$. Da auch hier die Methoxygruppe an Position 3 die Bildung des α -Anomers sterisch behindert, wird die β -Form bevorzugt (Schema 11).



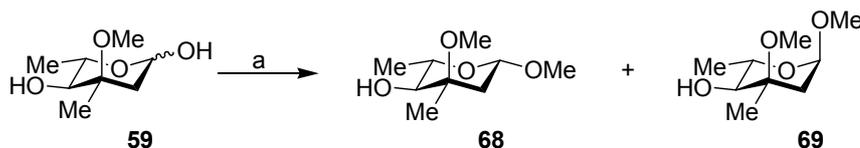
Schema 11

Nicht nur die Allylierung des anomeren Zentrums der L-Cladinose (59) zum Allylglycosid ist möglich, sondern auch eine Allylierung an Position 4. Hierzu ist es notwendig, das anomere Zentrum zu blockieren. Dies wird durch eine erneute FISCHER-Glycosid-Synthese unter Verwendung von Methanol als Lösungsmittel erreicht und es wird das Methyl-L-cladinosid erhalten. Auch hier wird ein Anomerenverhältnis zu Gunsten des β -Glycosids von $\alpha/\beta = 1:3.5$ erhalten.



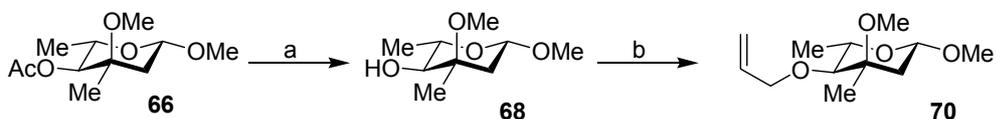
Schema 12 Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{MeOH}_{\text{abs.}}$, $\text{AcCl}_{\text{kat.}}$, 30 min, RT, 68%.

Allerdings muss jetzt zur Vorbereitung auf die Allylierung die Hydroxygruppe an Position 4 deacetyliert werden. Umgangen werden kann dieser Schritt durch Einsatz der ungeschützten L-Cladinose für den Glycosidierungsschritt. Bei dieser Reaktion zu den Methyl-L-cladinosiden **68** und **69** wird ein Anomerenverhältnis von $\alpha/\beta = 1:5$ erhalten. Die Ausbeute der Methylglycosidbildung aus **59** sinkt im Gegensatz zur acetylierten Verbindung **62** zwar um 15%, die Synthese kann aber im Gegenzug um den Schritt der Deacetylierung verkürzt werden (Schema 14).



Schema 13 Reagenzien und Bedingungen: a) MeOH_{abs.}, AcCl_{kat.}, 30 min, RT, 53%.

Das anomere Zentrum des L-Cladinose-Derivates **68** ist durch eine Methoxygruppe blockiert und die Hydroxygruppe an Position 4 kann somit allyliert werden. In diesem Fall wird das β -Anomer der Methylcladinose (**68**) mittels Allyliodid und Silberoxid als Base zur 4-O-Allyl-Verbindung **70** umgesetzt, und somit für die folgenden Metathesereaktionen vorbereitet.



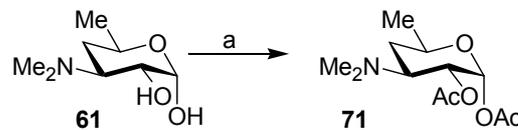
Schema 14 Reagenzien und Bedingungen: a) NaOMe; MeOH_{abs.}, RT, 70%; b) Allyliodid, Ag₂O, MeCN_{abs.}, Δ , 46%.

3.3.2 Darstellung des Allylglycosidderivates aus D-Desosamin (**61**)

Die erste stereospezifische Desosaminsynthese wurde 1964 von RICHARDSON vorgestellt.⁶⁷ Er konnte D-Desosamin (**61**) in drei Stufen aus Methyl-3-acetamido-3-desoxy- α -D-mannopyranosid mit einer Gesamtausbeute von 37% darstellen. Das aus Erythromycin A (**9**) durch saure Hydrolyse gewonnene D-Desosamin (**61**) liefert das α -Anomer mit einer Ausbeute 53%. Auch dieser Saccharidbaustein soll zu einem allylierten Derivat umgesetzt werden. Bei der Acetylierung des D-Desosamins (**61**) mittels Essigsäureanhydrid und Pyridin als Base kann das per-O-acetylierte α -D-Desosamin (**71**)

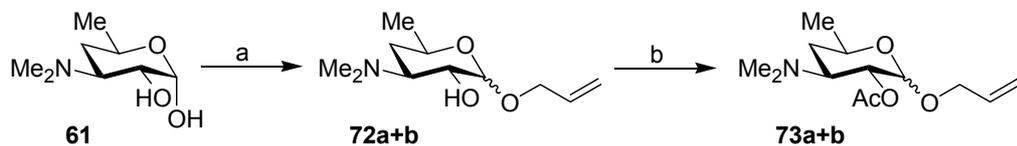
⁶⁷ A. C. Richardson *J. Chem. Soc.* **1964**, 5364-5370.

nur in geringer Ausbeute erhalten werden. Auch durch Zusatz von 4-DMAP als Hilfsbase wird keine signifikante Steigerung der Ausbeute erhalten.



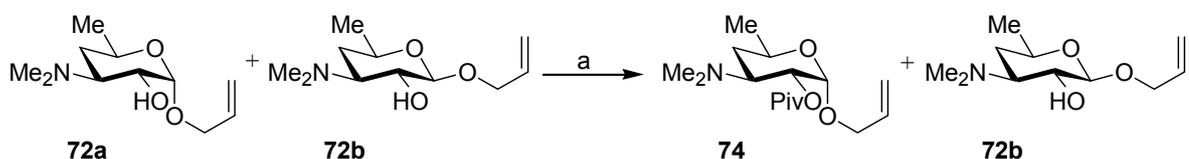
Schema 15 Reagenzien und Bedingungen: a) Ac_2O , NEt_3 , 4-DMAP_{kat.}, CH_2Cl_2 _{abs.}, RT, ü. N., 25%.

Aus diesem Grund wird der Zugang zum allylierten D-Desosamin auf direktem Weg durch eine FISCHER-Glycosylierung gesucht. Da es sich bei der Dimethylaminogruppe an Position 3 des D-Desosamins um ein sehr basisches Zentrum handelt, reicht in diesem Fall eine Zugabe von wenigen Prozenten Säure nicht aus. Aus diesem Grund muss das D-Desosamin (**61**) in einer 7N allylalkoholischen HCl-Lösung erhitzt werden. Nach 48 h unter Rückfluss kann das allylierte Produkt (**72a+b**) isoliert und mittels Kugelrohrdestillation aufgereinigt werden. Es wird ein untrennbares Anomerengemisch mit dem Verhältnis $\alpha/\beta=2.5:1$ erhalten. Auch die folgende Acetylierung an der Position 2 führt nicht zu einem chromatographisch trennbaren Gemisch.



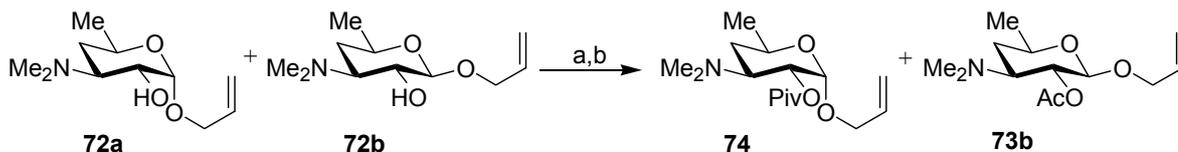
Schema 16 Reagenzien und Bedingungen: a) Allylalkohol_{abs.}, AcCl , Δ , 24 h, 87%; b) Ac_2O , NEt_3 , 4-DMAP_{kat.}, CH_2Cl_2 _{abs.}, RT, 3 h, 76%.

Mit Hilfe sterisch gehinderter Schutzgruppen soll es gelingen, die beiden Diastereomere zu differenzieren. Ziel ist es, ausschließlich die Hydroxy-Gruppe des einen Anomers, in diesem Fall die sterisch nicht so gehinderte Position 2 des α -Anomers, zu schützen. Die OH-Gruppe an Position 2 des β -D-Desosamins soll gleichzeitig ungeschützt bleiben. Pivaloyl-ester bieten sich als Schutzgruppe an, da sie sterisch anspruchsvoller sind als die zuvor verwendete Acetyl-Schutzgruppe.



Schema 17 Reagenzien und Bedingungen: a) PivCl, Pyridin_{abs.}, RT, 4 h, 83%.

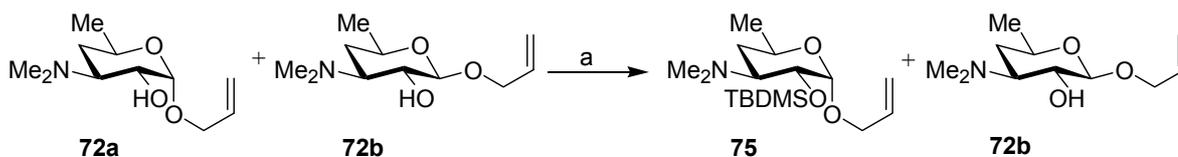
Diese selektive Reaktion bringt das gewünschte Ergebnis und es wird nur Pivaloyl-geschütztes α -Desosamin **74** erhalten. Das β -Allylderivat **72b** liegt weiterhin ungeschützt vor. Da die Pivaloylierung unter den gleichen Bedingungen durchgeführt wird wie die Acetylierung, liegt eine Kombination dieser beiden Reaktionen nahe, um nach der Pivaloylierung des α -Anomers auch das verbleibende Diastereomer durch eine Acetylierung zu schützen, und beide Stereoisomere anomerengrein voneinander trennen zu können.



Schema 18 Reagenzien und Bedingungen: a) PivCl, Pyridin *abs.*, RT, 14 h; b) Ac₂O, Pyridin *abs.*, RT, 14 h, **74** 79% und **73b** 74%.

Das entstehende, selektiv geschützte, Anomerengemisch lässt sich nun ohne großen Aufwand säulenchromatographisch trennen. Da sich aber während der Reaktion auch acetyliertes α -Anomer **73a** bildet, kann kein sauberes β -Derivat erhalten werden. Aus diesem Grund bietet diese kombinierte Veresterung keinen Vorteil gegenüber der zuvor entwickelten selektiven Pivaloylierung des α -Anomers. Bei der ersteren Variante wird zwar neben der pivaloylierten Verbindung **74** auch ein ungeschütztes Eduktgemisch erhalten, dieses Gemisch kann aber erneut einer Pivaloylierung ausgesetzt werden, so dass im wiederum erhaltenen Gemisch das β -Anomer immer weiter angereicht wird und an der α -Komponente verarmt. Werden genügend Zyklen durchgeführt, so ist es möglich, reines β -Allylderivat **72b** zu erhalten.

Ein ähnlich positives Ergebnis wird durch die selektive Etherbildung des α -Anomers mittels *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSCl) erhalten. Die Verbindung **75** kann auch hier anomerengrein aus dem Reaktionsgemisch durch chromatographische Trennung isoliert werden.



Schema 19 Reagenzien und Bedingungen: a) TBDMSCl, Imidazol, 4-DMAP *kat.*, DMF *abs.*, 0°C → RT, 4 h, 71%.

Die Verwendung von noch größeren Schutzgruppen, z.B. *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid (TBDPSCI), führt nicht zum Erfolg, da der sterische Anspruch dieser Schutzgruppe selbst für das α -Anomer zu groß ist.

3.4 Darstellung des Allylglycosidderivates ausgehend von Neomycin A (76)

Neomycin wurde 1949 von WAKSMAN und LECHEVALIER aus dem Kulturfiltrat von *Streptomyces fradiae* isoliert.⁶⁸ Dieses Oligosaccharidgemisch enthält die Hauptkomponenten Neomycin A, B und C. Dabei ist Neomycin A (76) das gemeinsame Abbauprodukt der isomeren Neomycine B (21) und C (77) (Abbildung 17).

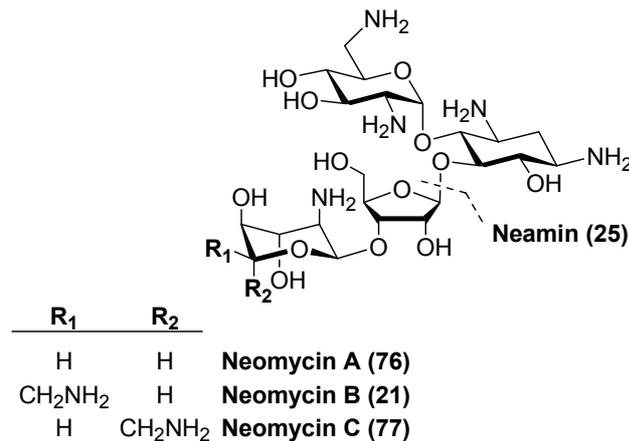


Abbildung 17

Bei Neomycin B (21) und C (77) handelt es sich um Pseudotetrasaccharide, in denen das Neamin (25) mit zwei verschiedenen Disaccharidbausteinen, dem Neobiosamin B und C, verknüpft sind.

In Abbildung 18 ist die Struktur von Neomycin im Komplex mit TAR dargestellt. Neomycin bindet an die kleine Furche der TAR-RNA und verändert die Konformation der UCU-Ausbuchtung von TAR derart, dass diese in die große Furche geklappt wird. Dadurch wird die Bindung des Tat-Proteins an die TAR-RNA verhindert.

⁶⁸ a) E. A. Swart, D. Hutchison, S. A. Waksman *Arch. Biochem.* **1949**, 24, 92-103; b) S. A. Waksman, H. A. Lechevalier, D. A. Harris *J. Clin. Invest.* **1949**, 28, 934-939.

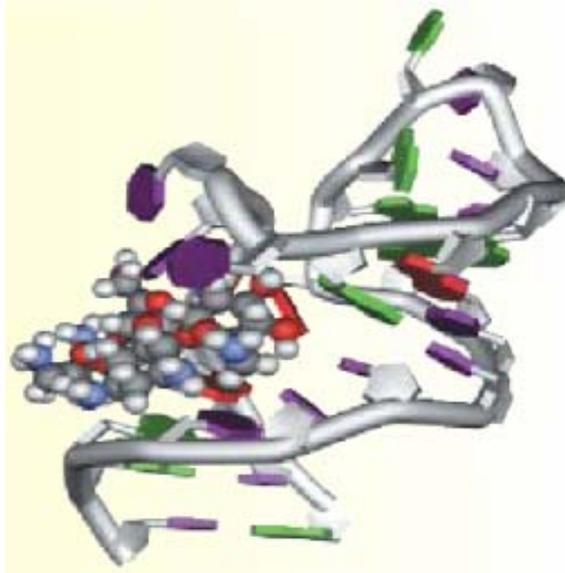


Abbildung 18 Struktur des TAR/Neomycin B Komplexes (Neomycin ist als raumfüllendes Modell dargestellt. Für die TAR-RNA sind der Verlauf des Phosphatrückgrats und die Basen gezeigt⁶⁹)

Die direkte Verwendung von Neomycin B (**21**) als Antibiotikum wird zum großen Teil durch dessen Toxizität unterbunden.⁷⁰ Zusätzlich ist Neomycin B (**21**) relativ instabil, da die glycosidische Bindung der Ribose säuresensitiv ist, und es neigt, wie auch andere Aminoglycosid-Antibiotika, zur enzymatischen *in vivo*-Modifizierung, z.B. Phosphorylierung und Acetylierung.⁷¹ Die Neomycin/TAR-Struktur kann trotz Schwierigkeiten mit der Wirkstoffresistenz als Modell für die Entwicklung ähnlich strukturierter Inhibitoren, wie z.B. Peptidomimetika⁷² dienen.

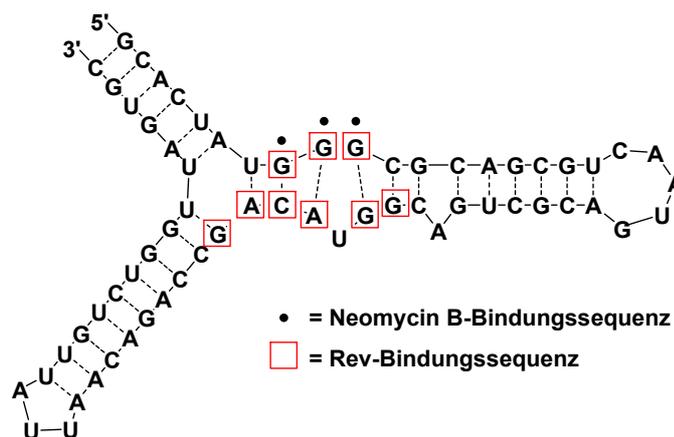


Abbildung 19 Die RRE-Region der HIV mRNA interagiert kompetitiv mit dem Rev-Protein und Neomycin B (**21**).

⁶⁹ B. Wöhrl *Retrovirus Bulletin* **2003**, 2, 4-5.

⁷⁰ T. Koeda, K. Umemura, M. Yokoda *Aminoglycoside Antibiotics*, H. Umezawa, I. R. Hooper, Eds., Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, New York, **1982**, 62, 293ff.

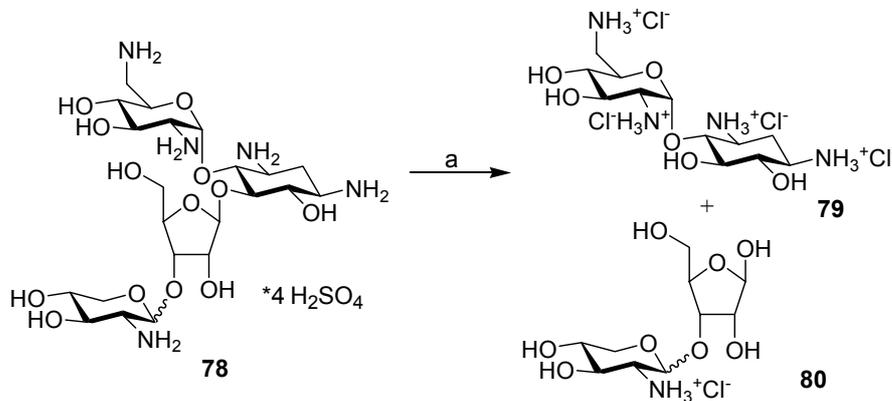
⁷¹ a) R. C. Mollering *Rev. Infec. Dis.* **1983**, 5, 212-215; b) J. Roestamadji, I. Graspas, S. Mobashery *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 11060-11069.

⁷² C. Faber, H. Sticht, K. Schweimer, P. Rösch *Biol. Chem.* **2000**, 275, 20660-20666.

Neomycin B (**21**) ist zudem ein guter Inhibitor ($IC_{50} = 0.1$ bis $1 \mu\text{M}$) der Rev-RRE⁷³-Interaktion, indem es an RRE bindet⁷⁴. Neamin hingegen interagiert deutlich schwächer ($IC_{50} \approx 100 \mu\text{M}$) mit der mRNA. Allerdings enthält Neamin (**25**) ebenfalls das *trans*-1,3-Hydroxyamin- und das 1,3-Diamin-Motiv, welches eine gemeinsame Struktur vieler Aminoglycoside ist, die Inhibitoraktivität gegen andere RNAs und Ribozyme zeigen.⁷⁵

3.4.1 Abbau von Neomycinsulfat (**78**) zum Neaminhydrochlorid (**79**)

Das Neomycinsulfat (**78**) zerfällt im sauren Medium in das weniger aktive Neamin (**25**) und das inaktive Neobiosamin (**80**).⁷⁶ Die Spaltung erfolgt mit 1N methanolischer HCl (Schema 20). Bei diesem Abbau wird das Neamin in Form eines Hydrochlorids (**79**) gewonnen.⁷⁷ Die Säurelabilität der α -glycosidischen Bindung zwischen Neamin (**25**) und Neobiosamin (**80**) resultiert aus dem Fehlen unterstützender Stabilisationseffekte. Die α -glycosidische Bindung im Neamin hingegen weist diesen stabilisierenden Effekt durch eine Wasserstoffbrückenbindung von der benachbarten Aminogruppe auf.⁷⁸ Es ist außerdem denkbar, dass sich eine interne Base bildet, die nach Protonierung den Angriff eines weiteren Protons unterbindet. Zudem ist die glycosidische Bindung einer Furanose säuresensitiver als die einer Pyranose.⁷⁹



Schema 20 Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{HCl}_{\text{konz.}}$, MeOH, Δ , 6 h, 91%; oder 1N HCl in MeOH, RT, 24 h, 97%.

⁷³ RRE: for binding to the Rev responsive element of HIV mRNA = für die Bindung zu Rev verantwortliches Element der HIV mRNA

⁷⁴ a) M. L. Zapp, S. Stern, M. R. Green *Cell* **1993**, *74*, 969-978; b) G. Werstuck, M. L. Zapp, M. L. Green *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 129-137.

⁷⁵ a) D. Moazed, H. F. Noller *Nature* **1991**, *353*, 368-370; b) U. von Ahsen, H. F. Noller *Science* **1993**, *260*, 1500-1503.

⁷⁶ I. A. Hooper *Aminoglycoside Antibiotics* **1982**, Springer-Verlag, New York.

⁷⁷ a) J. D. Dutcher, M. N. Donin *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 3420-3422; b) F. Tödter *Dissertation* **1978**, Universität Hamburg.

⁷⁸ W. K. C. Park, M. Auer, H. Jaksche, C.-H. Wong *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10150-10155.

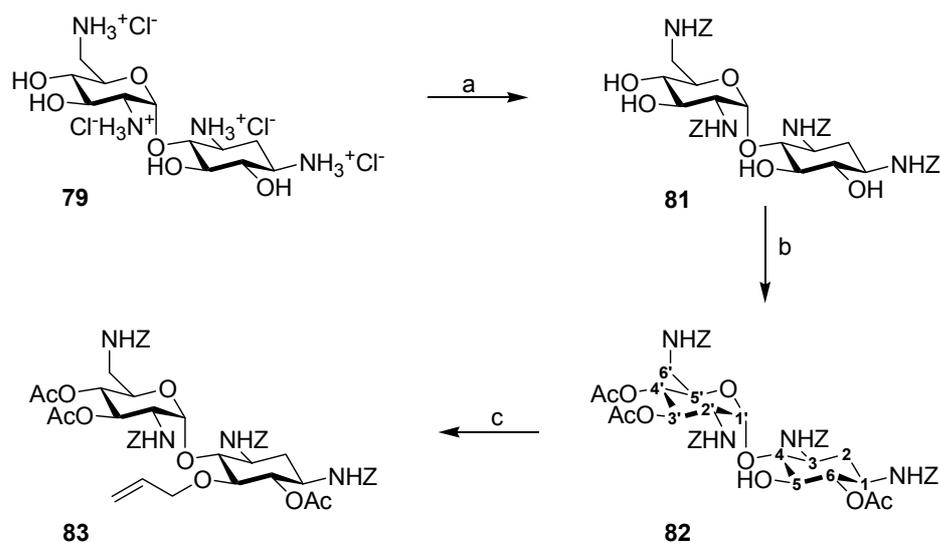
⁷⁹ a) M. L. Cohen *Science* **2002**, *257*, 1050-1055; b) H. C. Neu *Science* **2002**, *257*, 1067-1072.

Auf die oben beschriebene Weise gelingt es ohne großen Aufwand, eine adäquate Menge Neaminhydrochlorid (**79**) für die folgenden Derivatisierungsexperimente bereit zu stellen. Das Hydrochlorid des Neamins (**79**) kann mit Ammoniak zur freien Base umgesetzt werden, dies ist aber für die folgenden Versuche nicht notwendig.

3.4.2 Darstellung des Allylglycosidderivates ausgehend vom Neaminhydrochlorid (**79**)

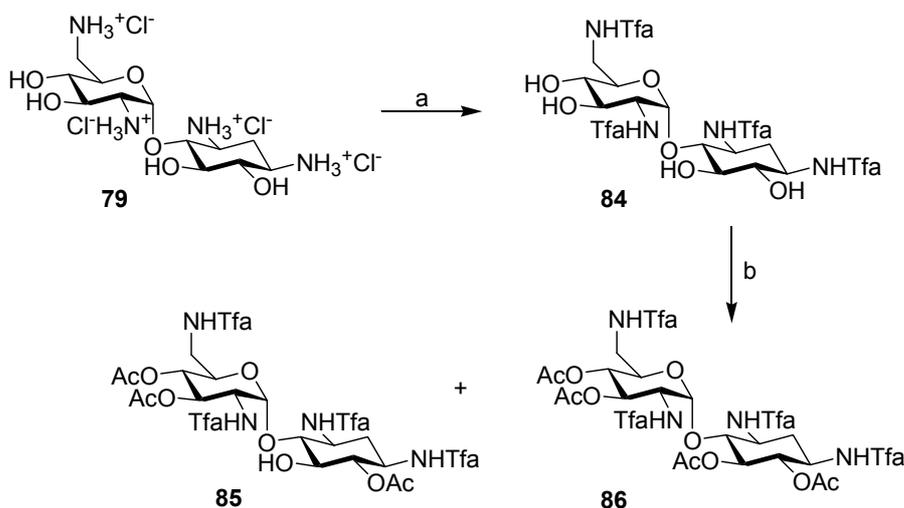
Um eine Monoallylierung des Neamins zu erreichen, müssen alle Aminogruppen und drei der vier Hydroxygruppen selektiv geschützt werden. Wie von WONG beschrieben, werden die Aminogruppen mit Benzylloxycarbonylchlorid (ZCl) zuerst als Benzylcarbamate geschützt (Schema 21).⁷⁸ Eine Acetylierung der verbleibenden freien OH-Gruppen in einem 1:9-Gemisch aus DMF und Pyridin ergibt das Produkt **82** mit nur noch einer freien Hydroxygruppe an Position 5. Die Regioselektivität dieser Acetylierung wird durch die sterische Hinderung der OH-Gruppe an Position 5 und einer Wasserstoffbrücke mit der NH-Gruppe an Position 2' hervorgerufen.

Das Neaminderivat **82** kann daraufhin mit Allyliodid in Gegenwart von LiHMDS als Base zum erwarteten allylierten Neaminderivat **83** umgesetzt werden. Das verwendete Allyliodid wird durch eine vorgeschaltete FINKELSTEIN-Reaktion aus Allylbromid und Tetrabutylammoniumiodid (Bu_4NI) *in situ* hergestellt. Das erhaltene allylierte Derivat **83** kann nun für Metatheseversuche zur Bildung von Dimeren herangezogen werden.



Schema 21 Reagenzien und Bedingungen: a) Na_2CO_3 sat., ZCl, 4°C, ü. N., 85%; b) Ac_2O , Pyridin abs., DMF abs., RT, ü. N., 30%; c) Allylbromid, Bu_4NI , LiHMDS, DMSO, RT, 42%.

Eine andere Schutzgruppenstrategie, welche von HUNZIKER, TONA und BERTOLINI ausgearbeitet wurde,⁸⁰ ist in Schema 22 dargestellt. In diesem Fall werden die Aminogruppen mit Trifluoressigsäureethylester als Trifluoracetate geschützt. Die nun folgende Veresterung erfolgte weniger regioselektiv als im vorhergehenden Beispiel. Es werden zwei Produkte erhalten, zum einen das erwartete Neaminderivat **85** mit freier Hydroxygruppe an Position 5 und zum anderen ein per-O-acetyliertes Neaminderivat **86**.



Schema 22 Reagenzien und Bedingungen: a) EtTfa, Et₃N, EtOH_{abs.}, 85%; b) Ac₂O, Pyridin_{abs.}, RT, ü. N., **85** 51%, **86** 29%.

Es stellte sich die Frage, warum bei der Acetylierung des Z-geschützten Neamins **81** nur ein Produkt, das dreifach acetylierte Neamin **82**, entsteht, während die Acetylierung des Tfa-geschützten Neamins **84** das dreifach und das vierfach acetylierte Produkt hervorbringt. Strukturberechnungen⁸¹ an den N-geschützten Verbindungen **81** und **84** ergeben folgendes Bild.

⁸⁰ R. Tona, R. Bertolini, J. Hunziker *Org. Lett.* **2000**, 2, 1693-1696.

⁸¹ Die gezeigten Strukturen wurden mit Hilfe von MacroModel 7.2 generiert. Zuerst wurden diese in einem MMFFs-Kraftfeld mit CHCl₃ als Solvensmodell minimiert und anschließend einer MonteCarlo-Suche (10.000 Schritte) unter den gleichen Bedingungen unterworfen. Gezeigt ist jeweils die gefundene energieärmste Konformation.

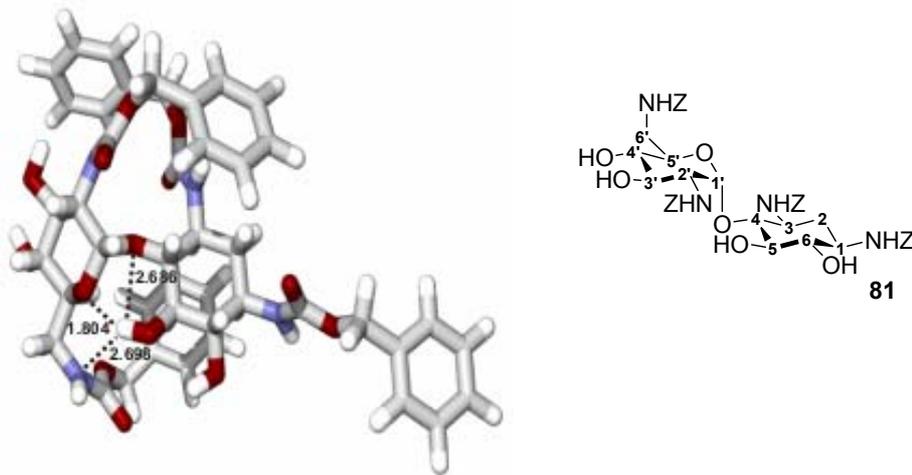


Abbildung 20 Strukturberechnung⁸¹ der Verbindung **81** (Z = Benzyloxycarbonyl).

Der Wasserstoff an 5-OH des Z-geschützten Neamins **81** weist drei unterschiedlich starke Wasserstoffbrückenbindungen auf (Abbildung 20). Den geringsten Abstand von 1.804 Å und somit die stärkste H-Brücke ergibt sich zwischen dem Ringsauerstoff des Zuckers und der 5-OH-Gruppe. Zwei weitere Wasserstoffbrückenbindungen von geringerer Stärke sind zwischen der OH-Gruppe an Position 5 und dem Sauerstoff der glycosidischen Bindung bzw., wie auch in der Literatur beschrieben, dem Stickstoff an Position 2' zu erkennen.⁷⁸

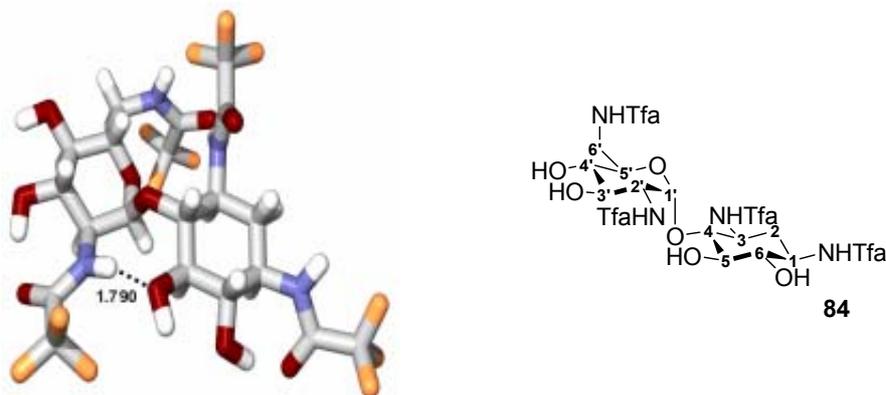
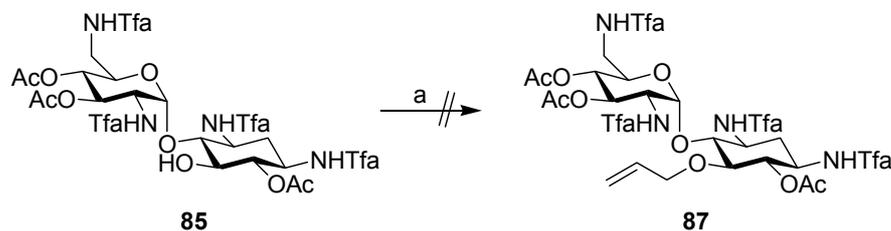


Abbildung 21 Strukturberechnung⁸¹ der Verbindung **84** (Tfa = Trifluoracetyl).

Im Gegensatz dazu steht das Model-Ergebnis der trifluoracetylierten Verbindung **84** (Abbildung 21). Es bildet sich zwar eine Wasserstoff-Brücke aus, allerdings zwischen dem Wasserstoff des sekundären Amids an Position 6' und dem Sauerstoff der Hydroxygruppe an C-5. Diese Wasserstoffbrückenbindung würde eine Acetylierung dieser Hydroxygruppe nicht verhindern sondern begünstigen, da ein stabilisiertes Alkoholat entsteht. Die erhaltenen Model-Ergebnisse weisen auf unterschiedliche Umgebungen der 5-OH-Gruppe in beiden Verbindungen hin. Bei den hier interpretierten Strukturen handelt es

sich ausschließlich um errechnete Daten, die bisher nicht durch NMR-Experimente bestätigt werden konnten und welche lediglich einen Interpretationsansatz für die erhaltenen Synthesergebnisse aufzeigen sollen.

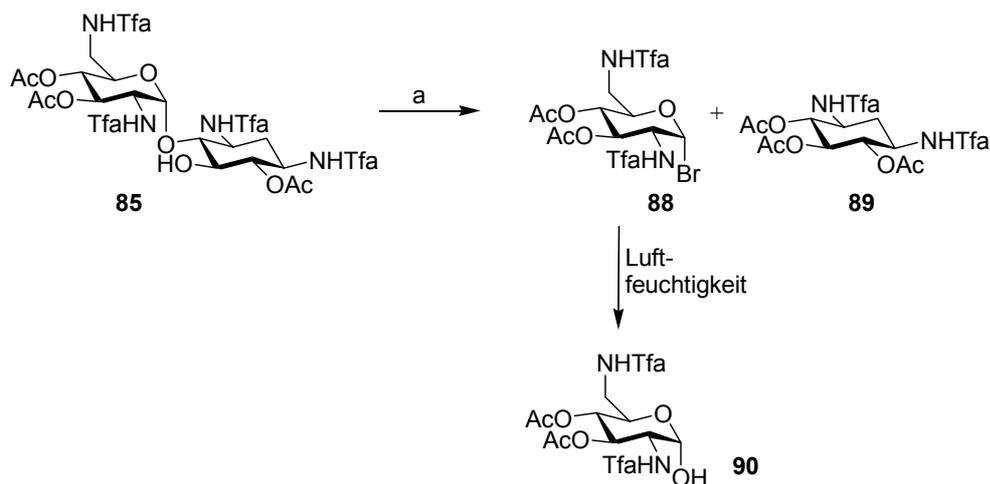
Der folgende Schritt, die Allylierung der dreifach acetylierten Verbindung **85**, ergibt unter den schon erfolgreich angewendeten Bedingungen kein Produkt und auch die Verwendung von stärkeren Basen im großen Überschuss zur Deprotonierung der noch freien OH-Gruppe an Position 5 führt zu keinerlei Ergebnissen. Durchgeführte Strukturberechnungen weisen darauf hin, dass diese Reaktion aufgrund sterischer Faktoren behindert ist.



Schema 23 Reagenzien und Bedingungen: a) Allylbromid, Bu₄NI, LiHMDS, DMSO, RT.

3.4.3 Hydrolyse des Neamin-Derivats **85**

Das aus Neomycinsulfat (**78**) gewonnene und modifizierte Neamin-Derivat **85** soll durch weitere Hydrolyse in seine Bestandteile, das 2,6-Diamino-2,6-dideoxy-D-glucose-Derivat **88** und das monoacylierte 2-Desoxystreptamin-Derivat, gespalten werden. Hierzu muss die α -glycosidische Bindung unter stark sauren Bedingungen gespalten werden. Die saure Hydrolyse erfolgt durch Einwirkung von HBr in Essigsäure bei Raumtemperatur. Aus der entstandenen Reaktionslösung können chromatographisch drei Produkte isoliert werden. Es handelt sich um das erwartete Glycosylbromid **88** und das durch Hydrolyse erzeugte Folgeprodukt **90** dieser Verbindung.



Schema 24 Reagenzien und Bedingungen: a) 33%ige HBr/Essigsäure, 14 h, **88** 42%, **89** 43%.

Das Glycosylbromid **88** geht unter den gegebenen sauren Bedingungen und dem Einfluss von Luftfeuchtigkeit in die Verbindung **90** über. Diese Folgereaktion erklärt auch die geringe Literatursausbeute von 42%. Das erwartete mono-O-acetylierte 2-Desoxystreptamin-Derivat (2-DOS) kann nicht erhalten werden, es wird während der Reaktion direkt durch saure Veresterung in die per-O-acetylierte Verbindung **89** umgesetzt.

3.4.4 Isolierung und Modifizierung von 2-Desoxystreptaminhydrochlorid (**92**)

Modifizierte Derivate des 2-Desoxystreptamins, dem zentralen Baustein der meisten Aminoglycosid-Antibiotika, sind aus mehreren Gründen von Interesse. Sie können bei biochemischen Modifizierungen⁸² von Aminoglycosid-Antibiotika oder zur chemischen Synthese⁸³ von Aminoglycosid-Derivaten verwendet werden.

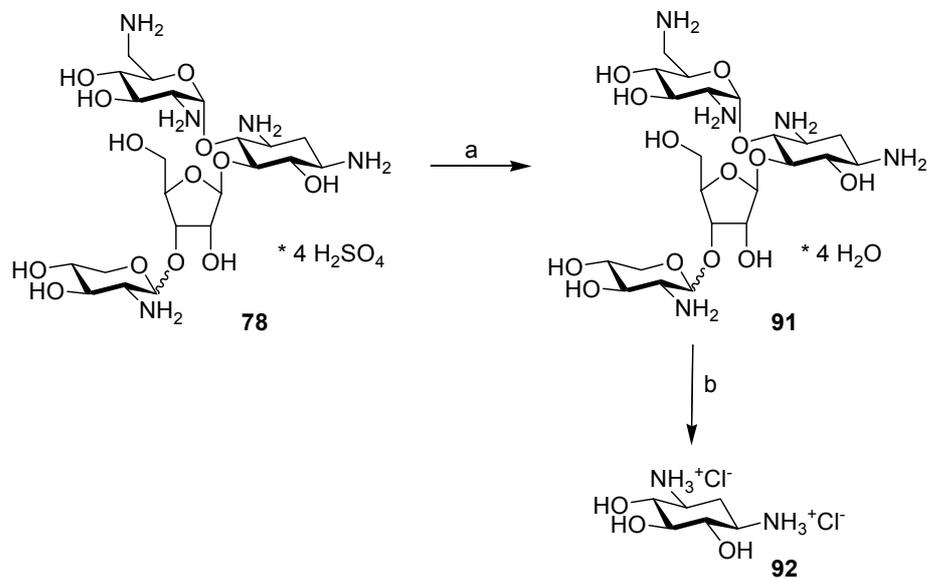
Ein direkter Zugang zum 2-Desoxystreptaminhydrochlorid (**92**) erfolgt sehr leicht und ökonomisch nach der Vorschrift von KUEHL⁸⁴ und der überarbeiteten Vorschrift nach TÖDTER.^{77b} Das kommerziell erhältliche Neomycinsulfat (**78**) muss durch Zusatz von Bariumhydroxid zur freien Base **91** umgesetzt werden (Schema 25), da laut Literatur das Sulfat-Derivat **78** nicht hydrolysiert werden kann.^{77b, 84} Die Hydrolyse der entstandenen Base **91** kann nun unter sulfatfreien Bedingungen in 6N HCl bei 140°C innerhalb von 7 Tagen verlaufen und führt zum 2-Desoxystreptaminhydrochlorid (**92**) in über 90%

⁸² W. T. Shier, K. L. Rinehart jr., D. Gottlieb *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1969**, 63, 198-201.

⁸³ S. Umezawa *Adv. Carbohydr. Chem.* **1974**, 30, 111-112.

⁸⁴ F. A. Kuehl jr.; M.N. Bishop, K. Folkers *J. Amer. Chem. Soc.* **1951**, 73, 881-882.

Ausbeute. Das 2-Desoxystreptaminhydrochlorid (**92**) kann in kristalliner Form isoliert werden.



Schema 25 Reagenzien und Bedingungen: a) BaOH * 8 H₂O, Trockeneis, b) HCl_{konz.}, H₂O, Δ, 7 d, 92%.

Die Differenzierung der drei Hydroxygruppen des 2-Desoxystreptamins, um eine Monoallylierung herbeiführen zu können, wirft einige Probleme auf, da es sich hier um eine *meso*-Verbindung handelt und somit die OH-Gruppen an Position 4 und 6 chemisch äquivalent sind (Abbildung 22).

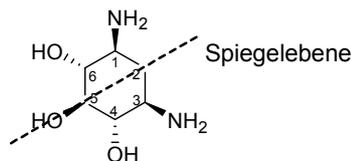


Abbildung 22 Spiegelebene der *meso*-Verbindung 2-Desoxystreptamin

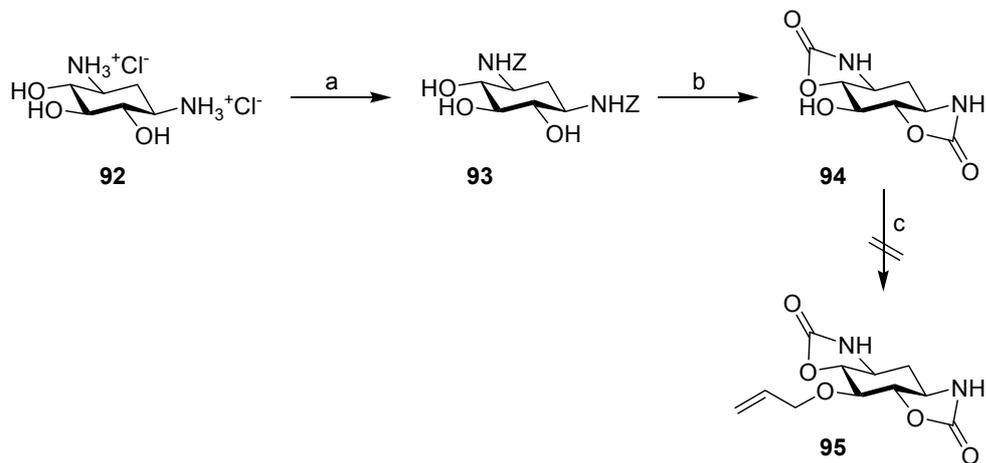
Die ersten Versuche die Hydroxygruppen durch den Einsatz von Lipasen⁸⁵ zu differenzieren und im Folgenden selektiv zu acetylieren schlugen fehl und so musste nach einer anderen Strategie gesucht werden.

Einen Ausweg bietet eine Cyclocarbamatblockierung der genannten OH-Gruppen nach UMEZAWA⁸⁶. Hierzu werden die Aminogruppen zunächst mit Benzyloxycarbonylchlorid

⁸⁵ Eingesetzte Lipasen: Pseudomonas sp. (Amano, 2 verschiedene), Candida cylindracea (Sigma), Porcine pancreas (Serva). Porcine pancreas (Sigma).

⁸⁶ a) S. Umezawa, Y. Takagi, T. Tsuchiya *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **1971**, *44*, 1411-1415; b) S. Umezawa, Y. Ito *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **1961**, *34*, 1540-1541.

(ZCl) als Benzylcarbamate geschützt. Anschließend folgt die Bildung der Cyclocarbamat-Verbindung mittels Einsatz einer Base. UMEZAWA verwendet zum Deprotonieren der Hydroxygruppen polymergebundene Base in Form von Dowex (OH^-) oder eine Natriumhydrogencarbonat-Lösung und erhält Ausbeuten von 60 bis 73%. Diese Reaktion kann unter den angegebenen Bedingungen nicht reproduziert werden. Wird jedoch Natriumhydrid als Base verwendet, können Ausbeuten von 61% erreicht werden.⁸⁷



Schema 26 Reagenzien und Bedingungen: a) ZCl, Na_2CO_3 -Lösung_{ges.}, $0^\circ\text{C} \rightarrow 4^\circ\text{C}$, ü. N., 88%; b) NaH, $\text{DMF}_{\text{abs.}}$, ü. N., 61%; c) Allylbromid u. Bu_4NI oder Allyliodid, LiHMDS, DMSO, $\text{RT} \rightarrow 40^\circ\text{C}$.

Die darauf folgende Allylierung kann trotz mehrfacher Variation der Synthesebedingungen nicht erfolgreich abgeschlossen werden.

⁸⁷ H. Paulsen, E. Sumfleth *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 1723-1745.

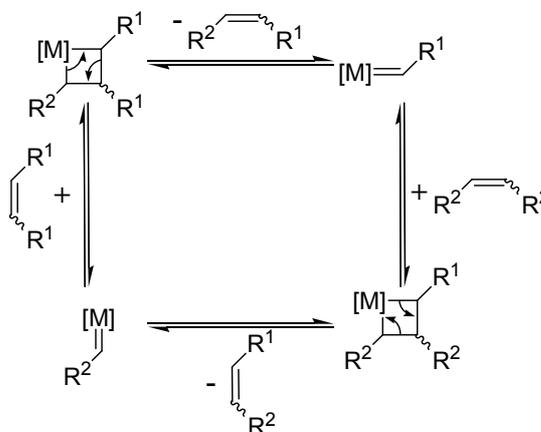
4 Olefinmetathese⁸⁸

Die in Kapitel 4 vorgestellten monomeren Bausteine sollen nun mittels Olefinmetathesereaktionen in Neooligosaccharide überführt werden.

4.1 Mechanismus der Metathese

Unter „Olefinmetathese“ wird der formale wechselseitige Austausch von Alkylidengruppen zweier Olefine verstanden. Der Begriff ist aber auch auf analoge Reaktionen zwischen einem Olefin und einem Metallcarbenkomplex⁸⁹ und auf die formale Insertion einer C-C-Dreifachbindung in eine C-C- oder C-Metall-Doppelbindung⁹⁰ erweitert worden.

Nach dem heute allgemein akzeptierten Metatheseverlauf von CHAUVIN⁹¹ besteht der Mechanismus aus einer Abfolge von [2+2]-Cycloadditions- bzw. Cycloinversionsschritten zwischen einer C-C-Doppelbindung und einem Metallcarbenkomplex [M] über ein Metallacyclobutan (Schema 27).



Schema 27: Katalysator-Zyklus der Kreuzmetathese

Somit handelt es sich um ein Syntheseprinzip, welches sowohl für die Spaltung als auch für die Bildung von C-C-Doppelbindungen geeignet ist. Obwohl die Knüpfung von C-C-Doppelbindungen eine der großen Herausforderungen in der organischen Synthese

⁸⁸ Der Ausdruck „Metathese“ wird von Calderon geprägt und geht auf das griechische „metatithemi“ (dazwischen setzen) zurück. N. Calderon *Chem. Eng. News* **1967**, *45*, 51-53.

⁸⁹ a) T. Katz, T. Sivavec *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *109*, 737-738; b) T. Katz, M. Chiang *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 5895-5898; c) M. Mori, S. Watanuki, N. Ochifuji *Organometallics* **1994**, *13*, 4129-4130.

⁹⁰ a) B. Trost, M. Yanai, H. Hoogsteen *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 5294-5295; b) S. Murai, T. Muto, T. Morimoto, N. Chatani *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6049-6050; c) A. Padwa *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4285-4288.

⁹¹ J.-L. Hérisson, Y. Chauvin *Makromol. Chem.* **1970**, *141*, 161-176.

darstellt, wird das enorme Potential der Olefinmetathese erst in jüngster Zeit dank neuer Katalysatoren zugänglich.⁹²

4.2 Katalysatoren

Die ersten Metathesekatalysatoren enthielten frühe Übergangsmetalle wie Molybdän oder Wolfram als Zentralatom.⁹³ Herauszuheben ist hier der von SCHROCK et. al. beschriebene Komplex **96**, der heute kommerziell erhältlich ist und dessen vielseitige Anwendbarkeit und hohe Aktivität in zahlreichen Metathesereaktionen demonstriert wurde (Abbildung 23). Die für diese frühen Übergangsmetalle charakteristische hohe Oxophilie dieser Komplexe macht das Arbeiten unter strengen Schutzgasbedingungen erforderlich. Damit einher geht eine relativ geringe Toleranz gegenüber polaren funktionellen Gruppen.

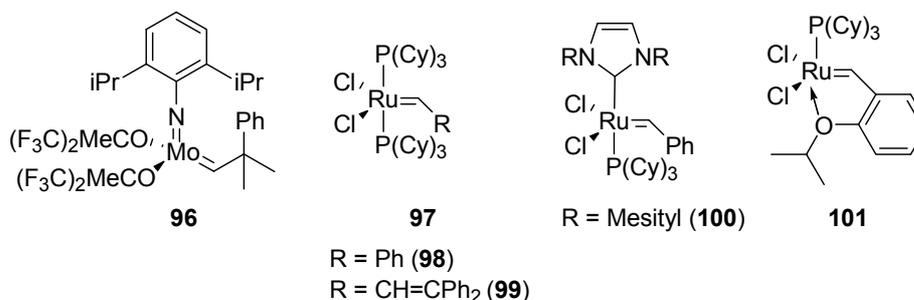


Abbildung 23 Verschiedene Metathesekatalysatoren in der organischen Synthese (Cy = Cyclohexyl).

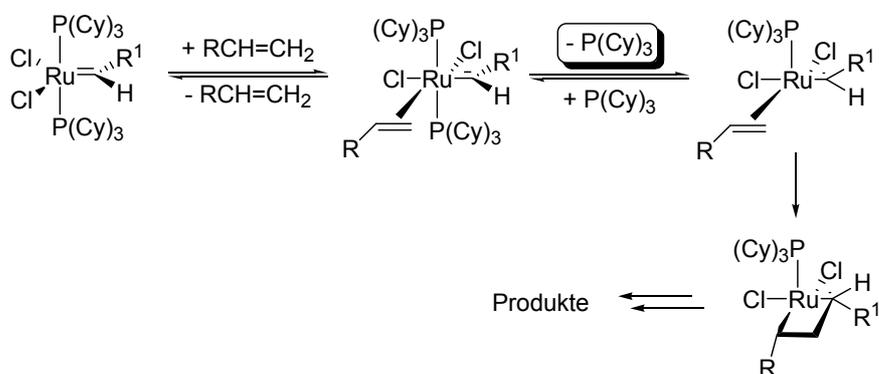
Die Einführung der Rutheniumalkylidenkomplexe (**98**) von GRUBBS et. al. stellte eine bedeutende Weiterentwicklung der Metathesekatalysatoren dar. Diese Katalysatoren weisen eine etwas geringere Aktivität als die Molybdänspezies auf, im Gegensatz dazu bieten sie aber eine größere Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen und eine höhere Stabilität gegenüber Sauerstoff, Feuchtigkeit und Verunreinigungen im Lösungsmittel.^{92a, 94}

⁹² a) S. Blechert, M. Schuster *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2124-2144; b) A. Fürstner *Angew. Chem.* **2000**, *122*, 3140-3172; c) W. A. Herrmann *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1342-1362.

⁹³ a) J. Kress, J. A. Osborn, V. Amir-Ebrahimi, K. J. Ivin, J. J. Rooney *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1988**, 1164-1166; b) C. J. Schaverien, J. C. Dewan, R. R. Schrock *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2771-2773; c) R. R. Schrock, J. S. Murdzek, G. C. Bazan, J. Robbins, M. DiMare, M. O'Regan *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3875-3886; d) J. Kress, J. A. Osborn, K. J. Ivin, J. J. Rooney *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1989**, 1234-1236;

⁹⁴ a) R. H. Grubbs, S. Chang *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413-4450; b) R. H. Grubbs, S. J. Miller, G. C. Fu *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 446-452; d) H.-G. Schmalz *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1981-1984.

Der Einfluss der Ligandenumgebung auf die katalytische Aktivität der fünffach koordinierten 16-Elektronen-Komplexe vom Typ **97** ist systematisch untersucht worden,⁹⁵ wobei sich das Chlorid als anionischer Substituent als besonders günstig erwies. Die Effekte dieser elektronenziehenden Gruppen müssen durch elektronenreiche und sterisch anspruchsvolle Phosphanliganden, z.B. PCy_3 oder $\text{P}(\text{Cyclopentyl})_3$, ausgeglichen werden. Mechanistische Untersuchungen verdeutlichen den Effekt der Phosphanliganden auf die Aktivität des Katalysators. So verlaufen die Reaktionen mit Ruthenium-Katalysatoren vom Typ **97** hauptsächlich nach einem dissoziativen Mechanismus, dies bedeutet, dass während des Katalysezyklus einer der beiden PCy_3 -Liganden von **97** abdissoziiert (Schema 28).⁹⁶ Das verbleibende Phosphan hat durch seinen sterischen Anspruch und seine elektronischen Eigenschaften entscheidende Bedeutung für die Stabilisierung der gebildeten reaktiven Zwischenstufen.



Schema 28 Vorgeschlagerener dissoziativer Mechanismus für Katalysatoren vom GRUBBS-Typ (**97**).⁹⁶

HERRMANN et al. berichteten erstmals über die Anwendung von NCH-Liganden in der Metathese.⁹⁷ Die N-heterocyclischen Liganden wirken durch höhere LEWIS-Basizität und einen größeren sterischen Anspruch als PCy_3 lebensverlängernd und aktivierend auf den Katalysator. Die erhöhte Stabilität begründet sich hierbei mit der kürzeren und somit stärkeren Metall-NCH-Bindung, wodurch bimolekulare Zerfallsprozesse unterdrückt werden.

Der von HOVEYDA et al. entwickelte Katalysator **101** erhält seine Stabilität im „Ruhezustand“ („resting state“) durch eine *ortho*-ständig an der Phenylcarbeneinheit substituierte *OiPr*-Gruppe, welche aber sehr leicht Substratmolekülen Platz machen kann.

⁹⁵ a) S. T. Nguyen, L. K. Johnson, R. H. Grubbs, J. W. Ziller *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3974-3975; b) S. T. Nguyen, R. H. Grubbs, J. W. Ziller *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9858-9859; c) P. Schwab, R. H. Grubbs, J. W. Ziller *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 100-110; d) M. Ullman, R.H. Grubbs *Organometallics* **1998**, *17*, 2484-2489; e) M. E. Cucullu, C. Li, S. P. Nolan, S. T. Nguyen, R. H. Grubbs *Organometallics* **1998**, *17*, 5565-5568.

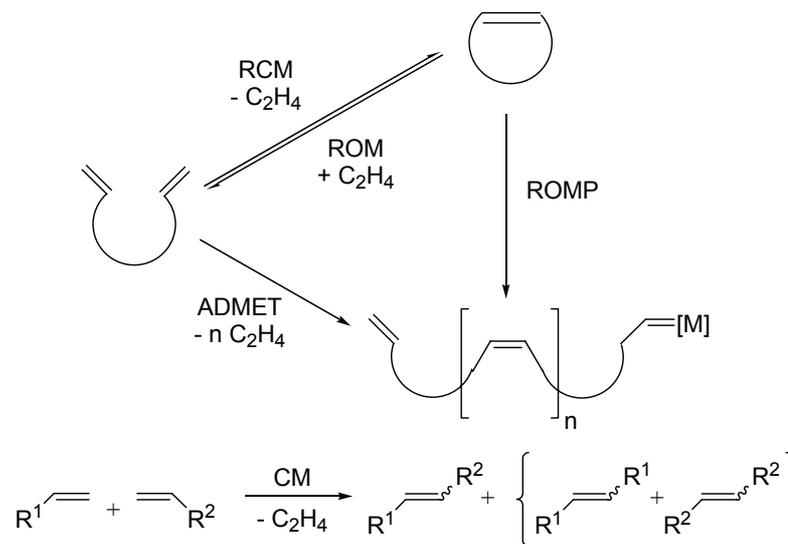
⁹⁶ E. L. Dias, S. T. Nguyen, R.H. Grubbs *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3887-3897.

⁹⁷ W. A. Herrmann, C. Köcher *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2256-2282.

Zusätzlich ist der Katalysator-Komplex nach Beendigung der Reaktion zur Selbstregeneration fähig wenn das Edukt verbraucht ist, und kann säulenchromatographisch reisoliert werden.

4.3 Metathesearten

Aufgrund intensiver Forschungsarbeiten sind mittlerweile viele Anwendungskonzepte der Olefinmetathese bekannt. Diese werden in Schema 29 dargestellt und im Folgenden diskutiert.^{92,98}



Schema 29 Wichtige Arten von Metathesereaktionen: RCM = Ringschlussmetathese (ring closing metathesis); ROM = Ringöffnungsmetathese (ring opening metathesis); ROMP = Ringöffnungsmetathese-Polymerisation (ring opening metathesis polymerization); ADMET = acyclische Dienmetathese-Polymerisation (acyclic diene metathesis polymerization); CM = Kreuzmetathese (cross metathesis).^{92b}

Da alle Schritte des in Schema 27 dargestellten katalytischen Kreislaufs (CHAUVIN-Mechanismus) reversibel sind, ergibt sich eine dem thermodynamischen Gleichgewicht entsprechende Zusammensetzung aus Edukten und Produkten. Um das Gleichgewicht einer Metathesereaktion auf die Produktseite zu verschieben, ist es notwendig dieses zu stören. Dies kann auf verschiedene Arten erfolgen. Im Allgemeinen ist aber anzumerken, dass die meisten Metathesekatalysatoren empfindlich auf das Substituentenmuster der Olefine reagieren und somit die Rückreaktion oft kinetisch gehindert ist.

⁹⁸ a) M. Schuster, S. Blechert *Chemie in unserer Zeit* **2001**, 35, 24-29; b) R. Roy *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **2000**, 519-529; c) H.-G. Schmalz *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1981-1987.

- Ringschlussmetathese (RCM):

Unter der Ringschlussmetathese⁹⁹ versteht man die Bildung eines Cycloolefins durch intramolekulare Cyclisierung eines Diolefins. Diese Reaktionsart ist zum einen entropisch begünstigt, da aus einem Edukt zwei Produkte entstehen. Eines ist meist ein flüchtiges Nebenprodukt, hauptsächlich Ethen oder Propen, das freigesetzt wird, was eine zusätzliche Verschiebung auf die Produktseite bewirkt. Die Ringschlussmetathese stellt bislang die mit Abstand am häufigsten eingesetzte Metatheseart dar. In zahlreichen Synthesen kann ihre große Vielseitigkeit und Effizienz mit zum Teil hochfunktionalisierten Ringsystemen unterschiedlicher Ringgröße demonstriert werden.^{94a,100}

- Ringöffnungsmetathese (ROM) und Ringöffnungsmetathese-Polymerisation (ROMP):

Bei der Ringöffnungsmetathese (Schema 29) werden zwei Alkylidenreste aus einem zugesetzten Olefin, meist Ethen, an die Termini der neu gebildeten Doppelbindungen angefügt. Diese Metatheseart setzt sich aus zwei Schritten zusammen, der eigentlichen Ringöffnung und einer anschließenden Kreuzmetathese (CM). Aus diesem Grund bezeichnet man die ROMP auch als Ringöffnungs-Kreuzmetathese (ROM-CM oder ROCM). Die meisten Beispiele für die Ringöffnungsmetathese sind mit gespannten Cycloolefinen bekannt, bei denen die frei werdende Ringspannung die Triebkraft für diese Reaktion liefert.¹⁰¹

In Abwesenheit eines externen Alkens unterliegen gespannte Cycloolefine einer Ringöffnungsmetathese-Polymerisation.¹⁰² Diese Reaktion wird häufig als unerwünschte Nebenreaktion bei der ROM beobachtet, sie wird aber auch bereits seit langem industriell genutzt. Als Beispiele für die großtechnische Verwendung der ROMP können die Polymerisation von Norbornen (Norsorex-Prozess¹⁰³) bzw. Cycloocten (Hüls-Vestenamer-Verfahren¹⁰⁴) angeführt werden.

- Kreuzmetathese (CM) und acyclische Dienmetathese-Polymerisation (ADMET):

Diese Metathesevarianten zeichnen sich durch intermolekulare Reaktionsprozesse aus. Bei der acyclischen Dienmetathese-Polymerisation reagieren α,ω -Diene unter Freisetzung

⁹⁹ T. M. Trnka, R. H. Grubbs *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 18-29;

¹⁰⁰ S. K. Armstrong *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 371-388.

¹⁰¹ a) M. L. Snapper, J. Limanto *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8071-8072; b) M. F. Schneider, N. Lucas, J. Velder, S. Blechert *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 257-258; c) M. F. Schneider, S. Blechert *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 257-258; d) M. L. Randall, J. A. Tallarico, M. L. Snapper *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *115*, 9610-9611.

¹⁰² U. Frenzel, O. Nuyken *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2002**, *40*, 2895-2916.

¹⁰³ R. F. Ohm *Chemtech.* **1980**, *10*, 183-187.

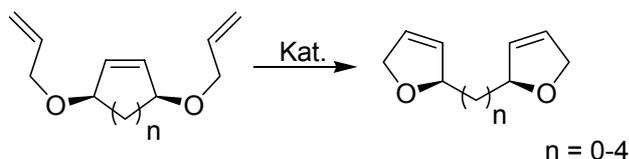
¹⁰⁴ A. Dräxler *Lichtbogen* **1980**, *29*, 4-7; A. Dräxler, A. Konietzny *Lichtbogen* **1986**, *35*, 24-28.

von Ethen miteinander.¹⁰⁵ Für diese Art der Metathese kann im Gegensatz zur ROMP noch keine industrielle Anwendung angegeben werden.

Unter dem Begriff der Kreuzmetathese versteht man den intermolekularen Austausch der Alkyldeneinheiten zweier Olefine. Durch die fehlende Chemo- und Stereoselektivität dieser Metatheseart wurde der CM in der organischen Synthese lange Zeit wenig Beachtung geschenkt. So können, wie in Schema 29 angedeutet, neben dem gewünschten Heterodimer auch die Homodimere der Edukte gebildet werden. Zusätzlich werden in den meisten Fällen die Dimere als *E/Z*-Isomere gebildet, die häufig chromatographisch nicht voneinander getrennt werden können. Unter Verwendung von sterisch und elektronisch vergleichbaren Olefinen wird in der Regel ein statistisches Gemisch der drei möglichen Dimere erhalten. In solchen Fällen können gute Ausbeuten im Bezug auf einen Reaktionspartner nur durch den Einsatz eines großen Überschusses des anderen Olefins erhalten werden.

- Tandem-Reaktionen bzw. Dominoprozesse:

Besonders attraktiv sind so genannte Tandem- oder Dominoreaktionen. Hierbei handelt es sich um kombinierte Prozesse verschiedener Metathesearten, z.B. RCM/ROM/CM oder RCM/ROM/RCM. Mit diesen Prozessen kann ein großer Zuwachs an molekularer Komplexität im Verlauf nur eines einzigen katalytischen und atomökonomischen Schritts erhalten werden. Ein frühes Beispiel für eine Ringschluss-Ringöffnungs-Ringschluss-Metathese wurde von ANDERSON und MERCKLING schon 1955 vorgestellt,¹⁰⁶ die Triebkraft ist hier die Bildung eines Produkts, das im Vergleich zum Edukt einen zusätzlichen stabilen Fünfring aufweist.



Schema 30 Ringschluss-Ringöffnungs-Ringschluss-Metathese nach ANDERSON und MERCKLING

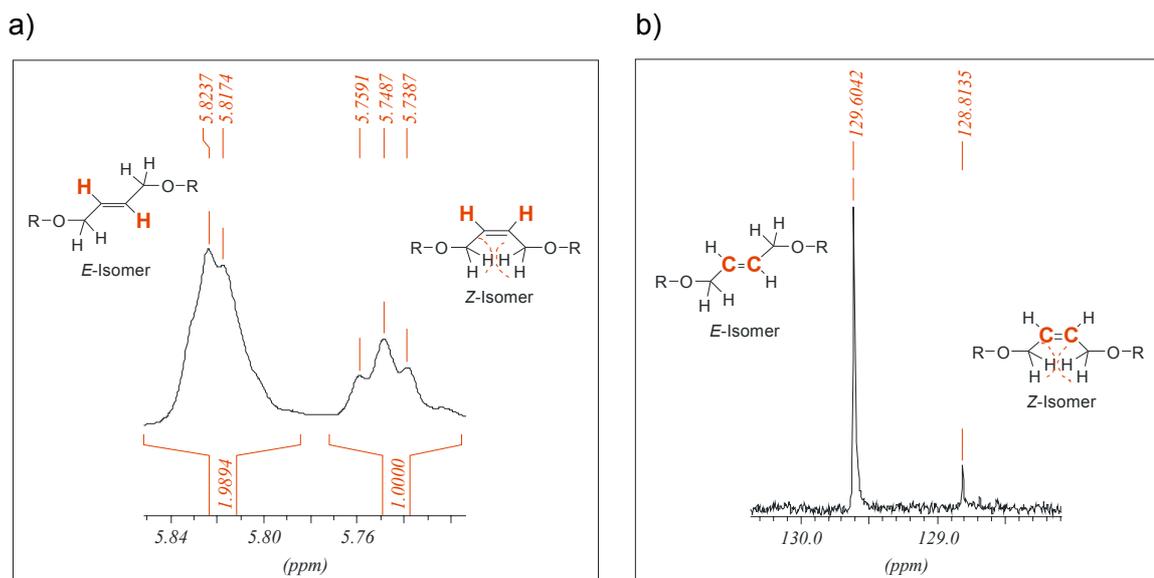
Ebenfalls sind Kombinationen aus Metathese und anderen Alken-Reaktionen wie etwa der Diels-Alder-, Cope-, Heck- oder En-Reaktionen denkbar.

¹⁰⁵ a) M. Lindmark-Hamberg, K. B. Wagener *Macromolecules* **1987**, *20*, 2949-2951, b) D. W. Smith jr., K. B. Wagener *Macromolecules* **1993**, *26*, 1633-1642.

¹⁰⁶ A. W. Anderson, M. G. Merckling *Patent: US-A 2721189*, **1955**.

4.4 Ermittlung des *E/Z*-Verhältnisses

Das Verhältnis der durch Metathese entstandenen, untrennbaren *E*- und *Z*-Isomere wird durch Analyse der ^1H -NMR-Spektren bestimmt. In *E/Z*-Isomerenpaaren sind die olefinischen Kohlenstoffe der *cis*- bzw. *Z*-Isomere etwas abgeschirmt, wenn sie mit den Kohlenstoffen der *trans*- bzw. *E*-Verbindung verglichen werden. Eine sehr viel stärkere Abschirmung erfährt erfahrungsgemäß der Kohlenstoff in α -Position zu der Doppelbindung in *Z*-Isomeren in Folge des γ -Effekts.¹⁰⁷ Dieser Effekt ruft durch sterische Interaktion eine Abschirmung des an diese Wasserstoffe gebundenen Kohlenstoffatoms hervor. Dies wird meist verursacht durch Berührung oder Überlappung der VAN DER WAALS-Radii räumlich naher Wasserstoffe. Aus diesem Grund kann über die epimere Beziehung zwischen $\delta_{\alpha(Z)} < \delta_{\alpha(E)}$ die relative Konfiguration von *E*- und *Z*-Stereoisomeren bestimmt werden.



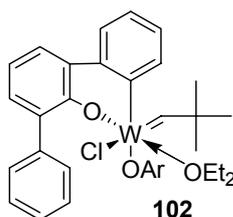
Schema 31: Beispiele für unterschiedliche chemische Verschiebung der *E*- bzw. *Z*-Isomere im a) ^1H - und b) ^{13}C -Spektrum (Schema 43, 121).

Die chemischen Verschiebungen der olefinischen Wasserstoff- bzw. Kohlenstoffatome ist in Schema 31 dargestellt. Im ^1H -NMR-Spektrum kann nun durch Integration der beiden Signale das *E/Z*-Verhältnisses ermittelt werden. So ergab sich ein Verhältnis von *E*- zu *Z*-Isomer im dargestellten Beispiel (Schema 31a) von *E/Z* = 2:1.

¹⁰⁷ a) E. Breitmaier, N. Voelter *Carbon-13 NMR Spectroscopy. High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry*, 3rd edition, VCH, Weinheim, New York **1987**, 192-194; b) H. Friebolin *Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy*, 3rd edition, Weinheim, New York **1998**, 61-64.

4.5 Die Olefinmetathesereaktionen

Die Homodimerisation von Kohlenhydraten mittels Metathese wurde erstmalig von DESCOTES et. al. unter Beteiligung von Ω -ungesättigten Glycosiden durchgeführt.¹⁰⁸ Es wurden Verbindungen synthetisiert, die ungewöhnliche oberflächenaktive Eigenschaften und eine hohe Tendenz zur Bildung von monomolekularen Membranen aufwiesen. Als Katalysator wurde der Wolfram-Chlor-Alkoxid-Komplex **102** eingesetzt (Schema 32). Dieser Katalysator toleriert nur im geringen Maße Benzylether und Allylgruppen.



Schema 32

Von ROY¹⁰⁹ sind ebenfalls Metathesereaktionen unter Verwendungen von O- und C-allylierten Glycosiden zur Bildung von Homo- sowie Heterodimeren bekannt. DANISHEFSKY und auch DONDONI nutzten die Kreuzmetathesereaktion zur Bildung von Glycosylaminosäuren.¹¹⁰ In allen diesen Fällen wurden Katalysatoren des GRUBBS-Typs herangezogen.

Arbeiten von CHEN^{56,57} beschäftigten sich mit der Bildung von Homodimeren und der Expansion dieser Strukturen durch weitere Allylierungs- und Metathesereaktionen. Mittels dieser Strategie entstanden nicht nur lineare Oligosaccharide, es konnten auch cyclische Verbindungen dargestellt werden, die zum Teil biologische Aktivitäten aufwiesen.⁵⁷

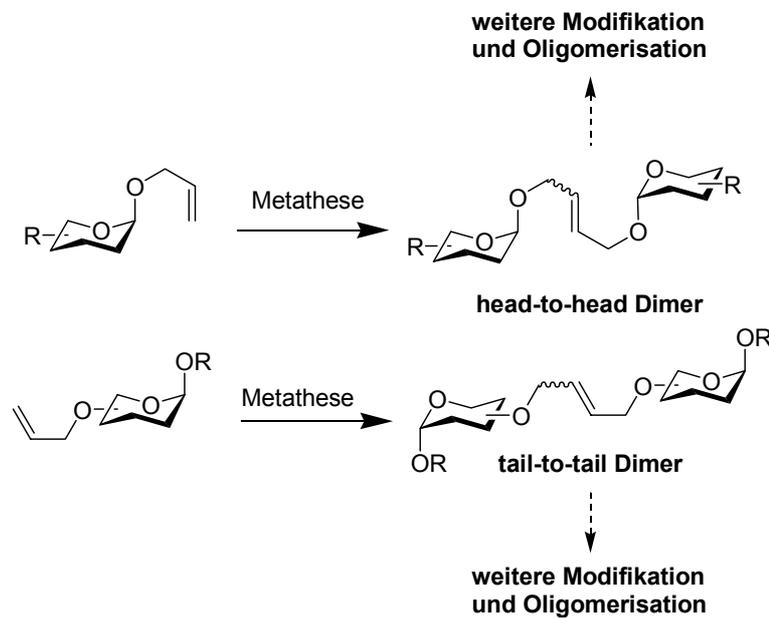
Wie schon zuvor beschrieben, kann die Allylierung der Zuckerbausteine sowohl am anomeren Zentrum als auch in Position 4 erfolgen. Bei Bildung der Homodimere dieser O-allylierten monomeren Bausteinen ergeben sich daraus zwei verschiedene Verknüpfungsmöglichkeiten, nämlich kopf-an-kopf (head-to-head) und schwanz-an-schwanz (tail-to-tail) Dimere (Schema 33). Diese können darauf folgend

¹⁰⁸ a) G. Descotes, J. Ramza, J.-M. Basset, S. Pagano *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 7379-7382; b) J. Ramza, G. Descotes, J.-M. Basset, A. Mutch *J. Carbohydrate Chemistry* **1996**, *15*, 125-136.

¹⁰⁹ a) R. Dominique, S. K. Das, R. Roy *Chem Comm.* **1998**, 2437-2438; b) R. Roy, R. Dominique, S. K. Das *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5408-5412; c) Y. J. Hu, R. Roy *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3305-3308; d) R. Dominique, B. Liu, S. K. Das, R. Roy *Synthesis* **2000**, *6*, 862-868.

¹¹⁰ a) K. Biswas, D. M. Coltart, S. J. Danishefsky *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6107-6110; b) A. Dondoni, P. P. Giovannini, A. Marra *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 2380-2388.

durch weitere Modifizierung und Oligomerisierung in höhere Oligosaccharide überführt werden (Schema 33).

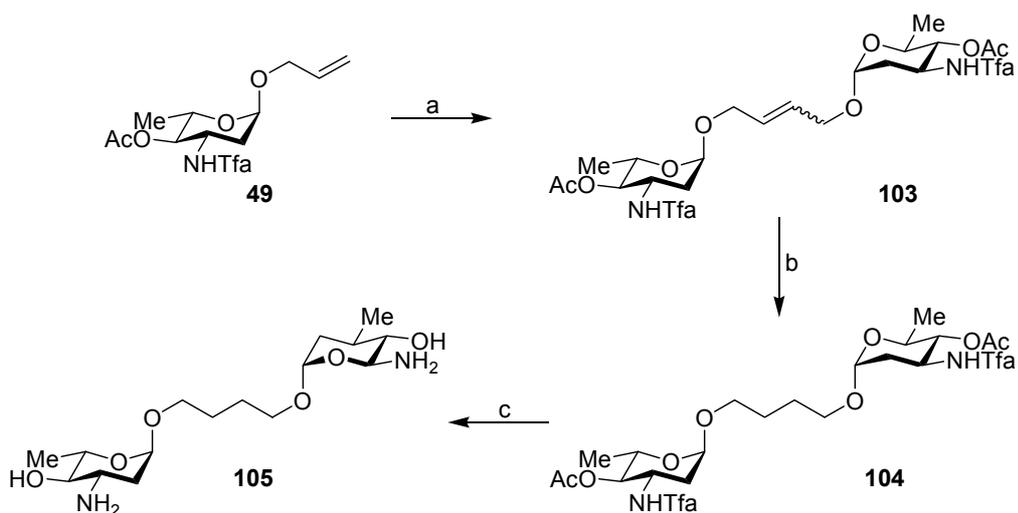


Schema 33 Konzept der Homodimerisierung durch Olefinmetathese.^{56c}

4.5.1 Olefin-Selbst-Metathese, Homodimerisierung

4.5.1.1 Darstellung von Homodimeren ausgehend von den Allylglycosiden **49** und **57**

Die ersten Metatheseversuche werden mit der literaturbekannten Verbindung **49**⁵⁷ durchgeführt und liefern bei einem Einsatz des GRUBBS-Katalysators **98** (4.5-6 mol%) gute Ausbeuten von etwa 90% (Schema 34). Das *E/Z*-Verhältnis des entstandenen Homodimers **103** liegt zwischen 2.5:1 und 3:1. Eine Trennung der *E*- und *Z*-Isomere ist in keinem Fall notwendig, da beide durch die nachfolgende Hydrierung der internen Doppelbindung in Verbindung **104** überführt werden.

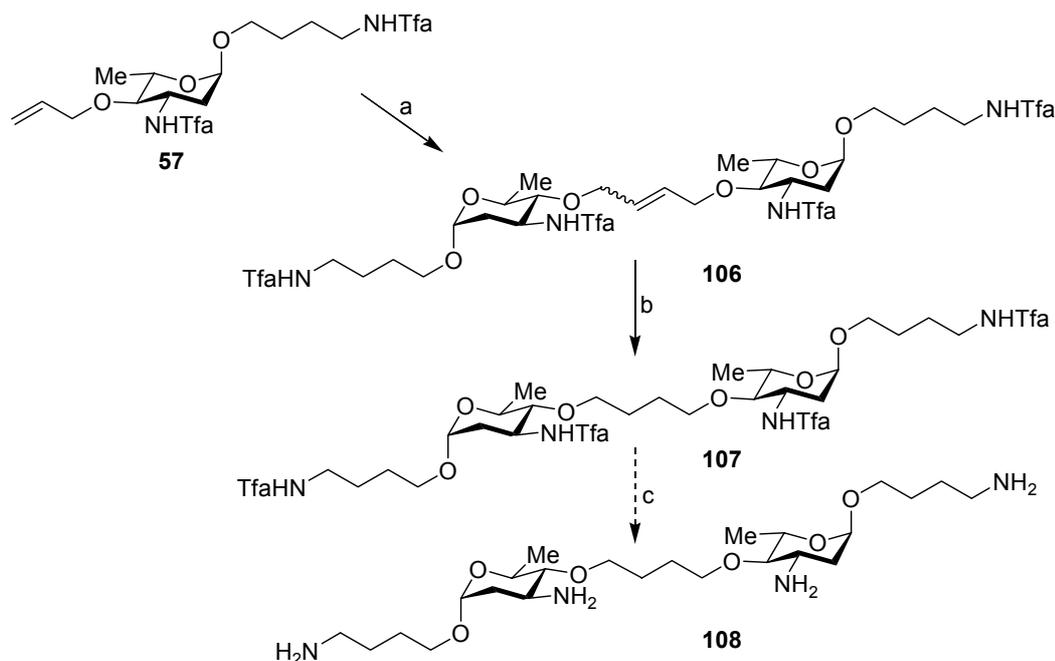


Schema 34 Reagenzien und Bedingungen: a) 10 mol% **98**, Benzol_{abs.}, 40°C, 20 h, 84%; b) PtO₂, EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, H₂-Atmosphäre, RT, 24 h, 91%; c) THF/0.1M NaOH_{aq.} 3:1, RT, 14 h, 69%.

Die anschließende gemeinsame Entschützung der Hydroxy- und der Aminogruppe mit Natriumhydroxid in Tetrahydrofuran/Wasser setzt das Homodimer **105** frei. Die erhaltene, sehr polare Verbindung kann nun über RP¹¹¹-Säulenchromatographie von den entstandenen Salzen abgetrennt und aufgereinigt werden.

Das 4-O-Allyl-L-acosamin-Derivat **57** kann durch eine Selbstmetathesereaktion mit Hilfe des GRUBBS-Katalysators **98** in das Dimer **106** überführt werden (Schema 35). Die Ausbeute für diesen Schritt beträgt 64% und es wird ein *E/Z*-Verhältnis von 5:1 erhalten. Das gesättigte Dimer **107** kann nach der Platindioxid-katalysierten Hydrierung nur in Spuren isoliert werden. Aus Mangel an Startmaterial konnte dieser Versuch nur einmal durchgeführt werden. Die nachfolgende Entschützung der vier Aminofunktionen kann aus diesem Grund nicht mehr durchgeführt werden. Das erwartete freie Dimer **108** hätte auf Grund der zwei Aminogruppen pro Saccharideinheit eine interessante Testsubstanz für die folgenden biologischen Untersuchungen dargestellt.

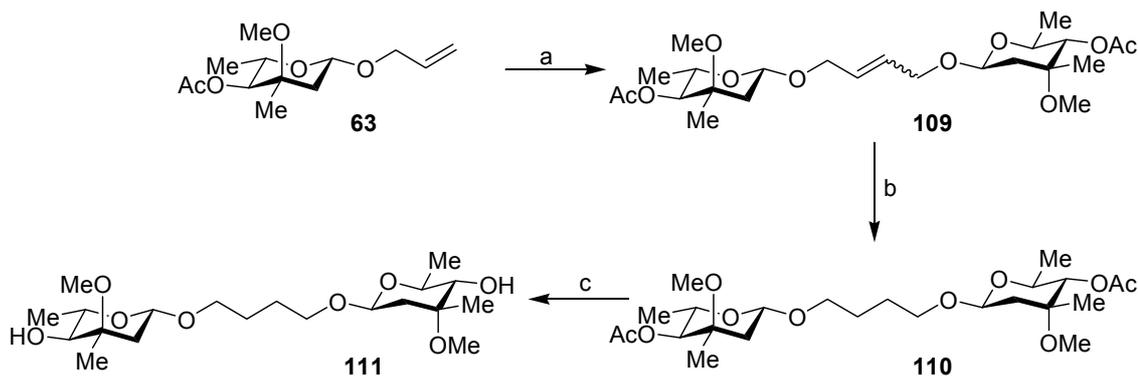
¹¹¹ RP = reversed phase (BAKERBONDTM, Octadecyl (C₁₈), 40 μm)



Schema 35 Reagenzien und Bedingungen: a) 15 mol% **98**, Benzol_{abs.}, 40°C, 20 h, 64%; b) PtO₂, EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, H₂-Atmosphäre, RT, 24 h, (fast vollständige Zersetzung); c) Entschützung.

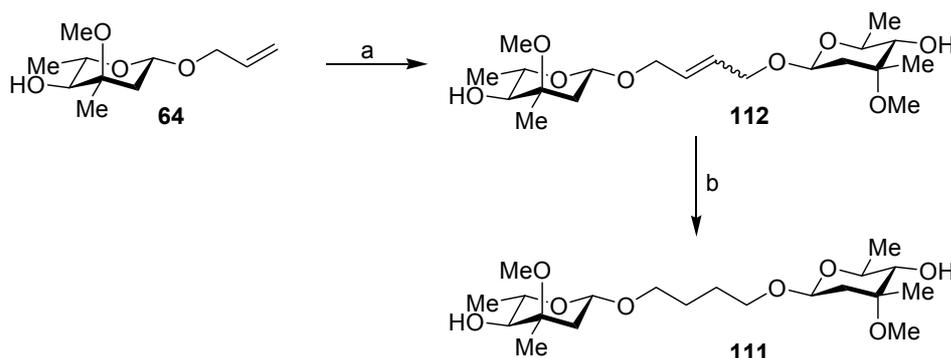
4.5.1.2 Darstellung von linearen Homodimeren ausgehend von den Allylglycosiden **63**, **64**, **65** und **70**

Das Metatheseprodukt **109** des Allylglycosides **63** wird in wasserfreiem Benzol unter Verwendung von 10 mol% des GRUBBS-Katalysators **98** mit einer Ausbeute von 87% erhalten (Schema 36). Die Durchführung dieser Reaktion in wasserfreiem Dichlormethan führt zu Ausbeuteeinbußen, es kann nur ein Umsatz von 50% erreicht werden. Die Hydrierung der Doppelbindung erfolgt unter H₂-Atmosphäre mit Platindioxid als Katalysator, gefolgt von der Acetat-Entschützung an Position 4 mittels Natriummethanolat in Methanol. Da das entstandene Produkt nicht sehr polar ist, kann die Aufreinigung mittels Säulenchromatographie an Kieselgel durchgeführt werden. Das erhaltene Homodimer **111** kann nun für biologische Tests bereitgestellt werden.



Schema 36 Reagenzien und Bedingungen: a) 10 mol% **98**, Benzol_{abs.}, 40°C, 20 h, 87%; b) PtO₂, EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, H₂-Atmosphäre, RT, 24 h; c) Amberlite A-26 (OH⁻), MeOH, RT, 24 h, 95% (über 2 Stufen).

Die Metathesereaktion des ungeschützten Monomers **64** führt zu einer unveränderten Ausbeute im Vergleich zur acetylierten Verbindung **63** (Schema 37). Im Verlauf dieser Synthese kann aber der Deacetylierungsschritt eingespart werden. Das Endprodukt **111** wird sofort nach dem Hydrierungsschritt freigesetzt.

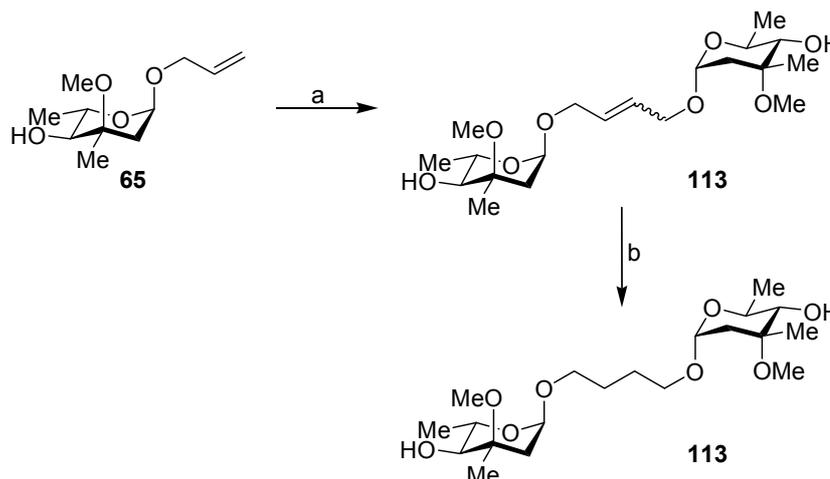


Schema 37 Reagenzien und Bedingungen: a) 10 mol% **98**, Benzol_{abs.}, 40°C, 20 h, 84%; b) PtO₂, EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, H₂-Atmosphäre, RT, 14 h, 96%.

In diesem Fall haben die fehlenden Schutzgruppen und damit die Anwesenheit von zwei polaren Hydroxygruppen nur sehr geringe Auswirkungen auf den Katalysator und somit auf die Metathesereaktion.¹¹² Einflüsse von Schutzgruppen auf die Aktivität des Rutheniumkatalysators sind aber aus Arbeiten von CHEN bekannt.⁵⁷ So konnte er feststellen, dass freie Hydroxygruppen die Aktivität des Katalysators schwächen und zu wesentlich niedrigeren Ausbeuten führen können. Ähnliche Auswirkungen auf die Ausbeute können sterisch anspruchsvolle Gruppen in axialer Anordnung haben.

¹¹² a) R.Roy, S. K. Das, R. Dominique, M. C. Trono, F. Hernandez-Mateo, F. Sntoyo-Gonzalez *Pure Appl. Chem.* **1999**, *71*, 565 - 571; b) S. K. Das, R. Dominique, C. Smith, J. Nahra, R. Roy *Carbohydrate Lett.* **1999**, *3*, 361-368.

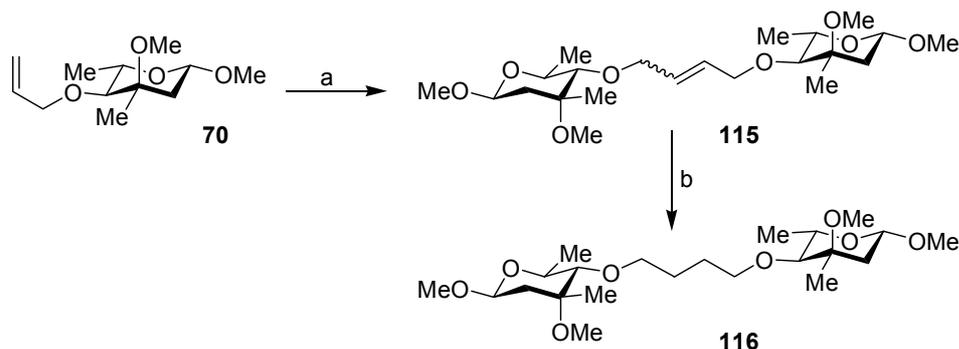
Dieser Effekt wird auch nicht beim Einsatz des α -Glycosids **65** für die intermolekulare Olefinmetathese beobachtet (Schema 38). Bei dieser Reaktion wird eine Veränderung des *E/Z*-Verhältnisses auf 5:1 im Gegensatz zu 3.5:1 beim β -Anomer **64** erhalten. Die Ausbeute des α -Dimers **113** ist mit 82% vergleichbar mit der Ausbeute des β -Dimers **112** (84%). Die axiale bzw. äquatoriale Stellung des anomeren Zentrums hat demnach keinerlei Einfluß auf die Ausbeute dieser Metathesereaktionen, sondern nur auf das *E/Z*-Verhältnis.



Schema 38 Reagenzien und Bedingungen: a) 10 mol% **98**, Benzol _{abs.}, 40°C, 20 h, 82%; b) PtO₂, EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, H₂-Atmosphäre, RT, 24h, 83%.

Die Hydrierung des ungesättigten Dimers **113** wird wie schon zuvor unter H₂-Atmosphäre durch Patindioxid katalysiert und das gesättigte Dimer **114** kann in Ausbeuten von 83% erhalten werden.

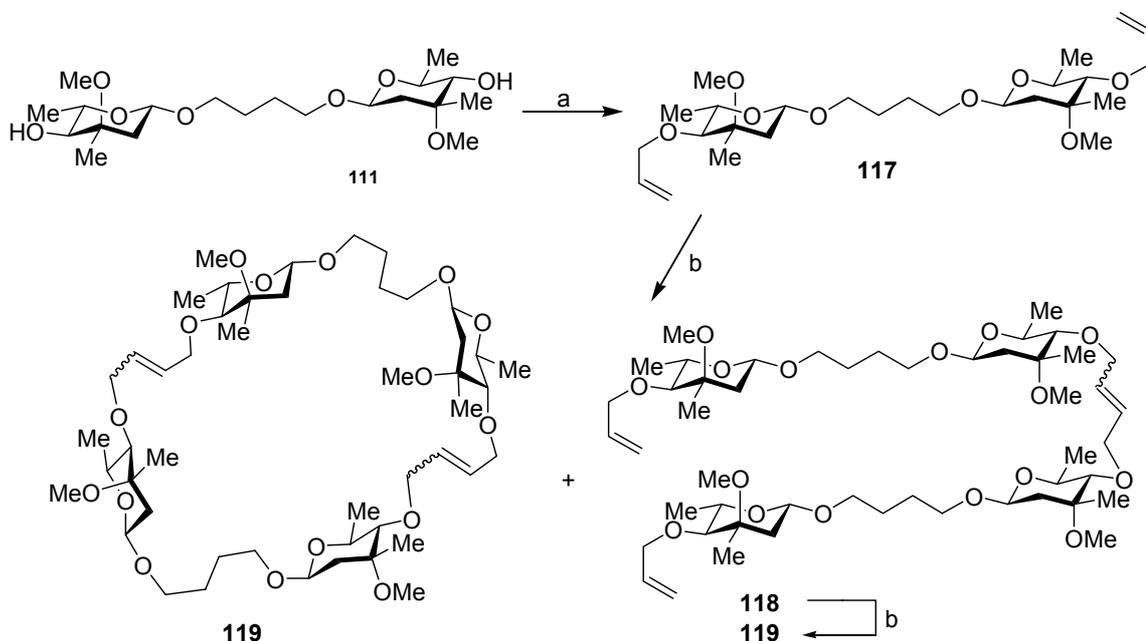
Bei der Synthese des schwanz-an-schwanz-verknüpften Homodimers **115** aus der 4-O-Allyl-1-O-methyl- β -L-cladinose (**70**) kann eine Ausbeute von 63% erreicht werden, das *E/Z*-Verhältnis beträgt in diesem Fall 6:1 (Schema 39). Die anschließende Hydrierung der internen Doppelbindung ergibt das tail-to-tail-Dimer **116**; dieses kann in 89%iger Ausbeute nach chromatographischer Reinigung isoliert werden.



Schema 39 Reagenzien und Bedingungen: a) 10 mol% **98**, Benzol_{abs.}, RT, 20 h, 65%; b) PtO₂, EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, H₂-Atmosphäre, RT, 24 h, 89%.

4.5.1.3 Darstellung eines cyclischen Homotetramers aus dem Homodimer **111**

Das Homodimer **111** kann weiter zu einem cyclischen Tetramer **119** umgesetzt werden. Hierzu werden beide Hydroxygruppen des Dimers **111** mit Allylbromid unter Zuhilfenahme von Natriumhydrid allyliert. Das so erhaltene Diallyldimer **117** wird wiederum einer Metathesereaktion unterworfen. Es werden zwei Produkte erhalten, das cyclische Tetramer **119** und dessen Vorstufe, das lineare Diallyltetramer **118**.

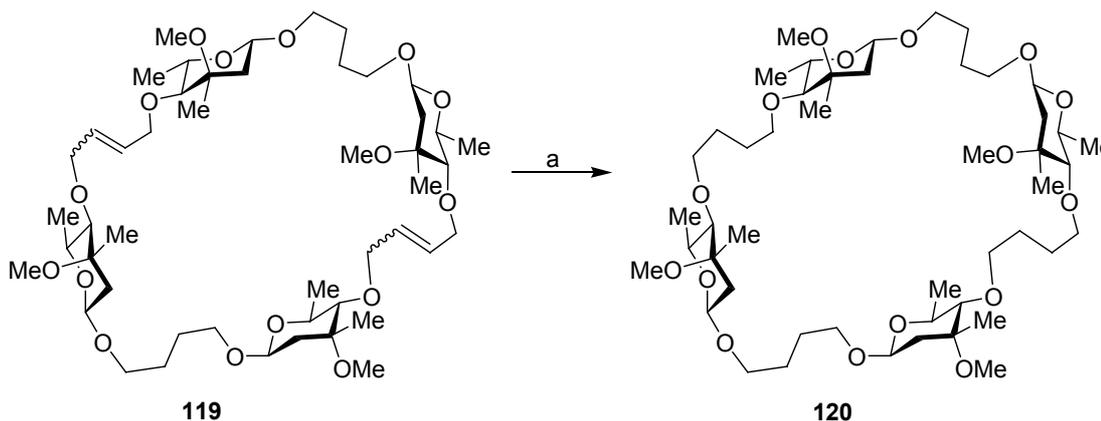


Schema 40 Reagenzien und Bedingungen: a) Allylbromid, NaH, DMF_{abs.}, RT, ü.N., 93%; b) 20 mol% **98**, Benzol_{abs.}, RT, 20 h, **118** 21%, **119** 27%.

Die Bildung eines ebenfalls möglichen cyclischen Dimers oder die Generierung größerer Ringsysteme, wie z.B. cyclischer Hexamere, kann nicht beobachtet werden. Die Form des

cyclischen Tetramers scheint, wie schon von CHEN⁵⁷ bei einem anderen Substrat festgestellt, auch hier die favorisierte Form und Ringgröße zu sein.

Das lineare Tetramer **118** mit zwei terminalen Allylfunktionen kann durch eine erneute Metathesereaktion ebenfalls in das cyclische Tetramer **119** überführt werden. Der so erhaltene Makrocyclus **119** wird durch Hydrierung mittels Platindioxid unter Wasserstoffatmosphäre in das gesättigte cyclische Tetramer **120** überführt.

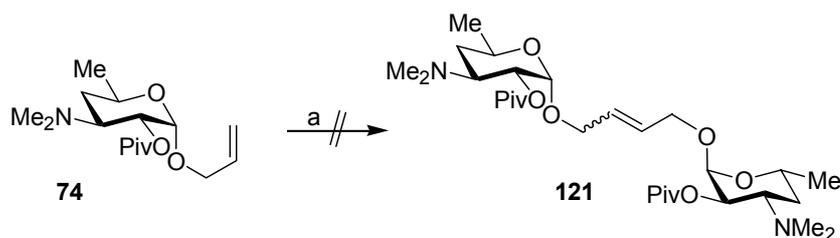


Schema 41 Reagenzien und Bedingungen: a) PtO₂, EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, H₂-Atmosphäre, RT, 4 h, 19%.

Die aufgenommenen ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektren der augenscheinlich symmetrischen Verbindung **120** weisen ein Signalverhältnis von 3:1 auf. Der Grund dieser Aufspaltung konnte bisher noch nicht aufgeklärt werden.

4.5.1.4 Darstellung eines linearen Homodimeren aus dem Allylglycosid **74**

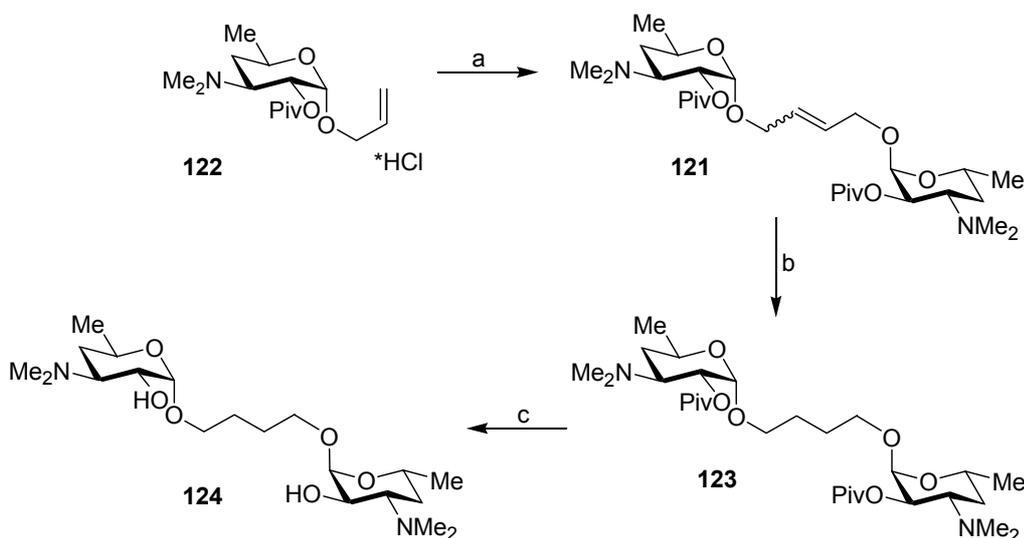
Erste Metatheseversuche mit dem Pivaloyl-geschützten Allyldesosamin **74** führen trotz Verwendung von bis zu 20 mol% Katalysator zu keinem Produkt (Schema 42). Auch durch Änderung der Reaktionsbedingungen, wie Lösungsmittelwechsel von Benzol zu Dichlormethan, die Verwendung des GRUBBS-Katalysators **100** und Erhitzen der Reaktionslösung, kann kein Umsatz herbeigeführt werden.



Schema 42 Reagenzien und Bedingungen: a) 20 mol% **100**, Benzol_{abs.}, RT → 80°C, 20 h.

Erst bei Verwendung des Hydrochlorids **122** verlief die Olefinmetathese (Schema 43) zum Dimer **121** in einer Ausbeute von 60%. Dies begründet sich in der starken LEWIS-Basizität des dimethyliertenamins an C-3 und den somit ungewollten Wechselwirkungen mit dem Katalysator. Die Maskierung einesamins als Hydrochlorid und die darauf folgende Metathese ist aus der Literatur bekannt. Diese Schutzgruppenstrategie wird ebenfalls in der Synthese des makrocyclischen Nonylprodigosins angewandt.¹¹³ Als Begründung wird hier die allgemeine Unverträglichkeit der Rutheniumcarbenkomplexe des GRUBBS-Typs gegenüber freien Aminen angegeben.^{92a, 114}

Die Überführung des Allyl desosamins **74** in sein Hydrochlorid erfolgt in Methanol unter Zugabe von 2 Äquivalenten Acetylchlorid, das sich *in situ* mit dem Lösungsmittel in HCl und Acetylmethylester umsetzt. Das so entstandene saure Medium wird bis zur Trockene eingeeengt und das Hydrochlorid **122** verblieb als Rückstand.



Schema 43 Reagenzien und Bedingungen: a) 20 mol% **98**, Benzol_{abs.}, RT, 20 h, 60%; b) PtO₂, EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, H₂-Atmosphäre, RT, 4 h, 94%; c) LiOH·H₂O MeOH, RT, 14 h, 91%.

¹¹³ A. Fürstner, H. Krause *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8281-8286.

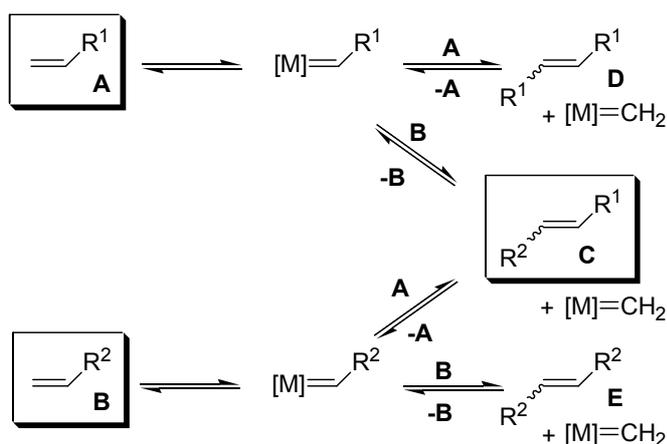
¹¹⁴ R. H. Grubbs, S. Chang *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413-4450.

Das durch Olefinmetathese aus **122** entstandene Dimer **121** liegt in einem *E/Z*-Verhältnis von 2:1 vor und kann wiederum unter H₂-Atmosphäre mit Platindioxid als Katalysator zum gesättigten Dimer **123** hydriert werden. Die nachfolgende Entschützung der Hydroxygruppen verläuft in einer Ausbeute von 90% unter zu Hilfenahme einer methanolischen Lithiumhydroxid-Lösung. Auch hier war eine Aufreinigung des Reaktionsgemisches über RP-Material notwendig, um ein reines Produkt für die biologischen Tests bereitstellen zu können.

4.5.2 Kreuzmetathese

4.5.2.1 Darstellung eines Heterodimers ausgehend von den Allylglycosiden **49** und **53** bzw. **64**

Wie schon in Abschnitt 4.3 ausgeführt, eröffnet die gekreuzte Metathese zwischen zwei acyclischen Olefinen interessante Möglichkeiten für die Herstellung höher substituierter und divers funktionalisierter Alkene. Die Kreuzmetathese ist jedoch noch immer ein unterrepräsentiertes Gebiet im Bereich der Metathesereaktionen im Vergleich zur Ringöffnungsmetathese-Polymerisation (ROMP)¹⁰² und zur Ringschlussmetathese (RCM).⁹⁹ Bei jeder Kreuzmetathese zweier terminaler Olefine **A** und **B**, die generell entropisch anspruchsvoller als andere Metathesearten sind, besteht jedoch die Gefahr, dass neben dem gewünschten, „gemischten“ Produkt **C** auch die unerwünschten Homodimere **D** und **E** gebildet werden (Schema 44).

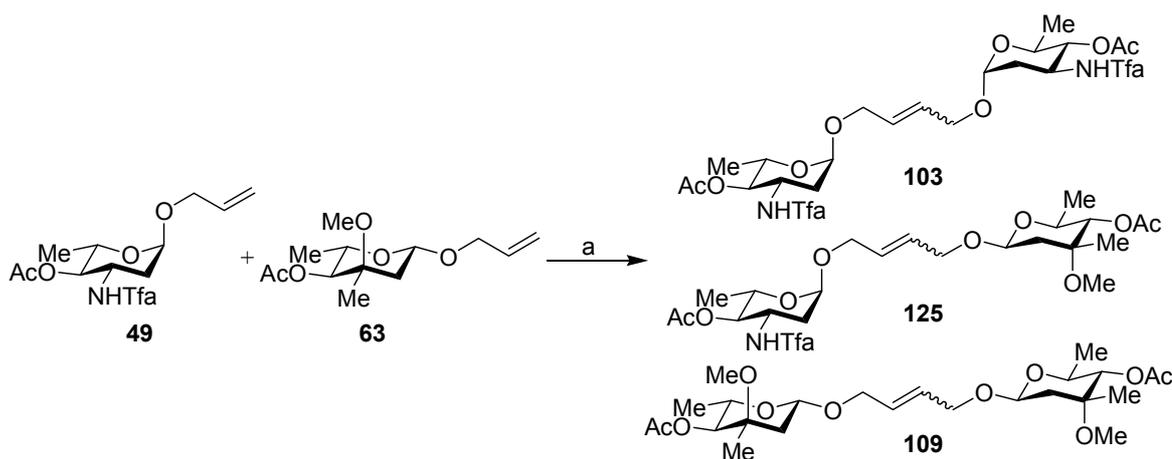


Schema 44 Allgemeines Reaktionsschema zur Kreuzmetathese terminaler Olefine.¹¹⁵

¹¹⁵ a) B. Marciniak, J. Gulinski *J. Organomet. Chem.* **1984**, 266, C19-C21; b) B. Marciniak, Maciejewski, J. Gulinski Z. Rzejak *J. Organomet. Chem.* **1989**, 362, 273-279; c) B. Marciniak, C. Pietraszuk, Z. Foltynowicz, W. Urbaniak *J. Organomet. Chem.* **1994**, 474, 83-87.

Durch die Entwicklung hochaktiver und stabiler Rutheniumkatalysatoren, wie z.B. **100** und **101**, ist die Kreuzmetathese nun wieder in den Blickpunkt gerückt. Die hohe Aktivität der neuen Katalysatoren zusammen mit ihrer beeindruckenden Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen führt zu vermehrter Forschungsaktivität auf diesem Gebiet. Zusätzlich zu der Wahl des geeigneten Katalysators haben sterische und elektronische Effekte der eingesetzten Olefine einen großen Einfluss auf die Selektivität der durchgeführten Kreuzmetathesereaktion.¹¹⁶ Durch einfache Modifikationen dieser Eigenschaften, z.B. durch die Wahl geeigneter Schutzgruppen, ist es oft möglich, einen positiven Einfluss auf die Reaktivität eines Olefins auszuüben.

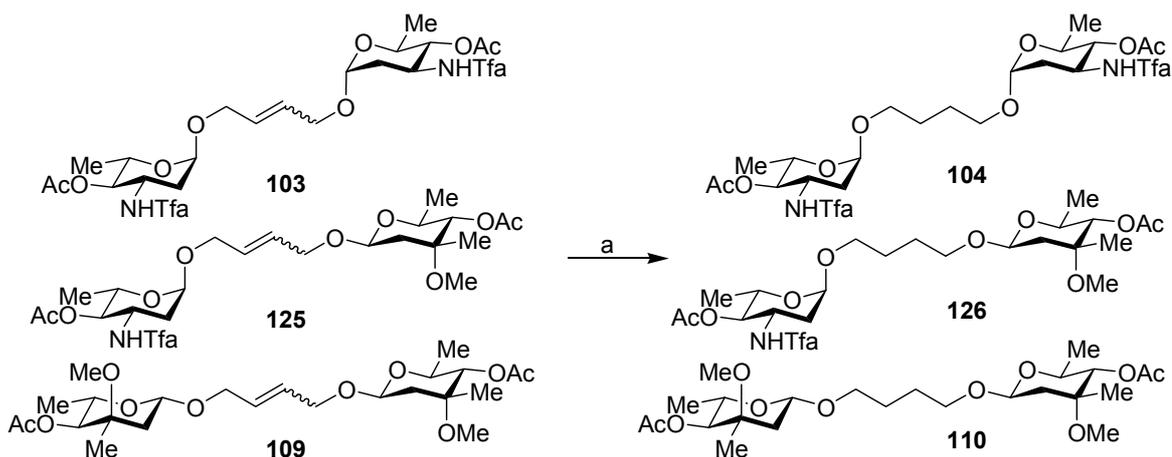
Zu dem Problem der Homodimerbildung kommt im vorliegenden Fall, der gekreuzten Metathese zwischen den Allylglycosiden **49** und **63** (Schema 45), die ähnliche Polarität der Edukte und somit auch der entstehenden drei Produkte. Dies hat zur Folge, dass die beiden Homodimere **103** und **109** mit dem Heterodimer **125** ein untrennbares Gemisch bilden.



Schema 45 Reagenzien und Bedingungen: a) 10 mol% **98**, Benzol_{abs.}, 40°C, 20 h; Gesamtausbeute 69%.

Auch die anschließende Hydrierung des erhaltenen Gemisches aus den drei Dimeren **103**, **109** und **125** führt zu keinerlei Polaritätsveränderungen bei den Produkten, und so kann eine chromatographische Trennung nicht erreicht werden (Schema 46).

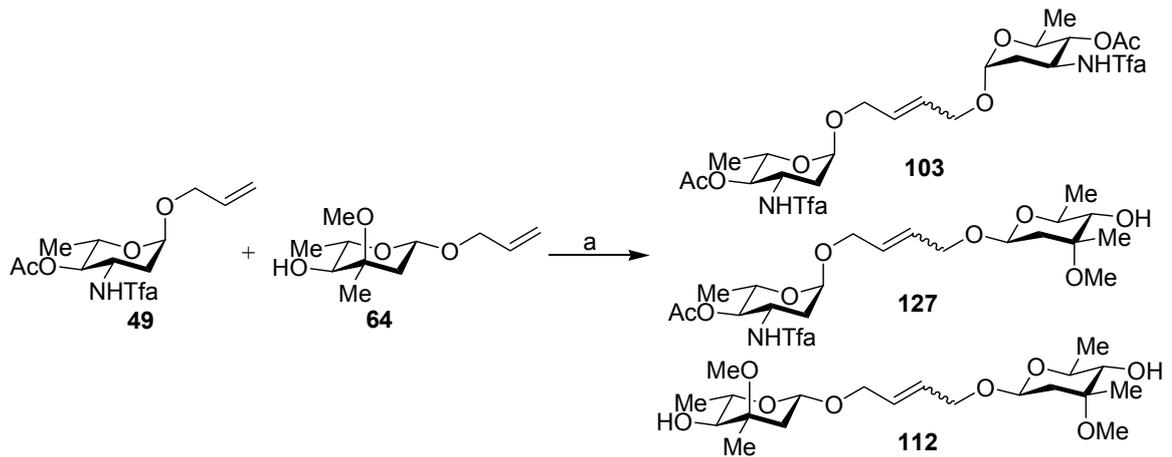
¹¹⁶ A. K. Chatterjee, T.-L. Choi, D. P. Sanders, R. H. Grubbs *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11360-11370.



Schema 46 Reagenzien und Bedingungen: a) PtO_2 , $\text{EE}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 16:8:1, H_2 -Atmosphäre, RT, 24 h; Gesamtausbeute 89%.

Um schließlich doch ein reines Kreuzmetatheseprodukt zu erhalten, muss die Polarität der Edukte und somit auch der Produkte verändert werden. Eine Möglichkeit besteht darin, dass das unpolare Monomer, in diesem Fall die Verbindung **49**, durch Schutzgruppen noch unpolarer zu gestalten und somit auch die Metatheseprodukte dieses Bausteins. Eine zweite Möglichkeit ergibt sich aus der entgegengesetzten Strategie. Die Polarität des polareren Edukts **63** muss noch weiter erhöht werden, um so auch die Polarität der Metatheseprodukte die **63** enthalten zu steigern. Dieser Weg scheint der gangbarere zu sein, da so auch bei unvollständigem Umsatz die noch vorhandenen Edukte und die entstandenen Produkte genügend Unterschiede in ihrer Polarität zeigen.

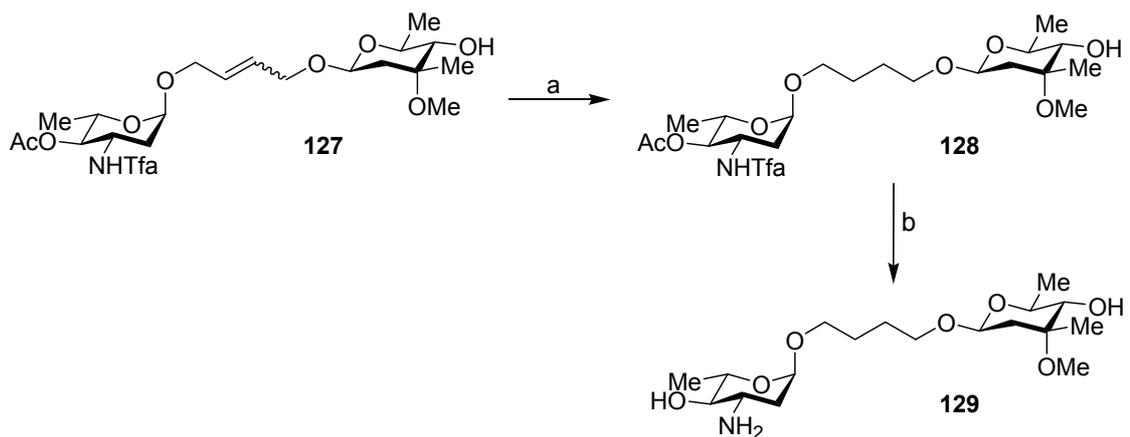
Die Erhöhung der Polarität des Monomers **63** kann durch einfache Entschützung der acetylierten Hydroxygruppe erreicht werden. Die nun durchgeführte Kreuzmetathese zeigt das erwartete Bild. Die Edukte **49** und **64** und auch die drei Produkte **103**, **112** und **127** unterscheiden sich genügend in ihrer Polarität, so dass die Möglichkeit einer säulenchromatographischen Trennung besteht.



Schema 47 Reagenzien und Bedingungen: a) 10 mol% **98**, Benzol_{abs.}, 40°C, 20 h, **103** 23%, **127** 28%, **112** 24%.

Das Kreuzmethateseprodukt **127** kann mit einem *E/Z*-Verhältnis von 4.5:1 isoliert werden. Bedauerlicherweise wird bei dieser Reaktion keine Selektivität für das gekreuzte Metatheseprodukt **127** erhalten. Laut GRUBBS et. al.¹¹⁶ handelt es sich aus diesem Grund um Olefine der Kategorie Typ II, da bei einer Reaktion das Kreuzmetatheseprodukt nicht spezifisch gebildet wird.

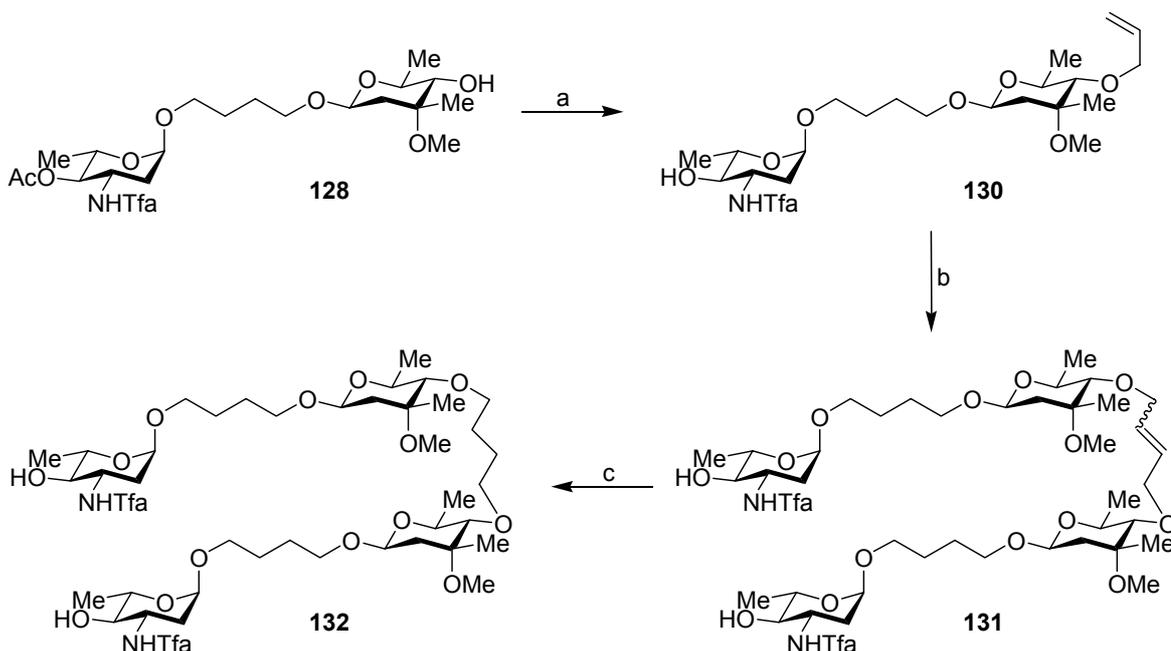
Die Doppelbindung der „gemischten“ Verbindung **127** kann wie gewohnt mittels Platindioxid als Katalysator unter Wasserstoffatmosphäre hydriert werden. Anschließend folgt die gemeinsame Entschützung der Acetat-geschützten Hydroxy- und Trifluoracetat-geschützten Aminogruppe des Aminoglycosids **129**.



Schema 48 Reagenzien und Bedingungen: a) PtO₂, EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, H₂-Atmosphäre, RT, 5 h, 95%; b) THF/0.1M NaOH_{aq.} 3:1, RT, 14 h, 91%.

4.5.2.2 Darstellung eines Heterotetramers ausgehend von dem Heterodimer **128**

In dieser Phase der Synthese erweist sich die angewandte Schutzgruppenstrategie als Glücksgriff, da es sich bei dem hydrierten Kreuzmetatheseprodukt **128** um eine Verbindung mit nur einer freien und einer Acetat-geschützten Hydroxygruppe handelt. So kann mittels Allylbromid und Natriumhydrid das monoallylierte Dimer **130** gebildet werden (Schema 49).

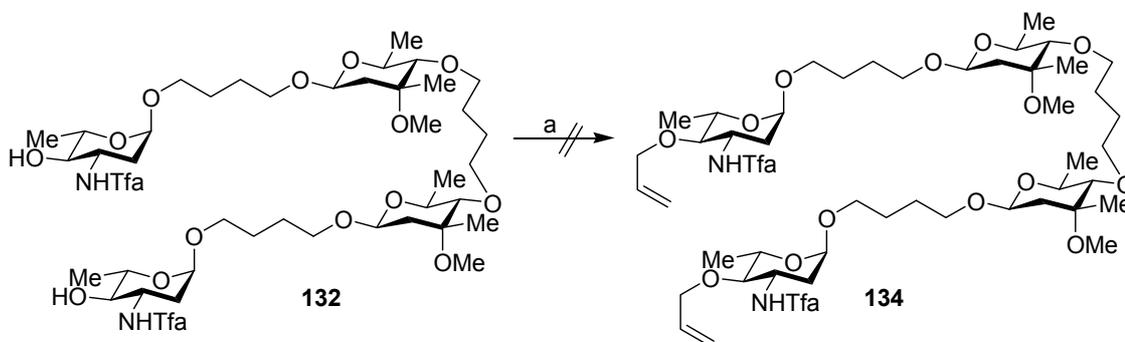


Schema 49 Reagenzien und Bedingungen: a) Allylbromid, NaH, DMF_{abs.}, RT, ü.N., 75%; b) 20 mol% **98**, Benzol_{abs.}, RT, 20 h, 59%; c) PtO₂, EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, H₂-Atmosphäre, RT, 5 h, 88%.

Ein gemischtes Dimer mit zwei freien Hydroxygruppen würde unter gleichen Bedingungen das zweifach allylierte Produkt **133** ergeben. Dieser Fall erzeugte Schwierigkeiten in der anschließenden Produktdifferenzierung, da sich bei einer Metathesereaktion eine Vielzahl von möglichen Verknüpfungen ergeben.

Diese monoallylierte Verbindung **130** kann durch eine Metathesereaktion schwanz-an-schwanz verknüpft werden. Mit einer Ausbeute von 60% und einem *E/Z*-Verhältnis von 6:1 wird das lineare Tetramer **131** erhalten. Diese ungesättigte Verbindung wird anschließend unter den üblichen Bedingungen mit einer Ausbeute von 88% hydriert (Schema 49).

Das vorliegende, lineare Tetramer **132** soll durch weitere Allylierung an den nun freien Hydroxygruppen in das diallylierte Produkt **134** überführt werden. Alle Versuche diese Verbindung zu synthetisieren schlagen jedoch fehl. In Tabelle 1 sind die verwendeten Reaktionsbedingungen aufgeführt.



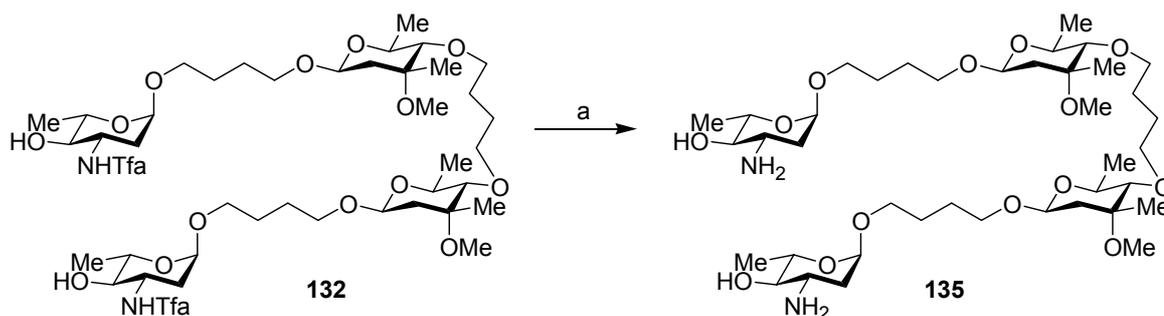
Schema 50 Reagenzien und Bedingungen: a) Allylbromid oder Allyliodid, Base, DMF *abs.*, RT → 90°C.

Tabelle 1

Nr	verwendete Base	Äquiv. der Base	Reaktions-temperatur	Allylierungs-reagenz ^a	Ausbeute
1	LiHMDS	1.2 → 15	RT	Allylbromid/ Bu ₄ NI	-
2	NaH	2.5 → 30	RT	Allylbromid	-
3	NaH	10 → 40	40°C → 90°C	Allyliodid	-
4	LiH	2.5 → 25	90°C	Allyliodid/ Allylbromid	-
5	KH	2.5 → 40	90°C	Allyliodid/ Allylbromid	-

^a Die Allylierungsreagenzien werden mit Überschüssen von 3 bis 30 Äquivalenten eingesetzt.

Es fällt auf, dass trotz des Einsatzes auch großer Überschüsse des sehr aktiven Kaliumhydrids bei hohen Temperaturen und der Verwendung von Allyliodid keine Allylierungsreaktion eintritt. Aus diesem Grund werden die Aminogruppen des linearen Tetramers **132** mittels eines Gemisches aus Tetrahydrofuran und wässriger Natriumhydroxid-Lösung geschützt. Das erhaltene lineare Tetramer **135** kann für biologische Tests bereitgestellt werden.

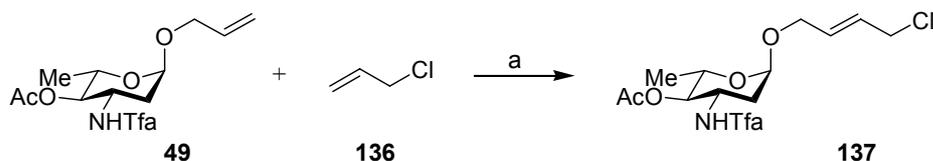


Schema 51 Reagenzien und Bedingungen: a) THF/0.1M NaOH_{aq.} 3:1, RT, 14 h, 57%.

4.5.2.3 Darstellung eines Heterodimers ausgehend von dem Allylglycosid 49 und einem Allylhalogenid

Bei funktionalisierten Allylhalogeniden handelt es sich um vielseitig einsetzbare Synthesebausteine. Sie finden vor allen Dingen als *N*-, *O*-, *S*- und *C*-Alkylierungsreagenzien in der organischen Synthese und der chemischen Industrie Verwendung.¹¹⁷ Die Synthese dieser recht einfachen Verbindungen ist jedoch nicht unkompliziert und erfordert oft harsche Bedingungen bei geringen Gesamtausbeuten.¹¹⁸ Kreuzmetathesereaktionen von Allylhalogeniden mit Alkenen könnten eine zukünftige Methode sein, um substituierte Allylhalogenide darzustellen.

Wie schon von ROY durchgeführt,¹¹⁹ können auch Allylglycoside mittels Kreuzmetathese mit Allylhalogeniden reagieren. Es stellt sich jedoch als nicht ganz einfach dar, die richtigen Bedingungen für die vorliegenden Reaktanden zu finden.



Schema 52 Reagenzien und Bedingungen: a) 20 mol% **100**, CH₂Cl₂_{abs.} 40°C, 20 h, 21%.

¹¹⁷ a) J.-E. Nyström, J.-E. Bäckvall *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3947-3950; b) F. K. Sheffy, J. K. Stille *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7171-7175; c) F. K. Sheffy, J. K. Stille *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4833-4840; d) K. Shigeo, F. Shinya, I. Sachihiko *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 1173-1176; e) T. Rische, P. Eilbracht *Tetrahedron* **1999**, *55*, 3917-3922.

¹¹⁸ a) P. L. Sotter, K. A. Hill *Tetrahedron Lett.* **1975**, *21*, 1679-1682; b) G. E. Heasley, V. M. McCully, R. T. Wiegman, V. L. Heasley, R. A. Skidgel *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 644-648; c) S. G. Hedge, M. K. Vogel, J. Saddle, T. Hringo, N. Rockwell, R. Haynes, M. Oliver, J. Wolinsky *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 441-444; d) R. D. G. Cooper *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 781-784; e) W. G. Dauben, B. Kohler, A. Roesle *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2007-2010.

¹¹⁹ B. Liu, S. K. Das, R. Roy *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2723-2726.

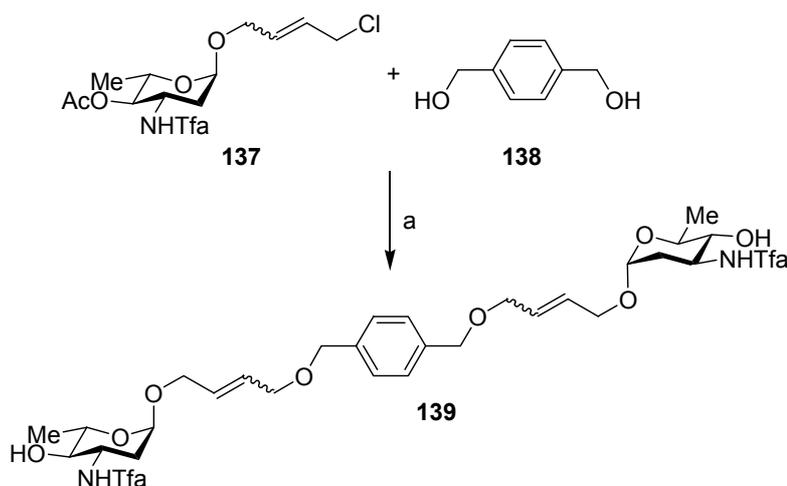
Wie aus Tabelle 2 zu entnehmen, führt erst die Verwendung des GRUBBS-Katalysators **100** in Anwesenheit von wasserfreiem Dichlormethan als Lösungsmittel zur gewünschten Reaktion. Laut Literatur können bei einfachen Substraten Ausbeuten von bis zu 75% erreicht werden. Bei vorliegender Reaktion werden jedoch nur Ausbeuten von 21% mit einem *E/Z*-Verhältnis von 10:1 erhalten.

Tabelle 2

Versuch	Katalysator	Lösungsmittel	Temperatur	Ausbeute
1	GRUBBS 98	abs. Benzol	RT - 40°C	-
2	GRUBBS 98	abs. DCM	RT - 40°C	-
3	GRUBBS 100	abs. Benzol	RT - 40°C	-
4	GRUBBS 100	abs. DCM	RT	21%

Durch Verwendung eines Überschusses von sechs Äquivalenten Allylchlorid kann die Bildung des Selbstmetatheseproduktes **103** vollständig unterdrückt werden.

Das so entstandene Kreuzmetatheseprodukt **137** kann daraufhin in O-Alkylierungsreaktionen eingesetzt werden. Hierzu wird 1,4-Di-(hydroxymethyl)-benzol (**138**) mit Natriumhydrid in DMF umgesetzt. Anschließend wird die Verbindung **137** zugefügt, um das Dimer **139** zu erhalten. Die Reaktion wird bei Raumtemperatur durchgeführt und die Ausbeute beträgt 51%.

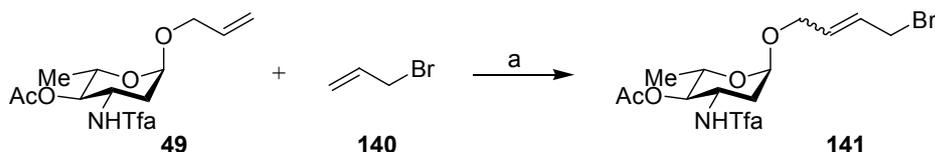


Schema 53 Reagenzien und Bedingungen: a) NaH, DMF_{abs.}, RT, ü.N., 51%.

Die Einführung dieses Linkers könnte die biologischen Eigenschaften dieses Dimers **139**, verglichen mit dem 1,4-Butandiol-verbrückten Dimer **103**, signifikant verändern, da aus

der Literatur bekannt ist, dass aromatische Strukturen¹²⁰, Proteine mit aromatischen Liganden¹²¹ und auch Verbindungen mit aromatischen Templaten,¹²² Bindungen zu Nucleinsäuren ausbilden. Ein weiterer Aspekt ist die veränderte Flexibilität des eingeführten Linkers und damit einhergehend die Beweglichkeit des gesamten verbrückten Dimers **139**. Dieses kann zu einer anderen Interaktion mit der RNA führen, verglichen mit einem Butandiol-verbrückten Dimer. Eine selektive Hydrierung der Doppelbindung von **139** ohne Hydrierung des aromatischen Ringes kann noch nicht erhalten werden, es kann jedes Mal nur eine vollständige Zersetzung des Edukts beobachtet werden.

Um die Reaktivität des Kreuzmethatheseproduktes in der Alkylierungsreaktion zu erhöhen, werden Metatheseexperimente mit Allylbromid (**140**) durchgeführt. Hierbei erweist sich das Allylbromid als instabil und es können nur Ausbeuten von 12% erreicht werden. Interessanterweise dreht sich das *E/Z*-Verhältnis bei der Bromidverbindung **141** im Gegensatz zur Chloridverbindung **139** von 10:1 auf 1:4 um. Somit ist dies einer der seltenen Fälle mit bevorzugter *Z*-Konfiguration.



Schema 54 Reagenzien und Bedingungen: a) 20 mol% **100**, CH₂Cl₂ abs., 40°C, 20h, 12%.

Die *Z*-Konfiguration wird im Allgemeinen häufig bei Ringschlussmetathesereaktionen zu kleinen Ringen beobachtet, da hier ausschließlich diese Orientierung zum Ringschluss führen kann.¹²³ Ein weiteres Beispiel für eine hohe *Z*-Selektivität bietet die Kreuzmetathese von Acrylnitril mit anderen Olefinen.¹²⁴ Die Effektivität dieser Reaktion hängt hierbei stark von dem zweiten eingesetzten Substrat ab. Es kann noch nicht geklärt werden, aus welchem Grund diese hohe *Z*-Selektivität mit Acrylnitril erhalten wird, speziell vor dem Hintergrund, dass andere Metathesekopplungsreaktionen zwischen zwei verschiedenen Olefinen fast ausnahmslos einen hohen Überschuss an *E*-konfigurierten Doppelbindungen liefern.

¹²⁰ a) C. Escudé, C. H. Nguyen, S. Kukreti, Y. Janin, J.-S. Sun, E. Bisagni, T. Garestier, C. Hélène *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 3591-3596; b) G. M. Blackburn, M. J. Gait *Nucleic Acids in Chemistry and Biology* 2nd edition, Oxford University Press **1996**, 331-374.

¹²¹ F. Hamy, E. R. Felder, G. Heizmann, J. Lazdins, F. Aboul-ela, G. Varani, J. Karn, T. Klimkait *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 3548-3553.

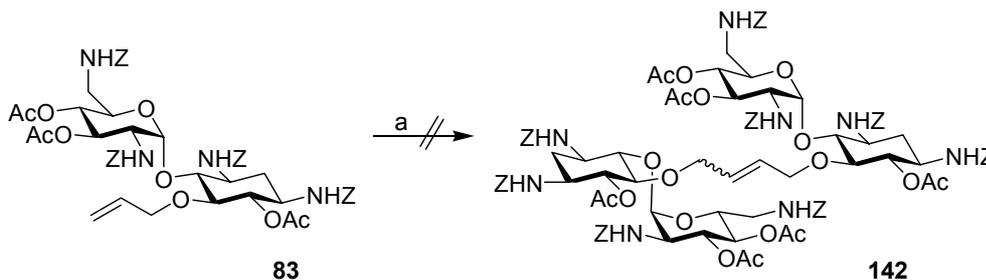
¹²² W. D. Wilson, L. Ratmeyer, M. Zhao, D. Ding, A. D. McConaughie, A. Kumar, D. W. Baykin *J. Molecular Recognition*, **1996**, *9*, 187-196.

¹²³ a) Y. A. Ibrahim, H. Behbehani, M. R. Ibrahim, N. M. Abrar *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6971-6974; b) K. Nakashima, K. Inoue, M. Sono, M. Tori *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6034-6040.

¹²⁴ W. E. Crowe, D. R. Goldberg *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5162-5163.

4.5.2.4 Versuche zur Darstellung eines Homodimers ausgehend von dem Allylglycosid **83**

Das allylierte Neaminderivat **83** soll durch Metathese zu dem entsprechenden Dimer **142** umgesetzt werden (Schema 55). Auch bei dieser Olefinmetathesereaktion werden, wie aus Tabelle 3 zu entnehmen, viele Variationen in den Bereichen Lösungsmittel, Katalysator und Temperatur durchgeführt.



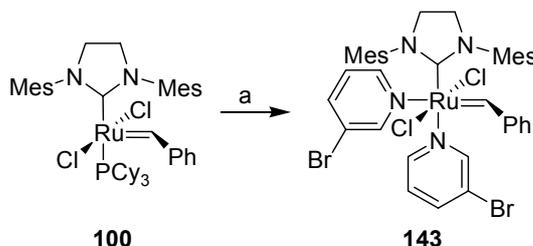
Schema 55 Reagenzien und Bedingungen: a) 20 mol% GRUBBS-Katalysator, wasserfreies Lösungsmittel, RT → 90°C, 20 h.

Tabelle 3

Versuch	Katalysator	Lösungsmittel	Temperatur	Ausbeute
1	GRUBBS 98	abs. Benzol	RT - 40°C	-
2	GRUBBS 98	abs. DCM	RT - 40°C	-
3	GRUBBS 100	abs. Benzol	RT - 40°C	-
4	GRUBBS 100	abs. DCM	RT	-
5	143	abs. DCM	RT	-
6	143	abs. Toluol	90°C	-

Es kann jedoch trotz variierteter Reaktionsbedingungen und auch unter Verwendung des sehr aktiven Bispyridin-Katalysators **143**.¹²⁵ kein Produkt erhalten werden. Die Darstellung des Katalysators **143** gelingt nach der Vorschrift von TRNKA et. al. aus dem GRUBBS Katalysator **100** durch einfaches Versetzen mit 3-Brompyridin mit 90% Ausbeute. Dieser modifizierte Katalysator **143** ist laut Literatur über 4000mal aktiver als die Ausgangsverbindung **100**.

¹²⁵ J. A. Love, L. P. Morgan, T. M. Trnka, R. H. Grubbs *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 21, 4207 - 4209.



Schema 56 Synthese des Bispyridin-Komplexes **143**;
 Reagenzien und Bedingungen: a) 3-Brompyridin, RT, 30 min, 90%.¹²⁵

Trotz dieser Aktivitätssteigerung des eingesetzten Katalysators, die Umstellung des Lösungsmittels auf Toluol und die damit einhergehende Möglichkeit zur Temperaturerhöhung, kann keine Produktbildung beobachtet werden. In diesem Fall wird wieder auf Computer-unterstützte Rechnungen zurückgegriffen, um sich eine räumliche Vorstellung des Edukts **83** und des fiktiven Produkts **142** machen zu können. Wie in Abbildung 24 gezeigt, ist im allylierten Neaminderivat **83** der räumliche Anspruch der Benzyloxycarbonylgruppen sehr groß, so dass der Allyllinker eine nicht sehr exponierte Stellung einnimmt. Aus dieser Darstellung lässt sich schließen, dass sich schon der Angriff des voluminösen Katalysators zur Bildung des Metallcarbenkomplexes schwierig gestalten kann.

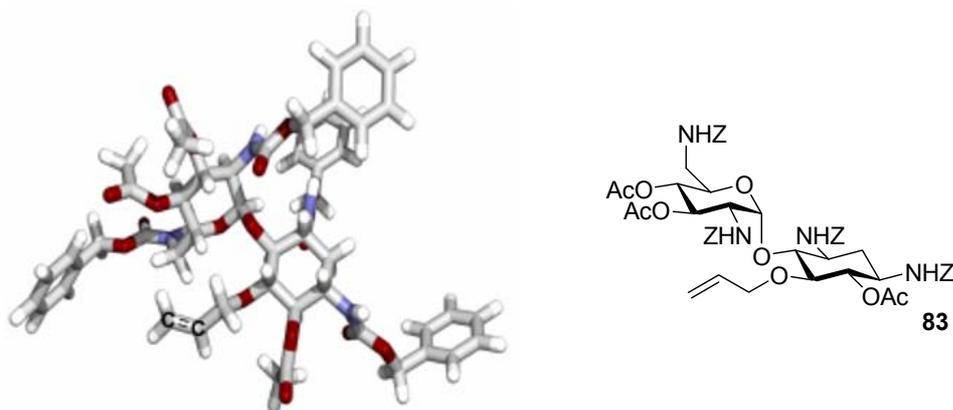


Abbildung 24 Strukturberechnung für die monomere Verbindung **83**

Bei der Betrachtung des Dimers **142** fällt auf, dass sich die Schutzgruppen beider Untereinheiten sehr nahe kommen. Daraus kann abgeleitet werden, dass die Annäherung eines weiteren Monomers an den eventuell schon gebildeten Metallcarbenkomplex sehr unwahrscheinlich ist.

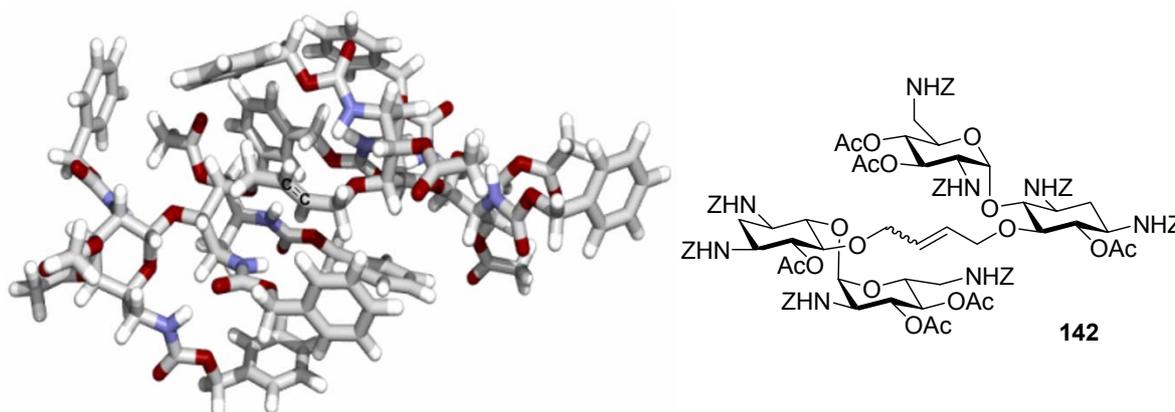
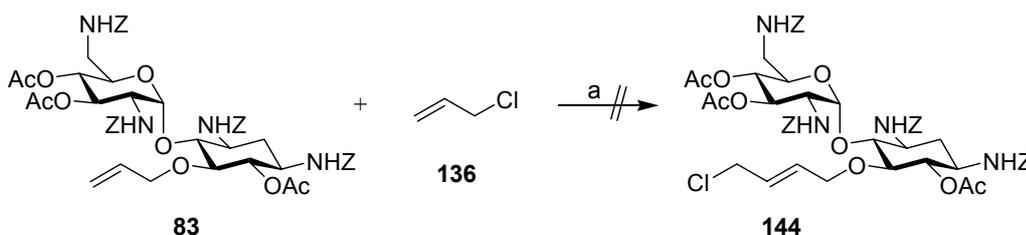


Abbildung 25 Strukturberechnung für das fiktive Dimer **142**

Aus dieser Erkenntnis heraus werden Versuche zur Verlängerung des Allyllinkers mittels Kreuzmetathese zwischen dem Neaminderivat **83** und einem Allylhalogenid durchgeführt. Es soll festgestellt werden, ob eine Metathesereaktion der Verbindung **83** mit einem sehr viel kleineren Reaktionspartner möglich ist.

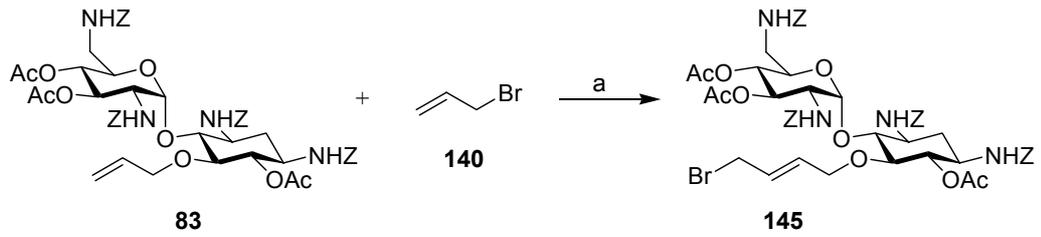
Die Aufreinigung der erhaltenen Reaktionsprodukte stellt sich als äußerst schwierig dar. Aus diesem Grund wird das Rohprodukt mittels Elektrosprayionisationsmassenspektrometrie (ESI) auf das Vorhandensein der Produktmasse analysiert.

Trotz mehrmaliger Wiederholung der Kreuzmetathese zwischen Monomer **83** und Allylchlorid (**132**) kann die Bildung des Produktes nicht nachgewiesen werden.



Schema 57 Reagenzien und Bedingungen: a) 20 mol% **100**, CH_2Cl_2 abs., 40°C, 20 h.

Wird jedoch Allylbromid (**140**) statt Allylchlorid (**136**) für die Metathesereaktion eingesetzt, so kann mittels ESI die Bildung einer geringen Menge der Verbindung **145** detektiert werden. Die Ausbeute ist so gering, dass eine Isolierung des Produktes nicht gelingt. Es ist aber davon auszugehen, dass bei genügend großen Ansätzen und der eingehenden Optimierung dieser Reaktion, die Isolierung des Produktes möglich ist.



Schema 58 Reagenzien und Bedingungen: a) 20 mol% **100**, CH_2Cl_2 abs., 40°C, 20h.

Durch eine angeschlossene O-Alkylierung, wie in Kapitel 4.5.2.3 bereits vorgestellt, könnte eine Dimerisierung eventuell doch realisiert werden.

5 Methoden zur Bestimmung biologischer Eigenschaften

Die verwendeten Methoden zur Bestimmung der biologischen Eigenschaften der synthetisierten Verbindungen werden im Folgenden beschrieben.

5.1 Gelelektrophorese

Das Wort „Elektrophorese“ setzt sich aus dem griechischen Wort *electron* (Bernstein, welches sich schon durch reiben mit einem Tuch elektrisch auflädt) und dem lateinischen Wort *phore* (Träger) zusammen. Elektrophoretische Methoden beruhen folglich auf elektrischen Ladungen, die die Moleküle „tragen“. Der Begriff wird erstmals 1909 verwendet, um die Bewegung kolloidaler Teilchen in einem elektrischen Feld zu beschreiben.¹²⁶

Die Elektrophorese ist ein Verfahren, bei dem die Teilchen auf Grund ihrer Ladung und Größe im elektrischen Feld aufgetrennt werden (Abbildung 26).

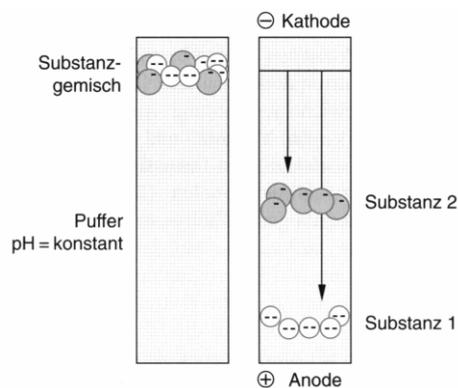


Abbildung 26 Trennprinzip der Elektrophorese¹²⁷

Für die hier durchgeführten Versuche macht man sich zunutze, dass bei einem neutralen pH-Wert die Phosphatgruppen der Nucleinsäuren im RNA-Rückgrad polyanionisch sind und somit im elektrischen Feld auf die positiv geladene Anode zuwandern. Die Wanderungsgeschwindigkeiten der Teilchen werden im Polyacrylamidgel je nach Größe unterschiedlich verzögert, so dass sie von der Größe und der Ladung abhängig sind. Um eine bessere Auftrennung kleinerer Moleküle zu erhalten, kann die Porengröße des Gels durch unterschiedliche Vernetzungsgrade variiert werden. Da kleine Moleküle schneller

¹²⁶ J. R. Whitaker *Paper Chromatography and Electrophoresis* In: *Electrophoresis in stabilising media* **1967**, Bd. I, Academic Press, New York, London, 1-3.

¹²⁷ F. Lottspeich, H. Zorbas *Bioanalytik* **1998**, Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag.

durch die Poren des Polyacrylamidgels wandern, werden diese Fragmente nach ihrem Molekulargewicht aufgetrennt. Die niedermolekularen Teilchen legen im Gel die längste Strecke zurück und sind so der Anode am nächsten.

5.1.1 Denaturierte Polyacrylamidgele

Die vertikale Flachgel-Apparatur zur Auftrennung der einzelnen RNA-Fragmente wird mit einem 20%igen denaturierenden Polyacrylamidgel beschickt (Abbildung 27). Als Denaturierungsmittel wird Harnstoff (7M) eingesetzt. Dieser unterdrückt die Sekundärstruktur der RNA, so dass im Gel die Basenpaarungen der Nukleinsäuren verhindert werden und es zu einer klaren Trennung kommt.

Die Konzentration von Acrylamid entscheidet über den Trennbereich des Gels. Die Spanne erstreckt sich von 3.5%-20% Acrylamid. Das hier verwendete Gel bietet einen optimalen Trennbereich zwischen 1 und 50 Basenpaaren und es lassen sich Trennschärfen von bis zu einer Nukleinsäureeinheit erreichen. Da die verwendete TAR-RNA mit 31 Basenpaaren genau in der Mitte dieses Trennbereiches liegt, kann eine optimale Trennung erwartet werden.

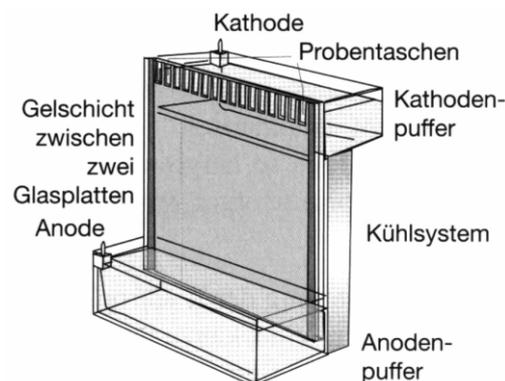


Abbildung 27 Flachgel-Apparatur für Polyacrylamidgel-Elektrophorese¹²⁷

5.1.2 RNA

Die verwendete TAR-RNA **147** (31mer)¹²⁸ ist im Vergleich zur natürlichen HIV-1-TAR-RNA (**146**) leicht modifiziert (Abbildung 28). So wird die ungepaarte Adenineinheit (A17) eliminiert, die RNA um 12 Basenpaare gekürzt und anstatt des nun endenden Basenpaar A15:U46 das Basenpaar G15:C46 eingefügt. Das am 5'-Ende

¹²⁸ Die TAR-RNA wird von der Firma PROLIGO® bezogen.

eingeführte Biotin dient als Markierung für die spätere Analyse der RNA bzw. der Spaltungsprodukte.

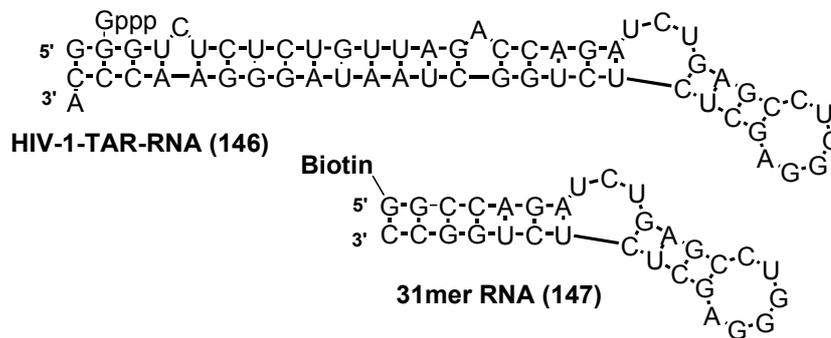


Abbildung 28 Natürliche HIV-1-TAR-RNA und modifizierte TAR-RNA (31mer).

5.1.3 Proteine

Für die folgenden biologischen Untersuchungen wird nicht das gesamte Tat-Protein von insgesamt 86 Aminosäuren herangezogen. Nur der Teil des Tat-Proteins (9-mer) wird verwendet, der für die Interaktion mit der TAR-RNA verantwortlich ist. Hierbei handelt es sich um die ausgewählte Sequenz **RKKRQRRR** (148),¹²⁹ die dieselbe Bindungseigenschaft besitzt, wie das natürliche Tat-Protein.

5.1.4 Detektion

5.1.4.1 Northern Blot

In Anlehnung an den Transfer von DNA auf Membranen, dem Southern-Blotting, hat sich für den entsprechenden Transfer von RNA der Name Northern-Blotting eingebürgert. Hierbei werden die durch Gelelektrophorese aufgetrennten Nucleinsäuren zur weiteren Untersuchung auf eine feste Membran (Nylon¹³⁰) transferiert. Hierbei geht das negativ geladene Phosphatrückgrat der RNA mit der positiv geladenen Membran eine ionische Bindung ein. Das ursprüngliche Auftrennungsmuster des Gels bleibt auch auf der Membran erhalten.

¹²⁹ Das Tat-Protein wird von der Firma GeneScan Europe AG bezogen.

¹³⁰ Nytran-Plus wird von Schleicher & Schuell bezogen.

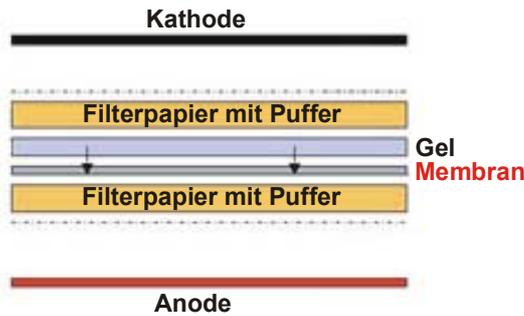


Abbildung 29 Schematisch Darstellung eines Semidry-Blots

Die hier verwendete Semidry-Blotting-Apparatur besteht aus Plattenelektroden, zwischen denen der Blotsandwich aus Filterpapier, Gel und Membran horizontal eingelegt wird (Abbildung 29). Über und unter der Membran bzw. dem Gel befinden sich jeweils vier in Puffer getränkte Blottingpapiere¹³¹ als Ionenreservoir, diese haben direkten Kontakt zu den Elektroden. Bei eingeschaltetem Strom wandert die RNA aus dem Gel auf die Membran. Diese wird anschließend im Ofen 30 min bei 80°C erwärmt („gebacken“), so können die RNA-Fragmente auf der Membran fixiert werden.

5.1.4.2 Indirekte Detektion durch enzymatisch aktivierte Chemoluminiszenz

Die am 5'-Ende biotinylierte RNA (**147**) wird während der Waschvorgänge der geblotteten Membrane mit einem Streptavidin-alkalische Phosphatase-Komplex versetzt. Hierbei wird die außergewöhnlich hohe Bindungsaffinität von 10^{-14} M des Streptavidins zu dem Vitamin Biotin ausgenutzt.¹³² Diese an das Biotin gekoppelte alkalische Phosphatase wird anschließend durch den Einsatz des Assaypuffers (pH 9.5) aktiviert (Abbildung 30).

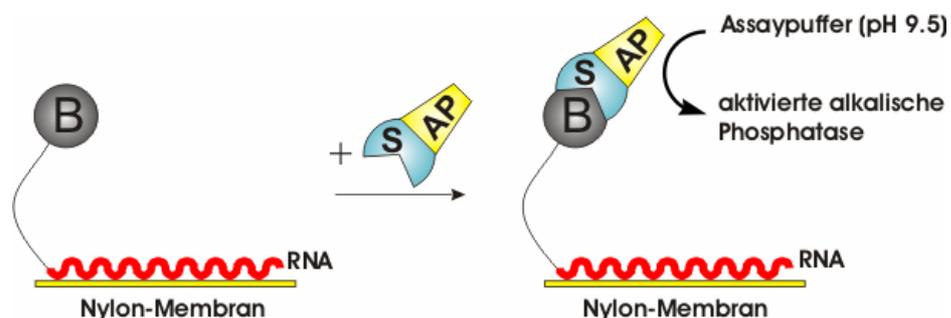
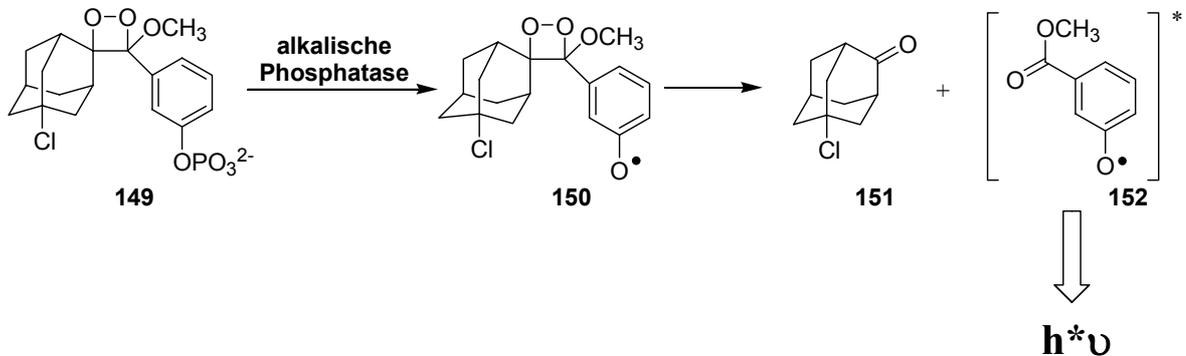


Abbildung 30 Bindung des Streptavidin-alkalische Phosphatase-Komplexes an die 5'-biotinylierte RNA (B = Biotin, S = Streptavidin, AP = alkalische Phosphatase).

¹³¹ Das Blottingpapier besitzt die Stärke GB 003.

¹³² N. M. Green *Methods Enzymol.* **1990**, *184*, 51-64.

Die aktivierte alkalische Phosphatase leitet eine enzymatisch katalysierte Reaktion mit dem nun zugesetzten CDP-*Star*^{®133} ein (Schema 59), indem sie das 1,2-Dioxetan-Derivat **149** dephosphoryliert.



Schema 59 Darstellung des Licht-Emissions-Mechanismus von CDP-*Star*^{®134}

Das gebildete Intermediat **150** zerfällt spontan in Adamantanon (**151**) und ein Fluorophor **152**. Das radikalische Fluorophor **152** liegt in einem chemisch angeregten Zustand vor und emittiert beim Zurückfallen in den Normalzustand Licht der Wellenlänge 466 nm. Die Halbwertszeit des Phenolatanions beträgt eine Minute bis 24 Stunden. Die endgültige Detektion kann über die Belichtung eines Röntgenfilms erfolgen.

5.1.5 Filterbindungsassay (Dot-Blot)

Die Methode des Filterbindungsassays dient im Allgemeinen zur Bestimmung von Komplexbildungskonstanten (K_d) zwischen Proteinen und DNA bzw. RNA. Mittels dieser Versuche sollte die Komplexbildungskonstante der TAR-RNA und des Tat-Proteins in Abhängigkeit der Aminoglycosid-Konzentration bestimmt werden.

Das Dot-Blot-Gerät besteht aus zwei Platten, die durch eine Filter-Membran (Nitrocellulose-Membran) und eine weitere Membran (Nylon-Membran) voneinander getrennt sind (Abbildung 31). Die obere Rundloch-Probenplatte ist für 96 Proben ausgelegt. Hier werden die Proben aufgetragen und mittels eines angelegten Vakuums durch den Filter bzw. die Membran gesaugt. Auf der oberen Nitrocellulose-Membran soll der gebildete RNA/Protein-Komplex abgefangen werden, während die ungebundene RNA diese Membran passieren kann und schließlich auf der zweiten, positiv geladenen Nylon-Membran verbleibt. Durch Variation der Peptid- bzw. später der Aminoglycosid-

¹³³ CDP-*Star* ist ein Warenzeichen von Tropix, Inc. Bedford, MA, USA und Gegenstand des US-Patents Nr. 5, 326, 882.

¹³⁴ www.roche-applied-science.com/pack-insert/2041677b.pdf (09.02.2004).

Konzentration sollten die entstehenden RNA/Komplex- bzw. RNA-Punkte unterschiedliche Intensitäten aufweisen. Die untere Nitrocellulose-Membran kann direkt weiter verwendet werden. Die Nylon-Membran muss jedoch vor der Detektion auf eine Nitrocellulose-Membran umgeblottet werden. Nach weiterer Aufbereitung der Membranen kann die Komplexbindungskonstante von dem belichteten Röntgenfilmen durch verschiedene Belichtungsintensitäten ermittelt werden.

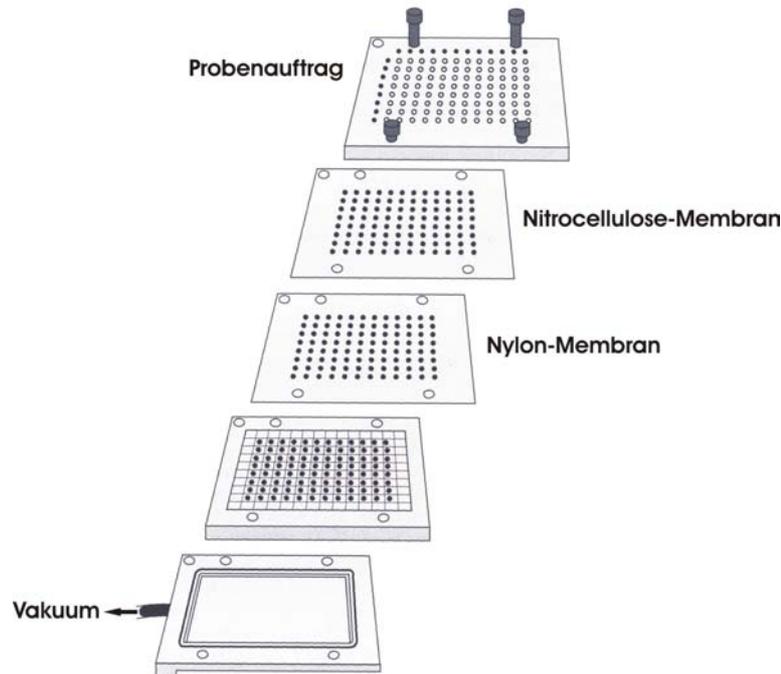


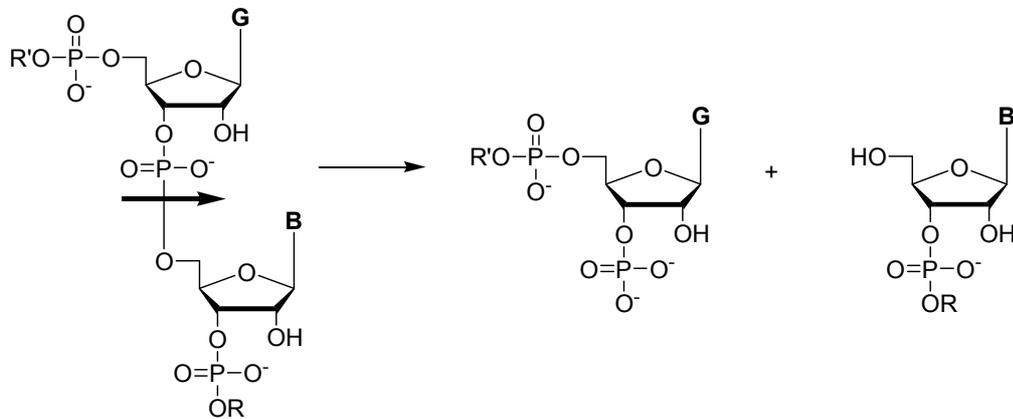
Abbildung 31 Dot-Blot-Gerät¹²⁷

5.1.6 Verdauungs-Experimente (Footprinting Assays)

„Fußabdruck“ (footprinting) ist eine sehr bildhafte Bezeichnung für eine Reihe von Techniken, mit denen sich herausfinden lässt, an welcher Stelle Proteine bei ihrer Interaktion mit Nukleinsäuren binden. Das Footprinting basiert darauf, dass Nukleinsäuren im Bereich ihrer Bindungsstelle mit RNA-Bindern vor einer Spaltung durch Enzyme oder Chemikalien geschützt sind.

Bei diesen Verdauungsexperimenten wirken z.B. Ribonucleasen (RNasen) auf RNA ein und spalten sie spezifisch. Durch anschließende Untersuchung des Spaltungsmusters können Rückschlüsse auf die Interaktion einer Verbindung, z.B. eines Proteins, gezogen werden. Dabei ist es wichtig, die spezifischen spaltenden Ribonucleasen gezielt auszuwählen.

Ein hier verwendetes Enzym ist die Ribonuclease T_1 , sie zeigt eine G-Spezifität (Guanyl-RNase), das bedeutet, sie spaltet den RNA-Strang nach jedem G, bevorzugt aber bei ungepaarten Nucleotiden. Die Spaltung erfolgt nach folgendem Mechanismus (Schema 60).



Schema 60 RNase T_1 spaltet internucleotide Bindungen gebildet durch Guanosin-3'-phosphate¹³⁵ (B = A, C oder U; R und R' = Polyribonucleotid)

Es existieren noch weitere Ribonucleasen, die für bestimmte Spaltungen eingesetzt werden können. Der Spaltungsmechanismus läuft bei allen RNasen wie oben gezeigt ab. Für die Verdauungsexperimente werden außer der schon erwähnten Ribonuclease T_1 auch U_2 , Phy M, *B. cereus* und V_1 verwendet. Die Spaltungsspezifität der einzelnen RNasen sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4 Verwendete Ribonucleasen (RNasen) und ihre Spaltungsspezifität

Ribonuclease	Spaltungsspezifität
T_1	spaltet bevorzugt nach ungepaartem G
<i>B. cereus</i>	spaltet nach U und C
Phy M	spaltet nach U und A
U_2	spaltet nach A
V_1 Cobra vernon	spaltet doppelsträngige RNA unspezifisch

Bindet nun z.B. ein Protein an die RNA und es wird ein Footprint durchgeführt, so kann die Bindungsstelle des Proteins aufgedeckt werden. Die RNA zeigt einen „Footprint“ des Proteins, weil sie dort, wo sie von dem Protein geschützt ist, nicht von den Enzymen

¹³⁵ Z. Shabarova, A. Bogdanov *Advanced Organic Chemistry of Nucleic Acids* **1994**, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim.

gespalten werden kann und somit nicht die statistisch erwarteten Fragmente auftreten (Abbildung 32).

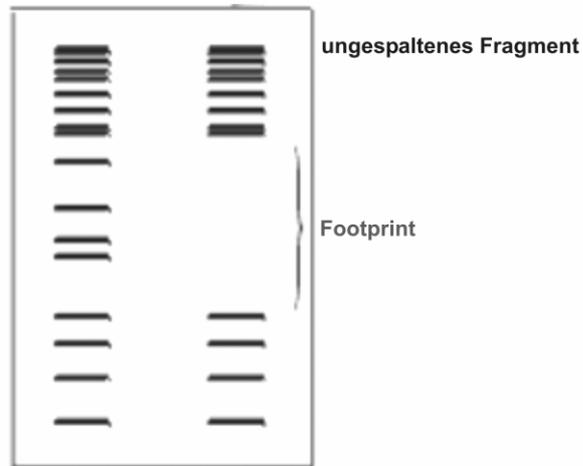


Abbildung 32 Prinzip der RNase-Footprintanalyse¹³⁶

Durch die Markierung der RNA an einem Ende lässt sich die Footprintanalyse erheblich leichter interpretieren. Wie schon in Kapitel 5.1.2 erwähnt, wird bei den hier durchgeführten Experimenten RNA mit einer Biotin-Markierung am 5'-Ende verwendet. In diesem Fall werden nach der enzymatischen Spaltung ein markierter und ein unmarkierter Einzelstrang erhalten. Der unmarkierte Strang ist später bei der Detektion nicht zu sehen, der biotinylierte markiert hingegen auf dem Fragment eine Position, an der die RNase ungehindert das Phosphodiesterückgrat spalten kann.

In Abbildung 33 ist ein Spaltungsexperiment mit den Ribonucleasen T₁, B, Phy und V₁ zu sehen unter Verwendung der TAR-RNA (**147**) ohne Zugabe eines Proteins.

¹³⁶ www.biochem.arizona.edu/classes/bioc568/protein_dna_interactions.htm entnommen und modifiziert (09.02.04)

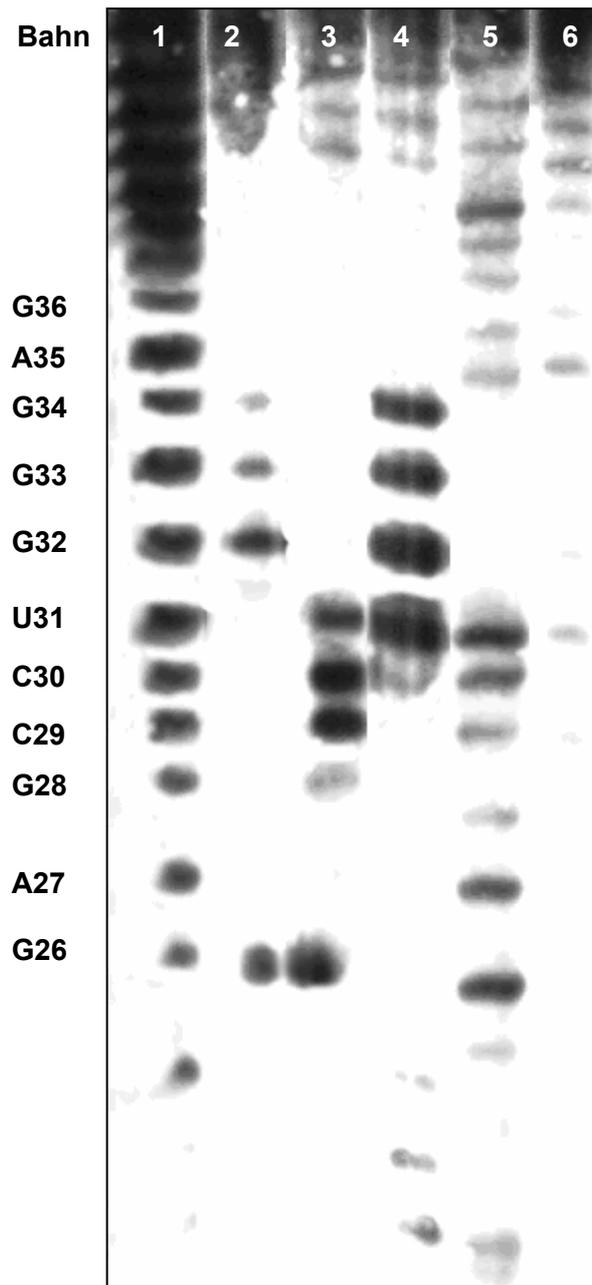


Abbildung 33 Spaltungsexperimente mit den Ribonucleasen T_1 , B, Phy und V_1 . RNA-Konzentration (**147**): $0.113 \mu\text{M}$; Bahn 1: alkalische Hydrolyse; Bahn 2: RNA + T_1 (G-spezifisch); Bahn 3: RNA + B (U- und C-spezifisch); Bahn 4: RNA + Phy M (U- und A-spezifisch); Bahn 5: RNA + V_1 (gepaarte Basen), Bahn 6: RNA (Referenz).

Aus diesem Spaltungsexperiment ergeben sich die folgenden erhaltenen Schnitte an der TAR-RNA (**147**) (Abbildung 34).

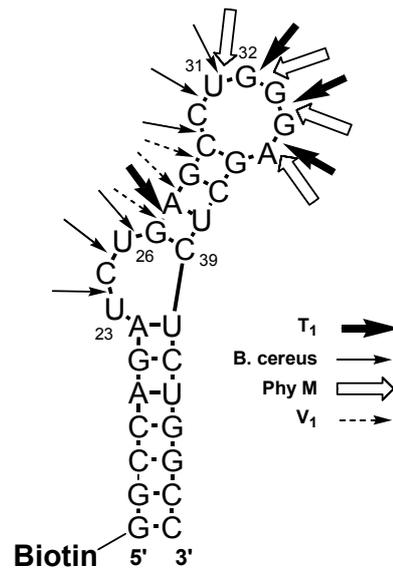


Abbildung 34 Erhaltene Schnitte durch Ribonucleasen an der TAR-RNA (147).

Bei genauerer Untersuchung des Spaltungsexperiment zeigt sich, dass Peptidbindungen an der *loop*-Region der RNA durch die RNasen T_1 , *B. cereus* und *Phy M* aufgedeckt würden. Die *bulge*-Region kann allerdings nur mittels der Ribonuclease *B. Cereus* analysiert werden. Bindungen an den Basenpaaren zwischen *loop* und *bulge* (G26:C39, A27:U38 und G28:C37) werden durch die Schnitte der RNasen T_1 und V_1 offengelegt.

5.1.7 „Filterbinding assays“ (Dot-Blot), Bestimmung der Komplexbindungs-konstanten des Aminoglycosides

Da die biologischen Tests der in dieser Arbeit dargestellten Aminoglycosiden noch keine verwertbaren Ergebnisse geliefert haben, wird hier am Beispiele der von CHEN⁵⁷ synthetisierten Aminoglycosiden **153**, **38**, und **39** (Abbildung 35) das Prinzip und die Vorgehensweise dargelegt.

Wie schon in Abschnitt 5.1.5 erwähnt, wird für die Bindungsstudien das unterschiedliche Verhalten von protein-gebundener und protein-freier RNA untersucht. In diesem Filterbindungsexperiment wird zunächst die TAR-RNA (0.16 μ M) und das Tat-Protein (9mer) (222 μ M) für 15 min inkubiert. Anschließend werden die verschiedenen Aminoglycoside in unterschiedlichen Konzentrationen von 1.2 mM bis 22 mM zugegeben. Um die Bindungseigenschaften der unterschiedlichen Aminoglycoside vergleichen zu können, wird ihre Konzentration auf die individuellen Aminoglycosiduntereinheiten bezogen, d.h. die eingewogene Konzentration wird bei Verbindung **153** durch drei geteilt und beiden anderen beiden Aminoglycosiden durch vier.

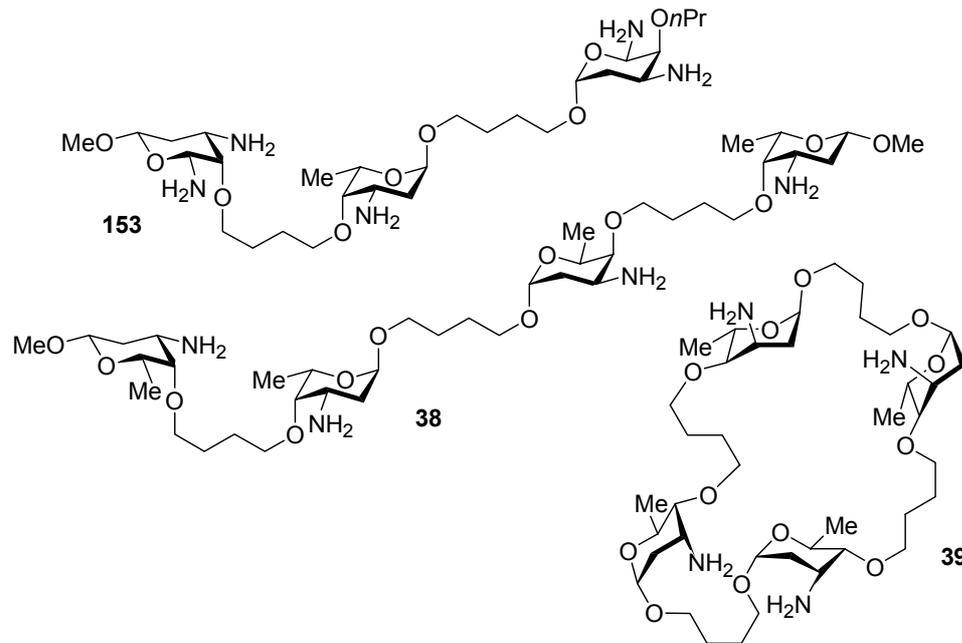


Abbildung 35

Nach Zugabe der Aminoglycoside zu dem RNA/Protein-Gemisch wird ein weiteres Mal für 15 min inkubiert und diese Mischung anschließend in das Dot-Blot-Gerät gegeben. Bei angelegtem Vakuum wird das Reaktionsgemisch durch die eingelegten Membranen gesogen. Dabei bleibt der RNA/Protein-Komplex auf der oberen Nitrocellulose-Membran hängen. Freie RNA und der RNA/Aminoglycosid-Komplex kann diese Membran durchdringen, wird dann jedoch von der positiv geladenen Nylon-Membran aufgefangen.

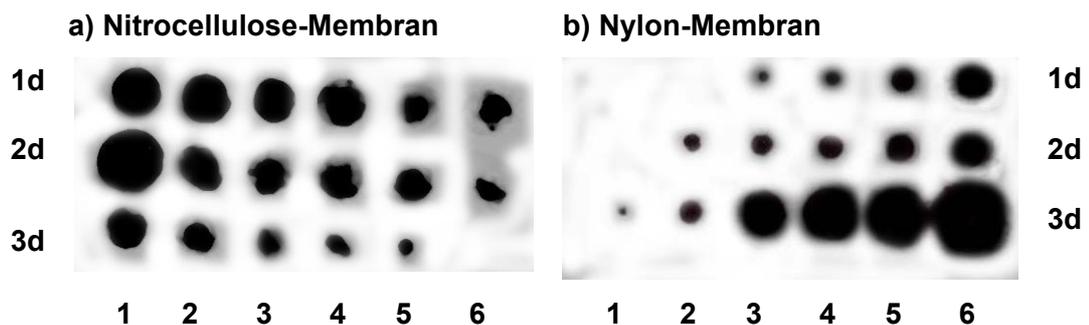


Abbildung 36 Dot-Blot-Analyse des Tat-TAR-Bindung in Gegenwart der Aminoglycoside **153**, **38** und **39** in unterschiedlichen Konzentrationen. TAR-RNA **147**: 0.16 μ M, Tat-Protein **148**: 222 μ M. a) hält protein-gebundene RNA zurück; b) hält protein-freie und aminoglycosid-gebundene RNA zurück.

Wie in Abbildung 36a zu erkennen ist, sinkt der Anteil an peptid-gebundener RNA mit anwachsender Aminoglycosidkonzentration von links nach rechts. Das „Negativ“ der Nitrocellulose-Membran ist auf der Nylonmembran zu sehen (Abbildung 36b). Hier steigt

mit wachsender Aminoglycosidkonzentration auch der Anteil an ungebundener bzw. aminoglycosid-gebundener RNA.

Bemerkenswert ist das Dot-Blot-Ergebnis der Verbindung **39**. Hier zeigt sich, dass bei einer Konzentration höher als 5.6 mM (Bahn 6a) die gesamte RNA durch die Nitrocellulose-Membran auf die Nylon-Membran gesogen wird. Die gesamte aufgetragene RNA ist demnach peptidfrei, d.h. das zugegebene Aminoglycosid **39** hat das Peptid verdrängt und bindet nun selbst an die RNA. Überraschenderweise zeigte sich diese große Bindungsaffinität nur bei dem cyclischen Tetramer **39**, das lineare Tetramer erzeugte bei gleichen Konzentrationen keinen so großen Effekt. Daraus lässt sich schließen, dass nicht nur eine erhöhte Anzahl positiver Ladungen und die Fähigkeit Wasserstoffbrücken-Bindungen auszubilden die Bindungsaffinität beeinflussen, sondern die Konformation des Liganden signifikant für die Wechselwirkungen zwischen RNA und Ligand ist.

Nach diesem positiven Dot-Blot-Ergebnis stellte sich jetzt die Frage, wo das Aminoglycosid **39** an die TAR-RNA bindet. Hierzu wurden RNase-Verdauungsexperimente (Footprint) durchgeführt. Mit diesen kompetitiven Bindungsexperimenten sollte die Bindungsaffinität der Verbindung **39** getestet und quantitativ evaluiert werden.

In einem Verdauungsexperiment wird zunächst die TAR-RNA (0.16 μ M) und das Aminoglycosid in unterschiedlichen Konzentrationen (von 1.6 mM bis 7.3 mM) für 30 min inkubiert. Die Enzyme werden kurz vor dem Auftragen auf das Gel hinzugegeben, da deren Reaktionsgeschwindigkeit sehr groß ist und bei längerer Inkubation unspezifisch geschnittene Fragmente entstehen könnten. Die Reaktion wird durch einen Auftragspuffer gestoppt. Jede Probe wird vor dem Auftragen auf das Gel für 1-2 min bei 80°C erhitzt und sofort auf Eis abgekühlt, um bei der Auswertung der Gele scharfe Banden zu erhalten.

Unter Verwendung von RNase B. cereus wird dessen Selektivität für U und C ausgenutzt, so dass die *bulge*-Region der TAR-RNA detektiert werden kann. Wie in Abbildung 37a zu sehen ist, kann auch bei einer Aminoglycosid-Konzentration, die eine vollständige Dissoziation des Tat/TAR-Komplexes im Dot-Blot-Experiment herbeigeführt hat, keinerlei Einfluss auf die RNase beobachtet werden.

Die Ribonuclease T₁ (G-selektiv) wird zur Identifizierung der Aminoglycosidbindung in der *loop*-Region verwendet. Schon bei einer Konzentration von 0.62 mM war diese Region durch das Aminoglycosid **39** vor einem RNase-Angriff geschützt (Abbildung 37b).

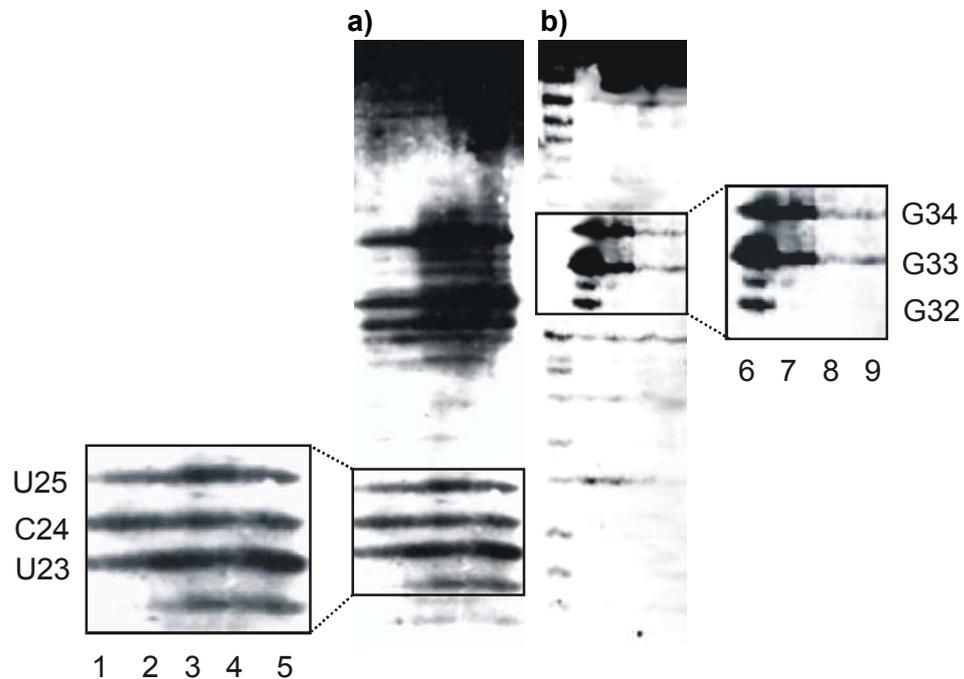


Abbildung 37 Footprint-Analyse des TAR-Aminoglycosid, **39** in unterschiedlichen Konzentrationen; a) RNase T1 (selektiv für ungepaarte G); b) RNase B (selektiv für ungepaarte U + C). TAR-RNA **147** 0.16 µM; Bahn 1 + 6: Kontrolle mit RNase, Bahn 2 + 7: **39** (0.16 mM), Bahn 3 + 8: **39** (1.46 mM), Bahn 4 + 9: **39** (3.6 mM), Bahn 5: **39** (7.3 mM).

Dieses Ergebnis führte zu dem Schluss, dass das cyclische Tetramer **39** an der *loop*-Region der TAR-RNA (**147**) bindet; die für die Proteinbindung verantwortliche *bulge*-Region wird jedoch nicht von dem Aminoglycosid belegt. Dies stimmt mit dem Schluss überein, dass es sich bei dem cyclischen Tetramer **39** um einen nicht kompetitiven Inhibitor der Tat-TAR-Bindung handelt. Die Inhibierung der Protein-RNA-Bindung muss folglich mit einer Änderung der RNA-Konformation einhergehen.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand in der Darstellung neuer artifizierender linker-verbrückter, linearer und cyclischer Aminoglycoside. Neben der Synthese von monomeren Bausteinen aus Tri-O-acetylglycal **43**, konnten die benötigten Ausgangsbausteine zum Teil aus natürlich vorkommenden Aminoglycosid-Antibiotika isoliert und danach modifiziert werden. In diesem Zusammenhang sind L-Cladinose (**59**) und D-Desosamin (**61**) aus dem kommerziell erhältlichem Erythromycin (**9**) zu nennen, so wie das Neomycin (**78**) als Ausgangssubstanz für Neamin (**79**) bzw. 2-Desoxystreptamin (**92**). Das gewonnene Neamin (**79**) konnte wiederum in seine Bestandteile aufgespalten werden. Hierbei ist für zukünftige Projekte die Isolierung des 2,6-Diamino-2,6-dideoxy-D-glucose-Derivats (**88**) von Interesse, da auf einfachem Wege ein diaminierter Baustein erhalten werden kann. Auch die Bildung eines metathesefähigen Monomers aus 2-Desoxystreptamin (**92**) könnte ein lohnendes Projekt sein, da dieser Baustein Strukturelement einiger bekannter und teilweise sehr potenter Aminoglycosid-Antibiotika ist.

Folgende Homodimere konnten aus den modifizierten und allylierten monomeren Verbindungen mittels Metathese-Reaktionen erhalten werden (Abbildung 38).

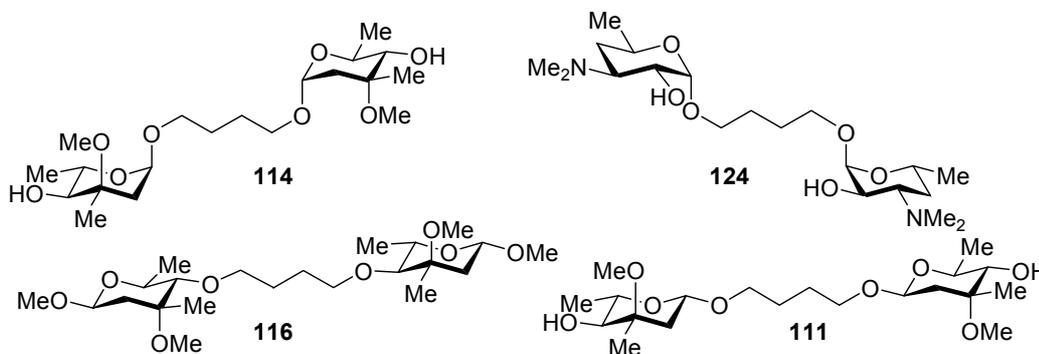
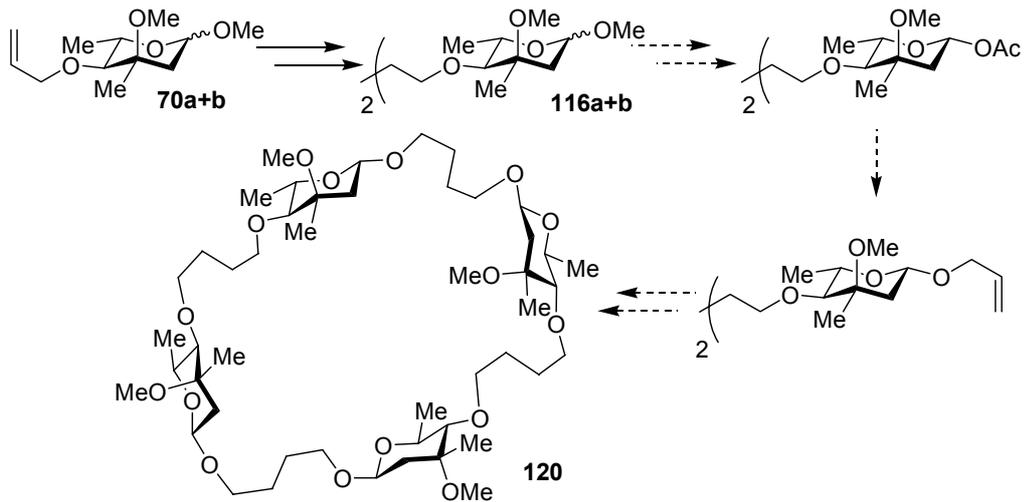


Abbildung 38 Dargestellte Homodimere

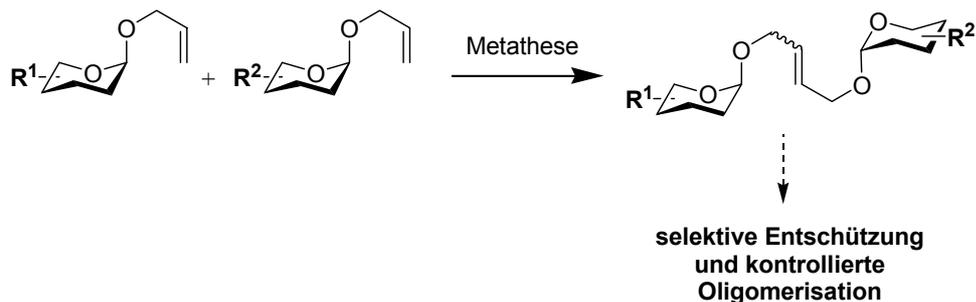
Aus dem Homodimer **111** der Allyl- β -L-cladinose (**64**) konnte durch weitere 4-O-Allylierung und angeschlossener Metathesereaktion das cyclische Tetramer **120** gebildet werden. Ein Ziel für die zukünftige Arbeit auf diesem Gebiet könnte die Überprüfung dieses Ergebnisses über eine alternative Syntheseroute sein (Schema 61).



Schema 61

Das Homodimer sollte in diesem Fall, wie in der schon durchgeführten Synthese (Kapitel 4.5.1.2), nicht über die anomeren Zentren verknüpft werden. Das anomere Zentrum müsste mittels einer Schutzgruppe blockiert werden, z.B. durch eine Methoxygruppe. Die erste Metathesereaktion könnte über die Methyl-4-O-allyl- α/β -L-cladinose (**70a+b**) laufen (Schema 61). Auf Anomerenreinheit müsste nicht geachtet werden, da bei der anschließenden Umschützung zum acetylierten Dimer und darauf folgenden Transglycosylierung nach aller Voraussicht nur das β -allylierte Dimer entstehen wird (Kapitel 3.3.1). Bei der abschließenden Metathese-Reaktion sollte sich herausstellen, welche Form (cyclisch oder linear) und Verbindungsgröße (Dimer, Tetramer oder vielleicht Hexamer) bei dieser Synthese bevorzugt gebildet wird.

Die Etablierung der Kreuzmetathese-Reaktionen zur Synthese gemischter Oligosaccharide war ein weiteres Ziel dieser Arbeit. Durch geschickte Wahl der verwendeten Schutzgruppen konnte eine gekreuzte Metathese-Reaktion zwischen **49** und **64** erfolgreich abgeschlossen werden. Dieses gemischte Produkt **127** konnte daraufhin zum linearen Tetramer **135** modifiziert werden. Die angewandte Schutzgruppentechnik kann als Modell für andere Kreuzmetathesen herangezogen werden.



Schema 62 Schematische Darstellung einer kontrollierten Oligomerisation

So sollte darauf geachtet werden, dass die monomeren Bausteine verschiedene Schutzgruppen tragen, um so eine selektive Entschützung des gebildeten Dimers gewährleisten zu können (Schema 62). Dies hat den Vorteil, dass das Dimer kontrolliert zu einem Oligomer erweitert werden kann.

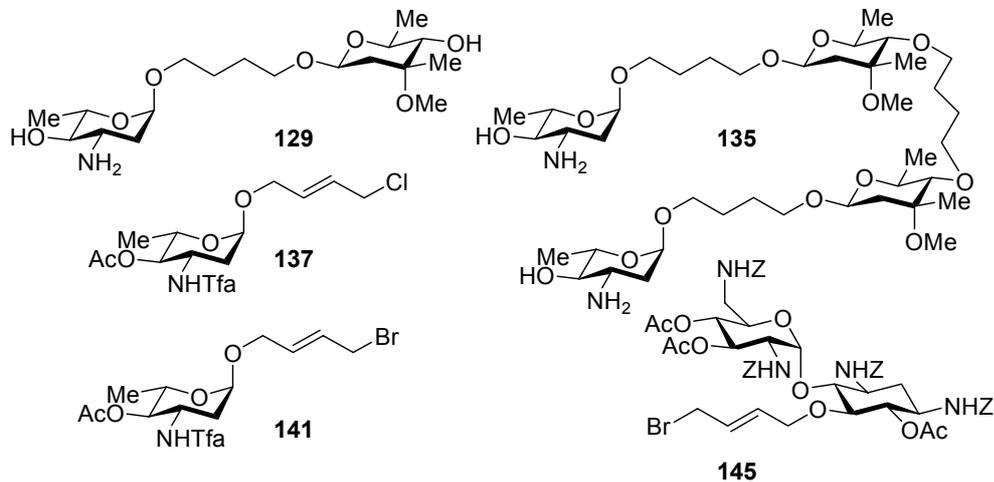


Abbildung 39 Mittels Kreuzmetathese dargestellte Verbindungen

Weitere Kreuzmetathese-Reaktionen wurden mit dem monomeren Baustein **49** und Allylhalogeniden durchgeführt. Hierbei kann die Bildung des Homodimers durch einen hohen Überschuss an Allylhalogenid völlig unterdrückt werden. Das entstandene Heterodimer **137** wurde anschließend durch O-Alkylierung mit 1,4-Di-(hydroxymethyl)-benzol zu dem verbrückten Homodimer **139** umgesetzt. Die Verwendung dieses Linkers hat Auswirkungen auf die Flexibilität der beiden Zuckerbausteine und kann so eventuell auch Einfluss auf die Bindungseigenschaften dieser Verbindung gegenüber RNA haben. Aus diesem Grund könnte die Verwendung des modifizierten Linkers in zukünftigen Projekten eine Rolle spielen.

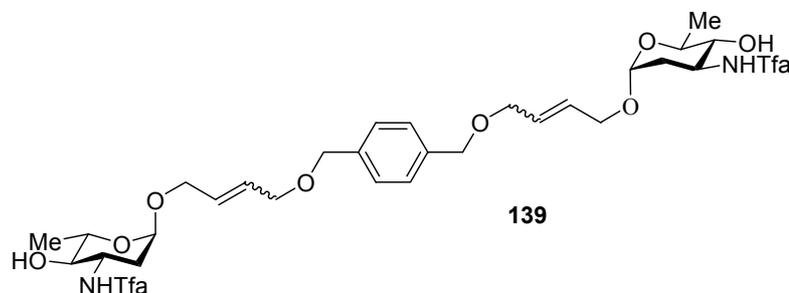


Abbildung 40

Da die Homodimerisierung des synthetisierten 5-O-allylierten Neaminderivats **83** nicht gelang, wurde auch hier eine Kreuzmetathese-Reaktion unter Einsatz von

Allylhalogeniden durchgeführt. Das Produkt aus Neamin-Derivat und Allylbromid konnte im geringen Maße nachgewiesen werden. Über diesen Weg und anschließende O-Alkylierung könnte ein Neamindimer dargestellt und so die schwache Bindungsaffinität des „monomeren“ Neamins (**25**) verbessert werden. Ein anderer Weg zur erfolgreichen Dimerbildung des Neamin-Derivats könnte durch Anwendung einer neuen Schutzgruppenstrategie beschritten werden. Die Verwendung von Ethyloxycarbonyl- statt Benzoyloxycarbonylgruppen zum Schutz der vorhandenen Amine könnte eine signifikante Verringerung des räumlichen Bedarfs der Schutzgruppen im Vergleich zum Allyllinker herbeiführen. Eine exponiertere Stellung der Allylfunktion könnte so anschließend zum Metatheseprodukt führen.

Eine innovative und vielversprechende Methode zur Vermeidung der unerwünschten Selbstmetatheseprodukte bei Kreuzmetathese-Reaktionen wird von GRUBBS et. al.¹³⁷ berichtet. In einer zweistufigen Reaktion wird das endständige Olefin **A** zunächst in einer Metathese zum Homodimer **D** mit einer internen Doppelbindung überführt und anschließend mit einem zweiten endständigen Olefin **B** im Überschuss zum Kreuzkupplungsprodukt **C** umgesetzt. Nicht umgesetztes Homodimer **D** kann für weitere Reaktionen wiedergewonnen werden.

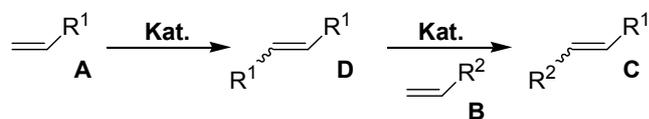


Abbildung 41

Zwar ist diese Strategie nicht allgemein anwendbar, ihre Vorzüge gegenüber der direkten CM-Kupplung zeigen sich aber in vielen Fällen. Es wäre zu überprüfen, ob diese Variante der Kreuzmetathese auch auf die hier verwendeten monomeren bzw. dimeren Bausteine anwendbar ist. Vorstellbar ist hierfür die Kreuzmetathese-Reaktionen zwischen dem Allylglycosid **49** und dem Allyl- α -D-desosamin (**74**). Da das Allyl- α -D-desosamin (**74**) relativ leicht auch in größeren Mengen synthetisierbar ist, wäre dies ein gutes Testsystem für die oben vorgestellte Kreuzmetathese-Variante. Dies bedeutet, dass die Metathesereaktion mit dem Homodimer **103** des Aminoglycosides **49** und dem Allyl- α -D-desosamin (**74**), bzw. dessen Hydrochlorid **122**, durchgeführt werden sollte.

Die biologischen Eigenschaften der in dieser Arbeit vorgestellten Oligosaccharide sollten in nächster Zukunft ausgetestet werden. Des Weiteren sollten Verdauungsexperimente

¹³⁷ R.H. Grubbs, D. J. O'Leary, H. E. Blackwell, R. A. Washenfelder, D. A. Bussmann *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 7427-7430.

des schon getesteten cyclischen Tetramers **39** nicht nur mit TAR-RNA (**147**) und unter Verwendung von RNasen angefertigt werden. Durch die zusätzliche Anwesenheit des verdrängten Tat-Proteins (**148**) könnte festgestellt werden, ob die Bindungsdomäne des Aminoglycosids an der TAR-RNA auch in Gegenwart des Proteins bestehen bleibt.

Eine Alternative zu den verwendeten Dot-Blot-Experimenten könnte zukünftig die Durchführung von Gelretentionsanalysen (Electrophoretic Mobility Shift Assay, EMSA) sein. EMSA ist ein Nachweisverfahren für Protein-Nukleinsäure-Wechselwirkungen. Das Konzept dieser Methode beruht auf der Tatsache, dass z.B. Protein-RNA-Komplexe im elektrischen Feld langsamer laufen als freie RNA, da größere Komplexe im Gel stärker zurückgehalten werden. Die Auftrennung erfolgt auf einem nicht-denaturierenden Polyacrylamidgel (PAGE). Die Bewertung des unterschiedlichen Laufverhaltens der mit Proteinen assoziierten RNA geschieht durch den Vergleich mit dem Laufverhalten der freien RNA. Dieselbe Methode kann anschließend auf die Analyse von Aminoglycosid-RNA-Komplexen ausgeweitet werden.

7. Experimenteller Teil

7.1 Allgemeines

7.1.1 Durchführung

Lösungsmittel und Chemikalien wurden nach den üblichen Methoden gereinigt und getrocknet.¹³⁸ Tetrahydrofuran und Diethylether wurden über Natrium-Kalium-Legierung mit Benzophenon als Indikator getrocknet und direkt vor Gebrauch destilliert. Dichlormethan wurde über Calciumhydrid absolutiert und nach Destillation über Molsieb aufbewahrt. Pyridin wurde über Kaliumhydroxid und Ethanol, Toluol über Natrium und Methanol über Magnesium absolutiert und nach Destillation über Molsieb aufbewahrt.

N,N-Dimethylformamid, DMSO und THF wurden wasserfrei über Molsieb bei Fluka erworben. Alle Chemikalien wurden bei ABCR, Acros, Sigma-Aldrich, Fluka, Merck-Schuchardt oder Strem erworben. Alle Polymere wurden bei Fluka, Argonaut oder Novabiochem erworben. Bei allen Reaktionen, die in wasserfreien Lösungsmitteln durchgeführt wurden, diente hochreiner und zusätzlich über Natriumhydroxid und Blaugel getrockneter Stickstoff bzw. Argon der Firma Linde als Inertgas. Der Reaktionsverlauf wurde dünnschichtchromatographisch auf Kieselfolie (PF₂₅₄, Firma Merck) verfolgt. Die Detektion erfolgte optional durch:

- Eintauchen in Thymol/Schwefelsäure/Ethanol-Lösung und anschließendes Anfärben durch Erhitzen mit einem Heißluftgebläse.
- Eintauchen in Anisaldehyd/Schwefelsäure/Ethanol-Lösung (1:40:160) und anschließendes Anfärben durch Erhitzen mit einem Heißluftgebläse.
- Eintauchen in eine basische Kaliumpermanganatlösung (0.05% in Wasser).

7.1.1.1 Isolierung

Die zur Aufarbeitung verwendeten Lösungen von Natriumchlorid, Natriumhydrogencarbonat und Natriumcarbonat waren über Bodensatz gesättigt. Die Reinigung der Rohprodukte erfolgte in der Regel durch Flash-Chromatographie bei Drücken von 0.5-2 bar an Kieselgel 60 (230-400 mesh, Firma Macherei & Nagel, bzw. J. T. Baker) oder an Alox neutral oder basisch. Die verwendeten Laufmittelgemische

¹³⁸ D. D. Perrin, W. L. F. Armarego *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd Ed., Pergamon Press Oxford, 1988.

bestehen aus Essigsäureethylester (EE), Cyclohexan, Aceton und Petrolether (PE, Siedebereich 40-60 °C) und wurden vor Gebrauch destilliert.

7.1.1.2 Analytik

¹H-NMR-Spektroskopie: Verwendet wurden die Geräte AM-500 (500 MHz), AMX 400 (400 MHz) sowie DPX-200 (200 MHz) der Firma Bruker. Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgt in ppm. Sofern keine anderen Angaben gemacht werden, wurden die Messungen bei 300 K durchgeführt. Das verwendete Lösungsmittel und der interne Standard (Natrium-3-trimethylsilyl-2,2,3,3-tetradeuteropropionat TSP-d₄ = 0.0 ppm bzw. das Restprotonensignal des Lösungsmittels) sind jeweils vor den spektroskopischen Daten angegeben. Die Spektren wurden nach erster Ordnung ausgewertet, wobei folgende Abkürzungen verwendet werden: brs (breites Singulett), s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), m (Multiplett), dd (Doppeltes Duplett) etc. Die Zuordnung der Signale korreliert mit der Nummerierung der abgebildeten Strukturen.

¹³C-NMR-Spektroskopie: Verwendet wurden die Geräte AM-500 (125 MHz), AMX 400 (100 MHz) sowie DPX-200 (50 MHz) der Firma Bruker. Die Spektren wurden ¹H-breitbandentkoppelt aufgenommen. Die Angabe der chemischen Verschiebung δ erfolgte in ppm. Das Lösungsmittel und der interne Standard sind jeweils bei den spektroskopischen Daten angegeben, wobei in Klammern das zugehörige C-Atom bzw. die funktionelle Gruppe angegeben ist. Die Anzahl der an jeweiligen Kern α -ständigen Wasserstoffatome wurde nach der ATP-, DEPT-90-, DEPT-135- oder HSQC-Methode bestimmt. Die Kennzeichnung des Substitutionsgrades erfolgt durch: q (primär), t (sekundär), d (tertiär), s (quartär). Wenn nötig, wurden für eine vollständige Interpretation ¹H-¹H- und ¹H-¹³C-COSY- bzw. TOCSY-Messungen durchgeführt.

Schmelzpunkte: unkorrigiert, Schmelzpunktbestimmung (Smp.) nach Dr. Tottoti (Firma Büchi).

Polarimetrie: Die Messung des Drehwertes $[\alpha]_D^{20}$ erfolgte in einer 10 cm Küvette bei einer Wellenlänge von 589 nm. Der Drehwert wird zusammen mit der Messtemperatur, dem Lösungsmittel und der Konzentration g/100 mL angegeben. Zur Anwendung kam das Polarimeter 243 B der Firma Perkin Elmer.

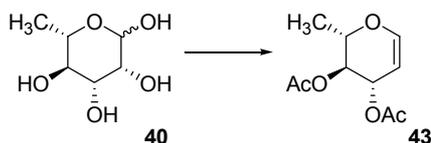
IR-Spektroskopie: FT-IR-Gerät Vector 22 der Firma Bruker. Die Aufnahme der Spektren erfolgte über eine ATR-Einheit. Die Lage der Schwingungsbanden wird in cm^{-1} angegeben.

Massenspektroskopie (ESI) wurden mit dem Micromass LCT mit Lock-Spray-Einheit gemessen. Die Injektion erfolgte im Loop-Modus in eine HPLC-Anlage der Firma Waters (Alliance 2695).

7.2 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3

7.2.1 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.1

1,5-Anhydro-3,4-di-O-acetyl-L-arabino-hex-1-enitol (**43**)



Zu einer Suspension von L-Rhamnose-Monohydrat (**40**) (10.1 g, 55 mmol) in Essigsäureanhydrid (31.5 mL, 333 mmol) wird bei 0°C (Eiswasserbad) 33%ige HBr/Essigsäure-Lsg. (0.7 mL) langsam unter Rühren zugetropft. Nachdem sich der Feststoff gelöst hat, wird die Eiswasserkühlung entfernt und eine Stunde bei RT nachgerührt. Nun wird wieder bei 0°C weitere 33%ige HBr/Essigsäure (60 mL) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei RT gerührt.

Zur Neutralisation der überschüssigen HBr wird wasserfreies Natriumacetat (25 g) zugegeben. Die Reaktionsmischung wird zu einer Suspension aus pulverisiertem CuSO₄·5H₂O (2.5 g), Zinkpulver (100 g), Natriumacetat (75.3 g), Wasser (100 mL) und Essigsäure (50 mL) unter Rühren bei 0°C zugetropft. Dabei ist ein KPG-Rührer und Dreihalskolben zu verwenden. Nach 15 min Rühren bei 0°C wird noch 1.5 h bei Raumtemperatur nachgerührt.

Der Feststoff wird über eine Nutsche von der Lösung abfiltriert. Der Rückstand wird mit Essigester (1 L) und anschließend sofort (!) mit Wasser (1 L) gewaschen. Die organische Phase wird mit Wasser (2x 500 mL), gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lsg. (2x 500 mL) und gesättigter Natriumchlorid-Lsg. (2x 500 mL) extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, am Rotationsverdampfer eingeeengt und mittels Säulenchromatographie (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester 4:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 8.35 g (39 mmol) = 71%; farbloses Öl

$R_f = 0.37$ [Kieselgel, Cyclohexan/EE 4:1];

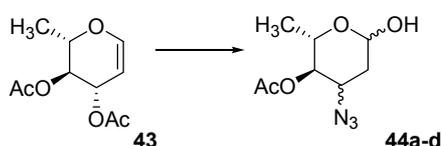
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm); δ = 6.38 (dd, 1H, *J* = 6.1, 1.4 Hz, 1-H), 5.30 (ddd, 1H, *J* = 6.0, 3.0, 1.4 Hz, 3-H), 4.98 (dd, 1H, *J* = 8.1, 6.0 Hz, 4-H), 4.73 (dd, 1H, *J* = 6.1, 3.0 Hz, 2-H), 4.06 (dq, 1H, *J* = 8.1, 6.5 Hz, 5-H), 2.04, 2.00 (2s, 6H, (2 x CH₃CO)), 1.27 (d, 3H, *J* = 6.5 Hz, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 170.5, 169.9 (2s, 2 x CH₃CO); 145.9 (d, C-1), 98.7 (d, C-2), 72.5 (d, C-3), 71.8 (d, C-4), 68.2 (d, C-5), 21.0, 20.8 (2q, 2 x CH₃CO), 16.5 (q, C-6).

7.2.2 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.2

4-O-Acetyl-3-azido-2,3,6-tridesoxy- α,β -L-arabino-hexopyranose (44a, 44b),

4-O-Acetyl-3-azido-2,3,6-tridesoxy- α,β -L-ribo-hexopyranose (44c, 44d)



Zu einer Suspension von **43** (5.00 g, 23 mmol) in H₂O (35 mL) werden Essigsäure (6 mL) und Natriumazid (3 g, 46 mmol, 2 Äquiv.) hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wird unter Rühren 3 h bei 80°C refluxiert. Das Gemisch wird auf eine gesättigte Natriumhydrogencarbonat-Lsg. gegeben und das Rohprodukt mit Essigester extrahiert. Die kombinierten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Das Produkt wird ohne weitere Aufarbeitung oder Isolierung für die anschließende Reaktion verwendet.

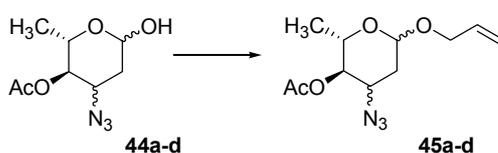
Ausbeute: 4.2 g; Rohprodukt

R_f = 0.20 [Kieselgel, Cyclohexan/EE 4:1];

IR (Golden Gate ART): ν = 2100 cm⁻¹ (N₃);

Allyl-4-O-acetyl-3-azido-2,3,6-tridesoxy- α,β -L-arabino-hexopyranosid (45a, 45 b),

Allyl-4-O-acetyl-3-azido-2,3,6-tridesoxy- α,β -L-ribo-hexopyranosid (45c, 45d)

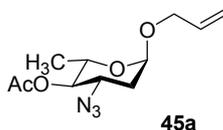


Dowex 50 x 8 wird mit 0.5M HCl aktiviert, mit H₂O säurefrei und danach mit MeOH und CH₂Cl₂ gewaschen. Das trockene Dowex-50 wird nun 30 min in wasserfreiem Allylalkohol refluxiert, abfiltriert und mit Allylalkohol gewaschen.

44a-d (4.2 g) und Dowex-50 (1 g) werden in Allylalkohol (10 mL) für 1 h bei 90°C refluxiert (DC-Kontrolle: Cyclohexan/EE 10:1). Das Reaktionsgemisch wird heiß abfiltriert und mit CH₂Cl₂ gewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum eingedunstet und die Stereoisomere durch Säulenchromatographie getrennt (Cyclohexan/EE 15:1 → 8:1).

Ausbeute: 2.73 g (12.7 mmol) = 55% (Gesamtausbeute über 2 Stufen);

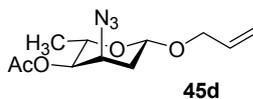
IR (Golden Gate ART): $\nu = 2099 \text{ cm}^{-1}$ (N₃);



R_f = 0.31 [Kieselgel, Cyclohexan/EE (10:1)]; Allyl- α -acosamid

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 5.89$ (ddd, 1H, $J = 17.3, 10.3, 5.3$ Hz, CH=), 5.28 (dd, 1H, $J = 17.3, 1.6$ Hz, CHH'=CH-), 5.20 (dd, 1H, $J = 10.3, 1.6$ Hz, CHH'=CH-), 4.88 (dd, 1H, $J = 3.6, 1.1$ Hz, 1-H), 4.65 (dd, 1H, $J = 9.8$ Hz, 4-H), 4.18 (dd, 1H, $J = 13.0, 5.3$ Hz, OCHH'), 4.01 (dd, 1H, $J = 13.0, 6.0$ Hz, OCHH'), 3.94 (ddd, 1H, $J = 12.3, 9.8, 5.2$ Hz, 3-H), 3.79 (dq, 1H, $J = 9.8, 6.3$ Hz, 5-H), 2.23 (ddd, 1H, $J = 13.0, 5.2, 1.1$ Hz, 2_{eq}-H), 2.17 (s, 3H, CH₃CO), 1.79 (ddd, 1H, $J = 13.0, 12.3, 3.6$ Hz, 2_{ax}-H), 1.14 (d, 1H, $J = 6.3$ Hz, 6-H).

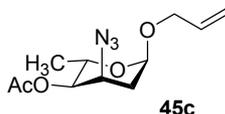
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): $\delta = 170.0$ (s, CH₃CO); 133.8 (d, =CH), 117.4 (t, CH₂=), 95.5 (d, C-1), 75.5 (d, C-4), 67.9 (t, OCH₂), 65.9 (d, C-5), 57.7 (d, C-3), 35.2 (t, C-2), 20.9 (q, CH₃CO), 17.4 (q, C-6).



R_f = 0.24 [Kieselgel, Cyclohexan/EE (10:1)]; Allyl- β -ristosamid

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.95 (ddd, 1H, *J* = 17.3, 10.3, 6.3 Hz, CH=), 5.37 (dd, 1H, *J* = 17.3, 1.6 Hz, CHH'=CH-), 5.20 (dd, 1H, *J* = 10.3, 1.6 Hz, CHH'=CH-), 4.70 (dd, 1H, *J* = 9.6, 4.4 Hz, 1-H), 4.59 (dd, 1H, *J* = 9.6 Hz, 4-H), 4.4 (ddt, 1H, *J* = 12.7, 5.1, 1.4 Hz, OCHH'), 4.09 (ddt, 1H, *J* = 12.7, 5.2, 1.3 Hz, OCHH'), 4.05 (ddd, 1H, *J* = 12.7, 9.6, 3.1 Hz, 3-H), 3.99 (dq, 1H, *J* = 9.6, 6.1 Hz, 5-H), 2.25 (ddd, 1H, *J* = 12.8, 4.4, 3.1 Hz, 2_{eq}-H), 2.10 (s, 3H, CH₃CO), 1.75 (ddd, 1H, *J* = 12.8, 9.6, 3.1 Hz, 2_{ax}-H), 1.26 (d, 1H, *J* = 6.1 Hz, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 170.0 (s, CH₃CO); 133.8 (d, =CH), 117.5 (t, CH₂=), 98.3 (d, C-1), 75.0 (d, C-4), 70.8 (t, OCH₂), 65.7 (d, C-5), 59.9 (d, C-3), 36.1 (t, C-2), 20.8 (q, CH₃CO), 17.5 (q, C-6).

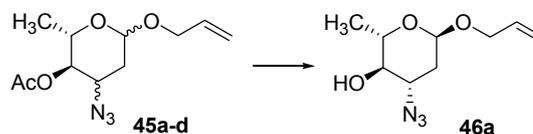


R_f = 0.18 [Kieselgel, Cyclohexan/EE (10:1)]; Allyl-α-ristosamid

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.89 (dddd, 1H, *J* = 17.3, 10.2, 6.0, 4.8 Hz, CH=), 5.31 (dq, 1H, *J* = 17.3, 1.7 Hz, CHH'=CH-), 5.17 (dq, 1H, *J* = 10.2, 1.6 Hz, CHH'=CH-), 4.81 (dd, 1H, *J* = 4.0, 1.8 Hz, 1-H), 4.63 (dd, 1H, *J* = 5.6, 1.4 Hz, 4-H), 4.18 (ddt, 1H, *J* = 13.3, 4.8, 1.6 Hz, OCHH'), 4.12-4.03 (m, 1H, 3-H), 3.96 (ddt, 1H, *J* = 13.3, 6.0, 1.4 Hz, OCHH'), 3.99 (dddd, 1H, *J* = 6.2, 1.4 Hz, 5-H), 2.23 (ddd, 1H, *J* = 13.0, 4.3, 2.5 Hz, 2_{eq}-H), 2.11 (s, 3H, CH₃CO), 1.22 (ddd, 1H, *J* = 13.0, 6.1, 3.7 Hz, 2_{ax}-H), 1.16 (d, 1H, *J* = 6.2 Hz, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 170.5 (s, CH₃CO), 134.3 (d, =CH), 118.0 (t, CH₂=), 97.0 (d, C-1), 74.7 (d, C-4), 70.1 (t, OCH₂), 68.5 (d, C-5), 58.1 (d, C-3), 35.7 (t, C-2), 21.1 (q, CH₃CO), 18.2 (q, C-6).

Allyl-3-azido-2,3,6-trideoxy-α,β-L-arabino-hexopyranosid (46a),

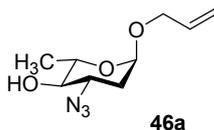


Amberlite IRA-900 Cl⁻ (30g) wird mit 2M HCl (3x 60 mL) gewaschen, anschließend mit H₂O neutral gewaschen, dann mit 1M NaOH (3x 60 mL) gewaschen und wiederum mit H₂O neutral gewaschen. Danach wird mit wasserfreiem MeOH (3x 60 mL) gewaschen und das Harz anschließend am Rotationsverdampfer getrocknet.

Zu **45a-d** (5.5 g, 21.5 mmol) werden wasserfreies MeOH (120 mL) und aktiviertes Amberlite (12 g) IRA-900 OH⁻ gegeben und über Nacht geschüttelt. Das Harz wird abfiltriert und mit MeOH (5x 60 mL) nachgewaschen. Anschließend wird das Filtrat im Vakuum eingengt und das Rohprodukt (3.9 g) mittels Säulenchromatographie gereinigt (PE/EE 5:1 → 6:4).

Ausbeute: 4.12 g (19.32 mmol) = 90%; Gesamtausbeute

IR (Golden Gate ART): $\nu = 2100 \text{ cm}^{-1}$ (N₃);



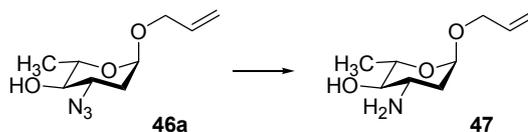
Ausbeute: 720 mg (3.4 mmol) = 15.8%, isolierte Teilausbeute

R_f = 0.59 [Kieselgel, PE/EE (5:1)] ;

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm); $\delta = 5.95$ (ddd, 1H, $J = 17.2, 10.3, 6.0, 5.2$ Hz, CH=), 5.33 (dd, 1H, $J = 17.2, 1.5$ Hz, CHH'=CH-), 5.24 (dd, 1H, $J = 10.3, 1.5$ Hz, CHH'=CH-), 4.94 (dd, 1H, $J = 3.6, 1.3$ Hz, 1-H), 4.12 (dd, 1H, $J = 12.9, 5.2$ Hz, OCHH'), 4.00 (dd, 1H, $J = 12.9, 6.0$ Hz, OCHH'), 3.83 (ddd, 1H, $J = 12.2, 9.4, 4.9$ Hz, 3-H), 3.74 (dq, 1H, $J = 9.3, 6.3$ Hz, 5-H), 3.18 (ddd, 1H, $J = 9.4, 9.3$ Hz, 4-H), 2.23 (ddd, 1H, $J = 13.0, 4.9, 1.3$ Hz, 2_{eq}-H), 2.22 (ddd, 1H, $J = 13.0, 12.2, 3.6$ Hz, 2_{ax}-H), 1.27 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): $\delta = 133.9$ (d, =CH), 117.3 (t, CH₂=), 95.6 (d, C-1), 76.0 (d, C-4), 67.8 (t, OCH₂), 67.7 (d, C-5), 60.4 (d, C-3), 34.9 (t, C-2), 17.7 (q, C-6).

$[\alpha]_D^{20}$ = - 144.0° (c = 1; CH₃Cl)

Allyl-3-amino-2,3,6-tridesoxy- α -L-arabino-hexopyranosid (47)

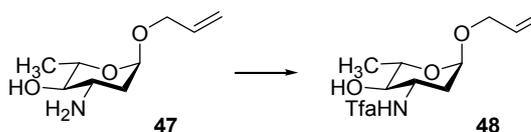
46a (500 mg, 2.34 mmol) wird in wasserfreiem THF (10 mL) bei 0°C mit Lithiumaluminiumhydrid (445 mg, 5.0 Äquiv.) versetzt und 30 min gerührt. Nun wird tropfenweise H₂O (0.5 mL), 10%ige wässrige NaOH (1 mL) und H₂O (1.5 mL) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird über Kieselgur/Celite abfiltriert und im Vakuum eingeeengt. Die zurückbleibende wässrige Phase wird mit EE und CH₂Cl₂/MeOH 3:1 extrahiert und die vereinigten organischen Phasen im Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt wird ohne weitere Aufarbeitung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Ausbeute: 412 mg (2.20 mmol) = 94%;

IR (Golden Gate ART): $\nu = 1648 \text{ cm}^{-1}$ (NH₂);

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 5.91$ (ddd, 1H, $J = 17.4, 10.4, 5.2$ Hz, CH=), 5.28 (dd, 1H, $J = 17.4, 1.6$ Hz, CHH'=CH-), 5.18 (dd, 1H, $J = 10.4, 1.6$ Hz, CHH'=CH-), 4.83 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz, 1-H), 4.14 (dd, 1H, $J = 13.2, 5.2$ Hz, OCHH'), 3.92 (dd, 1H, $J = 13.2, 5.2$ Hz, OCHH'), 3.67 (dq, 1H, $J = 8.8, 6.3$ Hz, 5-H), 3.16 (m, 1H, 3-H), 2.88 (dd, 1H, $J = 8.8$ Hz, 4-H), 2.20-1.91 (m, 3H, 2_{eq}-H und NH₂), 1.54 (ddd, 1H, $J = 12.4, 3.2$ Hz, 2_{ax}-H), 1.27 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): $\delta = 134.2$ (d, =CH), 117.0 (t, CH₂=), 96.2 (d, C-1), 77.2 (d, C-4), 68.3 (t, OCH₂), 67.6 (d, C-5), 49.6 (d, C-3), 37.8 (t, C-2), 17.9 (q, C-6).

Allyl-3-trifluoroacetamido-2,3,6-tridesoxy- α -L-arabino-hexopyranosid (48)

47 (100 mg, 0.534 mmol) wird in wasserfreiem CH_2Cl_2 (5 mL) gelöst und bei 0°C mit Triethylamin (0.2 mL) und Trifluoressigsäureanhydrid (0.2 mL, 1.44 mmol, 2.7 Äquiv.) versetzt. Das Gemisch wird 2 h bei 0°C gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 5:1) und bei RT im Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt wird 14 h in MeOH (2 mL) gerührt, im Vakuum eingeeengt und ohne weitere Aufarbeitung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Ausbeute: 150 mg (0.529 mmol) = 99%;

$R_f = 0.4$ [Kieselgel, PE/EE (1:1)];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.15$ (d, 1H, $J = 6.8$ Hz, NH), 5.88 (ddd, 1H, $J = 17.2, 10.3, 6.0, 5.2$ Hz, $\text{CH}=\text{}$), 5.27 (dd, 1H, $J = 17.2, 1.5$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 5.18 (dd, 1H, $J = 10.3, 1.5$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 4.87 (dd, 1H, $J = 3.4, 1.3$ Hz, 1-H), 4.45 (m, 1H, 3-H), 4.14 (dd, 1H, $J = 12.9, 5.2$ Hz, OCHH'), 3.94 (dd, 1H, $J = 12.9, 6.0$ Hz, OCHH'), 3.72 (dq, 1H, $J = 9.4, 6.2$ Hz, 5-H), 3.17 (ddd, 1H, $J = 9.4$ Hz, 4-H), 2.19 (ddd, 1H, $J = 12.6, 1.3$ Hz, 2_{eq}-H), 1.79 (ddd, 1H, $J = 12.6, 3.4$ Hz, 2_{ax}-H), 1.28 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, 6-H).

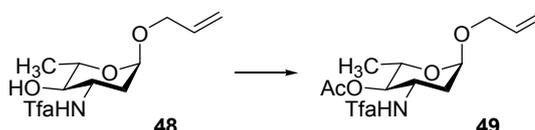
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 158.5$ (q, COCF_3), 133.1 (d, $=\text{CH}$), 118.0 (t, $\text{CH}_2=\text{}$), 115.9 (q, COCF_3), 95.8 (d, C-1), 72.7 (d, C-4), 68.3 (t, OCH_2), 64.3 (d, C-5), 48.0 (d, C-3), 32.6 (t, C-2), 17.5 (q, C-6).

HRMS: m/z für $\text{M} + \text{Na}^+ + \text{MeCN}$

berechnet: 347.1195

gefunden: 347.1195

Allyl-4-O-acetyl-3-trifluoroacetamido-2,3,6-tridesoxy- α -L-arabino-hexopyranosid (49)



A: **48** (1.0 g, 3.07 mmol) wird bei 0°C in Pyridin (20 mL) und Essigsäureanhydrid (9 mL) gelöst und 2 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:1, 14 mL) versetzt. Die wässrige Phase wird mit CH_2Cl_2 (3 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter NaCl-Lösung (40 mL) gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Das Pyridin wird

durch mehrmaliges Einengen mit Toluol entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (PE/EE 4:1) zum Produkt **49** aufgereinigt.

Ausbeute: 800 mg (2.46 mmol) = 80%;

B: **48** (500 mg, 1.67 mmol) wird unter N₂ in wasserfreiem CH₂Cl₂ (10 mL) gelöst. Zu dieser Lösung werden Triethylamin (0.34 mL, 1.5 Äquiv.) und Essigsäureanhydrid (0.24 mL, 1.5 Äquiv.) hinzugefügt. Nach der Zugabe von 4-DMAP (3 mg) wird 1 h bei RT gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 5:1). Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 5:1 + 2% Et₃N) zum Produkt **49** aufgereinigt.

Ausbeute: 446 mg (1.37 mmol) = 82%;

R_f = 0.2 [Kieselgel, PE/EE (5:1)];

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.72 (d, 1H, *J* = 6.2 Hz, NH), 5.88 (dddd, 1H, *J* = 17.2, 10.3, 6.0, 5.1 Hz, CH=), 5.28 (dd, 1H, *J* = 17.2, 1.5 Hz, CHH'=CH-), 5.18 (dd, 1H, *J* = 10.3, 1.5 Hz, CHH'=CH-), 4.88 (dd, 1H, *J* = 3.6, 1.3 Hz, 1-H), 4.60-4.38 (m, 1H, 3-H), 4.13 (dd, 1H, *J* = 13.0, 5.1 Hz, OCHH'), 3.94 (dd, 1H, *J* = 13.0, 6.0 Hz, OCHH'), 3.82 (dd, 1H, *J* = 9.3, 4.9 Hz, 4-H), 3.73 (dq, 1H, *J* = 9.3, 6.3 Hz, 5-H), 2.26 (ddd, 1H, *J* = 13.0, 1.3 Hz, 2_{eq}-H), 2.05 (s, 3H, CH₃CO), 1.71 (ddd, 1H, *J* = 13.0, 3.6 Hz, 2_{ax}-H), 1.17 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz, 6-H).

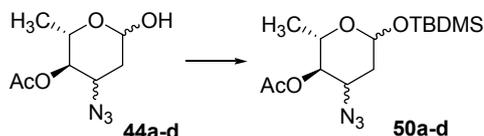
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 172.0 (s, COCH₃) 157.0 (q, COCF₃), 133.8 (d, =CH), 117.3 (t, CH₂=), 115.6 (q, COCF₃), 95.2 (d, C-1), 75.2 (d, C-4), 68.0 (t, OCH₂), 65.7 (d, C-5), 48.0 (d, C-3), 35.6 (t, C-2), 20.6 (q, COCH₃), 17.6 (q, C-6).

HRMS: *m/z* für M + Na⁺ + MeCN

berechnet: 389.1300

gefunden: 389.1299

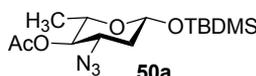
***tert*-Butyldimethylsilyl-4-*O*-acetyl-3-azido-2,3,6-trideoxy- α/β -L-*arabino*-hexopyranosid (50c, 50a), *tert*-Butyldimethylsilyl-4-*O*-acetyl-3-azido-2,3,6-trideoxy- α/β -L-*ribo*-hexopyranosid (50d, 50b)**



Zu dem Rohprodukt **44a-d** (6.9 g, 32.24 mmol) in 1,2-Dichlorethan (58 mL) wird Imidazol (4.3 g, 64.48 mmol, 2 Äquiv.) zugegeben. Nach 10 min bei 0°C wird TBDMSCl (8.4 g, 1.5 Äquiv.) zugefügt. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei 0°C → RT gerührt. Die Lösung wird mit H₂O (2x 30 mL) gewaschen und die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Einengen im Vakuum wird das Rohprodukt (7.44 g) erhalten. Dies wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 12:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 7.7 g (23.4 mmol) = 73%; α/β = 3:1

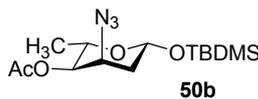
IR (Golden Gate ART): ν = 2097 cm⁻¹ (N₃);



R_f = 0.37 [Kieselgel, PE/EE (12:1)];

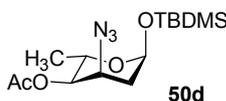
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 4.77 (dd, 1H, J = 9.3, 2.1 Hz, 1-H), 4.63 (t, 1H, J = 9.5 Hz, 4-H), 3.46 (ddd, 1H, J = 12.7, 9.5, 5.0 Hz, 3-H), 3.40 (dq, 1H, J = 9.5, 6.3 Hz, 5-H), 2.16 (ddd, 1H, J = 12.7, 5.0, 2.1 Hz, 2-H_{eq}), 2.08 (s, 3H, CH₃CO), 1.65 (ddd, 1H, J = 12.7, 9.3 Hz, 2-H_{ax}), 1.16 (d, 3H, J = 6.3 Hz, 6-H), 0.86 {s, 9H, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, 0.09, 0.07 {2s, 6H, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 170.0 (s, COCH₃), 94.4 (d, C-1), 74.8 (d, C-4), 70.7 (d, C-5), 59.8 (d, C-3), 38.7 (t, C-2), 25.6 (3q, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, 20.8 (q, CH₃CO), 18.0 {s, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, 17.5 (q, C-6), -4.3, -5.3 {2q, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}.



$R_f = 0.24$ [Kieselgel, PE/EE (12:1)];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.77$ (dd, 1H, $J = 9.3, 2.1$ Hz, 1-H), 4.63 (t, 1H, $J = 9.5$ Hz, 4-H), 3.46 (ddd, 1H, $J = 12.7, 9.5, 4.9$ Hz, 3-H), 3.40 (dq, 1H, $J = 9.5, 6.3$ Hz, 5-H), 2.16 (ddd, 1H, $J = 12.6, 5.1, 2.1$ Hz, 2- H_{eq}), 2.08 (s, 3H, CH_3CO), 1.65 (ddd, 1H, $J = 12.7, 9.3$ Hz, 2- H_{ax}), 1.16 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H), 0.86 {s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }, 0.09, 0.07 {2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }.

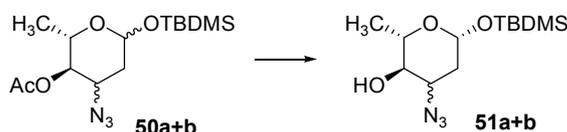


$R_f = 0.11$ [Kieselgel, PE/EE (12:1)];

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.24$ ppm): $\delta = 5.16$ (dd, 1H, $J = 3.6, 1.5$ Hz, 1-H), 4.55 (dd, 1H, $J = 9.6, 3.6$ Hz, 4-H), 4.28 (dq, 1H, $J = 9.6, 6.3$ Hz, 5-H), 4.14 (dd, 1H, $J = 3.6$ Hz, 3-H), 2.09 (s, 3H, CH_3CO), 2.08 (ddd, 1H, $J = 14.8, 3.6, 1.8$ Hz, 2- H_{eq}), 2.01 (ddd, 1H, $J = 14.8, 3.6$ Hz, 2- H_{ax}), 1.11 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H), 0.90 {s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }, 0.09, 0.07 {2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }.

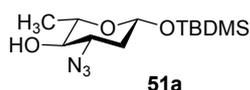
***tert*-Butyldimethylsilyl-3-azido-2,3,6-tridesoxy- β -L-*arabino*-hexopyranosid (51a),**

***tert*-Butyldimethylsilyl-3-azido-2,3,6-tridesoxy- β -L-*ribo*-hexopyranosid (51b)**



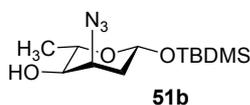
Das α/β -Gemisch **50a+b** (7.7 g, 23.37 mmol) wird in wasserfreiem MeOH (40 mL) gelöst, Natriummethylat (635 mg, 11.75 mmol, 0.5 Äquiv.) hinzugefügt und 5 h bei RT gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 10:1). Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 10:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 4.69 g (16.35 mmol) = 70%; ($\alpha/\beta = 3:1$)



$R_f = 0.24$ [Kieselgel, PE/EE (10:1)];

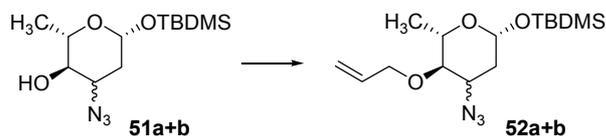
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.78$ (dd, 1H, $J = 9.2, 2.1$ Hz, 1-H), 3.37 (ddd, 1H, $J = 12.7, 9.2, 4.8$ Hz, 3-H), 3.30 (dq, 1H, $J = 9.0, 6.0$ Hz, 5-H), 3.14 (dd, 1H, $J = 9.0, 4.8$ Hz, 4-H), 2.31 (d, 1H, $J = 3.8$ Hz, OH), 2.16 (ddd, 1H, $J = 12.7, 4.8, 2.1$ Hz, 2- H_{eq}), 1.63 (ddd, 1H, $J = 12.7, 9.2$ Hz, 2- H_{ax}), 1.30 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz, 6-H), 0.87 {s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }, 0.10, 0.08 {2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }.



$R_f = 0.16$ [Kieselgel, PE/EE (10:1)];

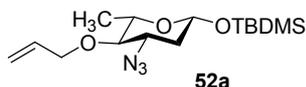
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 5.22$ (dd, 1H, $J = 3.1, 1.5$ Hz, 1-H), 3.80 (dq, 1H, $J = 9.0, 6.3$ Hz, 5-H), 3.75 (ddd, 1H, $J = 12.6, 9.0, 4.8$ Hz, 3-H), 3.09 (dd, 1H, $J = 9.0, 4.8$ Hz, 4-H), 2.31 (d, 1H, $J = 3.5$ Hz, OH), 2.02 (ddd, 1H, $J = 12.6, 4.8, 1.5$ Hz, 2- H_{eq}), 1.68 (ddd, 1H, $J = 12.6, 3.2$ Hz, 2- H_{ax}), 1.23 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H), 0.08 {s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }, 0.07 {2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }.

tert-Butyldimethylsilyl-4-O-allyl-3-azido-2,3,6-tridesoxy- β -L-arabino-hexopyranosid (52a), tert-Butyldimethylsilyl-4-O-allyl-3-azido-2,3,6-tridesoxy- β -L-ribo-hexopyranosid (52b)



Zu einer Lösung aus **51a+b** (4.22 g, 14.7 mmol) in wasserfreiem THF (100 mL) wird NaH 60% in Mineralöl (1.46 g, 60.84 mmol, 4.2 Äquiv.) und nach Beendigung der Gasentwicklung Allylbromid (3.15 mL, 36.2 mmol, 2.5 Äquiv.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird bei RT über Nacht gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 10:1). Es wird Methanol (70 mL) zugegeben und weitere 30 min gerührt. Die Lösung wird im Vakuum

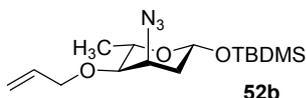
eingengt, der Rückstand in H₂O (240 mL) aufgenommen und mit CH₂Cl₂ (4x) extrahiert. Die organische Phase wird mit H₂O (1x) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird ohne weitere Aufarbeitung in der nächsten Reaktion eingesetzt.



$R_f = 0.70$ [Kieselgel, PE/EE (10:1)];

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 5.89$ (ddd, 1H, $J = 17.0, 10.4, 6.0$ Hz, CH=), 5.27 (dq, 1H, $J = 17.0, 1.8$ Hz, CHH'=CH), 5.20 (dq, 1H, $J = 10.4, 1.6$ Hz, CHH'=CH), 4.98 (dd, 1H, $J = 9.0, 1.8$ Hz, 1-H), 4.14-4.08 (m, 1H, 3-H), 4.12 (ddt, 1H, $J = 12.4, 6.0, 1.4$ Hz, C4-OCHH'), 3.99 (ddt, 1H, $J = 12.4, 6.0, 1.4$ Hz, C4-OCHH'), 3.81 (dq, 1H, $J = 9.2, 6.2$ Hz, 5-H), 3.18 (dd, 1H, $J = 9.2, 3.2$ Hz, 4-H), 1.96 (ddd, 1H, $J = 13.6, 4.5, 1.8$ Hz, 2-H_{eq}), 1.66 (ddd, 1H, $J = 13.6, 9.0, 3.6$ Hz, 2-H_{ax}), 1.25 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, 6-H), 0.85 {s, 9H, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, 0.10, 0.08 {2s, 6H, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): $\delta = 134.2$ (d, =CH), 117.7 (t, CH₂=), 94.3 (d, C-1), 80.9 (d, C-4), 74.0 (t, C4-OCH₂), 72.2 (d, C-5), 62.0 (d, C-3), 39.2 (t, C-2), 25.7 {q, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, 18.2 (q, C-6), 18.0 {s, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, -4.2, -5.2 {q, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}.

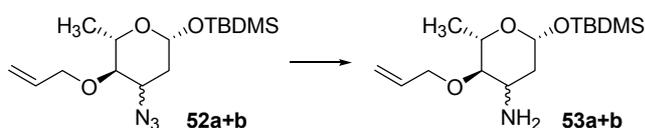


$R_f = 0.62$ [Kieselgel, PE/EE (10:1)];

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 5.91$ (dddd, 1H, $J = 17.0, 10.4, 6.0$ Hz, CH=), 5.27 (dq, 1H, $J = 17.0, 2.0$ Hz, CHH'=CH-), 5.20 (dq, 1H, $J = 10.4, 1.6$ Hz, CHH'=CH), 4.94 (dd, 1H, $J = 9.0, 1.8$ Hz, 1-H), 4.14-4.08 (m, 1H, 3-H), 4.12 (ddt, 1H, $J = 12.4, 6.0, 1.4$ Hz, C4-OCHH'), 3.99 (ddt, 1H, $J = 12.4, 6.0, 1.4$ Hz, C4-OCHH'), 3.81 (dq, 1H, $J = 9.2, 6.2$ Hz, 5-H), 3.18 (dd, 1H, $J = 9.2, 3.2$ Hz, 4-H), 1.96 (ddd, 1H, $J = 13.6, 4.5, 2.2$ Hz, 2-H_{eq}), 1.64 (ddd, 1H, $J = 13.6, 9.0, 3.6$ Hz, 2-H_{ax}), 1.25 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz, 6-H), 0.86 {s, 9H, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, 0.08, 0.07 {2s, 6H, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}.

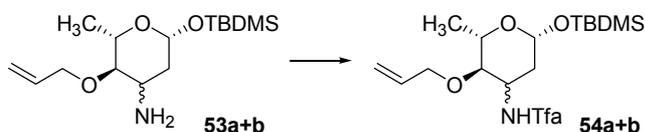
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 134.2 (d, =CH), 117.9 (t, CH₂=), 92.3 (d, C-1), 80.2 (d, C-4), 70.9 (t, C4-OCH₂), 69.2 (d, C-5), 57.4 (d, C-3), 38.1 (t, C-2), 25.8 {q, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, 18.2 (q, C-6), 18.2 {s, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, -4.3, -5.3 {2x q, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}.
C=CCOC[C@@H]1O[C@H](C)[C@@H](N=[N+]=[N-])[C@H](OC(C)(C)C(C)(C)C)O1 **52a+b** → C=CCOC[C@@H]1O[C@H](C)[C@@H](N)[C@H](OC(C)(C)C(C)(C)C)O1 **53a+b**

tert-Butyldimethylsilyl-4-O-allyl-3-amino-2,3,6-tridesoxy-β-L-arabino-hexopyranosid (53a) **tert-Butyldimethylsilyl-4-O-allyl-3-amino-2,3,6-tridesoxy-β-L-ribo-hexopyranosid (53b)**



Das Rohprodukt **52a+b** (4.8 g, 14.8 mmol) wird in wasserfreiem Diethylether (100 mL) gelöst und bei 0°C wird LiAlH₄ (3.8 g, 100.13 mmol, 6.8 Äquiv.) zugegeben. Nach 2 h bei 0°C wird tropfenweise H₂O (4 mL), 10%ige NaOH (8 mL) und H₂O (12 mL) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird über Celite/Kieselgur filtriert, im Vakuum eingeeengt und in Essigester aufgenommen. Die org. Phase wird im Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt **53a+b** wird ohne weitere Aufarbeitung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

tert-Butyldimethylsilyl-4-O-allyl-3-trifluoroacetamido-2,3,6-tridesoxy-β-L-arabino-hexopyranosid (54a), **tert-Butyldimethylsilyl-4-O-allyl-3-trifluoroacetamido-2,3,6-tridesoxy-β-L-ribo-hexopyranosid (54b)**



Zum Rohprodukt **53a+b** (2.68 g) in wasserfreiem CH₂Cl₂ (64 mL) werden bei 0°C Et₃N (1.8 mL, 13.35 mmol, 1.5 Äquiv.) und Trifluoressigsäureanhydrid (1.9 mL, 13.35 mmol, 1.5 Äquiv.) zugegeben. Nach 2 h bei 0°C (DC-Kontrolle: PE/EE 10:1) wird die Reaktionslösung bei RT im Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 15:1 → 10:1) aufgereinigt.



Ausbeute: 3.54 g (8.9 mmol) = 61%, über 3 Stufen;

$R_f = 0.32$ [Kieselgel, PE/EE (10:1)];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.55$ (d, 1H, $J = 7.8$ Hz, NH), 5.82 (dddd, 1H, $J = 17.3, 10.2, 6.6, 5.4$ Hz, CH=), 5.23 (dq, 1H, $J = 17.3, 1.6$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 5.20 (dq, 1H, $J = 10.2, 1.6$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 4.89 (dd, 1H, $J = 7.7, 2.5$ Hz, 1-H), 4.16 (ddd, 1H, $J = 12.5, 5.4, 1.6$ Hz, C4-OCHH'), 4.12-4.02 (m, 1H, 3-H), 3.95 (ddd, 1H, $J = 12.5, 6.6, 1.6$ Hz, C4-OCHH'), 3.41 (dq, 1H, $J = 8.6, 6.3$ Hz, 5-H), 2.97 (dd, 1H, $J = 8.6$ Hz, 4-H), 2.23 (ddd, 1H, $J = 13.1, 4.6, 2.5$ Hz, 2- H_{eq}), 1.60 (ddd, 1H, $J = 13.1, 10.8, 7.7$ Hz, 2- H_{ax}), 1.30 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H), 0.86 {s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }, 0.09, 0.08 {2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 156.7$ (q, COCF_3), 134.2 (d, =CH), 118.5 (t, $\text{CH}_2=$), 116.0 (q, COCF_3), 94.1 (d, C-1), 81.5 (d, C-4), 72.9 (t, C4-OCH₂), 72.1 (d, C-5), 50.2 (d, C-3), 38.0 (t, C-2), 25.6 {q, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }, 18.6 (q, C-6), 18.0 {s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }, -4.3, -5.4 {q, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }.

$[\alpha]_D^{20} = -8.53^\circ$ (c = 1, CHCl_3);



$R_f = 0.28$ [Kieselgel, PE/EE (10:1)];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.60$ (d, 1H, $J = 4.8$ Hz, NH), 5.85 (ddt, 1H, $J = 17.0, 10.4, 5.8$ Hz, CH=), 5.26 (dq, 1H, $J = 17.0, 1.5$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 5.22 (dq, 1H, $J = 10.4, 1.5$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 4.98 (dd, 1H, $J = 7.3, 2.5$ Hz, 1-H), 4.45 (m, 1H, 3-H), 3.99 (dt, 2H, $J = 5.8, 1.5$ Hz, C4-OCH₂), 3.76 (m, 1H, 5-H), 3.29 (dd, 1H, $J = 7.4, 4.2$ Hz, 4-H), 2.37 (ddd, 1H, $J = 13.8, 5.8, 2.5$ Hz, 2- H_{eq}), 1.71 (ddd, 1H, $J = 13.8, 7.3, 4.0$ Hz, 2- H_{ax}), 1.34 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, 6-H), 0.88 {s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }, 0.10, 0.09 {2s, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$ }.

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 156.8 (q, COCF₃), 133.6 (d, =CH), 118.3 (t, CH₂=), 116.0 (q, COCF₃), 92.6 (d, C-1), 76.4 (d, C-4), 70.2 (t, C4-OCH₂), 69.7 (d, C-5), 45.1 (d, C-3), 35.2 (t, C-2), 25.7 {q, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, 19.3 (q, C-6), 18.0 {s, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}, -4.3, -5.3 {2x q, Si(CH₃)₂[C(CH₃)₃]}.

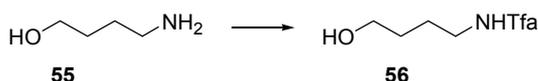
 $[\alpha]_D^{20}$ = - 12.3° (c = 1, CHCl₃);

HRMS: *m/z* für M - H⁺

berechnet: 396.1818

gefunden: 396.1813

4-Trifluoracetamido-1-butanol (**56**)



A: Zu einer Lösung aus 4-Amino-1-Butanol **55** (100 mg, 0.1 mL, 1.12 mmol) in wasserfreiem CH₂Cl₂ (5 mL) wird Et₃N (0.42 mL, 2.91 mmol, 2.6 Äquiv.) zugegeben. Bei 0°C wird Trifluoressigsäureanhydrid (0.42 mL, 3.03 mmol, 2.7 Äquiv.) zugefügt und bei dieser Temperatur 2 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wird bei RT eingeeengt und über Nacht in MeOH gerührt. Die Lösung wird eingeeengt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1) aufgearbeitet.

Ausbeute: 176 mg (0.95 mmol) = 85%; farbloses Öl

B: 4-Amino-1-butanol **55** (411 µL, 395 mg, 4.43 mmol) wird bei Raumtemperatur und unter Stickstoff in wasserfreiem Ethanol (5 mL) gelöst. Dann werden unter Rühren Et₃N (631 µL, 4.43 mmol, 1 Äquiv.) und EtTfa (671 µL, 5.54 mmol, 1.25 Äquiv.) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht gerührt und anschließend im Vakuum eingeeengt. Durch Zugabe von Essigester löst sich der entstandene gelbe Feststoff auf und es bildet sich weiße Kristalle (Nebenprodukt). Der Niederschlag wird abfiltriert und verworfen. Die Lösung wird bis zur Trockene eingeeengt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1) aufgearbeitet.

Ausbeute: 738 mg (3.99 mmol) = 90%; farbloses Öl

R_f = 0.39 [Kieselgel, PE/EE (1:1)];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , CDCl_3 = 7.26 ppm): δ = 3.74 (dd, 2H, J = 5.8 Hz, 2 x 1-H), 3.40 (dd, 2H, J = 6.2 Hz, 2 x 4-H), 1.71 (dd, 2H, J = 6.6 Hz, 2-H), 1.85 (s, 1H, OH). 1.66 (dd, 2H, J = 6.2 Hz, 3-H).

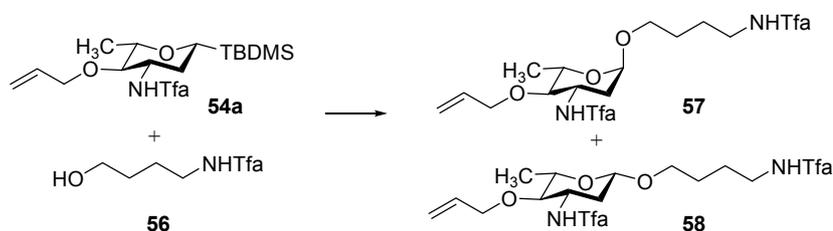
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , CDCl_3 = 77 ppm): δ = 157.3 (q, COCF_3), 116.0 (q, COCF_3), 62.3 (t, C-1), 39.7 (t, C-4), 29.5 (t, C-2), 25.8 (t, C-3).

HRMS: m/z für $\text{M} - \text{H}^+$

berechnet: 184.0585

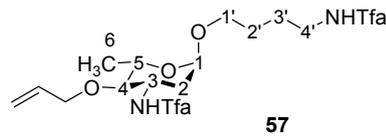
gefunden: 184.0579

Trifluoracetamidobutyl-4-*O*-allyl-3-trifluoroacetamido-2,3,6-trideoxy- β -L-arabino-hexopyranosid (57), Trifluoracetamidobutyl-4-*O*-allyl-3-azido-2,3,6-trideoxy- α -L-arabino-hexopyranosid (58)



Eine Lösung aus **54a** (100 mg, 0.25 mmol) und einer Spatelspitze Molekularsieb (gepulvert, 4 Å) in CH_2Cl_2 abs. (20 mL) wird unter N_2 auf -70°C gekühlt. Es wird TMSOTf (22 μL , 0.5 Äquiv.) und nach 15 min **56** (55 mg, 0.275 mmol, 1.1 Äquiv.) zugeführt. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei -40°C gerührt. Die Reaktionslösung wird filtriert, mit ges. NaHCO_3 -Lösung versetzt und mit EE extrahiert. Die org. Phase wird mit ges. NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (Toluol/Aceton 6:1) aufgereinigt

Ausbeute: 50 mg (0.11 mmol) = 44%; α/β = 4:1



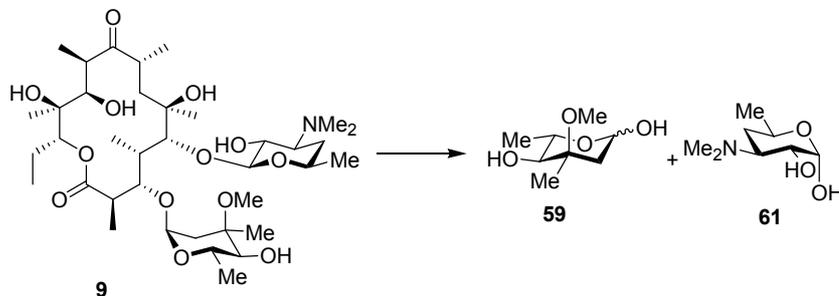
$R_f = 0.55$ [Kieselgel, PE/EE (1:1)];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.74, 6.47$ (2x s, 2H, 2x NH), 5.84 (dddd, 1H, $J = 17.1, 10.5, 6.7, 5.5$ Hz, CH=), 5.25 (ddt, 1H, $J = 17.1, 1.4$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 5.21 (dq, 1H, $J = 10.5, 1.4$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 4.79 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz, 1-H), 4.29-4.21 (m, 1H, 3-H), 4.18 (ddd, 1H, $J = 12.4, 5.4, 1.3$ Hz, C4-OCHH'), 3.95 (ddd, 1H, $J = 12.4, 6.7, 1.2$ Hz, C4-OCHH'), 3.74 (dq, 1H, $J = 9.3, 6.3$ Hz, 5-H), 3.69-3.63 (m, 1H, 1'-H), 3.41-3.34 (m, 3H, 1'-H', 4'-H u. 4'-H'), 3.02 (dd, 1H, $J = 9.3$ Hz, 4-H), 2.14 (ddd, 1H, $J = 12.5, 4.6, 1.4$ Hz, 2-H_{eq}), 1.71 (ddd, 1H, $J = 12.5, 3.6$ Hz, 2-H_{ax}), 1.69-1.59 (m, 4H, 2'-H, 2'-H', 3'-H u. 3'-H'), 1.29 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 156.9$ (q, 2x COCF_3), 134.1 (d, =CH), 118.4 (t, $\text{CH}_2=$), 118.4, 117.2 (2x q, 2x COCF_3), 96.1 (d, C-1), 82.0 (d, C-4), 73.3 (t, C4-OCH₂), 67.8 (d, C-5), 66.5 (t, C-1'), 49.0 (d, C-3), 39.7 (t, C-4'), 35.4 (t, C-2), 25.9 (t, C-2'), 25.3 (t, C-3'), 18.2 (q, C-6).

7.2.3 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.3

2,6-Dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α,β -L-ribo-hexopyranose (L-Cladinose, (59))
und 3-Dimethylamino-3,4,6-trideoxy- α -D-xyllo-hexopyranose (D-Desosamin, (61))

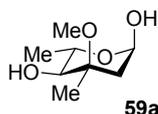


Erythromycin A (**9**) (40 g, 58.1 mmol) wird in wässriger HCl (0.75 N, 2 L) über Nacht bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wird in eine Lösung aus NaHCO_3 (128 g) in H_2O (1 L) geschüttet. NaHCO_3 wird solange zu der Lösung zugegeben, bis diese alkalisch ist ($\sim\text{pH } 8$). Dann wird die Reaktionslösung mit CH_2Cl_2 (4x 600 mL) extrahiert.

L-Cladinose (59) aus wässriger Phase:

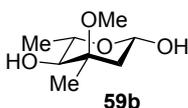
Die wässrige Phase wird unter reduziertem Druck bei RT zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird mit kochendem Toluol (4x) extrahiert und jede Extraktion einzeln filtriert. Das Filtrat wird unter reduziertem Druck eingengt und ergibt eine gelbe, zähe Flüssigkeit, die in H₂O (60 mL) gelöst wird. Die wässrige Phase wird mit CH₂Cl₂ (2x 24 mL) extrahiert. Nun wird die wässrige Phase erneut im Vakuum eingengt. Zurück bleibt ein hellbraun bis hellgelbes Öl, das mittels Kugelrohrdestillation (120-132°C bei 0.25 mm) aufgereinigt wird.

Ausbeute: 4.15 g (25.5 mmol) = 44% (α/β -Gemisch); farbloses bis gelbliches Öl



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.03 (s, 1H, 1-H), 3.90 (dq, 1H, J = 9.6, 6.1 Hz, 5-H), 3.34 (s, 3H, CH₃OC-3), 3.01 (d, 1H, J = 9.6 Hz, 4-H), 2.20 (dd, 1H, J = 14.8, 1.1 Hz, 2_{eq}-H), 1.56 (dd, 1H, J = 14.8, 3.8 Hz, 2_{ax}-H), 1.28 (d, 3H, J = 6.1 Hz, 6-H), 1.24 (s, 3H, CH₃C-3).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 91.6 (d, C-1), 77.9 (d, C-4), 75.9 (s, C-3), 71.0 (d, C-5), 50.2 (q, CH₃OC-3), 36.2 (t, C-2), 21.2 (q, C-3-CH₃), 18.2 (q, C-6).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 4.89 (dd, 1H, J = 9.7, 1.9 Hz, 1-H), 3.64 (dq, 1H, J = 9.5, 6.3 Hz, 5-H), 3.22 (s, 3H, CH₃OC-3), 2.94 (d, 1H, J = 9.5 Hz, 4-H), 2.29 (dd, 1H, J = 14.4, 1.9 Hz, 2_{eq}-H), 1.50 (dd, 1H, J = 14.4, 9.7 Hz, 2_{ax}-H), 1.26 (d, 3H, J = 6.3 Hz, 6-H), 1.21 (s, 3H, CH₃C-3).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 92.0 (d, C-1), 77.7 (d, C-4), 74.8 (s, C-3), 64.4 (d, C-5), 49.0 (q, CH₃OC-3), 39.1 (t, C-2), 21.0 (q, CH₃C-3), 18.1 (q, C-6).

HRMS: m/z für $M + Na^+ + MeCN$

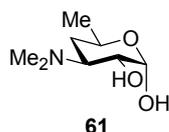
berechnet: 240.1212

gefunden: 240.1203

D-Desosamin (61) aus organischer Phase:

Die kombinierten organischen Phasen werden eingeeengt, der Rückstand wird in Ethanol (200 mL) gelöst und mit wässriger HCl (6 N, 600 mL) 4h unter Rückfluss gekocht. Das schwarze Reaktionsgemisch wird mittels eines Eisbads abgekühlt und die Flüssigkeit von dem dunklen, unlöslichen Material, das sich während der Hydrolyse gebildet hat, abdekantiert. Die Lösung wird mit CH_2Cl_2 (5x 50 mL) extrahiert. Die wässrige Phase wird unter reduziertem Druck auf die Hälfte des Volumens aufkonzentriert, um das Ethanol zu entfernen. n-Butanol (100 mL) und H_2O (40 mL) werden zu der Lösung hinzu gegeben und es bilden sich 2 Phasen. Die wässrige Phase wird mit n-Butanol (4x 100 mL) extrahiert. Während der Extraktion wird H_2O zugegeben, um das Volumen der wässrigen Phase konstant zu halten. Die kombinierten n-Butanol-Phasen werden mit H_2O (1x 50 mL) gewaschen und diese Waschphase wird zu der Wasserphase hinzugefügt. Die wässrige Phase wird unter reduziertem Druck bis zur Trockene eingeeengt. Zurück bleibt ein viskoses Öl. Der Rückstand wird in 85%igem Ethanol (46 mL) gelöst und Diethylether solange zugegeben, bis das gesamte Produkt ausgefallen ist. Nach Stehen lassen der Reaktionsmischung wird das kristalline Desosamin abfiltriert.

Ausbeute: 5.4 g (30.8 mmol) = 53%, farblose Kristalle



Smp.: 182.5°C (Lit.: 183°C)

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.51$ (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, 1-H), 3.76 (ddq, 1H, $J = 10.5, 6.2, 2.0$ Hz, 5-H), 3.44 (ddd, 1H, $J = 12.4, 10.5, 6.4$ Hz, 3-H), 3.36 (dd, 1H, $J = 10.5, 7.0$ Hz, 2-H), 2.91, 2.83 (2x s, 2x 3H, $N(CH_3)_2$), 2.07 (ddd, 1H, $J = 12.4, 4.0, 2.0$ Hz, 4_{eq}-H), 1.54 (ddd, 1H, $J = 12.4, 10.5$ Hz, 4_{ax}-H), 1.31 (d, 1H, $J = 6.2$ Hz, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 98.5 (d, C-1), 71.0 (d, C-2), 69.9 (d, C-5), 67.1 (d, C-3), 42.2, 37.9 (2x q, N(CH₃)₂), 31.4 (t, C-4), 21.3 (q, C-6).

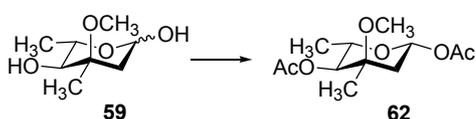
HRMS: *m/z* für M + H⁺

berechnet: 176.1287

gefunden: 176.1295

7.2.4 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.3.1

1,4-Di-O-acetyl-2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-β-L-ribo-hexopyranosid (**62**)



A: 2,6-Dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-β-L-ribo-hexopyranosid (L-Cladinose, (**59**)) (1.0 g, 5.0 mmol) wird bei 0°C in Pyridin (20 mL) und Essigsäureanhydrid (9 mL) gelöst und 2 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit H₂O/CH₂Cl₂ (1:1, 14 mL) versetzt. Die wässrige Phase wird mit CH₂Cl₂ (3x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter NaCl-Lösung (40 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Das Pyridin wird durch mehrmaliges Einengen mit Toluol entfernt.

Ausbeute: 1.18 g (4.53 mmol) = 91%; farbloses Öl

B: **59** (4.15 g, 25.5 mmol) werden unter N₂ in wasserfreiem CH₂Cl₂ (100 mL) gelöst. Zu dieser Lösung werden Triethylamin (5.2 mL, 1.5 Äquiv.) und Essigsäureanhydrid (3.7 mL, 1.5 Äquiv.) hinzugefügt. Nach Zugabe von 4-DMAP (46 mg) wird 1 h bei RT gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 5:1). Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingeeengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 5:1) zum Produkt **62** aufgereinigt.

Ausbeute: 5.45 g (20.95 mmol) = 89%; farbloses Öl

R_f = 0.15 [Kieselgel, Cyclohexan/EE 8:2];

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.90 (dd, 1H, *J* = 10.0, 2.1 Hz, 1-H), 4.67 (d, 1H, *J* = 9.8 Hz, 4-H), 4.12 (dq, 1H, *J* = 9.8, 6.3 Hz, 5-H), 3.28 (s, 3H, CH₃OC-3), 2.28 (dd, 1H, *J* = 13.9, 2.1 Hz, 2_{eq}-H), 2.14 u. 2.09 (2x s, 2x 3H, 2x CH₃CO), 1.58 (dd, 1H, *J* = 13.9, 10.0 Hz, 2_{ax}-H) 1.15 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz, H-6), 1.14 (s, 3H, CH₃C-3).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 170.5, 169.3 (2s, 2 x COCH₃), 91.0 (d, C-1), 78.0 (d, C-4), 74.4 (d, C-5), 69.0 (s, C-3), 49.8 (q, CH₃OC-3), 38.0 (t, C-2), 21.1, 20.9 (2q, 2 x CH₃CO), 20.4 (q, CH₃C-3) 17.5 (q, C-6).

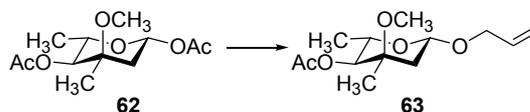
[α]_D²⁰ = -34.1° (CHCl₃, c = 1);

HRMS: *m/z* für M + Na⁺ + MeCN

berechnet: 324.1423

gefunden: 324.1427

Allyl-4-O-acetyl-2,6-didesoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-β-L-ribo-hexopyranosid (63)



62 (100 mg, 0.46 mmol) wird in wasserfreiem Allylalkohol (0.6 mL) und wasserfreiem Diethylether (10 mL) gelöst und auf -78°C (Aceton/Trockeneis) heruntergekühlt. Nach 15 min Rühren bei dieser Temperatur werden Trimethylsilyltriflat (26 µL, 0.5 Äquiv.) in Diethylether gelöst hinzugegeben und 5 min gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit gesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung hydrolysiert, auf RT erwärmt und mit CH₂Cl₂ (3x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet und im Vakuum eingengt. Das Produkt wird ohne weitere Aufarbeitung oder Isolierung für die anschließende Reaktion verwendet.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.91 (ddd, 1H, *J* = 17.2, 10.4, 5.1 Hz, CH=), 5.27 (dq, 1H, *J* = 17.2, 1.9 Hz, CHH'=CH-), 5.17 (ddd, 1H, *J* = 10.4, 3.5, 1.9 Hz, CHH'=CH-), 4.72 (dd, 1H, *J* = 9.7, 2.0 Hz, 1-H), 4.65 (d, 1H, *J* = 9.7 Hz, 4-H), 4.35 (ddt 1H, *J* = 12.8, 5.1, 1.5 Hz, OCHH'), 4.02 (ddt, 1H, *J* = 12.8, 6.2, 1.4 Hz, OCHH'), 3.95 (dq, 1H, *J* = 9.7, 6.3 Hz, 5-H), 3.26 (s, 3H, CH₃OC-3), 2.22 (dd, 1H, *J* = 14.2, 2.0 Hz, 2_{eq}-H), 2.12 (s,

3H, CH₃CO), 1.52 (dd, 1H, *J* = 14.2, 9.7 Hz, 2_{ax}-H), 1.14 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz, 6-H), 1.12 (s, 3H, CH₃C-3).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 170.5 (s, COCH₃), 134.3 (d, =CH), 117.1 (t, CH₂=), 97.2 (d, C-1), 78.6 (d, C-4), 74.6 (s, C-3), 69.6 (t, OCH₂), 67.9 (d, C-5), 49.6 (q, CH₃OC-3), 39.3 (t, C-2), 20.9 (q, CH₃CO), 20.6 (q, CH₃C-3) 17.6 (q, C-6).

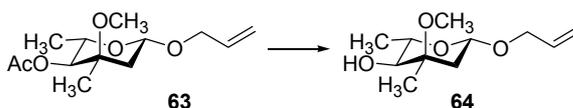
$[\alpha]_D^{20} = -33.5^\circ$ (CHCl₃, *c* = 1);

HRMS: *m/z* für M + Na⁺ + MeCN

berechnet: 322.1630

gefunden: 322.1637

Allyl-2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-β-L-ribo-hexopyranosid (**64**)



A: Amberlist A-26 (1 g) wird mit 2M HCl (3x 5 mL) gewaschen, anschließend mit H₂O neutral gewaschen, dann mit 1M NaOH (3x 5 mL) gewaschen und wiederum mit H₂O neutral gewaschen. Danach wird mit wasserfreiem MeOH (3x 5 mL) wasserfrei gewaschen und das Harz anschließend am Rotationsverdampfer getrocknet. Zu **63** (500 mg, 1.94 mmol) werden wasserfreies MeOH (10 mL) und aktiviertes Amberlist A-26 OH⁻ (1 g) gegeben und über Nacht gerührt. Das Harz wird abfiltriert und mit MeOH (5x 5 mL) nachgewaschen. Anschließend wird das Filtrat im Vakuum eingengt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie gereinigt (Cyclohexan/EE 10:1 → 5:1).

Ausbeute: 379 mg (1.75 mmol) = 95%, über 2 Stufen; farbloses Öl

B: **63** (200 mg, 0.774 mmol) wird in wasserfreiem MeOH (5 mL) gelöst, Natriummethylat (21 mg, 0.387 mmol, 0.5 Äquiv.) hinzugefügt und 5 h bei RT gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 10:1). Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 10:1 → 5:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 157 mg (0.728 mmol) = 94%; farbloses Öl

$R_f = 0.15$ [Kieselgel, Cyclohexan/EE 5:1];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 5.90$ (ddd, 1H, $J = 17.2, 10.3, 5.1$ Hz, $\text{CH}=\text{}$), 5.25 (dq, 1H, $J = 17.2, 1.5$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 5.15 (ddd, 1H, $J = 10.3, 3.1, 1.5$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 4.58 (dd, 1H, $J = 9.8, 1.9$ Hz, 1-H), 4.33 (ddt, 1H, $J = 12.8, 5.1, 1.5$ Hz, OCHH'), 3.99 (ddt, 1H, $J = 12.8, 6.2, 1.3$ Hz, OCHH'), 3.55 (dq, 1H, $J = 9.4, 6.3$ Hz, 5-H), 3.21 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC}-3$), 2.94 (dd, 1H, $J = 11.0, 9.4$ Hz, 4-H), 2.23 (dd, 1H, $J = 14.3, 1.9$ Hz, 2_{eq}-H), 1.40 (dd, 1H, $J = 14.3, 9.8$ Hz, 2_{ax}-H), 1.27 (d, 1H, $J = 6.3$ Hz, 6-H), 1.22 (s, $\text{CH}_3\text{C}-3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 134.3$ (d, $=\text{CH}$), 117.0 (t, $\text{CH}_2=$), 97.0 (d, C-1), 78.0 (d, C-4), 75.0 (s, C-3), 70.9 (d, C-5), 69.9 (t, OCH_2), 49.0 (q, $\text{CH}_3\text{OC}-3$), 37.9 (t, C-2), 21.1 (q, $\text{CH}_3\text{C}-3$) 18.2 (q, C-6).

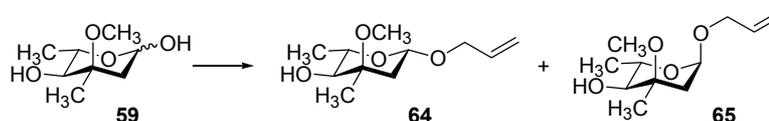
$[\alpha]_D^{20} = +15.6^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1$)

HRMS: m/z für $\text{M} + \text{Na}^+ + \text{MeCN}$

berechnet: 280.1525

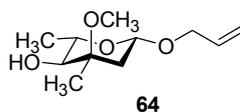
gefunden: 280.1526

Allyl-4-O-acetyl-2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- β -L-ribo-hexopyranosid (64),
Allyl-4-O-acetyl-2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosid (65),



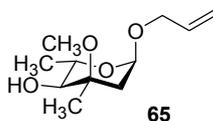
Zu einer Lösung aus Allylalkohol (5 mL, 0.073 mol) und L-Cladinose (**59**) (100 mg, 0.570 mol) wird Acetylchlorid (52 μL , 0.73 mmol) zugegeben, um eine 1%ige methanolische HCl-Lsg. zu erhalten. Das Reaktionsgemisch wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt, danach mit gesättigter NaHCO_3 -Lsg. neutralisiert und mit Essigester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und im Vakuum eingedunstet. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Rohprodukts zeigt ein

α/β -Verhältnis von 1:3.5. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie aufgereinigt (PE/EE 10:1 \rightarrow 5:1).



Ausbeute: 86 mg (0.399 mmol) = 70%; farbloses Öl

Analytische Daten siehe vorherige Arbeitsvorschrift für **64**.



Ausbeute: 25 mg (0.116 mmol) = 20%; farbloses Öl

$R_f = 0.21$ [Kieselgel, PE/EE 5:1];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 5.90$ (dddd, 1H, $J = 17.2, 10.4, 5.5, 4.7$ Hz, CH=), 5.30 (ddt, 1H, $J = 17.2, 1.9$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 5.14 (ddt, 1H, $J = 10.4, 1.7$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 4.74 (d, 1H, $J = 4.5$ Hz, 1-H), 4.18 (ddt 1H, $J = 13.7, 4.5, 1.8$ Hz, OCHH'), 3.91 (dq, 1H, $J = 9.5, 6.3$ Hz, 5-H), 3.89 (ddt, 1H, $J = 13.7, 5.5, 1.6$ Hz, OCHH'), 3.28 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC}-3$), 3.01 (dd, 1H, $J = 9.6$ Hz, 4-H), 2.34 (d, 1H, $J = 10.5$ Hz, OH), 2.29 (dd, 1H, $J = 15.3, 0.9$ Hz, 2_{eq}-H), 1.54 (dd, 1H, $J = 15.3, 4.5$ Hz, 2_{ax}-H), 1.25 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz, 6-H), 1.21 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C}-3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 134.7$ (d, =CH), 115.7 (t, $\text{CH}_2=$), 95.6 (d, C-1), 78.1 (d, C-4), 73.0 (s, C-3), 67.7 (t, OCH_2), $64.7.9$ (d, C-5), 49.3 (q, $\text{CH}_3\text{OC}-3$), 35.2 (t, C-2), 21.8 (q, $\text{CH}_3\text{C}-3$) 17.9 (q, C-6).

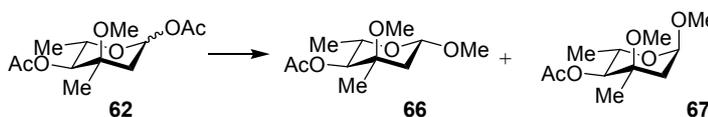
$[\alpha]_D^{20} = -127.2^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1$)

HRMS: m/z für $\text{M} + \text{Na}^+ + \text{MeCN}$

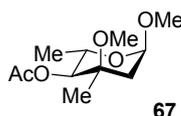
berechnet: 280.1525

gefunden: 280.1516

**Methyl-4-O-acetyl-2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α/β -L-ribo-hexopyranosid
(67, 66)**



62 (1.015 g, 3.90 mmol) wird in wasserfreiem MeOH (18 mL) gelöst. Nach Zugabe von Acetylchlorid (350 μ L, \rightarrow 1% methanolische HCl) wird 20 min bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wird mit NaHCO_3 neutralisiert und das MeOH am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wird in H_2O aufgenommen und die wässrige Lösung mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE:EE 5:1) aufgereinigt.

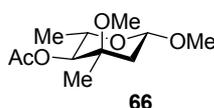


Ausbeute: 132 mg (0,57 mmol) = 15%, gelbliches Öl

R_f = 0.30 [Kieselgel, PE/EE 5:1];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , CDCl_3 = 7.26 ppm): δ = 4.69 (d, 1H, J = 9.8 Hz, 4-H), 4.62 (d, 1H, J = 4.6 Hz, 1-H), 4.23 (dq, 1H, J = 9.8, 6.4 Hz, 5-H), 3.31 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC-1}$), 3.26 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC-3}$), 2.27 (dd, 1H, J = 15.2 Hz, $2_{\text{eq-H}}$), 2.13 (s, 1H, CH_3CO), 1.45 (dd, 1H, J = 15.2, 4.6 Hz, $2_{\text{ax-H}}$), 1.10 (d, 1H, J = 6.4 Hz, 6-H), 1.09 (s, $\text{CH}_3\text{C-3}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , CDCl_3 = 77 ppm): δ = 170.8 (s, COCH_3), 97.6 (d, C-1), 78.6 (d, C-4), 74.3 (s, C-3), 62.9 (d, C-5), 55.0 (q, $\text{CH}_3\text{OC-1}$), 49.9 (q, $\text{CH}_3\text{OC-3}$), 36.2 (t, C-2), 21.4 (q, $\text{CH}_3\text{C-3}$), 21.0 (q, CH_3CO), 17.2 (q, C-6).



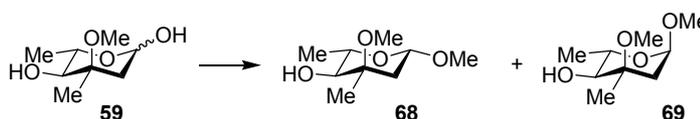
Ausbeute: 484 mg (2.08 mmol) = 53%; gelbliches Öl

$R_f = 0.24$ [Kieselgel, PE/EE 5:1];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.63$ (d, 1H, $J = 9.7$ Hz, 4-H), 4.58 (dd, 1H, $J = 9.6, 1.9$ Hz, 1-H), 3.96 (dq, 1H, $J = 9.7, 6.3$ Hz, 5-H), 3.47 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC-1}$), 3.27 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC-3}$), 2.20 (dd, 1H, $J = 14.2, 1.9$ Hz, $2_{\text{eq-H}}$), 2.12 (s, 1H, CH_3CO), 1.45 (dd, 1H, $J = 14.2, 9.6$ Hz, $2_{\text{ax-H}}$), 1.14 (d, 1H, $J = 6.3$ Hz, 6-H), 1.12 (s, $\text{CH}_3\text{C-3}$).

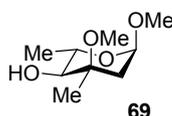
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 170.5$ (s, COCH_3), 99.0 (d, C-1), 78.6 (d, C-4), 74.6 (s, C-3), 67.9 (d, C-5), 56.4 (q, $\text{CH}_3\text{OC-1}$), 49.6 (q, $\text{CH}_3\text{OC-3}$), 39.1 (t, C-2), 21.0 (q, CH_3CO), 20.9 (q, $\text{CH}_3\text{C-3}$) 17.6 (q, C-6).

Methyl-2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α/β -L-ribo-hexopyranosid (69, 68)



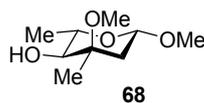
59 (500 mg, 2.8 mmol) wird in wasserfreiem MeOH (10 mL) gelöst. Nach Zugabe von Acetylchlorid (140 μL , $\rightarrow 1\%$ methanolische HCl) wird 30 min bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wird mit gesättigter NaHCO_3 -Lsg. neutralisiert und die wässrige Lösung mit EE extrahiert. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE:EE 5:1) aufgereinigt,

Ausbeute: 300 mg (1.58 mmol) = 56%; $\alpha/\beta = 1:5$, farbloses Öl



$R_f = 0.25$ [Kieselgel, PE/EE 5:1];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.58$ (d, 1H, $J = 4.6$ Hz, 1-H), 3.83 (dq, 1H, $J = 9.4, 6.3$ Hz, 5-H), 3.31 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC-1}$), 3.24 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC-3}$), 2.92 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz, 4-H), 2.33 (d, 1H, $J = 11.0$, OH), 2.25 (dd, 1H, $J = 15.3$ Hz, $2_{\text{eq-H}}$), 1.52 (dd, 1H, $J = 15.3, 4.6$ Hz, $2_{\text{ax-H}}$), 1.23 (d, 1H, $J = 6.3$ Hz, 6-H), 1.21 (s, $\text{CH}_3\text{C-3}$).



$R_f = 0.18$ [Kieselgel, PE/EE 5:1];

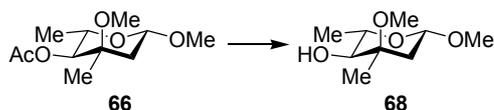
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.46$ (dd, 1H, $J = 9.7, 1.9$ Hz, 1-H), 3.58 (dq, 1H, $J = 9.4, 6.2$ Hz, 5-H), 3.46 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC-1}$), 3.24 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC-3}$), 2.98 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz, 4-H), 2.22 (dd, 1H, $J = 14.4, 1.9$ Hz, $2_{\text{eq-H}}$), 2.12 (d, 1H, $J = 10.9$, OH), 1.35 (dd, 1H, $J = 14.4, 9.7$ Hz, $2_{\text{ax-H}}$), 1.29 (d, 1H, $J = 6.2$ Hz, 6-H), 1.23 (s, $\text{CH}_3\text{C-3}$).

HRMS: m/z für $\text{M} + \text{Na}^+$

berechnet: 213,1103

gefunden: 213,1098

Methyl-2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- β -L-ribo-hexopyranosid (68)

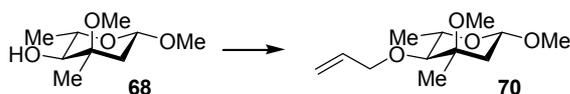


66 (484 mg, 2.08 mmol) wird in wasserfreiem Methanol (10 mL) gelöst, Natriummethylat (57 mg, 1.04 mmol, 0.5 Äquiv.) hinzugefügt und 5 h bei RT gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 5:1). Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingedunstet und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 5:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 316 mg (1.66 mmol) = 70%; farbloses Öl

Analytische Daten siehe vorherige Arbeitsvorschrift für **68**

Methyl-4-O-allyl-2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- β -L-ribo-hexopyranosid (70)



68 (184 mg, 0.97 mmol) wird in wasserfreiem MeCN (10 mL) unter N_2 gelöst. Ag_2O (670 mg, 3 Äquiv.) und Allyliodid (35 μL , 4 Äquiv.) werden zugegeben. Bei 45°C wird über

Nacht gerührt. Dann werden erneut Ag_2O (350 mg, 1.5 Äquiv.) und Allyliodid (17 μL , 2 Äquiv.) zugegeben und 2 h bei 95°C gerührt. Das Reaktionsgemisch wird über Kieselgur filtriert und mit $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:1 nachgewaschen. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE:EE 5:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 100 mg (0.44 mmol) = 46%; farbloses Öl

$R_f = 0.22$ [Kieselgel, PE/EE 5:1];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 5.92$ (dddd, 1H, $J = 17.2, 10.3, 6.0$ Hz, $\text{CH}=\text{}$), 5.21 (ddd, 1H, $J = 17.2, 1.6$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 5.14 (ddd, 1H, $J = 10.3, 1.8, 1.1$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 4.55 (dd, 1H, $J = 9.7, 2.1$ Hz, 1-H), 4.17 (ddt, 1H, $J = 12.2, 6.0, 1.3$ Hz, OCHH'), 4.06 (ddt, 1H, $J = 12.2, 6.0, 1.3$ Hz, OCHH'), 3.89 (dq, 1H, $J = 9.4, 6.4$ Hz, 5-H), 3.45 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC}-1$), 3.27 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC}-3$), 2.82 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz, 4-H), 2.12 (dd, 1H, $J = 14.0, 2.1$ Hz, 2_{eq}-H), 1.34 (dd, 1H, $J = 14.0, 9.7$ Hz, 2_{ax}-H), 1.29 (d, 1H, $J = 6.4$ Hz, 6-H), 1.24 (s, $\text{CH}_3\text{C}-3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 134.8$ (d, $=\text{CH}$), 117.2 (t, $\text{CH}_2=\text{}$), 99.0 (d, C-1), 87.0 (d, C-4), 75.1 (t, $\text{CH}_2\text{O}-\text{C}4$), 75.1 (s, C-3), 69.3 (d, C-5), 56.4 (q, $\text{CH}_3\text{OC}-3$), 49.8 (q, $\text{CH}_3\text{OC}-1$), 39.9 (t, C-2), 21.1 (q, $\text{CH}_3\text{C}-3$) 18.4 (q, C-6).

$[\alpha]_D^{20} = -18.3^\circ$ ($c = 1$; CH_3Cl)

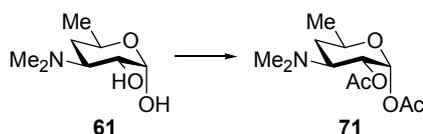
HRMS: m/z für $\text{M} + \text{Na}^+$

berechnet: 253.1416

gefunden: 253.1417

7.2.5 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.3.2

1,2-O-Diacetyl-3-dimethylamino-3,4,6-tridesoxy- α -D-xylo-hexopyranose (71)



Zu **61** (500 mg, 2.85 mmol) werden unter N₂ in wasserfreiem CH₂Cl₂ (10 mL) gelöst. Zu dieser Lösung werden Triethylamin (0.58 mL, 1.5 Äquiv.) und Essigsäureanhydrid (0.41 mL, 1.5 Äquiv.) hinzugefügt. Nach der Zugabe von 4-DMAP (4 mg) wird 1 h bei RT gerührt (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/MeOH 10:1). Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingeeengt und mittels Säulenchromatographie (CH₂Cl₂/MeOH 10:1) zum Produkt **71** aufgereinigt.

Ausbeute: 185 mg (0.713 mmol) = 25%, α/β = 6:1; farblose Kristalle

R_f = 0.44 [Kieselgel, PE/EE (5:1)];

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.55 (d, 1H, J = 7.7 Hz, 1-H), 4.96 (dd, 1H, J = 10.4, 7.7, 2-H), 3.72 (ddd, 1H, J = 10.4, 6.2, 2.0 Hz, 3-H), 3.12 (m, 1H, 5-H), 2.39 (s, 6H, N(CH₃)₂), 2.05 u. 2.04 (2x s, 2x 3H, 2x CH₃CO), 1.92 (ddd, 1H, J = 12.9 Hz, 4_{eq}-H), 1.94 (ddd, 1H, J = 12.9 Hz, 4_{ax}-H), 1.25 (d, 3H, J = 6.0 Hz, 6-H).

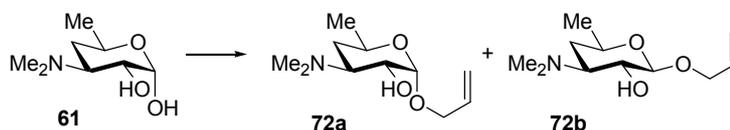
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 170.4, 168.9 (2x s, 2x COCH₃), 92.4 (d, C-1), 70.5 (d, C-2), 68.5 (d, C-5), 63.9 (d, C-3), 40.3 u. 40.2 (2x q, N(CH₃)₂), 32.3 (t, C-4), 21.4, 20.7 (q, COCH₃), 20.5 (q, C-6).

HRMS: m/z für M + Na⁺

berechnet: 259.1420

gefunden: 259.1415

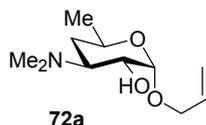
Allyl-3-dimethylamino-3,4,6-tridesoxy- α/β -D-xylo-hexopyranosid (**72a**, **72b**)



Zu einer Lösung aus Allylalkohol (100 mL) und D-Desosamin (**61**) (2 g, 9.45 mmol) wird Acetylchlorid (50 mL) zugegeben, um eine 7N methanolische HCl-Lsg. zu erhalten. Das Reaktionsgemisch wird 24 h unter Rückfluss erhitzt und im Vakuum bis zur Trockene eingeeengt. Das Rohprodukt wird in Methanol gelöst und solange Triethylamin zugefügt, bis die Lösung basisch wird. Die Reaktionslösung wird bis zur Trockene eingeeengt und mittels Kugelrohrdestillation aufgereinigt (100°C, 4*10⁻¹ mbar). Das untrennbare

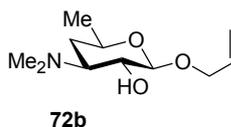
Anomerengemisch kann aber auch ohne weitere Aufreinigung in den folgenden Reaktionen eingesetzt werden.

Ausbeute: 1.77 g (8.22 mmol) = 87%; α/β = 2.5:1, farbloses Öl



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.90 (dddd, 1H, J = 17.2, 10.4, 6.2, 5.4 Hz, CH=), 5.30-5.24 (m, 1H, CHH'=CH-), 5.16-5.11 (m, 1H, CHH'=CH-), 4.93 (d, 1H, J = 3.6 Hz, 1-H), 4.16 (ddt 1H, J = 12.9, 5.4, 1.4 Hz, OCHH'), 4.02 (ddt 1H, J = 12.9, 6.1, 1.3 Hz, OCHH'), 3.88 (dddd, 1H, J = 17.5, 6.3, 2.1 Hz, 5-H), 3.49 (dd, 1H, J = 10.7, 3.6 Hz, 2-H), 3.13 (s, 1H, OH), 2.89 (ddd, 1H, J = 12.5, 10.7, 3.8 Hz, 3-H), 2.23 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.67 (ddd, 1H, J = 12.5, 3.6, 2.1 Hz, 4_{eq}-H), 1.26-1.19 (m, 1H, 4_{ax}-H), 1.13 (d, 3H, J = 6.3 Hz, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 134.12 (d, =CH), 117.2 (t, CH₂=), 97.6 (d, C-1), 68.5 (d, C-2), 68.1 (t, OCH₂), 64.9 (d, C-5), 60.3 (d, C-3), 39.8 (q, N(CH₃)₂), 29.3 (t, C-4), 21.1 (q, C-6).



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.92 (dddd, 1H, J = 17.3, 10.5, 6.5, 5.4 Hz, CH=), 5.30-5.24 (m, 1H, CHH'=CH-), 5.16-5.11 (m, 1H, CHH'=CH-), 4.32 (ddt, 1H, J = 12.7, 5.4, 1.5 Hz, OCHH'), 4.25 (d, 1H, J = 7.3 Hz, 1-H), 4.09 (ddt 1H, J = 12.7, 6.5, 1.3 Hz, OCHH'), 3.53-3.46 (m, 1H, 5-H), 3.24 (dd, 1H, J = 10.3, 7.3 Hz, 2-H), 3.13 (s, 1H, OH), 2.47 (ddd, 1H, J = 12.3, 10.3, 4.0 Hz, 3-H), 2.23 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.63 (ddd, 1H, J = 12.8, 4.0, 2.1 Hz, 4_{eq}-H), 1.26-1.19 (m, 1H, 4_{ax}-H), 1.21 (d, 3H, J = 6.3 Hz, 6-H).

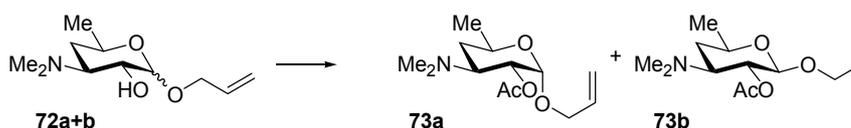
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 134.2 (d, =CH), 117.2 (t, CH₂=), 102.9 (d, C-1), 69.8 (d, C-2), 69.6 (t, OCH₂), 69.5 (d, C-5), 65.2 (d, C-3), 40.2 (q, N(CH₃)₂), 28.6 (t, C-4), 21.1 (q, C-6).

HRMS: m/z für $M + H^+$; (α/β -Gemisch)

berechnet: 216.1600

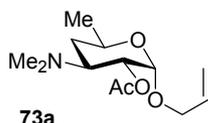
gefunden: 216.1596

Allyl-2-O-acetyl-3-dimethylamino-3,4,6-tridesoxy- α/β -D-xylo-hexopyranosid (73a, b)



Allyl-D-desosamin **72a+b** ($\alpha/\beta = 2.5:1$) (630 mg, 2.93 mmol) wird unter N_2 in wasserfreiem CH_2Cl_2 (10 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wird Triethylamin (830 μL , 2.0 Äquiv.) und Essigsäureanhydrid (600 μL , 2.0 Äquiv.) hinzugefügt. Nach der Zugabe von 4-DMAP (5 mg) wird 3 h bei RT gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1). Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingeeengt. Mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1) wird ein untrennbares Anomerengemisch aus **73a** und **73b** erhalten.

Ausbeute: 574 mg (2.23 mmol) = 76%; farbloses Öl



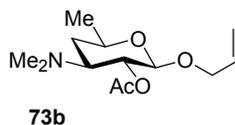
1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 5.86$ (dddd, 1H, $J = 16.0, 10.4, 6.0, 5.0$ Hz, $CH=$), 5.27 (ddt, 1H, $J = 16.0, 1.6$ Hz, $CHH'=CH-$), 5.16 (ddt, 1H, $J = 10.4, 1.6$ Hz, $CHH'=CH-$), 4.92 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz, 1-H), 4.87 (dd, 1H, $J = 11.0, 3.6$ Hz, 2-H), 4.14 (ddt, 1H, $J = 13.3, 5.1, 1.5$ Hz, $OCHH'$), 3.98 - 3.90 (m, 1H, 5-H), 3.98 (ddt, 1H, $J = 13.3, 6.1, 1.4$ Hz, $OCHH'$), 3.20 (ddd, 1H, $J = 12.2, 11.0, 4.2$ Hz, 3-H), 2.27 u. 2.26 (2x s, 2x 3H, $N(CH_3)_2$), 2.05 (s, 3H, $COCH_3$), 1.79 (ddd, 1H, $J = 13.0, 4.2, 2.2$ Hz, 4_{eq} -H), 1.36 (ddd, 1H, $J = 13.0, 11.0, 2.9$ Hz, 4_{ax} -H), 1.17 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77$ ppm): $\delta = 170.5$ (s, $COCH_3$), 134.0 (d, $=CH$), 117.2 (t, $CH_2=$), 95.6 (d, C-1), 70.5 (d, C-2), 67.9 (t, OCH_2), 64.3 (d, C-5), 57.4 (d, C-3), 40.3 u. 40.2 (2x q, $N(CH_3)_2$), 32.2 (t, C-4), 21.2 (q, $COCH_3$), 20.9 (q, C-6).

HRMS: m/z für $M + H^+$

berechnet: 258.1705

gefunden: 258.1713



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm) δ = 5.82 (dddd, 1H, J = 16.2, 10.5, 6.0, 4.8 Hz, CH=), 5.27 (ddt, 1H, J = 16.2, 1.7 Hz, CHH'=CH-), 5.12 (ddt, 1H, J = 10.5, 1.7 Hz, CHH'=CH-), 4.85 (dd, 1H, J = 10.5, 7.7 Hz, 2-H), 4.33 (d, 1H, J = 7.5 Hz, 1-H), 4.29 (ddt, 1H, J = 13.4, 4.8, 1.6 Hz, OCHH'), 4.03 (ddt, 1H, J = 13.4, 6.0, 1.4 Hz, OCHH'), 3.53 (dddd, 1H, J = 17.1, 6.3, 2.0 Hz, 5-H), 2.78 (ddd, 1H, J = 12.3, 10.5, 4.3 Hz, 3-H), 2.27 u. 2.26 (2x s, 2x 3H, N(CH₃)₂), 2.09 (s, 3H, COCH₃), 1.75 (ddd, 1H, J = 13.0, 4.3, 2.0 Hz, 4_{eq}-H), 1.43-1.34 (m, 1H, 4_{ax}-H), 1.21 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.18 (d, 3H, J = 6.3 Hz, 6-H).

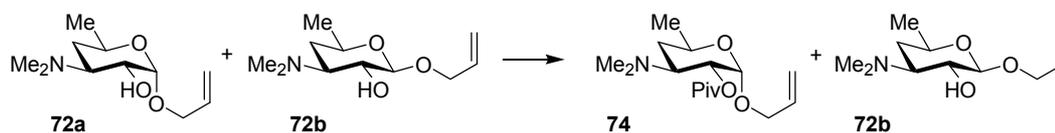
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 170.0 (s, COCH₃), 134.1 (d, =CH), 116.6 (t, CH₂=), 101.1 (d, C-1), 70.6 (d, C-2), 69.3 (t, OCH₂), 69.2 (d, C-5), 62.8 (d, C-3), 40.3 u. 40.2 (2x q, N(CH₃)₂), 30.8 (t, C-4), 21.2 (q, COCH₃), 21.0 (q, C-6).

HRMS: m/z für $M + H^+$

berechnet: 258.1705

gefunden: 258.1713

Allyl-2-O-pivaloyl-3-dimethylamino-3,4,6-trideoxy- α -D-xylo-hexopyranosid (74)



Allylidesosamin **72a+b** (α/β = 2.5:1) (50 mg, 0.232 mmol) wird in wasserfreiem Pyridin (2 mL) und Pivaloylchlorid (57 μ L, 2.2 Äquiv.) gelöst und 4 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingeeengt.

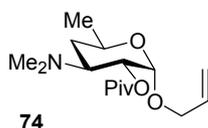
Aufreinigung A:

Das Produkt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1 → EE) vom β -Anomer getrennt. Das β -Anomer kann mit MeOH von der Säule gewaschen werden.

Aufreinigung B:

Das Reaktionsgemisch wird in H₂O aufgenommen und mit Essigester mehrmals extrahiert. (Das β -Anomer **72b** verbleibt in der wässrigen Phase.) Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO₄ getrocknet, im Vakuum eingeeengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1 → EE) aufgereinigt.

Ausbeute: 41 mg (0.137 mmol) = 83%; farbloses Öl



$R_f = 0.33$ [Kieselgel, CH₃CN/EE 1:1];

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 5.86$ (dddd, 1H, $J = 17.2, 10.4, 6.0, 5.2$ Hz, CH=), 5.29 (ddt, 1H, $J = 17.2, 1.7$ Hz, CHH'=CH-), 5.16 (ddt, 1H, $J = 10.4, 1.5$ Hz, CHH'=CH-), 4.91 (d, 1H, $J = 3.8$ Hz, 1-H), 4.84 (dd, 1H, $J = 10.9, 3.8$ Hz, 2-H), 4.15 (ddt, 1H, $J = 13.2, 5.2, 1.5$ Hz, OCHH'), 4.00 - 3.93 (m, 1H, 5-H), 3.94 (ddt, 1H, $J = 13.2, 6.0, 1.4$ Hz, OCHH'), 3.17 (ddd, 1H, $J = 12.2, 11.2, 4.2$ Hz, 3-H), 2.29 (s, 6H, N(CH₃)₂), 1.77 (ddd, 1H, $J = 13.0, 4.2, 2.3$ Hz, 4_{eq}-H), 1.38 (ddd, 1H, $J = 13.0, 11.2, 2.9$ Hz, 4_{ax}-H), 1.21 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.17 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): $\delta = 178.0$ (s, COC(CH₃)₃), 134.2 (d, =CH), 117.0 (t, CH₂=), 95.9 (d, C-1), 70.7 (d, C-2), 68.2 (t, OCH₂), 64.4 (d, C-5), 57.6 (d, C-3), 40.7 (q, N(CH₃)₂), 38.7 (s, C(CH₃)₃), 34.0 (t, C-4), 27.2 (q, C(CH₃)₃), 21.0 (q, C-6).

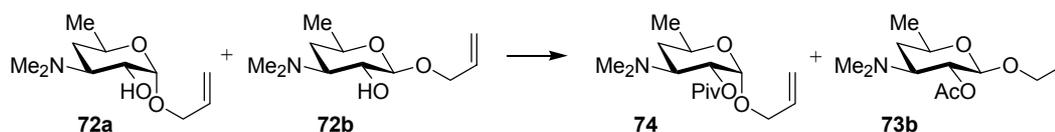
$[\alpha]_D^{20} = +110.0^\circ$ (c = 1, CHCl₃);

HRMS: m/z für M + H⁺

berechnet: 300.2175

gefunden: 300.2183

Allyl-2-O-pivaloyl-3-dimethylamino-3,4,6-tridesoxy- α -D-xylo-hexopyranosid (74) und Allyl-2-O-acetyl-3-dimethylamino-3,4,6-tridesoxy- β -D-xylo-hexopyranosid (73b)

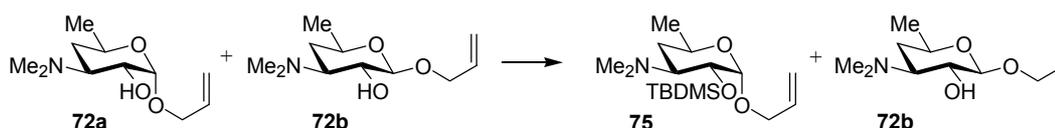


Allyl-D-desosamin **72a+b** ($\alpha/\beta = 2.5:1$) (100 mg, 0.464 mmol) wird in Pyridin (5 mL) und Pivaloylchlorid (90 μ L, 2.2 Äquiv. bezogen auf das α -Anomer) gelöst und 14 h bei RT gerührt. Zu dieser Lösung wird Essigsäureanhydrid (32 μ L, 2.5 Äquiv. bezogen auf das β -Anomer) hinzugefügt und weitere 14 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingeeengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1 \rightarrow EE) aufgereinigt.

Ausbeute: 78 mg (0.261 mmol) = 79% (**74**, bezogen auf eingesetztes α -Anomer);
25 mg (0.098 mmol) = 74% (**73b**, bezogen auf eingesetztes β -Anomer),
nicht anomerenrein;

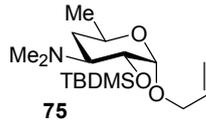
Analytische Daten siehe vorherige Arbeitsvorschriften für **74** und **73b**.

Allyl-2-O-tert-butyl(dimethylsilyl)-3-dimethylamino-3,4,6-tridesoxy- α -D-xylo-hexopyranosid (75)



Allyl-D-desosamin **72a+b** ($\alpha/\beta = 2.5:1$) (50 mg, 0.232 mmol), Imidazol (47.4 mg, 3 Äquiv.) und 4-DMAP (katalytisch) werden in DMF (2 mL) gelöst. Bei 0°C wird langsam TBDMSO (128 mg, 2.0 Äquiv.) zugegeben und innerhalb von 4 h auf RT erwärmt. Das Reaktionsgemisch wird mit Hexan mehrmals extrahiert. (Das β -Anomer verbleibt in der wässrigen Phase.) Die vereinigten organischen Phasen werden im Vakuum eingeeengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1 \rightarrow EE) aufgereinigt.

Ausbeute: 39 mg (0.118 mmol) = 71%; farbloses Öl



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 5.95$ (dddd, 1H, $J = 17.2, 10.3, 6.3, 5.4$ Hz, $\text{CH}=\text{}$), 5.31 (ddt, 1H, $J = 17.2, 1.8$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 5.17 (ddt, 1H, $J = 10.3, 1.8$ Hz, $\text{CHH}'=\text{CH}-$), 4.75 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz, 1-H), 4.17 (ddt 1H, $J = 12.8, 5.4, 1.4$ Hz, OCHH'), 3.97 (ddt 1H, $J = 12.8, 6.3, 1.4$ Hz, OCHH'), 3.92 (dddd, 1H, $J = 17.6, 6.3, 2.0$ Hz, 5-H), 3.68 (dd, 1H, $J = 10.4, 3.6$ Hz, 2-H), 2.98 (ddd, 1H, $J = 12.1, 10.4, 4.1$ Hz, 3-H), 2.33 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.72 (ddd, 1H, $J = 13.0, 2.0$ Hz, 4_{eq}-H), 1.38 (m, 1H, 4_{ax}-H), 1.16 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H), 0.89 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$), $0.08, 0.06$ (d, 6H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 134.5$ (d, $=\text{CH}$), 117.2 (t, $\text{CH}_2=$), 99.2 (d, C-1), 71.5 (d, C-2), 68.4 (t, OCH_2), 64.3 (d, C-5), 59.8 (d, C-3), 40.8 (q, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 33.2 (t, C-4), 26.0 (q, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$), 21.1 (q, C-6), 27.2 (q, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 18.2 (s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$), -4.0 u. -4.3 (2 x q, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2[\text{C}(\text{CH}_3)_3]$).

$[\alpha]_D^{20}$ = $+97.5^\circ$ ($c = 1, \text{CHCl}_3$);

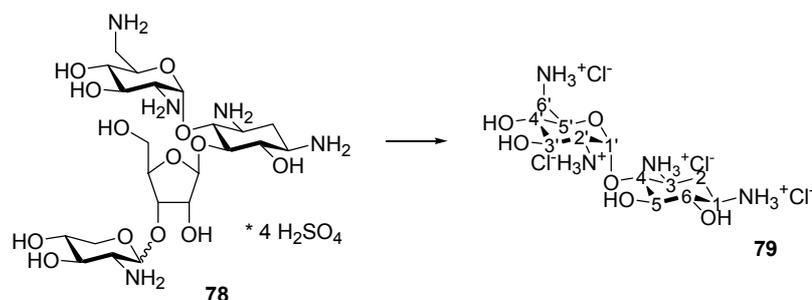
HRMS: m/z für $\text{M} + \text{H}^+$

berechnet: 330.2464

gefunden: 300.2455

7.2.6 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.1

Neaminhydrochlorid (79)



A: Eine Lösung aus Neomycinsulfat (**78**) (20.0 g, 20.8 mmol) in Methanol (500 mL) wird bis zum Sieden erhitzt, tropfenweise konz. HCl (15.2 mL, 18 g, 12.1N)

zugegeben und 6 h unter Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird auf RT abgekühlt, auf die Hälfte des Volumens eingeeengt und auf 0°C heruntergekühlt. Der Niederschlag wird abfiltriert und getrocknet.

Ausbeute: 8.8 g (18.9 mmol) = 91%; farbloser Feststoff

B: Trockenes Neomycinsulfat (**78**) (10.0 g, 11.0 mmol) wird mit 1N methanolischer HCl (300 mL) für 24 h unter Rückfluss gerührt (DC-Kontrolle: n-Butanol/Pyridin/H₂O/Eisessig 5:5:3:2 auf Cellulose). Das ausgefallene Rohprodukt wird abfiltriert, mehrmals mit kaltem Ethanol waschen und mittels Umkristallisierung aus Methanol/H₂O aufgereinigt.

Ausbeute: 5 g (10.7 mmol)= 97%; farbloser Feststoff

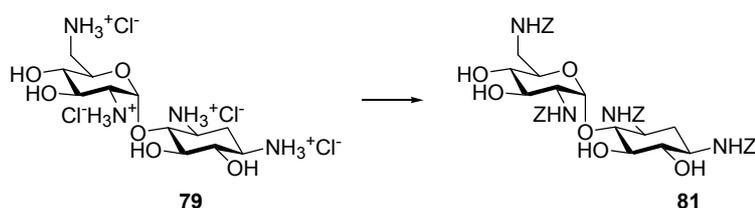
$R_f = 0.22$ [Cellulose, n-Butanol/Pyridin/H₂O/Eisessig 5:5:3:2];

¹H-NMR (400 MHz, D₂O, TSP-d₄ = 0.0 ppm): $\delta = 5.96$ (d, 1H, $J = 3.9$, 1'-H), 4.09-4.01 (m, 3H, 4-H, 3'-H u. 5'-H), 3.75 (dd, 1H, $J = 9.6, 9.0$, H-5), 3.64 (dd, 1H, $J = 10.0, 9.7$, H-6), 3.59 (ddd, 1H, $J = 12.6, 10.4, 3.8$, 3-H), 3.54-3.48 (m, 3H, 2'-H, 4'-H u. 6'-H), 3.39 (ddd, 1H, $J = 12.3, 10.0, 4.3$, 1-H), 3.30 (dd, 1H, $J = 13.6, 7.3$, 6'-H'), 2.53 (ddd, 1H, $J = 12.6, 4.1, 2-H_{ax}$), 1.95 (ddd, 1H, $J = 12.6, 12.3, 2-H_{eq}$).

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O, TSP-d₄ = 0.0 ppm): $\delta = 98.6$ (d, C-1'), 80.6 (d, C-4), 77.9 (d, C-5), 75.3 (d, C-6), 73.5 (d, C-2'), 71.9 (d, C-5'), 71.1 (d, C-3'), 56.4 (d, C-4'), 52.7 (d, C-1), 51.3 (d, C-3), 43.0 (t, C-6'), 31.3 (t, C-2).

7.2.6 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.2

Z-geschütztes Neamin (81)



79 (22.42 g, 48.1 mmol) wird in einer gesättigten, wässrigen Na₂CO₃-Lösung (115 mL) gelöst. Über 30 min. wird tropfenweise eine Lösung von Benzyloxycarbonylchlorid (ZCl) (30.7 mL, 36.8 g, 215.7 mmol, 4.5 Äquiv.) in Aceton (86 mL) und Toluol (11.5 mL) zugegeben. Das Gemisch wird über Nacht bei 4°C gerührt. Der Niederschlag wird abfiltriert und beim Zerkleinern mit HCl (1N) neutralisiert. Der weiße Feststoff wird 2 d im Vakuum getrocknet und ohne weitere Aufreinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Ausbeute: 34.8 g (40.9 mmol) = 85%; farbloser Feststoff

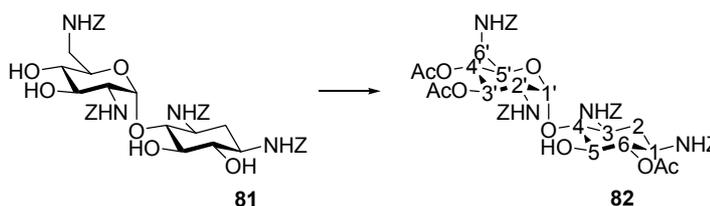
Smp.: 250°C;

HRMS: *m/z* für M + Na⁺

berechnet: 881.3221

gefunden: 881.3264

Acetylierung des z-geschützten Neamins **81** zu **82**



Zu einer Lösung aus **81** (34.78 g, 40.58 mmol) in Pyridin (68 mL) wird bei gleich bleibender Temperatur tropfenweise Essigsäureanhydrid (14 mL, 148.1 mmol, 3.6 Äquiv.) in DMF (51 mL) zugegeben. Die Lösung wird über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit wässriger HCl (1 N) angesäuert und der entstandene Feststoff in EtOAc aufgenommen. Die org. Phase wird mit ges. Na₂CO₃-Lösung neutralisiert, mit H₂O (2x) und mit ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die org. Phase wird über MgSO₄ getrocknet, eingengt bis ein weißer Feststoff ausfällt und dieser abfiltriert.

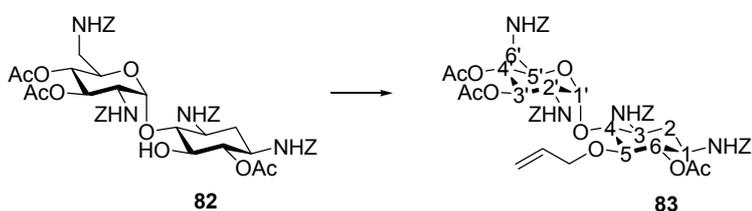
Ausbeute: 11.95 g (12.2 mmol) = 30%; farbloser Feststoff

R_f = 0.22 [Kieselgel, Toluol/Aceton (9:1)];

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 171.8, 170.7 (s, COCH₃), 156.7, 156.2, 155.7 (s, COCH₂Ph), 136.5, 136.4, 136.3, 136.2 (s, Ph), 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 128.0 (d, Ph), 96.5 (d, C-1'), 81.6 (d, C-4), 77.2 (d, C-6), 76.1 (d, C-5), 70.9 (d, C-3'), 69.7 (d, C-4'), 69.6 (d, C-5'), 67.1, 66.8, 66.7 (t, COCH₂Ph), 50.3 (d, C-2'), 49.6, 49.5 (d, C-1 u. C-3), 30.9 (t, C-2), 20.8, 20.6, 20.5 (q, CH₃CO).

Smp.: 213-214°C;

Allylierung des geschützten Neamins **82** zu **83**



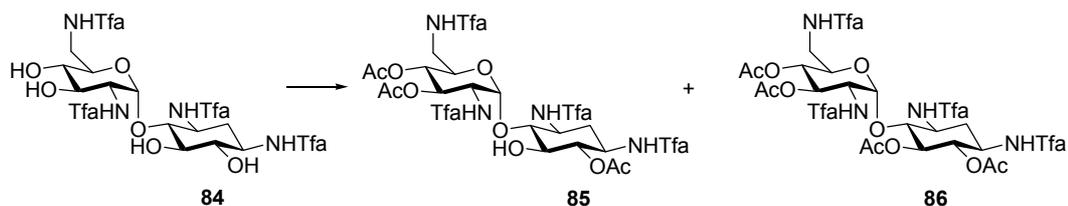
Zu einer Lösung aus **82** (5 g, 5.1 mmol) und Tetrabutylammoniumiodid (2.1 g, 5.65 mmol) in DMSO (15 mL) wird Allylbromid (560 µL, 6.43 mmol, 1.26 Äquiv.) zugegeben. Nach 5 min bei RT wird unter starkem Rühren Lithiumbis(trimethylsilyl)amid 1M in THF (6.6 mL, 34.37 mmol, 6.74 Äquiv.) auf einmal zugefügt. Die Reaktionslösung wird mit EtOAc (150 mL) versetzt und mit HCl (1N, 2x 100 mL), ges. NaHCO₃ (2x 100 mL), H₂O (2x 100 mL) und ges. NaCl (100 mL) gewaschen. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (Toluol/Aceton 6:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 2.17 g (2.1 mmol) = 42%; farbloser Feststoff

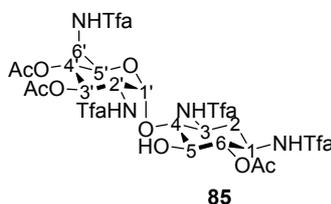
R_f = 0.66 [Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH (15:1)];

IR (Golden Gate ART): ν = 1741 (COCH₂Ph), 1689 (COCH₃) cm⁻¹;

¹³C-NMR (50 MHz, DMSO, DMSO = 39.6 ppm): δ = 169.5, 169.1 (s, COCH₃), 156.4, 155.9, 155.5 (s, COCH₂Ph), 137.2, 137.0, 134.6 (s, Ph), 134.5 (d, CH=), 128.3, 128.2, 127.7, 127.6, 127.5, 127.2 (d, Ph), 115.9 (d, CH₂=), 96.9 (d, C-1'), 82.0 (d, C-4), 77.1 (d, C-6), 76.1 (d, C-5), 72.9 (t, OCH₂), 71.3 (d, C-3'), 68.8 (d, C-4'), 67.8 (d, C-5'), 65.5, 65.4, 65.1 (t, COCH₂Ph), 53.2 (d, C-2'), 49.6, 48.9 (d, C-1 u. C-3), 40.7 (t, C-6'), 33.7 (t, C-2), 20.5, 20.2 (q, CH₃CO).

Acetylierung der Hydroxygruppen von 84

In einem 100 mL Kolben wird zu einer Lösung aus **84** (1.01 g, 1.429 mmol) in Pyridin (5 mL) bei RT und unter Stickstoff-Atmosphäre tropfenweise Essigsäureanhydrid (0.7 mL, 7.4 mmol, 5.2 Äquiv.) zugegeben. Die Lösung wird über Nacht bei RT gerührt. Das Gemisch wird mit HCl (1N) angesäuert und der entstandene Feststoff in Essigester aufgenommen. Die organische Phase wird abgetrennt und mit gesättigter Na₂CO₃-Lösung neutralisiert. Dann wird mit H₂O (2x) und mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet, eingengt und im Vakuum getrocknet, dabei fällt ein weißer Feststoff aus. Anschließend wird das Rohprodukt mit Hilfe von Säulenchromatographie (PE:EE 4:1 → 2:1) aufgereinigt.



Ausbeute: 607 mg (0.729 mmol) = 51%; farbloser Feststoff

R_f = 0.65 [Kieselgel, PE/EE (1:1)];

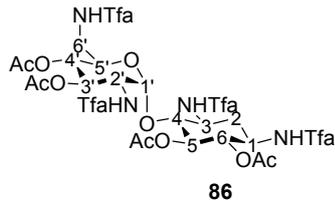
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 172.3, 171.8, 171.3 (3x s, 3x COCH₃), 159.6 -159.2 (4x s, 4x COCF₃), 117.5, 117.4, 117.3 (4x q, 4x COCF₃), 99.3 (d, C-1'), 82.0 (d, C-4), 76.9 (d, C-5'), 75.3 (d, C-4'), 72.1 (d, C-1), 70.0 (d, C-6), 69.8 (d, C-5), 53.9 (d, C-2), 50.5 (d, C-3), 40.4 (t, C-6'), 32.5 (t, C-2'), 20.7, 20.6, 20.4 (3x q, 3x COCH₃)

Smp.: 160°C;

HRMS: *m/z* für M + MeCN + Na⁺

berechnet: 855.1359

gefunden: 855.1343



Ausbeute: 362 mg (0.414 mmol) = 29%; farbloser Feststoff

$R_f = 0.85$ [Kieselgel, PE/EE (1:1)];

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 171.3, 171.2, 170.8, 170.3$ (4x s, 4x COCH_3), $158.1-157.2$ (4x s, 4x COCF_3), $117.2-116.8$ (4x q, 4x COCF_3), 96.5 (d, C-1'), 76.2 (d, C-5'), 75.0 (d, C-4'), 69.1 (d, C-4), 68.0 (d, C-1), 67.9 (d, C-6), 69.8 (d, C-5), 52.4 (d, C-2'), 48.9 (d, C-3), 39.0 (t, C-6'), 31.9 (t, C-2), $21.0, 20.4, 20.3, 20.2$ (4x q, 4x COCH_3)

Smp.: 155-156°C;

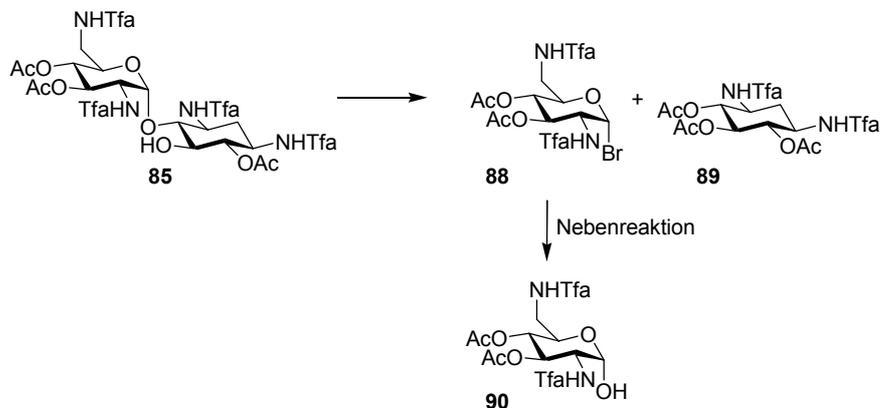
HRMS: m/z für $(\text{M} + \text{MeCN} + \text{Na}^+)$

berechnet: 897.1465

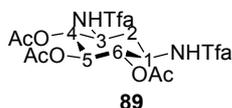
gefunden: 897.1432

7.2.7 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.3

Hydrolyse des geschützten Neamins 85



85 (306 mg, 0.35 mmol) wird mit 33%iger HBr/Essigsäure (30 mL) versetzt und über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 4:1 → 2:1) aufgereinigt.



Ausbeute: 60 mg (0,15 mmol) = 43%; farbloser Feststoff

$R_f = 0.27$ [Kieselgel, PE/EE (2:1)];

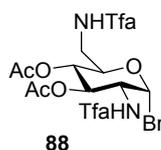
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO, DMSO = 2,50 ppm): $\delta = 9.52$ (d, 2H, $J = 8.9$ Hz, 2x NH), 5.30 (dd, 1H, $J = 10.0$, Hz, 5-H), 4.98 (t, 2H, $J = 10.0$ Hz, 4-H u. 6-H), 4.44-4.35 (m, 2H, 1-H u. 3 H), 2.09 (ddd, 1H, $J = 12.8$ Hz, 2- H_{eq}), 1.98 -1.84 (m, 10H, 3x CH_3CO u. 2- H_{ax})

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO, DMSO = 39.5 ppm): $\delta = 169.4$ (s, $\text{H}_3\text{CCOOC-4}$, $\text{H}_3\text{CCOOC-6}$), 169.2 (s, $\text{H}_3\text{CCOOC-5}$), 155.9 (s, 2 x COCF_3), 115.7 (s, 2 x COCF_3), 72.6 (d, C-6 u. C-4), 71.3 (d, C-5), 47.1 (d, C-1 u. C-3), 30.4 (t, C-2), 20.2 (q, $\text{CH}_3\text{COOC-5}$), 20.05 (q, $\text{CH}_3\text{COOC-4}$ u. $\text{CH}_3\text{COOC-6}$)

HRMS: m/z für $\text{M} + \text{K}^+$

berechnet: 519.0604

gefunden: 519.0609



Ausbeute: 77 mg (0,15 mmol) = 42%; gelblicher Feststoff

$R_f = 0.44$ [Kieselgel, PE/EE (2:1)];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.75$ (d, 2H, $J = 3.9$ Hz, 2x NH), 6.52 (d, 1H $J = 3.9$ Hz, 1-H), 5.40 (dd, 1H, $J = 10.6$, 9.3 Hz, 3-H), 5.04 (dd, 1H $J = 10.0$, 9.3 Hz, 4-H), 4.31 (ddd, 1H $J = 10.6$, 8.1, 3.9 Hz, 2-H), 4.22 (ddd, 1H, $J = 10.0$, 5.5, 2.6 Hz, 5-H),

3.87 (ddd, 1H, $J = 14.9, 7.2, 2.6$ Hz, 6-H), 3.41 (ddd, 1H, $J = 14.9, 5.5$ Hz, 6-H'), 2.14, 2.07 (2x s, 2x 3H, 2x CH_3CO)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 171.7, 171.5$ (2x s, 2x COCH_3), 159.3, 159.2 (2x s, 2x COCF_3), 117.5, 117.4 (q, COCF_3), 89.0 (d, C-1), 73.2 (d, C-5), 70.5 (d, C-3), 67.9 (d, C-4), 54.7 (d, C-2), 39.3 (t, C-6), 20.9, 20.8 (2x q, 2x COCH_3)

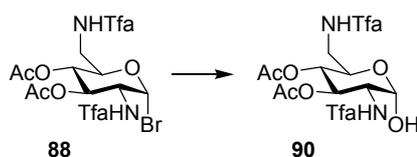
HRMS: m/z für $\text{M} - \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$

berechnet: 532.9994

gefunden: 532.9987

Nebenreaktion:

Ist das Rohprodukt der normalen Luftfeuchtigkeit ausgesetzt, so wird folgendes Produkt erhalten:



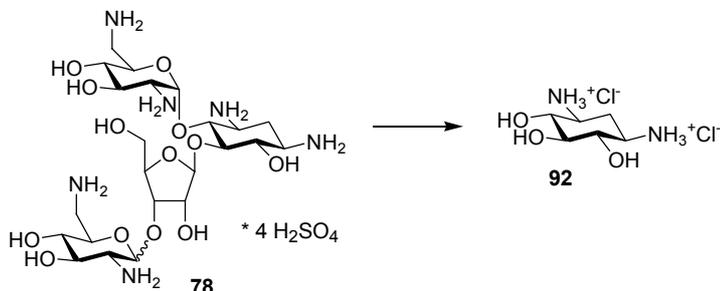
$R_f = 0.28$ [Kieselgel, PE/EE (3:1)];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OD} = 3.3$ ppm): $\delta = 5.24$ (dd, 1H, $J = 10.5, 9.3$ Hz, 3-H), 4.87-4.84 (m, 1H, unter DHO-Peak, 4-H), 4.58 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, 1-H), 3.92 (dd, 1H, $J = 10.5, 8.5$ Hz, 2-H), 3.76 (ddd, 1H, $J = 10.0, 5.7, 4.2$ Hz, 5-H), 3.51 (d, 2H, $J = 1.8$ Hz, 6-H u. 6-H'), 2.03, 1.95 (2x s, 2x 3H, 2x CH_3CO)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD , $\text{CD}_3\text{OD} = 49.0$ ppm): $\delta = 171.7, 171.5$ (2x s, 2x COCH_3), 159.3, 159.2 (2x s, 2x COCF_3), 117.5, 117.4 (q, COCF_3), 102.2 (d, C-1), 73.6 (d, C-3), 73.0 (d, C-5), 71.5 (d, C-4), 55.7 (d, C-2), 41.4 (t, C-6), 20.7, 20.4 (2x q, 2x COCH_3)

7.2.8 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.4

2-Desoxystreptomindihydrochlorid (**92**)



Neomycinsulfat (**78**) (10 g, 10.8 mmol) wird in H₂O (60 mL) gelöst und mit Bariumhydroxydoctahydrat (12.5 g, 39.6 mmol) versetzt. Das Bariumsulfat wird abzentrifugiert, der Überstand mit Trockeneis neutralisiert und das ausgefällte Bariumcarbonat erneut abzentrifugiert. Die wässrige Lösung wird zur Trockene eingeeengt und es wird Neomycinhydrogencarbonat (9.2 g) erhalten. Zur Hydrolyse wird der Rückstand mit konz. HCl (35 mL) und H₂O (10 mL) versetzt und 7 d unter Rückfluss gekocht. Das tiefbraune viskose Reaktionsgemisch wird mit H₂O (30 mL) verdünnt und mit Aktivkohle (2x) geklärt. Nach dem Absaugen über Celite ergibt sich eine transparente gelbbraune Flüssigkeit, die bis zur beginnenden Kristallisation eingeeengt wird. Durch Zugabe von Ethanol (60 mL) wird das schwachbraune Rohprodukt ausgefällt. Das Rohprodukt wird aus siedendem 25%igen Methanol umkristallisiert, über Nacht bei RT und 24 h bei -20°C stehengelassen. Die farblosen Kristalle werden abgesaugt und mit Ethanol gewaschen.

Ausbeute: 2.32 g (9.9 mmol) = 92%; farblosen Kristalle

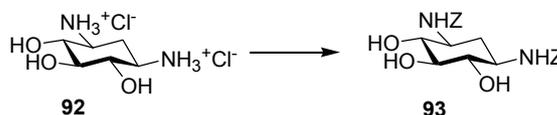
¹H-NMR (400 MHz, D₂O, TSP-d₄ = 0.0 ppm): δ = 3.54 (dd, 2H, J= 10.4, 9.1, 4-H u. 6-H), 3.43 (dd, 1H, J= 9.1, 5-H), 3.34 (ddd, 2H, J= 12.5, 10.4, 4.3, 1-H u. 3-H), 2.47 (ddd, 1H, J= 12.5, 4.3, 4.2, 2_{eq}-H), 1.83 (ddd, 1H, J= 12.5, 2_{ax}-H)

¹³C-NMR (100 MHz, D₂O, TSP-d₄ = 0.0 ppm): δ = 77.6 (d, C-5), 75.2 (d, C-4 u. C-6), 53.0 (d, C-1 u. C-3), 31,1 (t, C-2).

Smp.: >365°C (Lit.^{77b}: >360°C);

$[\alpha]_D^{20} = \pm 0.0^\circ$ (H₂O, c = 1), (Lit. ^{77b}: $[\alpha]_D^{20} \approx 0.0^\circ$ (H₂O, c = 1));

1,3-Bis-*N*-(benzyloxycarbonyl)-2-desoxystreptamin (**93**)



Zu einer Lösung aus 2-Desoxystreptamindihydrochlorid (**92**) (1 g, 4.26 mmol) in gesättigter Na₂CO₃-Lösung (10 mL) wird bei 0°C (Eisbad) innerhalb einer halben Stunde Benzoyloxycarbonylchlorid (1.5 mL, 10.66 mmol, 2.5 Äquiv.) in Aceton (8 mL) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird über Nacht bei 4°C gerührt. Der Feststoff wird abgesaugt und mit HCl (1N) gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1.60 g (3.72 mmol) = 88%; farbloser Feststoff

¹H-NMR (400 MHz, DMSO, DMSO = 2.50 ppm): 7.37-7.34 (m, 10H, 2x Ph), 7.11 (d, 2H, *J* = 8.3, 2x NH), 5.00 (d, 4H, *J* = 3.6, 2x CH₂Ph), 3.29-3.20 (m, 2H, 1-H u. 3-H), 3.07-2.99 (m, 3H, 4-H, 5-H u. 6-H), 2.18 (ddd, 1H, *J* = 12.5, 4.3, 3.9 Hz, 2_{eq}-H), 1.22 (ddd, 1H, *J* = 12.5, 2_{ax}-H).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO, DMSO = 39.6 ppm): δ = 155.8 (s, 2x COCH₂Ph), 137.3 (s, 2x Ph), 128.3, 127.7 (d, 2x Ph), 76.9 (d, C-5), 74.3 (d, C-4 u. C-6), 66.1 (d, CH₂Ph), 54.8, 51.6 (d, C-1 u. C-3), 35.9 (t, C-2).

Smp.: 236°C (Lit. ^{86b}: 233-235°C);

$[\alpha]_D^{20} = \pm 0.0^\circ$ (DMSO, c = 1);

HRMS: *m/z* für M + Na⁺

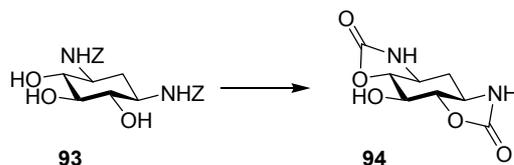
berechnet: 453.1638

gefunden: 453.1637

HRMS: *m/z* für M + Na⁺ + MeCN

berechnet: 494.1903

gefunden: 494.1912

1,6:3,4-Di-*N,O*-carbonyl-2-desoxystreptamin (94)

93 (100 mg, 0.23 mmol) wird in wasserfreiem DMF (10 mL) gelöst, bei 0°C mit NaH (73.6 mg, 60%ige Suspension in Mineralöl) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur unter N₂-Atmosphäre gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit Essigsäure (0.1 mL) hydrolysiert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird mit Dioxan (100 mL) extrahiert, die Lösung abfiltriert und wieder eingengt.

Ausbeute: 30 mg (0.14mmol) = 61%; farbloser Feststoff

¹H-NMR (400 MHz, DMSO, DMSO = 2.5 ppm): δ = 7.69 (s, 2H, 2x NH), 6.00 (d, 1H, *J* = 5.1, OH), 4.09 (ddd, 1H, *J* = 9.3, 5.1, 5-H), 3.80 (dd, 2H, *J* = 12.0, 9.3, 4-H u. 6-H), 3.50 (ddd, 2H, *J* = 12.0, 11.0, 3.6, 1-H u. 3-H), 2.05 (ddd, 1H, *J* = 11.0, 3.6, 2_{eq}-H), 1.55 (ddd, 1H, *J* = 11.0, 2_{ax}-H).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO, DMSO = 39.6 ppm): δ = 159.8 (2x s, 2x OCONH), 83.9 (d, C-4 u. C-6), 68.4 (d, C-5), 55.1 (d, C-1 u. C-3), 27.9 (t, C-2).

Smp.: 290°C Zersetzung (Lit. ^{86a}: >285°C);

$[\alpha]_D^{20} = \pm 0.0^\circ$ (H₂O, c = 1);

HRMS: *m/z* für M + Na⁺

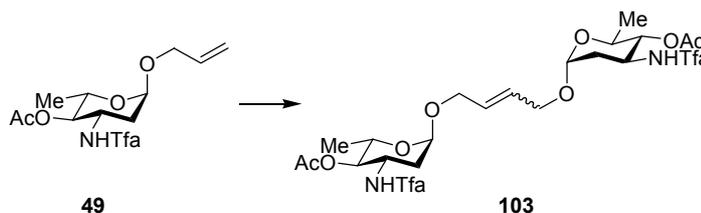
berechnet: 237.0487

gefunden: 237.0479

7.3 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4

7.3.1 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.1.

1,4-Di-(4'-O-acetyl-3'-trifluoroamido-2',3',6'-tridesoxy- α -L-arabino-hexopyranosyl)-2-buten-1,4-diol (**103**)



49 (100 mg, 0.31 mmol) wird mindestens 5 h an der Ölpumpe (10^{-2} Torr) getrocknet und dann unter N_2 in wasserfreiem Benzol (15 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wird bei $40^\circ C$ portionsweise der Grubbs Katalysator **98** (13 mg, 5 mol%, nach 14 h nochmals 13 mg, 5 mol%) zugefügt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bis zur Trockene eingengt, der Rückstand in Diethylether (20 mL) und Et_3N (1 mL) aufgenommen und 2 h gerührt. Die Reaktionslösung wird erneut im Vakuum bis zur Trockene eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 4:1) aufgereinigt und sofort in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Ausbeute: 81 mg (0.13 mmol) = 84%, $E/Z = 2:1$; farbloser Feststoff

$R_f = 0.40$ [Kieselgel, PE/EE 2:1];

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 7.26$ ppm); $\delta = 7.76$ (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, 2x NH), 5.82 (t, 2H, $J = 2.9$ Hz, 2x CH= (trans)), 5.75 (t, 2H, $J = 3.9$ Hz, 2x CH= (cis)), 4.89 (s, 2H, 2x 1-H), 4.58 (ddd, 2H, $J = 12.8, 2.9, 1.2$ Hz, 2x OCHH'), 4.51-4.44 (m, 2H, 2x 3-H), 4.18 (ddd, 2H, $J = 12.8, 3.9, 1.4$ Hz, 2x OCHH'), 3.99-3.93 (m, 4H, 2x 5-H u. 2x 4-H), 2.27 (ddd, 2H, $J = 12.5, 4.7$ Hz, 2x 2_{eq} -H), 2.08 (s, 6H, 2x CH_3CO), 1.71 (ddd, 2H, $J = 12.5, 3.7$ Hz, 2x 2_{ax} -H), 1.19 (d, 6H, $J = 6.2$ Hz, 2x 6-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77$ ppm): $\delta = 172.0$ (d, 2x CH_3CO), 157.0 (q, 2x $COCF_3$), 115.6 (q, 2x $COCF_3$), 128.7 (d, 2x CH=), 95.4 (d, 2x C-1), 75.2 (d, 2x C-4), 67.0 (t, 2x OCH_2), 65.8 (d, 2x C-5), 48.0 (d, 2x C-3), 35.7 (t, 2x C-2), 20.6 (q, 2x CH_3CO), 17.6 (q, 2x C-6).

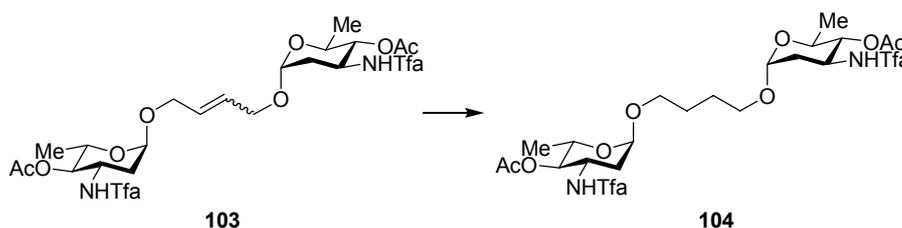
Smp.: 229-230°C;

HRMS: m/z für $M + Na^+$

berechnet: 654.1859

gefunden: 654.1850

1,4-Di-(4'-O-acetyl-3'-trifluoroamido-2',3',6'-trideoxy- α -L-arabino-hexopyranosyl)-1,4-butandiol (104)



Zu einer Lösung aus **103** (81 mg, 0.13 mmol) in EE/CH₂Cl₂/MeOH (16:8:1, 12.5 mL) wird PtO₂ (6.0 mg) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird unter H₂-Atmosphäre bei RT für 14 h gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 2:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von Et₃N (1 mL) abgebrochen. Der Feststoff wird abfiltriert und das Filtrat unter reduziertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 3:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 75 mg (0.12 mmol) = 91%; farbloser Feststoff

R_f = 0.41 [Kieselgel, PE/EE 2:1];

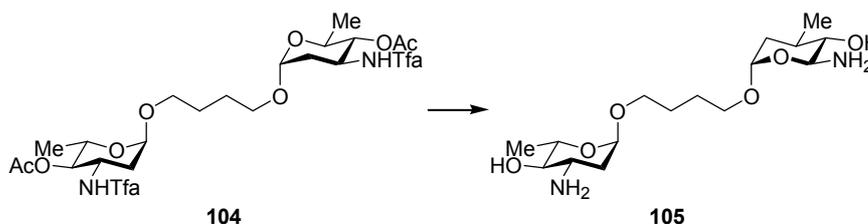
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.24 ppm): δ = 6.72 (d, 2H, J = 8.4 Hz, 2x NH), 4.83 (d, 2H, J = 3.6 Hz, 2x 1-H), 4.55 (dd, 2H, 10.3, 9.4 Hz, 2x 4-H), 4.49-4.40 (m, 2H, 2x 3-H), 3.92 (dq, 2H, J = 9.4, 6.2 Hz, 2x 5-H), 3.65 (ddd, 2H, J = 9.6, 6.2 Hz, 2x OCHH'), 3.58 (ddd, 2H, J = 9.6, 6.0 Hz, 2x OCHH'), 2.25 (ddd, 2H, J = 13.0, 1.2 Hz, 2x 2_{eq}-H), 2.06 (s, 6H, 2x CH₃CO), 1.71 (ddd, 2H, J = 13.0, 3.6 Hz, 2x 2_{ax}-H), 1.65 (m, 4H, CH₂CH₂), 1.18 (d, 6H, J = 6.2 Hz, 2x 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 172.0 (d, 2x CH₃CO), 157.0 (q, 2x COCF₃), 116.5 (q, 2x COCF₃), 96.1 (d, 2x C-1), 75.2 (d, 2x C-4), 67.3 (t, 2x OCH₂), 65.6 (d, 2x C-5), 48.2 (d, 2x C-3), 35.8 (t, 2x C-2), 26.4 (t, 2x CH₂CH₂O), 20.6 (q, 2x CH₃CO), 17.6 (q, 2x C-6).

Smp.: 211°C;

$[\alpha]_D^{20} = -159.6^\circ$ (CHCl₃, c = 0.98);

1,4-Di-(3'-amino-2',3',6'-tridesoxy- α -L-arabino-hexopyranosyl)-1,4-butandiol (105)



Eine Lösung von **104** (75 mg, 0.12 mmol) in THF/0.1M NaOH_{aq.} (3:1, 14 mL) wird für 14 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle EE, Ninhydrin-Lsg.). Nach Abschluss der Reaktion wird die Reaktionslösung mit Trockeneis auf pH 7 neutralisiert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird mehrmals mit Dichlormethan extrahiert und der Extrakt im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird mittels einer RP-Säule¹¹¹ (H₂O → MeOH) aufgereinigt.

Ausbeute: 28 mg (0.08 mmol) = 69%, farbloser Feststoff

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 4.77$ (d, 2H, $J = 2.8$ Hz, 2x 1-H), 4.00 (brs, 4H, 2x NH₂), 3.72 – 3.57 (m, 6H, 2x 3-H, 2x 5-H u. 2x OCHH'), 3.40 (ddd, 2H, $J = 9.7, 5.8$ Hz, 2x OCHH'), 3.16 (t, 3H, $J = 9.2$ Hz, 2x 4-H), 2.14 (dd, 2H, $J = 12.5, 2.9$ Hz, 2x 2_{eq}-H), 1.78 (dd, 2H, $J = 12.5, 4.2$ Hz, 2x 2_{ax}-H), 1.65-1.60 (m, 4H, 8-H u. 8-H'), 1.30 (d, 6H, $J = 6.2$ Hz, H-6).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): $\delta = 96.0$ (d, 2x C-1), 75.8 (d, 2x C-4), 68.2 (d, 2x C-5), 66.9 (t, 2x C-7), 50.1 (d, 2x C-3), 37.4 (t, 2x C-2), 26.2 (t, 2x C-8), 18.0 (q, 2x C-6).

Smp.: > 237°C Zersetzung;

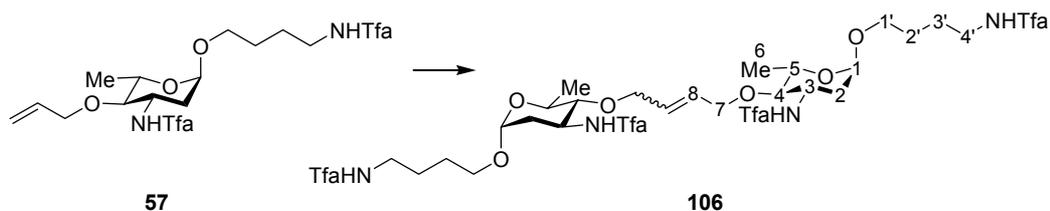
$[\alpha]_D^{20} = -167.3^\circ$ (CHCl₃, c = 1);

HRMS: m/z für $M + Na^+$

berechnet: 371.2158

gefunden: 371.2155

1,4-Di-(trifluoracetamidobutyl-3'-trifluoracetamido-2',3',6'-tridesoxy- β -L-arabino-hexopyranosyl)-2-buten-1,4-diol (106)



57 (26 mg, 0.058 mmol) wird mindestens 5 h an der Ölpumpe (10^{-2} Torr) getrocknet und dann unter N_2 in wasserfreiem Benzol (5 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wird der Grubbs Katalysator **98** (3 mg, 6 mol%, nach 14 h nochmals 3 mg, 6 mol%) bei $40^\circ C$ zugefügt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bis zur Trockene eingengt, der Rückstand in Diethylether (5 mL) und Et_3N (0.5 mL) aufgenommen und 2 h gerührt. Die Reaktionslösung wird erneut im Vakuum bis zur Trockene eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1) aufgereinigt. Das Produkt wird sofort in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Ausbeute: 17 mg (0.019 mmol) = 64%, $E/Z = 5:1$; farbloses Öl

$R_f = 0.25$ [Kieselgel, PE/EE 2:1];

1H -NMR (400 MHz, CD_3OD , $CD_3OD = 3.31$ ppm): $\delta = 5.69$ (t, 2H, $J = 2.8$ Hz, 2x CH= (trans)), 5.55 (t, 2H, $J = 4.1$ Hz, 2x CH= (cis)), 4.80 (dd, 2H, $J = 3.5$ Hz, 2x 1-H), 4.28 (ddd, 2H, $J = 12.8, 9.6, 4.7$ Hz, 2x 3-H), 4.12 -4.03 (m, 4H, 2x 1'-H u. 2x 1'-H'), 3.71 (dq, 2H, $J = 9.6, 6.3$ Hz, 2x 5-H), 3.69-3.64 (m, 2H, 2x OCHH'), 3.43-3.38 (m, 2H, 2x OCHH'), 3.35-3.31 (m, 4H, 2x 1'-H, 2x 1'-H', 2x 1'-H'), 3.02 (t, 2H, $J = 9.6$ Hz, 2x 4-H), 1.96 (dd, 2H, $J = 12.8, 4.7$ Hz, 2x 2- H_{eq}), 1.81 (ddd, 2H, $J = 12.8, 3.5$ Hz, 2x 2- H_{ax}), 1.70-1.60 (m, 8H, 2x 2-H, 2x 2-H', 2x 3-H u. 2x 3-H'), 1.25 (d, 6H, $J = 6.3$ Hz, 2x 6-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD , $CD_3OD = 49.0$ ppm): $\delta = 159.0, 158.7$ (2x q, 4x $COCF_3$), 130.1 (d, 2x CH=), 118.4, 117.5 (2x q, 4x $COCF_3$), 97.6 (d, 2x C-1), 83.8 (d, C-4), 73.6 (t,

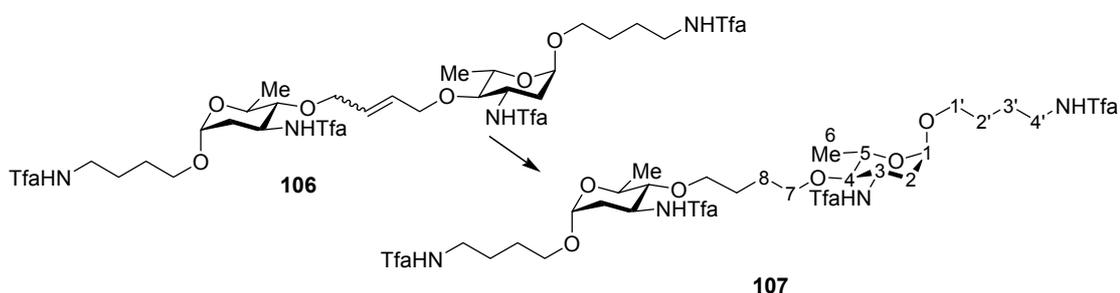
2x OCH₂), 69.0 (t, C-1'), 67.7 (d, C-5), 49.1 (d, C-3), 40.5 (t, C-4'), 36.6 (t, C-2), 27.8 (t, C-2'), 26.8 (t, C-3'), 18.52 (q, C-6).

HRMS: m/z für M + Na⁺

berechnet: 895.2764

gefunden: 895.773

1,4-Di-(trifluoracetamidobutyl-3'-trifluoracetamido-2',3',6'-tridesoxy-β-L-arabino-hexopyranosyl)-1,4-butandiol (107)



Zu einer Lösung aus **106** (17 mg, 0.019 mmol) in EE/CH₂Cl₂/MeOH (16:8:1, 7 mL) werden PtO₂ (2.0 mg) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird bei RT unter H₂-Atmosphäre für 14 h gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von Et₃N (1 mL) abgebrochen. Der Feststoff wird abfiltriert und das Filtrat unter reduziertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1) aufgereinigt

Ausbeute: <1 mg (fast vollständige Zersetzung);

R_f = 0.26 [Kieselgel, PE/EE 2:1];

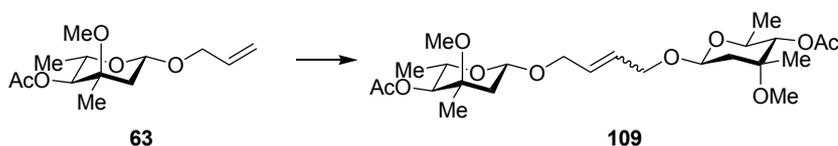
HRMS: m/z für M + Na⁺

berechnet: 897.2920

gefunden: 897.2943

7.3.2 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.1.2

1,4-Di-(4'-O-acetyl-2',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl- β -L-ribo-hexopyranosyl)-2-buten-1,4-diol (109)



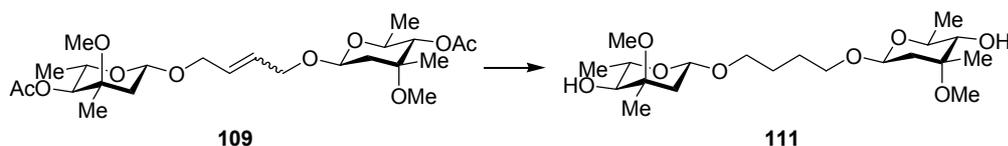
63 (100 mg, 0.39 mmol) wird mindestens 5 h an der Ölpumpe (10^{-2} Torr) getrocknet und dann unter N_2 in wasserfreiem Benzol (25 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wird bei $40^\circ C$ portionsweise Grubbs **98** (19 mg, 6 mol%, nach 14 h nochmals 13 mg, 4 mol%) zugefügt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bis zur Trockene eingeeengt, der Rückstand in Diethylether (30 mL) und Et_3N (1 mL) aufgenommen und 2 h gerührt. Die Reaktionslösung wird erneut im Vakuum bis zur Trockene eingeeengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 5:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 70 mg (0.17 mmol) = 87%, E/Z = 3.5:1; farbloses Öl

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3$ = 7.26 ppm): δ = 5.82 (t, 2H, J = 3.0 Hz, 2x CH= (trans)), 5.71 (t, 2H, J = 4.1 Hz, 2x CH= (cis)), 4.70 (dd, 2H, J = 9.7, 2.0 Hz, 2x 1-H), 4.64 (d, 2H, J = 9.7 Hz, 2x 4-H), 4.35 (ddd, 2 H, J = 11.5, 3.0, 1.2 Hz, 2x OCHH'), 4.02 (ddd, 2H, J = 11.5, 4.1, 1.4 Hz, 2x OCHH'), 3.94 (dq, 2H, J = 9.7, 6.3 Hz, 2x 5-H), 3.26 (s, 6H, 2x CH_3O), 2.20 (dd, 2H, J = 14.2, 2.0 Hz, 2x 2_{eq} -H), 2.12 (s, 6H, 2x CH_3COC -3), 1.49 (dd, 2H, J = 14.2, 9.7 Hz, 2x 2_{ax} -H), 1.13 (d, 6H, J = 6.3 Hz, 2x 6-H), 1.11 (s, 6H, 2x CH_3C -3).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3$ = 77 ppm): δ = 170.5 (s, 2x $COCH_3$), 129.0 (d, 2x =CH), 97.3 (d, 2x C-1), 78.6 (d, 2x C-4), 74.6 (s, 2x C-3), 68.6 (t, 2x OCH₂), 67.9 (d, 2x C-5), 49.6 (q, 2x CH_3OC -3), 39.3 (t, 2x C-2), 20.9 (q, 2x CH_3CO), 20.6 (q, 2x CH_3C -3), 17.6 (q, 2x C-6).

1,4-Di-(2',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl- β -L-ribo-hexopyranosyl)-1,4-butandiol (111)



Zu einer Lösung aus **109** (70 mg, 0.17 mmol) in EE/CH₂CL₂/MeOH (16:8:1, 12.5 mL) wird PtO₂ (6.0 mg) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird unter H₂-Atmosphäre bei RT für 24 h gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 2:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von Et₃N (1 mL) abgebrochen. Der Feststoff wird abfiltriert und das Filtrat unter reduziertem Druck eingengt. Zu einer Lösung des Zwischenproduktes in Methanol (10 mL) wird Amberlite A-26 OH⁻ (0.4 g) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 24 h bei Raumtemperatur geschüttelt, filtriert und das Filtrat unter reduziertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1) aufgereinigt

Ausbeute: 65 mg (0.16 mmol) = 95%; farbloses Öl

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 4.54 (dd, 2H, J = 9.7, 1.9 Hz, 2x 1-H), 3.90-3.84 (m, 2H, 2x OCHH'), 3.56 (dq, 2H, J = 9.7, 6.3 Hz, 2x 5-H), 3.45–3.39 (m, 2H, 2x OCHH'), 3.24 (s, 6H, 2x CH₃OC-3), 2.96 (dd, 2H, J = 11.0, 9.7 Hz, 2x 4-H), 2.21 (dd, 2H, J = 14.4, 1.9 Hz, 2x 2_{eq}-H), 2.09 (d, 2H, J = 11.0, 2x OH), 1.67–1.63 (m, 4H, CH₂CH₂), 1.38 (dd, 2H, J = 14.4, 9.7 Hz, 2x 2_{ax}-H), 1.29 (d, 6H, J = 6.3 Hz, 2x 6-H), 1.23 (s, 6H, 2x CH₃C-3).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 97.8 (d, 2x C-1), 78.1 (d, 2x C-4), 75.0 (s, 2x C-3), 70.9 (d, 2x C-5), 68.7 (t, 2x OCH₂), 49.0 (q, 2x CH₃OC-3), 38.0 (t, 2x C-2), 26.3 (t, 2x CH₂CH₂), 21.1 (q, 2x CH₃C-3), 18.2 (q, 2x C-6).

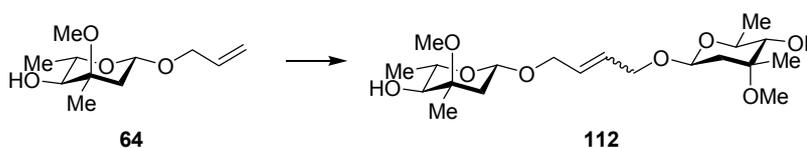
$[\alpha]_D^{20}$ = + 18.7° (CHCl₃, c = 1);

HRMS: m/z für M + Na⁺

berechnet: 429.2464

gefunden: 429.2457

1,4-Di-(2',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl- β -L-ribo-hexo-pyranosyl)-2-buten-1,4-diol (112)



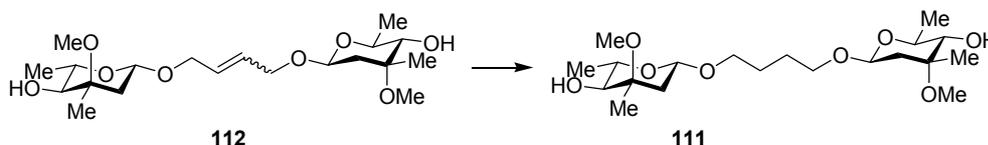
64 (100 mg, 0.46 mmol) wird mindestens 5 h an der Ölpumpe (10^{-2} Torr) getrocknet und dann unter N_2 in wasserfreiem Benzol (20 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wird bei $40^\circ C$ portionsweise der Grubbs Katalysator **98** (19 mg, 5 mol%, nach 14 h nochmals 19 mg, 5 mol%) zugefügt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bis zur Trockene eingeeengt, der Rückstand in Diethylether (25 mL) und Et_3N (1 mL) aufgenommen und 2 h gerührt. Die Reaktionslösung wird erneut im Vakuum bis zur Trockene eingeeengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 3:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 73 mg (0.18 mmol) = 79%; farbloses Öl

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 5.81$ (m, 2H, 2x CH= (trans)), 5.71 (m, 2H, 2x CH= (cis)), 4.58 (dd, 2H, $J = 9.7, 2.0$ Hz, 2x 1-H), 4.35 (dddd, 2H, $J = 11.5, 2.6, 1.3$ Hz, 2x OCHH'), 4.01 (ddd, 2H, $J = 11.5, 5.2, 1.8$ Hz, 2x OCHH'), 3.57 (dq, 2H, $J = 9.3, 6.3$ Hz, 2x 5-H), 3.23 (s, 6H, 2x CH_3O), 2.96 (t, 2H, $J = 9.3$ Hz, 2x 4-H), 2.23 (dd, 2H, $J = 14.3, 2.0$ Hz, 2x 2_{eq} -H), 2.12 (s, 6H, 2x CH_3COC -3), 2.09 (d, 2H, 2x OH), 1.49 (dd, 2H, $J = 14.3, 9.7$ Hz, 2x 2_{ax} -H), 1.29 (d, 6H, $J = 6.3$ Hz, 2x 6-H), 1.24 (s, 6H, 2x CH_3C -3).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77$ ppm): $\delta = 129.1$ (d, 2x =CH), 97.1 (d, 2x C-1), 78.1 (d, 2x C-4), 75.0 (s, 2x C-3), 71.0 (t, 2x OCH_2), 68.5 (d, 2x C-5), 49.1 (q, 2x CH_3OC -3), 37.9 (t, 2x C-2), 21.1 (q, 2x CH_3C -3) 18.2 (q, 2x C-6).

1,4-Di-(2',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl- β -L-ribo-hexopyranosyl)-1,4-butandiol (111)



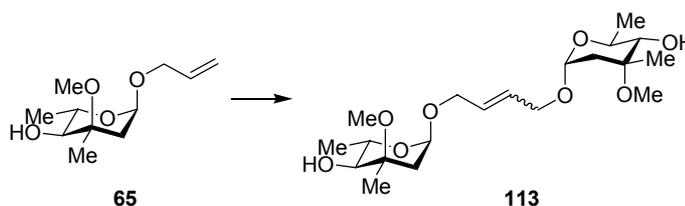
Zu einer Lösung aus **112** (73 mg, 0.18 mmol) in einem Lösungsmittelgemisch (EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, 12.5 mL) wird PtO₂ (6.0 mg) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird unter H₂-Atmosphäre bei RT für 14 h gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 2:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von Et₃N (1 mL) abgebrochen. Der Feststoff wird abfiltriert und das Filtrat unter reduziertem Druck eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1) aufgereinigt

Ausbeute: 69 mg (0.17 mmol) = 96%; farbloses Öl

R_f = 0.26 [Kieselgel, PE/EE 2:1];

Analytische Daten siehe vorherige Arbeitsvorschrift für **111**.

1,4-Di-(2',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)-2-buten-1,4-diol (**113**)



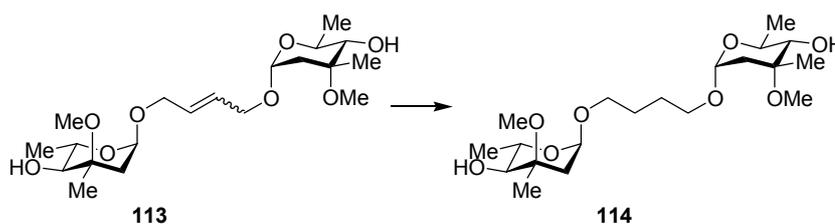
65 (300 mg, 1.38 mmol) wird in einem Schlenk Kolben an der Ölpumpe für mehr als 5 h unter Rühren getrocknet und unter N₂ in wasserfreiem Benzol (6 mL) gelöst. Die Reaktionslösung wird auf 40°C erwärmt. Zu dieser Lösung wird portionsweise der Grubbs Katalysator **98** (5 mol%, 0.069 mmol, 57 mg) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 5 h bzw. über Nacht bei 40°C gerührt. (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1). Bei unvollständigem Umsatz wird nochmal portionsweise der Grubbs Katalysator **98** (5 mol%) zugegeben (DC-Kontrolle) und weitere 5 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingengt und in Diethylether (90 mL) und Triethylamin (3 mL) 2 h bei RT gerührt. Nach erneutem Einengen im Vakuum wird das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 145 mg (0.36 mmol) = 52%, *E/Z* = 4.5:1; farbloses Öl

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.82 (t, 2H, *J* = 3.0 Hz, 2x CH= (trans)), 5.71 (t, 2H, *J* = 4.1 Hz, 2x CH= (cis)), 4.70 (dd, 2H, *J* = 9.7, 2.0 Hz, 2x 1-H), 4.35 (ddd, 2H, *J* = 11.5, 3.3, 1.2 Hz, 2x OCHH'), 4.02 (ddd, 2H, *J* = 11.5, 4.1, 1.4 Hz, 2x OCHH'), 3.94 (dq, 2H, *J* = 9.7, 6.3 Hz, 2x 5-H), 3.26 (s, 6H, 2x CH₃OC-3), 2.96 (dd, 2H, *J* = 10.4, 9.7 Hz, 2x 4-H), 2.20 (dd, 2H, *J* = 14.2, 2.0 Hz, 2x 2_{eq}-H), 2.08 (d, 2H, *J* = 10.9 Hz, 2x OH), 1.49 (dd, 2H, *J* = 14.2, 9.7 Hz, 2x 2_{ax}-H), 1.13 (d, 6H, *J* = 6.3 Hz, 2x 6-H), 1.11 (s, 6H, 2x CH₃C-3).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 129.0 (d, 2x =CH), 97.3 (d, 2x C-1), 78.1 (d, 2x C-4), 74.6 (s, 2 x C-3), 68.6 (t, 2x OCH₂), 67.9 (d, 2x C-5), 49.6 (q, 2x CH₃OC-3), 39.3 (t, 2x C-2), 20.9 (q, 2x CH₃CO), 20.6 (q, 2x CH₃C-3) 17.6 (q, 2x C-6)

1,4-Di-(2',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)-1,4-butandiol (114)



Zu einer Lösung aus **113** (145 mg, 0.36 mmol) in EE/CH₂Cl₂/MeOH (16:8:1, 25 mL) wird PtO₂ (13 mg) zugegeben (Zweihalskolben). Die Suspension wird 16 h unter H₂-Atmosphäre gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 2:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von Et₃N (2 mL) beendet, die Reaktionslösung filtriert und im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1 → 1:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 120 mg (0.30 mmol) = 83%; farbloses Öl

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 4.67 (d, 2H, *J* = 4.5 Hz, 2x 1-H), 3.85 (dq, 2H, *J* = 9.5, 6.3 Hz, 2x 5-H), 3.65 (ddd, 2H, *J* = 9.7, 6.3 Hz, 2x OCHH'), 3.29 (ddd, 2H, *J* = 9.7, 5.8 Hz, 2x OCHH'), 3.22 (s, 6H, 2x CH₃OC-3), 2.98 (dd, 2H, *J* = 10.8, 9.5 Hz, 2x 4-H), 2.34 (d, 2H, *J* = 10.8, 2x OH), 2.21 (d, 2H, *J* = 15.2 Hz, 2x 2_{eq}-H), 1.67-1.59 (m, 4H, CH₂CH₂), 1.38 (dd, 2H, *J* = 15.2, 4.5 Hz, 2x 2_{ax}-H), 1.23 (d, 6H, *J* = 6.3 Hz, 2x 6-H), 1.19 (s, 6H, 2x CH₃C-3).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 96.1 (d, 2x C-1), 78.1 (d, 2x C-4), 72.9 (s, 2x C-3), 66.9 (t, 2x OCH₂), 64.5 (d, 2x C-5), 49.2 (q, 2x CH₃OC-3), 35.3 (t, 2x C-2), 26.5 (t, 2x CH₂CH₂), 21.7 (q, 2x CH₃C-3) 17.9 (q, 2x C-6).

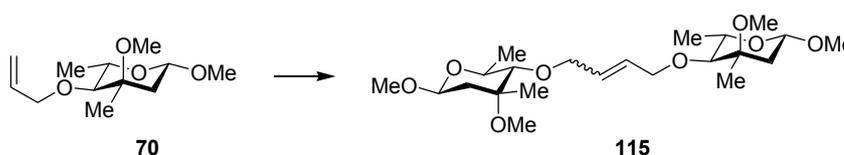
$[\alpha]_D^{20} = -148^\circ$ (CHCl₃, c = 1);

HRMS: *m/z* für M + Na⁺

berechnet: 429.2464

gefunden: 429.2451

1,4-Bis-(methyl-2',3',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl-β-L-ribo-hexopyranos-4'-yl)-2-buten-1,4-diol (115)



70 (43 mg, 0.19 mmol) wird mindestens 5 h an der Ölpumpe (10⁻² Torr) getrocknet und dann unter N₂ in wasserfreiem Benzol (25 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wird bei 40°C portionsweise der Grubbs Katalysator **98** (16 mg, 10 mol%) zugefügt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bis zur Trockene eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 3:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 27 mg (0.062 mmol) = 65%; *E/Z* = 6:1, farbloses Öl

$R_f = 0.25$ [Kieselgel, PE/EE 2:1];

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.78 (m, 2H, 2x CH= (trans)), 5.72 (m, 2H, 2x CH= (cis)), 4.55 (dd, 2H, *J* = 9.7, 2.0 Hz, 2x 1-H), 4.14 (m, 2H, 2x OCHH'), 4.08 (m, 2H, 2x OCHH'), 3.88 (dq, 2H, *J* = 9.4, 6.3 Hz, 2x 5-H), 3.46 (s, 6H, 2x CH₃OC-1), 3.27 (s, 6H, 2x CH₃OC-3), 2.81 (d, 2H, *J* = 9.4 Hz, 2x 4-H), 2.13 (dd, 2H, *J* = 14.0, 2.0 Hz, 2x 2_{eq}-H), 1.35 (dd, 2H, *J* = 14.0, 9.67 Hz, 2x 2_{ax}-H), 1.28 (d, 6H, *J* = 6.3 Hz, 2x 6-H), 1.24 (s, 6H, 2x CH₃C-3).

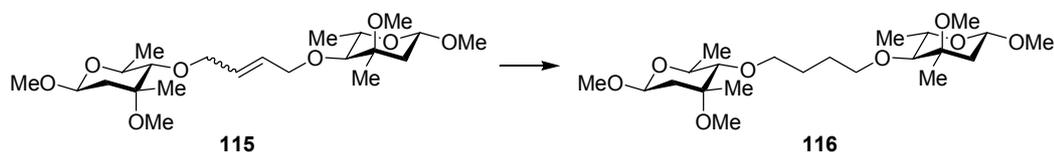
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 129.6 (d, 2x =CH (trans)), 128.8 (d, 2x =CH (cis)), 99.0 (d, 2x C-1), 87.1 (d, 2x C-4), 75.1 (s, 2x C-3), 73.9 (t, 2x OCH₂), 69.3 (d, 2x C-5), 56.4 (q, 2x CH₃OC-1), 49.8 (q, 2x CH₃OC-3), 39.9 (t, 2x C-2), 21.1 (q, 2x CH₃C-3), 18.4 (q, 2x C-6).

HRMS: *m/z* für M + MeCN + Na⁺

berechnet: 484.2886

gefunden: 484.2891

1,4-Bis-(methyl-2',3',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl-β-L-ribo-hexopyranos-4'-yl)-butan-1,4-diol (116)



Zu einer Lösung aus 1,4-Bis-(methyl-2',3',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl-β-L-ribo-hexopyranos-4'-yl)-2-buten-1,4-diol (**115**) (27 mg, 0.062 mmol) in EE/CH₂Cl₂/MeOH (16:8:1, 10 mL) wird PtO₂ (2 mg) zugegeben (Zweihalskolben). Die Suspension wird 4 h unter H₂-Atmosphäre gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von Et₃N (1 mL) beendet, die Reaktionslösung abfiltriert und im Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1 → 1:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 24 mg (0.055 mmol) = 89%; farbloses Öl

R_f = 0.26 [Kieselgel, PE/EE 2:1];

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 4.56 (dd, 2H, *J* = 9.7, 2.0 Hz, 2x 1-H), 3.91 (dq, 2H, *J* = 9.5, 6.3 Hz, 2x 5-H), 3.90-3.84 (m, 2H, 2x OCHH'), 3.73-3.62 (m, 2H, 2x OCHH'), 3.47 (s, 6H, 2x CH₃OC-1), 3.26 (s, 6H, 2x CH₃OC-3), 2.80 (d, 2H, *J* = 9.5 Hz, 2x 4-H), 2.15 (dd, 2H, *J* = 13.9, 2.0 Hz, 2x 2_{eq}-H), 1.68-1.58 (m, 4H, CH₂CH₂), 1.34 (dd, 2H, *J* = 13.9, 9.67 Hz, 2x 2_{ax}-H), 1.27 (d, 6H, *J* = 6.3 Hz, 2x 6-H), 1.21 (s, 6H, 2x CH₃C-3).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 98.8 (d, 2x C-1), 87.2 (d, 2x C-4), 75.0 (s, 2x C-3), 67.6 (t, 2x OCH₂), 69.2 (d, 2x C-5), 56.3 (q, 2x CH₃OC-1), 49.9 (q, 2x CH₃OC-3), 39.8 (t, 2x C-2), 27.0 (t, 2x CH₂CH₂), 21.0 (q, 2x CH₃C-3), 18.0 (q, 2x C-6).

$[\alpha]_D^{20} = +21.0^\circ$ (c = 1, CHCl₃);

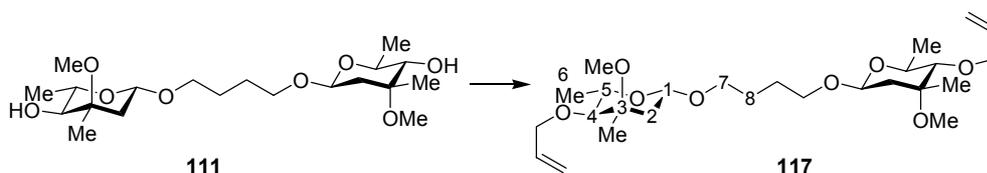
HRMS: *m/z* für M + Na⁺

berechnet: 457.2777

gefunden: 457.2782

7.3.3 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.1.3

1,4-Bis-(4'-O-allyl-2',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)-1,4-butandiol (117)



111 (73 mg, 0.18 mmol) wird unter Schutzgas in wasserfreiem DMF (7 mL) gelöst. Zur Reaktionslösung wird Natriumhydrid (60%ig in Mineralöl, 37 mg, 5 Äquiv., 0.9 mmol) zugefügt und bei RT gerührt. Nach Ende der Gasentwicklung wird Allylbromid (93 μ L, 6.0 Äquiv., 1.08 mmol) zugefügt und über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit MeOH hydrolysiert und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird in H₂O aufgenommen und mehrmals mit EE extrahiert. Die kombinierten organischen Phasen werden mit H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1 \rightarrow 1:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 81 mg (0.167 mmol) = 93%; farbloses Öl

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.90 (ddd, 2H, *J* = 17.2, 10.3, 6.0 Hz, 2x CH=), 5.20 (dq, 2H, *J* = 17.2, 1.6 Hz, 2x CHH'=CH-), 5.13 (dq, 2H, *J* = 10.3, 1.9 Hz, 2x CHH'=CH-), 4.61 (dd, 2H, *J* = 9.7, 2.0 Hz, 2x 1-H), 4.14 (ddt, 2H, *J* = 12.3, 5.7, 1.4 Hz, 2x OCHH'), 4.05 (ddt, 2H, *J* = 12.3, 6.0, 1.3 Hz, 2x OCHH'), 3.86 (dq, 2H, *J* = 9.4, 6.3 Hz, 2x 5-H), 3.40 (dt, 4H, *J* = 9.3, 6.5, 2x 7- u. 2x 7-H'), 3.26 (s, 6H, 2x CH₃OC-3), 2.82 (d, 2H,

$J = 9.4$ Hz, 2x 4-H), 2.10 (dd, 2H, $J = 14.0, 2.0$ Hz, 2x 2_{eq}-H), 1.65–1.56 (m, 4H, CH_2CH_2), 1.35 (dd, 2H, $J = 14.0, 9.7$ Hz, 2x 2_{ax}-H), 1.26 (d, 6H, $J = 6.3$ Hz, 2x 6-H), 1.22 (s, 6H, 2x $\text{CH}_3\text{C-3}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 134.8$ (d, 2x =CH), 117.2 (t, 2x $\text{CH}_2=$), 97.9 (d, 2x C-1), 87.0 (d, 2x C-4), 75.1 (s, 2x C-3), 75.1 (t, 2x OCH_2), 69.3 (d, 2x C-5), 68.8 (t, 2x C-7), 49.8 (q, 2x $\text{CH}_3\text{OC-3}$), 40.1 (t, 2x C-2), 26.3 (t, 2x C-8), 21.0 (q, 2x $\text{CH}_3\text{C-3}$), 18.3 (q, 2x C-6).

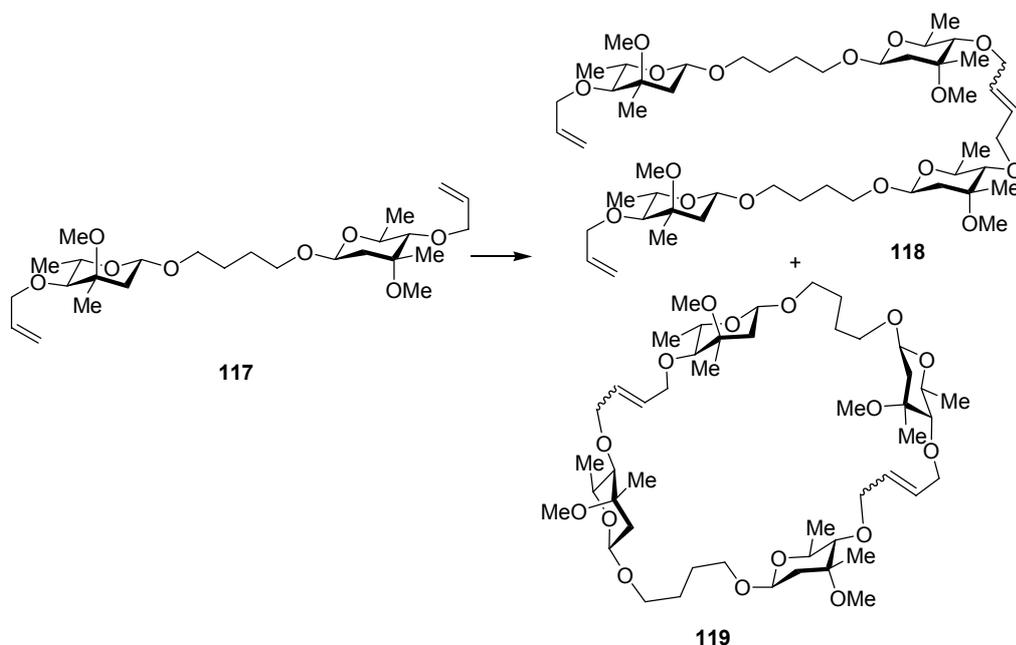
$[\alpha]_D^{20} = +14.3^\circ$ (c = 1.05, CHCl_3);

HRMS: m/z für $\text{M} + \text{Na}^+$

berechnet: 509.3090

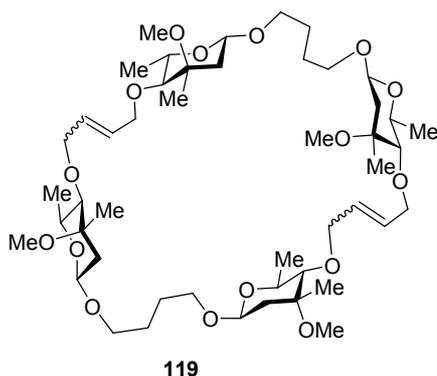
gefunden: 509.3107

Metathese von 1,4-Bis-(4'-O-allyl-2',6'-dideoxy-3'-C-methyl-3'-O-methyl- α -L-ribohexopyranosyl)-1,4-butandiol (117) zum linearen Tetramer (118) und cyclischen Tetramer (119)



117 (73 mg, 0.15 mmol) wird in einem Schlenk Kolben an der Ölpumpe für mehr als 5 h unter Rühren getrocknet und unter N_2 in Benzol abs. (50 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wird portionsweise der Grubbs Katalysator **98** (10 mol%, 0.015 mmol, 12.5 mg)

zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 5 h bzw. über Nacht bei RT gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1). Bei unvollständigem Umsatz wird nochmal portionsweise der Grubbs Katalysator **98** (10 mol%) zugegeben (DC-Kontrolle) und weitere 5 h rühren. Das Reaktionsgemisch wird im Vakuum eingengt und in Diethylether (30 mL) und Triethylamin (1 mL) 2 h bei RT gerührt. Nach erneutem Einengen im Vakuum wird das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1) aufgereinigt.

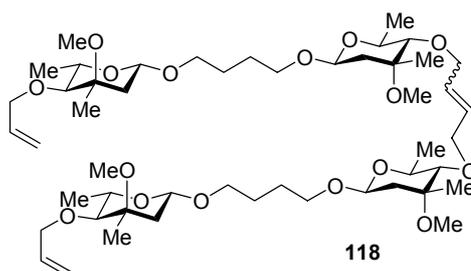


Ausbeute: 20 mg (0.022 mmol) = 27%;

HRMS: m/z für $M + Na^+$

berechnet: 936.5657

gefunden: 936.5627



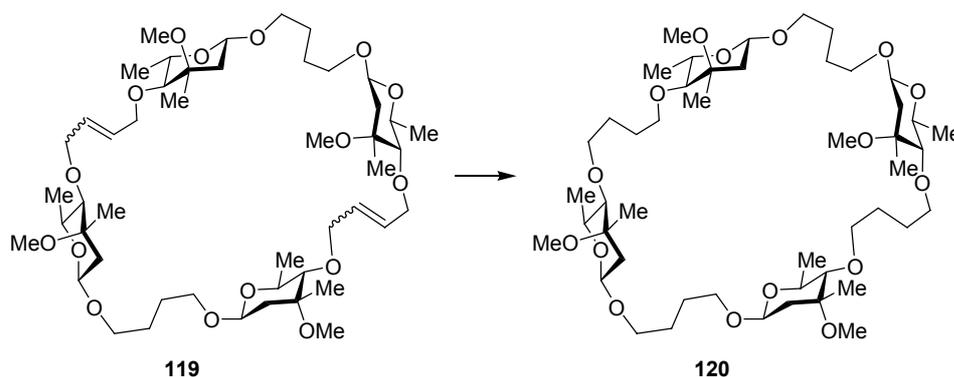
Ausbeute: 15 mg (0.016 mmol) = 21%;

HRMS: m/z für $M + Na^+$

berechnet: 967.5970

gefunden: 967.5936

Reisoliert: 32 mg (0.065 mmol) = 43%;

Hydrierung von 119 zum cyclischen Tetramer 120

Zu einer Lösung aus **119** (15 mg, 0.016 mmol) und EE/CH₂Cl₂/MeOH (16:8:1, 3 mL) wird PtO₂ (3.0 mg) zugegeben (Zweihalskolben). Die Suspension wird 4 h unter H₂-Atmosphäre gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von Et₃N (1 mL) beendet, die Reaktionslösung filtriert und im Vakuum eingedunstet. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1 → 1:1) aufgereinigt. In den ¹H-NMR- bzw. ¹³C-NMR-Spektren wird ein bei den gekennzeichneten Signalen ein Verhältnis von 3:1* erhalten.

Ausbeute: 3 mg (3 μmol) = 19%; farbloses Öl

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): 4.66-4.61 (m, 3H, 3x 1-H), 4.56-4.52 (m, 1H, 1x 1*-H), 3.88-3.81 (m, 7H, 3x 5-H u. 4x OCHH'), 3.62-3.49 (m, 10H, 5*-H u. 9x OCHH'), 3.45-3.37 (m, 3H, 3x OCHH'), 3.28 (s, 9H, 3x CH₃OC-3), 3.24 (s, 3H, CH₃OC-3*), 2.76 (dd, 3H, *J* = 9.1 Hz, 3x 4-H), 2.96 (dd, 1H, *J* = 9.6 Hz, 4*-H), 2.24-2.16 (m, 1H, 2*_{eq}-H), 2.11 (dd, 3H, *J* = 13.9, 1.9 Hz, 3x 2_{eq}-H), 1.69-1.61 (m, 16H, CH₂CH₂), 1.41-1.34 (m, 4H, 4x 2_{ax}-H), 1.30-1.24 (d, 24H, 4x 6-H u. 4x CH₃C-3).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 98.0 (d, C-1*), 97.8 (d, 3x C-1), 87.7, 87.5 (2x d, 4x C-4), 75.3 (s, 3x C-3), 75.2 (s, C-3*), 74.2 (t, OCH₂*-C4), 74.0 (t, 3x OCH₂-C4), 69.5 (d, C-5*), 69.4 (d, 3x C-5), 68.7 (t, 3x OCH₂), 68.5 (t, OCH₂*), 49.9 (q, 3x CH₃OC-3), 49.0 (q, CH₃OC-3*), 40.3 (t, 3x C-2), 38.0 (t, C-2*), 27.1, 26.9, 26.3, 26.1 (4x t, 4x C-8 u. 4x C-10), 21.1 (q, 3x CH₃C-3), 21.0 (q, CH₃C-3*), 18.4 (q, 3x C-6), 18.3 (q, C-6*).

HRMS: *m/z* für M + Na⁺

berechnet: 943.5970

gefunden: 943.5950

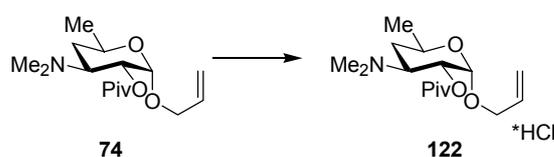
HRMS: m/z für $M + Li^+ + H_2O$

berechnet: 945.6338

gefunden: 945.6316

7.3.4 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.1.4

Allyl-2-O-pivaloyl-3-dimethylamino-3,4,6-tridesoxy- α -D-xylo-hexopyranose-hydrochlorid (122)



74 (325 mg, 1.085 mmol) in Methanol (10 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wird Acetylchlorid (2.0 Äquiv., 126 μ L, 1.774 mmol) zugefügt. Die Reaktionslösung wird kurz gerührt, abfiltriert und das Filtrat im Vakuum bis zur Trockene eingengt.

Ausbeute: 357 mg (1.063 mmol) = 98%; farbloses Öl

R_f = 0.15 [Kieselgel, CH_3CN/EE 1:1];

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3$ = 7.26 ppm): δ = 12.58 (brs, 1H, NH), 5.82 (dddd, 1H, J = 17.2, 10.5, 6.5, 5.3 Hz, CH=), 5.26 (ddt, 1H, J = 17.2, 1.5 Hz, $CHH'=CH-$), 5.20 (ddt, 1H, J = 10.5, 1.2 Hz, $CHH'=CH-$), 4.97 (s, 1H, 1-H), 4.96 (dd, 1H, J = 10.5, 3.3 Hz, 2-H), 4.15 (ddt 1H, J = 12.7, 5.3, 1.5 Hz, $OCHH'$), 4.05-3.97 (m, 1H, 3-H), 3.97 -3.91 (m, 1H, 5-H), 3.90 (ddt 1H, J = 12.7, 6.5, 1.2 Hz, $OCHH'$), 2.91 (d, 3H, J = 4.8, NCH_3), 2.76 (ddd, 1H, J = 12.8, 3.5, 1.9 Hz, 4_{eq} -H), 2.67 (d, 3H, J = 4.6, NCH_3), 1.38 (ddd, 1H, J = 12.8, 11.9 Hz, 4_{ax} -H), 1.24 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 1.13 (d, 3H, J = 6.4 Hz, 6-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3$ = 77 ppm): δ = 177.3 (s, $COC(CH_3)_3$), 133.0 (d, =CH), 118.3 (t, $CH_2=$), 94.3 (d, C-1), 69.1 (d, C-2), 68.6 (t, OCH_2), 63.6 (d, C-5), 60.1 (d, C-3), 45.1 (q, NCH_3), 38.9 (s, $C(CH_3)_3$), 36.4 (q, NCH_3), 34.3 (t, C-4), 27.0 (q, $C(CH_3)_3$), 20.4 (q, C-6).

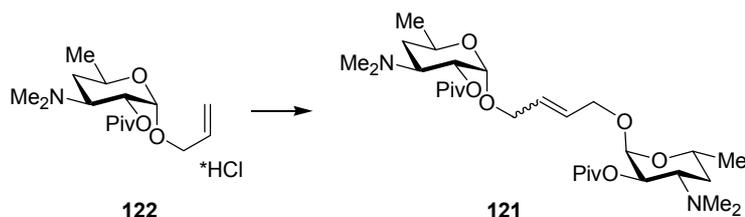
$[\alpha]_D^{20} = +105.0^\circ$ ($c = 1$, $CHCl_3$);

HRMS: m/z für M – Cl⁻

berechnet: 300.2175

gefunden: 300.2189

1,4-Di-(2'-O-pivaloyl-3'-dimethylamino-3',4',6'-trideoxy- α -D-xylo- hexopyranosyl)-2-buten-1,4-diol (121)



122 (255 mg, 0.76 mmol) wird mindestens 5 h an der Ölpumpe (10^{-2} Torr) getrocknet, unter N₂ in wasserfreiem Benzol (5 mL) gelöst und 5 min im Ultraschallbad entgast. Zu dieser Lösung wird bei RT portionsweise der Grubbs Katalysator **98** (63 mg, 10 mol%, nach 14 h nochmals 63 mg, 10 mol%) zugefügt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bis zur Trockene eingengt, der Rückstand in Diethylether (30 mL) und Et₃N (1 mL) aufgenommen und 2 h gerührt. Die Reaktionslösung wird erneut im Vakuum bis zur Trockene eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1 → 2:3) aufgereinigt.

Ausbeute: 130 mg (0.228 mmol) = 60%, *E/Z* = 2:1; farbloses Öl

64 mg (0.213 mmol) = 28%; reisoliertes Edukt

R_f = 0.05 [Kieselgel, CH₃CN/EE 1:1];

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 5.77 (t, 2H, *J* = 2.9 Hz, 2x CH= (trans)), 5.64 (t, 2H, *J* = 4.1 Hz, 2x CH= (cis)), 4.88 (d, 2H, *J* = 3.8 Hz, 2x 1-H), 4.82 (dd, 2H, *J* = 10.9, 3.8 Hz, 2x 2-H), 4.20- 3.86 (m, 6H, 2x 5-H, 2x OCHH' u. 2x OCHH'), 3.14 (ddd, 2H, *J* = 12.0, 10.9, 4.0 Hz, 2x 3-H), 2.27 (s, 12H, 2x N(CH₃)₂), 1.77 (ddd, 1H, *J* = 13.0, 4.0, 2.3 Hz, 2x 4_{eq}-H), 1.37 (ddd, 2H, *J* = 13.0, 12.0, 2.9 Hz, 2x 4_{ax}-H), 1.19 (s, 18H, 2x C(CH₃)₃), 1.16 (d, 6H, *J* = 6.4 Hz, 2x 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 178.0 (s, 2x COC(CH₃)₃), 128.7 (d, 2x =CH), 96.2 (d, 2x C-1), 70.6 (d, 2x C-2), 67.3 (t, 2x OCH₂), 64.4 (d, 2x C-5), 57.6 (d, 2x C-3), 40.7 (q, 2x N(CH₃)₂), 38.7 (s, 2x C(CH₃)₃), 33.9 (t, 2x C-4), 27.1 (q, 2x C(CH₃)₃), 21.0 (q, 2x C-6).

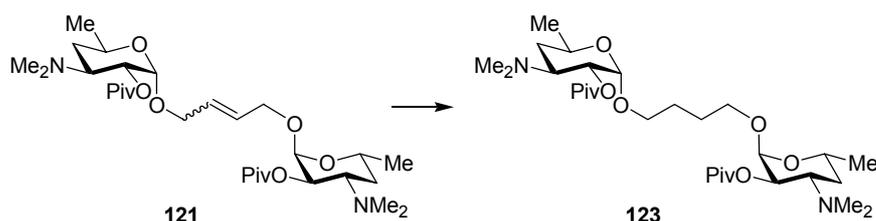
$$[\alpha]_D^{20} = + 136.0^\circ \text{ (c = 1, CHCl}_3\text{)};$$

HRMS: m/z für $M + Na^+$

berechnet: 571.3958

gefunden: 571.3932

1,4-Di-(2'-O-pivaloyl-3'-dimethylamino-3',4',6'-trideoxy- α -D-xylo- hexopyranosyl)- 1,4-butandiol (123)



Zu einer Lösung aus **121** (45 mg, 0.079 mmol) in einem Lösungsmittelgemisch (EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, 10 mL) wird PtO₂ (3 mg) zugegeben. Die Suspension wird 6 h unter H₂-Atmosphäre gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 1:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von Et₃N (1 mL) beendet, die Reaktionslösung filtriert und im Vakuum eingedunstet. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1 → 1:2) aufgereinigt.

Ausbeute: 42 mg (0.074 mmol) = 94%; farbloses Öl

R_f = 0.05 [Kieselgel, CH₃CN/EE 1:1];

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 4.83 (dd, 2H, J = 10.5, 3.8 Hz, 2x 2-H), 4.80 (d, 2H, J = 3.8 Hz, 2x 1-H), 3.91 (dddd, 2H, J = 17.5, 6.3, 2.0 Hz, 2x 5-H), 3.71-3.61 (m, 3H, 2x OCHH'), 3.40-3.30 (m, 3H, 2x OCHH'), 3.17 (ddd, 2H, J = 11.1, 10.9, 3.5 Hz, 2x 3-H), 2.33 (s, 12H, 2x N(CH₃)₂), 1.82 (ddd, 2H, J = 13.0, 3.5, 2.0 Hz, 2x 4_{eq}-H), 1.67-1.58 (m, 4H, CH₂CH₂), 1.38 (ddd, 2H, J = 13.0, 11.1 Hz, 2x 4_{ax}-H), 1.20 (s, 18H, 2x C(CH₃)₃), 1.17 (d, 6H, J = 6.3 Hz, 2x 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 177.9 (s, 2x COC(CH₃)₃), 96.5 (d, 2x C-1), 70.6 (d, 2x C-2), 68.5 (t, 2x OCH₂), 64.1 (d, 2x C-5), 57.8 (d, 2x C-3), 40.7 (q, 2x N(CH₃)₂), 38.7 (s, 2x C(CH₃)₃), 33.9 (t, 2x C-4), 26.4 (d, 2x CH₂CH₂), 27.1 (q, 2x C(CH₃)₃), 20.9 (q, 2x C-6).

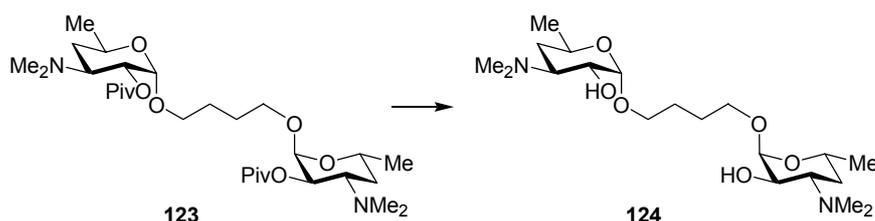
$$[\alpha]_D^{20} = + 116.0^\circ \text{ (c = 1, CHCl}_3\text{)};$$

HRMS: m/z für $M + H^+$

berechnet: 573.4115

gefunden: 573.4120

1,4-Di-(3'-dimethylamino-3',4',6'-tridesoxy- α -D-xylo- hexopyranosyl)-1,4-butandiol (124)



Zu einer Lösung von Lithiumhydroxidmonohydrat (188 mg, 4.5 mmol) in Methanol (3 mL) wird 1,4-Di-(2'-O-pivaloyl-3-dimethylamino-3',4',6'-tridesoxy- α -D-xylo-hexosyl)-1,4-butandiol **123** (31 mg, 0.054 mmol) gegeben und für 14 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle: EE). Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionslösung mit Trockeneis neutralisiert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird mehrmals mit Dichlormethan extrahiert und der Extrakt wird im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird mittels einer RP-Säule¹¹¹ ($H_2O \rightarrow MeOH$) aufgereinigt.

Ausbeute: 20 mg (0.049 mmol) = 91%; gelblicher Feststoff

¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.93$ (d, 2H, $J = 3.6$ Hz, 2x 1-H), 3.89 (dddd, 2H, $J = 17.4, 6.3, 2.0$ Hz, 2x 5-H), 3.71 (ddd, 2H, $J = 9.7, 6.4$ Hz, 2x OCHH'), 3.53 (dd, 2H, $J = 10.8, 3.6$ Hz, 2x 2-H), 3.54 – 3.48 (m, 2H, 2x OCHH'), 2.91 (ddd, 2H, $J = 12.0, 10.8, 3.8$ Hz, 2x 3-H), 2.29 (s, 12H, 2x $N(CH_3)_2$), 1.81-1.62 (m, 6H, 2x 4_{eq} -H, CH_2CH_2), 1.25 (dd, 2H, $J = 17.4, 12.0$ Hz, 2x 4_{ax} -H), 1.18 (d, 6H, $J = 6.3$ Hz, 2x 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77$ ppm): $\delta = 98.5$ (d, 2x C-1), 68.7 (d, 2x C-2), 67.6 (t, 2x OCH₂), 64.8 (d, 2x C-5), 60.5 (d, 2x C-3), 40.0 (q, 2x $N(CH_3)_2$), 29.5 (t, 2x C-4), 26.4 (t, 2x CH_2CH_2), 21.2 (q, 2x C-6).

$$[\alpha]_D^{20} = +141.5^\circ \text{ (c = 1, CHCl}_3\text{)};$$

HRMS: m/z für $M + H^+$

berechnet: 405.2965

gefunden: 405.2972

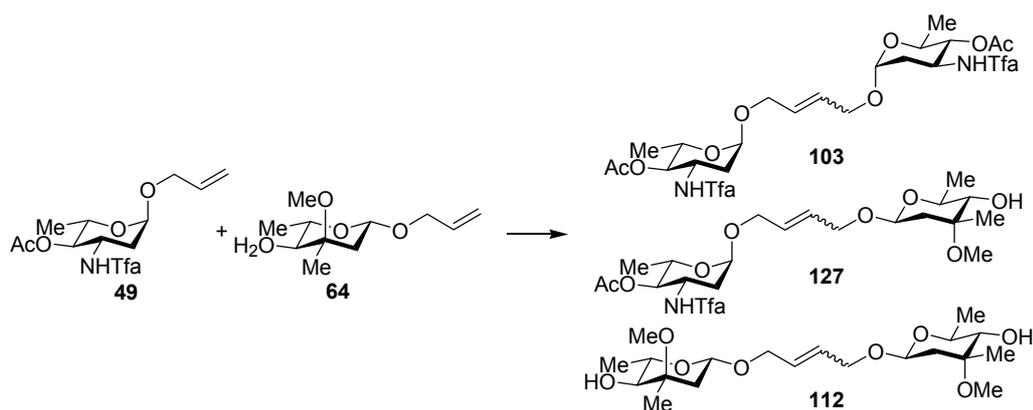
HRMS: m/z für $M + Na^+$

berechnet: 427.2784

gefunden: 427.2777

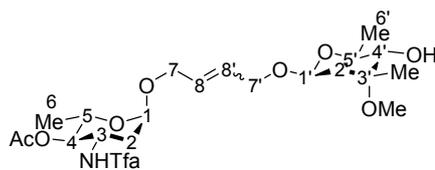
7.3.5 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.2.1

Kreuzmetathese zwischen 49 und 64



49 (120 mg, 0.55 mmol) und **64** (270 mg, 0.83 mmol, 1.5 Äquiv.) werden 5 h an der Ölpumpe (10^{-2} Torr) getrocknet, unter N_2 in wasserfreiem Benzol (5 mL) gelöst und auf $40^\circ C$ erhitzt. Zu dieser Lösung wird der Grubbs Katalysator **98** (114 mg, 10 mol%) portionsweise zugefügt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bis zur Trockene eingengt und der Rückstand über eine $Al_2O_3(\text{neutral})$ -Säule (PE/EE 1:1) filtriert. Die Reaktionslösung wird erneut im Vakuum bis zur Trockene eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1 \rightarrow 1:1) aufgereinigt.

Ausbeute:	103	60 mg, 0.096 mmol, 23%, $E/Z = 2:1$; farbloser Feststoff
	127	80 mg, 0.156 mmol, 28%, $E/Z = 4.5:1$; farbloses Öl
	112	30 mg, 0.067 mmol, 24%, $E/Z = 11:1$; farbloses Öl



127

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.75 (s, 1H, NH), 5.85-5.80 (m, 2H, 2x CH=), 4.88 (d, 1H, J = 3.5 Hz, 1-H), 4.59 (dd, 1H, J = 9.7, 1.9 Hz, 1'-H), 4.56 (dd, 1H, J = 9.4, 6.7 Hz, 4-H), 4.51-4.44 (m, 1H, 3-H), 4.37 (dd, 1H, J = 12.5, 4.5, Hz, 7'-H), 4.21-4.10 (m, 2H, 8-H u. 8'-H), 4.02 (dd, 1H, J = 12.5, 5.0 Hz, 7'-H'), 3.98 – 3.92 (m, 1H, 5-H), 3.59 (dq, 1H, J = 9.4, 6.3 Hz, 5'-H), 3.25 (s, 3H, CH₃OC-3'), 2.97 (dd, 1H, J = 10.0, 9.4 Hz, 4'-H), 2.28-2.23 (m, 2H, 2_{eq}-H u. 2'_{eq}-H), 2.12 (s, 3H, 2x CH₃CO), 2.11 (d, 1H, J = 10.7, OH) 1.72 (ddd, 1H, J = 13.0, 12.1, 3.5 Hz, 2_{ax}-H), 1.42 (dd, 1H, J = 14.4, 9.7 Hz, 2'_{ax}-H), 1.29 (d, 3H, J = 6.1 Hz, 6'-H), 1.24 (s, 3H, CH₃C-3'), 1.17 (d, 3H, J = 6.3 Hz, 6-H).

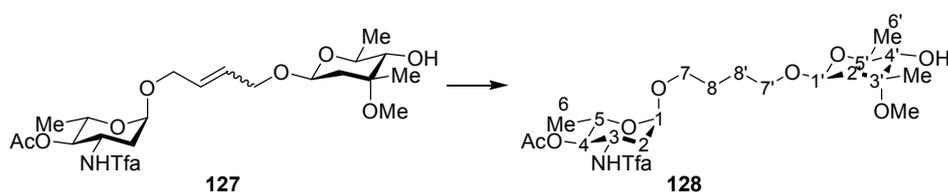
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 171.9 (s, COCH₃), 157.0 (s, COCF₃), 129.3 (d, C-8'), 116.8 (q, COCF₃), 128.3 (d, C-8), 97.3 (d, C-1'), 95.2 (d, C-1), 78.1 (d, C-4'), 75.2 (d, C-4), 75.0 (s, C-3'), 71.0 (d, C-5), 68.4 (t, C-7'), 66.9 (t, C-7), 65.7 (d, C-5'), 49.61 (q, CH₃OC-3'), 48.0 (d, C-3), 38.0 (t, C-2'), 35.7 (t, C-2), 21.1 (q, CH₃CO), 20.6 (q, CH₃C-3'), 17.6 (2x q, C-6' u. C-6).

HRMS: m/z für M + Na⁺

berechnet: 536.2083

gefunden: 536.2101

Hydrierung des kreuzgekoppelten Dimers 127



Zu einer Lösung von **127** (20 mg, 0.039 mmol) in EE/CH₂Cl₂/MeOH (16:8:1, 12.5 mL) wird PtO₂ (1.5 mg) zugegeben (Zweihalskolben). Die Suspension wird 5 h unter H₂-Atmosphäre gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 2:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von Et₃N (1 mL) beendet, die Reaktionslösung filtriert und im Vakuum eingedunstet. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1 → 1:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 19 mg (0.037 mmol) = 95%; farbloses Öl

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.66 (d, 1H, *J* = 7.8, NH), 4.83 (d, 1H, *J* = 3.5 Hz, 1-H), 4.56 (dd, 1H, *J* = 9.7, 1.8 Hz, 1'-H), 4.55 (dd, 1H, *J* = 9.9 Hz, 4-H), 4.49-4.40 (m, 1H, 3-H), 3.92 (dq, 1H, *J* = 9.9, 6.3 Hz, 5-H), 3.92 - 3.87 (m, 1 H, 7'-H), 3.67-3.62 (m, 1H, 7'-H'), 3.59 (dq, 1H, *J* = 9.5, 6.2 Hz, 5'-H), 3.46 - 3.37 (m, 2 H, 7-H u. 7-H'), 3.25 (s, 3H, CH₃O), 2.97 (dd, 1H, *J* = 10.2, 9.5 Hz, 4'-H), 2.26 (dd, 1H, *J* = 13.1, 1.8 Hz, 2_{eq}-H), 2.24 (dd, 1H, *J* = 14.4, 1.8 Hz, 2'_{eq}-H), 2.12 (s, 3H, CH₃CO), 1.72 (dd, 1H, *J* = 13.1, 3.5 Hz, 2_{ax}-H), 1.70-1.64 (m, 4H, 8-H u. 8'-H), 1.39 (dd, 1H, *J* = 14.4, 9.7 Hz, 2'_{ax}-H), 1.29 (d, 3H, *J* = 6.2 Hz, 6'-H), 1.24 (s, 3H, CH₃), 1.17 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz, 6-H).

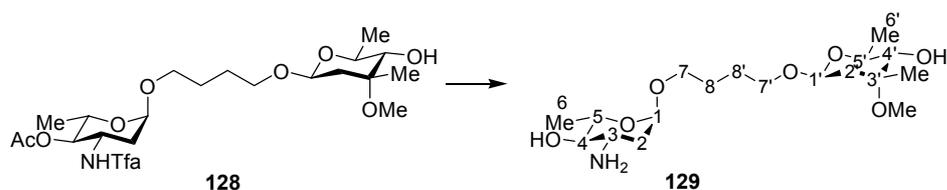
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 171.9 (s, COCH₃), 157.0 (s, COCF₃), 117.0 (q, COCF₃), 97.9 (d, C-1'), 96.0 (d, C-1), 78.1 (d, C-4'), 75.2 (d, C-4), 75.0 (s, C-3'), 70.9 (d, C-5'), 68.7 (t, C-7'), 67.3 (t, C-7), 65.7 (d, C-5), 49.1 (q, CH₃O), 48.1 (d, C-3), 38.0 (t, C-2'), 35.8 (t, C-2), 26.6, 26.2 (2 x t, C-8 u. C-8'), 21.1 (q, CH₃C-3'), 20.6 (q, CH₃CO), 18.2 (q, C-6'), 17.6 (q, C-6).

HRMS: *m/z* für M + Na⁺

berechnet: 538.2240

gefunden: 538.2238

Entschützung des kreuzgekoppelten Dimers 128



Eine Lösung von **128** (18 mg, 0.035 mmol) in THF/0.1M NaOH_{aq.} (3:1, 14 mL) wird für 14 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle: EE; Ninhydrin-Lsg.). Nach Abschluss der Reaktion wird die Reaktionslösung mit Trockeneis auf pH 7 neutralisiert und bis zur Trockene eingedunstet. Der Rückstand wird mehrmals mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten Extrakte werden im Vakuum eingedunstet. Das Rohprodukt wird mittels einer RP-Säule¹¹¹ (H₂O → MeOH) aufgereinigt.

Ausbeute: 12 mg (0.032 mmol) = 91%; farbloses Öl

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 4.78$ (d, 1H, $J = 2.9$ Hz, 1-H), 4.55 (dd, 1H, $J = 9.8, 1.8$ Hz, 1'-H), 4.02 (brs, 2H, NH_2), 3.86 (ddd, 1H, $J = 9.4, 6.1, 7'$ -H), 3.69-3.59 (m, 3H, 3-H, 5-H u. 7-H), 3.58 (dq, 1H, $J = 9.4, 6.3$ Hz, 5'-H), 3.43 (ddd, 1H, $J = 9.3, 6.1$ Hz, 7'-H'), 3.36 (ddd, 1H, $J = 9.6, 5.9, 7$ -H), 3.25 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC-3}'$), 3.19 (t, 1H, $J = 9.3$ Hz, 4-H), 2.97 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz, 4'-H), 2.22 (dd, 1H, $J = 14.4, 1.8$ Hz, 2' $_{\text{ax}}$ -H), 2.14 (dd, 1H, $J = 12.5, 4.1$ Hz, 2' $_{\text{ax}}$ -H), 1.77 (dd, 1H, $J = 12.5, 2.9$ Hz, 2' $_{\text{eq}}$ -H), 1.65 – 1.60 (m, 4H, 8-H u. 8-H'), 1.39 (dd, 1H, $J = 14.4, 9.8$ Hz, 2' $_{\text{eq}}$ -H), 1.29 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, H-6), 1.28 (d, 6H, $J = 6.3$ Hz, 6'-H), 1.24 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C-3}'$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 97.8$ (d, C-1'), 96.3 (d, C-1), 78.1 (d, C-4'), 75.8 (d, C-4), 75.1 (s, C-3'), 70.9 (d, C-5'), 68.7 (t, C-7'), 68.1 (d, C-5), 67.0 (t, C-7), 50.3 (d, C-3), 49.1 (q, $\text{CH}_3\text{OC-3}'$), 38. (t, C-2'), 37.5 (t, C-2), 26.5, 26.2 (t, C-8 u. C-8'), 21.2 (q, $\text{CH}_3\text{C-3}'$), 18.3 (q, C-6'), 17.9 (q, C-6).

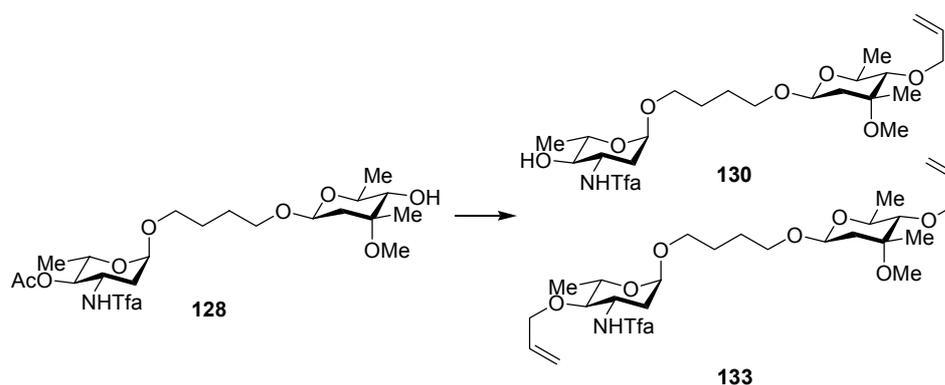
$$[\alpha]_D^{20} = -40.0^\circ (\text{CHCl}_3, c = 1)$$

HRMS: m/z für $\text{M} + \text{H}^+$

berechnet: 378.2492

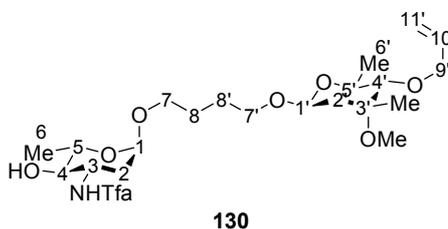
gefunden: 378.2488

Allylierung des kreuzgekoppelten Dimers 128



128 (125 mg, 0.24 mmol) wird unter Schutzgas in wasserfreiem DMF (10 mL) gelöst. Zur Reaktionslösung wird NaH (60%ig in Mineralöl, 24 mg, 2.5 Äquiv., 0.6 mmol) zugefügt und bei RT gerührt. Nach Ende der Gasentwicklung wird Allylbromid (61 μL , 87 mg, 3 Äquiv., 0.72 mmol) zugefügt und über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit MeOH hydrolysiert und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird in H_2O aufgenommen und mit EE extrahiert. Die kombinierten organischen Phasen werden mit

H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 2:1 → 1:1) aufgereinigt.



Ausbeute: 90 mg (0.18 mmol) = 75%; farbloses Öl

$R_f = 0.45$ [Kieselgel, PE/EE (1:1)];

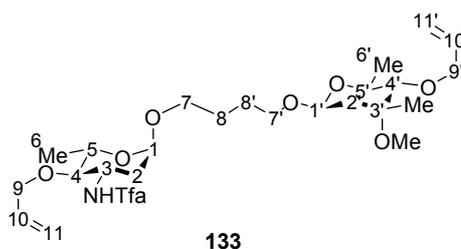
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.01$ (d, 1H, 7.9 Hz, NH), 5.89 (ddd, 1H, $J = 17.2, 10.3, 5.9$ Hz, 10'-H), 5.19 (dq, 1H, $J = 17.2, 1.9$ Hz, 11'-H), 5.12 (ddd, 1H, $J = 10.3, 1.9, 1.0$ Hz, 11'-H'), 4.78 (d, 1H, $J = 2.8$ Hz, 1-H), 4.62 (dd, 1H, $J = 9.7, 2.0$ Hz, 1'-H), 4.23 – 4.15 (m, 1H, 3-H), 4.13 (ddt, 1H, $J = 12.2, 6.0, 1.3$ Hz, 9'-H), 4.04 (ddt, 1H, $J = 12.2, 6.0, 1.3$ Hz, 9'-H'), 3.86 (dq, 1H, $J = 9.4, 6.3$ Hz, 5'-H), 3.83 (ddd, 1H, $J = 9.8, 6.3$ Hz, 7'-H), 3.68 (dq, 1H, $J = 9.5, 6.3$ Hz, 5-H), 3.61 (ddd, 1H, $J = 9.6, 6.2, 7$ -H), 3.41 (ddd, 1H, $J = 9.8, 6.4, 7$ '-H'), 3.35 (ddd, 1H, $J = 9.6, 5.9, 7$ -H'), 3.25 (s, 3H, CH₃OC-3'), 3.15 (t, 1H, $J = 9.5$ Hz, 4-H), 2.82 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz, 4'-H), 2.30 (s, 1H, OH), 2.12 (ddd, 1H, $J = 12.7, 4.7, 1.3$ Hz, 2_{ax}-H), 2.10 (dd, 1H, $J = 14.0, 2.0$ Hz, 2'_{ax}-H), 1.74 (ddd, 1H, $J = 12.7, 2.8$ Hz, 2_{eq}-H), 1.68 – 1.59 (m, 4H, 8-H u. 8'-H), 1.35 (dd, 1H, $J = 14.0, 9.7$ Hz, 2'_{eq}-H), 1.27 (d, 6H, $J = 6.3$ Hz, H-6 u. 6'-H), 1.24 (s, 3H, CH₃C-3').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): $\delta = 158.0$ (s, COCF₃), 134.7 (d, C-10'), 117.2 (t, C-11'), 115.8 (s, COCF₃), 98.0 (d, C-1'), 95.9 (d, C-1), 87.0 (d, C-4'), 75.3 (d, C-4), 75.2 (s, C-3'), 75.1 (t, (t, C-9'), 69.4 (d, C-5'), 68.7 (t, C-7'), 68.4 (t, C-5), 67.0 (d, C-7), 50.2 (d, C-3), 49.7 (q, CH₃OC-3'), 40.1 (t, C-2'), 35.3 (t, C-2), 26.5, 26.1 (t, C-8 u. C-8'), 20.9 (q, CH₃C-3'), 18.3 (q, C-6'), 17.7 (q, C-6).

HRMS: m/z für M + Na⁺

berechnet: 536.2447

gefunden: 536.2433



Ausbeute: 20 mg (0.036 mmol) = 15%; farbloses Öl

$R_f = 0.58$ [Kieselgel, PE/EE (1:1)];

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.28$ (d, 1H, 8.0 Hz, NH), 5.92 (dddd, 1H, $J = 17.2, 10.3, 6.0$ Hz, 10-H), 5.84 (dddd, 1H, $J = 17.1, 10.4, 6.6, 5.4$ Hz, 10'-H), 5.26 (dddd, 2H, $J = 10.3, 1.6$ Hz, 11-H u. 11'-H'), 5.21 (dddd, 2H, $J = 10.3, 1.8, 1.0$ Hz, 11'-H u. 11'-H'), 4.78 (dd, 1H, $J = 3.6, 1.3$ Hz, 1-H), 4.64 (dd, 1H, $J = 9.7, 2.0$ Hz, 1'-H), 4.26-4.20 (m, 1H, 3-H), 4.20-4.14 (m, 2H, 9-H u. 9'-H), 4.07 (ddt, 1H, $J = 12.3, 6.6, 1.3$ Hz, 9'-H'), 4.94 (ddt, 1H, $J = 12.4, 6.0, 1.2$ Hz, 9-H'), 3.84 (m, 2H, 5'-H und 7'-H), 3.77 (dq, 1H, $J = 9.3, 6.3$ Hz, 5-H), 3.62 (ddd, 1H, $J = 9.4, 6.2, 7$ -H), 3.42 (ddd, 1H, $J = 9.4, 6.5, 7$ '-H'), 3.35 (ddd, 1H, $J = 9.4, 6.2$ Hz, 7-H'), 3.28 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{OC-3}'$), 3.04 (t, 1H, $J = 9.3$ Hz, 4-H), 2.84 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz, 4'-H), 2.15 (ddd, 1H, $J = 13.0, 4.7, 1.3$ Hz, 2_{ax} -H), 2.14 (dd, 1H, $J = 14.0, 2.0$ Hz, $2'_{\text{ax}}$ -H), 1.82 (ddd, 1H, $J = 13.0, 12.2, 3.6$ Hz, 2_{eq} -H), 1.66 – 1.60 (m, 4H, 8-H u. 8'-H), 1.38 (dd, 1H, $J = 134.0, 9.7$ Hz, $2'_{\text{eq}}$ -H), 1.28 (d, 6H, $J = 6.3$ Hz, 6-H u. 6'-H), 1.24 (s, 3H, CH_3).

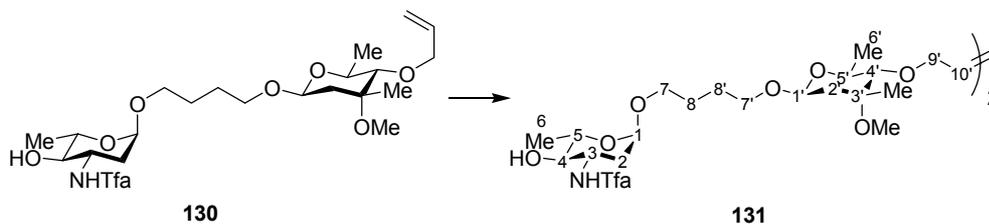
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CDCl}_3 = 77$ ppm): $\delta = 157.0$ (s, COCF_3), 134.8 (d, C-10'), 134.2 (d, C-10), 118.2 (t, C-11), 117.1 (t, C-11'), 117.1 (s, COCF_3), 98.0 (d, C-1), 95.9 (d, C-1'), 86.9 (d, C-4'), 82.0 (d, C-4), 75.2 (s, C-3'), 75.1 (t, C-9'), 73.1 (t, C-9), 69.3 (d, C-5'), 68.8 (t, C-7'), 67.4 (t, C-5), 67.1 (d, C-7), 49.8 (q, $\text{CH}_3\text{OC-3}'$), 49.0 (d, C-3), 40.0 (t, C-2'), 35.4 (t, C-2), 26.5, 26.2 (t, C-8 u. C-8'), 21.1 (q, $\text{CH}_3\text{C-3}'$), 18.4 (q, C-6'), 18.2 (q, C-6).

$[\alpha]_D^{20} = -38.9^\circ$ (c = 1.15, CHCl_3);

HRMS: m/z für $\text{M} + \text{Na}^+$

berechnet: 576.2760

gefunden: 576.2755

Metathese des monoallylierten, kreuzgekoppelten Dimers 130 zu 131

130 (70 mg, 0.136 mmol) wird mindestens 5 h an der Ölpumpe (10^{-2} Torr) getrocknet und unter N_2 in Benzol _{abs.} (2 mL) gelöst. Zu dieser Lösung wird bei 40°C portionsweise der Grubbs Katalysator **98** (12 mg, 10 mol%, nach 14 h nochmals 12 mg, 10 mol%) zugefügt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bis zur Trockene eingengt, der Rückstand in Diethylether (30 mL) und Et_3N (1 mL) aufgenommen und 2 h gerührt. Die Reaktionslösung wird erneut im Vakuum bis zur Trockene eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1 → 2:3) aufgereinigt.

Ausbeute: 40 mg (0.040 mmol) = 59%, *E/Z* = 6:1; farbloses Öl
20 mg (0.039 mmol) = 28%; reisoliertes Edukt

R_f = 0.32 [Kieselgel, PE/EE (1:1)];

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3$ = 7.26 ppm): δ = 6.53 (s, 2H, 2x NH), 5.77 (dd, 2H, J = 3.1, 2.6 Hz, 2x 10'-H (trans)), 5.71 (dd, 2H, J = 4.5, 3.9 Hz, 2x 10'-H (cis)), 4.81 (d, 2H, J = 3.3 Hz, 2x 1-H), 4.64 (d, 2H, J = 8.8 Hz, 2x 1'-H), 4.24–4.17 (m, 2H, 2 x 3-H), 4.16–4.05 (m, 4H, 2x 9-H u. 2x 9-H'), 3.90–3.83 (m, 4H, 2x 5'-H u. 2x 7'-H), 3.69 (dq, 2H, J = 9.4, 6.2 Hz, 2x 5-H), 3.64 (ddd, 2H, J = 8.9, 6.0, 2x 7-H), 3.44 (ddd, 2H, J = 9.4, 6.2, 2x 7'-H'), 3.37 (ddd, 2H, J = 9.5, 6.0, 2x 7-H'), 3.27 (s, 6H, 2x CH_3OC -3'), 3.17 (dddd, 2H, J = 9.4, 6.3 Hz, 2x 4-H), 2.82 (d, 2H, J = 9.5 Hz, 2x 4'-H), 2.68 (brs, 2H, 2x OH), 2.15 (dd, 2H, J = 12.7, 3.3 Hz, 2x 2_{ax} -H), 2.12 (dd, 2H, J = 14.0, 1.4 Hz, 2x $2'_{ax}$ -H), 1.75 (ddd, 2H, J = 12.7, 3.5 Hz, 2x 2_{eq} -H), 1.68 – 1.60 (m, 8H, 2x 8-H u. 2x 8-H'), 1.37 (dd, 2H, J = 14.0, 8.8 Hz, 2x $2'_{eq}$ -H), 1.27 (d, 6H, J = 6.2 Hz, 2x H-6), 1.28 (d, 6H, J = 6.3 Hz, 2x 6'-H), 1.25 (s, 6H, 2x CH_3C -3').

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3$ = 77 ppm): δ = 158.1 (s, 2x $COCF_3$), 129.6 (d, 2x C-10), 115.8 (s, 2x $COCF_3$), 98.1 (d, 2x C-1'), 95.9 (d, 2x C-1), 87.1 (d, 2x C-4'), 75.8 (d, 2x C-4), 75.2 (s, 2x C-3'), 73.9 (t, 2x C-9), 69.4 (d, 2x C-5'), 68.8 (t, 2x C-7'), 68.4 (t, 2x C-5), 67.1 (d, 2x C-7), 50.4 (d, 2x C-3), 49.9 (q, 2x CH_3OC -3'), 40.3 (t, 2x C-2'), 35.5 (t,

2x C-2), 26.6, 26.1 (t, 2x C-8 u. 2x C-8'), 21.0 (q, 2x CH₃C-3'), 18.3 (q, 2x C-6'), 17.7 (q, 2x C-6).

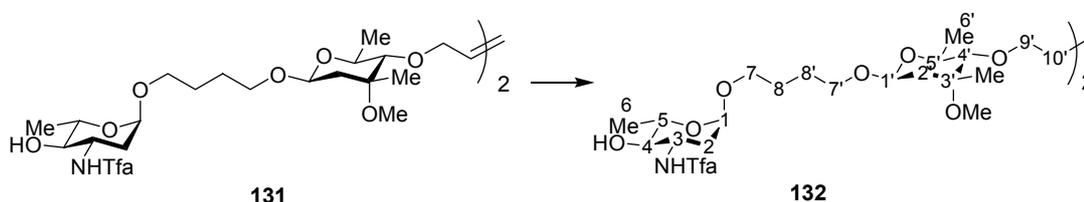
$$[\alpha]_D^{20} = -42.8^\circ \text{ (CHCl}_3, c = 1\text{)};$$

HRMS: m/z für M + Na⁺

berechnet: 1021.4684

gefunden: 1021.4662

Hydrierung des linearen Tetramers **131** zu **132**



Zu einer Lösung von **131** (40 mg, 0.040 mmol) in einem Lösungsmittelgemisch (EE/CH₂Cl₂/MeOH 16:8:1, 12.5 mL) wird PtO₂ (1.5 mg) zugegeben (Zweihalskolben). Die Suspension wird 5 h unter H₂-Atmosphäre gerührt (DC-Kontrolle: PE/EE 2:3). Die Reaktion wird durch Zugabe von Et₃N (1 mL) beendet, die Reaktionslösung filtriert (Vorsicht: PtO₂ kann sich beim Trocknen des Filterpapiers entzünden!) und im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie (PE/EE 1:1 → 2:3) aufgereinigt.

Ausbeute: 35 mg (0.035 mmol) = 88%; farbloses Öl

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.45 (s, 2H, 2x NH), 4.82 (d, 2H, J= 2.5 Hz, 2x 1-H), 4.63 (d, 2H, J= 8.8 Hz, 2x 1'-H), 4.24–4.17 (dddd, 2H, J= 12.4, 9.7, 7.7, 4.7 Hz, 2x 3-H), 3.89–3.81 (m, 2H, 2x 7'-H), 3.86 (dq, 2H, J= 9.4, 6.3 Hz, 2x 5'-H), 3.69 (dq, 2H, J= 9.1, 6.2 Hz, 2x 5-H), 3.61 (ddd, 2H, J= 15.3, 6.0, 2x 7-H), 3.61–3.59 (m, 2H, 2x 7'-H), 3.54 (ddd, 2H, J= 8.7, 6.2, 2x 9-H), 3.43 (ddd, 2H, J= 9.4, 6.4, 2x 9-H'), 3.43 (ddd, 2H, J= 9.4, 6.6, 2x 7'-H'), 3.37 (ddd, 2H, J= 9.4, 5.9, 2x 7-H'), 3.27 (s, 6H, 2x CH₃OC-3'), 3.16 (dd, 2H, J= 9.7, 9.1 Hz, 2x 4-H), 2.82 (d, 2H, J= 9.4 Hz, 2x 4'-H), 2.15 (dd, 2H, J= 12.7, 4.7 Hz, 2x 2_{ax}-H), 2.12 (dd, 2H, J= 13.9, 1.8 Hz, 2x 2'_{ax}-H), 1.75 (ddd, 2H, J= 12.7, 3.5 Hz, 2x 2_{eq}-H), 1.70–1.59 (m, 12H, 2x 8-H, 2x 8-H', 2x 8'-H, 2x 8'-H')

2x 10'-H u. 2x 10-H'), 1.37 (dd, 2H, $J = 13.9, 8.8$ Hz, 2x 2'-eq-H), 1.28 (d, 6H, $J = 6.2$ Hz, 2x H-6), 1.26 (d, 6H, $J = 6.3$ Hz, 2x 6'-H), 1.24 (s, 6H, 2x CH₃C-3').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): $\delta = 158.1$ (s, 2x COCF₃), 115.7 (s, 2x COCF₃), 98.1 (d, 2x C-1'), 95.9 (d, 2x C-1), 87.7 (d, 2x C-4'), 75.9 (d, 2x C-4), 75.2 (s, 2x C-3'), 73.9 (t, 2x C-9'), 69.4 (d, 2x C-5'), 68.8 (t, 2x C-7'), 68.4 (t, 2x C-5), 67.1 (d, 2x C-7), 50.4 (d, 2x C-3), 49.9 (q, 2x CH₃OC-3'), 40.3 (t, 2x C-2'), 35.5 (t, 2x C-2), 27.1 (t, 2x C-10'), 27.1, 26.6, 26.1 (3x t, 2x C-8, 2x C-8' u. 2x C-10'), 21.0 (q, 2x CH₃C-3'), 18.2 (q, 2x C-6'), 17.7 (q, 2x C-6).

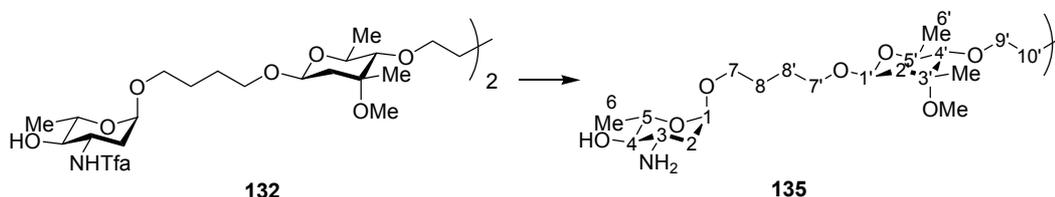
$[\alpha]_D^{20} = -54.3^\circ$ (CHCl₃, c = 1);

HRMS: m/z für M + Na⁺

berechnet: 1023.4840

gefunden: 1023.4830

Entschützung des linearen Tetramers **132** zu **135**



Eine Lösung von **132** (7 mg, 7 μ mol) in THF/0.1M NaOH_{aq.} (3:1, 6 mL) wird für 14 h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle: EE, Ninhydrin-Lsg.). Nach Abschluss der Reaktion wird die Reaktionslösung mit Trockeneis neutralisiert und bis zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird mehrmals mit Dichlormethan extrahiert und die Extrakte werden im Vakuum eingengt. Das Rohprodukt wird mittels einer RP-Säule (H₂O \rightarrow MeOH) aufgereinigt.

Ausbeute: 3 mg (4 μ mol) = 57%; farbloser Feststoff

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 4.80$ (s, 2H, 2x 1-H), 4.55 (dd, 2H, $J = 9.7, 1.8$ Hz, 2x 1'-H), 3.88 (ddd, 2H, $J = 9.2, 3.2$ Hz, 2x 7'-H), 3.68-3.60 (m, 6H, 2x 5-H, 2x 7-H u. 2x 9'-H), 3.58 (dq, 2H, $J = 9.5, 6.2$ Hz, 2x 5'-H), 3.45-3.34 (m, 6H, 2x 7-H',

2x 7'-H' u. 2x 9'-H'), 3.30-3.22 (m, 2H, 2x 3-H), 3.25 (s, 6H, 2x CH₃OC-3'), 3.15 (dd, 2H, $J=9.4, 9.0$ Hz, 2x 4-H), 2.97 (d, 2H, $J=9.5$ Hz, 2x 4'-H), 2.23 (dd, 2H, $J=14.4, 1.8$ Hz, 2x 2'_{ax}-H), 2.15-2.11 (m, 2H, 2x 2'_{ax}-H), 1.79-1.72 (m, 2H, 2x 2'_{eq}-H), 1.69 – 1.60 (m, 12H, 2x 8-H, 2x 8-H', 2x 10'-H u. 2x 10'-H'), 1.39 (dd, 2H, $J=14.4, 9.7$ Hz, 2x 2'_{eq}-H), 1.29 (d, 6H, $J=6.1$ Hz, 2x H-6), 1.26 (d, 6H, $J=6.2$ Hz, 2x 6'-H), 1.24 (s, 6H, 2 x CH₃C-3').

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): $\delta = 97.9$ (d, 2x C-1'), 96.3 (d, 2x C-1), 78.1 (d, 2x C-4'), 77.2 (d, 2x C-4), 75.0 (s, 2x C-3'), 70.9 (d, 2x C-5'), 68.8, 68.7 (2x t, 2x 7' u. 2x 9'), 68.1 (t, 2x C-5), 67.0 (d, 2x C-7), 49.1 (q, 2x CH₃OC-3), 38.0 (t, 2x C-2'), 31.9 (d, 2x C-3), 29.7 (t, 2x C-2), 26.7, 26.6, 26.2 (3x t, 2x 8, 2x 8' u. 2x 10'), 21.1 (q, 2x CH₃C-3'), 18.2 (q, 2x C-6'), 17.8 (q, 2x C-6).

$[\alpha]_D^{20} = -41.6^\circ$ (CHCl₃, c = 0.3);

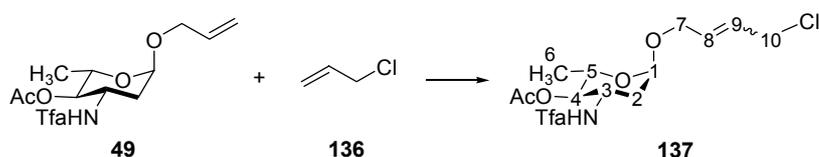
HRMS: m/z für M + Na⁺

berechnet: 803.4905

gefunden: 803.4908

7.3.6 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 4.5.2.3

4-O-Acetyl-1-(4'-chlorbut-2'-enyl)-3-trifluoroacetamido-2,3,6-tridesoxy- α -L-arabino-hexopyranosid (**137**)



49 (100 mg, 0.387 mmol) wird mindestens 5 h an der Ölpumpe (10⁻² Torr) getrocknet, unter N₂ in wasserfreiem CH₂Cl₂ (10 mL) gelöst und auf 40°C erhitzt. Zu dieser Lösung wird Allylchlorid (**136**) (191 μ L, 2.32 mmol, 6 Äquiv.) und portionsweise der Grubbs Katalysator **100** (64 mg, 20 mol%) zugefügt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bis zur Trockene eingengt und der Rückstand über eine Al₂O_{3(neutral)}-Säule (PE/EE 1:1) filtriert. Die Reaktionslösung wird erneut im Vakuum bis zur Trockene eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 3:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 30 mg (0.08 mmol) = 21%, *E/Z* = 10:1; farbloser Feststoff

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.79 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz, NH), 5.90-5.82 (m, 2H, 8-H u. 9-H (trans/cis)), 4.88 (dd, 1H, *J* = 3.5, 1.3 Hz, 1-H), 4.59 (dd, 1H, *J* = 10.4, 9.5 Hz, 4-H), 4.52-4.43 (m, 1H, 3-H), 4.19-4.14 (m, 1H, 7-H), 4.07 (dt, 2H, *J* = 5.6, 1.0 Hz, 10-H u. 10-H'), 4.01 - 3.97 (m, 1H, 7-H'), 3.93 (dq, 1H, *J* = 9.5, 6.3 Hz, 5-H), 2.28 (ddd, 1H, *J* = 13.1, 4.7, 1.3 Hz, 2_{eq}-H), 2.07 (s, 3H, CH₃CO), 1.71 (ddd, 1H, *J* = 13.1, 12.1, 3.5 Hz, 2_{ax}-H), 1.18 (d, 3H, *J* = 6.3 Hz, 6-H).

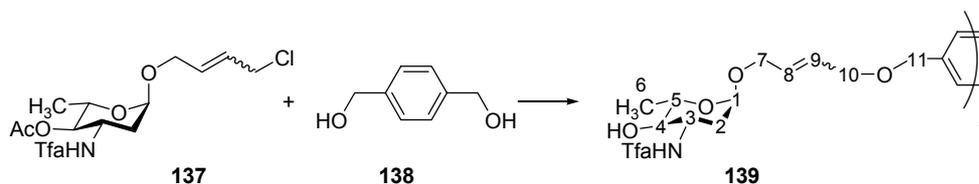
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 172.0 (s, COCH₃), 157.0 (s, COCF₃), 130.2 (d, C-9), 128.5 (d, C-8), 115.6 (q, COCF₃), 95.4 (d, C-1), 75.2 (d, C-4), 66.4 (t, C-7), 65.8 (d, C-5), 48.0 (d, C-3), 44.1 (t, C-10), 35.6 (t, C-2), 20.6 (q, COCH₃), 17.6 (q, C-6).

HRMS: *m/z* für M + Na⁺

berechnet: 395.0961

gefunden: 395.0962

Darstellung eines Dimers mit einem 4-[4-(4'-Hydroxy-but-2-enyloxymethyl)-benzyloxy]-but-2-en-1-ol-Linker (139)



138 (15.7 mg, 0.12 mmol, 1.5 Äquiv.) wird in wasserfreiem DMF (5 mL) gelöst. Zur Reaktionslösung wird NaH (10.08 mg, 5 Äquiv.) zugefügt und bei RT gerührt. Nach Ende der Gasentwicklung wird **137** (27 mg, 0.08 mmol) in wasserfreiem DMF (1 mL) zugefügt und über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit MeOH hydrolysiert und im Vakuum eingedunstet. Der Rückstand wird in H₂O aufgenommen und mit EE extrahiert. Die kombinierten organischen Phasen werden mit H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 3:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 30 mg (0.041 mmol) = 51%;

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.34 (s, 4H, Ph), 6.61 (d, 2H, J= 7.7 Hz, 2x NH), 5.84-8.83 (m, 4H, 2x 8-H u. 2x 9-H (trans/cis)), 4.84 (d, 2H, J= 3.2 Hz, 2x 1-H), 4.52 (s, 4H, 2x 11-H u. 2x 11-H'), 4.25-4.18 (m, 2H, 2x 3-H), 4.17-4.15 (m, 2H, 2x 7-H), 4.03 (d, 4H, J= 4.5 Hz, 2x 10-H u. 2x 10-H'), 3.97-3.92 (m, 2H, 2x 7-H'), 3.69 (dq, 2H, J= 9.7, 6.3 Hz, 2x 5-H), 3.10 (dd, 2H, J= 9.7 Hz, 2x 4-H), 2.15 (ddd, 2H, J= 12.9, 4.7, 1.4 Hz, 2x 2_{eq}-H), 1.71 (ddd, 2H, J= 12.9, 3.2 Hz, 2x 2_{ax}-H), 1.27 (d, 6H, J= 6.3 Hz, 2x 6-H).

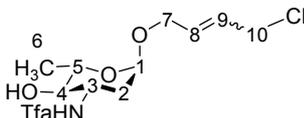
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 158.2 (s, 2 x COCF₃), 137.6 (s, Ph), 129.5 (d, 2x C-9), 128.6 (d, 2x C-8), 115.8 (q, 2x COCF₃), 95.2 (d, 2x C-1), 75.8 (d, 2x C-4), 72.2 (t, 2x C-11), 70.2 (t, 2x C-10), 68.6 (t, 2x C-7), 66.7 (d, 2x C-5), 50.2 (d, 2x C-3), 35.3 (t, 2x C-2), 17.6 (q, 2x C-6).

HRMS: *m/z* für M + Na⁺

berechnet: 751.2641

gefunden: 751.2663

Nebenprodukt: 1-(4'-chlorbut-2'-enyl)-3-trifluoroacetamido-2,3,6-tridesoxy-α-L-arabino-hexopyranosid

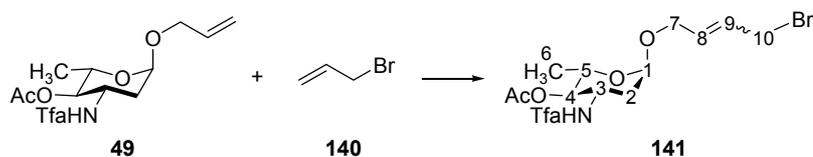


Ausbeute: 7 mg (0.021 mmol) = 26%;

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.55 (d, 1H, J= 7.5 Hz, NH), 5.93-5.86 (m, 2H, 8-H u. 9-H (trans/cis)), 4.88 (d, 1H, J= 3.4 Hz, 1-H), 4.29-4.20 (m, 1H, 3-H), 4.19-4.13 (m, 1H, 7-H), 4.08-3.71 (m, 2H, 10-H u. 10-H'), 4.00-3.96 (m, 1H, 7-H'), 3.71 (dq, 1H, J= 9.5, 6.3 Hz, 5-H), 3.20 (dd, 1H, J= 9.5 Hz, 4-H), 2.17 (ddd, 1H, J= 12.9, 4.7, 1.1 Hz, 2_{eq}-H), 1.77 (ddd, 1H, J= 12.9, 3.4 Hz, 2_{ax}-H), 1.29 (d, 3H, J= 6.3 Hz, 6-H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, CDCl₃ = 77 ppm): δ = 158.2 (s, COCF₃), 130.3 (d, C-9), 128.5 (d, C-8), 115.7 (q, COCF₃), 95.3 (d, C-1), 75.7 (d, C-4), 68.6 (d, C-5), 66.3 (t, C-7), 50.2 (d, C-3), 44.1 (t, C-10), 35.3 (t, C-2), 17.6 (q, C-6).

4-O-Acetyl-1-(4'-brombut-2'-enyl)-3-trifluoroacetamido-2,3,6-trideoxy- α -L-arabino-hexopyranosid (141)



49 (100 mg, 0.387 mmol) wird 5 h an der Ölpumpe (10^{-2} Torr) getrocknet, unter N_2 in wasserfreiem CH_2Cl_2 (10 mL) gelöst und auf $40^\circ C$ erhitzt. Zu dieser Lösung wird Allylbromid (**140**) (92 μL , 2.32 mmol, 6 Äquiv.) und portionsweise der Grubbs Katalysator **100** (64 mg, 20 mol%) zugefügt. Die Reaktionslösung wird im Vakuum bis zur Trockene eingengt und der Rückstand über eine $Al_2O_{3(neutral)}$ -Säule (PE/EE 1:1) filtriert. Die Reaktionslösung wird erneut im Vakuum bis zur Trockene eingengt und mittels Säulenchromatographie (PE/EE 3:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 20 mg (0.048 mmol) = 12%, *E/Z* = 1:4; farbloser Feststoff

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 6.67$ (d, 1H, $J = 8.1$ Hz, NH), 5.89-5.80 (m, 2H, 8-H u. 9-H (trans/cis)), 4.89 (d, 1H, $J = 3.1$ Hz, 1-H), 4.55 (dd, 1H, $J = 10.4, 9.3$ Hz, 4-H), 4.52-4.43 (m, 1H, 3-H), 4.18-4.13 (m, 1H, 7-H), 4.01-3.91 (m, 3H, 10-H u. 10-H' u. 7-H'), 3.50 (dq, 1H, $J = 9.3, 6.3$ Hz, 5-H), 2.28 (ddd, 1H, $J = 13.1, 4.7, 1.3$ Hz, 2_{eq} -H), 2.08 (s, 3H, CH_3CO), 1.72 (ddd, 1H, $J = 13.1, 12.0, 3.1$ Hz, 2_{ax} -H), 1.18 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, 6-H).

^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CDCl_3 = 77$ ppm): $\delta = 172.0$ (s, $COCH_3$), 156.9 (s, $COCF_3$), 130.0 (d, C-9), 128.0 (d, C-8), 115.6 (q, $COCF_3$), 95.2 (d, C-1), 75.2 (d, C-4), 70.4 (t, C-7), 67.0 (d, C-5), 65.7 (t, C-10), 48.1 (d, C-3), 35.7 (t, C-2), 20.6 (q, $COCH_3$), 17.6 (q, C-6).

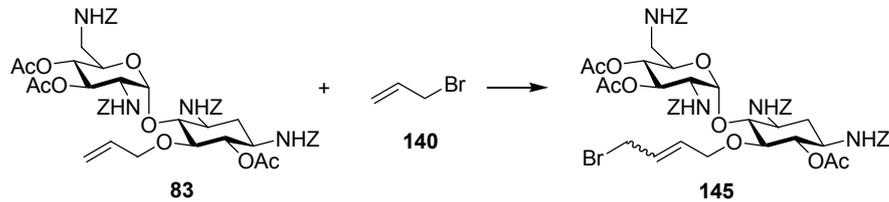
HRMS: *m/z* für $M + Na^+$

berechnet: 417.0399

gefunden: 417.0388

7.3.7 Darstellung der Verbindung aus Kapitel 4.5.2.4

Kreuzmetathese zwischen Neaminderivat **83** und Allylbromid (**140**)



83 (100 mg, 0.098 mmol) wird 5 h an der Ölpumpe (10^{-2} Torr) getrocknet, unter N_2 in wasserfreiem CH_2Cl_2 (10 mL) gelöst und auf $40^\circ C$ erhitzt. Zu dieser Lösung wird Allylbromid (**140**) (23 μL , 0.59 mmol, 6 Äquiv.) und portionsweise der Grubbs Katalysator **100** (16 mg, 20 mol%) zugefügt. Nach 14 h wird die Reaktionslösung im Vakuum bis zur Trockene eingeeengt. Das Rohprodukt wird mittels ESI vermessen.

HRMS: m/z für $M + Na^+$

berechnet: 1139.3113

gefunden: 1139.3159

8 Experimenteller Teil: Gelelektrophorese

8.1 Inaktivierung von RNAsen

Zur Vermeidung der Kontamination durch potentiell vorhandene RNAsen in Puffern und Lösungen sowie Eppendorf-Hütchen und -Spitzen werden gesonderte Maßnahmen getroffen. Millipore Wasser und alle Puffer und Lösungen werden durch 24 stündige Inkubation mit 0.1% DEPC und anschließendem Autoklavieren¹³⁹ vorbehandelt. Die Apparaturen (nur benutzte Flächen) werden vor dem Einsatz mit 70%igem Ethanol abgerieben.

8.2 Behandlung der RNA

Die von der Firma PROLIGO® erhaltene und auch die quantifizierte RNA werden in autoklaviertem Wasser gelöst und renaturiert (bei 80°C 5 min erwärmen und langsam auf RT abkühlen lassen). Die RNA bleibt über einige Wochen bei -20°C im Gefrierschrank stabil. Bei jedem Gebrauch sollte sie möglichst kühl gelagert werden.

8.3 Polyacrylamidgel-Elektrophorese (PAGE)

Zunächst wird die Gelkammer¹⁴⁰ zusammengesetzt. Die Glasscheiben werden zuvor gründlich mit Ethanol gereinigt. In einem Kolben werden TBE-Puffer, Acrylamid/Bisacrylamid-Lösung vorgelegt und der Harnstoff darin gelöst. Durch leichtes Erwärmen und Rühren im Rotationsverdampfer-Wasserbad löst sich der Harnstoff schneller, wobei aufgrund der leichten Polymerisierbarkeit darauf geachtet werden sollte, daß die Lösung nur wenig gerührt wird. Dann erfolgte die Zugabe von TEMED (Katalysator) und APS (Radikalstarter). Die Lösung wird mit Hilfe einer Spritze blasenfrei in die Gelkammer gegeben, zur Glättung des Gels wird am oberen Ende ein Kamm in die Gelkammer gesteckt. Beim Befüllen der Gelkammer muss zügig gearbeitet werden, da nach der Zugabe des APS die Polymerisation beginnt. Zur vollständigen Polymerisation wird das Gel über Nacht, aber mindestens 3 h, bei RT gelagert.

¹³⁹ Zum Autoklavieren wurde mit einem Gerät der Firma Prestige Medical durchgeführt. Seine Effektivität wurde bei jedem Einsatz mit Autoklavierpapier nachgewiesen.

¹⁴⁰ Elektrophorese-Apparatur Sequi-Gen GT der Fa. Biorad

20%iges denaturierendes Polyacrylamidgel

21 g	Harnstoff
25 mL	40% Acrylamid/Bisacrylamidlösung (1:19) (Fa. Serva)
10 mL	5x TBE-Puffer
23 µL	TEMED
300 µL	10%ige APS-Lösung

5x TBE-Puffer

54 g	TRIS
27.5 g	Borsäure
20 mL	0.5M EDTA-Lösung
mit dest. H ₂ O auf 1 L auffüllen	

Die beiden Puffertanks werden mit jeweils 500 mL 1x TBE-Puffer gefüllt. Vor dem Probenauftrag wird das Gel 1 h bei konstant 55 W auf ca. 50°C erwärmt. Anschließend wird die Probenauftragstasche vor dem Einsetzen des Kammes gründlich mit einer Spritze gespült, um Harnstoff- und Polyacrylamid-Reste zu entfernen. Die aufzutrennenden Proben werden in kleine Geltaschen (slots) von wenigen Millimetern Durchmesser pipettiert. Das Auftrennen der RNA erfolgt ebenso bei 55 W. Zur Erkennung des Laufverhaltens der RNA-Fragmente wird nach der Reaktion der Proben Auftragspuffer zugefügt. Dieser stoppt die Reaktion und ist aufgrund des Formamids auch für eine klare Aufspaltung der Fragmente zuständig. Zusätzlich sorgt das Formamid durch seine große Dichte für ein gutes Absacken der Proben, so daß sie schneller in das Gel einziehen können. Neben dem Formamid liegen im Auftragspuffer noch zwei Farbstoffe, Bromphenol-Blau und Xylencyanol, vor. Der Verlauf der Elektrophorese wird somit kontrolliert und die Elektrophoresefront markiert. Nach der Zugabe des Auftragspuffers werden die Proben 2 min bei 80°C gehalten und dann sofort auf Eis gelegt. Diese Methode dient zur perfekten Auftrennung der RNA-Bruchstücke und sorgt für klare Spots. Der Abstand zwischen den beiden Farbstoff-Fronten des Auftragspuffers sollte ungefähr 20 cm betragen.

Auftragspuffer

1 mg	Bromphenolblau
1 mg	Xylencyanol FF
20 µL	0.5M EDTA-Lösung
mit Formamid auf 1 mL auffüllen	

8.4 Northern Blot

Nachdem das Polyacrylamidgel auf Raumtemperatur abgekühlt ist, wird die RNA über Elektroblothing auf eine Nylonmembran¹⁴¹ transferiert.

Zunächst werden die beiden Glasplatten der Gelkammer vorsichtig voneinander gelöst. Die Nylonmembran wird blasenfrei auf das Gel gelegt und dieses anschließend mit einem Messer auf die Größe der Membran zugeschnitten. Auf der Kathode der Blottingkammer werden vier Schichten Blotting Papier¹⁴² mit 0,5x TBE-Puffer getränkt, das Gel wird vorsichtig mit der Membran auf das Blotting Papier gelegt und mit vier Schichten getränktem Blotting Papier abgedeckt (die Membran zeigt Richtung Anode). Das Blotting erfolgt in 30 min bei konstant 400 mA (max. 20 V). Um die RNA auf der Membran zu fixieren, wird die Membran bei 80°C für 30 min im Trockenschrank gebacken. Anschließend kann die Membran in Frischhaltefolie im Kühlschrank über Nacht gelagert werden.

8.5 Detektion der biotinylierten RNA mit CDP-Star®

Zur Detektion der biotinylierten RNA-Fragmente mit dem CDP-Reagenz¹⁴³, müssen auf der Nylonmembran zunächst alle unbesetzten Bindungsstellen „geblockt“ werden. Die Membran wird in eine Plastikbox überführt, die abwechselnd, je nach Größe der Membran, mit der im Protokoll angegebenen Menge an Puffer versehen wird. Die Box wird mittels einer Schwenkmaschine in Bewegung gehalten, so daß die Membran immer von Puffer benetzt ist. Nach sechs Waschvorgängen wird die Membran im letzten Schritt durch den Assay-Puffer auf einen alkalischen pH-Wert gebracht, um die alkalische Phosphatase zu aktivieren. Das anschließende Trocknen der Membran erfolgt durch Abtropfen lassen des Puffers.

¹⁴¹ Nytran Plus 0,45µm von Fa. Schleicher & Schuell

¹⁴² Sammy Dry von Fa. Schleicher & Schuell

¹⁴³ CDP-Star von Fa. Roch

Übersicht über die einzelnen Waschschritte (schüttelnd bei RT):

2x 5 min	Wasch-Puffer (1mL/cm ² Membran)
2x 5 min	Blocking-Puffer (0,5mL/cm ² Membran)
30 min	Blocking-Puffer (1mL/cm ² Membran)
30 min	Blocking-Puffer + Streptavidin-Alkalische Phosphatase ¹⁴⁴ ((10 mL + 1 µL)/cm ² Membran)
15 min	Blocking-Puffer (0,5mL/cm ² Membran)
3x 15 min	Wasch-Puffer (1mL/cm ² Membran)
2x 2min	Assay-Puffer

Anschließend wird die Membran auf Frischhaltefolie gelegt und mit CDP-*Star*[®] beträufelt, durch Bewegen der Membran wird das Reagenz gleichmäßig verteilt. Die Membran wird mit Frischhaltefolie abgedeckt. In einer Exposure-Kassette wurde ein Röntgenfilm auf die Membran gelegt und bei RT 3 h exponiert. Versuche zeigten, dass auf dem Film schärfere Spots zu erkennen sind, wenn man den Film auf die Rückseite der Membran legt. Anschließend wird der Röntgenfilm entwickelt¹⁴⁵ und fixiert.

10x PBS

823 g Na₂HPO₄*2 H₂O
 23.5 g NaH₂PO₄*2 H₂O
 40 g NaCl
 mit dest. H₂O auf 1 L auffüllen

Wasch-Puffer

25 mL 20% SDS
 100 mL 10x PBS
 mit dest. H₂O auf 1 L auffüllen

Blocking-Puffer

22.5 mL 20% SDS
 90 mL 10x PBS
 1.8 g I-Block¹⁴⁶
 mit dest. H₂O auf 900 mL auffüllen

¹⁴⁴ Fa. Promega

¹⁴⁵ Photo-Entwickler und -Fixierer von Fa. Sigma

¹⁴⁶ Fa. Tropix

Assay-Puffer

12.1 g TRIS

5.8 g NaCl

mit dest. H₂O auf 1 L auffüllen**8.6 Dot Blot**

Die Proben werden 30 min vor dem Beladen der Dot-Blots angesetzt, wobei die RNA-Konzentration konstant bleibt und die Peptid-Konzentration variiert wird. Die Proben werden mit der RNA und der jeweiligen Konzentration an Peptid versehen. Dann werden sie mit autoklaviertem Millipore-Wasser auf das Gesamtvolumen von 50 µL gefüllt, wobei nur 25 µL aufgetragen werden. Dazu wird das Dot-Blot Gerät folgendermaßen eingerichtet: Die obere Membran (Nitrocellulose¹⁴⁷) ist durchlässig für RNA, aber undurchlässig für Protein und den Protein-RNA-Komplex. Die untere Membran (Nylon¹⁴⁸) ist undurchlässig für RNA. Die beiden Membranen werden zwischen die Platten des Dot-Blot-Gerätes geklemmt und mit 0.5x TBE befeuchtet. Das Befeuchten ist sinnvoll, da ansonsten die Kapillarkräfte der Membran für verlaufende Spots sorgen. An die fertige Kammer wird ein Wasserstrahlvakuum gelegt, so dass die Proben gleich nach dem Auftragen abgesaugt werden. Jede aufgetragene Probe wird mit 400 µL Wasser nachgespült. Es wird 30 min nachgesaugt und anschließend das Gerät auseinandergebaut. Die untere Nylon-Membran wird zur Fixierung im Ofen auf 80°C gebacken und anschließend gewaschen. Die Nitrocellulose-Membran wird auf eine Nylon-Membran umgeblottet und ebenfalls durch anschließendes 30 min backen bei 80°C fixiert.

¹⁴⁷ Nitrocellulosemembran: Optitran BA-S83 Reinforced NC, Fa. Scheicher&Schuell

¹⁴⁸ Nylonmembran: Nytran Plus 0.45 µm, Fa. Scheicher&Schuell

Danksagung

Eine solche Arbeit kann man eigentlich nicht ohne Hilfe erstellen, sei es moralische, handwerkliche, geistige oder materielle Unterstützung.

Und so möchte ich zuerst meinem Doktorvater Prof. Dr. Andreas Kirschning für die Überlassung des interessanten Themas, die Gewährung günstiger Arbeitsbedingungen und für die wertvollen Diskussionen und Hinweise herzlich danken. Er hat diese Arbeit in allen Phasen mit vorbildlichem Engagement und stetiger Diskussionsbereitschaft begleitet. Durch seine Motivation hat er mir zu einem zügigen Eintritt in die internationale Präsentation verholfen.

Herrn Prof. Dr. Holger Butenschön danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Den ehemaligen und derzeitigen Mitarbeitern des Arbeitskreises danke ich für eine kompetente Zusammenarbeit und das überaus angenehme Arbeitsklima. Die mir entgegengebrachte Freundlichkeit über die reine Zusammenarbeit hinaus und die unterhaltsamen zusammen verbrachten Stunden werde ich in guter Erinnerung behalten. Besonders hervorheben möchte ich hier meine langjährige Laborkollegin Nuria Merayo. Quiero agradecer a Nuria su inestimable ayuda en el laboratorio, su entusiasta participación en enriquecedoras discusiones y sus valiosas correcciones de mis pequeños despistes.

Den Mitgliedern der „*BTN-subgroup*“ bin ich für die freundschaftliche und auch effektive Zusammenarbeit dankbar. Ich konnte mich immer auf Eure Unterstützung verlassen. Hervorzuheben ist hier besonders Benjamin Oelze, Master of Modeling, dem ich für wohlthuende, motivierende und ergiebige Streitgespräche und das entgegengebrachte Verständnis in der Zeit des Leidens danke, sowie für die konstruktiven und "kompromisslosen" Korrekturen an der Arbeit selbst.

Zusätzlich danke ich noch Dr. Gerald Dräger und Patrick Bröker, die sich ganz oder teilweise durch die Manuskripte dieser Arbeit gekämpft und mir bei Formulierungsproblemen immer wieder auf die Sprünge geholfen haben.

Mein ganz großer Dank geht an Axel Meyer, er hat meine Stimmungen und Frustrationen der letzten Wochen mit voller Wucht abbekommen und ertragen. Mit seinem Optimismus hat er mich immer wieder auf den richtigen Weg gebracht.

Allen Institutsangehörigen und Studenten des Organischen Instituts in Hannover, die direkt oder indirekt zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben und nicht namentlich erwähnt wurden, sei mein herzlicher Dank ausgesprochen.

Mein letzter Dank gilt jenen, denen ich am meisten zu verdanken habe, nämlich meinen Eltern.

Lebenslauf

■ Persönliche Daten

Name: Meike Lindner
Geburtstag: 20.01.1972 in Osnabrück
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

■ Schulbildung

09/1978 – 07/1982 Grundschole Hellern
08/1982 – 07/1984 Orientierungsstufe „In der Wüste“
08/1984 – 05/1992 Gymnasiums „In der Wüste“ mit dem Abschluss
„Allgemeine Hochschulreife“

■ Studium

10/1992 Beginn des Chemiestudiums an der Gesamthochschule
Paderborn
10/1995 Zuerkennung des Vordiploms
07/1997 Zuerkennung des akademischen Abschlusses als
Diplom-Chemieingenieurin (GH)
10/1997 Beginn des Ergänzungsstudienganges Chemie an der
Universität Osnabrück
08/2000 Zuerkennung des akademischen Abschlusses als
Diplom-Chemikerin
11/2000 Beginn der Doktorarbeit im Arbeitskreis Prof. Dr. A.
Kirschning an der Universität Hannover

■ Beruflicher Werdegang

11/1999 – 07/2000 Studentische Hilfskraft in der organischen Chemie
11/2000 – 03/2004 Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der organischen
Chemie